

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

ชุดที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสูตรอาหาร ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีนและ
แคโรทีนอยด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

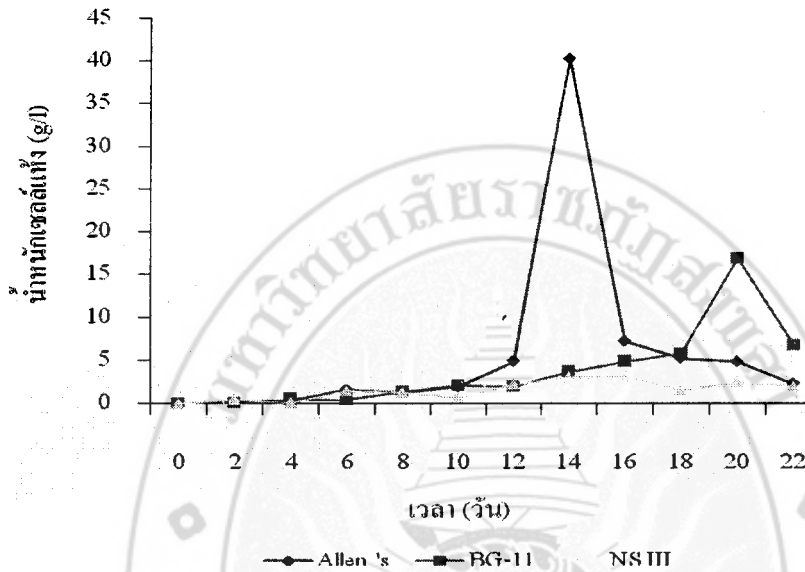
1. ผลการศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีนและ
แคโรทีนอยด์

1.1 การศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

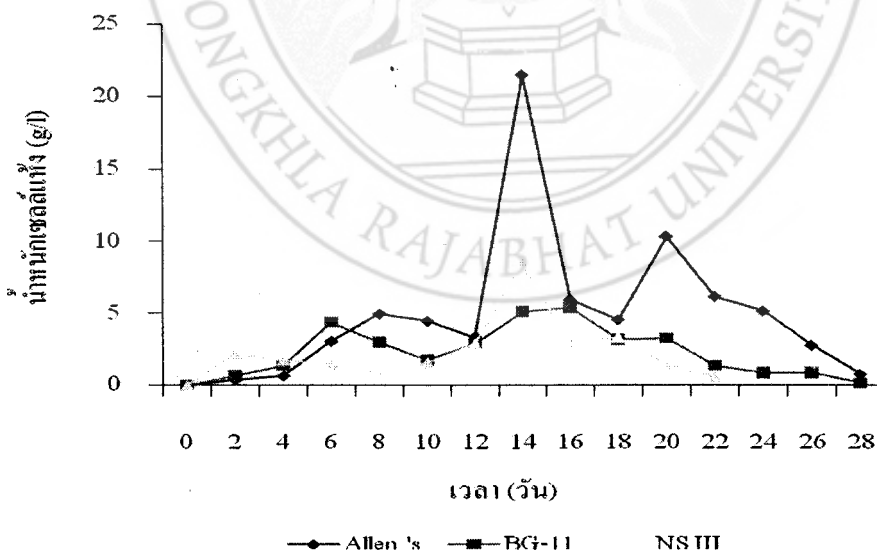
จากการนำสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ สาหร่าย *Aphanothece saxicola*, *Chlorella* sp., *Haematococcus* sp. มาเพาะเลี้ยงในอาหาร Allen's , BG-11 และ NS III ปริมาตร 250 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ให้อากาศ และบ่มที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ เก็บตัวอย่างทุก 2 วัน เป็นเวลาอย่างน้อย 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 กรัมต่อลิตรตามลำดับ 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 กรัมต่อลิตรตามลำดับ 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 กรัมต่อลิตรตามลำดับ (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 รองลงมาได้แก่อาหาร 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

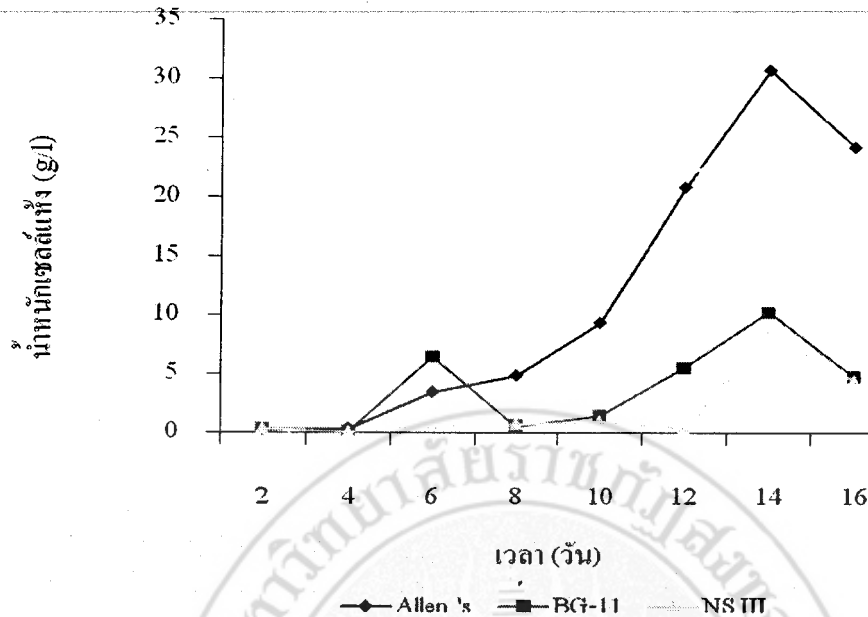
Chlorella โดยพบว่าในสูตรอาหาร Allen's เจริญได้ดีที่สุด มีน้ำหนักแห้งได้ 30.8 กรัมต่อลิตร รองลงมาได้แก่อาหาร BG-11 , และ NS III มีน้ำหนักแห้ง 10.3 กรัมต่อลิตร 8.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงนำ *Aphanothece saxicola* ซึ่งเลี้ยงในสูตรอาหาร Allen's ไปศึกษาความเข้มข้นของสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตต่อไป



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

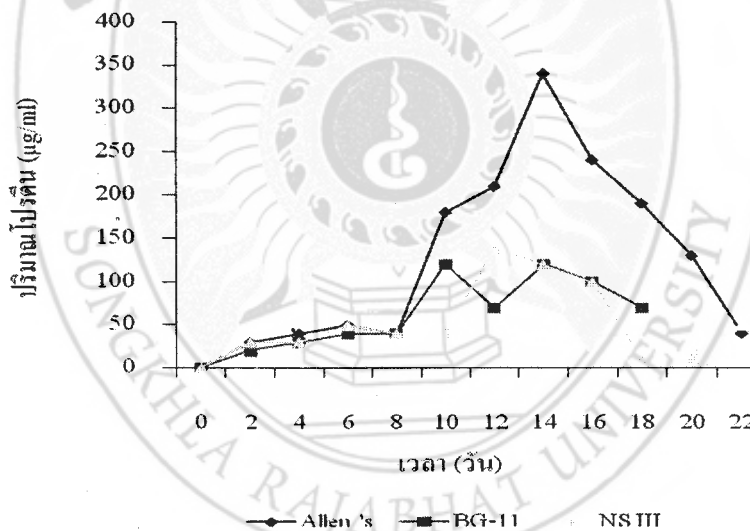
การเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ มีการเจริญสูงสุดที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน ผลการทดลองใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ศึกษาโดย Aparat และคณะ (1998) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหาร BGA, BGA+N และ BG-11 ในพลาสติก 250 มิลลิลิตร บรรจุอาหาร 100 มิลลิลิตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ พบว่าที่เวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน สาหร่ายเจริญสูงสุด วัดการเจริญได้ 0.11 กรัมต่อลิตรในอาหาร BGA และ 0.28 กรัมต่อลิตรในอาหาร BGA+N และจากการรายงานของ Fogg และ Thake (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 ผลการศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตปริมาณ โปรตีนที่ละลายได้ โดยวิธี Lowry *et al.* (1951)

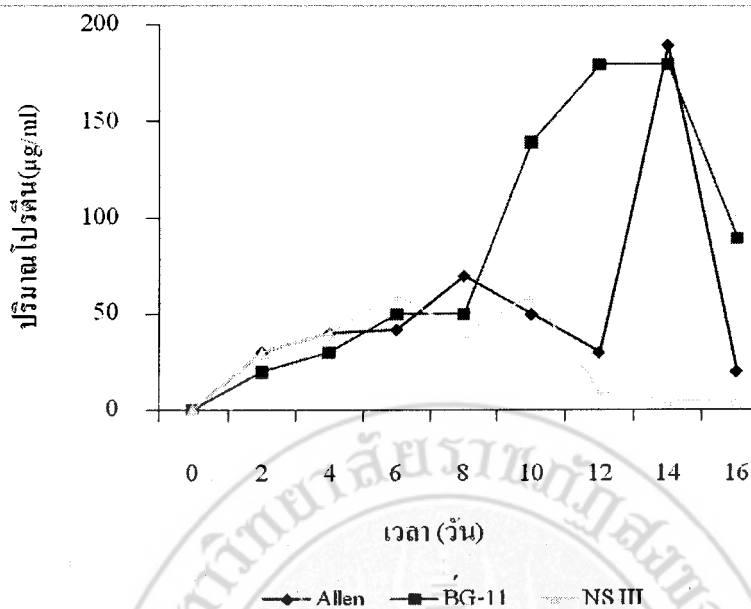
จากการนำสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิด คือ สาหร่าย *Aphanotece saxicola*, *Chlorella*, *Haematococcus* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 3 ชนิด คือ Allen's BG-11 และ NS III เป็นเวลาอย่างน้อย 16 วัน มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ Lowry *et al.* (1951) ผลการศึกษาพบว่าสาหร่าย *Aphanotece saxicola* สามารถผลิตโปรตีนได้ดีที่สุดในอาหาร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

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

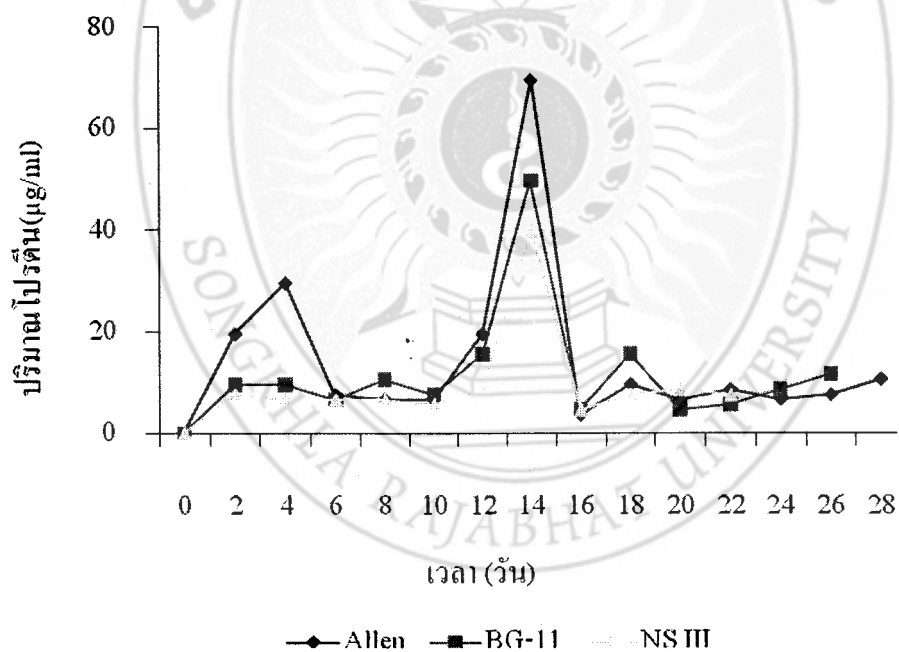
จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงมากกว่า 14 วัน ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนลดลง สอดคล้องกับการทดลองของ Piorreck และ Pohl (1984) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 4 ชนิด ได้แก่ *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, *Anacystis nidulans* และ *Microcystis aeruginosa* พบว่าปริมาณโปรตีนของสาหร่ายทั้ง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



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



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

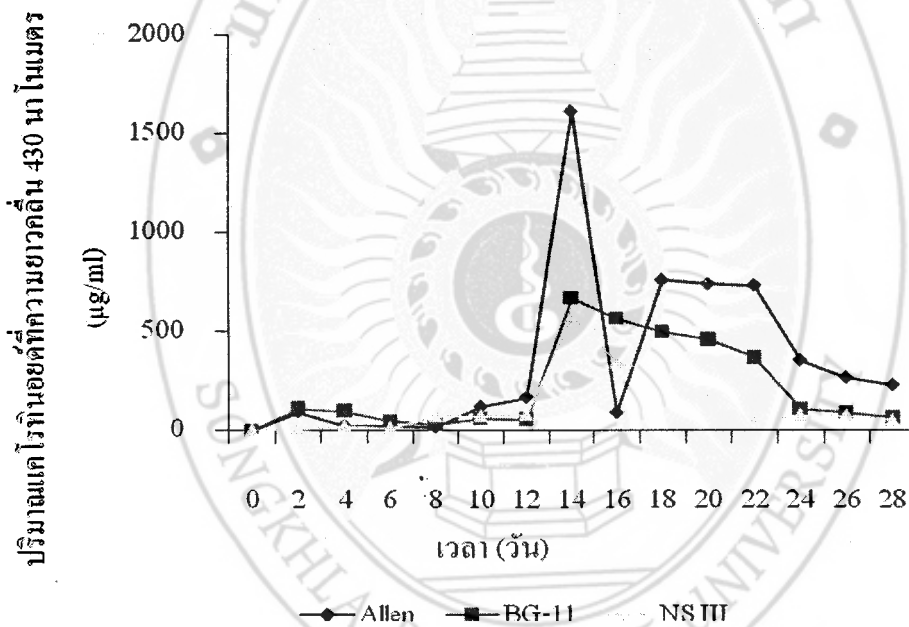


ภาพที่ 4.6 แสดงปริมาณ โปรตีนที่ผลิตโดยสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ Allen's , BG-11 และ NS III

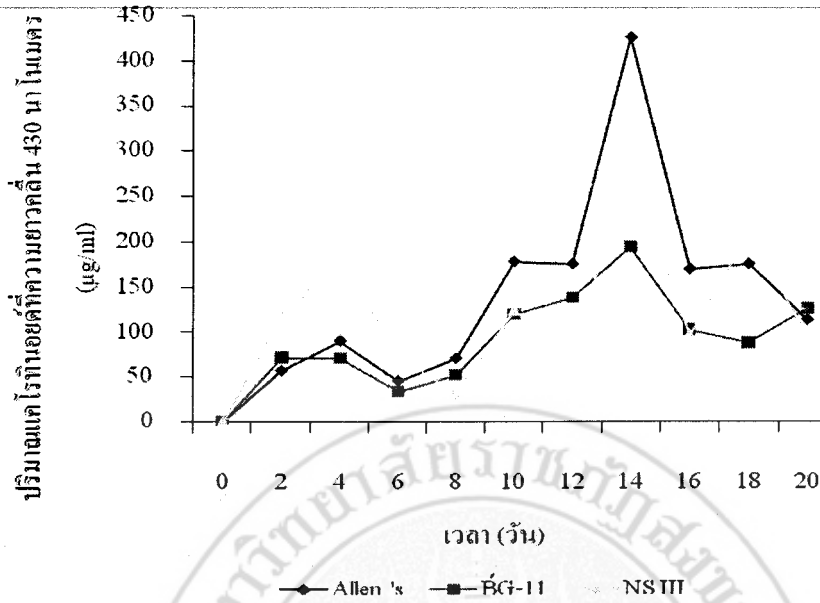
1.3 ผลการศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์

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

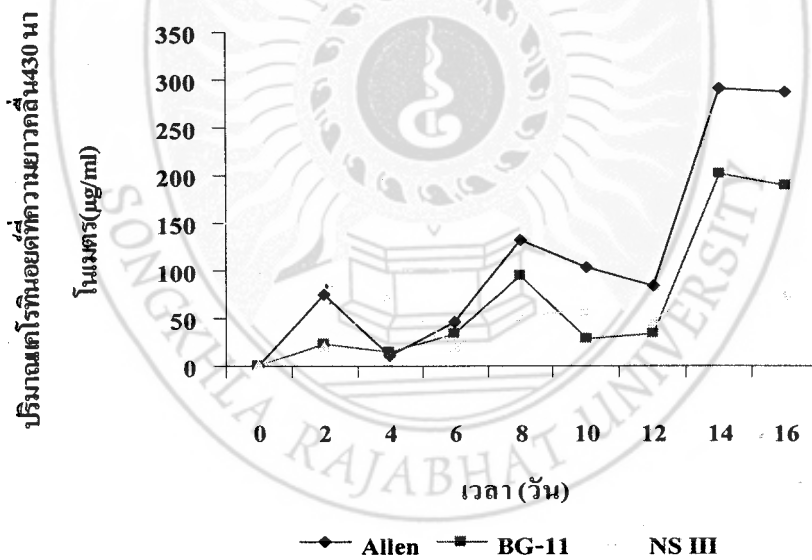
วิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 430 450 และ 480 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์ในสูตร (1) ผลการศึกษาพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ในอาหาร Allen's ผลิตแคโรทีนอยด์ได้เท่ากับ 1613.68 $\mu\text{g/ml}$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

ปริมาณแควโรทีนอยด์ผลิตโดยสาหร่าย *Chlorella* sp. มีปริมาณสูงสุด 1613.68 $\mu\text{g/ml}$ รองลงมาได้แก่ *Aphanothece saxicola* มีปริมาณ 425.5 $\mu\text{g/ml}$ ที่เวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน แควโรทีนอยด์ที่ผลิตจาก *Chlorella* sp. และ *Aphanothece saxicola* มีปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่าย *Chlorella* และสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์อื่น จากเวรยงานของ Tripathi และคณะ (2001) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* A392, *Scenedesmus obliquus*, *Spirulina platensis*, *Nostoc* และ *Stigonema* ในฟลาสก์ที่มีการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2.0 % (v/v) ผลิตแควโรทีนอยด์ทั้งหมด 6.0 5.0 0.45 2.0 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และในสภาวะที่ไม่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณแควโรทีนอยด์ทั้งหมด 1.83 2.15 0.18 0.6 0.23 มิลลิกรัมต่อลิตร Sansawa และ Endo (2004) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella regularis* S-50 ในอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส สาหร่ายผลิตแควโรทีนอยด์ได้สูงสุด 710 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักเซลล์แห้ง ในขณะที่สาหร่าย *Chlorella zofingiensis* เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสและไนเตรท ได้ปริมาณแควโรทีนอยด์ 12.5 mg/l แสดงให้เห็นว่าปริมาณแควโรทีนอยด์จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงและชนิดของสายพันธุ์ ปรียาภรณ์ (2538) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* sp. เพื่อผลิตแควโรทีนอยด์ด้วยวิธีการเลี้ยงแบบต่างๆ พบว่าการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเหลวในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ให้ปริมาณแควโรทีนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 2 มิลลิกรัมแควโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์ รองลงมาได้แก่การเลี้ยงในอาหารเหลวในหลอดทดลอง เลี้ยงในทรายบริสุทธิ เลี้ยงในจานเลี้ยงเชื้อ และเลี้ยงในอาหารวุ้นเลี้ยง ให้ปริมาณแควโรทีนอยด์ เท่ากับ 1.486 1.31 0.856 และ 0.79 มิลลิกรัมแควโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์ ตามลำดับ

2. ผลการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนและแควโรทีนอยด์ โดยการออกแบบสูตรอาหารด้วยวิธี Two-level factorial design

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

ผลการศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีน พบว่าสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ผลิตโปรตีนดีที่สุดในสูตรอาหาร Allen's จึงนำสูตรดังกล่าวมาออกแบบความเข้มข้นของสูตรอาหารด้วยวิธี Two-level factorial design ได้สูตรอาหารทั้ง 32 สูตร จึงนำเชื้อสาหร่ายดังกล่าว มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารทั้ง 32 สูตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุใน Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร ให้อากาศ บ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ 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, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0095 กรัมต่อลิตร CaCl_2 0.003 กรัมต่อลิตร และ trace element 0.15 กรัมต่อลิตร มีปริมาณโปรตีน 799.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทำนายด้วยโปรแกรม

Design Expert DX7 มีค่า 259.653 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนในขณะที่สุดอาหารที่ผลิตโปรตีนต่ำสุด คือ สูตรที่ 31 ประกอบด้วย NaNO_3 0.05 กรัมต่อลิตร, K_2HPO_4 0.006 กรัมต่อลิตร, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0095 กรัมต่อลิตร, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 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) พบว่าสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของสารอาหารต่างกัันมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์โปรตีนและหากมีการเติมแหล่งไนโตรเจนในสูตรอาหาร ทำให้ผลิตโปรตีนได้เพิ่มขึ้น นอกจากสารอาหารแล้วปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิ แสง และพีเอชมีผลต่อการผลิตโปรตีนและการเจริญของสาหร่าย (Rafiqul และคณะ, 2005; Cho และคณะ, 2007)



ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นของสารอาหารเลี้ยงสาหร่าย *Aphanothece suxicola* 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* ต่อการผลิตแคโรทีนอยด์

ในสูตรอาหารที่ออกแบบ การทดลองด้วยวิธี Two-level factorial design

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย ทั้ง 3 ชนิด พบว่า *Chlorella* sp. ผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุด แต่ผลิตโปรตีนได้น้อยกว่า *Aphanothece saxicola* ดังนั้นจึงนำ *Aphanothece saxicola* มาเลี้ยงในสูตรอาหารทั้ง 32 สูตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุใน Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร ให้อากาศ บ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ เป็นระยะเวลา 14 วัน ผลการศึกษาพบว่า *Aphanothece saxicola* ผลิตแคโรทีนอยด์อยู่ในช่วง 14.31 ถึง 226.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าสูตรอาหารที่ผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด คือสูตรที่ 16 ประกอบด้วย NaNO_3 0.25 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 0.006 กรัมต่อลิตร $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 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) ในสถานะที่มีแสงและในสูตรอาหารมีแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน 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

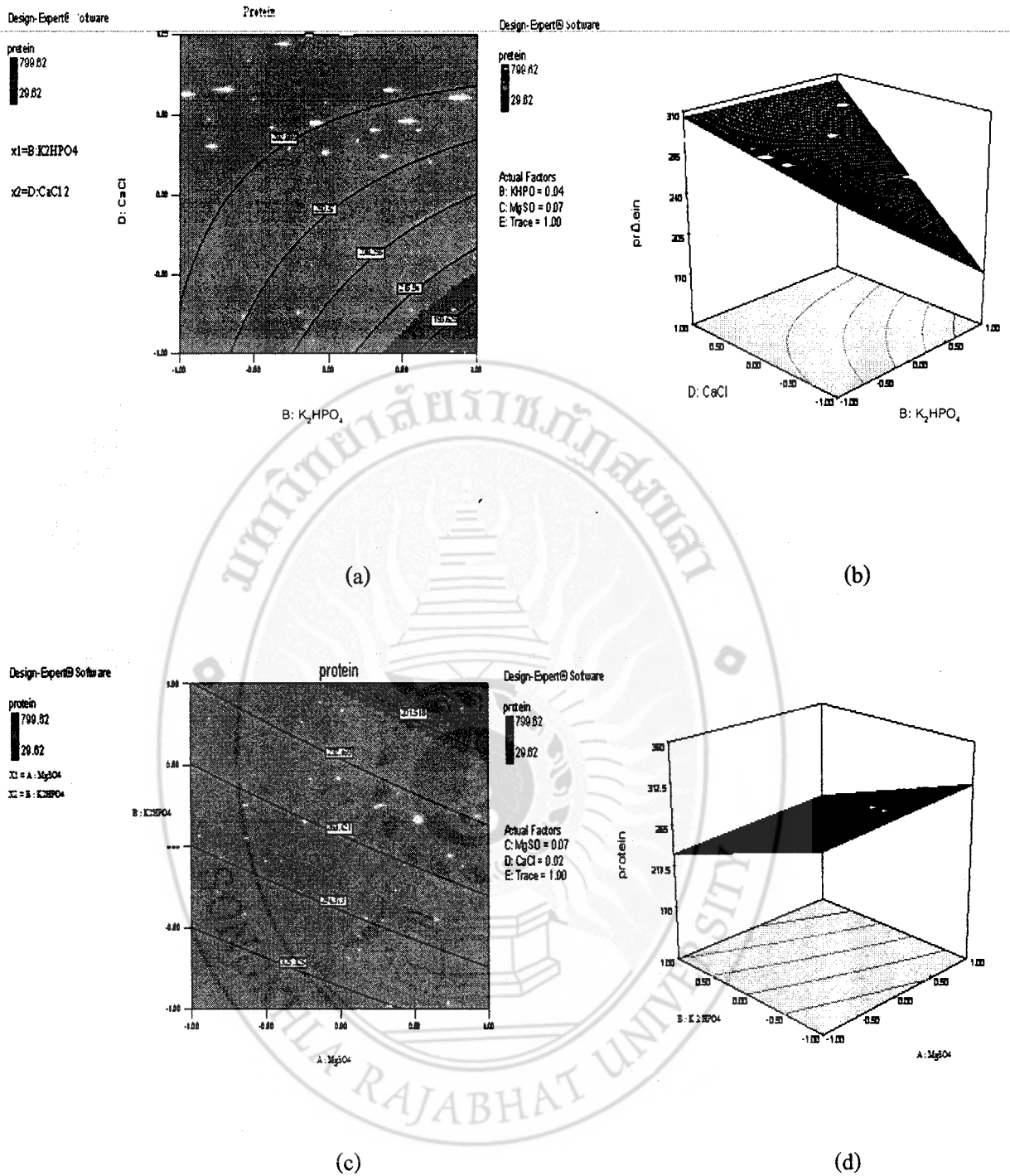
0 แทน ความเข้มข้นของสารอาหารในสูตรดั้งเดิม

^a คือ Pseudo coded

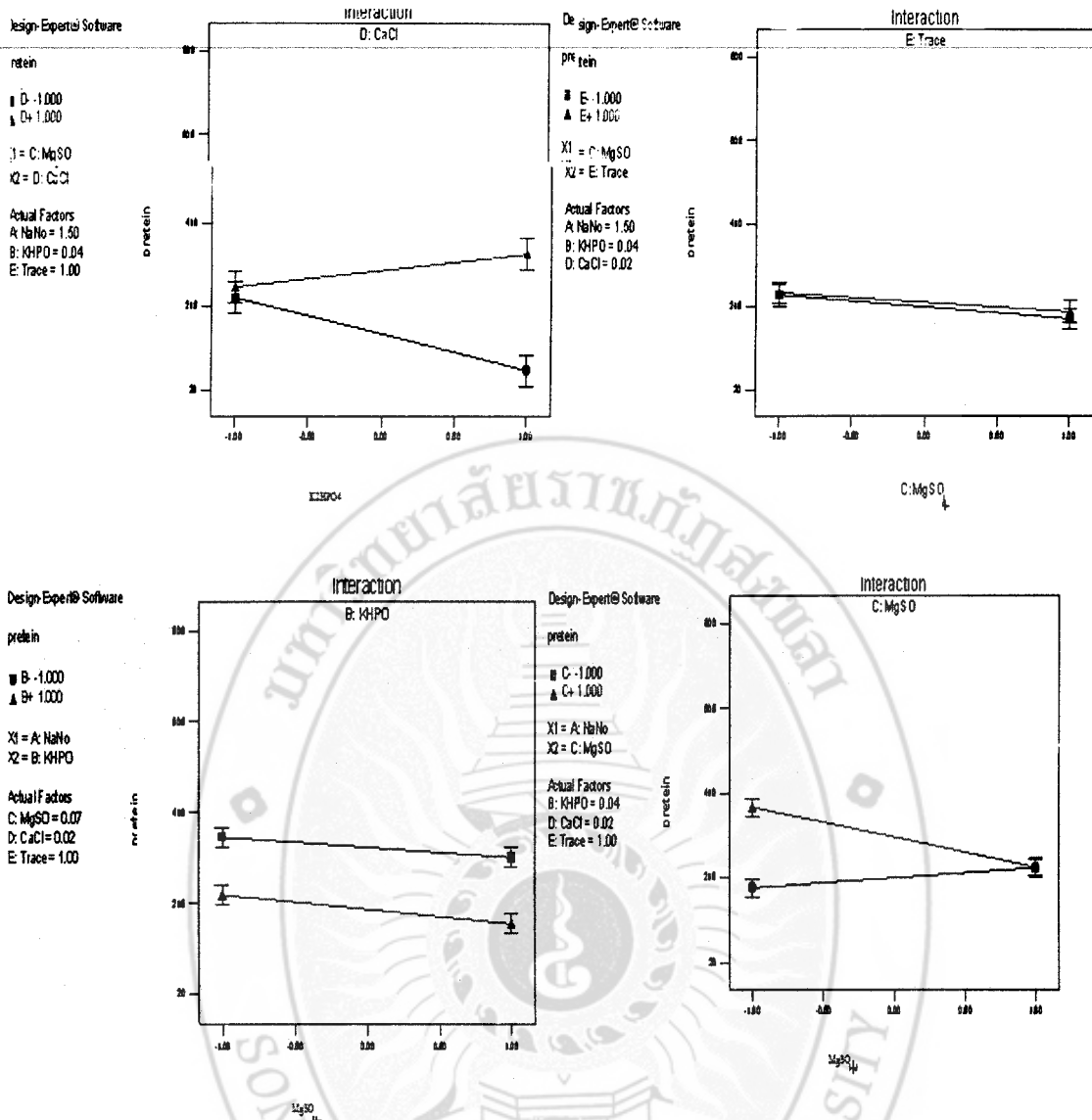
^b คือ Real coded

3. ผลการศึกษาการตอบสนองต่อพื้นผิว (Response Surface Methodology) เพื่อทำานเย สูตรอาหารที่เหมาะสมและปัจจัยของสารอาหารที่เกี่ยวข้องต่อการผลิตโปรตีน

การศึกษาแบบจำลองการตอบสนองแบบ โครงร่างพื้นผิว (RSM) เพื่อแสดงให้เห็น แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของผลตอบสนอง เมื่อระดับของปัจจัยเชิงปริมาณเปลี่ยนแปลง โดยใช้ โปรแกรม Design Expert DX7 แสดงการตอบสนองแบบพื้นผิว จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ คำนวณได้จากโปรแกรม พบว่าความสัมพันธ์ระหว่าง K_2HPO_4 และ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; K_2HPO_4 และ $CaCl_2$ มีความสำคัญมากที่สุด จึงนำสารอาหารดังกล่าว มาศึกษาการตอบสนองต่อพื้นผิว ลักษณะ การตอบสนองแบบพื้นผิวแสดงในภาพที่ 4.10 (a, b, c และ d) พบว่าสูตรอาหารที่ ประกอบด้วย $NaNO_3$ 0.05 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 0.002 กรัมต่อลิตร $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.0095 กรัมต่อลิตร $CaCl_2$ 0.003 กรัมต่อลิตรและ trace element 0.15 กรัมต่อลิตร สำหรับผลิตโปรตีนได้ประมาณ 399 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และผลการทำนายแสดงให้เห็นว่าอิทธิพลร่วมของปัจจัยในสูตร อาหารที่มีระดับความเข้มข้นของ $CaCl_2$ สูงสุด และปริมาณความเข้มข้นของ K_2HPO_4 ต่ำสุด หรือ ระดับความเข้มข้นของ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และ K_2HPO_4 ต่ำสุด ส่งผลให้สาหร่ายขนาดเล็ก *Aphanothece saxicola* ผลิตโปรตีน ได้สูงสุด แสดงในภาพที่ 4.11 (a, b, c และ d)



ภาพที่ 4.10 แบบจำลองกราฟการออกแบบการทดลอง factorial design ในการผลิตโปรตีน
 (a,b) แสดงการตอบสนองแบบพื้นผิวระหว่าง CaCl₂ และ K₂HPO₄
 (c,d) แสดงการตอบสนองแบบพื้นผิวระหว่าง K₂HPO₄ และ MgSO₄



ภาพที่ 4.11 แบบจำลองกราฟการออกแบบการทดลอง factorial design ในการผลิตโปรตีน ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างปัจจัย (a) CaCl₂; (b) K₂HPO₄; (c) MgSO₄; (d) K₂HPO₄

4. ผลการศึกษาการเพิ่มปริมาณเซลล์สาหร่าย

จากการนำหัวเชื้อสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ปริมาตร 10 % มาเลี้ยงในขวดโหลปราศจากเชื้อ บรรจุอาหารสูตรที่ 27 ปริมาตร 10 ลิตร ให้อากาศ บ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ ที่อุณหภูมิ 29±1 องศาเซลเซียส (ภาคผนวก ง ภาพที่ 4) เขย่าขวดโหล ทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน นำไปชั่งน้ำหนักแห้ง พบว่า สาหร่ายที่ได้มีน้ำหนักแห้ง 7.8 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลผลิตโปรตีน น้อยกว่าการเลี้ยงในพลาสติก ขนาด 500 มิลลิลิตร ทั้งนี้เนื่องจาก 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 ในขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มขึ้นขององค์ประกอบทางเคมีภายในเซลล์สาหร่าย

ชุดที่ 2 ศึกษาการใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลาตู้บักอูย

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

1. อิทธิพลของอาหารทดลองต่อการเจริญเติบโต

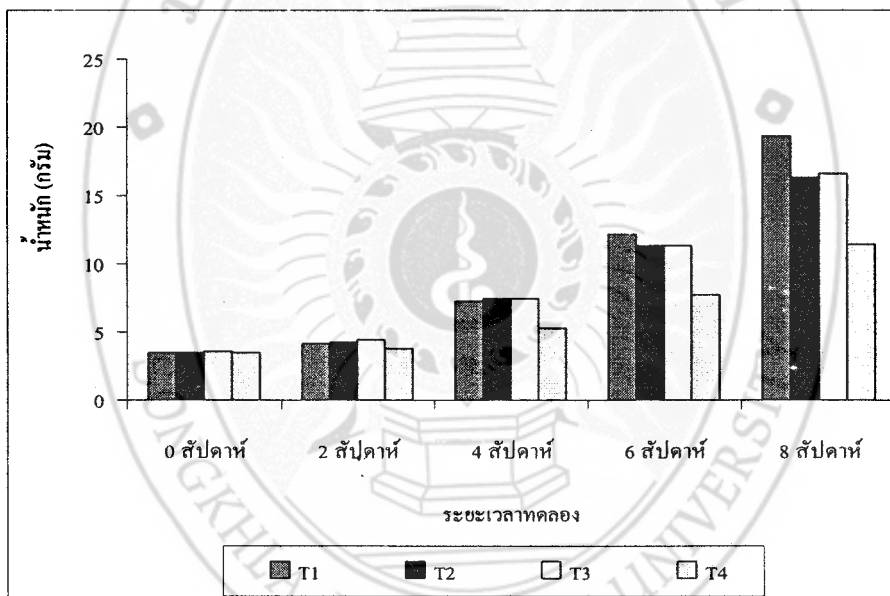
1.1 น้ำหนักเฉลี่ย

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

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลาดุกบิกอูย ที่ได้รับอาหารทดลองแตกต่างกัน

ระยะเวลาทดลอง	ทริทเมนต์			
	ทริทเมนต์ที่ 1	ทริทเมนต์ที่ 2	ทริทเมนต์ที่ 3	ทริทเมนต์ที่ 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 : อักษรที่แตกต่างตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4.12 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัมต่อตัว) ของปลาดุกบิกอูย ตลอดการทดลอง

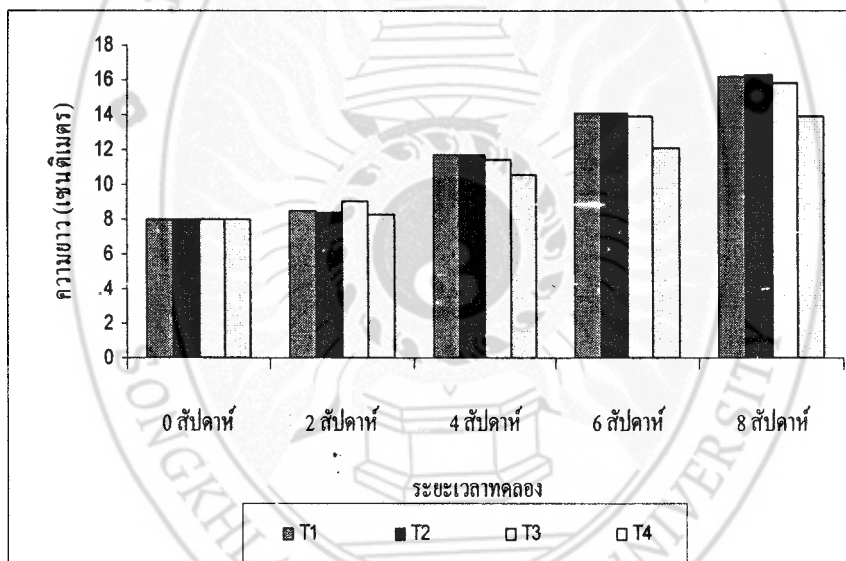
1.2 ความยาวเฉลี่ย

เมื่อทดลองเลี้ยงปลาดุกบิกอูย ครบ 8 สัปดาห์ ปลาดุกบิกอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 1 มีความยาวเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ ปลาดุกบิกอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 3 และ 2 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนปลาดุกบิกอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 4 มีความยาวเฉลี่ยน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบิกอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์อื่น ๆ

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบความยาวเฉลี่ย (ซม.) ของปลาดุกบ็อกอู๋ที่ได้รับอาหารทดลองแตกต่างกัน

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

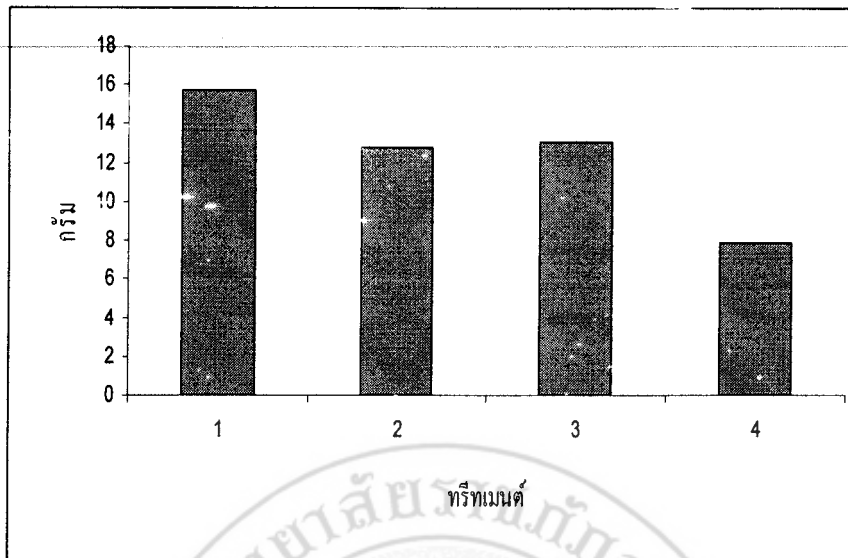
หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4.13 ความยาวเฉลี่ย (เซนติเมตรต่อตัว) ของปลาดุกบ็อกอู๋ตลอดการทดลอง

1.3 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain, WG)

ปลาดุกบ็อกอู๋ที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม) มากที่สุด รองลงมาคือ ปลาดุกบ็อกอู๋ที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 3 และ 2 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนปลาดุกบ็อกอู๋ที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบ็อกอู๋ที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์อื่น ๆ



ภาพที่ 4.14 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

1.4 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (Daily weight gain, DWG)

ปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (กรัม) สูงสุด รองลงมาคือ ปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 3 และ 2 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์อื่น ๆ

1.5 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน (Specific growth rate, SGR)

ปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน สูงสุด รองลงมาคือ ปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 3 และ 2 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 4 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทรีทเมนต์อื่น ๆ

1.6 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

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

1.7 ประสิทธิภาพของอาหาร (Feed efficiency ratio, FE)

อาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1 จัดเป็นอาหารที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาคือ อาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 2 และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทาง

สถิติ ($p>0.05$) สำหรับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 4 เป็นอาหารที่มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 แต่แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 1

1.8 ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Protein efficiency ratio, PER)

ค่าประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 1 ดีที่สุด รองลงมาคืออาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 4 มีค่าประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารทดลองทริทเมนต์อื่น ๆ

1.9 อัตรารอด (Survival rate)

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

1.10 ครรชนีความอ้วนท้วน (Condition Factor, K)

ปลาอุกบึกอู๋ที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 1, 3 และ 4 มีค่าครรชนีความอ้วนท้วนดีที่สุด ส่วนปลาอุกบึกอู๋ที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 2 มีค่าครรชนีความอ้วนท้วนน้อยที่สุด และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

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

อิทธิพลของ อาหารทดลอง	ทริทเมนต์			
	ทริทเมนต์ที่ 1	ทริทเมนต์ที่ 2	ทริทเมนต์ที่ 3	ทริทเมนต์ที่ 4
WG	15.76 ^b ±1.08	12.78 ^b ±3.40	13.06 ^b ±0.62	7.87 ^a ±0.24
DWG	0.28 ^b ±0.02	0.23 ^b ±0.06	0.23 ^b ±0.01	0.14 ^a ±0.14
SGR	3.03 ^b ±0.08	2.71 ^b ±0.37	2.75 ^b ±0.07	2.10 ^a ±0.04
FCR	2.24 ^a ±0.43	3.07 ^a ±0.63	3.72 ^a ±1.00	6.87 ^a ±4.73
FE	0.46 ^b ±0.08	0.33 ^{ab} ±0.07	0.28 ^a ±0.09	0.19 ^a ±0.09
PER	0.018 ^b ±0.003	0.016 ^b ±0.003	0.016 ^b ±0.004	0.008 ^a ±0.003
Survival rate	89.33 ^a ±7.02	86.00 ^a ±5.29	72.67 ^a ±15.01	78.00 ^a ±22.54
K	0.42 ^a ±0.03	0.38 ^a ±0.06	0.42 ^a ±0.04	0.42 ^a ±0.03

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

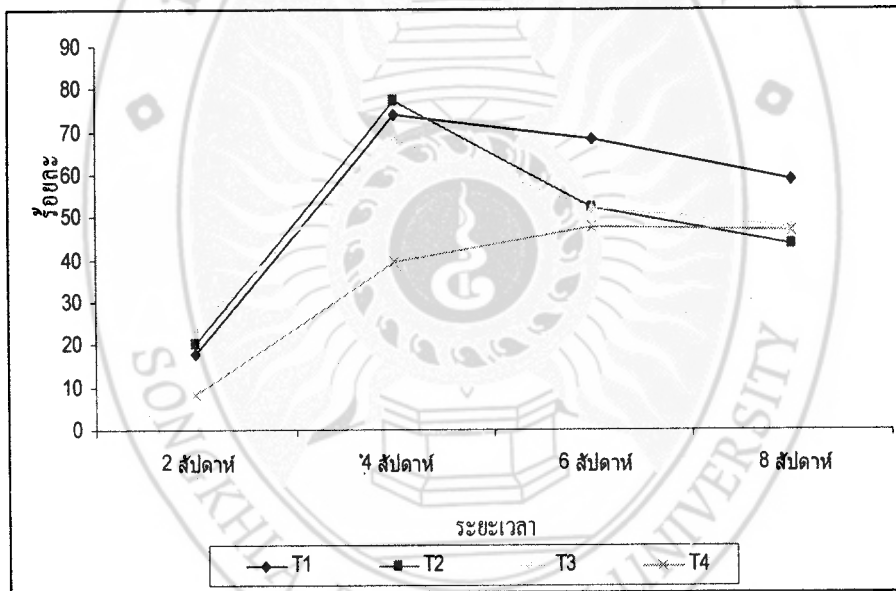
1.11 เปอร์เซนต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Percentage weight gain, PWG)

เมื่อทดลองเลี้ยงปลาดุกบักอูยเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 3 มีเปอร์เซนต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาคือปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 2, 1 และ 4 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่เมื่อทดลองเลี้ยงปลาดุกบักอูยเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 2 มีเปอร์เซนต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด รองลงมาคือ ปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 1 และ 3 และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 4 มีเปอร์เซนต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุด และแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์อื่น ๆ แต่เมื่อทดลองเลี้ยงปลาดุกบักอูยเป็นระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ พบว่า ปลาดุกบักอูยที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 1 มีเปอร์เซนต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ของปลาอุกบึกอุย ที่ได้รับอาหารทดลองต่างกัน

ระยะเวลาทดลอง	ทริทเมนต์			
	ทริทเมนต์ที่ 1	ทริทเมนต์ที่ 2	ทริทเมนต์ที่ 3	ทริทเมนต์ที่ 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 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ของปลาอุกบึกอุย

i.12 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนัก (Length-weight relationship)

ปลาอุกบึกอยู่ในแต่ละทริทเมนต์ มีสมการความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนัก ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 สมการความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนักของปลาอุกบึกอยู่ในแต่ละทริทเมนต์

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

ปลาทุกทริทเมนต์เมื่อได้รับอาหารทดลองที่ประกอบด้วยปลาป่น (ทริทเมนต์ที่ 1, 2 และ 3) ส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่ไม่มีปลาป่น (ทริทเมนต์ที่ 4) ทั้งนี้เนื่องจากปลาป่นจัดเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพ มีกรดอะมิโนที่สมดุล โดยเฉพาะมีไลซีนและเมทไธโอนีนสูง ปริมาณแร่ธาตุ โดยเฉพาะแคลเซียมและฟอสฟอรัส สูง ส่วนพวกวิตามินบี 12 มีอยู่สูงมาก นอกจากนี้แล้วปลาป่นยังมีไรโบฟลาวิน โคลีน และไนอาซินสูงด้วย ปลาป่นในประเทศไทย มีโปรตีนประมาณ 50-60 % หากเสริมปลาป่นในสูตรอาหารจะทำให้สัตว์มีการเจริญเติบโตดีขึ้น เนื่องจากปลาป่นมีกรดอะมิโนไลซีนและเมทไธโอนีน สูง แต่ถ้าหากใช้มากเกินไป ทำให้เนื้อสัตว์มีกลิ่นคาว เนื่องจากปริมาณไขมันที่มีอยู่ในปลาป่น (พันทิพา, 2539) ซึ่งการทดแทนปลาป่นด้วยสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ในระดับ 10 % และ 20 % ปลาอุกบึกก็ยังเจริญเติบโตได้ดีเช่นกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่า หากปลาป่นขาดแคลนหรือมีราคาแพง ก็ยังสามารถใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อเป็นอาหารเสริมบางส่วนได้ แต่การใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพียงอย่างเดียว โดยไม่ผสมปลาป่น ในสูตรอาหาร ทำให้การเจริญเติบโตของปลาอุกบึกอยู่ลดลง เนื่องจากปลาอุกบึกอยู่เป็นปลากินเนื้อ จึงสามารถใช้ประโยชน์จากปลาป่นได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของสุมิตร (2544) พบว่า สามารถใช้กากถั่วเหลืองในระดับ 10 % เพื่อทดแทนปลาป่นในการเลี้ยงปลาอุกบึก และทง (2544) พบว่า สามารถใช้ถั่วหรั่ง ซึ่งเป็นวัตถุดิบโปรตีนจากพืช ทดแทนปลาป่น ซึ่งเป็นโปรตีนจากสัตว์ ได้ถึงระดับ 15 % ซึ่งส่งผลให้ปลาอุกบึกมีการเจริญเติบโตที่ดีอีกด้วย นอกจากนี้ยังสามารถใช้ถั่วเหลืองต้ม เพื่อทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 % เพื่อเลี้ยงปลา กดเหลือง โดยส่งผลดีต่อการผลิตและทางด้านเศรษฐศาสตร์ (ชุติมาและสุทรวัดน์, 2551)

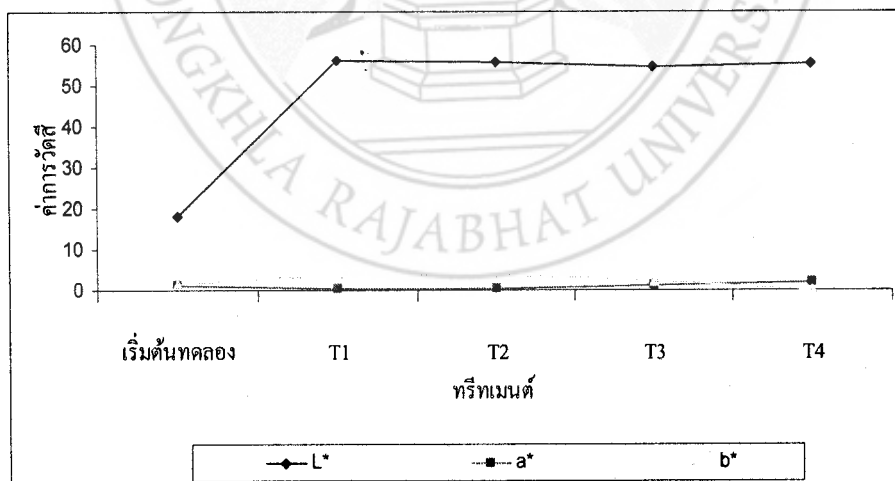
2. อิทธิพลของอาหารทดลองต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีผิว

เมื่อทดลองเลี้ยงปลาอุกบึกด้วยอาหารทดลองสูตรควบคุม และอาหารทดลองที่ทดแทนปลาป่นด้วยสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ในอัตราส่วนแตกต่างกัน พบว่า ปลาอุกบึกอูยมีการเปลี่ยนแปลงสีผิวที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.16)

ตารางที่ 4.8 ค่าการวัดสีผิวของปลาอุกบึกอูยที่ได้รับอาหารทดลองแตกต่างกัน

ทรีทเมนต์	ค่าการวัดสี		
	L*	a*	b*
เริ่มต้นการทดลอง	18.06 ^a ±0.27	1.26 ^a ±0.04	1.36 ^a ±0.34
ทรีทเมนต์ที่ 1	56.20 ^a ±1.42	0.28 ^a ±0.89	3.96 ^b ±1.90
ทรีทเมนต์ที่ 2	55.75 ^a ±2.13	0.51 ^a ±0.11	3.75 ^b ±1.04
ทรีทเมนต์ที่ 3	54.75 ^a ±1.10	1.14 ^{ab} ±0.60	2.29 ^{ab} ±0.49
ทรีทเมนต์ที่ 4	55.52 ^a ±1.93	1.90 ^b ±0.77	0.19 ^a ±0.21

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4.16 ค่าสีผิวของปลาอุกบึกอูยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง



ทริทเมนต์ที่ 1



ทริทเมนต์ที่ 2



ทริทเมนต์ที่ 3



ทริทเมนต์ที่ 4

ภาพที่ 4.17 เปรียบเทียบสีผิวของปลาคูกบักอูย ภายหลังจากที่ได้รับอาหารทดลองทริทเมนต์แตกต่างกัน

ปลาคูกบักอูยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทริทเมนต์ที่ 3 และ 4 มีค่าความเข้มของสีแดงและสีเหลือง ดีที่สุด ทั้งนี้เป็นเพราะอาหารทดลองทริทเมนต์ดังกล่าว มีส่วนผสมของสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ในระดับ 20 % และ 30 % ซึ่งเป็นระดับที่สูง และเนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ จากธรรมชาติ จึงทำให้ปลาคูกบักอูยที่กินอาหารทดลองทริทเมนต์ดังกล่าว มีสีผิวสวยงามขึ้น นอกจากนี้ความเข้มของสีอาจเกิดมาจากสภาพของแสงสว่างที่ปลาได้รับด้วย ดังที่ Morenike et al. (2008) ทดลองเลี้ยงปลา *Clarias gariepinus* ขนาดปลาน้ำ ในสภาพที่มีดตลอดเวลา มีผลทำให้การเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหาร และอัตราการรอด เพิ่มขึ้น แต่การเลี้ยงปลาในสภาพนี้มีผลทำให้ปลามีผิวสีดำนากว่าที่เลี้ยงในสภาพที่มีแสงสว่างตลอดเวลา