การใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ต่อการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช (*Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* sp.) และแพลงก์ตอนสัตว์ (*Brachionus rotundiformis*) เพื่อใช้ประโยชน์ในการอนุบาลลูกสัตว์ทะเลวัยอ่อน

Using of Trehalose for Cryoprotectant Agent on Preservation of Phytoplankton (*Chaetoceros calcitrans* and *Chlorella* spp.) and Zooplankton (*Brachionus rotundiformis*), Used in Marine Animals Nursery

คำนำ

การผลิตลูกพันธุ์สัตว์น้ำชายฝั่งเศรษฐกิจ เช่น กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) และปูม้า (*Portunus pelagicus*) ให้มีประสิทธิภาพ และประสิทธิผลสูงสุดนั้น คือ การหาวิธีการที่ทำให้ลูกสัตว์น้ำมีอัตรารอดสูง แข็งแรง และปราศจากโรค เมื่อนำไปเลี้ยงต่อมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี จะเป็นที่ต้องการอย่างยิ่งของเกษตรกร และผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วไป ซึ่งความสำเร็จเหล่านี้มีปัจจัยอยู่หลายประการ และการผลิตอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญอยู่ไม่น้อย ซึ่งปัจจุบันพบว่าอาหารที่นิยมนำมาใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์ทะเลวัยอ่อนเหล่านี้ คือ แพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ เพราะอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการที่เหมาะสมต่อการพัฒนาการ และอัตรารอดตายของลูกสัตว์น้ำ (ธิดา และคณะ, 2531; สุพิศ และนิวัติ, 2526; ธิดา, 2543; Lubzens et al., 1989; Brown et al., 1997; Song, 1994) แต่การผลิตแพลงก์ตอนแบบปริมาณมากในระดับฟาร์มของเกษตรกรนั้น มีข้อจำกัดอยู่หลายประการทั้งในด้านปริมาณ และคุณภาพ รวมทั้งมีต้นทุนในการผลิตสูง โดยเฉพาะในช่วงที่สภาพภูมิอากาศแปรปรวนเกษตรกรมักประสบกับปัญหาเพาะขยายแพลงก์ตอนไม่ขึ้น หรือแพลงก์ตอนมีการปนเปื้อนสูงเมื่อเลี้ยงปริมาณมากในบ่อกลางแจ้ง ทำให้ไม่สะดวกในการจัดเตรียม และการนำไปใช้ประโยชน์ จึงประสบปัญหาแพลงก์ตอนไม่เพียงพอต่อการนำมาอนุบาลลูกสัตว์น้ำจนส่งผลกระทบถึงการพัฒนาการ และอัตรารอดตายของลูกสัตว์น้ำ ซึ่งการศึกษา และพัฒนาวิธีการเก็บรักษาแพลงก์ตอนให้มีคุณภาพดี เก็บรักษาได้นาน และมีการสูญเสียองค์ประกอบทางเคมีน้อยที่สุดจะนำมาซึ่งการแก้ไขปัญหาดังกล่าวให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ และจะนำไปสู่การพัฒนาเทคโนโลยีด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อความยั่งยืนต่อไปได้

การศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บรักษาแพลงก์ตอนให้มีคุณภาพดี และมีการสูญเสียองค์ประกอบทางเคมีน้อยที่สุดด้วยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ (cryoprotectant agent) ก่อนนำไปแช่แข็ง หรือเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นธรรมดาก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถรักษาคุณภาพของเซลล์แพลงก์ตอนได้ ซึ่งสารรักษา

สภาพเซลล์มีอยู่หลายชนิด ทรีฮาโลส ($C_{12}H_{22}O_{11}$) เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่มีคุณสมบัติเป็น non-reducing sugar ซึ่งมีความเสถียรสูง เฉื่อยต่อการทำปฏิกิริยากับสารอื่น ไม่เป็นพิษกับสิ่งมีชีวิต และมีราคาถูก โดยมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมเวชภัณฑ์ เครื่องสำอาง รวมไปถึงอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งนิยมใช้เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ของโปรตีน และเยื่อหุ้มเซลล์จากการแช่เย็น การแช่แข็ง และการละลาย (นิทัศน์, 2553; สุคนธ์ทิพย์ และคณะ, 2554; Crowe *et al*., 1984; Conlon *et al*., 1998) ด้วยคุณสมบัติดังกล่าว จึงน่าจะนำทรีฮาโลสมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาถึงการใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ และคุณภาพต่อการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ที่นิยมใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์ทะเลวัยอ่อน ทั้งนี้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บรักษาแพลงก์ตอน และแนวทางการผลิตแพลงก์ตอนแบบเข้มข้นที่พร้อมใช้สำหรับอนุบาลลูกสัตว์น้ำในยามที่แพลงก์ตอนขาดแคลน ซึ่งจะช่วยแก้ไขปัญหาของเกษตรกรได้อย่างเป็นรูปธรรม

บทที่ 1 บทนำ

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ประเทศไทยนับว่าเป็นประเทศหนึ่งที่เป็นผู้นำในภาคการประมงของโลก โดยในช่วงปี พ.ศ. 2543-2553 ประเทศไทยมีผลผลิตสัตว์น้ำเฉลี่ยปีละ 3.7 ล้านตัน ด้วยสภาพภูมิประเทศที่มีความยาวชายฝั่ง 2,615 กิโลเมตร มีแหล่งทำประมงทะเลในน่านน้ำไทยทั้งฝั่งอ่าวไทย และฝั่งอันดามันที่มีพื้นที่รวมประมาณ 316,000 ตารางกิโลเมตร นอกจากนี้ มีพื้นที่ที่เป็นแหล่งประมงน้ำจืดอีกประมาณ 3,750 ตารางกิโลเมตร ร่วมทั้งมีพื้นที่ชายฝั่งที่มีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอีกกว่า 6 ล้านไร่ จึงทำให้รัฐบาลประกาศนโยบายในการผลักดันให้ประเทศไทยเป็นครัวของโลก ซึ่งทรัพยากรสัตว์น้ำทางทะเลจัดว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งในการสนับสนุนนโยบายดังกล่าว โดยในปี พ.ศ. 2553 ประเทศไทยจับสัตว์น้ำเค็มได้สูงถึง 1,601,320 ตัน คิดเป็นร้อยละ 88.44 ของปริมาณสัตว์น้ำที่จับได้ ในขณะที่ปริมาณการจับสัตว์น้ำจืดมีเพียง 209,300 ตัน หรือคิดเป็นร้อยละ 11.56 นอกจากนี้ประเทศไทยยังเป็นผู้ส่งออกสินค้าสัตว์น้ำอันดับต้นๆ ของโลก โดยได้ดุลการค้าสัตว์น้ำ ซึ่งปริมาณการส่งออกสินค้าสัตว์น้ำในปี พ.ศ. 2553 เท่ากับ 2,058,354 ตัน คิดเป็นมูลค่า 236,902.1 ล้านบาท ปริมาณการนำเข้า 1,586,319 ตัน คิดเป็นมูลค่า 69,224.7 ล้านบาท (กรมประมง, 2556) แต่อย่างไรก็ตาม ภาพรวมของปริมาณผลผลิตสัตว์น้ำที่ได้จากการจับมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทรัพยากรสัตว์น้ำที่มีอยู่ในธรรมชาติเริ่มลดน้อยถอยลง เนื่องจากกำลังประสบปัญหาต่างๆ มากมาย เช่น ความเสื่อมโทรมของทรัพยากรสัตว์น้ำ การทำการประมงมากเกินศักยภาพของการผลิต เป็นต้น การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจึงมีความสำคัญ และช่วยแก้ปัญหาทางการทำการประมงดังกล่าวได้ นอกจากนี้ยังช่วยให้เกิดการสร้างงาน สร้างอาชีพที่ยั่งยืนให้แก่เกษตรกร และสร้างรายได้ให้กับประเทศปีละหลายพันล้านบาทอีกด้วย ทั้งนี้กระบวนการหนึ่งที่สำคัญของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คือ การอนุบาลลูกสัตว์น้ำก่อนที่จะนำไปเลี้ยงในบ่อดิน โดยตัวแปรที่ควบคุมเพื่อให้การผลิตลูกสัตว์น้ำมีคุณภาพ และปริมาณอย่างเพียงพอมีหลายประการด้วยกัน เช่น คุณภาพของพ่อ-แม่พันธุ์ อาหารที่ใช้อนุบาล คุณภาพน้ำ และสภาพแวดล้อมต่างๆ เป็นต้น (โชคชัย, 2548)

การผลิตลูกสัตว์น้ำชายฝั่งเศรษฐกิจ เช่น ลูกกุ้งทะเล ปลากะพงขาว และปูม้าให้มีประสิทธิภาพและประสิทธิผลสูงสุดนั้น คือการหาวิธีการที่ทำให้ลูกสัตว์น้ำมีอัตรารอดสูง แข็งแรง และปราศจากโรค เมื่อนำไปเลี้ยงต่อมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี จะเป็นที่ต้องการอย่างยิ่งของเกษตรกร และผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งทั่วไป ซึ่งความสำเร็จเหล่านี้มีปัจจัยอยู่หลายประการ และการผลิตอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญอยู่ไม่น้อย ซึ่งปัจจุบันพบว่าอาหารที่นิยมนำมาใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์ทะเลวัยอ่อน คือ แพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ เพราะอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการที่

เหมาะสมต่อการพัฒนาการ และอัตรารอดตายของลูกสัตว์น้ำ (ธิดา และคณะ, 2531; สุพิศ และนิวัติ, 2526; ธิดา, 2543; Lubzens et al., 1989; Brown et al., 1997; Song, 1994) แต่การผลิตแพลงก์ตอนแบบปริมาณมากในระดับฟาร์มของเกษตรกรนั้น มีข้อจำกัดอยู่หลายประการทั้งในด้านปริมาณ และคุณภาพ รวมทั้งมีต้นทุนในการผลิตสูง โดยเฉพาะในช่วงที่สภาพภูมิอากาศแปรปรวนเกษตรกรมักประสบกับปัญหาเพาะขยายแพลงก์ตอนไม่ขึ้น หรือแพลงก์ตอนมีการปนเปื้อนสูงเมื่อเลี้ยงปริมาณมากในบ่อกลางแจ้ง ทำให้ไม่สะดวกในการจัดเตรียม และการนำไปใช้ประโยชน์ จึงประสบปัญหาแพลงก์ตอนไม่เพียงพอต่อการนำมาอนุบาลลูกสัตว์ทะเลจนส่งผลกระทบถึงการพัฒนาการ และอัตรารอดตายของลูกสัตว์น้ำ ดังนั้น การแก้ไขปัญหาแพลงก์ตอนขาดแคลนเนื่องจากไม่สามารถเตรียมแพลงก์ตอนล่วงหน้าได้ในช่วงที่สภาพภูมิอากาศแปรปรวน หรือเพาะขยายแพลงก์ตอนไม่ขึ้นเนื่องจากมีการปนเปื้อนสูงด้วยการเก็บเกี่ยวและเก็บรักษาแพลงก์ตอนแบบปริมาณมากไว้ใช้ในช่วงที่แพลงก์ตอนขาดแคลนก็เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว ซึ่งการเก็บรักษาแพลงก์ตอนแบบปริมาณมากเพื่อใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำในยามขาดแคลนนั้นทำได้โดยการแช่เย็น (อุณหภูมิ 3 ถึง 4°C) และแช่แข็ง (อุณหภูมิ -18 ถึง -20°C) เพื่อรักษาให้มีคุณภาพดีตลอดการเก็บรักษา (ผุสดี, 2523; ลัดดา, 2543)

การศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บรักษาแพลงก์ตอนให้มีคุณภาพดี และมีการสูญเสียองค์ประกอบทางเคมีน้อยที่สุดด้วยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ (cryoprotectant agent) ก่อนนำไปแช่แข็ง หรือเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นธรรมดาก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถรักษาคุณภาพของเซลล์แพลงก์ตอนได้ ซึ่งสารรักษาสภาพเซลล์มีอยู่หลายชนิด ทรีฮาโลส ($C_{12}H_{22}O_{11}$) เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่มีคุณสมบัติเป็น non-reducing sugar ซึ่งมีความเสถียรสูง เฉื่อยต่อการทำปฏิกิริยากับสารอื่น ไม่เป็นพิษกับสิ่งมีชีวิต และมีราคาถูก โดยมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมเวชภัณฑ์ เครื่องสำอาง รวมไปถึงอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งนิยมใช้เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ของโปรตีน และเยื่อหุ้มเซลล์จากการแช่เย็น การแช่แข็ง และการละลาย (นิทัศน์, 2553; สุคนธ์ทิพย์ และคณะ, 2554; Crowe *et al*., 1984; Conlon *et al*., 1998) ด้วยคุณสมบัติดังกล่าว จึงน่าจะนำทรีฮาโลสมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาถึงการใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ และคุณภาพต่อการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ที่นิยมใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์ทะเลวัยอ่อน ทั้งนี้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บรักษาแพลงก์ตอน และแนวทางการผลิตแพลงก์ตอนแบบเข้มข้นที่พร้อมใช้สำหรับอนุบาลลูกสัตว์น้ำในยามที่แพลงก์ตอนขาดแคลน ซึ่งจะช่วยแก้ไขปัญหาของเกษตรกรได้อย่างเป็นรูปธรรม

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาระยะการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช (*Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* spp.) ที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

2. เพื่อศึกษาระยะการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนสัตว์ (โรติเฟอร์) ที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

3. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมของการใช้ทรีฮาโลสในการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช (*Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* spp.) แบบเข้มข้น

4. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมของการใช้ทรีฮาโลสในการเก็บรักษาแพลงก์ตอนสัตว์ (*Brachionus rotundiformis*) แบบเข้มข้น

ขอบเขตงานวิจัย

การวิจัยประยุกต์การเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชชนิดคีโตเซอรอส และคลอเรลลา และแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดโรติเฟอร์แบบปริมาณมาก (เข้มข้น) โดยศึกษาระยะการเจริญเติบโต และช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาด้วยการใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์

ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของงานวิจัย

การอนุบาลลูกสัตว์น้ำให้มีประสิทธิภาพ และประสิทธิผลสูงสุดนั้นอยู่ที่วิธีการที่ทำให้มีอัตรารอดตายสูง ได้ลูกสัตว์น้ำที่แข็งแรง มีคุณภาพ แต่ปัญหาที่มักเกิดขึ้นกับการอนุบาลลูกสัตว์น้ำ คือ ปัญหาเรื่องอาหารไม่เพียงพอ โดยเฉพาะแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ที่ใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำ ซึ่งถือว่าสำคัญมากสำหรับการพัฒนาการ และอัตรารอดตายของลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน ตัวอย่างเช่น การอนุบาลลูกกุ้งทะเลในระยะซูเอี้ย ไมซีส และโพสต์ลาวาตอนต้น การอนุบาลลูกปลากะพงขาวช่วงอายุ 2-15 วัน หลังเพาะฟัก และการอนุบาลลูกปูม้าในช่วงระยะซูเอี้ย 1-4 เป็นต้น ซึ่งลูกสัตว์น้ำในระยะดังกล่าวนี้ถ้าขาดแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ หรือได้รับอาหารไม่เพียงพอจะส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโต และอัตรารอดตายทันที ซึ่งสาเหตุที่อาหารไม่เพียงพอนั้นเนื่องมาจากเพาะขยายแพลงก์ตอนไม่ขึ้น หรือแพลงก์ตอนมีปริมาณไม่มากพอกับความต้องการ อาจเนื่องมาจากฝนตก สภาพอากาศแปรปรวน แพลงก์ตอนมีการปนเปื้อนสูง เป็นต้น จากทฤษฎีดังกล่าว การผลิตลูกพันธุ์สัตว์น้ำให้มีคุณภาพต้องคำนึงถึงอาหารที่ใช้

ในการอนุบาลมากที่สุด ซึ่งปัจจุบันพบว่าอาหารที่นิยมนำมาใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งทะเลในช่วงระยะซูเอี้ย-ไมซีส คือ แพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม เช่น คีโตเซอรอส อาหารที่ใช้อนุบาลลูกปลากะพงขาวที่ช่วงอายุ 2-15 วัน คือ แพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียวได้แก่ คลอเรลลาร่วมกับแพลงก์ตอนสัตว์ได้แก่ โรติเฟอร์ และอาหารที่ใช้อนุบาลลูกปูม้าระยะซูเอี้ย 1-4 คือ คีโตเซอรอสร่วมกับโรติเฟอร์ แต่การผลิตแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์แบบปริมาณมากเพื่อให้เพียงพอที่จะนำไปใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำของเกษตรกรนั้น มีข้อจำกัดทั้งในด้านปริมาณ และคุณภาพ รวมทั้งมีต้นทุนการผลิตสูงโดยเฉพาะในช่วงที่สภาพภูมิอากาศแปรปรวนมักประสบกับปัญหาเพาะขยายแพลงก์ตอนพืชไม่ขึ้น หรือมีการปนเปื้อนสูง จนส่งผลกระทบต่อการเพาะขยายแพลงก์ตอนสัตว์ ทำให้ไม่สะดวกในการจัดเตรียมแพลงก์ตอนเหล่านี้ จึงประสบปัญหาอาหารไม่เพียงพอต่อจำนวนลูกสัตว์น้ำ ส่งผลให้คุณภาพ และปริมาณของลูกพันธุ์ลดลง ด้วยเหตุนี้การเก็บรักษาแพลงก์ตอนเพื่อใช้ในยามที่ขาดแคลนจึงมีความจำเป็น

สารรักษาสภาพเซลล์ (cryoprotectant agent) เป็นสารเคมีที่ป้องกันไม่ให้เนื้อเยื้อเสียหายในระหว่างการแช่แข็ง และการทำให้ละลายเนื่องจากการแข็งตัวของน้ำภายในและนอกเซลล์ ซึ่งในขบวนการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็ง เยื่อหุ้มเซลล์เป็นส่วนที่ได้รับความเสียหายมากที่สุดโดยการแตก และฉีกขาด ซึ่งสารรักษาสภาพเซลล์มีอยู่หลาย ทรีฮาโลส (trehalose) เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่มีความเสถียรสูง เฉื่อยต่อการทำปฏิกิริยากับสารอื่น และไม่เป็นพิษกับสิ่งมีชีวิต ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงตั้งสมมติฐานว่า การเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์แบบเข้มข้นด้วยวิธีการใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์น่าจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเก็บรักษา และลดปัญหาการผลิตแพลงก์ตอนเพื่อใช้เป็นอาหารลูกสัตว์น้ำได้

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แพลงก์ตอนพืช

การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช หรือสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) เพื่อใช้ประโยชน์ด้านวิทยาศาสตร์พื้นฐานได้ทำกันมานานแล้วโดยเลี้ยงกันภายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งต้องการปริมาณไม่มากนัก ส่วนการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่อใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำเริ่มเลี้ยงหลังจากที่ได้มีนักเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชาวญี่ปุ่นชื่อ มัตสุเอะ (Matsue) สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ไดอะตอมชนิดหนึ่ง คือ สเกลลีโตนีมา คอสตาตัม (*Skeletonema* costatum) สำหรับใช้อนุบาลลูกกุ้งทะเลวันอ่อนได้สำเร็จในปี พ.ศ. 2484 ซึ่งตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาได้มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชอีกหลายชนิดสำหรับการอนุบาลลูกสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ (สุนีย์, 2532) ส่วนการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเชิงพาณิชย์ได้มีมาตั้งแต่ก่อนปี พ.ศ. 2503 โดยชนิดของแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยง คือ *Chlorella* (Tsukada *et al*., 1977) ต่อมาในช่วงปี พ.ศ. 2513 ได้มีการพัฒนาระบบการเลี้ยง และการเก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืชชนิด *Spirulina* เกิดขึ้นที่ประเทศเม็กซิโก (Durand-Chastel, 1980) ในปี พ.ศ. 2520 Dai Nippon Ink และ Chemicals Inc. ได้มีการริเริ่มเพาะเลี้ยง *Spirulina* เชิงพาณิชย์ในประเทศไทย และได้มีการขยายฐานการผลิตไปเกือบทั่วเอเชียภายในปี พ.ศ. 2523 (Kawaguchi, 1980) จากนั้นการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชก็มีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง (Borowitzka, 1999; Spolaore *et al*., 2006) ซึ่งการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชจะเริ่มจากการรวบรวมพันธุ์ และการคัดแยกพันธุ์เพื่อให้ได้หัวเชื้อบริสุทธิ์ภายในห้องปฏิบัติการ จากนั้นจึงนำหัวเชื้อบริสุทธิ์ไปเพาะขยายในปริมาณมากภายนอกห้องปฏิบัติการเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป (ลัดดา, 2543)

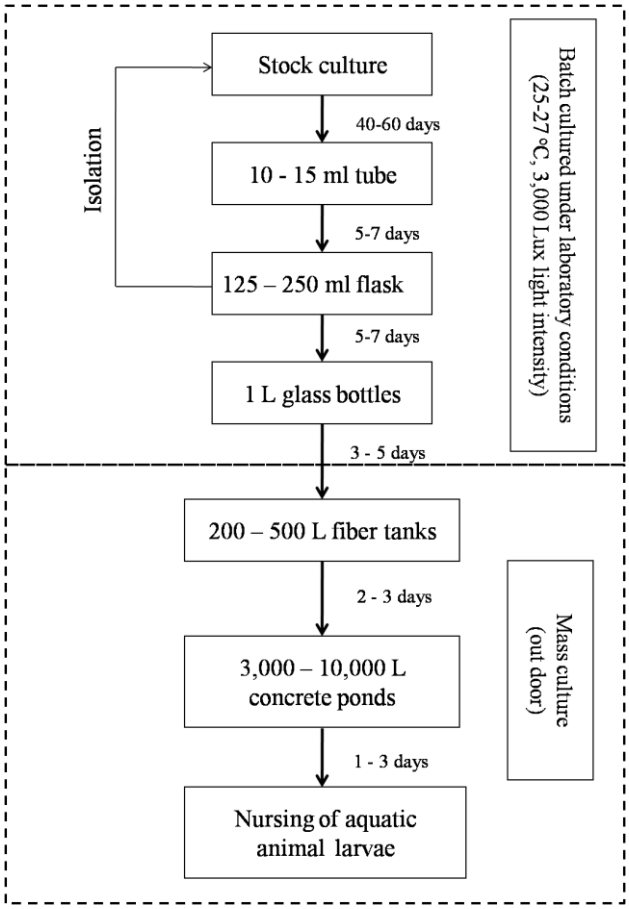
การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในประเทศไทยปัจจุบันพัฒนาไปมาก ซึ่งแพลงก์ตอนพืชที่นิยมเลี้ยงเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด เช่น คลอเรลลา (*Chlorella* sp.) ไอโซไครซิส (*Isochrysis* sp.) เตตราเซลมีส (*Tetraselmis* sp.) และแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มของไดอะตอม (diatom) (ลัดดา, 2543) โดยเฉพาะแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มของไดอะตอม เช่น คีโตเซอรอส (*Chaetoceros* spp.) สเกลลีโตนีมา (*Skeletonema* sp.) และทาลาสซิโอซิรา (*Thalassiosira* spp.) จะมีบทบาทสำคัญอย่างมากในการอนุบาลลูกกุ้งทะเล เนื่องจากเมื่อเจริญเติบเต็มที่แล้วจะยังคงอยู่ได้อีกระยะหนึ่ง โดยไม่ตายหรือตกตะกอนทันทีเหมือนกับแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวสูง (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) ได้แก่ eicosapentaenoid acid (EPA) และ decosahexaenoic acid (DHA) ซึ่งมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโต และพัฒนาการของลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนเป็นอย่างมาก (ธิดา, 2543; วุฒิชัย และคณะ, 2553; Brown *et al*., 1997; Kiatmetha *et al*., 2011)

คีโตเซอรอส (*Chaetoceros* spp.) เป็นไดอะตอมที่นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากหาหัวเชื้อได้สะดวก และเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่แล้วจะยังคงอยู่ได้อีกระยะหนึ่ง โดยไม่ตาย และตกตะกอนทันทีเหมือนกับแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น ซึ่งชนิดของคีโตเซอรอสที่นิยมนำมาเพาะเลี้ยงเพื่ออนุบาลลูกกุ้งทะเลจะเป็นชนิดที่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ เช่น คีโตเซอรอส คาลซิแทรนซ (*Chaetoceros calcitrans*) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ 4-5 ไมครอน และคีโตเซอรอส กราซิลิส (*C. gracilis*) ที่มีขนาดประมาณ 7-10 ไมครอน เป็นต้น คีโตเซอรอสทุกชนิดสามารถทนต่ออุณหภูมิน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นได้ เช่น เมื่อเลี้ยงคีโตเซอรอส (*C. gracilis*) ในบ่อที่น้ำมีอุณหภูมิ 40 °C เซลล์ของไดอะตอมชนิดนี้จะไม่มีสี แต่ถ้าลดอุณหภูมิน้ำลงที่ 20 หรือ 30 °C เซลล์จะเติบโตตามปกติ เช่น มีสีเข้มขึ้น อัตราการเติบโตดีขึ้น เป็นต้น ซึ่งอุณหภูมิสูงสุดที่เลี้ยงคีโตเซอรอสชนิดนี้ไม่ควรเกิน 37 °C แต่ถ้าจะให้ได้อัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด อุณหภูมิควรอยู่ในช่วง 20-30 °C ความเค็ม 17-25 ppt ช่วงความเข้มแสง 500-10,000 Lux (ลัดดา, 2542; 2543)

คลอเรลลา (*Chlorella* spp.) เป็นสาหร่ายในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว มีขนาดเล็กมากเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบว่า เป็นสาหร่ายเซลล์เดี่ยว ลักษณะกลม รี หรือรูปไข่สีเขียว มีขนาดประมาณ 2-3 ไมครอน มีคลอโรพลาสต์ 1 อัน เป็นรูปถ้วยหรือเป็นแผ่นอยู่ริมเซลล์ ผนังเซลล์เรียบหนา สร้างออโตสปอร์ (autospore) และปล่อยออกมาเมื่อผนังเซลล์แม่แตก อาจมีหรือไม่มีไพรีนอยด์ มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (แบ่งเซลล์ จนได้จำนวน 4 หรือ 8 คงอยู่รวมกันในผนังเซลล์พ่อแม่) ส่วนมากพบในน้ำจืด แต่มี 2-3 ชนิดในทะเล ได้แก่ *Chlorella pyrenoidosa* และ *Chlorella ovalis* เป็นสกุลที่นิยมใช้เป็นอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ และอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน (ลัดดา, 2542; 2543)

การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่อใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน สรุปได้ดังนี้ (ภาพที่ 1) สำหรับอาหารที่ใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ คือ อาหารเหลว (Liquid media) และอาหารแข็ง หรืออาหารวุ้น (Solid or agar media) โดยเติมสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชนั้นๆ ลงไป เช่น แพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอมนิยมใช้อาหารสูตรของกิลลาร์ด (Guillard medium) และสูตรอาหารของคอนเวย์ (Conway medium) เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของผู้ใช้ ส่วนการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชแบบปริมาณมากกลางแจ้ง (Mass culture) จะใช้อาหารเหลว โดยเลือกใช้สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชนั้นๆ เช่น แพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอมนิยมใช้สูตรอาหารของซาโตะและเซริกาวา (Sato and Serikawa medium) เป็นต้น



ภาพที่ 1 แสดงไดอะแกรมการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชสำหรับใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำ

ที่มา : ดัดแปลงจากลัดดา (2543)

การเก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืช

การเก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืชให้มีความหนาแน่นมากแต่ปริมาตรน้อยทำได้หลายวิธี เช่น การกรอง (Filtration) การทำให้ตกตะกอนด้วยสารเคมี (Chemical flocculation) การปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยความเร็ว (Centrifugation) เป็นต้น แต่วิธีที่นิยมใช้และมีประสิทธิภาพสูง คือ การตกตะกอนแพลงก์ตอนพืชด้วยสารเคมี (Golueke and Oswald, 1965)

การตกตะกอนแพลงก์ตอนพืชด้วยสารเคมีเป็นวิธีหนึ่งในการลดปริมาตรน้ำในแพลงก์ตอน สารเหล่านี้จะทำให้แพลงก์ตอนพืชเกาะกันเป็นกลุ่มเมื่อน้ำหนักมากพอก็จะตกเป็นตะกอน เมื่อรวบรวมตะกอนไปใช้ก็จะทำให้ลดปริมาตรน้ำลงไปได้มาก ในบรรดาสารตกตะกอนหลายชนิด เช่น อลูมิเนียมซัลเฟต ปูนขาว เฟอริคซัลเฟต และเฟอริคคลอไรด์ พบว่า อลูมิเนียมซัลเฟตเป็นสารที่เหมาะสมที่สุด (Richmond

and Becker, 1986) ซึ่งอลูมิเนียมซัลเฟตเป็นสารตกตะกอนแพลงก์ตอนพืชที่ได้ผลดีกับ *Chlamydomonas* sp., *Dunaliella* sp.และ *Chlorella* sp. แต่ต้องควบคุม pH ของน้ำด้วย $NaHCO_3$ ซึ่งจะทำให้ได้ผลดียิ่งขึ้น (ผุสดี, 2525; ธิดา และมาวิทย์, 2538) เฉลิมชัย และปรเมษฐ์ (2546) รายงานว่า คีโตเซอรอสจะตกตะกอนได้ดีที่สุดเมื่อใช้สารส้ม และอลูมิเนียมซัลเฟตที่ 250 ppm แต่จะทำให้ pH ลดลงมากซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของคีโตเซอรอสหลังการตกตะกอน ส่วนการเจริญเติบโตหลังการตกตะกอนของคีโตเซอรอสที่ระดับความเข้มข้นของสารส้ม และอลูมิเนียมซัลเฟตที่ 125 ppm จะให้ผลดีกว่าระดับความเข้มข้นอื่นๆ เพราะ pH จะเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในการตกตะกอนแพลงก์ตอนพืชนอกจากขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตกตะกอนที่ใช้แล้ว ยังขึ้นอยู่กับชนิดของแพลงก์ตอน และระดับของ pH หลังการตกตะกอนด้วย นอกจากสารตกตะกอนดังกล่าวแล้ว ไคโตซาน (Chitosan) ถือเป็นสารอีกชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้ตกตะกอนแพลงก์ตอนพืช (Lertsutthiwong *et al*., 2009) โดยไคโตซานเป็นสารอนุพันธ์ของไคติน เกิดจากการกำจัดหมู่อะซีทิล (deacetylation) ออกจากไคตินในสารละลายด่างเข้มข้น ไคโตซานมีชื่อทางเคมีว่า Poly-β-(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose ซึ่งถือเป็นวัสดุชีวภาพชนิดหนึ่งที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ พบได้ในเปลือกของสัตว์ เช่น กุ้ง ปู หมึก แมลง ตังไหม และผนังเซลล์ของรา ยีสต์ และจุลินทรีย์อีกหลายชนิด ไคโตซานมีคุณสมบัติที่สามารถจับตัวกับสารที่มีประจุลบ และบวกได้ จึงทำให้ไคโตซานเป็นตัวสร้างตะกอน และตัวตกตะกอนที่ดี (ปิยะบุตร, 2544) ซึ่งผลของสารตกตะกอนต่อแพลงก์ตอนแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการเก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืชชนิดต่างๆ โดยการตกตะกอนด้วยสารเคมี

ชนิดแพลงก์ตอนพืช	สารตกตะกอน	ประสิทธิภาพการตกตะกอน (%)	ที่มา
Chlorella sp.	$K_2SO_4Al_2(SO_4)_3.24H_2O$ 100 ppm	70.7	ธิดา และมาวิทย์ (2538)
	$Al_2(SO_4)_3.16H_2O$ 50 ppm	71.4	
Chaetoceros sp.	$K_2SO_4Al_2(SO_4)_3.24H_2O$ 250 ppm	77.05	เฉลิมชัย และปรเมษฐ์ (2546)
	$Al_2(SO_4)_3.16H_2O$ 250 ppm	73.45	
Chlorella sp.	chitosan 40 ppm	100	Morales *et al*. (1985)
Dunaliella tertiolecta	chitosan 45 ppm	100	
Skeletonema costatum	chitosan 80 ppm	100	
Thalassiosira nordenskoldii	chitosan 40 ppm	100	
Thalassionema sp.	chitosan 90 ppm	95.2	
Chlorella stigmatophora	$FeCl_3$ 25 ppm + chitosan 2.5 ppm	> 95	Sukenik *et al*. (1988)
C. stigmatophora	$K_2SO_4Al_2(SO_4)_3.24H_2O$ 140$\pm$15ppm	>90	
C. stigmatophora	pH 5.0+$FeCl_3$ 55$\pm$9 ppm	>90	
Isochrysis galbana	$FeCl_3$ 50 ppm + chitosan 2.5 ppm	>85	
I. galbana	$K_2SO_4Al_2(SO_4)_3.24H_2O$ 225$\pm$21ppm	>90	
Chaetoceros calcitrans	pH 6.5 + chitosan 20 ppm	> 75	Lubián (1989)
C. gracilis	pH 6.5 + chitosan 40 ppm	> 75	
Tetraselmis suecica	chitosan 80 ppm	42	
Chaetoceros gracilis	pH 6.5 + chitosan 40 ppm	95	Lertsutthiwong *et al*. (2009)

แพลงก์ตอนสัตว์

แพลงก์ตอนสัตว์เป็นอาหารมีชีวิตที่นิยมเพาะเลี้ยงเพื่อการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนที่ต่อจากการอนุบาลด้วยแพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์เหล่านี้ เช่น โรติเฟอร์ ไรแดง โคพีพอด อาร์ทีเมีย เป็นต้น โดยเฉพาะโรติเฟอร์เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง รวมทั้งหาพันธุ์และขยายพันธุ์เพื่อการเพาะเลี้ยงได้ไม่ยาก

โรติเฟอร์เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่พบได้ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม เท่าที่สำรวจพบมีมากกว่า 1,800 ชนิด โดยส่วนใหญ่อาศัยในน้ำจืด มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั้งน้ำจืด และน้ำเค็มใช้เป็นอาหารมีชีวิตสำหรับอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนมาเป็นเวลานาน และนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากเป็น

อาหารมีชีวิตที่มีขนาดเล็ก และมีคุณค่าทางอาหารสูงนิยม มีขนาดลำตัวตั้งแต่ 0.06-1.00 มิลลิเมตร เคลื่อนไหวช้า และสามารถแพร่พันธุ์ได้รวดเร็วในระยะเวลาสั้นๆ โดยเฉพาะสกุล *Brachionus* หลายชนิด จะถูกเพาะขยายพันธุ์เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่นโรติเฟอร์น้ำเค็ม *Brachionus rotundiformis*, *Brachionus plicatilis* โรติเฟอร์น้ำจืด *Brachionus calyciforus* เป็นต้น (ลัดดา, 2541; 2543)

การเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์

โรติเฟอร์เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีความสำคัญในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำชายฝั่งที่นักเพาะพันธุ์สัตว์น้ำทั่วโลกนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการเป็นอาหารเริ่มแรกของสัตว์น้ำวัยอ่อน (Lubzens *et al*., 1989; ธิดา และคณะ, 2531; สุพิศ และนิวัติ, 2526) เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีโปรตีน 58.2% ไขมัน 14.2% คาร์โบไฮเดรต 6.1% และเถ้า 14.9% ต่อน้ำหนักแห้ง (Song, 1994) นอกจากนี้ยังเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่สามารถแพร่ขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว ทำให้สามารถเลี้ยงในปริมาณมากได้ง่ายภายในระยะเวลาอันสั้น กินอาหารได้หลายชนิด ได้แก่ สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) ยีสต์ แบคทีเรีย และตะกอนในน้ำ แต่อาหารที่ดีและเหมาะสมที่สุดในการเลี้ยงโรติเฟอร์ คือ คลอเรลลาน้ำกร่อย (*Chlorella* sp.) (ลัดดา, 2543) ในการผลิตโรติเฟอร์แบบมหมวล (mass production) เพื่อผลิตอาหารให้เพียงพอที่จะนำไปใช้อนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนของเกษตรกรในปัจจุบันนั้น มักประสบกับปัญหาในเรื่องของขั้นตอนการผลิตที่ยุ่งยาก ใช้พื้นที่มากในการทำงาน โดยเฉพาะการผลิตคลอเรลลาในปริมาณมาก (mass culture) เพื่อนำมาเป็นอาหารของโรติเฟอร์มักประสบกับปัญหาเพาะขยายคลอเรลลาไม่ขึ้น มีคุณภาพและปริมาณที่ไม่แน่นอนขึ้นกับสภาวะแวดล้อม มีการปนเปื้อนสูงเมื่อเลี้ยงปริมาณมากในบ่อกลางแจ้ง เป็นผลให้ไม่สามารถเลี้ยงโรติเฟอร์อย่างต่อเนื่องได้

การเก็บเกี่ยวโรติเฟอร์

การเก็บเกี่ยวผลผลิตโรติเฟอร์มี 2 วิธี คือ

1. การเก็บเกี่ยวแบบต่อเนื่องภายหลังจากที่ทำการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์เป็นเวลา 7 วันจะสังเกตเห็นโรติเฟอร์อยู่ในบ่อ จะมีลักษณะเป็นฝุ่นสีขาวขนาดเล็กสามารถเก็บเกี่ยวได้โดยสูบน้ำออกครึ่งบ่อให้น้ำที่สูบออกผ่านถุงกรองขนาดตาประมาณ 63 ไมครอน วิธีกรองทำโดยนำถุงกรองที่มีปลายเปิดทั้งสองข้างปลายด้านหนึ่งสวมเข้ากับท่อถ่ายน้ำแล้วผูกให้แน่นปลายอีกด้านหนึ่งรวบปากแล้วผูกให้แน่นแช่ถุงกรองไว้ในน้ำเพื่อป้องกันไม่ให้โรติเฟอร์แห้งตายเมื่อจำนวนโรติเฟอร์มากพอก็เปิดถุงถ่ายโรติเฟอร์ลงในถังเพื่อรวบรวมนำไปเป็นหัวเชื้อเพื่อใช้ในการเพาะขยายพันธุ์โรติเฟอร์ครั้งต่อไปในกรณีที่ต้องการปริมาณโรติ

เฟอร์สม่ำเสมอ และจำนวนมาก ควรมีการเพิ่มอาหารทุกๆ 2-3 วัน โดยการลดน้ำลงแล้วเพิ่มอาหารลงไปใหม่ หรืออาจนำโรติเฟอร์ในช่วง 2-3 วันไปเพาะต่อในบ่ออื่นที่ได้เตรียมน้ำเขียวไว้แล้ว

2. การเก็บเกี่ยวแบบไม่ต่อเนื่องหลังจากที่น้ำเขียวเจริญเติบโตเต็มที่แล้วนำพันธุ์โรติเฟอร์ใส่ลงไปทิ้งไว้เป็นเวลา 2-3 วัน โรติเฟอร์จะขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วและสามารถทำการเก็บเกี่ยวได้โดยสูบน้ำออกทั้งบ่อซึ่งวิธีการเก็บเกี่ยวนี้เหมือนกับวิธีการเก็บเกี่ยวแบบต่อเนื่อง

การเก็บรักษาแพลงก์ตอน

การเก็บรักษาแพลงก์ตอนแบบปริมาณมากเพื่อใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำในยามขาดแคลนนั้นทำได้โดยการแช่เย็น (อุณหภูมิ 3 ถึง 4°C) และแช่แข็ง (อุณหภูมิ -18 ถึง -20°C) เพื่อรักษาให้มีคุณภาพดีตลอดการเก็บรักษา การศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บรักษาแพลงก์ตอนให้มีคุณภาพดี และมีการสูญเสียองค์ประกอบทางเคมีน้อยที่สุดด้วยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ก่อนนำไปแช่แข็ง หรือเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นธรรมดาก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถรักษาคุณภาพของเซลล์แพลงก์ตอนได้ แต่ต้องคำนึงถึงผลข้างเคียงของสารที่ใช้เก็บรักษาแพลงก์ตอนด้วย เนื่องจากสารแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ซึ่งอาจทำให้องค์ประกอบของโปรตีนเปลี่ยนโครงสร้างไป บางชนิดเป็นสารละลายเข้มข้นที่ช่วยให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้เร็ว บางชนิดมีคุณสมบัติทำให้เซลล์แพลงก์ตอนรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน เป็นต้น (ผุสดี, 2523; นิธิวดี, 2543; Linhart *et al.*, 1993; Conlon *et al*., 1998)

สารรักษาสภาพเซลล์

สารรักษาสภาพเซลล์ หรือที่เรียกว่า antifreeze agent หรือ preservative agent หรือ cryoprotectant agent เป็นสารเคมีที่ป้องกันไม่ให้เนื้อเยื้อเสียหายในระหว่างการแช่แข็ง และการทำให้ละลายเนื่องจากการแข็งตัวของน้ำภายในและนอกเซลล์ ซึ่งในขบวนการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็ง เยื่อหุ้มเซลล์เป็นส่วนที่ได้รับความเสียหายมากที่สุดโดยการแตก และฉีกขาด ซึ่งสารรักษาสภาพเซลล์มีอยู่หลายชนิด ตัวอย่างเช่น กลีเซอรอล (glycerol) กลูโคส (glucose) วิตามินซี (ascorbic acid) ทรีฮาโลส (trehalose) ฯลฯ (ผุสดี, 2523; นิธิวดี, 2543; Linhart *et al.*, 1993; Conlon *et al*., 1998)

Conlon *et al*., (1998) รายงานไว้ว่า ประสิทธิภาพของสารรักษาสภาพเซลล์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับความสามารถในการป้องกันการเกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ เช่น การเกิดเกล็ดน้ำแข็งภายในเซลล์ การเปลี่ยนแปลงขนาดของเซลล์ การเกิดความสมดุลของเกลือแร่และอิเลคโทรไลท์ และการเสียสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์ ทั้งนี้เนื่องจากสารรักษาสภาพเซลล์แต่ละชนิดมีกลไกการทำงานในการ

ป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ที่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น 2% กลูโคสมีประสิทธิภาพในการรักษาสภาพเซลล์น้อยกว่า 1% ทรีฮาโลสในการรักษาสภาพไข่ริ้นน้ำจืด (*Chironomus fuscipes*) เนื่องจากทรีฮาโลสเป็นกลุ่มของสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์ ส่วนกลูโคสเป็นกลุ่มของสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายในเซลล์ ซึ่งสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายในจำเป็นต้องซึมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์เพื่อทำหน้าที่ป้องกันอันตรายไม่ให้เกิดขึ้นขณะแช่แข็ง และละลาย ในขณะที่กลุ่มสารรักษาสภาพที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์จะทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ขณะที่อยู่นอกเซลล์ ซึ่งขณะแช่แข็งเยื่อหุ้มเซลล์จะเป็นส่วนที่ได้รับความเสียหายมากที่สุด ดังนั้น การใช้สารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์จึงมีประสิทธิภาพสูงกว่า (นิทัศน์, 2553)

ทรีฮาโลส (trehalose) เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide, $C_{12}H_{22}O_{11}$) ประกอบด้วยกลูโคส 2 โมเลกุล จับกันที่ตำแหน่ง reducing carbon ด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ทำให้ทรีฮาโลสมีคุณสมบัติเป็น non-reducing sugar ซึ่งมีความเสถียรสูง เฉื่อยต่อการทำปฏิกิริยากับสารอื่น และไม่เป็นพิษกับสิ่งมีชีวิต ทรีฮาโลสพบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น ยีสต์ แบคทีเรีย แมลง พืช สาหร่าย รา และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เป็นต้น นิยมใช้เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ของโปรตีน และเยื่อหุ้มเซลล์จากการแช่เย็น การแช่แข็ง และการละลาย เนื่องจากทรีฮาโลสสามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์โดยการเข้าไปรวมกับฟอสโฟลิปิด โดยปกติเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่มีทรีฮาโลสเป็นส่วนประกอบ 20% โดยน้ำหนัก สามารถทนต่อการสูญเสียน้ำได้โดยสมบูรณ์ โดยทรีฮาโลสสามารถดึงโมเลกุลน้ำเข้าเป็นองค์ประกอบได้มากกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ ถึง 2 เท่า (Crowe *et al*., 1984) ซึ่งจากคุณสมบัติที่ดีเลิศของทรีฮาโลส ทำให้มีการประยุกต์ใช้ทรีฮาโลสได้อย่างกว้างขวาง ซึ่งมีคุณประโยชน์มากในการเตรียมเวชภัณฑ์ ช่วยป้องกันรักษาเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต และใช้เป็นสารรักษาความชื้น (moisturizer) ในเครื่องสำอาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมอาหารที่อาศัยกรรมวิธีการแปรรูปของการทำแห้ง และการทำให้เข้มข้นนั้น ยังคงมีแนวทางและแนวโน้มในการประยุกต์ใช้ทรีฮาโลสได้อย่างไม่มีขอบเขตจำกัด ซึ่งปัจจุบันราคาจำหน่ายของทรีฮาโลสถูกลงอย่างมาก เหลือเพียงกิโลกรัมละ 5-6 ดอลลาร์สหรัฐ เมื่อเทียบกับราคาจำหน่ายเมื่อปี ค.ศ. 1990 ซึ่งอยู่ที่กิโลกรัมละ 700 ดอลลาร์สหรัฐ และในประเทศญี่ปุ่นมีโรงงานผลิตทรีฮาโลสกำลังผลิตสูงถึง 5,000 ตันต่อปี ซึ่งแสดงถึงปริมาณการใช้ทรีฮาโลสในอุตสาหกรรมอาหารเพิ่มมากขึ้น (สุคนธ์ทิพย์ และคณะ, 2554) นอกจากนี้ยังมีการนำทรีฮาโลสมาใช้ในการเก็บรักษาอาหารธรรมชาติแช่แข็งเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำด้วย ตัวอย่างเช่น ธีรเดช (2552) รายงานว่า ระดับความเข้มข้นของทีฮาโลสที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาไรแดง หนอนแดง และอาร์ทีเมียแช่แข็ง คือ 10, 15 และ 15% ของปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้นาน 28 วัน โดยรูปร่างเสียสภาพไม่เกิน 30% นอกจากนี้ เมื่อน้ำหนอนแดงแช่แข็งที่ใช้ และไม่ใช้ทรีฮาโลสมาเลี้ยงปลาทอง พบว่า อัตรารอด และอัตราการเจริญเติบโตของปลาทองไม่แตกต่างกัน

บทที่ 3 วิธีวิจัย

1. ศึกษาระยะการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

1.1 ศึกษาระยะการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* spp. ที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

นำหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช (*Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* spp.) ระยะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วที่เพาะขยายได้ในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารสูตรคอนเวย์ (Conway medium) มาเพาะเลี้ยงต่อแบบปริมาณมากนอกห้องปฏิบัติการตามไดอะแกรมการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช (ภาพที่ 1) โดยเพาะเลี้ยงภายในถังพลาสติกทรงกระบอกขนาดความจุ 200 ลิตร ในอัตราส่วนหัวเชื้อต่อน้ำเลี้ยงเท่ากับ 1: 25 ใช้น้ำความเค็ม 28±1 ppt โดยแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม (*Chaetoceros calcitrans*) ใช้อาหารสูตรของซาโตะและซาริกาวา (Sato and Serikawa medium) ส่วนแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียว (*Chlorella* sp.) ใช้อาหารสูตรสำหรับเพาะขยายแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียว โดยการเตรียมธาตุอาหารและอัตราส่วนการใช้ดำเนินการตามวิธีการของลัดดา (2543)

เพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำแพลงก์ตอนพืชมาเพาะขยายต่อในถังไฟเบอร์ปริมาตร 2,000 ลิตร ระหว่างการเลี้ยงจะสุ่มตรวจนับปริมาณความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์ตอนพืชโดยใช้ haemacytometer นับด้วย hand counter ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน หรือจนกว่าความหนาแน่นของเซลล์เริ่มลดลง (death phase) เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต (Growth rate, K) ของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดดังสมการ

$$K = \frac{\ln N_t - \ln N_o}{t}$$

เมื่อ K = อัตราการเจริญเติบ (cells/day) N_o= ความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์ตอนพืชเริ่มต้น (cells) N_t = ความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์ตอนพืชเมื่อนำมาวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโต (cells) ที่ระยะเวลา t

1.2 การเก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืชด้วยการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืชด้วยการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ตามวิธีของ Lertsutthiwong *et al*. (2009) โดยเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดแบบปริมาณมากภายในถังไฟเบอร์ปริมาตร 2,000 ลิตร ตามวิธีการในข้อ 1) จนแพลงก์ตอนพืชเข้าสู่ระยะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว (exponential phase) หรือที่อายุวันที่ได้จากการศึกษาในข้อ 1) นับปริมาณความหนาแน่นของเซลล์ก่อนการตกตะกอนโดยใช้ haemacytometer นับด้วย hand counter ภายใต้กล้องจุลทรรศน์หลังจากนั้นทำการตกตะกอนแพลงก์ตอนพืชโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 20, 40, 60, 80 และ 100 ppm บันทึกผลการตกตะกอนโดย เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดที่เวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที โดยใช้ปิเปตดูดที่ระดับผิวน้ำ และกลางน้ำ ระดับความลึกละ 1 มล. นำน้ำทั้ง 2 ระดับมารวมกันในหลอดทดลองขนาด 15 มล. และเขย่าเพื่อให้เซลล์แพลงก์ตอนพืชแยกออกจากกัน แล้วนำไปตรวจสอบปริมาณความหนาแน่นของเซลล์โดยใช้ haemacytometer เพื่อหาประสิทธิภาพในการตกตะกอน (*e*) ของแพลงก์ตอนพืชตามวิธีการดังนี้

$$e = \frac{(t - l)}{t} \times 100$$

เมื่อ e = ประสิทธิภาพในการตกตะกอน (%) t = จำนวนเซลล์แพลงก์ตอนพืชทั้งหมดในบ่อ (cells) l = จำนวนเซลล์แพลงก์ตอนพืชที่ไม่ตกตะกอน (cells)

โดยหาจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนพืชทั้งหมดในบ่อ (t) ได้จากสมการ

$$t = d_1 \times v_1$$

เมื่อ t = จำนวนแพลงก์ตอนพืชทั้งหมดในบ่อ (cells) d_1= ความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์ตอนพืชเริ่มต้น (cells/ml) v_1= ปริมาตรน้ำเลี้ยงทั้งหมด (ลิตร)

และหาจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนพืชที่ไม่ตกตะกอน (l) ได้ดังนี้

$$l = d_2 \times v_2$$

เมื่อ l = จำนวนแพลงก์ตอนพืชที่ไม่ตกตะกอน (cells) d_2= ความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์ตอนพืชที่วัดได้จากระดับผิวน้ำและกลางน้ำ (cells/ml) v_2= ปริมาตรน้ำส่วนบนที่แยกชั้นออกจากแพลงก์ตอนเข้มข้นที่ตกตะกอนอยู่ที่ก้นบ่อ (ลิตร)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยนำข้อมูลของประสิทธิภาพการตกตะกอน (e) แพลงก์ตอนพืชด้วยไคโตซาน 20, 40, 60, 80 และ 100 ppm ที่ 30, 60, 90 และ 120 นาที มาเปรียบเทียบเพื่อเลือกระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดแบบปริมาณมากภายในถังเพาะเลี้ยงขนาด 2,000 ลิตร โดยวางแผนการทดลองสุ่มตลอด (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพในการตกตะกอนด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมัน 95% โดยวิเคราะห์ และประมวลผลด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistic version 21

2. ศึกษาระยะการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนสัตว์ (โรติเฟอร์) ที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

1) การเตรียมอาหารเลี้ยงโรติเฟอร์

นำหัวเชื้อคลอเรลลา (*Chlorella* spp.) จากห้องปฏิบัติการที่มีความหนาแน่นของเซลล์ประมาณ $3x10^6$ เซลล์/มล. หรือหัวเชื้อที่อยู่ในระยะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว มาเพาะขยายปริมาณมากภายในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร ที่อัตราส่วนหัวเชื้อ : น้ำขยาย เท่ากับ 1:25 ในน้ำความเค็ม 15 ppt ใส่ปุ๋ยสำหรับการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียวน้ำเค็ม เพาะขยายเป็นเวลา 2 วัน จึงนำคลอเรลลามาเพาะขยายต่อในบ่อคอนกรีตขนาด 3,000 ลิตร ประมาณ 2-3 วัน หรือคลอเรลลามีความหนาแน่นประมาณ $1-2x10^6$ เซลล์/มล.

2) ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของโรติเฟอร์ในบ่อคอนกรีตขนาด 3,000 ลิตร

เมื่อได้คลอเรลลาตามวิธีการในข้อ 1) ให้ใส่เชื้อโรติเฟอร์ลงในบ่อเพาะเลี้ยงคลอเรลลาโดยใช้ความหนาแน่นของโรติเฟอร์ประมาณ 10-20 ตัว/มล. สุ่มนับจำนวนโรติเฟอร์ทุกวัน โดยใช้สไลด์นับแพลงก์ตอน (Sedgwick-Rafter Counting chamber) นับด้วย hand counter ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก 12 ชั่วโมง จนกว่าโรติเฟอร์ไม่เพิ่มจำนวน หรือจนกว่าความหนาแน่นของโรติเฟอร์เริ่มลดลง เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต (K) ดังสมการ

$$K = \frac{\ln N_t - \ln N_o}{t}$$

เมื่อ K = อัตราการเจริญเติบ (ตัว/วัน) N_o= ความหนาแน่นของโรติเฟอร์เริ่มต้น (ตัว) N_t = ความหนาแน่นของโรติเฟอร์เมื่อนำมาวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโต (ตัว) ที่ระยะเวลา t

3) การเตรียมโรติเฟอร์เพื่อการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

เลี้ยงโรติเฟอร์ และเก็บเกี่ยวโรติเฟอร์ตามวิธีในข้อ 1) และ 2) โดยพิจารณาจากอัตราการเจริญเติบโตที่เหมาะสม โดยนับจำนวนโรติเฟอร์ก่อนการเก็บเกี่ยว จากนั้นเก็บเกี่ยวโรติเฟอร์โดยใช้สวิงขนาดตา 75 ไมครอน ด้วยการเปิดท่อใต้บ่อ นำถุงกรองที่มีขนาดตาใหญ่กว่า 200 ไมครอน มากรองที่ปากท่อเพื่อดักจับตะกอน รอจนกว่าเก็บเกี่ยวโรติเฟอร์หมดบ่อ แล้วเก็บรวบรวมโรติเฟอร์ใส่ในถังขนาด 5 ลิตร จากนั้นนำมากรองผ่านสวิงขนาดตา 75 ไมครอนอีกครั้ง เพื่อเก็บโรติเฟอร์ในรูปแบบเข้มข้น (น้ำหนักเปียก)

4) นำโรติเฟอร์ที่เก็บเกี่ยวได้ไปศึกษาผลการเก็บรักษาต่อไป

3. เปรียบเทียบผลการใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ต่อการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์แบบเข้มข้นโดยพิจารณาจากคุณภาพของแพลงก์ตอนที่เก็บรักษา

เก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดแบบเข้มข้น และเก็บรักษาโรติเฟอร์แบบเข้มข้นโดยพิจารณาจากประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากการศึกษาในข้อ 1 และ 2 ตามลำดับ โดยนำมาเก็บรักษาด้วยวิธีการต่างกัน ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating)

ชุดการทดลองที่ 2 เก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 ถึง -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing)

ชุดการทดลองที่ 3 เก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -18 ถึง -20 $^{\circ}$C

ชุดการทดลองที่ 4 เก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -18 ถึง -20 $^{\circ}$C

ชุดการทดลองที่ 5 เก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -18 ถึง -20 $^{\circ}$C

เก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช (*Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* spp.) แบบเข้มข้นในถุงซิปที่ปริมาตรถุงละ 1 ลิตร และเก็บรักษาโรติเฟอร์แบบเข้มข้นในถุงซิปที่ปริมาตรถุงละ 50 กรัม (น้ำหนักเปียก) ตรวจสอบคุณภาพของแพลงก์ตอนพืชด้วยการหาอัตรารอดของเซลล์ การตรวจสภาพเซลล์ การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย และการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ตรวจสอบคุณภาพของแพลงก์ตอนสัตว์ด้วยการตรวจสภาพเซลล์ การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย และการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ดังนี้

1) การหาอัตรารอดของเซลล์

หาอัตรารอดของเซลล์โดยการย้อมสีเซลล์แพลงก์ตอนพืชด้วย Even's blue ตามวิธีของ Harrison (1988) โดยเตรียมตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชเข้มข้นให้มีความหนาแน่นประมาณ $5x10^5$ cell/ml ปริมาตร 2 ml ลงในหลอดทดลอง แล้วเติม Even's blue ความเข้มข้น 1% ลงไป 0.1 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที แล้วนำตัวอย่างที่ได้มาหาความหนาแน่นของเซลล์โดยใช้ haemacytometer นับด้วย hand counter ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกผลอัตรารอดของเซลล์ (*s*) โดยเปรียบเทียบเซลล์ที่ไม่ติดสีย้อมกับจำนวนเซลล์ที่นับได้ทั้งหมด ซึ่งเซลล์ที่ติดสี Even's blue คือเซลล์ที่ตายแล้ว โดยคำนวณเป็นร้อยละดังสมการ

$$s = \frac{n}{t} \times 100$$

เมื่อ s = อัตรารอดของเซลล์ (%) n = ความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์ตอนพืชที่ไม่ติดสีย้อม (cells/ml) t = ความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์ตอนพืชที่นับได้ทั้งหมด (cells/ml)

2) การตรวจสภาพเซลล์

ใช้หลักการประเมินสภาพเซลล์ (Cell Condition Index) ตามวิธีของ Heasman *et al*. (2001) ดังนี้

ระดับ	ความหมาย
5	ดีมาก สภาพเซลล์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง
4	ดี สภาพเซลล์มีการเปลี่ยนแปลง (เซลล์แตก) < 10%
3	น่าพอใจ สภาพเซลล์มีการเปลี่ยนแปลง (เซลล์แตก) < 50%
2	ไม่ดี สภาพเซลล์มีการเปลี่ยนแปลง (เซลล์แตก) > 50%
1	แย่มาก สภาพเซลล์มีการเปลี่ยนแปลง (เซลล์แตก) > 75%

3) การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย

นำตัวอย่างในแต่ละชุดการทดลองมาวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียโดยใช้อาหาร TSA (Triptic Soy Agar) นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานเพาะเชื้อ บันทึกผล หาค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรของตัวอย่าง (CFU/ml) ดังสมการ

$$b = c \times 10 \times 10^{f}$$

เมื่อ b = ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (CFU/ml) c = จำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานเพาะเชื้อ (CFU) f = จำนวนเท่าของความเจือจางที่นับจำนวนได้

4) การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (proximate composition) ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน รวมทั้งกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวสูง (Polyunsaturated fatty acid ; PUFA) ได้แก่ eicosapentaenoid acid (20:5n3; EPA) และ decosahexaenoic acid (22:6n3; DHA) ของแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ ตามวิธีของ A.O.A.C. (2000) และ ISO-Analysis animal feed stuffs. โดยมีรายละเอียดดังนี้ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 วิธีวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์แบบหนาแน่น

รายการ	วิธีวิเคราะห์	ความถี่
โปรตีน (Protein)	Kjeldal method	ทุกสองสัปดาห์
คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)	Nitrogen free extract (NFE)	ทุกสองสัปดาห์
ไขมัน (Fat)	Ether Extract	ทุกสองสัปดาห์
กรดไขมัน (EPA และ DHA)	Gas chromatography	ทุกสองสัปดาห์

5) การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

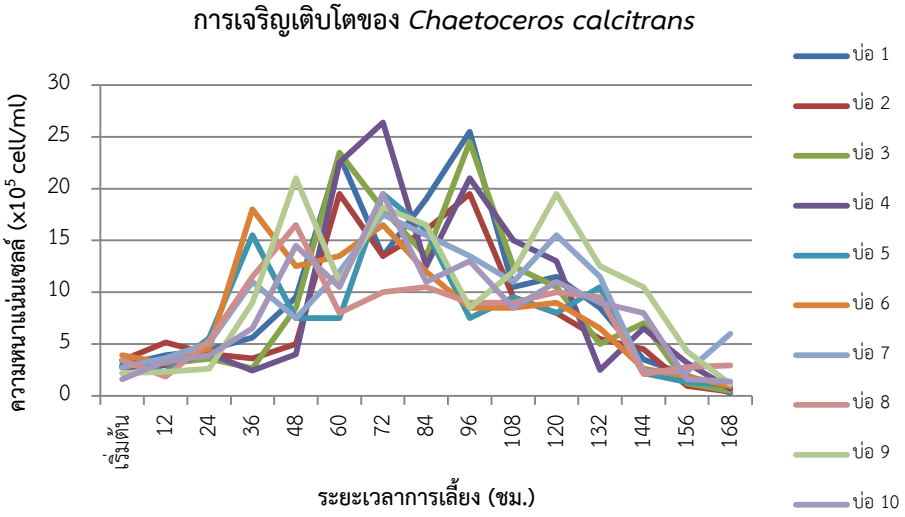
วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเพื่อหาความแตกต่างของข้อมูลคุณภาพแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ที่ได้ในแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมัน 95% โดยวิเคราะห์ และประมวลผลด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistic version 21

บทที่ 4 ผลการวิจัย

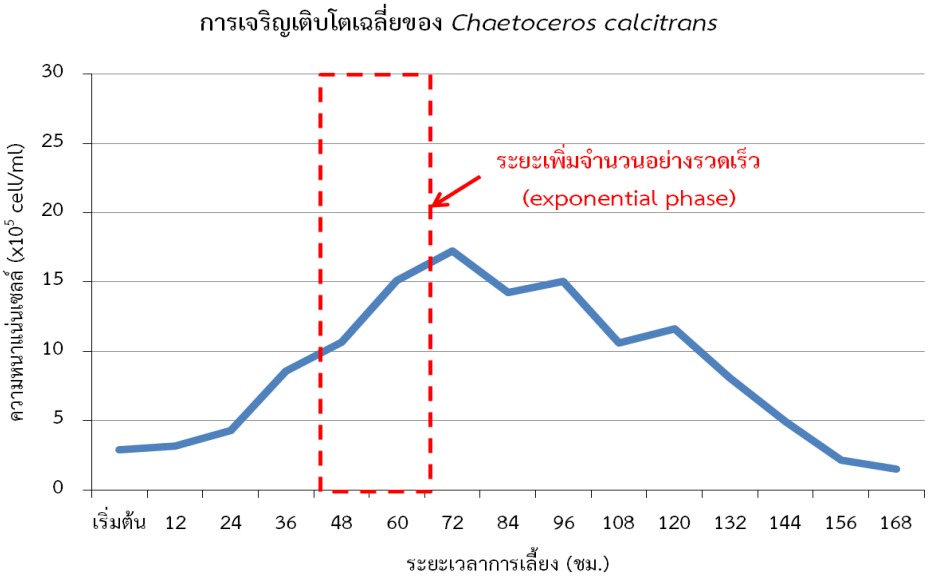
1. การศึกษาระยะการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

1.1 การเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

การเพาะเลี้ยง *C. calcitrans* ที่ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 1.60 – 3.90 × 10^5 เซลล์/มล. (เฉลี่ย 2.91±0.61 × 10^5 เซลล์/มล.) ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 2,000 ลิตร โดยใช้สูตรอาหารของซาโตะและเซริกาวา พบว่า ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 48 – 96 ชั่วโมง *C. calcitrans* มีปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ 16.5 – 25.5 × 10^5 เซลล์/มล. (เฉลี่ย 20.25±3.14 × 10^5 เซลล์/มล.) โดยมีอัตราการเจริญเติบโต (K) เท่ากับ 0.48 – 1.13 × 10^5 เซลล์/มล./วัน (เฉลี่ย 0.70±0.19 × 10^5 เซลล์/มล./วัน) ซึ่งเมื่อศึกษาระยะการเจริญเติบโตที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น พบว่า ระยะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว หรือ exponential phase ของ *C. calcitrans* อยู่ในช่วงวันที่ 2 – 3 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 2 และ 3)



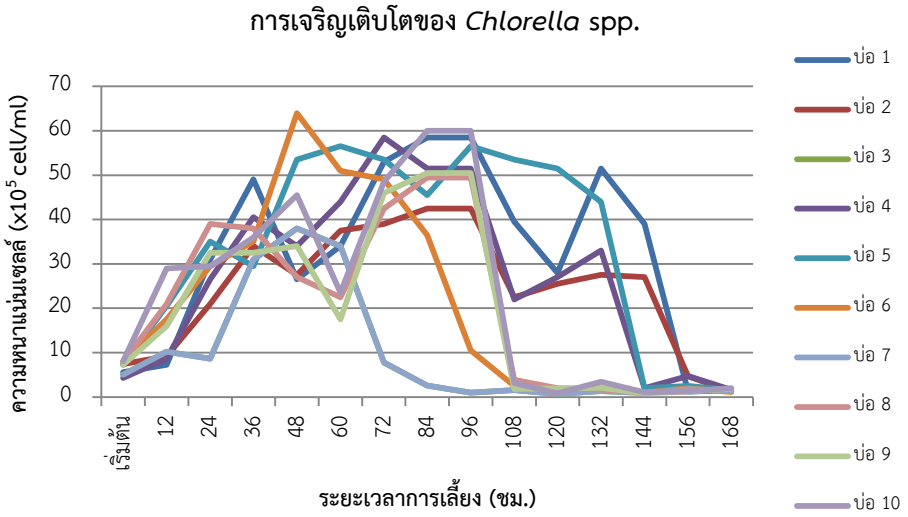
ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เพาะเลี้ยงแบบปริมาณมากในถังขนาด 2,000 ลิตร โดยใช้สูตรอาหารซาโตะและเซริกาวา



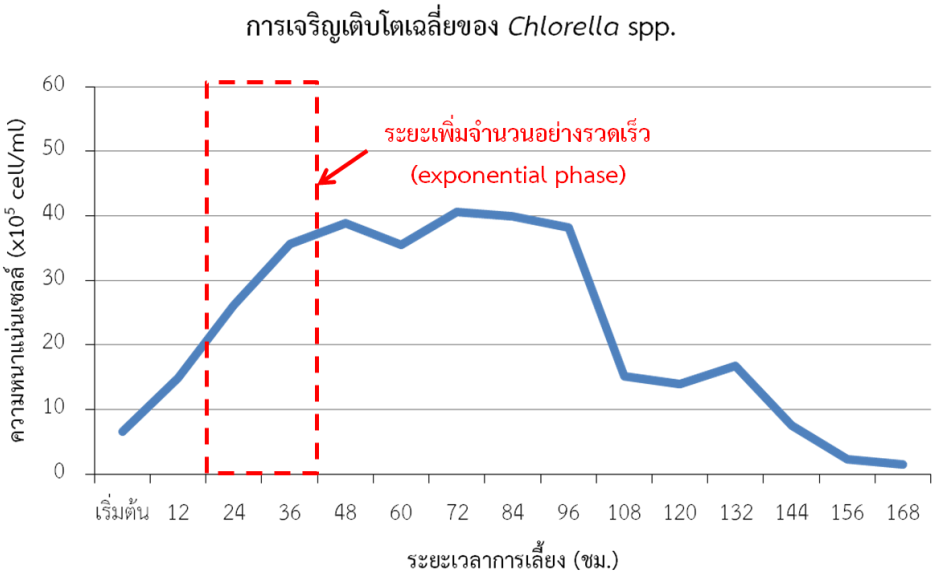
ภาพที่ 3 การเจริญเติบโตเฉลี่ยของ *Chaetoceros calcitrans* และช่วงระยะการเจริญเติบโตที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

1.2 การเจริญเติบโตของ *Chlorella* spp. ที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

การเพาะเลี้ยง *Chlorella* spp. ที่ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 4.33 – 8.07 × 10^5 เซลล์/มล. (เฉลี่ย 6.59±1.44 × 10^5 เซลล์/มล.) ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 2,000 ลิตร โดยใช้สูตรอาหารแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียวน้ำเค็ม พบว่า ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 48 – 84 ชั่วโมง *Chlorella* spp. มีปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ 38.0 – 64.1 × 10^5 เซลล์/มล. (เฉลี่ย 51.60±9.43 × 10^5 เซลล์/มล.) โดยมีอัตราการเจริญเติบโต (K) เท่ากับ 0.55 – 1.04 × 10^5 เซลล์/มล./วัน (เฉลี่ย 0.75±0.21 × 10^5 เซลล์/มล./วัน) ซึ่งเมื่อศึกษาระยะการเจริญเติบโตที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น พบว่า ระยะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว หรือ exponential phase ของ *Chlorella* spp. อยู่ในช่วงวันที่ 2 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 4 และ 5)



ภาพที่ 4 การเจริญเติบโตของ *Chlorella* spp. ที่เพาะเลี้ยงแบบปริมาณมากในถังขนาด 2,000 ลิตร โดยใช้สูตรอาหารแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียวน้ำเค็ม



ภาพที่ 5 การเจริญเติบโตเฉลี่ยของ *Chlorella* spp. และช่วงระยะการเจริญเติบโตที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

1.3 การเก็บเกี่ยว *Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* spp. แบบเข้มข้นด้วยการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ผลการเก็บเกี่ยว *C. calcitrans* โดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ppm มีประสิทธิภาพการตกตะกอนอยู่ในช่วง 58.90 – 85.17%, 78.48 – 93.89%, 82.47 – 95.07%, 85.21 – 94.00% และ 79.08 – 95.33% ตามลำดับ โดยประสิทธิภาพการตกตะกอนจะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการตกตะกอนเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3)

ส่วนผลการเก็บเกี่ยว *Chlorella* spp. โดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ppm มีประสิทธิภาพการตกตะกอนอยู่ในช่วง 68.45 – 90.02%, 78.02 – 93.01%, 75.93 – 95.11%, 85.00 – 94.39% และ 86.62 – 93.51% ตามลำดับ โดยประสิทธิภาพการตกตะกอนจะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการตกตะกอนเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4)

นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตกตะกอน *C. calcitrans* ด้วยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาต่างกัน พบว่า ประสิทธิภาพการตกตะกอนของ *C. calcitrans* ด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm จะต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้น 40, 60, 80 และ 100 ppm ($P<0.05$) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับประสิทธิภาพการตกตะกอน *Chlorella* spp. คือ การใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm จะมีประสิทธิภาพการตกตะกอนต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้น 40, 60, 80 และ 100 ppm ($P<0.05$) (ตารางที่ 5 และ 6)

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพการตกตะกอน *Chaetoceros calcitrans* ภายในถังไฟเบอร์ปริมาตร 2,000 ลิตร ด้วยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาต่างกัน

ระดับความเข้มข้น	ประสิทธิภาพการตกตะกอน (%)			
	30 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที
20 ppm	58.90	78.23	82.13	85.97
	72.37	80.11	77.81	82.88
	78.11	80.49	82.32	77.91
40 ppm	78.48	88.02	90.95	93.59
	85.22	91.31	92.11	90.59
	83.89	92.33	89.57	93.89
60 ppm	85.29	89.21	92.15	95.07
	82.47	87.46	91.29	93.44
	87.01	90.21	90.69	92.22
80 ppm	85.21	93.22	91.92	93.22
	88.30	92.11	94.21	92.59
	90.11	89.58	93.03	94.00
100 ppm	88.82	90.00	91.05	93.25
	85.55	91.05	93.40	90.68
	79.08	92.48	94.03	95.33

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการตกตะกอน *Chlorella* spp. ภายในถังไฟเบอร์ปริมาตร 2,000 ลิตร ด้วยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาต่างกัน

ระดับความเข้มข้น	ประสิทธิภาพการตกตะกอน (%)			
	30 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที
20 ppm	68.45	70.32	86.32	90.02
	72.79	80.00	81.33	89.10
	70.55	78.21	79.03	85.72
40 ppm	78.02	89.45	90.00	92.55
	87.98	90.00	93.53	93.01
	85.33	88.00	92.89	90.00
60 ppm	75.93	84.51	91.11	93.40
	89.21	94.22	95.03	95.11
	85.31	92.58	92.59	90.29
80 ppm	85.00	90.01	93.31	94.39
	83.20	90.00	92.18	90.89
	88.81	91.20	90.05	91.38
100 ppm	88.03	90.11	90.05	92.22
	86.62	90.05	93.79	92.83
	90.21	93.83	91.22	93.51

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการตกตะกอน *Chaetoceros calcitrans* ภายในถังไฟเบอร์ปริมาตร 2,000 ลิตร ด้วยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาต่างกัน

ระดับความเข้มข้น	ประสิทธิภาพการตกตะกอน (%)			
	30 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที
20 ppm	69.73±9.86 [b]	79.61±1,21 [b]	80.75±2.55 [b]	82.25±4.06 [b]
40 ppm	82.53±3.56 [a]	90.55±2.25 [a]	90.87±1.27 [a]	92.69±1.82 [a]
60 ppm	84.92±2.29 [a]	88.96±1.39 [a]	91.37±0.73 [a]	93.57±1.42 [a]
80 ppm	87.87±2.47 [a]	91.63±1.86 [a]	93.05±1.14 [a]	93.27±0.70 [a]
100 ppm	84.48±4.95 [a]	91.17±1.24 [a]	92.82±1.57 [a]	93.08±2.32 [a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการตกตะกอน *Chlorella* spp. ภายในถังไฟเบอร์ปริมาตร 2,000 ลิตร ด้วยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาต่างกัน

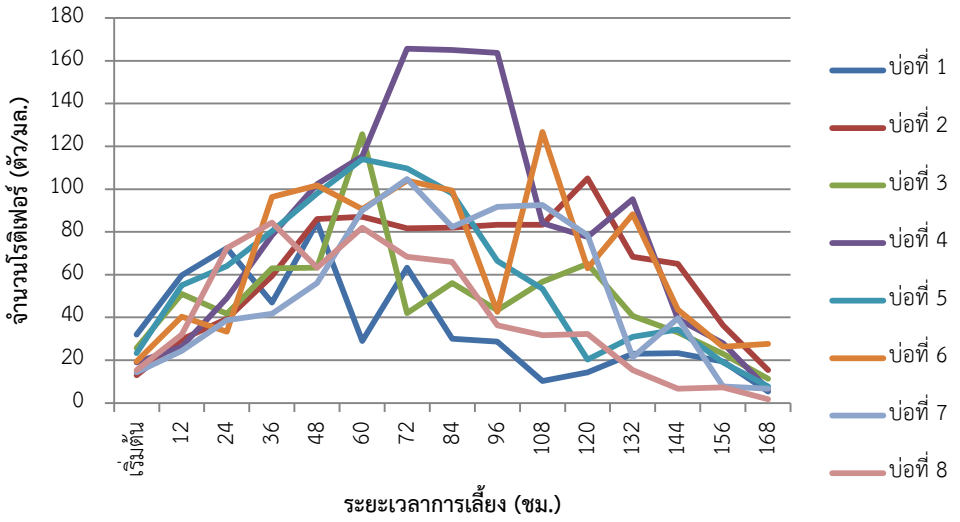
ระดับความเข้มข้น	ประสิทธิภาพการตกตะกอน (%)			
	30 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที
20 ppm	70.59±2.17 [b]	76.17±5.15 [b]	82.22±3.72 [b]	88.28±2.26 [b]
40 ppm	83.77±5.15 [a]	89.15±1.03 [a]	91.14±1.88 [a]	91.85±1.62 [a]
60 ppm	83.48±6.82 [a]	90.43±5.19 [a]	92.91±1.97 [a]	92.93±2.44 [a]
80 ppm	85.67±2.86 [a]	90.40±0.68 [a]	91.84±1.65 [a]	92.22±1.89 [a]
100 ppm	88.28±1.80 [a]	91.33±4.68 [a]	91.68±1.91 [a]	92.85±0.64 [a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

2. การศึกษาระยะการเจริญเติบโตของโรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*) ที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

2.1 การเจริญเติบโตของโรติเฟอร์

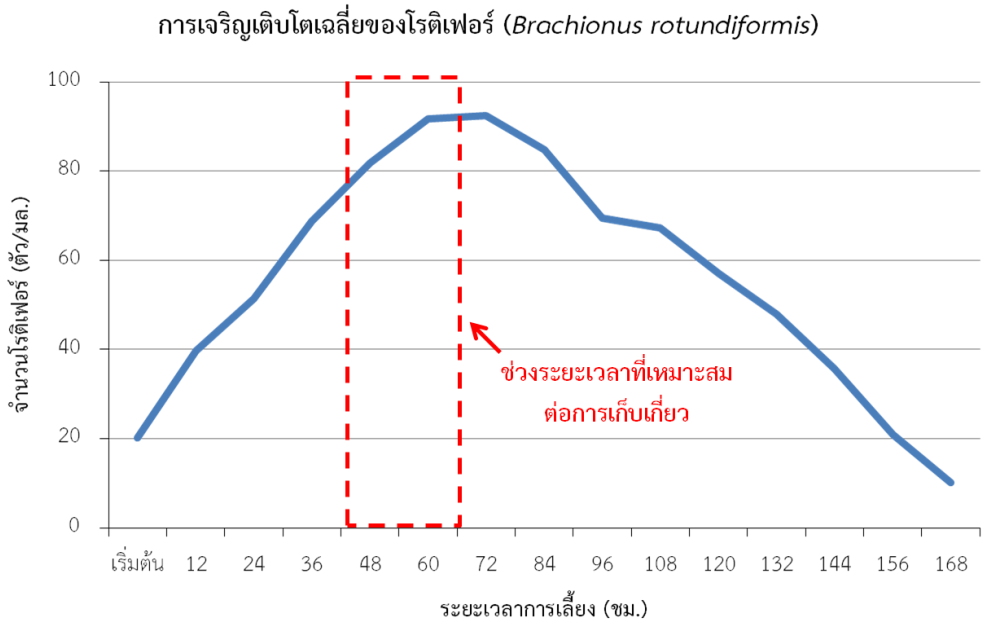
การเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์ในบ่อคอนกรีตขนาด 3,000 ลิตร ที่ปริมาณความหนาแน่นของโรติเฟอร์เริ่มต้น 13 – 32 ตัว/มล. (เฉลี่ย 20.12±6.55 ตัว/มล.) โดยให้คลอเรลลาเป็นอาหารที่ความหนาแน่นประมาณ 1 – 2 x 10^6 เซลล์/มล. พบว่า โรติเฟอร์จะเพิ่มจำนวนสูงสุดที่ระยะเวลาการเลี้ยง 2 – 5 วัน (เฉลี่ย 3.0±1.2 วัน) โดยมีปริมาณความหนาแน่นสูงสุดเท่ากับ 84 – 165 ตัว/มล. (เฉลี่ย 113.75±26.39 ตัว/มล.) (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตของโรติเฟอร์ที่เพาะเลี้ยงในบ่อคอนกรีตขนาด 3,000 ลิตร โดยให้คลอเรลลาเป็นอาหาร

2.2 ระยะการเจริญเติบโตของโรติเฟอร์ที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น และขั้นตอนการเก็บเกี่ยวโรติเฟอร์แบบเข้มข้น

เมื่อศึกษาระยะการเจริญเติบโตของโรติเฟอร์ที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น พบว่าช่วงระยะเวลาที่โรติเฟอร์มีปริมาณความหนาแน่นที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวอยู่ที่ระยะเวลาการเลี้ยงเฉลี่ย 3.0±1.2 วัน โดยมีอัตราการเจริญเติบโตอยู่ที่ 18 – 46 ตัว/มล./วัน หรือเฉลี่ย 32.75±9.79 ตัว/มล./วัน (ภาพที่ 7)



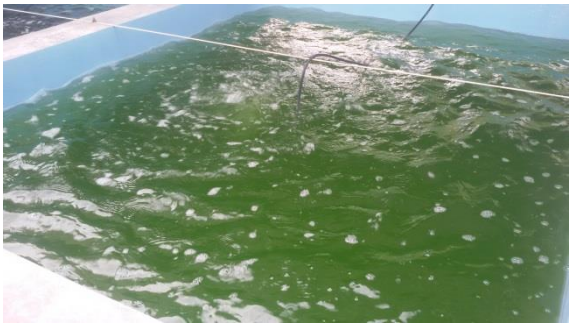
ภาพที่ 7 การเจริญเติบโตเฉลี่ยของโรติเฟอร์ และช่วงระยะการเจริญเติบโตที่เหมาะสำหรับการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้น

สำหรับการศึกษาครั้งนี้ มีขั้นตอน หรือกระบวนการเก็บเกี่ยวโรติเฟอร์แบบเข้มข้น ดังนี้

1. เพาะเลี้ยงโรติเฟอร์ในบ่อคอนกรีตขนาด 3,000 ลิตร จนถึงช่วงระยะเวลาที่เหมาสมต่อการเก็บเกี่ยวผลผลิต หรือที่ปริมาณความหนาแน่นเฉลี่ย 113.75±26.39 ตัว/มล. หรือที่ระยะเวลาการเลี้ยงประมาณ 3 วัน

2. เก็บเกี่ยวโรติเฟอร์โดยใช้ถุงกรองดักตะกอน และใช้สวิงขนาดตา 75 ไมครอน เพื่อเก็บรวบรวมโรติเฟอร์ จากนั้นนำโรติเฟอร์ในสวิงมาบรรจุเก็บไว้ในถุงซิป และชั่งน้ำหนักเปียก เพื่อบันทึกปริมาณผลผลิตที่ได้

3. ผลผลิตโรติเฟอร์แบบเข้มข้นทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงในบ่อคอนกรีตขนาด 3,000 ลิตร จะมีผลผลิต (น้ำหนักเปียก) อยู่ที่ 310 – 380 กรัม/บ่อ



(1)

(2)

(3)

(4)

(5)

(6)

ภาพที่ 8 ขั้นตอนการเก็บเกี่ยวโรติเฟอร์แบบเข้มข้น (1) การเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์ในบ่อคอนกรีตขนาด 3,000 ลิตร (2) ลักษณะของบ่อโรติเฟอร์ที่พร้อมเก็บเกี่ยว (3) การเก็บเกี่ยวโรติเฟอร์โดยใช้ถุงกรองดักตะกอน และใช้สวิงขนาดตา 75 ไมครอน เพื่อเก็บรวบรวมโรติเฟอร์ (4) ถังพลาสติกขนาด 5 ลิตร สำหรับเก็บรวบรวมโรติเฟอร์ (5) โรติเฟอร์แบบเข้มข้นที่ผ่านการกรองครั้งสุดท้าย และ (6) ผลผลิตโรติเฟอร์แบบเข้มข้นทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงในบ่อคอนกรีตขนาด 3,000 ลิตร

3. การศึกษาการใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ต่อการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์แบบเข้มข้นโดยพิจารณาจากคุณภาพของแพลงก์ตอนที่เก็บรักษา

3.1 **การใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ต่อการเก็บรักษา *Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* spp.**

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว *C. calcitrans* และ *Chlorella* spp. โดยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ทำให้ทราบว่า การใช้ไคโตซานที่ระดับ 40, 60, 80 และ 100 ppm มีประสิทธิภาพการตกตะกอนเพื่อการเก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 ชนิดนี้ ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) และสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm ($P<0.05$) ดังนั้น ในการศึกษานี้จะเลือกวิธีการเก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 ชนิดนี้ โดยการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm หลังจากนั้นจึงใส่สารรักษาสภาพเซลล์ และนำไปเก็บรักษา เพื่อศึกษาผลของการใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่อคุณภาพของแพลงก์ตอนพืชที่เก็บรักษาต่อไป

3.1.1 การหาอัตรารอดของเซลล์

การหาอัตรารอดของ *C. calcitrans* หลังการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้นด้วยวิธีการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm และนำไปเก็บรักษาด้วยวิธีการที่ต่างกัน พบว่าก่อนการเก็บเกี่ยว *C. calcitrans* มีอัตรารอดเฉลี่ย 96.1±2.7% ซึ่งหลังการเก็บเกี่ยวอัตรารอดของ *C. calcitrans* จะลดลง (84.2±4.8%) ($P<0.05$) และที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอัตรารอดของ *C. calcitrans* จะลดลง โดยการเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 1) อัตรารอดลดลงเหลือเฉลี่ย 69.4±1.9%, 41.1±8.2% และ 18.0±12.6% ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ และอัตรารอดจะเป็น 0% ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 8 – 12 สัปดาห์ ส่วนการเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 2) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 3) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 4) และการเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 5) อัตรารอดของ *C. calcitrans* จะลดลงเหลือ 0% ตั้งแต่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 2 สัปดาห์เป็นต้นไป (ตารางที่ 7 และ 8)

ตารางที่ 7 อัตรารอดของ *Chaetoceros calcitrans* หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	98.5	-	-	-	-	-	-
	2	93.1	-	-	-	-	-	-
	3	96.7	-	-	-	-	-	-
1	1	85.7	67.2	34.1	9.7	0.0	0.0	0.0
	2	88.2	70.5	50.3	32.5	0.0	0.0	0.0
	3	78.9	70.6	39.9	11.8	0.0	0.0	0.0
2	1	85.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	88.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	78.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	1	85.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	88.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	78.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4	1	85.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	88.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	78.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	1	85.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	88.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	78.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบอัตรารอดเฉลี่ยของ *Chaetoceros calcitrans* หลังการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	84.2±4.8 [a]	69.4±1.9 [a]	41.4±8.2 [a]	18.0±12.6 [a]	0.0 [a]	0.0 [a]	0.0 [a]
2	84.2±4.8 [a]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [a]	0.0 [a]	0.0 [a]
3	84.2±4.8 [a]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [a]	0.0 [a]	0.0 [a]
4	84.2±4.8 [a]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [a]	0.0 [a]	0.0 [a]
5	84.2±4.8 [a]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [a]	0.0 [a]	0.0 [a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

ส่วนการหาอัตรารอดของ *Chlorella* spp. หลังการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้นด้วยวิธีการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm และนำไปเก็บรักษาด้วยวิธีการที่ต่างกัน พบว่าก่อนการเก็บเกี่ยว *Chlorella* spp. มีอัตรารอดเฉลี่ย 99.3±1.2% ซึ่งหลังการเก็บเกี่ยวอัตรารอดของ *Chlorella* spp. จะลดลง (89.6±1.6%) ($P<0.05$) และที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอัตรารอดของ *Chlorella* spp. จะลดลง โดยการเก็บรักษาที่ความเย็น 4 °C (ชุดการทดลองที่ 1) อัตรารอดลดลงเหลือเฉลี่ย 78.1±6.7%, 47.4±4.6%, 28.6±7.0%, 13.8±14.9% และ 2.6±4.6% ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4, 6, 8 และ 10 สัปดาห์ ตามลำดับ และอัตรารอดจะเป็น 0% ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 12 สัปดาห์ ส่วนการเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C (ชุดการทดลองที่ 2) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 3) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 4) และการเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 5) อัตรารอดของ *Chlorella* spp. จะลดลงเหลือ 0% ตั้งแต่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 2 สัปดาห์เป็นต้นไป (ตารางที่ 9 และ 10)

ตารางที่ 9 อัตรารอดของ *Chlorella* spp. หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	97.9	-	-	-	-	-	-
	2	100	-	-	-	-	-	-
	3	100	-	-	-	-	-	-
1	1	89.6	70.7	50.8	31.1	29.7	8.0	0.0
	2	91.2	83.7	42.2	20.7	11.7	0.0	0.0
	3	88.0	80.1	49.4	34.2	0.0	0.0	0.0
2	1	89.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	91.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	88.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	1	89.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	91.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	88.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4	1	89.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	91.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	88.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	1	89.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	91.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	88.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบอัตรารอดเฉลี่ยของ *Chlorella* spp. หลังการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	89.6±1.6 [a]	78.1±6.7 [a]	47.4±4.6 [a]	28.6±7.0 [a]	13.8±14.9 [a]	2.6±4.6 [a]	0.0 [a]
2	89.6±1.6 [a]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [a]	0.0 [a]	0.0 [a]
3	89.6±1.6 [a]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [a]	0.0 [a]	0.0 [a]
4	89.6±1.6 [a]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [a]	0.0 [a]	0.0 [a]
5	89.6±1.6 [a]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [b]	0.0 [a]	0.0 [a]	0.0 [a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

3.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย

การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเมื่อเทียบระหว่าง *C. calcitrans* ก่อนการเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm พบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดก่อนการเก็บเกี่ยว ($3.0\pm1.0 \times 10^5$ CFU/ml) และหลังการเก็บเกี่ยว ($2.5\pm0.8 \times 10^5$ CFU/ml) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่พบใน *C. calcitrans* ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน พบว่า การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 °C (ชุดการทดลองที่ 1) จะพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมากกว่าที่การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C (ชุดการทดลองที่ 2) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 3) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 4) และการเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 5) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ($P<0.05$) ส่วนการเก็บรักษาตามชุดการทดลองที่ 2, 3, 4 และ 5 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ปริมาณแบคที่เรียทั้งหมดที่พบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 11 และ 12)

ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเมื่อเทียบระหว่าง *Chlorella* spp. ก่อนการเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm พบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดก่อนการเก็บเกี่ยว ($1.9\pm0.6 \times 10^5$ CFU/ml) และหลังการเก็บเกี่ยว ($2.4\pm0.5 \times 10^5$ CFU/ml) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณ

แบคทีเรียทั้งหมดที่พบใน *Chlorella* spp. ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน พบว่า การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 °C (ชุดการทดลองที่ 1) จะพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมากกว่าที่การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C (ชุดการทดลองที่ 2) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 3) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 4) และการเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 5) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ($P<0.05$) ส่วนการเก็บรักษาตามชุดการทดลองที่ 2, 3, 4 และ 5 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่พบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 13 และ 14)

ตารางที่ 11 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (× 10^5 CFU/ml) ที่พบใน *Chaetoceros calcitrans* หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	2.16	-	-	-	-	-	-
	2	4.22	-	-	-	-	-	-
	3	2.79	-	-	-	-	-	-
1	1	1.56	21.01	25.02	37.90	20.02	4.01	3.48
	2	2.89	14.99	27.04	22.03	10.35	8.90	11.09
	3	3.11	12.17	34.60	2.13	1.11	4.69	3.02
2	1	1.56	0.55	5.44	2.02	0.41	0.002	0.002
	2	2.89	3.82	1.02	2.77	5.34	0.34	0.01
	3	3.11	5.02	3.28	4.11	1.04	0.55	1.01
3	1	1.56	2.05	5.81	3.22	2.69	1.23	1.02
	2	2.89	2.77	0.69	1.44	1.02	0.008	0.05
	3	3.11	1.23	6.81	2.15	0.009	0.005	0.06
4	1	1.56	3.21	2.30	1.11	2.18	0.89	0.24
	2	2.89	2.24	1.56	1.03	2.89	2.14	1.11
	3	3.11	0.98	1.38	4.01	2.12	2.73	1.23
5	1	1.56	4.13	2.44	1.05	1.11	2.32	1.21
	2	2.89	3.53	3.33	1.05	0.52	0.002	0.005
	3	3.11	2.00	1.05	4.28	2.22	0.72	0.11

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (× 10^5 CFU/ml) ที่พบใน *Chaetoceros calcitrans* ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	2.5±0.8 [a]	16.0±4.5 [a]	28.8±5.0 [a]	20.6±17.9 [a]	10.4±9.4 [a]	5.8±2.6 [a]	5.8±4.5 [a]
2	2.5±0.8 [a]	3.1±2.3 [b]	3.2±2.2 [b]	2.9±1.0 [b]	2.2±2.6 [b]	0.2±0.2 [b]	0.3±0.5 [b]
3	2.5±0.8 [a]	2.0±0.7 [b]	4.4±3.2 [b]	2.2±0.8 [b]	1.2±1.3 [b]	0.4±0.7 [b]	0.3±0.5 [b]
4	2.5±0.8 [a]	2.1±1.1 [b]	1.7±0.4 [b]	2.0±1.6 [b]	2.3±0.4 [b]	1.9±0.9 [b]	0.8±0.5 [b]
5	2.5±0.8 [a]	3.2±1.0 [b]	2.2±1.1 [b]	2.1±1.8 [b]	1.2±0.8 [b]	1.0±1.1 [b]	0.4±0.6 [b]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 13 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (× 10^5 CFU/ml) ที่พบใน *Chlorella* spp. หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	1.23	-	-	-	-	-	-
	2	2.55	-	-	-	-	-	-
	3	2.08	-	-	-	-	-	-
1	1	2.51	10.01	9.56	13.45	18.92	10.23	7.33
	2	1.79	8.48	15.01	20.13	7.56	5.89	6.21
	3	2.92	7.23	10.83	6.22	2.98	6.15	4.44
2	1	2.51	3.56	1.02	2.10	3.26	1.11	0.23
	2	1.79	2.36	1.11	1.22	5.27	3.31	1.01
	3	2.92	4.82	2.61	1.23	0.007	0.001	0.004
3	1	2.51	5.23	2.33	1.11	1.03	1.34	0.58
	2	1.79	4.44	2.31	2.06	0.001	0.003	0.02
	3	2.92	1.90	2.31	0.89	0.47	1.03	0.33
4	1	2.51	2.22	4.89	3.03	0.003	0.46	0.11
	2	1.79	3.19	2.22	3.38	1.24	0.59	0.16
	3	2.92	2.20	3.51	2.22	0.89	0.92	1.23
5	1	2.51	4.78	2.21	3.10	1.12	1.00	2.34
	2	1.79	2.45	1.95	0.78	0.04	0.008	0.23
	3	2.92	2.01	6.70	2.46	3.12	1.01	0.05

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (× 10^5 CFU/ml) ที่พบใน *Chlorella* spp. ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	2.4±0.5 [a]	8.5±1.3 [a]	11.8±2.8 [a]	13.2±6.9 [a]	9.8±8.2 [a]	7.4±2.4 [a]	5.9±1.4 [a]
2	2.4±0.5 [a]	3.5±1.2 [b]	1.5±0.8 [b]	1.5±0.5 [b]	2.8±2.6 [ab]	1.4±1.6 [b]	0.4±0.5 [b]
3	2.4±0.5 [a]	3.8±1.7 [b]	2.3±0.0 [b]	1.3±0.6 [b]	0.5±0.5 [b]	0.7±0.6 [b]	0.3±0.2 [b]
4	2.4±0.5 [a]	2.5±0.5 [b]	3.5±1.3 [b]	2.8±0.5 [b]	0.7±0.6 [b]	0.6±0.2 [b]	0.5±0.6 [b]
5	2.4±0.5 [a]	3.0±1. [b]	3.6±2.6 [b]	2.1±1.1 [b]	1.4±1.5 [b]	0.6±0.5 [b]	0.8±1.2 [b]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

3.1.3 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการระหว่าง *C. calcitrans* ก่อนการเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm พบว่า ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีน (36.3±1.3%) คาร์โบไฮเดรต (7.6±0.9%) และไขมัน (19.9±1.3%) รวมไปถึงกรดไขมัน EPA (9.0±0.3 มิลลิกรัม/กรัม) และ DHA (3.2±0.4 มิลลิกรัม/กรัม) ของ *C. calcitrans* ก่อนการเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยว (35.0±3.6%, 7.6±0.6%, 20.3±2.5%, 8.6±0.7 มิลลิกรัม/กรัม และ 2.8±0.4 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการของ *C. calcitrans* ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน พบว่า ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันของ *C. calcitrans* ที่การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 °C (ชุดการทดลองที่ 1) การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C (ชุดการทดลองที่ 2) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 3) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 4) และการเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C (ชุดการทดลองที่ 5) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA ของในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกัน ($P<0.05$) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 เป็นต้นไป (ตารางที่ 15 – 24)

ตารางที่ 15 ผลการวิเคราะห์โปรตีน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chaetoceros calcitrans* หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	36.2	-	-	-	-	-	-
	2	35.1	-	-	-	-	-	-
	3	37.8	-	-	-	-	-	-
1	1	33.7	39.1	33.8	38.2	33.3	35.1	29.2
	2	39.2	35.5	32.0	28.8	33.5	34.7	38.9
	3	32.2	29.6	36.3	33.1	36.8	35.6	37.1
2	1	33.7	30.0	33.2	31.1	35.2	36.2	33.2
	2	39.2	35.2	29.9	34.3	33.4	33.8	26.1
	3	32.2	33.2	33.7	37.3	31.8	33.3	34.1
3	1	33.7	27.5	30.2	38.5	36.0	37.2	31.0
	2	39.2	34.2	33.2	36.3	27.3	29.7	34.6
	3	32.2	32.2	35.1	32.1	33.0	32.1	34.1
4	1	33.7	31.1	35.2	36.2	33.2	34.2	33.3
	2	39.2	34.3	33.4	33.8	26.1	29.9	35.1
	3	32.2	37.3	31.8	33.3	34.1	34.4	36.1
5	1	33.7	33.2	36.1	35.1	28.8	33.3	32.1
	2	39.2	33.0	32.1	28.1	34.2	37.1	37.8
	3	32.2	35.1	30.1	32.1	33.1	32.0	34.1

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chaetoceros calcitrans* หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	6.7	-	-	-	-	-	-
	2	8.6	-	-	-	-	-	-
	3	7.6	-	-	-	-	-	-
1	1	6.9	7.7	7.1	8.3	6.3	7.0	8.2
	2	8.2	7.3	6.5	6.8	7.0	7.3	7.3
	3	7.7	8.3	7.3	7.2	6.8	7.5	7.4
2	1	6.9	8.0	6.8	7.7	7.2	8.0	6.9
	2	8.2	7.8	7.2	7.4	6.5	8.0	7.5
	3	7.7	8.2	6.6	6.0	7.9	8.1	7.6
3	1	6.9	7.2	7.1	8.0	7.7	7.4	7.7
	2	8.2	7.1	7.5	7.0	7.4	7.3	7.3
	3	7.7	8.0	7.9	7.9	7.5	7.9	7.3
4	1	6.9	7.3	7.3	7.7	6.9	7.3	6.9
	2	8.2	7.3	7.1	8.0	8.2	6.9	8.1
	3	7.7	7.8	7.8	7.2	8.0	8.1	7.8
5	1	6.9	7.5	8.2	6.6	7.4	6.5	8.0
	2	8.2	6.8	7.2	7.1	6.0	7.9	8.1
	3	7.7	6.9	8.0	8.0	8.0	7.7	7.4

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 17 ผลการวิเคราะห์ไขมัน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chaetoceros calcitrans* หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	18.9	-	-	-	-	-	-
	2	21.4	-	-	-	-	-	-
	3	19.5	-	-	-	-	-	-
1	1	20.2	16.2	16.3	14.8	11.6	12.7	14.2
	2	17.9	20.1	17.3	15.8	14.7	13.2	11.7
	3	23.0	19.8	17.2	15.6	13.5	11.2	14.5
2	1	20.2	20.5	18.3	18.1	12.0	13.6	12.3
	2	17.9	18.6	15.2	14.6	12.4	12.0	12.2
	3	23.0	19.0	18.3	17.2	14.2	15.6	12.0
3	1	20.2	15.7	16.9	14.2	12.2	13.5	11.2
	2	17.9	18.9	17.4	17.0	16.7	15.7	13.0
	3	23.0	21.0	19.6	17.0	17.9	14.0	13.4
4	1	20.2	20.3	17.7	15.9	15.6	13.3	12.2
	2	17.9	19.1	18.4	16.6	15.9	12.0	11.4
	3	23.0	20.0	19.3	17.7	15.9	15.0	12.5
5	1	20.2	20.1	16.0	14.2	13.5	13.0	12.1
	2	17.9	18.7	18.5	15.6	14.6	12.2	11.5
	3	23.0	21.1	18.7	17.5	16.2	13.2	11.0

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 18 ผลการวิเคราะห์กรดไขมัน EPA (มิลลิกรัม/กรัม) ของ *Chaetoceros calcitrans* หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	9.3	-	-	-	-	-	-
	2	8.7	-	-	-	-	-	-
	3	9.1	-	-	-	-	-	-
1	1	8.8	8.6	8.3	8.3	7.5	7.0	7.3
	2	7.8	7.5	7.0	6.8	6.1	6.5	5.3
	3	9.2	8.8	8.4	7.7	7.0	6.6	6.2
2	1	8.8	8.7	8.3	8.0	7.2	7.4	6.1
	2	7.8	8.5	8.2	7.3	6.3	5.8	5.4
	3	9.2	8.2	8.4	7.7	6.8	6.4	6.1
3	1	8.8	5.9	6.0	4.8	5.2	4.1	2.9
	2	7.8	5.0	4.7	4.7	4.1	2.0	1.0
	3	9.2	5.0	4.8	3.9	3.3	2.7	1.8
4	1	8.8	6.0	5.3	4.7	3.3	2.2	2.1
	2	7.8	6.8	5.9	4.8	2.5	1.9	2.5
	3	9.2	5.4	4.5	4.0	3.5	2.7	2.0
5	1	8.8	6.6	5.8	5.7	4.3	3.7	3.3
	2	7.8	7.0	6.4	5.1	4.7	4.0	2.8
	3	9.2	7.1	6.5	5.3	4.4	1.9	2.3

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 19 ผลการวิเคราะห์กรดไขมัน DHA (มิลลิกรัม/กรัม) ของ *Chaetoceros calcitrans* หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	3.7	-	-	-	-	-	-
	2	3.1	-	-	-	-	-	-
	3	2.9	-	-	-	-	-	-
1	1	3.4	3.3	3.1	3.2	2.9	2.8	2.5
	2	2.5	2.5	2.3	2.4	2.0	2.1	2.0
	3	2.7	2.5	2.0	1.8	1.8	1.4	1.5
2	1	3.4	3.3	3.0	2.8	2.4	2.1	1.7
	2	2.5	2.9	2.5	2.3	2.2	2.2	2.1
	3	2.7	2.5	2.2	2.0	1.7	1.9	1.7
3	1	3.4	2.3	2.1	1.5	1.1	0.7	0.4
	2	2.5	2.0	1.5	1.0	0.7	0.5	0.2
	3	2.7	1.5	1.1	0.7	0.5	0.6	0.5
4	1	3.4	2.0	1.7	1.5	0.5	0.2	0.3
	2	2.5	2.5	2.0	1.3	0.3	0.3	0.1
	3	2.7	2.3	2.0	1.7	1.0	0.5	0.5
5	1	3.4	2.0	1.7	1.5	1.4	0.3	0.5
	2	2.5	2.4	2.0	1.7	1.3	1.3	1.1
	3	2.7	2.0	2.0	1.5	1.1	0.6	0.9

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 20 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของโปรตีน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	35.0±3.6	34.7±4.7	34.0±2.1	33.3±4.7	34.5±1.9	35.1±0.4	35.0±5.1
2	35.0±3.6	32.8±2.6	32.2±2.0	34.2±3.1	33.4±1.7	34.4±1.5	31.1±4.3
3	35.0±3.6	31.3±3.4	32.8±2.4	35.6±3.2	32.1±4.4	33.0±3.8	33.2±1.9
4	35.0±3.6	34.2±3.1	33.4±1.7	34.4±1.5	31.1±4.3	32.8±2.5	34.8±1.4
5	35.0±3.6	33.7±1.1	32.7±3.0	31.7±3.5	32.0±2.8	34.1±2.6	34.6±2.8

ตารางที่ 21 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคาร์โบไฮเดรต (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	7.6±0.6	7.7±0.5	6.9±0.4	7.4±0.7	6.7±0.3	7.2±0.2	7.6±0.4
2	7.6±0.6	8.0±0.2	6.8±0.3	7.0±0.9	7.2±0.7	8.0±0.0	7.3±0.3
3	7.6±0.6	7.4±0.4	7.5±0.4	7.6±0.5	7.5±0.1	7.5±0.3	7.4±0.2
4	7.6±0.6	7.4±0.2	7.4±0.3	7.6±0.4	7.7±0.7	7.4±0.6	7.6±0.6
5	7.6±0.6	7.0±0.3	7.8±0.5	7.2±0.7	7.1±1.0	7.3±0.7	7.8±0.3

ตารางที่ 22 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของไขมัน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	20.3±2.5	18.7±2.1	16.9±0.5	15.4±0.5	13.2±1.5	12.3±1.0	13.4±1.5
2	20.3±2.5	19.3±1.0	17.2±1.7	16.6±1.8	12.8±1.1	13.7±1.8	12.1±0.1
3	20.3±2.5	18.5±2.6	17.9±1.4	16.0±1.6	15.6±3.0	14.4±1.1	12.5±1.1
4	20.3±2.5	19.8±0.6	18.4±0.8	16.7±0.9	15.8±0.1	13.4±1.5	12.0±0.5
5	20.3±2.5	19.9±1.2	17.7±1.5	15.7±1.6	14.7±1.3	12.8±0.5	11.5±0.5

ตารางที่ 23 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกรดไขมัน EPA (มิลลิกรัม/กรัม) ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	8.6±0.7 ^{a}	8.3±0.7 ^{a}	7.9±0.7 ^{a}	7.6±0.5 ^{a}	6.8±0.7 ^{a}	6.7±0.2 ^{a}	6.2±1.0 ^{a}
2	8.6±0.7 ^{a}	8.4±0.2 ^{a}	8.3±0.1 ^{a}	7.6±0.3 ^{a}	6.7±0.4 ^{a}	6.5±0.8 ^{a}	5.8±0.4 ^{a}
3	8.6±0.7 ^{a}	5.3±0.5 ^{c}	5.1±0.7 ^{b}	4.4±0.4 ^{b}	4.2±0.9 ^{bc}	2.9±1.0 ^{b}	1.9±0.9 ^{b}
4	8.6±0.7 ^{a}	6.0±0.7 ^{bc}	5.2±0.7 ^{b}	4.5±0.4 ^{b}	3.1±0.5 ^{c}	2.2±0.4 ^{b}	2.2±0.2 ^{b}
5	8.6±0.7 ^{a}	6.9±0.2 ^{b}	6.2±0.3 ^{b}	5.3±0.3 ^{b}	4.4±0.2 ^{b}	3.2±1.1 ^{b}	2.8±0.5 ^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 24 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกรดไขมัน DHA (มิลลิกรัม/กรัม) ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	2.8±0.4 ^{a}	2.7±0.4 ^{ab}	2.4±0.5 ^{a}	2.4±0.7 ^{a}	2.2±0.5 ^{a}	2.1±0.7 ^{a}	2.0±0.5 ^{a}
2	2.8±0.4 ^{a}	2.9±0.4 ^{a}	2.5±0.4 ^{a}	2.3±0.4 ^{a}	2.1±0.3 ^{a}	2.0±0.1 ^{a}	1.8±0.2 ^{a}
3	2.8±0.4 ^{a}	1.9±0.4 ^{c}	1.5±0.5 ^{b}	1.0±0.4 ^{b}	0.7±0.3 ^{b}	0.6±0.1 ^{b}	0.3±0.1 ^{b}
4	2.8±0.4 ^{a}	2.2±0.2 ^{abc}	1.9±0.1 ^{ab}	1.5±0.2 ^{b}	0.6±0.3 ^{b}	0.3±0.1 ^{b}	0.3±0.2 ^{b}
5	2.8±0.4 ^{a}	2.1±0.2 ^{bc}	1.9±0.1 ^{ab}	1.5±0.1 ^{b}	1.2±0.1 ^{b}	0.7±0.5 ^{b}	0.8±0.3 ^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

ส่วนการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการระหว่าง *Chlorella* spp. ก่อนการเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm พบว่า ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีน (27.5±5.9%) คาร์โบไฮเดรต (6.5±1.1%) และไขมัน (11.5±0.6%) ของ *Chlorella* spp. ก่อนการเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยว (26.2±4.0%, 6.8±1.1% และ 10.2±0.5% ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการของ *Chlorella* spp. ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน พบว่า ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันของ *Chlorella* spp. ที่การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 1) การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 2) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 3) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 4) และการเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 5) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA ของ *Chlorella* spp. ก่อนการเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยว รวมไปถึงของในแต่ละชุดการทดลองที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ไม่พบปริมาณกรดไขมันทั้ง 2 ชนิดนี้ใน *Chlorella* spp. (ตารางที่ 25 – 32)

ตารางที่ 25 ผลการวิเคราะห์โปรตีน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chlorella* spp. หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	22.6	-	-	-	-	-	-
	2	34.1	-	-	-	-	-	-
	3	25.9	-	-	-	-	-	-
1	1	23.4	25.2	22.4	22.3	24.0	22.7	23.3
	2	30.9	31.2	29.8	29.5	32.1	30.1	30.7
	3	24.3	23.1	23.6	24.0	22.9	23.1	23.8
2	1	23.4	22.4	22.1	23.7	21.6	21.9	22.0
	2	30.9	27.2	27.8	28.4	28.3	27.7	28.0
	3	24.3	26.5	27.2	26.1	26.6	27.3	26.3
3	1	23.4	22.8	22.6	22.9	23.1	21.8	21.7
	2	30.9	30.5	30.1	29.5	29.8	30.9	30.0
	3	24.3	25.2	24.4	25.0	24.7	24.2	24.8
4	1	23.4	27.8	27.5	27.3	27.1	26.9	26.9
	2	30.9	28.9	29.6	28.7	30.0	29.6	29.1
	3	24.3	24.0	24.3	24.8	23.7	24.1	24.3
5	1	23.4	25.5	25.3	24.2	24.7	25.5	24.9
	2	30.9	30.7	30.8	31.4	30.0	31.3	31.8
	3	24.3	27.5	28.6	28.4	27.5	28.1	28.1

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 26 ผลการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chlorella* spp. หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	7.8	-	-	-	-	-	-
	2	5.5	-	-	-	-	-	-
	3	6.3	-	-	-	-	-	-
1	1	8.1	7.2	7.4	6.9	8.0	7.7	7.0
	2	6.4	6.8	6.0	6.5	5.9	6.2	6.3
	3	5.9	6.5	6.1	5.2	5.2	5.8	6.1
2	1	8.1	7.2	7.8	7.0	6.9	6.8	6.6
	2	6.4	5.4	5.1	4.8	5.9	5.5	5.5
	3	5.9	6.2	6.1	6.7	5.9	7.0	6.3
3	1	8.1	6.8	6.5	6.9	7.0	6.8	6.5
	2	6.4	6.0	6.1	5.7	5.9	6.3	6.1
	3	5.9	6.2	5.9	6.2	6.2	5.5	5.7
4	1	8.1	7.8	8.0	7.4	7.0	7.1	6.2
	2	6.4	7.0	6.8	6.2	7.0	7.4	7.0
	3	5.9	5.8	6.2	6.1	5.9	5.4	5.5
5	1	8.1	6.9	6.9	7.3	7.0	5.8	6.2
	2	6.4	6.5	5.4	5.5	6.1	6.4	5.3
	3	5.9	6.7	6.5	6.0	6.4	6.7	7.0

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 27 ผลการวิเคราะห์ไขมัน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chlorella* spp. หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	12.2	-	-	-	-	-	-
	2	11.5	-	-	-	-	-	-
	3	10.9	-	-	-	-	-	-
1	1	9.6	8.0	7.2	7.5	6.9	5.5	4.4
	2	10.7	9.3	8.6	8.0	7.1	6.5	6.1
	3	10.5	10.7	8.9	8.9	7.2	6.7	5.1
2	1	9.6	10.4	10.1	9.6	8.5	7.5	6.6
	2	10.7	9.7	9.0	8.3	7.5	4.0	3.5
	3	10.5	9.0	8.5	8.0	7.2	6.6	6.2
3	1	9.6	11.2	10.5	9.6	9.0	8.4	6.2
	2	10.7	10.3	9.7	9.0	8.5	8.1	7.7
	3	10.5	10.4	9.0	8.3	7.2	5.5	4.2
4	1	9.6	11.1	10.6	10.1	9.7	8.2	5.0
	2	10.7	10.5	9.7	8.1	5.8	4.3	4.6
	3	10.5	12.3	8.3	8.6	6.5	5.5	5.3
5	1	9.6	8.6	8.3	7.2	6.5	5.9	5.0
	2	10.7	9.4	8.5	7.6	7.1	4.2	5.5
	3	10.5	10.1	9.2	6.9	5.2	5.0	5.1

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 28 ผลการวิเคราะห์กรดไขมัน EPA (มิลลิกรัม/กรัม) ของ *Chlorella* spp. หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	nd	-	-	-	-	-	-
	2	nd	-	-	-	-	-	-
	3	nd	-	-	-	-	-	-
1	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

* nd = no data (ไม่พบ)

ตารางที่ 29 ผลการวิเคราะห์กรดไขมัน DHA (มิลลิกรัม/กรัม) ของ *Chlorella* spp. หลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการตกตะกอนด้วยการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้ม 40 ppm ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	nd	-	-	-	-	-	-
	2	nd	-	-	-	-	-	-
	3	nd	-	-	-	-	-	-
1	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

* nd = no data (ไม่พบ)

ตารางที่ 30 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของโปรตีน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chlorella* spp. ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	26.2±4.0	26.5±4.2	25.2±3.9	25.2±3.7	26.3±5.0	25.3±4.1	25.9±4.1
2	26.2±4.0	25.3±2.5	25.7±3.1	26.0±2.3	25.5±3.4	25.6±3.2	25.4±3.0
3	26.2±4.0	26.1±3.9	25.7±3.9	25.8±3.3	25.8±3.4	25.6±4.7	25.5±4.1
4	26.2±4.0	26.9±2.5	27.1±2.6	26.9±1.9	26.9±3.1	26.8±2.7	26.7±2.4
5	26.2±4.0	27.9±2.6	28.2±2.7	28.0±3.6	27.4±2.6	28.3±2.9	28.2±3.4

ตารางที่ 31 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคาร์โบไฮเดรต (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chlorella* spp. ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	6.8±1.1	6.8±0.3	6.5±0.7	6.2±0.8	6.3±1.4	6.5±1.0	6.4±0.4
2	6.8±1.1	6.2±0.9	6.3±1.3	6.1±1.1	6.2±0.5	6.4±0.8	6.1±0.5
3	6.8±1.1	6.3±0.4	6.1±0.3	6.2±0.6	6.3±0.5	6.2±0.6	6.1±0.4
4	6.8±1.1	6.8±1.0	7.0±0.9	6.5±0.7	6.6±0.6	6.6±1.0	6.2±0.7
5	6.8±1.1	6.7±0.2	6.2±0.7	6.2±0.9	6.5±0.4	6.3±0.4	6.1±0.8

ตารางที่ 32 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของไขมัน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของ *Chlorella* spp. ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	10.2±0.5	9.3±1.3	8.2±0.9	8.1±0.7	7.0±0.1	6.2±0.6	5.2±0.8
2	10.2±0.5	9.7±0.7	9.2±0.8	8.6±0.8	7.7±0.6	6.0±1.8	5.4±1.6
3	10.2±0.5	10.6±0.4	9.7±0.7	8.9±0.6	8.2±0.9	7.3±1.5	6.0±1.7
4	10.2±0.5	11.3±0.9	9.5±1.1	8.9±1.0	7.3±2.0	6.0±1.9	4.9±0.3
5	10.2±0.5	9.3±0.7	8.6±0.4	7.2±0.3	6.2±0.9	5.0±0.8	5.2±0.2

ตารางที่ 33 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกรดไขมัน EPA (มิลลิกรัม/กรัม) ของ *Chlorella* spp. ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

หมายเหตุ : * nd = no data (ไม่พบ)

ตารางที่ 34 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกรดไขมัน DHA (มิลลิกรัม/กรัม) ของ *Chlorella* spp. ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

หมายเหตุ : * nd = no data (ไม่พบ)

3.2 **การใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ต่อการเก็บรักษาโรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*)**

3.2.1 สภาพเซลล์ของโรติเฟอร์

จากการใช้หลักการประเมินสภาพเซลล์ (cell condition index) ตามวิธีของ Heasman *et al*. (2001) พบว่า หลังการเก็บเกี่ยวสภาพเซลล์ของโรติเฟอร์อยู่ในระดับดีมาก (ระดับ 5) คือ สภาพเซลล์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง และหลังการเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 – 12 สัปดาห์ ของการเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 1) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 4) และการเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 5) สภาพเซลล์ของโรติเฟอร์อยู่ในระดับดี (ระดับ 4) คือ สภาพเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงหรือเซลล์แตก < 10% ส่วนการเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 3) พบว่า สภาพเซลล์ของโรติเฟอร์อยู่ในระดับน่าพอใจ (ระดับ 3) คือ สภาพเซลล์มีการเปลี่ยนแปลง หรือเซลล์แตก < 50% แต่สำหรับการเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 2) พบว่า สภาพเซลล์ของโรติเฟอร์อยู่ในระดับไม่ดี (ระดับ 2) ถึงแย่มาก (ระดับ 1) คือ สภาพเซลล์มีการเปลี่ยนแปลง หรือเซลล์แตก > 50% และ >75% เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ตามลำดับ (ตารางที่ 35)

ตารางที่ 35 เปรียบเทียบรูปร่างเสียสภาพของโรติเฟอร์หลังการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้นที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา	ระดับการประเมินสภาพเซลล์				
	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3	ชุดการทดลองที่ 4	ชุดการทดลองที่ 5
0	5	5	5	5	5
2	5	2	3	4	4
4	4	2	3	4	4
6	4	1	3	4	4
8	4	1	3	4	4
10	4	1	3	4	4
12	4	1	3	4	4

3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย

การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเมื่อเทียบระหว่างโรติเฟอร์ก่อนการเก็บเกี่ยวและหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตแบบเข้มข้น พบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดก่อนการเก็บเกี่ยว ($9.5\pm1.6 \times 10^5$ CFU/ml) และหลังการเก็บเกี่ยว ($9.2\pm3.2 \times 10^5$ CFU/ml) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในโรติเฟอร์ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน พบว่า การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 1) จะพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมากกว่าที่การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 2) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 3) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 4) และการเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 5) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ($P<0.05$) ส่วนการเก็บรักษาโรติเฟอร์ตามชุดการทดลองที่ 2, 3, 4 และ 5 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4, 6, 8 และ 12 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณแบคที่เรียทั้งหมดที่พบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 36 และ 37)

ตารางที่ 36 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (× 10^5 CFU/ml) ที่พบในโรติเฟอร์หลังการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้นที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	11.42	-	-	-	-	-	-
	2	9.01	-	-	-	-	-	-
	3	8.32	-	-	-	-	-	-
1	1	9.56	7.33	10.44	7.56	12.57	11.98	5.89
	2	12.34	10.01	9.56	6.79	18.92	10.23	13.45
	3	5.78	8.28	15.00	12.01	5.89	6.21	20.11
2	1	9.56	0.69	1.44	3.28	1.11	4.89	1.02
	2	12.34	6.81	2.15	2.77	5.81	3.22	3.28
	3	5.78	2.30	1.11	4.11	1.21	1.02	5.81
3	1	9.56	2.92	1.90	2.31	0.89	2.14	3.69
	2	12.34	2.51	2.22	4.89	3.03	2.73	6.81
	3	5.78	1.79	3.19	2.22	3.38	2.32	2.30
4	1	9.56	2.24	1.56	1.03	2.89	0.05	1.57
	2	12.34	1.05	1.11	4.01	2.12	0.19	2.23
	3	5.78	4.13	2.44	0.98	1.38	0.58	2.33
5	1	9.56	3.53	3.33	1.05	0.55	4.22	6.43
	2	12.34	4.13	2.44	1.05	3.53	3.33	1.05
	3	5.78	4.78	2.21	3.10	1.19	10.00	5.23

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 37 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (× 10^5 CFU/ml) ที่พบในโรติเฟอร์ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	9.2±3.2 ^{a}	8.5±1.3 ^{a}	11.6±2.9 ^{a}	8.7±2.8 ^{a}	12.4±6.5 ^{a}	9.4±2.9 ^{a}	13.1±7.1 ^{a}
2	9.2±3.2 ^{a}	3.2±3.1 ^{b}	1.56±0.5 ^{b}	3.3±0.6 ^{b}	2.7±2.6 ^{b}	3.0±1.9 ^{bc}	3.3±2.3 ^{b}
3	9.2±3.2 ^{a}	2.4±0.5 ^{b}	2.4±0.6 ^{b}	3.1±1.5 ^{b}	2.4±1.3 ^{b}	2.3±0.3 ^{bc}	4.2±2.3 ^{b}
4	9.2±3.2 ^{a}	2.4±1.5 ^{b}	1.7±0.6 ^{b}	2.0±1.7 ^{b}	2.1±0.7 ^{b}	0.2±0.3 ^{c}	2.0±0.4 ^{b}
5	9.2±3.2 ^{a}	4.1±0.6 ^{b}	2.6±0.5 ^{b}	1.7±1.1 ^{b}	1.7±1.5 ^{b}	5.8±3.6 ^{ab}	4.2±2.8 ^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

3.2.3 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์ก่อนการเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตแบบเข้มข้น พบว่า ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีน (36.3±3.7%) คาร์โบไฮเดรต (11.0±1.1%) และไขมัน (17.4±2.7%) รวมไปถึงกรดไขมัน EPA (1.5±0.5 มิลลิกรัม/กรัม) และ DHA (0.6±0.2 มิลลิกรัม/กรัม) ของโรติเฟอร์ก่อนการเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยว (36.0±1.6%, 12.0±1.9%, 17.0±1.6%, 1.4±0.2 มิลลิกรัม/กรัม และ 0.5±0.1 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน พบว่า ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน รวมไปถึงกรดไขมัน EPA และ DHA ของโรติเฟอร์ที่การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 1) การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 2) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 3) การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 4) และการเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C (ชุดการทดลองที่ 5) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 38 – 47)

ตารางที่ 38 ผลการวิเคราะห์โปรตีน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของโรติเฟอร์หลังการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้นที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	32.5	-	-	-	-	-	-
	2	40.0	-	-	-	-	-	-
	3	36.6	-	-	-	-	-	-
1	1	35.3	33.6	38.9	42.0	32.3	34.5	33.1
	2	37.9	40.2	38.9	37.7	28.1	34.1	36.3
	3	34.8	37.8	36.3	34.8	35.7	34.7	33.8
2	1	35.3	33.1	30.7	35.6	35.5	34.8	32.0
	2	37.9	39.5	37.3	38.3	34.0	36.2	36.6
	3	34.8	36.4	30.0	30.6	31.2	33.5	31.1
3	1	35.3	35.3	31.3	33.2	30.0	30.0	32.1
	2	37.9	40.3	37.7	36.7	28.2	34.1	35.6
	3	34.8	34.5	34.2	33.7	35.5	32.1	32.1
4	1	35.3	30.0	33.8	33.7	35.5	34.1	36.2
	2	37.9	37.3	36.9	38.1	34.0	36.3	27.1
	3	34.8	31.4	41.3	34.0	32.8	32.7	31.5
5	1	35.3	36.3	32.8	30.0	30.0	32.1	33.6
	2	37.9	30.1	40.3	38.5	35.7	36.1	35.0
	3	34.8	36.6	36.5	34.9	34.6	35.0	35.1

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 39 ผลการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของโรติเฟอร์หลังการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้นที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	10.1	-	-	-	-	-	-
	2	12.4	-	-	-	-	-	-
	3	10.7	-	-	-	-	-	-
1	1	11.7	12.3	11.5	11.7	10.3	11.9	11.0
	2	14.1	13.7	14.3	12.6	12.8	11.7	13.3
	3	10.2	10.0	11.2	10.9	11.9	11.0	10.5
2	1	11.7	11.7	12.2	10.3	11.6	11.5	10.5
	2	14.1	12.6	10.9	11.7	12.4	11.5	11.3
	3	10.2	12.2	12.1	11.8	11.4	10.7	11.8
3	1	11.7	12.8	12.1	11.7	10.8	13.1	12.1
	2	14.1	13.8	13.1	14.0	12.9	13.6	13.2
	3	10.2	10.4	10.2	10.1	11.2	10.1	11.2
4	1	11.7	11.3	10.2	11.1	10.5	12.1	11.1
	2	14.1	12.8	13.0	13.5	13.5	12.9	13.8
	3	10.2	9.9	9.8	10.3	11.2	9.8	9.8
5	1	11.7	12.3	10.6	10.6	11.5	11.5	11.1
	2	14.1	14.0	14.0	13.5	13.2	13.7	14.1
	3	10.2	9.8	10.4	10.2	10.1	9.9	10.0

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 40 ผลการวิเคราะห์ไขมัน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของโรติเฟอร์หลังการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้นที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	14.6	-	-	-	-	-	-
	2	20.1	-	-	-	-	-	-
	3	17.7	-	-	-	-	-	-
1	1	15.8	12.0	12.6	11.4	13.2	10.5	10.2
	2	18.9	16.6	15.2	16.3	15.8	14.5	14.9
	3	16.3	15.7	15.9	14.6	14.3	14.1	14.3
2	1	15.8	15.9	15.2	14.4	13.0	13.4	13.3
	2	18.9	17.4	15.8	15.1	15.8	15.2	14.0
	3	16.3	16.3	15.7	15.1	15.6	13.2	13.0
3	1	15.8	15.6	14.0	14.0	13.3	11.0	10.5
	2	18.9	17.8	17.2	15.7	15.2	15.9	14.7
	3	16.3	15.8	15.9	12.4	10.7	11.0	10.6
4	1	15.8	15.0	14.9	13.4	13.9	13.1	13.1
	2	18.9	17.5	18.0	15.3	14.7	13.7	13.7
	3	16.3	12.6	14.5	14.2	13.0	12.3	12.9
5	1	15.8	15.0	13.7	13.0	11.9	12.6	12.0
	2	18.9	16.2	16.8	15.1	13.3	13.6	12.2
	3	16.3	14.2	13.7	13.4	13.9	13.2	13.2

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 41 ผลการวิเคราะห์กรดไขมัน EPA (มิลลิกรัม/กรัม) ของโรติเฟอร์หลังการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้นที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	1.5	-	-	-	-	-	-
	2	1.1	-	-	-	-	-	-
	3	2.1	-	-	-	-	-	-
1	1	1.2	1.2	0.9	1.1	0.8	0.6	0.6
	2	1.5	1.4	1.1	1.0	1.0	1.1	1.0
	3	1.7	1.5	1.3	1.2	1.1	0.9	1.0
2	1	1.2	1.4	1.2	1.2	1.0	0.7	0.8
	2	1.5	1.4	1.3	0.9	1.1	1.0	1.0
	3	1.7	1.5	1.4	1.1	0.7	0.6	0.7
3	1	1.2	1.1	0.9	0.7	0.9	0.9	0.9
	2	1.5	1.4	1.2	1.0	1.0	1.1	1.0
	3	1.7	1.5	1.5	1.1	0.8	0.7	0.7
4	1	1.2	1.4	1.1	1.0	1.0	0.9	0.8
	2	1.5	1.0	0.8	0.7	0.9	0.9	0.7
	3	1.7	1.6	1.3	1.0	1.0	1.0	0.8
5	1	1.2	1.2	1.2	1.0	1.0	0.9	0.9
	2	1.5	1.4	1.3	1.1	0.9	0.8	1.0
	3	1.7	1.5	1.0	1.1	1.1	1.0	1.0

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 42 ผลการวิเคราะห์กรดไขมัน DHA (มิลลิกรัม/กรัม) ของโรติเฟอร์หลังการเก็บเกี่ยวแบบเข้มข้นที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
		0	2	4	6	8	10	12
ก่อนการเก็บเกี่ยว	1	0.8	-	-	-	-	-	-
	2	0.4	-	-	-	-	-	-
	3	0.6	-	-	-	-	-	-
1	1	0.3	0.4	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0
	2	0.6	0.3	0.0	0.2	0.2	0.0	0.0
	3	0.6	0.5	0.3	0.3	0.2	0.1	0.1
2	1	0.3	0.1	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0
	2	0.6	0.4	0.4	0.5	0.2	0.0	0.1
	3	0.6	0.7	0.4	0.2	0.0	0.0	0.2
3	1	0.3	0.5	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1
	2	0.6	0.4	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
	3	0.6	0.3	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
4	1	0.3	0.4	0.3	0.3	0.2	0.1	0.1
	2	0.6	0.4	0.4	0.1	0.3	0.2	0.1
	3	0.6	0.3	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0
5	1	0.3	0.0	0.2	0.1	0.0	0.1	0.1
	2	0.6	0.5	0.5	0.2	0.3	0.0	0.2
	3	0.6	0.5	0.4	0.3	0.1	0.1	0.1

หมายเหตุ: ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (Refrigerating) ชุดการทดลองที่ 2 คือ การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (Biomass-freezing) ชุดการทดลองที่ 3 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ชุดการทดลองที่ 4 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C และชุดการทดลองที่ 5 คือ การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C

ตารางที่ 43 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของโปรตีน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของโรติเฟอร์ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	36.0±1.6	37.2±3.3	38.0±1.5	38.1±3.6	32.0±3.8	34.4±0.3	34.4±1.6
2	36.0±1.6	36.3±3.2	32.6±4.0	34.8±3.9	33.5±2.1	34.8±1.3	33.2±2.9
3	36.0±1.6	36.7±3.1	34.4±3.2	34.5±1.8	31.2±3.8	32.0±2.0	33.2±2.0
4	36.0±1.6	32.9±3.8	37.3±3.7	35.2±2.4	34.1±1.3	34.3±1.8	31.6±4.5
5	36.0±1.6	34.3±3.6	36.5±3.7	34.4±4.2	33.4±3.0	34.4±2.0	34.5±0.8

ตารางที่ 44 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคาร์โบไฮเดรต (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของโรติเฟอร์ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	12.0±1.9	12.0±1.8	12.3±1.7	11.7±0.8	11.6±1.2	11.5±0.4	11.6±1.4
2	12.0±1.9	12.1±0.4	11.7±0.7	11.2±0.8	11.8±0.5	11.2±0.4	11.2±0.6
3	12.0±1.9	12.3±1.7	11.8±1.4	11.9±1.9	11.6±1.1	12.2±1.8	12.1±1.0
4	12.0±1.9	11.3±1.4	11.0±1.7	11.6±1.6	11.7±1.5	11.6±1.6	11.5±2.0
5	12.0±1.9	12.0±2.1	11.6±2.0	11.4±1.8	11.6±1.5	11.7±1.9	11.7±2.1

ตารางที่ 45 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของไขมัน (% ต่อน้ำหนักแห้ง) ของโรติเฟอร์ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	17.0±1.6	14.7±2.4	14.5±1.7	14.1±2.4	14.4±1.3	13.0±2.2	13.1±2.5
2	17.0±1.6	16.5±0.7	15.5±0.3	14.8±0.4	14.8±1.5	13.9±1.1	13.4±0.5
3	17.0±1.6	16.4±1.2	15.7±1.6	14.0±1.6	13.0±2.2	12.6±2.8	11.9±2.3
4	17.0±1.6	15.0±2.4	15.8±1.9	14.3±0.9	13.8±0.8	13.0±0.7	13.2±0.4
5	17.0±1.6	15.1±1.0	14.7±1.7	13.8±1.1	13.0±1.0	13.1±0.5	12.4±0.6

ตารางที่ 46 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกรดไขมัน EPA (มิลลิกรัม/กรัม) ของโรติเฟอร์ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	1.4±0.2	1.3±0.1	1.1±0.2	1.1±0.1	0.9±0.1	0.8±0.2	0.8±0.2
2	1.4±0.2	1.4±0.5	1.3±0.1	1.0±0.1	0.9±0.2	0.7±0.1	0.8±0.1
3	1.4±0.2	1.3±0.2	1.2±0.3	0.9±0.2	0.9±0.1	0.9±0.2	0.8±0.1
4	1.4±0.2	1.3±0.3	1.1±0.1	0.9±0.1	0.9±0.0	0.9±0.0	0.7±0.0
5	1.4±0.2	1.3±0.1	1.1±0.1	1.0±0.0	1.0±0.1	0.9±0.1	0.9±0.0

ตารางที่ 47 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกรดไขมัน DHA (มิลลิกรัม/กรัม) ของโรติเฟอร์ที่วิธีการเก็บรักษาต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)						
	0	2	4	6	8	10	12
1	0.5±0.1	0.4±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0
2	0.5±0.1	0.4±0.3	0.3±0.1	0.2±0.2	0.0±0.1	0.0±0.0	0.1±0.1
3	0.5±0.1	0.4±0.1	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0
4	0.5±0.1	0.3±0.0	0.3±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0
5	0.5±0.1	0.3±0.2	0.3±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1	0.0±0.1	0.1±0.0

บทที่ 5 วิจารณ์ สรุป และข้อเสนอแนะ

วิจารณ์

การใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ต่อการเก็บรักษา *Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* spp.

การเก็บเกี่ยว *C. calcitrans* และ *Chlorella* spp. ด้วยวิธีการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm หลังจากนั้นใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ก่อนนำไปเก็บรักษา พบว่าการใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ไม่มีผลต่ออัตรารอดของเซลล์แพลงก์ตอนพืช เนื่องจากการเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C (biomass-freezing) โดยไม่เติมสารรักษาสภาพเซลล์ กับการเก็บรักษาโดยการเติมทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C อัตรารอดของ *C. calcitrans* และ *Chlorella* spp. ไม่มีความแตกต่างกัน โดยจะลดลงเหลือ 0% ตั้งแต่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 2 สัปดาห์เป็นต้นไป แต่การเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C (refrigerating) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 – 6 สัปดาห์ *C. calcitrans* และ *Chlorella* spp. จะมีอัตรารอดสูงกว่าการเก็บรักษาที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าการใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่ระดับความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% โดยปริมาตร ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่พบใน *C. calcitrans* และ *Chlorella* spp. ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ นอกจากนี้ การใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่ระดับความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% โดยปริมาตร ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันที่พบในแพลงก์ตอนพืชทั้งสองชนิดนี้ แต่ปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA ของ *C. calcitrans* ที่เก็บรักษาโดยใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่ระดับความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 2% จะมีปริมาณน้อยกว่าชุดการทดลองที่ไม่ใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่า ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ของโปรตีน และเยื่อหุ้มเซลล์จากการแช่เย็น การแช่แข็ง และการละลาย เนื่องจากทรีฮาโลสสามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์โดยการเข้าไปรวมกับฟอสโฟลิปิด โดยปกติเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่มีทรีฮาโลสเป็นส่วนประกอบ 20% โดยน้ำหนัก สามารถทนต่อการสูญเสียน้ำได้โดยสมบูรณ์ โดยทรีฮาโลสสามารถดึงโมเลกุลน้ำเข้าเป็นองค์ประกอบได้มากกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ ถึง 2 เท่า จึงทำให้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของไขมันภายในเซลล์ (Crowe *et al*., 1984)

การเก็บรักษาแพลงก์ตอนแบบปริมาณมากเพื่อใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำในยามขาดแคลนนั้นทำได้โดยการแช่เย็น (อุณหภูมิ 3 ถึง 4°C) และแช่แข็ง (อุณหภูมิ -18 ถึง -20°C) เพื่อรักษาให้มีคุณภาพดีตลอดการเก็บรักษา การศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บรักษาแพลงก์ตอนให้มีคุณภาพดี และมีการสูญเสีย

องค์ประกอบทางเคมีน้อยที่สุดด้วยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ก่อนนำไปแช่แข็ง หรือเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นธรรมดาก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถรักษาคุณภาพของเซลล์แพลงก์ตอนได้ แต่ต้องคำนึงถึงผลข้างเคียงของสารที่ใช้เก็บรักษาแพลงก์ตอนด้วย เนื่องจากสารแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ซึ่งอาจทำให้องค์ประกอบของโปรตีนเปลี่ยนโครงสร้างไป บางชนิดเป็นสารละลายเข้มข้นที่ช่วยให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้เร็ว บางชนิดมีคุณสมบัติทำให้เซลล์แพลงก์ตอนรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน เป็นต้น (ผุสดี, 2523; นิธิวดี, 2543; Linhart *et al*., 1993; Conlon *et al*., 1998)

สารรักษาสภาพเซลล์มีหลายชนิด ซึ่งประสิทธิภาพของสารรักษาสภาพเซลล์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับความสามารถในการป้องกันการเกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ของเซลล์ เช่น การเกิดเกล็ดน้ำแข็งภายในเซลล์ การเปลี่ยนแปลงขนาดของเซลล์ การเกิดความสมดุลของเกลือแร่ภายในเซลล์ และการเสียสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ขนาดแช่แข็ง เป็นต้น ซึ่งทรีฮาโลสเป็นหนึ่งในสารรักษาสภาพเซลล์ที่นิยมใช้ เนื่องจากทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์ โดยมีกลไกในการทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ขณะที่อยู่นอกเซลล์ (Linhart *et al*., 1993; Conlon *et al*., 1998)

การใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ต่อการเก็บรักษาโรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*)

จากผลการศึกษาการเก็บรักษาโรติเฟอร์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 – 12 สัปดาห์ พบว่า การเก็บรักษาโดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสเข้มข้น 1 - 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C สภาพเซลล์ของโรติเฟอร์อยู่ในระดับดี คือ สภาพเซลล์มีการเปลี่ยนแปลง หรือเซลล์แตก < 10% ส่วนการเก็บรักษาโดยการเติมทรีฮาโลสเข้มข้น 0.5% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 $^{\circ}$C พบว่า สภาพเซลล์ของโรติเฟอร์อยู่ในระดับน่าพอใจ คือ สภาพเซลล์มีการเปลี่ยนแปลง หรือเซลล์แตก < 50% ส่วนการเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C โดยไม่เติมสารรักษาสภาพเซลล์ พบว่า สภาพเซลล์ของโรติเฟอร์อยู่ในระดับไม่ดี ถึงแย่มาก คือ สภาพเซลล์มีการเปลี่ยนแปลง หรือเซลล์แตก > 50% และ >75% เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ตามลำดับ ดังนั้น การใช้ทรีฮาโลสที่ระดับ 1 – 2% โดยปริมาตรสามารถใช้รักษาสภาพเซลล์ของโรติเฟอร์ที่เก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C ได้นานถึง 12 สัปดาห์ และได้ดีกว่าการใช้ทรีฮาโลสที่ระดับ 0.5% โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน รวมไปถึงกรดไขมัน EPA และ DHA ของโรติเฟอร์ นอกจากนี้ การเก็บรักษาโรติเฟอร์ด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C โดยการใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่ระดับ 0.5 – 2% สามารถควบคุมปริมาณแบคที่เรียไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลง หรือเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาได้ดีกว่าการเก็บรักษาที่ความเย็น 4 $^{\circ}$C

ทรีฮาโลสเป็นหนึ่งในสารรักษาสภาพเซลล์ที่นิยมใช้ เนื่องจากทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์ โดยมีกลไกในการทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ขณะที่อยู่นอกเซลล์ Conlon *et al*., (1998) รายงานไว้ว่า ประสิทธิภาพของสารรักษาสภาพเซลล์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับความสามารถในการป้องกันการเกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ เช่น การเกิดเกล็ดน้ำแข็งภายในเซลล์ การเปลี่ยนแปลงขนาดของเซลล์ การเกิดความสมดุลของเกลือแร่และอิเลคโทรไลท์ และการเสียสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์ ทั้งนี้เนื่องจากสารรักษาสภาพเซลล์แต่ละชนิดมีกลไกการทำงานในการป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ที่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น 2% กลูโคสมีประสิทธิภาพในการรักษาสภาพเซลล์น้อยกว่า 1% ทรีฮาโลสในการรักษาสภาพไข่ริ้นน้ำจืด (*Chironomus fuscipes*) เนื่องจากทรีฮาโลสเป็นกลุ่มของสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์ ส่วนกลูโคสเป็นกลุ่มของสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายในเซลล์ ซึ่งสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายในจำเป็นต้องซึมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์เพื่อทำหน้าที่ป้องกันอันตรายไม่ให้เกิดขึ้นขณะแช่แข็ง และละลาย ในขณะที่กลุ่มสารรักษาสภาพที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์จะทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ขณะที่อยู่นอกเซลล์ ซึ่งขณะแช่แข็งเยื่อหุ้มเซลล์จะเป็นส่วนที่ได้รับความเสียหายมากที่สุด ดังนั้น การใช้สารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์จึงมีประสิทธิภาพสูงกว่า (นิทัศน์, 2553) นอกจากนี้ ธีรเดช (2552) รายงานว่า ระดับความเข้มข้นของทีฮาโลสที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาไรแดง หนอนแดง และอาร์ทีเมียแช่แข็ง คือ 10, 15 และ 15% ของปริมาตรตามลำดับ ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้นาน 28 วัน โดยรูปร่างเสียสภาพไม่เกิน 30%

สรุป

1. การเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชที่ความเย็น 4 °C อัตรารอดของ *Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* spp. จะลดลงที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และอัตรารอดจะเป็น 0% ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 8 และ 12 สัปดาห์ ตามลำดับ ซึ่งการการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C โดยไม่ใช้ และใช้ทรีฮาโลสที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2% โดยปริมาตรเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ของการศึกษาครั้งนี้พบว่า การใช้ทรีฮาโลสที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2% โดยปริมาตร ไม่มีผลต่ออัตรารอดของเซลล์แพลงก์ตอนพืช โดยอัตรารอดของ *C. calcitrans* และ *Chlorella* spp. จะลดลงเหลือ 0% ตั้งแต่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 2 สัปดาห์เป็นต้นไป นอกจากนี้ การใช้ทรีฮาโลสที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2% โดยปริมาตร ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรีย ปริมาณโปรตีน ปริมาณคาร์โบไฮเดรต และปริมาณไขมันที่พบในแพลงก์ตอนพืชทั้งสองชนิดนี้ แต่จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA ของ *C. calcitrans* ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 สัปดาห์ขึ้นไป

2. การใช้ทรีฮาโลสเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ต่อการเก็บรักษาโรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*) ของการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า การใช้ทรีฮาโลสที่ระดับ 1% และ 2% โดยปริมาตร สามารถใช้รักษาสภาพเซลล์ของโรติเฟอร์ที่เก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C ได้นานถึง 12 สัปดาห์ และได้ดีกว่าการใช้ทรีฮาโลสที่ระดับ 0.5% โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรีย ปริมาณโปรตีน ปริมาณคาร์โบไฮเดรต และปริมาณไขมัน รวมไปถึงปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA ของโรติเฟอร์

ข้อเสนอแนะ

1. การตกตะกอนด้วยไคโตซานทำให้แพลงก์ตอนพืชจับตัวเป็นกลุ่ม และไม่กระจายตัวเมื่อนำมาเจือจาง ดังนั้น ถ้าจะนำไปใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำควรหาวิธีที่ทำให้แพลงก์ตอนพืชกระจายตัวก่อน หรือในการศึกษาครั้งต่อไปควรทดลองการตกตะกอนแพลงก์ตอนพืชแบบปริมาณมากด้วยสารตกตะกอนชนิดอื่น

2. ผลของการใช้แพลงก์ตอนพืชชนิด *Chaetoceros calcitrans* และ *Chlorella* spp. และแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดโรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*) โดยการเติมสารรักษาสภาพเซลล์ด้วยทรีฮาโลสที่ระดับความเข้มข้น 1 - 2% โดยปริมาตรก่อนนำไปเก็บที่ความเย็น -20 °C ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 – 12 สัปดาห์ ต่อการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนน่าจะเป็นประเด็นที่ควรทำการศึกษาในลำดับต่อไป ทั้งนี้ เพื่อเป็นการต่อยอดองค์ความรู้ และเพื่อการนำผลงานวิจัยมาใช้ประโยชน์ในแก้ไขปัญหาด้านการผลิตแพลงก์ตอนสำหรับการอนุบาลลูกสัตว์น้ำของเกษตรกรต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมประมง. 2556. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย. สืบค้นจาก http://www.fisheries.go.th (วันที่ 17 กรกฎาคม 2556)

เฉลิมชัย อยู่สำราญ และปรเมษฐ์ พลอยประดับ. 2546. การศึกษาผลของสารตกตะกอนต่อคีโตเซอรอส. หน้า 368-374. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 41 สาขาประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

โชคชัย เหลืองธุวปราณีต. 2548. หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์โฟร์เพซ, บริษัทก้าวใหม่ จำกัด, กรุงเทพฯ.

ธิดา เพชรมณี. 2543. อาหารลูกกุ้ง, หน้า 72 - 74. ใน เสวนาวิชาการเรื่อง “กุ้ง”. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธิดา เพชรมณี และมาวิทย์ อัศวอารีย์. 2538. การตกตะกอนคลอเรลลาน้ำเค็มเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 10/2538. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ธิดา เพชรมณี, มาวิทย์ อัศวอารีย์, ไพบูลย์ บุญลิปตานนท์ และไพทูรย์ อรรฆยานนท์. 2531. ความเป็นไปได้ในการใช้โรติเฟอร์ *Brachionus plicatilis* เป็นอาหารระยะแรกของลูกปลากะรัง *Epinephelus malabaricus*. เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2531. สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ธีรเดช ชูทอง. 2552. การใช้ทรีฮาโลสเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บรักษาอาหารธรรมชาติแช่แข็งเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิทัศน์ ทิพย์กองลาศ. 2553. การพัฒนาเทคนิคบางประการเพื่อการใช้ประโยชน์หนอนแดงระยะแรกฟักในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นิธิวดี ทุมวัน. 2543. ผลของวิธีการเก็บรักษาคีโตเซอรอสที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันอีพีเอ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประจวบ หลำอุบล. 2530. การเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ประจวบ หลำอุบล. 2543. อดีต-อนาคตกุ้งไทย. หน้า 1-66. ใน เสวนาวิชาการเรื่อง “กุ้ง”. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2544. ไคติน-ไคโตซาน. น. 9-10. ใน เรื่องน่ารู้ไคติน-ไคโตซาน. ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC), กรุงเทพฯ.

ผุสดี ศรีพยัตต์. 2523. การเลี้ยงและเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชที่อุณหภูมิต่ำ. รายงานวิชาการที่ สอ./22/9. สถานีวิจัยประมงทะเล, กองประมงทะเล, กรมประมง.

ผุสดี ศรีพยัตต์. 2525. การตกตะกอนแพลงก์ตอนพืช. รายงานวิชาการที่ สจ/25/8. สถานีวิจัยประมงทะเล, กองประมงทะเล, กรมประมง.

พลชาติ ผิวเณร, สมนึก คงทรัตน์, พนม กระจ่างพจน์ สอดศุข และศรีรัตน์ สอดศุข. 2553. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลายี่สกโดยวิธีแช่แข็ง. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 4 (1): 1-14.

ลัดดา วงรัตน์. 2541. แพลงก์ตอนสัตว์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลัดดา วงรัตน์. 2542. แพลงก์ตอนพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลัดดา วงรัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วาสนา อากรรัตน์ และวุฒิชัย อ่อนเอี่ยม. 2555. ผลของไดอะตอม *Thalassiosira* spp. ต่ออัตรารอดตายและพัฒนาการของลูกปูม้า (*Portunus pelagicus*) วัยอ่อนระยะซูเอี้ย 1 ถึง 4. วารสารแก่นเกษตร 40 (1): 61-68.

วุฒิชัย อ่อนเอี่ยม, วาสนา อาการรัตน์ และกนกพร เกษสุวรรณ์. 2553. การผลิตไดอะตอม *Thalassiosira* spp. ภายในห้องปฏิบัติการ และแบบปริมาณมากที่ระดับความเค็มต่างกันเพื่อใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์ทะเลวัยอ่อน. วารสารการประมง 63 (5): 422-427.

สถานีวิจัยประมงศรีราชา. 2546. โครงการพัฒนาศักยภาพการเพาะเลี้ยงและการแปรรูปสัตว์น้ำเศรษฐกิจแบบครบวงจร. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการโครงการวิจัยและถ่ายทอดงานวิจัยสู่ประชาชน. สถานีวิจัยประมงศรีราชา, ฝ่ายสนับสนุนวิชาการ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ส่วนเศรษฐกิจการประมง. 2555ก. สถานการณ์สินค้ากุ้งทะเลและผลิตภัณฑ์ ปี 2554 และแนวโน้มปี 2555. สืบค้นจาก http://fishco.fisheries.go.th/fisheconomic/ (วันที่ 15 มีนาคม 2555)

ส่วนเศรษฐกิจการประมง. 2555ข. สถานการณ์การผลิตและการค้าปลากะพง. สืบค้นจาก http://fishco.fisheries.go.th/fisheconomic/ (วันที่ 17 มีนาคม 2555)

สุคนธ์ทิพย์ เสือเฒ่า, สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, วิรัตน์ วาณิชย์ศรีรัตนา และประมุข ภระกูลสุขสถิต. 2554. สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตทรีฮาโลสโดย *Propionibacterium acidipropionici*. น. 182-192. ใน เรื่องเต็ม การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 49 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุนีย์ สุวภีพันธ์. 2532. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 11. สถานีวิจัยประมงทะเล, กองประมงทะเล, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สุพิศ ทองรอด และนิวัติ สุธีมีชัยกุล. 2526. การทดลองหาอัตราการกินโรติเฟอร์ของลูกปลากะพง. เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 8. สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดสตูล.

A.O.A.C. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.

APHA, AWWA and WPCF. 2009. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington.

Borowitzka, M.A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. Journal of Biotechnology 70: 313-321.

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

Conlon, J.M., K. Yano, N. Chartrel, H. Vaudry and K.B. Storey. 1998. Freeze tolerance in the wool frog *Rana sylvatica* is associated with unusual structural features in insulin but not in glucagon. Journal of Molecular Endocrinology 21: 153-159.

Crowe, J.H., L.M. Crowe and D. Chapman. 1984. Preservation of membrane in anhydrobiotic organisms: the role of trehalose. Science 223: 701-703.

Durand-Chastel, H. 1980. Production and use of *Spirulina* in Mexico, pp. 51-64. In: Shelef, G. and C.J. Socder (Eds.). Algae Biomass Production and Use. Elsevier/North Holl and Biomedical Press, Amsterdam.

FAO. 2007. Globefish Commodity Update : Crab. Fishery Industries Division, Viale delle Terme di Caracalla, Rome.

Golueke, C.G. and W.J. Oswald. 1965. Harvesting and processing sewage growth planktonic algae. Journal of Water Pollution Control Federation 37 (4): 471-498.

Heasman, M.P., T.M. Sushames, J.A. Diemat, W.A. O'Connor and L.A. Foulkes. 2001. Production of Micro-algal Concentrates for Aquaculture Part 2: Development and Evalution of Harvesting, Preservation, Storage and Feeding Technology. FRDC Project No. 93/123 & 96/342, NSW Fisheries Final Report Series NO. 37, Australia.

Kawaguchi, K. 1980. Microalgae production system in Asia, pp. 25-33. In: Shelef, G. and C.J. Socder (Eds.). Algae Biomass Production and Use. Elsevier /North Holland Biomedical Press, Amsterdam.

Kiatmetha, P., W. Siangdang, B. Bunnag, S. Senapin and B. Withyachumnarnkul. 2011. Enhancement of survival and metamorphosis rates of *Penaeus monodon* larvae

by feeding with the diatom *Thalassiosira weissflogii*. Aquaculture International 19: 599-609.

Lertsutthiwong, P., S. Sutti and S. Powtongsook. 2009. Optimization of chitosan flocculation for phytoplankton removal in shrimp culture ponds. Aquacultural Engineering 41: 188-193.

Linhart, O., R., Billard and J. P., Proteau. 1993. Cryopreservation of European catfish (*Silurus glanis* L.) spermatozoa. Aquaculture 115: 347-359.

Lubián, L.M. 1989. Concentrating cultured marine microalgae with chitosan. Aquacultural Engineering 8: 257-265.

Lubzens, E., A. Tandler and G. Minkoff. 1989. Rotifer as food in Aquaculture. Hydrobiologia. 186/187: 339-400.

Morales, J., J. de la Noüe and G. Picard. 1985. Harvesting marine microalgae species by chitosan flocculation. Aquacultural Engineering 4: 257-270.

Richmond, A. and E.W. Becker. 1986. Technological Aspects of Mass Cultivation a General Outine. pp. 245-264. In Richmond, A. (ed.). CRC Handbook of Microalgal Mass Culture. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.

Song, T. 1994. Feeding and nutrition. pp. 106-107. In Li, S. and Mathias, J. (eds.), Freshwater Fish Culture in China : Principles and Practice. Elsevier Science B.V., Amsterdam.

Spolaore, P., C. Joannis-Cassan, E. Duran and A. Isambert. 2006. Commercial Application of Microalgae. Journal Bioscience and Bioengineering 101 (2): 87-96.

Sukenik, A., D. Bilanovic and G. Shelef. 1988. Flocculation of microalgae in brackish and sea waters. Biomass 15: 187-199.

Tsukada, O., T. Kawahara and S. Miyachi. 1977. Mass culture of Chlorella in Asian countries, pp. 363-365. In: Mitsui, A., S. Miyachi, A. San Pietro and S. Tamura (Eds.). Biological Solar Energy Conversion. Academic Press, New York.