



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด
Comparison of primary productivity in two phytoplankton cell sizes

ชื่อนิสิต นางสาวสุนิดา ปานเพชร

เลขประจำตัว 5932825023

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด

นางสาวสุนิศา ปานเพชร

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


Comparison of primary productivity in two phytoplankton cell sizes

Miss Sunida Panpet

A Senior Project in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science in Marine Science
Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University
Academic Year 2019

| | |
|-----------------------------|--|
| ชื่อโครงการ | การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด |
| โดย | นางสาวสุนิดา ปานเพชร |
| คณะ | วิทยาศาสตร์ |
| ภาควิชา | วิทยาศาสตร์ทางทะเล |
| อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการหลัก | อาจารย์ ดร. สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์ |
| อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการร่วม | รองศาสตราจารย์ ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ |

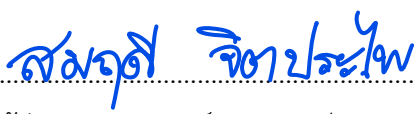
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับโครงการฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2309499 โครงการวิทยาศาสตร์



 หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
 (รองศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิทยาญจน์)

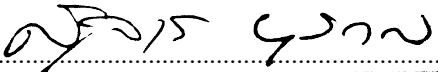
คณะกรรมการสอบโครงการ


 อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการหลัก
 (อาจารย์ ดร. สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์)


 อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการร่วม
 (รองศาสตราจารย์ ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์)


 กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมฤดี จิตประไพ)


 กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อิชฌมิกา ศิวยายพราหมณ์)


 กรรมการ
 (อาจารย์ ดร.สุจारी บุรีกุล)

Senior Project Tittle Comparison of primary productivity in two phytoplankton cell sizes
Name Miss Sunida Panpet
Faculty Science
Department Marine Science
Project Advisor Sutaporn Bunyajetpong, PhD
Co - Advisor Assoc. Prof. Thaithaworn Lirdwitayaprasit, PhD

Accepted by the Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirement for the Bachelor's Degree.

..... Head of Marine Science Department

(Assoc. Prof. Voranop Viyakarn, PhD)

PROJECT COMMITTEE

..... Project Advisor

(Sutaporn Bunyajetpong, PhD)

Project Co-advisor

(Assoc. Prof. Thaithaworn Lirdwitayaprasit, PhD)

..... Member

(Asst. Prof. Somrudee Jitraphai, PhD)

..... Member

(Asst. Prof. Itchika Sivaipram, PhD)

..... Member

(Sujaree Bureekul, PhD)

| | |
|-----------------------------|--|
| ชื่อโครงการ | การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด |
| โดย | นางสาวสุนิดา ปานเพชร |
| คณะ | วิทยาศาสตร์ |
| ภาควิชา | วิทยาศาสตร์ทางทะเล |
| อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการหลัก | อาจารย์ ดร. สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์ |
| อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการร่วม | รองศาสตราจารย์ ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ |
| ปีการศึกษา | 2562 |

บทคัดย่อ

กำลังการผลิตขั้นต้น (primary productivity) ทางทะเล คือ อัตราการผลิตสารอินทรีย์ของแพลงก์ตอนพืชชนิดหนึ่ง ๆ ซึ่งมีความสำคัญมากในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเป็นองค์ประกอบขั้นต้นของสายใยอาหาร อีกทั้งยังเป็นตัวชี้วัดระดับความอุดมสมบูรณ์ของสัตว์น้ำและแหล่งน้ำ การศึกษานี้ได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ เพื่อเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดที่พบในบริเวณอ่าวไทย 2 ชนิด คือ *Chattonella* sp. (ความกว้างเฉลี่ย 23.181 ± 3.318 ไมโครเมตร และความยาวเฉลี่ย 30.346 ± 3.379 ไมโครเมตร) และ *Isochrysis* sp. (4.330 ± 0.771 ไมโครเมตร) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มนาโนแพลงก์ตอนและฟิโคแพลงก์ตอนตามลำดับ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539) โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วน (ก) ในสถานะเลี้ยงเดี่ยว เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า นาโนแพลงก์ตอนมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วและมีกำลังการผลิตขั้นต้นอยู่ในช่วง 46.65 - 451.88 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าฟิโคแพลงก์ตอน (0.48 - 333.56 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง) โดยผลการทดลองสอดคล้องกับปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ ได้แก่ ความหนาแน่นของเซลล์ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตละลายน้ำที่เพิ่มขึ้น และปริมาณสารอาหารที่ลดลง (ข) ในสถานะแข่งขัน เป็นระยะเวลา 10 วัน และมีความจำกัดของสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% ของสารอาหารสูตร T1 พบว่า กำลังการผลิตขั้นต้นรวมแปรผันตรงกับระดับความเข้มข้นของสารอาหาร และสอดคล้องกันกับปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ นอกจากนี้ยังพบว่า (1) ในทุกสถานะฟิโคแพลงก์ตอนมีประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอมากกว่านาโนแพลงก์ตอน และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของสารอาหารลดลง (2) ในสูตรอาหารเดียวกัน (100% ของสารอาหารสูตร T1) ซึ่งมีปริมาณสารอาหารมากเกินไป พบว่า ในสถานะแข่งขันมีกำลังการผลิตขั้นต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และขนาดเซลล์ลดลง เมื่อเทียบกับในสถานะเลี้ยงเดี่ยว

คำสำคัญ: กำลังการผลิตขั้นต้น การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน นาโนแพลงก์ตอน ฟิโคแพลงก์ตอน

Senior Project Title Comparison of primary productivity in two phytoplankton cell sizes

Name Miss Sunida Panpet

Faculty Science

Department Marine Science

Project Advisor Sutaporn Bunyajetpong, PhD

Co - Advisor Assoc. Prof. Thaithaworn Lirdwitayaprasit, PhD

Academic year 2019

Abstract

Marine primary productivity is the rate of primary production of phytoplankton which is very important in the marine environment. It is a preliminary component of the food web and an indicator of the abundance of aquatic animals and the ecosystem. This study was conducted in laboratory in order to compare the primary productivity of two phytoplankton cell sizes. The two chosen phytoplankton which normally found in the Gulf of Thailand were *Chattonella* sp. (mean width 23.181 ± 3.318 microns and mean length 30.346 ± 3.379 microns) and *Isochrysis* sp. (4.330 ± 0.771 microns). They were classified as nanoplankton and picoplankton, respectively (Wongrat, 1996). The experiment was divided into 2 parts. (a) In a pure culture condition for 20 days, the nanoplankton has shown a rapid growth increase and the primary productivity is in the range of 46.65 - 451.88 mg C/m³/h which is higher than the picoplankton (0.48 - 333.56 mg C/m³/h). The results are consistent with other environmental factors, including cell density, chlorophyll a, dissolved carbohydrate, and nutrient content. (b) In mixed culture conditions for 10 days and with a limitation of nutrients at different concentrations (100%, 75%, 50%, and 1% of T1 medium), the primary productivity varies according to the concentration of nutrients. The results are also consistent with other environmental factors. Furthermore, the data showed that (1) in all conditions, the efficiency of primary productivity per chlorophyll a unit of picoplankton is higher than it of nanoplankton and tends to increase with the decreasing of nutrient contents and (2) in the same condition of excessive amounts of nutrients (100% of T1 medium), the primary productivity, chlorophyll a and the cell size of mixed cultures is reduced, comparing to it of pure cultures.

Keywords: primary productivity, phytoplankton culture, nanoplankton, picoplankton

กิตติกรรมประกาศ

ผู้จัดทำโครงการขอขอบพระคุณ อ. ดร. สุชาพร บุญญเจตน์พงษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ และ รศ. ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมโครงการเป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำปรึกษา และ คำแนะนำในการทำโครงการวิทยาศาสตร์ในครั้งนี้ รวมทั้งให้ความรู้ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนช่วยแก้ไข ข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี ขอขอบคุณนางสาวเจริญลักษณ์ สุขชาติพงษ์ และ นางสาว มณฑาทิพย์ ลือศิริ ที่คอยให้ความช่วยเหลือตลอดการทดลอง ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และเจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ได้ให้การช่วยเหลือ ให้กำลังใจในการทดลอง และช่วยอำนวยความสะดวกด้านสถานที่ ในการปฏิบัติการมาโดยตลอด ขอขอบพระคุณบุคลากรของภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยปลูกฝังความรู้ คุณธรรม และจริยธรรมให้เป็นนิสัยที่มีคุณภาพของสังคม

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้ จะประสบความสำเร็จได้ ถ้าขาดเงินทุนอุดหนุน การวิจัยจากภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ผู้จัดทำ ขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

ตลอดระยะเวลาในการดำเนินงานจัดทำโครงการวิทยาศาสตร์เล่มนี้ ขอกราบขอบพระคุณ นายสุชีพ ปานเพชร และนางขวัญตา ปานเพชร ผู้ซึ่งให้ความรัก ความเมตตา ความห่วงใย และเป็นกำลังใจให้กับผู้จัดทำ โครงการจนประสบผลสำเร็จ

สารบัญ

| | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อ..... | ก |
| Abstract..... | ข |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ค |
| สารบัญ..... | ง |
| สารบัญรูป..... | ฉ |
| สารบัญตาราง..... | ช |
| รายการอักษรย่อ..... | ฌ |
| บทที่ 1 บทนำ..... | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา..... | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์..... | 2 |
| 1.3 ขอบเขตการศึกษา..... | 2 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 2 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง..... | 3 |
| 2.1 ความสำคัญของกำลังการผลิตขั้นต้นทางทะเล..... | 3 |
| 2.1.1 ผลผลิตขั้นต้น..... | 3 |
| 2.1.2 กำลังการผลิตขั้นต้น..... | 3 |
| 2.2 แพลงก์ตอนพืช..... | 3 |
| 2.2.1 การแบ่งกลุ่มแพลงก์ตอน..... | 4 |
| 2.2.2 แพลงก์ตอนพืช..... | 4 |
| 2.3 การศึกษากำลังการผลิตขั้นต้นทางทะเล..... | 5 |
| 2.3.1 การวัดกำลังการผลิตขั้นต้น..... | 5 |
| 2.3.2 วิธีการศึกษากำลังการผลิตขั้นต้นทางทะเล..... | 5 |
| บทที่ 3 วิธีการศึกษา..... | 8 |
| 3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา..... | 8 |
| 3.2 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในสภาวะเลี้ยงเดี่ยว..... | 9 |
| 3.3 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม..... | 14 |

| | |
|---|----|
| บทที่ 4 ผลการศึกษา..... | 16 |
| 4.1 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในสภาวะเลี้ยงเดี่ยว..... | 16 |
| 4.2 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม..... | 23 |
| บทที่ 5 วิจัยณ์ผลการศึกษา..... | 31 |
| 5.1 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในสภาวะเลี้ยงเดี่ยว..... | 31 |
| 5.2 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม..... | 32 |
| บทที่ 6 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ..... | 35 |
| เอกสารอ้างอิง..... | 36 |
| ภาคผนวก..... | 38 |
| ภาคผนวก ก. ข้อมูลสารมาตรฐานคลอโรฟิลล์เอ..... | 39 |
| ภาคผนวก ข. ข้อมูลสารมาตรฐานคาร์โบไฮเดรตละลาย..... | 41 |
| ภาคผนวก ค. ข้อมูลสารมาตรฐานของสารอาหาร..... | 41 |

สารบัญรูป

| | | |
|-----------|--|----|
| รูปที่ 1 | กล่องบ่มแพลงก์ตอน..... | 8 |
| รูปที่ 2 | ชุดกรองน้ำ..... | 8 |
| รูปที่ 3 | เครื่องไทเทรตอัตโนมัติ (auto-titrator)..... | 8 |
| รูปที่ 4 | โซนิเคเตอร์ (sonicator bath)..... | 8 |
| รูปที่ 5 | เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)..... | 8 |
| รูปที่ 6 | ขั้นตอนการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในสถานะเลี้ยงเดี่ยว..... | 13 |
| รูปที่ 7 | ขั้นตอนการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความ เข้มข้นต่าง ๆ ในสถานะเลี้ยงรวม..... | 14 |
| รูปที่ 8 | <i>Isochrysis</i> sp. | 16 |
| รูปที่ 9 | <i>Chattonella</i> sp. | 16 |
| รูปที่ 10 | ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช..... | 17 |
| รูปที่ 11 | กำลังการผลิตของแพลงก์ตอนพืช..... | 18 |
| รูปที่ 12 | ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืช..... | 19 |
| รูปที่ 13 | ปริมาณฟอสฟอรัสอินทรีย์ละลายน้ำ..... | 20 |
| รูปที่ 14 | ปริมาณไนโตรเจนอินทรีย์ละลายน้ำ..... | 21 |
| รูปที่ 15 | ปริมาณคาร์ไฮเดรตละลาย..... | 22 |
| รูปที่ 16 | ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช <i>Isochrysis</i> sp. | 23 |
| รูปที่ 17 | ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช <i>Chattonella</i> sp. | 24 |
| รูปที่ 18 | กำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ..... | 25 |
| รูปที่ 19 | ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ..... | 26 |
| รูปที่ 20 | ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50%..... | 28 |
| รูปที่ 21 | กำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50%..... | 29 |
| รูปที่ 22 | ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50%..... | 30 |
| รูปที่ 23 | ประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอของการทดลองเปรียบเทียบ กำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในสถานะเลี้ยงเดี่ยว..... | 33 |

| | |
|--|----|
| รูปที่ 24 ประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นรวมต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอในการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม..... | 33 |
| รูปที่ 25 ประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอการในทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% ของสารอาหารสูตร T1..... | 34 |
| รูปที่ 26 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงและความเข้มข้นต่าง ๆ ของมาตรฐานคลอโรฟิลล์เอ ก่อนการหยุดกรด..... | 39 |
| รูปที่ 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงและความเข้มข้นต่าง ๆ ของมาตรฐานคลอโรฟิลล์เอ หลังการหยุดกรด..... | 40 |
| รูปที่ 28 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงและความเข้มข้นต่าง ๆ ของมาตรฐานคลอโรฟิลล์เอ ผลต่างก่อนและหลังหยุดกรด..... | 40 |
| รูปที่ 29 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานคาร์โบไฮเดรต และค่าการดูดกลืนแสง... | 41 |
| รูปที่ 30 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟอสเฟตและค่าการดูดกลืนแสง..... | 41 |
| รูปที่ 31 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานแอมโมเนียและค่าการดูดกลืนแสง..... | 42 |
| รูปที่ 32 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานไนโตรเจนและค่าการดูดกลืนแสง..... | 42 |
| รูปที่ 33 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานไนเตรทและค่าการดูดกลืนแสง..... | 43 |

สารบัญตาราง

| | |
|--|----|
| ตารางที่ 1 ปริมาณฟอสฟอรัสอินทรีย์และไนโตรเจนละลายน้ำในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ..... | 27 |
| ตารางที่ 2 ข้อมูลมาตรฐานของคลอโรฟิลล์เอ..... | 39 |

รายการอักษรย่อ

| | |
|-------|---------------|
| Chl-a | chlorophyll a |
| h | hour |
| L | liter |
| nm | nanometers |
| mg | milligram |
| mL | milliliter |
| pmol | picomole |
| ug | microgram |
| uM | micromolar |

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา

กำลังการผลิตขั้นต้น (primary productivity) ทางทะเล คือ อัตราการผลิตสารอินทรีย์ของแพลงก์ตอนพืชชนิดหนึ่ง ๆ มักมีหน่วยเป็น กรัมคาร์บอนต่อปริมาตรต่อเวลา ($g\ C/m^3/h$) ซึ่งในแพลงก์ตอนแต่ละชนิดจะมีกำลังการผลิตขั้นต้นแตกต่างกัน (Cullen, 2001) โดยกำลังการผลิตขั้นต้นนี้ มีความสำคัญมากในแหล่งน้ำธรรมชาติ เพราะเป็นองค์ประกอบขั้นต้นของสายใยอาหาร อีกทั้งยังเป็นตัวชี้วัดระดับความอุดมสมบูรณ์ของสัตว์น้ำและแหล่งน้ำ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539) เนื่องจากปริมาณของกำลังการผลิตขั้นต้นเกิดจากปฏิกิริยาการสังเคราะห์ด้วยแสงของผู้ผลิตขั้นต้น ดังนั้น บริเวณที่มีปัจจัยต่าง ๆ ที่เป็นส่วนประกอบของปฏิกิริยา ไม่ว่าจะเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) น้ำ (H_2O) ธาตุอาหารต่าง ๆ (nutrients) และแสงแดดที่เหมาะสม จะส่งผลให้กำลังการผลิตขั้นต้นมีปริมาณที่เหมาะสม ทำให้คุณภาพน้ำดี และเกิดความอุดมสมบูรณ์ในระบบนิเวศ

อ่าวไทยเป็นบริเวณที่รองรับน้ำจืดจากแม่น้ำทั้ง 4 สายหลัก คือ แม่น้ำแม่กลอง แม่น้ำท่าจีน แม่น้ำเจ้าพระยา และแม่น้ำบางปะกง ซึ่งอุดมไปด้วยสารอาหาร จึงเป็นบริเวณที่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของพืชและสัตว์นานาชนิด จากงานวิจัยของนางสาวปริยานุช เจริญสุข ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ทำการศึกษากำลังการผลิตขั้นต้นของกลุ่มแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดบริเวณอ่าวไทยตอนใน พบว่า ไมโครแพลงก์ตอนมีปริมาณมากในบริเวณใกล้ฝั่ง และพิโคแพลงก์ตอนมีปริมาณมากในบริเวณไกลฝั่ง แต่ในทางกลับกัน พบว่า เมื่อเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์ พิโคแพลงก์ตอนมีประสิทธิภาพสูงในการให้กำลังการผลิตขั้นต้นมากกว่าไมโครแพลงก์ตอนและนาโนแพลงก์ตอน

จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น พบว่ามีปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ต้องพิจารณาหลายประการ เนื่องจากทำการทดลองในทะเลเปิด การศึกษาในครั้งนี้จึงสนใจศึกษาเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถควบคุมปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ได้ โดยผู้วิจัยได้เลือกแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดที่พบในบริเวณอ่าวไทย 2 ชนิด มาทำการศึกษา คือ *Chattonella* sp. (20-35 ไมครอน) และ *Isochrysis* sp. (2-5 ไมครอน) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มนาโนแพลงก์ตอนและพิโคแพลงก์ตอนตามลำดับ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539) โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุด ซึ่งชุดที่หนึ่งจะทำการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการเป็นเวลาทั้งหมด 20 วัน และเก็บตัวอย่างระหว่างการทดลองทุก ๆ 2 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ การนับจำนวนเซลล์ ปริมาณกำลังการผลิตขั้นต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณสารอาหาร และปริมาณคาร์โบไฮเดรต และชุดที่สองจะทำการผสมแพลงก์ตอนพืชทั้งสองชนิด และเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่มีความเข้มข้นของแร่ธาตุต่าง ๆ แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 100% 75% 50% และ 1% ของสารอาหารสูตร T1 ทำการเลี้ยงใน

ห้องปฏิบัติการเป็นเวลาทั้งหมด 10 วัน และเก็บตัวอย่างระหว่างการทดลองทุก ๆ 2 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ การนับจำนวนเซลล์ ปริมาณกำลังการผลิตขั้นต้น และปริมาณคลอโรฟิลล์เอ

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1) เพื่อศึกษากำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชที่มีขนาดแตกต่างกัน 2 ชนิด คือ *Chattonella* sp. และ *Isochrysis* sp. ในสถานะเลี้ยงเดี่ยว (pure culture)
- 2) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสถานะเลี้ยงเดี่ยว (pure culture) ร่วมกับปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง อาทิ จำนวนเซลล์ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณสารอาหาร และปริมาณคาร์โบไฮเดรต
- 3) เพื่อศึกษากำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสถานะเลี้ยงรวม (mixed culture) ในสารอาหาร 4 ระดับความเข้มข้น คือ 100% 75% 50% และ 1% ของสารอาหารสูตร T1
- 4) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสถานะเลี้ยงรวม (mixed culture) ร่วมกับปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง อาทิ จำนวนเซลล์ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และปริมาณสารอาหาร

1.3 ขอบเขตการศึกษา

การศึกษาเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดที่พบในบริเวณอ่าวไทย 2 ชนิด คือ *Chattonella* sp. และ *Isochrysis* sp. โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุดการทดลอง ซึ่งชุดการทดลองที่หนึ่ง ทำการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการเป็นเวลาทั้งหมด 20 วัน และเก็บตัวอย่างระหว่างการทดลองทุก ๆ 2 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ การนับจำนวนเซลล์ ปริมาณกำลังการผลิตขั้นต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณสารอาหาร และปริมาณคาร์โบไฮเดรต และการทดลองชุดที่สอง ทำการผสมแพลงก์ตอนพืชทั้งสองชนิด และเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่มีความเข้มข้นของแร่ธาตุต่าง ๆ แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 100% 75% 50% และ 1% ของสารอาหารสูตร T1 ทำการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเป็นเวลาทั้งหมด 10 วัน และเก็บตัวอย่างระหว่างการทดลองทุก ๆ 2 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ การนับจำนวนเซลล์ ปริมาณกำลังการผลิตขั้นต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และปริมาณสารอาหาร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษากำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในประเทศไทย

บทที่ 2

ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญของการกำกับการผลิตขั้นต้นทางทะเล

2.1.1 ผลผลิตขั้นต้น (primary production)

ผลผลิตขั้นต้นทางทะเล คือ สารอินทรีย์ที่เป็นผลิตภัณฑ์จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของแพลงก์ตอนพืช (Cullen, 2001) โดยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของแพลงก์ตอนจะเปลี่ยนสารอนินทรีย์ในน้ำ ให้กลายเป็นสารอินทรีย์ เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดอะมิโน และกรดไขมันชนิดต่าง ๆ ผลผลิตขั้นต้นเป็นสิ่งที่สำคัญมากสำหรับกระบวนการต่าง ๆ ทางนิเวศวิทยาทางทะเล และการหมุนเวียนทางชีวธรณีเคมี กระบวนการสังเคราะห์แสงจะเกิดขึ้นในบริเวณที่แสงส่องถึง (euphotic zone) เป็นบริเวณที่มีความเข้มแสงตั้งแต่ 1 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณแสงทั้งหมดที่สามารถส่องผ่านลงมาเป็นต้นไป โดยแสงส่วนใหญ่ที่ผ่านลงมาในน้ำทะเลมีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 400-700 นาโนเมตร (visible light) ซึ่งกระบวนการนี้ถือเป็นแหล่งกำเนิดสารอินทรีย์ในทะเล และถูกส่งต่อเข้าไปสู่ระบบสายใยอาหารผ่านการบริโภคลำดับต่าง ๆ

ผลผลิตขั้นต้นสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ ผลผลิตขั้นต้นรวม (Gross Primary Production หรือ GPP) เป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงทั้งหมด ไม่มีการถูกใช้ในกระบวนการหายใจ และผลผลิตขั้นต้นสุทธิ (Net Primary Production หรือ NPP) เป็นผลผลิตขั้นต้นที่วัดได้ โดยส่วนหนึ่งถูกใช้ในกระบวนการหายใจ ดังนั้นความสัมพันธ์ของผลผลิตขั้นต้นทั้งสองประเภทเป็นดังสมการ

$$GPP = NPP + \text{Respiration} \quad \text{----- (1)}$$

2.1.2 กำกับการผลิตขั้นต้น (primary productivity)

กำกับการผลิตขั้นต้นทางทะเล คือ อัตราการผลิตสารอินทรีย์ของแพลงก์ตอนพืชชนิดหนึ่งๆ มักมีหน่วยเป็น กรัมคาร์บอนต่อปริมาตรต่อเวลา ซึ่งในแพลงก์ตอนแต่ละชนิดจะมีกำกับการผลิตขั้นต้นแตกต่างกัน การวัดกำกับการผลิตขั้นต้นทางทะเลมีหลากหลายวิธี และมีปัจจัยทางกายภาพต่าง ๆ ที่ต้องคำนึงถึง เช่น ความลึก ความเข้มแสง ฤดูกาล ปริมาณสารอาหาร และปริมาณคลอโรฟิลล์ เป็นต้น (Cullen, 2001)

2.2 แพลงก์ตอน

แพลงก์ตอน หมายถึง สิ่งมีชีวิตซึ่งลอยอยู่ในมวลน้ำ แพลงก์ตอนประกอบด้วยสิ่งมีชีวิตหลายกลุ่ม แต่ทุกกลุ่มจะมีลักษณะเหมือนกันหนึ่งประการ คือ ไม่มีรยางค์หรือส่วนที่ช่วยเคลื่อนที่ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539)

2.2.1 การแบ่งกลุ่มแพลงก์ตอน

ก. แบ่งโดยยึดหลักโภชนาการ

- 1) แพลงก์ตอนพืช (phytoplankton) หมายถึง สิ่งมีชีวิตที่มีสารสีในเซลล์ ทำให้สามารถดูดซับพลังงานแสง และใช้พลังงานแสงร่วมกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง และสร้างสารอินทรีย์อินทรีย์ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นคาร์โบไฮเดรต แพลงก์ตอนพืชมีทั้งหมด 3 ดิวิชัน คือ ไชยาโนไฟตา (Cyanophyta) คลอโรไฟตา (Chlorophyta) และโครโมไฟตา (Chromophyta) โดยแพลงก์ตอนพืชมีความสำคัญในฐานะผู้ผลิต และเป็นอาหารขั้นต้นของโซ่อาหาร (food chain) ในแหล่งน้ำ
- 2) แพลงก์ตอนสัตว์ (zooplankton) ได้แก่ สัตว์เซลล์เดียวไปจนถึงสัตว์หลายเซลล์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง ทั้งระยะเต็มวัยและระยะวัยอ่อน โดยแพลงก์ตอนสัตว์จัดเป็นผู้บริโภคอันดับที่ 2 และ 3 ของโซ่อาหารในแหล่งน้ำ

ข. การแบ่งโดยยึดขนาด

- 1) ไมโครแพลงก์ตอน (microplankton) ขนาด 50 – 1,000 ไมครอน เช่น ไดอะตอม สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีเขียว โรติเฟอร์ ตัวอ่อนของแพลงก์ตอนสัตว์ ฯลฯ
- 2) นาโนแพลงก์ตอน (nanoplankton) ขนาด 5 – 50 ไมครอน เช่น ไดอะตอม สาหร่ายสีเขียว และไดโนแฟลเจลเลต
- 3) พิคโอแพลงก์ตอน (picoplankton) ขนาดน้อยกว่า 5 ไมครอน เช่น แพลงก์ตอนพืชพวกมีหนวดและโปรโตซัว

2.2.2 แพลงก์ตอนพืช

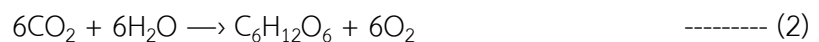
- 1) ชนิด *Isochrysis* sp. เป็นพิคโอแพลงก์ตอน (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539) หรืออาจจัดเป็นนาโนแพลงก์ตอน (Omori and Ikeda, 1992) มีความยาว 2-4 ไมครอน อยู่ในหมวดโครโมไฟตา (Chromophyta) ชั้นไพรมเนสซิโอไฟซิเอ (Prymnesiophyceae) อันดับไอโซโครซิดาลีส (Isochrysidales) วงศ์ไอโซโครซิเดซิเอ (Isochrysidaceae) เป็นแพลงก์ตอนพืชเซลล์เดี่ยว ๆ ไม่มีผนังเซลล์ รูปร่างกลม สีน้ำตาลแกมเหลือง มีหนวด 2 เส้น ยาวเท่ากัน ไม่มีแฮพโทนีมา เซลล์หุ้มด้วยเกล็ดที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์ มีคลอโรพลาสต์ 2 แผ่น (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539)
- 2) ชนิด *Chattonella* sp. เป็นนาโนแพลงก์ตอน (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539) หรืออาจจัดเป็นไมโครแพลงก์ตอน (Omori and Ikeda, 1992) ความยาว 20-35 ไมครอน อยู่ในหมวดโครโมไฟตา (Chromophyta) ชั้นเรพิดอไฟซิเอ (Raphidophyceae) อันดับแซตโตเนลลาลีส

(Chattonellales) วงศ์แซตโตเนลลาซีเอ (Chattonellaceae) ส่วนใหญ่เซลล์รูปไข่และค่อนข้างแบน สีเขียวแกมเหลือง ผงเซลล์เรียบ เป็นสกุลที่ก่อให้เกิดปัญหาน้ำแดงในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทยและญี่ปุ่น (กรมประมง, 2536)

2.3 การศึกษากำล้างการผลิตขั้นต้นทางทะเล

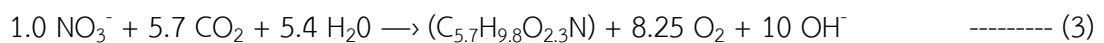
2.3.1 การวัดกำล้างการผลิตขั้นต้น

การวัดกำล้างการผลิตขั้นต้นทางทะเล มักจะพิจารณาจากปฏิกิริยาสังเคราะห์แสง ดังสมการ



โดยการวัดกำล้างการผลิตสามารถพิจารณาได้จากสารตั้งต้นที่เปลี่ยนแปลงไป ได้แก่ การวัดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์โดยรวม หรือการวัดการปริมาณธาตุต่าง ๆ ที่เปลี่ยนรูปแบบไป และสามารถพิจารณาได้จากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่น การวัดปริมาณสารอินทรีย์ แก๊สออกซิเจนที่เพิ่มขึ้น เป็นต้น (Thornton, 2012)

อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชจำเป็นต้องใช้ธาตุอาหารต่าง ๆ เพื่อนำมาสร้างโปรตีนและใช้ในการเจริญเติบโต ดังสมการ



ดังนั้นการวัดปริมาณสารอาหารต่าง ๆ ที่แพลงก์ตอนใช้ในการเจริญเติบโตประกอบกับการหาคำล้างการผลิตขั้นต้น จะทำให้เห็นความสัมพันธ์ของข้อมูล และเป็นการเพิ่มความน่าเชื่อถือของข้อมูลมากยิ่งขึ้น

2.3.2 วิธีการศึกษากำล้างการผลิตขั้นต้นทางทะเล

1) การวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแก๊สออกซิเจนละลายน้ำ เนื่องจากกระบวนการสังเคราะห์แสง (light-dependent change in dissolved oxygen)

เป็นวิธีมาตรฐานในการวัดการเกิดกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งมีความสัมพันธ์กับกำล้างการผลิตขั้นต้นทางทะเล โดยหลักการของวิธีนี้จะเป็นการวัดความแตกต่างของปริมาณแก๊สออกซิเจนละลายน้ำระหว่าง 2 ขวด ได้แก่ ขวดสว่าง ซึ่งค่าออกซิเจนละลายน้ำจะให้ค่าผลผลิตเบื้องต้นสุทธิ และขวดมืด ซึ่งค่าออกซิเจนละลายน้ำจะให้ค่าออกซิเจนที่ถูกใช้ในกระบวนการหายใจ โดยกำหนดให้กระบวนการหายใจที่เกิดขึ้นใน 2 ขวดเท่ากัน จะสามารถนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณผลผลิตรวมตามสมการที่ 1 ซึ่งการวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำด้วยวิธีดังกล่าว สามารถทำได้โดยใช้เครื่องไทเทรตอัตโนมัติ หรือใช้เครื่องมือวัดออกซิเจน

ละลายน้ำ ซึ่งค่าที่ได้จากการวัดในทุก ๆ เครื่องมือจะให้แค่ค่าประมาณเท่านั้น เนื่องจากในธรรมชาติยังมีสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่มีการนำออกซิเจนไปใช้ เช่น จุลินทรีย์ที่มีการนำออกซิเจนไปใช้ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ เป็นต้น (Cullen, 2001)

2) การวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารอนินทรีย์คาร์บอนละลายน้ำ เนื่องจากกระบวนการสังเคราะห์แสง (light-dependent change in dissolved inorganic carbon)

เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ละลายน้ำโดยรวม แต่วิธีนี้มีความไม่แน่นอนหลายประการ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เกี่ยวข้องกับค่าพีเอช (pH) และสภาพความเป็นด่าง (alkalinity) ดังนั้นการวิเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์ละลายน้ำโดยรวมจะถูกหลีกเลี่ยง ซึ่งการวัดปริมาณสารอนินทรีย์คาร์บอนละลายน้ำด้วยวิธีดังกล่าว สามารถทำได้โดยใช้การไทเทรตแบบคูโลเมตริก (coulometric titration) หรือการวิเคราะห์ด้วยแก๊สอินฟราเรดหลังจากปฏิกิริยาที่เป็นกรด อย่างไรก็ตามความแม่นยำของการวิเคราะห์ยังไม่ดีพอ เนื่องจากในธรรมชาติยังมีปฏิกิริยาอื่น ๆ เข้ามาเกี่ยวข้องที่ทำให้ค่าที่ได้มีความผิดพลาด เช่น การตกตะกอนของแคลเซียมคาร์บอเนต กระบวนการเหล่านี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ไม่ได้เกิดจากการผลิตขึ้นต้น ดังนั้นวิธีการนี้จึงไม่เป็นที่นิยมสำหรับการวัดผลผลิตขึ้นต้นในมหาสมุทร (Cullen, 2001)

3) การวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์บอน - 14 (^{14}C)

การวัดผลผลิตเบื้องต้นทางทะเลที่ใช้ ^{14}C ได้รับการแนะนำโดย Steemann Nielsen ในปี 1952 (Børsheim, 2005) โดยตัวอย่างจะถูกเก็บรวบรวมและเติมสารกัมมันตภาพรังสีคาร์บอน-14 ในรูปของไบคาร์บอเนต (^{14}C -bicarbonate) หลังจากการบ่มในภาชนะ ตัวอย่างจะถูกวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณ ^{14}C ในรูปแบบอินทรีย์ โดยทั่วไปคาร์บอนอินทรีย์จะถูกรวบรวมเป็นอนุภาคบนตัวกรอง การวัดปริมาณทำได้โดยการวิเคราะห์น้ำทั้งหมด หลังจากการทำให้เป็นกรดเพื่อกำจัดคาร์บอนอนินทรีย์ วิธี ^{14}C นั้นมีความไวและความแม่นยำมาก อย่างไรก็ตามการใช้ไอโซโทปที่เป็นกัมมันตภาพรังสี ต้องใช้ขั้นตอนพิเศษสำหรับการจัดการและกำจัด ซึ่งอาจทำให้เกิดความยุ่งยากในการปฏิบัติการภาคสนามได้

4) การวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์บอน - 13 (^{13}C)

การวัดผลผลิตขึ้นต้นทางทะเลที่ใช้ ^{13}C นั้นคล้ายกับวิธี ^{14}C โดยการเติมคาร์บอน-13 ในรูปของไบคาร์บอเนต (^{13}C -bicarbonate) ลงในน้ำทะเล หลังจากนั้นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จะรวมตัวเป็นอนุภาค จึงสามารถวัดการเปลี่ยนแปลงของ ^{13}C ในอัตราส่วน $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ ของอนุภาคเทียบกับปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ละลายน้ำโดยรวม

ซึ่งอัตราส่วนไอโซโทปถูกวัดโดยเครื่องแมสสเปกโตรเมทรี (mass spectrometry) วิธีนี้นิยมใช้เมื่อต้องการที่จะหลีกเลี่ยงปัญหาที่เกี่ยวกับไอโซโทปที่เป็นกัมมันตภาพรังสี แต่วิธีการนี้อาจยุ่งยาก และความไว้น้อยกว่าวิธี ^{14}C (Børsheim, 2005)

5) การวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณออกซิเจน - 18 (^{18}O)

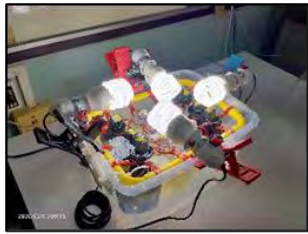
การวัดผลผลิตขั้นต้นทางทะเลที่ใช้ ^{18}O สามารถทำได้โดยการเติม ^{18}O ในรูปของน้ำลงในน้ำทะเลหลังจากการสังเคราะห์ด้วยแสง ทำการวัดปริมาณแก๊สออกซิเจน - 18 ($^{18}\text{O}_2$) ที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องแมสสเปกโตรเมทรี (mass spectrometry) นอกจากนี้ยังสามารถวัดการหายใจได้โดยตรง โดยติดตามการผลิต H_2^{18}O จาก $^{18}\text{O}_2$ วิธีนี้มีความไวพอสมควรและสามารถใช้กับบริเวณที่มีผลผลิตขั้นต้นน้อยได้ (Cullen, 2001)

บทที่ 3

วิธีการศึกษา

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

- 1) ขวดดูแรน (Duran) ขนาด 2 ล.
- 2) ขวดบีโอดี (BOD) ขนาด 100 มล.
- 3) หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tubes)
- 4) กระดาษกรอง Whatman GF/F ขนาด 25 มม.
- 5) ไมโครปิเปตต์ (micropipette)
- 6) รีแฟลกโตมิเตอร์ (reflectometer)
- 7) กล้องจุลทรรศน์
- 8) ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemocytometer)
- 9) สไลด์นับเซลล์ (sedgewick rafter)
- 10) เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer)
- 11) ฟลูออโรมิเตอร์ (fluorometer รุ่น LS-55)
- 12) สเปกโตรมิเตอร์ (spectrometer รุ่น Specord 200 plus)
- 13) กล้องบ่มแพลงก์ตอน
- 14) ชุดกรองน้ำ



รูปที่ 1 กล้องบ่มแพลงก์ตอน



รูปที่ 2 ชุดกรองน้ำ

- 15) เครื่องไทเทรตอัตโนมัติ (auto-titrator รุ่น Schott Titroline easy)



รูปที่ 3 เครื่องไทเทรตอัตโนมัติ (auto-titrator)

- 16) อ่างโซนิเคเตอร์ (sonicator bath รุ่น Selecta UL TRASONS)



รูปที่ 4 โซนิเคเตอร์ (sonicator bath)

- 17) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge รุ่น Centurion 1000 Series)



รูปที่ 5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

3.2 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในสภาวะเลี้ยงเดี่ยว

3.2.1 การเพาะเลี้ยงและการนับจำนวนแพลงก์ตอนพืช

3.2.1.1 การเตรียมและทำความสะอาดอุปกรณ์

ทำความสะอาดด้วยทีโพล จากนั้นนำไปแช่กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 10% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาล้างน้ำประปา ซะด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง และเก็บใส่ตู้พร้อมใช้

3.2.1.2 การเตรียมสารอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

นำน้ำทะเลมาปรับความเค็มให้ได้ 28 psu ด้วยน้ำกลั่น ตรวจสอบความเค็มด้วยเครื่องวัดความเค็ม (reflectometer) จากนั้นกรองน้ำทะเลที่ปรับความเค็ม โดยใช้กระดาษกรอง GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร ใส่อาหารที่ใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืช สูตร T1 (Ogata et al.,1987) ประกอบด้วยสารเคมีดังนี้

- | | |
|--|--|
| 1) 1.0 M NaNO ₃ | ใช้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1 ลิตร |
| 2) 0.1 M NaH ₂ PO ₄ | ใช้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1 ลิตร |
| 3) 5.0 mM Fe-EDTA | ใช้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1 ลิตร |
| 4) 0.01 mM H ₂ SeO ₃ | ใช้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1 ลิตร |
| 5) 100 mM Na ₂ -EDTA | ใช้ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1 ลิตร |
| 6) 2.5 M Tris-HCl buffer | ใช้ปริมาตร 4.0 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1 ลิตร |
| 7) Trace metal solution | ใช้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1 ลิตร |

จากนั้นนำจุกมาปิดขวดรูปชมพู่และท่อฟอยล์บริเวณรอยต่อของจุดปิดและคอขวด นำขวดสารอาหารทั้งหมดเข้าเครื่องต้้อบร้อนฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นรอนจนกระทั่งอุณหภูมิลดลง จึงสามารถนำขวดทั้งหมดออกจากเครื่องได้

3.2.1.3 การเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการ

- 1) เปิดแสง UV ในตู้ปลอดเชื้อ (Biological Safety Cabinet, BSC) ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที หลังจากนั้นปิดแสง UV และเปิดไฟปกติ
- 2) สเปรย์แอลกอฮอล์ที่ผ้าเช็ดมือ และเช็ดมือให้สะอาด
- 3) นำขวดสารอาหารที่เตรียมไว้มาใส่วิตามินรวม (vitamin mixed solution) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1 ลิตร เขย่าให้เข้ากัน
- 4) นำหัวเชื้อแพลงก์ตอน 2 ชนิด คือ *Chattonella* sp. และ *Isochrysis* sp. ไปไว้ในตู้รวมทั้งขวดสารอาหารที่ทำไว้ นำฟอยล์ที่ท่อไว้ออกและเปิดจุดขวด

- 5) จุดไฟที่ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 6) นำปากขวดสารอาหาร และปากขวดหัวเชื้อร่นไฟเพื่อฆ่าเชื้อ
- 7) ปิเปตต์หัวเชื้อลงในขวดขวดสารอาหาร กำหนดความหนาแน่นชนิดละ 500 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เขียนวันที่และชนิดของแพลงก์ตอนบนขวด
- 8) นำไปวางในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงต่อวัน 12: 12 (สว่าง: มืด, ชั่วโมง) เป็นเวลา 20 วัน
- 9) เก็บตัวอย่างระหว่างการทดลองเพื่อนำมาวิเคราะห์ปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ การนับจำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช ปริมาณกำลังการผลิตขั้นต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณสารอาหาร และปริมาณคาร์โบไฮเดรต ทุก ๆ 2 วัน ตลอดการทดลอง

3.2.1.4 การนับจำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช

1) การนับจำนวน *Isochrysis* sp.

เจือจางแพลงก์ตอน 10 เท่า จากนั้น นำสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemocytometer) มาปิดด้วยกระจกปิด ปิเปตต์แพลงก์ตอนที่เจือจางแล้วใส่สไลด์ นำไปวางบนแท่นวางวัตถุของกล้องจุลทรรศน์ ใช้กำลังขยาย 10 เท่า ปรับโฟกัสให้คมชัด นับจำนวนแพลงก์ตอนที่อยู่ในตาราง 9 ช่องในแต่ละด้าน จะได้จำนวนแพลงก์ตอน N1 และ N2 หลังจากนั้นมาหาค่าเฉลี่ย N และคำนวณในหน่วยเซลล์ต่อมิลลิลิตร (cell/ml)

จำนวนแพลงก์ตอนในหน่วยเซลล์ต่อมิลลิลิตร (cell/ml) = $[(N/9) \times 10^4] \times D$

N = จำนวนแพลงก์ตอนเฉลี่ยที่นับได้ (cell/ml)

D = จำนวนเท่าที่เจือจาง

2) การนับจำนวน *Chattonella* sp.

เจือจางแพลงก์ตอน 10 เท่า นำสไลด์เซดจ์วิก (Sedgewick) วางกระจกปิดให้มีที่เหลือน้อยเพื่อใส่แพลงก์ตอน ปิเปตต์แพลงก์ตอนที่เจือจางแล้วใส่ 1 มิลลิลิตร นำสไลด์วางบนแท่นวางวัตถุของกล้องจุลทรรศน์ ปรับโฟกัสให้คมชัด นับจำนวนแพลงก์ตอนที่อยู่ในตารางทั้ง 1000 ช่อง และนำจำนวนแพลงก์ที่ได้มาคำนวณในหน่วยเซลล์ต่อมิลลิลิตร (cell/ml)

จำนวนแพลงก์ตอนในหน่วยเซลล์ต่อมิลลิลิตร (cell/ml) = $N \times D$

N = จำนวนแพลงก์ตอนเฉลี่ยที่นับได้ (cell/ml)

D = จำนวนเท่าที่เจือจาง

3.2.2 การวิเคราะห์กำลังการผลิตขั้นต้น

- 1) นำขวด BOD ที่รู้ปริมาตรภายในขวดแล้ว 18 ขวด แบ่งเป็น 2 ชุดเพื่อใช้กับแพลงก์ตอนพืช 2 ชนิด กำหนดให้แต่ละชุดประกอบด้วย ขวดควบคุม ขวดมืด และขวดสว่าง อย่างละ 3 ขวด
- 2) กรอกแพลงก์ตอนที่เลี้ยงไว้ลงในขวดแต่ละชุด
- 3) นำขวดควบคุมของแพลงก์ตอนพืชทั้งสองชนิดมาหาค่าปัจจัยต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้น
- 4) บ่มขวดมืดและสว่าง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
- 5) วัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำภายในขวดมืดและสว่าง ด้วยวิธีไทเทรตแบบไอโอดิเมตริก (iodometric titration) ของ Winkler
- 6) นำค่าที่ได้วิเคราะห์หาค่ากำลังการผลิตขั้นต้นรวมจากวิธีวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ในหน่วย มิลลิกรัมคาร์บอนต่อลูกบาศก์เมตรต่อชั่วโมง ($\text{mg C/m}^3/\text{h}$) โดยคำนวณตามสมการของ Environmental Information Office (I.E.S., 2000) ซึ่งมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{Gross Primary Productivity} = \frac{(\text{LB} - \text{DB}) \times 375}{\text{PQ} \times t}$$

เมื่อ LB = ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำของขวดสว่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

DB = ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำของขวดมืด (มิลลิกรัมต่อลิตร)

375 = อัตราส่วนโดยโมลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อออกซิเจน โดยปรับหน่วยให้อยู่ในหน่วยต่อลูกบาศก์เมตร ($12 \text{ mg C}/32 \text{ mg O}_2 \times 1000 = 375$)

PQ = โมเลกุลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูญเสียไปขณะสังเคราะห์แสงต่อโมเลกุลของออกซิเจนที่เกิดขึ้น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.2

t = ระยะเวลาที่ใช้ในการบ่มตัวอย่าง (ชั่วโมง)

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ

- 1) กรองน้ำที่เลี้ยงแพลงก์ตอนพืช ด้วยกระดาษกรอง GF/F
- 2) ตัดกระดาษกรองเป็น 4 ส่วนใส่ใน centrifuge tubes ที่ทึบแสง
- 3) ปิเปตต์ 90% อะซิโตน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดและปิดด้วยพาราฟิล์ม
- 4) ทำขั้นตอนที่ 1-3 กับแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 ชนิด ชนิดละ 3 ซ้ำ
- 5) นำตัวอย่างทั้งหมดไปใส่อ่างโซนิเคเตอร์ เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

- 6) เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 – 15 ชั่วโมง
- 7) นำช่องใส่ตัวอย่าง (holder) ของเครื่องปั่นเหวี่ยง แช่เย็นประมาณ 1 ชั่วโมง ก่อนการนำไปใช้
- 8) ทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
- 9) วัดค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยใช้เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ และจดบันทึก
- 10) หยดกรดไฮโดรคลอริก 1.2 โมลาร์ 3 หยด วัดค่าความเข้มข้นอีกครั้ง และจดบันทึก
- 11) นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอในหน่วยไมโครกรัมต่อลิตร (ug/L) โดยคำนวณ
คำนวณเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

ข้อควรระวัง แสง ความร้อน และระยะเวลาการสกัด จะทำให้ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอลลดลง ดังนั้นควรทำการทดลองในที่ที่บดแสงและอุณหภูมิต่ำตลอดเวลาและควรทำการทดลองทันทีหลังกรองน้ำ

3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหาร

กรองน้ำที่เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 ชนิด ชนิดละประมาณ 200 มิลลิลิตร ด้วยกระดาษกรอง GF/F โดยทำการวัดปริมาณสารอาหารทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ ฟอสเฟต แอมโมเนีย ไนโตรเจนและไนตรท โดยมีวิธีวิเคราะห์ (Grasshoff, 1999) ดังนี้

1) การหาปริมาณฟอสเฟต

ตัวอย่างน้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมกรดแอสโคบิก (ascorbic acid) 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายผสม A 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่อย่าให้เกิน 30 นาที จะได้สารละลายสีน้ำเงิน วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 880 nm และคำนวณความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานฟอสเฟต (calibration curve) (สารละลายผสม A เตรียมจาก 10% ของสารละลาย โมลิบเดต (molybdate solution) 4.5 โมล/ลิตร ของกรดซัลฟิวริกเข้มข้น และโพแทสเซียมแอนติโมนี ทาร์เทรต (potassium antimony tartrate solution))

2) การหาปริมาณแอมโมเนีย

ตัวอย่างน้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมฟีนอล (phenol) 200 ไมโครลิตร แกว่งเบาๆ เติมซิเตรต (citrate) 100 ไมโครลิตร แกว่งเบาๆ เติมสารละลายไฮเปอร์คลอไรต์ (hypochlorite) 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที จะได้สารละลายสีน้ำเงิน วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 630 nm และคำนวณความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานแอมโมเนีย (calibration curve)

3) การหาปริมาณไนโตรเจน

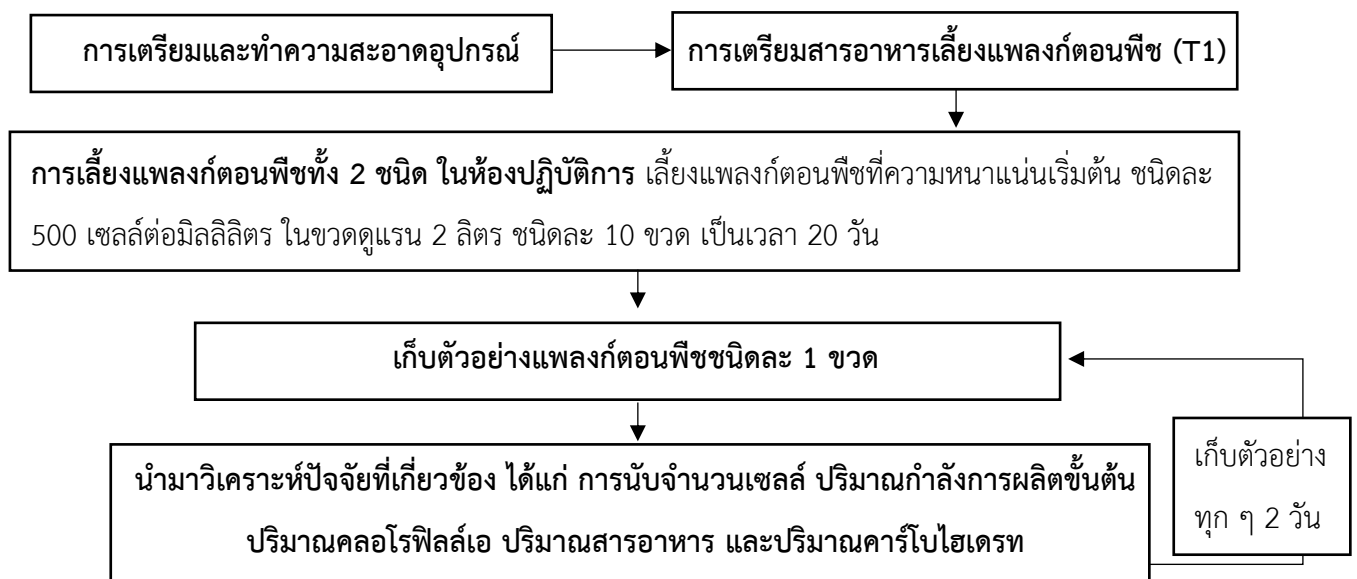
ตัวอย่างน้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมซัลฟานิลาไมด์ (sulfanilamide) 200 ไมโครลิตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที เติมไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 200 ไมโครลิตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที ได้สารละลายสีแดง วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 nm และคำนวณความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานไนโตรท (calibration curve)

4) การหาปริมาณไนเตรท

ตัวอย่างน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอมโมเนียมบัฟเฟอร์ (ammonium buffer solution) 10 มิลลิลิตร เขย่า ผ่านสารละลายลงในคอลัมน์แคดเมียมโดยปล่อยทิ้ง 10 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างที่ผ่านคอลัมน์ 5 มิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์แบบไนโตรท และทำการชะคอลัมน์ด้วยสารละลายแอมโมเนียมบัฟเฟอร์ 10 มิลลิลิตร ทุกครั้งก่อนการเปลี่ยนตัวอย่าง (คอลัมน์แคดเมียมเตรียมจากเม็ดแคดเมียมที่นำมาเคลือบด้วยสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate solution) นำมาบรรจุใส่คอลัมน์สูงประมาณ 10 เซนติเมตร มีอัตราการไหลของสารละลายอยู่ในช่วง 5-7 มิลลิลิตรต่อนาที และกระตุ้นให้คอลัมน์ทำงาน โดยผ่านสารละลายผสมของแอมโมเนียมบัฟเฟอร์และสารละลายมาตรฐานไนเตรท)

3.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตละลาย

ปิเปตต์น้ำตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติม 80% wt/wt ฟีนอล (phenol) 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H₂SO₄) 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที นำตัวอย่างใส่อ่างน้ำ (water bath) ที่ 25 องศาเซลเซียส (°C) เป็นเวลา 10 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 490 nm โดยใช้สเปกโตรมิเตอร์ (spectrometer) และคำนวณความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานคาร์โบไฮเดรต (calibration curve)

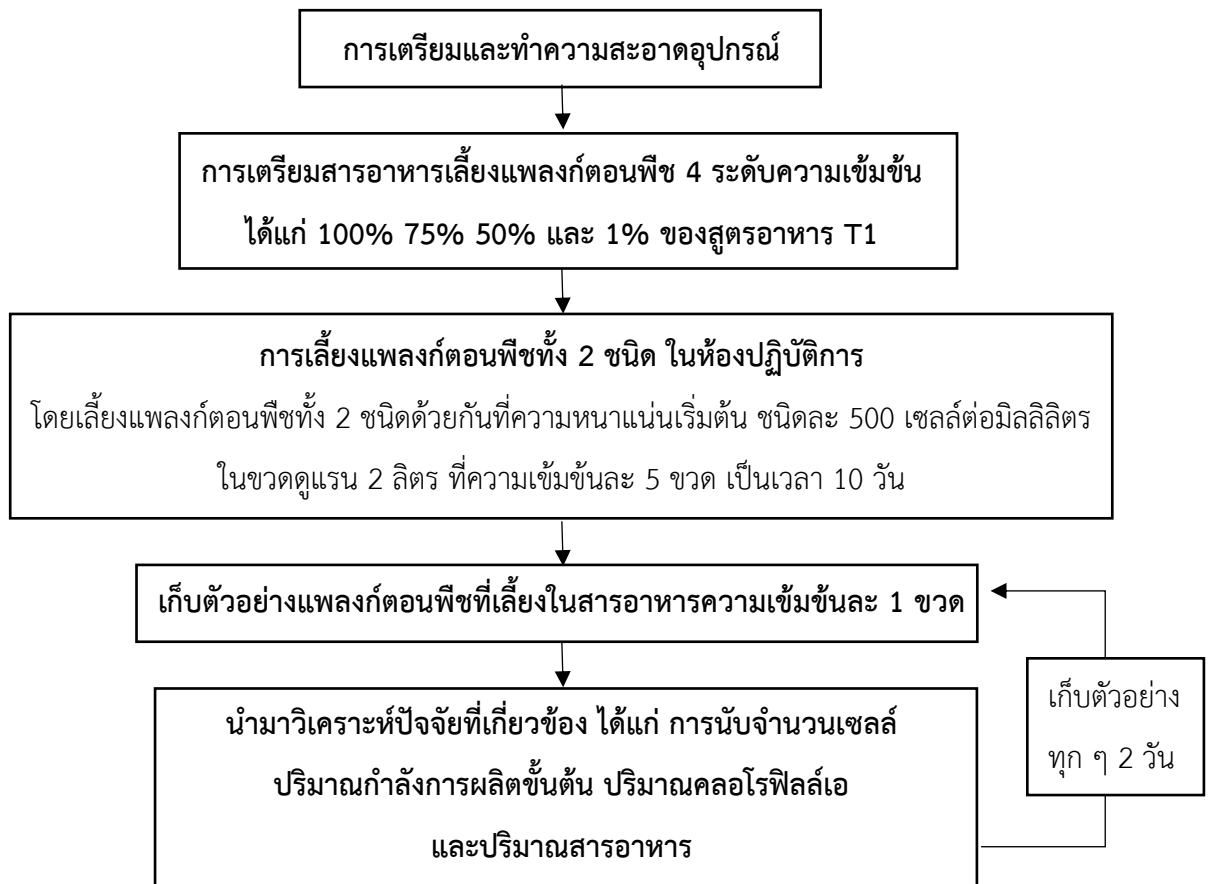


รูปที่ 6 ขั้นตอนการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในสถานะเลี้ยงเดี่ยว

3.3 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม

3.3.1 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% ของสารอาหารสูตร T1

ทำการเตรียมและทำความสะอาดอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองให้สะอาดเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.2 ทำการเตรียมสารอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 100% 75% 50% และ 1% ของสูตรอาหาร T1 จากนั้นทำการเลี้ยงแพลงก์ตอนทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันที่ความหนาแน่นชนิดละ 500 เซลล์ต่อมิลลิลิตรในทุกความเข้มข้น เป็นเวลา 10 วัน หลังจากนั้นในทุก ๆ 2 วัน ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 ขั้นตอนการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม

3.3.2 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% ของสารอาหารสูตร T1

โดยสืบเนื่องจากการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม การเลี้ยงแพลงก์ตอนในห้องปฏิบัติการ ณ วันที่ 10 ได้เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนที่เลี้ยงในสารอาหารความเข้มข้น 100% และ 50% อย่างละ 1 ขวด นำมาวิเคราะห์ปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ การนับจำนวนเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และการหาปริมาณกำลังการผลิตขั้นต้น โดยได้ทำการกรองน้ำด้วยตาข่ายกรองขนาด 20 ไมโครเมตร เพื่อแยกชนิดของแพลงก์ตอนทั้งสองชนิดออกจากกัน ก่อนนำไปหาปริมาณกำลังการผลิตขั้นต้น และนำข้อมูลไปวิเคราะห์ประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอ ของแพลงก์ตอนพืชแต่ละขนาด

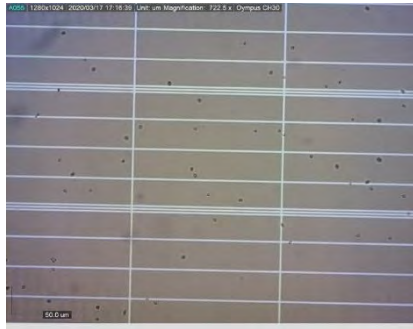
บทที่ 4

ผลการศึกษา

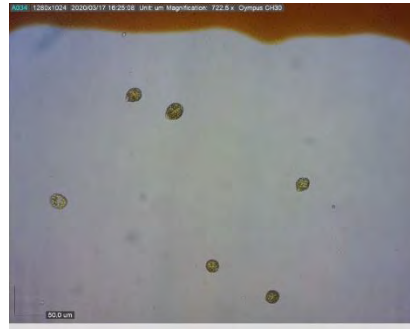
4.1 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในสถานะเลี้ยงเดี่ยว

4.1.1 การเพาะเลี้ยงและการนับจำนวนแพลงก์ตอนพืช

จากการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. และ *Chattonella* sp. ในสารอาหารสูตร T1 เป็นเวลา 20 วัน ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ขนาดเฉลี่ยของ *Isochrysis* sp. มีขนาด 4.330 ± 0.771 ไมโครเมตร จัดอยู่ในกลุ่มพีโคแพลงก์ตอน และขนาดของ *Chattonella* sp. มีความกว้างเฉลี่ย 23.181 ± 3.318 ไมโครเมตร และมีความยาวเฉลี่ย 30.346 ± 3.379 ไมโครเมตร จัดอยู่ในกลุ่มนาโนแพลงก์ตอน (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539)

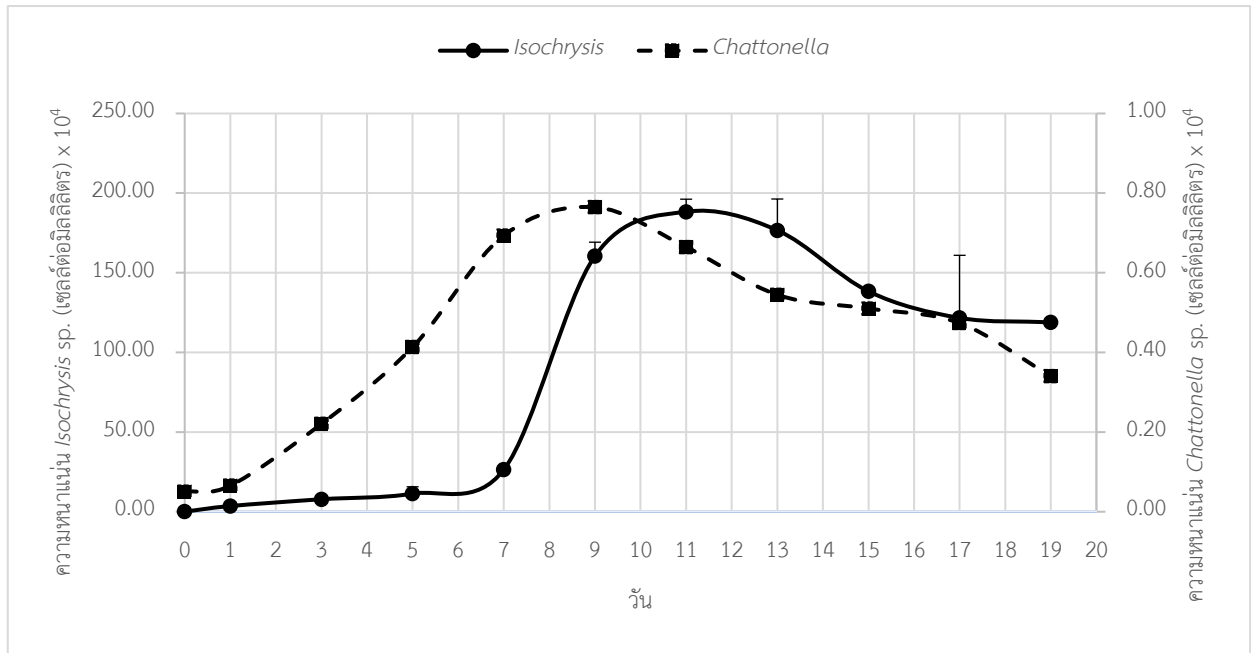


รูปที่ 8 *Isochrysis* sp.



รูปที่ 9 *Chattonella* sp.

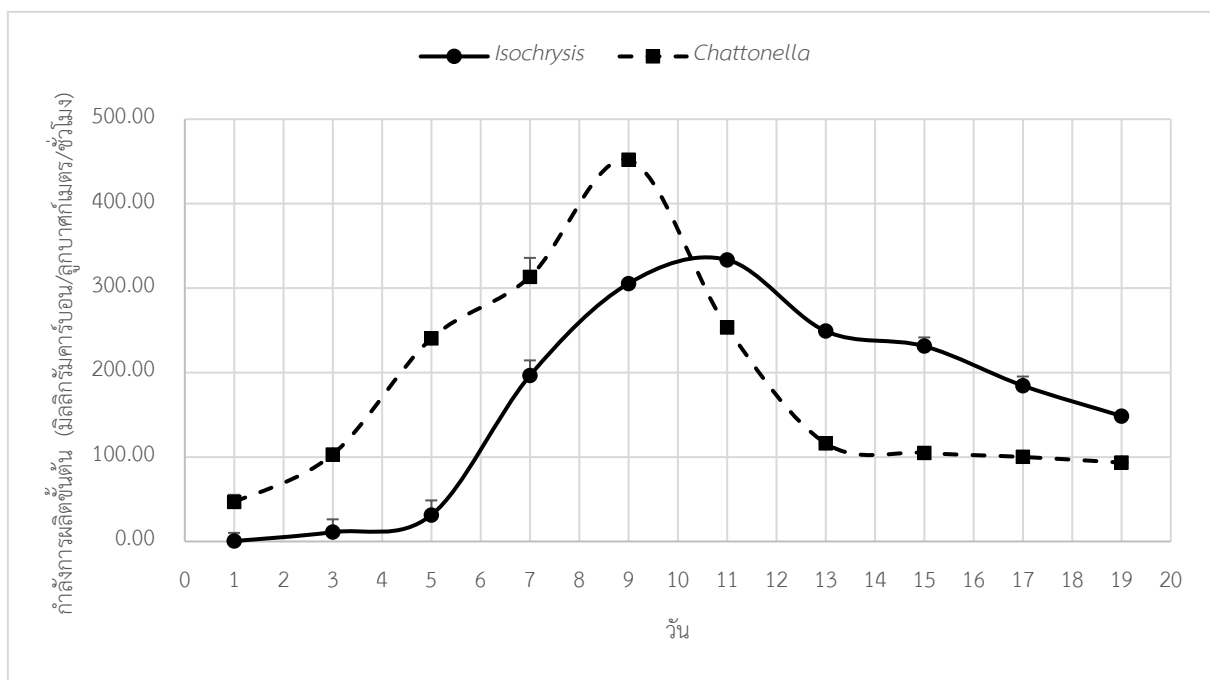
โดยเริ่มต้นการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนทั้งสองชนิดที่ความหนาแน่น 500 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และได้ทำการนับจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นทุก ๆ 2 วัน พบว่า แพลงก์ตอนพืชทั้งสองชนิดมีการเพิ่มจำนวน ดังรูปที่ 10 ในช่วงสัปดาห์แรกแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. มีความหนาแน่นอยู่ในช่วง $0.05 - 188.3 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยมีการเพิ่มจำนวนอย่างช้า ๆ หลังจากนั้นในวันที่ 9 ของการเลี้ยง มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งในวันที่ 11 มีความหนาแน่นสูงสุดเฉลี่ย 188.3×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ภายหลังจากนั้นจึงมีการลดจำนวนลงจนกระทั่งคงที่ในวันที่ 17 ของการเลี้ยง ซึ่งแตกต่างกับแพลงก์ตอนพืช *Chattonella* sp. มีความหนาแน่นอยู่ในช่วง $0.05 - 0.76 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยในช่วงสัปดาห์แรกมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว โดยมีการเพิ่มจำนวนมากที่สุดในวันที่ 9 ของการเลี้ยง โดยมีความหนาแน่นสูงสุดเฉลี่ย 0.76×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ภายหลังจากนั้นจึงมีการลดจำนวนลงอย่างต่อเนื่องจนจบระยะเวลาการทดลอง



รูปที่ 10 ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช

4.1.2 การวิเคราะห์กำลังการผลิตขั้นต้น

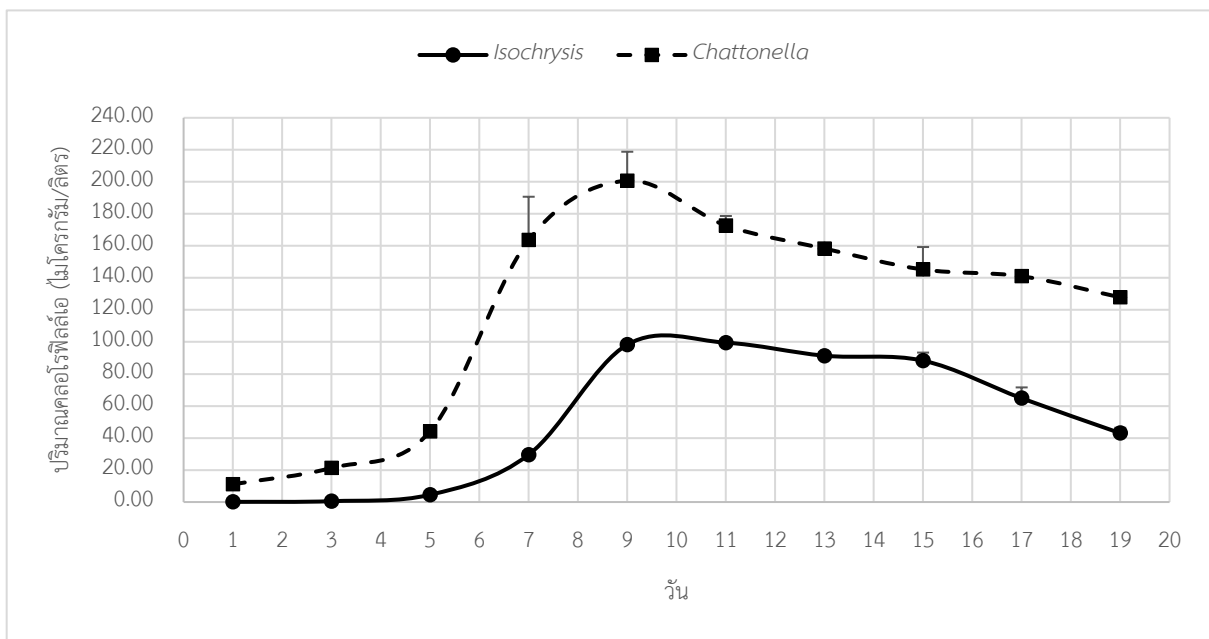
จากการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. และ *Chattonella* sp. ในสารอาหารสูตร T1 เป็นเวลา 20 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์กำลังการผลิตขั้นต้นทุก ๆ 2 วัน โดยใช้วิธีวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และคำนวณโดยใช้สูตรของ Environmental Information Office (I.E.S., 2000) พบว่า วันแรกของการทดลองกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. น้อยกว่า *Chattonella* sp. โดยมีค่า 0.48 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง และ 46.65 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง ตามลำดับ ภายหลังจากนั้นปริมาณกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืช *Chattonella* sp. มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว จนถึงวันที่ 9 มีกำลังการผลิตขั้นต้นสูงสุดเฉลี่ย 451.88 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงลดลงอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งมีปริมาณน้อยกว่า *Isochrysis* sp. และค่อนข้างคงที่ตั้งแต่วันที่ 13 ไปตลอดจนหมดระยะเวลาการทดลอง ในขณะเดียวกันปริมาณกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. ใน 5 วันแรก มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ และมีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 11 มีกำลังการผลิตขั้นต้นสูงสุดเฉลี่ย 333.56 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงลดลงอย่างต่อเนื่องไปตลอดจนหมดระยะเวลาการทดลอง ดังรูปที่ 11



รูปที่ 11 กำลังการผลิตของแพลงก์ตอนพืช

4.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ

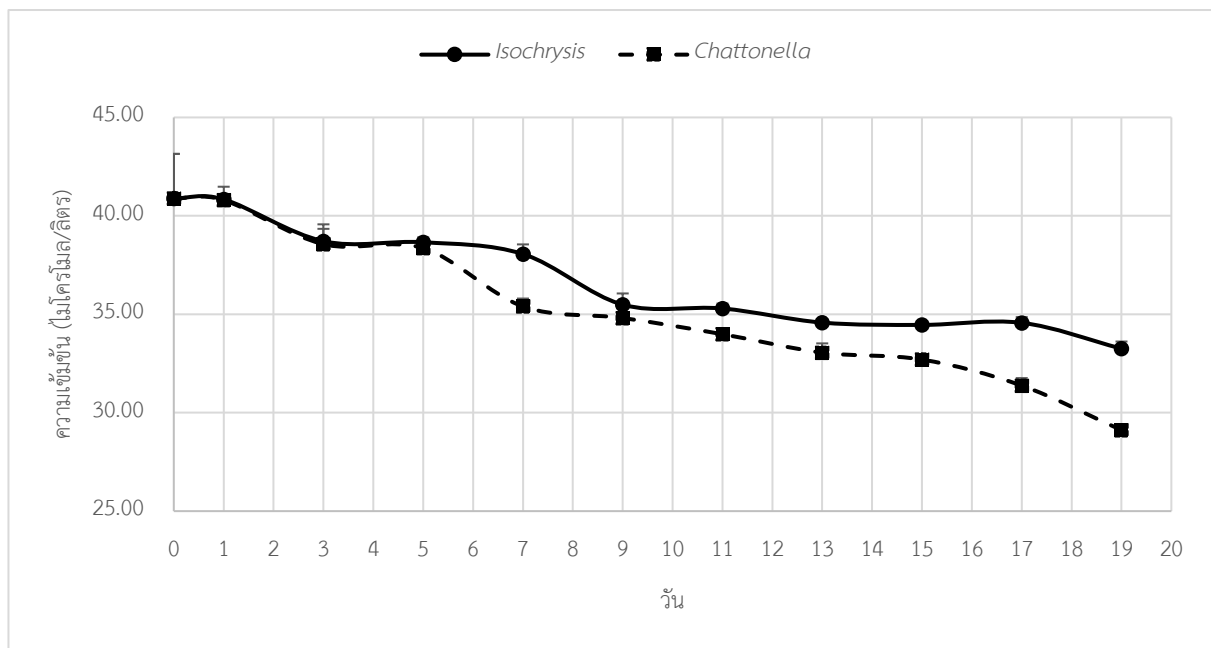
จากการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. และ *Chattonella* sp. ในสารอาหารสูตร T1 เป็นเวลา 20 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ทุก ๆ 2 วัน วัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (fluorometer) รุ่น LS-55 และนำไปหาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. น้อยกว่า *Chattonella* sp. โดยในวันแรกมีค่า 0.10 ไมโครกรัม/ลิตร และ 11.10 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ภายหลังจากนั้นปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ของแพลงก์ตอนพืช *Chattonella* sp. มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว จนถึงวันที่ 9 มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ สูงสุดเฉลี่ย 200.75 ไมโครกรัม/ลิตร หลังจากนั้นจึงลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งหมดระยะเวลาการทดลอง ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. ใน 5 วันแรก มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ และมีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 11 มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอสูงสุดเฉลี่ย 99.55 ไมโครกรัม/ลิตร หลังจากนั้นจึงลดลงอย่างต่อเนื่องไปตลอดจนหมดระยะเวลาการทดลอง ดังรูปที่ 12



รูปที่ 12 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืช

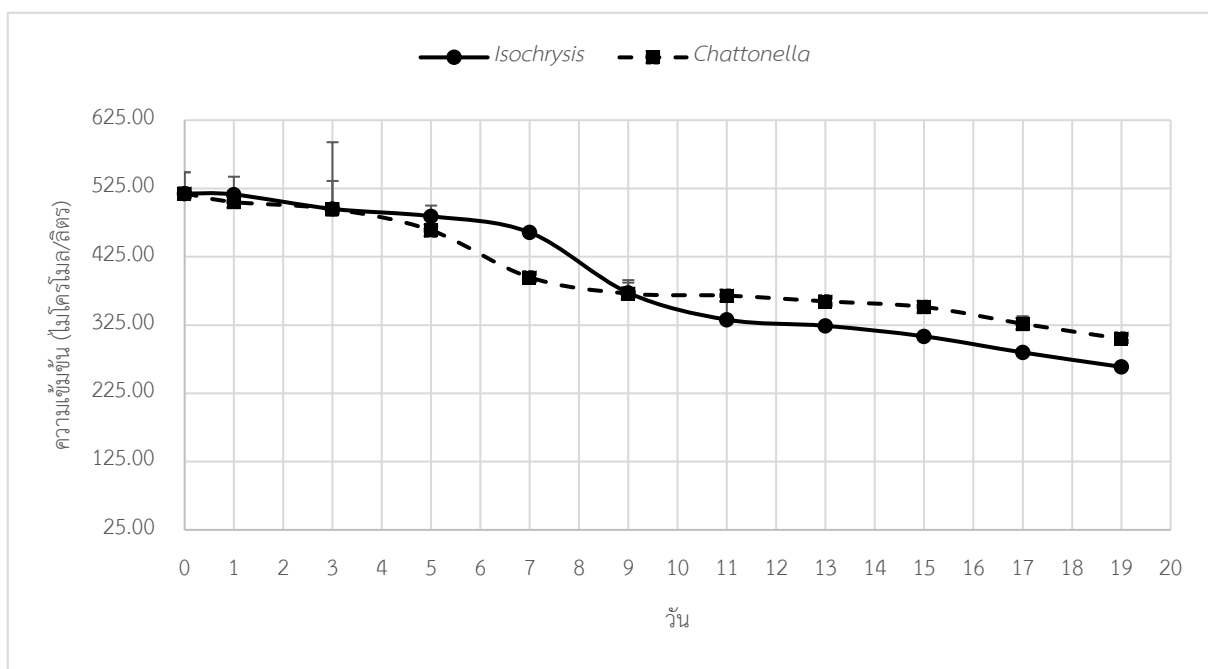
4.1.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหาร

จากการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. และ *Chattonella* sp. ในสารอาหารสูตร T1 เป็นเวลา 20 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเก็บน้ำตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณสารอาหาร ได้แก่ ปริมาณฟอสฟอรัสอินทรีย์ละลายน้ำ และ ปริมาณไนโตรเจนอินทรีย์ละลายน้ำ ทุก ๆ 2 วัน วัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ (spectrometer) รุ่น Specord 200 plus และนำไปหาความเข้มข้นของสารอาหารโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสอินทรีย์ละลายน้ำเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 40.89 ไมโครโมล/ลิตร หลังจากนั้นเมื่อมีการนำฟอสฟอรัสอินทรีย์ในมวลน้ำไปใช้ในการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 ชนิด ทำให้ในมวลน้ำมีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสอินทรีย์ลดลงต่อเนื่องไปตลอดจนหมดระยะเวลาการทดลอง โดยจะสังเกตเห็นได้ว่าแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. ใช้ปริมาณฟอสฟอรัสอินทรีย์ละลายน้ำน้อยกว่า *Chattonella* sp. และในวันสุดท้ายปริมาณฟอสฟอรัสอินทรีย์ละลายน้ำมีค่า 33.26 ไมโครโมล/ลิตร และ 29.11 ไมโครโมล/ลิตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 13



รูปที่ 13 ปริมาณฟอสฟอรัสอินทรีย์ละลายน้ำ

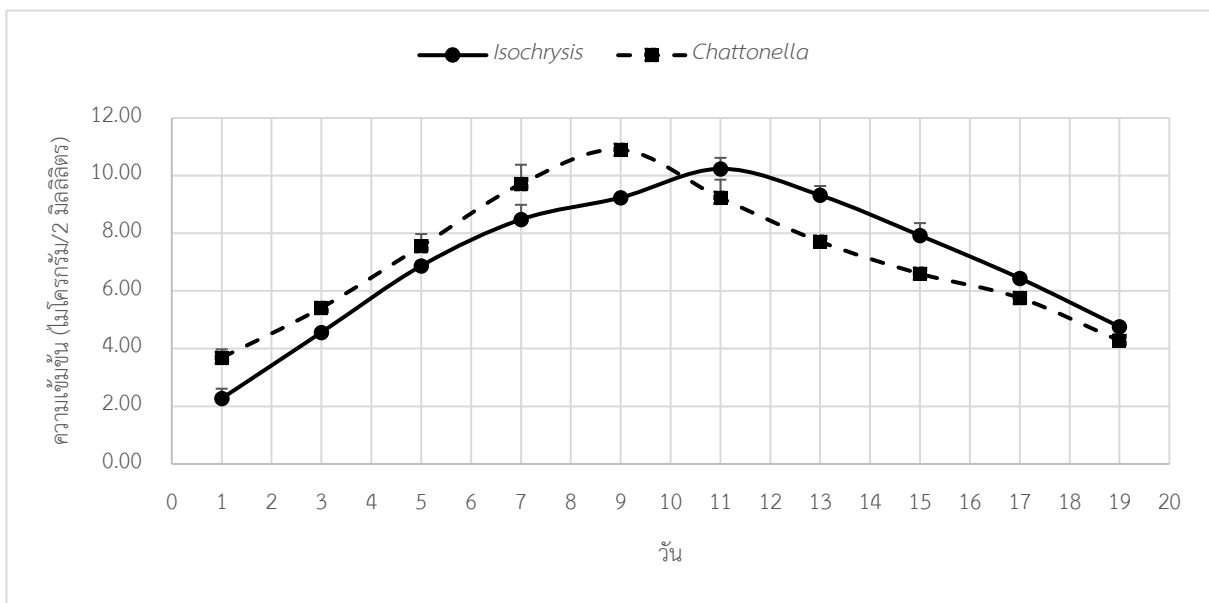
ปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ ประกอบด้วย ปริมาณไนเตรท ไนไตรท์ และแอมโมเนีย ในวันแรกของการทดลองปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำมีความเข้มข้น 517.65 ไมโครโมล/ลิตร เช่นเดียวกับปริมาณฟอสฟอรัสอนินทรีย์ละลายน้ำ มีการนำไนโตรเจนอนินทรีย์ในมวลน้ำไปใช้ในการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 ชนิด ทำให้ในมวลน้ำมีความเข้มข้นของไนโตรเจนอนินทรีย์ลดลงต่อเนื่องไปตลอดจนหมดระยะเวลาการทดลอง แต่มีข้อแตกต่างอยู่ที่แพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. ใช้ปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำมากกว่า *Chattonella* sp. และในวันสุดท้ายปริมาณปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำมีค่า 263.78 ไมโครโมล/ลิตร และ 304.92 ไมโครโมล/ลิตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 ปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำ

4.1.5 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์ไฮเดรตละลาย

จากการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. และ *Chattonella* sp. ในสารอาหารสูตร T1 เป็นเวลา 20 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณคาร์ไฮเดรตละลายทุก ๆ 2 วัน โดยใช้วิธี phenol-sulfuric acid method และคำนวณความเข้มข้นจาก calibration curve พบว่า วันแรกของการทดลองปริมาณคาร์ไฮเดรตละลายของแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. น้อยกว่า *Chattonella* sp. โดยมีค่า 2.27 ไมโครกรัม/2 มิลลิลิตร และ 3.69 ไมโครกรัม/2 มิลลิลิตร ตามลำดับ ภายหลังจากนั้นปริมาณคาร์ไฮเดรตละลายของแพลงก์ตอนพืช *Chattonella* sp. มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว จนถึงวันที่ 9 มีปริมาณคาร์ไฮเดรตละลายสูงสุดเฉลี่ย 10.90 ไมโครกรัม/2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นจึงลดลงอย่างต่อเนื่องไปตลอดจนหมดระยะเวลาการทดลอง ในขณะที่ปริมาณคาร์ไฮเดรตละลายของแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 11 มีกำลังการผลิตขั้นต้นสูงสุดเฉลี่ย 10.24 ไมโครกรัม/2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นจึงลดลงอย่างต่อเนื่องไปตลอดจนหมดระยะเวลาการทดลอง ดังรูปที่ 15



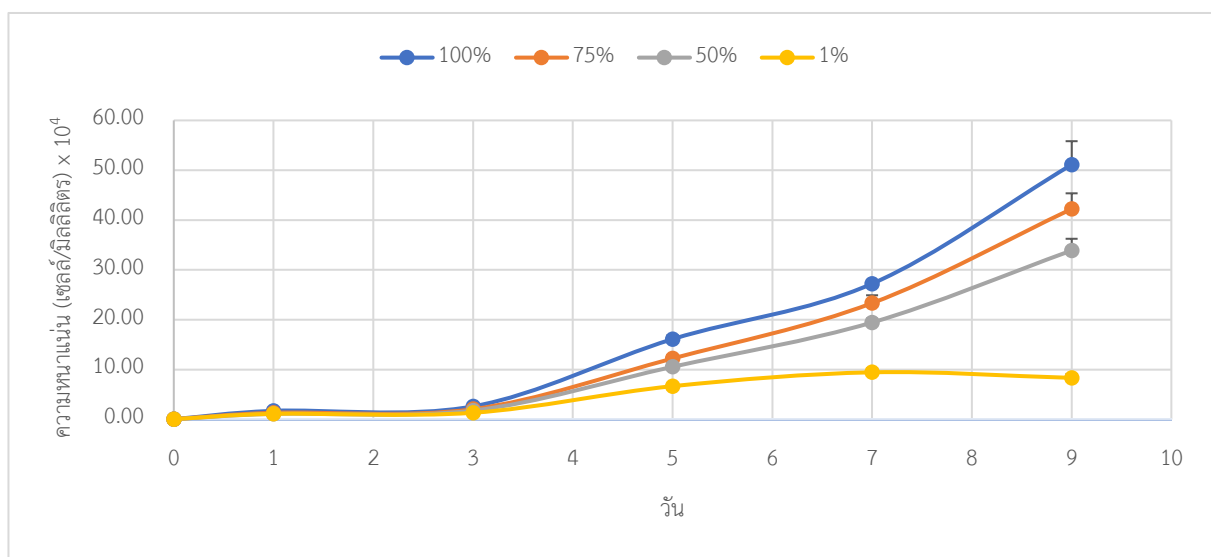
รูปที่ 15 ปริมาณคาร์ไฮเดรตละลาย

4.2 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม

4.2.1 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% ของสารอาหารสูตร T1

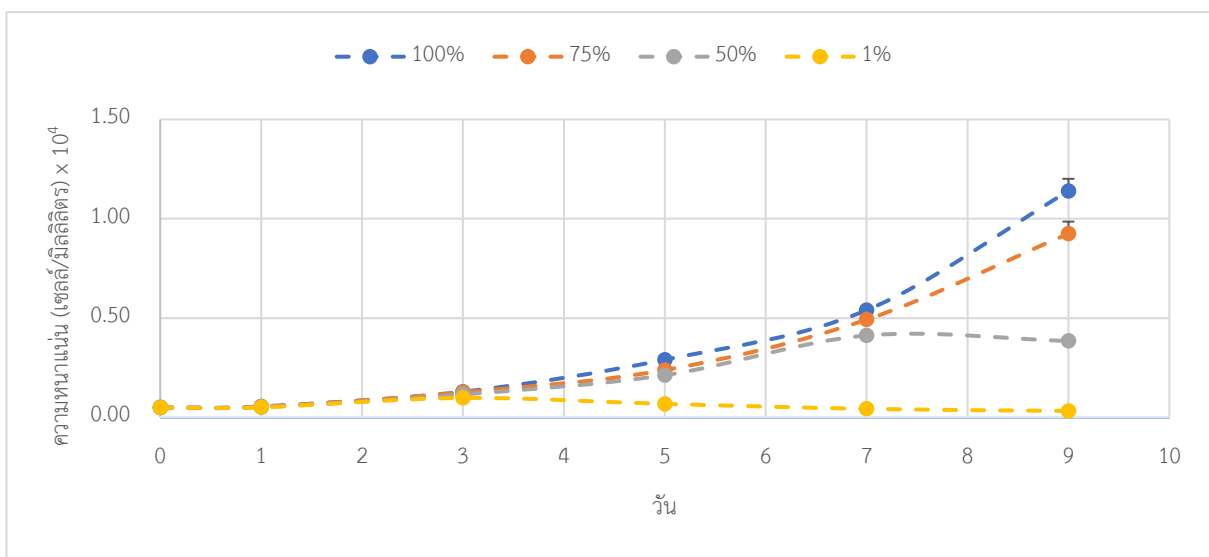
1) การเพาะเลี้ยงและการนับจำนวนแพลงก์ตอนพืช

จากการทดลองเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. และ *Chattonella* sp. รวมกันโดยมีความหนาแน่นเริ่มต้นชนิดละ 0.05×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ในสารอาหารสูตร T1 ที่ระดับเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% เป็นเวลา 10 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเก็บตัวอย่างมานับจำนวนแพลงก์ตอนที่เพิ่มขึ้นทุก ๆ 2 วัน พบว่า แพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสารอาหารทุกระดับความเข้มข้น และมีความหนาแน่นแปรผันตามความเข้มข้นของระดับสารอาหาร โดยในวันสุดท้ายของการทดลองความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. ในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% มีค่า 51.11, 42.22, 33.89 และ 8.33×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ จากรูปที่ 16 จะเห็นได้ว่าความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืชชนิดนี้ ในสารอาหารระดับความเข้มข้น 1% มีแนวโน้มเริ่มลดลง ในขณะที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง



รูปที่ 16 ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp.

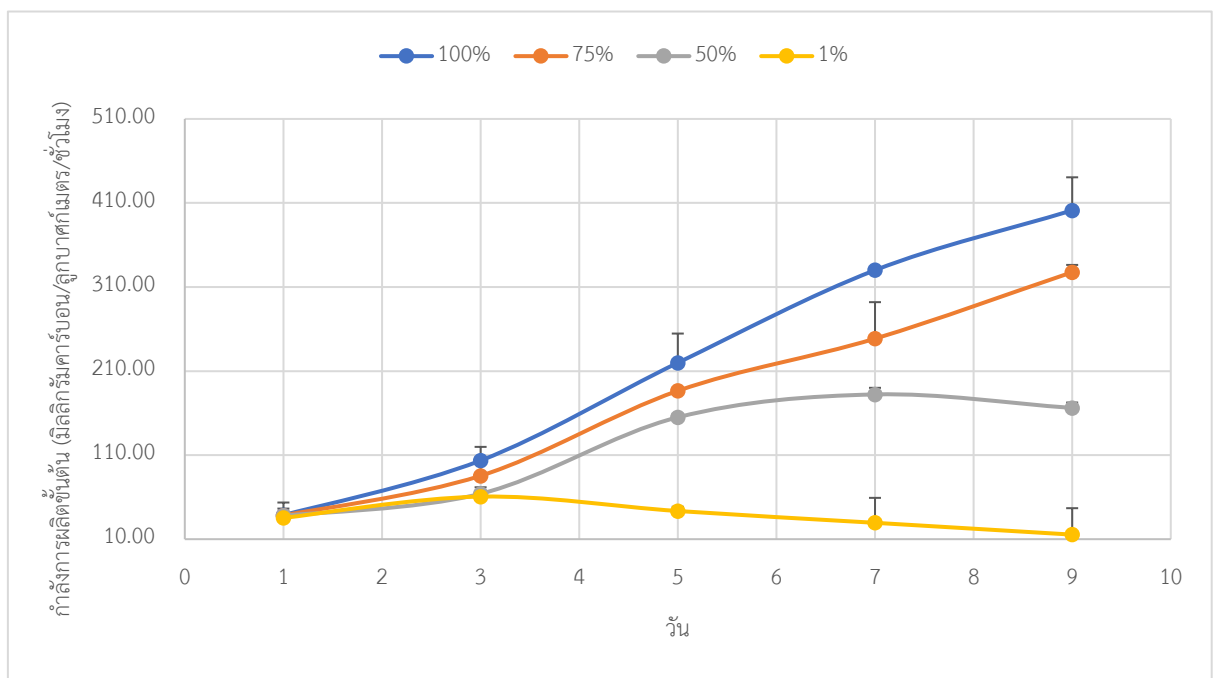
แพลงก์ตอนพืช *Chattonella* sp. สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% 75% และ 50% โดยระดับความหนาแน่นแปรผันตามความเข้มข้นของระดับสารอาหาร โดยในวันสุดท้ายของการทดลองความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช *Chattonella* sp. ในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% มีค่า 1.14 0.93 0.39 และ 0.03×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ จากรูปที่ 17 จะเห็นได้ว่าความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืชชนิดนี้ ในสารอาหารระดับความเข้มข้น 50% มีแนวโน้มลดลงตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1% ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนมีแนวโน้มเริ่มลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่วันที่ 5 ของการทดลอง ในขณะที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง



รูปที่ 17 ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช *Chattonella* sp.

2) การวิเคราะห์กำลังการผลิตขั้นต้น

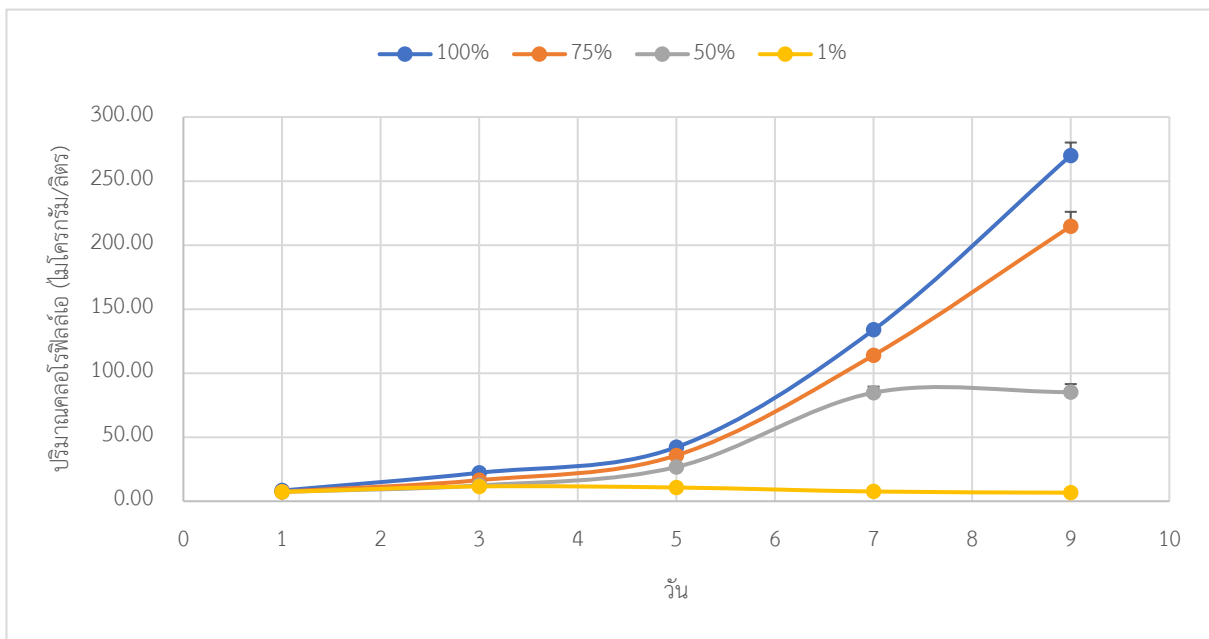
จากการทดลองเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. และ *Chattonella* sp. รวมกันในสารอาหารสูตร T1 ที่ระดับเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% เป็นเวลา 10 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์กำลังการผลิตขั้นต้นทุก ๆ 2 วัน โดยใช้วิธีวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และคำนวณโดยใช้สูตรของ Environmental Information Office (I.E.S., 2000) พบว่า กำลังการผลิตขั้นต้นแปรผันตามความเข้มข้นของระดับสารอาหาร จากรูปที่ 18 จะเห็นได้ว่ากำลังการผลิตขั้นต้นในสารอาหารระดับความเข้มข้น 50% มีแนวโน้มลดลงตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1% กำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนมีแนวโน้มเริ่มลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่วันที่ 5 ของการทดลอง ในขณะที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในวันสุดท้ายของการทดลองกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืช ในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% มีค่า 401.21 327.62 166.18 และ 15.43 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง ตามลำดับ



รูปที่ 18 กำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

3) การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ

จากการทดลองเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. และ *Chattonella* sp. รวมกันในสารอาหารสูตร T1 ที่ระดับเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% เป็นเวลา 10 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอทุก ๆ 2 วัน วัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ รุ่น LS-55 และนำไปหาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์เอแปรผันตามความเข้มข้นของระดับสารอาหาร จากรูปที่ 19 จะเห็นได้ว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เอในสารอาหารระดับความเข้มข้น 50% มีแนวโน้มลดลงตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1% ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนมีแนวโน้มเริ่มลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่วันที่ 5 ของการทดลอง ในขณะที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในวันสุดท้ายของการทดลองปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืช ในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% มีค่า 270.00 214.76 85.17 และ 6.67 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ



รูปที่ 19 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

4) การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหาร

ตารางที่ 1 ปริมาณฟอสฟอรัสอินทรีย์และไนโตรเจนละลายน้ำในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

| Nutrient | Day | Concentration of T1 | | | |
|----------|-----|---------------------|----------------|----------------|--------------|
| | | 100% | 75% | 50% | 1% |
| DIP (uM) | 0 | 50.54 ± 1.87 | 42.44 ± 0.74 | 30.72 ± 3.51 | 1.98 ± 0.43 |
| | 9 | 26.74 ± 0.04 | 19.61 ± 0.09 | 11.01 ± 0.01 | 0.32 ± 0.01 |
| DIN (uM) | 0 | 463.17 ± 11.58 | 365.96 ± 13.88 | 240.56 ± 22.94 | 12.35 ± 1.33 |
| | 9 | 252.33 ± 13.69 | 148.21 ± 18.53 | 84.29 ± 15.72 | 2.91 ± 0.63 |

(DIP: Dissolved Inorganic Phosphorus และ DIN: Dissolved Inorganic Nitrogen)

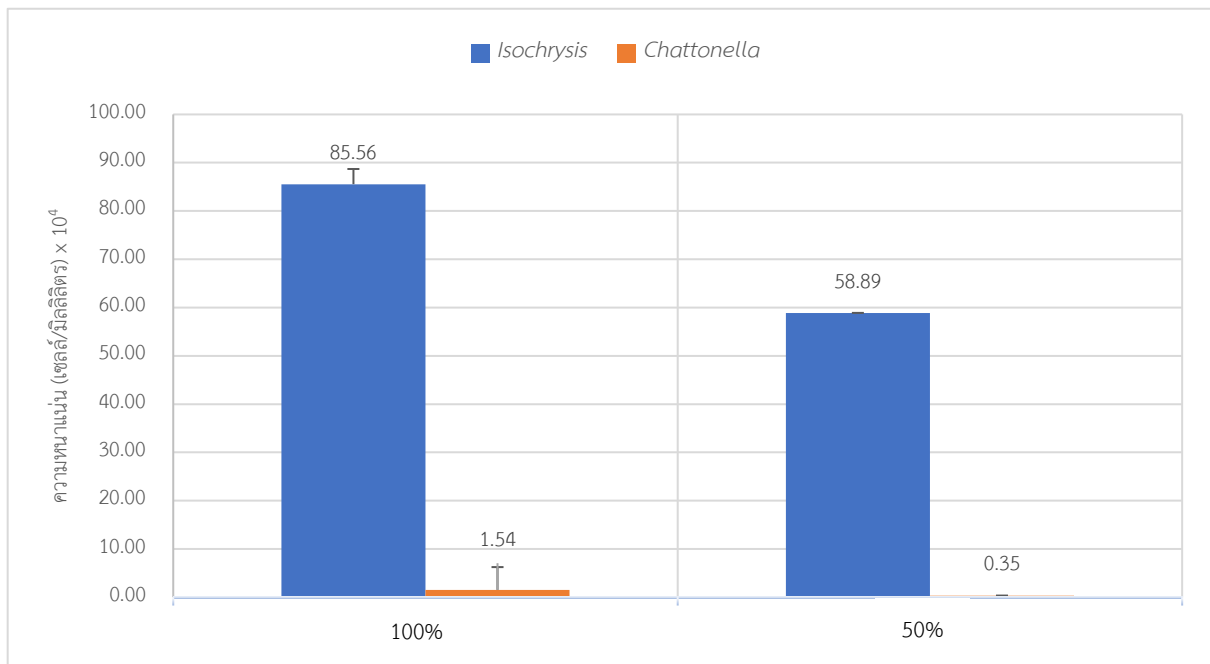
จากการทดลองเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. และ *Chattonella* sp. รวมกันในสารอาหารสูตร T1 ที่ระดับเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% เป็นเวลา 10 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารในวันแรกและวันสุดท้ายของการทดลอง วัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ (spectrometer) รุ่น Specord 200 plus และนำไปหาความเข้มข้นของสารอาหารโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน พบว่า ในวันแรกของการทดลองสารอาหารสูตร T1 ที่ระดับเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% มีค่าฟอสฟอรัสอินทรีย์ละลายน้ำ 50.54 42.44 30.72 และ 1.98 ไมโครโมล/ลิตร ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไปแพลงก์ตอนพืชได้นำสารอาหารเหล่านี้ไปใช้ในการเจริญเติบโต ทำให้สารอาหารที่มีในน้ำลดลง และในวันสุดท้ายของการทดลอง ค่าฟอสฟอรัสอินทรีย์ละลายน้ำในสารอาหารสูตร T1 ที่ระดับเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% มีค่า 26.74 19.61 11.01 และ 0.32 ไมโครโมล/ลิตร ตามลำดับ

เช่นเดียวกับค่าไนโตรเจนอินทรีย์ละลายน้ำ ในวันแรกของการทดลองสารอาหารสูตร T1 ที่ระดับเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% มีค่าไนโตรเจนอินทรีย์ละลายน้ำ 463.17 365.96 240.56 และ 12.35 ไมโครโมล/ลิตร ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไปสารอาหารที่มีในน้ำลดลง และในวันสุดท้ายของการทดลอง ค่าไนโตรเจนอินทรีย์ละลายน้ำในสารอาหารสูตร T1 ที่ระดับเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% มีค่า 252.33 148.21 84.29 และ 2.91 ไมโครโมล/ลิตร ตามลำดับ

4.2.2 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% ของสารอาหารสูตร T1

1) การเพาะเลี้ยงและการนับจำนวนแพลงก์ตอนพืช

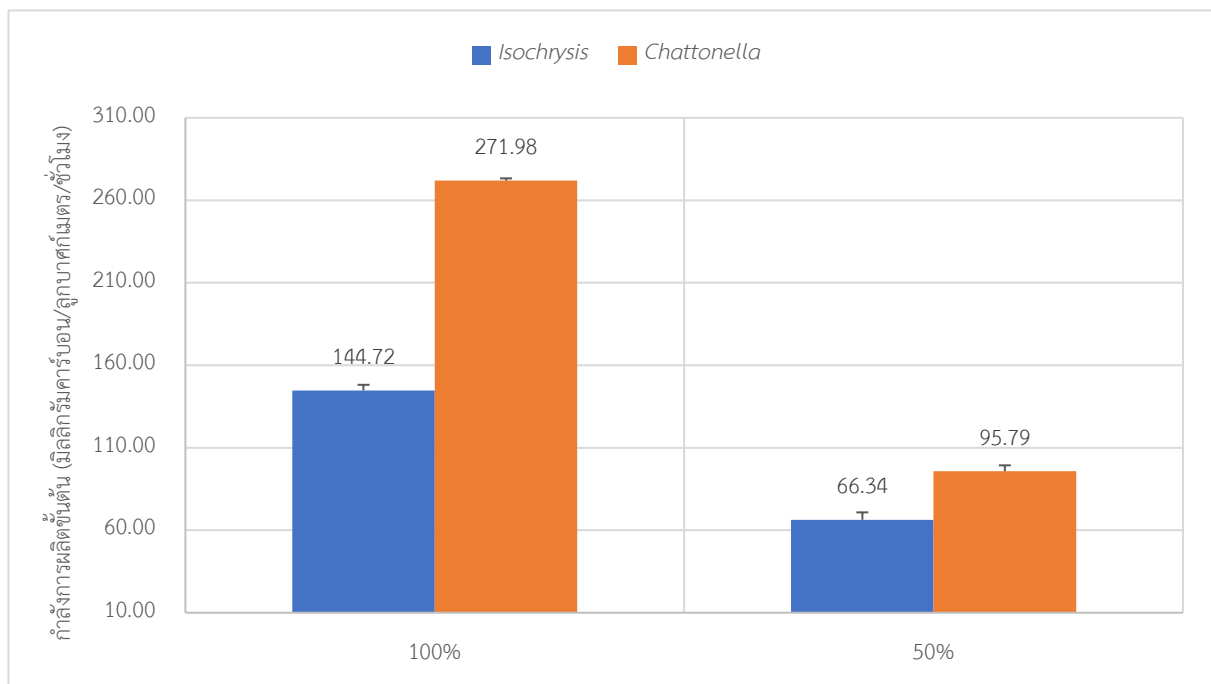
จากการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม การเลี้ยงแพลงก์ตอนในห้องปฏิบัติการ ณ วันที่ 10 ได้เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนที่เลี้ยงในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% นำมานับจำนวนแพลงก์ตอนทั้ง 2 ชนิด ดังรูปที่ 20 แพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. มีความหนาแน่นในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% มีค่า 85.56 และ 58.89×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันแพลงก์ตอนพืช *Chattonella* sp. มีความหนาแน่นในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% มีค่า 1.54 และ 0.35×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ



รูปที่ 20 ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50%

2) การวิเคราะห์กำลังการผลิตขั้นต้น

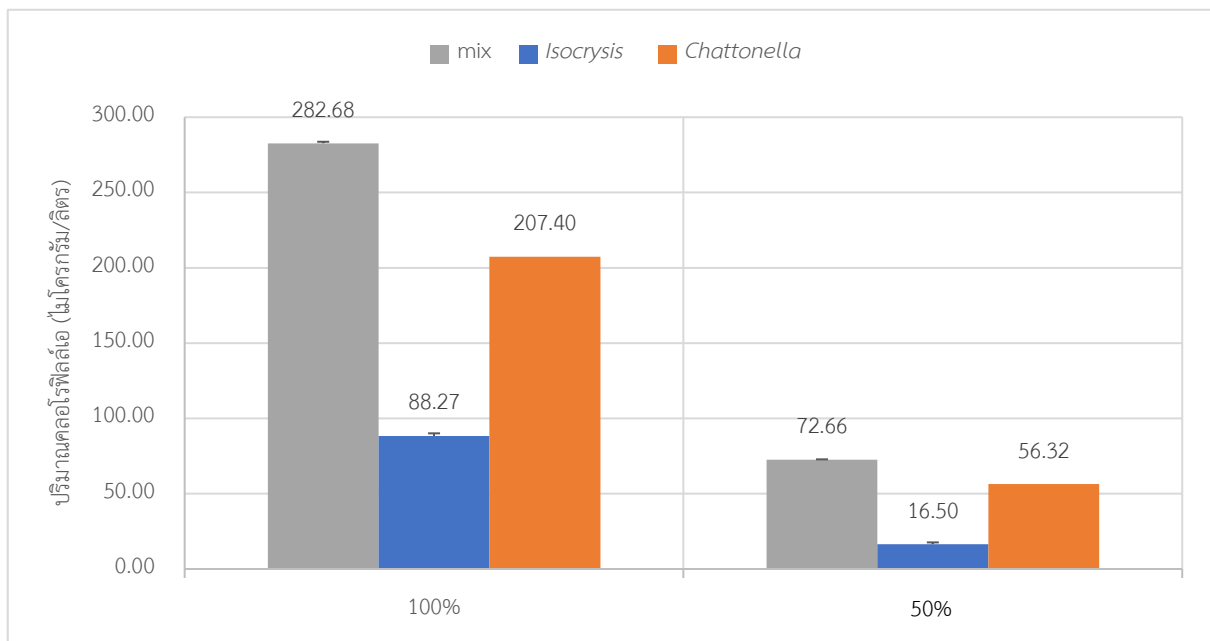
จากการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสถานะเลี้ยงรวม การเลี้ยงแพลงก์ตอนในห้องปฏิบัติการ ณ วันที่ 10 ได้เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนที่เลี้ยงในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% นำมาหากำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนทั้ง 2 ชนิด โดยใช้วิธีวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และคำนวณโดยใช้สูตรของ Environmental Information Office (I.E.S., 2000) พบว่า กำลังการผลิตขั้นต้นรวมในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% มีค่า 435.27 และ 158.62 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อทำการแยกขนาดแพลงก์ตอนออกจากกัน และนำไปหากำลังการผลิตขั้นต้นด้วยวิธีเดียวกัน พบว่า แพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. มีกำลังการผลิตขั้นต้นในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% มีค่า 144.72 และ 66.34 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่แพลงก์ตอนพืช *Chattonella* sp. มีกำลังการผลิตขั้นต้นรวมในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% มีค่า 271.21 และ 95.79 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง ตามลำดับ ดังรูปที่ 21



รูปที่ 21 กำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50%

3) การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ

จากการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม การเลี้ยงแพลงก์ตอนในห้องปฏิบัติการ ณ วันที่ 10 ได้เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนที่เลี้ยงในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนทั้ง 2 ชนิด วัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ รุ่น LS-55 และนำไปหาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์เอรวม ในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% มีค่า 282.68 และ 72.66 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการแยกขนาดแพลงก์ตอนออกจากกัน และนำไปหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอด้วยวิธีเดียวกัน พบว่า แพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% มีค่า 88.27 และ 16.50 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่แพลงก์ตอนพืช *Chattonella* sp. มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% มีค่า 207.40 และ 56.32 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 22



รูปที่ 22 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50%

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการศึกษา

5.1 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในสถานะเลี้ยงเดี่ยว

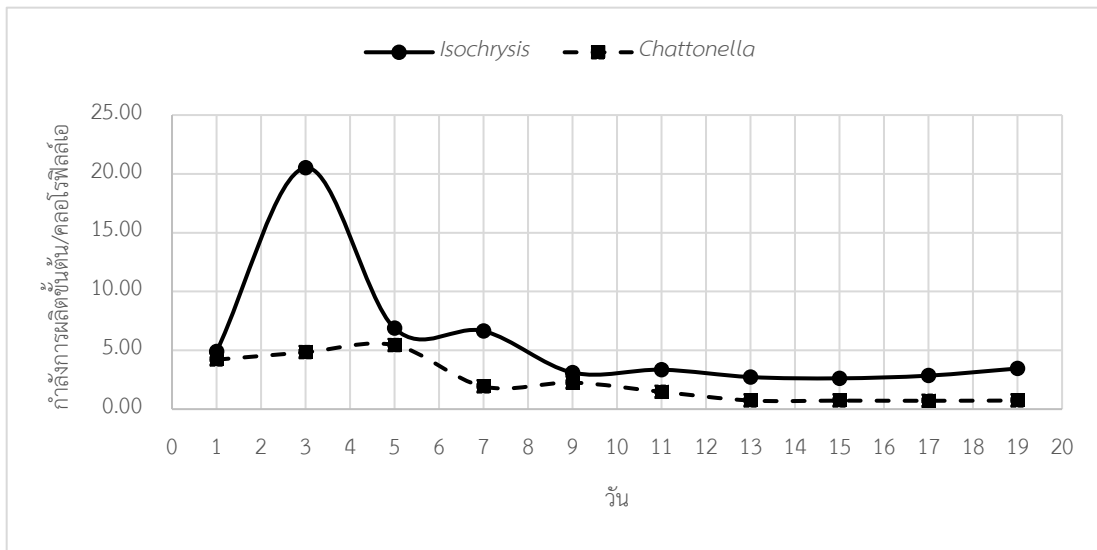
จากการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดเป็นเวลา 20 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 วัน เพื่อนำมาศึกษา กำลังการผลิตขั้นต้นและปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ พบว่า ขนาดของ *Isochrysis* sp. (4.330 ± 0.771 ไมโครเมตร) จัดอยู่ในกลุ่มของฟิโคแพลงก์ตอน และขนาดของ *Chattonella* sp. (ความกว้างเฉลี่ย 23.181 ± 3.318 ไมโครเมตร และความยาวเฉลี่ย 30.346 ± 3.379 ไมโครเมตร) จัดอยู่ในกลุ่มของนาโนแพลงก์ตอน (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539) เมื่อเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนทั้ง 2 ชนิด พบว่า นาโนแพลงก์ตอนมีการเพิ่มจำนวนที่รวดเร็วและมีกำลังการผลิตขั้นต้นสูงกว่าฟิโคแพลงก์ตอน เนื่องจากเซลล์มีขนาดใหญ่และมีจำนวนคลอโรฟิลล์เอมากกว่า แม้จะมีจำนวนเซลล์น้อยกว่าฟิโคแพลงก์ตอนมากก็ตาม ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับปัจจัยแวดล้อมที่เกี่ยวข้อง ประกอบด้วย ความหนาแน่นของเซลล์ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตละลายน้ำ และปริมาณสารอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Børsheim et al. (2005) ที่พบว่า ในขณะที่ปริมาณมวลชีวภาพ (biomass) ผลผลิตเบื้องต้น (primary production) สารอินทรีย์คาร์บอนละลายน้ำ (DOC) สารอินทรีย์คาร์บอนโดยรวม (TOC) ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคาร์โบไฮเดรตละลายน้ำ มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ปริมาณสารอาหารจะลดลงอย่างชัดเจน ทั้งนี้ยังพบว่า ในช่วงแบ่งตัวจนกระทั่งมีความหนาแน่นสูงสุด (exponential phase) นาโนแพลงก์ตอนใช้สารอาหารในมวลน้ำต่อเซลล์มากกว่าฟิโคแพลงก์ตอน โดยนาโนแพลงก์ตอนและฟิโคแพลงก์ตอนมีการใช้สารอาหารต่อเซลล์เฉลี่ย 4.228 pmol P/cell และ 0.009 pmol P/cell ตามลำดับ ซึ่งปริมาณฟอสฟอรัสและไนโตรเจนอนินทรีย์ที่ละลายอยู่ในมวลน้ำ ถือว่าเป็นสิ่งที่ควบคุมการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชบริเวณชายฝั่ง (Correll, 1999) สารอาหารสูตร T1 ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนมีปริมาณฟอสฟอรัสและไนโตรเจนอนินทรีย์ละลายน้ำที่มากเกินไป จึงสามารถกระตุ้นให้นาโนแพลงก์ตอนสังเคราะห์แสงมาก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yamaguchi et al. (2004) พบว่า *Chattonella* sp. มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในช่วงสัปดาห์แรก มีค่าสูงถึง 79% ต่อวัน สามารถนำสารอาหารเข้าเซลล์ได้มากถึง 5.5 pmol P/cell ซึ่งในธรรมชาตินาโนแพลงก์ตอนมักพบได้บริเวณชายฝั่ง (ปริยานุช เจริญสุข, 2561) ซึ่งเป็นบริเวณที่มีสารอาหารมากและมีกำลังการผลิตขั้นต้นสูง นอกจากนี้การเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของนาโนแพลงก์ตอนสามารถนำไปสู่การเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี ที่จะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศและมนุษย์ได้ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539) ในทางกลับกัน ฟิโคแพลงก์ตอนมักพบบริเวณไกลจากฝั่ง ซึ่งเป็นบริเวณที่มีสารอาหารจำกัด แม้ว่าการทดลองมีการให้สารอาหารที่มากเกินไป ฟิโคแพลงก์ตอนยังมีอัตราการเจริญเติบโตช้าในระยะแรก และจะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในเวลาต่อมา ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaplan et al. (1985) และ Grima et al. (1994) พบว่า *Isochrysis* sp. มีอัตราการเจริญเติบโต 38% ต่อวัน

5.2 การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม

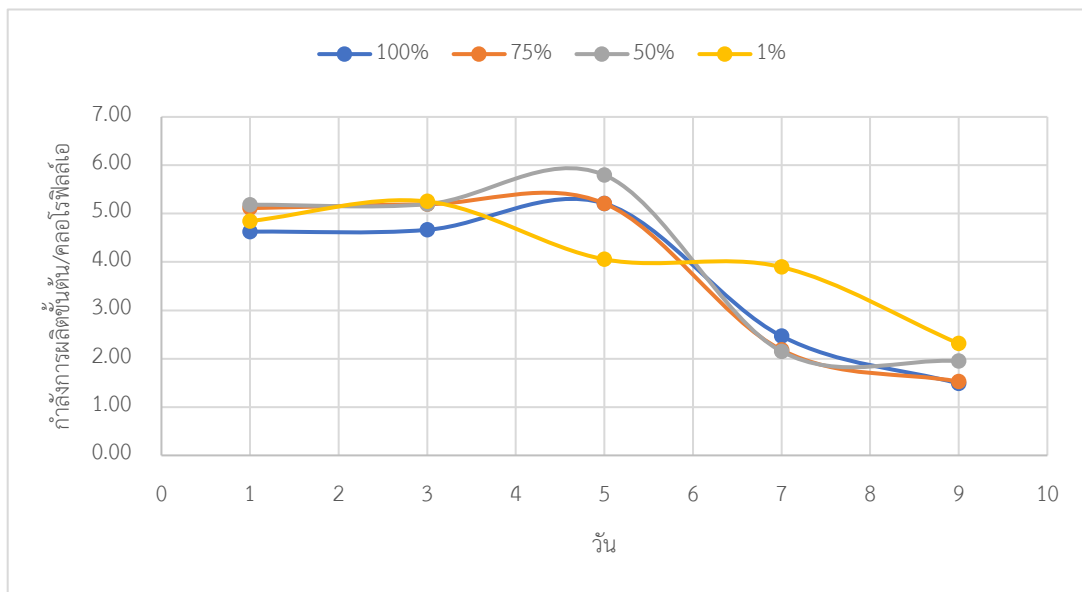
จากการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดรวมกันในสารอาหารสูตร T1 ที่ระดับความเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% เป็นเวลา 10 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 วัน พบว่า ในสภาวะเลี้ยงรวมซึ่งมีการแข่งขัน แพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 ชนิด จะมีขนาดเซลล์ที่ลดลงเมื่อเทียบกับการทดลองในสภาวะเดี่ยว และกำลังการผลิตขั้นต้นรวมของแพลงก์ตอนพืชแปรผันตรงกับระดับความเข้มข้นของสารอาหาร ซึ่งมีผลสอดคล้องกับปัจจัยแวดล้อม ประกอบด้วย ความหนาแน่น ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และปริมาณสารอาหาร เมื่อพิจารณาสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1% ในสภาวะแข่งขันและมีความจำกัดของสารอาหารชัดเจน พบว่า ในระยะ 1-3 วันแรกของการทดลอง ในมวลน้ำยังมีสารอาหารที่เพียงพอสำหรับแพลงก์ตอนพืชใช้ในการเจริญเติบโต สังเกตได้จากกราฟที่ 9 ที่มีกำลังการผลิตขั้นต้นที่ใกล้เคียงกันในทุกกระดับความเข้มข้น หลังจากนั้นเมื่อสารอาหารในมวลน้ำลดลง นาโนแพลงก์ตอนลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว แต่ไฟโคแพลงก์ตอนยังสามารถเพิ่มจำนวนและดำรงชีวิตอยู่ได้ในอีกระยะหนึ่ง และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของฟอสฟอรัสอินทรีย์ละลายน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 1% พบว่า มีค่า 1.98 ไมโครโมล/ลิตร ซึ่งเทียบได้กับบริเวณที่ห่างจากปากแม่น้ำบางปะกงประมาณ 45.85 11.86 และ 31.47 กิโลเมตร ในฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อน ตามลำดับ (ปราโมทย์ ไชยศิริ, 2562)

นอกจากนี้จากการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% ของสารอาหารสูตร T1 ในวันที่ 10 ของการทดลอง รูปที่ 20 21 และ 22 พบว่า ความหนาแน่นของไฟโคแพลงก์ตอนมากกว่านาโนแพลงก์ตอน แต่เนื่องจากเซลล์มีขนาดเล็กกว่าถึง 7.5 เท่า จึงมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอน้อยกว่านาโนแพลงก์ตอน ส่งผลให้กำลังการผลิตขั้นต้นน้อยตามไปด้วย ซึ่งมีผลสอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้า กล่าวคือ นาโนแพลงก์ตอนมีกำลังการผลิตขั้นต้นสูงกว่าไฟโคแพลงก์ตอน และนาโนแพลงก์ตอนมีส่วนของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อเซลล์สูงกว่าไฟโคแพลงก์ตอน 100-240 เท่า

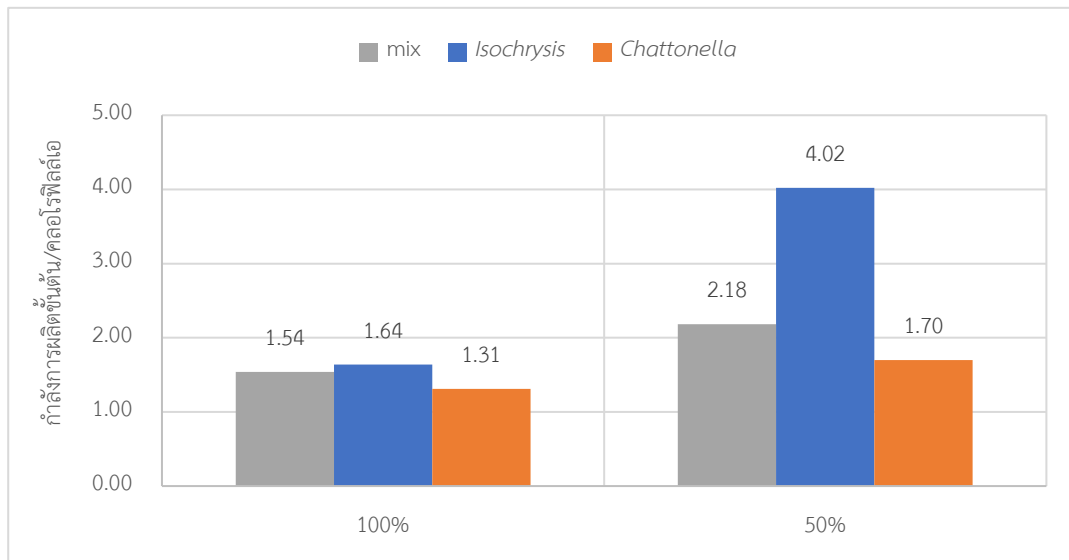
อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณารูปที่ 23 24 และ 25 ประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 การทดลอง แสดงให้เห็นว่าไฟโคแพลงก์ตอนมีประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอมากกว่านาโนแพลงก์ตอน ไม่ว่าจะอยู่ในสภาวะเลี้ยงเดี่ยว สภาวะเลี้ยงรวม หรือสภาวะที่มีสารอาหารจำกัดก็ตาม โดยเซลล์จะมีประสิทธิภาพสูงในช่วง 2-3 วันแรกของการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปรียานุช เจริญสุข (2561) ที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอของแพลงก์ตอนพืชขนาดต่าง ๆ ในอ่าวไทย



รูปที่ 23 ประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอของการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาด ในสภาวะเลี้ยงเดี่ยว



รูปที่ 24 ประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นรวมต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอในการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาวะเลี้ยงรวม



รูปที่ 25 ประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอในการทดลองเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% และ 50% ของสารอาหารสูตร T1

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

การเปรียบเทียบกำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 ชนิด ในสภาวะเลี้ยงเดี่ยว พบว่า *Chattonella* sp. ซึ่งเป็นนาโนแพลงก์ตอน มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วและมีกำลังการผลิตขั้นต้นอยู่ในช่วง 46.65 - 451.88 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง โดยมีกำลังการผลิตขั้นต้นสูงกว่า *Isochrysis* sp. ซึ่งเป็นฟิโคแพลงก์ตอน (0.48 - 333.56 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง) ผลการทดลองดังกล่าว สอดคล้องกับปัจจัยแวดล้อม ประกอบด้วย ความหนาแน่นของเซลล์ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตละลายน้ำที่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น และปริมาณสารอาหารที่ลดลงอย่างชัดเจน และเมื่อนำแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 ชนิด มาเลี้ยงรวมกัน ในสภาวะแข่งขันและมีความจำกัดของสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 100% 75% 50% และ 1% พบว่า แพลงก์ตอนพืชทั้งสองชนิดมีขนาดเล็กและกำลังการผลิตขั้นต้นรวมของแพลงก์ตอนพืชอยู่ในช่วง 38.61 - 401.21 38.23 - 327.62 37.87 - 166.18 และ 15.43 - 60.67 มิลลิกรัมคาร์บอน/ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งแปรผันตรงกับระดับความเข้มข้นของสารอาหาร และมีความสอดคล้องกับปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ โดยสารอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1% ซึ่งมีความจำกัดของสารอาหารใกล้เคียงในธรรมชาติ พบว่า นาโนแพลงก์ตอนลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว แต่ฟิโคแพลงก์ตอนยังสามารถเพิ่มจำนวนและดำรงชีวิตอยู่ได้

นอกจากนี้ยังพบว่าฟิโคแพลงก์ตอนมีประสิทธิภาพของกำลังการผลิตขั้นต้นต่อหน่วยคลอโรฟิลล์เอ มากกว่านาโนแพลงก์ตอน ไม่ว่าจะอยู่ในสภาวะเลี้ยงเดี่ยว สภาวะเลี้ยงรวม หรือสภาวะที่มีสารอาหารจำกัด โดยการวิเคราะห์กำลังการผลิตขั้นต้นผู้ศึกษาได้ใช้วิธีวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแก๊สออกซิเจนละลายน้ำ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและแม่นยำในระดับหนึ่ง ในอนาคตอาจจะพัฒนาหรือปรับเปลี่ยนวิธีวิเคราะห์ให้สะดวกและแม่นยำมากยิ่งขึ้น เช่น การใช้ธาตุไอโซโทป C-13 หรือ C-14 เป็นต้น อย่างไรก็ตามการศึกษากำลังการผลิตขั้นต้นของแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะใช้ในการศึกษากำลังการผลิตขั้นต้นทางทะเลต่อไปในอนาคต และเนื่องจากในธรรมชาติยังมีสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กกว่าฟิโคแพลงก์ตอน เช่น แบคทีเรีย การศึกษากำลังการผลิตขั้นต้นของแบคทีเรียจึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจศึกษาต่อไปในอนาคต อีกทั้งพบว่า แบคทีเรียมีบทบาทสำคัญในการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก ซึ่งอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศอย่างรวดเร็ว (Singh B.K., 2010)

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2536. แผ่นพับคำแนะนำเกษตรกรประมงเกี่ยวกับน้ำเปลี่ยนสี.
- ปราโมทย์ ไชยศิริ. 2562. การแพร่กระจายของปริมาณสารอาหารอินทรีย์. โครงการพัฒนาขีด
ความสามารถในการในการตรวจเฝ้าระวังทางสมุทรศาสตร์สิ่งแวดล้อมในบริเวณอ่าวไทยตอนใน.
- ปรียานุช เจริญสุข. 2561. กำลังการผลิตขั้นต้นของกลุ่มแพลงก์ตอนพืชต่างขนาดบริเวณอ่าวไทยตอนใน.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2539. แพลงก์ตอนพืช (Phytoplankton). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Børsheim, K.Y., Vadstein, O., Mykkestad S.M., Reinertsen, H., Kirkvold, S., and Olsen, Y. 2005.
Photosynthetic algal production, accumulation and release of phytoplankton storage
carbohydrates and bacterial production in a gradient in daily nutrient supply.
Journal of plankton research. 27(8): 743–755.
- Correll, D.L. 1999. Phosphorus: A Rate Limiting Nutrient in Surface Water. Poultry Science.
78: 647-682.
- Cullen, J.J. 2001. Primary production method. Department of Oceanography, Halifax,
Canada. doi:10.1006/rwos.2001.0203
- Grasshoff, K., Kremling, K., and Ehrhardt, M. 1999. Determination of nutrients. Methods of
Seawater Analysis. 10: 159-228.
- Grima, E.M., Perez, J.A., Camacho, F.G., Sanchez, J.L., Fernandez, F.G., and Alonso, D.L. 1994.
Outdoor culture of *Isochrysis galbana* ALII-4 in a closed tubular photobioreactor.
Journal of Biotechnology. 37: 159-166.
- I.E.S., E. I. O. a. 2000. Phytoplankton Productivity. Environmental Research and
Teaching. University of Toronto. 4 pp.
- Kaplan, D., Cohen Z., and Abeliovich, A. 1985. Optimal Growth Conditions for *Isochrysis
galbana*. Biomass. 9: 37-48.
- Ogata, T., Kodama, M., and Ishimaru, T. 1987. Toxin production in the dinoflagellate
Protogonyaulax tamarensis. Toxicon. 25(9): 923-928.

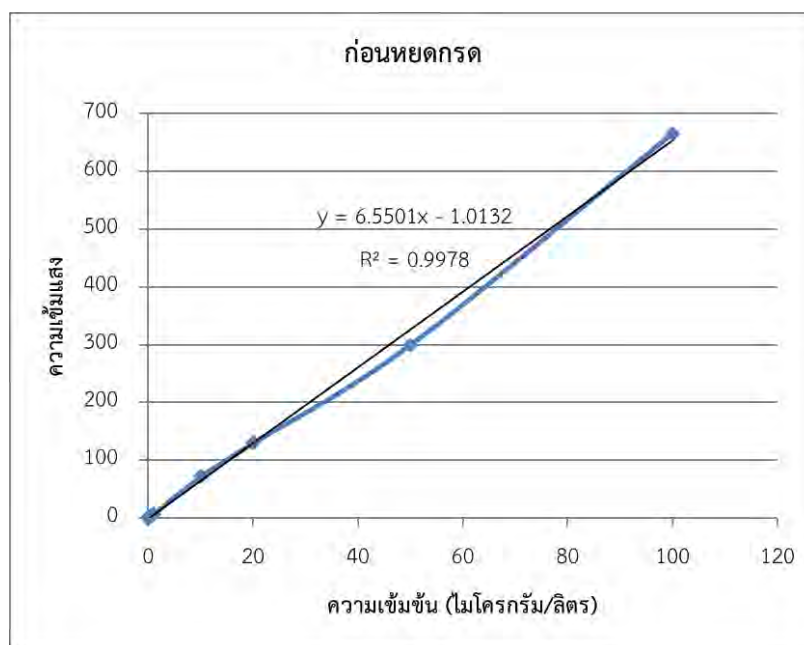
- Omori, M., and Ikeda, T. 1992. Methods in Marine Zooplankton Ecology. Malabar, USA: Krieger Publishing Company. ISBN 978-0-89464-653-9.
- Singh, B.K., Bardgett, R.D., Smith, P., and Reay, D.S. 2010. Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. Microbiology. 8: 779-790.
- Thornton, D. C. 2012. Primary production in the ocean. Advances in Photosynthesis Fundamental Aspects. Intech, Rijeca, Croatia, 563-588.
- Yamaguchi, H., Setsuko, S., and Yamaguchi, M. 2004. Nutrition and growth kinetics in nitrogen- and phosphorus – limited cultures of novel red tide flagellate *Chattonella ovata* (Raphidophyceae). Harmful Algae. 7(1): 26–32.

ภาคผนวก

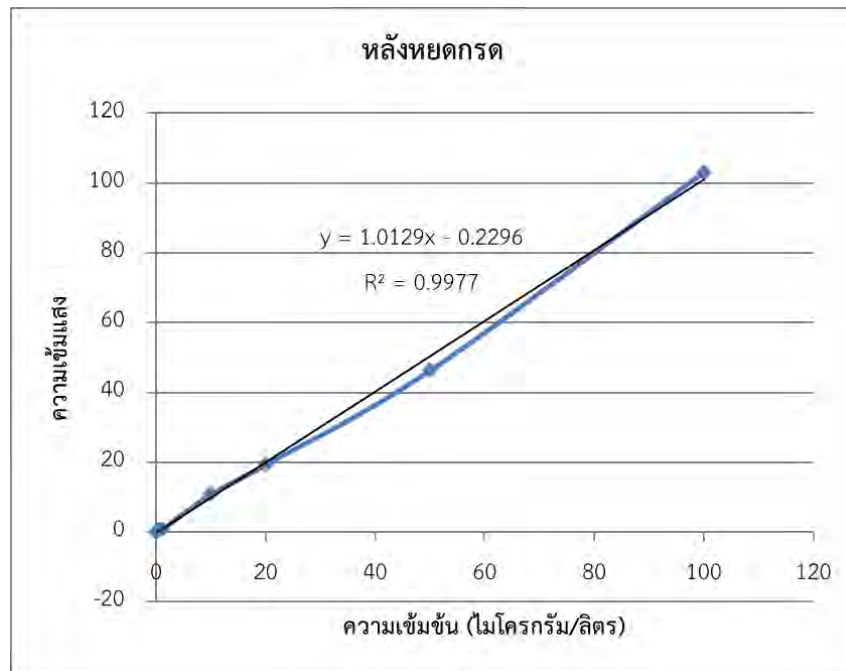
ภาคผนวก ก. ข้อมูลสารมาตรฐานคลอโรฟิลล์เอ

ตารางที่ 2 ข้อมูลมาตรฐานของคลอโรฟิลล์เอ

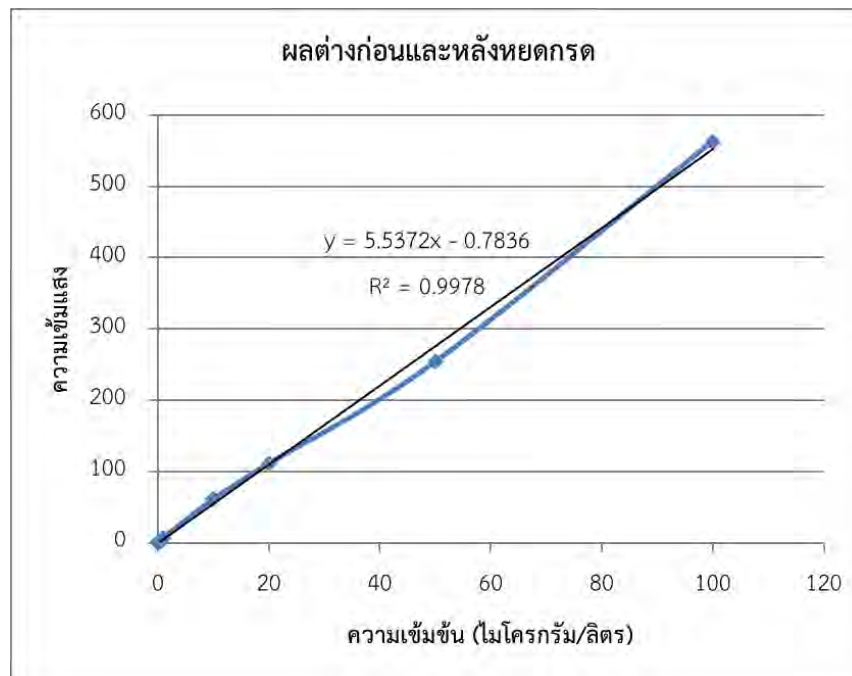
| ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/ลิตร) | ความเข้มแสง | | |
|------------------------------|-------------|-------------|---------|
| | ก่อนหยุดกรด | หลังหยุดกรด | ผลต่าง |
| 0.00 | 0.027 | -0.001 | 0.028 |
| 0.05 | 0.355 | 0.063 | 0.292 |
| 0.10 | 1.118 | 0.183 | 0.935 |
| 0.50 | 3.583 | 0.998 | 2.585 |
| 1.00 | 7.020 | 0.841 | 6.179 |
| 10.00 | 71.803 | 10.926 | 60.877 |
| 20.00 | 130.209 | 19.443 | 110.766 |
| 50.00 | 300.298 | 46.396 | 253.902 |
| 100.00 | 666.297 | 103.085 | 563.212 |



รูปที่ 26 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงและความเข้มข้นต่าง ๆ ของมาตรฐานคลอโรฟิลล์เอ ก่อนการหยุดกรด

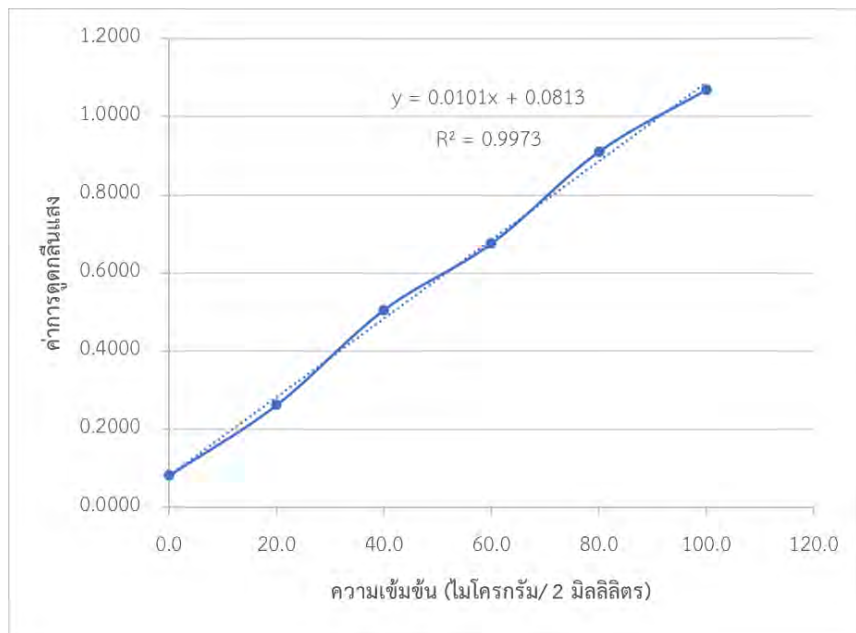


รูปที่ 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงและความเข้มข้นต่าง ๆ ของมาตรฐาน
คลอโรฟิลล์เอ หลังการหยดกรด



รูปที่ 28 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงและความเข้มข้นต่าง ๆ ของมาตรฐาน
คลอโรฟิลล์เอ ผลต่างก่อนและหลังหยดกรด

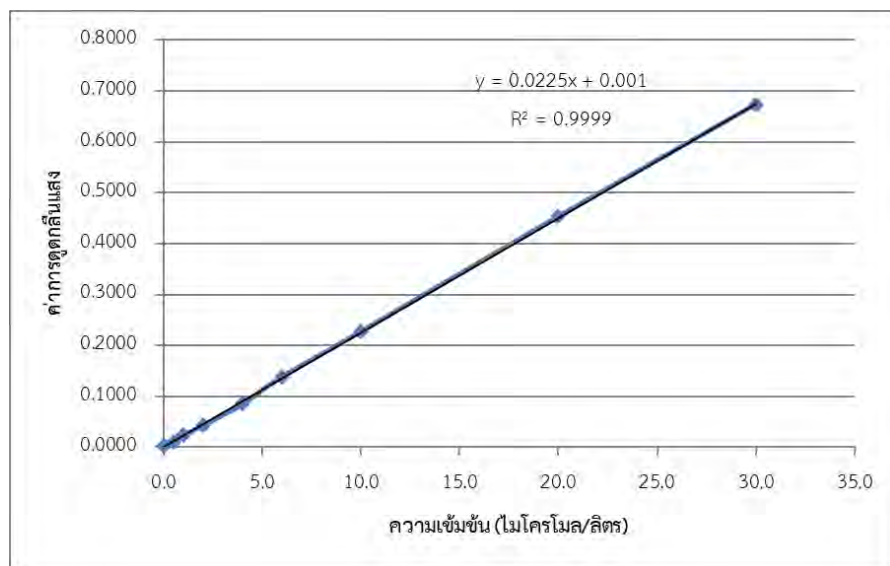
ภาคผนวก ข. ข้อมูลสารมาตรฐานคาร์โบไฮเดรตละลาย



รูปที่ 29 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานคาร์โบไฮเดรตและค่าการดูดกลืนแสง

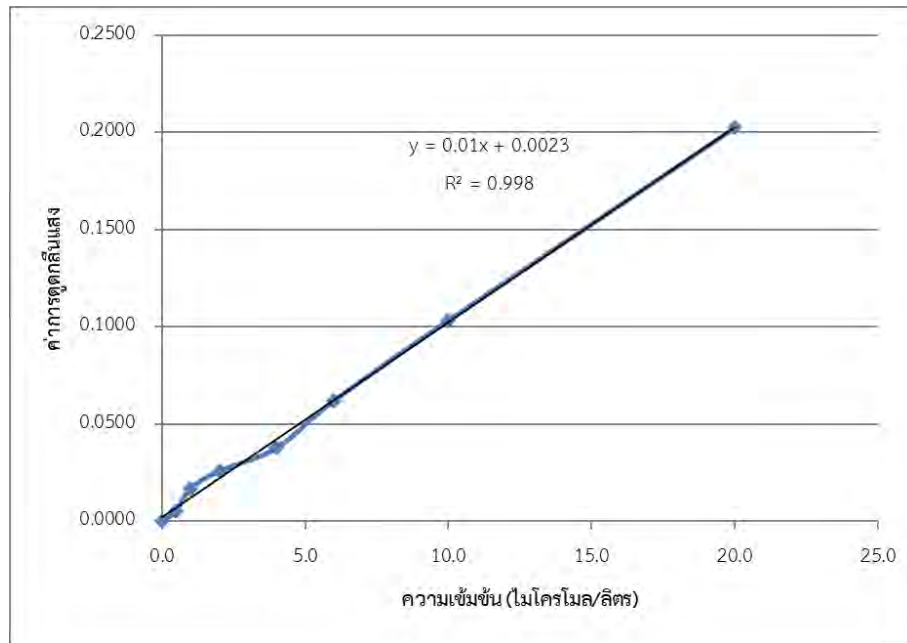
ภาคผนวก ค. ข้อมูลสารมาตรฐานของสารอาหาร

1) สารมาตรฐานฟอสเฟต



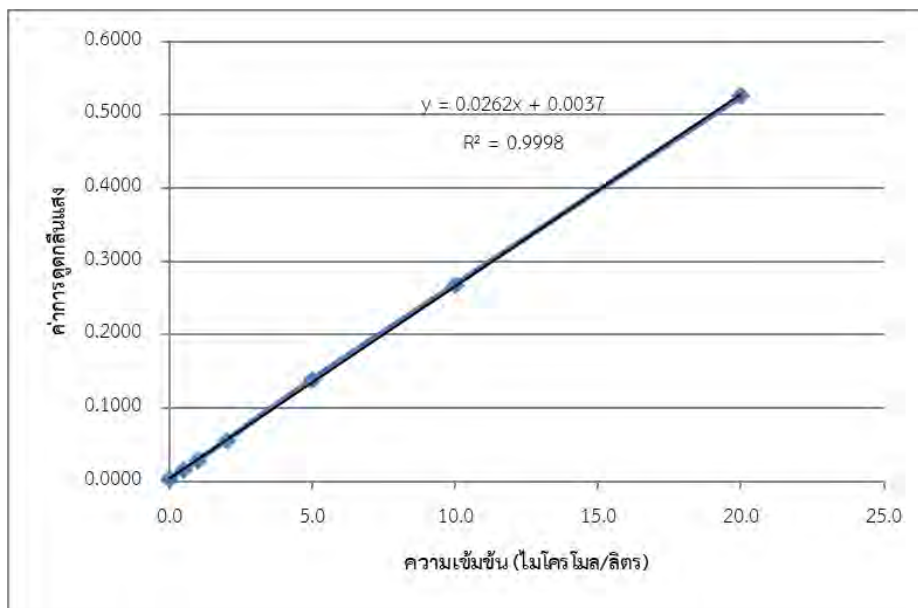
รูปที่ 30 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟอสเฟตและค่าการดูดกลืนแสง

2) สารมาตรฐานแอมโมเนีย



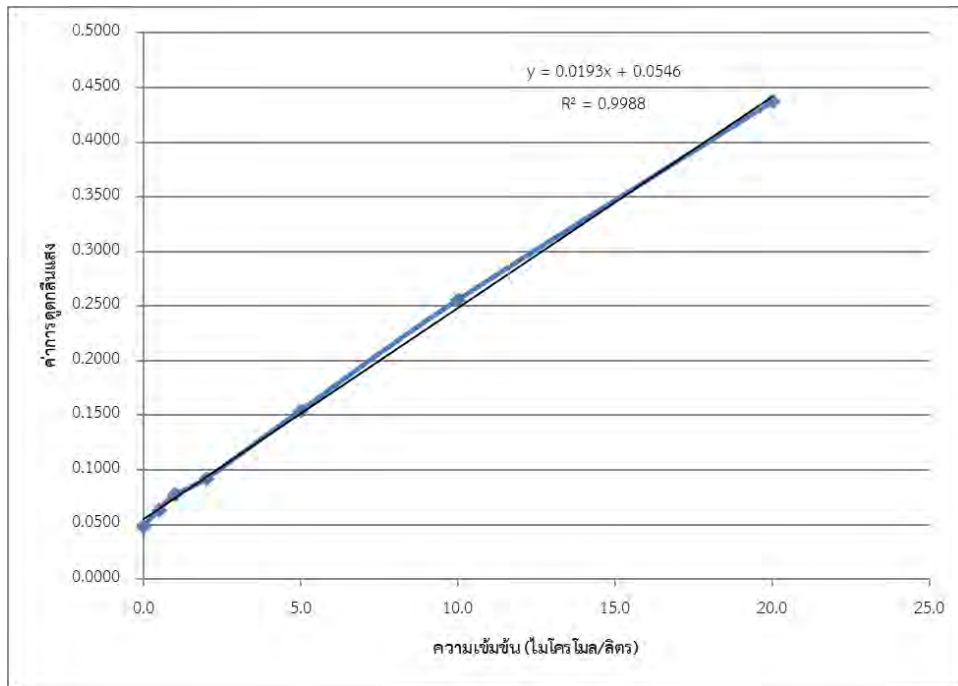
รูปที่ 31 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานแอมโมเนียและค่าการดูดกลืนแสง

3) สารมาตรฐานไนไตรท์



รูปที่ 32 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานไนไตรท์และค่าการดูดกลืนแสง

4) สารมาตรฐานไนเตรท



รูปที่ 33 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานไนเตรทและค่าการดูดกลืนแสง