สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

การเพาะเลี้ยงและสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก
Cultivation and Lipid Extraction from Microalgae

โดย

นางสาววิลาสินี อินรุ่ง
56080055

ปฏิบัติงาน ณ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
50 อาคารอมรภูมิรัตน ถนนงามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
ปฏิบัติงานสหกิจศึกษาตั้งแต่วันที่ 4 มกราคม จนถึง 28 เมษายน 2560

หัวข้อโครงงาน	การเพาะเลี้ยงและสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก
ผู้เขียน	นางสาววิลาสินี อินรุ่ง
คณะ/สาขาวิชา	อุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา

บทคัดย่อ

สาหร่ายขนาดเล็กเป็นวัตถุดิบที่สามารถนำไปใช้เป็นพลังงานได้ และยังได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นเนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถเจริญเติบโตได้ทั้งการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์แบบใช้แสง หรือบ่อเปิด โดยให้ผลได้สูงและนำไปประยุกต์ใช้ได้หลากหลาย อีกทั้งสาหร่ายขนาดเล็กยังมีอัตราการผลิตลิพิดสูง ชีวมวลสาหร่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงนั้นสามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้น ส่งผลให้มีมูลค่าเพิ่มจากผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์อื่น ๆ โดยมีแนวโน้มการนำชีวมวลสาหร่ายมาใช้ประโยชน์เพิ่มขึ้น ทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ผลิตภัณฑ์ยา รวมถึงการส่งออกพลังงานทั่วโลก การผลิตชีวมวลสาหร่ายในระดับอุตสาหกรรมนั้นสามารถลดสารอาหารที่ไม่จำเป็นเพื่อลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงขนาดใหญ่ได้ ในการศึกษานี้ได้ทำการปรับปรุงสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Ankistrodesmus* sp. เพื่อให้ได้ชีวมวลสาหร่ายสูงโดยใช้แผนการทดลอง Plackett-Burman ทำการเพาะเลี้ยง *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 ในอ่างเพาะเลี้ยงที่มีการควบคุมความเข้มข้นแสง 12 กิโลลักซ์ ระยะเวลาให้แสงสว่างและมืดเท่ากับ 16:8 ชั่วโมง คาร์บอนไดออกไซด์ผสมอากาศ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราการไหล 0.67 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที ภายใต้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในอาหารที่มีการแปรผันองค์ประกอบของสารอาหารสูตร BG11 ทั้งหมด 12 การทดลอง พบว่าองค์ประกอบของสารอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 ส่งผลให้มีอัตราการผลิตเซลล์สูงสุด 616 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ความเข้มข้นของสารอาหารที่จำเป็นสามารถนำไปใช้เป็นสูตรอาหารต้นแบบที่ลดต้นทุนการผลิตชีวมวลสาหร่ายในการเพาะเลี้ยงขนาดใหญ่ได้

วิลาสินี อินรุ่ง	สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา
(นางสาววิลาสินี อินรุ่ง)	(ผศ.ดร.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา)

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานเล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก นางสาววนิดา ปานอุทัย นักวิจัยชำนาญการ ที่คอยให้คำปรึกษา และคำแนะนำ แนวคิด และคอยให้ความช่วยเหลือ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดีมาโดยตลอด จนโครงงานเล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา เป็นอย่างสูงที่ให้การสนับสนุนและคอยให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ รวมทั้งให้กำลังใจเสมอมา ทำให้โครงงานเล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

นอกจากนี้ยังได้รับการช่วยเหลือและกำลังใจจากคุณพ่อคุณแม่และเพื่อนๆ ตลอดจนบุคคลต่าง ๆที่ให้ความช่วยเหลือ นักศึกษารู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและความปรารถนาดีของทุกท่านเป็นอย่างยิ่ง จึงกราบขอบพระคุณไว้ในโอกาสนี้

วิลาสินี อินรุ่ง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สารบัญเรื่อง

หน้า

บทคัดย่อ ก.
กิตติกรรมประกาศ ข.
สารบัญเรื่อง ค.
สารบัญตาราง จ.
สารบัญภาพ ฉ.
บทที่ 1 บทนำ 1
    1.1 ชื่อและสถานที่ตั้งของสถานประกอบการ 1
    1.2 เกี่ยวกับสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร 1
    1.3 วิสัยทัศน์ 1
    1.4 พันธกิจ 2
    1.5 นโยบาย 2
    1.6 วัตถุประสงค์ 2
    1.7 ผลิตภัณฑ์ 3
    1.8 ตำแหน่งและลักษณะงานที่นักศึกษาได้รับมอบหมายให้รับผิดชอบ 6
    1.9 ชื่อและตำแหน่งงานของผู้นิเทศงาน 6
    1.10 ระยะเวลาที่ปฏิบัติงาน 6
บทที่ 2 วัตถุประสงค์ ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และแผนการปฏิบัติสหกิจศึกษา 7
    2.1 วัตถุประสงค์ที่นักศึกษาหรือพนักงานที่ปรึกษากำหนดให้ทำ 7
    2.2 ผลที่คาดว่าจะได้รับจากการปฏิบัติงาน 7
        2.2.1 ด้านสถานประกอบการ 7
        2.2.2 ด้านนักศึกษา 7
        2.2.3 ด้านสถาบัน 8
    2.3 แผนการปฏิบัติสหกิจศึกษา 8
บทที่ 3 การเพาะเลี้ยงและสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 9
    3.1 ที่มาและความสำคัญ 9
    3.2 วัตถุประสงค์ 21
บทที่ 4 วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา 22
    4.1 วัตถุดิบ 22
    4.2 สารเคมี 22

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

หน้า

4.3 อุปกรณ์ในการทดลอง 22
บทที่ 5 วิธีการดำเนินการวิจัย 24
5.1 วิธีการศึกษาทดลอง 24
5.1.1 องค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเบื้องต้น 24
5.1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มปริมาณลิพิด 25
5.1.3 การสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 25
5.2 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล 27
บทที่ 6 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 28
6.1 ผลการทดลอง 28
6.1.1 องค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเบื้องต้น 28
6.1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มปริมาณลิพิด 44
6.1.3 การสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 45
บทที่ 7 สรุปผลการทดลอง 46
7.1 สรุปผลการทดลอง 46
7.1.1 ศึกษาองค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเบื้องต้น 46
7.1.2 ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มปริมาณลิพิด 46
7.1.3 ศึกษาการสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 46
7.2 สรุปผลที่ได้จากการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา 46
7.2.1 ปัญหาและอุปสรรค 46
7.2.2 ประโยชน์ที่รับ 47
7.2.3 สิ่งที่ได้รับ 47
บรรณานุกรม 48
ภาคผนวก 50
ภาคผนวก ก. 51
ภาคผนวก ข. 56

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 ปริมาณน้ำมันที่สะสมไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก 10

ตารางที่ 3.2 เปรียบเทียบศักยภาพในการผลิตชีวมวล ปริมาณน้ำมันสะสม และพลังงานเชื้อเพลิงระหว่าง พืชน้ำมันชนิดต่างและสาหร่ายขนาดเล็ก 11

ตารางที่ 5.1 ความเข้มข้นของสารอาหารในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้แผนการทดลอง Plackett-Burman 25

ตารางที่ 6.1 แผนการทดลอง Plackett-Burman ในการคัดเลือกองค์ประกอบของสารอาหารที่มีผลต่อการผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก 28

ตารางที่ 6.2 ข้อมูลทางสถิติของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของผลผลิตการสกัดลิพิดจาก *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 44

ตารางที่ 6.3 ข้อมูลทางสถิติของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของผลผลิตการสกัดลิพิดจาก *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 45

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 3.1 ลักษณะเซลล์ของ *Ankistrodesmus* sp. 12

รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการแบ่งเซลล์ของเซลล์สาหร่าย 13

รูปที่ 3.3 การเจริญเติบโตของเซลล์จุลสาหร่าย 13

รูปที่ 6.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 1 29

รูปที่ 6.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 2 30

รูปที่ 6.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 3 31

รูปที่ 6.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 4 32

รูปที่ 6.5 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 5 33

รูปที่ 6.6 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 6 34

รูปที่ 6.7 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 7 35

รูปที่ 6.8 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 8 36

รูปที่ 6.9 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 9 37

รูปที่ 6.10 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 10 38

รูปที่ 6.11 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 11 39

รูปที่ 6.12 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 12 40

รูปที่ 6.13 ความเข้มข้นของชีวมวลจาก *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 การเพาะเลี้ยงภายใต้การทดลองที่ต่างกัน 42

เอกส [illegible] ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด [illegible] ละต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 6.14 ผลผลิตชีวมวลจาก *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 การเพาะเลี้ยงภายใต้การทดลองที่ต่างกัน 43

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ชื่อและสถานที่ตั้งของสถานประกอบการ

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ม.เกษตรศาสตร์
Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart Unversity
50 อาคารอมรภูมิรัตน ถนนงามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทรศัพท์ : 0 2942 8629-35
แฟกซ์ : 0 2940 6455
E-mail: ifr@ku.ac.th
Website: ifrpd.ku.ac.th

1.2 เกี่ยวกับสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มีชื่อย่อว่า "สถาบันอาหารฯ" เดิมคือฝ่ายศึกษาทดลอง และวิจัยขององค์การอาหารสำเร็จรูป (อสร.) ซึ่งมีหน้าที่จัดหาเครื่องจักรอุปกรณ์การผลิตและทดลองผลิตอาหารให้แก่ กองทัพ ก่อตั้งขึ้นเมื่อปี พ.ศ.2498 ณ บริเวณภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยมี ศาสตราจารย์อมร ภูมิรัตน เป็นหัวหน้าฝ่ายศึกษาทดลองและวิจัย ดังกล่าว ต่อมา อสร. ได้จัดตั้งโรงงานขนาดใหญ่ขึ้น ที่อำเภอบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี จึงไม่มีความจำเป็น ต้องใช้ฝ่ายศึกษาทดลองวิจัยอีกต่อไป คณะรัฐมนตรีจึงได้มีมติให้โอนฝ่ายศึกษาทดลอง และ วิจัยนี้ให้แก่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อวันที่ 30 กันยายน 2511 ซึ่ง ขณะนั้น ศาสตราจารย์อินทรีย์ จันทรสถิตย์ ดำรงตำแหน่ง อธิการบดีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ชื่อภาษาอังกฤษว่า Institute of Food Research and Product Development (IFRPD) ก่อตั้งอย่าง เป็นทางการขึ้นเมื่อวันที่ 30 กันยายน 2511 โดยมีศาสตราจารย์อมร ภูมิรัตน เป็นผู้อำนวยการคนแรก สถาบันอาหารฯ เป็นสถาบันเฉพาะทางทำหน้าที่ศึกษาวิจัย ด้านวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการอาหาร เพื่อเป็นแหล่งข้อมูล และให้บริการวิชาการ แก่สังคม ตลอดจนทำการวิจัยตามนโยบายของรัฐบาลเพื่อแก้ไขปัญหาทางเศรษฐกิจของประเทศที่เกี่ยวข้องกับผลิตผลทางการเกษตร

1.3 วิสัยทัศน์

- เป็นผู้นำนวัตกรรมอาหาร
- เป็นที่พึ่งทางวิชาการและเป็นผู้ชี้นำอุตสาหกรรมอาหารของประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสาร[illegible]ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 พันธกิจ

- มุ่งพัฒนางานวิจัยให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์และเป็นทิศทางของอุตสาหกรรมอาหารของประเทศ
- มุ่งพัฒนาระบบการถ่ายทอดความรู้สู่ภาคอุตสาหกรรมอาหารของประเทศ
- มุ่งพัฒนาระบบบริหารบุคลากรอย่างต่อเนื่อง
- มุ่งพัฒนาระบบบริหารจัดการที่มีคุณภาพอย่างต่อเนื่อง

1.5 นโยบาย

- **การวิจัยและการพัฒนา**

การวิจัยและการพัฒนาพัฒนางานวิจัยมุ่งสู่การสร้างนวัตกรรมอาหารผลักดันนักวิจัยรุ่นใหม่ให้มี ความสามารถในการผลิตงานวิจัยร่วมกับภาคเอกชน เพื่อรองรับอุทยานวิทยาศาสตร์อาหาร (KU Food Science Park) ส่งเสริมให้มีการตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานวิจัยในวารสารทั้งในและต่างประเทศสร้างเครือข่ายงานวิจัยและพัฒนาด้านอุตสาหกรรมอาหารกับหน่วยงานภายนอกโดยเฉพาะภาคเอกชนจัดหางบประมาณอุดหนุนการวิจัยจากแหล่งทุนภายในและภายนอกประเทศ

- **การบริหารจัดการ**

ส่งเสริมการบริหารจัดการให้มีประสิทธิภาพถูกต้องให้สถาบันสามารถเลี้ยงตัวเองได้เน้นการมีส่วนร่วมของบุคลากรพัฒนาและปรับปรุงระบบสารสนเทศและฐานข้อมูล เพื่อการบริหารจัดการในทุกภารกิจ ส่งเสริมการวิจัยของสถาบันในภารกิจหลัก พัฒนาศักยภาพบุคลากรพร้อมเข้าสู่การเป็นประชาคมอาเซียนพัฒนาการประชาสัมพันธ์ให้เป็นที่รู้จักและยอมรับในสังคม

1.6 วัตถุประสงค์

- วิจัยและพัฒนาด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสร้างนวัตกรรมเพื่อส่งเสริมและสนับสนุนอุตสาหกรรมอาหารของประเทศ
- ให้บริการประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยอาหาร
- เป็นแหล่งวิชาการที่สามารถชี้นำและร่วมแก้ไขปัญหาทางด้านอุตสาหกรรมอาหารเพื่อพัฒนาเศรษฐกิจสังคมสิ่งแวดล้อมและสนับสนุนการเรียนการสอน

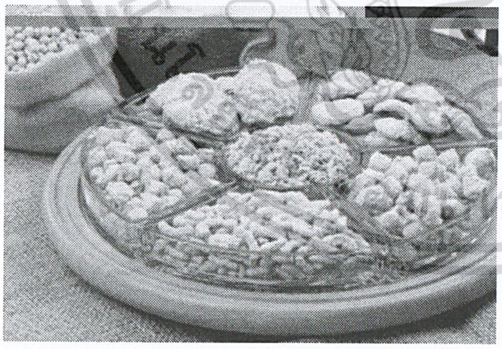
- ถ่ายทอดเทคโนโลยีที่เหมาะสมสร้างความเข้มแข็งให้แก่ธุรกิจอุตสาหกรรมเพื่อการแข่งขันในระดับสากล

1.7 ผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์ทุกผลิตภัณฑ์ที่สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ผลิตออกจำหน่าย จะเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นผลจากการศึกษา ค้นคว้า วิจัย ทดลอง และพัฒนา ของนักวิจัยสถาบันฯ ตามหลักวิชาการ อย่างจริงจังและต่อเนื่อง จนมั่นใจว่าเป็นผลิตภัณฑ์ทีมีคุณภาพ สะอาด ปลอดภัย และได้มาตรฐาน จึงสามารถสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภคได้อย่างแน่นอน

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร จะผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ชนิด/ประเภท ใหม่ ๆ ออกจำหน่ายให้แก่ผู้บริโภค อย่างสม่ำเสมอ ผู้บริโภคสามารถติดตามข้อมูลและข่าวสารได้จาก Web Site นี้นอกเหนือจากผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพแล้ว สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ยังมีบริการต่าง ๆ ที่มีคุณภาพ อีกด้วย ได้แก่ การบริการทางวิชาการ การตรวจวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารและวัตถุดิบ การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ (Product R&D) การให้บริการเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์การผลิตผิตภัณฑ์อาหาร ให้แก่ผู้ประกอบการทุกระดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งระดับ SMEs ระดับครัวเรือนที่ต้องการการสนับสนุนด้านองค์ความรู้และทรัพยากรบุคคล การบริการห้องประชุม พร้อมอุปกรณ์ที่ทันสมัย/ครบครัน และอาหารที่ สะอาด อร่อย ถูกหลักโภชนาการ ในราคาที่เหมาะสม

- **โปรตีนเกษตรหรือเนื้อเทียม (Textured Vegetable Protein : TVP)**



เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตโดย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ผลิตจากแป้งถั่วเหลืองพร่องไขมัน 100% จึงมีคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งเป็นโปรตีนจากพืชถึง 50% โดยโปรตีน จากถั่วเหลืองดังกล่าวถือว่ามีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายครบทุกตัว โดยเฉพาะมีไลซีน (Lysine) สูง นอกจากนี้โปรตีนเกษตรยังมีราคาถูกเมื่อเทียบกับเนื้อสัตว์ เครื่องจักรที่สำคัญในการผลิตโปรตีนเกษตร คือเครื่องเอ็กซ์ทรูดเดอร์ (Extruder)โดยการใส่แป้งถั่ว-เหลืองพร่องไขมันเข้าเครื่องเอ็กซ์ทรูดเดอร์ ซึ่งมีความดันและอุณหภูมิสูง ในระยะเวลาสั้นๆเรียกว่ากระบวนการอัดพอง หรือ extrusion processแป้งถั่วเหลืองพร่องไขมันได้รับความร้อนขณะเคลื่อนตัวไปตามร่องสกรูของเครื่องเอ็กซ์ทรูดเดอร์ จนสภาพธรรมชาติเปลี่ยนไป (protein denatured)เป็นของเหลวข้นและถูกอัดผ่านรูเล็กๆที่มีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมออกมา พร้อมกับถูกใบมีดที่ติดตั้งอยู่ที่ปลายเครื่อง ตัดออกเป็นชิ้นๆ หล่นลง

สู่สายพาน นำเข้าอบเพื่อไล่ความชื้นให้เหลือต่ำกว่า 5%ก็จะได้ผลิต ภัณฑ์โปรตีนที่มีลักษณะคล้ายเนื้อสัตว์ที่เรียกว่า "โปรตีนเกษตร"

- **น้ำปลาหวาน Sweet Dipping Sauce**

น้ำปลาหวาน จัดเป็นอาหารสมุนไพรที่คนไทยรู้จักและคุ้นเคยกันดี นิยมนำมา รับประทานคู่กับมะม่วงดิบ ผลิตภัณฑ์น้ำปลาหวาน ตรา เคยู ฟู้ด ให้รสชาติหอมหวานของน้ำตาลมะพร้าวที่ไม่เติมสารฟอกขาว นำมาเคี่ยวกับน้ำปลา เติมส่วนประกอบอื่นๆ ที่คัดสรรมาอย่างดีไม่ว่าจะเป็นกุ้งแห้ง หอมแดง และพริกขี้หนู ผ่านกรรมวิธีการผลิตเพื่อให้สามารถเก็บรักษาได้นาน โดยไม่ใช้วัตถุกันเสีย และ ยังคงรสชาติที่กลมกล่อม มีทั้งขนาดบรรจุ 280 และ 580 กรัม

- **ไวน์เกษตร**

การวิจัยและพัฒนาไวน์จากองุ่น

ใช้องุ่นพันธุ์ต่างประเทศ ที่ปลูกโดย ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม เป็นองุ่นเขียว 21 พันธุ์และองุ่นแดง 22 พันธุ์ หมักที่อุณหภูมิ 22 ±1 °ซ. โดยใช้เชื้อยีสต์ผง K1-V1116 ยี่ห้อ Lalvin ประเทศแคนาดา พบว่าองุ่นที่เก็บ เกี่ยวในฤดูหนาวและฤดูร้อน มีองค์ประกอบน้ำองุ่นดีกว่าองุ่นที่เก็บในฤดูฝน คุณภาพของไวน์ที่ได้จากองุ่นเก็บเกี่ยวในแต่ละฤดูนั้น พบว่าองุ่นขาวซึ่งให้ ไวน์คุณภาพดีทุกฤดูเก็บเกี่ยวคือพันธุ์ Italia , Shimo , Early Muscat และ Cortese กลิ่นไวน์ขาวจากองุ่น Italia และ Early Muscat เป็นที่ยอมรับจาก ผู้ชิมมาก ส่วนองุ่นแดงที่ผลิตไวน์แดงคุณภาพใช้ได้ทุกฤดูเก็บเกี่ยวคือ Barbera , Rubired และ Nebbiolo กลิ่นไวน์จากองุ่นแดง Rubired และ Barbera เป็นที่ยอมรับ

การวิจัยและพัฒนาไวน์ผลไม้

วิจัยไวน์จากผลไม้เกือบทุกชนิดในประเทศไทย เช่น ไวน์ลิ้นจี่, ไวน์กระท้อน, ไวน์ฝรั่ง(ไส้แดง), ไวน์เสาวรส, ไวน์กล้วยหอม, ไวน์มะเฟือง, ไวน์ลูกหว้า,ไวน์มะนาว เป็นต้น เป็นที่ยอมรับของผู้ชิม การทดลองผลิตไวน์จากลิ้นจี่พันธุ์ต่างๆในประเทศไทยเพื่อเปรียบเทียบคุณภาพ พบว่าลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ผลิตไวน์คุณภาพดี เป็นที่ยอมรับมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอก ารค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และยังทดลองผลิตพอร์ต (ไวน์เติมแอลกอฮอล์กลั่น) จากลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยและจากสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองได้คุณภาพเป็นที่น่าพอใจ

1.8 ตำแหน่งและลักษณะงานที่นักศึกษาได้รับมอบหมายให้รับผิดชอบ

ตำแหน่งงาน : ผู้ช่วยวิจัย

ลักษณะงาน : ปฏิบัติการวิจัย วิเคราะห์ และสรุปผลวิจัยทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ

1.9 ชื่อและตำแหน่งงานของผู้นิเทศงาน

ชื่อผู้ของนิเทศงาน : นางสาววนิดา ปานอุทัย

ตำแหน่งของผู้นิเทศงาน : นักวิจัยชำนาญการ ฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์

1.10 ระยะเวลาที่ปฏิบัติงาน

เริ่มวันที่ 4 มกราคม พ.ศ. 2560 สิ้นสุดวันที่ 28 เมษายน พ.ศ. 2560

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทที่ 2

วัตถุประสงค์ ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และแผนการปฏิบัติสหกิจศึกษา

2.1 วัตถุประสงค์ที่นักศึกษาหรือพนักงานที่ปรึกษากำหนดให้ทำ

1) เพื่อให้นักศึกษาได้รับประสบการณ์การปฏิบัติงานที่แท้จริงและมีโอกาสฝึกฝนการทำงาน ตลอดจนศึกษาหาความรู้
2) เพื่อฝึกฝนให้มีความรับผิดชอบ มีระเบียบวินัย การวางแผน และสามารถปรับตัวเข้ากับสถานการณ์ต่าง ๆ ได้อย่างเหมาะสม
3) เพื่อให้นักศึกษาได้เตรียมความพร้อมก่อนจบการศึกษาเพื่อออกไปทำงานจริงและนำประสบการณ์ที่ได้รับจากการฝึกงานมาประยุกต์ใช้ในการทำงานต่อไป
4) เพื่อให้นักศึกษาได้เรียนรู้ลักษณะงานของแต่ละตำแหน่งงานที่ได้รับมอบหมาย
5) เพื่อให้นักศึกษากล้าที่จะเสนอความคิดเห็นและกล้าที่จะเผชิญหน้ากับปัญหา ความล้มเหลว เพื่อให้เกิดกระบวนการคิดวิเคราะห์แก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น
6) เพื่อคิดค้นและวิจัยพัฒนาแก้ไขปัญหาที่อาจจะเกิดขึ้นในอนาคตภายหน้าให้กับองค์กร
7) เพื่อให้นักศึกษาพัฒนาศักยภาพและเพิ่มประสบการณ์ด้านวิชาชีพ

2.2 ผลที่คาดว่าจะได้รับจากการปฏิบัติงาน

2.2.1 ด้านสถานประกอบการ

สถานประกอบการได้บุคลากรรุ่นใหม่ที่มีแนวทางความคิดริเริ่มสร้างสรรค์สิ่งใหม่ๆที่ช่วยส่งเสริมงานขององค์กรเข้าร่วมในการทำงาน มีส่วนร่วมในการพัฒนาองค์กร และคิดค้นและวิจัยพัฒนาแก้ไขปัญหาที่รวมถึงปัญหาที่อาจจะเกิดขึ้นในอนาคต เพื่อควบคุมคุณภาพในผลิตภัณฑ์ให้ดีก่อนออกไปสู่มือของผู้บริโภค

2.2.2 ด้านนักศึกษา

1) ได้รับความรู้ใหม่ และประสบการณ์ ในสภาวะการทำงานจริง
2) ได้พัฒนากระบวนการคิด ทักษะในห้องปฏิบัติการ และวางแผนการทำงานจริง
3) ฝึกให้ผู้ปฏิบัติงานมีความรับผิดชอบในงานที่ได้รับมอบหมาย
4) พัฒนาบุคลิกภาพ ช่วยสร้างความมั่นใจในการทำงาน และการแสดงความคิดเห็น
5) สามารถนำประสบการณ์จากการฝึกงานไปใช้แก้ปัญหาในชีวิตประจำวันได้
6) สำเร็จการศึกษาเป็นบัณฑิตที่มีศักยภาพในการทำงานที่มีมากกว่าและมีโอกาส ได้รับการเสนองานก่อนที่สำเร็จการศึกษา

7) เรียนรู้การทำงานภายในห้องปฏิบัติการ และลักษณะการทำงานของนักวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์
8) เรียนรู้ขั้นตอนการทำงานของนักวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งถึงขั้นตอนสุดท้ายที่นำผลที่พัฒนาได้ไปทำการผลิตจริง
9) เรียนรู้และเสริมความรู้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพสาหร่าย
10) นำความรู้และศักยภาพที่ได้มาจากการเรียนรู้ในรั้วมหาวิทยาลัยมาใช้ในการปฏิบัติงาน

2.2.3 ด้านสถาบัน

ทางสถาบันเกิดความร่วมมือทางวิชาการและสร้างความสัมพันธ์ที่ดีกับสถานประกอบการ เพื่อการแลกเปลี่ยนความรู้ซึ่งกันและกัน สถาบันได้แสดงศักยภาพของนักศึกษาที่ผ่านการอบรมเรียนรู้จากสถาบัน ทดสอบความรู้ความสามารถของนักศึกษา เพื่อได้รับข้อมูลย้อนกลับมาปรับปรุงหลักสูตรและการเรียนการสอนของสถาบัน

2.3 แผนการปฏิบัติสหกิจศึกษา

หัวข้องาน		เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
1	เรียนรู้และฝึกปฏิบัติงานเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพสาหร่าย	▨	▨	▨	▨
2	การศึกษาองค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเบื้องต้น	▨	▨		
3	การศึกษากระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อเพิ่มปริมาณลิพิด			▨	
4	การศึกษากระบวนการสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก				▨

บทที่ 3

การเพาะเลี้ยงและสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

3.1 ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันหลายประเทศได้รับผลกระทบจากน้ำมันที่มีราคาเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องที่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศและส่งผลกระทบด้านสิ่งแวดล้อมตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันมีความต้องการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงเพิ่มสูงขึ้นเพื่อใช้ในด้านกระบวนการผลิตและการแปรรูป ด้านการคมนาคม และด้านต่าง ๆ ผู้คนจำนวนมากจึงมองหาพลังงานทดแทนที่สามารถเพิ่มกำลังการผลิตน้ำมันและลดต้นทุนการนำเข้าของน้ำมันเชื้อเพลิง พลังงานจากธรรมชาติจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกใหม่ที่สามารถค้นพบได้ง่ายและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและลดลงต้นทุนการผลิตไบโอดีเซลให้ต่ำลง การเลือกสิ่งมีชีวิตที่มีความเหมาะสมในฐานะผู้ผลิตไบโอดีเซล ซึ่งสาหร่ายมีแนวโน้มมากที่สุดสำหรับ (Huang and Su, 2014) ซึ่งสาหร่าย (algae) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่พบได้ทั่วไปอาทิ เช่น ตามแหล่งน้ำ คลองต่าง ๆ และสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว จึงไม่ต้องแข่งขันกับการปลูกพืชบนดินเพื่อใช้เป็นพืชอาหาร และสามารถเก็บเกี่ยวนำไปใช้ผลิตพลังงานได้ต่อเนื่อง (Nascimento และคณะ, 2015) อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพสูงกว่าพืชชนิดอื่นในการผลิตน้ำมัน เนื่องจากโครงสร้างและองค์ประกอบที่ไม่ซับซ้อน ทำให้สาหร่ายเจริญได้อย่างรวดเร็ว สาหร่ายคาดว่ามีประสิทธิภาพการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์มากกว่าพืชสูงถึง 10-50 เท่า แสดงให้เห็นถึงสาหร่ายมีประสิทธิภาพ การตรึงแก๊สชนิดนี้และที่น่าสนใจคือ การสร้างชีวมวลของสาหร่ายเกิดจากการสังเคราะห์แสงที่เป็นทรัพยากร ที่ สามารถใช้ได้อย่างไม่หมดสิ้น (renewable resource) ดังนั้นเราจึงให้ความสนใจกับการเพิ่มกำลังการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) เพื่อลดผลกระทบต่าง ๆที่เกิดขึ้นต่อหลายประเทศทั่วโลก โดยเฉพาะสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) ยังใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งช่วยลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ทำให้เกิดภาวะโลกร้อนที่เป็นปัญหาสำคัญของโลกในปัจจุบัน โดยปริมาณที่ได้รับจากการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) ค่อนข้างน้อย ทำให้ใช้ต้นทุนในการผลิตสูง ดังนั้นการค้นหาองค์ประกอบของสารอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง (cultivation) สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตน้ำมันให้มีประสิทธิภาพสูงสุด จึงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการผลิตน้ำมัน ดังนั้นการศึกษาระยะต่าง ๆของการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กมีประโยชน์ในการตรวจสอบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยง เราจึงต้องทำการศึกษาลักษณะของการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กในระยะต่าง ๆ ดังนั้นการเลือกสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจึงเป็นสิ่งที่สำคัญที่สุดในการให้ผลผลิต เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปและยังสามารถลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงในอนาคต

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae)

สาหร่ายขนาดเล็กจัดเป็นพืชชั้นต่ำเซลล์เดียว ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 2 ไมโครเมตร ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า การศึกษาโครงสร้างของเซลล์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ องค์ประกอบของเซลล์ ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ ซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่นเดียวกับพืชทั่วไป โดยใช้ คาร์บอนไดออกไซด์และมีการสร้างออกซิเจน สาหร่ายขนาดเล็กสามารถเจริญและพบได้ตามแหล่งน้ำ ธรรมชาติต่าง ๆ เช่น แหล่งน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม ตลอดจนในบ่อน้ำเสีย เป็นต้น (Scragg และคณะ, 2002; Hammond and Glatz, 1988) และเนื่องจากข้อดีของสาหร่ายขนาดเล็กในด้านของพลังงาน มีการสะสม พลังงานภายในเซลล์ในรูปของสารอินทรีย์จากการสังเคราะห์แสง สารอินทรีย์สะสมเหล่านี้ได้แก่ แป้ง น้ำตาล พอลีแซ็กคาร์ไรด์ และไขมัน (Graham, 2000) ซึ่งสารอินทรีย์เหล่านี้ส่วนใหญ่จะสะสมอยู่บริเวณผนังเซลล์ หรือแวคิวโอลของสาหร่าย โดยสาหร่ายขนาดเล็กบางสายพันธุ์มีการสะสมลิพิดภายในเซลล์เป็นจำนวนมากถึง ร้อยละ 80 จากน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ปริมาณน้ำมันที่สะสมไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายขนาดเล็ก	ปริมาณลิพิด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
Botryococcus braunii	25-75
Chlorella sp.	28-32
Crypthecodinium cohnii	20
Cylindrotheca sp.	16-37
Dunaliella primolecta	23
Isochrysis sp.	25-33
Monallanthus salina	>20
Nannochloris sp.	20-35
Nannochloropsis sp.	31-68
Neochloris oleoabundans	35-54
Nitzschia sp.	45-47
Phaeodactylum tricornutum	20-30
Schizochytrium sp.	50-77
Tetraselmis sueica	15-23

ที่มา : Chisti Y., 2007

สาหร่ายขนาดเล็กมีศักยภาพในการให้น้ำมันได้ในปริมาณสูง เนื่องจากมีระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสั้นกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ และเมื่อเปรียบเทียบพื้นที่ ระยะเวลาการเพาะปลูกกับพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 แล้ว หากสามารถนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงทดแทนได้ย่อมสามารถลดการเกิดปัญหาในการแย่งส่วนแบ่งทางอาหารหรือเกษตรกรรมจากพืชน้ำมันทั่วไปได้

ตารางที่ 3.2 เปรียบเทียบศักยภาพในการผลิตชีวมวล ปริมาณน้ำมันสะสม และพลังงานเชื้อเพลิงระหว่าง พืชน้ำมันชนิดต่างและสาหร่ายขนาดเล็ก

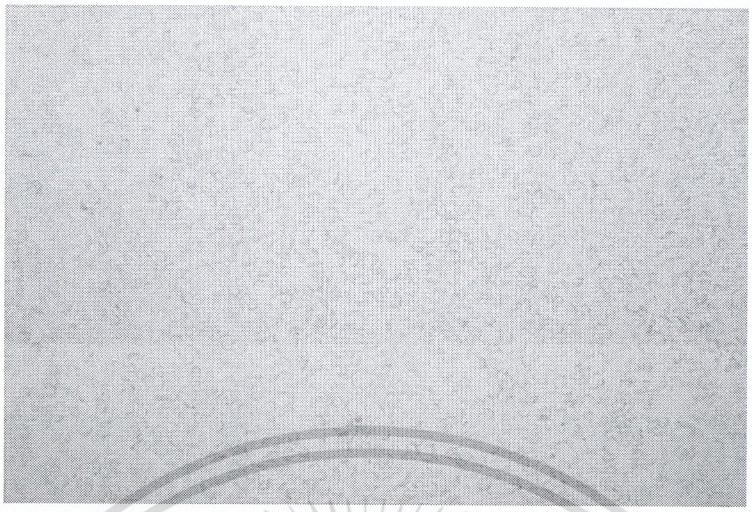
ชนิดของพืชน้ำมัน	น้ำมัน (ลิตร/เฮกตาร์)
สาหร่าย (Algae)	100,000
ละหุ่ง (Castor)	1,413
มะพร้าว (Coconut)	2,689
ปาล์ม (Palm)	5,950
ดอกคำฝอย (Safflower)	779
ถั่วเหลือง (Soy)	446
ดอกทานตะวัน (Sunflower)	952

ที่มา : Demirbas, A. and Demirbas., 2011

จุลสาหร่ายจัดเป็นทรัพยากรชีวภาพ (bioresource) ที่มีความสำคัญยิ่งทางเศรษฐกิจเนื่องจากสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเป็นจำนวนมากได้ ตามความต้องการและมีศักยภาพในการนำมาเป็นวัตถุดิบของโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ เพื่อผลิตสารที่เป็นประโยชน์หลายชนิด เพราะภายในเซลล์ของ จุลสาหร่ายมีสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีคุณค่าในเชิงพาณิชย์สูงอยู่มากมาย อันได้แก่ กรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด กรดไขมันไม่อิ่มตัว วิตามิน เกลือแร่ รงควัตถุหรือสีธรรมชาติ และสารปฏิชีวนะ เป็นต้น

สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Ankistrodesmus sp.*

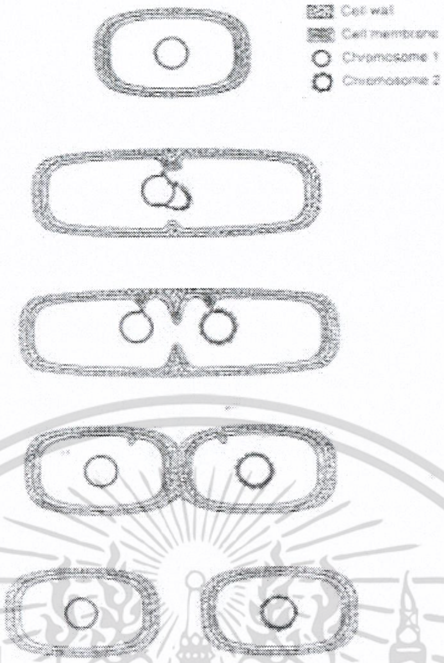
สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Ankistrodesmus* sp. เซลล์มีลักษณะเรียวยาว ส่วนปลายโค้งมนเล็กน้อย คล้ายพระจันทร์เสี้ยว อาจอยู่รวมเป็นกลุ่มหรือโคโลนีเดี่ยว ๆ ลักษณะทางกายภาพของเซลล์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระยะเริ่มต้นการเจริญเติบโตจนกระทั่งเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ และเมื่อเริ่มเข้าสู่ระยะใกล้ตาย (Death phase) สีเขียวภายในเซลล์จะค่อยๆ จางลงเป็นสีเหลือง รูปที่ 3.1



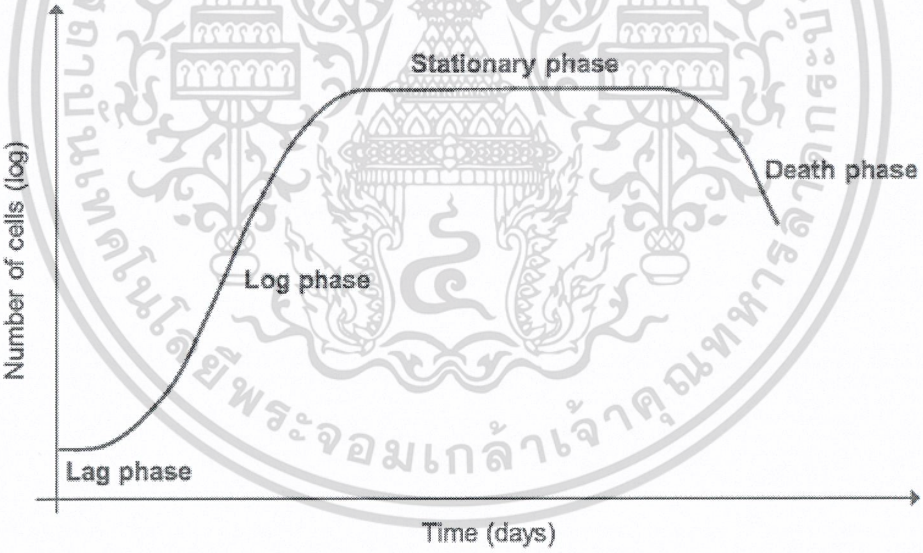
รูปที่ 3.1 ลักษณะเซลล์ของ *Ankistrodesmus* sp.

การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย

เซลล์สาหร่ายมีเจริญเติบโต (growth) และการเจริญพันธุ์ (reproduction) โดยการแบ่งเซลล์ การเจริญเติบโตโดยทั่วไป การเพิ่มจำนวนและการเจริญพันธุ์ โดยทั่วไปเซลล์สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งตัวเองจาก 1 เซลล์เป็น 2 เซลล์ (binary fission) และเป็นการแบ่งเซลล์ตามขวาง (transverse fission) ก่อนที่จะมีการแบ่งเซลล์ จะมีขนาดยาวขึ้น มีการสร้าง DNA RNA โปรตีนชนิดต่าง ๆ และสารประกอบอื่น ๆ ขึ้นภายในเซลล์ ต่อมาจะมีการสร้างผนังกั้นเซลล์ทางขวาง แบ่งเซลล์ออกเป็น 2 ส่วน จากนั้นเซลล์ที่เกิดขึ้นใหม่จึงแยกออกจากกันเป็น 2 เซลล์ การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายในแต่ละช่วงที่เพิ่มจำนวนขึ้นเท่าตัวนั้น เรียกว่า generation ระยะเวลาที่ใช้ในแต่ละ generation เรียกว่า generation time ดังรูปที่ 3.2 แสดงขั้นตอนการแบ่งเซลล์ของเซลล์สาหร่าย เนื่องจากเซลล์สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนแบบทวีคูณ การหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนของเซลล์สาหร่าย และระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง โดยวิธีทำกราฟแสดงความสัมพันธ์โดยใช้สเกลธรรมดาจึงไม่เหมาะสม เพราะถ้าเซลล์สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่เร็ว ดังนั้น การหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ และเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจึงมักใช้ค่า logarithmic (log) ของจำนวนเซลล์สาหร่าย ดังนั้นหากมีการทำกราฟเพื่อแสดงการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แกน Y ของกราฟจะเป็นค่า log ของจำนวนเซลล์สาหร่าย ส่วนแกน X จะเป็นเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง จำนวนของเซลล์สาหร่ายที่สัมพันธ์กับเวลาแสดงเป็น growth curve ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการแบ่งเซลล์ของเซลล์สาหร่าย (ธวัชชัย, 2547)



รูปที่ 3.3 การเจริญเติบโตของเซลล์จุลสาหร่าย (Tamara Straube และคณะ, 2016)

ระยะของการเจริญเติบโตเมื่อนำเซลล์สาหร่าย (ธวัชชัย, 2547) จำนวนหนึ่ง ใส่ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นของเหลวแล้วจัดสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ออกซิเจน ให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโต จะพบว่าเซลล์สาหร่ายมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น รูปแบบของการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายจะเป็นไป ดังแสดงในรูปที่ 3.2 ซึ่งแบ่งเป็นระยะต่าง ๆ ได้ 4 ระยะ ดังนี้

1) Lag phase (ระยะพัก) เป็นระยะแรกที่เซลล์สาหร่าย เริ่มพบกับอาหารและสิ่งแวดล้อมใหม่ จะปรับตัวให้เข้ากับอาหารและสิ่งแวดล้อมนั้น มีการสร้างเอนไซม์ที่เหมาะสม ที่จะใช้กับอาหารเลี้ยงเชื้อ

มีการสร้างโปรตีน และส่วนประกอบอื่น ๆ ที่สำคัญของเซลล์ ตอนระยะท้ายๆ ของระยะนี้ เซลล์อาจจะมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าเดิมเล็กน้อยและพร้อมที่จะแบ่งตัวระยะ lag นี้อาจจะยาวนานแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อ

2) Exponential หรือ log phase (ระยะแบ่งตัวทวีคูณ) เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด มีอัตราการแบ่งตัวคงที่ ส่วนประกอบทางเคมีของเซลล์ และขบวนการต่าง ๆตลอดจนคุณสมบัติทางสรีรวิทยาเป็นแบบเดียวกัน

3) Stationary phase (ระยะคงจำนวนเซลล์) เป็นระยะที่เซลล์มีจำนวนคงที่ ซึ่งแสดงว่าเซลล์สาหร่ายไม่มีการเพิ่มจำนวนอีก หรือคืออัตราเกิดเท่ากับอัตราตาย การที่เซลล์สาหร่ายเจริญเติบโตแล้วเข้าสู่ระยะ Stationary นี้เพราะอาหารเลี้ยงเชื้อใกล้จะหมดลงจึงเจริญช้าลง นอกจากนี้ของเสียที่เซลล์สาหร่ายสร้างขึ้นยังยับยั้งการเจริญเติบโตด้วย

4) Death phase หรือ decline phase (ระยะเซลล์ตาย) เป็นระยะสุดท้าย เซลล์สาหร่ายที่มีอยู่จะตายลงมากกว่าเซลล์สาหร่ายที่เพิ่มจำนวนขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะอาหารอาจหมด มีสารพิษสะสมอยู่เป็นจำนวนมาก

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์สาหร่าย (สกานต์, 2535)

1) อุณหภูมิ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายคือ 25 - 35 องศาเซลเซียส สาหร่ายไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส ประเทศไทยมีสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมมากสำหรับเป็นแหล่งผลิตสาหร่าย เนื่องจากมีอุณหภูมิอากาศที่เหมาะสม ค่าอุณหภูมิของอากาศโดยเฉลี่ยประมาณ 32 - 35 องศาเซลเซียส

2) แสง ความเข้มแสง เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ถ้าความเข้มของแสงสูง ความสามารถในการใช้พลังงานแสงของสาหร่ายจะลดลง ความเข้มแสงที่เหมาะต่อการเจริญของสาหร่ายเมื่อเพาะเลี้ยงสภาพกลางแจ้งคือ 30 - 35 กิโลลักซ์

3) ความเข้มข้นเชื้อตั้งต้น การเพาะเลี้ยงสาหร่ายจำนวนมาก ควรใช้สารตั้งต้นในปริมาณที่เหมาะสม อยู่ระหว่าง 225 - 250 มิลลิลิตรของน้ำหนักแห้งต่ออาหารที่เพาะเลี้ยง 1 ลิตร

4) แร่ธาตุอาหาร แร่ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามปริมาณของแร่ธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการ แร่ธาตุอาหารแต่ละกลุ่มมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช

แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณมาก (macronutrients หรือ major elements) ได้แก่ธาตุคาร์บอน ไนโตรเจน ออกซิเจน ไฮโดรเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโพแทสเซียม แหล่งของธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ได้มาจากคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และก๊าซออกซิเจน ตามลำดับ ทั้งคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสารหลักภายในพืชได้แก่โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน

แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณน้อย (micronutrients หรือ minor elements) คือ ต้องการเป็นปริมาณมิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ต่ำกว่านี้ แร่ธาตุเหล่านี้มีอยู่ 7 ชนิด ได้แก่ คลอรีน เหล็ก แมงกานีส โบรอน สังกะสี ทองแดง และโมลิบดินัม

1) แหล่งคาร์บอน โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต เป็นแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยัง สามารถใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้โดยตรงได้

2) การกวนน้ำ การกวนมีผลต่อการเจริญของสาหร่าย ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตดี เป็นการเพิ่ม การกระจายตัวของสาหร่ายให้ได้รับแสงอย่างสม่ำเสมอ ช่วยลดอัตราการตกตะกอนของสาหร่าย สารอาหารกระจายตัวอย่างทั่วถึง ทำให้เซลล์สาหร่ายดูดซึมสารอาหารต่าง ๆ ไปใช้ได้อย่างมี ประสิทธิภาพ ป้องกันไม่ให้เกิดความแตกต่างของอุณหภูมิที่ผิวน้ำ และระดับลึกลงไป เครื่องมือที่ สามารถติดตั้งเพื่อทำการกวนอาจเป็นใบพัด หรือ thermoziphon การกวนโดยให้น้ำเคลื่อนที่ควรอยู่ที่ ความเร็วประมาณ 21 - 25 cm/s ซึ่งเป็นอัตราที่ไม่รบกวนสาหร่าย

3) น้ำ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นหัวเชื้อในห้องปฏิบัติการ คือ น้ำกลั่น เพื่อให้บริสุทธิ์สะอาด แต่น้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงปริมาณมากจะเป็นน้ำประปาที่ไม่มีคลอรีน น้ำบ่อหรือน้ำบาดาลที่ใสสะอาดไม่มี โลหะหนัก ใช้หุงต้มได้ก็ได้ น้ำบ่อหรือน้ำบาดาลมักจะใช้ได้ผลดีกว่า

4) ความเป็นกรดด่าง การควบคุมค่าความเป็นกรดด่างให้อยู่ช่วงที่เหมาะสม 9.5 - 10.5 ซึ่งเป็น สภาวะที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เนื่องจากค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการ เจริญเติบโตของแบคทีเรียจะอยู่ในช่วง 4 - 6 อีกทั้งยังควบคุมไม่ให้เกิดการปนเปื้อนจากสิ่งมีชีวิตหรือ สาหร่ายชนิดอื่นที่เป็นพิษ

อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ (สกานต์, 2535)

1) อาหารแข็งหรืออาหารวุ้น (Solid or agar media) ทำโดยเตรียมอาหารเหลวก่อนแล้วเติม วุ้นลงไป วุ้นที่ใช้เป็นวุ้นที่บริสุทธิ์ การแยกเชื้อสาหร่ายควรเตรียมวุ้นให้แข็งหรือถ้าต้องการทำอาหาร แบบเอียง (Slant agar) เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิที่เหมาะสม

2) อาหารเหลว การเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวทำโดยนำเชื้อจากอาหารแข็งมาถ่ายเพาะลงใน อาหารเหลวในขวดรูปชมพู่ (flask) แล้วปิดด้วยจุกสาลี

3) ส่วนประกอบที่สำคัญสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่

- แหล่งพลังงาน ได้จากการสลายสารประกอบอินทรีย์ และอนินทรีย์ แต่บางชนิดใช้แสงสว่าง เป็นแหล่งของพลังงานได้
- แหล่งคาร์บอน พวกที่หากินได้เอง (autotroph) ได้จาก CO_2 ส่วนพวกอื่น ๆได้จาก สารประกอบอินทรีย์ เช่น น้ำตาล คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน
- แหล่งของไนโตรเจน บางชนิดสามารถใช้ N_2 ในอากาศได้ บางชนิดในรูปของสารอนินทรีย์ เช่น เกลือแอมโมเนีย บางชนิดก็ได้จากสารอาหารพวกโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้เพื่อการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แร่ธาตุต่าง ๆ เช่น P K Mg Fe Mn Ca Cu Zn CO มีความต้องการน้อยแล้วแต่ชนิดของเซลล์
- วิตามิน ซึ่งมีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์

สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Ankistrodesmus* sp. ยังเป็นอีกหนึ่งสายพันธุ์ที่สามารถผลิตน้ำมันออกมาได้จำนวนมากและใช้การเจริญเติบโตในระยะเวลาที่สั้น อีกทั้งยังอุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหารหลายชนิดและเป็นที่สะสมของคลอโรฟิลล์สูง

การผลิตเซลล์สาหร่าย

การผลิตเซลล์สาหร่ายนั้น มีขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอน คือ การเลี้ยงสาหร่ายให้ได้เซลล์จำนวนมาก การเก็บเกี่ยวเซลล์ และการทำแห้ง การเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ได้เซลล์จำนวนมากนั้น เราจะต้องเข้าใจวิธีการ (know-how) ในการเลี้ยงจุลชีพที่เป็นพวก photoautotrophic และการออกแบบบ่อเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับสาหร่ายแต่ละชนิด (appropriate reactor) คือต้องมีความรู้ และความเข้าใจในปัจจัยต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้อง เช่น แสง และอุณหภูมิในระบบการเลี้ยงแบบกลางแจ้ง ความเป็นกรดด่าง การเกิด photoinhibition และการหายใจในสภาวะที่ไม่มีแสง (dark respiration) รวมไปถึงความเข้มข้นของอาหารอีกด้วย ซึ่งปัจจัยเหล่านี้จะเป็นตัวแปรที่จะต้องคำนึงถึงในการควบคุมการผลิตระบบการเลี้ยงกลางแจ้งส่วนมาก จะใช้ shallow raceways และมีการกวนโดยใช้ใบพัด กระบวนการผลิตขั้นตอนการขยายพันธุ์สาหร่าย มีดังนี้

1) การเพาะเลี้ยง (cultivation)

การเพาะเลี้ยงนำสายพันธุ์ที่มีคุณภาพดี ผ่านการคัดเลือกแล้วมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ได้เตรียมไว้ในหลอดทดลอง อาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายในระดับหลอดทดลองนี้จะผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ซึ่งขั้นตอนนี้จะทำด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic Technique) เมื่อได้สาหร่ายในระดับหลอดทดลองที่มีความเข้มข้นของเซลล์มากพอแล้ว จะทำการถ่ายสาหร่ายลงในฟลาส์ก (Flask) และให้แสงสว่างตลอด 24 ชั่วโมง รวมทั้งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นครั้งคราว เพื่อปรับค่าความเป็นกรดด่าง เนื่องจากเมื่อสาหร่ายมีการเจริญเติบโตจะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างสูงขึ้น โดยจะนำ Flask ที่มีสาหร่ายวางบนเครื่องเขย่าเพื่อให้สาหร่ายได้รับแสงและสัมผัสสารอาหารทั่วถึงกัน จากนั้นจะทำการขยายตามขั้นตอนจนถึงระดับบ่อเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ในการเก็บเกี่ยว

สารเคมีทุกชนิดที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบของอาหารในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้น จะทำการคัดเลือกวัตถุดิบที่ผ่านการตรวจสอบแล้วว่าปลอดจากการปนเปื้อนของโลหะหนัก ทั้งนี้เพื่อสร้างความมั่นใจแก่ผู้บริโภคว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความปลอดภัยจากโลหะหนัก รวมทั้งยังมีการควบคุมสภาวะของการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งเป็นสภาวะที่สิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ การที่มีระบบการจัดการและควบคุมสภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ดี ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สาหร่ายที่มีความปลอดภัยและมีคุณภาพดีเหมาะแก่การนำไปบริโภคเป็นอาหารเสริมสุขภาพ ซึ่งครอบคลุมตั้งแต่กระบวนการเพาะเลี้ยงนี้ด้วย

เอก[illegible]ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่[illegible]เนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายต้องการน้ำ แสงแดด และคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตเหมือน พืชชนิดอื่น ๆ สาหร่ายสามารถโตได้ดีในพื้นที่ที่มีอากาศร้อนและมีแสงแดดมาก ดังนั้นประเทศไทยจึง เหมาะต่อการเลี้ยงสาหร่าย การเลี้ยงสาหร่ายสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด และระบบปิด

1) การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด (open-system) เป็นวิธีการเลี้ยงสาหร่ายแบบธรรมชาติ เช่น เลี้ยงในบ่อน้ำคลอง และชายทะเล เป็นต้น แต่การเลี้ยงสาหร่ายโดยวิธีนี้ยากต่อการดูแล ทั้งในเรื่องการปนเปื้อนของบ่อน้ำ เช่นแบคทีเรีย ที่มีผลกระทบต่อการเติบโตของสาหร่าย และการควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

2) การเพาะเลี้ยงในระบบปิด (closed-system bioreactor plants) เป็นการเพาะเลี้ยงที่มีการวิจัยและพัฒนามากเพราะการเพาะเลี้ยงวิธีนี้สามารถควบคุม อุณหภูมิ และสิ่งปนเปื้อนได้ง่าย อีกทั้งยังสามารถพัฒนาและออกแบบให้อยู่ในช่วงที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงระบบปิดสามารถตั้งใกล้กับโรงงานที่ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย

นอกจากนี้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสามารถแบ่งสภาวะการเพาะเลี้ยงออกเป็น 3 สภาวะ ได้แก่

1) แบบออโตโทรฟิค (Autotrophic cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ใช้แสงและ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากธรรมชาติเป็นหลัก ในการเจริญเติบโตและสังเคราะห์สารชีวมวลต่าง ๆหรือ คือการใช้อนินทรีย์คาร์บอนเป็นแหล่งพลังงาน

2) แบบเฮทเทอโรโทรฟิค (Heterotrophic cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดย ใช้สารประกอบอินทรีย์ เช่น กลูโคส ซูโครส หรือกากน้ำตาล เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ซึ่งจะเพาะเลี้ยงในที่ที่ไม่มีแสงหรือในที่มืดตลอดเวลา

3) แบบมิกโซโทรฟิค (Mixotrophic cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอนและแสง เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน โดยแสงที่ใช้อาจเป็นแสงจากธรรมชาติหรือจากหลอดไฟ ภายในระยะที่เหมาะสม

2) การเก็บเกี่ยว (Harvesting)

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายทำได้หลายวิธีโดยใช้เครื่องมือและวิธีการต่าง ๆ ตามแต่ชนิดของสาหร่าย เช่น เครื่องเหวี่ยง การตกตะกอน การกรอง ซึ่งวิธีการปั่นเหวี่ยงไม่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงในระดับขยายขนาดเนื่องจากมีต้นทุนในการผลิตสูง ดังนั้นจึงมีการศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นและใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำ เช่น การนำเทคนิคต่าง ๆ มาประยุกต์ใช้ร่วมกัน เช่น การตกตะกอน (Flocculation) การชะน้ำออก (Dewatering) และการทำแห้ง (Drying)

การเก็บเกี่ยวสาหร่าย (Harvest) การเก็บเกี่ยวสามารถเก็บเกี่ยวได้จากทุกบ่อเลี้ยง ก่อนการวางแผนการเก็บเกี่ยวฝ่ายวิเคราะห์คุณภาพจะตักตัวอย่างสาหร่ายทุกบ่อไปตรวจค่าต่าง ๆของสาหร่ายเพื่อ

นำมาคำนวณอัตราการเจริญเติบโตแล้วกำหนดปริมาณการเก็บเกี่ยวในขั้นตอนการเก็บเกี่ยวสาหร่ายนี้มีความสำคัญมาก เพราะเกี่ยวกับต้นทุนในการผลิต ซึ่งความเข้มข้นของสาหร่ายจะไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนมากจะอยู่ระหว่าง 200 – 300 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งจะมีเทคนิคที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายต่าง ๆในที่นี้ จะกล่าวถึงเทคนิคที่นิยมใช้โดยทั่วไป

การกรอง (filtration) วิธีการกรองนี้ เหมาะสำหรับสาหร่ายที่มีลักษณะเป็นเส้นสาย หรือมีเซลล์ขนาดใหญ่ เช่น สาเหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina sp.*) จะทำโดยใช้ผ้ากรองไนลอน (nylon sieve) ที่มีรูให้กรองผ่าน ตามขนาดที่เหมาะสม ซึ่งวิธีการนี้ใช้ได้ผลดี สะดวกและราคาถูก

การปั่นแยก (centrifugation) เทคนิคนี้ใช้กันมากในการแยกสาหร่าย ที่มีขนาดเซลล์เล็กเช่น คลอเรลลา (*Chlorella sp.*) วิธีการนี้ทำให้ค่าใช้จ่าย ในการลงทุนสูง เนื่องจากต้องใช้พลังงานในการแยก

การทำให้เกิดการรวมตัวกัน และการตกตะกอน (flocculation and sedimentation) ซึ่งการใช้เทคนิคนี้ ส่วนใหญ่จะใช้ในการแยกเซลล์สาหร่าย จากระบบบำบัดน้ำเสียสายพันธุ์สาหร่ายที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในทางการค้า ควรเป็นสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ไม่มีสารพิษ ทนทานต่ออุณหภูมิสูง ถ้าเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ก็จะง่ายต่อการเก็บเกี่ยว

3) การอบแห้ง (Dryness) มีระบบการอบแห้งสาหร่ายที่ทันสมัยเป็น Spray dry system ซึ่งควบคุมอุณหภูมิด้วยกราฟดิจิตอล สามารถอบเนื้อสาหร่ายที่มีความเข้มข้นสูง ให้เป็นฝอยละเอียดภายในระยะเวลาสั้นๆ ซึ่งรักษาคุณค่าทางอาหารของสาหร่ายให้อยู่ในปริมาณสูง

4) การสกัดน้ำมันจากสาหร่าย (Algal Extraction)

การสกัดสาหร่ายสามารถใช้ทั้งสาหร่ายแห้ง และสาหร่ายเปียกมาทำการสกัดได้ ซึ่งวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมจะต้องเป็นสาหร่ายที่ทำให้แห้ง แต่สาหร่ายเปียก จะมีเนื้อสาหร่ายจริงอยู่ไม่ถึงร้อยละ 5 นอกนั้นเป็นน้ำการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสามารถทำได้หลายวิธี เช่นการบีบอัดเพื่อให้คลายน้ำมัน (Expeller/ Press) ซึ่งไม่เหมาะสมเนื่องจากสาหร่ายมีขนาดเล็กมาก การใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายน้ำมัน (Hexane Solvent Method) แต่สารละลายชนิดนี้ เป็นตัวทำละลายที่ไม่ละลายในน้ำ ดังนั้นหากมีน้ำผสมอยู่จะทำให้การสกัดทำได้ไม่ดี สาหร่ายจึงต้องไปผ่านกระบวนการอบแห้งมาก่อน การใช้เอนไซม์ย่อยผนังเซลล์เพื่อให้น้ำมันหลุดออกมา (Enzymatic Extraction) การใช้อุลตราโซนิกกระตุ้นให้เกิดการสั่นจนน้ำมันหลุดออกมา (Ultrasonic-assisted Extraction) และการใช้เทคนิคออสโมซิสโดยอาศัยความต่างของความดัน (Osmotic Shock)

สาหร่ายขนาดเล็กแต่ละชนิดมีปริมาณไขมันต่างกัน สาหร่ายที่มีปริมาณไขมันสูงส่วนใหญ่มีปริมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนกแห้ง (Yen et al., 2013) ไขมันของสาหร่ายมีลักษณะคล้ายน้ำมันพืชคือมีส่วนประกอบที่เป็นไตรกลีเซอไรด์ ไขมันที่พบในสาหร่ายสวนใหญ่เป็นกรดไขมนไม่อิ่มตัวมีจำนวนคาร์บอน 16-18 อะตอมต่อโมเลกุล ในสภาวะปกติสาหร่ายจะสะสมอาหารในรูปของแป้ง แต่เมื่ออยู่ในสภาวะขาดแคลนอาหาร สาหร่ายจะสะสัมอาหารในรูปของไขมันทังที่เยื่อหุ้มเซลล์และภายในเซลล์

ไขมันสะสมอยู่ในรูปอนุพันธ์ของกลีเซอรอล ฟอสโฟไลปิดและไกลโคไลปิด (Thomson, 1996) สาหร่ายบางสายพนธุ์สามารถสร้างกรดไขมันจำเป็น (polyunsaturated fatty acids) ที่มีคุณภาพสูงเป็นจำนวนมากและเป็นประเภทเดียวกับที่พบในน้ำมันปลา (fish oil) เช่น สาหร่ายสีเขียว Chlorella minutissima มีปริมาณกรดไอโคซาเพนทาอีโนอิก (eicosapentaenoic, EPA) มากกวาร้อยละ 90 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด (Guschina and Harwood, 2006) สาหร่ายขนาดเล็กที่มีปริมาณไขมันค่อนข้างสูงสามารถที่จะนำมาผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซลได้ การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก

หลักการทำงานของเครื่องอัลตราโซนิค

อัลตราซาวด์ (Barroso และคณะ, 2008) มาจากคำว่า ultra+sound ซึ่งแปลว่าคลื่นที่อยู่นอกเหนือการได้ยินของมนุษย์ ที่มีค่าประมาณ 16 เฮิรตซ์ ถึง 16 กิโลเฮิรตซ์ อัลตราซาวด์นั้นสามารถแบ่งการใช้งานออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงให้พลังงานต่ำ หรือช่วงความถี่สูง (Low power high frequency ultrasound) ช่วงความถี่ประมาณ 2 - 10 เมกะเฮิรตซ์ ซึ่งจะนำคลื่นอัลตราซาวด์ช่วงนี้ไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ เช่น เครื่องอัลตราซาวด์สำหรับดูเพศ หรือความผิดปกติของทารกในครรภ์ และ ช่วงให้พลังงานสูง (High power หรือ Low frequency ultrasound) จะมีค่าความถี่ประมาณ 20 - 100 กิโลเฮิรตซ์ เป็นช่วงที่สามารถนำมาใช้ในการสกัดสารจากพืชได้ วิธีการที่ใช้ในการสกัดแบ่งเป็น

1) การสกัดด้วยตัวทำละลาย (โดยการสกัดแบบเดิมนั้นจะขึ้นอยู่กับการเลือกตัวทำละลายที่ถูกต้อง การผสม การให้ความร้อน และการกวน)

2) การกลั่น

3) การใช้เทคนิคสมัยใหม่เข้าช่วย เช่น การสกัดด้วยของเหลวยิ่งยวด Vortical extraction การสกัดโดยใช้พลังงานไฟฟ้าช่วย (Extraction by electrical energy) และการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิค (Ultrasonically assisted extraction)

จากการประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดพืช จำเป็นต้องทราบว่าเพราะเหตุใด อัลตราซาวด์จึงช่วยในการสกัดสาระสำคัญได้ เนื่องจากเนื้อเยื่อของพืชที่ประกอบเป็นเซลล์นั้นมีส่วนผนังเซลล์อยู่ชั้นนอกสุด ซึ่งจะเป็นตัวต้านทานการสกัดได้ ซึ่งการสกัดจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ กระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลาย และการชะส่วนสำคัญออกจากเซลล์เมื่อผนังเซลล์ถูกทำลายลง ส่วนการสกัดพืชแห้งจะเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งกระบวนการคือ กระบวนการดูดน้ำกลับ อัลตราซาวนด์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้ โดยการเกิดปรากฏการณ์คาวิเทชั่น เนื่องมาจากคลื่นนั้นประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟอง (bubble) ของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก จากนั้นเมื่อฟองได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัดจะทำให้ฟองนั้นแตกออก และเกิด microjet ที่มีความแรงมากจนสามารถเจาะทำลายผนังเซลล์ของพืชได้ เมื่อผนังเซลล์นั้นแตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การทำให้ขนาดของตัวอย่างเล็กลงก่อนจะเพิ่มการสัมผัสกับตัวทำละลาย และคาวิเทชั่นได้ง่ายขึ้น

แผนการทดลอง Plackett-Burman Designs

การใช้รีเกรสชันเชิงเส้นหลายตัวแปรสำหรับการวิเคราะห์ผล Fractional Factorial ที่มีแผนการทดลอง แบบ Plackett and Burman ในการทดลองที่มีตัวแปรหรือปัจจัยที่ต้องการศึกษาหลายปัจจัย จะมีอุปสรรคเกี่ยวกับสิ่งทดลองที่มีเป็นจำนวนมาก จะเห็นว่าจำนวน Run ที่ผู้ออกแบบจะต้องทำการทดลอง ได้มาจากการเอา จำนวน Level ซึ่งส่วนมากใช้ 2 ยกกำลังด้วยขนาดของจำนวน Factor ดังนั้นจำนวน Run จะต้องอยู่ในขนาด 4,8,16,32,64.... ลักษณะเช่นนี้ ทำให้ตารางการออกแบบมีลักษณะที่เรียกว่า Geometry คือเมื่อจำนวน Column ซึ่งก็คือจำนวน Factor มากขึ้นจำนวน Run ก็จะมีจำนวนมากขึ้นด้วยตัวเลขแบบกระโดดจากกำลังสองดังกล่าว ถ้าหากมีจำนวน Factor มาก ๆ เช่น 10 , 11 หรือ 12 ตัว จำนวน Run ที่จะต้องทำการทดลองก็จะเพิ่มมากขึ้น ต่อให้ใช้ Fractional factorial ก็ตาม จากตารางที่ 8 ในหัวข้อที่ผ่านมา เมื่อมี Factor 9 ตัว จะต้องมี 32 Run เป็นอย่างน้อยเพื่อให้ได้ Resolution R_{IV} ต่อให้ใช้ R_{III} ก็ยังต้องใช้ถึง 16 Run

ในปี ค.ศ. 1946 R.L. Plackett และ J.P. Burman ได้ตีพิมพ์ผลงานที่ชื่อ "Optimal Multifactorial Experiments" นำเสนอวิธีการออกแบบที่ใช้สำหรับกรณีมี Factor จำนวนมาก หลังจากนั้นผลงานของพวกเขาก็ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง วิธีการคือเลือกใช้จำนวน Run ให้เป็นเลข 4 เท่าของเลขอนุกรม (นึกถึงสูตรคูณแม่ 4) นั่นคือจะมีจำนวน Run เป็น 4,8,12,16,20 ..... โดยให้จำนวน Run มีค่ามากกว่าจำนวน Factor อยู่ 1 เป็นอย่างน้อยเสมอ หรือ k+1 ดังนั้นเมื่อมีจำนวน Factor 9 ตัว จะได้จำนวน Run เท่ากับ 12 หรือเมื่อมีจำนวน Factor 11 ตัวก็จะได้จำนวน Run เท่ากับ 12 เช่นกัน หรืออีกนัยหนึ่ง จำนวน Run 12 สามารถออกแบบการทดลองสำหรับจำนวน Factor ได้สูงสุด 11 ตัว นั่นเอง จะเห็นว่าแม้จำนวน Factor เพิ่มขึ้น แต่จำนวน Run อาจจะไม่เพิ่มก็ได้ ลักษณะเช่นนี้จะเรียกว่า Non-geometry เมื่อเป็นเช่นนี้การออกแบบทั้งหมดตามวิธี Plackett-Burman จึงเป็น Resolution R_{III} เท่านั้น เหมาะที่จะใช้ในการทำการทดลองที่เรียกว่า Screening เพื่อคัดกรอง Factor ที่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติออก และจะต้องทำการออกแบบการทดลองใหม่ที่มี Resolution R_{IV} อีกครั้งหนึ่ง

ข้อดีของการออกแบบการทดลองตามวิธี Plackett-Burman ก็คือไม่มี Interaction อยู่เลย ทั้งนี้เพราะ มองว่า Interaction มักไม่ค่อยมีนัยสำคัญทางสถิติมากนัก ข้อด้อยของการออกแบบการทดลองตามวิธี Plackett-Burman ก็คือถ้า Interaction มีนัยสำคัญแล้วก็จะเกิดความผิดพลาดในการตีความหมาย และอีกประการคือ Resolution เป็นเพียงระดับ R_{III} เท่านั้น จึงต้องการการทดลองซ้ำ โดยการออกแบบที่ Resolution สูงขึ้น

3.2. วัตถุประสงค์

1) ศึกษาองค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเบื้องต้น
2) ศึกษากระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อเพิ่มปริมาณลิพิด
3) ศึกษากระบวนการสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทที่ 4
วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

4.1 วัตถุดิบ

สาหร่ายขนาดเล็ก

4.2 สารเคมี

1) โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$)
2) โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)
3) แมกนีเซียมซัลเฟต($MgSO_4.7H_2O$)
4) แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)
5) กรดซิตริก (citric acid)
6) แอมโมเนียมเฟอริกซิเตรท ($NH_3FeC_6H_8O_7$)
7) เอททิลีนไดเอมีนเตตร้าอะซีติก (EDTA)
8) โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)
9) กรดบอริก (H_3BO_3)
10) แมงกานีสคลอไรด์ ($MnCl_2.4H_2O$)
11) ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4.7H_2O$)
12) โซเดียมโมลิบเดต ($Na_2MoO_4.2H_2O$)
13) คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)
14) โคบอลต์ไนเตรต ($Co(NO_3)_2.6H_20$)
15) กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
16) แอมโมเนียมเฮปตะโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$)
17) แอมโมเนียมวานาเดท (NH_4VO_3)
18) เมทานอล (MeOH)
19) คลอโรฟอร์ม ($CHCl_3$)
20) เฮกเซน (hexane)

4.3 อุปกรณ์ในการทดลอง

1) ตู้เลี้ยงสาหร่าย
2) โถดูดความชื้น (Desiccator)

3) ตู้อบไฟฟ้า
4) ปั๊มและชุดกรอง
5) เครื่องหมุนเหวี่ยง (Bench top centrifuge Model EBA 200) รุ่น HET-1 1800
6) เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) รุ่น SCHOOT Lab 850
7) เครื่องชั่งน้ำหนัก 1 ตำแหน่ง (Balance 1 decimal)
8) เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Balance 4 decimal)
9) เครื่องผสม (Vortex mixer G560E) รุ่น SCI-1 SI-0246
10) Ultrasonic Baths Model DT 100 H รุ่น BAN-1 3230
11) High Intensity Ultrasonic Processor รุ่น VCX 750
12) เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Spectronic 20 Genesys
13) เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Spectronic Evolution 200 Series

บทที่ 5

วิธีการดำเนินการวิจัย

5.1 วิธีการศึกษาทดลอง

5.1.1 องค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเบื้องต้น

การเตรียมกล้าเชื้อ

ทำการเตรียมกล้าเชื้อสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้แผนการทดลองของ Plackett-Burman (PBD) โดยเขี่ยสาหร่ายลงในอาหารเหลวสูตร BG 11 จากนั้นนำใส่หลอดแก้วเพาะเลี้ยงสาหร่าย ทำการเลี้ยงในอ่างเพาะเลี้ยงที่มีการควบคุมความเข้มข้นแสง 12 กิโลลักซ์ ระยะเวลาให้แสงสว่างและมืดเท่ากับ 16:8 ชั่วโมง คาร์บอนไดออกไซด์ผสมอากาศ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราการไหล 0.67 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที (vvm) ภายใต้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการแยกเซลล์สาหร่ายโดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง เพื่อนำกล้าเชื้อมาใช้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061

การเตรียมการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

นำกล้าเชื้อเริ่มต้นใส่ลงในอาหารที่มีการแปรผันสารอาหารในสูตร BG 11 ที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงทั้งหมด 11 ปัจจัยดังนี้ (กรัมต่อลิตร) : สารอาหารหลัก $NaNO_3$, K_2HPO_4, $MgSO_4.7H_2O$, $CaCl_2.2H_2O$, citric acid, ammonium ferric citrate green, $EDTANa_2$, Na_2CO_3 และสารอาหารรอง (มิลลิกรัมต่อลิตร) H_3BO_3, $MnCl_2.4H_2O$, $ZnSO_4.7H_2$, $Na_2MoO_4.2H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$, and $Co(NO_3)_2.6H_2O$) ทั้งหมด 12 การทดลอง ดังตารางที่ 5.1 ทำการทดลอง 3 ครั้ง เป็นเวลา 14 วัน ในระหว่างการเพาะเลี้ยงทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส

ตารางที่ 5.1 ความเข้มข้นของสารอาหารในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้แผนการทดลอง Plackett-Burman

Factors	Symbol	Experimental value	
		Low (-1)	High (+1)
$NaNO_3$	A	0.750000	2.250000
K_2HPO_4	B	0.020000	0.060000
$MgSO_4.7H_2O$	C	0.037500	0.112500
$CaCl_2.2H_2O$	D	0.018000	0.054000
Citric acid	E	0.003000	0.009000
Ammonium ferric citrate green	F	0.003000	0.009000
$EDTANa_2$	G	0.000500	0.001500
Na_2CO_3	H	0.010000	0.030000
H_3BO_3	J	0.001340	0.004020
MnCl2.4H2O		0.000905	0.002715
$ZnSO_4.7H_2O$	K	0.000110	0.000330
$Na_2MoO_4.2H_2O$		0.000195	0.000585
$CuSO_4.5H_2O$	L	0.000040	0.000120
$Co(NO_3)_2.6H_2O$		0.000025	0.000075

5.1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มปริมาณลิพิด

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 ในสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลเซลล์สาหร่ายที่ได้จาก 5.1.1 เป็นเวลา 8 วันเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ ทำการศึกษาการเพิ่มปริมาณลิพิดโดยเติมสารคาร์บอนอนินทรีย์ (Inorganic carbon sources) 2 ชนิด คือ A และ B ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 กรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงในตู้ควบคุมภายใต้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 12 กิโลลักซ์ ที่มีการให้คาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 วัน ในระหว่างการเพาะเลี้ยงทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส

5.1.3 การสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

ทำการสกัดลิพิดจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. ชนิดทำแห้ง 2 ชนิด คือ A และ B ต่อชีวมวลสาหร่ายชนิดแห้งในปริมาณ 2 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่ใช้ตัวทำละลาย

แตกต่างกัน ทำการสกัดลิพิดวิธีอัลตราซาวด์ ด้วยเครื่อง High Intensity Ultrasonic Processor แอมพลิจูด 60 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที ในการทำงาน 1 นาที หยุดพักการทำงาน 10 วินาที เพื่อให้ได้ผลผลิตลิพิดสูงสุด

การวิเคราะห์

1) ปริมาณเซลล์แห้ง (Dry weight)

นำสารละลายเซลล์กรองผ่านกระดาษกรอง GF/C นำกระดาษกรองที่มีเซลล์สาหร่ายด้านบน อบกระดาษกรองให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานข้ามคืน เพื่อหาน้ำหนักที่แน่นอน

2) วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD)

นำตัวอย่างปริมาณ 3-5 มิลลิลิตร ทำการวัดความขุ่นด้วยความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, Genesys 20) รุ่น

3) วัดค่าความเป็นกรดด่าง

นำส่วนใสที่ได้จากการแยกเซลล์สาหร่ายแล้ว มาวัดความเป็นกรดด่าง ด้วยเครื่อง pH meter

4) ปริมาณลิพิด (Lipid)

นำเซลล์สาหร่ายที่ทำการแยกเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง มาสกัดด้วยวิธีการ Bligh and Dyer’s ใช้ตัวทำละลายเมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำ ในปริมาณ 2 : 2 : 1.8 มิลลิลิตร ทำการสกัดเซลล์สาหร่ายด้วยเครื่อง Ultrasonic Baths นาน 15 นาที จากนั้นทำการแยกเซลล์สาหร่ายโดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที จากนั้นดูดสารละลายลิพิดเพื่อนำไปกรองสารละลายลิพิดกรองผ่านด้วยกระดาษกรอง GF/C ใส่ถ้วยอลูมิเนียมที่มีปริมาณลิพิด อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานข้ามคืน เพื่อหาน้ำหนักที่แน่นอน

5) ปริมาณไนเตรท (Nitrate)

นำส่วนใสที่ได้จากการแยกเซลล์สาหร่าย ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ 1 N HCl 100 ไมโครลิตรหรือ 0.1 มิลลิลิตร ผสมด้วยเครื่อง Vortex mixer และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีด้วยความยาวคลื่น 220, 275 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, Evolution 200 Series)

6) ปริมาณฟอสฟอรัส (Phosphorus)

นำส่วนใสที่ได้จากการแยกเซลล์สาหร่าย ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่สารละลายผสม (Reagent) 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร 5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

นาน 10 นาที ผสมด้วยเครื่อง Vortex mixer และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงทันที ด้วยความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, Evolution 200 Series)

5.2 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การศึกษาองค์ประกอบของสูตรอาหารเบื้องต้นเพื่อให้ได้ชีวมวลสาหร่ายสูงโดยการใช้แผนการทดลอง Plackett-Burman ด้วยโปรแกรม Minitab 16.2.2

บทที่ 6

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

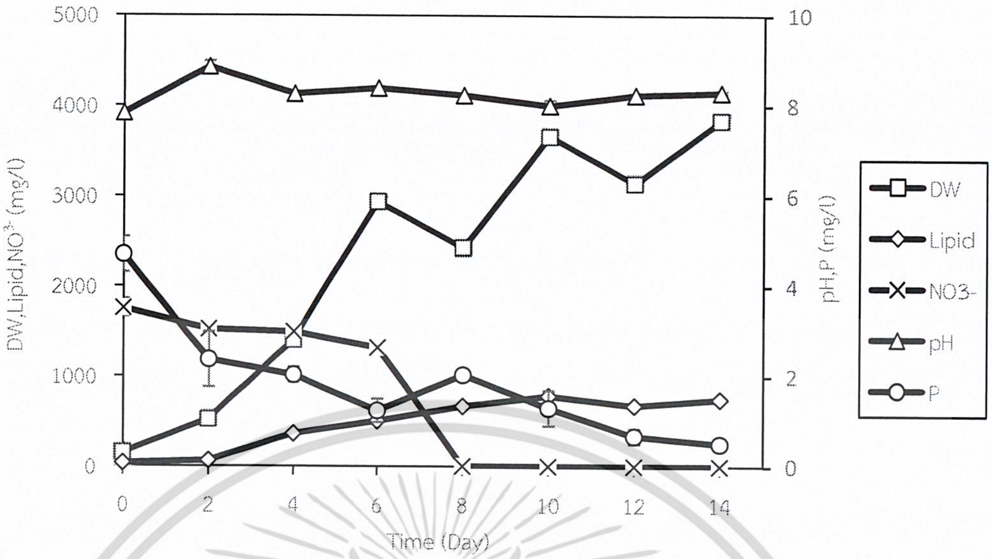
6.1 ผลการทดลอง

6.1.1 องค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเบื้องต้น

การเพาะเลี้ยง *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 เพื่อคัดเลือกองค์ประกอบสารอาหารเพื่อผลิตชีวมวลสูง โดยใช้แผนการทดลอง Plackett-Burman Design (PBD) โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง การคัดเลือกองค์ประกอบสารอาหารที่แตกต่างกันของ *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 แสดงดังตารางที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 แผนการทดลอง Plackett-Burman Design ในการคัดเลือกองค์ประกอบของสารอาหารที่มีผลต่อการผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก

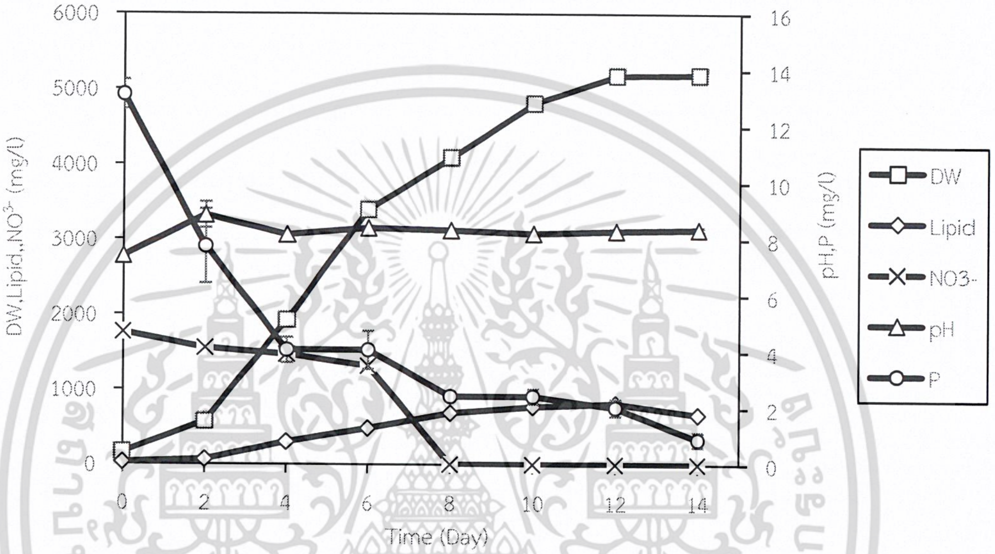
Run	A	B	C	D	E	F	G	H	J	K	L	Biomass Productivity (mg/l/d)
1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	263.30
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	359.40
3	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	409.80
4	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	254.00
5	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	385.10
6	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	397.00
7	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	385.20
8	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	523.81
9	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	471.99
10	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	319.71
11	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	380.52
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	527.70



รูปที่ 6.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 1

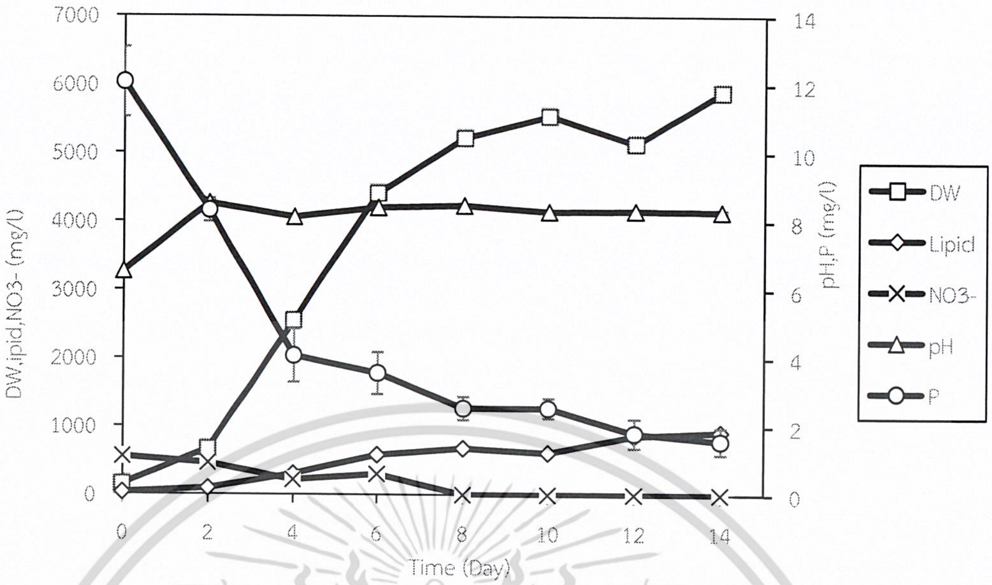
จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงที่ 1 พบว่าในช่วง 2 วันแรกเป็นระยะแรก (Lag phase) ของการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายเริ่มปรับสภาพในอาหารเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นเซลล์สาหร่ายจะเข้าสู่ระยะที่มีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด (Log phase) และมีปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ โดยปริมาณเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัชระ, 2554) โดยใช้ $NaNo_3$ และ K_2HPO_4 เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้แสง (Photoautotrophic cultivation) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสถูกใช้หมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆ ลดจำนวนเซลล์ลง ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งแปรผกผันกับการสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงและมีค่าคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 3,837.02 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่าย มีค่าสูงสุดเท่ากับ 788.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ในช่วง 7-9 ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Meridith และคณะ (2014) ที่มีค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการเจริญเติบโตของสาหร่ายอยู่ในช่วง 7-9

การศึกษาองค์ประกอบของสารอาหารในสูตรอาหาร BG 11 ต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้แผนการทดลอง Plackett-Burman Design (PBD) ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 12 กิโลลักซ์ ที่มีการให้คาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใช้สภาวะที่การเพาะเลี้ยงใกล้เคียงกับงานวิจัยของ ดนุกูล และ ศิริลักษณ์ (2008) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* *sp.* และ*Chlorella vulgaris* ที่สภาวะต่าง ๆ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย พบว่าการใช้อาหาร BG 11 มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่อุณหภูมิ 29.56 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15.54 มิลลิลิตรต่อนาที อัตราการไหลของอากาศคงที่เท่ากับ 600 มิลลิลิตรต่อนาที ทำให้มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.932 กรัมต่อลิตร



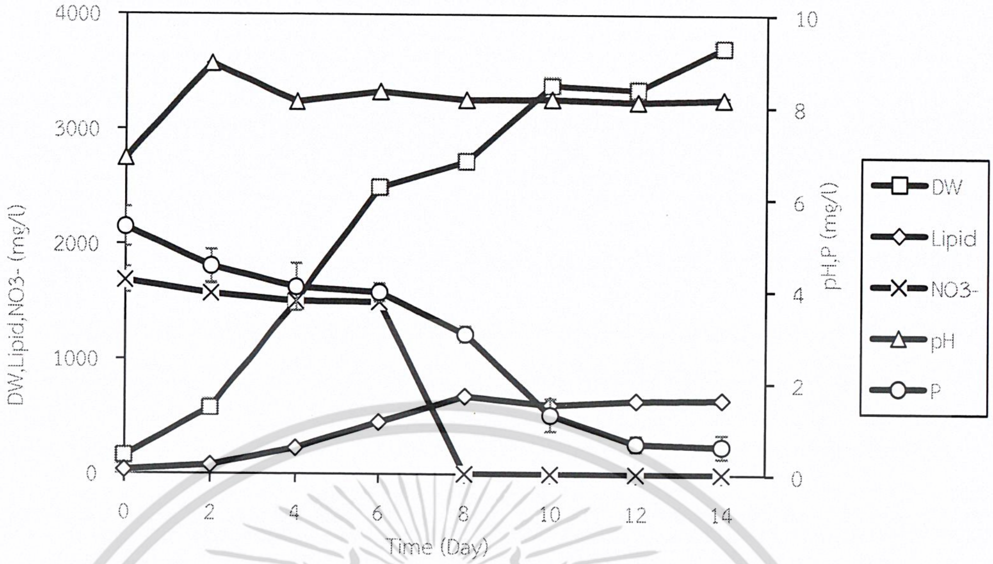
รูปที่ 6.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 2

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงโดยใช้สูตรอาหารที่ 2 พบว่าวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาของการเพาะเลี้ยงและเริ่มคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 5,189.26 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายมีค่าสูงสุดเท่ากับ 776.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแปรผกผันกับค่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในระหว่างการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะมีการใช้สารอาหาร $NaNo_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจนและ K_2HPO_4 เป็นแหล่งฟอสฟอรัสภายใต้การเพาะเลี้ยงแบบสังเคราะห์แสง (Photoautotrophic cultivation) เมื่อสารอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสหมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆลดจำนวนเซลล์ลงเรื่อยจนหมด ระดับของค่าความเป็นกรดด่างในระยะการเจริญเติบโตจะคงที่ทั้งการทดลองจะอยู่ในช่วงระหว่าง 7-9



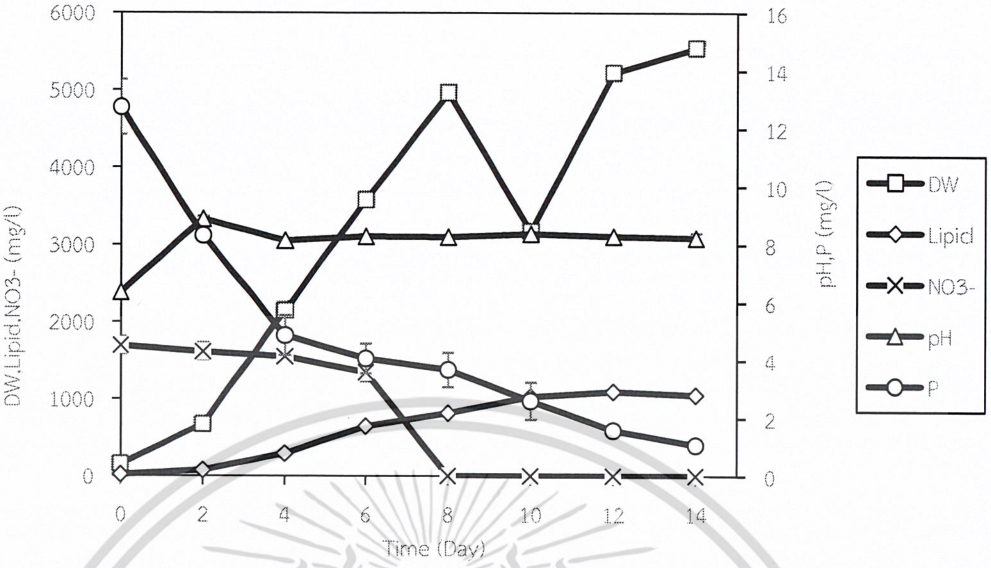
รูปที่ 6.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 3

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงที่ 3 พบว่าในช่วง 2 วันแรกเป็นระยะแรก (Lag phase) ของการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายเริ่มปรับสภาพในอาหารเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นเซลล์สาหร่ายจะเข้าสู่ระยะที่มีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด (Log phase) และมีปริมาณสูงขึ้นเรื่อย ๆ โดยปริมาณเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัชระ, 2554) โดยใช้ NaNo$_3$ และ K$_2$HPO$_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้แสง (Photoautotrophic cultivation) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสถูกใช้หมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆ ลดจำนวนเซลล์ลง ในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งแปรผกผันกับการสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงและจะคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 5,888.89 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายปริมาณลิพิดมีค่าสูงสุดเท่ากับ 926.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ในช่วง 7-9 ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Meridith และคณะ (2014) ที่มีค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการเจริญเติบโตของสาหร่ายอยู่ในช่วง 7-9



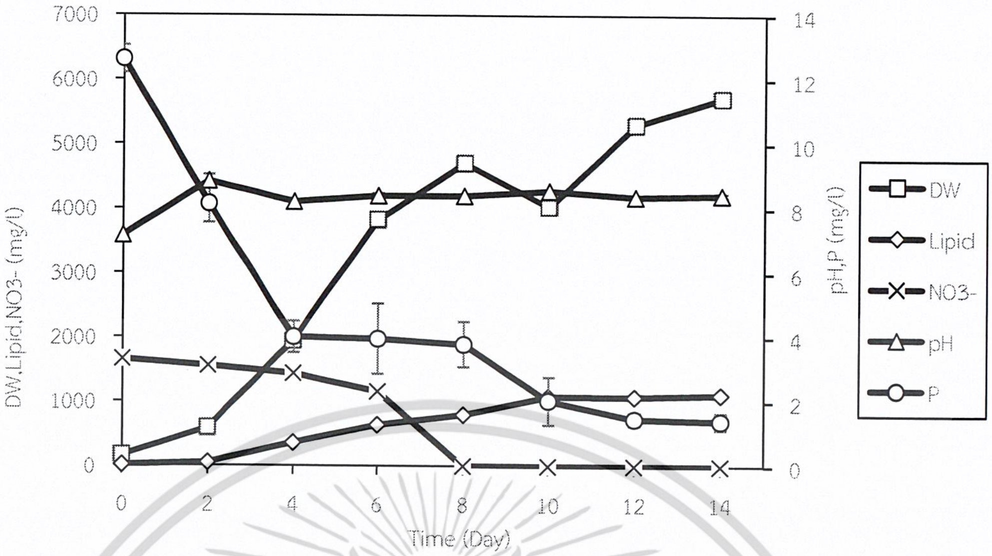
รูปที่ 6.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 4

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงโดยใช้สูตรอาหารที่ 4 พบว่าวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาของการเพาะเลี้ยงและเริ่มคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 3,382.26 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่าย ปริมาณลิพิดมีค่าสูงสุดเท่ากับ 681.67 มิลลิลิตรต่อลิตร ซึ่งแปรผกผันกับค่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในระหว่างการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะมีการใช้สารอาหาร $\mathrm{NaNo_3}$ เป็นแหล่งไนโตรเจนและ $\mathrm{K_2HPO_4}$ เป็นแหล่งฟอสฟอรัสภายใต้การเพาะเลี้ยงแบบสังเคราะห์แสง (Photoautotrophic cultivation) เมื่อสารอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสหมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆลดจำนวนเซลล์ลงเรื่อยจนหมด ระดับของค่าความเป็นกรดด่างในระยะการเจริญเติบโตจะคงที่ทั้งการทดลองจะอยู่ในช่วงระหว่าง 7-9



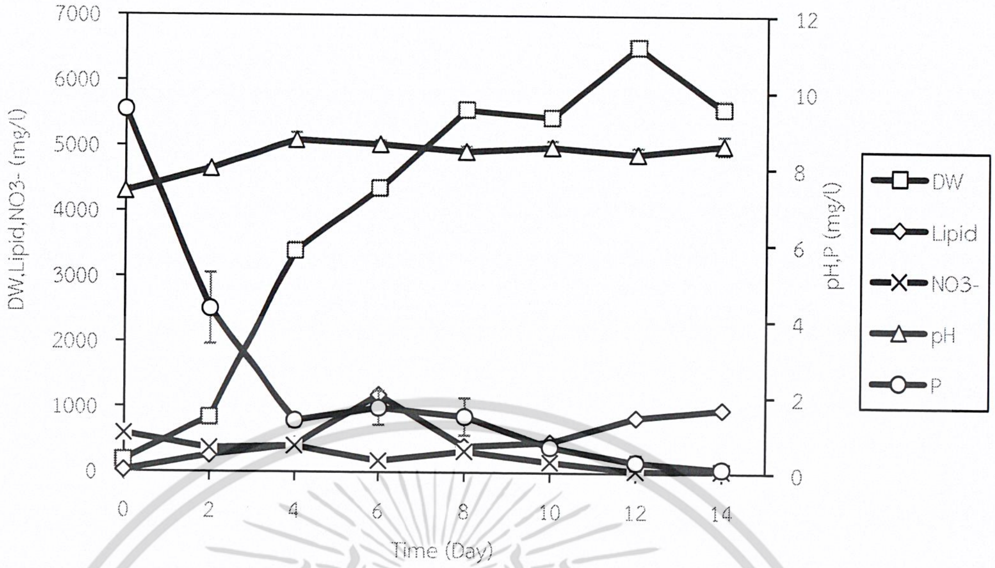
รูปที่ 6.5 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 5

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงที่ 5 พบว่าในช่วง 2 วันแรกเป็นระยะแรก (Lag phase) ของการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายเริ่มปรับสภาพในอาหารเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นเซลล์สาหร่ายจะเข้าสู่ระยะที่มีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด (Log phase) และมีปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ โดยปริมาณเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัชระ, 2554) โดยใช้ $NaNo_3$ และ K_2HPO_4 เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้แสง (Photoautotrophic cultivation) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสถูกใช้หมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆ ลดจำนวนเซลล์ลง ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งแปรผกผันกับการสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยงและจะคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 5,541.26 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายปริมาณลิพิดมีค่าสูงสุดเท่ากับ 1,098.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ในช่วง 7-9



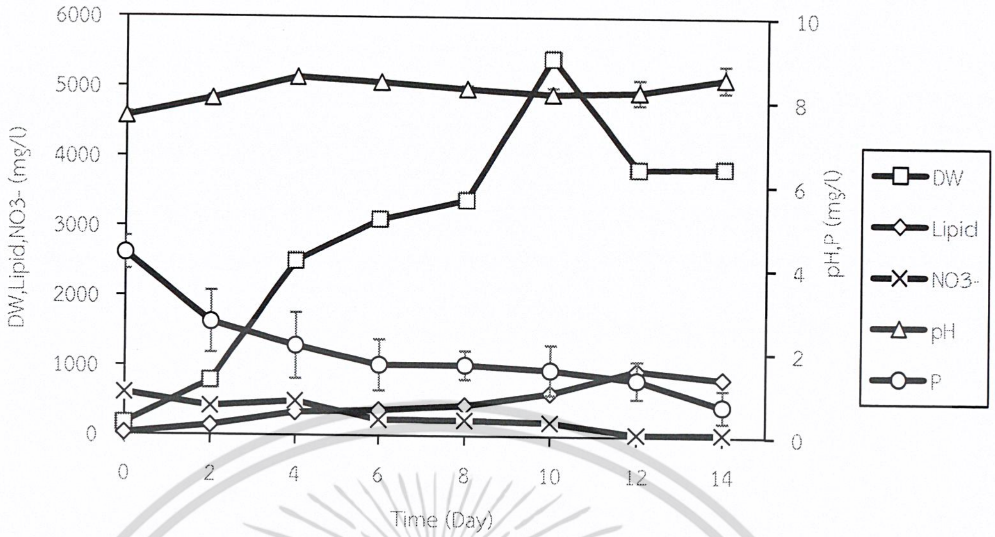
รูปที่ 6.6 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 6

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงที่ 6 พบว่าในช่วง 2 วันแรกเป็นระยะแรก (Lag phase) ของการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายเริ่มปรับสภาพในอาหารเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นเซลล์สาหร่ายจะเข้าสู่ระยะที่มีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด (Log phase) และมีปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ โดยปริมาณเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัชระ, 2554) โดยใช้ NaNo_3 และ K_2HPO_4 เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้แสง (Photoautotrophic cultivation) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสถูกใช้หมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆ ลดจำนวนเซลล์ลง ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งแปรผกผันกับการสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยงและจะคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 5,713.89 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายปริมาณลิพิดมีค่าสูงสุดเท่ากับ 1,118.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ในช่วง 7-9



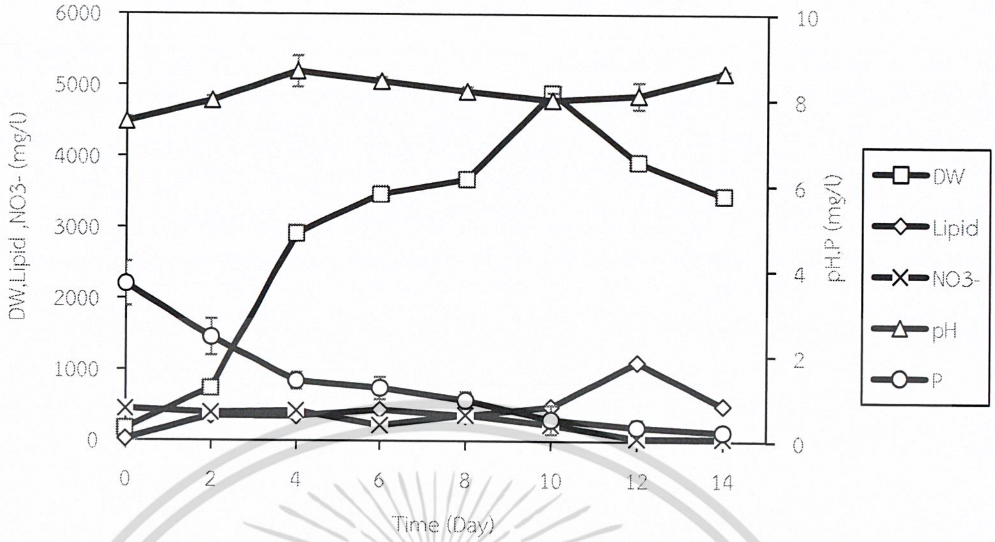
รูปที่ 6.7 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 7

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงที่ 7 พบว่าในช่วง 2 วันแรกเป็นระยะแรก (Lag phase) ของการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายเริ่มปรับสภาพในอาหารเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นเซลล์สาหร่ายจะเข้าสู่ระยะที่มีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด (Log phase) และมีปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ โดยปริมาณเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัชระ, 2554) โดยใช้ $NaNo_3$ และ K_2HPO_4 เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้แสง (Photoautotrophic cultivation) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสถูกใช้หมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆ ลดจำนวนเซลล์ลง ในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งแปรผกผันกับการสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงและจะคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 6,519.65 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายปริมาณลิพิดมีค่าสูงสุดเท่ากับ 976.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ในช่วง 7-9



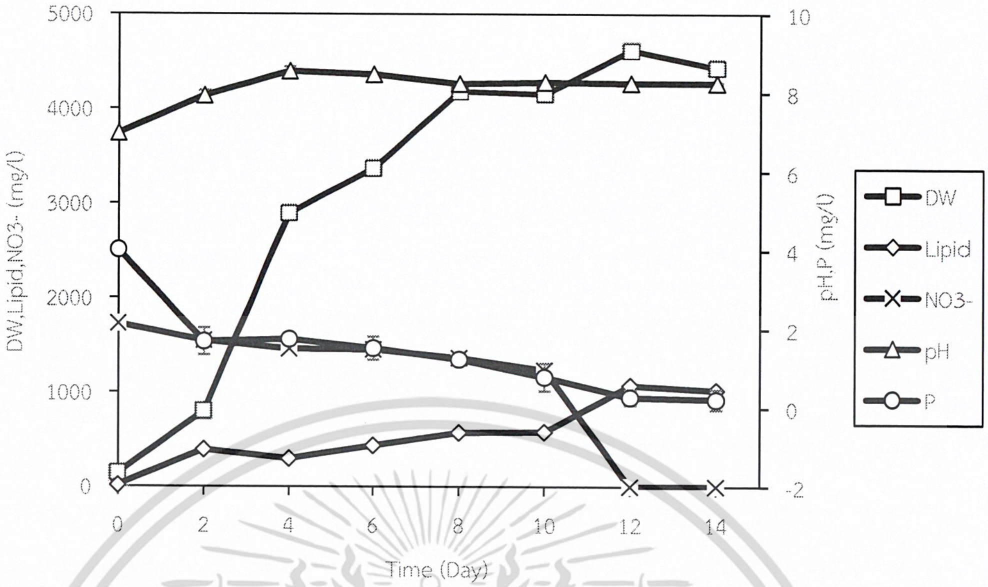
รูปที่ 6.8 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 8

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงที่ 8 พบว่าในช่วง 2 วันแรกเป็นระยะแรก (Lag phase) ของการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายเริ่มปรับสภาพในอาหารเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นเซลล์สาหร่ายจะเข้าสู่ระยะที่มีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด (Log phase) และมีปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ โดยปริมาณเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัชระ, 2554) โดยใช้ $NaNo_3$ และ K_2HPO_4 เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้แสง (Photoautotrophic cultivation) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสถูกใช้หมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆ ลดจำนวนเซลล์ลง ในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งแปรผกผันกับการสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงและจะคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 5,408.99 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายปริมาณลิพิดมีค่าสูงสุดเท่ากับ 950.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ในช่วง 7-9



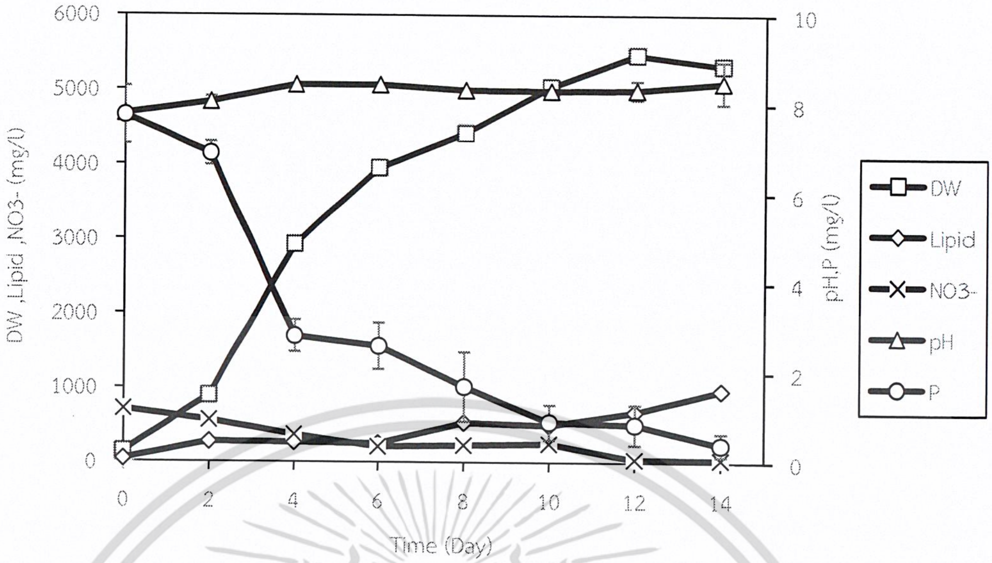
รูปที่ 6.9 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 9

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงที่ 9 พบว่าในช่วง 2 วันแรกเป็นระยะแรก (Lag phase) ของการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายเริ่มปรับสภาพในอาหารเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นเซลล์สาหร่ายจะเข้าสู่ระยะที่มีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด (Log phase) และมีปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ โดยปริมาณเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัชระ, 2554) โดยใช้ $NaNo_3$ และ K_2HPO_4 เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้แสง (Photoautotrophic cultivation) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสถูกใช้หมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆ ลดจำนวนเซลล์ลง ในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งแปรผกผันกับการสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงและจะคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 4,888.64 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายปริมาณลิพิดมีค่าสูงสุดเท่ากับ 1,116.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ในช่วง 7-9



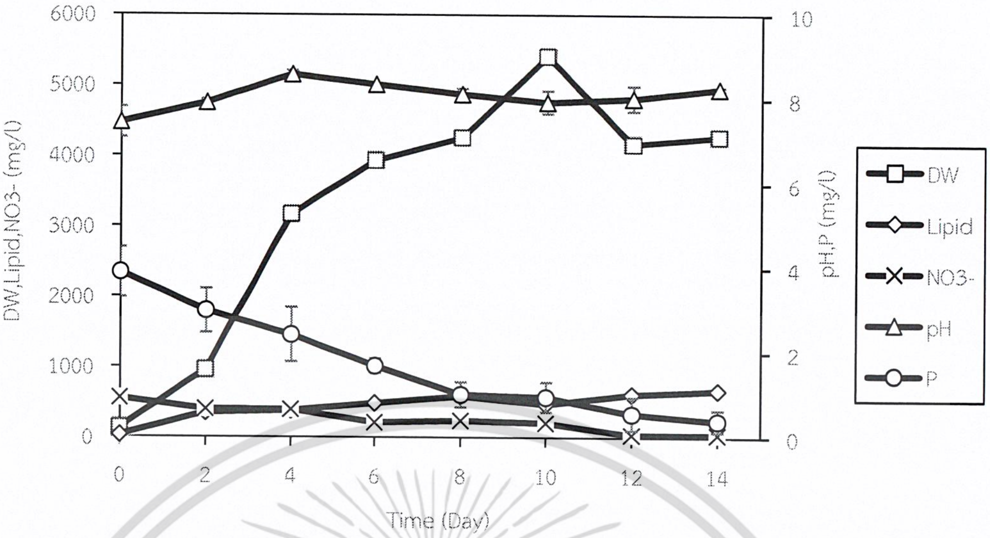
รูปที่ 6.10 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 10

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงโดยใช้สูตรอาหารที่ 10 พบว่าวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาของการเพาะเลี้ยงและเริ่มคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 4,616.44 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่าย ปริมาณลิพิดมีค่าสูงสุดเท่ากับ 1,075.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแปรผกผันกับค่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในระหว่างการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะมีการใช้สารอาหาร NaNo_3 เป็นแหล่งไนโตรเจนและ K_2HPO_4 เป็นแหล่งฟอสฟอรัสภายใต้การเพาะเลี้ยงแบบสังเคราะห์แสง (Photoautotrophic cultivation) เมื่อสารอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสหมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆลดจำนวนเซลล์ลงเรื่อยจนหมด ระดับของค่าความเป็นกรดด่างในระยะการเจริญเติบโตจะคงที่ทั้งการทดลองจะอยู่ในช่วงระหว่าง 7-



รูปที่ 6.11 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 11

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงโดยใช้สูตรอาหารที่ 11 พบว่าวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาของการเพาะเลี้ยงและเริ่มคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 5,466.93 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่าย ปริมาณลิพิดมีค่าสูงสุดเท่ากับ 970.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแปรผกผันกับค่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในระหว่างการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะมีการใช้สารอาหาร $NaNo_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจนและ K_2HPO_4 เป็นแหล่งฟอสฟอรัสภายใต้การเพาะเลี้ยงแบบสังเคราะห์แสง (Photoautotrophic cultivation) เมื่อสารอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสหมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆลดจำนวนเซลล์ลงเรื่อยจนหมด ระดับของค่าความเป็นกรดด่างในระยะการเจริญเติบโตจะคงที่ทั้งการทดลองจะอยู่ในช่วงระหว่าง 7-9



รูปที่ 6.12 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้องค์ประกอบในสูตรอาหารที่ 12

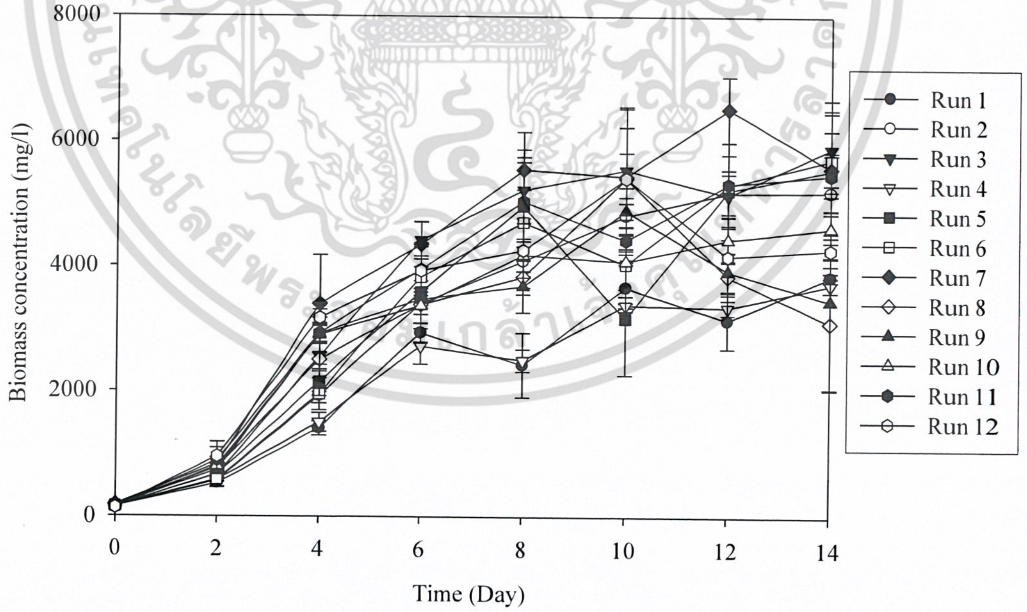
จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงที่ 9 พบว่าในช่วง 2 วันแรกเป็นระยะแรก (Lag phase) ของการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายเริ่มปรับสภาพในอาหารเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นเซลล์สาหร่ายจะเข้าสู่ระยะที่มีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด (Log phase) และมีปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ โดยปริมาณเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัชระ, 2554) โดยใช้ NaNo$_3$ และ K_2HPO_4 เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้แสง (Photoautotrophic cultivation) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสถูกใช้หมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆ ลดจำนวนเซลล์ลง ในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งแปรผกผันกับการสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงและจะคงที่ โดยปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 5,408.99 มิลลิกรัมต่อลิตร การสะสมของปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่ายปริมาณลิพิดมีค่าสูงสุดเท่ากับ 670.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ในช่วง 7-9

ในผลการศึกษาองค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเบื้องต้น โดยใช้สูตรอาหารชนิด BG11 ที่มีปริมาณสารอาหารแตกต่างกัน ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก 11 ปัจจัย ซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งของสารอาหาร และแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสาหร่าย ได้แก่ $NaNO_3$, K_2HPO_4, $MgSO_4.7H_2O$ 0.075, $CaCl_2.2H_2O$ 0.036, Citric acid, Ammonium ferric citrate green, $EDTANa_2$, Na_2CO_3 and mineral medium (mg/l) H_3BO_3, $MnCl_2.4H_2O$, $ZnSO_4.7H_2$, $Na_2MoO_4.2H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$, and $Co(NO_3)_2.6H_2O$) โดยออกแบบการทดลองด้วย Placket-Burman

Design (PBD) เมื่อวิเคราะห์การเจริญเติบโต รวมถึงกระบวนการอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ด้วยการวัดปริมาณเซลล์แห้ง (Dry weight), วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD), วัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH), ปริมาณลิพิด (Lipid), ปริมาณไนเตรท (Nitrate) และปริมาณฟอสฟอรัส จากผลการทดลอง พบว่าในสูตรอาหารทั้ง 12 การทดลอง มีแนวโน้มของผลการทดลองในลักษณะเดียวกัน คือน้ำหนักเซลล์แห้ง (Dry weight) และปริมาณลิพิดในเซลล์สาหร่าย (lipid) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายในสายพันธุ์ต่าง ๆ ในการผลิตไขมัน (lipid) จากงานวิจัยของ Hempel และคณะ (2012) การศึกษาปริมาณชีวมวล และการผลิตกรดไขมัน และกรดอะมิโนจากสาหร่ายขนาดเล็ก พบว่าปริมาณกรดไขมันที่ผลิตได้ขึ้นกับปริมาณชีวมวลของสาหร่าย และงานวิจัยของวีนา ชูโชติ และคณะ (2557) ทำการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก ที่ควบคุมปัจจัยในการเลี้ยงให้คงที่ พบว่า สาหร่ายสายพันธุ์ *Ankistrodesmus* sp. W53 มีปริมาณไขมันมากที่สุด เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร BG11 ซึ่งสามารถผลิตไขมัน (lipid) สูงสุด ร้อยละ 26.09 ของน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณเซลล์และน้ำหนักแห้ง 4.6 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 14 ของการทดลอง ซึ่งจากงานวิจัยดังกล่าว สอดคล้องกับการศึกษาวิจัยตามการทดลองนี้ ซึ่งศึกษาสาหร่ายขนาดเล็ก ในวงศ์เดียวกันคือ *Ankistrodesmus* sp. และเลี้ยงสาหร่ายดังกล่าวในอาหาร BG11 เหมือนกัน ซึ่งบ่งชี้ให้เห็นว่าสาหร่ายขนาดเล็กในวงศ์ดังกล่าว สามารถผลิตไขมันได้สูง และผลิตไขมันได้สูงขึ้นอีก เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสม นอกจากการศึกษาน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณไขมันที่ผลิตได้แล้ว ยังติดตามค่าพารามิเตอร์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ซึ่งคงที่ตลอดทั้งการทดลอง โดยมีค่า pH อยู่ในช่วง 7 – 9 ซึ่งเป็นช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย หากสูงหรือต่ำเกินไป อาจทำให้การเจริญเติบโตได้ไม่ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Baker และคณะ (1983) พบว่าที่ระดับ pH ต่ำ ประมาณ 3 หรือ 4 ทำให้การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp.หยุดชะงัก หรือเจริญเติบโตได้น้อย และเมื่อเวลาผ่านไป ปริมาณไนโตรเจน (Nitrogen) และปริมาณฟอสฟอรัส (Phosphorus) จะลดลงตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง เนื่องจากสาหร่ายใช้ $NaNO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจน และใช้ K_2HPO_4 เป็นแหล่งฟอสฟอรัส โดยเมื่อปริมาณสารอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ถูกใช้จนหมด จะทำให้การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย รวมถึงการผลิตลิพิด มีค่าลดลง และตายในที่สุด และจากผลการทดลองพบว่า ในการทดลองที่ 12 ซึ่งถูกกำหนดระดับ Experimental value ในระดับต่ำ (Low) ทุก ๆ ปัจจัย มีการผลิตพลังงานชีวมวลสูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 527.0 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน และปริมาณชีวมวล และการผลิตลิพิด รองลงมาคือ การทดลองที่ 8 และ 9 ตามลำดับ ซึ่งทั้งสามการทดลอง ได้แก่ การทดลองที่ 12, 8 และ 9 ตามลำดับนั้น มีการกำหนดปัจจัยสำคัญในแง่ของแหล่งไนโตรเจน และแหล่งฟอสฟอรัส ให้อยู่ในระดับต่ำเหมือนกัน แต่กลับพบว่ามีการผลิตพลังงานชีวมวล และปริมาณ

ไขมันได้สูงสุดตามลำดับ เนื่องจากทั้งสามการทดลองดังกล่าว มีสารอาหารที่จำกัด โดยสารอาหารที่จำเป็นดังกล่าว ได้แก่ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ในสภาวะที่เซลล์สาหร่ายมีสารอาหารจำกัด จะมีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้น เพื่อให้เซลล์อยู่รอดได้ในภาวะขาดแคลน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Feng และคณะ (2012) ที่เมื่อจำกัดแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเซลล์สาหร่ายพบว่ากระตุ้นให้เกิดการสะสมไขมัน และงานวิจัยของ Kilham และคณะ (1997) ซึ่งเลี้ยงสาหร่ายในภาวะที่ฟอสฟอรัสจำกัด ทำให้สาหร่าย *Ankistrodesmus falcatus* มีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้น ถึง 50-65 เปอร์เซ็นต์ โดยไขมันส่วนใหญ่เป็นประเภทไตรกลีเซอไรด์

ดังนั้นในการศึกษาองค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. ในการทดลองที่ 12 พบว่ามีการผลิตชีวมวล และการผลิตไขมัน (lipid) สูงสุด เนื่องจากเป็นภาวะที่ถูกจำกัดสารอาหารคือ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ทำให้สาหร่าย มีการสะสมไขมันไว้ในปริมาณสูง เพื่อให้อยู่รอดได้ในสภาวะที่ขาดแคลน ดังนั้นองค์ประกอบที่เหมาะสมในการผลิตพลังงานชีวมวลจากสาหร่าย เมื่อปรับปรุงสูตรอาหารเบื้องต้นเพื่อให้ได้พลังงานชีวมวลสูงและสภาวะที่เหมาะสม มีค่าเท่ากับ 616 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน เพื่อนำไปทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเพิ่มปริมาณลิพิด

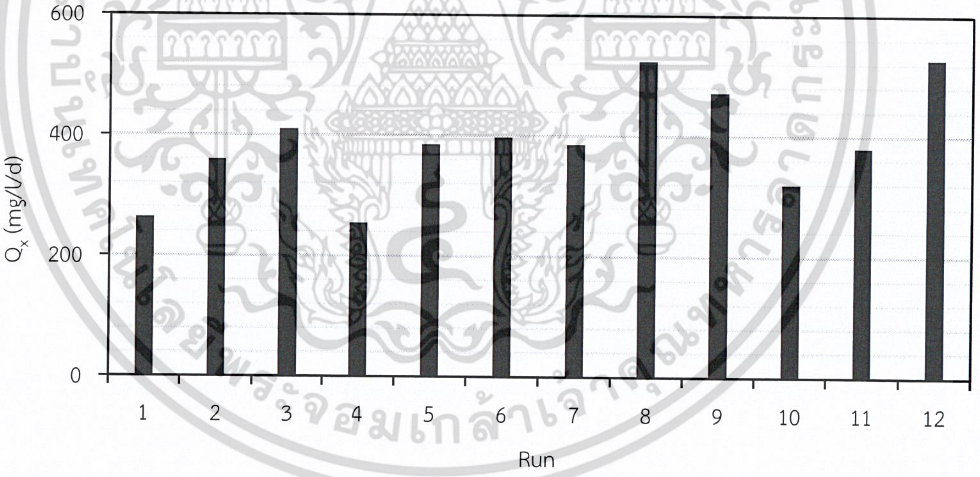


รูปที่ 6.13 ความเข้มข้นของชีวมวลจาก *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 การเพาะเลี้ยงภายใต้การทดลองที่ต่างกัน

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงในแต่ละการทดลอง พบว่าความเข้มข้นของชีวมวลสาหร่ายที่ใช้ในสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงของแต่ละการทดลองมีความเข้มข้นที่แตกต่าง

กัน เนื่องจากในระหว่างการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะมีการใช้สารอาหาร $NaNo_3$ และ K_2HPO_4 เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้แสง (Photoautotrophic cultivation) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสถูกใช้หมดไปการเพาะเลี้ยงจะค่อยๆ ลดจำนวนเซลล์ลง ซึ่งแปรผกผันกับการสะสมของปริมาณลิพิด ค่าความเป็นกรดด่างในระยะการเจริญเติบโตสูงสุดของสาหร่ายอยู่ในช่วง 7-9 (Meridith และคณะ, 2014) เพื่อหาอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (μm), อัตราการผลิตเซลล์ (Qx), อัตราการผลิตลิพิด (Qp) โดยการใช้แผนการทดลอง Plackett-Burman design (PBD) ในการคัดเลือกเบื้องต้น (วราทิตย์, 2558) เพื่อลดการสูญเสียเวลาและลดการสูญเสียสารอาหารในการทดลอง ดังนั้นจึงนำสถิติเข้ามาช่วยการปรับปรุงสูตรอาหารเบื้องต้น เพื่อผลิตชีวมวลสาหร่ายสูง และสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยใช้โปรแกรม Minitab 16.2.2 (รูปที่ 13)

จากรูปที่ 6.14 แสดงอัตราการผลิตชีวมวลจาก *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 ภายใต้การทดลองด้วยสูตรอาหารแตกต่างกัน พบว่า พบว่าอัตราการผลิตชีวมวล (Q_x) อยู่ในช่วง 254 - 527 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (รูปที่ 14)



รูปที่ 6.14 อัตราการผลิตชีวมวลจาก *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 ในการเพาะเลี้ยงภายใต้การทดลองที่ต่างกัน

เมื่อพิจารณาสูตรอาหาร BG 11 ทั้งหมด 11 ปัจจัยต่ออัตราการผลิตชีวมวลสาหร่ายสูงสุดโดยใช้ Plackett-Burman design (PBD) พบว่าความสัมพันธ์ของอัตราการผลิตชีวมวลในแต่ละปัจจัยแสดงดังสมการต่อไปนี้ :

Y (Q_x, mg/l/d)= 390 - 60.1 A - 3.6 B - 17.6 C + 6.8 D + 28.1 E - 21.7 F - 13.5 G + 9.5 H - 21.6 J - 15.2 K - 29.0 L

องค์ประกอบที่เหมาะสมในการผลิตชีวมวลสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 เพื่อให้ได้ชีวมวลสาหร่ายสูง และสภาวะที่เหมาะสมโดยการใช้แผนการทดลอง Plackett-Burman Design ด้วยโปรแกรม Minitab 16.2.2 ส่งผลให้มีอัตราการผลิตเซลล์สูงสุด เท่ากับ 616 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน โดยการใช้ความเข้มข้นของสารอาหารที่จำเป็นในสูตรอาหารเพาะเลี้ยง สามารถนำไปใช้เป็นสูตรอาหารต้นแบบที่ลดต้นทุนการผลิตในการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตชีวมวลสาหร่ายได้

6.1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มปริมาณลิพิด

การเพาะเลี้ยง *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 ได้ดำเนินการภายใต้เงื่อนไขความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 6 การทดลอง ตามการออกแบบของ Plackett-Burman Design (PBD) โดยทำซ้ำ 2 ครั้งเพื่อคัดเลือกองค์ประกอบที่ทำให้เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง เพื่อผลิตปริมาณลิพิดสูง โดยการศึกษาความเข้มข้นของสารคาร์บอนอนินทรีย์ (Inorganic carbon sources) 2 ชนิด คือ A และ B ที่ 1, 2, 3 กรัมต่อลิตรต่อการผลิตลิพิดในการเพาะเลี้ยง *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 ในระหว่างการเพาะเลี้ยงความเข้มข้นของปริมาณลิพิดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลา

ตารางที่ 6.2 ค่าจลนพลศาสตร์ของการเพาะเลี้ยง *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 โดยใช้สารอนินทรีย์ที่แตกต่างกัน

Experimental	μ_{max} (mg/l/day)	Q_x (mg/l/day)	Q_p (mg/l/day)
1	0.54 ± 0.023^{a}	195.03 ± 0.006^{d}	30.10 ± 0.008^{b}
2	0.53 ± 0.006^{a}	336.34 ± 0.013^{b}	33.86 ± 0.002^{b}
3	0.52 ± 0.008^{a}	256.55 ± 0.001^{c}	40.00 ± 0.007^{ab}
4	0.51 ± 0.013^{a}	201.00 ± 0.001^{d}	53.57 ± 0.007^{a}
5	0.52 ± 0.026^{a}	192.23 ± 0.009^{d}	29.58 ± 0.003^{b}
6	0.54 ± 0.001^{a}	392.64 ± 0.015^{a}	37.12 ± 0.007^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มปริมาณลิพิด พบว่าความเข้มข้นที่ 1 กรัมต่อลิตร ของสารคาร์บอนอนินทรีย์ (Inorganic carbon sources) ชนิด B มีการสะสมไขมันในสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 มากที่สุด ถึง 53.57 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน

6.1.3 การสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

กระบวนการสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. ด้วยชีวมวลสาหร่ายชนิดทำแห้ง 2 แบบ คือ A และ B ที่ใช้ตัวทำละลายแตกต่างกัน

ตารางที่ 6.3 ผลได้ของลิพิดจาก *Ankistrodesmus* sp. โดยใช้วิธีการแตกต่างกัน

Methods	Biomass	
	A	B
1	44.31 ± 0.182^{bc}	49.75 ± 0.234^{a}
2	42.18 ± 0.153^{cd}	46.81 ± 0.141^{ab}
3	21.62 ± 0.048^{e}	20.22 ± 0.085^{e}
4	43.62 ± 0.016^{bc}	39.71 ± 0.038^{d}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

ผลการศึกษาการสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. ด้วยชีวมวลสาหร่ายชนิดทำแห้ง 2 ชนิด คือ A และ B ที่ใช้ตัวทำละลายแตกต่างกัน พบว่าการใช้วิธีที่ 2 เป็นตัวทำละลายมีความเหมาะสมที่สุดในการสกัดลิพิดจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. ซึ่งชีวมวลสาหร่ายทำแห้งแบบ A มีค่าเท่ากับ 42.18 เปอร์เซ็นต์ และชีวมวลสาหร่ายทำแห้ง B มีค่าเท่ากับ 46.81 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 7

สรุปผลการทดลอง

7.1 สรุปผลการทดลอง

7.1.1 ศึกษาองค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเบื้องต้น

จากการศึกษาองค์ประกอบของสารอาหารต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 เบื้องต้น โดยใช้แผนการทดลอง Plackett-Burman Design (PBD) ทั้งหมด 12 การทดลอง ด้วยสารอาหารสูตร BG 11 ที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงทั้งหมด 11 ปัจจัย พบว่าการทดลองที่ 12 มีอัตราการผลิตเซลล์สูงสุด มีค่าเท่ากับ 527.70 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ในการศึกษาองค์ประกอบของสารอาหารเพื่อเพิ่มอัตราการผลิตเซลล์นี้ได้ทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Plackett-Burman design (PBD) เพื่อมีการปรับปรุงสูตรอาหารเบื้องต้น พบว่าการใช้องค์ประกอบของสารอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 ส่งผลให้มีอัตราการผลิตเซลล์สูงสุด มีค่าเท่ากับ 616 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน

7.1.2 ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มปริมาณลิพิด

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารคาร์บอนอนินทรีย์ (Inorganic carbon sources) 2 ชนิด คือ A และ B ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 กรัมต่อลิตรต่อการผลิตลิพิดในการเพาะเลี้ยง *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 เพื่อเพิ่มอัตราการผลิตลิพิด (Q_p) พบว่าความเข้มข้นที่ 1 กรัมต่อลิตรของสารชนิด B ช่วยกระตุ้นการผลิตและการสะสมไขมันในสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. IFRPD 1061 ได้มากที่สุด ถึง 53.57 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน

7.1.3 ศึกษาการสกัดลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

จากการศึกษาการสกัดลิพิดจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. ด้วยชีวมวลสาหร่ายชนิดทำแห้ง 2 แบบ คือ A และ B โดยใช้ตัวทำละลายแตกต่างกัน พบว่าการใช้วิธีที่ 2 เป็นตัวทำละลายมีความเหมาะสมที่สุดในการสกัดลิพิดจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. ซึ่งชีวมวลสาหร่ายทำแห้งแบบ A และ B มีค่าเท่ากับ 42.18 และ 46.81 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

7.2 สรุปผลที่ได้จากการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

7.2.1 ปัญหาและอุปสรรค

1) มีการเรียนรู้เพิ่มเติมเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพสาหร่าย ซึ่งนักศึกษาไม่มีความรู้เบื้องต้นมาก่อนจากสถาบัน
2) มีการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการอย่างต่อเนื่องและจริงจังด้วยตนเองเป็นเวลานาน ซึ่งนักศึกษาไม่มีเพื่อนร่วมคิดและช่วยปฏิบัติงาน

7.2.2 ประโยชน์ที่รับ

1) ได้รับความรู้ใหม่ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพสาหร่าย
2) ได้ฝึกปฏิบัติงานในการทำงานทางด้านการวิจัยอย่างจริงจัง
3) ได้รู้จักคิดและการวางแผนการปฏิบัติงานด้วยตนเอง
4) ได้รับเทคนิคใหม่ๆจากการปฏิบัติงาน
5) ทำให้รู้จักการพัฒนาและฝึกฝนตนเองมากยิ่งขึ้น
6) ได้ฝึกให้มีความรับผิดชอบต่อหน้าที่ที่ได้รับมอบหมาย
7) ได้แสดงและพัฒนาศักยภาพของตนเอง
8) เรียนรู้ขั้นตอนการทำงาน และลักษณะการทำงานของนักวิจัย
9) ได้ค้นหาตนเองมากยิ่งขึ้นว่าชอบปฏิบัติงานในสายงานใดเมื่อสำเร็จการศึกษาเป็นบัณฑิต
10) ได้รับโอกาสในการปฏิบัติงานและผลงานเป็นของตนเอง

7.2.3 สิ่งที่ได้รับ

1) ได้ยื่นจดอนุสิทธิบัตรเรื่อง “**สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก**” เลขที่คำขอ 1703000705 วันยื่นคำขอ 27 เมษายน 2560
2) “การเพิ่มปริมาณชีวมวลและลิพิดในสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. และกรรมวิธีที่เกี่ยวข้อง” (อยู่ในขั้นตอนการยื่นจดอนุสิทธิบัตร)
3) นำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ “**Food Innovation Asia conference 2017**” (15-17 มิถุนายน 2560)

บรรณานุกรม

กลุ่มพัฒนามาตรฐานน้ำมันเชื้อเพลิง. สำนักคุณภาพน้ำมันเชื้อเพลิง. 2557. ความรู้เกี่ยวกับน้ำมันเชื้อเพลิงจากสาหร่าย

ดนุกูล เลิศวณิชพัฒนกุล ศิริลักษณ์ นิยมการ และกิตติพล กสิภาร์. 2551. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากจุล สาหร่าย. เอกสารรวบรวมงานวิจัยของภาควิชา วิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำ ปีการศึกษา 2551

ธวัชชัย เอกสันติ และคณะ 2547. จุลชีววิทยาในทางสาธารณสุข. คณะพลศึกษาภาควิชาสุขศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

นฤตษวรรณ สัญญาโณ. 2556. การเก็บเกี่ยวและผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก. วิทยานิพนธ์ มหาบัณฑิต คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วัชระ เวียงแก้ว. 2554. การสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย. คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์

วีนา ชูโชติ กิตติคุณ สุคันโธวงศ์ ธนิยา แซ่โอ้ว และสันติสุข ขวัญศิริวณิช. 2557. การคัดเลือกสายพันธุ์ สาหร่ายขนาดเล็กที่มีปริมาณไขมันสูง. คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สกานต์ พูลทวี 2535. สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Chlorella* sp. สายพันธุ์ B.K.1 **รวมบทคัดย่อวิทยานิพนธ์.** ปี การศึกษา 2535. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย บัณฑิตวิทยาลัย: 472

Baker, M.D., Mayfield, C and Inniss, W.E. 1983. Toxicity of pH, heavy metals and bisulfite to a freshwater green alga. **Chemosphere**. 12: 35-44

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advance**. 25: 294-306

Demirbas, A. and Demirbas, M.F. 2001. Importance of algae oil as a source of biodiesel. **Energy Conversion and Management**. 52: 163-170

Feng, P., Deng, Z., Hua, Z., and Fan, L. 2012. Lipid accumulation and growth characteristics of *Chlorella zofingiensis* under different nitrate and phosphate concentrations. **J. Biosci. Bioeng.** 114: 405-410.

Graham, L.E. and Wilcox, L.W. 2000. Algae, Prentice-Hall, Upper Saddle River. New Jersey. 640

Guschina, I.A. and Harwood, J.L. 2006. Lipid and lipid metabolism in eukaryotic algae. **Prog. Lipid. Res.** 45: 160-186.

Hempel, N., Petrick, I and Frank, B. 2012. Biomass productivity and productivity of fatty acids and amino acids of microalgae strains as key characteristics of suitability for biodiesel production. **J Appl Phycol**. 24:1407-1418

Huang, Y.T. and C.P. Su. 2014. High lipid content and productivity of cultivating under elevated carbon dioxide. **International Journal of Environmental Science and Technology**. 11(3): 703-710.

Kilham, S. S., Kreeger, D. A., Goulden, C. E. and Lynn, S. G. 1997. Effect of nutrient limitation on biochemical constituents *of Ankistrodesmus falcatus*. **Freshwater Biology.** 38: 591-596.

Nascimento, I.A., I.T.D. Cabanelas, J.N.d. Santos, M.A. Nascimento, L. Sousa and G. Sansone. 2015. Biodiesel yields and fuel quality as criteria for algal-feedstock selection: Effects of CO_2-supplementation and nutrient levels in cultures. **Algal Research**. 8: 53-60.

Scragg, A.H., Lllman, A.M., and Shales, S.W. 2002. Growth of microalgae with increase calorific values in a tubular bioreactor. **Journal of Biomass and Bioenergy**. 23: 67-73.

Thomson, G.A.Jr. 1996. Lipids and membrane function in green algae. **Biochim. Biophys. Acta**. 1302: 17-45.

Vega, E.Z., Glatz, B.A. and Hammond, E.G. 1988. Appl. Microbiol. Biotechnol. 29: 211 - 218

Yen, H.W., Hu, I.C., Chen, C.Y., Ho, S.H., Lee, D.J., and Chang, J.S. 2013. Microalgae-based biorefinery – from biofuels to natural products. **Bioresour. Technol**. 135: 166-174.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

สถาบันค้นคว้า
และ
พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
Institute of Food Research and Product Development

รูปที่ 1 สถานประกอบการ

Institute of Food Research and Product Development

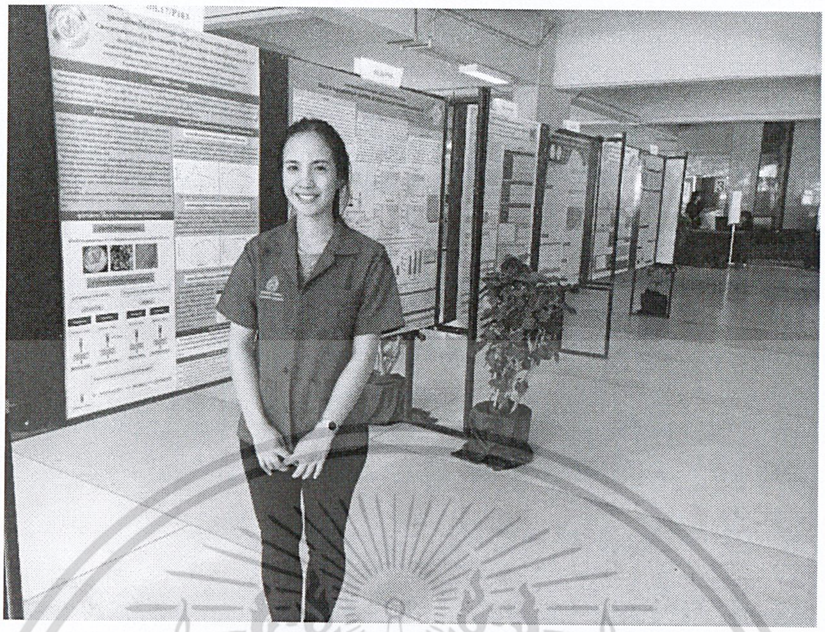
รูปที่ 2 สถานประกอบการกับนักศึกษา

รูปที่ 3 นักวิจัยชำนาญการกับนักศึกษา

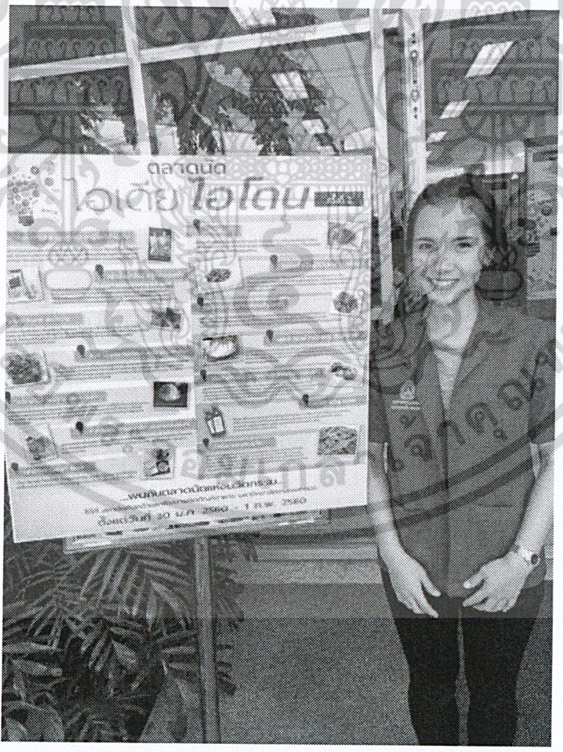
รูปที่ 4 ขณะปฏิบัติงาน

รูปที่ 5 ขณะปฏิบัติงาน

รูปที่ 6 ขณะปฏิบัติงาน



รูปที่ 7 กิจกรรมการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 55


ตลาดนัด
ไอเดีย ไอโดน

รูปที่ 8 กิจกรรมตลาดนัดไอเดียไอโดน ครั้งที่ 2