รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

คณิต ไชยาคำ, สิริ ทุกข์วินาศ, ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร, พุทธ ส่องแสงจินดา และดุสิต ตันวิไลย. (บก.) 2537. คุณภาพน้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, ความรู้เบื้องต้นและวิธีวิเคราะห์. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง. 110 หน้า

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2534. คัมภีร์การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ฐานเศรษฐกิจ, กรุงเทพ. 202 หน้า.

ชิตชาติ ชิตมน. 2538. ผลของคลอรีนต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาในระบบน้ำหมุนเวียน วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง). บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 163 หน้า.

ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ. 2530. ผลของความเค็มและกรดฮิวมิกต่อการเจริญเติบโตของไดโนแฟลกเจลเลต : *Protognyanlax tamarensis* (Lebour) Taylor และ P. *cohorticula* (Balech) Taylor. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 108 หน้า.

พรศิลป์ ผลพันธิน. 2530. อนุกรมวิธานและการแพร่กระจายของไดโนแฟลกเจลเลต ในครอบครัว Dinophysiaceae, Gonyaulacaceae, และ Peridiniaceae ในอ่าวไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล. บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2536. การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ เล่ม 1 การจัดการคุณภาพน้ำ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 319 หน้า.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัย ลาวัณยวุฒิ, วีระ วัชรกรโยธิน และวิมล จันทรโรทัย. 2536. การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิล. เอกสารเผยแพร่ฉบับ ที่ 23. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด, กรมประมง. 96 หน้า.

ยนต์ มุสิก. 2530. กำลังผลิตชีวภาพในบ่อปลา II. เอกสารประกอบการสอนวิชาเพาะเลี้ยงสัตวน้ำ 551. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 87 หน้า.

แลป อินเตอร์. 2535. สัมมนาวิชาการเรื่องการใช้วัสดุปูน และปริศนาโรคหัวเหลืองสัตว์น้ำ. 4(10) : 64-69.

สุชนา วิเศษสังข์ และเกรียงศักดิ์ สายธนู. 2533. การจำแนกชนิดและการศึกษาความเป็นพิษของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Alexandrium* ที่พบในอ่าวไทย. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 29 หน้า.

อัธยา กังสุวรรณ. 2538. พิษที่เกิดจากแพลงก์ตอน. ใน สุนีย์ สุวภีพันธ์ และไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ (บก.), น้ำเปลี่ยนสี. ศูนย์พัฒนาประมงทะเล อ่าวไทยตอนบน กองประมงทะเล, กรุงเทพ. หน้า 137-147.

ภาษาอังกฤษ

Allan, G. I. 1990. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleyii* and *Peneaus monodon* and the influence of low dissolved oxygen levels. Aquaculture. 91 : 265-280 pp.

American Public Health Association (APHA). 1980. Standard Method : For the Examination of Water and Wastewater. 15th ed. APHA, Washington. 1134 pp.

Asian Shrimp Culture Council (ASCC). 1995. Asian Shrimp News. 3(23) : 296.

Balech, E. 1989. Redescription of *Alexandrium minutum* Halim (Dinophyceae) type species of the genus *Alexandrium*. Phycologia. 28 : 206 - 211.

Belin, C. 1993. Distribution of *Dinophysis* spp. and *Alexandrium minutum* along French Coast since 1984 and their DSP and PSP Toxicity levels. In T. J. Smayda, and Y. Shimizu (eds.) , Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea, pp. 469-474. Netherlands: Elsevier Science.

Bell, T. A. and Lightner, D. V. 1988. A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology . United states of America by Allen Press, Lawreence, Kansas. 114 p.

Bower, D. J., Hart, R. J., Matthews, P. A. and Howden, M. E. H. 1981. Nonprotein neurotoxins. Clinical Toxicology. 18(7) : 813-863.

Boyd, C. E. 1988. Water Quality in Warmwater Fish Ponds. Department of Fisheries and Allied Aquaculture, Auburn University, Alabama. 359 p.

_____. 1989. Water Quality Management and Aeration in Shirmp Farming. Fisheries and Allied Aquaculture Department Series 2 Aubum University, Alabama. 77 p.

Boyd, C. E, and Tucker, C. S. 1992. Water Quality and Pond Soil Analysis for Aquaculture. Alabama Agriculture Experiment station Auburn University, Alabama. 115 p.

Cannon, A. J. 1993. Growth in culture of the toxic Dinoflagellate *Alexandrium minutum* from the Port River, South Australia. In T. J. Smayda, and Y. Shimizu (eds.) , Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. pp. 741-745. Netherlands: Elsevier Science.

Cembella, D. A. and Therriault, J. C. 1989. Population dynamics and Toxin composition of *Protogonyaulax tamarensis* from the St. Lawrence Estuary. In T. Okaichi, D. M. Anderson and T. Nemoyo (eds.), pp. 81-84. Red Tides : Biology, Environmental Science and Toxicology. New York : Elsevier Science.

Change, F. Hoe. 1995. The first records of *Gymnodimium* sp. Nov. (C F. *Breve* Dinophyceae) and other harmful phytoplankton species in the early 1995 blooms in New Zealand. In P. Lassus, G. Arzul, E. Erard, P. Gentien, C. Marcaillou(eds.) Harmful Marine Algal Bloom. pp. 27-32 . Technique et Documentation - Lavoisier.

Chen, J. C. and Lei, S. C. 1990. Toxicities of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* juvenile. J. world Aqua. Soc. 21(4) : 300-306 pp.

Chiang, P., Huo, C. H. and Lin, C. F. 1989. Pond preparation for shirmp grow-out. department of Fisheries and American Soybean Association, Songkla province, Thailand. 25 p.

Ferguson, H. W. 1989. Systemic Pathology of Fish A Text and Atlas of Comparative Tissue Responses in Diseases of Teleosts. Iowa State University Press, Iowa. 263 pp.

Franco, J., Fernandez P. and Reguera B. 1994. Toxin profile of natural populations and cultures of *Alexandrium minutum* Halim from Galician (Spain) coastal water. J. App. Phyco. 6 : 275-279 pp.

_____., Fraga, S., Zapata, M., Bravo, I., Fernandez, P., and Ramilo, I. 1995. Comparison between different strains of genus *Alexandrium* of the *minutum* group. In P. Lassus, G. Arzul, E. Erard, P. Gentien, C. Marcaillou (eds.), Harmful Marine Algal Bloom. pp. 27-32. Technique et Documentation - Lavoisier.

Fukuyo, Y., Yoshida, K., Ogata, T., Ishimaru, T., Kodama, M., Pholpunthin, P., Wisessang, S., Phanichyakarn, and Piyakarnchana, T. 1989. Suspected causative dinoflagellate of paralytic shellfish poisoning in the Gulf of Thailand. In T. Okaichi, D. M. Anderson and T. Nemoto (eds.), Red Tides : Biology, Environmental Science and Toxicology. pp. 403-406 . New York : Elsevier Science.

_____., Pholpunthin, P., and Yoshida, K. 1988. *Protogonyomlax* (Dirophyceae) in the Gulf of Thailand. Bull. Plankton Soc. Japan. 35 (1) : 9-20.

_____., Takano H., Chihara, M. and Matsuoka, K. (eds.). 1990. Red Tide Organisms in Japan-An Illustrated Taxonomic Guide . Uchida Rokakuho, Tokyo, Japan. pp. 84-95.

Honsell, G., Poletti, R., Pompei M., Sidari, L., Milandri, A., Casadei, C., and Viviani, R.. 1995. *Alexandrium minutum* Halim and PSP Contamination in the Northern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). 5 p. (in press.)

Humason, G. L. 1979. Animal Tissue Techniques. 4 th ed, W.H. Freem and Company, San Francisco. 661 p.

Hwang, P. P. and WU, S. M. 1988. Salinity effects on cytometrcal parameters of the kidney in the euryhaline teleost Orerochromis mossambicus Peters. J. Fish Biol. 33 : 89-95 pp.

Ikeda, T., Matsuno S., Sato S, Ogata T., Kodama M., Fukuyo Y., and Takayama H. 1989. Frist Report on Paralytic Shellfish Poisoning Caused by *Gymnodinium catenatum* Graham (Dinophyceae) in Japan. In T. Okaichi, D. M. Anderson and T. Nemoto (eds.), Red Tides Biology,Environmental Science, and Toxicology. pp. 411- 414. Elsevier Science, New York.

Kodama, M. and Ogata, T. 1988. Toxicification of Bivalves by Paralytic Shellfish Toxins. Asia Pacific Journal of Pharmacology. 3 : 99-109.

Kodama, M., Ogata, T., Fukuyo, Y., Ishimaru, T., Wisessang, S., Saitanu, K., Panichyakarn, V., and Piyakarnchana, T. 1988. *Protogonyanlax cohorticula*, a toxic dinoflagellate found in the Gulf of Thailand. Toxicon. 26(8) : 707-718.

Ledoux, M., Bardouil, M., Fremy J.M., Lassus, P., Murail, I., and M, Bohec. 1993. Use of HPLC for toxin analysis of shellfish contaminated by an *Alexandrium minutum* strain. In T. J. Smayde and Y. Shimizu (eds.), Toxic Phytoplankton Bloom in the Sea. pp. 413-418. Elsevier Science, Netherlands.

Ogata, T. and Kodama, M. 1986. Ichthyotoxicity found in cultured media of *Protogonyaulax* spp. Marine Biology. 92 : 31-34.

_____., Ishimaru, T. and Kodama, M. 1987. Marine Biology. 95: 217-220.

Oshima, S. Y. K. and Yasumoto, T. 1989. Latest advances in HPLC analysis of paralytic shellfish toxins. Mycotoxins and Phycotoxins' 88 A Collection of invited Papers Presented at the Seventh Internationl IUPAC Sumposium on Mycotoxins and Phycotoxins. pp. 319-326. Elsevier Science , Netherlands.

Reed, L. J. and Muench, H. 1938. A simple method of estimating fifty percent end points. Amer. J. Hyg. 27 : 493-497 pp.

Robineau, B., Gagne, J. A., Fortier, L. and Villeneuve, A. 1993. Co-distribution of the toxic dinoflagellate *Alexandrium excavatum* and fish larvae in the Northwest Gulf of St. Lawrence. In T. J. Smayda and Y. Shimizu (eds) Toxic Phytoplankton Blooms in The Sea. pp. 323-327. Netherlands : Elsevier Science.

Sekiguchi, K., Inoguchi, N., Shimizu, M., Saito, S., Watanabe, S., Ogata, T., Kodama, M., and Fukuyo, Y. 1989. Occurrence of *Protogonyaulax tamarensis* and shellfish toxicity in Ofunato Bay from 1980-1986. In T. Okaichi, D. M. Anderson and T. Nemoto (eds.), Red Tides : Biology,Environmental Science, and Toxicology. pp. 399 - 402. Elsevier Science, New York.

Setsuko, S., Sato, S., Ogata, T. and Kodama, M. 1993. Field survey of bivalue toxicity associated with toxicity of different particle size in seawater. In T. J. Smayda, and Y. Shimizu (eds.) , Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea, pp. 913-917. Netherlands: Elsevier Science.

Shimizu, Y. 1989. Toxicology and pharmacology of red tide An Overview. In T. Okaichi, D. M. Anderson and T. Nemoto (eds.), Red Tides : Biology,Environmental Science, and Toxicology. pp. 17- 21. Elsevier Science, New York.

Shumway, E. S. 1989. A serious threat to shellfish aquaculture. World Aquaculture. 20 (40) : 65-74.

_____. 1990. A review of the effects of algal blooms on shellfish and aquaculture. J. World Aqua. Soc. 21(2) : 67-103.

Smith, L. S. 1982. Introduction to Fish Physiology. T. F. H. Publications. 352 pp.

Su, H. M., Liao, I. C. and Chiang, Y. M. 1993. Mass mortality of prawn caused by *Alexandrium tamarense* blooming in a culture pond in Southern Taiwan. In T. J. Smayda and Y. Shimizu (eds.), Toxic Phytoplankton Blooms. pp. 329-337. Elsevier Science .

Suresh, A. V. and Lin, C. K. 1993. A review tilapia culture in saline water. Division of Agricultural and Food Engineering Asian Institute of Technolgy, Thailand. 11 p.

Suvapepun, Sunee. 1989. Occurrences of Red Tides in the Gulf of Thailand. In T. Okaichi, D. M. Anderson, and T. Nemoto. (eds.), Red Tides Biology,Environmental Science, and Toxicology. pp. 41- 44. Elsevier Science, New York.

Taylor, F. J. and Gaines, G. 1986. Amariculturist's Guide to Potentially Harmful Marine Phytoplankton of the Pacific Coast of North America. Marine Resources Section, Fisheries Branch, B. C. Ministry of Environment. 23 p.

Tomasso, J. R., Russo, R. C. and Smith, C. E. 1979. Chlorine inhibition of nitrite-induced methemoglobinema in channal catfish (*Ictarulus punctatus*). J. Fish Res Board Can. 36 : 1141- 1144 pp.

Wetzel, R. G. 1975. Limnology. W. B. Saunders Co., Philadelphia. 743 p.

White, W. A., Fukuhama, O. and Anraku, M. 1989. Mortality of fish larvae from eating toxic dinoflagellates or zooplankton containing dinoflagellate toxins. In T.Okaichi, D. M. Anderson, and T. Nemoto. (eds.), Red Tides Biology,Environmental Science, and Toxicology. pp. 41- 44. Elsevier Science, New York.

Wisessang, Suchana., Ogata, T., Kodama M., Fukuyo, Y., Ishimaru, T., Saitanu, K., Yongvanich, T., and Piyakarnchana. T. 1991. Accumulation of paralytic shellfish toxin by Green Mussel *Perna veridis* by feeding on cultureed cells of*Alexandrium cohorticula* isolated from the Gulf of Thailand. Nippon Suisan Gakkaishi 57(1) : 127-131.

Wisessang , Suchana., Phanichyakarn, V., Piyakarnchana, T., Fukuyo, Y., Ishimaru, T., Kodama, M., and Ogata, T. 1993. Scanning elctron microscope study of *Alexandrium cohorticula*, a toxic dinoflagellate from the Gulf of Thailand. In T. J. Symayda and Y. Shimizu (eds), Toxic Phytoplanktion Blooms in the Sea Smayda. pp. 191-194. Elsevier Science.

Yu, T. C. and Lay, T. Y. 1990. Comparison of growth of tilapia (*Oreochromis aurea*) cultured in different salinity levels. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst. 48: 173-177.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 ผลของความหนาแน่น *A. minutum* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยของปลานิลในเวลาต่างๆ

Treatment	Cell Concentration	Average Percentage Mortality								
	(cells/ml)	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0 (control)	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	0.00±0.00	3.33±4.71	0.00±0.00
2	342	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	13.33±4.71	3.33±4.71	0.00±0.00
3	877	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00+0.00	3.33±4.71	0.00±0.00
4	1404	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00+0.00	0.00±0.00	16.67±4.71	6.67±4.71	0.00±0.00
5	2937	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	0.00±0.00	6.67±9.43
6	6516	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	0.00±0.00	3.33±4.71	20.00±0.00	6.67±9.43	10.00±0.00
7	12648	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	10.00±0.00	0.00±0.00	13.33±4.71	13.33±4.71	10.00±0.00	0.00±0.00

หมายเหตุ ขนาดปลานิลเฉลี่ย

- ความยาว 2.81 ซม.
- น้ำหนัก 0.496 กรัม

ความเค็ม 15 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 ผลของความหนาแน่น *A. minutum* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยสะสมของปลานิล ในเวลาต่างๆ

Treatment	Cell Concentration (cells/ml)	Average Cumulative Percentage Mortality								
		2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0 (control)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	**3.33**	6.67	**6.67**
2	342	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	**16.67**	20.00	**20.00**
3	877	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**0.00**	3.33	**3.33**
4	1404	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**16.67**	23.33	**23.33**
5	2937	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**3.33**	3.33	**10.00**
6	6516	0.00	0.00	0.00	3.33	3.33	6.67	**26.67**	33.33	**43.33**
7	12648	0.00	0.00	0.00	10.00	10.00	23.33	**36.67**	46.67	**46.67**

หมายเหตุ ขนาดปลานิลเฉลี่ย

- ความยาว 2.81 ซม.
- น้ำหนัก 0.496 กรัม

ความเค็ม 15 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. mimutum* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยของปลานิล ในเวลาต่างๆ

Treatment	Average Percentage Mortality								
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
2	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
4	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
5	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	0.00±0.00	0.00±0.00	10.00±8.16	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

หมายเหตุ ขนาดปลานิลเฉลี่ย

- ความยาว 3.07 ซม.
- น้ำหนัก 0.463 กรัม

ความเค็ม 15 ppt

ชุดที่ 1 ไม่เติมสารใดๆ (ชุดควบคุม)

2 เติม 0.03 N กรดอะซิติก 1 มล.

3 เติมสารสกัดจากเซลล์ *A. minutum* จำนวน 4.25×10^{7} เซลล์

4 เติมน้ำเลี้ยงที่ปราศจากเซลล์ *A. minutum* 2500 มล.

5 เติม *A. minutum* ที่เลี้ยงได้ความหนาแน่น 1.70×10^{4} เซลล์/มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. minutum* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยสะสมของปลานิล ในเวลาต่างๆ

Treatment	Average Cumulative Percentage Mortality								
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**0.00**	0.00	**0.00**
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**0.00**	0.00	**0.00**
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	**3.33**	3.33	**3.33**
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**0.00**	0.00	**0.00**
5	0.00	0.00	3.33	3.33	3.33	13.33	**13.33**	13.33	**13.33**

หมายเหตุ ขนาดปลานิลเฉลี่ย

- ความยาว 3.07 ซม.
- น้ำหนัก 0.463 กรัม

ความเค็ม 15 ppt

ชุดที่ 1 ไม่เติมสารใดๆ (ชุดควบคุม)

2 เติม 0.03 N กรดอะซิติก 1 มล.

3 เติมสารสกัดจากเซลล์ *A. minutum* จำนวน 4.25×10^7 เซลล์

4 เติมสารละลายที่ปราศจากเซลล์ *A. minutum* 2500 มล.

5 เติม *A. minutum* ที่เลี้ยงได้ความหนาแน่น 1.70×10^4 เซลล์/มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 คุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลองในการทดลอง *A. minutum* ร่วมกับปลานิล

Treatment	pH	Concentration (ppm)					
		NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot. Alk	HCO_3
1	8.18±0.05	0.02±0.00	0.01±0.00	0.28±0.04	0.01±0.00	331±1.89	254±18.18
2	8.25±0.03	0.03±0.02	0.02±0.00	0.53±0.00	0.03±0.00	332±3.27	276±13.06
3	8.32±0.05	0.07±0.00	0.03±0.00	1.35±0.12	0.08±0.01	328±1.89	230±16.52
4	8.34±0.01	0.08±0.03	0.04±0.00	1.77±0.04	0.12±0.00	336±7.12	254±15.17
5	8.47±0.00	0.22±0.02	0.06±0.00	2.97±0.15	0.26±0.01	342±1.63	219±16.52
6	8.69±0.00	0.47±0.10	0.10±0.00	6.35±0.09	0.52±0.06	350±0.00	149±8.50
7	8.99±0.01	0.84±0.00	0.25±0.02	13.16±0.89	1.03±0.00	378±4.32	83±9.29

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27 °ซ
ความเค็ม 15 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 คุณภาพน้ำเมื่อปลานิลเริ่มตาย ณ เวลาใดๆ ในการทดลองร่วมกับ *A. minutum*

Treatment	pH	Concentration (ppm)						เวลาเริ่มตาย
		NH3-N	NO2-N	NO3-N	PO4-P	Tot. Alk	HCO3	(ชม.)
1	8.43	0.186	0.020	0.427	0.051	346	218	15
2	8.40	0.140	0.033	0.420	0.77	352	216	20
3	8.43	0.280	0.040	0.900	0.060	350	218	72
4	8.28	0.098	0.053	0.646	0.138	354	218	28
5	8.51	0.691	0.122	2.605	0.125	370	254	44
6	8.61	0.486	0.106	5.528	0.503	350	166	7
7	8.83	0.826	0.212	8.208	1.026	380	126	7

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27 °ซ

ความเค็ม 15 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 คุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในการทดลอง *A. minutum* ร่วมกับปลานิล

Treatment	pH	Concentration (ppm)					
		NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot. Alk	HCO_3
1	8.62±0.02	0.66±0.23	0.05±0.00	0.54±0.13	0.01±0.00	365±4.71	249±2.49
2	8.58±0.04	0.81±0.14	0.07±0.01	0.66±0.02	0.09±0.11	365+3.30	259±16.76
3	8.59±0.01	0.85±0.36	0.07±0.00	0.66±0.03	0.05±0.11	362±2.49	238±0.94
4	8.56±0.03	0.78±0.27	0.09±0.00	1.75±0.14	0.20±0.03	369±0.94	323±17.20
5	8.52±0.05	0.87±0.24	0.12±0.00	2.88±0.11	0.40±0.04	374±0.94	262±5.89
6	8.48±0.00	0.88±0.21	0.22±0.01	5.35±0.03	0.92±0.05	382±11.59	242±11.59
7	8.27±0.04	0.62±0.15	0.30±0.03	9.70±0.12	1.21±0.01	411±6.60	270±16.57

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27°ซ

ความเค็ม 15 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 ผลของความหนาแน่น *A. minutum* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำในเวลาต่างๆ

Treatment	Cell Concentration (cells/ml)	Average Percentage Mortality							
		2 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0 (control)	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	4.76±6.73	9.52±13.47	9.52±6.73
2	378	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	28.57±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
3	762	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	14.29±11.66	0.00±0.00	4.76±6.73
4	1476	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	9.52±6.73	19.05±17.82	4.76±6.73	14.29±11.66
5	3696	0.00±0.00	0.00±0.00	9.52±6.73	0.00±0.00	4.76±6.73	38.10±6.73	19.05±6.73	14.29±0.00
6	6759	0.00±0.00	9.52+6.73	0.00±0.00	0.00±0.00	23.81±6.73	19.05±13.47	23.81±17.82	14.29±11.66
7	15099	0.00±0.00	4.76+6.73	4.76±6.73	0.00±0.00	33.33±6.73	52.38±17.82	4.76±6.73	0.00±0.00

หมายเหตุ ขนาดกุ้งกุลาดำเฉลี่ย

- ความยาวเฉลี่ย 4.49 ซม.
- น้ำหนัก 0.550 กรัม

ความเค็ม 15 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 ผลของความหนาแน่น *A. minutum* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยสะสมของกุ้งกุลาดำ ในเวลาต่างๆ

Treatment	Cell concentration (cells/ml)	Average Cumulative Percentage Mortality							
		2 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0 (control)	0.00	0.00	0.00	0.00	4.76	**9.52**	19.05	**28.57**
2	378	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**28.57**	28.57	**28.57**
3	762	0.00	0.00	0.00	0.00	4.76	**19.05**	19.05	**23.81**
4	1476	0.00	0.00	0.00	0.00	9.52	**28.57**	33.33	**47.62**
5	3696	0.00	0.00	9.52	9.52	14.29	**52.38**	71.43	**85.71**
6	6759	0.00	9.52	9.52	9.52	33.33	**52.38**	76.19	**90.48**
7	15099	0.00	4.76	9.52	9.52	42.86	**95.24**	100.00	**100.00**

หมายเหตุ ขนาดกุ้งกุลาดำ

- ความยาว 4.49 ซม.
- น้ำหนัก 0.55 กรัม

ความเค็ม 15 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. mimutum* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำ ในเวลาต่างๆ

Treatment	Average Percentage Mortality								
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	4.76±6.73	0.00±0.00	4.76±6.73
2	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	9.52±6.73	0.00±0.00	4.76±6.73	0.00±0.00
3	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	4.76±6.73	0.00±0.00	0.00±0.00	14.29±0.00	9.52±6.73	0.00±0.00
4	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	0.00±0.00	14.29±11.66	4.76±6.731	0.00±0.00	0.00±0.00
5	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	14.29±11.66	4.76±6.73	14.29±11.66

หมายเหตุ ขนาดกุ้งกุลาดำเฉลี่ย

- ความยาว 5.32 ซม.
- น้ำหนัก 0.742 กรัม

ความเค็ม 15 ppt

ชุดการทดลอง 1 ไม่เติมสารใดๆ (ชุดควบคุม)

2 เติม 0.03 N กรดอะซิติก 1 มล.

3 เติมสารสกัดจากเซลล์ *A. minutum* จำนวน 4.45×10^5 เซลล์

4 เติมน้ำเลี้ยงที่ปราศจากเซลล์ *A. minutum* 285 มล.

5 เติม *A. minutum* ที่เลี้ยงได้ความหนาแน่น 1.56×10^3 เซลล์/มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A.minutum* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยสะสมของกุ้งกุลาดำ ในเวลาต่างๆ

Treatment	Average Cumulative Pencentage Mortality								
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.76	**9.52**	9.52	**14.29**
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	9.52	**9.52**	14.29	**14.29**
3	0.00	0.00	4.76	9.52	9.52	9.52	**23.81**	33.33	**33.33**
4	0.00	0.00	0.00	4.76	4.76	19.05	**23.81**	23.81	**23.81**
5	0.00	0.00	4.76	4.76	4.76	9.52	**23.81**	28.57	**42.86**

หมายเหตุ ขนาดกุ้งกุลาดำเฉลี่ย

- ความยาว 5.32 ซม.
- น้ำหนัก 0.742 กรัม

ความเค็ม 15 ppt

ชุดการทดลอง 1 ไม่เติมสารใดๆ (ชุดควบคุม)

2 เติม 0.03 N กรดอะซิติก 1 มล.

3 เติมสารสกัดจากเซลล์ *A. minutum* จำนวน 4.45×10^5 เซลล์

4 เติมสารละลายที่ปราศจากเซลล์ *A. minutum* 285 มล.

5 เติม *A. minutum* ที่เลี้ยงได้ความหนาแน่น 1.56×10^3 เซลล์/มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 คุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลองในการทดลอง *A. minutum* ร่วมกับกุ้งกุลาดำ

Treatment	pH	Concentration (ppm)					
		NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot.Alk	HCO_3
1	7.58±0.09	0.002±0.01	0.06±0.00	0.22±0.00	0.00±0.00	303±2.49	287±5.73
2	7.84±0.00	0.004±0.04	0.06±0.00	0.67±0.11	0.03±0.00	301±3.77	279±5.91
3	7.81±0.02	0.004±0.01	0.05±0.00	0.91±0.02	0.07±0.00	302±3.27	260±4.99
4	7.93±0.02	0.004±0.03	0.05±0.00	1.60±0.00	0.15±0.00	279±4.11	262±2.38
5	8.15±0.00	0.008±0.01	0.05±0.00	2.84±0.05	0.28±0.00	294±0.94	230±0.00
6	8.39+0.01	0.016±0.00	0.05±0.00	5.80±0.22	0.56±0.00	288±3.77	195±1.89
7	8.79±0.02	0.044±0.00	0.04±0.00	11.47±0.42	1.08±0.01	287±0.94	98±0.94

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27 °ซ

ความเค็ม 15 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 คุณภาพน้ำเมื่อกุ้งกุลาดำเริ่มตาย ณ เวลาใดๆ ในการทดลองร่วมกับ *A. minutum*

Treatment	Dead Time (h)	pH	Concentration (ppm)					
			NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot.Alk	HCO_3
1	24	8.13	0.09	0.067	0.458	0.018	320	248
2	27	8.20	0.09	0.067	0.682	0.013	326	234
3	15	8.15	0.04	0.059	1.134	0.043	306	214
4	15	8.12	0.05	0.061	1.711	0.125	308	236
5	8	8.15	0.03	0.056	2.974	0.294	296	216
6	6	8.28	0.04	0.053	5.490	0.603	302	182
7	6	8.50	0.04	0.046	11.291	1.124	296	100

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27 °ซ

ความเค็ม 15 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 คุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในการทดลอง *A. minutum* ร่วมกับกุ้งกุลาดำ

Treatment	pH	Concentration (ppm)					
		NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot.Alk	HCO_3
1	8.38±0.02	0.60±0.64	0.09±0.00	0.29±0.06	0.12±0.05	342±0.00	230±9.80
2	8.44±0.01	0.73±0.33	0.10±0.00	0.62±0.02	0.25±0.01	352±5.89	234±6.60
3	8.35±0.00	0.63±0.99	0.10±0.01	1.07±0.05	0.20±0.09	342±4.32	243±12.47
4	8.34±0.05	0.66±0.92	0.11±0.01	1.67±0.06	0.23±0.05	345±6.18	248±13.37
5	8.37±0.00	0.18±0.05	0.13±0.01	2.33±0.89	0.43±0.11	336±0.00	223±8.06
6	8.33±0.02	0.10±0.18	0.13±0.03	6.14±0.05	0.70±0.03	334±0.94	232±0.94
7	8.25±0.01	0.07±0.15	0.27±0.07	11.65±0.59	1.15±0.05	325±1.89	226±3.77

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27 °ซ

ความเค็ม 15 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 15 ผลของความหนาแน่น *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยของปลานิลในเวลาต่างๆ

Treatment	Cell Concentration (cells/ml)	Average Percentage Mortality							
		2 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0	0.00±0.00	0.00±0.00	13.33±4.71	0.00±0.00	6.67±4.71	3.33±4.71	20.00±0.00	0.00±0.00
2	81	3.33±4.71	0.00±0.00	10.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	10.00±8.16	16.67±17.00	10.00±0.00
3	135	3.33±4.71	6.67±4.71	13.33±12.47	0.00±0.00	6.67±9.43	6.67±4.71	10.00±8.16	10.00±8.16
4	222	3.33±4.71	3.33±4.71	3.33±4.71	3.33±4.71	23.33±4.71	20.00±8.16	6.67±4.71	3.33±4.71
5	528	3.33±4.71	3.33±4.71	10.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	6.67±4.71	0.00±0.00	0.00±0.00
6	1305	3.33±4.71	6.67±4.71	16.67±4.71	3.33±4471	0.00±0.00	10.00±8.16	6.67±4.71	0.00±0.00
7	2397	10.00±8.16	6.67±4.71	6.67±4.71	3.33±4.71	16.67±4.71	20.00±8.16	6.67±4.71	0.00±0.00

หมายเหตุ ขนาดปลานิลเฉลี่ย

- ความยาว 5.0 ซม.
- น้ำหนัก 1.909 กรัม

ความเค็ม 30 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 16 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยของปลานิล ในเวลาต่างๆ

Treatment	Average Percentage Mortality								
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	6.76±9.43	6.67±4.71
2	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	10.00±8.16	13.33±4.71	0.00±0.00
3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	3.33±4.71	3.33±4.71	3.33±4.71	6.67±4.71	6.67±4.71
4	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±4.71	20.0±8.16	10.00±0.00	0.00±0.00
5	0.00±0.00	3.33±4.71	0.00±0.00	3.33±4.71	0.00±0.00	20.00±8.16	23.33±12.47	10.00±0.00	6.67±4.71

หมายเหตุ ขนาดปลานิลเฉลี่ย

- ความยาว 5.34 ซม.
- ปลานิล 2.368 กรัม

ความเค็ม 30 ppt

ชุดการทดลอง 1 ไม่เติมสารใดๆ (ชุดควบคุม)

2 เติม 0.03 N กรดอะซิติก 1 มล.

3 เติมสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* จำนวน 1.38×10^{7} เซลล์

4 เติมสารละลายที่ปราศจากเซลล์ *A. cohorticula* 2500 มล.

5 เติม *A. cohorticula* ที่เลี้ยงได้ความหนาแน่น 5.50×10^{3} เซลล์/มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 ผลของความหนาแน่น *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยสะสมของปลานิล ในเวลาต่างๆ

Treatment	Cell Concentration (cells/ml)	Average Cumulative Percentage Mortality								
		2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0	0.00	0.00	0.00	13.33	13.33	20.00	23.33	43.33	**43.33**
2	81	3.33	6.67	6.67	16.67	16.67	20.00	30.00	46.67	**56.67**
3	135	3.33	10.00	16.67	30.00	30.00	36.67	43.33	53.33	**63.33**
4	222	3.33	13.33	16.67	20.00	23.33	46.67	66.67	73.33	**76.67**
5	528	3.33	3.33	6.67	16.67	16.67	16.67	23.33	23.33	**23.33**
6	1305	3.33	3.33	10.00	26.67	30.00	30.00	40.00	46.67	**46.67**
7	2397	10.00	26.67	33.33	40.00	43.33	60.00	80.00	86.67	**86.67**

หมายเหตุ ขนาดปลานิลเฉลี่ย

- ความยาว 5.0 ซม.
- น้ำหนัก 1.909 กรัม

ความเค็ม 30 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยสะสมของปลานิล ในเวลาต่างๆ

Treatment	Average Cumulative Percentage Mortality								
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**3.33**	10.00	**16.67**
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	**13.33**	26.67	**26.67**
3	0.00	0.00	0.00	3.33	6.67	10.00	**13.33**	20.00	**26.67**
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	**23.33**	33.33	**33.33**
5	0.00	3.33	3.33	6.67	6.67	26.67	**50.00**	60.00	**66.67**

หมายเหตุ ขนาดปลานิลเฉลี่ย

- ความยาว 5.34 ซม.
- น้ำหนัก 2.368 กรัม

ความเค็ม 30 ppt

ชุดการทดลอง 1 ไม่เติมสารใดๆ (ชุดควบคุม)

2 เติม 0.03 N กรดอะซิติก 1 มล.

3 เติมสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* จำนวน 1.38×10^{7} เซลล์

4 เติมสารละลายที่ปราศจากเซลล์ *A. cohorticula* 2500 มล.

5 เติม *A. cohorticula* ที่เลี้ยงได้ความหนาแน่น 5.50×10^{3} เซลล์/มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 19 คุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลองในการทดลอง *A. cohorticula* ร่วมกับปลานิล

Treatment	pH	Concentration (ppm)					
		NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot.Alk	HCO_3
1	8.06±0.00	0.004±0.00	0.77±0.00	-	0.53±0.05	147±0.82	103±2.45
2	8.08±0.01	0.004±0.00	0.80±0.02	-	0.52±0.00	153±0.82	107±0.82
3	8.10±0.00	0.005±0.00	0.71±0.03	-	0.54±0.03	153±0.82	109±5.72
4	8.12±0.01	0.010±0.001	0.72±0.03	-	0.58±0.01	154±1.63	102±4.90
5	8.21±0.01	0.014±0.002	0.61±0.01	-	0.69±0.01	175±7.35	109±8.98
6	8.32±0.01	0.026±0.002	0.40±0.01	-	0.86±0.01	175±0.82	95±2.45
7	8.45±0.00	0.028±0.005	0.04±0.00	-	1.13±0.00	200±3.27	76±6.53

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27 °ซ

ความเค็ม 30 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 20 คุณภาพน้ำเมื่อปลานิลเริ่มตาย ณ เวลาใดๆ ในการทดลองร่วมกับ *A. cohorticula*

Treatment	Dead time (h)	pH	Concentration (ppm)					
			NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot.Alk	HCO_3
1	8	8.29	0.009	0.77	-	0.46	154	112
2	2	8.25	0.006	0.75	-	0.52	150	106
3	2	8.29	0.009	0.64	-	0.54	150	106
4	2	8.26	0.015	0.64	-	0.58	152	110
5	6	8.40	0.084	0.62	-	0.68	190	120
6	6	8.43	0.110	0.46	-	0.88	190	116
7	2	8.54	0.088	0.08	-	1.13	200	90

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27 °ซ
ความเค็ม 30 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 21 คุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในการทดลอง *A. cohorticula* ร่วมกับปลานิล

Treatment	pH	Concentration (ppm)					
		NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot.Alk	HCO_3
1	8.13±0.01	0.62±0.004	0.80±0.00	-	1.10±0.01	178±6.53	128±8.16
2	8.15±0.01	0.68±0.17	0.81±0.03	-	1.29±0.35	189±7.35	139±8.98
3	8.11±0.00	0.46±0.25	0.82±0.01	-	1.28±0.05	186±13.06	128±11.43
4	8.12±0.03	0.48±0.08	0.74±0.00	-	1.31±0.15	191±0.82	115±13.88
5	8.07±0.01	0.48±0.01	0.62±0.01	-	1.01±0.02	204±1.63	140±1.63
6	8.10±0.02	0.55±0.06	0.46±0.01	-	1.42±0.01	225±0.82	143±7.35
7	8.07±0.01	0.30±0.03	0.12±0.01	-	1.37±0.01	231±18.78	115±5.72

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27 °ซ

ความเค็ม 30 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 22 ผลของความหนาแน่น *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำในเวลาต่างๆ

Treatment	Cell Concentration (cells/ml)	Average Percentage Mortality								
		2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0 (control)	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	9.52±6.73	0.00±0.00
2	173	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	9.52±6.73	14.29±11.66	0.00±0.00
3	346	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	9.52±6.73	14.29±0.00	28.57±11.66
4	693	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00+0.00	0.00±0.00	23.81±6.73	42.86±0.00	0.00±0.00
5	1385	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	33.33±17.82	28.57±11.66	9.52±6.73
6	2770	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	28.57±23.33	28.57±0.00	23.81±24.28	9.52±6.73
7	5540	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	14.29±11.66	14.29±0.00	47.62±6.73	19.05±6.73	0.00±0.00	0.00±0.00

หมายเหตุ ขนาดกุ้งกุลาดำเฉลี่ย

- ความยาว 4.69 ซม.
- น้ำหนัก 0.577 กรัม

ความเค็ม 30 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 23 ผลของความหนาแน่น *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยสะสมของกุ้งกุลาดำ ในเวลาต่างๆ

Treatment	Cell Concentration (cells/ml)	Average Cumulative Percentage Mortality								
		2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**0.00**	9.52	**9.52**
2	173	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**9.52**	23.81	**23.81**
3	346	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**9.52**	23.81	**52.38**
4	693	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**23.81**	66.67	**66.67**
5	1385	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.76	**38.10**	66.67	**76.19**
6	2770	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	28.57	**57.14**	80.95	**90.48**
7	5540	0.00	0.00	4.76	19.05	33.33	80.95	**100.00**	100.00	**100.00**

หมายเหตุ .ขนาดกุ้งกุลาดำเฉลี่ย

- ความยาว 4.69 ซม.
- น้ำหนัก 0.577 กรัม

ความเค็ม 30 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 24 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำ ในเวลาต่างๆ

Treatment	Average Percentage Mortality							
	2 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	4.76±6.73
2	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	9.52±6.73	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73
3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	9.52±6.73	0.00±0.00	14.29±0.00
4	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	4.76±6.73	0.00±0.00	4.76±6.73
5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	14.29±0.00	4.76±6.73	4.76±6.73	0.00±0.00

หมายเหตุ ขนาดกุ้งกุลาดำเฉลี่ย

- ความยาว 4.71 ซม.
- น้ำหนัก 0.575 กรัม

ความเค็ม 30 ppt

ชุดที่ 1 ไม่เติมสารใดๆ (กลุ่มควบคุม)

2 เติม 0.03 N กรดอะซิติก 1 มล.

3 เติมสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* จำนวน 6.90×10^{3} เซลล์

4 เติมสารละลายที่ปราศจากเซลล์ *A. cohorticula* 40 มล.

5 เติม *A. cohorticula* ที่เลี้ยงได้ความหนาแน่น 1.73×10^{2} เซลล์/มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 25 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซนต์การตายเฉลี่ยสะสมของกุ้งกุลาดำ ในเวลาต่างๆ

Treatment	Average Cumulative Percentage Mortality								
	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**0.00**	4.76	**9.52**
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	9.52	**9.52**	9.52	**14.29**
3	0.00	0.00	0.00	0.00.	0.00	4.76	**14.29**	14.29	**28.57**
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**4.76**	4.76	**9.52**
5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	14.29	**19.05**	23.81	**23.81**

หมายเหตุ ขนาดกุ้งกุลาดำเฉลี่ย

- ความยาว 4.71 ซม.
- น้ำหนัก 0.575 กรัม

ความเค็ม 30 ppt

ชุดที่ 1 ไม่เติมสารใดๆ (กลุ่มควบคุม)

2 เติม 0.03 N กรดอะซิติก 1 มล.

3 เติมสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* จำนวน 6.90×10^3 เซลล์

4 เติมสารละลายที่ปราศจากเซลล์ *A. cohorticula* 40 มล.

5 เติม *A. cohorticula* ที่เลี้ยงได้ความหนาแน่น 1.73×10^2 เซลล์/มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 26 คุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลองในการทดลอง *A. cohorticula* ร่วมกับกุ้งกุลาดำ

Treatment	pH	Concentration (ppm)					
		NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot. Alk	HCO_3
1	8.02±0.04	0.002±0.00	0.03±0.00	0.76±0.07	0.06±0.03	310±1.89	294±6.60
2	8.12±0.06	0.005±0.01	0.07±0.00	0.82±0.05	0.12±0.01	310±0.94	294±0.94
3	8.15±0.01	0.006±0.01	0.13±0.01	0.80±0.06	0.19±0.00	306±4.11	286±2.49
4	8.27±0.02	0.018±0.01	0.22±0.00	0.78±0.01	0.34±0.00	304±1.89	278±5.25
5	8.39±0.01	0.018±0.01	0.39±0.00	0.80±0.04	0.62±0.00	321±2.49	262±8.99
6	8.57±0.00	0.033±0.00	0.65±0.05	0.89±0.05	1.08±0.01	330±4.90	200±3.40
7	8.82±0.02	0.043±0.00	0.80±0.00	0.63±0.05	1.58±0.00	350±1.89	100±1.89

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27 °ซ
ความเค็ม 30 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 27 คุณภาพน้ำเมื่อกุ้งกุลาดำเริ่มตาย ณ เวลาใดๆ ในการทดลองร่วมกับ *A. cohorticula*

Treatment	Dead Time (h)	pH	Concentration (ppm)					
			NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot. Alk	HCO_3
1	53	8.15	0.388	0.024	0.811	0.066	328	260
2	42	8.03	0.198	0.147	0.852	0.018	290	202
3	28	7.96	0.134	0.181	0.823	0.029	336	276
4	42	7.94	0.275	0.363	0.821	0.378	334	252
5	21	8.20	0.112	0.460	0.810	0.643	352	252
6	18	8.38	0.039	0.660	0.842	1.043	346	260
7	6	8.53	0.039	0.797	0.625	1.584	350	110

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27°ซ

ความเค็ม 30 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 28 คุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในการทดลอง *A. cohorticula* ร่วมกับกุ้งกุลาดำ

Treatment	pH	Concentration (ppm)					
		NH_3-N	NO_2-N	NO_3-N	PO_4-P	Tot. Alk	HCO_3
1	8.31±0.03	0.584±0.97	0.15±0.02	0.84±0.01	0.32±0.16	353±3.40	268±11.43
2	8.22±0.00	0.689±0.31	0.9±0.02	0.88±0.00	0.44±0.11	341±4.99	244±19.62
3	8.25±0.03	0.808±1.38	0.24±0.02	0.90±0.01	0.53±0.17	343±14.82	224±5.66
4	8.24±0.06	0.844±0.00	0.50±0.00	0.87±0.03	0.66±0.01	349±2.49	239±2.49
5	8.26±0.02	0.619±0.41	0.65±0.01	0.82±0.03	0.65±0.11	367±4.99	230±17.00
6	8.32±0.00	0.640±0.17	0.88±0.01	0.94±0.04	1.02±0.05	398±12.75	283±17.31
7	8.35±0.01	0.394±0.42	0.95±0.07	0.63±0.39	1.12±0.00	462±2.49	234±32.01

หมายเหตุ อุณหภูมิ 25-27°ซ
ความเค็ม 30 ppt

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมสารละลาย สูตรอาหาร T-1

(Ogata, Ishimaru and Kodama, 1987)

1. Tris-HCl buffter (pH 8.0) 5 M

   ใช้สาร $C_4H_{11}NO_3$-Tris (hydroxymethyl) aminonetha

   หรือ Trometamol M.W. = 121.14

   สาร Tris ตัวนี้ เมื่อละลายน้ำแล้วจะให้ค่า pH สูงมาก จึงควรนำมาละลายด้วยกรด HCl 1 N ในปริมาตรน้อย ๆ ก่อน ๆ ขณะเดียวกันก็นำไปปรับ pH ด้วย เมื่อได้ค่าที่ต้องการแล้ว เติมน้ำกลั่น ให้ครบตามปริมาตร

2. $NaNO_3$ 1 M ($NaNO_3$ มี M.W.= 84.99)
3. NaH_2PO_4 100 mM (NaH_2PO_4. H_2O มี M.W. = 138)
4. Fe-EDTA 5 mM ($C_{10}H_{12}FeN_2NO_8$ มี M.W. = 367)
5. Vitamin mix I ประกอบด้วย

   1. thiamine HCl 200 mg/l
   2. Biotin 1 mg/l
   3. Cyanocobalamin (B_{12}) 1 mg/l

วิธีการเตรียม

1. เตรียม stock solution ของสาร biotin และ B_{12} โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 100 กรัม ต่อน้ำกลั่น 100 มล.
2. ดูด biotin และ B_{12} มาอย่างละ 1 มล. เจือจางลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร และเติม thiamine HCl 200 มก. ลงในสารละลายเจือจางนี้
3. ปรับ pH ให้ได้ 4.0 โดยใช้ HCl เจือจาง
4. อาจเตรียม Vitamin mix I ในปริมาตรน้อยๆ โดยดูด biotin และ B_{12} มาเพียง 0.1 มล. เจือจางในน้ำกลั่น 100 มล. เติม thiamine HCl 200 มก. เท่านั้น
5. เก็บสารละลายนี้ไว้ในตู้เย็น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หมายเหตุ

1. ในการปรับค่า pH โดยจะเลือกใช้ความเข้มข้น HCl เท่าใดนั้น ต้องดูจากค่า pH ของสารละลายนั้นก่อน ถ้าค่า pH สูงมาก อาจใช้ HCl เข้มข้น เพื่อไม่ให้ปริมาตรเปลี่ยนแปลงมากนัก

2. สามารถนำเข้า autoclave ได้ เพราะ acidity มีความคงที่

6. Trace metal solution ประกอบด้วย

1. $ZnSO_4$	1 mM
2. $MnCl_2$	10 mM
3. $NaMoO_4$	0.5 mM
4. $CoCl_2$	0.2 mM
5. $CuSO_4$	0.01 mM
6. EDTA (as Na_2 salt)	24 mM

วิธีเตรียม

1. เตรียมความเข้มข้นเป็น 100 เท่า ของ metal แต่ละตัวตามข้างต้น

2. เตรียม Na_2 EDTA ที่มีความเข้มข้น 48 mM

3. แบ่ง Na_2 EDTA 50 มล. แล้วเติม trace metal จากวิธีเตรียมข้อ 1 ตัวละ 1 มล. แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มล.

4. ปรับ pH ให้ได้ 10.0 ด้วย NaOH

5. ต้ม 30 นาที

หมายเหตุ

1. ในการปรับค่า pH ให้วัดค่า pH ของ trace metal Sol ที่เตรียมได้ก่อน ค่าที่ได้ ถ้าต่างจากค่าที่ต้องการมากๆ ให้เติม NaOH เป็นเกล็ดลงไปได้ (เติมทีละน้อย) เพื่อค่าที่ได้ใกล้กับค่าที่ต้องการแล้วค่อยๆ ปรับด้วย NaOH เจือจาง (0.1 หรือ 1 N)

2. metal แต่ละตัวที่เตรียมไว้แล้ว สามารถนำไปแช่แข็งได้ เมื่อจะนำมาใช้เตรียม trace metal solution ให้วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลาย แล้วจึงนำไปใช้ได้

ตารางที่ 29 การเตรียม Trace Metal Solution แต่ละตัว

1. $ZnSO_4$	100 mM ใช้ $ZnSO_4 . 7H_2O$ มี M.W. = 287
2. $MnCl_2$	1 M ใช้ $MnCl_2 . 4H_2O$ มี M.W. = 197.91
3. Na_2MoO_4	50 mM ใช้ $Na_2MoO_4 . 2H_2O$ = 214.96
4. $CoCl_2$	20 mM ใช้ $CoCl_2 . 6H_2O$ มี M.W. = 237.95
5. $CuSO_4$	1 mM ใช้ $CuSO_4 . 5H_2O$ มี M.W. = 249.68
6. EDTA (as Na_2 Salt) 48 mM ใช้ $CH_2N (CH_2COOH) CH_2COONa_2 . 2H_2O$ มี M.W. = 372.24	

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

แอมโมเนีย (Phenol-hypochlorite method) (คณิต ไชยาคำ และคณะ, 2537)

แอมโมเนียในบ่อเลี้ยงกุ้ง เกิดจากการขับถ่ายของเสียจากสัตว์ และการย่อยสลายพวกสารอินทรีย์ ของจุลินทรีย์หรือสิ่งตกค้างในบ่อเป็น NH_3 ขึ้นมา

NH_3 อยู่ในน้ำได้ 2 รูปแบบคือ

1. NH_3 - N
2. NH_4^+ - N

ดังสมการ $NH_3 + H_2O \rightarrow NH_4^+ + OH^-$

ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำถ้าในบ่อมี pH สูงเกินไป คือ pH มากกว่า 9 จะอยู่ในรูปของ NH_3 ซึ่งเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ หาก pH เท่ากับ 8.5 แอมโมเนียจะอยู่ในรูป NH_4^+ ซึ่งจะไม่เป็นพิษและสามารถเปลี่ยนไปเป็น NO_3^- ซึ่งจะถูกพืชหรือแพลงก์ตอนพืช นำไปใช้ได้

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. phenol reagent

   ชั่ง phenol 20 กรัม ละลายใน ethyl alcohol 95 % 200 มล.

2. sodium nitropusside 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มล. เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล ต้องเตรียมใหม่ทุกเดือน

3. alkalinity stock solution

   ชั่ง sodium citrate 40 กรัมและ sodium hydroxide 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มล.

4. oxidizing reagent

   ใช้ alkalinity stock solution ผสมกับ chlorox ในอัตราส่วน 4:1

5. standard ammonia

นำ ammonia chloride อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 ^{0}ซ 1-2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาใส่ใน desiccator ทิ้งไว้จนเย็น นำมาชั่ง 0.3819 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1000 มล. เตรียมชุดสารละลายดังกล่าว ให้มีความเข้มข้น 0.00, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.10 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ

วิธีการวิเคราะห์

1. กรองน้ำตัวอย่าง 10 มล. ใส่ลงใน flask ขนาด 50 มล.
2. เติม 0.5 มล. phenol
3. เติม 1 มล. sodium nitropusside
4. เติม 1 มล. oxidizing reagent
5. ผสมตัวอย่างให้เข้ากัน แล้วปิดฝา flask ด้วย parafilm ทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง วัดค่า transmittance ของน้ำตัวอย่างด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 640 nm โดยใช้น้ำกลั่นเป็น reference solution

วิธีการคำนวณ

$$Abs = 2 - \log \% T$$

เพราะฉะนั้นความเข้มข้นของแอมโมเนีย (ppm) = (Abs - Constant)/ slope

ไนไตรท์ (APHA, 1980)

ไนไตรท์จะทำปฏิกิริยากับ sulfanilamide ในสภาพที่เป็นกรดเกิด diazonium salt จะจับกับ N - (1- naphthyl) - ethylene-diamine เป็น azo compound สีชมพู

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. sulfanilamide reagent 5 กรัม ละลายในสารผสมระหว่าง HCl 50 มล. กับน้ำกลั่น 300 มล. จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 500 มล. เก็บในขวดสีน้ำตาล
2. N-(1- naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride solution (N-E-D)

ชั่ง (N-E-D) 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มล. เก็บไว้ในขวดสีชาควรเตรียมใหม่ทุกเดือน หรือเตรียมทันทีที่สีเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลแก่

3. stock nitrite solution

ชั่ง sodium nitrite 0.4929 กรัม ละลายในน้ำกลั่นทำปริมาตรให้เป็น 1000 มล. (มีความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน) เตรียมชุดสารละลายดังกล่าวให้มีความเข้มข้น 0.00, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.10 ส่วนในล้านส่วน

วิธีวิเคราะห์

1. กรองน้ำตัวอย่าง 50 มล. ใส่ลงใน flask ขนาด 125 มล.
2. เติม 1 มล. sulfanilamide ผสมทิ้งไว้ประมาณ 2-8 นาที
3. เติม 1 มล. N-E-D ทิ้งไว้ 10 นาที - 2 ชั่วโมง วัด transmittance ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 543 nm

วิธีการคำนวณ

$$Abs = 2 - \log \% T$$

เพราะฉะนั้นความเข้มข้นของไนไตรท์ (ppm) = (Abs - Constant)/ slope

ฟอสเฟต (Ascorbic Acid Method) (APHA, 1980)

ammonia molubdate และ potassium antimonyl tartrate สภาพที่เป็นกรด จะทำปฏิกิริยากับสารละลาย orthphosphate เกิด hetropoly acid phosphomolybdic aicd ซึ่งจะถูก reduce โดย ascorbic acid ให้สารสีน้ำเงิน molybdate blue

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. sulfuric acid solution

เจือจาง H_2SO_4 cone 70 มล. ในน้ำกลั่น 300 มล. แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 มล. (เก็บไว้ในขวดสีชา)

2. potassium antimonyl tartrate solution ($KSbOC_2H_4O_6$)

ชั่ง potassium antimonyl tartrate solution 1.3715 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 มล. แล้วเก็บในขวดแก้วที่มีฝาปิด สารนี้ถ้ายังใสอยู่ให้ใช้ไปเรื่อยๆ

3. ammonium molybdate 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มล. เก็บในขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°ซ ซึ่งถ้าสารเคมียังใสอยู่ให้ใช้เรื่อยๆ

4. ascorbic acid 0.01 M

ละลาย 1.76 กรัม ascorbic acid ในน้ำกลั่น 100 มล. เก็บในขวดสีชา

5. stock phosphate solution

ชั่ง H_2SO_4 0.2195 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1000 มล. มีความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน เตรียมชุดความเข้มข้นของสารคือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียม combined reagent

ผสม 5 มล. 5 N H_2SO_4 + 5 มล. potassium antimonyl solution + 15 มล. ammonium molybdate solution + 30 ml ascorbic acid solution โดยปรับอุณหภูมิของสารเคมีแต่ละอย่างให้เข้ากับอุณหภูมิห้องเสียก่อนและผสมตามลำดับ เมื่อเติมสารละลายตัวหนึ่งลงไปผสมกันให้ดีก่อน แล้วค่อนเติมใหม่ลงไป ถ้าเกิดความขุ่นให้ตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที

2. การวิเคราะห์

2.1 กรองน้ำตัวอย่าง 50 มล. ใส่ใน flask ขนาด 125 มล.

2.2 หยด phenopthalein 1 หยด ถ้ามีสีชมพูให้หยด 5 N H_2SO_4 จนไม่มีสี

2.3 เติม combined reagent 8 มล. ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 10 นาที

2.4 วัดค่า transmittance ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 880 nm

วิธีการคำนวณ

$$Abs = 2 - \log \% T$$

เพราะฉะนั้นความเข้มข้นของฟอสฟอรัส (ppm) = (Abs - Constant)/ slope

ความเป็นด่าง (Indicator Method) (Boyd, 1989)

วิธีวัดความเป็นด่างทำได้ด้วยการไตเตรทตัวอย่างน้ำด้วยกรดที่ทราบความเข้มข้นโดยใช้ phenolphthalein และ methyl orange เป็นตัวเทียบสี ถ้าตัวอย่างมีค่า pH สูงกว่า 8.3 การไตเตรททำได้ 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกไตเตรทด้วยกรดจน methyl orange เปลี่ยนสี หรือได้ pH ประมาณ 4.5 แต่ถ้าตัวอย่างน้ำนั้นมีค่า pH ต่ำกว่า 8.3 การไตเตรตก็ทำเพียงขั้นตอนเดียว โดย

ใช้ methyl orange

ค่าความเป็นด่างที่ได้จากการไตเตรทครั้งแรก เรียกว่า phenolphthalein alkalinity และค่าความเป็นด่างที่ได้จากการไตเตรตทั้งสองครั้งรวมกันเรียกว่า ความเป็นด่างทั้งหมด (total alkalinity)

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. standard sodium carbonate solution 0.2 N

ชั่ง Na_2CO_3 ที่อบแล้วมาจำนวน 10.600 กรัม ละลายในน้ำกลั่นต้มเดือดๆ จนได้ปริมาตรครบ 1000 มล.

2. standard sulfuric acid solution

pipet 6 มล. H_2SO_4 เติมในน้ำต้มเดือดใหม่ๆ จนได้ปริมาตรครบ 1000 มล.

3. methyl red indicator

ละลาย methyl red 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล.

4. phenolphthalein indicator

ละลาย phenolphthalein 0.5 กรัม ใน ethyl alcohol 95 % จนได้ปริมาตรครบ 100 มล.

5. methyl orange indicatior

ละลาย methyl orange 0.5 ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 100 มล.

การตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลาย

1. ดูดสารละลาย Na_2CO_3 0.2 N มา 25 มล.ใส่ใน flask ขนาด 125 มล.

2. หยด methyl red indicator 5 หยด เขย่าให้ผสมกันจะได้สารละลายที่มีสารละลายจะเป็นสีเหลือง

3. ไตเตรตด้วยกรด H_2SO_4 จนเป็นสีชมพู

4. นำส่วนผสมทั้งหมดไปต้มจนเดือดเป็นเวลา 3 นาที เพื่อไล่ O_2 ให้หมด สารละลายจะเป็นสีเหลืองอีกครั้ง

5. ไตเตรทด้วยกรด H_2SO_4 ต่อไปจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอีกครั้ง

6. บันทึกปริมาตรของสารละลาย H_2SO_4 ทั้งหมดที่ใช้ไป

การคำนวณ

ความเข้มข้นของกรด H_2SO_4 =(0.2*25)/ปริมาตร (ml) ของกรด H_2SO_4 ที่ใช้

หลังจากนั้นทำการปรับความเข้มข้นของสารละลายกรด H_2SO_4 ให้มีความเข้มข้นของสารละลายกรด H_2SO_4 เท่ากับ 0.02 N

วิธีวิเคราะห์

1. น้ำตัวอย่างมา 50 มล. ใส่ลงใน flask ขนาด 125 มล.
2. หยด phenolphthalein indicator 5 หยด เขย่าผสมให้เข้ากัน
   - ถ้าสารละลายไม่มีสี แสดงว่า phenolphthalein alkalinity เท่ากับ 0 นั่นคือในน้ำไม่มีสารประกอบคาร์บอเนต(CO_3^{2-})
   - ถ้าสารละลายสีชมพู แสดงว่าในน้ำตัวอย่างมีคาร์บอเนตอยู่ และให้ไตเตรทด้วย H_2SO_4 0.02 N จนกระทั่งสีชมพูหมดไป เพราะฉะนั้น

     phenolphthalein alkalinity = ปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้คูณด้วย 20
3. นำสารละลายจากข้อ 2 มาหยด methyl orange 5 หยด เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายสีเหลือง
4. ไตเตรทด้วยสารละลายกรด H_2SO_4 0.02 N จนกระทั่งเปลี่ยนเป็นสีส้มบันทึกปริมาตรที่ใช้

วิธีการคำนวณ

ความเป็นด่างทั้งหมด (ppm) = (AxNx50000) /ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง (ml)

เมื่อ A = ปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ไป

เมื่อ N = normality ของ H_2SO_4 ซึ่งเท่ากับ 0.02 N

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Percentage Un - ionized Ammonia in Aqueous Solution at pH Values and Tempertures

pH	TEMPERATURE								
	22	23	24	25	26	27	28	29	30
7.0	0.46	0.49	0.52	0.56	0.60	0.65	0.70	0.76	0.81
7.1	0.59	0.63	0.67	0.72	0.78	0.84	0.90	0.97	1.04
7.2	0.72	0.77	0.82	0.89	0.95	1.03	1.10	1.19	1.27
7.3	0.93	1.00	1.06	1.14	1.23	1.32	1.42	1.53	1.64
7.4	1.14	1.22	1.30	1.40	1.50	1.62	1.73	1.87	2.00
7.5	1.47	1.57	1.68	1.80	1.93	2.08	2.23	2.40	2.57
7.6	1.79	1.92	20.05	2.20	2.35	2.54	2.72	2.93	3.13
7.7	2.30	2.46	2.63	2.82	3.02	3.25	3.48	3.74	4.01
7.8	2.80	3.01	3.21	3.45	3.08	3.90	4.21	4.56	4.88
7.9	3.59	3.84	4.10	4.40	4.70	5.05	5.40	5.79	6.20
8.0	4.37	4.68	4.99	5.35	5.71	6.13	6.55	7.04	7.52
8.1	5.57	5.95	6.34	6.78	7.23	7.75	8.28	8.87	9.47
8.2	6.76	7.22	7.68	8.22	8.75	9.38	10.00	10.71	11.41
8.3	8.53	9.10	9.67	10.32	10.98	11.73	12.49	13.34	14.19
8.4	10.30	10.98	11.65	12.43	13.20	14.09	14.98	15.97	16.96
8.5	12.85	13.66	14.47	15.38	16.31	17.36	18.41	19.56	20.71
8.6	15.40	16.34	17.28	18.35	19.42	20.63	21.83	23.14	24.45
8.7	18.89	19.99	21.08	22.31	23.53	24.89	26.26	27.72	29.18
8.8	22.38	23.63	24.88	26.26	27.64	29.16	30.68	32.29	33.90
8.9	26.88	28.22	29.56	31.12	32.68	34.32	35.96	37.57	39.19
9.0	30.37	32.81	34.24	35.98	37.71	39.47	41.23	42.86	44.48

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์พยาธิวิทยา

(Humason, 1979)

1. การดองตัวอย่างสัตว์ทดลอง

การดองตัวอย่างแบ่งเป็น 2 แบบ ตามสัตว์ทดลอง คือ

1.1 กุ้งดองในน้ำยาดองเดวิดสัน (Davidson's fixative) โดยให้น้ำยามีปริมาตรประมาณ 10-20 เท่าของปริมาตรเนื้อเยื่อ วิธีการดองขึ้นกับขนาดกุ้ง ในการทดลองนี้ใช้กุ้งขนาดน้อยกว่า 2 กรัม ฉีดน้ำยาเข้าบริเวณตับ และตับอ่อน ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 0.45x31 M/M และฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณท้องด้วย แล้วแช่ลงในน้ำยาดองทั้งตัว

ปริมาตรน้ำยาที่ฉีดเข้าตัวอย่าง ประมาณ 0.1-10 มล.ขึ้นกับขนาดกุ้ง และหลังจากตัวอย่างแช่ในน้ำยาดองประมาณ 24-72 ชั่วโมง จะย้ายลงเอธิลแอลกอฮอล์ 50 % ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง

1.2 ปลาดองในน้ำยา 10 % ฟอร์มาลีน โดยให้น้ำยามีปริมาตรประมาณ 10-20 เท่าของปริมาตรเนื้อเยื่อเช่นเดียวกัน วิธีการดองขึ้นกับขนาดปลา ในการทดลองใช้ปลาขนาดเล็กจึงผ่าเปิดช่องท้อง ตั้งแต่ช่องรูทวารจนถึงแผ่นเปิดเหงือก แล้วแช่ลงในน้ำยาดองทั้งตัว สามารถเก็บไว้นานที่อุณหภูมิห้อง

2. วิธีการทางเนื้อเยื่อวิทยา

2.1 การเตรียมชิ้นเนื้อ ในสัตว์ทดลองขนาดเล็กจะใช้ทั้งตัว

2.2 นำชิ้นเนื้อมาบรรจุใน Embeding cassette แล้วผ่าขั้นตอน dehydration, clearing และ infiltration ด้วยเครื่อง automatic tissue processor ตามวิธีมาตรฐานของ Humsson (1979) จากนั้นนำชิ้นเนื้อมาทำให้เป็นแท่งด้วยพาราฟิน

2.3 นำแท่งตัวอย่างมาตัดด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (microtome) ความหนาประมาณ 5-6 ไมครอน แล้วนำไปลอยบนน้ำอุ่นอุณหภูมิ 40-50°ซ เลือกตัวอย่างที่สมบูรณ์แล้วช้อนด้วยสไลด์ นำไปวางบนเครื่องอุ่นสไลด์ (warm plate) ที่มีอุณหภูมิประมาณ 40-50°ซ ทิ้งไว้อย่างน้อย 2 ชั่วโมงถึงตลอดคืน กรณีต้องการย้อมสีพิเศษต้องใช้ adheseive ทาบนสไลด์ที่สะอาดก่อนนำไปช้อนตัวอย่าง เพื่อป้องกันการหลุดของเนื้อเยื่อ และอุ่นสไลด์ไว้อย่างน้อย 12-24 ชั่วโมง

2.4 เนื้อเยื่อที่ติดสไลด์ดีแล้ว นำมาย้อมสีตามขั้นตอนดังนี้ ละลายพาราฟินด้วยไซลีน (xylene) จากนั้นผ่านขบวนการดูดน้ำเข้า (hydration) ด้วยแอลกอฮอล์จากความเข้มข้นสูงไปต่ำ แล้วย้อมสี หลังจากนั้นนำมาผ่านขบวนการดึงน้ำออก (dehydration) ด้วยแอลกอฮอล์จากความเข้มข้นต่ำไปสูง แช่ในไซลีนแล้ว mount ด้วย paramount การศึกษาเนื้อเยื่อทั่วไปจะย้อมสี Hematoxylin และ Eosin (H&E) ตามวิธี Humason (1979)

3. นำสไลด์ถาวรที่ได้มาศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสงธรรมดา

4. รวบรวมผลการศึกษา แล้วบันทึกรายละเอียด

ขั้นตอนต่าง ๆ จากเครื่อง Automatic Tissue Processor

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (ชั่วโมง)
1	50% alcohol	0.5-1
2	70% alcohol	0.5-1
3	95% alcohol	0.5-1
4	95% alcohol	0.5-1
5	95% alcohol	0.5-1
6	100% alcohol	0.5-1
7	100% alcohol	0.5-1
8	100% alcohol	0.5-1
9	chloroform I	1
10	chloroform II	1.5
11	paraplast I	1.5
12	paraplast II	2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเตรียมสารเคมีและวิธีการย้อมสี

1. Davidson's fixative (Bell Lightner, 1988)

95 % ethyl alcohol	330 ml
100 % formalin (formaldehyde 37-39%)	220 ml
glacial acetic acid	115 ml
tap water	335 ml

เก็บที่อุณหภูมิห้อง

2. 10 % Buffer Formalin

37-40 % Formalin	100.00 ml.
น้ำ	900.00 ml.
Sodium phosphate monobasic	4.00 g.
Sodium phosphate dibasic	6.50 g.

ผสมเข้าด้วยกัน

3. Hematoxy และ Eosin (H&E) (Humason, 1979)

3.1 การเตรียม Mayer's hematoxylin

hematoxylin crystals	4.0 g.
sodium iodate	8.0 g.
potassium , ammonium sulfate alum	200.0 g.
citric acid	4.0 g.
chloral hydrate	200.0 g.
น้ำกลั่น	2000 ml.

ละลาย alum ในน้ำกลั่น แล้วเติม hematoxylin ลงไป คนให้ละลาย เติม sodium iodate ผสมให้เข้ากัน เติม citric acid และ chloral hydrate คนให้เข้ากัน เขย่าจนสารผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้สีแดงอมม่วง (red-dish violet) ควรทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ก่อนนำมาใช้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การเตรียม Eosin

eosin Y, CI 45380	3.0 g.
70 % ethyl alcohol	1000.0 g.
glacial acetic acid	5.0 ml.

ผสมเข้าด้วยกันแล้วเติม glacial acetic acid 2-3 หยด ก่อนใช้

3.3 วิธีการย้อม สี Hematoxylin และ Eosin

1. นำ parafiln section มา deparaffinized ด้วย xylene และ hydration ด้วยแอลกอฮอลล์ จนถึงลงในน้ำกลั่นนานอย่างละ 2-3 นาที

2. ย้อมด้วย Mayer's hematoxylin นาน 5-10 นาทีเวลาที่ใช้จะขึ้นกับคุณภาพของสีว่าใช้นานเพียงใด

3. ล้างในน้ำประปาที่ไหลจนเนื้อเยื่อเป็นสีน้ำเงิน 2-3 นาที

4. ซับน้ำออก แล้วย้อมด้วย esosin 5-10 นาที ขึ้นกับคุณภาพของสี

5. dehydration ด้วยแอลกอฮอลล์ และ clearing ด้วย xylene

6. mount ด้วย permount

ผล : นิวเคลียส : สีน้ำเงินม่วง

ไซโตพลาสซึม : สีชมพู - แดง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ค่า LC_{50}

(Reed and Muench, 1938)

1 Concentration (cells/ml)	2 Log dose	3 n	4 Number dead	5 Number alive	6 Accumulated dead	7 Accumulated alive	8 Total 6+7	9 Cumulative Percentage Mortality
0	0	10	0	10	0	29	29	0.00
3.46×10^7	7.54	10	3	7	3	19	22	13.64
4.85×10^7	7.69	10	5	5	8	12	20	40.00
6.58×10^7	7.82	10	6	4	14	7	21	66.67
9.18×10^7	7.96	10	8	2	22	3	25	88.00
1.30×10^8	8.11	10	9	1	31	1	32	96.88
1.73×10^8	8.24	10	10	0	41	0	41	100.00

To compute for : cumulative percentage mortality $= \frac{\text{accmulated}}{\text{Total}} \times 100$

LD 50 computation :

= log conc below 50 % mortality +

$$\frac{50 - \text{mortality below 50 \%}}{\text{mortality above 50 \%} - \text{mortality below 50\%}} \times \text{log conc. above 50\%} - \text{log conc. below 50\%}$$

$$= \log 7.69 + \frac{50 - 40}{66.67 - 40} (7.82 - 7.69)$$

$$= \log 7.69 + \frac{10}{26.67} (0.13)$$

$$= \log 7.69 + (0.375 \times 0.13)$$

$$= \log 7.69 + 0.0488$$

$$= \log 7.7388$$

= get antilog

LD 50 $= 5.48 \times 10^7$ cells/ml

ประวัติผู้เขียน

นางสาวปิยนุช จุรุพันธุ์ เกิดวันที่ 17 พฤศจิกายน พ.ศ. 2508 ที่อำเภอเมือง จังหวัดพัทลุง สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ในปีการศึกษา 2530 ต่อมาได้ทำงานเกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เป็นระยะเวลาประมาณ 4 ปี จึงได้ลาศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปัจจุบันทำงานที่บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหารสัตว์ จำกัด (มหาชน) อำเภอเมือง จ.สมุทรสาคร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย