ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

ปริญญา

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง อิทธิพลของปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen, 1905)

Effect of Carbondioxide Content on Growth of *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen, 1905)

นามผู้วิจัย นายนิรันดร์ ชูสวน

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....

(อาจารย์สุนทราภรณ์ ลิ่มสกุล, วท.ม.)

กรรมการ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุนันท์ ภัทรจินดา, วท.ม.)

กรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์เชษฐพงษ์ เมฆสัมพันธ์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ศาสตราจารย์อุทัยรัตน์ ณ นคร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

อิทธิพลของปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen, 1905)

Effect of Carbondioxide Content on Growth of *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen, 1905)

โดย

นายนิรันดร์ ชูสวน

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)
พ.ศ. 2552

นิรันดร์ ชูสวน 2552: อิทธิพลของปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen, 1905) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ประธานกรรมการที่ปรึกษา: อาจารย์สุนทราภรณ์ ลิ่มสกุล, วท.ม. 115 หน้า

การทดลองเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ คือ อากาศธรรมดา(กลุ่มควบคุม), 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้สภาวะควบคุม อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ช่วงมืดและช่วงสว่างเท่ากับ 12:12 ชั่วโมง ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ อัตราไหลของก๊าซ 0.5 ลิตรต่อนาที เลี้ยงในสูตรอาหารคอนเวย์ พบว่า การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมที่สุด *C. calcitrans* มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (0.49±0.01 ต่อวัน) เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (1.42± 0.02 วัน) ใช้เวลาน้อยที่สุด ทำให้มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในระยะ exponential phase (3.68±0.35 x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และ stationary phase (9.69±0.32 x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) มากกว่ากลุ่มควบคุมทั้งระยะ exponential phase (2.58±0.20 x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และ stationary phase (7.07±0.69 x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต กรดไขมันอีพีเอ และดีเอชเอ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังนั้น การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง จึงเหมาะสมในการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ขณะที่การทดลองเลี้ยง *C. calcitrans* ที่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล ปริมาตร 200 ลิตร ใช้สูตรอาหาร Sato and Serikawa อัตราการไหลของก๊าซ 2.5 ลิตรต่อนาที แสงได้รับจากดวงอาทิตย์ พบว่าระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมเช่นเดียวกับการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด 0.58±0.03 ต่อวัน เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 1.20±0.07 วัน ความหนาแน่นเซลล์ในระยะ exponential phase มีจำนวนเซลล์ 1.05±1.01 x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มากกว่ากลุ่มควบคุม(0.783±0.70 x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า กรดไขมันอีพีเอ และดีเอชเอ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 และ 9 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังนั้น การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง เหมาะสมในการเลี้ยงในระดับมหมวล เช่นเดียวกับการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Nirun Choosuan 2009: Effect of Carbondioxide Content on Growth of *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen, 1905). Master of Science (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture. Thesis Advisor: Ms. Suntraporn Limsakoon, M.S. 115 pages.

This experiment cultured *Chaetoceros calcitrans* with supplemented air (control), 2, 5 and 10 % CO_2 under laboratory conditions at room temperature 25 ^{o}C, light intensity 3,000 lux, 12-12 hrs of light-dark period, air flow rate 0.5 L/min and Conway medium. The resulting optimum CO_2 concentration was 2 %. The growth rate of *C. calcitrans* was 0.49±0.01 per day and doubling time was 1.42± 0.02 day. Cell density was 3.68±0.35 x10^6 cells/ml in exponential phase and 9.69±0.32 x10^6 cells/ml in stationary phase more than control in exponential phase (2.58±0.20 x10^6 cells/ml) and stationary phase (7.07±0.69 x10^6 cells/ml) were significantly different ($P<0.05$). Protein, total lipid, carbohydrate, EPA and DHA content among treatments were not significantly different ($P>0.05$). CO_2 concentration of 2 % supplemented 6 and 12 hrs for cultivation of *C. calcitrans* were not significantly different ($P>0.05$). The conclusion of this study showed that CO_2 concentration of 2 % supplemented for 6 hrs might be appropriate for cultivation of *C. calcitrans* in the laboratory. While experiment cultured *C. calcitrans* with many supplemented CO_2 concentration for mass cultivation. *C. calcitrans* was grown in Sato and Serikawa medium of 200 liter volume under conditions of air flow rate 2.5 L/min and light form the sun. The resulting optimum CO_2 concentration was 2 % for mass cultivation. The growth rate of *C. calcitrans* was 0.58±0.03 per day and doubling time was 1.20±0.07 day. Cell density was 1.05±1.01 x10^6 cells/ml more than control (0.783±0.70 x10^6 cells/ml) were significantly different ($P<0.05$) in exponential phase. Protein, total lipid, carbohydrate, ash, EPA and DHA content among treatments were not significantly different ($P>0.05$). CO_2 concentration of 2 % supplemented 6 and 9 hrs for mass cultivation of *C. calcitrans* were not significantly different ($P>0.05$). The conclusion of this study showed that CO_2 concentration of 2 % supplemented for 6 hrs might be appropriate for mass cultivation of *C. calcitrans* in accord with cultivation of *C. calcitrans* in the laboratory.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์สุนทราภรณ์ ลิ่มสกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุนันท์ ภัทรจินดา กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก และรองศาสตราจารย์เชษฐพงษ์ เมฆสัมพันธ์ กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ส่งศรี มหาสวัสดิ์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.จุฑา มุกดาสนิท ที่ให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์กรดไขมัน ขอขอบคุณ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง และศูนย์พัฒนาเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ใช้สถานที่และเครื่องมือต่าง ๆ ในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ เพื่อน ๆ และพี่น้อง ชาวคณะประมง ที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจข้าพเจ้าจนวิทยานิพนธ์ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่มอบเงินทุนสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และสมาชิกในครอบครัวของข้าพเจ้าทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ ชี้แนะและสนับสนุนข้าพเจ้าตลอดมา

นิรันดร์ ชูสวน

พฤษภาคม 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ (1)
สารบัญตาราง (2)
สารบัญภาพ (5)
คำนำ 1
วัตถุประสงค์ 3
การตรวจเอกสาร 4
อุปกรณ์และวิธีการ 19
อุปกรณ์ 19
วิธีการ 20
ผลและวิจารณ์ 29
สรุปและข้อเสนอแนะ 81
สรุป 81
ข้อเสนอแนะ 85
เอกสารและสิ่งอ้างอิง 86
ภาคผนวก 92
ภาคผนวก ก สูตรอาหารและสารเคมี 93
ภาคผนวก ข วิธีนับจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนและวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำ 96
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมี 101
ภาคผนวก ง อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* 109
ภาคผนวจ จ ต้นทุนค่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการใช้เลี้ยง *C. calcitrans* 112
ประวัติการศึกษาและการทำงาน 115

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตในเซลล์ *Chaetoceros* sp.	8
2	ปริมาณกรดไขมันอีพีเอและดีเอชเอในเซลล์ *Chaetoceros* sp.	8
3	องค์ประกอบของก๊าซในอากาศ	14
4	ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัม/ลิตร) ที่มีความเค็มและอุณหภูมิระดับต่าง ๆ ที่ 1 ความดันบรรยากาศ	15
5	ปริมาณ *Chaetoceros calcitrans* ในระยะ exponential phase และ stationary phase ที่เลี้ยงเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	32
6	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ของ *Chaetoceros calcitran*s ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	34
7	ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros calcitran*s ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	35
8	ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	37
9	ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ในระยะต่าง ๆ ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	39
10	ปริมาณ *Chaetoceros calcitrans* ในระยะ exponential phase และ stationary phase ที่เลี้ยงเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	46
11	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ของ *Chaetoceros calcitran*s ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	47
12	ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros calcitran*s ที่เสริมก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	48

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ*Chaetoceros calcitran*s ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ใน ห้องปฏิบัติการ	50
14	ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ในระยะต่าง ๆ ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	52
15	ปริมาณ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล	61
16	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ของ *Chaetoceros calcitran*s ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ใน ระดับมหมวล	62
17	ขนาดเซลล์ ของ *Chaetoceros calcitran*s ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล	63
18	ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล	64
19	ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล	65
20	ปริมาณ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล	71
21	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ของ *Chaetoceros calcitran*s ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล	72
22	ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros calcitran*s ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล	73

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

23 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล 74

24 ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล 75

ตารางผนวกที่

ค1 โปรแกรมอุณหภูมิของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟฟี่ที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างแพลงก์ตอน 108

ง1 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ (การทดลองที่ 1) 110

ง2 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ (การทดลองที่2) 110

ง3 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล (การทดลองที่ 3) 111

ง4 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล (การทดลองที่ 4) 111

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วงจรชีวิตของไดอะตอมกลุ่มเซนทริคไดอะตอม	6
2	รูปแบบลักษณะการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช	10
3	ภาพถ่ายเซลล์ *Chaetoceros calcitrans* จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า	20
4	การทดลองเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในห้องปฏิบัติการ	22
5	การทดลองเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในระดับมหมวล	24
6	การเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	30
7	ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	41
8	พีเอชในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	42
9	ปริมาณด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	42
10	การเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	44
11	ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	56
12	พีเอชในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	57

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
13	ปริมาณด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ	58
14	การเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล	59
15	ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล	67
16	พีเอชในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล	68
17	ปริมาณด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล	68
18	การเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล	70
19	ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล	78
20	พีเอชในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล	79
21	ปริมาณด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล	80

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
ข1	สไลด์นับเม็ดเลือด (haemacytometer)	98
ข2	ช่องในสไลด์นับเม็ดเลือดโดยมีเส้นขอบด้านละ 3 เส้น	98
ค1	แสดงกราฟค่าดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ 485 นาโนเมตร	103

อิทธิพลของปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen, 1905)

Effect of Carbondioxide Content on Growth of *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen, 1905)

คำนำ

Chaetoceros calcitrans เป็นแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มไดอะตอมที่นิยมใช้เป็นอาหารอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนหลายประเภท เช่น กุ้งทะเล หอยทะเล ปูทะเล โดยเฉพาะลูกกุ้งทะเลในระยะ Zoea และ Mysis ซึ่งประเทศไทยมีการเพาะอนุบาลลูกกุ้งทะเลจำนวนมาก เนื่องจากประเทศไทยมีการเลี้ยงกุ้งทะเลและส่งออกผลิตภัณฑ์จากกุ้งทะเลปริมาณมาก สร้างรายได้เข้าประเทศหลายหมื่นล้านบาทต่อปี ดังนั้น ความต้องการใช้ *C. calcitrans* ในการอนุบาลลูกกุ้งทะเลจึงมีเพิ่มมากขึ้นด้วย

การเพาะเลี้ยง *C. calcitrans* บางครั้งประสบปัญหา *C. calcitrans* เจริญเติบโตช้ามีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการในการอนุบาลสัตว์น้ำซึ่งเกิดได้หลายสาเหตุ เช่น ปัจจัยด้านธาตุอาหาร แสง อุณหภูมิ และคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยง เป็นต้น โดยเฉพาะปัจจัยด้านธาตุอาหาร คาร์บอนเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อแพลงก์ตอนพืช เนื่องจากคาร์บอนเป็นธาตุองค์ประกอบหลักในเซลล์แพลงก์ตอนพืชมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยแหล่งคาร์บอนส่วนใหญ่มาจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศที่ละลายในน้ำซึ่งมีปริมาณน้อย เนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศมีเพียง 0.03 เปอร์เซ็นต์ (Parker, 1992) ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำจึงน้อยด้วย

ในเชิงพานิชย์มีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เลี้ยงสาหร่ายสไปรูไลน่าและพรรณไม้น้ำได้ผลผลิตสูงกว่าปกติ ดังนั้น การเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปในน้ำเพื่อเพิ่มแหล่งคาร์บอนในน้ำทำให้ *C. calcitrans* มีแหล่งคาร์บอนมากขึ้นเพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthesis) ทำให้มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มสูงขึ้น ผลผลิตจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงเพิ่มสูงขึ้นซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้ในการเจริญเติบโต จึงเป็นแนวทางเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิต *C. calcitrans* ให้สูงขึ้น และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในช่วงฤดูฝนซึ่งมีแสงปริมาณน้อยโดยเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในช่วงวันที่มีแสงจะช่วยให้ *C. calcitrans* มีอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้น ดังนั้น การศึกษาระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเลี้ยง *C. calcitrans* น่าจะช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิต *C. calcitrans*

ให้สูงขึ้น ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่คาดว่าจะทำให้แก้ปัญหาการขาดแคลน *Chaetoceros calcitrans* ให้กับผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ นอกจากนี้การศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของ *C. calcitrans* ที่มีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นประเด็นที่สำคัญ เพื่อจะได้ทราบข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการ เป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปใช้พิจารณาเป็นอาหารอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในห้องปฏิบัติการและระดับมหมวล

2. เพื่อศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมในการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในห้องปฏิบัติการและระดับมหมวล

3. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในเซลล์ *C. calcitrans* ที่เลี้ยงในสภาวะที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ

การตรวจเอกสาร

1. ชีววิทยาของไดอะตอมสกุล *Chaetoceros*

ลักษณะทั่วไป *Chaetoceros* เป็นไดอะตอมเซลล์เดี่ยว ๆ หรือต่อกันเป็นสาย (chain) โดยการใช้ซีตี (setae) ของเซลล์ที่อยู่ติดกันเกี่ยวกัน เซลล์ประกอบด้วยฝา (valve) 2 ฝา ครอบกันพอดี เรียกว่า 1 ฟรัสตุล (frustule) 1 ฟรัสตุลประกอบด้วยฝาบนเรียกว่า เอพิทีคา (epitheca) และฝาล่าง เรียกว่า ไฮโพทีคา (hypotheca) รูปร่างเซลล์มองได้ 2 ด้าน คือ เซลล์จะมีรูปร่างเซลล์รูปไข่จนถึงกลม เมื่อมองจากด้านวาล์ว (valve view) และเมื่อมองด้านเกอเดิล (girdle view) เซลล์จะมีรูปร่างสี่เหลี่ยมที่มีขอบตรงเว้าหรือนูน เซลล์มีซีตี (setae) ลักษณะเป็นหนามยาวมุมละ 1 เส้น รวมทั้งหมด 4 เส้น (ลัดดา, 2542)

ผนังเซลล์ของไดอะตอมประกอบด้วย ผิวชั้นนอกเป็นสารพวกเพคตินที่มีซิลิกาฝังอยู่อย่างหนาแน่นเรียกว่า amorphous hydrate silica form ส่วนผิวชั้นในจะมีเยื่อ เรียกว่า silicalemma (Degens, 1976) รงควัตถุที่ใช้สังเคราะห์ด้วยแสงประกอบด้วย คลอโรฟิลล์คือ คลอโรฟิลล์เอ และซี ส่วนแคโรทีนอยด์คือ เบต้า-แคโรทีน ฟูโคแซนธิน ไดอะไดโนแซนธิน ไดอะโตแซนธิน และนีโอฟูโคแซนธิน (Strain *et al*., 1944) อาหารสะสมภายในเซลล์เป็นพวก คริโสลามินารินซึ่งเป็นส่วนประกอบของ เบต้า-1,3-กลูแคน บางส่วนเก็บในรูปของน้ำมัน (Trainor, 1978)

Chaetoceros calcitrans เป็นแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มไดอะตอมที่นิยมนำมาใช้เป็นอาหารอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยชนิดที่นิยมนำมาใช้อนุบาลลูกพันธุ์สัตว์น้ำคือ *Chaetoceros calcitrans* ซึ่งมีการจัดจำแนกหมวดหมู่ (classification) แพลงก์ตอนตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) และทางสรีรวิทยา (physiology) ตามเอกสารอ้างอิงจาก Cupp (1943); Hasle and Syvertsen (1997) เป็นดังนี้

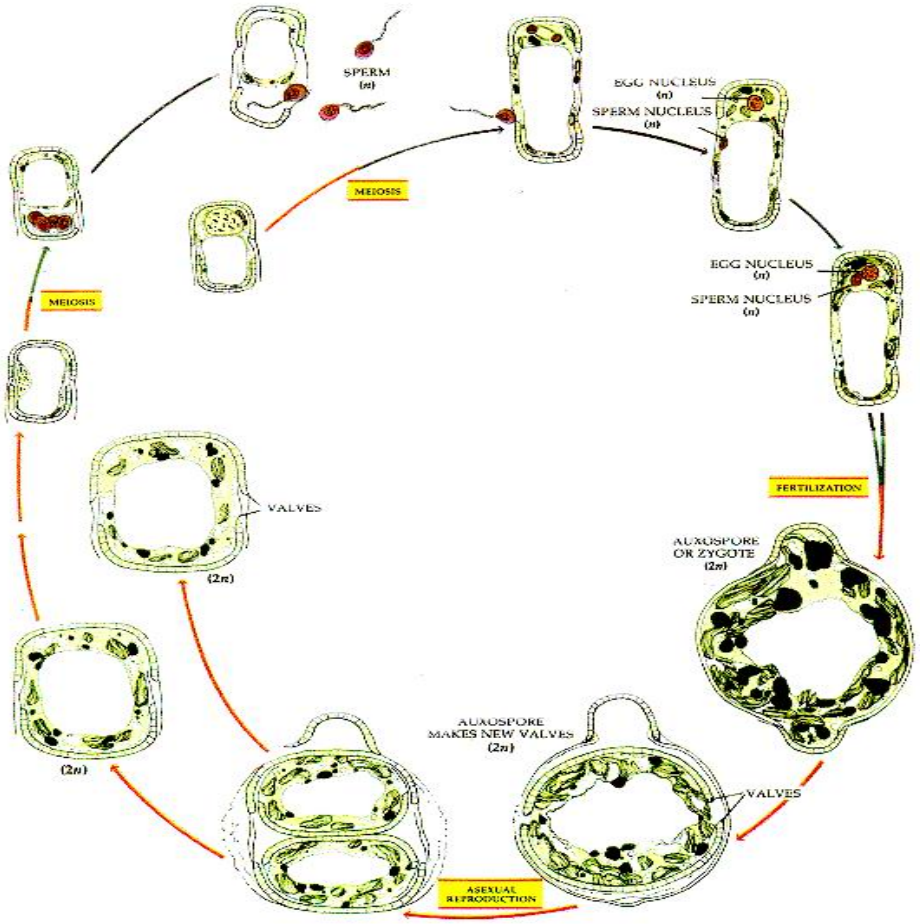
Division Chromophyta
Class Bacillariophycean
Order Biddulphiales
Family Chaetocerotaceae
Genus *Chaetoceros*
C. calcitrans

Chaetoceros calcitrans เป็นไดอะตอมเซลล์เดียว เซลล์มีซีตี (setae) ลักษณะเป็นเส้นมุมละ 1 เส้น รวมทั้งหมด 4 เส้น ซีตีตั้งต้นที่ยอดของฝา ความยาวซีตีเกือบเท่ากับแกนอะพิคัลหรือยาวมากกว่าเล็กน้อย แกนอะพิคัลและแกนเพอร์วาลวาร์เกือบเท่ากัน เซลล์ขนาดค่อนข้างเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ 4-5 ไมครอน ปริมาตรเซลล์ประมาณ 50 ลูกบาศก์ไมโครเมตร หรืออาจน้อยกว่านี้ เช่น 30 ลูกบาศก์ไมครอนเพราะขนาดจะเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อม (ลัดดา, 2542)

2. การสืบพันธุ์

การสืบพันธุ์ส่วนใหญ่ไดอะตอมสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเซลล์ในแนวขนานกึ่งกลางเซลล์ระหว่างฝาบนกับฝาล่าง โดยก่อนแบ่งเซลล์ เซลล์จะยืดขยายใหญ่ขึ้นเล็กน้อย นิวเคลียสแบ่งตัวแบบไมโตซิส เมื่อนิวเคลียสแบ่งตัวเสร็จ จะมีการสร้างฝาใหม่ 2 ฝา ในบริเวณฝาเดิม เซลล์แม่จะแบ่งโปรโตพลาสต์ออกเป็น 2 ส่วน ดังนั้นเซลล์ลูกจะประกอบด้วยโปรโตพลาสต์ของฝาใหม่ 1 ฝาและฝาเดิมของเซลล์แม่อีก 1 ฝา ระยะแรกฝาใหม่จะลอยอยู่ในเซลล์แม่ ต่อมาฝาใหม่จะหนาขึ้นและสร้างส่วนประกอบขึ้นใหม่ เหมือนเซลล์แม่ เมื่อเกิดการแบ่งเซลล์ทำให้ฝาบนมีฝาล่างที่สร้างใหม่ ส่วนฝาล่างเดิมของเซลล์แม่จะเป็นฝาบนแล้วสร้างฝาล่างใหม่ขึ้นมา ดังนั้น จะมีเซลล์ลูก 1 เซลล์ที่เล็กกว่าเซลล์แม่ (Hendey, 1964)

เนื่องจากการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศมีการแบ่งเซลล์ทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลงเรื่อย ๆ จนถึงจุด ๆ หนึ่งซึ่งขนาดเซลล์เล็กมาก ก็จะมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเพื่อสร้างออกโซสปอร์ (auxospore) ซึ่งมีขนาดใหญ่ โดยในเซนทริคไดอะตอม (centric diatom) การสืบพันธุ์เป็นแบบ Oogamy การสร้างเซลล์สืบพันธุ์โดยการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสโดยเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatogonia) มีหนวด 1 เส้นแบบ pantonematic จำนวน 4 เซลล์ แต่ไดอะตอมบางชนิดจะสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ 4-8 เซลล์ เช่น *Chaetoceros diadema* และ *Melosira varians* เป็นต้น ส่วนไข่จะมี 1 ฟองและมี 1 นิวเคลียส โดยนิวเคลียสอื่นจะสลายไปหลังการแบ่งเซลล์ เมื่อมีการรวมตัวของไข่และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ 1 เซลล์ จะได้ไซโกต และไซโกตจะพัฒนาต่อไปเป็นออกโซสปอร์ (auxospore) (French and Hargraves, 1985; Lee, 1980) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของไดอะตอมกลุ่มเซนทริคไดอะตอม

ที่มา: Raven *et al*. (1992)

3. องค์ประกอบทางชีวเคมีในแพลงก์ตอนพืช

แพลงก์ตอนพืชมีองค์ประกอบทางชีวเคมีหลักประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต โดยแพลงก์ตอนพืชต่างชนิดหรือชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์จะมีปริมาณองค์ประกอบทางชีวเคมีแตกต่างกัน (ตารางที่ 1 และ2)

3.1 คาร์โบไฮเดรต

แพลงก์ตอนพืชจะมีอาหารสะสมแป้งในรูปของเหลว โดยในกลุ่มไดอะตอมจะสะสมในรูป chrysolaminarin (ß 1-3 glucan) เพื่อใช้ประโยชน์ในช่วงที่ขาดแคลนธาตุอาหารและเป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์ นอกจาก chrysolaminarin (ß 1-3 glucan) ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่พบมากแล้ว ยังพบน้ำตาลแมนโนส นอกจากนี้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในกลุ่มไดอะตอม คือ น้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นชนิดที่พบมากที่สุด รองลงมาเป็นน้ำตาลกาแลกโตส ฟรุกโตส ไซโรส ไรโบสแรมโนส และอะราบิโนส ตามลำดับ (Brown, 1991)

3.2 โปรตีน

โปรตีนเป็นองค์ประกอบทางชีวเคมีที่สำคัญต่อแพลงก์ตอนพืช ใช้ในการเจริญเติบโต ซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอและการแบ่งเซลล์ แพลงก์ตอนพืชมีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบทุกชนิด เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชสามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นได้ คือ อาร์จินีน ฮีสติดีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน วาลีน ไลซีน เมทไธโอนีน ทริปโตเฟน ฟีนิลอะลานีน และทรีโอนีน และได้มีการศึกษากรดอะมิโนใน *Chaetoceros* sp. พบว่ากรดอะมิโนที่พบมาก คือ ลิวซีน อาร์จีนีน ฟีนิลอะ-ลานีน ไลซีน อะลานีน แอสพาแตส กลูตาเมท (Brown, 1991)

3.3 ไขมัน

แพลงก์ตอนพืชมีไขมันเป็นองค์ประกอบของเซลล์เมมเบรนและเป็นแหล่งพลังงานในกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยไขมันแบ่งเป็นไขมันชนิดมีขั้ว (polar) และชนิดไม่มีขั้ว (nonpolar) ไขมันชนิดไม่มีขั้วในแพลงก์ตอนพืชเป็นพวกไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ แวกซ์เอสเทอร์ ไฮโดรคาร์บอน และสเตอรอล ส่วนไขมันที่มีขั้วเป็นพวกฟอสโฟลิปิดและไกลโคลิปิด (Cohen, 1986) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lee และคณะ (1971) ได้ศึกษาองค์ประกอบไขมันในแพลงก์

ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม คือ *Lauderia borealis*, *Skeletonema costatum* และ *Chaetoceros calcitrans* มีองค์ประกอบของไขมันดังที่กล่าวมา ยกเว้น แวกซ์เอสเทอร์ที่ไม่พบในไดอะตอมทั้ง 3 ชนิด แต่ลักษณะเด่นในแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม คือมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid) ปริมาณสูง จากรายงานปริมาณกรดไขมันต่าง ๆ ในแพลงก์ตอนทะเลพบว่าแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มไดอะตอม คือ *Chaetoceros calcitrans*, *Skeletonema costatum* และ *Thalassionema pseudonana* มีปริมาณอีพีเอ 4.6-11 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันทั้งหมด (Volkman *et al.* 1989)

ตารางที่ 1 ปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตในเซลล์ *Chaetoceros* sp.

ชนิด	แหล่งที่มา	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)		
		โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต
C. calcitrans	West Boothbay Harbor, USA.	34	16	6
C. gracilis	West Boothbay Harbor, USA.	12	7.2	4.7

ที่มา: Brown (1991)

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดไขมันอีพีเอและดีเอชเอในเซลล์ *Chaetoceros* sp.

ชนิด	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันรวม)	
	EPA (Eicosapentaenoic acid)	DHA (Docosahexaenoic acid)
C. calcitrans	11.1	0.8
C. gracilis no.1	4.6	0.3
C. gracilis no.2	5.7	0.4

ที่มา: Volkman *et al*. (1989)

4. ลักษณะการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชเป็นการบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของการเลี้ยงได้ โดย Fogg (1975) ได้ศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงโดยเก็บเกี่ยวครั้งเดียว (batch culture) ซึ่งแบ่งลักษณะการเจริญเติบโตออกเป็น 5 ระยะ (ภาพที่ 2) ดังนี้

4.1 ระยะปรับตัว (Lag phase หรือ induction phase)

เป็นระยะที่แพลงก์ตอนพืชจะไม่มีการแบ่งเซลล์หรือการเจริญเติบโต เนื่องจากเป็นระยะที่เซลล์เริ่มปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ เช่น แสง อุณหภูมิ ธาตุอาหาร และปัจจัยแวดล้อม เป็นต้น ซึ่งถ้าเซลล์ไม่สามารถปรับตัวได้ก็จะตายลง การที่แพลงก์ตอนพืชใช้ระยะเวลาปรับตัวในระยะนี้ช้าหรือเร็วขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของอาหาร สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง และความแข็งแรงของเซลล์แพลงก์ตอนพืช ดังนั้น ถ้านำเซลล์แพลงก์ตอนพืชที่อยู่ในระยะเอกซ์โพแนนเชียลมาทำการถ่ายเทเชื้อใหม่ (subculture) จะทำให้ช่วงระยะเวลาในการปรับตัวเร็วขึ้นเนื่องจากเซลล์ในระยะนี้มีความแข็งแรง

4.2 ระยะเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential phase)

เป็นระยะที่แพลงก์ตอนพืชมีการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วซึ่งระยะนี้จะนานเท่าใดขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหาร ปัจจัยสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง ช่วงแสงสว่าง ผลผลิตภายนอกเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช รวมทั้งชนิดของแพลงก์ตอนพืชชนิดนั้น ๆ ด้วย ลักษณะการเจริญเติบโตในระยะนี้เป็นแบบที่รวดเร็วในระยะแรกและจะค่อย ๆ ช้าลงตามลำดับ

4.3 ระยะเฉื่อย (Phase of declining relative growth)

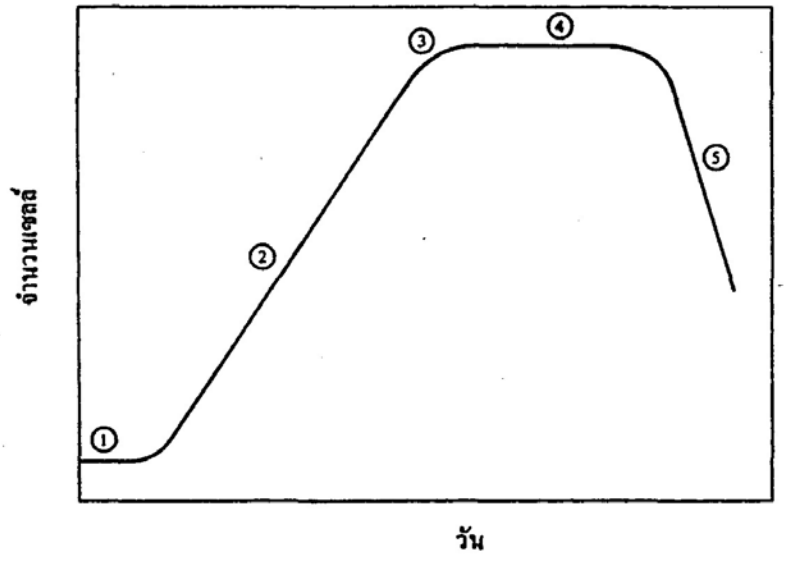
เป็นช่วงระยะที่เซลล์แพลงก์ตอนพืชมีการเจริญเติบโตช้าลง เนื่องจากธาตุอาหารต่าง ๆ ลดน้อยลง ปริมาณเซลล์หนาแน่นเกิดการบังแสง การเสียสมดุลของ pH เพราะเกิดแอมโมเนียขึ้นมาก ปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ล้วนเป็นสาเหตุที่ทำให้การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชช้าลง

4.4 ระยะคงที่ (Stationary phase)

เป็นระยะที่อัตราการแบ่งเซลล์และอัตราการตายใกล้เคียงกัน แพลงก์ตอนพืชส่วนใหญ่ชะลอการเจริญเติบโตเนื่องจากธาตุอาหารที่ลดน้อยลงและการเกิดสารพิษจากกระบวนการเมแทบอลิซึม ของเซลล์เพิ่มมากขึ้น

4.5 ระยะตาย (Death phase)

เป็นระยะที่เซลล์แพลงก์ตอนพืชส่วนใหญ่ชะลอการเจริญเติบโต แพลงก์ตอนมีอัตราการตายมากกว่าอัตราการแบ่งเซลล์เนื่องจากธาตุอาหารหมดลง อายุเซลล์มากขึ้น และปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ เซลล์จะเริ่มตายเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และรวดเร็วขึ้นโดยเซลล์แพลงก์ตอนมีการปลดปล่อยสารอินทรีย์ต่าง ๆ ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ



ภาพที่ 2 รูปแบบลักษณะการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

ที่มา: Fogg (1975)

5. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

5.1 แสง (light)

เป็นพลังงานที่สำคัญมากซึ่งเป็นปัจจัยเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงของแพลงก์ตอนพืช แหล่งที่มาของแสงอาจได้จากธรรมชาติหรือแสงไฟฟ้า โดยการใช้หลอดฟลูออเรสเซนส์ดีกว่าใช้หลอดไฟธรรมดา เนื่องจากว่าอุณหภูมิจากแสงประเภทอื่นสูงกว่าแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ (ลัดดา, 2540)

แสงที่แพลงก์ตอนพืชใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงคือแสงในช่วงที่ตาเรามองเห็น (visible light) มีความยาวคลื่นอยู่ระหว่าง 400-700 นาโนเมตรซึ่งประกอบด้วยแสงสีต่าง ๆ คือ ม่วง คราม น้ำเงิน เขียว เหลือง แสด แดง แสงเหล่านี้มีความยาวคลื่นแตกต่างกัน (ขนิษฐา, 2532) โดยแพลงก์ตอนพืชมีรงควัตถุใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงแบ่งตามการทำงานออกเป็น 2 กลุ่มคือ รงควัตถุระบบที่1 (Photosystem I) และรงควัตถุระบบที่2 (Photosystem II) โดยระบบ Photosystem I ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์เอ รูปพิเศษ (P700) และคาโรทีนอยด์ รงควัตถุในระบบนี้จะดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นที่ความยาวคลื่นมากกว่า 680 นาโนเมตรได้ดี โดยสามารถดูดกลืนแสงได้ดีทั้งในช่วงคลื่นสั้น คือแสงสีม่วง และน้ำเงิน และช่วงคลื่นยาวได้แก่ สีแดงที่ความยาวคลื่นมากกว่า 680 นาโนเมตร ส่วนระบบ Photosystem II ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์เอ รูปพิเศษ (P684) คลอโรฟิลล์ บี,ซี,ดีและรงควัตถุอื่น ๆ รงควัตถุในระบบนี้จะดูดกลืนช่วงคลื่นที่สั้นกว่า 680 นาโนเมตร สามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงคลื่นสั้น คือ แสงสีม่วง และช่วงคลื่นยาว คือแสงสีแดงที่มีความยาวคลื่นสั้นกว่า 680 นาโนเมตร (Morris, 1980)

ความเข้มแสงที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ด้วยแสงพบว่า แพลงก์ตอนพืชส่วนใหญ่จะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในที่มีความเข้มโฟตอนฟลักซ์ประมาณ 200 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที (10,000 ลักซ์) และที่ความเข้มโฟตอนฟลักซ์มากกว่า 500 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที (25,000 ลักซ์) สามารถทำลายเซลล์หรือเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์ด้วยแสง (Photoinhibition) จากการรายงานของ Falkowski (1980) พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงไว้ที่มีความเข้มแสงสูงเกินไปจะทำให้การสะสมปริมาณคลอโรฟิลล์ในเซลล์น้อย เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของกลูตามีน (glutamine) ต่อกลูตาเมต (glutamate) มีผลทำให้การสังเคราะห์ ATP ลดลง ดังนั้นความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 50-150 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที (2,500-7,500 ลักซ์) (Brand, 1990)

ช่วงเวลาให้แสงสว่างเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ พบว่า การให้แสงสว่างช่วงเวลาหนึ่งและหยุดให้แสงให้ผลการเลี้ยงดีกว่าการให้แสงติดต่อกันตลอดเวลา สอดคล้องกับรายงานของ Yamaguchi (1992) ได้ทำการเลี้ยง *Gymnodinium nagasakiense* ในห้องทดลองที่ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน โดยจะปิดไฟที่เวลา 18.00 นาฬิกา พบว่าเซลล์มีการแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้นตามลำดับหลังปิดไฟจนกระทั่งเลยเวลา 08.00 นาฬิกา พบว่าไม่มีการแบ่งเซลล์ สำหรับในช่วงเวลา 24.00-06.00 นาฬิกา เซลล์มีอัตราการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นมากสุด โดยการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชช่วงแสงที่นิยมใช้คือ ให้แสง 12 ชั่วโมงและหยุดให้แสง 12 ชั่วโมง

5.2 อุณหภูมิ (temperature)

มีผลโดยตรงกับประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช ความทนทานต่ออุณหภูมิของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน จากการศึกษาของ Mortensen *et al.* (1988) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่ทำให้ *Chaetoceros gracilis* มีอัตราการเติบโตสูงสุดอยู่ในช่วง 30-32 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิลดลงหรือเพิ่มขึ้น อัตราการเติบโตจะลดลง ส่วนเพ็ญแข (2539) รายงานว่าการเพาะเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ที่ 22 องศาเซลเซียส มีอัตราการผลิต EPA มากกว่าที่อุณหภูมิอื่น ส่วนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส *C. calcitrans* มีการเจริญเติบโตดี เซลล์มีน้ำหนักแห้งต่อลิตรมากที่สุดแต่มีปริมาณ EPA ลดลง ขณะที่การศึกษาของ Renaud *et al*. (2002) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros* sp. อยู่ในช่วง 27-30 องศาเซลเซียส มีสัมประสิทธิ์การเจริญเติบโตสูงสุด 0.87 ต่อวัน

5.3 พีเอช (pH)

แพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะพีเอชที่แตกต่างกัน โดยค่าพีเอช ของสารละลายอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช มีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของแพลงก์ตอนพืชและยังมีผลต่อการละลายของเกลือ สารประกอบโลหะ และสารประกอบเชิงซ้อนชนิดต่าง ๆ ในสารละลาย คือถ้าพีเอชเพิ่มขึ้นสูงจะเป็นสาเหตุให้สารประกอบโลหะหรือสารละลายของเกลือบางชนิดเกิดตกตะกอน ดังนั้นแพลงก์ตอนพืชไม่สามารถใช้ประโยชน์ต่อสารอาหารเหล่านั้นได้ โดยค่าพีเอชจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณไบคาร์บอเนต แต่จะมีความสัมพันธ์ผกผันกับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (Shirota, 1966)

โดยทั่วไปแพลงก์ตอนพืชส่วนใหญ่จะเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นด่าง เพ็ญแข (2539) ได้ทดลองเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับพีเอช 5-9 พบว่าที่พีเอช 5 *C. calcitrans* ไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ เนื่องจากน้ำมีสภาพเป็นกรด ส่วนที่พีเอช 6 อัตราการเติบโตและการผลิต EPA ลดลงอย่างมาก และที่พีเอช 9 *C. calcitrans* สามารถเจริญเติบโตได้ดีและมีปริมาณ EPA สูง

5.4 ความเค็ม (salinity)

เป็นอีกปัจจัยที่สำคัญแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงระดับความเค็มที่แตกต่างกัน บางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงความเค็มที่เปลี่ยนแปลงมาก แต่จะมีระดับความเค็มหนึ่งที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช โดยทั่วไประดับความเค็มในการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชน้ำเค็มประมาณ 25-30 psu.

5.5 ธาตุอาหาร (nutrient)

การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชนั้นขึ้นกับอาหารที่ใช้เลี้ยง ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงจะแตกต่างกันตามชนิดของแพลงก์ตอนพืช ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มธาตุอาหารหลัก (Macronutrient) เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และแคลเซียม เป็นต้น โดยธาตุอาหารเหล่านี้จะเป็นองค์ประกอบโครงสร้างของแพลงก์ตอนพืช ดังนั้นจึงต้องใช้ปริมาณค่อนข้างมาก ส่วนธาตุอาหารรอง (Micronutrient) เช่น เหล็ก โบรอน แมงกานีส ทองแดง สังกะสี ซิลิกา และวิตามิน แพลงก์ตอนพืชจะใช้ธาตุอาหารรองน้อย โดยทำหน้าที่เป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและเป็นส่วนประกอบโมเลกุลของเอนไซม์ที่สำคัญบางชนิด

6. ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

อากาศประกอบด้วยก๊าซต่าง ๆ หลายชนิด (ตารางที่3) โดยที่ก๊าซไนโตรเจนมีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ ก๊าซออกซิเจน ส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีปริมาณเป็นอันดับสี่ คือ 0.03 เปอร์เซ็นต์ (Parker, 1992)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของก๊าซในอากาศ

องค์ประกอบของก๊าซ	โดยปริมาตร	ปริมาณ (ppm)
ไนโตรเจน	78.08	780,840.00
ออกซิเจน	20.95	209,500.00
อาร์กอน	0.93	9,300.00
คาร์บอนไดออกไซด์	0.0345	345.00
นีออน	0.0018	18.00
มีเทน	0.00014	1.40
คริปตอน	0.00010	1.00
ไฮโดรเจน	0.00005	0.50
ซีนอน	0.000009	0.09
โอโซน	0.000002	0.02

ที่มา: Kemp (1990)

แพลงก์ตอนพืชสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำได้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยความสามารถของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำขึ้นกับอุณหภูมิ และความเค็มของน้ำ (ตารางที่ 4) การละลายน้ำได้ของคาร์บอนไดออกไซด์จะลดลงเมื่อความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้นซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับอุณหภูมิคือเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำจะลดลง

ตารางที่ 4 ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัม/ลิตร) ที่มีความเค็มและอุณหภูมิระดับต่าง ๆ ที่ 1 ความดันบรรยากาศ

อุณหภูมิ	ความเค็ม (กรัมต่อลิตร)								
(º C)	0	5	10	15	20	25	30	35	40
0	1.09	1.06	1.03	1.00	0.98	0.95	0.93	0.90	0.88
5	0.89	0.87	0.85	0.83	0.81	0.79	0.77	0.75	0.73
10	0.75	0.73	0.71	0.69	0.68	0.66	0.64	0.63	0.61
15	0.63	0.62	0.60	0.59	0.57	0.56	0.54	0.53	0.52
20	0.54	0.53	0.51	0.50	0.49	0.48	0.47	0.46	0.45
25	0.46	0.45	0.44	0.43	0.42	0.41	0.41	0.40	0.39
30	0.40	0.39	0.39	0.38	0.37	0.36	0.35	0.35	0.34
35	0.35	0.35	0.34	0.33	0.33	0.32	0.31	0.31	0.30
40	0.31	0.30	0.30	0.29	0.29	0.28	0.28	0.27	0.27

ที่มา: Boyd (1990)

คาร์บอนไดออกไซด์ละลายน้ำได้ดี แต่ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศมีน้อย (0.03 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรทั้งหมด) ดังนั้นปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำจึงมีปริมาณ น้อยด้วย เมื่อคาร์บอนไดออกไซด์ละลายในน้ำจะอยู่ในรูปของสารละลายมากกว่า 99 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายทำปฏิกิริยากับน้ำอยู่ในรูปกรดคาร์บอนิกและสามารถแตกตัวต่อไปเป็นไบคาร์บอเนตอิออนซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับได้ ดังสมการที่1

$$\underset{\text{dissolved}}{CO_2 + H_2O} \longleftrightarrow \underset{\text{solution}}{H_2CO_3} \longleftrightarrow \underset{\text{solution}}{H^+ + HCO^-_3} \qquad (1)$$

จากสมการที่ 1 สามารถเขียนสมการย่อยของปฏิกิริยาดังนี้

$$CO_2\,(g) \longleftrightarrow CO_2(aq) \qquad (2)$$

$$CO_2(aq) + H_2O \longleftrightarrow H_2CO_3 \qquad (3)$$

$$H_2CO_3 \longleftrightarrow H^+ + HCO^-_3 \qquad (4)$$

$$HCO^-_3 \longleftrightarrow CO_3^{2-} + H^+ \qquad (5)$$

ปฏิกิริยาในสมการที่ 2 และ 4 จะเกิดขึ้นเร็วมากใช้เวลาเพียง10^{-3}และ10^{-5}วินาที ตามลำดับ ขณะที่ปฏิกิริยาในสมการที่ 3 จะเกิดช้ามาก (มนุวดี, 2532) ปฏิกิริยาในสมการที่ 3 สามารถเกิดขึ้นได้โดยอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น เอนไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรส (Carbonic anhydrase) สามารถพบในแพลงก์ตอนพืช สาหร่ายน้ำจืดและน้ำเค็ม ได้แก่ Cyanophyta, Rhodophyta, Cryptophyta, Chromophyta Euglenophyta และ Chlorophyta (Bowes, 1969) เซลล์สาหร่ายสามารถดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ และนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรงในปฏิกิริยา Calvin's cycle ช่วงขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอ็นไซม์ ribulose 1,5 biphosphate carboxylase ส่วนกลไกการใช้ไบคาร์บอเนตนั้นอาศัยกระบวนการ active transport (Miller และ Colman, 1980) โดยจะอยู่ร่วมกันเป็นโมเลกุลด้วยเอ็นไซม์ Carbonic anhydrase ซึ่งอยู่ที่ผิวเซลล์ (Tsuzuki, 1983)

7. การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

งานค้นคว้าและวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชมีหลายงานวิจัยที่น่าสนใจ ซึ่งได้ศึกษาการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในแต่ละชนิดที่แตกต่างกันไปดังต่อไปนี้

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์กับความเข้มแสงต่าง ๆ Markl (1977) รายงานว่าในการเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ที่ระดับแสง 22.6 (3,627 ลักซ์), 26.7 (4,285 ลักซ์), 50.3 (8,072 ลักซ์) และ 81 (13,000 ลักซ์) วัตต์ต่อตารางเมตรและความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ที่สร้างจากเครื่องหมัก (Fermentor) พบว่าความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ระดับหนึ่ง ๆ ความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นจะเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจนถึงจุดอิ่มตัว จากนั้นจะค่อนข้างคงที่และที่ความเข้มแสงหนึ่ง ๆ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะเพิ่มตามความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์

นอกจากนี้มีการเปรียบเทียบการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับการใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชโดย Goldman *et al*. (1981) ได้ทดลองเลี้ยงไดอะตอมน้ำเค็ม *Phaeodactylum tricornutum* และแพลงก์ตอนพืชน้ำจืดอีกหลายชนิด พบว่าแพลงก์ตอนพืชสามารถใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีโดยมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นจนถึงสภาวะที่แสงจำกัดโดยไม่มีการตกตะกอนของเกลือต่าง ๆ เหมือนการใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน เพราะเมื่อเกิดการตกตะกอนของเกลือต่าง ๆ แพลงก์ตอนพืชไม่สามารถใช้ประโยชน์จากธาตุอาหารเหล่านั้นได้ นอกจากนี้พบว่าฟองก๊าซที่มีขนาดเล็กมี

ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอนินทรีย์คาร์บอนไปเป็นเซลล์คาร์บอนสูงกว่าฟองก๊าซขนาดใหญ่เพราะฟองก๊าซที่มีขนาดเล็กสามารถละลายน้ำได้สูงแพลงก์ตอนพืชสามารถใช้ประโยชน์จากอนินทรีย์คาร์บอนได้ และที่อัตราไหลของก๊าซที่สูงพบว่าการเจริญของแพลงก์ตอนถูกจำกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ เนื่องจากพีเอชลดต่ำลงมาก

Kodama *et al.* (1993) ได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์แพลงก์ตอนพืชเพื่อกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากโรงงานอุตสาหกรรม พบว่า *Chlorococcum littorale* ซึ่งแยกจากบ่อน้ำเค็มสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะน้ำเป็นกรดโดยให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 20 และไม่มีการปรับพีเอช ที่น้ำความเค็ม 15 psu และได้ศึกษาเพิ่มเติมหาความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชชนิดนี้ โดยทดลองที่ความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5, 20, 40 และ60 เปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมให้อากาศธรรมดา โดยใช้เวลาเลี้ยง 20 วัน พบว่าในสภาวะที่มีความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 และ 20 เปอร์เซ็นต์ *C. littorale* สามารถโตได้ดีกว่าในระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อื่น ๆ ในสภาวะความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 40 เปอร์เซ็นต์ และในสภาวะให้อากาศธรรมดาแพลงก์ตอนมีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน และที่ระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 60 เปอร์เซ็นต์ แพลงก์ตอนมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำมากจากสภาวะของน้ำที่เป็นกรด

Miyairi (1995) ได้ทดลองเลี้ยงแพลงก์ตอน *Synechococcus elongatus* ที่ความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ คือ 0.04, 0.3, 5 และ 60 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ นั้น *S. elongatus* มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด

Watanabe and Saiki (1997) ได้ศึกษาการเลี้ยง *Chlorella sp.* ในปฏิกรณ์ชีวภาพแบบกรวยโดยทำจากท่อพีวีซีใส มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.6 เซนติเมตร ยาว 27 เมตรให้แสงด้วยหลอดฮาไลด์ ซึ่งมีกำลัง 400 วัตต์ ให้แสงช่วงมืดและสว่างอย่างละ 12 ชั่วโมงให้อากาศผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ ด้วยอัตราไหล 0.3 ลิตรต่อนาที ได้ผลผลิต 0.68 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตรต่อวัน และพบว่ามีคาร์บอนประกอบอยู่ในชีวมวล 46.1 เปอร์เซ็นต์

Ishida *et al*. (2000) ได้ศึกษาระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Thalassiosira weissflogii* H1 โดยทดลองระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ต่าง ๆ คือ 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมให้อากาศธรรมดา อัตรา

ให้ก๊าซ 5 มิลลิลิตรต่อนาที ที่ความเข้มแสง 50 μE/m^2/s (2,500 ลักซ์) อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและผลผลิตสูงสุดของกลุ่มควบคุม กลุ่มให้คาร์บอนไดออกไซด์ 5 และ10 เปอร์เซ็นต์ *Thalassiosira weissflogii* ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่กลุ่มให้คาร์บอนไดออกไซด์ 20 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและผลผลิตลดลง ส่วนระดับ EPA (Eicosapentaenoic acid) ในเซลล์ *T. weissflogii* ที่เลี้ยงระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสูงสุดคือ 0.76 pg/cell (dry weight) ส่วน DHA (Docosahexaenoic acid) ในเซลล์ *T. weissflogii* ไม่มีความแตกต่างกันทุกกลุ่มการทดลอง และปริมาณ Polysaccharide ในเซลล์ *T. weissflogii* ที่เลี้ยงโดยให้คาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสูงสุด

Araujo and Garcia (2005) ทดลองเลี้ยงไดอะตอมน้ำเค็ม *Chaetoceros* w*ighamii* เพื่อทดสอบการเจริญเติบโตและองค์ประกอบของสารชีวเคมีในสภาวะการเลี้ยงต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ คือ กลุ่มเติมคาร์บอนไดออกไซด์และกลุ่มให้อากาศธรรมดา เลี้ยงที่ระดับอุณหภูมิต่าง ๆ คือ 20, 25 และ 30 องศาเซียลเซียส ที่ระดับความเค็ม คือ 25 และ 35 psu ให้แสงความเข้ม 530 μmol $m^{-2}s^{-1}$ (26,500 ลักซ์) ช่วงให้แสง:ปิดแสง 12:12 พบว่าการเติมคาร์บอนไดออกไซด์มีประสิทธิภาพเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตมากกว่าปัจจัยด้านอุณหภูมิและความเค็ม ปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตมีปริมาณสูงที่ระดับอุณหภูมิ 20 และ 25 องศาเซียลเซียส ขณะที่ปริมาณโปรตีนไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับอุณหภูมิต่าง ๆ การเติมคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตลดลง ส่วนปริมาณไขมันไม่มีความแตกต่างกันและผลของความเค็ม พบว่าที่ความเค็ม 35 psu ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น ขณะที่ปริมาณโปรตีนและไขมันลดลง

อุปกรณ์และวิธีการ

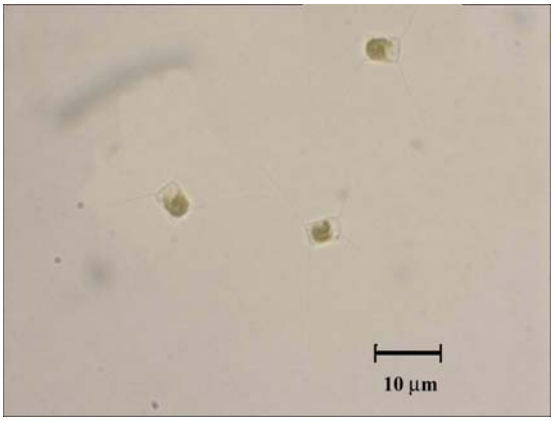
อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วขนาดต่าง ๆ เช่น ฟลาสก์ บีกเกอร์ ปิเปต เป็นต้น
2. ถังก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
3. เครื่องวัดการอัตราไหลของอากาศ (Flow meter)
4. หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ แบบ cool light
5. เครื่องมือวัดความเค็ม (Salinometer)
6. เครื่องมือวัดพีเอช (pH meter)
7. เครื่องมือวัดความเข้มแสง(Lux meter)
8. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Maximum-minimum thermometer)
9. สไลด์นับเม็ดเลือด (Haemacytometer)
10. กล้องจุลทรรศน์
11. ตัวควบคุมระยะเวลาให้แสง (Timer)
13. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
14. เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave)
15. ตู้อบแห้ง (Hot air oven)
16. Capillary Gas Chromatography (GC) รุ่น GC-17A SHIMADZU
17. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณไขมัน
18. Spectrophotometer รุ่น Spectronic genesys 2
19. เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifuge) Sorvall รุ่น RC 26 PLUS
20. กระดาษกรอง (Membrane cellulose nitrate)
21. เครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง (freeze-drying equipment) LABCONCO
22. Sonicator
23. เครื่องเผาเถ้า
24. ถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 200 ลิตร

วิธีการ

1. การเตรียมหัวเชื้อแพลงก์ตอน

หัวเชื้อแพลงก์ตอนชนิด *Chaetoceros calcitrans* ได้รับจากสถานีวิจัยประมงศรีราชา จังหวัดชลบุรี (ภาพที่ 3) นำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นโดยวิธี streaking plate เพื่อเพิ่มความบริสุทธิ์ของหัวเชื้อ



ภาพที่ 3 ภาพถ่ายเซลล์ *C. calcitrans* จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

1.1 วิธี streaking plate

เตรียมอาหารวุ้นจากอาหารสูตร Conway (ภาคผนวก ก) ผสมวุ้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ เทใส่จานเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้จนวุ้นแข็งตัวและเย็น จากนั้นใช้ loop เผาไฟจนแดงมาแตะเชื้อ *C. calcitrans* แล้วเขี่ยลงบนอาหารวุ้นโดยลากสลับไปมาคล้ายฟันปลาจนทั่วจานเลี้ยงเชื้อ โดยขั้นตอนทั้งหมดทำในตู้ปลอดเชื้อ นำไปเลี้ยงต่อในห้องบ่มเชื้อที่มีความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น 2-3 สัปดาห์จะมีโคโลนีสีน้ำตาลเกิดขึ้นบนอาหารวุ้น ทำการเขี่ยโคโลนีที่เกิดลงบนอาหารวุ้นใหม่อีกครั้ง จนกระทั่งไม่มีโคโลนีอื่นปนเปื้อน

1.2 การขยายเชื้อแพลงก์ตอน

นำโคโลนีที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ว่าเป็นเซลล์ *C. calcitrans* หรือไม่ หลังตรวจสอบความถูกต้องนำโคโลนีไปขยายต่อในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลวสูตร Conway (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าทุกวัน ประมาณ 1สัปดาห์จะสังเกตน้ำเลี้ยงมีสีน้ำตาลเข้มขึ้น ทำการขยายต่อไปในภาชนะที่ใหญ่ขึ้นเพื่อเป็นหัวเชื้อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การวางแผนการทดลองเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 การทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design)

การทดลองที่ 1 ศึกษาระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ แบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มทำ 3 ซ้ำดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม ให้อากาศธรรมดา
กลุ่มที่ 2 ให้อากาศผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์
กลุ่มที่ 3 ให้อากาศผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์
กลุ่มที่ 4 ให้อากาศผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 ศึกษาระยะเวลาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ โดยเลือกระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองที่ 1 แบ่งการทดลองเป็น 4 กลุ่มแต่ละกลุ่มทำ 3 ซ้ำดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม ให้อากาศธรรมดา
กลุ่มที่ 2 ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง ตั่งแต่ 06.00-09.00 นาฬิกา
กลุ่มที่ 3 ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ตั่งแต่ 06.00-12.00 นาฬิกา
กลุ่มที่ 4 ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ตั่งแต่ 06.00-18.00 นาฬิกา

2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการ

2.1.1 เตรียมน้ำความเค็ม 30 psu ปริมาตร 1,600 มิลลิลิตรใส่ฟลาสก์ หยดอาหารสูตร Conway (ภาคผนวก ก) ปริมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรรวมในฟลาสก์ ยกเว้นสารละลายวิตามินเพราะที่ความร้อนสูงวิตามินจะสลายตัว แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที และตั้งทิ้งให้เย็นก่อนนำไปใช้

2.1.2 หยดสารละลายวิตามินปริมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรรวมในฟลาสก์ ผ่านกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร เพื่อลดการปนเปื้อน

2.1.3 ปรับ pH น้ำทะเลที่เติมอาหารแล้วในฟลาสก์ ให้เท่ากับ 8.0โดยใช้ 1N HCl หรือ 1N NaOH

2.1.4 ใส่หัวเชื้อ *Chaetoceros calcitrans* ลงในฟลาสก์ที่เตรียมให้ได้ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นประมาณ 4-5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

2.2 การควบคุมสภาวะการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ในการเลี้ยง *C. calcitrans* ให้อากาศผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในแต่ละกลุ่มการทดลองในช่วงที่ให้แสง หลังปิดไฟให้อากาศธรรมดาทุกกลุ่มการทดลอง Flow meter ควบคุมอัตราไหลของก๊าซ 0.5 ลิตรต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิห้องที่ 25 องศาเซลเซียส ใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์แบบ cool light ปรับความเข้มแสงให้ได้ 3,000 ลักซ์ ซึ่งเป็นระดับความเข้มแสงที่นิยมใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนในห้องปฏิบัติการ ระยะเวลาให้แสงช่วงมืดต่อช่วงสว่างเท่ากับ 12:12 ชั่วโมง (ภาพที่ 4)

ภาพที่ 4 การทดลองเลี้ยง *C. calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในห้องปฏิบัติการ

2.3 การเก็บเกี่ยวเซลล์แพลงก์ตอนที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

2.3.1 เก็บเกี่ยวเซลล์ *Chatoceros calcitrans* ในระยะ exponential phase และ stationary phase โดยนำน้ำเลี้ยงเซลล์ *C. calcitrans* มาปั่นแยกเซลล์ด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลางที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

2.3.2 ล้างเซลล์แพลงก์ตอนด้วย 0.5 M แอมโมเนียมฟอร์เมท ($CH_2O_2.NH_3$) เพื่อล้างเกลือและสารอาหารออก

2.3.3 ทำให้แห้งโดยการนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry)

2.3.4 เก็บเซลล์ที่แห้งใส่ในภาชนะที่ปิดสนิทและใส่ซิลิกาเจลเพื่อดูดความชื้นแล้วแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

3. การวางแผนการทดลองเลี้ยง *C. calcitrans* ในระดับมหมวล

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 การทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design)

การทดลองที่ 3 ศึกษาระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในระดับมหมวล แบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มทำ 3 ซ้ำดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม ให้อากาศธรรมดา
กลุ่มที่ 2 ให้อากาศผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์
กลุ่มที่ 3 ให้อากาศผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์
กลุ่มที่ 4 ให้อากาศผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 4 ศึกษาระยะเวลาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในระดับมหมวล โดยเลือกระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองที่ 3 แบ่งการทดลองเป็น 4 กลุ่มแต่ละกลุ่มทำ 3 ซ้ำดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม ให้อากาศธรรมดา
กลุ่มที่ 2 ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง ตั่งแต่ 08.00-11.00 นาฬิกา
กลุ่มที่ 3 ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ตั่งแต่ 08.00-14.00 นาฬิกา
กลุ่มที่ 4 ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นระยะเวลา 9 ชั่วโมง ตั่งแต่ 08.00-17.00 นาฬิกา

3.1 การเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในระดับมหมวล

การเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* แบบมหมวล เลี้ยงปริมาตร 150 ลิตร ในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 200 ลิตร นำน้ำนาเกลือซึ่งมีความเค็มสูงมาปรับความเค็มให้ได้ความเค็มเท่ากับ 30 psu. แล้วทำการฆ่าเชื้อโดยใช้คลอรีน 30 ppm. นำหัวเชื้อ *C. calcitrans* ปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรรวมที่เลี้ยงคือ 15 ลิตร (มาจาก 10 เปอร์เซ็นต์ของ 150 ลิตร) ใส่ในถังไฟเบอร์กลาส ปรับปริมาตรน้ำให้ได้ 150 ลิตรจากน้ำเค็มที่เตรียมไว้ จากนั้นนำอาหารสูตร Sato and Serikawa (ภาคผนวก ก) ใส่ตามไปปริมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำทั้งหมด

3.2 การควบคุมสภาวะการเลี้ยงในระดับมหมวล

ในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในระดับมหมวลให้อากาศผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตามแผนการทดลอง อัตราไหลของก๊าซ 2.5 ลิตรต่อนาที แสงได้รับจากดวงอาทิตย์ เลี้ยงในห้องที่มีหลังคาโปร่งแสง (ภาพที่ 5)

ภาพที่ 5 การทดลองเลี้ยง *C. calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในระดับมหมวล

3.3 การเก็บเกี่ยวเซลล์แพลงก์ตอนที่เลี้ยงแบบมหมวล

3.3.1 เก็บเกี่ยวเซลล์ *C. calcitrans* ในระยะ exponential phase นำมาตกตะกอนด้วยสารส้ม ความเข้มข้น 150 ppm (ลัดดา, 2540) ประมาณ 60 นาที เซลล์จะจับกันแล้วตกลงสู่ก้นบีกเกอร์ จากนั้นดูดน้ำข้างบนทิ้งให้มากที่สุด

3.3.2 นำเซลล์ที่ตกตะกอนมาเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลางด้วยความเร็วที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์แพลงก์ตอนด้วย 0.5 M แอมโมเนียมฟอร์เมท ($CH_2O_2.NH_3$) เพื่อล้างเกลือและสารอาหารออก

3.3.3 ทำให้แห้งโดยการนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry)

3.3.4 เก็บเซลล์ที่แห้งใส่ในภาชนะที่ปิดสนิทและใส่ซิลิกาเจล เพื่อดูดความชื้นแล้วแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

4. การวัดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ

4.1 จำนวนเซลล์

4.1.1 นับจำนวนเซลล์ *C. calcitrans* วันละ 2 ครั้ง เวลา 6.00 นาฬิกา และ 18.00 นาฬิกา โดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือด (haemacytometer) (ภาคผนวก ข)

4.1.2 คำนวณอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) และเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (doubling time) จากสูตร

$$\mu = \frac{\ln Nt - \ln No}{t}$$

$$D = \frac{\ln 2}{\mu}$$

โดย μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(ต่อวัน)

D = เวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (วัน)

No = จำนวนเซลล์เริ่มต้นเมื่อเริ่มเข้าระยะ exponential phase (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

Nt = จำนวนเซลล์ในระยะปลาย exponential phase (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

t = เวลาระหว่าง No และ Nt (วัน)

4.2 น้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell dry weight)

หาน้ำหนักแห้งเซลล์ *C. calcitrans* ในระยะ exponential phase และ stationary phase สำหรับการทดลองที่ 1 และ 2 ส่วนการทดลองที่ 3 และ 4 หาน้ำหนักแห้งเซลล์ในระยะ exponential phase

นำเซลล์แพลงก์ตอนที่ได้เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวปริมาตร 50 มิลลิลิตร มาทำการเขย่าและนำมากรองผ่านชุดกรองเมมเบรน (Milipore) โดยใช้กระดาษกรอง GF/F ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตรขนาดช่องผ่าน 0.7 ไมโครเมตร นำกระดาษกรองไปชั่งน้ำหนักเริ่มแรกรวมกับอะลูมิเนียมฟอยล์ ต่อชุดกรองเข้ากับเครื่อง vacuum pump เพื่อดึงน้ำเลี้ยงออกมาเหลือแต่เซลล์แพลงก์ตอนที่ติดอยู่กับกระดาษกรอง จากนั้นล้างเซลล์ด้วย 0.5 แอมโมเนียมฟอร์เมท ปริมาตร 20 มิลลิลิตร 2 ครั้งเพื่อล้างเกลือและสารอาหารที่ติดอยู่กับเซลล์ออก แล้วจึงนำแผ่นกรองใส่ในถาดอะลูมิเนียมฟอยล์ ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วนำไปใส่ใน descicator เพื่อให้น้ำหนักคงที่ปราศจากความชื้น แล้วนำไปหาน้ำหนักเซลล์แห้งสุดท้าย

4.3 ขนาดเซลล์

ใช้ไมโครมิเตอร์วัดขนาดของเซลล์ *Chaetoceros calcitrans* ในระยะ exponential phase และ stationary phase สำหรับการทดลองที่ 1 และ 2 ส่วนการทดลองที่ 3 และ 4 วัดขนาดของเซลล์ ในระยะ exponential phase

สุ่มเซลล์ *C. calcitrans* มาตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร เติมกลีเซอรอล ($C_3H_8O_3$) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ซึ่งเป็นสาร cryoprotective agent รักษาสภาพเซลล์ไม่ให้แตก (ลัดดา, 2540) เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำมาวัดขนาดด้วยไมโครมิเตอร์ภายใต้

กล้องจุลทรรศน์ ตัวอย่างละ 50 เซลล์ โดยวัดด้านเกอเดิล คือ แกนอะพิคัล (Apical Axis) และแกนเพอร์วาลวาร์(Pervalvar Axis)

4.4 คุณสมบัติของน้ำ

ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำ โดยวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆของน้ำดังนี้ (ภาคผนวก ข)

- วัดค่าพีเอชโดยพีเอชมิเตอร์
- อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุดในรอบวัน ใช้ min-max Thermometer
- ค่าความเป็นด่างรวม (Total alkalinity) วิธีการไตเตรท (Titrimetric Method) ตามวิธีของ APHA *et al.* (1992)
- ค่าของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำใช้วิธีการไตเตรท (Titrimetric Method) ตามวิธีของ APHA *et al.* (1992)

การทดลองที่ 1 วัดคุณสมบัติน้ำวันละ 2 ครั้ง เวลา 6.00 และ 18.00 นาฬิกา
การทดลองที่ 2 วัดคุณสมบัติน้ำวันละ 4 ครั้ง เวลา 6.00, 9.00, 12.00 และ 18.00 นาฬิกา
การทดลองที่ 3 วัดคุณสมบัติน้ำวันละ 2 ครั้ง เวลา 8.00 และ 17.00 นาฬิกา
การทดลองที่ 4 วัดคุณสมบัติน้ำวันละ 4 ครั้ง เวลา 8.00, 11.00, 14.00 และ 17.00 นาฬิกา

4.5 องค์ประกอบทางชีวเคมีของ *Chaetoceros calcitrans*

วิเคราะห์สารชีวเคมีในเซลล์ *C. calcitrans* ดังนี้

- ปริมาณโปรตีน (Lowry ,1951) (ภาคผนวก ค)
- ปริมาณไขมัน (Bligh and Dyer,1959) (ภาคผนวก ค)
- ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยวิธี Phenol-sulfuric acid method (Kochert, 1978) (ภาคผนวก ค)
- ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว EPA(Eicosapentaenoic acid) และDHA (Docosahexaenoic acid) โดย สกัดกรดไขมัน (Bligh and Dyer,1959) จากนั้นทำ Esterification (Morrison and Smith, 1964) และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography (ภาคผนวก ค)
- ปริมาณเถ้า นำไปเผาที่ 550 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง (AOAC, 1990)

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลจากการทดลองที่ 1, 2, 3 และ4 โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง และศูนย์พัฒนาเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. ระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองเริ่มตั้งแต่เดือนเมษายน 2549 สิ้นสุดในเดือนพฤศจิกายน 2550

ผลและวิจารณ์

1. ผลการทดลองที่1 ศึกษาระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ

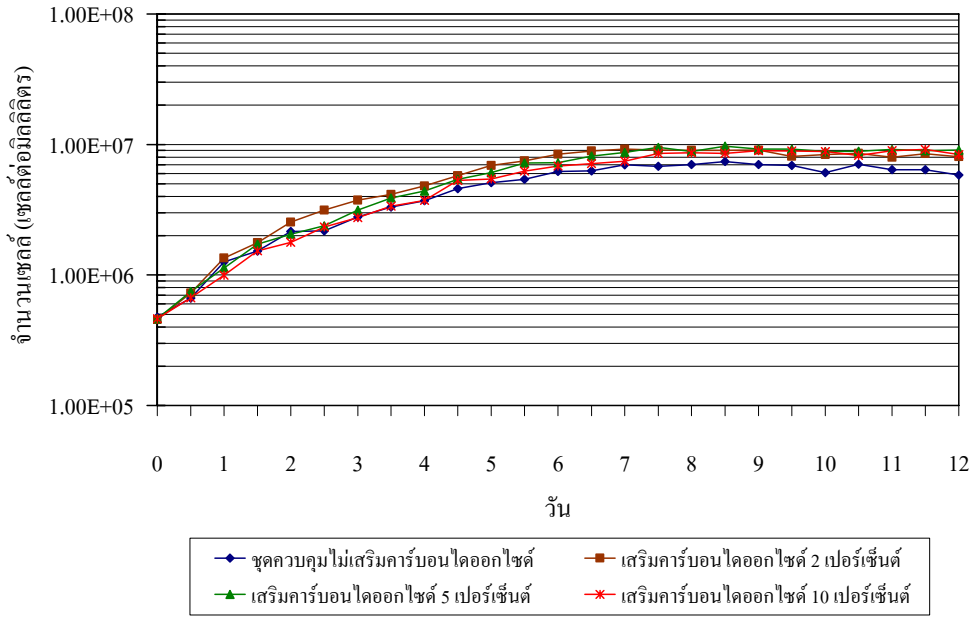
1.1 การเจริญเติบโตของ *C. calcitrans*

จากการทดลองเลี้ยง *C. calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ พบว่า *C. calcitrans* ในกลุ่มเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทุกกลุ่มมีการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงกว่ากลุ่มควบคุมโดยกลุ่มเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ exponential phase รองลงมาคือ กลุ่มเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเลี้ยง *C. calcitrans* มีผลทำให้มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม เพราะการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ *C. calcitrans* มีแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ *C. calcitrans* มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์เร็วขึ้น แต่การเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ *C. calcitrans* มีการเพิ่มจำนวนน้อยกว่าการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ อาจเกิดจากปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่มากเกินกว่าที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ทำให้คาร์บอนไดออกไซด์ที่เหลือซึ่งมีผลทำให้พีเอชของน้ำลดลง (ภาพที่ 8) ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของ *C. calcitrans* สอดคล้องกับ Markl (1977) รายงานว่าในการเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ที่ความเข้มแสงหนึ่ง ๆ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะเพิ่มตามความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จนถึงจุดอิ่มตัว

โดยแต่ละกลุ่มทดลองมีแนวโน้มเข้าระยะต่าง ๆ คือ เข้าสู่ระยะ exponential phase ตั้งแต่วันแรกของการเลี้ยง จนกระทั่งถึงวันที่ 6 กลุ่มควบคุมจะเริ่มเข้าระยะ stationary phase แต่กลุ่มเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 และ10 เปอร์เซ็นต์ ยังคงอยู่ในระยะ exponential phase เป็นระยะเวลานานกว่า จนถึงวันที่ 7 กลุ่มที่มีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จึงเข้าระยะ stationary phase (ภาพที่ 6)

สอดคล้องกับผลการทดลองของ Araujo and Garcia (2005) รายงานว่าการเติมคาร์บอนไดออกไซด์มีผลทำให้ไดอะตอม *Chaetoceros wighamii* มีอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้นและอยู่ในระยะ exponential phase นานขึ้น ซึ่งเป็นประเด็นที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพราะแพลงก์ตอนในระยะนี้มีคุณค่าทางอาหารสูงเหมาะสำหรับเป็นอาหารสัตว์น้ำ



ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

1.2 จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว น้ำหนักแห้ง และน้ำหนักต่อเซลล์ในระยะต่าง ๆ

ระยะ exponential phase พบว่า *Chaetoceros calcitrans* ในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเซลล์สูงสุด ($3.68\pm0.35 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($2.58\pm0.20 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ($3.52 \pm 0.24 \times 10^6$ และ $3.42 \pm 0.21 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ส่วนน้ำหนักแห้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง และน้ำหนักต่อเซลล์พบว่าในกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักต่อเซลล์สูงสุด (27.69 ± 1.26 พิโคกรัมต่อเซลล์) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ (ตารางที่ 5)

ส่วนระยะ stationary phase พบว่า *C. calcitrans* ในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเซลล์สูงสุด ($9.69 \pm 0.32 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($7.07 \pm 0.69 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ส่วนน้ำหนักแห้งกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักแห้งสูงสุด (268.00 ± 19.29 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับทุกกลุ่มการทดลอง และน้ำหนักต่อเซลล์พบว่ากลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ (27.73 ± 2.94 พิโคกรัมต่อเซลล์) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (31.01 ± 4.15 พิโคกรัมต่อเซลล์) (ตารางที่ 5)

กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเซลล์สูงสุดทั้งระยะ exponential phaseและ ระยะ stationary phase สอดคล้องกับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่สูงสุด (ตารางที่ 6) ส่งผลให้มีน้ำหนักแห้งสูงสุดในระยะ stationary phase ดังนั้นการเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูงขึ้น 5 และ10 เปอร์เซ็นต์ อัตราการเจริญเติบโตและจำนวนเซลล์ไม่สูงขึ้นตามระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เติมเพราะปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายอยู่ในน้ำมากเกินกว่า *C. calcitrans* นำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำส่งผลให้ระดับพีเอชลดต่ำลงตามปริมาณที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (ภาพที่ 8) จนมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต

ตารางที่ 5 ปริมาณ *Chaetoceros calcitrans* ในระยะ exponential phase และ stationary phase ที่เลี้ยงเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มทดลอง	ระยะ exponential phase			ระยะ stationary phase		
	จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว ($x10^6$ cell/ml)	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	น้ำหนักต่อเซลล์ (พิโคกรัมต่อเซลล์)	จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว ($x10^6$ cell/ml)	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	น้ำหนักต่อเซลล์ (พิโคกรัมต่อเซลล์)
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	2.58 ± 0.20^{b}	71.33 ± 5.03^{a}	27.69 ± 1.26^{a}	7.07 ± 0.69^{b}	217.33 ± 7.02^{b}	31.01 ± 4.15^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์	3.68 ± 0.35^{a}	78.00 ± 2.00^{a}	21.30 ± 1.71^{b}	9.69 ± 0.32^{a}	268.00 ± 19.29^{a}	27.73 ± 2.94^{ab}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์	3.52 ± 0.24^{a}	75.33 ± 6.11^{a}	21.47 ± 2.53^{b}	9.31 ± 0.83^{a}	206.67 ± 23.35^{b}	22.27 ± 2.86^{b}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์	3.42 ± 0.21^{a}	70.67 ± 4.16^{a}	20.68 ± 1.3^{b}	7.77 ± 0.11^{b}	206.67 ± 19.43^{b}	26.58 ± 2.14^{ab}

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

1.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า

Chaetoceros calcitrans กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดคือ 0.49 ± 0.01ต่อวัน ทำให้ใช้เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า น้อยที่สุดคือ 1.42 ± 0.02 วัน รองลงมาคือ กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ (อัตราการเจริญ เติบโตจำเพาะ 0.46 ± 0.01ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 1.51 ± 0.04 วัน) , กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ (อัตราการเจริญ เติบโตจำเพาะ0.45 ± 0.01 ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 1.55 ± 0.04 วัน) และกลุ่มควบคุม (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ0.43 ± 0.02 ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า1.62 ± 0.08 วัน) ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ส่งผลให้ *C. calcitrans* มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุมสอดคล้องกับรายงานของการเติมคาร์บอนไดออกไซด์มีผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตในแพลงก์ตอนหลายชนิด เช่น *Chaetoceros wighamii, Dunaliella viridis, Chlorococcum littorale, Chlorella vulgaris*, *Tetraselmis chuii* เป็นต้น (Araujo and Garcia, 2005; Gordillo *et al*, 1998; Kodama *et al,* 1993; Markl, 1977; Olaizola *et al*, 1991)

1.4 ขนาดเซลล์ของ *C. calcitrans*

ขนาดเซลล์ในระยะ exponential phase พบว่าความยาวแกนอะพิคัลและแกนเพอร์-วาลวาร์ของ *C. calcitrans* ทุกกลุ่มการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ส่วนในระยะ stationary phase พบว่าความยาวแกนอะพิคัลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง แต่แกนเพอร์วาลวาร์พบว่าในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวสูงสุด 6.16 ± 0.24 ไมโครเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ๆ ส่วนกลุ่มควบคุม (5.81 ± 0.08ไมโครเมตร) กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ (5.57 ± 0.22ไมโครเมตร) และกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ (5.64 ± 0.08ไมโครเมตร) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P > 0.05$) (ตารางที่ 7)

การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ในระดับ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ *C. calcitrans* มีอัตราเจริญเติบโตจำเพาะสูงขึ้น แสดงว่าเซลล์มีการเพิ่มจำนวนเซลล์โดยการแบ่งเซลล์มากขึ้น จากรายงานของ Hendey (1964) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเซลล์ทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลงเรื่อย ๆ แต่จากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของขนาดเซลล์ *C. calcitrans* แม้ว่าในระยะ stationary phase กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มของขนาดเซลล์ที่ลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 6 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มทดลอง	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (วัน)
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	0.43 ± 0.02	1.62 ± 0.08
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์	0.49 ± 0.01	1.42 ± 0.02
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์	0.46 ± 0.01	1.51 ± 0.04
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์	0.45 ± 0.01	1.55 ± 0.04

ตารางที่ 7 ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มทดลอง	ระยะ exponential phase		ระยะ stationary phase	
	แกนอะพิคัล (ไมโครเมตร)	แกนเพอร์วาลวาร์ (ไมโครเมตร)	แกนอะพิคัล (ไมโครเมตร)	แกนเพอร์วาลวาร์ (ไมโครเมตร)
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	4.54 ± 0.13^{a}	6.04 ± 0.11^{a}	4.49 ± 0.13^{a}	5.81 ± 0.08^{b}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์	4.45 ± 0.15^{a}	5.60 ± 0.14^{a}	4.40 ± 0.15^{a}	5.57 ± 0.22^{b}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์	4.67 ± 0.11^{a}	6.14 ± 0.45^{a}	4.39 ± 0.09^{a}	5.64 ± 0.08^{b}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์	4.50 ± 0.12^{a}	5.62 ± 0.12^{a}	4.60 ± 0.09^{a}	6.16 ± 0.24^{a}

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

1.5 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

ระยะ exponential phase พบว่าปริมาณโปรตีนไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้าของ *C. calcitrans* ทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ส่วนในระยะ stationary phase พบว่าโปรตีนไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ของ *C. calcitrans* ทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ปริมาณเถ้าในกลุ่มควบคุมมีมากที่สุด 27.21 ± 2.46 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเถ้าปริมาณ 22.32 ± 0.85 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเถ้า 25.09 ± 0.66 และ24.75 ± 3.19 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

การศึกษาครั้งนี้ได้ผลการทดลองแตกต่างจากการศึกษาของ Araujo and Garcia (2005) รายงานว่าการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยง *Chaetoceros wighamii* มีผลต่อปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตลดลง ส่วนปริมาณไขมันไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับรายงานของ Brown et al. (1997) ได้ศึกษาแพลงก์ตอนพืชหลายชนิดในกลุ่มต่าง ๆ คือ diatom, prymnesiophytes, eustigmatophytes และ cryptomonads พบว่าปริมาณโปรตีนแพลงก์ตอนเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตไม่มีการเปลี่ยนแปลงในการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยง

ตารางที่ 8 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มทดลอง	ระยะ exponential phase (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				ระยะ stationary phase (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)			
	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	เถ้า	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	เถ้า
กลุ่มควบคุมไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	28.75 ± 7.15[a]	18.14 ± 9.25[a]	8.93 ± 1.48[a]	23.45 ± 2.09[a]	39.14 ± 4.78[a]	12.09 ± 3.54[a]	7.94 ±2.71[a]	27.21 ± 2.46[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์	37.67 ±10.46[a]	19.19 ± 3.76[a]	6.68 ± 1.33[a]	21.93 ± 2.01[a]	35.27 ± 4.25[a]	13.40 ± 6.00[a]	12.76 ± 6.16[a]	25.09 ± 0.66[ab]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์	29.53 ± 1.28[a]	10.40 ± 3.81[a]	8.18 ± 0.31[a]	27.48 ± 3.95[a]	27.86 ± 1.30[a]	11.37 ± 2.97[a]	7.18 ± 3.34[a]	24.75 ± 3.19[ab]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์	39.57 ±13.58[a]	11.21 ± 4.59[a]	6.69 ± 3.13[a]	28.07 ±13.67[a]	34.76 ± 9.99[a]	14.89 ± 4.54[a]	8.05 ± 2.47[a]	22.32 ± 0.85[b]

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

1.6 ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ในระยะต่าง ๆ ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

ระยะ exponential phase พบว่าปริมาณ EPA ของ *C. calcitrans* ทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ปริมาณ DHA ในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสูงสุด 0.59 ± 0.08 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ 0.34 ± 0.21 และ0.30 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ 0.46 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

ส่วนในระยะ stationary phase พบว่าปริมาณ EPA กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสูงสุด 14.47 ± 2.83 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ 7.50 ± 4.41 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ12.58 ± 1.87 และ 8.89 ± 1.42 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ปริมาณ DHAกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสูงสุด 0.72 ± 0.17 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ 0.42 ± 0.08 และ 0.42 ± 0.16 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม 0.62 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ในระยะต่าง ๆ ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มทดลอง	ระยะ exponential phase (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)		ระยะ stationary phase (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)	
	EPA (C20:5n-3)	DHA (C22:6n-3)	EPA (C20:5n-3)	DHA (C22:6n-3)
กลุ่มควบคุมไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	5.96 ± 4.10^{a}	0.34 ± 0.21^{b}	12.58 ± 1.87^{ab}	0.62 ± 0.12^{ab}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์	9.76 ± 0.69^{a}	0.46 ± 0.05^{ab}	8.89 ± 1.42^{ab}	0.42 ± 0.08^{b}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์	6.03 ± 1.48^{a}	0.30 ± 0.05^{b}	7.50 ± 4.41^{b}	0.42 ± 0.16^{b}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์	8.62 ± 3.20^{a}	0.59 ± 0.08^{a}	14.47 ± 2.83^{a}	0.72 ± 0.17^{a}

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

1.7 คุณสมบัติน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

1.7.1 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (Dissolved carbondioxide)

เวลา 6.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายในน้ำ กลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 2.18±2.17, 1.29±2.45, 1.4±2.38 และ 1.69±2.32 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0-6.99, 0-7.62, 0-7.46 และ 0-7.39 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายในน้ำ ตอนเวลา 6.00 นาฬิกา มีปริมาณมากสุดในวันแรกและลดลงเรื่อย ๆ ในเวลาเดียวกันของวันถัดไปจนถึงวันที่ 5 หลังจากนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยทุกกลุ่มการทดลอง

เวลา 18.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายในน้ำ กลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 4.36±3.47, 30.21±2.09, 40.48±3.33 และ 51.02±6.35 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0.60-10.99, 26.10-32.93, 33.89-45.45 และ 38.65-59.76 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายในน้ำจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เสริมเข้าไป (ภาพที่ 7)

1.7.2 ค่าพีเอช (pH)

เวลา 6.00 นาฬิกา พบว่าค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.21±0.13, 8.26± 0.13, 8.25± 0.12 และ 8.24±0.12 ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 7.90-8.34, 7.94-8.34, 7.94-8.36 และ 7.95-8.37 ตามลำดับ

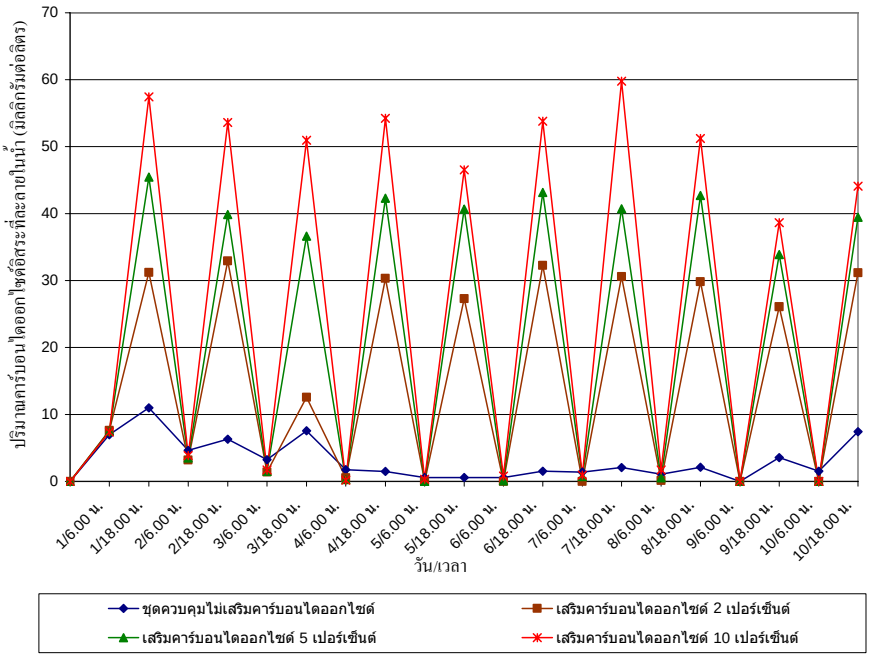
เวลา 18.00 นาฬิกา พบว่าค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอน-ไดออกไซด์ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.16± 0.21, 6.83±0.13, 6.43±0.09 และ 6.23±0.15 ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 7.78-8.38, 6.55-6.94, 6.23-6.57 และ 5.96-6.43 ตามลำดับ โดยค่าพีเอชกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำกว่ากลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มควบคุม เพราะมีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณมากกว่า โดยค่าพีเอชจะแปรผกผันกับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (ภาพที่ 8)

1.2.3 ปริมาณด่างรวม (Total alkaline)

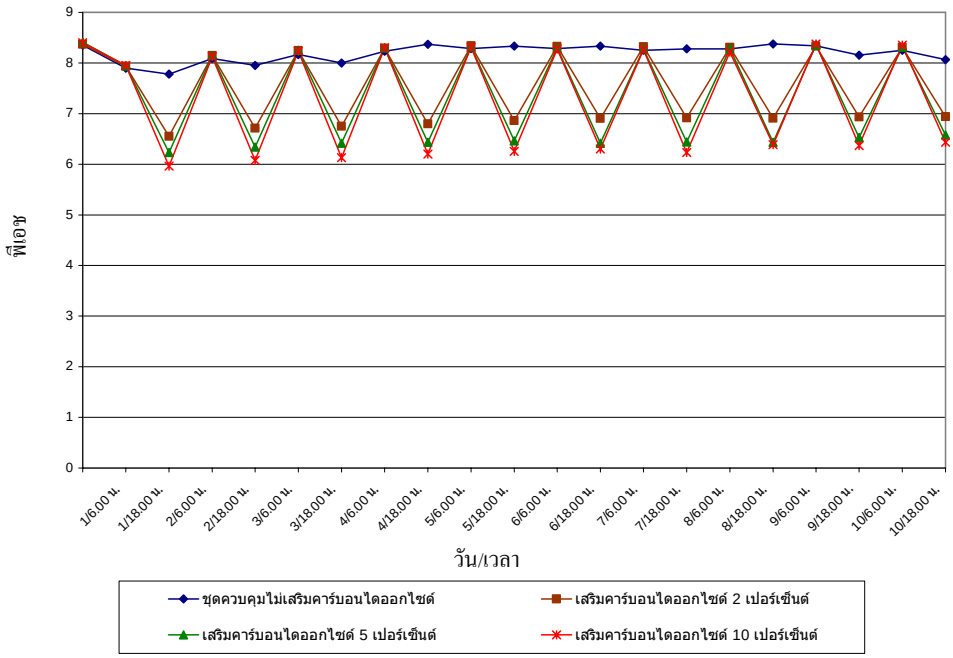
พบว่าปริมาณด่างรวมของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 127.83±26.04, 136.57±27.36, 134.52±26.51 และ 134.42±26.97 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ โดยมีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 84.40-161.97, 82.57-165.63, 83.27-164.77 และ 79.70-165.17 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ (ภาพที่ 9) ปริมาณด่างรวมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาเลี้ยงที่นานขึ้นทุกกลุ่มการทดลอง โดยกลุ่มที่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ มีแนวโน้มการเพิ่มปริมาณด่างรวมมากกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจากมีการเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้คาร์บอนไดออกไซด์ทำ

ปฏิกิริยากับน้ำอยู่ในรูปกรดคาร์บอนิกและสามารถแตกตัวต่อไปเป็นไบคาร์บอเนต และคาร์บอเนต ปริมาณด่างรวมจึงเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์

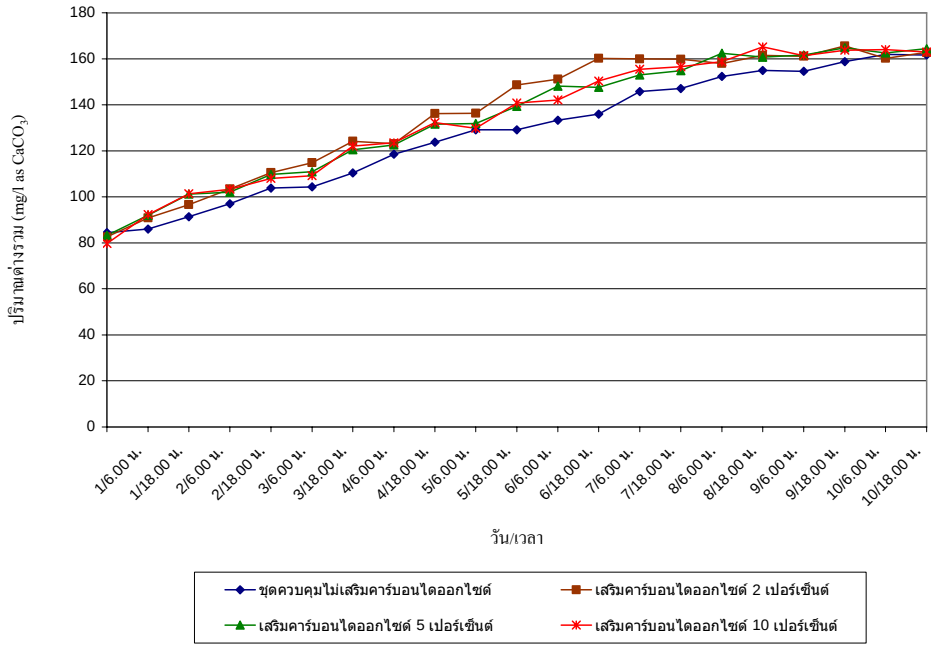
การเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างรวมตามระยะเวลาเลี้ยงที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างรวมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ เมื่อเลี้ยงสัตว์น้ำไประยะหนึ่ง ปริมาณของเสียภายในบ่อเพิ่มมากขึ้น กระบวนการย่อยสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียและการหายใจของแพลงก์ตอนพืชจะมีการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมามาก ทำให้ปริมาณด่างรวมเพิ่มมากขึ้นด้วย (ไมตรี และจารุวรรณ, 2528)



ภาพที่ 7 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 8 พีเอชในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 9 ปริมาณด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

2. ผลการทดลองที่ 2 ศึกษาระยะเวลาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ โดยเลือกระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองที่ 1

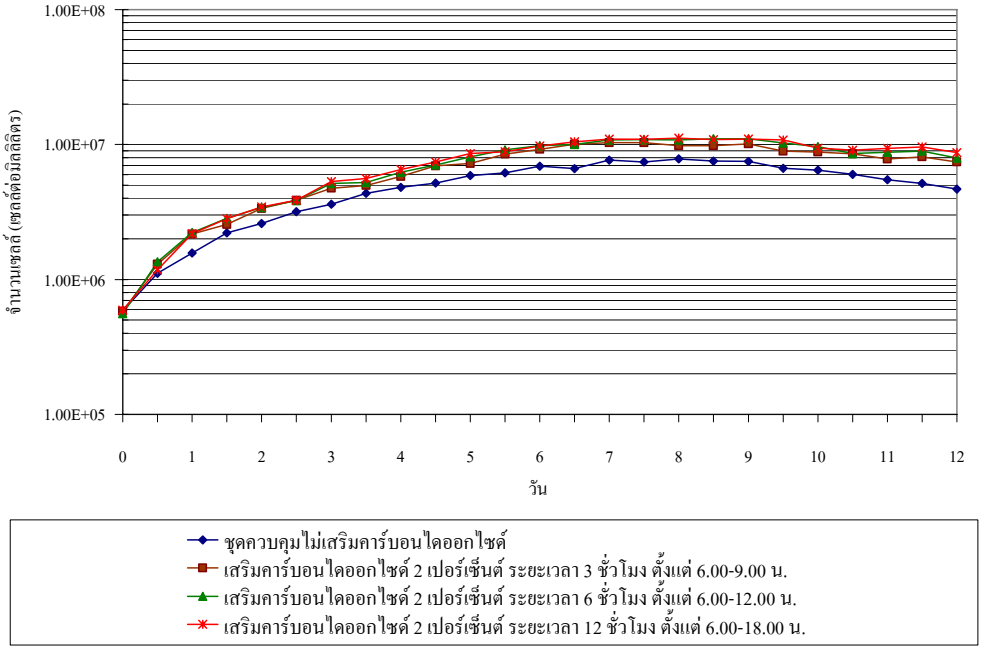
2.1 การเจริญเติบโตของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

จากการทดลองเลี้ยง พบว่า *C. calcitrans* ในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 3, 6 และ 12ชั่วโมง มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ใกล้เคียงกัน และการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่วันแรกของการเลี้ยง

การเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 3, 6 และ 12ชั่วโมง ในการเลี้ยง *C. calcitrans* มีผลทำให้มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม เพราะการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ *C. calcitrans* มีแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ *C. calcitrans* มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์เร็วขึ้น สอดคล้องกับ Markl (1977) รายงานว่าในการเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ที่ความเข้มแสงหนึ่ง ๆ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะเพิ่มตามความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จนถึงจุดอิ่มตัว

โดยแต่ละกลุ่มทดลองมีแนวโน้มเข้าระยะต่าง ๆ คือ ทุกกลุ่มการทดลองเข้าสู่ระยะ exponential phase ตั้งแต่วันแรกของการเลี้ยง จนกระทั่งถึงวันที่ 6 กลุ่มควบคุมจะเริ่มเข้าระยะ stationary phase แต่กลุ่มเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมงยังคงอยู่ในระยะ exponential phase เป็นระยะเวลานานกว่า จนถึงวันที่ 7 กลุ่มที่มีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จึงเข้าระยะ stationary phase (ภาพที่ 10)

สอดคล้องกับผลการทดลองที่ 1 และการทดลองของ Araujo and Garcia (2005) รายงานว่าการเติมคาร์บอนไดออกไซด์มีผลทำให้ไดอะตอม *Chaetoceros wighamii* มีอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้น และอยู่ในระยะ exponential phase นานขึ้น ซึ่งเป็นประเด็นที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพราะแพลงก์ตอนในระยะนี้มีคุณค่าทางอาหารสูงเหมาะสำหรับเป็นอาหารสัตว์น้ำ



ภาพที่ 10 การเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

2.2 จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำหนักต่อเซลล์ในระยะต่าง ๆ

ระยะ exponential phase พบว่า *C. calcitrans* ในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออก ไซด์ระยะเวลา 12 ชั่วโมงมีจำนวนเซลล์สูงสุด ($3.74 \pm 0.34 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ($2.92 \pm 0.15 \times 10^6$ และ$3.10 \pm 0.03 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ($3.45 \pm 0.33 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ส่วนน้ำหนักแห้งและน้ำหนักเซลล์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง (ตารางที่ 10)

ส่วนระยะ stationary phase พบว่า *C. calcitrans* ในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 12 ชั่วโมงมีจำนวนเซลล์สูงสุด ($8.65 \pm 0.29 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ($6.11 \pm 0.75 \times 10^6$ และ$7.26 \pm 0.09 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) อย่างไรก็ตามไม่มี

ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ($8.32 \pm 0.45 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ส่วนน้ำหนักแห้งกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีน้ำหนักแห้งสูงสุด (219.33 ± 22.30 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (172.00 ± 24.98 มิลลิกรัมต่อลิตร) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง (204.00 ± 17.44 และ210.67 ± 20.82 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) และน้ำหนักเซลล์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง (ตารางที่ 10)

จำนวนเซลล์ในระยะ exponential phase และstationary phase ของกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 และ12 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แสดงว่า การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ทำให้ *Chaetoceros calcitrans* มีแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเพียงพอ การเพิ่มจำนวนเซลล์จึงไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนการเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ทำให้ *C. calcitrans* มีแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะลดลงส่งผลให้การเพิ่มจำนวนเซลล์ลดลงด้วย

ตารางที่ 10 ปริมาณ *Chaetoceros calcitrans* ในระยะ exponential phase และ stationary phase ที่เลี้ยงเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มทดลอง	ระยะ exponential phase			ระยะ stationary phase		
	จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว ($x10^6$ cell/ml)	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	น้ำหนักต่อเซลล์ (พิโคกรัมต่อเซลล์)	จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว ($x10^6$ cell/ml)	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	น้ำหนักต่อเซลล์ (พิโคกรัมต่อเซลล์)
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	2.92 ± 0.15^{c}	58.67 ± 6.43^{a}	20.06 ± 1.47^{a}	6.11 ± 0.75^{c}	172.00 ± 24.98^{b}	28.11 ± 0.66^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	3.10 ± 0.03^{bc}	59.33 ± 11.02^{a}	19.16 ± 3.57^{a}	7.26 ± 0.09^{b}	204.00 ± 17.44^{ab}	28.12 ± 2.74^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง	3.45 ± 0.33^{ab}	72.67 ± 7.57^{a}	21.12 ± 2.50^{a}	8.32 ± 0.45^{a}	210.67 ± 20.82^{ab}	25.27 ± 1.21^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 12 ชั่วโมง	3.74 ± 0.34^{a}	73.33 ± 3.06^{a}	19.66 ± 0.96^{a}	8.65 ± 0.29^{a}	219.33 ± 22.30^{a}	25.38 ± 2.98^{a}

หมายเหตุ a, b และ c อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า

Chaetoceros calcitrans กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดคือ 0.48 ± 0.01ต่อวัน ทำให้ใช้เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เท่ากับ 1.45 ± 0.04 วัน รองลงมาคือ กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 12 ชั่วโมง (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 0.47 ± 0.01ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 1.48 ± 0.03 วัน) , กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ0.46 ± 0.01 ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 1.50 ± 0.03 วัน) และกลุ่มควบคุม (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ0.41 ± 0.01 ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า1.69 ± 0.05 วัน) ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มทดลอง	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (วัน)
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	0.41 ± 0.01	1.69 ± 0.05
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	0.46 ± 0.01	1.50 ± 0.03
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง	0.48 ± 0.01	1.45 ± 0.04
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 12 ชั่วโมง	0.47 ± 0.01	1.48 ± 0.03

2.4 ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros calcitran*s

ระยะ exponential phase พบว่าความยาวแกนอะพิคัลของ *C. calcitran*s ทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่แกนเพอร์วาลวาร์ พบว่ากลุ่มควบคุมมีความยาวสูงสุด (6.37 ± 0.24 ไมโครเมตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 6 และ12 ชั่วโมง (5.88 ± 0.11 และ 5.92 ± 0.13 ไมโครเมตร) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง (6.16 ± 0.19 ไมโครเมตร)

ส่วนในระยะ stationary phase พบว่าความยาวแกนอะพิคัลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง แต่แกนเพอร์วาลวาร์พบว่าในกลุ่มควบคุม มีความยาวสูงสุด (6.45 ± 0.20 ไมโครเมตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 6 และ12 ชั่วโมง (6.08 ± 0.03 และ 5.87 ± 0.11 ไมโครเมตร) อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง (6.36 ± 0.06 ไมโครเมตร) (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros calcitran*s ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มทดลอง	ระยะ exponential phase		ระยะ stationary phase	
	แกนอะพิคัล (ไมโครเมตร)	แกนเพอร์วาลวาร์ (ไมโครเมตร)	แกนอะพิคัล (ไมโครเมตร)	แกนเพอร์วาลวาร์ (ไมโครเมตร)
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	4.35 ± 0.03[a]	6.37 ± 0.24[a]	4.16 ± 0.12[a]	6.45 ± 0.20[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	4.09 ± 0.25[a]	6.16 ± 0.19[ab]	4.18 ± 0.07[a]	6.36 ± 0.06[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง	4.11 ± 0.08[a]	5.88 ± 0.11[b]	4.19 ± 0.04[a]	6.08 ± 0.03[b]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 12 ชั่วโมง	4.02 ± 0.10[a]	5.92 ± 0.13[b]	3.98 ± 0.22[a]	5.87± 0.11[b]

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

2.5 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

ระยะ exponential phase พบว่าปริมาณโปรตีนไขมัน และเถ้าของ *C. calcitrans* ทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่คาร์โบไฮเดรต พบว่ากลุ่มควบคุมมีปริมาณสูงสุด (15.56 ± 2.18 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3, 6 และ12 ชั่วโมง (9.82 ± 3.64, 8.31 ± 1.29 และ10.00 ± 0.54 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) (ตารางที่ 13)

ขณะที่ระยะ stationary phase พบว่าโปรตีนไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *C. calcitrans* ทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มทดลอง	ระยะ exponential phase (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				ระยะ stationary phase (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)			
	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	เถ้า	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	เถ้า
กลุ่มควบคุมไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	33.15 ± 7.64[a]	10.80 ± 1.29[a]	15.56 ± 2.18[a]	33.85 ± 1.10[a]	27.32 ± 1.57[a]	13.72 ± 3.69[a]	9.16 ± 2.59[a]	33.45 ± 0.56[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	25.17 ± 5.35[a]	8.59 ± 1.07[a]	9.82 ± 3.64[b]	33.37 ± 2.12[a]	26.65 ± 6.35[a]	7.48 ± 1.75[a]	9.15 ± 2.09[a]	38.16 ± 1.79[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง	25.36 ± 3.39[a]	7.04 ± 1.78[a]	8.31 ± 1.29[b]	36.81 ± 2.55[a]	33.55 ± 8.78[a]	8.08 ± 3.82[a]	10.17 ± 3.54[a]	37.51 ± 6.97[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 12 ชั่วโมง	24.18 ± 4.08[a]	13.74 ± 6.49[a]	10.00 ± 0.54[b]	35.66 ± 2.56[a]	25.90 ± 5.13[a]	8.78 ± 2.90[a]	8.30 ± 1.53[a]	38.35 ± 5.89[a]

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2.6 ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid)

ระยะ exponential phase พบว่าปริมาณ EPA ของ *Chaetoceros calcitrans* กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 12 ชั่วโมง มากที่สุด (10.14 ± 1.53 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ กลุ่มควบคุม เสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 และ6 ชั่วโมง (9.39 ± 1.10, 9.27 ± 0.87 และ9.14 ± 2.09 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) แต่เมื่อทดสอบทางสถิติทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนปริมาณ DHA ทุกกลุ่มการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 14)

ส่วนในระยะ stationary phase พบว่าปริมาณ EPA ของ *C. calcitrans* กลุ่มควบคุมมีปริมาณสูงสุด (10.38 ± 1.81 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา6, 12 และ3 ชั่วโมง ตามลำดับ (10.26 ± 1.75, 10.01 ± 0.55 และ 0.31 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) แต่เมื่อทดสอบทางสถิติทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และปริมาณ DHA ทุกกลุ่มการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ในระยะต่าง ๆ ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

กลุ่มทดลอง	ระยะ exponential phase (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)		ระยะ stationary phase (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)	
	EPA (C20:5n-3)	DHA (C22:6n-3)	EPA (C20:5n-3)	DHA (C22:6n-3)
กลุ่มควบคุมไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	9.39 ± 1.10[a]	0.33 ± 0.02[a]	10.38 ± 1.81[a]	0.34 ± 0.03[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	9.27 ± 0.87[a]	0.31 ± 0.02[a]	8.79 ± 1.32[a]	0.30 ± 0.03[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 6 ชั่วโมง	9.14 ± 2.09[a]	0.33 ± 0.04[a]	10.26 ± 1.75[a]	0.34 ± 0.08[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 12ชั่วโมง	10.14 ± 1.53[a]	0.31 ± 0.04[a]	10.01 ± 0.55[a]	0.31 ± 0.03[a]

หมายเหตุ a อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

2.7 คุณสมบัติน้ำเลี้ยง *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

2.7.1 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (Dissolved carbondioxide)

เวลา 6.00 นาฬิกา ก่อนเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการทดลอง พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมง มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 2.64±1.69, 2.54±1.31, 2.03±1.30 และ 2.49± 0.96 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0.53-5.83, 0.30-5.09, 0.43-4.59 และ 1.66-4.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำตอนเวลา 6.00 นาฬิกา ทุกกลุ่มการทดลองจะมีปริมาณมากสุดในวันแรกและลดลงเรื่อย ๆ จนถึงวันที่ 7 ของการเลี้ยง หลังจากนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนสิ้นสุดการทดลอง

เวลา 9.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำของกลุ่มควบคุม, กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมง มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 2.65±3.54, 31.01±1.22, 30.49±0.85 และ 30.34±0.95 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0-9.92, 28.64-32.72, 29.07-31.75 และ 28.14-31.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะต่าง ๆ มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำใกล้เคียงกันเนื่องจากช่วงเวลา 9.00 นาฬิกา มีการเสริมคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ตลอด (ภาพที่ 11)

เวลา 12.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำของกลุ่มควบคุม, กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมง มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ3.86±4.63, 19.24±3.68, 30.47±0.73 และ 30.38±0.48 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0-13.05, 9.99-24.04, 29.05-31.64 และ 29.56-31.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยเวลา 12.00 นาฬิกา พบว่ากลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3 ชั่วโมง มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำลดลงมาก เพราะมีการหยุดเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ตอน 9.00 นาฬิกา ส่วนกลุ่มการทดลองอื่นมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำไม่เปลี่ยนแปลง เพราะมีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่

เวลา 18.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำของกลุ่มควบคุม, กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมง มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 2.49±3.17, 16.49±5.56, 21.09±2.91 และ 30.22±0.92 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0-8.26, 0.90-23.01, 17.38-26.63 และ 28.43-31.58 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำของกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อหยุดให้คาร์บอนไดออกไซด์ 6 ชั่วโมง พบว่ายังมีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเท่ากับ 21.09±2.91 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่า *Chaetoceros calcitrans* มีแหล่งคาร์บอนใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงปริมาณเพียงพอ ซึ่งจากผลทดลองพบว่า กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์และปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า กรดไขมันอีพีเอ และกรดไขมันดีเอชเอ ไม่แตกต่างกัน ดังนั้น การควบคุมปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำให้อยู่ในช่วง 21.09±2.91 ถึง 30.47±0.73 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถควบคุมได้โดยการเว้นระยะการเปิด-ปิด ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเปิด 3 ชั่วโมง ปิด 3 ชั่วโมง สลับกันในรอบที่มีการให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง หรือลดความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์น้อยกว่า 2 เปอร์เซ็นต์

2.7.2 ค่าพีเอช (pH)

เวลา 6.00 นาฬิกา พบว่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.21±0.07, 8.21±0.06, 8.24±0.06 และ 8.22±0.04 ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 8.09-8.29, 8.09-8.30, 8.11-8.31 และ 8.14-8.27 ตามลำดับ โดยแต่ละกลุ่มการทดลองมีค่าพีเอชใกล้เคียงกันเพราะยังไม่มีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

เวลา 9.00 นาฬิกาพบว่าค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.26±0.14, 6.84±0.12, 6.85±0.11 และ 6.85±0.10 ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 8.01-8.39, 6.54-6.95, 6.57-6.96 และ 6.61-6.98 ตามลำดับ โดยกลุ่มที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีค่าพีเอชลดลงมากเพราะคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อละลายน้ำจะเป็นกรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) มีผลให้พีเอชลดลง

เวลา 12.00 นาฬิกาพบว่าค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.21±0.21, 7.54±0.20, 6.86±0.11 และ 6.65±0.10 ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 7.80-8.41, 7.22-8.00, 6.60-6.96 และ 6.64-6.97 ตามลำดับ โดยกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3 ชั่วโมงมีค่าพีเอชลดลงเพราะมีการหยุดเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

เวลา 18.00 นาฬิกาพบว่าค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.32±0.18, 7.66±0.23, 7.44±0.17 และ 6.86±0.11 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 8.03-8.53, 7.35-8.28, 7.25-7.71 และ 6.60-6.97 ตามลำดับ (ภาพที่ 12)

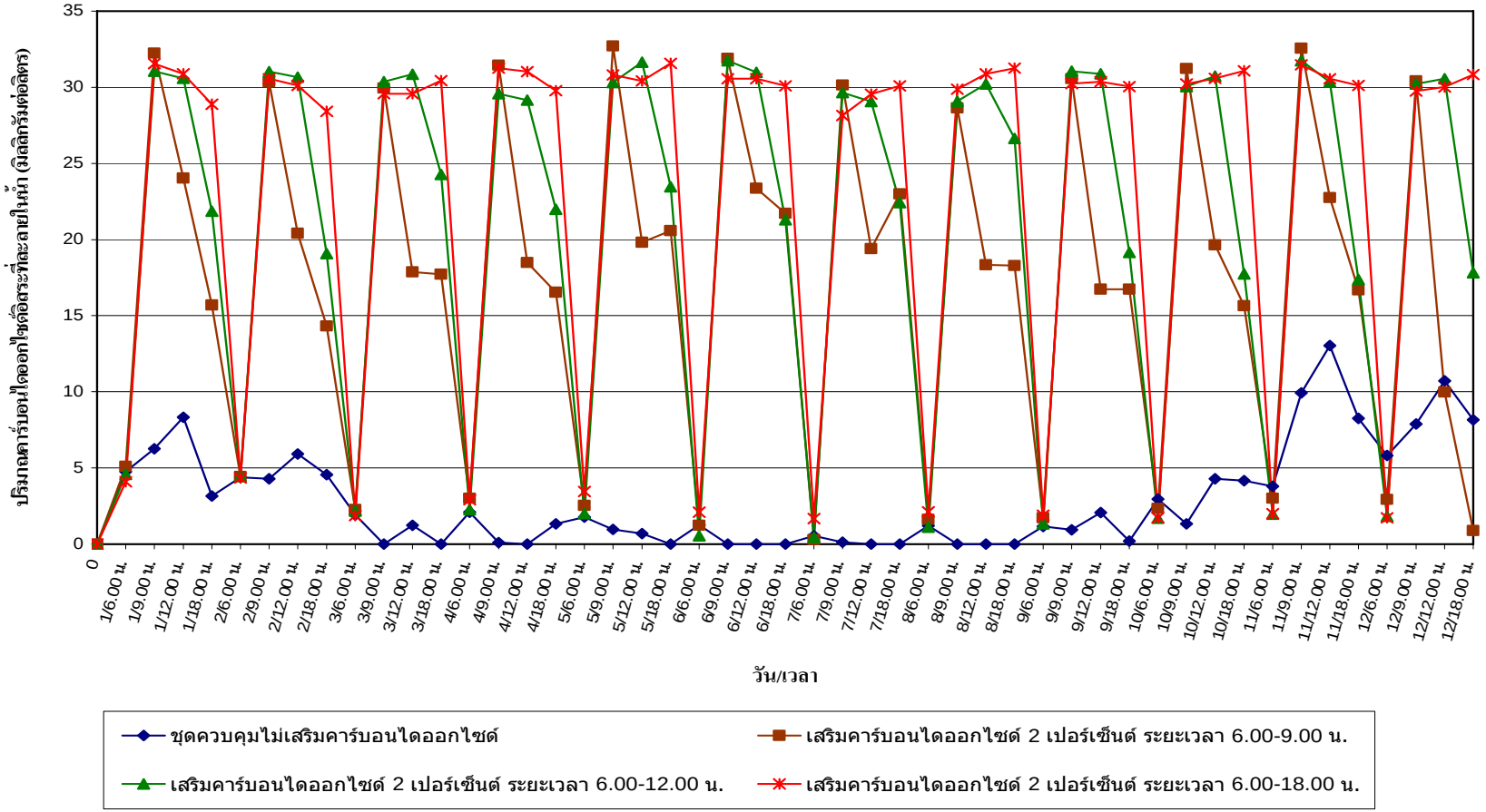
2.7.3 ปริมาณด่างรวม (Total alkaline)

พบว่าปริมาณด่างรวมของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3, 6 และ12 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย 132.43±24.40, 141.41±24.31, 142.05±24.71 และ 143.38±24.15 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่

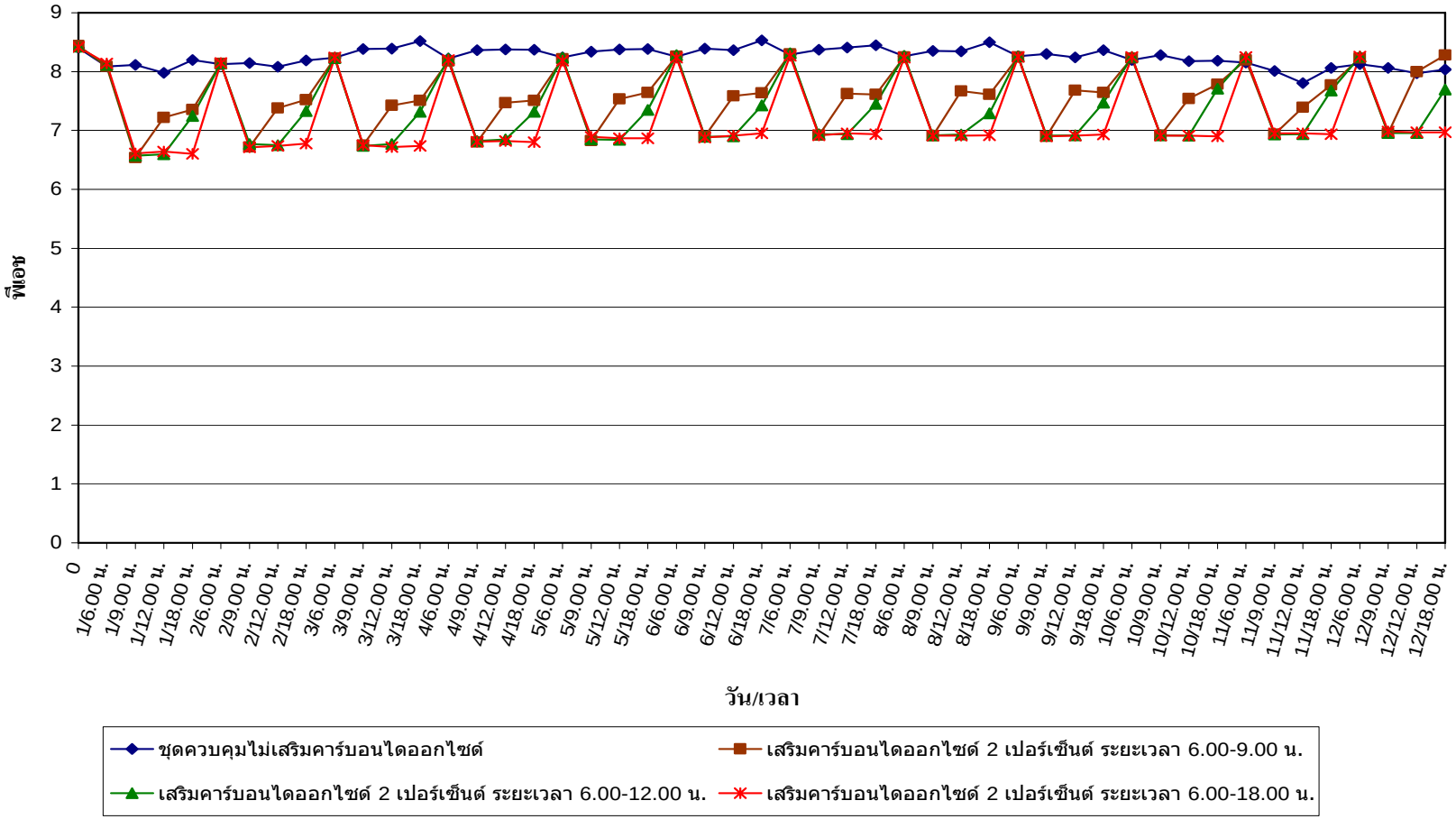
ในช่วง 85.27-157.13, 88.20-163.70, 85.27-164.80 และ 89.33-166.20 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ (ภาพที่ 13)

ปริมาณด่างรวมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาเลี้ยงที่นานขึ้นทุกกลุ่มการทดลอง โดยกลุ่มที่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ มีแนวโน้มการเพิ่มปริมาณด่างรวมมากกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจากมีการเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้คาร์บอนไดออกไซด์ทำปฏิกิริยากับน้ำอยู่ในรูปกรดคาร์บอนิกและสามารถแตกตัวต่อไปเป็นไบคาร์บอเนต และคาร์บอเนต ปริมาณด่างรวมจึงเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์

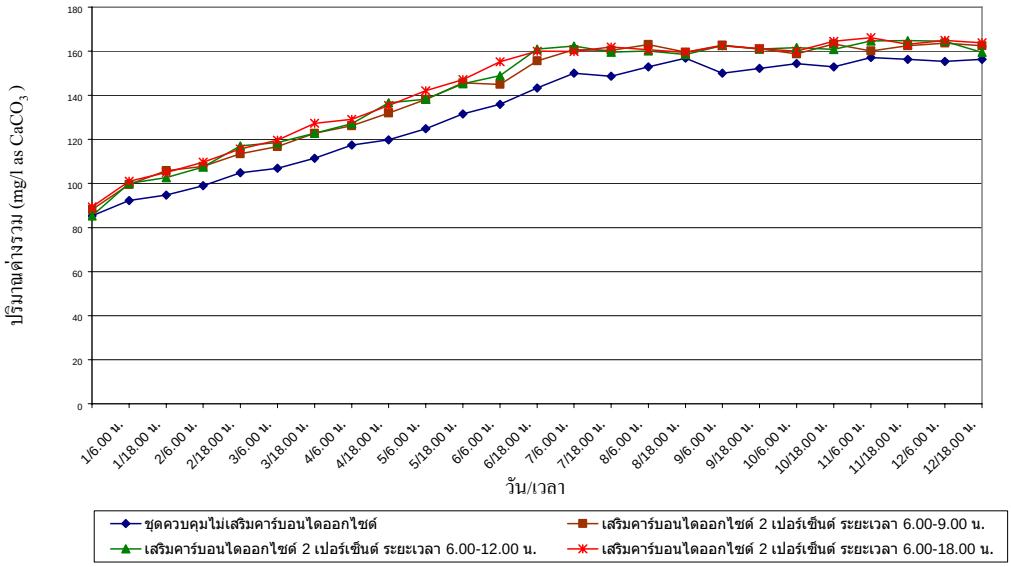
การเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างรวมตามระยะเวลาเลี้ยงที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างรวมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ เมื่อเลี้ยงสัตว์น้ำไประยะหนึ่ง ปริมาณของเสียภายในบ่อเพิ่มมากขึ้น กระบวนการย่อยสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียและการหายใจของแพลงก์ตอนพืชจะมีการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมามาก ทำให้ปริมาณด่างรวมเพิ่มมากขึ้นด้วย (ไมตรี และจารุวรรณ, 2528)



ภาพที่ 11 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 12 พีเอชในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ



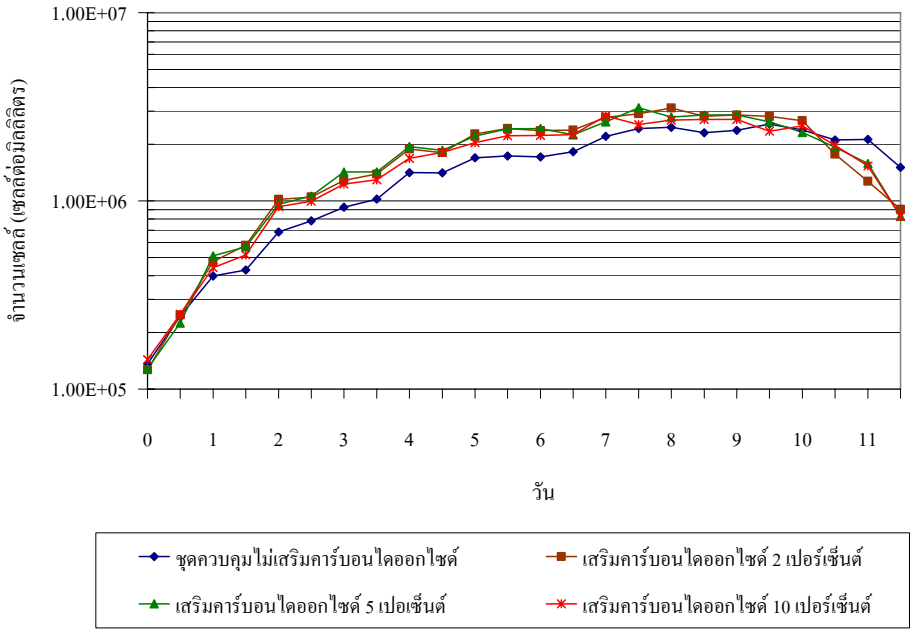
ภาพที่ 13 ปริมาณด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

3. ผลการทดลองที่ 3 ศึกษาระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในระดับมหมวล

3.1 การเจริญเติบโตของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในการเลี้ยงระดับมหมวล

จากการทดลองเลี้ยง พบว่า *C. calcitrans* ในกลุ่มเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทุกกลุ่มมีการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยสังเกตได้ชัดเจนตั้งแต่การเลี้ยงผ่านไป 1วัน โดยแต่ละกลุ่มทดลองมีแนวโน้มเข้าระยะต่าง ๆ คือ ทุกกลุ่มการทดลองเข้าสู่ระยะ exponential phase ตั้งแต่วันแรกของการเลี้ยง จนกระทั่งผ่านวันที่ 5 เริ่มเข้าสู่ระยะ stationary phase เป็นเวลา 5 วัน หลังจากนั้นวันที่ 10 เข้าสู่ระยะ death phase (ภาพที่ 14)

การเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเลี้ยง *C. calcitrans* มีผลทำให้มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม เพราะการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ *C. calcitrans* มีแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ *C. calcitrans* มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์เร็วขึ้น



ภาพที่ 14 การเจริญเติบโตของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล

3.2 จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำหนักต่อเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล

พบว่าจำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยวของ *C. calcitrans* ในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเซลล์สูงสุด ($10.62 \pm 0.81 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 และ10 เปอร์เซ็นต์ ($10.50 \pm 1.01 \times 10^5$ และ$9.95 \pm 1.05 \times 10^5$ ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามจำนวนเซลล์ของกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($7.83 \pm 0.70 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ จำนวนเซลล์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แสดงว่า การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในระดับมหมวล ทำให้มีปริมาณแหล่งคาร์บอนเพียงพอต่อการใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง การเพิ่มจำนวนเซลล์จึงไม่มีความแตกต่างกัน

ส่วนน้ำหนักแห้ง พบว่ากลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์มีน้ำหนักแห้งสูงสุด (35.67 ± 1.53 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (28.67 ± 4.51 มิลลิกรัมต่อลิตร) แต่น้ำหนักแห้งในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และน้ำหนักต่อเซลล์พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 ปริมาณ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล

กลุ่มทดลอง	จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว ($x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	น้ำหนักต่อเซลล์ (พิโคกรัมต่อเซลล์)
กลุ่มควบคุมไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	7.83 ± 0.70^{b}	28.67 ± 4.51^{b}	36.54 ± 4.13^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์	10.50 ± 1.01^{a}	31.00 ± 1.00^{ab}	29.73 ± 3.48^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์	10.62 ± 0.81^{a}	35.67 ± 1.53^{a}	33.72 ± 3.00^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์	9.95 ± 1.05^{a}	31.33 ± 4.16^{ab}	32.03 ± 7.76^{a}

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า

Chaetoceros calcitrans กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดคือ 0.58 ± 0.03 ต่อวัน ทำให้ใช้เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เท่ากับ 1.20 ± 0.07 วัน รองลงมาคือ กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 0.57 ± 0.02 ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 1.22 ± 0.04 วัน) , กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ0.54 ± 0.01 ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 1.28 ± 0.03 วัน) และกลุ่มควบคุม (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ0.50 ± 0.01 ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า1.37 ± 0.02 วัน) ตามลำดับ (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล

กลุ่มทดลอง	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (วัน)
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	0.50 ± 0.01	1.37 ± 0.02
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์	0.58 ± 0.03	1.20 ± 0.07
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์	0.57 ± 0.02	1.22 ± 0.04
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์	0.54 ± 0.01	1.28 ± 0.03

3.4 ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล

พบว่ากลุ่มควบคุมมีความยาวแกนอะพิคัลสูงสุด (4.72 ± 0.09 ไมโครเมตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (4.46 ± 0.08 และ4.44 ± 0.02 ไมโครเมตร ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ (4.63 ± 0.08 ไมโครเมตร)

แกนเพอร์วาลวาร์ พบว่ากลุ่มควบคุมมีความยาวสูงสุด (5.82 ± 0.09ไมโครเมตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (5.33 ± 0.17 และ 5.42 ± 0.17 ไมโครเมตร ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ (5.63 ± 0.18 ไมโครเมตร) (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 ขนาดเซลล์ของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล

กลุ่มทดลอง	แกนอะพิคัล (ไมโครเมตร)	แกนเพอร์วาลวาร์ (ไมโครเมตร)
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	4.72 ± 0.09^{a}	5.82 ± 0.09^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์	4.63 ± 0.08^{a}	5.63 ± 0.18^{ab}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์	4.46 ± 0.08^{b}	5.33 ± 0.17^{c}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์	4.44 ± 0.02^{b}	5.42 ± 0.17^{bc}

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.5 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล

จากการทดลองพบว่า ปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง แต่เถ้าในกลุ่มควบคุมมีปริมาณสูงสุด (44.68 ± 0.92 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ (40.87 ± 2.05 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (43.99 ± 1.35 และ42.10 ± 2.69 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล

กลุ่มทดลอง	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	เถ้า
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	31.61 ± 1.37[a]	10.38 ± 1.73[a]	7.65 ± 0.06[a]	44.68 ± 0.92[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์	35.59 ± 3.39[a]	9.58 ± 2.10[a]	8.37 ± 0.47[a]	43.99 ± 1.35[ab]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์	35.39 ± 2.28[a]	9.43 ± 2.26[a]	8.49 ± 0.56 [a]	40.87 ± 2.05[b]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์	35.79 ± 1.79[a]	9.21 ± 1.66[a]	8.47 ± 0.45[a]	42.10 ± 2.69[ab]

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.6 ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล

จากการทดลองพบว่าปริมาณ EPA ทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ปริมาณ DHA พบว่ากลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสูงสุด (0.102 ± 0.020 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (0.072 ± 0.008มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 และ10 เปอร์เซ็นต์ (0.095 ± 0.014 และ 0.087 ± 0.005 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล

กลุ่มทดลอง	EPA (C20:5n-3) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)	DHA (C22:6n-3) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
กลุ่มควบคุมไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	2.87 ± 1.15^{a}	0.072 ± 0.008^{b}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์	4.79 ± 0.83^{a}	0.095 ± 0.014^{ab}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์	4.55 ± 0.66^{a}	0.102 ± 0.020^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์	3.82 ± 1.22^{a}	0.087 ± 0.005^{ab}

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.7 คุณสมบัติน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล

3.7.1 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (Dissolved carbondioxide)

เวลา 8.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ กลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเฉลี่ย 0, 0.95± 2.34, 0.87± 1.67 และ 0.68± 1.41 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0, 0-7.49, 0-5.16 และ 0-4.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำแต่ละกลุ่มการทดลองใกล้เคียงกันเพราะยังไม่มีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในเวลานี้

เวลา 17.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ กลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเฉลี่ย 0, 32.82±4.18, 43.55±4.16 และ 63.77±5.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0, 28.30-39.62, 38.62-50.44 และ 56.27-71.41 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เสริมเข้าไป (ภาพที่ 15)

3.7.2 ค่าพีเอช (pH)

เวลา 6.00 นาฬิกา พบว่าค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 8.63±0.10, 8.33± 0.10, 8.32± 0.08 และ 8.33±0.08 ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 8.48-8.79, 8.08-8.41, 8.15-8.40 และ 8.17-8.41 ตามลำดับ

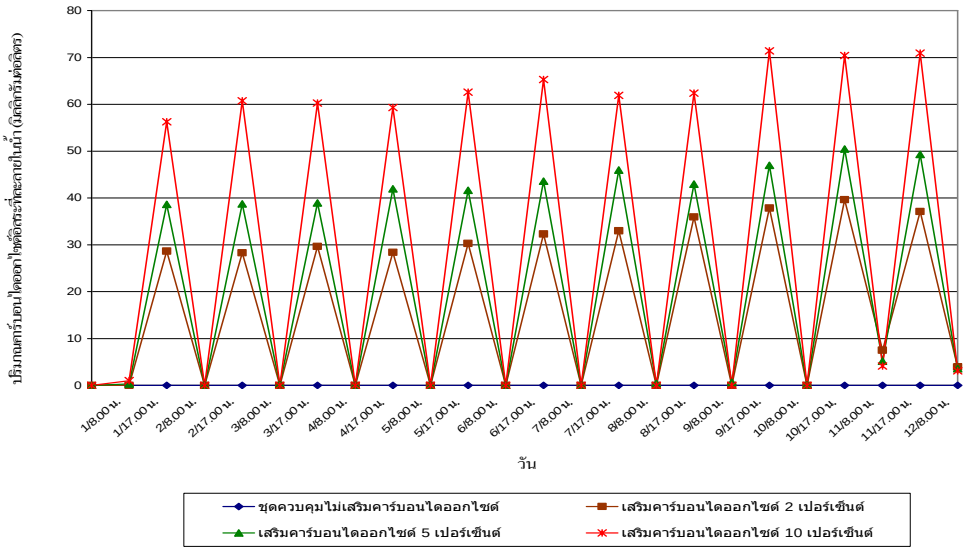
เวลา 17.00 นาฬิกา พบว่าค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 8.98± 0.14, 7.08±0.05, 6.78±0.03 และ 6.44±0.03 ตามลำดับ และค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 8.72-9.25, 7.00-7.16, 6.74-6.83 และ 6.39-6.50 ตามลำดับ โดยค่าพีเอชกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำกว่ากลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 5, 10เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มควบคุม เพราะมีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณมากกว่า (ภาพที่ 16)

3.7.3 ปริมาณด่างรวม (Total alkaline)

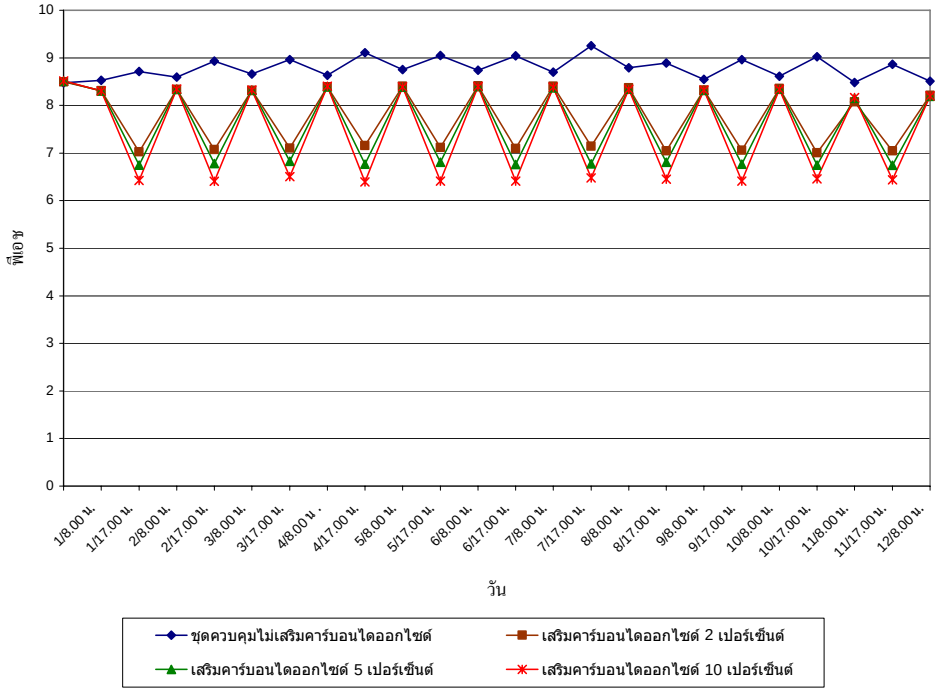
พบว่าปริมาณด่างรวมของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 170.95±21.40, 175.25±24.15, 175.52±24.38 และ 175.36±23.51 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 142.33-204.07, 143.33-212.67, 142.00-213.50 และ 143.00-210.67 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ (ภาพที่ 17)

กลุ่มที่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ มีแนวโน้มการเพิ่มปริมาณด่างรวมมากกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจากมีการเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้คาร์บอนไดออกไซด์ทำปฏิกิริยากับน้ำอยู่ในรูปกรดคาร์บอนิกและสามารถแตกตัวต่อไปเป็นไบคาร์บอเนต และคาร์บอเนต ปริมาณด่างรวมจึงเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์

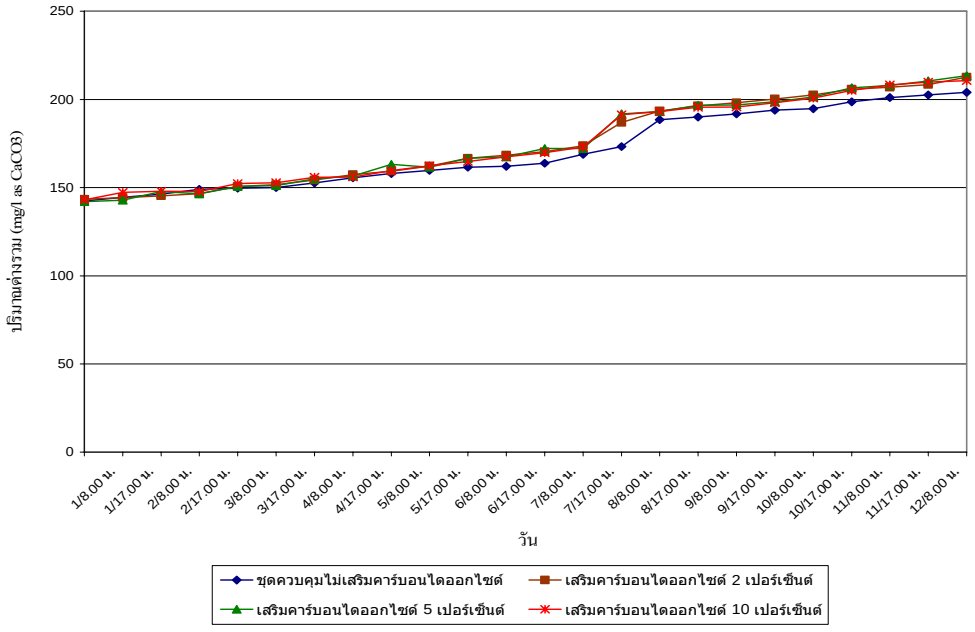
การเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างรวมตามระยะเวลาเลี้ยงที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างรวมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ เมื่อเลี้ยงสัตว์น้ำไประยะหนึ่ง ปริมาณของเสียภายในบ่อเพิ่มมากขึ้น กระบวนการย่อยสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียและการหายใจของแพลงก์ตอนพืชจะมีการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมามาก ทำให้ปริมาณด่างรวมเพิ่มมากขึ้นด้วย (ไมตรี และจารุวรรณ, 2528)



ภาพที่ 15 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล



ภาพที่ 16 พีเอชในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล



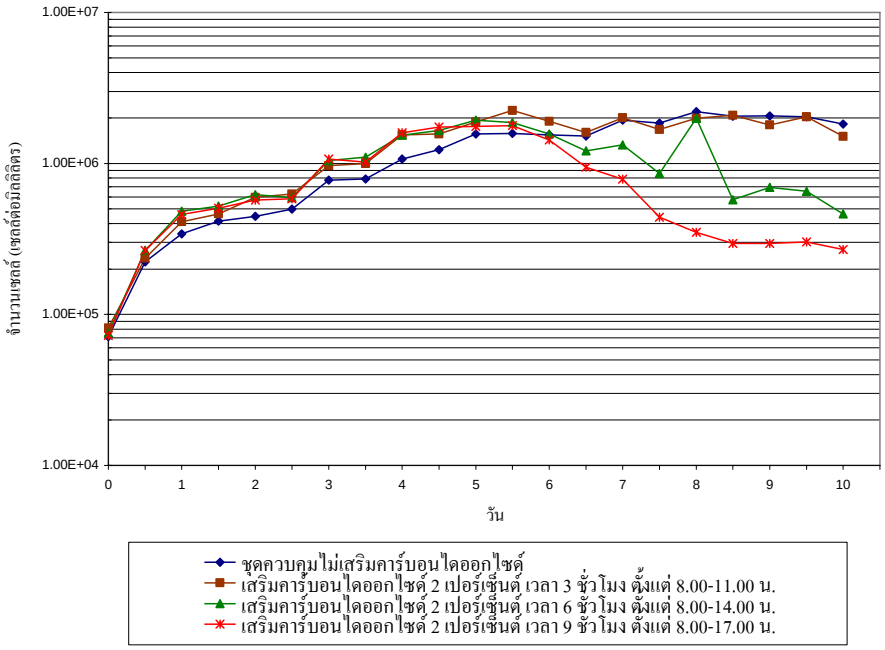
ภาพที่ 17 ปริมาณด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่าง ๆ ในระดับมหมวล

4. ผลการทดลองที่ 4 ศึกษาระยะเวลาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในระดับมหมวล โดยเลือกระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองที่ 3

4.1 การเจริญเติบโตของ *C. calcitrans*

จากการทดลองพบว่า *C. calcitrans* ในแต่ละกลุ่มการทดลองเข้าสู่ระยะ exponential phase ตั้งแต่วันแรกของการเลี้ยง ในระยะนี้จำนวนเซลล์ของกลุ่มที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาต่าง ๆ มีการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัดตั้งแต่วันที่ 1 จากนั้นเริ่มเข้าสู่ระยะ stationary phase ในวันที่ 5 โดยพบว่ากลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 6 และ9 ชั่วโมงอยู่ในระยะนี้ 1วัน คือวันที่ 5-6 หลังจากนั้นจำนวนเซลล์จะลดลงอย่างรวดเร็ว ขณะที่กลุ่มควบคุมและกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3 ชั่วโมงอยู่ในระยะ stationary phase 4 วัน คือวันที่ 5-9 จึงเข้าสู่ระยะ death phase (ภาพที่ 18)

การเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาต่าง ๆ ในการเลี้ยง *C. calcitrans* มีผลทำให้มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม เพราะการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ *C. calcitrans* มีแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ *C. calcitrans* มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์เร็วขึ้น สอดคล้องกับ Markl (1977) รายงานว่าในการเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ที่ความเข้มแสงหนึ่ง ๆ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะเพิ่มตามความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จนถึงจุดอิ่มตัว



ภาพที่ 18 การเจริญเติบโตของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

4.2 จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว น้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำหนักต่อเซลล์

พบว่าจำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยวของ *Chaetoceros calcitrans* ในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 9 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์สูงสุด ($9.78 \pm 1.17 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($7.10 \pm 0.33 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง ($8.43 \pm 0.24 \times 10^5$ และ $9.35 \pm 1.04 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง และกลุ่มควบคุมมีจำนวนเซลล์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังนั้นการเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ทำให้มีแหล่งคาร์บอนปริมาณเพียงพอใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ทำให้การเพิ่มจำนวนเซลล์ไม่มีความแตกต่างจากการเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 9 ชั่วโมง

ส่วนน้ำหนักแห้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง แต่พบว่าน้ำหนักต่อเซลล์ในกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักต่อเซลล์สูงสุด (47.49 ± 18.77 พิโค

กรัมต่อเซลล์) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 9 ชั่วโมง (24.69 ± 2.01 พิโคกรัมต่อเซลล์) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง (35.50 ± 8.64 และ 36.36 ± 5.74 พิโคกรัมต่อเซลล์ ตามลำดับ) (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 ปริมาณ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

กลุ่มทดลอง	จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว ($x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	น้ำหนักต่อเซลล์ (พิโคกรัมต่อเซลล์)
กลุ่มควบคุมไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	7.10 ± 0.33[b]	33.67 ± 13.57[a]	47.49 ± 18.77[a]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	8.43 ± 0.24[ab]	30.00 ± 7.81[a]	35.50 ± 8.64[ab]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 6 ชั่วโมง	9.35 ± 1.04[a]	34.33 ± 8.62[a]	36.36 ± 5.74[ab]
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 9 ชั่วโมง	9.78 ± 1.17[a]	24.00 ± 1.00[a]	24.69 ± 2.01[b]

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า

*Chaetoceros calcitran*s กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดคือ 0.65 ± 0.01ต่อวัน ทำให้ใช้เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เพียง 1.07 ± 0.02 วัน รองลงมาคือ กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 9 ชั่วโมง (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 0.64 ± 0.02ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 1.09 ± 0.04 วัน) , กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 0.63 ± 0.01 ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 1.10 ± 0.01 วัน) และกลุ่มควบคุม (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 0.62 ± 0.04 ต่อวัน, เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 1.12 ± 0.07 วัน) ตามลำดับ (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ของ *C. calcitran*s ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

กลุ่มทดลอง	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น2 เท่า (วัน)
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	0.62 ± 0.04	1.12 ± 0.07
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	0.63 ± 0.01	1.10 ± 0.01
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง	0.65 ± 0.01	1.07 ± 0.02
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 9 ชั่วโมง	0.64 ± 0.02	1.09 ± 0.04

4.4 ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros calcitran*s

พบว่าความยาวแกนอะพิคัลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง แต่แกนเพอร์วาลวาร์ พบว่ากลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง มีความยาวสูงสุด (6.15 ± 0.16 ไมโครเมตร) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 9 ชั่วโมง (5.90 ± 0.06 ไมโครเมตร) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง (5.96 ± 0.13 และ 6.02 ± 0.13 ไมโครเมตร ตามลำดับ) (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22 ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

กลุ่มทดลอง	แกนอะพิคัล (ไมโครเมตร)	แกนเพอร์วาลวาร์ (ไมโครเมตร)
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	4.84 ± 0.11^{a}	5.96 ± 0.13^{ab}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	4.84 ± 0.13^{a}	6.15 ± 0.16^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 6 ชั่วโมง	4.91 ± 0.05^{a}	6.02 ± 0.13^{ab}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 9 ชั่วโมง	4.77 ± 0.03^{a}	5.90 ± 0.06^{b}

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.5 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

จากการทดลองพบว่าโปรตีนในกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง มีปริมาณสูงสุด (35.74±0.51 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 9 และ 6 ชั่วโมง (34.14±1.23 และ33.12±2.59 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) แต่ทั้งสามกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (32.40±0.17 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)

ปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง และปริมาณเถ้าพบว่ากลุ่มควบคุมมีปริมาณสูงสุด (42.64±1.38 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง (38.62±2.02 และ38.50±1.63 เปอร์เซ็นต์น้ำหนัก

แห้ง ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 9 ชั่วโมง (40.91±1.02 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) (ตารางที่ 23)

ตารางที่ 23 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะต่าง ๆ ในระดับมหมวล

กลุ่มทดลอง	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	เถ้า
กลุ่มควบคุม ไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	32.40 ± 0.17^{b}	10.66 ± 0.31^{a}	8.26 ± 0.90^{a}	42.64 ± 1.38^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	35.74 ± 0.51^{a}	11.18 ± 0.56^{a}	7.93 ± 0.93^{a}	38.62 ± 2.02^{b}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง	33.12 ± 2.59^{ab}	11.38 ± 0.80^{a}	9.04 ± 0.59^{a}	38.50 ± 1.63^{b}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 9 ชั่วโมง	34.14 ± 1.23^{ab}	11.44 ± 1.79^{a}	8.94 ± 0.51^{a}	40.91 ± 1.02^{ab}

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.6 ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ของ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

จากการทดลองพบว่า EPA กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณสูงสุด (3.63 ± 0.80 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ ระยะเวลา 3 และ 9 ชั่วโมง (3.00 ± 0.52 และ2.84 ± 0.54มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) แต่ทั้งสามกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (2.21 ± 0.19 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

ส่วนปริมาณ DHA พบว่าทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 24)

ตารางที่ 24 ปริมาณกรดไขมัน EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

กลุ่มทดลอง	EPA (C20:5n-3) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)	DHA (C22:6n-3) (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
กลุ่มควบคุมไม่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์	2.21 ± 0.19^{b}	0.065 ± 0.007^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	3.00 ± 0.52^{ab}	0.087 ± 0.005^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 6 ชั่วโมง	3.63 ± 0.80^{a}	0.098 ± 0.027^{a}
กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 9 ชั่วโมง	2.84 ± 0.54^{ab}	0.088 ± 0.003^{a}

หมายเหตุ a, b อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.7 คุณสมบัติน้ำเลี้ยง *C. calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

4.7.1 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (Dissolved carbondioxide)

เวลา 8.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมง มีปริมาณเฉลี่ย 0, 0, 0.40± 0.75 และ 0.76± 1.23 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0, 0, 0-2.40 และ 0-3.93 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เวลา 11.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมง มีปริมาณเฉลี่ย 0, 28.06± 1.42, 28.64± 1.62 และ 28.81± 1.59 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0, 26.04-30.36, 27.10-31.63 และ 26.64-31.30 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยในเวลานี้ กลุ่ม

ต่าง ๆที่เสริมคาร์บอนไดออกไซด์จะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเพิ่มขึ้นจากเวลา 8.00 นาฬิกาเพราะมีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

เวลา 14.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมง มีปริมาณเฉลี่ย 0, 1.63± 2.52, 30.16± 1.91 และ 30.28± 1.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0, 0-4.95, 27.73-32.53 และ 28.80-33.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เวลา 17.00 นาฬิกา พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมง มีปริมาณเฉลี่ย 0, 0, 6.66± 1.33 และ 32.19± 3.37 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 0, 0, 5.29-8.56 และ 29.20-37.79 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 19)

เมื่อพิจารณาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำของกลุ่มเสริมคาร์บอน-ไดออกไซด์ระยะเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อหยุดให้คาร์บอนไดออกไซด์ 3 ชั่วโมง พบว่ายังมีคาร์บอนไดออก-ไซด์ที่ละลายในน้ำอยู่ 6.66± 1.33 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่า *Chaetoceros calcitrans* ที่เลี้ยงในระดับมหมวล มีแหล่งคาร์บอนปริมาณเพียงพอใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งจากผลทดลองพบว่า กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 6 และ 9 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์และปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า กรดไขมันอีพีเอ และกรดไขมันดีเอชเอ ไม่แตกต่างกัน ดังนั้น การควบคุมปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม สามารถควบคุมได้โดยการเว้นระยะการเปิด-ปิด ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเปิด 3 ชั่วโมง ปิด 3 ชั่วโมง สลับกันจนให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ครบ 6 ชั่วโมง หรือลดความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์น้อยกว่า 2 เปอร์เซ็นต์

4.7.2 ค่าพีเอช (pH)

เวลา 8.00 นาฬิกา ก่อนเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุมเฉลี่ย กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย 8.64±0.11, 8.40± 0.04, 8.32± 0.05 และ 8.29±0.04 ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 8.50-8.79, 8.33-8.47, 8.23-8.37 และ 8.19-8.33 ตามลำดับ

เวลา 11.00 นาฬิกา หลังมีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ กลุ่มเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีค่าพีเอชลดลง โดยค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย 8.80±0.16, 7.51± 0.68, 7.45± 0.65 และ7.41±0.62 ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 8.59-9.00, 6.99-8.45, 6.90-8.40 และ 6.93-8.30 ตามลำดับ

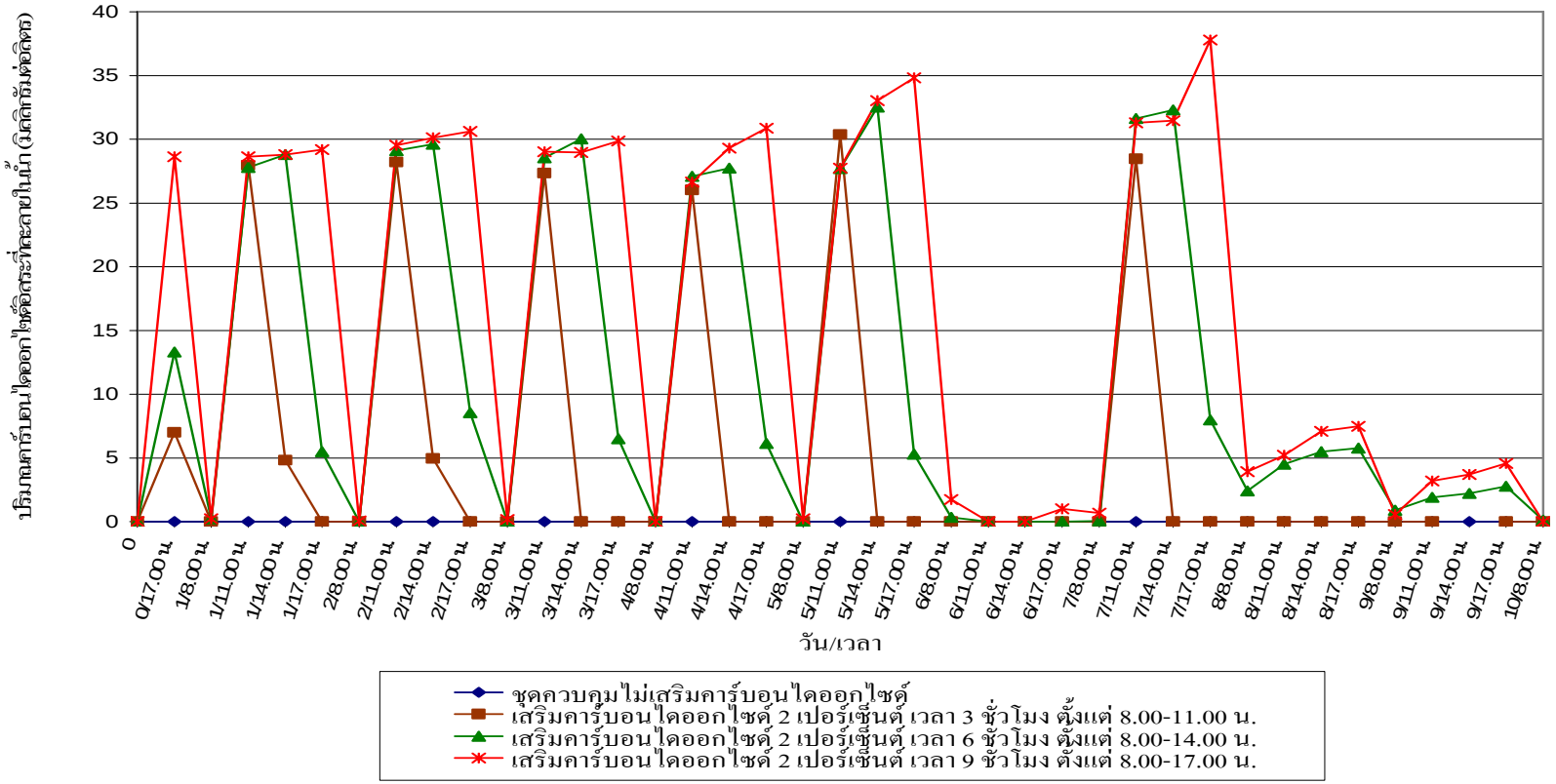
เวลา 14.00 นาฬิกา ค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุมเฉลี่ย กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย 8.93±0.17, 8.33± 0.11, 7.43± 0.63 และ 7.38±0.61 ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 8.66-9.14, 8.12-8.50, 6.98-8.41 และ 6.93-8.32 ตามลำดับ

เวลา 17.00 นาฬิกา ค่าพีเอชในน้ำของกลุ่มควบคุมเฉลี่ย กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมง มีปริมาณเฉลี่ย 8.93±0.17, 8.44± 0.07, 8.11± 0.12 และ 7.36±0.61 ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 8.68-9.15, 8.33-8.55, 7.96-8.39 และ 6.87-8.32 ตามลำดับ (ภาพที่ 20)

4.7.3 ปริมาณด่างรวม (Total alkaline)

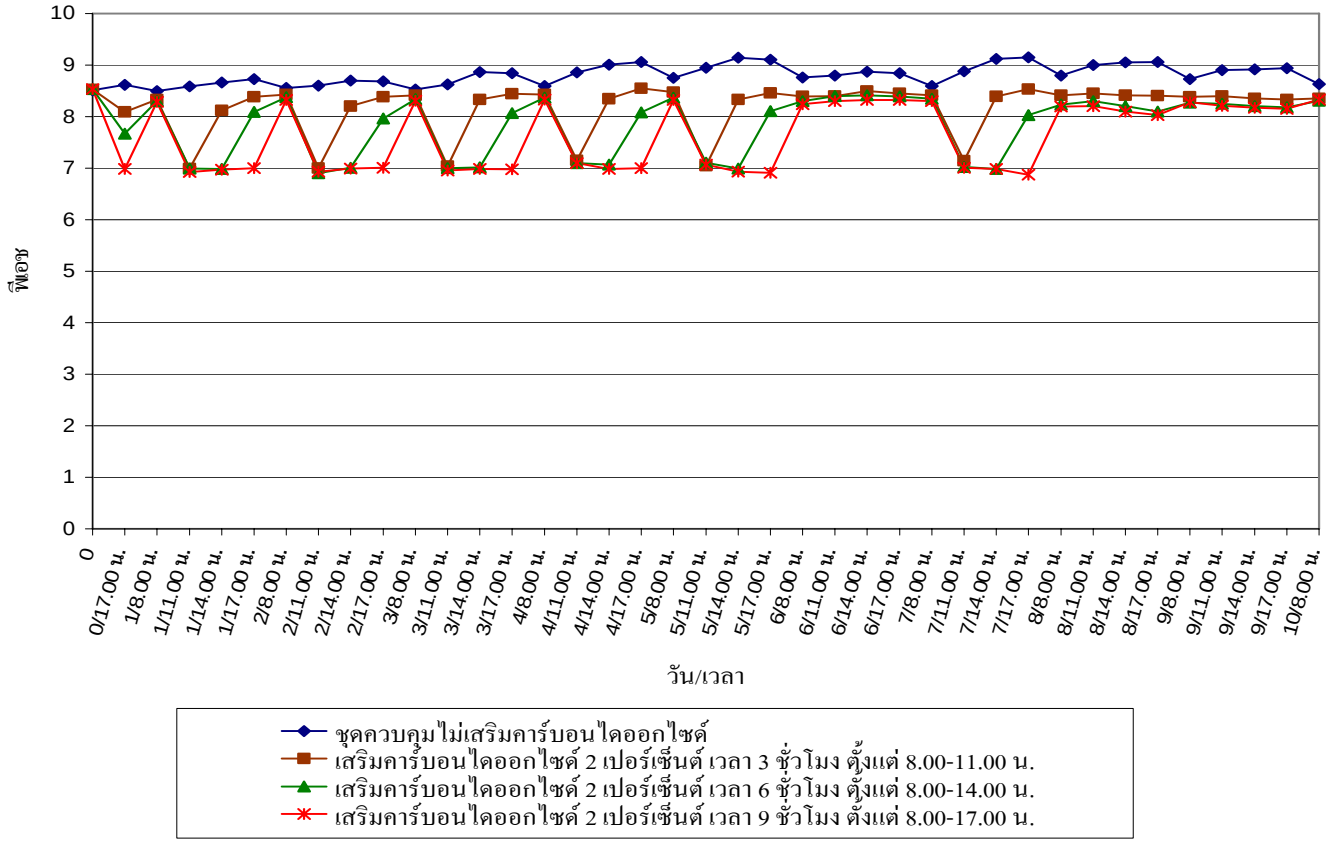
พบว่าปริมาณด่างรวมของกลุ่มควบคุม กลุ่มเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ระยะเวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย 154.76±12.43, 157.59±13.83, 155.25±11.77 และ 154.81±10.74 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ และมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงอยู่ในช่วง 138.67-174.67, 138.67-178.43, 136.83-170.93 และ 138.50-168.73 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ (ภาพที่ 21)

การเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างรวมตามระยะเวลาเลี้ยงที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างรวมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ เมื่อเลี้ยงสัตว์น้ำไประยะหนึ่ง ปริมาณของเสียภายในบ่อเพิ่มมากขึ้น กระบวนการย่อยสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียและการหายใจของแพลงก์ตอนพืชจะมีการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมามาก ทำให้ปริมาณด่างรวมเพิ่มมากขึ้นด้วย (ไมตรี และจารุวรรณ, 2528)



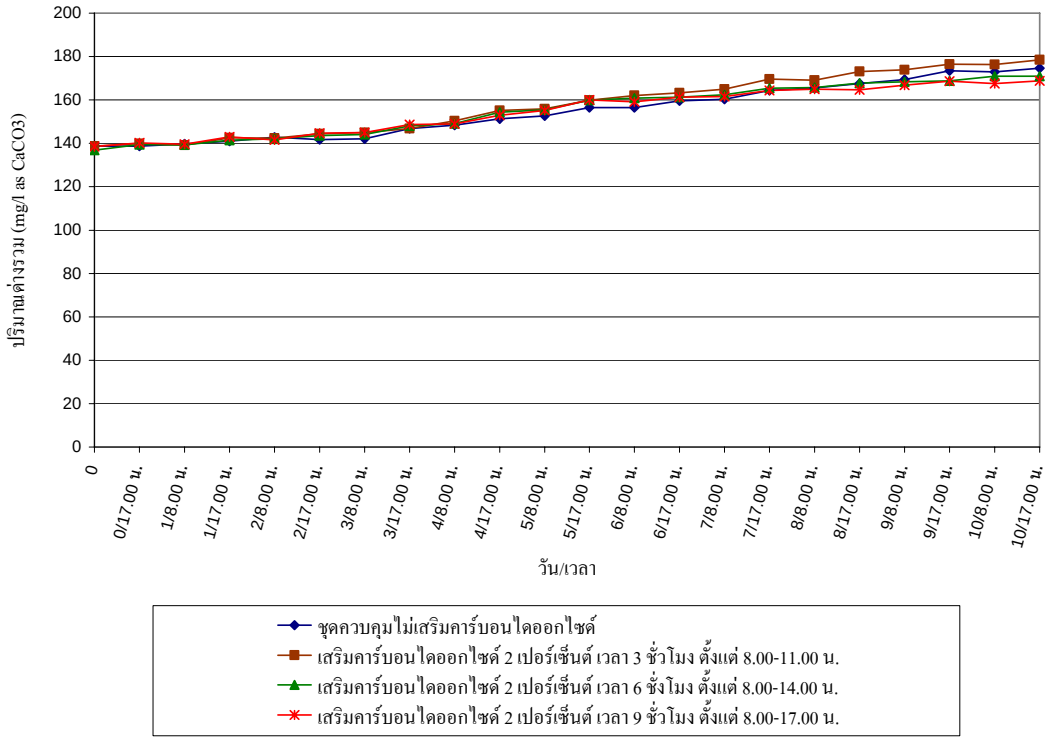
ภาพที่ 19 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

หมายเหตุ วันที่ 6, 8, 9 และ10 ไม่มีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพราะฝนตกทั้งวัน



ภาพที่ 20 พีเอชในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

หมายเหตุ วันที่ 6, 8, 9และ10 ไม่มีการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพราะฝนตกทั้งวัน



ภาพที่ 21 ปริมาณด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต) ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การศึกษาระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ

พบว่าระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ คือ ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เพราะมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงที่สุด (0.49±0.01 ต่อวัน), เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (1.42± 0.02 วัน) ใช้เวลาน้อยที่สุด ทำให้มีจำนวนเซลล์สูงสุดทั้งระยะ exponential phase (3.68±0.35 x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และ stationary phase (9.69±0.32 x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำหนักแห้งที่เพิ่มสูงขึ้น ขนาดของเซลล์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับกลุ่มควบคุม

ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ทั้งระยะ exponential phase และ stationary phase ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) กับกลุ่มการทดลองอื่น ขณะที่ปริมาณ EPA และ DHA ทั้งระยะ exponential phase และ stationary phase ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) กับกลุ่มการทดลองอื่น ยกเว้นในระยะ stationary phase ที่กลุ่มเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ DHA สูงกว่า

คุณสมบัติของน้ำเลี้ยง *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ หลังมีการเสริมก๊าซมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเฉลี่ย 30.21±2.09 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 26.10-32.93 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอชเฉลี่ย 6.83±0.13 มีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 6.55-6.94 ปริมาณด่างรวมเฉลี่ย 136.57±27.36 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต มีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 82.57-165.63 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบด้านต่าง ๆ กลุ่มเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ แม้ว่าในระยะ stationary phase กลุ่มเสริมก๊าซ

คาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ DHA สูงกว่า แต่ประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตน้อยกว่ามาก ทำให้ผลผลิตที่ได้น้อยลงด้วย

2. การศึกษาระยะเวลาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ โดยเลือกระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองที่ 1

พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ คือ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง เพราะมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงที่สุด (0.48±0.01 ต่อวัน), เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (1.45± 0.04 วัน) ใช้เวลาน้อยที่สุด ทำให้มีจำนวนเซลล์ระยะ exponential phase เท่ากับ 3.45±0.33 $x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ stationary phase เท่ากับ 8.32±0.45 $x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำหนักแห้งที่เพิ่มสูงขึ้น ขนาดของเซลล์มีขนาดเล็กลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ทั้งระยะ exponential phase และ stationary phase ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง ยกเว้นปริมาณคาร์โบไฮเดรตในระยะ exponential phase ที่มีปริมาณน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ขณะที่ปริมาณ EPA และ DHA ทั้งระยะ exponential phase และ stationary phase ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกกลุ่มการทดลอง

คุณสมบัติของน้ำเลี้ยง *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเพียงพอต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของ *C. calcitrans* เพราะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเหลืออยู่ปริมาณเฉลี่ย 21.09±2.91 มิลลิกรัมต่อลิตร, ค่าพีเอชเฉลี่ย 7.44±0.17 หลังหยุดให้ก๊าซผ่านมา 6 ชั่วโมง

3. การศึกษาระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ในระดับมหมวล

ระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในระดับมหมวล คือ ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพราะมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงที่สุด (0.58±0.03 ต่อวัน), เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (1.20± 0.07 วัน) ใช้เวลาน้อยที่สุด ทำให้มีจำนวนเซลล์ในระยะ Early log phase เท่ากับ 10.50±1.01 x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำหนักแห้งที่เพิ่มสูงขึ้น ถึงแม้จำนวนเซลล์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเทียบกับกับกลุ่มเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณก๊าซที่ใช้น้อยกว่าจึงประหยัดปริมาณก๊าซ ขนาดของเซลล์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ขณะที่ปริมาณ EPA และ DHA ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่นเช่นกัน

คุณสมบัติของน้ำเลี้ยง *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ หลังมีการเสริมก๊าซมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเฉลี่ย 32.82±4.18 มิลลิกรัมลิตร มีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 28.30-39.62 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอชเฉลี่ย 7.08±0.05 มีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 7.00-7.16, ปริมาณด่างรวมเฉลี่ย 175.25±24.15 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต มีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 143.33-212.67 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต

4. การศึกษาระยะเวลาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในระดับมหมวล โดยเลือกระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมที่สุด ในการทดลอง ที่ 3

พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยง *C. calcitrans* ในระดับมหมวล คือ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง เพราะมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงที่สุด (0.65±0.01 ต่อวัน), เวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (1.07± 0.02 วัน) ใช้เวลาน้อยที่สุด ทำให้มีจำนวนเซลล์ 9.35±1.04 x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำหนักแห้งที่เพิ่มสูงขึ้น

แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น เช่นเดียวกับขนาดของเซลล์

ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ขณะที่เถ้ามีปริมาณน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ปริมาณ EPA มีปริมาณมากกว่ากลุ่มควบคุม แต่ปริมาณ DHA ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น

คุณสมบัติของน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเพียงพอต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของ *C. calcitrans* เพราะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายในน้ำเหลืออยู่ปริมาณเฉลี่ย 6.66± 1.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าพีเอชเฉลี่ย 8.11± 0.12 หลังหยุดให้ก๊าซผ่านมา 3 ชั่วโมง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการเสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นต่ำกว่า 2 % และปริมาณการเสริมก๊าซในช่วงเซลล์ระยะต่าง ๆ ในการเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans*

2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการนำ *C. calcitrans* ที่เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปทดลองใช้อนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน

3. ถังบรรจุก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ควรมีฮีทเตอร์ติดตั้งที่วาว์ลควบคุมการปิด-เปิด เพราะจะเกิดความเย็นจนกลายเป็นเกล็ดน้ำแข็งเมื่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

ขนิษฐา สุขเสริม. 2532. **อิทธิพลของความเข้มแสงและคุณภาพต่อการเจริญเติบโตและสารประกอบบางชนิดภายในใบหางจระเข้.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เพ็ญแข อนันต์คูศรี. 2539. **การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไขมันโอเมกา-3 จากสาหร่ายขนาดเล็ก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มนูวดี หังสพฤกษ์. 2532. **สมุทรศาสตร์เคมี.** สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และ จารุวรรณ สมศิริ. 2528. คุณสมบัติของน้ำและวิธีการวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางการประมง. สถาบันประมงน้ำจืด, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2540. **คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน.** ภาควิชาชีววิทยาประมง. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. **แพลงก์ตอนพืช.** ภาควิชาชีววิทยาประมง. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

APHA , AWWA and AWCA. 1992. **Standard Methods for the Examination Water and Wastewater**. 19th. ed. American Public Health Association, Washington. D.C.

AOAC. 1990. **Official method of analysis of the association of official analytical chemistry.** 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington. D.C.

Araujo, S.C. and V.M.T. Garcia. 2005. Growth and biochemical composition of the diatom *Chaetoceros* cf. *wighamii* brightwell under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. I. Protein, carbohydrates and lipids. **Aquaculture.** 246: 405-412.

Bligh, E.G. and W. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.** 37: 911-917.

Bowes, G.W. 1969. Carbonic anhydrase in marine algae. **Plant Physiol.** 44: 726-732.

Boyd, C.E. 1990. **Water Quality in Ponds for Aquaculture.** Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Auburn, Alabama.

Brand, L.E. 1990. The isolation and culture of microalgae for biotechnological applications, pp. 81-115 . *In* D.P. Labeda, ed**. Isolation of Biotechnological Organisms from Nature.** McGraw-Hill Publishing Company, New York.

Brown, M.R. 1991. The amino acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. **J. Exp. Mar. Biol.** 145: 79-99.

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

Carmelo, R.T. 1997. **Identiflying Marine Phytoplankton.** Harcourt Brace & Company, San Diego.

Cohen, Z. 1986. Products from microalgae, pp. 421-454. *In* A. Richmond, ed. **CRC Handbook of Microalgae Mass Culture**. CRC Press, Florida.

Cupp, E.E. 1943. **Marine Plankton Diatoms of the West Coast of Notrthn America.** University of California Press, Los Angeles.

Degens, E.T. 1976. Molecular mechanism on carbonate, phosphate, and silica deposition in the living cell. **Top. Curr. Chem.** 64: 1-112.

Falkowski, P.G. 1980. Light-shade adaptation in marine phytoplankton, pp. 99-119. *In* P.G. Falkowski, ed. **Primary Productivity in the Sea.** Plenum Press, New York.

Fogg, G.E. 1975. **Algae Culture and Phytoplankton Ecology.** The University of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin.

French, F.W. and P.E. Hargraves. 1985. Spore formation in the life cycle of the diatoms *Chaetoceros diadema* and *Leptocylindrus danicus*. **J. Phycol.** 21: 477-483

Goldman, J.C., M.R. Dennett and C.B. Riley. 1981. Inorganic carbon sources and biomass regulation in intensive microalgal cultures. **Biotech. Bioeng.** 23: 995-1014.

Gordillo, F.J.L., M. Goutx., F.L. Figueroa and F.X. Niell. 1998. Effects of light intensity, CO_2 and nitrogen supply on lipid class composition of *Dunaliella viridis*. **J. Appl. Phycol.** 10: 135-144

Hasle, G.R. and E.E. Syverten. 1997. Marine diatom, pp. 5-385. *In* C.R., Tomas, ed. **Identifying Marine Phytoplankton.** Academic Press, San Diego.

Hendey, N.I. 1964. **An Introductory Account of the Smaller Algae of British Coastal Waters**, **Part V, Bacillariophyceae (Diatom).** Her Majesty's stationery office, London.

Ishida, Y., N. Hiragushi., H. Kitaguchi., A. Mitsutani., S. Nagai and M. Yoshimura. 2000. A highly CO_2 tolerant diatom, *Thalassiosira weissflogii* H1,enriched from coastal sea, and its fatty acid composition. **Fisheries Sci.** 66: 655-659.

Kemp, D.D. 1990. **Global Environment Issues: a Climatological Approach.** Routledge, London.

Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the Phenol-sulfuric acid method, pp. 95-97. In J. A. Hellebust and J. S. Craigie, eds. **Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Method.** Cambridge University Press, London**.**

Kodama, M., H. Ikemoto and S. Miyachi. 1993. A new species of highly CO_2-tolerant growing marine microalga suitable for high-density culture. **J. Mar. Biotechnol.** 1: 21-25.

Lee, R.E. 1980. **Phycology.** Cambridge University Press, Cambridge.

Lee, R.F., J.C. Nevenzel and G.A. Paffenhofer. 1971. Importance of wax esters and other lipids in marine food chain: Phytoplankton and copepods. **Mar. Biol.** 9: 99-108.

Lowry, O.H., N.J. Rosebrough., A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protien measurement with Folin-phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 193: 265-275

Markl, H. 1977. CO_2 Transport and Photosynthetic Productivity of a Continuous Culture of Algae. **Biotech. Bioeng.** 19: 1851-1862.

Miller, A.G. and B. Colman. 1980. Active transport and accumulation of bicarbonate by a unicellular cyanobacterium. **J. Bacteriol.** 143: 1235-1259.

Miyairi, S. 1995. CO_2 Assimilation in a thermophilic cyanobacterium. **Energy convers. Mgmt**. 36(6-9): 763-766.

Morris, I. 1980. **Physiological Ecology of Phytoplankton**. Blackwell scientific publications, Oxford.

Morrison, W.R. and L.M. Smith. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. **J. Lipid. Res**. 5: 600-608.

Mortensen, S.H., K.Y. Bosheim., J.R. Rainuzzo and G. Kuntsen. 1988. Fatty acid and elemental composition of the marine diatom *Chaetoceros gracilis* Schutt. Effects of silicate deprivation, temperature and light intensity**. J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 122: 173-185.

Olaizola, M., E.O. Duerr and D.W. Freeman. 1991. Effect of CO_2 enhancement in an outdoor algal production system using *Tetraselmis* sp. **J. Appl. Phycol.** 3: 363-366.

Parker, S.P. 1992. **McGraw-Hill Encyclopedia of Chemistry.** McGraw-Hill, New York.

Peterson, G.L. 1977. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicabal. **Anal.Biochem**. 83: 346-356.

Raven, P.H., R.F. Evert and S.E. Eichhom. 1992. **Biology of Plants.** 5th ed. Worth publishers, New York.

Renaud, S.M., L.V. Thinh., G. Lambrinidis and D.L. Parry. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae growth in batch culture. **Aquaculture.** 211:195-214.

Shirota, A. 1966. **The Plankton of South Viet-Nam**. Japan:Overseas Technical Cooperation Agency, n.p.

Strain, H.H., W.M. Manning and G. Hardin. 1944. Xanthophylls and carotenes of diatoms, brown algae, dinoflagellates, and sea-anemones. **Biol Bull.** 86: 169-191.

Trainor, F.R. 1978. Bacillariophyceae – diatom, pp. 227-265. *In* F.R. Trainor, ed. **Introductory Phycology.** John Wiley and Sons. Inc., New York.

Tsuzuki, M. 1983. Mode of HCO^-_3 utilization by the cells of *Chlamydomonas reinhardtii* growth under ordinary air. **J. Z. Pflanzenphysiol**. 110: 29-37.

Volkman, J.K., S.W. Jeffrey., P.D. Nichols., G.I. Rogers and C.D. Garland. 1989. Fatty acid and Lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. **J. Exp. Mar. Biol.** 128:219-240.

Walne, P.R. 1966. Experiments in the large scale culture of the larvae of *Ostrea edulis*. **Fishery Invest.** 25(4): 1-53.

Watanabe, Y. and H. Saiki. 1997. Development of a photobioreactor incorporating *Chlorella sp.* for removal of CO_2 in stack gas. **Energy Convers. Mgmt.** 38: S499-S503.

Yamaguchi, M. 1992. DNA synthesis and the cell cycle in the noxious red –tide dinoflagellate *Gymnodinium nagasakiense*. **Mar. Biol.** 112: 191-198.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารและสารเคมี

1. สูตรอาหารคอนเวย์หรือวัลเน (Conway medium or Walne medium) (Walne, 1966)

สูตรอาหารนี้เหมาะสำหรับเลี้ยงไดอะตอม เช่น สเกลีโตนีมา,คีโตเซอรอส เป็นต้น โดยสูตรอาหารแบ่งเป็น4 สารละลายคือ

สารละลายที่1

โซเดียมไนเตรต($NaNO_3$)	100 กรัม
โซเดียมอีดีทีเอ(NaEDTA)	45 กรัม
กรดบอริค(H_3BO_3)	33.6 กรัม
โมโนโซเดียมไดไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต($NaH_2PO_4.2H_2O$)	20 กรัม
เฟอริคคลอไรด์6-ไฮเดรต($FeCl_3.6H_2O$)	1.3 กรัม
แมงกานีสคลอไรด์4-ไฮเดรต($MnCl_2.4H_2O$)	0.36 กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

สารละลายที่2

ซิงค์คลอไรด์($ZnCl_2$)	2.1 กรัม
โคบอลท์คลอไรด์6-ไฮเดรต($CoCl_2.6H_2O$)	2.0 กรัม
แอมโมเนียมโมลิบเดท5-ไฮเดรต{$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$)	0.9 กรัม
คอบเปอร์ซัลเฟต5-ไฮเดรต($CuSO_4.5H_2O$)	2.0 กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

ในกรณีที่สารละลายที่เตรียมมีตะกอนให้เติมกรดเกลือ(HCl)ลงไปเล็กน้อยหรือจนกว่าตะกอนจะละลายหมด

สารละลายที่3

โซเดียมเมตาซิลิเกต9-ไฮเดรต($Na_2SiO_3.9H_2O$)	15 กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

สารละลายที่4

วิตามินบี1(Thiamine HCl)	200 มิลลิกรัม
วิตามินบี12(Cyanocobalamine)	10 มิลลิกรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร	

วิธีการเตรียม

นำสารละลายที่ 2 และ3 อย่างละ 1 มิลลิลิตรมาผสมกับสารละลายที่1ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรได้สารละลายรวมใช้เลี้ยงไดอะตอมสัดส่วน 1 มิลลิลิตรต่อน้ำทะเลเลี้ยงไดอะตอม 1 ลิตรนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave แล้วใส่สารละลายที่ 4 สัดส่วน0.1มิลลิลิตรต่อน้ำทะเลเลี้ยงไดอะตอม 1 ลิตร ภายหลัง เพราะสารละลายที่ 4 เป็นวิตามินจะสลายตัวที่อุณหภูมิสูง

2. สูตรอาหารซาโตะและเซริกาวา (Sato and Serikawa Medium) (ลัดดา, 2540)

สูตรอาหารนี้นิยมใช้ขยายพันธุ์ไดอะตอมปริมาณมากเป็นตัน ๆ

โปแตสเซียมไนเตรท (KNO_3)	100 กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต(Na_2HPO_4)	10 กรัม
โซเดียมเมตาซิลิเกต9-ไฮเดรต($Na_2SiO_3.9H_2O$)	5 กรัม
เฟอริคคลอไรด์($FeCl_3$)	2.5 กรัม
น้ำกลั่น1 ลิตร	

วิธีการใช้

เตรียมอาหารเป็น stock 1 ลิตร สามารถนำไปใช้ในอัตราส่วนสูตรอาหาร 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำเค็ม 1 ลิตร ค่อย ๆ เทลงในถังบริเวณที่มีฟองอากาศปุดขึ้นมาเพื่อช่วยให้เกลือโซเดียมเมตาซิลิเกตกระจายไปทั่วถังขยายพันธุ์

ภาคผนวก ข

วิธีนับจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนและวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำ

วิธีนับจำนวนเซลล์แพลงก์ตอน

นับจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนโดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือด (haemacytometer) มีความลึก 0.1 มิลลิเมตร โดยถ้าเซลล์มีขนาดใหญ่หรือมีความหนาแน่นน้อยให้เลือกนับช่องใหญ่ คือ A, B, C และ D แต่ละช่องมีเส้นขอบ3 เส้น ทั้ง 4 ด้าน กรณีที่เซลล์ติดเส้นขอบ ให้นับเซลล์ที่ติดเส้นขอบที่ 2 เข้ามาด้านในและเลือกนับเพียง 2 ด้านเท่านั้น (ภาพผนวกที่ 2) พอช่องถัดมาก็ใช้หลักการเดียวกัน คือ เซลล์ที่ติดเส้นขอบให้เลือกด้านขอบ 2 ด้านที่มีทิศทางเหมือนช่องที่นับผ่านมา ใช้หลักการเช่นนี้จนนับครบทั้ง 4 ช่องใหญ่ โดยช่องใหญ่มีขนาดกว้างxยาวxลึก เท่ากับ 1 มม.x 1 มม. X 0.1 มม. (ภาพผนวกที่ 1)

เท่ากับ 0.1 ซม.x0.1ซม.x0.01 ซม.

เท่ากับ 0.0001 ลูกบาศก์เซนติเมตรหรือมิลลิลิตร

ดังนั้นความหนาแน่นเซลล์เท่ากับ F x10^{4} เซลล์ต่อมิลลิลิตร

โดย F = ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่นับได้

แต่ถ้าเซลล์มีความหนาแน่นมากให้นับช่องย่อยในช่องใหญ่ E โดยช่องใหญ่ E มี 25 ช่องย่อย ให้เลือกนับ 9 ช่องย่อยในแนวเฉียงตัดกันของด้านขวาและซ้าย คือจากช่องขวาบนนับแนวเฉียงไปยังช่องซ้ายล่าง และจากช่องซ้ายบนไปช่องขวาจะได้จำนวนช่องทั้งหมด 9 ช่องย่อย หาค่าเฉลี่ยนำมาคำนวณสูตร

โดยช่องย่อยมีขนาดกว้างx ยาวxลึก

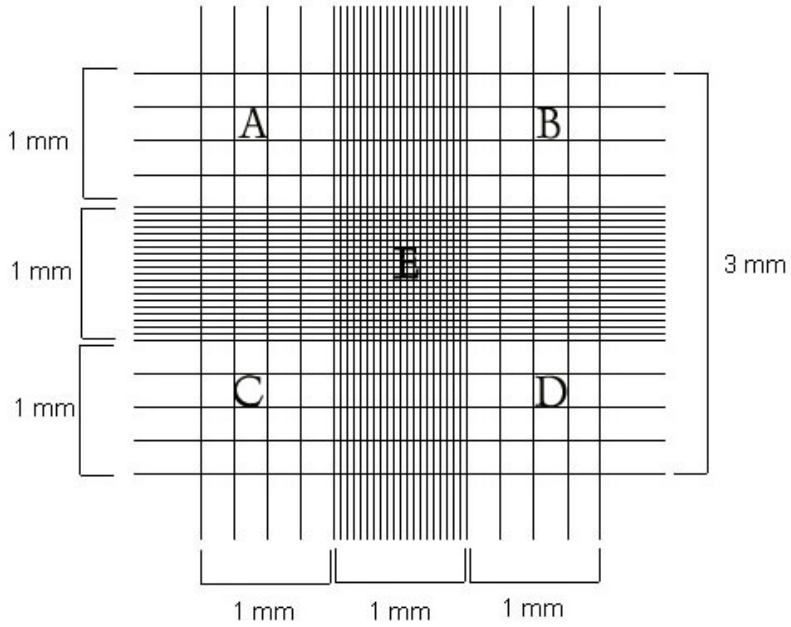
เท่ากับ 0.2 มม.x0.2 มม. X 0.1 มม.

เท่ากับ 0.02 ซม.x0.02 ซม.x0.01 ซม.

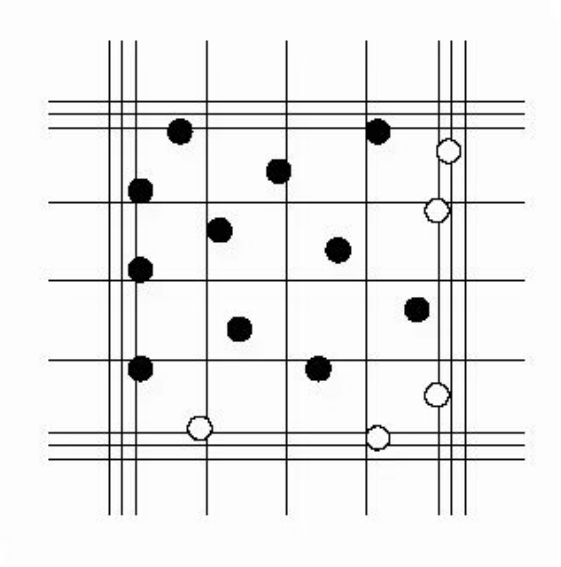
เท่ากับ 0.000004 ลูกบาศก์เซนติเมตรหรือมิลลิลิตร

ดังนั้นความหนาแน่นเซลล์เท่ากับ Y x1/4x10^{6} เซลล์ต่อมิลลิลิตร

โดย Y = ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่นับได้



ภาพผนวกที่ ข1 สไลด์นับเม็ดเลือด (haemacytometer)



ภาพผนวกที่ ข2 ช่องในสไลด์นับเม็ดเลือดโดยมีเส้นขอบด้านละ 3 เส้น

วิธีวิเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ

สารเคมี

สารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต 0.0454 N

วิธีเตรียม ละลาย 2.407 กรัม ของ anhydrous Na_2CO_3 (ที่แห้งสนิทโดยอบที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 90 นาที แล้วทำให้เย็น desiccator) ในน้ำกลั่นที่เดือดและเย็นแล้ว จากนั้นทำปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

วิธีไตเตรท

1. ใช้น้ำตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. ใช้พีเอชมิเตอร์วัดค่าพีเอช ถ้าน้ำตัวอย่างมีพีเอชในช่วง 4.5-8.3 แสดงว่ามีคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายในน้ำ
3. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต 0.0454 นอร์มัล
4. ใช้พีเอชมิเตอร์ดูจุดยุติที่ พีเอช 8.3 บักทึกปริมาตรสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนตที่ใช้ไป

การคำนาณหาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์

$$\text{ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ(มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{AxNx22000}{V}$$

A= ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

N= นอร์มัลลิตี้ของโซเดียมคาร์บอเนต (0.0454 **N)**

วิธีวิเคราะห์ค่าสภาพด่างทั้งหมด

สารเคมี

- สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.02 N

วิธีเตรียม

เตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.1 N ก่อน โดยนำกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.8 มิลลิลิตรมาละลายในน้ำกลั่นที่ต้มให้เดือดและเย็นแล้วให้เป็น 1 ลิตร หลังจากนั้นนำกรดซัลฟิวริก 0.1 N จำนวน 200 มิลลิลิตรมาเจือจางในน้ำกลั่นที่ต้มให้เดือดและเย็นแล้วให้เป็น 1 ลิตรจะได้สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.02 N

วิธีไตเตรท

1. ใช้น้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร
2. ใช้พีเอชมิเตอร์วัดค่าพีเอชของน้ำตัวอย่างเริ่มต้น
3. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริก 0.02 นอร์มัล
4. ใช้พีเอชมิเตอร์ดูจุดยุติที่พีเอช 8.3 บันทึกปริมาตรที่ใช้ไป
5. ไตเตรทต่อจนถึงพีเอช 4.5 บันทึกปริมาตรที่ใช้ไปทั้งหมด

การคำนวณปริมาณสภาพด่างทั้งหมด

$$\text{ความเป็นด่างฟีนอล์พธาลีน (mg } CaCO_3\text{/L)} = \frac{AxNx50000}{V}$$

$$\text{สภาพด่างทั้งหมด (mg } CaCO_3\text{/L)} = \frac{BxNx50000}{V}$$

A = ปริมาตร (มิลลิลิตร) ของสารละลายกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทถึงจุดยุติพีเอช 8.3

B = ปริมาตร (มิลลิลิตร) ของสารละลายกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทถึงจุดยุติพีเอช 4.5

N = นอร์มัลลิตี้ของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก (0.02 N)

V = ปริมาตรน้ำตัวอย่าง

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมี

วิธีวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต (Kochert, 1978)

สารเคมี

1. Glucose Standard
2. Phenal Solution 5 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (5% w/v)
3. Conc. H_2SO_4 (AR grade)
4. 2 M H_2SO_4 (AR grade)

การไฮโดรไลท์

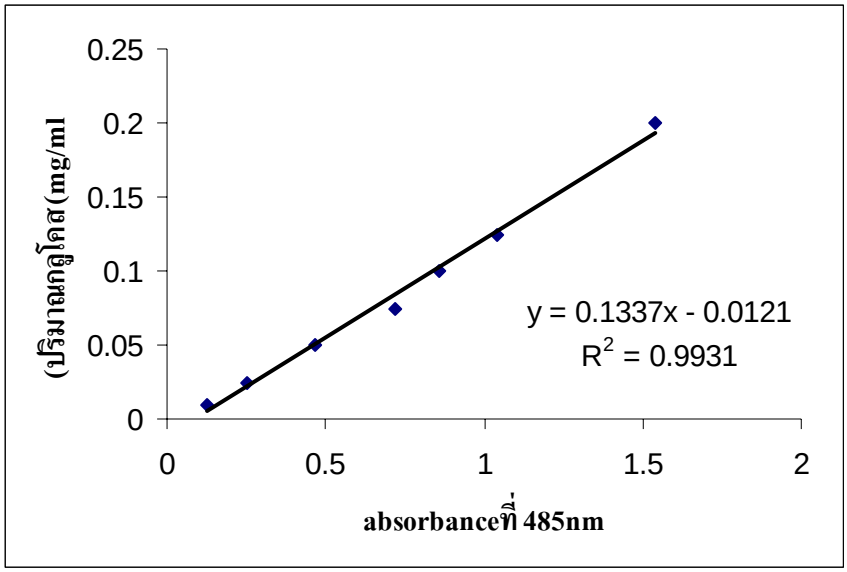
1. เตรียมตัวอย่างแพลงก์ตอน 0.01 กรัมใส่ 2 M H_2SO_4 6 มิลลิลิตร แล้วนำไป sonicate 5 นาทีแล้วเติมอีก 1 มิลลิลิตร
2. นำไปใส่ใน water bath ที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. นำไปปั่น centrifuge ที่ 3000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที แล้วปิเปตตัวอย่างที่ ไฮโดรไลท์แล้วมา 0.5 มิลลิลิตร แล้วทำให้เป็น 1 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1. เตรียม Stock Glucose ชั่งมา 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
2. เตรียม Glucose ความเข้มข้นต่าง ๆ จาก Stock คือ ความเข้มข้น 0.20,0.125, 0.100,0.075,0.05,0.025,0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การหาเปอร์เซ็นต์ของคาร์โบไฮเดรต

1. ปิเปตตัวอย่างที่ปรับปริมาตรแล้วและสารละลายมาตรฐานมาหลอดละ 1 มิลลิลิตร
2. เติม 5% phenol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และผสมอย่างรวดเร็วด้วยเครื่อง Vortex Stirrer
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น(Conc. H_2SO_4) 5 มิลลิลิตร ทันที ตัวอย่างจะเปลี่ยนเป็นสีส้มเหลือง
4. ทิ้งให้เย็นประมาณ 30 นาที และนำไปวัดค่า absorbance ที่ 485 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับ standard curve



ภาพผนวกที่ ค1 แสดงกราฟค่าดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ 485 นาโนเมตร

วิธีการคำนวณ

นำค่า Absorbanceที่วัดได้จากตัวอย่างมาแทนค่า x ในสมการ y = 0.1337x – 0.0121 ได้ค่า y ซึ่งเป็นปริมาณกลูโคสหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สมมุติ ได้ความเข้มข้นกลูโคส 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร มีคาร์โบไฮเดรต 0.05 มิลลิกรัม

ตัวอย่าง 7 มิลลิลิตร “----------” 0.05x 7/0.5 = 0.7 มิลลิกรัม

ดังนั้นตัวอย่างน้ำหนักแห้ง 0.01กรัม(10 มิลลิกรัม) มีคาร์โบไฮเดรต 0.7 มิลลิกรัม

ถ้าตัวอย่างน้ำหนักแห้ง 100 มิลลิกรัม “----------” 0.7x 100/10 = 7 มิลลิกรัม

ดังนั้นตัวอย่างมีคาร์โบไฮเดรต 7 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Bligh and Dyer, 1959)

สารเคมี

1. Methanol (AR grade)
2. Chloroform (AR grade)
3. Double deionised water

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 20-30 มิลลิกรัม ใส่ methanol:chloroform: double deionised water (2:1:0.8) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
2. นำไป sonicate แล้วนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เพื่อแยกตะกอนออก
3. เติมสารละลาย methanol:chloroform:double deionised water (2:1:0.8) เพิ่ม 0.7 มิลลิลิตร
4. เติม chloroform 1.5 มิลลิลิตรและ double deionised water 1.5 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน
5. เมื่อเกิดการแยกชั้นใช้หลอดหยดดูดส่วนที่เป็นสีเขียวชั้นล่าง มาใส่หลอดแก้วที่อบและชั่งน้ำหนักแล้ว
6. นำไปเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจน เมื่อใกล้จะแห้ง หยด toluene 2-3 หยด เป่าต่อไปจนแห้ง จากนั้นนำไปวางใน desiccator ที่มี KOH 1 คืน
7. นำหลอดแก้วไปชั่งน้ำหนักอีกครั้ง น้ำหนักที่เพิ่มคือ น้ำหนักไขมันที่สกัดได้

วิธีคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมันรวม} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Lowry, 1951)

สารละลายที่ 1

$CuSO_4 5H_2O$ 0.5 กรัม

Na_3 citrate 1.0 กรัม

น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เก็บ 4 องศาเซลเซียส

สารละลายที่ 2

Na_2CO_3 20 กรัม

NaOH 4.0 กรัม

น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร เก็บ 4 องศาเซลเซียส

สารละลายที่ 3

สารละลายที่ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรผสมกับสารละลายที่ 2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

สารละลายที่ 4

Folin- Ciocalten phenol reagent 10 มิลลิลิตร

น้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เก็บอุณหภูมิห้อง

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1. ชั่งโปรตีน Bovin Serrum Albumin 50 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร ได้ stock โปรตีนความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. เตรียมโปรตีนความเข้มข้นต่างๆจาก Stock คือ ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

ขั้นตอน Precipitation Protein (Peterson, 1977)

1. ชั่งตัวอย่างแพลงก์ตอน 10 มิลลิกรัม เติม 1M NaOH ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่ 4 องศาเซียลเซียส 12 ชั่วโมง นำไป centrifuge แยกตะกอนออก

2. นำสารละลายที่ได้ไปตกตะกอนโปรตีน โดยเติม TCA (Trichloroacetic acid) 72% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ DOC (Deoxycholic acid sodium salt) 0.15% ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

3. นำไป centrifuge ที่ ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 30 นาที

4. ดูดสารละลายทิ้ง นำโปรตีนที่ตกตะกอนไปละลายใน 0.1 M NaOH 0.5 มิลลิลิตร

ขั้นตอนวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

1. นำสารละลายที่ได้ 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายที่ 3 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร วางที่อุณหภูมิห้อง 5-10 นาที

2. เติมสารละลายที่ 4 ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร วางที่อุณหภูมิห้อง 20-30 นาที

3. นำไปวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร นำค่าเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรตีน Bovin Serrum Albumin

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน

การเตรียมสารเคมี

1. Tricosanoic acid ละลายใน Iso-octane (2,2,4 trimethylpentane) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. 0.5 N NaOH in Methanol (เตรียมโดยชั่ง NaOH 1 กรัม เติม Methanol 50 มิลลิลิตร กวนด้วย magnetic stirrer

3. น้ำเกลืออิ่มตัว (ชั่ง NaCl 36 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ให้ความร้อนเล็กน้อย)

วิธีการสกัดกรดไขมัน

1. นำตัวอย่าง 50 -100 มิลลิกรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดย เติม methanol:chloroform:น้ำกลั่น (2:1:0.8) ตามวิธีของ Bligh และ Dyer, 1959 ปริมาตร 9.5 มิลลิลิตร นำไป sonicate และเขย่าให้เข้ากัน 1 นาทีด้วย vortex mixer

2. เติม chloroform เพิ่ม 2.5 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที จากนั้นเติมกรดไขมันมาตรฐานที่ใช้เป็นสาร Internal standard คือ Tricosanoic acid (23:0) ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 100 ไมโครลิตรลงไปเขย่าต่อ 1 นาที

3. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 6.5 มิลลิลิตร ลงไปเขย่าให้เข้ากัน ประมาณ 15 วินาที แล้วนำไป centrifuge ที่ ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เกิดการตกตะกอนของเซลล์แพลงก์ตอนและเกิดการแยกชั้นของสารละลาย

4. เก็บส่วนชั้น chloroform แยกใส่หลอดทดลองใหม่ปิดด้วยจุกฝาเกลียว นำไปเก็บไว้วิเคราะห์ในขั้นต่อไป

การทำ Esterification (ดัดแปลงวิธีของ Morrison and Smith, 1964)

1. นำหลอดทดลองที่มีไขมันอยู่ในชั้น chloroform ที่แยกไว้ ใส่บรรจุ ลงในเครื่อง block heater ปรับให้มีอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ภายใต้บรรยากาศที่พ่นด้วยก๊าซไนโตรเจนบริสุทธิ์จนเหลือไขมันแห้งติดก้นหลอด

2. เติม 0.5 N NaOH in Methanol 2 มิลลิลิตร ไล่อากาศออกด้วยก๊าซไนโตรเจน ปิดฝาเขย่า 30 วินาที และ reflux จนได้สารละลายเนื้อเดียวกัน ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3. เติม 14% BF_3 in Methanol 4 มิลลิลิตร ไล่อากาศออกด้วยก๊าซไนโตรเจน ปิดฝาเขย่า 30 วินาที และ reflux ในน้ำเดือด 30 วินาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4. เติม Hexane 2 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าให้เข้ากัน เติมน้ำเกลืออิ่มตัว 2 มิลลิลิตร ปิดฝา เขย่า 30 วินาที ทิ้งให้แยกชั้น

5. ดูดสารละลายผิวบนทั้งหมดใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาชั้นในเป็นซิลิโคนปิดสนิท เป่าด้วยแก๊สไนโตรเจนจนแห้ง แล้วจึงเติม Hexane 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ไล่อากาศออกด้วยก๊าซไนโตรเจน ปิดฝาให้สนิท ถ้ายังไม่ฉีดให้เก็บในที่เย็นและหุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์

6. ฉีดตัวอย่าง 1 ไมโครลิตรลงในเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี่ (gas chromatography)

การวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี่

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบของกรดไขมันโดยใช้เครื่อง Capillary gas chromatography (GC-17A , SHIMADZU/JAPAN) คอลัมน์ที่ใช้เป็นชนิดคาปิลลารี่คอลัมน์ความยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร ที่เคลือบภายในด้วยฟิล์มหนา 0.25 microns

อุณหภูมิคอลัมน์ที่ใช้งาน 250 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของ injection และ detection เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส และ260 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และอัตราการแบ่งตัวอย่าง (Split rates) เท่ากับ 10:1 ใช้ก๊าซไนโตรเจนเป็นก๊าซพา (carrier gas) ใช้การวิเคราะห์แบบเติมสาร internal standard เป็นกรดไขมันมาตรฐานใช้ (Tricosanoic acid, 23:0) เติมลงไปในกรดไขมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่าย ในการคำนวณเปรียบเทียบเวลาคงตัว (Retention time) ที่ได้จากกรดไขมัน

มาตรฐาน และจากตัวอย่างสาหร่ายที่นำมาหาค่าองค์ประกอบของกรดไขมัน หาปริมาณกรดไขมันจากโครมาโตแกรมต่อไป

ตารางผนวกที่ ค1 โปรแกรมอุณหภูมิของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟฟี่ที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างแพลงก์ตอน

ขั้นที่	อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ (องศาเซลเซียสต่อนาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	hold (นาที)
1	เริ่มต้น	169	0
2	2	172	0
3	2	188	2
4	5	220	20

วิธีคำนวณปริมาณกรดไขมัน

การคำนวณปริมาณกรดไขมันโดยใช้การเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีค (peak area) กับสารมาตรฐาน (internal standard) ดังนี้

สมมุติให้สารละลายมาตรฐานมีพื้นที่ใต้พีค (peak area) เท่ากับ A มีเนื้อสารอยู่ B นาโนกรัม

ดังนั้น ในตัวอย่างมีพื้นที่ใต้พีค (peak area) เท่ากับ C จะมีเนื้อสารเท่ากับ $\frac{B \times C}{A}$ นาโนกรัม

สมมุติให้ $\frac{B \times C}{A} = D$ นาโนกรัม

ในการฉีดตัวอย่างเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟฟี่จะฉีด 1 ไมโครลิตร มีเนื้อสาร D นาโนกรัม

ดังนั้น ถ้าปริมาตรสุดท้ายก่อนฉีดเท่ากับ E ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารเท่ากับ D x E นาโนกรัม

สมมุติให้น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์เท่ากับ F กรัม

หมายความว่าในตัวอย่าง F กรัม จะมีเนื้อสาร D x E นาโนกรัม

ดังนั้นถ้าตัวอย่าง 1 กรัม จะมีเนื้อสารเท่ากับ $\frac{D \times E}{F}$ นาโนกรัม

ภาคผนวก ง

อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans*

ตารางผนวกที่ ง1 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ (การทดลองที่ 1)

วันที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด (องศาเซลเซียส)	22-24	24-25	23-24	22.5-24	23-24	21.5-25	22-24	21-24	21.5-24.5	21.5-24	21.5-24	22-25

ตารางผนวกที่ ง2 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ (การทดลองที่2)

วันที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด (องศาเซลเซียส)	25-26	24-25	24-25	24-25	24-25	24-26	24-26	24.5-26	24-25	23.5-25.5	25-26	24-25

ตารางผนวกที่ ง3 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ ในระดับมหมวล (การทดลองที่ 3)

วันที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
อุณหภูมิ ต่ำสุด-สูงสุด (องศาเซลเซียส)	28.5-31	28.5-33	31-34	32-35	31-32	28-35	26-30	27-33	31-36	28-35	30-36

ตารางผนวกที่ ง4 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด ในน้ำเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans* เสริมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในระดับมหมวล (การทดลองที่ 4)

วันที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
อุณหภูมิ ต่ำสุด-สูงสุด (องศาเซลเซียส)	29-33	28-31	28.5-31	28-31.5	28.5-33	28-31.5	28.5-32.5	28.5-33	26.5-33	27-31.5

ภาคผนวก จ

ต้นทุนค่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการใช้เลี้ยง *Chaetoceros calcitrans*

ต้นทุนค่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการใช้เลี้ยง *Chaetoceros calcitrans*

ก๊าซ CO_2 บรรจุก๊าซปริมาตร 6 ลูกบาศก์เมตรหรือ 6,000 ลิตร ราคา 280 บาท ราคาก๊าซ CO_2 1ลิตร เท่ากับ 0.047 บาท

การเลี้ยง *C. calcitrans* เสริม CO_2 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องปฏิบัติการ

ต้นทุนในระยะ exponential phase

ใช้ปริมาณ ก๊าซ CO_2 ตั้งแต่เริ่มเลี้ยงจนถึงระยะ exponential phase 9.6 ลิตร

คิดเป็นเงิน 9.6x0.047= 0.45 บาท

ราคาคีโตเซอรอส 20 บาท/ลิตร

จากปริมาณคีโตเซอรอส 2 ลิตร คิดเป็นเงิน 20x2=40 บาท ผลผลิตเพิ่มขึ้น 18 เปอร์เซ็นต์

คิดเป็นเงิน $\frac{18x40}{100}$ = 7.2 บาท ต่อ 2 ลิตร

กำไรที่เพิ่มเท่ากับ 7.2-0.45 = 6.75 บาท

ดังนั้น กำไรที่เพิ่มต่อลิตร เท่ากับ $\frac{6.75}{2}$ = 3.375 บาท

ต้นทุนในระยะ stationary phase

ใช้ปริมาณ ก๊าซ CO_2 ตั้งแต่เริ่มเลี้ยงจนถึง ระยะ stationary phase 24 ลิตร

คิดเป็นเงิน 24x0.047= 1.128 บาท

ราคาคีโตเซอรอส 20 บาท/ลิตร

จากปริมาณคีโตเซอรอส 2 ลิตร คิดเป็นเงิน 40 บาท ผลผลิตเพิ่มขึ้น 36 เปอร์เซ็นต์

คิดเป็นเงิน $\frac{36x40}{100}$ = 14.4 บาท ต่อ 2 ลิตร

กำไรที่เพิ่มเท่ากับ 14.4-1.128 = 13.272 บาท

ดังนั้น กำไรที่เพิ่มต่อลิตร เท่ากับ $\frac{13.272}{2}$ = 6.64 บาท

การเลี้ยง *Chetoceros calcitrans* เสริม CO_2 2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 6 ชั่วโมงต่อวัน ในระดับมหมวล

ใช้ปริมาณ ก๊าซ CO_2 ตั้งแต่เริ่มเลี้ยงจนถึงระยะเก็บเกี่ยว 42 ลิตร

คิดเป็นเงิน 42x0.047= 1.974 บาท

ราคาคีโตเซอรอสเลี้ยงแบบมหมวล (คีโตตัน) 500 บาท/ตัน

จากปริมาณคีโตเซอรอส 150 ลิตรคิดเป็นเงิน $\frac{500x150}{1000}$ = 75 บาท

ผลผลิตเพิ่มขึ้น 31.69 เปอร์เซ็นต์

คิดเป็นเงิน $\frac{31.69x75}{100}$ = 23.77 บาท

กำไรที่เพิ่มเท่ากับ 23.77 -1.974 = 21.79 บาท

หมายเหตุ ต้นทุนที่คิดเฉพาะค่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เนื่องจากปกติทางร้านขาย
ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะให้ยืมถังมาใช้งานโดยมีการวางเงินมัดจำ

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายนิรันดร์ ชูสวน
วัน เดือน ปี ที่เกิด	6 ตุลาคม 2523
สถานที่เกิด	จังหวัดกระบี่
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (บางเขน)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์