บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การเก็บรักษาหัวเชื้อสาหร่าย *Isochrysis galbana* และโคพีพอด

หัวเชื้อสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอดที่ใช้ในการศึกษานี้ ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี โดยทำการเก็บรักษาหัวเชื้อภายในห้องปฏิบัติการของศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีการควบคุมความเข้มแสงที่ 2,600 ลักซ์ และอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 3-1

ภาพที่ 3-1 หัวเชื้อสาหร่าย *Isochrysis galbana* และ โคพีพอดที่เก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการ

3.2 การศึกษาอัตราการเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ

เพาะเลี้ยง *I. galbana*. ในขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตร (ภาพที่3-2) ปริมาตรการเพาะเลี้ยง 1 ลิตร ในน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู ที่ผ่านการกรองด้วยชุดกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร และฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมอาหารเพาะเชื้อเหลวสูตรกิลลาร์ด F/2 ลงในขวดรูปชมพู่ (รายละเอียดวิธีการเตรียมอาหารเพาะเชื้อแสดงในภาคผนวก) เติมหัวเชื้อสาหร่ายประมาณ 100 มิลลิลิตร และให้อากาศผ่านตัวกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร (Gelman Acrodisc 50) ตลอดเวลา ทำการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 2,600 ลักซ์ ตรวจนับจำนวนเซลล์

ของสาหร่ายเพื่อติดตามการเติบโตด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด (haemacytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกวันโดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำผลที่ได้ไปคำนวณหาอัตราการเติบโตดังสมการ 3.1

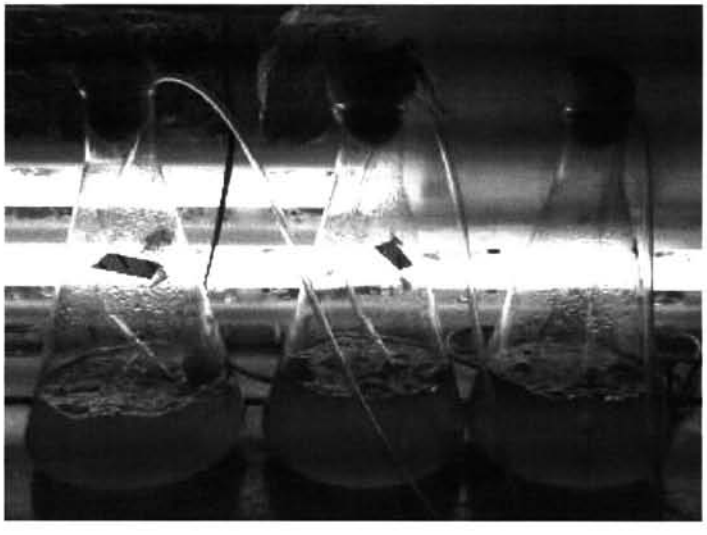
$$\text{Specific growth rate}\,(\mu) = \frac{Ln_{x2} - Ln_{x1}}{T_2 - T_1} \qquad (3.1)$$

โดย μ คือ อัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate)

X คือ ความหนาแน่นเซลล์

t คือ เวลา

Ln คือ Natural logarithm



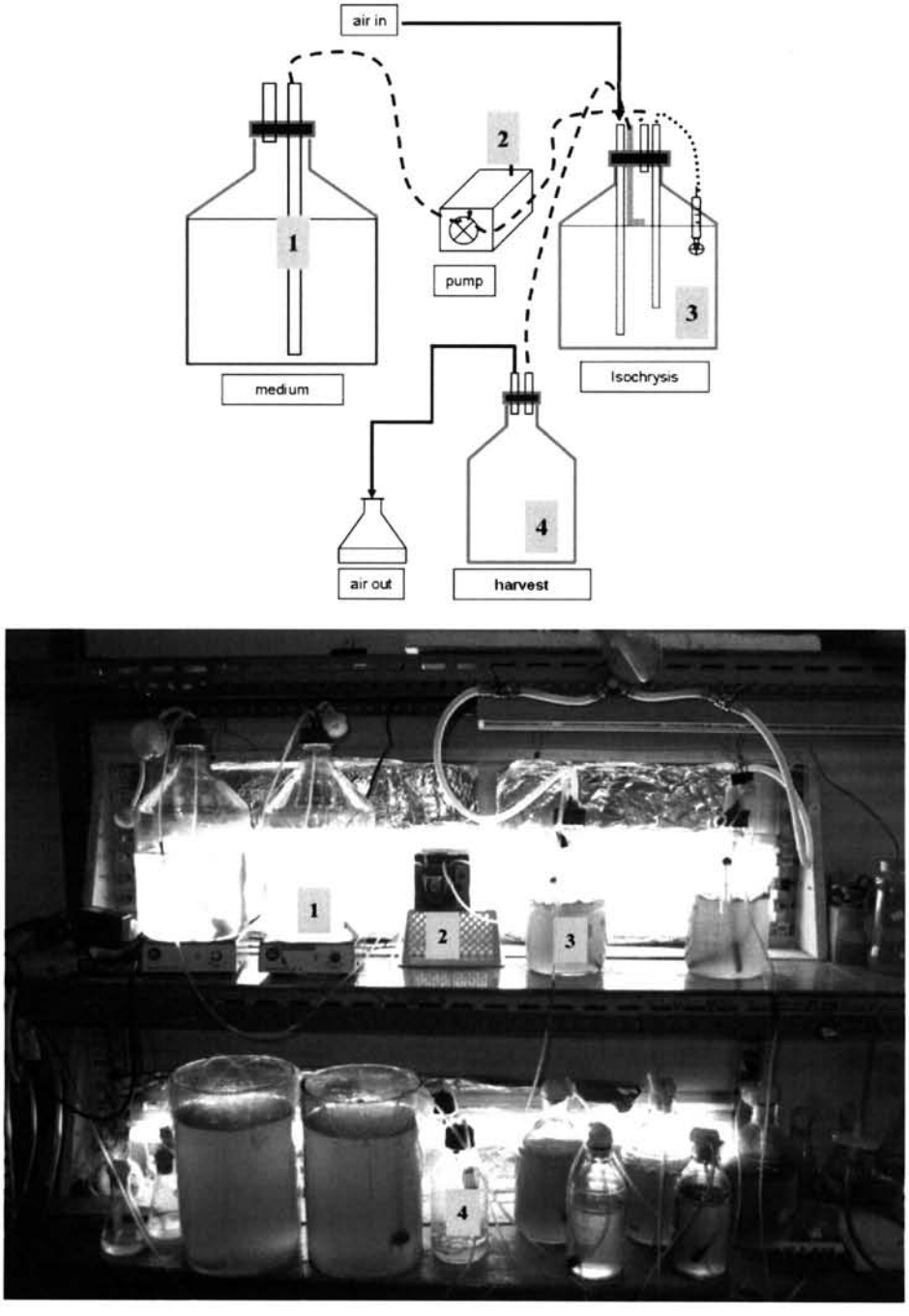
ภาพที่ 3-2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Isochrysis galbana* แบบกะในขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตร

3.3 การเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* แบบต่อเนื่อง

3.3.1 การเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* แบบต่อเนื่องในขวดแก้วขนาด 2 ลิตร ปริมาตร 1.4 ลิตร

เพาะเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* แบบต่อเนื่องในขวดแก้ว (duran bottle) ขนาด 2 ลิตร โดยใช้สภาวะการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงแบบกะ (หัวข้อ 3.2.1) เมื่อสาหร่ายเติบโตเข้าสู่ระยะทวีคูณ (log phase) ทำการจัดระบบการเพาะเลี้ยงเป็นแบบต่อเนื่องโดยใช้ปั๊มรีดสายควบคุมการไหลอาหารจะถูกปั๊มเข้าสู่ขวดเพาะเลี้ยงสาหร่ายและจะถูกผสมเข้ากับสาหร่าย ปริมาตรของอาหารที่ถูกเติมจะล้นออกเข้าสู่ขวดเก็บเกี่ยวผลผลิตทางท่อด้านบน โดยจะควบคุมปริมาตรให้สาหร่ายในขวดเพาะเลี้ยงมีปริมาตรอยู่ที่ปริมาตร 1.4 ลิตร ตรวจวัดการเติบโตของสาหร่ายโดยนับจำนวนสาหร่าย

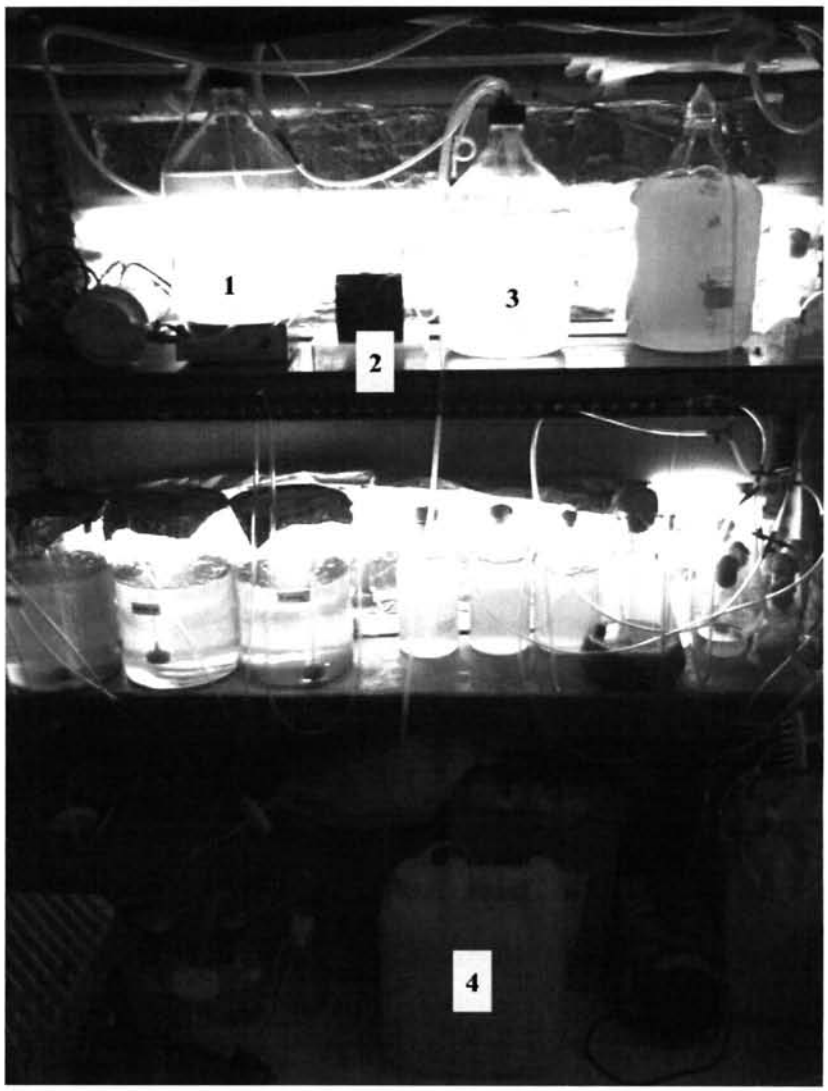
และวัดปริมาตรผลผลิตที่ได้ทุกวัน โดยใช้อัตราการเจือจาง (Dilution rate) ที่ได้จากอัตราการเติบโตจำเพาะของการเพาะเลี้ยงแบบกะ (หัวข้อ 3.2.1) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของสาหร่ายและอัตราการเจือจาง โดยค่อยๆ เพิ่มอัตราการเจือจางขึ้นทีละระดับ จนเกิดการชะล้างเซลล์ออกจากระบบ ดังแสดงในภาพที่ 3-3



ภาพที่ 3-3 แผนภาพ (บน) และภาพถ่าย (ล่าง) แสดงระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่องในขวดแก้วปริมาตร 1.4 ลิตร (1) ขวดเก็บอาหารเพาะเชื้อสาหร่าย (2) เครื่องสูบน้ำแบบรีดสายยาง (3) ขวดเลี้ยงเซลล์สาหร่าย (4) ขวดเก็บผลผลิตเซลล์สาหร่าย

3.3.2 การเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* แบบต่อเนื่องในขวดแก้วขนาด 5 ลิตร ปริมาตร 5 ลิตร

เพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่องเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.2.2 แต่เพิ่มขนาดระบบเลี้ยงให้ใหญ่ขึ้นเป็นขนาด 5 ลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตของสาหร่าย *I. galbana* ตรวจวัดการเติบโตของสาหร่ายโดยนับจำนวนสาหร่ายและวัดปริมาตรของผลผลิตที่ได้ทุกวัน โดยค่อยๆ ปรับเพิ่มอัตราการเจือจางทีละน้อยจนเกิดสภาวะการชะล้างเซลล์ออกจากระบบ ระบบการเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* แบบต่อเนื่องแสดงในภาพที่ 3-4



ภาพที่ 3-4 แสดงระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่องในขวดแก้ว (duran bottle) ปริมาตร 5 ลิตร (1) ขวดเก็บอาหารเพาะเชื้อสาหร่าย (2) เครื่องสูบน้ำแบบรีดสายยาง (3) ขวดเลี้ยงเซลล์สาหร่าย (4) ขวดเก็บเซลล์สาหร่ายที่ไหลล้นออกจากขวดเลี้ยง

3.4 การศึกษาชีววิทยาพื้นฐานและการเติบโตของโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ

3.4.1 การศึกษาชีววิทยาพื้นฐานของโคพีพอด

ศึกษาการเจริญ การสืบพันธุ์ และปัจจัยทางกายภาพที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงโคพีพอด โดยทำการเพาะเลี้ยงโคพีพอดในถาดหลุมขนาด 2 มิลลิลิตร โดยคัดเลือกโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่ข้างลำตัว นำมาใส่ในถาดหลุมละ 1 ตัว โดยให้สาหร่าย *I. galbana* เป็นอาหาร ตั้งไว้ที่ อุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียสและให้แสงตลอดเวลา จากนั้นสังเกตพัฒนาการระยะต่างๆ ของโคพีพอด ตั้งแต่ระยะอยู่ในถุงไข่จนเติบโตเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ ซึ่งระยะพัฒนาของโคพีพอดแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ระยะนอเพลียส (nauplius larva) ระยะโคพีโพดิด (copepodid larva) และระยะตัวเต็มวัย (adult) โดยทำการบันทึกจำนวนวันและการเปลี่ยนรูปร่างเข้าสู่ระยะต่างๆ ของโคพีพอดทุกวัน รวมทั้งหาจำนวนเฉลี่ยของนอเพลียสต่อโคพีพอดเพศเมีย 1 ตัว (ภาพที่ 3-5)

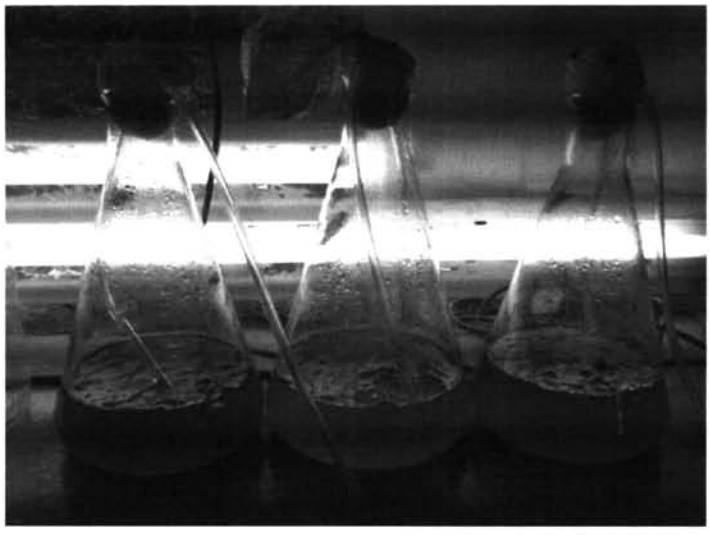
ภาพที่ 3-5 ถาดหลุมที่ใช้ในการศึกษาชีววิทยาของโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ

3.4.2 ศึกษาการเติบโตของโคพีพอดที่เพาะเลี้ยงด้วย *I. galbana* ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ

3.4.2.1 การศึกษาอัตราการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะที่เริ่มต้นจากโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่

ทำการคัดแยกโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตร ที่มีสาหร่าย *I. galbana* 1 ลิตร ขวดละ 100 ตัว เลี้ยงที่อุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส ให้อากาศและให้แสงความเข้มประมาณ 2,600 ลักซ์ ตลอดเวลา สุ่มตัวอย่างน้ำเพื่อนับจำนวนโดยแยกแต่ละระยะของโคพีพอดทุกวันด้วย Sedgwick-Rafter counting chamber เพาะเลี้ยงจนโคพีพอดเข้าสู่ระยะตาย ในแต่ละวันจะทำการเปลี่ยนน้ำออกประมาณครึ่งหนึ่งของปริมาตรที่ใช้เลี้ยง โดยกรองน้ำผ่านผ้ากรอง

ขนาด 33 ไมโครเมตร และเติมสาหร่าย *I. galbana* เพื่อให้ทดแทนปริมาตรน้ำที่ถูกกรองออกไป ตรวจวัดปริมาณแอมโมเนียในขวดเพาะเลี้ยงด้วยชุดทดสอบแอมโมเนีย ดังแสดงในภาพที่ 3-6



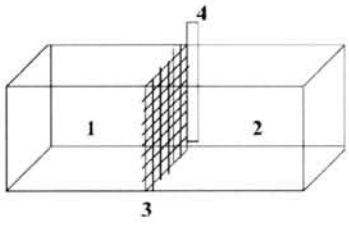
ภาพที่ 3-6 ระบบการเพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบกะที่มีเซลล์เริ่มต้นเป็นโคพีพอดเพศเมีย ที่มีถุงไข่ จำนวน 100 ตัว ในขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตร

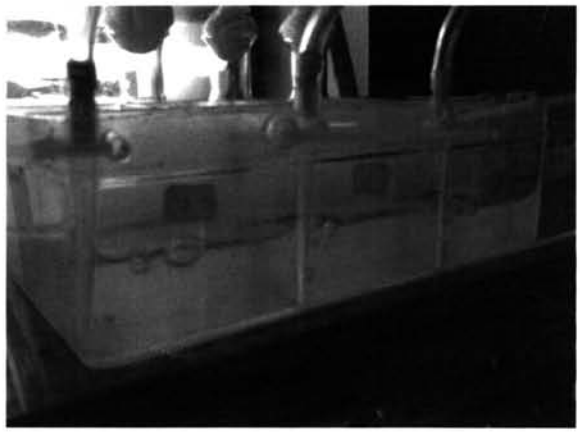
3.4.2.2 การศึกษาอัตราการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะที่เริ่มต้นจากหัวเชื้อที่มีโคพีพอดทุกระยะ

เติมหัวเชื้อโคพีพอดปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตร ที่มีสาหร่าย *I. galbana* 1 ลิตร ทำการเลี้ยงโดยใช้สภาวะเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.2.2.1 ตรวจวัดการเติบโตโดยการนับจำนวนโดยแยกแต่ละระยะของโคพีพอดทุกวัน

3.4.2.3 การเพาะเลี้ยงโคพีพอดเพื่อผลิตนอเพลียส

เพาะเลี้ยงโคพีพอดในกล่องสีเหลี่ยมขนาด 5.3x6.3x5.3 เซนติเมตร เติมสาหร่าย *I. galbana* เพื่อเป็นอาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร ภายในกล่องพลาสติกถูกแบ่งออกเป็นสองส่วนด้วยผ้ากรองขนาด 200 ไมโครเมตร (3) ส่วนที่ 1 คือส่วนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงโคพีพอดตัวเต็มวัย (1) โดยนำโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่ใส่ลงในส่วนนี้จำนวน 10 ตัว เมื่อนอเพลียสฟักออกจากฝักไข่จะสามารถผ่านผ้ากรองเข้าสู่ส่วนที่สอง (2) โดยส่วนนี้เป็นส่วนที่ใช้เพาะเลี้ยงโคพีพอดระยะนอเพลียส โดยมีการให้อากาศ (4) และแสงความเข้มประมาณ 2,600 ลักซ์ตลอดเวลา ดังแสดงในภาพที่ 3.7 ตรวจนับจำนวนนอเพลียสโดยเก็บโคพีพอดระยะนอเพลียสในช่องเพาะเลี้ยงนอเพลียส (2) ทุกวันเพื่อหาอัตราการผลิตนอเพลียสของโคพีพอด จากนั้นเติมสาหร่ายลงในระบบ เพื่อปรับปริมาตรการเลี้ยงให้เท่าเดิม โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

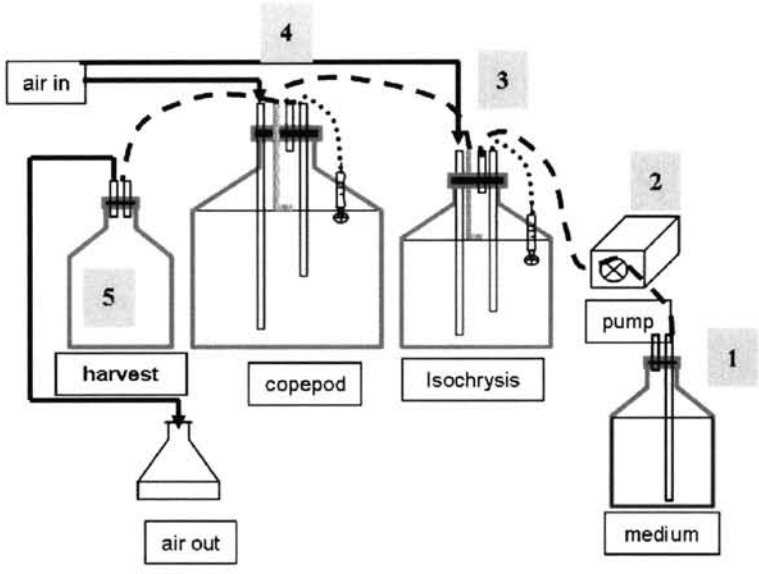




ภาพที่ 3-7 ระบบผลิตโคพีพอดระยะนอเพลียส (1) ส่วนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงโคพีพอดระยะตัวเต็มวัย (2) ส่วนที่ใช้เพาะเลี้ยงโคพีพพอดระยะนอเพลียส (3) ผ้ากรองขนาด 200 ไมโครเมตร (4) ท่อให้อากาศ

3.5 ศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

เลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องด้วยสาหร่าย *I. galbana* ในขวดแก้ว (duran bottle) ปริมาตร 5 ลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน เลี้ยงที่อุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส และให้แสงความเข้มประมาณ 2,600 ลักซ์ ตลอดเวลา ระบบเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องจะเชื่อมต่อกับระบบผลิตสาหร่ายแบบต่อเนื่อง (ดังหัวข้อ 3.2.2) โดยอาหารเพาะเชื้อและเซลล์สาหร่าย *I. galbana* ที่ไหลล้นจากขวดสาหร่าย จะไหลลงสู่ขวดเลี้ยงโคพีพอดและผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เนื่องจากภายในขวดเลี้ยงมีการพ่นอากาศ โคพีพอดส่วนหนึ่งที่เติบโตแขวนลอยในน้ำจะถูกนำออกจากขวดเลี้ยงลงสู่ขวดเก็บผลผลิต ทำการทดลองเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 79 วัน โดยบันทึกปริมาตรผลผลิตที่ได้ และนับจำนวนสาหร่ายและโคพีพอดทุกวัน ดังแสดงในภาพที่ 3-8



ภาพที่ 3-8 แผนภาพ (บน) และภาพถ่าย (ล่าง) แสดงระบบเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องในขวดแก้ว (1) ขวดเก็บอาหารเพาะเชื้อสาหร่าย (2) เครื่องสูบน้ำแบบรีดสายยาง (3) ขวดเลี้ยงเซลล์สาหร่ายแบบต่อเนื่อง ปริมาตร 2 ลิตร (4) ขวดเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่อง ปริมาตร 5 ลิตร (5) ขวดเก็บผลผลิตโคพีพอด

3.6 การศึกษาผลของสัดส่วนระหว่างปริมาตรของระบบสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอดในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

ทำการเพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องด้วยสาหร่าย *I. galbana* เพื่อหาสัดส่วนของปริมาตรระบบสาหร่ายกับปริมาตรระบบโคพีพอดที่เหมาะสมในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด โดยมีสัดส่วนของปริมาตรสาหร่ายต่อปริมาตรโคพีพอดเท่ากับ 1:2, 1:1 และ 2:1 ลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 3-9 ทำการเลี้ยงแบบต่อเนื่องโดยใช้สภาวะเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.4 ปริมาตรของสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอดที่ใช้ในการศึกษาแสดงในตารางที่ 3-1

ภาพที่ 3-9 ระบบการเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอดแบบต่อเนื่องที่สัดส่วนของปริมาตรสาหร่าย *I. galbana* ต่อโคพีพอดเท่ากับ 1:2, 1:1 และ 2:1 (จากซ้ายมือ)

ตารางที่ 3-1 ปริมาตรและอัตราการเจือจางของสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอดในแต่ละชุดการทดลองโดยปรับปริมาตรของสาหร่าย (I) ต่อโคพีพอด (C) แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระบบสาหร่าย *I. galbana*		ระบบโคพีพอด	
	ปริมาตร (มิลลิลิตร)	อัตราเจือจาง (ต่อวัน)	ปริมาตร (มิลลิลิตร)	อัตราการเจือจาง (ต่อวัน)
I:C = 1:2	1,000	0.61 – 1.42	2,000	0.31 – 0.71
I:C = 1:1	1,000	0.60 – 1.15	1,000	0.60 – 1.15
I:C = 2:1	2,000	0.31 – 0.48	1,000	0.61 – 0.97

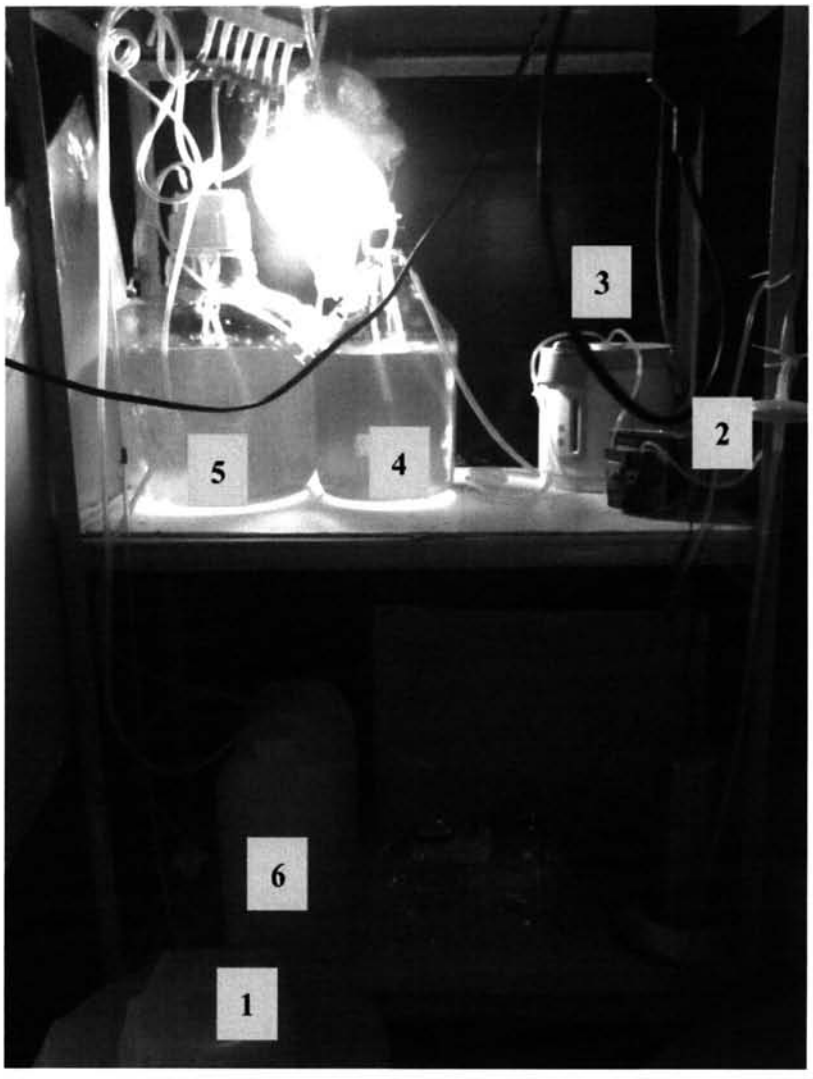
3.7 การศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร

ทำการเพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องโดยใช้สาหร่าย *I. galbana* เป็นอาหาร ในถังขนาด 5 ลิตร และเลี้ยงโคพีพอดในถังขนาด 10 ลิตร ซึ่งเป็นสัดส่วนที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอดแบบต่อเนื่องที่ได้จากหัวข้อ 3.5 โดยทำการเพาะเลี้ยงในโรงเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ ทำให้อุณหภูมิในระหว่างการทดลองแปรผันไปตามธรรมชาติซึ่งจะอยู่ในช่วง 24-34 องศาเซลเซียส มีการให้แสงความเข้ม 3,000 ลักซ์และให้อากาศตลอดเวลา (ภาพที่ 3-11)

ก่อนการทดลองทำการฆ่าเชื้อระบบเลี้ยงสาหร่ายและโคพีพอดด้วยหม้อนึ่งความดัน เมื่อเริ่มระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องอาหารเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนจะถูกปั๊มผ่านไส้กรองขนาด 0.3 ไมโครเมตร ด้วยปั๊มน้ำแบบรีดสายจากถังเก็บอาหารเพาะเชื้อขนาด 50 ลิตร เข้าสู่ส่วนที่ฆ่าเชื้อด้วยความร้อนซึ่งดัดแปลงมาจากกาต้มน้ำ โดยใช้สายยางซิลิโคนยาวประมาณ 100 เซนติเมตร ขดอยู่ในกาต้มน้ำที่มีอุณหภูมิประมาณ 80-90 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นอาหารเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแล้วจะไหลออกอีกปลายด้านหนึ่งของสายซิลิโคนก่อนเข้าสู่ระบบเลี้ยงสาหร่าย โดยระหว่างกาต้มน้ำกับถังเลี้ยงสาหร่ายจะต่อสายยางซิลิโคนให้ยาวเพื่อให้อาหารเพาะเชื้อมีอุณหภูมิลดลงก่อนเข้าสู่ระบบเลี้ยงสาหร่าย ดังแสดงในภาพที่ 3-10 โดยการทำงานของกาต้มน้ำจะถูกควบคุมด้วยเครื่องตั้งเวลา โดยตั้งเวลาให้กาต้มน้ำทำงานทุกๆ 15 นาทีและหยุดทำงาน 45 นาที สลับกันไป

ทำการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องโดยใช้อัตราการเจือจาง 0.25-0.39 ต่อวัน ติดตามการเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอดโดยการนับจำนวนและวัดปริมาณผลผลิตที่ได้ทุกวัน เก็บตัวอย่างน้ำในถังเลี้ยงโคพีพอดเพื่อวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียด้วยวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์น้ำทะเล (Strickland and Parsons, 1972)

ภาพที่ 3-10 ระบบฆ่าเชื้อของอาหารเพาะเชื้อสาหร่ายด้วยความร้อนซึ่งดัดแปลงมาจากกาต้มน้ำ (1) สายซิลิโคนที่ต่อมาจากเครื่องสูบน้ำแบบรีดสาย (2) ลักษณะของสายซิลิโคนที่ขดภายในกาต้มน้ำมีความยาว 100 เซนติเมตร (3) ปลายสายที่ออกมาจากกาต้มน้ำ (4) เครื่องควบคุมเวลา

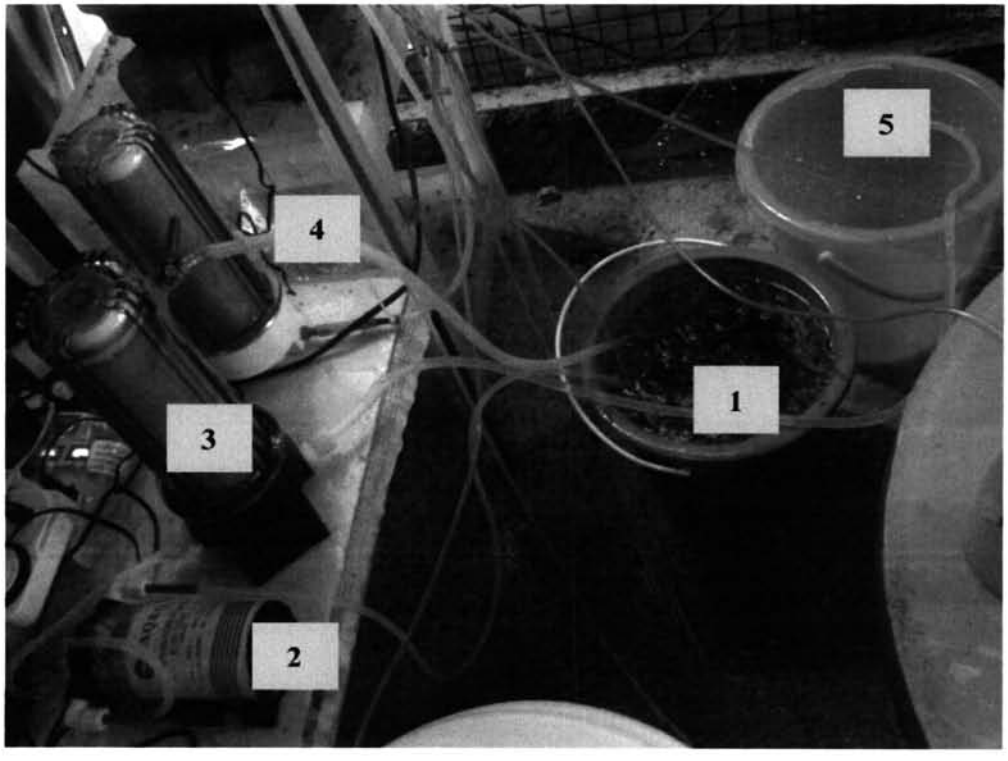


ภาพที่ 3-11 ระบบการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร ที่มีระบบป้องกันการปนเปื้อนของอาหารเพาะเชื้อ (1) ถังเก็บอาหารเพาะเชื้อสาหร่ายปริมาตร 50 ลิตร (2) เครื่องสูบน้ำแบบรีดสายยาง (3) ระบบป้องกันการปนเปื้อนของอาหารเพาะเชื้อ (4) ขวดเลี้ยงเซลล์สาหร่ายแบบต่อเนื่องปริมาตร 5 ลิตร(5) ถังเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่อง ปริมาตร 10 ลิตร (6) ถังเก็บผลผลิตโคพีพอด

3.8 ศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังขนาด 10 ลิตร ในระบบหมุนเวียนน้ำ

ทำการเพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.6 แต่ได้เพิ่มถังเก็บน้ำทิ้งที่เหลือจากการกรองเก็บโคพีพอดแล้ว ซึ่งผลผลิตที่ได้ในแต่ละวันจะกรองเก็บโคพีพอดออกก่อน หลังจากนั้นน้ำส่วนที่เหลือจะถูกนำมากรองด้วยชุดกรองที่ดัดแปลงมาจากชุดกรองขนาด 0.3 ไมโครเมตรโดยการกรองเป็นการกรองแบบ partial filtration ซึ่งน้ำที่เหลือจากการกรอง

โคพีพอดออกแล้วจะถูกปั๊มเข้าสู่ชุดกรอง ภายในชุดกรองจะมีช่องให้น้ำส่วนหนึ่งที่ยังไม่ได้กรองไหลวนกลับเข้าถังเดิมและน้ำบางส่วนจะค่อยๆ ซึมผ่านไส้กรองขนาด 0.3 ไมโครเมตร น้ำที่ผ่านการกรองแล้วจะมีลักษณะใสขึ้นและไหลออกสู่ถังเก็บน้ำ น้ำส่วนที่ยังไม่ได้ผ่านการกรองจะมีสีเข้มขึ้นจากสีของสาหร่าย น้ำที่ผ่านการกรองแล้วจะนำมาปรับความเค็มให้ได้ 30 พีเอสยูด้วยน้ำประปาและฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนก่อนนำกลับมาใช้เตรียมเป็นอาหารเพาะเชื้อสำหรับเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* อีกครั้ง ดังแสดงในภาพที่ 3-12



ภาพที่ 3-12 ระบบการหมุนเวียนน้ำ (1) ถังเก็บน้ำทิ้งที่เหลือจากการกรองเก็บโคพีพอดแล้ว (2) ปั๊มน้ำเพื่อสูบน้ำเข้าสู่ตัวกรอง (3) ตัวกรองสาหร่ายขนาด 0.3 ไมโครเมตร (4) ช่องให้น้ำส่วนหนึ่งที่ยังไม่ได้กรองไหลวนกลับเข้าถังเดิม (5) ถังเก็บน้ำที่กรองแล้ว และเติมคลอรีนเพื่อฆ่าเชื้อ

3.9 การหาน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอด

ใช้วิธีการวัดน้ำหนักแห้งที่ดัดแปลงจากวิธีของ Chu *et al.* (1996) ทำการเตรียมตัวอย่างสาหร่าย *I. galbana* ที่ความหนาแน่น (1840, 1057, 485, 234, 159, 70)x10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และโคพีพอดที่ความหนาแน่น14 ตัวต่อมิลลิลิตร โดยใช้ปริมาตรของน้ำเท่ากับ 50, 100, 150,200 และ 250 ตามลำดับ ระดับละ 3 ซ้ำ นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C ที่ผ่านการอบ

ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ และนำไปอบอีกครั้งจนได้น้ำหนักที่คงที่ นำน้ำหนักหลังกรองหักออกด้วยน้ำหนักกระดาษกรอง นำน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอดที่ได้มาหาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นเซลล์กับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *I. galbana* และความสัมพันธ์ของความหนาแน่นกับน้ำหนักแห้งของโคพีพอด