สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp.

T039903

นาย เกริกเกียรติ ไพบูลย์ศิลป
นาย ศิริพงษ์ เรืองแป้น
นาย เอกภพ ภาเรือง

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2543

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 39903
วัน, เดือน, ปี 11 ก.ค. 2544
.b.....
.i.....
เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Studying in the optimization of medium which use urea as nitrogen source on the growth of *Chlorella* sp.

Mr. Kerkkiat Paiboonsin

Mr. Siripong Ruangpan

Mr. Akkaphop Pharuang

A Special Project Submitted in Partial Fulfilment of the

Requirement for the Degree of the Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

2000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp.
โดย	นาย เกริกเกียรติ ไพบูลย์ศิลป
	นาย ศิริพงษ์ เรืองแป้น
	นาย เอกภพ ภาเรือง
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ วีนา ชูโชติ
	อาจารย์ ประสิทธิ์ ดีวัฒนวงศ์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... หัวหน้าภาควิชา
(ผศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

..... ประธานกรรมการ
(ผศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

..... กรรมการ
(อาจารย์ วีนา ชูโชติ)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ประสิทธิ์ ดีวัฒนวงศ์)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp.
โดย	นาย เกริกเกียรติ ไพบูลย์ศิลป
	นาย ศิริพงษ์ เรืองแป้น
	นาย เอกภพ ภาเรือง
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ วินา ชูโชติ
	อาจารย์ ประสิทธิ์ ดีวัฒนางศ์
ปีการศึกษา	2543

บทคัดย่อ

จากการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. จากแหล่งน้ำธรรมชาติพบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp. E1708 เจริญได้ดีที่สุดในอาหารเหลวสูตร N-8 และมีการดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนจากโพแทสเซียมเป็นยูเรีย พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สาหร่ายให้ผลการเจริญมากที่สุด ในวันที่ 8 ของการทดลองพบว่าปริมาณความหนาแน่นเซลล์เท่ากับ 3.57×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้ง 19.09 กรัมต่อลิตร คิดอัตราการเจริญจำเพาะได้ 1.16 ต่อวัน เมื่อทำการศึกษาความเข้มแสงที่มีผลต่อการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708ที่เลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ระดับความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ สาหร่ายให้ผลการเจริญดีที่สุดโดยในวันที่ 8 ของการทดลองปริมาณความหนาแน่นเซลล์ 3.88×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 19.82 กรัมต่อลิตร และคิดอัตราการเจริญจำเพาะได้ 0.91 ต่อวัน เมื่อทำการเลี้ยงในถังหมักโดยใช้อาหารสูตร N-8 ที่มีปริมาณยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Chlorella* sp.E1708 เจริญได้ดีในสภาวะที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที และมีอัตราการกวน 100 รอบต่อนาที โดยในวันที่ 5 ของการทดลองมีความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ 2.96×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 18.37 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.91 ต่อวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special project title	Studying in the optimization of medium with use urea as nitrogen source on the growth of *Chlorella* sp.
Student	Mr. Kerkkiat Paiboonsin
	Mr. Siripong Ruangpan
	Mr. Akkaphop Pharuang
Department	Applied Biotechnology
Special project advisors	Mrs. Weena Choochote
	Mr. Prasit Deewatthanawong
Academic year	2000

Abstract

Three strains of *Chlorella* sp. were isolated from natural pond. Among them, *Chlorella* sp. E1708 was selected to study optimum condition for growth because it grew very well in N-8 medium. When urea was used as nitrogen source instead of potassium nitrate, maximum growth occurred on day 8 of cultivation in modified N-8 medium containing 1,000 mg/L urea. The strain, *Chlorella* sp. E1708 produced cell concentration of 3.57×10^8 cells/mL , dry cell weight of 19.10 g/L and specific growth rate of 1.16 day^{-1}. More over, light illumination was also studied. It wasfound that the maximum dry cell weight and cell concentration were 19.82 g/L and 3.88×10^8 cells/mL respectively with specific growth rate of 0.91 day^{-1} on day 8 of cultivation at light intensity of 5,000 Luxs. *Chlorella* sp. E1708 produced maximum cell concentration of 2.96×10^8 cells/mL with dry cell weight of 19.82 g/L and specific growth rate of 0.91 day^{-1} on day 5 of cultivation when it was grown in the modified medium in 5 L-fermenter at 100 rpm agitation and 3.0 L/min aeration under the light intensity of 5,000 Luxs.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ

- อาจารย์ วีนา ชูโชติ ที่ให้คำแนะนำ ปรึกษา และดูแลคณะผู้จัดทำเป็นอย่างดี
- ผศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง ที่ให้คำปรึกษา และช่วยเหลือยามวิกฤตเสมอมา
- สำนักหอสมุดมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สำนักหอสมุดสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ ห้องสมุด W.E. Johnson ณ กรมประมง ที่ให้บริการค้นคว้าข้อมูลด้วยดีเสมอมา
- ร้าน ID. ED. Photo ที่ให้บริการล้าง อัดรูปด้วยดี
- เพื่อนๆ ที่ใช้ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของสาหร่ายในการทำโครงงานพิเศษ ทำให้ชีวิตมีรสชาติมากขึ้น
- เจ้าของห้อง 3325 ณ ดีดี แมนชั่น มีนบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการประชุม วางแผนการจัดทำโครงงานพิเศษตลอดมา
- ไวรัสคอมพิวเตอร์ ที่ทำให้การทำรูปเล่มได้อรรถรสกับชีวิตมากขึ้น
- ปัญหาเล็กและปัญหาใหญ่ ที่ทำให้คณะผู้จัดทำมีจิตใจเข้มแข็งมากขึ้น
- รายฎรชาวไทยที่เสียภาษีมาเป็นค่าใช้จ่ายในการศึกษาเล่าเรียน

นอกจากนี้ขอขอบคุณทุกท่านที่มิอาจกล่าวนาม ณ ที่นี้ได้ครบถ้วน ที่เป็นกำลังใจเสมอมา หากมีข้อผิดพลาด บกพร่องประการใด คณะผู้จัดทำขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย สำหรับความดีของงานชิ้นนี้ ถ้าหากมี คณะผู้จัดทำขออุทิศให้ นักสู้เพื่อประชาชน ที่ไม่ย่อท้อต่อภยันตราย ทำเพื่ออุดมการณ์อย่างแท้จริง... เช กูวารา, จิตร ภูมิศักดิ์, อัสนี พลจันทร์, ศรีบูรพา และวีรชนทุกท่านด้วยความเคารพ

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
-วัตถุประสงค์	2
-ขอบเขตการศึกษา	2
-ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
-ประโยชน์ของ *Chlorella* sp.	7
-การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย	9
-การเก็บรักษาพันธุ์สาหร่าย	10
-การเจริญของสาหร่าย	10
-การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.	11
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	15
-อุปกรณ์	15
-วิธีการทดลอง	18
บทที่ 4 ผลการทดลอง	23
4.1 ผลการเปรียบเทียบการเจริญของ *Chlorella* sp.	23
4.2 ผลการเปรียบเทียบการแปรผันปริมาณยูเรีย	23
4.3 ผลการเปรียบเทียบความเข้มแสง	28
4.4 ผลการเปรียบเทียบการเจริญในถังหมัก	28
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง	33
5.1 ผลการเปรียบเทียบการเจริญของ *Chlorella* sp.	33
5.2 ผลการเปรียบเทียบการแปรผันปริมาณยูเรีย	33
5.3 ผลการเปรียบเทียบความเข้มแสง	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

5.4 ผลการเปรียบเทียบการเจริญในถังหมัก 35
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 36
เอกสารอ้างอิง 37
ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย 41
ภาคผนวก ข. ผลการเจริญของสาหร่าย 42
ภาคผนวก ค. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 46
ภาคผนวก ง. กราฟมาตรฐานน้ำหนักแห้งของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 49
ภาคผนวก จ. กราฟมาตรฐานอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบทางเคมีของ *Chlorella* sp.	4
2.2 การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่มีในอาหาร 100 กรัม	7
ข-1 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. 3 สายพันธุ์ ในอาหารสูตร N-8	42
ข-2 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรีย เข้มข้น 800 , 1,000 , 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร	43
ข-3 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรีย เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 3,000 , 4,000 และ 5,000 ลักซ์	44
ข-4 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรีย เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที(1vvm) และมีการกวน 100 รอบต่อนาที	44
ข-5 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรีย เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในถังหมักที่ให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที(2vvm) และมีการกวน 100 รอบต่อนาที	45
ข-6 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรีย เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที(1vvm) และมีการกวน 200 รอบต่อนาที	45
ค-1 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสายพันธุ์ต่างๆ ณ วันที่ 7 ของการทดลอง	46
ค-2 แสดงการวิเคราะห์การเปรียบเทียบการเจริญของ *Chlorella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์	46
ค-3 ปริมาณน้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. E1708 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีปริมาณยูเรียต่างๆกัน ณ วันที่ 8 ของการทดลอง	47
ค-4 แสดงการวิเคราะห์การเปรียบเทียบการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารที่มียูเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ	47
ค-5 ปริมาณน้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. E1708 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ระดับความเข้มแสงต่างๆกัน ณ วันที่ 8 ของการทดลอง	48
ค-6 แสดงการวิเคราะห์การเปรียบเทียบการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ระดับความเข้มแสงต่างๆกัน	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

3.1 *Chlorella* sp. E1708 (x 40) 16

3.2 *Chlorella* sp. E1708 (x 100) 16

3.3 *Chlorella* sp. D1708 (x 40) 17

3.4 *Chlorella* sp. A0505 (x 40) 17

3.5 *Chlorella* sp. ที่ทำการคัดแยกเชื้อด้วยวิธี Simple streak technique(ซ้าย)และ Cross streak technique (ขวา) 19

3.6 *Chlorella* sp. ในหลอดอาหารเอียง 19

3.7 *Chlorella* sp. ในอาหารเหลว 20

3.8 *Chlorella* sp. เลี้ยงในชุดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศ 20

3.9 *Chlorella* sp. E1708 ในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาทีและมีอัตราการกวน 100 รอบต่อนาที (วันแรกของการทดลอง) 22

3.10 *Chlorella* sp. E1708 ในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาทีและมีอัตราการกวน 100 รอบต่อนาที (วันที่ 8 ของการทดลอง) 22

4.1 ปริมาณเซลล์ของ *Chlorella* sp. E1708 , *Chlorella* sp. D1708 และ *Chlorella* sp. A0505 ในอาหารสูตร N-8 24

4.2 น้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. E1708 , *Chlorella* sp. D1708 และ *Chlorella* sp. A0505 ในอาหารสูตร N-8 25

4.3 ปริมาณเซลล์ของ *Chlorella* sp. E1708 ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นยูเรีย 800 , 1,000 , 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร 26

4.4 น้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. E1708 ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นยูเรีย 800 , 1,000 , 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร 27

4.5 ปริมาณเซลล์ของ *Chlorella* sp. E1708 ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 3,000 , 4,000 และ 5,000 ลักซ์ 29

4.6 น้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. E1708 ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 3,000 , 4,000 และ 5,000 ลักซ์ 30

4.7 ปริมาณเซลล์ของ *Chlorella* sp. E1708 ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในถังหมักที่ให้อากาศ 1vvmมีการกวน 100 rpm, ให้อากาศ 2vvm มีการกวน 100 rpmและ ให้อากาศ 1vvm มีการกวน 200 rpm 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

4.8 น้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในถังหมักที่ให้อากาศ 1 vvm มีการกวน 100 rpm , ให้อากาศ 2 vvm มีการกวน 100 rpm และ ให้อากาศ 1 vvm มีการกวน 200 rpm 32

ง-1 กราฟมาตรฐานน้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. E1708 50

ง-2 กราฟมาตรฐานน้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. D1708 51

ง-3 กราฟมาตรฐานน้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. A0505 52

จ-1 กราฟอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 54

จ-2 กราฟอัตราการเจริญจำเพาะของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นของยูเรียแตกต่างกัน 55

จ-3 กราฟอัตราการเจริญจำเพาะของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นของยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับความเข้มแสงแตกต่างกัน 56

จ-4 กราฟอัตราการเจริญจำเพาะของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นของยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในถังหมักที่สภาวะแตกต่างกัน 57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

การวิจัยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่มีแนวความคิดมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1920 ในประเทศเยอรมันและได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่ง หลังจากสงครามโลกครั้งที่ 2 เพราะปริมาณประชากรโลกที่เพิ่มขึ้นประกอบกับความต้องการแหล่งอาหารที่เพิ่มขึ้นตามจะนำไปสู่วิกฤติการณ์อาหารโลก (World food crisis) จึงมีการหาแนวทางในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีน โดยเฉพาะสาหร่ายเซลล์เดียวพวก *Scenedesmus* sp. *Chlorella* sp. *Anabaena* sp. และ *Spirulina* sp. เป็นที่นิยมนำมาเพาะเลี้ยงเพราะให้ผลผลิตโปรตีนสูง เลี้ยงง่าย มีการทดลองเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะต่างๆกัน เพื่อให้ได้อัตราการเจริญสูงสุด โดยพยายามนำของเสียจากอุตสาหกรรมอื่นมาเป็นอาหารเลี้ยงสาหร่าย (Buri , 1977) ในปัจจุบันนี้องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and agriculture organization)ได้ส่งเสริมให้มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายหลายชนิดรวมทั้ง *Chlorella* sp. เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญในศตวรรษที่ 21 ทั้งนี้นอกเหนือจากการใช้สาหร่ายเป็นแหล่งโปรตีนโดยตรงกับมนุษย์แล้วยังใช้สาหร่ายเป็นอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อน จำพวกกุ้งและ ปลา (สุนีย์ , 2524) จึงเห็นได้ว่าสาหร่ายเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญของมนุษย์ทั้งทางตรงคือการนำมารับประทานและทางอ้อมคือนำมาเป็นอาหารสัตว์น้ำ จึงเป็นเรื่องที่ดีที่จะศึกษาหาวิธีในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ได้ผลผลิตดีขึ้น ซึ่งมักจะมีปัญหาที่เกิดขึ้นประจำคือ ผลผลิตของ *Chlorella* sp. ไม่เพียงพอกับความต้องการ (ธิดา และคณะ 2536) นอกจากนี้สาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถสังเคราะห์สารอินทรีย์โดยเฉพาะจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เกลืออนินทรีย์ ผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง ทำให้ได้ก๊าซออกซิเจน โดยสาหร่ายจะทำงานร่วมกับแบคทีเรียพวกที่ใช้อากาศในน้ำเสีย (Aerobic bacterial) ซึ่งอยู่ร่วมกันแบบSymbiosis (นวลพรรณ และมงคล , 2542) สาหร่าย *Chlorella* sp. จึงเป็นสิ่งมีชีวิตที่น่าสนใจศึกษาในการพัฒนาแนวทางเพาะเลี้ยงที่ทำให้ได้ผลผลิตที่เหมาะสมเพียงพอกับความต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. คัดเลือกพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. จากธรรมชาติที่มีการเจริญดี
2. ศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน
3. ศึกษาสภาวะความเข้มแสงที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp.

ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ในการทดลองนี้จะทำการทดลองเปรียบเทียบผลการเจริญของสาหร่ายสายพันธุ์ต่างๆ ในอาหารสูตร N – 8 จากนั้นจึงนำสายพันธุ์ที่เจริญได้ดีที่สุดมาเลี้ยงในสูตรอาหารที่มีการแปรผัน ปริมาณยูเรียและแสง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสูตรอาหารที่มีปริมาณยูเรียที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ *Chlorella* sp.
2. ทราบสภาวะของแสงที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ *Chlorella* sp.
3. เป็นข้อมูลในการขยายการทดลองที่ใหญ่กว่าห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

สาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นแพลงก์ตอนพืชสีเขียวเซลล์เดียวมีคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) สูงมาก นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยวิตามิน เกลือแร่ ในปริมาณที่มากพอที่จะใช้เป็นอาหารได้ (กิดานันท์ , 2530) นักวิทยาศาสตร์ สันนิษฐานว่า *Chlorella* sp. มีมาตั้งแต่ 600 ล้านปีที่แล้ว พร้อมกับสิ่งมีชีวิตในน้ำยุคแรก โดยสาหร่ายพวกนี้ จะทำการสังเคราะห์แสงซึ่งนอกจากจะได้อาหารสะสมไว้ใช้แล้วยังผลิตออกซิเจนให้กับโลก ปริมาณออกซิเจนที่มากขึ้นจึงรวมกันเป็นชั้นโอโซน ป้องกันรังสีอันตรายจากดวงอาทิตย์ ไม่ให้ส่องกระทบผิวโลกมากเกินไป ผืนน้ำผืนแผ่นดินจึงเย็นเหมาะแก่การดำรงชีวิต (วันดี , 2543) การที่ *Chlorella* sp. มีชีวิตอยู่จนถึงปัจจุบัน แสดงให้เห็นถึงความคงที่ของการเกิดและการเจริญเติบโต ความแข็งแกร่ง และลักษณะพิเศษของกลไก ทางพันธุกรรม เนื่องจากว่า *Chlorella* sp. มีขนาดเล็กมาก Beyerinck นักวิทยาศาสตร์เนเธอร์แลนด์ ค้นพบ *Chlorella* sp. เป็นคนแรกในปี พ.ศ. 2433 (กิดานันท์ , 2530 และ วิสัย , 2536) *Chlorella* sp. สามารถจัดลำดับอนุกรมวิธานได้ดังนี้ (กาญจนภาชน์ , 2527)

Kingdom Protista
Division Chlorophyta
Order Chlorellates
Family Chlorellaceae
Genus *Chlorella*

Chlorella sp. เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมีลักษณะเป็นเซลล์เดียวสีเขียว อาจอยู่เป็นเซลล์เดียวหรือรวมเป็นกระจุก คลอโรพลาสต์เป็นแบบแถบข้างเซลล์หรือรูปถ้วยมีไพรีนอยด์ เซลล์เป็นสารประกอบพวกเซลลูโลส (กาญจนภาชน์, 2527) สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างออโตสปอร์ (Autospore) ซึ่งเป็นสปอร์ที่มีรูปร่างเหมือนเซลล์แม่ แต่มีขนาดเล็กกว่า จำนวน 4,8 หรือ 16 แต่บางชนิดเช่น *Chlorella ellipsoidea* สร้างถึง 32 ออโตสปอร์ (ลัดดา , 2542) เซลล์มีรูปร่างกลมรีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 – 10 ไมครอน *Chlorella* sp มักพบตามแหล่งน้ำที่มีสารอาหารพวกฟอสเฟต และไนเตรท อุดมสมบูรณ์ พบได้ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย น้ำเค็ม (กาญจนภาชน์ , 2527 และ ลัดดา , 2542)

Steenblock (1981 , อ้างตาม Hansakul , 1991 และ กิดานันท์ , 2530) ได้แสดงองค์ประกอบทางเคมีของ *Chlorella* sp.ซึ่งทดสอบโดย Japan Dair Technical Association, Kioicho, Chiyodaku, Tokyo ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบคือ *Chlorella* G powder No. 650818 หมายเลขทดสอบ 1787 พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรท โปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ เส้นใย คลอโรฟิลล์ และกระตุ้นการเจริญเติบโต(*Chlorella* growth factor) โปรตีนใน *Chlorella* sp. มีมากถึง 60.5 เปอร์เซ็นต์ เพียงพอที่จะใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ *Chlorella* sp. จึงถูกจัดว่าเป็นโปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein) ที่นำมาศึกษาใช้ประโยชน์ จนมีชื่อที่กล่าวถึงคุณสมบัติพิเศษของ *Chlorella* sp. เช่น อาหารจากแสงตะวัน,อาหารมรกต, The food of the centrey และ The gem of orient (วิสัย,2536)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมี *Chlorella* sp. (Steenblock,1981 อ้างตามมา กิดานันท์, 2530)

General Analysis		
Moisture	3.6	เปอร์เซ็นต์
Protein	60.5	เปอร์เซ็นต์
Fat	11.0	เปอร์เซ็นต์
Cabohydrate	20.1	เปอร์เซ็นต์
Fiber	0.2	เปอร์เซ็นต์
Ash	4.6	เปอร์เซ็นต์
Calories	421	ต่อ 100 กรัม
Vitamins and Minerals		
Vitamin A activity	55,500.00	หน่วยสากลต่อ 100 กรัม
β-carotene	180.8	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Chlorophyll a	1,469.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Chlorophyll b	613.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Thiamine (vitamin B-1)	1.5	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Riboflavin(vitamin B-2)	4.8	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Pyridoxine(Vitamin B-6)	1.7	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Vitamin B-12	125.9	ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม
Vitamin C	15.6	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Vitamin E	<1.0	หน่วยต่อ 100 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Niacine	23.8	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Pantothenic acid	1.3	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Folic acid	29.6	ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม
Biotin	191.6	ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม
PABA	0.6	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Inositol	165.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Calcium	203.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Phosphorus	989.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Iodine	600.0	ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม
Magnesium	315.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Iron	167.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Zinc	71.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Copper	0.08	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
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	4.8	
Cystine	0.038	
Valine	3.64	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Methionine	1.45	
Isoleucine	2.63	
Leucine	5.26	
Tyrosine	2.09	
Phenylalanine	3.08	
Ornithine	0.06	
Typtophan	0.56	
Fatty acid		
Unsaturated fatty acid	81.8	เปอร์เซ็นต์
Saturated fatty acid	18.2	เปอร์เซ็นต์
C14:0	0.6	เปอร์เซ็นต์
C14:1	0.9	เปอร์เซ็นต์
C14:2	0.9	เปอร์เซ็นต์
C16:0	15.6	เปอร์เซ็นต์
C16:1	9.1	เปอร์เซ็นต์
C16:2	5.5	เปอร์เซ็นต์
C16:3	7.1	เปอร์เซ็นต์
C18:0	2.0	เปอร์เซ็นต์
C18:1	10.0	เปอร์เซ็นต์
C18:2	15.5	เปอร์เซ็นต์
C18:3	22.8	เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่มีในอาหาร 100 กรัม (วิสัย,2536)

อาหาร	ปริมาณโปรตีน (กรัม)
Chlorella sp.	58
เนื้อวัว	24-27
ไข่	13
ปลา	18-29
ไก่	24
ข้าวสาลี	10-13
ข้าว	3-7
มันฝรั่ง	3

ประโยชน์ของ *Chloraila* sp.

1. อาหารเสริมสุขภาพสำหรับมนุษย์

ผลิตภัณฑ์จาก *Chlorella* sp. เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดแรกของสาหร่ายเซลล์เดียวที่นำมาใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพในรูปของสินค้าอัดเม็ดหรือเป็นผงมีราคาสูงถึง กิโลกรัมละ 100 ดอลลาร์สหรัฐอเมริกา (ทวี, 2540) ในญี่ปุ่นมีการใช้ *Chorella* sp. ถึงปีละ 1,000 ตัน ทั้งในรูปเม็ด ผง หรือชนิดน้ำ โดยในการผลิตได้ใช้วิธี Dyno-mill ย่อยผนังของเซลล์ *Chlorrella* sp. ทำให้ผนังของเซลล์แตกออกโดยไม่ทำลายสารอาหารภายใน โดยวิธีนี้เมื่อร่างกายรับประทานเข้าไปจะย่อยสาหร่ายได้ 85 เปอร์เซ็นต์ ดีกว่าวิธีฟอกสาหร่ายที่ทำให้ร่างกายย่อยได้เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ (กิดานันท์ , 2530 และวิสัย, 2536)

2. อาหารสำหรับสัตว์

Chlorella sp. มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าถั่วเหลือง แต่น้อยกว่านม นอกจากนั้นยังมีกรดนิวคลีอิคสูงประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งร่างกายมนุษย์ได้รับกรดนิวคลีอิคมากไปอาจเปลี่ยนเป็นกรดยูริคได้ สาหร่ายทั่วไปรวมทั้ง *Choralla* sp. มีผนังหนา ถ้านำมาเป็นอาหารมนุษย์ต้องผ่านการทำให้ผนังเซลล์บางหรือเอาออกจนร่างกายย่อยได้ แต่สัตว์ส่วนใหญ่สามารถนำสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ได้เลย(วีนา, 2542)

3. อาหารสำหรับลูกสัตว์น้ำ

การเพาะพันธุ์ลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนให้ได้ผลดีจะต้องมีอาหารสำหรับเลี้ยงลูกสัตว์น้ำให้พอเพียง อาหารสำคัญที่ใช้เลี้ยงลูกน้ำวัยอ่อนเหล่านี้ คือ แพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเล็ก และไรแดงเนื่องจากมีคุณค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางอาหารสูง ย่อยง่าย และไม่ทำให้น้ำเสีย ขณะเดียวกันแพลงก์ตอนสัตว์ก็ต้องการอาหารคือ แพลงก์ตอนพืช เช่น *Chlorella* sp. *Scenedesmus* sp. และ *Aikistrodespus* sp.(กัญญา และ สัณห์ชัย,2529)

4. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สาหร่าย *Chlolrella* sp. สามารถผลิตสาร Chlorellin มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Pratt และคณะ ,1944 และ Divid และคณะ, 1964 อ้างตามวีนา, 2542) ซึ่งประกอบไปด้วยกรดไขมันหลายชนิดปนกัน มีผลทำให้ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้อย่างดีและทำให้น้ำมีสภาพดีขึ้น (Round, 1977 อ้างตาม จรูญ, 2531) *Chlorella* sp. ที่มีรายงานว่า สร้าง Chlolrellin ได้อย่างแน่ชัด คือ *C. vugalaris* และ *C. Pyrenoiodosa* (Pratt และคณะ, 1944) มีรายงานว่าในปี ค.ศ. 1966 ได้มีการทดลองกับทหารเรือญี่ปุ่นที่เดินทางจากโตเกียวไปนิวซีแลนด์ โดยแบ่งลูกเรือเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มหนึ่งจะได้รับประทาน *Chlorella* อัดเม็ด ขนาด 2 กรัม ทุกวันตลอดการเดินทาง 95 วัน อีกกลุ่มหนึ่งจะไม่ได้รับประทาน *Chlorella* อัดเม็ดเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าผู้ที่รับประทาน *Chlorella* อัดเม็ดเป็นหวัดน้อยกว่าผู้ที่ไม่ได้รับประทาน (กิดานันท์, 2530) นอกจากนี้เส้นใยจากผนังเซลล์ของ *Chlorella* sp. ยังมีประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะหนัก เช่น แคดเมียม ตะกั่วและ ปรอท โดยถูกกำจัดอุจจาระเป็น 3 เท่า และทางปัสสาวะ 7 เท่า นอกจากนี้ คลอโรฟิลล์ของ *Chlorella* sp. ยังมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilis* ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสร้างวิตามินในลำไส้ ซึ่งช่วยให้ลำไส้เคลื่อนตัวได้ดีขึ้น จึงมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคท้องผูก (กิดานันท์, 2530 : วิสัย 2536 และ วีนา, 2542) สำหรับในการรักษามะเร็งด้วยวิธีเคมีบำบัดและเอ็กซ์เรย์ผู้ป่วย ซึ่งทำให้ภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยลดลงและเกิดผลข้างเคียงต่าง ๆ ซึ่ง *Chlorella* มีสารอาหารที่ฟื้นฟูระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายทำให้ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้น (Merchant, 1990 อ้างตาม Hansakul, 1997) แต่อย่างไรก็ตาม การทดลองเรื่อง *Chlorella* กับการป้องกันรักษามะเร็งยังอยู่ในระยะการวิจัยอยู่ ผลงานวิจัยอาจจะน้อยไม่เพียงพอที่จะสรุปว่า *Chlorella* มีบทบาทในการรักษาและป้องกันโรคมะเร็งอย่างแน่ชัด แต่ทั้งนี้ดูเหมือนว่า *Chlorella* จะเป็นความหวังหนึ่งในการรักษาโรคมะเร็งทั่วไปในอนาคต (วิสัย,2536)

5. โปรตีนเซลล์เดียว

มนุษย์รู้จักนำสาหร่ายมารับประทานโดยตรงมานานในหลายภูมิภาคของโลก และในปัจจุบันก็ได้มีการนำสาหร่ายมาผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein) สำหรับ *Chlorella* sp. นั้นมีการนำมาผลิตเป็นอุตสาหกรรมอย่างเป็นล่ำเป็นสันในไต้หวันและญี่ปุ่น(ดุษณี, 2538) โดยจะนำมาสกัดให้ได้ส่วนที่เรียกว่า *Chlorella* growth factor และมีการพัฒนาการสกัดโดยการหมุนเหวี่ยงและทำให้ข้นขึ้นโดยการหมุนเหวี่ยงในสภาวะสุญญากาศและนำมาทำให้แข็งและแห้งเพื่อให้อยู่ในรูปผงซึ่งมีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดลองวิจัยในหลายประเทศ เช่น ญี่ปุ่น, สหรัฐอเมริกา,อิตาลี และอิสราเอล (กิดานันท์, 2530 : วิสัย, 2536 และ ดุษณี, 2538)

6. การบำบัดน้ำเสีย

สาหร่ายเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในการบำบัดน้ำเสีย เพราะเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์รวมกัน ซึ่งในเซลล์มีคลอโรฟิลล์และสารสี (Pigment) โดยสาหร่ายจะทำการสังเคราะห์แสง โดยใช้สารอินทรีย์จากแหล่งน้ำทำให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้น สาหร่ายที่มีบทบาทในการบำบัดน้ำเสีย คือ *Chlorella*, *Euglena* และ *Ulothrix* เป็นต้น (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541 : นวลพรรณและมงคล, 2542) สาหร่ายนอกจากจะนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียแล้วยังเป็นตัวชี้คุณภาพน้ำได้อีกด้วย(วันดี, 2543)

การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย

การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการให้ได้สาหร่ายที่บริสุทธิ์ (Pure culture) เพื่อที่จะนำไปศึกษาต่อไปด้านอนุกรมวิธาน, สัณฐานวิทยา หรือนำมาเพาะเลี้ยงทางการค้า (สุนีย์, 2524)

1.วิธีการสร้างเซลล์

หลักการของวิธีการนี้คือ การล้างเซลล์สาหร่ายหลาย ๆ ครั้ง ในน้ำที่บริสุทธิ์จนกระทั่งแบคทีเรียและไวรัสหลุดออกไป โดยใช้หลอดแก้วลนไฟให้แก้วอ่อนตัว แล้วดึงให้เล็กจนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกว้างกว่าเซลล์สาหร่ายเล็กน้อยใช้ดูดสาหร่ายทีละเซลล์ไปไว้ในภาชนะที่มีน้ำที่บริสุทธิ์ ทำเช่นนี้ประมาณ 4 ครั้ง แบคทีเรียและไวรัสจะหลุดหมดการทดสอบพบว่าสาหร่ายที่ได้บริสุทธิ์หรือไม่นั้นใช้วิธีเพาะเชื้อในอาหารวุ้นที่มีอาหารสำหรับแบคทีเรียและไวรัส เกลี่ยหยดสาหร่ายให้ทั่วหน้าวุ้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ให้แสงสว่างพอประมาณ ถ้าผ่านไป 2 สัปดาห์ ไม่มีแบคทีเรียหรือไวรัสที่อุณหภูมิห้องก็แสดงว่าสาหร่ายที่ทดสอบเป็น Pure culture วิธีนี้มักใช้กับสาหร่ายที่มีขนาดโตพอมองด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำได้ ซึ่งเป็นวิธีการที่ Pringsheim คิดขึ้นไปปี ค.ศ. 1946

2 .วิธีเพาะบนจานวุ้น

วิธีการนี้เตรียมอาหารวุ้นในจานเพาะเชื้อโดยใช้วุ้นผง 1.5 เปอร์เซ็นต์ ต้มกับอาหารที่เลี้ยงสาหร่าย โดยอาหารที่ผสมนี้ต้องนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15-20 นาที จึงนำมาเทลงในจานเพาะเชื้อให้หนาประมาณ 3-5 มิลลิเมตร ทิ้งไว้ให้เย็นตัวจนแข็งจึงหยดน้ำตัวอย่างลงไปใช้แก้วรูปแท่งตัว L ที่ลนไฟแล้ว เกลี่ยให้กระจายทั่ววุ้น (Spread plate techinique) ตั้งทิ้งไว้ให้แสงประมาณ 2,000 ลักซ์ 2 สัปดาห์ สาหร่ายจะขึ้นเป็นจุดเขียวให้เห็น ถ้ามีแบคทีเรียในน้ำตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างแบคทีเรียจะขึ้นปะปนด้วย ให้ใช้ขดลวด (loop) ลนไฟเขี่ยกลุ่มสาหร่ายที่ไม่มีแบคทีเรียไปเขี่ยบนอาหารวุ้นใหม่ (Cross streak technique) เพาะไว้อีกจนเห็นสาหร่ายเจริญเป็นจุดสีเขียวไม่มีกลุ่มแบคทีเรีย ทำอย่างนี้ 3-4 ครั้ง จนแน่ใจว่าสาหร่ายที่ได้บริสุทธิ์ จึงนำมาถ่ายเชื้อบนอาหารเอียง (Agar slant) เก็บไว้ใช้งานต่อไป วิธีนี้ใช้เฉพาะสาหร่ายที่ขึ้นได้บนวุ้นเท่านั้น

การเก็บรักษาพันธุ์สาหร่าย

สาหร่ายที่คัดพันธุ์แล้ว เลี้ยงไว้แบบ Pure culture ต้องดูแลเปลี่ยนอาหารใหม่ (Sub culture) ในระยะที่สาหร่ายเจริญเต็มที่ หากปล่อยทิ้งไว้จะค่อย ๆ ตายหมดไป สาหร่ายที่เลี้ยงไว้ในอาหารเหลวบางครั้งต้องย้ายลงอาหารใหม่ ทุก 2 สัปดาห์ แต่บางครั้ง 2 สัปดาห์อยู่ได้ถึง 1-2 เดือน การเก็บรักษาอาหารวุ้นในหลอดแก้ว (Agar slant) ก็เป็นอีกวิธีที่นิยมกันโดยเก็บที่มีอุณหภูมิต่ำประมาณ 5-10 องศาเซลเซียส มีแสงสลัว อาจเก็บได้ถึง 3 เดือน มีการทดลองเก็บสาหร่าย *Chlorella* sp. ในที่มืดและเย็นประมาณ 3 องศาเซลเซียส พบว่าอยู่ได้นาน 22 เดือน (ผุสดี, 2522) แต่สาหร่ายพวก *Chlamydomonas* sp. และ *Tetraselmis* sp. จะไม่เหมาะสมกับการเก็บรักษาด้วยการใช้อุณหภูมิต่ำ(สุนีย์, 2524)

การเจริญของสาหร่าย

การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการศึกษาการเจริญเติบโตไม่มีข้อจำกัดในแง่คาร์บอนไดออกไซด์ หรือสารอาหารต่าง ๆ และเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิคงที่ จะได้กราฟการเจริญเติบโตเหมือนจุลินทรีย์อื่น ๆ David และคณะ (1964 อ้างตาม วีนา, 2542) กล่าวถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต คือ

1. ความเข้มแสง ถ้าเลี้ยงสาหร่าย*Chlorella*ที่สภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ควรจะได้รับความเข้มแสงอย่างน้อย 100 แรงเทียน และความเข้มแสงสูงสุดประมาณ 400 แรงเทียน
2. อุณหภูมิสาหร่าย *Chlorella* แต่ละชนิดสามารถเจริญได้ดีในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน
3. ความเข้มของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
4. Autoinhibitor สาหร่ายมีอัตราการเจริญลดลงเมื่อทิ้งไว้นาน เนื่องจากมีการสะสมของของเสียที่ถูกขับออกมาจากเซลล์ แต่ปัญหานี้พบน้อยเพราะสาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงสูงและมีระดับการขับถ่ายต่ำ นอกจากนั้นสาหร่าย *C.vulgaris* สามารถขับสาร Chlorellin ออกมานอกเซลล์มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายอื่น ๆ และแบคทีเรีย
5. ความเป็นกรดเป็นด่าง สภาพความเหมาะสมของความเป็นด่าง คือ 6.0-6.5
6. สายพันธุ์สาหร่ายเป็นลักษณะเฉพาะของสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella*

สาหร่าย *Chlorella* นิยมใช้เป็นอาหารของโรติเฟอร์และไรแดง โรติเฟอร์ชนิดนี้เป็นอาหารที่ดีของลูกกุ้งทะเลในระยะไมโอซีส และอาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาหลายชนิด ที่อยู่ในระยะเริ่มกินอาหาร เช่น ปลากระพงขาวลูกปลากระรัง และลูกปลากระพงแดง (ธิดาและคณะ, 2531อ้างตาม วีนา,2542) ไรแดงเป็นอาหารของสัตว์น้ำหลายชนิดทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อยโดยสัตว์น้ำวัยอ่อนเช่น ปลาบู่ ปลาดุก ปลาสวาย ปลากระพงขาว และกุ้งก้ามกราม การเพาะเลี้ยงไรแดงมีหลายวิธีแต่วิธีที่ดีที่สุดคือการใช้สาหร่าย *Chlorella* เป็นอาหาร แต่บางครั้งและบางพื้นที่โดยเฉพาะทางภาคใต้ของประเทศไทย การเลี้ยงไรแดงด้วยวิธีดังกล่าวไม่ประสบความสำเร็จ ปัญหาที่พบเสมอคือการเพาะเลี้ยง *Chlorella* ไม่สำเร็จ มีการปนเปื้อนของโปรโตซัวและโรติเฟอร์ (ธิดาและคณะ, 2536)

สุนีย์(2519) รายงานว่ามีการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตรให้แสงโดยใช้หลอดไฟขนาด 40 วัตต์ เป็นแหล่งพลังงานแสง 2 หลอด พบว่าได้ผลผลิตสาหร่าย 2.63 x 10^9 เซลล์ต่อลิตร

สุนันท์(2523) รายงานว่าแพลงก์ตอนพืชจะใช้ไนโตรเจนส่วนใหญ่ในรูปเกลือไนเตรทและแอมโมเนีย โดยแพลงก์ตอนพืชพวก *C.vulgaris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีเกลือไนเตรทและเกลือแอมโมเนียจะใช้ไนโตรเจนที่อยู่ในรูปเกลือแอมโมเนียก่อน

สุนีย์ (2523) รายงานว่ามีการนำมูลโคนมจากท่อระบายมูลล้น มาเลี้ยงสาหร่าย *Chloerlla* sp. พบว่าปริมาณความเข้มข้นของมูลโคนม 6 กรัมต่อลิตร จะทำให้สาหร่ายมีอัตราการเพิ่มปริมาณเซลล์ต่อวันสูงสุด

ชิตและไพศาล(2523) ศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *Chlorella* sp. ในการลดค่า COD และ BOD ในน้ำทิ้งจากการหมักก๊าซชีวภาพ พบว่าเวลาผ่านไป 10 วัน ค่า COD และ BOD จะลดลง 89.62 และ 92.07 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และทำการวิเคราะห์โปรตีนใน *Chlorella* sp. ได้ 39.38 เปอร์เซ็นต์

หยกแก้ว(2525) ศึกษาการนำน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตถั่วเหลืองมาเลี้ยง *Chlorella* sp. พบว่าค่า BOD ของน้ำทิ้งลดลง 95 เปอร์เซ็นต์ ใน 2 วันและมีปริมาณเซลล์ 2.86 x 10^5 เซลล์ต่อลิตร ซึ่งทำการวัดปริมาณโปรตีนในเซลล์ได้ 47.85 เปอร์เซ็นต์

กัญญาและสัณห์ชัย (2529) ศึกษาการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนสัตว์ด้วยสาหร่ายชนิดต่าง ๆ ปรากฏว่าไรแดงมีปริมาณมากที่สุดเมื่อเลี้ยงด้วยสาหร่าย *Chlorella* sp. (k_3) และโรติเฟอร์มีปริมาณที่มากเมื่อเลี้ยงด้วยสาหร่าย *Tefraselnis* sp. และ *Chorella* sp.(k_3) และ *Chlorella* sp.(149)

ทวีและคณะ (2530) ศึกษาการใช้ไรแดงอนุบาลลูกปลาบู่ พบว่าอาหารสำหรับผลิตไรแดงคือสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่มีความเข้มข้น 0.49 x 10^5-61.14x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน เป็นปริมาณที่ทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ผลผลิตไรแดงได้ 81-21,668 ตัวต่อมิลลิลิตรต่อวัน ซึ่งทำให้ลูกปลาบู่แข็งแรงและมีอัตรารอดสูง มีขาดใกล้เคียงกัน และยังป้องกันการเพิ่มอย่างรวดเร็วของสาหร่ายจำพวกเส้นสาย

ภาณุและคณะ (2530) เพาะเลี้ยง *Chlorella* sp. สายพันธุ์น้ำจืดเพื่อเป็นอาหารของไรแดงโดยเปรียบเทียบสูตรอาหารต่าง ๆ ปรากฏว่าอาหารสูตรปลาเป็ด+ปุ๋ย N.P.K.(16-20-0) ให้ผลผลิตสูงสุดประมาณ 28.3 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

จรูญ(2531) ทดลองเลี้ยง *Chlorella* sp.(k_3) และ *Moina macrocopa* ในน้ำกากส่าเหล้าสดพบว่า *Moina macrocopa* สามารถใช้สาหร่าย *Chlorella* sp.(k_3) เป็นอาหารได้ โดยปริมาณ *Chlorella* sp. (k_3) ที่ลดลงมีผลต่อการเพิ่มจำนวน *Moina macrocopa* แบบ Linear regression และถ้าใช้ปุ๋ย N.P.K. (15-15-15) ปริมาณ 2 กรัมต่อลิตร จะทำให้ได้จำนวน *Moina macrocopa* สูงสุดคือ 3,300 ตัวต่อลิตรในการเลี้ยงวันที่ 13

มาวิทย์และธิดา(2534) เลี้ยง *Chlorella* sp. โดยให้ระดับความเข้มแสงต่างกัน 3 ระดับ คือ 1,000 3,000 และ 5,000 ลักซ์ ทำการให้แสงอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 6 วัน ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ พบว่าระดับความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ได้ปริมาณเซลล์มากที่สุดคือ 18.1x10^6 เซลล์ต่อมิลลิตร

สุพล(2542) ศึกษาการใช้ *Chlorella* sp. และ *Vibrio* sp. โคโลนีสีเหลืองในการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ พบว่าลูกกุ้งกุลาดำมีอัตราการรอด 46.00 เปอร์เซ็นต์ มากกว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงตามปกติที่มีอัตราการรอด 27.25เปอร์เซ็นต์

ภรณีและคณะ (2543) ศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *Chlorella* sp. ในการลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียจากฟาร์มสุกรพบว่า ปริมาณสาหร่ายเริ่มต้นที่ 6x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตรมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับปริมาณสาหร่ายเริ่มต้น 3x10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

Hess และ Tolbert (1967) เลี้ยง *Clamydomonas* sp. และ *Chlorella* sp. ภายใต้แสงสีน้ำเงินที่มีความยาวของคลื่น 400-500 นาโนเมตร และแสงสีแดงที่มีความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร พบว่าระยะแรกการเจริญเติบโตของสาหร่ายเป็นไปได้ช้า แต่หลังจากวันที่ 5 อัตราการเจริญจะเพิ่มขึ้นจนเข้าสู่ระยะคงตัว(Stationary Phase)

Brow และ Richardson (1968, อ้างตาม สุนันท์, 2523) รายงานว่าความเข้มแสงมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์แสง การเจริญเติบโตและการหายใจของสาหร่าย ซึ่งถ้าได้รับความเข้มแสงที่ต่ำกว่า 60 ฟุต-แรงเทียน (1 ฟุต-แรงเทียน=10.764 ลักซ์) อัตราการเจริญจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มแสง และเมื่อความเข้มแสงสูงกว่า 100 ฟุต-แรงเทียน อัตราการเจริญจะไม่ขึ้นกับความเข้มของแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Buri และคณะ (1976) เลี้ยง *Chlorella* sp. ในน้ำทะเลเทียมที่เติมยูเรียและปุ๋ย Superphosphate โดยคิดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส 0.1 และ 0.5 มิลลิโมลลาร์ตามลำดับและวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเซลล์ได้ 68.8 เปอร์เซ็นต์

Sinchumpasuk และคณะ(1976) ได้ทำการทดลองเลี้ยง*Chlorella* sp. ในอ่างพลาสติกกลางแจ้ง โดยใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน คิดเป็นปริมาณไนโตรเจน 4.3 มิลลิโมลลาร์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า เซลล์สาหร่ายมีโปรตีน 48.3 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักแห้ง

Patarakulpong และคณะ (1977) ได้ทำการทดลองเลี้ยง *Chlorella* sp. และ *Scenedesmus actus* 276-3a และในอ่าง PVC ลึก 6 เซนติเมตร ปริมาตร 100 ลิตร โดยใช้ปุ๋ย Superphosphate ผสมยูเรีย พบว่าสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดเจริญได้ดีพอกัน เมื่อทำการวิเคราะห์โปรตีนพบว่า *Chlorella* sp. มีโปรตีน 59.92 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Scenedesmus actus* 276-3a มีโปรตีน 59.68 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง

Syrett และ Al-Houty (1984 ,อ้างตาม Lee, 1995) รายงานว่าสาหร่ายสีเขียวใน Class Chlorophyceae สามารถใช้ยูเรียเป็นอาหารได้โดยมีเอนไซม์ Urea amindolyase สำหรับย่อยสลายยูเรียดังสมการ

$$H_2NCONH_2 + ATP \xrightarrow[\text{Urea amidolyase}]{Mg^{2+},\ K^{+}} 2NH_4^{+} + HCO_3^{-} + ADP + Pi$$

Pantastico (1991, อ้างตาม วีนา, 2542) รายงานว่าการใช้ปุ๋ยคอกที่ได้จากหมูและไก่เป็นแหล่งอาหารสำหรับผลิตสาหร่าย *Chlorella* sp. ผลปรากฏว่าได้ผลผลิตสูงสุดถึง 690 มิลลิกรัมต่อลิตรในเวลา 10 วัน และยังพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของปุ๋ยทำให้ปริมาณโปรตีนในเซลล์สาหร่ายเพิ่มขึ้น แต่ไม่ช่วยเพิ่มปริมาณสาหร่าย ผลการเจริญสูงสุดของสาหร่ายมีดังนี้ ปุ๋ยคอกจากหมู อัตราส่วน 6 กรัมต่อลิตรให้ผลผลิตสาหร่าย 78.10 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และปุ๋ยคอกจากไก่ อัตราส่วน 4 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตสาหร่าย 124.10x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

Phang (1991, อ้างตาม วีนา, 2542) ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในระบบ High Rate Algal Pond (HRAP) ซึ่ง *Chlorella* sp. ใช้แหล่งอาหารจาก Rubber effluent และ Anaerobic liquor สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ผลิตได้จะนำไปเป็นอาหารสัตว์จำพวกเป็ดไก่ หรือนำไปสกัดเป็นสารชีวเคมี โดยออกแบบระบบ HRAP ให้มีพื้นผิวหน้า 4 ตารางเซนติเมตร ปริมาตร 0.8 ลูกบาศก์เมตร โดยเลี้ยงแบบ Batch และมีการเติมอากาศในบ่อเลี้ยงด้วยใบพัด ความเข้มข้นสูงสุดของสาหร่ายที่ได้เมื่อวันที่ 7 ประมาณ 5.7-18.1 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน (น้ำหนักสด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kabinawa (1997) รายงานว่าการเพาะเลี้ยง *Chlorella pyrenoidosa* ในระบบบ่อเปิดปริมาตร 30 ลูกบาศก์เมตร โดยให้ปุ๋ยเป็นอาหาร มีระบบน้ำไหลเวียนและให้อากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ จะได้ผลผลิตสาหร่าย 50 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ผลผลิตที่ได้สามารถนำไปเป็นอาหารเลี้ยงเป็ดไก่ ปลาสวยงาม ตัวอ่อนของกุ้ง และ ปู

Gouveia และคณะ (1997) ใช้ *Chlorella vulgaris* เป็นส่วนผสมอาหารเลี้ยงปลา Rainbow trout โดยใช้สาหร่ายผสมลงในอาหารปลา ร้อยละ 4 ของน้ำหนักแห้งพบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายมีน้ำหนักและสีผิวที่ดีกว่าจากธรรมชาติที่มีขนาดและอายุไล่เลี่ยกัน

Ogboma และคณะ (2000) ทดลองเลี้ยง *Rhodobacter sphaeroides* , *Chlorella sorokiniana* และ *Spirulina platensis* ด้วยน้ำเสียที่มีปริมาณแอมโมเนีย 400 ppm พบว่า *Rhodobacter sphaeroides* และ *Chlorella sorokiniana* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในขณะที่ *Spirulina platensis* การเจริญจะถูกยับยั้งเมื่อนำ*Rhodobacter sphaeroides* และ *Chlorella sorokiniana* มาเลี้ยงร่วมกันในอัตราส่วนเซลล์เริ่มต้น 1: 1 พบว่า *Chlorella sorokiniana* มีอัตราการเจริญสูงกว่า 1.5 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

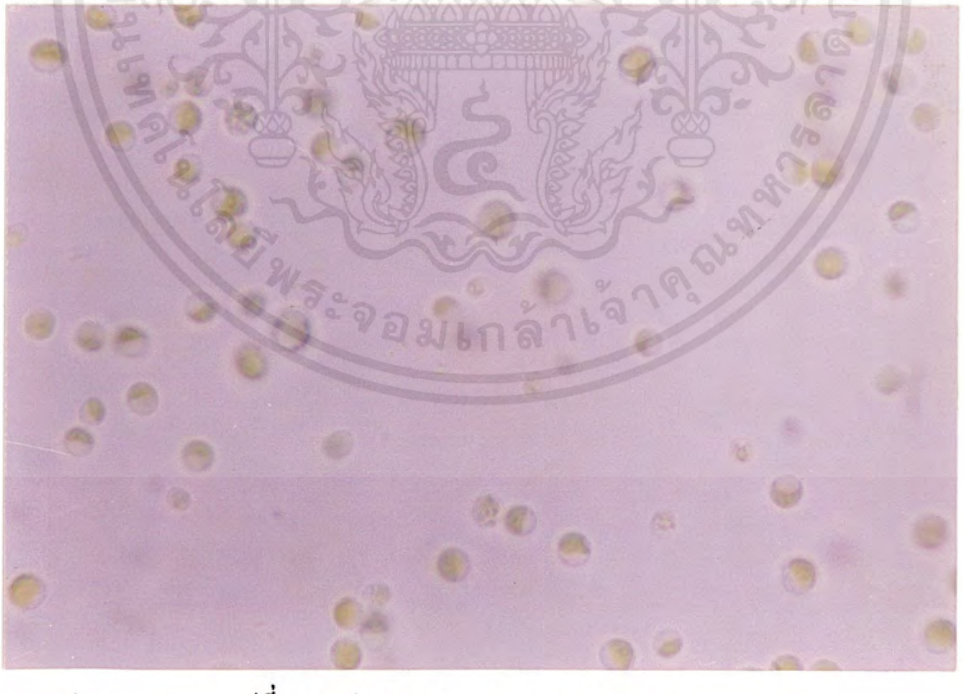
1. สาหร่าย *Chlorella* sp. E1708 *Chlorella* sp. D1708 และ *Chlorella* sp. A0505 ซึ่งคัดแยกมาจากแหล่งน้ำบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (รูปที่ 3.1-3.4)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร N-8 (ภาคผนวก ก.)
3. สารเคมีที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน คือ ยูเรีย
4. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง(pH meter ; Denver Instrument model 215)
5. เครื่องเขย่า(Gallenkamp orbital shaker)
6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer ; Hach Model DR/4000V vesion 1.07)
7. ชุดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศ
8. หม้อนึ่งความดันไอ
9. ฮีมาไซโตมิเตอร์(Haemacytometer)
10. โถดูดความชื้น
11. กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ
12. เครื่องวัดความเข้มแสง(Lux meter ; Digicon Model LX-50)
13. เครื่องเขี่ยเชื้อแบบลมเป่า (Laminar air flow)
14. ตู้อบแห้ง (Hot air oven)
15. ตู้เก็บรักษาพันธุ์สาหร่าย
16. ถังหมัก(Fermenter) ขนาด 5 ลิตร (B.Braun Biote ch International Germany)
17. อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.1 *Chlorella* sp. E1708 (x 40)



รูปที่ 3.2 *Chlorella* sp. E1708 (x 100)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รูปที่ 3.3 *Chlorella* sp. D1708 (x 40)

รูปที่ 3.4 *Chlorella* sp. A0505 (x 40)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

39903

วิธีการทดลอง

1. การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์

เก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และคลองประเวศน์บุรีรมย์ นำน้ำตัวอย่างมาคัดแยกสาหร่ายโดยใช้วิธี Spread plate technique บนอาหารแข็งสูตร N-8 ในตู้เขี่ยเชื้อแบบลมเป่าและบ่มไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงฟลูออเรส-เซนต์ ที่มีความเข้มแสงประมาณ 1,200 ลักซ์ ตลอดเวลา นาน 10-15 วัน สังเกตการเจริญของโคโลนีสาหร่าย นำทุกโคโลนีที่มีสีเขียวมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อคัดเลือกเฉพาะโคโลนีของสาหร่าย *Chlorella* จากนั้นนำมาคัดแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Simple streak technique และ Cross streak technique (รูปที่ 3.5) บนอาหารแข็งสูตร N-8 ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ ที่มีความเข้มแสงประมาณ 1,200 ลักซ์ ตลอดเวลา นาน 10-15 วัน สังเกตการเจริญของโคโลนีสาหร่ายทำเทคนิคอย่างนี้ 3-4 ครั้ง จนมั่นใจว่าเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ได้มีความบริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ปราศจากการปนเปื้อนของรา ยีสต์ แบคทีเรียหรือสาหร่ายชนิดอื่น จากนั้นจึงเก็บรักษาพันธุ์ สาหร่ายในหลอดอาหารเอียง (Agar slant)(รูปที่ 3.6) ในตู้เก็บรักษาพันธุ์สาหร่ายที่อุณหภูมิต่ำ

2. การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

นำหัวเชื้อ *Chlorella* sp. ที่คัดแยกจะบริสุทธิ์จากหลอดอาหารเอียง มาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร (รูปที่ 3.7)ให้อากาศแก่สาหร่ายโดยวางฟลาสก์บนเครื่องเขย่าที่อัตราเร็ว 180 รอบต่อนาที และให้แสงสว่างที่ความเข้ม 2,400 ลักซ์ อย่างต่อเนื่องตลอดเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

3. การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย

นำหัวเชื้อ *Chlorella* sp. E17708 *Chlorella* sp. D1708 และ *Chlorella* sp. A0505 มาเพาะเลี้ยงเพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณของสาหร่าย

3.1 เปรียบเทียบผลการเจริญของสายพันธุ์สาหร่าย

นำหัวเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. E1708 *Chlorella* sp. D1708 และ *Chlorella* sp. A0505 มาทดลองเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรต่อปริมาตรหัวเชื้อสาหร่าย 10 มิลลิลิตร ค่าการดูดกลืนแสง(Optical Density ; OD) ประมาณ 0.3 ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร เลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรที่วางบนเครื่องเขย่าที่ 180 รอบต่อนาที ให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซ็นต์ ที่มีความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ ทำ 3 การทดลอง การทดลองละ 3 ซ้ำ

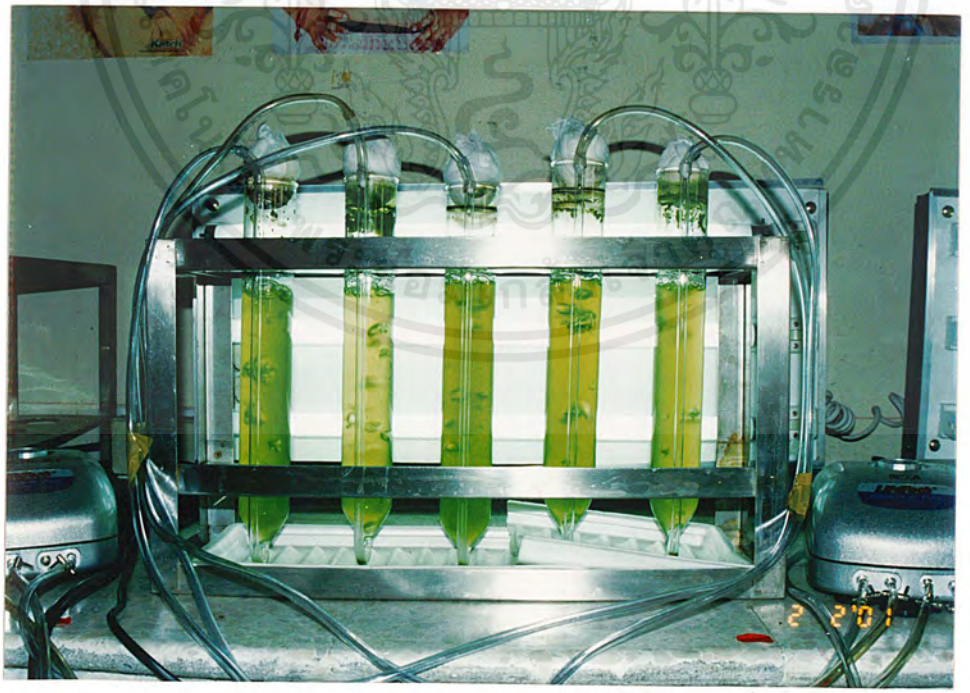
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.5 *Chlorella* sp. ที่ทำการคัดแยกเชื้อด้วยวิธี Simple streak technique(ซ้าย) และ Cross streak technique(ขวา)

รูปที่ 3.6 *Chlorella* sp. ในหลอดอาหารเอียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.7 *Chlorella* sp. ในอาหารเหลว



รูปที่ 3.8 *Chlorella* sp. เลี้ยงในชุดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 เปรียบเทียบผลของการแปรผันปริมาณแหล่งไนโตรเจนโดยใช้ยูเรีย

นำสายพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่มีผลเจริญดีที่สุดจากข้อ 3.1 มาทดลองเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนแทนโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) โดยให้ปริมาณความเข้มข้นของยูเรียต่างกัน คือ 800 , 1,000 , 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับ pH ให้ได้ 6.8 ทำการทดลองเลี้ยงในชุดเลี้ยงสาหร่าย(รูปที่ 3.8) โดยแต่ละการทดลองทำการเติมหัวเชื้อสาหร่าย 30 มิลลิลิตร (วัดค่า OD ได้ 0.3) ในอาหารเหลว 270 มิลลิลิตร ให้แสงอย่างต่อเนื่องวิธีการเดียวกันกับข้อ 3.1 ที่ระดับความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ ทำ 4 การทดลอง การทดลองละ 3 ซ้ำ

3.3 เปรียบเทียบผลการแปรผันปริมาณความเข้มแสง

นำสายพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่มีผลการการเจริญดีที่สุดจากข้อ 3.1 มาทดลองเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณยูเรียที่ทำให้ผลการเจริญดีที่สุดในข้อ 3.2 ทำการแปรผันความเข้มแสงต่างกัน 3 ระดับคือ 3,000, 4,000 และ 5,000 ลักซ์ ทำการทดลองเลี้ยงในชุดเลี้ยงสาหร่ายโดยแต่ละการทดลองทำการเติมหัวเชื้อสาหร่าย 30 มิลลิลิตร (วัดค่า OD ได้ 0.3) ในอาหารเหลว 270 มิลลิลิตร ให้แสงอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา ทำ 3 การทดลอง การทดลองละ 3 ซ้ำ

3.4 ทำการเลี้ยงในถังหมัก

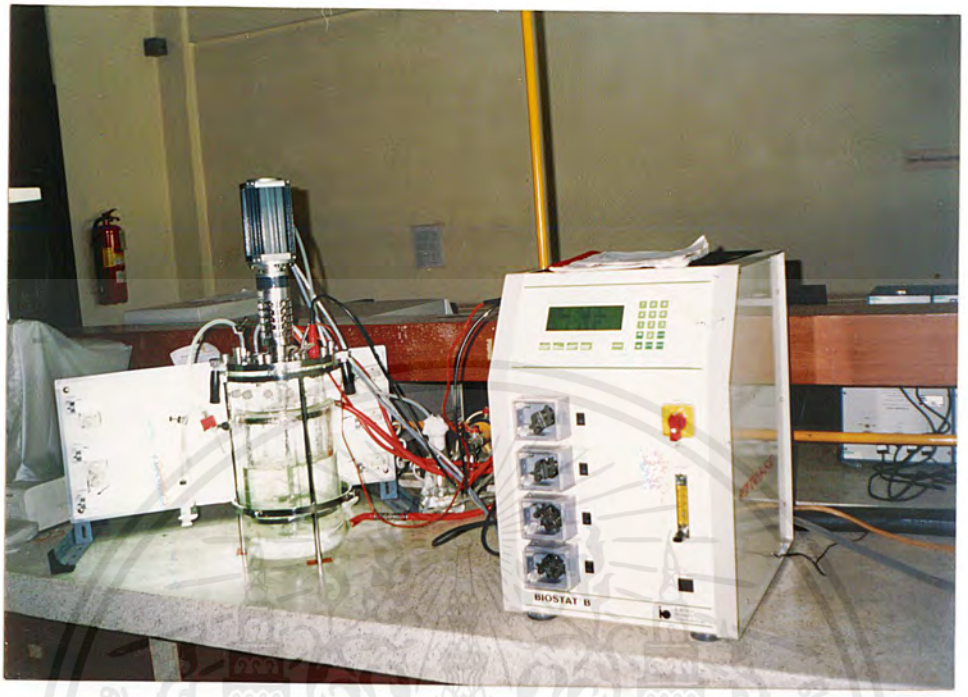
นำสาหร่ายสายพันธุ์ที่มีผลการเจริญดีที่สุดในข้อ 3.1 มาทำการเลี้ยงในถังหมักโดยใช้สูตรอาหารและความเข้มแสงที่ทำให้สาหร่ายเจริญได้ดีที่สุดในข้อ 3.3 ทำการทดลองเลี้ยงในถังหมักโดยแต่ละการทดลองทำการเติมหัวเชื้อสาหร่าย 300 มิลลิลิตร (วัดค่า OD ได้0.3) ในอาหารเหลว 2,700 มิลลิลิตร ทำ 3 การทดลองในสภาวะต่าง ๆกัน ดังนี้

3.4.1 ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที (1vvm) อัตราการกวนที่ 100 รอบต่อนาที (รูปที่ 3.9-3.10)

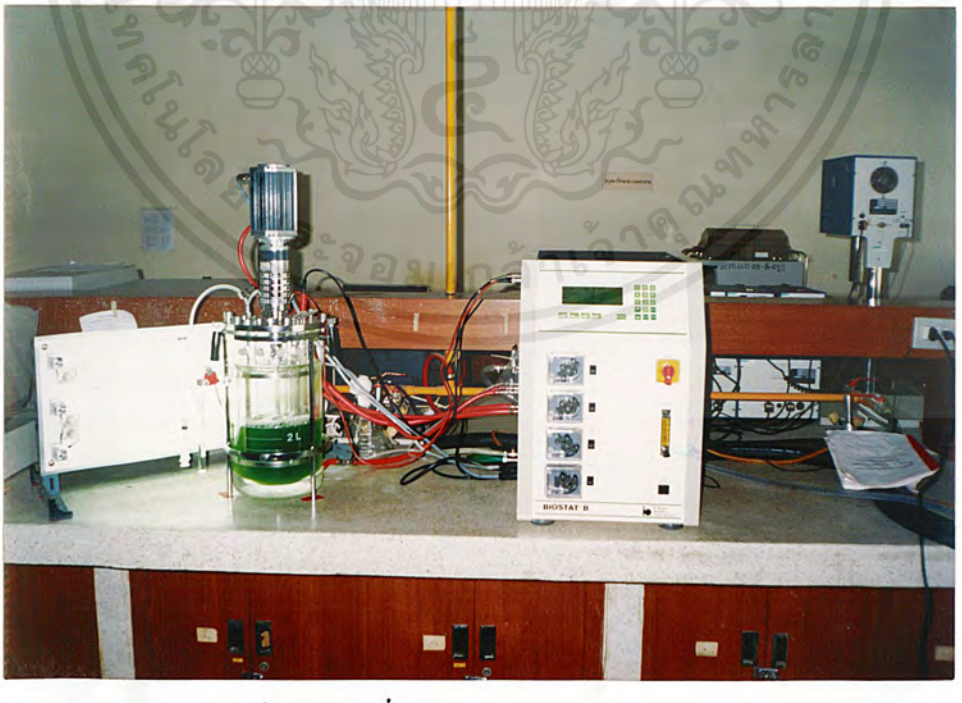
3.4.2 ให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที (2vvm) อัตราการกวนที่ 100 รอบต่อนาที

3.4.3 ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที (1vvm) อัตราการกวนที่ 200 รอบต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.9 *Chlorella* sp. E1708 ในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาทีและมีอัตราการกวน 100 รอบต่อนาที (วันแรกของการทดลอง)



รูปที่ 3.10 *Chlorella* sp. E1708 ในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาทีและมีอัตราการกวน 100 รอบต่อนาที (วันที่ 8 ของการทดลอง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง

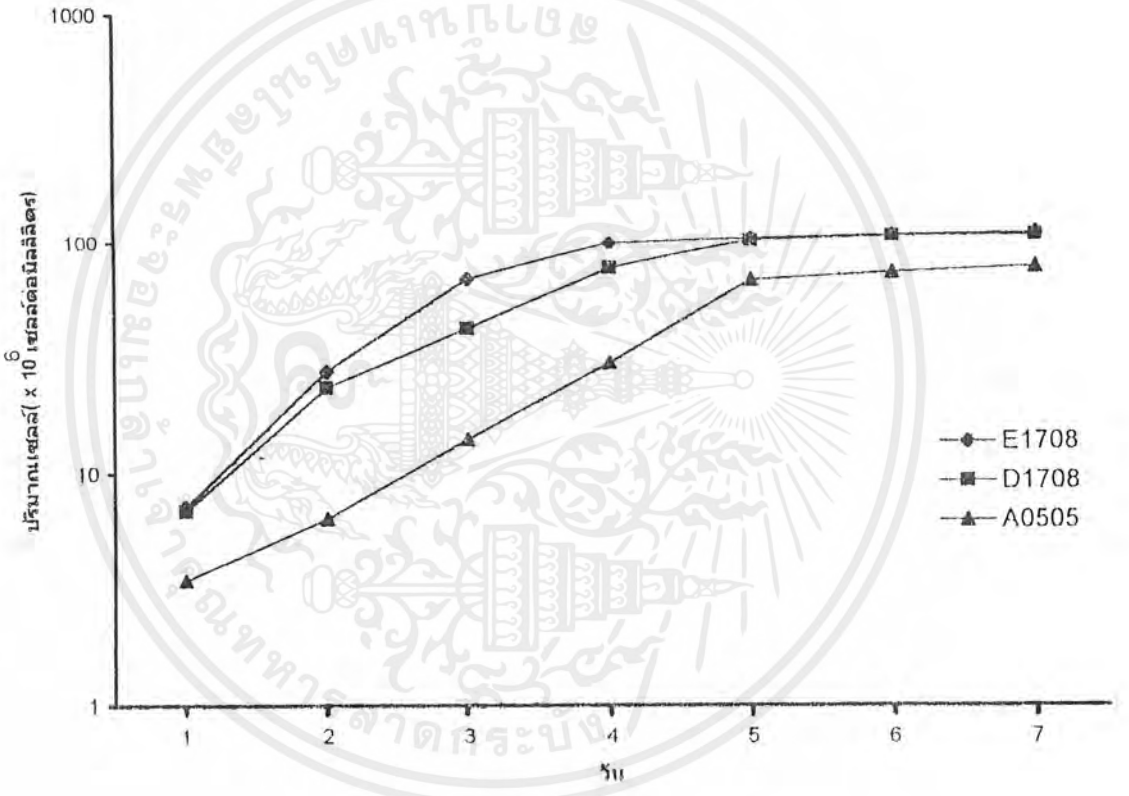
4.1 ผลการเปรียบเทียบการเจริญของ *Chlorella* sp.

ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่ายที่คัดแยกเชื้อจากธรรมชาติได้ 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. E1708, *Chlorella* sp. D1708 และ *Chlorella* sp. A0505 ด้วยอาหารสูตร N-8 ที่ความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ พบว่า *Chlorella* sp. E1708 มีการเจริญดีที่สุด โดยในวันที่ 7 ของการทดลองมีปริมาณเซลล์ 1.11×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 6.11 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 1.68 ต่อวัน *Chlorella* sp. D1708 มีการเจริญดีที่สุด โดยในวันที่ 7 ของการทดลองมีปริมาณเซลล์ 1.08×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 3.19 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.89 ต่อวัน *Chlorella* sp. A0505 มีปริมาณเซลล์ 0.78×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 5.17 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.84 ต่อวัน (รูปที่ 4.1-4.2) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการเจริญของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95เปอร์เซนต์ (ตาราง ค-1 และ ค-2)

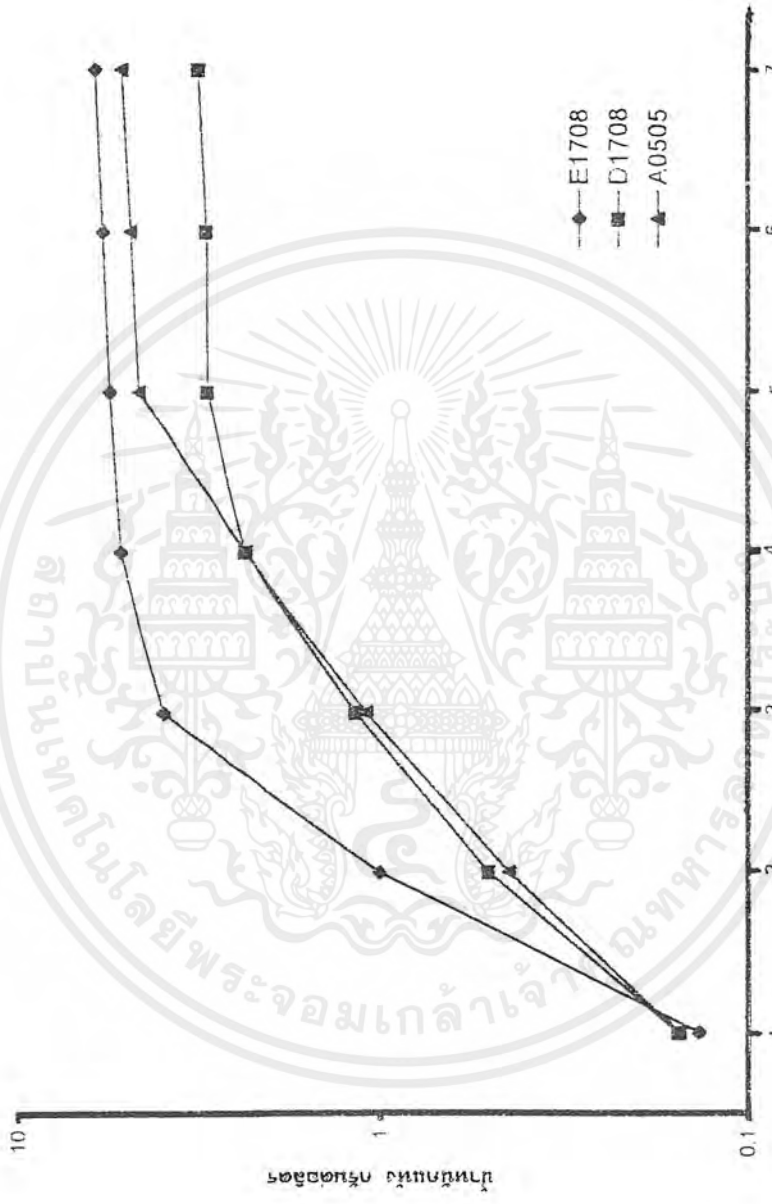
4.2 ผลการเปรียบเทียบการแปรผันปริมาณยูเรีย

ทำการทดลองเลี้ยง *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ใช้ยูเรียแทนโพแทสเซียมไนเตรท ที่ปริมาณต่างๆ กัน คือ 800, 1,000, 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ พบว่าที่ระดับปริมาณยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สาหร่ายมีการเจริญดีที่สุด โดยในวันที่ 8 ของการทดลอง มีความเข้มข้นเซลล์ 3.57×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 19.09 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 1.16 ต่อวัน ที่ปริมาณยูเรีย 800 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 8 ของการทดลอง มีความเข้มข้นของเซลล์ 3.29×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 17.71 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 1.13 ต่อวัน ที่ปริมาณยูเรีย 1,200 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการทดลอง มีปริมาณเซลล์ 0.89×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 4.78 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 1.27 ต่อวัน ที่ปริมาณยูเรีย 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการทดลอง มีปริมาณเซลล์ 0.37×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 4.78 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.69 ต่อวัน (รูปที่ 4.3-4.4) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการเจริญของสาหร่ายที่ปริมาณยูเรียทั้ง 4 ระดับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95เปอร์เซนต์ (ตาราง ค-3 และ ค-4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

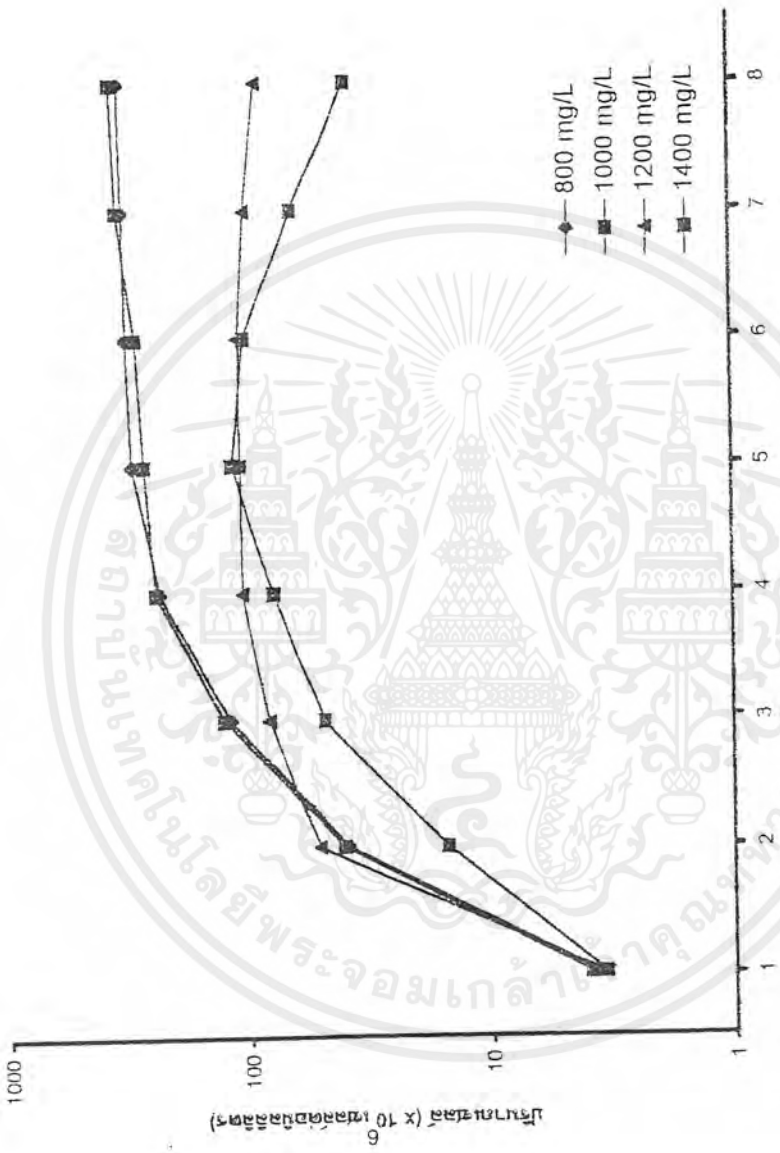


รูปที่ 4.1 ปริมาณเซลล์ของ *Chlorella* sp. E1708, *Chlorella* sp. D1708 และ *Chlorella* sp. A0505 ในอาหารสูตร N-8



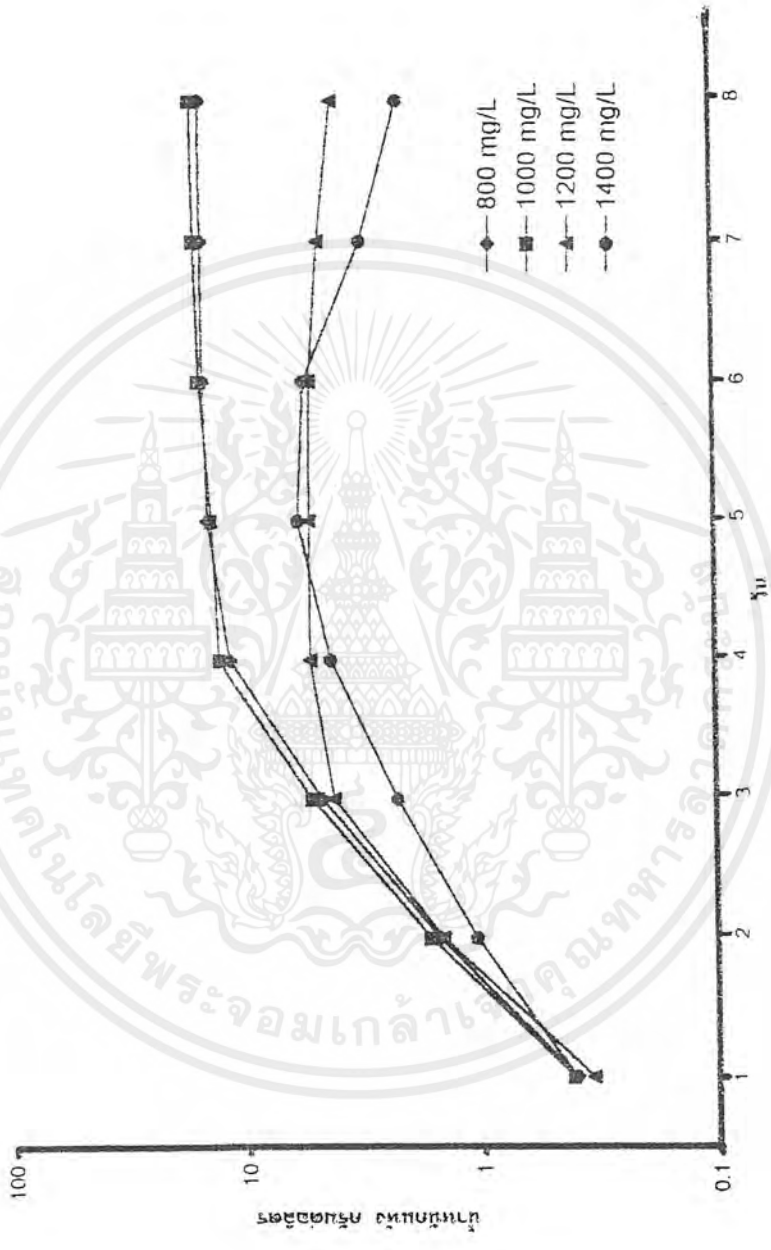
รูปที่ 4.2 น้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. E1708, *Chlorella* sp. D1708 และ *Chlorella* sp. A0505 ในการทดลอง N-8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ปริมาณเซลล์ของ *Chlorella* sp. I1708 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นของยูเรีย 800, 1000, 1200 และ 1400 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 น้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. I-1708 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่ความเข้มข้นต่างๆ กรูเรีย 800, 1000 , 1200 และ 1400 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

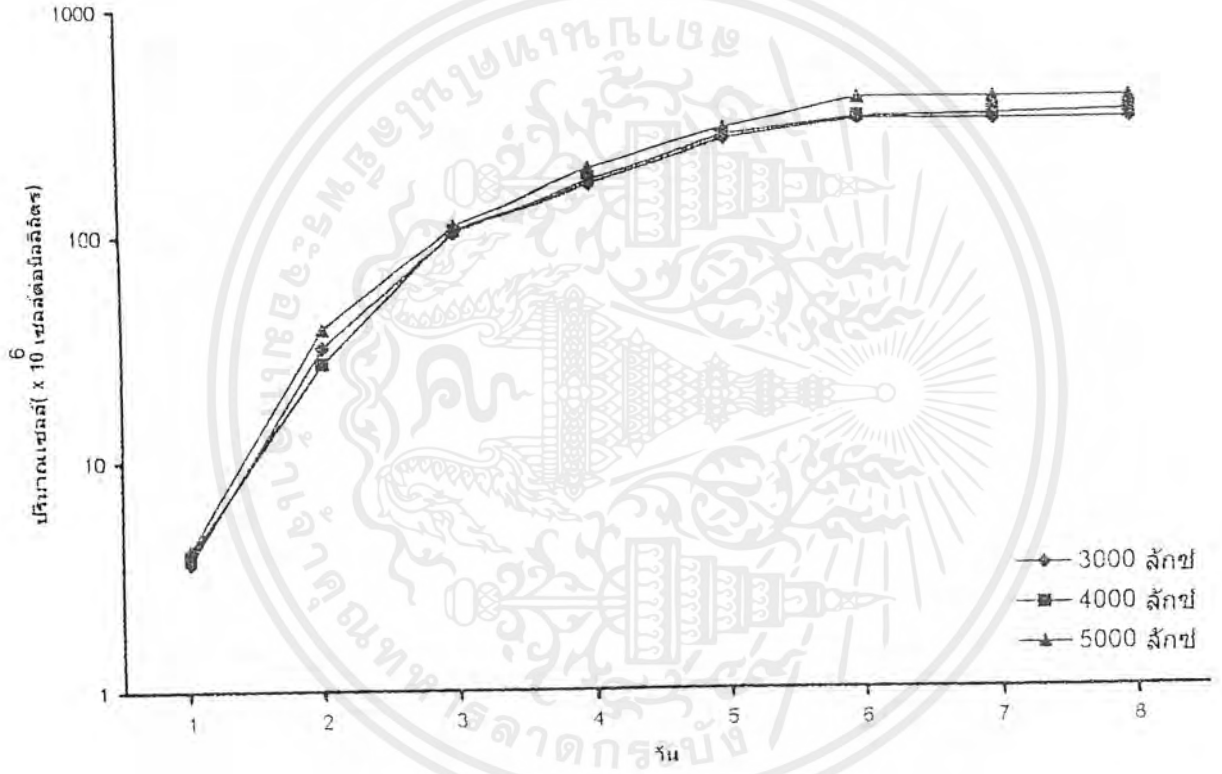
4.3 ผลการเปรียบเทียบความเข้มแสง

ทำการทดลองเลี้ยง *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารสูตร N-8 ที่มีปริมาณยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแปรผันความเข้มแสง 3 ระดับ คือ 3,000, 4,000 และ 5,000 ลักซ์ พบว่าที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ สาหร่ายมีการเจริญดีที่สุดในวันที่ 8 ของการทดลองมีปริมาณเซลล์ 3.88×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 19.82 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.91 ต่อวัน ที่ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ ในวันที่ 8 ของการทดลองมีความเข้าข้นเซลล์ 3.38×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 18.20 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.89 ต่อวัน ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ในวันที่ 8 ของการทดลองมีปริมาณเซลล์ 3.13×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 16.84 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.89 ต่อวัน (รูปที่ 4.5-4.6) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า การเจริญของสาหร่ายที่ความเข้มแสงทั้ง 3 ระดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95เปอร์เซนต์ (ตารางที่ ค-5 และ ค-6)

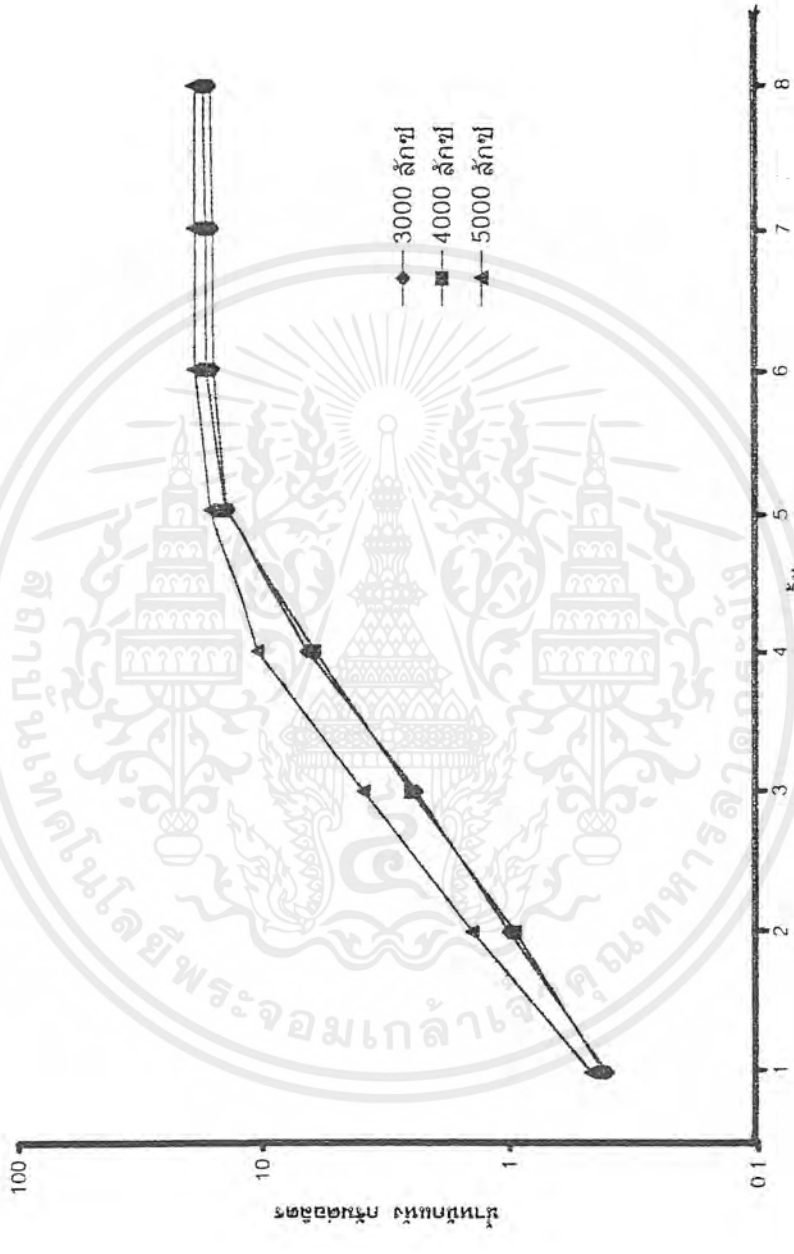
4.4 ผลการเปรียบเทียบการเจริญในถังหมัก

ทำการทดลองเลี้ยง *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารสูตร N-8 ที่มีปริมาณยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้แสงที่ระดับความเข้ม 5,000 ลักซ์ โดยทำการเลี้ยงในถังหมักที่สภาวะที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที (1 vvm) อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที ให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที (2 vvm) อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที และให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที (1 vvm) อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที พบว่าสาหร่ายเจริญดีที่สุดในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที (1 vvm) อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที โดยในวันที่ 5 ของการทดลองมีปริมาณเซลล์ 2.96×10^3 คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 18.37 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.91 ต่อวัน ในถังหมักที่ให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที (2 vvm) อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที ในวันที่ 5 ของการทดลองมีปริมาณเซลล์ 2.20×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 3.26 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.60 ต่อวัน ในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อหนาที (1 vvm) อัตราการกวน 200 รอบต่อหนาที ในวันที่ 5 ของการทดลองมีปริมาณเซลล์ 0.13 $\times 10^3$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 0.92 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.43 ต่อวัน (รูปที่ 4.7-4.8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

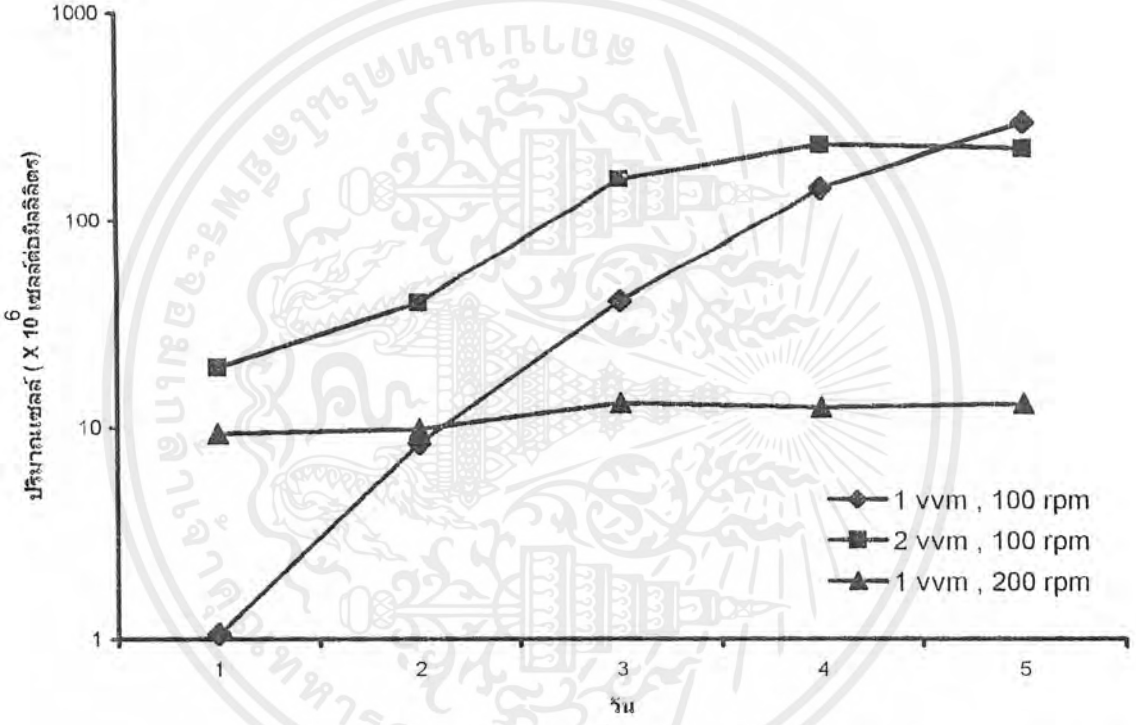


รูปที่ 4.5 ปริมาณเซลล์ของ *Chlorella* sp. E1708 ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นยูเรีย 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 3000 , 4000 และ 5000 ลักซ์

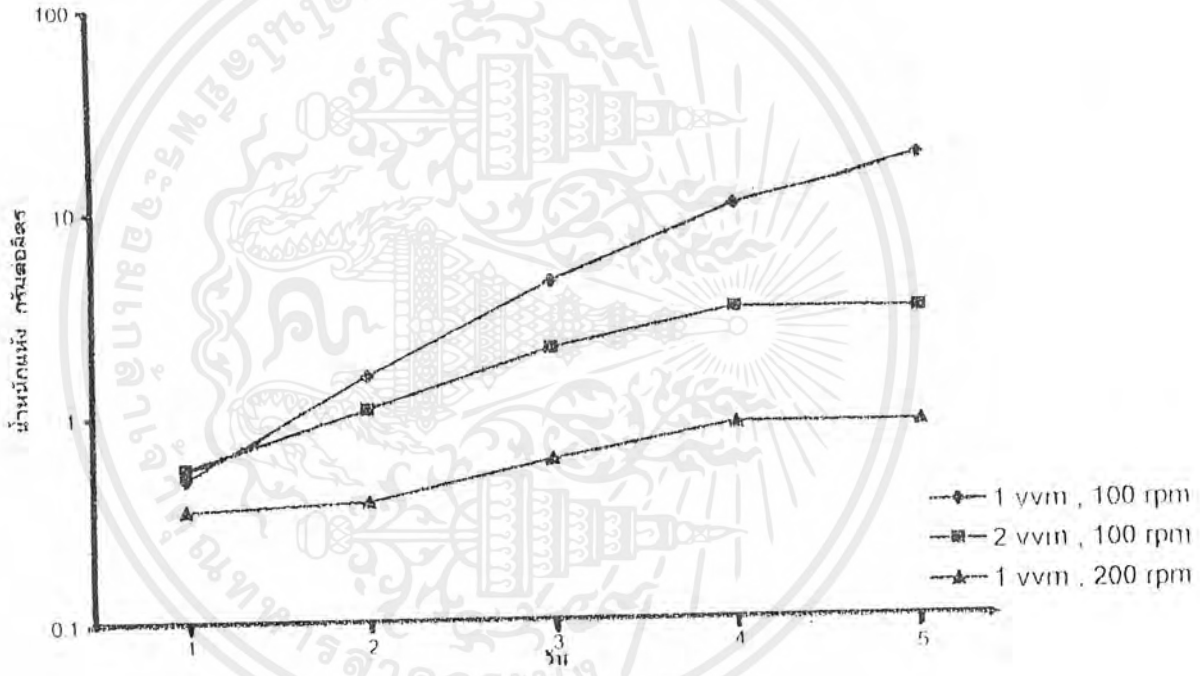


รูปที่ 4.6 น้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. E1708 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่ความเข้มข้นยูเรีย 1000 มิลลิกรัม ต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 3000 , 4000 และ 5000 ลักซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 ปริมาณเซลล์ของ *Chlorella* sp. E1708 ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นยูเรีย 1000 มิลลิลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ในถังหมักที่ให้อากาศ 1 vvm มีการกวน 100 rpm , ให้อากาศ 2 vvm มีการกวน 100 rpm และ ให้อากาศ 1 vvm มีการกวน 200 rpm



รูปที่ 4.8 น้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. TI1708 ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นยูเรีย 1000 มิลลิกรัม ต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ในถังหมักที่ให้อากาศ 1 vvm มีอัตราการกวน 100 rpm , ให้อากาศ 2 vvm มีอัตราการกวน 100 rpm และ ให้อากาศ 1 vvm มีอัตราการกวน 200 rpm

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ผลการเปรียบเทียบการเจริญของ *Chlorella* sp.

สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่คัดแยกเชื้อจากธรรมชาติทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่าเจริญได้ดีในอาหารเหลวสูตร N-8 ทั้งนี้เพราะสูตรอาหารที่นำมาเลี้ยงสาหร่ายนั้นมีปริมาณความเข้มข้นของสารอาหารต่างๆ มากพอกับความต้องการ จากการทดลองพบว่า *Chlorella* sp. E1708 มีการเจริญได้ดีที่สุด โดยในวันสุดท้ายของการทดลองคิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 6.11 กรัมต่อลิตร มีปริมาณเซลล์ 1.11 x 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) เท่ากับ 1.69 ต่อวัน มากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. A0505 ซึ่ง วีนา (2542) ทดลองเลี้ยงด้วยอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่ใช้ไกลซีนเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ซึ่งในวันที่ 8 ของการทดลองมีปริมาณเซลล์ 0.65 x 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 1.9 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.78 ต่อวัน ซึ่งอาจจะเป็นเพราะ *Chlorella* sp. E1708 สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีและสามารถใช้สารอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้สารอาหาร สภาพแวดล้อมและสายพันธุ์สาหร่ายที่แตกต่างกันอาจเป็นผลให้สาหร่ายที่เลี้ยงมีการเจริญแตกต่างกันไป (มาวิทย์ และธิดา, 2534) สำหรับ *Chlorella* sp. D1708 และ *Chlorella* sp. A0505 ที่ทำการวัดปริมาณเซลล์แล้ว *Chlorella* sp. D1708 มีปริมาณมากกว่าแต่มีน้ำหนักแห้งน้อยกว่า *Chlorella* sp. A0505 น่าจะเป็นเพราะเซลล์ของ *Chlorella* sp. D1708 มีขนาดเล็กกว่าเซลล์ของ *Chlorella* sp. A0505 เมื่อสังเกตจากกล้องจุลทรรศน์และทำการนับปริมาณเซลล์โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์จึงได้ปริมาณเซลล์มากกว่า

5.2 ผลการเปรียบเทียบการแปรผันปริมาณยูเรีย

สาหร่าย *Chlorella* sp. E1708 ซึ่งมีผลการทดลองที่ดีที่สุดจากการทดลองเปรียบเทียบกับสาหร่ายสายพันธุ์อื่นๆ ในอาหารสูตร N-8 ได้นำมาเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนแทนโพแทสเซียมไนเตรท ที่ปริมาณความเข้มข้นต่างๆกันพบว่า ยูเรียที่ปริมาณความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้สาหร่ายมีการเจริญดีที่สุด โดยที่ในวันที่ 8 ของการทดลอง มีความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 3.57 X 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 19.09 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 1.16 ต่อวัน ผลที่ได้นี้ ใกล้เคียงกับสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณยูเรียเข้มข้น 800 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. E1708 สามารถใช้ยูเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยในทุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองจะเห็นว่า ณ วันที่ 5 สาหร่ายจะเจริญเข้าสู่ระยะคงที่ อย่างไรก็ตามปริมาณยูเรียที่มากเกินไปจะทำให้การเจริญลดลง กล่าวคือ สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณยูเรียเข้มข้น 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีการเจริญลดลงหลังจากวันที่ 5 เห็นจากปริมาณเซลล์และน้ำหนักแห้งที่ลดลง และสังเกตเห็นสาหร่ายที่เลี้ยงไว้มีสีเหลืองซีด ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากปริมาณความเข้มข้นของไนโตรเจนที่มากเกินไป ทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ ทำให้เซลล์มีอัตราการเจริญต่ำลง (Jeanfils และ Burlion, 1993) Fabregas (1986 อ้างตาม Jimincz และ Niell , 1991) ได้รายงานว่าปริมาณความเข้มข้นของไนโตรเจนที่มากเกินไปจะทำให้อัตราการเจริญของสาหร่ายเซลล์เดียว *Chlorella stigmatophora* และ *Dunaliella teriolecta* ลดลง การใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนนี้ถ้าเทียบกับไกลซีนแล้วสามารถให้ผลผลิตได้ใกล้เคียงกัน (วีนา, 2542) ซึ่งยูเรียมีราคาถูกกว่าไกลซีนมาก และยังมีรายงานถึงการใช้ยูเรียกับปุ๋ยสูตรต่างๆ เช่น ปุ๋ย Superphosphate ก็สามารถเลี้ยง *Chlorella* ได้ผลผลิตดีเช่นกัน (Sinchumpasuk และคณะ, 1976 และ Patarakulpong และคณะ, 1977) โดยเป็นที่ทราบกันดีว่าสาหร่าย *Chlorella* สามารถใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อใช้ในการเจริญได้ โดยมีเอนไซม์ Urea Carboxylase มาช่วยย่อยสลายยูเรียได้เป็นแอมโมเนียแล้วนำไปสร้าง Glutamine และกรดอะมิโนอื่น เช่น Glutamic (Vymazal, 1995) อย่างไรก็ตามแม้ว่าสาหร่ายจะใช้ยูเรียได้อย่างมีประสิทธิแต่ก็มีขีดจำกัดเพราะยูเรียที่มากเกินไปเมื่อสลายตัวเป็นแอมโมเนียมากๆ ก็จะเป็นภัยต่อสาหร่ายได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายนั้นๆ ว่าเหมาะสมกับปริมาณความเข้มข้นของยูเรียเท่าใด (Sze, 1993)

5.3 ผลการเปรียบเทียบปริมาณความเข้มแสง

จากผลการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. E1708 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีปริมาณยูเรียเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแปรผันความเข้มแสงให้ต่างกัน 3 ระดับ คือ 3,000, 4,000 และ 5,000 ลักซ์ พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้สภาวะความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ให้ผลการเจริญดีที่สุด โดยในวันสุดท้ายของการทดลองมีปริมาณเซลล์ 3.88 x 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 19.82 กรัมต่อลิตรมากกว่าความเข้มแสงระดับอื่นอย่างมีนัยสำคัญ จึงสรุปได้ว่าความเข้มแสงนี้เป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งในการเพิ่มการเจริญของสาหร่ายให้สูงขึ้น เพราะมีผลต่อการเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์จึงทำให้มีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงขึ้นด้วย (สุนันท์, 2523 และวีนา, 2542) ผลสอดคล้องกับ มาวิทย์และธิดา (2534) ที่ศึกษาการเพิ่มปริมาณ *Chlorella* sp . ในห้องปฏิบัติการพบว่าที่ความเข้มแสง 5,000ลักซ์ สามารถเพิ่มปริมาณเซลล์ได้ดีกว่าความเข้มแสง 1,000 และ 3,000 ลักซ์ โดยที่ 5,000 ลักซ์ มีปริมาณเซลล์ 0.18 x 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรในขณะที่ความเข้มแสง 1,000 และ 3,000 ลักซ์ มีปริมาณเซลล์ 0.06 x 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 0.15 x 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4 ผลการเปรียบเทียบการเจริญในถังหมัก

จากผลการทดลองพบว่า *Chlorella* sp. E 1708 ที่เลี้ยงในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที (1 vvm) และอัตราการกวนที่ 100 รอบต่อนาที มีอัตราการเจริญจำเพาะมากที่สุด เท่ากับ 0.91 ต่อวันและในวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 8) คิดปริมาณปริมาณเซลล์ได้ 5.46 x 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และคิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 19.99 กรัมต่อลิตร มากกว่าที่เลี้ยงในถังหมักที่ให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาทีและอัตราการกวน 100 รอบต่อนาที ซึ่งอาจจะเกิดจากอากาศมีปริมาณมากขึ้น ทำให้ความเข้มข้นของออกซิเจนสูงขึ้น (High oxygen concentration) ทำให้มีผลไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่นในงานวิจัยของ Torzillo และคณะ (1997) ที่ทำการทดลองเลี้ยง *Chlorella* sp.ใน Photobioreactor โดยให้อากาศที่มีความเข้มข้นของออกซิเจน 22 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้น 22 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตชีวมวล 0.85 กรัม น้ำหนักแห้งต่อลิตรต่อวัน ทั้งนี้เพราะออกซิเจนที่เข้มข้นมาก ๆ จะไปยับยั้งการสังเคราะห์แสง โดยออกซิเจนที่มากเกินไปจะได้รับการกระตุ้นจากการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอน ให้เป็นอนุมูล Super Oxide (O_2^-) ซึ่งจะไปยับยั้งการสังเคราะห์แสงโดยทำให้สารตัวกลางในระบบ Photosystem II เสื่อมสลายไป

นอกจากนี้การที่ให้อากาศมาก ๆ ก็จะทำให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ละลายน้ำได้มากขึ้น โดยที่คาร์บอนไดออกไซด์สามารถละลายน้ำได้ดีกว่าออกซิเจนถึง 200 เท่า คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำจะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอนิค และแตกตัวได้ไฮโดรเจนอิออน ทำให้น้ำมีฤทธิ์เป็นกรดมากขึ้น (ประเทือง, 2534) สังเกตได้จากค่าpH เพิ่มขึ้นจนสิ้นสุดการทดลองนั้น (ตาราง ข-4) น่าจะเป็นเพราะสาหร่ายเจริญในสภาวะที่เหมาะสมจึงสร้างเอนไซม์ Urea Amidolyase ออกมาย่อยสลายยูเรียให้เป็นแอมโมเนียได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้ค่า pH เพิ่มขึ้น (Sze, 1993)สำหรับสาหร่ายที่เลี้ยงในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที (1 vvm) และมีการกวน 200 รอบต่อนาที ได้อัตราการเจริญจำเพาะน้อยที่สุด คือ 0.43 ต่อวัน และในวันสุดท้ายของการทดลอง คิดความเข้มข้นของเซลล์ได้ 0.13 x 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 0.92 กรัมต่อลิตร น่าจะเป็นเพราะสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยธรรมชาติอาศัยในน้ำนิ่งหรือน้ำไหลเอื่อย (กาญจนภาชน์, 2527 และวิสัย, 2536) เมื่อนำมาเลี้ยงในถังหมักที่มีอัตราการกวนสูง ๆ จึงเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Chlorella* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่คัดแยกเชื้อได้จากธรรมชาติบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp.E 1708 , *Chlorella* sp. D 1708 และ *Chlorella* sp.A 0505 พบว่า

1. สาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลวสูตร N – 8 โดยที่ *Chlorella* sp.E 1708 เจริญได้ดีที่สุด โดยที่ในวันที่ 7 ของการทดลองมีความเข้มข้นของเซลล์ 1.11 x 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 6.11 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ 1.69 ต่อวัน

2. การทดลองเลี้ยง *Chlorella* sp.E 1708 โดยดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนโดยใช้ยูเรียแทนโพแทสเซียมไนเตรทพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ผลผลิตมากที่สุดคือ มีความเข้มข้นของเซลล์ 3.57 x 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 19.09 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ 1.16 กรัม

3. การทดลองเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ใช้ยูเรียที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรและแปรผันระดับความเข้มแสงต่างๆ กัน พบว่าที่ระดับแสง 5,000 ลักซ์ ให้ผลผลิตเซลล์สาหร่ายดีที่สุด มีปริมาณเซลล์ได้ 3.88 x 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 19.82 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.91 ต่อวัน

4. การทดลองเลี้ยงในถังหมักในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ใช้ยูเรียที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรและให้ระดับความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ พบว่าสาหร่ายในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที (1vvm) และมีอัตราการกวน 100 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตที่ดีที่สุดคือ มีปริมาณเซลล์ 5.46 x 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 19.99 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.91 ต่อวัน

ข้อเสนอแนะ

1. ควรคัดเลือกหาสายพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่สามารถเลี้ยงง่าย และให้ผลผลิตได้ดีกว่านี้

2. ควรทดลองใช้แหล่งไนโตรเจนอื่นๆ เพื่อหาสูตรอาหารที่ให้ผลผลิตมากขึ้นและมีต้นทุนลดลง

3. ควรศึกษาถึงการใช้ถังหมักเพื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายในรูปแบบต่างๆ เพื่อหาสภาวะและช่วงเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตที่เหมาะสม และควรศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงโดยใช้วิธีอื่นนอกจากนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กัญญา สุจริตวงศานนท์ และ สัณห์ชัย สุจริตวงศานนท์. 2529. การศึกษาเบื้องต้นของการเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ด้วยสาหร่ายสีเขียว. เกษตรศาสตร์(วิทย์). 20 : 338-346

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. สาหร่าย. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 269 น.

กิดานันท์ มลิทอง. 2530. คลอเรลลา พืชธรรมชาติที่ทรงคุณค่าทางยา. เพชรสยามการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 47 น.

จรูญ ลีไตรรงค์. 2531. การนำ *Chlorella* sp.(K_3) ที่ได้จากการเลี้ยงในน้ำกากส่าเหล้าเพื่อเป็นอาหารของ *Moina macrocopa* Straus. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 169 น.

ชิต ชัยสังฆะ และ ไพศาล รัตนปฏิมากร. 2525. การใช้น้ำทิ้งจากการหมักก๊าซชีวภาพเพื่อเป็นอาหารเลี้ยงสาหร่าย. ปริญญานิพนธ์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขตธนบุรี. 44 น.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2538. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 407 น.

ทวี วิพุทธานุมาส, อดิศร อำนวยสิทธิ์, วิชัย เกียรติจินดารัตน์ และ กฤษณี กลัดสวัสดิ์. 2530. การใช้คลอเรลลาควบคุมไรแดงในการอนุบาลลูกปลาบู่. รายงานประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25 สาขาประมง : 310-316

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

ธิดา เพรชมณี, มาวิทย์ อัศวอารีย์ และ สุจินต์ บุณช่วย. 2536. ความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงไรแดงด้วย *Chlorella* ในภาคใต้. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2536 กรมประมง : 491-496

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 735 น.

นวลพรรณ ณ ระนอง และ มงคล เพ็ญสายใจ. 2542. น้ำและการบำบัดน้ำเสีย. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 186 น.

ประเทือง เชาว์วันกลาง. 2534. คุณภาพน้ำทางการประมง. แผนกวิชาประมง คณะสัตวบาล สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตลำปาง. 88 น.

ผุสดี ศรีพยัตต์. 2522. การเลี้ยงและเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชทะเลที่อุณหภูมิต่ำ. รายงานวิชาการที่ สจ/22/6. สถานีวิจัยประมงทะเล กรมประมง. 8 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย. 2539. มลพิษทางน้ำ. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

กรณี หวังธำรงค์, กฤษณ์ เฑียรฆประสิทธิ์ และ สุรวดี นาคธน. 2543. ประสิทธิภาพของสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. ในการลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 8(1) : 1-5

กาญ เนาวรัตน์มณีกุล, อดิศร อำนวยสิทธิ์, วิชัย เกียรติจินดารัตน์ และ กฤษณี กลัดสวัสดิ์. 2350 การเพาะเลี้ยงไรแดงเพื่อการค้า. รายงานประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25 สาขาประมง : 297-309

มาวิทย์ อัศวอารีย์ และ ธิดา เพชรมณี. 2534. ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของคลอเรลลาในห้องปฏิบัติการ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2534. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 14 น.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. แพลงก์ตอนพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 851 น.

วันดี สันติวุฒิเมธี. 2543. สาหร่าย อัญมณีแห่งท้องน้ำ. สารคดี 16(9) : 137-144

วิสัย วงศ์สายปิ่น. 2536. สาหร่ายเซลล์เดียวอาหารจากแสงตะวัน. สำนักพิมพ์รวมทรรศน์. กรุงเทพฯ. 139 น.

วีนา ชูโชติ. 2542. การศึกษาสภาวะที่เหมะสมในการเพิ่มปริมาณสาหร่าย *Chlorella* sp. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 31 น.

สุนันท์ เทศเพ็ญ. 2523. อิทธิพลของคุณภาพแสงต่อปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และ คลอโรฟิลล์ ในสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus acutus* c76-3a. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(วิทยาศาสตร์การประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 68 น.

สุนีย์ สุวภีพันธุ์. 2519. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ให้ผลผลิตสม่ำเสมอ. รายงานวิชาการที่ สจ/19/7 สถานีวิจัยประมงทะเล กรมประมง. 8 น.

สุนีย์ สุวภีพันธุ์. 2523. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว. เอกสารเผยแพร่. สถานีวิจัยประมงทะเล กรมประมง. 20 น.

สุนีย์ สุวภีพันธุ์. 2524. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว. ว. การประมง 34(3) : 309-324

สุพล พันธุมะโอภาส. 2542. การศึกษาการใช้ *Chlorella* sp. , *Chaetoceros calcitrans* และ *Vibrio* sp. โคโลนีสีเหลืองเพื่อควบคุม *Vibrio harveyi* ในระบบการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 62 น.

หยกแก้ว ยามาลี. 2525. การกำจัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำนมถั่วเหลืองโดยใช้สาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 32 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Buri, P., O. Sinchumpasuk, S. Visonkasol and P. Kornkasem. 1976. Preliminary Experiment on the Cultivation of *Chlorella* sp. In The Production and Utilization of algae as a protein source in Thailand , The fifth report . Kasetsart University. Bangkok : 32-38

Buri, P. 1977. The mass cultivation of microalgae for human consumption. In The Production and Utilization of algae as a protein source inThailand . The sixth report . Kasetsart University. Bangkok : 84-93

Gouvia, L., E. Gomes and J. Empis. 1997. use of *Chlorella vulgaris* in Rainbow Trout, Diets to enhance muscle pigmentation. J. Appl. Aquaculture. 3 : 61-70

Hansakul, W. 1997. *Chlorella* Nutrients and its beneficial properties. In Proceeding on mass cultivation of microalgae. November 18-23. Nakhonpathom. Thailand.

Hess, J.L. and N.E. Tolbert. 1967. Change in chlorophyll a/b ratio and products of $^{14}CO_2$ fixation by algae grow in blue light and red light. J. Plant. Physiol. 42 : 1123-1130

Jeanfils, J., M. F. Canisius and N. Burlion. 1993. Effect of high nitrate concentration on growth and ni trate uptake by the living and immobilized *Chlorella vulgaris*. J. Appl. Phycol. 5: 369-374

Jiminez, C. and F.X. Niell. 1991. Growth of *Dunaliella viridis* Theodoresco, effect of salinity, tempereture and nitrogen concentration. J. Appl. Phycol. 10 : 319-327

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

Lee, R.E. 1995. Phycology, 2nd edition. University of cambridge press. USA. 645 p.

Ogboma, J.C., H. Yoshizawa and H. Tonaka. 2000. Treatment of high strength organic wastewater by a mixed culture of photosynthetic organisms. J. Appl. Phycol. 12 : 277-284

Patarakulpong, P., P. Kornkasem, W. Yongmanitchai and S. Phoopat. 1977. Growth comparison of green algae cultivated in two difference media. In The Production and Utilization of algae as a protein source inThailand , The sixth report . Kasetsart University. Bangkok : 190-194

Pratt, R., T.C. Duniles, J.J. Eiler, J.B. Gunnison, W.D. Kumler, J.F. Oneto and L.A. Strait. 1944. Chlorellin, an antibacterial substance from *Chlorella*. Science 99 : 351-352

Sinchumpasuk, O., K. Sae-Aue, P. Buri and S. Visonkosol. 1976. Growth comparison of *Scenedesmus* sp. (276-3a) and *Chlorella* sp. In The Production and Utilization of algae as a protein source in Thailand , The fifth report . Kasetsart University. Bangkok : 54-55

Sze, P. 1993. A biology of the algae, 2nd edition. Wm. C. Brown Publishers. England. 259 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Torzillo, G., P. Bernadini, E. Pinzani and J. Masojidek. 1997. Online Chlorophyll Fluorescence In the Assesment of Photoinhibition of Photosynthesis and its effect on the Productivity of Outdoor culture of *Spirunina* sp. Exposed of Oxygrn Stress. In Proceedings of the 2nd Asia-Pacific marine biotechnology conference and 3rd Asia-Pacific conference on algal biotechnology. Phuket, Thailand : 103-109

Vymazal, J. 1995. Algae and element cycling in wetlands. Lewis Publishers. USA. 689 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย

สูตรอาหาร N-8 ที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* (Atthasampunna, 1995 อ้างตาม วีนา, 2542)

$Na_2HPO_4 . 2H_2O$	260.0	มิลลิกรัม
KH_2PO_4	740.0	มิลลิกรัม
$CaCl_2$	10.0	มิลลิกรัม
Fe EDTA	10.0	มิลลิกรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	50.0	มิลลิกรัม
KNO_3	1,000.0	มิลลิกรัม
Trace element mixture*	1.0	มิลลิกรัม
Distilled water to	1.0	มิลลิกรัม

* Trace element mixture for N-8 medium

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการเจริญของสาหร่าย

ตาราง ข-1 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. 3 สายพันธุ์ ในอาหารสูตร N-8

วัน	*Chlorella* sp. E1708		*Chlorella* sp. D1708		*Chlorella* sp. A0505	
	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^6$	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^6$	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^6$
1	0.1360	7.2200	0.1550	6.9200	0.1535	3.4400
2	1.0014	27.7200	0.5110	23.4400	0.4507	6.4000
3	3.9825	69.3200	1.1638	42.2300	1.0904	14.1200
4	5.2107	99.4400	2.3611	77.0400	2.3556	30.1200
5	5.5639	105.2800	3.0202	102.4000	4.6241	68.4000
6	5.3142	108.6800	3.0421	107.8000	4.8806	73.6000
7	6.1090	111.4800	3.1908	108.8000	5.1752	78.0000

ตาราง ข-2 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรียเข้มข้น 800, 1,000, 1,200 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของยูเรีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)								
วัน	800		1,000		1,200		1,400	
	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^6$	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^6$	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^6$	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^6$
1	0.4087	3.6088	0.4202	3.9196	0.3467	3.4559	0.4155	3.4218
2	1.5592	38.2746	1.7026	39.8886	1.5094	51.1865	1.0834	15.0094
3	5.0030	119.2046	5.4993	126.5258	4.4462	82.7746	2.3779	48.3901
4	12.3602	230.1088	13.8556	239.3316	5.6599	105.3704	4.6319	78.5643
5	15.9766	297.4353	15.2427	265.1555	5.7466	106.9844	6.4402	115.8664
6	16.8436	313.5752	17.3574	285.9068	5.8333	108.5984	6.1801	102.5623
7	17.2151	320.4423	18.4059	338.9379	5.3998	100.5825	3.5668	64.1267
8	17.7105	329.7151	19.0967	357.3835	4.7806	89.0000	2.5017	37.3308

ตาราง ข-3 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรียเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 3,000 , 4,000 และ 5,000 ลักซ์

วัน	ความเข้มแสง (ลักซ์)					
	3,000		4,000		5,000	
	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^5$	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^5$	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^5$
1	0.4087	3.6016	0.4210	3.9064	0.4706	4.1036
2	1.0155	31.5547	0.9536	26.6786	1.4187	38.0673
3	2.4026	101.9662	2.5265	104.0932	3.9214	108.6770
4	6.6567	165.2143	6.1769	172.2038	10.5268	195.5928
5	14.2427	256.0845	14.3666	268.0361	16.7197	288.3772
6	16.2248	313.4752	17.4628	320.4426	19.5683	386.7401
7	16.3482	313.5501	17.7105	329.6051	19.6921	388.0833
8	16.8436	313.5724	18.2059	338.6974	19.8160	388.1664

ตาราง ข-4 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรียเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที (1 vvm) และมีการกวน 100 รอบต่อนาที

วัน	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^5$	ค่า pH
1	0.4991	1.0600	7.35
2	1.5824	8.4641	7.40
3	4.5337	40.1328	7.40
4	10.5213	142.6647	7.41
5	18.3740	296.6020	7.42
6	19.8697	516.5200	7.45
7	19.9642	524.0000	7.50
8	19.9906	546.4000	7.59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-5 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรียเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในถังหมักที่ให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที (2 vvm) และมีการกวน 100 รอบต่อนาที

วัน	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^5$	ค่า pH
1	0.5645	19.2500	7.55
2	1.0877	39.2000	7.60
3	2.1351	157.7600	7.56
4	3.3086	230.4050	7.50
5	3.2633	220.8804	7.47
6	3.5844	235.3600	7.49

ตาราง ข-6 ผลการเจริญของ *Chlorella* sp E1708 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรียเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในถังหมักที่ให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที (1 vvm) และมีการกวน 200 รอบต่อนาที

วัน	น้ำหนักแห้ง กรัมต่อลิตร	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\times 10^6$	ค่า pH
1	0.3513	9.3205	7.35
2	0.3873	9.8402	7.53
3	0.6139	13.0400	7.53
4	0.9106	12.4860	7.55
5	0.9188	12.9600	7.56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองนี้เป็นการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) จากการเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนกทางเดียวได้ผลดังนี้

การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp.E1708, *Chlorella* sp.D1708 และ *Chlorella* sp. A0505 ในอาหารสูตร N-8

จากการเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนกทางเดียวได้ผลดังนี้

ตาราง ค-1 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสายพันธุ์ต่างๆ ณ วันที่ 7 ของการทดลอง

สายพันธุ์สาหร่าย	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
E1708	6.1012	6.1007	6.1008	6.1090
D1708	3.1923	3.1901	3.1900	3.1908
A0505	5.1755	5.1748	5.1751	5.1752

ตาราง ค-2 แสดงการวิเคราะห์การเปรียบเทียบการเจริญของ *Chorella* sp.ทั้ง 3 สายพันธุ์

แหล่งข้อมูล	df	SS	MS	F-value
ชนิดของสาหร่าย	2	13.2632	6.6316	397896
ความคลาดเคลื่อน	8	0.0001	0.0000167	
รวม	6	13.2633		

$F_{0.05\,2,6} = 5.14$

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมากกว่าค่า F ที่ได้จากตารางจึงสรุปได้ว่ามีสาหร่ายอย่างน้อย 2 ชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการทดสอบรายคู่ (Multiple

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Comparison) โดยใช้วิธี Duncan's multiple range test พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

การเปรียบเทียบการเจริญของ *Cholrella* sp.E1708 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของยูเรีย 800 , 1,000 1,200และ 1,400 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่ายในอาหารที่มีความเข้มข้นของยูเรียต่างๆ กันมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนกทางเดียวได้ดังนี้

ตาราง ค-3 ปริมาณน้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. E1708 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณยูเรียต่างๆกัน ณ วันที่ 8 ของการทดลอง

ปริมาณความเข้มข้นของยูเรีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
800	17.7104	17.7113	17.7098	17.7105
1,000	19.0961	19.0979	19.0961	19.0967
1,200	4.7911	4.7023	4.8484	4.7806
1,400	2.5022	2.5018	2.5011	2.5017

ตาราง ค-4 แสดงการวิเคราะห์การเปรียบเทียบการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารที่มียูเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

แหล่งข้อมูล	df	SS	MS	F-value
ความเข้มข้นของยูเรีย	3	664.4615	221.4872	165562.2057
ความผิดพลาด	8	0.0115	0.0014	
รวม	11	664.4730		

$F_{0.05\ 2,6} = 4.07$

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมากกว่าค่า F ที่ได้จากตารางจึงสรุปได้ว่ามีปริมาณความเข้มข้นของยูเรียอย่างน้อย 2 ความเข้มข้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการทดสอบรายคู่ (Multiple Comparison) โดยใช้วิธี Duncan's multiple range test พบว่าปริมาณความเข้มข้นยูเรียทั้ง 4 ระดับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มียูเรียเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับความเข้มแสง 3,000 , 4,000 และ 5,000 ลักซ์

จากการเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่ายในอาหารที่มียูเรียเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับความเข้มแสงต่างๆ กัน มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนกเดียวได้ดังนี้

ตาราง ค-5 ปริมาณน้ำหนักของ *Chlorella* sp. E1708 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ กัน ณ วันที่ 8 ของการทดลอง

ความเข้มแสง	ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
3,000	16.9662	16.9015	16.6631	16.8346
4,000	18.2112	18.2074	18.1991	18.2059
5,000	19.8147	19.8256	19.8077	19.8160

ตางราง ค-6 แสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบการเจริญของ *Chlorella* sp. E1708 ในอาหารที่มีปริมาณยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับความเข้มแสงต่างๆ กัน

แหล่งข้อมูล	Df	SS	MS	F-value
ความเข้มแสง	2	13.2834	6.6417	781.3764
ความผิดพลาด	6	0.0512	0.0085	
รวม	8	13.3346		

$F_{0.05\,2,6} = 5.14$

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมากกว่าค่า F ที่ได้จากตารางจึงสรุปได้ว่ามีปริมาณความเข้มแสงอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการทดสอบรายคู่ (Multiple Comparison) โดยใช้วิธี Duncan's multiple range test พบว่าปริมาณความเข้มแสงทั้ง 3 ระดับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

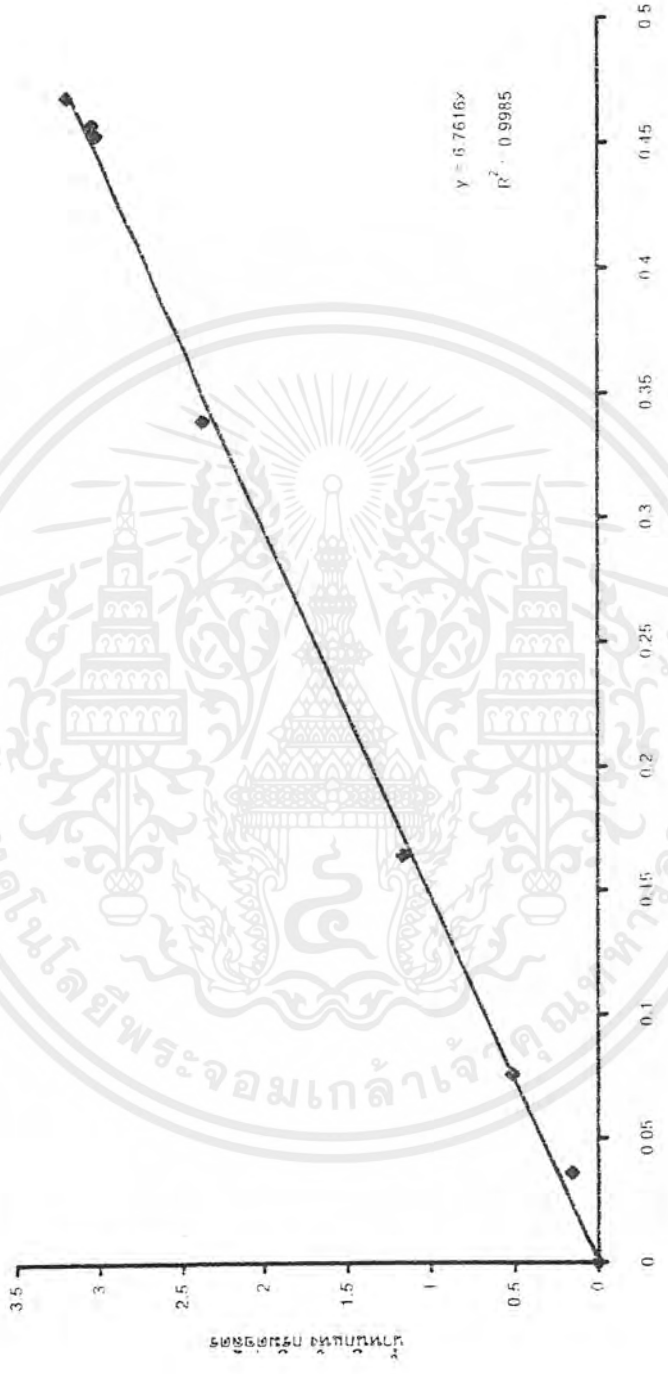
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
กราฟมาตรฐานน้ำหนักแห้งของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

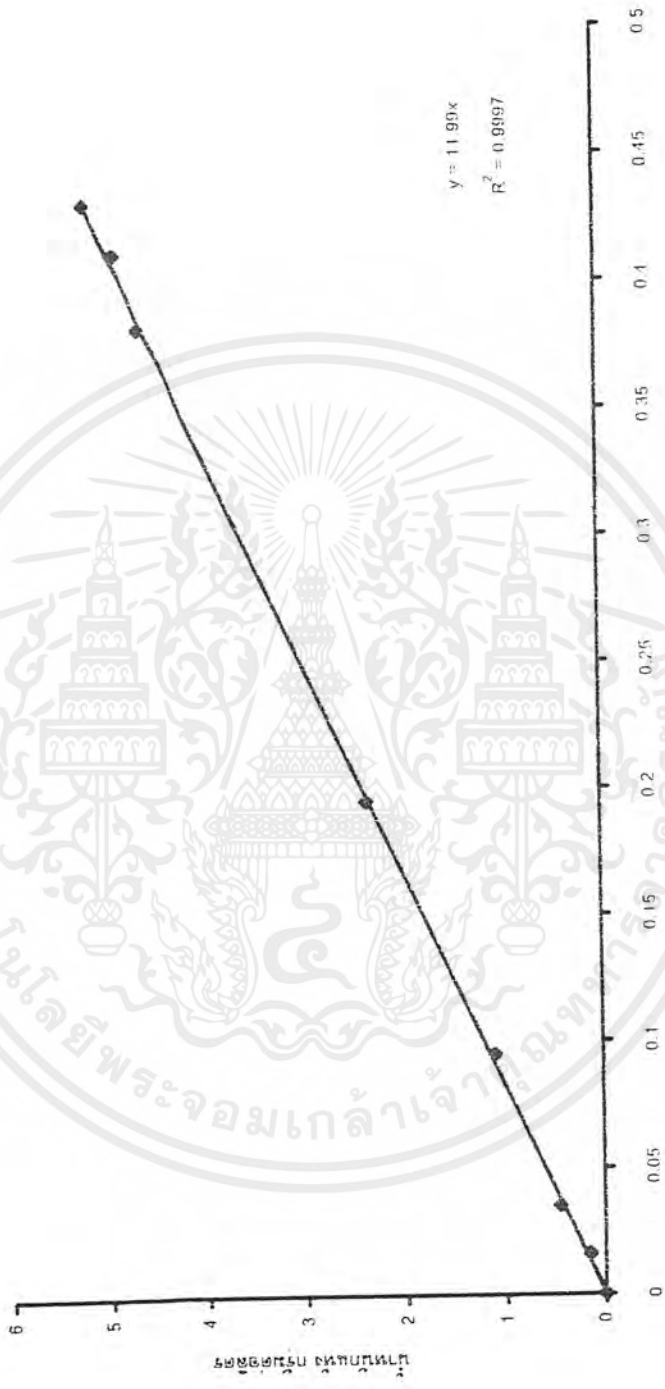
รูปที่ ง-1 กราฟมาตรฐานน้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. EI708

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3-2 กราฟมาตรฐานน้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp. D1708

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

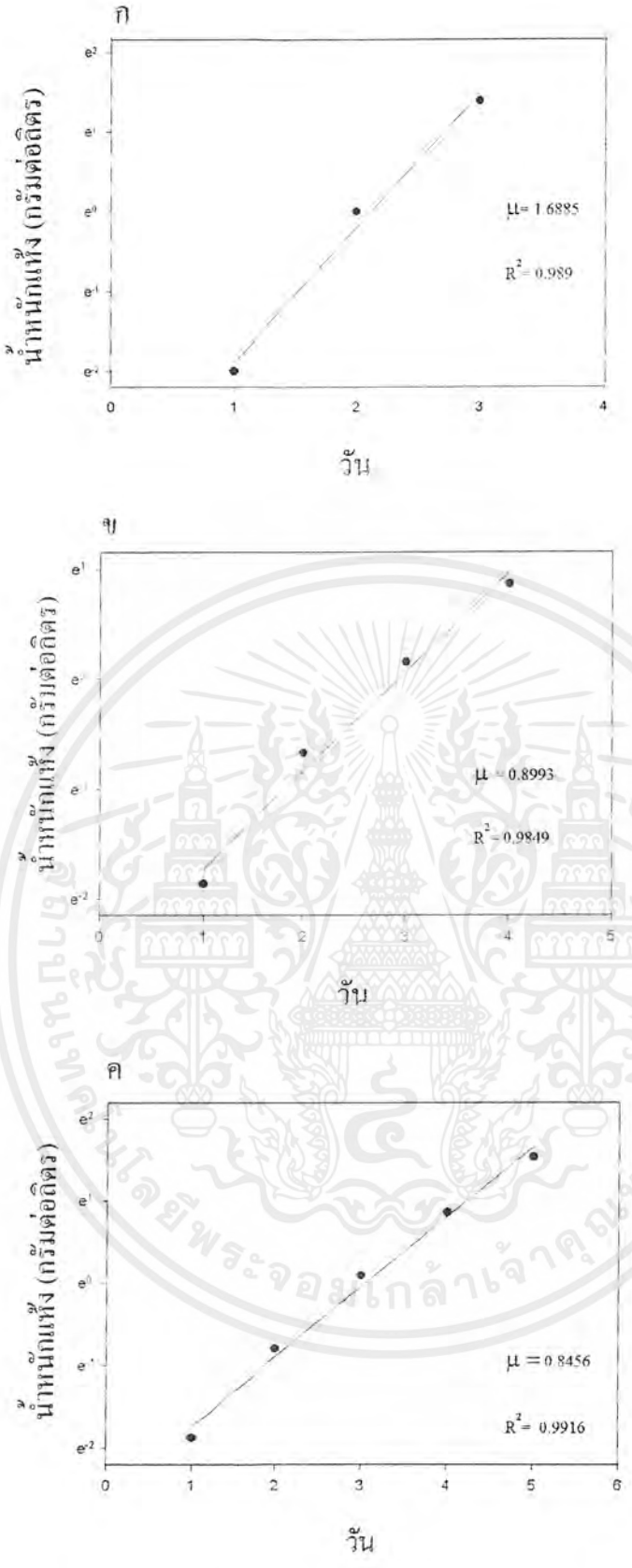


รูปที่ ง-3 กราฟมาตรฐานแท่งการนับความหนาแน่นของ *Chlorella* sp. A0505

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ
กราฟอัตราการเจริญจำเพาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



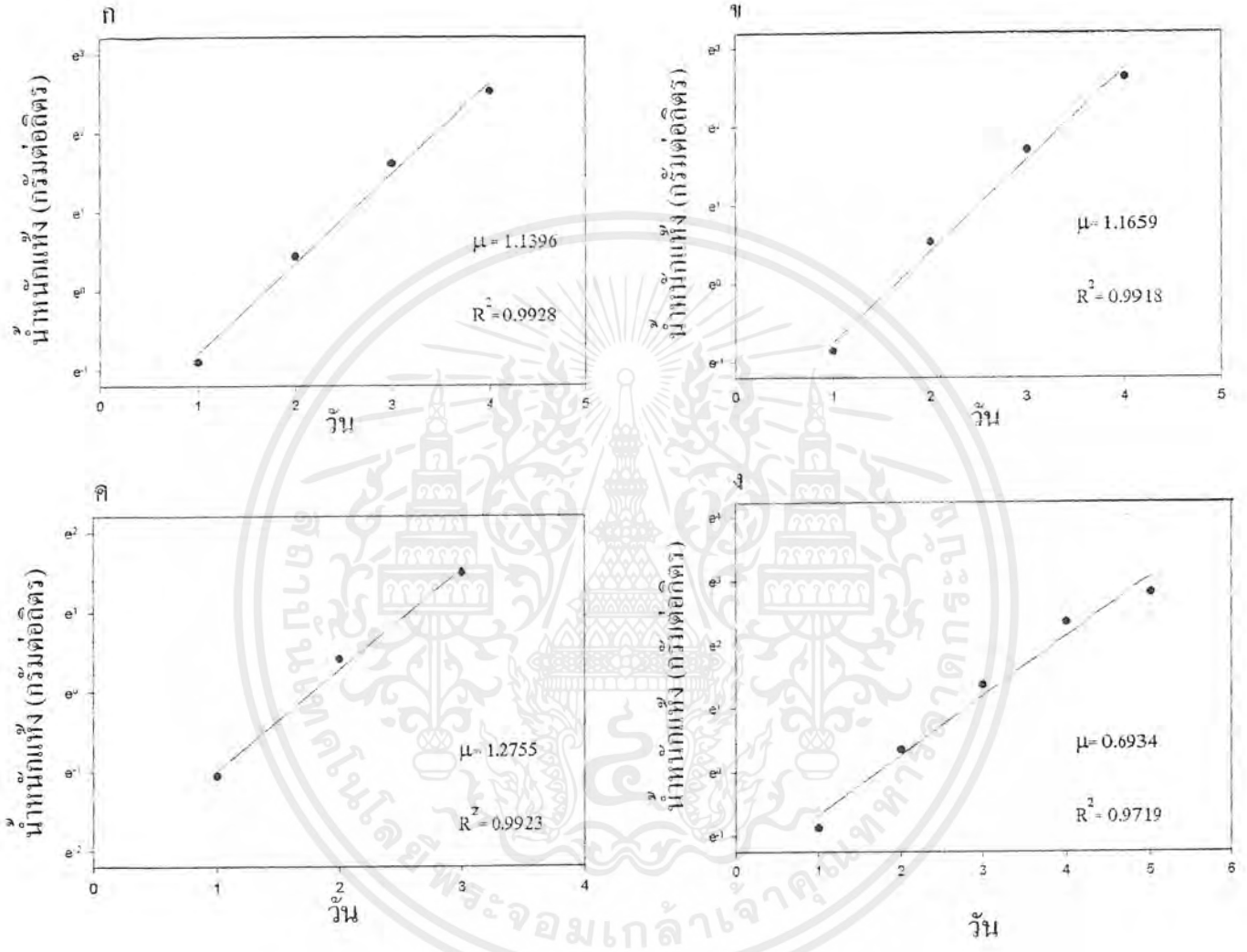
รูปที่ จ-1 กราฟอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์

ก. *Chlorella* sp. E1708

ข. *Chlorella* sp. D1708

ค. *Chlorella* sp. A0505

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ จ-2 กราฟอัตราการเจริญจำเพาะของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นของยูเรียแตกต่างกัน

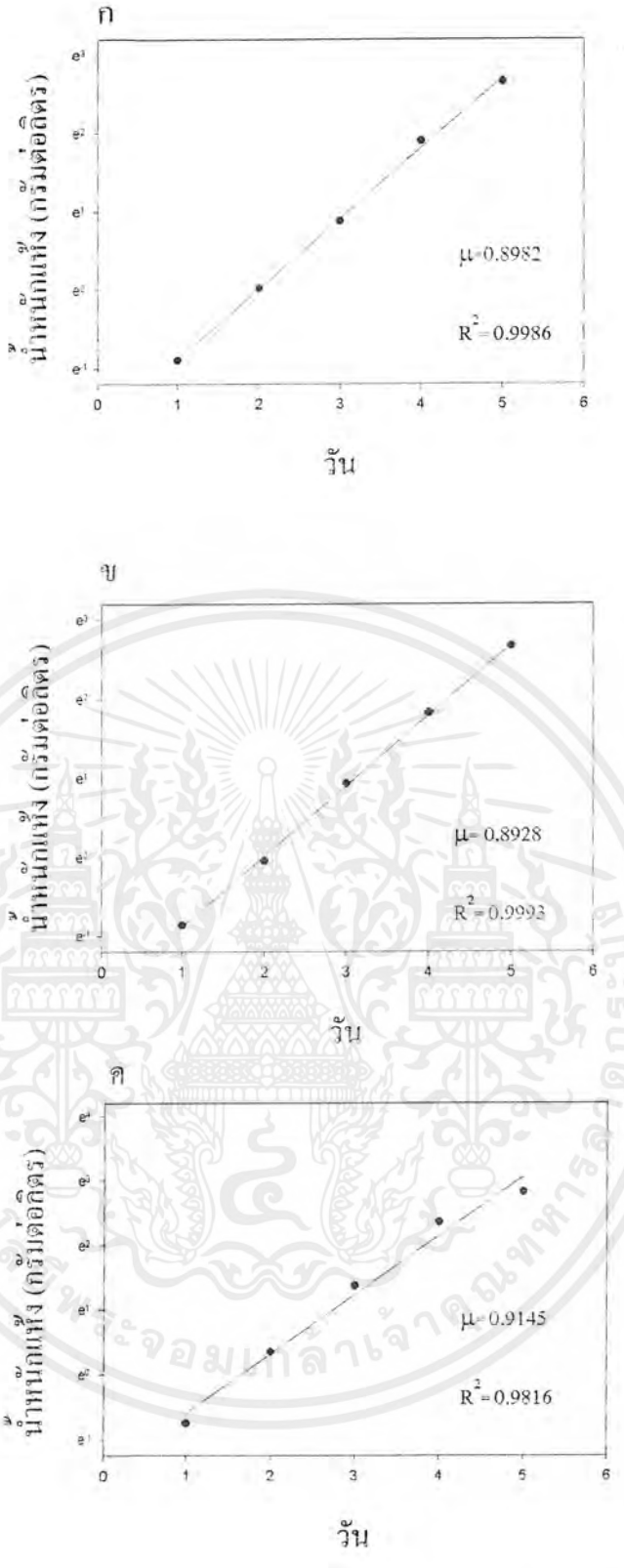
ก. 800 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข. 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. 1200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. 1400 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



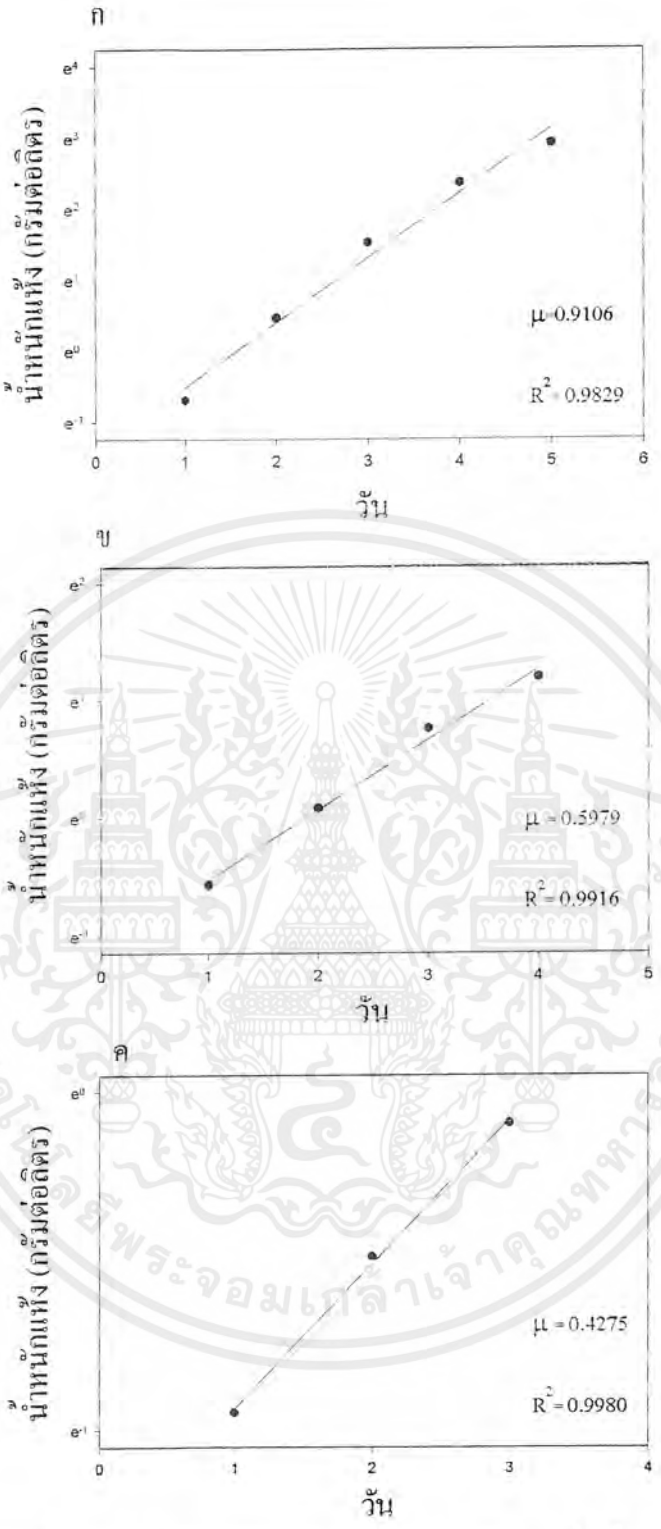
รูปที่ จ-3 กราฟอัตราการเจริญจำเพาะของ *Chlorella* sp. E1708 ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นของยูเรีย 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับความเข้มแสงแตกต่างกัน

ก. 3,000 ลักซ์

ข. 4,000 ลักซ์

ค. 5,000 ลักซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ จ-4 กราฟอัตราการเจริญจำเพาะของ *Chlorella* sp. E1708 ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ที่มีความเข้มข้นยูเรีย 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในถังหมักที่สภาวะแตกต่างกัน

ก. ให้อากาศ 1 vvm และมีการกวน 100 rpm

ข. ให้อากาศ 2 vvm และมีการกวน 100 rpm

ค. ให้อากาศ 1 vvm และมีการกวน 200 rpm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้