รายงานการวิจัย

ผลของปริมาณไนโตรเจนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (*Isochrysis galbana*) ต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย และอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดของลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อน

Effects of nitrogen-limited culture microalgae *Isochrysis galbana* on biochemical composition of microalgae, growth and survival of anemonefish larvae

ภายใต้แผนงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามน้ำเค็มในกลุ่มปลาการ์ตูนประจำปีงบประมาณ 2546-2547

อมรรัตน์ ชมรุ่ง
จารุนันท์ ประทุมยศ
ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2546-2547
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
พ.ศ. 2550
ISBN 978-974-384-345-7

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ งบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2546-2547 มหาวิทยาลัยบูรพา คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง และขอขอบคุณผู้อำนวยการแผนงานวิจัย ดร.วรเทพ มุธุวรรณ ผู้อำนวยการสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล ที่ให้คำปรึกษาและช่วยแนะนำแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในระหว่างที่ทำการวิจัย คณะผู้จัดทำจึงขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และเจ้าหน้าที่สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์ และเครื่องมือในการวิจัย ทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ผลของปริมาณไนโตรเจนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (*Isochrysis galbana*) ต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย และอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดของลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อน

โดย

อมรรัตน์ ชมรุ่ง

จารุนันท์ ประทุมยศ

ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ

บทคัดย่อ

ศึกษาคุณค่าทางอาหารของโคพีพอด พบว่าโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีธาตุไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล มีปริมาณโปรตีนสูงสุด คือ 65.74 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ไขมันพบในปริมาณสูงที่โคพีพอดในชุดทดลอง 2500 มิลลิโมล คือ 6.22 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง คาร์โบไฮเดรตพบสูงสุดในชุด 3000 มิลลิโมล (14.59 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง)

เยื่อใยในโคพีพอดพบมากสุดในชุดทดลองที่เป็นชุดการทดลอง 500 มิลลิโมล คือ 5.11 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ส่วนปริมาณของเถ้าพบมาในการทดลอง 3000 มิลลิโมล คือ 24.94 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง โรติเฟอร์ที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* พบว่ามีปริมาณของกรดไขมันรวมสูงสุดในชุดทดลอง 2000 และ 3000 มิลลิโมล (97.72 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมันกลุ่ม n – 3 PUFA มีปริมาณสูงในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลว Guillards “f/2” ที่มีธาตุอาหารไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล (21.77 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมันกลุ่ม n – 3 HUFA มีปริมาณสูงในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลว Guillards “f/2” ที่มีธาตุอาหารไนโตรเจน 2500 มิลลิโมล (16.60 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดอมิโนในโคพีพอดพบปริมาณของกรดอมิโนรวมสูงสุดในชุดควบคุมการทดลองคือ 36.16 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง และพบกรดอมิโนที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำสูงในชุดทดลอง 1500 มิลลิโมล (15.00 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง)

เมื่อนำโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลว Guillards "f/2" ที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกันเลี้ยงลูกปลาการ์ตูนดำแดง (*Amphiprion ephippium*)เป็นระยะเวลา 30 วัน ผลการทดลองพบว่าลูกปลามีการเจริญเติบโตทางด้านความยาวมาตรฐานสูงสุดในชุดทดลอง 2500 มิลลิโมล คือ 2.88 เซ็นต์ติเมตร ลูกปลาการ์ตูนมีความยาวรวมสูงสุดในชุดทดลอง 3000 มิลลิโมล (3.75 เซ็นต์ติเมตร) ส่วนการพัฒนาการเจริญเติบโตทางด้านน้ำหนักพบสูงสุดในลูกปลาชุดทดลอง 2500 มิลลิโมล คือ 83.92 มิลลิกรัม ลูกปลาที่ทำการทดลองเลี้ยงด้วยโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณความเข้มข้นของระดับไนโตรเจน 2500 และ 3000 มิลลิโมลมีอัตราการรอดสูงสุดในการทดลองครั้งนี้

Effects of nitrogen-limited culture microalgae *Isochrysis galbana* on biochemical composition of microalgae, growth and survival of anemonefish larvae

by

Amonrat Chomrung

Jarunan Pratomyot

Piyawan Srivilas

Abstract

Nutritional value of copepod enriched with *Isochrysis galbana* culture at six nitrogen concentration showed various resalts. It was found that the copepod enriched with 2000 mM N cultured microalgae had the highest content of protein (65.74 % dry weight) , lipid content was the highest at 2500 mM N (6.22 % dry weigh), carbohydrate content was the highest at 3000 mM N (14.59 % dry weigh) , fiber content was the highest on 500 mM (5.11 % dry weigh) , ash content was the highest at 3000 mM N(24.94 % dry weight).The highest fatty acid of n-3 PUFA and n-3 HUFA were found at 2000 and 2500 mM N especially (21.77 and 16.60 % fatty acid). It was found that the copepod enriched with 1500 mM nitrogen cultured microalgae (21.03 % dry weigh) had the highest content of essential amino acids.

The effect of nitrogen – limited culture microalgae *Isochrysis galbana* on growth and survival of anemone fish larvae (*Amphiprion ephippium*) were investigated. Copepod was enriched for 10 hours with *Isochrysis galbana* cultured at various N concentration before feeding to the larvae. Weight and length (standard length and total length) of the experimental fishes were determined at the end of the experiment, It was found that the larvae fed with *Isochrysis galbana* culture at the 2500 and 3000 mM N had the highest length while the highest weight was found at 2500 mM N , the highest survival rate was found at 2500 and 3000 mM N.

สารบัญ

สารบัญตาราง

สารบัญภาพ

หน้า

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

บทนำ

ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อน สิ่งที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของลูกสัตว์น้ำนอกจากในเรื่องของคุณภาพน้ำแล้ว สิ่งหนึ่งที่ควรคำนึงถึงเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงอีกประการหนึ่งคือในเรื่องของอาหาร อาหารที่สัตว์น้ำหรือลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อนในระยะนี้ต้องการคืออาหารมีชีวิต อาหารมีชีวิตจะเป็นสิ่งมีชีวิตที่เรามักเรียกกันว่า แพลงก์ตอน ซึ่งหมายถึงสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถล่องลอยในกระแสน้ำ แพลงก์ตอนแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ แพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดหนึ่งซึ่งมีจำนวนมากมายหลายชนิด ซึ่งในแต่ละชนิดจะมีขนาด และลักษณะการล่องลอยในกระแสน้ำแตกต่างกันออกไป อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำทุกแห่ง ประกอบด้วยชนิดมากมาย และปริมาณของแต่ละชนิดจะมีมาก โคพีพอดเป็นส่วนประกอบหลักของห่วงโซ่อาหารโดยเฉพาะในทะเลเนื่องจากโคพีพอดส่วนใหญ่เป็นแพลงก์ตอนถาวร โคพีพอดจะกินแพลงก์ตอนพืชที่เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กเป็นอาหารเพื่อช่วยในกระบวนการพัฒนาการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของโคพีพอด โคพีพอดที่พบมากในประเทศไทยจะเป็นโคพีพอด *Acartia* sp. โดยโคพีพอดชนิดนี้มีลักษณะลำตัวเล็กเหมาะสำหรับการนำไปเป็นอาหารลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนอีกทั้งโคพีพอดชนิดนี้มีคุณสมบัติที่ดีสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนอีกประการหนึ่งคือเมื่อกินเข้าไปแล้วสามารถย่อยได้ง่ายโคพีพอด เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดหนึ่งที่พบในประเทศไทยมีลักษณะของลำตัวที่เล็กกว่าโคพีพอดชนิดอื่น อีกทั้งในด้านของคุณภาพของคุณค่าทางอาหารมีความแตกต่าง และโคพีพอดชนิดนี้มีลักษณะที่ดีอีกอย่างคือ เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่เมื่อสัตว์น้ำกินเข้าไปแล้วสามารถย่อยได้ง่ายและรวดเร็ว โคพีพอดชนิดนี้มักพบในบริเวณที่มีความเค็มต่ำ เช่นบริเวณป่าชายเลน อีกทั้งในฤดูฝนมักจะพบว่าโคพีพอดชนิดนี้มีการพัฒนาการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วทำให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Doi and Singhagriwan,1993) โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่เริ่มได้รับความนิยมในการนำมาใช้เป็นอาหารลูกปลาทะเลวัยอ่อนกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งเนื่องจากเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง มีปริมาณของโปรตีน กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง (highly unsaturated fatty acid,HUFA) กรดอมิโนที่จำเป็น และแคโรทีนอย (Kraul et al.,1993) โคพีพอดมีขนาดลำตัวตั้งแต่ 50-100 μm เคลื่อนไหวช้า โคพีพอดเป็นตัวนำที่ดีของสารอาหารต่าง ๆ ซึ่งในการเพาะเลี้ยงสัตว์วัยอ่อนจึงได้รับความนิยมเพื่อนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงลูกปลาทะเลวัยอ่อน ปลาการ์ตูนเป็นอีกชนิดหนึ่งที่เราสามารถนำเอาแพลงก์ตอนสัตว์นี้มาเป็นอาหาร เพื่อช่วยในการพัฒนาการเจริญเติบโตของลูกปลาการ์ตูน

สาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กชนิด *Isochrysis galbana* เป็นสาหร่ายที่มีปริมาณโปรตีนและไขมัน โดยเฉพาะในแง่ของกรดไขมัน และกรดอมิโนที่จำเป็น ซึ่งสารอาหารเหล่านี้มีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำวัยอ่อนค่อนข้างสูงจึงมีความสำคัญและจำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ความสำคัญทางด้านคุณค่าทางอาหารในแง่ของส่วนประกอบทางชีวเคมี ระดับความแตกต่างของธาตุอาหารในสาหร่าย *Isochrysis galbana* สิ่งเหล่านี้ยังต้องขึ้นอยู่กับธาตุอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ส่วนประกอบที่สำคัญทางเคมีของสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กมีความสัมพันธ์เชื่อมโยงกับการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อน เนื่องจาก ลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อนมีความต้องการพลังงานเพื่อช่วยในกิจกรรมการดำรงชีวิต การเจริญเติบโต อัตราการรอด *Isochrysis galbana* เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กที่ต้องใช้พลังงานจากแสง ธาตุอาหารที่สำคัญจากแหล่งธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงเพื่อนำมาใช้ในขบวนการสร้างโมเลกุลที่ซับซ้อน ในการสร้างองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิตที่ใช้สาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กเป็นอาหารในการดำรงชีวิต การที่สัตว์น้ำไม่สามารถใช้พลังงานจากแสงและธาตุอาหารได้โดยตรง สัตว์น้ำจึงต้องอาศัยบริโภคสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กเป็นอาหารเพื่อมาใช้เป็นพลังงานที่ช่วยในการเจริญเติบโตและการอยู่รอด

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กชนิด *Isochrysis galbana* เพื่อนำมาใช้ในการเพิ่มคุณค่าทางอาหารของโรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*) ก่อนที่จะนำมาใช้เป็นอาหารของลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อนนั้น ปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของ *Isochrysis galbana* นอกจากปัจจัยทางด้านแสง อุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด — ด่าง แล้วยังมีเรื่องของธาตุอาหารโดยเฉพาะธาตุไนโตรเจน เนื่องจากมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต และธาตุอาหารไนโตรเจนยังเป็นส่วนประกอบของสาหร่ายขนาดเล็กถึงร้อยละ 7 — 10 ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ (ลัดดา วงศ์รัตน์.2537) สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียวเมื่อได้รับธาตุอาหารไนโตรเจนน้อยจะส่งผลให้การเจริญเติบโตไม่ดี แต่ถ้าเกิดสภาวะที่ขาดไนโตรเจน สาหร่ายขนาดเล็กสามารถที่จะหาแหล่งทดแทนของธาตุอาหารไนโตรเจนได้ โดยเปลี่ยนองค์ประกอบทางเคมีของตัวมันเอง

วัตถุประสงค์ในการศึกษา

เพื่อศึกษาผลของการเพิ่มคุณค่าทางอาหารในแพลงก์ตอนสัตว์โคพีพอด ด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน ในการนำไปเลี้ยงลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อน เพื่อการเจริญเติบโตและ อัตราการรอดของลูกปลาการ์ตูน

จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาคุณค่าทางอาหาร โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของแพลงก์ตอนสัตว์โคพีพอด ที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กชนิด *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

2. เพื่อศึกษาปริมาณของกรดไขมัน และกรดอมิโน ในแพลงก์ตอนสัตว์โคพีพอด ที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กชนิด *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

3. ทำให้ทราบถึงการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วย โคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

ความสำคัญของการศึกษา

1. ทราบถึงปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างคุณค่าทางอาหาร โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของแพลงก์ตอนสัตว์โคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างระดับกัน 6 ระดับ

2. ทราบถึงปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างกรดไขมัน และกรดอมิโนในแพลงก์ตอนสัตว์โคพีพอด ที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างระดับกัน 6 ระดับ

3. ทราบถึงการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกปลาการ์ตูนที่เลี้ยงด้วย โคพีพอด ซึ่งเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

สมมุติฐานการศึกษา

1. แพลงก์ตอนสัตว์โคพีพอดจะมีคุณค่าทางอาหาร โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย และ เถ้า แตกต่างกัน เมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กชนิด *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

2. แพลงก์ตอนสัตว์โคพีพอดจะมีปริมาณของการเพิ่มของกรดไขมัน และกรดอมิโนที่แตกต่างกัน เมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กชนิด *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

3.ลูกปลาการ์ตูนที่เลี้ยงด้วย แพลงก์ตอนสัตว์โคพีพอด ซึ่งเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กชนิด *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวโดยมีธาตุอาหารไนโตรเจนต่างระดับกัน จะมีการเจริญเติบโต และอัตราการรอดแตกต่างกัน

ขอบเขตการวิจัย

1. เลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ด้วยอาหารเหลวซึ่งมีธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน ที่ความเข้มแสง 3500 — 4000 ลักซ์ ความเป็น กรด — ด่าง เริ่มต้นที่ 7.8 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

2. นำสาหร่ายเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เลี้ยงด้วยธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน ในระยะวันแรกของการเจริญเติบโตคงที่ (earlystationary phase) เพิ่มคุณค่าทางอาหารในแพลงก์ตอนสัตว์โคพีพอด เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำการเก็บเกี่ยวผลผลิต
แช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ก่อนทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze- dryer เพื่อรอการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร

3. เพิ่มคุณค่าทางอาหารในแพลงก์ตอนสัตว์โคพีพอด ด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ที่อยู่ในระยะวันแรกของการเจริญเติบโตคงที่ ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน โดยทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารใน โคพีพอดเป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมง ก่อนมาเป็นอาหารลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อน ซึ่งทำการเลี้ยงลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อนเป็นระยะเวลา 30 วัน

การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

1.ชีววิทยาของสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก (Microalgae)

สาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* มีหนวด 2 เส้นที่ใช้ในการเคลื่อนที่ คลอโรพลาสต์มี 2 แผ่น และนิวเคลียสอยู่กึ่งกลางเซลล์ ไม่มีผนังเซลล์ แต่เซลล์จะหุ้มด้วยเยื่อหุ้มเซลล์เป็นแป้งแต่อยู่ในรูปของเหลว สืบพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศ โดยลักษณะการแบ่งเซลล์ตามยาว กรณีที่สืบพันธุ์อาศัยเพศโดยการรวมตัวของแกมมีตแบบโอโซแกมมีต สร้างสปอร์ที่เรียกว่า statospore เป็นแพลงก์ตอนพืชที่พบทั้งน้ำจืดและน้ำเค็ม โดยเฉพาะบริเวณชายฝั่ง โดยพบมากในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำประมาณ 5 -15 องศาเซลเซียส (ลัดดา วงศ์รัตน์,2542)

อนุกรมวิธานของสาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* (ลัดดา วงศ์รัตน์,2542)

Kingdom Protista

Division Chromophyta

Class Prymnesiophyceae (Haptophyceae)

Order Isochysidaceae

Family Isochrysidaceae

Genus Isochrysis

Species *Isochrysis galbana*

ลักษณะสำคัญของคลาส

คลาสนี้ส่วนใหญ่ประกอบด้วยแพลงก์ตอนพืชที่เรียกว่า คอคโคลิโทฟอริท (coccolithophorids) เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวมีเส้นผ่าศูนย์กลางต่ำกว่า 20 ไมครอน โดยทั่วไปมีเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 10 ไมครอน ไม่มีผนังเซลล์ เซลล์มีคลอโรพลาส 2 แผ่น สีน้ำตาลอมทอง นิวเคลียสอยู่ระหว่างคลอโรพลาสทั้งสอง มีหนวดแบบแส้ ซึ่งยาวเท่ากัน 2 เส้น มีระยางค์ที่ 3 (third appendage) หรือแฮพโตนีมา 1 เส้น อยู่ระหว่างกลางเยื่อหุ้มเซลล์จะมีแผ่นเกล็ด (plate – scale) หรือคอคโคลิธ (coccolith) ซึ่งเป็นแผ่นที่มีลักษณะเหมือนกันทั้งเซลล์ (isomorphic) หรือลักษณะต่างกัน (heteromophic) ก็ได้ คอคโคลิธประกอบด้วยสารอินทรีย์หรือแคลเซี่ยมคาร์บอเนต

2. ชีววิทยาของแพลงก์ตอนสัตว์ โคพีพอด

อนุกรมวิธานของโคพีพอด

Kingdom Animalia

Phylum Arthropoda

Class Crustacea

Subclass Copepoda

Order Calanoida

ลักษณะสำคัญของโคพีพอด (ลัดดา วงศ์รัตน์,2543)

โคพีพอดส่วนใหญ่มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก รูปไข่หรือรูปกระบอง ลำตัวแบ่งเป็นปล้องและมีระยางค์ โคพีพอดที่อาศัยอยู่ในบริเวณผิวน้ำลำตัวค่อนข้างใสหรือบางทีมีสีฟ้า เนื่องจากมีแคโรทีนอยด์บนผิวหุ้มตัว ชนิดที่อาศัยอยู่ในน้ำลึกมากจะมีลำตัวสีแดง เนื่องจากจะมีสารที่เรียกว่า crusta แสดงว่าโคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ลำตัว (Body) ลำตัวของโคพีพอดประกอบไปด้วยปล้อง จำนวน 16 — 17 ปล้อง แต่โดยส่วนใหญ่จะพบเพียง 11 ปล้องทั้งนี้เนื่องจากบางปล้องเชื่อมกัน ลำตัวแบ่งเป็น 2 ส่วน เรียกว่า prosome และ urosome prosome ประกอบด้วยหัว และอก หัวประกอบด้วยปล้อง 5 ปล้อง ซึ่งมักเชื่อมติดกัน อกประกอบด้วยปล้องจำนวน 1 – 5 ปล้อง ปล้องอกทุกปล้องมีรยางค์ 1 คู่ เรียกว่า frontal plate ซึ่งเป็นจะงอยปากและมักมีตา 1 ข้างอยู่ตรงกลาง หรือมีเลนซ์ 1 คู่ อยู่บนด้านหลัง ลักษณะนี้มักพบในโคพีพอดทะเล order Calanoida มุมของปล้องสุดท้ายของ metasome หรืออก จะมีลักษณะต่างกันตามชนิด urosome หรือส่วนท้องซึ่งเป็นส่วนสุดท้ายของลำตัวประกอบด้วยปล้อง 1 – 2 ปล้อง ของ metasome ซึ่งเชื่อมกับช่องท้อง ส่วนท้องมักแคบ มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกและไม่มีระยางค์ ส่วนนี้มักจะงอพับ

การเจริญเติบโตของโคพีพอดนั้นจะเจริญเติบโตด้วยวิธีการลอกคราบ (metamorphosis) หลังการฟักออกจากไข่ โดยทำการลอกคราบทั้งหมด 10 ครั้ง ก่อนจะพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย ตัวอ่อนของโคพีพอดมี 2 ระยะ ระยะแรกเรียกว่า **นอเพลียส** (nauplius larva) ตัวอ่อนระยะต่อมาเรียกว่า **โคพีโพดิด** (copepodid larva) ระยะนอเพลียสมีอีก 5 ระยะ ระยะโคพีโพดิดมีอีก 5 ระยะ หลังระยะโคพีโพดิดที่ 5 จะเป็นระยะตัวเต็มวัย (adult) โคพีพอดมีเพศผู้และเพศเมียแยกคนละตัว (dioecious) และการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ เป็นปัจจัยที่สำคัญซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตหรือการลอกคราบของโคพีพอด

3. **ชีววิทยาของปลาการ์ตูนดำแดง red saddleblack anemonefish** (Wilkerson,J.1998)

ปลาการ์ตูนทั่วโลกมีประมาณ 28 ชนิด แต่ชนิดที่พบในประเทศไทย ทั้งฝั่งอาวไทยและอันดามัน มีประมาณ 7 ชนิด ได้แก่ ปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนอานม้า ปลาการ์ตูนอินเดียนแดง ปลาการ์ตูนอินเดียนแดงท้องเหลือง ปลาการ์ตูนลายปล้องเหลือง ปลาการ์ตูนลายปล้องดำ และปลาการ์ตูนดำแดง

อนุกรมวิธานของปลาการ์ตูนดำแดง

Kingdom Animalia

Phylum Chordata

Subphylum Vertebrata

Class Actinopterygii

Order Perciformes

Family Pomacentridae

Genus Amphiprion

Species *Amphiprion ephippium*

ลักษณะทั่วไป

ปลาการ์ตูนดำแดงที่เป็นปลาเต็มวัยลำตัวมีสีส้มแดง และมีปื้นสีดำขนาดใหญ่บริเวณหลัง ส่วนลูกปลาการ์ตูนดำแดงที่อยู่ในวัยรุ่นจะยังไม่มีปื้นสีดำ แต่จะมีแถบสีขาวพาดขวางลำตัวบริเวณหลังตา ขนาดโตเต็มที่ประมาณ 12 เซนติเมตร ตัวผู้มีขนาดเล็กกว่าตัวเมียโดยตัวผู้จะมีความยาวประมาณสามในสี่ส่วนของความยาวตัวเมีย ปลาตัวเมียจะมีขนาดโตกว่าตัวผู้และสมาชิกอื่น ๆ อย่างเห็นได้ชัด และมันจะทำหน้าที่เป็นผู้นำคอยปกป้องอาณาเขตที่เป็นแหล่งอาศัยของครอบครัว

ถิ่นที่อยู่อาศัย

ปลาการ์ตูนดำแดงชอบอาศัยอยู่ตามแนวปะการังชายฝั่งที่เป็นพื้นทราย หรือตามส่วนลาดชันของแนวปะการัง มักอาศัยอยู่กับดอกไม้ทะเลชนิด *Entacmaea quadricolor* หรือ *Heteractis crispa* พบทางชายฝั่งทะเลอันดามัน

อาหาร

อาหารหลักของปลาการ์ตูน คือพวกแพลงก์ตอนสัตว์ ในกลุ่มครัสเตเซียน (planktonic crustaceans) และพวกสาหร่ายที่อยู่หน้าดิน (benthic algae)

4. สารอาหารที่มีความสำคัญต่อสัตว์น้ำ

4.1 โปรตีน (Protein)

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต นอกจากเป็นสารที่ให้พลังงานเช่นเดียวกับ ไขมันและคาร์โบไฮเดรตแล้ว ความสำคัญนอกเหนือไปกว่านั้นคือ การใช้โปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตและการสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาทดแทนเซลล์ต่าง ๆ ที่เสื่อมสลายไป รวมทั้งควบคุมกระบวนการต่าง ๆ ภายในร่างกายล้วนต้องใช้โปรตีนแทบทั้งสิ้น และพบมากที่สุดในสิ่งมีชีวิต โดยมีอยู่ทุก ๆ บริเวณของเซลล์

ร่างกายของสัตว์น้ำนั้นมีความต้องการโปรตีนในปริมาณที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิด วัย หรือขนาดของสัตว์น้ำ ในสัตว์น้ำวัยอ่อนนั้นมีความต้องการโปรตีนสูง และจะลดลงเมื่อสัตว์น้ำโตขึ้น การกำหนดปริมาณโปรตีนที่สัตว์น้ำควรได้รับวันหนึ่ง ๆ นอกจากจะพิจารณาถึงชนิดอายุหรือขนาดของสัตว์น้ำแล้ว ระดับโปรตีนที่ควรมีในอาหารยังแตกต่างกันไปตามคุณภาพของโปรตีน และพลังงานในอาหารที่ไม่ได้มาจากโปรตีน พร้อมทั้งปริมาณอาหารที่ให้ในรอบวัน นอกจากนั้น ภาวะแวดล้อมทางน้ำที่สัตว์อาศัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิน้ำ และอาหารธรรมชาติยังมีผลต่อความต้องการโปรตีนจะลดลงเมื่อสัตว์น้ำโตขึ้น (เวียง เชื้อโพธิ์หัก,2543)

Mangalik (1986) ได้ทำการวิจัยหาความต้องการปริมาณโปรตีนของปลากดหลวงขนาดต่าง ๆ กัน พบว่าปลาหนัก 3 กรัม มีความต้องการโปรตีนในอาหารสูงกว่าปลาหนัก 250 กรัม ประมาณ 4 เท่า

หน้าที่ของโปรตีน

- ช่วยสร้างและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย สร้างเซลล์เนื้อเยื่อใหม่ๆ
- สร้างเป็นเอนไซม์ ฮอร์โมน สารภูมิคุ้มกัน และโปรตีนชนิดต่าง ๆ จะมีหน้าที่แตกต่างกันไปและมีส่วนทำให้ปฏิกิริยาต่าง ๆ ในร่างกายดำเนินต่อไปตามปกติ
- รักษาความสมดุล กรด – ด่าง ของร่างกาย เนื่องจากโปรตีนประกอบไปด้วยกรดอะมิโนและในตัวกรดอะมิโนนั้นมีคาร์บอกซิลซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรด และหน่วยอะมิโนซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่าง ดังนั้นโปรตีนจึงมีคุณสมบัติรักษาความสมดุลของร่างกาย

โปรตีนที่พบในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตมากถึงร้อยละ 50 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และพบอยู่ในทุกส่วนประกอบย่อยของเซลล์โดยทำหน้าที่สำคัญทางชีวภาพ (biological function) ที่แตกต่างกันออกไป โปรตีนประกอบด้วยหน่วยโครงสร้าง (building block) ที่เล็กที่สุด คือ กรดอะมิโน มาเรียงต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ (peptide bond) โครงสร้างของกรดอะมิโนประกอบด้วย 3 ส่วน คือ หมู่อะมิโน (NH_2), หมู่คาร์บอกซิล (- COOH) และ หมู่อาร์ (- R) หรือ โซ่ข้าง (side chain)

การจำแนกประเภทของกรดอะมิโน แบ่งตามลักษณะความต้องการของร่างกาย แบ่งเป็น 2 แบบ ดังนี้ (พรงาม ลิ้มตระกูล,2545)

4.1.1 กรดอะมิโนจำเป็น (Essential amino acid) หมายถึงกรดอะมิโนที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ ต้องได้รับจากอาหาร มีทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ เมไทโอนีน อาร์จีนีน ทรีโอนีน ฮิสทิดีน ไอโซลูซีน ลูซีน ไลซีน วาลีน ฟีนีลอะลานีนท และ ทริปโตเฟน

4.1.2 กรดอะมิโนไม่จำเป็น (Nonessential amino acid) หมายถึงกรดอมิโนที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นมาใช้อย่างเพียงพอ มีทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ ไกลซีน อะลานีน โปรลีน ซีรีน ซิสเตอีน กรดแอสปาติก กรดกลูตามิก แอสพาราจีน ไทไรซีน และ กลูตามีน

ตารางที่1 สัญลักษณ์อักษร 3 ตัว ของกรดอมิโน

กรดอมิโน	สัญลักษณ์
Alanine	Ala
Arginnine	Arg
Aspartic acid	Asp
Asparagine	Asn
Cysteine	Cys
Glycine	Gly
Glutamic acid	Glu
Glutamine	Gln
Histidine	His
Isoleucine	Ile
Leucine	Leu
Lysine	Lys
Methionine	Met
Phenylalanine	Phe
Proline	Pro
Serine	Ser
Threonine	Thr
Trytophan	Trp
Tyrosine	Tyr
Valine	Val

4.2 ไขมัน (Lipid)

ไขมันมีคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำแต่สามารถได้โดยตัวทำละลายอินทรีย์ เป็นสารอินทรีย์พวกหนึ่งที่มีคุณสมบัติแตกต่างจากสารอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ในร่างกาย ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ไม่ละลายในน้ำ แต่จะละลายได้ดีในตัวทำละลายพวก แอลกอฮอล์ อีเทอร์ โคโรฟอร์ม และเบนซิน สารอินทรีย์พวกนี้ ได้แก่ fat oil phospholipids glycolipid sterols รวมเรียกว่า "Lipid" ไขมันเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ เป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์และฮอร์โมน รวมทั้งเกี่ยวข้องกับการดูดซึมอาหาร นอกจากนี้ยังเป็นตัวให้กรดไขมันที่จำเป็นแก่ร่างกายอีกด้วย (วีระพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย,2535)

ไขมันเป็นสารอาหารที่มีความจำเป็น และปริมาณที่สัตว์น้ำได้รับจะต้องเพียงพอกับความต้องการ การได้รับไขมันมากเกินไปสัตว์น้ำจะเพิ่มน้ำหนักอย่างรวดเร็วพร้อมทั้งสะสมไขมันในร่างกายมากเกินไป เป็นสาเหตุให้สัตว์น้ำเคลื่อนไหวช้าลง อัตราการทำงานของร่างกายต่ำลง ใช้พลังงาน และกินอาหารน้อยลง ในที่สุดน้ำหนักตัวลดลง ส่วนการที่สัตว์น้ำได้รับไขมันน้อยเกินไป จะทำให้ร่างกายได้รับพลังงาน และกรดไขมันชนิดจำเป็นน้อยตามไปด้วยร่างกายจึงต้องหาพลังงานจากแหล่งอื่นมาชดเชย โดยการสลายโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต จากอาหาร รวมทั้งการสลายไขมันที่สะสมในร่างกาย โปรตีนจึงถูกเผาผลาญเป็นพลังงานแทนที่จะถูกนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต ในที่สุดสัตว์น้ำก็ผอม มีน้ำหนักตัวลดลง ซึ่งอาหารสัตว์น้ำโดยทั่วไปจะมีไขมันประมาณ 2.5 – 15 เปอร์เซ็นต์ (เวียง เชื้อโพธิ์หัก,2543) ไขมันเป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญได้แก่ วิตามิน เอ ดี อี และ เค รวมทั้งฮอร์โมนบางอย่าง เช่น สเตอรอยด์ และกรดไขมัน

4.2.1 กรดไขมัน กรดไขมันเป็นไขมันกลุ่มที่มีความสำคัญมากและเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของไขมันหลายชนิด กรดไขมันจัดเป็น Carboxylic acid ที่มีหมู่ – COOH เพียงหมู่เดียวที่ต่อกับไฮโดรคาร์บอนสายยาว เป็นเส้นตรง กรดไขมันที่พบในธรรมชาติมักมีจำนวนคาร์บอนเป็นจำนวนคู่ ส่วนใหญ่พบในรูปที่ละลายในไขมัน กรดไขมันในพืชและสัตว์ทั่วไปมีคาร์บอนระหว่าง 14 – 18 อะตอม (วีระพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย,2535)

การเรียกชื่อกรดไขมัน

1. Common name (Trivial name) เป็นการเรียกตามสะดวกเมื่อแรกพบ ไม่มีหลักเกณฑ์การเรียกชื่อที่แน่นอน อาจเรียกตามอาหารที่พบ เช่น Oleic acid, Palmitic acid, Linoleic acid, α – Linolenic acid

2. Systematic name เป็นการเรียกที่ถูกต้องตามหลักเกณฑ์การเรียกชื่อสารเคมี โดยใช้จำนวนคาร์บอนอะตอม ของ parent hydrocarbon เป็นหลักแต่เปลี่ยนที่อักษรตัวสุดท้ายของ parent hydrocarbon จาก e เป็น oic แบ่งออกเป็น 2 ชนิด

2.1 Saturated Fatty Acid มี Alkane เป็น parent hydrocarbon ไม่มี double bond บนสายของ hydrocarbon เช่น Caproic acid มีคาร์บอน 6 ตัว มี parent hydrocarbon คือ Hexane เมื่อเป็น saturated fatty acid จึงเรียกว่า Hexanoic หรือ alkane ที่มีคาร์บอน 18 ตัว (Octadecane) เมื่อเป็น saturated fatty acid จึงเรียกว่า octadecanoic acid

2.2 Unsaturated fatty acid มี Alkane เป็น parent hydrocarbon มี double bond อยู่บนสายของ hydrocarbon ชื่อแบบ systematic name ต้องลงท้ายด้วย –enoic acid และต้องบอกตำแหน่งของ double bond ด้วย โดยนับ carboxyl carbon เป็นตำแหน่งถัดไปเป็น 2,3,4,..... ถ้าใช้ระบบนับเป็นอักษรกรีก ไม่นับคาร์บอน ของ carboxy group แต่นับตัวที่ถัดจาก carboxy group เข้ามา (C-2) เป็นตัวแรก คือเป็น α – carbon และนับถัดเข้าไปเรื่อย ๆ เป็น β, γ, δ,.... ω (omega) โดย ω เป็นตัวสุดท้าย

ประเภทกรดไขมัน

ในธรรมชาติพบกรดไขมันที่มีคาร์บอนเป็นจำนวนคู่เสมอ พบที่มีจำนวนคี่น้อยมาก อาจพบได้ในพืชบางชนิด กรดไขมันถูกแบ่งได้หลายวิธีขึ้นกับวัตถุประสงค์

1. แบ่งโดยอาศัยจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล แบ่งได้เป็น 3 ชนิด

1.1 Short chain fatty acids เป็นกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนน้อยกว่า 8 ตัว ละลายน้ำได้

1.2 Medium chain fatty acids เป็นกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน ระหว่าง 8 -12 ตัว ละลายน้ำได้

1.3 Long chain fatty acids เป็นกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนมากกว่า 14 ตัว เป็นกรดไขมันไม่มีขั้ว และไม่ละลายน้ำ

2. แบ่งโดยอาศัยชนิดของพันธะในโมเลกุล แบ่งเป็น 2 ชนิด

2.1 Saturated fatty acids (กรดไขมันอิ่มตัว) เป็นกรดไขมันที่ไม่มี double bond อยู่บนสายของ hydrocarbon

2.2 Unsaturated fatty acids (กรดไขมันไม่อิ่มตัว) เป็นกรดไขมันที่มี double bond อยู่บนสาย hydrocarbon พบว่า double bond ของกรดไขมันส่วนมากเป็น *cis*- isomers พบแบบ *trans* น้อยมากในธรรมชาติ แบ่งได้เป็น 2 พวกย่อยตามจำนวนของ double bond

2.2.1 Monounsaturated fatty acid เป็นกรดไขมันที่มี double bond ตำแหน่งเดียวบนสาย hydrocarbon

2.2.2 Polyunsaturated fatty acid เป็นกรดไขมันที่มี double bond มากกว่า 1 ตำแหน่ง บนสาย hydrocarbon

3. แบ่งโดยอาศัยความสำคัญทางด้านอาหาร สิ่งมีชีวิตสามารถสังเคราะห์กรดไขมันขึ้นมาเองได้ หรือได้จากอาหาร แต่มีกรดไขมันบางตัวที่สามารถสังเคราะห์ได้เองจากภายนอก จึงแบ่งกรดไขมันออกเป็น 2 พวก

3.1 Nonessential fatty acids เป็นกรดไขมันที่สิ่งมีชีวิตสังเคราะห์ได้ ถ้าได้รับจากอาหารไม่เพียงพอ ร่างกายก็สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้

3.2 Essential fatty acids เป็นกรดไขมันที่สิ่งมีชีวิตไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาเองได้ ต้องได้รับจากภายนอกเท่านั้น (Gunstone.F.D. , 1996)

5. **ธาตุอาหารหลักไนโตรเจน**

ไนโตรเจนมีความสำคัญรองจากคาร์บอนในแง่ของปริมาณ ปริมาณไนโตรเจนของพืชมีปริมาณร้อยละ 7 -10 ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ ยกเว้นไดอะตอม ซึ่งมีปริมาณไนโตรเจนน้อยกว่าสาหร่ายกลุ่มอื่น เนื่องจากซิลิกาเป็นธาตุที่สำคัญของผนังเซลล์ของไดอะตอม ในสาหร่ายที่ขาดธาตุไนโตรเจนจะสร้างสารประกอบคาร์บอน เช่น น้ำมัน หรือแป้ง มาทดแทนสาหร่ายสามารถใช้ไนโตรเจนทั้งในรูปของอนินทรีย์และอินทรีย์ อีกทั้งยังสามารถใช้ไนโตรเจนในรูปของแก๊สได้อีกด้วย แต่มีสาหร่ายบางชนิดเท่านั้น ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ไนโตรเจนรูปสารอนินทรีย์ได้แก่ เกลือ 3 ชนิด คือ ไนเตรต ไนไตรท์ และแอมโมเนีย ถ้าแหล่งไนโตรเจนอยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียเพียงอย่างเดียวจะทำให้ระดับของ pH ของอาหารลดต่ำลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นอันตรายต่อสาหร่าย ไนไตรเป็นสารละลายอนินทรีย์ซึ่งพืชหลายชนิดต้องการใช้ในปริมาณไม่เกิน 1 มิลลิโมลล์ ถ้ามากกว่านี้จะทำให้เกิดอันตราย ส่วนสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้แก่ ยูเรีย เอไมด์ (amide) กลูทามีน (glutamine) และแอสพาราจีน (asparagine) ซึ่งจัดว่าเป็นแหล่งไนโตรเจนชนิดดี ส่วนสารอินทรีย์ไนโตรเจนชนิดอื่นได้แก่ กรดอมิโน (โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไกลซีน เซรีนอะลามีน) กรดกลูทามิค และกรดแอสพาร์ติค นั้น สาหร่ายต้องการใช้เพื่อการเติบโต ซึ่งจะแตกต่างกันตามชนิดถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสงด้วยแสงและปริมาณของรงควัตถุ หรือสารสี (pigments) ของเซลล์ รวมทั้งทำให้กิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดลดลงด้วย

6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Payne and Rippingale (2000) ได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโต และปริมาณของกรดไขมันในโคพีพอด *Gladioferens imparipes* ที่เลี้ยงด้วยอาหาร 5 ชนิด คือ *Isochrysis galbana* , *Chaetoceros muelleri* , *Dunaliella teriolecta* , *Nannochloropsis oculata* และ ยีสต์ พบว่าเมื่อทำการเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* มีการเจริญเติบโตดีที่สุดพบรองลงมาคือ *Chaetoceros muelleri* , *Dunaliella teriolecta* , *Nannochloropsis oculata* และ ยีสต์ ตามลำดับ ปริมาณของกรดไขมัน Docosahexaaenoic acid (DHA; 22:6 n-3) มีปริมาณสูงสุดในโคพีพอดที่ทำการเลี้ยงด้วยสาหร่าย *I. galbana* (16.2 % ของกรดไขมันรวม) ส่วนกรดไขมัน eicosapentaenoic acid (EPA; 20:5 n-3) พบมากในโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *N. oculata*

Schipp et al (1999) ได้ทำการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงโคพีพอด *Acartia* spp. ซึ่งเป็นโคพีพอดเขตร้อน โคพีพอด Genus *Acartia* มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงใช้เป็นอาหารของลูกปลาวัยอ่อน golden snapper (*Lutjanus johnii*) และ mangrove jack (*Lutjanus argentimaculatus*) โดยทำการเพาะเลี้ยงโคพีพอดในถังเพาะเลี้ยงที่มีขนาด 100 และ 1000 ลิตร ที่ความหนาแน่นของดคพีพอด 1,000 ตัวต่อลิตร ให้สาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิดคือ *Rhodomonas* sp., *Tetraselmis* sp. และ *Isochrysis* sp. เป็นอาหารของโคพีพอด ซึ่งใช้สาหร่ายทั้งสามชนิดนี้รวมกันให้มีความหนาแน่นเซลล์ที่ 20,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในขณะเลี้ยงให้แสงสว่างด้วย ระดับความเค็มอยู่ในช่วง 30-34 ppt. และอุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส ในการทดลองได้ทำการเลี้ยงโคพีพอดเป็นระยะเวลา 6 เดือน และได้ทำการศึกษาเลี้ยงลูกปลา *L. johnii* ตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุ 21 วัน ด้วยโคพีพอด *Acartia* spp. จากการศึกษาพบว่าลูกปลามีอัตราการรอด 40 เปอร์เซ็นต์

Hernández Molejón and Alvarez-Lajonchère (2003) ได้ทำการทดลองเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่าย *N. oculata* (8-20X10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) พบว่าโคพีพอดมีความหนาแน่นของโคพีพอด 7 ตัวต่อมิลลิลิตร การทดลองที่ 2 เลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่ายรวมกัน 5 ชนิด คือ *Chaetoceros ceratosphorum*, *Chlorella* spp. , *Dunaliella teriolecta* และ *N. oculata* (2X10^6เซลล์ต่อมิลลิลิตร) พบว่าโคพีพอดมีความหนาแน่นของโคพีพอด 13 ตัวต่อมิลลิลิตร และในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดลองเลี้ยงลูกปลา *Eugerres brasilianus* (Brazilian mojara) ที่มีอายุ 2 วัน ด้วยโรติเฟอร์ที่มีความหนาแน่นเซลล์ 3-10 ตัวต่อมิลลิลิตร และโคพีพอดที่ความหนาแน่น 0.5 ตัวต่อมิลลิลิตร โดยทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 30วัน พบว่าลูกปลาที่ทำการเลี้ยงด้วยโรติเฟอร์มีอัตราการรอด 6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนลูกปลาที่ทำการเลี้ยงด้วยโคพีพอดมีอัตราการรอด 12.5 เปอร์เซ็นต์

Evjemo et al. (2003) ได้ทำการศึกษาปริมาณของ โปรตีน ไขมัน และกรดไขมันในโคพีพอดจำนวน 3 ชนิด คือ *Temora longicornis*, *Eurytemora* sp. และ *Calanus finmarchicus* พบว่า *T. longicornis* และ *Eurytemora* sp. มีปริมาณไขมัน 7 และ 14 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ ส่วนโคพีพอด *C. finmarchicus* ในระยะ I, II และ III พบปริมาณของไขมันอยู่ในช่วงระหว่าง 10 และ 19 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง แต่จะพบว่าปริมาณไขมันจะเพิ่มขึ้น 22-25 % เมื่อโคพีพอดเข้าสู่ระยะที่ IV, V และ ระยะตัวเต็มวัย โคพีพอด *T. longicornis* และ *Eurytemora* sp. พบกรดไขมัน DHA 26-42 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด, EPA 15-24 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมดและ Saturated fatty acid (16:0) 8-12 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ส่วนโคพีพอด *C. finmarchicus* พบ DHA 21-32.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด EPA 15-21 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมดและ 16:0 9-15 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด

Renaud, Parry และ Thinh (1994) ได้ศึกษาอิทธิพลของความเค็มที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิดคือ *Isochrysis* sp. *Nannochloropsis oculata* และ *Nitzschia* (flustulum) พบว่าแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด สามารถเจริญเติบโตในช่วงความเค็มที่กว้าง

Fabregas และ Herrero (1986) ได้ทำการศึกษาโดยทำการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชได้ในปริมาณมากแล้วใช้แพลงก์ตอนพืชผสมลงในอาหารปลาเพื่อใช้ทดแทนแร่ธาตุอาหารพบว่าแพลงก์ตอนพืชทะเลสามารถที่จะนำมาใช้ผสมในอาหารสัตว์น้ำเพื่อทดแทนในส่วนของแร่ธาตุที่สัตว์น้ำต้องการได้ดี

อุ่นจิต ปาติยเสวี(2536) ได้ทำการทดลองเลี้ยงลูกปลาการ์ตูนส้มขาวด้วยโรติเฟอร์ความหนาแน่น 5 – 6 ตัวต่อมิลลิลิตร พบว่า เป็นความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว เนื่องจากการมองเห็นเหยื่อของลูกปลายังไม่ดี และการว่ายน้ำยังช้ามาก และเมื่อลูกปลามีอายุ 7 – 8 วัน จะเริ่มเห็นแถบสีขาวที่บริเวณหัว และมีขนาดความยาวมาตรฐานเป็น 2 เท่าของลูกปลาแรกเกิด ช่วงนี้จะเริ่มให้อาร์ทีเมียที่เพาะออกมาใหม่ ๆ ซึ่งมีขนาดความยาวประมาณ 400 ไมโครเมตร (μm) การให้อาร์ทีเมียช่วงนี้สำคัญมาก เพราะถ้าให้มากทันที ลูกปลาจะกินมากเกินไป และอาจจะตายได้จึงควรเริ่มให้อาร์ทีเมียเพียงเล็กน้อยในวันแรก ๆ และค่อย ๆ เพิ่มมากขึ้น ในขณะเดียวกันก็ต้องลดความหนาแน่นของโรติเฟอร์ให้น้อยลงจนกระทั่งลูกปลามีอายุ 14 วัน จึงให้แต่อาร์ทีเมียเพียงชนิดเดียว

อุปกรณ์และวิธีทดลอง

1. สถานที่ในการทดลอง

ห้องปฏิบัติการแพลงก์ตอนพืช ห้องปฏิบัติการแพลงก์ตอนสัตว์ และห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ฝ่ายวิจัย สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโคพีพอด

2.2.1 เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน Kjeltec 1002

2.2.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (analytical balance) Alsep EU- 198 No. 700142

2.2.3 กระบอกตวง

2.2.4 ขวดน้ำกลั่น

2.2.5 ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

2.2.6 ที่ใส่หลอดย่อย (tibe stand)

2.2.7 Gas Chromatography (GC) บริษัทผู้ผลิต Hewlett Packard รุ่น HP 5890 series II

2.2.8 Analytical balance บริษัทผู้ผลิต A&D, Japan

2.2.9 Bio-mixer บริษัทผู้ผลิต Nissei, Japan

2.2.10 Hot air oven บริษัทผู้ผลิต Yamato, Japan

2.2.11 เครื่องปั่นแยกสารแบบควบคุมอุณหภูมิ บริษัทผู้ผลิต Tomy Seiko, Japan

2.2.12 เครื่องระเหยสาร บริษัทผู้ผลิต Buchi, Switzerland

2.2.13 ชุดสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extratior)

2.2.14 เครื่องย่อย (Digestor)

2.2.15 หลอดย่อย (Digestion Tube)

2.2.16 หลอดทดลองแบบมีฝาปิด (screw cap test tube)

2.2.17 คอลัมน์กรดไขมัน (FAME WAX)

2.2.18 Separated funnel

2.2.19 บีกเกอร์ขนาด 2000 มิลลิลิตร

2.2.20 เครื่อง HPLC WATERS Alliance 2695

2.2.11 คอลัมน์ AccQ•Tag column (dimensions 3.9 X 150 mm particle size 4 μm)

2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* และแพลงก์ตอนสัตว์ โรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*)

2.3.1 โหลแก้วขนาดบรรจุ 12 ลิตร

2.3.2 ขวดแก้วใสใช้เลี้ยงสาหร่ายขนาด 2000 มิลลิลิตร

2.3.3 สไลด์นับเซลล์ ชนิด Haemacytometer

2.3.4 ตัวดูดสารละลายอัตโนมัติ

2.3.5 กล้องจุลทรรศน์ OLYMPUS BHS - 112

2.3.6 ลูกนับ

2.3.7 ตู้กระจกขนาดบรรจุ 30 ลิตร

2.3.8 ถังไฟเบอร์ขนาดบรรจุ 200 และ 500 ลิตร

2.3.9 ชุดเป่าลม (แท่งแก้ว หัวทราย และสายท่อลม)

2.3.10 สไลด์นับเซลล์ชนิด Sedwick Rafter Cell

2.3.11 กระชอนขนาดตาถี่ 50 80 และ 100 μm

2.3.12 กล้องจุลทรรศน์ (Stereo microscope) NIKON SMZ-U Zoom 1 : 10

2.3.13 หม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ (autoclave) Hirayama manufacturing corporation model HV – 110

2.3 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาการเจริญเติบโต ของลูกปลาการ์ตูนดำแดง

2.4.1 ตู้กระจกขนาด 25 X 25 X 40 นิ้ว ความจุน้ำ 25 ลิตร

2.4.2 สไลด์นับเม็ดเลือดชนิด Haemacytometer

2.4.3 เครื่องวัดอุณหภูมิ (เทอร์โมมิเตอร์ชนิดกระเปาะแก้ว)

2.4.4 เครื่องวัดความเค็ม ATAGO Hand Refractometer S/Mill Model 8602

2.4.5 กล้องจุลทรรศน์ (Stereo microscope) NIKON SMZ-U Zoom 1 : 10

2.4.6 กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) OLYMPUS model CHS

2.4.7 เครื่องคอมพิวเตอร์และโปรแกรม Image – pro PLUS

2.4.8 ชุดให้ลม (หัวทราย สายท่อลม)

2.4.9 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (analytical balance) Alsep EU- 198 No. 700142

2.4.10 พู่กันขนาดเล็ก

2.4.11 บีกเกอร์

2.4.12 กระบอกตวง

2.4.13 กระชอนขนาดตาถี่ 50 80 และ 100 μm

2.5 สารเคมีที่ใช้ในการในการทดลอง

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต
Methanol, AR Grade	BDH, England
Chloroform, AR Grade	BDH, England
n-Hexane, AR Grade	Merck, Germany
Sulfuric acid, AR Grade	Merck, Germany
Butylated Hydroxytoluene (BHT), AR Grade	Sigma, USA.
Potassium chloride, AR Grade	Merck, Germany
Sodium chloride, AR Grade	Merck, Germany
Potassium hydrogen carbonate, AR Grade	Fluka, Switzerland
Sodium sulfate anhydrous, AR Grade	Merck, Germany
สารมาตรฐานกรดไขมัน PUFA No. 3 แบบผสม	Supelco, USA.
สารมาตรฐานเปรียบเทียบ (Reference material) Menhaden oil	Supelco, USA.
Petroleum ether 40 –60 $^{\circ}$c , AR grade	BDH, England
Boric acid, AR grade	Merck, Germany

Hydrochloric acid, AR grade grade Merck, Germany

Sulfuric acid, AR Grade Merck, Germany

Kjeltabs

Mix indicator (Bromogresol green+Methyl red)

Medium Guillard "f/2" ที่มีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน 6 ระดับ คือ

อาหารที่มีปริมาณไนโตรเจน 500 มิลลิโมล

อาหารที่มีปริมาณไนโตรเจน 1000 มิลลิโมล

อาหารที่มีปริมาณไนโตรเจน 1500 มิลลิโมล

อาหารที่มีปริมาณไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล

อาหารที่มีปริมาณไนโตรเจน 2500 มิลลิโมล

อาหารที่มีปริมาณไนโตรเจน 3000 มิลลิโมล

ในน้ำทะเล 1000 มิลลิลิตร

3. วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* เพื่อให้ได้ในปริมาณมากพอต่อการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอด

นำน้ำทะเลผ่านการกรองด้วยถุงกรองขนาดตาถี่ 50 ไมครอน มาปรับความเค็มให้ได้ในระดับความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ระดับความเป็น กรด – เบส เริ่มต้นที่ 7.8 ใส่ในขวดเพาะเลี้ยงสาหร่าย จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ (autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว หรือที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงทำการเติมอาหารเหลวสูตร Guillard "f/2" และ อาหารเหลวสูตร Guillard "f/2" ที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน 6 ระดับ ตามอัตราส่วนลงในขวดเพาะเลี้ยงสาหร่าย โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นที่ 2 X 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร นำขวดทดลองวางไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และทำการให้แสง 12 ชั่วโมง ไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง ที่ความเข้มแสง 3800-4000 ลักซ์ ให้อากาศโดยผ่านทางหลอดแก้ว ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ *Isochrysis galbana* ที่ระยะวันแรกของการเจริญเติบโตคงที่ แล้วจึงนำเอาสาหร่าย *I. galbana* ที่เลี้ยงในอาหารเหลวระดับแตกต่างกันไปทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารในกับโคพีพอด

3.2 การเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

ทำการเตรียมน้ำทะเลสำหรับเลี้ยงโคพีพอด ที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน กรองเอาตะกอนออกด้วยผ้ากรองที่มีตาถี่ 50 ไมครอน ใส่สาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลวสูตร Guillard "f/2" ที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน 6 ระดับ และชุดควบคุมการทดลอง ที่ระดับความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายในการเลี้ยงโคพีพอด 5 X 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และความหนาแน่นเซลล์ของโคพีพอดเริ่มเลี้ยงที่ 20-30 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดเป็นเวลา 10 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 27-29 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นจึงทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ก่อนเข้าสู่ขบวนการ freeze-dried เพื่อเป็นการเตรียมตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี

3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโคพีพอด ที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารเหลวสูตร Guillard "f/2" ที่มีปริมาณไนโตรเจนแตกต่างกัน

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของโคพีพอด ซึ่งทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารโดยมีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน 6 ระดับ และชุดควบคุมการทดลอง

3.4.1 การวิเคราะห์กรดไขมัน (ดัดแปลงจากวิธีของ Brigh&Dyer, 1990)

ขั้นตอนการสกัดตัวอย่าง

นำตัวอย่าง 0.20 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ใส่หลอดเซนติฟิวจ์แก้วขนาด 50 มิลลิลิตร เติม 10 มิลลิลิตร เมธทานอลที่ผสมด้วย BHT สกัดโดยใช้ Bio-mixer จากนั้นนำไปแยกส่วนโดยใช้เครื่องปั่นแยกสารแบบควบคุมอุณหภูมิความเร็ว 3000 รอบ/นาที นาน 10 นาที เก็บส่วนบนไว้ นำส่วนล่างสกัดต่อด้วยคลอโรฟอร์ม 20 มล.ที่ผสม BHT นำไปปั่นแยกส่วนเช่นเดียวกับขั้นตอนแรก เก็บสารละลายส่วนบนรวมกัน นำส่วนล่างมาสกัดต่อด้วยเมทานอล และคลอโรฟอร์ม (1:2) นำไปปั่นแยกส่วนเช่นเดียวกับขั้นตอนแรก เก็บสารละลายส่วนบนรวมกัน เติม 0.88% โปตัสเซียมคลอไรด์ ¼ ของสิ่งสกัด เติม เมทานอล+น้ำ (1:1) เขย่าตั้งให้แยกชั้น เก็บส่วนล่างใส่ในขวดระเหยสารที่อบและชั่งน้ำหนักไว้แล้ว เมื่อระเหยสารแห้งและเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจนแล้ว นำสารที่ได้ไปชั่งคำนวณเป็นน้ำหนักไขมัน

ขั้นตอนการทำ Methylation

-เติม 10 มล. 2 % กรดซัลฟูริคในเมทานอล ลงในสารที่ระเหยแห้ง จากนั้นนำไปใส่ Hot air oven อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 4 ชม.

- ตั้งทิ้งให้เย็น เติม 5%โซเดียมคลอไรด์ 5 มล.และเฮกเซน 5 มล. สกัดเก็บชั้นเฮกเซน ทำซ้ำอีกครั้งเก็บชั้นเฮกเซนรวมกัน

- เติม 2% โปตัสเซียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต 40 มล. เขย่าล้าง จากนั้นเก็บชั้นของเฮกเซน (ส่วนบน) กรองผ่านโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ นำสารที่ได้ระเหยแห้งและเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน เติมเฮกเซน 1 มล. นำไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ ต่อไป

การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมัน

การศึกษาหาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* และในตัวอย่างโรติเฟอร์ ครั้งนี้วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดไขมันจำนวน 18 ชนิด ได้แก่

C14:0	Myristic acid
C16:0	Palmitic acid
C16:1n7	Palmitoleic acid
C16:2n4	
C16:3n4	Stearidonic acid
C18:0	Stearic acid
C18:1n9	Oleic acid
C18:1n7	Cis – vaccenic acid
C18:2n6	Linoleic acid
C18:3n4	
C18:3n3	Linolenic acid
C18:4n3	Stearidonic acid
C20:1n9	Eicosenic acid
C20:4n6	Arachidonic acid
C20:4n3	Eicosatetraenoic acid
C20:5n3	Eicosapentaenoic acid (EPA)
C22:5n3	Docosapentaenoic acid (DPA)
C22:6n3	Docosahexaenoic acid (DHA)

- ในการวิเคราะห์กรดไขมันในตัวอย่างสาหร่ายจะเติม heneicosanoic acid (C21) เป็น internal standard เตรียมโดยชั่งสารมา 0.01 กรัม ละลายด้วยเฮกเซน ปรับปริมาตรเป็น 100 มล. เวลาใช้งานนำมา 1 มล. เติมลงในทุกตัวอย่างในขั้นตอนการทำ Methylation

การแยกและการตรวจวัด

สำหรับการวิเคราะห์หาชนิดของกรดไขมันในตัวอย่างสาหร่าย ใช้การเปรียบเทียบเวลาที่พีคของสารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์เทียบกับเวลาของสารมาตรฐานซึ่งทราบแล้วว่าแต่ละพีคเป็นสารมาตรฐานชนิดใด ส่วนการหาปริมาณของกรดไขมันในตัวอย่างสาหร่ายทำโดยใช้การเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของสารของตัวอย่างทั้งหมด ลบด้วยพื้นที่ใต้พีคของเฮกเซน พื้นที่ใต้พีคของ BHT และพื้นที่ใต้พีคของ internal standard จากนั้นนำไปคำนวณหาปริมาณของสารตัวอย่างที่ตรวจพบ

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ (Hewlett Packard 5890 series II)

คอลัมน์	Famewax
	ขนาด 30 m. x 0.25 mm. x 0.25 μm. (length x id x film thickness)
แก๊สเคลื่อนที่	แก๊สฮีเลียม อัตราการไหล 1.3 มล/นาที
อุณหภูมิเตาอบ	120 $^{\circ}$ C 0.5 min
	120° C ⟶ 195° C (5 min, 18° C/min)
	195° C ⟶ 205° C (7 min, 3° C/min)
	205° C ⟶ 220° C (10 min, 8° C/min)
อุณหภูมิช่องฉีดสาร	250° C
อุณหภูมิเครื่องตรวจวัด	250° C
เครื่องตรวจวัด	ชนิด Flame Ionizertion Detecter (FID)
ชนิดการฉีด	split 10:1
ปริมาตรที่ฉีด	1 μl

การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์กรดไขมัน

การทดสอบปริมาตรที่ฉีด

ได้ทำการทดสอบปริมาตรที่เหมาะสมในการฉีดสาร โดยเตรียมสารมาตรฐาน และนำไปฉีดเข้าเครื่องด้วยปริมาตรที่แตกต่างกันตั้งแต่ปริมาตร 0.5- 2.5 μl จากนั้นนำไปเขียนกราฟระหว่างปริมาตรที่ฉีดกับความเข้มข้นของสาร จะพบว่ากราฟเป็นเส้นตรงในช่วงปริมาตรที่ฉีด 0.5-1.5 μl หลังจากนั้นกราฟเริ่มไม่เป็นเส้นตรง แสดงว่าปริมาตรที่เหมาะสมในการฉีดอยู่ในช่วง 0.5-1.5 μl

การควบคุมคุณภาพข้อมูล (Data Control)

ทำการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดไขมันของสารมาตรฐานเปรียบเทียบ (Reference material) PUFA No.3 จาก Menhaden oil ตามขบวนการที่วิเคราะห์สารตัวอย่างได้ผลแสดงดังตาราง

ตารางที่2 การควบคุมคุณภาพข้อมูลของกรดไขมันจาก Menhaden oil (n=3)

ชนิดกรดไขมัน	Area Percent (%) สารมาตรฐานเปรียบเทียบ	Area Percent (%) จากการวิเคราะห์	% recovery
Myristic, C14:0	8.2	7.71	94.02
Palmitic, C16:0	15.4	15.53	100.84
Stearic, C18:0	2.8	2.96	105.71
Oleic, C18:1	6.8	7.19	105.73
Linalenic, C18:3n3	1.2	0.40	33.33
Stearidonic, C18:4n3	3.8	3.71	97.63
EPA, C20:5n3	15.9	15.7	98.74
7,10,13,16,19-docosapentaenoic, C22:5n3	2.3	2.21	96.09
DHA, C22:6n3	10.7	10.87	101.59
Tetracosenoic, C24:1	0.7	0.38	54.29

3.4.2 **การวิเคราะห์กรดอมิโน** (Waters AccQ,1993)

ในขั้นตอนนี้ได้ทำการวิเคราะห์หากรดอมิโนโดย Central Instrument Facility ของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ ฯ

นำตัวอย่างที่ทำการเตรียมไว้เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ในปริมาณ 100 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดวิเคราะห์ แล้วใส่ สาร 6 N HCl ในปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดวิเคราะห์ตัวอย่าง ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการย้ายตัวอย่างมาใส่ใน volumetric flask 100 มิลลิลิตร แล้วจึงทำการเติม Internal standard แล้วจึงทำการเจือจางตัวอย่างด้วย น้ำกลั่น deionized นำสารละลายที่ได้มา 10 µl ผสมกับ AccQ• fluor reagent หลังจากนั้นทำการกรองตัวอย่างด้วย 0.045 µm acid-compatible filter นำไปใส่ใน heating block ที่อุณหภูมิ 55° C เป็นเวลา 10 นาที

การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดอะมิโน

การศึกษาหาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* และในตัวอย่างโรติเฟอร์ ครั้งนี้วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดไขมันจำนวน 15 ชนิด ได้แก่

ชื่อเต็ม	ชื่อย่อแบบสามตัวอักษร	ชื่อย่อแบบหนึ่งตัวอักษร
Aspartic acid	Asp	D
Serine	Ser	S
Glutamic acid	Glu	E
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Arginine	Arg	R
Threonine	Thr	T
Alanine	Ala	A
Proline	Pro	P
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

ชื่อเต็ม	ชื่อย่อแบบสามตัวอักษร	ชื่อย่อแบบหนึ่งตัวอักษร
Lysine	Lys	K
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Phenylalanine	Phe	F

3.4.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการ

การวิเคราะห์หาไนโตรเจน และโปรตีน (Kjeldahl Method)

1. การย่อยสลาย (Digestion)

1.1 ชั่งตัวอย่างแห้งประมาณ 0.50-1.00 กรัม ใส่ใน Kjeldahl Flask

1.2 เติม Kjeltab 2 เม็ด

1.3 เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 12 มิลลิลิตร

1.4 นำ Kjeldahl Flask ไปตั้งบนเตาย่อยเริ่มจากไฟอ่อน ๆ ก่อน (ประมาณ 420 องศาเซลเซียส) ย่อยจนได้สารละลายใส ย่อยต่ออีก 1 ชั่วโมง เพื่อให้แน่ใจว่าปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้ว ถ้าที่คอของ Kjeldahl Flask มีจุดดำ ๆ ให้ตั้ง Kjeldahl Flask จนเย็นล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วย่อยต่อ

2. การกลั่น

2.1 นำตัวอย่างที่ย่อยเสร็จตั้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำ 50 มิลลิลิตร

2.2 ต่อ Kjeldahl Flask เข้าเครื่องกลั่นให้ปลายด้านหนึ่งของ condenser จุ่มใน 4 เปอร์เซนต์ กรดบอริค 25 มิลลิลิตร

2.3 เติม 40 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ลงใน Kjeldahl Flask ปริมาตร 70 - 100 มิลลิลิตร

2.4 กลั่นจนได้แอมโมเนียมออกมาประมาณ 150 มิลลิลิตร เก็บในกรดบอริค

3. การไตเตรท (Titration)

นำตัวอย่างที่กลั่นได้ Titrate กับสารละลายมาตรฐาน 0.1 N กรดไฮโดรครอริค โดยใช้ indicator การตรวจสอบค่า blank ทำเช่นเดียวกันการคำนวณ เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน

$$= \frac{(\text{ml. HCl - ml. Bank}) \times \text{normality of acid} \times 0.014 \times 100}{\text{weight of sample (g)}}$$

เปอร์เซ็นต์โปรตีน = เปอร์เซนต์ ไนโตรเจน x 6.25

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

1. นำขวดก้นกลมมอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นตั้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนัก 1.00 กรัม ใส่ในทิมเบิลทำการสกัดไขมัน โดยวิธี Soxhlet ใช้ปิโตรเลียมอีเธอร์ เป็นตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 40 – 60 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน 36 ชั่วโมง

3. ระเหยปิโตรเลียมอีเธอร์ ออกจากขวดก้นกลมจนเกือบหมด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ตั้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักขวดก้นกลมเมื่อนำน้ำหนักขวดก้นกลมที่มีไขมันลบด้วยน้ำหนักขวดก้นกลมแห้งได้น้ำหนักไขมัน นำมาคำนวณเป็นเปอร์เซนต์ได้ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}}$$

การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย

1. นำตัวอย่างที่สกัดไขมันออกแล้ว ใส่ขวดชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติม 1.25เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริก ปริมาตร 300 มิลลิลิตร แล้วต้มให้เดือด 30 นาที รักษาปริมาตรให้คงที

2. กรองส่วนที่ต้มด้วยผ้า plankton ล้างด้วยน้ำเดือดจนกากหมด

3. เทส่วนที่กรองได้ลงในขวดชมพู่ใบเดิม และเติม 1.25 เปอร์เซนต์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดนาน 30 นาที รักษาปริมาตรให้คงที่

4. กรองส่วนที่ต้มด้วยผ้า plankton ล้างด้วยน้ำเดือดจนด่างหมด

5. ถ่ายตะกอนลงในถ้วยกระเบื้องนำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส ทำการชั่งน้ำหนัก และนำเอาถ้วยกระเบื้องไปอบอีก แล้วทำการชั่งหาน้ำหนักจนกว่าจะได้น้ำหนักคงที่

6. นำถ้วยกระเบื้องไปเผาที่ 550 – 600 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 ชั่วโมง ตั้งไว้ให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่หายไปคือปริมาณเยื่อใย

7. วิธีคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เยื่อใย} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}}$$

การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

1. อบถ้วยกระเบื้องที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นำไปชั่งจนได้น้ำหนักคงที่

2. ชั่งสารตัวอย่างน้ำหนักประมาณ 1 กรัม จากนั้นนำไปเผาด้วยเตาเผาอุณหภูมิสูง 550 องศาเซลเซียล นาน 6 ชั่วโมง ตั้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักสารที่เหลือคือน้ำหนักเถ้า

3. วิธีคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักที่เหลือ} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}}$$

การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตคำนวณได้จากสูตร เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต

= 100 - เปอร์เซ็นต์โปรตีน - เปอร์เซ็นต์ไขมัน - เปอร์เซ็นต์เยื่อใย - เปอร์เซ็นต์เถ้า

3.4.4 การศึกษาการเจริญเติบโตของลูกปลาการ์ตูนดำแดงวัยอ่อน

ทำการเลี้ยงลูกปลาการ์ตูนวัยอ่อนดำแดงอายุ 21 วันด้วยโคพีพอด โดยในการทดลองจะทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวสูตร Guillard “f/2” ที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน 6 ระดับ และชุดที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Guillard “f/2” ปกติเป็นชุดควบคุมการศึกษา ลูกปลาที่ใช้ในการทดลองเป็นลูกปลาที่เกิดจากพ่อ-แม่พันธุ์ปลาการ์ตูนดำแดง ของหน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ฝ่ายวิจัย สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา โดย พ่อ-แม่พันธุ์ปลาจะวางไข่บนแผ่นกระเบื้อง เมื่อครบ 7 วัน ลูกปลาจะฟักออกจากไข่ ในคืนวันที่ 7 แล้วจึงทำการให้อาหารลูกปลาโดยใช้โคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน 2500 มิลลิโมล เป็นอาหารลูกปลาการ์ตูนดำแดงโดยทำการเลี้ยงลูกปลาเป็นระยะเวลา 21 วัน เมื่อลูกปลามีอายุครบ 21 วันแล้วจึงเริ่มทำการทดลองเลี้ยงลูกปลาการ์ตูนดำแดงด้วยโคพีพอดซึ่งทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหาร

ทำการเตรียมตู้ทดลองโดยใส่น้ำทะเลที่ผ่านการกรองเอาตะกอนออก ที่ความเค็ม 32 ส่วนในพันส่วน ในปริมาตรน้ำ 20 ลิตร ให้อากาศโดยผ่านทางหัวทรายเพื่อเป็นการเพิ่มออกซิเจนภายในน้ำขณะที่ทำการทดลอง ทำการสุ่มลูกปลามาใส่ในตู้ทดลองตู้ละ 20 ตัว จำนวน 24 ตู้ ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำโดยการดูดเอาตะกอนก้นตู้ออกทุกวันในปริมาณ 40 – 50 เปอร์เซ็นต์ วันละ 1 ครั้ง โดยใช้สายยางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร

ในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดเป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมง ด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวสูตร Guillard “f/2” ที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน 6 ระดับ และชุดที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Guillard “f/2” ปกติเป็นชุดควบคุมการศึกษา ในการทดลองครั้งนี้ได้เพิ่มชุดควบคุมการทดลองอีก 1 ชุด คือการเลี้ยงปลาการ์ตูนด้วยอาร์ทีเมียอายุ 1 วัน ก่อนที่จะนำเอาโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยชุดทดลองที่แตกต่างกันนี้มาเลี้ยงลูกปลาที่ใช้ในการทดลอง จะทำการใส่สาหร่าย *Isochrysis galbana* ที่เลี้ยงในแต่ละชุดทดลองใส่ลงในแต่ละตู้ของชุดทดลองที่ระดับความหนาแน่นของสาหร่าย 7×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ความหนาแน่นของโคพีพอด 0.5 ตัวต่อมิลลิลิตร และอาร์ทีเมียที่ความหนาแน่น 0.125 ตัวต่อมิลลิลิตรหรือ 125 ตัวต่อลิตร โดยทำการให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ในเวลา 9.00 น. และ 15.00 น. ของทุกวันซึ่งก่อนที่ทำการให้อาหารลูกปลาจะต้องทำการตรวจดูอาหารที่เหลืออยู่ในตู้ทดลองก่อนทุกครั้งในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการเลี้ยงลูกปลาเป็นระยะเวลา 30 วัน หลังจากนั้นจึงทำการ วัดขนาดลูกปลา โดยวัดความยาว และน้ำหนักของลูกปลา

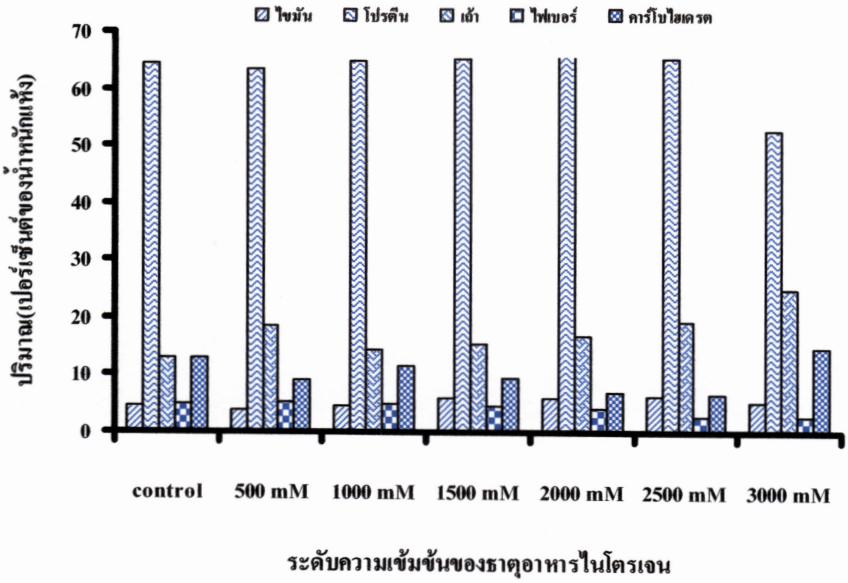
ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

1. ผลการศึกษาคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลวที่มีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโคพีพอด ที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน 6 ระดับ คือ 500, 1000, 1500, 2000 , 2500, 3000 มิลลิโมล และเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลว สูตร Guillard "f/2" เป็นชุดควบคุมการทดลอง พบว่าโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล มีปริมาณโปรตีนสูงสุด (65.74 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาจะเป็นโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500, 1500, 1000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 500 และ 3000 มิลลิโมล ตามลำดับ (65.27, 65.01, 64.67, 64.53, 63.23 และ 52.48 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$ ตารางภาคผนวก ข ที่1) การเพิ่มคุณค่าทางอาหารในโคพีพอดมีปริมาณของไขมันสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500 มิลลิโมล (6.22 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาจะเป็นโคพีพอด ที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2000, 1500, 3000, 1000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (5.94, 5.82, 5.35, 4.68, 4.53 และ 4.02 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$ ตารางภาคผนวก ข ที่ 1)

คาร์โบไฮเดรตพบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000 มิลลิโมล (14.59 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ ชุดควบคุม, 1000, 1500, 500,2000 และ 2500 มิลลิโมล ตามลำดับ (13.05, 11.57, 9.41, 8.97, 7.15 และ 6.48 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$ตารางภาคผนวก ข ที่1) ในการศึกษาหาปริมาณของเยื่อใยในโคพีพอด พบว่ามีปริมาณของเยื่อใยสูงสุด เมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มี

ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 500 มิลลิโมล (5.11 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงจะเป็นโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ชุดควบคุม, 1000, 1500, 2000, 2500 และ 3000 มิลลิโมล ตามลำดับ (4.81, 4.74, 4.50, 4.31, 2.86 และ 2.64 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$ ตารางภาคผนวก ที่) โคพีพอดมีปริมาณเถ้าสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000 มิลลิโมล (24.94 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงจะเป็นโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500, 500, 2000, 1500, 1000 และ ชุดควบคุม ตามลำดับ (19.17, 18.67, 16.86, 15.26, 14.34 และ 13.08 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง, ภาพที่ 1 และ ตารางที่ 3) เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$ ตารางภาคผนวก ข ที่ 1)



ภาพที่1 ปริมาณ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า และ เยื่อใย ในโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

ตาราง3 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย และเถ้า ในโคพีพอด ที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ระยะ earlystationary ซึ่งเจริญเติบโตในเหลวที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

ชนิดของสารอาหาร	ชุดทดลอง						
	ชุดควบคุม	ชุด 500 มิลลิโมล	ชุด 1000 มิลลิโมล	ชุด 1500 มิลลิโมล	ชุด 2000 มิลลิโมล	ชุด 2500 มิลลิโมล	ชุด 3000 มิลลิโมล
โปรตีน	64.53	63.23	64.67	65.01	65.74	65.27	52.48
ไขมัน	4.53	4.02	4.68	5.82	5.94	6.22	5.35
คาร์โบไฮเดรต	13.05	8.97	11.57	9.41	7.15	6.48	14.59
เยื่อใย	4.81	5.11	4.74	4.50	4.31	2.86	2.64
เถ้า	13.08	18.67	14.34	15.26	16.86	19.17	24.94

2. การศึกษาชนิดและปริมาณของกรดไขมันในโคพีพอด ซึ่งทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวมีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

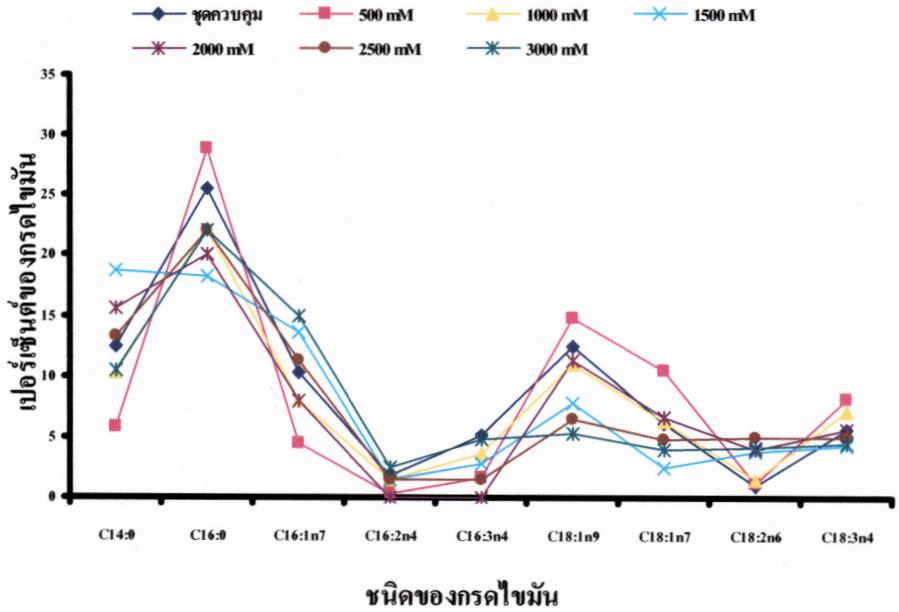
ทำการศึกษาหาชนิด และปริมาณของกรดไขมันในโคพีพอด ที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ในระยะวันแรกของการเจริญเติบโตคงที่ (earlystationary phase) ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความแตกต่างของธาตุอาหารไนโตรเจน คือ ที่ระดับความเข้มข้นธาตุอาหารไนโตรเจน 500, 1000, 1500, 2000, 2500 และ 3000 มิลลิโมล โดยพบกรดไขมันในโรติเฟอร์ จำนวน 16 ชนิด คือ C 14:0, C16:0, C16:1n7, C16:2n4, C16:3n4, C18:1n9, C18:1n7, C18:2n6, C18:3n4, C18:4n3, C20:1n9, C20:4n6, C20:4n3, C20:5n3 , C22:5n3 และ C22:6n3

จากการศึกษาพบกรดไขมัน C14:0 มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 1500 มิลลิโมล (18.73 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2000, 2500 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 3000, 1000, และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (15.65, 13.19, 12.39, 10.37, 10.36 และ 5.76 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน)

กรดไขมัน C16:0 มีปริมาณสูงสุดในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 500 มิลลิโมล (28.86 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) พบรองลงมาพบในระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนที่ ชุดควบคุม, 1000, 3000, 2500, 2000 และ 1500 มิลลิโมล ตามลำดับ (25.58, 22.17, 22.12, 22.03, 20.11 และ 18.26 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมัน C16:1n7 มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000 มิลลิโมล (14.87 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 1500, 2500 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 2000, 1000 และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (13.67, 11.30, 10.32, 8.00, 7.95 และ 4.41 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน)

กรดไขมัน C16:2n4 มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000 มิลลิโมล (2.47 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ชุดควบคุม, 2500, 1000, 1500 และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (1.87, 1.56, 1.52, 1.47 และ 0.32 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) ส่วนในชุดทดลอง 2000 มิลลิโมล ไม่พบกรดไขมันชนิดนี้ กรดไขมัน C16:3n4 พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้โคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ชุดควบคุมการทดลอง (5.11 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000, 1000, 1500, 500 และ 2500 มิลลิโมล ตามลำดับ (4.73, 3.64, 2.89, 1.58 และ 1.56 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล ไม่พบกรดไขมันชนิดนี้ กรดไขมัน C18:1n9 มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 500 มิลลิโมล (14.81 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ชุดควบคุม, 2000, 1000, 1500, 2500 และ 3000 มิลลิโมล ตามลำดับ (12.48, 11.21, 10.93, 7.74, 6.41 และ 5.37 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมัน C18:1n7 มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 500 มิลลิโมล (10.45 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2000, 1000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 2500, 3000 และ 1500 มิลลิโมล ตามลำดับ (6.61, 6.36, 6.10, 4.84 และ 2.55

เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมันC18:2n6 มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500 มิลลิโมล (4.90 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000, 2000, 1500, 1000, 500 มิลลิโมล และ ชุดควบคุม ตามลำดับ (4.09, 3.92, 3.78, 1.46, 1.19 และ 1.07 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมันC18:3n4 มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 500 มิลลิโมล (8.15 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 1000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 2000, 2500, 3000 และ 1500 มิลลิโมล (7.10, 5.68, 5.60, 5.04, 4.45 และ 4.32 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน,ภาพที่ 2 , ตารางที่ 4)



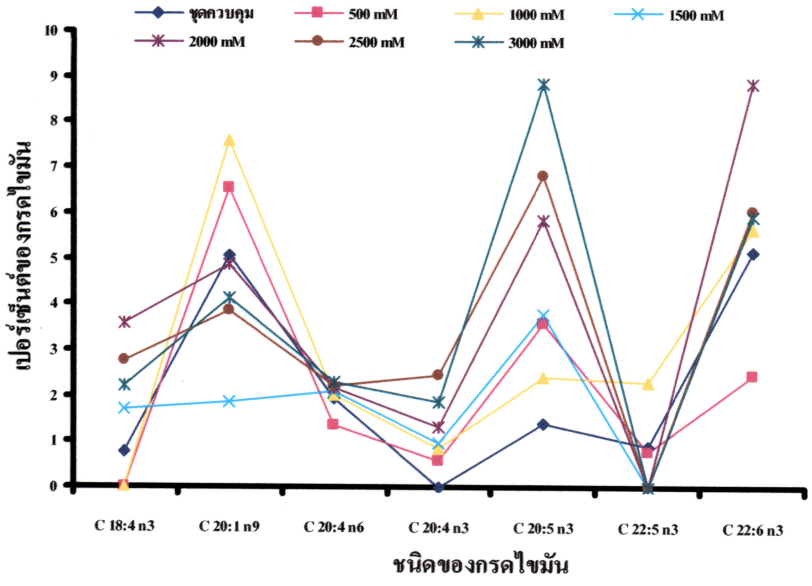
ภาพที่2 กรดไขมันในโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

กรดไขมัน C18:3n3 พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้โคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว 2000 มิลลิโมล (3.59 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500, 3000 และ 1500 มิลลิโมล ตามลำดับ (2.77, 2.22 และ 1.70 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) ส่วนในชุดทดลอง ควบคุมการทดลอง 500 และ 1000 มิลลิโมล ไม่พบกรดไขมันชนิดนี้ กรดไขมัน C20:1n9 มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 1000 มิลลิโมล (7.58 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 500 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 2000, 3000, 2500 และ 1500 มิลลิโมล ตามลำดับ (6.53, 5.07, 4.85, 4.14, 3.86 และ 1.88 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน)

กรดไขมัน C20:4n6 พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้โคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000 มิลลิโมล (2.82 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500, 2000, 1500, 1000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (2.21, 2.18, 2.12, 2.01, 1.95 และ 1.35 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมัน C20:4n3 มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500 มิลลิโมล (2.46 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000, 2000, 1500, 1000 มิลลิโมล ชุดควบคุม และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (1.86, 1.32, 0.97, 0.84, 0.78 และ 0.60 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน)

กรดไขมัน C20:5n3 พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้โคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000 มิลลิโมล (8.82 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500, 2000, 1500, 1000 มิลลิโมล และ ชุดควบคุม ตามลำดับ(6.81, 5.83, 3.78, 3.59, 2.43 และ 1.41 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมัน C22:5n3 มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหาร

เหลว ที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 1000 มิลลิโมล (2.31 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ชุดควบคุม และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (0.89 และ 0.79 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) ส่วนในชุดทดลอง 1500, 2000, 2500 และ 3000 มิลลิโมล ไม่พบกรดไขมันชนิดนี้ กรดไขมัน C22:6n3 พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้โคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล (8.85 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500, 3000, 1500, 1000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (6.04, 5.92, 5.90, 5.64, 5.15 และ 2.46 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน, ภาพที่ 3) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ากรดไขมันในโรติเฟอร์แต่ละชุดทดลองไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ($P \geq 0.05$,ตารางภาคผนวก ข ที่ 2)



ภาพที่3 กรดไขมันในโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

ตารางที่4 แสดงองค์ประกอบชนิดและปริมาณกรดไขมันในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ระยะ earlystationary ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

ชนิดกรดไขมัน	องค์ประกอบกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์) ในกรดไขมันทั้งหมด						
	ชุดควบคุม	ชุด 500 มิลลิโมล	ชุด 1000 มิลลิโมล	ชุด 1500 มิลลิโมล	ชุด 2000 มิลลิโมล	ชุด 2500 มิลลิโมล	ชุด 3000 มิลลิโมล
C 14 : 0	12.39	5.76	10.36	18.73	15.65	13.19	10.37
C 16 : 0	25.58	28.86	22.17	18.26	20.11	22.03	22.12
C 16 : 1 n7	10.32	4.41	7.95	13.67	8.00	11.30	14.87
C 16 : 2 n4	1.87	0.32	1.52	1.47	Nd	1.56	2.47
C 16 : 3 n4	5.11	1.58	3.64	2.89	Nd	1.56	4.73
C 18 : 1 n9	12.48	14.81	10.93	7.74	11.21	6.41	5.37
C 18 : 1 n7	6.10	10.45	6.36	2.55	6.61	4.84	4.01
C 18 : 2 n6	1.07	1.19	1.46	3.78	3.92	4.90	4.09
C 18 : 3 n4	5.68	8.15	7.10	4.32	5.60	5.04	4.45
C 18 : 4 n3	Nd	Nd	Nd	1.70	3.59	2.77	2.22
C 20 : 1 n9	5.07	6.53	7.58	1.88	4.85	3.86	4.14
C 20 : 4 n6	1.95	1.35	2.01	2.12	2.18	2.21	2.28
C 20 : 4 n3	0.78	0.60	0.84	0.97	1.32	2.46	1.86
C 20 : 5 n3	1.41	3.59	2.43	3.78	5.83	6.81	8.82
C 22 : 5 n3	0.89	0.79	2.31	Nd	Nd	Nd	Nd
C 22 : 6 n3	5.15	2.46	5.64	5.90	8.85	6.04	5.92
Total	95.85	90.85	92.30	89.76	97.72	94.98	97.72
SFA	37.97	34.62	32.53	36.99	35.76	35.22	32.49
MUFA	33.97	36.20	32.82	25.84	30.67	26.41	28.39
PUFA	26.91	20.03	26.95	26.93	31.29	33.35	36.84
n-3 PUFA	8.23	7.44	11.22	12.35	21.77	20.29	21.10
HUFA	15.25	15.32	20.81	14.65	23.03	21.38	23.02
n-3 HUFA	11.23	7.44	11.22	10.65	16.00	15.31	16.60

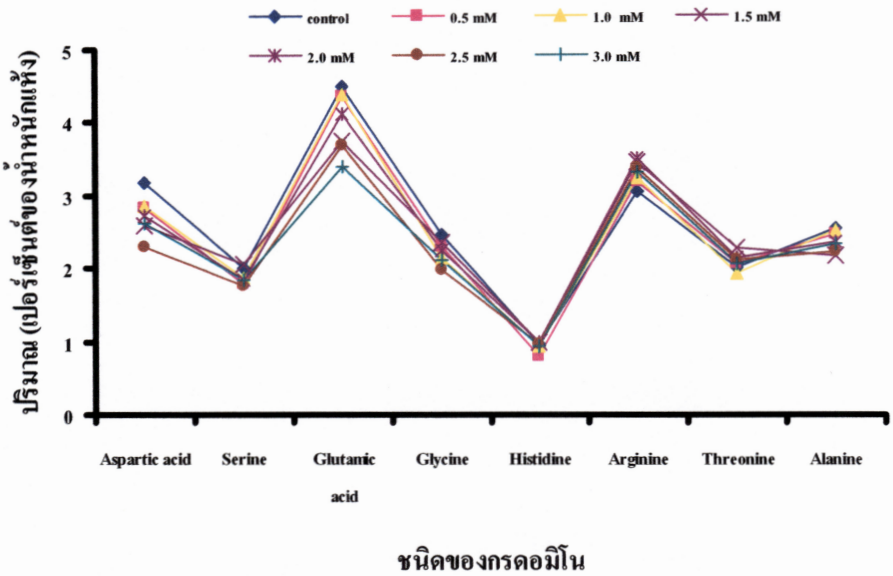
3. การศึกษาหาปริมาณของกรดอมิโนในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหาร ไนโตรเจนแตกต่างกัน

ทำการศึกษาหาปริมาณของกรดอมิโนในโคพีพอด ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้โคพีพอดโดยใช้ สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ในระยะวันแรกของการเจริญเติบโตคงที่ (earlystationary phase) ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน คือ ที่ระดับความเข้มข้นธาตุอาหารไนโตรเจน 500, 1000, 1500, 2000, 2500 และ 3000 มิลลิโมล โดยใช้สาหร่าย *Isochrysis* galbana ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลวสูตร Guillard "f/2" เป็นชุดควบคุมการทดลอง พบกรดอมิโนในโคพีพอด จำนวน 15 ชนิด คือ Asparic acid, Serine, Glutamic acid, Glycine, Histidine, Arginine, Threonine, Alanine, Proline, Tyrosine, Valine, Lysine, Isoleucine, Leucine และ Phenylalanine จากการศึกษาพบว่ากรดอมิโน Asparic acid มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวชุดควบคุม (3.19 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 1000, 500, 2000, 3000, 1500 และ 2500 มิลลิโมล ตามลำดับ (2.85, 2.84, 2.72, 2.61, 2.60 และ 2.31 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง)

กรดอมิโน Serine มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน 1500 มิลลิโมล (2.05 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ชุดควบคุม, 1000, 3000, 2000, 500 และ 2500 มิลลิโมล ตามลำดับ (2.00, 1.87, 1.85, 1.84, 1.79 และ 1.77 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) กรดอมิโน Glutamic acid พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวชุดควบคุม (4.48 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 1000, 500, 2000, 1500, 2500 และ 3000 มิลลิโมล ตามลำดับ (4.38, 4.37, 4.13, 3.74, 3.68 และ 3.39 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง)

กรดอมิโน Glycine มีปริมาณสูงเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ชุดควบคุมการทดลอง (2.45 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) พบรองลงมาในโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้ *Isochrysis galbana* ที่มีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับธาตุอาหารไนโตรเจนที่ 1500, 500, 2000, 1000, 3000 และ 2500 มิลลิโมล ตามลำดับ (2.34, 2.30, 2.25, 2.15, 2.10 และ 1.99 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) กรดอมิโน Histidine พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล (0.99 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 1500, 2500 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 1000, 3000 และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (0.98, 0.96, 0.95, 0.94, 0.93 และ 0.81 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) กรดอมิโน Arginine มีปริมาณสูงเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล (3.51 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) พบรองลงมาในโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้ *Isochrysis galbana* ที่มีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับธาตุอาหารไนโตรเจนที่ 1500, 2000, 3000, 1000, 500 มิลลิโมล และ ชุดควบคุมการทดลอง ตามลำดับ (3.46, 3.38, 3.31, 3.24, 3.19 และ 3.05 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง)

กรดอมิโน Threonine พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 1500 มิลลิโมล (2.28 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2000, 2500, 500, 3000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม และ 1000 มิลลิโมล ตามลำดับ (2.15, 2.10, 2.06, 2.05, 2.01 และ 1.92 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) กรดอมิโน Alanine พบในปริมาณสูงเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหาร ชุดควบคุม (2.55 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาพบในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ในชุดที่ทำการเพิ่มธาตุอาหารไนโตรเจน 1000, 500, 2000, 3000, 2500 และ 1500 มิลลิโมล (2.52, 2.47, 2.34, 2.33, 2.22 และ 2.17 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ภาพที่ 4



ภาพที่ 4 กรดอมิโนในโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

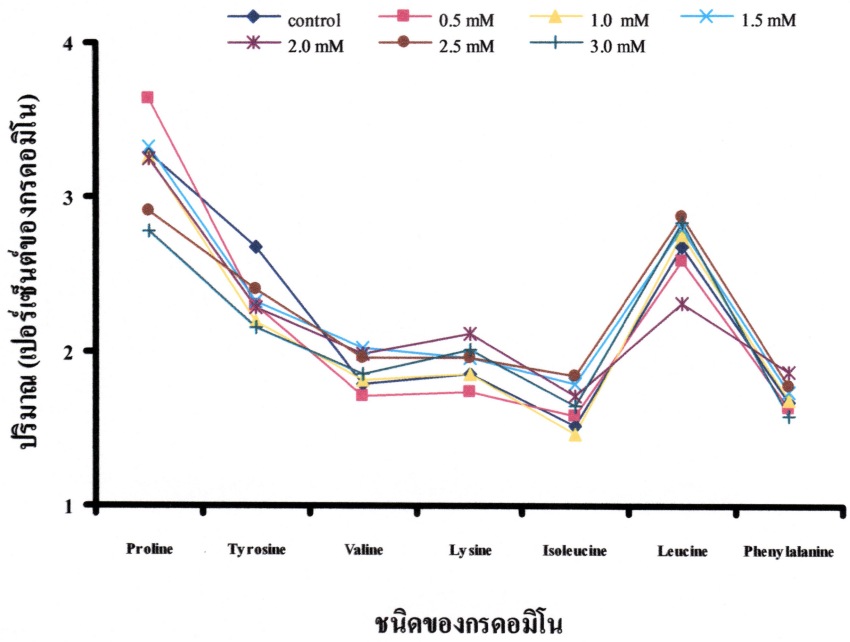
กรดอมิโน Proline มีปริมาณสูงเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน 500 มิลลิโมล (3.64 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) พบรองลงมาในโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้ *Isochrysis galbana* ที่มีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับธาตุอาหารไนโตรเจนที่ 1500 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 1500, 1000, 2000, 2500 และ 3000 มิลลิโมล ตามลำดับ (3.32, 3.28, 3.29, 3.25, 2.91 และ 2.78 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) กรดอมิโน Tyrosine พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ชุดควบคุม (2.68 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500, 1000, 500, 2000, 1000 และ 3000 มิลลิโมล ตามลำดับ (2.40, 2.32, 2.30, 2.28, 2.20 และ 2.15 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง)

กรดอมิโน Valine พบในปริมาณสูงเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน 1500 มิลลิโมล (2.03 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาพบในระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนที่ 2000, 2500, 3000, 1000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม และ 500 มิลลิโมล (1.99, 1.96, 1.86, 1.82, 1.79 และ 1.72 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) กรดอมิโน Lysine พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล (2.12 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000, 2500, 1500, 1000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (2.01, 1.96, 1.96, 1.86, 1.86 และ 1.74 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง)

กรดอมิโน Isoleucine พบในปริมาณสูงเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่ระดับธาตุอาหารไนโตรเจนที่ 2500 มิลลิโมล (1.85 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาพบในระดับความเข้นข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนที่ 1500, 2000, 3000, 500 มิลลิโมล, ชุดควบคุม และ 1000 มิลลิโมล (1.79, 1.72, 1.65, 1.58, 1.52 และ 1.47 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) กรดอมิโน Leucine พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500 มิลลิโมล (2.87 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000, 1500, 1000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 500 และ 2000 มิลลิโมล ตามลำดับ (2.83, 2.79, 2.75, 2.68, 2.59 และ 2.31 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง)

กรดอมิโน Phenylalanine พบในปริมาณสูงเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวโดยมีความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนที่ 2000 มิลลิโมล (2.875 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500, 1500, 1000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 500 และ 3000 มิลลิโมล ตามลำดับ (1.78, 1.74, 1.69, 1.67, 1.64 และ 1.59 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ภาพที่ 5 ตารางที่ 5

จากการศึกษาทางสถิติของปริมาณกรดอมิโนในโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \geq 0.05$,ตารางภาคผนวก ข ที่ 2) ส่วนกรดอมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) พบในโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีระดับธาตุอาหารไนโตรเจน 1500 มิลลิโมล (15.00 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีปริมาณของกรดอมิโนที่จำเป็นสูงกว่าชุดการทดลองอีก 6 ชุดการทดลอง



ภาพที่5 กรดอมิโนในโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

ตารางที่5 แสดงองค์ประกอบชนิดและปริมาณกรดอมิโนในโคพีพอด ที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ระยะ earlystationary ซึ่งเจริญเติบโตในเหลวที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

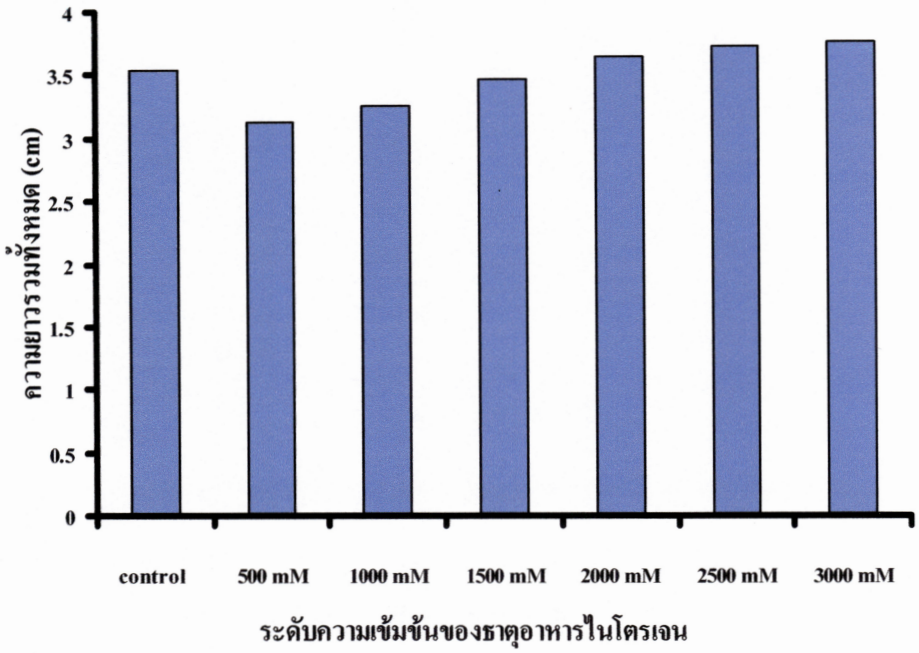
ชนิดของกรดอมิโน	องค์ประกอบกรดอมิโน (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง)						
	ชุดควบคุม	ชุด 500 มิลลิโมล	ชุด 1000 มิลลิโมล	ชุด 1500 มิลลิโมล	ชุด 2000 มิลลิโมล	ชุด 2500 มิลลิโมล	ชุด 3000 มิลลิโมล
Aspartic acid	3.19	2.84	2.85	2.60	2.72	2.31	2.61
Serine	2.00	1.79	1.87	2.05	1.84	1.77	1.85
Glutamic acid	4.48	4.37	4.38	3.74	4.13	3.68	3.39
Glycine	2.45	2.30	2.15	2.34	2.25	1.99	2.10
Histidine	0.95	0.81	0.94	0.98	0.99	0.96	0.93
Arginine	3.05	3.19	3.24	3.46	3.51	3.38	3.31
Threonine	2.01	2.06	1.92	2.28	2.15	2.10	2.05
Alanine	2.55	2.47	2.52	2.17	2.34	2.22	2.33
Proline	3.28	3.64	3.26	3.32	3.25	2.91	2.78
Tyrosine	2.68	2.30	2.20	2.32	2.28	2.40	2.15
Valine	1.79	1.72	1.82	2.03	1.99	1.96	1.86
Lysine	1.86	1.74	1.86	1.96	2.12	1.96	2.01
Isoleucine	1.52	1.58	1.47	1.79	1.72	1.85	1.65
Leucine	2.68	2.59	2.75	2.79	2.31	2.87	2.83
Phenylalanine	1.67	1.64	1.69	1.74	1.87	1.78	1.59
Total	**36.16**	**35.04**	**34.92**	**35.57**	**35.47**	**34.14**	**33.44**
กรดอมิโนที่จำเป็น	**13.74**	**13.61**	**13.87**	**15.00**	**14.67**	**14.90**	**14.37**

3. ศึกษาการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกปลาการ์ตูนดำแดง

จากการศึกษาการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกปลาการ์ตูนดำแดง ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้โคพีพอดเป็นอาหารของลูกปลา โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ลูกปลาที่มีอายุ 3 สัปดาห์ (ความยาวรวมทั้งหมด 2.14 เซนติเมตร ความยาวมาตรฐาน 1.77 เซนติเมตรและน้ำหนัก 11.60 มิลลิกรัม) ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 30 วัน โดยทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ระยะ earylystation ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน 6 ระดับ โดยมีสาหร่ายเซลล์ เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลว สูตร Guillard "f/2" เป็นชุดควบคุมการทดลอง

3.1 ความยาวรวมทั้งหมด (Total length)

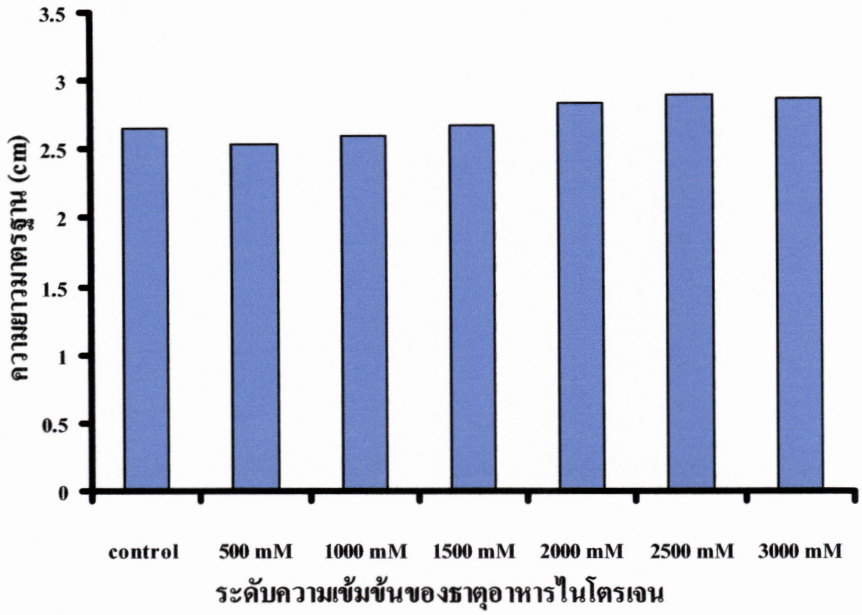
จากการศึกษาพบว่าลูกปลาการ์ตูนดำแดงมีความยาวรวมทั้งหมดสูงสุดคือ ลูกปลาที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 3000 มิลลิโมล (3.75 เซนติเมตร) รองลงมาคือ ลูกปลาการ์ตูนดำแดงที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดในชุดการทดลอง 2500, 2000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม, 1500, 1000 และ 500 มิลลิโมล ตามลำดับ (3.71, 3.64, 3.54, 3.46, 3.25 และ 3.12 เซนติเมตร, ภาพที่) ในการศึกษาพบว่าการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดโดยใช้สาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน มีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกปลาทางด้านความยาวมาตรฐาน ($P \leq 0.05$, ตารางภาคผนวก ข ที่ 3)



ภาพที่6 ความยาวรวมทั้งหมด (Total length) ของลูกปลาการ์ตูนดำแดงที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความ เข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

8.1 ความยาวมาตรฐาน (Standard length)

จากการศึกษาพบว่าลูกปลาการ์ตูนดำแดงมีความยาวมาตรฐานสูงสุดคือ ลูกปลาที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500, 3000, 2000, 1500 มิลลิโมล, ชุดควบคุม และ 500 มิลลิโมล มีค่าเฉลี่ยเป็น 2.88, 2.86, 2.82, 2.67, 2.65, 2.59 และ 2.54 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน มีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกปลาทางด้านความยาวมาตรฐาน ($P \leq 0.05$, ตารางภาคผนวก ข ที่ 3)

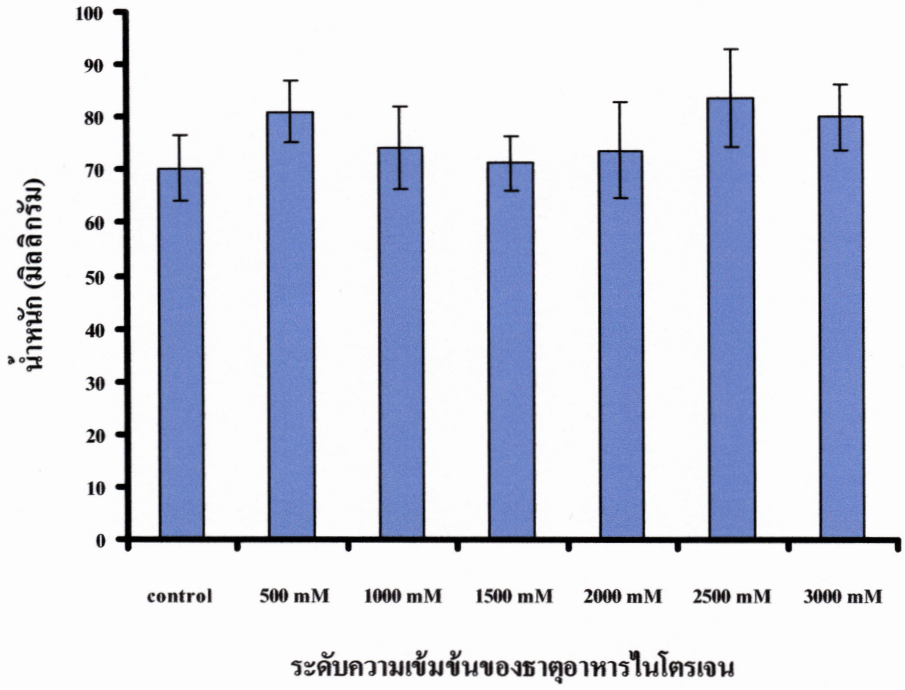


ภาพที่7 ความยาวมาตรฐาน (Total length) ของลูกปลาการ์ตูนดำแดงที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

8.2 น้ำหนัก (Weight)

เมื่อทำการศึกษาทางด้านน้ำหนักของลูกปลาการ์ตูนดำแดง ที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดซึ่งทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน พบว่าลูกปลาการ์ตูนดำแดงมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดคือ ชุดการทดลองที่มีระดับธาตุอาหารไนโตรเจน 2500 มิลลิโมล (83.29 มิลลิกรัม) พบรองลงมาคือ 500, 3000, 1000, 2000 มิลลิโมล, ชุดควบคุม และ 1500 มิลลิโมล ตามลำดับ(80.96, 80.96, 79.57, 73.93, 73.45, 70.25 และ 71.11 มิลลิกรัม, ภาพที่ 8) ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดโดยใช้

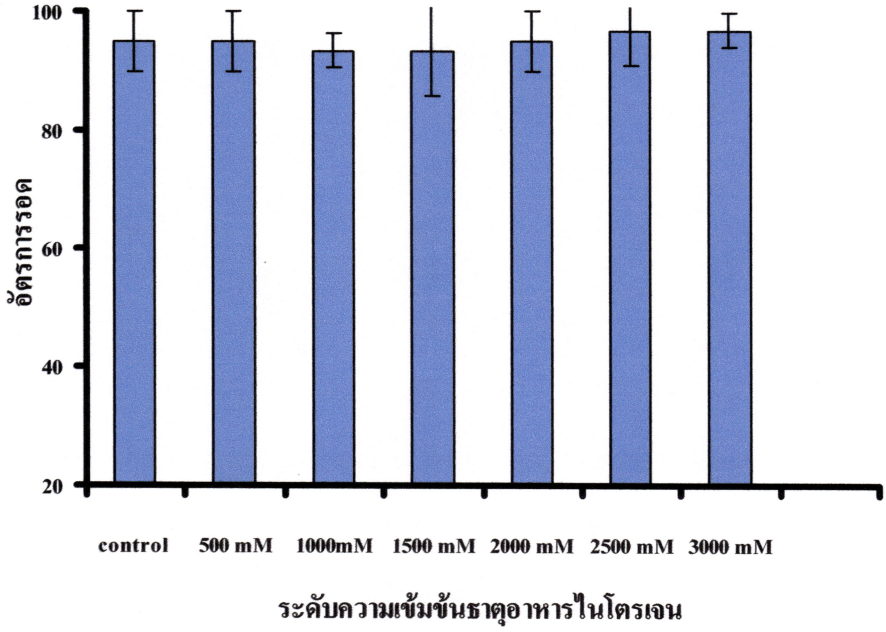
สาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน ไม่มีผลต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตของลูกปลาทางด้านน้ำหนัก ($P \geq 0.05$, ตารางภาคผนวก ข ที่ 3)



ภาพที่8 น้ำหนัก (Weight) ของลูกปลาการ์ตูนดำแดงที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

8.4อัตราการรอด

เมื่อทำการเลี้ยงลูกปลาการ์ตูนดำแดงครบ 30 วันสิ้นสุดการทดลอง พบว่าโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน 6 ระดับ คือ 500 , 1000 , 1500 , 2000 , 2500 และ 3000 มิลลิโมล มีผลต่ออัตราการรอดตายของลูกปลาการ์ตูนดำแดง โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดตายของลูกปลาการ์ตูนดำแดงสูงสุด (96.67 เปอร์เซ็นต์) ที่ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 2500 และ 3000 มิลลิโมล พบรองลงมาคือ ชุดควบคุมการทดลอง, 500, 2000, 1500 และ 1000 มิลลิโมล ตามลำดับ (95.00, 95.00, 95.00, 93.33 และ 93.33 เปอร์เซ็นต์ , ภาพที่) และ เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางด้านสถิติ ($P \geq 0.05$, ตารางภาคผนวก ข ที่ 3)



ภาพที่9 อัตราการรอดตายของลูกปลาการ์ตูนดำแดงที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน

ต้นฉบับไม่มีหน้านี้

สรุปผลการศึกษา

1. ผลการศึกษาคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

โคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งมีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล มีปริมาณของโปรตีนสูงสุด ไขมันพบมากสุดในโรติเฟอร์ที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายในชุดทดลอง 2500 มิลลิโมล คาร์โบไฮเดรตมีปริมาณสูงสุดในชุดการทดลอง 3000 มิลลิโมล เถ้ามีปริมาณสูงสุดในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายในชุดทดลอง 3000 มิลลิโมล และเยื่อใยพบมากในโรติเฟอร์ที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่เป็นชุดการทดลองที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 500 มิลลิโมล

2. การศึกษาชนิดและปริมาณของกรดไขมันในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวโดยมีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

โคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งมีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน 2000 และ 3000 มิลลิโมล มีปริมาณของกรดไขมันรวมสูงสุด (97.72 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมันกลุ่ม SFA พบมากสุดในชุดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน 1500 มิลลิโมล (36.99 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมันกลุ่ม MUFA มีปริมาณสูงสุดในชุดการทดลอง 500 มิลลิโมล (33.97 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมันกลุ่ม PUFA พบในปริมาณมากสุดในชุดการทดลองที่เป็นชุดการทดลอง 3000 มิลลิโมล (36.84 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมันกลุ่ม n-3 PUFA มีปริมาณสูงสุดเมื่อทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ซึ่งมีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน 2000 มิลลิโมล (21.77 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) กรดไขมันกลุ่ม HUFA พบในปริมาณมากสุดในชุดการทดลอง ที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายชุดทดลอง 2000 และ 3000 มิลลิโมล (23.03 และ 23.02 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน) และกรดไขมันที่อยู่ในกลุ่มของ n-3 HUFA ปริมาณสูงสุดในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวชุดการทดลอง 2500 มิลลิโมล (16.60 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน)

3. การศึกษาชนิดและปริมาณของกรดอมิโนโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวโดยมีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

โคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ซึ่งมีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวชุดควบคุมการทดลอง มีปริมาณของกรดอมิโนรวมสูงสุด (36.16 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) แต่ปริมาณของกรดอมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำพบในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน 1500 มิลลิโมล (15.00 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง)

4. ศึกษาการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกปลาการ์ตูนดำแดง ที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวโดยมีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

ลูกปลาการ์ตูนดำแดงมีการเจริญเติบโตทางด้านความยาวรวมทั้งหมด(TL) สูงสุดในชุดการทดลองที่ใช้โคพีพอดซึ่งทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน 3000- มิลลิโมล (3.75 เซ็นติเมตร) การเจริญเติบโตของลูกปลาการ์ตูนดำแดงทางด้านความยาวมาตรฐานของลูกปลาพบสูงสุดในชุดการทดลอง 2500 มิลลิโมล (2.88 เซ็นติเมตร) แต่การพัฒนาการเจริญเติบโตของลูกปลาการ์ตูนดำแดง ทางด้านน้ำหนักพบสูงสุดในชุดที่ทำการศึกษาเลี้ยงด้วยโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวชุด 2500 มิลลิโมล (83.29 มิลลิกรัม) จะเห็นได้ว่าน้ำหนักและความยาวมาตรฐานของลูกปลาในการทดลองมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน และลูกปลาการ์ตูนดำแดงมีอัตราการรอดสูงสุดในชุดทดลอง 2500 และ 3000 มิลลิโมล (96.67 เปอร์เซ็นต์)

เอกสารอ้างอิง

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. สาหร่าย . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ทัศพล กระจ่างดารา.2534. การเลี้ยงปลาทะเลสวยงาม.โรงพิมพ์ลินคอร์น : รั้วเขียว.

นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์ สมชาย เอื้อพิพัฒนากุล และ คณิตา ตังคณานุรักษ์. 2536. เทคนิคการแยกสารโดยใช้โครมาโตกราฟฟี. กรุงเทพฯ. 152 หน้า.

พรงาม ลิ้มตระกูล.2545.ชีวเคมีของกรดนิวคลีอิคและโปรตีน. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ธนุชพริ้นติ้ง (โรงพิมพ์ดาว) .เชียงใหม่.416 หน้า.

มาวิทย์ อัศวอารีย์ และ ธิดา เพชรมณี.2536. ขนาดของโรติเฟอร์ *Brachionus plicatilis* ที่พบในประเทศไทย.รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2536. กรมประมง. 25-17 กันยายน 2536 ณ สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด บางเขน กรุงเทพฯ. 38-41 หน้า.

แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2535. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ. ชวนพิมพ์. 886 หน้า.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2533. แพลงก์ตอนพืชเบื้องต้น. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. บางเขน กรุงเทพฯ. 329 หน้า.

ลัดดา วงศ์รัตน์.2542.แพลงก์ตอนพืช. ภาควิชาชีววิทยา ประมงคณะประมง หาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ . สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . 851 หน้า.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. ภาควิชาชีววิทยา ประมงคณะประมง หาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ . สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . 127 หน้า.

วิมล เหมาะจันทร. 2540. ชีววิทยาปลา. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

วีระพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย.2535.อาหารปลา.ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 253 หน้า.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก.2542.โภชนาศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ.ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ. 235 หน้า.

สุณี พณิชธารสาร. 2534. คู่มือหลักสูตรเข้มข้นการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Gas chromatography. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุนีย์ สุวภีพันธุ์.2525. การเลี้ยงโรติเฟอร์เป็นอาหารลูกสัตว์น้ำทะเล.เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 16. สถานีวิจัยประมงทะเล กองประมงทะเล กรมประมง. 6 หน้า.

สุนีย์ สุวพีพันธุ์ เรณู หุตะสิงห์ และ อมรา ชื่นพันธุ์. 2516. อิทธิพลของสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตของโรติเฟอร์ (*Brachionus lpicatilis*) . การประชุมทางวิชาการ. การวิจัยทางกรุงเทพฯ . 30 พ.ย. – 2 ธ.ค. 2546.

สุพิศ ทองรอด. 2535. ความสำคัญของไขมันในอาหารสัตว์น้ำ. วารสารการประมง.45(4) : 943-950.

อิทธิพร จันทร์เพ็ญ.2532.อาหารและการให้อาหารปลาและกุ้ง.สำนักพิมพ์ช่อนนนทรี.บริษัทประชาชนจำกัด ถนนสีลม บางรัก กรุงเทพฯ. 108 หน้า.

Allen, G.R. 1997. Tropical reef fishes of Thailand. Asia Book. Bangkok. 4-5 pp.

Bailey, M. and Sandford, G. 2002. Practical fishkeeping. Hermes House, Anness Publishing. U.S.A. 128 pp.

Ben – Amotz , A.R., Fishler and Schnella. A. 1987. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acid. Marine Biology , Vol. 95 , 31-36.

Bring , E. G. and Dyer. W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemical and Physiology. 37(8) : 911-917.

Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman, G.A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture. 151, 315-331.

Cristie, W.W. 1982 . Lipid Analysis. Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids. Pregamobn press.Oxford. 207 pp.

Dou, S., Masuda, R., Tanaka, M. and Tsukamoto, K. 2003. Identification of factor affecting the growth and survival of the setting Japanese flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture. 218 : 309-329.

Dunstan, G.A., Volkman, J.K. Barrett.S.M. and Garland, C.D. 1993. Chamges in the lipid composition and maximization of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture. Journal of Apply Phycology. 5: 71-83.

Duray, M.N., Estdillo, C.B. and Alpasan, L.G. 1996. The effect background color and Rotifer density on rotifer intake , growth and survival of the grouper (Epinephelus suillus) larvae. Aquaculture. 146 (3-4) : 217-224 .

Fabregas, J., and Herrero, C. (1986). Marine micro algae as a potential source of minaerals in fish diets. Aquaculture. 51: 237-243.

Fulks, W. and Main, K.L. 1991. The design and operation of commercial scale live feeds production systems. In Fulks W , Main K.L. (eds), Rotifer and Microalgae Culture Systems. The Oceanic Institute, Honolulu. 3-52.

Hoff, F.H. 1996. Conditioning,spawning and reaning of fish wiyh emphasis clownfish. Aquaculture. Consultants Inc.,Florida,USA.

Gunstone. F.D. 1996. Fatty acid and Lipid Chemistry. Blackie Academic & professional. Great Britain. 249 pp.

Liu, H.J. , Chang, B.Y., Yan, H.W., Yu, F.H. and Lui, X.X. 1995. JAOAC. Vol.78 No.3.

Lubzens, E., marko, A. and Tietz,A. 1985. De′ vono synthesis of fatty acids in the rotifer, *Brachionus plicatilis*. Aquaculture. 47: 27-37.

Mangalik, A. 1986. Dietary energy requirement for channel catfish . Ph.D. Dissertation, Auburn University, Aubrun,A.L.

Moe, Jr.F.H. 1982. The marine aquarium handbook beginner to breeder. Green turle Puplication. Plantation, Florida, U.S.A. 170 pp.

Nichols, P.D., Holdsworth, D.G.,Volkman, J.K., Daintith, M. and Allanson, S. 1989. High Incorporation of Essential Fatty Acids by the Rotifer *Brachionus plicatilis* Fed on the Prymnesiophyte Alga *Palvova lutheri*. Aust.J.Mar.Freshwater Res. 40, 645-655.

Stanley, J.G. and Jones, J.B. 1976. Feeding algae to fish. Aquaculture. 7(3) : 219-223.

Tom Lovell. 1934. Nutrition and feeding of fish. Van Nostrand Reinhold 115 Fifth Avenue New York,New York 10003. 260 pp.

Watanabe, T., Kitajema,C. and Fujeta, S. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish : A review. Aquaculture. 34 : 115-143.

Waters AccQ• Tag Instruction Manual (Manual No. WAT052874, REVO April. 1993.

Willkataraman, L.V. 2001. Clownfish : Aguide to their captive care, breeding and naturalhistory. T.F.H. Puplication Inc. United States of Amarica.

Wilkerson, J.D.1998. *Clownfishe* : *A Guide to Their Captive Care, Breeding and Natural History*. Printed and bound in the U.S.A. by World Color Book Services. 240 pp.

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเหลว

Guillard "f/2" (Guillard, R.R.L,1975)

Stock 1

$NaNO_3$	75	มิลลิกรัม
$NaH_2PO_4.2H_2O$	5	มิลลิกรัม

Stock 2

Na_2.EDTA	4.36	มิลลิกรัม
$FeCl_3.6H_2O$	3.15	มิลลิกรัม
$CuSO_4.5H_2O$	0.01	มิลลิกรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	0.022	มิลลิกรัม
$CoCl_2.6H_2O$	0.01	มิลลิกรัม
$MnCl_2.6H_2O$	0.18	มิลลิกรัม
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.006	มิลลิกรัม

Vitamine

Thamin.HCL	0.1	มิลลิกรัม
Biotin	0.5	ไมโครกรัม
Vitamin B_{12}	0.5	ไมโครกรัม

น้ำทะเลที่ใช้เลี้ยง 1000 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข

ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางภาคผนวก ข ที่1 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดที่ทำการเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล SPSS for windows version 10.0 (ANOVA)

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
โปรตีน	Between Groups	390.258	6	65.043	2063.297	0.000*
	Within Groups	0.441	14	3.152E-02		
	Total	390.699	20			
ไขมัน	Between Groups	12.329	6	2.055	85.181	0.000*
	Within Groups	0.338	14	2.412E-02		
	Total	112.667	20			
เถ้า	Between Groups	282.405	6	47.067	113.137	0.000*
	Within Groups	5.824	14	0.416		
	Total	288.229	20			
คาร์โบไฮเดรต						
	Between Groups	163.575	6	27.262	23463.607	0.000*
	Within Groups	1.627E-02	14	1.162E-03		
	Total	163.591	20			
เยื่อใย	Between Groups	15.522	6	2.587	3695.832	0.000*
	Within Groups	9.800E-03	14	7.000E-04		
	Total	15.532	20			

ตารางภาคผนวก ข ที่2 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลกรดไขมันและกรดอมิโน ในโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวซึ่งมีความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล SPSS for windows version 10.0 (ANOVA)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
กรดไขมัน					
Between Groups	11.942	6	1.990	0.056	0.999
Within Groups	11795.933	329	35.854		
Total	11807.895	335			
กรดอมิโน					
Between Groups	1.009	6	0.168	0.281	0.946
Within Groups	184.465	308	0.599		
Total	185.474	314			

ตารางภาคผนวก ข ที่3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโต ของลูกปลาการ์ตูนดำแดงที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดซึ่งเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวโดยมีธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล SPSS for windows version 10.0 (ANOVA)

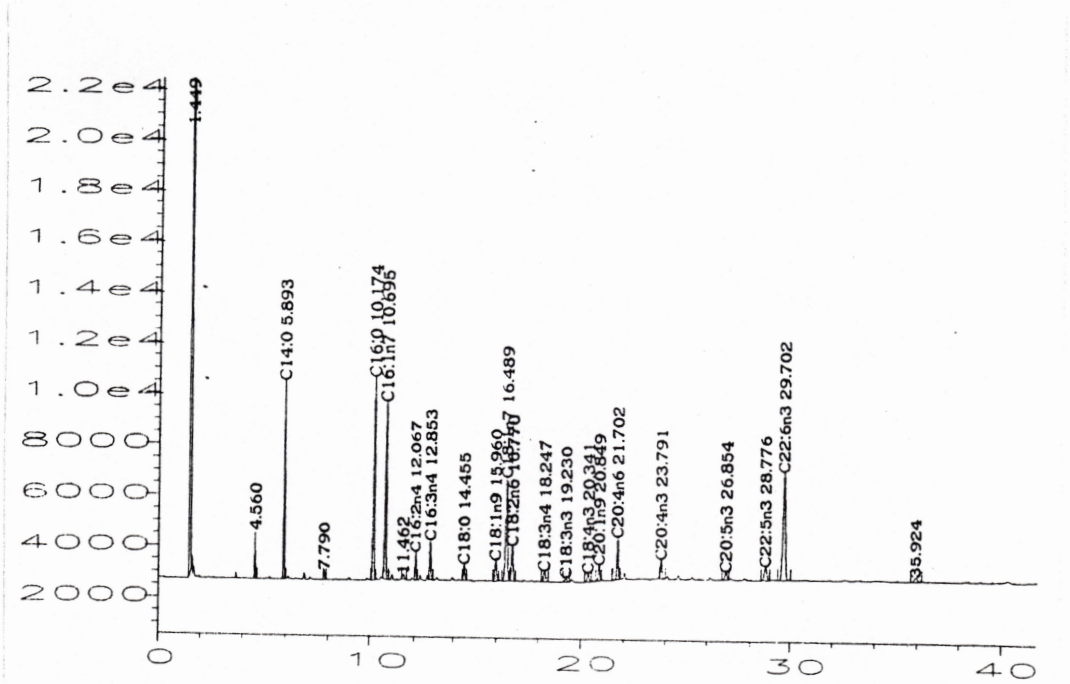
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ความยาวมาตรฐาน					
Between Groups	8.189	7	1.170	4.659	0.000*
Within Groups	111.490	444	0.251		
Total	119.680	451			
ความยาวทั้งหมด					
Between Groups	23.800	7	3.400	6.851	0.000*
Within Groups	220.345	444	0.496		
Total	244.145	451			
น้ำหนัก					
Between Groups	27726.961	7	3960.994	1.722	0.102
Within Groups	1021296.6	444	2300.218		
Total	1049023.5	451			

ตารางภาคผนวก ข ที่4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลอัตราการรอดของลูกปลาการ์ตูนดำแดงที่เลี้ยงด้วยโคพีพอดซึ่งเพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวโดยมีธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล SPSS for windows version 10.0 (ANOVA)

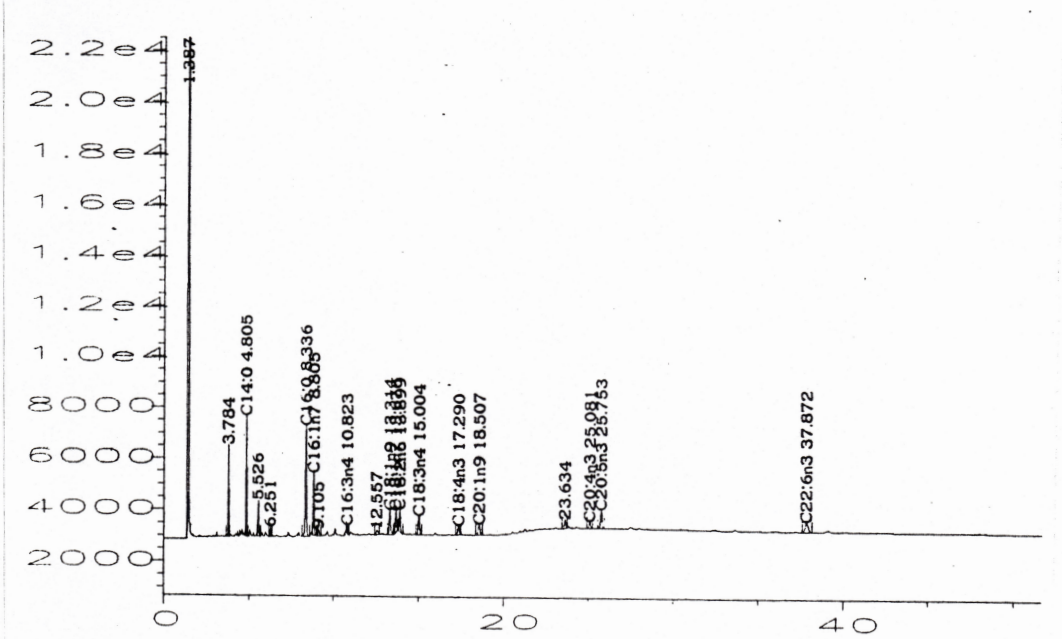
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อัตราการรอด					
Between Groups	33.333	6	5.556	0.212	0.967
Within Groups	366.667	14	26.190		
Total	400.000	20			

ภาคผนวก ค

แสดงภาพโครมาโตแกรมของกรดไขมันที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas – Liquid Chromatography



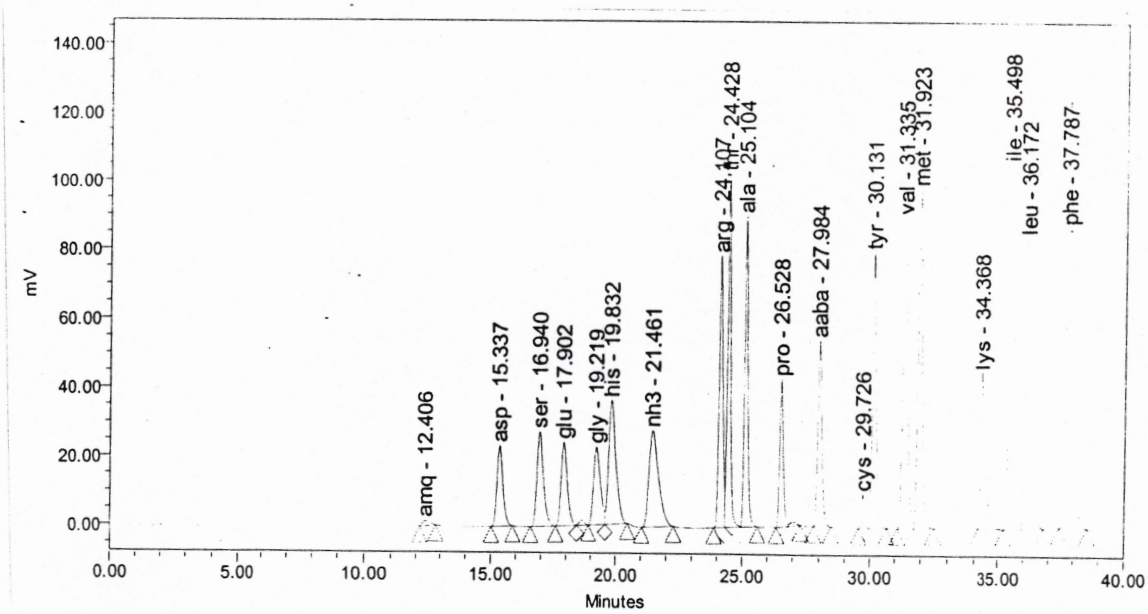
ภาพภาคผนวก ค ที่1 แสดงโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน (Internal standard) ที่แยกด้วยเครื่อง Hewlett Packard 5890 series II คอลัมน์ Famewax ขนาด 30 m. x 0.25 mm. x 0.25 μm. สภาวะอุณหภูมิ 120 °C 0.5 min 120°C ถึง 195°C(5 min, 18 °C/min) 195°C ถึง 205°C(7min,3°C/min) 205°C ถึง 220°C (10 min, 8°C/min) อุณหภูมิช่องฉีดสาร 250°C อุณหภูมิเครื่องตรวจวัด 250°C ชนิดการฉีด split 10:1 ปริมาตร 1 μl



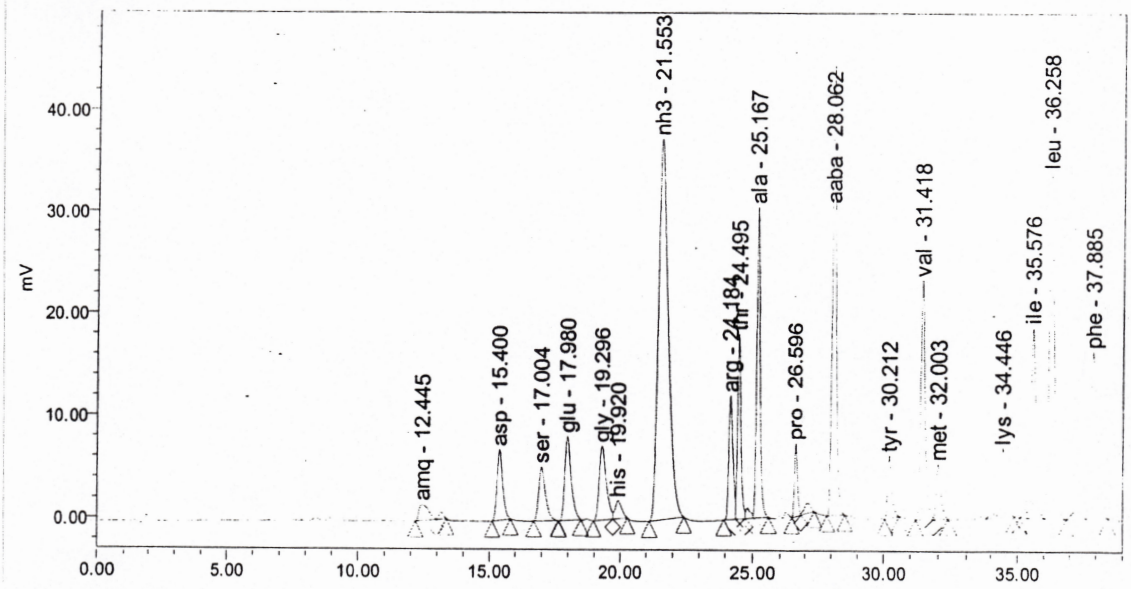
ภาพภาคผนวก ค ที่2 แสดงโครมาโตแกรมของโคพีพอด ที่แยกด้วยเครื่อง Hewlett Packard 5890 series II คอลัมน์ Famewax ขนาด 30 m. x 0.25 mm. x 0.25 µm. สภาวะอุณหภูมิ 120 °C 0.5 min 120°C ถึง 195°C(5 min,18°C/min) 195°C ถึง 205°C (7min,3°C/min) 205°C ถึง 220°C (10 min,8° C/min)อุณหภูมิช่องฉีดสาร 250 °C อุณหภูมิเครื่องตรวจวัด 250°C ชนิดการฉีด Split 10:1 ปริมาตร 1 µl

ภาคผนวก ง

แสดงภาพโครมาโตแกรมของกรดอมิโนที่วิเคราะห์
ด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography)



ภาพภาคผนวก ง ที่1 แสดงโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน ที่แยกด้วยเครื่อง WATER Alliance 2690 with heater 2475 Multi Fluorescence Detector(EX:250, EM 395 nm) คอลัมน์ AccQ• Tag column (dimension 3.9 X 150 nm particle size 4 µl) Control Temp. 37 ± 1°C ปริมาตร 5 µl

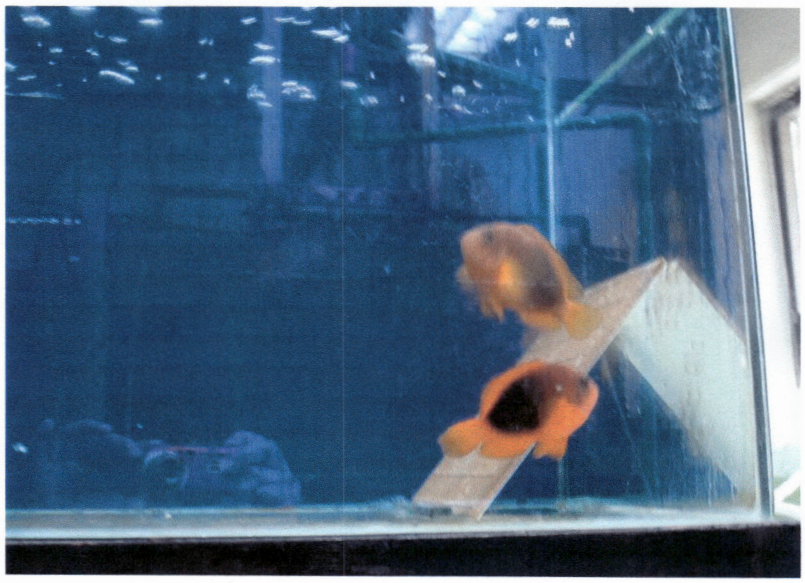


ภาพภาคผนวก ง ที่3 แสดงโครมาโตแกรมของโคพีพอด ที่แยกด้วยเครื่อง WATER Alliance 2690 with heater 2475 Multi Fluorescence Detector(EX:250, EM 395 nm) คอลัมน์AccQ•Tag column (dimension 3.9 X150 nm particle size 4 µl) Control Temp.37±1°Cปริมาตร 5 µl

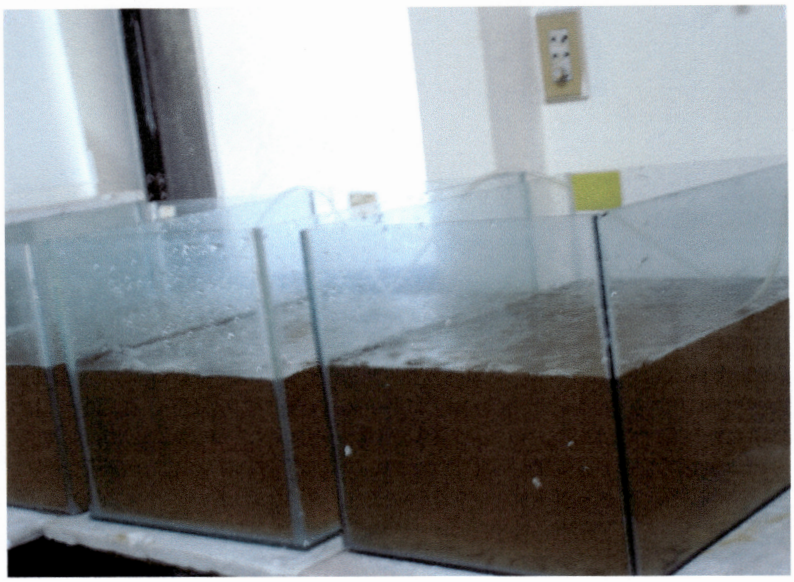
ภาคผนวก จ

แสดงภาพการทดลองเลี้ยงลูกปลาการ์ตูนดำแดง

ภาพภาคผนวก จ ที่1 สาหร่าย *Isochrysis galbana* ที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารแตกต่างกัน



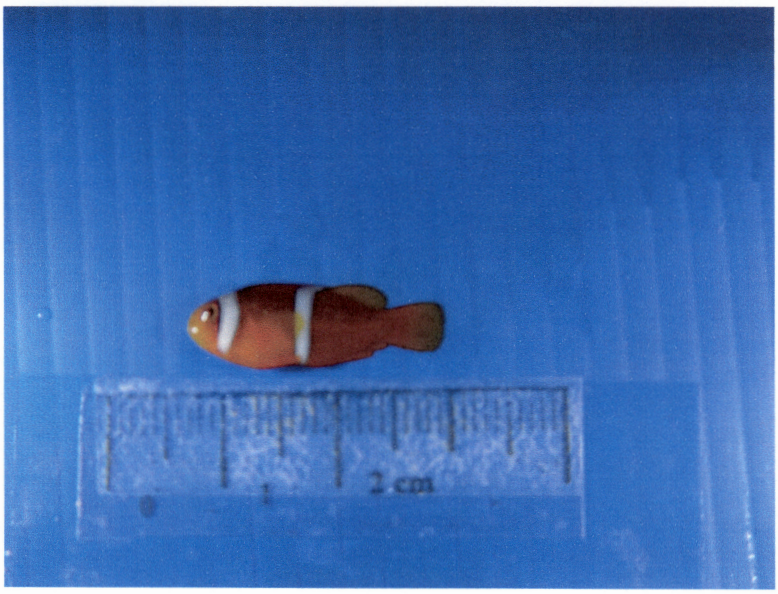
ภาพภาคผนวก จ ที่2 พ่อ–แม่พันธุ์ปลาการ์ตูนดำแดง ที่ใช้ในการทดลอง



ภาพภาคผนวก จ ที่3 การเพิ่มคุณค่าทางอาหารโคพีพอดด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนแตกต่างกัน

ภาพภาคผนวก จ ที่4 ลูกปลาการ์ตูนดำแดงก่อนทำการทดลอง (อายุ 21 วัน)

ภาพภาคผนวก จ ที่ 6 ตู้ทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนดำแดงด้วยโคพีพอดที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* ซึ่งเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนต่างกัน



ภาพภาคผนวก จ ที่7 ลูกปลาการ์ตูนดำแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง