<u>รายงานการไปศึกษาฝึกอบรม ณ ต่างประเทศ</u>

<u>ส่วนที่ 1</u> ข้อมูลทั่วไป

1.1 ชื่อ/นามสกุล อ.ดร.อรรชนีย์ บุญประกอบ อายุ 49 ปี

ตำแหน่ง อาจารย์พนักงาน

ระดับการศึกษาสูงสุด ปริญญาเอก

1.2 ที่ทำงาน ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคาแหง

โทร. 02-3108418

1.3 ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย) “เทคนิคใหม่ในการเตรียมตัวอย่างไดอะตอมสำหรับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (EM)”

ชื่อเรื่อง (ภาษาอังกฤษ) “A new technique preparation diatom material for Electron Microscopy (EM)”

สาขาหลัก ชีววิทยา (Biology)

สาขาย่อย วิทยาศาสตร์ทางทะเล (Marine Science)

สาขาที่เกี่ยวข้อง อณูชีววิทยา (Molecular Biology)

เพื่อ ☐ ประชุมเสนอบทความ ☐ ศึกษา ☑ ฝึกอบรมและดูงาน

แหล่งให้ทุน มหาวิทยาลัยรามคำแหง

ประเทศที่ไป ราชอาณาจักรเดนมาร์ก

ระหว่างวันที่ 3 กันยายน 2561 ถึง วันที่ 18 ตุลาคม 2561

ภายใต้โครงการ “A new technique preparation diatom material for Electron Microscopy (EM)”

ของหน่วยงาน Natural History Museum,University of Copenhagen, Denmark

<u>ส่วนที่ 2</u> สรุปย่อของหลักสูตร

เรียนรู้ด้านเทคนิคใหม่ในการเตรียมตัวอย่างไดอะตอมสำหรับกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอน (EM) แบบลำแสงส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope: TEM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตอนแบบลำแสงส่งกราด (Scanning Electron Microscope: SEM) เพื่อดูรายละเอียดบนผนังเซลล์ไดอะตอม

<u>ส่วนที่ 3</u> ข้อมูลที่ได้รับจากการไปฝึกอบรม

3.1 วัตถุประสงค์

3.1.1 เรียนรู้เทคนิคใหม่ในการเตรียมตัวอย่างไดอะตอมเพื่อศึกษาด้วย SEM และ TEM

3.1.4 เพื่อแลกเปลี่ยนความรู้และเทคนิคต่าง ๆ กับนักวิจัยผู้มีความเชี่ยวชาญ

3.1.3 เพื่อสร้างความสัมพันธ์อันดี และเพิ่มพูนประสบการณ์การทำงานวิจัยร่วมกันกับผู้เชี่ยวชาญ ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำความรู้ที่ได้มาช่วยพัฒนาด้านการเรียนการสอน และการทำงานวิจัย รวมถึงเพื่อสร้างความร่วมมือในการทำวิจัยร่วมกันในอนาคต

3.2 รายละเอียดเกี่ยวกับการไปฝึกอบรม

3.2.1 <u>แผนการฝึกอบรม</u>

"A new technique preparation diatom material for Electron Microscopy (EM)"

Date	Activity Description
3-11 September 2018	- Lean more about taxonomy of diatoms
12-14 September 2018	- L-1 medium preparation with modifications - Single cell isolations for establishing cultures
15-16 September 2018	- Techniques for cell cultures
17-21 September 2018	- Lean more about the methods for studying cleaned material
22-23 September 2018	- Harvesting cellular material from the cultures - Fixation of material
24-30 September 2018	- Check cleaned material with light microscopy (LM)
1-5 October 2018	- Lean more about a technique for rinsing material - Dehydration: Ethanol series: 10 min in each change of 30, 50, 70, and 96% ethanol, followed by 15 min in 99.9% ethanol and 30 min in absolute ethanol - Critical-point-drying technique
6-7 October 2018	- Observation with SEM
8-12 October 2018	- Formvar-coating of copper grids - Rinsing material - Mounting and drying - Coating
13-14 October 2018	- Observation with TEM
15-16 October 2018	- Discussion of data and other results - Plans for the future work

3.2.2 <u>รายละเอียดการฝึกอบรม</u>

<u>การอบรมระหว่างวันที่ 3-11 กันยายน 2561:</u>

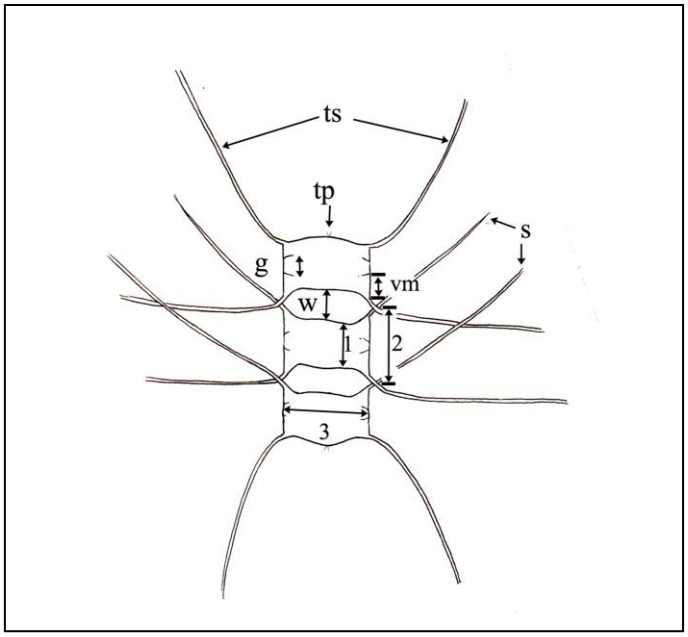
- **Lean more about taxonomy of diatoms**

วิธีการอบรมเป็นดังนี้

ศึกษาโครงสร้างในกลุ่มของ planktonic diatom ในสกุลของ *Chaetoceros* และ *Rhizosolenia* เพื่อใช้ในการจำแนกชนิด ซึ่งทั้งสองสกุลนี้เป็นสกุลเด่นโดยมีจำนวนองค์ประกอบชนิดมากที่สุดที่พบในประเทศไทยและพบได้ทั่วโลกซึ่งมีการแพร่กระจาย (distribution) ทั้งในน้ำกร่อยและน้ำเค็มโดยส่วนใหญ่มีบางชนิดเท่านั้นที่พบในน้ำจืด นอกจากนี้ทั้งสองสกุลนี้ยังมีงานวิจัยต่อเนื่องระหว่างผู้อบรมกับผู้ฝึกอบรมจึงเป็นเรื่องดีที่จะได้เรียนรู้เพิ่มเติมในรายละเอียดของสองสกุลนี้ เพื่อนำไปใช้วิเคราะห์ชนิดจากผลการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงธรรมดา (Light microscope: LM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (EM)

<u>ทบทวนลายละเอียดโครงสร้างเซลล์ของทั้ง 2 สกุล</u>

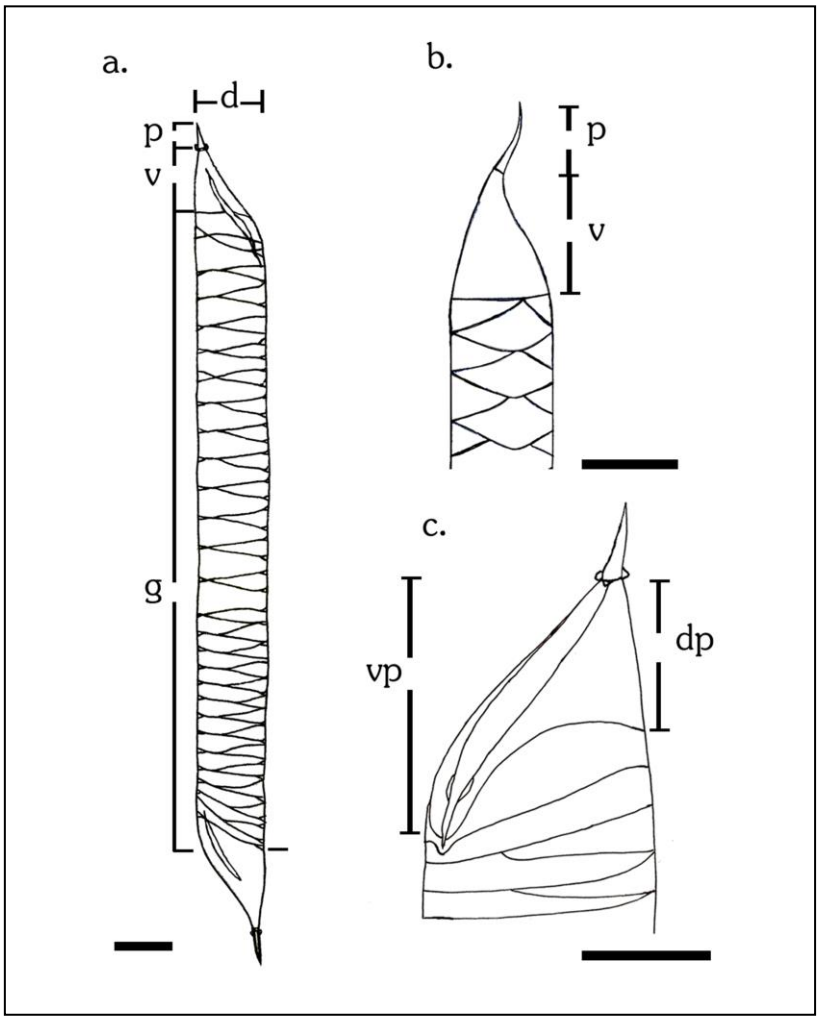
Genus *Chaetoceros*



Details of *Chaetoceros*. Cell of *Chaetoceros*. s, seta; tp, terminal pore; ts terminal setae: g. girdle; vm: valve mantle; w: length of window, 1: cell thickness (pervalvar axis); 2: distance between two crossing overs of setae; 3; cell length (apical axis)

ที่มาภาพ วาดโดยผู้เข้าอบรม (อรรชนีย์ บุญประกอบ)

Genus *Rhisosolenia*



Details of *Rhizosolenia*. The measuring methodology used in this study (a, b) and detail of valve (c). (d) diameter, (p) process length, (v) valve length, (g) girdle length, (vp) ventral part and (dp) dorsal part. All scale bars: 50 μm.

ที่มาภาพ วาดโดยผู้อบรม (อรรชนีย์ บุญประกอบ)

การอบรมระหว่างวันที่ 12-15 กันยายน 2561:

- **L-1 medium preparation with modifications**

วิธีการอบรมเป็นดังนี้

ได้ทำฝึกการเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ไดอะตอมโดยปรับจากสูตร L1 (Guillard & Hargraves, 1993) ซึ่งเป็นสูตรเลี้ยงที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของไดอะตอม โดยมีการปรับสูตรให้เหมาะสมสำหรับตัวอย่างที่นำไปจากประเทศไทยโดยปรับใช้น้ำทะเลที่ความเค็ม 31 ppt. และปรับปริมาณซิลิกาให้เหมาะสม โดยมีรายละเอียดการเตรียมอาหารดังนี้

L1 (L1-Si, L1-Si+NH_4)

The L1-medium is a modification of the f/2 medium. The difference is a broader trace metal composition in L1. We use it as standard medium for marine diatoms. The L1-trace metal solution is used also in many other media.

Our L1-medium is based on 31 ‰ filtered seawater if nothing else is noted. Otherwise the figure following the letters indicates the salinity of the seawater used (e.g. L1-20 = is based on 20 ‰ filtered seawater).

1. Stock solutions for major elements

$NaNO_3$	7.5 g/100 mL
$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	0.5 g/100 mL
$Na_2SiO_3 \cdot 9\ H_2O$*	3.0 g/100 mL

* Na_2SiO_3 = di-Sodium-metasilicate.

2. Primary stock solutions for trace elements

$MnCl_2 \cdot 4\ H_2O$	18.0 g/100 mL
$ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$	2.2 g/100 mL
$CoCl_2 \cdot 6\ H_2O$	1.0 g/100 mL
$CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$	0.245 g/100 mL
$Na_2MoO_4 \cdot 2\ H_2O$	1.99 g/100 mL
H_2SeO_3	0.13 g/100 mL
$NiSO_4 \cdot 6\ H_2O$	0.27 g/100 mL
Na_3VO_4	0.184 g/100 mL
K_2CrO_4	0.194 g/100 mL

3. Trace metal working stock solution

1) Dissolve 4.36 g $Na_2EDTA \bullet 2H_2O$ and 3.15 g $FeCl_3$ 6 H_2O in ca. 900 mL H_2O in a 1000-mL volumetric flask.

2) Add 1 mL of each trace metal primary stock solution.

3) Bring to 1000 mL with H_2O.

4) Autoclave

4. Vitamin stock solution

Biotin	0.01 g/100 mL
Cyanocobalamine (B_{12})	0.1 g/100 mL

Note: Vitamin B_{12} and Biotin are obtained in a crystalline form. When preparing the Vitamin B_{12} Stock Solution allow for approximately 11% water of crystallization (For each 1.0 mg of Vitamin B_{12} add 0.89 ml dH_2O). When preparing the Biotin Stock Solution allow for approximately 4% water of crystallization (For each 1.0 mg of Biotin add 9.6 ml dH_2O).

Keep the vitamin solutions frozen. Bottles of polyethylene are recommended for storage of vitamins.

5. Vitamin working stock solution

1) Dissolve 20 mg Thiamine HCl (Vitamin B_1) in ca. 80 mL dH_2O in a 100 mL volumetric flask.

2) Add 1 mL of the biotin primary stock solution.

3) Add 0.1 mL of the cyanocobalamin primary stock solution.

4) Fill with dH_2O to 100 mL.

-The vitamin working stock solution is divided into to 10-mL lots in polyethylene vials and kept frozen until use.

6. Final preparation of L-medium

Add to 1 liter seawater:

1.0 mL $NaNO_3$ stock solution.

1.0 mL $NaH_2PO_4 \bullet H_2O$ stock solution.

1.0 mL $Na_2SiO_3 \bullet 9\ H_2O$ stock solution. (For diatoms and silicoflagellates only. Otherwise leave out).

1.0 mL Trace metal working stock solution.

0.5 mL Vitamin working stock solution.

Autoclave medium

<u>การอบรมระหว่างวันที่ 15-16 กันยายน 2561</u>

- Techniques for cell cultures

วิธีการอบรมเป็นดังนี้

ในการคัดแยกเซลล์ให้บริสุทธิ์นั้นเป็นสิ่งจำเป็นมากเพื่อให้เซลล์ปลอดภัยจากสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่อาจปนเปื้อนมาได้ เช่น เชื้อแบคทีเรีย และสาหร่ายขนาดเล็กอื่น ๆ รวมทั้งโปรโตซัวขนาดเล็ก โดยนำผลการเลี้ยงไปใช้ในการวิเคราะห์ DNA หากมีการปนเปื้อนผลการศึกษาจะไม่ชัดเจนและผิดเพี้ยนได้ การศึกษาด้าน DNA นี้จะทำควบคู่ไปกับการศึกษาด้านสัณฐานวิทยาเพื่อยืนยันชนิดอย่างมั่นใจโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ทั้งแบบ LM และ EM เทคนิคสำคัญในการเลี้ยงเซลล์เพื่อคัดแยกนั้นจำเป็นต้องกระทำทันทีหลังการเก็บตัวอย่างเพื่อให้ตัวอย่างได้รับอาหารเพียงพอในพื้นที่จำกัดก่อนการทำการแยกเซลล์ต่อไป

<u>การอบรมระหว่างวันที่ 17-21 กันยายน 2561</u>

- **Lean more about the methods for studying cleaned material**

วิธีการอบรมเป็นดังนี้

การศึกษาด้านสัณฐานวิทยาของตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนทั้งแบบลำแสงส่องกราด (SEM) และแบบลำแสงส่องผ่าน (TEM) นั้นต้องมีการทำความสะอาดเซลล์ไดอะตอมทุกครั้งก่อนทำการศึกษาเพื่อให้โครงสร้างผนังเซลล์สะอาดที่สุด ซึ่งจะเห็นรายละเอียดขององค์ประกอบผนังเซลล์ต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการจำแนกชนิดไดอะตอม ซึ่งมีขั้นตอนการทำความสะอาดเซลล์ดังนี้

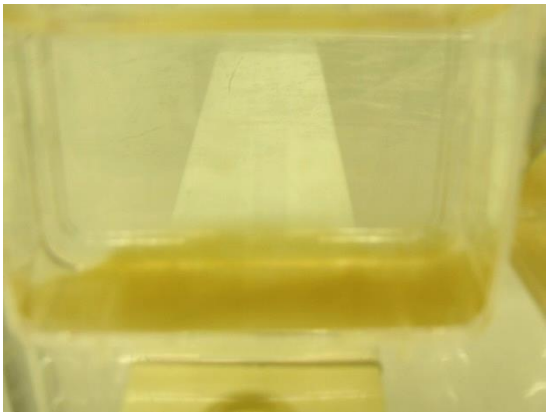
- Sample of max. 10 mL into a 100-ml flask.
- Add c. 1 ml of 10% HCl to remove $CaCO_3$ deposits.
- Add 2 ml of 30% H_2SO_4 and afterwards 10 ml of saturated potassium permanganate $KMnO_4$ (work under a hood).
- Leave it for 24 hours; agitate occasionally.
- Add about 10 ml of saturated oxalic acid $(COOH)_2$ (freshly made) <u>slowly</u> - a few ml at a time, while agitating the flask a little. Air bubbles will form and the mixture will fizz. The sample will now slowly become transparent. Note that if too much oxalic acid is added it will crystallize and form a white deposit in the flask.
- The sample is transferred to centrifuge tubes and centrifuged for 15 min. at 3500 rpm; the supernatant is discarded, distilled water added, and centrifugation repeated.
- The sample is rinsed 3 times, and after the final rinse, the supernatant is again discarded and the pellet re-suspended in a few ml of distilled water.

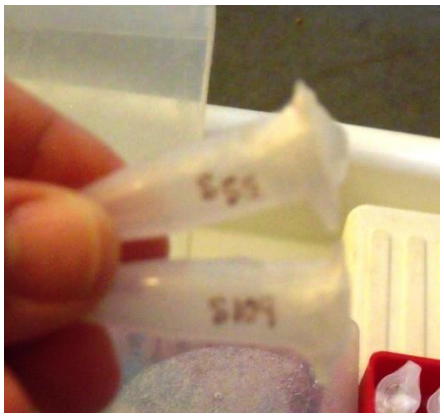
<u>การอบรมระหว่างวันที่ 22-31 กันยายน 2561</u>

- Harvesting cellular material from the cultures
- Fixation of material
- Check cleaned material with light microscopy (LM)

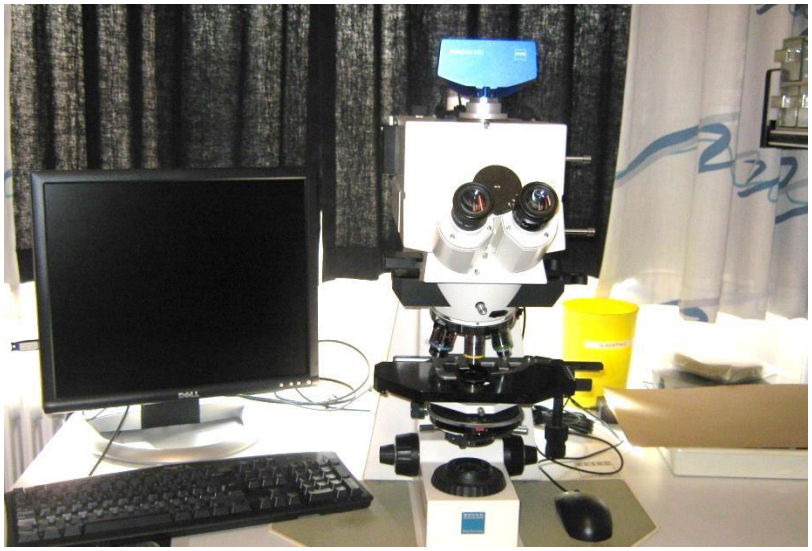
วิธีการอบรมเป็นดังนี้

เมื่อเลี้ยงเซลล์ไดอะตอมประมาณระยะเวลาหนึ่งเมื่อได้เซลล์จำนวนมาก (ภาพล่างซ้าย) ก็จะทำการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยเก็บตัวอย่างที่เลี้ยงไว้ได้ในหลอดเก็บตัวอย่างขนาด 1.5 มล. (ภาพล่างขวา) แลแบ่งบางส่วนไปแช่แข็งเพื่อให้ตัวอย่างคงสภาพ (fixation) และนำบางส่วนมาใช้สำหรับเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้านสัณฐานวิทยา (morphology) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา (LM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (EM) ต่อไป





กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา



<u>การอบรมระหว่างวันที่ 1-6 ตุลาคม 2561</u>

- Lean more about a technique for rinsing material
- Dehydration: Ethanol series: 10 min in each change of 30, 50, 70, and 96% ethanol, followed by 15 min in 99.9% ethanol and 30 min in absolute ethanol
- Critical-point-drying technique

วิธีการอบรมเป็นดังนี้

<u>CPD Method</u>

1. Turn on the CPD, there should be no lights on except the main power switch.

The METERING VALVE must be closed-check that it is turned all the way towards the right/clockwise

2. Open the chamber

Make sure there is a stirrer magnet at the bottom

3. Fill the chamber with 99% ethanol up to the top of the pin (located on the left side on the chamber wall). You need to use enough ethanol to keep your material wet (it must not get dry at this time!)

4. Quickly lift your specimens into the chamber. Add brass weights, specimens are in swinnex-holders, always use the small brass scales to keep the holders down (if you don't they will move around in there) (see picture below)

5. Adjust the level of ethanol so that the material is covered by 3 mm.

Tighten the lid. Remember to make sure that the black rubber ring is in place

6. Turn on the STIRRER (green light goes on)
7. Turn on the COOLING (green light goes on), wait until the temperature reaches app. 10-12° C

<u>Now the first part of the process starts. This is the exchange of Ethanol with liquid CO2</u>

8. Press MEDIUM IN (green light goes on). You must ad liquid CO2 until only a small air-bubble is left below the top glass. Look into the chamber through the top glass (from above). It is very important that you watch the chamber all the time otherwise you will miss the bubble (you can actually see the two types of liquid mixing. It can take as much as 5 minutes)
9. Press MEDIUM IN again (green light goes off). Look through the front glass.
10. Press MEDIUM OUT keep your finger close to the button as it must be switched off again quickly!
11. Let liquid sink to a level 2-3 mm above your specimen. (The specimen must not become dry). If you have not put too much material in the chamber this should be app. 3 mm below the upper edge of the front glass
12. Press MEDIUM OUT again (green light goes off)
13. Press MEDIUM IN again and repeat the process with exchanging ethanol with CO2 7-10 times

<u>Now the second part of the process starts: the critical point drying</u>

The liquid level must be 2-3 mm below the upper edge of the front glass (but still covering your specimen). The only green lights that should be on are the STIRRER and the COOLING

Inside the closed chamber is now liquid CO2 (bottom) and a small volume of CO2 gas (top)

Temperature should be below 14° C

14. Press COOLING (green light goes off)

15. Press STIRRER (green light goes off)

16. Press HEATING (green light goes on) *Wait……

17. When the temperature reaches app. 30°C the transition from liquid to gas starts. You can actually see it happening if you look through the front glass. The temperature will reach app 40°C and the pressure will rise. Keep eye on the chamber-barometer[1] on the front of the CPD to check that it does not rise above the black marking (80-85 bar)

18. When the temperature has reached 40° C the third part of the process begins where you let out the gas, thereby lowering the pressure to room level

This must be done very slowly and gradually to avoid that your specimen changes shape (swelling/collapsing)

19. Press GAS OUT (green light goes on). This is the main valve that opens the machine's outlet for gas. The actual way to gradually lowering the pressure is by very slowly turning the METERING VALVE anti-clockwise

(Nothing will happen if the GAS OUT is not on). To make sure the pressure is not falling too quickly, the little ball in the outlet-barometer[2] on top of the CPD should be kept in the middle of the glass

20. When the pressure on the chamber-barometer at the front of the CPD is 0 bar, turn the METERING VALVE further to the left (anti-clockwise) until the ball in the outlet barometer is at the bottom. This is because there can be a little extra pressure in the chamber (not visible at the chamber-barometer) that will make it almost impossible to open the lid

21. Open the chamber

22. Press HEATING and GAS OUT (both green lights goes off)

23. Close METERING VALVE (turn clockwise-do not over tighten!)

24. Close the CO2 bottle and turn off the CPD at the main power switch

25. Put brass scales back in the plastic box and CLEAN UP AFTER YOURSELF!

Important

1: The chamber barometer measures the pressure inside the chamber

2: The outlet barometer measure the pressure of the flow that comes out of the chamber when you open the metering valve

The heating can be set at two positions at the back of the CPD machine. The normal is the quick one that heats 3, 2° C /minut

The slow one heat 0, 9° C/minut- then the heating process will take 30 minutes

The slow mode can be used for extra fragile specimens. Do not change positions without talking to somebody who knows the CPD well

<u>การอบรมระหว่างวันที่ 7-13 ตุลาคม 2561</u>

- **Observation with SEM**
- **Rinsing material**
- **Mounting and drying**
- **Coating**

วิธีการอบรมเป็นดังนี้

<u>การโค๊ดตัวอย่าง (coating; จดบันทึกความเข้าใจ โดย ผู้ฝึกอบรม)</u>

1. เปิดฝาครอบ (ระวังกระบอกแก้วติดขึ้นมาด้วยจะหล่นแตก) เอากระบอกแก้วออก เอาตัวอย่างใส่เต็มที่ไม่เกิน 10 ตัวอย่างบนแท่นวางตัวอย่าง (ภาพล่างซ้าย) ปิดฝาให้สนิทขยับให้เข้าที่หมุนปุ่มเอียงตัวอย่างและเปิดให้หมุนช้า ๆ

3. เปิดอาร์กอนที่ถัง (ภาพบนขวา)
4. เปิดเครื่องจะมีเสียง และกดปุ่ม pause/test ค้างไว้พร้อมตั้งเวลาใช้ 60 วินาที
5. กด cycle/stop เครื่องจะเริ่มทำงาน สังเกตเข็มความดันจะขึ้นไปที่ 5 และกลับลงมาสองรอบ พอรอบที่สามจึงเริ่มทำงานมี โดยจะเกิดแสงสีม่วงส่งออกมา และเครื่องจะเริ่มนับถอยหลัง
6. ครบตามที่กำหนดปิดเครื่องปิดอาร์กอน รอสักพักจึงสามารถเปิดฝาเอาตัวอย่างออกมาได้

<u>หมายเหตุ</u> ถ้าเครื่องเสียงไปเปลี่ยนแสดงว่าไม่ทำงานให้ปิดและเปิดใช้ใหม่ หรือขยับฝาใหม่อีกที

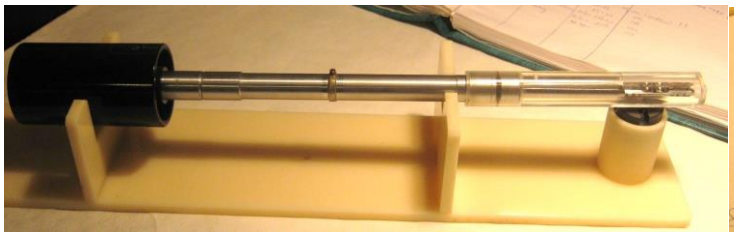
<u>การอบรมระหว่างวันที่ 15-16 ตุลาคม 2561</u>

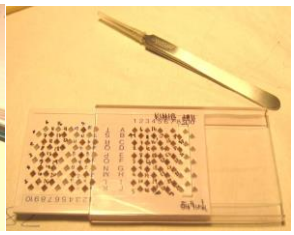
- Observation with TEM

วิธีการอบรมเป็นดังนี้

<u>วิธีการใช้กล้อง TEM (จดบันทึกความเข้าใจ โดย ผู้ฝึกอบรม)</u>

1. เอากริด (grid) ตัวอย่างใส่ในแกนสำหรับใส่ตัวอย่าง (ภาพล่างซ้าย) สำหรับกริดมี 2 ขนาดช่องตา 100 กับ 200 ปกติเราใช้ 200 มันทนกว่ากรณีเซลล์ใหญ่ แกนใส่ตัวอย่างได้ครั้งละ 2 ตัวอย่าง กริดเราจะเก็บในกล่องเก็บกริดเสมอ ป้องกันการปลิวหาย และฝุ่นละออง รวมทั้งทราบชื่อตัวอย่างจากช่องเก็บกริด (ภาพล่างขวา)





2. เมื่อนำตัวอย่างใส่เครื่องแล้วดันเบา ๆ ด้วยปลายนิ้วชี้เบา ๆ ดันจนกว่าเครื่องจะเริ่มปั๊มอากาศ (จะได้ยินเสียงปั๊ม) ไฟสีเขียวจะติดและดับและติดสองหน หลังจากนั้นค่อย ๆ หมุนแกนไปขวาและค่อย ๆ ปล่อยให้เลื่อนเข้าไปในเครื่องเองไม่ต้องดันแกน ขณะรอก็เปิดคอมฯ ได้เลย
3. เปิดปุ่มด้านหลังจอแสดงค่าต่าง ๆ ของกล้อง (ภาพล่าง) และสังเกตว่าค่า HV อยู่ที่ 80000 v

4. Log in คอมพิวเตอร์ และเปิดการใช้กล้องโดย click ที่รูปกล้อง TEM, say yes และรอสักพัก
5. พอคอมฯ เปิดเรียบร้อยก็เปิด filament กดที่ปุ่ม FL สังเกตค่า HT ซึ่งแสดงค่าเริ่มต้นที่ 055 (more or less) จะเปลี่ยนไปเป็นประมาณ 065 (more or less) สังเกต HT จะเปิดไว้ตลอดเวลานะถ้าดับก็ต้องแจ้งเปิดแสดงว่าเครื่องผิดปกติ
6. ก่อนเริ่มหาตัวอย่างให้กดปุ่ม Low ที่ Image selector และ ปรับแกนด้านบนแกนเล็ก ๆ ไปขวา เมื่อหาตัวอย่างได้แล้วค่อยปรับโฟกัสโดยกดที่ MAG 1 or MAG 2 และหมุนแกนไปซ้าย เมื่อได้ภาพตามต้องการแล้วก็เตรียมถ่ายภาพ ให้ปรับแสงไปที่ 180 ก่อนทุกครั้งก่อนเปิดกล้อง
   (Exp time: 180.0 sec A) ระวังมาก ๆ

<u>เริ่มใช้กล้องถ่ายภาพ</u>

1. เลือก camera insert กล้องจะเคลื่อนเข้า และเลือก start view ที่โปรแกรมเพื่อดูภาพ
2. ภาพปรากฏก็ปรับกำลังขยายตามต้องการ หรือถ้าภาพไม่ชัดจะปรับโฟกัสใหม่ก็เลือกที่ Focus loupe เพื่อ zoom ตัวอย่างให้ง่ายต่อการปรับโฟกัส เสร็จแล้วก็กดออก
3. เมื่อได้ภาพที่ต้องการให้เลือกเวลาถ่ายภาพเป็น user ที่ด้านขวามือและปรับเปลี่ยนเวลาถ่ายภาพทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกำลังขยายภาพ ซึ่งปกติถ้าต่ำกว่า 10x (=10000x) เช่น 5000x ใช้ประมาณ 5 นาที ถ้ามากกว่าเช่น 30x ใช้ประมาณ 8 นาที เมื่อเลือกแล้วก็ถ่ายภาพได้ โดยเลือก start aquatic ก่อน save ภาพให้เลื่อน scale bar ตามต้องการก่อนเพราะอาจบังมองไม่เห็นระวังด้วยนะ
4. Save ให้ไปที่ file และเลือก save display as, save เป็น tif. จะดีกว่า

<u>ปิดเครื่องหรือหาตัวอย่างใหม่</u>

1. เลือก camera insert อีกครั้งเพื่อปิดกล้องฯ กล้องจะเคลื่อนเข้าเก็บ และเลือก start view เพื่อปิด
2. เริ่มหาตัวอย่าง หรือหากต้องการปิดเครื่องก็ปิดที่ filament ได้เลย และเอาตัวอย่างออกก่อนปิดเครื่องคอม ฯ และปิดจอ
3. ก่อนเอาตัวอย่างออกให้ปรับตัวอย่างไปที่ center ก่อนเพราะ HT อาจดับได้วิธีการคือ กดที่ page (F10) ที่แป้นอีกอันปรับไปจนเห็นภาพตำแหน่งตัวอย่าง หลังจากนั้นก็หมุนปรับตัวอย่างมาอยู่ center แล้วค่อยเอาก้านออกโดยหมุนมาซ้ายและจึงดึงออกมา
4. เอาตัวอย่างเก็บใส่กล่องเก็บตัวอย่าง เก็บแกนใส่ตัวอย่างเข้ากล่องให้เรียบร้อยป้องกันฝุ่นเกาะติด เพราะหากมีฝุ่นเข้าไปในกล้องแล้วจะทำให้โฟกัสภาพได้ยากยิ่งขึ้น

สิ่งควรรู้

- ปุ่มปรับแสงกับปุ่มปรับโฟกัสจะปรับได้ค่ามากขึ้นหากกดปุ่ม X16 (ภาพด้านล่าง)

- ปรับเปลี่ยนเพื่อดูกริด A หรือ B ที่สวิทที่ฐานกล้องด้านซ้าย
- ปรับแสงให้อยู่ตรงกลางโดยหมุนที่ shift y (ขวา) และ shift x (ซ้าย)
- ใช้วิธีโฟกัสที่กล้องจะเร็วกว่าโฟกัสที่จอคอมฯ ไม่เสียเวลามากก็แล้วแต่ความถนัด

ก่อนหาตัวอย่างอย่างลืมปรับให้จุดดำ ๆ ชัดก่อนไม่เช่นนั้นภาพถ่ายจะไม่คมชัดได้

<u>การอบรมระหว่างวันที่ 15-16 ตุลาคม 2561</u>

สรุปผลการศึกษาทั้งหมดและวิจารณ์ผลการศึกษา และปัญหาอุปสรรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น รวมทั้งแรกเปลี่ยนความคิดเห็นในการแก้ปัญหาต่าง ๆ รวมทั้งวางแผนการทำงานวิจัยร่วมกันที่จะดำเนินต่อไปในอนาคต ซึ่งสรุปมีงานวิจัยที่ตกลงทำร่วมกันทั้งหมด 3 งาน ตั้งเป้าหมายให้แล้วเสร็จภายในปี พ.ศ. 2562-2563 นี้

3.2.3 <u>ประโยชน์ที่ได้รับ</u>

1. ได้รับความรู้เพิ่มเติมเรื่องเทคนิคการเลี้ยงเซลล์ (cell culture) กรณีได้ผลผลิตน้อยโดยการปรับเวลาเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์และการถ่ายเทเซลล์เดิมออก
2. ได้เรียนรู้เพิ่มเติมถึงเทคนิคใหม่การเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้วิเคราะห์ชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope: TEM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM) ซึ่งเทคนิคใหม่ช่วยทำให้ชิ้นงานที่เตรียมได้มีคุณภาพมากยิ่งขึ้นเป็นการช่วยประหยัดวัสดุสารเคมีซึ่งมีราคาแพง และประหยัดเวลา รวมถึงช่วยประหยัดตัวอย่างซึ่งบางครั้งมีอยู่อย่างจำกัด

3. ได้มีการแลกเปลี่ยนความรู้ความเข้าใจด้านงานวิจัย ขนบธรรมเนียม และศิลปวัฒนธรรมของทั้งสองประเทศ คือ ประเทศไทยและราชอาณาจักรเดนมาร์กทำให้ได้รับรู้ถึงความเหมือนและความแตกต่างของทั้งสองประเทศทำให้สามารถเข้าใจและปรับวิสัยทัศน์ให้ทำงานร่วมกันได้อย่างราบรื่น รวมทั้งเป็นการเผยแพร่ขนบธรรมเนียม วัฒนธรรมไทยให้ต่างชาติได้รับรู้อีกทางหนึ่งด้วย
4. สร้างสายงานการทำวิจัยกับนักวิจัยต่างประเทศ ซึ่งสามารถเชิญผู้เชี่ยวชาญเหล่านั้นมาทำการฝึกอบรมเฉพาะด้านสำหรับนักวิจัยและผู้สนใจในการศึกษาวิจัยด้านสาหร่ายพิษในประเทศไทยได้ในอนาคต ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับนักวิจัยในประเทศไทยรวมทั้งมีการแลกเปลี่ยนความรู้ทัศนคติต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์

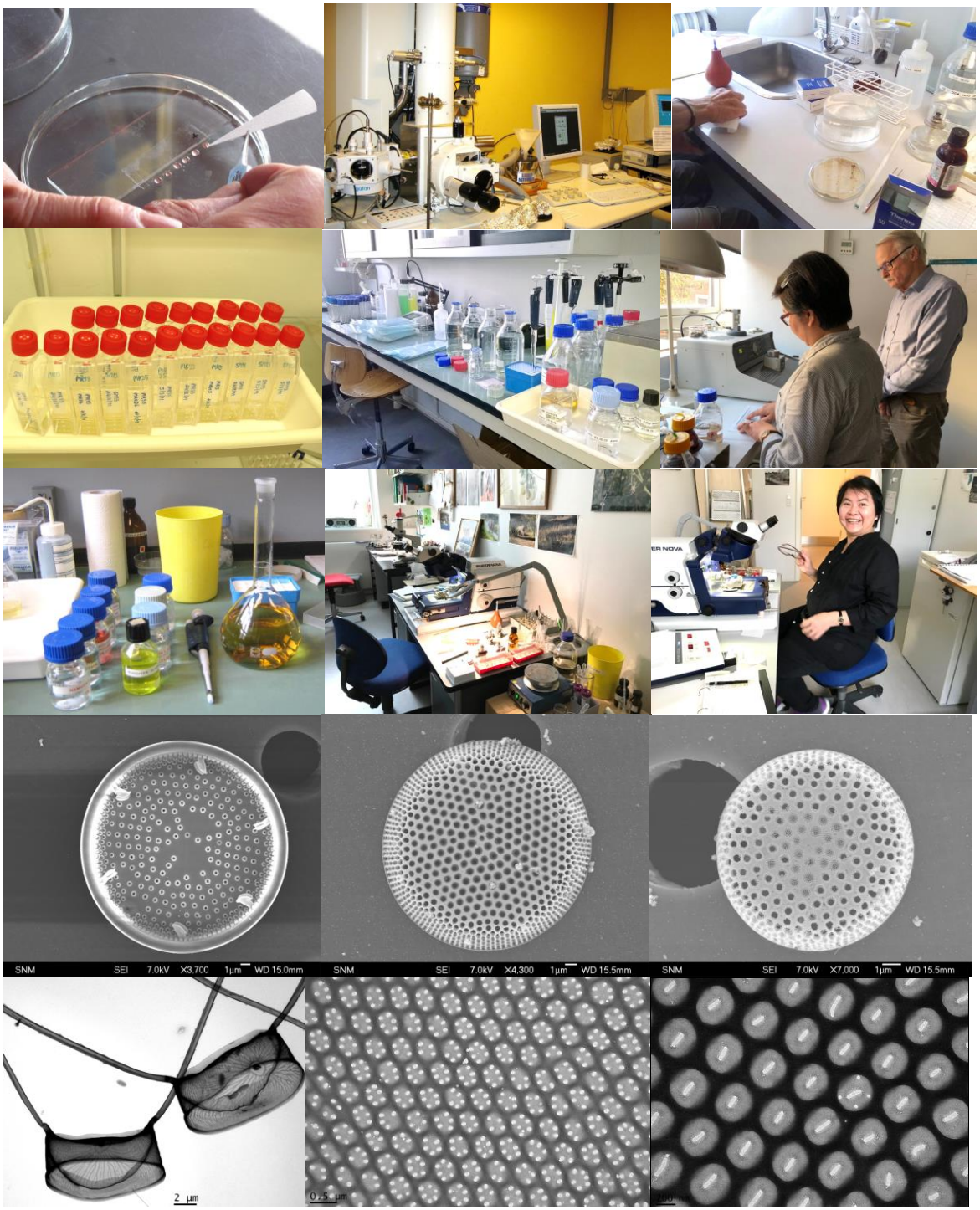
3.2.4 การนำมาประยุกต์ใช้กับงานที่ปฏิบัติ

- สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอนในระดับปริญญาตรี คือ กระบวนวิชาBID4902: ปัญหาพิเศษด้านความหลากหลายทางชีวภาพ (Special Problem in Biodiversity) และในระดับปริญญาโทและเอก ได้แก่ กระบวนวิชา BIO7103: กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron Microscopy) และกระบวนวิชา BIO7308: เทคนิคทางสาหร่าย (Algal Techniques) ซึ่งทั้งสองกระบวนวิชาสอนเรื่องการเตรียมตัวอย่างไดอะตอมเพื่อใช้ศึกษาชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์ลำแสงธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน องค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากการฝึกอบรมสามารถนำมาถ่ายทอดให้กับนักศึกษา ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการเสริมสร้างความรู้เพื่อการทำงานอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

- สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการทำงานวิจัย เนื่องจาการได้แลกเปลี่ยนทัศนคติ และเรียนรู้องค์ความรู้ใหม่ที่ทันสมัยซึ่งเป็นเทคนิคใหม่ ทำให้สามารถนำมาต่อยอดการทำงานวิจัยต่อไปอย่างมีประสิทธิภาพ

- สามารถสร้างสรรค์งานวิจัยใหม่ ๆ ร่วมกันกับนักวิจัยต่างประเทศในสาขาเดียวกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

3.2.5 ภาพประกอบการทำงาน



3.2.6 ภาพสายสัมพันธ์ วัฒนธรรม และสภาพแวดล้อมราชอาณาจักรเดนมาร์ก

<u>ส่วนที่ 4</u> ข้อคิดเห็นและเสนอแนะ

ในเรื่องความพร้อมของวัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำงานวิจัยและการเรียนของหน่วยงานที่จัดอบรมมีความพร้อมอย่างมาก ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการพัฒนาสายงาน ซึ่งเราสามารถพัฒนาให้เท่าเทียมต่างชาติได้หากหน่วยงานภาครัฐสนับสนุนงบประมาณส่งเสริมในด้านนี้ ซึ่งจะส่งผลต่อการทำงานอย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

.....

(อาจารย์ ดร.อรรชนีย์ บุญประกอบ)

ผู้เขียนรายงาน

<u>ส่วนที่ 5</u> ความคิดเห็นของผู้บังคับบัญชาของเจ้าสังกัดและโครงการที่ดำเนินงานต่อไป (ยกเว้นผู้รายงานเป็นข้าราชการตั้งแต่ระดับอธิบดีหรือเทียบเท่าขึ้นไป)

5.1 ความเห็นของหัวหน้าภาควิชา

.....

.....

.....

.....

.....

(อาจารย์ ดร.มาฆมาส สุทธาชีพ)
หัวหน้าภาควิชาชีววิทยา

5.2 ความเห็นของคณบดี

.....

.....

.....

.....

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณา มุสิก)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์