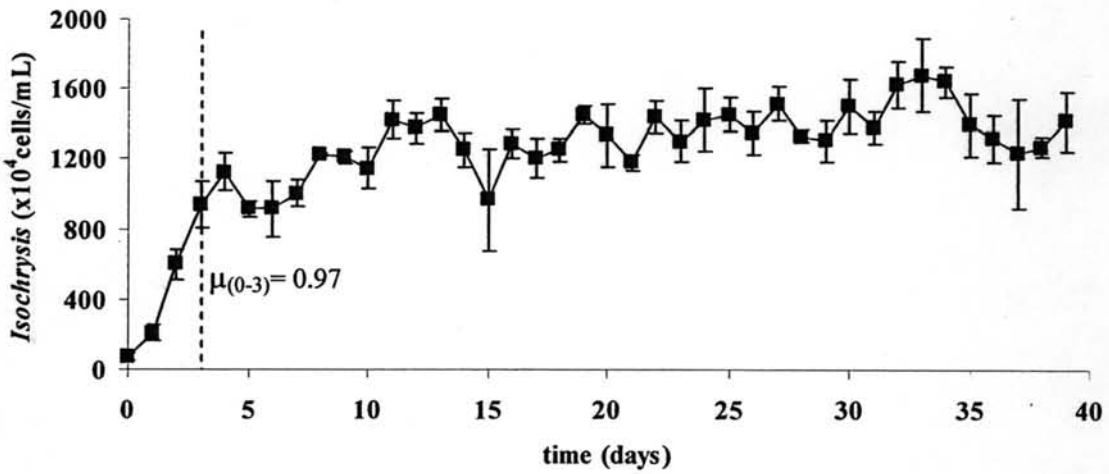
บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การเติบโตของสาหร่าย *Isochrysis galbana*

4.1.1 ศึกษาอัตราการเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ

การทดลองเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* ในระบบการเลี้ยงแบบกะ ในขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตร ปริมาตรการเพาะเลี้ยง 1 ลิตร พบว่าสาหร่ายมีการเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นจนมีความหนาแน่นสูงสุด 1.67×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 33 ของการทดลอง หลังจากนั้นสาหร่ายมีการเติบโตในระยะคงที่ (Stationary phase) ในวันที่ 13 ถึงวันที่ 39 ของการทดลอง โดยมีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 1.37×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4-1) สามารถคำนวณหาอัตราการเติบโตจำเพาะ (μ) ในระหว่างวันที่ 0 ถึง 3 ของการทดลองเท่ากับ 0.97 ต่อวัน

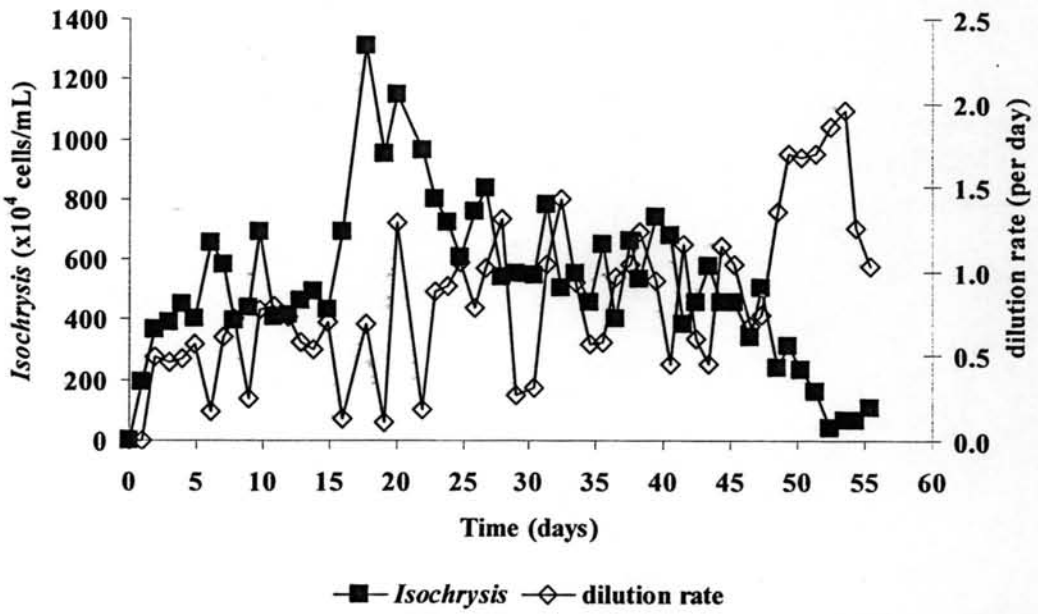


ภาพที่ 4-1 การเติบโตของสาหร่าย *Isochrysis galbana* ในระบบการเลี้ยงแบบกะ

4.1.2 การเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* แบบต่อเนื่องในขวดแก้วปริมาตร 1.4 ลิตร

การเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในขวดแก้ว (duran bottle) ขนาด 2 ลิตร ที่มีปริมาตรน้ำ 1.4 ลิตร พบว่าในวันที่ 2 ถึงวันที่ 18 ของการทดลองระบบมีอัตราการเจือจางเฉลี่ย 0.54±0.21 ต่อวัน มีความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย $535 \pm 234 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อปรับอัตราการเจือจางขึ้นเป็น 0.86±0.35 ต่อวัน ในระหว่างวันที่ 20 ถึงวันที่ 45 ของการทดลอง พบว่าความหนาแน่นเฉลี่ยของสาหร่ายยังคงมีความหนาแน่นใกล้เคียงกับอัตราการเจือจางเดิม คือ เท่ากับ $630 \pm 182 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเมื่อปรับอัตราการเจือจางขึ้นอีก

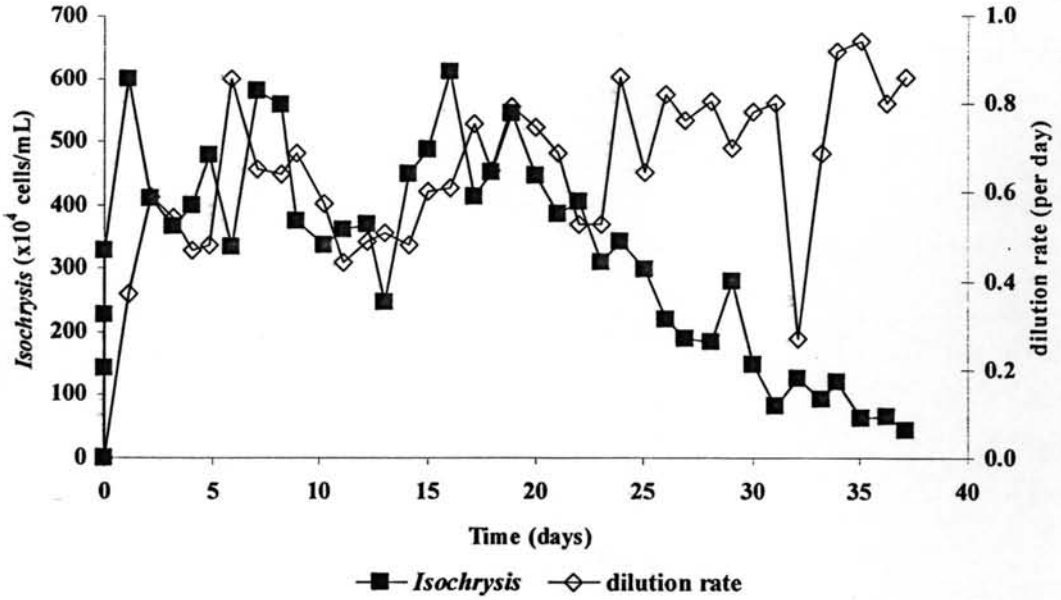
เป็น 1.56±0.32 ต่อวัน ในระหว่างวันที่ 48 ถึงวันที่ 55 ของการทดลอง พบว่าความหนาแน่นเฉลี่ยของสาหร่ายที่เติบโตแบบต่อเนื่องลดลงเหลือ 152 ± 99 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยการทดลองนี้สามารถเลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่องได้เป็นระยะเวลา 55 วัน การเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง แสดงในภาพที่ 4-2



ภาพที่ 4-2 การเติบโตของสาหร่าย *Isochrysis galbana* ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในขวดแก้วปริมาตร 1.4 ลิตร

4.1.3 การเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* แบบต่อเนื่องในขวดแก้วปริมาตร 5 ลิตร

การเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในขวดแก้ว (duran bottle) ขนาด 5 ลิตร พบว่าในวันที่ 3 ถึงวันที่ 23 ของการทดลอง ระบบมีอัตราการเจือจางเฉลี่ย 0.61±0.12 ต่อวัน มีความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย 423 ± 93 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อปรับอัตราการเจือจางขึ้นเป็น 0.80±0.09 ต่อวัน ในระหว่างวันที่ 24 ถึงวันที่ 37 ของการทดลอง พบว่าความหนาแน่นเฉลี่ยของสาหร่ายที่เติบโตแบบต่อเนื่องลดลงเหลือ 163 ± 97 x 10^4เซลล์ต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตามได้เกิดความผิดพลาดของระบบเติมอาหารเพาะเชื้อในวันที่ 32 ทำให้อาหารเพาะเชื้อไม่สามารถไหลเข้าสู่ขวดเลี้ยงได้ จะเห็นว่าอัตราการเจือจางลดลงอย่างมากในวันดังกล่าว ในการคำนวณอัตราการเจือจางในที่นี้จึงเว้นข้อมูลในวันที่ 32 ไม่นำมาใช้ในการคำนวณ (ภาพที่ 4-3)



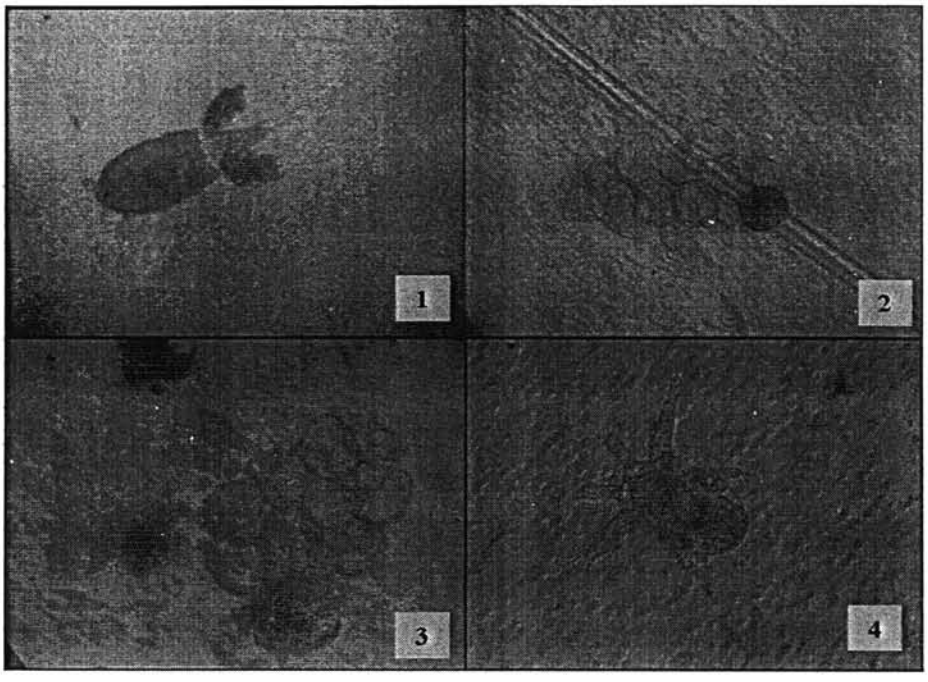
ภาพที่ 4-3 การเติบโตของสาหร่าย *Isochrysis galbana* ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในขวดแก้วปริมาตร 5 ลิตร

4.2 ศึกษาชีววิทยาพื้นฐานและการเติบโตของโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ

4.2.1 การศึกษาชีววิทยาพื้นฐานของโคพีพอด

จากการตรวจสอบทางสัณฐานวิทยาพบว่าโคพีพอดที่ใช้ในงานวิจัยนี้จัดอยู่ในสกุล *Oithona* sp. ซึ่งได้รับการแยกเลี้ยงมาจากแม่น้ำบางปะกง โดยคณะวิจัยจากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี ลักษณะสำคัญของสกุลนี้คือ ลำตัวรูปไข่หรือยาวเป็นรูปกระสวย เพศเมียมี 5 ปล้อง ส่วนหัวโค้งมนหรืออาจมี rostrum แหลม เพศผู้ลำตัวสั้นกว่าเพศเมีย Urosome (ไม่รวมส่วน caudal ramus) ในเพศเมียมี 5 ปล้อง ส่วนเพศผู้มี 6 ปล้อง ในเพศผู้หนวดคู่ที่ 1 มีลักษณะ geniculate ทั้ง 2 ข้าง รยางค์เหมือนกันทั้ง 2 เพศ ขาคู่ที่ 1 ถึง 4 มี exopod 3 ปล้อง และ endopod 2 ถึง 3 ปล้อง ขาคู่ที่ 5 และ 6 ลดรูปเหลือเป็น setae เล็กๆ 1 ถึง 2 เส้น (Suwanrumpha, 1987) โดยระยะพัฒนาของโคพีพอดแบ่งออกเป็น 3 ระยะได้แก่ ระยะนอเพลียส (nauplius larva) ระยะโคพีโพดิด (copepodid larva) และระยะโตเต็มวัย (adult) ซึ่งแต่ละระยะจะแบ่งออกเป็นระยะย่อยๆ อีก โดยโคพีพอดตัวเมียระยะโตเต็มวัยนั้นเมื่อได้รับการปฏิสนธิ ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิจะอยู่ภายในถุงไข่ที่ติดอยู่ข้างลำตัวทั้ง 2 ข้าง เมื่อเวลาผ่านไปไข่ก็จะฟักออกมาเป็นตัวอ่อนระยะนอเพลียสที่ 1 และจะใช้ระยะเวลาประมาณ 8-10 วัน จึงเติบโตเข้าสู่ระยะโตเต็มวัย ซึ่งตัวแม่ให้ไข่เฉลี่ยครั้งละ 30.20 ± 2.78 ฟองต่อตัว ระยะนอเพลียสมีความยาวเฉลี่ย 140 ไมโครเมตรความกว้าง 100 ไมโครเมตร เมื่อโตเต็มวัยมีความยาวเฉลี่ย 1.3 มิลลิเมตร ความกว้าง 400-600 ไมโครเมตร

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตที่ระดับอุณหภูมิ 26-37 องศาเซลเซียส และน้ำความเค็ม 30 พีเอสยู ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงโคพีพอด คือสาหร่าย *Isochrysis galbana* (Rippingale, 2000)



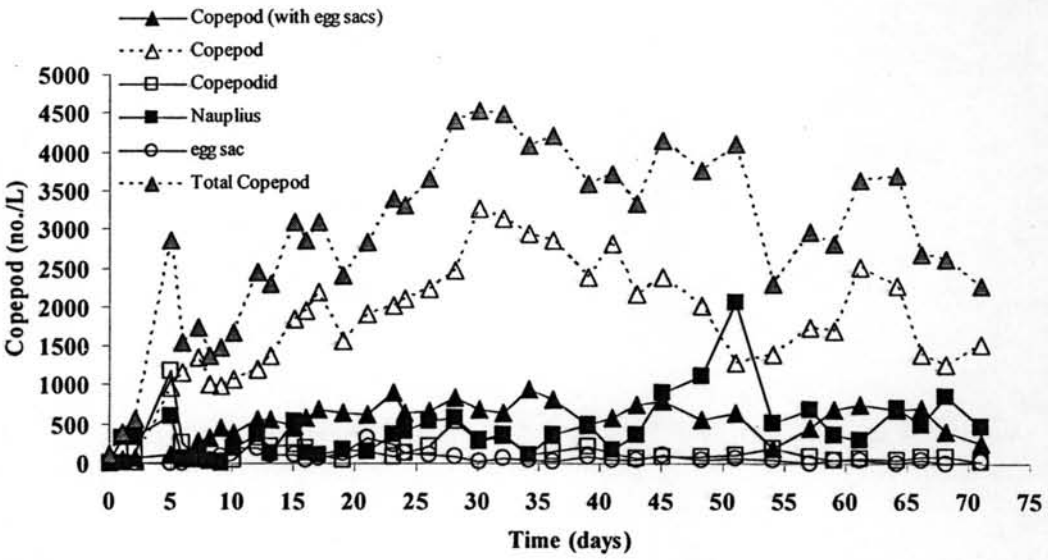
ภาพที่ 4-4 ระยะพัฒนาของโคพีพอด (1) โคพีพอดตัวเมียที่มีถุงไข่อยู่ 2 ข้างลำตัว (2),(3) ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิเริ่มฝักออกเป็นตัวอ่อนระยะนอเพลียส (4) ตัวอ่อนระยะนอเพลียส

4.2.2 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วย *I. galbana* ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ

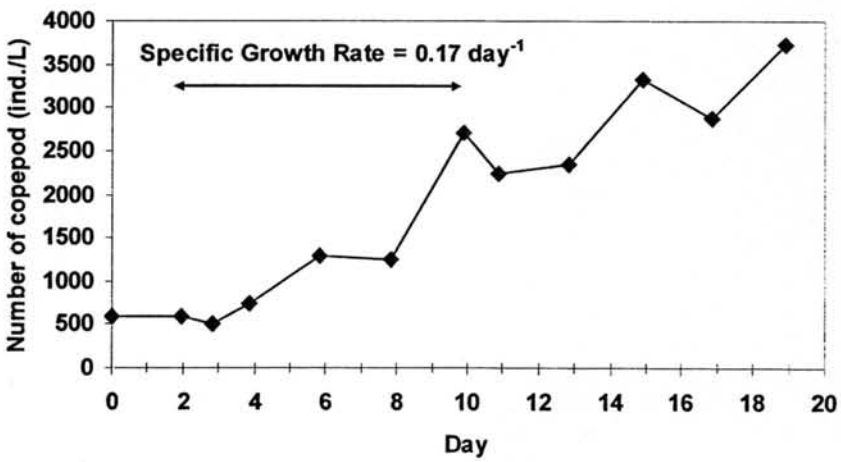
4.2.2.1 การศึกษาอัตราการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะที่เริ่มต้นจากโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่

จากการศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบกะ ในภาชนะขนาด 2 ลิตร ที่มีปริมาตรการเลี้ยง 1 ลิตร ความหนาแน่นโคพีพอดที่มีถุงไข่เริ่มต้น 100 ตัว พบว่าโคพีพอดมีการเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ โดยจะพบโคพีพอดระยะต่างๆ ดังนี้ ระยะตัวเต็มวัย (ที่มีถุงไข่) ระยะตัวเต็มวัย ระยะโคพีโพดิด ระยะนอเพลียส และยังพบเฉพาะถุงไข่ที่หลุดออกจากตัวโคพีพอด ซึ่งโคพีพอดมีการเติบโตเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในวันที่ 2 ถึง 10 ของการทดลอง สามารถคำนวณหาอัตราการเติบโตจำเพาะได้เท่ากับ 0.17 ต่อวัน (ภาพที่ 4-6) เมื่อเลี้ยงต่อไปโดยมีการกรองเปลี่ยนน้ำออกประมาณครึ่งหนึ่งของปริมาตรที่ใช้เลี้ยง และเติมสาหร่าย *I. galbana* เพื่อให้ทดแทนปริมาตรน้ำที่ถูกกรองออกไปพบว่าโคพีพอดที่อยู่ในขวดเลี้ยงสามารถเติบโตเพิ่มจำนวนต่อไปได้อีก และยังคงมีโคพีพอดอยู่ในขวดเลี้ยงเป็นเวลานานถึง 71 วัน โดยมี

ความหนาแน่นสูงสุดของโคพีพอดรวมเท่ากับ 4,526 ตัวต่อลิตรในวันที่ 30 ของการทดลอง จากนั้นโคพีพอดจึงเริ่มลดจำนวนลงในวันที่ 66 ของการทดลอง (ภาพที่ 4-5)



ภาพที่ 4-5 การเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบกะ ที่เริ่มต้นจากโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่โดยมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำประมาณ 50% ทุก 2 วัน

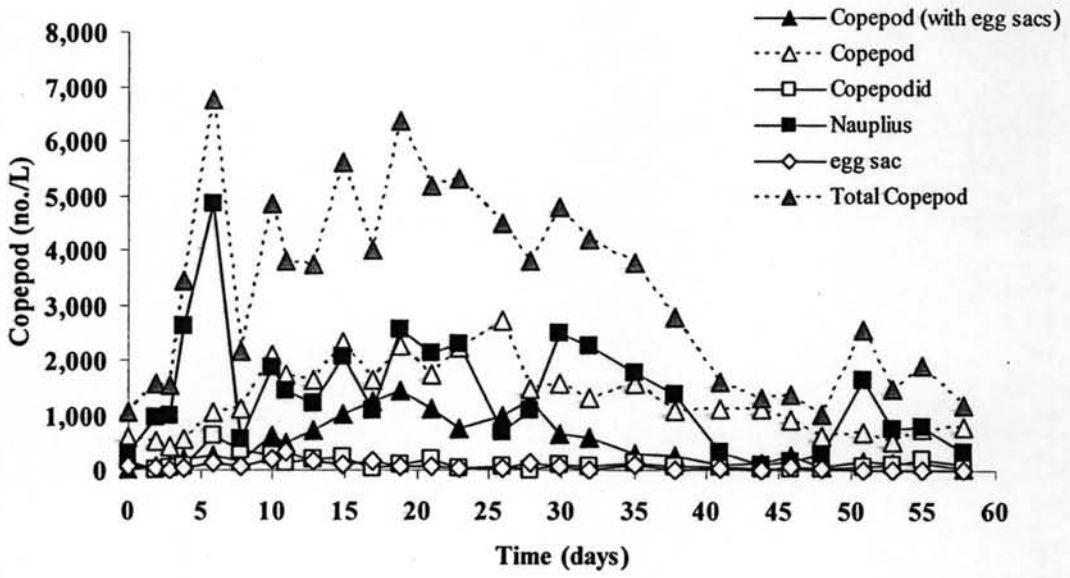


ภาพที่ 4-6 การเติบโตของโคพีพอดในช่วงวันที่ 2 ถึงวันที่ 10 ในระบบการเลี้ยงแบบกะ

4.2.2.2 การศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะที่เริ่มต้นจากหัวเชื้อที่มีโคพีพอดทุกระยะปนกัน

จากการศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบกะ ในภาชนะขนาด 2 ลิตร ที่มีปริมาตรการเลี้ยง 1 ลิตร ที่เริ่มต้นจากหัวเชื้อที่มีโคพีพอดทุกระยะ พบว่าโคพีพอดมีการเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้น โดยจะพบโคพีพอดระยะต่างๆ เช่นเดียวกับผลการทดลองข้อ 4.2.2.1 ซึ่ง

โคพีพอดมีการเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 30 ของการทดลองโดยมีความหนาแน่นสูงสุดของโคพีพอดรวม เท่ากับ 6,766 ตัวต่อลิตร ในวันที่ 5 ของการทดลอง จากนั้นโคพีพอดเริ่มลดจำนวนลงในวันที่ 31 ของการทดลอง และยังคงมีโคพีพอดอยู่ในขวดเลี้ยงเป็นเวลานานถึง 57 วัน (ภาพที่ 4-7)



ภาพที่ 4-7 การเติบโตของโคพีพอดในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ ที่เริ่มต้นจากหัวเชื้อที่มีโคพีพอดทุกระยะ

4.2.2.3 การเพาะเลี้ยงโคพีพอดเพื่อผลิตนอเพลียส

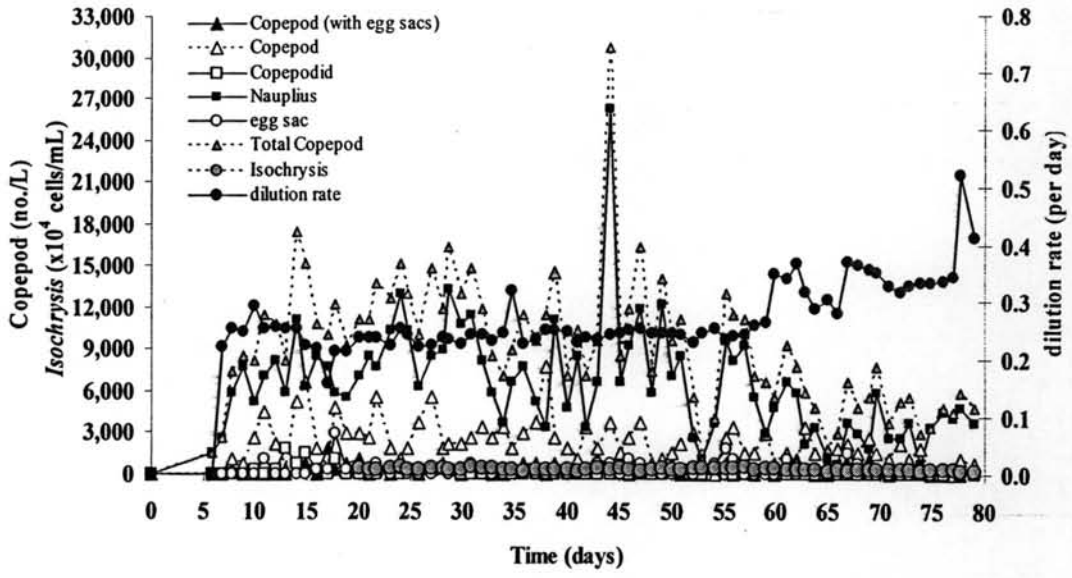
จากการทดลองเลี้ยงโคพีพอดตัวเมียที่มีไข่จำนวน 10 ตัว เป็นเวลา 14 วัน พบว่าในแต่ละวันนั้นโคพีพอดตัวเมียจะฟักตัวอ่อนระยะนอเพลียสออกมาจำนวนไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับจำนวนไข่ของโคพีพอดแต่ละตัว ซึ่งโคพีพอดตัวเมียบางตัวจะฟักตัวอ่อนระยะนอเพลียสออกจากถุงไข่เพียง 1 ข้างก่อน หลังจากนั้นอีก 1 ข้างก็จะฟักออกมาทีหลังเมื่อเวลาผ่านไป บางตัวก็จะฟักออกมาทั้งหมดภายในเวลาเดียวกัน การทดลองในครั้งนี้สามารถผลิตนอเพลียสได้ความหนาแน่นเท่ากับ 193 ± 13 ตัว ดังแสดงในตาราง 4-1

ตารางที่ 4-1 จำนวนนอเพลียสที่ผลิตได้จากโคพีพอดตัวเมียที่มีไข่ 10 ตัว ตลอดระยะเวลาการทดลอง 14 วัน

วันที่ทดลอง	จำนวนนอเพลียสเฉลี่ย (ตัว)
1	0
2	22.67 ± 12.90
3	17.00 ± 6.93
4	0
5	3.33 ± 1.15
6	37.33 ± 53.41
7	33.00 ± 30.05
8	31.67 ± 17.79
9	12.33 ± 7.57
10	18.00 ± 8.19
11	7.33 ± 10.12
12	1.33 ± 1.15
13	0
14	9.33 ± 7.51
จำนวนนอเพลียสรวม	193.33 ±13.15

4.3 ศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

จากการศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ที่มีปริมาตรน้ำ 5 ลิตร พบว่าที่อัตราการเจือจาง 0.24 ต่อวันในวันที่ 6 ถึง 58 ของการศึกษา โคพีพอดมีความหนาแน่นเฉลี่ย 10,873±4,388 ตัวต่อลิตร และมีจำนวนสาหร่าย *I. galbana* ในระบบโคพีพอด 373 ± 68×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นเมื่อทำการปรับอัตราการเจือจางขึ้นเป็น 0.33 ต่อวัน ในวันที่ 59 ถึง 76 ของการทดลอง พบว่าสาหร่ายที่อยู่ในขวดเลี้ยงโคพีพอดมีความหนาแน่นใกล้เคียงกับอัตราการเจือจางเดิม คือ 332±47 ×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่โคพีพอดมีความหนาแน่นเฉลี่ย 5,164 ± 1,890 ตัวต่อลิตร ซึ่งลดลงไปจากเดิมประมาณครึ่งหนึ่ง และโคพีพอดมีความหนาแน่นสูงสุดประมาณ 30,740 ตัวต่อลิตรในวันที่ 44 ของการศึกษาการทดลองนี้สามารถเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องได้เป็นระยะเวลา 79 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4-8

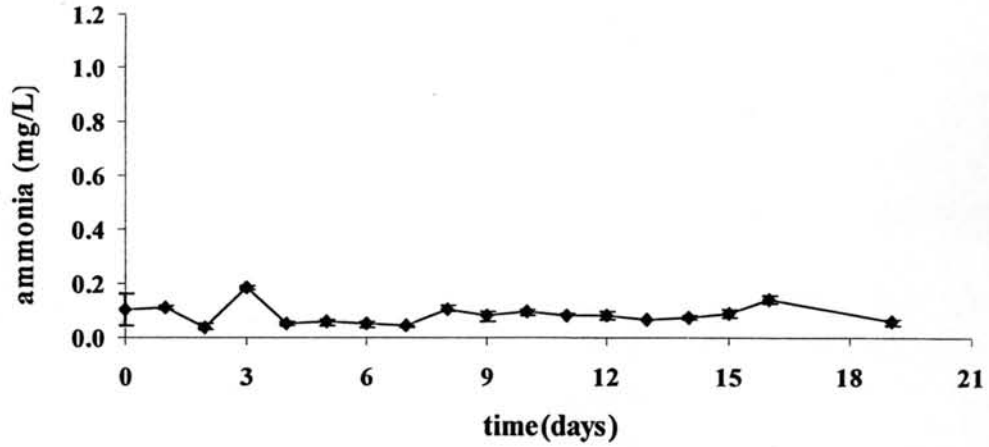


ภาพที่ 4-8 การเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

ตารางที่ 4-2 ความหนาแน่นและผลผลิตของโคพีพอดในระยะต่างๆ ที่อัตราการเจือจาง 0.24 และ 0.33 ต่อวัน ที่เลี้ยงในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ที่มีปริมาตร 5 ลิตร ในรอบการเลี้ยง 79 วัน

ระยะการเติบโต	อัตราการเจือจาง 0.24 ต่อวัน		อัตราการเจือจาง 0.33 ต่อวัน	
	ความหนาแน่น (ตัวต่อลิตร)	ผลผลิต (ตัวต่อลิตรต่อวัน)	ความหนาแน่น (ตัวต่อลิตร)	ผลผลิต (ตัวต่อลิตรต่อวัน)
ตัวเต็มวัย (มีถุงไข่)	648 ± 327	156	639 ± 335	213
ตัวเต็มวัย	2,711 ± 1,552	660	1,550 ± 779	511
โคพีโพดิด	588 ± 454	141	588	194
นอเพลียส	7,735 ± 3,824	1,856	3,374 ± 1,745	1,113
ถุงไข่	725 ± 602	174	687 ± 449	226
โคพีพอดรวม	10,873 ± 4,388	2,609	5,164 ± 1,890	1,704

ในการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ปริมาตร 5 ลิตร พบว่าปริมาณแอมโมเนียมีค่าอยู่ในช่วง 0.039 – 0.142 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าไม่ต่างกันมากตลอดระยะเวลาการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 4-9



ภาพที่ 4-9 ปริมาณแอมโมเนียในระบบการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ที่มีปริมาตรน้ำ 5 ลิตร

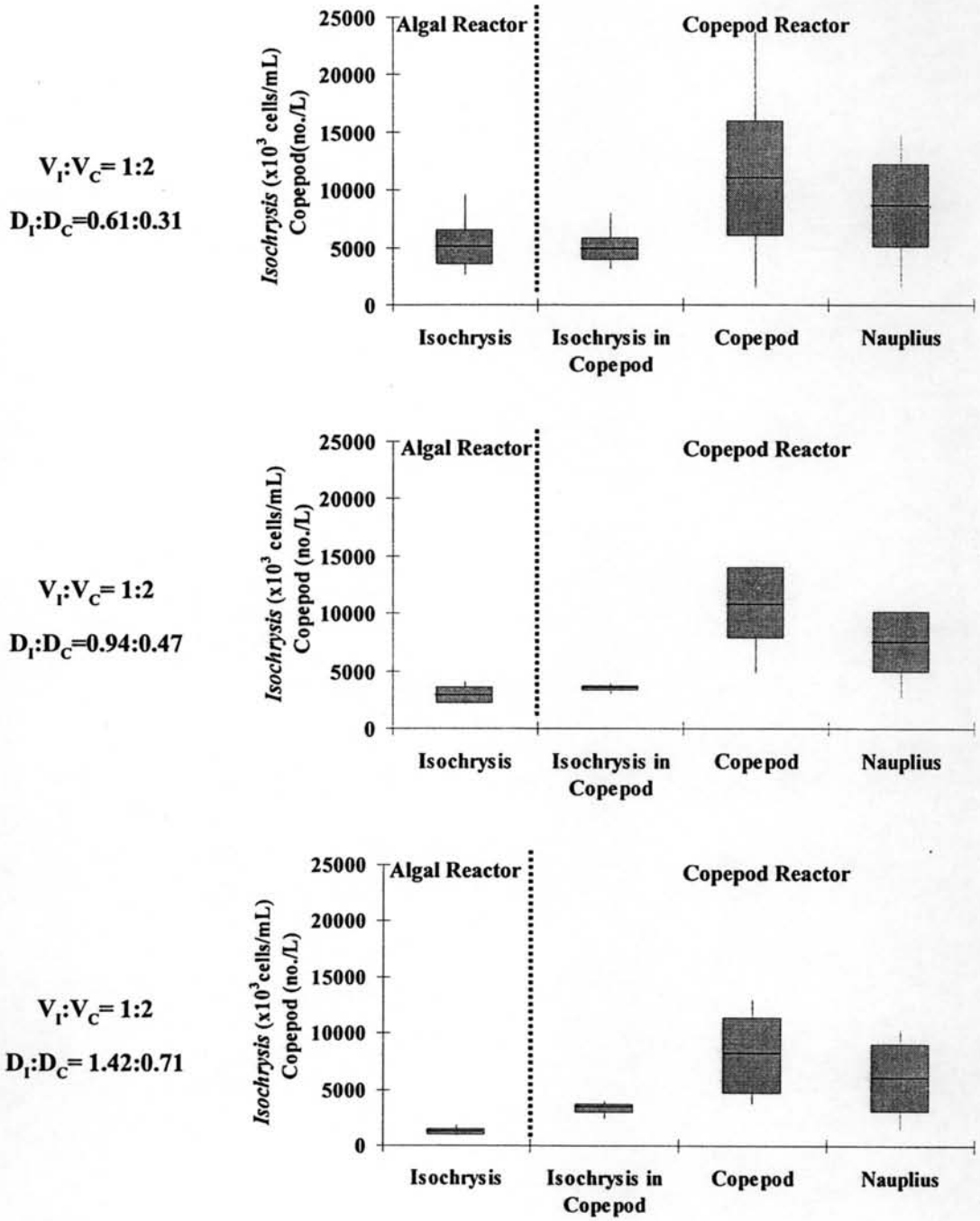
4.4 การศึกษาผลของสัดส่วนระหว่างปริมาตรของระบบสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอดในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

จากการศึกษาผลของสัดส่วนระหว่างปริมาตรที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Isochrysis* และโคพีพอดในการระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง พบว่าจากการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนปริมาตรของสาหร่าย *Isochrysis* (I) และปริมาตรโคพีพอด (C) มีผลทำให้อัตราการเจือจางที่ได้ในแต่ละชุดการทดลองมีค่าที่แตกต่างกันด้วย โดยในระบบเลี้ยงสาหร่าย *Isochrysis* ที่อัตราส่วน I:C เท่ากับ 1:2 (อัตราการเจือจาง 0.61 0.94 และ 1.42 ต่อวัน) ที่อัตราส่วน I:C เท่ากับ1:1 (อัตราการเจือจาง 0.60 และ 1.15 ต่อวัน)และที่อัตราส่วน I:C เท่ากับ 2:1 (อัตราการเจือจาง 0.31 และ 0.48 ต่อวัน) ตามลำดับ พบว่าความหนาแน่นของสาหร่าย *Isochrysis* มีค่าแตกต่างกันและมีค่าสูงกว่าในชุดอัตราส่วน I:C เท่ากับ 1:2 ที่มีอัตราการเจือจาง 0.61 ต่อวัน (ภาพที่ 4-10, 4-11, และ 4-12)

สำหรับความหนาแน่นของสาหร่าย *Isochrysis* ที่อยู่ในระบบเลี้ยงโคพีพอด(C) พบว่าจะแปรผกผันกับความหนาแน่นของโคพีพอด เนื่องจากโคพีพอดกินสาหร่ายเป็นอาหาร โดยการเลี้ยงโคพีพอดด้วยอัตราการเจือจางสูง 1.15 ต่อวันในชุดทดลองที่มีอัตราส่วน I:C เท่ากับ 1:1 จะทำให้โคพีพอดมีความหนาแน่นต่ำ ในขณะที่การเลี้ยงโคพีพอดด้วยอัตราการเจือจางต่ำ 0.31 ต่อวันในชุดทดลองที่มีอัตราส่วน I:C เท่ากับ 1:2 ทำให้โคพีพอดมีความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ยสูงที่สุด ในขณะเดียวกันก็จะทำให้ความหนาแน่นของสาหร่ายในขวดมีค่าต่ำที่สุดด้วย จากผลการทดลองในภาพ 4-10 จึงได้เลือกอัตราส่วน I:C เท่ากับ 1:2 เพื่อเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในระบบการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องต่อไป

เนื่องจากการเติบโตของสาหร่ายและโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง แม้ว่าจะปรับตั้งอัตราการเจือจางให้คงที่ โดยคงปริมาตรน้ำในภาชนะที่ใช้เลี้ยงและปรับอัตราการไหลของ

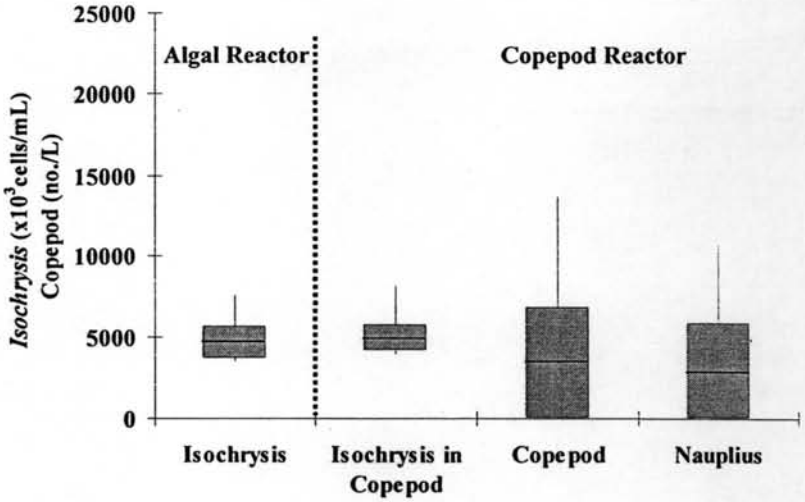
เครื่องสูบน้ำให้คงที่ ความหนาแน่นของจุลินทรีย์ก็ยังอาจมีการแปรผันได้ในช่วงกว้าง การแสดงผลของการทดลองในภาพที่ 4-10 จึงนำเสนอในรูปแบบของกราฟที่แสดงค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าสูงสุดและต่ำสุดของข้อมูล ส่วนผลความหนาแน่นของจุลินทรีย์และอัตราการเจือจางในแต่ละวันได้นำเสนอไว้ในภาคผนวก จ



ภาพที่ 4-10 ค่าเฉลี่ย, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และพิสัยความหนาแน่นของสาหร่ายและโคพีพอดในการศึกษาผลของสัดส่วนระหว่างปริมาตรของระบบสาหร่าย (Algal Reactor :I) และปริมาตรของระบบโคพีพอด (Copepod Reactor : C) ที่สัดส่วน I:C = 1:2 ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ปริมาตรสาหร่ายและโคพีพอดเท่ากับ 1,000 และ 2,000 มิลลิลิตร

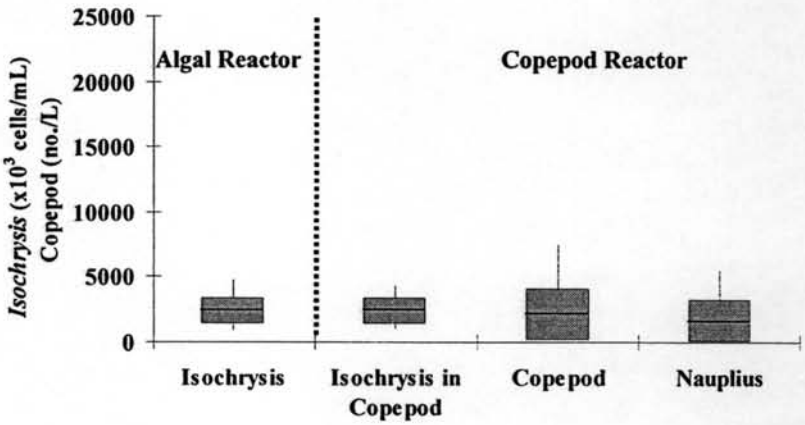
$V_I:V_C$= 1:1

$D_I:D_C$= 0.60:0.60



$V_I:V_C$= 1:1

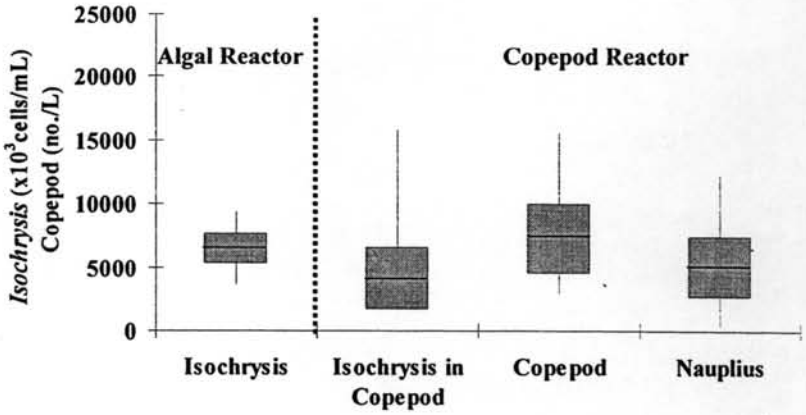
$D_I:D_C$= 1.15:1.15



ภาพที่ 4-11 ค่าเฉลี่ย, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และพิสัยความหนาแน่นของสาหร่ายและโคพีพอด ในการศึกษาผลของสัดส่วนระหว่างปริมาตรของระบบสาหร่าย (Algal Reactor :I) และปริมาตรของระบบโคพีพอด (Copepod Reactor : C) ที่สัดส่วน I:C = 1:1 ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ปริมาตรสาหร่ายและโคพีพอดเท่ากับ 1,000 และ 1,000 มิลลิลิตร

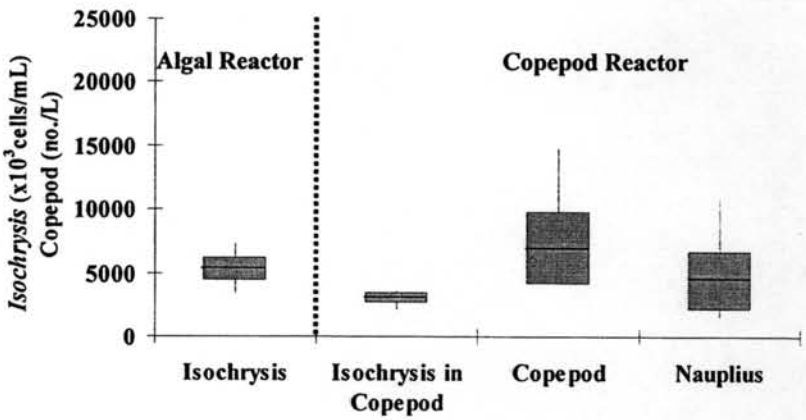
$V_I:V_C$= 2:1

$D_I:D_C$= 0.31:0.61



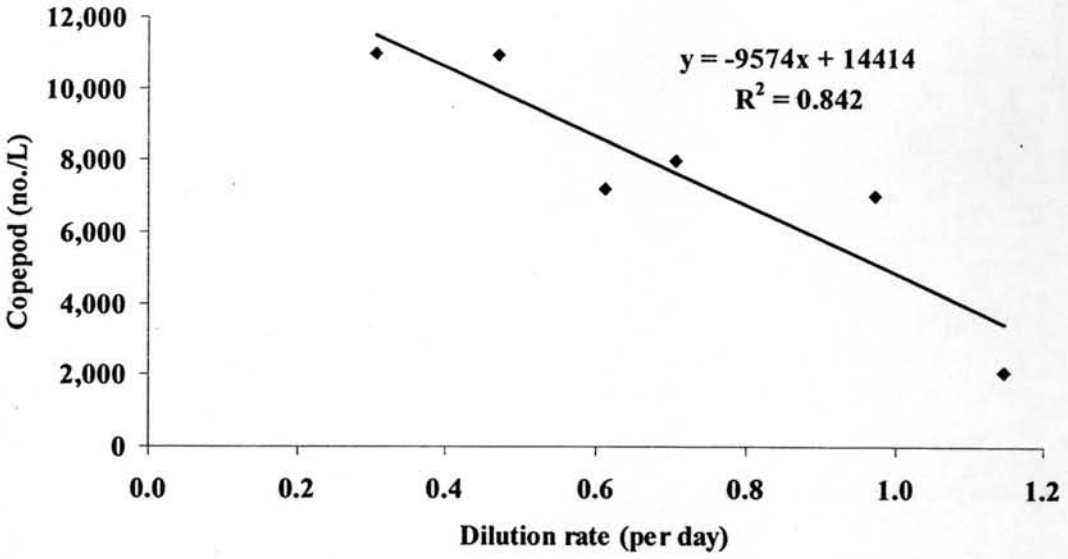
$V_I:V_C$= 2:1

$D_I:D_C$= 0.48:0.97



ภาพที่ 4-12 ค่าเฉลี่ย, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และพิสัยความหนาแน่นของสาหร่ายและโคพีพอด ในการศึกษาผลของสัดส่วนระหว่างปริมาตรของระบบสาหร่าย (Algal Reactor :I) และปริมาตรของระบบโคพีพอด (Copepod Reactor : C) ที่สัดส่วน I:C = 2:1 ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ปริมาตรสาหร่ายและโคพีพอดเท่ากับ 2,000 และ 1,000 มิลลิลิตร

เมื่อเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจือจางและความหนาแน่นของโคพีพอดในแต่ละช่วงที่ได้จากการศึกษาผลของสัดส่วนระหว่างปริมาตรของระบบสาหร่าย *I. galbana* และปริมาตรของระบบโคพีพอดในครั้งนี้ พบว่าความหนาแน่นของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องจะแปรผกผันกับการเพิ่มอัตราการเจือจาง คือ เมื่ออัตราการเจือจางเพิ่มขึ้นจะทำให้ความหนาแน่นของโคพีพอดลดลง ดังแสดงในภาพที่ 4-13



ภาพที่ 4-13 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจือจางและความหนาแน่นของโคพีพอดในการศึกษาผลของสัดส่วนระหว่างปริมาตรของระบบสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอด ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

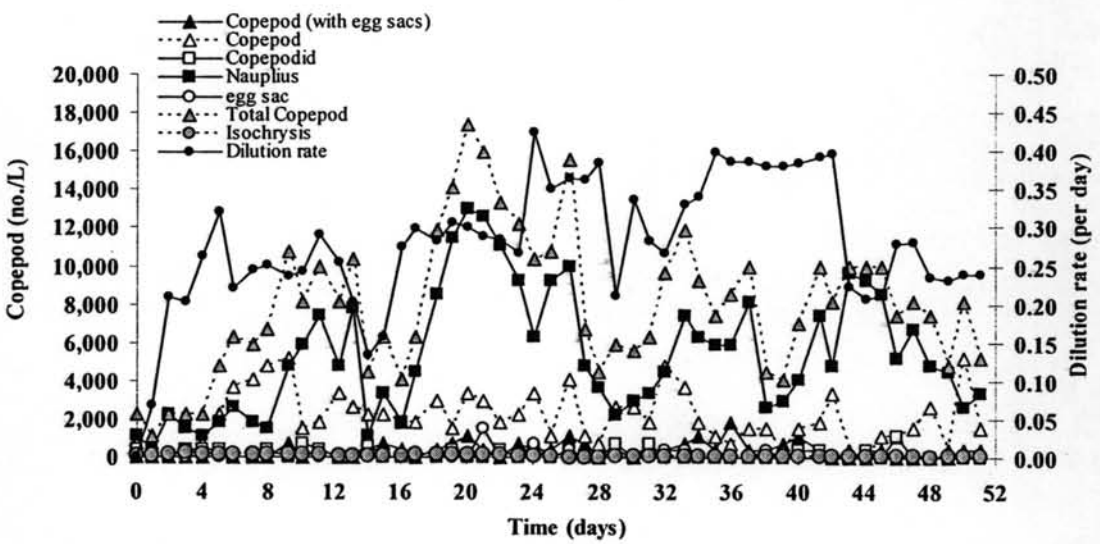
4.5 การศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ขนาด 10 ลิตร

จากการศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ขนาด 10 ลิตร พบโคพีพอดระยะต่างๆ เติบโตอยู่ภายในถังนี้ ได้แก่ ระยะนอเพลียส ระยะโคพีโพดิด ระยะโตเต็มวัยที่มีถุงไข่ ระยะโตเต็มวัย และถุงไข่ที่หลุดออกจากตัวเมีย เนื่องจากการทดลองนี้เป็นการใช้ปั๊มน้ำแบบรีดสายยาง ซึ่งจะต้องมีการปรับเปลี่ยนตำแหน่งของสายยางซิลิโคนเป็นประจำทุก 4-5 วัน เพื่อป้องกันไม่ให้สายเกิดการเสียสภาพ ดังนั้นการปรับเปลี่ยนสายก็จะส่งผลให้อัตราการเจือจางเกิดความไม่คงที่ไปด้วย ในการทดลองนี้ได้ปรับเปลี่ยนช่วงอัตราการเจือจางเป็น 3 ระดับ ได้แก่ ที่อัตราการเจือจาง 0.25, 0.29 และ 0.39 ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าที่อัตราการเจือจาง 0.25 ต่อวันในวันที่ 2 ถึง 13 ของการศึกษานั้น พบโคพีพอดระยะนอเพลียสซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมกับการนำไปใช้เป็นอาหารลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน มีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 3,611 ± 2,421 ตัวต่อลิตร และเมื่อรวมความหนาแน่นของโคพีพอดที่พบทุกระยะที่อัตราการเจือจางนี้มีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 6,481 ± 3,144 ตัวต่อลิตร และมีจำนวนสาหร่าย *I. galbana* เฉลี่ยในระบบโคพีพอดเท่ากับ $159 \pm 35 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เมื่อปรับอัตราการเจือจางเป็น 0.29 ต่อวัน ในวันที่ 16 ถึง 23 ของการศึกษา ได้ความหนาแน่นระยะนอเพลียสเฉลี่ยเท่ากับ 9,027 ± 3,988 ตัวต่อลิตร และโคพีพอดรวมทุกระยะเฉลี่ยเท่ากับ 11,898 ± 4568 ตัวต่อลิตร และมีจำนวนสาหร่าย *I. galbana* ในระบบโคพีพอดมีความหนาแน่นใกล้เคียงกับอัตราการเจือจางเดิมคือ 124 ± 21×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่อัตราการ

เจือจาง 0.39 ต่อวัน ในวันที่ 35 ถึง 42 ของการศึกษา ได้ความหนาแน่นระยะนอเพลียสเฉลี่ยเท่ากับ 5,231 ± 1,993 ตัวต่อลิตร และโคพีพอดรวมทุกระยะเฉลี่ยเท่ากับ 7,453 ± 2,243 ตัวต่อลิตร และมีจำนวนสาหร่าย *I. galbana* ในระบบโคพีพอดซึ่งมีความหนาแน่นลดลงจากอัตราการเจือจางเดิมเหลือเพียง 61 ± 11 $\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยโคพีพอดมีความหนาแน่นสูงสุด 17,407 ตัวต่อลิตร ในวันที่ 20 ของการศึกษา การทดลองนี้สามารถเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องได้เป็นระยะเวลา 51 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4-14

ในการพัฒนาระบบถังปฏิกรณ์สำหรับเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่อง ได้ทำการสร้างระบบป้องกันการปนเปื้อนของอาหารเพาะเชื้อโดยใช้ความร้อน โดยการสูบอาหารเพาะเชื้อสาหร่ายในถังเก็บเพื่อเติมลงในถังปฏิกรณ์เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Isochrysis* นั้นจะมีการกรองอาหารเพาะเชื้อด้วยไส้กรองสำเร็จรูปแบบแคปซูลที่มีรูขนาด 0.3 ไมโครเมตร และอาหารเพาะเชื้อจะไหลผ่านถังน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิประมาณ 80-90 องศาเซลเซียส วิธีนี้สามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่จะเข้าสู่ระบบผลิตสาหร่ายและระบบผลิตโคพีพอดได้อย่างมีประสิทธิภาพ และทำให้ไม่มีความจำเป็นต้องทำการฆ่าเชื้อในถังอาหารเพาะเชื้อซึ่งจะมีความยุ่งยากและมีต้นทุนสูง



ภาพที่ 4-14 การเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร

ตารางที่ 4-3 ความหนาแน่นและผลผลิตของโคพีพอดในระยะต่างๆ ที่อัตราการเจือจาง 0.25 (ตาราง 4-3 ก), 0.29 (ตาราง 4-3 ข) และ 0.39 ต่อวัน (ตาราง 4-3 ค) ตามลำดับ ที่เลี้ยงในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร ในรอบการเลี้ยง 51 วัน

ตาราง 4-3 ก

ระยะการเติบโต	อัตราการเจือจาง 0.25 ต่อวัน	
	ความหนาแน่น (ตัวต่อลิตร)	ผลผลิต (ตัวต่อลิตรต่อวัน)
ตัวเต็มวัย (มีถุงไข่)	493 ± 213	121
ตัวเต็มวัย	2,760 ± 1,600	690
โคพีโพดิด	432 ± 151	108
นอเพลียส	3,611 ± 2,421	902
ถุงไข่	ไม่พบ	ไม่พบ
โคพีพอดรวม	6,481 ± 3144	1,620

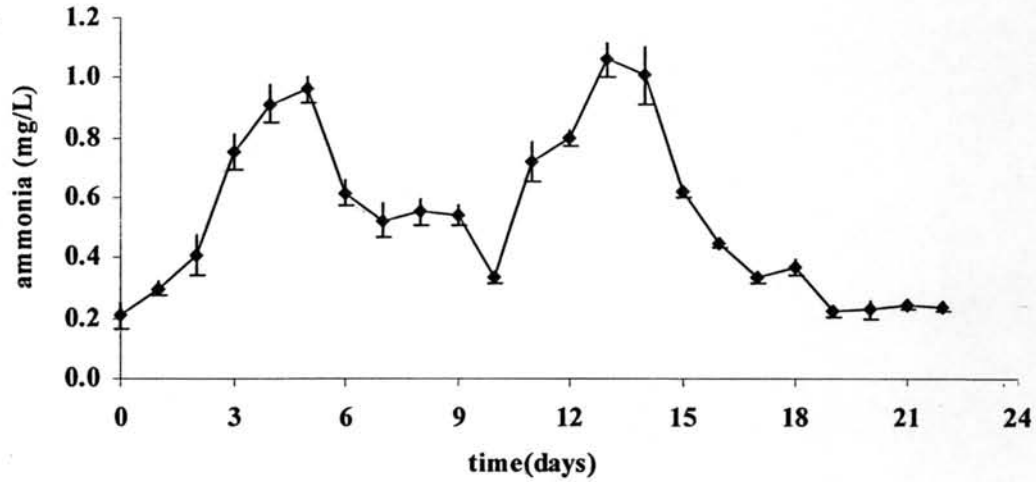
ตาราง 4-3 ข

ระยะการเติบโต	อัตราการเจือจาง 0.29 ต่อวัน	
	ความหนาแน่น (ตัวต่อลิตร)	ผลผลิต (ตัวต่อลิตรต่อวัน)
ตัวเต็มวัย (มีถุงไข่)	617 ± 302	177
ตัวเต็มวัย	2,314 ± 678	671
โคพีโพดิด	370	107
นอเพลียส	9,027 ± 3,988	2,618
ถุงไข่	1481	429
โคพีพอดรวม	11,898 ± 4,568	3,450

ตาราง 4-3 ค

ระยะการเติบโต	อัตราการเจือจาง 0.39 ต่อวัน	
	ความหนาแน่น (ตัวต่อลิตร)	ผลผลิต (ตัวต่อลิตรต่อวัน)
ตัวเต็มวัย (มีถุงไข่)	740 ± 565	287
ตัวเต็มวัย	1,481 ± 885	577
โคพีโพดิด	246	96
นอเพลียส	5,231 ± 1,993	2,040
ถุงไข่	370	144
โคพีพอดรวม	7,453 ± 2,243	2,906

ในการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร พบว่าค่าแอมโมเนียมีการเปลี่ยนแปลงขึ้นลง อยู่ในช่วง 0.209 – 1.058 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในภาพที่ 4-15



ภาพที่ 4-15 ปริมาณแอมโมเนียในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร

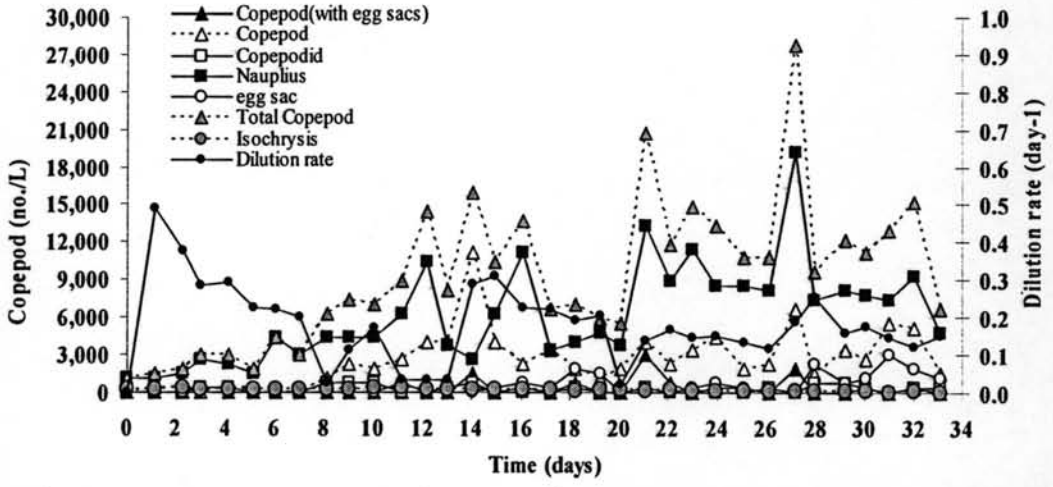
4.6 การเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร ที่มีระบบหมุนเวียนน้ำ

การทดลองนี้เป็นการศึกษาการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องเช่นเดียวกับข้อ 4.5 แต่มีการเพิ่มระบบหมุนเวียนน้ำเข้ามาใช้ในระบบ เพื่อหมุนเวียนน้ำจากผลผลิตโคพีพอดที่ได้กลับมาใช้เตรียมเป็นอาหารเพาะเชื้อสำหรับสาหร่าย *Isochrysis*ใหม่ โดยระบบสาหร่ายมีขนาด 5 ลิตรและระบบโคพีพอดมีขนาด 10 ลิตร ผลผลิตที่ได้ในแต่ละวันจะกรองเอาโคพีพอดออกก่อนจากนั้นนำน้ำทิ้งมากรองผ่านชุดกรองขนาด 0.3 ไมโครเมตรโดยการกรองเป็นการกรองแบบ partial filtration เพื่อเอาสาหร่ายและตะกอนขนาดเล็กออก น้ำที่ผ่านการกรองแล้วจะมีลักษณะใสขึ้นและไหลออกสู่ถังเก็บน้ำ และจะนำมาปรับความเค็มให้ได้ 30 พีเอสยู ด้วยน้ำปะปาและฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนก่อนนำกลับมาใช้ใหม่ วิธีนี้สามารถนำน้ำกลับมาใช้เตรียมอาหารเพาะเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

โดยทำการศึกษา 2 ครั้ง ซึ่งการทดลองครั้งที่ 1 ผลการประเมินความต้องการใช้น้ำในระหว่างการทดลอง พบว่าตลอดระยะเวลาการทดลองเป็นเวลา 33 วันนั้น ใช้น้ำไปปริมาตรรวม 60.70 ลิตร (1.84 ±1.10 ลิตรต่อวัน) ส่วนการทดลองครั้งที่ 2 นั้น ความต้องการใช้น้ำในระหว่างการทดลองตลอดระยะเวลาการทดลอง 31 วัน ใช้น้ำไปปริมาตรรวม 81.75 ลิตร (2.64 ±0.77 ลิตรต่อวัน)

<u>การทดลองครั้งที่ 1</u>

การเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ขนาด 10 ลิตร พบว่ามีอัตราการเจือจางไม่ค่อยคงที่นักเนื่องมาจากสายซีลีโคนที่ถูกรีดจากปั๊มแบบรีดสาย ทำให้ต้องมีการขยับเปลี่ยนตำแหน่งของสายเพื่อไม่ให้สายขาด ดังนั้นข้อมูลที่ได้จึงเลือกและตัดช่วงข้อมูลมาบางช่วง ซึ่งมีอัตราการเจือจาง 2 ช่วงคือ 0.24 และ 0.16 ต่อวัน ตามลำดับ ที่อัตราการเจือจาง 0.24 ต่อวัน ในวันที่ 3 ถึงวันที่ 7 ของการทดลอง พบโคพีพอดระยะนอเพลียสมีความหนาแน่นเฉลี่ย 2,740 ± 1,098 ตัวต่อลิตร และโคพีพอดรวมทุกระยะมีความหนาแน่นเฉลี่ย 3,037 ± 922.21 ตัวต่อลิตร และมีจำนวนสาหร่ายเฉลี่ยในระบบโคพีพอด 225 ± 31×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่อัตราการเจือจาง 0.16 ต่อวัน ในวันที่ 16 ถึงวันที่ 33 ของการทดลอง พบโคพีพอดระยะนอเพลียสมีความหนาแน่นเฉลี่ย 8,333 ± 3,870 ตัวต่อลิตร และโคพีพอดรวมทุกระยะมีความหนาแน่นเฉลี่ย 12,037 ± 5,523 ตัวต่อลิตร และมีจำนวนสาหร่ายเฉลี่ยในระบบโคพีพอด 150 ± 57×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งการทดลองนี้โคพีพอดมีความหนาแน่นสูงสุดประมาณ 27,777.78 ตัวต่อลิตร ในวันที่ 27 ของการทดลอง สามารถเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องได้เป็นระยะเวลา 33 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4-16



ภาพที่ 4-16 การเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร ในระบบหมุนเวียนน้ำ

ตารางที่ 4-4 ความหนาแน่นและผลผลิตของโคพีพอดในระยะต่างๆ ที่อัตราการเจือจาง 0.24 ต่อวัน (ตาราง 4-4 ก) และ 0.16 ต่อวัน (ตาราง 4-4 ข) ที่เลี้ยงในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ในรอบการเลี้ยง 33 วัน

ตาราง 4-4 ก

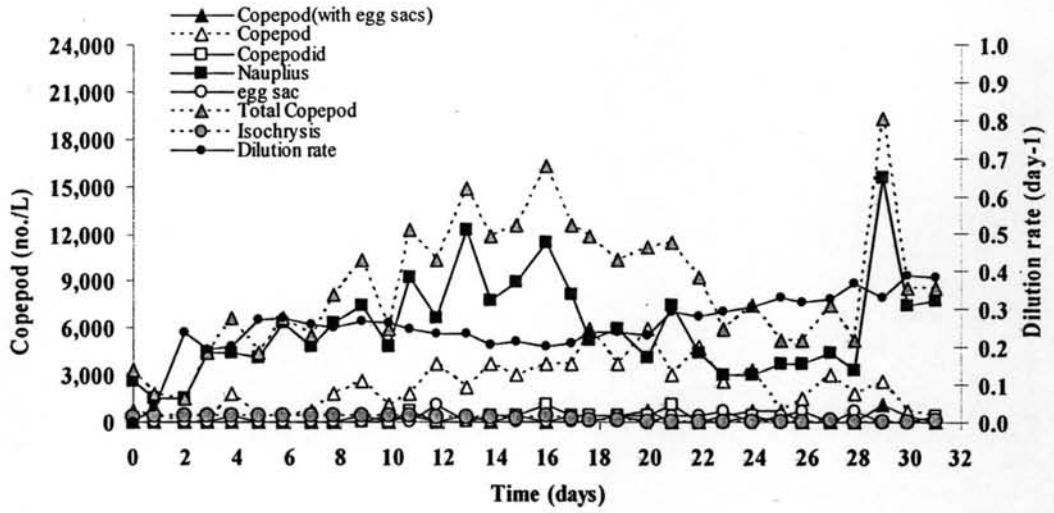
ระยะการเติบโต	อัตราการเจือจาง 0.24 ต่อวัน	
	ความหนาแน่น (ตัวต่อลิตร)	ผลผลิต (ตัวต่อลิตรต่อวัน)
ตัวเต็มวัย (มีถุงไข่)	ไม่พบ	ไม่พบ
ตัวเต็มวัย	370	88
โคพีโพดิด	370	88
นอเพลียส	2,740 ± 1,098	657
ถุงไข่	ไม่พบ	ไม่พบ
โคพีพอดรวม	3,037 ± 922	728

ตาราง 4-4 ข

ระยะการเติบโต	อัตราการเจือจาง 0.16 ต่อวัน	
	ความหนาแน่น (ตัวต่อลิตร)	ผลผลิต (ตัวต่อลิตรต่อวัน)
ตัวเต็มวัย (มีถุงไข่)	905 ± 909	146
ตัวเต็มวัย	3,045 ± 1,579	487
โคพีโพดิด	462 ± 171	74
นอเพลียส	8,333 ± 3,870	1,333
ถุงไข่	1,225 ± 805	196
โคพีพอดรวม	12,037 ± 5,523	1,925

<u>การทดลองครั้งที่ 2</u>

การเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ขนาด 10 ลิตร การทดลองในครั้งนี้มีอัตราการเจือจางค่อนข้างคงที่ โดยมีอัตราการเจือจางเฉลี่ยเท่ากับ 0.27 ต่อวัน ในวันที่ 2 ถึงวันที่ 31 ของการทดลอง พบโคพีพอดระยะนอเพลียสมีความหนาแน่นเฉลี่ย 6,246 ± 3,061 ตัวต่อลิตร และโคพีพอดรวมทุกระยะมีความหนาแน่นเฉลี่ย 9,037 ± 3,942 ตัวต่อลิตร และมีจำนวนสาหร่ายเฉลี่ยในระบบโคพีพอด 204 ± 164×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งการทดลองนี้โคพีพอดมีความหนาแน่นสูงสุดประมาณ 19,259 ตัวต่อลิตร ในวันที่ 29 ของการทดลอง สามารถเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องได้เป็นระยะเวลา 31 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4-17

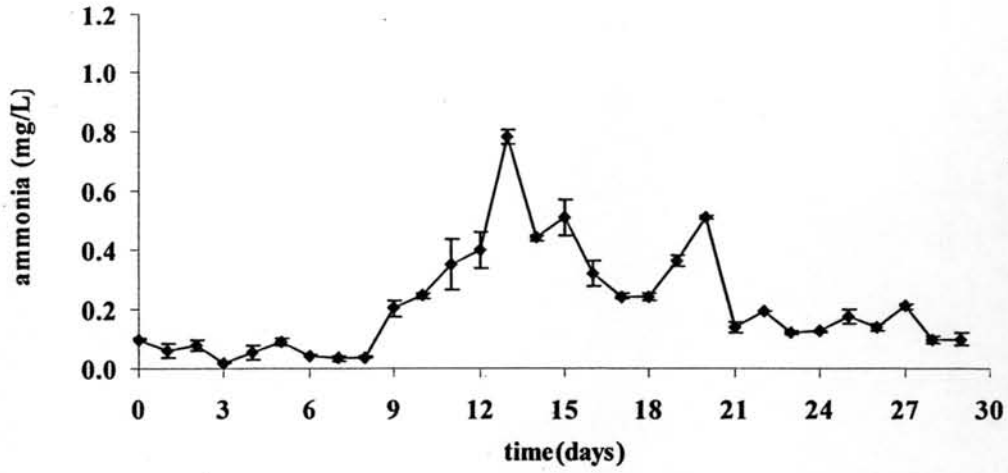


ภาพที่ 4-17 การเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร ในระบบหมุนเวียนน้ำ

ตารางที่ 4-5 ความหนาแน่นและผลผลิตของโคพีพอดในระยะต่างๆ ที่อัตราการเจือจาง 0.27 ต่อวัน ที่เลี้ยงในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ในรอบการเลี้ยง 31 วัน

ระยะการเติบโต	อัตราการเจือจาง 0.27 ต่อวัน	
	ความหนาแน่น (ตัวต่อลิตร)	ผลผลิต (ตัวต่อลิตรต่อวัน)
ตัวเต็มวัย (มีถุงไข่)	666 ± 240	179
ตัวเต็มวัย	2,526 ± 1,552	682
โคพีโพดิด	524 ± 293	141
นอเพลียส	6,246 ± 3061	1,686
ถุงไข่	576 ± 269	155
โคพีพอดรวม	9,037 ± 3,942	2,440

ในการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร ในระบบหมุนเวียนน้ำ พบว่าค่าแอมโมเนียมีการเปลี่ยนแปลงขึ้นลง อยู่ในช่วง 0.021 – 0.782 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยจะมีค่าเริ่มสูงขึ้นในวันที่ 9 และมีค่าสูงสุดในวันที่ 13 ของการทดลอง จากนั้นก็จะค่อยๆ ลดลงจนกระทั่งเกือบคงที่จนสิ้นสุดการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 4-18



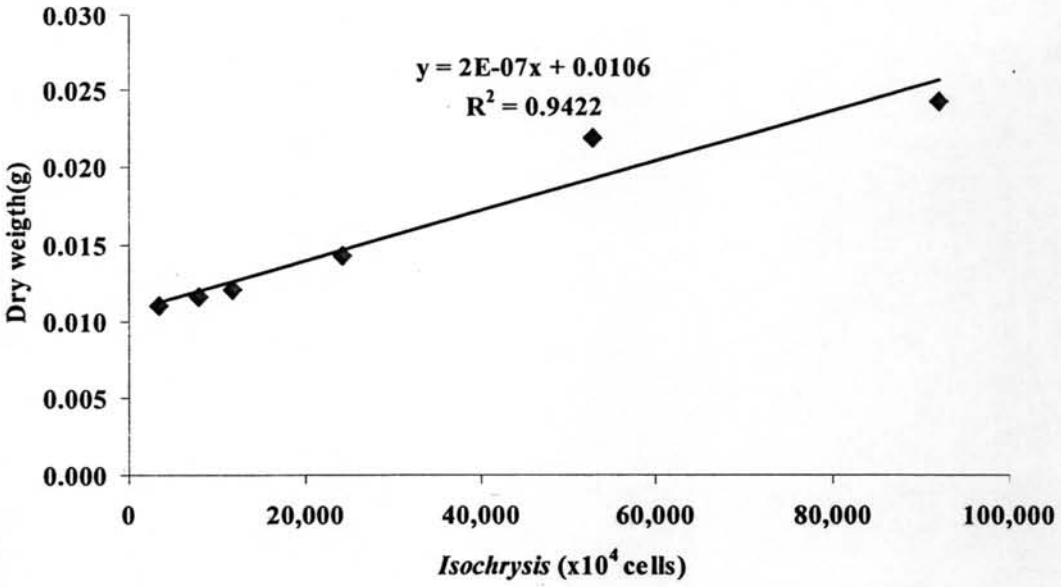
ภาพที่ 4-18 ปริมาณแอมโมเนียในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร ในระบบหมุนเวียนน้ำ

4.7 การตรวจวัดน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอด

เนื่องจากการศึกษาในที่นี้ทำในถังปฏิกรณ์ขนาดเล็ก การติดตามการเติบโตของสาหร่ายและโคพีพอดจึงใช้วิธีการนับจำนวนเป็นหลัก แต่ในการประเมินผลผลิตเชิงปริมาณจำเป็นต้องทราบน้ำหนักแห้งของสาหร่ายและโคพีพอดที่ผลิตได้ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ของสาหร่าย/จำนวนตัวของโคพีพอด กับน้ำหนักแห้ง ซึ่งจะเป็นข้อมูลสำหรับใช้อ้างอิงต่อไป

4.7.1 การตรวจวัดน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *I. galbana*

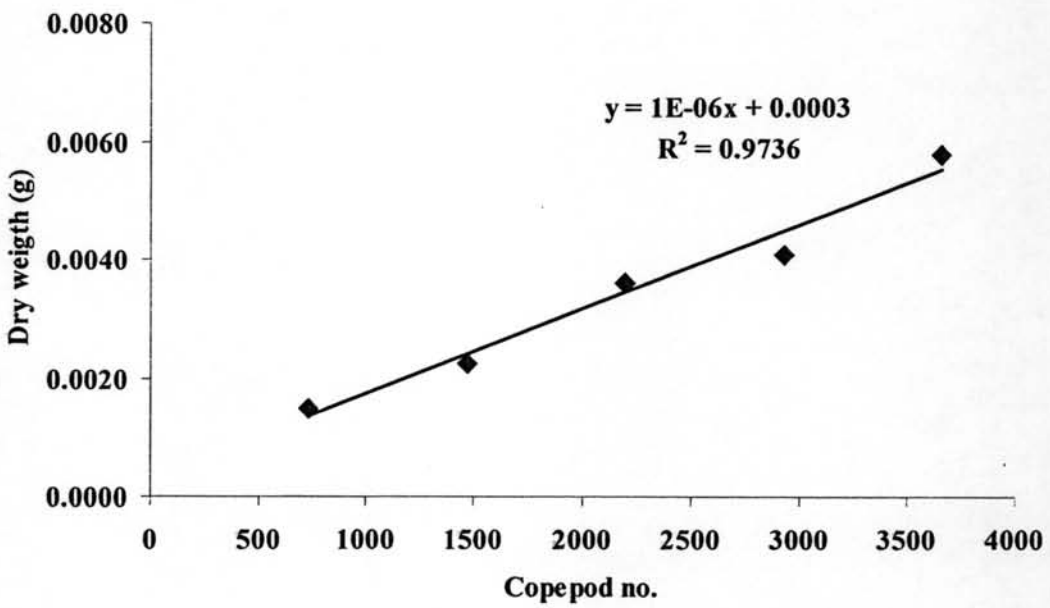
จากการทดลองเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นกับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์กับน้ำหนักแห้งของ *Isochrysis* นั้นมีความสัมพันธ์แบบเชิงเส้น โดยมีความแม่นยำร้อยละ 94 ดังแสดงในภาพที่ 4-19



ภาพที่ 4-19 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นกับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *I. galbana*

4.7.2 การตรวจวัดน้ำหนักแห้งของโคพีพอด

จากการทดลองเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นกับน้ำหนักแห้งของโคพีพอดที่มาจากหัวเชื้อปริมาตร 2.5 ลิตร พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์กับน้ำหนักแห้งของโคพีพอดนั้นมีความสัมพันธ์แบบเชิงเส้น โดยมีความแม่นยำร้อยละ 97 ดังแสดงในภาพที่ 4-20



ภาพที่ 4-20 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นกับน้ำหนักแห้งของโคพีพอด