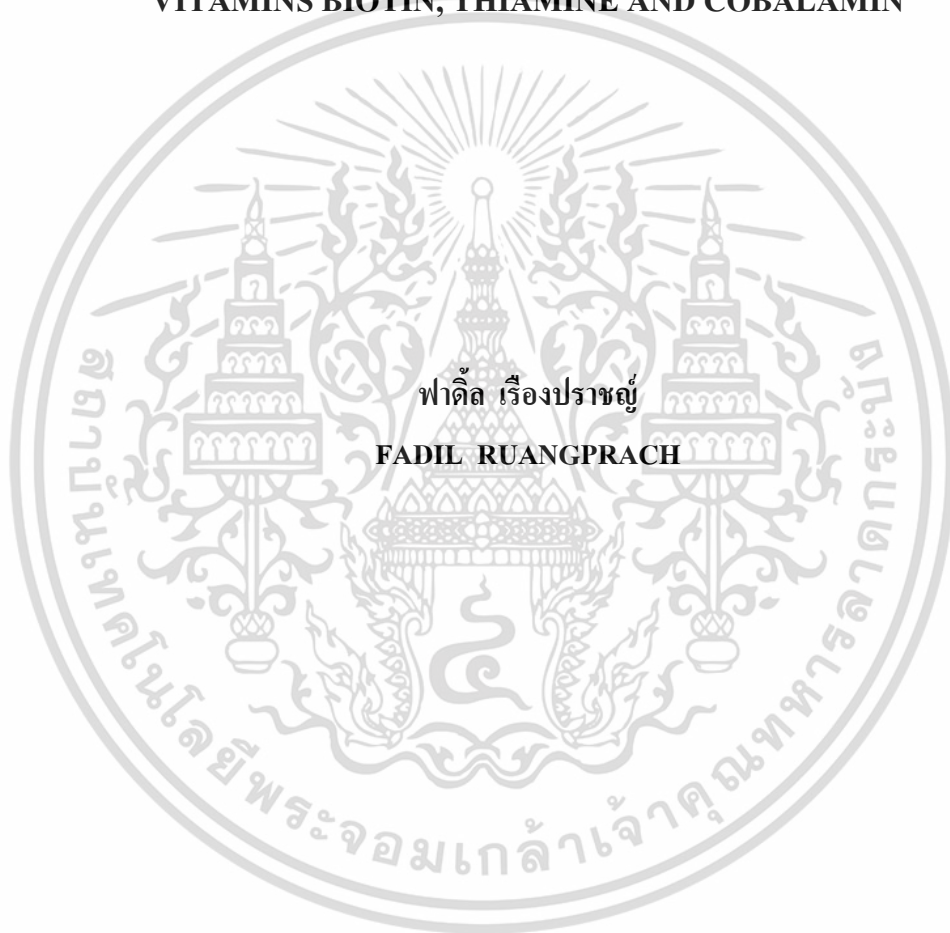


การเพิ่มผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และการปรับปรุงคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซล
ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 โดยการใช้วิตามินไบโอติน
ไทเอมีน และโคบาลามีนที่เหมาะสม

ENHANCE HYDROCARBON PRODUCTION AND IMPROVE BIODIESEL
PROPERTIES OF *Botryococcus braunii* KMITL 2 BY OPTIMUM
VITAMINS BIOTIN, THIAMINE AND COBALAMIN



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2563

KMITL-2020-AG-M-081-332

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ENHANCE HYDROCARBON PRODUCTION AND IMPROVE BIODIESEL
PROPERTIES OF *Botryococcus braunii* KMITL 2 BY OPTIMUM
VITAMINS BIOTIN, THIAMINE AND COBALAMIN**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FISHERIES SCIENCE
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2020

KMITL-2020-AG-M-081-332

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2020

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเพิ่มผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และการปรับปรุงคุณสมบัติ น้ำมัน ไบโอดีเซล ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL 2 โดยการใช้วิตามินไบโอดีโน ไทเอมีน และโคบาลามีนที่เหมาะสม
นักศึกษา	ว่าที่ร้อยตรีฟาดีล เรืองปราชญ์
รหัสประจำตัว	58604056
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมง
พ.ศ.	2563
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. สุวีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

บทคัดย่อ

วิตามิน (ไบโอดีโน ไทเอมีน และ โคบาลามีน) มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *Botryococcus braunii* โดยสาหร่ายแต่ละชนิดต้องการวิตามินในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบระดับที่เหมาะสมของวิตามินทั้ง 3 ชนิดต่อการเพิ่มผลผลิตไฮโดรคาร์บอนและการปรับปรุงคุณสมบัติน้ำมัน ไบโอดีเซลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 การทดลองที่ 1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีความเข้มข้นของไทเอมีน (T) 4 ระดับ คือ 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่าสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน T₁₀₀ มีชีวมวล 1.10±0.05 กรัมต่อลิตร ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับวิตามิน T₂₀₀ จึงเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 1 และนำมาเป็นระดับคงที่ในการทดลองที่ 2 โดยจัดชุดการทดลองแบบ factorial in crd 4×4 ที่มีความเข้มข้นของไบโอดีโน (B) 0, 1, 2 และ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของโคบาลามีน (C) 0, 2, 4 และ 6 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₆ มีชีวมวลสูงที่สุด 1.19±0.22 กรัมต่อลิตร และสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₀ มีเปอร์เซ็นต์ไฮโดรคาร์บอน ผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอนสูงที่สุดที่ 58.23±7.04 เปอร์เซ็นต์, 0.61±0.19 กรัมต่อลิตร และ 231.19±69.37 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ โดยมากกว่าชุดควบคุม 21.14 เปอร์เซ็นต์, 0.24 กรัมต่อลิตร และ 152.38 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ การใส่วิตามินไบโอดีโนและไทเอมีน มีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณไฮโดรคาร์บอน ($p=0.000$), ผลผลิตไฮโดรคาร์บอน ($p=0.000$) และกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอน ($p=0.000$) การใส่วิตามิน B:T:C ที่ระดับ 2:100:0 ไมโครกรัมต่อลิตร เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดในด้านของการให้ผลผลิตไฮโดรคาร์บอนมากที่สุด โดยสาหร่ายที่ได้รับวิตามินปรับปรุงคุณสมบัติไบโอดีเซลได้ดีกว่าชุดควบคุมมากที่สุดคือ B₂C₆ ปรับปรุงค่า CN ได้สูงถึง 61.74, วิตามิน B₀C₆ ปรับปรุงค่า IV ลงเหลือ 30.19 g I₂ 100 g⁻¹, วิตามิน B₀C₄ ปรับปรุงค่า CFPP ลงเหลือ -12.00 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Enhance hydrocarbon production and improve biodiesel properties of <i>Botryococcus braunii</i> KMITL 2 by optimum vitamins biotin, thiamine and cobalamin
Student	Acting Sub.Lt. Fadil Ruangprach
Student ID.	58604056
Degree	Master of Science
Program	Fisheries Science
Year	2020
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Suneerat Ruangsomboon

ABSTRACT

Vitamin biotin (B), thiamine (T) and cobalamin (C) play an important role on growth and hydrocarbon production of microalga *Botryococcus braunii*. The optimum ratio of vitamin varied among algal species. The optimum ratio of vitamin for hydrocarbon production and improve biodiesel properties of *B. braunii* KMITL 2 were studied. The first experiment showed the optimum thiamine (among 0, 100, 200 and 300 $\mu\text{g/l}$) for the highest biomass production (1.10 ± 0.05 g/l) was 100 $\mu\text{g/l}$ ($p > 0.05$), thus this thiamine concentration was selected for next experiment. The interaction of biotin (0, 1, 2 and 3 $\mu\text{g/l}$) and cobalamin (0, 2, 4 and 6 $\mu\text{g/l}$) was performed as factorial design (4x4) in second experiment. The maximum biomass (1.19 ± 0.22 g/l) was shown when cultivated in *Chlorella* medium with B_2C_2 . The maximum hydrocarbon content (58.23 ± 7.04 %), hydrocarbon yield (0.61 ± 0.19 g/l) and hydrocarbon productivity (231.19 ± 69.37 mg/l/d) were shown in B_2C_0 , with 21.14 %, 0.24 g/l and 152.38 mg/l/d higher than control. The result showed the interaction of biotin and thiamine on hydrocarbon content ($p = 0.000$), hydrocarbon yield ($p = 0.000$) and hydrocarbon productivity ($p = 0.000$) of alga. The present study showed that B:T:C 2:100:0 $\mu\text{g/l}$ was the optimum ratio for cultivation of *B. braunii* KMITL 2 because this alga gave the highest hydrocarbon yield. Supplementation of vitamin in algal cultivation improve biodiesel properties of this algal strain. The highest cetane (61.74), the lowest IV (30.19 g I_2 100 g^{-1}) and CFPP (-12.00 °C) was shown in B_2C_6 , B_0C_6 and B_0C_4 , respectively.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รศ.ดร. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ อาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรจารย์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ พร้อมกับเป็นผู้ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จขึ้นได้ ด้วยคำแนะนำในการทำงานวิจัย การตรวจสอบและช่วยแก้ไขปัญหามา เป็นผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ด้านเทคโนโลยีสาขาอื่น ทำให้ข้าพเจ้ามีองค์ความรู้และมีความชำนาญมากยิ่งขึ้น ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รศ.ดร. นงนุช เลหาหะวิสุทธิ ผศ.ดร. อัจฉริ เรื่องเดช อาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรจารย์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ ผศ.ดร. เดือนรัตน์ ชลอุดมกุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลาตรวจสอบให้คำแนะนำ ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องยิ่งขึ้น

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับได้รับทุนสนับสนุนจากคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (2561-01-04-004)

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้อง ของหลักสูตรวิทยาศาสตรจารย์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่อำนวยความสะดวกตลอดการทำวิทยานิพนธ์นี้ ทั้งในด้านการให้วิชาความรู้ การใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ และสถานที่ และให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งแก่ข้าพเจ้า

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณบิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวที่ส่งเสริมในด้านการศึกษา คอยให้กำลังใจ และให้ความช่วยเหลือตลอดการทำวิทยานิพนธ์นี้

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณแหล่งข้อมูล งานวิจัยหรือบทความต่างๆ ที่ข้าพเจ้าได้นำมาใช้ประกอบเนื้อหาวิทยานิพนธ์ รวมถึงเจ้าหน้าที่ประจำห้องสมุด สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่อำนวยความสะดวกในการค้นคว้าหาข้อมูลประกอบวิทยานิพนธ์นี้

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าหวังเป็นอย่างยิ่งว่า ข้อมูลทั้งหมดที่ได้รวบรวมและทำการศึกษาไว้ในวิทยานิพนธ์เล่มนี้ จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

พาคีล เรื่องปราษฎ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ III อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 สมมุติฐานของการศึกษา.....	2
1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย.....	2
1.5 ขอบเขตการวิจัย.....	3
1.6 ขั้นตอนของการศึกษา.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 สถานการณ์พลังงานและไบโอดีเซลของประเทศไทย.....	4
2.2 ปัญหาเชื้อเพลิงฟอสซิลและการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuels) ทดแทน.....	9
2.3 ไบโอดีเซลจากสาหร่าย.....	9
2.4 ความเหมาะสมของสาหร่ายขนาดเล็กในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมัน.....	12
2.5 สาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i>	13
2.6 บทบาทของวิตามินต่อสาหร่าย.....	14
2.7 ผลของวิตามินต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	16
2.8 ผลของวิตามินต่อคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมันและกรดไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	20
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	26
3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> สายพันธุ์ KMITL 2.....	26
3.2 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย.....	26
3.3 การทดลองที่ 1 ใช้ระดับของ thiamine ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL 2	26

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 การทดลองที่ 2 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางชีวเคมี ไฮโดรคาร์บอน และคุณสมบัติทางไบโอดีเซลของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL 2.....	27
3.5 น้ำหนักชีวมวลแห้ง (Biomass).....	27
3.6 ปริมาณโปรตีน.....	28
3.7 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต.....	28
3.8 วิเคราะห์ปริมาณไฮโดรคาร์บอน และไขมัน.....	29
3.9 การวิเคราะห์กรดไขมัน.....	29
3.10 การศึกษาคุณสมบัติไบโอดีเซลที่ได้จาก <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	30
3.10.1 Cetane number (CN).....	30
3.10.2 Degree of unsaturation (DU).....	30
3.10.3 Cold filter plugging point (CFPP).....	30
3.10.4 Saponification value (SV).....	31
3.10.5 Iodine value (IV).....	31
3.11 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	31
3.12 สถานที่ทำการวิจัย.....	31
3.13 ระยะเวลาทำการวิจัย.....	31
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	32
4.1 ผลการทดลองที่ 1 ระดับของ thiamine ที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโต และองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	32
4.1.1 ผลของ thiamine ต่อชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2	32
4.1.2 ผลของ thiamine ต่อคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	33
4.1.2.1 ผลของ thiamine ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	33
4.1.2.2 ผลของ thiamine ต่อเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	33

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.3 ผลของ thiamine ต่อโปรตีนของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	34
4.1.3.1 ผลของ thiamine ต่อปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	34
4.1.3.2 ผลของ thiamine ต่อเปอร์เซ็นต์โปรตีนของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	34
4.2 ผลการทดลองที่ 2.....	36
4.2.1 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	36
4.2.2 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	39
4.2.2.1 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อคาร์บไฮเดรตของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	39
4.2.2.2 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อโปรตีนของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	42
4.2.2.3 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	48
4.2.2.4 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อกรดไขมันของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	50
4.2.3 คุณสมบัติไบโอดีเซลของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2.....	62
4.3 ต้นทุนต่อลิตรของน้ำมันจากสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2 และระยะเวลาของการผลิตเพื่อแสดงความคุ้มค่าทางพาณิชย์.....	64
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	66
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	66
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	67
บรรณานุกรม.....	68
ภาคผนวก.....	74
ประวัติผู้เขียน.....	93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ VI อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ราคาขายปลีกเฉลี่ย (บาท/ลิตร) ของน้ำมันดีเซลและกลุ่มน้ำมันเบนซินในประเทศไทย.....	6
2. การประเมินคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย.....	11
3. เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล.....	12
4. ความเข้มข้นของวิตามินบี 12 และวิตามิน H (ไมโครกรัมต่อลิตร) ที่ใช้ในการทดลองสาหร่าย <i>H. pluvialis</i>	17
5. ปริมาณโปรตีน (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของน้ำหนักแห้ง) ของ <i>Scenedesmus obliquus</i> ที่เพาะเลี้ยงใน CoCl_2 : thiamine.....	21
6. ปริมาณโปรตีน (ละลายน้ำ, ไม่ละลายน้ำ และ โปรตีนรวม) (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของน้ำหนักแห้ง) ของ <i>Scenedesmus obliquus</i> เพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้น CoCl_2 ต่างกัน และ pyridoxine (วิตามิน B6) และ riboflavin (วิตามิน B2) ที่ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม.....	22
7. ผลการวิเคราะห์กรดไขมันรวมของสาหร่าย <i>Skeletonema</i> sp.	25
8. การเจริญเติบโตจำเพาะและไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ผันแปรกับ cobalamin.....	50
9. เปอร์เซ็นต์กรดไขมันของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 0.....	52
10. เปอร์เซ็นต์กรดไขมันของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_0C_0 , B_0C_2 , B_0C_4 และ B_0C_6	54
11. เปอร์เซ็นต์กรดไขมันของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_1C_0 , B_1C_2 , B_1C_4 และ B_1C_6	56
12. เปอร์เซ็นต์กรดไขมันของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_2C_0 , B_2C_2 , B_2C_4 และ B_2C_6	58
13. เปอร์เซ็นต์กรดไขมันของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_3C_0 , B_3C_2 , B_3C_4 และ B_3C_6	60
14. คุณสมบัติไบโอดีเซลของสาหร่าย <i>B. braunii</i> KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน biotin ผันแปรกับ cobalamin.....	63
15. ราคาต้นทุนสูตรอาหารที่มีวิตามิน B_2C_0 ต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 ลิตร.....	64
16. เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของ <i>B. braunii</i> KMITL 2 กับแหล่งอาหารประเภทอื่น ๆ.....	65

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ปริมาณการใช้พลังงานในประเทศไทยปี พ.ศ. 2562.....	5
2. ปริมาณการผลิตพลังงานในประเทศไทยปี พ.ศ. 2562.....	7
3. ปริมาณการใช้พลังงานทดแทนในประเทศไทยปี พ.ศ. 2562.....	7
4. ปริมาณการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพในประเทศไทยปี พ.ศ. 2551-2558.....	8
5. โครงสร้างของเซลล์ <i>B. braunii</i> ; (A) บางส่วนของโคโลนี <i>B. braunii</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ DIC และพื้นที่ในกรอบแสดงถึงเซลล์ (B) แบบโครงสร้างของเซลล์ <i>B. braunii</i> ซึ่งล้อมรอบด้วยสารประกอบภายนอกเซลล์และบางส่วนของไฮโดรคาร์บอน ที่อยู่รอบ ๆ เซลล์.....	14
6. กราฟแสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>B. braunii</i> BOT-22 ที่ได้รับวิตามินบี 12 (รูปสี่เหลี่ยมจตุรัส) และไม่ได้รับวิตามินบี 12 (รูปสามเหลี่ยม).....	16
7. ผลของวิตามินบี 12 ต่อปริมาณเซลล์ของ <i>Stichococcus sp.</i> , สูตร A: น้ำทะเลธรรมชาติผสมสารอาหารและแร่ธาตุ (SWM), สูตร B: น้ำทะเลสังเคราะห์ผสมสารอาหารคล้ายสูตร A และสูตร C: น้ำทะเล Norit ผสมสารอาหารคล้ายสูตร A โดยสูตร B และ C สาหร่ายจะถูกเลี้ยงด้วยโดยไม่มีการเติมวิตามินบี 12.....	16
8. ผลของวิตามิน B 12 และวิตามิน H ต่อความหนาแน่นของเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) สาหร่าย <i>H. pluvialis</i>	17
9. น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) และปริมาณเซลล์ ($\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ของสาหร่าย <i>H. pluvialis</i>	18
10. จำนวนของเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และขนาดของเซลล์ (ไมโครเมตร) ของสาหร่าย <i>C.nana</i> , <i>M. lutheri</i> และ <i>A. carterae</i> ที่ได้รับวิตามิน B12 (2 นาโนกรัมต่อลิตร), thiamine (15 นาโนกรัมต่อลิตร) และ biotin (3 นาโนกรัมต่อลิตร).....	19
11. การเจริญเติบโต (Net growth rate per day) ของแพลงก์ตอนพืชขนาดมากกว่า 5 ไมโครเมตร และน้อยกว่า 5 ไมโครเมตร ที่ศึกษาจากแม่น้ำ Peconic (ภาพซ้าย) และแม่น้ำ Old Fort Pond (ภาพขวา) ที่มีการเติมไนโตรเจน(N), วิตามิน B1 และ วิตามิน B12.....	20
12. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของน้ำหนักแห้ง) ของ <i>Scenedesmus obliquus</i> ที่เพาะเลี้ยงใน CoCl_2 : thiamine.....	21
13. น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) ปริมาณของไขมัน (เปอร์เซ็นต์) และ ความสามารถในการผลิตไขมัน (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน) ของสาหร่าย <i>Scenedesmus sp.</i> หลังการเพาะเลี้ยง 10 วัน โดยใช้ไนโตรเจน(N), ฟอสฟอรัส(P), วิตามิน(V) 14 สูตร เปรียบเทียบกับค่ากลาง (CP: Center point)...	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และเผยแพร่อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
14. ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> BOT-22 ที่ได้รับวิตามินบี 12 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ได้รับวิตามินบี 12).....	24
15. ปริมาณกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์) ของสาหร่าย <i>Skeletonama</i> sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร Walne และ Guillard.....	24
16. ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน thiamine 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร.....	32
17. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน thiamine 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร.....	33
18. เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน thiamine 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร.....	34
19. ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน thiamine 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร.....	35
20. เปอร์เซ็นต์โปรตีน ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน thiamine 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร.....	35
21. ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟันแปร cobalamin.....	37
22. ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟันแปร cobalamin.....	37
23. ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟันแปร cobalamin.....	38
24. ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟันแปร cobalamin	38
25. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟันแปร cobalamin.....	39
26. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟันแปร cobalamin.....	40
27. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟันแปร cobalamin.....	40

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
28. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin.....	41
29. เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin	41
30. เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin	42
31. เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin	42
32. เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin	43
33. ปริมาณ โปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin	44
34. ปริมาณ โปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin	45
35. ปริมาณ โปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin.....	45
36. ปริมาณ โปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin.....	46
37. เปอร์เซ็นต์โปรตีนของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin.....	46
38. เปอร์เซ็นต์โปรตีนของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin.....	47
39. เปอร์เซ็นต์โปรตีนของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin.....	47
40. เปอร์เซ็นต์โปรตีนของสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin.....	48

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การไล่หมดไปของเชื้อเพลิงฟอสซิล ทำให้มีการพยายามหาแหล่งพลังงานใหม่ขึ้นมาทดแทน เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม และพลังงานนิวเคลียร์ แต่พลังงานที่ยังคงมีความต้องการมากที่สุดคือพลังงานที่อยู่ในรูปเชื้อเพลิงเหลว เนื่องจากเครื่องจักรและรถยนต์ส่วนใหญ่ยังคงใช้เชื้อเพลิงเหลวอยู่เป็นจำนวนมาก เชื้อเพลิงเหลวชนิดไบโอดีเซลเป็นชนิดที่ได้รับความนิยมในการหาแหล่งวัตถุดิบอื่นขึ้นมาผลิตทดแทน โดยได้มีการหาแหล่งวัตถุดิบ เช่น สบู่ดำ ปาล์ม น้ำมัน และมันสำปะหลัง แต่พบว่าให้ผลผลิตช้า และกระทบต่อแหล่งอาหารของมนุษย์อย่างมาก ในประเทศไทยช่วงถึงขั้นขาดแคลนน้ำมันพืชที่ผลิตจากปาล์ม จึงต้องแก้ไขด้วยการหาแหล่งวัตถุดิบใหม่มาทดแทนพืชบกเหล่านี้ โดยสาหร่ายเป็นแหล่งทางเลือกใหม่ของพลังงานที่นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกยอมรับให้มาทดแทนพืชบก โดยมีข้อดีคือไม่ใช่อาหารของมนุษย์ ไม่ต้องใช้ดินที่อุดมสมบูรณ์ในการเพาะปลูก เจริญเติบโตรวดเร็ว เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ไว สามารถปรับปริมาณไฮโดรคาร์บอนและน้ำมันที่มีในสาหร่ายได้โดยการปรับสภาพทางเคมีและกายภาพในการเพาะเลี้ยง เมื่อเทียบระยะเวลาและพื้นที่ ที่เท่ากัน สาหร่ายให้น้ำมันได้สูงกว่าปาล์มน้ำมัน 10 - 25 เท่า

Botryococcus braunii เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก ที่ได้รับการยอมรับว่ามีการผลิตไฮโดรคาร์บอนและน้ำมันในปริมาณสูง แต่การเจริญเติบโตจะขึ้นกับสายพันธุ์ของสาหร่ายที่แตกต่างกันไป ซึ่งพบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ที่แยกจากประเทศนั้น ๆ เอง จะทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่ดี เนื่องจากปรับตัวเข้ากับสภาพภูมิอากาศได้ โดยการที่จะทำให้สาหร่ายเป็นวัตถุดิบผลิตไบโอดีเซลได้นั้น ต้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ได้ผลผลิตและน้ำมันปริมาณมาก นอกจากนี้ น้ำมันที่ได้ต้องมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำไปทำเป็นไบโอดีเซลด้วย โดยปัจจัยที่จะทำให้สาหร่ายมีผลผลิตชีวมวลและน้ำมันสูงนั้นมีหลายปัจจัยที่ได้รับการศึกษาไว้แล้ว แต่ยังไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาอิทธิพลร่วมกันของวิตามินบีหลายชนิดต่อการผลิตไฮโดรคาร์บอนหรือไขมันของ *B. braunii* ไปได้เลย ซึ่งโดยปกติแล้ววิตามินบีมีบทบาทต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโต และกระตุ้นการสร้างไขมันในสาหร่ายได้ ซึ่งวิตามินบีแต่ละชนิดจะมีบทบาทต่างกัน

ดังนั้นการศึกษารุ่นนี้จึงได้ทำการศึกษาระดับที่เหมาะสมของวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ต่อผลผลิตชีวมวล ปริมาณไฮโดรคาร์บอน และคุณสมบัติไบโอดีเซล ของสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B. braunii KMITL2 GenBank accession no. KX470608 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผู้วิจัยแยกมาจากแหล่งน้ำในเขตภาคกลางของไทย จากการศึกษาขั้นต้นของสาหร่ายชนิดนี้มีปริมาณไฮโดรคาร์บอนสูง จึงเหมาะที่จะพัฒนาการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ เพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอดีเซลต่อไป

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 ศึกษาแนวทางการเพิ่มผลผลิตชีวมวล, องค์ประกอบทางเคมี, ไฮโดรคาร์บอน และพัฒนาคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซล ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 โดยใช้ระดับวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ที่เหมาะสม
- 1.2.2 ศึกษาต้นทุนต่อลิตรของอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 เพื่อแสดงความคุ้มค่าทางพาณิชย์

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา

สาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 เป็นสาหร่ายที่มีไขมันในเซลล์ในปริมาณมาก การศึกษาหาข้อมูลในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อสกัดน้ำมัน โดยใส่สารอาหารเพิ่มเติมจำพวกวิตามิน เพื่อให้สาหร่ายผลิตน้ำมันได้มากกว่าอาหารสูตรปกติ โดยหาระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตไขมันของสาหร่าย

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย

ในอาณาจักร (kingdom) ของสาหร่าย พบว่าสาหร่ายประมาณครึ่งของอาณาจักรมีความต้องการวิตามินเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Croft et al., 2005; Helliwell et al., 2011; Grant et al., 2014) โดยพบว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายเป็นสัดส่วน โดยตรงกับความเข้มข้นของวิตามินที่สาหร่ายได้รับ (Carlucci and Silbernagel, 1969) และยังพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละชนิดมีความต้องการวิตามินในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และแต่ละชนิดยังต้องการการผสมของวิตามิน 3 ชนิดในอัตราส่วนที่แตกต่างกันอีกด้วย โดยวิตามิน 3 ชนิดที่สาหร่ายต้องการใช้ได้แก่ วิตามิน B₁₂ (cobalamin), วิตามิน B₁ (thiamine) และ วิตามิน H หรือ วิตามิน B₇ (biotin) (Croft et al., 2006; Tang et al., 2010) เนื่องจากยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับผลของวิตามิน ต่อผลผลิตชีวมวล ปริมาณไฮโดรคาร์บอน ผลผลิตไขมัน และคุณสมบัติไบโอดีเซล ของสาหร่าย *B. braunii* KMITL2 จึงเป็นเหตุผลให้มีการวิจัยศึกษาในทฤษฎีที่ว่า ความเข้มข้นที่ต่างกันของวิตามินจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายให้มีความแตกต่างกัน

1.5 ขอบเขตการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บสาหร่าย *Botryococcus braunii* สายพันธุ์ KMITL 2 นำมาจากอ่างเก็บน้ำคลองโบริด ตำบลเขาพระ จังหวัดนครนายก คัดแยกและเพาะเลี้ยงโดยนักวิจัยแพลงก์ตอน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ให้ได้ปริมาณมากเพื่อนำมาศึกษาการเพิ่มผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และการปรับปรุงคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซลของสาหร่าย โดยการใช้อิทธิพลร่วมกันของวิตามินไบโอดีดิน, ไทเอมีน และโคบาลามีนที่เหมาะสม ในการศึกษาทดลองทำภายในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ทำการบันทึกผลการทดลองทั้งหมดเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ และนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความต่างทางสถิติและอิทธิพลร่วมกันเพื่อหาระดับวิตามินที่เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และการปรับปรุงคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซลของสาหร่ายได้ดีที่สุด

1.6 ขั้นตอนของการศึกษา

- เลือกหัวข้อที่สนใจ ในที่นี้เป็น “การเพิ่มผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และการปรับปรุงคุณสมบัติ น้ำมันไบโอดีเซล ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 โดยการใช้วิตามิน ไบโอดีดิน ไทเอมีน และโคบาลามีนที่เหมาะสม”
- กำหนดวัตถุประสงค์ที่ต้องการศึกษา
- วางแผนการทดลอง 2 การทดลอง
การทดลองที่ 1 หาระดับของไทเอมีนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมากที่สุด
การทดลองที่ 2 กำหนดเป็นแบบ factorial 4×4 (16 ชุดการทดลอง) มี 2 ปัจจัย (วิตามินไบโอดีดิน และโคบาลามีน) ปัจจัยละ 4 ระดับ
- กำหนดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่ 24 วัน และข้อมูลที่ต้องเก็บ (ชีวมวล, คาร์โบไฮเดรต, โปรตีน, ไฮโดรคาร์บอน, กรดไขมัน, คุณสมบัติไบโอดีเซล และต้นทุนต่อลิตรของอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2)
- วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS Version 22
- แปลผลข้อมูลที่ได้ทั้งหมดเพื่อวิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สถานการณ์พลังงานและไบโอดีเซลของประเทศไทย

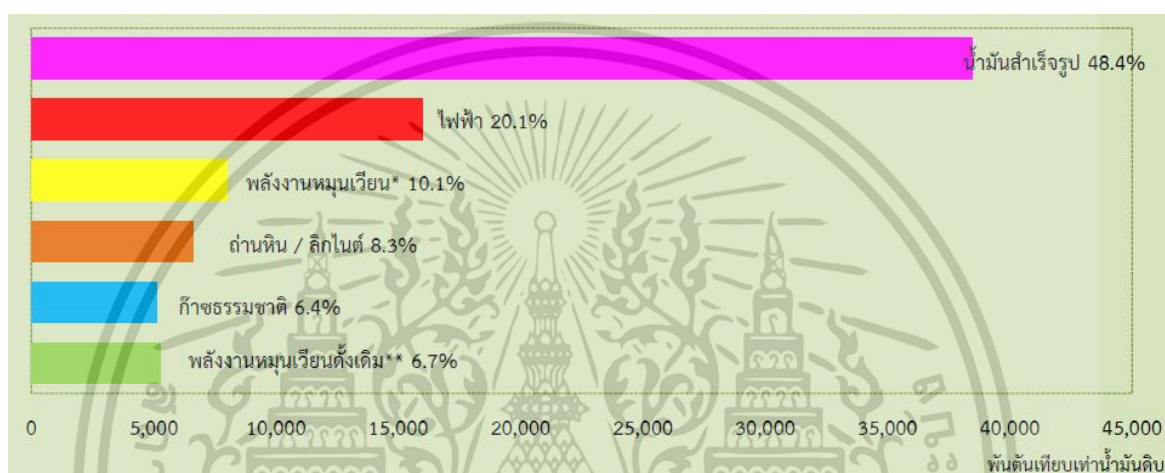
พลังงานเป็นสิ่งที่ขับเคลื่อนสังคมของมนุษย์ให้ดำเนินไป และเป็นสิ่งที่สำคัญอย่างมากสำหรับการพัฒนาทางด้านต่าง ๆ ของมนุษย์ ซึ่งความต้องการใช้พลังงานของมนุษย์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากอัตราการเพิ่มขึ้นของประชากรมนุษย์ การพัฒนาทางด้านสังคมและนวัตกรรมต่าง ๆ เพื่อให้มีความทันสมัย และเกิดความสะดวกในการดำเนินชีวิต ทำให้ความต้องการใช้พลังงานทั่วโลกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และคาดว่าจะเพิ่มสูงขึ้นในอีกหลายทศวรรษข้างหน้า โดยเฉพาะเชื้อเพลิงจากฟอสซิล (เช่น น้ำมัน, ก๊าซธรรมชาติ และถ่านหิน) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักที่สำคัญต่อการพัฒนาของมนุษย์อย่างมาก ซึ่งมนุษย์มีความต้องการพลังงานชนิดนี้สูงถึง 75 - 80 เพอร์เซ็นต์ (Asif and Muneer, 2007; Nakicenovic and Jefferson, 1995) ส่วนพลังงานทดแทนอื่น ๆ และพลังงานนิวเคลียร์มีเพียง 13.5 และ 6.5 เพอร์เซ็นต์ของความต้องการพลังงานทั้งหมด ด้วยความต้องการพลังงานในปริมาณมากของมนุษย์ทั่วโลก ทำให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศ โดยเฉพาะเชื้อเพลิงจากฟอสซิล ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักที่กำลังก่อให้เกิดผลกระทบอย่างมหาศาลต่อสิ่งแวดล้อม จากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศที่เป็นผลมาจากการกระทำของมนุษย์ โดยการปล่อยก๊าซเรือนกระจก (Greenhouse gas; GHG) ที่ส่งผลกระทบต่อโดยตรงกับสิ่งแวดล้อม จากผลกระทบนี้ องค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) กล่าวว่า มีจำนวนผู้เสียชีวิตราว 160,000 รายในแต่ละปีที่ได้รับผลข้างเคียงจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโลก และตัวเลขเหล่านี้อาจเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าภายในปี ค.ศ. 2020 (Renewable Energy World, 2003)

การใช้พลังงานขั้นสุดท้าย (รวมพลังงานขั้นสุดท้ายทั้งหมด ทั้งไฟฟ้า, น้ำมัน ก๊าซธรรมชาติ และอื่น ๆ) ของประเทศไทยในช่วง 11 เดือนของปี พ.ศ. 2562 มีปริมาณ 79,427 พันตัน เทียบเท่าน้ำมันดิบ เพิ่มขึ้นจากช่วงเดียวกันของปีก่อน 3.7 เพอร์เซ็นต์ คิดเป็นมูลค่าการใช้พลังงานรวมกว่า 1,121,243 ล้านบาท โดยมีการใช้พลังงานเชิงพาณิชย์ในสัดส่วน 83.2 เพอร์เซ็นต์ ของการใช้พลังงานขั้นสุดท้าย, พลังงานหมุนเวียน และพลังงานหมุนเวียนดั้งเดิม 10.1 และ 6.7 เพอร์เซ็นต์ตามลำดับ ทั้งนี้การใช้พลังงานเชิงพาณิชย์มีปริมาณ 66,145 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ เพิ่มขึ้นจากช่วงเดียวกันของปีก่อน 2.2 เพอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย น้ำมันสำเร็จรูป มีการใช้ 38,461 พันตัน เทียบเท่าน้ำมันดิบเพิ่มขึ้น 2.1 เพอร์เซ็นต์ ไฟฟ้า มีการใช้ 15,991 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบเพิ่มขึ้น 3.6 เพอร์เซ็นต์ ถ่านหิน/ลิกไนต์ มีการใช้ 6,589 พันตัน เทียบเท่าน้ำมันดิบเพิ่มขึ้น 4.6 เพอร์เซ็นต์ และก๊าซธรรมชาติ มีการใช้ 5,104 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบลดลง 3.9 เพอร์เซ็นต์ สำหรับพลังงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมุนเวียน (ฟืน, แกลบ, กากอ้อย, วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร, ขยะ และก๊าซชีวภาพ) มีการใช้ 7,991 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบเพิ่มขึ้น 13.1 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานหมุนเวียนดั้งเดิม (ฟืน, ถ่าน, แกลบ และวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร) มีการใช้ 5,291 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบเพิ่มขึ้น 10.5 เปอร์เซ็นต์

อย่างไรก็ตาม น้ำมันสำเร็จรูปยังคงมีการใช้ในสัดส่วนที่สูงกว่าพลังงานชนิดอื่น โดยมีการใช้ 48.4 เปอร์เซ็นต์ ของการใช้พลังงานขั้นสุดท้าย (ภาพที่ 1) และมีการใช้ไฟฟ้า, ถ่านหิน/ลิกไนต์, ก๊าซธรรมชาติ, พลังงานหมุนเวียนและพลังงานหมุนเวียนดั้งเดิม 20.1 8.3 6.4 10.1 และ 6.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ปริมาณการใช้พลังงานในประเทศไทยปี พ.ศ. 2562

ที่มา : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2562)

การใช้น้ำมันดีเซล เฉลี่ยอยู่ที่ 67.30 ล้านลิตรต่อวัน เพิ่มขึ้น 4.6 เปอร์เซ็นต์ ราคาขายปลีกเฉลี่ย อยู่ที่ 26.47 บาทต่อลิตร ลดลง 7.7 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับช่วงเดียวกันของปีก่อนหน้า ในเดือน พฤศจิกายน 2562 มียอดจำหน่ายน้ำมัน B20 อยู่ที่ 240.71 ล้านลิตร ลดลง 8 เปอร์เซ็นต์ จากเดือน ก่อนหน้า จากการสิ้นสุดมาตรการอุดหนุนราคาจำหน่ายน้ำมัน B20 ให้ต่ำกว่าน้ำมันดีเซลปกติ 5 บาทต่อลิตร เมื่อวันที่ 30 กันยายน พ.ศ. 2562 ที่ผ่านมา และการใช้น้ำมันกลุ่มเบนซิน เฉลี่ยอยู่ที่ 32.10 ล้านลิตรต่อวัน เพิ่มขึ้น 4.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับช่วงเดียวกันของปีก่อนหน้า โดยราคาขายปลีกน้ำมันกลุ่มเบนซินเฉลี่ยอยู่ 26.99 บาทต่อลิตรลดลง 5.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับช่วงเดียวกันของปีก่อนหน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

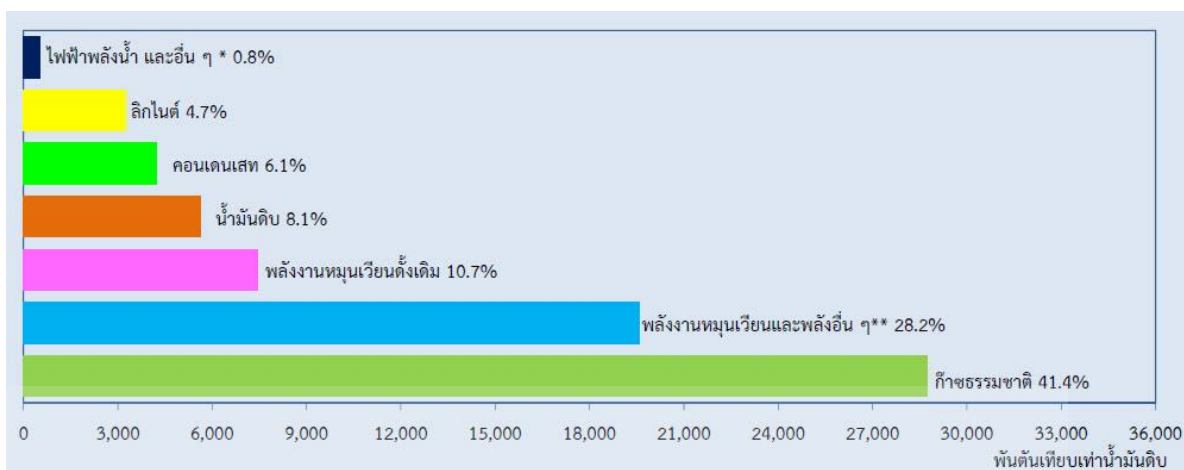
ตารางที่ 1 ราคาขายปลีกเฉลี่ย (บาท/ลิตร) ของน้ำมันดีเซลและกลุ่มน้ำมันเบนซินในประเทศไทย

ชนิดน้ำมัน	ราคาขายปลีกเฉลี่ย (บาท/ลิตร)			
	พ.ศ. 2559	พ.ศ. 2560	พ.ศ. 2561	พ.ศ. 2562
ดีเซล	23.26	25.64	28.35	26.47
กลุ่มเบนซิน	24.09	26.66	28.31	26.99
เบนซิน 95	31.80	34.54	36.32	35.40
แก๊สโซฮอล์	23.71	26.33	28.02	26.73
91 (E10)	24.13	26.88	28.69	27.49
95 (E10)	24.50	27.15	28.96	27.75
95 (E20)	21.98	24.64	26.22	24.75
95 (E85)	18.14	19.97	20.88	20.08

ที่มา : ดัดแปลงจาก ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร (2563)

การผลิตพลังงาน มีปริมาณ 69,381 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ เพิ่มขึ้นจากช่วงเดียวกันของปีก่อน 3.5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีการผลิตพลังงานเชิงพาณิชย์ ในสัดส่วน 61.1 เปอร์เซ็นต์ ของการผลิตพลังงานทั้งหมด พลังงานหมุนเวียน และพลังงานอื่น ๆ พลังงานหมุนเวียนดั้งเดิม 28.2 และ 10.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การผลิตพลังงานเชิงพาณิชย์ มีปริมาณ 42,374 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ ลดลง 0.4 เปอร์เซ็นต์ จากช่วงเดียวกันของปีก่อน ประกอบด้วย น้ำมันดิบ มีการผลิต 5,619 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบลดลง 5.1 เปอร์เซ็นต์ ลิกไนต์ มีการผลิต 3,259 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ ลดลง 3.9 เปอร์เซ็นต์ ก๊าซธรรมชาติ มีการผลิต 28,747 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบเพิ่มขึ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ คอนเดนเสท มีการผลิต 4,236 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ เพิ่มขึ้น 2.9 เปอร์เซ็นต์ และไฟฟ้าพลังน้ำและอื่น ๆ มีการผลิต 513 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบลดลง 15.2 เปอร์เซ็นต์ สำหรับพลังงานหมุนเวียน และพลังงานอื่น ๆ (ฟืน, แกลบ, กากอ้อย, วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร, ขยะ, ก๊าซชีวภาพ, เชื้อเพลิงชีวภาพ, แบตเตอรี่และ ก๊าซเหลือใช้จากขบวนการผลิต) มีการผลิต 19,563 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบเพิ่มขึ้น 16.1 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานหมุนเวียนดั้งเดิม (ฟืน, แกลบ และ วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร) มีการผลิต 7,444 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ ลดลง 2.5 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

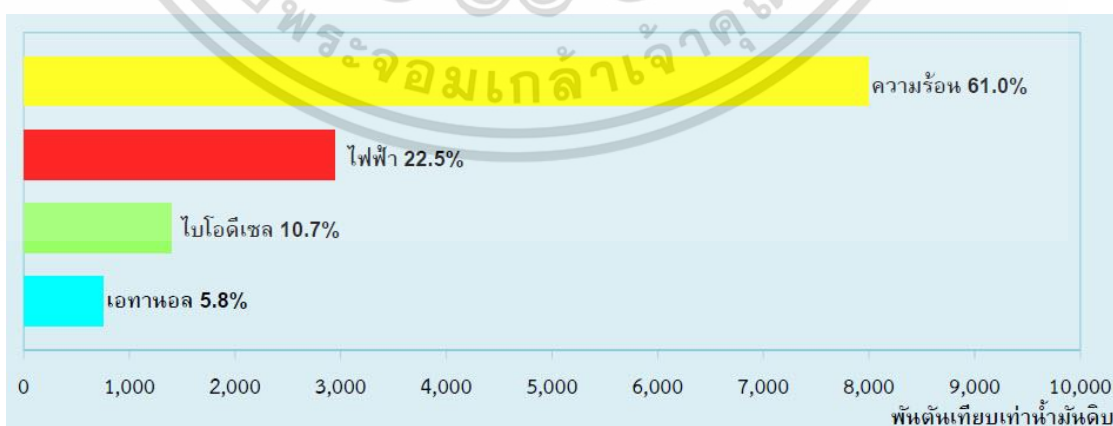


ภาพที่ 2 ปริมาณการผลิตพลังงานในประเทศไทยปี พ.ศ. 2562

ที่มา : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2562)

สถานการณ์การใช้พลังงานทดแทน ในช่วง 11 เดือนของปี พ.ศ. 2562 ประเทศไทยมีการใช้พลังงานทดแทน 13,088 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ เพิ่มขึ้นจากช่วงเดียวกันของปีก่อน 12.2 เปอร์เซ็นต์ โดยมีการใช้ในรูปแบบของ ไฟฟ้า ความร้อน และเชื้อเพลิงชีวภาพ (ประกอบด้วยเอทานอล และไบโอดีเซล) ในสัดส่วน 16.48 เปอร์เซ็นต์ ของการใช้พลังงานขั้นสุดท้าย การใช้ไฟฟ้า และความร้อนที่ผลิตได้จากพลังงานทดแทน (ประกอบด้วยพลังงานแสงอาทิตย์, พลังงานลม, พลังงานน้ำ, ชีวมวล, ก๊าซชีวภาพ และขยะ) มีปริมาณ 2,944 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ และ 7,991 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ ตามลำดับ

ส่วนเชื้อเพลิงชีวภาพ มีปริมาณการใช้ ประกอบด้วย เอทานอล 754 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ และไบโอดีเซล 1,399 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ปริมาณการใช้พลังงานทดแทนในประเทศไทยปี พ.ศ. 2562

ที่มา : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การพัฒนาพลังงานทดแทนในประเทศไทยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยการใช้งานจะอยู่ในรูปของพลังงานไฟฟ้า, พลังงานความร้อน และเชื้อเพลิงชีวภาพ โดยในปี พ.ศ. 2557 ประเทศไทยมีการใช้พลังงานทดแทนทั้งสิ้น 9,025 พันตันเทียบเท่าน้ำมันดิบ เพิ่มขึ้นจากปีก่อน 9.6 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็น 11.9 เปอร์เซ็นต์ ของการใช้พลังงานขั้นสุดท้าย การใช้พลังงานทดแทนจะอยู่ในรูปของพลังงานความร้อนมากที่สุด คิดเป็นสัดส่วนมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ของการใช้พลังงานทดแทนทั้งหมด รองลงมา ได้แก่ เชื้อเพลิงชีวภาพ และไฟฟ้า โดยในปี พ.ศ. 2557 การใช้พลังงานความร้อนคิดเป็น 64 เปอร์เซ็นต์ เชื้อเพลิงชีวภาพ และไฟฟ้า คิดเป็น 19.7 และ 16.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การใช้ไบโอดีเซลเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในปี พ.ศ. 2554 เมื่อกระทรวงพลังงานได้เพิ่มสัดส่วนผสมไบโอดีเซลในนํ้ามันดีเซลที่อัตราส่วน 3-5 เปอร์เซ็นต์ และ ในปี พ.ศ. 2557 ได้เพิ่มสัดส่วนผสมไบโอดีเซลเป็น 7 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากปริมาณนํ้ามันปาล์มดิบซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลมีความผันผวนทางฤดูกาลมาก ทำให้ในบางช่วงเวลา กระทรวงพลังงานต้องลดสัดส่วนการผสมไบโอดีเซลลงเพื่อให้สมดุลกับวัตถุดิบในประเทศ ในปี พ.ศ. 2557 ประเทศไทยมีโรงงานผลิตไบโอดีเซลเพิ่มเป็น 10 แห่ง กำลังการผลิตรวม 4.96 ล้านลิตรต่อวัน และใช้ไบโอดีเซลเพื่อทดแทนนํ้ามันดีเซลรวม 1,054.92 ล้านลิตร หรือเทียบเท่า 2.89 ล้านลิตรต่อวัน



ภาพที่ 4 ปริมาณการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพในประเทศไทยปี พ.ศ. 2551-2558

ที่มา : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับเอทานอลมีส่วนการใช้เพิ่มขึ้นอย่างก้าวกระโดดในปี พ.ศ. 2556 มีสัดส่วนการใช้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณการใช้น้ำมันเบนซินทั้งหมด และจากราคาน้ำมันดิบโลกในช่วงปี พ.ศ. 2556 – 2557 ที่มีแนวโน้มสูงขึ้น จึงทำให้ประชาชนหันมาใช้น้ำมันแก๊สโซฮอล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้การใช้อทานอลเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยในปี พ.ศ. 2557 มีโรงงานผลิตเอทานอลเพิ่มเป็น 22 แห่ง กำลังการผลิตรวม 5.31 ล้านลิตรต่อวัน และมีการใช้อทานอลรวม 1,185.50 ล้านลิตร หรือเทียบเท่า 3.25 ล้านลิตรต่อวัน

2.2 ปัญหาเชื้อเพลิงฟอสซิลและการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuels) ทดแทน

ราคาน้ำมันเชื้อเพลิงฟอสซิลที่มีการผันแปรสูงและปริมาณเชื้อเพลิงฟอสซิลที่มีจำกัดใกล้หมดไปในอีกไม่นาน จึงทำให้พลังงานทางเลือกได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก และมีหลายทางเลือกทั้งพลังงานนิวเคลียร์, แสงอาทิตย์, ไฮโดรเจน, ลม และ biofuels (Patil et al., 2008) โดย biofuel เป็นพลังงานที่ได้จากสิ่งมีชีวิต อาจอยู่ในรูปของแข็ง ของเหลว หรือแก๊ส ได้มีการใช้ biofuel มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 โดยได้มาจากผลผลิตทางการเกษตร และ biofuel ช่วยแก้ปัญหาเรื่องโลกร้อนจากภาวะเรือนกระจก และปัญหาจากราคาที่ผันผวนของปิโตรเลียมได้ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลผลิตทางการเกษตรมาเป็นวัตถุดิบในการผลิต biofuel นั้น ได้รับการวิพากษ์วิจารณ์ในหลายด้าน ทั้งด้านการใช้พื้นที่ปริมาณมากในการปลูกพืช รวมทั้งผลิตผลหลายชนิดเช่นปาล์มน้ำมัน, อ้อย และข้าวโพด นั้น เดิมล้วนใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์หรืออาหารสำหรับมนุษย์ เมื่อวัตถุดิบจำนวนมากถูกเปลี่ยนไปเป็น biofuel แทน จึงทำให้ราคาของผลิตภัณฑ์สำหรับการบริโภคของมนุษย์สูงขึ้น นอกจากนี้แม้ในทางสิ่งแวดล้อม biofuel จะทำให้อากาศสะอาดขึ้นเมื่อเทียบกับควันการเผาไหม้จากน้ำมันธรรมดา แต่กระแสดต่อต้าน biofuel ก็คือการเป็นห่วงความยั่งยืนของการใช้พืชเกษตรที่อาจต้องตัดไม้ทำลายป่าเพิ่มขึ้นมาก เพื่อหาพื้นที่เพาะปลูกที่สมบูรณ์พอเพียง

2.3 ไบโอดีเซลจากสาหร่าย

ไบโอดีเซล (Biodiesel) เป็นประเภทหนึ่งของ biofuel ซึ่งอยู่ในรูปของเหลว ในระดับอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล เป็นการนำน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นไตรกลีเซอไรด์และแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ เช่น เอทานอลหรือเมทานอล ในปริมาณที่มาก มาทำปฏิกิริยาเคมีทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) โดยใช้กรดหรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อเกิดการรวมพันธะของไตรกลีเซอไรด์และแอลกอฮอล์ เปลี่ยนวัตถุดิบตั้งต้นไปเป็นเอทิลเอสเทอร์ (FAEs) หรือเมทิลเอสเทอร์ (FAMES) และมีกลีเซอรินเป็นผลพลอยได้ ซึ่งเอสเทอร์มีคุณสมบัติที่เหมือนกับน้ำมันดีเซลมากที่สุด ข้อดีคือค่าซีเทน (cetane ค่าดัชนีการจุดติดไฟ) สูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้ติดเครื่องดี การสันดาปสมบูรณ์ เกิดคาร์บอนมอนอกไซด์น้อย ไม่มีควันดำ

และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ สามารถใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้โดยตรงไม่มีผลกระทบต่อเครื่องยนต์ เอกสารนี้เป็นเอกสารทูลงวนเวสสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในระยะยาว ส่วนกลีเซอรินที่ได้จากการผลิต ถือเป็นผลพลอยได้ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง น้ำมันหล่อลื่น ฯลฯ

สาหร่ายได้รับความสนใจอย่างยิ่งในการนำมาเป็นทางเลือกผลิต biodiesel แทนพืชที่เป็นแหล่งอาหารเช่น ถั่วเหลือง, ปาล์ม และคาโนลา เพราะทำให้ไม่กระทบต่อแหล่งอาหารมนุษย์ และเป็นแหล่งพลังงานที่มีความปลอดภัย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดยังมีปริมาณน้ำมันที่สูงมาก และสามารถกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งช่วยแก้ปัญหาภาวะเรือนกระจกได้ (Antoni et al., 2007; Chisti, 2008; Huang et al., 2010) แต่สิ่งที่เป็นประเด็นสำคัญในการนำสาหร่ายมาใช้เป็นแหล่งน้ำมันคือ ต้องเลือกสายพันธุ์สาหร่ายให้เหมาะสม คือให้ปริมาณไฮโดรคาร์บอนและน้ำมันได้สูงที่สุดและมีการเจริญเติบโตที่สูงด้วย หลังจากนั้นก็ต้องพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงให้ใช้ต้นทุนต่ำ และพัฒนาวิธีการเก็บผลผลิตให้ง่าย ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการที่จะนำสาหร่ายมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลได้สำเร็จ

ประเด็นเหล่านี้ไม่ใช่สิ่งที่ย่างยาก ซับซ้อนจนเกินไป โดยพบว่านักวิทยาศาสตร์ประเทศสหรัฐอเมริกาได้มีการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่สามารถนำมาผลิตเป็น biodiesel ได้ในเชิงพาณิชย์ได้สำเร็จ และเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อกักน้ำเสียโรงงาน เนื่องจากมีฟอสเฟต และไนโตรเจนปนเปื้อนอยู่ สารทั้งสองชนิดมีผลเสียต่อแม่น้ำ ลำคลอง แต่กลับเป็นปุ๋ยที่ดีสำหรับทำฟาร์มสาหร่าย จึงมีการทำฟาร์มสาหร่ายใกล้กับโรงบำบัดเสีย และพบว่าการใช้ไขมันจากสาหร่ายเป็นไบโอดีเซลสามารถนำมาใช้ได้กับรถยนต์ดีเซล และเครื่องบินไอพ่นได้

การผลิต biodiesel จากสาหร่ายขนาดเล็กต้องมีการควบคุมมาตรฐานของน้ำมันที่ได้ให้เป็นไปตามเกณฑ์ที่แตกต่างกันไปในแต่ละทวีป เช่น มาตรฐานในสหรัฐอเมริกา คือ ASTM Biodiesel Standard D6751 สำหรับในยุโรปแยกมาตรฐานที่ใช้สำหรับยานพาหนะ (Standard EN 14214) และใช้สำหรับหุงต้ม (Standard 14213) น้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กค่อนข้างมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวสูง ที่มี 4 พันธะคู่หรือมากกว่า ตัวอย่าง กรด eicosapentaenoic (EPA C20: 5n-3; 5 พันธะคู่) และ กรด docosahexaenoic (DHA C22: 6n-3; 6 พันธะคู่) ซึ่งพบได้โดยทั่วไปในน้ำมันจากสาหร่ายกรดไขมัน methyl esters (FAMES) ที่มีพันธะคู่ 4 หรือมากกว่า (Chisti, 2007)

จากการศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันไบโอดีเซลที่ได้จากสาหร่ายจะนิยมศึกษาค่า คือซีเทน Cetane number (CN) ซึ่งเป็นค่าที่สำคัญที่สุดโดยบ่งบอกถึงคุณสมบัติการจุดติด การเผาไหม้ของน้ำมัน ค่า CN ที่สูงแสดงว่ามีคุณสมบัติการจุดติดที่ดี จะทำให้เครื่องยนต์มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น โดยค่าคุณสมบัติของน้ำมันไบโอดีเซลที่กำหนดไว้ตามมาตรฐานที่นิยมทั่วโลก 2 มาตรฐาน คือต้องมีค่า CN ไม่ต่ำกว่า 47 หรือ 51 (ASTM D6751, 2012 and Fuel Standard (Biodiesel) Determination, 2012) โดยได้มีรายงานการศึกษาว่าค่า CN ของ *B. braunii* มีค่าอยู่ที่ 55.4 (Ashokkumar et al., 2014) และ 52.67 (Nascimento et al., 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 การประเมินคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย

Strain	Biodiesel properties				
	SV	IV	CN	DU	CFPP
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	170.60	114.88	52.45	97.59	-0.08
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	170.56	102.35	55.27	87.02	-2.09
<i>Dunaliella</i> sp. (Persian Gulf)	174.25	150.44	43.77	121.04	-6.88
<i>Dunaliella</i> sp. (Shariati)	175.00	141.47	45.66	114.8	-9.71
<i>Dunaliella salina</i> (UTEX)	162.77	108.58	55.40	91.83	-1.24
<i>Scenedesmus</i> sp.	152.99	99.57	59.57	86.86	-6.91
<i>Chlorella emersonii</i>	162.28	114.18	54.24	93.75	3.55
<i>Chlorella protothecoides</i>	163.37	111.75	54.57	91.60	-0.99
<i>Chlorella salina</i>	180.97	117.92	49.93	99.78	2.58
<i>Chlorella vulgaris</i>	194.00	135.26	44.00	116.59	4.60
<i>Amphora</i> sp. (Persian Gulf)	188.30	57.56	62.33	55.00	12.41

SV – saponification, IV – iodine value, CN – cetane number, DU – degree of unsaturation, LCFC – long chain saturated factor and CFPP – cold filter plugging point.

ที่มา : Talebi et al. (2013)

ค่าความไม่อิ่มตัว Degree of unsaturation (DU) ซึ่งจะบอกความคงตัว หรือระยะเวลาที่สามารถเก็บน้ำมันไว้ ว่าได้นานมากน้อย อย่างไร โดยค่า DU ที่ต่ำคือไบโอดีเซลนั้นมีค่าความคงตัวดี เก็บรักษาได้นานกว่าค่า DU ที่สูง โดยค่า DU ของน้ำมันไบโอดีเซลที่ได้จากสาหร่ายที่มีรายงานไว้คือ *Scenedesmus obliquus* และ *Chlorella pyrenoidosa* มีค่า DU อยู่ในช่วง 79.53-132.08 เปอร์เซ็นต์ (Wu and Miao, 2014)

ค่าจุดน้ำมันอุดตัน ใสกรองที่อุณหภูมิต่ำ Cold filter plugging point (CFPP) เป็นค่าที่บอกความสามารถในการไหลของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิต่ำ ถ้าค่า CFPP มีค่าสูงจะหมายถึงมีคุณสมบัติการไหลที่ไม่ดีที่อุณหภูมิต่ำ (Wu et al., 2005) เนื่องจากแสดงว่าน้ำมันมีแนวโน้มที่จะตกตะกอนและอุดตันใสกรองได้ง่าย (Mittelbach and Remschmidt, 2004)

ค่าสaponification Saponification value (SV) จะบ่งบอกถึงน้ำหนักโมเลกุลหรือความยาวของสายกรดไขมันที่มีในไบโอดีเซล ส่วนค่าไอโอดีน Iodine value (IV) คือค่าที่วัดผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมดในไบโอดีเซลซึ่งสัมพันธ์กับค่า oxidative stability หากค่า IV สูงก็จะมีค่า oxidative ที่คงตัวมากกว่าค่า IV ต่ำ (Knothe, 2009) โดยค่า maximum IV value ตามมาตรฐาน

European standard กำหนดไว้คือ 120 กรัมไอโอดีน ต่อ 100 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาการประมาณคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายบางชนิด พบว่ามีค่า CN ทั้งที่สูงกว่ามาตรฐานและต่ำกว่ามาตรฐาน (ตารางที่ 2) แต่คุณสมบัติเหล่านี้ขึ้นอยู่กับภาวะในการเพาะเลี้ยงเช่นกัน (Talebi et al., 2013)

2.4 ความเหมาะสมของสาหร่ายขนาดเล็กในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมัน

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสามารถทำได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อยกว่าพืชทั่วไป โดยเมื่อเทียบกับพื้นที่ 1 เฮกเตอร์ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถให้น้ำมันได้มากถึง 58,700-136,900 ลิตร ซึ่งมากกว่าน้ำมันปาล์มที่ให้น้ำมันได้ 5,950 ลิตร (Chisti, 2007) สาหร่ายให้ผลผลิตน้ำมันมากกว่าพืชหลายชนิด (ตารางที่ 3) โดยพบว่าหากสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณน้ำมันในเซลล์ที่ร้อยละ 30 น้ำหนักแห้งสามารถให้น้ำมันได้ถึง 58,700 ลิตรต่อเฮกเตอร์ต่อหนึ่งปี โดยสามารถผลิตไบโอดีเซลได้สูงถึง 51,927 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์ต่อปี ซึ่งสูงกว่าพืชอื่น ทั้งข้าวโพด ปาล์ม ถั่วเหลือง ฯลฯ นอกจากนี้ชีวมวลของสาหร่ายยังมีปริมาณ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และสารอาหารอื่น ๆ สูง ดังนั้นชีวมวลดังกล่าวเมื่อนำมาสกัดน้ำมันเพื่อผลิต biodiesel แล้ว เศษของชีวมวลยังนำไปสกัดผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงอื่น ๆ เช่น สารสี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แล้วนำส่วนที่เหลือไปผลิตพลังงานอื่นเช่น มีเทน หรือนำไปทำอาหารสัตว์ได้ด้วย ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กที่ใช้ว่ามีอะไรเป็นองค์ประกอบบ้าง (Chisti, 2007)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิด

ชนิดพืช	ปริมาณน้ำมัน (L oil/ha year)	พื้นที่ที่ใช้ในการปลูก (M ² year/kg biodiesel)	การผลิตไบโอดีเซล (kg biodiesel/ha year)
ข้าวโพด	172	66	152
ถั่วเหลือง	636	18	562
คาโนลา (Canola)	974	12	862
สบู่ดำ	741	15	656
ละหุ่ง	1307	9	1156
ทานตะวัน	1070	11	946
ปาล์มน้ำมัน	5,366	2	4,747
คามไลน่า (<i>Camelina sativa</i>)	915	12	809
สาหร่ายขนาดเล็ก (น้ำมัน 30%)	58,700	0.2	51,927
สาหร่ายขนาดเล็ก (น้ำมัน 50%)	97,800	0.1	86,515
สาหร่ายขนาดเล็ก (น้ำมัน 70%)	136,900	0.1	121,104

ที่มา: Mata et al. (2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 สาหร่าย *Botryococcus braunii*

สาหร่าย *Botryococcus* เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก เซลล์อยู่รวมกันเป็น โคลโลนีรูปทรงกลม หรือรี โคลโลนีมีสีเขียว น้ำตาล หรือส้ม เซลล์มีความยาวประมาณ 6 - 10 ไมโครเมตร และความกว้างประมาณ 3 - 6 ไมโครเมตร แต่ละเซลล์มีหนึ่งคลอโรพลาสต์ มีลักษณะรูปถ้วยหรือ discoid และมีโพรินอยด์รูปถ้วยเช่นกัน เซลล์จะอยู่เรียงกันแน่นในแนวรัศมีโดยมีสารเมือกเหนียวสีเข้มจนเกือบดำหุ้มโดยรอบ

Kingdom Plantae

Subkingdom Viridaeplantae

Phylum Chlorophyta

Class Chlorophyceae

Order Chlorococcales

Family Botryococcaceae

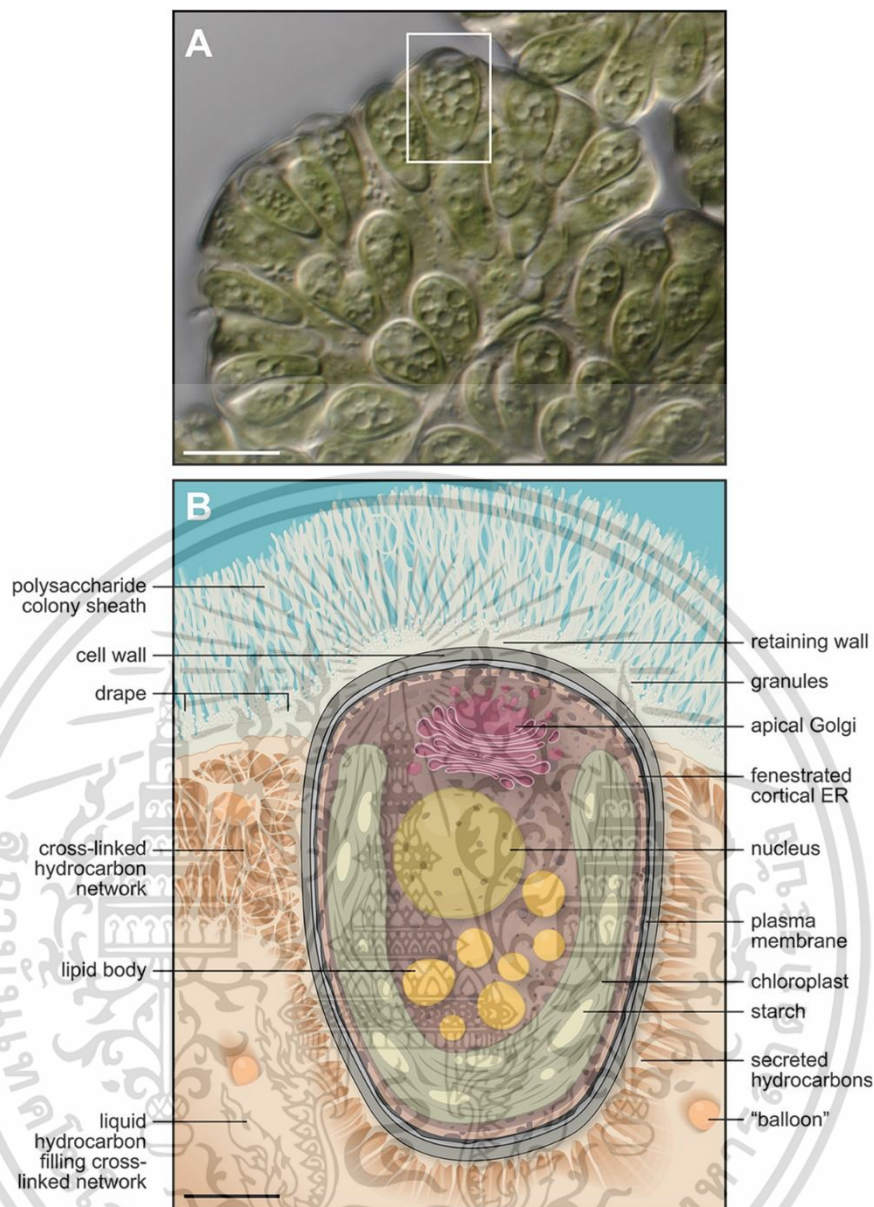
Genus Botryococcus

Specie Botryococcus braunii

ที่มา : Guiry and Guiry (2010)

สาหร่าย *Botryococcus* มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างออคิสปอร์ที่มีลักษณะเหมือนเซลล์แม่ทุกประการ ภายในเยื่อหุ้มโคลโลนีและเซลล์ดังกล่าวจะหลุดออกนอกเยื่อหุ้มด้วยแรงดันของเยื่อหุ้มโคลโลนี (Smith, 1950) มีคุณลักษณะเด่นคือ สามารถสร้างและสะสมลิพิดได้หลากหลาย รวมถึงไฮโดรคาร์บอน ซึ่งไฮโดรคาร์บอนจะประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบเพียงเท่านั้น (Brown and Knights 1969; Knights et al. 1970) และจำนวนของ ether lipids ที่มีลักษณะจำเพาะ (Metzger and Casadevall 1991; Metzger and Largeau 1999) โดยไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* มีโครงสร้างคล้ายกับน้ำมันปิโตรเลียม ซึ่งมีคุณสมบัติเทียบเท่ากับน้ำมันปิโตรเลียม เพราะฉะนั้นจึงสามารถนำมาใช้ได้โดยตรงหรือผสมกับน้ำมันดีเซลได้โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน และยังช่วยลดระบบการคมนาคมของน้ำมันเชื้อเพลิงจากเทคนิคกระบวนการผลิตน้ำมันปิโตรเลียมแบบดั้งเดิม (Hillen et al., 1982; Kitazato et al., 1989) สาหร่าย *B. braunii* จึงมีศักยภาพเป็นแหล่งพลังงานทดแทน อีกทั้งยังสามารถผลิตไฮโดรคาร์บอนได้ในปริมาณมาก ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาวะการเจริญ โดยผลิตได้มากถึง 75 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Sawayama et al., 1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 โครงสร้างของเซลล์ *B. braunii*; (A) บางส่วนของโคโลนี *B. braunii* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และพื้นที่ในกรอบแสดงถึงเซลล์ (B) แบบโครงสร้างของเซลล์ *B. braunii* ซึ่งล้อมรอบด้วยสารประกอบภายนอกเซลล์และบางส่วนของไฮโดรคาร์บอน ที่อยู่รอบ ๆ เซลล์

ที่มา : Taylor et al. (2012)

2.6 บทบาทของวิตามินต่อสาหร่าย

ในอาณาจักร (kingdom) ของสาหร่าย พบว่าสาหร่ายประมาณครึ่งของอาณาจักรมีความต้องการวิตามินเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Croft et al., 2005; Helliwell et al., 2011; Grant et al., 2014) โดยพบว่า การเจริญเติบโตของสาหร่ายเป็นสัดส่วน โดยตรงกับความเข้มข้นของวิตามินที่สาหร่ายได้รับ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Carlucci and Silbernagel, 1969) และยังพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละชนิดมีความต้องการวิตามินในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และแต่ละชนิดยังต้องการการผสมของวิตามิน 3 ชนิดในอัตราส่วนที่แตกต่างกันอีกด้วย โดยวิตามิน 3 ชนิดที่สาหร่ายต้องการใช้ได้แก่ วิตามิน B₁₂ (cobalamin), วิตามิน B₁ (thiamine) และ วิตามิน H หรือ วิตามิน B₇ (biotin) (Croft et al., 2006; Tang et al., 2010)

โดยพบว่าสาหร่ายที่อยู่ตามธรรมชาติในมหาสมุทร จะใช้วิตามิน cobalamin ที่ละลายอยู่ในมหาสมุทร ช่วยในการนำโปรตีนหรือไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในน้ำเข้าสู่เซลล์ จึงทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (Lippsett, 2012) ส่วนไบโอติน เป็นวิตามินที่ละลายน้ำซึ่งมีซัลเฟอร์เป็นส่วนประกอบและจัดอยู่ในกลุ่มวิตามินบีรวม เป็นวิตามินที่ทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์ที่สำคัญมากคือ carboxylase และ acetyl coenzyme A (CoA) carboxylase ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สร้างกรดไขมัน ซึ่งสาหร่ายทุกชนิดต้องการวิตามินนี้ในการช่วยสังเคราะห์กรดไขมันทางอ้อม กลุ่มสาหร่ายพวก auxotrophs ต้องการ biotin, cobalamin หรือ thiamine หรืออาจต้องการทั้งสามชนิด เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Croft et al., 2006)

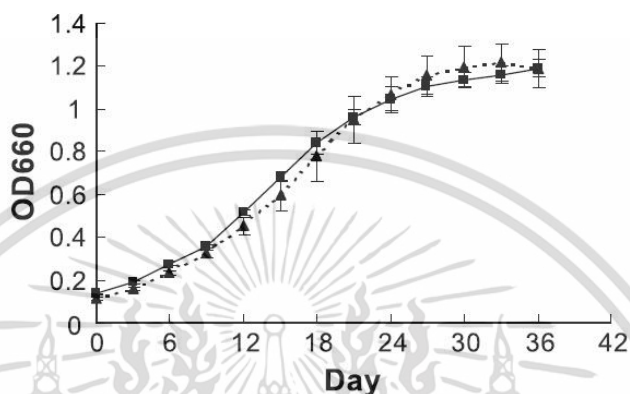
สาหร่ายขนาดเล็กมีความต้องการวิตามินแตกต่างกัน สาหร่ายบางชนิดต้องการวิตามินเพียงชนิดเดียว บางชนิดต้องการสองชนิด หรือบางชนิดต้องการผสมกันทั้งสามชนิด ในสาหร่ายขนาดเล็ก *Haematococcus* พบว่าต้องการเพียง thiamine เท่านั้นในการเจริญเติบโต เพราะสาหร่ายที่ได้รับเพียง thiamine ให้ผลการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกับการได้รับวิตามินผสม (B₁, B₁₂ และ B₇) (Göksan et al., 2011)

วิตามิน thiamine เป็นวิตามินที่ละลายในน้ำ จะถูกทำลายด้วยความร้อน และยังมีบทบาทที่สำคัญมากในการเป็นตัวกลางของขบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์บอน โดยรูปที่ทำงานคือ thiamine pyrophosphate (TPP) ซึ่งมีความสำคัญมากในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด และ thiamine ยังทำงานร่วมกับเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน เอนไซม์ dehydrogenase, transketolase, α -ketoacid decarboxylase, และ α -ketoacid oxidase (Schowen, 1998) วิตามิน thiamine เป็นวิตามินชนิดแรกที่พบว่าช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ และจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสาหร่ายกลุ่ม auxotroph ส่วนใหญ่ต้องการ thiamine ในการเจริญเติบโต แต่บางชนิดสามารถลดปริมาณ thiamine ที่ต้องการลงได้ หากได้รับ thiazole หรือ pyrimidine ในอาหาร (Provasoli and Carlucci, 1974)

วิตามิน cobalamin เป็นวิตามินที่ละลายในน้ำ อาจเรียกว่าวิตามินแดง cobalamin เป็น tetrapyrrole ที่มี cobalt เป็นองค์ประกอบ จึงเกี่ยวข้องกับคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กส่วนใหญ่ต้องการวิตามิน cobalamin จากอาหาร เพื่อนำไปใช้ช่วยในการเจริญเติบโต (Croft et al., 2005)

2.7 ผลของวิตามินต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก

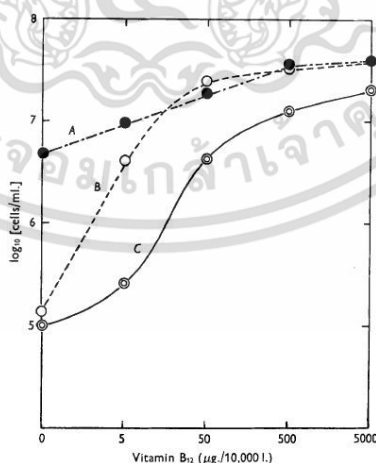
Tanabe et al. (2014b) ศึกษาผลของวิตามินบี 12 ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* BOT-22 พบว่าสาหร่ายที่ได้รับและไม่ได้รับวิตามินมีการเจริญเติบโตที่ใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 6) โดยผู้วิจัยได้สรุปว่าสาหร่ายที่ไม่ได้รับวิตามิน สามารถสร้างวิตามินบี 12 จากอนินทรีย์สารขึ้นมาใช้เองได้บ้างบางส่วน แต่การไม่เสริมวิตามินเลยนั้นจะทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ช้าลง มีวัฏจักรชีวิตที่สั้นลง



ภาพที่ 6 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* BOT-22 ที่ได้รับวิตามินบี 12 (รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส) และไม่ได้รับวิตามินบี 12 (รูปสามเหลี่ยม)

ที่มา : Tanabe et al. (2014b)

Lewin (1954) รายงานว่าวิตามินบี 12 ปริมาณ 0.2 ไมโครกรัมต่อลิตร มีส่วนช่วยเสริมการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Stichococcus* sp. ได้ดีที่สุดใน



ภาพที่ 7 ผลของวิตามินบี 12 ต่อปริมาณเซลล์ของ *Stichococcus* sp., สูตร A: น้ำทะเลธรรมชาติผสมสารอาหารและแร่ธาตุ, สูตร B: น้ำทะเลสังเคราะห์ผสมสารอาหารคล้ายสูตร A และ สูตร C: น้ำทะเล Norit ผสมสารอาหารคล้ายสูตร A

ที่มา : Lewin (1954)

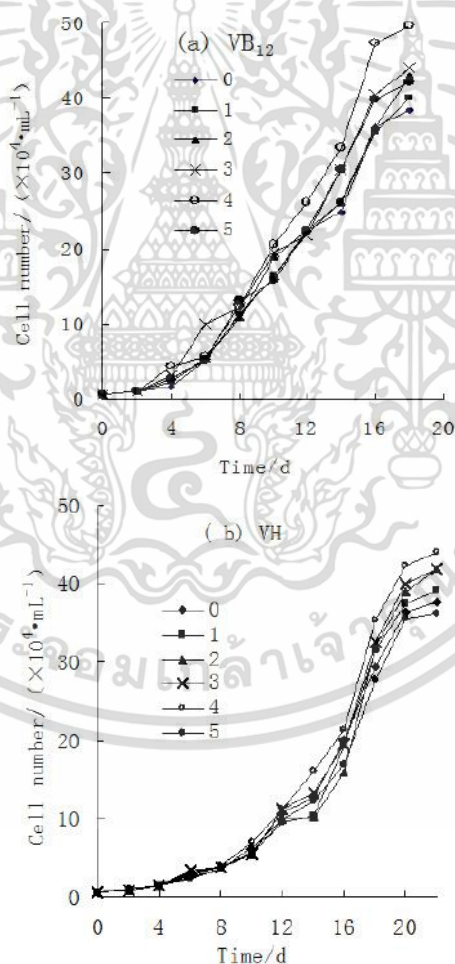
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Li et al. (2013) ศึกษาผลของวิตามินบี 12 และวิตามิน H 6 ระดับ (ตารางที่ 4) ต่อความหนาแน่นของเซลล์ *Haematococcus pluvialis*

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นของวิตามินบี 12 และวิตามิน H (ไมโครกรัมต่อลิตร) ที่ใช้ในการทดลองสำหรับ *H. pluvialis*

Treatment	Concentration grades					
	0	1	2	3	4	5
VB ₁₂	0	0.05	0.5	5	50	500
VH	0	0.5	5	50	500	5000

ที่มา : Li et al. (2013)



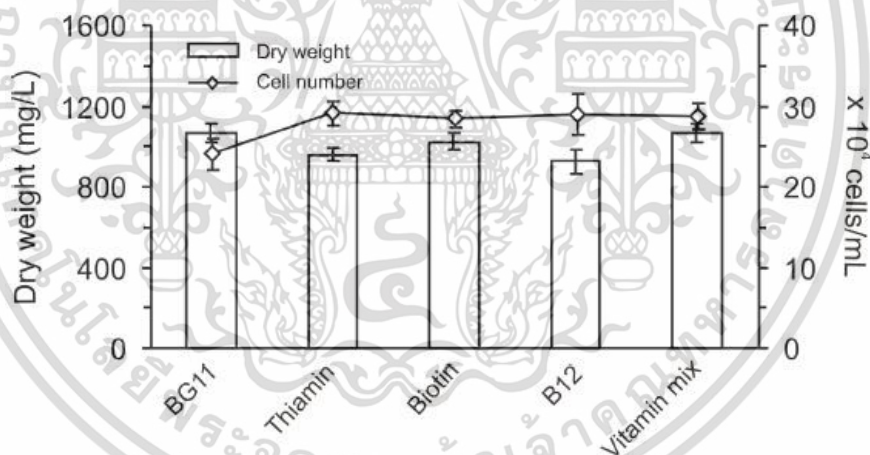
ภาพที่ 8 ผลของวิตามิน B 12 และวิตามิน H ต่อความหนาแน่นของเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) สำหรับ *H. pluvialis*

ที่มา : Li et al. (2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าความหนาแน่นของเซลล์ *H. pluvialis* สูงที่สุด 4.96×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเติมวิตามิน บี 12 ที่ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร สูงขึ้นถึง 29.5 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าชุดการทดลองควบคุม ($p < 0.01$) แต่เมื่อเติม 500 ไมโครกรัมต่อลิตร ความหนาแน่นของเซลล์ต่ำกว่าชุดควบคุมและพบว่าความหนาแน่นของเซลล์ *H. pluvialis* เพิ่มขึ้น เมื่อเติมวิตามิน H ในความเข้มข้นที่ 0.5-500 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยความเข้มข้นที่ 500 ไมโครกรัมต่อลิตร ความหนาแน่นของเซลล์สูงกว่าการทดลองอื่น ๆ เป็นจำนวนถึง 4.36×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สูงขึ้นถึง 17.1 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าชุดควบคุม ($p < 0.05$) เมื่อเติมความเข้มข้นที่ 5,000 ไมโครกรัมต่อลิตร เซลล์มีความหนาแน่นต่ำกว่าชุดควบคุม (ภาพที่ 8) ซึ่งให้เห็นว่าวิตามินที่ความเข้มข้นสูง ไม่ได้ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของสาหร่าย แต่ส่งผลให้ยับยั้งการเจริญเติบโตเมื่อได้รับความเข้มข้นที่ไม่เหมาะสม

Gokson et al. (2011) ศึกษาผลของวิตามิน ไทอามีน, ไบโอติน และไซยาโนโคบาลามีน ต่อสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* พบว่าสาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (0.26 ต่อวัน) สูงกว่ากลุ่มไม่มีวิตามิน (0.22 ต่อวัน) และวิตามินยังเพิ่มจำนวนเซลล์สาหร่ายได้ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 9)

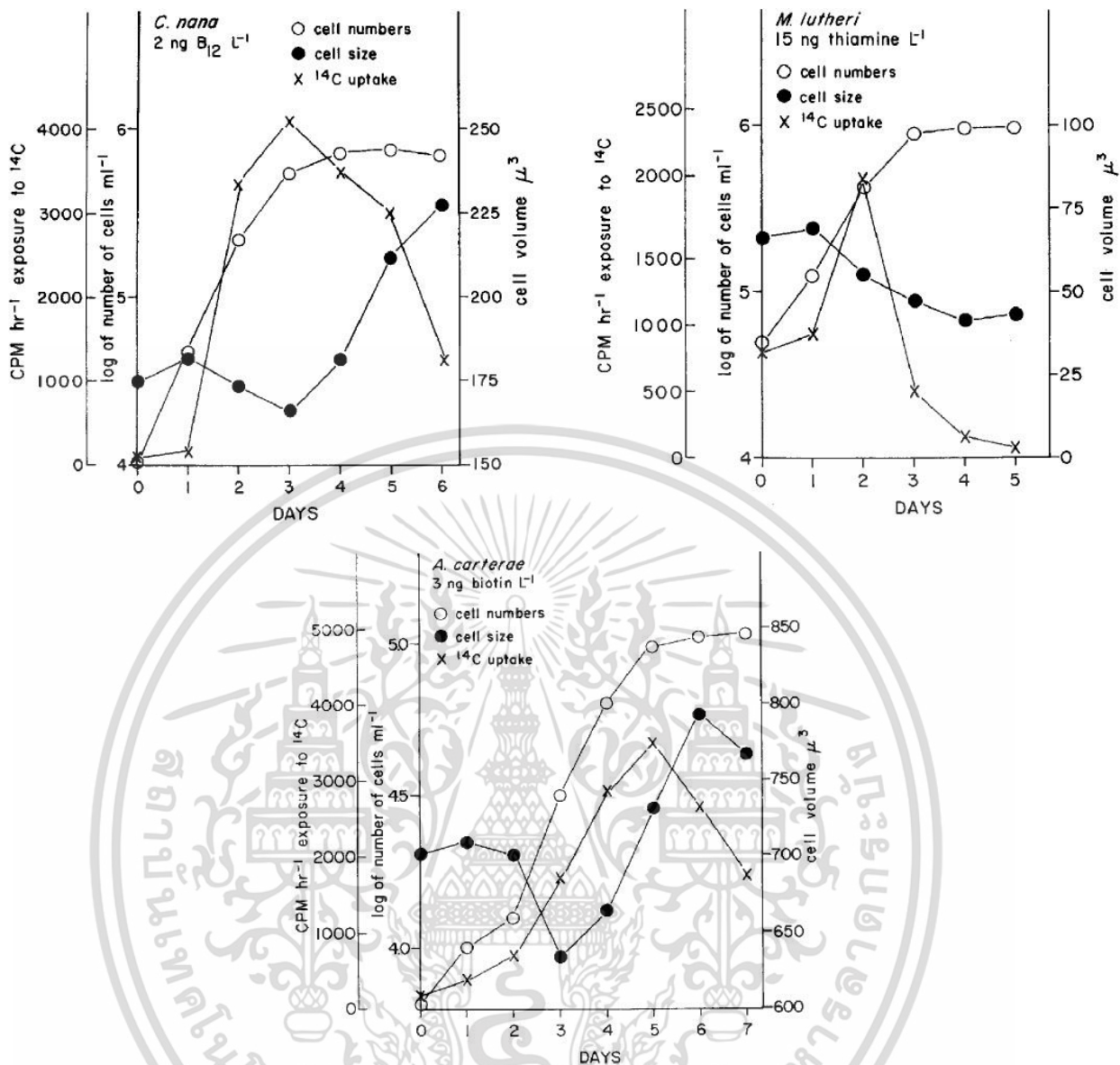


ภาพที่ 9 น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) และปริมาณเซลล์ ($\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ของสาหร่าย *H. pluvialis*

ที่มา : Gokson et al. (2011)

Carlucci and Silbernagel (1969) ได้ศึกษาผลของวิตามิน B₁₂, thiamine และ biotin ต่อการเจริญเติบโต โตของสาหร่าย *Cyclotella nana*, *Monochrysis lutheri* และ *Amphidinium carterae* พบว่าการใช้วิตามินในการเลี้ยงสาหร่าย *C. nana*, *M. lutheri* และ *A. carterae* นั้นมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มขนาดของเซลล์ (ภาพที่ 10)

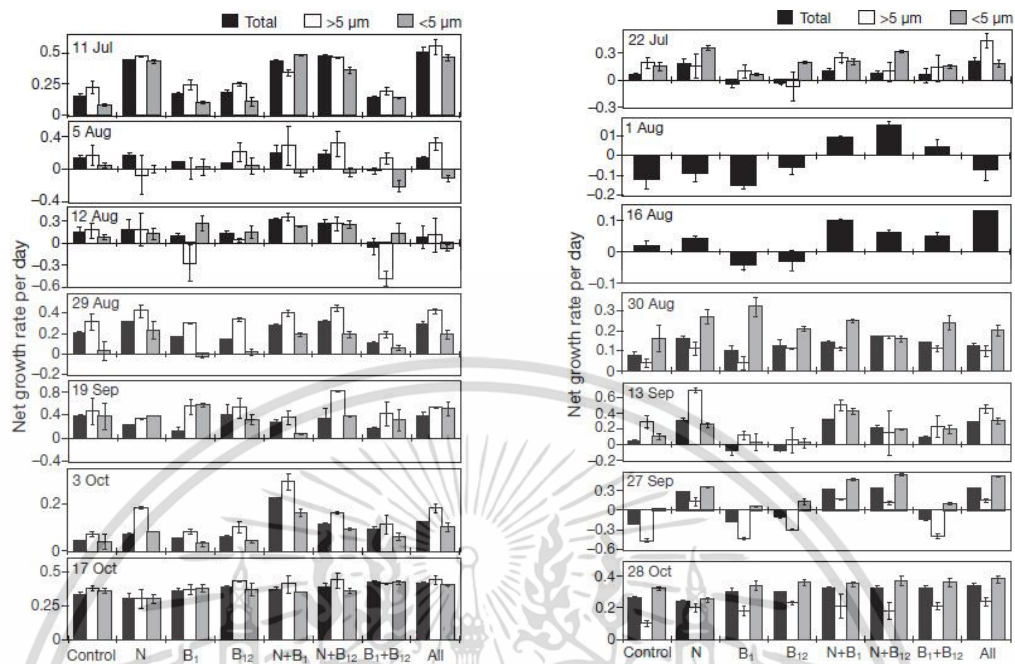
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 จำนวนของเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และขนาดของเซลล์ (ไมโครเมตร) ของสาหร่าย *C.nana*, *M. lutheri* และ *A. carterae* ที่ได้รับวิตามิน B₁₂ (2 นาโนกรัมต่อลิตร), thiamine (15 นาโนกรัมต่อลิตร) และ biotin (3 นาโนกรัมต่อลิตร)
ที่มา : Carlucci and Silbernagel (1969)

Gobler et al. (2007) ศึกษาผลของวิตามิน B₁ และ B₁₂ ต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช ในบริเวณปากแม่น้ำ Peconic และ Old Fort Pond ในนิวยอร์ก พบว่าการใส่วิตามิน B₁₂ เพิ่มการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ 28 เปอร์เซ็นต์ และวิตามิน B₁ เพิ่มการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ 7 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 11)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

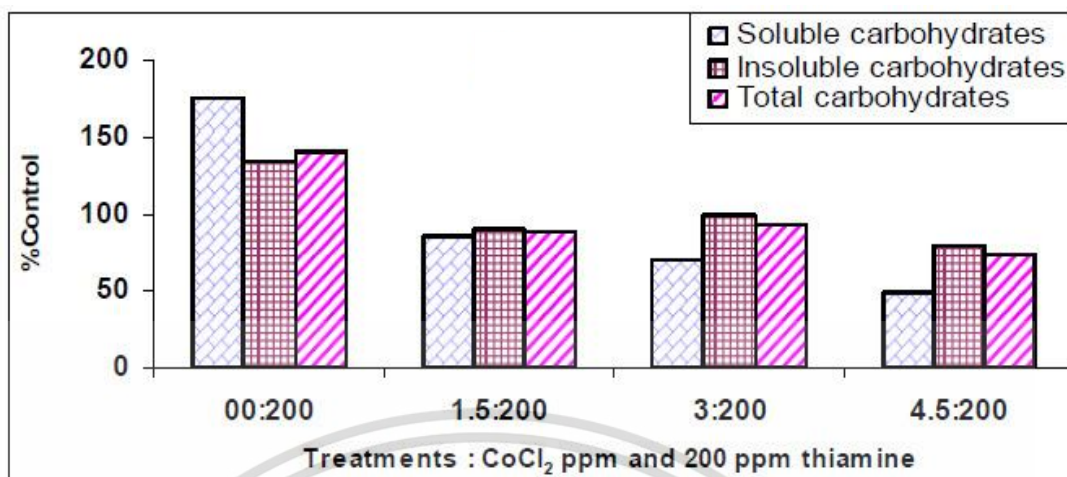


ภาพที่ 11 การเจริญเติบโต (Net growth rate per day) ของแพลงก์ตอนพืชขนาดมากกว่า 5 ไมโครเมตร และน้อยกว่า 5 ไมโครเมตร ที่ศึกษาจากแม่น้ำ Peconic (ภาพซ้าย) และแม่น้ำ Old Fort Pond (ภาพขวา) ที่มีการเติมไนโตรเจน(N), วิตามิน B₁ และ วิตามิน B₁₂ ที่มา : Gobler et al. (2007)

2.8 ผลของวิตามินต่อคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมันและกรดไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก

Desouky et al. (2011) ได้ศึกษาผลของวิตามิน thiamine (200 ppm) ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต และโปรตีนของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีโลหะหนัก (CoCl₂) ผสมอยู่ พบว่าสาหร่ายที่ได้รับวิตามินมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ, ไม่ละลายน้ำ และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเพิ่มขึ้น 80, 32 และ 42 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 12) และปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำ, ไม่ละลายน้ำ และปริมาณโปรตีนทั้งหมด มีปริมาณมากกว่าชุดควบคุม (100 เปอร์เซ็นต์ control) (ตารางที่ 5) โดยระดับของ CoCl₂ ต่อ thiamine ที่ทำให้เซลล์สาหร่าย *Scenedesmus obliquus* มีโปรตีนทั้งหมดสูงที่สุดคือ 3 ppm และจากการศึกษานี้ที่ใช้วิตามิน thiamine 200 ppm นั้น มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนในเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus obliquus* มีปริมาณสูง ตรงกับที่เคยมีวิจัยในสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (Mohamed et al., 1988) พบว่าวิตามิน thiamine ปริมาณ 10⁻⁴ M ทำให้เพิ่มปริมาณโปรตีนในสาหร่ายได้สูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของน้ำหนักแห้ง) ของ *Scenedesmus obliquus* ที่เพาะเลี้ยงใน CoCl₂ : thiamine

ที่มา : Desouky et al. (2011)

ตารางที่ 5 ปริมาณโปรตีน (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของน้ำหนักแห้ง) ของ *Scenedesmus obliquus* ที่เพาะเลี้ยงใน CoCl₂ : thiamine

CoCl ₂ (ppm) & Thiamine (ppm)	Water-soluble Proteins	% Control	Water-insoluble Proteins	% Control	Total Proteins	% Control
00:200	50.43**	152.82	215.00**	151.40	265.43**	151.70
1.5:200	61.00**	184.85	250.37**	176.32	311.37**	178.00
3:200	63.42**	192.18	283.44**	199.60	346.86**	198.21
4.5:200	55.50**	168.18	194.76	137.15	250.26**	143.01
L.S.D at 1 %	7.025		20.124		11.123	
L.S.D at 5 %	9.125		25.456		15.123	

ที่มา : Desouky et al. (2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Desouky (2011) ได้ศึกษาผลของวิตามินที่ส่งผลต่อสัดส่วน โปรตีนของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ภายใต้ความเข้มข้นที่ต่างกัน pyridoxine (วิตามิน B₆) และ riboflavin (วิตามิน B₂) ที่ 200 พีพีเอ็ม พบว่าสาหร่ายมีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าชุดควบคุม 47 - 54 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ปริมาณโปรตีน (ละลายน้ำ, ไม่ละลายน้ำ และ โปรตีนรวม) (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของ น้ำหนักแห้ง) ของ *Scenedesmus obliquus* เปรียบเทียบที่ระดับความเข้มข้น CoCl₂ ต่างกัน และ pyridoxine (วิตามิน B₆) และ riboflavin (วิตามิน B₂) ที่ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (เพาะเลี้ยง 7 วัน)

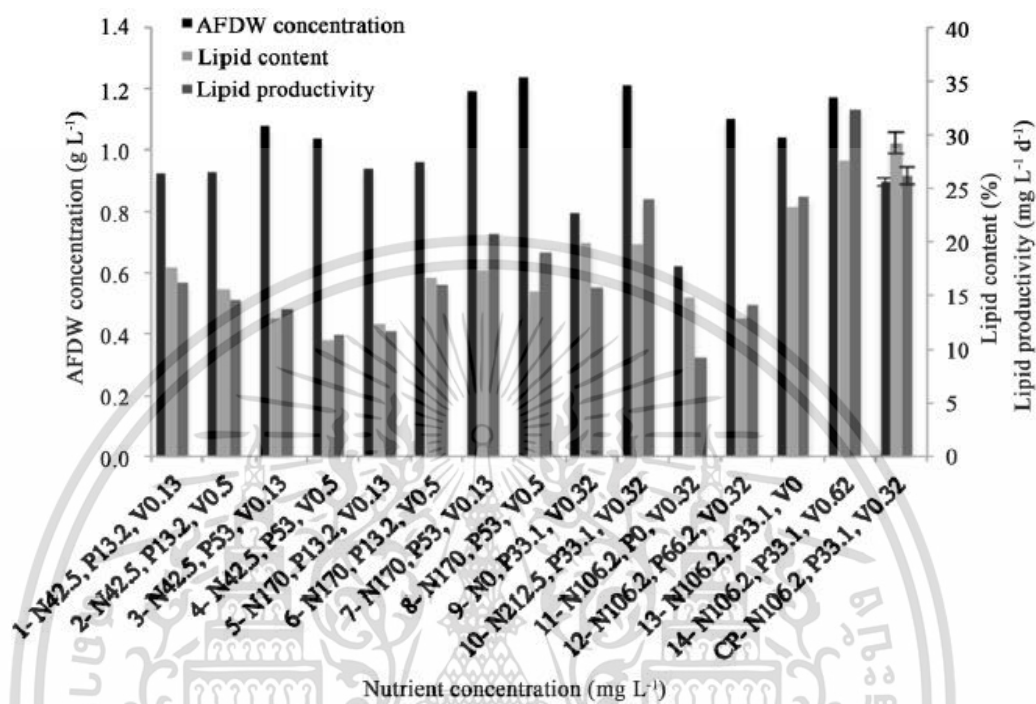
Treatments	Soluble proteins	% control	Insoluble proteins	% Control	Total proteins	% Control
CoCl ₂ (ppm)						
00:00	30.00	100.00	190.00	100.00	210.00	100.00
1.5 :00	36.00	120.00	230.00*	121.05	266.00**	126.66
3: 00	44.00*	146.00	280.00**	147.36	324.00**	154.28
4.5 : 00	48.00**	160.00	150.00*	78.94	198.00*	94.28
6 : 00	51.00**	170.00	120.00**	63.15	114.00**	54.28
L.S.D at 1 %	10.258		30.252		10.321	
L.S.D at 5%	14.560		45.639		15.780	
1-a : Pyridoxine (vitamin B ₆)						
CoCl ₂ (ppm) : vita. B ₆ (ppm)						
00:200	28.00*	93.33	250.00**	115.78	278.00**	132.30
1.5 :200	26.00*	86.66	280.00**	147.36	306.00**	145.71
3: 200	23.00**	76.66	350.00**	184.21	373.00**	177.61
4.5 : 200	20.00**	66.66	380.00*	200.00	400.00**	190.47
6 : 200	18.00**	60.00	205.00*	107.89	223.00**	106.19
L.S.D at 1 %	1.123		10.967		15.654	
L.S.D at 5%	3.154		15.223		25.147	
1-b Riboflavin (vitamin B ₂)						
CoCl ₂ (ppm) : vita. B ₂ (ppm)						
00:200	24.00*	80.00	200.00	105.96	224.00**	106.00
1.5 :200	17.00**	56.66	280.00**	147.36	297.00**	141.42
3: 200	19.00**	63.33	380.00**	200.00	399.00**	190.00
4.5 : 200	22.00**	73.33	405.00**	115.78	427.00**	203.33
6 : 200	25.00*	83.33	208.00*	109.47	233.00**	110.95
L.S.D at 1 %	4.232		15.231		10.321	
L.S.D at 5%	6.369		25.325		12.333	

ที่มา : Desouky (2011)

Hakalin et al. (2014) ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณไขมันและผลผลิตไขมันของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. โดยใส่วิตามิน (V) 0 ถึง 0.63 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไนโตรเจน (N) 0 ถึง 170 มิลลิกรัมต่อลิตร และฟอสฟอรัส (P) 0 ถึง 66.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าปัจจัยที่มี N 106.2, P 33.1 และ V 0.62 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณไขมัน 27.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นปริมาณที่มากที่สุด และในปัจจัยที่มี N 0, P 33.1 และ V 0.32 มิลลิกรัมต่อลิตร และปัจจัยที่มี N 212.5, P 33.1 และ V 0.32 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งสองปัจจัยมีปริมาณไขมันเท่ากันคือ 19 เปอร์เซ็นต์ ปัจจัยที่ N 106.2, P 0 และ V 0.32 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณไขมันลดลง 49 เปอร์เซ็นต์ และปัจจัยที่มี N 106.2, P 66.2 และ V 0.32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

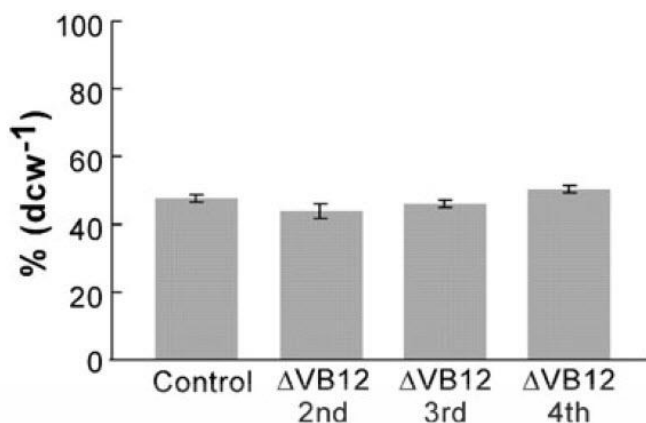
มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณไขมันลดลง 56 เปอร์เซ็นต์ โดยเมื่อเพิ่มวิตามินเข้าไป 0.62 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ปริมาณของไขมันในสาหร่ายเพิ่มขึ้น 16 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) ปริมาณของไขมัน (เปอร์เซ็นต์) และ ความสามารถในการผลิตไขมัน (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน) ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. หลังการเพาะเลี้ยง 10 วัน โดยใช้ไนโตรเจน(N), ฟอสฟอรัส(P), วิตามิน(V) 14 สูตร เปรียบเทียบกับค่ากลาง (CP: Center point)

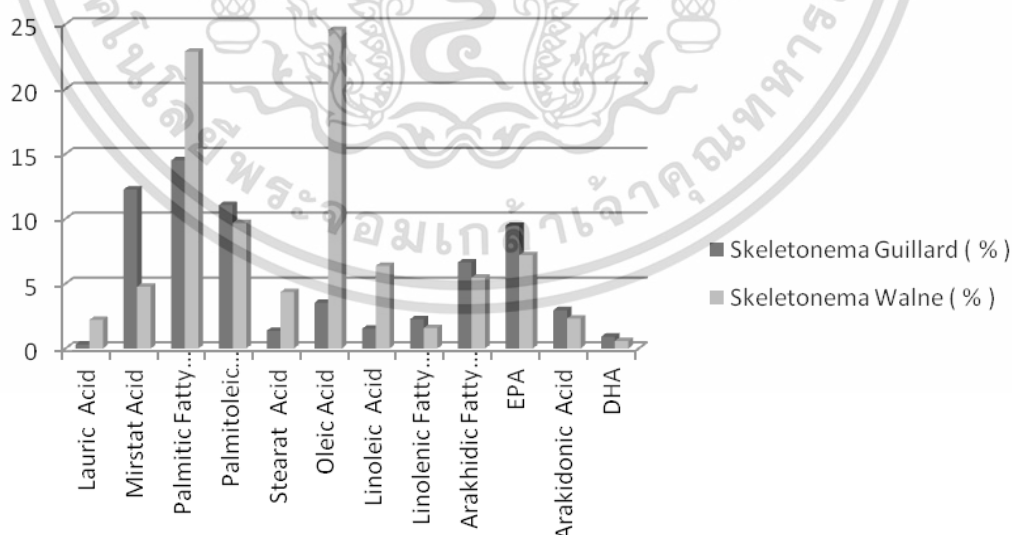
ที่มา : Hakalin et al. (2014)

Tanabe et al. (2014) ศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* BOT-22 ที่ได้รับวิตามินจากการ autotroph (สิ่งมีชีวิตที่เปลี่ยนอนินทรีย์สารเป็นอาหาร) และไม่มีวิตามินบี 12 พบว่า ปริมาณไขมันของสาหร่ายสายพันธุ์นี้ไม่ขึ้นอยู่กับการขาดแคลนวิตามินบี 12 ของการเพาะเลี้ยง โดยสาหร่ายที่ไม่ได้รับการเสริมวิตามินบี 12 มีไขมันประมาณ 42 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดที่ได้รับวิตามิน (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง) ของสาหร่าย *B. braunii* BOT-22 ที่ได้รับวิตามินบี 12 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ได้รับวิตามินบี 12)
ที่มา : Tanabe et al. (2014)

Endar et al. (2012) ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อกรดไขมันของสาหร่าย *Skeletonama* sp. โดยทำการเพิ่มวิตามิน biotin (b), thiamine (t) และ cobalamin (c) ในอาหาร 2 สูตรให้มีความเข้มข้นต่างกัน คือสูตร Walne (วิตามิน b:t:c ที่ความเข้มข้น 0.1 : 20 : 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร) และสูตร Guillard (วิตามิน b:t:c ที่ความเข้มข้น 0.01 : 0.2 : 0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร) พบว่ากรดไขมันของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตร Guillard มีปริมาณกรดไขมันสูงสุด เมื่อเทียบกับปริมาณกรดไขมันทั้งหมด โดยกรดไขมันอิ่มตัวเป็นองค์ประกอบของกรดไขมันที่เด่นในทุกการเจริญเติบโต (ภาพที่ 15) และพบกรดไขมัน Palmitic acid และ Oleic acid มีปริมาณมากที่สุด (ตารางที่ 7)



ภาพที่ 15 ปริมาณกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์) ของสาหร่าย *Skeletonama* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร Walne และ Guillard

ที่มา : Endar et al. (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์กรดไขมันรวมของสาหร่าย *Skeletonema* sp.

Sample	Profile of Methyl Ester of Fatty Acids		Content (%)	
<i>Skeletonema</i> Guillard medium	Lauric acid	C 12 : 0	2,2004 ± 0,005	
	Mirstat acid	C 14 : 0	4,7639 ± 0,019	
	Palmitic acid	C 16 : 0	22,8913 ± 0,039	
	Palmitoleic acid	C 16 : 1	9,6696 ± 0,027	
	Stearat acid	C 18 : 0	4,3479 ± 0,034	
	Oleic acid	C 18 : 1	24,557 ± 0,045	
	Linoleic acid	C 18 : 2	6,3725 ± 0,041	
	Linolenic acid	C 18 : 3	1,575 ± 0,015	
	Arachidic acid	C 20 : 0	5,4549 ± 0,015	
	EPA	C 20 : 5	9,4669 ± 0,009	
	Arachidonic acid	C 20 : 6	2,9478 ± 0,016	
	DHA	C 22 : 6	0,9059 ± 0,007	
	<i>Skeletonema</i> Walne medium	Lauric acid	C 12 : 0	0,3157 ± 0,012
		Mirstat acid	C 14 : 0	12,2512 ± 0,037
Palmitic acid		C 16 : 0	14,5087 ± 0,003	
Palmitoleic acid		C 16 : 1	11,0635 ± 0,039	
Stearat acid		C 18 : 0	1,3654 ± 0,019	
Oleic acid		C 18 : 1	3,5278 ± 0,043	
Linoleic acid		C 18 : 2	1,5302 ± 0,019	
Linolenic acid		C 18 : 3	1,5750 ± 0,011	
Arakhidic acid		C 20 : 0	5,4549 ± 0,016	
EPA		C 20 : 5	7,1858 ± 0,017	
Arachidonic acid		C 20 : 6	2,3067 ± 0,017	
DHA		C 22 : 6	0,5718 ± 0,019	

ที่มา : Endar et al. (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย *Botryococcus braunii* สายพันธุ์ KMITL 2

Botryococcus braunii สายพันธุ์ KMITL 2 (GenBank accession no. KX470608) นำมาจากอ่างเก็บน้ำคลองโปกด ตำบลเขาพระ จังหวัด นครนายก คัดแยกโดยนักวิจัยแพลงก์ตอน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ด้วยวิธี Microcapillary pipetted method (Stein, 1973)

3.2 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย

เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้อาหารสูตร Chlorella Medium (Vonshak and Maske, 1982) (ตารางผนวกที่ 1) นำอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 1000 ml ทำการปรับ pH ของอาหารให้อยู่ที่ 6.8 และนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว หลังจากนั้นนำออกจากหม้อฆ่าเชื้อ และรอให้อาหารเย็นแล้วนำหัวเชื้อสาหร่ายย้ายเข้าไปยังขวดรูปชมพู่ โดยขยายหัวเชื้อสาหร่ายภายในตู้ปลอดเชื้อ (Lamina flow) ด้วยอัตราส่วนของอาหารต่อหัวเชื้อที่ 10 ต่อ 1 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการแพลงก์ตอน ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส โดยให้อากาศอย่างต่อเนื่องด้วยปั๊มลมภายใน ให้แสงสว่าง (200 ไมโครไอส์ไดน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที) อย่างต่อเนื่องตลอด 24 ชั่วโมง ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน

3.3 การทดลองที่ 1 ใช้ระดับของ thiamine ที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโต และองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ในอาหาร Chlorella medium ที่มีความเข้มข้นของวิตามิน thiamine 4 ระดับ (ทุกชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ) คือ

- ความเข้มข้น thiamine ที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร
- ความเข้มข้น thiamine ที่ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร
- ความเข้มข้น thiamine ที่ 200 ไมโครกรัมต่อลิตร
- ความเข้มข้น thiamine ที่ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตตามหัวข้อ 3.5, 3.6 และ 3.7

3.4 การทดลองที่ 2 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ประกอบทางชีวเคมี ไฮโดรคาร์บอน และคุณสมบัติทางไบโอเคมีเซลล์ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2

จากการทดลองที่ 1 ความเข้มข้นของวิตามิน thiamine ที่ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่งผลต่อการเจริญเติบโตโดยไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ thiamine 200 ไมโครกรัมต่อลิตร ดังนั้น thiamine ที่ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร จึงเป็นค่าคงที่ในการทดลองที่ 2 โดยในการทดลองที่ 2 จะทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ในอาหาร Chlorella medium ที่มีความเข้มข้นของวิตามิน biotin และ cobalamin ผันแปรกัน โดยจัดชุดการทดลองแบบ factorial in crd 4×4 (รวม 16 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ) โดยมี

- ความเข้มข้นของ biotin เท่ากับ 0, 1, 2 และ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร
- ความเข้มข้นของ cobalamin เท่ากับ 0, 2, 4 และ 6 ไมโครกรัมต่อลิตร

โดยมีค่ากลางของวิตามินคือค่าที่ใช้ในสูตรอาหารเลี้ยงสาหร่ายทั่วไป และมีชุดควบคุมคือสาหร่ายที่ไม่ได้รับวิตามิน เพาะเลี้ยงสาหร่ายในขวดรูปชมพู่ขนาด 1 ลิตร ในห้องปฏิบัติการแบบปลอดเชื้อ และในระหว่างการทดลอง เก็บข้อมูลดังนี้

3.5 น้ำหนักชีวมวลแห้ง (Biomass)

การวัดการเจริญเติบโต ใช้วิธีการหาน้ำหนักชีวมวลแห้ง (Biomass) ที่เพิ่มขึ้น ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงสาหร่าย โดยนำสาหร่ายแต่ละชุดการทดลองมาวิเคราะห์หาน้ำหนักชีวมวลแห้ง ทุกๆ 2 วัน เริ่มตั้งแต่วันที่เริ่มการทดลองในวันที่ 0 จนถึงวันที่ 24 โดยมีขั้นตอนดังนี้

- เก็บสาหร่ายจากขวดแก้วรูปชมพู่ใส่หลอดทดลองชนิดพลาสติก ตัวอย่างละ 5 มิลลิลิตร
- ล้างเซลล์สาหร่าย 2 ครั้ง ด้วยน้ำกลั่น pH 4 โดยนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ 3500 รอบต่อนาที 10 นาที (ควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส) เซลล์สาหร่ายจะตกตะกอน ให้ดูดน้ำส่วนใสด้านบนทิ้ง
- นำเซลล์สาหร่ายที่ตกตะกอนทั้งหมดใส่ภาชนะสำหรับอบแห้ง
- นำเข้าตู้อบ Hot air oven ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- นำมาคำนวณหาน้ำหนักชีวมวลแห้งโดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง} = [(a-b)/ W] \times 100$$

เมื่อ a = น้ำหนักรวมของภาชนะและตัวอย่างหลังอบ

b = น้ำหนักภาชนะ

W = น้ำหนักเซลล์สาหร่ายที่ใช้วิเคราะห์

3.6 ปริมาณโปรตีน (ทุก 2 วัน) (Lowry et al., 1951)

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์โปรตีน

- Reagent A; 5 เปอร์เซ็นต์ NaCO_3
- Reagent B; 1 เปอร์เซ็นต์ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Reagent C; 2 เปอร์เซ็นต์ $\text{NaKC}_4\text{H}_6\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- Reagent D; ผสม Reagent A + B+ C ในสัดส่วน 50:1:1
- Folin-Ciocalteu (เจือจาง 1:1 ด้วยน้ำกลั่น)

ขั้นตอนการวิเคราะห์โปรตีน

- เก็บสาหร่ายใส่หลอดทดลองชนิดพลาสติกตัวอย่างละ 0.5 มิลลิลิตร
- ล้างเซลล์สาหร่าย 2 ครั้ง ด้วยน้ำกลั่น pH 4 โดยนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ 3500 รอบต่อนาที 10 นาที (ควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส) เซลล์สาหร่ายจะตกตะกอน ให้ดูดน้ำส่วนใสด้านบนทิ้ง
- เติม NaOH 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มเป็นเวลา 20 นาที
- เติม Reagent D ตัวอย่างละ 2.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่าด้วยเครื่อง Vortex ทิ้งไว้ 10 นาที
- เติม Folin-Ciocalteu reagent 0.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่าด้วยเครื่อง Vortex ทิ้งไว้ 30 นาที
- นำมาวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้ความยาวคลื่นแสงที่ 750 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank

3.7 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ทุก 2 วัน) (Bois et al., 1956)

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต

- Glucose standard
- Phenol solution 5 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
- H_2SO_4 (AR grade)

ขั้นตอนการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต

- เก็บสาหร่ายใส่หลอดทดลองชนิดพลาสติกตัวอย่างละ 1.0 มิลลิลิตร
- ล้างเซลล์สาหร่าย 2 ครั้ง ด้วยน้ำกลั่น pH 4 โดยนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ 3500 รอบต่อนาที 10 นาที (ควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส) เซลล์สาหร่ายจะตกตะกอน ให้ดูดน้ำส่วนใสด้านบนทิ้ง
- เติม phenol 5 เปอร์เซ็นต์ ตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร และย้ายใส่หลอดทดลองชนิดแก้ว
- เติม H_2SO_4 ตัวอย่างละ 5 มิลลิลิตร
- นำมาเขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- นำมาวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้ความยาวคลื่นแสงที่ 485 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank

3.8 วิเคราะห์ปริมาณไฮโดรคาร์บอน และไขมัน เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตเข้าระยะ late exponential phase (ดัดแปลงจาก Bligh and Dyer (1959))

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ไขมันทั้งหมด

- Methanol
- Chloroform

ขั้นตอนการวิเคราะห์ไขมันทั้งหมด

- อบสาหร่ายที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งสาหร่ายบด 0.02 กรัม
- นำสาหร่ายใส่หลอดทดลองชนิดแก้ว เติมสารละลาย Methanol:Chloroform (อัตราส่วน 2:1)

เติมปริมาณ 5 มิลลิลิตร

- นำเข้าเครื่องล้างความถี่สูง (Sonicate) เป็นเวลา 15 นาที
- บดโดยใช้เม็ดแก้ว เป็นเวลา 5 นาที
- นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ 2800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที
- ใช้ Dropper คูดสารละลายส่วนใส นำใส่หลอดทดลองชนิดแก้วที่ชั่งน้ำหนักแล้ว
- สารที่สกัดได้ นำไปใส่ water bath ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนสารละลายระเหยแห้ง
- นำไปวางไว้ในโถดูดความชื้นทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที (รอจนหลอดเย็น)
- นำหลอดทดลองชนิดแก้วมาชั่งน้ำหนัก นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณไขมันที่ได้โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมันทั้งหมด} = [(a-b) / W] \times 100$$

เมื่อ a = น้ำหนักรวมของหลอดทดลองและไขมันหลังอบ

b = น้ำหนักหลอดทดลอง

W = น้ำหนักเซลล์สาหร่ายที่ใช้วิเคราะห์

3.9 การวิเคราะห์กรดไขมัน (Ruangsomboon, 2013)

การวิเคราะห์กรดไขมัน ใช้หลักการเปลี่ยนไขมันด้วยกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) ซึ่งปฏิกิริยาจะเปลี่ยนหมู่ alkyl ใน โมเลกุล Triglyceride โดยการทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ให้กลายเป็น mono-alkyl ester โดยการวิเคราะห์กรดไขมันจะใช้ไขมันที่เปลี่ยนเป็น Fatty Acid Methyl Esters (FAME) แล้ว นำมาฉีดเข้าเครื่อง GC (Gas chromatography) พร้อมเครื่องตรวจวัดชนิด flame ionization detector (FID) ข้อมูลจากการวิเคราะห์จะแสดงผลเป็นเส้นกราฟ บ่งบอกถึงชนิดและปริมาณของกรดไขมัน โดยการกำหนดชนิดของกรดไขมันจากตัวอย่างทดลอง จะ

อ้างอิงตามกราฟของสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.10 การศึกษาคุณสมบัติไบโอดีเซลที่ได้จาก *B. braunii* KMITL 2 (Ramos et al. 2009; Francisco et al. 2010; Wu and Miao 2014; Ruangsomboon 2015)

นำน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในทุกชุดการทดลอง (64 ชุด) มาศึกษาคุณสมบัติการทำให้เป็นไบโอดีเซล ได้แก่

3.10.1 Cetane number (CN) คือ ค่าที่ใช้วัดคุณภาพน้ำมันดีเซลในด้านของคุณสมบัติในการติดไฟ ค่าซึ่งแทนสูงแสดงประสิทธิภาพการเผาไหม้ที่ดีของเชื้อเพลิง โดยค่า CN จำนวนดังสูตร

$$CN = \sum X_{ME} (\text{wt.}\%) \times CN_{ME}$$

โดยที่ CN คือ ค่า Cetane number ของ ไบโอดีเซล

X_{ME} คือ ปริมาณคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของ methyl ester

CN_{ME} คือ ค่า cetane number ของ methyl ester

3.10.2 Degree of unsaturation (DU) คือ ค่าที่บอกความคงตัว หรือระยะเวลาที่สามารถเก็บน้ำมันนั้นไว้ ว่าได้นานมากน้อยอย่างไร ค่า DU ที่ต่ำแสดงถึงไบโอดีเซลนั้นมีค่าความคงตัวดี เก็บรักษาได้นานกว่าค่า DU ที่สูง โดยค่า DU จำนวนดังสูตร

$$DU = MUFA + (2 \times PUFA)$$

โดย MUFA คือ ค่าเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว

PUFA คือ ค่าเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน

3.10.3 Cold filter plugging point (CFPP) คือ ค่าจุดน้ำมันอุดตันไส้กรองที่อุณหภูมิต่ำ เป็นค่าที่บอกความสามารถในการไหลของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิต่ำ ถ้าค่า CFPP มีค่าสูงหมายถึงมีคุณสมบัติการไหลที่ไม่ดีที่อุณหภูมิต่ำ โดยค่า CFPP จำนวนดังสูตร

$$CFPP = (3.417 \times LCFS) - 16.477$$

โดยที่ LCFS คือ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาว (long-chain saturated) ซึ่งคำนวณได้จากสมการ

$$LCFS = (0.1 \times C16) + (0.5 \times C18)$$

โดยที่ C16 และ C18 คือ เปอร์เซ็นต์กรดไขมันอิ่มตัวตามความยาวพันธะ

3.10.4 Saponification value (SV) คือ ค่าที่บ่งบอกถึงน้ำหนักโมเลกุลหรือความยาวของสายกรดไขมันที่มีในไบโอดีเซล โดยค่า SV จำนวนดังสูตร

$$SV = \sum (560N/M)$$

โดยที่ M คือ มวลโมเลกุล

N คือ เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันแต่ละชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.10.5 Iodine value (IV) คือค่าที่วัดผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมดในไบโอดีเซลซึ่งสัมพันธ์กับค่า oxidative stability หากค่า IV สูงก็จะมีค่า oxidative ที่คงตัวมากกว่าค่า IV ต่ำ โดยค่า IV คำนวณดังสูตร

$$IV = \sum (254DN/M) \quad \text{โดยที่ } D \text{ คือ จำนวนของพันธะคู่}$$

3.11 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS Version 22 ใช้ analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วย Tukey-Kramer HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์อิทธิพลร่วมกัน (interaction) ของวิตามินต่อค่าต่าง ๆ ของสาหร่ายที่ทำการศึกษา

3.12 สถานที่ทำการวิจัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.13 ระยะเวลาในการทำวิจัย

1 ปี 6 เดือน (1 มกราคม 2560 – 30 มิถุนายน 2561)

บทที่ 4

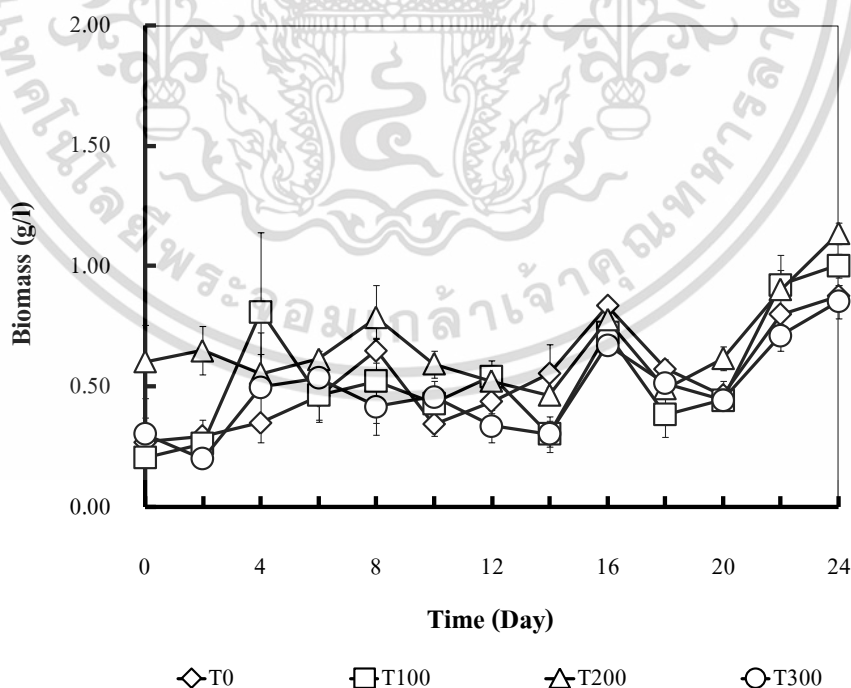
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการทดลองที่ 1 ระดับของ thiamine ที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโต และองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

4.1.1 ผลของ thiamine ต่อชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน thiamine (T) เท่ากับ 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน T₂₀₀ (thiamine เข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อลิตร) มีผลผลิตชีวมวลสูงที่สุดคือ 1.14 ± 0.04 กรัมต่อลิตร (มากกว่าชุดควบคุม 0.26 กรัมต่อลิตร) (ภาพที่ 16, ตารางผนวกที่ 2) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวิตามิน T₁₀₀ ซึ่งมีชีวมวล 1.10 ± 0.05 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น ความเข้มข้นของ thiamine ที่ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร จึงเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 1 เนื่องจากใช้ปริมาณของวิตามิน thiamine น้อยกว่าที่ 200 ไมโครกรัมต่อลิตร แต่ให้ผลการเจริญเติบโตไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



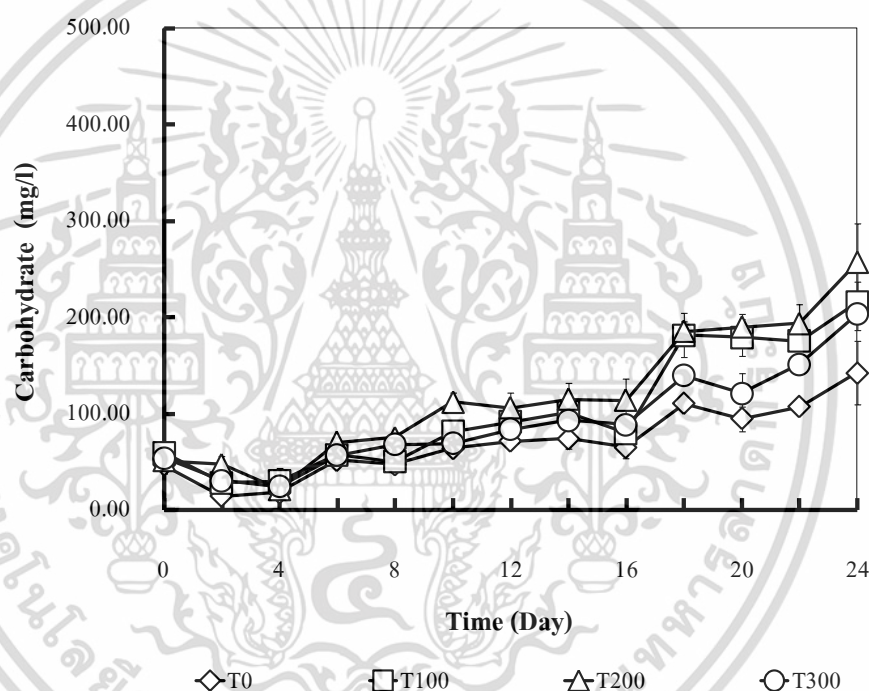
ภาพที่ 16 ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน thiamine 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารหลวงวิไล ที่รับการเขียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ผลของ thiamine ต่อคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

4.1.2.1 ผลของ thiamine ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

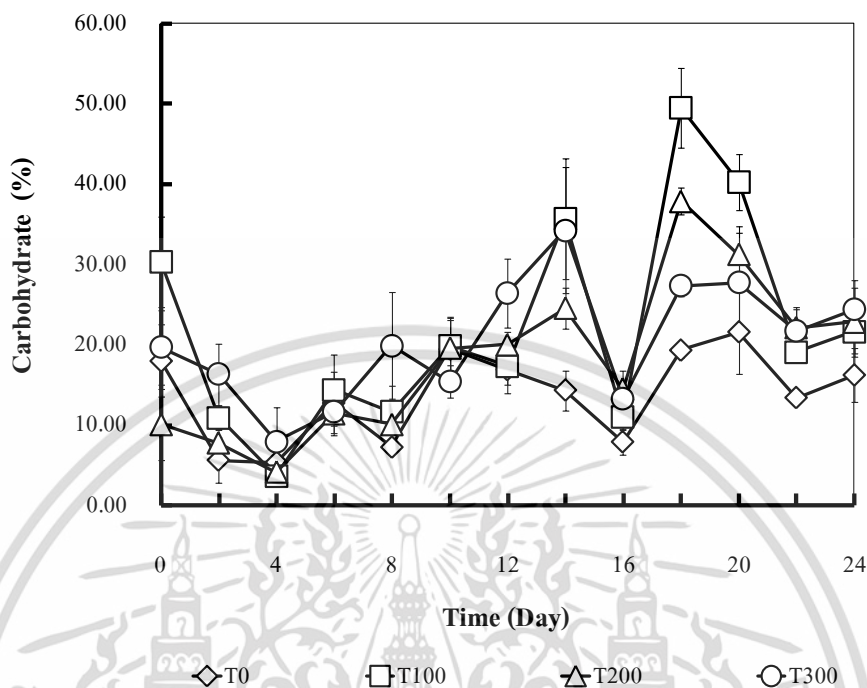
เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน T₂₀₀ (thiamine เข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อลิตร) มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดคือ 256.50±40.71 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 114.35 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 17, ตารางผนวกที่ 3) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวิตามิน T₀, T₁₀₀ และ T₃₀₀ ($p>0.05$)



ภาพที่ 17 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน thiamine 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

4.1.2.2 ผลของ thiamine ต่อเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน T₃₀₀ (thiamine เข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อลิตร) มีเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดคือ 24.37±3.62 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าชุดควบคุม 8.21 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 18, ตารางผนวกที่ 4) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวิตามิน T₀, T₁₀₀ และ T₂₀₀ ($p>0.05$)



ภาพที่ 18 เปอร์เซนต์คาร์โบไฮเดรต ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน thiamine 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

4.1.3 ผลของ thiamine ต่อโปรตีนของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

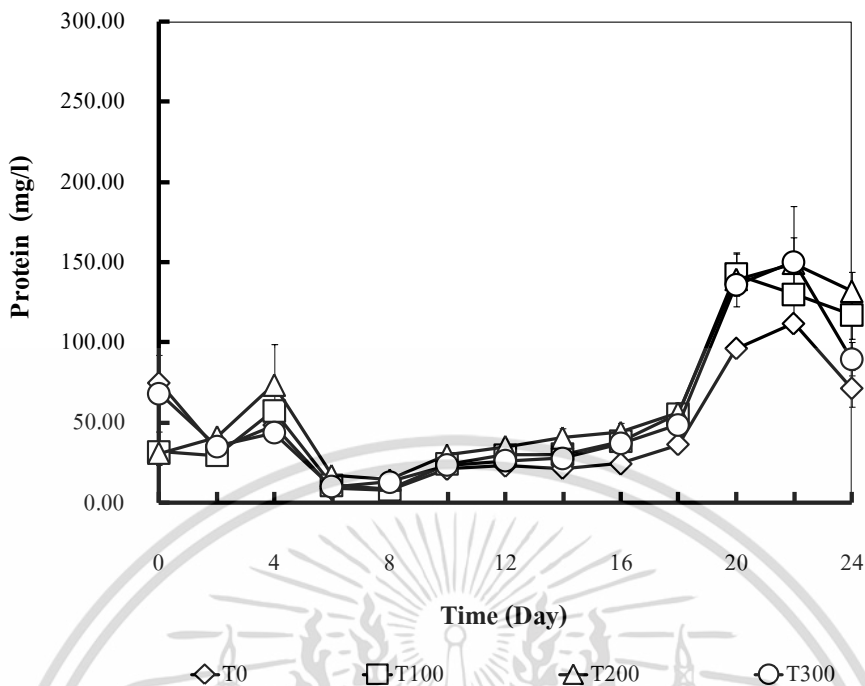
4.1.3.1 ผลของ thiamine ต่อปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน T₂₀₀ (thiamine เข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อลิตร) มีปริมาณ โปรตีนสูงที่สุดคือ 132.16±12.01 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 60.60 มิลลิกรัมต่อลิตร ($p < 0.05$) (ภาพที่ 19, ตารางผนวกที่ 5) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวิตามิน T₁₀₀ และ T₃₀₀ ($p > 0.05$)

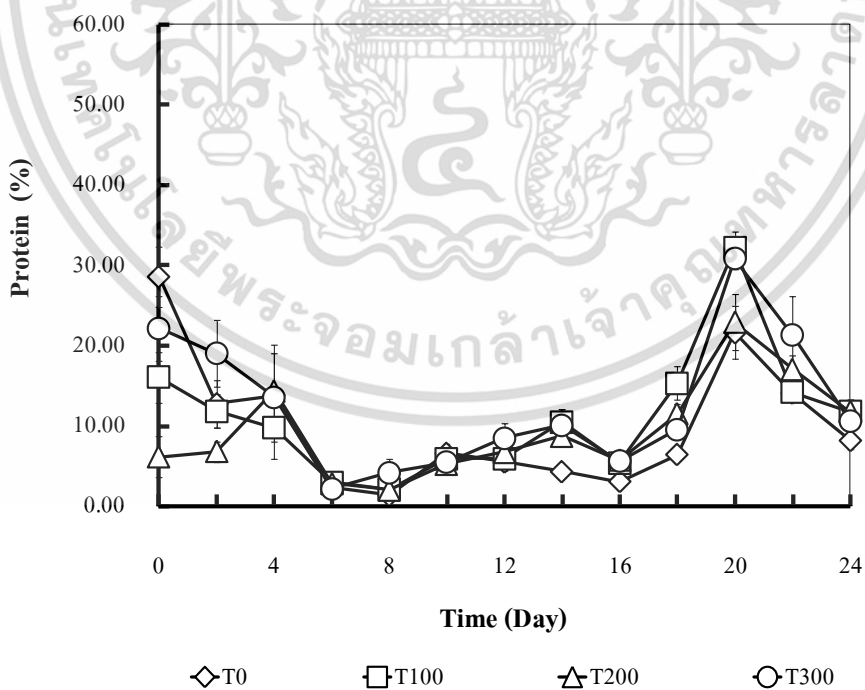
4.1.3.2 ผลของ thiamine ต่อเปอร์เซ็นต์โปรตีนของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน T₂₀₀ (thiamine เข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อลิตร) มีเปอร์เซ็นต์สูงที่สุดคือ 11.73±1.47 เปอร์เซนต์ มากกว่าชุดควบคุม 3.58 เปอร์เซนต์ (ภาพที่ 20, ตารางผนวกที่ 6) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวิตามิน T₀, T₁₀₀ และ T₃₀₀ ($p > 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ผลิตขึ้นเพื่อใช้ในการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 19 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน thiamine 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 20 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน thiamine 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการทดลองที่ 2

4.2.1 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

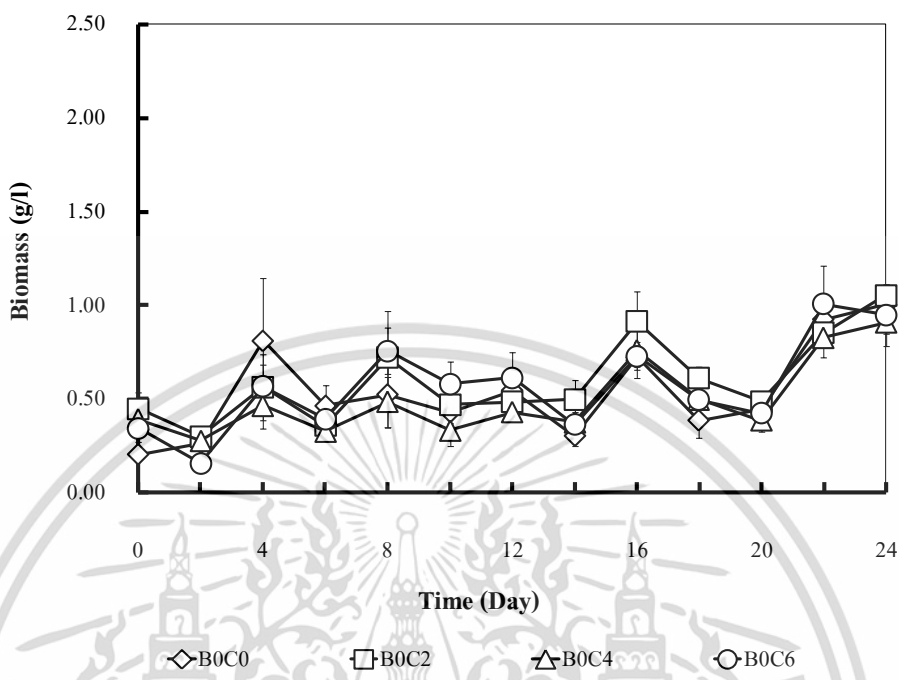
จากผลการทดลองที่ 1 ความเข้มข้นของ thiamine ที่ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ให้ชีวมวล 1.10 ± 0.05 กรัมต่อลิตร เป็นตัวเลือกที่ดีที่สุด เนื่องจากใช้ปริมาณของวิตามิน thiamine น้อยกว่าที่ 200 ไมโครกรัมต่อลิตร แต่ให้ผลการเจริญเติบโตไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) นำมาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายในทุกชุดการทดลองของการทดลองที่ 2 โดยเฉพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ในอาหาร Chlorella medium ที่มีการผันแปรความเข้มข้นของวิตามิน biotin (B) เท่ากับ 0, 1, 2 และ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และ ความเข้มข้นของ cobalamin (C) เท่ากับ 0, 2, 4 และ 6 ไมโครกรัมต่อลิตร

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₂ มีชีวมวลสูงที่สุด 1.19 ± 0.22 กรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 0.19 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 23, ตารางผนวกที่ 7) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p > 0.05$) จากผลการศึกษาชีวมวลของ *B. braunii* KMITL 2 ในการทดลองที่ 2 แสดงให้เห็นว่า การใส่วิตามินเพิ่มในอาหารเลี้ยงสาหร่าย ไม่ส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของสาหร่าย แต่การใส่วิตามิน biotin ทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุม สอดคล้องกับ Carlucci and Silbernagel (1969) ที่รายงานการศึกษาผลของวิตามิน cobalamin, thiamine และ biotin ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Cyclotella nana*, *Monochrysis lutheri* และ *Amphidinium carterae* พบว่า วิตามินจะเข้าไปมีส่วนช่วยในกระบวนการเมตาบอลิซึมของสาหร่าย ให้สาหร่ายแบ่งเซลล์ ซึ่งวิตามินที่ส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย *C. nana*, *M. lutheri* และ *A. carterae* มากที่สุดคือ biotin รองลงมาคือ วิตามิน cobalamin และจากผลการทดลองข้างต้น พบว่า สาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 มีการเจริญเติบโตดีในอาหารที่มีวิตามิน biotin (ระดับ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร) ส่วนผลของชีวมวลที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นนั้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tanabe et al. (2014) ที่ศึกษาผลของวิตามินบี 12 (cobalamin) ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* BOT-22 พบว่าสาหร่ายที่ได้รับและไม่ได้รับวิตามินบี 12 มีการเจริญเติบโตไม่ต่างกัน (ภาพที่ 6) ซึ่งผู้วิจัยได้ศึกษาในระดับยีนและอธิบายว่าวิตามินบี 12 มีหน้าที่ช่วยในกระบวนการสังเคราะห์เมไทโอนีน การสังเคราะห์ดีเอ็นเอ และการย่อยสลายกรดไขมัน (Croft et al. 2006) ซึ่งในเซลล์สาหร่ายโดยทั่วไปจะมียีนสองชนิดที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์เมไทโอนีน คือยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เมไทโอนีน โดยไม่อาศัยวิตามินบี 12 (MetE) และยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เมไทโอนีน โดยอาศัยวิตามินบี 12 (MetH) (Croft et al. 2005) จากผลการวิเคราะห์พบว่า *B. braunii* BOT-22 มียีนประเภท MetE เป็นเหตุผลที่สอดคล้องกับผลการเจริญเติบโตซึ่งอธิบายได้ว่าการใส่และไม่ใส่วิตามินบี 12 ทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตไม่ต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านยีนของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 อย่างละเอียด เพื่อพิสูจน์

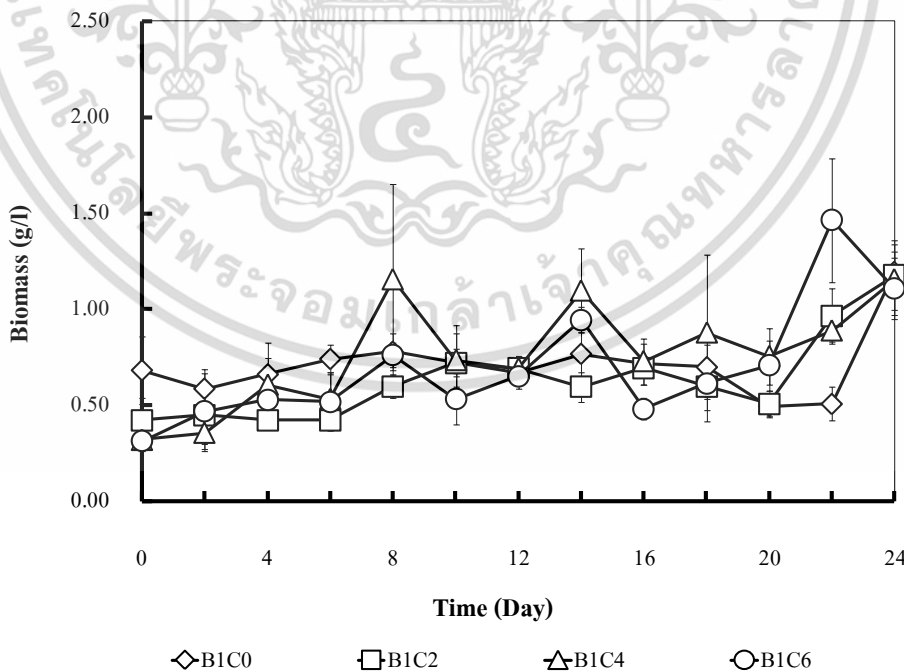
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใดโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสาร

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของยีนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับวิตามินต่างๆที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ทำให้สามารถกำหนดชนิดและปริมาณของวิตามินที่สาหร่ายชนิดนี้ต้องการได้แม่นยำมากยิ่งขึ้น

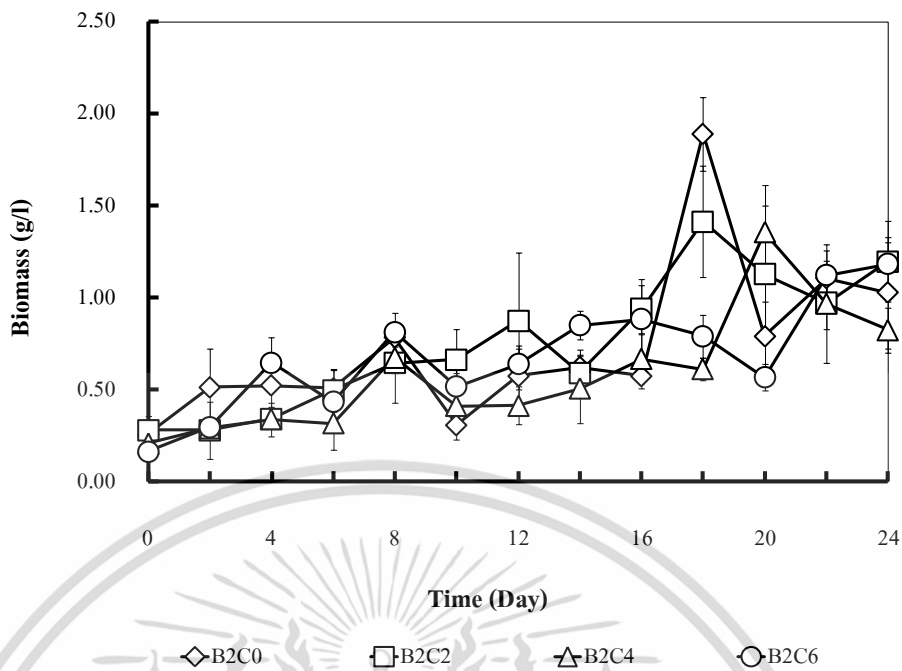


ภาพที่ 21 ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin

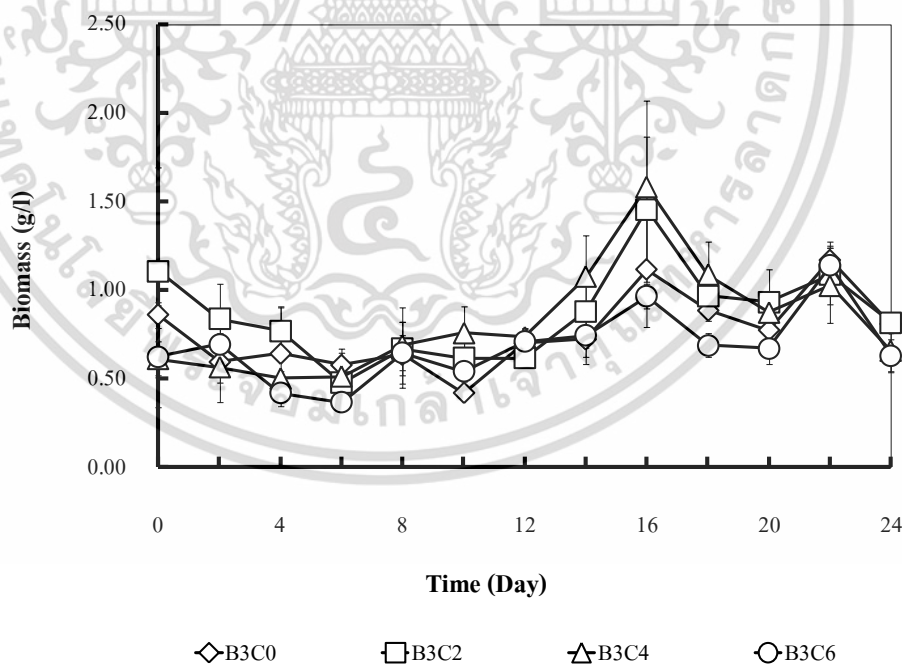


ภาพที่ 22 ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 23 ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนแปร์ cobalamin



ภาพที่ 24 ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนแปร์ cobalamin

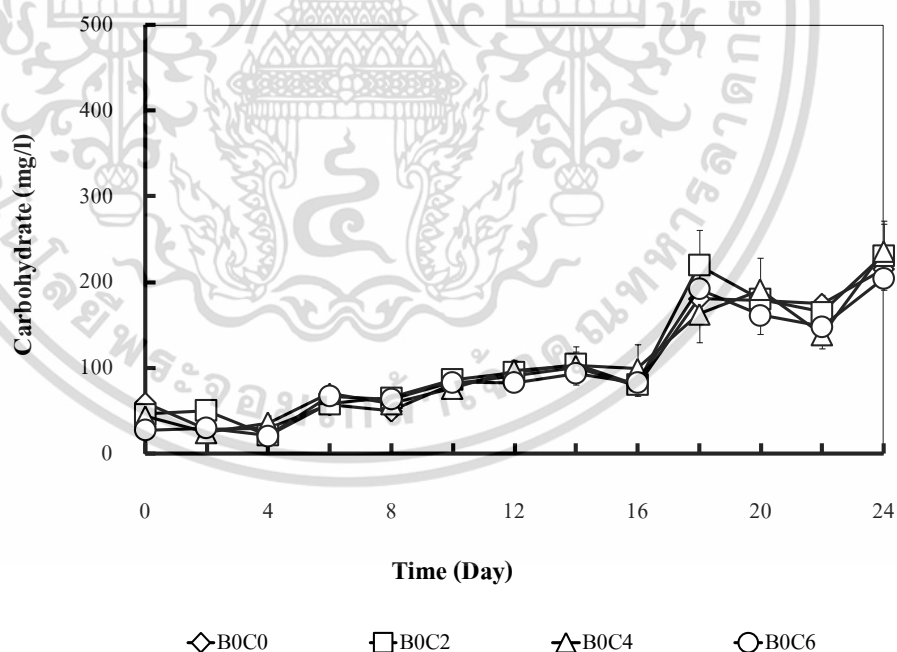
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย

B. braunii KMITL 2

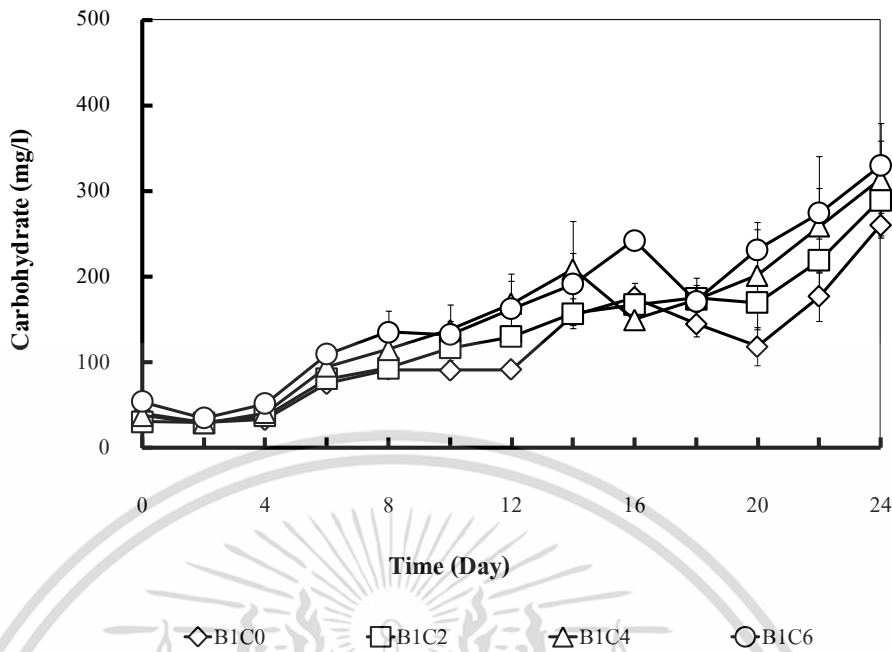
4.2.2.1 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₁C₆ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดคือ 329.49±29.11 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 114.24 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 26, ตารางผนวกที่ 8) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p>0.05$) และสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₃C₆ มีเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดคือ 38.60±3.52 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าชุดควบคุม 16.99 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 32, ตารางผนวกที่ 9) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p>0.05$) จากผลการศึกษาระดับปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ในการทดลองที่ 2 พบว่า มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Desouky (2011) ที่ศึกษาการเพิ่มวิตามินในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* พบว่าสาหร่ายที่มีการเพิ่มวิตามินมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงขึ้น 85 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงโดยไม่มีการเพิ่มวิตามิน ซึ่งมีรายงานจาก Croft et al. (2006) อธิบายเกี่ยวกับวิตามินว่าเป็นโคแฟกเตอร์ร่วมกับเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับสารตั้งต้นของคาร์โบไฮเดรต

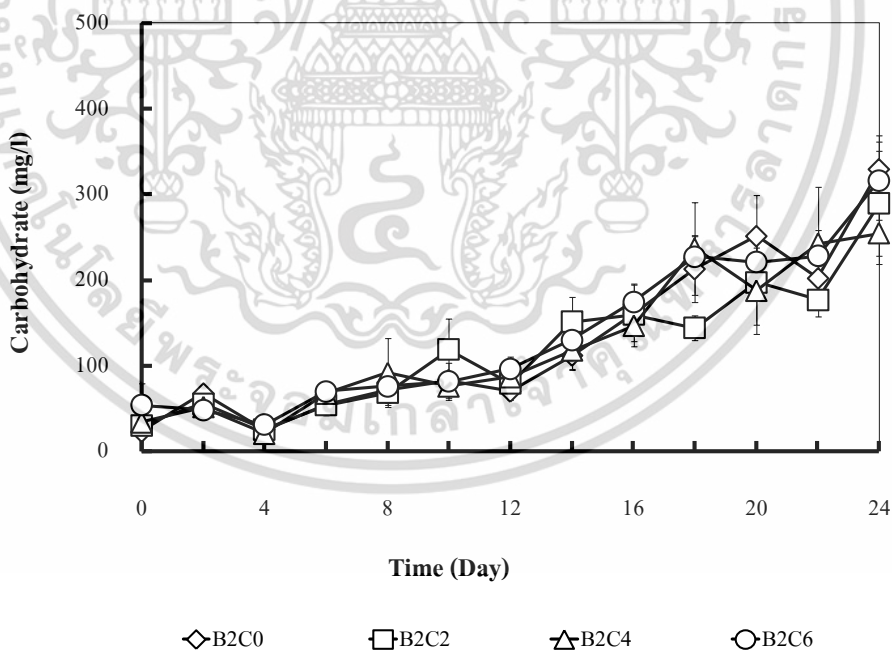


ภาพที่ 25 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

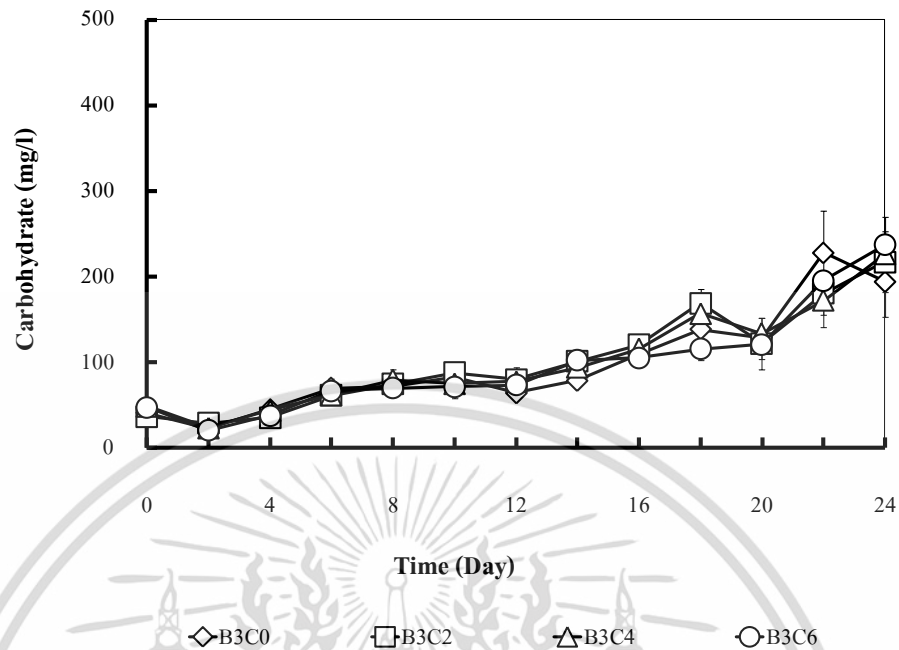


ภาพที่ 26 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟัลแพไร cobalamin

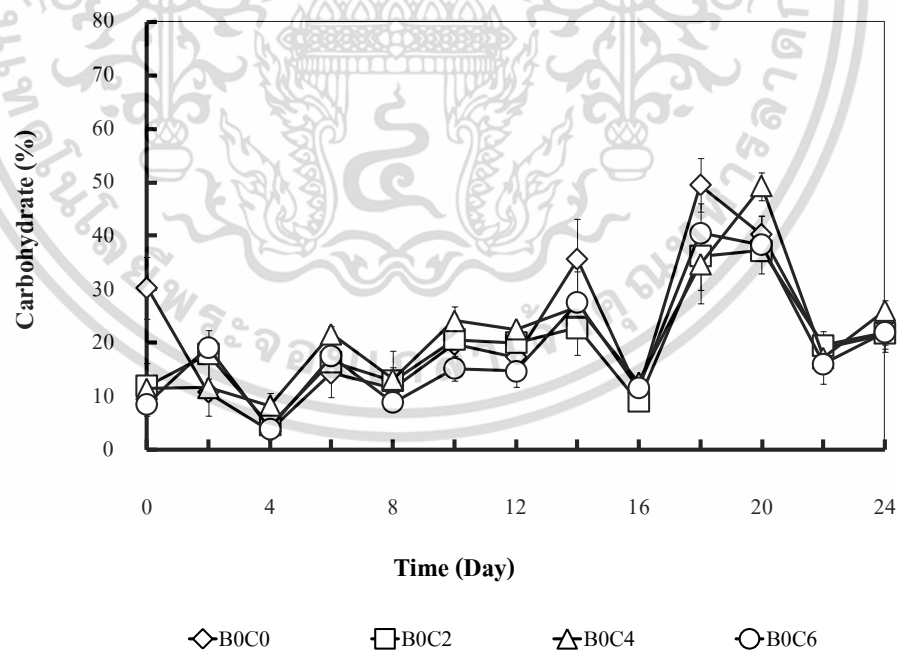


ภาพที่ 27 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟัลแพไร cobalamin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

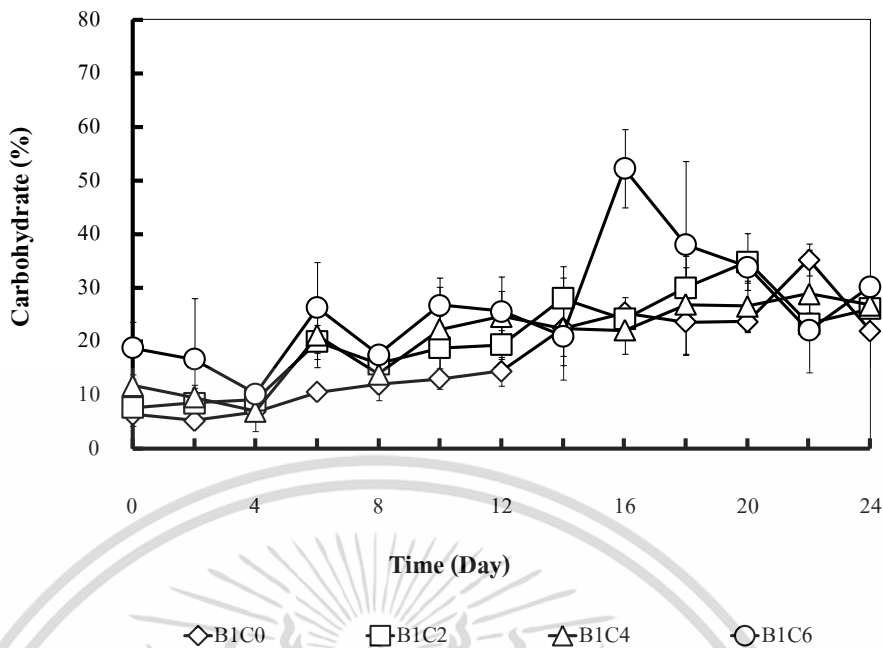


ภาพที่ 28 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนเปรี cobalamin

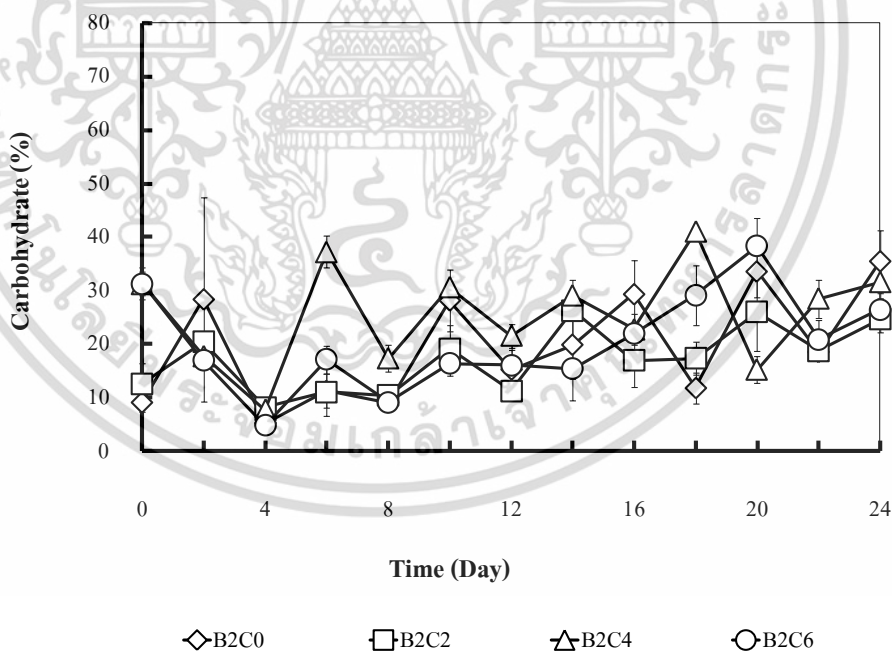


ภาพที่ 29 เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนเปรี cobalamin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

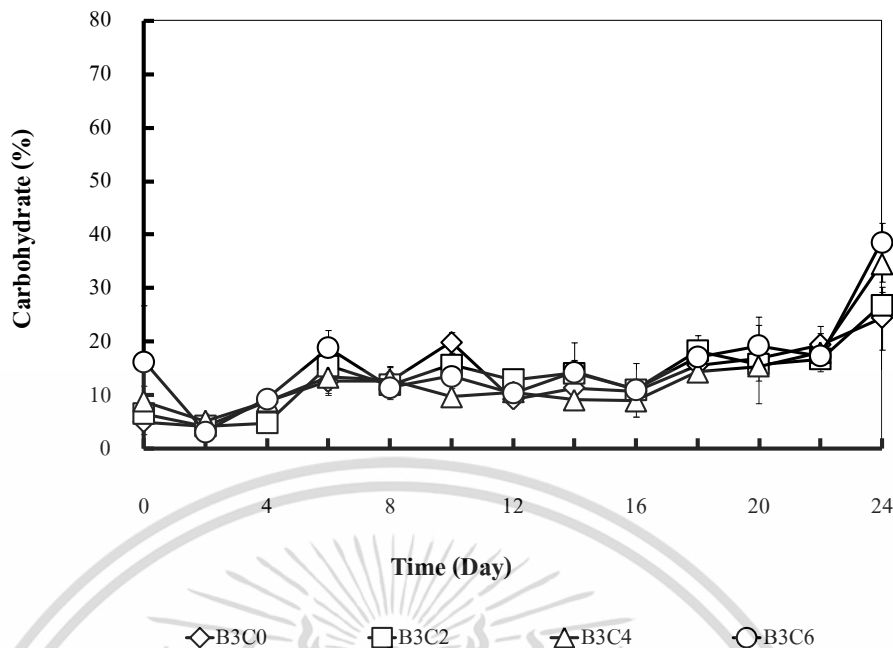


ภาพที่ 30 เปรอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนแปลร cobalamin



ภาพที่ 31 เปรอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนแปลร cobalamin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



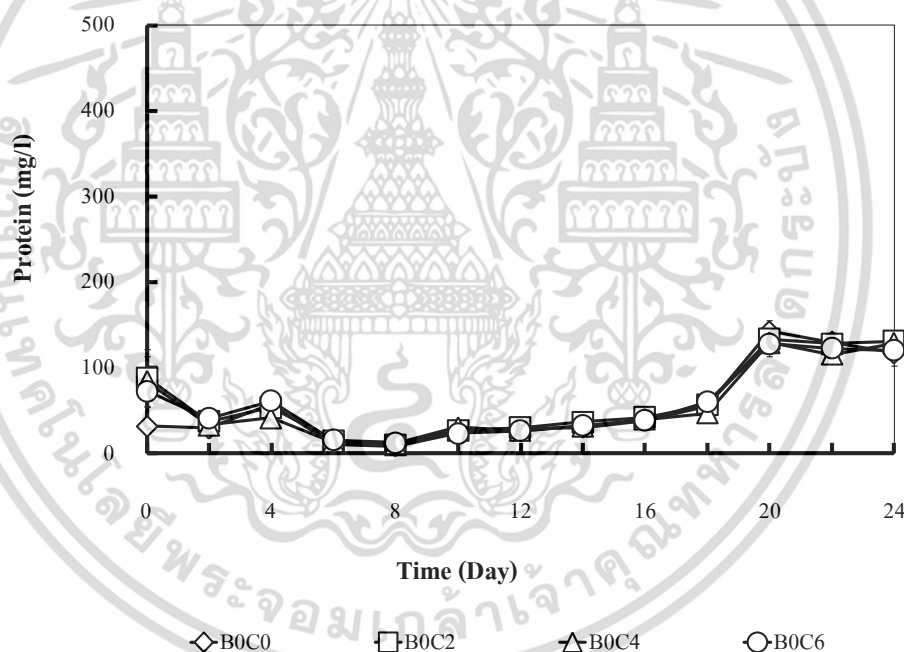
ภาพที่ 32 เปอร์เซนต์คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟัลเลอโคบาลามิน

4.2.2.2 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อโปรตีนของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B_2C_6 มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือ 212.05 ± 41.91 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 94.66 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 35, ตารางผนวกที่ 10) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p > 0.05$) และสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B_3C_4 มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงที่สุดคือ 21.95 ± 1.84 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าชุดควบคุม 10.25 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 40, ตารางผนวกที่ 11) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p > 0.05$) จากผลการศึกษาปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ในการทดลองที่ 2 พบว่าปริมาณโปรตีนของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Desouky et al. (2011a) ที่ได้ศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีโลหะหนัก ($CoCl_2$) ผสมอยู่ในส่วนของโปรตีนพบว่าพบว่ามีปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำ, ไม่ละลายน้ำ และปริมาณโปรตีนทั้งหมด มีปริมาณมากกว่าชุดควบคุม (100 เปอร์เซ็นต์ control) (ตารางที่ 5) โดยระดับของ $CoCl_2$ ต่อ thiamine ที่ทำให้เซลล์สาหร่าย *Scenedesmus obliquus* มีโปรตีนทั้งหมดสูงที่สุดคือ 3 ppm และจากการศึกษานี้ที่ใช้วิตามิน thiamine 100 ppm นั้น มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนในเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus obliquus* มีปริมาณสูง ตรงกับที่เคยมีวิจัยในสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (Mohamed et

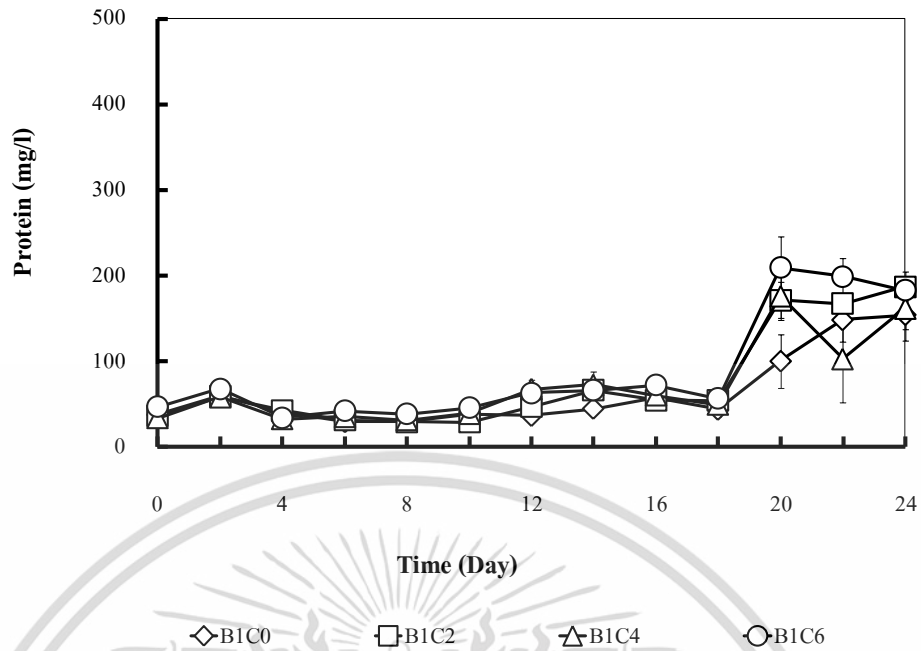
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

al., 1988) พบว่าวิตามิน thiamine ปริมาณ 10^{-4} M ทำให้เพิ่มปริมาณโปรตีนในสาหร่ายได้สูงที่สุด นอกจากนี้ Desouky et al. (2011b) ยังได้มีการศึกษาผลของวิตามินที่ส่งผลต่อสัดส่วนโปรตีนของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ภายใต้ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน pyridoxine (วิตามิน B₆) และ riboflavin (วิตามิน B₂) ที่ 200 ppm พบว่าสาหร่ายมีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าชุดควบคุม 47 ถึง 54 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) โดยผลจากการศึกษาข้างต้นพบว่าปริมาณวิตามิน cobalamin ที่ 6 ไมโครกรัมต่อลิตร และวิตามิน biotin 2 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่งผลกับสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ให้ผลิตโปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) มากที่สุด โดยระดับของวิตามิน cobalamin เป็นระดับสูงสุดที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งวิตามิน cobalamin พบว่าเป็นวิตามินที่ช่วยในการนำโปรตีนหรือไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในน้ำเข้าสู่เซลล์ จึงทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (Lippsett, 2012) โดยไนโตรเจนนั้นเป็นที่ทราบกันดีว่าเป็นองค์ประกอบของโปรตีน การได้รับ cobalamin ในความเข้มข้นสูงจึงอาจส่งผลให้สาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 มีการผลิตโปรตีนได้มากขึ้น

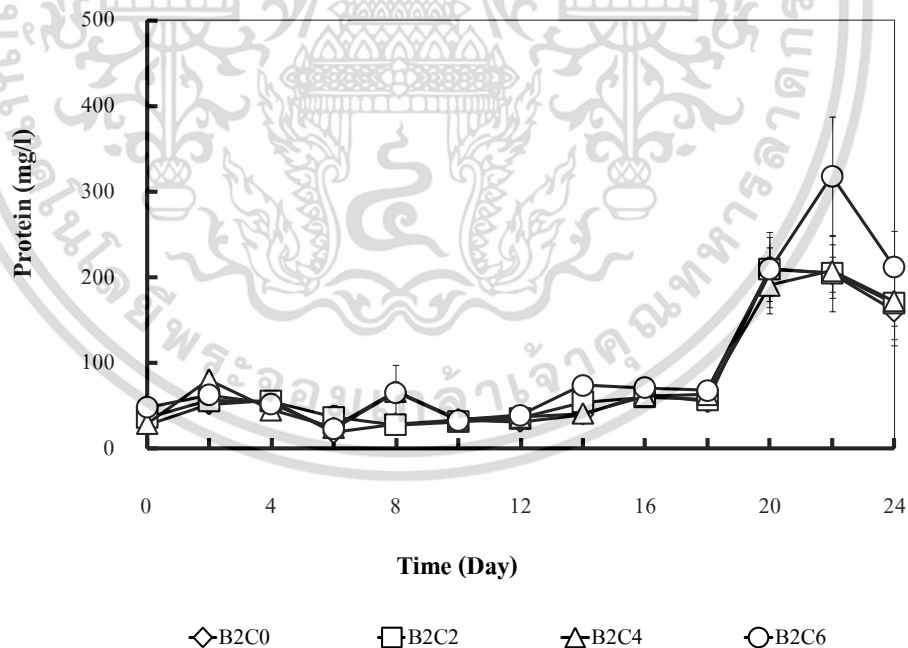


ภาพที่ 33 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

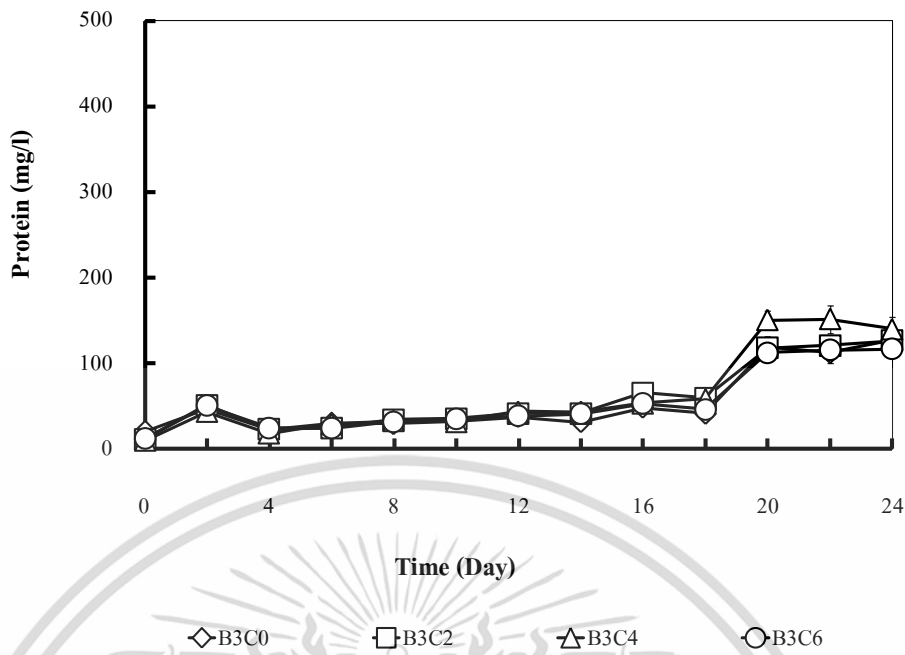


ภาพที่ 34 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนแปลร cobalamin

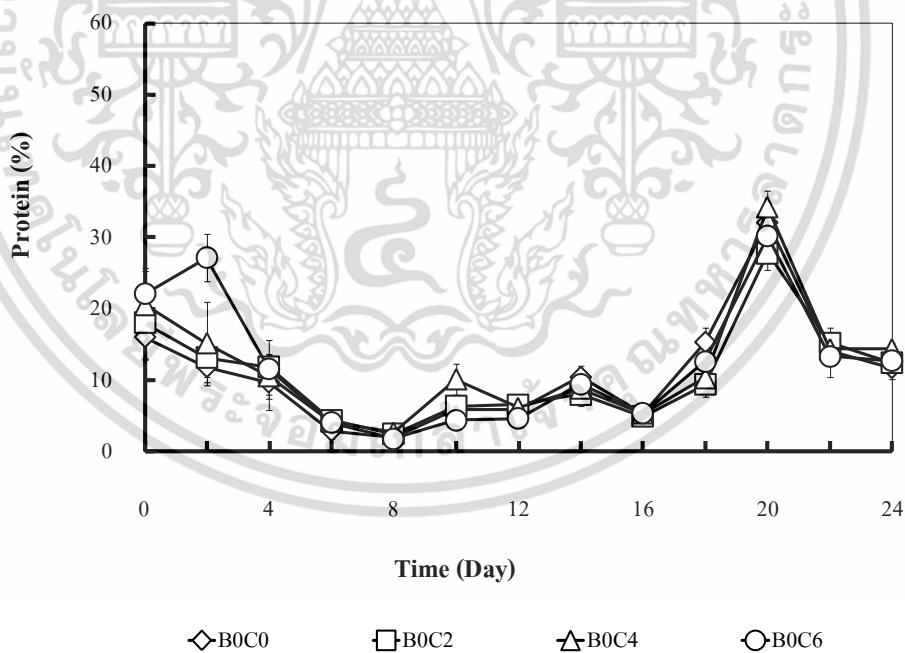


ภาพที่ 35 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนแปลร cobalamin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

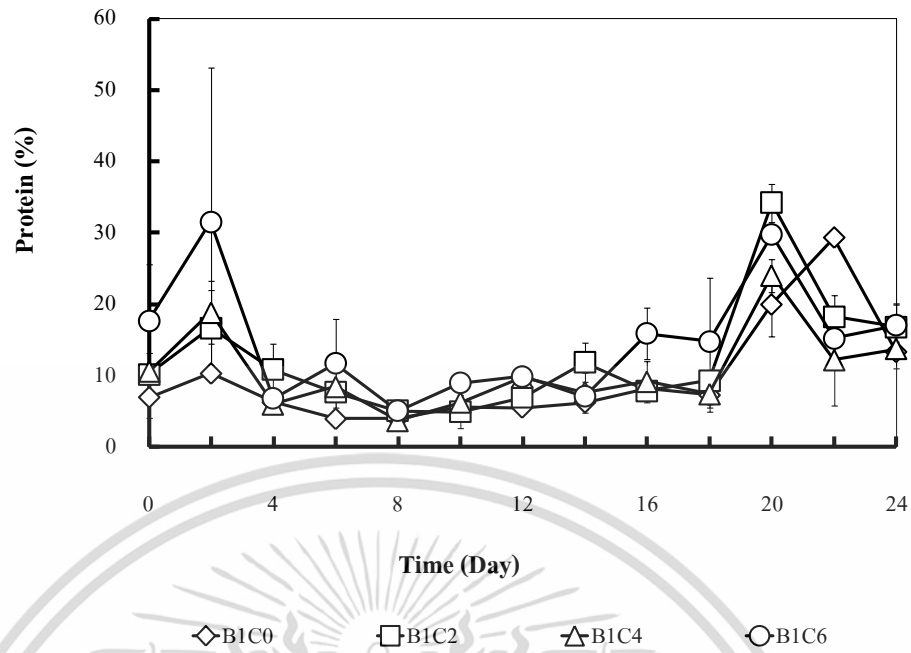


ภาพที่ 36 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนแปร์ cobalamin

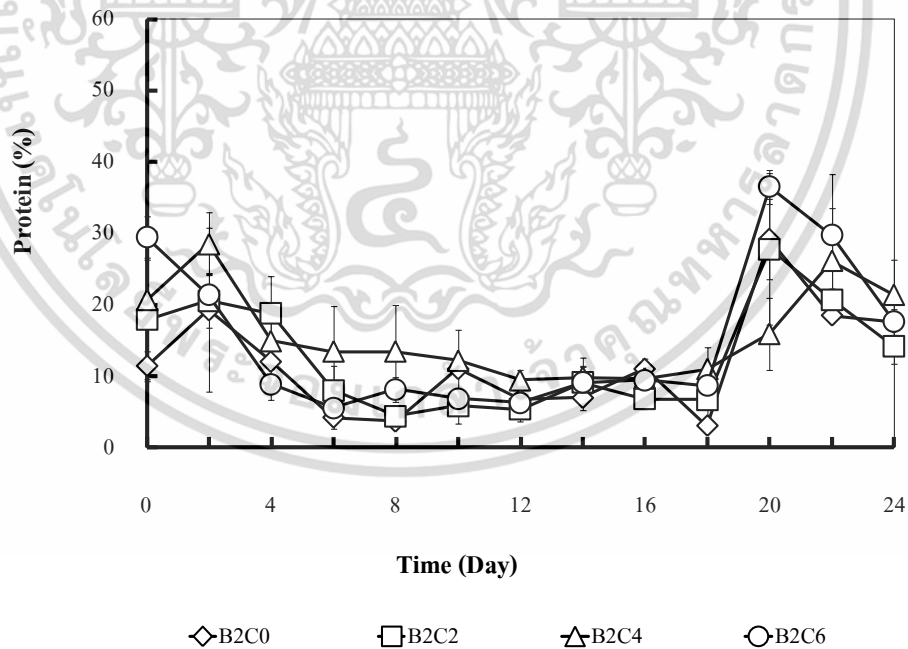


ภาพที่ 37 เปอร์เซ็นต์โปรตีนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนแปร์ cobalamin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

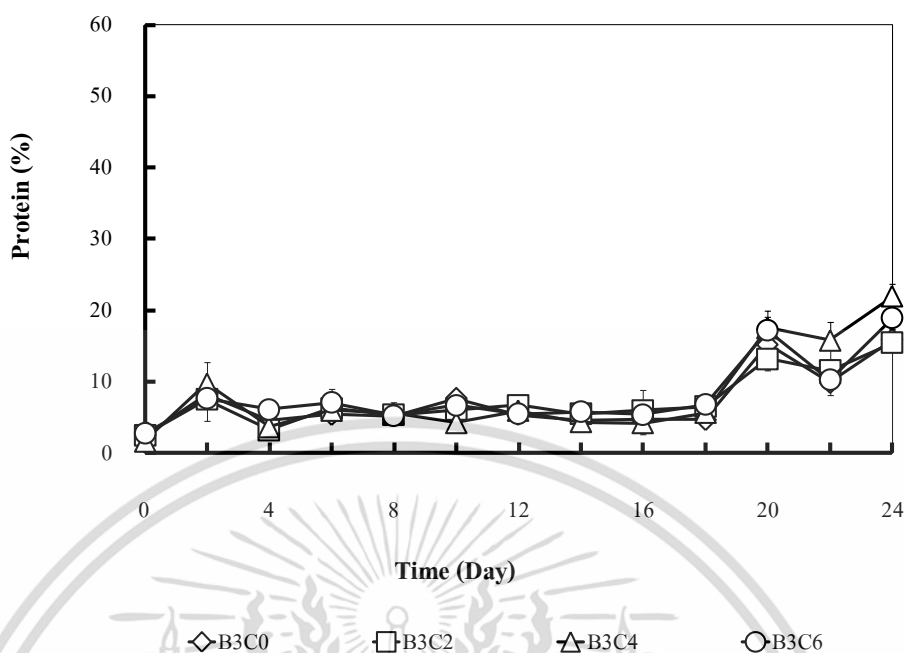


ภาพที่ 38 เปรอร์เซ็นต์โปรตีนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนแปลร cobalamin



ภาพที่ 39 เปรอร์เซ็นต์โปรตีนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร และฟีนแปลร cobalamin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 40 เปอร์เซ็นต์โปรตีนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin คงที่ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และผันแปร cobalamin

4.2.2.3 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B_2C_0 มีเปอร์เซ็นต์ไฮโดรคาร์บอน ผลผลิตไฮโดรคาร์บอน (กรัมต่อลิตร) และกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอน (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน) สูงที่สุด (ตารางที่ 8) โดยมีเปอร์เซ็นต์ไฮโดรคาร์บอน เท่ากับ 58.23 ± 7.04 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าชุดควบคุม 21.14 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B_1C_4 , B_2C_4 , B_2C_6 และ B_3C_0 และมีผลผลิตไฮโดรคาร์บอนอยู่ที่ 0.61 ± 0.19 กรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 0.24 กรัมต่อลิตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B_2C_4 และ B_3C_6 และมีกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอนเท่ากับ 231.19 ± 69.37 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน มากกว่าชุดควบคุม 152.38 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B_0C_0 , B_0C_4 , B_0C_6 , B_1C_0 , B_1C_2 , B_1C_4 , B_2C_4 , B_2C_6 , B_3C_0 , B_3C_2 และ B_2C_6 และสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B_2C_0 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด 0.41 ± 0.10 ต่อวัน (ตารางที่ 8) มากกว่าชุดควบคุม 0.20 โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B_1C_4 และ B_3C_6 โดยปริมาณไฮโดรคาร์บอนของสาหร่ายมีการผันแปรตลอดระยะเวลาการ

เพาะเลี้ยง และพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของวิตามิน จะทำให้สาหร่ายมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hakalin et al. (2014) ที่ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณไขมัน และการผลิตไขมันของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. โดยการเพิ่มวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ที่ความเข้มข้น 0 ถึง 0.63 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการเพาะเลี้ยงที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสร่วมด้วยพบว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารมีความเข้มข้นของวิตามินสูงสุดและต่ำสุดมีปริมาณไขมันต่างกัน 16 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนที่เกี่ยวกับการผลิตไขมันของสาหร่ายนั้นมีการอธิบายโดย Croft et al. (2006) ว่า biotin ซึ่งเป็นวิตามินที่ละลายน้ำ มีซัลเฟอร์เป็นส่วนประกอบ และจัดอยู่ในกลุ่มวิตามินบีรวม เป็นวิตามินที่ทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์ที่สำคัญคือ carboxylase และ acetyl coenzyme A (CoA) carboxylase ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมัน โดยสาหร่ายทุกชนิดต้องการวิตามินชนิดนี้ในการช่วยสังเคราะห์กรดไขมัน และผลจากการศึกษาสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ข้างต้นพบว่าปริมาณ biotin ที่ 2 ส่งผลให้สาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 มีเปอร์เซ็นต์ไฮโดรคาร์บอนและผลผลิตไฮโดรคาร์บอนสูงที่สุด และปริมาณ cobalamin ที่ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่งผลให้สาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 มีเปอร์เซ็นต์ไฮโดรคาร์บอน ผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอนสูงที่สุด โดยกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอนไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม ($p>0.05$) สอดคล้องกับ Tanabe et al. (2014) ที่ศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* BOT-22 ที่ได้รับวิตามินจากการ autotroph (สิ่งมีชีวิตที่เปลี่ยนอนินทรีย์สารเป็นอาหาร) และไม่ได้รับวิตามินบี 12 พบว่า สาหร่ายที่ไม่ได้รับการเสริมวิตามินบี 12 มีไขมันประมาณ 42 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดที่ได้รับวิตามิน (ภาพที่ 14) จากผลของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 พบว่ามีปริมาณสูงในทุกชุดการทดลอง จึงเหมาะแก่การนำมาเป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอดีเซล โดยการกำหนดคุณภาพของน้ำมันไบโอดีเซลนั้นอาจต้องพิจารณาจากองค์ประกอบของกรดไขมัน ในน้ำมัน และคุณสมบัติไบโอดีเซลของน้ำมันจากสาหร่ายชนิดนี้ เพื่อให้เกิดการใช้งานจริงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 8 การเจริญเติบโตจำเพาะและไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ผันแปรกับ cobalamin

ชุดการทดลอง	อัตราการเจริญเติบโต		ปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด	ผลผลิตไฮโดรคาร์บอน (กรัมต่อลิตร)	กำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอน (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน)
	จำเพาะ (ต่อวัน)	ชีวมวล (กรัมต่อลิตร)	(เปอร์เซ็นต์) (เปอร์เซ็นต์)		
B ₀ C ₀	0.21±0.01 ^{abc}	1.00±0.03 ^{ab}	37.09±1.42 ^{abc}	0.37±0.02 ^{ab}	78.81±4.95 ^b
B ₀ C ₂	0.22±0.01 ^{abc}	1.05±0.04 ^{ab}	43.53±3.11 ^{abc}	0.46±0.03 ^{ab}	96.81±5.92 ^{ab}
B ₀ C ₄	0.18±0.03 ^{abc}	0.91±0.09 ^{ab}	43.78±4.58 ^{abc}	0.39±0.05 ^{ab}	80.36±21.86 ^b
B ₀ C ₆	0.20±0.05 ^{abc}	0.95±0.07 ^{ab}	44.06±1.25 ^{abc}	0.42±0.04 ^{ab}	84.63±18.50 ^b
B ₁ C ₀	0.16±0.04 ^{abc}	1.19±0.07 ^{ab}	38.76±7.33 ^{abc}	0.47±0.11 ^{ab}	66.86±26.07 ^b
B ₁ C ₂	0.15±0.02 ^{abc}	1.09±0.18 ^{ab}	45.63±5.78 ^{abc}	0.47±0.03 ^{ab}	72.27±18.91 ^b
B ₁ C ₄	0.11±0.03 ^c	1.03±0.18 ^{ab}	26.76±4.97 ^{bc}	0.29±0.08 ^{ab}	28.32±8.92 ^b
B ₁ C ₆	0.40±0.11 ^{ab}	1.11±0.11 ^{ab}	41.42±4.23 ^{abc}	0.45±0.06 ^{ab}	163.14±49.44 ^{ab}
B ₂ C ₀	0.41±0.10 ^a	1.03±0.21 ^{ab}	58.23±7.04 ^a	0.61±0.19 ^a	231.19±69.37 ^a
B ₂ C ₂	0.26±0.05 ^{abc}	1.20±0.17 ^a	44.13±4.44 ^{abc}	0.52±0.06 ^{ab}	122.58±36.05 ^{ab}
B ₂ C ₄	0.34±0.08 ^{abc}	0.82±0.09 ^{ab}	24.99±4.63 ^{bc}	0.20±0.04 ^b	75.05±7.47 ^b
B ₂ C ₆	0.25±0.02 ^{abc}	1.18±0.08 ^{ab}	22.38±4.79 ^c	0.27±0.07 ^{ab}	53.84±10.20 ^b
B ₃ C ₀	0.18±0.03 ^{abc}	0.81±0.02 ^{ab}	33.35±4.82 ^{bc}	0.27±0.03 ^{ab}	56.63±11.09 ^b
B ₃ C ₂	0.19±0.02 ^{abc}	0.82±0.04 ^{ab}	42.17±1.67 ^{abc}	0.34±0.01 ^{ab}	81.36±11.32 ^b
B ₃ C ₄	0.24±0.04 ^{abc}	0.66±0.08 ^{ab}	40.22±1.91 ^{abc}	0.26±0.03 ^{ab}	99.2±19.55 ^{ab}
B ₃ C ₆	0.14±0.02 ^{bc}	0.63±0.06 ^b	35.94±3.44 ^{abc}	0.22±0.03 ^b	51.25±8.50 ^b
B×C	*	*	*	*	*

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$), * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$), ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

4.2.2.4 ระดับของวิตามิน biotin และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อกรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

สาหร่ายมีกรดไขมัน Palmitic (C16:1) สูงสุดที่ 30.28 เปอร์เซ็นต์ ในสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₄ (ตารางที่ 12) และมีค่าใกล้เคียงกันในสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₂ และ B₂C₆ (26.69 เปอร์เซ็นต์) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 30.05 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาเป็นกรดไขมัน Capric Acid (C10:0) ที่ 25.87 เปอร์เซ็นต์ และมีกรดไขมัน C10 – C18:2 ที่มีค่าซีเทนสูงกว่ามาตรฐานของ ASTM D975 (กำหนดค่าซีเทนต้องไม่ต่ำกว่า 40) เป็นองค์ประกอบอยู่ถึง 86.29 เปอร์เซ็นต์ ในสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₆ (ตารางที่ 12) และในส่วนของสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₆ มีปริมาณไขมัน (กรัมต่อลิตร) สูงที่สุดคือ 0.61±0.19 กรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 0.24 กรัมต่อลิตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₄ และ B₃C₆ พบว่ามีกรดไขมัน C10 – C18:2 เป็นองค์ประกอบอยู่ 73.32 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12) วิตามินที่ระดับ B₂C₆ จึงเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดในการนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล และเพื่อให้เกิดการใช้งานได้จริงอย่างมีประสิทธิภาพ จึงต้องมีการวิเคราะห์คุณสมบัติไบโอดีเซลในลำดับต่อไป

ชนิดของกรดไขมันที่พบในสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ที่ได้รับวิตามิน biotin และ cobalamin สอดคล้องกับงานวิจัยของ Endar et al. (2012) ที่ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อกรดไขมันของสาหร่าย *Skeletonema* sp. โดยทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ในอาหารเลี้ยงสาหร่าย 2 สูตร ที่ความเข้มข้น 0.1:20:0.1 และ 0.01:0.2:0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณกรดไขมันในสาหร่ายเพิ่มมากขึ้นในชุดการทดลองที่มีวิตามินเข้มข้นสูง เมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่ใช้วิตามินเข้มข้นต่ำ โดยกรดไขมันที่วิเคราะห์แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ SAFA (กรดไขมันอิ่มตัว), MUFA (กรดไขมันไม่อิ่มตัว) และ PUFA ผลของการทดลองนั้น พบว่า SAFA เป็นองค์ประกอบของกรดไขมันที่เด่นในทุกการเจริญเติบโต และกรดไขมันจำเป็นที่พบในการวิเคราะห์ทั้งหมดคือ MUFA ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ PUFA โดยพบกรดไขมันชนิด Palmitic acid และ Oleic acid มากที่สุด

และจากการศึกษาของ Moazami et al. (2011) ได้กล่าวไว้ว่าสาหร่ายที่มีปริมาณกรดไขมัน โอเลอิก (C18:0) ในเซลล์สูง (จากการศึกษานี้มีปริมาณสูงสุดที่ 11.57 เปอร์เซ็นต์ ในสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₄ และ สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₆ มีกรดไขมันชนิดนี้อยู่ที่ 6.69 เปอร์เซ็นต์) จะส่งผลทำให้ไบโอดีเซลมีความเหมาะสมในแง่เชื้อเพลิงสำหรับการคมนาคม เนื่องจากกรดไขมัน โอเลอิกจะช่วยเพิ่ม ความสามารถต่อต้านการทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (Oxidative stability) ซึ่งจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไบโอดีเซล นอกจากนี้ยังช่วยลดค่าจุดจุดตันไส้กรองที่อุณหภูมิต่ำ (Cold filter plugging point, CFPP) ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้งานไบโอดีเซลในพื้นที่ที่เป็นเขตหนาว ทำให้ไบโอดีเซลที่ผลิตจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถใช้งานในวงกว้างได้มากขึ้น ยิ่งกว่านั้นปริมาณและชนิดของกรดไขมันในสาหร่ายขนาดเล็กยังส่งผลต่อ จุดหลอมเหลว ค่าความหนืด ค่าซีเทน ซึ่งเป็นค่าที่ใช้บอกคุณภาพของไบโอดีเซลอีกด้วย ในเชิงพาณิชย์การผลิตไบโอดีเซลมีข้อระบุไว้ว่า กรดไขมันในสาหร่ายขนาดเล็กไม่ควรมีพันธะคู่ในสายเกินกว่า 4 ตำแหน่งเพื่อความเสถียรของน้ำมันดีเซล ดังนั้นหากทราบว่าสาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มหรือชนิดใดเป็นองค์ประกอบกรดไขมันหลักเป็นตัวใด จะสามารถทำให้ผู้ผลิตผลิตไบโอดีเซลได้ง่ายมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ในวงกว้าง

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 เปอร์เซนต์กรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 0

ชนิดกรดไขมัน	วันที่ 0
Butyric Acid	C4:0 0.26
Caproic Acid	C6:0 1.64
Caprylic Acid	C8:0 4.37
Capric Acid	C10:0 7.46
Undecanoic Acid	C11:0 2.67
Lauric Acid	C12:0 3.30
Tridecanoic Acid	C13:0 4.12
Myristic Acid	C14:0 0.76
Myristoleic Acid	C14:1 0.56
Pentadecanoic Acid	C15:0 1.03
cis-10-Pentadecenoic Acid	C15:1 0.23
Palmitic Acid	C16:0 20.82
Palmitoleic Acid	C16:1 3.31
Heptadecanoic Acid	C17:0 4.05
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1 5.22
Stearic Acid	C18:0 1.95
Elaidic Acid	C18:1n9t 3.21
Oleic Acid	C18:1n9c 2.73
Linolelaidic Acid	C18:2n6t 6.37
Linoleic Acid	C18:2n6c 14.48
Linolenic Acid	C18:3n3 0.14
Y-Linolenic Acid	C18:3n6 2.57
Arachidic Acid	C20:0 7.22
cis-11-Eicosenoic Acid	C20:1 0.49
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2 0.17
cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid+Erucic Acid	C20:3n3 -
cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	C20:3n6 -
Arachidonic Acid	C20:4n6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 เเปอร์เซ็นต์กรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 0 (ต่อ)

ชนิดกรดไขมัน		วันที่ 0
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid	C:20:5n3	-
Heneicosanoic Acid	C21:0	0.06
Behenic Acid	C22:0	-
Erucic Acid	C22:1n9	0.08
cis-13,16-Docosadienoic Acid	C22:2	0.34
cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid	C22:6n3	-
Tricosanoic Acid	C23:0	0.12
Lignoceric Acid	C24:0	0.16
Nervonic Acid	C24:1	0.14
Saturated fatty acid		59.96
Unsaturated fatty acid		40.04
Monounsaturated fatty acid		15.97
Polyunsaturated fatty acid		24.07
Total fatty acid		100.00
C16-C18		64.84
C10:0-C18:2		82.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 เปอร์เซนต์กรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_0C_0 , B_0C_2 , B_0C_4 และ B_0C_6

ชนิดกรดไขมัน	ชุดการทดลอง			
	B_0C_0	B_0C_2	B_0C_4	B_0C_6
C4:0	0.45	2.05	1.43	1.36
C6:0	1.07	1.73	2.95	2.49
C8:0	3.74	9.74	7.50	6.90
C10:0	13.06	25.87	22.43	17.81
C11:0	10.99	12.24	12.09	9.05
C12:0	5.49	3.63	8.63	10.49
C13:0	9.30	4.29	5.23	6.99
C14:0	1.48	0.41	1.56	1.18
C14:1	0.85	0.27	0.63	0.96
C15:0	0.93	0.24	1.09	1.26
C15:1	0.89	0.00	1.12	0.69
C16:0	12.61	11.18	11.25	10.91
C16:1	2.33	1.55	2.11	2.13
C17:0	3.40	2.37	2.66	2.83
C17:1	3.99	3.58	3.61	3.59
C18:0	1.34	0.68	0.60	0.69
C18:1n9t	2.23	2.02	1.55	1.71
C18:1n9c	5.77	1.24	3.43	4.08
C18:2n6t	0.16	3.01	6.60	0.29
C18:2n6c	10.11	8.16	0.96	7.84
C18:3n3	-	-	-	-
C18:3n6	1.87	1.51	2.56	1.25
C20:0	5.53	3.71	-	3.55
C20:1	0.34	0.25	-	0.21
C20:2	0.60	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 เปอร์เซนต์กรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_0C_0 , B_0C_2 , B_0C_4 และ B_0C_6 (ต่อ)

ชนิดกรดไขมัน	ชุดการทดลอง			
	B_0C_0	B_0C_2	B_0C_4	B_0C_6
C20:3n3	-	-	-	-
C20:3n6	-	-	-	-
C20:4n6	0.45	0.12	-	-
C:20:5n3	-	-	-	-
C21:0	-	-	-	-
C22:0	-	-	-	-
C22:1n9	-	-	-	-
C22:2	0.25	-	-	0.58
C22:6n3	-	-	-	-
C23:0	0.31	0.13	0.00	1.15
C24:0	0.45	-	-	-
C24:1	-	-	-	-
SFA	70.16	78.28	77.42	76.67
UFA	29.84	21.72	22.58	23.33
MUFA	16.40	8.92	12.47	13.37
PUFA	13.44	12.80	10.11	9.96
Total fatty acid	100.00	100.00	100.00	100.00
C16-C18	43.81	35.30	35.33	35.32
C10:0-C18:2	84.94	80.74	85.57	82.51

SFA= Saturated fatty acid, UFA= Unsaturated fatty acid, MUFA= Monounsaturated fatty acid,
PUFA=Polyunsaturated fatty acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 เปอร์เซนต์กรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_1C_0 , B_1C_2 , B_1C_4 และ B_1C_6

ชนิดกรดไขมัน	ชุดการทดลอง			
	B_1C_0	B_1C_2	B_1C_4	B_1C_6
C4:0	0.38	0.18	0.20	1.04
C6:0	1.84	2.81	2.13	2.45
C8:0	6.13	7.85	8.39	7.14
C10:0	4.48	7.64	8.97	5.13
C11:0	1.17	0.95	3.05	3.32
C12:0	6.07	8.43	7.82	7.29
C13:0	6.63	2.02	1.80	3.28
C14:0	1.93	2.11	1.15	0.61
C14:1	0.84	0.98	0.00	0.00
C15:0	0.94	1.08	0.81	1.24
C15:1	0.36	0.15	0.18	0.46
C16:0	16.90	16.28	16.06	17.90
C16:1	2.70	2.78	2.78	2.97
C17:0	3.26	2.45	2.94	3.44
C17:1	6.30	6.06	6.11	3.60
C18:0	1.38	0.45	0.36	1.30
C18:1n9t	3.44	4.20	3.99	1.91
C18:1n9c	8.61	-	-	2.65
C18:2n6t	0.21	8.33	8.32	6.82
C18:2n6c	13.76	12.96	13.59	13.48
C18:3n3	0.15	0.10	6.88	0.00
C18:3n6	3.19	2.84	2.72	3.33
C20:0	7.73	7.50	-	8.77
C20:1	0.75	0.63	0.51	0.76
C20:2	0.11	0.15	0.17	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 เเปอร์เซ็นต์กรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_1C_0 , B_1C_2 , B_1C_4 และ B_1C_6 (ต่อ)

ชนิดกรดไขมัน	ชุดการทดลอง			
	B_1C_0	B_1C_2	B_1C_4	B_1C_6
C20:3n3	-	0.07	0.04	-
C20:3n6	0.05	0.04	0.08	-
C20:4n6	-	0.02	0.03	-
C:20:5n3	-	-	-	-
C21:0	0.15	0.17	0.25	0.31
C22:0	0.25	0.17	0.11	0.43
C22:1n9	0.12	0.18	0.27	0.38
C22:2	-	0.01	0.02	-
C22:6n3	0.05	0.12	0.07	-
C23:0	0.07	0.19	0.15	-
C24:0	0.04	0.12	0.08	-
C24:1	-	-	-	-
SFA	59.36	60.39	54.25	63.66
UFA	40.64	39.61	45.75	36.34
MUFA	23.12	14.97	13.83	12.71
PUFA	17.52	24.64	31.91	23.63
Total fatty acid	100.00	100.00	100.00	100.00
C16-C18	59.90	56.44	63.74	57.39
C10:0-C18:2	78.97	76.86	77.92	75.39

SFA= Saturated fatty acid, UFA= Unsaturated fatty acid, MUFA= Monounsaturated fatty acid,
PUFA=Polyunsaturated fatty acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 เปอร์เซนต์กรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_2C_0 , B_2C_2 , B_2C_4 และ B_2C_6

ชนิดกรดไขมัน	ชุดการทดลอง			
	B_2C_0	B_2C_2	B_2C_4	B_2C_6
C4:0	0.38	0.47	0.71	0.42
C6:0	0.95	1.19	2.27	1.55
C8:0	2.20	1.79	5.92	3.27
C10:0	0.63	0.58	-	0.89
C11:0	1.30	1.04	1.03	1.10
C12:0	3.40	5.38	7.73	4.89
C13:0	-	0.67	-	-
C14:0	0.94	1.81	1.36	2.21
C14:1	0.54	0.40	0.55	0.72
C15:0	0.07	0.54	-	0.33
C15:1	-	-	-	-
C16:0	23.19	26.69	30.28	30.05
C16:1	3.63	4.20	1.67	3.24
C17:0	9.81	10.13	5.95	6.15
C17:1	0.44	0.44	-	-
C18:0	5.00	2.59	6.15	13.75
C18:1n9t	-	3.13	-	-
C18:1n9c	6.69	5.90	11.57	11.31
C18:2n6t	-	-	-	-
C18:2n6c	17.67	17.95	15.17	11.50
C18:3n3	8.87	10.03	0.40	-
C18:3n6	3.71	3.16	2.55	2.24
C20:0	8.87	-	6.66	4.82
C20:1	0.60	0.88	-	0.72
C20:2	0.33	0.19	-	0.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 เปอร์เซนต์กรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_2C_0 , B_2C_2 , B_2C_4 และ B_2C_6 (ต่อ)

ชนิดกรดไขมัน	ชุดการทดลอง			
	B_2C_0	B_2C_2	B_2C_4	B_2C_6
C20:3n3	-	-	-	-
C20:3n6	0.12	0.13	-	0.09
C20:4n6	-	-	-	-
C:20:5n3	-	-	-	-
C21:0	-	0.15	-	-
C22:0	0.11	0.06	-	-
C22:1n9	-	0.07	-	0.12
C22:2	0.11	0.18	-	0.19
C22:6n3	0.15	-	-	-
C23:0	0.14	0.04	-	0.09
C24:0	0.11	0.19	-	0.24
C24:1	-	-	-	-
SFA	57.12	53.33	68.07	69.75
UFA	42.88	46.67	31.93	30.25
MUFA	11.91	15.02	13.80	16.12
PUFA	30.96	31.64	18.13	14.14
Total fatty acid	100.00	100.00	100.00	100.00
C16-C18	79.02	84.23	73.75	78.24
C10:0-C18:2	73.32	81.46	81.48	86.13

SFA= Saturated fatty acid, UFA= Unsaturated fatty acid, MUFA= Monounsaturated fatty acid,

PUFA=Polyunsaturated fatty acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 เปอร์เซนต์กรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_3C_0 , B_3C_2 , B_3C_4 และ B_3C_6

ชนิดกรดไขมัน	ชุดการทดลอง			
	B_3C_0	B_3C_2	B_3C_4	B_3C_6
C4:0	0.17	-	-	-
C6:0	0.41	-	-	0.42
C8:0	1.65	0.87	0.65	1.32
C10:0	2.57	2.83	1.94	5.23
C11:0	0.53	0.50	1.38	2.77
C12:0	2.90	15.72	8.26	4.22
C13:0	7.84	-	3.62	7.65
C14:0	0.88	0.29	0.31	0.24
C14:1	0.70	0.48	0.73	0.40
C15:0	1.15	0.90	1.17	0.71
C15:1	0.14	0.07	0.24	0.23
C16:0	19.38	17.86	18.80	17.44
C16:1	3.38	3.23	3.45	3.16
C17:0	4.00	4.57	5.44	4.55
C17:1	7.90	7.19	7.53	6.99
C18:0	0.48	1.13	1.19	1.09
C18:1n9t	4.39	4.34	4.41	4.25
C18:1n9c	10.00	9.55	9.77	9.45
C18:2n6t	-	-	-	-
C18:2n6c	17.28	17.63	17.84	17.03
C18:3n3	8.67	-	-	-
C18:3n6	3.94	3.50	3.55	3.62
C20:0	-	8.70	8.96	8.43
C20:1	0.61	0.51	0.53	0.56
C20:2	0.09	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 เปอร์เซนต์กรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 24 ในอาหารสูตร B_3C_0 , B_3C_2 , B_3C_4 และ B_3C_6 (ต่อ)

ชนิดกรดไขมัน	ชุดการทดลอง			
	B_3C_0	B_3C_2	B_3C_4	B_3C_6
C20:3n3	0.04	-	-	-
C20:3n6	-	-	-	-
C20:4n6	-	-	-	-
C:20:5n3	0.06	-	0.15	0.09
C21:0	0.10	-	-	-
C22:0	0.11	-	-	-
C22:1n9	0.00	-	-	-
C22:2	0.24	0.12	0.10	0.17
C22:6n3	-	-	-	-
C23:0	0.04	-	-	-
C24:0	0.35	-	-	-
C24:1	-	-	-	-
SFA	42.54	53.37	51.71	54.06
UFA	57.46	46.63	48.29	45.94
MUFA	27.13	25.38	26.66	25.03
PUFA	30.33	21.25	21.64	20.91
Total fatty acid	100.00	100.00	100.00	100.00
C16-C18	79.41	69.00	71.98	67.57
C10:0-C18:2	83.51	86.29	86.07	85.41

SFA= Saturated fatty acid, UFA= Unsaturated fatty acid, MUFA= Monounsaturated fatty acid,

PUFA=Polyunsaturated fatty acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 คุณสมบัติไบโอดีเซลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติไบโอดีเซลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 (ตารางที่ 14) พบว่าค่า Saponification value (SV) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (ความยาวของพันธะ) ของกรดไขมันทั้งหมดที่มีอยู่ มีค่าอยู่ที่ 205.51 – 264.18 และค่า Iodine value (IV) คือค่าที่วัดผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมดในไบโอดีเซล ซึ่งสัมพันธ์กับค่า oxidative stability หากค่า IV สูงก็จะมีค่า oxidative ที่คงตัวมากกว่าค่า IV ต่ำ (Knothe, 2009) โดยค่า IV ตามมาตรฐานที่ยุโรปกำหนดไว้คือไม่เกิน 120 กรัม I₂ ต่อ 100 กรัม โดยค่า IV ของ *B. braunii* KMITL 2 ของทุกชุดการทดลองอยู่ที่ 30.19 – 87.49 กรัม I₂ ต่อ 100 กรัม ใกล้เคียงกับค่า IV ของสาหร่ายหลายชนิดที่มีรายงานไว้ในงานวิจัยของ Francisco et al. (2010)

ค่า Cetane number (CN) ซึ่งเป็นค่าที่สำคัญที่สุด โดยบ่งบอกถึงคุณสมบัติการจุดติด การเผาไหม้ของน้ำมัน ค่า CN ที่สูงแสดงถึงคุณสมบัติการจุดติดที่ดี ทำให้เครื่องยนต์มีประสิทธิภาพสูงขึ้น โดยค่า CN ของน้ำมันไบโอดีเซลที่กำหนดไว้ตามมาตรฐานคือต้องมีค่าไม่ต่ำกว่า 47 หรือ 51 (ASTM D6751, 2012; Fuel Standard (Biodiesel) Determination, 2003) ซึ่งค่า CN ของ *B. braunii* KMITL 2 ของทุกชุดการทดลองมีค่ามากกว่า 47 แสดงให้เห็นว่าไขมันจากสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงโดยใช้วิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin มีความเหมาะสมสำหรับเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล

ค่า Degree of unsaturation (DU) เป็นค่าที่บอกความคงตัว หรือระยะเวลาที่สามารถเก็บน้ำมันไว้ได้ โดยค่า DU ที่ต่ำ แสดงถึงไบโอดีเซลนั้นมีค่าความคงตัวที่ดี เก็บรักษาได้นานกว่าค่า DU ที่สูง โดยค่า DU ของ *B. braunii* KMITL 2 ของทุกชุดการทดลองอยู่ที่ 32.69 – 87.78 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าค่า DU ของสาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 132.08 เปอร์เซ็นต์ (Wu and Miao, 2014) แสดงให้เห็นว่าไขมันจากสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงโดยใช้วิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin มีคุณสมบัติความคงตัวที่ดีกว่า

ค่า long chain saturated factor (LCSF) คือค่ากรดไขมันอิ่มตัวสายยาว โดยค่า LCSF ของ *B. braunii* KMITL 2 ทุกชุดการทดลองอยู่ที่ 1.42 – 15.17 เปอร์เซ็นต์ บางชุดการทดลองมีค่าสูงกว่าค่า LCSF ของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* และ *Chlorella pyrenoidosa* ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 3.01 และ 5.73 เปอร์เซ็นต์ (Wu and Miao, 2014) ซึ่งค่า LCSF ที่สูงกว่า แสดงถึงคุณสมบัติไบโอดีเซลที่ลดลงเมื่ออุณหภูมิต่ำ (Wu et al., 2005) และเพิ่มการตกตะกอนและอุดตันไส้กรองเครื่องยนต์ (Mittelbach and Remschmidt, 2004)

ค่า Cold filter plugging point (CFPP) เป็นค่าที่บอกความสามารถในการไหลของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิต่ำ ถ้าค่า CFPP สูง หมายถึงมีคุณสมบัติการไหลที่ไม่ดีที่อุณหภูมิต่ำ โดยค่า

CFPP ของ *B. braunii* KMITL 2 ทุกชุดการทดลองอยู่ที่ -12.00 – 31.19 องศาเซลเซียส โดยสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₁C₂ มีค่า CFPP อยู่ที่ 14.45 องศาเซลเซียส ใกล้เคียงกับสาหร่าย *Amphora* sp. ซึ่งมีค่า CFPP เท่ากับ 12.41 องศาเซลเซียส (Talebi et al. 2013)

ตารางที่ 14 คุณสมบัติไบโอดีเซลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน biotin ผันแปรกับ cobalamin

ชุดการทดลอง	SV (mg KOH g ⁻¹)	IV (g I ₂ 100 g ⁻¹)	CN	DU (wt.%)	LCSF (wt. %)	CFPP (°C)
Day 0	221.25	58.05	56.16	64.11	10.59	16.79
B ₀ C ₀	236.57	40.03	59.16	43.29	8.35	9.77
B ₀ C ₂	264.18	31.55	58.91	34.52	5.17	-0.23
B ₀ C ₄	263.50	31.00	59.11	32.69	1.42	-12.00
B ₀ C ₆	254.14	30.19	60.08	33.29	4.99	-0.80
B ₁ C ₀	223.56	53.54	57.06	58.16	10.57	16.72
B ₁ C ₂	230.42	58.42	55.09	64.25	9.84	14.45
B ₁ C ₄	233.17	75.76	50.39	77.66	2.10	-9.87
B ₁ C ₆	229.76	54.96	56.04	59.97	11.86	20.78
B ₂ C ₀	205.51	74.85	53.77	73.84	14.09	27.79
B ₂ C ₂	210.02	79.47	52.02	78.31	4.44	-2.53
B ₂ C ₄	219.38	45.95	59.46	50.05	12.76	23.62
B ₂ C ₆	211.78	40.51	61.74	44.39	15.17	31.19
B ₃ C ₀	209.49	87.49	50.04	87.78	3.05	-6.89
B ₃ C ₂	209.52	62.10	56.51	67.88	11.05	18.25
B ₃ C ₄	206.09	64.36	56.37	69.93	11.44	19.45
B ₃ C ₆	211.82	61.51	56.38	66.85	10.71	17.19

SV – saponification, IV – iodine value, CN – cetane number, DU – degree of unsaturation, LCFC – long chain saturated factor and CFPP – cold filter plugging point.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ต้นทุนต่อลิตรของน้ำมันจากสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 และระยะเวลาของการผลิตเพื่อแสดงความคุ้มค่าทางพาณิชย์

จากผลการทดลองที่ 2 พบว่า สาหร่ายที่ให้ผลผลิตไฮโดรคาร์บอน (กรัมต่อลิตร) สูงที่สุดคือ สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₀ เป็นระยะเวลา 24 วัน โดยให้ผลผลิตไฮโดรคาร์บอนอยู่ที่ 0.61±0.19 กรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 0.24 กรัมต่อลิตร โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₄ และ B₃C₆ สาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₀ จึงเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดในการนำมาผลิตในทางพาณิชย์เป็นน้ำมันไบโอดีเซล

ตารางที่ 15 ราคาต้นทุนสูตรอาหารที่มีวิตามิน B₂C₀ ต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 ลิตร

สารเคมี	ราคา (บาท ต่อ 1000 กรัม)*	ปริมาณในสูตร (กรัมต่อลิตร)	ราคา (บาทต่อลิตร)
โพแทสเซียมไนเตรท (KNO ₃)	720	1.2500	0.90
โพแทสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (KH ₂ PO ₄)	430	1.2500	0.54
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	560	1.0000	0.56
แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl ₂)	600	0.0840	0.05
กรดบอริก (H ₃ BO ₃)	600	0.0140	0.01
เฟอร์รัสซัลเฟต 7-ไฮเดรต (FeSO ₄ ·7H ₂ O)	600	0.0500	0.03
ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต (ZnSO ₄ ·7H ₂ O)	640	0.0880	0.06
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต (MnCl ₂ ·4H ₂ O)	1680	0.0140	0.02
โมลิบดีนัมออกไซด์ (MoO ₃)	14800	0.0070	0.10
คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	630	0.0160	0.01
โคบอลต์ไนเตรท 6-ไฮเดรต [Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O]	8400	0.0050	0.04
อีดีทีเอ (EDTA)	1500	0.5000	0.75
ไบโอติน (vitamin B ₇)	3210	0.0020	0.01
ไทอามีน (vitamin B ₁)	49200	0.1000	4.92
โคบาลามีน (vitamin B ₁₂)	98400	0.0000	0.00
รวม			8.00

* อ้างอิงราคาจากห้องปฏิบัติการสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

จากการคำนวณราคาต้นทุนสูตรอาหารชุดควบคุมราคา 3.07 บาทต่อลิตร ส่วนอาหารที่มีวิตามิน B₁T₁₀₀C₀ ราคาอยู่ที่ 8.00 บาทต่อลิตร (ตารางที่ 15) และเมื่อนำมาคำนวณในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมัน 1 ลิตร จะใช้ต้นทุนค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับราคาน้ำมันดีเซลในปัจจุบัน แต่เมื่อดูแนวโน้มของราคาน้ำมัน พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 1) และเมื่อถึงจุดคุ้มทุน การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายจะเป็นทางเลือกหลักในการเป็นพลังงานทดแทนเชื้อเพลิงอื่น ๆ ทั้งในด้านของต้นทุนและระยะเวลาการผลิตที่สั้น

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินรวมกัน 3 ชนิดคือ biotin, thiamine และ cobalamin เพื่อสกัดไขมันจากสาหร่าย โดยเซลล์สาหร่ายหลังจากที่ถูกสกัดไขมันแล้วสามารถนำไปลดต้นทุนได้โดยไปทำประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น นำไปเป็นตัวดูดซับทางชีวภาพในโรงงานอุตสาหกรรม นำเซลล์ไปหมักทำก๊าซชีวภาพประเภทไบโอเอทานอล และไบโอมีเทน หรือผสมทำเป็นอาหารสัตว์น้ำ (Wang et al., 2008) เนื่องจากมีคุณค่าทางโปรตีนใกล้เคียงกับวัตถุดิบหลาย ๆ ชนิด (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 เปรียบเทียบปริมาณ โปรตีนของ *B. braunii* KMITL 2 กับแหล่งอาหารประเภทอื่น ๆ

แหล่งอาหาร	เปอร์เซ็นต์โปรตีน
เนื้อวัว ^a	18-20
ไข่ ^a	10-25
ข้าวสาลี ^a	6-10
ข้าวเจ้า ^a	7
ถั่วเหลือง ^a	33-35
ปลาทู ปลาอินทรี ^a	20
กลอเรลลา ^a	40-56
<i>Spirulina</i> ^a	69.5-71
<i>B. braunii</i> KMITL 2 ^b	11.70-21.94

^aเจียมจิตต์ (2531), ^bผู้วิจัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองที่ 1 ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินไทเอมีน (T) ต่างกัน 4 ระดับ คือ 0 100 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่า สาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 ที่ได้รับวิตามิน T₂₀₀ (thiamine เข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อลิตร) มีผลผลิตชีวมวลสูงที่สุดคือ 1.14±0.04 กรัมต่อลิตร (มากกว่าชุดควบคุม 0.26 กรัมต่อลิตร) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวิตามิน T₁₀₀ ซึ่งมีชีวมวล 1.10±0.05 กรัมต่อลิตร ดังนั้นสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 ที่ได้รับวิตามิน 100 ไมโครกรัมต่อลิตร จึงเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 1 เพื่อนำมาเป็นระดับคงที่ในการทดลองที่ 2 เนื่องจากใช้ปริมาณของวิตามิน thiamine น้อยกว่าที่ 200 ไมโครกรัมต่อลิตร แต่ให้ผลการเจริญเติบโตไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และในการทดลองที่ 2 ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ในอาหาร *Chlorella medium* ที่มีความเข้มข้นของวิตามินไบโอติน (B) และโคบาลามิน (C) พันแปรกัน โดยจัดชุดการทดลองแบบ factorial in crd 4×4 โดยมีความเข้มข้นของ biotin เท่ากับ 0, 1, 2 และ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของ cobalamin เท่ากับ 0, 2, 4 และ 6 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (เวลา 24 วัน) พบว่าสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₂ มีชีวมวลสูงที่สุด 1.19±0.22 กรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 0.19 กรัมต่อลิตร โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p>0.05$) และสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₁C₆ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดคือ 329.49±29.11 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 114.24 กรัมต่อลิตร โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p>0.05$) และสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₃C₆ มีเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดคือ 38.60±3.52 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าชุดควบคุม 16.99 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p>0.05$) และสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₆ มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือ 212.05±41.91 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 94.66 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p>0.05$) และสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₃C₄ มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงที่สุดคือ 21.95±1.84 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าชุดควบคุม 10.25 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p>0.05$) และสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B₂C₀ มีเปอร์เซ็นต์ไฮโดรคาร์บอน ผลผลิตไฮโดรคาร์บอน (กรัมต่อลิตร) และกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอน (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน) สูงที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ไฮโดรคาร์บอน เท่ากับ 58.23±7.04 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าชุดควบคุม 21.14 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับสาหร่ายที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้รับวิตามิน B_1C_4 , B_2C_4 , B_2C_6 และ B_3C_0 และมีผลผลิตไฮโดรคาร์บอนอยู่ที่ 0.61 ± 0.19 กรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม 0.24 กรัมต่อลิตร (นำมาคำนวณต้นทุนสูตรอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 ลิตร มีราคาอยู่ที่ 8.00 บาท) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B_2C_4 และ B_3C_6 และมีกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอนเท่ากับ 231.19 ± 69.37 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อวัน มากกว่าชุดควบคุม 152.38 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน B_0C_0 , B_0C_4 , B_0C_6 , B_1C_0 , B_1C_2 , B_1C_4 , B_2C_4 , B_2C_6 , B_3C_0 , B_3C_2 และ B_2C_6 และจากการวิเคราะห์ห่อองค์ประกอบกรดไขมันพบว่า มีกรดไขมัน (C10 – C18:2) ที่มีค่าซีเทนสูงกว่ามาตรฐานของ ASTM D975 (กำหนดค่าซีเทนไม่ต่ำกว่า 40) เป็นองค์ประกอบอยู่ 73.32 เปอร์เซ็นต์ การใส่วิตามินไบโอติน, ไทอามิน และ โคบาลามิน ในสูตรอาหารที่ความเข้มข้น 2 , 100 และ 0 ไมโครกรัมต่อลิตร มีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณไฮโดรคาร์บอน ($p = 0.000$), ผลผลิตไฮโดรคาร์บอน ($p = 0.000$) และกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอน ($p = 0.000$) การใส่วิตามิน B:T:C ที่ระดับ $2:100:0$ ไมโครกรัมต่อลิตรเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดในด้านของการให้ผลผลิตไฮโดรคาร์บอนมากที่สุด จากการเพาะเลี้ยง 24 วัน และมีคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซลตามมาตรฐานสากล

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาในด้านการนำเซลล์สาหร่ายที่เหลือจากการสกัดไขมันไปศึกษาด้านอื่น ๆ เช่น ตรวจสอบสารสีเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ ตรวจสอบคุณค่าทางอาหารเพื่อนำไปผสมเป็นอาหารสัตว์ หรือนำไปหมักเพื่อเป็นพลังงานชนิดอื่น เช่น ไบโอมีเทน ไบโอดีเซล เพราะสิ่งต่าง ๆ เหล่านี้สามารถนำมาลดต้นทุนในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายได้

บรรณานุกรม

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2558. แผนพัฒนาพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือก พ.ศ. 2558 – 2579

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2562. สถานการณ์พลังงานของประเทศไทย มกราคม 2562

ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2563. สถานการณ์การใช้น้ำมันและไฟฟ้าของไทย ในช่วง 11 เดือนแรกของปี 2562

เจียมจิตต์ บุญสม. 2531. ความลับของสาหร่ายเกลียวทอง. ผลของการรักษาโรคที่นายแพทย์ ชาวญี่ปุ่นค้นพบ. งานแปลอันดับที่ 105 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

Antoni, D., V. V. Zverlov and W. H. Schwarz. 2007. “Biofuels from microbes.” **Appl Microbiol Biotechnol.** 77:23–35.

Ashokkumar, V., E. Agila, P. Sivakumar, Z. Salam, R. Rengasamy and F.N. Ani. 2014. “Optimization and characterization of biodiesel production from microalgae *Botryococcus* grown at semi-continuous system.” **Energy Conversion and Management.** 88:936–946.

Asif, M. and T. Muneer. 2007. Energy supply, its demand and security issues for developed and emerging economies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 11:1388-1413.

Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. “A rapid method for total lipid extraction and purification.” **Can J Biochem Physiol.** 37:911-917.

Bois, D.M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. “Colorimetric method for determination of sugar and related substaces.” **Analy Chem.** 28:350-356.

Brown, A.C. and B.A. Knights. 1969. “Hydrocarbon content and its relationship to physiological state in the green alga *Botryococcus braunii*.” **Phytochemistry.** 8: 543-547.

Carlucci, A. F., S. B. Silbernagel and P. M. McNally. 1969. “The influence of temperature and solar radiation on persistence of vitamin B12, thiamine, and biotin in seawater.” **J. Phycol.** 5:302–305.

Carlucci, A. F. and S. B. Silbernagel. 1969. “Effect of vitamin concentra-tion on growth and development of vitamin-requiring algae.” **J. Phycol.** 5:64–67.

Chisti, Y. 2007. “Biodiesel from microalgae.” **Biotechnology Advances.** 25:294-306.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Chisti, Y. 2008. "Biodiesel from microalgae beats bioethanol." **Biotechnology**. Vol.26 No.3
- Croft, M. T., A. D. Lawrence, E. Raux-Deery, M. J. Warren and A. G. Smith. 2005. "Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria." **Nature**. Vol.438.
- Croft, M. T., M. J. Warren and A. G. Smith. 2006. Algae need their vitamins. *Eukaryot Cell*. 5:1175–1183
- Desouky, S.A., M. A. Usama and W. A. Ahmed. 2011. "Effect of vitamins on growth criteria, photosynthetic pigments and some metabolic products of cobalte chloride stressed *Scenedesmus obliquus* cultures." **Auces**. Vol.14 No.2.
- Desouky, S.A. 2011b. "Response of Vitamins on the Growth Criteria and Some Metabolic Activities of Stressed *Scenedesums Obliquus* Cultures." **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**. 5(6): 89-99.
- Endar, V., S. J. Hutabarat and B. Prayitno. 2012. "Effect of using guillard and walne technical culture media on growth and fatty acid profiles of microalgae *Skeletonema* sp. in mass culture." **Jounal of Coastal Development**. 16: 50-56.
- Francisco, E.C., D.B. Neves, E.J. Lopes and T.T. Franco. 2010. "Microalgae as feedstock for biodiesel production: carbon dioxide sequestration, lipid production and biofuel quality." **J. Chem Technol Biotechnol**. 85: 395–403.
- Gobler, C. J., C. Norman, C. Panzeca, G. T. Taylor and S. A. Sañudo-Wilhelmy. 2007. "Effect of B-vitamins (B1, B12) and inorganic nutrients on algal bloom dynamics in a coastal ecosystem." **Aquatic Microbial Ecology**. Vol.49:181-194.
- Göksan, T., I. Ak and C. Kılıç. 2011. "Growth characteristics of the alga *Haematococcus pluvialis* affected by nitrogen source, vitamin, light and aeration." **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. 11: 377-383.
- Grant, M. AA., E. Kazamia, P. Cicuta and A. G. Smith. 2014. "Direct exchange of vitamin B12 is demonstrated by modelling the growth dynamics of algal–bacterial co-cultures." **The ISME Journal**. 8:1418–1427.
- Guiry, M.D. and G.M. Guiry. 2010. "Algae base world-wild electronic publication." National University of Ireland, Galway. [online]. Available: <http://www.algaebase.org>, March 12, 2010.

- Hakalin, N. L. S., A. P. Paz, D. A. G. Aranda and L. M. P. Moraes. 2014. "Enhancement of cell growth and lipid content of a freshwater microalga *Scenedesmus sp.* by optimizing nitrogen, phosphorus and vitamin concentrations for biodiesel production." **Natural Science**. 6:1044-1054.
- Helliwell, K. E., G. L. Wheeler, K. C. Leptos, R. E. Goldstein and A. G. Smith. 2011. "Insights into the evolution of vitamin B12 auxotrophy from sequenced algal genomes." **Molecular Biology and Evolution**. 28(10):21-33.
- Hillen, L.W., G. Pollard, L.W. Wake and N. White. 1982. "Hydrocracking of the oils of *Botryococcus braunii* to transport fuels." **Biotechnol. Bioeng.** 24:193-205.
- Huang, G. H., F. Chen, D. Wei, X. W. Zhang and G. Chen. 2010. "Biodiesel production by microalgal biotechnology." **Applied Energy**. 87:38-46
- Knights, B.A., A.C. Brown, E. Conway and B.S. Middleditch. 1970. "Hydrocarbons from the green from of the freshwater alga *Botryococcus braunii*." **Phytochemistry**. 9: 1317-1324.
- Kitazato, H., S. Asaoka and H. Iwamoto. 1989. "Catalytic cracking of hydrocarbons from microalgae." **Sekiyu Gakkaishi**. 32: 28-34.
- Knothe, G. 2009. "Improving biodiesel fuel properties by modifying fatty ester composition." **The Royal Society of Chemistry**. Energy and Environmental Science. 2:759-766.
- Lewin, R. A. 1954. "A Marine *Stichococcus sp.* which requires Vitamin B12 (Cobalamin)." **J. gen. Microbial**. 10:93-96.
- Li, L.X., Z. W. Song, Y. Zhan, S. S. Duan, Q. S. Zhao and Y. Liu. 2013. "Effect of vitamin-B12 and vitamin-H on the growth and astaxanthin content of *Haematococcus pluvialis* CH-1." **Food Science and Technology**. 5(9): 1139-1142.
- Lowry, O.H., N.J. Rosenbrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. "Protein measurement which the folin phenol reagent." **Journal Boil Chem**. 193:265-275.
- Lippsett, L. 2012. "The vitamin B12 claw." **Oceanus Magazine**. Vol. 49, No. 3.
- Mata, T.M., A. A. Martins and N. S. Caetano. 2010. "Microalgae for biodiesel production and other applications: A review." **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 14:217-232.
- Metzger, P. 1993. "n-Heptacosatrienes and tetraenes from a Bolivian strain of *Botryococcus braunii*." **Phytochemistry**. 33: 1125-1128.
- Metzger, P and E. Casadevall. 1991. Botryococcoid ethers, ether lipids from *Botryococcus braunii*. **Phytochemistry**. 30: 1439-1444.

- Metzger, P. and C. Largeau. 1999. "Chemicals of *Botryococcus braunii*" pp. 205-260. In: **Z. Cohen, ed. Chemicals from microalgae.** Taylor & Francis, London.
- Mittelbach, M. and Renschmidt, C. 2004. "Biodiesel: The Comprehensive Handbook." Vienna: Boersdruck Ges. M.B.H.
- Moazami, N. A. Alireza, A.Reza, T. Mehrnoush, E. Roghieh, S.N. Ali. 2012. "Large-scale biodiesel production using microalgae biomass of *Nannochloropsis*". **biomass and bioenergy**, xxx ,1-5
- Mohamed, Y. A., M.E.H. Osman and M. M. El- Sheekh. 1988. "Factors affecting Growth and Protein Content *Chlorella vulgaris*". **Bull. Fac. Sci.** Assiut Univ., Egypt. 17: 103-114.
- Nakicenovic, N. and M. Jefferson. 1995. Global Energy Perspectives to 2050 and Beyond. IIASA Working Paper. WP-95-12.
- Nascimento, I. A., S. S. I. Marques, I. T. D. Cabanelas, S. A. Pereira, J. I. Druzian, C. O. D. Souza, D. V. Vich, G. C. D. Carvalho and M. A. Nascimento. 2013. "Screening microalgae strains for biodiesel production: lipid productivity and estimation of fuel quality based on fatty acids profiles as selective criteria." **Bioenerg.** 6:1-13.
- Patil, V., K. Q. Tran and H. R. Giselrød. 2008. "Towards sustainable production of biofuels from microalgae." **Molecular Sciences.** 9:1188-1195.
- Provasoli, L., and A. F. Carlucci. 1974. "Vitamins and growth regulators." **Algal Physiology and Biochemistry.** 741-787.
- Ramos, M.J., C.M. Fernandez, A. Casas and L.A. Rodríguez. 2009. "Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties." **Bioresour. Technol.** 100: 261–268.
- Renewable Energy World, (Editorial), 2003. 6:6.
- Ruangsomboon, S. 2013. "Effects of different nitrogen, phosphorus, and iron concentrations and salinity on lipid production in newly isolated strain of the tropical green microalga, *Scenedesmus dimorphus* KMITL." **J Appl Phycol.** 25:867-874.
- Ruangsomboon, S. 2015. "Effects of different media and nitrogen sources and levels on growth and lipid of green microalga *Botryococcus braunii* KMITL and its biodiesel properties based on fatty acid composition." **Bioresource Technology.** 191: 377-384.

- Sawayama, S., S. Inoue and S. Yokoyama.1994. "Continuous culture of hydrocarbon-rich microalga *Botryococcus braunii* in secondarily treated sewage." **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 41: 729-731.
- Sawayama, S., S. Inoue and S. Yokoyama.1995. "Phylogenetic position of *Botryococcus braunii* base on small subunit of ribosomal RNA sequence data." **J. Phycol.** 31: 419-425.
- Schowen, R. 1998. "Thiamine-dependent enzymes." **Comprehensive Biological Catalysis**, ed Sinnott M (Academic, San Diego). 2: 217-266.
- Smith, G.M. 1950. "Fresh-Water Algae of the United State." McGraw-Hill Book Co., New York.
- Stein, E.D. 1973. "Isolation and Culture of Algae." **Handbook of Phycological Methods. Culture methods and growth measurements**, Cambridge University Press.
- Talebi, A.F., S. K. Mohtashami, M. Tabatabaei, M. Tohidfar, A. Bagheri, M. Zeinalabedini, H. H. Mirzaei, M. Mirzajanzadeh, S. M. Shafaroudi and S. Bakhtiari. 2013. "Fatty acids profiling: A selective criterion for screening microalgae strains for biodiesel production." **Algal Research.** 2: 258-267.
- Tanabe, Y., Y. Okazaki, M. Yoshida, H. Matsuura, A. Kai, T. Shiratori, K. I. Ishida, S. I. Nakano and M. M. Watanabe. 2014a. "A novel alphaproteobacterial ectosymbiont promotes the growth of the hydrocarbon-rich green alga *Botryococcus braunii*." **Scientific Reports.** 1-11.
- Tanabe, Y., M. Ioki and M. M. Watanabe. 2014b. "The fast-growing strain of hydrocarbon-rich green alga *Botryococcus braunii*, BOT-22, is a vitamin B12 autotroph." **J Appl Phycol.** 26:9-13
- Tang, Y. Z., F. Koch and C. J. Gobler. 2010. "Most harmful algal bloom species are vitamin B1 and B12 auxotrophs." **PNAS Early Edition.** 1-6.
- Taylor, L.W., R. Robyn, G. Carrie, V. Stanislav, B. Ian. A. Parastoo, R. Jannette, H. Andreas, P.D. Timothy and G. Ursula. 2012. "Colony organization in the green alga *Botryococcus braunii* (Race B) is specified by a complex extracellular matrix." **J. Asm. Org.** 11: 1424-1440.
- Vonshak, A. and H. Maske. 1982. "Algae: growth techniques and biomass production. In: Coombs, J., Hall, D.O. (Eds.), **Techniques in Bioproducity and Photosynthesis.**" **Pergamon Press, Oxford**, pp. 66–77.

- Wang, B., Y. Li, N. Wu and CQ. Lan. “CO₂ bio-mitigation using microalgae.” **Applied Microbiology and Biotechnology**. 79(5):707–18.
- Wu, M., G. Wu, L. Han, and J. Wang. 2005. “Low-temperature fluidity of bio-diesel fuel prepared from edible vegetable oil.” **Petroleum Processing and Petrochemicals**. 36(4):57-60.
- Wu, H. and X. Miao. 2014. “Biodiesel quality and biochemical changes of microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* in response to nitrate levels.” **Bioresource Technology**. 170:421-427.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 อาหารสูตร Chlorella Medium

สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)
โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3)	1.250
โมโนโพแทสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1.250
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	1.000
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	0.084
กรดบอริก (H_3BO_3)	0.014
เฟอร์รัสซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.050
ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.088
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$)	0.014
โมลิบดีนัมออกไซด์ (MoO_3)	0.007
คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)	0.016
โคบอลท์ไนเตรท 6-ไฮเดรต [$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$]	0.005
อีดีทีเอ (EDTA)	0.500

ที่มา : Vonshak and Maske (1982)



ภาคผนวก ข.

ชีวมวล, คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน ของสาหร่าย

B. braunii KMITL 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน thiamine เข้มข้น 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลอง	วันที่ 0	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12
T ₀	0.27 ± 0.03 ^{ab}	0.29 ± 0.07 ^b	0.35 ± 0.03	0.46 ± 0.10	0.65 ± 0.05	0.34 ± 0.05	0.44 ± 0.05
T ₁₀₀	0.20 ± 0.02 ^b	0.26 ± 0.03 ^b	0.81 ± 0.33	0.46 ± 0.11	0.52 ± 0.17	0.43 ± 0.06	0.54 ± 0.06
T ₂₀₀	0.60 ± 0.15 ^a	0.65 ± 0.10 ^a	0.55 ± 0.08	0.61 ± 0.02	0.79 ± 0.13	0.59 ± 0.06	0.52 ± 0.04
T ₃₀₀	0.30 ± 0.07 ^{ab}	0.20 ± 0.03 ^b	0.50 ± 0.23	0.54 ± 0.11	0.42 ± 0.12	0.46 ± 0.07	0.34 ± 0.07
F-test	*	*	ns	ns	ns	ns	ns
ชุดการทดลอง	วันที่ 14	วันที่ 16	วันที่ 18	วันที่ 20	วันที่ 22	วันที่ 24	
T ₀	0.55 ± 0.12	0.84 ± 0.03	0.57 ± 0.04	0.46 ± 0.06	0.80 ± 0.03	0.88 ± 0.04 ^b	
T ₁₀₀	0.30 ± 0.05	0.72 ± 0.05	0.38 ± 0.09	0.44 ± 0.02	0.92 ± 0.06	1.00 ± 0.05 ^{ab}	
T ₂₀₀	0.46 ± 0.03	0.78 ± 0.08	0.49 ± 0.03	0.62 ± 0.05	0.90 ± 0.14	1.14 ± 0.04 ^a	
T ₃₀₀	0.30 ± 0.07	0.67 ± 0.03	0.51 ± 0.05	0.44 ± 0.02	0.71 ± 0.07	0.85 ± 0.07 ^b	
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	*	

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 3 คาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน thiamine เพิ่มขึ้น 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลอง	วันที่ 0	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12
T ₀	45.94 ± 8.25	13.92 ± 5.69 ^b	17.59 ± 3.43	51.18 ± 2.97 ^b	46.90 ± 5.06 ^b	63.75 ± 5.10 ^b	71.08 ± 4.85
T ₁₀₀	59.13 ± 4.02	27.96 ± 3.77 ^{ab}	29.31 ± 13.55	56.82 ± 3.15 ^{ab}	49.38 ± 2.36 ^b	81.05 ± 6.23 ^{ab}	91.20 ± 1.09
T ₂₀₀	50.84 ± 12.97	46.84 ± 8.16 ^a	20.86 ± 2.33	69.55 ± 1.92 ^{ab}	74.46 ± 3.69 ^a	111.43 ± 9.64 ^a	105.57 ± 15.92
T ₃₀₀	53.43 ± 5.14	30.16 ± 2.64 ^{ab}	23.84 ± 4.63	56.08 ± 3.87 ^a	67.64 ± 4.01 ^a	68.65 ± 8.61 ^b	83.25 ± 2.07
F-test	ns	*	ns	*	*	*	ns
ชุดการทดลอง	วันที่ 14	วันที่ 16	วันที่ 18	วันที่ 20	วันที่ 22	วันที่ 24	
T ₀	73.72 ± 10.37	9.19 ± 11.36	110.25 ± 6.11 ^b	94.58 ± 12.90 ^b	106.75 ± 8.00 ^b	142.15 ± 32.68	
T ₁₀₀	100.89 ± 13.13	17.36 ± 12.05	180.81 ± 22.95 ^a	178.73 ± 19.15 ^a	175.01 ± 9.84 ^a	215.25 ± 21.50	
T ₂₀₀	114.47 ± 16.89	20.80 ± 22.80	184.98 ± 10.40 ^a	189.60 ± 13.64 ^a	193.38 ± 20.09 ^a	256.50 ± 40.71	
T ₃₀₀	92.61 ± 2.68	16.52 ± 2.69	139.33 ± 9.30 ^{ab}	120.39 ± 21.14 ^{ab}	150.83 ± 4.87 ^{ab}	202.96 ± 16.85	
F-test	ns	ns	*	*	*	ns	

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 4 คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน thiamine เข้มข้น 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลอง	วันที่ 0	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12
T ₀	18.00 ± 4.48	5.57 ± 2.78	5.26 ± 1.46	12.74 ± 3.81	7.20 ± 0.39	19.48 ± 3.63	16.85 ± 2.88
T ₁₀₀	30.30 ± 5.70	10.84 ± 1.51	3.61 ± 0.54	14.33 ± 4.47	11.60 ± 3.29	19.76 ± 3.75	17.33 ± 2.30
T ₂₀₀	10.02 ± 4.42	7.68 ± 1.78	4.03 ± 0.88	11.38 ± 0.63	10.02 ± 1.78	19.50 ± 3.79	19.99 ± 1.57
T ₃₀₀	19.62 ± 4.62	16.29 ± 3.85	7.90 ± 4.31	11.57 ± 2.88	19.86 ± 6.68	15.38 ± 2.04	26.43 ± 4.30
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ชุดการทดลอง	วันที่ 14	วันที่ 16	วันที่ 18	วันที่ 20	วันที่ 22	วันที่ 24	
T ₀	14.25 ± 2.51	1.11 ± 1.63	19.30 ± 0.97 ^c	21.54 ± 5.28	13.32 ± 0.69	16.16 ± 3.37	
T ₁₀₀	35.63 ± 7.53	2.43 ± 1.57	49.47 ± 4.99 ^a	40.26 ± 3.51	19.02 ± 1.02	21.61 ± 2.69	
T ₂₀₀	24.51 ± 2.53	2.65 ± 2.24	37.85 ± 1.71 ^{ab}	31.18 ± 3.49	22.10 ± 2.57	22.80 ± 4.31	
T ₃₀₀	34.25 ± 7.81	2.47 ± 0.90	27.33 ± 1.28 ^{bc}	27.69 ± 6.20	21.64 ± 2.69	24.37 ± 3.62	
F-test	ns	ns	*	ns	ns	ns	

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 5 โปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน thiamine เข้มข้น 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลอง	วันที่ 0	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12
T ₀	74.94 ± 3.59	33.44 ± 2.17 ^{ab}	48.31 ± 4.93	9.26 ± 0.16 ^b	7.94 ± 3.34	21.31 ± 0.57 ^b	23.38 ± 0.33
T ₁₀₀	31.84 ± 5.71	29.77 ± 1.24 ^b	57.44 ± 6.66	11.14 ± 1.47 ^b	8.32 ± 2.22	24.22 ± 1.27 ^{ab}	29.96 ± 3.35
T ₂₀₀	31.00 ± 7.21	41.16 ± 3.26 ^a	73.53 ± 25.40	17.26 ± 1.00 ^a	14.62 ± 0.56	29.96 ± 1.27 ^a	34.86 ± 3.77
T ₃₀₀	68.45 ± 23.65	35.33 ± 2.88 ^{ab}	43.70 ± 1.88	10.01 ± 1.63 ^b	13.12 ± 2.13	23.66 ± 2.31 ^{ab}	26.20 ± 2.16
F-test	ns	*	ns	*	ns	*	ns
ชุดการทดลอง	วันที่ 14	วันที่ 16	วันที่ 18	วันที่ 20	วันที่ 22	วันที่ 24	
T ₀	21.40 ± 0.86 ^b	24.69 ± 2.74 ^b	36.36 ± 2.56	96.31 ± 3.52	111.93 ± 5.10	71.56 ± 11.55 ^b	
T ₁₀₀	30.15 ± 1.65 ^{ab}	38.34 ± 2.43 ^{ab}	55.47 ± 6.66	142.61 ± 13.16	130.18 ± 4.04	117.39 ± 15.20 ^{ab}	
T ₂₀₀	40.60 ± 6.31 ^a	44.08 ± 5.96 ^a	56.12 ± 6.87	139.12 ± 16.81	149.47 ± 16.29	132.16 ± 12.01 ^a	
T ₃₀₀	27.80 ± 1.32 ^{ab}	36.93 ± 1.49 ^{ab}	48.78 ± 5.45	135.92 ± 1.58	150.51 ± 34.69	90.00 ± 10.62 ^{ab}	
F-test	*	*	*	ns	ns	*	

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 6 โปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน thiamine เข้มข้น 0, 100, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลอง	วันที่ 0	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12
T ₀	28.58 ± 3.74 ^a	12.70 ± 2.92	13.77 ± 0.54	2.26 ± 0.59	1.28 ± 0.60	6.53 ± 1.19	5.48 ± 0.63
T ₁₀₀	16.04 ± 3.16 ^{ab}	11.82 ± 2.13	9.69 ± 3.89	2.92 ± 1.13	2.05 ± 0.81	5.90 ± 1.05	5.85 ± 1.44
T ₂₀₀	6.10 ± 2.57 ^b	6.73 ± 1.29	14.35 ± 5.71	2.82 ± 0.18	1.99 ± 0.40	5.20 ± 0.78	6.67 ± 0.53
T ₃₀₀	22.16 ± 4.02 ^a	19.00 ± 4.17	13.53 ± 5.54	2.10 ± 0.70	4.11 ± 1.79	5.43 ± 0.95	8.46 ± 1.78
F-test	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ชุดการทดลอง	วันที่ 14	วันที่ 16	วันที่ 18	วันที่ 20	วันที่ 22	วันที่ 24	
T ₀	4.26 ± 0.89	2.98 ± 0.43 ^b	6.38 ± 0.53 ^b	21.61 ± 3.29	14.01 ± 0.67	8.15 ± 1.16	
T ₁₀₀	10.47 ± 1.57	5.36 ± 0.54 ^a	15.31 ± 2.05 ^a	32.11 ± 2.12	14.17 ± 0.62	11.70 ± 1.49	
T ₂₀₀	8.69 ± 0.98	5.65 ± 0.36 ^a	11.45 ± 1.27 ^{ab}	22.90 ± 3.45	17.01 ± 1.77	11.73 ± 1.47	
T ₃₀₀	10.06 ± 1.96	5.51 ± 0.41 ^a	9.50 ± 0.62 ^b	30.80 ± 1.38	21.29 ± 4.88	10.56 ± 1.06	
F-test	ns	*	*	ns	ns	ns	

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 7 ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ผันแปร cobalamin

ชุดการทดลอง	วันที่ 0		วันที่ 2		วันที่ 4		วันที่ 6		วันที่ 8		วันที่ 10		วันที่ 12	
B ₀ C ₀	0.20	± 0.02 ^{ab}	0.26	± 0.03	0.81	± 0.33	0.46	± 0.11	0.52	± 0.17	0.43	± 0.06	0.54	± 0.06
B ₀ C ₂	0.45	± 0.0 ^{ab}	0.30	± 0.04	0.56	± 0.18	0.36	± 0.03	0.72	± 0.25	0.47	± 0.11	0.48	± 0.07
B ₀ C ₄	0.39	± 0.04 ^{ab}	0.28	± 0.07	0.46	± 0.12	0.33	± 0.03	0.48	± 0.13	0.33	± 0.09	0.43	± 0.03
B ₀ C ₆	0.34	± 0.07 ^{ab}	0.16	± 0.03	0.57	± 0.12	0.39	± 0.03	0.76	± 0.12	0.58	± 0.12	0.61	± 0.14
B ₁ C ₀	0.68	± 0.18 ^{ab}	0.58	± 0.10	0.66	± 0.16	0.74	± 0.08	0.78	± 0.10	0.72	± 0.07	0.67	± 0.08
B ₁ C ₂	0.42	± 0.12 ^{ab}	0.45	± 0.15	0.42	± 0.05	0.42	± 0.05	0.60	± 0.06	0.72	± 0.19	0.69	± 0.06
B ₁ C ₄	0.32	± 0.01 ^{ab}	0.35	± 0.09	0.60	± 0.14	0.53	± 0.14	1.15	± 0.50	0.73	± 0.14	0.69	± 0.05
B ₁ C ₆	0.31	± 0.05 ^{ab}	0.47	± 0.20	0.53	± 0.08	0.52	± 0.15	0.76	± 0.07	0.53	± 0.13	0.65	± 0.05
B ₂ C ₀	0.26	± 0.04 ^{ab}	0.51	± 0.21	0.52	± 0.11	0.51	± 0.10	0.78	± 0.05	0.31	± 0.03	0.57	± 0.17
B ₂ C ₂	0.28	± 0.08 ^{ab}	0.28	± 0.15	0.34	± 0.04	0.50	± 0.11	0.64	± 0.06	0.66	± 0.16	0.87	± 0.37
B ₂ C ₄	0.21	± 0.08 ^{ab}	0.29	± 0.03	0.34	± 0.09	0.32	± 0.14	0.67	± 0.24	0.41	± 0.18	0.41	± 0.10
B ₂ C ₆	0.16	± 0.01 ^b	0.30	± 0.04	0.65	± 0.13	0.43	± 0.06	0.81	± 0.06	0.52	± 0.09	0.64	± 0.09
B ₃ C ₀	0.86	± 0.07 ^{ab}	0.60	± 0.12	0.64	± 0.26	0.58	± 0.09	0.64	± 0.19	0.42	± 0.03	0.70	± 0.02
B ₃ C ₂	1.11	± 0.58 ^a	0.84	± 0.20	0.77	± 0.14	0.48	± 0.14	0.67	± 0.15	0.62	± 0.13	0.62	± 0.05
B ₃ C ₄	0.61	± 0.10 ^{ab}	0.56	± 0.20	0.50	± 0.04	0.51	± 0.13	0.69	± 0.22	0.76	± 0.15	0.74	± 0.05
B ₃ C ₆	0.63	± 0.29 ^{ab}	0.70	± 0.13	0.42	± 0.07	0.37	± 0.05	0.65	± 0.10	0.54	± 0.09	0.71	± 0.07
B×C	*		ns		ns		ns		ns		ns		ns	

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 7 ชีวมวล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ผันแปร cobalamin (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่ 14		วันที่ 16		วันที่ 18		วันที่ 20		วันที่ 22		วันที่ 24	
B ₀ C ₀	0.30	± 0.05	0.72	± 0.05 ^{ab}	0.38	± 0.09 ^b	0.44	± 0.02	0.92	± 0.06	1.00	± 0.05
B ₀ C ₂	0.50	± 0.10	0.91	± 0.16 ^{ab}	0.61	± 0.06 ^b	0.49	± 0.05	0.85	± 0.04	1.05	± 0.06
B ₀ C ₄	0.38	± 0.05	0.76	± 0.15 ^{ab}	0.50	± 0.10 ^{ab}	0.38	± 0.06	0.83	± 0.10	0.91	± 0.12
B ₀ C ₆	0.36	± 0.05	0.73	± 0.08 ^{ab}	0.49	± 0.08 ^{ab}	0.42	± 0.03	1.01	± 0.20	0.95	± 0.10
B ₁ C ₀	0.76	± 0.15	0.71	± 0.11 ^{ab}	0.70	± 0.16 ^{ab}	0.49	± 0.06	0.51	± 0.09	1.19	± 0.11
B ₁ C ₂	0.59	± 0.08	0.69	± 0.00 ^{ab}	0.60	± 0.06 ^b	0.51	± 0.07	0.96	± 0.14	1.18	± 0.18
B ₁ C ₄	1.10	± 0.22	0.73	± 0.12 ^{ab}	0.88	± 0.41 ^{ab}	0.75	± 0.15	0.89	± 0.06	1.15	± 0.18
B ₁ C ₆	0.94	± 0.07	0.48	± 0.06 ^b	0.61	± 0.20 ^b	0.71	± 0.13	1.46	± 0.32	1.11	± 0.16
B ₂ C ₀	0.62	± 0.10	0.57	± 0.07 ^{ab}	1.89	± 0.20 ^a	0.79	± 0.19	1.10	± 0.10	1.03	± 0.30
B ₂ C ₂	0.59	± 0.09	0.94	± 0.13 ^{ab}	1.41	± 0.30 ^{ab}	1.13	± 0.37	0.97	± 0.14	1.20	± 0.22
B ₂ C ₄	0.50	± 0.19	0.67	± 0.13 ^{ab}	0.61	± 0.06 ^b	1.35	± 0.26	0.97	± 0.32	0.82	± 0.12
B ₂ C ₆	0.85	± 0.08	0.88	± 0.22 ^{ab}	0.79	± 0.12 ^{ab}	0.57	± 0.07	1.12	± 0.14	1.18	± 0.12
B ₃ C ₀	0.72	± 0.14	1.12	± 0.32 ^{ab}	0.89	± 0.00 ^{ab}	0.77	± 0.05	1.17	± 0.10	0.81	± 0.04
B ₃ C ₂	0.88	± 0.21	1.46	± 0.41 ^{ab}	0.97	± 0.14 ^{ab}	0.93	± 0.19	1.09	± 0.17	0.82	± 0.06
B ₃ C ₄	1.08	± 0.23	1.58	± 0.49 ^a	1.09	± 0.19 ^{ab}	0.88	± 0.06	1.03	± 0.21	0.66	± 0.11
B ₃ C ₆	0.74	± 0.12	0.97	± 0.07 ^{ab}	0.69	± 0.07 ^{ab}	0.67	± 0.09	1.14	± 0.10	0.63	± 0.09
B×C	ns		*		*		ns		ns		ns	

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 8 คาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ฟันเปปร cobalamin

ชุดการทดลอง	วันที่ 0		วันที่ 2		วันที่ 4		วันที่ 6		วันที่ 8		วันที่ 10		วันที่ 12	
B ₀ C ₀	59.13	± 4.02	27.96	± 3.77 ^{cde}	29.31	± 13.55	56.82	± 3.15 ^{bc}	49.38	± 2.36 ^b	81.05	± 6.23	91.20	± 1.09 ^{abc}
B ₀ C ₂	46.22	± 6.64	50.39	± 8.17 ^{abc}	21.14	± 0.20	57.77	± 1.79 ^{bc}	65.21	± 5.01 ^{ab}	86.29	± 4.60	94.47	± 8.98 ^{abc}
B ₀ C ₄	43.57	± 0.83	24.69	± 2.67 ^{de}	35.79	± 9.13	70.12	± 3.90 ^{bc}	57.83	± 5.01 ^{ab}	76.03	± 10.11	97.45	± 11.47 ^{abc}
B ₀ C ₆	27.68	± 4.98	29.65	± 4.13 ^{cde}	20.52	± 8.14	67.30	± 5.32 ^{bc}	63.35	± 2.81 ^{ab}	83.14	± 4.66	82.80	± 4.80 ^{bc}
B ₁ C ₀	40.19	± 10.83	30.04	± 5.06 ^{cde}	33.26	± 7.27	75.47	± 4.78 ^{bc}	91.42	± 4.93 ^{ab}	90.86	± 3.17	91.65	± 6.12 ^{abc}
B ₁ C ₂	30.66	± 6.35	29.76	± 2.65 ^{cde}	37.65	± 2.53	80.60	± 4.50 ^{abc}	93.17	± 7.31 ^{ab}	117.01	± 14.78	130.20	± 10.03 ^{abc}
B ₁ C ₄	37.93	± 5.57	29.31	± 1.27 ^{cde}	40.87	± 9.16	95.14	± 9.95 ^{ab}	114.70	± 24.60 ^{ab}	137.64	± 29.41	168.58	± 34.80 ^a
B ₁ C ₆	54.56	± 10.42	35.29	± 4.19 ^{bcde}	51.97	± 2.03	109.85	± 9.65 ^a	135.27	± 25.28 ^a	132.62	± 15.37	162.21	± 33.31 ^{ab}
B ₂ C ₀	22.66	± 4.03	72.99	± 7.48 ^a	24.80	± 0.26	53.83	± 12.48 ^c	70.62	± 3.73 ^{ab}	82.46	± 9.54	69.44	± 9.73 ^c
B ₂ C ₂	30.04	± 11.23	55.35	± 8.79 ^{ab}	25.14	± 7.02	53.21	± 2.79 ^c	67.81	± 11.49 ^{ab}	118.70	± 35.49	78.63	± 7.67 ^c
B ₂ C ₄	33.88	± 2.00	51.24	± 1.75 ^{abc}	20.41	± 2.94	67.52	± 7.27 ^{bc}	91.48	± 39.87 ^{ab}	75.70	± 13.87	86.24	± 20.29 ^{bc}
B ₂ C ₆	53.55	± 24.97	48.02	± 4.52 ^{abcd}	30.49	± 4.07	69.55	± 7.44 ^{bc}	75.87	± 21.62 ^{ab}	81.28	± 21.66	96.27	± 14.00 ^{abc}
B ₃ C ₀	41.32	± 6.16	23.06	± 1.73 ^c	45.09	± 5.35	70.06	± 11.33 ^{bc}	71.86	± 5.30 ^{ab}	83.02	± 6.40	64.76	± 5.55 ^c
B ₃ C ₂	36.58	± 3.25	28.86	± 2.39 ^{cde}	35.74	± 6.46	61.49	± 4.31 ^{bc}	74.96	± 5.07 ^{ab}	87.81	± 10.00	80.26	± 11.96 ^{bc}
B ₃ C ₄	48.93	± 9.21	23.56	± 1.56 ^c	43.97	± 3.27	62.06	± 10.74 ^{bc}	79.81	± 12.42 ^{ab}	75.08	± 16.50	78.01	± 16.14 ^c
B ₃ C ₆	45.32	± 5.61	29.99	± 0.63 ^c	37.48	± 4.53	65.55	± 7.61 ^{bc}	60.20	± 5.10 ^{ab}	62.68	± 6.37	64.93	± 5.52 ^c
B×C	ns		*		ns		*		*		ns		*	

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 8 คาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ผันแปร cobalamin (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่ 14		วันที่ 16		วันที่ 18		วันที่ 20		วันที่ 22		วันที่ 24	
B ₀ C ₀	100.89	± 13.13 ^{ab}	79.08	± 12.05 ^c	180.81	± 22.95	178.73	± 19.15	175.01	± 9.84	215.25	± 21.50
B ₀ C ₂	104.10	± 15.33 ^{ab}	80.54	± 10.52 ^c	219.93	± 40.65	180.36	± 14.33	165.20	± 16.05	231.31	± 40.30
B ₀ C ₄	102.81	± 22.48 ^{ab}	99.14	± 28.77 ^c	162.94	± 32.60	191.07	± 38.03	138.77	± 15.60	235.42	± 32.91
B ₀ C ₆	93.85	± 9.71 ^{ab}	82.91	± 10.30 ^c	192.20	± 22.06	161.59	± 22.24	148.18	± 7.82	204.14	± 10.13
B ₁ C ₀	155.28	± 11.64 ^{ab}	175.79	± 16.50 ^{ab}	145.25	± 14.55	118.87	± 21.97	176.64	± 27.85	260.17	± 14.24
B ₁ C ₂	157.08	± 17.29 ^{ab}	167.06	± 1.51 ^{ab}	175.29	± 15.52	169.59	± 7.56	218.80	± 12.94	289.08	± 26.46
B ₁ C ₄	208.71	± 55.96 ^a	149.59	± 0.98 ^{bc}	173.15	± 25.62	201.38	± 62.57	258.59	± 82.63	313.60	± 65.25
B ₁ C ₆	191.24	± 36.11 ^{ab}	242.30	± 2.20 ^a	171.57	± 6.48	231.65	± 23.46	274.09	± 29.31	329.49	± 29.11
B ₂ C ₀	111.32	± 14.92 ^{ab}	160.35	± 13.97 ^{abc}	212.99	± 38.81	251.09	± 48.32	202.00	± 13.57	329.04	± 40.16
B ₂ C ₂	151.16	± 28.55 ^{ab}	159.00	± 36.59 ^{abc}	143.95	± 14.69	197.32	± 49.35	176.98	± 19.52	289.42	± 61.14
B ₂ C ₄	117.01	± 21.91 ^{ab}	146.15	± 17.97 ^{bc}	236.95	± 53.94	187.63	± 50.36	242.02	± 66.92	254.08	± 35.02
B ₂ C ₆	130.03	± 9.45 ^{ab}	174.44	± 20.40 ^{ab}	227.53	± 23.53	220.38	± 40.57	227.79	± 30.12	316.08	± 46.01
B ₃ C ₀	79.13	± 5.31 ^b	109.51	± 13.42 ^{bc}	138.60	± 20.45	128.90	± 2.38	227.99	± 48.92	194.11	± 40.36
B ₃ C ₂	100.95	± 11.28 ^{ab}	120.50	± 9.91 ^{bc}	169.26	± 8.68	122.42	± 30.08	180.30	± 25.16	217.39	± 10.35
B ₃ C ₄	94.01	± 13.83 ^{ab}	115.77	± 2.50 ^{bc}	156.86	± 29.01	133.64	± 18.69	172.41	± 31.03	226.01	± 43.84
B ₃ C ₆	119.38	± 10.43 ^{ab}	84.38	± 3.51 ^{bc}	136.85	± 12.44	72.43	± 16.82	131.89	± 2.59	159.17	± 15.48
B×C	*		*		ns		ns		ns		ns	

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 9 คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ผันแปร cobalamin

ชุดการทดลอง	วันที่ 0		วันที่ 2		วันที่ 4		วันที่ 6		วันที่ 8		วันที่ 10		วันที่ 12	
B ₀ C ₀	30.30	± 5.70	10.84	± 1.51	3.61	± 0.54	14.33	± 4.47	11.60	± 3.29	19.76	± 3.75	17.33	± 2.30
B ₀ C ₂	11.98	± 4.30	17.90	± 4.54	4.63	± 1.48	16.45	± 1.37	12.90	± 5.57	20.57	± 4.73	20.08	± 2.05
B ₀ C ₄	11.50	± 1.48	11.71	± 5.27	8.28	± 2.33	21.72	± 1.52	13.20	± 2.29	24.15	± 2.68	22.53	± 1.23
B ₀ C ₆	8.63	± 2.18	19.19	± 1.12	3.92	± 1.37	17.49	± 2.62	8.83	± 1.47	15.24	± 2.27	14.77	± 2.87
B ₁ C ₀	6.31	± 2.08	5.17	± 0.25	6.81	± 3.63	10.46	± 1.15	11.97	± 0.78	12.99	± 1.88	14.38	± 2.65
B ₁ C ₂	7.61	± 0.94	8.46	± 2.82	9.06	± 0.49	19.89	± 3.18	15.75	± 0.90	18.79	± 5.98	19.34	± 2.73
B ₁ C ₄	11.77	± 1.31	9.51	± 2.28	6.96	± 0.87	21.08	± 5.97	13.86	± 4.88	22.20	± 9.62	24.58	± 4.75
B ₁ C ₆	18.77	± 4.88	16.59	± 11.53	10.17	± 1.07	26.29	± 8.49	17.55	± 1.86	26.73	± 3.39	25.55	± 6.49
B ₂ C ₀	9.14	± 1.75	33.52	± 19.06	5.25	± 1.14	11.32	± 3.11	9.05	± 0.43	28.08	± 5.77	15.20	± 5.41
B ₂ C ₂	12.63	± 5.33	20.46	± 3.99	8.23	± 2.16	11.09	± 1.31	10.37	± 0.95	19.20	± 4.29	11.24	± 3.05
B ₂ C ₄	31.33	± 19.20	17.84	± 1.09	7.74	± 3.43	37.23	± 20.11	17.36	± 7.31	30.57	± 14.13	21.57	± 2.41
B ₂ C ₆	31.29	± 13.01	16.99	± 3.39	4.87	± 0.39	17.10	± 4.20	9.19	± 2.24	16.37	± 4.93	16.11	± 4.35
B ₃ C ₀	5.00	± 1.17	4.19	± 0.83	8.79	± 2.51	12.66	± 2.52	12.75	± 2.50	19.93	± 1.88	9.22	± 0.55
B ₃ C ₂	6.61	± 3.77	4.23	± 1.65	4.81	± 0.93	15.54	± 4.43	11.95	± 1.78	15.72	± 4.28	12.89	± 0.90
B ₃ C ₄	8.83	± 3.00	5.19	± 1.44	8.85	± 1.01	13.40	± 2.99	12.95	± 2.54	9.79	± 0.73	10.64	± 2.21
B ₃ C ₆	5.39	± 10.53	12.38	± 0.57	15.61	± 0.90	23.04	± 3.33	9.93	± 2.19	17.38	± 1.26	18.61	± 0.74
B×C	ns		ns		ns		ns		ns		ns		ns	

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 9 คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ผันแปร cobalamin (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่ 14		วันที่ 16		วันที่ 18		วันที่ 20		วันที่ 22		วันที่ 24	
B ₀ C ₀	35.63	± 7.53	10.92	± 1.57 ^{bc}	49.47	± 4.99 ^a	40.26	± 3.51 ^{ab}	19.02	± 1.02	21.61	± 2.69
B ₀ C ₂	22.78	± 4.99	9.11	± 1.39 ^c	36.24	± 6.25 ^{ab}	37.28	± 1.98 ^{abc}	19.59	± 2.62	21.89	± 3.51
B ₀ C ₄	26.74	± 2.00	12.62	± 1.19 ^{bc}	34.68	± 7.32 ^{ab}	49.26	± 2.59 ^a	17.26	± 2.63	26.01	± 1.87
B ₀ C ₆	27.50	± 5.80	11.52	± 1.44 ^{bc}	40.49	± 5.55 ^{ab}	38.32	± 5.37 ^{abc}	16.11	± 3.65	21.93	± 2.16
B ₁ C ₀	22.40	± 5.08	25.27	± 2.89 ^{bc}	23.60	± 6.12 ^{ab}	23.67	± 1.87 ^{bc}	35.22	± 2.97	21.93	± 0.76
B ₁ C ₂	28.02	± 5.96	24.09	± 0.11 ^{bc}	30.02	± 3.87 ^{ab}	34.79	± 5.29 ^{abc}	23.32	± 2.01	26.06	± 5.04
B ₁ C ₄	22.38	± 9.53	22.04	± 4.43 ^{bc}	26.84	± 9.12 ^{ab}	26.51	± 4.75 ^{abc}	28.84	± 8.24	26.78	± 1.60
B ₁ C ₆	20.99	± 5.43	52.21	± 7.30 ^a	84.06	± 15.63 ^{ab}	33.83	± 2.85 ^{abc}	22.06	± 7.94	30.21	± 1.60
B ₂ C ₀	19.81	± 6.19	29.40	± 6.29 ^b	11.84	± 2.91 ^b	33.61	± 4.86 ^{abc}	18.49	± 1.44	35.41	± 5.86
B ₂ C ₂	26.26	± 6.01	16.93	± 2.89 ^{bc}	17.33	± 9.23 ^{ab}	25.98	± 9.93 ^{abc}	18.78	± 2.81	24.63	± 3.25
B ₂ C ₄	29.09	± 8.10	22.80	± 2.42 ^{bc}	41.02	± 13.17 ^{ab}	15.27	± 4.60 ^c	28.47	± 6.72	31.60	± 3.99
B ₂ C ₆	15.39	± 0.80	22.00	± 4.77 ^{bc}	29.15	± 1.30 ^{ab}	38.27	± 2.51 ^{abc}	20.86	± 3.73	26.48	± 1.28
B ₃ C ₀	11.42	± 1.27	10.69	± 1.52 ^c	15.64	± 2.34 ^{ab}	16.86	± 1.42 ^{bc}	19.42	± 3.53	24.44	± 5.83
B ₃ C ₂	14.13	± 5.74	11.08	± 5.03 ^{bc}	18.26	± 3.06 ^{ab}	15.82	± 7.32 ^{bc}	16.72	± 1.03	26.90	± 2.37
B ₃ C ₄	9.13	± 0.94	8.93	± 2.82 ^c	14.37	± 0.21 ^{ab}	15.42	± 2.58 ^c	17.97	± 3.56	34.53	± 3.35
B ₃ C ₆	23.96	± 2.26	11.51	± 1.03 ^{bc}	22.47	± 2.67 ^{ab}	19.28	± 5.37 ^{bc}	18.28	± 1.39	20.43	± 3.52
B×C	ns		*		*		*		ns		ns	

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 10 โพรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ฟันเปปร cobalamin

ชุดการทดลอง	วันที่ 0		วันที่ 2		วันที่ 4		วันที่ 6		วันที่ 8		วันที่ 10		วันที่ 12	
B ₀ C ₀	31.84	± 5.71 ^{abc}	29.77	± 1.24 ^e	57.44	± 6.66 ^a	11.14	± 1.47 ^b	8.32	± 2.22 ^b	24.22	± 1.27	29.96	± 3.35 ^c
B ₀ C ₂	88.50	± 33.21 ^a	37.30	± 2.50 ^{cde}	53.49	± 2.13 ^{ab}	15.47	± 0.43 ^{ab}	10.39	± 2.41 ^b	26.95	± 1.94	30.06	± 0.77 ^c
B ₀ C ₄	84.17	± 29.02 ^{ab}	33.35	± 0.90 ^{de}	41.35	± 3.37 ^{abcd}	13.49	± 1.85 ^b	11.33	± 1.94 ^b	30.62	± 4.09	26.39	± 3.03 ^c
B ₀ C ₆	72.78	± 11.35 ^{abc}	40.78	± 2.13 ^{bcde}	61.58	± 5.94 ^a	15.85	± 0.90 ^{ab}	12.84	± 2.28 ^b	23.85	± 0.62	26.39	± 2.65 ^c
B ₁ C ₀	37.96	± 10.84 ^{abc}	59.51	± 8.45 ^{abcd}	40.78	± 12.24 ^{abcd}	114.28	± 5.77 ^{ab}	29.87	± 4.13 ^{ab}	38.24	± 3.82	36.64	± 3.53 ^c
B ₁ C ₂	35.99	± 3.88 ^{abc}	59.04	± 4.42 ^{abcd}	42.95	± 9.93 ^{abcd}	31.66	± 1.24 ^{ab}	29.59	± 2.14 ^{ab}	29.30	± 7.52	47.09	± 0.71 ^{abc}
B ₁ C ₄	33.92	± 1.85 ^{abc}	58.29	± 2.13 ^{abcd}	32.79	± 3.78 ^{abcd}	35.33	± 4.69 ^{ab}	31.66	± 5.97 ^{ab}	39.28	± 6.62	67.70	± 10.66 ^a
B ₁ C ₆	47.00	± 11.80 ^{abc}	68.26	± 7.00 ^{ab}	34.29	± 1.65 ^{abcd}	42.20	± 8.30 ^a	38.43	± 3.98 ^{ab}	45.96	± 10.20	63.09	± 5.52 ^{ab}
B ₂ C ₀	27.89	± 1.69 ^{abc}	51.61	± 6.08 ^{bcde}	56.03	± 3.26 ^a	18.95	± 4.24 ^{ab}	29.02	± 2.99 ^{ab}	34.01	± 3.59	31.28	± 4.83 ^c
B ₂ C ₂	36.27	± 10.60 ^{abc}	55.84	± 6.90 ^{bcde}	55.37	± 6.02 ^a	37.02	± 13.51 ^{ab}	27.80	± 1.82 ^{ab}	31.47	± 7.99	35.52	± 3.04 ^c
B ₂ C ₄	28.83	± 6.67 ^{abc}	80.97	± 7.36 ^a	45.40	± 8.34 ^{abcd}	24.88	± 3.80 ^{ab}	66.95	± 30.52 ^a	34.67	± 8.01	36.74	± 6.60 ^c
B ₂ C ₆	85.86	± 6.25 ^{abc}	62.43	± 10.67 ^{abc}	52.27	± 3.82 ^{abc}	23.28	± 2.10 ^{ab}	65.63	± 12.54 ^a	33.44	± 0.52	39.47	± 3.53 ^{bc}
B ₃ C ₀	20.65	± 2.62 ^{bc}	46.15	± 1.91 ^{bcde}	22.91	± 1.51 ^{cd}	30.34	± 5.01 ^{ab}	29.77	± 2.77 ^{ab}	31.94	± 1.20	37.59	± 1.33 ^c
B ₃ C ₂	11.61	± 2.26 ^c	51.23	± 4.25 ^{bcde}	23.28	± 3.22 ^{cd}	24.79	± 1.72 ^{ab}	34.29	± 4.09 ^{ab}	35.61	± 3.78	41.35	± 3.74 ^{bc}
B ₃ C ₄	9.54	± 0.86 ^c	43.42	± 2.69 ^{bcde}	18.39	± 2.22 ^d	29.59	± 8.66 ^{ab}	32.88	± 4.65 ^{ab}	31.84	± 5.13	43.89	± 5.97 ^{bc}
B ₃ C ₆	12.08	± 5.36 ^c	50.76	± 3.76 ^{bcde}	24.79	± 3.17 ^{bcd}	24.32	± 4.28 ^{ab}	32.13	± 2.87 ^{ab}	35.04	± 1.39	38.53	± 1.22 ^c
B×C	*		*		*		*		*		ns		*	

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 10 โปรตีน (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ผันแปร cobalamin (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่ 14		วันที่ 16		วันที่ 18		วันที่ 20		วันที่ 22		วันที่ 24	
B ₀ C ₀	30.15	± 1.65 ^c	38.34	± 2.43 ^b	55.47	± 6.66	142.61	± 13.16	130.18	± 4.04 ^b	117.39	± 15.20
B ₀ C ₂	36.55	± 2.85 ^{abc}	42.29	± 1.72 ^{ab}	56.78	± 3.06	133.38	± 6.77	128.49	± 12.56 ^b	131.03	± 9.13
B ₀ C ₄	32.32	± 2.38 ^c	39.84	± 5.18 ^{ab}	47.09	± 7.27	129.34	± 16.05	115.79	± 7.46 ^b	128.68	± 10.26
B ₀ C ₆	32.69	± 2.37 ^{bc}	38.53	± 1.48 ^b	59.98	± 5.14	128.11	± 11.27	123.03	± 7.48 ^b	120.21	± 9.49
B ₁ C ₀	44.64	± 1.20 ^{abc}	58.10	± 7.43 ^{ab}	43.89	± 8.03	100.82	± 31.24	148.72	± 25.45 ^b	153.90	± 16.16
B ₁ C ₂	66.10	± 8.09 ^{abc}	54.90	± 2.42 ^{ab}	54.15	± 1.07	171.50	± 20.81	167.17	± 8.51 ^b	187.02	± 8.45
B ₁ C ₄	72.69	± 15.26 ^{ab}	60.26	± 11.28 ^{ab}	49.63	± 6.90	176.20	± 27.51	102.80	± 50.88 ^b	161.61	± 37.12
B ₁ C ₆	66.57	± 5.96 ^{abc}	72.31	± 7.35 ^a	56.59	± 9.13	209.23	± 36.69	199.16	± 20.85 ^{ab}	182.79	± 21.75
B ₂ C ₀	40.13	± 3.94 ^{abc}	63.93	± 10.76 ^{ab}	54.90	± 9.97	210.08	± 24.38	203.87	± 20.10 ^{ab}	160.96	± 16.80
B ₂ C ₂	54.05	± 13.37 ^{abc}	60.08	± 5.52 ^{ab}	57.44	± 11.27	209.14	± 44.41	205.18	± 44.67 ^{ab}	169.80	± 48.85
B ₂ C ₄	41.16	± 11.15 ^{abc}	61.49	± 6.07 ^{ab}	63.56	± 11.96	190.69	± 33.15	207.35	± 31.59 ^{ab}	172.15	± 44.35
B ₂ C ₆	74.10	± 11.80 ^a	70.90	± 6.53 ^{ab}	68.17	± 9.74	209.23	± 37.35	318.02	± 69.61 ^a	212.05	± 41.91
B ₃ C ₀	31.28	± 1.23 ^c	48.50	± 4.86 ^{ab}	41.91	± 4.28	118.42	± 13.43	112.68	± 12.08 ^b	127.74	± 6.06
B ₃ C ₂	41.44	± 5.23 ^{abc}	65.44	± 5.64 ^{ab}	59.42	± 7.34	117.76	± 11.20	121.06	± 11.69 ^b	126.14	± 7.68
B ₃ C ₄	43.33	± 9.37 ^{abc}	53.49	± 4.41 ^{ab}	58.19	± 9.31	150.60	± 11.01	151.73	± 16.00 ^b	140.44	± 14.46
B ₃ C ₆	41.26	± 1.73 ^{abc}	52.92	± 6.64 ^{ab}	46.15	± 5.05	112.40	± 3.85	115.32	± 5.23 ^b	116.54	± 8.91
B×C	*		*		ns		ns		*		ns	

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 11 โปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ผันแปร cobalamin

ชุดการทดลอง	วันที่ 0		วันที่ 2		วันที่ 4		วันที่ 6		วันที่ 8		วันที่ 10		วันที่ 12	
B ₀ C ₀	16.04	± 3.16	11.82	± 2.13	9.69	± 3.89 ^{ab}	2.92	± 1.13	2.05	± 0.81 ^b	5.90	± 1.05	5.85	± 1.44
B ₀ C ₂	18.07	± 5.05	13.17	± 2.74	11.82	± 3.86 ^{ab}	4.40	± 0.33	2.47	± 1.48 ^b	6.36	± 1.45	6.62	± 1.34
B ₀ C ₄	20.55	± 4.81	15.16	± 5.86	10.53	± 3.10 ^{ab}	4.22	± 0.71	2.70	± 0.78 ^b	10.15	± 2.23	6.13	± 0.46
B ₀ C ₆	22.06	± 3.66	27.14	± 3.34	11.57	± 1.76 ^{ab}	4.06	± 0.24	1.85	± 0.52 ^b	4.45	± 0.84	4.62	± 0.74
B ₁ C ₀	6.97	± 2.84	10.33	± 0.52	6.28	± 0.92 ^{ab}	18.56	± 0.42	4.02	± 0.90 ^{ab}	5.54	± 1.18	5.54	± 0.16
B ₁ C ₂	10.18	± 2.99	16.66	± 5.39	10.85	± 3.61 ^{ab}	7.69	± 0.77	5.06	± 0.64 ^{ab}	4.93	± 2.28	6.96	± 0.72
B ₁ C ₄	10.59	± 0.22	18.86	± 4.44	5.98	± 1.19 ^{ab}	8.48	± 3.46	3.73	± 1.22 ^{ab}	6.25	± 2.46	9.78	± 1.18
B ₁ C ₆	17.69	± 7.88	31.56	± 21.57	6.80	± 1.12 ^{ab}	11.72	± 6.22	5.05	± 0.26 ^{ab}	9.00	± 1.32	9.90	± 1.46
B ₂ C ₀	11.41	± 2.08	19.29	± 11.46	12.04	± 3.16 ^{ab}	4.18	± 1.55	3.71	± 0.35 ^{ab}	11.09	± 0.09	6.71	± 2.13
B ₂ C ₂	17.92	± 8.33	20.56	± 3.74	18.81	± 5.23 ^a	8.06	± 3.46	4.41	± 0.57 ^{ab}	5.87	± 2.48	5.37	± 1.74
B ₂ C ₄	20.68	± 9.10	28.55	± 4.37	14.94	± 3.30 ^{ab}	13.43	± 6.32	13.44	± 6.53 ^a	12.21	± 4.29	9.49	± 1.44
B ₂ C ₆	29.47	± 2.89 ^a	21.35	± 3.13	8.87	± 2.15 ^{ab}	5.54	± 0.77	8.16	± 1.77 ^{ab}	6.85	± 1.16	6.28	± 0.32
B ₃ C ₀	2.48	± 0.49 ^b	8.27	± 1.40	4.58	± 1.37 ^b	5.40	± 0.86	5.22	± 0.92 ^{ab}	7.64	± 0.26	5.38	± 0.29
B ₃ C ₂	2.54	± 1.84 ^b	7.51	± 2.94	3.27	± 0.75 ^b	6.32	± 1.87	5.39	± 0.77 ^{ab}	6.08	± 0.79	6.70	± 0.16
B ₃ C ₄	1.71	± 0.43 ^b	9.77	± 2.98	3.69	± 0.46 ^b	6.01	± 1.09	5.56	± 1.60 ^{ab}	4.26	± 0.41	5.95	± 0.64
B ₃ C ₆	2.55	± 0.99 ^b	18.83	± 1.04	7.05	± 0.91 ^{ab}	8.08	± 1.84	4.23	± 1.04 ^{ab}	6.58	± 0.76	8.29	± 0.43
B×C	*		ns		*		ns		*		ns		ns	

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 11 โปรตีน (เปอร์เซ็นต์) ของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวิตามิน biotin ผันแปร cobalamin (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่ 14		วันที่ 16		วันที่ 18		วันที่ 20		วันที่ 22		วันที่ 24	
B ₀ C ₀	10.47	± 1.57	5.36	± 0.54 ^b	15.31	± 2.05	32.11	± 2.12 ^{abc}	14.17	± 0.62 ^{ab}	11.70	± 1.49
B ₀ C ₂	8.02	± 1.62	4.96	± 0.91 ^b	9.41	± 0.48	27.77	± 2.32 ^{abc}	15.24	± 2.07 ^{ab}	12.46	± 0.72
B ₀ C ₄	8.79	± 0.94	5.36	± 0.32 ^b	10.33	± 2.66	34.19	± 2.35 ^{ab}	14.38	± 1.70 ^{ab}	14.40	± 0.77
B ₀ C ₆	9.49	± 1.74	5.39	± 0.57 ^b	12.65	± 1.65	30.21	± 1.10 ^{abc}	13.33	± 2.94 ^{ab}	12.75	± 0.46
B ₁ C ₀	6.24	± 0.96	8.25	± 0.71 ^{ab}	7.34	± 2.31	20.02	± 4.53 ^{abc}	29.34	± 0.23 ^{ab}	13.29	± 2.26
B ₁ C ₂	11.84	± 2.72	7.92	± 0.31 ^{ab}	9.30	± 1.04	34.23	± 2.65 ^{ab}	18.24	± 2.99 ^{ab}	16.84	± 3.10
B ₁ C ₄	7.67	± 2.83	9.18	± 2.87 ^{ab}	7.47	± 1.98	24.04	± 2.30 ^{abc}	12.24	± 6.42 ^{ab}	13.74	± 0.96
B ₁ C ₆	7.11	± 0.73	15.88	± 3.62 ^a	26.56	± 8.85	29.73	± 0.40 ^{abc}	15.25	± 3.78 ^{ab}	17.07	± 3.05
B ₂ C ₀	7.00	± 1.80	11.07	± 1.01 ^{ab}	3.04	± 0.72	29.19	± 5.60 ^{abc}	18.46	± 0.42 ^{ab}	17.52	± 3.36
B ₂ C ₂	9.13	± 2.15	6.80	± 1.43 ^b	6.71	± 3.13	27.80	± 10.63 ^{abc}	20.73	± 1.48 ^{ab}	14.13	± 2.34
B ₂ C ₄	9.87	± 2.81	9.67	± 1.14 ^{ab}	10.98	± 3.12	16.00	± 5.05 ^{bc}	26.11	± 7.46 ^{ab}	21.37	± 4.93
B ₂ C ₆	9.13	± 2.34	9.48	± 3.00 ^{ab}	8.64	± 0.13	36.51	± 2.39 ^a	29.74	± 8.54 ^a	17.60	± 1.81
B ₃ C ₀	4.62	± 0.79	4.79	± 0.76 ^b	4.73	± 0.50	15.23	± 0.74 ^{bc}	9.88	± 1.79 ^b	15.89	± 1.38
B ₃ C ₂	5.49	± 1.81	6.04	± 2.78 ^b	6.50	± 1.58	13.24	± 1.58 ^c	11.58	± 1.62 ^{ab}	15.48	± 0.51
B ₃ C ₄	4.34	± 0.96	4.19	± 1.51 ^b	5.67	± 1.12	17.53	± 2.48 ^{abc}	15.81	± 2.59 ^{ab}	21.95	± 1.84
B ₃ C ₆	5.51	± 0.89	4.97	± 0.32 ^b	5.90	± 1.00	17.18	± 1.94 ^{abc}	12.57	± 1.10 ^{ab}	18.37	± 1.54
B×C	ns		*		ns		*		*		ns	

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	ว่าที่ร้อยตรี ฟ้าดีล เรื่องปราชญ์
วัน เดือน ปีเกิด	24 มกราคม 2536
ที่อยู่	เลขที่ 144 ซอย กรุงเทพมหานคร 7 แยก 1-2 แขวง หัวหมาก เขต บางกะปิ จังหวัด กรุงเทพมหานคร 10240 โทร. 089-665-9904
ประวัติการศึกษา	2554 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ความชำนาญเฉพาะด้าน	1) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก 2) การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อผลิตไบโอดีเซล
ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย	บทความงานวิจัยเรื่อง “การเพิ่มผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และการปรับปรุง คุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซล ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL 2 โดยการใช้อิทธิพลร่วมกันของวิตามินโทเอมีน และ โคลบาลามีน ที่ เหมาะสม” ในวารสารประมวลผลงานวิจัยการประชุมวิชาการสาหร่ายและ แพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 9
พ.ศ 2562	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้