บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

ชุดที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสูตรอาหาร ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

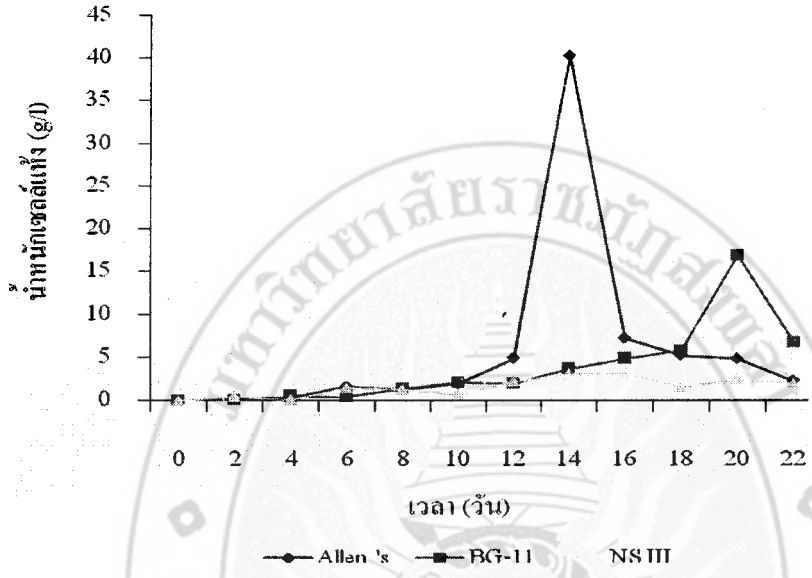
1. ผลการศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์

1.1 การศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

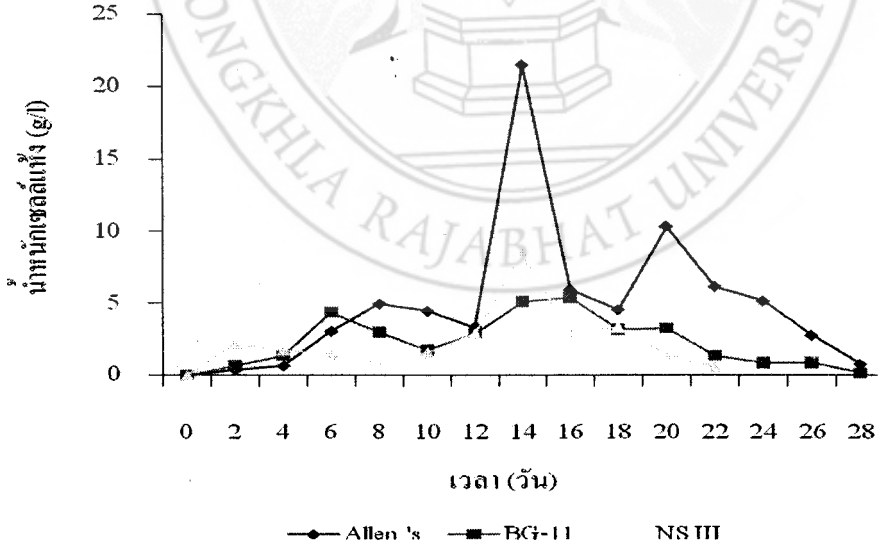
จากการนำสาหร่ายขนาดเล็กได้แก่ สาหร่าย *Aphanothece saxicola, Chlorella* sp., *Haematococcus* sp. มาเพาะเลี้ยงในอาหาร Allen's , BG-11 และ NS III ปริมาตร 250 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ให้อากาศ และบ่มที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงฟลูออเรสเซน เก็บตัวอย่างทุก 2 วัน เป็นเวลาอย่างน้อย 16 วัน นำเซลล์ที่เก็บเกี่ยวมาวัดการเจริญเติบโตในรูปของน้ำหนักแห้ง พบว่าสาหร่าย *Aphanothece saxicola* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร Allen's มีน้ำหนักแห้งของเซลล์เท่ากับ 0.2, 0.3, 1.6, 1.3, 2.0, 4.9, 40.3 และ 7.2 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ในอาหาร BG-11 มีน้ำหนักแห้งของเซลล์เท่ากับ 0.1, 0.5, 0.5, 1.4, 2.1, 2.0, 3.7 และ 3.2 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และในอาหาร NS III มีน้ำหนักแห้งของเซลล์เท่ากับ 0.5, 0.1, 1.5, 1.3, 0.7, 2.3, 3.1 และ 3.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1) สาหร่าย *Chlorella* sp. เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร Allen's มีน้ำหนักแห้งของเซลล์เท่ากับ 0.4, 0.7, 3.1, 5.0, 4.5, 3.4, 21.5 และ 6.0 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ในอาหาร BG-11 มีน้ำหนักแห้งของเซลล์เท่ากับ 0.7, 1.4, 4.4, 3.0, 1.8, 2.9, 5.4 และ 5.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และในอาหาร NS III มีน้ำหนักแห้งของเซลล์เท่ากับ 2.2, 1.8, 1.5, 0.9, 1.6, 2.9, 8.6 และ 2.9 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2) ส่วนสาหร่าย *Haematococcus* sp. ในอาหาร Allen's มีน้ำหนักแห้งของเซลล์ 0.3, 0.4, 3.5, 4.9, 9.4, 20.9, 30.8 และ 24.3 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในอาหาร BG-11 มีน้ำหนักแห้งของเซลล์ 0.4, 0.2, 6.5, 0.6, 1.5, 5.6, 10.3 และ 4.8 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และในอาหาร NS III มีน้ำหนักแห้งของเซลล์ 0.4, 0.1, 0.7, 0.8, 1.0, 0.4, 8.5 และ 4.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3)

จากการวัดการเจริญเติบโตพบว่าสาหร่าย *Aphanothece saxicola* เจริญเติบโตได้สูงสุด ในสูตรอาหาร Allen's โดยมีน้ำหนักแห้ง 40.3 กรัมต่อลิตร รองลงมาได้แก่ อาหาร BG-11 และ NS III มีน้ำหนักแห้ง 3.7 กรัมต่อลิตรและ 3.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สาหร่าย *Chlorella sp* ในสูตรอาหาร Allen's มีน้ำหนักแห้ง 21.5 กรัมต่อลิตร รองลงมา ได้แก่อาหาร BG-11 และ NS III มีน้ำหนักแห้ง 5.4 กรัมต่อลิตร และ 8.6 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนสาหร่าย *Haematococcus* sp. ในสูตรอาหารทั้ง 3 ชนิด เจริญได้น้อยกว่า สาหร่าย *Aphanothece saxicola* แต่เจริญได้สูงกว่าสาหร่าย

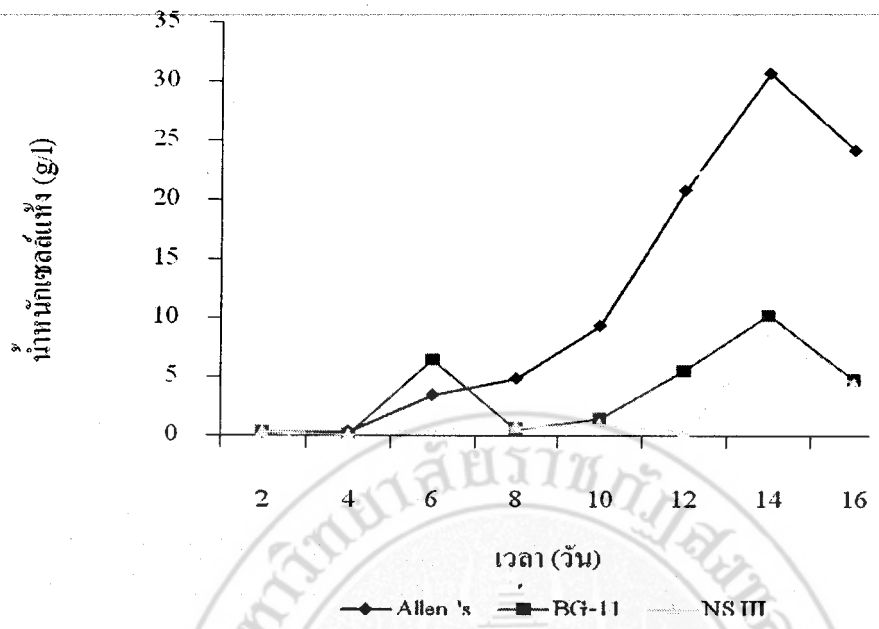
Chlorella โดยพบว่าในสูตรอาหาร Allen's เจริญได้ดีที่สุด มีน้ำหนักแห้งได้ 30.8 กรัมต่อลิตร รองลงมา ได้แก่อาหาร BG-11 , และ NS III มีน้ำหนักแห้ง 10.3 กรัมต่อลิตร 8.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงนำ *Aphanothece saxicola* ซึ่งเลี้ยงในสูตรอาหาร Allen's ไปศึกษาความเข้มข้นของสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตต่อไป



ภาพที่ 4.1 แสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Aphanothece saxicola* โดยการชั่งน้ำหนักแห้งในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด



ภาพที่ 4.2 แสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยการชั่งน้ำหนักแห้ง ในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด



ภาพที่ 4.3 แสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Haematococcus* sp. โดยการชั่งน้ำหนักแห้งในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด

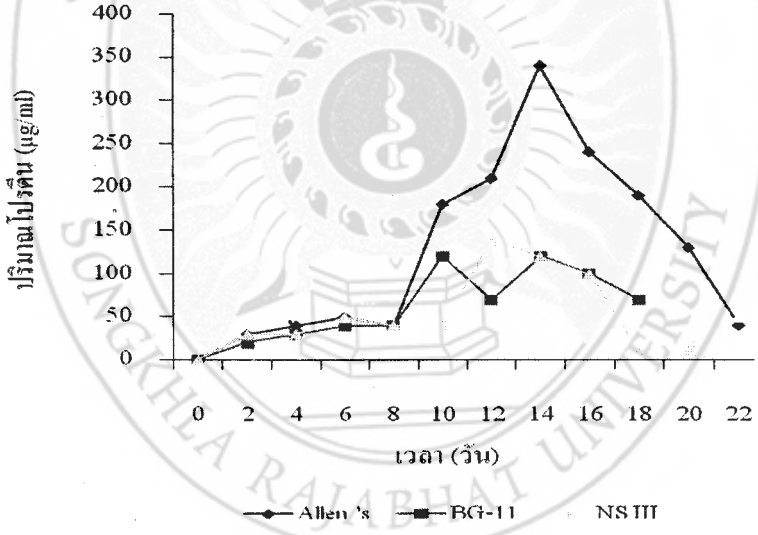
การเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ มีการเจริญสูงสุดที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน ผลการทดลองใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ศึกษาโดย Aparat และคณะ (1998) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Calothrix* sp. ในอาหาร BGA, BGA+N และ BG-11 ในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร บรรจุอาหาร 100 มิลลิลิตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าภายใต้แสงฟลูออเรสเซน พบว่าที่เวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน สาหร่ายเจริญสูงสุด วัดการเจริญได้ 0.11 กรัมต่อลิตรในอาหาร BGA และ 0.28 กรัมต่อลิตรในอาหาร BGA+N และจากการรายงานของ Fogg และThake (1987) พบว่าอัตราการเจริญของสาหร่ายที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 12-18 วัน จะอยู่ในระยะที่เซลล์มีการเจริญเป็น 2 เท่า (exponential phase) และระยะเวลา 18-27 วัน อยู่ในระยะการเจริญคงที่ (stationary phase) (http://www.marine.csiro.au/microalgae /methods/Growth%20rate.htm) การผลิตสารปฐมภูมิ (primary metabolites) เช่น โปรตีน กรดอะมิโน จะอยู่ในช่วง exponential phase (Demain, 1980)

1.2 ผลการศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ โดยวิธี Lowry *et al.* (1951)

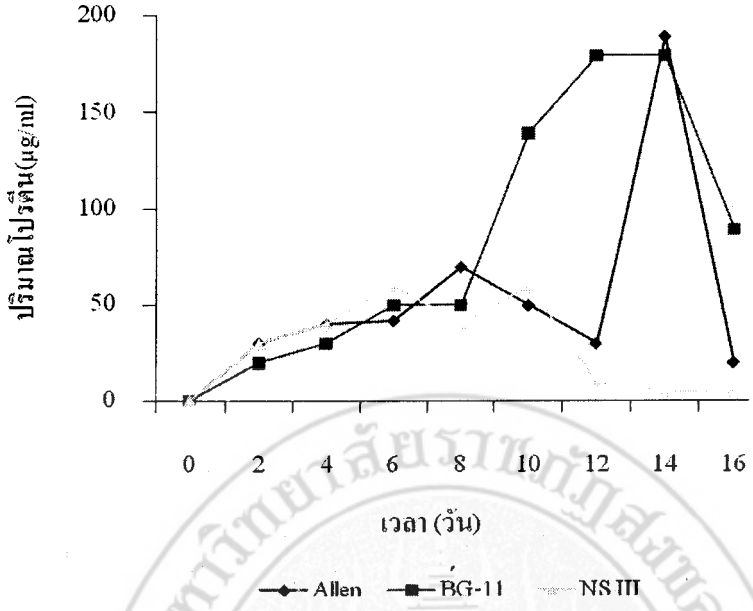
จากการนำสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิด คือ สาหร่าย *Aphanothece saxicola*, *Chlorella*, *Haematococcu* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 3 ชนิด คือ Allen's BG-11 และ NS III เป็นเวลาอย่างน้อย 16 วัน มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ Lowry *et al.* (1951) ผลการศึกษาพบว่าสาหร่าย *Aphanothece saxicola* สามารถผลิตโปรตีนได้ดีที่สุดในอาหาร Allen's เมื่อเปรียบเทียบ

ปริมาณโปรตีนกับกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ก) มีปริมาณโปรตีน 339.62 µg/ml รองลงมา ได้แก่ อาหาร BG-11 และ อาหาร NS III มีปริมาณโปรตีน 119.62 µg/ml และ 119.62 µg/ml ดังแสดงในภาพที่ 4.4 ส่วนสาหร่ายที่ผลิตโปรตีนรองลงมาคือ สาหร่าย *Haematococcus* sp. และ *Chlorella* sp. ในอาหาร Allen's สาหร่าย *Haematococcus* sp. ผลิตโปรตีนได้ดีที่สุด มีปริมาณโปรตีน 189.62 µg/ml รองลงมา ได้แก่อาหาร BG-11 และ NS III มีปริมาณโปรตีน 179.62 µg/ml และ 49.62 µg/ml ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.5 ส่วนสาหร่าย *Chlorella* sp. ผลิตโปรตีนได้ดีที่สุดในอาหาร Allen's มีปริมาณโปรตีน 69.62 µg/ml รองลงมาคือ BG-11 และ NS III มีปริมาณโปรตีน 49.62 µg/ml และ 39.62 µg/ml ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.6

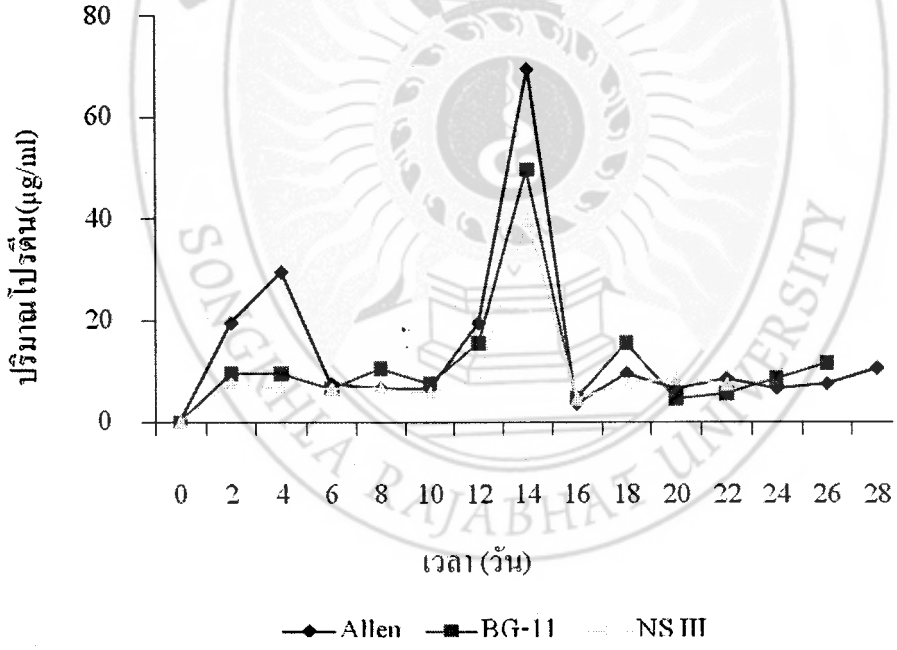
จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงมากกว่า 14 วัน ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนลดลง สอดคล้องกับการทดลองของ Piorreck และ Pohl (1984) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 4 ชนิด ได้แก่ *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, *Anacystis nidulans* และ *Microcystis aeruginosa* พบว่าปริมาณโปรตีนของสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด ค่อยๆ ลดลงเมื่อเวลาการเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4.4 แสดงปริมาณโปรตีนที่ผลิตโดย *Aphanothece saxicola* เจริญในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ Allen's BG-11 และ NS III



ภาพที่ 4.5 แสดงปริมาณโปรตีนที่ผลิตโดย *Haematococcus* sp. เจริญในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ Allen's , BG-11 และ NS II

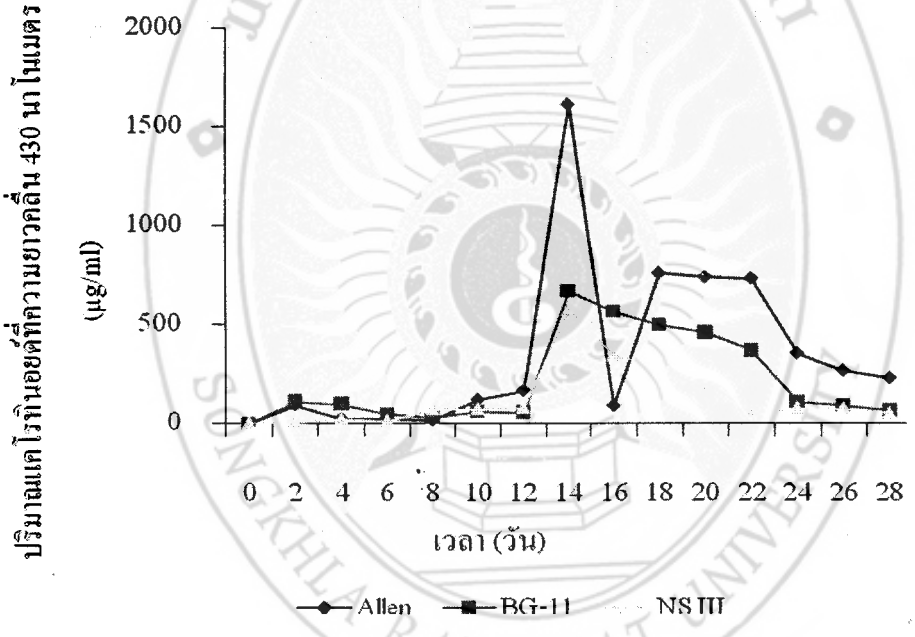


ภาพที่ 4.6 แสดงปริมาณโปรตีนที่ผลิตโดยสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ Allen's , BG-11 และ NS III

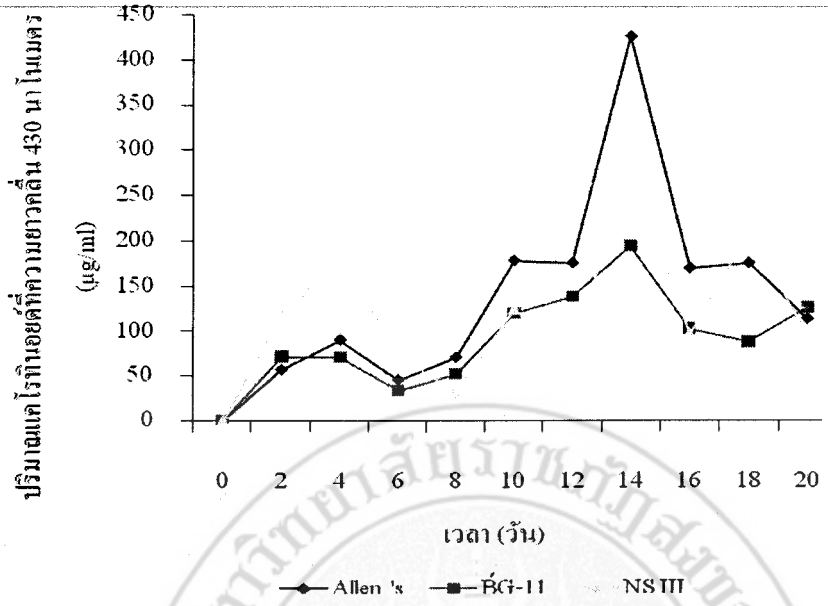
1.3 ผลการศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์

จากการนำสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิด คือ สาหร่าย *Aphanothece saxicola*, *Chlorella* sp. และ *Haematococcus* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 3 ชนิด คือ Allen BG-11 และ NS III มา

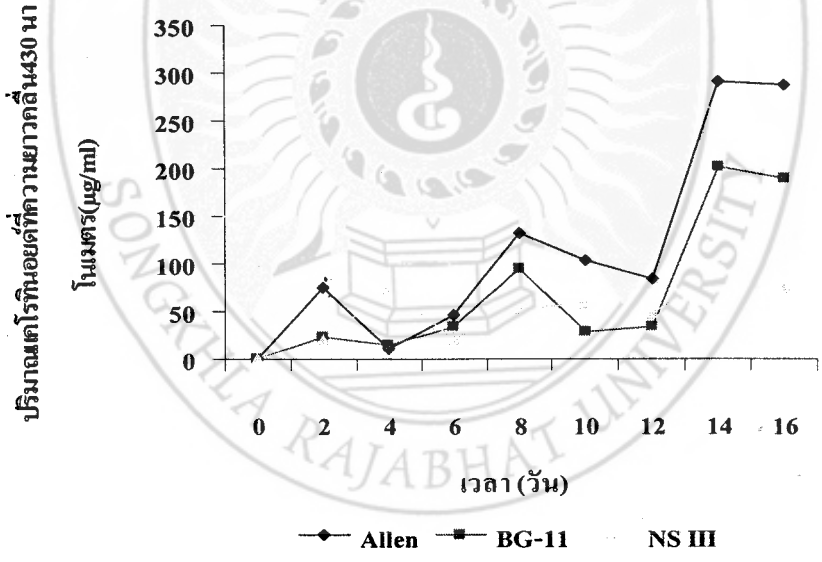
วิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 430 450 และ 480 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์ในสูตร (1) ผลการศึกษาพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ในอาหาร Allen's ผลิตแคโรทีนอยด์ได้เท่ากับ 1613.68 µg/ml รองลงมา ได้แก่อาหาร BG-11 และ NS III ผลิตแคโรทีนอยด์ 667.82 µg/ml และ 580 µg/ml ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.7 ส่วนสาหร่ายที่ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีรองลงมาคือ สาหร่าย *Aphanothece saxicola* ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ในอาหาร Allen's ผลิตแคโรทีนอยด์ 425.5 µg/ml รองลงมา ได้แก่อาหาร BG-11 และ NS III ผลิตแคโรทีนอยด์ 194.97 µg/ml และ 283.56 µg/ml ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.8 และสาหร่าย *Haematococcus* sp. ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ในอาหาร Allen's ผลิตแคโรทีนอยด์ 290.92 µg/ml รองลงมาคืออาหาร BG-11 และ NS III ผลิตปริมาณแคโรทีนอยด์ 202 µg/ml และ 89 µg/ml ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.9



ภาพที่ 4.7 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ผลิตโดยสาหร่าย *Chlorella sp.* เจริญในสูตรอาหารแตกต่างกัน 3 ชนิด คือ Allen's , BG-11 และ NS III วัดปริมาณแคโรทีนอยด์ ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร



ภาพที่ 4.8 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ผลิตโดยสาหร่าย *Aphanothece saxicola* เจริญในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ Allen's , BG-11และ NS III วัดปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร



ภาพที่ 4.9 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ผลิตโดยสาหร่าย *Haematococcus* sp. เจริญในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ Allen's , BG-11 และ NS III วัดปริมาณแคโรทีนอยด์ ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร

ปริมาณแคโรทีนอยด์ผลิตโดยสาหร่าย *Chlorella* sp. มีปริมาณสูงสุด 1613.68 µg/ml รองลงมาได้แก่ *Aphanothece saxicola* มีปริมาณ 425.5 µg/ml ที่เวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน แคโรทีนอยด์ที่ผลิตจาก *Chlorella* sp. และ *Aphanothece saxicola* มีปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่าย *Chlorella* และสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์อื่น จากการรายงานของ Tripathi และคณะ (2001) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* A392 , *Scenedesmus obliquus*, *Spirulina platensis*, *Nostoc* และ *Stigonema* ในฟลาสก์ที่มีการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2.0 % (v/v) ผลิตแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 6.0 5.0 0.45 2.0 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และในสภาวะที่ไม่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 1.83 2.15 0.18 0.6 0.23 มิลลิกรัมต่อลิตร Sansawa และ Endo (2004) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella regularis* S-50 ในอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุด 710 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ในขณะที่สาหร่าย *Chlorella zofingiensis* เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสและไนเตรท ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์ 12.5 mg/l แสดงให้เห็นว่าปริมาณแคโรทีนอยด์จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงและชนิดของสายพันธุ์ ปรียาภรณ์ (2538) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* sp. เพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยวิธีการเลี้ยงแบบต่างๆ พบว่าการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเหลวในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 2 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์ รองลงมาได้แก่การเลี้ยงในอาหารเหลวในหลอดทดลอง เลี้ยงในทรายบริสุทธิ์ เลี้ยงในจานเลี้ยงเชื้อ และเลี้ยงในอาหารวุ้นเอียง ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ เท่ากับ 1.486 1.31 0.856 และ 0.79 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์ ตามลำดับ

2. ผลการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์ โดยการออกแบบสูตรอาหารด้วยวิธี Two-level factorial design

2.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยง *Aphanothece saxicola* ต่อการผลิตโปรตีนในสูตรอาหารที่ออกแบบการทดลองด้วยวิธี Two-level factorial design

ผลการศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีน พบว่าสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ผลิตโปรตีนดีที่สุด ในสูตรอาหาร Allen's จึงนำสูตรดังกล่าวมาออกแบบความเข้มข้นของสูตรอาหารด้วยวิธี Two-level factorial design ได้สูตรอาหารทั้ง 32 สูตร จึงนำเชื้อสาหร่ายดังกล่าว มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารทั้ง 32 สูตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุใน Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร ให้อากาศ บ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซน เป็นเวลา 14 วัน พบว่าการผลิตโปรตีนโดยสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ในสูตรอาหารทั้ง 32 สูตร อยู่ในช่วง 49.62 ถึง 799.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และพบว่าสูตรอาหารที่ผลิตโปรตีนสูงสุดคือสูตรที่ 27 ประกอบด้วย $NaNO_3$ 0.05 กรัมต่อลิตร, K_2HPO_4 0.002 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.0095 กรัมต่อลิตร $CaCl_2$ 0.003 กรัมต่อลิตร และ trace element 0.15 กรัมต่อลิตร มีปริมาณโปรตีน799.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทำนายด้วยโปรแกรม

Design Expert DX7 มีค่า 259.653 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนในขณะที่สูตรอาหารที่ผลิตโปรตีนต่ำสุด คือ สูตรที่ 31 ประกอบด้วย $NaNO_3$ 0.05 กรัมต่อลิตร, K_2HPO_4 0.006 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4 \cdot 7H_20$ 0.0095 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4 \cdot 7H_20$ 0.003 กรัมต่อลิตร, trace element 0.05 กรัมต่อลิตร มีปริมาณโปรตีน 49.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.1)

ผลการทดลองพบว่าสูตรอาหารที่ต่างกัน ส่งผลให้สาหร่ายผลิตโปรตีนต่างกัน สอดคล้องกับการทดลองของ Abu และคณะ (2007) ได้เพาะเลี้ยง *Spirulina* ในสูตรอาหารความเข้มข้นต่างกัน พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมจะส่งผลให้สาหร่ายผลิตโปรตีนมากกว่าสูตรดั้งเดิม 10% Fabregas และคณะ (1986) พบว่าสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของสารอาหารต่างกันมีอิทธิผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนและหากมีการเติมแหล่งไนโตรเจนในสูตรอาหาร ทำให้ผลิตโปรตีนได้เพิ่มขึ้น นอกจากสารอาหารแล้วปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิ แสง และพีเอชมีผลต่อการผลิตโปรตีนและการเจริญของสาหร่าย (Rafiqul และคณะ, 2005; Cho และคณะ, 2007)

ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นของสูตรอาหารเลี้ยงสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ต่อการผลิตโปรตีน

สูตรอาหาร	ตัวแปร					Protein (µg/ml)	Predicted value (µg/ml)	Residual
	A[a]	B[a]	C[a]	D[a]	E[a]			
1	-1	-1	-1	-1	-1	499.62	248.101	251.519
2	-1	-1	-1	-1	1	99.62	252.561	-152.941
3	1	-1	-1	1	1	99.62	202.74	-103.12
□	-1	-1	1	-1	-1	199.62	248.487	48.867
5	1	1	1	1	1	199.62	196.93	2.69
6	1	1	-1	1	1	389.62	241.748	147.872
7	1	1	-1	1	-1	79.62	198.567	-118.947
8	1	1	-1	-1	1	99.62	197.508	-97.888
9	-1	-1	-1	1	1	99.62	253.598	-153.978
10	1	-1	1	-1	-1	99.62	196.141	-96.521
11	1	1	1	-1	-1	89.62	194.325	104.701
12	-1	1	-1	-1	-1	99.62	245.367	-145.747
13	1	-1	-1	-1	1	399.62	200.667	198.953
14	1	-1	-1	-1	-1	199.62	199.224	0.396
15	-1	1	-1	1	1	199.62	255.429	-55.809
16	1	1	1	1	-1	199.62	196.338	3.282
17	-1	1	1	-1	1	199.62	255.826	-56.206
18	-1	1	1	-1	-1	199.62	245.65	-46.03
19	1	-1	1	1	1	599.62	245.052	354.568
20	-1	-1	1	1	-1	489.62	249.589	240.031
21	-1	1	-1	-1	1	399.62	254.397	145.223
22	1	1	1	-1	1	99.62	194.755	-95.135
23	1	1	-1	-1	-1	359.62	233.18	126.44
24	1	-1	-1	1	-1	499.62	201.158	298.462
25	1	-1	1	-1	1	199.62	197.961	1.659
26	-1	-1	-1	1	-1	429.62	249.154	180.466
27	-1	-1	1	1	1	799.62	259.653	539.967
28	-1	-1	1	-1	1	449.62	258.617	191.003
29	-1	1	1	1	1	199.62	256.91	-57.29
30	1	-1	1	1	-1	479.62	198.93	280.69
31	-1	1	1	1	-1	49.62	246.727	-197.107
32	-1	1	-1	1	-1	339.62	225.493	11.40
สูตรดั้งเดิม	0	0	0	0	0	339.62	229.62	100

หมายเหตุ : -1 แทน ความเข้มข้นของสารอาหารระดับต่ำสุด +1 แทน ความเข้มข้นของสารอาหารระดับต่ำสุด

0 แทน ความเข้มข้นของสารอาหารในสูตรดั้งเดิม [a] คือ Pseudo coded [b] คือ Real coded

2.2 ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ในสูตรอาหารที่ออกแบบ การทดลองด้วยวิธี Two-level factorial design

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด พบว่า *Chlorella* sp. ผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุด แต่ผลิตโปรตีนได้น้อยกว่า *Aphanothece saxicola* ดังนั้นจึงนำ *Aphanothece saxicola* มาเลี้ยงในสูตรอาหารทั้ง 32 สูตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุใน Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร ให้อากาศ บ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซน เป็นระยะเวลา 14 วัน ผลการศึกษาพบว่า *Aphathece saxicola* ผลิตแคโรทีนอยด์อยู่ในช่วง 14.31 ถึง 226.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าสูตรอาหารที่ผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด คือสูตรที่ 16 ประกอบด้วย $NaNO_3$ 0.25 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 0.006 กรัมต่อลิตร $MgSO_4 \cdot 7H20$ 0.0095 กรัมต่อลิตร $CaCl_2$ 0.003 กรัมต่อลิตร และ trace element 0.15 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 226.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ดังแสดงในตารางที่ 4.2

จากผลการทดลองปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ผลิตโดยสาหร่ายในแต่ละสูตรต่างกัน เนื่องจากความเข้มข้นของสารอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Tri-Panji และ Suharyato (2001) พบว่าสูตรอาหารที่มีอัตราส่วน C : N : P : Mg เท่ากับ 1 : 2 : 0.3 : 0 ทำให้ *Spirulina* ผลิตแคโรทีนอยด์ 0.181 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้การผลิตสารสียังขึ้นอยู่กับความเข้มแสงและการเจือจางอาหาร จะเป็นตัวกระตุ้นให้สาหร่ายผลิตสารสีได้เร็วขึ้น (กมลวรรณ, 2552) จากการรายงานของ Ip และ Chen (2005) ในสภาวะที่มีแสงและในสูตรอาหารมีแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ในอัตราส่วน C/N สูง ส่งเสริมการผลิตแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิ

ตารางที่ 4.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ $OD_{(430,450,480\ nm)}$ ผลิตโดย *Aphanothece saxicola* ในสูตรอาหารต่างๆ

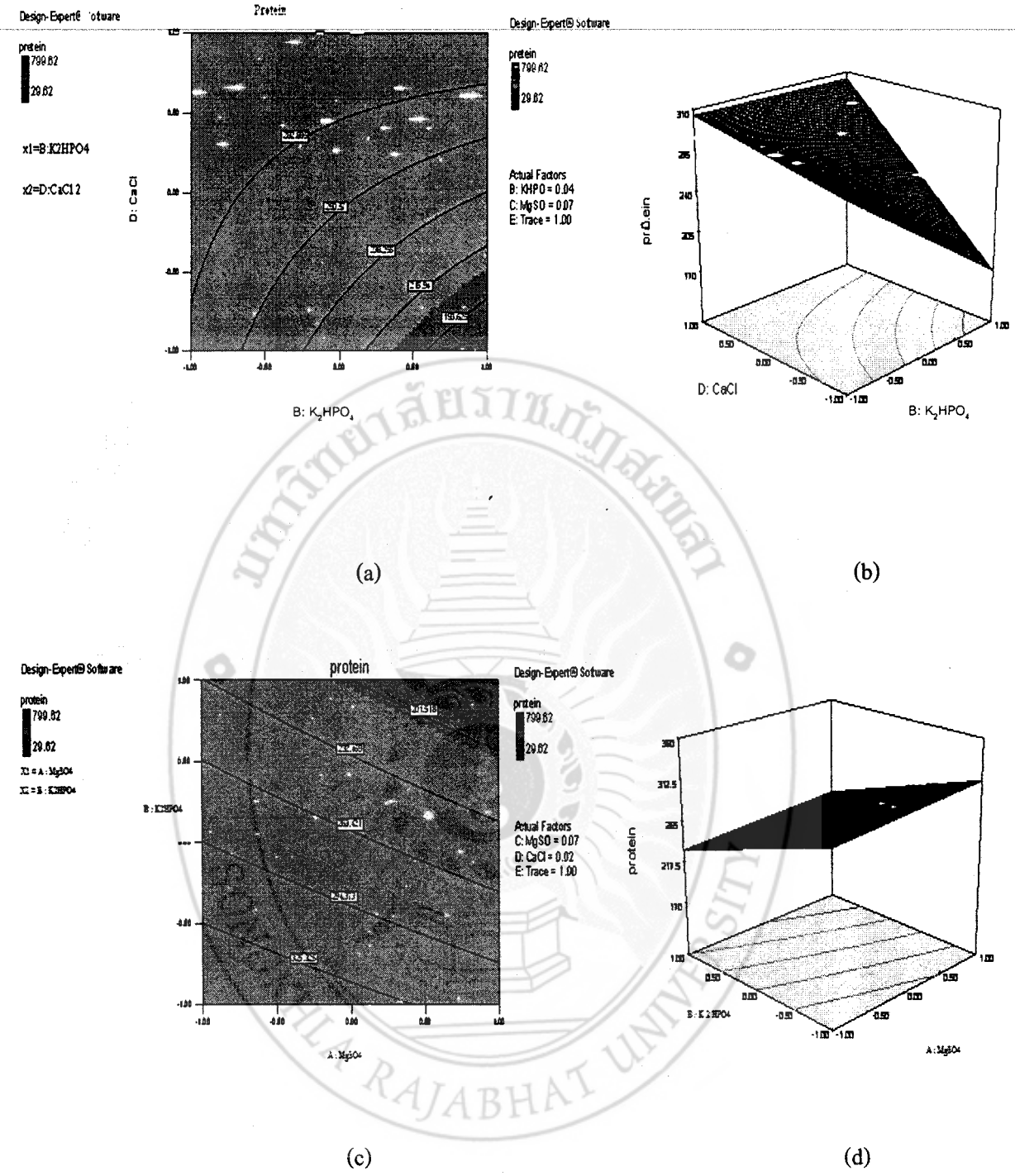
สูตรอาหาร	ตัวแปร					ปริมาณแคโรทีนอยด์		
	A*	B*	C*	D*	E*	OD_{430}	OD_{450}	OD_{480}
1	-1	-1	-1	-1	-1	158.74	19.84	41.05
2	-1	-1	-1	-1	1	74.65	26.54	59.31
3	1	-1	-1	1	1	195.06	89.78	121.97
4	-1	-1	1	-1	-1	197.84	87.9	117.43
5	1	1	1	1	1	206.89	92.01	127.1
6	1	1	-1	1	1	176.05	102.57	135.6
7	1	1	-1	1	-1	41.04	17.38	63.03
8	1	1	-1	-1	1	139.69	55.38	88.34
9	-1	-1	-1	1	1	124.35	63.18	102.45
10	1	-1	1	-1	-1	195.08	94.93	140.38
11	1	1	1	-1	-1	171.38	126.3	142.51
12	-1	1	-1	-1	-1	52.73	20.08	54.72
13	1	-1	-1	-1	1	113	61.75	85.78
14	1	-1	-1	-1	-1	118.97	59.67	74.65
15	-1	1	-1	1	1	48.69	18.93	36.74
16	**1**	**1**	**1**	**1**	**-1**	**226.18**	88.1	94.42
17	-1	1	1	-1	1	24.03	7.58	23.5
18	-1	1	1	-1	-1	69.55	28.91	49.3
19	1	-1	1	1	1	164.01	78.55	93.01
20	-1	-1	1	1	-1	103.91	52.67	83.17
21	-1	1	-1	-1	1	80.68	34.23	52.27
22	1	1	1	-1	1	35.76	10.94	38.69
23	1	1	-1	-1	-1	67.29	31.45	52.69
24	1	-1	-1	1	-1	60.46	22.1	36.03
25	1	-1	1	-1	1	221.39	55.35	69.93
26	-1	-1	-1	1	-1	172.48	85.23	157.8
27	-1	-1	1	1	1	31.16	11	27.15
28	-1	-1	1	-1	1	49.29	20.32	40.52
29	-1	1	1	1	1	16.56	0	35.22
30	1	-1	1	1	-1	14.31	2.23	21.81
31	-1	1	1	1	-1	113.97	52.15	59.05
32	-1	1	-1	1	-1	113.97	52.15	59.05
สูตรดั้งเดิม	0	0	0	0	0	186.62	110.55	124.85

หมายเหตุ : -1 แทน ความเข้มข้นของสารอาหารระดับต่ำสุด +1 แทน ความเข้มข้นของสารอาหารระดับต่ำสุด

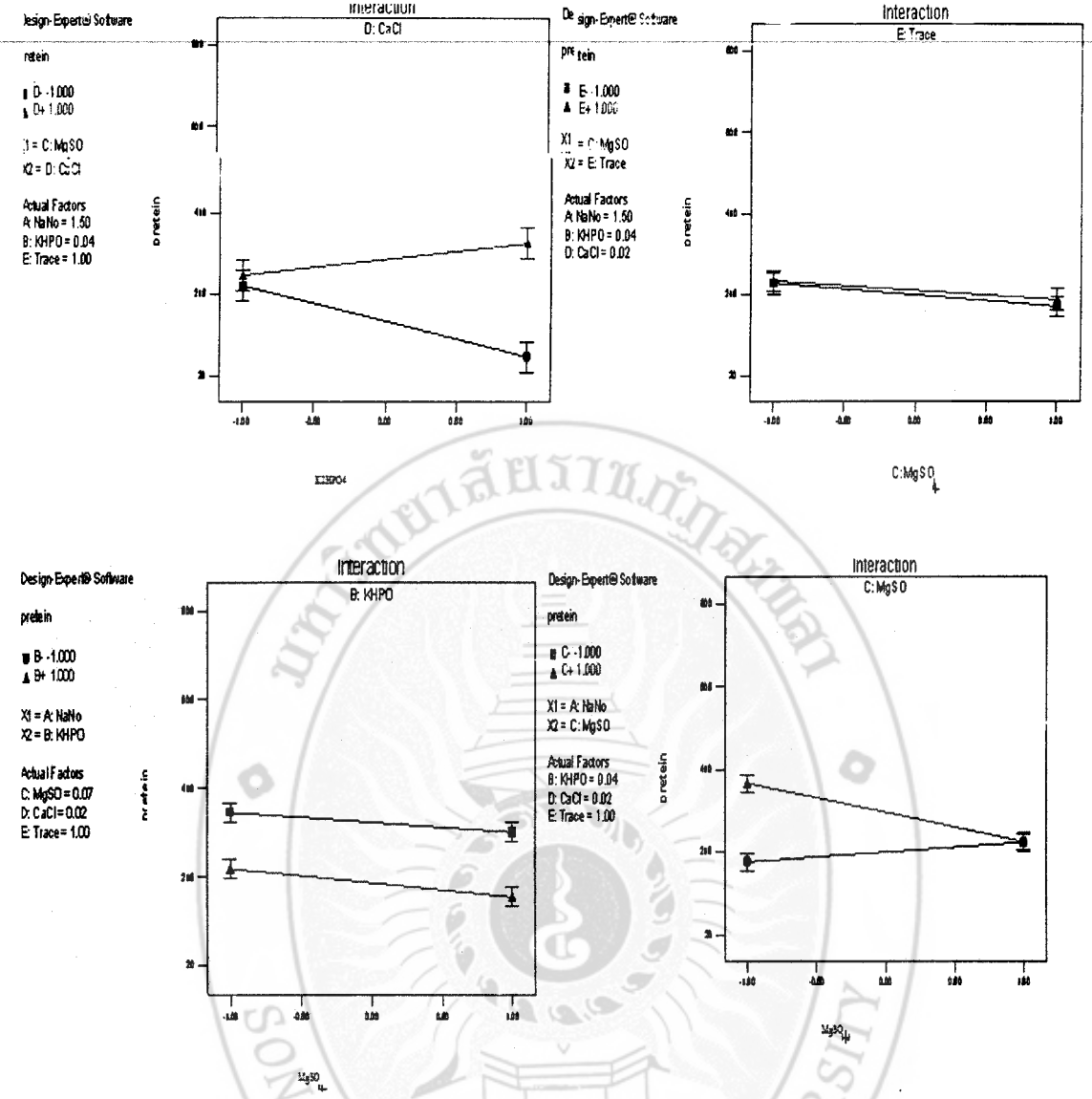
0 แทน ความเข้มข้นของสารอาหารในสูตรดั้งเดิม [a]คือ Pseudo coded [b]คือ Real coded

3. ผลการศึกษาการตอบสนองต่อพื้นผิว (Response Surface Methodology) เพื่อทำนายสูตรอาหารที่เหมาะสมและปัจจัยของสารอาหารที่เกี่ยวข้องต่อการผลิตโปรตีน

การศึกษาแบบจำลองการตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิว (RSM) เพื่อแสดงให้เห็นแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของผลตอบสนอง เมื่อระดับของปัจจัยเชิงปริมาณเปลี่ยนแปลง โดยใช้โปรแกรม Design Expert DX7 แสดงการตอบสนองแบบพื้นผิว จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่คำนวณได้จากโปรแกรม พบว่าความสัมพันธ์ระหว่าง K_2HPO_4 และ $MgSO_4$; K_2HPO_4 และ $CaCl_2$ มีความสำคัญมากที่สุด จึงนำสารอาหารดังกล่าว มาศึกษาการตอบสนองต่อพื้นผิว ลักษณะการตอบสนองแบบพื้นผิวแสดงในภาพที่ 4.10 (a, b, c และ d) พบว่าสูตรอาหารที่ ประกอบด้วย $NaNO_3$ 0.05 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 0.002 กรัมต่อลิตร $MgSO_4.7\ H_2O$ 0.0095 กรัมต่อลิตร $CaCl_2$ 0.003 กรัมต่อลิตรและ trace element 0.15 กรัมต่อลิตร สาหร่ายผลิตโปรตีนได้ประมาณ 399 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และผลการทำนายแสดงให้เห็นว่าอิทธิพลร่วมของปัจจัยในสูตรอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของ $CaCl_2$ สูงสุด และปริมาณความเข้มข้นของ K_2HPO_4 ต่ำสุด หรือ ระดับความเข้มข้นของ $MgSO_4.7\ H_2O$ และ K_2HPO_4 ต่ำสุด ส่งผลให้สาหร่ายขนาดเล็ก *Aphanothece saxicola* ผลิตโปรตีนได้สูงสุด แสดงในภาพที่ 4.11 (a, b, c และ d)



ภาพที่ 4.10 แบบจำลองกราฟการออกแบบการทดลอง factorial design ในการผลิตโปรตีน
(a,b) แสดงการตอบสนองแบบพื้นผิวระหว่าง $CaCl_2$ และ K_2HPO_4
(c,d) แสดงการตอบสนองแบบพื้นผิวระหว่าง K_2HPO_4 และ $MgSO_4$



ภาพที่ 4.11 แบบจำลองกราฟการออกแบบการทดลอง factorial design ในการผลิตโปรตีน ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างปัจจัย

(a) $CaCl_2$; (b) K_2HPO_4; (c) $MgSO_4$; (d) K_2HPO_4

4. ผลการศึกษาการเพิ่มปริมาณเซลล์สาหร่าย

จากการนำหัวเชื้อสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ปริมาตร 10 % มาเลี้ยงในขวดโหลปราศจากเชื้อ บรรจุอาหารสูตรที่ 27 ปริมาตร 10 ลิตร ให้อากาศ บ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซน ที่อุณหภูมิ 29±1 องศาเซลเซียส (ภาคผนวก ง ภาพที่ 4) เขย่าขวดโหล ทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน นำไปชั่งน้ำหนักแห้ง พบว่า สาหร่ายที่ได้มีน้ำหนักแห้ง 7.8 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลผลิตโปรตีน น้อยกว่าการเลี้ยงในฟลาสก์ ขนาด 500 มิลลิลิตร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เช่น ปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ แสงและการให้อากาศ

5. ผลการศึกษาองค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

จากการนำ *Aphanothece saxicola* ซึ่งเจริญดีในสูตรอาหารที่ 27 วิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ ผลการวิเคราะห์ พบว่าสาหร่ายมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด เฉลี่ย 0.926 % ปริมาณไขมัน 0.255 % ปริมาณเถ้า 6.83 %

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารเคมีภายในเซลล์ นอกจากอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์แล้วยังขึ้นกับปัจจัยอื่น จากการรายงานของ ฤทัยรัตน์ และคณะ (2548) การเพิ่มความเข้มแสงมีผลทำให้ปริมาณไขมันมีค่าลดลง ในขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มขึ้นองค์ประกอบทางเคมีภายในเซลล์สาหร่าย

ชุดที่ 2 ศึกษาการใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย

ศึกษาสาหร่าย *Aphanothece saxicola* เพื่อทดแทนปลาป่น ในอาหารเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย น้ำหนักเฉลี่ย 3.5 กรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ด้วยอาหารทดลองสูตรควบคุม และอาหารทดลองที่ทดแทนปลาป่นด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก ในอัตราส่วน 0 % 10 % 20 % และ 30 % ตามลำดับ ให้ผลการทดลอง ดังนี้

1. อิทธิพลของอาหารทดลองต่อการเจริญเติบโต

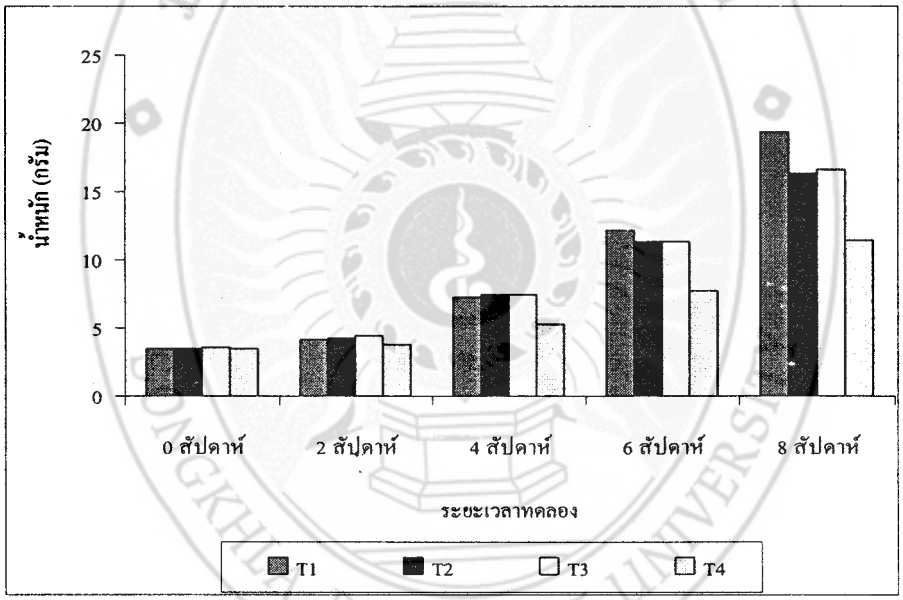
1.1 น้ำหนักเฉลี่ย

ปลาดุกบิ๊กอุยมีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลองในแต่ละทรีทเมนต์ อยู่ในช่วง 3.50±0.03 – 3.56±0.02 กรัมต่อตัว และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เมื่อทดลองเลี้ยงจนครบ 8 สัปดาห์ ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 3 และ 2 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 มีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์อื่น ๆ

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลาดุกบิ๊กอุย ที่ได้รับอาหารทดลองแตกต่างกัน

ระยะเวลาทดลอง	ทรีทเมนต์			
	ทรีทเมนต์ที่ 1	ทรีทเมนต์ที่ 2	ทรีทเมนต์ที่ 3	ทรีทเมนต์ที่ 4
เริ่มต้นการทดลอง	3.54^{a}±0.06	3.52^{a}±0.01	3.56^{a}±0.02	3.50^{a}±0.03
สัปดาห์ที่ 2	4.15^{a}±0.06	4.23^{a}±0.55	4.43^{a}±0.40	3.80^{a}±0.25
สัปดาห์ที่ 4	7.23^{b}±0.05	7.43^{b}±0.33	7.42^{b}±0.19	5.28^{a}±0.17
สัปดาห์ที่ 6	12.17^{b}±0.11	11.29^{b}±1.22	11.29^{b}±0.85	7.79^{a}±0.60
สัปดาห์ที่ 8	19.30^{b}±1.14	16.29^{b}±3.40	16.62^{b}±0.61	11.38^{a}±0.25

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 4.12 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัมต่อตัว) ของปลาดุกบิ๊กอุย ตลอดการทดลอง

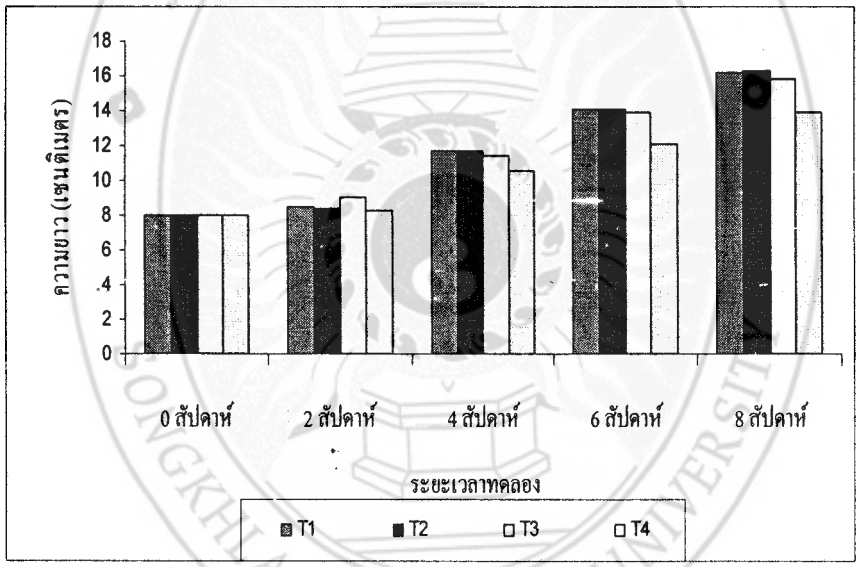
1.2 ความยาวเฉลี่ย

เมื่อทดลองเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย ครบ 8 สัปดาห์ ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีความยาวเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 3 และ 2 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 มีความยาวเฉลี่ยน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์อื่น ๆ

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบความยาวเฉลี่ย (ซม.) ของปลาดุกบิ๊กอุย ที่ได้รับอาหารทดลองแตกต่างกัน

ระยะเวลาทดลอง	ทรีทเมนต์			
	ทรีทเมนต์ที่ 1	ทรีทเมนต์ที่ 2	ทรีทเมนต์ที่ 3	ทรีทเมนต์ที่ 4
เริ่มต้นการทดลอง	7.96^{a}±0.00	7.96^{a}±0.00	7.96^{a}±0.00	7.96^{a}±0.00
สัปดาห์ที่ 2	8.49^{ab}±0.34	8.39^{ab}±0.23	9.04^{b}±0.59	8.29^{a}±0.08
สัปดาห์ที่ 4	11.69^{b}±0.25	11.72^{b}±0.36	11.44^{b}±0.62	10.54^{a}±0.27
สัปดาห์ที่ 6	14.12^{b}±0.29	14.05^{b}±0.85	13.88^{b}±0.54	12.10^{a}±0.16
สัปดาห์ที่ 8	16.63^{b}±0.67	16.28^{b}±1.04	15.77^{b}±0.62	13.92^{a}±0.44

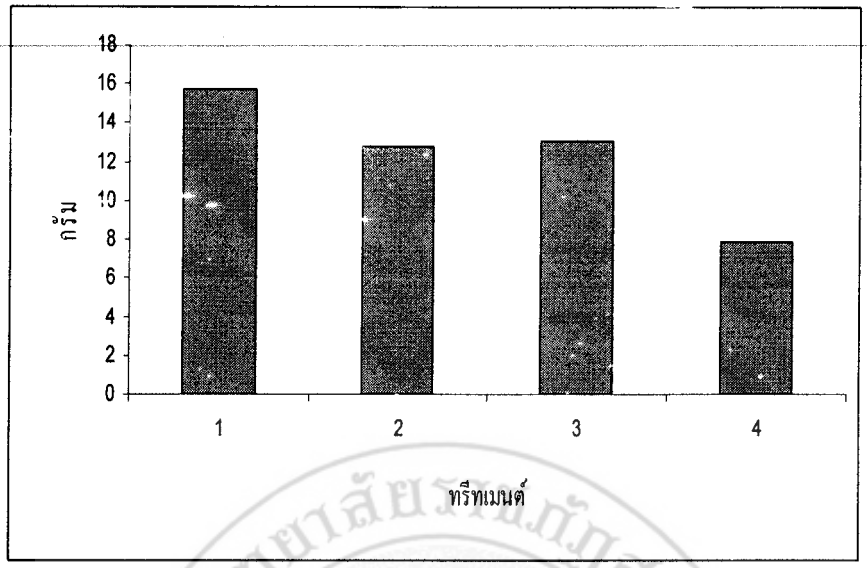
หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 4.13 ความยาวเฉลี่ย (เซนติเมตรต่อตัว) ของปลาดุกบิ๊กอุยตลอดการทดลอง

1.3 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain, WG)

ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม) มากที่สุด รองลงมาคือ ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 3 และ 2 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์อื่น ๆ



ภาพที่ 4.14 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

1.4 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (Daily weight gain, DWG)

ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (กรัม) สูงสุด รองลงมาคือ ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 3 และ 2 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์อื่น ๆ

1.5 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน (Specific growth rate, SGR)

ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันสูงสุด รองลงมาคือ ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 3 และ 2 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์อื่น ๆ

1.6 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด รองลงมาคือ ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

1.7 ประสิทธิภาพของอาหาร (Feed efficiency ratio, FE)

อาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 จัดเป็นอาหารที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาคืออาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 2 และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างทาง

สถิติ ($p>0.05$) สำหรับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 เป็นอาหารที่มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 2 และ 3 แต่แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1

1.8 ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Portein efficiency ratio, PER)

ค่าประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 ดีที่สุด รองลงมาคืออาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 2 และ 3 และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 มีค่าประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารทดลองทรีทเมนต์อื่น ๆ

1.9 อัตรารอด (Survival rate)

ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีอัตรารอดดีที่สุด รองลงมาคือ ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 2, 4 และ 3 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

1.10 ดรรชนีความอ้วนท้วน (Condition Factor, K)

ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1, 3 และ 4 มีค่าดรรชนีความอ้วนท้วนดีที่สุด ส่วนปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 2 มีค่าดรรชนีความอ้วนท้วนน้อยที่สุด และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (WG) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (DWG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน (SGR) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ประสิทธิภาพของอาหาร (FE) ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (PER) อัตรารอด (Survival rate) ดรรชนีความอ้วนท้วน (K) ของปลาดุกบิ๊กอุย ที่ได้รับอาหารทดลองแตกต่างกัน

อิทธิพลของอาหารทดลอง	ทรีทเมนต์			
	ทรีทเมนต์ที่ 1	ทรีทเมนต์ที่ 2	ทรีทเมนต์ที่ 3	ทรีทเมนต์ที่ 4
WG	$15.76^{b}\pm1.08$	$12.78^{b}\pm3.40$	$13.06^{b}\pm0.62$	$7.87^{a}\pm0.24$
DWG	$0.28^{b}\pm0.02$	$0.23^{b}\pm0.06$	$0.23^{b}\pm0.01$	$0.14^{a}\pm0.14$
SGR	$3.03^{b}\pm0.08$	$2.71^{b}\pm0.37$	$2.75^{b}\pm0.07$	$2.10^{a}\pm0.04$
FCR	$2.24^{a}\pm0.43$	$3.07^{a}\pm0.63$	$3.72^{a}\pm1.00$	$6.87^{a}\pm4.73$
FE	$0.46^{b}\pm0.08$	$0.33^{ab}\pm0.07$	$0.28^{a}\pm0.09$	$0.19^{a}\pm0.09$
PER	$0.018^{b}\pm0.003$	$0.016^{b}\pm0.003$	$0.016^{b}\pm0.004$	$0.008^{a}\pm0.003$
Survival rate	$89.33^{a}\pm7.02$	$86.00^{a}\pm5.29$	$72.67^{a}\pm15.01$	$78.00^{a}\pm22.54$
K	$0.42^{a}\pm0.03$	$0.38^{a}\pm0.06$	$0.42^{a}\pm0.04$	$0.42^{a}\pm0.03$

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

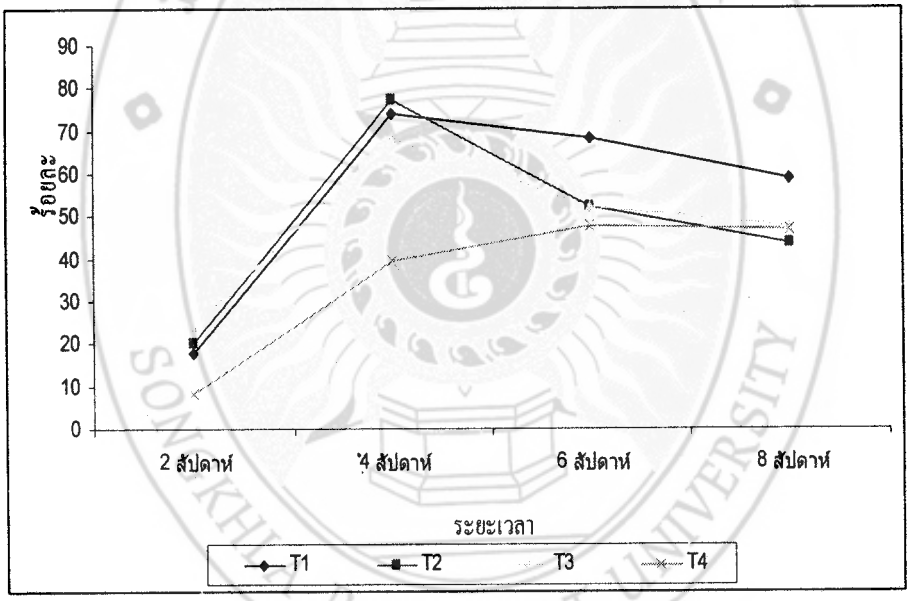
1.11 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Percentage weight gain, PWG)

เมื่อทดลองเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุยเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาคือปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 2, 1 และ 4 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เมื่อทดลองเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุยเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด รองลงมาคือ ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 และ 3 และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์อื่น ๆ แต่เมื่อทดลองเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุยเป็นระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ พบว่า ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ของปลาดุกบิ๊กอุย ที่ได้รับอาหารทดลองต่างกัน

ระยะเวลาทดลอง	ทรีทเมนต์			
	ทรีทเมนต์ที่ 1	ทรีทเมนต์ที่ 2	ทรีทเมนต์ที่ 3	ทรีทเมนต์ที่ 4
สัปดาห์ที่ 2	17.47^{a}±3.61	20.31^{a}±15.91	24.45^{a}±11.62	8.36^{a}±6.62
สัปดาห์ที่ 4	74.12^{b}±3.95	77.20^{b}±19.43	68.16^{b}±13.76	39.31^{a}±6.18
สัปดาห์ที่ 6	68.28^{a}±0.67	51.99^{a}±14.66	52.10^{a}±8.15	47.81^{a}±16.11
สัปดาห์ที่ 8	58.59^{a}±8.06	43.42^{a}±17.17	47.55^{a}±8.24	46.81^{a}±13.85

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 4.15 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ของปลาดุกบิ๊กอุย

1.12 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนัก (Length-weight relationship)

ปลาดุกบิ๊กอุยในแต่ละทรีทเมนต์ มีสมการความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนัก ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 สมการความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนักของปลาดุกบิ๊กอุย แต่ละทรีทเมนต์

ทรีทเมนต์	สมการ
ทรีทเมนต์ที่ 1	$W = 0.000000354813\ L^{2.5}$
ทรีทเมนต์ที่ 2	$W = 0.000000316228\ L^{2.3684}$
ทรีทเมนต์ที่ 3	$W = 0.00000177828\ L^{2.1304}$
ทรีทเมนต์ที่ 4	$W = 0.000001\ L^{2.2272}$

ปลาทุกทรีทเมนต์เมื่อได้รับอาหารทดลองที่ประกอบด้วยปลาป่น (ทรีทเมนต์ที่ 1, 2 และ 3) ส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่ไม่มีปลาป่น (ทรีทเมนต์ที่ 4) ทั้งนี้เนื่องจากปลาป่นจัดเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพ มีกรดอะมิโนที่สมดุลย์ โดยเฉพาะมีไลซีนและเมทไธโอนีนสูง ปริมาณแร่ธาตุโดยเฉพาะแคลเซียมและฟอสฟอรัส สูง ส่วนพวกวิตามินบี 12 มีอยู่สูงมาก นอกจากนี้แล้วปลาป่นยังมีไรโบฟลาวิน โคลีน และไนอาซีนสูงด้วย ปลาป่นในประเทศไทย มีโปรตีนประมาณ 50-60 % หากเสริมปลาป่นในสูตรอาหารจะทำให้สัตว์มีการเจริญเติบโตดีขึ้น เนื่องจากปลาป่นมีกรดอะมิโนไลซีนและเมทไธโอนีน สูง แต่ถ้าหากใช้มากเกินไป ทำให้เนื้อสัตว์มีกลิ่นคาว เนื่องจากปริมาณไขมันที่มีอยู่ในปลาป่น (พันทิพา, 2539) ซึ่งการทดแทนปลาป่นด้วยสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ในระดับ 10 % และ 20 % ปลาดุกบิ๊กอุย ก็ยังเจริญเติบโตได้ดีเช่นกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่า หากปลาป่นขาดแคลนหรือมีราคาแพง ก็ยังสามารถใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อเป็นอาหารเสริมบางส่วนได้ แต่การใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพียงอย่างเดียว โดยไม่ผสมปลาป่น ในสูตรอาหาร ทำให้การเจริญเติบโตของปลาดุกบิ๊กอุยลดลง เนื่องจากปลาดุกบิ๊กอุยเป็นปลากินเนื้อ จึงสามารถใช้ประโยชน์จากปลาป่นได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของสุมิตรา (2544) พบว่า สามารถใช้กากถั่วเหลืองในระดับ 10 % เพื่อทดแทนปลาป่นในการเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย และทนง (2544) พบว่า สามารถใช้ถั่วหรั่ง ซึ่งเป็นวัตถุดิบโปรตีนจากพืช ทดแทนปลาป่น ซึ่งเป็นโปรตีนจากสัตว์ ได้ถึงระดับ 15 % ซึ่งส่งผลให้ปลาดุกบิ๊กอุยมีการเจริญเติบโตที่ดีอีกด้วย นอกจากนี้ยังสามารถใช้ถั่วเหลืองต้ม เพื่อทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 % เพื่อเลี้ยงปลากดเหลือง โดยส่งผลดีต่อการผลิตและทางด้านเศรษฐศาสตร์ (ชุติมาและสุทธวัฒน์, 2551)

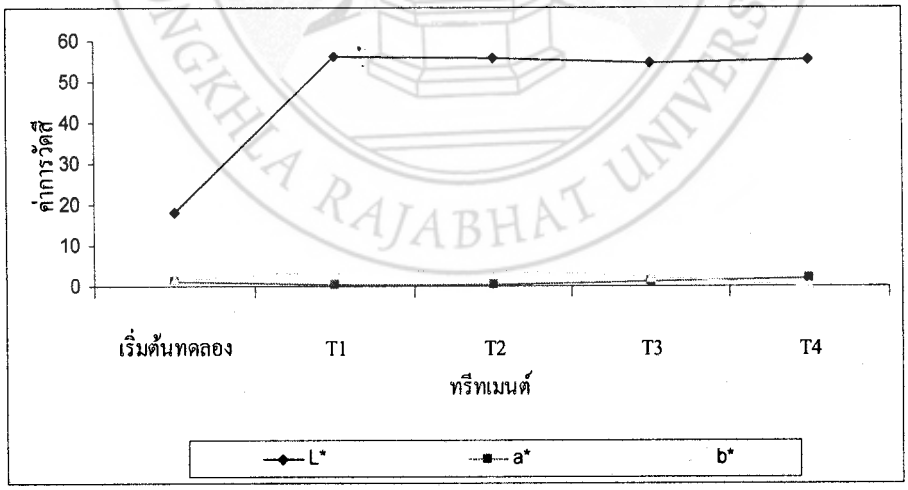
2. อิทธิพลของอาหารทดลองต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว

เมื่อทดลองเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุยด้วยอาหารทดลองสูตรควบคุม และอาหารทดลองที่ทดแทนปลาป่นด้วยสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ในอัตราส่วนแตกต่างกัน พบว่า ปลาดุกบิ๊กอุยมีการเปลี่ยนแปลงสีผิวที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.16)

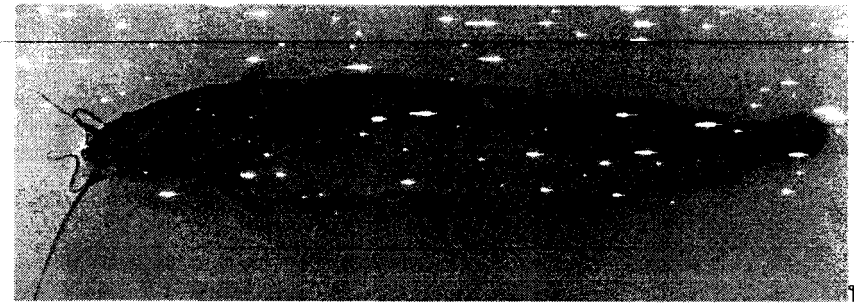
ตารางที่ 4.8 ค่าการวัดสีผิวของปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารทดลองแตกต่างกัน

ทรีทเมนต์	ค่าการวัดสี		
	L^*	a^*	b^*
เริ่มต้นการทดลอง	18.06^{a}±0.27	1.26^{a}±0.04	1.36^{a}±0.34
ทรีทเมนท์ที่ 1	56.20^{a}±1.42	0.28^{a}±0.89	3.96^{b}±1.90
ทรีทเมนท์ที่ 2	55.75^{a}±2.13	0.51^{a}±0.11	3.75^{b} ±1.04
ทรีทเมนท์ที่ 3	54.75^{a}±1.10	1.14^{ab}±0.60	2.29^{ab}±0.49
ทรีทเมนท์ที่ 4	55.52^{a}±193	1.90^{b}±0.77	0.19^{a}±0.21

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

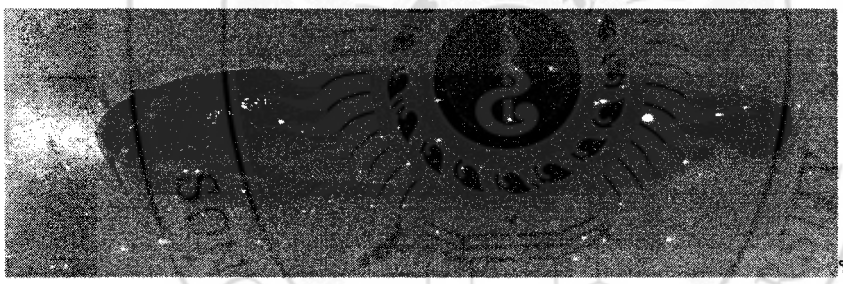


ภาพที่ 4.16 ค่าสีผิวของปลาดุกบิ๊กอุยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง


ทรีทเมนต์ที่ 1

ทรีทเมนต์ที่ 2

ทรีทเมนต์ที่ 3


ทรีทเมนต์ที่ 4

ภาพที่ 4.17 เปรียบเทียบสีผิวของปลาดุกบิ๊กอุย ภายหลังที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์แตกต่างกัน

ปลาดุกบิ๊กอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 3 และ 4 มีค่าความเข้มของสีแดงและสีเหลือง ดีที่สุด ทั้งนี้เป็นเพราะอาหารทดลองทรีทเมนต์ดังกล่าว มีส่วนผสมของสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ในระดับ 20 % และ 30 % ซึ่งเป็นระดับที่สูง และเนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ จากธรรมชาติ จึงทำให้ปลาดุกบิ๊กอุยที่กินอาหารทดลองทรีทเมนต์ดังกล่าว มีสีผิวสวยงามขึ้น นอกจากนี้ความเข้มของสีอาจเกิดมาจากสภาพของแสงสว่างที่ปลาได้รับด้วย ดังที่ Morenike et al. (2008) ทดลองเลี้ยงปลา *Clarias gariepinus* ขนาดปลานิ้ว ในสภาพที่มืดตลอดเวลา มีผลทำให้การเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหาร และอัตราการรอด เพิ่มขึ้น แต่การเลี้ยงปลาในสภาพนี้มีผลทำให้ปลามีผิวสีดำมากกว่าที่เลี้ยงในสภาพที่มีแสงสว่างตลอดเวลา