

การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* เพื่อผลิตสารสีฟิวโคแซนทินโดยใช้ซิลิกา
ที่สกัดจากถั่วลอ่ย



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CULTIVATION OF DIATOM *BACILLARIA PAXILLIFER* FOR FUcoxANTHIN PIGMENT
PRODUCTION USING SILICA EXTRACTED FROM FLY ASH



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* เพื่อผลิต
สารสีฟิวโคแซนทินโดยใช้ซิลิกาที่สกัดจากแถ่ลอย

โดย

นางสาวมาฆมาส ธวัชชัย

สาขาวิชา

วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร. กษิติศ หนูทอง

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ดร. สรวิต เผ่าทองสุข

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. เหมือนเดือน พิศาลพงศ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. กษิติศ หนูทอง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ดร. สรวิต เผ่าทองสุข)

..... กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. อาทิวรรณ โชติพิฤกษ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดวงกมล เรือนงาม)

มาฆมาส รัชชชัย : การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* เพื่อผลิตสารสีฟิวโคแซนทินโดยใช้ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอย (CULTIVATION OF DIATOM *BACILLARIA PAXILLIFER* FOR FUCOXANTHIN PIGMENT PRODUCTION USING SILICA EXTRACTED FROM FLY ASH) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร. กษิดิศ หนูทอง, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ดร. สรวิศ เผ่าทองสุข, 112 หน้า.

งานวิจัยนี้ศึกษาความเป็นไปได้ของการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* โดยใช้ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอยและศึกษาปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทิน ผลการทดลองในส่วนแรกพบว่าซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดได้จากเถ้าลอยมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงไดอะตอมได้ไม่แตกต่างจากการใช้ซิลิกาตามที่ระบุในอาหารสูตร F/2 โดยได้รับความหนาแน่นเซลล์สูงสุด $23.33 \pm 0.44 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.32 ± 0.02 กรัม/ลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด 0.53 ± 0.03 วัน⁻¹ ความเข้มข้นของสารสีฟิวโคแซนทิน 0.43 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร และปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง 1.34 ± 0.05 มิลลิกรัม/กรัม ในการทดลองต่อมาได้ทำการศึกษาปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทิน ผลการทดลองพบว่า การเพาะเลี้ยงไดอะตอมภายใต้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ความเข้มข้นแสง 15,000 ลักซ์ และการปรับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีซิลิกาเพิ่มขึ้น 3 เท่าของปริมาณในอาหารสูตร F/2 และลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 30% ของปริมาณในอาหารสูตร F/2 สามารถเพิ่มการเติบโตและการผลิตฟิวโคแซนทินของไดอะตอมได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในส่วนแรก โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด $146.33 \pm 1.25 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด 1.73 ± 0.03 วัน⁻¹ น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.95 ± 0.03 กรัม/ลิตร ความเข้มข้นของสารสีฟิวโคแซนทิน 3.18 ± 0.03 มิลลิกรัม/ลิตร และปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง 3.35 ± 0.09 มิลลิกรัม/กรัม และเมื่อทำการจำแนกสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในไดอะตอมด้วย HPLC พบว่ามีสารสีฟิวโคแซนทินประมาณ 60 – 80% ของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

ภาควิชา วิศวกรรมเคมี

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ปีการศึกษา 2560

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5970289821 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORDS: DIATOM / FUcoxANTHIN / SILICA EXTRACTED FROM FLY ASH

MAKAMAS TAWATCHAI: CULTIVATION OF DIATOM *BACILLARIA PAXILLIFER* FOR FUcoxANTHIN PIGMENT PRODUCTION USING SILICA EXTRACTED FROM FLY ASH. ADVISOR: ASSOC. PROF. DR. KASIDIT NOOTONG, CO-ADVISOR: DR. SORAWIT POWTONGSOOK, 112 pp.

This research studied the feasibility of diatom *Bacillaria paxillifer* cultivation using silica extracted from fly ash and the influence of environment condition on growth and fucoxanthin production. The result from the first part of research indicated that silica extracted from fly ash yielded similar growth and fucoxanthin production as compared to the silica source in F/2 medium, with the resulting maximum cell density, specific growth, dried weight concentration, fucoxanthin concentration and fucoxanthin content measured at $23.33 \pm 0.44 \times 10^4$ cell/mL, $0.53 \pm 0.05 \text{ day}^{-1}$, $0.32 \pm 0.02 \text{ g/L}$, $0.43 \pm 0.01 \text{ mg/L}$ and $1.34 \pm 0.05 \text{ mg/g}$, respectively. In the subsequent experiment, studies on the effects of environmental factors on growth and fucoxanthin production were conducted. The results found that the cultivation using 2% v/v carbon dioxide, light intensity of 15,000 lux and modified F/2 medium consisting of silica at 3-folds higher than the amount in standard F/2 medium and nitrogen at 30% of the amount in standard F/2 medium could significantly increase growth and fucoxanthin production as compared to the results in the first part, with the maximum cell density, specific growth, cell dried weight, fucoxanthin concentration and fucoxanthin content measured at $146.33 \pm 1.25 \times 10^4$ cell/mL, $1.73 \pm 0.03 \text{ day}^{-1}$, $0.95 \pm 0.03 \text{ g/L}$, $3.18 \pm 0.03 \text{ mg/L}$ and $3.35 \pm 0.09 \text{ mg/g}$, respectively. Moreover, the identification of carotenoids in diatoms by HPLC showed that fucoxanthin were approximately 60 - 80% of total carotenoids.

Department: Chemical Engineering

Student's Signature

Field of Study: Chemical Engineering

Advisor's Signature

Academic Year: 2017

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.กษิติศ หนูทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม สำหรับคำแนะนำและแนวทางในการปฏิบัติงาน ตลอดจนความช่วยเหลือในการทำวิจัยและการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.เหมือนเดือน พิศาลพงศ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ศาสตราจารย์ ดร.อาทิวรรณ โชติพิฤกษ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงกมล เรืองงาม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ สำหรับคำแนะนำและแนวทางในการจัดทำวิทยานิพนธ์ให้เกิดสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณปวีณา ตปณียวรวงศ์ และศูนย์เชี่ยวชาญทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับคำแนะนำและแนวทางในการปฏิบัติงานที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วง รวมถึงการจัดหาหัวเชื้อไดอะตอมและการจัดเตรียมอุปกรณ์สำหรับการเพาะเลี้ยง

ขอขอบพระคุณบริษัทมิตรผลไบโอเพาเวอร์ จำกัด สำหรับความอนุเคราะห์ในการจัดเตรียมซิลิกาที่สกัดได้จากเถ้าลอย

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่มีมอบความรู้อันเป็นประโยชน์ คำแนะนำ และแนวทางการดำเนินงานตลอดระยะเวลาในการศึกษา

ขอขอบพระคุณพี่ๆ และเพื่อนๆ จากภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ และศูนย์เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับความช่วยเหลือในการทำวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วง

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ สำหรับความช่วยเหลือ กำลังใจ การชี้แนะแนวทาง และการสนับสนุนในการทำวิจัยและวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วง

สารบัญ

หน้า

| | |
|--|----|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | จ |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ฉ |
| สารบัญ..... | ช |
| สารบัญตาราง..... | ญ |
| สารบัญรูป..... | ณ |
| บทที่ 1 บทนำ..... | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย..... | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... | 2 |
| 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 3 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 3 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 4 |
| 2.1 แก๊สลอยชีวมวล..... | 4 |
| 2.2 ไดอะตอม..... | 5 |
| 2.3 พูโคแซนทีน..... | 10 |
| 2.4 ไดอะตอม <i>Bacillaria</i> | 13 |
| 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 18 |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย..... | 22 |
| 3.1 การเตรียมหัวเชื้อไดอะตอม..... | 23 |
| 3.2 ความเป็นไปได้ของการใช้ซิลิกาที่สกัดจากแก๊สลอย..... | 24 |
| 3.3 ผลของความเข้มข้น..... | 26 |
| 3.4 ผลของธาตุอาหารซิลิกาและไนโตรเจน..... | 26 |

| | |
|--|----|
| 3.5 ผลของรูปแบบการให้แสงในช่วงระยะการเติบโตครั้งที่ | 27 |
| 3.6 การวิเคราะห์ตัวอย่าง..... | 27 |
| บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง | 30 |
| 4.1 ผลความเป็นไปได้ของการใช้ซิลิกาที่สกัดจากเปลือก..... | 30 |
| 4.2 ผลของความเข้มข้น..... | 35 |
| 4.3 ผลของธาตุอาหารซิลิกาและไนโตรเจน | 42 |
| 4.4 ผลของรูปแบบการให้แสงในช่วงระยะการเติบโตครั้งที่ | 57 |
| 4.5 ผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC | 64 |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ | 66 |
| 5.1 สรุปผลการทดลอง..... | 66 |
| 5.2 ข้อเสนอแนะ | 68 |
| รายการอ้างอิง | 69 |
| ภาคผนวก..... | 74 |
| ภาคผนวก ก..... | 75 |
| ภาคผนวก ข..... | 76 |
| ภาคผนวก ค..... | 77 |
| ภาคผนวก ง | 79 |
| ภาคผนวก จ..... | 81 |
| ภาคผนวก ฉ..... | 83 |
| ภาคผนวก ช..... | 85 |
| ภาคผนวก ซ..... | 91 |
| ภาคผนวก ฌ..... | 95 |
| ภาคผนวก ฎ..... | 99 |

| | |
|----------------------------------|-----|
| ภาคผนวก ก..... | 103 |
| ภาคผนวก ข..... | 107 |
| ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ | 112 |



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

หน้า

| | |
|--|----|
| ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างองค์ประกอบทางเคมีของถั่วลยชีวมวล..... | 4 |
| ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการนำชีวมวลของไคอะตอมมาใช้ประโยชน์..... | 10 |
| ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับความเข้มแสงสำหรับการเพาะเลี้ยงไคอะตอม | 14 |
| ตารางที่ 2.4 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สำหรับการเพาะเลี้ยงไคอะตอม . | 15 |
| ตารางที่ 2.5 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไคอะตอม | 16 |
| ตารางที่ 2.6 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิสำหรับการเพาะเลี้ยงไคอะตอม..... | 17 |
| ตารางที่ 2.7 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับค่าความเป็นกรดต่างสำหรับการเพาะเลี้ยงไคอะตอม | 17 |
| ตารางที่ 2.8 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับค่าความเค็มสำหรับการเพาะเลี้ยงไคอะตอม | 18 |
| ตารางที่ 2.9 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสภาวะการเพาะเลี้ยงไคอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> | 19 |
| ตารางที่ 2.10 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตชีวมวลและการผลิตสารสีฟูโคแซนทินในไคอะตอม | 20 |
| ตารางที่ 3.1 อาหารมาตรฐานสูตร F/2 | 23 |
| ตารางที่ 4.1 อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณฟูโคแซนทินในไคอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลยที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกันในช่วงทดลอง และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงควบคุม..... | 40 |
| ตารางที่ 4.2 อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณฟูโคแซนทินในไคอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียม ซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... | 46 |
| ตารางที่ 4.3 อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไคอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร | |

F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกันในอาหารมาตรฐานสูตร F/2..... 55

ตารางที่ 4.4 อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด น้ำหนักเซลล์แห้ง และสารสีปริมาณฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนและลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 – 5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 – 8 61

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* 65

ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* 65

ตารางที่ ข-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย 91

ตารางที่ ข-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย..... 92

ตารางที่ ข-3 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย..... 92

ตารางที่ ข-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วย

อาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลอถอย 93

ตารางที่ ข-5 ปริมาณซิลิเกตในอาหารเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มข้นแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลอถอย 93

ตารางที่ ข-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มข้นแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลอถอย 94

ตารางที่ ฉ-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลอถอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้นแสงต่างกัน 95

ตารางที่ ฉ-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลอถอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้นแสงต่างกัน 96

ตารางที่ ฉ-3 ปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินในไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลอถอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้นแสงต่างกัน 96

ตารางที่ ฉ-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลอถอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้นแสงต่างกัน 97

ตารางที่ ฉ-5 ปริมาณซิลิเกตในอาหารเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลอถอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้นแสงต่างกัน 97

ตารางที่ ฉ-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลาย

| | |
|--|-----|
| โซเดียมซัลเฟตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้นต่างกัน | 98 |
| ตารางที่ ญ-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้น 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซัลเฟตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... | 99 |
| ตารางที่ ญ-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้น 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซัลเฟตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... | 100 |
| ตารางที่ ญ-3 ปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินในไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้น 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซัลเฟตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... | 100 |
| ตารางที่ ญ-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้น 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซัลเฟตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... | 101 |
| ตารางที่ ญ-5 ปริมาณซิลิเกตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้น 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซัลเฟตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... | 101 |
| ตารางที่ ญ-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้น 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซัลเฟตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... | 102 |

สารบัญรูป

| | หน้า |
|--|------|
| รูปที่ 2.1 ชนิดของไดอะตอม..... | 5 |
| รูปที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างผนังเซลล์ของไดอะตอม..... | 6 |
| รูปที่ 2.3 ส่วนประกอบของไดอะตอม..... | 8 |
| รูปที่ 2.4 ลำดับอนุกรมวิธานของไดอะตอม..... | 9 |
| รูปที่ 2.5 โครงสร้างของฟูโคแซนทินและแลคเมตาโบไลต์ของฟูโคแซนทิน..... | 11 |
| รูปที่ 2.6 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านอาหารมีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ..... | 12 |
| รูปที่ 2.7 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านเวชสำอางและยามีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ..... | 12 |
| รูปที่ 2.8 ไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> | 13 |
| รูปที่ 3.1 แผนผังงานวิจัย..... | 22 |
| รูปที่ 3.2 หัวเชื้อไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> | 23 |
| รูปที่ 3.3 ซิลิกาที่สกัดจากเถาลอย..... | 24 |
| รูปที่ 4.1 ปริมาณผงซิลิกาที่ละลายน้ำ..... | 30 |
| รูปที่ 4.2 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถาลอย..... | 32 |
| รูปที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถาลอย..... | 32 |

- รูปที่ 4.4** ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/ 2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย 33
- รูปที่ 4.5** ปริมาณไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟตในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนสำหรับเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย 34
- รูปที่ 4.6** ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกันในช่วงทดลอง และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงควบคุม..... 36
- รูปที่ 4.7** น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกันในช่วงทดลอง และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงควบคุม..... 37
- รูปที่ 4.8** ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกันในช่วงทดลอง และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงควบคุม..... 38
- รูปที่ 4.9** ปริมาณไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกันในช่วงทดลอง และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงควบคุม 41
- รูปที่ 4.10** ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... 43

| | |
|--|----|
| รูปที่ 4.11 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... | 44 |
| รูปที่ 4.12 ปริมาณสารสีฟุโคแซนทีนในไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... | 45 |
| รูปที่ 4.13 ปริมาณไนเตรท ซิลิเกตและฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน..... | 47 |
| รูปที่ 4.14 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกันในอาหารมาตรฐานสูตร F/2..... | 51 |
| รูปที่ 4.15 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกันในอาหารมาตรฐานสูตร F/2..... | 52 |
| รูปที่ 4.16 ปริมาณสารสีฟุโคแซนทีนในไดอะตอม <i>Bacillaria paxillifer</i> ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกันในอาหารมาตรฐานสูตร F/2..... | 52 |

รูปที่ 4.17 ปริมาณไนโตรเจน ซิลิเกต และฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกันในอาหารมาตรฐานสูตร F/2..... 56

รูปที่ 4.18 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนและลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 – 5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 – 8 58

รูปที่ 4.19 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนและลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 – 5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 – 8 59

รูปที่ 4.20 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนและลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0- 5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5- 8..... 60

รูปที่ 4.21 ปริมาณไนโตรเจน ซิลิเกต และฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอส โดยที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนและลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20%

ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000
 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 - 5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8 63

รูปที่ 4.22 โคormaโตแกรมของสารสีในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* 65

รูปที่ ก.1 พื้นที่ตารางสำหรับนับเซลล์สาหร่าย 75

รูปที่ ข.1 กราฟมาตรฐานสารละลายไนเตรท 86

รูปที่ ข.2 กราฟมาตรฐานสารละลายฟอสเฟต 86

รูปที่ ข.3 กราฟมาตรฐานสารละลายซิลิเกต 87

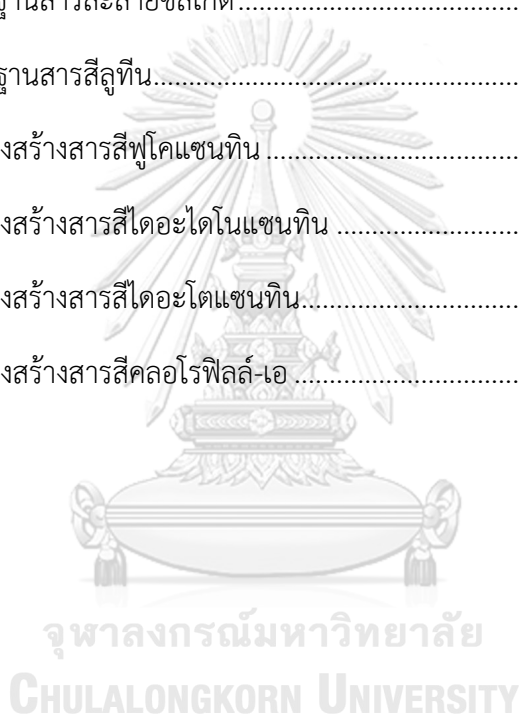
รูปที่ ข.4 กราฟมาตรฐานสารสีลูทีน 87

รูปที่ ข.5 ลักษณะโครงสร้างสารสีฟูโคแซนทิน 88

รูปที่ ข.6 ลักษณะโครงสร้างสารสีไดอะไดโนแซนทิน 88

รูปที่ ข.7 ลักษณะโครงสร้างสารสีไดอะโตแซนทิน 89

รูปที่ ข.8 ลักษณะโครงสร้างสารสีคลอโรฟิลล์-เอ 89



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ประเทศไทยมีการใช้ชีวมวลเป็นเชื้อเพลิงทางเลือกสำหรับผลิตกระแสไฟฟ้าและหนึ่งในของเสียจากกระบวนการผลิตไฟฟ้าคือเถ้าลอย (Fly ash) จึงทำให้ทั้งภาครัฐและเอกชนมีการส่งเสริมการวิจัยคุณสมบัติของเถ้าลอยซึ่งพบว่ามีซิลิกาเป็นองค์ประกอบหลักมากกว่า 60% ของน้ำหนัก [1, 2] และเกิดแนวคิดในการนำซิลิกาจากเถ้าลอยมาใช้ประโยชน์ เช่น การนำเถ้าลอยมาเป็นส่วนผสมในคอนกรีตเพื่อเพิ่มความแข็งแรง [3] การนำเถ้าลอยมาเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตแก้ว [4] นอกจากนี้การนำซิลิกาจากเถ้าลอยมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอม (Diatoms) ยังเป็นอีกทางเลือกซึ่งมีความเป็นไปได้ เนื่องจากไดอะตอมต้องการซิลิกาในระหว่างการเติบโตโดยใช้เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์

ไดอะตอมเป็นจุลสาหร่ายเซลล์เดียว มีลักษณะเป็นเปลือกสองฝาที่มีซิลิกาเป็นองค์ประกอบสำคัญ มีขนาดตั้งแต่ 1 – 500 ไมครอน ลักษณะรูปร่างมีหลายแบบทั้งแบบเซลล์เดี่ยว เซลล์ที่มีลักษณะต่อกันเป็นสายโซ่ หรือเซลล์ที่จับกันเป็นกลุ่มก้อน [5] ผนังเซลล์ของไดอะตอมประกอบด้วยเปลือกสองฝา เรียกว่า ฟรัสตูล (Frustule) ลักษณะโครงสร้างของฟรัสตูลสามารถใช้จำแนกไดอะตอมได้ 2 กลุ่ม คือ เซนทริกไดอะตอม (Centric diatoms) ซึ่งมีรูปร่างสมมาตรแบบรัศมีและมีการสะสมของซิลิกาบริเวณรอบนอกจุดศูนย์กลางของฟรัสตูล และเพนเนตไดอะตอม (Pennate diatoms) ซึ่งมีรูปร่างสมมาตรแบบสองด้านโดยมีการสะสมของซิลิกาบริเวณกึ่งกลางของฟรัสตูล [6] ไดอะตอมสามารถพบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม นิยมนำชีวมวลมาใช้ประโยชน์เพื่อให้เกิดมูลค่าสูงขึ้น เช่น นำไดอะตอมมาใช้เลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนโดยตรง รวมถึงการนำไดอะตอมมาเป็นอาหารสำหรับแพลงก์ตอนสัตว์เพื่อนำมาใช้เป็นอาหารของสัตว์น้ำ [7] นำซิลิกาจากเปลือกของไดอะตอมมาใช้เป็นสารเคลือบผิวเพื่อเพิ่มกำลังการผลิตและลดความร้อนของแบตเตอรี่ [8] รวมทั้งนำซิลิกามาเป็นส่วนผสมในสารช่วยกรอง (Filter aids) และวัสดุระดับนาโน เป็นต้น [9] สำหรับไดอะตอมที่มีศักยภาพในการนำมาใช้เพาะเลี้ยงโดยใช้สารอาหารที่เตรียมจากเถ้าลอยควรมีสมบัติที่สามารถทนต่อค่าพีเอชได้ในช่วงกว้าง เติบโตได้ในสภาวะทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำเค็ม และมีชีวมวลหรือองค์ประกอบในเซลล์ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ให้เกิดมูลค่าสูงขึ้น หนึ่งในสกุลที่มีความเป็นไปได้คือ *Bacillaria* ซึ่งพบได้ทั่วไปในบ่อเลี้ยง

สัตว์น้ำชายฝั่งในประเทศไทย มีลักษณะเซลล์ใหญ่ที่จับกันเป็นกลุ่มก้อนทำให้เกิดการตกตะกอนได้ง่าย ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบต่อการเก็บเกี่ยวและแยกชีวมวล ไดอะตอมสายพันธุ์สกุลนี้สามารถนำชีวมวลมาใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น ลูกปลา กุ้ง หอยสองฝา เพราะอุดมไปด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีคาร์บอนอะตอม 14 16 20 และ 22 เป็นองค์ประกอบ เช่น กรดปาลมิโตเลอิก (Palmitic acid) กรดโอเลอิก (Oleic acid) และกรดไขมันโอเมก้า 3 (Omega 3) จำพวก EPA (Eicosapentaenic acid) และ DHA (Docosacexaenoic acid) เป็นต้น [10, 11] และมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ผลิตพลังงานทางเลือก [12] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าไดอะตอมมีความสามารถในการผลิตสารกลุ่มแคโรทีนอยด์โดยเฉพาะสารสีฟุโคแซนทิน (Fucoxanthin) ซึ่งป็นรงควัตถุสีเหลืองน้ำตาล ที่มีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างหลากหลาย เช่น เป็นองค์ประกอบสำคัญของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อการลดน้ำหนักและสลายไขมัน เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เวชสำอางเพื่อบำรุงผิวหน้าและลดริ้วรอย และใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหารสัตว์น้ำและสัตว์ปีกเพื่อเพิ่มสีส้มให้แก่กล้ามเนื้อและไข่แดง [13, 14] นอกจากนี้ยังพบว่าในตลาดโลกมีแนวโน้มความต้องการสารสีฟุโคแซนทินเพิ่มขึ้นเพื่อนำมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะประเทศในแถบอเมริกา ยุโรป จีน และญี่ปุ่น รวมถึงในประเทศไทยเริ่มมีแนวโน้มความต้องการและมีการนำเข้าสารสีฟุโคแซนทินเพิ่มขึ้นอีกด้วย [15]

ด้วยเหตุนี้จึงเกิดแนวคิดในการนำถ้ำลอยจากกระบวนการผลิตไฟฟ้ามาศึกษาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* รวมถึงศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการผลิตสารสีฟุโคแซนทิน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้วางแผนในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ด้วยอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เตรียมซึลิกาจากถ้ำลอยของกระบวนการผลิตไฟฟ้า โดยปรับความเข้มข้นของซึลิกาให้เทียบเท่าอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และศึกษาผลกระทบของตัวแปรด้านสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ความเข้มแสง ปริมาณธาตุอาหารซึลิกาและไนโตรเจนที่ส่งผลต่ออัตราการเติบโตและการผลิตสารสีฟุโคแซนทิน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 ศึกษาความเป็นไปได้ของการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* โดยใช้ซึลิกาที่เตรียมจากถ้ำลอย
- 1.2.2 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตและการสะสมของฟุโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer*

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.3.1 ไดอะตอมที่ทำการศึกษาคือ *Bacillaria paxillifer* ซึ่งคัดแยกมาจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดจันทบุรี
- 1.3.2 ใช้แหล่งซิลิกาที่ผ่านการเตรียมจากถ้ำลอยจากโรงไฟฟ้าในรูปแบบผงซึ่งผ่านการตกตะกอนด้วยสารละลายกรดอินทรีย์ และในรูปแบบสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยซึ่งผ่านการสกัดโดยใช้ NaOH
- 1.3.3 ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยศึกษาถึงผลกระทบของตัวแปร ได้แก่ (1) ความเข้มแสงในช่วง 5,000 – 30,000 ลักซ์ (2) ปริมาณธาตุอาหารซิลิกาในช่วง 1 – 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (3) ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนในช่วง 5% - 100% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (4) รูปแบบการให้แสงในช่วงระยะการเติบโตคงที่
- 1.3.4 ติดตามผลการทดลองโดยตรวจวัดการเติบโตของไดอะตอมด้วยการนับจำนวนเซลล์และการวัดน้ำหนักแห้ง ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินด้วยเครื่องมือวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) โดยอ้างอิงวิธีการจาก Strickland and Parsons (1972) และทำการตรวจวัดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักไนโตรเจน ซิลิกา และฟอสฟอรัส โดยอ้างอิงวิธีการจาก APHA (1992) และ Strickland and Parsons (1972) นอกจากนี้ยังทำการวิเคราะห์การกระจายตัวของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์โดยใช้ HPLC

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

งานวิจัยนี้ทำให้เกิดแนวทางการนำถ้ำลอยชีวมวลที่เป็นของเสียจากกระบวนการผลิตไฟฟ้ามาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงซึ่งทำให้เกิดโอกาสทางธุรกิจเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ผลการวิจัยยังสามารถนำไปต่อยอดในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงไดอะตอมซึ่งใช้งานในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงหลายรูปแบบทั้งแบบต่อเนื่องหรือกึ่งต่อเนื่องเพื่อเพิ่มผลผลิตชีวมวลและสารสีฟูโคแซนทิน

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เถ้าลอยชีวมวล

เถ้าลอยชีวมวลเป็นของเสียที่เกิดจากการนำของเหลือจากชีวมวล เช่น วัสดุทางการเกษตรมาใช้ในกระบวนการผลิตไฟฟ้า มีลักษณะเป็นฝุ่นผง ฟุ้งกระจาย มีสีเทาหรือสีเทาดำ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและมนุษย์ รวมทั้งก่อให้เกิดมลภาวะ ในปัจจุบันได้มีการศึกษาคุณสมบัติของเถ้าลอยเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ เช่น การนำเถ้าลอยมาเป็นส่วนผสมในคอนกรีตเพื่อเพิ่มความแข็งแรง [3] การนำเถ้าลอยมาเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตแก้ว [4] รวมทั้งการนำเถ้าลอยมาใช้ประโยชน์ในทางชีววิทยา เป็นต้น สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของเถ้าลอยชีวมวลโดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยซิลิกา (SiO_2) เป็นองค์ประกอบหลักมากกว่า 60% ของน้ำหนัก และประกอบด้วยอะลูมิเนียมออกไซด์ (Al_2O_3) เหล็กออกไซด์ (Fe_2O_3) แคลเซียมออกไซด์ (CaO) อัสคาไลในรูปโซเดียมออกไซด์ (Na_2O) และแมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) และโพแทสเซียมออกไซด์ (K_2O) เป็นองค์ประกอบรอง ซึ่งปริมาณขององค์ประกอบขึ้นอยู่กับชนิดของชีวมวลที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตไฟฟ้า ตัวอย่างองค์ประกอบของเถ้าลอยชีวมวลดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างองค์ประกอบทางเคมีของเถ้าลอยชีวมวล [1, 2]

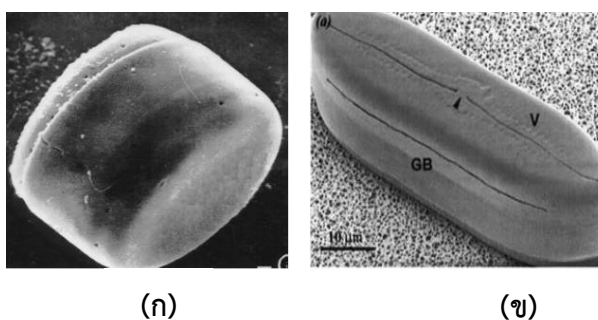
| องค์ประกอบทางเคมี (%) | เถ้าลอยชีวมวล |
|--|---------------|
| ซิลิกาไดออกไซด์ (SiO_2) | 64.15 |
| อะลูมิเนียมออกไซด์ (Al_2O_3) | 9.05 |
| เหล็กออกไซด์ (Fe_2O_3) | 5.25 |
| แคลเซียมออกไซด์ (CaO) | 8.14 |
| แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) | 2.85 |
| โซเดียมออกไซด์ (Na_2O) | 0.92 |
| โพแทสเซียมออกไซด์ (K_2O) | 1.35 |
| Loss on Ignition (LOI) | 4.90 |

2.2 ไดอะตอม

ไดอะตอมเป็นจุลสาหร่ายเซลล์เดี่ยวลักษณะเป็นเปลือกสองฝาที่มีซิลิกาเป็นองค์ประกอบสำคัญและมีลวดลายที่สามารถใช้จำแนกชนิดของไดอะตอมได้ ไดอะตอมมีขนาดตั้งแต่ 1 – 500 ไมครอน ลักษณะรูปร่างมีหลายแบบทั้งแบบเซลล์เดี่ยว เซลล์ที่มีลักษณะต่อกันเป็นสายโซ่ หรือเซลล์จับกันเป็นกลุ่มก้อน พบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม เมื่อไดอะตอมตายจะเกิดการทับถมจนเป็น خاکไดอะตอมไมท์ หรือไดอะโตมาเซียสเอิร์ธ (Diatomite or Diatomaceous earth) ที่มีซิลิกาออกไซด์เป็นองค์ประกอบหลักถึง 95% โดยน้ำหนัก [5, 6] จึงทำให้สามารถนำซิลิกาที่ได้จากไดอะตอมมาใช้ประโยชน์มากมาย เช่น การนำมาเป็นฉนวนกันความร้อน [8] การนำซิลิกามาเป็นส่วนผสมในสารช่วยกรอง (Filter aids) และวัสดุนาโน เช่น Complex metal nanostructures และ Silica nanopowders เป็นต้น [9]

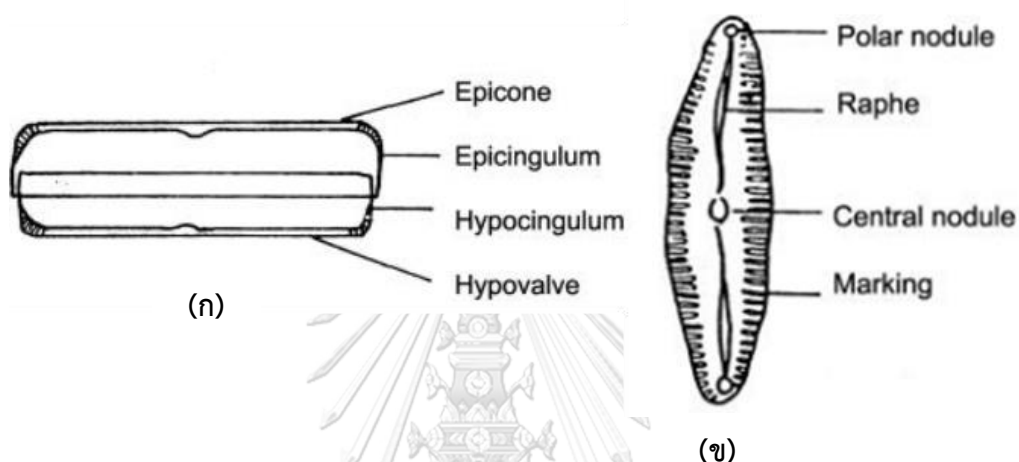
2.2.1 สัณฐานวิทยาและลักษณะทั่วไปของไดอะตอม

ไดอะตอมเป็นจุลสาหร่ายเซลล์เดี่ยวที่มีลักษณะพิเศษต่างกับจุลสาหร่ายชนิดอื่นคือผนังเซลล์จะประกอบด้วยเปลือกสองฝาที่มีซิลิกาเป็นองค์ประกอบเรียกว่า ฟรอสตูล ลักษณะโครงสร้างของฟรอสตูลสามารถใช้จำแนกชนิดของไดอะตอมได้ 2 ชนิด คือเซนทริคไดอะตอม (Centric diatoms) ซึ่งมีรูปร่างด้านหน้าเป็นทรงกลมที่มีลักษณะสมมาตรแบบรัศมี (Radial symmetry) และมีการสะสมของซิลิกาบริเวณรอบนอกจุดศูนย์กลางของฟรอสตูล และอีกแบบคือเพนเนทไดอะตอม (Pennate diatoms) มีรูปร่างสมมาตรแบบสองด้าน (Bilateral symmetry) ด้านหน้าจะมีลักษณะเป็นร่องแคบพาดตามยาว เรียกว่า ราฟี (Rape) ตลอดแนวของราฟีจะไม่ติดกัน โดยมีการสะสมของซิลิกาบริเวณกึ่งกลางของฟรอสตูล ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ชนิดของไดอะตอม (ก) เซนทริคไดอะตอม (ข) เพนเนทไดอะตอม [5]

สำหรับโครงสร้างของไดอะตอมที่ประกอบด้วยฝา 2 ฝา โดยฝาชั้นบนเรียกว่า อีพิทีกา (Epitheca) ซึ่งประกอบด้วย อีพิวาล์ว (Epi valve) ที่เชื่อมต่อกับส่วนอีพิซิงกูลัม (Epicingulum) ส่วนของฝาล่างเรียกว่า ไฮโปทีก (Hypotheca) ประกอบด้วยไฮโปวาล์ว (Hypo valve) ที่เชื่อมต่อกับส่วนไฮโปซิงกูลัม (Hypocingulum) ซึ่งทั้งหมดจะมีส่วนเชื่อมต่อกันเป็นวงแหวนทำให้มีลักษณะคล้ายฝาค่อยกันเป็นแถบเรียกว่า อินเตอร์คาลารีแบนด์ (Intercalary band) ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างผนังเซลล์ของไดอะตอม (ก) ด้านข้างเกอเดิล (ข) ด้านหน้าวาล์ว [16]

2.2.2 ส่วนประกอบของเซลล์

2.2.2.1 องค์ประกอบภายนอกเซลล์

องค์ประกอบภายนอกเซลล์ของไดอะตอมคือผนังเซลล์ เป็นสารจำพวกแพคตินที่มีซิลิกาเป็นองค์ประกอบหลัก มีลักษณะผนังเซลล์หนาและแข็ง ซิลิกาที่เป็นองค์ประกอบเป็นส่วนทำให้เกิดลวดลายบนฝาที่แตกต่างกันตามชนิดของไดอะตอม

2.2.2.2 องค์ประกอบภายในเซลล์

องค์ประกอบภายในเซลล์ของไดอะตอมประกอบด้วยออร์แกเนลล์ (Organelle) คล้ายกับสิ่งมีชีวิตจำพวกยูคาริโอตชนิดอื่น ซึ่งประกอบด้วย (1) ไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) เป็นของเหลวที่บรรจุอยู่ภายในเซลล์มีสารชีวโมเลกุลจำพวกโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตบรรจุอยู่ภายในเซลล์ (2) นิวเคลียส

(Nucleus) เป็นออร์แกเนลล์ที่อยู่บริเวณกลางเซลล์ ภายในบรรจุสารพันธุกรรมจำพวกดีเอ็นเอ (DNA) กับโปรตีนที่เกาะตัวอยู่กับดีเอ็นเอ (3) คลอโรพลาสต์ (Chloroplast) มีลักษณะหรือเป็นแผ่นจำนวนประมาณ 1-4 แผ่นหรือเม็ดกลมจำนวนมากกระจายอยู่ภายในเซลล์ ในคลอโรพลาสต์จะมีรงควัตถุที่แตกต่างกันตามชนิดของไดอะตอม ซึ่งพื้นที่ภายในเซลล์จะมีช่องว่างเรียกว่า แวกคิวโอล สำหรับสารชีวโมเลกุลที่สะสมเป็นอาหารภายในเซลล์ประกอบด้วย

1. **โปรตีน (Protein)** เป็นสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ที่เกิดจากหน่วยย่อยเรียกว่า กรดอะมิโน (Amino acid) สำหรับไดอะตอมจะมีความแตกต่างของชนิดและปริมาณโปรตีนบรรจุอยู่ตามชนิดและสภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงของไดอะตอม โดยมีกรดอะมิโนชนิดเซอรีน (Serine) ไกลซีน (Glycine) กรดกลูตามิก (Glutamic acid) และกรดแอสพาร์ติก (Aspartic acid) ตามลำดับ [17]

2. **ไขมัน (Lipid)** ไขมันในไดอะตอมมีลักษณะคล้ายกับจุลสาหร่ายสีเขียวและพืชชั้นสูง สำหรับไดอะตอมจะประกอบไปด้วยไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) ไดกลีเซอไรด์ (Diglyceride) เลซิติน (Lecetin) เป็นส่วนใหญ่ สำหรับกรดไขมันที่พบในไดอะตอมมักเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว เช่น กรดปาล์มิโตเลอิก (Palmitic acid) กรดโอเลอิก (Oleic acid) เป็นต้น ซึ่งมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ผลิตพลังงานทางเลือก [10, 11]

3. **คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)** เป็นสารชีวโมเลกุลที่เกิดจากการที่ไดอะตอมผลิตและปลดปล่อยโพลิแซคคาไรด์ออกมาภายในนอกในระยะการเติบโตคงที่ ซึ่งจะปล่อยออกมาในลักษณะเป็นเจลาตินที่มีลักษณะเป็นเมือกห่อหุ้มเซลล์เรียกว่า แคปซูล โดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วย แมนโนส (Mannose) กาแลคโทส (Galactose) และไซโทส (Xylose) เป็นต้น [18]

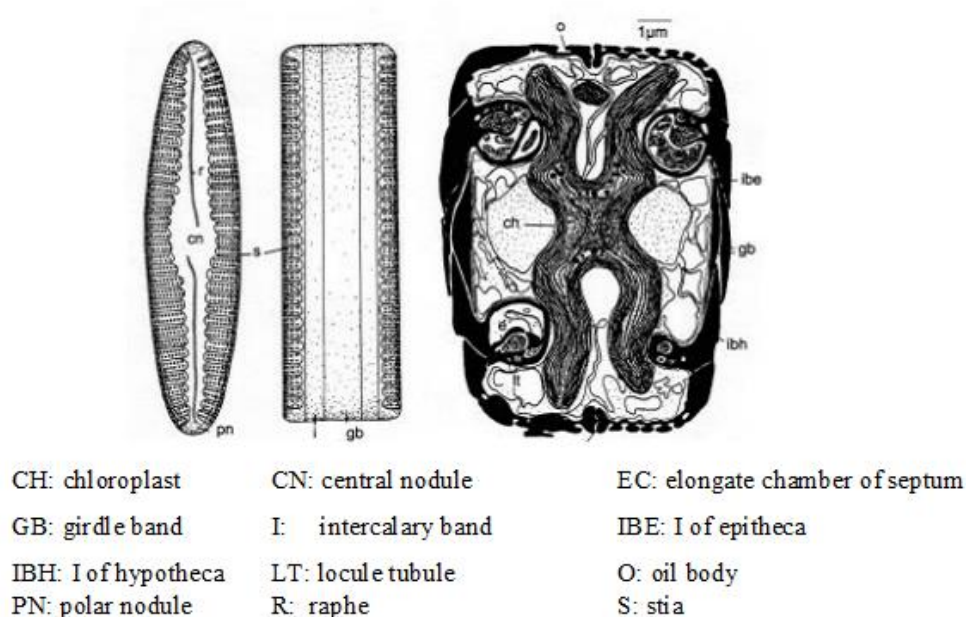
2.2.2.3 รงควัตถุ (Pigment)

รงควัตถุ เป็นสารสีที่ถูกบรรจุอยู่ในคลอโรพลาสต์ สำหรับไดอะตอมรงควัตถุหลักจะประกอบด้วย

1. **แคโรทีนอยด์ (Carotenoid)** เป็นรงควัตถุสีเหลือง ส้ม หรือแดง สำหรับชนิดของสารจำพวกแคโรทีนอยด์ของไดอะตอมประกอบด้วยสารประเภทแซนโทฟิลล์ (Xantophyll) ได้แก่ สารสีฟูโคแซนทิน (Fucoxanthin) ซึ่งเป็นสารที่พบมากที่สุดชนิดในไดอะตอม เป็นรงควัตถุที่ทำให้เซลล์ไดอะตอม

มีสีตั้งแต่เหลือง เหลืองอมเขียว เขียวมะกอก เหลืองอมน้ำตาล น้ำตาลอ่อน จนถึงน้ำตาลเข้มตามปริมาณการสะสมสารฟุโคแซนทินของไดอะตอม นอกจากนี้ยังมีสารไดอะโตแซนทิน (Diatoxanthin) รวมอยู่ด้วย และสารประเภทแคโรทีน ได้แก่เบต้า-แคโรทีน (Beta-carotene)

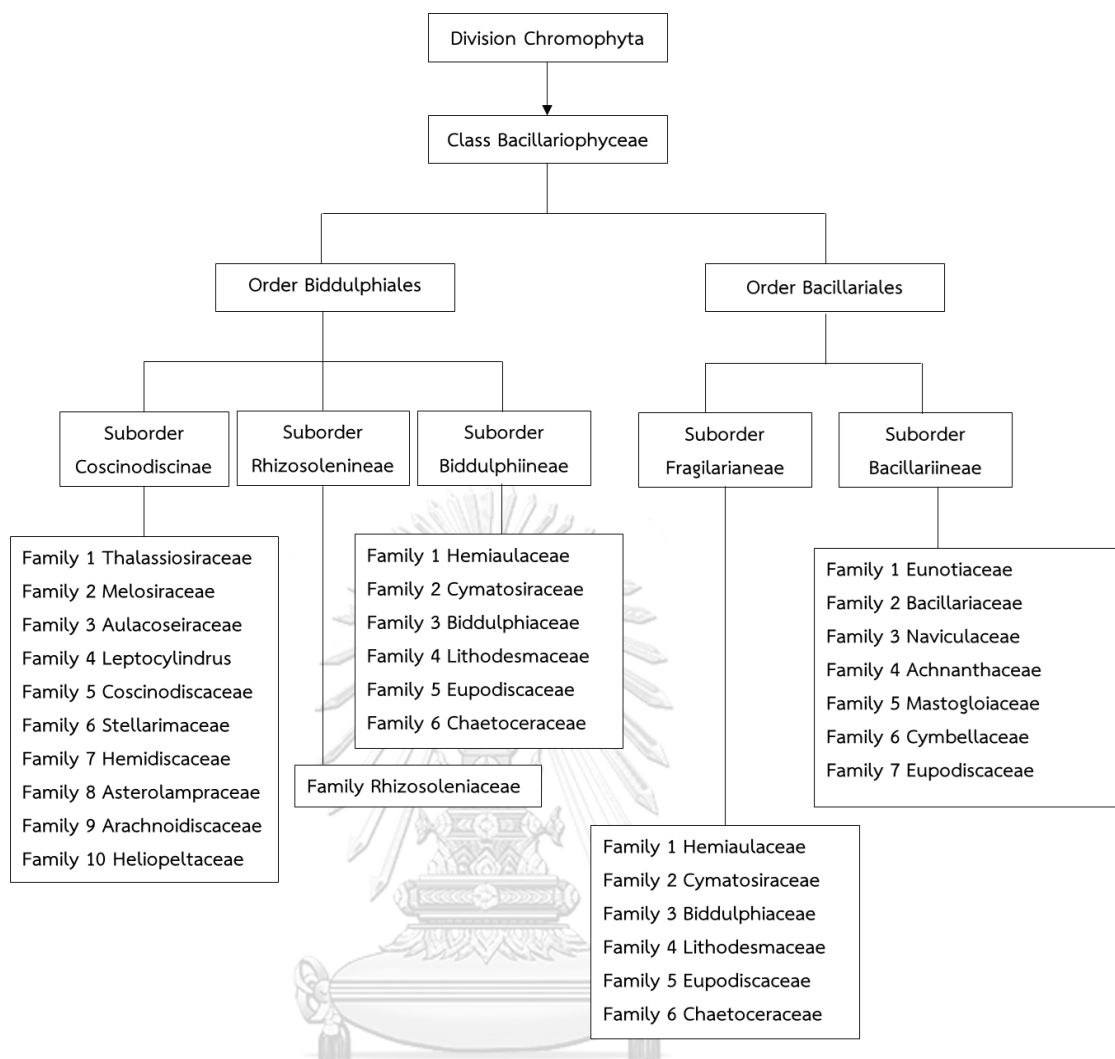
2. คลอโรฟิลล์ เป็นรงควัตถุหนึ่งที่พบในไดอะตอม สำหรับชนิดของคลอโรฟิลล์ที่พบในไดอะตอมประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอ (Chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์ซี (Chlorophyll c)



รูปที่ 2.3 ส่วนประกอบของไดอะตอม [6]

2.2.3 การจำแนกหมวดหมู่ของไดอะตอม

การจัดจำแนกไดอะตอมมีการจัดเรียงตามลำดับอนุกรมวิธานตั้งแต่ระดับดิวิชันจนถึงระดับสกุล จะมีการจัดเรียงอนุกรมวิธานจากระดับใหญ่ไปเล็ก ดังนี้ ระดับดิวิชัน (Division) ระดับชั้น (Class) ระดับอันดับ (Order) ระดับครอบครัวหรือวงศ์ (Family) ระดับสกุล (Genus) ในการจัดเรียงลำดับอนุกรมวิธานของไดอะตอมตั้งแต่ระดับดิวิชันจนถึงระดับสกุล โดยอ้างอิงหลักการจัดจำแนกของ Bold and Wynne (1978) และ Simonsen (1979) ซึ่งการจัดเรียงระดับดิวิชันและระดับชั้นจะแบ่งได้กลุ่มเดียวแต่เมื่อมีการแบ่งระดับย่อยลงมาตั้งแต่ระดับอันดับจนถึงระดับสกุล สามารถแบ่งได้หลายกลุ่ม ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 ลำดับอนุกรมวิธานของไดอะตอม [19, 20]

2.2.4 การใช้ประโยชน์จากไดอะตอม

เซลล์ไดอะตอมที่พบในทะเลเมื่อตายจะเกิดการตกตะกอน ผนังเซลล์ที่มีองค์ประกอบของซิลิกาที่สลายตัวได้ยากจะเกิดการทับถมกันเป็นเวลานานและกลายเป็นส่วนของพื้นดิน เรียกว่า ไดอะโตไมท์ หรือไดอะโตมาเซียสเอิร์ท ซึ่งประกอบด้วยซิลิกาประมาณร้อยละ 95 จึงสามารถนำซิลิกาจากเปลือกของไดอะตอมมาใช้ประโยชน์ได้หลายประการ รวมทั้งโครงสร้างภายในเซลล์ของไดอะตอมยังประกอบไปด้วยสารจำพวกโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมันและกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว และยังมีสารฟิวโคแซนทินที่เป็นรงควัตถุที่มีมูลค่าสูง ทำให้มีการนำไดอะตอมมาใช้ประโยชน์หลายประการทั้งในด้านประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อม ต่อมนุษย์ และอุตสาหกรรม ซึ่งสรุปไว้ดังตารางที่ 2.2

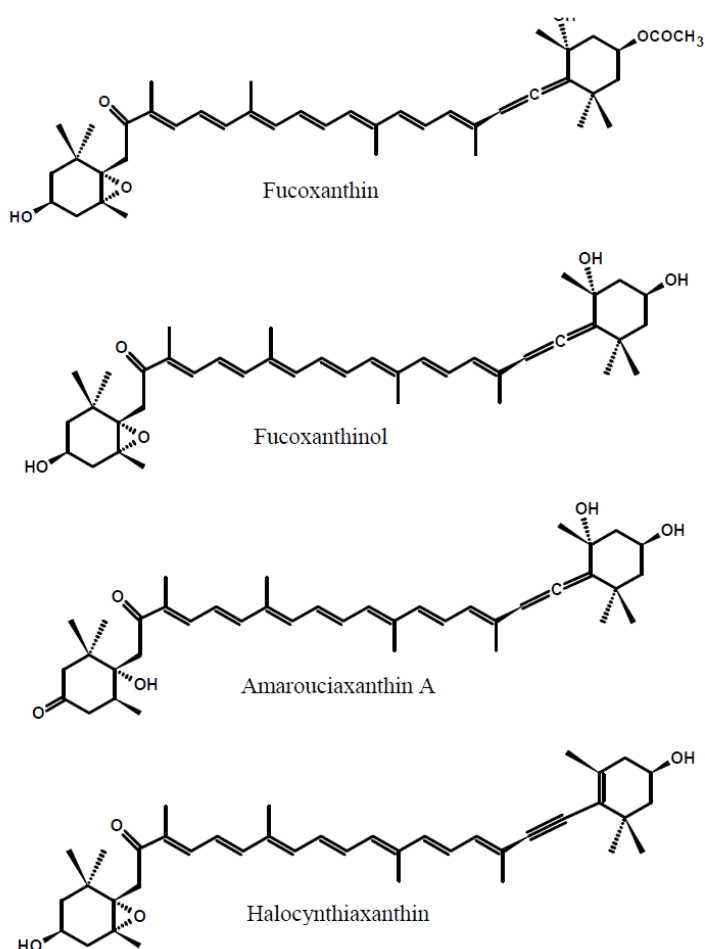
ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการนำชีวมวลของไดอะตอมมาใช้ประโยชน์

| การนำชีวมวลของไดอะตอมมาใช้ประโยชน์ | อ้างอิง |
|--|---------|
| (1) ไดอะตอมมาใช้ซัดโลหะ ใช้เป็นฉนวนของเตาไฟ เครื่องทำความเย็น | [6] |
| (2) เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น ลูกปลา กุ้ง หอยสองฝา เพราะอุดมไปด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัว | [7, 12] |
| (3) นำซิลิกามาใช้เป็นสารเคลือบผิวเพื่อเพิ่มกำลังการผลิตและลดความร้อนของแบตเตอรี่ | [8] |
| (4) นำซิลิกาจากเปลือกของไดอะตอมมาเป็นส่วนผสมใน complex metal nanostructures | [9] |
| (5) นำซิลิกาจากเปลือกของไดอะตอมมาผลิต silica nanopowders | [9] |

2.3 พุโคแซนทิน

สารสีพุโคแซนทิน เป็นรงควัตถุจำพวกแคโรทีนอยด์ประเภทแซนโทฟิลล์ ซึ่งเป็นสารที่พบมากที่สุดใไดอะตอมทำให้เซลล์ไดอะตอมมีสีตั้งแต่เหลือง เหลืองอมเขียว เขียวมะกอก เหลืองอมน้ำตาล น้ำตาลอ่อน น้ำตาลทอง จนถึงน้ำตาลเข้มตามชนิดของไดอะตอม พบในจุลสาหร่ายสีน้ำตาลหรือจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอม ซึ่งพุโคแซนทินเป็นสารที่มีอะตอมคาร์บอนเป็นองค์ประกอบถึง 40 อะตอม ซึ่งมีการวิจัยได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของพุโคแซนทิน ซึ่งพบว่าพุโคแซนทินมีสารที่เรียกว่า เมตาโบไลต์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ ทำให้ในปัจจุบันมีการนำพุโคแซนทินมาใช้ประโยชน์มากขึ้นทั้งในด้านการนำมาเป็นส่วนผสมของอาหารที่เกี่ยวข้องกับกลุ่มของคนรักสุขภาพ หรือเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ในกลุ่มเวชสำอางและยา เป็นต้น สำหรับโครงสร้างของพุโคแซนทินและเมตาโบไลต์ของพุโคแซนทินแสดงดังรูปที่ 2.5

จากงานวิจัยที่ทำการศึกษาคุณสมบัติของสารสีพุโคแซนทินที่สกัดได้จากจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอมและจุลสาหร่ายสีน้ำตาลพบว่ามีความสัมพันธ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์หลายประการรวมทั้งในปัจจุบันได้มีการนำสารพุโคแซนทินไปเป็นองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์อาหาร เวชสำอางค์ และเวชภัณฑ์ยา



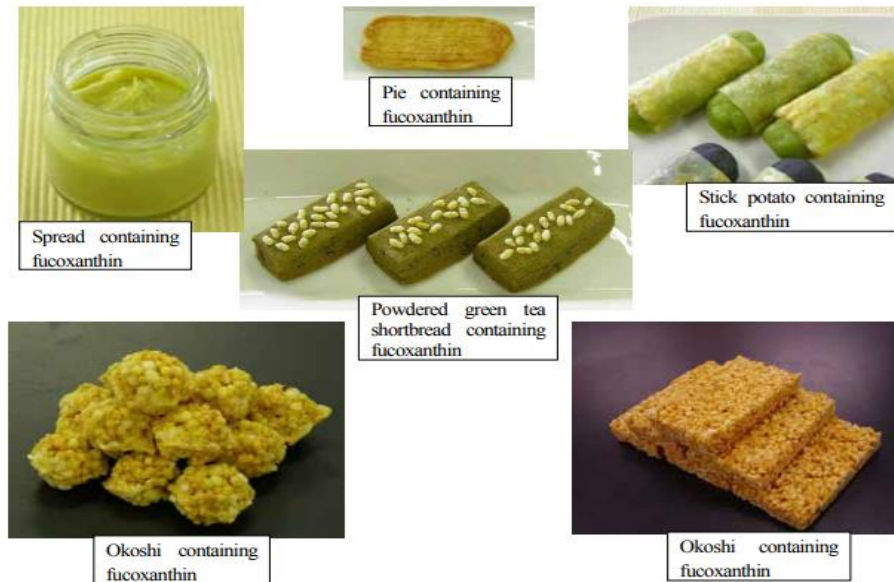
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของฟูโคแซนทินและและเมตาโบไลต์ของฟูโคแซนทิน [21]

2.3.1.1 คุณสมบัติทางชีวภาพที่มีคุณประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ [13, 14, 21, 22]

1. ช่วยในการเผาผลาญไขมันในร่างกายที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค Metabolic syndrome
2. มีสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันโรคมะเร็งและโรคหลอดเลือดหัวใจ
3. ช่วยลดอาการอักเสบของร่างกาย มีฤทธิ์ต้านการอักเสบของดวงตาลดการเกิดโรคต้อกระจก
4. ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดป้องกันโรคเบาหวานและหัวใจ
5. ช่วยป้องกันโรคมะเร็งผิวหนัง ลดรอยแดงและรอยไหม้ของผิวจากแสงแดด
6. ช่วยบำรุงกระดูกและเสริมสร้างความแข็งแรงของกระดูกและกล้ามเนื้อ
7. ป้องกันการเกิดโรคเส้นเลือดในสมองแตก
8. มีสารโอเมก้าช่วยบำรุงสมองและบำรุงตับ

2.3.1.2 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ

1. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านอาหารมีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ



Application examples of fucoxanthin (provided by Ogurayayamamoto Corporation)

รูปที่ 2.6 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านอาหารมีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ [23]

2. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านเวชสำอางค์และยาที่มีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ



รูปที่ 2.7 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านเวชสำอางค์และยามีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ [23]

2.4 ไดอะตอม *Bacillaria*

ไดอะตอมสกุล *Bacillaria* เป็นไดอะตอมที่มีการจัดเรียงอนุกรมวิธานตั้งแต่ระดับดิวิชันจนถึงระดับสกุล โดยยึดตามหลักการจำแนก Marsson (1901)

Division Chromophyta

Class Bacillariophyceae

Subclass Bacillariophycidae

Order Bacillariales

Family Bacillariaceae

Genus *Bacillaria*

Species *Bacillaria paxillifer*

2.4.1 ข้อมูลทั่วไป

ไดอะตอม *Bacillaria* เป็นไดอะตอมชนิดเพนเนทไดอะตอม รูปร่างมีลักษณะคล้ายเข็มเรียงกันเป็นโคโลนี โดยผิวเซลล์จะมีการแตะกับเซลล์ข้างเคียง แต่ละเซลล์สามารถเคลื่อนที่ไปบนผิวฝาของเซลล์ข้างเคียงได้ ลักษณะด้านข้างเซลล์มีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ด้านวาล์วเซลล์มีลักษณะรูปร่างคล้ายใบข้าว มีขนาดตั้งแต่ 15 - 25 ไมครอน ลักษณะเซลล์เป็นสีน้ำตาลอมเหลือง ดังรูปที่ 2.8 พบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำเค็ม



รูปที่ 2.8 ไดอะตอม *Bacillaria paxillifer*

2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตและการผลิตสารสีฟูโคแซนทินของไดอะตอม *Bacillaria*

2.4.2.1 ความเข้มแสง (Light intensity)

ความเข้มแสงเป็นปัจจัยสำคัญในการเติบโตและผลิตสารสีฟูโคแซนทิน ซึ่งสามารถสร้างพลังงานได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) โดยเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมีเพื่อใช้ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในวัฏจักรคัลวิน (Calvin cycle) ดังสมการที่ 2.1 ทั้งนี้การให้สภาวะความเข้มแสงที่ไม่เหมาะสมต่อจุลสาหร่ายไดอะตอมอาจส่งผลกระทบต่ออัตราการเติบโตและการผลิตสารสีฟูโคแซนทินของจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอม กรณีที่ได้รับความเข้มแสงในระดับต่ำกว่าค่าที่เหมาะสมส่งผลให้มีการเติบโตช้าและผลิตสารสีฟูโคแซนทินได้ปริมาณต่ำ ในขณะที่การได้รับความเข้มแสงที่สูงเกินค่าที่เหมาะสมส่งผลให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (Photoinhibition)



สำหรับการผลิตสารสีฟูโคแซนทินของจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอมเป็นรงควัตถุชนิดหนึ่งที่บรรจุอยู่ในส่วนของคลอโรพลาสต์ โดยรงควัตถุจะทำหน้าที่ในการรับพลังงานแสงแล้วเปลี่ยนเป็นพลังงานเคมีในการสังเคราะห์แสง เรียกว่า หน่วยสังเคราะห์แสง (Photosynthesis unit) หรือควอนทาโซม (Quantasome) โดยจะมีคลอโรฟิลล์เอเป็นศูนย์กลางรวมในการรับพลังงานจากรงควัตถุอื่น โดยรงควัตถุอื่นเป็นตัวช่วยเสริมในการรับพลังงาน จากนั้นคลอโรฟิลล์เอจะทำหน้าที่เปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมี หลังจากเซลล์มีการสังเคราะห์แสงจะมีการผลิตและสะสมรงควัตถุเพื่อชดเชยรงควัตถุที่ใช้ในการเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมี เพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสงต่อไป [24, 25]

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับความเข้มแสงสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

| ชนิดของไดอะตอม | ความเข้มแสงที่เหมาะสม | อ้างอิง |
|----------------------------------|--|---------|
| <i>Odontella aurita</i> | 300 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ | [14] |
| <i>Amphora sp.</i> | 150 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ | [26] |
| <i>Thalassiosira sp.</i> | 143 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ | [27] |
| <i>Entomoneis cf. punctulata</i> | 120 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ | [28] |
| <i>Nitzschia sp.</i> | 140 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ | [29] |
| <i>Bacillaria paxillifer</i> | 110 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ | [30] |

2.4.2.2 คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂)

จุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอมจะทำการดูดซึมคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์แสงที่เปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมี โดยทำการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในวัฏจักรคัลวินเพื่อเปลี่ยนคาร์บอนในรูปของโมเลกุลคาร์บอนไดออกไซด์เป็นคาร์บอนโมเลกุลเชิงซ้อนและเกิดการสะสมอาหารทั้งในรูปของน้ำมัน น้ำตาล และแป้ง นอกจากนี้คาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมจะส่งผลให้เซลล์เกิดการสะสมสารสีฟิวโคแซนทินในปริมาณที่สูงขึ้น ซึ่งจะเห็นได้ว่าความเข้มแสงและคาร์บอนไดออกไซด์เป็นปัจจัยร่วมกันที่ทำให้เกิดกระบวนการสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอมเพื่อเกิดการสะสมอาหารและรงควัตถุที่มีผลต่อการเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทิน ในงานวิจัยส่วนใหญ่พบว่าจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอมจะมีการเติบโตได้ดีที่ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในช่วง 1% – 5% โดยปริมาตร

ตารางที่ 2.4 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

| ชนิดของไดอะตอม | ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ | อ้างอิง |
|----------------------------------|------------------------|----------|
| <i>Odontella aurita</i> | 1% โดยปริมาตร | [14] |
| <i>Nitzschia</i> sp. | 5% โดยปริมาตร | [29] |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | 5% โดยปริมาตร | [29] |
| <i>Thalassiosira pseudonana</i> | 1% โดยปริมาตร | [31, 32] |
| <i>Chaetoceros muelleri</i> | 10% โดยปริมาตร | [33] |

2.4.2.3 ธาตุอาหารหลัก

1. **ซิลิกา (Silica)** เป็นธาตุอาหารสำคัญที่สุดสำหรับไดอะตอมเพื่อใช้สร้างผนังเซลล์ ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้เกิดลวดลายบนฝาที่แตกต่างกันตามชนิดของไดอะตอม และเมื่อไดอะตอมตายจะเกิดการทับถมจนเป็นซากไดอะตอมไมท์ที่มีซิลิกาออกไซด์เป็นองค์ประกอบหลักถึง 95% โดยน้ำหนัก [5, 6]

2. **ไนโตรเจน (Nitrogen)** เป็นธาตุอาหารสำคัญสำหรับไดอะตอมรองจากซิลิกา เนื่องจากไดอะตอมมีซิลิกาเป็นธาตุอาหารหลักแต่ไนโตรเจนก็ยังมีคามจำเป็นสำหรับไดอะตอมในการสังเคราะห์แสงและการผลิตรงควัตถุ ดังนั้นไนโตรเจนจึงมีความสำคัญสำหรับไดอะตอมในแง่ของการสังเคราะห์แสงและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินของไดอะตอม โดยไนโตรเจนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจะอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์เพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสง เช่น ไนเตรท ไนไตรท์

3. ฟอสฟอรัส (Phosphorus) เป็นธาตุอาหารสำคัญที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างองค์ประกอบเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงานและการสร้างเซลล์ โดยฟอสฟอรัสที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอมจะอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์จำพวกฟอสเฟต ซึ่งถ้ามีการขาดฟอสฟอรัสจะส่งผลกระทบต่อการผลิตปริมาณโปรตีน รงควัตถุชนิดคลอโรฟิลล์เอ RNA และ DNA ลดลงแต่คาร์โบไฮเดรตมีปริมาณเพิ่มขึ้นส่งผลให้เซลล์ไดอะตอมมีรูปร่างเปลี่ยนแปลงไป

ตารางที่ 2.5 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

| ชนิดของไดอะตอม | สูตรอาหาร | สภาวะที่เหมาะสม | อ้างอิง |
|----------------------------------|-----------|---|-----------|
| <i>Odontella aurita</i> | F/2 | N = 6,000 μ M P = 80 μ M Si = 450 μ M | [14] |
| <i>Entomoneis cf. punctulata</i> | F/2 | N = 882 μ M P = 36.2 μ M Si = 106 μ M | [28, 34] |
| <i>Nitzschia sp.</i> | F/2 | N = 882 μ M P = 36.2 μ M Si = 106 μ M | [29, 34] |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | F/2 | N = 882 μ M P = 36.2 μ M Si = 106 μ M | [29, 34] |
| <i>Chaetoceros calcitrans</i> | Conway | N = 2,000 μ M P = 80 μ M Si = 450 μ M | [35] |
| <i>Amphora coffeaeformis</i> | F/2 | N = 882 μ M P = 36.2 μ M Si = 106 μ M | [34, 36] |
| <i>Bacillaria paxillifer</i> | F/2 | N = 882 μ M P = 36.2 μ M Si = 106 μ M | [30, 34] |

2.4.2.4 อุณหภูมิ (Temperature)

ไดอะตอมสามารถปรับตัวในการเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้ ส่วนใหญ่ การเพาะเลี้ยงไดอะตอมนิยมควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 20 – 30 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 2.6 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

| ชนิดของไดอะตอม | อุณหภูมิ (°C) | อ้างอิง |
|---|---------------|---------|
| <i>Odontella aurita</i> | 25 - 27 | [14] |
| <i>Amphora</i> sp. | 25 | [26] |
| <i>Thalassiosira</i> sp. | 20 – 25 | [27] |
| <i>Entomoneis</i> cf. <i>punctulata</i> | 20 – 22 | [28] |
| <i>Nitzschia</i> sp. | 24 | [29] |
| <i>Bacillaria paxillifer</i> | 25 | [30] |
| <i>Chaetoceros calcitrans</i> | 27 - 30 | [35] |

2.4.2.5 ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเป็นปัจจัยที่สำคัญ เนื่องจากมีอิทธิพลต่อความหลากหลายของสารอนินทรีย์คาร์บอน (inorganic carbon) โดยจะวิเคราะห์และวัดค่าในรูปของค่าการละลายคาร์บอน (Dissolved inorganic carbon, DIC) สำหรับจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอมค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 7 – 8

ตารางที่ 2.7 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับค่าความเป็นกรดเป็นด่างสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

| ชนิดของไดอะตอม | ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง | อ้างอิง |
|----------------------------------|------------------------|----------|
| <i>Amphora</i> sp. | 7 - 8 | [26, 36] |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | 7.5 | [29] |
| <i>Nitzschia</i> sp. | 7.5 | [29] |
| <i>Thalassiosira</i> sp. | 7.8 | [32] |
| <i>Bacillaria paxillifer</i> | > 7 | [37] |

2.4.2.6 ความเค็ม (Salinity)

ความเค็มเป็นปัจจัยสำคัญ เนื่องจากไดอะตอมส่วนใหญ่เติบโตได้ดีในน้ำเค็มหรือน้ำกร่อย ค่าความเค็มที่เหมาะสมขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของไดอะตอมว่าเป็นไดอะตอมน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำเค็ม ซึ่งสำหรับไดอะตอมส่วนใหญ่จะมีการเติบโตได้ดีในช่วงความเค็ม 28 – 35 ส่วนในพัน

ตารางที่ 2.8 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับค่าความเค็มสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

| ชนิดของไดอะตอม | ความเค็ม | อ้างอิง |
|----------------------------------|----------|---------|
| <i>Entomoneis cf. punctulata</i> | 35 | [28] |
| <i>Thalassiosira</i> sp. | 30 | [32] |
| <i>Amphora</i> sp. | 31 | [36] |
| <i>Bacillaria paxillifer</i> | 30 - 32 | [38] |

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้พลังงานทางเลือกในการผลิตไฟฟ้าซึ่งพลังงานชีวมวลที่ได้จากการใช้เศษวัสดุหรือกากจากกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรถือเป็นหนึ่งในพลังงานทางเลือกที่สามารถนำมาใช้ผลิตกระแสไฟฟ้าได้ และหนึ่งในของเสียจากกระบวนการผลิตไฟฟ้าคือเถ้าลอย จึงมีงานวิจัยหลายหลายที่ทำการศึกษารวบรวมองค์ประกอบของเถ้าลอยเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ ซึ่งจากงานวิจัยที่ทำการศึกษาพบว่าเถ้าลอยชีวมวลมีซิลิกาเป็นองค์ประกอบหลักมากกว่า 60% โดยน้ำหนัก ซึ่งโดยส่วนใหญ่มักนำซิลิกาจากเถ้าลอยมาเป็นส่วนผสมในงานก่อสร้าง [1, 2, 3] แต่ยังมีอีกหนึ่งทางเลือกที่มีความเป็นไปได้คือการนำซิลิกาจากเถ้าลอยมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม เนื่องจากไดอะตอมมีซิลิกาเป็นองค์ประกอบสำคัญในการสร้างผนังเซลล์ นอกจากการนำเถ้าลอยที่เป็นของเสียมาใช้ประโยชน์แล้ว ยังมีงานวิจัยศึกษาพบว่า การเพาะเลี้ยงไดอะตอมยังสามารถสร้างมูลค่าเพิ่มได้ทั้งในแง่ของการนำชีวมวลมาใช้ประโยชน์ เช่น ไดอะตอมมาใช้ขัดโลหะ ใช้เป็นฉนวนของเตาไฟ เครื่องทำความเย็น [6] การนำชีวมวลไดอะตอมมาเป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน [7] รวมทั้งการนำซิลิกาจากเปลือกของไดอะตอมมาเป็นส่วนผสมใน complex metal nanostructures [8, 9] และในแง่ของการนำสารสีฟิวโคแซนทินที่มีมูลค่าสูง ซึ่งเป็นรงควัตถุหลักของไดอะตอมมาใช้ประโยชน์ โดยจากงานวิจัยของ Peng *et al.* (2011) และ Xia *et al.* (2013) ได้ทำการศึกษาประโยชน์ของสารสีฟิวโคแซนทิน พบว่าสารสีฟิวโคแซนทินมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ทั้งช่วยในการเผาผลาญไขมัน

ในร่างกายที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง รวมทั้งมีสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดซึ่งป้องกันการเกิดโรคเบาหวานและหัวใจ ช่วยป้องกันโรคมะเร็งผิวหนัง ลดรอยแดงและรอยไหม้ของผิวจากแสงแดด ช่วยบำรุงกระดูกและเสริมสร้างความแข็งแรงของกระดูกและกล้ามเนื้อ มีฤทธิ์ต้านการอักเสบของ ป้องกันการเกิดโรคเส้นเลือดในสมองแตก และมีสารโอเมก้าช่วยบำรุงสมองและบำรุงตับ ซึ่งจากประโยชน์ดังกล่าวสามารถนำสารสีฟิวโคแซนทินมาสร้างมูลค่าได้ โดยในปัจจุบันมีการนำสารสีฟิวโคแซนทินจากไดอะตอมมาใช้เป็นองค์ประกอบของอุตสาหกรรมอาหาร เวชสำอางและยามากยิ่งขึ้น

สำหรับจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอมที่มีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้เพาะเลี้ยงโดยใช้ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอยควรมีสมบัติที่สามารถทนต่อค่าพีเอชได้ในช่วงกว้าง เติบโตได้ดีทั้งในสภาวะน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม อย่างไรก็ตามไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* เป็นไดอะตอมที่พบได้ทั่วไปในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งในประเทศไทย ซึ่งยังมีการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมและปัจจัยที่มีผลในการเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินอย่างจำกัด จากการศึกษาสภาวะในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการศึกษาจากงานวิจัยมีรายละเอียดดังตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสภาวะการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer*

| ปัจจัย | สภาวะการเพาะเลี้ยง | อ้างอิง |
|--------------------|---|-----------|
| ความเข้มแสง | $110 \mu \text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ | [30] |
| คาร์บอนไดออกไซด์ | 1% - 5% โดยปริมาตร | [30] |
| สูตรอาหาร | F/2 (N = 882 μM , P = 36.2 μM , Si = 106 μM) | [30, 34] |
| อุณหภูมิ | 25 | [30] |
| ค่าความเป็นกรดต่าง | > 7 | [37] |
| ความเค็ม | 30 - 32 | [38] |

จากตารางที่ 2.9 สภาวะสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่แสดงรายละเอียดเป็นสภาวะที่งานวิจัยได้ทำการศึกษาสภาวะที่สามารถเติบโตได้ แต่จากการค้นคว้าและศึกษายังไม่พบงานวิจัยที่ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* เพื่อผลิตสารสีฟิวโคแซนทิน ในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินโดย

ปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ความเข้มแสง ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ธาตุอาหารหลักไนโตรเจนและซิลิกา โดยอ้างอิงจากงานวิจัยที่ค้นคว้า

งานวิจัยของ Hii *et al.* (2010) ได้ทำการศึกษาสภาวะแสงและความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมในการผลิตฟูโคแซนทินให้มีความเสถียร พบว่าฟูโคแซนทินจะเสถียรและผลิตได้ดีในสภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีความเป็นด่างในที่มีดได้ดีกว่าในสภาวะที่มีแสง [39] ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Petrushkina *et al.* (2017) ได้ทำการศึกษาการผลิตฟูโคแซนทินของไดอะตอมพบว่า การเพิ่มความเข้มแสงทำให้มีการผลิตฟูโคแซนทินสูงขึ้น แต่ถ้าเพิ่มความเข้มแสงเกิน $150 \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ทำให้การผลิตฟูโคแซนทินลดต่ำลง [29] ดังนั้นผลจากงานวิจัยดังกล่าวจึงทำให้ประเด็นของความเข้มแสงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาถึงสภาวะความเข้มแสงที่เหมาะสมในการผลิตฟูโคแซนทิน นอกจากนี้ Crawford *et al.* (2011) ได้ทำการศึกษาผลของคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จากอากาศปกติ (0.04% โดยปริมาตร) เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 1% โดยปริมาตร ไดอะตอม *Thalassiosira pseudonana* มีการเติบโตและสามารถผลิตชีวมวลได้สูงขึ้น ซึ่งจากงานวิจัยชี้ให้เห็นว่าคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อการเติบโต แต่เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์เป็น 5% โดยปริมาตร ไดอะตอมมีการเติบโตไม่แตกต่างกับการเพาะเลี้ยงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 1% โดยปริมาตร [31] แต่การเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ส่งผลทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลงซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Katharine *et al.* (2011) ที่ทำการเพิ่มความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์สำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira pseudonana* พบว่าการเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลงซึ่งส่งผลให้ไดอะตอมเติบโตช้า ดังนั้นในงานวิจัยนี้พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 1% ไม่ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดต่างต่ำเกินไปซึ่งมีค่าเท่ากับ 7.8 เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้ทำให้ไดอะตอมเติบโตได้ดี [32]

ในส่วนของการศึกษาการผลิตสารฟูโคแซนทินในไดอะตอมชนิดและสายพันธุ์ต่างๆ มีงานวิจัยได้ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอมเพื่อวิเคราะห์การผลิตสารฟูโคแซนทินในไดอะตอมชนิดและสายพันธุ์ต่างๆ โดยมีรายละเอียดดังตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตซีวมวลและสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม

| Diatom | Dry weight (g/L) | Concentration of Fucoxanthin (mg/g dry weight) | อ้างอิง |
|--|------------------|--|---------|
| <i>Odontella aurita</i> | 3.20 | 5.50 | [14] |
| | 4.00 | 5.00 | |
| <i>Nitzschia</i> sp. | 0.35 | 4.92 | [29] |
| <i>Nitzschia</i> cf. <i>carinospeciosa</i> SBV25 | 0.37 | 5.50 | |
| <i>Nitzschia</i> cf. <i>carinospeciosa</i> SBV26 | 0.33 | 4.00 | |
| | | | |
| <i>Navicular pelliculosa</i> | 0.12 | 0.92 | [40] |
| | 0.57 | 3.78 | |
| <i>Navicular laevis</i> | 0.20 | 0.75 | [40] |
| <i>Amphora coffeiformis</i> | 0.42 | 4.30 | [41] |

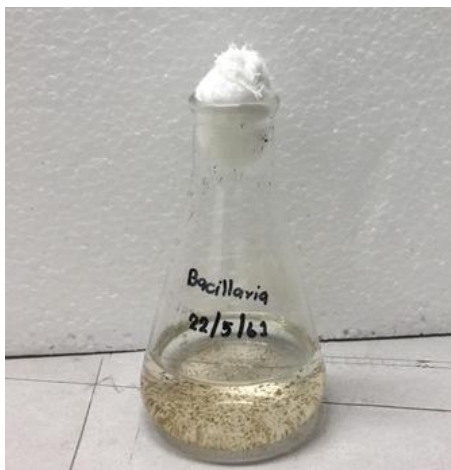
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการของศูนย์เชี่ยวชาญทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยแบ่งงานวิจัยออกเป็น 2 ส่วนหลักคือ การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอยและการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แผนผังดำเนินงานวิจัย

3.1 การเตรียมหัวเชื้อไดอะตอม



รูปที่ 3.2 หัวเชื้อไดอะตอม *Bacillaria paxillifer*

ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ไดอะตอมสายพันธุ์นี้ผ่านการคัดแยกจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดจันทบุรี ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (ตารางที่ 3.1) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ผสมหัวเชื้อไดอะตอมปริมาตร 5 มิลลิลิตร และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ควบคุมการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.1 อาหารมาตรฐานสูตร F/2 [34]

ส่วนที่ 1 ส่วนประกอบอาหารมาตรฐานสูตร F/2

| ส่วนประกอบ | ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร) |
|---|-------------------------|
| NaNO_3 | 75 |
| $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 5 |
| $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ | 30 |
| สารละลาย Trace metal | แสดงในส่วนที่ 2 |
| สารละลายวิตามิน | แสดงในส่วนที่ 3 |

ส่วนที่ 2 ส่วนประกอบสารละลาย Trace metal

| ส่วนประกอบ | ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร) |
|---|-------------------------|
| $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ | 3.15 |
| $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 4.36 |
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 9.80 |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 6.30 (1 มิลลิลิตร) |
| $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 22 (1 มิลลิลิตร) |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 10 (1 มิลลิลิตร) |
| $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 180 (1 มิลลิลิตร) |

ส่วนที่ 3 ส่วนประกอบสารละลายวิตามิน

| ส่วนประกอบ | ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร) |
|--------------|-------------------------|
| Thiamine HCl | 200 มิลลิลิตร |
| วิตามินบี 12 | 1 (1 มิลลิลิตร) |
| ไบโอติน | 0.10 (1 มิลลิลิตร) |

3.2 ความเป็นไปได้ของการใช้ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอย

ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอยได้รับความความอ่อนแอกะที่จากบริษัทมิตรผลไบโอเพาเวอร์ จำกัด โดยซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอยมี 2 รูปแบบ คือซิลิกาแบบผงซึ่งผ่านการตกตะกอนด้วยกรดอินทรีย์ และแบบสารละลายโซเดียมซิลิเกต (Na_2SiO_3) ซึ่งผ่านการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ดังรูปที่ 3.3



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.3 ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอย (ก) ผงซิลิกา (ข) สารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย

3.2.1 ความเป็นไปได้ของการใช้ผงซิลิกา

ผงซิลิกาถั่วลอมที่ผ่านการเตรียมด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยสารละลายกรดอินทรีย์มีลักษณะเป็นผงสีขาวชนิดอสัณฐาน (Amorphous form) ความบริสุทธิ์ของซิลิการ้อยละ 98 และค่าพีเอชประมาณ 6.5 ทำการทดสอบความเป็นไปได้ของการใช้ผงซิลิกาในการเพาะเลี้ยงไตอะตอม โดยในชุดทดลองทำการชั่งผงซิลิกาปริมาณ 1.5 และ 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ซึ่งในชุดการทดลองที่ 1 ตั้งสารทิ้งไว้โดยไม่มีการปั่นกวน ขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 ทำการปั่นกวนสารด้วยความเร็วรอบ 2,400 รอบ/นาที ตลอดเวลา เป็นเวลา 5 วัน ทำการเก็บตัวอย่างน้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของซิลิกาตามวิธีมาตรฐานของ Strickland and Parsons (1972) ด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร [42] เปรียบเทียบความเข้มข้นของซิลิกาที่ได้ในชุดควบคุมและชุดทดลองเพื่อพิจารณาความเหมาะสมในการนำผงซิลิกามาเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ต่อไป

3.2.2 ความเป็นไปได้ของการใช้สารละลายโซเดียมซิลิเกต

สารละลายโซเดียมซิลิเกตเตรียมจากการสกัดถั่วลอมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่อุณหภูมิห้องและความดันบรรยากาศ ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมซิลิเกตโดยใช้วิธีมาตรฐานของ Strickland and Parsons (1972) ด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 480 นาโนเมตร จากนั้นจึงนำสารละลายมาปรับความเข้มข้นของซิลิเกตให้เทียบเท่าอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และนำมาเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ต่อไป

3.2.3 การเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ด้วยซิลิกาที่สกัดจากถั่วลอม

นำหัวเชื้อไตอะตอมปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากหัวเชื้อที่ 3.1 ผสมกับอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่เตรียมจากน้ำเค็ม 30 พีเอชยู ปริมาตร 900 มิลลิลิตร ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวน (ขวดดูแรนขนาด 1 ลิตร) ระหว่างการเพาะเลี้ยงควบคุมอัตราการกวนที่ 300 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ โดยในชุดควบคุมเป็นอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ขณะที่ในชุดทดลองเป็นอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยใช้ซิลิกาที่สกัดจากถั่วลอม ทำการเก็บตัวอย่างน้ำปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหนาแน่นเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณสารสีฟลูโคแซนทิน

3.3 ผลของความเข้มแสง

ทำการเพาะเลี้ยงไตอะตอมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ตามวิธีการในหัวข้อที่ 3.2 โดยใช้อาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้ซิลิกาที่สกัดจากถั่วลันเตา ระหว่างการเพาะเลี้ยงควบคุมอัตราการกวนที่ 300 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยในชุดควบคุมทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้สภาพและความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ขณะที่ในชุดทดลองทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 10,000 15,000 20,000 25,000 และ 30,000 ลักซ์ ทำการเก็บตัวอย่างน้ำปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหนาแน่นเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณสารสีฟูโคแซนทิน และความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ซิลิกา และฟอสฟอรัส

3.4 ผลของธาตุอาหารซิลิกาและไนโตรเจน

3.4.1 ผลของธาตุอาหารซิลิกา

ทำการเพาะเลี้ยงไตอะตอมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนตามวิธีการในหัวข้อที่ 3.2 โดยใช้อาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้ซิลิกาที่สกัดจากถั่วลันเตา ระหว่างการเพาะเลี้ยงควบคุมอัตราการกวนที่ 300 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยในชุดควบคุมทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้สภาวะที่ดีที่สุด ในหัวข้อ 3.3 โดยไม่มีการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาในอาหารเพาะเลี้ยง ขณะที่ในชุดทดลองทำการเพาะเลี้ยงโดยการปรับความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 2 และ 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ทำการเก็บตัวอย่างน้ำปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหนาแน่นเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณสารสีฟูโคแซนทิน และความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ซิลิกา และฟอสฟอรัส

3.4.2 ผลของธาตุอาหารไนโตรเจน

ทำการเพาะเลี้ยงไตอะตอมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนตามวิธีการในหัวข้อที่ 3.2 โดยใช้อาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้ซิลิกาที่สกัดจากถั่วลันเตา ระหว่างการเพาะเลี้ยงควบคุมอัตราการกวนที่ 300 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยในชุดควบคุมทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้ปริมาณซิลิกาในสภาวะที่เหมาะสมในหัวข้อ 3.4.1 โดยไม่มีการปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจน ขณะที่ในชุดทดลองทำการเพาะเลี้ยงโดยทำการปรับความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 5% 20% และ 30% ของปริมาณ

ไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ทำการเก็บตัวอย่างน้ำปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหนาแน่นเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณสารสีฟูโคแซนทิน และความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ซิลิกา และฟอสฟอรัส

3.5 ผลของรูปแบบการให้แสงในช่วงระยะเวลาเติบโตคงที่

จากผลการทดลองที่ได้รับในหัวข้อที่ 3.4 จะทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงกลยุทธ์ในรูปแบบการให้แสง เนื่องจากมีรายงานในอดีตกล่าวว่าการปิดแสงในช่วงระยะเวลาเติบโตแบบทวีคูณ สามารถเพิ่มการสะสมสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่ายได้ [30] ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนตามวิธีการในหัวข้อที่ 3.2 โดยใช้อาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้ซิลิกาที่สกัดจากถ้ำลอย ระหว่างการเพาะเลี้ยงควบคุมอัตราการกวนที่ 300 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้สภาวะที่ดีที่สุดที่ระบุในหัวข้อ 3.4 โดยให้แสงในช่วงระยะเวลาปรับตัวและระยะเวลาเติบโตแบบทวีคูณ และทำการปิดแสงในช่วงระยะเวลาเติบโตคงที่ของการเพาะเลี้ยง ทำการเก็บตัวอย่างน้ำปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหนาแน่นเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณสารสีฟูโคแซนทิน และความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ซิลิกา และฟอสฟอรัส

3.6 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.6.1 การวิเคราะห์อัตราการเติบโต

การติดตามการเติบโตของไดอะตอมดำเนินการโดยการนับเซลล์ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด (Hemocytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และนำข้อมูลมาคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_m) จากสมการที่ 3.1

$$\mu_m = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t_2 - t_1) \quad (3.1)$$

เมื่อ N_1 และ N_2 คือจำนวนเซลล์ในช่วง Exponential phase (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่เวลา t_1 และ t_2 ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทำการวัดน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีการของ APHA (1992) เริ่มต้นจากเก็บตัวอย่างน้ำประมาณ 5 มิลลิลิตร และกรองผ่านกระดาษกรองวัดแมน GF/C (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง

47 ไมโครเมตร) จากนั้นนำกระดาษกรองมาอบแห้งที่อุณหภูมิประมาณ 103 – 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ โดยน้ำหนักเซลล์แห้งคือผลต่างของน้ำหนักกระดาษกรองที่มีเซลล์กับน้ำหนักกระดาษกรองเริ่มต้น [43]

3.6.2 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทิน

การวิเคราะห์สารสีฟูโคแซนทินได้ดำเนินการตามวิธีมาตรฐานของ Strickland and Parsons (1972) โดยนำตัวอย่างน้ำประมาณ 5 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ จากนั้นบดเซลล์ให้แตกด้วยแท่งแก้วและเติมสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80% โดยปริมาตร ในปริมาณเท่ากับตัวอย่างน้ำเริ่มต้น เก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ในตู้เย็น นำเซลล์ที่เหลือจากการสกัดมาสกัดด้วยอะซิโตนอีก 2 ครั้ง แล้วเก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ทั้งหมดรวมกันในที่มีดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที นำตัวอย่างของเหลวที่สกัดได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 470 581 631 และ 664 นาโนเมตร เพื่อนำมาคำนวณความเข้มข้นของฟูโคแซนทินตามวิธีการของ Seely et al. (1972) [44] ดังสมการที่ 3.2

$$F = [E_{470} - 1.239(E_{631} + E_{581} + 0.3 E_{664}) - 0.0275 E_{664}] \times (V_a V_b^{-1}/141) \quad (3.2)$$

เมื่อ F คือความเข้มข้นของฟูโคแซนทิน (กรัม/ลิตร) และ E คือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 581 631 และ 664 นาโนเมตร และ V_a คือปริมาตรตัวทำละลาย (มิลลิลิตร) และ V_b คือปริมาตรของเหลวตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

3.6.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC

ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างชีวมวลไดอะตอมเพื่อศึกษาถึงชนิดและปริมาณของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุด นำตัวอย่างน้ำประมาณ 5 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ จากนั้นบดเซลล์ให้แตกด้วยแท่งแก้วและเติมสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80% โดยปริมาตร ในปริมาณเท่ากับตัวอย่างน้ำเริ่มต้น เก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ในตู้เย็น นำเซลล์ที่เหลือจากการสกัดมาสกัดด้วยอะซิโตนอีก 2 ครั้ง แล้วเก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ทั้งหมดรวมกันในที่มีดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที จึงนำตัวอย่างที่สกัดมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (Shimadzu Model SPD-M20A) ซึ่งประกอบด้วย C18 คอลัมน์ และ

Photo-Diode Array detector; ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ซึ่งเป็นสารละลายผสมระหว่าง น้ำกลั่น เมทานอล อะซิโตน ไตรคลอโรมีเทน อัตราส่วน 1:10:79:10 ตามลำดับ ที่อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตร/นาที โดยทำการฉีดตัวอย่างปริมาณ 20 μL ตรวจวัดสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร โดยใช้เวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมด 30 นาที และทำการจำแนกชนิดสารกลุ่มแคโรทีนอยด์โดยเปรียบเทียบกับลักษณะโครงสร้างพีคและความยาวคลื่นของพีค โดยอ้างอิงจาก Mantoura and Wrigh (1997) [45] คำนวณปริมาณของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์โดยทำการปรับพื้นที่กราฟด้วยค่าแฟคเตอร์ และคำนวณความเข้มข้นของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานลูทีน ซึ่งแสดงในภาคผนวก

3.6.4 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก

การวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน ซิลิกา และฟอสฟอรัส ดำเนินการโดยอ้างอิงจาก APHA (1992) และ Strickland and Parsons (1972) นำตัวอย่างน้ำมากรองเซลล์ไดอะตอมออกด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร จากนั้นเติมรีเอเจนต์ในตัวอย่างน้ำใสตามปริมาณที่วิธีการกำหนด ซึ่งแสดงรายละเอียดในภาคผนวก จากนั้นทำการ Vortex ให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ตั้งทิ้งไว้จนสารทำปฏิกิริยากัน จากนั้นจึงนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยไนโตรเจนทำการวัดในช่วงความคลื่นแสง 220 และ 275 นาโนเมตร ซิลิกาทำการวัดในช่วงความยาวคลื่นแสง 810 นาโนเมตร และฟอสฟอรัสทำการวัดในช่วงความยาวคลื่นแสง 885 นาโนเมตร

3.6.5 การเปรียบเทียบผลการทดลองทางสถิติ

ในการทดลองนี้ได้ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลการทดลองโดยใช้ One-way ANOVA และ Tukey HSD Post Hoc Test ที่ความเชื่อมั่น 95% [46]

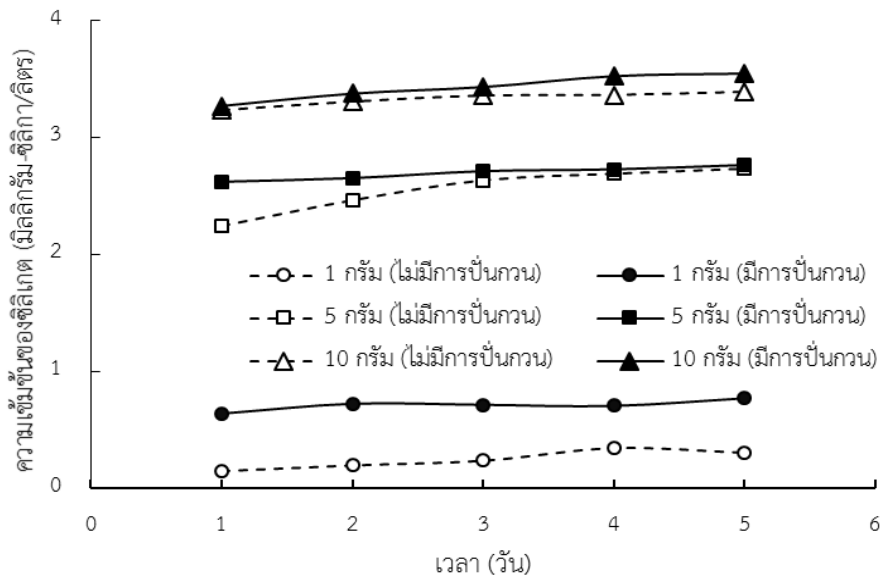
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลความเป็นไปได้ของการใช้ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอย

4.1.1 ความเป็นไปได้ของการใช้ผงซิลิกา

จากการทดสอบการละลายของผงซิลิกาปริมาณ 1 5 และ 10 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร โดยในชุดทดลองที่ 1 ตั้งสารทิ้งไว้โดยไม่มีการปั่นกวน ขณะที่ชุดทดลองที่ 2 ทำการปั่นกวนสารด้วยความเร็วรอบ 2,400 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลองพบว่าซิลิกาสามารถละลายน้ำได้น้อยกว่า 4 มิลลิกรัม/ลิตร (หรือประมาณ 0.4 มิลลิกรัม ในน้ำ 100 กรัม) โดยเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลในวรรณกรรมที่ระบุว่า การละลายของตัวทำละลายจะเกิดขึ้นเมื่อสามารถละลายในน้ำได้มากกว่า 100 มิลลิกรัม ในตัวทำละลาย 100 กรัม [47] จึงทำให้สามารถสรุปได้ว่าผงซิลิกาที่มาจากการสกัดจากเถ้าลอยมีสมบัติไม่ละลายน้ำและไม่สามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอมได้



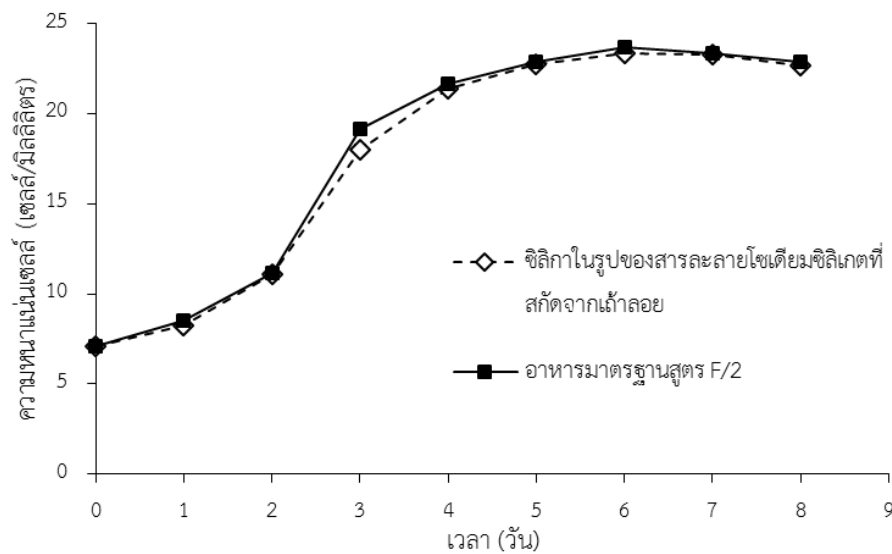
รูปที่ 4.1 ปริมาณผงซิลิกาที่ละลายน้ำ

4.1.2 ความเป็นไปได้ของการใช้สารละลายโซเดียมซิลิเกต

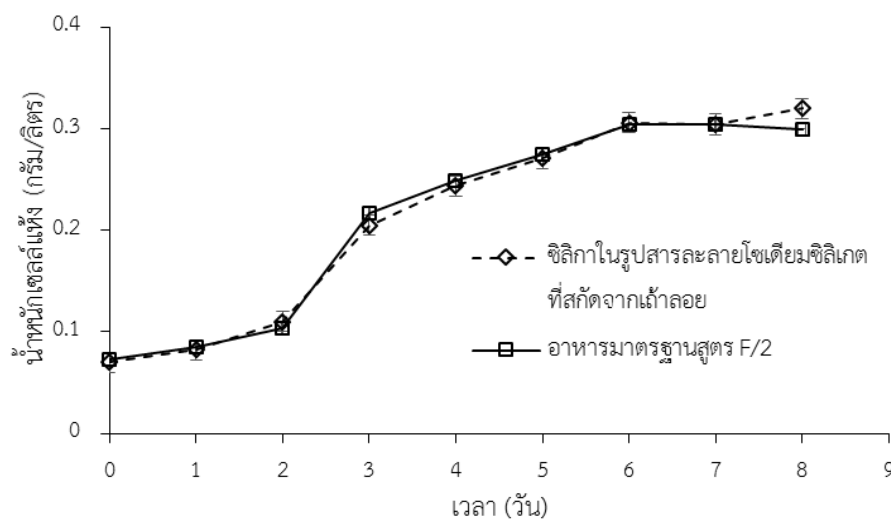
จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมซิลิเกตโดยใช้วิธีมาตรฐานของ Strickland and Parsons (1972) ด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 480 นาโนเมตร พบว่ามีความเข้มข้นของซิลิกาในรูปของซิลิเกตในสารละลายเท่ากับ 124.72 กรัม-ซิลิกา/ลิตร จากนั้นจึงนำสารละลายมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นของซิลิกาเท่ากับ 2.94 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร ซึ่งเทียบเท่าความเข้มข้นในของอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

4.1.3 การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ด้วยซิลิกาที่สกัดจากถ้ำลอย

ทำการทดสอบความเป็นไปได้ของการใช้สารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยมาใช้เพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* โดยทำการเพาะเลี้ยงในน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มข้นแสง 5,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร เป็นเวลา 8 วัน ผลการทดลองพบว่าซิลิกาจากสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดได้จากถ้ำลอยในชุดทดลองมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเซลล์ได้ไม่แตกต่างจากการใช้ซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ในชุดควบคุม ซึ่งในระหว่างวันที่ 0 - 2 พบว่าเซลล์มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ไม่มากนักซึ่งคาดว่าเป็นผลจากการที่เซลล์อยู่ในช่วงของระยะการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะการเพาะเลี้ยงใหม่ หลังจากนั้นพบว่าเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบทวีคูณทำให้เซลล์มีการเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่อง และเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ในระหว่างวันที่ 6 - 8 โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ $23.70 \pm 0.14 \times 10^4$ และ $23.33 \pm 0.44 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร ในชุดควบคุมและชุดทดลองตามลำดับ และมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดในช่วงวันที่ 2 - 3 เท่ากับ 0.54 ± 0.05 วัน⁻¹ ในชุดควบคุม และ 0.53 ± 0.03 วัน⁻¹ ในชุดทดลอง (รูปที่ 4.2) สำหรับผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในชุดควบคุมและชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในส่วนของน้ำหนักรวมเซลล์แห้งพบว่าเซลล์มีน้ำหนักรวมเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในระหว่างวันที่ 0 - 2 เนื่องจากเซลล์อยู่ในช่วงของระยะการปรับตัว หลังจากนั้นเซลล์มีการเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่องในระยะการเติบโตแบบทวีคูณและเริ่มเข้าสู่ระยะคงที่ในระหว่างวันที่ 6 - 8 และในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงมีน้ำหนักรวมเซลล์แห้งเท่ากับ 0.30 ± 0.01 และ 0.32 ± 0.02 กรัม/ลิตร ในชุดควบคุมและชุดทดลอง (รูปที่ 4.3) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับผลของความหนาแน่นเซลล์

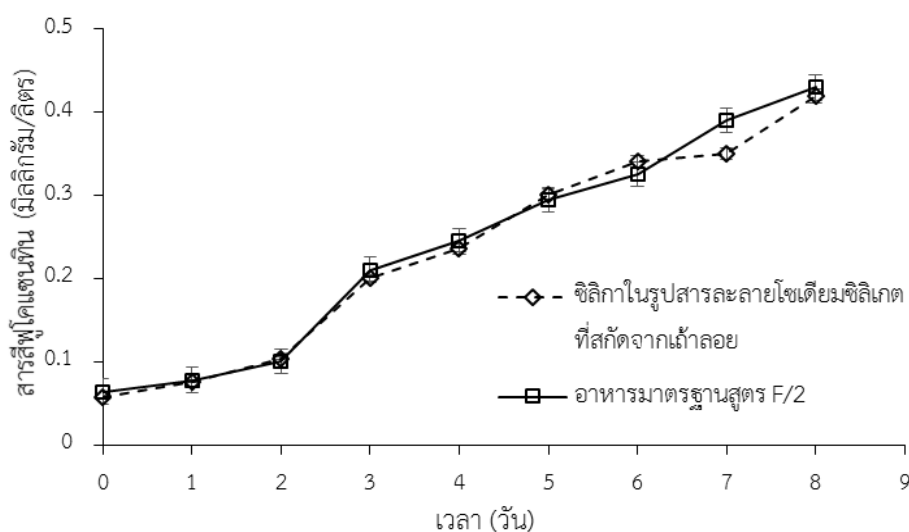


รูปที่ 4.2 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย (Error bar = standard deviation)



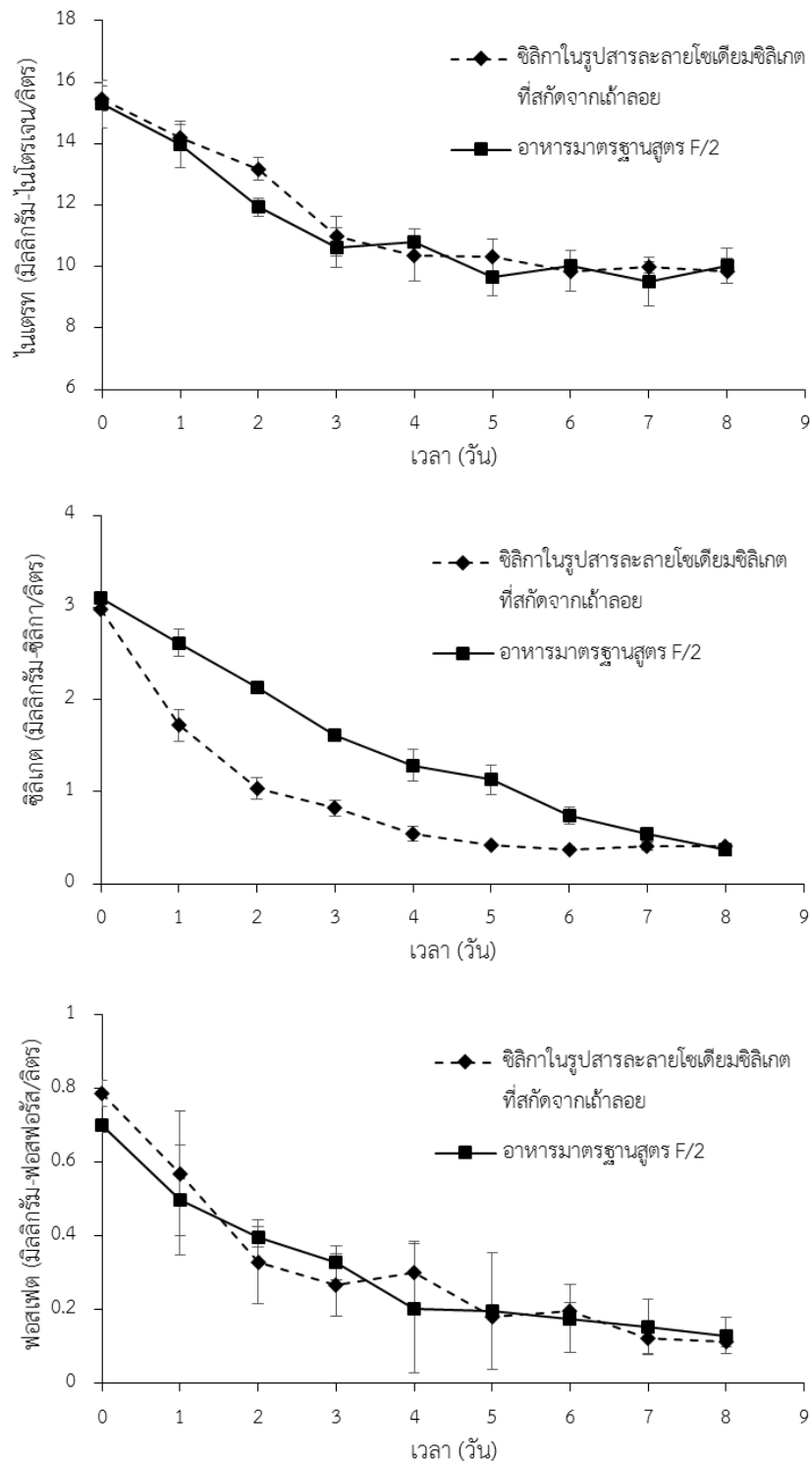
รูปที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย (Error bar = standard deviation)

สำหรับการผลิตสารสีฟูโคแซนทินพบว่าเซลล์ในชุดควบคุมที่ใช้ซิลิกาจากอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และเซลล์ในชุดทดลองที่ใช้สารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแฉ่ำลอยสามารถผลิตสารสีฟูโคแซนทินได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเซลล์มีความเข้มข้นของฟูโคแซนทินในชุดควบคุมและชุดทดลองเท่ากับ 0.44 ± 0.02 และ 0.43 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.4) ซึ่งเทียบเท่าปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.45 ± 0.04 และ 1.34 ± 0.05 มิลลิกรัม/กรัม ในชุดควบคุมและชุดทดลอง ตามลำดับ



รูปที่ 4.4 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในโตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแฉ่ำลอย (Error bar = standard deviation)

ในส่วนของการตรวจวัดธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน ซิลิกา และฟอสฟอรัส ตลอดเวลาการเพาะเลี้ยงพบว่าความเข้มข้นของไนเตรทลดลงจากประมาณ 15 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร ในวันแรกของการเพาะเลี้ยงเหลือประมาณ 10 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร ในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง ในขณะที่ความเข้มข้นของซิลิเกตลดลงจากประมาณ 3 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร ในวันแรกของการเพาะเลี้ยง เหลือประมาณ 0.4 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร ในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง และความเข้มข้นของฟอสเฟตลดลงจากประมาณ 0.8 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร ในวันแรกของการเพาะเลี้ยง เหลือประมาณ 0.15 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร (รูปที่ 4.5) จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของไนเตรทในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงยังคงมีปริมาณตกค้างในระบบเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการปรับลดปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจที่จะได้ทำการศึกษาในอนาคต

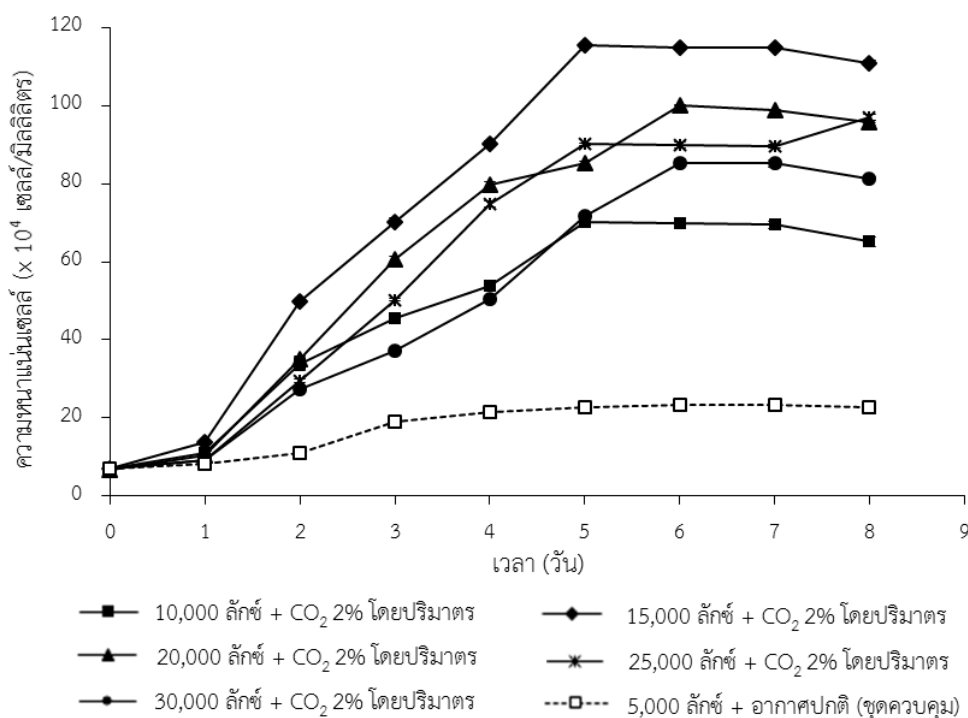


รูปที่ 4.5 ปริมาณไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟตในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนสำหรับเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ในสถานะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลันเตา (Error bar = standard deviation)

4.2 ผลของความเข้มแสง

จากงานวิจัยในอดีตพบว่าความเข้มแสงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเติบโตและการสะสมของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย [29, 30] ดังนั้นการทดลองนี้จึงได้ศึกษาถึงอิทธิพลของความเข้มแสงในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* โดยในชุดควบคุมทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้อากาศซึ่งมีคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 0.04% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ขณะที่ในชุดทดลองทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอมโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสงในช่วง 10,000 15,000 20,000 25,000 และ 30,000 ลักซ์ การทดลองนี้ได้เลือกใช้ซิลิกาที่สกัดจากถ้ำลอยในรูปของสารละลายโซเดียมซิลิเกตในการเตรียมอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากการทดลองในหัวข้อที่ 4.1.3 ที่พบว่าซิลิกาที่สกัดถ้ำลอยมีประสิทธิภาพเทียบเท่าการใช้ซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 นอกจากนี้การเลือกใช้คาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 2% โดยปริมาตรในชุดทดลองเป็นผลมาจากงานวิจัยในอดีตที่รายงานว่าคาร์บอนไดออกไซด์ในระดับดังกล่าวสามารถเพิ่มอัตราการเติบโตของไดอะตอมได้และไม่ทำให้ค่าพีเอชในระบบลดลงจนไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง [31, 32] ซึ่งจากการทดลองพบว่าเซลล์มีการเติบโตอย่างต่อเนื่องจนถึงระยะเวลาหนึ่งเซลล์จะเริ่มเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ในทุกชุดการทดลอง โดยในชุดควบคุมเซลล์จะเริ่มเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบทวีคูณและระยะการเติบโตคงที่ในวันที่ 2 และ 6 ของการเพาะเลี้ยง ในขณะที่ชุดทดลองเซลล์มีการเติบโตโดยใช้ระยะเวลาที่เข้าสู่ระยะการเติบโตแบบทวีคูณและระยะการเติบโตคงที่เร็วกว่าในชุดควบคุมโดยใช้ระยะเวลาเพียงในวันที่ 1 และ 5 ในการเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบทวีคูณและระยะการเติบโตคงที่ของการเพาะเลี้ยง สำหรับผลความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดในชุดควบคุมมีความหนาแน่นเซลล์ในระยะเวลาการเติบโตคงที่ระหว่างวันที่ 6 – 8 เท่ากับ $23.33 \pm 0.44 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร และมีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดระหว่างวันที่ 2 – 3 เท่ากับ 0.53 ± 0.03 วัน⁻¹ ขณะที่ในชุดทดลองมีความหนาแน่นเซลล์ในระยะเวลาการเติบโตคงที่ระหว่างวันที่ 5 – 8 เท่ากับ $70.00 \pm 0.98 \times 10^4$ $115.68 \pm 0.68 \times 10^4$ $100.12 \pm 0.27 \times 10^4$ $90.12 \pm 0.27 \times 10^4$ และ $85.41 \pm 0.63 \times 10^4$ มีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดระหว่างวันที่ 2 – 3 เท่ากับ 1.12 ± 0.07 1.28 ± 0.02 1.23 ± 0.02 1.16 ± 0.04 และ 1.09 ± 0.02 วัน⁻¹ ภายใต้ความเข้มแสงที่ 10,000, 15,000, 20,000, 25,000 และ 30,000 ลักซ์ ตามลำดับ (รูปที่ 4.1) ซึ่งจากการทดลองจะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงที่ใช้ความเข้มแสงและปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูงขึ้นจากชุดควบคุมส่งผลให้เซลล์มีความหนาแน่นสูงขึ้นและเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบทวีคูณและระยะการเติบโตคงที่เร็วขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นจากชุดทดลองพบว่าภายใต้สภาวะที่ความเข้มแสงที่สูงกว่า 15,000 ลักซ์

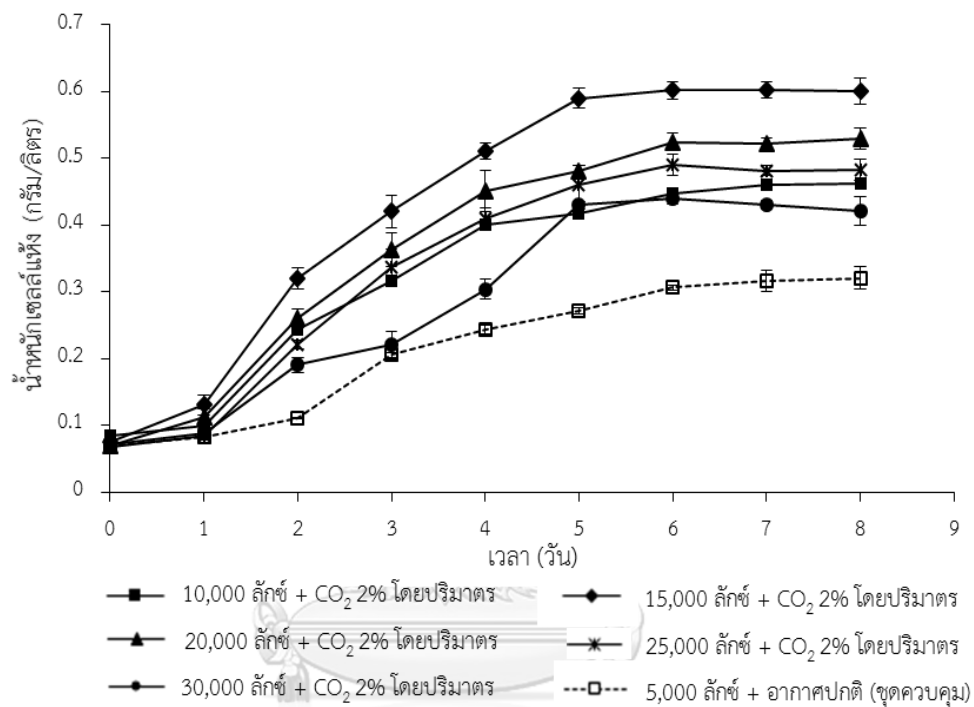
การเติบโตยังคงมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันคือเซลล์มีการเติบโตแต่ความหนาแน่นเซลล์ที่ได้มีปริมาณลดลง



รูปที่ 4.6 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกันในชุดทดลอง และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในชุดควบคุม (Error bar = standard deviation)

ผลการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห่งพบว่าผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกับความหนาแน่นของเซลล์ในทุกชุดการทดลอง เซลล์มีน้ำหนักเซลล์แห่งเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงจนถึงในช่วงที่เซลล์เข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่เซลล์จะมีน้ำหนักเซลล์แห่งที่คงที่ เนื่องจากน้ำหนักเซลล์แห่งของเซลล์เพิ่มขึ้นตามความหนาแน่นเซลล์ที่เพิ่มขึ้น เมื่อเซลล์มีความหนาแน่นเซลล์คงที่ในระยะการเติบโตคงที่จึงส่งผลให้เซลล์มีน้ำหนักเซลล์แห่งคงที่เช่นเดียวกัน (รูปที่ 4.7) โดยมีน้ำหนักเซลล์แห่งในวันสุดท้ายเท่ากับ 0.32 ± 0.02 กรัม/ลิตร ในชุดทดลอง และ 0.46 ± 0.01 , 0.60 ± 0.02 , 0.53 ± 0.02 , 0.48 ± 0.02 และ 0.42 ± 0.03 กรัม/ลิตร ในชุดทดลองภายใต้ความเข้มแสงที่ 10,000 15,000 20,000 25,000 และ 30,000 ลักซ์ ตามลำดับ จะเห็นว่าผลการทดลองทั้งในส่วนของความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักเซลล์แห่งมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งการเพาะเลี้ยงที่ใช้ความเข้มแสงและปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูงขึ้นจากชุดควบคุมส่งผลให้เซลล์มีการเติบโตสูงขึ้นเนื่องจากมีเซลล์มี

การสังเคราะห์แสงสูงขึ้น แต่การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเข้มแสงที่สูงเกินจุดอิ่มตัวของแสง (Light saturated point) ส่งผลทำให้เซลล์มีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลงจนเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (Photoinhibition) ซึ่งส่งผลให้เซลล์มีการเติบโตได้ไม่ดี [48, 49] ดังนั้นการเพาะเลี้ยงโดยใช้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสงที่ 15,000 ลักซ์ เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้เซลล์มีการเติบโตสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4.1)



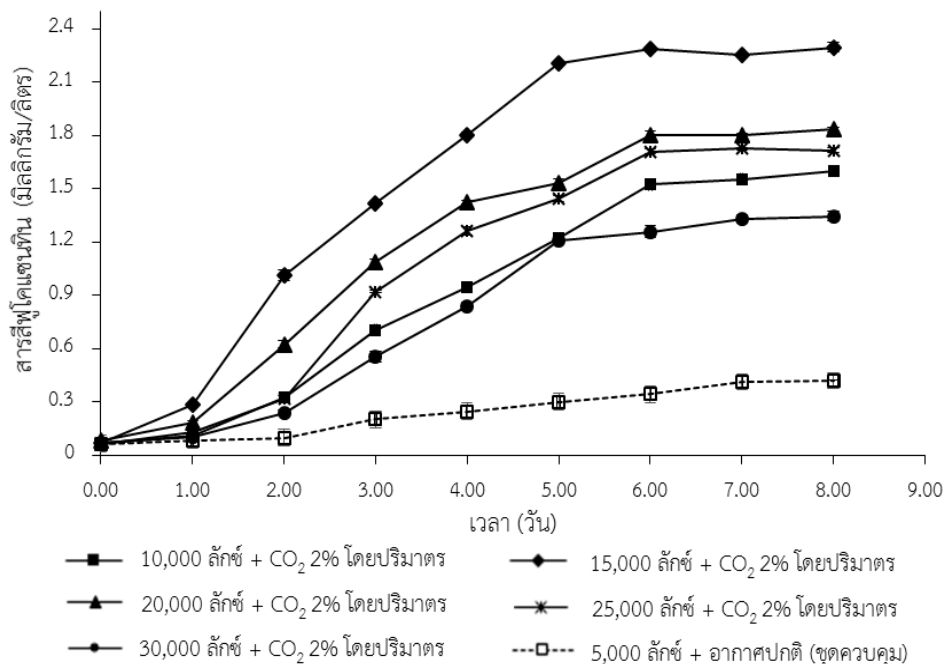
รูปที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกันในชุดทดลอง และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในชุดควบคุม (Error bar = standard deviation)

ในส่วนของการวิเคราะห์สารสีฟูโคแซนทินพบว่าในทุกชุดการทดลองเซลล์จะมีแนวโน้มการผลิตสารสีฟูโคแซนทินสูงขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง (รูปที่ 4.8) ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยในชุดควบคุมมีความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงและมีปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.42 ± 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร และ 1.34 ± 0.05 มิลลิกรัม/กรัม ขณะที่ในชุดทดลองมีความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 1.60 ± 0.02 2.30 ± 0.03 1.83 ± 0.01 1.72 ± 0.02 และ 1.35 ± 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร และมีปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.48 ± 0.12 3.83 ± 0.10 3.45 ± 0.08

3.58 ± 0.20 และ 3.21 ± 0.22 มิลลิกรัม/กรัม ภายใต้ความเข้มแสงที่ 10,000, 15,000, 20,000, 25,000 และ 30,000 ลักซ์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) เมื่อพิจารณาผลการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในชุดทดลองที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงและความเข้มแสงที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับในชุดควบคุมที่เพาะเลี้ยงโดยใช้อากาศและความเข้มแสงน้อยกว่าจะเห็นได้ว่าเซลล์สามารถผลิตสารสีฟูโคแซนทินได้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เป็นผลมาจากการที่เซลล์มีการเติบโตสูงขึ้นจากการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักรวมเซลล์แห้ง (รูปที่ 4.6 และ 4.7) และเป็นผลมาจากเซลล์มีการสะสมสารสีฟูโคแซนทินต่อเซลล์สูงขึ้น (ตารางที่ 4.1) นอกจากนี้ผลการทดลองยังมีความคล้ายคลึงกับผลการทดลองจากงานวิจัยในอดีตที่แสดงถึงผลด้านบวกของคาร์บอนไดออกไซด์และความเข้มแสงที่สูงขึ้นทำให้การเติบโตและผลิตแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่ายสูงขึ้น ดังนั้นการเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จึงทำให้ไดอะตอมเกิดการสังเคราะห์แสงได้สูงขึ้น ส่งผลให้เซลล์มีการเติบโตมากขึ้น ขณะที่การเพิ่มความเข้มแสงส่งผลให้เซลล์เกิดความเครียด และนำไปสู่การสะสมของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ซึ่งใช้ในการเก็บเกี่ยวพลังงานจากแสงส่วนเกินเพื่อป้องกันเซลล์เสียหาย [50, 51] แต่เมื่อพิจารณาชุดการทดลองที่ความเข้มแสงสูงกว่า 15,000 ลักซ์ พบว่าความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินลดลง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเพิ่มปริมาณความเข้มแสงที่มากเกินไปจุดอิ่มตัวของแสงอาจทำให้เม็ดสีของเซลล์ถูกทำลาย จึงส่งผลให้มีความเข้มข้นของสารสีลดลง และเมื่อพิจารณาในชุดการทดลองพบว่าการสะสมสารสีฟูโคแซนทินต่อเซลล์มีปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักรวมเซลล์แห้งที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเข้มแสงที่สูงกว่า 15,000 ลักซ์ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเพิ่มปริมาณความเข้มแสงที่มากเกินไปจุดอิ่มตัวของแสงทำให้เซลล์มีการสะสมสารสีฟูโคแซนทินต่อเซลล์ในตัวเองจนถึงขีดจำกัด ดังนั้นการเพิ่มความเข้มแสงที่สูงเกินไปจึงไม่ส่งผลให้เซลล์มีการสะสมสารสีฟูโคแซนทินต่อเซลล์สูงขึ้น [30, 50] ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความคล้ายคลึงกับงานวิจัยในอดีตที่ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอมภายใต้การความเข้มแสงต่างกันซึ่งพบว่าปริมาณสารสีฟูโคแซนทินจะลดลงเมื่อความเข้มแสงสูงเกิน 10,000 ลักซ์ [38] ดังนั้นการเพาะเลี้ยงไดอะตอมโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ เป็นสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุดที่ทำให้ไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* มีการเติบโตและผลิตสารสีฟูโคแซนทินสูงสุด

ผลการตรวจวัดธาตุอาหารซึ่งประกอบด้วยไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟต พบว่าปริมาณไนเตรทในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงจากประมาณ 15 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร เมื่อเริ่มต้นการทดลองเหลือประมาณ 4 – 7 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร ในชุดทดลอง ซึ่งมากกว่าในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ที่มีปริมาณไนเตรทเมื่อสิ้นสุดการทดลองเหลือตกค้างในระบบประมาณ 10 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร การลดลงของไนเตรทที่มากกว่าในชุดทดลองเป็นผลจากการเพาะเลี้ยง

เซลล์โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงและความเข้มแสงที่สูงขึ้น ซึ่งส่งผลให้เซลล์เติบโตได้มากกว่าและมีการใช้ธาตุอาหารหลักในการเติบโตมากขึ้นตามมา ถึงแม้ว่าในชุดทดลองมีปริมาณไนเตรทตกค้างในระบบลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่ปริมาณที่เหลืออยู่ในชุดทดลองนับว่ายังมีอยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้นการปรับลดปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจที่ควรมีการศึกษาในอนาคต ความเข้มข้นของซิลิเกตในทุกชุดทดลองมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง โดยมีซิลิเกตเริ่มต้นประมาณ 3 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร และในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงพบว่าซิลิเกตไม่เหลือตกค้างในระบบ จากงานวิจัยในอดีตพบว่าการเพิ่มปริมาณซิลิกามีผลทำให้ไดอะตอมมีการเติบโตมากขึ้น เนื่องจากซิลิกาเป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์ [16, 36] ดังนั้นการศึกษาลงของการเพิ่มปริมาณซิลิกาจึงเป็นอีกประเด็นการศึกษาที่น่าสนใจ และในส่วนของฟอสเฟตพบว่ามีปริมาณในวันแรกของการเพาะเลี้ยงประมาณ 1 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร ในทุกชุดทดลอง และมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงและในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเหลือประมาณ 0.2 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร (รูปที่ 4.9)



รูปที่ 4.8 ปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกันในทุกชุดทดลอง และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติที่มีความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในชุดควบคุม (Error bar = standard deviation)

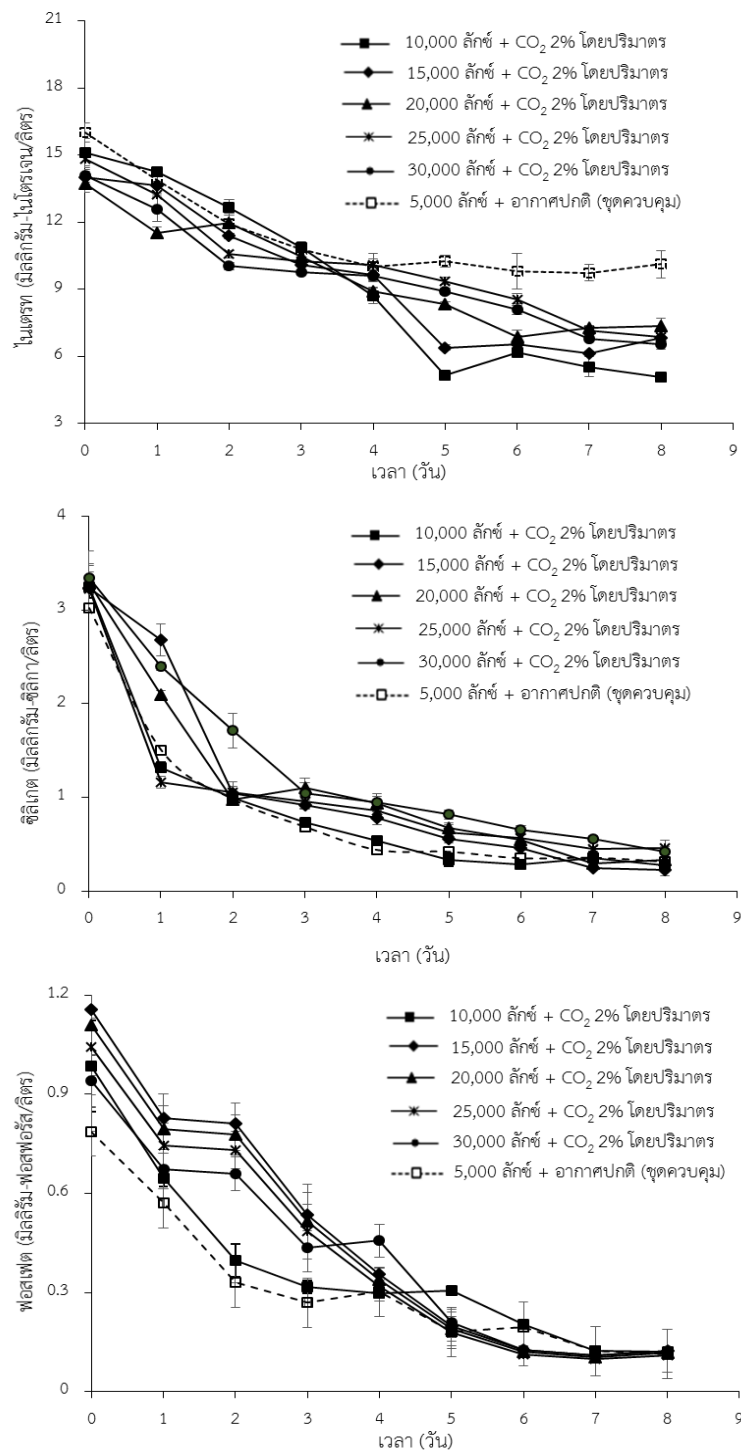
ตารางที่ 4.1 อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณฟูโคแซนทีนในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกันในช่วงทดลอง และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงควบคุม

| สภาวะการเพาะเลี้ยง | อัตราการเติบโตจำเพาะ | ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด |
|--|--|---|
| | สูงสุดในวันที่ 1 - 2 (วัน ⁻¹) | ในวันที่ 5 (× 10 ⁴ เซลล์/มิลลิลิตร) |
| 5,000 ลักซ์ + CO ₂ ในอากาศ | 0.53 ± 0.03 ^a | 23.33 ± 0.44 ^a |
| 10,000 ลักซ์ + CO ₂ 2% โดยปริมาตร | 1.12 ± 0.07 ^b | 70.00 ± 0.98 ^b |
| 15,000 ลักซ์ + CO ₂ 2% โดยปริมาตร | 1.28 ± 0.02 ^c | 115.68 ± 0.68 ^c |
| 20,000 ลักซ์ + CO ₂ 2% โดยปริมาตร | 1.23 ± 0.02 ^d | 100.12 ± 0.26 ^d |
| 25,000 ลักซ์ + CO ₂ 2% โดยปริมาตร | 1.16 ± 0.04 ^e | 90.12 ± 0.27 ^e |
| 30,000 ลักซ์ + CO ₂ 2% โดยปริมาตร | 1.09 ± 0.02 ^f | 85.41 ± 0.63 ^f |

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

| สภาวะการเพาะเลี้ยง | น้ำหนักเซลล์แห้ง | ฟูโคแซนทีน | ฟูโคแซนทีน |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | แห้ง (กรัม/ลิตร) | (มิลลิกรัม/ลิตร) | (มิลลิกรัม/กรัม) |
| 5,000 ลักซ์ + CO ₂ ในอากาศ | 0.32 ± 0.02 ^a | 0.42 ± 0.05 ^a | 1.34 ± 0.05 ^a |
| 10,000 ลักซ์ + CO ₂ 2% โดยปริมาตร | 1.60 ± 0.01 ^b | 1.60 ± 0.02 ^b | 3.48 ± 0.12 ^b |
| 15,000 ลักซ์ + CO ₂ 2% โดยปริมาตร | 0.60 ± 0.02 ^c | 2.30 ± 0.02 ^c | 3.83 ± 0.10 ^c |
| 20,000 ลักซ์ + CO ₂ 2% โดยปริมาตร | 0.53 ± 0.02 ^d | 1.83 ± 0.02 ^d | 3.45 ± 0.08 ^b |
| 25,000 ลักซ์ + CO ₂ 2% โดยปริมาตร | 0.48 ± 0.02 ^e | 1.72 ± 0.02 ^e | 3.58 ± 0.20 ^b |
| 30,000 ลักซ์ + CO ₂ 2% โดยปริมาตร | 0.42 ± 0.03 ^f | 1.35 ± 0.03 ^f | 3.21 ± 0.22 ^c |

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

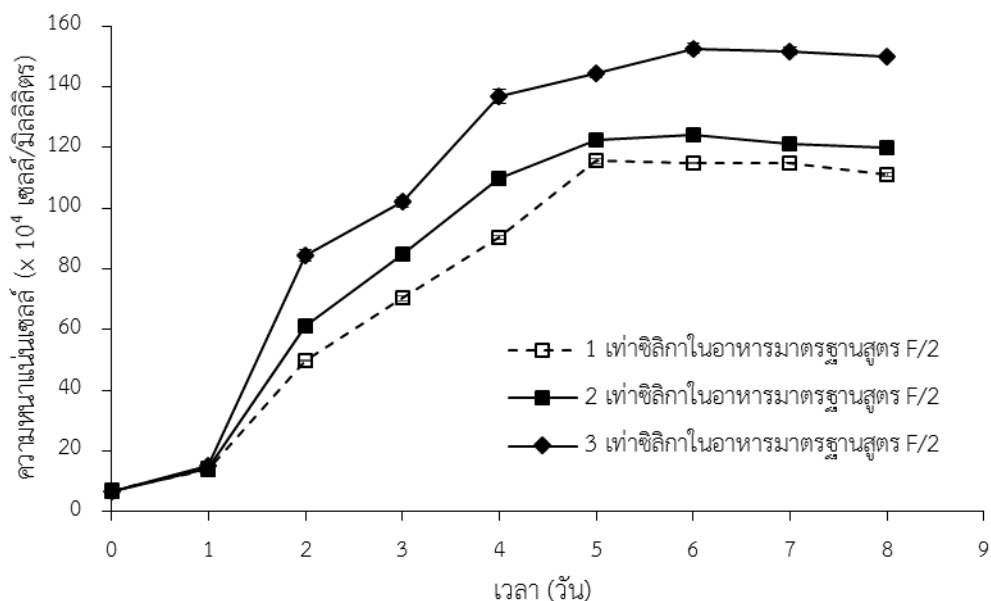


รูปที่ 4.9 ปริมาณไนเตรท ซิติเกต และฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิติกาในรูปแบบสารละลายโซเดียมซิติเกตที่สกัดจากถั่วลันเตา โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกันในชุดทดลอง และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในชุดควบคุม (Error bar = standard deviation)

4.3 ผลของธาตุอาหารซิลิกาและไนโตรเจน

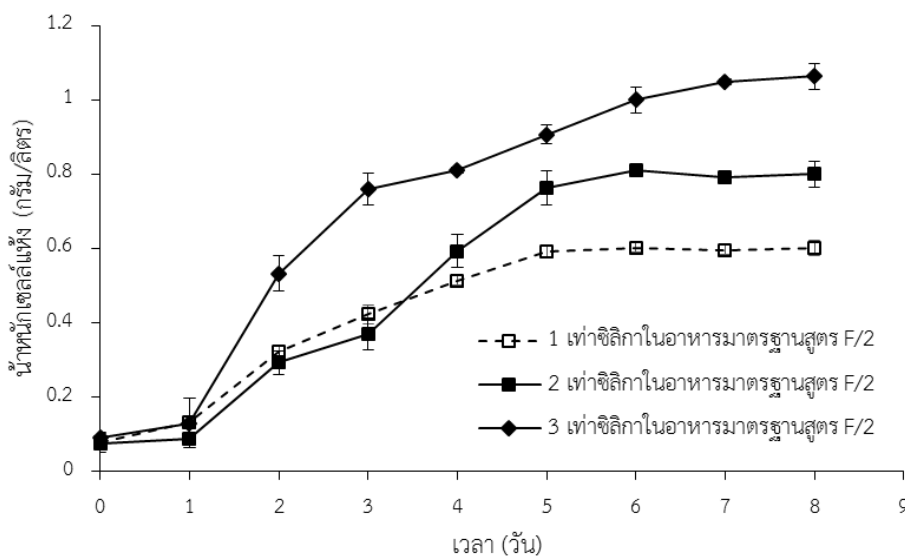
4.3.1 ผลของธาตุอาหารหลักซิลิกา

จากผลการทดลองในหัวข้อที่ 4.2 พบว่าปริมาณอาหารซิลิกามีการลดลงอย่างต่อเนื่องและไม่มีปริมาณเหลือตกค้างในระบบ ขณะที่ธาตุอาหารไนโตรเจนยังคงมีปริมาณตกค้างในระบบเป็นจำนวนมากเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาถึงอิทธิพลของการเพิ่มปริมาณซิลิกาในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักที่องค์ประกอบในการสร้างผนังเซลล์ของไดอะตอม นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยในอดีตรายงานว่า การเพิ่มปริมาณซิลิกาส่งผลทำให้ไดอะตอมมีการเติบโตสูงขึ้น [16, 36] โดยในชุดควบคุมทำการเพาะเลี้ยงโดยไม่มีการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกา ในขณะที่ชุดทดลองทำการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 2 เท่า (6 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร) และ 3 เท่า (9 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร) ของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 การทดลองนี้ได้เลือกใช้ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอยในรูปของสารละลายโซเดียมซิลิเกตในการเตรียมอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากการทดลองในหัวข้อที่ 4.1.3 ที่พบว่าซิลิกาที่สกัดเถ้าลอยมีประสิทธิภาพเทียบเท่าการใช้ซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ซึ่งเป็นสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุด ในหัวข้อที่ 4.2 ที่ทำให้ไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* มีการเติบโตและผลิตสารสีฟิวโคแซนทินสูงสุด จากผลการทดลองพบว่าในระหว่างวันที่ 0 – 1 เซลล์มีความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากอยู่ในระยะการปรับตัว จากนั้นเซลล์จึงเริ่มเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบทวีคูณโดยมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดระหว่างวันที่ 1 – 2 เท่ากับ 1.28 ± 0.02 , 1.45 ± 0.01 และ 1.74 ± 0.05 วัน⁻¹ และเซลล์เข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ในระหว่างวันที่ 5 – 8 โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ $115.68 \pm 0.68 \times 10^4$, $124.33 \pm 0.94 \times 10^4$ และ $152.58 \pm 0.77 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร ในชุดควบคุมและชุดทดลองที่มีการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 2 และ 3 เท่าในอาหารเพาะเลี้ยง ตามลำดับ (รูปที่ 4.10) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาส่งผลให้มีความหนาแน่นเซลล์และอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของเซลล์สูงขึ้นอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 4.10 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้น 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแกลลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน (Error bar = standard deviation)

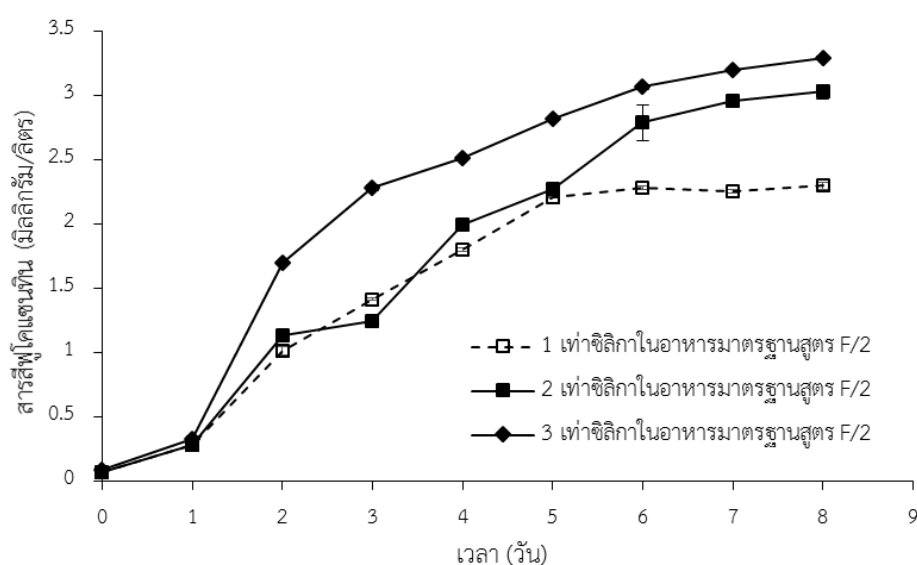
ผลการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งพบว่ามีการทดลองไปในทิศทางเดียวกับกับความหนาแน่นของเซลล์และอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (รูปที่ 4.11) โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงระหว่างวันที่ 0 – 5 ซึ่งเป็นผลมาจากเซลล์อยู่ในระยะการเติบโตแบบทวีคูณทำให้เซลล์มีการเติบโตและความหนาแน่นเซลล์สูงขึ้นส่งผลให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงขึ้นเช่นกัน และในระหว่างวันที่ 6 – 8 พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งเริ่มมีค่าคงที่ เนื่องจากเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 0.80 ± 0.04 , 1.06 ± 0.03 และ 0.60 ± 0.03 กรัม/ลิตร ในชุดควบคุมและชุดทดลองที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 2 และ 3 เท่าในอาหารเพาะเลี้ยง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาส่งผลให้เซลล์มีการเติบโตสูงขึ้นโดยในชุดทดลองที่เพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 3 เท่าในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นปริมาณที่ทำให้เซลล์มีการเติบโตสูงสุด



รูปที่ 4.11 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน (Error bar = standard deviation)

ในส่วนของการวิเคราะห์สารสีฟูโคแซนทินพบว่าในทุกชุดทดลองเซลล์จะมีแนวโน้มการผลิตสารสีฟูโคแซนทินสูงขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง โดยในช่วงในระยะแรกจะมีการผลิตสารสีฟูโคแซนทินไม่สูงมากเนื่องจากเซลล์มีการแบ่งจำนวนเซลล์ในการเติบโต และเมื่อเซลล์มีการเติบโตและมีความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้นในระยะหนึ่งพบว่าเซลล์จะมีการผลิตสารสีฟูโคแซนทินที่สูงขึ้น (รูปที่ 4.12) ซึ่งในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเซลล์มีความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินเท่ากับ 2.30 ± 0.02 3.03 ± 0.06 และ 3.29 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร ในชุดควบคุมและชุดทดลองที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 2 และ 3 เท่าในอาหารเพาะเลี้ยง ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นซิลิกาในอาหารเพาะเลี้ยงส่งผลให้เซลล์มีความเข้มข้นสารสีฟูโคแซนทินสูงขึ้นอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเท่ากับ 3.83 ± 0.10 3.79 ± 0.15 และ 3.10 ± 0.11 มิลลิกรัม/ลิตร ในชุดควบคุมและชุดทดลองที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 2 และ 3 เท่าในอาหารเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 4.2) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าในชุดทดลองที่เพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาในอาหารเพาะเลี้ยงมีปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังนั้นในการทดลองนี้พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้ไดอะตอมมีการเติบโตสูงขึ้นซึ่งส่งผลให้เซลล์มีความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินในระบบการ

เพาะเลี้ยงได้สูงขึ้น ถึงแม้ว่าการสะสมสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งไม่มีการสะสมเพิ่มขึ้นแต่ ความเข้มข้นสารสีฟูโคแซนทินในระบบสูงซึ่ง ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความคล้ายคลึงกับงานวิจัยในอดีตที่รายงานว่า การเพิ่มปริมาณซิลิกาส่งผลให้เซลล์มีการเติบโตสูงขึ้น เนื่องจากซิลิกาเป็นธาตุอาหารหลักสำคัญในการเติบโตและสร้างผนังเซลล์ของไดอะตอม และการเติบโตของเซลล์ที่สูงขึ้นจึงส่งผลให้ ความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินในระบบสูง [36, 37] ดังนั้นชุดทดลองที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 เป็นชุดทดลองที่ดีที่สุดที่ทำให้ ไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* มีการเติบโตและผลิตสารสีฟูโคแซนทินสูงสุด



รูปที่ 4.12 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วย อาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่มีปริมาณ ซิลิกาต่างกัน (Error bar = standard deviation)

ผลการตรวจวัดธาตุอาหารซึ่งประกอบด้วยไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟต พบว่าปริมาณไนเตรทใน ทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงจากประมาณ 15 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร เหลือประมาณ 3 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร ในชุดทดลอง ซึ่งมากกว่าในชุดควบคุมเมื่อสิ้นสุดการทดลองเหลือตกค้างใน ระบบประมาณ 10 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร การลดลงของไนเตรทที่มากกว่าในชุดทดลองเป็นผล จากการการใช้ธาตุอาหารหลักในการเติบโตมากขึ้น ถึงแม้ว่าในชุดทดลองมีปริมาณไนเตรทตกค้างใน ระบบลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่ในชุดทดลองยังคงมีปริมาณไนเตรทตกค้างในระบบ ส่วนความเข้มข้นของซิลิเกตและฟอสเฟตพบว่าในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงไม่มีเหลือตกค้างใน ระบบ (รูปที่ 4.13)

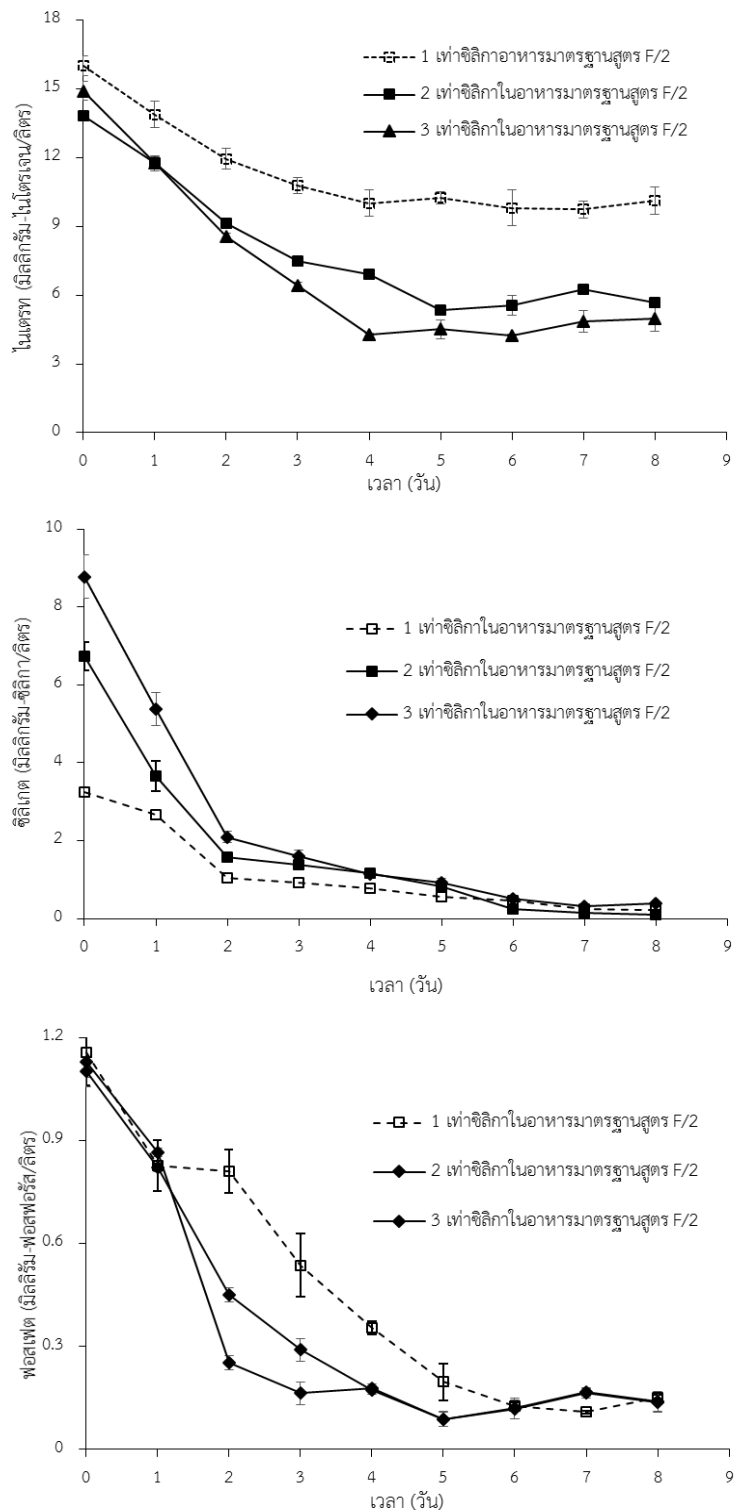
ตารางที่ 4.2 อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณฟูโคแซนทีนในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน

| สภาวะการเพาะเลี้ยง | อัตราการเติบโตจำเพาะ สูงสุดในวันที่ 1 - 2 (วัน ⁻¹) | ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ในวันที่ 5 ($\times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร) |
|--------------------------------|--|--|
| 1 เท่าซิลิกาในอาหารมาตรฐาน F/2 | 1.28 \pm 0.02 ^a | 115.68 \pm 0.68 ^a |
| 2 เท่าซิลิกาในอาหารมาตรฐาน F/2 | 1.45 \pm 0.01 ^b | 124.33 \pm 0.94 ^b |
| 3 เท่าซิลิกาในอาหารมาตรฐาน F/2 | 1.74 \pm 0.05 ^c | 152.58 \pm 0.77 ^c |

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

| สภาวะการเพาะเลี้ยง | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) | ฟูโคแซนทีน (มิลลิกรัม/ลิตร) | ฟูโคแซนทีน (มิลลิกรัม/กรัม) |
|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 เท่าซิลิกาในอาหารมาตรฐาน F/2 | 0.60 \pm 0.02 ^a | 2.30 \pm 0.02 ^a | 3.83 \pm 0.10 ^a |
| 2 เท่าซิลิกาในอาหารมาตรฐาน F/2 | 0.80 \pm 0.04 ^b | 3.03 \pm 0.06 ^b | 3.79 \pm 0.15 ^a |
| 3 เท่าซิลิกาในอาหารมาตรฐาน F/2 | 1.06 \pm 0.03 ^c | 3.29 \pm 0.01 ^c | 3.10 \pm 0.11 ^b |

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 4.13 ปริมาณไนเตรท ซิติเกต และฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิติกาในรูปสารละลายโซเดียมซิติเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิติกาต่างกัน (Error bar = standard deviation)

4.3.2 ผลของธาตุอาหารไนโตรเจน

จากผลการทดลองในหัวข้อที่ 4.3.1 พบว่าธาตุอาหารไนโตรเจนยังคงมีปริมาณตกค้างในระบบเป็นจำนวนมากเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการลดปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนเพื่อไม่ให้เกิดการตกค้างของไนโตรเจนในระบบเป็นจำนวนมากและยังช่วยลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงอีกด้วย รวมถึงศึกษาถึงอิทธิพลของการลดปริมาณไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งมีการวิจัยในอดีตรายงานว่า การลดปริมาณไนโตรเจนทำให้ไดอะตอมมีปริมาณสารสีฟิโคแซนทินต่อหน้าเซลล์แห้งสูงขึ้น [52] โดยในชุดควบคุมทำการเพาะเลี้ยงโดยไม่มีการลดความเข้มข้นของไนโตรเจน (15 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) ในขณะที่ชุดทดลองทำการลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 5% (0.75 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) 20% (3 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) และ 30% (4.5 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 การทดลองนี้ได้ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ และเลือกใช้ซิลิกาที่สกัดจากถ้ำลอยในรูปของสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากการทดลองในหัวข้อที่ 4.2 และ 4.3.1 ซึ่งเป็นสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุด ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าในชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 5% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 เซลล์มีการเติบโตและมีความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้นในระหว่างวันที่ 1 – 2 โดยมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดระหว่างวันที่ 1 – 2 เท่ากับ $0.58 \pm 0.02 \text{ วัน}^{-1}$ และมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 3 เท่ากับ $22.96 \pm 1.00 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร และในวันที่ 3 เซลล์เริ่มมีความหนาแน่นเซลล์ลดลงตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นผลมาจากปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอต่อการเติบโตของเซลล์จึงส่งผลให้เซลล์เกิดการเสื่อมสภาพและเข้าสู่ระยะการตายของเซลล์ ดังนั้นในชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 5% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 จึงไม่สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ได้ ในขณะที่ชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 พบว่าเซลล์อยู่ในระยะการปรับตัวในระหว่างวันที่ 0 – 1 และเริ่มเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบทวีคูณโดยมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดระหว่างวันที่ 2 – 3 เท่ากับ $1.50 \pm 0.08 \text{ วัน}^{-1}$ จากนั้นเซลล์จึงเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ในระหว่างวันที่ 4 – 5 โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ $88.67 \pm 1.16 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร และหลังจากวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงพบว่าเซลล์เริ่มมีจำนวนลดลงและเริ่มเข้าสู่ระยะการตายของเซลล์ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในชุดทดลองนี้ได้รับความหนาแน่นเซลล์น้อยกว่าในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งเป็นผลมาจากการขาดไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยง ในขณะที่ชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 30% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 พบว่าเซลล์มีแนวโน้มการเติบโตเซลล์เช่นเดียวกับใน

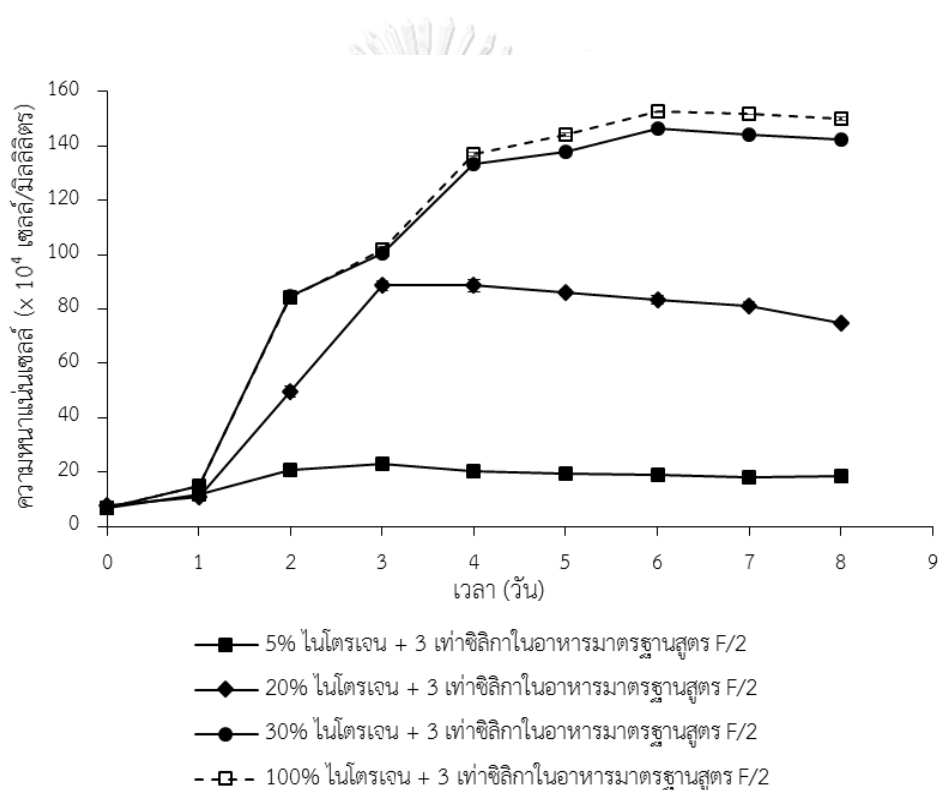
ชุดควบคุมที่ไม่มีการลดความเข้มข้นไนโตรเจน โดยในระหว่างวันที่ 0 – 1 เซลล์อยู่ในระยะการปรับตัว และเริ่มเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบทวีคูณโดยมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดระหว่างวันที่ 1 – 2 เท่ากับ 1.73 ± 0.01 และ 1.74 ± 0.05 วัน⁻¹ ในชุดทดลองและชุดควบคุมที่ไม่มีการลดความเข้มข้นไนโตรเจน ในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และเริ่มเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ในระหว่างวันที่ 5 – 8 โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด เท่ากับ $146.33 \pm 1.25 \times 10^4$ และ $152.58 \pm 0.77 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร ในชุดทดลองและชุดควบคุมที่ไม่มีการลดความเข้มข้นไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (รูปที่ 4.14)

ผลการวิเคราะห์น้ำหนักรวมเซลล์แห้งพบว่าในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเช่นเดียวกับความหนาแน่นเซลล์ โดยชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 5% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 พบว่ามีน้ำหนักรวมเซลล์แห้งในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 0.29 ± 0.02 แสดงให้เห็นว่าน้ำหนักรวมเซลล์แห้งที่ได้รับมีค่าน้อยกว่าในชุดควบคุมที่ไม่มีการลดความเข้มข้นของไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับผลของความหนาแน่นเซลล์ ซึ่งเป็นผลมาจากปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอต่อการเติบโตของเซลล์จึงส่งผลให้เซลล์เกิดการเสื่อมสภาพและเข้าสู่ระยะการตาย ดังนั้นในชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 5% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 จึงไม่สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ได้ ในขณะที่ชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 พบว่าน้ำหนักรวมเซลล์แห้งที่วัดได้มีปริมาณน้อยกว่าในชุดควบคุมที่ไม่มีการลดความเข้มข้นของไนโตรเจน โดยมีน้ำหนักรวมเซลล์แห้งในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 0.57 ± 0.02 กรัม/ลิตร ซึ่งเป็นผลมาจากความหนาแน่นเซลล์ที่ได้รับน้อยกว่าในชุดควบคุมจึงส่งผลให้มีน้ำหนักรวมเซลล์แห้งที่ได้น้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกัน ในขณะที่ชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 30% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 พบว่าน้ำหนักรวมเซลล์แห้งที่ได้รับมีผลการทดลองใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ไม่มีการลดความเข้มข้นของไนโตรเจนซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีน้ำหนักรวมเซลล์แห้งในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 0.95 ± 0.03 และ 1.06 ± 0.03 กรัม/ลิตร ในชุดทดลองและชุดควบคุม (รูปที่ 4.15) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการลดความเข้มข้นของไนโตรเจนทำให้เซลล์มีการเติบโตเซลล์ลดลง เนื่องจากในอาหารเพาะเลี้ยงมีปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอต่อการเติบโต

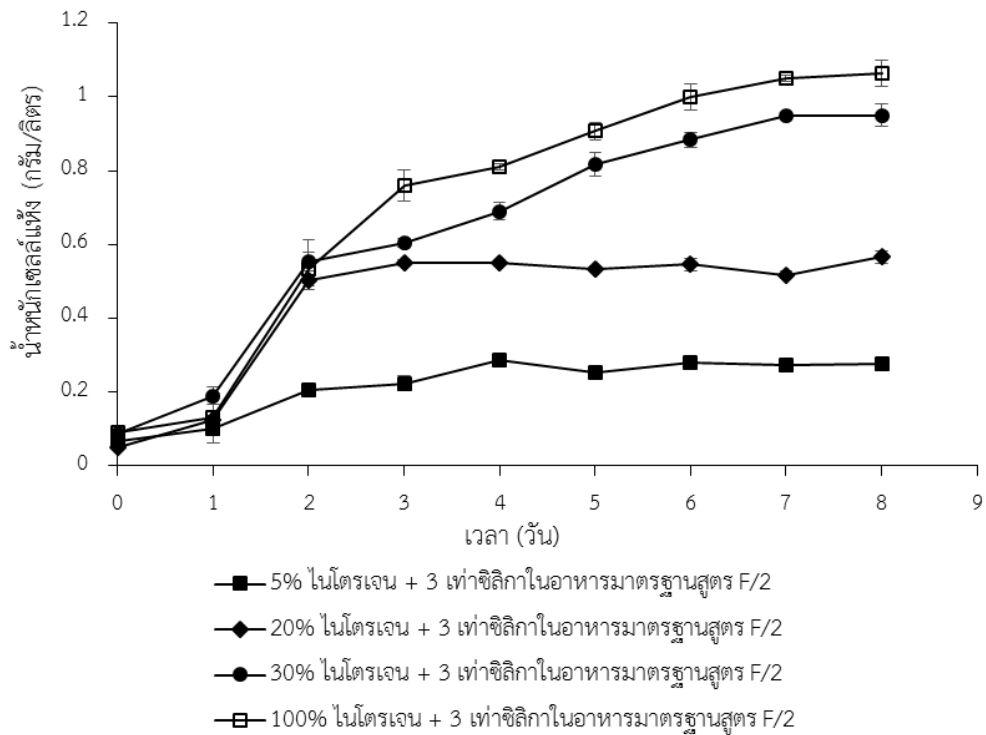
ในส่วนของการวิเคราะห์สารสีฟูโคแซนทินพบว่าในชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 5% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีปริมาณสารสีฟูโคแซนทินเพิ่มขึ้นและมีเริ่มปริมาณคงที่ในวันที่ 4 ตลอดการเพาะเลี้ยง โดยมีปริมาณความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินในวัน

สุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 0.75 ± 0.04 มิลลิกรัม/ลิตร คิดเป็นปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อ น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.57 ± 0.30 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินทั้งในหน่วยความเข้มข้นและปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้รับมีค่าน้อยกว่าในชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นในชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 5% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 จึงไม่สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ได้ เนื่องจากมีปริมาณไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงน้อยเกินไปที่เซลล์จะสามารถเติบโตและผลิตสารสีฟิวโคแซนทินได้ ในขณะที่ชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 พบว่าปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง โดยมีปริมาณความเข้มข้นของสารสีฟิวโคแซนทินในวันสุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 3.00 ± 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร คิดเป็นปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 5.26 ± 0.27 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ส่งผลให้ในระบบมีปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินในหน่วยความเข้มข้นน้อยกว่าในชุดควบคุมที่ไม่มีการลดความเข้มข้นของไนโตรเจน ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องมาจากมีความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักเซลล์แห้งน้อยกว่าจึงทำให้ความเข้มข้นของสารสีฟิวโคแซนทินน้อยลงด้วยเช่นกัน แต่เมื่อพิจารณาปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งพบว่าได้มีการสะสมฟิวโคแซนทินต่อเซลล์สูงขึ้น เนื่องจากเมื่อเซลล์เกิดสภาวะการขาดไนโตรเจนส่งผลให้เซลล์เกิดความเครียดจากการขาดอาหารจึงมีการกระตุ้นการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินเพื่อรับพลังงานมาใช้ในการสังเคราะห์แสงและป้องกันการเกิดออกซิเดชันของออกซิเจนเพื่อรักษาสภาพไม่ให้เซลล์เกิดการเสียหาย [52, 53] ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความคล้ายคลึงกับงานวิจัยในอดีตที่ทำการศึกษาพบว่าในสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ขาดไนโตรเจนไดอะตอมสามารถผลิตสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูงขึ้น [53] อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าไดอะตอมสามารถผลิตสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูงขึ้น แต่ปริมาณความเข้มข้นของสารสีฟิวโคแซนทินสุทธิและน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้รับลดลง ดังนั้นการลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 จึงส่งผลให้ชีวมวลและความเข้มข้นสารสีฟิวโคแซนทินลดลง ในขณะที่ชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 30% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง โดยมีปริมาณความเข้มข้นของสารสีฟิวโคแซนทินในวันสุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 3.18 ± 0.04 มิลลิกรัม/ลิตร คิดเป็นปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.35 ± 0.09 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินทั้งในหน่วยความเข้มข้นที่ได้รับมีค่าใกล้เคียงในชุดทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้รับพบว่ามีความสูงขึ้นจากในชุดทดลอง ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก

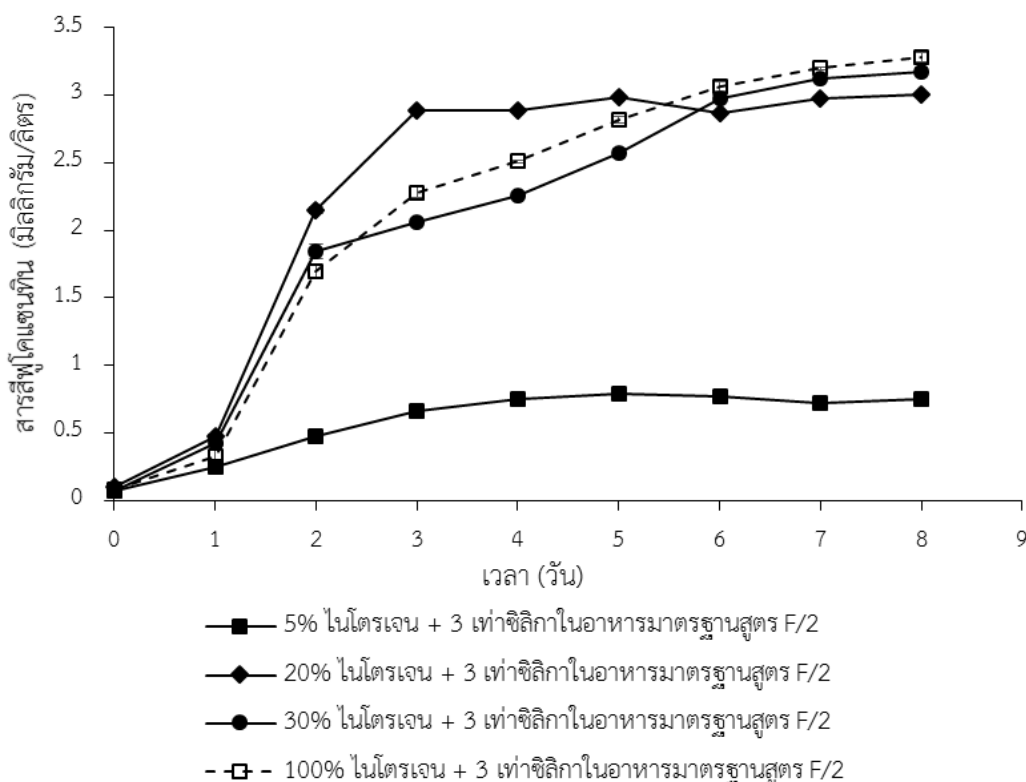
ปริมาณไนโตรเจนเหลือปริมาณน้อยลงจนแทบไม่มีตกค้างในระบบทำให้เซลล์เกิดความเครียดจึงมีการกระตุ้นการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินจึงทำให้เซลล์มีปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งสูงขึ้นได้เช่นกัน ผลการทดลองในส่วนนี้ได้สรุปผลอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณฟิวโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกันในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ดังตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.14 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกันในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (Error bar = standard deviation)



รูปที่ 4.15 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มข้นแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน ในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (Error bar = standard deviation)



รูปที่ 4.16 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทีนในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกันในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (Error bar = standard deviation)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ผลการตรวจวัดธาตุอาหารซึ่งประกอบด้วยไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟต (รูปที่ 4.17) พบว่าธาตุอาหารไนโตรเจนในชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 5% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งมีปริมาณไนเตรทเริ่มต้นประมาณ 0.75 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องและไม่เหลือตกค้างในระบบตั้งแต่ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นผลทำให้เซลล์ไม่สามารถเติบโตและผลิตสารสีฟูโคแซนทีนได้ เนื่องจากปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอในการเพาะเลี้ยงให้เซลล์เติบโตจนเข้าสู่ระยะทวีคูณได้ ในขณะที่ชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งมีปริมาณไนเตรทเริ่มต้นประมาณ 3.00 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องไม่เหลือตกค้างในระบบตั้งแต่ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งจากผลความหนาแน่นและน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่ 4.14 และ 4.15) ชี้ให้เห็นว่า

ปริมาณไนโตรเจนในระบบมีปริมาณเพียงพอที่เซลล์สามารถเติบโตและเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบทวีคูณได้ก่อนที่ปริมาณไนโตรเจนจะหมดในระยะการเติบโตคงที่ ซึ่งส่งผลให้ระยะการเติบโตคงที่เกิดสภาวะขาดไนโตรเจนส่งผลให้เซลล์มีความเครียดจึงเกิดการสะสมสารสีฟิวโคแซนทินต่อเซลล์สูงขึ้นเพื่อรับพลังงานมาใช้ในการสังเคราะห์แสงเพื่อไม่ให้เซลล์เกิดการเสียสภาพ [52] ส่วนในชุดทดลองที่ลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 30% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งมีปริมาณไนเตรทเริ่มต้นประมาณ 4.5 มิลลิกรัม/ลิตร มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง และความเข้มข้นของไนเตรทในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเหลือตกค้างในระบบประมาณ 0.80 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในระบบมีปริมาณไนโตรเจนเพียงพอในอาหารเพาะเลี้ยงตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง จึงส่งผลให้เซลล์มีการเติบโตและผลิตสารสีฟิวโคแซนทินได้เช่นเดียวกับชุดควบคุมที่ไม่มีการลดความเข้มข้นของไนโตรเจน ในส่วนของธาตุอาหารหลักซิลิกาและฟอสฟอรัสพบว่าในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องและไม่เหลือตกค้างในระบบ ถึงแม้ว่าในการทดลองจะมีการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐาน F/2 เนื่องจากธาตุอาหารซิลิกาเป็นธาตุอาหารสำคัญที่ใช้ในการสร้างเปลือกของไดอะตอม ส่วนธาตุอาหารหลักฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารสำคัญที่ใช้ในกระบวนการถ่ายทอดพลังงานและสร้างกรดนิวคลีอิก ซึ่งมีผลต่อการเติบโตและการสะสมโปรตีนของไดอะตอม จึงทำให้ไม่มีปริมาณธาตุอาหารซิลิกาและฟอสฟอรัสเหลือตกค้างในระบบ

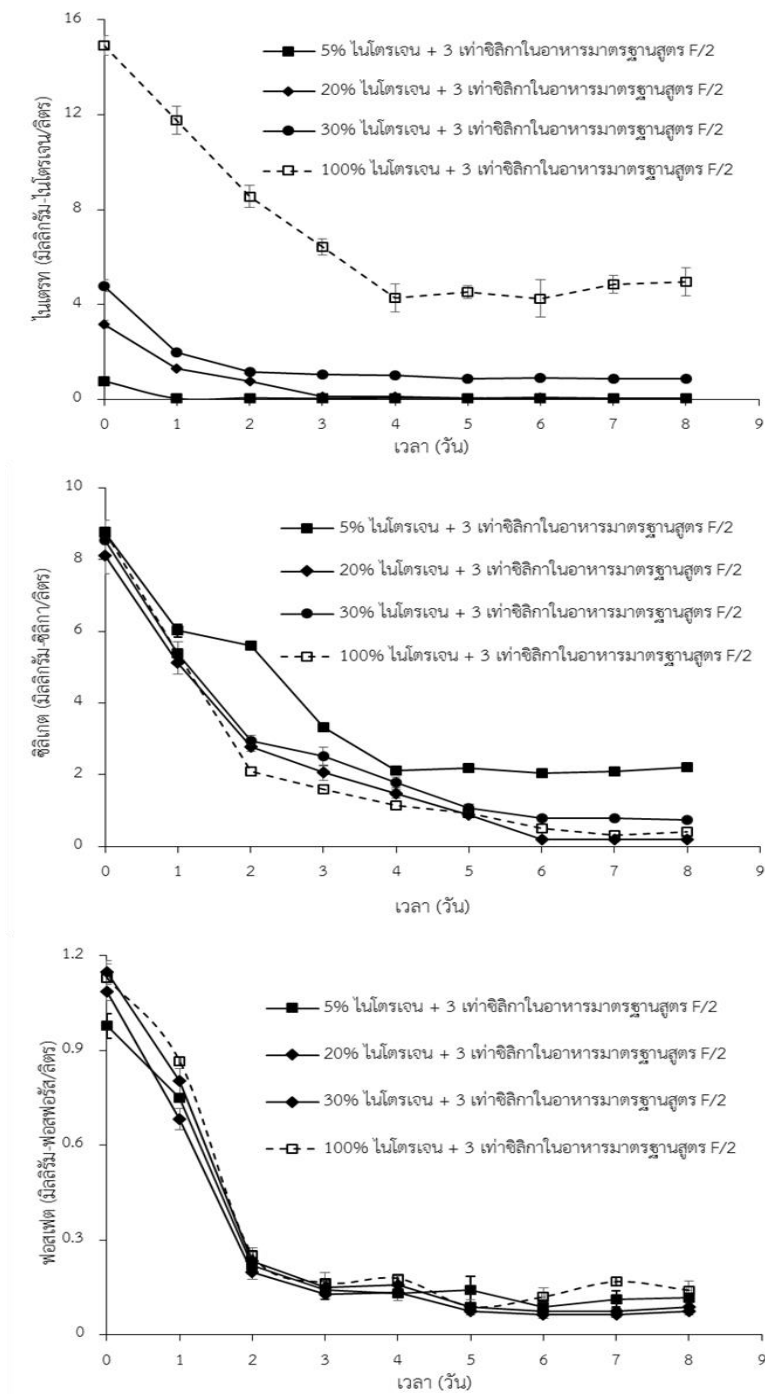
ตารางที่ 4.3 อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกันในอาหารมาตรฐานสูตร F/2

| สภาวะการเพาะเลี้ยง | อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดในวันที่ 1 - 2 (วัน ⁻¹) | ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 5 ($\times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร) |
|--|---|---|
| 5% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกา ในอาหารมาตรฐาน F/2 | 0.58 ± 0.02^a | 22.96 ± 1.00^a |
| 20% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกา ในอาหารมาตรฐาน F/2 | 1.50 ± 0.08^b | 88.67 ± 1.16^b |
| 30% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกา ในอาหารมาตรฐาน F/2 | 1.73 ± 0.01^c | 146.33 ± 1.25^c |
| 100% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกา ในอาหารมาตรฐาน F/2 | 1.74 ± 0.05 | 152.58 ± 0.77^c |

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

| สภาวะการเพาะเลี้ยง | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) | ฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | ฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/กรัม) |
|--|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 5% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกาใน อาหารมาตรฐาน F/2 | 0.28 ± 0.02^a | 0.75 ± 0.02^a | 2.73 ± 0.30^a |
| 20% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกาใน อาหารมาตรฐาน F/2 | 0.57 ± 0.02^b | 3.00 ± 0.05^b | 5.26 ± 0.27^b |
| 30% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกาใน อาหารมาตรฐาน F/2 | 0.95 ± 0.03^c | 3.18 ± 0.03^c | 3.35 ± 0.09^c |
| 100% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกาใน อาหารมาตรฐาน F/2 | 1.06 ± 0.03^c | 3.29 ± 0.01^c | 3.10 ± 0.11^d |

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

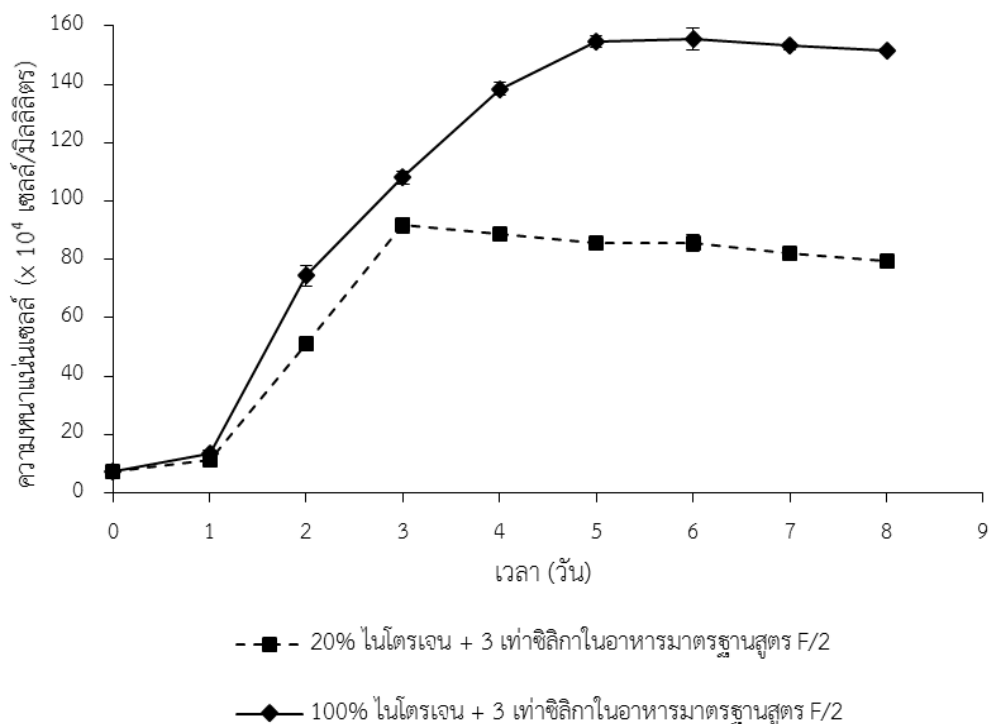


รูปที่ 4.17 ปริมาณไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีปริมาณไนโตรเจนต่างกันในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (Error bar = standard deviation)

4.4 ผลของรูปแบบการให้แสงในช่วงระยะเวลาการเติบโตคงที่

การทดลองนี้เป็นการศึกษาเพิ่มเติมถึงกลยุทธ์ในรูปแบบการให้แสง เนื่องจากมีรายงานในอดีตกล่าวว่า การปิดแสงตั้งแต่ในช่วงระยะเวลาการเติบโตแบบทวีคูณสามารถเพิ่มการสะสมสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ใน จุลสาหร่ายได้ [30] ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยใช้ซิลิกาที่สกัดจากถ้ำลอยในรูปของสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากผลการทดลองในหัวข้อที่ 4.3.1 โดยใน ชุดทดลองที่ 1 การลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และ ชุดทดลองที่ 2 ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ในทุกชุดทดลองทำการ เพาะเลี้ยงโดยใช้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ เป็นระยะเวลา 5 วัน จากนั้นจึงทำการปิดแสงตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงสิ้นสุดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ผลการทดลองพบว่าในช่วงที่มีการให้แสงตลอดเวลาเป็นระยะเวลา 5 วัน เซลล์มีความหนาแน่นเซลล์ เพิ่มขึ้นโดยมีความหนาแน่นเซลล์ในวันที่ 5 ก่อนทำการปิดแสงเท่ากับ $85.47 \pm 1.74 \times 10^4$ และ $154.50 \pm 1.92 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร ในชุดทดลองที่ 1 และชุดทดลองที่ 2 ตามลำดับ เมื่อพิจารณา ความหนาแน่นเซลล์หลังจากทำการปิดแสงพบว่าเซลล์มีแนวโน้มการเติบโตคงที่ เนื่องจากเซลล์เข้าสู่ ระยะเวลาเติบโตคงที่ที่ทำให้เซลล์ไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น โดยในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงมี ความหนาแน่นเซลล์เท่ากับ $79.48 \pm 1.65 \times 10^4$ และ $151.50 \pm 0.82 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร ในชุด ทดลองที่ 1 และชุดทดลองที่ 2 ตามลำดับ (รูปที่ 4.18) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความ หนาแน่นเซลล์เมื่อทำการปิดแสงมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ($p > 0.05$) เนื่องจากเซลล์ยังอยู่ในช่วงระยะเวลาเติบโตคงที่

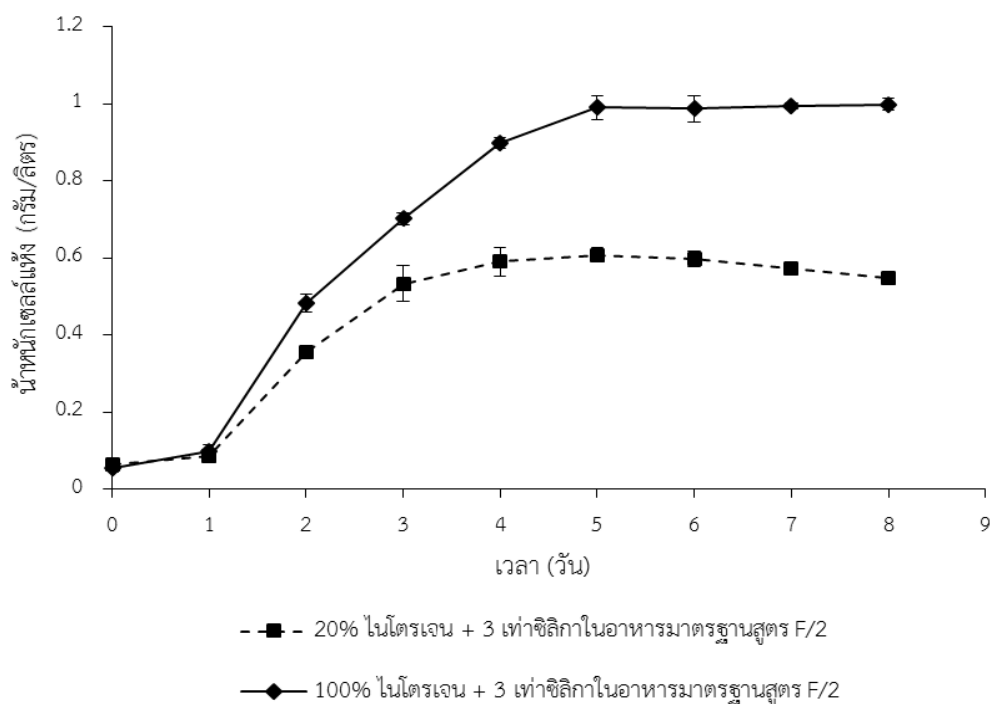
ผลการวิเคราะห์น้ำหนักรวมเซลล์แห้งพบว่าเซลล์มีน้ำหนักรวมเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่ ทำการให้แสงตลอดเวลา โดยมีน้ำหนักรวมเซลล์แห้งในวันที่ 5 ก่อนทำการปิดแสงเท่ากับ 0.61 ± 0.02 และ 0.99 ± 0.03 กรัม/ลิตร ในชุดทดลองที่ 1 และชุดทดลองที่ 2 ตามลำดับ ในขณะที่เซลล์เริ่มมี น้ำหนักรวมเซลล์แห้งเริ่มคงที่หลังทำการปิดแสง เนื่องจากเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะเวลาเติบโตที่ โดยมีน้ำหนักรวม เซลล์แห้งในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงที่ทำการปิดแสงเท่ากับ 0.55 ± 0.02 และ 1.00 ± 0.02 กรัม/ลิตร ในชุดทดลองที่ 1 และชุดทดลองที่ 2 ตามลำดับ (รูปที่ 4.19) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการปิดแสงในช่วงที่เซลล์มีระยะเวลาเติบโตคงที่ไม่ส่งผลให้เซลล์มีการเติบโตเพิ่มขึ้น น้ำหนัก เซลล์แห้งที่ได้รับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในช่วงที่ทำการให้แสง ตลอดเวลาและช่วงที่ทำการปิดแสงเช่นเดียวกันกับผลของความหนาแน่นเซลล์



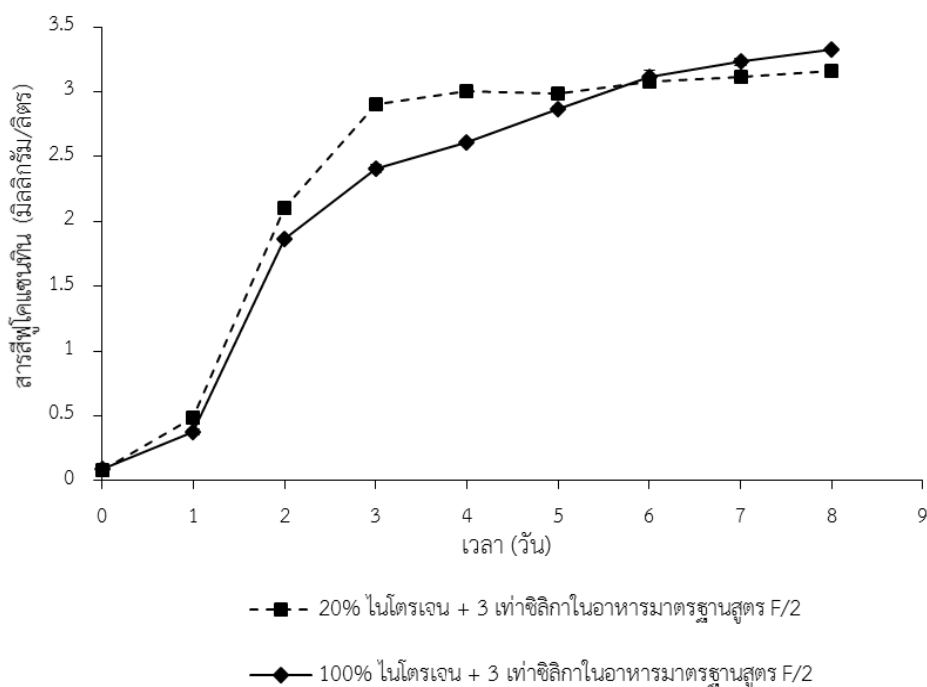
รูปที่ 4.18 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนและลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 - 5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8 (Error bar = standard deviation)

ในส่วนของการวิเคราะห์สารสีฟูโคแซนทินพบว่าปริมาณสารสีฟูโคแซนทินสูงขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง โดยมีความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินในวันที่ 5 ก่อนทำการปิดแสงเท่ากับ 2.98 ± 0.02 และ 3.03 ± 0.03 มิลลิกรัม/ลิตร (รูปที่ 4.20) และมีปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.91 ± 0.03 และ 3.06 ± 0.06 มิลลิกรัม/ลิตร ในชุดทดลองที่ 1 และชุดทดลองที่ 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) และเมื่อทำการปิดแสงพบว่าปริมาณสารสีฟูโคแซนทินสูงขึ้นทั้งในหน่วยความเข้มข้นและปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งก่อนทำการปิดแสง โดยมีความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงที่ทำการปิดแสงเท่ากับ 3.16 ± 0.03 และ 3.39 ± 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร (รูปที่ 4.20) และมีปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 5.75 ± 0.30 และ 3.40 ± 0.07 มิลลิกรัม/กรัม ในชุดทดลองที่ 1 และชุดทดลองที่ 2 ตามลำดับ

(ตารางที่ 4.4) ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการปิดแสงในระยะการเติบโตคงที่ส่งผลให้เซลล์มีปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินสูงขึ้น เนื่องจากเซลล์มีการสะสมสารสีฟิวโคแซนทินต่อเซลล์เองสูงขึ้นในทุกชุดการทดลอง เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบในชุดทดลองที่ 1 และ 2 พบว่า ในชุดทดลองที่ 1 ที่ทำการลดลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่าชุดทดลองที่ 2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจน เนื่องจากในชุดทดลองที่ 1 เซลล์มีสถานะการขาดไนโตรเจนส่งผลให้เซลล์เกิดความเครียดจึงทำให้เซลล์มีการสะสมสีฟิวโคแซนทินในตัวเซลล์เองสูงขึ้น แต่การขาดไนโตรเจนยังส่งผลให้เซลล์มีความเข้มข้นของสารสีฟิวโคแซนทินสุทธิในระบบลดลง เนื่องจากเซลล์มีการเติบโตลดลงทำให้เซลล์ได้รับความหนาแน่น น้ำหนักเซลล์แห้งลดลงจึงส่งผลให้ความเข้มข้นของสารสีฟิวโคแซนทินลดลงด้วยเช่นกัน



รูปที่ 4.19 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนและลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 - 5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8 (Error bar = standard deviation)



รูปที่ 4.20 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทีนในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนและลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 - 5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8 (Error bar = standard deviation)

ตารางที่ 4.4 อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนและลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 -5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8

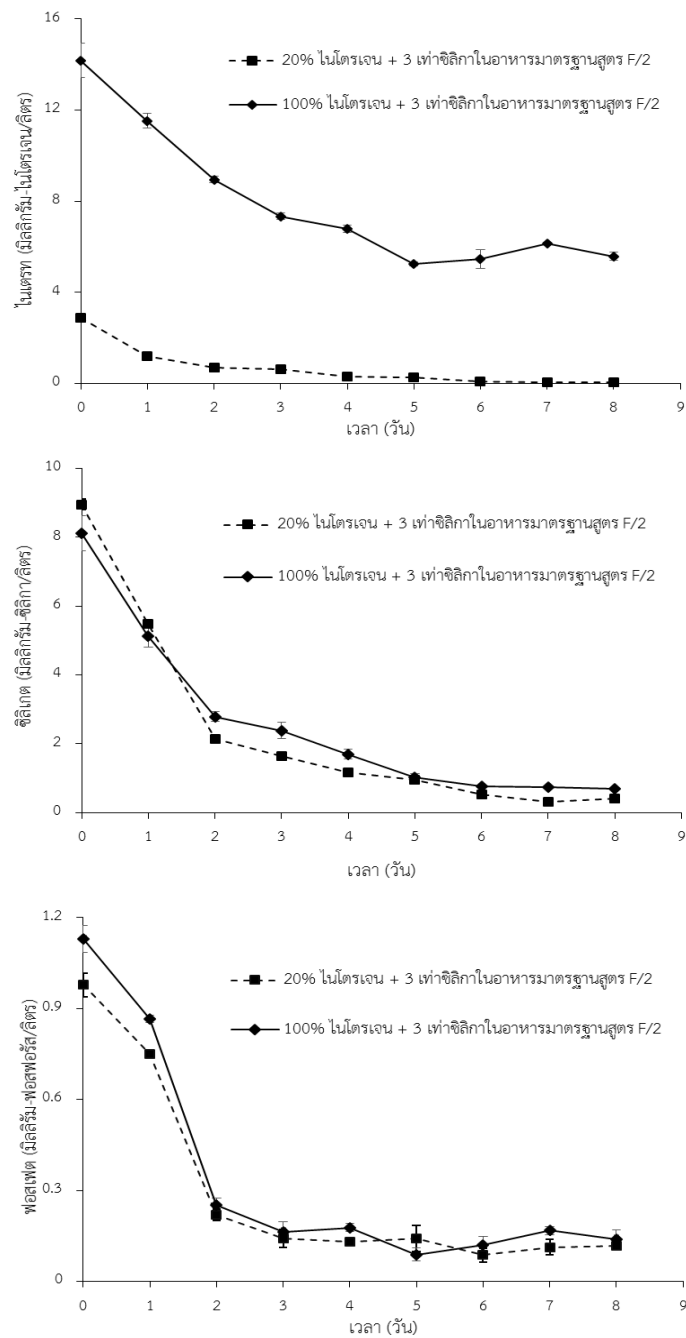
| สภาวะการเพาะเลี้ยง | | ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) |
|---------------------------------|------------------------------|--|---------------------------------|
| 20% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกา | 15,000 ลักซ์ ตลอดเวลา | 85.47 ± 1.74^a | 0.61 ± 0.19^a |
| | ปิดแสง | 79.48 ± 1.65^a | 0.55 ± 0.16^a |
| 100% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกา | แสง 15,000 ลักซ์ ตลอดเวลา | 154.54 ± 1.92^b | 0.99 ± 0.03^b |
| | ทำการปิดแสง | 150.50 ± 0.82^b | 1.00 ± 0.02^b |

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

| สภาวะการเพาะเลี้ยง | | ฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | ฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/กรัม) |
|---------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 20% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกา | แสง 15,000 ลักซ์ ตลอดเวลา | 2.98 ± 0.02^a | 4.91 ± 0.13^a |
| | ทำการปิดแสง | 3.16 ± 0.03^b | 5.75 ± 0.20^b |
| 100% ไนโตรเจน + 3 เท่าซิลิกา | แสง 15,000 ลักซ์ ตลอดเวลา | 3.03 ± 0.03^c | 3.06 ± 0.06^c |
| | ทำการปิดแสง | 3.39 ± 0.02^d | 3.40 ± 0.07^d |

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

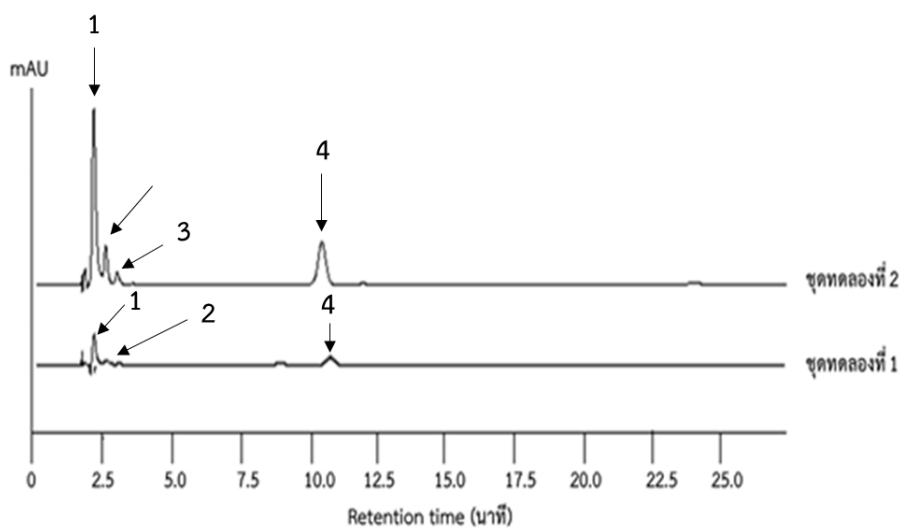
ผลการตรวจวัดธาตุอาหารหลัก (รูปที่ 4.21) พบว่าธาตุอาหารหลักไนโตรเจนในชุดทดลองที่ 1 ที่ทำการลดความเข้มข้นไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งมีปริมาณไนเตรทเริ่มต้นประมาณ 3.00 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องไม่เหลือตกค้างในระบบตั้งแต่ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งจากผลความหนาแน่นและน้ำหนักเซลล์แห้ง แสดงให้เห็นให้เห็นว่าปริมาณไนโตรเจนในระบบมีปริมาณเพียงพอที่เซลล์สามารถเติบโตและเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบทวีคูณก่อนที่ปริมาณไนโตรเจนจะหมดในระยะการเติบโตคงที่ ในขณะที่ชุดทดลองที่ 2 ที่ไม่มีการลดความเข้มข้นไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 พบว่ามีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องเช่นกัน โดยมีปริมาณไนเตรทเริ่มต้นประมาณ 15 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร และความเข้มข้นของไนเตรทในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเหลือตกค้างในระบบประมาณ 5.57 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของไนเตรทในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงยังคงมีปริมาณตกค้างในระบบเป็นจำนวนมาก ในส่วนของธาตุอาหารหลักซิลิกาพบว่าในทุกชุดการทดลองมีปริมาณซิลิกาเริ่มต้นประมาณ 9 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องและไม่เหลือตกค้างในระบบ ถึงแม้ว่าในการทดลองจะมีการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐาน F/2 เนื่องจากธาตุอาหารหลักซิลิกาเป็นธาตุอาหารสำคัญที่ใช้ในการสร้างเปลือกของไดอะตอม ในส่วนของธาตุอาหารหลักฟอสฟอรัสพบว่าในทุกชุดการทดลองมีปริมาณฟอสเฟตเริ่มต้นประมาณ 1.20 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องและไม่เหลือตกค้างในระบบ เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารสำคัญที่ใช้ในกระบวนการถ่ายทอดพลังงานและสร้างกรดนิวคลีอิก ซึ่งมีผลต่อการเติบโตและการสะสมโปรตีนของไดอะตอม



รูปที่ 4.21 ปริมาณไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอส โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายไซเตียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย ที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ไม่มีการลดปริมาณไนโตรเจนและลดปริมาณไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 -5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8 (Error bar = standard deviation)

4.5 ผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC

การทดลองนี้เป็นส่วนของการวิเคราะห์ผลเพื่อจำแนกชนิดและปริมาณของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC (Shimadzu Model SPD-M20A) ซึ่งประกอบด้วย C18 คอลัมน์ และ Photo-Diode Array Detector; ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ซึ่งเป็นสารละลายผสมระหว่างน้ำกลั่น เมทานอล อะซิโตน ไนโตรเจน และไดคลอโรมีเทน อัตราส่วน 1:10:79:10 ตามลำดับ ที่อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตร/นาที และตรวจวัดสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร โดยทำการฉีดตัวอย่างไดอะตอมที่ทำการเพาะเลี้ยงในน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยเลือกใช้ซิลิกาที่สกัดจากถั่วลันเตาในรูปของสารละลายโซเดียมซิลิเกตในการเตรียมอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่เพาะเลี้ยงโดยใช้อากาศซึ่งมีคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 0.04% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ (ชุดทดลองที่ 1) และไดอะตอมที่เพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยซิลิกาที่สกัดจากถั่วลันเตาในรูปของสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐาน F/2 (ชุดทดลองที่ 2) ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องมาจากการทดลองในหัวข้อที่ 4.3 ที่พบว่าสภาวะดังกล่าวเป็นสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุดที่ทำให้ไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* มีการผลิตสารสีฟูโคแซนทินสูงสุด ผลทดลองพบว่าในชุดทดลองที่ 1 สามารถจำแนกชนิดของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ได้ทั้งหมด 2 ชนิด คือสารสีฟูโคแซนทิน (Fucoxanthin) และสารสีไดอะไดโนแซนทิน (Diadinoxanthin) ในขณะที่ชุดทดลองที่ 2 สามารถจำแนกชนิดได้ทั้งหมด 3 ชนิด คือสารสีฟูโคแซนทิน (Fucoxanthin) สารสีไดอะไดโนแซนทิน (Diadinoxanthin) และสารสีไดอะโตแซนทิน (Diatoxanthin) ดังรูปที่ 4.22 โดยสเปกตรัมของสารสีที่พบแสดงในภาคผนวก ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในเซลล์มีปริมาณสารสีฟูโคแซนทินสูงสุดในสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ ซึ่งคิดเป็นสารสีฟูโคแซนทินเท่ากับ 79.63% และ 66.24% ของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในชุดทดลองที่ 1 และชุดทดลองที่ 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) และเมื่อทำการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้กราฟพบว่าในชุดทดลองที่ 2 มีพื้นที่ใต้กราฟสูงกว่าชุดทดลองที่ 1 เมื่อนำพื้นที่ใต้กราฟมาคำนวณหาความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอมพบว่า มีความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินเท่ากับ 0.37 และ 3.39 มิลลิกรัม/ลิตร ในชุดทดลองที่ 1 และชุดทดลองที่ 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าชุดทดลองที่ 1 มีความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินสูงกว่าชุดทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงไดอะตอมภายใต้สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงและความเข้มแสงที่สูงขึ้น และการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารหลักซิลิกาในการเพาะเลี้ยงส่งผลให้ไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* มีการผลิตสารสีฟูโคแซนทินที่สูงขึ้นอย่างมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 4.22 โครมาโตแกรมของสารสีในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* (1) สารสีฟูโคแซนทิน (2) สารสีแดงไดโนแซนทิน (3) สารสีแดงแซนทิน (4) สารสีคลอโรฟิลล์-เอ

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer*

| ชุดทดลองที่ | สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ | พื้นที่ใต้กราฟที่มีการปรับค่าแฟกเตอร์ | % ของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ทั้งหมด |
|-------------|---------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| 1 | สารสีฟูโคแซนทิน | 87,615 | 79.62 |
| | สารสีแดงไดโนแซนทิน | 11,990 | 10.90 |
| | อื่นๆ | 10,438 | 9.49 |
| 2 | สารสีฟูโคแซนทิน | 619,006 | 66.24 |
| | สารสีแดงไดโนแซนทิน | 173,312 | 18.55 |
| | สารสีแดงแซนทิน | 67,146 | 7.19 |
| | อื่นๆ | 74,983 | 8.02 |

ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer*

| ชุดทดลองที่ | พื้นที่ใต้กราฟที่มีการปรับค่าแฟกเตอร์ | สารสีฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร) |
|-------------|---------------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 87,615 | 0.37 |
| 2 | 619,006 | 3.39 |

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการศึกษาความเป็นไปได้ของการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* โดยใช้ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอยจากระบวนการผลิตไฟฟ้า และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอย โดยสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. ผลการทดสอบการละลายของผงซิลิกาในชุดทดลองที่ไม่มีการปั่นกวนและชุดทดลองที่ทำการปั่นกวนสารที่ความเร็วรอบ 2,400 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วัน พบว่าผงซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอยมีสมบัติไม่ละลายน้ำและไม่สามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอมได้

2. ผลการทดสอบสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย โดยทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ในน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้อากาศซึ่งมีคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 0.04% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ผลการทดลองพบว่าซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดได้จากเถ้าลอยมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเซลล์ได้ไม่แตกต่างจากการใช้ซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 6 เท่ากับ $23.33 \pm 0.44 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร และมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดในช่วงวันที่ 2 - 3 เท่ากับ 0.53 ± 0.03 วัน⁻¹ มีน้ำหนักเซลล์แห้ง ความเข้มข้นของสารสีฟิวโคแซนทิน และปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.32 ± 0.02 กรัม/ลิตร 0.43 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร และ 1.34 ± 0.05 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ

3. ผลการศึกษาอิทธิพลของความเข้มแสงพบว่าการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* โดยใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอยในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ เป็นสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุดที่ทำให้ไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* มีการเติบโตและผลิตสารสีฟิวโคแซนทินสูงสุด โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 5 เท่ากับ $115.68 \pm 0.68 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร และมีอัตราการ

เติบโตจำเพาะสูงสุดในช่วงวันที่ 1 – 2 เท่ากับ 1.28 ± 0.02 วัน⁻¹ มีน้ำหนักเซลล์แห้ง ความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทิน และปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.60 ± 0.02 กรัม/ลิตร 2.30 ± 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร และ 3.83 ± 0.10 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ

4. ผลการศึกษาอิทธิพลของธาตุอาหารซิลิกา ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดได้จากเกลือลอยพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (9 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร) ส่งผลให้ไดอะตอมมีการเติบโตและผลิตสารสีฟูโคแซนทินสูงสุด โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 5 เท่ากับ $152.58 \pm 0.77 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร และมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดในช่วงวันที่ 1 – 2 เท่ากับ 1.74 ± 0.05 วัน⁻¹ มีน้ำหนักเซลล์แห้ง ความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทิน และปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.06 ± 0.03 กรัม/ลิตร 3.29 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร และ 3.10 ± 0.11 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ

5. ผลการศึกษาอิทธิพลของธาตุอาหารไนโตรเจน ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ภายใต้ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเกลือลอยที่ทำการเพิ่มความเข้มข้นของซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 พบว่าการลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 5% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (0.75 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) ไม่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงไดอะตอมได้ เนื่องจากมีไนโตรเจนไม่เพียงพอในการเติบโต ในขณะที่การลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 20% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (3 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) สามารถนำมาเพาะเลี้ยงไดอะตอมได้ ซึ่งเซลล์มีความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักเซลล์แห้งลดลง เนื่องจากเกิดสภาวะการขาดไนโตรเจนทำให้เซลล์ไม่มีการเติบโตจึงส่งผลให้ความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินลดลง แต่เซลล์มีการสะสมสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูงขึ้น เนื่องจากสภาวะการขาดไนโตรเจนส่งผลให้เซลล์เกิดความเครียดจึงมีการกระตุ้นการผลิตสารสีฟูโคแซนทินเพื่อรับพลังงานมาใช้ในการสังเคราะห์แสงไม่ให้เซลล์เกิดการเสียสภาพ จึงทำให้เซลล์มีการสะสมสารสีฟูโคแซนทินต่อเซลล์สูงขึ้น ส่วนการลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 30% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (4.5 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) สามารถนำมา

เพาะเลี้ยงไดอะตอมได้เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงที่ในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

6. เมื่อทำการศึกษาผลของการปิดแสงในช่วงระยะเวลาการเติบโตคงที่ โดยทำการให้แสงที่ 15,000 ลักซ์ ตลอดเวลา เป็นระยะเวลา 5 วัน หลังจากนั้นจึงทำการปิดแสง ผลการทดลองพบว่าในช่วงที่มีการปิดแสงเซลล์มีความหนาแน่นเซลล์และน้ำนักเซลล์แห้งคงที่มีปริมาณใกล้เคียงกับผลของการให้แสง ตลอดเวลา ก่อนทำการปิดแสง แต่เซลล์มีปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในหน่วยความเข้มข้นและปริมาณ สารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งสูงขึ้น

7. ผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC พบว่าสามารถจำแนกสารกลุ่มแคโรทีนอยด์หลักในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ได้ทั้งหมด 3 ชนิด คือสารสีฟูโคแซนทิน สารสีไดอะไดโนแซนทิน และสารสีไดอะโตแซนทิน โดยมีสารสีฟูโคแซนทินเป็นรงควัตถุหลักมีประมาณ 60% – 80% ของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบคลอโรฟิลล์-เอ ซึ่งเป็นรงควัตถุหลักในการสังเคราะห์แสงอีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. สำหรับการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ 2% โดยปริมาตร ที่ได้จากการผสมคาร์บอนไดออกไซด์บริสุทธิ์กับอากาศต้องมีการทำระบบให้มีความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์คงที่ ก่อนทำการเพาะเลี้ยง เนื่องจากถ้าระบบยังไม่สมดุลอาจทำให้ได้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ไม่ตรงความต้องการ

2. จากการสังเกตพบว่าเมื่อเซลล์มีการเติบโตและมีความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้นจะมีการเกาะติดตามขอบถังปฏิกรณ์และอาจเกิดการบดบังแสงกันเอง ดังนั้นควรพิจารณาอัตราการปั่นกววนที่เหมาะสมเพื่อลดการเกาะติดตามขอบถังปฏิกรณ์

3. จากผลการทดลองที่ได้รับสามารถนำไปต่อยอดในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม ซึ่งใช้งานในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงหลายรูปแบบทั้งแบบกึ่งกะ หรือแบบกึ่งต่อเนื่อง หรือแบบต่อเนื่องเพื่อเพิ่มผลผลิตชีวมวลและสารสีฟูโคแซนทินให้มีปริมาณสูงขึ้น

รายการอ้างอิง

- [1] Ganesan, K., Rajagopal, K. and Thangavel K., Evaluation of bagasse ash as supplementary cementitious material. *Cement and Concrete Composites*, 2007, 29 (6), 515-524.
- [2] Julphunthong, P. Assessment of the properties of waste biomass ash for the pozzolanic materials application. Naresuan University, Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Naresuan University, 2014.
- [3] Fauzi, A.; Nuruddin, M. F.; Malkawi, A. B. and Abdullah, M., Study of fly ash characterization as a cementitious material. *Procedia Engineering*, 2016, 148, 487-493.
- [4] Ruangtaweep, Y.; Kaewkhao, J.; Kedkaew, C. and Limsuwan, P., Investigation of biomass fly ash in thailand for recycle to glass production. *Procedia Engineering*, 2011, 8, 58-61.
- [5] Trainor, F. R., *Introductory Phycology*. John Wiley & Sons: New York, 1978.
- [6] Lee, R. E., *Phycology*. Cambridge University Press: Cambridge, 1999.
- [7] Tapaneeyaworawong, P.; Sermmai, F.; Pantong, P.; utako, M.; Gunbua, V. and Powtongsook, S., Isolation of large diatom from shrimp farm reservoir and cultivation under batch and continuous modes. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 2016, 44, 177-183.
- [8] Kang, S. M.; Ryou, M. H.; Choi, J. W. and Lee, H., Mussel and diatom-inspired silica coating on separators yields improved power and safety in Li-Ion Batteries. *Chemistry of Materials*, 2012, 24 (17), 3481-3485.
- [9] Dolatabadi, J. E. and De La Guardia, M., Applications of diatoms and silica nanotechnology in biosensing, drug and gene delivery, and formation of complex metal nanostructures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2011, 30 (9), 1538-1548.
- [10] Chen, G. Q.; Jiang, Y. and Chen, F., Variation of lipid class composition in *Nitzschia laevis* as a response to growth temperature change. *Food Chem*, 2008, 109 (1), 88-94.
- [11] Chen, G.Q.; Jiang, Y. and Chen, F., Fatty acid and lipid class composition of the eicosapentaenoic acid-producing microalga, *Nitzschia laevis*. *Food Chemistry*, 2007, 104 (4), 1580-1585.

- [12] Chen, Y.C., The biomass and total lipid content and composition of twelve species of marine diatoms cultured under various environments. *Food Chemistry*, 2012, 131 (1), 211-219.
- [13] Peng, J.; Yuan, J. P.; Wu, C. F. and Wang, J. H., Fucoxanthin a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. *Marine Drugs*, 2011, 9 (10), 1806-28.
- [14] Xia, S.; Wang, K.; Wan, L.; Li, A.; Hu, Q. and Zhang, C., Production, characterization, and antioxidant activity of fucoxanthin from the marine diatom *Odontella aurita*. *Marine Drugs*, 2013, 11 (7), 2667-81.
- [15] QY Research Global Fucoxanthin Market Research Report 2017.
- [16] Seckbach, J. and Kocielek, J. P., *The diatom world (Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology)*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 2011.
- [17] Morris, R., The amino acid composition of a deep-water marine sediment from the upwelling region northwest of Africa. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1975, 39 (3), 381-388.
- [18] Lewin, J. C., The Capsule of the diatom *naucula pelliculosa*. *Microbiology*, 1955, 13, 162-169.
- [19] Bold, H. C. and Wynne, M. J., *Introduction to the Algae: Structure and Reproduction*. Englewood Cliffs. New Jersey, Prentice-Hall, 1978.
- [20] Simonsen, R., The diatom system: Ideas on phylogeny. *Bacillaria*, 1979, 2, 9-71.
- [21] Sangeetha, R. K.; Bhaskar, N.; Divakar, S. and Baskaran, V., Bioavailability and metabolism of fucoxanthin in rats: structural characterization of metabolites by LC-MS (APCI). *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2010, 333 (1-2), 299-310.
- [22] Zhang, Z., Potential chemoprevention effect of dietary fucoxanthin on urinary bladder cancer EJ-1 cell line. *Oncology Reports*, 1994.
- [23] Oryza Oil & Fat Chemical Co. LTD., *Fucoxanthin*. Oryza Oil & Fat Chemical Co. Ltd, Chiyoda-ku, Tokyo, 2010.
- [24] Stauber, J. L. and Jeffrey, S. W., Photosynthetic pigments in fifty-one species of marine diatoms. *Phycology*, 1988, 24 (2), 158-172.
- [25] Talling, J. F., Photosynthetic characteristics of some freshwater plankton diatoms in relation to underwater radiation. *New Phytologist*, 1955, 56(1), 29-50.

- [26] Csavina, J. L., The optimization of growth rate and lipid content from select algae strains. Faculty of the Russ College of Engineering and Technology of Ohio University, 2008.
- [27] Volkman, J. K.; Jeffrey, S. W.; Nichols, P. D.; Rogers, G. I. and Garland, C. D., Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture *Experimental Marine Biology and Ecology*, 1989, 128 (3), 219-240.
- [28] Richard M. K.; Malcolm R. B.; Stephanie M. B. and Gustaaf M. H., Isolation of new nanoplanktonic diatom strains and their evaluation as diets for juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, 2002, 211, 253-274.
- [29] Petrushkina, M.; Gusev, E.; Sorokin, B.; Zotko, N.; Mamaeva, A.; Filimonova, A.; Kulikovskiy, M.; Maltsev, Y.; Yampolsky, I.; Guglya, E.; Vinokurov, V.; Namsaraev, Z. and Kuzmin, D., Fucoxanthin production by heterokont microalgae. *Algal Research*, 2017, 24, 387-393.
- [30] Holland, A. F.; Zingmark, R. G. and Dean, J. M., Quantitative evidence concerning the stabilization of sediments by marine benthic diatoms. *Marine Biology*, 1974, 27 (3), 191-196.
- [31] Sabia, A.; Clavero, E.; Pancaldi, S. and Salvado R. J., Effect of different CO₂ concentrations on biomass, pigment content, and lipid production of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102 (4), 1945-1954.
- [32] Crawford, K. J.; Raven, J. A.; Wheeler, G. L.; Baxter, E. J. and Joint, I., The response of *Thalassiosira pseudonana* to long-term exposure to increased CO₂ and decreased pH. *PLOS One*, 2011, 6 (10), 266 - 275.
- [33] Wang, X. W.; Liang, J. R.; Luo, C. S.; Chen, C. P. and Gao, Y. H., Biomass, total lipid production, and fatty acid composition of the marine diatom *Chaetoceros muelleri* in response to different CO₂ levels. *Bioresour Technol*, 2014, 161, 124-130.
- [34] Guillard, R. R. L., Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates, in: W.L. Smith, M.H. Chanley (Eds.). *Culture of Marine Invertebrate Animals*, Plenum Press, New York, USA, 1975.
- [35] Yang, M.; Zhao, W. and Xie, X., Effects of nitrogen, phosphorus, iron and silicon on growth of five species of marine benthic diatoms. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34 (6), 311-319.

- [36] Tapaneeyaworawong, P.; Peungla-aw, N.; Chumtong, P.; Kutako, M. and Powtongsook, S., Growth of a small-sized diatom *Amphora coffeaeformis* BUUC1601 isolated from estuary, Chanthaburi Province, under batch and continuous cultivation. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 2017, 45.
- [37] Hendey, N. I., Littoral diatoms of Chichester Harbour with special reference to fouling, Royal Microscopical Society, 1951, 71, 71-80
- [38] Kelly, M. G.; Bennion, H.; Cox, E. J.; Goldsmith, B.; Jamieson, J.; Juggins, S.; Mann, D. G. and Telford, R. J., Common freshwater diatoms of Britain and Ireland: an interactive key. Environment Agency, Bristol, 2005.
- [39] Hii, S. L.; Choong, P. Y.; Woo, K. K. and Wong, C. L., Stability Studies of fucoxanthin from *Sargassum Bunderi*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2010, 4 (10), 4,580-4,584.
- [40] Guo, B.; Liu, B.; Yang, B.; Sun, P.; Lu, X.; Liu, J. and Chen, F., Screening of diatom strains and characterization of *Cyclotella cryptica* as a potential fucoxanthin producer. *Marine Drugs*, 2016, 14 (7).
- [41] Lee, S. H.; Karawita, R.; Affan, A. and Lee, J. B., Antioxidant activities of enzymatic digests from benthic diatoms *Achnanthes longipes*, *Amphora coffeaeformis*, and *Navicula* sp. *Preventive Nutrition and Food Science*, 2009, 13 (1753), 166-175.
- [42] Strickland, J. D. H. and Parson, T. R., *A Practical Handbook of Seawater Analysis*. 2 ed.; Fisheries Research Board Of Canada, Ottawa, Canada, 1972.
- [43] APHA, American Public Health Association, *Standard for Examination of Water and Wastewater*. Maryland: Victor Graphics, 1992.
- [44] Seely, G. R.; Duncan, M. J. and Vidiver, W. E., Preparative and analytical extraction of pigments from brown algae with dimethyl sulfoxide. *Marine Biology*, 1972, 12, 184-182.
- [45] Mantoura, R. F. C. and Wright, S. W., *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods*. SCOR and UNESCO, 1997.
- [46] Montgomery, D. C. and George, C. R., *Applied Statistics and Probability for Engineers*. 6th ed.; John Wiley & Sons, New York, 2003.
- [47] M. L., T., *Thermodynamics, Solubility and Environmental Issues*. University of kwazulu-natal durban: South Africa, 2007.

- [48] Ritcharoen, W., Sriouam, P., Nakseedee, P., Sang, P., Powtongsook, S., Kungvansaichon, K. and Pavasant, P. , Cultivation option for indoor and outdoor growth of *Chaetoceros gracilis* with airlift photobioreactors. Maejo International Journal of Science and Technology, 2014, 8(1), 111-113.
- [49] Waring, J.; Klenell, M.; Bechtold, U.; Underwood, G. J. C. and Baker, N. R., Light-induced responses of oxygen photoreduction, reactive oxygen species production and scavenging in two diatom species 1. Journal of Phycology, 2010, 46 (6), 1206-1217.
- [50] Viriyayingsiri, T., Sittplangkoon, P., Powtongsook, S. and Nootong, K. , Continuous production of diatom *Entomonies* sp. in mechanically stirred-tank and flat-panel airlift photobioreactor. Preparative Biochemistry and Biotechnology, 2016, 46(7), 740-746.
- [51] Wannachod, T., Wannasutthiwat, S., Powtongsook, S. and Nootong, K., Photoautotrophic cultivating options of freshwater green microalgal *Chlorococcum humicola* for biomass and carotenoids production. Preparative Biochemistry and Biotechnology (2018, ACCEPTED)
- [52] Geider, R. J.; Roche, J. L.; Greene, R. M.; Olaizola, M., Response of the Photosynthetic Apparatus of *Phaeodactylum Tricornutum* (Bacillariophyceae) to Nitrate, Phosphate, or Iron Starvation 1. phycology, 1993, 29 (6), 755-766.
- [53] Fox, J. M., Intensive algal culture techniques. In: CRC Handbook of mariculture. Volume 1. Crustacean Aquaculture. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA: 1983.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

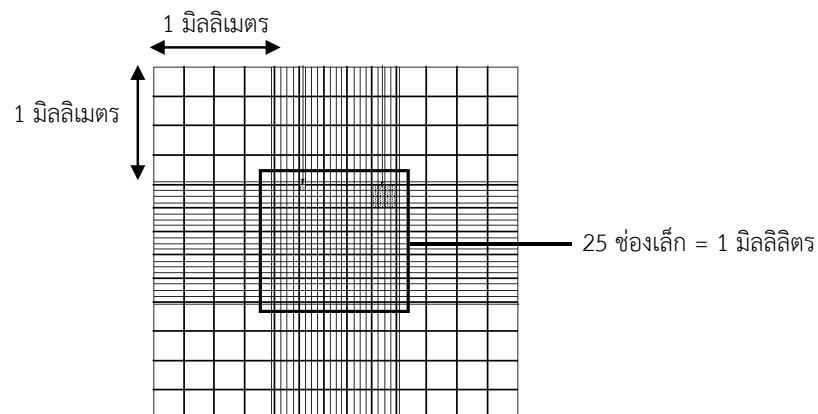
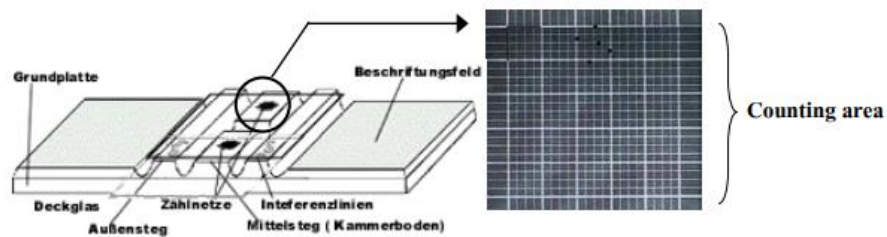
ภาคผนวก ก

การนับเซลล์และคำนวณความหนาแน่นเซลล์

Fox (1983)

ดำเนินการนับเซลล์โดยอะตอม *Bacillaria paxillifer* ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด (Hemocytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40x โดยสไลด์นับเม็ดเลือด 1 อัน มีช่องใส่ตัวอย่างซึ่งมีลักษณะเป็นตารางสี่เหลี่ยม 2 ตารางอยู่กลางสไลด์โดยแต่ละตารางมีพื้นที่เท่ากับ 1 ตารางมิลลิเมตร และมีความลึกเท่ากับ 0.1 มิลลิเมตร ดังรูปที่ ก.1 ซึ่งการนับเซลล์จะทำการใส่ตัวอย่างลงบนแผ่นสไลด์ ทำการนับเซลล์บนตารางสี่เหลี่ยมและนำมาคำนวณความหนาแน่นเซลล์ได้ดังนี้

$$\begin{aligned}
 \text{ปริมาตรของสไลด์นับเม็ดเลือด} &= \text{ความกว้าง} \times \text{ความยาว} \times \text{ความลึก} \\
 &= 1 \text{ มิลลิเมตร} \times 1 \text{ มิลลิเมตร} \times 0.1 \text{ มิลลิเมตร} \\
 &= 0.1 \text{ ลูกบาศก์มิลลิเมตร} \\
 &= 0.0001 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ } 0.0001 \text{ มิลลิลิตร} \\
 &= 1 \times 10^4 \text{ เซลล์/มิลลิลิตร}
 \end{aligned}$$



รูปที่ ก.1 พื้นที่ตารางสำหรับนับเซลล์สาหร่าย [53]

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง
APHA (1992)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
2. กระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร
3. ตู้อบ
4. Vacuum dessicator

วิธีการวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง

1. นำกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร ไปอบที่อุณหภูมิประมาณ 103 – 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ และนำไปเก็บไว้ที่ Vacuum dessicator
2. เก็บตัวอย่างน้ำประมาณ 5 มิลลิลิตร
3. นำตัวอย่างน้ำกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร ที่ผ่านการอบแห้งจากข้อ 1
4. ล้างเซลล์บนกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น
5. นำกระดาษกรองมาอบแห้งที่อุณหภูมิประมาณ 103 – 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่
6. น้ำหนักเซลล์แห้งคือผลต่างของน้ำหนักกระดาษกรองที่มีเซลล์กับน้ำหนักกระดาษกรองเริ่มต้น

ภาคผนวก ค

การสกัดสารสีฟิวโคแซนทินในไดอะตอมและการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสีฟิวโคแซนทินด้วย Spectrophotometer
Strickland and Parsons (1972) และ Seely et al. (1972)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. UV-Vis Spectrophotometer
2. เครื่อง Centrifuge
3. เครื่อง Vortex
4. กระจาดขกรอง Nylon membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
5. ชุดเครื่องแก้วทดลอง
6. แท่งแก้วบดสาร
7. สารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80% โดยปริมาตร
8. ขวดทึบแสง

วิธีการสกัดสารสีฟิวโคแซนทินในไดอะตอม

1. เก็บตัวอย่างน้ำประมาณ 5 มิลลิลิตร
2. นำตัวอย่างน้ำประมาณ 5 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ออกจากของเหลวใส
3. บดเซลล์ให้แตกด้วยแท่งแก้ว
4. เติมสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80% โดยปริมาตร ในปริมาณเท่ากับตัวอย่างน้ำเริ่มต้น และเก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ในตู้เย็น
5. นำเซลล์ที่เหลือจากการสกัดมาสกัดด้วยอะซิโตนอีก 2 ครั้ง แล้วเก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ทั้งหมดรวมกันในที่มีดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
6. นำตัวอย่างของเหลวที่สกัดได้ทำการปั่นเหวี่ยงและกรองตะกอนออกผ่านกระจาดขกรอง Nylon membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
7. นำของเหลวใสที่สกัดได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 470 581 631 และ 664 นาโนเมตร

วิธีการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสีฟูโคแซนทินด้วย Spectrophotometer

$$F = [E_{470} - 1.239(E_{631} + E_{581} + 0.3 E_{664}) - 0.0275 E_{664}] \times (V_a V_b^{-1}/141)$$

เมื่อ F = ความเข้มข้นของฟูโคแซนทิน (กรัม/ลิตร)

E = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 581 631 และ 664 นาโนเมตร

V_a = ปริมาตรตัวทำละลาย (มิลลิลิตร)

V_b = ปริมาตรของเหลวตัวอย่าง (มิลลิลิตร)



ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC

Strickland and Parsons (1972) และ Mantoura and Wrigh (1997)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. HPLC
2. เครื่อง Centrifuge
3. เครื่อง Vortex
4. กระจาดกรอง Nylon membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
5. ชุดเครื่องแก้วทดลอง
6. แท่งแก้วบดสาร
7. สารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80% โดยปริมาตร

วิธีการสกัดสารสีฟิวโคแซนทินในไดอะตอม

1. เก็บตัวอย่างน้ำประมาณ 5 มิลลิลิตร
2. นำตัวอย่างน้ำมาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ออกจากของเหลวใส
3. บดเซลล์ให้แตกด้วยแท่งแก้ว
4. เติมสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80% โดยปริมาตร ในปริมาณเท่ากับตัวอย่างน้ำเริ่มต้น และเก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ในตู้เย็น
5. นำเซลล์ที่เหลือจากการสกัดมาสกัดด้วยอะซิโตนอีก 2 ครั้ง แล้วเก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ทั้งหมดรวมกันในที่มีดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
6. ทำการปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที
8. นำตัวอย่างของเหลวที่สกัดได้ทำการปั่นเหวี่ยงและกรองตะกอนออกผ่านกระจาดกรอง Nylon membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
7. นำของเหลวใสที่สกัดได้มาทำการฉีดตัวอย่างด้วย HPLC

วิธีการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC

1. นำตัวอย่างที่สกัดมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (Shimadzu Model SPD-M20A) ซึ่งประกอบด้วย C18 คอลัมน์ และ Photo-Diode Array Detector
2. เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมระหว่างน้ำกลั่น เมทานอล อะซิโตน ไนโตรเจน และไดคลอโรมีเทน อัตราส่วน 1:10:79:10 ตามลำดับ อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตร/นาที
3. ทำการฉีดตัวอย่างปริมาณ 20 μL ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร โดยใช้เวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมด 30 นาที เพื่อตรวจวัดสารกลุ่มแคโรทีนอยด์
4. ทำการจำแนกชนิดสารกลุ่มแคโรทีนอยด์โดยเปรียบเทียบกับลักษณะโครงสร้างพีคและความยาวคลื่นของพีคโดยอ้างอิงจาก Mantoura and Wrigh (1997)
5. นำพื้นที่ใต้กราฟของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์มาทำการปรับค่าแฟกเตอร์
6. นำพื้นที่ใต้กราฟที่ทำการปรับค่าแฟกเตอร์มาคำนวณหาปริมาณสารกลุ่มแคโรทีนอยด์โดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้กราฟกับกราฟมาตรฐานลูทีน

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ปริมาณการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยง

APHA (1992) และ Strickland and Parsons (1972)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. UV-Vis Spectrophotometer
2. กระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร
3. Ammonium molybdate: $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$
4. Sulfuric Acid: H_2SO_4
5. Ascorbic Acid
6. Potassium antimony tartrate: $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$

วิธีการเตรียมสารละลายรีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

1. Ammonium molybdate: $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$
 - ละลาย Ammonium molybdate 15 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดทึบแสง)
2. Sulfuric Acid: H_2SO_4
 - เติม Sulfuric Acid ปริมาตร 140 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นปริมาตร 900 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดแก้วและเก็บไว้ในที่เย็น)
3. Ascorbic Acid
 - ละลาย Ascorbic Acid (AR grade) 27 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดพลาสติกและเก็บไว้ในที่เย็น)
4. Potassium antimony tartrate: $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$
 - ละลาย Potassium antimony tartrate 0.34 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดพลาสติกหรือขวดแก้ว)

5. Mixed Reagent

- นำ Ammonium molybdate ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมกับ Sulfuric Acid ปริมาตร 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Ascorbic Acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และ Potassium antimony tartrate ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

หมายเหตุ: Mixed Reagent ปริมาตรดังกล่าวใช้ได้กับตัวอย่างน้ำจำนวน 50 ตัวอย่าง ไม่ควรเก็บไว้เกิน 6 ชั่วโมงและควรเตรียมสำหรับการวิเคราะห์ใหม่ทุกครั้ง

การสร้างกราฟมาตรฐาน (Standards) ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต

1. เตรียมสารละลายไนเตรทจากสารละลาย KNO_3 ความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 มิลลิกรัม/ลิตร
2. เตรียมสารละลายฟอสเฟตจากสารละลาย K_2PO_4 ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร
3. เติมนีเอเจนต์ในสารละลายฟอสเฟตในอัตราส่วนรีเอเจนต์ต่อสารตัวอย่าง 1:10 ทิ้งไว้ 10 นาที ไม่เกิน 2 ชั่วโมง ขณะที่สารละลายไนเตรทไม่มีการเติมนีเอเจนต์
4. นำสารทั้งสองชนิดไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยไนเตรทวัดในช่วง 220 และ 275 นาโนเมตร และฟอสเฟตในช่วงความคลื่น 885 นาโนเมตร
5. นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้นไนเตรทและฟอสเฟต

ขั้นตอนการวิเคราะห์ความเข้มข้นไนเตรทและฟอสเฟต

1. กรองของเหลวตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร
2. เติมนีเอเจนต์ในน้ำตัวอย่างในอัตราส่วนรีเอเจนต์ต่อสารตัวอย่าง 1:10 ขณะที่สารละลายไนเตรทไม่มีการเติมนีเอเจนต์
3. ทำให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วย Vortex
4. ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ไม่เกิน 2 ชั่วโมง
6. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยไนเตรทวัดในช่วง 220 และ 275 นาโนเมตร และฟอสเฟตในช่วงความคลื่น 885 นาโนเมตร
5. นำค่าที่ได้ไปคำนวณความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานความเข้มข้นไนเตรทและฟอสเฟต

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์ปริมาณซิลิเกตในอาหารเพาะเลี้ยง

APHA, (1992) และ Strickland and Parsons (1972)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. UV-Vis Spectrophotometer
2. เครื่อง Vortex
3. กระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร
4. ชุดเครื่องแก้วทดลอง
5. Ammonium molybdate: $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$
6. Metol-sulphite: $[\text{HOC}_6\text{H}_4\text{NH}_2(\text{CH}_3)]\text{HSO}_4$
7. Oxalic Acid: $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$
8. Sulfuric Acid: H_2SO_4

วิธีการเตรียมสารละลายรีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ซิลิกา

1. Ammonium molybdate: $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$
 - ละลาย Ammonium molybdate 4 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดทึบแสง)
2. Metol-sulphite: $[\text{HOC}_6\text{H}_4\text{NH}_2(\text{CH}_3)]\text{HSO}_4$
 - ละลาย Anhydrous sodium sulfite 6 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Metol 10กรัม ลงในสารละลายที่เตรียมไว้ รวจนสารละลายหมดนำสารไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร (เก็บไว้ในขวดทึบแสงและในที่เย็น และควรเตรียมใหม่ทุกเดือน)
3. Oxalic Acid: $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$
 - ละลาย Oxalic acid 50 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดแก้ว)

4. Sulfuric Acid: H_2SO_4 (50% โดยปริมาตร)
 - เติม Sulfuric acid ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตร รอจนเย็นและปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดแก้วและเก็บไว้ในที่เย็น)
5. Mixed Reagent
 - ผสม Metol-sulphite ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กับ Oxalic acid ปริมาตร 60 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Sulfuric Acid 50% โดยปริมาตร 60 มิลลิลิตร อย่างช้าๆ รอจนเย็นและปรับปริมาตรให้เป็น 300 มิลลิลิตร

หมายเหตุ: Mixed Reagent ปริมาตรดังกล่าวใช้ได้กับตัวอย่างน้ำจำนวน 50 ตัวอย่าง ไม่ควรเก็บไว้เกิน 6 ชั่วโมงและควรเตรียมสำหรับการวิเคราะห์ใหม่ทุกครั้ง

การสร้างกราฟมาตรฐาน (Standards) ความเข้มข้นของซิลิเกต

1. เตรียมสารละลายซิลิเกตจากสารละลาย $Na_2(SiF_6)$ ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัม/ลิตร
2. เติม Ammonium molybdate ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในสารละลายตัวอย่างปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
3. เติมรีเอเจนต์ในสารละลายปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ไม่เกิน 3 ชั่วโมง
4. นำสารไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความคลื่น 810 นาโนเมตร
5. นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้นซิลิเกต

ขั้นตอนการวิเคราะห์ความเข้มข้นซิลิเกต

1. กรองของเหลวตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร
2. เติม Ammonium molybdate ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในสารละลายตัวอย่างปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
3. เติมรีเอเจนต์ในสารละลายปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ไม่เกิน 3 ชั่วโมง
4. นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความคลื่น 810 นาโนเมตร
5. นำค่าที่ได้ไปคำนวณความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

ภาคผนวก ข

การติดตามผลการทดลอง

1. การคำนวณความหนาแน่นของไดอะตอม

จากลักษณะของช่องสไลด์นับเซลล์ในภาคผนวก ก ทำการหยดตัวอย่างไดอะตอมที่ต้องการนับจำนวนลงไป 1 หยด ในช่องใส่ตัวอย่าง (load port) ของสไลด์นับเม็ดเลือดตรงที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ เพื่อให้ตัวอย่างสาหร่ายจะกระจายไปทั่วตารางสี่เหลี่ยม จากนั้นวางสไลด์นับเม็ดเลือดทิ้งไว้ 1 นาที เพื่อให้เซลล์สาหร่ายจมลงสู่พื้นสไลด์และนำไลด์นับเม็ดเลือดวางบนแท่นกล้องจุลทรรศน์ปรับกล้องและเริ่มกำลังขยายจากต่ำไปสูง จากนั้นจึงทำการนับเซลล์บนช่องสี่เหลี่ยมตรงกลาง ซึ่งสามารถคำนวณหาความหนาแน่นเซลล์ได้ดังนี้

$$(n/X) \times 10^4 = \text{จำนวนเซลล์ใน 1 มิลลิลิตร}$$

เมื่อ n = จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้

X = ตัวหารซึ่งใช้ค่าร้อยละของพื้นที่ในแต่ละช่องที่นับ

2. การคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของไดอะตอม

เมื่อทราบความหนาแน่นเซลล์จากการนับเซลล์ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สามารถคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_m) จากสมการ

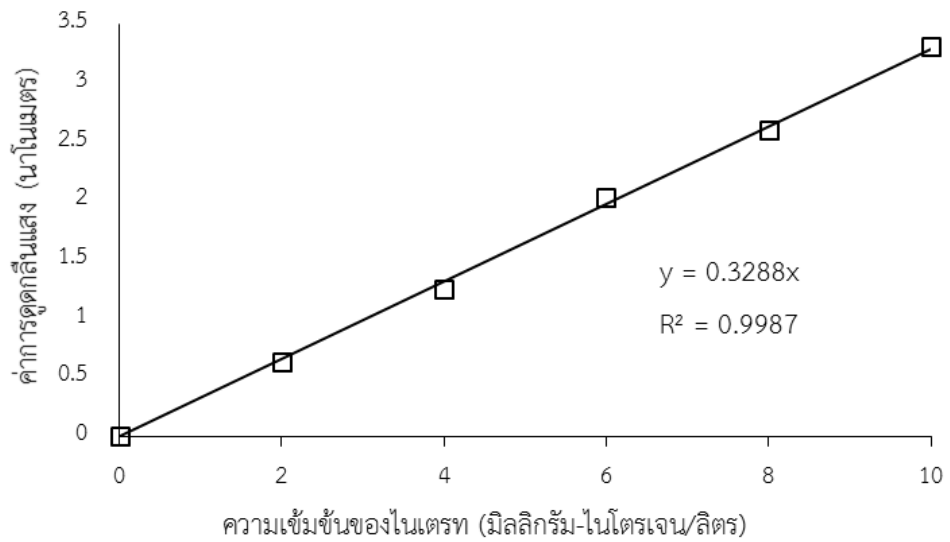
$$\mu_m = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t_2 - t_1)$$

เมื่อ μ_m = อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (วัน⁻¹)

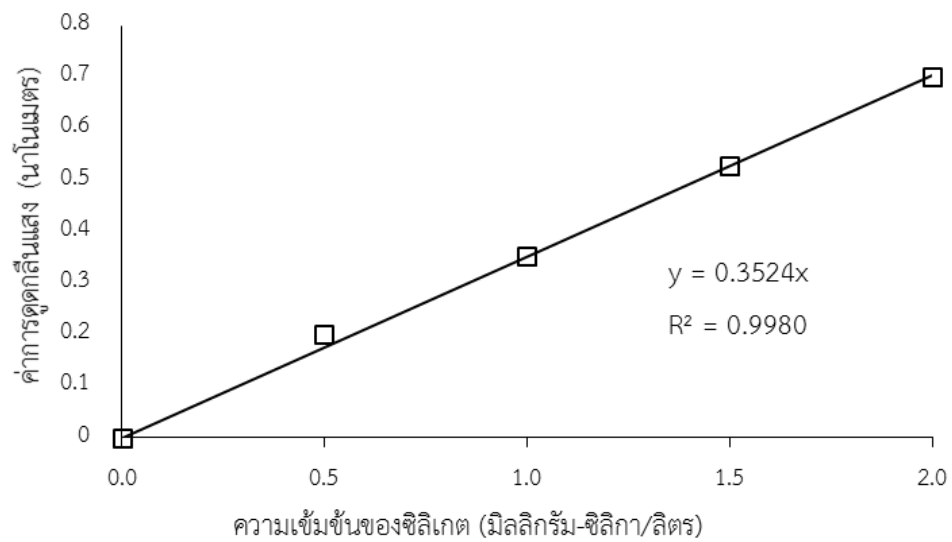
N_1 = จำนวนเซลล์ในช่วง Exponential phase (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่เวลา t_1

N_2 = จำนวนเซลล์ในช่วง Exponential phase (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่เวลา t_2

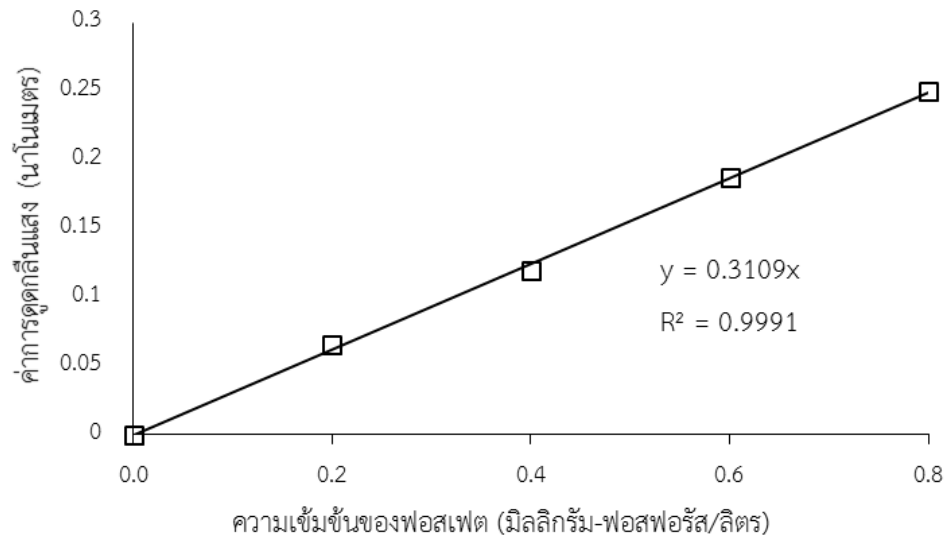
3. ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน



รูปที่ ข.1 กราฟมาตรฐานสารละลายไนเตรท



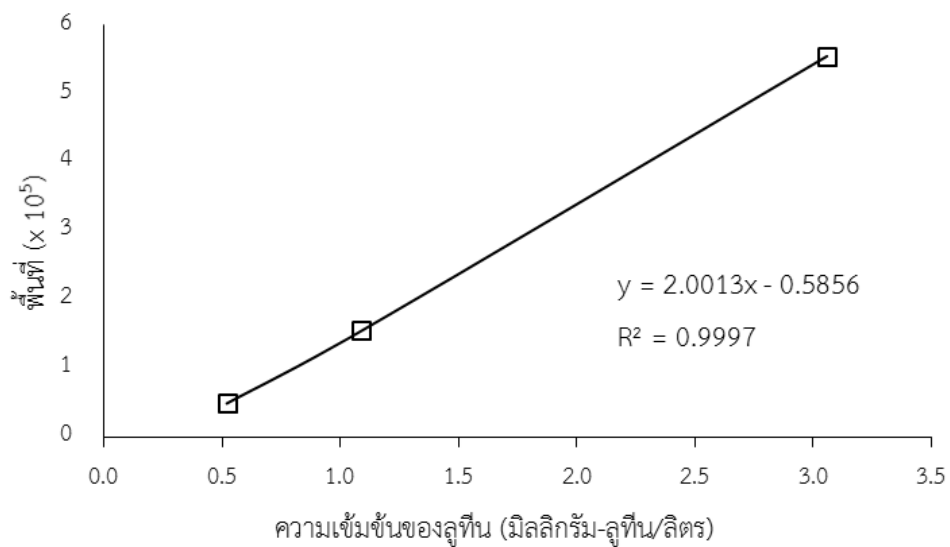
รูปที่ ข.2 กราฟมาตรฐานสารละลายฟอสเฟต



รูปที่ ข.3 กราฟมาตรฐานสารละลายซิลิเกต

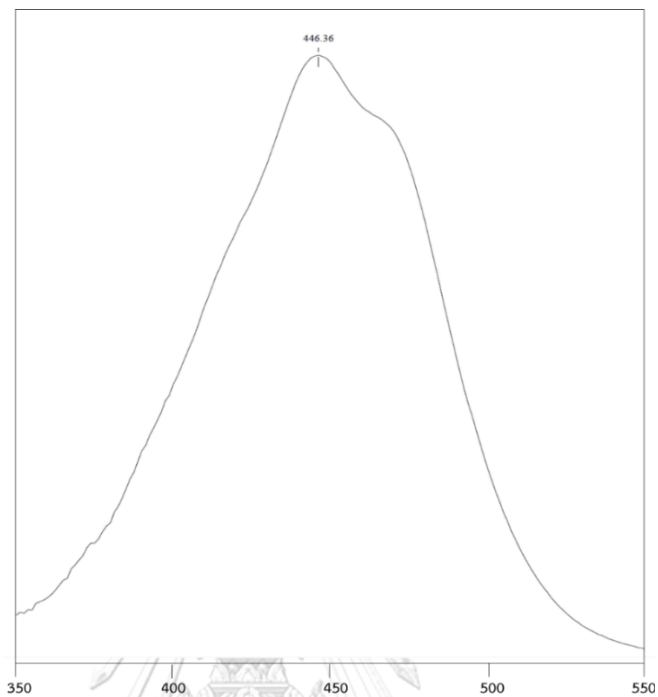
4. การวิเคราะห์ปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินและลักษณะโครงสร้างของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์ในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ด้วย HPLC

4.1 กราฟมาตรฐานลูทีน

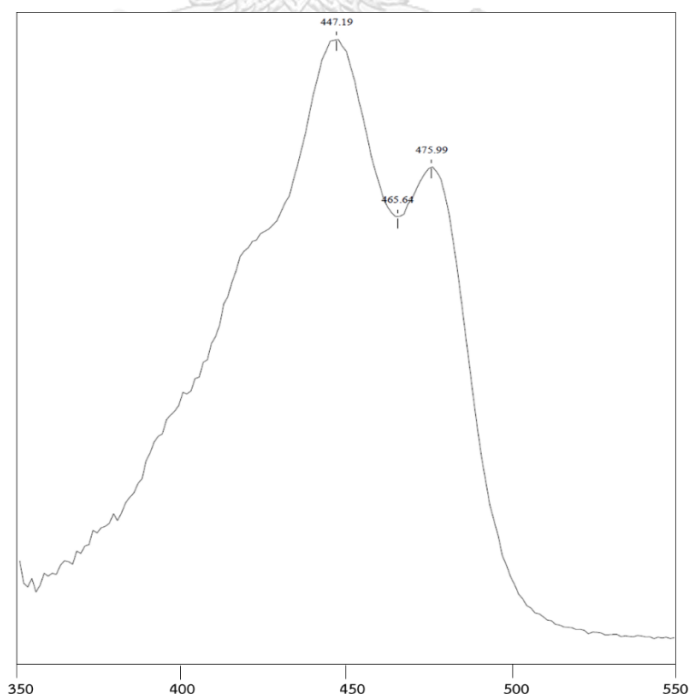


รูปที่ ข.4 กราฟมาตรฐานสารสีลูทีน

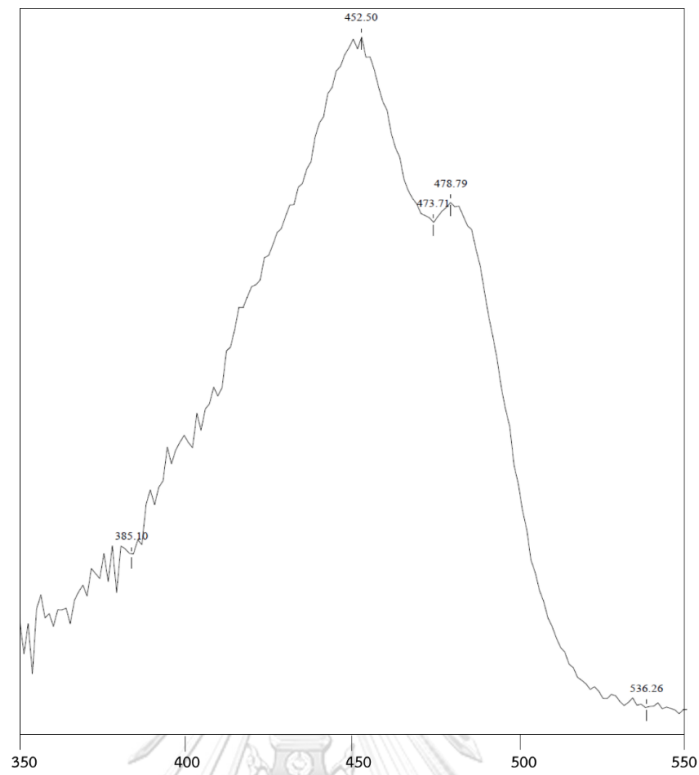
4.2 โครงสร้างของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์ในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer*



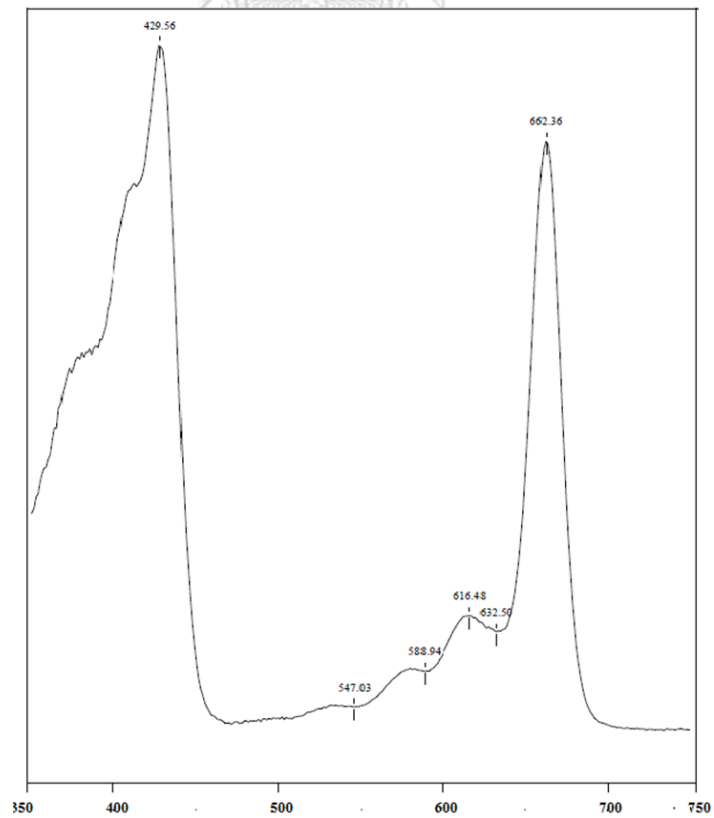
รูปที่ ข.5 ลักษณะโครงสร้างสารสีพิวโคแซนทิน



รูปที่ ข.6 ลักษณะโครงสร้างสารสีไดอะไดโนแซนทิน



รูปที่ ข.7 ลักษณะโครงสร้างสารสีเดอะโตแซนทิน



รูปที่ ข.8 ลักษณะโครงสร้างสารสีคลอโรฟิลล์-เอ

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารสีฟิวโคแซนทิน

การคำนวณเปอร์เซ็นต์ของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของแคโรทีนอยด์แต่ละชนิด

1. รวบรวมข้อมูลโครมาโทแกรมและพื้นที่ใต้กราฟของแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดจากการวิเคราะห์ HPLC ที่ base line 440 นาโนเมตร
2. พื้นที่ใต้กราฟของแคโรทีนอยด์ที่สามารถระบุชนิดได้จะถูกคูณด้วย Relative response factor ดังรูปที่ ข.9 เพื่อปรับค่าให้อยู่ใน base line เดียวกัน เนื่องจากแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีความสามารถในการดูดกลืนแสงแต่ละช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน
3. รวมค่าพื้นที่ใต้กราฟของแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดซึ่งถูกปรับค่าแล้ว ได้เป็นค่าพื้นที่ใต้กราฟทั้งหมด
4. คำนวณเปอร์เซ็นต์จากสมการ

$$\% \text{ of total carotenoid} = (\text{Area}_{\text{carotenoid}} / A_{\text{total}}) \times 100$$

เมื่อ $A_{\text{carotenoid}}$ คือพื้นที่ใต้กราฟที่ถูกปรับค่าแล้วของแคโรทีนอยด์แต่ละชนิด

A_{total} คือผลรวมของพื้นที่ใต้กราฟที่ถูกปรับค่าแล้วของแคโรทีนอยด์ทุกชนิดการวิเคราะห์

ตารางที่ ข-1 Relative response factor สำหรับการวิเคราะห์ HPLC ที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร โดยใช้แคนด้าแซนทินเป็นค่ามาตรฐาน [45]

| HPLC peak no. (see Fig. 16.7) | Pigment | Peak area A_p ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$) | Relative response factor f_p^{rs} (ND) ^b | Pigment concentration in seawater ^c C_p ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$) |
|----------------------------------|---------------------|---|--|--|
| 5 | Chl c_3 | 70.06 | 0.55 | 152 |
| 6b | Chl c_{1+2} | 55.00 | 0.63 | 139 |
| 7 | Perid | 24.12 | 1.49 | 143 |
| 9 | But-fuco | 20.73 | 1.24 | 102 |
| 10 | Fuco | 17.94 | 1.09 | 78 |
| 15 | Hex-fuco | 94.94 | 1.26 | 478 |
| 26 | Diadino | 43.44 | 0.86 | 148 |
| 33 | Lut | 2.41 | 0.72 | 7 |
| 33 | Zea | 3.70 | 0.86 | 13 |
| IS | Cantha | 50.76 | 1.00 | 202 |
| 37 | Chl b | 5.86 | 2.51 | 59 |
| 41 | Chl a | 85.78 | 2.89 | 989 |
| 52 | β, β -Car | 4.13 | 0.77 | 13 |

ภาคผนวก ข

ผลการทดลองการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ซิลิกาที่สกัดจากเถ้าลอย

ตารางที่ ข-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร) | |
|---------------------------|---|--|
| | อาหารมาตรฐานสูตร F/2 | ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียม ซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย |
| 0 | 7.07 \pm 0.17 | 7.07 \pm 0.23 |
| 1 | 8.52 \pm 0.13 | 8.22 \pm 0.11 |
| 2 | 11.15 \pm 0.28 | 11.11 \pm 0.17 |
| 3 | 19.19 \pm 0.28 | 18.99 \pm 0.13 |
| 4 | 21.63 \pm 0.17 | 21.37 \pm 0.28 |
| 5 | 22.89 \pm 0.11 | 22.78 \pm 0.11 |
| 6 | 23.70 \pm 0.14 | 23.33 \pm 0.44 |
| 7 | 23.33 \pm 0.33 | 23.30 \pm 0.23 |
| 8 | 22.85 \pm 0.23 | 22.70 \pm 0.13 |

ตารางที่ ข-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) | |
|---------------------------|------------------------------|--|
| | อาหารมาตรฐานสูตร F/2 | ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียม ซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย |
| 0 | 0.07 \pm 0.01 | 0.07 \pm 0.01 |
| 1 | 0.09 \pm 0.01 | 0.09 \pm 0.02 |
| 2 | 0.12 \pm 0.02 | 0.11 \pm 0.01 |
| 3 | 0.15 \pm 0.03 | 0.21 \pm 0.01 |

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) | |
|---------------------------|------------------------------|--|
| | อาหารมาตรฐานสูตร F/2 | ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียม ซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอย |
| 4 | 0.22 ± 0.02 | 0.25 ± 0.05 |
| 5 | 0.24 ± 0.03 | 0.29 ± 0.03 |
| 6 | 0.29 ± 0.02 | 0.30 ± 0.04 |
| 7 | 0.26 ± 0.04 | 0.31 ± 0.01 |
| 8 | 0.30 ± 0.01 | 0.33 ± 0.01 |

ตารางที่ ซ-3 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะ
น้ำเค็ม 30 พีเอสบู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร
F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอย

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | สารสีฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | |
|---------------------------|----------------------------------|--|
| | อาหารมาตรฐานสูตร F/2 | ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียม ซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอย |
| 0 | 0.07 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 |
| 1 | 0.09 ± 0.01 | 0.08 ± 0.05 |
| 2 | 0.11 ± 0.02 | 0.10 ± 0.03 |
| 3 | 0.20 ± 0.03 | 0.19 ± 0.02 |
| 4 | 0.25 ± 0.01 | 0.24 ± 0.01 |
| 5 | 0.31 ± 0.02 | 0.29 ± 0.01 |
| 6 | 0.35 ± 0.01 | 0.33 ± 0.01 |
| 7 | 0.39 ± 0.03 | 0.35 ± 0.03 |
| 8 | 0.44 ± 0.02 | 0.43 ± 0.01 |

ตารางที่ ซ-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มข้นแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ไนเตรท (มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) | |
|---------------------------|----------------------------------|--|
| | อาหารมาตรฐานสูตร F/2 | ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย |
| 0 | 15.33 ± 0.09 | 15.47 ± 0.42 |
| 1 | 13.29 ± 0.24 | 14.49 ± 0.59 |
| 2 | 12.19 ± 0.24 | 11.66 ± 0.46 |
| 3 | 10.59 ± 0.67 | 10.30 ± 0.34 |
| 4 | 9.95 ± 0.30 | 10.63 ± 0.58 |
| 5 | 10.38 ± 0.76 | 9.96 ± 0.26 |
| 6 | 9.97 ± 0.67 | 10.52 ± 0.80 |
| 7 | 10.07 ± 0.46 | 9.62 ± 0.36 |
| 8 | 10.14 ± 0.36 | 10.26 ± 0.60 |

ตารางที่ ซ-5 ปริมาณซิลิเกตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มข้นแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ซิลิเกต (มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร) | |
|---------------------------|---------------------------------|--|
| | อาหารมาตรฐานสูตร F/2 | ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอย |
| 0 | 3.10 ± 0.02 | 3.02 ± 0.06 |
| 1 | 2.61 ± 0.15 | 1.51 ± 0.33 |
| 2 | 2.13 ± 0.03 | 0.98 ± 0.10 |
| 3 | 1.61 ± 0.03 | 0.69 ± 0.10 |
| 4 | 1.29 ± 0.17 | 0.44 ± 0.09 |

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ซีลีเกต (มิลลิกรัม-ซีลีกา/ลิตร) | |
|---------------------------|---------------------------------|---|
| | อาหารมาตรฐานสูตร F/2 | ซีลีกาในรูปสารละลายโซเดียม ซีลีเกตที่สกัดจากเหง้าลอย |
| 5 | 1.13 ± 0.16 | 0.42 ± 0.03 |
| 6 | 0.75 ± 0.09 | 0.35 ± 0.03 |
| 7 | 0.54 ± 0.05 | 0.36 ± 0.02 |
| 8 | 0.38 ± 0.02 | 0.31 ± 0.01 |

ตารางที่ ซ-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ซึ่งใช้แหล่งซีลีกาในรูปสารละลายโซเดียมซีลีเกตที่สกัดจากเหง้าลอย

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร) | |
|---------------------------|----------------------------------|---|
| | อาหารมาตรฐานสูตร F/2 | ซีลีกาในรูปสารละลายโซเดียม ซีลีเกตที่สกัดจากเหง้าลอย |
| 0 | 0.70 ± 0.06 | 0.79 ± 0.06 |
| 1 | 0.50 ± 3.01 | 0.57 ± 0.01 |
| 2 | 0.40 ± 0.02 | 0.33 ± 0.07 |
| 3 | 0.33 ± 0.03 | 0.27 ± 0.04 |
| 4 | 0.20 ± 0.01 | 0.30 ± 0.02 |
| 5 | 0.20 ± 0.01 | 0.18 ± 0.03 |
| 6 | 0.18 ± 0.02 | 0.20 ± 0.01 |
| 7 | 0.15 ± 0.02 | 0.12 ± 0.01 |
| 8 | 0.13 ± 0.02 | 0.11 ± 0.01 |

ภาคผนวก ฅ

ผลการทดลองการศึกษาผลของความเข้มแสง

ตารางที่ ฅ-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกัน

| วันที่ เพาะเลี้ยง | ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร) | | | | |
|----------------------|---|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | 10,000 ลักซ์ | 15,000 ลักซ์ | 20,000 ลักซ์ | 25,000 ลักซ์ | 30,000 ลักซ์ |
| 0 | 7.07 \pm 0.10 | 7.00 \pm 0.04 | 6.67 \pm 0.35 | 7.05 \pm 0.15 | 7.00 \pm 0.35 |
| 1 | 11.00 \pm 0.33 | 13.81 \pm 0.31 | 10.25 \pm 0.20 | 9.22 \pm 0.18 | 9.15 \pm 0.14 |
| 2 | 33.76 \pm 1.61 | 49.72 \pm 0.10 | 35.12 \pm 0.71 | 29.42 \pm 0.51 | 27.34 \pm 0.14 |
| 3 | 45.51 \pm 1.07 | 70.32 \pm 0.77 | 60.50 \pm 0.82 | 50.28 \pm 0.28 | 37.11 \pm 0.42 |
| 4 | 53.87 \pm 0.98 | 90.25 \pm 0.74 | 79.62 \pm 0.83 | 74.89 \pm 0.69 | 50.50 \pm 0.36 |
| 5 | 70.12 \pm 0.83 | 115.49 \pm 0.68 | 85.25 \pm 0.59 | 90.12 \pm 0.27 | 71.78 \pm 0.21 |
| 6 | 70.00 \pm 0.94 | 114.89 \pm 0.11 | 100.12 \pm 0.27 | 90.00 \pm 0.82 | 85.41 \pm 0.96 |
| 7 | 69.52 \pm 0.93 | 114.95 \pm 0.10 | 98.90 \pm 0.11 | 89.67 \pm 0.47 | 85.17 \pm 0.85 |
| 8 | 65.13 \pm 1.15 | 111.00 \pm 0.80 | 95.66 \pm 0.65 | 97.00 \pm 0.82 | 81.44 \pm 0.42 |

ตารางที่ ฅ-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกัน

| วันที่ เพาะเลี้ยง | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) | | | | |
|----------------------|------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 10,000 ลักซ์ | 15,000 ลักซ์ | 20,000 ลักซ์ | 25,000 ลักซ์ | 30,000 ลักซ์ |
| 0 | 0.09 ± 0.01 | 0.08 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 | 0.08 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 |
| 1 | 0.10 ± 0.01 | 0.13 ± 0.02 | 0.11 ± 0.03 | 0.09 ± 0.01 | 0.09 ± 0.01 |
| 2 | 0.24 ± 0.02 | 0.32 ± 0.05 | 0.26 ± 0.05 | 0.22 ± 0.01 | 0.19 ± 0.04 |
| 3 | 0.32 ± 0.03 | 0.42 ± 0.02 | 0.36 ± 0.02 | 0.34 ± 0.03 | 0.22 ± 0.01 |
| 4 | 0.40 ± 0.02 | 0.51 ± 0.01 | 0.45 ± 0.03 | 0.41 ± 0.02 | 0.30 ± 0.02 |
| 5 | 0.42 ± 0.01 | 0.59 ± 0.06 | 0.48 ± 0.07 | 0.46 ± 0.03 | 0.43 ± 0.01 |
| 6 | 0.45 ± 0.09 | 0.60 ± 0.03 | 0.52 ± 0.05 | 0.49 ± 0.02 | 0.44 ± 0.01 |
| 7 | 0.46 ± 0.02 | 0.60 ± 0.01 | 0.52 ± 0.01 | 0.49 ± 0.01 | 0.43 ± 0.07 |
| 8 | 0.30 ± 0.01 | 0.60 ± 0.02 | 0.53 ± 0.02 | 0.48 ± 0.02 | 0.42 ± 0.02 |

ตารางที่ ฅ-3 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกัน

| วันที่ เพาะเลี้ยง | สารสีฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | | | | |
|----------------------|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 10,000 ลักซ์ | 15,000 ลักซ์ | 20,000 ลักซ์ | 25,000 ลักซ์ | 30,000 ลักซ์ |
| 0 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 | 0.08 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 |
| 1 | 0.11 ± 0.01 | 0.28 ± 0.02 | 0.18 ± 0.01 | 0.13 ± 0.02 | 0.10 ± 0.05 |
| 2 | 0.33 ± 0.01 | 1.01 ± 0.03 | 0.63 ± 0.02 | 0.32 ± 0.01 | 0.24 ± 0.03 |
| 3 | 0.71 ± 0.02 | 1.42 ± 0.02 | 1.09 ± 0.02 | 0.92 ± 0.01 | 0.56 ± 0.03 |
| 4 | 0.95 ± 0.01 | 1.80 ± 0.01 | 1.43 ± 0.01 | 1.26 ± 0.03 | 0.84 ± 0.02 |
| 5 | 1.22 ± 0.03 | 2.21 ± 0.04 | 1.53 ± 0.03 | 1.44 ± 0.02 | 1.21 ± 0.01 |
| 6 | 1.52 ± 0.02 | 2.28 ± 0.01 | 1.80 ± 0.04 | 1.71 ± 0.01 | 1.26 ± 0.03 |
| 7 | 1.56 ± 0.01 | 2.25 ± 0.02 | 1.80 ± 0.01 | 1.72 ± 0.04 | 1.33 ± 0.02 |
| 8 | 1.60 ± 0.02 | 2.30 ± 0.03 | 1.83 ± 0.02 | 1.72 ± 0.02 | 1.35 ± 0.02 |

ตารางที่ ๓-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกัน

| วันที่ เพาะเลี้ยง | ไนเตรท (มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) | | | | |
|----------------------|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 10,000 ลักซ์ | 15,000 ลักซ์ | 20,000 ลักซ์ | 25,000 ลักซ์ | 30,000 ลักซ์ |
| 0 | 15.09 ± 0.64 | 13.99 ± 0.29 | 13.72 ± 0.40 | 14.82 ± 0.31 | 14.07 ± 0.29 |
| 1 | 12.90 ± 0.23 | 13.63 ± 0.43 | 11.53 ± 0.27 | 13.24 ± 0.56 | 12.58 ± 0.53 |
| 2 | 11.65 ± 0.34 | 11.40 ± 0.11 | 11.96 ± 0.71 | 10.56 ± 0.16 | 10.03 ± 0.15 |
| 3 | 10.88 ± 0.18 | 10.11 ± 0.11 | 10.45 ± 0.40 | 10.26 ± 0.12 | 9.75 ± 0.11 |
| 4 | 8.70 ± 0.35 | 9.64 ± 0.29 | 8.92 ± 0.19 | 10.09 ± 0.24 | 9.59 ± 0.23 |
| 5 | 5.15 ± 0.08 | 6.40 ± 0.14 | 8.35 ± 0.10 | 9.37 ± 0.16 | 8.90 ± 0.16 |
| 6 | 6.17 ± 0.06 | 6.55 ± 0.36 | 6.87 ± 0.29 | 8.53 ± 0.27 | 8.10 ± 0.26 |
| 7 | 5.53 ± 0.45 | 6.14 ± 0.09 | 7.26 ± 0.13 | 7.15 ± 0.04 | 6.79 ± 0.04 |
| 8 | 6.46 ± 0.23 | 6.81 ± 0.27 | 7.36 ± 0.34 | 6.88 ± 0.25 | 6.54 ± 0.24 |

ตารางที่ ๓-5 ปริมาณซิลิเกตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกัน

| วันที่ เพาะเลี้ยง | ซิลิเกต (มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร) | | | | |
|----------------------|---------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 10,000 ลักซ์ | 15,000 ลักซ์ | 20,000 ลักซ์ | 25,000 ลักซ์ | 30,000 ลักซ์ |
| 0 | 3.24 ± 0.26 | 3.25 ± 0.12 | 3.28 ± 0.12 | 3.23 ± 0.25 | 3.16 ± 0.15 |
| 1 | 2.68 ± 0.17 | 1.32 ± 0.05 | 2.10 ± 0.04 | 1.16 ± 0.06 | 2.40 ± 0.05 |
| 2 | 1.04 ± 0.08 | 1.00 ± 0.02 | 0.98 ± 0.02 | 1.06 ± 0.11 | 1.71 ± 0.19 |
| 3 | 0.92 ± 0.05 | 0.74 ± 0.04 | 1.10 ± 0.06 | 0.96 ± 0.06 | 1.04 ± 0.16 |
| 4 | 0.78 ± 0.08 | 0.54 ± 0.04 | 0.94 ± 0.10 | 0.86 ± 0.01 | 0.95 ± 0.06 |
| 5 | 0.56 ± 0.05 | 0.34 ± 0.07 | 0.67 ± 0.06 | 0.62 ± 0.09 | 0.82 ± 0.05 |
| 6 | 0.46 ± 0.05 | 0.29 ± 0.04 | 0.55 ± 0.06 | 0.56 ± 0.10 | 0.65 ± 0.04 |
| 7 | 0.25 ± 0.01 | 0.35 ± 0.06 | 0.30 ± 0.01 | 0.45 ± 0.02 | 0.56 ± 0.04 |
| 8 | 0.23 ± 0.06 | 0.27 ± 0.05 | 0.33 ± 0.07 | 0.46 ± 0.08 | 0.42 ± 0.06 |

ตารางที่ ฅ-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถั่วลอ่ย โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสงต่างกัน

| วันที่ เพาะเลี้ยง | ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร) | | | | |
|----------------------|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 10,000 ลักซ์ | 15,000 ลักซ์ | 20,000 ลักซ์ | 25,000 ลักซ์ | 30,000 ลักซ์ |
| 0 | 0.79 ± 0.14 | 1.16 ± 0.10 | 1.11 ± 0.09 | 1.04 ± 0.09 | 0.94 ± 0.08 |
| 1 | 0.45 ± 0.02 | 0.83 ± 0.07 | 0.79 ± 0.07 | 0.75 ± 0.07 | 0.67 ± 0.06 |
| 2 | 0.20 ± 0.05 | 0.81 ± 0.06 | 0.78 ± 0.06 | 0.73 ± 0.06 | 0.66 ± 0.05 |
| 3 | 0.12 ± 0.02 | 0.54 ± 0.09 | 0.51 ± 0.09 | 0.48 ± 0.08 | 0.44 ± 0.07 |
| 4 | 0.10 ± 0.01 | 0.35 ± 0.02 | 0.34 ± 0.02 | 0.32 ± 0.02 | 0.46 ± 0.05 |
| 5 | 0.11 ± 0.01 | 0.20 ± 0.05 | 0.19 ± 0.05 | 0.18 ± 0.05 | 0.21 ± 0.05 |
| 6 | 0.12 ± 0.01 | 0.13 ± 0.01 | 0.12 ± 0.01 | 0.11 ± 0.01 | 0.13 ± 0.01 |
| 7 | 0.12 ± 0.01 | 0.11 ± 0.01 | 0.10 ± 0.01 | 0.10 ± 0.01 | 0.11 ± 0.01 |
| 8 | 0.07 ± 0.04 | 0.12 ± 0.01 | 0.12 ± 0.01 | 0.11 ± 0.01 | 0.12 ± 0.01 |

ภาคผนวก ญ
ผลการทดลองการศึกษาผลของธาตุอาหารซิลิกา

ตารางที่ ญ-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร) | | |
|---------------------------|---|-------------------|-------------------|
| | 1 เท่าซิลิกา | 2 เท่าซิลิกา | 3 เท่าซิลิกา |
| 0 | 7.00 \pm 0.04 | 6.81 \pm 0.21 | 6.67 \pm 0.15 |
| 1 | 13.81 \pm 0.31 | 14.30 \pm 0.13 | 14.85 \pm 0.13 |
| 2 | 49.72 \pm 0.10 | 61.00 \pm 1.41 | 84.50 \pm 3.24 |
| 3 | 70.32 \pm 0.77 | 84.67 \pm 1.24 | 102.00 \pm 1.63 |
| 4 | 90.25 \pm 0.74 | 109.93 \pm 1.88 | 136.87 \pm 1.47 |
| 5 | 115.49 \pm 0.68 | 122.33 \pm 2.05 | 144.33 \pm 1.70 |
| 6 | 114.89 \pm 0.11 | 124.33 \pm 0.94 | 152.58 \pm 0.77 |
| 7 | 114.95 \pm 0.10 | 121.00 \pm 0.81 | 151.67 \pm 1.24 |
| 8 | 111.00 \pm 0.80 | 120.00 \pm 0.81 | 150.00 \pm 0.81 |

ตารางที่ ญ-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) | | |
|---------------------------|------------------------------|--------------|--------------|
| | 1 เท่าซิลิกา | 2 เท่าซิลิกา | 3 เท่าซิลิกา |
| 0 | 0.08 ± 0.01 | 0.08 ± 0.02 | 0.09 ± 0.02 |
| 1 | 0.13 ± 0.02 | 0.09 ± 0.01 | 0.13 ± 0.07 |
| 2 | 0.32 ± 0.05 | 0.29 ± 0.03 | 0.53 ± 0.05 |
| 3 | 0.42 ± 0.02 | 0.37 ± 0.04 | 0.76 ± 0.04 |
| 4 | 0.51 ± 0.01 | 0.59 ± 0.04 | 0.81 ± 0.01 |
| 5 | 0.59 ± 0.06 | 0.76 ± 0.04 | 0.91 ± 0.02 |
| 6 | 0.60 ± 0.03 | 0.81 ± 0.02 | 1.00 ± 0.04 |
| 7 | 0.60 ± 0.01 | 0.79 ± 0.01 | 1.05 ± 0.01 |
| 8 | 0.60 ± 0.02 | 0.80 ± 0.04 | 1.06 ± 0.03 |

ตารางที่ ญ-3 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | สารสีฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | | |
|---------------------------|----------------------------------|--------------|--------------|
| | 1 เท่าซิลิกา | 2 เท่าซิลิกา | 3 เท่าซิลิกา |
| 0 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 | 0.08 ± 0.01 |
| 1 | 0.28 ± 0.02 | 0.28 ± 0.01 | 0.33 ± 0.02 |
| 2 | 1.01 ± 0.03 | 1.13 ± 0.01 | 1.70 ± 0.01 |
| 3 | 1.42 ± 0.02 | 1.24 ± 0.01 | 2.28 ± 0.02 |
| 4 | 1.80 ± 0.01 | 1.99 ± 0.05 | 2.51 ± 0.01 |
| 5 | 2.21 ± 0.04 | 2.27 ± 0.03 | 2.81 ± 0.02 |
| 6 | 2.28 ± 0.01 | 2.79 ± 0.04 | 3.06 ± 0.02 |
| 7 | 2.25 ± 0.02 | 2.96 ± 0.03 | 3.20 ± 0.01 |
| 8 | 2.30 ± 0.03 | 3.03 ± 0.06 | 3.29 ± 0.01 |

ตารางที่ ญ-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ไนเตรท (มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) | | |
|---------------------------|----------------------------------|--------------|--------------|
| | 1 เท่าซิลิกา | 2 เท่าซิลิกา | 3 เท่าซิลิกา |
| 0 | 13.99 ± 0.29 | 13.82 ± 0.17 | 14.91 ± 0.39 |
| 1 | 13.63 ± 0.43 | 11.76 ± 0.33 | 11.77 ± 0.28 |
| 2 | 11.40 ± 0.11 | 9.12 ± 0.15 | 8.55 ± 0.15 |
| 3 | 10.11 ± 0.11 | 7.48 ± 0.15 | 6.43 ± 0.13 |
| 4 | 9.64 ± 0.29 | 6.93 ± 0.16 | 4.27 ± 0.06 |
| 5 | 6.40 ± 0.14 | 5.36 ± 0.09 | 4.52 ± 0.42 |
| 6 | 6.55 ± 0.36 | 5.56 ± 0.42 | 4.25 ± 0.02 |
| 7 | 6.14 ± 0.09 | 6.25 ± 0.05 | 4.85 ± 0.48 |
| 8 | 6.81 ± 0.27 | 5.69 ± 0.18 | 4.96 ± 0.53 |

ตารางที่ ญ-5 ปริมาณซิลิเกตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ซิลิเกต (มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร) | | |
|---------------------------|---------------------------------|--------------|--------------|
| | 1 เท่าซิลิกา | 2 เท่าซิลิกา | 3 เท่าซิลิกา |
| 0 | 3.25 ± 0.12 | 6.73 ± 0.36 | 8.78 ± 0.55 |
| 1 | 1.32 ± 0.05 | 3.66 ± 0.38 | 5.38 ± 0.42 |
| 2 | 1.00 ± 0.02 | 1.57 ± 0.12 | 2.10 ± 0.14 |
| 3 | 0.74 ± 0.04 | 1.38 ± 0.07 | 1.60 ± 0.16 |
| 4 | 0.54 ± 0.04 | 1.18 ± 0.12 | 1.14 ± 0.09 |
| 5 | 0.34 ± 0.07 | 0.84 ± 0.07 | 0.93 ± 0.10 |
| 6 | 0.29 ± 0.04 | 0.25 ± 0.01 | 0.51 ± 0.02 |
| 7 | 0.35 ± 0.06 | 0.16 ± 0.03 | 0.31 ± 0.03 |
| 8 | 0.27 ± 0.05 | 0.11 ± 0.02 | 0.39 ± 0.02 |

ตารางที่ ๖-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่มีปริมาณซิลิกาต่างกัน

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร) | | |
|---------------------------|----------------------------------|--------------|--------------|
| | 1 เท่าซิลิกา | 2 เท่าซิลิกา | 3 เท่าซิลิกา |
| 0 | 1.16 ± 0.10 | 1.13 ± 0.04 | 1.10 ± 0.04 |
| 1 | 0.83 ± 0.07 | 0.86 ± 0.01 | 0.84 ± 0.01 |
| 2 | 0.81 ± 0.06 | 0.25 ± 0.02 | 0.25 ± 0.02 |
| 3 | 0.54 ± 0.09 | 0.16 ± 0.03 | 0.16 ± 0.03 |
| 4 | 0.35 ± 0.02 | 0.18 ± 0.01 | 0.17 ± 0.01 |
| 5 | 0.20 ± 0.05 | 0.09 ± 0.02 | 0.09 ± 0.02 |
| 6 | 0.13 ± 0.01 | 0.12 ± 0.03 | 0.12 ± 0.05 |
| 7 | 0.11 ± 0.01 | 0.17 ± 0.01 | 0.16 ± 0.01 |
| 8 | 0.12 ± 0.01 | 0.14 ± 0.03 | 0.14 ± 0.03 |

ภาคผนวก ก

ผลการทดลองการศึกษาผลของธาตุอาหารหลักไนโตรเจน

ตารางที่ ก-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายไซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากแก้วลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีการลดปริมาณไนโตรเจน

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร) | | | |
|---------------------------|---|------------------|-------------------|-------------------|
| | 5% ไนโตรเจน | 20% ไนโตรเจน | 30% ไนโตรเจน | 100% ไนโตรเจน |
| 0 | 6.81 \pm 0.34 | 7.56 \pm 0.16 | 6.85 \pm 0.21 | 6.67 \pm 0.15 |
| 1 | 11.22 \pm 0.16 | 11.15 \pm 0.68 | 15.04 \pm 0.10 | 14.85 \pm 0.13 |
| 2 | 18.78 \pm 0.42 | 49.82 \pm 1.81 | 84.67 \pm 1.25 | 84.50 \pm 3.24 |
| 3 | 20.56 \pm 0.35 | 88.70 \pm 0.47 | 100.50 \pm 1.08 | 102.00 \pm 1.63 |
| 4 | 21.33 \pm 0.27 | 88.67 \pm 1.24 | 133.33 \pm 2.05 | 136.87 \pm 1.47 |
| 5 | 20.56 \pm 0.42 | 86.04 \pm 1.15 | 137.67 \pm 1.23 | 144.33 \pm 1.70 |
| 6 | 19.15 \pm 0.14 | 83.37 \pm 1.40 | 146.33 \pm 1.25 | 152.58 \pm 0.77 |
| 7 | 18.70 \pm 0.32 | 81.33 \pm 1.70 | 144.33 \pm 3.09 | 151.67 \pm 1.24 |
| 8 | 18.23 \pm 0.41 | 74.63 \pm 1.22 | 142.33 \pm 2.05 | 150.00 \pm 0.81 |

ตารางที่ ๒-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีการลดปริมาณไนโตรเจน

| วันที่ทำการเพาะเลี้ยง | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) | | | |
|-----------------------|------------------------------|--------------|--------------|---------------|
| | 5% ไนโตรเจน | 20% ไนโตรเจน | 30% ไนโตรเจน | 100% ไนโตรเจน |
| 0 | 0.07 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | 0.09 ± 0.01 | 0.09 ± 0.02 |
| 1 | 0.10 ± 0.01 | 0.12 ± 0.01 | 0.19 ± 0.02 | 0.13 ± 0.07 |
| 2 | 0.21 ± 0.01 | 0.44 ± 0.03 | 0.55 ± 0.06 | 0.53 ± 0.05 |
| 3 | 0.22 ± 0.02 | 0.55 ± 0.01 | 0.60 ± 0.01 | 0.76 ± 0.04 |
| 4 | 0.29 ± 0.01 | 0.55 ± 0.01 | 0.69 ± 0.02 | 0.81 ± 0.01 |
| 5 | 0.25 ± 0.01 | 0.53 ± 0.01 | 0.82 ± 0.03 | 0.91 ± 0.02 |
| 6 | 0.28 ± 0.01 | 0.55 ± 0.02 | 0.88 ± 0.02 | 1.00 ± 0.04 |
| 7 | 0.27 ± 0.02 | 0.52 ± 0.01 | 0.95 ± 0.01 | 1.05 ± 0.01 |
| 8 | 0.28 ± 0.02 | 0.57 ± 0.02 | 0.95 ± 0.01 | 1.06 ± 0.03 |

ตารางที่ ๒-3 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีการลดปริมาณไนโตรเจน

| วันที่ทำการเพาะเลี้ยง | สารสีฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | | | |
|-----------------------|----------------------------------|--------------|--------------|---------------|
| | 5% ไนโตรเจน | 20% ไนโตรเจน | 30% ไนโตรเจน | 100% ไนโตรเจน |
| 0 | 0.08 ± 0.01 | 0.10 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 | 0.08 ± 0.01 |
| 1 | 0.25 ± 0.02 | 0.47 ± 0.03 | 0.42 ± 0.02 | 0.33 ± 0.02 |
| 2 | 0.42 ± 0.02 | 2.15 ± 0.07 | 1.84 ± 0.02 | 1.70 ± 0.01 |
| 3 | 0.59 ± 0.03 | 3.04 ± 0.06 | 2.06 ± 0.01 | 2.28 ± 0.02 |
| 4 | 0.67 ± 0.02 | 3.04 ± 0.05 | 2.25 ± 0.03 | 2.51 ± 0.01 |
| 5 | 0.70 ± 0.01 | 3.01 ± 0.06 | 2.57 ± 0.25 | 2.81 ± 0.02 |
| 6 | 0.69 ± 0.02 | 3.05 ± 0.05 | 2.98 ± 0.02 | 3.06 ± 0.02 |
| 7 | 0.65 ± 0.02 | 3.01 ± 0.04 | 3.12 ± 0.04 | 3.20 ± 0.01 |
| 8 | 0.67 ± 0.03 | 3.00 ± 0.05 | 3.18 ± 0.03 | 3.29 ± 0.01 |

ตารางที่ ๔-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยง โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของ ปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีการลดปริมาณไนโตรเจน

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ไนเตรท (มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) | | | |
|---------------------------|----------------------------------|--------------|--------------|---------------|
| | 5% ไนโตรเจน | 20% ไนโตรเจน | 30% ไนโตรเจน | 100% ไนโตรเจน |
| 0 | 0.78 ± 0.03 | 3.16 ± 0.17 | 4.79 ± 0.25 | 14.91 ± 0.39 |
| 1 | 0.04 ± 0.02 | 1.30 ± 0.03 | 1.97 ± 0.04 | 11.77 ± 0.28 |
| 2 | 0.06 ± 0.01 | 0.76 ± 0.05 | 1.16 ± 0.08 | 8.55 ± 0.15 |
| 3 | 0.04 ± 0.01 | 0.14 ± 0.01 | 1.04 ± 0.07 | 6.43 ± 0.13 |
| 4 | 0.06 ± 0.02 | 0.13 ± 0.01 | 1.03 ± 0.03 | 4.27 ± 0.06 |
| 5 | 0.06 ± 0.02 | 0.04 ± 0.01 | 0.88 ± 0.05 | 4.52 ± 0.42 |
| 6 | 0.04 ± 0.02 | 0.09 ± 0.03 | 1.03 ± 0.06 | 4.25 ± 0.02 |
| 7 | 0.03 ± 0.03 | 0.03 ± 0.02 | 0.98 ± 0.01 | 4.85 ± 0.48 |
| 8 | 0.05 ± 0.02 | 0.04 ± 0.01 | 0.96 ± 0.03 | 4.96 ± 0.53 |

ตารางที่ ๔-5 ปริมาณซิลิเกตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยง โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถ้าลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของ ปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีการลดปริมาณไนโตรเจน

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ซิลิเกต (มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร) | | | |
|---------------------------|---------------------------------|--------------|--------------|---------------|
| | 5% ไนโตรเจน | 20% ไนโตรเจน | 30% ไนโตรเจน | 100% ไนโตรเจน |
| 0 | 8.75 ± 0.14 | 8.12 ± 0.51 | 8.55 ± 0.54 | 8.78 ± 0.55 |
| 1 | 6.02 ± 0.17 | 5.12 ± 0.30 | 5.39 ± 0.32 | 5.38 ± 0.42 |
| 2 | 5.60 ± 0.06 | 2.79 ± 0.15 | 2.93 ± 0.15 | 2.10 ± 0.14 |
| 3 | 3.32 ± 0.03 | 2.05 ± 0.21 | 2.51 ± 0.25 | 1.60 ± 0.16 |
| 4 | 2.12 ± 0.05 | 1.46 ± 0.12 | 1.78 ± 0.15 | 1.14 ± 0.09 |
| 5 | 2.18 ± 0.03 | 0.88 ± 0.08 | 1.07 ± 0.10 | 0.93 ± 0.10 |
| 6 | 2.03 ± 0.02 | 0.20 ± 0.01 | 0.79 ± 0.03 | 0.51 ± 0.02 |
| 7 | 2.08 ± 0.02 | 0.19 ± 0.01 | 0.77 ± 0.03 | 0.31 ± 0.03 |
| 8 | 2.21 ± 0.02 | 0.18 ± 0.01 | 0.73 ± 0.04 | 0.39 ± 0.02 |

ตารางที่ ๖-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยง โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของ ปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 และมีการลดปริมาณไนโตรเจน

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร) | | | |
|---------------------------|----------------------------------|--------------|--------------|---------------|
| | 5% ไนโตรเจน | 20% ไนโตรเจน | 30% ไนโตรเจน | 100% ไนโตรเจน |
| 0 | 0.98 ± 0.04 | 0.97 ± 0.03 | 1.15 ± 0.04 | 1.10 ± 0.04 |
| 1 | 0.75 ± 0.01 | 0.68 ± 0.03 | 0.80 ± 0.04 | 0.84 ± 0.01 |
| 2 | 0.22 ± 0.02 | 0.20 ± 0.02 | 0.23 ± 0.03 | 0.25 ± 0.02 |
| 3 | 0.14 ± 0.03 | 0.13 ± 0.01 | 0.15 ± 0.02 | 0.16 ± 0.03 |
| 4 | 0.13 ± 0.01 | 0.13 ± 0.02 | 0.16 ± 0.03 | 0.17 ± 0.01 |
| 5 | 0.14 ± 0.04 | 0.07 ± 0.01 | 0.09 ± 0.01 | 0.09 ± 0.02 |
| 6 | 0.09 ± 0.02 | 0.06 ± 0.03 | 0.07 ± 0.01 | 0.12 ± 0.05 |
| 7 | 0.11 ± 0.02 | 0.06 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 | 0.16 ± 0.01 |
| 8 | 0.12 ± 0.01 | 0.07 ± 0.05 | 0.09 ± 0.01 | 0.14 ± 0.03 |



ภาคผนวก ก

ผลการทดลองการศึกษาผลของรูปแบบการให้แสงในช่วงระยะเวลาเติบโตคงที่

ตารางที่ ก-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 -5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร) | |
|---------------------------|---|---------------------------------|
| | 20% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ | 100% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ |
| 0 | 7.56 \pm 0.16 | 7.48 \pm 0.26 |
| 1 | 11.15 \pm 0.68 | 13.67 \pm 0.82 |
| 2 | 50.96 \pm 1.00 | 74.37 \pm 3.71 |
| 3 | 91.65 \pm 2.74 | 108.00 \pm 2.23 |
| 4 | 88.67 \pm 1.25 | 138.43 \pm 2.17 |
| 5 | 85.47 \pm 1.74 | 154.54 \pm 1.92 |
| 6 | 85.47 \pm 2.85 | 155.54 \pm 3.66 |
| 7 | 81.89 \pm 0.83 | 153.18 \pm 1.26 |
| 8 | 79.48 \pm 1.65 | 151.50 \pm 0.82 |

ตารางที่ ๒-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถาลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 -5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8

| วันที่ทำการเพาะเลี้ยง | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) | |
|-----------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| | 20% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ | 100% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ |
| 0 | 0.06 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 |
| 1 | 0.09 ± 0.01 | 0.10 ± 0.02 |
| 2 | 0.36 ± 0.01 | 0.48 ± 0.02 |
| 3 | 0.53 ± 0.05 | 0.70 ± 0.01 |
| 4 | 0.59 ± 0.04 | 0.90 ± 0.01 |
| 5 | 0.61 ± 0.02 | 0.99 ± 0.03 |
| 6 | 0.60 ± 0.02 | 0.99 ± 0.04 |
| 7 | 0.57 ± 0.01 | 1.00 ± 0.01 |
| 8 | 0.55 ± 0.02 | 1.00 ± 0.02 |

ตารางที่ ๒-3 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากเถาลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 -5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8

| วันที่ทำการเพาะเลี้ยง | สารสีฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร) | |
|-----------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | 20% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ | 100% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ |
| 0 | 0.08 ± 0.02 | 0.09 ± 0.01 |
| 1 | 0.49 ± 0.05 | 0.37 ± 0.02 |
| 2 | 2.10 ± 0.03 | 1.86 ± 0.02 |
| 3 | 2.90 ± 0.04 | 2.41 ± 0.03 |

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | สารสีฟูโคแซนทีน (มิลลิกรัม/ลิตร) | |
|---------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | 20% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ | 100% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ |
| 4 | 3.00 ± 0.04 | 2.61 ± 0.02 |
| 5 | 2.98 ± 0.03 | 2.87 ± 0.02 |
| 6 | 3.07 ± 0.02 | 3.12 ± 0.04 |
| 7 | 3.12 ± 0.02 | 3.23 ± 0.03 |
| 8 | 3.16 ± 0.03 | 3.33 ± 0.01 |

ตารางที่ ๓-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซิลิกาในรูปสารละลายโซเดียมซิลิเกตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซิลิกาเป็น 3 เท่าของปริมาณซิลิกาในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 -5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ไนเตรท (มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) | |
|---------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | 20% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ | 100% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ |
| 0 | 2.88 ± 0.09 | 14.18 ± 0.11 |
| 1 | 1.167 ± 0.03 | 11.53 ± 0.09 |
| 2 | 0.69 ± 0.03 | 8.94 ± 0.23 |
| 3 | 0.62 ± 0.03 | 7.33 ± 0.20 |
| 4 | 0.31 ± 0.03 | 6.75 ± 0.15 |
| 5 | 0.26 ± 0.03 | 5.25 ± 0.21 |
| 6 | 0.09 ± 0.01 | 5.45 ± 0.02 |
| 7 | 0.06 ± 0.02 | 5.44 ± 0.09 |
| 8 | 2.88 ± 0.08 | 14.18 ± 0.11 |

ตารางที่ ๕-5 ปริมาณซัลเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซัลเฟตในรูปสารละลายโซเดียมซัลเฟตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซัลเฟตเป็น 3 เท่าของปริมาณซัลเฟตในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 -5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8

| วันที่ทำการเพาะเลี้ยง | ซัลเฟต (มิลลิกรัม-ซัลเฟต/ลิตร) | |
|-----------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| | 20% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ | 100% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ |
| 0 | 8.87 ± 0.42 | 8.12 ± 0.12 |
| 1 | 5.75 ± 0.11 | 5.12 ± 0.05 |
| 2 | 2.14 ± 0.08 | 2.79 ± 0.03 |
| 3 | 1.63 ± 0.09 | 2.35 ± 0.07 |
| 4 | 1.16 ± 0.04 | 1.69 ± 0.02 |
| 5 | 0.95 ± 0.0 | 5.25 ± 0.21 |
| 6 | 0.52 ± 0.03 | 1.02 ± 0.04 |
| 7 | 0.31 ± 0.04 | 0.75 ± 0.05 |
| 8 | 0.40 ± 0.04 | 0.69 ± 0.05 |

ตารางที่ ๕-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงไตอะตอม *Bacillaria paxillifer* ที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่ใช้ซัลเฟตในรูปสารละลายโซเดียมซัลเฟตที่สกัดจากถ้ำลอยที่ทำการเพิ่มปริมาณซัลเฟตเป็น 3 เท่าของปริมาณซัลเฟตในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 มีการให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ในระหว่างวันที่ 0 -5 และมีการปิดแสงในระหว่างวันที่ 5 - 8

| วันที่ทำการเพาะเลี้ยง | ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร) | |
|-----------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | 20% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ | 100% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ |
| 0 | 0.98 ± 0.05 | 1.09 ± 1.10 |
| 1 | 0.75 ± 0.04 | 0.67 ± 0.68 |
| 2 | 0.25 ± 0.05 | 0.20 ± 0.23 |
| 3 | 0.14 ± 0.04 | 0.12 ± 0.18 |

| วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง | ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร) | |
|---------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | 20% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ | 100% ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ |
| 4 | 0.13 ± 0.03 | 0.13 ± 0.07 |
| 5 | 0.14 ± 0.02 | 0.07 ± 0.05 |
| 6 | 0.09 ± 0.02 | 0.06 ± 0.05 |
| 7 | 0.11 ± 0.03 | 0.06 ± 0.03 |
| 8 | 0.12 ± 0.03 | 0.07 ± 0.11 |



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวมาฆมาส รัชชัย เกิดเมื่อวันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2537 ที่จังหวัดสมุทรสงคราม จบการศึกษาระดับมัธยมต้นและมัธยมปลายจากโรงเรียนสุรศักดิ์มนตรี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2558 ต่อมาได้รับการคัดเลือกเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2559

ผลงานวิจัยที่ได้รับการเผยแพร่

Tawatchai M., Tapaneeyaworawong P., Powtongsook S., Nootong K. Effects of Carbon Dioxide and Light Intensity on Growth and Fucoxanthin Production of Diatom *Bacillaria cf. paxillifer* with Silica Source Extracted from Fly Ash. Proceedings of the 6th Marine Science Conference, Bangsaen Heritage Hotel, Chon Buri, Thailand