การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสาหร่าย *Chlorella* sp.

Optimization of growth and cultivation in microalgal, *Chlorella* sp.

วีนา ชูโชติ

T034687

RCH
QK
569
.C49
ว8197ก

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 34687
วัน, เดือน, ปี 19 พ.ย. 2542

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

โครงการวิจัยปีงบประมาณ 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	ข
สารบัญตาราง	ค
สารบัญภาพ	ง
บทคัดย่อภาษาไทย	1
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	1
บทที่ 1 บทนำ	2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	12
บทที่ 4 ผลการทดลอง	17
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง	23
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย	4
2. สาหร่ายคลอเรลลา 4 สายพันธุ์ที่เจริญอยู่ในสภาพธรรมชาติ	17
3. การเจริญของสาหร่ายคลอเรลลาในห้องปฏิบัติการที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยคอกต่างชนิด	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. สาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงบนเครื่องเขย่ามีอัตราความเร็ว 180 รอบ/นาที	14
2. สาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในชุดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศจากเครื่องปั๊มอากาศ	15
3. แสดงผลการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* A0702, *Chlorella* A0505, *Chlorella* B0504 และ *Chlorella* C0501	18
4. ปริมาณเซลล์สาหร่าย *Chlorella* A0505 ในอาหารโปแตสเซียมไนเตรท ไกลซีน และยูเรีย	
5. น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* A0505 ในอาหารโปแตสเซียมไนเตรท ไกลซีน และยูเรีย	
6. ปริมาณเซลล์สาหร่าย *Chlorella* A0505 ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไกลซีน 800, 1000, 1200 และ 1400 มิลลิกรัม/ลิตร	19
7. น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* A0505 ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มของไกลซีน 800, 1000, 1200 และ 1400 มิลลิกรัม/ลิตร	20
8. ปริมาณเซลล์สาหร่าย *Chlorella* A0505 ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไกลซีน 1000 มิลลิกรัม/ลิตร ความเข้มแสง 3000, 4000 และ 5000 ลักซ์	21
9. น้ำหนักเซลล์แห้งของ *Chlorella* A0505 ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มของไกลซีน 1000 มิลลิกรัม/ลิตร ความเข้มแสง 3000, 4000 และ 5000 ลักซ์	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสาหร่าย *Chlorella* sp.

Optimization of growth and cultivation in microalgal, *Chlorella* sp.

บทคัดย่อ

จากการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายคลอเรลลาจากแหล่งน้ำพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. AO505 มีการเจริญดีที่สุดในอาหารเหลวสูตร N-8 และเมื่อดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนเป็นโปแตสเซียมไนเตรท ไกลซีน และยูเรียที่มีความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ผลการทดลองพบว่าสาหร่าย คลอเรลลา ที่เลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลงไกลซีน เพิ่มปริมาณสูงสุดในวันที่ 15 ของการทดลองโดยมีความหนาแน่นของเซลล์ 27.80 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร น้ำหนักแห้ง 1.36 กรัม/ลิตร และอัตราการเจริญจำเพาะ 0.41 วัน$^{-1}$ เมื่อศึกษาความเข้มข้นของไกลซีนและความเข้มแสงที่มีต่อการเจริญพบว่า *Chlorella* A0505 จะให้เซลล์สูงสุด 65.5 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร น้ำหนักแห้ง 1.9 กรัม/ลิตร และอัตราการเจริญจำเพาะ 0.78 วัน$^{-1}$ ในวันที่ 9 ของการทดลองเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรไกลซีนความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ระดับความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

Abstract

Chlorella strain A0505 isolated from natural pond grew very well in N-8 medium. Nitrogen source in the medium was replaced with potassium nitrate, glycine and urea at the concentration of 1,000 mg/l. The highest cell concentration of 27.80 X 10^6 cells/ml was obtained when glycine was used as nitrogen source with 1.30 g/l dry cell weight and the maximum specific growth rate of 0.41 d^{-1} on day 15 of cultivation. Effects of glycine concentration and light intensity on algal growth were studied. The maximum cell concentration, dry cell weight and maximum specific growth rate were 65.5 X 10^6 cells/ml, 1.90 g/l and 0.78 d^{-1} respectively, when *Chlorella* A0505 were cultivated on the N-8 medium containing 1,000 mg/l glycine at the light intensity of 5,000 lux on day 9.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว เซลล์มีลักษณะกลมผนังเซลล์หนาไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ภายในเซลล์มีคลอโรพลาสต์สามารถสังเคราะห์แสงได้ จากการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาพบว่ามีปริมาณโปรตีนสูงคือประมาณร้อยละ 60.50 นอกจากนั้นยังประกอบด้วยวิตามินและเกลือแร่อยู่ในปริมาณที่เหมาะแก่การใช้เป็นอาหาร (Steenblock, 1987) สาหร่ายคลอเรลลาสามารถเพิ่มปริมาณให้มีจำนวนมากขึ้น โดยวิธีการสร้างออโตสปอร์ (autospore) ภายในเซลล์แม่โดยวิธีแบ่งโปรโตพลาสซึ่งอาจเพิ่มจำนวนเป็น 4, 8, 16 หรือ 32 เซลล์ ขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายคลอเรลลา ด้วยเหตุที่สาหร่ายคลอเรลลามีคุณค่าทางอาหารสูง เจริญเติบโตง่าย ขยายพันธุ์เร็ว สามารถให้ผลผลิตสูงในระยะเวลาสั้น การเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวลจึงน่าสนใจทั้งในแง่แหล่งอาหารโปรตีนราคาถูก อาหารเสริมสุขภาพ และการเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน และในสภาวะปัจจุบันการเพิ่มประชากรเป็นไปอย่างรวดเร็ว การผลิตอาหารตามกำลังของธรรมชาติจึงไม่พอเพียง เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณอาหารให้รวดเร็วทันกับความต้องการ จึงต้องมีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำขึ้น ซึ่งปัจจุบันนิยมใช้ไรแดง (*Moina macrocopa*) เป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำเศรษฐกิจ เนื่องจากทำให้อัตรารอดสูง การที่จะเพาะเลี้ยงไรแดงให้ได้ผลดีก็คือการใช้สาหร่ายคลอเรลลาเป็นอาหารแต่ปัญหาที่พบเป็นประจำ คือผลผลิตของสาหร่ายคลอเรลลาไม่เพียงพอกับความต้องการ (ธิดาและคณะ, 2536) นอกจากสาหร่ายคลอเรลลามีประโยชน์ในแง่เป็นแหล่งอาหารแล้ว ยังสามารถรักษาสภาวะในบ่อเลี้ยงปลาให้มีคุณภาพดี โดยการดูดซับสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นของเสียจากสัตว์น้ำได้ด้วย (พิศมัย, 2539)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. จากธรรมชาติที่มีอัตราการเจริญสูง
2. แปรผันชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจน และความเข้มของแสงที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

สาหร่ายคลอเรลลาจัดลำดับตามอนุกรมวิธานดังนี้ (กาญจนภาชน์, 2527)

Division Chlorphyta

Class Chlorophyceae

Order Chlorellates

Family Chlorellaceae

Genus *Chlorella* Beijerinck

สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) เป็นแพลงค์ตอนพืชสีเขียวเซลล์เดียวมีขนาดเล็กประมาณ 2-12 ไมครอน (Sharma, 1986) รูปร่างกลมหรือรี คลอโรพลาสเป็นแบบแถบข้างเซลล์หรือรูปถ้วยมีไพรีนอยด์อยู่บนคลอโรพลาส แต่อาจพบสาหร่ายคลอเรลลาบางชนิดไม่มีไพรีนอยด์ ผนังเซลล์เป็นสารประกอบพวกเซลลูโลส (กาญจนภาชน์, 2527 : Precott, 1982 และ Sharma, 1986) Northcote และคณะ (1958) วิเคราะห์องค์ประกอบผนังเซลล์ของ *Chlorella pyrenoidosa* พบว่าเป็นผนังเซลล์หนา 2 ชั้น ผนังเซลล์ชั้นนอกประกอบด้วยแอลฟาและเบต้าเซลลูโลส ผนังเซลล์ชั้นในเป็นไลโพโปรตีน สาหร่ายสกุลนี้สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออโตสปอร์ (autospore) ซึ่งเป็นสปอร์ที่มีรูปร่างเหมือนเซลล์แม่แต่มีขนาดเล็กกว่าจำนวน 4, 8, 16 หรือ 32 สปอร์ขึ้นกับชนิด (specie) ของสาหร่ายคลอเรลลา (Precott, 1982) สาหร่ายคลอเรลลาชอบอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารจำพวกไนเตรทและฟอสเฟสอุดมสมบูรณ์ ซึ่งอาจจะพบอยู่เดี่ยวๆ หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม พบได้ทั่วไปทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม (กาญจนภาชน์, 2527 และ Sharma, 1986) แต่มีสาหร่ายคลอเรลลาบางชนิด เช่น *C. parasitica* อาศัยอยู่ภายในเซลล์ของ *Paramecium* และ *Hydra* แบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiosis) (Sharma, 1986)

Sharma (1986) รายงานว่าสาหร่ายคลอเรลลาในอินเดียมี 8 ชนิด ชนิดที่พบได้ทั่วไป *คือ C. vulgaris, C. conductrix, C. gonglomerata* และ *C. parasitica* สาหร่ายคลอเรลที่พบในบริเวณ western great lakes คือ *C. ellipsoidea* และ *C. vulgaris* ซึ่ง *C. ellipsoidea* มีรูปร่างรีบางครั้งไม่สมมาตรขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 - 8 ไมครอน ยาว 9 - 9.5 ไมครอน การสืบพันธุ์โดยวิธีสร้างออโตสปอร์จำนวน 32 สปอร์ *ส่วน C. vulgaris* มีรูปร่างกลม คลอโรพลาสเป็นแบบแถบข้างเซลล์ บางครั้งไม่มีไพรีนอยด์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ประมาณ 5 - 8.5 (10) ไมครอน สาหร่ายชนิดนี้ชอบอาศัยอยู่ในที่มีความเข้มข้นของสารอาหารสูง (Precott, 1982) สาหร่ายคลอเรลลาในเมืองไทยที่เก็บไว้ในคลังรักษาสายพันธุ์สาหร่าย คือ *C. ellipsoidea* Gerneck, 1907; *C. vulgaris var. vulgaris* Beijerinck, 1980 และ *Chlorella* sp. Beijerinck 6 สายพันธุ์ (Atthasampunna, 1995)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Steenblock (1981, อ้างตาม Hansakul, 1991) แสดงองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายคลอเรลลา, *Chlorella* G-power No.650618 ประด้วยคาร์โบไฮเดรท โปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ ไฟเบอร์ คลอโรฟิลด์ และสารกระตุ้นการเจริญเติบโต (Chlorella growth factor, CGF) ดังตารางที่ 1 ซึ่งมีคุณค่าทางอาหารสูง ปริมาณโปรตีนในสาหร่ายคลอเรลลาประมาณ 60.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงมากพอจะเป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์สำหรับมนุษย์และสัตว์ จากคุณสมบัติดังกล่าวคลอเรลลาจึงถูดจัดเป็นโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein) ที่มีการพยายามศึกษาเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในมนุษย์และสัตว์ จนมีชื่อที่กล่าวถึงคุณสมบัติพิเศษของคลอเรลลา เช่น solar-powered nutrient, the food of century, the emeral food และ the gem of orient (Hansakul, 1991)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *C. pyrenoidosa*

General Analysis		
moisture	3.6 %	
protein	60.5 %	
fat	11.0 %	
carbohydrate	20.1 %	
fiber	0.2 %	
ash	4.6 %	
calories	421/100 g.	
Vitamins and Minerals		
vitamin A activity	55,500.0	IU/100g
β - carotene	180.8	mg/100g
chlorophyll a	1,469.0	mg/100g
chlorophyll b	613.0	mg/100g
thiamine (vitamin B - 1)	1.5	mg/100g
riboflavin (vitamin B - 2)	4.8	mg/100g
pyridoxine (vitamin B - 6)	1.7	mg/100g
vitamin B -12	125.9	μg/100g
vitamin C	15.6	mg/100g
vitamin E	<1.0	IU/100g
niacine	23.8	mg/100g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

pantothenic acid	1.3	mg/100g
folic acid	26.9	µg/100g
biotin	191.6	µg/100g
PABA	0.6	mg/100g
inositol	165.0	mg/100g
calcium	203.0	mg/100g
phosphorus	989.0	mg/100g
iodine	600.0	µg/100g
magnesium	315.0	mg/100g
iron	167.0	mg/100g
zinc	71.0	mg/100g
copper	0.08	mg/100g

Amino Acids (expressed in w/w %)

lysine	3.46
histidine	1.29
arginine	3.64
aspatic acid	5.20
threonine	2.70
serine	2.78
glutamic acid	6.29
proline	2.93
glycine	3.40
alanine	4.80
cystine	0.38
valine	3.64
methionine	1.45
isoleucine	2.63
leucine	5.26
tyrosine	2.09
phenylalanine	3.08

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ornithine	0.06
tryptophan	0.56

Fatty acid

unsaturated fatty acid	81.8 %
saturated fatty acid	18.2 %
C 14 : 0	0.6 %
C 14 : 1	0.9 %
C 14 : 2	0.9 %
C 16 : 0	15.6 %
C 16 : 1	9.1 %
C 16 : 2	5.5 %
C 16 : 3	7.1 %
C 18 : 0	2.0 %
C 18 : 1	10.0 %
C 18 : 2	15.5 %
C 18 : 3	22.8 %

ประโยชน์ของสาหร่ายคลอเรลลา

1. อาหารเสริมสุขภาพสำหรับมนุษย์

ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายคลอเรลลาเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดแรกของสาหร่ายเซลล์เดียวที่นำมาใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพซึ่งถูกนำเสนอเป็นสินค้าในรูปของเม็ด หรือผงมีราคาค่อนข้างสูงราคาประมาณกิโลกรัมละ 100 ดอลล่าร์สหรัฐ และมีมูลค่าสินค้าประมาณปีละ 100 ล้านเหรียญสหรัฐ (ทวี, 2540)

2. อาหารสำหรับสัตว์

สาหร่ายมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าถั่วเหลือง แต่น้อยกว่าอาหารเช่นไข่และนม นอกจากนั้นสาหร่ายยังมีกรดนิวคลีอิกสูงประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ (หรือมากกว่า) ซึ่งถ้าร่างกายมนุษย์ได้รับกรดนิวคลีอิกในปริมาณที่สูงอาจเปลี่ยนเป็นกรดยูริกได้ และสาหร่ายส่วนใหญ่มีผนังเซลล์หนาโดยเฉพาะสาหร่ายคลอเรลลา ถ้าจะนำมาเป็นอาหารโดยตรงของมนุษย์จะต้องผ่านกรรมวิธีทำให้ผนังเซลล์บางจนสามารถย่อยและดูดซับได้ในกระเพาะและลำไส้ แต่ส่วนใหญ่สัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เลย Hintz และคณะ (1966, อ้างตาม Polprasert, 1989) รายงานว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง (*Chlorella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ *Scenedesmus*) สามารถย่อยได้ในทาง เดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องเช่น วัว ควาย และ แกะ ประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์ สามารถย่อยได้ในทางเดินอาหารของหมู เพียง 54 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดลองให้อาหารเม็ดแก่ลูกแกะ พบว่าลูกแกะที่ได้รับอาหารในรูปหญ้าอัลฟัลฟาและสาหร่ายอัดเม็ด มีน้ำหนักเพิ่มมากกว่าลูกแกะที่ได้รับอาหารเม็ดที่มีแต่เพียงหญ้าอัลฟัลฟาเพียงชนิดเดียว

3. อาหารสำหรับอนุบาลลูกสัตว์น้ำ

การเพาะพันธุ์ลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนให้ได้ผลดีจะต้องมีอาหารสำหรับเลี้ยงลูกสัตว์น้ำให้พอเพียง อาหารสำคัญที่ใช้เลี้ยงลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนเหล่านั้นคือ แพลงค์ตอนสัตว์ขนาดเล็ก เช่น โรติเฟอร์ และไรแดง เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง ย่อยง่าย และไม่ทำให้น้ำเน่าเสีย ขณะเดียวกันแพลงค์ตอนสัตว์ต้องการอาหารคือแพลงค์ตอนพืช เช่น *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus* และ *Chlorococcum* (กัญญาและสัณห์ชัย, 2529)

4. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สาหร่ายคลอเรลลาผลิตสาร Chlorellin มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Davidและคณะ, 1964) Lee และ Rosenbaum (1987, อ้างตาม Hansakul, 1991) ได้รายงานว่ามีการศึกษาการใช้สาหร่าย *Chlorella* sp เพื่อป้องกันโรคไข้หวัดในประเทศญี่ปุ่น ในปี ค.ศ. 1971 โดยการทดลองกับกะลาสีเรือญี่ปุ่นจำนวน 1000 คน ซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกรับประทานสาหร่ายคลอเรลลาวันละ 2 กรัม (10 เม็ด) ส่วนกลุ่มที่สองให้รับประทานสาหร่ายคลอเรลลาในรูปยาหลอก (placebo) หลังสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 3 เดือน กลุ่มผู้ทดลองที่รับประทานสาหร่ายคลอเรลลาในรูปยาหลอกเป็นไข้หวัดมากกว่ากลุ่มผู้ทดลองที่รับประทานสาหร่ายคลอเรลลาถึง 41 เปอร์เซ็นต์

ไฟเบอร์จากผนังเซลล์ของสาหร่ายคอลเรลลามีประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะหนัก เช่น ตะกั่ว ปรอทและแคดเมียม โดยถูกกำจัดทางอุจจาระ 3 เท่า และทางปัสสาวะ 7 เท่า นอกจากนี้ คลอโรฟิลล์ของสาหร่ายคลอเรลลาจะช่วยเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophillis* ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสร้างวิตามินในลำไส้ ซึ่งจะช่วยให้การเคลื่อนตัวของลำไส้ดีขึ้น จึงมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคท้องผูก

ในการรักษาโรคมะเร็งด้วยสารเคมีและการเอ็กซเรย์ในผู้ป่วย จะทำให้ภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยลดน้อยลงและเกิดผลข้างเคียงต่างๆ ในสาหร่ายคลอเรลลาจะมีสารอาหารที่มีช่วยฟื้นฟูระบบประมาณภูมิคุ้มกันของร่างกาย Merchant (1990, อ้างตาม Hansakul, 1991) ได้ทดลองศึกษากับผู้ป่วยโรคมะเร็ง ในระยะอันตรายจำนวน 25 คน โดยมีอาการดีขึ้นและมีชีวิตอยู่ให้นานขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การบำบัดน้ำเสีย

ในการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจะต้องใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์ และรับแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจนและแร่ธาตุต่างๆ จากสารอินทรีย์ที่อยู่ในแหล่งน้ำ ดังนั้นการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์สาหร่ายเป็นการช่วยลดปริมาณสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำ จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงได้นำสาหร่ายไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียซึ่งสาหร่ายคลอเรลลาเจริญได้ดีในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมที่มีแอมโมเนียสูง เช่น อุตสาหกรรมยา และ อุตสาหกรรมอาหาร และมีช่วงความทนทานในสภาพความเข้มข้นของโลหะหนักสูง (Phang, 1997) สาหร่ายที่มีบทบาทมากในแหล่งน้ำ คือ *Chlorella* และ *Scenedesmus* และยังใช้ในการดูดซับสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นของเสียจากปลาและสัตว์น้ำ (พิสมัย, 2539)

การเจริญของสาหร่าย

การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตโดยไม่มีข้อจำกัดในแง่ของคาร์บอนไดออกไซด์หรือสารอาหารต่างๆ และเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิคงที่ จะได้กราฟการเจริญเติบโตเหมือนกับจุลินทรีย์อื่นๆ David และคณะ (1964) กล่าวถึงปัจจัยจำกัดที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต คือ

1. ความเข้มแสง ถ้าเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่สภาพอุณหภูมิ 25° C ควรจะได้รับแสงอย่างน้อย 100 แรงเทียน (1 ลักซ์ = 0.0929 แรงเทียน) และความเข้มแสงสูงสุดประมาณ 400 แรงเทียน แต่ถ้าใช้แสงจากธรรมชาติจะยากต่อการควบคุม

2. อุณหภูมิ สาหร่ายคลอเรลลาแต่ละชนิดสามารถเจริญได้ดีในสภาพอุณหภูมิแตกต่างกัน เช่น *C. pyrenoidosa* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20 - 30° C

3. ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

4. autoinhibitor สาหร่ายมีอัตราการเจริญลดลงเมื่อเลี้ยงไว้เป็นเวลานาน เนื่องจากมีการสะสมของของเสียที่ถูกขับออกมาจากเซลล์ แต่ปัญหานี้พบน้อยเพราะสาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงสูงและมีระดับการขับถ่ายต่ำนอกจากนั้นสาหร่าย *C. vulgaris* สามารถขับสาร chlorellin ออกมานอกเซลล์มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของสาหร่ายอื่นๆ และแบคทีเรีย

5. ความเป็นกรดเป็นด่าง สภาพความเหมาะสมของความเป็นด่างที่เหมาะสมคือ 6.0 - 6.5

6. สายพันธุ์สาหร่าย เป็นลักษณะเฉพาะของสาหร่ายแต่ละชนิด

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

สาหร่ายคลอเรลลานิยมใช้เป็นอาหารของโรติเฟอร์ (*Brachionus plicatilis*) และไรแดง (*Moina*) โรติเฟอร์ชนิดนี้เป็นอาหารที่ดีของลูกกุ้งทะเลในระยะไมซิส และเป็นอาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาที่อยู่ในระยะเริ่มกินอาหารหลายชนิด เช่น ลูกปลากระพงขาว ลูกปลากะรัง และลูกปลากระพงแดง (ธิดาและคณะ, 2531) ไรแดงเป็นอาหารของสัตว์น้ำหลายชนิดทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อยโดยสัตว์น้ำวัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อ่อน เช่น ปลาบู่ ปลาดุก ปลาสวาย ปลากระพงขาว ปลากะรัง และกุ้งก้ามกราม การเพาะเลี้ยงไรแดงมีหลายวิธี แต่วิธีที่ได้ผลดีคือการใช้สาหร่ายคลอเรลลาเป็นอาหาร แต่บางครั้งและบางพื้นที่โดยเฉพาะทางภาคใต้ของประเทศไทย การเพาะเลี้ยงไรแดงด้วยวิธีดังกล่าวไม่ประสบผลสำเร็จ ปัญหาที่พบเสมอคือการเพาะเลี้ยงคลอเรลลาไม่สำเร็จ การปนเปื้อนของโปรโตซัวและโรติเฟอร์ (*B. rubens*) (ธิดาและคณะ 2536)

กัญญา และสัณห์ชัย (2529) ศึกษาการเจริญเติบโตของแพลงค์ตอนสัตว์ด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวชนิดต่างๆ ผลปรากฏว่าไรแดง (*Moina macrocopa*) มีปริมาณมากที่สุดเมื่อเลี้ยงด้วยสาหร่าย *Chlorella* sp (k3) และโรติเฟอร์ (*B. plicatilis*) มีปริมาณมากเมื่อเลี้ยงด้วยสาหร่าย *Tetraselnis* sp, *Chlorella* sp (K3) และ *Chlorella* sp (149)

ธิดา (2530) แนะนำให้ผลิตโรติเฟอร์น้ำกร่อยโดยเลี้ยงด้วยคลอเรลลาน้ำกร่อย เพราะจะทำให้ได้โรติเฟอร์ขนาดเล็กเหมาะสำหรับเป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน และนอกจากนั้นสาหร่ายคลอเรลลายังช่วยควบคุมสภาพน้ำและอุณหภูมิในบ่ออนุบาลได้ดีอีกด้วย

ภาณุและคณะ (2530) เพาะเลี้ยงคลอเรลลาพันธุ์น้ำจืดเพื่อเป็นอาหารของไรแดงโดยเปรียบเทียบสูตรอาหารต่างๆ ผลปรากฏว่าอาหารสูตรปลาเป็ด+ปุ๋ย N.P.K. (16-20-0) ให้ผลผลิตสูงสุดประมาณ 28.3 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร

ทวีและคณะ (2530) ศึกษาการใช้ไรแดงอนุบาลลูกปลาบู่ พบว่าอาหารสำหรับผลิตไรแดงคือสาหร่ายคลอเรลลาที่มีความเข้มข้น 0.49 x 10^5 - 61.17 x 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน เป็นปริมาณที่ทำให้ผลิตไรแดงได้ 83 - 21,668 ตัว/มิลลิลิตร/วัน ซึ่งทำให้ลูกปลาบู่แข็งแรงอัตราการรอดสูง (อัตรารอดเฉลี่ย 89.24 เปอร์เซ็นต์) ขนาดของลูกปลาใกล้เคียงกัน ป้องกันการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของสาหร่ายจำพวกเส้น (filamentous algae)

ธิดาและคณะ (2536) ทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาพันธุ์น้ำจืดในถังขนาด 30 ลิตร โดยเปรียบเทียบอาหารสูตร yamaguchi (ประกอบด้วย) $(NH_4)2SO$ 100 กรัม/ตัน , ปุ๋ย N.S.K. สูตร 16-20-0 15 กรัม/ตัน และยูเรีย 5 กรัม/ตัน) และอาหารสูตร NSIII (ประกอบด้วยสารเคมี 19 ชนิด) ที่อุณหภูมิ 26.5 - 30.5° C ความเป็นกรดเป็นด่างประมาณ 7.1 - 8.1 ผลปรากฏว่าสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 2 สูตร เพิ่มจำนวนสุดใกล้เคียงกันเมื่อเลี้ยงได้ 2 วัน ซึ่งสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารสูตร NSIII มีปริมาณมากกว่าสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารสูตร Yamaguchi เพียง 3 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร

Edwards และคณะ (1981 b อ้างตาม Polprasert, 1989) รายงานว่าการใช้สาหร่ายเป็นอาหารของปลากินพืช (*Tilapia*) โดยเลี้ยงปลาในบ่อคอนกรีตปริมาตร 4 ลูกบาศก์เมตร เป็นเวลานาน 3 เดือน ได้ผลผลิตปลา 20 ตัน/เฮกแตร์/ปี โดยให้มีความเข้มข้นของสาหร่าย 70 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงพอที่จะทำให้ปลาเจริญเติบโตได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phang และ Ong (1988, อ้างตาม Phang, 1991) เพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งของ palm-oid mill ที่อยู่ในขั้นตอนการบำบัดน้ำทิ้งครั้งที่ 2 ให้ผลผลิตสาหร่ายคลอเรลลา 5.01 - 15.41 กรัม/ตารางเมตร/วัน (น้ำหนักสด) นำสาหร่ายที่ได้จากบ่อบำบัดน้ำทิ้งไปเป็นอาหารของปลาซึ่งเป็นวิธีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายวิธีหนึ่ง

Pantastico (1991) รายงานว่าการใช้ปุ๋ยคอกที่ได้จากหมูและไก่ เป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตสาหร่ายคลอเรลลา ผลการทดลองปรากฏว่าได้ผลผลิตสูงสุด 690 มิลลิกรัม/ลิตร ในเวลา 10 วัน (อัตราส่วนปุ๋ยคอก 3.5 กรัม/น้ำ 4.5 ลิตร) และพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของปุ๋ยทำให้ปริมาณโปรตีนให้เซลล์สาหร่ายเพิ่มขึ้น แต่ไม่ช่วยในการเจริญของสาหร่าย ผลการเจริญสูงสุดของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยคอกดังนี้ คือ ปุ๋ยคอกจากหมู อัตราส่วน 6 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิตสาหร่าย 78.10 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ปุ๋ยคอกจากม้า อัตราส่วน 2 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิตสาหร่าย 115.78 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และปุ๋ยคอกจากไก่ อัตราส่วน 4 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิตสาหร่าย 124.10 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร

Phang (1991) ทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในระบบ high rate algal pond (HRAP) ซึ่งใช้แหล่งอาหารจาก rubber effluent และ anarobic liquor สาหร่ายคลอเรลลาที่ผลิตได้นำไปเป็นอาหารสัตว์จำพวกเป็ดไก่ หรือนำไปสกัดสารชีวเคมีที่มีประโยชน์ โดยออกแบบระบบ HRAP ให้มีพื้นที่ผิวหน้า 4 ตารางเมตร ปริมาตรรวม 0.8 ลูกบาศก์เมตร ใช้วิธีเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบแบทช์ (batch culture) เติมอากาศในบ่อเลี้ยงสาหร่ายด้วยวิธีให้น้ำไหลวนด้วยใบพัด (paddle-wheel) ความเข้มข้นสูงสุดของสาหร่ายที่เก็บเกี่ยวได้เมื่อเลี้ยงถึงวันที่ 7 ประมาณ 5.7 - 18.1 กรัม/ตารางเมตร/วัน (น้ำหนักสด) ซึ่งเมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่ามีโปรตีนน้ำหนักแห้ง 37 - 65 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 5 - 11 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรท 10 - 39 เปอร์เซ็นต์

Kabinawa (1997) รายงานว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา *C. pyrenoidosa* ในระบบบ่อเปิด ปริมาตร 30 ลูกบาศก์เมตร โดยให้ปุ๋ยเป็นอาหาร มีระบบน้ำไหลเวียน ให้อากาศและคาร์บอนไดออกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ ได้ผลผลิตสาหร่าย 50 มิลลิกรัม/ลิตร/วัน ชีวมวลสาหร่ายนำไปเป็นอาหารของสัตว์เลี้ยงจำพวกเป็ด ไก่ ตัวอ่อนของพวกครัสตาเซียน กุ้ง และ ปลาสวยงาม

Phang (1997) คัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายคลอเรลลา *C.vulgaris* 001 จากบ่อน้ำทิ้งของโรงงานผลิตยางในมาเลเซีย สาหร่ายคลอเรลลาเจริญได้ดีในน้ำทิ้งของอุตสาหกรรมอาหาร และในน้ำทิ้งที่มีแอมโมเนียปริมาณสูง เช่น rubber effluent และ oily sardine processing wastewater สาหร่ายคลอเรลลาเป็นพวก heterotrophic และมีช่วงความทนในสภาพความเข้มข้นของโลหะหนักสูง การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตยาง ชีวมวลสาหร่ายที่ผลิตได้ 1 กรัม/ลิตร น้ำหนักแห้ง เป็นชีวมวลที่มีคุณค่าทางอาหารสูงอาจจะนำไปเป็นอาหารสัตว์น้ำ หรืออาจนำไปเป็นตัวดูดซับโลหะหนักที่อยู่ในน้ำโดยสามารถดูดซับแคดเมียมและนิเกิลได้รวดเร็วถึงจุดสมดุลย์ภายในเวลา 2 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยมีประสิทธิภาพการดูดซับแคดเมียมและนิเกิล 293 และ 280 โมโครโมล/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ที่ความเป็นกรดเป็นด่าง เท่ากับ 5

การผลิตสาหร่ายคลอเรลลาถ้าไม่ได้หาสภาพที่เหมาะสมในการเลี้ยง ผลผลิตสาหร่ายจะมีปริมาณต่ำซึ่งจากการรายงานของ Geeta (1988, อ้างตาม Phang, 1991) พบว่าในบ่อปลาที่เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาจากมูลแพะ ให้ผลผลิตสาหร่าย 0.61 กรัม/ตารางเมตร/วัน และเมื่อทดลองใช้มูลเป็ดเป็นแหล่งอาหารของสาหร่ายคลอเรลลาในบ่อปลา สามารถผลิตสาหร่ายได้ 0.31 กรัม/ตารางเมตร/วัน ผลิตปลาได้น้ำหนักรวม 6,000 กิโลกรัม/แฮกแตร์/ปี และทดลองเลี้ยงสาหร่ายในบ่อบำบัดน้ำทิ้งขั้นที่ 2 ของโรงงานผลิตยาง จากการประมาณค่าผลผลิตรวมของปลา *Pangasius* 6,900 กิโลกรัม/แฮคเตร์/ปี ซึ่งเลี้ยงในบ่อขนาด 0.2 แฮกแตร์ ความเข้มข้นของสาหร่าย 60 - 77 มิลลิกรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อสาหร่ายคลอเรลลา

เชื้อสาหร่ายคลอเรลลาที่ใช้ในการศึกษา คือ *Chlorella* sp. A0702 , *Chlorella* sp. A0505, *Chlorella* sp. B0504, และ *Chlorella* sp. C0501 ซึ่งคัดแยกสายพันธุ์จากแหล่งน้ำธรรมชาติ บริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และคลองประเวศบุรีรมย์

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่ายสูตร N-8 medium (ภาคผนวก ก.)

3. สารเคมีที่ใช้แปรผันแหล่งไนโตรเจน

3.1 ยูเรีย

3.2 ไกลซีน

4. เครื่องมือ

4.1 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง

4.2 เครื่องหมุนเหวี่ยง

4.3 เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (HACH DR/4000)

4.4 ชุดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศ

4.5 เครื่องเขย่า

4.6 หม้อนึ่งความดันไอ

4.7 เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

4.8 กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ

4.9 ฮีมาไซโตมิเตอร์

4.10 โถดูดความชื้น

4.11 ตู้อบแห้ง

4.12 เครื่องวัดแสง (lux meter)

4.13 ตู้เขี่ยเชื้อ

4.14 ตู้เก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่าย

4.15 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิธีการทดลอง

1. การแยกเชื้อบริสุทธิ์

เก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำต่างๆ บริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบังและคลองประเวศบุรีรมย์ เดือนละ 1 ครั้ง เป็นเวลาทั้งสิ้น 4 เดือน นำน้ำตัวอย่างมาคัดแยกเชื้อเพื่อหาเชื้อสาหร่ายคลอเรลลาโดยวิธี spread plate technique บนอาหารแข็งสูตร N-8 medium ในตู้เขี่ยเชื้อแบบลมเป่า และบ่มไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสง 1200 ลักซ์ อย่างต่อเนื่องตลอดเวลาประมาณ 10 - 15 วัน สังเกตการเจริญเติบโตของโคโลนีสาหร่าย และนำทุกโคโลนีที่มีสีเขียวมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อคัดเลือกเฉพาะโคโลนีของสาหร่ายคลอเรลลา จากนั้นจึงนำสาหร่ายคลอเรลลาเหล่านั้นไปคัดแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี cross streak technique บนอาหารแข็งสูตร N - 8 medium ในตู้เขี่ยเชื้อแบบลมเป่า และบ่มไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสง 1200 ลักซ์ อย่างต่อเนื่องตลอดเวลานานประมาณ 10 - 15 วัน สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อสาหร่ายคลอเรลลา ทำเทคนิคเดียวกันนี้ซ้ำไม่น้อยกว่า 3 - 4 ครั้ง หรือจนแน่ใจว่าเชื้อสาหร่ายคลอเรลลาที่ได้มีความบริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย รา หรือสาหร่ายชนิดอื่นจากนั้นจึงเก็บรักษาสายพันธุ์คลอเรลลาไว้ในหลอดอาหารเอียงในตู้เก็บรักษาสายพันธุ์สายหร่ายซึ่งมีอุณหภูมิต่ำ

2. การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

นำเชื้อสาหร่ายคลอเรลลาบริสุทธิ์ 4 สายพันธุ์ จากหลอดอาหารเอียงมาแยกเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเป็นหัวเชื้อสาหร่ายในอาหารเหลวสูตร N - 8 medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้อากาศแก่สาหร่ายในฟลาสก์โดยวางฟลาสก์เลี้ยงสาหร่ายบนเครื่องเขย่าที่มีอัตราความเร็ว 180 รอบ/นาที และให้แสงอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา เป็นเวลานานประมาณ 30 วัน (ภาพที่ 1)

3. การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย

นำหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* A0702 , *Chlorella* A0505, *Chlorella* B0504, และ *Chlorella* C0501 ทดลองเพาะเลี้ยงเพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณของสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 1 สาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงบนเครื่องเขย่ามีอัตราความเร็ว 180 รอบ/นาที

3.1 เปรียบเทียบผลการเจริญของสายพันธุ์สาหร่าย

นำหัวเชื้อสาหร่ายทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* A0702 , *Chlorella* A0505, *Chlorella* B0504, และ *Chlorella* C0501 มาทดลองเลี้ยงเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหารเหลวสูตร N - 8 medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตรต่อหัวเชื้อสาหร่าย 10 มิลลิลิตร (ค่า OD = 0.3) ในชุดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศโดยวิธีเป่าอากาศจากเครื่องปั๊มอากาศ (ภาพที่ 2) และให้แสงอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาด้วยหลอดไฟฟ้าฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ ทำการทดลอง 4 การทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ (ภาพที่ 2)

3.2 เปรียบเทียบผลของการแปรผันแหล่งไนโตรเจน

นำสายพันธุ์สาหร่ายคลอเรลลาที่มีผลการเจริญดีที่สุดจากข้อ 3.1 มาทดลองเลี้ยงในอาหารสูตร N - 8 medium ที่ดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนให้แตกต่างกัน 3 แหล่งไนโตรเจน คือ โปแตสเซียมไนเตรท ไกลซีน และยูเรีย ที่มีปริมาณความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนคือ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร เท่ากันทุกสูตรดัดแปลง และปรับความเป็นกรดเป็นด่างเป็น 6.8 โดยแต่ละการทดลองทำการเติมหัวข้อเชื้อสาหร่ายคลอเรลลา ปริมาณ 30 มิลลิลิตร (ค่า OD = 0.3) ในอาหารเหลวปริมาตร 270 มิลลิลิตร ในชุดเลี้ยงสาหร่ายและให้แสงอย่างต่อเนื่องวิธีการเดียวกับ ข้อ 3.1 ที่ความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ ทำการทดลอง 3 การทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2 สาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในชุดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศจากเครื่องปั๊มอากาศ

3.3 เปรียบเทียบผลของปริมาณความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน

นำสายพันธุ์สาหร่ายคลอเรลลาและแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลการเพิ่มปริมาณสาหร่ายคลอเรลลาดีที่สุดจากข้อ 3.2 มาแปรผันปริมาณความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนให้แตกต่างกัน 4 ระดับ ดังนี้ คือ 800, 1,000, 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัม/ลิตร โดยแต่ละการทดลองทำการเติมหัวเชื้อสาหร่ายคลอเรลลา ปริมาณ 30 มิลลิลิตร (ค่า OD = 0.3) ในอาหารเหลวปริมาตร 270 มิลลิลิตร ในชุดเลี้ยงสาหร่ายและให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออร์เรสเซนต์ที่ความเข้มแสง 4,200 ลักซ์ ทำการทดลอง 4 การทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ

3.4 เปรียบผลของความเข้มแสง

นำสายพันธุ์สาหร่ายคลอเรลลาและปริมาณความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลการเพิ่มปริมาณสาหร่ายคลอเรลลาที่ดีที่สุดจากข้อ 3.3 โดยแปรผันความเข้มแสงให้แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 3,000, 4,000 และ 5,000 ลักซ์ โดยแต่ละการทดลองทำการเติมหัวเชื้อสาหร่ายคลอเรลลาปริมาณ 30 มิลลิลิตร (ค่า OD = 0.3) ในอาหารเหลวปริมาตร 270 มิลลิลิตร ในชุดเลี้ยงสาหร่ายและให้แสงอย่างต่อเนื่องวิธีการเดียวกับ ข้อ 3.1 ทำการทดลอง 3 การทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. วิเคราะห์การเพิ่มปริมาณของเซลล์สาหร่ายคลอเรลลา

เก็บตัวอย่างสาหร่ายคลอเรลลาทุก 24 ชั่วโมง จากทุกชุดการทดลองมาวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบผลการเพิ่มปริมาณด้วยวิธีดังนี้

4.1 การนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์

4.2 การวัดค่า obtical dencity (OD) โดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นแสง 560 นาโนเมตร (กัญญาและสัญชัย, 2529)

4.3 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยวิธีการทำกราฟมาตรฐาน (standard curve) โดยการวัดค่า OD และน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่แยกเชื้อได้จากธรรมชาติบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังและคลองประเวศบุรีรมย์ จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* A0702, *Chlorella* A0505, *Chlorella* B0504 และ *Chlorella* C0501 (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 สาหร่ายคลอเรลลา 4 สายพันธุ์ที่เจริญอยู่ในสภาพธรรมชาติ

สาหร่าย	สถานที่	อุณหภูมิ	พีเอช	บีโอดี
Chlorella A0702	คลองประเวศ	28.9 - 31	6.6 - 8.2	14.9 - 341.3
Chlorella A0505	คลองประเวศ	28.9 - 31	6.6 - 8.2	14.9 - 341.3
Chlorella B0504	สจล. 1 (สระบัว)	31.0 - 31.5	7.6 - 8.3	19.3 - 255.0
Chlorella C0501	สจล. 2 (ตึกพระเทพ)	29.5 - 32.5	7.9 - 9.4	67.5 - 135.0

1. ผลการเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่ายคลอเรลลา

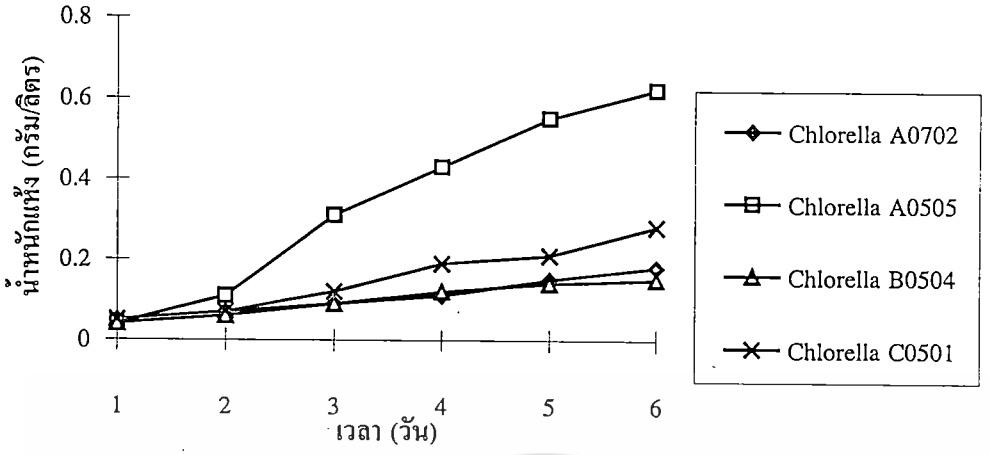
สาหร่ายคลอเรลลาทั้ง 4 สายพันธุ์ สามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลว N-8 ซึ่งจากการเปรียบเทียบผลการเจริญของสาหร่ายคลอเรลลาเป็นเวลา 6 วัน (ภาพที่ 3) แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายคลอเรลลาทุกสายพันธุ์มีผลการเจริญเพิ่มขึ้นทุกวัน โดยเฉพาะวันที่ 6 ของการทดลองสาหร่าย *Chlorella* A0505 มีผลการเจริญดีที่สุด คิดเป็นน้ำหนักแห้ง 0.62 กรัม/ลิตร รองลงมาคือ *Chlorella* C0501, *Chlorella* A0702 และ *Chlorella* B0504 คิดเป็นน้ำหนักแห้ง 0.28, 0.18 และ 0.15 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

2. ผลการเปรียบเทียบการแปรผันแหล่งไนโตรเจน

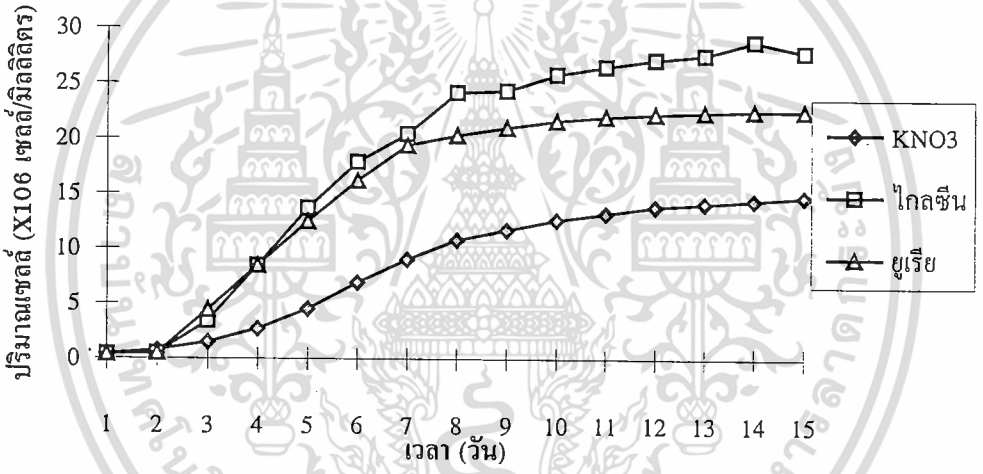
สาหร่าย *Chlorella* A0505 ซึ่งมีผลการเจริญดีที่สุด ในวันที่ 6 ของการทดลองที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร N - 8 เมื่อนำสาหร่าย *Chlorella* A0505 มาทดลองเลี้ยงในสภาพอาหารเหลวสูตร N-8 ที่ได้ดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนให้แตกต่างกัน 3 แหล่งไนโตรเจน คือโปแตสเซียมไนเตรท ไกลซีน และยูเรียที่มีปริมาณความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนคือ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร เท่ากันทุกสูตรดัดแปลง จากผลการทดลอง (ภาพที่ 4 และ 5) แสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *Chorella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

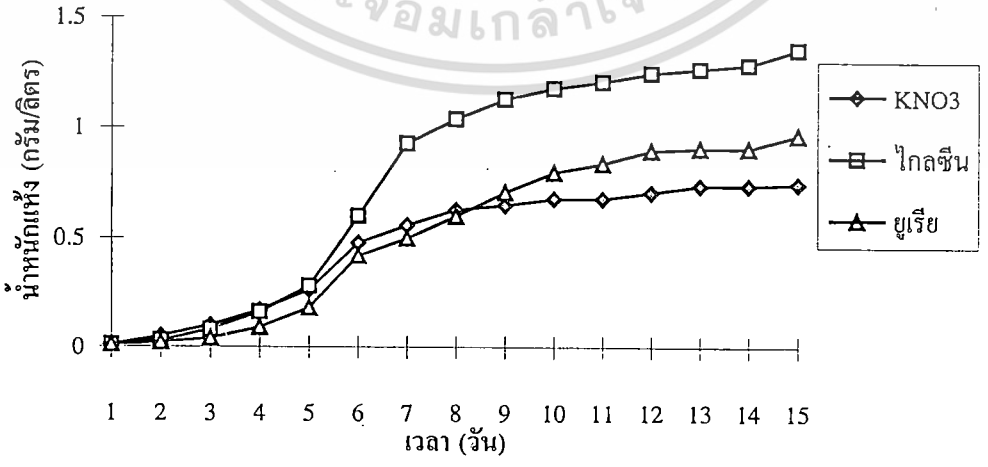
34687



ภาพที่ 3 แสดงผลการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* A0702, *Chlorella* A0505, *Chlorella* B0504 และ *Chlorella* C0501



ภาพที่ 4 ปริมาณเซลล์สาหร่าย *Chlorella* A0505 ในอาหารโปแตสเซียมไนเตรท ไกลซีนและยูเรีย



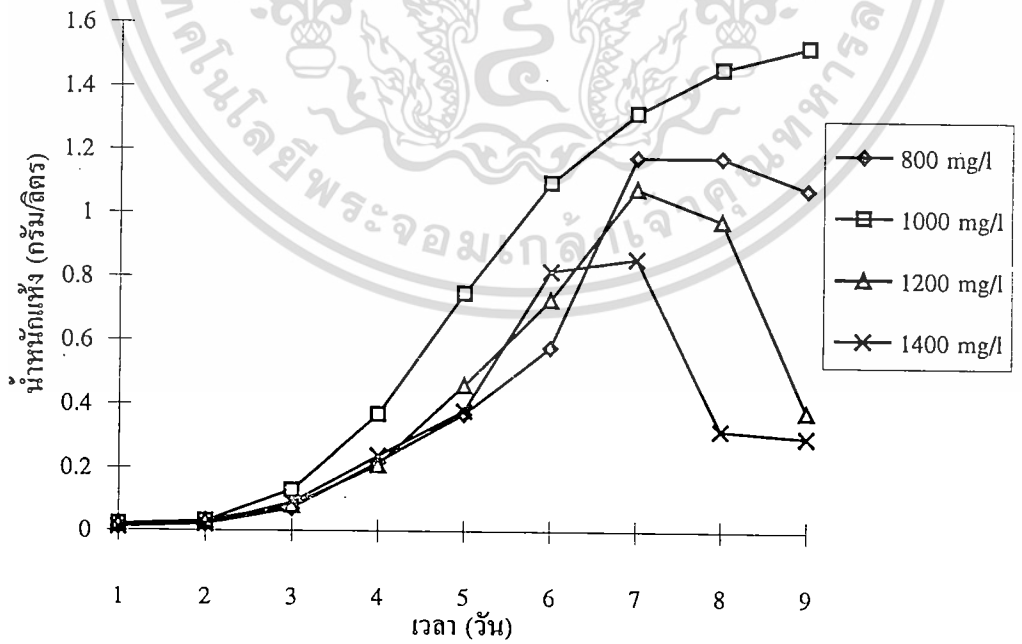
ภาพที่ 5 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* A0505 ในอาหารโปแตสเซียมไนเตรท ไกลซีน และยูเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A0505 มีผลการเจริญเพิ่มขึ้นทุกวันในทุกสูตรอาหารที่ดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนและให้ผลการเจริญสูงสุดในวันที่ 14 ของการทดลอง ซึ่งแหล่งไนโตรเจนจากไกลซีนให้ผลการเจริญดีที่สุดโดยมีปริมาณเซลล์ 27.80 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และมีน้ำหนักแห้ง 1.36 กรัม/ลิตร รองลงมาคือ ยูเรีย มีปริมาณเซลล์ 22.51 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้ง 0.97 กรัม/ลิตร และโปแตสเซียมไนเตรทมีปริมาณเซลล์ 14.7 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้ง 0.75 กรัม/ลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) คือ 0.41, 0.49 และ 0.29 ตามลำดับ

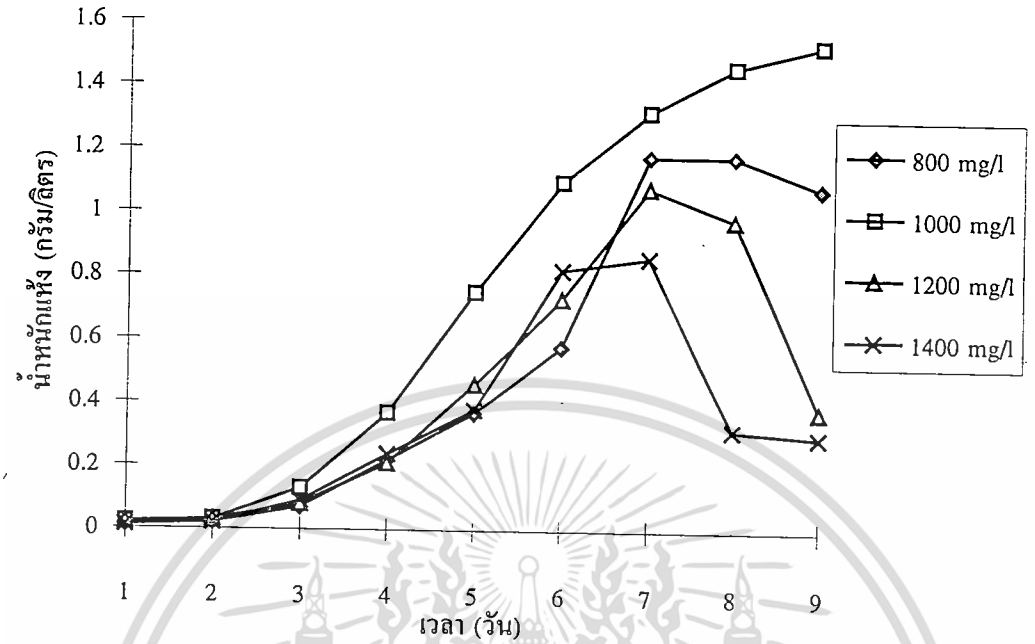
3. ผลการเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นของไกลซีน

สาหร่าย *Chlorella* A0505 มีผลการเจริญดีที่สุดในอาหารเหลวสูตร N - 8 ที่ดัดแปลงไกลซีนเป็นแหล่งไนโตรเจน เมื่อนำสาหร่าย *Chlorella* A0505 มาทดลองเลี้ยง ในอาหารเหลวสูตร N - 8 ที่ได้ปรับปริมาณความเข้มข้นของไกลซีนให้ต่างกัน 4 ระดับ คือ 800, 1,000, 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัม/ลิตร จากผลการทดลองดังภาพที่ 6 และ 8 สาหร่าย *Chlorella* A0505 เจริญดีที่สุดในอาหารเหลวสูตร N - 8 ที่มีความเข้มข้นของไกลซีน 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณเซลล์เพิ่มสูงสุดในวันที่ 8 ของการทดลองซึ่งนับจำนวนเซลล์ได้ 54.71 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และน้ำหนักแห้ง 1.54 กรัม/ลิตร (ภาพที่ 6, 7) ผลการเจริญดีที่มีลำดับรองลงมาคือ ความเข้มข้นของไกลซีน 800, 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยที่ความเข้มข้นของไกลซีน 800 มิลลิกรัม/ลิตร มีปริมาณเซลล์เพิ่ม



ภาพที่ 6 ปริมาณเซลล์สาหร่าย *Chlorella* A0505 ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไกลซีน 800, 1000, 1200 และ 1400 มิลลิกรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* A 0505 ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มของไกลซีน 800, 1000, 1200 และ 1400 มิลลิกรัม/ลิตร

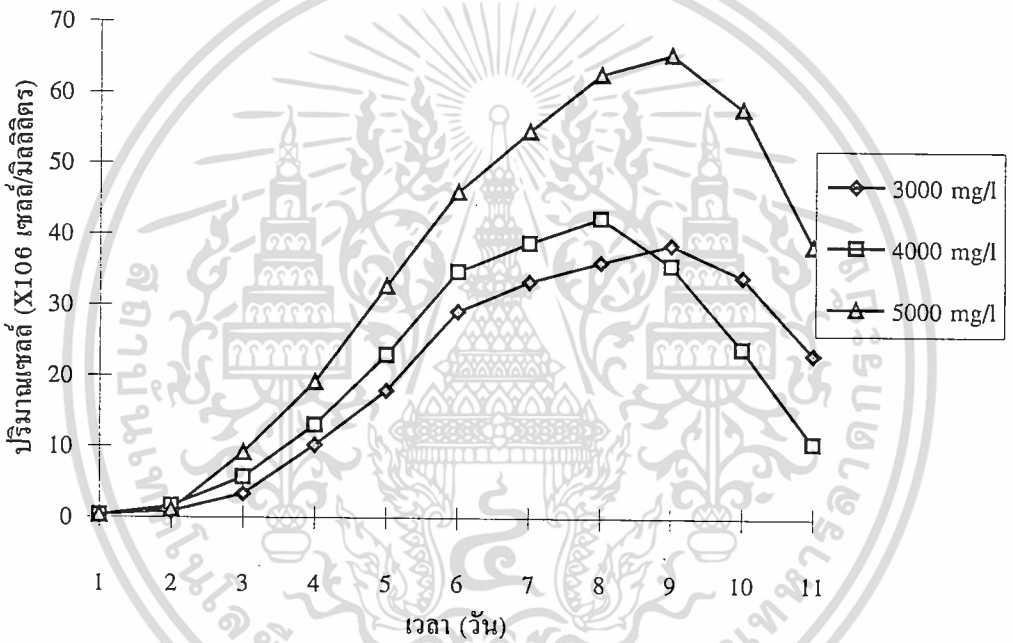
สูงสุดในวันที่ 7 ของการทดลองคือปริมาณเซลล์ 29 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และน้ำหนักแห้ง 1.12 กรัม/ลิตร ที่ปริมาณความเข้มข้นของไกลซีน 1,200 มิลลิกรัม/ลิตร มีปริมาณเซลล์เพิ่มสูงสุดในวันที่ 7 ของการทดลองนับจำนวนเซลล์ได้ 27.67 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และน้ำหนักแห้ง 1.08 กรัม/ลิตร สาหร่าย *Chlorella* A0505 มีผลการเจริญต่ำที่สุดของการทดลองนี้ โดยมีเจริญสูงสุด ในวันที่ 7 ของการทดลองมีปริมาณเซลล์เพียง 20.60 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และน้ำหนักแห้ง 0.86 กรัม/ลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไกลซีน 1,400 มิลลิกรัม/ลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) คือ 0.57, 0.55, 0.54 และ 0.42 ตามลำดับ

4. ผลการเปรียบเทียบความเข้มแสง

สาหร่าย *Chlorella* A0505 มีผลการเจริญดีที่สุดในอาหารเหลวสูตร N - 8 ที่ดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนเป็นไกลซีนที่มีความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร โดยแปรผันความเข้มแสงให้ต่างกัน 3 ระดับ คือ 3,000, 4,000 และ 5,000 ลักซ์

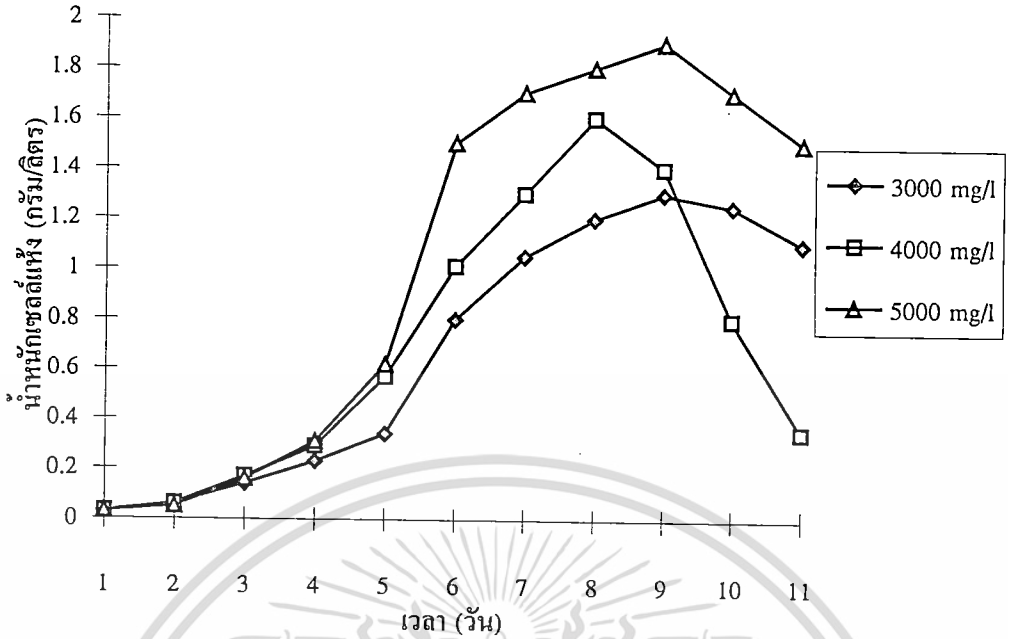
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลอง (ภาพที่ 8 และ 9) สาหร่าย *Chlorella* A0505 เจริญดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ให้ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ โดยมีปริมาณเซลล์เพิ่มสูงสุดในวันที่ 9 ของการทดลองนับจำนวนเซลล์ได้ 65.5 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และน้ำหนักแห้ง 1.9 กรัม/ลิตร การเพิ่มปริมาณเซลล์ในสภาวะความเข้มแสงรองลงมาคือ ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ มีปริมาณเซลล์เพิ่มสูงสุดในวันที่ 8 ของการทดลองนับจำนวนเซลล์ได้ 42.33 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และน้ำหนักแห้ง 1.6 กรัม/ลิตร การเพิ่มปริมาณเซลล์น้อยที่สุดของการทดลองนี้คือ การเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในสภาวะความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ มีการเพิ่มปริมาณเซลล์สูงสุดในวันที่ 9 ของการทดลอง นับจำนวนเซลล์ได้ 38.59 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และมีน้ำหนักแห้ง 1.3 กรัม/ลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) คือ 0.78, 0.50 และ 0.50 ตามลำดับ



ภาพที่ 8 ปริมาณเซลล์สาหร่าย *Chlorella* A0505 ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไกลซีน 1000 มิลลิกรัม/ลิตร ความเข้มแสง 3000, 4000 และ 5000 ลักซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 น้ำหนักเซลล์แห้งของ *Chlorella* A0505 ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไกลซีน 1000 มิลลิกรัม/ลิตร ความเข้มแสง 3000, 4000 และ 5000 ลักซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่ายคลอเรลลา

สาหร่ายคลอเรลลาที่แยกเชื้อได้จากธรรมชาติทั้ง 4 สายพันธุ์ (ตารางที่ 2) สามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลวสูตร N - 8 ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากสูตรอาหารที่นำมาเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลามีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารที่มากพอที่สาหร่ายจะเจริญได้ และจากการเปรียบการเจริญของสาหร่ายคลอเรลลาทั้ง 4 สายพันธุ์ ปรากฏว่า *Chlorella* A0505 มีการเจริญดีที่สุด ซึ่งในวันที่ 6 ของการทดลองมีน้ำหนักแห้ง 0.62 กรัม/ลิตร ซึ่งมากกว่าสาหร่ายคลอเรลลาสายพันธุ์อื่นๆ น่าจะเนื่องมาจาก สาหร่าย *Chlorella* A0505 เป็นสายพันธุ์ที่โตเร็วสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี

2. ผลการเปรียบเทียบการแปรผันแหล่งไนโตรเจน

สาหร่าย *Chlorella* A0505 ซึ่งมีผลการที่สุดจากการทดลองที่ 1 เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร N - 8 ที่ได้ดัดแปลง แหล่งไนโตรเจนให้ต่างกัน คือ โปแตสเซียมไนเตรท ไกลซีน และยูเรีย ที่มีปริมาณความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนเท่ากันคือ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ผลปรากฏว่า สาหร่าย *Chlorella* A0505 ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนจากไกลซีนให้ผลการเจริญดีที่สุดโดยมีปริมาณเซลล์ 27.80 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และมีน้ำหนักแห้ง 1.36 กรัม/ลิตร สูตรอาหารดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลผลิตเซลล์สาหร่ายรองลงมาคือ ยูเรีย และโปแตสเซียมไนเตรทตามลำดับ (ภาพที่ 4 และ 5) ซึ่งจากการทดลองนี้แสดงว่าให้เห็นว่าไกลซีนเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สาหร่ายคลอเรลลาสามารถนำมาสังเคราะห์เพื่อเปลี่ยนเป็นชีวมวลได้ดีกว่าแหล่งไนโตรเจนจากยูเรียและโปแตสเซียมไนเตรท ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Davis และ คณะ (1964) ได้เปรียบเทียบผลผลิตของสาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* ที่เลี้ยงในสูตรอาหารไกลซีนยูเรียและโปแตสเซียมเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยในวันที่ 7 ของการทดลองผลปรากฏว่า สูตรอาหารดังกล่าวให้ผลผลิตสาหร่ายคลอเรลลา 28, 27 และ 24 กรัม/ลิตร (น้ำหนักสด) ตามลำดับ แต่จากการทดลองของธิดาและคณะ (2536) ได้เปรียบเทียบสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงคลอเรลลาน้ำกร่อย พบว่าผลการเจริญของคลอเรลลาใกล้เคียงกันเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นยูเรียและโปแตสเซียมไนเตรท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลการเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นของไกลซีน

ผลการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* A0505 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร N - 8 ที่ได้ปรับระดับความเข้มข้นของไกลซีน 4 ระดับ คือ 800, 1,000, 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าสาหร่าย *Chlorella* A0505 มีผลการเจริญดีที่สุดที่ความเข้มข้นของไกลซีน 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งมีปริมาณเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 ของการทดลองคือมีปริมาณเซลล์ 54.71 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และน้ำหนักแห้ง 1.54 กรัม/ลิตร (ภาพที่ 6 และ 7) ปริมาณความเข้มข้นของไกลซีนที่ให้ผลการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* A0505 รองลามาคือ 800, 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของไกลซีนต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* A0505 คือ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนปริมาณความเข้มข้นของไกลซีนทั้งที่น้อยกว่าและมากกว่า 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร คือ 800, 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัม/ลิตร มีผลทำให้การเจริญต่ำกว่าสาหร่าย *Chlorella* A0505 ที่เลี้ยงในอาหารไกลซีน 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร เพราะปริมาณสารอาหารที่น้อยเกินไปและมากเกินไปจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของสาหร่าย เช่นเดียวกับการทดลองของ David และคณะ (1964) ได้เปรียบเทียบการเจริญของสาหร่าย *C. pyredonoidsa* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรท 1.8 - 14.4 กรัม/ลิตร และปริมาณความเข้มข้นของยูเรีย 0.52 - 4.2 กรัม/ลิตร พบว่าที่ปริมาณความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรท 1.8 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิตเซลล์สูงสุดในวันที่ 5 คือ มีปริมาณเซลล์ 355,000 เซลล์/มิลลิลิตร (น้ำหนักสด 15 กรัม/ลิตร) และที่ปริมาณความเข้มข้นของยูเรีย 1.05 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิตเซลล์สูงสุดในวันที่ 5 คือมีปริมาณเซลล์ 410,000 เซลล์/มิลลิลิตร (น้ำหนักสด 20.9 กรัม/ลิตร) และจากการทดลองของ Pantastico (1991) รายงานว่าการใช้ปุ๋ยคอกต่างชนิดกันและในระดับความเข้มข้นต่างกันมีผลต่อการเพิ่มปริมาณของเซลล์สาหร่ายคลอเรลลา ดังตารางที่ 3

4. ผลการเปรียบเทียบปริมาณความเข้มแสง

ผลการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* A0505 ที่เลี้ยงในอาหาร N - 8 ที่ดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนเป็นไกลซีนปริมาณความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อแปรผันความเข้มแสงให้ต่างกัน 3 ระดับ คือ 3,000, 4,000 และ 5,000 ลักซ์ จากผลการทดลองพบว่าสาหร่าย *Chlorella* A0505 ที่เลี้ยงโดยให้ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ให้ผลการเจริญดีที่สุด ในวันที่ 9 ของการทดลอง คือมีปริมาณเซลล์ 65.5 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และมีน้ำหนักแห้ง 1.9 กรัม/ลิตร (ภาพที่ 8 และ 9) จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มแสงสูงเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยให้การเจริญของสาหร่ายเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากมีผลต่อการเพิ่มปริมาณของคลอโรฟิลล์ทำให้มีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงขึ้นด้วย (David, 1964) เช่นเดียวกับการทดลองของมาวิทย์และธิดา (2534) พบว่าการเลี้ยงคลอเรลลาในห้องปฏิบัติการที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ดีที่สุด (มากกว่า 1,000 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การเจริญของสาหร่ายคลอเรลลาในห้องปฏิบัติการที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยคอกต่างชนิด (Martinez 1981, อ้างตาม Pantastico, 1991)

ปุ๋ยคอก	กรัม/ลิตร	ปริมาณเซลล์ ($X10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร)
หมู	2	60.80
	4	69.88
	6	78.10
ม้า	2	115.78
	4	69.83
	6	35.30
ไก่	2	100.03
	4	124.10
	6	35.30

3,000 ลักซ์) คือ 18.1 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และมีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่าเร็วที่สุดของการทดลองนี้คือ 1.2 วัน แต่จากการศึกษาของ Post และคณะ (1994) พบว่าสาหร่ายแต่ละชนิดมีความต้องการแสงเพื่อใช้ในการเจริญไม่เท่ากัน ซึ่งจากการทดลองเลี้ยง *C. vulgaris* 2 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ C1 มีปริมาณคลอโรฟิลด์บีสูง จัดเป็นพวก autotroph ต้องการสารอาหารเพียงเล็กน้อยก็สามารถเจริญได้ดี ในขณะที่สายพันธุ์ C2 มีปริมาณคลอโรฟิลด์บีต่ำ แต่มีความต้องการวิตามินบี 12 และสารอาหารอื่นๆ เพื่อการเจริญเติบโต จัดเป็นพวก heterotroph ซึ่งเมื่อให้แสงเป็นแหล่งพลังงานแต่เพียงอย่างเดียวสาหร่าย *C. vulgaris* สายพันธุ์ C2 จะมีอัตราการเจริญต่ำ

จากการทดลองนี้ แสดงว่า *Chlorella* A0505 จัดเป็นพวก autotroph มีความต้องการแสงเป็นแหล่งพลังงานในการสังเคราะห์แสงและมีความต้องการไกลซีนเพียง 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร แม้เมื่อให้ปริมาณความเข้มข้นของไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้นก็ไม่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณเซลล์ได้ (ภาพที่ 8 และ 9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่แยกเชื้อได้จากธรรมชาติบริเวณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และคลองประเวศบุรีรมย์ จำนวน 4 สายพันธุ์คือ *Chlorella* A0702, *Chlorella* A0505, *Chlorella* B0504 และ *Chlorella* C0501

1. สาหร่ายคลอเรลลาทั้ง 4 สายพันธุ์ สามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลวสูตร N-8 โดยที่สาหร่าย *Chlorella* A0505 เจริญดีที่สุดในวันที่ 6 ของการทดลองมีน้ำหนักแห้ง 0.62 กรัม/ลิตร

2. เมื่อดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนเป็นโปแตสเซียมไนเตรท ไกลซีน และยูเรียที่มีความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร จากผลการทดลองพบว่าคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลงไกลซีน เพิ่มปริมาณสูงสุดในวันที่ 15 ของการทดลองโดยมีความหนาแน่นของเซลล์ 27.80 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร น้ำหนักแห้ง 1.36 กรัม/ลิตร และอัตราการเจริญจำเพาะ 0.41 วัน$^{-1}$

3. เปรียบเทียบความเข้มข้นของไกลซีนต่างกัน 4 ระดับ คือ 800, 1,000, 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัม/ลิตร ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายคอลเรลลามีผลการเจริญดีที่สุดในวันที่ 8 ของการทดลอง โดยมีความหนาแน่นของเซลล์ 54.71 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร น้ำหนักแห้ง 1.54 กรัม/ลิตร และอัตราการเจริญจำเพาะ 0.57 วัน$^{-1}$

4. ผลของการความเข้มแสงที่ต่างกัน 3 ระดับ คือ 3,000, 4,000 และ 5,000 ลักซ์ จากการทดลองนี้พบว่าคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตรดัดแปลงไกลซีนความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ให้ผลการเจริญดีที่สุดเมื่อเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในวันที่ 9 ของการทดลอง โดยให้เซลล์สูงสุด 65.5 X 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร น้ำหนักแห้ง 1.9 กรัม/ลิตร และอัตราการเจริญจำเพาะ 0.78 วัน$^{-1}$

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในสภาพที่ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน เพราะจากผลการทดลอง สาหร่ายที่เลี้ยงในยูเรียมีผลการเจริญใกล้เคียงกับไกลซีนและอีกเหตุผลหนึ่งคือยูเรียมีราคาถูก

2. ควรทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงแบบอื่นและช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยว เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ทุนสนับสนุนประจำปีงบประมาณ 2541 และขอขอบคุณ ผศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง ที่ให้คำแนะนำแก่ผู้วิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กัญญา สุจริตวงศานนท์ และสัญห์ชัย สุจริตวงศานนท์. 2529. การศึกษาเบื้องต้นของการเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว. ว.เกษตรศาตร์ (วิทย์) 20 : 338 - 346.

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. สาหร่าย. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ทวี วิพุทธานุมาศ อดิศร อำนวยสิทธิ์ วิชัย เกียรติจินดารัตน์ และกฤษณี กลัดสวัสดิ์. 2530. การใช้คลอเรลลาควบคุมไรแดงในการอนุบาลลูกปลาบู่. รายงานประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25 สาขาประมง 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2530. หน้า 310 - 316.

ทวี หอมชง. 2540. ความหลากหลายของสาหร่ายและผลิตภัณฑ์สาหร่ายที่เป็นสินค้า. วิทยาศาสตร์ 50(2) : 87 - 94.

ธิดา เพชรมณี. 2530. โรติเฟอร์-อาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องการวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจประเทศไทย. โรงแรมเมอร์ลิน เมืองพัทยา ชลบุรี.15 - 17 กรกฎาคม 2530. 5 หน้า

ธิดา เพชรมณี มาวิทย์ อัศวอารีย์ ไพบูลย์ บุญลิปตานนท์ และไพฑูรย์ อรรฆายานนท์. 2531. ความเป็นไปได้ในการใช้โรติเฟอร์ *Brachinous plicatilis* เป็นอาหารระยะแรกของลูกปลากะรัง *Epinephelus malabaricus* เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2531 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติกรมประมง. 10 หน้า.

ธิดา เพชรมณี มาวิทย์ อัศวอารีย์และสุจินต์ บุญช่วย. 2536. ความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงไรแดงด้วย *Chlorella* ในภาคใต้. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2536. กรมประมง. 15 - 17 กันยายน 2536. หน้า 491 - 496.

พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย. 2539. มลพิษทางน้ำ. ภาควิชาเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร.

ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล อดิศร อำนวยสิทธิ์ วิชา เกียรตจินดารัตน์ และกฤษณี กลัดสวัสดิ์. 2530. การเพาะไรแดงเพื่อการค้า. รายงานประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25 สาขาประมง 3-5 กุมภาพันธ์ 2530. หน้า 297 - 309.

มาวิทย์ อิศวอารีย์ และธิดา เพชรมณี. 2534. ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของคลอเรลล่าในห้องปฏิบัติการ. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 5/2534. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. กรมประมง. 14 หน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Atthasampunna, P. 1995. TISTR Culture collection fifth edition. Bangkok MIRCEN. Thailand Institute of Scientific and Technological Research Bangkok, Thailand.

David, A.E, J.Dedrick, C.S. French, H.W.Milner, J.Myers, J.H.C. Smith and H.A. Spoehr. 1964. Laboratory Experiments on *Chorella* Culture at the Carnegie Institution of Washington Department of Plant Biology. In Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant. The kirby Lithographic Company, Inc. Washington. D.C.

Hansakul, w. 1991. Chlorella Nutrients and Its Beneficial properties. In Proceedings on Mass Cultures of Microalgae. November, 18 - 23 Nakorn Pathom Thailand.

Kabinawa, K.I. 1997. Mass cultivation of microalgae in Indonesia progress and problems. Poster session of the 2nd Asia-Pacific marine biotechnology conference and 3rd Asia-Pacific conference on algal biotechnology. Phuket. Thailand.

Northcote, D.H, K.J. Goulding and R.W. Horne. 1958. The chemical composition and structure of the cell wall of *Chlorella pyrenoidosa*. Biochem. J. 70 : 391 - 6.

Pantastico, J.B. 1991. Mass cultivation of microalgae in the Philippines. In Proceedings on Mass Cultures of Microalgae. November, 18 - 23 Nakorn Pathom Thailand.

Phang, Siew-Moi. 1997. *Chlorella* isolate 001-a versatile microalgae. Abstract of the 2nd Asia-Pacific marine biotechnology conference and 3rd Asia-Pacific conference on algal biotechnology. Phuket. Thailand.

----------. 1991. Development and applications of microalgal mass culture in Malasia In Proceedings on Mass Cultures of Microalgae. November, 18 - 23 Nakorn Pathom Thailand.

Polprasert, C. 1989. Organic waste recycling. John Wiley & Son Ltd. Chichester. 356 p.

Post, A.F, I. Cohen and E. Romen. 1994. Characterization of two *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae_ strains isolated from wastewater oxidation ponds. J. Phycol. 30 : 950 - 954.

Precott, W.G. 1982. Algae of western grate lakes area. Otto koeltz science publisers koenigstein W-Germany.

Sharma, P.O. 1986. Text book of algae. Tata Mac Graw-Hill publishing company Ltd. New Delhi. 396 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ก. อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย

ตารางภาคผนวกที่ 1 สูตรอาหาร n-8 medium ที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา (Atthasampunna, 1995)

$Na_2HPO_4.2H_2O$	260.0	mg
KH_2PO_4	740.0	mg
$CaCl_2$	10.0	mg
Fe EDTA	10.0	mg
$MgSO_4.7H_2O$	50.0	mg
KNO_3	1000.0	mg
Trace element mixture*	1.0	ml
Distilled water to	1.0	L

pH after autoclaving and cooling : 6.8

* TRACE ELEMENT MIXTURE FOR N-8 MEDIUM

$Al_2(SO_4)_3.18H_2O$	3.58	g
$MnCl_2.4H_2O$	12.98	g
$CuSO_4.5H_2O$	1.83	g
$ZnSO_4.7H_2O$	3.20	g
Distilled water to	1.0	L

ข. ผลการเจริญของสาหร่าย

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการเจริญของสาหร่ายคลอเรลลา 4 สายพันธุ์ ในอาหาร N-8 medium

วันที่	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/ลิตร)			
	Chlorella A0702	*Chlorella* A0505	*Chlorella* B0504	*Chlorella* C0501
1	0.05	0.04	0.04	0.05
2	0.07	0.11	0.06	0.07
3	0.09	0.31	0.09	0.12
4	0.11	0.43	0.12	0.19
5	0.15	0.55	0.14	0.21
6	0.18	0.62	0.15	0.28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 ปริมาณเซลล์และน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. A0505 ในอาหารโปแตสเซียม ไนเตรท ไกลซีน และยูเรีย

วันที่	โปรแตสเซียมไนเตรท		ไกลซีน		ยูเรีย	
	ปริมาณเซลล์ ($x10^6$ เซลล์/มล)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)	ปริมาณเซลล์ ($x10^6$ เซลล์/มล)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)	ปริมาณเซลล์ ($x10^6$ เซลล์/มล)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)
1	0.42	0.01	0.34	0.01	0.38	0.01
2	0.75	0.05	0.46	0.03	0.50	0.02
3	1.50	0.10	3.40	0.08	4.42	0.04
4	2.70	0.17	8.44	0.16	8.44	0.09
5	4.50	0.26	13.66	0.28	12.46	0.18
6	6.90	0.48	17.88	0.60	16.18	0.42
7	9.00	0.56	20.40	0.93	19.39	0.50
8	10.80	0.63	24.15	1.04	20.30	0.60
9	11.70	0.65	24.32	1.13	21.00	0.71
10	12.60	0.68	25.79	1.18	21.60	0.80
11	13.20	0.68	26.49	1.21	22.00	0.84
12	13.80	0.71	27.13	1.25	22.21	0.90
13	14.10	0.74	27.53	1.27	22.41	0.91
14	14.40	0.74	28.80	1.29	22.51	0.91
15	14.70	0.75	27.80	1.36	22.51	0.97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 4 ปริมาณเซลล์และน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* A0505 ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไกลซีน 800, 1000, 1200 และ 1400 มิลลิกรัม/ลิตร

วันที่	ความเข้มข้นของไกลซีน (มิลลิกรัม/ลิตร)							
	800		1000		1200		1400	
	ปริมาณเซลล์ ($x10^6$ เซลล์/มล)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)	ปริมาณเซลล์ ($x10^6$ เซลล์/มล)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)	ปริมาณเซลล์ ($x10^6$ เซลล์/มล)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)	ปริมาณเซลล์ ($x10^6$ เซลล์/มล)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)
1	0.50	0.01	0.68	0.02	0.73	0.02	0.55	0.01
2	0.95	0.02	1.05	0.03	1.00	0.03	0.75	0.02
3	2.05	0.07	2.30	0.13	2.40	0.08	2.72	0.09
4	11.23	0.22	12.70	0.37	8.20	0.21	11.82	0.24
5	19.50	0.37	32.10	0.75	17.57	0.46	16.57	0.38
6	26.25	0.58	46.48	1.10	25.62	0.73	19.62	0.82
7	29.00	1.18	50.70	1.32	27.67	1.08	20.67	0.86
8	27.00	1.18	54.71	1.46	22.15	0.98	18.82	0.32
9	27.00	1.08	53.25	1.53	16.75	0.38	17.01	0.30

ตารางภาคผนวกที่ 5 ปริมาณเซลล์และน้ำหนักของสาหร่าย *Chlorella* A0505 ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไกลซีน 1000 มิลลิกรัม/ลิตร ความเข้มแสง 3000, 4000 และ 5000 ลักซ์

วันที่	ความเข้มแสง (ลักซ์)					
	3000		4000		6000	
	ปริมาณเซลล์ ($x10^6$ เซลล์/มล)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)	ปริมาณเซลล์ ($x10^6$ เซลล์/มล)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)	ปริมาณเซลล์ ($x10^6$ เซลล์/มล)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)
1	0.37	0.03	0.33	0.03	0.31	0.03
2	0.88	0.06	1.65	0.06	1.07	0.05
3	3.38	0.14	5.72	0.17	9.17	0.16
4	10.25	0.23	13.08	0.29	19.10	0.31
5	17.92	0.34	23.00	0.57	32.67	0.62
6	29.13	0.80	34.78	1.01	46.00	1.50
7	33.34	1.05	38.83	1.30	54.60	1.70
8	36.09	1.20	42.33	1.60	62.67	1.80
9	38.59	1.30	35.66	1.40	65.50	1.90
10	34.09	1.25	24.00	0.80	57.84	1.70
11	23.17	1.10	10.67	0.35	38.50	1.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้