# ผลผลิตและคุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์ (*Brachionus plicatilis*) ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* spp. และอาหารสมทบ

**วารินทร์ ธนาสมหวัง[๑] สุทธิชัย ฤทธิธรรม[๒] และสุพิศ ทองรอด[๓]**

[๑] ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร ตู้ ปณ. ๕๐ อ. เมือง จ. สมุทรสาคร ๗๔๐๐๐

[๒] ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งฉะเชิงเทรา ๗๖/๒ ต. ท่าสะอ้าน อ. บางปะกง จ. ฉะเชิงเทรา ๒๔๑๓๐

[๓] สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำชายฝั่ง ๔๑/๑๔ ต. บางพระ อ. ศรีราชา จ. ชลบุรี ๒๐๑๑๐

## บทคัดย่อ

การศึกษาผลผลิตและคุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* spp. และอาหารสมทบ โดยดำเนินการทดลอง 3 ครั้ง การทดลองครั้งที่ 1 ใช้ *Chlorella* น้ำเค็มที่เพาะขยายโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมจากห้องปฏิบัติการ ส่วนการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 ใช้ *Chlorella* น้ำกร่อย ที่เพาะขยายโดยใช้เชื้อที่เพาะด้วยวิธีธรรมชาติเป็นเชื้อตั้งต้นเพื่อเป็นอาหารหลักของโรติเฟอร์

การทดลองครั้งที่ 1 เลี้ยงโรติเฟอร์ในปริมาณเริ่มต้น 10 กรัม ด้วย *Chlorella* น้ำเค็มที่ไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง โรติเฟอร์มีผลผลิตเฉลี่ย 49.86±6.12, 61.55±9.56 และ 59.50±8.64 กรัม ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ (P>0.05) โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* เสริมด้วยอามิ-อามิ (สด) มีระดับโปรตีนสูงสุดที่ 68.46%น้ำหนักแห้ง รองลงมาได้แก่ โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* โดยไม่เสริมอาหารชนิดอื่นและเสริมด้วยน้ำหมักปลาซึ่งอยู่ที่ 56.56 และ 50.51%น้ำหนักแห้ง ส่วนโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* เสริมด้วยน้ำหมักปลามีระดับไขมันสูงสุดที่ 12.02%น้ำหนักแห้ง รองลงมาเป็นโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* โดยไม่เสริมและเสริมด้วยอามิ-อามิ (สด) ซึ่งอยู่ที่ 10.34 และ 8.92%น้ำหนักแห้ง การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมัน พบว่า โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* โดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) มีกรดไขมันกลุ่ม n-3 รวม 21.56, 14.47 และ 10.34%พื้นที่ กรดไขมันกลุ่ม n-3 HUFA 8.45, 5.73 และ 6.02%พื้นที่ และกรดไขมันกลุ่ม n-6 รวม 22.09, 15.46 และ 16.18%พื้นที่ ตามลำดับ

การทดลองครั้งที่ 2 เลี้ยงโรติเฟอร์ในปริมาณเริ่มต้น 10 กรัม ด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 50, 100 และ 200 มล./ครั้ง/วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลองอยู่ที่ 45.62±17.28, 67.78±2.32, 80.51±22.88 และ 57.83±3.16 กรัม ตามลำดับ โรติเฟอร์ ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* เสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดโดยสูงกว่าที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* เสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 50 และ 200 มล./ครั้ง/วัน อย่างไม่มีนัยสำคัญ (P>0.05) แต่สูงกว่าที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ระดับโปรตีน ไขมัน และเถ้าของโรติเฟอร์ระหว่างชุดการทดลองอยู่ในช่วง 60.48-65.03, 8.35-14.90 และ 14.93-18.12%น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* เสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน มีองค์ประกอบกรดไขมันกลุ่ม n-3 มากที่สุด (23.68%พื้นที่) ส่วนที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* เสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 200 มล./ครั้ง/วัน มี n -3 HUFA มากที่สุด (11.43%พื้นที่) และที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยเพียงอย่างเดียวมีองค์ประกอบไขมันกลุ่ม n-6 มากที่สุด (24.27%พื้นที่)

การทดลองครั้งที่ 3 เลี้ยงโรติเฟอร์ในปริมาณเริ่มต้น 10 กรัม ด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้ง 10, 20 และ 30 มล./ครั้ง/วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลองอยู่ที่ 38.06±2.98, 42.88±3.61, 38.68±3.98 และ 41.44±2.48 กรัม ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ (P>0.05) ระดับโปรตีน ไขมัน และเถ้าของโรติเฟอร์ระหว่างชุดการทดลองค่อนข้างใกล้เคียงกัน โดยมีโปรตีนอยู่ในช่วง 61.68-64.35% ไขมันในช่วง 11.84-17.02% และเถ้าในช่วง 6.17-7.70%น้ำหนักแห้ง โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยเสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้ง 10 มล./ครั้ง/วัน มีองค์ประกอบไขมันที่เป็น n-3, n -3 HUFA และ n-6 มากที่สุด คือ 18.83, 12.54 และ 21.55%พื้นที่ ตามลำดับ

**คำสำคัญ :** โรติเฟอร์ ผลผลิต คุณค่าทางโภชณาการ

## PRODUCTION AND NUTRITION OF ROTIFERS (*Brachionus plicatilis*) FED *Chlorella* spp. AND SUPPLEMENTED FEEDS

Varin Tanasomwang[1], Suttichai Rittitum[2] and Supis Thongrod[3]

[1]Samutsakhon Coastal Fisheries Research and Development Center, P. O. Box 50, Samutsakhon 74000, Thailand
[2]Chachoengsao Coastal Fisheries Research and Development Center, 76/2 Tasaarn, Bangpakong, Chachoengsao 24130, Thailand
[3]Coastal Aquatic Feed Research Institute, 41/4 Bang-phra, Sriracha, Chonburi 20110, Thailand

## ABSTRACT

Production and nutrition of rotifers fed *Chlorella* spp. and supplemented feeds were investigated by performing 3 experiments. Experiment 1, marine *Chlorella* cultured by using starter from the laboratory while experiment 2 and 3, brackishwater *Chlorella* cultured by using starter from natural stocks were supplied as main feeds for rotifers.

Experiment 1, initial 10 g of rotifers were fed marine *Chlorella* without and with fish-fermented water and ami-ami (fresh). Average production of rotifers in each treatment at the end of the experiment respectively was 49.86±6.12, 61.55±9.56 and 59.50±8.64 g which

had no significant differences (P>0.05). Nutritionally, rotifers fed *Chlorella* supplemented with ami-ami (fresh) gained the highest protein level of 68.46% dry weight followed by those fed *Chlorella* without and with fish-fermented water which constituted of 56.56 and 50.51% dry weight. On the other hand, rotifers fed *Chlorella* supplemented with fish-fermented water produced the highest level of fatty acid at 12.02% dry weight followed by those fed *Chlorella* without and with ami-ami (fresh) at 10.34 and 8.92% dry weight. Rotifers fed *Chlorella* without and with fish-fermented water and ami-ami (fresh) comprised total n-3 group of fatty acid at 21.56, 14.47 and 10.34% area, n-3 HUFA group at 8.45, 5.73 and 6.02% area and total n-6 group at 22.09, 15.46 and 16.18% area, respectively.

Experiment 2, initial 10 g of rotifers were fed brackishwater *Chlorella* without and with fermented ami-ami at 50, 100 and 200 ml/time/day. At the end of experiment, average production of rotifers in each treatment was 45.62±17.28, 67.78±2.32, 80.51±22.88 and 57.83±3.16 g, respectively. The production of rotifers fed *Chlorella* supplemented with 100 ml/time/day of fermented ami-ami was not significantly higher than those given the same feed adding 50 and 200 ml/time/day of fermented ami-ami (P<0.05), but was significantly higher than those fed only *Chlorella* (P<0.05). Protein, fatty acid and ash levels of rotifers among the treatments were in the range of 60.48-65.03, 8.35-14.90 and 14.93-18.12% dry weight, respectively. Rotifers fed *Chlorella* supplemented with fermented ami-ami at 100 ml/time/day gave the greatest amount of n-3 group of fatty acid (23.68% area). On the other hand, rotifers given *Chlorella* supplemented with 200 ml/time/day produced the greatest amount of n-3 HUFA group (11.43% area) and those fed only brackishwater *Chlorella* gained the greatest amount of n-6 group of fatty acid (24.27% area).

Experiment 3, initial 10 g of rotifers were fed brackishwater *Chlorella* without and with shrimp head-protein extract at 10, 20 and 30 ml/time/day. Average production of rotifers in each treatment at the end of the experiment respectively was 38.06±2.98, 42.88±3.61, 38.68±3.98 and 41.44±2.48 g which were not significant different (P>0.05). Protein, fatty acid and ash of rotifers among the treatments were almost in the same levels by which protein was in the range of 61.68-64.35%, fatty acid 11.84-17.02% and ash 6.17-7.70% dry weight. Rotifers fed *Chlorella* supplemented with 10 ml/time/day of shrimp-head protein extract comprised the greatest amounts of n-3, n-3 HUFA and n-6 of fatty acid at 18.83, 12.54 and 21.55% area, respectively.

**Key words :** Rotifer, Production, Nutrition

# คำนำ

การผลิตแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์เป็นงานสำคัญในขบวนการเพาะพันธุ์สัตว์น้ำ เนื่องจากแพลงก์ตอนเหล่านี้เป็นอาหารมีชีวิตที่เหมาะสมในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนโดยเฉพาะสัตว์น้ำเค็ม/น้ำกร่อยแทบทุกชนิด (ธิดา, 2542) นักเพาะพันธุ์สัตว์น้ำจึงให้ความสำคัญกับการผลิตแพลงก์ตอนแบบมหมวล (mass production) มาก เพื่อผลิตอาหารให้เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำวัยอ่อน ถึงแม้ในปัจจุบันมีอาหารสำเร็จรูปสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนมากมายหลายชนิดวางจำหน่ายในท้องตลาด แต่แพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ยังมีความจำเป็นในการเป็นอาหารมื้อแรกๆของสัตว์น้ำวัยอ่อนโดยเฉพาะในช่วงที่ระบบย่อยอาหารยังพัฒนาไม่เต็มที่

โรติเฟอร์ (*Brachionus plicatilis*) เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่นักเพาะพันธุ์สัตว์น้ำทั่วโลกนิยมใช้เป็นอาหารเริ่มแรกของสัตว์น้ำวัยอ่อนกันอย่างแพร่หลาย (Lubzens *et al*., 1989; ธิดาและคณะ, 2531; มาวิทย์และธิดา, 2538; สุพิศและนิวัติ, 2526) ด้วยคุณสมบัติที่มีขนาดเล็กและมีหลายขนาดให้เลือกให้เหมาะสมกับขนาดปากของสัตว์น้ำวัยอ่อนแต่ละชนิด (ธิดาและมาวิทย์, 2541) นอกจากนี้ยังสามารถผลิตในระดับมหมวลได้ง่าย ในการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์มักให้ *Chlorella* sp. สายพันธุ์น้ำเค็มเป็นอาหารหลัก (ถนอม, 2529) โดยอาจเสริมด้วยยีสต์ (yeast) เพื่อให้โรติเฟอร์เพิ่มจำนวนได้มากขึ้น (ถนอม, 2526) ในอดีตที่ผ่านมา การผลิต *Chlorella* ให้เพียงพอเพื่อเป็นอาหารของโรติเฟอร์มีขั้นตอนค่อนข้างยุ่งยากโดยเฉพาะขั้นตอนในห้องปฏิบัติการที่ต้องเลี้ยงเชื้อ *Chlorella* บริสุทธิ์ในวุ้น แล้วนำมาเพาะขยายต่อในหลอดแก้ว ในโหล ก่อนนำไปเพาะขยายในบ่อขนาดใหญ่กลางแจ้ง นอกจากนี้ การใช้ *Chlorella* ที่เป็นสายพันธุ์น้ำเค็มจำเป็นต้องปรับลดความเค็มลงมาให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับโรติเฟอร์ หากการปรับลดความเค็มกระทำเร็วเกินไป มักทำให้ *Chlorella* ตาย การเพาะขยาย *Chlorella* จึงเป็นงานที่ต้องใช้ผู้ปฏิบัติที่มีทักษะพอสมควร และยังสิ้นเปลืองพื้นที่ อุปกรณ์ ระยะเวลา และแรงงาน สิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นต้นทุนของการผลิต ดังนั้น หากสามารถผลิต *Chlorella* ที่มีขั้นตอนลดลง ไม่ยุ่งยาก และประหยัดค่าใช้จ่ายเพื่อเป็นอาหารของโรติเฟอร์ได้จะเป็นประโยชน์อย่างมาก

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) กำลังได้รับความสนใจทั้งจากภาครัฐและภาคเอกชน จึงมีความพยายามในการเพาะพันธุ์ปูม้าให้ได้ในระดับมหมวลเพื่อให้มีปริมาณเพียงพอขยายผลการเลี้ยงในบ่อดิน ในการผลิตพันธุ์ปูม้า การเตรียมอาหารมีชีวิตสำหรับใช้อนุบาลลูกปูวัยอ่อนเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมาก ลูกปูม้าแรกฟักในระยะ zoea I สามารถกินแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีขนาดเล็กอย่างโรติเฟอร์ภายในวันแรกหลังจากฟักออกจากไข่ หากไม่ให้อาหารหรือให้ไม่เพียงพอในช่วงระยะ 24 ชั่วโมงแรกจะส่งผลให้ลูกปูในระยะต่อมามีอัตรารอดตายต่ำ งานวิจัยนี้จึงมุ่งหาวิธีการเพิ่มผลผลิตโรติเฟอร์ให้มากขึ้นโดยศึกษาวิธีการเลี้ยงและชนิดอาหารที่เหมาะสมโดยเฉพาะ *Chlorella* ซึ่งเป็นอาหารหลักของโรติเฟอร์เพื่อให้ผลผลิตมากขึ้นและมีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสมต่อการนำไปใช้อนุบาลลูกปูให้มีอัตรารอดตายสูงขึ้น

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดและจำนวนสิ่งมีชีวิตในน้ำเขียวที่เพาะขยายโดยใช้เชื้อที่เพาะด้วยวิธีธรรมชาติ
2. เพื่อศึกษาผลผลิตและคุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มที่เพาะขยายโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์จากห้องปฏิบัติการโดยไม่เสริมและเสริมด้วยอาหารสมทบ
3. เพื่อศึกษาผลผลิตและคุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยที่เพาะขยายโดยใช้เชื้อที่เพาะด้วยวิธีธรรมชาติโดยไม่เสริมและเสริมอาหารสมทบ

## อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

### การเตรียม *Chlorella* น้ำเค็ม

การเตรียม *Chlorella* น้ำเค็มเริ่มจากการเพาะขยายหัวเชื้อ *Chlorella* น้ำเค็มบริสุทธิ์โดยใช้สูตรอาหารของ Sato and Serikawa (ธิดา, 2542) ในห้องปฏิบัติการ เมื่อความหนาแน่นและปริมาณของ *Chlorella* มากเพียงพอจึงนำมาเพาะขยายกลางแจ้งในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลินความเข้มข้น 200 ppm และล้างสะอาด โดยใช้น้ำความเค็ม 28 ppt ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน เมื่อน้ำในถังไฟเบอร์มีสีเขียวจึงนำไปเพาะขยายต่อในบ่อคอนกรีตขนาด 12.6 ลบ.ม. (1x14x0.9 เมตร) จนได้ความหนาแน่นที่ต้องการ จากนั้นค่อยๆปรับลดความเค็มลงโดยเติมน้ำบาดาลที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ในการเพาะขยาย *Chlorella* น้ำเค็มกลางแจ้งใช้ปุ๋ยชนิดต่างๆ ได้แก่ ปุ๋ย 46-0-0 5 กรัม ปุ๋ย 21-0-0 70 กรัม และปุ๋ย 16-20-0 10 กรัม ละลายในน้ำ 1 ลิตร เพื่อใช้กับการเพาะขยาย *Chlorella* ปริมาตร 1 ลบ.ม. การเติมน้ำและปุ๋ยตามความหนาแน่นของ *Chlorella* ที่เพิ่มขึ้นในแต่ละบ่อจนเต็มบ่อ โดยลดความเค็มให้อยู่ที่ 20 ppt การเพาะขยาย *Chlorella* แต่ละขั้นตอนให้อากาศอย่างแรงตลอดเวลา

### การเตรียมน้ำเขียวน้ำกร่อย

#### การเพาะเชื้อน้ำเขียวน้ำกร่อยด้วยวิธีธรรมชาติ

การเพาะเชื้อน้ำเขียวน้ำกร่อยดำเนินการในถังไฟเบอร์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลินความเข้มข้น 200 ppm และล้างสะอาด เติมน้ำกร่อยที่มีความเค็ม 15 ppt ลงไปในถังในปริมาตร 1 ลบ.ม. แล้วเติมปุ๋ยชนิดต่างๆ ดังนี้ ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) 500 กรัม ปุ๋ยนา (16-20-0) 500 กรัม ปุ๋ยซุปเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) 50 กรัม และอามิ-อามิ (สด) 1 ลิตร จากนั้นปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำที่เติมปุ๋ยแล้วให้อยู่ที่ 9 ด้วยปูนขาว พร้อมทั้งให้อากาศอย่างแรง (รูปที่ 1) สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีน้ำหลังจากตากแดดไว้กลางแจ้งเป็นระยะเวลา 7-14 วัน เมื่อพบการเกิดของแพลงก์ตอนพืชจนน้ำเป็นสีเขียวอ่อน จึงนำไปเป็นเชื้อเริ่มต้นในการเพาะขยายพันธุ์ต่อไป

รูปที่ 1 ถังเพาะเชื้อน้ำเขียวน้ำกร่อยด้วยวิธีธรรมชาติ

**การเพาะขยายน้ำเขียวน้ำกร่อยระดับมหมวล**

การเพาะขยายน้ำเขียวน้ำกร่อยในบ่อคอนกรีตขนาด 12.6 ลบ.ม. โดยเติมน้ำกร่อยที่มีความเค็ม 15 ppt ลงในบ่อในปริมาตร 9 ลบ.ม. เติมปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) 1,000 กรัม ปุ๋ยนา (16-20-0) 1,000 กรัม ปุ๋ยซุปเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) 150 กรัม อามิ-อามิ 2 ลิตร และปูนขาว 1,000 กรัม พร้อมให้อากาศตลอดเวลา จากนั้นนำหัวเชื้อน้ำเขียวที่ได้จากขั้นตอนแรกมาเติม ทิ้งไว้กลางแจ้งเป็นระยะเวลา 3 วัน แพลงก์ตอนพืชเพิ่มจำนวนจนน้ำมีสีเขียวเข้ม (รูปที่ 2) จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

รูปที่ 2 บ่อเพาะขยายน้ำเขียวน้ำกร่อยระดับมหมวล

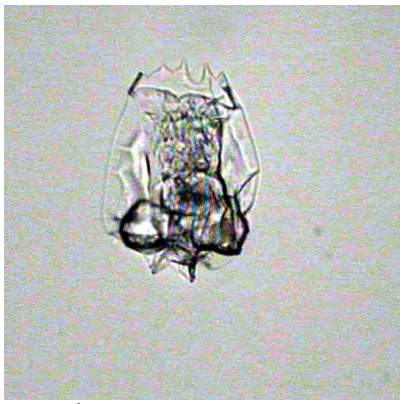
**การวิเคราะห์ชนิดและจำนวนของสิ่งมีชีวิตในน้ำเขียว**

เมื่อแพลงก์ตอนพืชในน้ำเพิ่มจำนวนจนน้ำมีสีเขียวเข้ม เก็บตัวอย่างน้ำเขียวแล้วเติมฟอร์มาลินความเข้มข้น 5% เพื่อเก็บถนอมไว้ก่อนนำไปวิเคราะห์ชนิดและจำนวนของสิ่งมีชีวิตภายใต้กล้องจุลทัศน์กำลังขยายสูง การนับจำนวนโดยนับ 3 ครั้งต่อ 1 ตัวอย่าง แล้วหาค่าเฉลี่ย การเก็บตัวอย่างน้ำเขียวจากการเพาะขยายในแต่ละรุ่นเพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณดำเนินการทั้งหมด 3 ครั้ง

**การเลี้ยงโรติเฟอร์**

**การวางแผนการทดลอง**

การทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ (รูปที่ 3) ด้วย *Chlorella* น้ำเค็มที่เพาะขยายด้วยการใช้หัวเชื้อจากห้องปฏิบัติการโดยไม่ให้และให้อาหารสมทบ ดำเนินการ 1 ครั้ง ส่วนการทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยที่เพาะขยายด้วยวิธีธรรมชาติโดยไม่ให้และให้ด้วยอาหารสมทบ ดำเนินการ 2 ครั้ง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design)



รูปที่ 3 *Brachionus plicatilis*

**การทดลองครั้งที่ 1**

การทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วย *Chlorella* น้ำเค็มโดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) ดำเนินการในถังพลาสติกจำนวน 12 ใบ แต่ละใบบรรจุ *Chlorella* สายพันธุ์น้ำเค็มที่ปรับลดความเค็มให้อยู่ที่ 15 ppt ในปริมาตร 500 ลิตร และโรติเฟอร์เริ่มต้นในปริมาณ 10 กรัม เติมอาหารสูตรของ Sato and Serikawa ที่เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 50 มล. ทุกถัง และเติมน้ำหมักปลาหรืออามิ-อามิ 500 มล. ในวันที่ 1 และ 2 การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลองๆละ 4 ซ้ำ ระหว่างการทดลองให้อากาศตลอดเวลา

ชุดการทดลองที่ 1 ให้ *Chlorella* น้ำเค็ม

ชุดการทดลองที่ 2 ให้ *Chlorella* น้ำเค็ม และน้ำหมักปลา 500 มล. ในวันที่ 1 และ 2

ชุดการทดลองที่ 3 ให้ *Chlorella* น้ำเค็ม และอามิ-อามิ (สด) 500 มล. ในวันที่ 1 และ 2

การเตรียมน้ำหมักปลาโดยใช้ปลาสดปริมาณ 5 กก. บดให้แหลกด้วยเครื่องบดอาหาร จากนั้นนำมาใส่ถังขนาด 50 ลิตร แล้วเติมน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt 50 ลิตร และกากน้ำตาล 1 ลิตร ปิดฝาเพื่อป้องกันแมลงวัน ตั้งทิ้งไว้ในร่มประมาณ 3 สัปดาห์ ก่อนนำมาใช้

**การทดลองครั้งที่ 2**

การทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยที่ไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ ดำเนินการโดยใช้ถังพลาสติกจำนวน 12 ใบ แต่ละใบบรรจุ *Chlorella* น้ำกร่อย 500 ลิตร ปริมาณโรติเฟอร์เมื่อเริ่มต้น 10 กรัม การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลองๆละ 3 ซ้ำ ระหว่างการทดลองให้อากาศตลอดเวลา

ชุดการทดลองที่ 1 ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย

ชุดการทดลองที่ 2 ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย และน้ำหมักอามิ-อามิ 50 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 3 ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย และน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 4 ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย และน้ำหมักอามิ-อามิ 200 มล./ครั้ง/วัน

การเตรียมน้ำหมักอามิ-อามิ โดยใช้อามิ-อามิ 1 ลิตร ผสมกับน้ำที่มีความเค็ม 15 ppt 19 ลิตร พร้อมให้อากาศและหมักทิ้งไว้ 7 วัน ก่อนนำไปใช้

**การทดลองครั้งที่ 3**

การทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยที่ไม่เสริมและเสริมด้วยโปรตีนสกัดจากหัวกุ้ง ดำเนินการในถังพลาสติกจำนวน 12 ใบ แต่ละใบบรรจุ *Chlorella* น้ำกร่อย 500 ลิตร และปริมาณโรติเฟอร์เมื่อเริ่มต้น 10 กรัม การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลองๆละ 3 ซ้ำ ระหว่างการทดลองให้อากาศตลอดเวลา

ชุดการทดลองที่ 1 ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย

ชุดการทดลองที่ 2 ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย และโปรตีนหัวกุ้ง 10 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 3 ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย และโปรตีนหัวกุ้ง 20 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 4 ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย และโปรตีนหัวกุ้ง 30 มล./ครั้ง/วัน

การสกัดโปรตีนจากหัวกุ้งโดยใช้ *Lactobacillus* sp. แบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแล็ตติก (lactic acid) เพื่อช่วยย่อยโปรตีนจากหัวกุ้งซึ่งเป็นเศษเหลือจากโรงงานแปรรูปกุ้ง เชื้อ *Lactobacillus* sp. เตรียมโดยเลี้ยงในอาหารเหลว MRS และบ่มไว้ในอุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นระยะเวลา 24 ชม. เศษเหลือจากกุ้งเตรียมโดยสับหรือปั่นให้พอละเอียด จากนั้นผสมเชื้อที่เตรียมไว้กับเศษกุ้งในอัตราส่วน 200 มล. : 1 กก. ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 5.0-5.5 โดยใช้กรดอะซิติก (acetic acid) เป็นระยะเวลา 4 ชม. และหมักไว้จนได้ผลิตภัณฑ์ลักษณะที่ต้องการ

**การตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ**

ระหว่างการทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ ทำการตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำบางประการในถังทดลองทุกวัน ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างยี่ห้อ Orion อุณหภูมิน้ำด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer) ที่มีช่วงระหว่าง 0-100°ซ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) โดยใช้เครื่องวัดยี่ห้อ Oxy Guard รุ่น Handy Alpha ปริมาณแอมโมเนีย (ammonia: $NH_3$-N) และไนไตรท์ (nitrite: $NO_2$-N) ตามวิธีของ Strickland and Parsons (1972) และความเป็นด่าง (alkalinity) วิเคราะห์ตามวิธีของ APHA, AWWA and WPCF (1980)

**การเก็บเกี่ยวผลผลิต**

เมื่อน้ำใสทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตโดยกรองโรติเฟอร์ด้วยถุงกรองที่มีตาของผ้ากรองขนาดตา 69 ไมครอน จากนั้นนำโรติเฟอร์ที่รวบรวมจากแต่ละชุดการทดลองไปชั่งน้ำหนักก่อนเก็บถนอมโดยแช่เยือกแข็งไว้ในตู้เย็นเพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการต่อไป

**การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ**

ตัวอย่างโรติเฟอร์สดถูกนำไปหาความชื้นโดยการอบแห้ง (AOAC, 1984) และนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (proximate analysis) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และเถ้า (AOAC, 1984) และวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยคลอโรฟอร์มเมทานนอลตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) และสกัดเป็น FAME (Fatty Acid Methyl Ester) โดยวิธีของ Metcalfe and Schmitz (1961) จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ฉีดเข้าเครื่อง GC และเปรียบเทียบปริมาณเป็นเปอร์เซ็นต์พื้นที่กับค่ามาตรฐาน (known standard)

**การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้วิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์จากแต่ละชุดการทดลองของการทดลองแต่ละครั้งโดยวิธี Duncan 's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

## ผลการศึกษา

**ชนิดและจำนวนสิ่งมีชีวิตในน้ำเขียวน้ำกร่อย**

การวิเคราะห์ชนิดและจำนวนสิ่งมีชีวิตในน้ำเขียวน้ำกร่อยที่เพาะขยาย 3 ครั้ง โดยใช้เชื้อน้ำเขียวที่เพาะด้วยวิธีธรรมชาติ พบว่า แพลงก์ตอนพืชในน้ำเขียวเกือบทั้งหมดเป็น *Chlorella* และมีการปะปนของแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นๆในกลุ่มของสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวและโปรโตซัวเพียงเล็กน้อย ความหนาแน่น *Chlorella* ในน้ำเขียวจากการเพาะขยายในครั้งที่ 1, 2 และ 3 อยู่ที่ $4.4 \times 10^5$, $3.3 \times 10^5$ และ $2.1 \times 10^6$ เซลล์/มล. ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1** ผลการวิเคราะห์ชนิดและจำนวนสิ่งมีชีวิตในน้ำเขียวน้ำกร่อยที่เพาะขยายโดยใช้เชื้อน้ำเขียวที่เพาะด้วยวิธีธรรมชาติ

| Phylum | ชนิด | จำนวน (ตัว/มล.) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 |
| Chlorophyta | *Chlorella* sp. | $4.4 \times 10^5$ | $3.3 \times 10^5$ | $2.1 \times 10^6$ |
| Cyanophyta | *Oscillatoria* sp. | 2 | | 1 |
| | *Aphanacapsa* sp. | 1 | | |
| Rotifera | *Brachionus plicatilis* | 4 | | |
| Protozoa | *Euplotes* sp. | 1 | | 1 |
| | *Bursaridium* sp. | 1 | | |
| | *Pleuronema* sp. | 5 | 1 | |
| | *Halteria* sp. | 1 | 1 | |

วิเคราะห์โดยอรุณี รอดลอย สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด

**ผลการทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ครั้งที่ 1**

การทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ในปริมาณเริ่มต้น 10 กรัม ด้วยการให้ *Chlorella* น้ำเค็มที่ไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผลผลิตของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มในแต่ละถังอยู่ที่ 50.72, 44.81, 45.73 และ 58.19 กรัม ผลผลิตของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มและน้ำหมักปลา 500 มล. ในวันที่ 1 และ 2 อยู่ที่ 57.42, 59.19, 75.76 และ 53.85 กรัม ส่วนที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มและอามิ-อามิ (สด) 500 มล. ในวันที่ 1 และ 2 อยู่ที่ 52.60, 53.28, 60.98 และ 71.14 กรัม (ตารางที่ 2) ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลองอยู่ที่ 49.86±6.12, 61.55±9.56 และ 59.50±8.64 กรัม ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3)

**ตารางที่ 2** ผลผลิตของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มโดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) ในการทดลองครั้งที่ 1

| ชุดการทดลอง (ซ้ำ) | ปริมาณเริ่มต้น (กรัม) | ผลผลิตเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม) |
|---|---|---|
| ให้ *Chlorella* น้ำเค็ม | | |
| 1 | 10 | 50.72 |
| 2 | 10 | 44.81 |
| 3 | 10 | 45.73 |
| 4 | 10 | 58.19 |
| ให้ *Chlorella* น้ำเค็ม + น้ำหมักปลา | | |
| 1 | 10 | 57.42 |
| 2 | 10 | 59.19 |
| 3 | 10 | 75.76 |
| 4 | 10 | 53.85 |
| ให้ *Chlorella* น้ำเค็ม + อามิ-อามิ (สด) | | |
| 1 | 10 | 52.60 |
| 2 | 10 | 53.28 |
| 3 | 10 | 60.98 |
| 4 | 10 | 71.14 |

**ตารางที่ 3** ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มโดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) ในการทดลองครั้งที่ 1

| ชุดการทดลอง | จำนวนซ้ำ (N) | ผลผลิตต่ำสุด (กรัม) | ผลผลิตสูงสุด (กรัม) | ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 4 | 44.81 | 58.19 | 49.86±6.12 |
| 2 | 4 | 57.42 | 75.76 | 61.55±9.56 |
| 3 | 4 | 52.60 | 71.14 | 59.50±8.64 |

ชุดการทดลองที่ 1 : ให้ *Chlorella* น้ำเค็ม
ชุดการทดลองที่ 2 : ให้ *Chlorella* น้ำเค็มและน้ำหมักปลา
ชุดการทดลองที่ 3 : ให้ *Chlorella* น้ำเค็มและอามิ-อามิ (สด)

คุณภาพน้ำในถังเลี้ยงโรติเฟอร์แต่ละชุดการทดลองในแต่ละช่วงของการทดลองครั้งที่ 1 ค่อนข้างใกล้เคียงกัน อุณหภูมิของน้ำในช่วงเช้าผันแปรระหว่าง 29.5-31.0°ซ ช่วงบ่ายระหว่าง 31.0-33.0°ซ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในช่วงเช้าน้อยกว่าช่วงบ่ายของวันเดียวกันโดยในช่วงเช้าของวันแรกอยู่ที่ 7.1-7.2 มก./ลิตร และเพิ่มขึ้นสูงสุดในช่วงบ่ายที่ 8.9-9.1 มก./ลิตร จากนั้นค่อยลดลงโดยช่วงเช้าของวันที่ 3 อยู่ที่ 6.7 มก./ลิตร ช่วงบ่ายอยู่ที่ 6.9-7.0 มก./ลิตร ความเป็นด่าง (alkalinity) ในช่วงเช้าน้อยกว่าช่วงบ่ายเช่นเดียวกัน โดยในช่วงเช้าของวันแรกอยู่ที่ 196-200 มก./ลิตร และเพิ่มขึ้นจนสูงสุดในช่วงบ่ายของวันที่ 2 ซึ่งอยู่ที่ 230-255 มก./ลิตร จากนั้นลดลงเล็กน้อย ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในช่วงบ่ายของวันแรกอยู่ที่ 8.63-8.68 และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 2 จากนั้นลดลงในวันที่ 3 โดยช่วงเช้าอยู่ที่ 8.29-8.45 และช่วงบ่ายอยู่ที่ 8.27-8.49 (ตารางที่ 4)

**ตารางที่ 4** การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงโรติเฟอร์ที่ให้ *Chlorella* น้ำเค็มโดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) ในแต่ละวันในการทดลองครั้งที่ 1

| parameter | ชุดการทดลอง | วันที่ 1 | | วันที่ 2 | | วันที่ 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | เช้า | บ่าย | เช้า | บ่าย | เช้า | บ่าย |
| อุณหภูมิ | 1 | 31 | 33 | 29.5 | 31.5 | 29.5 | 31 |
| (°ซ) | 2 | 31 | 33 | 29.5 | 31.5 | 29.5 | 31 |
| | 3 | 31 | 33 | 29.5 | 31.5 | 29.5 | 31 |
| DO | 1 | 7.1 | 9.1 | 7.8 | 8.1 | 6.7 | 6.9 |
| (มก./ลิตร) | 2 | 7.1 | 9.1 | 7.8 | 8.4 | 6.7 | 7.0 |
| | 3 | 7.2 | 8.9 | 7.8 | 8.0 | 6.7 | 6.9 |
| ความเป็นด่าง | 1 | 200 | 211 | 228 | 230 | 209 | 220 |
| (มก./ลิตร) | 2 | 196 | 208 | 230 | 232 | 209 | 220 |
| | 3 | 196 | 204 | 230 | 255 | 207 | 222 |
| pH | 1 | | 8.63 | 8.71 | 8.72 | 8.45 | 8.49 |
| | 2 | | 8.65 | 8.70 | 8.64 | 8.36 | 8.40 |
| | 3 | | 8.68 | 8.67 | 8.60 | 8.29 | 8.27 |

ชุดการทดลองที่ 1 : ให้ *Chlorella* น้ำเค็ม
ชุดการทดลองที่ 2 : ให้ *Chlorella* น้ำเค็มและน้ำหมักปลา
ชุดการทดลองที่ 3 : ให้ *Chlorella* น้ำเค็มและอามิ-อามิ (สด)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มโดยไม่เสริมและเสริมด้วยอาหารชนิดอื่นในการทดลองครั้งที่ 1 ปรากฏว่า โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* เสริมด้วยอามิ-อามิ (สด) มีระดับโปรตีนสูงสุดที่ 68.46%น้ำหนักแห้ง รองลงมาเป็นโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* โดยไม่เสริมอาหารชนิดอื่นและเสริมด้วยน้ำหมักปลาซึ่งอยู่ที่ 56.56 และ 50.51%น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* เสริมด้วยน้ำหมักปลามีระดับไขมันสูงสุดที่ 12.02%น้ำหนักแห้ง รองลงมาได้แก่ โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* โดยไม่เสริมอาหารชนิดอื่นและเสริมด้วยอามิ-อามิ (สด) ซึ่งอยู่ที่ 10.34 และ 8.92%น้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 5)

**ตารางที่ 5** องค์ประกอบทางเคมีของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มโดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) ในการทดลองครั้งที่ 1

| ชุดการทดลอง | %น้ำหนักแห้ง | |
|---|---|---|
| | โปรตีน | ไขมัน |
| ให้ *Chlorella* น้ำเค็ม | 56.56 | 10.34 |
| ให้ *Chlorella* น้ำเค็มและน้ำหมักปลา | 50.51 | 12.02 |
| ให้ *Chlorella* น้ำเค็มและอามิ-อามิ (สด) | 68.46 | 8.92 |

องค์ประกอบกรดไขมันของโรติเฟอร์ดังแสดงในตารางที่ 6 กรดไขมันชนิดที่สำคัญเป็นกลุ่มที่มีองค์ประกอบของ n-3 และ n-6 โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* อย่างเดียวและที่เสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) มีกรดไขมันกลุ่ม n-3 รวม 21.56, 14.47 และ 10.34%พื้นที่ กรดไขมันกลุ่ม n-3 HUFA (highly unsaturated fatty acid) 8.45, 5.73 และ 6.02%พื้นที่ และกรดไขมันกลุ่ม n-6 รวม 22.09, 15.46 และ 16.18%พื้นที่ ตามลำดับ

**ตารางที่ 6** องค์ประกอบกรดไขมันของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มโดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) ในการทดลองครั้งที่ 1

| ชนิดของ | องค์ประกอบกรดไขมันของโรติเฟอร์ (%พื้นที่) | | |
|---|---|---|---|
| กรดไขมัน | *Chlorella* น้ำเค็ม | *Chlorella* น้ำเค็ม + น้ำหมักปลา | *Chlorella* น้ำเค็ม + อามิ-อามิ (สด) |
| 14 : 0 | 2.54 | 4.54 | 2.44 |
| 15 : 0 | 1.90 | 1.90 | 1.87 |
| 16 : 0 | 17.54 | 24.77 | 23.65 |
| 16 : 1 | 3.14 | 4.09 | 2.82 |
| 18 : 0 | 1.34 | 1.47 | |
| 18 : 1n-9 | 14.48 | 20.38 | 23.04 |
| 18 : 2n-6 | 16.75 | 13.02 | 11.5 |
| 18 : 3n-3 | 13.11 | 8.74 | 4.32 |
| 20 : 1n-9 | 4.13 | 3.17 | 5.41 |
| 20 : 2n-6 | 1.86 | 1.00 | |
| 20 : 4n-6 | 3.48 | 1.44 | 3.29 |
| 20 : 3n-3 | 1.48 | 0.79 | |
| 20 : 4n-3 | 3.63 | 2.42 | |
| 20 : 5n-3 | 2.74 | 1.71 | 4.21 |
| 22 : 5n-6 | | | 1.39 |
| 22 : 6n-3 | 0.60 | 0.81 | 1.81 |
| Total n-3 | 21.56 | 14.47 | 10.34 |
| n-3 HUFA | 8.45 | 5.73 | 6.02 |
| Total n-6 | 22.09 | 15.46 | 16.18 |
| n-3/n-6 | 0.976 | 0.936 | 0.639 |

**ผลการทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ครั้งที่ 2**

การเลี้ยงโรติเฟอร์ในปริมาณเริ่มต้น 10 กรัม ด้วยการให้ *Chlorella* น้ำกร่อยที่ไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิในปริมาณต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผลผลิตของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยในแต่ละถังอยู่ที่ 44.62, 28.86 และ 63.38 กรัม ผลผลิตของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* และน้ำหมักอามิ-อามิ 50 มล./ครั้ง/วัน อยู่ที่ 70.34, 65.83 และ 67.16 กรัม ผลผลิตของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน อยู่ที่ 57.65, 80.48 และ 103.40 กรัม ส่วนผลผลิตของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 200 มล./ครั้ง/วัน อยู่ที่ 54.63, 60.94 และ 57.93 กรัม (ตารางที่ 7) ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลองอยู่ที่ 45.62±17.28, 67.78±2.32, 80.51±22.88 และ 57.83±3.16 กรัม ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 50, 100 และ 200 มล./ครั้ง/วัน และผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยที่ไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 50 และ 200 มล./ครั้ง/วัน แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน สูงกว่าที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (ตารางที่ 8)

**ตารางที่ 7** ผลผลิตของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิในการทดลองครั้งที่ 2

| ชุดการทดลอง (ซ้ำ) | ปริมาณเริ่มต้น (กรัม) | ผลผลิตเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม) |
|---|---|---|
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย | | |
| 1 | 10 | 44.62 |
| 2 | 10 | 28.86 |
| 3 | 10 | 63.38 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย + น้ำหมักอามิ-อามิ 50 มล./ครั้ง/วัน | | |
| 1 | 10 | 70.34 |
| 2 | 10 | 65.83 |
| 3 | 10 | 67.16 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย + น้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน | | |
| 1 | 10 | 57.65 |
| 2 | 10 | 80.48 |
| 3 | 10 | 103.40 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย + น้ำหมักอามิ-อามิ 200 มล./ครั้ง/วัน | | |
| 1 | 10 | 54.63 |
| 2 | 10 | 60.94 |
| 3 | 10 | 57.93 |

**ตารางที่ 8** ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิในการทดลองครั้งที่ 2

| ชุดการทดลอง | จำนวนซ้ำ (N) | ผลผลิตต่ำสุด (กรัม) | ผลผลิตสูงสุด (กรัม) | ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 28.86 | 63.38 | 45.62±17.28$^{b}$ |
| 2 | 3 | 65.83 | 70.34 | 67.78±2.32$^{ab}$ |
| 3 | 3 | 57.65 | 103.40 | 80.51±22.88$^{a}$ |
| 4 | 3 | 54.63 | 60.94 | 57.83±3.16$^{ab}$ |

ชุดการทดลองที่ 1 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย

ชุดการทดลองที่ 2 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 50 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 3 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 4 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 200 มล./ครั้ง/วัน

a, b : ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ผลการตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำในถังเลี้ยงโรติเฟอร์ของแต่ละชุดการทดลองในการทดลองครั้งที่ 2 ดังแสดงในตารางที่ 9 อุณหภูมิของน้ำในช่วงเช้าผันแปรอยู่ระหว่าง 29.0-29.5°ซ ช่วงบ่ายอยู่ระหว่าง 32.2-34.0°ซ ความเป็นด่างเริ่มต้นในวันแรกที่ 152 มก./ลิตร ในวันที่ 2 เปลี่ยนแปลงจากเดิมเพียงเล็กน้อยสำหรับชุดการทดลองที่ 1-3 ส่วนชุดการทดลองที่ 4 เพิ่มสูงขึ้นในช่วง 163-167 มก./ลิตร จากนั้นลดลงทุกชุดการทดลองในวันที่ 3 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่ 9.0 และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยทุกชุดการทดลองในวันที่ 2 จากนั้นในวันที่ 3 ลดลงอยู่ในช่วง 8.4-8.6, 8.3-8.7, 8.3-8.5 และ 8.5-8.6 ปริมาณไนไตรท์ ($NO_2$-N) เริ่มต้นที่ 0.082 มก./ลิตร และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆโดยในวันที่ 3 อยู่ในช่วง 0.092-0.098, 0.092-0.097, 0.095-0.125 และ 0.096-0.131 มก./ลิตร ปริมาณแอมโมเนีย ($NH_3$-N) เริ่มต้นที่ 1.508 มก./ลิตร และเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาโดยในวันที่ 3 อยู่ในช่วง 2.581-2.690, 2.477-2.975, 2.690-2.886 และ 2.560-2.692 มก./ลิตร ในแต่ละชุดการทดลอง ตามลำดับ

องค์ประกอบทางเคมีของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิในปริมาณต่างๆดังแสดงในตารางที่ 10 โปรตีน ไขมัน และเถ้าของโรติเฟอร์ระหว่างชุดการทดลองอยู่ในช่วง 60.48-65.03, 8.35-14.90 และ 14.93-18.12%น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

**ตารางที่ 9** คุณภาพน้ำในถังเลี้ยงโรติเฟอร์ที่ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยโดยเสริมและไม่เสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิในแต่ละวันในการทดลองครั้งที่ 2

| parameter | ชุดการทดลอง | วันที่ 1 | วันที่ 2 | | วันที่ 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | เช้า | เช้า | บ่าย | เช้า | บ่าย |
| อุณหภูมิ | 1 | 29.0 | 29.0-29.5 | 32.2-33.0 | 29.0 | 32.5-33.0 |
| (°ซ) | 2 | 29.0 | 29.0-29.5 | 32.8-33.0 | 29.0 | 33.0-33.5 |
| | 3 | 29.0 | 29.0-29.5 | 33.0-33.8 | 29.0 | 33.0-33.8 |
| | 4 | 29.0 | 29.0 | 33.5-33.8 | 29.0 | 33.8-34.0 |
| ความเป็นด่าง | 1 | 152 | 149-153 | | 134-144 | |
| (มก./ลิตร) | 2 | 152 | 140-153 | | 137-146 | |
| | 3 | 152 | 145-150 | | 118-148 | |
| | 4 | 152 | 163-167 | | 115-158 | |
| pH | 1 | 9.0 | 9.06-9.10 | | 8.4-8.6 | |
| | 2 | 9.0 | 9.04-9.15 | | 8.3-8.7 | |
| | 3 | 9.0 | 9.09-9.14 | | 8.3-8.5 | |
| | 4 | 9.0 | 9.12-9.17 | | 8.5-8.6 | |
| $NO_2$-N | 1 | 0.082 | 0.081-0.082 | | 0.092-0.098 | |
| (มก./ลิตร) | 2 | 0.082 | 0.083-0.087 | | 0.092-0.097 | |
| | 3 | 0.082 | 0.083-0.122 | | 0.095-0.125 | |
| | 4 | 0.082 | 0.084-0.085 | | 0.096-0.131 | |
| $NH_3$-N | 1 | 1.508 | 2.105-2.390 | | 2.581-2.690 | |
| (มก./ลิตร) | 2 | 1.508 | 2.005-2.300 | | 2.477-2.795 | |
| | 3 | 1.508 | 2.200-2.410 | | 2.690-2.886 | |
| | 4 | 1.508 | 2.010-2.178 | | 2.560-2.692 | |

ชุดการทดลองที่ 1 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย

ชุดการทดลองที่ 2 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 50 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 3 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 4 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 200 มล./ครั้ง/วัน

หมายเหตุ คุณภาพน้ำในวันที่ 2 และ 3 เป็นช่วงค่าต่ำสุดถึงค่าสูงสุดจากการตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำในถังเลี้ยงโรติเฟอร์ทั้ง 3 ถังของแต่ละชุดการทดลอง

**ตารางที่ 10** องค์ประกอบทางเคมีของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยเสริมและไม่เสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิในการทดลองครั้งที่ 2

| ชุดการทดลอง | %น้ำหนักแห้ง | | |
|---|---|---|---|
| | โปรตีน | ไขมัน | เถ้า |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย | 65.03 | 12.83 | 16.01 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 50 มล./ครั้ง/วัน | 63.23 | 14.90 | 14.93 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน | 64.20 | 13.43 | 16.30 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 200 มล./ครั้ง/วัน | 60.48 | 8.35 | 18.12 |

การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลอง พบว่า โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน มีองค์ประกอบกรดไขมันกลุ่ม n-3 มากที่สุด (23.68%พื้นที่) ส่วนที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 200 มล./ครั้ง/วัน มี n-3 HUFA มากที่สุด (11.43%พื้นที่) และที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยเพียงอย่างเดียวมีองค์ประกอบกรดไขมันกลุ่ม n-6 มากที่สุด (24.27%พื้นที่) (ตารางที่ 11)

**ตารางที่ 11** องค์ประกอบกรดไขมันของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมน้ำหมักอามิ-อามิ ในการทดลองครั้งที่ 2

| ชนิดของกรดไขมัน | องค์ประกอบกรดไขมันของโรติเฟอร์ (%) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | T4 |
| 12 : 0 | 1.13 | 1.04 | 1.26 | |
| 14 : 0 | 1.85 | 1.89 | 1.69 | 2.14 |
| 15 : 0 | 1.62 | 1.60 | 1.88 | 1.76 |
| 16 : 0 | 16.95 | 17.68 | 16.02 | 16.23 |
| 17 : 0 | 1.23 | 1.31 | 1.30 | 1.41 |
| 18 : 1n-9 | 13.19 | 15.01 | 12.89 | 15.58 |
| 18 : 2n-6 | 17.19 | 14.11 | 15.04 | 13.32 |
| 18 : 3n-3 | 11.97 | 10.51 | 14.65 | 11.19 |
| 20 : 1n-9 | 2.61 | 3.48 | 3.43 | 4.04 |
| 20 : 4n-6 | 5.58 | 6.20 | 3.68 | 5.84 |
| 20 : 5n-3 | 7.62 | 7.30 | 7.16 | 9.03 |
| 22 : 4n-6 | 0.99 | 1.61 | 1.34 | 2.65 |
| 22 : 5n-6 | 1.50 | 1.69 | 0.95 | 1.68 |
| 22 : 6n-3 | 1.29 | 1.91 | 1.87 | 2.40 |
| Total n-3 | 20.88 | 19.72 | 23.68 | 22.62 |
| n-3 HUFA | 8.91 | 9.21 | 9.03 | 11.43 |
| Total n-6 | 24.27 | 22.00 | 19.67 | 20.84 |
| n-3/n-6 | 0.86 | 0.90 | 1.20 | 1.09 |

T1 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย
T2 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 50 มล./ครั้ง/วัน
T3 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน
T4 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและน้ำหมักอามิ-อามิ 200 มล./ครั้ง/วัน

**ผลการทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ครั้งที่ 3**

การเลี้ยงโรติเฟอร์ในปริมาณเริ่มต้น 10 กรัม ด้วยการให้ *Chlorella* น้ำกร่อยที่ไม่เสริมและเสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้งในปริมาณแตกต่างกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผลผลิตโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยในแต่ละถังอยู่ที่ 36.04, 36.67 และ 41.48 กรัม ผลผลิตโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 10 มล./ครั้ง/วัน อยู่ที่ 41.72, 40.00 และ 46.93 กรัม ผลผลิตโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 20 มล./ครั้ง/วัน อยู่ที่ 43.28, 36.38 และ 36.38 กรัม ส่วนผลผลิตโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 30 มล./ครั้ง/วัน อยู่ที่ 43.21, 38.60 และ 42.50 กรัม (ตารางที่ 12) ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลองอยู่ที่ 38.06±2.98, 42.88±3.61, 38.68±3.98 และ 41.44±2.48 กรัม ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) (ตารางที่ 12)

**ตารางที่ 12** ผลผลิตโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้งในการทดลองครั้งที่ 3

| ชุดการทดลอง (ซ้ำ) | ปริมาณเริ่มต้น (กรัม) | ผลผลิตเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม) |
|---|---|---|
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย | | |
| 1 | 10 | 36.04 |
| 2 | 10 | 36.67 |
| 3 | 10 | 41.48 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 10 มล./ครั้ง/วัน | | |
| 1 | 10 | 41.72 |
| 2 | 10 | 40.00 |
| 3 | 10 | 46.93 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 20 มล./ครั้ง/วัน | | |
| 1 | 10 | 43.28 |
| 2 | 10 | 36.38 |
| 3 | 10 | 36.38 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 30 มล./ครั้ง/วัน | | |
| 1 | 10 | 43.21 |
| 2 | 10 | 38.60 |
| 3 | 10 | 42.50 |

**ตารางที่ 13** ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้งในการทดลองครั้งที่ 3

| ชุดการทดลอง | จำนวนซ้ำ (N) | ผลผลิตต่ำสุด (กรัม) | ผลผลิตสูงสุด (กรัม) | ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 36.04 | 41.48 | 38.06±2.98 |
| 2 | 3 | 40.00 | 46.93 | 42.88±3.61 |
| 3 | 3 | 38.60 | 43.21 | 38.68±3.98 |
| 4 | 3 | 38.60 | 43.21 | 41.44±2.48 |

ชุดการทดลองที่ 1 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย

ชุดการทดลองที่ 2 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 10 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 3 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 20 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 4 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 30 มล./ครั้ง/วัน

คุณภาพน้ำในถังเลี้ยงโรติเฟอร์ของแต่ละชุดการทดลองในการทดลองครั้งที่ 3 ดังแสดงในตารางที่ 14 อุณหภูมิของน้ำในช่วงเช้าอยู่ระหว่าง 27.0-29.0°ซ ช่วงบ่ายระหว่าง 30.5-32.5°ซ ความเป็นด่างเริ่มต้นในวันแรกที่ 152 มก./ลิตร และเปลี่ยนแปลงไม่มากตลอดระยะเวลาการทดลอง โดยในวันที่ 4 อยู่ในช่วง 147-150, 146-158, 150-155 และ 158-162 มก./ลิตร ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่อนข้างสูงในวันแรกที่ 9.77 และค่อยลดลงตามระยะเวลาโดยวันที่ 4 อยู่ในช่วง 8.27-8.32, 8.27-8.29, 8.21-8.25 และ 8.19-8.22 ปริมาณไนไตรท์ ($NO_2$-N) ในวันแรกอยู่ที่ 1.925 มก./ลิตร จากนั้นลดลงตามระยะเวลาโดยวันสุดท้ายอยู่ในช่วง 0.015-0.053, 0.014-0.015, 0.014-0.018 และ 0.015-0.018 มก./ลิตร ส่วนปริมาณแอมโมเนีย ($NH_3$-N) ไม่ปรากฏในวันที่ 1 และ 2 เริ่มตรวจพบในวันที่ 3 และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 4 โดยอยู่ในช่วง 0.720-0.856, 0.395-0.923, 0.962-1.228 และ 1.331-1.726 มก./ลิตร ในแต่ละชุดการทดลอง ตามลำดับ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้งในปริมาณต่างๆ พบว่า ค่าโปรตีน ไขมัน และเถ้าของโรติเฟอร์ระหว่างชุดการทดลองค่อนข้างใกล้เคียงกันโดยมีโปรตีนอยู่ในช่วง 61.68-64.35% ไขมันในช่วง 11.84-17.02% และเถ้าในช่วง 6.17-7.70%น้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 15)

**ตารางที่ 14** คุณภาพน้ำในถังเลี้ยงโรติเฟอร์ที่ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยโดยเสริมและไม่เสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้งในแต่ละวันในการทดลองครั้งที่ 3

| parameter | ชุดการทดลอง | วันที่ 1 | วันที่ 2 | | วันที่ 3 | | วันที่ 4 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | เช้า | เช้า | บ่าย | เช้า | บ่าย | เช้า |
| อุณหภูมิ | 1 | 29.0 | 28.0-28.5 | 31.0-32.0 | 28.0-28.5 | 30.5-31.5 | 27.0-28.0 |
| (°ซ) | 2 | 29.0 | 28.0-28.5 | 31.2-32.0 | 28.0-28.5 | 30.5-31.5 | 27.0-28.0 |
| | 3 | 29.0 | 28.5-28.8 | 32.2-32.5 | 28.5-29.0 | 31.5 | 28.0 |
| | 4 | 29.0 | 28.0 | 31.0-32.0 | 28.0-28.5 | 30.5-31.5 | 27.5-28.0 |
| ความเป็นด่าง | 1 | 152 | 145-147 | | 149-152 | | 147-150 |
| (มก./ลิตร) | 2 | 152 | 145-149 | | 140-147 | | 146-158 |
| | 3 | 152 | 147-150 | | 148-154 | | 150-155 |
| | 4 | 152 | 150-153 | | 135-145 | | 158-162 |
| pH | 1 | 9.77 | 9.27-9.34 | | 8.34-8.62 | | 8.27-8.32 |
| | 2 | 9.77 | 9.25-9.29 | | 8.47-8.56 | | 8.27-28.9 |
| | 3 | 9.77 | 9.43-9.45 | | 8.52-8.60 | | 8.21-8.25 |
| | 4 | 9.77 | 9.35-9.43 | | 8.38-8.49 | | 8.19-8.22 |
| $NO_2$-N | 1 | 1.925 | 0.055-0.066 | | 0.018-0.057 | | 0.015-0.053 |
| (มก./ลิตร) | 2 | 1.925 | 0.056-0.061 | | 0.014-0.016 | | 0.014-0.015 |
| | 3 | 1.925 | 0.056-0.058 | | 0.015-0.018 | | 0.014-0.018 |
| | 4 | 1.925 | 0.049-0.052 | | 0.016-0.018 | | 0.015-0.018 |
| $NH_3$-N | 1 | 0 | 0 | | 0.185-0.608 | | 0.720-0.836 |
| (มก./ลิตร) | 2 | 0 | 0 | | 0.308-0.370 | | 0.395-0.923 |
| | 3 | 0 | 0 | | 0.052-0.531 | | 0.962-1.228 |
| | 4 | 0 | 0 | | 0.059-0.669 | | 1.311-1.762 |

ชุดการทดลองที่ 1 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย

ชุดการทดลองที่ 2 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 10 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 3 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 20 มล./ครั้ง/วัน

ชุดการทดลองที่ 4 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 30 มล./ครั้ง/วัน

หมายเหตุ คุณภาพน้ำในวันที่ 2-4 เป็นช่วงค่าต่ำสุดถึงค่าสูงสุดจากการตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำในถังเลี้ยงโรติเฟอร์ทั้ง 3 ถังของแต่ละชุดการทดลอง

**ตารางที่ 15** องค์ประกอบทางเคมีของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้งในการทดลองครั้งที่ 3

| ชุดการทดลอง | %น้ำหนักแห้ง | | |
|---|---|---|---|
| | โปรตีน | ไขมัน | เถ้า |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย | 62.11 | 11.84 | 7.70 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 10 มล./ครั้ง/วัน | 64.35 | 14.26 | 7.26 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 20 มล./ครั้ง/วัน | 61.68 | 17.02 | 6.17 |
| ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 30 มล./ครั้ง/วัน | 63.70 | 13.94 | 6.79 |

การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลอง ปรากฏว่า โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยเสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้ง 10 มล./ครั้ง/วัน มีองค์ประกอบกรดไขมันที่เป็น n-3, n-3 HUFA และ n-6 มากที่สุด คือ 18.83, 12.54 และ 21.55% พื้นที่ ตามลำดับ (ตารางที่ 16)

**ตารางที่ 15** องค์ประกอบกรดไขมันของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่เสริมและเสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้งในการทดลองครั้งที่ 3

| ชนิดของกรดไขมัน | องค์ประกอบกรดไขมันของโรติเฟอร์ (%พื้นที่) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | T4 |
| 14 : 0 | 4.83 | 4.38 | 4.57 | 5.19 |
| 15: 0 | 1.16 | 1.15 | 1.07 | 1.12 |
| 16: 0 | 19.85 | 17.31 | 18.65 | 21.78 |
| 17 : 0 | 1.55 | 1.53 | 2.12 | 2.35 |
| 18 : 1n-9 | 16.71 | 16.83 | 17.06 | 18.66 |
| 18 : 2n-6 | 10.82 | 10.66 | 10.59 | 11.61 |
| 18 : 3n-3 | 6.28 | 6.29 | 3.52 | 3.38 |
| 18 : 4n-3 | | | 1.27 | 1.49 |
| 20 : 1n-9 | 3.38 | 4.25 | 3.58 | 3.63 |
| 20 : 4n-6 | 7.65 | 8.56 | 6.96 | 6.99 |
| 20 : 5n-3 | 7.01 | 9.08 | 7.91 | 7.01 |
| 22 : 4n-9 | 2.24 | 2.36 | 4.19 | 1.29 |
| 22 : 5n-6 | 1.89 | 2.33 | 3.58 | 1.23 |
| 22 : 6n-3 | 2.67 | 3.46 | 3.82 | 1.70 |
| Total n-3 | 15.96 | 18.83 | 16.52 | 13.58 |
| n-3 HUFA | 9.68 | 12.54 | 11.73 | 8.71 |
| Total n-6 | 20.36 | 21.55 | 21.13 | 19.83 |
| n-3/n-6 | 0.78 | 0.87 | 0.78 | 0.68 |

T1 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อย
T2 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 10 มล./ครั้ง/วัน
T3 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 20 มล./ครั้ง/วัน
T4 : ให้ *Chlorella* น้ำกร่อยและโปรตีนหัวกุ้ง 30 มล./ครั้ง/วัน

## วิจารณ์ผล

*Chlorella* เป็นอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้เลี้ยงโรติเฟอร์ (ถนอม, 2526; ธิดา, 2542; สาธิต และอรนุช, 2531) ในการผลิตโรติเฟอร์จึงจำเป็นต้องเตรียม *Chlorella* ให้มีปริมาณเพียงพอ การเพาะขยาย *Chlorella* สายพันธุ์น้ำเค็มปริมาณมากด้วยวิธีดั้งเดิมที่ใช้เชื้อบริสุทธิ์จากห้องปฏิบัติการเป็นเชื้อตั้งต้นมีขั้นตอนยุ่งยาก ต้นทุนสูง และผู้ปฏิบัติต้องมีทักษะพอสมควร แต่การเพาะขยายน้ำเขียวน้ำกร่อยโดยใช้เชื้อน้ำเขียวที่เพาะด้วยวิธีธรรมชาติซึ่งไม่ต้องผ่านขั้นตอนการเตรียมเชื้อในห้องปฏิบัติการในการศึกษาครั้งนี้ได้ผลดีมาก เนื่องจากสิ่งมีชีวิตในน้ำเขียวเกือบทั้งหมดเป็น *Chlorella* และมีความหนาแน่นพอสมควร ($10^5$-$10^6$ เซลล์/มล.) การผลิต *Chlorella* น้ำกร่อยวิธีนี้มีเทคนิคสำคัญอยู่ที่ต้องปรับความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ที่ 9 เพื่อไม่ให้แพลงก์ตอนชนิดอื่นเกิดหรือเกิดขึ้นน้อยที่สุด เทคนิคการผลิตนี้เหมาะสำหรับเกษตรกรทั่วไป เนื่องจากไม่ต้องลงทุนสร้างห้องปฏิบัติการที่ต้องซื้อเครื่องมือราคาแพง ไม่ต้องจ้างบุคลากรที่มีทักษะเป็นพิเศษ และพึ่งตนเองได้โดยไม่ต้องไปขอรับหัวเชื้อ *Chlorella* บริสุทธิ์จากหน่วยงานรัฐบ่อยๆหรือเสียเงินซื้อจากองค์กรใดๆ

การทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วย *Chlorella* โดยไม่ให้และให้อาหารสมทบในการศึกษาครั้งนี้ ปรากฏว่าผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* สายพันธุ์น้ำเค็มและน้ำกร่อยโดยไม่ให้อาหารสมทบในการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ใกล้เคียงกัน และผลผลิตเฉลี่ยน้อยกว่าที่ให้อาหารสมทบในแต่ละการทดลอง ถึงแม้ในการทดลองครั้งที่ 1 ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มโดยไม่ให้อาหารสมทบน้อยกว่าที่เลี้ยงโดยเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มเสริมด้วยน้ำหมักปลาและอามิ-อามิ (สด) ใกล้เคียงกันมาก อามิ-อามิจึงมีความเหมาะสมและสะดวกในการใช้มากกว่าน้ำหมักปลา เนื่องจากน้ำหมักปลามีกลิ่นเหม็นมาก ในการทดลองครั้งที่ 2 จึงใช้อามิ-อามิเป็นอาหารสมทบโดยเพิ่มกรรมวิธีหมักอามิ-อามิกับน้ำความเค็ม 15 ppt ไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน ก่อนนำไปใช้ โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยและเสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 100 มล./ครั้ง/วัน ให้ผลผลิตสูงสุด โดยสูงกว่าที่เสริมด้วยน้ำหมักอามิ-อามิ 50 และ 200 มล./ครั้ง/วัน อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) และสูงกว่าที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะการหมักอามิ-อามิทำให้เกิดแบคทีเรียซึ่งเป็นอาหารเสริมให้กับโรติเฟอร์ การใช้น้ำหมักอามิ-อามิจึงให้ผลดีกว่าการใช้อามิ-อามิสด ส่วนการทดลองครั้งที่ 3 ผลผลิตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยโดยไม่ให้อาหารสมทบน้อยกว่าที่ได้จากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 แต่ใกล้เคียงกับที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยและเสริมด้วยโปรตีนหัวกุ้งในปริมาณต่างๆในการทดลองเดียวกัน และผลผลิตเฉลี่ยทุกชุดการทดลองในการทดลองครั้งที่ 3 น้อยกว่าในการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ทั้งนี้อาจเกิดจากข้อผิดพลาดที่ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำเมื่อเริ่มต้นการทดลองสูงถึง 9.77 ส่วนความเป็นกรด-ด่างของน้ำเมื่อเริ่มต้นการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 อยู่ระหว่าง 8.63-8.68 และอยู่ที่ 9.0 ตามลำดับ นอกจากนี้ในการทดลองครั้งที่ 2 ปริมาณแอมโมเนีย ($NH_3$-N) ในน้ำเขียวระหว่างการเลี้ยงโรติเฟอร์ค่อนข้างสูงซึ่งเกินมาตรฐานที่กำหนดเพื่อ

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ค่าที่เหมาะสมต้องไม่เกิน 0.4 มก./ลิตร (ฝ่ายคุณภาพน้ำ, 2534) สาเหตุอาจเกิดจากปุ๋ยที่ใส่ในขั้นตอนเพาะขยาย *Chlorella* ยังถูกใช้ไปไม่หมด ทั้งความเป็นกรด-ด่างและปริมาณแอมโมเนียที่สูงเกินไปย่อมส่งผลกระทบต่อผลผลิตของโรติเฟอร์ไม่มากก็น้อย ดังนั้น ในขบวนการผลิตควรตรวจสอบและปรับคุณภาพน้ำในน้ำเขียวให้เหมาะสมก่อนนำไปใช้เป็นอาหารของโรติเฟอร์

เมื่อพิจารณาถึงคุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์ พบว่าโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยมีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็ม อย่างไรก็ตาม การผันแปรของคุณค่าโภชนาการของโรติเฟอร์ นอกจากชนิดอาหารแล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ เช่น สภาวะแวดล้อม ปริมาณอาหาร และความหนาแน่นของโรติเฟอร์ด้วย (Guisande and Serrano, 1989) จากผลการทดลองโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยเป็นอาหารหลักมีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 60.48-65.03% (% น้ำหนักแห้ง) และมีปริมาณไขมันอยู่ระหว่าง 8.35-17.02% (%น้ำหนักแห้ง) และโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็มเป็นอาหารหลักมีปริมาณโปรตีนและไขมันผันแปรระหว่าง 50.51-68.46% และ 8.92-12.02% ตามลำดับ ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ปริมาณโปรตีนของโรติเฟอร์มีค่าสูงซึ่งใกล้เคียงกับที่ Watanabe *et al.* (1983) รายงานไว้คือ 65% แต่แตกต่างจากนักวิจัยอื่นๆ เช่น Scott and Baynes (1978) ที่รายงานไว้ว่าอยู่ในช่วง 50-58% และ Benz-Amotz *et al.* (1987) รายงานว่าอยู่ในช่วง 28-51% เช่นเดียวกับปริมาณไขมันซึ่งมีรายงานว่าอยู่ในช่วง 9-16% น้ำหนักแห้ง (Scott & Baynes, 1978; Minkoff, 1987 อ้างตาม Lubzens *et al.*, 1989) Watanabe *et al.* (1983) รายงานว่าปริมาณไขมันในโรติเฟอร์สามารถเพิ่มได้ถึง 23.5% และ Dendrinos and Thorpe (1987) รายงานปริมาณไขมันในโรติเฟอร์สูงถึง 28% เป็นต้น การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมัน พบว่า โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยมีกรดไขมันจำเป็นกลุ่ม n-3 HUFA ชนิด 20: 5n-3 และ 22: 6n-3 ในปริมาณ 7.62 และ 1.29% ตามลำดับ โดยมีปริมาณสูงกว่าโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำเค็ม ซึ่งมีปริมาณกรดไขมัน 20: 5n-3 และ 22: 6n-3 เท่ากับ 2.74% และ 0.6% ตามลำดับ นอกจากนี้ การให้น้ำหมักอามิ-อามิสมทบกับ *Chlorella* น้ำกร่อยแก่โรติเฟอร์ในปริมาณ 50 หรือ 100 มล./ครั้ง/วัน ทำให้ปริมาณกรดไขมัน 20: 5n-3 ลดลง และชนิด 22: 6n-3 เพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ที่ให้น้ำหมักอามิ-อามิในปริมาณ 200 มล./ครั้ง/วัน ทำให้ปริมาณกรดไขมันทั้ง 2 ชนิด เพิ่มขึ้นเป็น 9.03 และ 2.04% ส่วนการให้โปรตีนหัวกุ้งสมทบกับ *Chlorella* น้ำกร่อยแก่โรติเฟอร์ในปริมาณ 10 หรือ 20 มล./ครั้ง/วัน ทำให้ปริมาณกรดไขมันทั้งชนิด 20: 5n-3 และ 22: 6n-3 เพิ่มขึ้นเล็กน้อย โรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *Chlorella* น้ำกร่อยและให้อาหารสมทบไม่ว่าเป็นน้ำหมักอามิ-อามิหรือโปรตีนหัวกุ้งมีการสะสมของกรดไขมันกลุ่ม n-3 โดยเฉพาะ n-3 HUFA เพิ่มขึ้น และกรดไขมันกลุ่ม n-6 มีปริมาณลดลง ซึ่งมีผลทำให้สัดส่วนกรดไขมัน n-3/n-6 เพิ่มขึ้นด้วย ยกเว้นชุดการทดลองที่ให้อาหารสมทบโปรตีนหัวกุ้งในปริมาณที่มากถึง 30 มล./ครั้ง/วัน ซึ่งปริมาณกรดไขมันดังกล่าวต่ำกว่าชุดการทดลองที่ให้ *Chlorella* อย่างเดียว การเพิ่มปริมาณของ n-3 HUFA ในโรติเฟอร์ซึ่งเป็นอาหารเริ่มต้นของสัตว์น้ำวัยอ่อนมีผลดีต่อทั้งสัตว์น้ำจืดและสัตว์น้ำเค็ม โดยเฉพาะสัตว์น้ำเค็มที่ไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันกลุ่มที่มีโซ่คาร์บอนยาว (poly unsaturated fatty acid) ได้ภายในตัว และไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมัน short chain fatty acid (18:3n-3) เป็น n-3 HUFA ได้ (Watanabe *et al.*, 1983)

## คำขอบคุณ

การศึกษาในครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณอรุณี รอดลอย นักวิชาการประมง 7 สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด ที่ช่วยวิเคราะห์ชนิดและจำนวนสิ่งมีชีวิตในน้ำเขียวน้ำกร่อยที่เพาะขยายโดยใช้เชื้อน้ำเขียวที่เพาะขยายด้วยวิธีธรรมชาติ และขอขอบคุณ คุณธนาภรณ์ จิตตปาลพงศ์ ที่ช่วยตรวจสอบเพื่อยืนยันชนิดของโรติเฟอร์ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

ถนอม พิมลจินดา. 2526. การทดลองใช้ยีสต์เป็นอาหารสมทบแก่โรติเฟอร์. เอกสารวิชาการ. สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดภูเก็ต, กองประมงน้ำกร่อย, กรมประมง. 9 หน้า.

ถนอม พิมลจินดา. 2529. โรติเฟอร์. เอกสารวิชาการ. สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดภูเก็ต, กองประมงน้ำกร่อย, กรมประมง. 21 หน้า.

ธิดา เพชรมณี. 2542. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จ. สงขลา. 49 หน้า.

ธิดา เพชรมณี, มาวิทย์ อัศวอารีย์, ไพบูลย์ บุญลิปตานนท์ และไพฑูรย์ อรรฆยานนท์. 2531. ความเป็นไปได้ในการใช้โรติเฟอร์ *Brachionus plicatilis* เป็นอาหารระยะแรกของลูกปลากะรัง *Epinephelus malabaricus*. เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2531. สาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ, กรมประมง. 10 หน้า.

ธิดา เพชรมณี และมาวิทย์ อัศวอารีย์. 2541. ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของโรติเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* สายพันธุ์สตูล. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2/2541. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 7 หน้า.

ฝ่ายคุณภาพน้ำ. 2534. มาตรฐานคุณภาพน้ำประเทศไทย. ฝ่ายคุณภาพน้ำ, กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม, สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 142 หน้า.

มาวิทย์ อัศวอารีย์ และธิดา เพชรมณี. 2538. ขนาดของโรติเฟอร์ *Brachionus plicatilis* สายพันธุ์ต่างๆที่พบในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2/2538. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง. 10 หน้า.

สาธิต โกวิทวที และอรนุช ดีช่วย. 2531. ผลตอบสนองของจำนวนโรติเฟอร์ *Brachionus plicatilis* (Müller) ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Chlorella* sp., *Chaetoceros* sp. ยีสต์ขนมปัง และมูลไก่. เอกสารงานวิจัยเลขที่ 28/2531. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, วิทยาเขตบางแสน. 25 หน้า.

สุพิศ ทองรอด และนิวัติ สุธีมีชัยกุล. 2526. การทดลองหาอัตราการกินโรติเฟอร์ของลูกปลากะพง. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 8. สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดสตูล. 22 หน้า.

APHA, AWWA and WPCF. 1980. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 15thed. American Public Health Association, Washington. 1134 pp.

AOAC. 1984. AOAC Official Methods of Analysis, 14th ed. Association of officeal Analytical Chemists, Inc., Arlington, Virginia. 1141 pp.

Benz-Amotz, A., R. Fishler and A. Schneller. 1987. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids. *Mar. Biol.* 95: 31-36.

Dendrinos, P. and J. P. Thorpe. 1987. Experiments on the artificial regulation of the amino acid and fatty acid contents of food organisms to meet the assessed nutritional requirements of larval, post larval and juvenile Dover sole (*Solea solea* L.*). Aquaculture* 61: 2-154.

Folch, J., M. Lee and G. M. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem*. 226: 497-509.

Guisander, C. and Serrano, L. 1989. Analysis of protein, carbohydrate and lipid in rotifer. *Hydrobiologia* 186/187: 339-346.

Lubzens, E., A. Tandler and G. Minkoff. 1989. Rotifer as food in Aquaculture. *Hydrobiologia.* 186/187: 387-400.

Metcalfe, L. D. and Schmitz, A. A. 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas-chromatography analysis. *Analytical Chemistry* 33: 363-364.

Minkoff, G. 1987. The effect of secondarily enriched rotifers on growth and survival of marine fish larvae. Ph.D. Thesis University of Stirling, UK.

Scott, A. P. and S. M. Baynes. 1978. Effect of algal diet and temperature on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis. Aquaculture.* 14: 247-260.

Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Canada, Bulletin 167, Ottawa. 310 pp.

Watanabe, T., C. Kitajima and S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture* 34: 115-143.