เอกสารวิชาการฉบับที่ ๒๒/ ๒๕๕๕

Technical Paper No. 22/ 2012

ผลของน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *Chaetomorpha crassa* (C. Agardh) Kützing, F. T., 1845 ต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

Effect of Bio-fermented Seaweed *Chaetomorpha crassa* (C. Agardh) Kützing, F.T., 1845 on Phytoplankton Growth

อรกัญญา เม่งหยู Ornkanya Mengyu

อำไพ ล่องลอย Amphai Longloy

นันทวัน ศานติสาธิตกุล Nanthawan Santisathitkul

สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง Coastal Fisheries Research and Development Bureau

กรมประมง Department of Fisheries

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ Ministry of Agriculture and Cooperatives

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๒๒/ ๒๕๕๕

Technical Paper No. 22/2012

ผลของน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *Chaetomorpha crassa* (C. Agardh) Kützing, F. T., 1845 ต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

Effect of Bio-fermented Seaweed *Chaetomorpha crassa* (C. Agardh) Kützing, F.T., 1845 on Phytoplankton Growth

อรกัญญา เม่งหยู Ornkanya Mengyu

อำไพ ล่องลอย Amphai Longloy

นันทวัน ศานติสาธิตกุล Nanthawan Santisathitkul

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่ Krabi Coastal Fisheries Research and Development Center

สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง Coastal Fisheries Research and Development Bureau

กรมประมง Department of Fisheries

๒๕๕๕ 2012

รหัสทะเบียนวิจัย 54-0345-54047

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์	4
วิธีดำเนินการ	4
1. การวางแผนการทดลอง	4
2. สถานที่ศึกษา และระยะเวลาการทดลอง	6
3. วิธีการทดลอง	6
4. การวิเคราะห์ข้อมูล	10
ผลการศึกษา	10
สรุปและวิจารณ์ผล	26
ข้อเสนอแนะ	32
คำขอบคุณ	32
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	49

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา เคมี และปริมาณธาตุอาหารในน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa*	7
2	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิดที่เลี้ยงในระดับ ห้องปฏิบัติการ	13
3	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการ	13
4	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง	16
5	องค์ประกอบทางเคมีของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง	17

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ความหนาแน่นเซลล์ของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้นต่างกันกับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา และที่เลี้ยงด้วยน้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อเป็นชุดควบคุม	11
2	ความหนาแน่นเซลล์ของ *I. galbana* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้นต่างกันกับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวาและที่เลี้ยงด้วยน้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อเป็นชุดควบคุม	12
3	ความหนาแน่นเซลล์ของ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้นต่างกันกับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา และที่เลี้ยงด้วยน้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อเป็นชุดควบคุม	13
4	ความหนาแน่นเซลล์ของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้น 1.0 มล./ล. และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีทางการเกษตร	14
5	ความหนาแน่นเซลล์ของ *I. galbana* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ สาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้น 1.0 มล./ล. และเลี้ยง ด้วยปุ๋ยเคมี	15
6	ความหนาแน่นเซลล์ของ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้น 0.5 มล./ล. และเลี้ยง ด้วยปุ๋ยเคมี	15
7	การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ย ความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) และออร์โธฟอสเฟต (f) ในน้ำระหว่างการเลี้ยง *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการ	19
8	การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ย ความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b),ไนไตรท์ (c),ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) และออร์โธฟอสเฟต(f) ในน้ำระหว่างการเลี้ยง *I. galbana* ในห้องปฏิบัติการ	20
9	การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ย ความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) และออร์โธฟอสเฟต (f) ในน้ำ ระหว่างการเลี้ยง *C. calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ	21
10	การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ย ความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) , ออร์โธฟอสเฟต (f), แบคทีเรียรวม (g) และแบคทีเรียแลคติก (h) ในน้ำระหว่างการเลี้ยง *Chlorella* sp. กลางแจ้ง	23
11	การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ย ความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) , ออร์โธฟอสเฟต (f), แบคทีเรียรวม (g) และแบคทีเรียแลคติก (h) ในน้ำระหว่างการเลี้ยง *I. galbana* กลางแจ้ง	24
12	การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ย ความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) , ออร์โธฟอสเฟต (f), แบคทีเรียรวม (g) และแบคทีเรียแลคติก (h) ในน้ำระหว่างการเลี้ยง *C.calcitrans* กลางแจ้ง	25

ผลของน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *Chaetomorpha crassa* (C. Agardh) Kützing, F. T., 1845 ต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

อรกัญญา เม่งหยู[๑]* อำไพ ล่องลอย[๑] และ นันทวัน ศานติสาธิตกุล[๒]

[๑]ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่

[๒]ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งภูเก็ต

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *Chaetomorpha crassa* ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด เปรียบเทียบกับปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา และในน้ำทะเลฆ่าเชื้อ ซึ่งเลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้ความเข้มแสง 6,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเค็มน้ำ 27 ส่วนในพัน พบว่า *Chlorella* sp., *Isochrysis galbana* และ *Chaetoceros calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 1.0, 1.0 และ 0.5 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด เท่ากับ $7.43\pm0.43\times10^6$, $5.41\pm0.18\times10^6$ และ $1.62\pm0.04\times10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา ที่มีค่าความหนาแน่นเซลล์สูงสุด เท่ากับ $5.31\pm0.14\times10^6$, $4.40\pm0.16\times10^6$ และ $1.35\pm0.02\times10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ การเพิ่มความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพที่ระดับ 10.0 และ 20.0 มล./ล. ส่งผลให้ความหนาแน่นเซลล์ลดลงภายใน 1-3 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดแพลงก์ตอนพืช

เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ในการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง พบว่า *Chlorella* sp., *I. galbana* และ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 1.0, 1.0 และ 0.5 มล./ล. ตามลำดับ มีความหนาแน่นเซลล์สูงกว่าการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยเฉพาะ *I. galbana* เจริญเติบโตรวดเร็วกว่าเลี้ยงโดยใช้ปุ๋ยเคมี 2 วัน นอกจากนี้ ปริมาณโปรตีน ไขมัน และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงของแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้มสูงกว่าการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ดังนั้น สามารถใช้น้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชกลางแจ้งได้ทั้ง 3 ชนิด ทั้งนี้เพื่อทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมี ลดต้นทุนการผลิต และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม อันเกิดจากแอมโมเนียรวม ไนเตรท และฟอสเฟตที่เหลือตกค้างในน้ำเลี้ยงแพลงก์ตอนได้

คำสำคัญ: น้ำหมักชีวภาพสาหร่าย การเจริญเติบโต แพลงก์ตอนพืช

***ผู้รับผิดชอบ:** ๑๔๑ ม.๖ ต.ไสไทย อ.เมือง จ.กระบี่ ๘๑๐๐๐ โทร. ๐ ๗๕๖๖ ๒๐๖๐

E-mail: ornkanya@gmail.com

Effect of Bio-fermented Seaweed *Chaetomorpha crassa* (C. Agardh) Kützing, F.T., 1845 on Phytoplankton Growth

Ornkanya Mengyu[1]* Amphai Longloy[1] and Nanthawan Santisathitkul[2]

[1]Krabi Coastal Fisheries Research and Development Center

[2]Phuket Coastal Fisheries Research and Development Center

Abstract

The effect of bio-fermented seaweed *Chaetomorpha crassa* on various phytoplankton was studied to determine the suitable concentration dilution on 3 species of phytoplankton. The growth were compare to those cultured in modified Sato and Serikawa medium and treated sea water as control. The culturing was operated under laboratory conditions with 6,000 lux light intensity, temperature 25±2°C and 27 part per thousand (ppt) seawater salinity. The result showed the maximal cell density of *Chlorella* sp., *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* which cultured with 1.0, 1.0 and 0.5 ml/liter concentration were $7.43\pm0.43\times10^6$, $5.41\pm0.18\times10^6$ and $1.62\pm0.04\times10^6$ cells/ml, respectively and significantly higher than modified Sato and Serikawa medium ($P<0.05$), were $5.31\pm0.14\times10^6$, $4.40\pm0.16\times10^6$ and $1.35\pm0.02\times10^6$ cells/ml, respectively. On the other hand, the increasing concentration to 10.0 and 20.0 ml/liter were decreasing the cell density within 1-3 days depending on species.

Outdoor phytoplankton culturing was operated under natural sunlight. The results showed that the maximal cell density of *Chlorella* sp., *I. galbana* and *C. calcitrans* cultured with bio-fermented seaweed 1.0, 1.0 and 0.5 ml/liter, respectively were significantly higher than chemical fertilizer culturing ($P<0.05$), especially *I. galbana* was 2 days faster growing than chemical fertilizer culturing. Protein lipid and PUFAs content of all species which cultured with bio-fermented seaweed were higher than those cultured with chemical fertilizer. In conclusion, the bio-fermented seaweed *C. crassa* can be use for phytoplankton outdoor culturing addition to chemical fertilizer for reducing production cost and more environmental friendly, since lower total ammonia, nitrate and phosphate concentration.

Key words: bio-fermented seaweed, *Chaetomorpha crassa*, growth, phytoplankton, *Chlorella* sp., *Isochysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*

---

*Corresponding author : 141 Moo 6, Saithai Sub-district, Muang District, Krabi Province, Thailand 81000.

Tel. 0 7566 2060 E-mail: ornkanya@gmail.com

คำนำ

สาหร่าย *Chaetomorpha crassa* (C. Agardh) Kützing, F. T., 1845 สามารถแพร่ขยายอย่างรวดเร็ว (Krause-Jensen *et al*., 1999) โดยเฉพาะในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งทั่วไป และหาได้ง่าย จึงได้นำสาหร่ายทะเลชนิดนี้มาผลิตเป็นน้ำหมักชีวภาพ โดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 30 วัน พบว่ามีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของสาหร่ายเขากวาง (*Caulerpa racemosa* var. *corynephora*) ได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 1:2,500 (อรกัญญา และ อำไพ, 2553) ประกอบกับมีรายงานการนำสาหร่ายทะเลหลายชนิดมาสกัดเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช (สาหร่ายขนาดเล็ก) ใช้สำหรับการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน (Cho *et al*., 1999; Alvarado *et al*., 2008; Luyen *et al*., 2007) จึงมีแนวคิดในการผลิตน้ำหมักชีวภาพจากสาหร่าย *C. crassa* เพื่อใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชชนิดที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ได้แก่ *Chlorella* sp., *Isochrysis galbana* และ *Chaetoceros calcitrans* เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิดจัดเป็นอาหารมีชีวิตที่นิยมใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนที่มีมูลค่าสูงทางเศรษฐกิจ เช่น กุ้ง ปลา หอย และปูทะเล อีกทั้งปัจจุบันความต้องการบริโภคอาหารทะเลเพิ่มขึ้น ทำให้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้การผลิตแพลงก์ตอนเพิ่มมากขึ้นเพื่อให้เพียงพอต่อการนำไปใช้อนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน แต่กระบวนการผลิตแพลงก์ตอนพืชในปัจจุบันพบว่าเกษตรกรยังนิยมใช้ปุ๋ยเคมีทั้งระดับห้องปฏิบัติการ (laboratory scale) และระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง (outdoor mass scale) ซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองต้นทุนการผลิต อีกทั้งการตกค้างของแอมโมเนียที่มาจากปุ๋ยเคมีในน้ำเลี้ยงแพลงก์ตอนยังก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำอีกด้วย (Schlüter and Groeneweg, 1985; Ip *et al*., 2001) โดยระดับแอมโมเนีย (NH_3) 1.13 มิลลิกรัม/ลิตร มีผลทำให้ลูกปลาช่อนทะเลขนาด 1.74 กรัม ตายลงภายใน 96 ชั่วโมง (Rodrigues *et al*., 2007) ขณะที่ฟอสฟอรัส และไนเตรทที่ปล่อยทิ้งลงแหล่งน้ำธรรมชาติ อาจก่อให้เกิดกระบวนการ Eutrophication ทำให้คุณภาพน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติเสื่อมโทรมลง

ดังนั้นการเลือกใช้น้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ที่สามารถผลิตได้เองมาเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกร เนื่องจากเป็นกระบวนการผลิตแพลงก์ตอนพืชที่มีคุณภาพและคำนึงถึงสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังเป็นการนำสาหร่าย *C. crassa* ที่มีอยู่ทั่วไปในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งมาเพิ่มมูลค่าเพื่อทดแทน/ลดการใช้ปุ๋ยเคมีได้เป็นอย่างดี

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาระดับความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *Chaetomorpha crassa* ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp., *Isochrysis galbana* และ *Chaetoceros calcitrans* ในระดับห้องปฏิบัติการ
2. ศึกษาผลน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C.crassa* ต่ออัตราการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp., *Isochrysis galbana* และ *Chaetoceros calcitrans* เปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง
3. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C.crassa* และการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง
4. ศึกษาคุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช ทั้ง 3 ชนิด

วิธีดำเนินการ

1. การวางแผนการทดลอง

การทดลอง แบ่งออกเป็น 2 ระยะ ประกอบด้วย

การทดลองระยะที่ 1 เลี้ยงแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด คือ *Chlorella* sp., *I. galbana* และ *C. calcitrans* ในห้องปฏิบัติการด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช สูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา (Sato and Serikawa modified medium) (ภาคผนวกที่ 1) และเลี้ยงด้วยน้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อ เป็นชุดควบคุม (อรกัญญา และ อำไพ, 2553)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) ประกอบด้วย 3 การทดลองย่อย ดังนี้

การทดลองย่อยที่ 1.1 ศึกษาผลของน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp. โดยแบ่งเป็น 6 ชุดการทดลอง และ 2 ชุดควบคุม ชุดละ 3 ซ้ำ คือ

ชุดควบคุมที่ 1 เลี้ยงด้วยน้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อ

ชุดควบคุมที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 0.5 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 1.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 2.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 5.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 5 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 10.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 6 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C.crassa* ระดับความเข้มข้น 20.0 มล./ล.

การทดลองย่อยที่ 1.2 ศึกษาผลของน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ต่อการเจริญเติบโตของ *I. galbana* โดยแบ่งเป็น 6 ชุดการทดลอง และ 2 ชุดควบคุม ชุดละ 3 ซ้ำ คือ

ชุดควบคุมที่ 1 เลี้ยงด้วยน้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อ

ชุดควบคุมที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 0.5 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 1.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 2.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 5.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 5 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 10.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 6 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 20.0 มล./ล.

การทดลองย่อยที่ 1.3 ศึกษาผลของน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ต่อการเจริญเติบโตของ *C. calcitrans* โดยแบ่งเป็น 6 ชุดการทดลอง และ 2 ชุดควบคุม ชุดละ 3 ซ้ำ คือ

ชุดควบคุมที่ 1 เลี้ยงด้วยน้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อ

ชุดควบคุมที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 0.5 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 1.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 2.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 5.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 5 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 10.0 มล./ล.

ชุดการทดลองที่ 6 เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 20.0 มล./ล.

การทดลองระยะที่ 2 เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชปริมาณมากกลางแจ้ง 3 ชนิด คือ *Chlorella* sp., *I. galbana* และ *C. calcitrans* ด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองในห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบกับปุ๋ยเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชสูตรต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะขยายพันธุ์ในปริมาณมากกลางแจ้ง (ภาคผนวกที่ 2) (ธิดา, 2542 อ้างตาม ลัดดา, 2543)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) ประกอบด้วย 3 การทดลองย่อย ดังนี้

การทดลองย่อย ที่ 2.1 เพาะขยายพันธุ์ *Chlorella* sp. ด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 1.0 มล./ล. เปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีทางการเกษตร สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ

การทดลองย่อย ที่ 2.2 เพาะขยายพันธุ์ *I. galbana* ด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 1.0 มล./ล. เปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีสำหรับเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนน้ำเค็ม ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ

การทดลองย่อย ที่ 2.3 เพาะขยายพันธุ์ *C. calcitrans* ด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ระดับความเข้มข้น 0.5 มล./ล. เปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีสำหรับเพาะเลี้ยงไดอะตอม ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ

2. สถานที่ศึกษา และระยะเวลาการทดลอง

หมักสาหร่าย *C. crassa* ที่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่ ตั้งแต่วันที่ 10 ตุลาคม - 10 พฤศจิกายน 2553 และทดลองเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการแพลงก์ตอน และเพาะขยายพันธุ์แพลงก์ตอนกลางแจ้งในโรงเพาะฟักที่มีหลังคาโปร่งแสงของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่ ตั้งแต่วันที่ 18 พฤศจิกายน 2553 - 20 เมษายน 2554 ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำและคุณสมบัติน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ที่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ตรวจวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืชในน้ำหมักชีวภาพที่หน่วยเครื่องมือกลางคณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา และตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแพลงก์ตอนพืช ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาสงขลา อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

3. วิธีการทดลอง

3.1 การเตรียม และการผลิตน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa*

รวบรวมสาหร่าย *C. crassa* จากบ่อเลี้ยงปลาทะเล ของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่ แยกสาหร่ายชนิดอื่น ๆ ออกให้หมด ล้างด้วยน้ำทะเลสะอาด และล้างด้วยน้ำจืดสะอาดเพื่อลดความเค็มที่เกาะตามผิวสาหร่าย จากนั้นหมักสาหร่าย 3 กิโลกรัม กับน้ำตาลทรายแดง 1 กิโลกรัม แล้วเติมน้ำจืดสะอาด 10 ลิตร (อัตราส่วน 3:1:10) ในถังพลาสติกทึบ ความจุ 20 ลิตร มีฝาปิด เป็นระยะเวลา 30 วัน (อรกัญญา และ อำไพ, 2553) อุณหภูมิเฉลี่ยในระหว่างหมัก 34.0$\pm$2.0 องศาเซลเซียส นำน้ำหมักที่ได้มากรองด้วยแผ่นกรอง Whatman เบอร์43 (ขนาดรูเปิด 16 ไมโครเมตร) และผ้ากรองขนาดตากรอง 5 ไมโครเมตร บรรจุในขวดพลาสติกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa*

เก็บตัวอย่างน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* เพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา เคมี และปริมาณธาตุอาหารในน้ำหมัก

3.2.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยวิธี Electrometric method โดยใช้เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่างแบบตัวเลข ยี่ห้อ SCHOTT Instrument รุ่น lab 850

3.2.2 ค่าการนำไฟฟ้า โดยใช้เครื่องมือวัดค่าการนำไฟฟ้า(EC/TDS/Temp Combo Meter) ยี่ห้อ HM digital รุ่น COM-100

3.2.3 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวม ด้วยวิธีการทำ spread plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (Kantachote and Charernjiratrakul, 2008)

3.2.4 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติก ด้วยวิธีการทำ spread plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (Kantachote and Charernjiratrakul, 2008)

3.2.5 ปริมาณเชื้อยีสต์และรา ด้วยวิธีการทำ spread plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast malt extract agar (Kantachote and Charernjiratrakul, 2008)

3.2.6 ไนเตรท โดยใช้วิธี Cu-Cd Reduction method ด้วยเครื่อง spectrophotometer

3.2.7 แอมโมเนียรวมโดยใช้วิธีModified indophenol blue method ด้วยเครื่อง spectrophotometer

3.2.8 ไนโตรเจน ด้วยวิธี Kjeldah method โดยใช้เครื่อง spectrophotometer

3.2.9 ฟอสฟอรัส ด้วยวิธี Ascorbic acid method โดยใช้เครื่อง spectrophotometer

3.2.10 โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส เหล็ก สังกะสี กำมะถัน และซิลิเกตโดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES)

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา เคมี และปริมาณธาตุอาหารในน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา เคมี และปริมาณธาตุอาหารในน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C.crassa*

คุณสมบัติ	หน่วย	ปริมาณค่าเฉลี่ย ± SD
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	-	3.29 ± 0.37
ค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity)	µS	7,700 ± 100
แบคทีเรียรวม (total bacteria)	CFU/มิลลิลิตร	$9.68\times10^{5}\pm0.08$
แบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria)	CFU/มิลลิลิตร	$8.75\times10^{5}\pm0.10$
ยีสต์ (yeast)	CFU/มิลลิลิตร	$4.20\times10^{5}\pm0.18$
ไนเตรท (nitrate)	มิลลิกรัม/ลิตร	2.25 ± 0.35
แอมโมเนียรวม (Total ammonia)	มิลลิกรัม/ลิตร	0.10 ± 0.01
ไนโตรเจน (nitrogen)	มิลลิกรัม/ลิตร	506.67 ± 100.66
ฟอสฟอรัส (phosphorus)	มิลลิกรัม/ลิตร	242.50 ± 50.58
โพแทสเซียม (potassium)	มิลลิกรัม/ลิตร	1,950.00 ± 369.68
โซเดียม (sodium)	มิลลิกรัม/ลิตร	6.35 ± 1.38
แคลเซียม (calcium)	มิลลิกรัม/ลิตร	722.15 ± 102.10
แมกนีเซียม (magnesium)	มิลลิกรัม/ลิตร	1,360.08 ± 189.02
แมงกานีส (manganese)	มิลลิกรัม/ลิตร	47.68 ± 7.97
เหล็ก (iron)	มิลลิกรัม/ลิตร	69.18 ± 16.43
สังกะสี (zinc)	มิลลิกรัม/ลิตร	8.80 ± 1.90
กำมะถัน (Sulfur)	มิลลิกรัม/ลิตร	1.96 ± 0.15
ซิลิเกต (Silicate)	มิลลิกรัม/ลิตร	23.90 ± 2.27

3.3 การเตรียมน้ำทะเล

สูบน้ำทะเลลงบ่อพักตะกอน ฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ความเข้มข้น 10 ส่วนในล้าน ให้อากาศจนคลอรีนหมด จากนั้นสูบน้ำส่วนบนผ่านถุงกรองขนาดตากรอง 20 ไมโครเมตร ลงถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 500 ลิตร กรองน้ำอีกครั้งด้วยถุงกรองขนาด 5 ไมโครเมตร ลงเก็บในถัง โดยมีค่าความเค็มน้ำตามธรรมชาติ 29 ส่วนในพันส่วนน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนในห้องปฏิบัติการ ได้ปรับลดความเค็มของน้ำทะเลด้วยน้ำจืดสะอาดและต้มเดือดแล้ววางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ได้ความเค็มที่ระดับ 27 ส่วนในพัน ก่อนนำมาใช้

3.4 การเตรียมปุ๋ย

ชั่งสารเคมีที่ใช้เตรียมเป็นสูตรปุ๋ยในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดมาละลายในน้ำกลั่น แล้วบรรจุในขวดแก้วปิดสนิทเพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นอันเนื่องมาจากการระเหย

3.5 การเตรียมแพลงก์ตอนพืช

หัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งภูเก็ต ซึ่งเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 10 ลิตร ด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา ในน้ำทะเลฆ่าเชื้อ ความเค็ม 27 ส่วนในพัน เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง เมื่อแพลงก์ตอนมีอัตราการเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะทวีคูณ (log phase) จึงนำมาใช้เป็นเซลล์เริ่มต้นในการทดลองโดยความหนาแน่นเซลล์ของ *Chlorella* sp., *I. galbana* และ *C. calcitrans* เท่ากับ $6.67\pm0.18\times10^{6}$, $5.08\pm0.42\times10^{6}$ และ $1.56\pm0.21\times10^{6}$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.6 การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการ

นำหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช *Chlorella* sp., *I. galbana* และ *C. calcitrans* ในระยะการเจริญเติบโตทวีคูณมาเพาะขยายในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร โดยใช้หัวเชื้อแพลงก์ตอนต่อน้ำเลี้ยง ในอัตราส่วน 1:4 ลิตร (แพลงก์ตอนพืช 1.5 ลิตร และน้ำทะเล 6 ลิตร) เติมปุ๋ยเคมีสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวาลงในชุดทดลองเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี เติมน้ำหมักชีวภาพลงในชุดทดลองที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน สำหรับชุดควบคุมใช้น้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียวโดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 6,000 ลักซ์ ระยะเวลาในการให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน เป็นระยะเวลา 7 วัน (ลัดดา, 2543) และตรวจสอบการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดทุกวัน

3.7 การเพาะขยายแพลงก์ตอนพืชปริมาณมากกลางแจ้ง

เพาะขยายแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด ในถังไฟเบอร์ขนาด 150 ลิตร บรรจุน้ำทะเลที่ฆ่าเชื้อแล้ว 100 ลิตร เติมหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดลงในถังเลี้ยง (อัตราส่วนหัวเชื้อแพลงก์ตอน:น้ำทะเล เท่ากับ 1:5) ละลายปุ๋ยเคมีในน้ำจืด (ภาคผนวกที่ 2) และเติมลงในชุดทดลอง ส่วนชุดที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ สำหรับการเลี้ยง *Chlorella* sp. และ *I. galbana* ใช้ความเข้มข้น 1.0 มล./ล. ส่วน *C. calcitrans* ใช้ความเข้มข้น 0.5 มล./ล. เลี้ยงภายใต้แสงธรรมชาติโดยมีหลังคาโปร่งแสง ค่าความเข้มแสง ระหว่าง 3,000 - 30,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25-34 องศาเซลเซียส และให้อากาศปกติเป็นระยะเวลา 4-7 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดแพลงก์ตอน ในระหว่างการเลี้ยงทำการเก็บตัวอย่างมานับจำนวนเซลล์ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด เมื่อแพลงก์ตอนเจริญเติบโตในปลายระยะทวีคูณ ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อส่งวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

3.8 การวัดมวลชีวภาพและการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

ตรวจนับจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด (haemacytometer) Improved Neaubauer chamber ความจุ 0.002 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Boeco ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า เป็นประจำทุกวันจนสิ้นสุดการทดลอง เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิด

3.9 การเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช

เก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดที่เพาะขยายพันธุ์กลางแจ้ง โดยการตกตะกอนด้วยAluminum sulfate; $Al_2(SO_4)_3$ ความเข้มข้น 0.5 กรัม/ลิตร (Papazi *et al*., 2010) เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง แล้วดูดน้ำส่วนบนออก จากนั้นปรับค่า pH ให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) 5 N ทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ดูดน้ำส่วนบนออกแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น แล้วแช่เย็น 4 องศาเซลเซียส 30-60 นาที เพื่อให้เซลล์ตกตะกอน แล้วดูดน้ำส่วนบนออกเพื่อเจือจางความเค็มของแพลงก์ตอน (Harith *et al*., 2009) ทำซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นกรองด้วยผ้ากรองขนาด 5 ไมโครเมตร แล้วเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส (Harith *et al*., 2010) 24-48 ชั่วโมง เพื่อส่งวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

3.10 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแพลงก์ตอนพืช

วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการคือ โปรตีนโดยวิธี Kjeldahl Method ไขมัน โดยวิธี Acid Hydrolysis และ Solvent extraction และชนิดกรดไขมันโดยวิธีของ A O A C (2000)

3.11 การตรวจวัดค่าความเข้มแสง และการวิเคราะห์คุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

ตรวจวัดค่าความเข้มแสงในระดับการเลี้ยงกลางแจ้ง เวลา 08.00 น. และ15.00 น. เป็นประจำทุกวัน และตรวจวัดคุณภาพน้ำในพารามิเตอร์ต่าง ๆ ก่อนเริ่มการทดลอง และระหว่างการทดลองในช่วงเวลาประมาณ 10.00 น. ตามวิธีการ ดังนี้

3.11.1 ความเข้มแสง โดยใช้เครื่องวัดความเข้มแสง Digital lux-meter รุ่น INSDX-100

3.11.2 ความเค็ม โดยใช้เครื่องมือวัดความเค็มแบบหักเหแสง (refracto-salinometer) ยี่ห้อ Atago รุ่น S/Mill-E

3.11.3 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้วิธี Electrometric method ด้วยเครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง แบบตัวเลข ยี่ห้อ SCHOTT Instrument รุ่น lab 850

3.11.4 ไนไตรท์ โดยใช้วิธี Diazotization method (Strickland and Parsons, 1972)

3.11.5 ไนเตรท โดยใช้วิธี Cu-Cd Reduction method (Strickland and Parsons, 1972)

3.11.6 แอมโมเนียรวม โดยใช้วิธี Modified indophenol blue method (Sasaki and Sawada, 1980)

3.11.7 ออร์โธฟอสเฟต โดยใช้วิธีAscorbic acid method (Strickland and Parsons, 1972)

3.11.8 ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ คือ ผลรวมของไนไตรท์ ไนเตรท และแอมโมเนียรวม

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 นำข้อมูลความหนาแน่นเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช (เซลล์/มิลลิลิตร) มาเขียนกราฟการเจริญเติบโต และคำนวณอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate: μ) (วัน$^{-1}$) ในระยะการเจริญเติบโตทวีคูณ โดยใช้สูตรของ ทักษพร และ คณะ (2553)

$$\mu = \frac{\ln x_1 - \ln x_0}{t}$$

เมื่อ μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (วัน$^{-1}$)

x_0 = ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์/มิลลิลิตร)

x_1 = ความหนาแน่นเซลล์สุดท้าย (เซลล์/มิลลิลิตร)

t = ระยะเวลาในการเลี้ยงระหว่าง x_0 กับ x_1 (วัน)

4.2 นำค่าการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มาคำนวณค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยลอการิทึมความหนาแน่นเซลล์สูงสุดระหว่างกลุ่มทดลองด้วยวิธี Least-significant different (LSD) ที่ระดับนัยสำคัญ α=0.05 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยลอการิทึมความหนาแน่นเซลล์สูงสุดของแพลงก์ตอนที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี และที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพในการผลิตกลางแจ้ง ด้วยวิธี Independent Samples T-Test ที่ระดับนัยสำคัญ α = 0.05 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows Versions 11.5

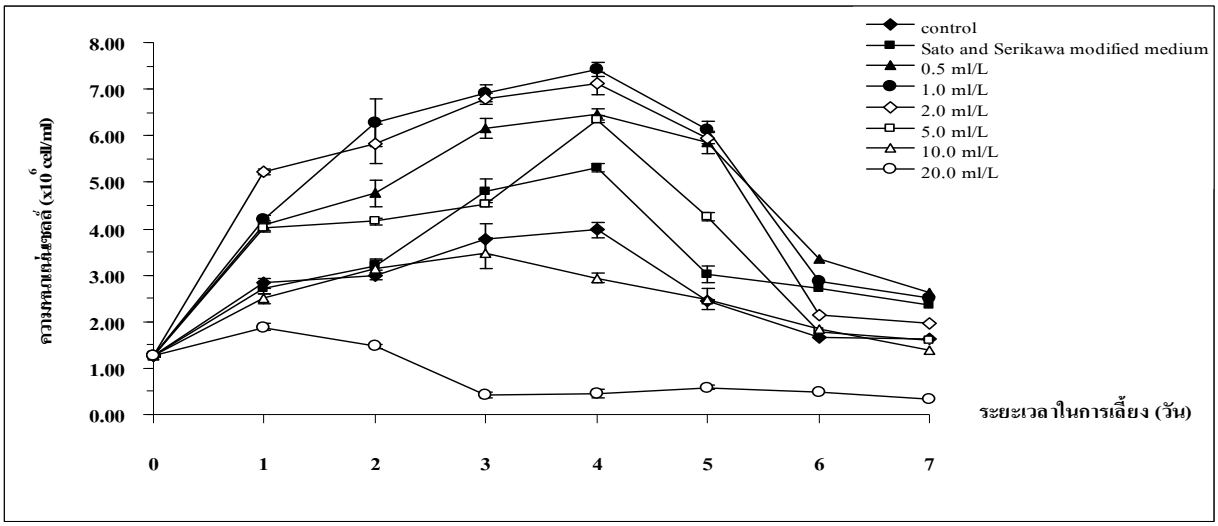
ผลการศึกษา

1. ระดับความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการ

1.1 ระดับความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp.

การเลี้ยง *Chlorella* sp. ด้วยน้ำทะเล ปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา และด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด เท่ากับ $3.97\pm0.09\times10^6$, $5.31\pm0.14\times10^6$, $6.46\pm0.36\times10^6$, $7.43\pm0.43\times10^6$, $7.11\pm0.08\times10^6$, $6.35\pm0.27\times10^6$, $3.47\pm0.15\times10^6$และ $1.88\pm0.07\times10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยทุกชุดทดลองมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 4 ของการเลี้ยง ยกเว้นชุดทดลองเลี้ยงด้วยน้ำหมักความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 มล./ล. ทำให้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 3 และ 1 ของการเลี้ยง ตามลำดับ (ตารางที่ 2) โดยเฉพาะที่เลี้ยงด้วยความเข้มข้น 20.0 ที่ความหนาแน่นเซลล์ลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากวันที่ 1 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 1) โดยความหนาแน่นเซลล์สูงสุดของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 มล./ล. แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุด

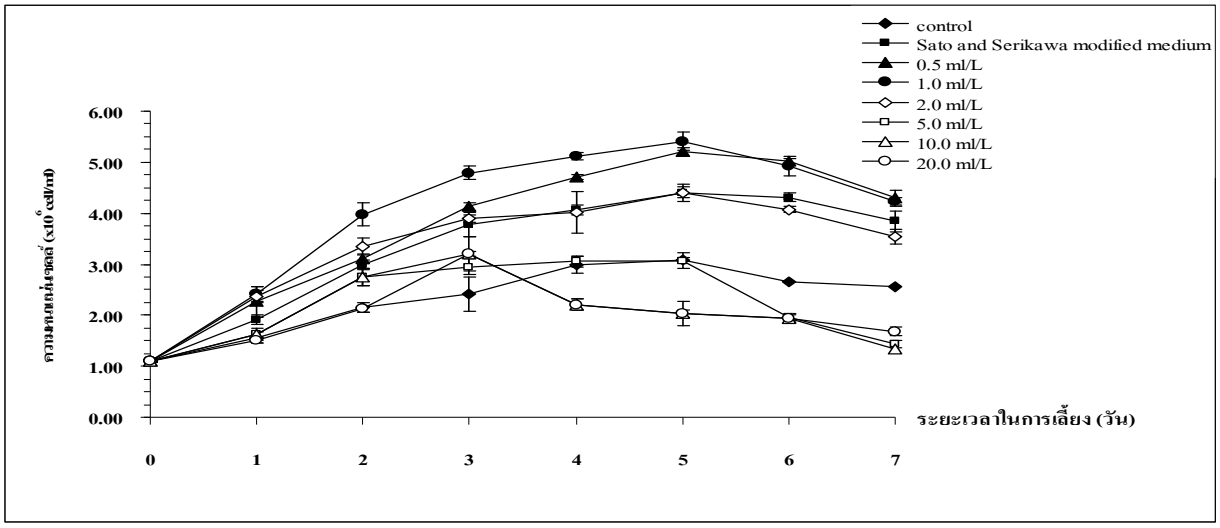
ทดลองอื่น (P<0.05) ส่วนการเลี้ยงด้วยความเข้มข้น 0.5 และ 5.0 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา น้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 10.0, 20.0 มล./ล. และเลี้ยงด้วยน้ำทะเล ส่วนค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เท่ากับ 0.80±0.04, 0.76±0.05, 0.16±0.03, 1.20±0.02, 1.42±0.02, 1.16±0.02, 0.68±0.04 และ 0.40±0.03 วัน$^{-1}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 3)



ภาพที่ 1 ความหนาแน่นเซลล์ของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้นต่างกัน กับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา และการเลี้ยงด้วยน้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อเป็นชุดควบคุม

1.2 ระดับความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *I. galbana*

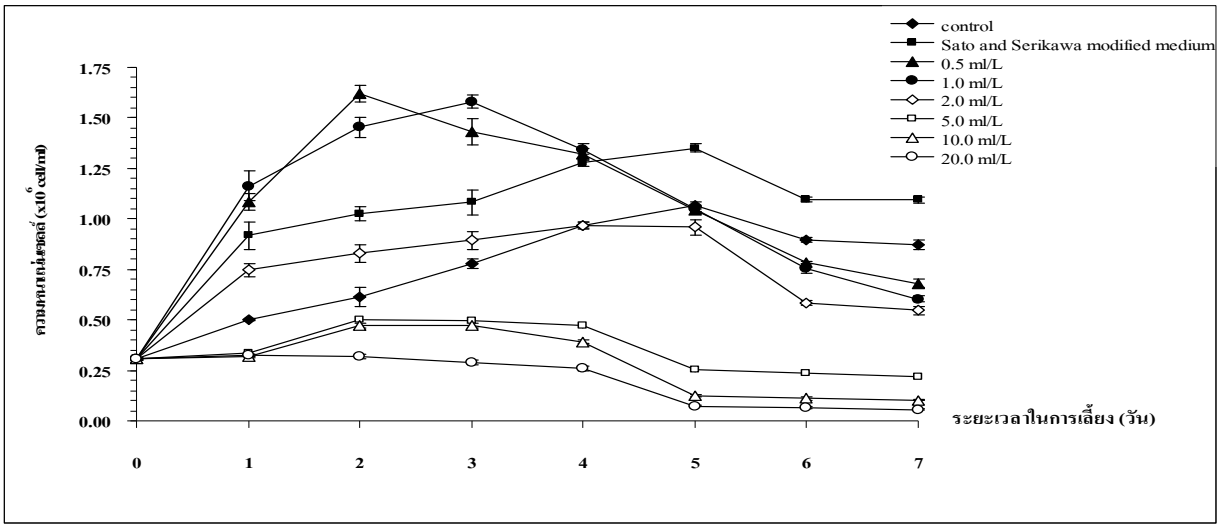
การเลี้ยง *I. galbana* ด้วยน้ำทะเล ปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา และด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด เท่ากับ $3.09\pm0.08\times10^6$, $4.40\pm0.16\times10^6$, $5.21\pm0.08\times10^6$, $5.41\pm0.18\times10^6$, $4.41\pm0.11\times10^6$, $3.07\pm0.15\times10^6$, $3.21\pm0.05\times10^6$และ$3.21\pm0.05\times10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยทุกชุดทดลองมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเลี้ยง ยกเว้นชุดทดลองเลี้ยงด้วยน้ำหมักความเข้มข้น 10.0 และ 20.0 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 3 ของการเลี้ยง (ตารางที่ 2) โดยเฉพาะที่เลี้ยงด้วยความเข้มข้น 20.0 มล./ล. ทำให้ความหนาแน่นเซลล์ลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากวันที่ 3 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 2) โดยความหนาแน่นเซลล์สูงสุดของ *I. galbana* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มล./ล. แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)) แต่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดทดลองอื่น (P<0.05) โดยความหนาแน่นเซลล์ที่เลี้ยงด้วยความเข้มข้น 2.0 มล./ล. และเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับการเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้นสูง 5.0, 10.0 และ 20.0 มล./ล. และการเลี้ยงด้วยน้ำทะเล ส่วนค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เท่ากับ 0.34±0.01, 0.54±0.02, 0.70±0.09, 0.77±0.03, 0.76±0.03, 0.45±0.03, 0.45±0.06 และ 0.37±0.02 วัน$^{-1}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 3)



ภาพที่ 2 ความหนาแน่นเซลล์ของ *I. galbana* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ สาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้นต่างกัน กับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา และการเลี้ยงด้วยน้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อเป็นชุดควบคุม

1.3 ระดับความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *C. calcitrans*

การเลี้ยง *C. calcitrans* ด้วยน้ำทะเลฆ่าเชื้อ ปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา และเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด เท่ากับ $1.07\pm0.02\times10^6$, $1.35\pm0.02\times10^6$, $1.62\pm0.04\times10^6$, $1.58\pm0.03\times10^6$, $0.97\pm0.02\times10^6$, $0.50\pm0.02\times10^6$, $0.47\pm0.01\times10^6$และ $0.32\pm0.01\times10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร โดยแพลงก์ตอนที่เลี้ยงด้วยน้ำทะเลฆ่าเชื้อ และปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเลี้ยง และที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 0.5 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 2 ของการเลี้ยง ส่วนที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 3, 4, 3 และ 1 ของการเลี้ยง ตามลำดับ (ตารางที่ 2) โดย *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 5.0 และ 10.0 มล./ล. *C. calcitrans* เจริญเติบโตไม่ดี (ภาพที่ 3) ในขณะที่การเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 20.0 มล./ล. ทำให้ความหนาแน่นเซลล์ลดลงหลังจากวันที่ 1 ของการเลี้ยง โดยความหนาแน่นเซลล์สูงสุดของ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักความเข้มข้น 0.5 มล./ล. สูงกว่าชุดทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้ในแต่ละชุดทดลองยังมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เท่ากับ 0.50 ± 0.01, 1.10 ± 0.07, 1.27 ± 0.04, 1.34 ± 0.06, 0.90 ± 0.04, 0.25 ± 0.02, 0.22 ± 0.01 และ 0.05 ± 0.03 วัน$^{-1}$ตามลำดับ (ตารางที่ 3)



ภาพที่ 3 ความหนาแน่นเซลล์ของ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ สาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้นต่างกัน กับการเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา และการเลี้ยงด้วยน้ำทะเลต้มฆ่าเชื้อเป็นชุดควบคุม

ตารางที่ 2 ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ± SD ($\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร) ของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการ (ตัวเลขในวงเล็บ แสดงวันที่ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด)

ชนิดแพลงก์ตอน	น้ำทะเล	ปุ๋ยสูตรดัดแปลง Sato and Serikawa	อัตราส่วนความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพ/น้ำทะเล (มล./ล.)					
			0.5	1.0	2.0	5.0	10.0	20.0
Chlorella sp.	3.97±0.09[c]	5.31±0.14[d]	6.46±0.36[b]	7.43±0.43[a]	7.11±0.08[a]	6.35±0.27[b]	3.47±0.15[e]	1.88±0.07[f]
	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(3)	(1)
I. galbana	3.09±0.08[d]	4.40±0.16[b]	5.21±0.08[a]	5.41±0.18[a]	4.41±0.11[b]	3.07±0.15[c]	3.21±0.05[d]	3.21±0.05[d]
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(3)	(3)
C. calcitrans	1.07±0.02[d]	1.35±0.02[c]	1.62±0.04[a]	1.58±0.03[b]	0.97±0.02[e]	0.50±0.02[f]	0.47±0.01[g]	0.32±0.01[h]
	(5)	(5)	(2)	(3)	(4)	(2)	(2)	(1)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

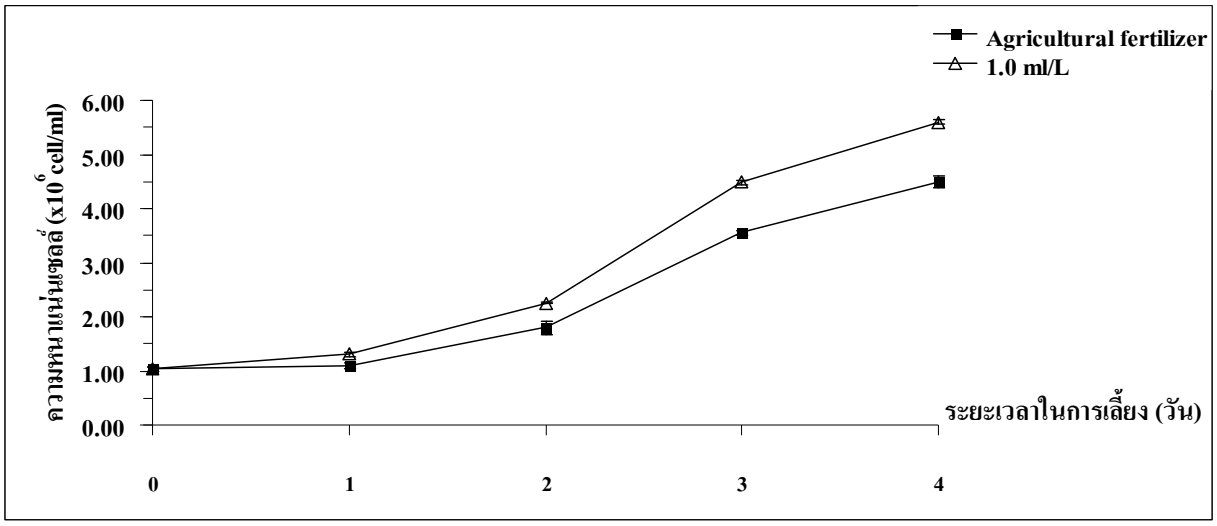
ตารางที่ 3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ±SD (วัน$^{-1}$) ของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการ

ชนิดแพลงก์ตอน	น้ำทะเล	ปุ๋ยสูตรดัดแปลง Sato and Serikawa	อัตราส่วนความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพ/น้ำทะเล (มล./ล.)					
			0.5	1.0	2.0	5.0	10.0	20.0
Chlorella sp.	0.80±0.04	0.76±0.05	1.16±0.03	1.20±0.02	1.42±0.02	1.16±0.02	0.68±0.04	0.40±0.03
I. galbana	0.34±0.01	0.54±0.02	0.70±0.09	0.77±0.03	0.76±0.03	0.45±0.03	0.45±0.06	0.37±0.02
C.calcitrans	0.50±0.01	1.10±0.07	1.27±0.04	1.34±0.06	0.90±0.04	0.25±0.02	0.22±0.01	0.05±0.03

2. การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง

2.1 การเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp.

การเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 1.0 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีทางการเกษตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ $5.60\pm0.05\times10^6$ และ $4.49\pm0.11\times10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 4 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 4 และ ตารางที่ 4) และค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในช่วงวันที่ 2-3 ของการเลี้ยง เท่ากับ 0.69 ± 0.01 และ 0.67 ± 0.06 วัน$^{-1}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)



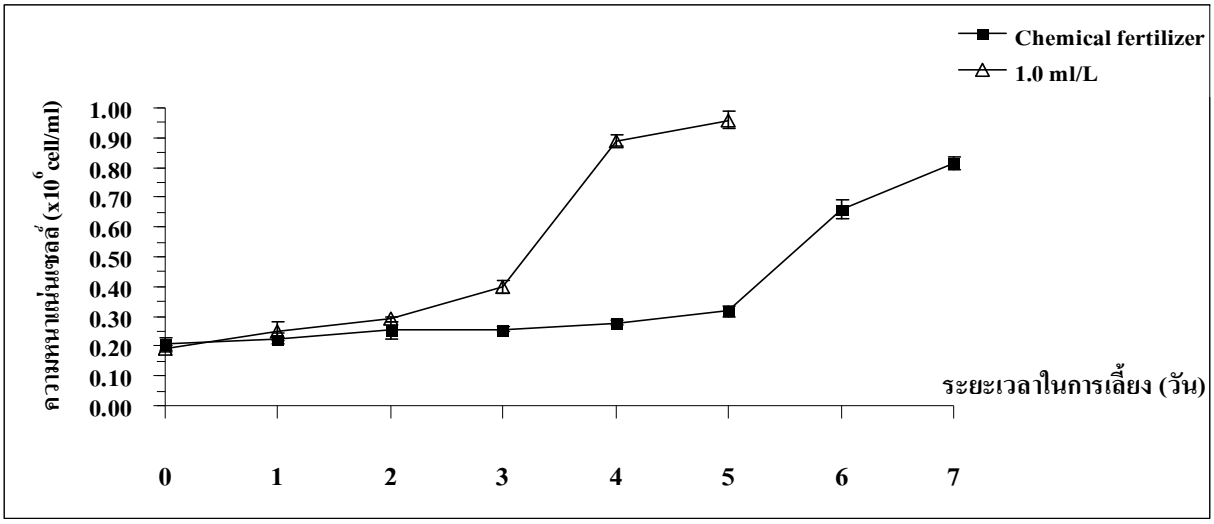
ภาพที่ 4 ความหนาแน่นเซลล์ของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้น 1.0 มล./ล. และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีทางการเกษตร

2.2 การเจริญเติบโตของ *I. galbana*

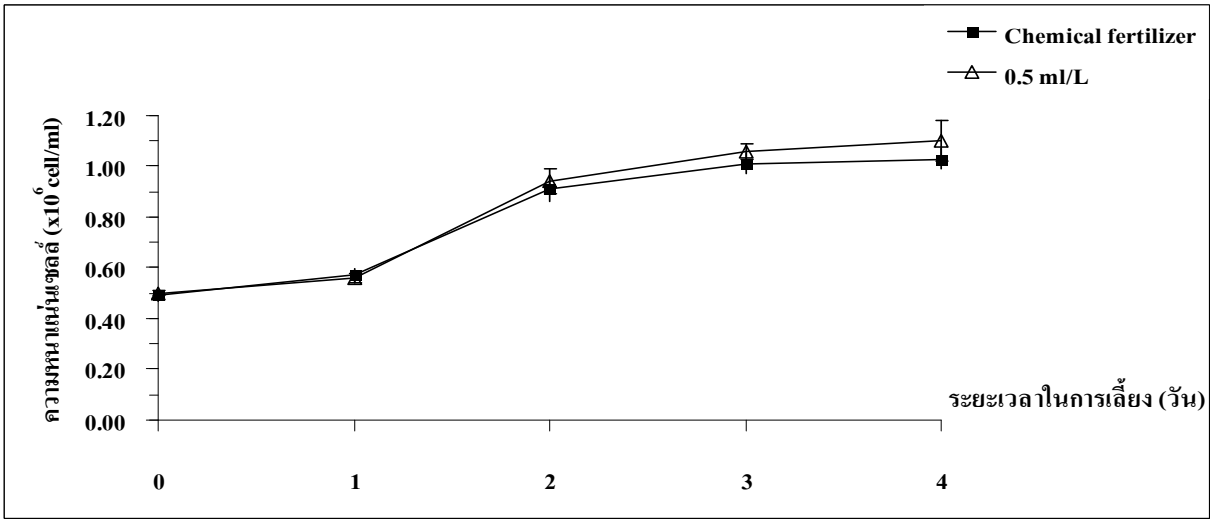
การเจริญเติบโตของ *I. galbana* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 1.0 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงกว่าการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ $0.96\pm0.03\times10^6$ และ $0.81\pm0.02\times10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร ในวันที่ 5 และ 7 ของการเลี้ยง ตามลำดับ (ภาพที่ 5 และ ตารางที่ 4) และมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.80 ± 0.04 และ 0.73 ± 0.11 วัน$^{-1}$ ในช่วงวันที่ 3-4 และ 5-6 ของการเลี้ยง ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

2.3 การเจริญเติบโตของ *C. calcitrans*

สาหร่าย *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 0.5 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดสูงกว่าที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ $1.10\pm0.08\times10^6$ และ $1.03\pm0.04\times10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 4 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 6 และตารางที่ 4) และมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในช่วงวันที่ 1-2 ของการเลี้ยง เท่ากับ 0.51 ± 0.04 และ 0.48 ± 0.06 วัน$^{-1}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)



ภาพที่ 5 ความหนาแน่นเซลล์ของ *I. galbana* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ สาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้น 1.0 มล./ล. และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี



ภาพที่ 6 ความหนาแน่นเซลล์ของ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ความเข้มข้น 0.5 มล./ล. และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี

ตารางที่ 4 ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ± SD ($\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ±SD (วัน$^{-1}$) ของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง

การเจริญเติบโต	ชนิดแพลงก์ตอน					
	Chlorella sp.		*I. galbana*		*C.calcitrans*	
	ปุ๋ยเคมีทางการเกษตร	น้ำหมักชีวภาพเข้มข้น 1.0 ml/L	ปุ๋ยเคมี	น้ำหมักชีวภาพเข้มข้น 1.0 ml/L	ปุ๋ยเคมี	น้ำหมักชีวภาพเข้มข้น 0.5ml/L
ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^6$ เซลล์/มล.)	4.49±0.11^a	5.60±0.05^b	0.81±0.02^a	0.96±0.03^b	1.03±0.04^a	1.10±0.08^b
μ (วัน$^{-1}$)	0.67±0.06	0.69±0.01	0.73±0.04	0.80±0.04	0.48±0.06	0.51±0.04

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3. องค์ประกอบทางเคมีของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง

ปริมาณโปรตีนของ *Chlorella* sp., *I. galbana* และ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* มีค่าร้อยละ 12.20, 21.43 และ 15.71 ตามลำดับ สูงกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีซึ่งมีค่า 10.10, 19.41 และ 13.57 ตามลำดับ ส่วนปริมาณไขมันของแพลงก์ตอนที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ มีค่าร้อยละ 2.90, 2.43 และ 3.29 ตามลำดับ สูงกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ซึ่งมีค่า ร้อยละ 2.20, 2.57 และ 2.00 ตามลำดับ ยกเว้น *I. galbana* ที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยองค์ประกอบกรดไขมันในแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันกลุ่มไม่อิ่มตัว (MUFAs) ร้อยละ 33.92-54.59 ของกรดไขมันทั้งหมด ส่วนกรดไขมันกลุ่มอิ่มตัว (SFAs) ร้อยละ 31.35-41.99 ของกรดไขมันทั้งหมด และกรดไขมันกลุ่มไม่อิ่มตัวสูง (PUFAs) ร้อยละ11.49-33.83 ของกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งมีแนวโน้มว่า *Chlorella* sp. และ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ พบกรดไขมันกลุ่ม PUFAs สูงกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี โดยเฉพาะ *Chlorella* sp. ที่มีปริมาณ PUFAs สูงกว่าแพลงก์ตอนอีก 2 ชนิดอย่างชัดเจน แต่กรดไขมันกลุ่ม SFAs และ MUFAs ในแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณใกล้เคียงกันทั้งการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีและน้ำหมักชีวภาพ เมื่อพิจารณาชนิดกรดไขมันกลุ่ม PUFAs พบว่า *Chlorella* sp. และ *I.galbana* ส่วนใหญ่เป็นชนิด C18:3n3 และ C18:2n6c โดยปริมาณกรดไขมันชนิด n-3 HUFAs ใน *Chlorella* sp. พบน้อยกว่าแพลงก์ตอนอีก 2 ชนิด ในขณะที่ *C. calcitrans* มี n-3 HUFAs สูงที่สุด ส่วนใหญ่เป็นชนิด EPA (C20:5n3) โดยกรดไขมันชนิด DHA (C22:6n3) พบเพียงเล็กน้อยในแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด โดยพบใน *I. galbana* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสูงที่สุด (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* และการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง

คุณค่าทางโภชนาการ	ชนิดแพลงก์ตอน					
	Chlorella sp.		*I.galbana*		*C.calcitrans*	
	ปุ๋ยเคมี	น้ำหมักชีวภาพ 1.0 ml/L	ปุ๋ยเคมี	น้ำหมักชีวภาพ 1.0 ml/L	ปุ๋ยเคมี	น้ำหมักชีวภาพ 0.5 ml/L
โปรตีน (ร้อยละ)	10.10	12.20	19.14	21.43	13.57	15.71
ไขมัน (ร้อยละ)	2.20	2.90	2.57	2.43	2.00	3.29
Saturated fatty acid (% of the total fatty acid)						
Caproic acid (C6:0)	0.07	0.20	0.38	0.57	0.26	0.07
Caprylic acid (C8:0)	0.11	0.13	0.19	0.41	0.17	0.14
Capric acid (C10:0)	0.10	0.00	0.04	0.00	1.53	0.63
Undecanoic acid (C11:0)	0.43	0.92	1.29	1.87	0.68	0.67
Lauric acid (C12:0)	4.41	3.75	1.51	1.46	0.08	0.07
Tridecanoic acid (C13:0)	1.51	1.39	15.96	10.72	11.58	12.59
Myristic acid (C14:0)	0.00	0.00	0.14	0.00	0.24	0.00
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.16	0.12	0.14	0.26	0.49	0.46
Palmitic acid (C16:0)	4.64	1.63	6.98	4.19	16.63	18.60
Heptadecanoic acid (C17:0)	4.49	9.47	0.51	0.23	2.04	2.14
Stearic acid (C18:0)	0.54	0.40	0.40	0.40	0.30	0.82
Arachidic acid (C20:0)	13.03	9.58	0.66	2.10	0.77	0.61
Heneicosanoic acid (C21:0)	0.45	0.27	0.43	0.76	0.00	0.14
Behenic acid (C22:0)	2.69	2.80	2.06	8.85	4.63	3.06
Tricosanoic acid (C23:0)	0.65	0.40	0.22	0.40	0.35	0.00
Lignoceric acid (C24:0)	2.04	1.19	0.44	0.49	2.24	1.60
Total SFAs	**35.32**	**32.25**	**31.35**	**32.71**	**41.99**	**41.60**
Monounsaturated fatty acid (% of the total fatty acid)						
Myristoleic acid (C14:1)	0.39	0.30	0.74	0.63	1.81	1.18
Cis-10-Pentadecenoic acid (C15:1)	19.18	15.92	18.41	20.48	29.79	31.31
Palmitoleic acid (C16:1)	1.52	1.07	0.67	1.44	1.26	1.32
Cis-10-Heptadecenoic acid (C17:1)	8.39	6.72	2.77	8.10	5.53	4.23
Elaidic acid (C18:1n9t)	0.50	0.24	0.40	0.00	0.00	0.94
Oleic acid (C18:1n9c)	5.83	5.06	15.74	15.50	5.46	5.03
Cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	2.47	2.47	1.32	0.38	0.00	0.00
Erucic acid (C22:1n9)	1.48	0.66	1.32	1.48	0.90	0.42
Nervonic acid (C24:1)	1.42	1.48	12.97	6.58	1.77	1.94
Total MUFAs	**41.18**	**33.92**	**54.34**	**54.59**	**46.52**	**46.37**

ตารางที่ 5 (ต่อ) องค์ประกอบทางเคมีของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* และการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง

คุณค่าทางโภชนาการ	ชนิดแพลงก์ตอน					
	Chlorella sp.		*I.galbana*		*C.calcitrans*	
	ปุ๋ยเคมี	น้ำหมักชีวภาพ 1.0 ml/L	ปุ๋ยเคมี	น้ำหมักชีวภาพ 1.0 ml/L	ปุ๋ยเคมี	น้ำหมักชีวภาพ 0.5 ml/L
Polyunsaturated fatty acid (% of the total fatty acid)						
Linolelaidic acid (C18:2n6t)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	0.20
Linoleic acid (C18:2n6c)	7.41	10.45	4.97	6.40	1.55	1.44
γ- Linolenic acid (C18:3n6) GLA	0.28	0.10	0.82	0.45	0.65	0.62
Linolenic acid (C18:3n3) ALA	13.60	20.70	5.48	2.69	0.11	0.12
cis-11, 14-Eicosadienoic acid (C20:2n6)	1.07	0.73	0.11	0.02	0.00	0.00
cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid (C20:3n6)	0.00	0.22	0.18	0.23	0.00	0.14
Arachidonic acid (C20:4n6) (ARA)	0.00	0.27	0.36	0.39	3.50	3.14
cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid (C20:3n3)	0.60	0.56	0.37	0.15	0.04	0.00
cis-5,8,11,14,17- Eicosapentaenoic acid (C20:5n3) (EPA)	0.20	0.21	1.19	1.26	5.04	5.10
cis-13,16-Docosadienoic acid (C22:2n6)	0.00	0.29	0.40	0.01	0.17	1.39
cis-4,7,10,13,16,19-Docohexaenoic acid (C22:6n3) (DHA)	0.34	0.30	0.43	1.10	0.03	0.06
Total PUFAs	**23.50**	**33.83**	**14.31**	**12.70**	**11.49**	**12.21**
Total n-3	**14.74**	**21.77**	**7.47**	**5.20**	**5.22**	**5.28**
n-3 HUFAs	**1.14**	**1.07**	**1.99**	**2.51**	**5.11**	**5.16**
Total n-6	**8.76**	**12.06**	**6.84**	**7.50**	**6.27**	**6.93**

4. คุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด

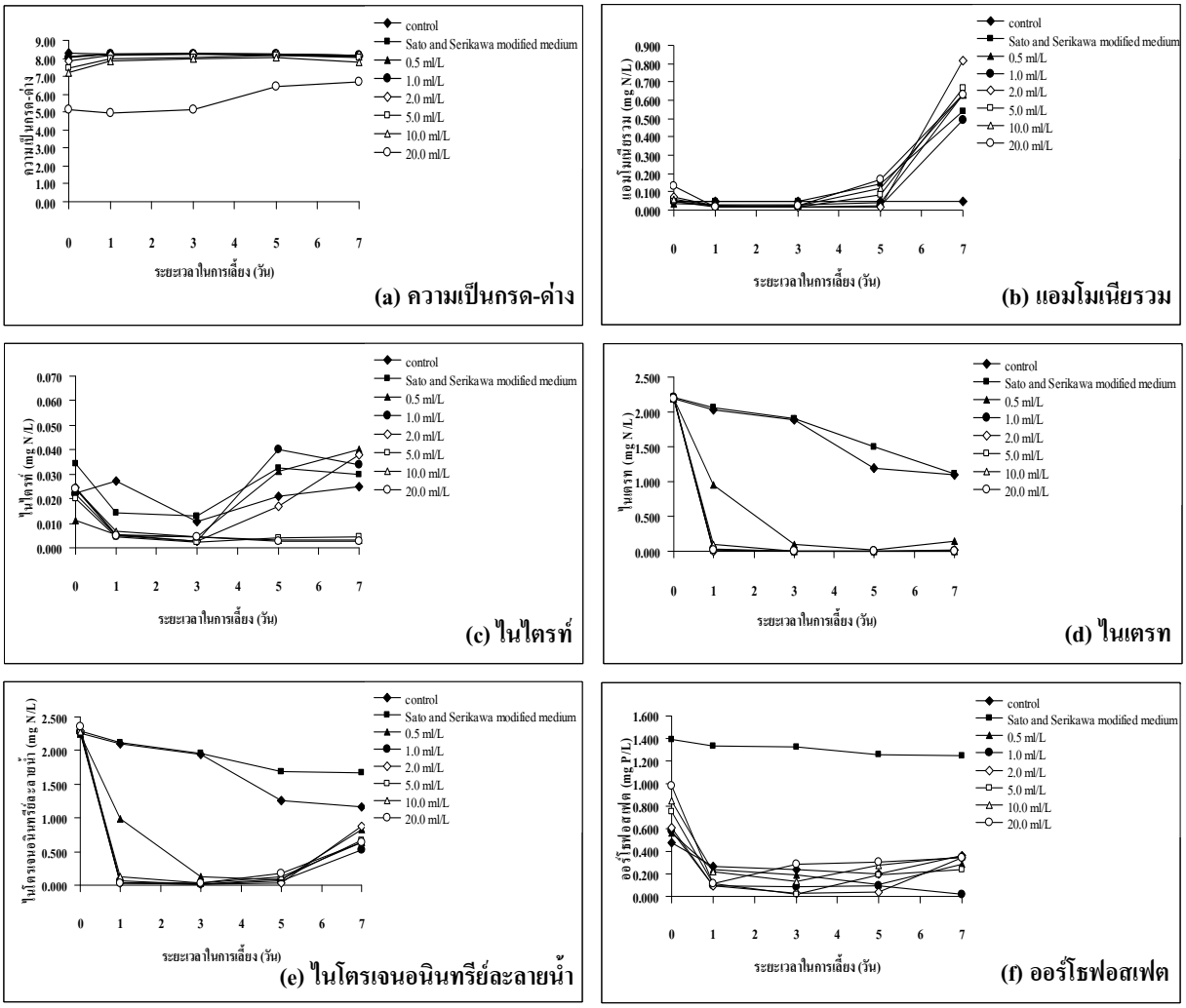
4.1 คุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช ในห้องปฏิบัติการ

คุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอน 3 ชนิด ด้วยน้ำทะเลซึ่งเป็นชุดควบคุม เลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา และการเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ ในอัตราส่วนความเข้มข้นต่างกัน ตั้งแต่เริ่มต้น (วันที่ 0) จนสิ้นสุดการเลี้ยง (วันที่ 7) มีค่าความเค็ม 27 ส่วนในพัน จากนั้นเพิ่มเป็น 28 ส่วนในพัน เมื่อวันที่ 4 ของการเลี้ยง และคง ที่จนสิ้นสุดการเลี้ยง 7 วัน ส่วนค่าคุณภาพน้ำในแต่ละพารามิเตอร์มีการเปลี่ยนแปลง ดังนี้

ความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำ เมื่อเริ่มต้นเลี้ยงแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด ในชุดที่เติมน้ำหมักชีวภาพมีค่าต่ำ โดยมีค่าแปรผกผันกับปริมาณน้ำหมักที่เติมลงไป โดยเฉพาะที่เลี้ยง *Chlorella* sp. ด้วยความเข้มข้น 20.0 มล./ล. ซึ่งมีค่า pH ต่ำสุด เท่ากับ 5.13 (ภาพที่ 7a) แต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น และคงที่ในทุกระดับความเข้มข้นจนกระทั่งสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 7a, 8a และ 9a)

แอมโมเนียรวม เมื่อเริ่มต้นเลี้ยง *C. calcitrans* และ *I. galbana* ในทุกชุดทดลอง มีค่าต่ำใกล้เคียงกัน และมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงนานขึ้นจากนั้นลดลงเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 8b และ9b) ในขณะที่การเลี้ยง *Chlorella* sp. ปริมาณแอมโมเนียรวมเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง 7 วัน เพิ่มสูงขึ้นกว่าเมื่อเริ่มต้น ยกเว้นที่เลี้ยงด้วยน้ำทะเลอย่างเดียวที่ค่าแอมโมเนียรวมต่ำมากตลอดการเลี้ยง (ภาพที่ 7b)

ไนไตรท์ในน้ำระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอนในทุกชุดทดลองมีค่าอยู่ในระดับต่ำมาก และมีการเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยง (ภาพที่ 7c, 8c และ9c)

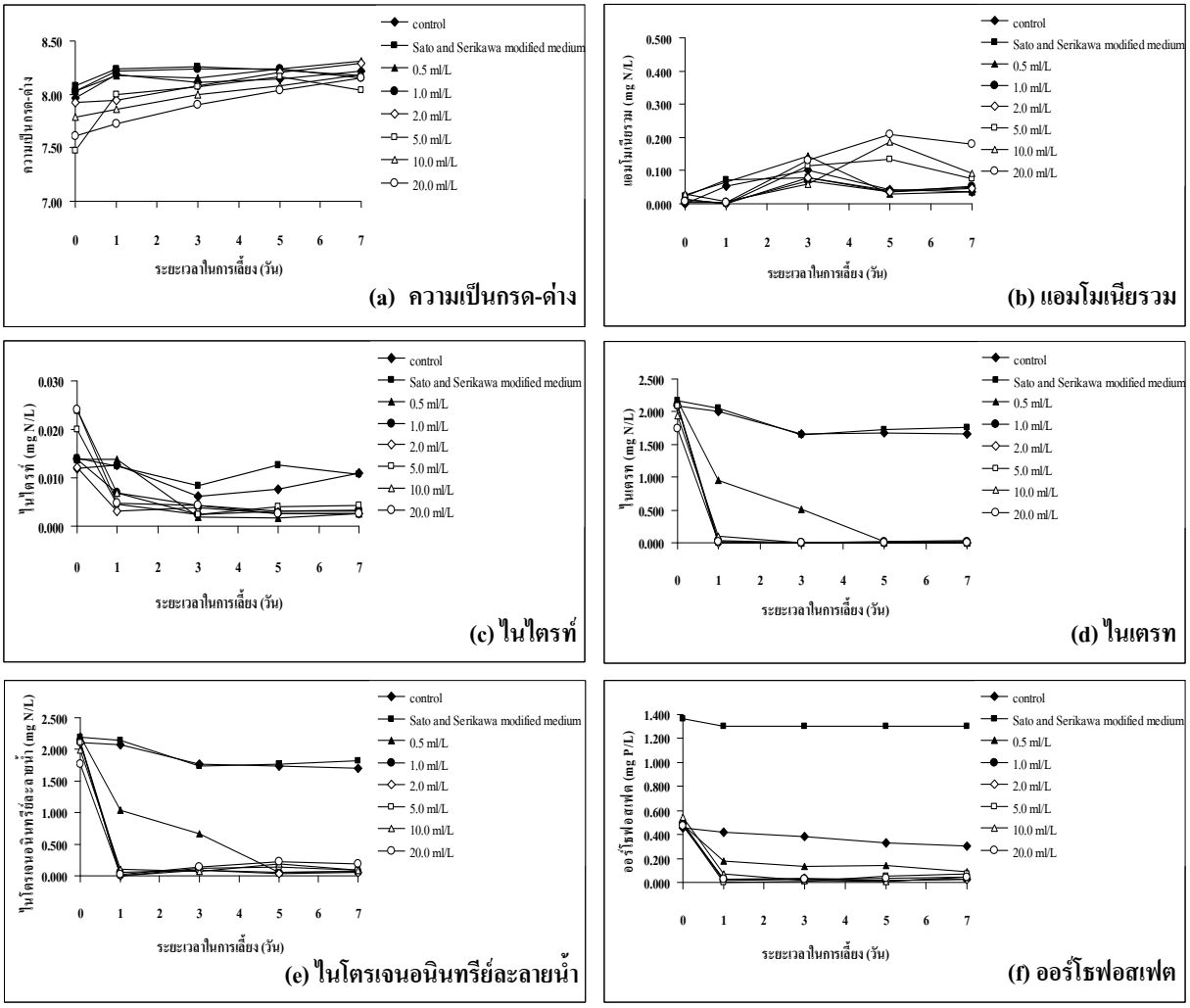


ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) และออร์โธฟอสเฟต (f) ในน้ำระหว่างการเลี้ยง *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการ

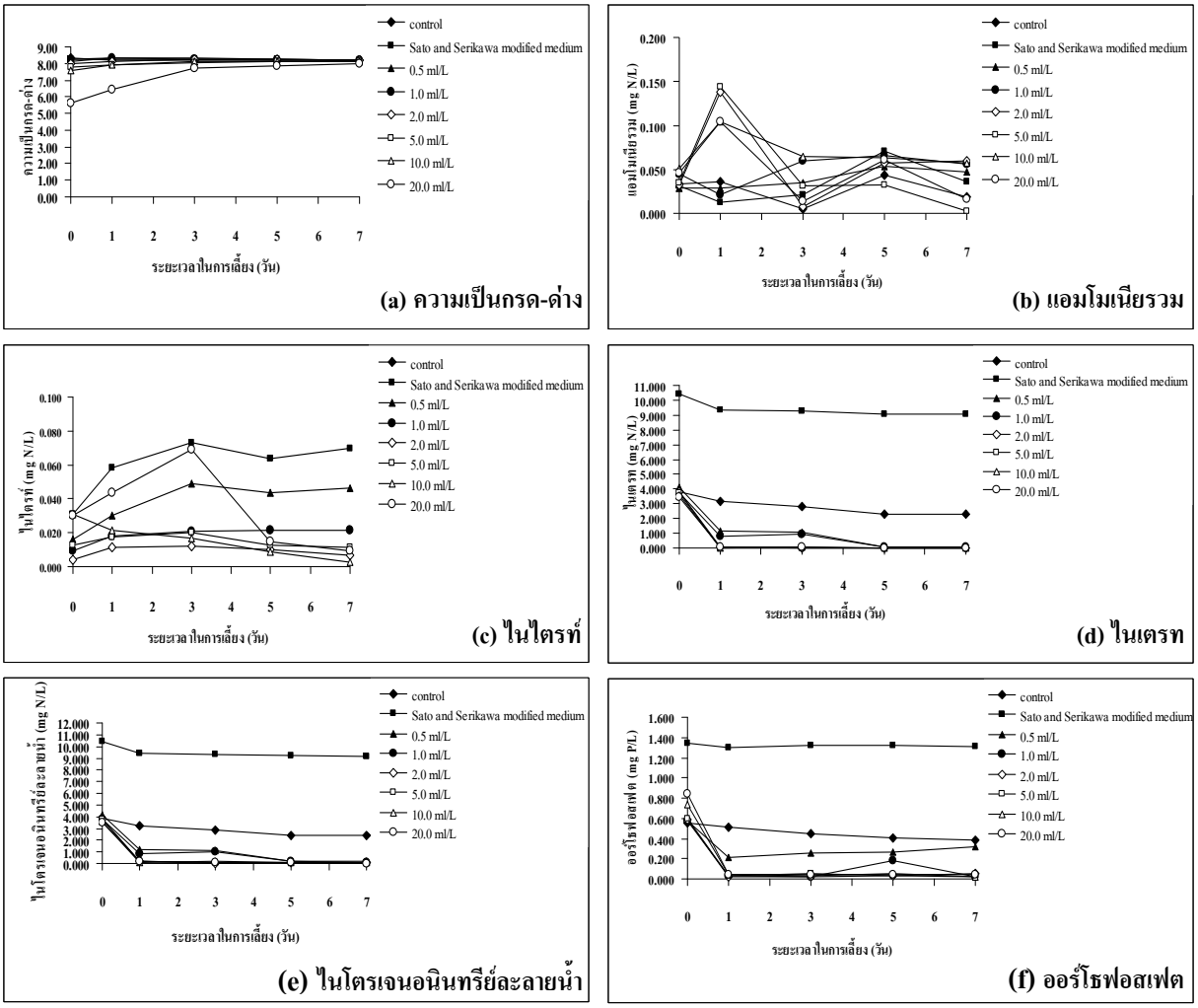
ไนเตรท เมื่อเริ่มต้นเลี้ยง *Chlorella* sp. และ *I. galbana* ปริมาณไนเตรทในน้ำมีค่าสูงใกล้เคียงกันทุกชุดทดลอง จากนั้นมีแนวโน้มลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการเลี้ยง แต่ในชุดที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี และเลี้ยงด้วยน้ำทะเลอย่างเดียวมีค่าลดลงไม่มาก (ภาพที่ 7d และ 8d) ในขณะที่การเลี้ยง *C. calcitrans* ไนเตรทเริ่มต้นที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีมีค่าสูงมาก และลดลงเพียงเล็กน้อย เช่นเดียวกับไนเตรทในชุดควบคุม (ภาพที่ 9d)

ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ เมื่อเริ่มต้นเลี้ยง *Chlorella* sp. และ *I. galbana* มีค่าสูงใกล้เคียงกันทุกชุดทดลอง จากนั้นมีแนวโน้มลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการเลี้ยง แต่ชุดที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรดัดแปลงและเลี้ยงด้วยน้ำทะเลอย่างเดียวมีค่าลดลงไม่มาก (ภาพที่ 7e และ8e) แต่ในน้ำเลี้ยง *C. calcitrans* ค่าเริ่มต้นที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีมีค่าสูงมากและมีแนวโน้มลดลงไม่มาก เช่นเดียวกับในชุดควบคุม (ภาพที่ 9e)

ออร์โธฟอสเฟต เมื่อเริ่มต้นเลี้ยงแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด มีค่าสูงใกล้เคียงกันทุกชุดทดลอง และมีแนวโน้มลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการเลี้ยง ยกเว้นที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีสูตรดัดแปลงที่มีออร์โธฟอสเฟตปริมาณสูงมาก จากนั้นลดลงเพียงเล็กน้อยและมีแนวโน้มคงที่จนกระทั่งสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 7f, 8f และ9f)



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) และออร์โธฟอสเฟต (f) ในน้ำระหว่างการเลี้ยง *I. galbana* ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) และออร์โธฟอสเฟต (f) ในน้ำระหว่างการเลี้ยง *C. calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ

4.2 คุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ปริมาณมากกลางแจ้ง

คุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอน 3 ชนิด ด้วยปุ๋ยเคมี และเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ ตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดการเลี้ยง ค่าความเค็ม เท่ากับ 29 ส่วนในพัน และเพิ่มเป็น 30 ส่วนในพัน แต่ที่เลี้ยง *I. galbana* มีความเค็ม 33 ส่วนในพัน เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง ส่วนค่าคุณภาพน้ำในแต่ละพารามิเตอร์มีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกัน ดังนี้

ความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเริ่มต้นเลี้ยงแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด ด้วยน้ำหมักชีวภาพมีค่าต่ำกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี จากนั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและมีแนวโน้มคงที่เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงทั้ง 2 ชุดทดลอง (ภาพที่ 10a, 11a และ12a)

แอมโมเนียรวมในน้ำ เมื่อเริ่มต้นเลี้ยง *Chlorella* sp. ด้วยปุ๋ยเคมีทางการเกษตรมีปริมาณสูงมาก เท่ากับ 19.901 มิลลิกรัม ไนโตรเจน/ลิตร และลดลงเกือบเท่าตัว หลังจากวันที่1 และมีแนวโน้มคงที่จนสิ้นสุดการเลี้ยง ส่วนการเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพเข้มข้น 1.0 มล./ล. มีค่าแอมโมเนียรวมต่ำมากและลดลงจนคงที่เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 10b) สำหรับแอมโมเนียรวมในน้ำที่เลี้ยง *C. calcitrans* และ *I. galbana* ทั้งที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีและน้ำหมักชีวภาพมีค่าต่ำใกล้เคียงกัน และลดลงเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 11b และ12b)

ไนไตรท์ในน้ำระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอน ทั้ง 3 ชนิด ด้วยปุ๋ยเคมีมีค่าสูง และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นระหว่างเลี้ยง ในขณะที่ไนไตรท์ในน้ำที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพมีค่าอยู่ในระดับต่ำและมีแนวโน้มลดลงเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณไนไตรท์ในทุกชุดทดลองมีค่าต่ำมาก (ภาพที่ 10c, 11c และ12c)

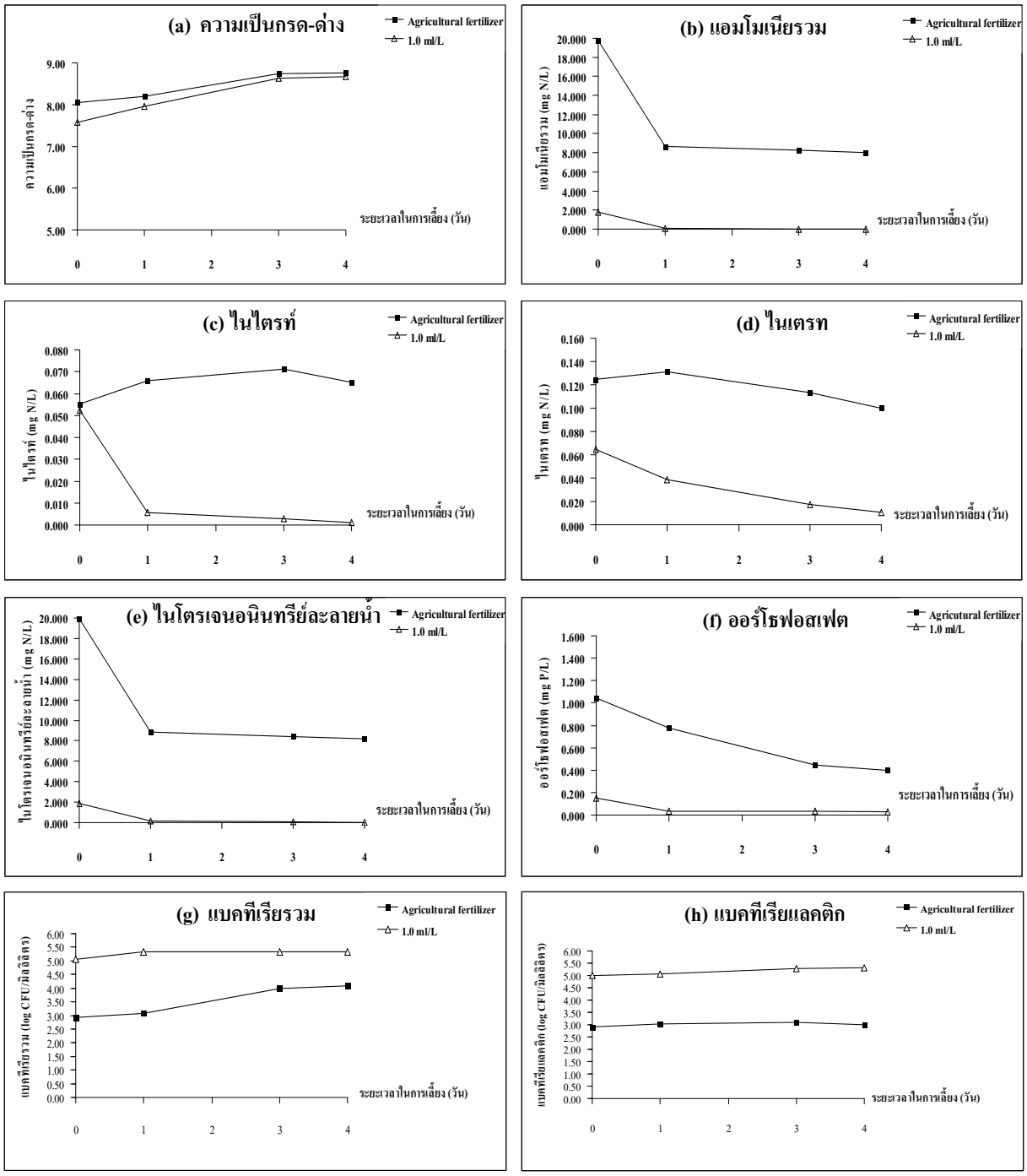
ไนเตรทในน้ำเมื่อเริ่มต้นเลี้ยง *Chlorella* sp. ด้วยปุ๋ยเคมีทางการเกษตร มีปริมาณน้อยมากและลดลงจนสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 10d) ในขณะที่ในน้ำเลี้ยง *C. calcitrans* และ *I. galbana* ปริมาณไนเตรทในน้ำที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีมีค่าสูงกว่าเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพเกือบเท่าตัว และมีแนวโน้มลดลงไม่มากเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 11d และ12d)

ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ เมื่อเริ่มต้นเลี้ยง *Chlorella* sp. ด้วยปุ๋ยเคมีทางการเกษตรมีปริมาณสูงมาก จากนั้นลดลงมาเท่าตัวหลังจากวันที่ 1 และมีแนวโน้มคงที่จนสิ้นสุดการเลี้ยง 4 วัน แต่ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพเข้มข้น 1.0 มล./ล. มีค่าต่ำมากและลดลงคงที่เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 11e) ส่วนปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำที่เลี้ยง *C. calcitrans* และ *I. galbana* ด้วยปุ๋ยเคมีมีค่าสูงมาก และมีแนวโน้มลดลงไม่มากเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 11e และ12e)

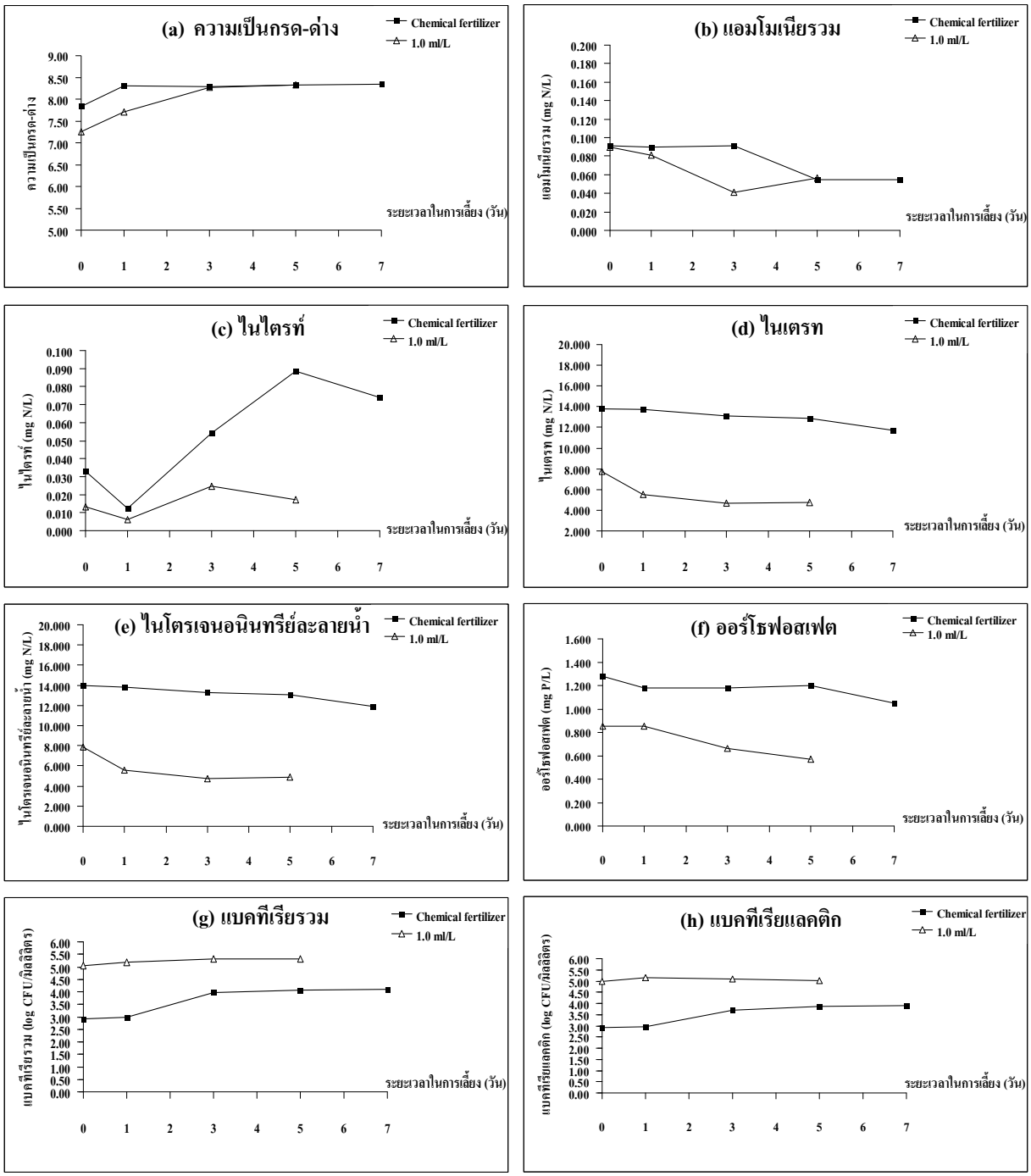
ออร์โธฟอสเฟตในน้ำ เมื่อเริ่มต้นเลี้ยง *Chlorella* sp. และ *C. calcitrans* ด้วยปุ๋ยเคมีมีค่าสูงมากและมีแนวโน้มลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 10f และ 12f)) แต่สำหรับในการเลี้ยง *I. galbana* ด้วยน้ำหมักชีวภาพ แม้ค่าออร์โธฟอสเฟตต่ำกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีมาก แต่ก็มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 11f)

ปริมาณแบคทีเรียรวมในน้ำที่เลี้ยงแพลงก์ตอนด้วยปุ๋ยเคมีและเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ เมื่อเริ่มต้นเลี้ยงมีค่าต่ำและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ยกเว้นในการเลี้ยง *I. gabana* ที่ปริมาณแบคทีเรียรวมเพิ่มสูงขึ้นมากในระหว่างวันที่ 1-3 ของการเลี้ยง จากนั้นเริ่มคงที่เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง โดยปริมาณแบคทีเรียรวมที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสูงกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี (ภาพที่ 10g, 11g และ 12g)

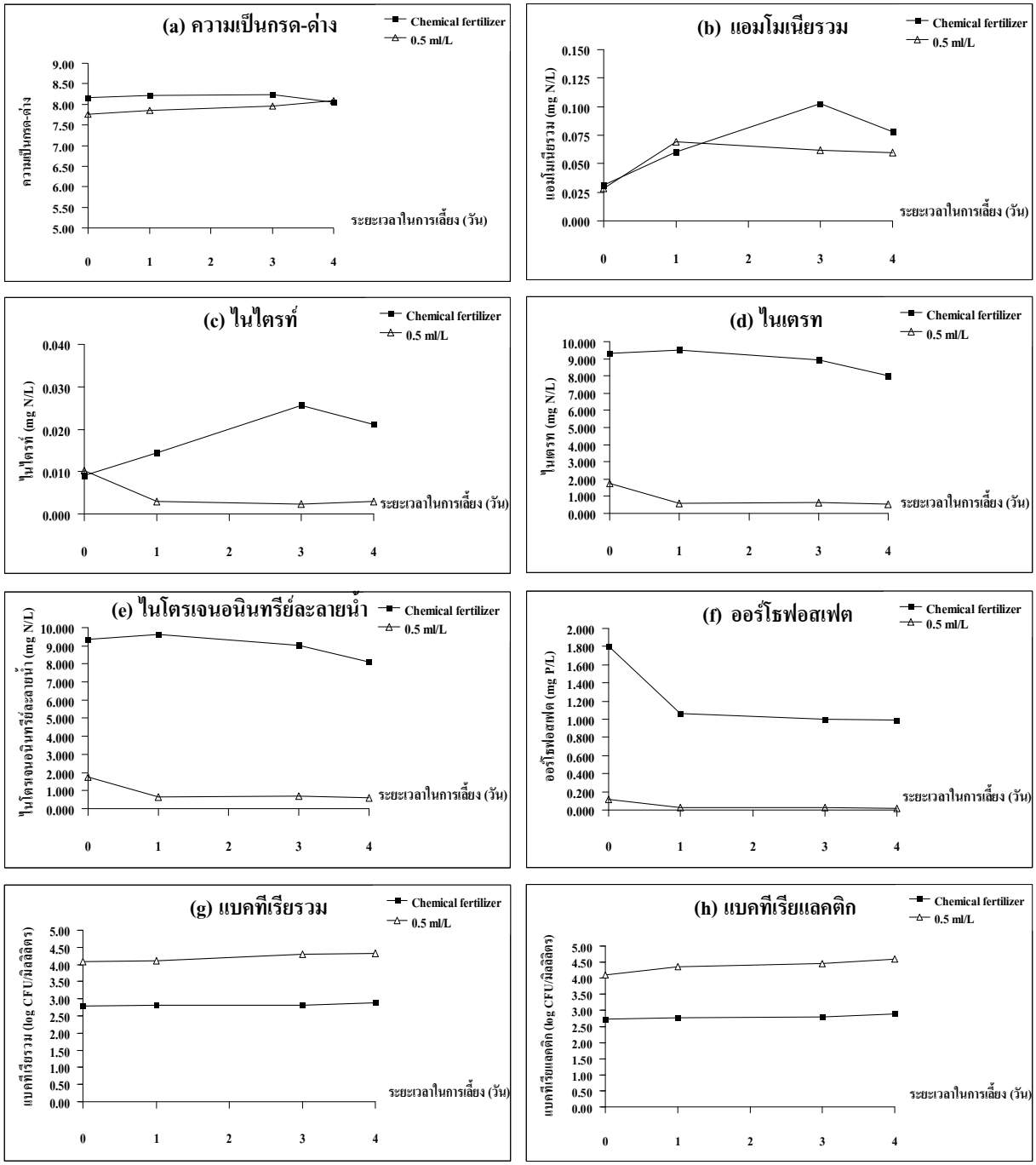
ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในน้ำที่เลี้ยงแพลงก์ตอนด้วยปุ๋ยเคมีมีค่าต่ำเมื่อเริ่มต้นเลี้ยงและมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย และคงที่เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง ในขณะที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ ปริมาณแบคทีเรียแลคติกมีค่าสูงและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยระหว่างวันที่ 1-2 วัน ของการเลี้ยง ซึ่งพบในการเลี้ยง *Chlorella* sp. และ *C. calcitrans* จากนั้นปริมาณคงที่จนสิ้นสุดการเลี้ยง (ภาพที่ 10h และ 12h) แต่ในการเลี้ยง *I. galbana* ปริมาณแบคทีเรียแลคติกเพิ่มสูงขึ้น ในระหว่างวันที่ 1-3 ของการเลี้ยงและมีแนวโน้มคงที่ (ภาพที่ 11h)



ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) , ออร์โธฟอสเฟต (f), แบคทีเรียรวม (g) และแบคทีเรียแลคติก (h) ในน้ำระหว่างการเลี้ยง *Chlorella* sp. ปริมาณมากกลางแจ้ง



ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e) , ออร์โธฟอสเฟต (f), แบคทีเรียรวม (g) และแบคทีเรียแลคติก (h) ในน้ำ ระหว่างการเลี้ยง *I. galbana* ปริมาณมากกลางแจ้ง



ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง (a), แอมโมเนียรวม (b), ไนไตรท์ (c), ไนเตรท (d), ไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ (e), ออร์โธฟอสเฟต (f), แบคทีเรียรวม (g) และแบคทีเรียแลคติก (h) ในน้ำ ระหว่างการเลี้ยง *C. calcitrans* ปริมาณมากกลางแจ้ง

สรุปและวิจารณ์ผล

1. ระดับความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการ

การเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการ ภายใต้ความเข้มแสง 6,000 ลักซ์ ระยะเวลาให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และความเค็มในการเลี้ยง 27 ส่วนในพัน พบว่าน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 1.0 มล./ล. เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp. และ *I. galbana* โดย *Chlorella* sp. มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 4 ของการเลี้ยง ส่วน *I. galbana* มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเลี้ยง แต่สำหรับ *C. calcitrans* น้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 0.5 มล./ล. เหมาะสมที่สุดโดยเซลล์มีความหนาแน่นสูงสุดในวันที่ 2 ของการเลี้ยง ในขณะที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้นสูงสุด 20.0 มล./ล. ทำให้*Chlorella* sp. มีชีวิตรอดอยู่ได้เพียง 1วัน เท่านั้น อาจเนื่องจากสภาวะความเป็นกรดสูง (pH=5.13) ของน้ำเลี้ยงซึ่งเป็นอันตรายต่อแพลงก์ตอนพืช (ลัดดา, 2543) ส่งผลให้เซลล์ตายลงอย่างรวดเร็วและเกิดเป็นตะกอนเกาะบนภาชนะที่ใช้เลี้ยง เนื่องจากเมื่อค่า pH ต่ำมาก ทำให้ฟอสเฟตไปรวมตัวกับเหล็กหรืออะลูมิเนียมเกิดเป็นตะกอน (ฤทัยรัตน์, 2548) เช่นเดียวกับแพลงก์ตอนอีก 2 ชนิด แม้ว่าค่า pH เริ่มต้นเลี้ยงสูงกว่าที่เลี้ยง*Chlorella* sp. เล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตาม pH ที่เหมาะสมในการเลี้ยงแพลงก์ตอนน้ำเค็ม ควรอยู่ระหว่าง 7.8-8.2 เนื่องจากเป็นการเลี้ยงที่ให้อากาศแบบปกติ ไม่เติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ดังนั้นสาหร่ายจึงใช้คาร์บอนในรูปไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) ที่มีอยู่ในสูตรอาหารได้ดี นอกจากนี้สาหร่ายยังสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อการเจริญเติบโตได้ (ลัดดา, 2543) ซึ่งในน้ำหมักชีวภาพมีน้ำตาลคงเหลือที่เป็นดัชนีบ่งบอกจุดสิ้นสุดกระบวนการหมัก (ชวนพิศ และคณะ, 2547; สมหญิง และคณะ, 2550) จึงทำให้แพลงก์ตอนที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้นต่ำ (0.5 หรือ 1.0 มล./ล.) หรือที่เลี้ยงด้วยความเข้มข้นสูงขึ้นจนถึง 5.0 มล./ล. เติบโตได้ดีกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา เนื่องจากน้ำหมักชีวภาพเป็นของเหลวที่มีจุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการย่อยสลายภายในเซลล์สาหร่าย ทำให้มีความเข้มข้นของสารละลายอยู่มาก พืชจะตอบสนองต่อน้ำหมักชีวภาพคล้ายกับฮอร์โมนพืชที่ต้องการในปริมาณน้อย หากใช้ปริมาณที่สูงเกินไปอาจทำให้สาหร่ายชะงักการเจริญเติบโตได้ (อรรถ, 2541 อ้างตาม ปรากรม และ ยุพา, 2549) นอกจากนี้อาจเป็นผลจากจุลินทรีย์หลายๆชนิดที่พบในน้ำหมักชีวภาพโดยทั่วไป ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มจุลินทรีย์สร้างกรดแลคติก เช่น *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. กลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายไนโตรเจน เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ให้ธาตุอาหารโพแทสเซียม และActinomycetes ที่ย่อยอินทรียวัตถุ กลุ่มจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงที่สร้างสารอินทรีย์ กลุ่มจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน เช่น *Azobactor* sp. และ *Azospirillum* sp. (อตินุช และคณะ, 2548) และกลุ่มยีสต์ (กรมวิชาการเกษตร, 2542 อ้างตาม เพ็ชร, 2550) ที่ส่งผลให้แพลงก์ตอนเติบโตได้ดีกว่า โดยมีรายงานวิจัยพบว่าจุลินทรีย์มีอิทธิพลอย่างยิ่งต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช ซึ่งแบคทีเรียที่อาศัยเกาะติดผิวภายนอกของแพลงก์ตอน (นงลักษณ์ และปรีชา, 2548; De-Bashan *et al*., 2000) ดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis) (Park *et al*., 2008) ช่วยปรับสภาวะในการเลี้ยงให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชมากขึ้น โดยทำหน้าที่เป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

(growth-promoting bacterium) ทำให้*Chlorella* sp. ดูดซึมแอมโมเนียมและไนเตรทไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น (De-Bashan *et al*., 2000) และมีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าเลี้ยงโดยไม่มีแบคทีเรีย 0.5-3 เท่า (Park *et al*., 2008) เช่นเดียวกับแบคทีเรียจากทะเลที่สร้างแผ่นฟิล์ม (biofilm) ยึดติดกับเซลล์ภายนอกของแพลงก์ตอนที่มีผลกระตุ้นการเติบโตของ *Chaetoceros* spp. (Fukami *et al*., 1997) นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียที่หลั่งเอนไซม์ออกมาเพื่อย่อยโมเลกุลสารอินทรีย์ในน้ำหมักชีวภาพให้เป็นโมเลกุลเล็กจากนั้นแพลงก์ตอนพืชดูดซึมเข้าสู่เซลล์เพื่อการเจริญเติบโตได้ (Mayali *et al*., 2011) ในขณะที่แบคทีเรียชนิด *Pseudomonas* sp. ที่ต้องการออกซิเจนสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp. และ *Scenedesmus bicellularis* ได้โดยแบคทีเรียไปลดปริมาณออกซิเจนที่ได้จากการสังเคราะห์แสงที่ไปจับกับคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ไปขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวไปทำให้สภาวะการเลี้ยงมีความเหมาะสมในการสังเคราะห์แสงได้มากขึ้น (Mouget *et al*., 1995) แสดงว่ามีแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่ทำหน้าที่เป็นโปรไบโอติกซึ่งมีอยู่ในน้ำหมักชีวภาพ และเป็นประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช (Fukami *et al*., 1997)

จากปัจจัยที่กล่าวมาจึงสนับสนุนผลการทดลองที่แพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด เจริญเติบโตในน้ำหมักชีวภาพได้ดีกว่าในปุ๋ยเคมีสูตรดัดแปลงของซาโตะและเซริกาวา แต่ต้องใช้ที่ความเข้มข้นต่ำจึงจะส่งผลดีต่อแพลงก์ตอนพืชโดยน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้น 1.0 มล./ล. เหมาะสมต่อ *Chlorella* sp. และ *I. galbana* ส่วน *C. calcitrans* ควรใช้ที่ความเข้มข้น 0.5 มล./ล. แต่อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงด้วยน้ำทะเลโดยไม่เติมปุ๋ยเคมี สาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ยังสามารถเจริญเติบโตได้แม้ไม่สูงมาก เนื่องจากยังมีปุ๋ยที่ติดค้างมากับหัวเชื้อแพลงก์ตอนที่นำมาเลี้ยง โดยเฉพาะอนินทรีย์ไนโตรเจนละลายน้ำและออร์โธฟอสเฟต

2. การเติบโตของแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* และเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง

แพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพเจริญเติบโตได้ดีกว่าที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีโดย *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพเข้มข้น 1.0 มล./ล. มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 4 ของการเลี้ยง เช่นเดียวกับ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพเข้มข้น 0.5 มล./ล. สอดคล้องกับผลการศึกษาของ มะลิวัลย์ และ สรวิศ (2549) ส่วน *I. galbana* เซลล์มีความหนาแน่นสูงสุดในวันที่ 5 ของการเลี้ยง ซึ่งเร็วกว่าที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี 2 วัน โดยปัจจัยที่ส่งผลให้แพลงก์ตอนที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพทั้ง 3 ชนิดเจริญเติบโตดีกว่าที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี อาจเกิดจากปริมาณสารอาหารในน้ำหมักชีวภาพที่มีหลากหลายชนิดเหมาะสมต่อความต้องการของแพลงก์ตอน เช่นเดียวกับในธรรมชาติที่แพลงก์ตอนสามารถดูดซึมแอมโมเนียมและไนเตรทได้พร้อมกัน แม้ว่าโดยทั่วไปสามารถดูดซึมแอมโมเนียมได้สูงกว่าไนเตรท (Zobell, 1935; Ahmad and Hellebust, 1984; Queguiner *et al*., 1986; De-Bashan *et al*., 2005) แต่บางครั้งการดูดซึมแอมโมเนียมอย่างรวดเร็วก็ไม่มีผลต่อการเพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอน (Goldman and Dennett, 1985) แต่เกิดจากความหนาแน่นของเซลล์ที่เกิดการแย่งสารอาหารมากกว่า (De-Bashan *et al*., 2005) สำหรับในการทดลองนี้ใช้ปุ๋ยเคมีทางการเกษตรเลี้ยง *Chlorella* sp. ซึ่งมีแหล่งไนโตรเจนเป็นยูเรียและแอมโมเนียม โดยยูเรียเปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนียมด้วยเอนไซม์ยูรีเอส (urease)

ทำให้ในน้ำเลี้ยงมีแอมโมเนียมเข้มข้นสูงมากส่งผลให้ความเข้มข้นแอมโมเนียมในเซลล์ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโนลดลง (Syrett, 1981 อ้างตาม Lobban and Harrison, 1994) แต่ในทางกลับกัน การเลี้ยง *Chlorella* sp. ด้วยน้ำหมักชีวภาพที่มีแอมโมเนียมความเข้มข้นต่ำกว่าในปุ๋ยเคมีประมาณ 10 เท่า ทำให้*Chlorella* sp. เจริญเติบโตได้ดีกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีอย่างชัดเจนโดยสามารถดูดซึมแอมโมเนียรวมและออร์โธฟอสเฟตได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาเพียง 2 วัน และแอมโมเนียมที่ไม่สูงมากช่วยกระตุ้นการดูดซึมฟอสฟอรัสของ *Chlorella* sp. ได้ด้วย (พิกุล และ ธิดา, 2541) จากนั้นเมื่อแอมโมเนียรวมในน้ำลดลง แพลงก์ตอนสามารถดูดซึมไนเตรทที่มีอยู่ในน้ำเลี้ยงต่อไปได้ ดังนั้นความเข้มข้นสารอาหารในน้ำเลี้ยงที่สูงกว่าก็ไม่มีผลต่อการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp. แสดงให้เห็นว่าการใช้ปุ๋ยเคมีในปริมาณมากอย่างที่ปฏิบัติกันอยู่ในปัจจุบันเกินความต้องการของ *Chlorella* sp. และทำให้แอมโมเนียรวมตกค้างอยู่ในน้ำเลี้ยงสูงมาก (ภาพที่ 10b) เมื่อนำไปใช้อาจเป็นอันตรายต่อโรติเฟอร์ (Schluter and Groeneweg, 1985) และสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ (Ip *et al*., 2001) เนื่องจากเมื่อแพลงก์ตอนสังเคราะห์แสงทำให้ค่า pH สูงขึ้น และความเข้มข้นแอมโมเนียมลดลงแล้วเปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งมีความเป็นพิษมากขึ้น (ธีระ, 2539) โดยความเป็นพิษของแอมโมเนียเพิ่มสูงขึ้นเมื่อ pH และความเค็มลดลง (Miller *et al*., 1990) สำหรับ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพมีแนวโน้มการดูดซึมไนเตรทและแอมโมเนียมได้รวดเร็วกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี เนื่องจากความเข้มข้นสารอาหารในน้ำเลี้ยงไม่สูงมาก ซึ่งไดอะตอมดูดซึมไนเตรทเพื่อการเจริญเติบโตได้สูงสุดที่ความเข้มข้นไม่เกิน 40 µmol-N/L (0.56 mg-N/L) แต่หากเลี้ยงที่ความเข้มแสงสูงขึ้นช่วยส่งเสริมการดูดซึมไนเตรทได้มากขึ้น (Lomas and Glibert, 2000) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้ที่เลี้ยง *C. calcitrans* ด้วยปุ๋ยไนเตรท พบว่าแพลงก์ตอนดูดซึมไนเตรทได้เพียงเล็กน้อยในช่วงเริ่มต้นของการเลี้ยง (ภาพที่ 12d) เนื่องจากความเข้มข้นไนเตรทในน้ำเลี้ยงมีค่าสูงมาก และส่วนหนึ่งอาจเกิดจากแอมโมเนียมในน้ำเลี้ยงอาจไปยับยั้งการดูดซึมไนเตรทในช่วงเริ่มต้นได้ (Dortch, 1990) แต่หากเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ ๆ การยับยั้งก็ลดลง (Lomas and Glibert, 1999) นอกจากนี้ไนไตรท์ในน้ำเลี้ยงที่เพิ่มขึ้นอาจเกิดจาก nitrifying bacteria (Zobell, 1935) หรือเกิดจากแพลงก์ตอนขับไนไตรท์ออกจากเซลล์ (Lomas and Lipschultz, 2006) แต่อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปกระบวนการนำไนโตรเจนไปใช้ประโยชน์เกิดได้ดีเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีทั้งแอมโมเนียมและไนเตรทในระดับที่เหมาะสม (Berges *et al*., 1995) เนื่องจากความเข้มข้นสารอาหารสูงมากเกินไปไม่มีผลทำให้*C. calcitrans* เจริญเติบโตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้เมื่อการดูดซึมสารอาหารเริ่มคงที่ การเจริญเติบโตก็เข้าสู่ระยะพักตัวในวันที่ 4 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 6) (Rigobello-Masini *et al*., 2006) ผลการทดลองเลี้ยง *I. galbana* ด้วยน้ำหมักชีวภาพ พบว่าแพลงก์ตอนดูดซึมไนเตรทและออร์โธฟอสเฟตได้อย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 11d และ11f) ในขณะที่การเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีพบว่าดูดซึมสารอาหารได้น้อยกว่า และยังพบแอมโมเนียรวมในน้ำเลี้ยง แม้ว่าแหล่งไนโตรเจนที่ใช้เลี้ยงเป็นไนเตรท ซึ่งอาจเกิดจากการที่แพลงก์ตอนขับแอมโมเนียมออกจากเซลล์ โดยเฉพาะเมื่อความเข้มแสงสูงมาก (Lomas *et al*., 2000) และส่วนหนึ่งอาจเกิดจากแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ (De-Bashan *et al*., 2000) เนื่องจากเป็นการเลี้ยงที่ใช้ระยะเวลานานกว่า จึงมีโอกาสปนเปื้อนแบคทีเรียชนิดอื่นได้ง่ายขึ้น สอดคล้องกับปริมาณแบคทีเรียรวมในน้ำเลี้ยงที่เพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 1-3 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 11g) ซึ่งเป็นช่วงที่สาหร่ายมีระยะการปรับตัว (lag phase) โดยการเลี้ยง*I. galbana* ด้วยแอมโมเนียมและไนเตรทจากปุ๋ยเคมีทางการเกษตร พบว่าแพลงก์ตอนใช้แอมโมเนียมได้รวดเร็วกว่าไนเตรท 8 เท่า (Valenzuela-Espinoza *et al*., 1999) และยังมีปัจจัยสำคัญที่ทำให้แพลงก์ตอนที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพเจริญเติบโตได้ดีกว่า

การเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี คือจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำหมักชีวภาพซึ่งไปสร้างแผ่นฟิล์มยึดติดกับผิวของแพลงก์ตอน (Rivas *et al*., 2010) และนำสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเลี้ยงไปใช้ประโยชน์พร้อมทั้งปลดปล่อยสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนและยังช่วยยืดระยะการเจริญเติบโตช่วงระยะพักตัว (stationary phase) ได้นานขึ้นโดยพบแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์หลายชนิดในน้ำเลี้ยงแพลงก์ตอน (Suminto and Hirayama, 1997) เช่นเดียวกับการเลี้ยง *I. galbana* ร่วมกับแบคทีเรีย พบว่าช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอน และสามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *Vibrio anguillarum* ที่ก่อโรคในหอยสองฝาได้ (Avendano and Riquelme, 1999) แต่ในน้ำเลี้ยงต้องมีสารอาหารเพียงพอและมีธาตุอาหารจุลภาค (micronutrient element) และวิตามินร่วมอยู่ด้วย เนื่องจากแบคทีเรียจะไปแย่งสารอาหารโดยเฉพาะฟอสเฟตและอาจยับยั้งอัตราการเติบโตของแพลงก์ตอนได้ (Grossart, 1999) เช่นเดียวกับในการทดลองครั้งนี้ พบว่าในน้ำเลี้ยงแพลงก์ตอนมีธาตุอาหารที่เหลือตกค้างจากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เมื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในการเลี้ยงกลางแจ้ง ทำให้แพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ ยิ่งเติบโตสูงขึ้น และอาจเกิดจากจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในน้ำหมักชีวภาพมีชนิดที่จำเพาะกับแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด (Nicolas *et al*., 2004) เนื่องจากวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตน้ำหมักชีวภาพเป็นสาหร่ายทะเลที่มีจุลินทรีย์หลาย ๆ ชนิดเจริญเติบโตติดกับผิวสาหร่ายทะเล ซึ่งอาจเป็นชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อแพลงก์ตอนน้ำเค็ม นอกจากนี้ปัจจัยที่ส่งผลให้ *I. galbana* เติบโตได้ดีกว่าที่เลี้ยงในปุ๋ยเคมี คือปริมาณธาตุเหล็กในน้ำหมักชีวภาพ จากผลศึกษาของ Kaplan *et al*. (1986) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นธาตุเหล็กทำให้แพลงก์ตอนเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และในน้ำหมักชีวภาพยังมีธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารจุลภาคอีกหลายชนิดรวมทั้งแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียแลคติก (ตารางที่1) ที่มีประโยชน์ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนได้ (Ukeles and Bishop, 1975) แต่อย่างไรก็ตาม ในการทดลองครั้งนี้ พบว่าแสงยังคงเป็นปัจจัยจำกัดการเจริญเติบโตโดยเฉพาะ *I. galbana* ซึ่งเป็นแพลงก์ตอนที่ปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและการแปรผันของอุณหภูมิค่อนข้างสูงได้น้อย เนื่องจากบางวันมีฝนตกในช่วงบ่ายและตอนกลางคืนทำให้แพลงก์ตอนมีระยะปรับตัวค่อนข้างนานจึงเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร (ภาพที่ 5) และพบการปนเปื้อนของโปรโตซัว ซึ่งเกิดขึ้นในปลายระยะการเจริญเติบโตทวีคูณ (De-Pauw *et al*., 1984) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเลี้ยง *I. galbana* กลางแจ้ง ควรอยู่ระหว่าง 19-32 องศาเซลเซียส (Kaplan *et al*., 1986; Sen *et al*. , 2005) ผลจากการเลี้ยงแพลงก์ตอนกลางแจ้งที่ได้ขัดแย้งกับผลการทดลองในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมแสงและอุณหภูมิทำให้สาหร่ายสามารถแบ่งเซลล์ได้ทันที เนื่องจากการเลี้ยงกลางแจ้งมีการผันแปรของสภาวะในการเลี้ยง เช่น ความเข้มแสง อุณหภูมิ และสารอาหาร ทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสงแบบชั่วคราวในระยะเริ่มต้นของการเลี้ยง (Elrifi and Turpin, 1985) แต่การให้อากาศอย่างเพียงพอทำให้แพลงก์ตอนดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์ได้เพิ่มขึ้น (Lavin and Lourenco, 2005) และต้องไม่เจือจางความหนาแน่นเซลล์สูงกว่าร้อยละ 40 (Kaplan *et al*., 1986) ดังนั้นการควบคุมปัจจัยอื่น ๆให้เหมาะสมจะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนชนิดต่าง ๆ ให้สูงขึ้นได้

3. องค์ประกอบทางเคมีของแพลงก์ตอน 3 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* และที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ในระดับการผลิตปริมาณมากกลางแจ้ง

การเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด ในถังกลางแจ้ง ความเข้มแสงระหว่างวัน 3,000-30,000 ลักซ์ พบว่า องค์ประกอบทางเคมีของ *Chlorella* sp., *I. galbana* และ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ มีค่าโปรตีนสูงกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี ยกเว้นการเลี้ยง *I. galbana* ด้วยปุ๋ยเคมีที่พบว่ามีไขมันใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ โดยทั่วไปแพลงก์ตอนมีค่าโปรตีนร้อยละ 6-52 และไขมันร้อยละ 7-23 ซึ่งแตกต่างกันในแต่ละชนิด เช่น สาหร่ายสีเขียว เช่น *Chlorella* sp. มีคุณค่าทางโภชนาการน้อยกว่ากลุ่มอื่น (ฤทัยรัตน์, 2548) นอกจากนี้ยังเกิดจากสภาวะแวดล้อมในการเลี้ยง และระยะการเจริญเติบโตที่ต่างกัน (De-Pauw *et al*., 1984) โดยพบโปรตีนมากในระยะการเจริญเติบโตทวีคูณ (Brown *et al*., 1997) แต่หากเก็บเกี่ยวในระยะการเจริญเติบโตคงที่ ส่วนใหญ่เป็นไขมันและคาร์โบไฮเดรต (Gireesh, 2009) จากการทดลองนี้ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตในปลายระยะการเจริญเติบโตทวีคูณ จึงพบปริมาณโปรตีนสูงกว่าไขมัน เช่นเดียวกับในการเลี้ยง *C. vulgaris* และ *I. galbana* ในอาหารสูตรคอนเวย์ พบโปรตีนสูงกว่าไขมันมาก (Tokusoglu and Ünal, 2003) สำหรับการทดลองเลี้ยง *I. galbana* ด้วยปุ๋ยเคมีทางการเกษตร พบว่าไนเตรทในน้ำเลี้ยงที่สูงขึ้นไม่มีผลให้โปรตีนสูงตามไปด้วย (Valenzuela-Espinoza *et al*., 2002) โดยสภาวะเหมาะสมที่ทำให้มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ ความเค็ม 15-35 ส่วนในพัน และความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท 4-8 mM (Fabregas *et al*.,1985) ในขณะที่ชนิดของไนโตรเจนก็มีความสำคัญ เช่นการเลี้ยง *I. galbana* ด้วยปุ๋ยแอมโมเนียมทำให้มีกรดไขมันสะสมเพียงครึ่งหนึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยไนเตรท แต่ไขมันจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีไนโตรเจนจำกัด (Flynn *et al*., 1993) เนื่องจากเมื่อแพลงก์ตอนขาดแคลนไนโตรเจน จะเกิดการสังเคราะห์สารประกอบคาร์บอน เช่นไขมันและคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น (ลัดดา, 2543) ซึ่งผลสอดคล้องกับการทดลองนี้ที่พบว่าการเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพมีแนวโน้มปริมาณไขมันสูงกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี เนื่องจากปริมาณไนโตรเจนมีแนวโน้มลดลงรวดเร็วทำให้เกิดภาวะไนโตรเจนจำกัด แต่อย่างไรก็ตาม แพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิดที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพก็ยังมีองค์ประกอบทางเคมีสูงกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี นอกจากนี้พบว่าเมื่อความเข้มแสงลดลงทำให้กระบวนการนำไนโตรเจนไปใช้ประโยชน์ของไดอะตอมลดลง (Needoba and Harrison, 2004) และการเลี้ยงที่ความเค็มสูงถึง 34 ส่วนในพัน มีผลให้ปริมาณโปรตีนและไขมันลดลงด้วย (Gireesh *et al*., 2008) เช่นเดียวกับในการเลี้ยง *I. galbana* ด้วยปุ๋ยเคมีที่ความเค็มสูง 33 ส่วนในพัน ในวันสุดท้ายของการเลี้ยง จึงทำให้ปริมาณไขมันสะสมค่อนข้างน้อย (Herzig and Falkowski, 1989)

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบกรดไขมันในแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด พบว่า ชนิดกรดไขมันส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม MUFAs และ SFAs แต่ก็ยังพบกลุ่มของ PUFAs ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยแพลงก์ตอนที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพมีแนวโน้มพบ EPA และ DHA สูงกว่าเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีโดยเฉพาะ *C. calcitrans* ที่พบ n-3 HUFAs สูงสุด โดยเฉพาะ EPA ส่วน *I. galbana* พบ DHA สูงกว่าแพลงก์ตอนชนิดอื่น สำหรับ *Chlorella* sp. นั้นชนิดกรดไขมัน PUFAs ส่วนใหญ่เป็น C18:3n3 (ALA) และพบกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง กลุ่ม total n-6 PUFA สูงกว่าชนิดอื่นๆ โดยปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบกรดไขมัน คือ แสง อุณหภูมิ แอมโมเนียมหรือไนเตรท และช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโต (De-Pauw *et al*., 1984; Liu and Lin, 2001; Moura Junior *et al*., 2007) ในขณะที่ปัจจัยที่

มีผลต่อปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่ม PUFAs และ MUFAs คือแสง อุณหภูมิ ชนิดอาหาร และรูปแบบการเลี้ยงทั้งแบบ heterotrophic และ autotrophic nutrition โดยการเลี้ยง *C. vulgaris* แบบ autotrophic ที่มีสารอาหารที่จำเป็นและให้แสง 3,500 ลักซ์ ทำให้มีปริมาณโปรตีนและกรดไขมันสูงกว่าเลี้ยงแบบ heterotrophic ที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและเติมสารอาหารอื่นๆที่จำเป็นแต่ไม่มีแสง (El-Sheekh and Fathy, 2009) แต่อย่างไรก็ตามผลที่ได้ขัดแย้งกับการศึกษาของ Feng *et al.* (2005) ที่พบว่าการเลี้ยงแบบ heterotrophic ช่วยส่งเสริมให้ *Chlorella* sp. มีการสะสมกรดไขมันเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ เมื่อเลี้ยง *Chlorella* sp. ร่วมกับแบคทีเรีย พบว่ามีการสังเคราะห์กรดไขมันสายยาวประเภท C20 มากขึ้นด้วย (Petkov and Garcia, 2007) แม้ว่าโดยทั่วไป *Chlorella* sp. เกือบทุกสายพันธุ์ มีกรดไขมันชนิด C18:1 และ C18:2 (Chader *et al.*, 2011) ส่วนระยะเวลาการได้รับแสงก็มีผลต่อการสังเคราะห์กรดไขมันของ *I. galbana* เป็นอย่างมาก โดยระยะเวลาการให้แสงที่สั้นลง แพลงก์ตอนสังเคราะห์ PUFAs ได้มากกว่า SFAs และ MUFAs (Bandarra *et al.*, 2003, Tzovenis *et al.*, 2003) ส่วนปัจจัยจากการเจริญเติบโตในระยะทวีคูณทำให้พบกรดไขมันกลุ่ม SFAs และ MUFAs มากกว่า PUFAs (Brown *et al.*, 1996) สอดคล้องกับในการทดลองนี้ที่เก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนปลายระยะการเติบโตทวีคูณ จึงพบกรดไขมันกลุ่ม SFAs และ MUFAs สูงกว่า PUFAs จากการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในแพลงก์ตอน 10 ชนิด ที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี พบว่าไดอะตอมมีปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำในกลุ่ม HUFAs มากที่สุด แต่ *Chlorella* sp. ไม่มีกรดไขมันในกลุ่ม HUFAs เลย แม้ว่าจะมีปริมาณ PUFAs สูงกว่าชนิดอื่นๆ แต่ส่วนใหญ่เป็น Linolenic (C18:3n-3) และ Linoleic (C18:2n-6) และ SFAs ส่วน MUFAs พบต่ำสุด (Pratoomyot *et al.*, 2005) ซึ่งมีแนวโน้มสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ แต่ก็ยังพบ HUFAs ใน *Chlorella* sp. ได้เล็กน้อย อย่างไรก็ตาม งานวิจัยส่วนใหญ่ที่พบว่าแพลงก์ตอนมีโปรตีนและไขมันค่อนข้างสูงนั้นเป็นการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมปัจจัยการเลี้ยงได้ทั้งหมด แต่สำหรับการเลี้ยง *C. calcitrans* และ *I. galbana* ด้วยปุ๋ยเคมีกลางแจ้ง พบปริมาณ EPA ใน *C. calcitrans* เพียงร้อย 3-9 ในขณะที่ *I. galbana* พบ EPA น้อยมากหรือไม่พบเลย แต่เมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้นพบกรดไขมันชนิด C18 และ C20 เพิ่มขึ้น (Shamsudin, 1992) แต่ในไดอะตอมเช่น *C. calcitrans* พบ EPA และ DHA ที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน (Brown *et al.*, 1997) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบ EPA ใน *C. calcitrans* มากกว่าแพลงก์ตอนชนิดอื่น แต่การพรางแสงเมื่อเลี้ยงกลางแจ้ง ทำให้ DHA เพิ่มจากร้อยละ 5.3 เป็น 10.3 ในขณะที่ EPA เพิ่มจากร้อยละ 0.6 เป็น 4.1 เนื่องจากที่ความเข้มแสงสูงมากๆ ทำให้กรดไขมันชนิด SFAs มีค่าเพิ่มขึ้น แต่ชนิดไม่อิ่มตัว MUFAs ลดลง (Renaud *et al.*, 1991) และที่ความเค็ม 34 ส่วนในพัน พบค่า n-3 PUFA สูงกว่าระดับความเค็มอื่นๆ และยังเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จึงเหมาะสมในการนำ *I. galbana* มาเลี้ยงในเขตร้อนเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ (Liu and Lin, 2001)

ผลจากการศึกษา แสดงให้เห็นว่า น้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* มีผลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด โดยการเลี้ยงแพลงก์ตอนในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมสภาวะการเลี้ยง ความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพ 1.0 มล./ล. เหมาะสมต่อ *Chlorella* sp. และ *I. gabana* ส่วน *C. calcitrans* ใช้ความเข้มข้นที่ต่ำกว่า คือ 0.5 มล./ล. เนื่องจากปริมาณของธาตุอาหารและจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำหมักชีวภาพมีระดับที่เหมาะสมกับแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด สำหรับผลการทดลองเลี้ยงแพลงก์ตอนกลางแจ้ง แสดงให้เห็นว่า การใช้ปุ๋ยเคมีทางการเกษตรหรือปุ๋ยเคมีที่เป็น commercial grade ร่วมกับ laboratory grade ในปริมาณมากอย่างที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันนั้น ความเข้มข้นของปุ๋ยมากเกินความต้องการของแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิดที่ศึกษา ซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายโดยไม่จำเป็น

นอกจากนี้ การเลี้ยง *Chlorella* sp. ที่นิยมใช้ปุ๋ยแอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจนยังส่งผลให้มีแอมโมเนียรวมเหลือตกค้างในน้ำเลี้ยงความเข้มข้นสูงมาก ซึ่งเป็นพิษต่อแพลงก์ตอนสัตว์และสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่นเดียวกับการเลี้ยง *C. calcitrans* และ *I. galbana* ด้วยปุ๋ยไนเตรทนั้น พบไนเตรทและออร์โธฟอสเฟตตกค้างในน้ำเลี้ยงปริมาณสูง เมื่อปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติทำให้แหล่งน้ำเสื่อมโทรมลง ดังนั้นการใช้น้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีในการผลิตแพลงก์ตอนกลางแจ้งในปริมาณมาก ๆ จึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมอย่างยิ่ง เนื่องจากการใช้น้ำหมักชีวภาพที่เข้มข้นต่ำ 0.5-1.0 มล./ล. ทำให้ *Chlorella* sp., *C. calcitrans* และ *I. galbana* มีผลผลิตสูงกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างชัดเจน โดยเฉพาะ *I. galbana* เจริญเติบโตรวดเร็วกว่าเลี้ยงโดยใช้ปุ๋ยเคมี 2 วัน เมื่อพิจารณาคุณค่าทางโภชนาการในแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิดที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ ก็มีแนวโน้มปริมาณโปรตีน ไขมัน และชนิดกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนสูงกว่าที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีอีกด้วย โดยเฉพาะปริมาณ n-3 HUFAs ใน *C. calcitrans* ที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสูงกว่าการเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี เนื่องจากการเลี้ยงแพลงก์ตอนกลางแจ้งในปริมาณมากนั้น เกษตรกรจะนำหัวเชื้อจากห้องปฏิบัติการมาขยายพันธุ์ ซึ่งมีปริมาณความเข้มข้นปุ๋ยคงเหลือสูงมาก ประกอบกับในน้ำหมักชีวภาพ มีธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารปริมาณน้อยหลายชนิด รวมทั้งมีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนได้ผลชัดเจน ดังนั้นสามารถใช้น้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชกลางแจ้งได้ทั้ง 3 ชนิด ทั้งนี้เพื่อทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมี ลดต้นทุนการผลิต และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม อันเกิดจากแอมโมเนียรวม ไนเตรท และฟอสเฟตที่เหลือตกค้างในน้ำเลี้ยงแพลงก์ตอนได้

ข้อเสนอแนะ

ควรนำแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C. crassa* ไปทดลองเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ และอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต และคุณค่าทางโภชนาการในโอกาสต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ชวนพิศ อรุณรังสิกุล, ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล และธีรนุต ร่มโพธิ์ภักดิ์.2547.คุณภาพน้ำหมักชีวภาพและองค์ประกอบ. **ใน** : การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ "เกษตรศาสตร์เพื่อการพัฒนาคุณภาพชีวิต". ครั้งที่42. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 481-488.

ทักษพร รัตนมุขย์, อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ และ วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล. 2553. การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus*. **ใน :** การประชุมทางวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 11. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 659-665.

ธีระ เกรอต. 2539. วิศวกรรมน้ำเสีย: การบำบัดทางชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 606 หน้า.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2548. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 5. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 576 หน้า.

ปรากรม ประยูรรัตน์ และ ยุพา แดงหนองแปน. 2549. ผลความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของผักกาดขาว (*Brassica pekinensis*). วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 11 (1) : 78-85.

พิกุล วณิชาภิชาติ และ ธิดา เพชรมณี. 2541. รายงานวิจัย "ผลกระทบเนื่องจากการผันแปรไนโตรเจนในสูตรน้ำเลี้ยงต่ออัตราการดูดซึมฟอสฟอรัสในแพลงก์ตอนพืช" คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่, สงขลา. 55 หน้า.

เพ็ชร อ้วนสอาด. 2550. การลดปริมาณแอมโมเนียและไนไตรท์โดยการใช้น้ำหมักชีวภาพเพื่อเพิ่มผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการใช้ที่ดินและการจัดการทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 102 หน้า.

มะลิวัลย์ คุตะโค และ สรวิศ เผ่าทองศุข. 2549. อัตราการเจือจางและความเข้มแสงต่อการเติบโตของไดอะตอม *Chaetoceros calcitrans* ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพรูปทรงแผ่นแบน. วารสารสงขลานครินทร์ วทท. 28 (5) : 965-975.

ฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร. 2548. ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 136 หน้า.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 127 หน้า.

สมหญิง แซ่โง้ว, เยาวภา ไหวพริบ, อนันต์ ทองทา และ ไชยวัฒน์ ไชยสุต. 2550. ผลของชนิดและปริมาณน้ำตาลต่อปริมาณจุลินทรีย์ของน้ำหมักลูกสมอไทย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 38(6) (พิเศษ): 271-274.

อดินุช แซ่จิว, จันทร์จรัส วีรสาร และ ชวนพิศ อรุณรังสิกุล. 2548. มารู้จักปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยชีวภาพกันเถอะ. วารสารข่าวศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกทดลอง 19 (1) : 14-19.

อรกัญญา เม่งหยู และ อำไพ ล่องลอย. 2553. ผลของน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *Chaetomorpha crassa* (C. Agardh) Kützing, F. T., 1845 ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเขากวาง *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh var. *corynephora* (Montagne) Weber-van Bosse, 1898. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 4/2553. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่, กรมประมง. 31หน้า.

Ahmad, I and J. A. Hellebust. 1984. Nitrogen metabolism of the marine microalga *Chlorella autotrophica*. *Plant Physiol*. 76 : 658-663.

Alvarado, D., B. Esperanza, S. Maria and F. Khenia. 2008. Experimental evaluation of a composted seaweed extract as microalgal culture media. *Aquacult. Int*. 16 : 85-90.

Association of Official Analytical Chemists. (AOAC.). 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemist. Gaithersburg, Maryland, USA. 2200 pp.

Avendano, R. E. and C. E. Riquelme. 1999. Establishment of mixed-culture probiotics and microalgae as food bivalve larvae. *Aquac. Res.* 30 (11-12) : 893-900.

Bandarra, M. N., P. A. Peretra, I. Batista and M. H. Vilela. 2003. Fatty acids, sterols and α-Tocopherol in *Isochrysis galbana. J. Food Lipids* 10 : 25-34.

Berges, J. A., W. P. Cochlan and P. J. Harrison. 1995. Laboratory and field responses of algal nitrate reductase to diel periodicity in irradiance, nitrate exhaustion, and the presence of ammonium. *Mar. Ecol. Prog. Ser*. 124 : 259-269.

Brown, M. R., G. A. Dunstan, S. J. Norwood and K. A. Miller. 1996. Effect of harvest stage and light on the biochemical composition of the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *J. Phycol.* 32 (1) : 64-73.

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

Chader, S., B. Mahmah, K. Chetehouna and E. Mignolet. 2011. Biodiesel production using *Chlorella sorokiniana* a green microalga. *Revue des Energies Renouvelables* 14 : 21-26.

Cho, J. Y., H. Jin, H. J. Lim, J. N. C. Whyte and Y. Hong. 1999. Growth activation of the microalga *Isochrysis galbana* by the aqueous extract of the seaweed *Monostroma nitidum*. *J. Appl. Phycol.* 10 : 561-567.

De-Bashan, L. E., H. Antoun and Y. Bashan. 2005. Cultivation factors and population size control the uptake of nitrogen by the microalgae *Chlorella vulgaris* when interacting with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *FEMS Microbiol. Ecol*. 54 : 197-203.

De-Bashan, L. E., V. K. Lebsky, J. P. Hernandez, J. J. Bustillos and Y. Bashan. 2000. Change in the metabolism of the microalga *Chlorella vulgaris* when coimmobilized in alginate with the nitrogen-fixing *Phyllobacterium myrsinacearum*. *Can. J. Microbiol*. 46 : 653-659.

De-Pauw, N., J. Morales and G. Persoone. 1984. Mass culture of microalgae in aquaculture systems: Progress and constrains. *Hydrobiologia* 116/117 : 120-134.

Dortch, Q. 1990. The interaction between ammonium and nitrate uptake in phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 6 1 : 183-201.

Elrifi, I. R. and D.H. Turpin. 1985. Transient photosynthetic response of nitrogen limited microalgae to nitrogen addition. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 20 : 253-258.

El-Sheekh, M. M. and A. A. Fathy. 2009. Variation of some nutritional constituents and fatty acid profile of *Chlorella vulgaris* Beijerinck growth under auto and heterotrophic conditions. *Int. J. Bot.* 5 (2) : 153-159.

Fabregas, J., C. Herrero, J. Abalde and B. Cabezas. 1985. Growth, Chlorophyll a and protein of the marine microalga *Isochrysis galbana* in batch cultures with different salinities and high nutrient concentrations. *Aquaculture* 50 : 1-11.

Feng, F., W. Yang, G. Jiang, Y. Xu and T. Kuang. 2005. Enhancement of fatty acid production of *Chlorella* sp. (Chlorophyceae) by addition of glucose and sodium thiosulphate to culture medium. *Process Biochem.* 40 (3-4) : 1315-1318.

Flynn, K. J., M. Zapata, J. L. Garrido, H. Opik and C. R. Hipkin. 1993. Change in carbon and nitrogen physiology during ammonium and nitrate nutrition and nitrogen starvation in *Isochrysis galbana*. *Eur. J. Phycol.* 28 (1) : 47-52.

Fukami, K., T. Nishijima and Y. Ishida. 1997. Stimulative and inhibitory effects of bacteria on the growth of microalgae. *Hydrobiologia* 358 : 185-191.

Gireesh, R. 2009. Proximate composition, chlorophyll a and carotenoid content in *Dunaliella salina* (Dunal) Teod (Chlorophycea: Dunaliellaceae) culture with cost-effect seaweed liquid fertilizer medium. *Turk. J. Bot.* 33 : 21-26.

Gireesh, R., C. K. Haridevi and C. P. Gopinathan. 2008. Growth and proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. *Aquac. Res.* 39 (10) : 1053-1058.

Goldman, J C. and M. R. Dennett. 1985. Photosynthetic responses of 15 phytoplankton species to ammonium pulsing. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 20 : 259-264.

Grossart, H. P. 1999. Interactions between marine bacteria and axenic diatoms (*Cylindrotheca fusiformis, Nitzschia laavis* and *Thalassiosira weissflogii*) incubated under various conditions in the lab. *Aquat. Microb. Ecol.* 19 : 1-11.

Harith, Z.T., F. M. Yusoff, M. S. Mohamed, M. S. M. Din and A. B. Ariff. 2009. Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, *Chaetoceros calcitrans*, cells. *Afr. J. Biotechnol.* 8 (21) : 5971-5978.

Harith, Z.T., F. M. Yusoff, M. Shariff and A. B. Ariff. 2010. Effect of different separation techniques and storage temperatures on the viability of marine microalgae, *Chaetoceros calcitrans*, during storage. *Biotechnol.* 9 (3) : 387-391.

Herzig, R. and P. G. Falkowski. 1989. Nitrogen limitation in *Isochrysis galbana* (Haptophyceae). I. Photosynthetic energy conversion and growth efficiencies. *J. Phycol.* 25 (3) : 462-471.

Ip, Y. K., S. F. Chew and D. J. Randall. 2001. Ammonia toxicity, tolerance, and excretion. *Fish Physiology* 20 : 109-148.

Kantachote, D. and W. Charernjiratrakul. 2008. Selection of lactic acid bacteria from fermented plant beverages to use as inoculants for improving the quality of the finished product. *Pak. J. Biol. Sci.* 11(22) : 2545-2552.

Kaplan, D., Z. Cohen and A. Abeliovich. 1986. Optimal growth conditions for *Isochrysis galbana*. *Biomass* 9: 37-48.

Krause-Jensen, D., P. B. Christensen and S. Rysgaard. 1999. Oxygen and nutrient dynamics within mats of the filamentous macroalga *Chaetomorpha linum*. *Estuaries* 22 : 31-38.

Lavin, P. L. and S. O. Lourenco. 2005. An evaluation of the accumulation of intracellular inorganic nitrogen pools by marine microalgae in the batch culture. *Braz. J. Oceanogr.* 53 (1/2) : 55-68.

Liu, C. P. and L. P. Lin. 2001. Ultrastructural study and lipid formation of *Isochrysis* sp. CCMP1324. *Bot. Bull. Acad. Sinica.* 42 : 207-214.

Lobban, C. S. and P. J. Harrison. 1994. Seaweeds Ecology and Physiology. Cambridge: Cambridge University Press. 366 pp.

Lomas, M. W. and F. Lipschultz. 2006. Forming the primary nitrite maximum: Nitrifiers or phytoplankton? *Limnol. Oceanogr.: Reviews* 51 (5) : 2453-2467.

Lomas, M. W. and P. M. Glibert. 1999. Interactions between NH_4^+ and NO_3^- uptake and assimilation: Comparison of diatoms and dinoflagellates at several growth temperatures. *Mar. Biol.* 133:541-551.

Lomas, M. W. and P. M. Glibert. 2000. Comparisons of nitrate uptake, storage and reduction in marine diatoms and flagellate. *J. Phycol.* 36 : 903-913.

Lomas, M. W., C. J. Rumbley and P. M. Glibert. 2000. Ammonium release by nitrogen sufficient diatoms in response to rapid increases in irradiance. *J. Plank. Res.* 22 : 2351-2366.

Luyen, H. Q., J. Y. Cho, H. W. Shin and Y. K. Hong. 2007. Microalgal growth enchancement by levoglucosan isolated from the green seaweed *Monostroma nitidum*. *J. Appl. Phycol.* 19 : 175-180.

Mayali, X., P. J. S. Franks and R. S. Burton. 2011. Temporal attachment dynamics by distinct bacterial taxa during a dinoflagellate bloom. *Aquat. Microb.Ecol.* 63 : 111-122.

Miller, D. C., S. Poucher, J. A. Cardin and D. Hansen. 1990. The acute and chronic toxicity of ammonia to marine fish and a mysid. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 19 : 40-48.

Mouget, J. L., A. Dakhama, M. C. Lavoie and J. de la Noue. 1995. Algal growth enhancement by bacteria: Is consumption of photosynthetic oxygen involved. *FEMS Microbiol. Ecol.* 18 (1) : 35-43.

Moura Junior, A. M., E. B. Neto, M. L. Koening and E. E. Leça. 2007. Chemical composition of three microalgae species for possible use in mariculture. *Braz. Arch. Biol. Techn.* 50 (3) : 461-467.

Needoba, J. A. and P. J. Harrison. 2004. Influence of low light and a light :dark cycle on NO_3^- uptake, intracellular NO_3^-, and nitrogen isotope fractionation by marine phytoplankton. *J. Phycol.* 40 : 505-516.

Nicolas, J. L., S. Corre and J. C. Cochard. 2004. Bacterial population association with phytoplankton cultured in bivalve hatchery. *Microb. Ecol.* 48 : 400-413.

Papazi, A., P. Makridis and P. Divanach. 2010. Harvesting *Chlorella minutissima* using cell coagulants. *J. Appl. Phycol.* 22 : 349-355.

Park, Y., K. W. Je, K. Lee, S. E. Jung and T. J. Choi. 2008. Growth promotion of *Chlorella ellipsoidea* by co-inoculation with *Brevundimonas* sp. isolated from the microalga. *Hydrobiologia* 598 : 219-228.

Petkov, G. and G. Garcia. 2007. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella* ?. *Biochem. Syst. Ecol.* 35 : 281-285.

Pratoomyot, J., P. Srivilas and T. Noiraksar. 2005. Fatty acids composition of 10 microalgal species. *Songklanakarin J. Sci. Techol.* 27 (6) : 1179-1187.

Queguiner, B., B. Hafsaoui and P. Treguer. 1986. Simultaneous uptake of ammonium and nitrate by phytoplankton in coastal ecosystems. *Estuaries* 23 : 751-757.

Renaud, S. M., D. L. Parry, L. V. Thinh, C. Kuo, A. Padovan and N. Sammy. 1991. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *J. Appl. Phycol.* 3 : 43-53.

Rigobello-Masini, M, J. C. Masini and E. Aidar. 2006. The profiles of nitrate reductase and carbonic anhydrase activity in batch cultivation of the marine microalgae *Tetraselmis gracilis* growing under different aeration conditions. *FEMS Microbiol. Ecol.* 57 : 18-25.

Rivas, M. O., P. Vargas and C. E. Riquelme. 2010. Interactions of *Botryococcus braunii* cultures with bacterial Biofilms. *Microb. Ecol.* 60 : 628-635.

Rodrigues, R. V., M. H. Schwarz, B. C. Delbos and L. A. Sampaio. 2007. Acute toxicity and sublethal effects of ammonia and nitrite for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 271 : 553-557.

Sasaki, K. and Y. Sawada. 1980. Determination of ammonia in estuary. *B. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 46 : 319-321.

Schlüter, M. and J. Groeneweg. 1985. The inhibition by ammonia of population growth of the rotifer, *Brachionus rubens*, in continuous culture. *Aquaculture* 46 (3) : 215-220.

Sen, B., M. T. Alp and M. A. T. Kocer. 2005. Studies on growth of marine microalgae in batch cultures: II. *Isochrysis galbana* (Haptophyta). *Asian J. Plant Sci.* 4 (6) : 639-641.

Shamsudin, L. 1992. Lipid and fatty acid composition of microalgae used in Malaysian aquaculture as live food for the early stage penaeid larvae. *J. Appl. Phycol.* 4 : 371-378.

Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Canada, Bulletin 167 (2nd Ed.), Ottawa. 310 pp.

Suminto and K. Hirayama. 1997. Application of a growth-promoting bacteria for stable mass culture of three marine microalgae. *Hydrobiologia* 358 : 223-230.

Tokusoglu, Ö. and M. K. Ünal. 2003. Biomass nutrient profiles of three microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* and *Isochrysis galbana*. *J. Food Sci.* 68 : 1144-1148.

Tzovenis, I, N. De-Pauw and P. Sorgeloos. 2003. Optimisation of T-ISO biomass production rich in essential fatty acids II. Effect of different light regimes on the production of fatty acids. *Aquaculture* 216 : 223-242.

Ukeles, R. and J. Bishop. 1975. Enhancement of phytoplankton growth by marine bacteria. *J. Appl. Phycol.* 11 (2) : 142-149.

Valenzuela-Espinoza, E., R. Millan-Nunez and F. Nunez-Cebrero. 1999. Biomass production and nutrient uptake by *Isochrysis* aff. *galbana* (Clone T-ISO) culture with a low cost alternative to f/2 medium. *Aquacult. Eng.* 20(3) : 135-147.

Valenzuela-Espinoza, E., R. Millan-Nunez and F. Nunez-Cebrero. 2002. Protein, carbohydrate, lipid and chlorophyll a content in *Isochrysis* aff. *galbana* (Clone T-ISO) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. *Aquacult. Eng.* 25(4) : 207-216.

Zobell, C. E. 1935. The assimilation of ammonium nitrogen by *Nitzschia closterium* and other marine phytoplankton. **In**: Proceedings of the National Academy of Science, 15 September 1935. Institute of Oceanography, University of California, La Jolla, California. USA. p. 517-522.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1. สูตรอาหารดัดแปลงจากสูตรของซาโตะและเซริกาวา (Sato and Serikawa Medium) สำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชน้ำเค็มในห้องปฏิบัติการ

สูตรอาหารเลี้ยง *Chlorella* sp., *I.galbana* และ *C.calcitrans*

สารเคมี	วิธีการเตรียมสารละลาย	ปริมาณที่ใช้ต่อน้ำเลี้ยง 1 ลิตร
โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$)	ละลาย 100.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร	1 มิลลิลิตร
ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต 12-ไฮเดรต ($Na_2HPO_4.12H_2O$)	ละลาย 10.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร	1 มิลลิลิตร
โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$)	ละลาย 10.8 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร	1 มิลลิลิตร
เฟอริคคลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($FeCl_3.6H_2O$)	ละลาย 0.48 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร	0.5 มิลลิลิตร
วิตามินบี 12	ละลาย 2.0 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 1 ลิตร	1 มิลลิลิตร
* โซเดียมซิลิเกต (Na_2SiO_3)	ละลาย 4.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร	1 มิลลิลิตร

***หมายเหตุ:** โซเดียมซิลิเกต ใช้สำหรับเลี้ยง *C.calcitrans*

ภาคผนวกที่ 2. สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชน้ำเค็มในปริมาณมาก (ธิดา, 2542 อ้างตาม ลัดดา, 2543)

2.1 สูตรสำหรับเพาะแพลงก์ตอนน้ำเค็ม *Chlorella* sp. ในน้ำ 1 ตัน

- ปุ๋ยยูเรีย ($CO(NH_2)_2$) 50 กรัม
- ปุ๋ยเคมีทางการเกษตร สูตร 16-20-0 5 กรัม
- เฟอริคคลอไรด์ ($FeCl_3$) 2 กรัม (laboratory grade)

2.2 สูตรสำหรับเพาะแพลงก์ตอนน้ำเค็ม *I.galbana* ในน้ำ 1 ตัน

- โปแตสเซียมไนเตรท (KNO_3) 100 กรัม (laboratory grade)
- ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 10 กรัม (commercial grade)
- เฟอริคคลอไรด์ ($FeCl_3$) 2 กรัม (laboratory grade)

2.3 สูตรสำหรับเพาะไดอะตอม *C.calcitrans* ในน้ำ 1 ตัน

- โปแตสเซียมไนเตรท (KNO_3) 100 กรัม (laboratory grade)
- ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 10 กรัม (commercial grade)
- โซเดียมซิลิเกต (Na_2SiO_3) 10 กรัม (commercial grade)
- เฟอริคคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$) 2 กรัม (laboratory grade)