

ผลของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Tetraselmis gracilis* ในสภาวะ ความเค็มแตกต่างกันต่อปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในโรติเฟอร์

Effect of Cultivated Microalgae, *Tetraselmis gracilis* in Different Salinity on Total Carotenoids Content of Rotifer

อมรรัตน์ กนกรุ่ง^{1*}, เอกพจน์ ศรีฟ้า² และ วรางคณา สินทรัพย์¹

Amonrat Kanokrung^{1*}, Akeapot Srifa² and Warangkhan Sinsap¹

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อที่จะศึกษาการเจริญเติบโตของ *T. gracilis* ที่เลี้ยงในสภาวะความเค็มแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน ด้วยอาหารเหลวสูตร Guillard “f/2” อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง และไม่ให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า *T. gracilis* มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในสภาวะความเค็มที่ 40 ส่วนในพันส่วน รองลงมาคือ 30, 20 และ 10 ส่วนในพันส่วนตามลำดับ ($P>0.05$) ในส่วนของการศึกษาหาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมใน *T. gracilis* ซึ่งอยู่ในระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) พบว่ามีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสูงสุดในสภาวะความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน และพบว่ามีปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมต่ำสุดในสภาวะความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน ($P<0.05$) และจากการศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในโรติเฟอร์ ที่เลี้ยงด้วย *T. gracilis* ซึ่งมีการเจริญเติบโตในสภาวะความเค็มแตกต่างกัน พบว่าแคโรทีนอยด์รวมมีปริมาณสูงเมื่อเลี้ยง *T. gracilis* ซึ่งมีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีสภาวะความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน และพบต่ำสุดในโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วย *T. gracilis* ซึ่งมีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีสภาวะความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน ($P<0.05$) ผลจากการศึกษาครั้งนี้ทำให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อช่วยเพิ่มอัตราการรอดตายให้กับสัตว์น้ำวัยอ่อน

คำสำคัญ: แคโรทีนอยด์รวม, สาหร่ายขนาดเล็ก, ความเค็ม, เตตราเซลมิส และ การเจริญเติบโต

ABSTRACT: The objective of this research was to study the growth of *T. gracilis* which were cultured in 4 different salinity levels, including 10, 20, 30 and 40 ppt with Guillard “f/2” medium at 25°C under illuminant (12 h light: 12 h dark) of four fluorescent lights. *T. gracilis* were cultured in 15 days. It was found that the highest cell density of *T. gracilis* which was cultured with 40 ppt salinity, followed by 30, 20 and 10 ppt, respectively ($P>0.05$). Total carotenoids content was checked in the stationary phase of microalgae. The highest total carotenoids content was found in the condition of 30 ppt salinity but the lowest total carotenoids content was found in the condition of 40 ppt salinity ($P<0.05$). In addition, total carotenoids contents in rotifer fed with *T. gracilis* were also examined. The condition of 30 ppt salinity gave the highest total carotenoids content in rotifer whereas the 40 ppt salinity condition gave the lowest total carotenoids content in rotifer ($P<0.05$). The results of this study can be used in aquaculture to increase the survival rate of aquatic animal.

Keywords: total carotenoid, microalgae, salinity, *Tetraselmis* and growth

¹ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมืองชลบุรี จ. ชลบุรี

Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi, Thailand

² ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ. มหาสารคาม

Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantarawichai District, Maha Sarakham, Thailand

* Corresponding author: amonrat_buu.ac.th

บทนำ

แพลงก์ตอนพืชหรือสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติประโยชน์มากมายของสาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้ ทั้งในส่วนของกาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางด้านสุขภาพ สาหร่ายขนาดเล็กได้รับการยอมรับกันว่าเป็นแหล่งธรรมชาติที่สามารถสร้างแคโรทีนอยด์ จึงได้รับความนิยมนำมาใช้ทางด้านสุขภาพกันมากขึ้น (Gong and Bassi, 2016) สาหร่าย *Tetraselmis* เป็นสาหร่ายขนาดเล็กชนิดหนึ่งซึ่งได้รับความสนใจนำมาใช้ประโยชน์ทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั้งนี้อาจเป็นไปได้ในส่วนของเซลล์ที่มีขนาดเล็กจึงนิยมนำมาทำการเพาะเลี้ยงกัน อีกทั้งสาหร่ายขนาดเล็กนับว่าเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถสร้างหรือผลิตรงควัตถุแคโรทีนอยด์ได้ด้วยกระบวนการภายในเซลล์ของสาหร่าย (Raposo et al, 2015) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) เป็นรงควัตถุสารสีที่มีสีเหลืองและสีแดง แคโรทีนอยด์แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแคโรทีน (carotenes) ซึ่งมีสีส้มเป็นกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่ไม่มีออกซิเจนในโครงสร้าง ตัวอย่างเช่น เบตา - แคโรทีน (beta-carotene) แคโรทีนอยด์อีกกลุ่ม คือ แซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) ซึ่งเป็นกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีออกซิเจนในโครงสร้าง ตัวอย่างเช่น ลูทีน (lutein) และ ฟูโคแซนทีน (fucoxanthin) เป็นต้น สาหร่ายขนาดเล็กมีหน้าที่และบทบาทที่สำคัญในระบบนิเวศน์และสิ่งมีชีวิตในน้ำ เนื่องจากเป็นผู้ผลิตเบื้องต้นหรือผู้ผลิตหลัก (primary producers) โดยอาศัยพลังงานจากแสงหรือพลังงานจากแหล่งอื่นเพื่อผลิตสารอาหารให้เกิดขึ้นด้วยตนเองได้และมีการเก็บสะสมภายในเซลล์ของสาหร่ายเอง (ลัดดา, 2542)

ความเค็มที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อให้ได้ความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างแคโรทีนอยด์ เมื่อสาหร่ายมีการสร้างสารอาหารกลุ่มแคโรทีนอยด์จะส่งต่อไปที่ผู้บริโภคลำดับถัดไปนั่นคือกลุ่มของแพลงก์ตอนสัตว์นั่นเอง โรติเฟอร์เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (อมรรัตน์ และคณะ, 2560) โรติเฟอร์จึงเป็นผู้บริโภคในลำดับต้นของห่วงโซ่อาหารในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำก่อนถึงผู้บริโภค

ลำดับถัดไปนั่นก็คือลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนที่ต้องบริโภคแพลงก์ตอนสัตว์เป็นอาหารเพื่อช่วยในกระบวนการพัฒนาทางด้านการเจริญเติบโต โรติเฟอร์เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้ทั้งในน้ำเค็มและน้ำจืด (ลัดดา, 2543) อีกทั้งโรติเฟอร์นับว่าเป็นผู้บริโภคลำดับต้นหรือลำดับแรกของห่วงโซ่อาหารโดยจะบริโภคสาหร่ายขนาดเล็กเป็นอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของโรติเฟอร์ (Reitan et al, 1997) โรติเฟอร์เป็นผู้รับถ่ายทอดสารอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กโดยตรง ด้วยเหตุนี้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กจึงควรมีการศึกษาหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสร้างสารอาหารในเซลล์ของสาหร่าย เพื่อทำการส่งต่อมาให้โรติเฟอร์ก่อนที่จะถูกนำมาเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนการในกระบวนการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำความเค็มเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตและกระบวนการสร้างสารอาหารของสาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้ทั้งนี้รวมถึงการสร้างแคโรทีนอยด์ให้เกิดขึ้นภายในเซลล์ของสาหร่าย (Gifuentes et al, 1996) ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* ภายใต้สภาวะความเค็มที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโต การสร้างแคโรทีนอยด์รวม และ ปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายที่ *T. gracilis* ซึ่งมีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีสภาวะความเค็มแตกต่างกัน เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

วิธีการศึกษา

ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก *Tetraselmis gracilis*

ปรับความเค็มน้ำทะเลที่จะทำการเลี้ยงสาหร่ายให้ได้ในระดับความเค็ม 10, 20, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน ระดับความเป็นกรด - เบส เริ่มต้นที่ 7.8 ใส่ในขวดแก้วเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เตรียมไว้ ปิดฝาขวดแก้วเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยล้าและหุ้มด้วยพลาสติกใส จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ (autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว หรือที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ในการทดลองแต่ละชุดทดลองจะมีจำนวนขวดทดลอง 3 ขวด ทำการเติมอาหารเหลว Guillard "f/2" (Guillard, 1975) ลงไปในขวดแก้วเพาะเลี้ยงสาหร่ายตามอัตราส่วน

คือ ในปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำทะเล 1,000 มิลลิลิตร แล้วเติมหัวเชื้อของสาหร่าย *T. gracilis* โดยที่กำหนดความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นที่ 10×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง ไม่ให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง และความเข้มแสงที่ 3500 – 4000 ลักซ์ (ลัดดา, 2543) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *T. gracilis* เป็นระยะเวลา 15 วัน เก็บตัวอย่างเซลล์สาหร่ายทุกวันเพื่อนับความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายด้วยสไลด์ Haemocytometer จนสิ้นสุดการทดลอง

การเตรียมสาหร่าย *T. gracilis* เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวม

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *T. gracilis* ด้วยอาหารเหลวสูตร Guillard's "f/2" ซึ่งเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็มที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน ให้มีการเจริญเติบโตของสาหร่ายอยู่ในระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) หลังจากนั้นจึงทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตของสาหร่ายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมความเย็น (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ก่อนทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายใส่ในถุงเก็บตัวอย่างนั้นต้องทำการล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนประมาณ 3 - 4 ครั้ง เพื่อให้น้ำกลั่นทำการชะล้างส่วนของเกลือที่ตกค้างในสาหร่ายออกจากตัวอย่างสาหร่าย หลังจากนั้นจึงนำเอาตัวอย่างสาหร่ายที่ได้เก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -40°C เพื่อบริการวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวม

เลี้ยงโรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*) ด้วยสาหร่าย *T. gracilis* ซึ่งมีเจริญเติบโตในอาหารเหลวที่มีความเค็มแตกต่างกัน 4 ระดับ

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *T. gracilis* ในสภาวะความเค็มที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน โดยมีความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายเริ่มต้นที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงที่ 10×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้มีการเจริญเติบโตในระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) หลังจากนั้นจึงนำมาทำการทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ ในการทดลองได้ทำการเลี้ยงโรติเฟอร์โดยมีความหนาแน่นของโรติเฟอร์เริ่มต้นที่ 100 ตัวต่อมิลลิลิตร ส่วนสาหร่าย *T. gracilis* ที่ใช้

เป็นอาหารของโรติเฟอร์ให้มีความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ 50×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เลี้ยงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตโรติเฟอร์ด้วยกระชอนผ้าไนลอนขนาดตาถี่ 50 ไมครอน ก่อนที่จะทำการเก็บตัวอย่างโรติเฟอร์ใส่ในถุงเก็บตัวอย่างนั้นจะทำการล้างตัวอย่างโรติเฟอร์ด้วยน้ำกลั่นก่อนแล้วจึงทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -40°C เพื่อบริการวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (Saini and Keum, 2018)

วิเคราะห์หาแคโรทีนอยด์รวม (Total carotenoid) ในสาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* และ แพลงก์ตอนสัตว์โรติเฟอร์ *B. rotundiformis*

ซึ่งตัวอย่างสาหร่าย *T. gracilis* และโรติเฟอร์ที่เตรียมไว้ประมาณ 3-5 กรัม ใส่ลงไปในโถงหรือที่บดตัวอย่างทำการบดตัวอย่างให้ละเอียด หลังจากนั้นจึงทำการสกัดตัวอย่างโดยใช้สาร acetone ในปริมาณ 20 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างแล้วทำการคนตัวอย่างให้เข้ากันดีด้วยแท่งแก้วคนสารเมื่อสารละลายกับตัวอย่างเข้าเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว จึงนำตัวอย่างไปใส่ในเครื่อง Ultrasonic เป็นเวลา 10 นาที ก่อนที่จะทำการนำตัวอย่างไปทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 2500 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 15 นาที ทำการดูดตัวอย่างสารละลายส่วนที่มีสีด้านบนเก็บใส่ในขวดเก็บตัวอย่างแบบทึบแสง และทำการเติมสาร acetone ใส่ลงไปในหลอด centrifuge นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge และทำการดูดสารละลายส่วนบนที่มีสีเก็บใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง ทำเช่นนี้หลายครั้ง จนกว่าน้ำตัวอย่างจะใส แล้วจึงนำเอาตัวอย่างที่ได้ไปทำการแยกเอาน้ำออกจากตัวอย่างด้วย Na_2SO_4 และทำการวัดด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometry ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ทำการบันทึกผลที่ได้แล้วจึงนำไปคำนวณหาปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมของสารสกัด คำนวณค่าความเข้มข้นแคโรทีนอยด์ตามกฎของ Lambert-Beer law ($E1\text{cm } 2500, \text{acetone}$, Saini and Keum, 2018)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบความแตกต่างการเจริญเติบโต ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม ของสาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* และปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในโรติเฟอร์

ที่ทำการเลี้ยงสาหร่าย *T. gracilis* ซึ่งมีการเจริญเติบโตในสภาวะความเค็มที่แตกต่างกัน ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ผลทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วยโปรแกรม IBMS SPSS statistic version 20 และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลทางสถิติโดยวิธี Duncan's New Multiple test (วิภูษิต, 2548)

ผลการศึกษา

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็มที่แตกต่างกัน 4 ระดับ ด้วยอาหารเหลวสูตร Guillard "f/2" เป็นระยะเวลา 15 วัน เมื่อสิ้นสุดการศึกษาพบว่า สาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน รองลงมาคือความเค็ม 30, 20, 10 ส่วนในพันส่วน ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ย

ของความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายคือ 164×10^4 , 146.61×10^4 , 136.59×10^4 และ 135.07×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งในการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *T. gracilis* พบว่าสาหร่ายที่ทำการเลี้ยงด้วยสภาวะความเค็ม 10, 20 และ 30 ส่วนในพันส่วน มีการเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) พร้อมกันเมื่อสาหร่ายมีอายุ 5 วัน แต่ในส่วนของการเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน พบว่าเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่เมื่อสาหร่ายมีอายุ 6 วัน ในส่วนของการศึกษาการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็มที่แตกต่างกันพบว่าสาหร่าย *T. gracilis* ที่เลี้ยงด้วยสภาวะความเค็ม 10 ส่วนในพันส่วน มีการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันดีกว่าระดับความเค็ม 20, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน ตามลำดับ (0.45, 0.42, 0.41 และ 0.40 ต่อวัน ตามลำดับ), (Figure 1)

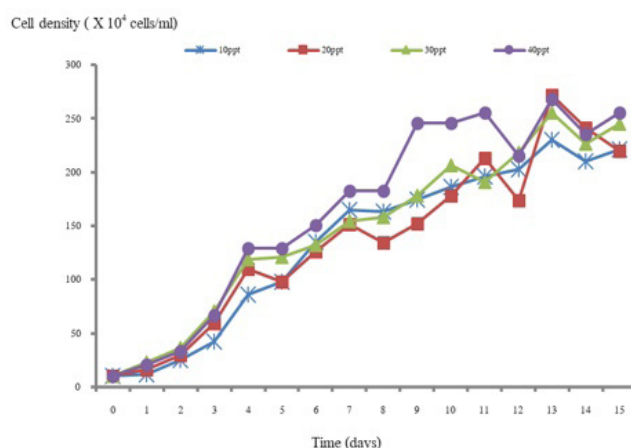


Figure 1 Growth curves for microalgae, *T. gracilis* in Guillard's "f/2" medium with different levels of salinity.

จากการศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในสาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็มที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน มีระยะการเจริญเติบโตในระหว่างการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) ของแต่ละระดับความเค็ม พบว่ามีปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมในสาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* สูงสุดอยู่ที่ระดับความเค็มที่ 30 ส่วนในพันส่วน คือ 4345.53 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเปียก รองลงมาคือระดับความเค็มที่ 20, 10 และ 40 ส่วนในพันส่วน คือ 4177.78, 2552.85

และ 2480.94 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเปียก ตามลำดับ (Figure 2) และในการศึกษาปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมในแพลงก์ตอนสัตว์ไรติเฟอรัส *B. rotundiformis* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* ระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) ซึ่งมีการเจริญเติบโตในสภาวะความเค็มที่แตกต่างกัน พบว่า มีปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมในไรติเฟอรัสสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วย *T. gracilis* ซึ่งมีการเจริญเติบโตภายใต้สภาวะความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน คือ 286.76 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเปียก รองลงมาคือโร

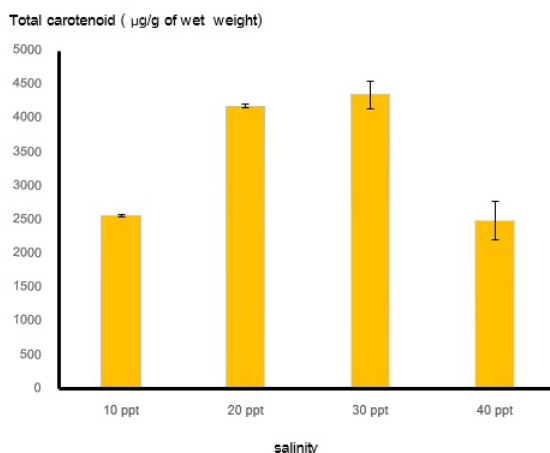


Figure 2 Total carotenoid content in microalgae, *T. gracilis* grown in different levels of salinity.

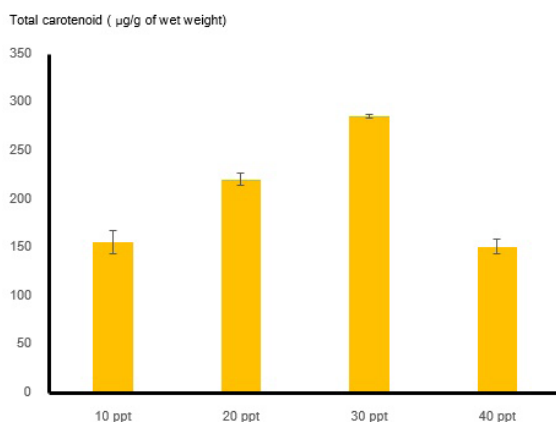


Figure 3 Total carotenoid content in rotifer, *B. rotundiformis* fed with microalgae, *T. gracilis* grown in different levels of salinity.

ติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* ซึ่งมีการเจริญเติบโตในสภาวะความเค็มที่ 20, 10 และ 40 ส่วนในพันส่วน ตามลำดับ (221.43, 156.15 และ 151.96 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเปียก ตามลำดับ, Figure 3)

วิจารณ์

สาหร่าย *T. gracilis* มีการเจริญเติบโตภายใต้สภาวะความเค็มที่แตกต่างกัน คือ 10, 20, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน *T. gracilis* เป็นสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก (marine microalgae) ที่มีบทบาทและความสำคัญอย่างมากต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เนื่องจากเป็นอาหารมีชีวิตที่ใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนในระยะแรกก่อนมีการพัฒนาลำพอกแม่พันธุ์ อีกทั้งอาหารมีชีวิตจะไม่ส่งผลเสียต่อระบบน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงหรืออนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนเมื่อเทียบกับการใช้อาหารเลี้ยงสัตว์น้ำที่เป็นอาหารสดและอาหารสำเร็จรูป (Kumar et al, 2008) จากการศึกษพบว่า สาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* เจริญเติบโตได้ในสภาวะน้ำทะเลที่มีความเค็มในช่วงกว้าง แต่มีการพัฒนาการเจริญเติบโตทางด้านความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายสูงขึ้นตามระดับความสูงของน้ำทะเล ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่าย *T. gracilis* พบว่ามีค่าการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ที่

ใกล้เคียงกัน คือ 0.45, 0.42, 0.41 และ 0.40 ต่อวัน ตามลำดับของความเค็มที่ใช้ในการศึกษา สำหรับ *T. gracilis* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน มีการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันที่ต่ำกว่า สำหรับ *T. gracilis* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม 10, 20 และ 30 ส่วนในพันส่วน ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยของ Rao et al (2007) ที่ได้ทำการศึกษามวลของความเค็มต่อองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มสีเขียว *Botryococcus braunii* เป็นการศึกษาที่เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กชนิดนี้ในช่วงความเค็มที่กว้างตั้งแต่ 17 mM ถึง 85 mM NaCl และสาหร่ายที่มีการผลิตชีวมวลมากที่สุดเมื่อทำการเลี้ยงในสภาวะความเค็มที่สูง ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มสีเขียวมีความสามารถในการปรับตัวเข้ากับสภาวะการเปลี่ยนแปลงของความเค็มได้ในของความเค็มที่กว้างและสาหร่ายกลุ่มสีเขียวนี้มีความสามารถในการปรับตัวเพื่อพัฒนาการเจริญเติบโตได้ในทุกช่วงความเค็ม *T. gracilis* เป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่อยู่ในกลุ่มของสาหร่ายสีเขียว (green algae) ซึ่งมีคุณสมบัติในการปรับตัวให้สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงความเค็มกว้าง (D'ors et al, 2016) ทั้งนี้อาจเนื่องจากสาหร่าย *Tetraselmis* เป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถพบได้ในบริเวณชายฝั่งเช่นเดียวกับสาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มไดอะตอม (diatom) ซึ่งบริเวณชายฝั่งจะมีการเปลี่ยนแปลงของช่วงความเค็มที่แตกต่างกันมาก ความเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กอย่างมาก อย่างเช่นในช่วงของสภาวะความเค็มที่ลดต่ำลงจะส่งผลต่อความหนาแน่นเซลล์ของเซลล์สาหร่ายที่จะมีความหนาแน่นของเซลล์ลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเค็มต่ำ เช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าเมื่อเลี้ยงในสภาวะความเค็ม 10 ส่วนในพันส่วน มีความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายลดต่ำกว่าความเค็ม 20, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน

จากการศึกษาปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมในสาหร่าย *T. gracilis* ในระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็มแตกต่างกัน พบว่าสาหร่าย *T. gracilis* มีปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วยสภาวะความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน คล้ายคลึงกับการศึกษาของ Gifuentes et al (1996) ที่ได้ทำการศึกษาผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตและการ

สร้างแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายขนาดเล็ก *Dunaliella salina* จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *D. salina*, CONC-006 และ CONC-007 ภายใต้สภาวะความเค็มที่แตกต่างกัน (5-30 % NaCl) โดยพบว่าสาหร่าย *D. salina*, CONC-007 เมื่อเลี้ยงด้วยสภาวะความเค็มที่สูงระดับหนึ่ง จะมีการสร้างแคโรทีนอยด์ได้สูงกว่าการเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะความเค็มที่ต่ำ และการศึกษาของ Borowitzka et al (1990) มีการศึกษาผลของการเพิ่มระดับความเค็มให้สูงขึ้นเพื่อเลี้ยงสาหร่าย *D. salina* ต่อการสร้างและสะสมแคโรทีนอยด์ พบว่าความเค็มที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลต่อการสร้างและสะสมแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์ของสาหร่ายเอง แต่เมื่อทำการศึกษาเพิ่มระดับความเค็มในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสูงมากเกินไปจะส่งผลทำให้สาหร่ายสามารถที่จะสร้างและสะสมแคโรทีนอยด์ได้ลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ที่ทำการเลี้ยงสาหร่าย *T. gracilis* ในสภาวะความเค็มที่ 40 ส่วนในพันส่วน พบว่าปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมลดลง ทั้งนี้เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กชนิดนี้มีการเจริญเติบโตทางด้านความหนาแน่นของเซลล์สูงในความเค็มสูง จึงทำให้กระบวนการสร้างและสะสมแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์ลดลง (Gifuentes et al, 1996)

จากการศึกษาปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมในโรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*) ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. gracilis* ในระยะการเจริญเติบโตคงที่ที่มีการเจริญเติบโตในสภาวะความเค็มที่แตกต่างกัน 4 ระดับ พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสูงสุดในโรติเฟอร์ที่ทำการเลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. gracilis* ที่มีการเจริญเติบโตในสภาวะความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน โรติเฟอร์ไม่สามารถสร้างแคโรทีนอยด์ได้ด้วยตนเอง ต้องอาศัยจากการกินอาหารเข้าไปเท่านั้น สาหร่ายขนาดเล็กเป็นอาหารที่สำคัญในการเลี้ยงโรติเฟอร์ จึงมีความสำคัญมาก (Yagi et al, 2001) ในการศึกษาสาหร่าย *T. gracilis* มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสูงเมื่อเลี้ยงในสภาวะความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน และเมื่อทำการเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วยสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตในสภาวะความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน จึงทำให้ปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมที่พบในโรติเฟอร์มีปริมาณสูงตามไปด้วย สาหร่ายขนาดเล็กเป็นผู้ผลิตเบื้องต้นมีการส่งต่อให้ผู้บริโภคลำดับต้นนั้นคือโรติเฟอร์ก่อนที่จะส่งต่อคุณค่าทางอาหารเหล่านี้ถึงผู้บริโภคลำดับถัดไปหรือกลุ่มของสัตว์น้ำ

แคโรทีนอยด์มีบทบาทสำคัญต่อสัตว์น้ำวัยอ่อนเพื่อช่วยในการสร้างความแข็งแรงต่อต้านการเกิดโรคในสัตว์น้ำ (Yagi, 2001) และโรติเฟอร์จะเป็นตัวนำพาสารอาหารเหล่านี้สู่สัตว์น้ำได้เป็นอย่างดี (Spolaore et al, 2006) คล้ายคลึงกับการศึกษาของ Perez-Legaspi et al (2018) ได้ทำการศึกษารูปแบบการประกอบทางด้านชีวเคมีของโรติเฟอร์ *B. plicatilis* ซึ่งเลี้ยงด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิด คือ *Nannochloropsis oculata*, *D. salina* และ *Isochrysis* sp. พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กทั้งสามชนิดมีผลต่อการเพิ่มปริมาณขององค์ประกอบทางด้านชีวเคมี (โปรตีน, ไขมัน, คาร์โบไฮเดรต, คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์) ในโรติเฟอร์ แคโรทีนอยด์นอกจากจะมีบทบาทที่สำคัญต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแล้ว ในปัจจุบันยังมีความสำคัญต่อการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านของการผลิตเวชภัณฑ์ (Raposo et al, 2015) เช่น ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เวชสำอาง จึงนับได้ว่าเป็นการพัฒนาการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็กไปสู่การใช้ประโยชน์อย่างสูงสุด

สรุป

จากการศึกษาทำให้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมของความเค็มต่อการผลิตแคโรทีนอยด์รวมในสาหร่ายขนาดเล็ก *T. gracilis* ภายใต้สภาวะความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน และการถ่ายทอดสารอาหารแคโรทีนอยด์ส่งต่อไปยังแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดโรติเฟอร์ (*B. rotundiformis*) ก่อนที่จะนำไปเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนเพื่อเพิ่มอัตราการรอดให้กับสัตว์น้ำสำหรับเกษตรกรหรือผู้ประกอบการทางด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและควรมีการศึกษาปริมาณของแคโรทีนอยด์รวมที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายขนาดเล็กชนิดอื่น และการใช้สาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิดรวมกันเพื่อเพิ่มศักยภาพในการสร้างแคโรทีนอยด์รวมของโรติเฟอร์เพื่อประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหรือการนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านอื่นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. แพลงก์ตอนพืช. ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. แพลงก์ตอนสัตว์. ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิภูษิต มั่นทะวิจิตร. 2548. ระเบียบวิธีการวิจัยทางวาริชศาสตร์. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. ISBN: 9741332246.

อมรรัตน์ กนกรุ่ง, รวีวรรณ วัฒนดิถ, ศิริวรรณ ชูศรี และ ทิพย์พร นามกร. 2560. ผลของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด *Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella salina*, *Nannochloropsis oculata* และ *Isochrysis galbana*. แก่นเกษตร ฉบับพิเศษ 1. 45: 852-858.

Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J. and Kessly, D. 1990. Effects of salinity increase on carotenoid accumulation in the green algae *Dunaliella salina*. Journal of Applied Phycology. 2:111-119.

Cifuentes, A.S., Gonzalez, M.A. and Parra, O.O. 1996. The effect of salinity on the growth and carotenogenesis in two Chilean strains of *Dunaliella salina* Teodoresco. Biol. Res. 29: 227-236.

D'ors, A., Bartolome', M.C. and Sa'nchez-Fortu'n. 2016. Repercussions of salinity changes and osmotic stress in marine phytoplankton species. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 175: 169-175.

Gong, M. and Bassi, A. 2016. Carotenoids from microalgae: A review of recent developments. Biotechnology Advances. 34: 1396-1412.

Guillard, R.R.L. 1975. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrate. In, W.L. Smith & M.H. Chanley (eds.). Culture of marine invertebrate animals. New York: Plenum Press. 29-60.

- Kumar, D., Marimuthu, K., Haniffa, M.A. and Sethuramalingam, T.A. 2008. Effect of different live feed on growth and survival of striped murrel *Channa striatus* larvae. Journal of fisheries & Aquatic sciences. 2: 105-110.
- Pérez-Legaspi, I.A., Guzmán-Fermán, B.M., Moha-León, J.V., Ortega-Clemente, L. and Valadez-Rocha, V. 2018. Effects of the biochemical composition of three microalgae on the life history of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Alvarado strain): an assessment. International journal of limnology. 54:20.
- Raitan, K.I., Rainuzzo, J.R., Øie, G. and Olsen, Y. 1997. A review of algae in marine fish larvae. Aquaculture. 155: 207-221.
- Rao, A.R., Dayananda, C., Sarada, R., Shamala, T.R. and Ravishankar, G.A. 2007. Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. Bioresource Technology. 98: 560-564.
- Raposo, M.F.D.J., Morais, A.M.M.B.D. and Morais, R.M.S.C.D. 2015. Carotenoids from marine microalgae: A valuable natural source for the prevention of chronic diseases. Mar. Drugs. 13: 5128-5155. ISSN 1660-3397.
- Saini, R.K. and Keum, Y-S. 2018. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. Food Chemistry. 240: 90-130.
- Spolaore, P., Claire, J-C., Duran, E. and Isambert, A. 2006. Review: Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering. 101: 87-96.
- Yagi, M., Tachibana, K., Mishima, T., Hara, K. and Tsuchimoto, M. 2001. Effects of feeding of carotenoids supplement rotifer on splenocyte proliferation reaction of red sea bream larvae (*Pagrus major*) and tiger puffer (*Takifugu rubripes*). Suisanzoshoku. 49: 501-505.