

การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เพื่อผลิตฟิวโคแซนทีนโดยใช้ถังปฏิกรณ์เชิงแสงชนิดแผ่น
แบน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CULTIVATION OF DIATOM *THALASSIOSIRA* SP. FOR FUcoxANTHIN PRODUCTION
USING FLAT-PANEL PHOTOBIOREACTOR



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

Department of Chemical Engineering

FACULTY OF ENGINEERING

Chulalongkorn University

Academic Year 2021

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. เพื่อผลิตฟูโคแซนทินโดยใช้ถังปฏิกรณ์เชิงแสงชนิดแผ่นแบน
โดย	น.ส.สุชานันท์ ขวัญเจริญ
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.กษิติศ หนูทอง
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

.....	คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ประธานกรรมการ
.....	
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิวัฒน์ สุทธิธารวัช)	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
.....	
(รองศาสตราจารย์ ดร.กษิติศ หนูทอง)	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
.....	
(ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข)	กรรมการ
.....	
(ศาสตราจารย์ ดร.เหมือนเดือน พิศาลพงศ์)	กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
.....	
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มะลิวัลย์ คุตะโค)	

สุชานันท์ ขวัญเจริญ : การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เพื่อผลิตฟูโคแซนทินโดยใช้ถังปฏิกรณ์เชิงแสงชนิดแผ่นแบน. (CULTIVATION OF DIATOM *THALASSIOSIRA* SP. FOR FUCOXANTHIN PRODUCTION USING FLAT-PANEL PHOTOBIOREACTOR) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. ดร.กษิตศ หนูทอง, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เพื่อผลิตฟูโคแซนทิน โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน การปรับความเข้มข้นของปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าพบว่าความเข้มข้นของไนโตรเจน 75% ของปริมาณในอาหารสูตร F/2 สามารถให้ผลผลิตฟูโคแซนทินได้ไม่แตกต่างจากชุดการใช้อาหารสูตรปกติและได้รับปริมาณฟูโคแซนทินสูงสุดเท่ากับ 3.718 ± 0.4138 มิลลิกรัม/กรัม การทดลองปรับความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังถังปฏิกรณ์ชีวภาพในระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม พบว่าความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ 2000 ลักซ์ ให้ผลการเพาะเลี้ยงดีที่สุดโดยมีค่าน้ำหนักแห้ง อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ผลผลิตชีวมวล และผลผลิตฟูโคแซนทินเท่ากับ 0.23 ± 0.001 กรัม/ลิตร 0.72 ± 0.008 วัน⁻¹ 21.01 ± 0.454 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน และ 0.048 ± 0.003 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน ตามลำดับ ในส่วนการทดลองปรับคุณภาพแสง พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ สามารถช่วยกระตุ้นการสะสมฟูโคแซนทินในเซลล์ไดอะตอมได้มากกว่าแสงสีขาวและแสงสีแดง และในการทดลองเพื่อศึกษาความจำเป็นในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไม่ได้ช่วยเพิ่มผลผลิตชีวมวลและฟูโคแซนทิน และพบว่าการเติมธาตุอาหารเพิ่มเติมระหว่างการเพาะเลี้ยงสามารถลดข้อจำกัดในการเจริญเติบโตของไดอะตอมได้ ในการทดลองส่วนสุดท้ายได้เพาะเลี้ยงไดอะตอมโดยใช้สภาวะเหมาะสมจากผลการทดลองก่อนหน้านี้ ผลการทดลองพบว่า การเพาะเลี้ยงโดยใช้ไนโตรเจน 75% ของปริมาณในอาหารสูตร F/2 ควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ 2000 ลักซ์ ในวันที่ 0-4 ร่วมกับการให้แสงสีน้ำเงินในวันที่ 5-8 ของการทดลอง ควบคู่ไปกับการเติมธาตุอาหาร เป็นสภาวะที่ดีที่สุด โดยให้ผลผลิตชีวมวลและผลผลิตฟูโคแซนทินเท่ากับ 45.18 ± 5.870 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน และ 0.127 ± 0.0040 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว 5000 ลักซ์ 154% และ 28% ตามลำดับ

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ปีการศึกษา 2564

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

6270295721 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORD: Diatom, Fucoxanthin, Flat-panel photobioreactor

Suchanun Khwanjaroen : CULTIVATION OF DIATOM *THALASSIOSIRA* SP. FOR FUCOXANTHIN PRODUCTION USING FLAT-PANEL PHOTOBIOREACTOR. Advisor: Assoc. Prof. Dr. KASIDIT NOOTONG Co-advisor: Dr. Sorawit Powtongsook

This research studied the cultivating condition of diatom *Thalassiosira* sp. in flat-panel photobioreactor for fucoxanthin production. The reduction of nitrogen concentration to 75% of the amount in F/2 medium resulted in similar fucoxanthin content (3.718 ± 0.4138 mg/g) to the cultivation using the standard F/2 medium. Adjustment of incoming light intensity, in order to maintain relatively constant light intensity at the back-panel of the photobioreactor at 2000 lux, yielded the highest dried weight, maximum specific growth rate, biomass productivity and fucoxanthin productivity at 0.23 ± 0.001 g/L, 0.72 ± 0.008 day⁻¹, 21.01 ± 0.454 mg/L-day and 0.048 ± 0.003 mg/L-day, respectively. The next experiment, involving adjustment of light quality (wavelength), indicated that the cultivation using blue light at 2000 lux was capable of enhancing fucoxanthin accumulation in biomass greater than white and red lights. The subsequently study demonstrated that the presence of carbon dioxide (2% v/v) did not improve biomass and fucoxanthin production and yielded similar growth performance as compared to the cultivation using ambient air, whereas the additional supply of macronutrients during the growth period could reduce growth limitation of diatoms. The final experiment combined the results of earlier cultivation (i.e., namely reduced nitrogen concentration to 75% of the amount in F/2 medium, maintaining the light intensity at the back-panel of the photobioreactor at 2000 lux during the growth period, illuminating with blue light during stationary phase, and supplying additional macronutrients). Under the described condition, biomass and fucoxanthin productivities were 45.18 ± 5.870 and 0.127 ± 0.0040 mg/L-day, respectively, which were approximately 154% and 28% higher than the normal cultivation using white light at 5000 lux.

Field of Study: Chemical Engineering

Student's Signature

Academic Year: 2021

Advisor's Signature

Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยความอนุเคราะห์ช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณต่อผู้ให้ความอนุเคราะห์ดังต่อไปนี้

รองศาสตราจารย์ ดร. กษิติศ หนูทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ ดร. สรวิศ เผ่าทองสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ให้ความรู้ คำปรึกษา คอยชี้แนะให้คำแนะนำและหลักการที่เป็นประโยชน์ในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในแต่ละขั้นตอนของการทำงานวิจัย รวมทั้งตรวจทานและแก้จนวิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์ ซึ่งมีส่วนสำคัญมากในการทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภินันท์ สุทธิธรรวรัช ที่กรุณาเป็นประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ ตลอดจน ศาสตราจารย์ ดร. เหมือนเดือน พิศาลพงศ์ กรรมการ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะลิวัลย์ คุตะโต กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย ที่กรุณา ชี้แนะ ตรวจทาน แก้ไขจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์และถูกต้อง นอกจากนี้ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือและมอบความรู้ที่เป็นประโยชน์

ขอขอบพระคุณศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านสถานที่สำหรับทำวิจัย ตลอดจนให้ความกรุณาสำหรับเครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี รวมทั้งคำแนะนำในการวิเคราะห์ทางด้านวิทยาศาสตร์

ขอขอบคุณคุณ ปวีณา ตปณียวรวงค์ และพี่ๆ น้องๆ ที่ทำงานวิจัยในศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเลทุกคน ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในด้านต่างๆ เป็นอย่างดี และขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับมิตรภาพ กำลังใจ ตลอดจนความช่วยเหลือทั้งในด้านการเรียนและการทำวิทยานิพนธ์ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา

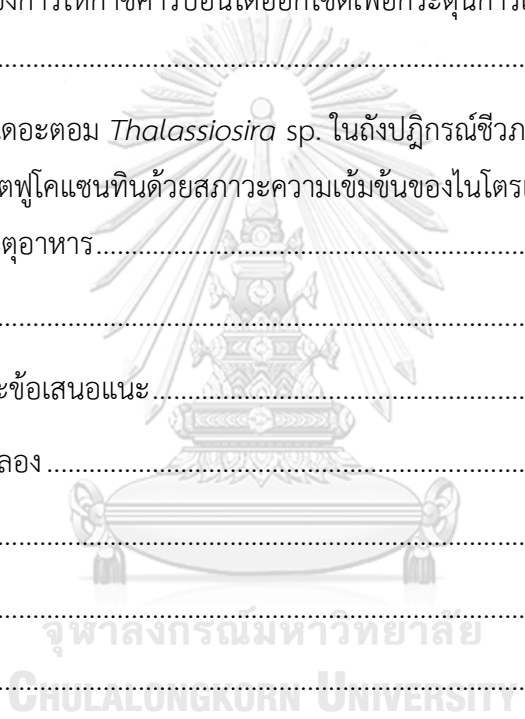
สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา เพื่อนๆ และสมาชิกทุกคนในครอบครัวที่ช่วยสนับสนุน ส่งเสริม เป็นแรงผลักดัน และเป็นกำลังใจที่ดีที่สุดแก่ผู้วิจัย จนทำให้การศึกษาครั้งนี้ประสบผลสำเร็จลุล่วง

สุชานันท์ ขวัญเจริญ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
บทที่ 1	1
บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	4
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	4
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ.....	5
บทที่ 2	6
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 สันฐานวิทยาและลักษณะทั่วไปของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp.....	6
2.2 รังควัตถุ (pigment).....	14
2.3 ฟุโคแซนทีน	15
2.4 ระบบการเลี้ยงจุลสาหร่ายหรือไดอะตอม [14].....	18
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	21
บทที่ 3	23
วิธีการดำเนินงานวิจัย	23
3.1 การเตรียมหัวเชื้อไดอะตอม.....	23
3.2 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน	25

3.3 ผลจากสภาวะแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีน	26
บทที่ 4	34
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	34
4.1 ผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีน	34
4.2.1 ผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีน	41
4.2.2 ผลของคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีน	49
4.3 ความจำเป็นของการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีน	56
4.4 การเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนขนาด 2 ลิตร เพื่อผลิตฟูโคแซนทีนด้วยสภาวะความเข้มข้นของไนโตรเจน การให้แสงที่เหมาะสม และการเติมธาตุอาหาร	63
บทที่ 5	74
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	74
5.1 สรุปผลการทดลอง	74
5.2 ข้อเสนอแนะ	76
บรรณานุกรม	78
ภาคผนวก	85
ภาคผนวก ก	86
ภาคผนวก ข	87
ภาคผนวก ค	88
ภาคผนวก ง	90
ภาคผนวก จ	93
ภาคผนวก ฉ	96
ภาคผนวก ช	103
ภาคผนวก ฌ	110



ภาคผนวก ก.....	116
ภาคผนวก ข.....	121
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	129
บรรณานุกรม.....	130
ประวัติผู้เขียน.....	132



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ปริมาณกรดไขมันที่ตรวจพบในไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp.....	8
ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับความเข้มข้นสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม.....	9
ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม.....	11
ตารางที่ 2.4 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม.....	11
ตารางที่ 2.5 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม..	12
ตารางที่ 2.6 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับความเป็นกรดต่างสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม.....	12
ตารางที่ 2.7 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับค่าความเค็มสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม.....	13
ตารางที่ 2.8 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสภาวะการเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp.	13
ตารางที่ 2.9 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตชีวมวลและสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม.....	14
ตารางที่ 2.10 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายและแบคทีเรียในสภาวะกลางแจ้งด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง.....	20
ตารางที่ 3.1 อาหารมาตรฐานสูตร F/2.....	24
ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวน ขนาด 1 ลิตร ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน.....	40
ตารางที่ 4.2 ฟูโคแซนทินต่อหน่วยน้ำหนักแห้ง ผลผลิตชีวมวลไดอะตอม และผลผลิตฟูโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวน ขนาด 1 ลิตร ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน.....	40
ตารางที่ 4.3 ผลกระทบของความเข้มข้นที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดของการเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบน ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยควบคุมระดับความเข้มข้นส่องผ่านที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....	48

ตารางที่ 4.4 ปริมาณฟูโคแซนทินต่อหน่วยน้ำหนักแห้ง ผลผลิตชีวมวลไดอะตอม และผลผลิตฟูโคแซนทิน จากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนโดยควบคุมระดับความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ 500 1,000 2,000 3,000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....	48
ตารางที่ 4.5 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....	55
ตารางที่ 4.6 ฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณผลผลิตชีวมวลไดอะตอม ปริมาณผลผลิตฟูโคแซนทิน ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....	56
ตารางที่ 4.7 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยให้อากาศปกติและให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบถึงกวน.....	62
ตารางที่ 4.8 น้ำหนักแห้งเซลล์แห้ง ปริมาณฟูโคแซนทิน ปริมาณผลผลิตชีวมวลไดอะตอม และปริมาณผลผลิตฟูโคแซนทิน ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยให้อากาศปกติและให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบถึงกวน.....	62
ตารางที่ 4.9 สภาวะการเพาะเลี้ยงของชุดการทดลองต่างๆ.....	64
ตารางที่ 4.10 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....	72
ตารางที่ 4.11 ปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณผลผลิตชีวมวลไดอะตอม ผลผลิตฟูโคแซนทิน ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำ	

การทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....72

ตารางที่ 4.12 ปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณผลผลิตชีวมวลไดอะตอม ผลผลิตฟูโคแซนทิน ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....73

ตารางที่ ข-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน.....98

ตารางที่ ข-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน.....99

ตารางที่ ข-3 ความเข้มข้นของฟูโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน.....99

ตารางที่ ข-4 ความเข้มข้นของไนเตรตระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ และอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน.....100

ตารางที่ ข-5 ความเข้มข้นของซิลิเกตระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ และอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน.....101

ตารางที่ ข-6 ความเข้มข้นของฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ และอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน.....102

ตารางที่ ข-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 โดยปรับความเข้มแสงที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้คงที่เท่ากับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....103

ตารางที่ ซ-2	น้ำหนักแห้งเซลล์ของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ด้วยอาหารสูตร F/2 โดยทำการปรับความเข้มข้นที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนให้คงที่เท่ากับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....	104
ตารางที่ ซ-3	ความเข้มข้นด้านหน้าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนเพื่อใช้ควบคุมความเข้มข้นด้านหลังถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ระดับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....	105
ตารางที่ ซ-4	ความเข้มข้นของฟูโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน ด้วยอาหารสูตร F/2 โดยควบคุมระดับความเข้มข้นที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนที่ 500 1,000 2,000 3,000 และ 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....	106
ตารางที่ ซ-5	ปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยทำการปรับความเข้มข้นที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนให้คงที่ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....	107
ตารางที่ ซ-6	ปริมาณซิลิเกตในอาหารเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยทำการปรับความเข้มข้นที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนให้คงที่ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....	108
ตารางที่ ซ-7	ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยทำการปรับความเข้มข้นที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนให้คงที่ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....	109
ตารางที่ ณ-1	ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มข้น 2000 ลักซ์.....	110
ตารางที่ ณ-2	น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มข้น 2000 ลักซ์.....	111

ตารางที่ ฅ-3 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....	112
ตารางที่ ฅ-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....	113
ตารางที่ ฅ-5 ปริมาณซิลิเกตในอาหารเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....	114
ตารางที่ ฅ-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....	115
ตารางที่ ญ-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน.....	116
ตารางที่ ญ-2 น้ำหนักเซลล์แห้งเซลล์ของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน.....	117
ตารางที่ ญ-3 ความเข้มข้นของฟูโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ในน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ อาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน.....	117
ตารางที่ ญ-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน.....	118

ตารางที่ ญ-5 ปริมาณซิลิเกตในอาหารเลี้ยงไต่อะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มข้นแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน.....119

ตารางที่ ญ-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงไต่อะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มข้นแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน.....120

ตารางที่ ฎ-1 ความหนาแน่นของไต่อะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....121

ตารางที่ ฎ-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไต่อะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....122

ตารางที่ ฎ-3 ความเข้มข้นด้านหน้าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน ที่ถูกใช้ในสภาวะชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3.....123

ตารางที่ ฎ-4 พลังงานไฟฟ้าที่ถูกใช้ (วัตต์) ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน ในสภาวะชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3.....124

ตารางที่ ฎ-5 ปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินในไต่อะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....125

ตารางที่ ฎ-6 ปริมาณไนเตรทระหว่างการเพาะเลี้ยงไต่อะตอม *Thalassiosira* sp. โดยทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....126

ตารางที่ ๗-7 ปริมาณซิลิเกตระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. โดยทำการทดลอง โดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....127

ตารางที่ ๗-8 ปริมาณฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. โดยทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....128



สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 ไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp.	7
รูปที่ 2.2 เซลล์ไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40 เท่า.....	8
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของ แอลฟา-แคโรทีนและเบต้า-แคโรทีน.....	15
รูปที่ 2.4 โครงสร้างของฟูโคแซนทินและเมตาโบไลต์ของฟูโคแซนทิน.....	16
รูปที่ 2.5 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านอาหารที่มีฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ.....	17
รูปที่ 2.6 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านอาหารที่มีฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ.....	18
รูปที่ 2.7 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นแบน.....	20
รูปที่ 3.1 หัวเชื้อไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp.	23
รูปที่ 3.2 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน ขนาด 2 ลิตร (3 มิติ)	26
รูปที่ 3.3 การวัดแสงด้านหน้าและด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....	28
รูปที่ 4.1 ความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักรีดเซลล์แห้งของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยง ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจน ต่างกัน	38
รูปที่ 4.2 ความเข้มข้นของไนเตรทจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ในถังปฏิกรณ์ ชีวภาพเชิงแสงแบบกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ และอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณ ไนโตรเจนต่างกัน	39
รูปที่ 4.3 ความเข้มข้นของฟูโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ในถัง ปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มี ปริมาณไนโตรเจนต่างกัน.....	39
รูปที่ 4.4 ความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักรีดเซลล์แห้งของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยง ด้วยอาหารสูตร F/2 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนโดยปรับความเข้มแสงที่ด้านหลังของ	

ถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้คงที่เท่ากับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง	43
รูปที่ 4.5 ความเข้มแสงด้านหน้าถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนเพื่อใช้ควบคุมความเข้มแสงด้านหลังถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ระดับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....	44
รูปที่ 4.6 ความเข้มข้นของฟูโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนโดยปรับความเข้มแสงที่ด้านหลังของถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้คงที่เท่ากับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง	45
รูปที่ 4.7 ปริมาณไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนโดยปรับความเข้มแสงที่ด้านหลังของถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้คงที่เท่ากับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง.....	47
รูปที่ 4.8 ความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักรวมของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์.....	51
รูปที่ 4.9 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์	53
รูปที่ 4.10 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อหน้าหนักรวมของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์.....	53
รูปที่ 4.11 ปริมาณไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์.....	54

รูปที่ 4.12 ความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักรเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน เปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวน.....58

รูปที่ 4.13 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน เปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวน.....60

รูปที่ 4.14 ปริมาณไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน เปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวน.....61

รูปที่ 4.15 ความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักรเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน66

รูปที่ 4.16 ความเข้มแสงด้านหน้าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน ที่ถูกใช้ในสภาวะชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน..67

รูปที่ 4.17 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....70

รูปที่ 4.18 ปริมาณไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน.....71

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ฟูโคแซนทินเป็นรงควัตถุกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่สามารถพบได้ในไดอะตอมและสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล มีโครงสร้างเป็นสารประกอบเชิงซ้อนซึ่งประกอบไปด้วยคาร์บอน 40 อะตอม พันธะอัลลีนิก และ 5,6-โมโนอีพ็อกไซด์ [1] ข้อมูลจากงานวิจัยพบว่าฟูโคแซนทินช่วยกระตุ้นอัตราการเผาผลาญ ลดการแบ่งตัวของเซลล์ไขมัน ช่วยชะลอการสะสมไขมันในเซลล์ และเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการเผาผลาญไขมันภายในเซลล์ ฟูโคแซนทินมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันโรคมะเร็งและโรคหลอดเลือดหัวใจ ลดการอักเสบของดวงตาและการเกิดต้อกระจก และป้องกันเส้นเลือดในสมองแตก [2] จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้ฟูโคแซนทินถูกนำมาใช้ประโยชน์มากขึ้นโดยเป็นองค์ประกอบหลักในอาหารเสริม ยา และผลิตภัณฑ์ในกลุ่มเวชสำอาง จากการสืบค้นพบว่ามูลค่าทางการตลาดฟูโคแซนทินเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะในแถบอเมริกาเหนือ ยุโรป จีน และญี่ปุ่น [3] ปัจจุบันราคาซื้อขายฟูโคแซนทินในระดับมาตรฐานการวิเคราะห์อยู่ที่ประมาณ 72.5 ดอลลาร์สหรัฐต่อมิลลิกรัม ขณะที่ฟูโคแซนทินที่มีความบริสุทธิ์มากกว่า 95% อยู่ที่ 13.8 ดอลลาร์สหรัฐต่อมิลลิกรัม [4]

ในปัจจุบันการผลิตฟูโคแซนทินใช้การสกัดจากชีวมวลสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล กระบวนการดังกล่าวมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น การเจริญเติบโตช้าของสาหร่ายทะเล สภาวะการเพาะเลี้ยงซึ่งต้องการน้ำทะเลที่มีอุณหภูมิต่ำ ความยุ่งยากในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย และการปนเปื้อนของโลหะหนัก [5] ขณะที่ข้อมูลจากงานวิจัยพบว่าปริมาณฟูโคแซนทินในไดอะตอมมีอยู่ที่ประมาณ 1% ถึง 6% น้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมากกว่าปริมาณในสาหร่ายสีน้ำตาลถึงประมาณ 100 เท่า [6] ดังนั้นการพัฒนาการผลิตฟูโคแซนทินจากไดอะตอมให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นจึงมีความจำเป็น จากการค้นคว้าพบว่าไดอะตอม *Odontella aurita* และ *Phaeodactylum tricornutum* ได้รับความสนใจในการใช้ผลิตฟูโคแซนทินมากที่สุดซึ่งเป็นผลจากมีปริมาณฟูโคแซนทินต่อหน่วยน้ำหนักแห้งสูงสุด [6-9] อย่างไรก็ตามจากความหลากหลายทางชีวภาพของไดอะตอมในประเทศไทย จึงทำให้เกิดแรงจูงใจในการศึกษาการผลิตฟูโคแซนทินในไดอะตอมสายพันธุ์อื่น โดยไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เป็นไดอะตอมที่คาดว่า

ศักยภาพในการนำมาผลิตฟิวโคแซนทิน เนื่องจากพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำกร่อยและน้ำทะเลในประเทศ และเป็นที่ยอมรับในการนำมาใช้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนเพราะมีการสะสมของสารอาหาร เช่น แคโรทีนอยด์และ EPA (Ecosapentaenoic acid) ในปริมาณมาก [7, 10, 11] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ามีการสะสมของไขมันในชีวมวลไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในปริมาณมากซึ่งสามารถนำไปสกัดเพื่อผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ [12]

จากการสืบค้นวรรณกรรมพบว่าข้อมูลการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง (Photobioreactor) ซึ่งให้ผลผลิตสูงต่อหน่วยพื้นที่ ลดความเสี่ยงการปนเปื้อน และลดการใช้ทรัพยากรน้ำ ยังมีอยู่จำกัด โดยการเพาะเลี้ยงไดอะตอมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน (Flat-panel photobioreactor) อาจมีความเหมาะสมมากกว่าการใช้งานถังกวนหรือถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ เนื่องจากมีระยะแสงส่องผ่านสั้น (Light path) และสามารถขยายขนาดระบบได้ง่ายโดยเพิ่มความยาวของถังซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงสมบัติทางอุทกพลศาสตร์ของระบบ [13, 14] สภาวะแวดล้อมที่ใช้เพาะเลี้ยงไดอะตอมเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟิวโคแซนทินของไดอะตอม โดยปัจจัยที่สำคัญและสามารถปรับเปลี่ยนได้ง่ายเมื่อเพาะเลี้ยงไดอะตอมในระบบเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์คือ แสง ปริมาณไนโตรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์

แสงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเจริญเติบโตของไดอะตอมเพราะเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้ในการกระบวนการสังเคราะห์แสง การเพิ่มความเข้มแสง โดยทั่วไปส่งผลกระทบเชิงบวกต่อการเจริญเติบโตของไดอะตอม ขณะที่ความเข้มแสงที่สูงเกินไปจะทำให้เซลล์เสียสภาพและไม่เจริญเติบโต มีรายงานการสะสมของฟิวโคแซนทินเมื่อเพาะเลี้ยงไดอะตอมที่ความเข้มแสงระดับต่ำ ซึ่งคาดว่าเป็นผลจากการทำหน้าที่รวบรวมพลังงานจากแสงของฟิวโคแซนทินเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของไดอะตอมที่เจริญเติบโตในสภาวะที่มีแสงจำกัด [15] จากความต้องการความเข้มแสงในระดับที่แตกต่างกันของการเจริญเติบโตและการผลิตฟิวโคแซนทิน ทำให้มีความจำเป็นต้องศึกษาถึงระดับความเข้มแสงที่เหมาะสมที่ทำให้ทั้งสองกระบวนการนี้เกิดได้พร้อมกันอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด นอกจากความเข้มแสงยังมีรายงานเกี่ยวกับการปรับคุณภาพแสง (Wavelength) ว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบของรงควัตถุภายในเซลล์ไดอะตอม ตัวอย่างเช่น การใช้แสงสีน้ำเงินสามารถเพิ่มการ

เจริญเติบโตและการผลิตฟิวโคแซนทินในไดอะตอม *Phaeodactylum tricornutum* ได้ดีกว่าการใช้แสงสีแดงหรือสีขาว [16, 17] อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับผลกระทบของความเข้มแสงและคุณภาพแสงที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟิวโคแซนทินเป็นของไดอะตอมสายพันธุ์อื่นรวมทั้ง *Thalassiosira* sp. มีอยู่อย่างจำกัด

ไนโตรเจนเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเนื่องจากใช้ในกระบวนการสังเคราะห์เอนไซม์และโปรตีน ดังนั้นการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อจะส่งกระทบเชิงบวกต่อการเจริญเติบโตในทางกลับกัน [17] รายงานว่าสถานะขาดไนโตรเจนช่วยเพิ่มการสะสมของแคโรทีนอยด์กลุ่มทุติยภูมิ เช่น แอสตาแซนทิน และ แคนตาแซนทิน หลังเซลล์หยุดการเจริญเติบโต จากเหตุผลดังกล่าวจึงคาดว่าไนโตรเจนควรมีผลต่อการผลิตฟิวโคแซนทิน ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลกระทบของปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟิวโคแซนทินในไดอะตอม *Thalassiosira* sp.

การเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในระบบเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มผลผลิตชีวมวลของจุลสาหร่ายสาหร่ายและไดอะตอม การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 1% โดยปริมาตร พบว่าการเจริญเติบโตมากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอากาศซึ่งมีคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 0.04% โดยปริมาตร อย่างมีนัยสำคัญ [18] อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เป็น 10% โดยปริมาตร พบว่าการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่มีการสะสมไขมันมากขึ้นถึง 3 เท่า [12] ผลการทดลองในลักษณะเดียวกันพบในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros muelleri* ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 10% ถึง 20% โดยปริมาตร [19] ผลการทดลองที่ได้รับอาจเป็นผลจากการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูง ส่งผลให้ค่าพีเอชของระบบลดลงอยู่ในระดับที่ไม่เหมาะสม จะเห็นว่าข้อมูลผลกระทบของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตมีความขัดแย้งกัน จึงทำให้จำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมถึงการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในระดับความเข้มข้นสูงมากกว่าอากาศปกติ เพื่อเพิ่มผลผลิตชีวมวลและฟิวโคแซนทิน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- เพื่อศึกษาผลกระทบของความเข้มแสงและคุณภาพแสงที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีนของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน
- เพื่อศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีนของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน
- เพื่อศึกษาผลกระทบของการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีนของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- ศึกษาผลกระทบของความเข้มแสงขั้นต่ำภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง (500 ถึง 5,000 ลักซ์) และคุณภาพแสง (น้ำเงิน แดง ขาว) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีนของไดอะตอม *Thalassiosira* sp.
- ศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นของไนโตรเจน (0.25 ถึง 2 เท่า ของปริมาณในอาหารสูตร F/2) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีนของไดอะตอม *Thalassiosira* sp.
- ศึกษาถึงความจำเป็นของการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทีนของไดอะตอม *Thalassiosira* sp.
- ติดตามผลการทดลองโดยตรวจวัดการเติบโตของไดอะตอมในรูปน้ำหนักแห้งและการนับจำนวนเซลล์ ความเข้มข้นของสารฟูโคแซนทีน

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

งานวิจัยนี้ได้รับสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ข้อมูลดังกล่าวจะสามารถเป็นประโยชน์ต่อการขยายขนาดระบบการเพาะเลี้ยงไดอะตอมเพื่อผลิตฟูโคแซนทินในอนาคต การพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงไดอะตอมเพื่อสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้น ซึ่งตอบรับต่อนโยบายภาครัฐที่ผลักดันระบบเศรษฐกิจ BCG (Bio-Circular-Green Economy) รวมถึงการพัฒนาเศรษฐกิจตามรูปแบบอุตสาหกรรมอนาคตหรือ New S-Curve ทั้งนี้งานวิจัยนี้ยังสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาในไดอะตอมสกุลอื่น



บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สันฐานวิทยาและลักษณะทั่วไปของไดอะตอม *Thalassiosira* sp.

ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เมื่อพิจารณาตามหลักอนุกรมวิธานตามระบบของ T. Christensen จัดอยู่ใน

Division Chromophyta

Class Bacillariophyceae

Order Biddulphiales

Suborder Coscinodisinae

Family Thalassiosiraceae

Genus *Thalassiosira*

Species *Thalassiosira* sp.

2.1.1 ข้อมูลทั่วไป

Thalassiosira sp. เป็นสิ่งมีชีวิตกลุ่มแพลงก์ตอนพืช มีลักษณะเซลล์เหมือนกับพืชชั้นสูง (eukaryotic cell) เรียกว่าไดอะตอม ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เป็นไดอะตอมที่มีสารสีในเซลล์ ซึ่งสามารถดูดซับพลังงานแสง และสามารถใช้อำนาจคาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสงและสร้างสารอินทรีย์ มีรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงคือ chlorophyll A และ C และสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid) และกลุ่มแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) ชนิด Fucoxanthin Diatoxanthin และ Diadinoxanthin ซึ่งโดยปกติปริมาณของแคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์มีมากกว่าคลอโรฟิลล์ จึงทำให้สี

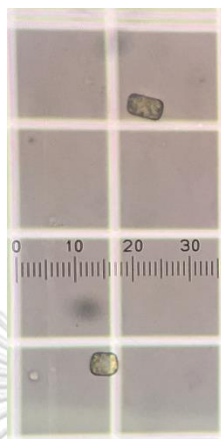
ของเซลล์ที่สามารถมองเห็นได้จะมีสีเหลือง สีเหลืองแกมเขียว สีเขียวมะกอก สีเหลืองออกน้ำตาล สีน้ำตาล สีน้ำตาลอ่อน สีน้ำตาลอมทองและสีน้ำตาลเข้ม ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 สีของไดอะตอม *Thalassiosira* sp.

ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. มีประกอบด้วยผนังเซลล์ 2 ชั้น ชั้นนอกมีสารประกอบที่ถูกเรียกว่า Amorphous hydrate silica form โดยผิวด้านนอกเป็นสารประกอบพวก Silico pectin ส่วนด้านในจะมีเยื่อชื่อว่า Silicolemma มีอาหารสะสมเป็นแป้งชนิด Chrysolaminarin และไขมัน ลักษณะของเซลล์มีฝา 2 ฝาคอปกกันพอดี เรียกว่า 1 ฟรัสตูล (frustule) ฟรัสตูลจะประกอบไปด้วยฝาบน เรียกว่า เอพิทีคา (epitheca) และฝาล่างเรียกว่า (hypotheca) มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ โดยไดอะตอมส่วนใหญ่จะมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ไดอะตอมจะทำการแบ่งเซลล์จาก 1 เป็น 2 เซลล์ ซึ่งจะมีการแบ่งกลางระหว่างฝาบนและฝาล่าง หลังจากนั้นฝาบนจะทำการสร้างฝาล่างขึ้นมาใหม่ และฝาล่างก็จะทำการสร้างฝาบนขึ้นมาใหม่เช่นกัน โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศนี้จะส่งผลให้ขนาดของเซลล์มีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ จนเซลล์มีขนาดเล็กมากที่เรียกว่า ขนาดวิกฤต และไม่สามารถแบ่งเซลล์ต่อไปได้ แล้วจึงจะทำการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (oogamy) ต่อไป เพื่อให้เซลล์กลับสู่ขนาดปกติอีกครั้ง ก็คือการสืบพันธุ์โดยจะทำการสร้างออกโซสปอร์ (auxospore) และสร้างไข่ (oogonium) และเมื่อเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และไข่วางตัวกันแล้วจึงเกิดเป็นไซโกต (zygote)

และพัฒนาเป็นเซลล์ไดอะตอมต่อไป (ลัดดา, 2544) จากรูปที่ 2.2 แสดงลักษณะของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า



รูปที่ 2.2 เซลล์ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า

โดยปกติไดอะตอมสายพันธุ์นี้ถูกใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น ลูกปลา กุ้ง หอยสองฝา ปลิงทะเล เนื่องจากไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เป็นไดอะตอมที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย (ประจวบ, 2530) เป็นไดอะตอมที่สามารถลอยอยู่ในมวลน้ำได้ดี เหมาะแก่กึ่งที่จะล่องลอยอยู่ในน้ำ หากเป็นอาหารที่ไม่สามารถลอยอยู่ในมวลน้ำได้ โอกาสที่ลูกกุ้งจะได้กินอาหารก็จะน้อยลง (ชมพูนุท, 2549) และนอกจากนั้นไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ยังอุดมไปด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมันและกรดไขมันชนิดต่างๆ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณกรดไขมันที่ตรวจพบในไดอะตอม *Thalassiosira* sp. [10]

สัญลักษณ์	ชื่อสามัญของกรดไขมัน	ปริมาณที่พบ (%)
C14:0	methyl tetradecanoate	45.14
C18:1	methyl linoleate	32.82
C20:0	methyl arachidate	26.85
C20:1	methyl cis-11-eicosenoate	1.70

C20:4	arachidonic acid	9.76
C20:5	eicosapentaenoic acid , EPA	11.73

งานวิจัยนี้ได้ทำการเลือกไดอะตอม *Thalassiosira* sp. มาใช้ในการศึกษา เนื่องจากจากการสืบค้นพบว่า *Thalassiosira* sp. เป็นไดอะตอมที่คาดว่าจะมีศักยภาพในการนำมาผลิตสารสีฟูโคแซนทิน เนื่องจากพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำกร่อยและน้ำทะเลในประเทศ และเป็นที่ยอมรับในการนำมาใช้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนเพราะมีการสะสมของสารอาหาร เช่น แคโรทีนอยด์และ EPA (Eicosapentaenoic acid) ในปริมาณมาก [7, 10, 11] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ามีการสะสมของไขมันในชีวมวลไดอะตอมในปริมาณมากซึ่งสามารถนำไปสกัดเพื่อผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ [12]

2.1.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตและการผลิตสารสีฟูโคแซนทินของไดอะตอม *Thalassiosira* sp.

2.1.2.1 ความเข้มแสง (Light intensity)

ความเข้มแสงเป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม เนื่องจากแสงสามารถสร้างพลังงานได้จากการเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมี หรือเรียกว่า กระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) สำหรับไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ความเข้มแสงเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญอย่างมากโดยส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของไดอะตอมและการผลิตสารสีฟูโคแซนทิน นอกจากนั้นสภาวะความเข้มแสงที่ไม่เหมาะสมยังส่งผลด้านลบต่อไดอะตอมอีกด้วย ในกรณีที่ได้ความเข้มแสงในระดับต่ำกว่าค่าที่เหมาะสม จะทำให้การเติบโตและการผลิตสารสีฟูโคแซนทินมีปริมาณต่ำ ในกรณีที่ได้รับความเข้มแสงในระดับสูงกว่าค่าที่เหมาะสม จะทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (Photoinhibition) [20, 21]

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับความเข้มแสงสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

ชนิดของไดอะตอม	ความเข้มแสงที่เหมาะสม	อ้างอิง
<i>Thalassiosira</i> sp.	143 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$	[22]
<i>Nitzschia</i> sp.	140 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$	[23]

<i>Bacillaria paxillifer</i>	110 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$	[24]
<i>Amphora</i> sp.	150 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$	[25]

2.1.2.2 ธาตุอาหารหลัก

1. ซิลิกา (Silica)

ซิลิกาเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญสำหรับการสร้างผนังเซลล์ในไดอะตอม ซึ่งเป็นส่วนที่ห่อหุ้มเซลล์ไว้ ทั้งไซโทพลาสซึม และออร์แกเนลล์ภายในเซลล์ โครงสร้างของเซลล์ไดอะตอมส่วนใหญ่มีซิลิกาเป็นส่วนประกอบ และเมื่อไดอะตอมตายจะเกิดการทับถมของซากไดอะตอม ที่มีซิลิกาออกไซด์เป็นองค์ประกอบหลักถึง 95% โดยน้ำหนัก

2. ไนโตรเจน (Nitrogen)

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญรองลงมาจากซิลิกาสำหรับไดอะตอม เนื่องจากไนโตรเจนมีความจำเป็นสำหรับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและการผลิตรงควัตถุ ซึ่งเกี่ยวเนื่องไปถึงการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินในอะตอมด้วย โดยไนโตรเจนที่นำมาเพาะเลี้ยงไดอะตอมนั้นจะอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ เช่น ไนเตรท ไนไตรท์

3. ฟอสฟอรัส (Phosphorus)

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญสำหรับไดอะตอม เนื่องจากฟอสฟอรัสมีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการสร้างองค์ประกอบเซลล์ กระบวนการถ่ายเทพลังงาน และการสร้างเซลล์ ถ้ากระบวนการสร้างเซลล์มีการขาดฟอสฟอรัสจะส่งผลต่อการผลิตปริมาณโปรตีน รงควัตถุชนิดคลอโรฟิลล์เอ RNA และ DNA ในปริมาณลดลง ในทางกลับกันปริมาณคาร์โบไฮเดรตในเซลล์จะมีปริมาณมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลต่อรูปร่างของเซลล์ไดอะตอมที่จะมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปโดยฟอสฟอรัสที่นำมาเลี้ยงไดอะตอมนั้นจะอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์จำพวกฟอสเฟต

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

ชนิดของไดอะตอม	สูตรอาหาร	สถานะที่เหมาะสม	อ้างอิง
<i>Thalassiosira</i> sp.	F/2	Si = 106 μM N = 882 μM P = 36.2 μM	[12, 26, 27]
<i>Nitzchia</i> sp.	F/2	Si = 106 μM N = 882 μM P = 36.2 μM	[23, 28]
<i>Amohora coffeaeformis</i>	F/2	Si = 106 μM N = 882 μM P = 36.2 μM	[28, 29]
<i>Bacillaria paxillifer</i>	F/2	Si = 106 μM N = 882 μM P = 36.2 μM	[24, 28]
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Conway	Si = 450 μM N = 2,000 μM P = 80 μM	[30]

CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.1.2.3 อุณหภูมิ (Temperature)

สำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอมนิยมควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 20 – 30 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 2.4 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

ชนิดของไดอะตอม	อุณหภูมิ(°C)	อ้างอิง
<i>Thalassiosira</i> sp.	20-25	[12, 31]
<i>Nitzchia</i> sp.	24	[22]
<i>Bacillaria paxillifer</i>	25	[24]

<i>Amohora coffeaeformis</i>	25	[25]
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	27 - 30	[30]

2.1.2.4 คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂)

คาร์บอนไดออกไซด์เป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างมากในการกระบวนการสังเคราะห์แสงของไดอะตอม โดยไดอะตอมจะทำการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ในกระบวนการเปลี่ยนพลังงานแสงให้ไปอยู่ในรูปของพลังงานเคมี ในรูปของการสะสมอาหารทั้งแป้ง น้ำมัน น้ำตาล และการสะสมสารสีฟิวโคแซนทิน

ตารางที่ 2.5 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

ชนิดของไดอะตอม	ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์	อ้างอิง
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	1% โดยปริมาตร	[18, 32]
<i>Chaetoceros muelleri</i>	10% โดยปริมาตร	[19]
<i>Nitzchia</i> sp.	5% โดยปริมาตร	[23]
<i>Odontella aurita</i>	1% โดยปริมาตร	[33]

2.1.2.5 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่าความเป็นกรดต่างเป็นค่าที่มีอิทธิพลต่อการเพาะเลี้ยงไดอะตอม โดยปกติสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอมค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 7-8

ตารางที่ 2.6 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับความเป็นกรดต่างสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

ชนิดของไดอะตอม	ความเป็นกรดต่าง	อ้างอิง
<i>Thalassiosira</i> sp.	7.8	[18]
<i>Nitzchia</i> sp.	7.5	[23]
<i>Amohora coffeaeformis</i>	7-8	[25, 29]
<i>Bacillaria paxillifer</i>	>7	[34]

2.1.2.6 ความเค็ม (Salinity)

ความเค็มถือเป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะเลี้ยงไดอะตอมเช่นกัน เนื่องจากไดอะตอมแต่ละสายพันธุ์จะสามารถเติบโตได้ดีในสภาวะน้ำเค็มหรือน้ำกร่อยแตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องศึกษาเกี่ยวกับค่าความเค็มที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอมชนิดนั้นๆ โดยส่วนใหญ่ไดอะตอมจะสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงความเค็ม 28 -35 ส่วนในพัน ในส่วนของการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. นั้นค่าความเค็มที่เหมาะสมอยู่ในคือ 30 ส่วนในพัน

ตารางที่ 2.7 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับค่าความเค็มสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม

ชนิดของไดอะตอม	ความเค็ม	อ้างอิง
<i>Amohora coffeaeformis</i>	31	[29]
<i>Thalassiosira</i> sp.	30	[32]
<i>Entomoneis cf. punctulata</i>	35	[35]
<i>Bacillaria paxillifer</i>	30-32	[36]

สำหรับไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เป็นไดอะตอมที่มีการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมและปัจจัยที่มีผลในการเติบโตและการผลิตฟิโคแซนทินอย่างจำกัด จากการศึกษาสภาวะในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการศึกษาจากงานวิจัยมีรายละเอียดดังตารางที่ 2.8

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 2.8 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสภาวะการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp.

ปัจจัย	สภาวะการเพาะเลี้ยง	อ้างอิง
ความเข้มแสง	5 – 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$	[15, 26, 31, 32, 37]
สูตรอาหาร	F/2	[12, 18, 26, 27, 31, 32]
คาร์บอนไดออกไซด์	1% - 10% โดยปริมาตร	[12, 18]
อุณหภูมิ	20- 25	[12, 22, 31, 37]
ค่าความเป็นกรดต่าง	7.8 - 8	[31, 32]
ความเค็ม	30	[32]

จากตารางที่ 2.8 สภาวะสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่แสดงรายละเอียดเป็น สภาวะที่มีงานวิจัยได้ทำการศึกษาสภาวะที่สามารถเติบโต และจากผลการศึกษาของมาฆมาส รัชชชัย (2561) ทำการศึกษาเกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* เพื่อผลิตสารสีฟูโคแซนทินด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวน ขนาด 1 ลิตร ผลจากการศึกษาพบว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตสารสีฟูโคแซนทิน ได้แก่ ความเข้มแสง ปริมาณ คาร์บอนไดออกไซด์ และธาตุอาหารหลักไนโตรเจนและซิลิกา โดยรายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตชีวมวลและสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม

ปัจจัย	สภาวะการเพาะเลี้ยง	อ้างอิง
ความเข้มแสง	15,000 ลักซ์	[38]
สูตรอาหาร ซิลิกา	F/2 + สารละลายซิลิกา 3 เท่าของซิลิกาในสูตรอาหาร F/2	
คาร์บอนไดออกไซด์	2 % โดยปริมาตร	
อุณหภูมิ	25 องศาเซลเซียส	
ความเค็ม	30 พีเอสยู	

2.2 รงควัตถุ (pigment)

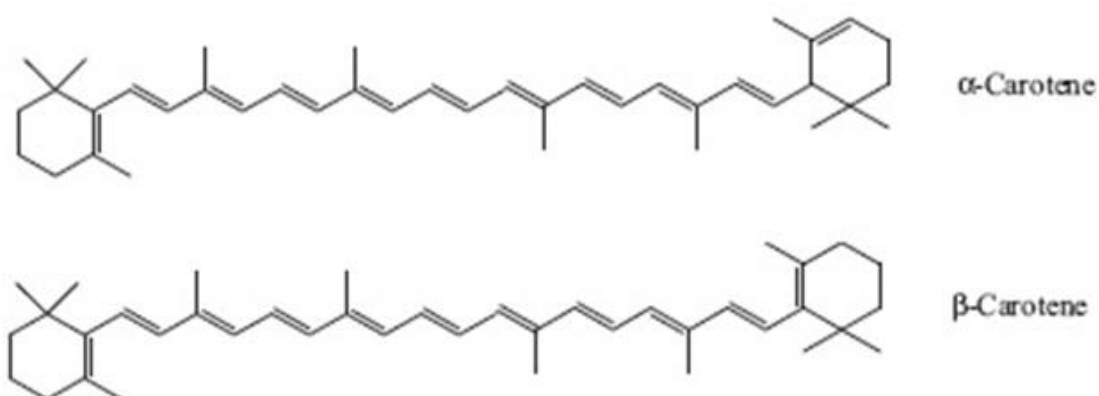
รงควัตถุเป็นสารสีที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ของเซลล์ มีหน้าที่ในการดูดกลืนแสงและกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง สำหรับในไดอะตอมนี้รงควัตถุจะถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll)

คลอโรฟิลล์ เป็นรงควัตถุหนึ่งที่พบในไดอะตอม อยู่ในส่วนของคลอโรพลาสต์ โดยคลอโรฟิลล์จะทำการดูดกลืนแสงในช่วงแสงสีม่วง น้ำเงิน และแดง และจะสะท้อนแสงสีเขียวที่ดูดกลืนน้อยที่สุดออกมา จึงทำให้รงควัตถุมีสีเขียว โดยคลอโรฟิลล์ที่พบในไดอะตอมจะประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอ (Chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์ซี (Chlorophyll c) [39]

2. แคโรทีนอยด์ (Carotenoid)

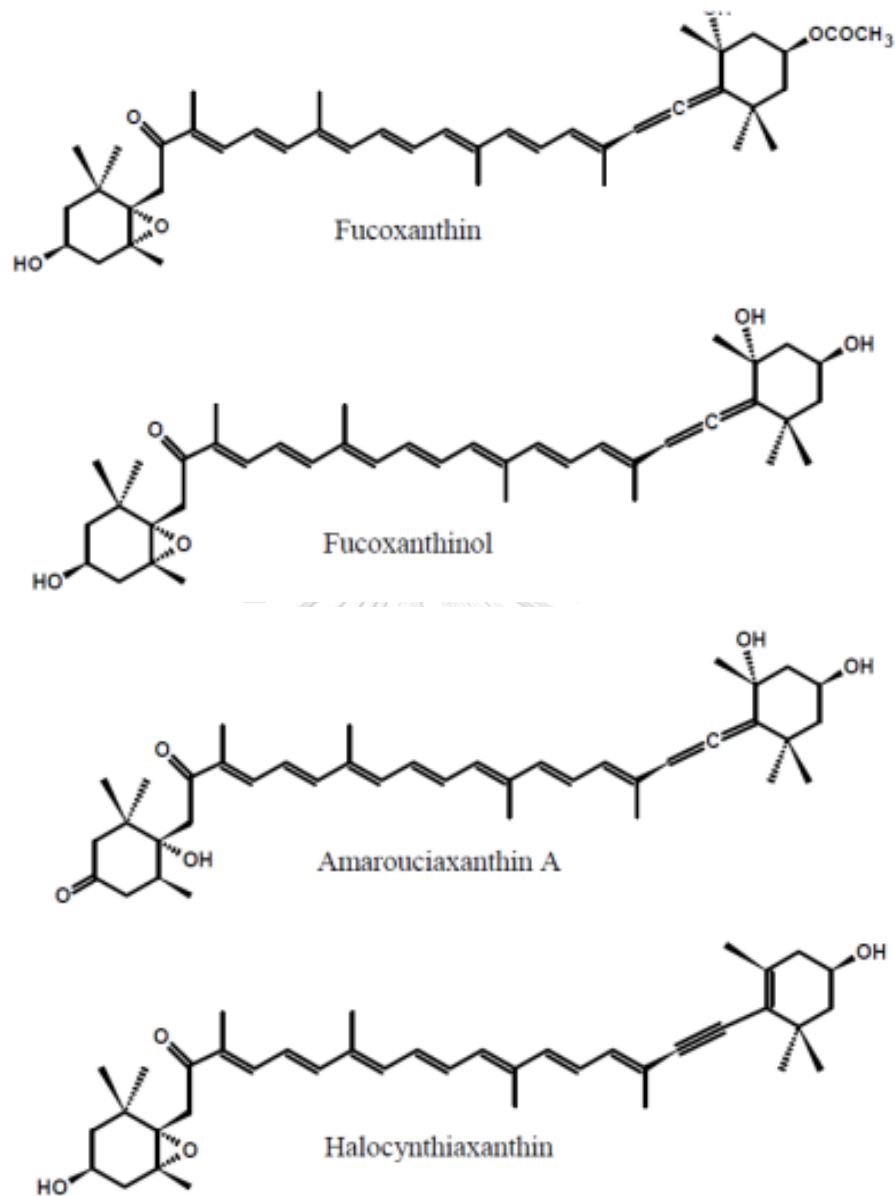
แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุสีเหลือง ส้ม หรือแดง โดยแคโรทีนอยด์สามารถช่วยในการดูดกลืนแสง เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของเซลล์ สำหรับในไดอะตอมแคโรทีนอยด์แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ แซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) และแคโรทีน (Carotene) ที่ประกอบได้ด้วย แอลฟา-แคโรทีน (alpha-carotene) และ เบต้า-แคโรทีน (beta-carotene) เป็นองค์ประกอบหลัก [40]



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของ แอลฟา-แคโรทีนและเบต้า-แคโรทีน [41]

2.3 พุโคแซนทิน

พุโคแซนทินเป็นรงควัตถุจำพวกแคโรทีนอยด์ประเภทแซนโทฟิลล์ อยู่ในคลอโรพลาสต์ของเซลล์ แคโรทีนอยด์เป็นสารที่พบในไดอะตอมทำให้เซลล์มีสีตั้งแต่เหลือง เหลืองอมเขียว เขียวมะกอก เหลืองอมน้ำตาล น้ำตาล น้ำตาลอ่อน น้ำตาลทอง จนถึงน้ำตาลเข้มตามชนิดของไดอะตอมชนิดนั้นๆ โครงสร้างของพุโคแซนทินเป็นโครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนซึ่งประกอบไปด้วยคาร์บอน 40 อะตอม พันธะอัลลินิกและ 5,6- โมโนอีพ็อกไซด์ [1] ในปัจจุบันมีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับประโยชน์ของพุโคแซนทิน และพบว่าในพุโคแซนทินมีสารที่เรียกว่า เมทาโบไลต์ ดังแสดงในรูปที่ 2.4 ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ ทำให้พุโคแซนทินถูกนำมาใช้ประโยชน์มากขึ้นทั้งในด้านการนำมาเป็นส่วนผสมของอาหารของกลุ่มคนรักสุขภาพ ด้านผลิตภัณฑ์ในกลุ่มเวชสำอางและยา เป็นต้น [4]



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของฟูโคแซนทินและเมตาโบไลต์ของฟูโคแซนทิน [42]

2.3.1.1 คุณสมบัติทางชีวภาพของฟูโคแซนทินที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ [4, 43-45]

1. ช่วยชะลอกระบวนการสะสมไขมันในเซลล์ และเร่งเอนไซม์ที่ดึงไขมันออกมาใช้เป็นพลังงานมากขึ้น
2. ส่งเสริมการเผาผลาญไขมันภายในเซลล์

3. มีสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันโรคมะเร็งและโรคหลอดเลือดหัวใจ
4. ช่วยลดการอักเสบของร่างกาย มีฤทธิ์ต้านการอักเสบของดวงตา ลดการเกิดโรคต่อกระจก
5. ป้องกันการเกิดโรคเส้นเลือดในสมองแตก
6. ช่วยป้องกันโรคมะเร็งผิวหนัง ลดรอยแดงและรอยไหม้ของผิวจากแสงแดด
7. มีสารโอเมก้าช่วยบำรุงสมองและบำรุงตับ
8. ช่วยลดริ้วรอยและรอยเหี่ยวย่นของผิว
9. ช่วยบำรุงกระดูก เสริมความแข็งแรงของกระดูกและกล้ามเนื้อ

จากข้างต้นแสดงให้เห็นได้ว่าฟูโคแซนทินมีประโยชน์มากมายหลายประการ ซึ่งปริมาณฟูโคแซนทินที่พบได้ในไดอะตอมนั้นอยู่ที่ประมาณ 1-6% ซึ่งมากกว่า 100 เท่าเมื่อเทียบกับสาหร่ายสีน้ำตาลสายพันธุ์อื่น ในปัจจุบันจึงมีความสำคัญอย่างมากในการพัฒนาเทคโนโลยีสำหรับการผลิตฟูโคแซนทินเพื่อตอบสนองความต้องการของตลาดโลก [7]

2.3.1.2 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ

1. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านอาหารที่มีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ



รูปที่ 2.5 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านอาหารที่มีฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ [46]

2. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านเวชสำอางและยาที่มีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ



รูปที่ 2.6 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ด้านเวชสำอางและยาที่มีสารฟูโคแซนทินเป็นส่วนประกอบ [47]

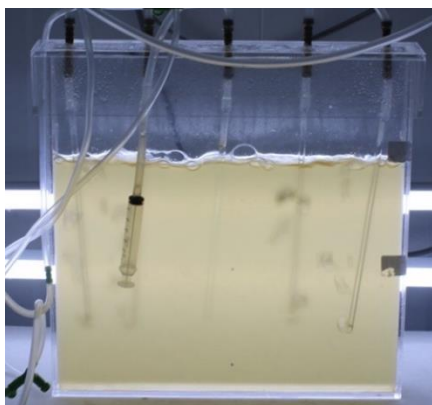
2.4 ระบบการเลี้ยงจุลสาหร่ายหรือไดอะตอม [14]

ในปัจจุบันระบบการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายถูกแบ่งเป็น 2 ระบบ คือ ระบบเปิด (open system) และระบบปิด (close system) โดยระบบเปิดจะเป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อดินที่ปูทับด้วยพื้นด้วยวัสดุป้องกันการรั่วซึมของน้ำ เช่น ปูทับพื้นด้วยพลาสติก หรือเป็นการเพาะเลี้ยงในบ่อที่สร้างจากคอนกรีต โดยทั้งในการเพาะเลี้ยงในบ่อที่ปูทับพื้นด้วยวัสดุป้องกันการรั่วซึมของน้ำและบ่อคอนกรีตนี้ ภายในบ่อจะมีการติดตั้งไบโพัดเพื่อให้เกิดการไหลวนของน้ำ เพื่อเพิ่มโอกาสให้สาหร่ายได้รับแสงแดด โดยทั่วถึง อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงในระบบเปิดนั้นยังมีข้อจำกัดที่ไม่สามารถควบคุมค่าให้สม่ำเสมอได้ เช่น ค่าความกรด-ด่าง ค่าความเค็ม อุณหภูมิ รวมไปถึงการสูญเสียคาร์บอนไดออกไซด์ไปในอากาศอย่างรวดเร็วในการเลี้ยง การบดบังแสงของจุลสาหร่ายทำให้จุลสาหร่ายได้แสงไม่ทั่วถึง รวมทั้งการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดยังมีโอกาสสูงต่อการปนเปื้อนจากแบคทีเรียและโปรโตซัว ยากต่อ

การจัดการ เป็นต้น ด้วยปัญหาเหล่านี้จึงได้มีงานวิจัยและการพัฒนาระบบถังปฏิกรณ์เชิงชีวภาพเชิงแสงในการเพาะเลี้ยงแบบระบบปิดเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้น อีกทั้งยังสามารถให้ประสิทธิภาพให้แสงที่ดีและสม่ำเสมอเพื่อส่งผลให้ได้จุลสาหร่ายมีการกระจายตัวสม่ำเสมอ ได้รับผลผลิตที่สูง และมีคุณภาพ นอกจากนี้ยังสามารถทำความสะอาดได้ง่าย สามารถควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างได้ ควบคุมความเค็มและอัตราการระเหยของน้ำได้ ลดโอกาสการปนเปื้อนและพื้นที่บริเวณกว้าง เป็นต้น โดยปัจจุบันรูปแบบของถังปฏิกรณ์มีการพัฒนาขึ้นอย่างต่อเนื่อง อาทิเช่น ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นแบน (Flat-panel photo-bioreactor)

2.4.1 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นแบน (Flat-panel photo-bioreactor)

ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นแบนจะมีระยะให้แสงส่องผ่านน้อยกว่า 20 เซนติเมตร [14] ดังรูปที่ 2.7 การไหลเวียนภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือส่วน Riser และ Downcomer โดยลมเป่าลงจากท่ออากาศและพาของเหลวขึ้นด้านบน จากนั้นของเหลวบางส่วนจะถูกหมุนลงมา จึงเกิดการไหลเวียนภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน [48] วัสดุในการทำถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นแบนสามารถเป็นได้ทั้งแก้ว แผ่นอะคริลิก (Acrylic) และแผ่นพลาสติกใสชนิดอื่นๆ ซึ่งสามารถขึ้นรูปและประกอบได้ง่ายตามความเหมาะสมของการใช้งาน สาเหตุที่เลือกใช้แก้ว แผ่นอะคริลิก (Acrylic) และแผ่นพลาสติกนี้ [13, 49] เนื่องมาจากวัสดุเหล่านี้เป็นวัสดุที่โปร่งแสง สามารถต้านทานรังสีจากดวงอาทิตย์ในกรณีที่ทำกรเพาะเลี้ยงไดอะตอมกลางแจ้ง ทำให้อายุการใช้งานนานขึ้น นอกจากนี้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นแบนยังง่ายต่อการควบคุมการเจริญเติบโต การเกาะติดของเซลล์บริเวณผนังด้านในของถังปฏิกรณ์ โดยปกติถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอื่นๆมักมีปัญหาเรื่องการบดบังแสงกันเองภายในถังปฏิกรณ์ ซึ่งถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นแบนสามารถแก้ไขปัญหานี้ได้โดยความบางของถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นจะลดข้อจำกัดเรื่องแสงในการเพาะเลี้ยง ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยง การสังเคราะห์แสง และการเติบโตของสาหร่ายมีมากขึ้น [50]



รูปที่ 2.7 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นแบน

ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายมีการนำถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงมาใช้ในกระบวนการเพาะเลี้ยงอย่างกว้างขวาง เพื่อช่วยลดค่าใช้จ่ายเรื่องของพลังงาน และช่วยลดต้นทุนการผลิต ตัวอย่างถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เช่น ถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ประกอบขึ้นจากแผ่นอะคริลิกหรือกระจก ซึ่งจะมีประสิทธิภาพในการดูดซับแสงได้ดีมาก จากการศึกษาสภาวะในการเพาะเลี้ยงไดอะตอมสกุลงต่าง ๆ มีรายละเอียดดังตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายและแบคทีเรียในสภาวะกลางแจ้งด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง

ชนิดของจุลสาหร่าย	ชนิดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง	อ้างอิง
<i>Haematococcus pluvialis</i>	แผ่นแบน ขนาด 17, 50, 90 และ 200 ลิตร โดยใช้อาหารมาตรฐาน F/1	[13]
<i>Entomoneis</i> sp.	แผ่นแบน ขนาด 20 ลิตร โดยใช้อาหารมาตรฐาน F/2 แสง 6000 ลักซ์	[14]
<i>Nannochloropsis gaditana</i>	แผ่นแบน ขนาด 150 ลิตร เพาะเลี้ยงกลางแจ้ง	[51]

<i>Nannochloropsis gaditana</i>	แผ่นแบน ขนาด 400 ลิตร เพาะเลี้ยงกลางแจ้ง	[52]
<i>Nannochloropsis oceanica</i>	แผ่นแบน ขนาด 60 ลิตร โดยใช้ อาหารมาตรฐาน F/2 เพาะเลี้ยง กลางแจ้ง	[53]
<i>Anabaena</i> sp.	แผ่นแบน ขนาด 2 ลิตร เพาะเลี้ยง กลางแจ้ง	[54]

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในบ่อเปิดนั้นมีปัญหาและข้อจำกัดหลายปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อ การเพาะเลี้ยงและอัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย เช่น ค่าที่ไม่สามารถควบคุมให้สม่ำเสมอได้อย่าง ค่าความกรดต่าง ค่าความเค็ม อุณหภูมิ รวมไปถึงการสูญเสียคาร์บอนไดออกไซด์ไปในอากาศอย่าง รวดเร็วในการเลี้ยง การบดบังแสงของจุลสาหร่ายทำให้จุลสาหร่ายได้แสงไม่ทั่วถึง รวมทั้งการ เพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดยังมีโอกาสสูงต่อการปนเปื้อนจากแบคทีเรียและโปรโตซัว ยากต่อการจัดการ การนำถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงมาใช้ในกระบวนการเพาะเลี้ยง จะสามารถช่วยควบคุมค่าที่ต้องการ ให้คงที่ได้ นอกจากนี้ยังสามารถประกอบและเลือกหาวัตถุดิบได้ง่าย ทำความสะอาดได้ง่าย นอกจากนี้ สามารถช่วงลดระยะเวลาการจำกัดของแสงได้อีกด้วยหากทำการศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาให้แสงส่องผ่านที่ เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย จากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบข้อมูลเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงได ะต่อมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับสภาวะการจำกัดของแสง และระยะให้แสงส่องผ่าน (Light path)

งานวิจัยของ Yang et al. (2020) ได้ทำการศึกษาสภาวะแสง จำนวนเซลล์เริ่มต้น และการแหล่ง ไนโตรเจนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงต่ออัตราการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในได ะต่อม *Phaeodactylum tricornutum* พบว่าการปรับสภาวะแสงมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต และปริมาณสารสีฟูโคแซนทิน โดยพบว่าที่ความเข้มแสงที่เหมาะสมมีความสำคัญอย่างมากต่อการ ผลิตสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม โดยในสภาวะความเข้มแสงมากเกินไปจะทำให้ได้ปริมาณสารสีฟู

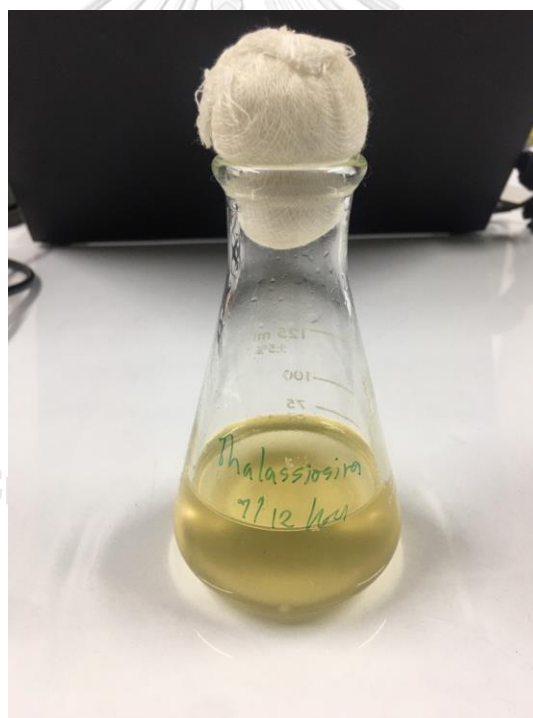
โคแซนทินในปริมาณต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงในสภาวะความเข้มแสงต่ำ และพบว่าสภาวะแสงที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Phaeodactylum tricornutum* คือสภาวะความเข้มแสงที่ $20 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ดังนั้นงานวิจัยดังกล่าวจึงทำให้ประเด็นของความเข้มแสงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาถึงสภาวะความเข้มแสงที่เหมาะสมในการผลิตฟิวโคแซนทิน [16]

จากการค้นคว้าเกี่ยวกับงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม จากงานวิจัยของ Elena Gadoutsis (2017) ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira antarctica* ภายใต้สภาวะช่วงเวลากการให้แสงและความเข้มแสงที่แตกต่างกัน เพื่อทำการศึกษาเกี่ยวกับอัตราการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทิน จากผลการศึกษาพบว่าที่ช่วงเวลากการให้แสงที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ได้อัตราการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินที่แตกต่างกัน โดยการแบ่งช่วงให้แสงเป็นให้แสง 12 ชั่วโมง ไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง สามารถผลิตสารสีฟิวโคแซนทินที่มากกว่า 1.1 ถึง 1.7 เท่า เมื่อเทียบกับการทดลองที่มีการให้แสงตลอด 24 ชั่วโมงในการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ค่าความเข้มแสงที่แตกต่างกันในช่วง $10 - 150 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินในไดอะตอม *Thalassiosira antarctica* ที่แตกต่างกัน ดังนั้นผลการศึกษาจากวิจัยดังกล่าวสามารถแสดงถึงความสำคัญของช่วงระยะเวลาการให้แสงและความเข้มแสงที่ส่งผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีฟิวโคแซนทินในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira antarctica* [26]

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้ดำเนินการที่ศูนย์เชี่ยวชาญทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1 การเตรียมหัวเชื้อไดอะตอม



รูปที่ 3.1 หัวเชื้อไดอะตอม *Thalassiosira* sp.

หัวเชื้อไดอะตอม *Thalassiosira* sp. (รูปที่ 3.1) ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นำหัวเชื้อไดอะตอมปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมกับอาหารมาตรฐานสูตร F/2 (ตารางที่

3.1) ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดจุกด้วยสำลี จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงโดยควบคุมความเข้มแสงที่ 5,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเชื้อซ้ำทุกสัปดาห์เพื่อให้เพียงพอสำหรับการทดลอง

ตารางที่ 3.1 อาหารมาตรฐานสูตร F/2 [28]

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

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส่วนที่ 2 ส่วนประกอบสารละลาย Trace metal UNIVERSITY

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 กรัม/มิลลิลิตร
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	22 กรัม/มิลลิลิตร

$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	10 กรัม/มิลลิลิตร
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	180 กรัม/มิลลิลิตร

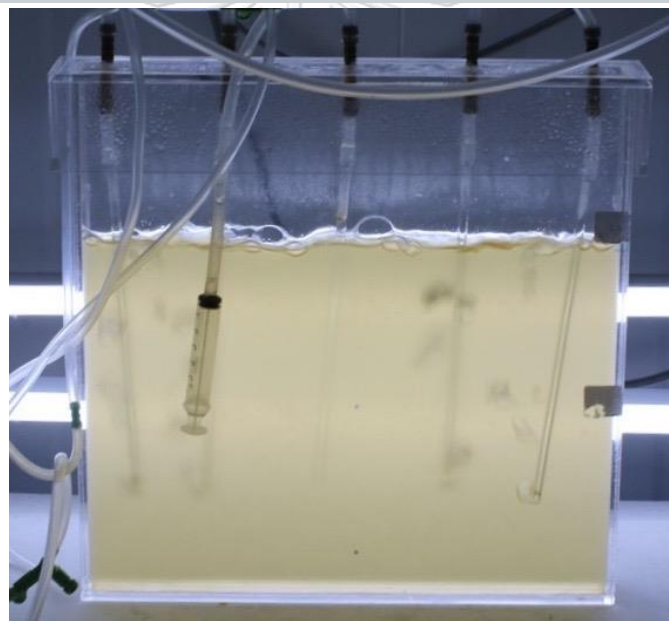
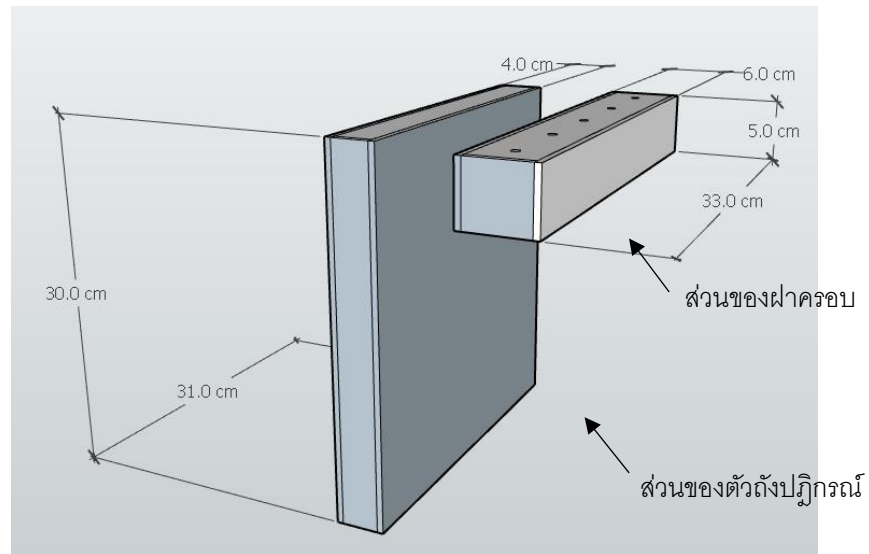
ส่วนที่ 3 ส่วนประกอบสารละลายวิตามิน

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

โดยนำส่วนที่ 2 และ 3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ผสมรวมกับส่วนที่ 1 ในน้ำทะเลน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ปริมาตร 1 ลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

3.2 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

การทดลองนี้ใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน (Flat-panel photobioreactor) ซึ่งทำจากอะคริลิกใสที่มีขนาดความหนาของแผ่นเท่ากับ 0.5 เซนติเมตร โดยกำหนดให้มีระยะแสงส่องผ่าน (Light path) ที่ 3 เซนติเมตร และมีปริมาตรใช้งาน 2 ลิตร โดยมีฝาครอบด้านบนเพื่อป้องกันการปนเปื้อน ดังแสดงในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน ขนาด 2 ลิตร

3.3 ผลจากสภาวะแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟิวโคแซนทีน

ทำการศึกษาล้างด้านสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตโดยตัวแปรที่สนใจ ได้แก่ (1) ความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ (2) ความเข้มแสงและคุณภาพแสง และ (3) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยมีรายละเอียดของการดำเนินการดังนี้

3.3.1 ความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ

การทดลองนี้ทำการปรับปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน จากสูตรอาหารมาตรฐาน F/2 ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เพื่อศึกษาผลกระทบต่อปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินที่ผลิตได้ โดยในการทดลองทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ตามวิธีการในหัวข้อที่ 3.1 โดยใช้อาหารมาตรฐานสูตร F/2 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ควบคุมการเพาะเลี้ยงโดยใช้อากาศและความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นทำการขยายหัวเชื้อลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นที่ 1×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร โดยใช้อาหารมาตรฐานสูตร F/2 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงโดยควบคุมความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ โดยในชุดควบคุมไม่มีการปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจน ขณะที่ในชุดทดลองได้ปรับความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 25% 50% 75% และ 200% ของปริมาณในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ทำการเพาะเลี้ยงจนกระทั่งไดอะตอมเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ ระหว่างการทดลองได้เก็บตัวอย่างของเหลว 20 มิลลิลิตร จากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนทุก 2 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหนาแน่นเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ฟิวโคแซนทิน และความเข้มข้นของไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟต

3.3.2 ความเข้มแสง

การทดลองนี้ศึกษาถึงอิทธิพลของความเข้มแสงในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ตามวิธีการในหัวข้อที่ 3.1 โดยใช้อาหารมาตรฐานสูตร F/2 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ควบคุมการเพาะเลี้ยงโดยใช้อากาศและความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นขยายหัวเชื้อลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนโดยกำหนดให้ความหนาแน่นของเซลล์ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เริ่มต้นที่วันแรกของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 1×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ในทุกการทดลอง โดยใช้อาหารสูตร F/2 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ควบคุมการเพาะเลี้ยงโดยใช้อากาศปกติ กำหนดให้การวัดแสงด้านหน้าของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง ทำการวัดที่บริเวณพื้นผิวของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง ณ จุดกึ่งกลางของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง ในด้านที่ติดกับแหล่งให้แสง ดังแสดงในรูปที่ 3.3 และการวัดแสงด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง ทำ

การวัดที่บริเวณพื้นผิวของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง ณ จุดกึ่งกลางของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง ในด้านตรงข้ามกับแหล่งให้แสง ทำการทดลองโดยกำหนดชุดควบคุมให้แสงส่องผ่านถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยให้ความเข้มแสงด้านหน้าถังเท่ากับ 5,000 ลักซ์ และในส่วนของชุดทดลองควบคุมให้แสงส่องผ่านถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ด้านหลังถังปฏิกรณ์ชีวภาพให้คงที่ที่ความเข้มแสงเท่ากับ 500 1,000 2,000 3,000 และ 5,000 ลักซ์ ตลอดทุกวันในการทดลอง เก็บตัวอย่างปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหนาแน่นเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง พุโคแซนทีน และความเข้มข้นของไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟต



รูปที่ 3.3 การวัดแสงด้านหน้าและด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

3.3.3 คุณภาพแสง

การทดลองนี้ศึกษาถึงอิทธิพลของคุณภาพแสงในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ตามวิธีการในหัวข้อที่ 3.1 โดยใช้อาหารมาตรฐานสูตร F/2 อุณหภูมิ 25

องศาเซลเซียส ควบคุมการเพาะเลี้ยงโดยใช้อากาศและความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นขยายหัวเชื้อลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนโดยกำหนดให้ความหนาแน่นของเซลล์ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เริ่มต้นเท่ากับ 1×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ในทุกการทดลอง โดยใช้อาหารสูตร F/2 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ควบคุมการเพาะเลี้ยงโดยใช้อากาศปกติ และความเข้มแสง 2000 ลักซ์ ทุกการทดลอง ทำการทดลองโดยสำรวจผลกระทบของคุณภาพแสงของแสงสีขาว แสงสีแดง และแสงสีน้ำเงิน โดยแต่ละแสงมีพลังงานที่แตกต่างกันดังนี้ แสงสีขาว 1 ลักซ์มีค่าเท่ากับ $0.02 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ แสงสีแดง 1 ลักซ์มีค่าเท่ากับ $0.08 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ และ แสงสีน้ำเงินมีค่าเท่ากับ $0.12 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ [55] โดยกำหนดชุดควบคุมคือชุดแสงสีขาว และชุดการทดลองคือ แสงสีน้ำเงิน และแสงสีแดง โดยหลอดไฟที่ใช้ในการทดลองส่วนนี้มีรายละเอียดดังนี้ แสงสีขาวได้จากหลอดไฟแอลอีดี Cool white 10,000 – 12,000K แสงสีแดงได้จากหลอดไฟแอลอีดี Deep red ความยาวคลื่นในช่วง 650 – 660 นาโนเมตร และแสงสีน้ำเงินได้จากหลอดไฟแอลอีดี ความยาวคลื่นในช่วง 460-470 นาโนเมตร ทำการเก็บตัวอย่างปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหนาแน่นเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง พุโศกแซนทิน และความเข้มข้นของไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟต

3.3.4 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

การทดลองนี้จึงได้ศึกษาถึงอิทธิพลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 2% โดยปริมาตร ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. โดยทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ตามวิธีการในหัวข้อที่ 3.1 โดยใช้อาหารมาตรฐานสูตร F/2 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ควบคุมการเพาะเลี้ยงโดยใช้อากาศและความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นขยายหัวเชื้อลงในถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยกำหนดให้ความหนาแน่นของเซลล์ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เริ่มต้นเท่ากับ 1×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ในทุกการทดลอง โดยใช้อาหารสูตร F/2 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ควบคุมการเพาะเลี้ยงโดยใช้สภาวะความเข้มแสง 5000 ลักซ์ การทดลองนี้มีชุดการทดลองอยู่ทั้งหมด 3 ชุด คือ (1) ชุดควบคุมที่ใช้สภาพปกติในการเพาะเลี้ยง โดยไม่มีการเติมธาตุอาหารเพิ่ม (2) ชุดการทดลองที่ 1 ใช้สภาพปกติในการเพาะเลี้ยง โดยมีการเติมธาตุอาหารไนเตรท ฟอสเฟต และซิลิเกต ปริมาณครึ่งหนึ่งของปริมาณธาตุอาหารเริ่มต้นทุก

วัน ตั้งแต่วันที่ 2 ของจนถึงสิ้นสุดการทดลอง และ (3) ชุดทดลองที่ 2 มีการให้อากาศที่ผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร และมีรูปแบบการเติมธาตุอาหารเช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงจนกระทั่งได้อะตอมเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ เก็บตัวอย่างของเหลว 20 มิลลิลิตรจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนทุก 2 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหนาแน่นเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง พุโคแซนทิน และและค่าความเข้มข้นของไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟต

3.3.5 การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนขนาด 2 ลิตร เพื่อผลิตฟูโคแซนทินด้วยสถานะความเข้มข้นของไนโตรเจน การให้แสงที่เหมาะสมและการเติมธาตุอาหาร

การทดลองนี้ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากผลการทดลองที่ได้รับก่อนหน้านี้ ซึ่งประกอบด้วย (1) การปรับปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร F/2 (2) การควบคุมความเข้มแสง (3) การปรับคุณภาพแสง และ (4) ความเป็นไปได้ของการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และการเติมธาตุอาหาร

โดยทำการเพาะเลี้ยงจนกระทั่งได้อะตอมเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ ระหว่างการทดลองจะเก็บตัวอย่างของเหลว 20 มิลลิลิตร จากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหนาแน่นเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง พุโคแซนทิน และและค่าความเข้มข้นของไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.4 เทคนิคการวิเคราะห์

3.4.1 การเจริญเติบโตของไดอะตอม

การติดตามการเจริญเติบโตของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ใช้การนับเซลล์ด้วยไฮสโกลด์นับเม็ดเลือด (Hemocytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และตรวจวัดน้ำหนักแห้งตามวิธีการของ APHA (1992) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_m) จากสมการที่ 3.1

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

โดยที่ N_1 และ N_2 คือจำนวนเซลล์หรือน้ำหนักแห้งในช่วงการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Exponential phase) ที่เวลา t_1 และ t_2 ตามลำดับ

3.4.2 การตรวจวัดน้ำหนักแห้ง

ทำการกรองตัวอย่างโดยใช้กระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร ทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นนำกระดาษกรองมาอบแห้งที่อุณหภูมิประมาณ 103 – 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณน้ำหนักเซลล์แห้ง (DW) จากสมการที่ 3.2

$$DW = ((A - B) \times 1000) / V \quad (3.2)$$

โดยที่ DW คือ น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) A คือ น้ำหนักกระดาษกรองหลังกรอง (กรัม) B คือ น้ำหนักกระดาษกรองก่อนกรอง (กรัม) และ V คือ ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้กรอง (มิลลิลิตร)

3.4.3 ฟุโคแซนทิน

วิเคราะห์ฟุโคแซนทินตามวิธีมาตรฐานของ Strickland and Parsons [56] นำตัวอย่างเซลล์แขวนลอย 5 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ออกจากของเหลวใส บดเซลล์ให้แตกด้วยแท่งแก้ว และสกัดฟุโคแซนทินด้วยสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80% โดยปริมาตร ในปริมาตรเท่ากับตัวอย่างเซลล์ เก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ในตู้เย็น นำเซลล์ที่เหลือมาสกัดด้วยอะซิโตนซ้ำอีก 2 ครั้ง แล้วเก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ทั้งหมดรวมกันในตู้เย็นในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาจึงนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยง 5 นาที และกรองตะกอนด้วยกระดาษกรอง Nylon membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำตัวอย่างของเหลวที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 470 581 631 และ 664 นาโนเมตร เพื่อนำมาคำนวณความเข้มข้นของฟุโคแซนทินตามวิธีการของ Seely และคณะ [57] ดังสมการที่ 3.3

$$F = [E_{470} - 1.239(E_{631} + E_{581} + 0.3 E_{664}) - 0.0275 E_{664}] \times (V_a V_b^{-1}/141) \quad (3.3)$$

เมื่อ F คือ ความเข้มข้นของฟูโคแซนทิน (กรัม/ลิตร) โดย E_{470} E_{581} E_{631} และ E_{664} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 581 631 และ 664 ตามลำดับ และ V_a V_b คือ ปริมาตรตัวทำละลาย (มิลลิลิตร) ปริมาตรของเหลวตัวอย่าง (มิลลิลิตร) ตามลำดับ

3.4.4 ความเข้มข้นของซิลิเกต ไนเตรท และฟอสเฟต

ดำเนินการตามวิธีมาตรฐานโดยอ้างอิงจาก APHA และ Strickland and Parsons [56] เริ่มต้นจากนำน้ำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษ Whatman GF/C ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร เพื่อแยกเซลล์ไดอะตอมออก เตรียมสารละลายไนเตรทจากสารละลาย KNO_3 ความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 มิลลิกรัม/ลิตร และเตรียมสารละลายฟอสเฟตจากสารละลาย K_2PO_4 ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 เดิม

รีเอเจนต์ในสารละลายฟอสเฟตในอัตราส่วนรีเอเจนต์ต่อสารตัวอย่าง 1:10 ทิ้งไว้ 30 นาที ขณะที่สารละลายไนเตรทไม่มีการเติมรีเอเจนต์ นำสารทั้งสองชนิดไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยไนเตรทวัดในช่วง 220 และ 275 นาโนเมตร และฟอสเฟตในช่วงความคลื่น 885 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้นไนเตรทและฟอสเฟต และเปรียบเทียบกับปริมาณธาตุอาหารไนเตรทและฟอสเฟตในน้ำตัวอย่าง ในส่วนของการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารซิลิเกต เริ่มเตรียมสารละลายซิลิเกตจากสารละลาย $Na_2(SiF_6)$ ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัม/ลิตร เติม Ammonium molybdate ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในสารละลายตัวอย่างปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที หลังจากนั้นเติมรีเอเจนต์ในสารละลายปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ไม่เกิน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำสารไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความคลื่น 810 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้นซิลิเกต และเปรียบเทียบกับปริมาณธาตุอาหารซิลิเกตในน้ำตัวอย่าง ได้ตั้งสมการที่ 3.4 3.5 และ 3.6

$$\text{สมการกราฟมาตรฐานความเข้มข้นไนเตรท } y = 0.1391x \quad (R^2 = 0.9989) \quad (3.4)$$

$$\text{สมการกราฟมาตรฐานความเข้มข้นฟอสเฟต } y = 0.4394x \quad (R^2 = 0.9993) \quad (3.5)$$

$$\text{สมการกราฟมาตรฐานความเข้มข้นซิลิเกต } y = 0.3945x \quad (R^2 = 0.9982) \quad (3.6)$$

โดย y คือ ค่าดูดกลืนแสง (นาโนเมตร) และ x คือ ค่าความเข้มข้นของไนเตรท ฟอสเฟต และซิลิเกต

3.4.5 การเปรียบเทียบผลการทดลองทางสถิติ

ในการทดลองนี้ได้ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลการทดลองโดยใช้ One-way ANOVA และ Tukey HSD Post Hoc Test ที่ความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics [58]



บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทิน

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร F/2 ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เนื่องจากธาตุอาหารไนโตรเจนมีบทบาทสำคัญต่อเซลล์ไดอะตอม เป็นส่วนประกอบพื้นฐานในการผลิตรงควัตถุ ที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง รวมไปถึงการผลิตโปรตีนและกรดนิวคลีอิกภายในเซลล์ [38] ในการทดลองนี้ได้เพาะเลี้ยงไดอะตอมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ซึ่งมีการกวนผสมกันที่ดี ทำให้การกระจายตัวของก๊าซและสารอาหารได้อย่างทั่วถึง อีกทั้งถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวนมีขนาดเล็ก จึงทำให้ผลของระยะแสงส่องผ่าน (Light path) ไม่มีผลกระทบ และเมื่อสืบค้นงานวิจัยในอดีตพบว่า Bahar ได้ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Phaeodactylum tricornutum* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวนและในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยให้ความเข้มข้นแสงที่เท่ากัน และสภาวะอื่นๆที่เหมือนกันในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวนและถังปฏิกรณ์ชีวภาพชนิดแผ่นแบน พบว่าผลการทดลองการเพาะเลี้ยงด้วยรูปแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ต่างกัน ด้วยสภาวะเดียวกันสามารถให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด และน้ำหนักเซลล์แห้งได้ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยในชุดการทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวนมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.3 วัน^{-1} และการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.37 วัน^{-1} [59] จากข้อมูลข้างต้นในการทดลองส่วนของการปรับความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 จึงได้ทำการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวนเพื่อศึกษาแนวโน้มการเจริญเติบโต ทดแทนการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน จากผลการศึกษาในอดีตและข้อมูลข้างต้น จึงสามารถติดตามผลการเจริญเติบโตในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวนทดแทน และสามารถนำผลการทดลองเป็นข้อมูลสำหรับการทดลองในส่วนต่อไป โดยทำการทดลองภายใต้ความเข้มแสงขาว 5,000 ลักซ์ โดยใช้อาหารสูตร F/2 ที่ปรับความเข้มข้นของไนโตรเจนเป็น 25% 50% 75% และ 200% ของปริมาณในสูตรมาตรฐาน ผลการทดลองซึ่งแสดงในรูปที่ 4.1(A) พบว่าเซลล์ไดอะตอมที่

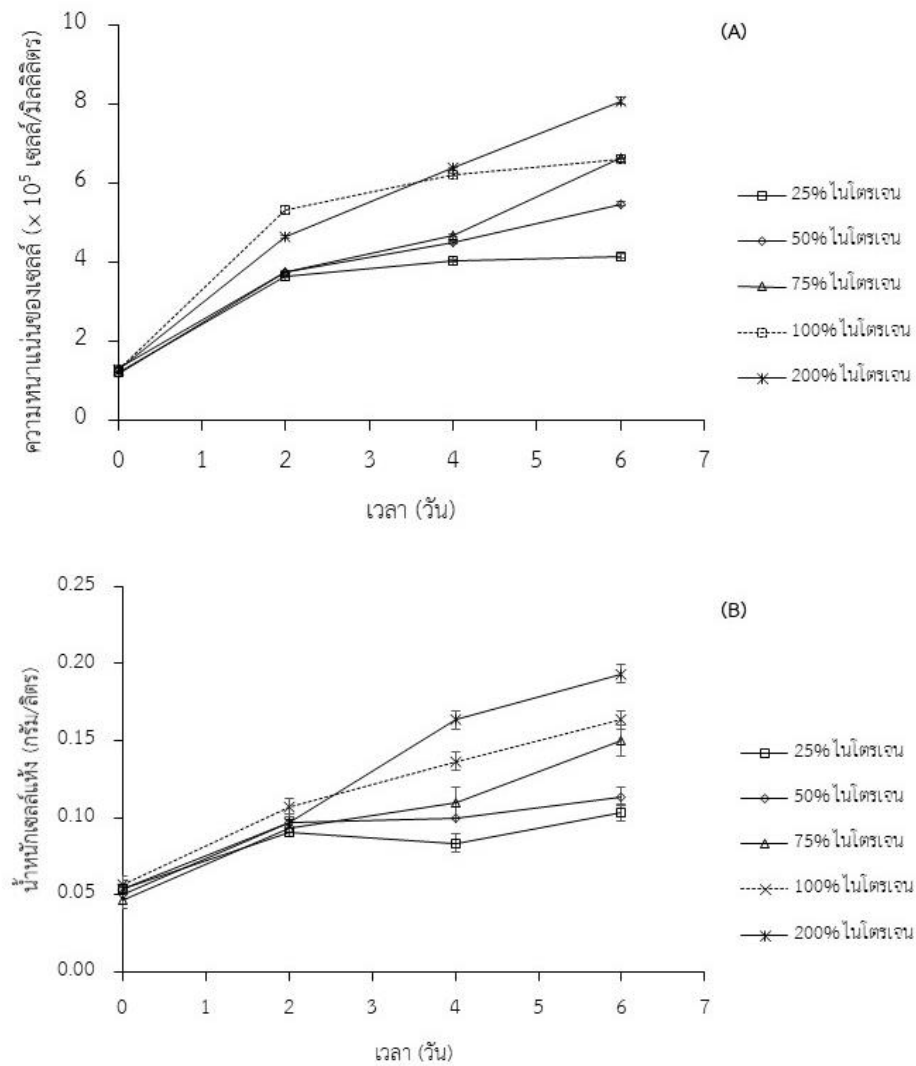
เพาะเลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่ปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 25% และ 50% สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงวันที่ 0 - 4 ก่อนเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ $4.15 \pm 0.05 \times 10^5$ และ $5.48 \pm 0.046 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าผลการเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2 ที่ไม่ปรับปริมาณไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2 ที่ปรับปริมาณไนโตรเจนเหลือ 75% ให้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ $6.65 \pm 0.05 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ขณะที่การเพาะเลี้ยงไดอะตอมที่ปรับเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนเป็น 2 เท่า (200%) ของปริมาณในอาหารสูตร F/2 พบว่ามีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด การเจริญเติบโตของไดอะตอมสามารถติดตามผลได้โดยการตรวจวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง ผลการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งซึ่งแสดงในรูปที่ 4.1(B) พบว่ามีแนวโน้มคล้ายกับความหนาแน่นเซลล์ โดยการเพาะเลี้ยงที่ปรับลดปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลือ 25% และ 50% ได้รับน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.10 ± 0.006 และ 0.11 ± 0.006 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร F/2 สูตรมาตรฐาน (0.16 ± 0.006 มิลลิกรัม/ลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่การปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลือ 75% ของปริมาณในอาหารสูตร F/2 พบว่าได้รับน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.15 ± 0.01 กรัม/ลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ F/2 สูตรมาตรฐาน ในการทดลองนี้ พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.19 ± 0.006 กรัม/ลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับเพิ่มปริมาณไนโตรเจนเป็น 200% และเมื่อพิจารณาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด พบว่าในชุดการทดลองที่ปรับความเข้มข้นของไนโตรเจนให้เท่ากับ 75% ไนโตรเจนของปริมาณในอาหารมาตรฐาน F/2 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.52 ± 0.015 วัน⁻¹ ซึ่งไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (0.53 ± 0.007 วัน⁻¹) อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 4.1) และเมื่อสืบค้นงานวิจัยในอดีตพบว่า Bahar [59] ได้ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Phaeodactylum tricornutum* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวนและในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยให้ความเข้มข้นที่เท่ากัน และสภาวะอื่นๆที่เหมือนกันในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวนและถังปฏิกรณ์ชีวภาพชนิดแผ่นแบน พบว่าผลการทดลองการเพาะเลี้ยงด้วยรูปแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ต่างกัน ด้วยสภาวะเดียวกันสามารถให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด และน้ำหนักเซลล์แห้งได้ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยในชุดการทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง

ชนิดดังกล่าวมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.3 วัน^{-1} และการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.37 วัน^{-1} จากข้อมูลข้างต้นและข้อจำกัดเรื่องจำนวนถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน ในการทดลองส่วนของการปรับความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 จึงได้ทำการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดดังกล่าวเพื่อศึกษาแนวโน้มการเจริญเติบโต ทดแทนการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน และเนื่องจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนที่ใช้ในการทดลองนี้มีขนาดใกล้เคียงกับถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดดังกล่าว จึงส่งผลให้ไม่เกิดปัญหาด้านการกวนผสมกันภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงในกรณีที่เซลล์มีความหนาแน่นไม่มากนัก จากผลการศึกษาในอดีตและข้อมูลข้างต้น จึงสามารถติดตามผลการเจริญเติบโตในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดดังกล่าวทดแทน และสามารถนำผลการทดลองเป็นข้อมูลสำหรับการทดลองในส่วนต่อไป

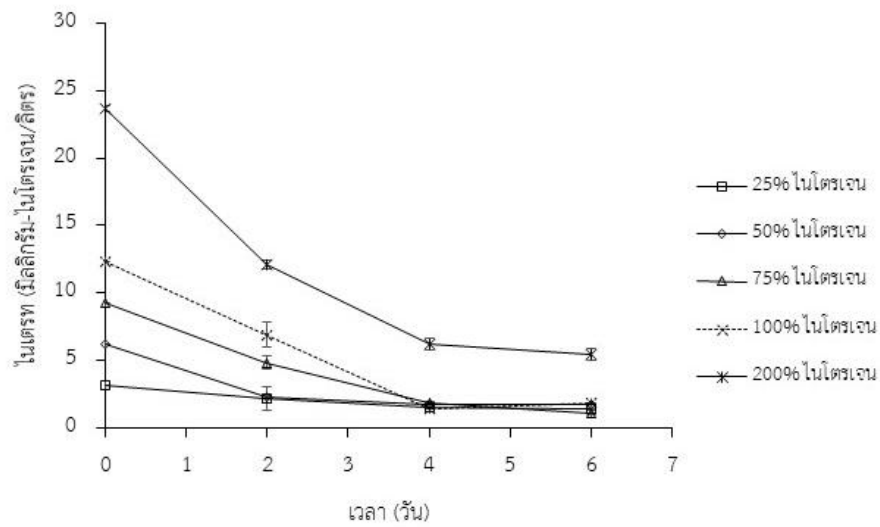
ผลการตรวจวัดไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 4.2) พบว่าไนเตรทในทุกชุดทดลองมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยในชุดทดลองที่ปรับความเข้มข้นของไนโตรเจนเป็น 200% ของปริมาณในอาหารสูตร F/2 มีไนเตรทเหลืออยู่ประมาณ 5 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง และในชุดทดลองที่ปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 75% พบว่าไนเตรทถูกใช้หมดตั้งแต่ในช่วงประมาณวันที่ 4 – 5 ก่อนเซลล์จะเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ ขณะที่การเพาะเลี้ยงที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 25% และ 50% พบว่าไนเตรทได้ถูกเซลล์ใช้หมดตั้งแต่วันที่ 1 – 2 ข้อมูลการใช้ไนเตรทมีความสอดคล้องกับผลการเจริญเติบโตของไดอะตอมซึ่งพบว่าเซลล์เจริญเติบโตได้ดีเมื่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลือน้อย 75% ของปริมาณในอาหารสูตร F/2

ผลการวิเคราะห์ฟูโคแซนทินซึ่งแสดงในรูปที่ 4.3 พบว่าความเข้มข้นของฟูโคแซนทินในทุกชุดทดลองมีปริมาณใกล้เคียงกันในช่วงวันที่ 0 – 4 ก่อนเริ่มแยกออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรกเป็นการเพาะเลี้ยงที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 25% และ 50% ซึ่งได้รับความเข้มข้นของฟูโคแซนทินเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 0.334 ± 0.0033 และ 0.419 ± 0.0324 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (3.24 ± 0.1593 และ 3.707 ± 0.4354 มิลลิกรัม/กรัม) ซึ่งน้อยกว่าความเข้มข้นของฟู

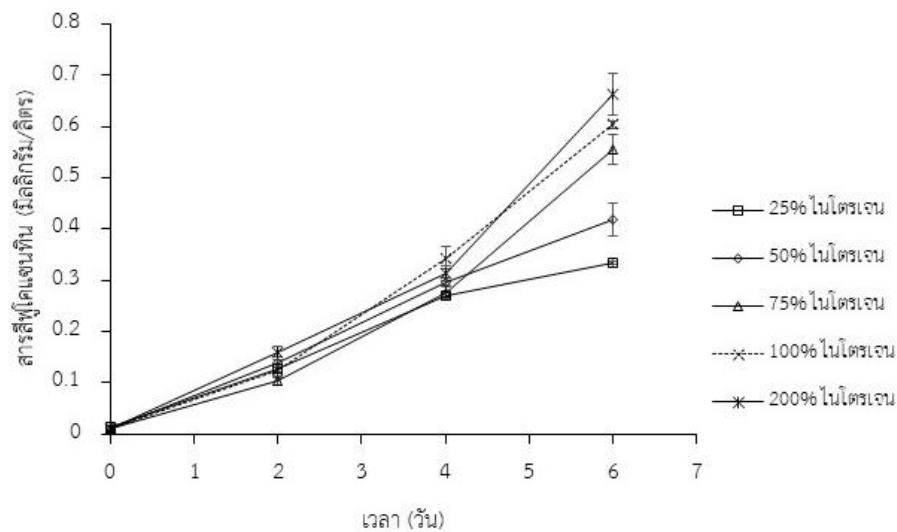
โคแซนทินในกลุ่มที่สองที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับความเข้มข้นของไนโตรเจนเป็น 75% และ 200% ของปริมาณในอาหารสูตร F/2 โดยความเข้มข้นของฟูโคแซนทินเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 0.555 ± 0.0292 และ 0.664 ± 0.0401 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (3.718 ± 0.4138 และ 3.432 ± 0.1122 มิลลิกรัม/กรัม) จากข้อมูลจากตารางที่ 4.2 จะเห็นว่าความเข้มข้นของฟูโคแซนทินต่อหน่วยน้ำหนักเซลล์แห่งมีค่าสูงสุด (3.718 ± 0.4138 มิลลิกรัม/กรัม) เมื่อเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 75% และเมื่อพิจารณาผลผลิตชีวมวลไดอะตอมร่วมกับผลผลิตฟูโคแซนทินจะพบว่ามีความใกล้เคียงกับผลผลิตที่ได้รับเมื่อใช้อาหารสูตร F/2 ซึ่งผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Makamas [38] ที่ทำการศึกษาเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ในสภาวะที่ขาดไนโตรเจน พบว่าการเพาะเลี้ยงไดอะตอมในสภาวะ 30% ไนโตรเจน เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยสภาวะที่ไม่ได้ทำการปรับปริมาณไนโตรเจน พบว่าปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้งในชุดการทดลองที่ทำการปรับความเข้มข้นของไนโตรเจนให้เท่ากับ 30% ของไนโตรเจนในอาหารมาตรฐาน F/2 มีค่าฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งสูงขึ้นไปถึง 8 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ได้ทำการปรับความเข้มข้นของไนโตรเจน การที่ปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งมีปริมาณสูงขึ้น เนื่องจากเซลล์เกิดความเครียดจากการขาดอาหารจึงมีการกระตุ้นการผลิตสารสีฟูโคแซนทินเพื่อรับพลังงานมาใช้ในการสังเคราะห์แสงและปกป้องเซลล์ ไม่ให้เซลล์เสียสภาพ ส่งผลให้ปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้งมีค่าสูงขึ้นเมื่อทำการปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจนในการเพาะเลี้ยง อีกทั้งผลการทดลองยังมีความคล้ายคลึงกับงานวิจัยในอดีตที่ทำการศึกษาพบว่าสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ขาดไนโตรเจนไดอะตอมจะสามารถผลิตสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูงขึ้นเช่นกัน [60, 61] นอกจากนี้ในเตรทซึ่งใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารสูตร F/2 มีค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูงคิดเป็น 37.37% ของค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหาร [62] จากข้อมูลในข้างต้นทั้งในแง่ผลผลิตชีวมวลและผลผลิตฟูโคแซนทิน จึงเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 75% สำหรับการทดลองต่อไป



รูปที่ 4.1 (A) ความหนาแน่นเซลล์และ (B) น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน (Error bar = standard deviation)



รูปที่ 4.2 ความเข้มข้นของไนเตรทจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira sp.* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน (Error bar = standard deviation)



รูปที่ 4.3 ความเข้มข้นของฟูโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงของไดอะตอม *Thalassiosira sp.* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน (Error bar = standard deviation)

ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวน ขนาด 1 ลิตร ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน

สถานะการเลี้ยง	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (วัน ⁻¹)
25% ไนโตรเจน	0.56 ± 0.007 ^a
50% ไนโตรเจน	0.58 ± 0.005 ^b
75% ไนโตรเจน	0.52 ± 0.015 ^c
100% ไนโตรเจน (อาหารสูตร F/2)	0.53 ± 0.007 ^c
200% ไนโตรเจน	0.64 ± 0.003 ^d

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.2 พุโคแซนทีนต่อหน่วยน้ำหนักแห้ง ผลผลิตชีวมวลไดอะตอม และผลผลิตพุโคแซนจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวน ขนาด 1 ลิตร ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน

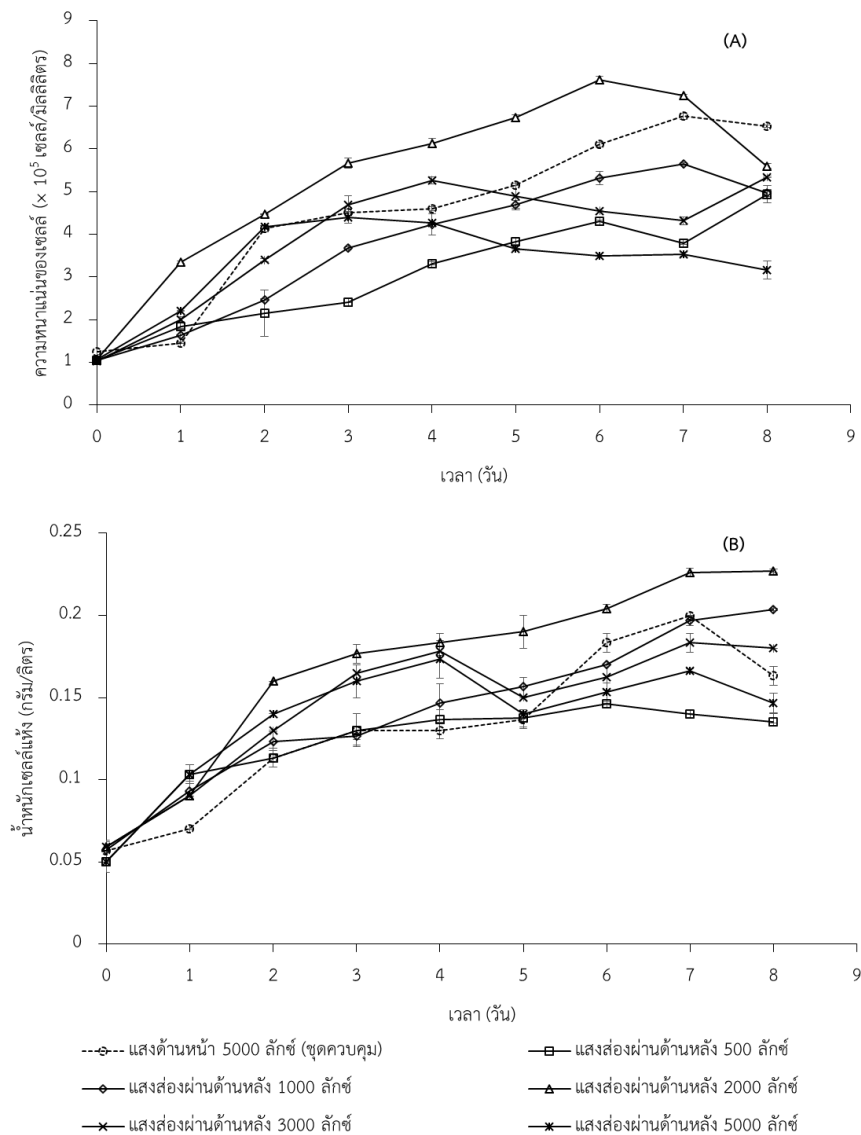
สถานะการเลี้ยง	พุโคแซนทีนต่อ น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/กรัม)	ผลผลิตชีวมวลไดอะตอม (มิลลิกรัม/ ลิตร·วัน)	ผลผลิตพุโคแซน ทีน(มิลลิกรัม/ลิตร· วัน)
25% ไนโตรเจน	3.24 ± 0.1593 ^a	8.33 ± 1.667 ^a	0.05 ± 0.001 ^a
50% ไนโตรเจน	3.707 ± 0.4354 ^a	10.57 ± 0.991 ^b	0.07 ± 0.005 ^b
75% ไนโตรเจน	3.718 ± 0.4138 ^a	17.22 ± 0.962 ^c	0.09 ± 0.004 ^c
100% ไนโตรเจน (อาหารสูตร F/2)	3.704 ± 0.1527 ^a	17.78 ± 1.925 ^c	0.10 ± 0.001 ^c
200% ไนโตรเจน	3.432 ± 0.1122 ^a	23.33 ± 1.667 ^d	0.11 ± 0.006 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

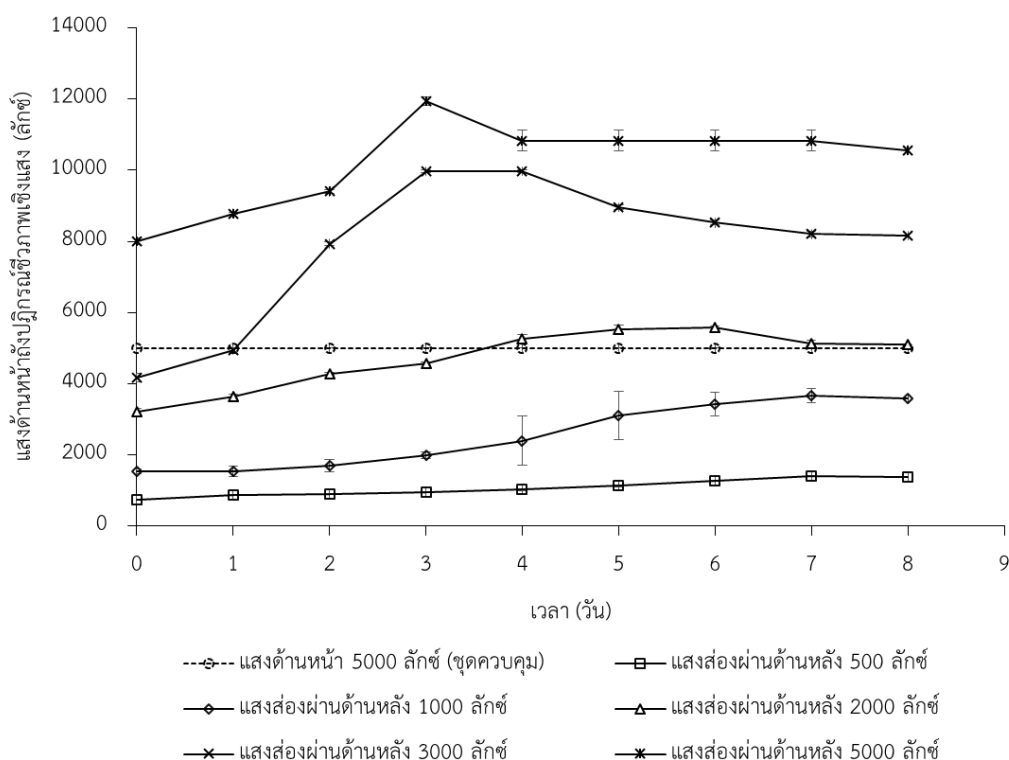
4.2.1 ผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทิน

การทดลองนี้วัตถุประสงค์ในการศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทินของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนซึ่งมีระยะผ่านแสง (Light path) เท่ากับ 3 เซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแบบถังกวน ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2 ที่ไม่ปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเพื่อหลีกเลี่ยงสภาวะการขาดไนโตรเจนระหว่างการเจริญเติบโต ในการทดลองนี้ได้กำหนดให้ชุดควบคุมคือการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนที่ควบคุมความเข้มแสงด้านหน้าของแผ่นแบนที่ 5,000 ลักซ์ และกำหนดให้ชุดทดลองคือการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนที่ควบคุมความเข้มแสงที่ส่องผ่านไดอะตอมในอาหารเลี้ยงเชื้อไปยังด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ 500 1,000 2,000 3,000 และ 5,000 ลักซ์ ผลการทดลองซึ่งแสดงในรูปที่ 4.4(A) และ 4.5 พบว่าสามารถควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของแผ่นแบนที่ 2,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง โดยปรับเพิ่มความเข้มแสงด้านหน้าของถังปฏิกรณ์ชีวภาพจาก 3,200 เป็น 5,600 ลักซ์ เพื่อชดเชยการบดบังแสงด้วยกันเองของเซลล์ไดอะตอมและจากการหักเหของแสงออกด้านข้าง ภายใต้สภาวะดังกล่าวพบว่าความหนาแน่นเซลล์สูงสุดมีค่าเท่ากับ $7.62 \pm 0.087 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังแผ่นแบนเป็น 3,000 ลักซ์ พบว่าได้รับความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ $5.34 \pm 0.017 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่าความหนาแน่นเซลล์เมื่อควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลัง 2,000 ลักซ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ผลกระทบเชิงลบของการเพิ่มความเข้มแสงมีความชัดเจนมากขึ้นเมื่อควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของแผ่นแบนเท่ากับ 5,000 ลักซ์ ในกรณีนี้พบว่าไดอะตอมเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ตั้งแต่วันที่ 2 และได้รับความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ $4.40 \pm 0.145 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Makamas [38] ที่ทำการศึกษาวินัยไดอะตอม *Bacillaria paxillifer* ในสภาวะความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ ผลการทดลองพบว่าการเพาะเลี้ยงไดอะตอมที่ความเข้มแสงปริมาณมากเกินไปจุดอิ่มตัวของแสง ส่งผลให้เซลล์มีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลง จนเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (Photoinhibition) จึงส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโตไม่ได้ ซึ่งในการทดลองนี้ชุดทดลองที่ทำการควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านด้านหลังถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้เท่ากับ 5000 ลักซ์ มีความเข้มแสงด้านหน้าสูงสุดเท่ากับ 12,000 ลักซ์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ

ความเข้มแสงที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงในงานวิจัยข้างต้น ทำให้ส่งผลเชิงลบต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟิวโคแซนทีน ซึ่งเกิดมาจากการได้รับแสงปริมาณมากเกินไปเกินจุดอิ่มตัวของแสง ในทางกลับกันปริมาณแสงอาจไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตเมื่อควบคุมระดับความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของแผ่นแบนเท่ากับ 500 และ 1,000 ลักซ์ โดยความหนาแน่นเซลล์สูงสุดภายใต้สภาวะดังกล่าวมีค่าเท่ากับ $4.94 \pm 0.208 \times 10^5$ และ $5.64 \pm 0.025 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าความหนาแน่นเซลล์เมื่อควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังแผ่นแบน 2,000 ลักซ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ผลการวิเคราะห์น้ำหนักรวมเซลล์แห้งซึ่งแสดงในรูปที่ 4.4 (B) พบว่ามีแนวโน้มคล้ายกับผลการตรวจวัดความหนาแน่นเซลล์ โดยได้รับน้ำหนักรวมเซลล์แห้งสูงสุด (0.23 ± 0.001 กรัม/ลิตร) เมื่อควบคุมระดับความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังแผ่นแบนเท่ากับ 2,000 ลักซ์ น้ำหนักรวมเซลล์แห้งที่ได้รับมากกว่าผลจากชุดควบคุมและชุดทดลองที่เหลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ผลการคำนวณอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 ให้ผลสอดคล้องกับผลการตรวจวัดความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักรวมเซลล์แห้งเช่นกัน



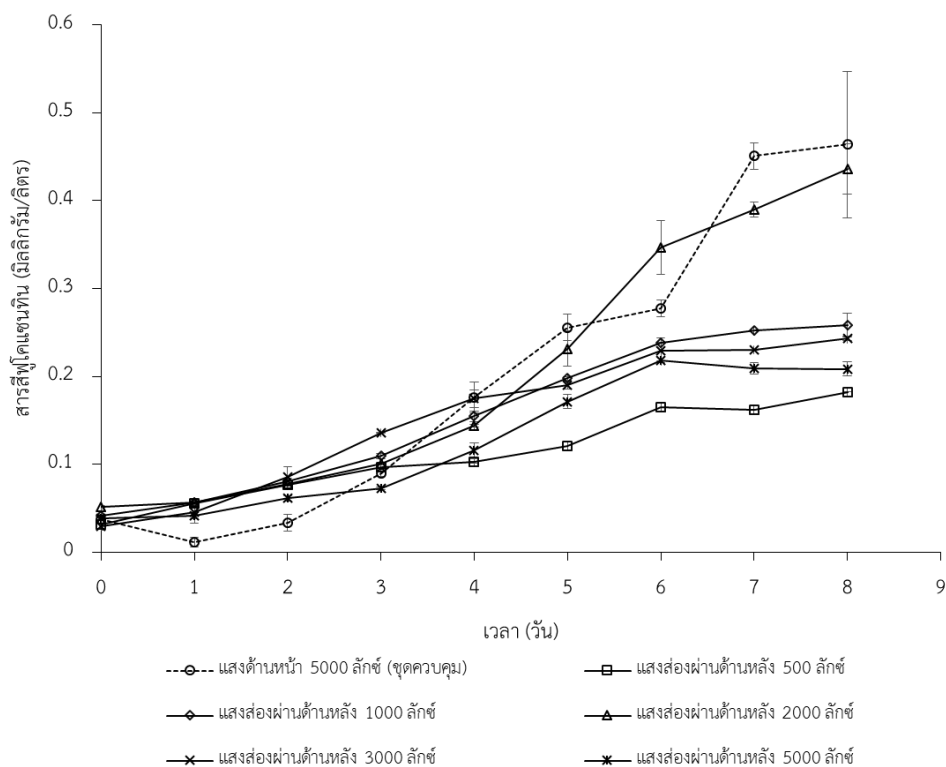
รูปที่ 4.4 (A) ความหนาแน่นเซลล์และ (B) น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนโดยปรับความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้คงที่เท่ากับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ตลอดการทดลอง (Error bar = standard deviation)



รูปที่ 4.5 ความเข้มแสงด้านหน้าถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนเพื่อใช้ควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ระดับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ฟูโคแซนทินซึ่งแสดงในรูปที่ 4.6 และตารางที่ 4.4 พบว่าความเข้มข้นของฟูโคแซนทินในทุกชุดทดลองมีค่าใกล้เคียงกันในช่วงวันที่ 0 - 5 หลังจากนั้นความเข้มข้นของฟูโคแซนทินได้เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในชุดทดลองที่ควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ 2,000 ลักซ์ และในชุดควบคุมที่ควบคุมความเข้มแสงด้านหน้าของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ 5,000 ลักซ์ โดยภายใต้สภาวะดังกล่าวได้รับความเข้มข้นของฟูโคแซนทินเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 0.436 ± 0.0286 และ 0.464 ± 0.0833 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ยังคงมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของฟูโคแซนทินจากชุดการทดลองที่เหลือ ดังนั้นในการทดลองในส่วนของความเข้มแสงสภาวะที่เหมาะสม คือสภาวะที่ทำให้การควบคุมแสงส่องผ่านที่ด้านหลังถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนให้เท่ากับ 2000 ลักซ์

ตลอดการทดลอง เนื่องจากสามารถให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะได้สูงสุด อีกทั้งยังให้ผลผลิตชีวมวลและผลผลิตฟุโคแซนทีนได้ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม

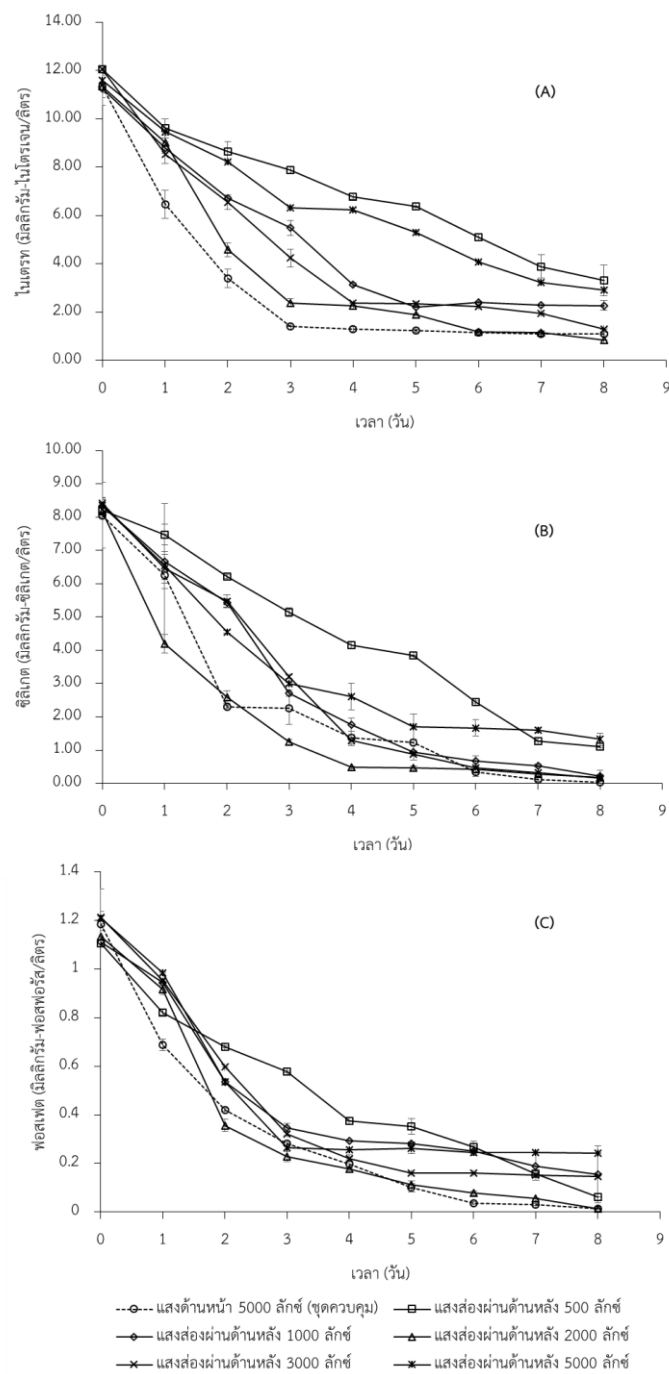


รูปที่ 4.6 ความเข้มข้นของฟุโคแซนทีนจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนโดยปรับความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้คงที่เท่ากับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง (Error bar = standard deviation)

ผลการตรวจวัดปริมาณธาตุอาหารหลักที่ใช้ในการเจริญเติบโตของไดอะตอมซึ่งประกอบไปด้วยไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟต ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.7 พบว่าความเข้มข้นของไนเตรทลดลงจากค่าเริ่มต้นประมาณ 12 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร ในทุกชุดการทดลอง โดยในชุดทดลองที่ควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังถังปฏิกรณ์เชิงแสงชีวภาพเชิงแสงที่ 500 และ 5000 ลักซ์ มีความเข้มข้นของไนเตรทเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ประมาณ 3.3 และ 2.9 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร ตามลำดับ ขณะที่ในชุด

ทดลองที่ควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังถึงปฏิกรณ์เชิงแสงที่ 1000 2000 และ 3000 ลักซ์ พบว่ามีปริมาณไนเตรทเหลือน้อยมาก (< 2.2 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) ในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง จะเห็นว่าข้อมูลการใช้ไนเตรทที่ความสอดคล้องกับผลการเจริญเติบโตของไดอะตอม โดยเมื่อการเจริญเติบโตของไดอะตอมสูงขึ้น ปริมาณการใช้ไนเตรทของระบบจึงมีสูงขึ้น ทำให้ปริมาณไนเตรทคงเหลือในระบบลดลง ในส่วนของซิลิเกตและฟอสเฟตมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกันกับไนเตรท และไม่เหลือตกค้างในระบบในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง โดยซิลิกาเป็นธาตุอาหารสำคัญที่ใช้ในการสร้างเปลือกของไดอะตอม และฟอสฟอรัสถูกใช้ในกระบวนการถ่ายทอดพลังงานและสร้างกรดนิวคลีอิกซึ่งมีผลต่อการเติบโตและการสะสมโปรตีนของไดอะตอม [60, 63] การลดลงของซิลิเกตและฟอสฟอรัสอย่างรวดเร็วสามารถพบได้ในรายงานการเพาะเลี้ยงไดอะตอมทั่วไป [38]





รูปที่ 4.7 (A) ปริมาณไนเตรท (B) ปริมาณซิลิเกต และ (C) ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงโคอะตอม *Thalassiosira sp.* เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนโดยปรับความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้คงที่เท่ากับ 500 1,000 2,000 3,000 และ 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง (Error bar = standard deviation)

ตารางที่ 4.3 ผลกระทบของความเข้มแสงที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดของการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบน ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยควบคุมระดับความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ 500 1,000 2,000 3,000 และ 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง

ความเข้มแสง (ลักซ์)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (วัน ⁻¹)
แสงด้านหน้า 5000 ลักซ์ (ชุดควบคุม)	0.57 ± 0.008 ^a
แสงส่องผ่านที่ด้านหลังคังที่ 500 ลักซ์	0.56 ± 0.030 ^a
แสงส่องผ่านที่ด้านหลังคังที่ 1,000 ลักซ์	0.35 ± 0.012 ^b
แสงส่องผ่านที่ด้านหลังคังที่ 2,000 ลักซ์	0.72 ± 0.008 ^c
แสงส่องผ่านที่ด้านหลังคังที่ 3,000 ลักซ์	0.41 ± 0.016 ^b
แสงส่องผ่านที่ด้านหลังคังที่ 5,000 ลักซ์	0.47 ± 0.042 ^d

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณฟูโคแซนทินต่อหน่วยน้ำหนักแห้ง ผลผลิตชีวมวลไดอะตอม และผลผลิตฟูโคแซนทิน จากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนโดยควบคุมระดับความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ 500 1,000 2,000 3,000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง

ความเข้มแสง (ลักซ์)	ฟูโคแซนทินต่อหน่วยน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/กรัม)	ผลผลิตชีวมวลไดอะตอม (มิลลิกรัม/ลิตร·วัน)	ผลผลิตฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร·วัน)
แสงด้านหน้า 5000 ลักซ์	2.825 ± 0.4426 ^a	20.48 ± 0.825 ^a	0.053 ± 0.0083 ^a
แสงส่องผ่านที่ด้านหลังคังที่ 500 ลักซ์	1.352 ± 0.0543 ^c	16.04 ± 0.313 ^b	0.019 ± 0 ^b
แสงส่องผ่านที่ด้านหลังคังที่ 1,000 ลักซ์	1.402 ± 0.0003 ^{bc}	18.31 ± 1.636 ^d	0.027 ± 0.0013 ^b
แสงส่องผ่านที่ด้านหลังคังที่ 3,000 ลักซ์	1.921 ± 0.6892 ^b	21.01 ± 0.454 ^a	0.048 ± 0.003 ^a

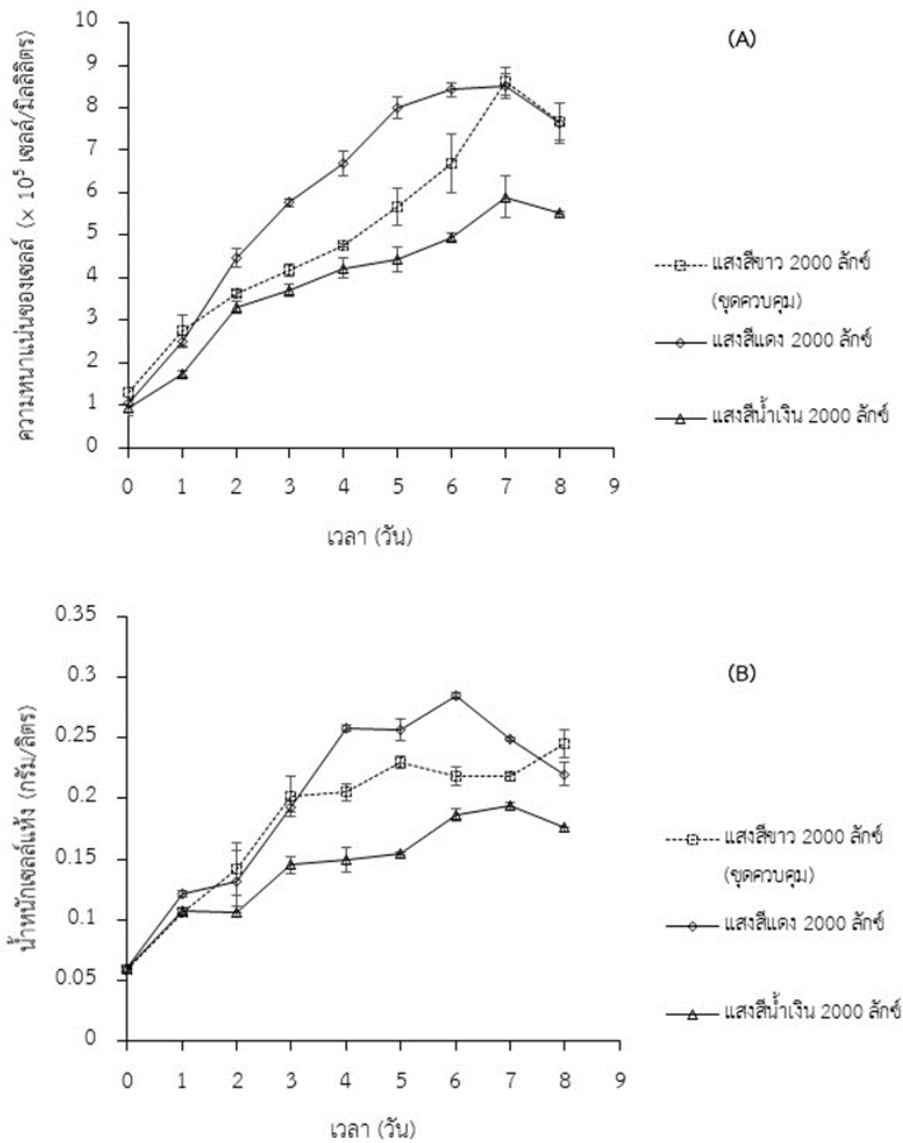
2,000 ลักซ์			
แสงส่องผ่านที่ด้านหลังคงที่	1.417 ±	17.75 ± 1.541 ^{cd}	0.027 ± 0.0006 ^b
3,000 ลักซ์	0.3600 ^{bc}		
แสงส่องผ่านที่ด้านหลังคงที่	1.423 ±	16.59 ± 0.267 ^{bc}	0.021 ± 0.0009 ^b
5,000 ลักซ์	0.2703 ^{bc}		

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2.2 ผลของคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทิน

ดำเนินการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 เพื่อศึกษาผลกระทบของคุณภาพแสงที่มีต่อการเจริญเติบโตและผลิตฟูโคแซนทิน ผลการเพาะเลี้ยงซึ่งแสดงในรูปที่ 4.8 พบว่าเซลล์ไดอะตอมสามารถเจริญเติบโตได้เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.41 ± 0.004 วัน⁻¹ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุม (0.29 ± 0.002 วัน⁻¹) ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวขนาด 2,000 ลักซ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ความหนาแน่นเซลล์ในทั้งสองชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ($8.48 \pm 0.211 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร สำหรับแสงสีแดง และ $8.65 \pm 0.246 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร สำหรับแสงสีขาว) ในส่วนการเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยแสงสีน้ำเงินขนาด 2,000 ลักซ์ พบว่าเซลล์ยังสามารถเจริญเติบโตได้ในระดับที่ต่ำกว่าการใช้แสงสีขาวและสีแดงอย่างชัดเจน โดยได้รับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดและความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ 0.26 ± 0.011 วัน⁻¹ และ $5.77 \pm 0.419 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าในชุดการทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง สามารถให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.57 ± 0.017 วัน⁻¹ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุม (0.30 ± 0.002 วัน⁻¹) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และมีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Xue Lu [64] ซึ่งกล่าวว่าเม็ดสีแต่ละชนิดในไดอะตอม สามารถดูดกลืนแสง ที่ต่างกัน โดยเม็ดสีกลุ่มคลอโรฟิลล์สามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงแสงสีขาว และแสงสีแดง และเม็ดสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ อาทิเช่น ฟูโคแซนทิน

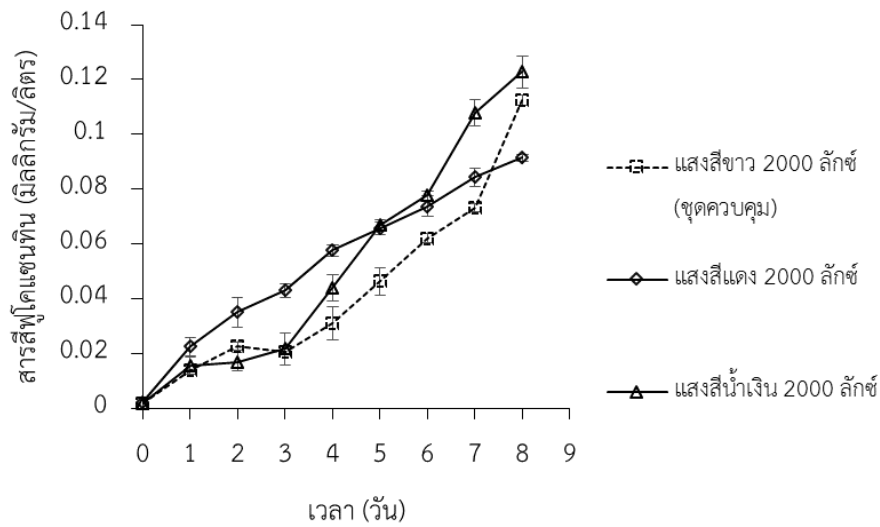
สามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงแสงสีน้ำเงิน โดยผลการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและแสงสีแดงสามารถให้การเจริญเติบโตของเซลล์ไดอะตอมได้ดี และการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินสามารถช่วยกระตุ้นการสะสมพืโคแซนทีนในเซลล์ไดอะตอมได้สูงขึ้น ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นที่แตกต่างกันจึงส่งผลให้เซลล์ไดอะตอมมีการเจริญเติบโตและการสะสมของพืโคแซนทีนที่แตกต่างกัน และในงานวิจัยของ Runqing Yang [16] ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *P. tricornutum* ด้วยแสงสีขาว สีแดง สีน้ำเงินด้วยความเข้มแสงเท่ากัน ผลการทดลองพบว่าการเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยแสงสีขาว และแสงสีแดง สามารถให้ผลผลิตชีวมวล (Biomass productivity) ได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงไดอะตอมด้วยสีน้ำเงิน นอกจากนี้ผลการเจริญเติบโตของเซลล์ในรูปของน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่ 4.8) ให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันกับผลความหนาแน่นเซลล์ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ทำการเลือกแสงสีขาวสำหรับการทดลองต่อไป เนื่องจากสามารถให้การเจริญเติบโตของเซลล์ไดอะตอมได้ดีและสามารถหาใช้ได้ง่ายในชีวิตประจำวัน



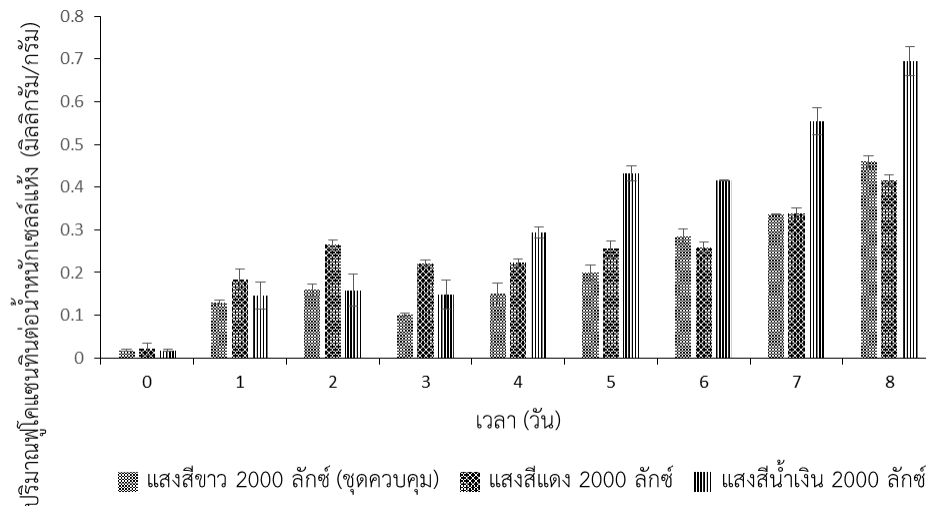
รูปที่ 4.8 (A) ความหนาแน่นเซลล์และ (B) น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ (Error bar = standard deviation)

ผลการวิเคราะห์ฟูโคแซนทินในรูปที่ 4.9 และตารางที่ 4.6 พบว่าความเข้มข้นเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงขนาด 2000 ลักซ์ มีค่าเท่ากับ 0.091 ± 0.0009 มิลลิกรัม/ลิตร (0.416 ± 0.0084 มิลลิกรัม/กรัม) ซึ่งค่าทั้งสองไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (0.113 ± 0.0014 มิลลิกรัม/ลิตร และ

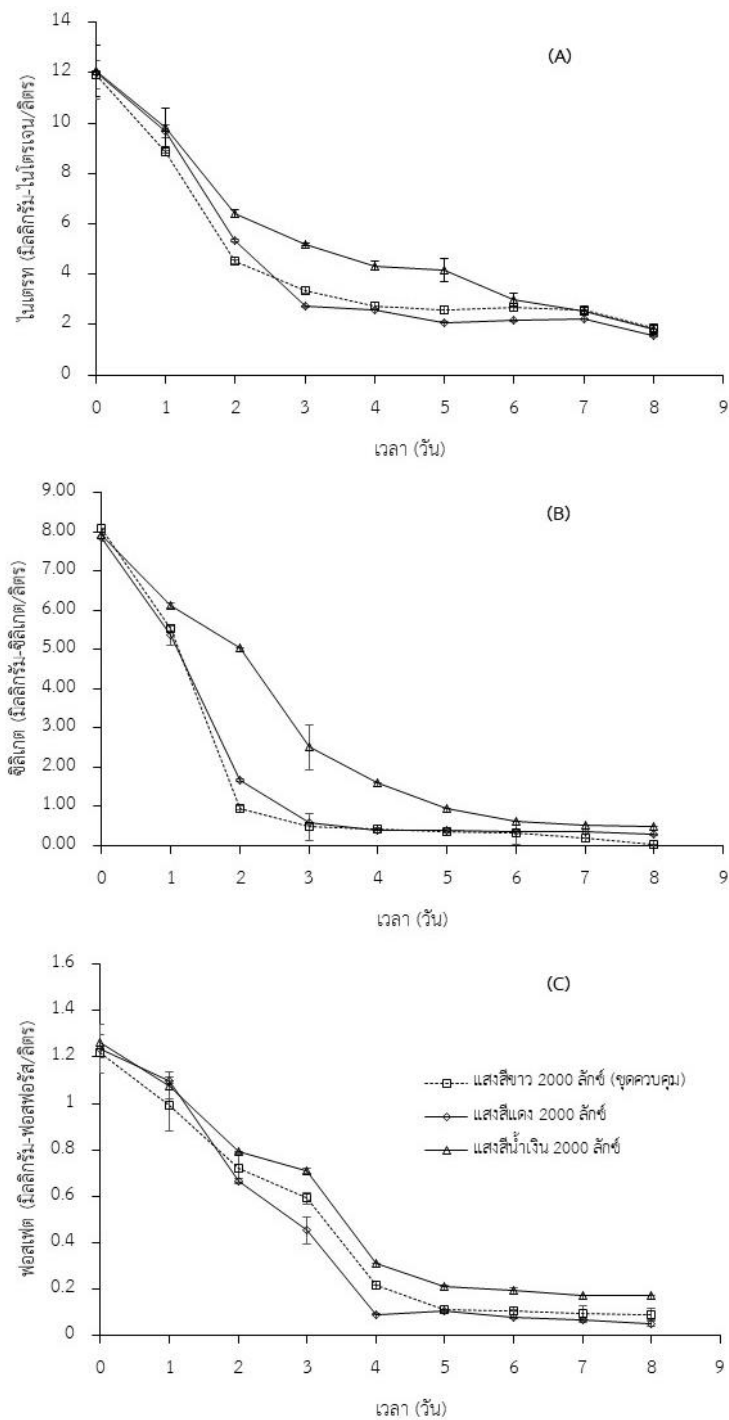
0.460 ± 0.0099 มิลลิกรัม/กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในขณะที่การเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินขนาด 2000 ลักซ์ ได้รับความเข้มข้นของฟูโคแซนทินเท่ากับ 0.123 ± 0.0042 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ได้รับปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.695 ± 0.024 มิลลิกรัม/กรัม ซึ่งมีค่ามากกว่าชุดควบคุมที่ใช้แสงสีขาวถึงประมาณ 51.14% และจากข้อมูลในรูปที่ 4.10 พบว่าเมื่อพิจารณาในช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Exponential phase) ในช่วงวันที่ 0-4 เปรียบเทียบกับช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบคงที่ (Stationary phase) ในวันที่ 5-8 พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและแสงสีแดงในช่วงการเจริญเติบโตแบบทวีคูณสามารถให้ฟูโคแซนทินได้ดีมากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงิน และในช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบคงที่ (Stationary phase) ในวันที่ 5-8 พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและแสงสีน้ำเงินสามารถให้ฟูโคแซนทินได้สูงกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง โดยผลการทดลองปริมาณฟูโคแซนทินเมื่อทำการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินมีค่าเท่ากับ 0.69 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่ามากกว่าชุดควบคุม (0.46 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และมีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยการใช้แสงสีแดงที่มีปริมาณฟูโคแซนทินเท่ากับ 0.42 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร ความสามารถในการกระตุ้นการสะสมฟูโคแซนทินในเซลล์ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ด้วยแสงสีน้ำเงินมีความคล้ายคลึงกับผลการวิจัยในอดีตที่ใช้แสงสีน้ำเงินกระตุ้นการสะสมของฟูโคแซนทินในไดอะตอม *P. tricornutum* หรือเพิ่มการสะสมแคโรทีนอยด์ในเซลล์จุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* [16, 48] จากข้อมูลในข้างต้นและจากผลการทดลองในหัวข้อ 4.2.1 จึงสามารถเลือกแสงสีน้ำเงินมาใช้ในการออกแบบการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เพื่อผลิตฟูโคแซนทิน โดยทำการให้แสงสีขาวโดยควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนคงที่ 2000 ลักซ์ ในช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Exponential phase) และให้แสงสีน้ำเงินในช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบคงที่ (Stationary phase) สำหรับการทดลองในอนาคต



รูปที่ 4.9 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ (Error bar = standard deviation)



รูปที่ 4.10 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ (Error bar = standard deviation)



รูปที่ 4.11 (A) ปริมาณไนเตรท (B) ปริมาณซิลิเกต และ (C) ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยใช้แสงสีขาว สีแดง และ สีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ (Error bar = standard deviation)

ผลการตรวจวัดธาตุอาหารซึ่งประกอบไปด้วยไนเตรท ซิลิเกต และฟอสเฟต (รูปที่ 4.11) พบว่าธาตุอาหารไนโตรเจนในทุกชุดการทดลองมีปริมาณไนเตรทเริ่มต้นประมาณ 12 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง และมีปริมาณตกค้างในระบบประมาณ 1.8 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร ตามลำดับ ในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. จากข้างต้นพบว่าข้อมูลการใช้ไนเตรทมีความสอดคล้องกับผลการเจริญเติบโตของไดอะตอม โดยเมื่อการเจริญเติบโตของไดอะตอมสูงขึ้น ปริมาณการใช้ไนเตรทของระบบจึงมีสูงขึ้น ทำให้ปริมาณไนเตรทคงเหลือในระบบลดลง ในส่วนของธาตุอาหารซิลิเกตและฟอสเฟต มีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกันกับธาตุไนเตรท และไม่เหลือตกค้างในระบบเลยในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง ซึ่งอาจเป็นประเด็นที่ต้องออกแบบการทดลองเพื่อปรับปรุงในอนาคต เนื่องมาจากธาตุอาหารซิลิเกตเป็นธาตุอาหารสำคัญที่ใช้ในการสร้างเปลือกของไดอะตอม และธาตุอาหารหลักฟอสเฟตเป็นธาตุอาหารสำคัญที่ใช้ในกระบวนการถ่ายทอดพลังงานและสร้างกรดนิวคลีอิก ซึ่งมีผลต่อการเติบโตและการสะสมโปรตีนของไดอะตอม จึงทำให้ไม่มีปริมาณธาตุอาหารซิลิเกตและฟอสเฟตเหลือตกค้างในระบบ

ตารางที่ 4.5 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

สภาวะการเลี้ยง	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (วัน ⁻¹)
แสงสีขาว (ชุดควบคุม)	0.30 ± 0.002 ^a
แสงสีแดง	0.57 ± 0.017 ^b
แสงสีน้ำเงิน	0.27 ± 0.011 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.6 พุโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณผลผลิตชีวมวลไดอะตอม ปริมาณผลผลิตพุโคแซนทิน ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

สภาวะการเลี้ยง	พุโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้งในวันสุดท้าย (มิลลิกรัม/กรัม)	ผลผลิตชีวมวลไดอะตอม (มิลลิกรัม/ลิตร·วัน)	ผลผลิตพุโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร·วัน)
แสงสีขาว (ชุดควบคุม)	0.459 ± 0.0099^a	23.25 ± 0.998^a	0.014 ± 0.0001^a
แสงสีแดง	0.416 ± 0.0084^a	37.53 ± 0.139^b	0.011 ± 0.0002^b
แสงสีน้ำเงิน	0.695 ± 0.024^b	19.17 ± 0.314^c	0.015 ± 0.0006^c

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

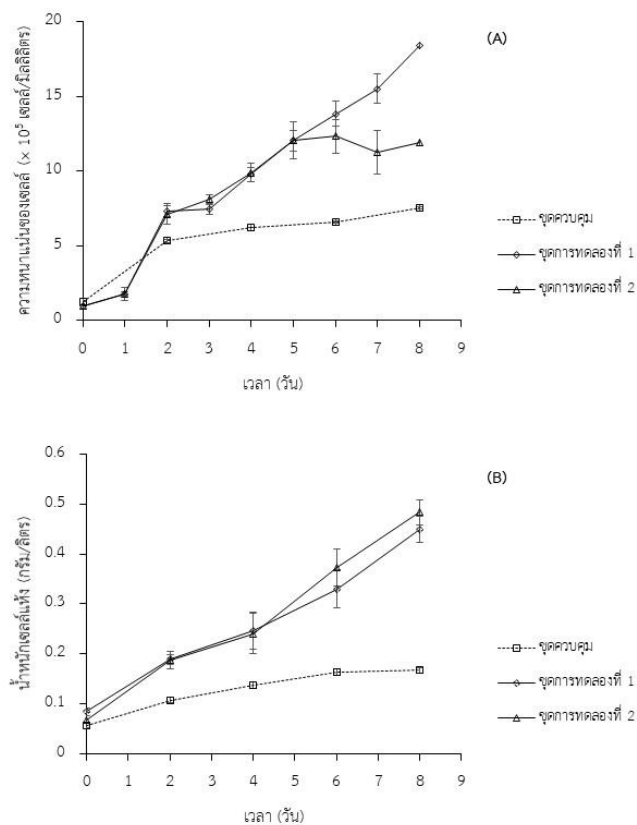
4.3 ความจำเป็นของการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและการผลิตพุโคแซนทิน

ในการทดลองนี้ศึกษาความจำเป็นของการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและการผลิตพุโคแซนทิน โดยเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวน ขนาด 1 ลิตร ซึ่งมีการกวนผสมกันที่ดี ทำให้การกระจายตัวของก๊าซและสารอาหารได้อย่างทั่วถึง อีกทั้งถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวนมีขนาดเล็ก จึงทำให้ผลของระยะแสงส่องผ่าน (Light path) ไม่มีผลกระทบ นอกจากนี้ในการทดลองที่ผ่านมาพบว่าการเจริญเติบโตของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในชุดการทดลองส่วนใหญ่จะเริ่มลดลงอย่างเห็นได้ชัดในช่วงวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยงเป็นต้นไป โดยมีข้อสันนิษฐานอันเนื่องมาจากการที่ความเข้มข้นของธาตุอาหารซิลิเกต และฟอสเฟต ลดอย่างรวดเร็วในสามวันแรกของการเพาะเลี้ยง ส่งผลให้ตั้งแต่วันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง ธาตุอาหารดังกล่าวมีความเข้มข้นเหลือน้อยกว่า 20% ของความเข้มข้นเริ่มต้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่จำกัดการเติบโตของไดอะตอม

ดังนั้นในการทดลองส่วนนี้จึงได้มีการเติมธาตุอาหารเพิ่มเข้าไปในระบบเพื่อลดการขาดแคลนธาตุอาหารในระหว่างการเพาะเลี้ยง ส่งผลให้ในการทดลองนี้จะมีชุดการทดลองอยู่ทั้งหมด 3 ชุด ได้แก่ (1) ชุดควบคุมที่ใช้อากาศปกติในการเพาะเลี้ยง โดยไม่มีการเติมธาตุอาหารเพิ่ม (2) ชุดการทดลองที่ 1 ใช้อากาศปกติในการเพาะเลี้ยง โดยมีการเติมธาตุอาหารในเตรท ฟอสเฟต และซิลิเกต ปริมาณครึ่งหนึ่งของปริมาณธาตุอาหารเริ่มต้นทุกวัน นับตั้งแต่วันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยงไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง และ (3) ชุดทดลองที่ 2 มีการให้อากาศที่ผสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร และมีรูปแบบการเติมธาตุอาหารเช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 1 โดยมีการติดตามพารามิเตอร์ต่างๆ เพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตชีวมวล และสารสีฟิวโคแซนทิน

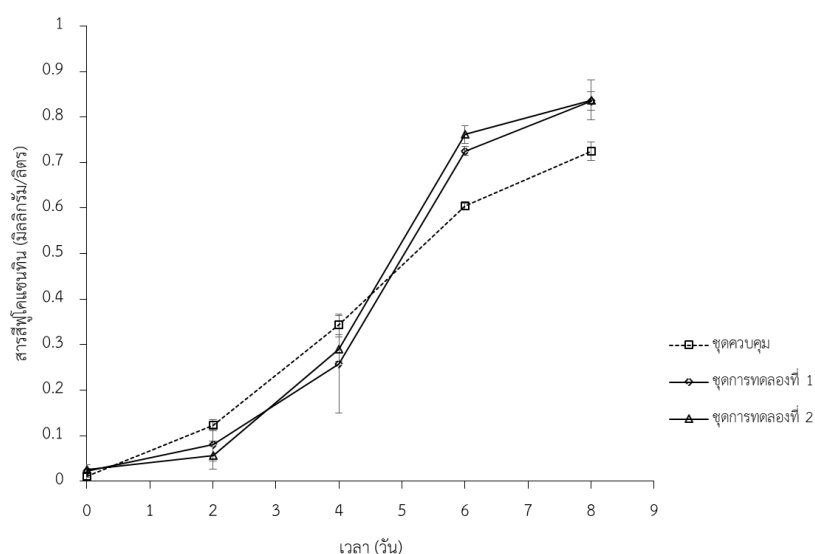
จากการศึกษาการเติบโตของไดอะตอมโดยติดตามผลความหนาแน่นเซลล์พบว่าไดอะตอมในชุดควบคุมมีการเติบโตที่ดีในช่วง 2 วันแรก หลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะเติบโตคงที่ เช่นเดียวกับชุดทดลองที่ 2 ที่เติบโตได้ดีในช่วง 5 วันแรก หลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะเติบโตคงที่เช่นกัน ในขณะที่ชุดทดลองที่ 1 นั้นมีการเติบโตอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 8 วัน ดังที่แสดงในรูปที่ 4.12 (A) ในการเปรียบเทียบความสามารถในการเติบโตของไดอะตอมซึ่งสามารถศึกษาได้จากอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ดังแสดงในตารางที่ 4.7 ผลการทดลองพบว่าในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.36 ± 0.007 วัน⁻¹ และ 0.5 ± 0.021 วัน⁻¹ ตามลำดับ และพบว่า มีค่ามากกว่าชุดควบคุม (0.22 ± 0.003 วัน⁻¹) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในการติดตามผลน้ำหนักรวมเซลล์แห้ง (ชีวมวล) พบว่าไดอะตอมในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 มีน้ำหนักรวมเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.4496 ± 0.0267 และ 0.4844 ± 0.0252 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าน้ำหนักรวมเซลล์แห้งของชุดควบคุม (0.1667 ± 0.0057 มิลลิกรัม/ลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 4.12(B) ในขณะที่ผลผลิตชีวมวลในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 45.74 ± 4.048 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน และ 52.315 ± 5.302 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน ตามลำดับ ก็มีค่าผลผลิตชีวมวลมากกว่าชุดควบคุม (13.75 ± 5.302 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน จากผลการทดลองพบว่า การเติมธาตุอาหารระหว่างการเพาะเลี้ยงช่วยลดข้อจำกัดในด้านการเจริญเติบโต และสาเหตุที่ไม่พบความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอากาศปกติ (ชุดการทดลองที่ 1) และชุดการทดลองที่ทำการให้อากาศที่ผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 2% (ชุดการทดลองที่ 2) เนื่องจากเมื่อทำการวัดค่าพีเอชในชุดควบคุมที่ทำการให้อากาศปกติในการเพาะเลี้ยงโดย

ไม่ได้ทำการเติมธาตุอาหารเพิ่ม พบว่ามีค่าพีเอชเท่ากับ 7.8 ± 0.015 และในชุดการทดลองที่ 1 ที่ทำการเลี้ยงโดยใช้อากาศปกติ และชุดการทดลองที่ 2 ที่ทำการเลี้ยงโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าค่าพีเอชในชุดการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 6.9 ± 0.024 ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 1 มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.8 ± 0.035 จากข้อมูลและผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าการเพาะเลี้ยงด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ 2% ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนในการศึกษานี้ ไม่สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตของระบบได้ เนื่องจากเป็นปริมาณที่ไม่เหมาะสม ส่งผลต่อค่าพีเอชของระบบให้มียาค่าลดลง



รูปที่ 4.12 (A) ความหนาแน่นเซลล์และ (B) น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอชยู ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยให้อากาศปกติและให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร เปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวน (Error bar = standard deviation)

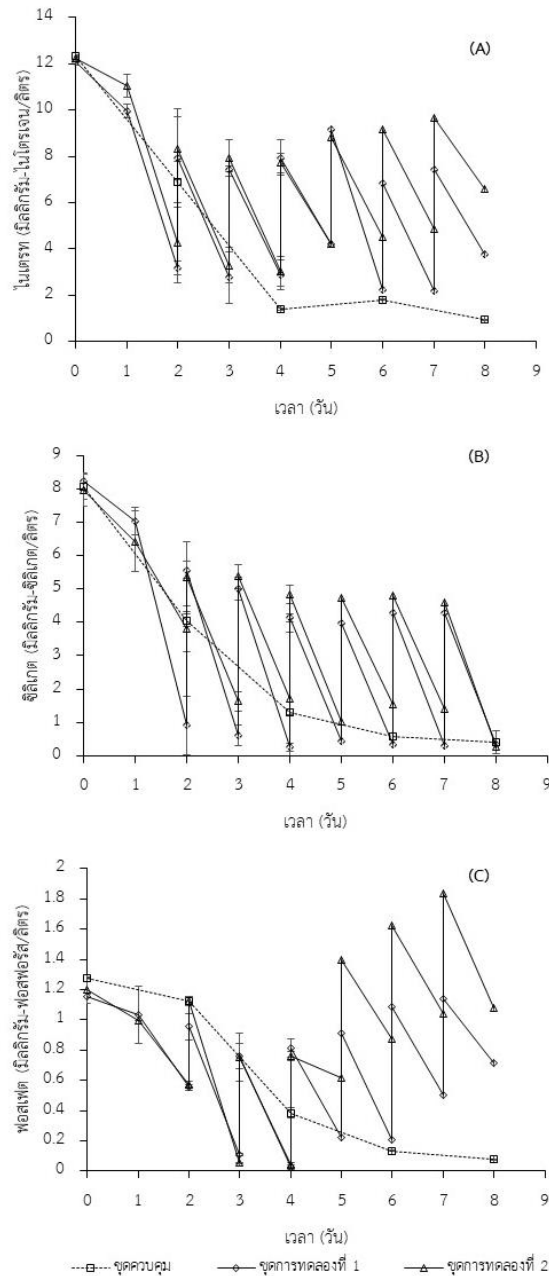
ในส่วนของการติดตามผลการผลิตสารสีฟูโคแซนทินจะพบว่าระบบเพาะเลี้ยงไดอะตอมทั้ง 3 ชุดการทดลอง (รูปที่ 4.13) สามารถผลิตสารสีฟูโคแซนทินได้มากที่สุดในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงดังที่แสดงในรูปที่ 4.13 โดยชุดการทดลองที่ 1 และ 2 สามารถผลิตฟูโคแซนทินได้สูงสุดเท่ากับ 0.835 ± 0.0204 และ 0.838 ± 0.044 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าชุดควบคุม (0.724 ± 0.0204 มิลลิกรัม/ลิตร) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งพบว่าในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 1.862 ± 0.1402 มิลลิกรัม/กรัม และ 1.735 ± 0.1748 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม (4.351 ± 0.2147 มิลลิกรัม/กรัม) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สาเหตุมาจากปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้งในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 มีค่าปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งน้อยกว่าชุดควบคุม เนื่องจากสารสีฟูโคแซนทินเป็นสารสีที่อยู่ในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ซึ่งทำหน้าที่ป้องกันคลอโรฟิลล์ไม่ให้เกิดอันตรายจากแสงที่มากเกินไป เมื่อความหนาแน่นของเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงมีปริมาณมากขึ้น ทำให้ไดอะตอมบดบังกันเอง และได้รับแสงน้อยลง จึงไม่จำเป็นต้องสร้างแคโรทีนอยด์จำนวนมากขึ้นมาเพื่อปกป้องคลอโรฟิลล์ จึงเป็นผลทำให้ปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้งมีปริมาณลดลง [65] อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลผลิตฟูโคแซนทินพบว่าในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 สามารถให้ผลผลิตฟูโคแซนทินได้เท่ากับ 0.102 ± 0.0025 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน และ 0.102 ± 0.0041 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุม (0.089 ± 0.0023 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และไม่พบความแตกต่างของความสามารถในการผลิตฟูโคแซนทินระหว่างชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ดังแสดงในตารางที่ 4.8 นั้นแสดงให้เห็นว่าการเติมธาตุอาหารระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอมสามารถช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตชีวมวลของระบบให้เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ในขณะที่ผลการทดลองในส่วนการให้คาร์บอนไดออกไซด์พบว่าไม่ได้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตฟูโคแซนทิน ดังนั้นจากข้อมูลในข้างต้น สภาวะที่เหมาะสม คือ การให้อากาศปกติ ควบคู่ไปกับการเติมธาตุอาหาร ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. สำหรับการทดลองต่อไป



รูปที่ 4.13 ปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยให้อากาศปกติและให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร เปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวน (Error bar = standard deviation)

ในการติดตามการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสเฟต และซิลิเกตของไดอะตอมทั้ง 3 ชุดการทดลองพบว่าธาตุอาหารเหล่านี้ในทุกชุดทดลองมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง (รูปที่ 4.14) โดยในทุกชุดการทดลองจะมีปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้นประมาณ 12 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร มีปริมาณฟอสเฟตเริ่มต้นประมาณ 1.29 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัสต่อลิตร และมีปริมาณซิลิเกตเริ่มต้นประมาณ 8.03 มิลลิกรัม-ซิลิเกตต่อลิตร ในชุดควบคุมความเข้มข้นของธาตุอาหารทั้ง 3 มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องจนพบว่าไนโตรเจนถูกใช้หมดในช่วงประมาณวันที่ 4 – 5 ฟอสเฟต และซิลิเกตถูกใช้จนหมดในวันที่ 6 ก่อนเซลล์จะเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 1 และ 2 จะไม่พบว่าไดอะตอมใช้สารอาหารจนหมดเนื่องจากการเติมธาตุอาหารเพิ่มเข้าไปตลอดการเพาะเลี้ยง โดยพบว่าในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนคงเหลือในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ประมาณ 3.8 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร และ 6.6 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณธาตุอาหารซิลิเกตคงเหลือในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ประมาณ 0.35 มิลลิกรัม-ซิลิเกตต่อลิตร และ 0.25 มิลลิกรัม-ซิลิเกตต่อลิตร ตามลำดับ และปริมาณธาตุอาหาร

ฟอสเฟตคงเหลือในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ประมาณ 0.7 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัสต่อลิตร และ 1 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัสต่อลิตร ตามลำดับ



รูปที่ 4.14 (A) ปริมาณไนเตรท (B) ปริมาณซัลเฟต และ (C) ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงไต่อะตอม *Thalassiosira* sp. เปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ในถึงปฏิบัติการชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวน (Error bar = standard deviation)

ตารางที่ 4.7 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยให้อากาศปกติและให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบถังกวน

สภาวะการเลี้ยง	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (วัน ⁻¹)
ชุดควบคุม (อากาศปกติ)	0.22 ± 0.003 ^a
ชุดการทดลองที่ 1 (อากาศปกติ + เต็มธาตุอาหาร)	0.36 ± 0.007 ^b
ชุดการทดลองที่ 2 (2% CO ₂ + เต็มธาตุอาหาร)	0.5 ± 0.021 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

ตารางที่ 4.8 น้ำหนักแห้งเซลล์แห้ง ปริมาณฟูโคแซนทิน ปริมาณผลผลิตชีวมวลไดอะตอม และปริมาณผลผลิตฟูโคแซนทิน ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 โดยให้อากาศปกติและให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์เชิงแสงแบบถังกวน

สภาวะการเลี้ยง	ผลผลิตชีวมวล (มิลลิกรัม/ลิตร·วัน)	pH
ชุดควบคุม (อากาศปกติ)	13.75 ± 0.000 ^a	7.8 ± 0.01 ^a
ชุดการทดลองที่ 1 (อากาศปกติ + เต็มธาตุอาหาร)	45.74 ± 4.048 ^b	7.8 ± 0.04 ^a
ชุดการทดลองที่ 2 (2% CO ₂ + เต็มธาตุอาหาร)	52.315 ± 5.302 ^b	6.9 ± 0.02 ^b

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สภาวะการเลี้ยง	ฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/กรัม)	ผลผลิตฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร·วัน)
ชุดควบคุม (อากาศปกติ)	4.351 ± 0.2147^a	0.089 ± 0.0023^a
ชุดการทดลองที่ 1 (อากาศปกติ + เติมหาตุอาหาร)	1.862 ± 0.1402^b	0.102 ± 0.0025^b
ชุดการทดลองที่ 2 (2% CO ₂ + เติมหาตุอาหาร)	1.735 ± 0.1748^b	0.102 ± 0.0041^b

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.4 การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนขนาด 2 ลิตร เพื่อผลิตฟูโคแซนทินด้วยสภาวะความเข้มข้นของไนโตรเจน การให้แสงที่เหมาะสม และการเติมหาตุอาหาร

การศึกษาในส่วนนี้จะศึกษาโดยเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากผลการทดลองที่ได้รับก่อนหน้านี้ซึ่งประกอบด้วย (1) การปรับลดปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลือ 75% ของปริมาณในสูตร F/2 (2) การควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนที่ 2,000 ลักซ์ (3) การใช้แสงสีขาวเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตในระยะการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Exponential phase) ร่วมกับการใช้แสงสีน้ำเงินเพื่อกระตุ้นการสะสมฟูโคแซนทินในช่วงการเจริญเติบโตคงที่ (Stationary phase) และ (4) การเติมหาตุอาหารระหว่างการเพาะเลี้ยง เพื่อลดการขาดแคลนอาหารซึ่งเป็นข้อจำกัดของการเจริญเติบโตของไดอะตอม โดยกำหนดให้มีสภาวะการทดลองดังที่รายงานในตารางที่ 4.9

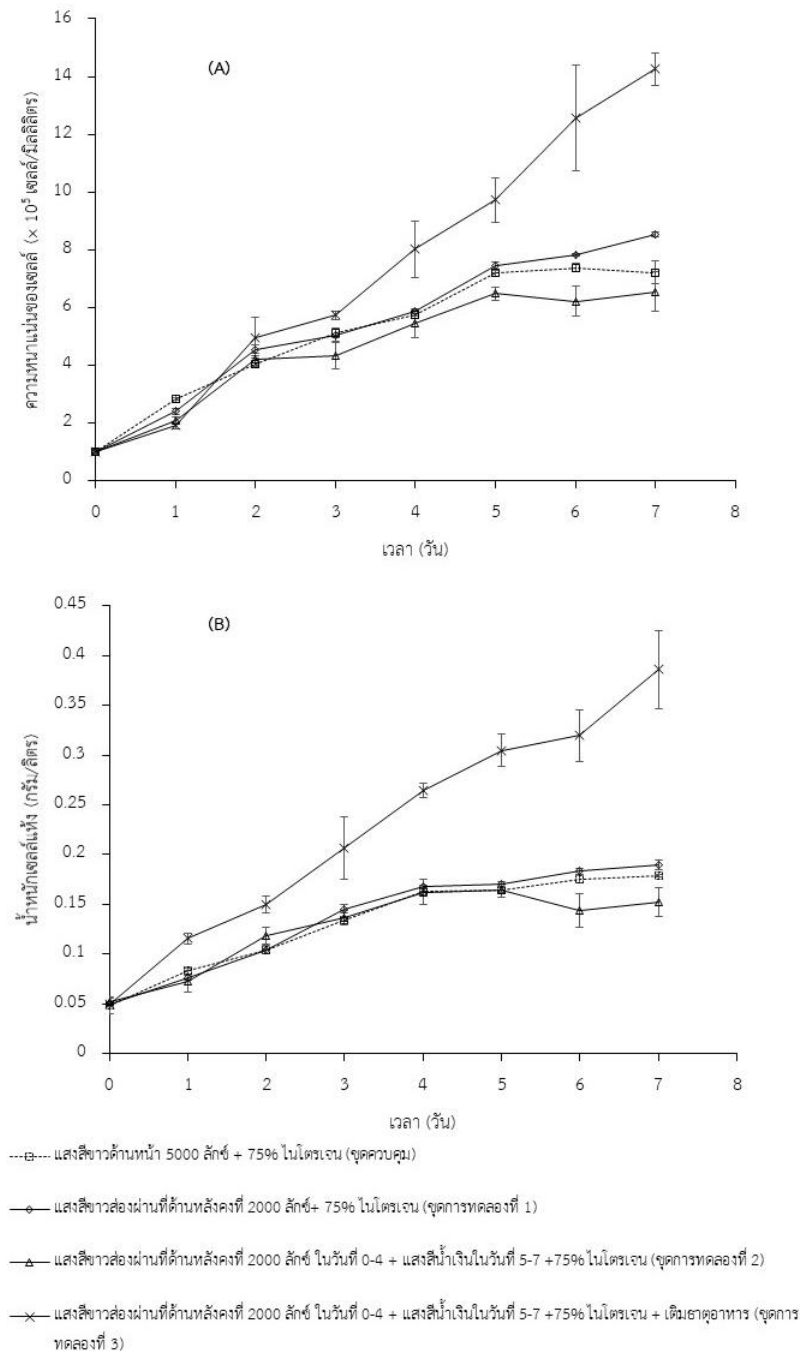
ตารางที่ 4.9 สภาวะการเพาะเลี้ยงของชุดการทดลองต่างๆ

ชุดการทดลอง	สภาวะการเพาะเลี้ยง	
	รูปแบบการให้แสง	ธาตุอาหาร
ชุดควบคุม	ให้แสงสีขาวด้านหน้าถึงปฏิกรณ์ 5000 ลักซ์	75% ไนโตรเจนในอาหารมาตรฐาน F/2
ชุดการทดลองที่ 1	ให้แสงสีขาวส่องผ่านที่ด้านหลังคงที่ 2000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง	75% ไนโตรเจนในอาหารมาตรฐาน F/2
ชุดการทดลองที่ 2	ให้แสงสีขาวส่องผ่านที่ด้านหลังคงที่ 2000 ลักซ์ ในวันที่ 0-4 + ให้แสงสี น้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในวันที่ 5-7 ของการทดลอง	75% ไนโตรเจนในอาหารมาตรฐาน F/2
ชุดการทดลองที่ 3	ให้แสงสีขาวส่องผ่านที่ด้านหลังคงที่ 2000 ลักซ์ ในวันที่ 0-4 + ให้แสงสี น้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในวันที่ 5-7 ของการทดลอง	75% ไนโตรเจนในอาหารมาตรฐาน F/2+ การเติมไนเตรท ซิลิเกต และ ฟอสเฟต 50% ของความเข้มข้น เริ่มต้นทุกวัน เริ่มเติมตั้งแต่วันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง

จากการติดตามการเจริญเติบโตของไดอะตอมจากผลความหนาแน่นเซลล์พบว่าไดอะตอมในชุดควบคุม และชุดทดลองที่ 2 มีการเติบโตที่ดีในช่วง 5 วันแรก หลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะเติบโตคงที่ ส่วนไดอะตอมในชุดทดลองที่ 1 เติบโตได้ดีจนถึงวันที่ 7 ก่อนจะเข้าสู่ระยะเติบโตคงที่ ในขณะที่ชุดทดลองที่ 3 นั้นมีการเติบโตอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 8 วัน ดังที่แสดงในรูปที่ 4.15 (A) ในส่วนของการเปรียบเทียบความสามารถในการเติบโตของไดอะตอม สามารถศึกษาได้จากอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดดังแสดงในตารางที่ 4.10 โดยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของชุดควบคุม ชุดทดลองที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 0.44 ± 0.002 วัน⁻¹ 0.4423 ± 0.0032 วัน⁻¹ 0.4225 ± 0.0222 วัน⁻¹ และ 0.4205 ± 0.0249 วัน⁻¹ ตามลำดับ โดยไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอัตราการเติบโตจำเพาะของชุดการทดลองทั้ง 4 ($p > 0.05$) ในการติดตามผลน้ำหนักรเซลล์แห้ง (ชีวมวล) พบว่าไดอะตอมในชุดการทดลองที่ 3 มีน้ำหนักรเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.41 ± 0.005 กรัม/ลิตร ซึ่งเป็นค่าที่มากกว่าชุดการทดลองที่เหลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ไดอะตอมใน

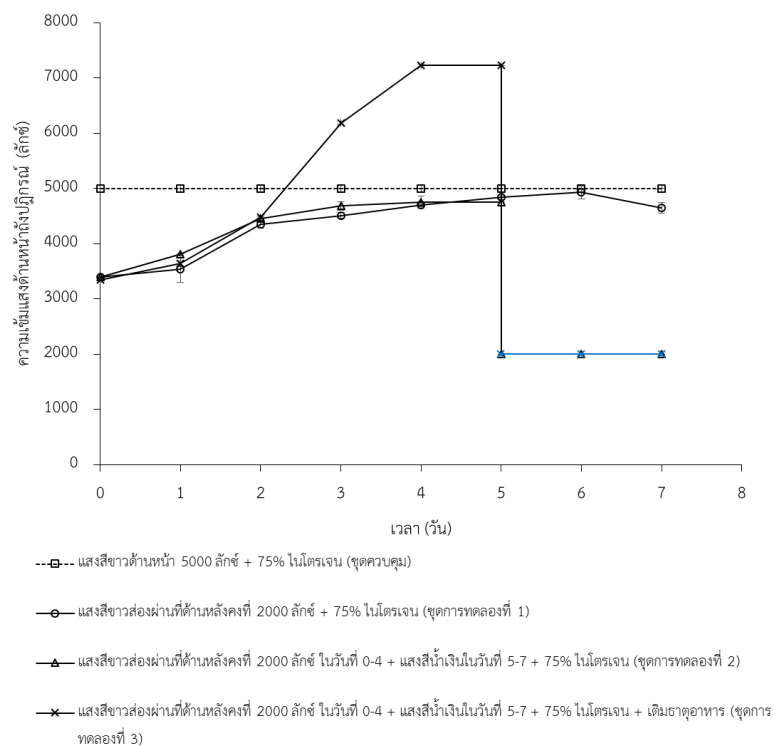
ชุดควบคุม และชุดทดลองที่ 1 ซึ่งมีน้ำหนักแห้งสูงสุดเท่ากับ 0.18 ± 0.001 และ 0.19 ± 0.005 กรัม/ลิตร ตามลำดับนั้นมีการรองลงมา และไดอะตอมในชุดทดลองที่ 2 ให้น้ำหนักเซลล์แห้งน้อยที่สุด (น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.16 ± 0.007 กรัม/ลิตร) ดังที่แสดงในรูปที่ 4.15 (B) ในส่วนของผลผลิตชีวมวลของชุดการทดลองทั้ง 4 จะถูกรายงานไว้ในตารางที่ 4.14 ซึ่งจากข้อมูลในตารางดังกล่าวพบว่าไดอะตอมในชุดการทดลองที่ 3 มีผลผลิตชีวมวลมากกว่าชุดควบคุม และชุดการทดลองที่เหลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าการผลิตชีวมวลของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. จากการเพาะเลี้ยงด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนที่ผ่านมากถูกจำกัดด้วยปัจจัยเรื่องธาตุอาหารไนเตรท ฟอสเฟต และซิลิเกตไม่เพียงพอเป็นหลัก เมื่อมีธาตุอาหารเหล่านี้เพียงพอ ศักยภาพของการผลิตชีวมวลจากระบบเพาะเลี้ยงจึงสูงขึ้น





รูปที่ 4.15 (A) ความหนาแน่นเซลล์และ (B) น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน (Error bar = standard deviation)

ในระหว่างการเพาะเลี้ยงในชุดทดลองที่ 1 – 3 จะคงความเข้มข้นแสงส่องผ่านที่ด้านหลังถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบนให้เท่ากับ 2,000 ลักซ์ เมื่อไดอะตอมมีการเติบโตจะทำให้ของเหลวในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงเกิดความขุ่นเพิ่มขึ้น จึงต้องมีการปรับความเข้มข้นแสงสีขาวยิ่งขึ้นเพื่อคงความเข้มข้นด้านหลังให้มีค่าคงที่อยู่ตลอดในช่วงไดอะตอมอยู่ในระยะการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Exponential phase) และเมื่อเซลล์ไดอะตอมเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ (Stationary phase) จะทำการให้แสงสีน้ำเงินในการเพาะเลี้ยง โดยไม่ทำการปรับค่าความเข้มข้นแสงเพิ่มขึ้น เนื่องจากเซลล์ไดอะตอมมีการเจริญเติบโตค่อนข้างคงที่ โดยปริมาณความเข้มข้นแสงที่ใช้ในแต่ละวันสามารถตรวจวัดได้จากความเข้มข้นที่ตกกระทบด้านหน้าของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงดังที่แสดงในรูปที่ 4.16

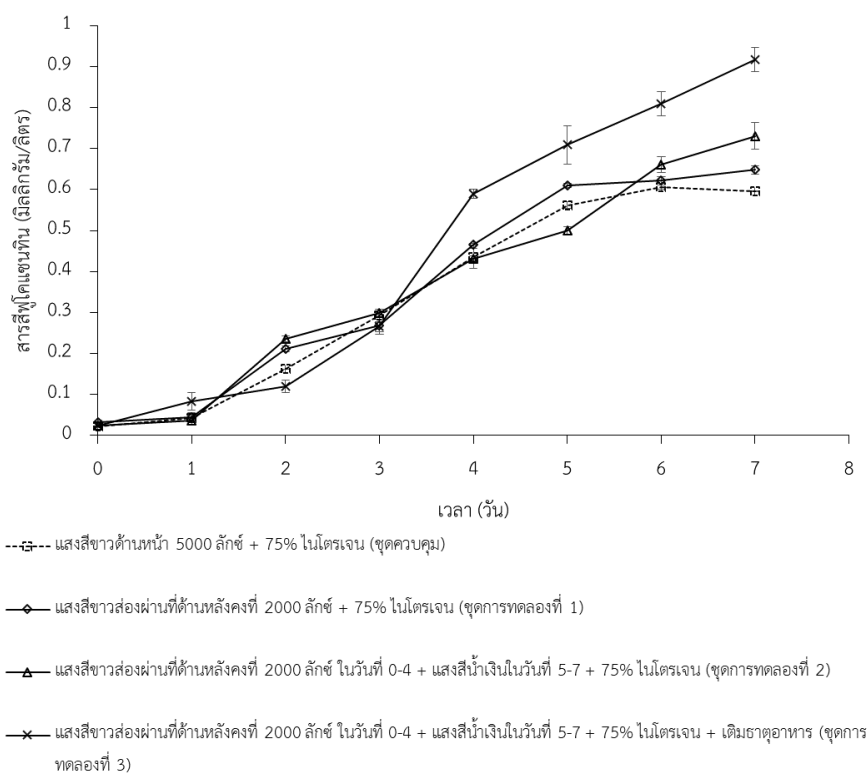


รูปที่ 4.16 ความเข้มข้นด้านหน้าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน ที่ถูกใช้ในสภาวะชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน (Error bar = standard deviation)

ในส่วนของผลการวิเคราะห์สารสีฟูโคแซนทินดังที่รายงานไว้รูปที่ 4.17 และตารางที่ 4.11 พบว่าชุดทดลองที่ 3 ให้ผลผลิตฟูโคแซนทินเท่ากับ 0.127 ± 0.0040 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน ซึ่งมีค่ามากกว่าชุดควบคุม และชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แม้ว่าปริมาณฟูโคแซนทินของชีวมวลไดอะตอมในชุดการทดลองที่ 3 (2.386 ± 0.1802 มิลลิกรัม/กรัม) จะมีค่าน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม หรือชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ก็ตาม ทั้งนี้เนื่องจากผลผลิตชีวมวล และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดของชุดการทดลองที่ 3 ที่สูงกว่าชุดการทดลองอื่นมาก แม้ว่าชีวมวลจะมีสารสีฟูโคแซนทินน้อยตามที่ตรวจพบ แต่ภาพรวมของผลผลิตสารสีฟูโคแซนทินก็ยังคงมากกว่าชุดการทดลองอื่น ซึ่งการที่ชีวมวลของไดอะตอมในชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณฟูโคแซนทินน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ มีสาเหตุมาจาก ตัวสารสีฟูโคแซนทินนั้นอยู่ในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ซึ่งทำหน้าที่ป้องกันคลอโรฟิลล์ไม่ให้เกิดอันตรายจากแสงที่มากเกินไป เมื่อความหนาแน่นของเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงมีปริมาณมากขึ้น ทำให้ไดอะตอมบดบังกันเอง และได้รับแสงน้อยลง จึงไม่จำเป็นต้องสร้างแคโรทีนอยด์จำนวนมากขึ้นมาเพื่อปกป้องคลอโรฟิลล์ จึงเป็นผลทำให้ปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้งมีปริมาณลดลง [65]

ดังนั้นจากข้อมูลในข้างต้นการเลือกใช้สภาวะจากชุดการทดลองที่ 3 ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้ความเข้มข้นของไนโตรเจน 75% ของปริมาณในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ควบคุมโดยให้แสงสีขาวส่องผ่านถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ด้านหลังถึงปฏิกรณ์ชีวภาพให้คงที่ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ ในวันที่ 0-4 และทำการให้แสงสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในวันที่ 5-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยให้อากาศปกติ ควบคุมไปกับการเติมธาตุอาหารไนโตรเจน ซิลิกาและฟอสฟอรัส เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตสารสีฟูโคแซนทินที่มากขึ้นได้มากที่สุด เนื่องจากสามารถให้ผลผลิตชีวมวลไดอะตอมและผลผลิตฟูโคแซนทินได้ดีที่สุดในทุกชุดการทดลอง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. และเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยในอดีตพบว่าสภาวะที่ค้นพบในการทดลองนี้สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดได้สูงกว่างานวิจัยในอดีต และให้ผลผลิตชีวมวลได้เพิ่มมากกว่างานวิจัยในอดีตซึ่งทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในสภาวะกลางแจ้ง [66] ถึง 2.27 เท่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการปรับและควบคุมความเข้มแสง อุณหภูมิ และสภาวะต่างๆ ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตของระบบให้สูงขึ้นได้ เมื่อพิจารณาผลผลิตที่ได้จากสภาวะที่ได้จากการศึกษากับสภาวะปกติในห้องปฏิบัติการดังแสดงในตารางที่ 4.12 พบว่าสภาวะที่ได้จากการศึกษาสามารถให้ปริมาณผลผลิตฟูโคแซนทินเท่ากับ 0.127 ± 0.0040 วัน⁻¹ ซึ่งมีค่ามากกว่าสภาวะปกติในห้องปฏิบัติการ (0.099 ± 0.0040 วัน⁻¹) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และ

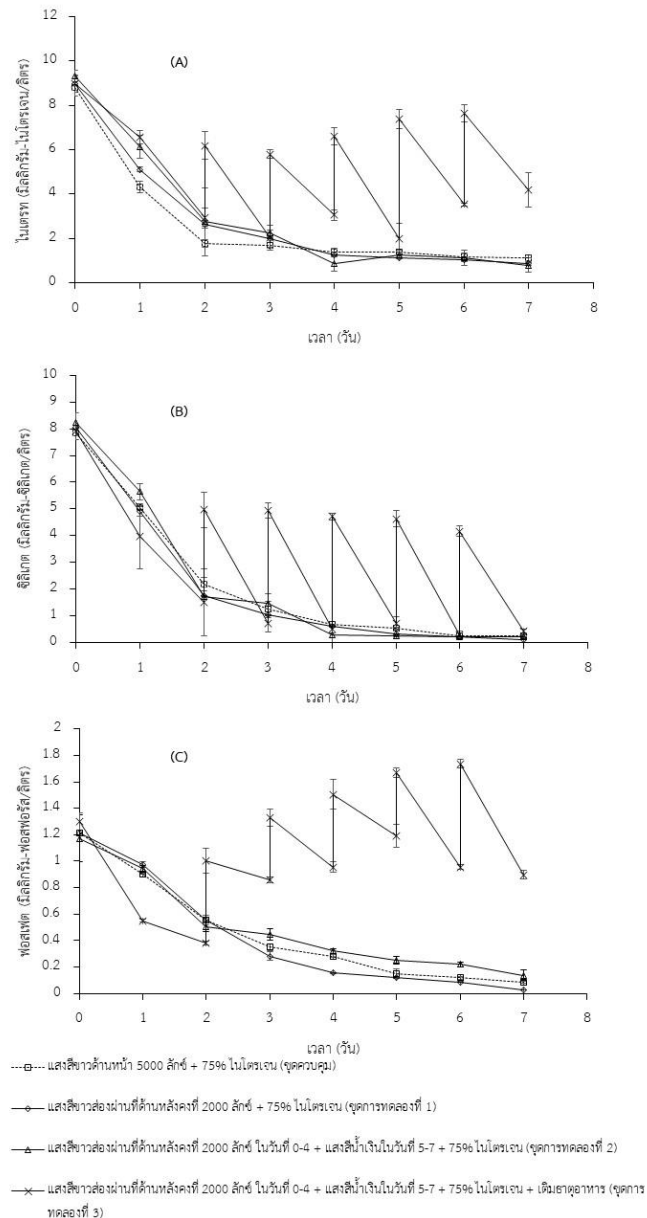
สามารถเพิ่มผลผลิตฟูโคแซนทินได้เพิ่มสูงขึ้นถึง 28.28% และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟูโคแซนทินต่อ น้ำหนักแห้งที่ได้จากสภาวะในการศึกษากับงานวิจัยในอดีตของ Thomas Kiran Marella [67] ทำ การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ด้วยแสงสี ขาว สีแดง และแสงสีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ และ 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ พบว่าการ ทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ด้วยแสงสีน้ำเงินที่ความเข้มแสง 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ สามารถให้ปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.957 มิลลิกรัม/ กรัม และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสภาวะที่ได้จากการศึกษาพบว่าปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนัก เซลล์แห้งในชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดมีค่าเท่ากับ 2.386 ± 0.1802 มิลลิกรัม/ กรัม มีค่าสูงกว่างานวิจัยข้างต้นถึง 149% แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในสภาวะที่ใช้ความเข้มข้นของไนโตรเจน 75% ของปริมาณในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ควบคุม โดยให้แสงสีขาวส่องผ่านถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ด้านหลังถึงปฏิกรณ์ชีวภาพให้คงที่ที่ 2000 ลักซ์ ในวันที่ 0-4 และทำการให้แสงสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในวันที่ 5-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยให้อากาศ ปกติ ควบคู่ไปกับการเติมธาตุอาหารไนโตรเจน ซิลิกาและฟอสฟอรัส เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงได ออะตอม *Thalassiosira* sp. เพื่อผลิตสารสีฟูโคแซนทินให้มีปริมาณมากขึ้นได้มากที่สุด สามารถช่วย เพิ่มปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักเซลล์แห้งให้สูงขึ้นจากงานวิจัยในอดีต ซึ่งจากผลการทดลองข้างต้น สามารถเป็นข้อมูลสำหรับการศึกษาเพื่อผลิตฟูโคแซนทินในอนาคตต่อไป



รูปที่ 4.17 ปริมาณสารสีฟิวโคแซนทินในไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน (Error bar = standard deviation)

ในการติดตามการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสเฟต และซิลิเกตของไดอะตอมทั้ง 4 ชุดการทดลองพบว่าธาตุอาหารเหล่านี้ในทุกชุดทดลองมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง (รูปที่ 4.18) โดยในทุกชุดการทดลองจะมีปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้นประมาณ 9.25 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร มีปริมาณฟอสเฟตเริ่มต้นประมาณ 1.29 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัสต่อลิตร และมีปริมาณซิลิเกตเริ่มต้นประมาณ 8.03 มิลลิกรัม-ซิลิเกตต่อลิตร ในชุดควบคุม ชุดทดลองที่ 1 และ 2 ความเข้มข้นของธาตุอาหารทั้ง 3 มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง จนพบว่าไนโตรเจน และซิลิเกตถูกใช้หมดในช่วงประมาณวันที่ 4 และฟอสเฟตถูกใช้จนหมดในวันที่ 7 นั้นส่งผลให้ไดอะตอมในชุดควบคุม ชุดทดลองที่ 1 และ 2 ก่อนเซลล์จะเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 3 จะพบว่า

ไดอะตอมใช้สารอาหารไม่หมดเนื่องจากมีการเติมธาตุอาหารเพิ่มเข้าไปตลอดการเพาะเลี้ยง ดังแสดง
ในรูปที่ 4.18



รูปที่ 4.18 (A) ปริมาณไนเตรท (B) ปริมาณซิลิเกต และ (C) ปริมาณฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยง
ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วย
อาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลอง
ที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน (Error bar
= standard deviation)

ตารางที่ 4.10 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยง ระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง ชนิดแผ่นแบน

สภาวะการเลี้ยง	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (วัน ⁻¹)
ชุดควบคุม	0.43 ± 0.002 ^a
ชุดการทดลองที่ 1	0.44 ± 0.003 ^a
ชุดการทดลองที่ 2	0.42 ± 0.022 ^a
ชุดการทดลองที่ 3	0.42 ± 0.025 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.11 ปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณผลผลิตชีวมวลไดอะตอม ผลผลิตฟูโคแซนทิน ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

สภาวะการเลี้ยง	ฟูโคแซนทินต่อ น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/กรัม)	ผลผลิตชีวมวลไออะ ตอม (มิลลิกรัม/ลิตร·วัน)	ผลผลิตฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร·วัน)
ชุดควบคุม	3.452 ± 0.0951 ^a	18.53 ± 1.334 ^a	0.082 ± 0.0005 ^a
ชุดการทดลองที่ 1	3.412 ± 0.0747 ^a	20 ± 0.714 ^a	0.088 ± 0.0006 ^a
ชุดการทดลองที่ 2	4.836 ± 0.442 ^b	22.35 ± 1.048 ^a	0.101 ± 0.0044 ^b
ชุดการทดลองที่ 3	2.386 ± 0.1802 ^c	45.18 ± 5.870 ^b	0.127 ± 0.0040 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.12 ปริมาณฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณผลผลิตชีวมวลไดอะตอม ผลผลิตฟูโคแซนทิน ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

สภาวะการเลี้ยง	ผลผลิตชีวมวลไดอะตอม (มิลลิกรัม/ลิตร·วัน)	ฟูโคแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/กรัม)	ผลผลิตฟูโคแซนทิน (มิลลิกรัม/ลิตร·วัน)
สภาวะปกติ (อาหารมาตรฐาน F/2 + ให้แสง 5000 ลักซ์ ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดถังกวน) สภาวะที่ได้จากการศึกษา (75% ไนโตรเจนในอาหาร F/2 ให้แสง 2000 ลักซ์ คงที่ด้านหลังในวัน วันที่ 0-4 + ให้แสงสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในวันที่ 5-8 ของการทดลอง + ทำการเติมธาตุอาหารไนเตรท ซิลิเกต ฟอสเฟต ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน)	17.78 ± 1.925^a	3.704 ± 0.1527^a	0.099 ± 0.0007^a
	45.18 ± 5.870^b	2.386 ± 0.1802^b	0.127 ± 0.0040^b

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เพื่อผลิตสารสีฟูโคแซนทินโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน โดยสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. ผลการทดลองของการศึกษาความเข้มข้นไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร F/2 ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทิน พบว่าเมื่อพิจารณาผลผลิตชีวมวลไดอะตอมและผลผลิตฟูโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจนเหลือ 75% ผลการทดลองพบว่าผลผลิตชีวมวลและผลผลิตฟูโคแซนทินที่ได้รับมีค่าใกล้เคียงกับผลผลิตที่ได้รับเมื่อใช้อาหารมาตรฐานสูตร F/2 ปกติ ที่ไม่มีการปรับลดความเข้มข้นของไนโตรเจน
2. ผลการศึกษาผลกระทบต่อความเข้มแสงต่อการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตฟูโคแซนทินโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน พบว่าชุดทดลองที่ทำการควบคุมให้แสงส่องผ่านที่ด้านหลังถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้เท่ากับ 2000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง เป็นสภาวะที่ดีที่สุด โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.72 ± 0.008 วัน⁻¹ มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.22 ± 0.001 กรัม/ลิตร และสามารถให้ผลผลิตชีวมวลไดอะตอมและผลผลิตฟูโคแซนทินสูงสุดเท่ากับ 21.01 ± 0.454 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน และ 0.048 ± 0.003 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน ตามลำดับ
3. ผลการศึกษาผลกระทบต่อคุณภาพแสงต่อการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตฟูโคแซนทินโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน พบว่าเมื่อพิจารณาในช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Exponential phase) ในช่วงวันที่ 0-4 เปรียบเทียบกับช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบคงที่ (Stationary phase) ในวันที่

5-8 การเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและแสงสีแดงในช่วงการเจริญเติบโตแบบทวีคูณสามารถให้ฟูโคแซนทินได้ดีมากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงิน และในช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบคงที่ ในวันที่ 5-8 พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและแสงสีน้ำเงินสามารถให้ฟูโคแซนทินได้สูงกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง โดยพบว่าปริมาณฟูโคแซนทินเมื่อทำการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินในช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบคงที่มีค่าเท่ากับ 0.69 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่ามากกว่าชุดควบคุม (0.46 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และมีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยการใช้แสงสีแดงที่มีปริมาณฟูโคแซนทินเท่ากับ 0.42 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร จากข้อมูลในข้างต้นและจากผลการทดลองในหัวข้อ 4.2.1 จึงสามารถเลือกแสงสีน้ำเงินมาร่วมในการออกแบบการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เพื่อผลิตฟูโคแซนทิน โดยทำการให้แสงสีขาวและควบคุมความเข้มแสงส่องผ่านที่ด้านหลังถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนคงที่ 2000 ลักซ์ ในช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Exponential phase) และให้แสงสีน้ำเงินในช่วงระยะการเจริญเติบโตแบบคงที่ (Stationary phase) สำหรับการทดลองในอนาคต

4. ผลการศึกษาความจำเป็นของการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทิน ควบคู่ไปกับการเติมธาตุอาหารพบว่า การให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ได้รับผลผลิตฟูโคแซนทินใกล้เคียงกับการใช้อากาศปกติในการเพาะเลี้ยง ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และการเติมธาตุอาหารระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอมเพื่อลดการขาดแคลนธาตุอาหารในการเพาะเลี้ยงสามารถทำให้ผลผลิตของระบบเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. สามารถเลือกใช้อากาศปกติควบคู่ไปกับการเติมธาตุอาหารในการเพาะเลี้ยงเป็นสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับการทดลองในอนาคต
5. จากผลการศึกษาความเข้มข้นไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร F/2 ผลกระทบความเข้มแสงคุณภาพแสง และรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเพาะเลี้ยง *Thalassiosira* sp. พบว่าในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน การปรับความเข้มข้นให้เป็น 75% ของปริมาณไนโตรเจนในอาหารมาตรฐานสูตร

F/2 ทำการควบคุมให้แสงส่องผ่านที่ด้านหลังถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้เท่ากับ 2000 ลักซ์ ในวันที่ 0-4 (ช่วงระยะแบ่งตัวทวีคูณ) และให้แสงสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในวันที่ 5-7 (ช่วงระยะการเจริญเติบโตคงที่) ของการทดลอง โดยการให้อากาศปกติ ควบคู่ไปกับการเติมธาตุอาหารตลอดการทดลอง เป็นสภาวะที่ดีที่สุดต่อการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทิน โดยผลการทดลองพบว่าสภาวะที่ได้จากการศึกษาสามารถทำให้ปริมาณผลผลิตชีวมวลไดอะตอมเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมถึง 144% โดยมีค่าเท่ากับ 45.18 ± 5.870 มิลลิกรัม/กรัม·วัน ปริมาณผลผลิตฟูโคแซนทินเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมถึง 55% โดยมีค่าเท่ากับ 0.127 ± 0.0040 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน ซึ่งค่าทั้งสองมีค่ามากกว่าชุดควบคุม (ผลผลิตชีวมวลไดอะตอมเท่ากับ 18.53 ± 1.334 มิลลิกรัม/กรัม·วัน ปริมาณผลผลิตฟูโคแซนทินเท่ากับ 0.082 ± 0.0005 มิลลิกรัม/ลิตร·วัน) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

5.2 ข้อเสนอแนะ

- สำหรับการเพาะเลี้ยงที่ผลการศึกษาความจำเป็นของการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและการผลิตฟูโคแซนทิน พบว่าเมื่อเข้าสู่วัน 5 ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะคงที่ ไม่สามารถเพิ่มจำนวนทวีคูณได้ดังชุดการทดลองที่ทำการให้อากาศปกติ ผลจากการทดสอบพีเอช พบว่าในชุดการทดลองที่ทำให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2% โดยปริมาตร ลดต่ำลงมากกว่าชุดการทดลองที่ทำการให้อากาศปกติ ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ดังนั้นควรปรับค่าพีเอชให้เหมาะสม รวมไปถึงปริมาณความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีฟูโคแซนทิน สำหรับการทดลองในอนาคตต่อไป
- ในระหว่างการเพาะเลี้ยงพบว่า เมื่อเซลล์มีการเจริญเติบโตและมีความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้น เซลล์ไดอะตอมบางส่วนจะตกไปอยู่ที่บริเวณก้นถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ดังนั้นควรปรับปรุงรูปแบบการให้อากาศเป็นรูปแบบอื่น ยกตัวอย่างเช่น หัวทรายฟองละเอียด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการกวนน้ำให้ดียิ่งขึ้น

- ในการปรับความเข้มแสง หากใช้เทคโนโลยีสมาร์ทคอนโทรลเชื่อมต่อกับมอเตอร์ที่พ่วงอยู่กับแผงไฟ ในการปรับค่าความเข้มแสงแบบอัตโนมัติ โดยเลื่อนแผงไฟเข้า-ออกจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง ในกรณีที่เซนเซอร์ซึ่งติดตั้งอยู่หลังถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงวัดความเข้มแสงได้น้อยกว่าหรือมากกว่า 2000 ลักซ์ จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการให้แสงแก่ไดอะตอมและลดภาระแก่ผู้ดูแลระบบลง
- จากผลการทดลองที่ได้รับสามารถนำไปพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ยกตัวอย่างเช่น การเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง หรือการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ที่สอดคล้องกับการใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน เพื่อเพิ่มผลผลิตชีวมวลและสารสีฟิวโคแซนทินให้มีปริมาณสูงขึ้น



บรรณานุกรม

- [1] N. M. Sachindra, Sato, E., et al., "Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of marine carotenoid fucoxanthin and its metabolites," *Agricultural and food chemistry*, 2007.
- [2] Q. Q. Research, *Global Fucoxanthin Market Research Report 2019*, 2019.
- [3] C. Book. "CAS Database List ".
- [4] J. Peng, J. P. Yuan, C. F. Wu *et al.*, "Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health," *Mar Drugs*, vol. 9, no. 10, pp. 1806-28, 2011.
- [5] Y. O. K. Kanazawa, T. Hashimoto, S. K. Das, S. Matsushita, M. Hirano, T. Okada, A. Komoto, N. Mori, M. Nakatsuka, "Commercial-scale preparation of biofunctional fucoxanthin from waste parts of Brown Sea algae *Laminalia japonica*," *Food Sci. Technol. Res.*, vol. 14, pp. 573-582, 2008.
- [6] S. M. Kim, Y. J. Jung, O. N. Kwon *et al.*, "A potential commercial source of fucoxanthin extracted from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*," *Apply Biochem Biotechnol*, vol. 166, no. 7, pp. 1843-55, Apr, 2012.
- [7] R. Yang, D. Wei, and J. Xie, "Diatoms as cell factories for high-value products: chrysolaminarin, eicosapentaenoic acid, and fucoxanthin," *Crit Rev Biotechnol*, vol. 40, no. 7, pp. 993-1009, Nov, 2020.
- [8] B. Gao, A. Chen, W. Zhang *et al.*, "Co-production of lipids, eicosapentaenoic acid, fucoxanthin, and chrysolaminarin by *Phaeodactylum tricornutum* cultured in a flat-plate photobioreactor under varying nitrogen conditions," *Journal of Ocean University of China*, vol. 16, no. 5, pp. 916-924, 2017.
- [9] S. Xia, B. Gao, J. Fu *et al.*, "Production of fucoxanthin, chrysolaminarin, and eicosapentaenoic acid by *Odontella aurita* under different nitrogen supply regimes," *J Biosci Bioeng*, vol. 126, no. 6, pp. 723-729, Dec, 2018.

- [10] S. P. A. Pankaew, W. Klaypradit, J. Salaenoi, "Study on storage duration of *Thalassiosira* sp. for shrimp larviculture.," *Khon Kaen Agriculture Journal*, no. 39 pp. 369-378, 2011.
- [11] L. Chaorungrit, P. Tapaneeyaworawong, S. Powtongsook *et al.*, "Alternative microalgal diets for cultivation of the fairy shrimp *Branchinella thailandensis* (Branchiopoda: Anostraca)," *Aquaculture International*, vol. 26, no. 1, pp. 37-47, 2017.
- [12] P. Botte, G. d'Ippolito, C. Gallo *et al.*, "Combined exploitation of CO₂ and nutrient replenishment for increasing biomass and lipid productivity of the marine diatoms *Thalassiosira weissflogii* and *Cyclotella cryptica*," *Journal of Applied Phycology*, vol. 30, no. 1, pp. 243-251, 2017.
- [13] K. Issarapayup, S. Powtongsook, and P. Pavasant, "Economical review of *Haematococcus pluvialis* culture in flat-panel airlift photobioreactors," *Aquacultural Engineering*, vol. 44, no. 3, pp. 65-71, 2011.
- [14] T. Viriyayingsiri, P. Sittplangkoon, S. Powtongsook *et al.*, "Continuous production of diatom *Entomoneis* sp. in mechanically stirred tank and flat-panel airlift photobioreactors," *Prep Biochem Biotechnol*, vol. 46, no. 7, pp. 740-6, Oct 2, 2016.
- [15] N. L. Fisher, and K. H. Halsey, "Mechanisms that increase the growth efficiency of diatoms in low light," *Photosynth Res*, vol. 129, no. 2, pp. 183-97, Aug, 2016.
- [16] R. Yang, and D. Wei, "Improving Fucoxanthin Production in Mixotrophic Culture of Marine Diatom *Phaeodactylum tricornutum* by LED Light Shift and Nitrogen Supplementation," *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 8, pp. 820, 2020.
- [17] S. Powtongsook, and K. Nootong, "Photoautotrophic cultivation of *Chlorococcum humicola* in stirred tank and airlift photobioreactors under different light settings and light supplying strategies for biomass and carotenoid production," *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 94, no. 10, pp. 3084-3092, 2019.

- [18] A. Sabia, E. Clavero, S. Pancaldi *et al.*, “Effect of different CO₂ concentrations on biomass, pigment content, and lipid production of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana*,” *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 102, no. 4, pp. 1945-1954, Feb, 2018.
- [19] J.-R. L. Xin-Wei Wang, Chun-Shan Luo, Chang-Ping Chen, Ya-Hui Gao, “Biomass, total lipid production, and fatty acid composition of the marine diatom *Chaetoceros muelleri* in response to different CO₂ levels,” *Bioresour Technol*, vol. 161, pp. 124-30, Jun, 2014.
- [20] J. L. a. J. Stauber, S. W., “Photosynthetic pigments in fifty-one species of marine diatoms,” *Phycology*, vol. 24(2), pp. 158-172, 1998.
- [21] J. F. Talling, “Photosynthetic characteristics of some freshwater plankton diatoms in relation to underwater radiation,” *New Phytologist*, pp. 29-50, 1955.
- [22] J. K. J. Volkman, 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,” vol. 128, no. 3, pp. 219-240, 1989.
- [23] M. G. Petrushkina, 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*, 2017.
- [24] A. F. Z. Holland, R. G. and Dean, J. M., “Quantitative evidence concerning the stabilization of sediments by marine benthic diatoms,” vol. 27, no. 3, pp. 191-196, 1974.
- [25] J. L. Csavina., “The optimization of growth rate and lipid content from select algae strains,” 2008.
- [26] E. Gadoutsis, “An exploration of the biotechnological potential of *Thalassiosira antarctica* as a source of fucoxanthin,” 2017.
- [27] F. M. Vella, A. Sardo, C. Gallo *et al.*, “Annual outdoor cultivation of the diatom *Thalassiosira weissflogii*: productivity, limits and perspectives,” *Algal Research*, vol. 42, 2019.

- [28] R. R. L. Guillard, "Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates," *Culture of Marine Invertebrate Animals*, 1975.
- [29] P. Tapaneeyaworawong, N. Peungla-aw, P. Chumtong, M. Kutako, and S. Powtongsook, "Growth of a small-sized diatom *Amphora coffeaeformis* BUUC1601 isolated from estuary, Chanthaburi Province, under batch and continuous cultivation," *Khon Kaen Agriculture Journal*, vol. 45, 2017.
- [30] M. Z. Yang, W. and Xie, X., "Effects of nitrogen, phosphorus, iron and silicon on growth of five species of marine benthic diatoms," *Acta Ecologica Sinica*, vol. 34, no. 6, pp. 311-319, 2014.
- [31] S. Ushizaka, K. Sugie, M. Yamada *et al.*, "Significance of Mn and Fe for growth of coastal marine diatom *Thalassiosira weissflogii*," *Fisheries Science*, vol. 74, no. 5, pp. 1137-1145, 2008.
- [32] K. J. R. Crawford, 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*, vol. 6, no. 10, pp. 266-275, 2011.
- [33] S. W. Xia, 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*, vol. 11, no. 7, pp. 266-781, 2013.
- [34] N. I. Hendey, "Littoral diatoms of Chichester Harbour with special reference to fouling," *Royal Microscopical Society*, vol. 71, pp. 71-80, 1951.
- [35] R. B. M. M. K. Richard, M. B. Stephanie and M. H. Gustaaf "Isolation of new nanoplanktonic diatom strains and their evaluation as diets for juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*)," *Aquaculture* vol. 211, pp. 252-274, 2002.
- [36] M. G. B. Kelly, 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*, 2005.
- [37] J. T. Snow, P. Holdship, and R. E. M. Rickaby, "Antagonistic co-limitation through ion promiscuity - On the metal sensitivity of *Thalassiosira oceanica* under phosphorus stress," *Sci Total Environ*, vol. 699, pp. 134080, Jan 10, 2020.

- [38] M. Tawatchai, "Cultivation of diatom *Bacillaria paxillifer* for fucoxanthin pigment production using silica extracted from fly ash," Chulalongkorn University, 2017.
- [39] J. P. Yuan, Chen, F., Liu, X. and Li, X.Z., "Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum*," *Food Chemistry*, vol. 76, no. 3, pp. 319-325, 2002.
- [40] V. B. Anna Westphal, Jena, "Carotenoids: Properties, distribution, bioavailability, metabolism and health effects," *Ernaehrungs Umschau*, vol. 11, no. 1, pp. 196-207, 2015.
- [41] L. Reddy, "Chemoprotective action of natural products on cultured human epithelial cells exposed to aflatoxin B1," 2021.
- [42] J. F. Talling, "Photosynthetic characteristics of some freshwater plankton diatoms in relation to underwater radiation," *New Phytologist*, vol. 56, no. 1, pp. 29-50, 1955.
- [43] K. Miyashita, S. Nishikawa, F. Beppu *et al.*, "The allenic carotenoid fucoxanthin, a novel marine nutraceutical from brown seaweeds," *J Sci Food Agric*, vol. 91, no. 7, pp. 1166-74, May, 2011.
- [44] S. Xia, K. Wang, L. Wan *et al.*, "Production, characterization, and antioxidant activity of fucoxanthin from the marine diatom *Odontella aurita*," *Mar Drugs*, vol. 11, no. 7, pp. 2667-81, Jul 23, 2013.
- [45] P. Z. Zhenya Zhang, Michito Hamada, Satoru Takahashi, Guoqing Xing, Jiqiang Liu and Norio Sugiura, "Potential chemoprevention effect of dietary fucoxanthin on urinary bladder cancer EJ-1 cell line," *Oncology Reports*, 1994.
- [46] Algahealth. "Fucoxanthin product," <https://www.alga-health.com/>.
- [47] S. a. scientific. "Fucoxanthin product," <https://skinactives.com/ingredients/fucoxanthin/>.
- [48] P. Phuphaibul., "Effects of aeration rate and light wavelenght on growth and carotenoids production in microalga *chlorococcum*," Chulalongkorn university, 2016.

- [49] K. Kaewpintong, A. Shotipruk, S. Powtongsook *et al.*, "Photoautotrophic high-density cultivation of vegetative cells of *Haematococcus pluvialis* in airlift bioreactor," *Bioresour Technol*, vol. 98, no. 2, pp. 288-95, Jan, 2007.
- [50] A. Richmond, "Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. outdoors," *Biotechnol*, vol. 85, no. 3, pp. 69-259, 2001.
- [51] A. San Pedro, C. V. González-López, F. G. Acién *et al.*, "Outdoor pilot production of *Nannochloropsis gaditana*: Influence of culture parameters and lipid production rates in raceway ponds," *Algal Research*, vol. 8, pp. 205-213, 2015.
- [52] G. I. Romero-Villegas, M. Fiamengo, F. G. Acién Fernandez *et al.*, "Utilization of centrate for the outdoor production of marine microalgae at pilot-scale in flat-panel photobioreactors," *J Biotechnol*, vol. 284, pp. 102-114, Oct 20, 2018.
- [53] J. Wang, T. Rosov, P. Wensel *et al.*, "A preliminary implementation of metabolic-based pH control to reduce CO₂ usage in outdoor flat-panel photobioreactor cultivation of *Nannochloropsis oceanica* microalgae," *Algal Research*, vol. 18, pp. 288-295, 2016.
- [54] M. E. Clares, J. Moreno, M. G. Guerrero *et al.*, "Assessment of the CO₂ fixation capacity of *Anabaena* sp. ATCC 33047 outdoor cultures in vertical flat-panel reactors," *J Biotechnol*, vol. 187, pp. 51-5, Oct 10, 2014.
- [55] W. lighting. "Convert Lux to PPF - Online Calculator," 2021;
<https://www.waveformlighting.com/horticulture/convert-lux-to-ppfd-online-calculator>.
- [56] J. D. H. Strickland, *A Practical Hand Book of Seawater Analysis*: 1972.
- [57] G. seely, *ALGAL PIGMENTS TABLE OF CONTENTS*: 1972, 1972.
- [58] D. C. Montgomery, *Applied Statistics and Probability for Engineers*, Newyork: John Wiley & Sons, 2003.

- [59] B. A. Guler, "Comparison of different photobioreactor configurations and empirical computational fluid dynamics simulation for fucoxanthin production," *Algal Research*, vol. 37, pp. 195-204, 2019.
- [60] J. M. Fox, "Intensive algal culture techniques.In: CRC Handbook of mariculture," *Crustacean Aquaculture*, 1983.
- [61] R. J. Geider, J. L. Roche, R. M. Greene, M. Olaizola, "Response of the Photosynthetic Apparatus of *Phaeodactylum Tricornutum* (Bacillariophyceae) to Nitrate, Phosphate, or Iron Starvation 1," *Phycology*, vol. 29, no. 6, pp. 755-766, 1993.
- [62] MPimpex. "KemAus™ SODIUM NITRATE 99.0%," <https://www.mpimpex.co.th/product/2506/sodium-nitrate-99-0-%>.
- [63] J. K. Waring, 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*, vol. 46, no. 6, pp. 1206-1217, 2010.
- [64] X. Lu, "A Hetero-Photoautotrophic Two-Stage Cultivation Process for Production of Fucoxanthin by the Marine Diatom *Nitzschia laevis*," *Marine Drugs*, vol. 16, pp. 219, 2018.
- [65] N. Jumrudchai, "Effect of white LED color temperature and airlift photobioreactor design on growth and carotenoids production in microalga *chlorococcum humicola*," 2017.
- [66] P. Kusumaningtyas, "Enhanced Oil Production by the Tropical Marine Diatom *Thalassiosira* Sp. Cultivated in Outdoor Photobioreactors," *Apply Biochem Biotechnol*, vol. 182, pp. 1605-1618, 2017.
- [67] T. K. Marellaa, "Marine diatom *Thalassiosira weissflogii* based biorefinery for co-production of eicosapentaenoic acid and fucoxanthin," *Bioresource Technology* vol. 307, 2020.

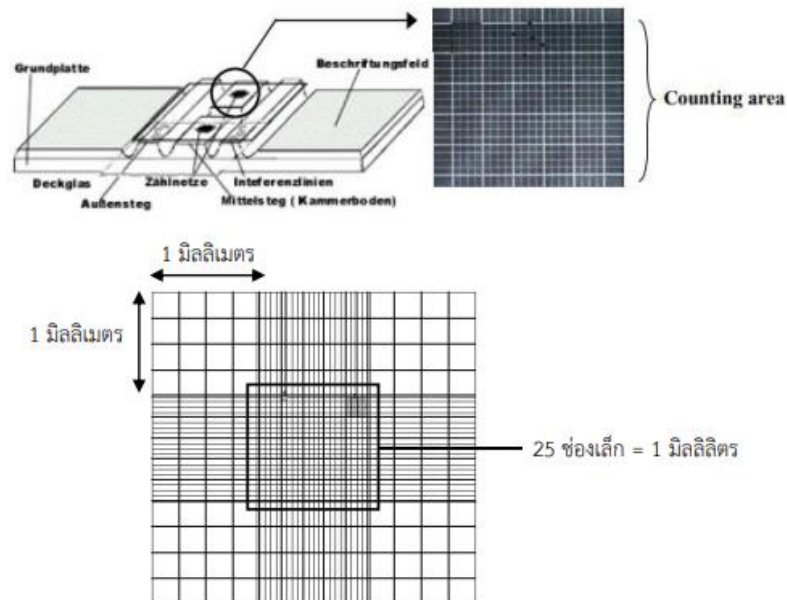


ภาคผนวก ก

การนับเซลล์และคำนวณความหนาแน่นเซลล์ Fox (1983)

ดำเนินการนับเซลล์ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. 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 พื้นที่ตารางสำหรับการนับเซลล์สาหร่าย [60]

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 และนำไปเก็บไว้ใน 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

การสกัดสารสีฟิวโคแซนทินในไดอะตอมและการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสี

ฟิวโคแซนทินด้วย Spectrophotometer

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

อุปกรณ์และสารเคมี

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

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิธีการสกัดสารสีฟิวโคแซนทินในไดอะตอม

1. เก็บตัวอย่างน้ำประมาณ 5 มิลลิลิตร
2. นำตัวอย่างน้ำประมาณ 5 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ออกจากของเหลวใส
3. บดเซลล์ให้แตกด้วยแท่งแก้ว
4. เติมสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80% โดยปริมาตร ในปริมาณเท่ากับตัวอย่างน้ำเริ่มต้น และเก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตนที่สกัดได้ในตู้เย็น
5. นำเซลล์ที่เหลือจากการสกัดมาสกัดด้วยอะซิโตนอีก 2 ครั้ง แล้วเก็บตัวอย่างของเหลวชั้นอะซิโตน

ที่สกัดได้ทั้งหมดรวมกันในที่มีดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6. นำตัวอย่างของเหลวที่สกัดได้ทำการปั่นเหวี่ยงและกรองตะกอนออกผ่านกระดาษกรอง 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

การวิเคราะห์ปริมาณการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยง

APHA (1992) และ Strickland and Parsons (1972)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. UV-Vis Spectrophotometer
2. กระจกกรอง 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 (เก็บไว้ในขวดที่บดแสง)
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

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

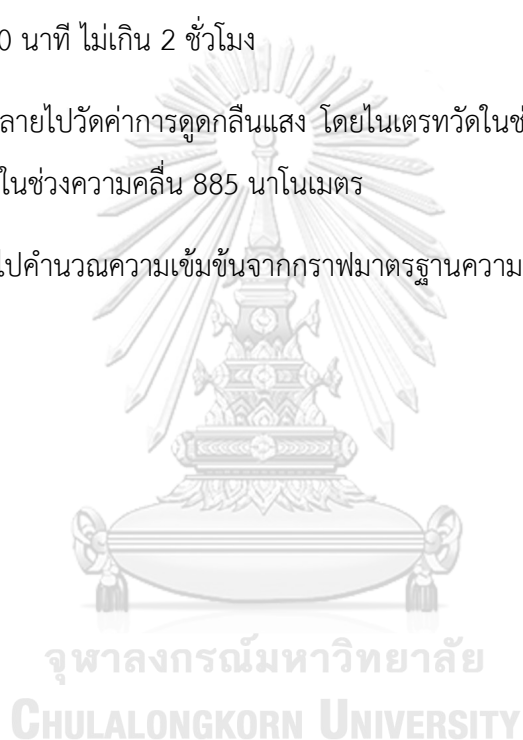
หมายเหตุ: Mixed Reagent ปริมาตรดังกล่าวใช้ได้กับตัวอย่างน้ำจำนวน 50 ตัวอย่าง ไม่ควรเก็บไว้เกิน 6 ชั่วโมงและควรเตรียมสำหรับการวิเคราะห์ใหม่ทุกครั้ง

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. เติมนีเอเจนต์ในสารละลายฟอสเฟตในอัตราส่วนนีเอเจนต์ต่อสารตัวอย่าง 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. เติมรีเอเจนต์ในน้ำตัวอย่างในอัตราส่วนรีเอเจนต์ต่อสารตัวอย่าง 1:10 ขณะที่สารละลายไนเตรทไม่มีการเติมรีเอเจนต์
3. ทำให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วย Vortex
4. ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ไม่เกิน 2 ชั่วโมง
6. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยไนเตรทวัดในช่วง 220 และ 275 นาโนเมตร และฟอสเฟตในช่วงความคลื่น 885 นาโนเมตร
5. นำค่าที่ได้ไปคำนวณความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานความเข้มข้นไนเตรทและฟอสเฟต



ภาคผนวก จ
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: $[\text{HOC}_6\text{H}_4\text{NH}_2(\text{CH}_3)]\text{H}_5\text{O}_4$
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 10 กรัม ลงในสารละลายที่เตรียมไว้ รอกจนสารละลายหมดนำสารไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร (เก็บไว้ในขวดทึบแสงและในที่เย็นและควรเตรียมใหม่ทุกเดือน)
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 รोजनเย็น และปรับปริมาตรให้เป็น 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 รोजนเย็นและปรับ ปริมาตรให้เป็น 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 ฉ
การติดตามผลการทดลอง

1. การคำนวณความหนาแน่นของไดอะตอม

จากลักษณะของช่องสไลด์นับเซลล์ในภาคผนวก ก ทำการหยดตัวอย่างไดอะตอมที่ต้องการนับจำนวนลงไป 1 หยด ในช่องใส่ตัวอย่าง (load port) ของสไลด์นับเม็ดเลือดตรงที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ เพื่อให้ตัวอย่างสาหร่ายจะกระจายไปทั่วตารางสี่เหลี่ยม จากนั้นวางสไลด์นับเม็ดเลือดทิ้งไว้ 1 นาที เพื่อให้เซลล์สาหร่ายจมลงสู่พื้นสไลด์และนำสไลด์นับเม็ดเลือดวางบนแท่นกล้องจุลทรรศน์ปรับกล้องและเริ่มกำลังขยายจากต่ำไปสูง จากนั้นจึงทำการนับเซลล์บนของสี่เหลี่ยมตรงกลาง ซึ่งสามารถคำนวณหาความหนาแน่นเซลล์ได้ดังนี้

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

เมื่อ n = จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้

X = ตัวหารซึ่งใช้ค่าร้อยละของพื้นที่ในแต่ละช่องที่นับ

2. การคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของไดอะตอม

เมื่อทราบความหนาแน่นเซลล์จากการนับเซลล์ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สามารถคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_m) จากสมการ

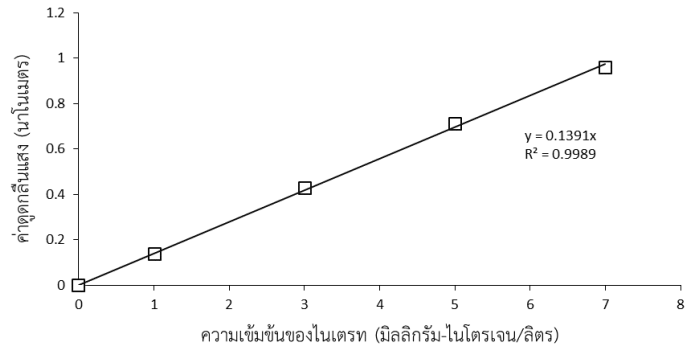
$$\mu_m = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t_2 - t_1)$$

เมื่อ μ_m = อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (วัน⁻¹)

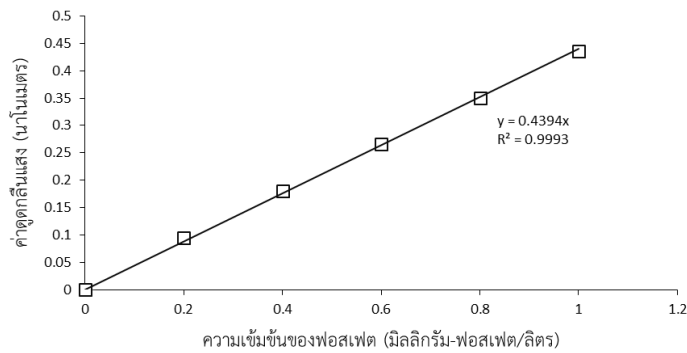
N_1 = จำนวนเซลล์ในช่วง Exponential phase (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่เวลา t_1

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

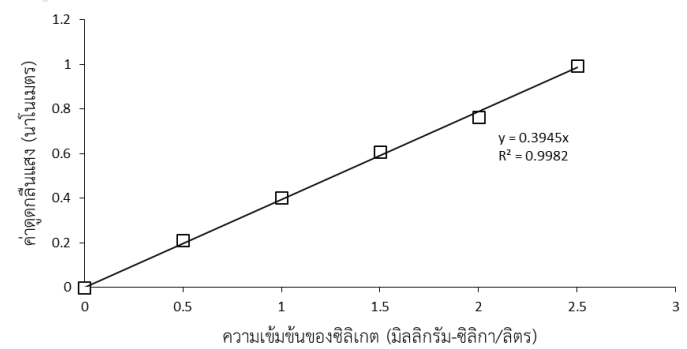
3. ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน



รูปที่ ๑.1 กราฟมาตรฐานสารละลายไนเตรท



รูปที่ ๑.2 กราฟมาตรฐานสารละลายฟอสเฟต



รูปที่ ๑.3 กราฟมาตรฐานสารละลายซิลิเกต

ภาคผนวก ข

ผลของความเข้มข้นไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและผลิตฟิวโคแซนทิน

ตารางที่ ข-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร)				
	25% ไนโตรเจน	50% ไนโตรเจน	75% ไนโตรเจน	100% ไนโตรเจน	200% ไนโตรเจน
0	1.2 \pm 0	1.17 \pm 0.03	1.32 \pm 0.03	1.28 \pm 0.03	1.3 \pm 0
2	3.65 \pm 0.05	3.73 \pm 0.06	3.73 \pm 0.03	5.33 \pm 0.1	4.63 \pm 0.03
4	4.03 \pm 0.03	4.5 \pm 0	4.68 \pm 0.03	6.22 \pm 0.03	6.4 \pm 0
6	4.15 \pm 0.05	5.48 \pm 0.05	6.65 \pm 0.05	6.6 \pm 0.05	8.08 \pm 0.08
8	4.13 \pm 0.03	5.53 \pm 0.03	6.82 \pm 0.06	7.53 \pm 0.08	8.92 \pm 0.03

ตารางที่ ข-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มข้น 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)				
	25% ไนโตรเจน	50% ไนโตรเจน	75% ไนโตรเจน	100% ไนโตรเจน	200% ไนโตรเจน
0	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01
2	0.09 ± 0	0.1 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.1 ± 0.01
4	0.08 ± 0.01	0.1 ± 0	0.11 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.01
6	0.1 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.19 ± 0.01
8	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.19 ± 0.01

ตารางที่ ข-3 ความเข้มข้นของฟิวโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มข้น 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	สารสีฟิวโคแซนทิน (กรัม/ลิตร)				
	25% ไนโตรเจน	50% ไนโตรเจน	75% ไนโตรเจน	100% ไนโตรเจน	200% ไนโตรเจน
0	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0	0.01 ± 0	0.01 ± 0	0.01 ± 0
2	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.1 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.16 ± 0.01
4	0.27 ± 0.01	0.3 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.31 ± 0.01
6	0.33 ± 0	0.42 ± 0.03	0.56 ± 0.03	0.6 ± 0.01	0.66 ± 0.04
8	0.36 ± 0	0.44 ± 0.06	0.61 ± 0.03	0.72 ± 0.02	0.83 ± 0.02

ตารางที่ ข-4 ความเข้มข้นของไนเตรทระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ และอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ไนเตรท (มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร)				
	25% ไนโตรเจน	50% ไนโตรเจน	75% ไนโตรเจน	100% ไนโตรเจน	200% ไนโตรเจน
0	3.09 ± 0	6.16 ± 0.01	9.25 ± 0	12.31 ± 0.04	23.69 ± 0.25
2	2.13 ± 0.89	2.27 ± 0.1	4.78 ± 0.49	6.88 ± 0.89	12.07 ± 0.31
4	1.47 ± 0.05	1.66 ± 0.06	1.77 ± 0.12	1.39 ± 0.04	6.18 ± 0.4
6	1.33 ± 0.06	1.75 ± 0.01	1.01 ± 0.04	1.81 ± 0.04	5.4 ± 0.43
8	1.15 ± 0.03	1.41 ± 0.02	0.73 ± 0.04	0.94 ± 0.04	4.95 ± 1.04

ตารางที่ ข-5 ความเข้มข้นของซิลิเกตระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ และอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ซิลิเกต (มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร)				
	25% ไนโตรเจน	50% ไนโตรเจน	75% ไนโตรเจน	100% ไนโตรเจน	200% ไนโตรเจน
0	8.03 ± 0.1	7.68 ± 0.22	8.17 ± 0.19	8.07 ± 0.38	7.79 ± 0.14
2	4.04 ± 0.22	4.18 ± 0.16	4.35 ± 0.06	4.05 ± 0.19	4.38 ± 0.27
4	3 ± 0.14	2.63 ± 0.07	0.94 ± 0.02	1.32 ± 0.08	0.52 ± 0.07
6	2.38 ± 0.23	2.18 ± 0.01	0.84 ± 0.14	0.57 ± 0.1	0.29 ± 0.07
8	2.13 ± 0.24	1.81 ± 0.15	0.73 ± 0.16	0.42 ± 0.34	0.37 ± 0.07

ตารางที่ ข-6 ความเข้มข้นของฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบกวนขนาด 1 ลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ และอาหารสูตร F/2 ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่างกัน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร)				
	25% ไนโตรเจน	50% ไนโตรเจน	75% ไนโตรเจน	100% ไนโตรเจน	200% ไนโตรเจน
0	1.3 ± 0.07	0.07 ± 1.28	1.28 ± 0	0 ± 1.28	1.28 ± 0
2	1.2 ± 0.05	0.05 ± 0.99	0.99 ± 0.03	0.03 ± 1.07	1.07 ± 0.03
4	0.94 ± 0.04	0.04 ± 0.78	0.78 ± 0.08	0.08 ± 0.55	0.55 ± 0.03
6	0.4 ± 0.03	0.03 ± 0.15	0.15 ± 0.02	0.02 ± 0.12	0.12 ± 0.02
8	0.02 ± 0.03	0.03 ± 0.07	0.07 ± 0.01	0.01 ± 0.03	0.03 ± 0.02

ภาคผนวก ข
ผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตและผลิตฟูโคแซนทีน

ตารางที่ ข-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 โดยปรับความเข้มแสงที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงให้คงที่เท่ากับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร)					
	แสงด้านหน้า 5000 ลักซ์	500 ลักซ์	1000 ลักซ์	2000 ลักซ์	3000 ลักซ์	5000 ลักซ์
0	1.25 \pm 0	1.05 \pm 0.02	1.05 \pm 0.01	1.06 \pm 0.02	1.03 \pm 0.05	1.07 \pm 0.11
1	1.45 \pm 0	1.85 \pm 0.08	1.63 \pm 0.15	3.35 \pm 0.03	2.01 \pm 0.06	2.21 \pm 0.01
2	4.13 \pm 0.08	2.15 \pm 0.54	2.47 \pm 0.01	4.48 \pm 0.01	3.4 \pm 0.04	4.17 \pm 0.03
3	4.52 \pm 0.08	2.4 \pm 0	3.68 \pm 0.03	5.67 \pm 0.12	4.7 \pm 0.2	4.4 \pm 0.14
4	4.6 \pm 0.05	3.32 \pm 0.03	4.23 \pm 0.24	6.13 \pm 0.11	5.27 \pm 0.09	4.26 \pm 0
5	5.15 \pm 0	3.84 \pm 0.07	4.7 \pm 0.09	6.73 \pm 0.08	4.89 \pm 0.31	3.66 \pm 0.02
6	6.1 \pm 0.05	4.31 \pm 0.02	5.32 \pm 0.15	7.62 \pm 0.09	4.55 \pm 0.01	3.49 \pm 0.01
7	6.77 \pm 0.08	3.79 \pm 0.03	5.64 \pm 0.03	7.25 \pm 0.03	4.32 \pm 0.09	3.53 \pm 0.05
8	6.53 \pm 0.03	4.94 \pm 0.21	4.97 \pm 0.08	5.6 \pm 0.05	5.34 \pm 0.02	3.16 \pm 0.21

ตารางที่ ซ-2 น้ำหนักแห้งเซลล์ของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ด้วยอาหารสูตร F/2 โดยทำการปรับความเข้มแสงที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนให้คงที่เท่ากับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)					
	แสง ด้านหน้า 5000 ลักซ์	500 ลักซ์	1000 ลักซ์	2000 ลักซ์	3000 ลักซ์	5000 ลักซ์
0	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0	0.06 ± 0	0.05 ± 0
1	0.07 ± 0	0.1 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0	0.09 ± 0	0.1 ± 0.01
2	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.16 ± 0	0.13 ± 0	0.14 ± 0
3	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.16 ± 0.01
4	0.13 ± 0	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0	0.17 ± 0.01
5	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0	0.16 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.15 ± 0	0.14 ± 0
6	0.18 ± 0.01	0.15 ± 0	0.17 ± 0	0.2 ± 0	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.01
7	0.2 ± 0	0.14 ± 0	0.2 ± 0	0.23 ± 0	0.18 ± 0.01	0.17 ± 0
8	0.16 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.2 ± 0	0.23 ± 0	0.18 ± 0	0.15 ± 0.01

ตารางที่ ซ-3 ความเข้มแสงด้านหน้าถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนเพื่อใช้ควบคุมความเข้มแสงด้านหลังถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ระดับ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดจน

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	ความเข้มแสงด้านหน้าถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน		
	แสงด้านหน้า 5000 ลักซ์	500 ลักซ์	1000 ลักซ์
0	5000 ± 0	736.67 ± 5.77	1533.33 ± 57.74
1	5000 ± 0	870 ± 10	1533.33 ± 152.75
2	5000 ± 0	903.33 ± 5.77	1693.33 ± 179.26
3	5000 ± 0	960 ± 10	1993.33 ± 92.92
4	5000 ± 0	1023.33 ± 20.82	2400 ± 692.82
5	5000 ± 0	1126.67 ± 25.17	3116.67 ± 678.85
6	5000 ± 0	1276.67 ± 5.77	3416.67 ± 332.92
7	5000 ± 0	1393.33 ± 11.55	3666.67 ± 208.17

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	ความเข้มแสงด้านหน้าถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน		
	2000 ลักซ์	3000 ลักซ์	5000 ลักซ์
0	3200 ± 100	4166.67 ± 115.47	8000 ± 100
1	3650 ± 50	4933.33 ± 76.38	8783.33 ± 28.87
2	4283.33 ± 35.12	7933.33 ± 57.74	9400 ± 50
3	4566.67 ± 41.63	9973.33 ± 37.86	11933.33 ± 115.47
4	5266.67 ± 117.19	9973.33 ± 37.86	10833.33 ± 288.68
5	5533.33 ± 104.08	8953.33 ± 72.34	10833.33 ± 288.68
6	5586.67 ± 32.15	8523.33 ± 68.07	10833.33 ± 288.68
7	5133.33 ± 76.38	8203.33 ± 85.05	10833.33 ± 288.68

ตารางที่ ซ-4 ความเข้มข้นของฟูโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน ด้วยอาหารสูตร F/2 โดยควบคุมระดับความเข้มแสงที่ด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนที่ 500 1,000 2,000 3,000 และ 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	สารสีฟูโคแซนทิน (กรัม/ลิตร)					
	แสงด้านหน้า 5000 ลักซ์	500 ลักซ์	1000 ลักซ์	2000 ลักซ์	3000 ลักซ์	5000 ลักซ์
0	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0	0.04 ± 0	0.05 ± 0	0.03 ± 0	0.04 ± 0
1	0.01 ± 0.01	0.06 ± 0	0.06 ± 0	0.06 ± 0	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0
2	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0	0.08 ± 0	0.08 ± 0	0.09 ± 0.01	0.06 ± 0
3	0.09 ± 0	0.1 ± 0	0.11 ± 0	0.1 ± 0	0.14 ± 0	0.07 ± 0
4	0.18 ± 0.02	0.1 ± 0	0.15 ± 0.01	0.14 ± 0	0.17 ± 0.01	0.12 ± 0.01
5	0.26 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.2 ± 0	0.23 ± 0.02	0.19 ± 0	0.17 ± 0.01
6	0.28 ± 0.01	0.17 ± 0	0.24 ± 0	0.35 ± 0.03	0.23 ± 0.01	0.22 ± 0
7	0.45 ± 0.02	0.16 ± 0	0.25 ± 0	0.39 ± 0.01	0.23 ± 0	0.21 ± 0.01
8	0.46 ± 0.08	0.18 ± 0	0.26 ± 0.01	0.44 ± 0.03	0.24 ± 0	0.21 ± 0.01

ตารางที่ ข-5 ปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงไตอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยทำการปรับความเข้มข้นทางด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนให้คงที่ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดจนการทดลอง

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	ไนเตรท (มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร)					
	แสงด้านหน้า 5000 ลักซ์	500 ลักซ์	1000 ลักซ์	2000 ลักซ์	3000 ลักซ์	5000 ลักซ์
0	11.35 ± 0.78	12.06 ± 0.03	11.27 ± 0.2	11.35 ± 0.46	12.05 ± 0.01	11.59 ± 0.27
1	6.46 ± 0.58	9.61 ± 0.4	8.81 ± 0.22	9.02 ± 0.17	8.54 ± 0.39	9.48 ± 0.15
2	3.39 ± 0.38	8.65 ± 0.43	6.73 ± 0.04	4.58 ± 0.27	6.54 ± 0.29	8.23 ± 0.05
3	1.4 ± 0.01	7.88 ± 0.14	5.49 ± 0.32	2.38 ± 0.17	4.24 ± 0.36	6.32 ± 0.02
4	1.29 ± 0.1	6.79 ± 0.11	3.15 ± 0.08	2.26 ± 0	2.37 ± 0.01	6.24 ± 0.07
5	1.24 ± 0.06	6.37 ± 0.03	2.22 ± 0.04	1.91 ± 0.02	2.35 ± 0.07	5.31 ± 0.03
6	1.15 ± 0.06	5.11 ± 0.12	2.42 ± 0.02	1.18 ± 0.08	2.23 ± 0	4.08 ± 0.01
7	1.09 ± 0.06	3.89 ± 0.48	2.3 ± 0.02	1.16 ± 0.07	1.95 ± 0.02	3.23 ± 0.02
8	1.09 ± 0.07	3.31 ± 0.64	2.28 ± 0.21	0.85 ± 0.02	1.32 ± 0.03	2.93 ± 0.01

ตารางที่ ข-6 ปริมาณซิวลิเกตในอาหารเลี้ยงไตอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยทำการปรับความเข้มข้นทางด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนให้คงที่ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	ซิวลิเกต (มิลลิกรัม-ซิวลิกา/ลิตร)					
	แสงด้านหน้า 5000 ลักซ์	500 ลักซ์	1000 ลักซ์	2000 ลักซ์	3000 ลักซ์	5000 ลักซ์
0	8.05 ± 0.99	8.21 ± 0.13	8.33 ± 0.24	8.16 ± 0.14	8.42 ± 0.17	8.35 ± 0.19
1	6.25 ± 2.17	7.47 ± 0.31	6.67 ± 0.81	4.19 ± 0.28	6.46 ± 0.43	6.54 ± 0.41
2	2.29 ± 0.05	6.21 ± 0.06	5.42 ± 0.12	2.59 ± 0.19	5.47 ± 0.19	4.55 ± 0.04
3	2.26 ± 0.49	5.15 ± 0.14	2.72 ± 0.09	1.24 ± 0.08	3.2 ± 0.05	2.99 ± 0.05
4	1.37 ± 0.2	4.16 ± 0.1	1.77 ± 0.19	0.48 ± 0.03	1.29 ± 0.17	2.6 ± 0.4
5	1.22 ± 0.51	3.84 ± 0.02	0.94 ± 0.02	0.46 ± 0.05	0.87 ± 0.04	1.7 ± 0.39
6	0.34 ± 0.13	2.45 ± 0.04	0.68 ± 0.14	0.42 ± 0.01	0.46 ± 0.04	1.66 ± 0.25
7	0.11 ± 0.06	1.27 ± 0.01	0.53 ± 0.04	0.29 ± 0.01	0.32 ± 0.01	1.59 ± 0.07
8	0.03 ± 0.03	1.1 ± 0.03	0.22 ± 0.17	0.17 ± 0.01	0.16 ± 0.02	1.33 ± 0.19

ตารางที่ ข-7 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงไคอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยใช้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยทำการปรับความเข้มข้นทางด้านหลังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนให้คงที่ 500 1000 2000 3000 และ 5000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร)					
	แสงด้านหน้า 5000 ลักซ์	500 ลักซ์	1000 ลักซ์	2000 ลักซ์	3000 ลักซ์	5000 ลักซ์
0	1.19 ± 0	1.11 ± 0.02	1.11 ± 0.01	1.13 ± 0.02	1.21 ± 0.12	1.21 ± 0.03
1	0.69 ± 0.02	0.82 ± 0.01	0.94 ± 0.01	0.92 ± 0.02	0.95 ± 0.01	0.99 ± 0
2	0.42 ± 0.01	0.68 ± 0	0.53 ± 0.01	0.36 ± 0.03	0.6 ± 0	0.53 ± 0.01
3	0.28 ± 0	0.58 ± 0	0.35 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.32 ± 0.01	0.27 ± 0.01
4	0.2 ± 0.04	0.37 ± 0	0.29 ± 0	0.18 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.26 ± 0
5	0.1 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.28 ± 0	0.11 ± 0.02	0.16 ± 0	0.26 ± 0.02
6	0.04 ± 0	0.27 ± 0.03	0.25 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.16 ± 0	0.25 ± 0
7	0.03 ± 0	0.16 ± 0.01	0.19 ± 0.06	0.06 ± 0	0.15 ± 0	0.25 ± 0
8	0.01 ± 0.01	0.06 ± 0	0.15 ± 0.12	0.01 ± 0	0.15 ± 0	0.24 ± 0

ภาคผนวก ฅ
ผลของคุณภาพแสง

ตารางที่ ฅ-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบนใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร)		
	แสงสีขาว	แสงสีแดง	แสงสีน้ำเงิน
0	1.28 \pm 0.12	1.04 \pm 0.06	0.93 \pm 0.18
1	2.75 \pm 0.35	2.51 \pm 0.14	1.73 \pm 0.08
2	3.63 \pm 0.06	4.48 \pm 0.22	3.3 \pm 0.14
3	4.18 \pm 0.15	5.77 \pm 0.09	3.7 \pm 0.14
4	4.78 \pm 0.04	6.68 \pm 0.29	4.23 \pm 0.22
5	5.68 \pm 0.44	7.99 \pm 0.25	4.43 \pm 0.28
6	6.68 \pm 0.7	8.43 \pm 0.15	4.95 \pm 0.09
7	8.62 \pm 0.34	8.52 \pm 0.28	5.9 \pm 0.49
8	7.66 \pm 0.44	7.65 \pm 0.47	5.51 \pm 0.04

ตารางที่ ฅ-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ
เชิงแสงชนิดแผ่นแบนใช้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)		
	แสงสีขาว	แสงสีแดง	แสงสีน้ำเงิน
0	0.059 ± 0	0.06 ± 0.001	0.061 ± 0.001
1	0.106 ± 0.003	0.122 ± 0.002	0.107 ± 0.002
2	0.142 ± 0.021	0.132 ± 0.026	0.106 ± 0.004
3	0.202 ± 0.016	0.193 ± 0.005	0.145 ± 0.007
4	0.205 ± 0.007	0.258 ± 0.002	0.149 ± 0.01
5	0.23 ± 0.005	0.257 ± 0.009	0.155 ± 0.002
6	0.218 ± 0.007	0.285 ± 0.002	0.187 ± 0.005
7	0.218 ± 0.003	0.249 ± 0.001	0.195 ± 0.002
8	0.245 ± 0.012	0.22 ± 0.009	0.177 ± 0



ตารางที่ ๓-3 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	สารสีฟูโคแซนทิน (กรัม/ลิตร)		
	แสงสีขาว	แสงสีแดง	แสงสีน้ำเงิน
0	0.002 ± 0	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0
1	0.014 ± 0	0.022 ± 0.003	0.016 ± 0.003
2	0.022 ± 0.001	0.035 ± 0.006	0.017 ± 0.003
3	0.02 ± 0.001	0.043 ± 0.002	0.022 ± 0.006
4	0.031 ± 0.006	0.058 ± 0.002	0.044 ± 0.005
5	0.046 ± 0.005	0.066 ± 0.002	0.067 ± 0.002
6	0.062 ± 0.002	0.074 ± 0.004	0.078 ± 0.002
7	0.073 ± 0.001	0.084 ± 0.003	0.108 ± 0.005
8	0.113 ± 0.002	0.091 ± 0.001	0.123 ± 0.006



ตารางที่ ๓-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงไคอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ไนเตรท (มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร)		
	แสงสีขาว	แสงสีแดง	แสงสีน้ำเงิน
0	11.9 ± 0.56	12.03 ± 1.07	12.07 ± 1
1	8.86 ± 0.06	9.66 ± 0.26	9.83 ± 0.76
2	4.5 ± 0.09	5.35 ± 0.05	6.4 ± 0.17
3	3.36 ± 0.13	2.72 ± 0.01	5.18 ± 0.06
4	2.75 ± 0.13	2.57 ± 0.01	4.33 ± 0.18
5	2.58 ± 0.14	2.09 ± 0.02	4.18 ± 0.45
6	2.69 ± 0.01	2.15 ± 0.02	3 ± 0.25
7	2.58 ± 0.01	2.22 ± 0	2.53 ± 0.18
8	1.88 ± 0.08	1.54 ± 0.03	1.81 ± 0.18



ตารางที่ ๓-5 ปริมาณซิติเกตในอาหารเลี้ยงไตอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ซิติเกต (มิลลิกรัม-ซิติกา/ลิตร)		
	แสงสีขาว	แสงสีแดง	แสงสีน้ำเงิน
0	8.071 ± 0.006	7.846 ± 0.083	7.916 ± 0.081
1	5.535 ± 0.071	5.369 ± 0.261	6.128 ± 0.068
2	0.947 ± 0.056	1.655 ± 0.045	5.037 ± 0.014
3	0.467 ± 0.344	0.561 ± 0.01	2.498 ± 0.565
4	0.425 ± 0.005	0.377 ± 0.011	1.579 ± 0.002
5	0.329 ± 0.012	0.376 ± 0.025	0.945 ± 0
6	0.31 ± 0.285	0.36 ± 0.025	0.621 ± 0
7	0.175 ± 0.002	0.347 ± 0.002	0.505 ± 0.004
8	0.009 ± 0.001	0.264 ± 0.029	0.47 ± 0

ตารางที่ ฅ-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงดื้ออะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการให้แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน 2000 ลักซ์ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร)		
	แสงสีขาว	แสงสีแดง	แสงสีน้ำเงิน
0	1.219 ± 0.023	1.235 ± 0.107	1.262 ± 0.032
1	0.989 ± 0.109	1.099 ± 0.014	1.077 ± 0.06
2	0.718 ± 0.066	0.665 ± 0.009	0.79 ± 0.003
3	0.591 ± 0.024	0.451 ± 0.056	0.707 ± 0.011
4	0.215 ± 0	0.09 ± 0.002	0.311 ± 0.001
5	0.111 ± 0.002	0.103 ± 0.007	0.212 ± 0.001
6	0.107 ± 0.002	0.075 ± 0.003	0.191 ± 0.012
7	0.092 ± 0.035	0.066 ± 0.005	0.173 ± 0
8	0.089 ± 0.024	0.05 ± 0.012	0.17 ± 0

ภาคผนวก ญ
ผลทดลองรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ตารางที่ ญ-1 ความหนาแน่นเซลล์ของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร)		
	อากาศปกติ	อากาศปกติ + เติมธาตุอาหาร	2% คาร์บอนไดออกไซด์+ เติมธาตุอาหาร
0	1.28 \pm 0.03	1 \pm 0	1 \pm 0
1	-	1.76 \pm 0.44	1.79 \pm 0.1
2	5.33 \pm 0.1	7.32 \pm 0.34	7.12 \pm 0.68
3	-	7.48 \pm 0.37	8.11 \pm 0.33
4	6.22 \pm 0.03	9.77 \pm 0.45	9.88 \pm 0.61
5	-	12.03 \pm 0.7	12.04 \pm 1.24
6	6.6 \pm 0.05	13.82 \pm 0.83	12.32 \pm 1.14
7	-	15.5 \pm 1	11.25 \pm 1.43
8	7.53 \pm 0.08	18.42 \pm 1.16	11.9 \pm 0.65

ตารางที่ ๓-๒ น้ำหนักเซลล์แห้งเซลล์ของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)		
	อากาศปกติ	อากาศปกติ + เต็มธาตุอาหาร	2% คาร์บอนไดออกไซด์ + เต็มธาตุอาหาร
0	0.06 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.02
2	0.11 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.19 ± 0.02
4	0.14 ± 0.01	0.25 ± 0.04	0.24 ± 0.04
6	0.16 ± 0.01	0.33 ± 0.04	0.37 ± 0.04
8	0.17 ± 0.01	0.45 ± 0.03	0.48 ± 0.03

ตารางที่ ๓-๓ ความเข้มข้นของฟิวโคแซนทินจากการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ในน้ำเค็ม 30 พีเอสยู ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ อาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	สารสีฟิวโคแซนทิน (กรัม/ลิตร)		
	อากาศปกติ	อากาศปกติ + เต็มธาตุอาหาร	2% คาร์บอนไดออกไซด์ + เต็มธาตุอาหาร
0	0.01 ± 0	0.02 ± 0	0.03 ± 0.01
2	0.12 ± 0.01	0.08 ± 0.04	0.06 ± 0.03
4	0.34 ± 0.02	0.26 ± 0.11	0.29 ± 0.03
6	0.6 ± 0.01	0.83 ± 0.02	0.84 ± 0.04
8	0.72 ± 0.02	0.73 ± 0.01	0.76 ± 0.02

ตารางที่ ๓-4 ปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงโคอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ไนเตรท (มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร)		
	อากาศปกติ	อากาศปกติ + เติมธาตุอาหาร	2% คาร์บอนไดออกไซด์ + เติมธาตุอาหาร
0	12.31 ± 0.04	12.07 ± 0.13	12.25 ± 0.12
1	-	9.95 ± 0.31	11.06 ± 0.48
2	6.88 ± 0.89	3.19 ± 0.29	4.27 ± 1.74
2	-	7.94 ± 2.11	8.34 ± 1.36
3	-	2.76 ± 1.13	3.29 ± 0.77
3	-	7.45 ± 0.13	7.92 ± 0.78
4	1.39 ± 0.04	2.88 ± 0.64	3.03 ± 0.64
4	-	7.94 ± 0.76	7.71 ± 0.44
5	-	4.24 ± 0.79	4.22 ± 0.79
5	-	9.19 ± 0.22	8.82 ± 0.26
6	1.81 ± 0.04	2.23 ± 0.3	4.49 ± 0.59
6	-	6.86 ± 0.03	9.15 ± 0.66
7	-	2.2 ± 0.1	4.84 ± 0.61
7	-	7.44 ± 0.11	9.66 ± 3.47
8	0.94 ± 0.04	3.8 ± 0.19	6.61 ± 0.63

ตารางที่ ๕-5 ปริมาณซีลีเกตในอาหารเลี้ยงโคอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ซีลีเกต (มิลลิกรัม-ซีลีกา/ลิตร)		
	อากาศปกติ	อากาศปกติ + เติมธาตุอาหาร	2% คาร์บอนไดออกไซด์ + เติมธาตุอาหาร
0	8.07 ± 0.38	8.22 ± 0.23	7.96 ± 0.5
1	-	7.03 ± 0.42	6.42 ± 0.91
2	4.05 ± 0.19	0.91 ± 0.86	3.81 ± 0.68
2	-	5.57 ± 0.26	5.36 ± 1.05
3	-	0.61 ± 0.32	1.64 ± 0.29
3	-	5.01 ± 0.35	5.37 ± 0.35
4	1.32 ± 0.08	0.26 ± 0.11	1.71 ± 2
4	-	4.14 ± 0.12	4.83 ± 0.27
5	-	0.44 ± 0.3	1.03 ± 0.56
5	-	3.97 ± 0.27	4.75 ± 0.24
6	0.57 ± 0.1	0.36 ± 0.19	1.54 ± 0.43
6	-	4.3 ± 0.4	4.79 ± 0.3
7	-	0.31 ± 0.07	1.42 ± 0.51
7	-	4.27 ± 0.24	4.59 ± 0.5
8	0.42 ± 0.34	0.35 ± 0.01	0.26 ± 0.32

ตารางที่ ๖-6 ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงไคอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้ น้ำเค็ม 30 พีเอสยู ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ด้วยอาหารมาตรฐานสูตร F/2 โดยมีรูปแบบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร)		
	อากาศปกติ	อากาศปกติ + เติมธาตุอาหาร	2% คาร์บอนไดออกไซด์ + เติมธาตุอาหาร
0	1.27 ± 0	1.16 ± 0.01	1.14 ± 1.3
1	-	1.03 ± 0.19	0.99 ± 0.99
2	1.12 ± 0.03	0.55 ± 0.02	0.56 ± 0.59
2	-	0.96 ± 0.09	1.1 ± 1.11
3	-	0.11 ± 0.01	0.05 ± 0.05
3	-	0.76 ± 0.08	0.57 ± 0.81
4	0.39 ± 0.03	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.06
4	-	0.81 ± 0.06	0.77 ± 0.78
5	-	0.23 ± 0	0.58 ± 0.67
5	-	0.91 ± 0.26	1.35 ± 1.48
6	0.14 ± 0	0.21 ± 0.11	0.88 ± 0.88
6	-	1.08 ± 0.22	1.58 ± 1.64
7	-	0.5 ± 0.01	1.02 ± 1.05
7	-	1.14 ± 0.04	1.84 ± 1.83
8	0.08 ± 0.01	0.72 ± 0.12	1 ± 1.16

ภาคผนวก ก

ผลการทดลองสภาวะความเข้มข้นของไนโตรเจน การให้แสงที่เหมาะสม และการเติมธาตุอาหาร

ตารางที่ ก-1 ความหนาแน่นของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ความหนาแน่นเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร)			
	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
1	2.82 ± 0.05	2.39 ± 0.11	2.09 ± 0.11	1.91 ± 0.11
2	4.03 ± 0.07	4.52 ± 0.19	4.21 ± 0.19	4.94 ± 0.72
3	5.12 ± 0.15	5.03 ± 0.2	4.33 ± 0.45	5.72 ± 0.16
4	5.76 ± 0.04	5.87 ± 0.08	5.43 ± 0.49	8.01 ± 0.96
5	7.2 ± 0.01	7.43 ± 0.15	6.48 ± 0.24	9.72 ± 0.76
6	7.38 ± 0.15	7.82 ± 0.03	6.22 ± 0.51	12.56 ± 1.83
7	7.21 ± 0.4	8.53 ± 0.07	6.55 ± 0.68	14.27 ± 0.57
8	6.82 ± 0.58	7.25 ± 0.61	6.42 ± 0.59	13.8 ± 0.52

ตารางที่ ๒-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

วันที่ทำการเพาะเลี้ยง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)			
	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
0	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0	0.05 ± 0	0.05 ± 0
1	0.08 ± 0	0.08 ± 0	0.07 ± 0.01	0.12 ± 0.01
2	0.1 ± 0	0.1 ± 0	0.12 ± 0.01	0.15 ± 0.01
3	0.13 ± 0	0.15 ± 0	0.14 ± 0.01	0.21 ± 0.03
4	0.16 ± 0	0.17 ± 0	0.16 ± 0.01	0.26 ± 0.01
5	0.16 ± 0	0.17 ± 0	0.16 ± 0.01	0.3 ± 0.02
6	0.18 ± 0	0.18 ± 0	0.14 ± 0.02	0.32 ± 0.03
7	0.18 ± 0	0.19 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.39 ± 0.04

ตารางที่ ฎ-3 ความเข้มแสงด้านหน้าถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน ที่ถูกใช้ในสภาวะชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ความเข้มแสงด้านหน้าถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน (ลักซ์)			
	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
0	5000 ± 0	3400 ± 0	3400 ± 0	3340 ± 40
1	5000 ± 0	3543.33 ± 239.65	3806.67 ± 15.28	3643.33 ± 40.41
2	5000 ± 0	4350 ± 69.28	4456.67 ± 37.86	4480 ± 34.64
3	5000 ± 0	4513.33 ± 55.08	4683.33 ± 76.38	6190 ± 26.46
4	5000 ± 0	4703.33 ± 35.12	4756.67 ± 106.93	7230 ± 26.46
5	5000 ± 0	4840 ± 40	2000 ± 0	2000 ± 0
6	5000 ± 0	4930 ± 112.69	2000 ± 0	2000 ± 0
7	5000 ± 0	4650 ± 95.39	2000 ± 0	2000 ± 0

ตารางที่ ๓-4 พลังงานไฟฟ้าที่ถูกใช้ (วัตต์) ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน ในสภาวะชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	พลังงานไฟฟ้าที่ถูกใช้ (วัตต์)			
	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
0	4.05 ± 0	2.75 ± 0	2.75 ± 0	2.71 ± 0.03
1	4.05 ± 0	2.87 ± 0.19	3.08 ± 0.01	2.95 ± 0.03
2	4.05 ± 0	3.52 ± 0.06	3.61 ± 0.03	3.63 ± 0.03
3	4.05 ± 0	3.66 ± 0.04	3.79 ± 0.06	5.01 ± 0.02
4	4.05 ± 0	3.81 ± 0.03	3.85 ± 0.09	5.86 ± 0.02
5	4.05 ± 0	3.92 ± 0.03	0.67 ± 0	0.67 ± 0
6	4.05 ± 0	3.99 ± 0.09	0.67 ± 0	0.67 ± 0
7	4.05 ± 0	3.77 ± 0.08	0.67 ± 0	0.67 ± 0

ตารางที่ ๕-5 ปริมาณสารสีฟูโคแซนทินในไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะน้ำเค็ม 30 พีเอสยู โดยให้อากาศปกติ ด้วยอาหารมาตรฐาน F/2 ทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	สารสีฟูโคแซนทิน (กรัม/ลิตร)			
	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
0	0.02 ± 0	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0	0.02 ± 0
1	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.08 ± 0.02
2	0.16 ± 0	0.21 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.12 ± 0.01
3	0.29 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.3 ± 0	0.27 ± 0.02
4	0.43 ± 0	0.47 ± 0	0.43 ± 0.02	0.59 ± 0.01
5	0.56 ± 0.01	0.61 ± 0.01	0.5 ± 0.01	0.71 ± 0.05
6	0.61 ± 0	0.62 ± 0.01	0.66 ± 0.02	0.81 ± 0.03
7	0.6 ± 0	0.65 ± 0.01	0.73 ± 0.03	0.92 ± 0.03

ตารางที่ ๖-6 ปริมาณไนเตรทระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. โดยทำการทดลอง โดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ไนเตรท (มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร)			
	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
0	8.83 ± 0.41	8.97 ± 0.36	9.32 ± 0.26	9 ± 0.39
1	4.33 ± 0.26	5.12 ± 0.09	6.13 ± 0.52	6.57 ± 0.29
2	1.77 ± 0.19	2.64 ± 0.16	2.75 ± 1.53	2.96 ± 0.42
2	-	-	-	6.19 ± 0.62
3	1.7 ± 0.1	2 ± 0.01	2.23 ± 0.16	2.05 ± 0.57
3	-	-	-	5.8 ± 0.21
4	1.37 ± 0.2	1.25 ± 0.03	0.88 ± 0.34	3.05 ± 0.22
4	-	-	-	6.61 ± 0.4
5	1.4 ± 0.1	1.14 ± 0	1.26 ± 0.2	1.98 ± 0.7
5	-	-	-	7.39 ± 0.45
6	-	-	-	3.53 ± 0.05
6	1.15 ± 0.2	1.03 ± 0.01	1.12 ± 0.34	7.65 ± 0.38
7	-	-	-	4.19 ± 0.76
7	1.11 ± 0.15	0.86 ± 0.06	0.8 ± 0.34	8.06 ± 0.44
8	-	-	-	5.81 ± 0.43

ตารางที่ ๗-7 ปริมาณซิลิเกตระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. โดยทำการทดลอง โดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ซิลิเกต (มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร)			
	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
0	7.83 ± 0.25	8.05 ± 0.02	8.25 ± 0.35	7.92 ± 0.13
1	5.06 ± 0.06	4.91 ± 0.18	5.65 ± 0.3	3.98 ± 1.23
2	2.2 ± 0.25	1.75 ± 0.01	1.72 ± 0.02	1.51 ± 1.27
2	-	-	-	4.97 ± 0.66
3	1.25 ± 0.3	1.03 ± 0.01	1.49 ± 0.33	0.71 ± 0.29
3	-	-	-	4.93 ± 0.29
4	0.7 ± 0.08	0.63 ± 0.01	0.3 ± 0.32	0.51 ± 0.14
4	-	-	-	4.72 ± 0.13
5	0.54 ± 0.04	0.32 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.72 ± 0.24
5	-	-	-	4.63 ± 0.3
6	0.25 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.22 ± 0.04	0.29 ± 0.14
6	-	-	-	4.17 ± 0.19
7	0.26 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.21 ± 0.08	0.42 ± 0.1
7	-	-	-	3.93 ± 0.9
8	-	-	-	0.74 ± 0.12

ตารางที่ ๘-8 ปริมาณฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Thalassiosira* sp. โดยทำการทดลองโดยการเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงระหว่างชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดแผ่นแบน

วันที่ทำการ เพาะเลี้ยง	ฟอสเฟต (มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร)			
	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
0	1.21 ± 0	1.21 ± 0	1.17 ± 0.18	1.3 ± 0.06
1	0.9 ± 0	0.97 ± 0.02	0.94 ± 0.03	0.55 ± 0.01
2	0.56 ± 0.02	0.56 ± 0.04	0.51 ± 0.04	0.38 ± 0.02
2	-	-	-	1 ± 0.1
3	0.35 ± 0.02	0.28 ± 0.03	0.45 ± 0.04	0.86 ± 0.02
3	-	-	-	1.33 ± 0.06
4	0.28 ± 0.01	0.15 ± 0	0.32 ± 0.02	0.96 ± 0.04
4	-	-	-	1.51 ± 0.11
5	0.15 ± 0.04	0.12 ± 0.01	0.25 ± 0.03	1.19 ± 0.09
5	-	-	-	1.67 ± 0.04
6	0.12 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.96 ± 0.02
6	-	-	-	1.74 ± 0.03
7	0.08 ± 0.01	0.02 ± 0	0.14 ± 0.04	0.9 ± 0.03
7	-	-	-	1.51 ± 0.22
8	-	-	-	0.63 ± 0.04

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุชานันท์ ขวัญเจริญ เกิดเมื่อวันที่ 2 พฤศจิกายน 2539 ที่จังหวัดระยอง จบการศึกษาระดับมัธยมต้นและมัธยมปลายจากโรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ชลบุรี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมปิโตรเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2561 ต่อมาได้รับการคัดเลือกเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญา มหาบัณฑิต ณ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี การศึกษา 2562

ผลงานวิจัยที่ได้รับการเผยแพร่

ในปี 2021 ได้เข้าร่วมการประชุมระดับนานาชาติ The 30th Thai Institute of Chemical Engineering and Applied Chemistry Conference (TICChE 2021) ในวันที่ 6-7 พฤษภาคม 2564 ในหัวข้อเรื่อง Effects of light intensity on growth of diatom *Thalassiosira* sp. cultivated in thin flat-panel photobioreactor

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บรรณานุกรม



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวสุชานันท์ ขวัญเจริญ
วัน เดือน ปี เกิด	2 พฤศจิกายน 2539
สถานที่เกิด	จังหวัดระยอง ประเทศไทย
ที่อยู่ปัจจุบัน	34/1 หมู่ 5 ตำบล สองสลึง อำเภอแกลง จังหวัดระยอง 21110



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY