

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตลิพิดของไซยาโนแบคทีเรีย
เซลล์เดี่ยวทนเค็ม *Aphanothece halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเล
ธรรมชาติเพื่อการผลิตไบโอดีเซล

OPTIMIZATION OF GROWTH AND LIPID PRODUCTION OF THE HALOTOLERANT
UNICELLULAR CYANOBACTERIUM *Aphanothece halophytica* CULTIVATED IN
NATURAL SEAWATER FOR BIODIESEL PRODUCTION



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2568

KMITL-2025-SC-D-020-019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OPTIMIZATION OF GROWTH AND LIPID PRODUCTION OF THE HALOTOLERANT
UNICELLULAR CYANOBACTERIUM *Aphanothece halophytica* CULTIVATED IN
NATURAL SEAWATER FOR BIODIESEL PRODUCTION



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE
DOCTOR OF PHILOSOPHY IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2025

KMITL-2025-SC-D-020-019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2025

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตลิปิดของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทนเค็ม <i>Aphanothece halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติเพื่อการผลิตไบโอดีเซล
ชื่อนักศึกษา	สิทธิชัย ทองทา
รหัสนักศึกษา	61605007
ปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2568
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สรัญญา พันธุ์ฤกษ์

บทคัดย่อ

ไบโอดีเซลเป็นพลังงานหมุนเวียนรูปแบบหนึ่งที่มีศักยภาพสูงและได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในการเป็นเชื้อเพลิงทางเลือกแทนน้ำมันเชื้อเพลิงจากซากดึกดำบรรพ์ เมื่อเปรียบเทียบกับไบโอดีเซลจากพืช ไบโอดีเซลที่ผลิตจากจุลสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียมีข้อได้เปรียบหลายประการ ได้แก่ ความต้องการธาตุอาหารที่น้อยกว่า การใช้พื้นที่เพาะปลูกน้อยกว่า และระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่สั้นกว่า ไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทนเค็ม *Aphanothece halophytica* เป็นสิ่งมีชีวิตต้นแบบในการศึกษากลไกการทนเค็มในไซยาโนแบคทีเรีย จัดเป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตไบโอดีเซล และสามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมไนโตรเจนและแร่ธาตุในปริมาณเพียงเล็กน้อย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของ *A. halophytica* ในน้ำทะเลธรรมชาติที่แปรผันความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท โดยมีและไม่มีการเติมสารละลายเกลือ Turks Island salt solution นอกจากนี้ ยังศึกษาปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการผลิตลิปิด ได้แก่ แหล่งและความเข้มข้นของคาร์บอน ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิในการบ่ม แหล่งกำเนิดแสง และความเข้มของแสง สุดท้าย ประเมินคุณสมบัติของไบโอดีเซลจากองค์ประกอบของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่สกัดจากลิปิดของ *A. halophytica* ซึ่งเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองพบว่า *A. halophytica* เจริญเติบโตได้สูงที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรท 17.6 มิลลิโมลาร์ และเติมสารละลายเกลือ Turks Island salt solution (เรียกอาหารนี้ว่า suitable natural seawater: SNSW) ภายใต้สูตรอาหารนี้ *A. halophytica* มีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.230 ต่อวัน และความหนาแน่นของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์สูงสุดเท่ากับ 25.17×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ภายในระยะเวลา 14 วัน ซึ่งเทียบเท่ากับการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 การเติมกลูโคส 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตรและโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ ช่วยเพิ่มปริมาณลิปิดและอัตราการผลิตลิปิดอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีปริมาณลิปิดเท่ากับถึง 50.47 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการผลิตลิปิด 48.33 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน จากการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในลิปิด พบว่าองค์ประกอบของกรดไขมันเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ โดยที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ ส่งเสริมการสะสมของกรดไลโนเลอิกและไลโนเลนิก ในขณะที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เพิ่มสัดส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated fatty acid, MUFA) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีต่อคุณภาพของไบโอดีเซล ในการศึกษาผลของแสงจากหลอดแอลอีดี (LED) พบว่าแสงแอลอีดีโดยเฉพาะแสงสีน้ำเงินที่ความเข้ม 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที มีประสิทธิภาพสูงในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์และการสะสมลิปิด เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดฟลูออเรสเซนต์แบบดั้งเดิม ภายใต้สภาวะนี้ *A. halophytica* มีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดอยู่ที่ $68.96 \pm 1.52 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร อัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.302 ± 0.002 ต่อวัน และอัตราการผลิตลิปิดสูงถึง 56.81 ± 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ในขณะที่แสงสีขาวจากแอลอีดีที่องค์ประกอบของกรดไขมันที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไบโอดีเซล แสงสีน้ำเงิน เขียว และแดงจากแอลอีดีช่วยเพิ่มการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acids, PUFA) ซึ่งมีคุณค่าในด้านโภชนาการ งานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นถึงผลเสริมกันของการเสริมธาตุอาหาร การควบคุมความเค็ม และการเลือกใช้แหล่งแสงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตชีวมวลและลิปิดของ *A. halophytica* ซึ่งสนับสนุนศักยภาพของจุลินทรีย์ชนิดนี้ในการพัฒนาเชื้อเพลิงชีวภาพและผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่มีมูลค่าสูงอย่างยั่งยืน

คำสำคัญ : การเจริญเติบโต การผลิตลิปิด น้ำทะเลธรรมชาติ ไบโอดีเซล โซเดียมคลอไรด์

Thesis Title	Optimization of growth and lipid production of the halotolerant unicellular cyanobacterium <i>Aphanothece halophytica</i> cultivated in natural seawater for biodiesel production
Students	Sittichai Thongtha
Student ID	61605007
Degree	Doctor of Philosophy (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2025
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Saranya Phunpruch

Abstract

Biodiesel is a promising form of renewable energy that has garnered increasing attention as an alternative to fossil fuels. Compared to plant-based biodiesel, microalgae- and cyanobacteria-derived biodiesel offers several advantages, including lower nutrient requirements, reduced land use, and shorter cultivation times. The unicellular, halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*, a model organism for studying salt tolerance mechanisms in cyanobacteria, has emerged as a strong candidate for biodiesel production and has ability to grow in natural seawater with minimal supplementation of nitrogen and minerals. This study aimed to investigate the growth and biomass production of *A. halophytica* in natural seawater under varying concentrations of NaNO_3 , with and without the addition of Turks Island salt solution. Furthermore, key factors influencing lipid production, including carbon source and concentration, initial medium pH, incubation temperature, light source, and light intensity, were also investigated. Biodiesel properties were assessed based on the fatty acid methyl ester (FAME) profiles of lipids extracted from *A. halophytica* cultured under optimized conditions. The results showed that *A. halophytica* demonstrated the highest growth when cultivated in natural seawater supplemented

with 17.6 mM NaNO_3 and Turk Island salt solution (defined as suitable natural
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

seawater, SNSW). Under these conditions, the culture achieved a specific growth rate of 0.230 day^{-1} and a maximum cell concentration of $25.17 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ over 14 days, comparable to growth found in normal BG11 medium. Supplementation with $1.89 \text{ mmol C-atom L}^{-1}$ glucose and 0.75 M NaCl significantly enhanced lipid content and productivity, reaching 50.47% lipid content and $48.33 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ lipid productivity. Fatty acid profiles varied with NaCl concentration, 0.75 M NaCl promoted greater accumulation of linoleic and linolenic acids, whereas 0.5 M NaCl enhanced monounsaturated fatty acid (MUFA) contents, which are beneficial for biodiesel quality. In addition, the effects of light-emitting diode (LED) illumination on *A. halophytica* grown in SNSW were evaluated, highlighting the importance of light spectrum and intensity in regulating biomass, pigment, and lipid production. Blue LED light at an intensity of $60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ significantly enhanced both cell growth and lipid accumulation compared to conventional fluorescent lighting. Under these conditions, the culture reached a peak cell density of $68.96 \pm 1.52 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$, a specific growth rate of $0.302 \pm 0.002 \text{ day}^{-1}$, and a lipid productivity of $56.81 \pm 0.75 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$. While white LEDs produced fatty acid profiles suitable for biodiesel synthesis, blue, green, and red LEDs stimulated increased production of polyunsaturated fatty acid (PUFA), which are valuable for nutritional applications. Overall, this integrated strategy underscores the synergistic impact of nutrient enrichment, salinity modulation, and LED lighting on enhancing biomass and lipid production in *A. halophytica*, supporting its potential for sustainable biofuel and high value bioproduct development.

Keywords : Growth, Lipid production, Seawater, Biodiesel, Cyanobacteria

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ครั้งนี้ จัดทำขึ้นตามหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต โดยสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สร้อยญา พันธุ์พฤกษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาช่วยเหลือให้คำแนะนำในทุกขั้นตอนของการทำวิทยานิพนธ์ ตั้งแต่การคิดหัวข้อวิทยานิพนธ์ การวางแผนการทดลอง การวิเคราะห์ข้อมูล สรุปผลการทดลอง ตลอดจนให้คำแนะนำในการเขียนรูปเล่มวิทยานิพนธ์นี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ชัยรัตน์ ตรีทรัพย์สุนทร ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.รุจิรา ดลเพ็ญ ผศ.ดร.ภัทรารัตน เทียมเก่า ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ รุ่งจินดามัย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร.สร้อยญา พันธุ์พฤกษ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้ข้อคิดเห็นอันมีคุณค่าและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยอำนวยความสะดวก สารเคมีที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ พี่ๆ น้องๆ ห้องปฏิบัติการชีววิทยาระดับโมเลกุล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำหรับมิตรภาพที่ดีในการให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

นายสิทธิชัย ทองทา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญรูป	ท
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	5
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	5
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
2.1 พลังงาน	7
2.2 ไบโอดีเซล	8
2.2.1 ประเภทของไบโอดีเซล	9
2.2.2 วิธีการผลิตไบโอดีเซล	11
2.3 ลิพิด	12
2.3.1 การจำแนกประเภทของลิพิด	12
2.3.2 คุณสมบัติของลิพิด	13
2.3.3 กระบวนการทางเคมีของลิพิด	15
2.4 กรดไขมัน	15
2.4.1 การจำแนกกรดไขมัน	16
2.4.2 สารประกอบเอซิลกลีเซอไรด์.....	18
2.4.3 คุณสมบัติของกรดไขมัน	18
2.4.4 ประโยชน์ของกรดไขมัน	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 กรดไขมันในเซลล์สำหรับขนาดเล็กและไซยาโนแบคทีเรีย	20
2.6 ไซยาโนแบคทีเรีย	22
2.6.1 อนุกรมวิธานและนิเวศวิทยาของไซยาโนแบคทีเรีย	23
2.6.2 ไซยาโนแบคทีเรีย <i>Aphanothece halophytica</i>	24
2.7 กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ในไซยาโนแบคทีเรีย	25
2.7.1 กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน	25
2.7.2 กระบวนการสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล	26
2.8 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสมลิพิดในไซยาโนแบคทีเรีย	28
2.8.1 ไนโตรเจน	28
2.8.2 ฟอสฟอรัส	28
2.8.3 คาร์บอน	29
2.8.4 ความเค็ม	30
2.8.5 อุณหภูมิ	31
2.8.6 ค่าความเป็นกรด-ด่าง	31
2.8.7 แสง	31
2.9 กระบวนการสกัดลิพิดในไซยาโนแบคทีเรีย	35
2.9.1 วิธีการสกัดลิพิด	35
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	41
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	46
3.1 ไซยาโนแบคทีเรีย	46
3.2 อาหารเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย	46
3.3 สารเคมี	46
3.3.1 สารเคมีที่ใช้เป็นอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย	46
3.3.2 สารเคมีที่ใช้สำหรับสกัดลิพิดและวิเคราะห์กรดไขมันจากกระบวนการ ทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน	47
3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5 วิธีการทดลอง	48
3.5.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของไฮยาโนแบคทีเรีย	48
3.5.2 การสกัดลิพิดจากไฮยาโนแบคทีเรีย ด้วยวิธีการสกัดชั้นตอนเดียว	50
3.5.3 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสะสมลิพิดของเซลล์ไฮยาโนแบคทีเรีย ..	51
3.5.4 การศึกษาผลของคุณภาพแสง และความเข้มของแสง ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุ และผลผลิตลิพิด.....	52
3.5.5 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่ได้จากไฮยาโนแบคทีเรีย <i>A. halophytica</i>	53
3.5.6 วิเคราะห์คุณสมบัติของไบโอดีเซลจากไฮยาโนแบคทีเรีย	55
3.5.7 การวิเคราะห์ผลลัพธ์ทางสถิติ	55
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	56
4.1 การเจริญเติบโตของ <i>A. halophytica</i> ในน้ำทะเลธรรมชาติ	56
4.1.1 การเจริญเติบโตของ <i>A. halophytica</i> ในน้ำทะเลธรรมชาติที่ มีการแปรผันความเข้มข้นโซเดียมไนเตรท	56
4.1.2 การเจริญเติบโตของ <i>A. halophytica</i> ในน้ำทะเลธรรมชาติที่มีการแปรผัน ความเข้มข้นโซเดียมไนเตรทร่วมกับสารละลายเกลือเติร์ก (Turks Island salt solution)	58
4.2 ผลของปัจจัยทางเคมีที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิดใน และผลผลิตลิพิด <i>A. halophytica</i>	61
4.2.1 ผลของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิดใน <i>A. halophytica</i>	61
4.2.2 ผลของความเข้มข้นของกลูโคสต่อการผลิตลิพิดใน <i>A. halophytica</i>	62
4.2.3 ผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่อการผลิตลิพิดใน <i>A. halophytica</i>	64
4.2.4 ผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่อองค์ประกอบของกรดไขมันใน ลิพิดของ <i>A. halophytica</i> และคุณสมบัติของไบโอดีเซล	66
4.3 ผลของปัจจัยทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิดใน <i>A. halophytica</i>	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.1 ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตลิพิดใน <i>A. halophytica</i>	72
4.3.2 ผลของอุณหภูมิของการเพาะเลี้ยงต่อการผลิตลิพิดใน <i>A. halophytica</i>	73
4.3.3 ผลของแสงฟลูออเรสเซนต์สีขาว (Fluorescent tube) และแสงแอลอีดีสี ขาว (Light-Emitting Diode) ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุ และ ปริมาณลิพิด	74
4.3.4 ผลของสีของแสงแอลอีดี ต่อการเจริญเติบโต รงควัตถุ และปริมาณลิพิด	81
4.3.5 ผลของความเข้มแสงแอลอีดีสีน้ำเงินต่อการเจริญเติบโต รงควัตถุ และ ปริมาณลิพิด	84
4.3.6 ผลของสีแสงแอลอีดี ต่อองค์ประกอบกรดไขมัน และคุณสมบัติของไบโอ ดีเซล	87
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	91
5.1 สรุปผลการวิจัย	91
5.2 ข้อเสนอแนะ	92
เอกสารอ้างอิง	94
ภาคผนวก	111
ภาคผนวก ก	112
ภาคผนวก ข	113
ภาคผนวก ค	114
ภาคผนวก ง	115
ภาคผนวก จ	120

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 วิธีการที่ใช้สำหรับกระบวนการสกัดลิพิดจากไซยาโนแบคทีเรีย	36
2.2 หลักการข้อได้เปรียบและข้อเสียของวิธีการสกัดไขมันด้วยวิธี Folch และ Bligh and Dyer	40
4.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นของเซลล์สูงสุด และระยะเวลาการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับการเติมและไม่เติม สารละลายเกลือ Turks Island salt solution เทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 ที่เสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution	58
4.2 ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW (น้ำทะเลธรรมชาติซึ่งเสริมด้วยโซเดียมไนเตรท 17.6 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเกลือ Turks Island salt solution) และเติมแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.189 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร	61
4.3 ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ที่เติมกลูโคสที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-756 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร	63
4.4 ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ 0-3 โมลาร์	64
4.5 การเปรียบเทียบอัตราการผลิตชีวมวล ปริมาณลิพิด และอัตราการผลิตลิพิดของไซยาโนแบคทีเรียชนิดต่างๆ	67
4.6 ผลของความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อองค์ประกอบของกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงใน SNSW ที่เสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	68

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.7 คุณสมบัติของไบโอดีเซลและองค์ประกอบของกรดไขมันในเซลล์ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงใน SNSW ที่เสริมด้วยกลูโคส 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่างๆ	70
4.8 ปริมาณลิกพิดและอัตราการผลิตลิกพิดของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งแต่ 6.0 ถึง 8.5	73
4.9 ปริมาณลิกพิดและอัตราการผลิตลิกพิดของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส	74
4.10 ความหนาแน่นของเซลล์ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ปริมาณลิกพิด และอัตราการผลิตลิกพิดของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงแอลอีดีสีขาวที่มีความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	75
4.11 ปริมาณรงควัตถุของเซลล์ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงแอลอีดีที่มีความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	77

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.12 ความหนาแน่นของเซลล์ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ปริมาณลิวติง และอัตราการผลิกลิวติงของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงแอลอีดีสีขาว ที่มีความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	79
4.13 ปริมาณรงควัตถุของเซลล์ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงแอลอีดี ที่มีความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	79
4.14 ความหนาแน่นของเซลล์ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ระยะเวลาการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ปริมาณลิวติง และผลผลิตลิวติงของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้ม 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	83
4.15 ปริมาณรงควัตถุของเซลล์ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้ม 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	83
4.16 ความหนาแน่นของเซลล์ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ระยะเวลาเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ปริมาณลิวติง และอัตราการผลิกลิวติงของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	85

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.17 ปริมาณรงควัตถุของเซลล์ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	87
4.18 องค์ประกอบของกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในลิพิดรวมที่สกัดได้จากเซลล์ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้ม 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	88
4.19 คุณสมบัติของไบโอดีเซลที่ได้จากลิพิดซึ่งสกัดจากเซลล์ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้ม 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	89

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน	10
2.2 โครงสร้างของลิพิดที่เป็นแอมฟิไฟล์ (Amphiphile)	14
2.3 โครงสร้างของลิพิดที่เป็นแบบแผ่นสองชั้น (Bilayer)	14
2.4 โครงสร้างของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัวโอเลอิกมีรูปแบบของ พันธะคู่ แบบ Cis และ Trans	16
2.5 กรดไขมันในรูปแบบของไมเซลล์ (Micelle)	19
2.6 สันฐานวิทยาของเซลล์ของ <i>A. halophytica</i> ใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า	25
2.7 ภาพรวมอย่างง่ายของการสังเคราะห์กรดไขมันอิ่มตัวในคลอโรพลาสต์ของสาหร่าย ขนาดเล็ก	26
2.8 การสังเคราะห์กรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ในสาหร่ายขนาดเล็ก	27
2.9 การสังเคราะห์ทางชีวภาพของไตรเอซิลกลีเซอรอลในสาหร่ายขนาดเล็ก	27
2.10 แบบจำลองโครงสร้างของไฟโคบิลิโซม และการถ่ายทอดอิเล็กตรอนใน Photosystem	32
2.11 แบบจำลองการจัดเรียงตัวของไฟโคบิลิโซม โดยการเชื่อมต่อระหว่างไฟโคบิลิ โซมกับ Thylakoid membrane (a) L1, L2, L3 แสดงตำแหน่งที่อยู่ของ linker polypeptide (b) และ แสดงการจัดเรียงตัวขององค์ประกอบหลักในไฟโคบิลิโซม (c)	34
2.12 ไฟโคบิลิโปรตีนส่วนเซลล์รูปกรวย (Core) และเซลล์รูปทรงกระบอก (Rod) ในไฟโคบิลิโซม	34
2.13 การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยตรง (A) และการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ร่วมกับการแตกเซลล์ (วิธีการทางกายภาพ เคมี หรือชีวภาพ) (B).....	38

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (A) และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ เอ (B) ของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ เทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 ที่เสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution	57
4.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (A) และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ เอ (B) ของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ และเสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution เทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 ที่เสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution	60
4.3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (A) และความเข้มข้นของเซลล์ (B) ของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงแอลอีดีสีขาว ที่มีความเข้มแสงเท่ากับ 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	76
4.4 สเปกตรัมของแสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงแอลอีดีสีขาว (A) และแสงแอลอีดีสีต่างๆ ได้แก่ ขาว เขียว แดง และน้ำเงิน (B) โดยมีค่าความเข้มแสงเท่ากับ 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	80
4.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (A) และความเข้มข้นของเซลล์ (B) ของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดี สีต่างๆ ที่ความเข้ม 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	82
4.6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (A) และความเข้มข้นของเซลล์ (B) ของ <i>A. halophytica</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีน้ำเงินที่มีความเข้มแสงตั้งแต่ 15 ถึง 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที	86

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบัน ประเทศต่างๆ ทั่วโลกกำลังเผชิญกับปัญหาวิกฤตการณ์การขาดแคลนน้ำมัน เชื้อเพลิงจากการเพิ่มขึ้นของประชากรและการขยายตัวของเศรษฐกิจและอุตสาหกรรม เชื้อเพลิงที่ใช้ส่วนใหญ่มาจากเชื้อเพลิงฟอสซิลซึ่งกำลังจะหมดลงไม่ช้า นอกจากนี้ การเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิลเหล่านี้ยังก่อให้เกิดปัญหามลพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยทำให้เกิดปัญหาการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศจากการปล่อยก๊าซมลพิษ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์ และไนโตรเจนออกไซด์ ฯลฯ เพื่อที่จะแก้ปัญหาเหล่านี้ หน่วยงานต่างๆ รวมถึงนักวิจัยจำเป็นต้องแสวงหาและศึกษาแหล่งพลังงานจากเชื้อเพลิงประเภทหมุนเวียน (Renewable energy) ซึ่งสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ รวมถึงต้องเป็นพลังงานสะอาดที่ไม่ปลดปล่อยมลพิษสู่สิ่งแวดล้อม แหล่งของพลังงานหมุนเวียน ได้แก่ พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม พลังงานน้ำ พลังงานจากความร้อนใต้พิภพ และพลังงานชีวมวล เป็นต้น

พลังงานชีวมวล (Biomass) คือพลังงานที่ได้จากการแปรรูปวัสดุชีวมวลและสารอินทรีย์ประเภทต่างๆ เช่น วัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร ขยะอินทรีย์ มูลปศุสัตว์ กากจากพืช รวมถึง พืชเชื้อเพลิงชนิดต่างๆ ผ่านการเผา การหมัก การบ่มก๊าซ เพื่อผลิตเป็นพลังงานความร้อนหรือก๊าซ หรือเรียกว่า เชื้อเพลิงชีวภาพ เชื้อเพลิงชีวภาพ (Biofuel) อาจอยู่ในสถานะของแข็ง ของเหลว หรือ ก๊าซ เช่น ไบโเอทานอล (Bioethanol) ไบโอมะทานอล (Biomechanol) ไบโอไฮโดรเจน (Biohydrogen) ไบโอก๊าซ (Biogas) และ ไบโอดีเซล (Biodiesel) เป็นต้น เชื้อเพลิงชีวภาพสามารถจัดจำแนกตามเทคโนโลยีของการผลิตออกเป็น 4 กลุ่ม คือ (1) First-generation biofuels (FGBs) หมายถึง เชื้อเพลิงชีวภาพที่ผลิตจากน้ำตาล แป้ง น้ำมันพืช และ ไขมันสัตว์ จากเทคโนโลยีดั้งเดิม (Conventional technology) วัตถุประสงค์หลักของการผลิตเชื้อเพลิง FGBs ได้แก่ เมล็ดข้าวหรือเมล็ดพืชต่างๆ (2) Second-generation biofuels (SGBs) หมายถึงเชื้อเพลิงชีวภาพที่ผลิตจากพืชที่ไม่ได้ใช้เป็นอาหาร เช่น ฟางข้าว ชังข้าวโพด ไม้ และพืชพลังงานอื่นๆ โดยการใช้เทคโนโลยีสมัยใหม่ (Advanced technology) (3) Third-generation biofuels (TGBs) หมายถึงเชื้อเพลิงชีวภาพที่ผลิตจากสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย โดยอาจเรียกว่า น้ำมันสาหร่าย (Algal oil) และ (4) Fourth-generation biofuels (FGB) หมายถึงเชื้อเพลิงชีวภาพที่ได้จากการเปลี่ยนน้ำมันพืช หรือไบโอดีเซลไปเป็นไบโอแก๊สโซลีน

ไบโอดีเซล (Biodiesel) เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์ดีเซลที่ผลิตได้จากน้ำมันพืช ไขมันสัตว์ หรือน้ำมันปรุงอาหารที่ใช้แล้ว ซึ่งได้รับการกำจัดยางเหนียวหรือสิ่งสกปรกออก และนำไปผ่าน

กระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า ทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน (Transesterification) โดยการเติม
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอลกอฮอล์ เช่น เมทานอล หรือเอทานอล และตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน เรียกว่า Fatty acid methyl ester หรือไบโอดีเซล ส่วนผลิตภัณฑ์ที่เป็นผลพลอยได้อีกชนิดคือ กลีเซอรอล (Glycerol) ในปัจจุบัน ไบโอดีเซลผลิตจากพืชหลายชนิด ได้แก่ ปาล์ม น้ำมัน ข้าวโพด ถั่วเหลือง มะพร้าว และ เมล็ดทานตะวัน แต่ปัญหาของการใช้พืชเป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับผลิตน้ำมันชีวภาพมีหลายประการ เช่น ใช้พื้นที่เพาะปลูกมาก ใช้เวลานานกว่าในการเก็บเกี่ยว ต้นทุนการดูแลสูง และราคาของผลผลิตเปลี่ยนแปลงตามการบริโภค ทำให้มีต้นทุนการผลิตที่ค่อนข้างสูงและมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ส่งผลต่อราคาของน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้ นอกจากนี้ พืชที่ถูกนำมาแปรรูปเป็นน้ำมันชีวภาพส่วนใหญ่เป็นพืชที่ใช้เป็นอาหารทั้งสิ้น ถึงแม้การนำพืชเหล่านั้นมาแปรรูปเป็นน้ำมันชีวภาพจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีมูลค่าสูง แต่ก็ส่งผลกระทบต่อสัดส่วนของพืชที่ถูกนำไปใช้เป็นอาหาร ส่งผลให้อาหารขาดแคลนและมีราคาสูงขึ้น และเกิดปัญหาในการจัดสรรวัตถุดิบเพื่อใช้ในการบริโภค จึงได้มีการมองหาแหล่งพลังงานใหม่เพื่อนำมาผลิตไบโอดีเซล

แหล่งวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลคือ ไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความน่าสนใจในการนำมาผลิตเป็นพลังงานทดแทนในรูปแบบของไบโอดีเซล เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับพืชที่ใช้ระยะเวลาเพาะปลูกนาน รวมถึงใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อยกว่า ภายในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียประกอบด้วยลิพิดตามธรรมชาติ ไซยาโนแบคทีเรียหลายสายพันธุ์สามารถผลิตลิพิดได้มากกว่าร้อยละ 35 ของน้ำหนักแห้ง ลิพิดในสาหร่ายจัดเป็นไตรกลีเซอไรด์ซึ่งประกอบด้วย กรดไขมัน (Fatty acid) ชนิดต่างๆ 3 โมเลกุล และกลีเซอรอล 1 โมเลกุล สาหร่ายขนาดเล็กจะผลิตกรดไขมันที่มีความยาวของคาร์บอนอะตอมอยู่ระหว่าง 12-22 อะตอม โดยสามารถพบกรดไขมันทั้งชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว กรดไขมันที่พบมากที่สุด มีจำนวนคาร์บอน 16 และ 18 อะตอม โดยจำนวนกรดไขมันทั้งหมดจะแปรผันตามระยะเวลาของการเจริญและสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยง มีรายงานพบว่า ภายใต้สภาวะที่มีการจำกัดปริมาณไนโตรเจนหรือขาดไนโตรเจน สาหร่ายจะสร้างสารประกอบคาร์บอนอื่นๆ เช่น ลิพิด หรือแป้ง มากขึ้น (นฤตชวรรณ, 2556)

ลิพิดในไซยาโนแบคทีเรีย มีทั้งลิพิดที่มีขั้ว (Polar lipid) ลิพิดที่เป็นกลาง (Neutral lipid) ไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon) และ สเตอรอล (Sterol) (Sajjadi *et al.*, 2018) ลิพิดมีคุณสมบัติในการละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (ตัวทำละลายอินทรีย์) แต่ไม่ละลายน้ำ ทำให้สามารถสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ได้ ลิพิดในสาหร่ายสามารถจัดอยู่ในกลุ่มลิพิดที่เป็นกลาง (เช่น โมโนเอซิลกลีเซอรอล (Monoacylglycerol), ไดเอซิลกลีเซอรอล (Diacylglycerol), ไตรเอซิลกลีเซอรอล (Triacylglycerol) และ สเตอรอล (Sterol)) และกลุ่มลิพิดที่มีขั้ว (เช่น ฟอสโฟลิพิด (Phospholipid) และ ไกลโคลิพิด (Glycolipid)) หน้าที่หลักของลิพิดที่เป็นกลาง คือ การจัดเก็บพลังงาน เพื่อเป็นแหล่งพลังงานสำรองของเซลล์ ในขณะที่ลิพิดที่มีขั้วเป็นส่วนประกอบโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Deshmukh *et al.*, 2019) ลิพิดที่พบส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอล ซึ่งจัดเป็นลิพิดที่เป็นกลางและมักจะพบในออร์แกเนลต่างๆ ภายในเซลล์ โดยลิพิดชนิดนี้จัดเป็นแหล่งลิพิดที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไบโอดีเซล (ณัฐริกา และคณะ, 2560) โดยส่วนใหญ่ สาหร่ายขนาดเล็กจะสะสมไตรกลีเซอไรด์ในปริมาณมากในช่วงการเจริญเติบโตแบบ ระยะคงจำนวนเซลล์ (Stationary phase) แต่สาหร่ายจะสะสมไตรกลีเซอไรด์ในปริมาณที่ลดลง เมื่อเข้าสู่ระยะการเจริญแบบที่มีการเพิ่มของเซลล์อย่างรวดเร็ว (Exponential phase) (Menegazzo *et al.*, 2019)

ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) เป็นจุลินทรีย์ที่จัดเป็นโปรคาริโอต ดิตีแกรมลบ และจัดอยู่ใน Division Cyanophyta (Rassussen and Svenning, 2001) ไซยาโนแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์แสงได้ โดยใช้รงควัตถุคลอโรฟิลล์ในการเปลี่ยนพลังงานแสงไปเป็นพลังงานเคมี พร้อมกับการแตกตัวของน้ำได้ผลิตภัณฑ์เป็นออกซิเจน และสามารถตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากอากาศเพื่อผลิตคาร์โบไฮเดรต ไซยาโนแบคทีเรียสามารถเก็บพลังงานเคมีไว้ในรูปของ ลิพิด คาร์โบไฮเดรต และ โปรตีน จากการศึกษาความหลากหลายทางสรีรวิทยา สันฐานวิทยา และการพัฒนารูปร่างต่างๆ ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่หลากหลาย ได้แก่ หิน ดิน ทะเลทราย น้ำพุร้อน น้ำจืด น้ำทะเล และทะเลสาบ เป็นต้น (Mazel *et al.*, 1990) ไซยาโนแบคทีเรียมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเซลล์ บางชนิดมีการสร้างสปอร์หรือที่เรียกว่าอะคีนิตเซลล์ (Akinete cell) โดยจะสร้างผนังเซลล์ที่หนาขึ้นกว่าเซลล์ปกติ (Vegetative cell) และสามารถทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดอาจสร้างสปอร์แรงจิโอสปอร์ (Sporangiospore) จากการแบ่งตัวหลายๆ ครั้งของ โพรโทพลาสต์ (Protoplast) ทำให้ผนังเซลล์ทำหน้าที่เป็นสปอร์แรนเจียม (Sporangium) ซึ่งมี สปอร์ (Spore) บรรจุอยู่ โดยทั้งอะคีนิต (Akinete) และ สปอร์แรงจิโอสปอร์ (Sporangiospore) ที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ นอกจากนี้ ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดยังมีโครงสร้างอื่น เช่น เฮเทอโรซิสต์เซลล์ (Heterocyst cell) ซึ่งมีเอนไซม์ไนโตรจีเนส (Nitrogenase) สำหรับเร่งปฏิกิริยาการตรึงไนโตรเจน และมี ฮอร์โมโกเนีย (Hormogonia) ที่ทำให้มีการแบ่งไซยาโนแบคทีเรียเป็นท่อนสั้นๆ ตัวอย่างของไซยาโนแบคทีเรีย ได้แก่ *Anabaena*, *Aphanothece*, *Gloeocapsa*, *Gloeotrichia*, *Lyngbya*, *Merismoperdia*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Oscillatoria* และ *Rivularia* เป็นต้น

ไซยาโนแบคทีเรียจะมีการสะสมลิพิดในปริมาณน้อย แต่หากอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมหรืออยู่ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นให้เกิดความเครียด ไซยาโนแบคทีเรียจะมีการสะสมลิพิดมากขึ้น (ณัฐริกา และคณะ, 2560) ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมลิพิดของไซยาโนแบคทีเรีย เช่น อุณหภูมิ แสง ความเป็นกรด-ด่าง ความเค็ม และปริมาณสารอาหารหรือแร่ธาตุเป็นต้น หากในอาหารเลี้ยงเชื้อมีปริมาณสารอาหาร เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส จำกัด กลไกจะมีกระตุ้นให้เกิดความเครียดที่และเพิ่มการสะสมลิพิดในไซยาโนแบคทีเรีย (Ran *et al.*, 2019) ไซยาโนแบคทีเรียจะถูกเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความอุดมสมบูรณ์ก่อน จากนั้นจะย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่จำกัดสารอาหาร เพื่อให้เกิดสภาวะเครียดจากการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขาดสารอาหารอย่างรุนแรง (Sajjadi *et al.*, 2018) สภาวะความเครียดที่เกิดขึ้นจะส่งผลทำให้สาหร่ายหยุดการแบ่งตัวและเปลี่ยนแปลงเป็นการสะสมลิพิดแทน นอกจากนี้ความเค็มในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตลิพิดของไซยาโนแบคทีเรีย โดยความเค็มที่เหมาะสมสามารถกระตุ้นการสะสมลิพิดได้ แต่หากความเค็มสูงเกินไปอาจทำให้เซลล์เสียหายหรือตายได้ (Sajjadi *et al.*, 2018) ทั้งนี้ความทนเครียดจากความเค็มจะแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรีย

ความเข้มแสงและคุณภาพของแสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญต่อเมแทบอลิซึมของลิพิดในไซยาโนแบคทีเรีย แสงมีความสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงโดยตรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งแสงที่มีความยาวคลื่นแสงอยู่ในช่วง 400-700 นาโนเมตร หรือที่เรียกว่ารังสีสังเคราะห์แสง (Photosynthetically active radiation) (Lv *et al.*, 2022) รังสีสังเคราะห์แสงประกอบด้วยแสงสีน้ำเงินที่มีช่วงความยาวคลื่น 400-500 นาโนเมตร และแสงสีแดงที่มีช่วงความยาวคลื่น 600-700 นาโนเมตร โดยแสงสีน้ำเงินช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง ซ่อมแซมความเสียหายของเซลล์ที่เกิดจากแสงสีแดง และปรับปรุงการเปลี่ยนแปลงพลังงาน (Korbee *et al.*, 2005) อย่างไรก็ตาม ไซยาโนแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์สามารถตอบสนองต่อคุณภาพของแสงที่แตกต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อการผลิตชีวมวล (Maltsev *et al.*, 2021) การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์มีข้อจำกัดในการให้แสงที่กว้างในช่วงการดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ ในขณะที่แสงจากหลอดไฟแอลอีดี (Light-Emitting Diode ; LED) มีความยาวคลื่นที่จำเพาะ ใช้พลังงานต่ำกว่า อายุการใช้งานยาวกว่า ปล่อยความร้อนน้อยกว่า และมีประสิทธิภาพสูงกว่า (Carvalho *et al.*, 2011) นอกจากนี้สเปกตรัมของแสงและความเข้มแสงเป็นปัจจัยที่สำคัญหนึ่งซึ่งส่งผลต่อการผลิตชีวมวล รงควัตถุ และสารชีวโมเลกุลที่สำคัญอื่นๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และลิพิด ฯลฯ ในไซยาโนแบคทีเรีย (Lima *et al.*, 2020; Hotos and Antoniadis, 2022)

Aphanothece halophytica เป็นไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทนต่อความเค็ม อยู่ร่วมกันเป็นโคโลนี มีซีทซึ่งเป็นสารเมือก มีรูปร่างเป็นทรงกระบอกปลายมน ลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ มีขนาดและรูปร่างของเซลล์ที่หลากหลาย (Berland *et al.*, 1989) ซึ่งเดิมถูกแยกได้จาก Solar Lake (ประเทศอิสราเอล) *A. halophytica* จึงสามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำทะเล หรือในน้ำที่มีช่วงความเค็มที่หลากหลาย ตั้งแต่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.25 ถึง 3.0 โมลาร์ ในสถานะที่เป็นด่างสูงจนถึงค่าพีเอช เท่ากับ 11 (Hibino *et al.*, 1999; Waditee *et al.*, 2003) *A. halophytica* สามารถสะสมไกลซีนบีเทน (Glycine betaine) ทำให้เกิดสารป้องกันแรงดันออสโมติก (Osmoprotectant) และทำให้สามารถทนต่อความเค็มได้สูง (Ishitani *et al.*, 1993)

A. halophytica ยังมีศักยภาพสำหรับการผลิตไฮโดรเจนชีวภาพ (Biohydrogen) และลิพิด (Lipid) (Chinchusak, *et al.*, 2022; Chinchusak, *et al.*, 2023; Miriam, L.R.M *et al.*, 2017) มี

การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* โดยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่นิยามให้ชัดเจนหรืออ้างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเจริญเติบโตได้หนาแน่นที่สุดที่ระดับ 21.6 ± 0.17 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณลิพิดคิดเป็น 29 ± 0.1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วยสารสกัดจากสาหร่ายทะเล และปุ๋ยสูตร ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) (Miriam *et al.*, 2017) นอกจากนี้คุณภาพของแสงและแหล่งกำเนิดแสงยังเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการสะสมชีวมวลและการสังเคราะห์ลิพิดของไซยาโนแบคทีเรีย (Pham *et al.*, 2017; Meng *et al.*, 2021) อย่างไรก็ตามยังมีงานวิจัยไม่มากนักที่ศึกษาผลเฉพาะของลักษณะของแสงต่อการสะสมชีวมวล องค์ประกอบของรงควัตถุ และการสังเคราะห์ลิพิดในสายพันธุ์นี้

งานวิจัยนี้มีความสนใจศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลของไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติ โดยการแปรผันความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน และการเติมแร่ธาตุต่างๆ และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสะสมลิพิดภายในเซลล์ โดยการแปรผันชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอน ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ พีเอช อุณหภูมิ คุณภาพของแสง และความเข้มแสง รวมทั้งศึกษาองค์ประกอบและปริมาณกรดไขมันของ *A. halophytica* ภายใต้สภาวะการผลิตลิพิดที่เหมาะสม และนำมาศึกษาคุณสมบัติของไบโอดีเซล ผลการศึกษานี้ จะเป็นประโยชน์ต่อการนำ *A. halophytica* ไปใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอดีเซลในอนาคตต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติ โดยการแปรผันความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนและแร่ธาตุ
- 2) เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* โดยการแปรผันชนิดและปริมาณแหล่งคาร์บอน ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ พีเอช อุณหภูมิ และ ชนิดและความเข้มแสง
- 3) เพื่อศึกษาองค์ประกอบและปริมาณกรดไขมันของ *A. halophytica* ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิด และนำมาศึกษาคุณภาพของไบโอดีเซล

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) ศึกษาการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ในน้ำทะเลธรรมชาติ โดยนำ *A. halophytica* มาเพาะเลี้ยงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำทะเลธรรมชาติ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีการแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรดต่างๆ ร่วมและไม่ร่วมกับการเสริมด้วย Turks Island salt solution นำไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที และให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 14 วัน วัดการเจริญเติบโตจากการวัดค่าการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดูคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ และวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

- 2) ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสะสมลิพิดทั้งหมดของ *A. halophytica* โดยนำ *A. halophytica* มาบ่มในอาหารน้ำทะเลธรรมชาติ ที่มีการแปรผันความเข้มข้นของแหล่งอาหารต่างๆ ได้แก่ โซเดียมไนเตรทความเข้มข้น 0, 0.176, 1.76 และ 17.6 มิลลิโมลาร์ กลูโคสความเข้มข้น 0.189, 1.89, 18.9, 189, 379 และ 756 มิลลิโมลาร์ บอนอะตอมต่อลิตร โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2 และ 3 โมลาร์ แปรผันปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ พีเอชของอาหารที่ 6, 6.5, 7, 7.5, 8 และ 8.5 อุณหภูมิของการบ่มที่ 20, 25, 30, 35, 40 องศาเซลเซียส ชนิดของแสง ได้แก่ แสงจากฟลูออเรสเซนต์สีขาว และแสงจากหลอด LED สีขาว และความเข้มแสง 15, 30, 45 และ 60 ไมโครโมลโฟตอนเมตรต่อตารางเมตรต่อวินาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน จากนั้น เก็บเกี่ยวเซลล์ และนำเซลล์มาสกัดลิพิดโดยใช้วิธีการสกัดแบบขั้นตอนเดียว (Single step) ซึ่งดัดแปลงจาก Axelsson and Gentili (2014) ทำการวิเคราะห์ปริมาณลิพิดทั้งหมดที่สกัดได้โดยการชั่งน้ำหนักคำนวณปริมาณลิพิดทั้งหมด (Total lipid) โดยวิเคราะห์ปริมาณลิพิดทั้งหมดเทียบกับน้ำหนักเซลล์แห้ง
- 3) วิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของกรดไขมันในลิพิดที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *A. halophytica* ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิด
- 4) วิเคราะห์คุณสมบัติของไบโอดีเซล จากการนำข้อมูลของกรดไขมันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ GC-FID มาวิเคราะห์คุณสมบัติของไบโอดีเซลด้วยโปรแกรม Biodiesel Analyzer Version 2.2 โดยโปรแกรมจะวิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้นของกรดไขมัน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบถึงการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติ
- 2) ทราบถึงปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมต่อการสะสมลิพิดทั้งหมดของ *A. halophytica*
- 3) ทราบถึงชนิดของกรดไขมันที่สะสมในเซลล์ *A. halophytica*
- 4) ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยสามารถนำไปวิจัยพัฒนากระบวนการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากลิพิดของไซยาโนแบคทีเรียอย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พลังงาน

ปัจจุบัน พลังงานเป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อการดำเนินชีวิตของมนุษย์ และการพัฒนาเศรษฐกิจ โดยเฉพาะในช่วงศตวรรษที่ผ่านมา ความต้องการพลังงานเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วจากการเพิ่มของจำนวนประชากร ในขณะที่แหล่งพลังงานหลักดั้งเดิมอย่างถ่านหินและปิโตรเลียมมีอยู่ในปริมาณจำกัด ส่งผลให้เกิดภาวะการขาดแคลนพลังงาน และทำให้พลังงานมีราคาสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว อีกทั้งการเผาไหม้เชื้อเพลิงเหล่านี้ ยังส่งผลกระทบต่อปัญหาสิ่งแวดล้อมและการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศ ด้วยเหตุนี้ มนุษย์จำเป็นต้องพยายามค้นหาแหล่งพลังงานที่ไม่มีวันหมด เป็นพลังงานที่สะอาด และไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา ประเทศไทยมีความต้องการใช้พลังงานเชิงพาณิชย์สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยคิดเป็นสัดส่วนการใช้ก๊าซธรรมชาติถึง 46 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาการใช้ก๊าซธรรมชาติภายในประเทศ พบว่าถูกนำไปใช้ในการผลิตไฟฟ้าสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ (วาริษา, 2563) โดยการผลิตก๊าซภายในประเทศไม่เพียงพอต่อความต้องการ ทำให้ต้องนำเข้าก๊าซธรรมชาติเป็นจำนวนมาก ถ้าแนวโน้มการใช้พลังงานสูงขึ้นเรื่อยๆ ประเทศไทยจะมีค่าใช้จ่ายด้านพลังงานที่เพิ่มสูงขึ้น เพราะต้นทุนการนำเข้าก๊าซธรรมชาติสูงกว่าที่ผลิตในประเทศมาก ส่งผลต่อการแข่งขันในภาคอุตสาหกรรมและการพัฒนาประเทศ

พลังงาน คือความสามารถในการทำงานหรือทำให้เกิดงาน โดยสามารถแบ่งพลังงานออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่

1 พลังงานกล (Mechanical energy) คือพลังงานชนิดแรกที่มนุษย์ได้คิดค้นขึ้นในรูปแบบของเครื่องผ่อนแรง โดยแรงขับเคลื่อนที่ควบคุมให้เครื่องผ่อนแรงนั้นทำงานสามารถหาได้จากแหล่งพลังงานใกล้ตัว เช่น แรงงานมนุษย์ แรงงานสัตว์เลี้ยง แรงจากธรรมชาติ เช่น กระแสลม กระแสน้ำ เป็นต้น พลังงานกลแบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ พลังงานศักย์ (Potential energy) และพลังงานจลน์ (Kinetic energy)

2 พลังงานความร้อนหรือพลังงานอุณหภาพ (Thermal energy) เป็นพลังงานที่บ่งบอกปริมาณความร้อนของอุณหภูมิตั้งแต่ที่สามอันดับที่ 5 ของมนุษย์แบ่งแยกได้ ซึ่งเป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ ส่วนข้อมูลเชิงปริมาณเป็นข้อมูลที่วัดอุณหภูมิได้โดยเครื่องมือ เครื่องมือที่ใช้วัดอุณหภูมิคือ เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) นอกจากนี้ อุณหภูมิยังบ่งบอกคุณสมบัติที่เกี่ยวข้องกับพลังงานจลน์เฉลี่ยของอะตอมและโมเลกุลของวัตถุ ผลของความร้อนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสาร เช่น เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะ เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 พลังงานไฟฟ้า (Electric energy) เป็นพลังงานที่เกิดจากการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนผ่านตัวนำไฟฟ้า โดยอิเล็กตรอนเคลื่อนที่จากขั้วบวก (ขั้วที่จ่ายอิเล็กตรอนได้ดี) ไปสู่ขั้วลบ (ขั้วที่รับอิเล็กตรอนได้ดี) ซึ่งปริมาณไฟฟ้าจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณอิเล็กตรอนที่เคลื่อนที่จากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่ง พลังงานไฟฟ้ามี 2 ชนิด คือ ไฟฟ้าสถิตและไฟฟ้ากระแส โดยไฟฟ้ากระแสแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ไฟฟ้ากระแสตรง (Direct current, D.C.) เป็นกระแสไฟฟ้าที่ไหลไปในทิศทางเดียวกันตลอด และไฟฟ้ากระแสสลับ (Alternating current, A.C.) เป็นกระแสไฟฟ้าที่มีการสลับสับเปลี่ยนขั้วอยู่ตลอดเวลาอย่างสม่ำเสมอ

4 พลังงานเคมี (Chemical energy) เป็นพลังงานที่สะสมอยู่ในสารต่างๆ โดยอยู่ในพันธะระหว่างอะตอมในโมเลกุล เมื่อพันธะแตกสลาย พลังงานสะสมจะถูกปล่อยออกมาในรูปของพลังงานความร้อนและแสงสว่าง เช่น พลังงานที่ถูกเก็บไว้ในแบตเตอรี่ พลังงานในกองฟืน พลังงานในอาหาร พลังงานในน้ำมัน ซึ่งโครงสร้างทางเคมีของสารที่ต่างกันทำให้พลังงานที่ได้แตกต่างกันด้วย ความร้อนในเชื้อเพลิงที่ต่างกัน ให้ความร้อนที่ไม่เท่ากัน เช่น ก๊าซธรรมชาติให้ความร้อนมากกว่าน้ำมัน และน้ำมันให้ความร้อนมากกว่าถ่านหิน เป็นต้น

5 พลังงานนิวเคลียร์ (Nuclear energy) เป็นพลังงานที่เกิดจากนิวเคลียสของอะตอม โดยพลังงานนิวเคลียร์แบ่งเป็น 4 ลักษณะ คือ (1) พลังงานนิวเคลียร์แบบฟิชชัน (Fission) เกิดจากการแตกตัวของนิวเคลียสของธาตุหนัก เช่น ยูเรเนียม (2) พลังงานนิวเคลียร์แบบฟิวชัน (Fusion) เกิดจากการแตกตัวของนิวเคลียสของธาตุเบา เช่น ไฮโดรเจน (3) พลังงานนิวเคลียร์ที่เกิดจากการสลายตัวของสารกัมมันตรังสี (Radioactivity) ซึ่งเป็นกระบวนการที่อะตอมสูญเสียพลังงานจากการปลดปล่อยอนุภาคที่มีประจุและแผ่รังสี การสลายตัวหรือการสูญเสียพลังงานนี้ทำให้นิวเคลียสของอะตอมที่มีการสลายตัวเปลี่ยนรูปไปเป็นอะตอมอีกชนิดหนึ่งที่ต่างออกไป และ (4) พลังงานนิวเคลียร์ที่เกิดจากการเร่งอนุภาคที่มีประจุ (Particle accelerator) เช่น อิเล็กตรอน โปรตอน พลังงานชนิดนี้บางครั้งใช้คำว่า ปริมาณ นอกจากนี้ยังครอบคลุมถึงพลังงานของรังสีเอกซ์ รังสีแกมมา อนุภาคบีตา อนุภาคแอลฟา อนุภาคนิวตรอน เป็นต้น

พลังงานมีความสำคัญและมีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์ เมื่อสังคมมนุษย์เจริญขึ้น ความต้องการพลังงานก็เพิ่มมากขึ้นด้วย ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาและพัฒนาพลังงานรูปแบบอื่นที่เป็นพลังงานสะอาดขึ้นมาทดแทนพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานน้ำ พลังงานลม พลังงานชีวมวล เป็นต้น

2.2 ไบโอดีเซล

ไบโอดีเซล (Biodiesel) เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์ดีเซลที่ผลิตได้จากน้ำมันพืช ไขมันสัตว์ หรือน้ำมันปรุงอาหารที่ใช้แล้วซึ่งได้รับการกำจัดอย่างเหนียวหรือสิ่งสกปรกออก และนำไปผ่านกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า ทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) โดยการเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอลกอฮอล์ เช่น เมทานอล หรือ เอทานอล ฯลฯ และตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ภายใต้สภาวะการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสม เพื่อเปลี่ยนไขมันหรือเปลี่ยนโครงสร้างของน้ำมันจากไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) ให้เป็นโมโนอัลคิลเอสเทอร์ (Mono alkyl ester) ได้แก่ เมทิลเอสเทอร์ (Methyl ester) หรือเอทิลเอสเทอร์ (Ethyl ester) และกลีเซอริน (Glycerine) ซึ่งสามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง และ น้ำมันหล่อลื่น ฯลฯ

ไบโอดีเซล (Biodiesel) เป็นเชื้อเพลิงที่สะอาดและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล สามารถเผาไหม้ได้อย่างสมบูรณ์โดยไอเสียมีมลพิษต่ำกว่าเมื่อเทียบกับการใช้น้ำมันดีเซลในเครื่องยนต์ดีเซล สามารถใช้กับเครื่องยนต์โดยไม่ต้องปรับแต่งเครื่องยนต์แต่อย่างใด นอกจากนี้ ยังให้ค่าพลังงานเช่นเดียวกับน้ำมันดีเซลปกติอีกด้วย (ไชยยันต์ และคณะ, 2551)

2.2.1 ประเภทของไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลสามารถแบ่งตามประเภทของน้ำมันได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

2.2.1.1 ไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์โดยตรง

ไบโอดีเซลประเภทนี้ก็คือ น้ำมันพืชแท้ๆ เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันถั่วเหลือง หรือน้ำมันจากไขมันสัตว์ เช่น น้ำมันหมู ซึ่งสามารถนำมาใช้ได้เลยกับเครื่องยนต์ดีเซลโดยไม่ต้องผสม หรือเติมสารเคมีอื่นใด ไม่ต้องนำมาเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของน้ำมันให้สิ้นเปลืองเวลา และสิ้นเปลืองทรัพยากร อย่างไรก็ตาม การใช้งานของไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์โดยตรง คือต้องมีการอุ่นน้ำมันทุกจุดที่น้ำมันผ่านให้มีอุณหภูมิอย่างน้อย 70 องศาเซลเซียสได้แก่ ถังน้ำมัน ท่อทางเดิน น้ำมัน ชุดกรองน้ำมัน เป็นต้น เพราะการใช้งานที่เหมาะสม จำเป็นต้องอาศัยความร้อนในการหลอมเหลวไขแข็ง และช่วยลดความหนืดของน้ำมัน เนื่องจากน้ำมันพืชมีความหนืดสูงกว่าน้ำมันดีเซลประมาณ 11 ถึง 17 เท่า ที่อุณหภูมิต่ำ น้ำมันพืชยังมีความหนืดสูงขึ้นเป็นลำดับจนเกิดเป็นไข การที่น้ำมันพืชมีความหนืดสูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้หัวฉีดน้ำมันฉีดน้ำมันให้เป็นฝอยได้ยาก อันเป็นอุปสรรคต่อการป้อนน้ำมันเชื้อเพลิงเข้าสู่ห้องเผาไหม้และเกิดการสันดาปไม่สมบูรณ์ นอกจากนี้ น้ำมันพืชมีคุณสมบัติที่ระเหยตัวกลายเป็นไอได้ช้าและน้อยมาก (Slow volatility) ทำให้เกิดการจุดระเบิดได้ยาก การติดเครื่องทำได้ยากและหลงเหลือคราบเขม่าเกาะที่หัวฉีด ผนังลูกสูบ แหวน และวาล์ว จากสมบัติที่น้ำมันพืชมีความหนืดสูงและระเหยตัวได้ต่ำกว่าน้ำมันดีเซลนี้ ทำให้เกิดความยุ่งยากเมื่อใช้น้ำมันพืชโดยตรงในเครื่องยนต์ดีเซล

2.2.1.2 ไบโอดีเซลแบบลูกผสม

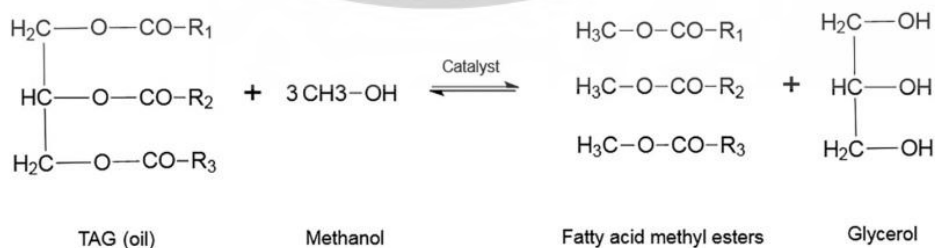
ไบโอดีเซลแบบลูกผสมเป็นการผสมระหว่างน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ กับ น้ำมันก๊าด น้ำมันดีเซล หรือน้ำมันชนิดอื่น เพื่อให้ได้ไบโอดีเซลที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลให้มากที่สุด เช่น โคโคดีเซล (Coco-diesel) ซึ่งเป็นการผสมกันระหว่างน้ำมันมะพร้าวกับน้ำมันก๊าด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปาล์มดีเซล (Palm-diesel) เป็นการผสมระหว่างน้ำมันปาล์มกับน้ำมันดีเซล น้ำมันที่ได้จากวิธีการดังกล่าวเหมาะกับกรณีที่ต้องการใช้ใช้น้ำมันอย่างเร่งด่วน และใช้กับเครื่องยนต์ที่ใช้งานหนักตลอดจนใช้งานในภูมิภาคเขตร้อน ซึ่งอัตราส่วนผสมระหว่างน้ำมันก๊าดและน้ำมันพืชขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของพื้นที่ใช้งาน อัตราส่วนผสมมีตั้งแต่ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันก๊าด ต่อ 90 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันพืชจนถึง 40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันก๊าด ต่อ 60 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันพืช โดยอัตราส่วนผสมที่เหมาะสมอยู่ที่ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันก๊าด ต่อ 80 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันพืช ปัจจุบัน มีการนำวิธีการดังกล่าวไปประยุกต์ใช้งานจริง แต่เนื่องจากราคาน้ำมันก๊าดค่อนข้างสูง ทำให้ปริมาณของน้ำมันก๊าดน้อยเกินไป ส่งผลให้น้ำมันผสมที่ได้มีผลกระทบต่อเครื่องยนต์ดีเซลที่ไม่มีการดัดแปลงเครื่องยนต์ จึงจำเป็นต้องเลือกชนิดของน้ำมัน ชนิดตัวทำละลาย และสัดส่วนที่เหมาะสม ซึ่งต้องพิจารณาประกอบกับปัจจัยเรื่องพื้นที่และฤดูกาลที่ใช้งาน

2.2.1.3 ไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์

ไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์เป็นไบโอดีเซลที่ต่างประเทศใช้กันทั่วไป อาทิ ในประเทศเยอรมนีและสหรัฐอเมริกา “ไบโอดีเซล” ในความหมายของสากลหมายถึง ไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์ สำหรับไบโอดีเซลประเภทนี้ต้องผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า ทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน เป็นการนำเอาน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ไปทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ โดยใช้กรดหรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้ได้เอสเทอร์ (รูปที่ 2.1) โดยจะเรียกชนิดของไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์ตามชนิดของแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ไบโอดีเซลชนิดเอสเทอร์นี้มีคุณสมบัติที่เหมือนกับน้ำมันดีเซลมากที่สุด ทำให้ไม่มีปัญหาเกี่ยวกับเครื่องยนต์เชื้อเพลิง มีความหนืดใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล และมีค่าคงตัว ค่าความหนืดเปลี่ยนแปลงได้น้อยมากเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยน จุดวาบไฟของไบโอดีเซลมีค่าสูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้มีความปลอดภัยในการใช้งาน ดังนั้นจึงสามารถนำไปเติมในเครื่องยนต์ดีเซลได้ทุกชนิด ทั้งแบบเติมโดยตรงและแบบเติมผสมในน้ำมันดีเซลในอัตราส่วนต่างๆ เช่น B5 หมายถึงการผสมไบโอดีเซลต่อน้ำมันดีเซลในอัตราส่วน 5:95 หรือ B100 ซึ่งหมายถึงน้ำมันไบโอดีเซล 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น แต่การผลิตไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์มีต้นทุนการผลิตสูง เมื่อเทียบกับไบโอดีเซลประเภทอื่นๆ



รูปที่ 2.1 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน

ที่มา : <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.03.013>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการผลิตไบโอดีเซลมีการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา (Abeynaike *et al.*, 2012) ซึ่งจะทำให้ปฏิกิริยาเกิดได้เร็วขึ้น โดยลดพลังงานอิสระของการกระตุ้นที่ใช้ในปฏิกิริยา (จตุพร และนุรักษ์, 2547; วิทยา, 2547) ไบโอดีเซลสามารถผลิตจากแหล่งต่างๆ เช่น น้ำมันจากพืช ไขมันสัตว์ หรือน้ำมันที่ใช้แล้ว เช่น น้ำมันที่ผ่านการประกอบอาหารมาแล้ว (Chisti, 2007) ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงดีเซลทางเลือกหนึ่งที่มีคุณสมบัติการเผาไหม้เหมือนกับดีเซลจากปิโตรเลียมมากและยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ในขณะที่ดีเซลจากปิโตรเลียมถือว่าเป็นเชื้อเพลิงที่ไม่ยั่งยืน รวมทั้งยังปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สู่สิ่งแวดล้อมอีกด้วย (Chisti, 2007)

2.2.2 วิธีการผลิตไบโอดีเซล

2.2.2.1 การใช้โดยตรงหรือการผสม (Direct use and Blending)

เป็นการนำน้ำมันพืชมาผสมกับน้ำมันดีเซลโดยตรงในสัดส่วนต่างๆ เพื่อให้ความหนืดของน้ำมันพืชลดลง สามารถผสมน้ำมันได้ตั้งแต่ 10 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปตามความเหมาะสมของน้ำมันที่ใช้ ข้อเสียของวิธีนี้ คือให้ค่าความหนืดที่สูงแต่ให้ค่าการระเหยต่ำ ซึ่งจะส่งผลต่อเครื่องยนต์ในระยะยาว แต่ถ้าผสมมากเกินไป จะทำให้การกลายเป็นไอต่ำ เกิดโค้กพอกบนหัวฉีดของเครื่องยนต์

2.2.2.2 การทำไมโครอิมัลชัน (Microemulsion)

เป็นการกระจายของอนุภาคของเหลวที่แขวนลอยในตัวกลางของเหลวอีกชนิดหนึ่งอย่างสมดุล โดยการผสมน้ำมันพืชกับแอลกอฮอล์ที่มีสายโซ่สั้น เช่น เมทานอล เอทานอล และ บิวทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายของเหลว น้ำมันพืชกับแอลกอฮอล์ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แต่จะกระจายอยู่ได้โดยใช้สารลดแรงตึงผิว วิธีนี้สามารถปรับปรุงลักษณะที่เป็นละอองฝอยจากหัวฉีดเนื่องจากตัวทำละลายมีจุดเดือดต่ำเมื่อเทียบกับน้ำมันพืช

2.2.2.3 การสลายตัวด้วยความร้อน (Thermal cracking or pyrolysis)

เป็นการเปลี่ยนสารหนึ่งๆ ไปเป็นสารอื่นๆ มากกว่าหนึ่งสาร โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส เพียงอย่างเดียว หรือใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา SiO_2 , Al_2O_3 , Na_2CO_3 และ ซีโอไลต์ เพื่อทำให้น้ำมันที่มีโมเลกุลใหญ่แตกเป็นโมเลกุลที่เล็กลง วิธีนี้มีค่าใช้จ่ายสูงผลิตภัณฑ์ที่ได้มีแนวโน้มจะเป็นเชื้อเพลิงแก๊สโซลีนมากกว่าเชื้อเพลิงดีเซล

2.2.2.4 ทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชัน (Transesterification)

เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างไตรกลีเซอไรด์ของไขมันสัตว์หรือน้ำมันที่ผ่านการแปรรูปด้วยกระบวนการทางเคมี ที่เรียกว่าทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชัน โดยการนำเอาน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์มาผ่านการกรองก่อนที่จะถูกนำไปทำปฏิกิริยากับต่างเพื่อกำจัดอนุภาคไขมันอิสระ แล้วจึงผสมรวมกับเมทานอลและโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ทำให้สารไตรกลีเซอไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารทบทวนวิชาสำหรับการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตให้เข้าข่ายละเมิดลิขสิทธิ์

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในน้ำมันถูกเปลี่ยนเป็นเอสเทอร์และกลีเซอรอล เมื่อกลิเซอรอลถูกนำออกจากน้ำมันพืชแล้ว โมเลกุลที่เหลือจะมีสมบัติคล้ายกับน้ำมันปิโตรเลียมโดยต่างที่โมเลกุลของไบโอดีเซลเป็นกลุ่มของไฮโดรคาร์บอนที่ไม่มีกำมะถันหรือองค์ประกอบที่ซับซ้อนอื่นๆ วิธีนี้นิยมใช้ในการผลิตไบโอดีเซลเชิงพาณิชย์ (ไชยยันต์ และคณะ, 2551)

2.3 ลิพิด

ลิพิด (Lipid) เป็นสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ มีบทบาทสำคัญในการใช้เป็นแหล่งพลังงานสำรองของร่างกายและเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด (NRC, 2007; McDonald *et al.*, 2011) ลิพิดที่เป็นพลังงานสำรองของร่างกายมนุษย์และสัตว์ ได้แก่ ไตรเอซิลกลีเซอรอล (Triacylglycerol) ซึ่งประกอบไปด้วยกรดไขมัน (Fatty acid) และกลีเซอรอล (Glycerol) ส่วนลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์และเนื้อเยื่อสมองและประสาท ได้แก่ ฟอสโฟลิพิด (Phospholipid) สฟิงโกลิพิด (Sphingolipid) และคอเลสเตอรอล (Cholesterol) เป็นต้น (นัยนา, 2553)

2.3.1 การจำแนกประเภทของลิพิด

ลิพิดสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่ ลิพิดอย่างง่าย (Simple lipid) ลิพิดเชิงประกอบ (Compound lipid) อนุพันธ์ของลิพิด (Derived lipid) และลิพิดอื่นๆ (Miscellaneous lipid) (นัยนา, 2553)

2.3.1.1 ลิพิดอย่างง่าย (Simple lipid)

ลิพิดอย่างง่าย คือลิพิดที่เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

1 ไขมัน (Fat) และน้ำมัน (Oil) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน และกลีเซอรอล ในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอล โดยไตรเอซิลกลีเซอรอลในสภาวะที่เป็นของเหลวจะเรียกว่าน้ำมัน แต่ถ้าอยู่ในรูปของแข็งจะเรียกว่า ไขมัน

2 แวกซ์ หรือไข (Wax) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ที่ไม่ใช่กลีเซอรอล แวกซ์เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ มีลักษณะแข็งเมื่อเย็น และจะอ่อนตัวเมื่อได้รับความร้อน ตัวอย่างที่ของแวกซ์ คือ ขี้ผึ้ง

2.3.1.2 ลิพิดเชิงประกอบ (Compound lipid)

ลิพิดเชิงประกอบ คือลิพิดที่เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์และสารชนิดอื่นๆ แบ่งออกเป็น 3 ชนิดใหญ่ๆ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 ฟอสโฟลิพิด (Phospholipid) ประกอบด้วย กรดไขมัน แอลกอฮอล์ และกรดฟอสฟอริก บางครั้งอาจพบเบสที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบรวมอยู่ด้วย เช่น กลีเซอโรฟอสโฟลิพิด (Glycerophospholipid) และสฟิงโกฟอสโฟลิพิด (Sphingophospholipid)

2 ไกลโคลิพิด (Glycolipid) เป็นลิพิดที่ประกอบด้วยกรดไขมัน สฟิงโกไลซัน และคาร์โบไฮเดรต

3 ลิพิดเชิงประกอบชนิดอื่นๆ เช่น ลิโปโปรตีน (Lipoprotein) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของลิพิดและโปรตีน หรือซัลโฟลิพิด (Sulfolipid) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของลิพิดและซัลเฟอร์ เป็นต้น

2.3.1.3 อนุพันธ์ของลิพิด (Derived lipid)

อนุพันธ์ของลิพิด หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายของลิพิดอย่างง่าย หรือลิพิดเชิงประกอบที่ยังคงคุณสมบัติของลิพิดอยู่ ได้แก่ กรดไขมัน โมโนเอซิลกลีเซอรอล (Monoacylglycerol) และไดเอซิลกลีเซอรอล (Diacylglycerol) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายไตรเอซิลกลีเซอรอล (Triacylglycerol) เป็นต้น

2.3.1.4 ลิพิดอื่นๆ (Miscellaneous lipid)

เป็นลิพิดที่ไม่สามารถจำแนกเข้ากลุ่มได้ เช่น สเตอรอยด์ (Steroid) เทอร์พีน (Terpene) ไอโคซานอยด์ (Icosanoid) เป็นต้น

2.3.2 คุณสมบัติของลิพิด

ลิพิดประกอบด้วยธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน โดยปกติ ลิพิดจะมีจำนวนธาตุออกซิเจนน้อยกว่าคาร์บอนและไฮโดรเจนมาก ลิพิดมีโครงสร้างเป็นไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon) ที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) แต่ละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (Nonpolar) คือตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ โพรพานอน เบนซีน เป็นต้น ในขณะที่บางกลุ่มของลิพิดมีทั้งโครงสร้างที่มีขั้ว (Polar) ซึ่งเป็นกลุ่มที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) ดังนั้นอาจเรียกกลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่แสดงคุณสมบัติทั้ง 2 อย่าง คือทั้งชอบน้ำและไม่ชอบน้ำอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน หรือ แอมฟิฟิลล์ (Amphiphile) (รูปที่ 2.2) โดยทั่วไป ลิพิดมีคุณสมบัติไม่ละลายในน้ำ แต่มีลิพิดบางชนิด เช่น ฟอสโฟกลีเซอไรด์ และสฟิงโกลิพิด ที่มีคุณสมบัติเป็นแอมฟิฟิลล์ เมื่อนำมาละลายในน้ำ ลิพิดเหล่านั้นจะมีโครงสร้างได้ 3 แบบ คือ

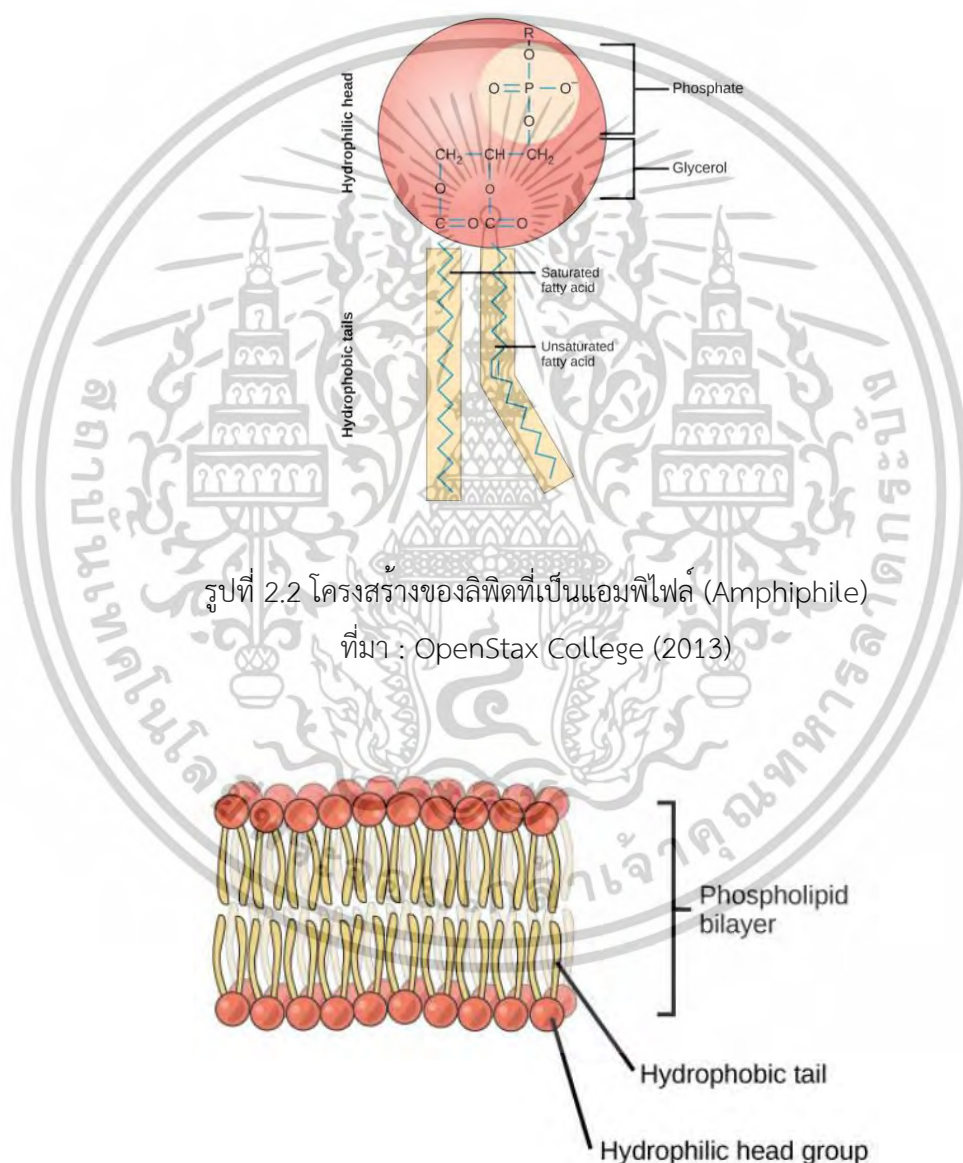
1 ไมเซลล์ (Micelle) โดยลิพิดจะหันส่วนที่มีขั้ว (หมู่คาร์บอกซิล) ไว้ด้านล่างเพื่อสัมผัสกับน้ำและจะเอาส่วนหาง (สายไฮโดรคาร์บอน) ที่ไม่ชอบน้ำเอาไว้ด้านบน

2 แผ่นชั้นเดียว (Monolayer) จะมีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มชั้นเดียวลอยอยู่บนผิวน้ำ ส่วนที่มีขั้วจะสัมผัสกับน้ำ ส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะชี้ขึ้นไปในอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 แผ่นสองชั้น (Bilayer) ลิพิดจะหันส่วนที่ชอบน้ำไว้ด้านนอกผิว 2 ด้าน และเอาส่วนที่ไม่ชอบน้ำไว้ตรงกลาง ลักษณะเช่นนี้จะพบได้ในเยื่อหุ้มเซลล์ (รูปที่ 2.3)

นอกจากนี้ เมื่อนำฟอสโฟกลีเซอไรด์มาเขย่าในน้ำและผ่านคลื่นเสียงความถี่สูง ลิพิดจะเรียงตัวเป็นถุงปิดที่ผนังจะเรียงตัวเป็น 2 ชั้น มีน้ำอยู่ภายในถุง เรียกโครงสร้างนี้ว่า ลิโปโซม (Liposome) โครงสร้างนี้มีประโยชน์นำมาใช้ในอุตสาหกรรม เครื่องสำอางและยา โดยจะนำมาใช้เป็นพาหะในการนำส่งยาเข้าสู่อวัยวะเป้าหมาย เนื่องจากมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับเยื่อหุ้มเซลล์ (Riis, 1983)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของลิพิดที่เป็นแอมฟิไฟล์ (Amphiphile)

ที่มา : OpenStax College (2013)

รูปที่ 2.3 โครงสร้างของลิพิดที่เป็นแบบแผ่นสองชั้น (Bilayer)

ที่มา : OpenStax College (2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 กระบวนการทางเคมีของลิพิด

2.3.3.1 การเกิดสaponification (Saponification)

การเกิดสaponification เป็นกระบวนการที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของกรดไขมันกับด่าง ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือเกลือของกรดไขมันหรือสบู่ นั่นเอง ปฏิกิริยา Saponification จะให้ค่าคงที่ค่าหนึ่งคือ Saponification number ค่านี้หาได้จากจำนวนมิลลิกรัมของ KOH ที่ใช้ในการ Saponify ไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัม ค่าลิพิดแต่ละชนิดมีค่า Saponification number เฉพาะตัว จึงสามารถนำค่านี้ไปใช้ในการหาน้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมันซึ่งเป็นองค์ประกอบของลิพิดได้ โดยลิพิดที่มีกรดไขมันโมเลกุลใหญ่จะมีค่า Saponification number น้อยกว่าลิพิดที่มีกรดไขมันโมเลกุลน้อย เป็นองค์ประกอบ

2.3.3.2 การเกิดฮาโลเจเนชัน (Halogenation)

กรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถทำปฏิกิริยากับธาตุฮาโลเจนได้ โดยการเติมฮาโลเจนเข้าไปในพันธะคู่ ผลของปฏิกิริยาจะทำให้เกิดการพอกจากสีของสารละลายฮาโลเจน เรียกขบวนการนี้ว่า ฮาโลเจเนชัน ซึ่งปฏิกิริยานี้จะให้ค่า Iodine number ซึ่งหาได้จากจำนวนกรัมของไอโอดีนที่เติมเข้าไปในน้ำมันหรือไขมัน 100 กรัม ค่านี้สามารถนำไปใช้หาความไม่อิ่มตัวของกรดไขมันได้ โดยถ้าค่า Iodine number สูงแสดงว่ามีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงอยู่ในโมเลกุล

2.3.3.3 การเกิดไฮโดรจีเนชัน (Hydrogenation)

การเกิดไฮโดรจีเนชันเป็นขบวนการเปลี่ยนน้ำมันให้เป็นไขมัน ในบางครั้งเรียกว่า "Hardenig" สามารถทำได้โดยให้ก๊าซไฮโดรเจน ภายใต้ความดัน (25 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) ลงไปในถังที่ใส่น้ำมันร้อนๆ (200 องศาเซลเซียส) และมีนิกเกิล (Ni) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนน้ำมันถั่วเหลืองให้กลายเป็นมาการีน เป็นต้น

2.3.3.4 การเหม็นหืน (Racidity)

น้ำมันและไขมันบริสุทธิ์จะไม่มีกลิ่น แต่ในบางครั้ง ลิพิดอาจมีกลิ่นหืนได้ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทั่วไป ไขมันไม่อิ่มตัวจะเหม็นหืนง่ายกว่าไขมันอิ่มตัว แต่ในทางอุตสาหกรรม มีการใส่สารป้องกันการเหม็นหืนที่เรียกว่า "แอนติออกซิแดนท์ (Antioxdant)" ลงไปเล็กน้อยซึ่งจะช่วยป้องกันการเกิดกลิ่นได้ โดยสารแอนติออกซิแดนท์ที่นิยมใช้ ได้แก่ วิตามินซี และ วิตามินอี เป็นต้น

2.4 กรดไขมัน (Fatty acid)

กรดไขมันคือกรดแอลิฟาติกคาร์บอกซิลิก (Aliphatic carboxylic acid) ที่มีสายยาวของไฮโดรคาร์บอนขนาดต่างๆ กัน มีสูตรโครงสร้างโดยทั่วไปเป็น $R-COOH$ โดย R คือสายไฮโดรคาร์บอน กรดไขมันที่พบในไขมันและน้ำมันตามธรรมชาติจะอยู่ในรูปของเอสเทอร์ (Ester) ของลิพิดชนิดต่างๆ

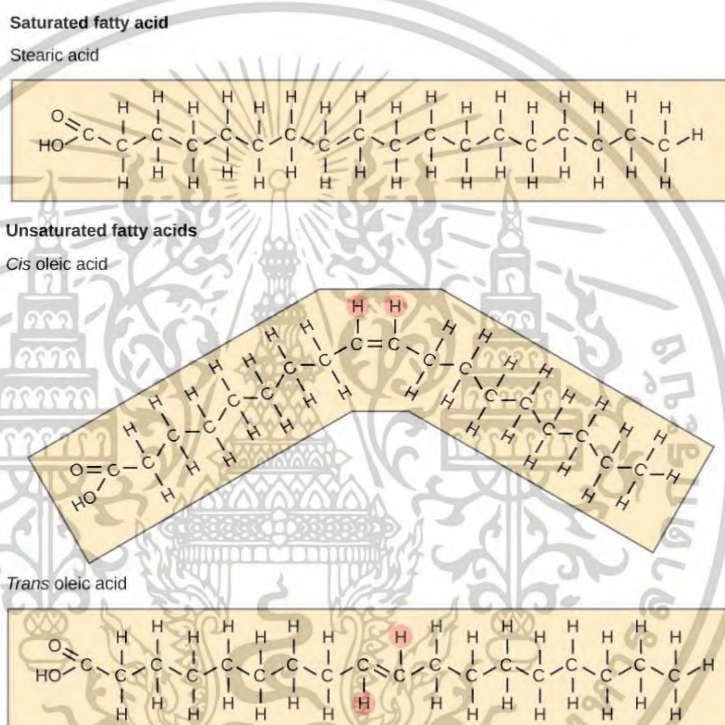
ส่วนกรดไขมันที่พบในพลาสมาจะอยู่ในรูปเสรีโดยจับอยู่กับอัลบูมิน กรดไขมันมักมีโครงสร้างเป็นสายเอกซาคาร์บอนเป็นเอกซาคาร์บอนหรือจำนวนคู่สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับญาติให้หาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรงไม่แตกแขนงและมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่ สายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมันอาจจะมีพันธะคู่หรือไม่ก็ได้

2.4.1 การจำแนกชนิดของกรดไขมัน

1. กรดไขมันสามารถจำแนกตามโครงสร้างได้ 2 ชนิด ดังนี้ (รูปที่ 2.5)

1.1 กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่โครงสร้างคาร์บอนอะตอมและไฮโดรเจนเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเดี่ยวตลอดสาย กรดไขมันอิ่มตัวที่มีมากที่สุด ในธรรมชาติ คือ กรดปาล์มิติก (Palmitic acid; C16) รองลงมา คือ กรดสเตียริก (Stearic acid; C18) ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้ ร่างกายได้รับจากอาหารหรือสังเคราะห์ขึ้นเองได้



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัวโอเลอิกมีรูปแบบของพันธะคู่แบบ *cis* และ *trans*

ที่มา : OpenStax College (2013)

1.2 กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่อยู่บนโครงสร้างคาร์บอน กรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีโครงสร้างพันธะคู่ได้ 2 แบบ คือ แบบ *cis* และ *trans* ส่วนใหญ่กรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีพันธะคู่อยู่ในรูปแบบ *cis* ในธรรมชาติจะพบกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวมากที่สุดและมักพบว่าพันธะคู่ ส่วนใหญ่อยู่ระหว่างอะตอมของคาร์บอนที่ 9 หรือ 10 (Mapato *et al.*, 2010) กรดไขมันไม่อิ่มตัวจำแนกออกได้เป็น 2 ชนิด ตามลักษณะของโครงสร้างและจำนวนพันธะคู่ ดังนี้ กรดไขมันที่มีพันธะคู่ 1 พันธะ (Monounsaturated fatty acid, MUFA) เป็นกลุ่มที่มีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธะคู่เพียง 1 พันธะ กรดไขมัน MUFA ที่มีมากที่สุดในร่างกาย คือ กรดปาล์มิโทเลอิก (Palmitoleic; C16:1) และกรดโอเลอิก (Oleic acid; C18:1) และกรดไขมันที่มีพันธะคู่มากกว่า 1 พันธะ (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) เป็นกลุ่มที่มีพันธะคู่ 2 พันธะหรือมากกว่า โดยพันธะคู่ของกรดไขมันจะไม่อยู่ชิดกัน มีหมู่ Methylene (-CH₂-) คั่นกลาง ตัวอย่างของกรดไขมัน PUFA เช่น กรดลิโนเลอิก (Linoleic acid; C18:2) กรดลิโนเลนิก (Linolenic acid; C18:3) และกรดอะราชีดิก (Arachidonic acid; C20:4) เป็นต้น (Park *et al.*, 2013)

1 กรดไขมันสามารถจำแนกตามความจำเป็นของร่างกายได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1 กรดไขมันไม่จำเป็น (Non-essential fatty acid) เป็นกรดไขมันที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เอง กรดไขมันไม่จำเป็นที่พบมากที่สุดในร่างกาย ได้แก่ กรดปาล์มิติก (C16) และกรดสเตียริก (C18) ตามลำดับ

2 กรดไขมันจำเป็น (Essential fatty acid) เป็นกรดไขมันที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เอง จำเป็นต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น กรดไขมันจำเป็นที่มีความสำคัญต่อร่างกาย ได้แก่ กรดลิโนเลอิก กรดลิโนเลนิก และกรดอะราชีดิก กรดไขมันจำเป็นสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มกรดไขมันโอเมก้า 3 (Omega-3 fatty acid) และกลุ่มกรดไขมันโอเมก้า 6 (Omega-6 fatty acid)

กลุ่มกรดไขมันโอเมก้า 3 ประกอบด้วย กรดลิโนเลนิก มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง C3 นับจากหมู่เมทิล พบมากในอาหารจำพวกปลาและน้ำมันพืช เช่น ปลาซาลมอน ปลาซาร์ดีน ผลวอลนัท และถั่วเหลือง ถ้าได้รับกรดไขมันลิโนเลนิกในปริมาณที่เพียงพอ (ประมาณ 350-400 มิลลิกรัมต่อวัน) อาจจะช่วยป้องกันโรคหัวใจได้ กรดไขมัน Eicosapentaenoic acid (EPA) มีจำนวนคาร์บอน 22 อะตอม และมีพันธะคู่ 5 พันธะ พบมากในปลา น้ำมันตับปลา และสาหร่าย กรดไขมัน Docosahexaenoic acid (DHA) มีจำนวนคาร์บอน 22 อะตอม มีพันธะคู่ 6 พันธะ เป็นส่วนสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์สมองและจอตา เป็นกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตตามปกติของเซลล์ประสาทของทารกในครรภ์

กลุ่มกรดไขมันโอเมก้า 6 ประกอบด้วย กรดลิโนเลอิก หรือวิตามินเอฟ ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวและเป็นวิตามินประเภทที่ละลายในไขมัน มีประโยชน์ช่วยให้ร่างกายเผาผลาญไขมันอิ่มตัวได้ดีขึ้น ช่วยให้เซลล์ได้รับสารอาหารได้มากขึ้นโดยเป็นตัวบ่อนสารอาหารให้แก่เซลล์ รักษาสมดุลของระบบการแข็งตัวของเลือด เสริมสร้างความแข็งแรงให้แก่ผนังหลอดเลือดและเยื่อหุ้มเซลล์ รวมทั้งกับคอเลสเตอรอลเพื่อขนส่งไปในกระแสเลือด มีผลทำให้ระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดลดลง ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์กรดลิโนเลอิกได้ ต้องได้จากสารอาหารเท่านั้น กรดลิโนเลอิกมีมากในน้ำมันพืช เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเมล็ดทานตะวัน (ยกเว้น น้ำมันปาล์มและน้ำมันมะพร้าว) ในสัตว์น้ำ เช่น ปลา หอย จะพบกรดลิโนเลอิกได้เช่นกัน โดยเฉพาะในน้ำมันตับปลาจะมีกรดลิโนเลอิกมากที่สุด กรดอะราชีดิกเป็นกรดไขมันที่สร้างจากกรดลิโนเลอิก มีความสำคัญในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พัฒนาระบบประสาทและการทำงานของระบบประสาทตา นอกจากนี้ ยังช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล และป้องกันโรคหัวใจหลอดเลือดได้ด้วย กรดอะราซิโดนิกมีมากในน้ำมันดอกคำฝอย น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง ถ้าวางกายขาด จะทำให้ผิวหนังอักเสบติดเชื้อง่ายและแผลหายช้า

2.4.2 สารประกอบเอซิลกลีเซอไรด์ (Acylglyceride)

กรดไขมันเมื่อรวมตัวกับกลีเซอรอลจะได้สารประกอบกลีเซอไรด์ หรือเอซิลกลีเซอรอล ซึ่งแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

1 โมโนเอซิลกลีเซอไรด์ (Monoacylglyceride) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน 1 โมเลกุลกับกลีเซอรอล 1 โมเลกุล โดยหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ของกรดไขมัน 1 หมู่ จะจับกับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ของกลีเซอรอลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 หรือ 2 อย่างไม่อย่างหนึ่ง จะได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็น 1-โมโนเอซิลกลีเซอไรด์ หรือ 2-โมโนเอซิลกลีเซอไรด์ ตามลำดับ

2 ไดเอซิลกลีเซอไรด์ (Diacylglyceride) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน 2 โมเลกุลกับกลีเซอรอล 1 โมเลกุล โดยหมู่คาร์บอกซิลของกรดไขมัน 2 หมู่ จะจับกับหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และ 3 หรือ ตำแหน่งที่ 1 และ 2

3 ไตรเอซิลกลีเซอไรด์ (Triacylglyceride) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน 3 โมเลกุลกับกลีเซอรอล 1 โมเลกุล โดยหมู่ไฮดรอกซิลทั้ง 3 หมู่ของกลีเซอรอลจะจับกับหมู่คาร์บอกซิลของกรดไขมันทั้ง 3 หมู่ กรดไขมันที่มาจับกับกลีเซอรอลอาจเป็นชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกันก็ได้กลีเซอไรด์ที่พบมากในธรรมชาติส่วนใหญ่อยู่ในรูปไตรเอซิลกลีเซอไรด์

2.4.3 คุณสมบัติของกรดไขมัน

1 ลักษณะทางกายภาพของกรดไขมันขึ้นอยู่กับความยาวของสายไฮโดรคาร์บอน และความอิ่มตัวหรือไม่อิ่มตัว โดยปกติแล้ว จุดหลอมเหลวของกรดไขมันจะแปรผันตรงตามความยาวของสายไฮโดรคาร์บอน แต่จุดหลอมเหลวที่จะแปรผกผันกับความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน กล่าวคือ กรดไขมันที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่จะมีจุดหลอมเหลวสูงกว่ากรดไขมันที่มีขนาดเล็ก และกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีจุดหลอมเหลวสูงกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัว ดังนั้นจะเห็นว่า น้ำมันพืชซึ่งมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีพันธะคู่อยู่ในโมเลกุลมาก จะมีสถานะเป็นของเหลว แม้ว่าจะวางที่อุณหภูมิลดลงถึง 4 องศาเซลเซียสก็ตาม

2 กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ส่วนมากจะเป็นประเภทที่ไม่อิ่มตัว เนื่องจากในเยื่อหุ้มเซลล์มีความจำเป็นที่จะต้องประกอบด้วยไขมันที่มีสถานะเป็นของเหลว เพื่อทำหน้าที่ทางชีวภาพ ในขณะที่ไขมันที่เป็นองค์ประกอบของลิวซิโดที่ถูกเก็บสะสมเป็นพลังงานสำรอง จะมีความอิ่มตัวมากกว่าที่พบในเยื่อหุ้มเซลล์

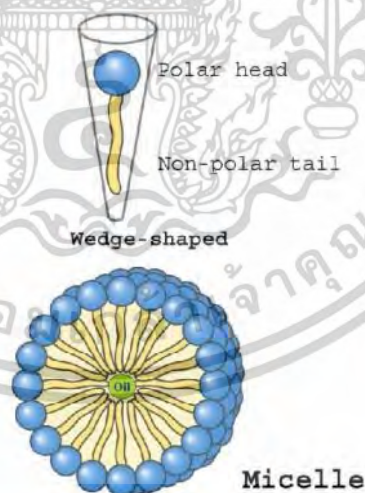
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 กรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีการจัดเรียงตัวตรงตำแหน่งพันธะคู่ได้ 2 แบบ คือ แบบ cis-form และ trans-form กรดไขมันแบบ trans จะมีจุดหลอมเหลวสูงกว่าแบบ cis กรดไขมันไม่อิ่มตัวเกือบทั้งหมดมีโครงสร้างแบบ cis

4 กรดไขมันไม่สามารถดูดกลืนแสงในช่วง Visible light และ Near ultraviolet light แต่ถ้าใช้โปแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) และให้ความร้อนกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่า 1 พันธะ จะสามารถเปลี่ยนพันธะคู่ให้เป็นแบบคอนจูเกต (Conjugated double bond, -CH=CH-CH=CH-) ซึ่งสามารถดูดแสงได้ในช่วงคลื่นแสง 230-260 นาโนเมตร จึงใช้เป็นวิธีหาปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่า 1 พันธะได้

5 กรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถเติมธาตุหมู่ฮาโลเจน (Halogen) เช่น ไอโอดีน หรือ คลอรีน ลงในพันธะคู่ได้ วิธีนี้ใช้หาจำนวนพันธะคู่ในกรดไขมันหรือลิพิดได้ ขณะที่กรดไขมันในสิ่งมีชีวิตจะอยู่ในรูปเอสเทอร์ (Ester) หรือเอไมด์ (Amide) กรดไขมันอิสระมีค่า pKa ประมาณ 4.85 จึงสามารถแตกตัวได้ที่พีเอชปกติของเซลล์ และพบปริมาณน้อยในพลาสมาโดยสามารถจับกับโปรตีน อัลบูมินได้

6 โครงสร้างของกรดไขมันมี 2 ส่วน คือส่วนที่ละลายน้ำได้ ได้แก่ บริเวณหมู่คาร์บอกซิล และส่วนที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ ส่วนของสายไฮโดรคาร์บอน เมื่อนำกรดไขมันมาเขย่ากับน้ำ กรดไขมันจะกระจายตัวเป็นหยดน้ำมันเล็กๆ ในน้ำ โดยกรดไขมันจะหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำไว้ข้างใน และเอาส่วนที่ชอบน้ำไว้ด้านนอกเพื่อสัมผัสกับน้ำ การฟอร์มตัวแบบนี้เรียกว่า ไมเซลล์ (Micelle) (รูปที่ 2.5)



รูปที่ 2.5 กรดไขมันในรูปแบบของไมเซลล์ (Micelle)

ที่มา : Nelson and Cox (2000)

2.4.4 ประโยชน์ของกรดไขมัน (Klaus, 1994; NRC, 2000)

ไขมันประกอบด้วยกรดไขมันหลายชนิด กรดไขมัน 1 กรัม ให้พลังงาน 9 กิโลแคลอรี ไขมันเป็นตัวทำละลายวิตามินที่ละลายในไขมัน คือวิตามิน เอ ดี อี และ เค นอกจากนี้ ยังเป็นอาหารเอกสารนี้เป็นอีกสารที่ส่งผ่านผลหรือเป็นการป้องกันพิษจากสารพิษในน้ำ เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้ว วิตามินเอ ดี อี และ เค นอกจากนั้น ยังเป็นอาหารไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สะสมของร่างกาย จะถูกนำมาเผาผลาญให้พลังงาน เมื่ออยู่ในภาวะขาดแคลนอาหาร และยังช่วยป้องกันการกระทบกระเทือนของอวัยวะภายใน ป้องกันความร้อนภายในออกสู่ภายนอกอย่างช้าๆ กรดไขมันเป็นโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ ฟอสโฟลิพิด คอเลสเตอรอล และไกลโคลิพิด ยังเป็นส่วนประกอบของระบบต่างๆ ในร่างกาย เช่น ระบบประสาท เนื้อเยื่อ และเป็นสารตั้งต้นของวิตามินและฮอร์โมนหลายชนิด เช่น วิตามิน ดี อี และฮอร์โมนจำพวกสเตอรอยด์ กรดไขมันในกลุ่ม Eicosanoids มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการอักเสบและการแข็งตัวของเลือด นอกจากนี้ กรดไขมันยังเป็นตัวอิมัลซิไฟด์ (Emulsifying agents) ช่วยทำให้ลิพิดละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ ในกระบวนการย่อยและดูดซึมอาหาร

2.5 กรดไขมันในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กและไซยาโนแบคทีเรีย

ในปัจจุบัน สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) และไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) เป็นสิ่งมีชีวิตที่ได้รับความสนใจในการนำมาผลิตเป็นพลังงานทดแทนในรูปแบบของไบโอดีเซล เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับการเพาะปลูกพืช รวมถึงใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อยกว่า นอกจากนี้ ชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็กยังเป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีความน่าสนใจในการแก้ปัญหาการทดแทนการผลิตไบโอดีเซลจากพืชอาหาร โดยชีวมวลของสาหร่ายประกอบด้วยลิพิดตามธรรมชาติ โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต สาหร่ายหลายสายพันธุ์สามารถผลิตลิพิดได้มากกว่าร้อยละ 35 ของน้ำหนักแห้ง องค์ประกอบและโครงสร้างของน้ำมันที่พบในสาหร่ายมีลักษณะคล้ายคลึงกับพืช น้ำมันชนิดอื่นๆ เช่น ถั่วเหลือง ปาล์ม หรือเรพซิด ลิพิดในสาหร่ายจัดเป็นไตรกลีเซอไรด์ซึ่งประกอบด้วย กรดไขมันชนิดต่างๆ 3 โมเลกุล และกลีเซอรอล 1 โมเลกุล สาหร่ายขนาดเล็กจะผลิตกรดไขมันที่มีความยาวของคาร์บอนอยู่ระหว่าง 12-22 อะตอม โดยพบทั้งชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว กรดไขมันที่พบมากที่สุดจะเป็นกรดไขมันที่มีคาร์บอน 16 และ 18 อะตอม ซึ่งจำนวนกรดไขมันทั้งหมดจะเปลี่ยนแปลงขึ้นกับระยะเวลาของการเจริญและสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง โดยพบว่าภายใต้สภาวะที่มีการจำกัดปริมาณไนโตรเจนหรือขาดไนโตรเจน สาหร่ายจะสร้างสารประกอบคาร์บอนอื่นๆ เช่น ลิพิดหรือแป้งมาทดแทน ทำให้สาหร่ายมีปริมาณลิพิดเพิ่มขึ้น (นฤตชวรณ, 2556) สาหร่ายขนาดเล็กมีกลไกการสังเคราะห์แสงโดยใช้คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุ โดยคลอโรฟิลล์จะทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสงและเปลี่ยนพลังงานแสงไปเป็นพลังงานเคมีและสะสมในรูปแบบต่างๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน หรือลิพิด ฯลฯ Chisti (2007) พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กบางสายพันธุ์มีความสามารถในการเก็บสะสมลิพิดไว้ภายในเซลล์สูงมากถึง 30-80 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง โดยปริมาณลิพิดภายในเซลล์ของสาหร่ายจะขึ้นอยู่กับสภาวะการเพาะเลี้ยง เช่น สารอาหาร อุณหภูมิ แสง pH รวมถึงความแตกต่างของสายพันธุ์ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้เป็นตัวบ่งชี้ในการพิจารณาความเหมาะสมของสาหร่ายขนาดเล็กในการนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพในเชิงพาณิชย์ สาหร่ายขนาดเล็กโดยทั่วไปจะมีการสร้างลิพิดที่มีความหลากหลาย เช่น ลิพิดที่มีซิว ลิพิดที่เป็นกลาง ไฮโดรคาร์บอน และ สเตอรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Sajjadi *et al.*, 2018) ลิพิดมีคุณสมบัติในการละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (ตัวทำละลายอินทรีย์) แต่ไม่ละลายน้ำ ทำให้สามารถสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ได้เป็นอย่างดี ลิพิดในสาหร่ายประกอบด้วยลิพิดที่เป็นกลาง เช่น Mono-, Di-, Tri- acylglyceride และ Sterol และลิพิดที่มีขั้ว เช่น Phospholipid และ Glycolipid หน้าที่หลักของลิพิดที่เป็นกลาง คือ การจัดเก็บพลังงานเพื่อเป็นแหล่งพลังงานสำรองของเซลล์ ในขณะที่ลิพิดที่มีขั้วเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ (Deshmukh *et al.*, 2019) ลิพิดที่พบส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอล ซึ่งเป็นลิพิดกลุ่มเป็นกลางและมักจะพบในออร์แกเนลล์ต่างๆ ภายในเซลล์และในไซโทพลาสซึม โดยลิพิดชนิดนี้จัดเป็นแหล่งลิพิดที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไบโอดีเซล (ณัฐริกา และคณะ, 2560) ไตรเอซิลกลีเซอรอลเป็นลิพิดที่พบได้บ่อยที่สุดในไซโทพลาสซึม มีคุณสมบัติในการถูกย่อยสลายได้ง่าย เพื่อนำกลับมาใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ในกระบวนการสังเคราะห์แสงภายใต้สภาวะที่ไม่มีแสง โดยจะสะสมใน Cytosolic lipid bodies (Sajjadi *et al.*, 2018) โดยส่วนใหญ่ ไตรเอซิลเอโรด์ในสาหร่ายขนาดเล็กจะสะสมปริมาณมากในช่วงการเจริญเติบโตแบบ Stationary phase ซึ่งเป็นช่วงการสะสมลิพิดหลักในสาหร่าย แต่ในช่วงการเจริญแบบ Exponential phase จะมีการสะสมในปริมาณที่น้อยกว่ามาก (Menegazzo *et al.*, 2019)

การนำลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็กและไซยาโนแบคทีเรียมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตไบโอดีเซลจำเป็นต้องคำนึงถึงปริมาณและอัตราส่วนของกรดไขมันทั้งชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว กรดไขมันที่มักพบในสาหร่ายขนาดเล็ก เช่น Myristic acid (C14:0), Palmitic acid (C16:0), Palmitoleic acid (C16:1), Stearic acid (C18:0), Oleic acid (C18:1), Linoleic acid (C18:2) และ Linolenic acid (C18:3) โดยที่กรดไขมันไม่อิ่มตัว Palmitoleic acid (C16:1), Oleic acid (C18:1), Linoleic acid (C18:2) และ Linolenic acid (C18:3) กรดไขมันอิ่มตัว Palmitic acid (C16:0) เป็นองค์ประกอบหลักของลิพิดที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็กและไซยาโนแบคทีเรีย (Sajjadi *et al.*, 2018) การใช้ลิพิดจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้ในการผลิตไบโอดีเซลจำเป็นต้องคำนึงถึงคุณสมบัติของกรดไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็กเนื่องจากกรดไขมันแต่ละชนิดมีความหนืดและความหนาแน่นที่แตกต่างกัน โดยขึ้นกับระดับความอิ่มตัวของกรดไขมันแต่ละชนิด ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพของไบโอดีเซลที่ผลิตได้ (Kabir *et al.*, 2020) ไบโอดีเซลที่ผ่านการแปรรูปจากลิพิดสาหร่ายขนาดเล็กและไซยาโนแบคทีเรียที่มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวต่ำกว่าจะมีคุณสมบัติที่ดีกว่าในอุณหภูมิที่เย็น เนื่องจากเอสเทอร์สายโซ่ของกรดไขมันอิ่มตัวมีความยาว จึงเป็นการเพิ่มค่า Pour point หรือค่าอุณหภูมิที่ต่ำที่สุดที่ทำให้น้ำมันยังคงเป็นของเหลว และค่า Cloud point หรือค่าของอุณหภูมิที่ต่ำที่สุดที่ไขมันเริ่มตกตะกอน โดยจะเริ่มเห็นน้ำมันเป็นจุดฝ้า อย่างไรก็ตาม ไบโอดีเซลที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงจะถูกออกซิไดซ์ได้เร็วกว่าดีเซลทั่วไป (Sajjadi *et al.*, 2018) ในการใช้ลิพิดเป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับการแปรรูปไบโอดีเซลจำเป็นต้องตรวจสอบคุณสมบัติ ปริมาณ และอัตราส่วนของกรดไขมันที่

เหมาะสม โดยวัดคุณสมบัติทางความร้อน ทางกายภาพ และนำข้อมูลเปรียบเทียบกับไบโอดีเซล ตามมาตรฐานสากล เช่น ASTM D6751 หรือ EN14214 เป็นต้น (Deshmukh *et al.*, 2019)

2.6 ไชยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria)

ไชยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีวิวัฒนาการมายาวนาน มีรายงานการค้นพบฟอสซิลของสิ่งมีชีวิตที่คล้ายกับสาหร่ายชนิดนี้ในหินตะกอน คาดว่าฟอสซิลนี้เกิดขึ้นบนโลกเมื่อประมาณ 3,500 ล้านปีมาแล้ว ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ใกล้เคียงกับการค้นพบแบคทีเรียที่เป็นสิ่งมีชีวิตชนิดแรก (Willmotte and Golubic, 1991) สาหร่ายกลุ่มนี้มีรงควัตถุภายในเซลล์จึงสามารถสังเคราะห์แสงและผลิตก๊าซออกซิเจนออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ แต่เนื่องจากโครงสร้างของเซลล์ที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสซึ่งคล้ายกับแบคทีเรีย สาหร่ายกลุ่มนี้จึงถูกจัดให้เป็นแบคทีเรียหรือที่รู้จักกันในชื่อ Cyanobacteria (Bold and Wynne, 1985) ไชยาโนแบคทีเรียพบในแหล่งน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่ แต่สามารถพบในน้ำทะเล หรือน้ำกร่อยได้ แม้กระทั่งพบในสภาพแวดล้อมที่รุนแรง เช่น ในหิมะทะเลทราย หรือน้ำพุร้อนที่สิ่งมีชีวิตทั่วไปเจริญได้ยาก (Scanlan, 2002) เนื่องจากเซลล์ของไชยาโนแบคทีเรียมีเมือกหุ้ม ทำให้สามารถป้องกันเซลล์จากสภาพแวดล้อมภายนอกที่ไม่เหมาะสมได้ (Baker and Bold, 1970) และอีกประการหนึ่งคือ โมเลกุลโปรตีนที่อยู่ภายในโพรโตพลาสซึมจับตัวกันแน่นทำให้เอนไซม์สลายได้ยาก เป็นเหตุผลที่ทำให้ไชยาโนแบคทีเรียสามารถมีชีวิตอยู่ได้นาน (Van Dan Hoek *et al.*, 1995)

ไชยาโนแบคทีเรียมีความสำคัญในหลายๆ ด้าน เช่น นำมาเป็นอาหารของมนุษย์ นอกจากบริโภคโดยตรงแล้ว มีการนำสาหร่ายมาแปรรูปเพื่อเป็นอาหารเสริมสุขภาพในลักษณะ Single cell protein ใน *Spirulina platensis* (Whitton and Potts, 2001) ในขณะเดียวกัน มีรายงานการใช้ไชยาโนแบคทีเรียเป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำ (Whitton *et al.*, 1992) รวมทั้งนำไปใช้บำบัดน้ำเสียและเพิ่มออกซิเจนให้กับแหล่งน้ำเสียหรือการใช้ไชยาโนแบคทีเรียในการช่วยกำจัดสารที่ไม่เป็นที่ต้องการ เช่น อีออนสังกะสีในน้ำทิ้งอุตสาหกรรมเหมือง Ahuja และคณะ (1999) พบว่า *Oscillatoria angustissima* มีความสามารถในการดูดซับอีออนดังกล่าวได้สูงถึง 641 มิลลิกรัมต่อเซลล์แห้ง นับว่าเป็นประโยชน์ต่องานด้านสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างยิ่ง นอกจากนี้ ไชยาโนแบคทีเรียยังมีความสำคัญในด้านเกษตรกรรม เช่น *Anabaena* และ *Nostoc* สามารถตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation) เพื่อช่วยเพิ่มสารประกอบกลุ่มไนเตรทให้แก่ดินและพืช (Van Dan Hoek *et al.*, 1995)

ไชยาโนแบคทีเรียมีความสำคัญอย่างมากในด้านเทคโนโลยีชีวภาพ เนื่องจากมี Bioactive compound ที่มีคุณค่า อาทิ เช่น สารกลุ่ม Exopolysaccharide จากสาหร่ายจีนัส *Nostoc* นับเป็นสารที่ได้รับความสนใจนำไปใช้ในกระบวนการผลิตหลายประเภท เช่น ใช้เป็น Suspending agent หรือใช้ดูดซับโลหะในอุตสาหกรรมโลหะ หรือใช้ในลักษณะ Biopolymer (Helm *et al.*, 2000) ทั้งนี้ เนื่องจาก Exopolysaccharide ที่ได้จากสาหร่ายดังกล่าวมีคุณภาพดี เก็บเกี่ยวได้ปริมาณมาก (De

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phillippis *et al.*, 2000) ในด้านการแพทย์ มีการใช้สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียไปยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อราก่อโรคหลายชนิด (Piccardi *et al.*, 2000) หรือการใช้ Phycocyanobilin จากสาหร่าย *Spirulina platensis* ในการต้านอนุมูลอิสระ (Hirata *et al.*, 2000) Sato และคณะ (2000) พบว่า เลคติน (Lectin) ที่ได้จาก *Oscillatoria agardii* และ *Phormidium foveolarum* มีคุณสมบัติในการรักษาโรคมะเร็งที่จับกับหรือเอตส์ Dey และคณะ (2000) สามารถสกัดสารโปรตีน ชื่อ Cyanovirin จากไซยาโนแบคทีเรีย (ยังไม่ระบุชนิด) ในการยับยั้งการทำงานของ Human immunodeficiency virus (HIV) ที่ก่อให้เกิดโรคเอดส์ได้ โดยไปจับกับ gp120 ของ HIV type 1 และยับยั้งปฏิกิริยาการรวมกันของ Glycoprotein-mediated membrane ของไวรัส ซึ่งนับว่าเป็นงานวิจัยที่จะเป็นประโยชน์ต่อผู้คนมากมายในอนาคต หากสามารถผลิตยาที่สามารถรักษาโรคเอดส์ได้จริง

2.6.1 อนุกรมวิธานและนิเวศวิทยาของไซยาโนแบคทีเรีย

สาหร่ายที่คาดการณ์ไว้บนโลกนี้ทั้งหมดประมาณ 400,000 ชนิด (Heywood, 1995) แต่มีชนิดที่มีการค้นพบหรือทราบชนิดแล้วเพียง 40,000 ชนิด ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 10 เท่านั้น จะเห็นได้ว่ายังมีสาหร่ายอีกเป็นจำนวนมากที่ยังไม่ถูกค้นพบและนำมาใช้ประโยชน์ สำหรับงานด้านอนุกรมวิธานของไซยาโนแบคทีเรียนั้นมีมานานแล้ว และเริ่มเป็นระบบเด่นชัดในปี ค.ศ. 1932 จากงานของ Luther Geitler ซึ่งได้ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไซยาโนแบคทีเรียที่พบในสภาพแวดล้อมเป็นสำคัญในการกำหนดชนิดไซยาโนแบคทีเรีย ต่อมา มีผู้สนใจศึกษาอนุกรมวิธานของไซยาโนแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น (Rippka *et al.*, 1979) และแบ่งไซยาโนแบคทีเรียเป็น 5 กลุ่มย่อย โดยสองกลุ่มแรกเป็นกลุ่มที่มีลักษณะเซลล์เดี่ยว (Unicellular) ส่วนสามกลุ่มที่เหลือเป็นกลุ่มเส้นสาย (Filamentous form) ซึ่งเจริญเติบโตโดยใช้การแบ่งตัวแบบ Intercalary cell division ในอดีต การจัดจำแนกไซยาโนแบคทีเรียอาศัยเพียงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว เช่น การใช้ความกว้างและยาวของเซลล์ และลักษณะของเฮเทอโรซิสต์ (Heterocyst) ในการจัดจำแนก *Pseudoanabaena* (Chang *et al.*, 1985) ต่อมา ได้มีการพัฒนาการใช้ทั้งลักษณะทางสรีรวิทยา ร่วมกับลักษณะทางชีวเคมีของไซยาโนแบคทีเรีย เช่น องค์ประกอบของสารสี (Hoffmann, 1988) หรือโครงสร้างของพอลิแซคคาไรด์ (Brull *et al.*, 2000) เป็นต้น ปัจจุบัน มีการพัฒนานำเทคนิคต่างๆ มาใช้ในงานทางอนุกรมวิธานมากขึ้น เช่น ใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Phase contrast และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนทั้งแบบส่องผ่านและส่องกราดในการศึกษาลักษณะ Ultrastructure ของสาหร่ายเพื่อศึกษาความแตกต่างระหว่างสปีชีส์ (Porta, 2000) โดยใช้เทคนิคดังกล่าวในการจำแนกไซยาโนแบคทีเรีย *Cyanothece* 3 สายพันธุ์ พบว่า ลักษณะ Cell membrane และ Thylakoid membrane ของ *Cyanothece* แต่ละชนิดแตกต่างกันชัดเจน การใช้เทคโนโลยีทางอณูชีววิทยา (Molecular biological techniques) นับเป็นทางเลือกใหม่ที่กำลังได้รับความสนใจ อาทิ เช่น การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ความแตกต่างของลำดับ 16S ribosomal RNA ในการแยกชนิดไซยาโนแบคทีเรีย 29 ชนิด Willmote and Golubic (1991) พบความแตกต่างของแต่ละสายพันธุ์ในรูป Phylogenetic dendrogram ที่ชัดเจน Rasmussen and Svingen (2001) ได้ใช้เทคนิคพอลิเมอร์ฟีซิมของความยาวชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์จำเพาะ (Restriction Fragment Length Polymorphism; RFLP) ร่วมกับเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) ในการตรวจสอบความแตกต่างของ 16S RNA และ 16S-23S Internal transcribed region (ITS) ในไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc* 10 สายพันธุ์ และพบความแตกต่างที่หลากหลายของลักษณะพันธุกรรมที่ค่อนข้างสูง แม้กระทั่งในบริเวณที่เป็น Conserved region ซึ่งบริเวณนี้นิยมใช้บอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตระดับสปีชีส์ในงานด้านอนุกรมวิธาน อย่างไรก็ตาม วิธีการที่เป็นที่นิยมในขณะนี้คือ การใช้วิธีแบบดั้งเดิมโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาพร้อมกับเทคนิคใหม่ๆ Bailey-Watts and Komarek (1991) ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ร่วมกับลักษณะของ Thylakoid และ Microtubule ของ *Synechococcus* พบว่าแพลงก์ตอนพืชที่พบในทะเลสาบ Leven ในสกอตแลนด์ ประเทศสหราชอาณาจักรเป็นชนิดใหม่ (New species) คือ *Synechococcus capitatus* spec. nova ส่วน Gebhardt and Nierzwicki-Bauer (1991) ได้เปรียบเทียบสาหร่าย *Anabaena* 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่แยกจาก Leaf cavity ของแหวนแดง 3 ชนิดและกลุ่มที่ดำรงชีวิตแบบอิสระในน้ำเลี้ยงแหวนแดง โดยใช้ลักษณะที่สังเกตได้จากกล้องจุลทรรศน์ร่วมกับการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลพบว่าสาหร่ายจากทั้งสองแหล่งเป็นไซยาโนแบคทีเรียต่างชนิดกัน เนื่องจากมีลักษณะที่ต่างกันทั้งรูปร่างและลำดับนิวคลีโอไทด์

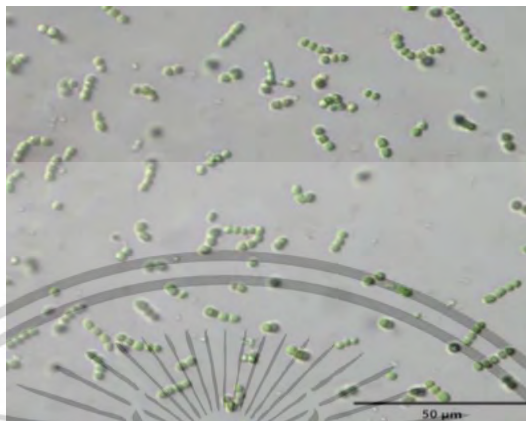
จากการใช้ออนุกรมวิธานในการจัดจำแนกพบว่า ไซยาโนแบคทีเรียจัดอยู่ในอาณาจักรโมเนรา (Kingdom Monera) ดิวิชันไซยาโนไฟตา (Division Cyanophyta) แบ่งเป็น 4 ออร์เดอร์ คือ Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales และ Stigonematales โดยมีสมาชิกประมาณ 212 จีนิส และมี 4,000 สปีชีส์ (Anagnostidis and Komarek, 1988; 1990; Komarek and Anagnostidis, 1989; 1999)

2.6.2 ไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica*

ไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica* เป็นไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวที่สามารถพบได้ในสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มสูง *A. halophytica* มีลักษณะกลมหรือทรงกระบอก มีขนาดตั้งแต่ 2-10 ไมโครเมตร (รูปที่ 2.6) ขนาดและรูปร่างของเซลล์ที่แตกต่างกัน ทำให้เซลล์ทนทานต่อความเข้มข้นของเกลือได้ต่างกัน (Berland *et al.*, 1989) *A. halophytica* สะสมไกลซีนบีเทน (Glycine betaine) ทำให้เกิด Osmoprotectant ที่สามารถทนต่อความเค็มได้สูง (Ishitani *et al.*, 1993) *A. halophytica* สามารถเติบโตได้ในช่วงความเค็มที่หลากหลายที่มีความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ 0.25 ถึง 3.0 โมลาร์ และในสภาวะที่เป็นด่างที่ pH สูงถึง 11.0 (Hibino *et al.*, 1999;

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Waditee *et al.*, 2003) มีรายงานการผลิตลิพิดใน *A. halophytica* โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร Jaworski's (Miriam *et al.*, 2017) นอกจากนี้ *A. halophytica* ยังสามารถเจริญในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรท 1.76 มิลลิโมลาร์ (Taikhao *et al.*, 2015)



รูปที่ 2.6 สัณฐานวิทยาของเซลล์ของ *A. halophytica* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

2.7 กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันและไตรเอซิลกลีเซอรอลในไซยาโนแบคทีเรีย

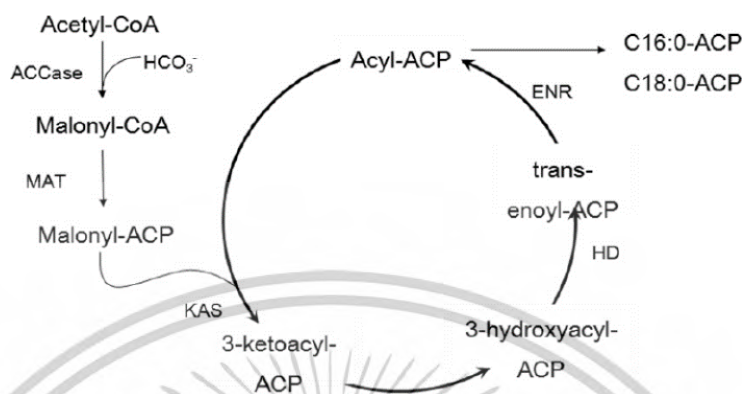
กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันและไตรเอซิลกลีเซอรอลในไซยาโนแบคทีเรียแบ่งเป็น

2.7.1 กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน (Fatty acid biosynthesis pathway)

กระบวนการสะสมกรดไขมันและลิพิดภายในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียเกิดจากการปรับตัวเพื่อดำรงชีวิตอยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่หลากหลาย เช่น ในน้ำทะเล น้ำจืด น้ำพุร้อน หรือแม้แต่ในน้ำแข็ง ลิพิดที่พบในเซลล์สำหรับส่วนใหญ่จะพบอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเป็นโครงสร้างที่สร้างความแข็งแรงให้กับเยื่อหุ้มเซลล์ (Yu *et al.*, 2011) การสังเคราะห์ลิพิดของไซยาโนแบคทีเรียเกิดขึ้นในไทลาคอยด์ โดยเริ่มจากการสังเคราะห์แสงแล้วตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศหรือการใช้แหล่งคาร์บอนในอาหารเพื่อสังเคราะห์ Acetyl-CoA ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดไขมันที่มีคาร์บอน 16 หรือ 18 อะตอม (Hu *et al.*, 2008) (รูปที่ 2.7) กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันเริ่มจากการนำ Acetyl-CoA ที่มีคาร์บอน 2 อะตอม 1 โมเลกุล มาทำปฏิกิริยากับ Malonyl CoA ที่มีคาร์บอน 3 อะตอม โดย Malonyl CoA ในปฏิกิริยานี้สังเคราะห์มาจาก Acetyl-CoA ซึ่งมีการเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ Acetyl CoA carboxylase (ACCase) (Hu *et al.*, 2008) Malonyl CoA เป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชัน สำหรับการสังเคราะห์กรดไขมัน หมู่ Malonyl ของ Malonyl CoA ถูกถ่ายโอนไปยัง Co-factor ของโปรตีน Acyl carrier protein (ACP) ทำให้ได้ Malonyl-ACP เพื่อเข้าสู่ปฏิกิริยาการควบแน่นในขั้นตอนถัดไป ปฏิกิริยาการควบแน่นครั้งแรกถูกเร่งโดยเอนไซม์ 3-Ketoacyl ACP synthase III (KAS III) ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสี่คาร์บอนอะตอม จากนั้น จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดปฏิกิริยาการควบแน่นด้วยเอนไซม์ 3-Ketoacyl-ACP reductase, 3-Hydroxyacyl-ACP dehydratase และ Enoyl-ACP reductase จนได้กรดไขมันอิ่มตัว (Liu *et al.*, 2011) (รูปที่ 2.7)



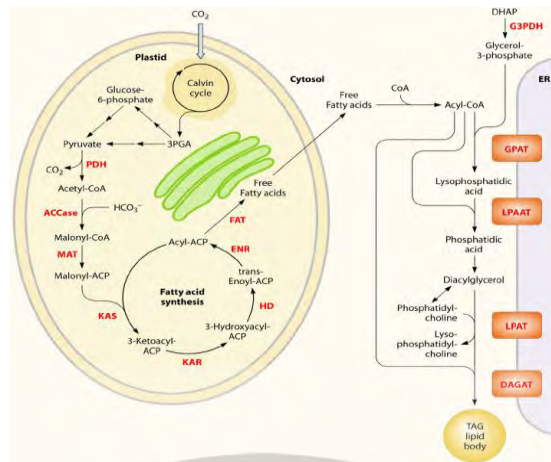
รูปที่ 2.7 ภาพรวมอย่างง่ายของการสังเคราะห์กรดไขมันอิ่มตัวของสายขนาดเล็ก (Acetyl-CoA carboxylase (ACCase); Acyl carrier protein (ACP); Coenzyme A (CoA); Enoyl-ACP reductase (ENR); 3-Hydroxyacyl-ACP dehydratase (HD); 3-Ketoacyl-ACP reductase (KAR); 3-Ketoacyl-ACP synthase (KAS); Malonyl-CoA:ACP transacylase (MAT))

ที่มา : Liu *et al.* (2011)

2.7.2 กระบวนการสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล (Triacylglycerol biosynthesis pathway)

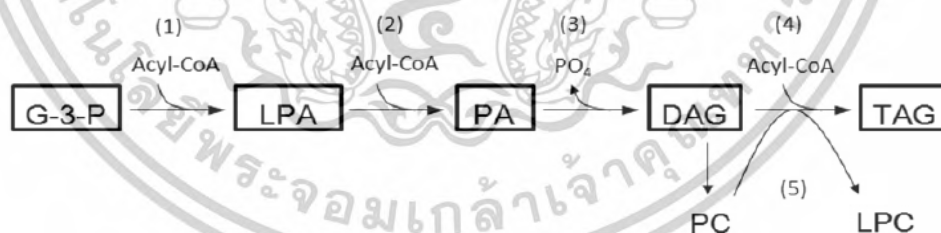
กรดไขมันที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์เยื่อหุ้มเซลล์และไขมันที่เป็นกลาง เช่น ไตรเอซิลกลีเซอรอล การสังเคราะห์กรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ในไซโทพลาซึมแบบคทีเรียแสดงดังรูปที่ 2.8 (Liu *et al.*, 2011) กรดไขมันที่ผลิตขึ้นจะทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลในกลีเซอรอล-3-ฟอสเฟต (Glycerol-3-phosphate) เพื่อสร้างกรดฟอสฟาติค (Phosphatidic acid, PA) โดยมีสารตัวกลางคือ กรดไลโซฟอสฟาติค (Lysophosphatidic acid) (Hu *et al.*, 2008) ปฏิกิริยาทั้งสองนี้เร่งโดยเอนไซม์ Glycerol-3-phosphate acyl transferase และ Lysophosphatidic acid acyl transferase ตามลำดับ (Bhowmick *et al.*, 2015) จากนั้น เกิดการดึงหมู่ฟอสเฟต (Dephosphorylation) ออกจากกรดฟอสฟาติค ส่งผลให้เกิดการปลดปล่อย Diglyceride (DAG) ซึ่งรับเอซิลที่สามจาก CoA เพื่อสร้างไตรเอซิลกลีเซอรอล ขั้นตอนสุดท้ายนี้ เร่งปฏิกิริยาโดย Diacylglycerol acyltransferase ซึ่งเป็นปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติเฉพาะในการสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล (รูปที่ 2.9) (Bhowmick *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 การสังเคราะห์กรดไขมันและไตรกลีเซอไรด์ในสาหร่ายขนาดเล็ก (Acetyl-CoA carboxylase (ACCase); Acyl carrier protein (ACP); Coenzyme A (CoA); Diacylglycerol acyltransferase (DAGAT); Dihydroxyacetone phosphate (DHAP); Enoyl-ACP reductase (ENR); Fatty acyl-ACP thioesterase (FAT); Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH); Glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT); 3-Hydroxyacyl-ACP dehydratase (HD); 3-Ketoacyl-ACP reductase (KAR); 3-Ketoacyl-ACP synthase (KAS); Lyso-phosphatidic acid acyltransferase (LPAAT); Lyso-phosphatidylcholine acyltransferase (LPAT); Malonyl-CoA;ACP transacylase (MAT); Pyruvate dehydrogenase complex (PDH); Triacylglycerols (TAG))

ที่มา : Radakovits *et al.* (2010)



รูปที่ 2.9 การสังเคราะห์ทางชีวภาพของไตรเอซิลกลีเซอรอลในสาหร่ายขนาดเล็ก (Diacylglycerol (DAG); Lysophosphatidic acid (LPA); Lysophosphatidylcholine (LPC); Glycerol-3-phosphate (G-3-P); Phosphatidic acid (PA); Phosphatidylcholine (PC); Triacylglycerol (TAG); Glycerol-3-phosphate acyl transferase (1), Lysophosphatidic acid acyl transferase (2), Phosphatidic acid phosphatase (3), Diacylglycerol acyl transferase (4) และ Phospholipid:diacylglycerol acyltransferase (5)

ที่มา : Liu *et al.* (2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสมลิพิดในไขมันแบคทีเรีย

ในสภาวะการเจริญเติบโตปกติ ไขมันแบคทีเรียจะสะสมลิพิดในปริมาณน้อย แต่หากอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม หรืออยู่ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นให้เกิดความเครียด ไขมันแบคทีเรียจะสะสมลิพิดมากขึ้น (ณัฐริกา และคณะ, 2560) ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมลิพิดในไขมันแบคทีเรีย เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุ เป็นต้น หากในอาหารเลี้ยงเชื้อมีปริมาณสารอาหาร เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส จำกัด ไขมันแบคทีเรียจะมีกลไกการกระตุ้นให้เกิดความเครียดและเพิ่มการสะสมลิพิด (Ran *et al.*, 2019) ไขมันแบคทีเรียจะถูกเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความอุดมสมบูรณ์ก่อน จากนั้น จะย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่จำกัดสารอาหาร เพื่อให้เกิดสภาวะเครียดจากการขาดสารอาหารอย่างรุนแรง (Sajjadi *et al.*, 2018) สภาวะความเครียดที่เกิดขึ้นจะส่งผลทำให้สายหยุดการแบ่งตัวและเปลี่ยนเป็นสะสมลิพิดแทน

2.8.1 ไนโตรเจน

ไนโตรเจน (N) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในโครงสร้างของเซลล์ไขมันแบคทีเรีย เนื่องจากใช้ในการสร้างกรดนิวคลีอิก กรดอะมิโน เอนไซม์ โปรตีน และสารสี ไขมันแบคทีเรียจะใช้ไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของ ไนเตรท แอมโมเนียม และยูเรีย (Ran *et al.*, 2019) การขาดไนโตรเจนจะส่งผลให้การเจริญเติบโตของไขมันแบคทีเรียลดลง เนื่องจากประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงลดลงและส่งผลให้เซลล์เกิดการจับเก็บคาร์โบไฮเดรตหรือลิพิดเพิ่มมากขึ้น กลไกดังกล่าวจะเป็นการเปลี่ยนจากการสังเคราะห์โปรตีนและลิพิดที่มีชีวไปสู่อการสร้างคาร์โบไฮเดรตหรือสะสมลิพิดแทน โดยเป็นการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง Acyl-CoA และเปลี่ยนเป็นไตรกลีเซอไรด์ จากการกระตุ้นของเอนไซม์ Acyl-CoA hydrolase (Sajjadi *et al.*, 2018) กระบวนการกระตุ้นการสะสมลิพิดจากการขาดไนโตรเจนเป็นวิธีการที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยปริมาณแบคทีเรียหรือลิพิดอาจมีปริมาณสูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Ran *et al.*, 2019) ทั้งนี้กระบวนการกระตุ้นให้เกิดการสะสมลิพิดมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของไขมันแบคทีเรียด้วย นอกจากนี้ ยังพบว่าปริมาณไนโตรเจนในอาหารมีผลกระทบต่อในเชิงคุณภาพขององค์ประกอบของกรดไขมันในไขมันแบคทีเรียอีกด้วย โดยพบว่าการกระตุ้นให้เกิดความเครียดจากการควบคุมปริมาณไนโตรเจนส่งผลให้กรดไขมันอิ่มตัว C16:0 ลดลง ในขณะที่กรดไขมัน C18:0 เพิ่มขึ้น โดยผลดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับการปรับเพิ่มขึ้นหรือลดลงของปริมาณไนโตรเจนในอาหาร (Sajjadi *et al.*, 2018)

2.8.2 ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัส (P) เป็นองค์ประกอบสำคัญของกรดนิวคลีอิก และใช้ในกระบวนการสังเคราะห์และการถ่ายโอนพลังงาน นอกจากนี้ ฟอสฟอรัสยังมีส่วนช่วยในการควบคุมการทำงานของโปรตีนภายในเซลล์ หากจำกัดปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงของไขมันแบคทีเรีย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะส่งผลแบบเดียวกันกับการจำกัดปริมาณไนโตรเจน คือทำให้สาหร่ายเกิดความเครียดและกระตุ้นให้เกิดการสะสมแป้งและลิพิด แต่อาจมีการตอบสนองของเซลล์ที่ช้ากว่าการขาดไนโตรเจน (Ran *et al.*, 2019) เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เซลล์จะสะสมฟอสฟอรัสในรูปแบบของเมดพอลิฟอสเฟต เมื่อมีการจำกัดปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารจะส่งผลให้ฟอสโฟลิพิด (Phospholipid) ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์จะลดลงเป็นอย่างมาก และถูกแทนที่ด้วยไกลโคลิพิด (Glycolipid) และซัลโฟลิพิด (Sulpholipid) กลไกดังกล่าวเป็นการสะสมเพื่อแก้ไขการสูญเสียฟอสโฟลิพิดภายในเซลล์ในสภาวะการขาดฟอสฟอรัส นอกจากนี้ สภาวะการขาดฟอสฟอรัสยังส่งผลให้อัตราการแบ่งเซลล์ลดลงและการสังเคราะห์แสงลดลง เป็นผลให้เกิดการสะสมของคาร์บอน ซึ่งอาจเก็บในรูปแบบของไตรเอซิลกลีเซอรอลซึ่งมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในปริมาณมาก (Sajjadi *et al.*, 2018)

2.8.3 คาร์บอน

คาร์บอน (C) เป็นส่วนประกอบสำคัญของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย โดยพบคาร์บอนเป็นองค์ประกอบของเซลล์ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักชีวมวล โดยส่วนใหญ่ แหล่งคาร์บอนจะได้อาจมาจากคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งมีอยู่ในบรรยากาศ (Sajjadi *et al.*, 2018) ไซยาโนแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์แสงและตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากอากาศไปใช้ในการผลิตน้ำตาลและสารเมตาบอไลต์ชนิดต่างๆ เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมและใช้เป็นพลังงานในไซยาโนแบคทีเรีย (Sajjadi *et al.*, 2018; Ran *et al.*, 2019) การกระตุ้นการผลิตลิพิดในไซยาโนแบคทีเรียมักใช้กระบวนการเพิ่มความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยที่ความเข้มข้น 2-5 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้เซลล์ผลิตชีวมวล แป้ง หรือลิพิดได้มากขึ้น แต่ความเข้มข้นที่มากเกินไป 10 เปอร์เซ็นต์ อาจส่งผลในการขัดขวางการผลิตชีวมวล ลิพิด และแป้ง (Ran *et al.*, 2019) เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์ที่มากเกินไปในอาหารจะถูกเปลี่ยนเป็น H_2CO_3 ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้อาหารเลี้ยงมีสภาวะความเป็นกรดสูงเกินไป และไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวล ลิพิด และแป้งภายในเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย การเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับการจำกัดสารอาหารบางชนิดเป็นวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตลิพิด (Sajjadi *et al.*, 2018) นอกจากคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว ในปัจจุบันยังมีการศึกษาการนำแหล่งคาร์บอนชนิดอื่นๆ ไม่ว่าจะเป็นในรูปแบบของน้ำตาล เช่น กลูโคส (Glucose) หรือ เดกซ์โทรส (Dextrose) หรือแม้แต่ในรูปแบบของเกลือ เช่น โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate) และกรดอะซิติก (Acetic acid) เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียอีกด้วย โดยคาร์บอนจากแหล่งต่างๆ จะถูกนำเข้าสู่เซลล์ผ่านทางเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ Acetyl-CoA ผ่าน Acetyl-CoA synthetase (ACS) และเข้าสู่วัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิกต่อไป (Hu *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2022) การผลิต Acetyl-CoA ที่มากเกินไปจากการเพิ่มปริมาณคาร์บอนในอาหาร ส่งผลให้ ATP และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์บอนถูกส่งไปสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ผ่านวิธีการสังเคราะห์ไขมันและวิถีของ Kennedy (Kennedy pathway) (Li *et al.*, 2022) ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันส่งผลต่อการเพิ่มการสะสมลิพิดและคุณลักษณะทางจลนพลศาสตร์ของการเจริญเติบโต การสะสมไขมัน รวมถึงองค์ประกอบของกรดไขมัน (Sajjadi *et al.*, 2018)

2.8.4 ความเค็ม

ความเค็ม (Salinity) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของไซยาโนแบคทีเรีย ความเค็มยังส่งผลต่อการแลกเปลี่ยนสารระหว่างภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ หากมีความเข้มข้นของเกลือในอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำกว่าความเข้มข้นของเกลือภายในเซลล์ ส่งผลให้เกิดแรงดันออสโมติกสูงและทำให้เกิดการสร้างแรงดัน Turgor ที่เป็นแรงดันที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ซึ่งดันให้เซลล์เต่งและทำให้เกิดความเครียดจากแรงดันออสโมติกและความเครียดจากความเค็ม (Sajjadi *et al.*, 2018) ในทางกลับกันความเครียดจากความเค็มที่เกิดขึ้นเป็นกลไกที่ช่วยในการกระตุ้นการผลิตและการสะสมลิพิด โดยความเครียดจากความเค็มของเกลือ NaCl 1.0 กรัมต่อลิตร ช่วยกระตุ้นให้เกิดการผลิตลิพิดเพิ่มขึ้นถึง 23.4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งในสาหร่ายขนาดเล็ก (Chen *et al.*, 2017) การใช้กลยุทธ์ความเครียดจากความเค็มจำเป็นต้องควบคุมความเข้มข้นของเกลือให้เหมาะสมที่ช่วยกระตุ้นการผลิตลิพิด เนื่องจากในระดับความเข้มข้นของเกลือที่สูงมากเกินไปอาจส่งผลให้เกิดการทำลายเซลล์ เนื่องจากเซลล์แตกจากแรงดัน ในบางกรณีอาจส่งผลให้เกิดการสะสมลิพิดมากขึ้น แต่ปริมาณลิพิดที่เยื่อหุ้มเซลล์ลดลง ซึ่งเกิดจากความเครียดจากความเค็มที่มากเกินไปส่งผลต่อการไหลของเมมเบรนและการซึมผ่านบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ การแก้ไขปัญหาดังกล่าวสามารถทำได้โดยการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียในอาหารที่ปราศจากเกลือหรือความเข้มข้นของเกลือปานกลาง เพื่อให้เซลล์เกิดการสร้างชีวมวลให้สูงมากพอในระยะแรก จากนั้นจึงกระตุ้นการผลิตลิพิดโดยการใช้อาหารที่มีปริมาณความเข้มข้นสูงขึ้นในระยะที่ 2 อย่างไรก็ตามความสามารถในการทนต่อความเครียดจากความเค็มในไซยาโนแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์นั้นมีความแตกต่างกัน

2.8.5 อุณหภูมิ

อุณหภูมิ (Temperature) เป็นปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย รวมถึงส่งผลต่อกลไกการเกิดปฏิกิริยาภายในเซลล์ เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรียไม่มีกลไกการควบคุมอุณหภูมิในเซลล์ (ณัฐริกา และคณะ, 2560) การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียในระบบเปิด (Open system) หรือการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิอย่างคงที่ จะส่งผลให้อุณหภูมิจากสภาพแวดล้อมเกิดการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาและส่งผลต่อสภาวะการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงตลอดเวลาจากสภาวะแวดล้อมอาจส่งผลให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์ไซยาโนแบคทีเรียที่เรียเกิดจากความเครียด และเกิดการสะสมลิพิดเพิ่มขึ้น แต่ในบางกรณีอาจเกิดการยับยั้งการสะสมลิพิดภายในเซลล์ได้อีกด้วย ไซยาโนแบคทีเรียที่มีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตที่กว้าง โดยสามารถเจริญในช่วง 15-30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับไซยาโนแบคทีเรียจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และมีผลร่วมกับปัจจัยในการเพาะเลี้ยงในด้านอื่นๆ ร่วมด้วย (Sajjadi *et al.*, 2018)

2.8.6 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็นปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย เนื่องจากเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมและการดูดซึมสารอาหารภายในเซลล์ (พงษ์ไพฑ, 2560; Sajjadi *et al.*, 2018) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ หากมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อมาก จะส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารลดลง โดยในช่วงเวลากลางวันหรือช่วงที่มีแสงเพียงพอสำหรับการสังเคราะห์แสง ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารจะสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากกระบวนการสังเคราะห์แสงจะมีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง อย่างไรก็ตาม ในสภาวะที่ไม่มีแสงหรือตอนกลางคืน ค่าความเป็นกรด-ด่างจะลดลง เนื่องจากเกิดกระบวนการหายใจแบบย้อนกลับ (Respiration reverse) (Sajjadi *et al.*, 2018) โดยปกติแล้ว ไซยาโนแบคทีเรียจะเจริญเติบโตและสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุดในช่วงความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน แต่ส่วนใหญ่จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7-9 (พงษ์ไพฑ, 2560; Sajjadi *et al.*, 2018)

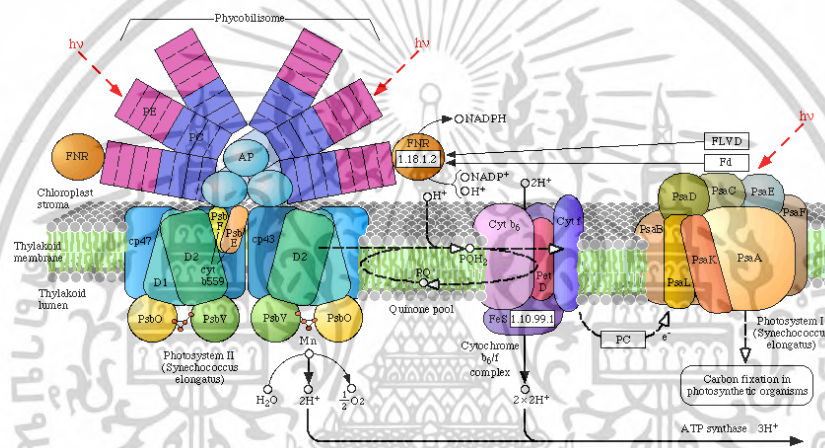
2.8.7 แสง

แสง (Light) เป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสงของไซยาโนแบคทีเรีย ไซยาโนแบคทีเรียใช้รงควัตถุเพื่อเปลี่ยนพลังงานจากแสงให้เป็นพลังงานเคมี และชีวมวลเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับพืช (ณัฐริกา และคณะ, 2560) ไซยาโนแบคทีเรียใช้แสงที่มีความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร สำหรับสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนั้น การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียควรเลือกใช้ความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ปริมาณชีวมวลและปริมาณลิพิดที่สูงที่สุด ไซยาโนแบคทีเรียมีคลอโรฟิลล์ เอ เป็นรงควัตถุหลักในการสังเคราะห์แสง ซึ่งมีความไวต่อความยาวคลื่นแสงสีน้ำเงินและแสงสีแดงมากที่สุด ส่งผลให้ไซยาโนแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในความยาวคลื่นแสงสีน้ำเงินและสีแดงมีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตลิพิดสูง (Sajjadi *et al.*, 2018)

ไซยาโนแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ประเภท Oxygenic photosynthetic bacteria ที่สามารถสังเคราะห์แสงได้โดยใช้คลอโรฟิลล์ เอ และมีบทบาทสำคัญในการรักษาสมดุลธรรมชาติ โดยเกี่ยวข้องกับวัฏจักรของธาตุไนโตรเจนและคาร์บอน อีกทั้งยังปล่อยออกซิเจนสู่สิ่งแวดล้อมผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่แบคทีเรียทั่วไปไม่มี (ยูวดี, 2549) ไซยาโนแบคทีเรียมีโครงสร้างได้หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นเซลล์เดี่ยว กลุ่มเซลล์ หรืออยู่ในรูปเส้นสาย ภายในเซลล์ ไม่มีออร์แกเนลล์ เช่น ไมโทคอนเดรีย นิวเคลียส กอลจิแอปพาราตัส เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม และแวคิวโอล โดยมี ดีเอ็นเอลอยอยู่บริเวณศูนย์กลางของเซลล์ที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (Vanden Hoek *et al.*, 1995) นอกจากนี้ ไซยาโนแบคทีเรียไม่มีโครงสร้างของคลอโรพลาสต์ที่ชัดเจน แต่มีไทลาคอยด์ที่กระจายอยู่เป็นอิสระภายในเซลล์ ไม่มีเยื่อหุ้ม และไม่ได้เรียงตัวเป็นชั้น พบได้ทั่วไปในเซลล์หรือรอบนอกของเซลล์ บริเวณที่มีรงควัตถุเหล่านี้ถูกรวมเรียกว่า โครโมพลาสซึม (Chromoplasm) ไทลาคอยด์เป็นแหล่งที่อยู่ของคลอโรฟิลล์ เอ ในขณะที่ไฟโคบิลิโปรตีนจะอยู่บนผิวของไทลาคอยด์ในรูปของเม็ดเล็ก ๆ ซึ่งเรียกว่า ไฟโคบิลิโซม (รูปที่ 2.10) (ยูวดี, 2546)



รูปที่ 2.10 แบบจำลองโครงสร้างของไฟโคบิลิโซม และการถ่ายทอดอิเล็กตรอนใน Photosystem ที่มา : <https://www.chm.bris.ac.uk/motm/oec/backup/motm.htm>

2.8.7.1 รงควัตถุในไซยาโนแบคทีเรีย

รงควัตถุที่พบในไซยาโนแบคทีเรียสามารถจำแนกได้เป็น 3 ชนิดใหญ่ๆ ดังนี้

1 คลอโรฟิลล์

คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) เป็นรงควัตถุสีเขียวที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสงของไซยาโนแบคทีเรีย โดยคลอโรฟิลล์สามารถดูดกลืนแสงในช่วงแสงสีน้ำเงินและแสงสีแดงได้ดี แต่มีประสิทธิภาพต่ำในการดูดกลืนแสงสีเหลืองและสีเขียว คลอโรฟิลล์ เอ เป็นรงควัตถุหลักที่พบได้ในแพลงก์ตอนพืชและสาหร่ายทุกชนิด เนื่องจากทำหน้าที่เป็นรงควัตถุสำหรับกระบวนการสังเคราะห์แสงขั้นต้น (Primary photosynthetic pigment) นอกจากคลอโรฟิลล์ เอ แล้ว สาหร่ายบางชนิดอาจมีคลอโรฟิลล์ชนิดอื่นๆ เช่น คลอโรฟิลล์ บี ซี ดี และ อี ซึ่งจัดเป็นรงควัตถุที่มีบทบาทใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการสังเคราะห์แสงขั้นที่สอง (Secondary photosynthetic pigment) โดยทำหน้าที่รับพลังงานแสงแล้วส่งต่อไปยังคลอโรฟิลล์ เอ (Lawlor, 1987)

2 แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เป็นรงควัตถุที่พบได้ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสง ทำหน้าที่ช่วยรับพลังงานเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง อีกทั้งยังมีบทบาทในการป้องกันอันตรายจากแสง โครงสร้างหลักของแคโรทีนอยด์เป็นสายไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอน 40 อะตอม โดยสามารถจำแนกออกเป็นสองกลุ่มหลัก คือ แคโรทีนอยด์ และ แซนโทฟิลล์ (Britton, 1996)

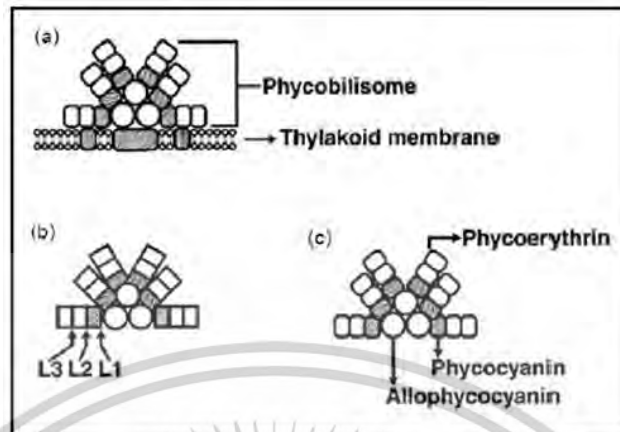
3 ไฟโคบิลิโปรตีน (Phycobiliprotein)

ไฟโคบิลิโปรตีนเป็นรงควัตถุที่พบได้มากในไซยาโนแบคทีเรีย มีลักษณะเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนกับรงควัตถุ ซึ่งมีโครงสร้างแบบเตตระไพโรล โดยรงควัตถุชนิดนี้จะรวมตัวกันเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า ไฟโคบิลิโซม (Phycobilisome, PBS) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ไฟโคบิลิโซมเป็นกลุ่มของไฟโคบิลิโปรตีนที่ทำหน้าที่ดูดกลืนแสงในช่วงที่คลอโรฟิลล์ดูดกลืนแสงได้ต่ำ และช่วยถ่ายทอดพลังงานจากการสังเคราะห์แสงในระบบแสง 2 (PSII) ไปยัง คลอโรฟิลล์ เอ ในระบบแสง 1 (PSI) โครงสร้างของไฟโคบิลิโซมอยู่บนผิวของเยื่อไทลาคอยด์ (Thylakoid membrane) (รูปที่ 2.11a) โดยประกอบด้วย 2 หน่วยย่อยหลัก ได้แก่ ไฟโคบิลิโปรตีน (Phycobiliprotein: PBPs) และสายโพลิเพปไทด์เชื่อมโยง (Linker polypeptide) (รูปที่ 2.11)

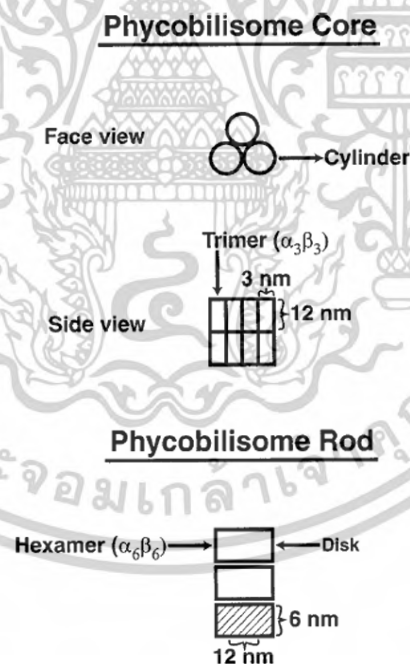
โครงสร้างของไฟโคบิลิโซมเป็นแบบโอลิโกเมอร์ (Oligomer) โดยมีองค์ประกอบพื้นฐานที่เล็กและเสถียรที่สุดคือ ไตรเมอร์ (Trimer) ($\alpha\beta$)₃ ซึ่งรวมกันเป็นเฮกซะเมอร์ (Hexamer) โดยเฮกซะเมอร์จะเรียงตัวเป็นโครงสร้างรูป Disc คู่ที่ประกบติดกัน (Brown *et al.*, 1979) ไฟโคบิลิโซมพบได้ในไซยาโนแบคทีเรีย สาหร่ายสีแดง และสาหร่ายในกลุ่มคริปโตโมแนดบางชนิด โครงสร้างของไฟโคบิลิโซมแบ่งออกเป็น 2 ส่วนหลัก ได้แก่ เซลล์รูปกรวย (Core) มีลักษณะกว้างและแบน หรืออาจเรียกว่าแบบ Hemidiscoidal (รูปที่ 2.12) (Gantt, 1981) เซลล์รูปทรงกระบอก (Rod) มีรูปทรงกระบอกโดยจำนวนของเซลล์รูปกรวย (Core) และเซลล์รูปทรงกระบอก (Rod) จะแตกต่างกันไปในแต่ละสิ่งมีชีวิต ในไซยาโนแบคทีเรียส่วนใหญ่ จะพบเซลล์รูปกรวยจำนวน 3 แห่ง (Tricylindrical) และเซลล์รูปทรงกระบอกจำนวน 6 แห่ง (MacColl, 1998) โครงสร้างเซลล์รูปกรวยประกอบด้วยไฟโคบิลิโปรตีนชนิดอัลโลไฟโคไซยานิน (Allophycocyanin, APC) ที่มีโครงสร้างเป็น Trimer ($\alpha\beta$)₃ ส่วนเซลล์รูปทรงกระบอกประกอบด้วยไฟโคไซยานิน (Phycocyanin, PC) และ ไฟโคอิริทริน (Phycoerythrin, PE) ซึ่งเรียงตัวกันเป็นรูปทรงกระบอก โดยที่ไฟโคไซยานินจะอยู่ใกล้กับเซลล์รูปกรวย โครงสร้างแบบจานนี้เกิดจาก Hexamer ($\alpha\beta$)₃ ที่เรียงตัวต่อกัน (Gingrich *et al.*, 1983) (รูปที่ 2.11c และ 2.12) ในกระบวนการถ่ายทอดพลังงานภายใน PSII พลังงานจะถูกถ่ายทอดจากไฟโคอิริท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รินไปยังไฟโคไซยานินและอัลโลไฟโคไซยานิน ก่อนเข้าสู่ คอลโรฟิลล์ เอ ใน PSI (Viskari and Colyer, 2003)



รูปที่ 2.11 แบบจำลองการจัดเรียงตัวของไฟโคบิลิโซม โดยแสดงการเชื่อมต่อระหว่างไฟโคบิลิโซมกับ Thylakoid membrane (a) L1, L2, L3 แสดงตำแหน่งที่อยู่ของ Linker polypeptide (b) และแสดงการจัดเรียงตัวขององค์ประกอบหลักในไฟโคบิลิโซม (c)
ที่มา : Hanzawa *et al.* (2002); Fukui *et al.* (2004)



รูปที่ 2.12 ไฟโคบิลิโปรตีนส่วนเซลล์รูปกรวย (Core) และเซลล์รูปทรงกระบอก (Rod) ในไฟโคบิลิโซม
ที่มา : MacColl (1998)

ไฟโคบิลิโปรตีนเป็นรงควัตถุที่พบในปริมาณมากในไซยาโนแบคทีเรีย และยังพบได้บ้างในสาหร่ายสีแดง ปริมาณของไฟโคบิลิโปรตีนในเซลล์มีความแตกต่างกันตามชนิดของสิ่งมีชีวิตและ
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น มิใช่เพื่อเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการผลิตของสาหร่าย รวมถึงสภาวะแวดล้อม เช่น ความเข้มข้นของแสง คุณภาพของแสง (ความยาวคลื่น) อุณหภูมิ และปริมาณสารอาหาร เป็นต้น ในปัจจุบัน ผลิตภัณฑ์หลักของไฟโคบิลิโปรตีนที่มีจำหน่ายในตลาด ได้แก่ ไฟโคไซยานินจากไซยาโนแบคทีเรีย *Spirulina* sp. และ ไฟโคอิริทรินจากสาหร่ายสีแดง *Porphyridium* sp. โดยขั้นตอนการเพาะเลี้ยง *Porphyridium* spp. เพื่อสกัดไฟโคอิริทรินให้ได้ปริมาณสูง มักจะใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพในการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นระบบปิดมากกว่าการเพาะเลี้ยงแบบเปิด โดยเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงจากแสงอาทิตย์หรือแสงไฟที่มีความเข้มข้นต่ำ และอุณหภูมิต่ำ (Dufossé *et al.*, 2005)

2.9 กระบวนการสกัดลิพิดในไซยาโนแบคทีเรีย

การสกัดลิพิด การวิเคราะห์ปริมาณลิพิดและกรดไขมันของไซยาโนแบคทีเรียแตกต่างจากน้ำมันพืชและอาหาร เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรียมีผนังเซลล์ที่แข็งแรงและมีความหลากหลายของชั้นลิพิดและกรดไขมัน (Breuer *et al.*, 2013; Brown and Sharpe, 2016) โดยต้องใช้วิธีการที่เฉพาะเพื่อทำลายผนังเซลล์และปล่อยลิพิดออกมา วิธีการสกัดลิพิดมีทั้งแบบดั้งเดิมที่วิเคราะห์โดยวิธีของ Bligh and Dyer (1959) และ Folch (1957) ซึ่งใช้ส่วนผสมของคลอโรฟอร์มและเมทานอลเพื่อปลดปล่อยลิพิดทุกชนิด อย่างไรก็ตาม อาจใช้วิธีการต่างๆ ในการทำลายเซลล์ร่วมกับการใช้ตัวทำละลาย (Breuer *et al.*, 2013; Ryckebosch *et al.*, 2014; D'oca *et al.*, 2011) การสกัดของลิพิดประเภทต่างๆ อาจแตกต่างกันไปตามวิธีการสกัดและส่งผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมันที่ได้ ในการสกัดลิพิดควรใช้เวลาที่รวดเร็วและใช้สภาวะที่ไม่รุนแรง เพื่อลดการเสื่อมสภาพของลิพิดและเพิ่มความเป็นไปได้ในเชิงเศรษฐกิจ (Chisti, 2007; Grima *et al.*, 2003; Greenwell *et al.*, 2010) การสกัดจะเริ่มต้นจากการทำลายผนังเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรีย จากนั้น จึงสกัดลิพิดภายในเซลล์ด้วยวิธีต่างๆ มีรายงานการศึกษาการปรับปรุงกระบวนการสกัดและการเพิ่มการสกัดลิพิดให้ได้ปริมาณสูงสุดด้วยต้นทุนที่ต่ำลง (Kim *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2014) วิธีการที่ใช้สำหรับการสกัดลิพิดจากไซยาโนแบคทีเรียแยกตามลำดับขั้นตอน จนถึงการจัดด้วยตัวทำละลายตกค้างแสดงดังตารางที่ 2.1

2.9.1 วิธีการสกัดลิพิด

ผลผลิตของปริมาณลิพิดจะขึ้นอยู่กับทางเลือกวิธีการสกัดลิพิด ปริมาณของลิพิดที่สกัดได้ขึ้นกับปัจจัยในการละลายของกรดไขมันและความสามารถของตัวทำละลายในการแทรกซึมเยื่อหุ้มเซลล์ (ทำลายผนังเซลล์ด้วยวิธีการแตกเซลล์) การสกัดลิพิดแต่ละวิธี ควรใช้เวลาอย่างรวดเร็วสามารถขยายระดับกระบวนการได้และไม่ทำลายผลิตภัณฑ์ชีวภาพอื่นๆ (Brennan and Owende, 2010; Dong *et al.*, 2016; Mubarak *et al.*, 2015; Pragma *et al.*, 2013) ในระหว่างการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิพิดจะถูกสกัดออกจากเซลล์โดยตัวทำละลาย จากนั้น จึงแยกลิพิดออกจาก เซลล์ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และน้ำที่เหลือสุดท้าย

ตารางที่ 2.1 วิธีการที่ใช้สำหรับกระบวนการสกัดลิพิดจากไซยาโนแบคทีเรีย

ที่มา : Menegazzo and Fonseca (2019)

กระบวนการ	วิธีการ
การแตกเซลล์ (Disrupt cell method)	Ultrasound
	High-pressure homogenization
	Pressing
	Ball mill
	Microwave
	Osmotic shock
	Enzymatic breakdown
กระบวนการทำแห้ง (Dry process)	Solar drying
	Spray drying
	Freeze drying
วิธีการสกัดลิพิด (Extraction lipids method)	Organic solvent
	Super critic fluid
	Sohxlet
การกำจัดเศษเซลล์ (Removal of cellular debris)	Filtration
	Centrifugation
การกำจัดตัวทำละลาย (Removal of solvent)	Distillation
	Vacuum evaporation
	Adsorption column

นอกจากนี้ การทำลายเซลล์ทำให้เกิดการกระจายของเศษเซลล์ที่มีขนาดอนุภาคต่างๆ ซึ่งจำเป็นต้องกำจัดออก การกำจัดดังกล่าวสามารถทำได้โดยใช้เทคนิคการแยกทั่วไป ได้แก่ การกรอง และการหมุนเหวี่ยง (Halim *et al.*, 2012) ตัวทำละลายที่ผสมอยู่ในลิพิดที่สกัดสามารถแยกได้ด้วยวิธีการกลั่น การระเหยด้วยสูญญากาศ หรือการใช้เทคนิคการดูดซับด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase absorption) และมักมีการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่อีกครั้ง ในกรณีที่มีการปนเปื้อนตัวทำละลายที่ใช้ในระหว่างกระบวนการสกัดลิพิด มวลชีวภาพที่เหลืออาจไม่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้สำหรับเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบริโภคของสัตว์ จึงจำเป็นต้องมีกระบวนการกลั่นเพื่อกำจัดตัวทำละลายนี้ออกจากมวลชีวภาพ (Zhang *et al.*, 2015) วิธีการที่ใช้ตัวทำละลายมักใช้ควบคู่ไปกับวิธีการทำลายเซลล์ด้วยวิธีอื่นๆ การสกัดลึงพิดสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ การสกัดลึงพิดด้วยสารเคมีหรือตัวทำละลาย และการสกัดลึงพิดด้วยกระบวนการทางกล ดังนี้

2.9.1.1 วิธีการสกัดลึงพิดทางเคมี

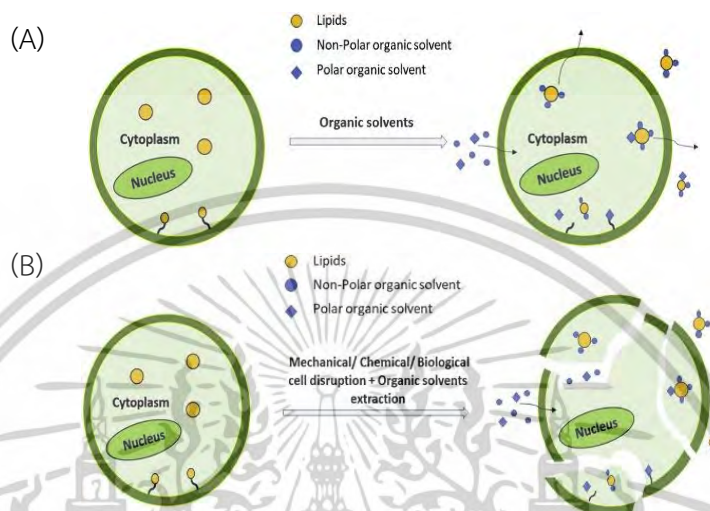
การใช้ตัวทำละลายกับมวลชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรียใช้น้ใช้กันอย่างมากในการสกัดสารเมตาโบไลต์ต่างๆ เช่น แอสต้าแซนทิน (Astaxanthin) เบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) และไขมัน (Lipid) ฯลฯ ตัวทำละลายอินทรีย์อาจแยกชั้นของลึงพิดที่แตกต่างกันตามชนิดของขั้วของลึงพิด โดยอาศัยหลักการพื้นฐาน “สารจะละลายสารที่คล้ายกัน (Like dissolves like)” ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วทั่วไป ได้แก่ เฮกเซน เบนซีน โทลูอีน ไดเอทิลอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และตัวทำละลายที่มีขั้ว ได้แก่ เมทานอล อะซีโตน เอทิลอะซิเตท และเอทานอล จะแสดงขั้วของตัวทำละลายและชนิดของชั้นลึงพิดที่สามารถปลดปล่อยลึงพิดออกมาได้ ด้วยขั้วของตัวทำละลายที่เพิ่มขึ้น และการใช้สารผสมของตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วและตัวทำละลายมีขั้วอาจเพิ่มผลผลิตของลึงพิดได้ (Byreddy *et al.*, 2015; D’oca *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2014) ลึงพิดบางชนิดพบได้ในไซโตพลาสซึม บางชนิดเป็นลึงพิดเชิงซ้อนที่จับกับโปรตีนด้วยพันธะไฮโดรเจนในเยื่อหุ้มเซลล์ ปฏิกริยาของแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals) ที่เกิดขึ้นระหว่างตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วกับลึงพิดที่เป็นกลางในคอมเพล็กซ์นั้นไม่เพียงพอต่อการทำลายพันธะของลึงพิดและโปรตีนที่เยื่อหุ้มเซลล์ แต่ตัวทำละลายที่มีขั้วสามารถทำลายพันธะโดยการปล่อยลึงพิดที่มีขั้วออก (รูปที่ 2.13) การใช้ตัวทำละลายผสมจะมีประโยชน์ในการแยกลึงพิดทั้งหมด ซึ่งเป็นแนวทางที่นิยมการหาปริมาณของลึงพิดทั้งหมด เช่น วิธีดั้งเดิมของ Bligh and Dyer (1959) ใช้ส่วนผสมของตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม เมทานอล และน้ำ วิธีของ Folch และคณะ (1957) ใช้ส่วนผสมของคลอโรฟอร์มและเมทานอล นอกจากนี้ วิธีการสกัดลึงพิดด้วยตัวทำละลายอาจใช้อัลตราซาวนด์และไมโครเวฟร่วมด้วย โดยทำให้ใช้เวลาเร็วขึ้นและได้ผลผลิตสูงขึ้น (Halim *et al.*, 2012; Ryckebosch *et al.*, 2014) (รูปที่ 2.13) การศึกษาวิธีการสกัดลึงพิดที่เหมาะสม (แบบมีขั้ว ไม่มีขั้ว หรือทั้งสองอย่าง) นั้นมีความจำเพาะเจาะจงกับไซยาโนแบคทีเรียแต่ละชนิด รวมถึงสภาวะการเพาะเลี้ยง คุณสมบัติของชีวโมเลกุล ตลอดจนปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการต่างๆ ในเซลล์

1 วิธีการของโฟลค์ (Folch method) (Folch *et al.*, 1957)

วิธีการนี้เป็นเทคนิคการสกัดลึงพิดที่ได้รับความนิยมมากที่สุด ซึ่งตัวทำละลายจะใช้เพื่อให้เซลล์เป็นเนื้อเดียวกัน (Axelsson and Gentili, 2014) โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิดหรือใช้ของผสมของตัวทำละลายชนิดต่างๆ เพื่อแยกลึงพิดออกจากไซยาโนแบคทีเรีย อัตราส่วนผสมที่ใช้คือคลอโรฟอร์มและเมทานอลในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 โดยใช้ปริมาตรตัวทำละลาย 20 เท่า ของปริมาตรของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย (ตัวอย่าง 10 กรัม ในส่วนผสมตัวทำละลาย 200 มิลลิลิตร) (Lee *et al.*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2010) หลังจากเติมตัวอย่างลงในตัวทำละลายผสมแล้ว ส่วนผสมทั้งหมดจะถูกเขย่าเบาๆ (ประมาณ 20-25 นาที) ตามด้วยการปั่นเหวี่ยงหรือการกรอง (ด้วยกรวยและกระดาษกรองแบบพับ) เพื่อแยกชั้นที่เป็นของเหลวออกมา (Zhang *et al.*, 2015) ในการสกัดลิพิดอาจใช้ไดคลอโรมีเทนแทนคลอโรฟอร์มได้ (Wyatt *et al.*, 2012) ข้อดีของวิธีการนี้คือ สามารถสกัดตัวอย่างในปริมาณมากอย่างรวดเร็วและง่าย



รูปที่ 2.13 การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยตรง (A) และการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ร่วมกับการแตกเซลล์ (วิธีการทางกายภาพ เคมี หรือชีวภาพ) (B)

ที่มา : Sati *et al.* (2019)

2 วิธีของบลิทท์และไดเออร์ (Bligh and Dyer method) (Bligh and Dyer, 1959)

วิธีนี้ค่อนข้างคล้ายกับวิธีของ Folch แต่จะแตกต่างกันในอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อเนื้อเยื่อ ในวิธีนี้ โปรตีนจากตัวอย่างจะตกตะกอนระหว่างชั้นของลิพิด ทั้งการแยกลิพิดและการแบ่งส่วนสามารถทำให้เสร็จพร้อมกันได้ การรวมกันของตัวทำละลายยังสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามขั้วของลิพิดที่มีอยู่ในไซยาโนแบคทีเรีย นอกเหนือจากวิธีหลักของ Bligh and Dyer แล้ว นักวิจัยยังได้ปรับเปลี่ยนวิธีการตามสถานการณ์และสภาวะของห้องปฏิบัติการอีกด้วย เช่น แทนที่น้ำด้วยสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ เพื่อให้สามารถหลีกเลี่ยงการเกาะติดของ Acidic lipids กับ Denatured-lipids (Roselet *et al.*, 2016) จากขั้นตอนการสกัดที่ผ่านมา เป็นที่ทราบกันดีว่าการเติมสารละลายเกลือจะทำให้ผลผลิตของลิพิดดีขึ้นจากการใช้เวลาในการแยกสารที่น้อยลง ในทำนองเดียวกัน การเพิ่มกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ลงในชั้นของน้ำช่วยปรับปรุงการดึงกรดของฟอสโฟลิพิด (Phospholipid) ต่อมา Hara และ Radin (1978) ได้ทำการปรับเปลี่ยนตัวทำละลายที่ใช้ในขั้นตอนของ Bligh and Dyer และพบว่าตัวทำละลายคลอโรฟอร์มเป็นสารพิษและเปลี่ยนระบบตัวทำละลายเป็นเฮกเซน-ไอโซโพรพานอล แต่พบว่าประสิทธิภาพการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดลิพิดลดลง ต่อมา นักวิจัยได้เปลี่ยนตัวทำละลายจากคลอโรฟอร์ม-เมทานอลเป็นส่วนผสมของเฮปแทนและเอทิลอะซีเตท (Sheng *et al.*, 2011) การเติมโซเดียมคลอไรด์ 1 โมลาร์แทนน้ำ ช่วยป้องกันการจับตัวของไขมันที่เป็นกรดกับไขมันที่เสียสภาพ ข้อดีและข้อเสียของวิธี Bligh and Dyer เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดของ Folch แสดงดังตารางที่ 2.2

3 การสกัดลิพิดโดยใช้เครื่องซอกซ์เลต (Soxhlet Extraction) (Krishan *et al.*, 2014)

การสกัดลิพิดด้วยตัวทำละลายโดยใช้อุปกรณ์ Soxhlet (1879) เป็นเทคนิคที่เก่าแก่มาก โดยมีพื้นฐานมาจากการสกัดของแข็งและของเหลว ซึ่งการสกัดตัวทำละลาย การระเหย และการควบแน่นทำให้สัมผัสกับมวลชีวภาพตลอดเวลา (Halim *et al.*, 2012; Mubarak *et al.*, 2015) ในไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด วิธีการนี้มีประสิทธิภาพสูงเมื่อใช้ควบคู่กับวิธีการทำลายเซลล์ การสกัดวิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้ความร้อน ดังนั้นจึงอาจเกิดการเสื่อมสภาพของลิพิดและกรดไขมันที่มีอยู่ในไซยาโนแบคทีเรียได้ การขยายขนาดการสกัดทำได้ยาก เนื่องจากอุปกรณ์มีความซับซ้อน (Kim *et al.*, 2013 ; Soxhlet, 1879) ใช้ตัวทำละลายที่มีราคาไม่แพง ตัวทำละลายสามารถระเหยและนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ตัวทำละลายมีความเป็นพิษต่ำ บริสุทธิ์ และไม่ผสมน้ำ ผลผลิตลิพิดจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้

4 การสกัดลิพิดขั้นตอนเดียว (Single-step procedure) (Axelsson and Gentili, 2014)

วิธีการนี้เป็นวิธีที่พัฒนามาเพื่อสกัดลิพิดทั้งหมดจากไซยาโนแบคทีเรียด้วยขั้นตอนเดียว วิธีการสกัดลิพิดขั้นตอนเดียวพัฒนามาจากวิธีการของ Folch และคณะ (1957) และเป็นวิธีที่ให้ปริมาณลิพิดทั้งหมดสูงสุด วิธีการสกัดไขมันในขั้นตอนเดียวมีขั้นตอนดังนี้ ใช้ตัวอย่าง 20-30 มิลลิกรัม น้ำหนักแห้งหรือตัวอย่างสาหร่าย 200-300 มิลลิกรัม น้ำหนักเปียก มาเติมตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม-เมทานอล ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 8 มิลลิลิตร หลังจากนั้น เติมนสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.73 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที แล้วเก็บส่วนที่อยู่ด้านล่างไปวิเคราะห์ปริมาณลิพิดทั้งหมดต่อไป วิธีการสกัดลิพิดขั้นตอนเดียวเป็นวิธีการที่รวดเร็ว สามารถสกัดลิพิดจากไซยาโนแบคทีเรียได้หลายตัวอย่างพร้อมกัน อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ ต้องสกัดตัวอย่างซ้ำอย่างน้อย 5 ครั้ง

2.9.1.2 วิธีการสกัดลิพิดทางกายภาพ

วิธีการสกัดลิพิดทางกายภาพใช้เทคนิคการแตกเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียเพื่อปลดปล่อยลิพิดที่เก็บไว้ในเซลล์ของสาหร่าย แม้ว่าวิธีการนี้จะยังไม่ได้รับการพัฒนาอย่างเต็มที่ แต่การสกัดแบบปราศจากตัวทำละลายถือเป็นเทคนิคที่มีแนวโน้มที่ดีสำหรับการผลิตระดับอุตสาหกรรมของไขมัน (Naghdi *et al.*, 2016) วิธีการสกัดลิพิดทางกายภาพเป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพและน่าเชื่อถือ เนื่องจากไม่ขึ้นอยู่กับชนิดของไซยาโนแบคทีเรีย นอกจากนี้ การที่ไม่ใช้ตัวทำละลายจะลดอันตรายจากการปนเปื้อนลดลงอย่างมาก (Kumar *et al.*, 2015) อย่างไรก็ตาม ความร้อนที่ใช้ในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เร่งกระบวนการอาจทำให้ลิปิดที่สกัดออกมาเสียหาย ดังนั้น จึงจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ทำความเย็นซึ่งส่งผลให้ต้นทุนมีราคาสูงขึ้น (Kumar *et al.*, 2015)

ตารางที่ 2.2 หลักการ ข้อได้เปรียบและข้อเสียเปรียบของวิธีการสกัดไขมันด้วยวิธีการ Folch และ Bligh and Dyer

ที่มา : Enamala *et al.* (2018)

วิธีการ	หลักการ	ข้อได้เปรียบ	ข้อเสียเปรียบ	เอกสารอ้างอิง
Folch Method	เป็นการวิเคราะห์ปริมาณลิปิดโดยน้ำหนัก โดยสกัดด้วยตัวทำละลาย 1 ขั้นตอน ด้วยส่วนผสมของน้ำและคลอโรฟอร์ม:เมทานอล (2:1) ตามด้วยการล้างด้วย KCl 0.9 เปอร์เซ็นต์	- เป็นวิธีการมาตรฐานที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ลิปิด	- คลอโรฟอร์มมีผลต่อสิ่งแวดล้อม - มีวิธีการที่ยุ่งยาก เช่น การกรอง (Filtration) ฯลฯ	Harino <i>et al.</i> , (2000); Kondo <i>et al.</i> , (2005); Rinchard <i>et al.</i> , (2007); Nanton <i>et al.</i> , (2007)
Bligh and Dyer Method	เป็นการวิเคราะห์ปริมาณลิปิดด้วยการชั่งน้ำหนัก โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ขั้นตอน: (1) เมทานอล และคลอโรฟอร์ม (2) คลอโรฟอร์ม (3) น้ำถูกเติมลงในเนื้อเยื่อ หลังจากการแยกชั้น จะวิเคราะห์ไขมันทั้งหมดในชั้นของคลอโรฟอร์มโดยการระเหยของตัวทำละลาย	- เป็นวิธีการมาตรฐานที่ง่ายและสามารถตรวจสอบปริมาณทั้งหมดของลิปิดได้ - สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้โดยตรงโดยไม่ต้องผ่านการทำแห้งก่อน - ใช้วิเคราะห์เพิ่มเติม	- คลอโรฟอร์มมีผลต่อสิ่งแวดล้อม - มีวิธีการที่ยุ่งยาก ใช้แรงงานมาก เช่น การกรอง (Filtration) ฯลฯ	Schulz and Hayton (1994); Yakata <i>et al.</i> (2006); Widenfalk <i>et al.</i> , (2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การสกัดด้วยอัลตราโซนิก (Ultrasonication extraction)

กระบวนการอัลตราโซนิกเคชัน (Ultrasonication) เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านของคลื่นเสียงซึ่งแพร่กระจายไปในของเหลว ส่งผลให้เกิดแรงดันต่ำและสูงสลับกัน ฟองที่เกิดขึ้นจะมีขนาดเฉพาะและยุบลงอย่างรวดเร็ว กระบวนการนี้เรียกว่า คาวิเทชัน (Cavitation) (Japar *et al.*, 2017) ในระหว่างกระบวนการเกิดโพรงอากาศ จะเกิดฟองขนาดเล็กขึ้น ดังนั้น จึงใช้วิธีอัลตราซาวนด์ในการทำลายองค์ประกอบของไซยาโนแบคทีเรีย ประโยชน์ของการใช้วิธีอัลตราโซนิกเคชันคือ การใช้อุณหภูมิต่ำในการทำลายผนังเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับอุปกรณ์สร้างความร้อน เช่น หมอหนึ่งความดัน เตาอบ ไมโครเวฟ เป็นต้น (Japar *et al.*, 2017) วิธีการนี้สามารถใช้ได้ง่าย ประหยัด เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และสามารถเร่งกระบวนการได้ภายในระยะเวลาสั้นๆ (Wan *et al.*, 2013) นอกจากนี้ เทคนิคนี้ไม่เกี่ยวข้องกับสารเคมีหรืออื่นๆ ที่ต้องถูกกำจัดออกไปในภายหลัง การกำจัดส่วนประกอบเหล่านี้ทำให้ต้นทุนและการใช้พลังงานสูงขึ้น การสกัดด้วยอัลตราซาวนด์โดยทั่วไป จะใช้ความถี่ 20-100 กิโลเฮิร์ตซ์ โดยสำหรับแต่ละชนิดจะมีความต้านทานต่อการแตกเซลล์และขนาดเซลล์ที่แตกต่างกัน (Wan *et al.*, 2013)

2. การสกัดด้วยไมโครเวฟ (Microwave extraction)

การสกัดด้วยไมโครเวฟ เป็นการทำให้องค์ประกอบที่มีชีวของชีวมวลไซยาโนแบคทีเรียร้อนขึ้น คลื่นที่ใช้ส่วนใหญ่จะอยู่ที่ความถี่ระหว่าง 0.3-300 กิโลเฮิร์ตซ์ ซึ่งส่งต่อสารประกอบที่มีชีว เช่น โมเลกุลของน้ำ ดังนั้น วิธีการนี้จึงเหมาะสมในการสกัดลิพิดจากชีวมวลแบบเปียก โดยใช้ตัวทำละลายเคมีน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยสารเคมี Iqbal และ Theegala ในปี ค.ศ. 2013 รายงานผลการสกัดลิพิดพบว่า วิธีการนี้ให้ผลผลิตลิพิดที่ดีขึ้นสำหรับการผลิตไบโอดีเซล เมื่อเทียบกับการใช้ตัวทำละลายที่เป็นพิษแบบดั้งเดิมอื่นๆ ที่ใช้ในวิธีการสกัดลิพิดทางเคมี Ganzler และคณะ (1986) ได้ทำการศึกษาการสกัดด้วยไมโครเวฟเป็นครั้งแรก โดยสร้างวิธีการใหม่ในการสกัดลิพิดจากอาหาร สาหร่าย และเมล็ดพืช ฯลฯ พบว่า ในกระบวนการนี้ วัสดุที่มีชีวจะจับเก็บอยู่ในสนามไฟฟ้าที่มีการสั่นอย่างรวดเร็ว และไมโครเวฟจะสร้างความร้อนจากแรงเสียดทานที่เกิดขึ้นในโมเลกุล ความร้อนจะถูกสร้างขึ้นส่งผลให้เกิดการแตกเซลล์ Hemwwimon และคณะ (2007) และ Šostarič และคณะ (2012) รายงานว่าไมโครเวฟเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดในปัจจุบัน เนื่องจากระยะเวลาตอบสนองสั้น ค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานน้อยลง และสามารถสกัดลิพิดจากสาหร่ายได้

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Miriam และคณะ (2017) ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากไขมันของไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica* โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหารที่แปรผันความเข้มข้นของยูเรีย การเติมปุ๋ยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซูเปอร์ฟอสเฟต และโปแตชมิวรีเอต (muriate of potash) เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังได้ศึกษาทางเลือกอื่นที่จะใช้ลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย โดยใช้สารสกัดจากสาหร่ายทะเล หรือสารอาหารรอง ร่วมกับธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) และใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน พบว่า *A. halophytica* มีการเจริญเติบโตและมีปริมาณไขมันสูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีสารสกัดจากสาหร่ายทะเลร่วมกับธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) เมื่อนำกรดไขมันไปวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี พบว่ามีความเหมาะสมต่อการนำมาผลิตไบโอดีเซล

Cao และคณะ (2014) ศึกษาปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมต่างๆ ต่อการสะสมลิพิดของ *Chlorella minutissima* UTEX 2341 ภายใต้สภาวะที่มีสารอาหารต่ำ พบว่า การขาดไนโตรเจน ความเครียดจากเกลือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ มีผลต่อการสะสมลิพิดในเซลล์ของสาหร่าย การเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายในอาหารที่มีการเติมเกลือ NaCl และ Fe(II) รวมถึงการจำกัดธาตุไนโตรเจนเพิ่มปริมาณลิพิดและให้ค่าสัมประสิทธิ์ผลผลิตลิพิดต่อคาร์บอน 2.5 เท่า และ 4.68 เท่า ของการศึกษาก่อนหน้านี้ ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมในการสะสมลิพิด คือ อาหารที่ปราศจากไนโตรเจนที่มีปริมาณ NaCl 43.69 กรัมต่อลิตร และ Fe(III) 0.11 มิลลิโมลต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6 และบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

Church และคณะ (2017) ศึกษาผลของชนิดของเกลือความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการสะสมลิพิดของ *Chlorella vulgaris* ในแหล่งน้ำเสียเพื่อผลิตเป็นพลังงานเชื้อเพลิง โดยแปรผันชนิดของเกลือคือ โซเดียมคลอไรด์ และโพแทสเซียมคลอไรด์ และแปรผันความเข้มข้น 0, 15, 30 และ 45 กรัมต่อลิตร พบว่า ความเข้มข้นของเกลือ 45 กรัมต่อลิตร มีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ ทำให้สาหร่ายเกิดความเครียด อัตราการกำจัดของเสียลดลงอย่างมาก แต่เพิ่มปริมาณลิพิดจาก 11.5 เปอร์เซ็นต์เป็น 16.1 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ความเค็มยังเพิ่มอัตราการตกตะกอนของสาหร่ายจาก 0.06 เป็น 0.11 เมตรต่อวัน ซึ่งเป็นการลดต้นทุนในการเก็บเกี่ยวเซลล์สำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่าย

Ghosh และคณะ (2017) ศึกษาผลของอาหารที่ใช้ในการหมักในที่มีดีสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบมิคโซโทรฟิก (Mixotrophic) สำหรับการผลิตไบโอดีเซล โดยทำการเพาะเลี้ยง *Chlorella* sp. MJ 11/11 ภายใต้สภาวะมิคโซโทรฟิก (Mixotrophic condition) ในอาหาร Tris-Acetate-Phosphate (TAP) และทำการทดสอบการเพิ่มประสิทธิภาพแบบตัวแปรเดียวสำหรับการสะสมไขมันโดยการแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มแสง ความเข้มข้นของไนเตรท และความเข้มข้นของฟอสเฟตในอาหาร จากการศึกษาพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสมต่อการสะสมลิพิดเท่ากับ 7.2 สาหร่ายสะสมลิพิดสูงสุดอยู่ที่ 36 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไนเตรท 1.8 มิลลิโมลาร์ ความเข้มข้นของฟอสเฟต 2.7 มิลลิโมลาร์ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อความเข้มข้นของไนเตรทเพิ่มขึ้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำมาใช้ประโยชน์ด้านการศึกษาไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่งผลให้มีการสะสมลิพิดในสาหร่ายลดลง ในทางกลับกัน อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะลดลง เมื่อความเข้มข้นของไนโตรเจนลดลง สภาวะความเครียดที่เกิดขึ้นจากไนโตรเจน ส่งผลให้ ATP ที่เหลือของเซลล์ถูกเก็บไว้เพื่อนำไปใช้เป็นพลังงาน โดยเซลล์มักจะเก็บพลังงานในรูปของไขมันหรือคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่าย ในระหว่างการสังเคราะห์แสง NADP (ตัวรับอิเล็กตรอนหลัก) จะถูกสร้างขึ้น NADPH จะถูกนำไปใช้สร้างไตรเอซิลกลีเซอรอล (Triacylglycerol, TAG) นอกจากนี้แหล่งคาร์บอนที่อยู่ในอาหารจะถูกใช้ในการผลิต TAG (ลิพิด) แทนที่การสังเคราะห์โปรตีน (Mandal and Mallick, 2009)

Lei Yang และคณะ (2018) ศึกษาผลของสารอาหารต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการสะสมลิพิดในสาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* CC-124 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ขาดไนโตรเจนและแปรผันความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ร่วมกับการเติมโซเดียมอะซีเตตเป็นแหล่งคาร์บอนอินทรีย์เพื่อเพิ่มปริมาณไขมันและชีวมวลพร้อมกันพบว่า การขาดไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัสยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Chlamydomonas* และการขาดสารอาหารร่วมกันลดชีวมวลถึง 31.7 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณลิพิดในเซลล์ (กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (DW)) จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การเติมโซเดียมอะซีเตต 4 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการขาดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจะเพิ่มผลผลิตกรดไขมันทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร) ได้ถึง 93.0 และ 150.1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับสภาวะที่ขาดสารอาหารและสภาวะปกติในการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ

Siaut และคณะ (2011) ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* CC-124 ในอาหาร TAP จนถึงระยะ Mid-log phase แล้วจึงเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิโมลาร์ แล้วเพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 2 วัน ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ไปวิเคราะห์ปริมาณแป้งและลิพิดต่อไป จากการทดลองพบว่า ที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 100 มิลลิโมลาร์ สาหร่าย *C. reinhardtii* CC-124 มีปริมาณแป้งและไขมันในรูปไตรกลีเซอไรด์สูงสุด นอกจากนี้ ได้ทำการเพาะเลี้ยง *C. reinhardtii* cw15 ในอาหาร TAP เป็นเวลา 2 วัน ก่อนที่จะนำไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหาร TAP-N เป็นเวลา 7 วัน โดยจะมีการเก็บเกี่ยวเซลล์ทุกวัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณแป้ง ปริมาณลิพิดในรูปของไตรกลีเซอไรด์ และปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่า สาหร่าย *C. reinhardtii* cw15 ที่เพาะเลี้ยงไว้ในอาหาร TAP-N เป็นระยะเวลา 7 วัน จะมีการสะสมลิพิดในรูปของไตรกลีเซอไรด์สูงสุด เท่ากับ 40 ไมโครกรัมต่อล้านเซลล์

Xu (2001) ศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบของกรดไขมันในสาหร่ายทะเล *Ellipsoidion* sp. ที่มีปริมาณกรดไอโคซาเพนทาอีโนอิกสูง โดยนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีไนโตรเจนความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิโมลาร์และแอมโมเนียมที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 และ 3 มิลลิโมลาร์ เป็นแหล่งไนโตรเจน ในช่วงก่อนระยะเพิ่มตัวแบบทวีคูณ สาหร่ายเจริญเติบโตได้เร็วในสารอาหารที่มีแอมโมเนียมเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบมากกว่าไนเตรท แต่หลังจากเข้าสู่ระยะเพิ่มตัวแบบทวีคูณแล้ว สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีกว่าในอาหารที่มีไนเตรท นอกจากนี้ ในอาหารที่ขาดแหล่งไนโตรเจน สาหร่ายเจริญเติบโตได้ไม่ดี และเมื่อเทียบในระยะเวลาการเจริญเติบโตเดียวกัน สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมจะมีปริมาณการผลิตไขมันที่มากขึ้น แต่มีปริมาณกรดโอโคซาเพนทาทอีนอีกที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณของกรดโอโคซาเพนทาทอีนอีกสูงสุดของกรดไขมันทั้งหมด คือ 27.9 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่มีไนเตรทเป็นส่วนประกอบและ 39.0 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่มีแอมโมเนียมเป็นส่วนประกอบ

Miao และ Wu (2007) ศึกษาการเพาะเลี้ยงและการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella protothecoides* พบว่าในการเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการหมักแบบเฮเทอโรโทรฟิก โดยมีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะไม่มีแสงและลดปริมาณไนโตรเจนลง สาหร่ายมีการสะสมน้ำมันภายในเซลล์สูงถึงร้อยละ 55 โดยน้ำหนัก ซึ่งมากกว่าเมื่อเลี้ยงในสภาวะออโตโทรฟิก ประมาณ 4 เท่า และเมื่อนำน้ำมันไปผลิตไบโอดีเซลด้วยกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน โดยใช้กรดซัลฟิวริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซล คืออัตราส่วนของแอลกอฮอล์ต่อน้ำมัน คือ 56:1 โดยโมล ปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาร้อยละ 100 ของน้ำหนักน้ำมันสาหร่าย อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเวลาในการทำปฏิกิริยา 4 ชั่วโมง

Xu และคณะ (2006) ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลคุณภาพสูงจากน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella protothecoides* ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟิก โดยมีแป้งข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อลดต้นทุนการผลิต ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่า สาหร่ายมีปริมาณน้ำมันสูงถึงร้อยละ 55.2 โดยมีกรดไขมันที่พบมากคือ กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก ไบโอดีเซลที่ได้จากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน คือ Fatty acid methyl ester มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 80 และมีคุณลักษณะการเผาไหม้ที่ให้ค่าพลังงานความร้อนสูง 41 เมกะจูลต่อกิโลกรัม มีค่าความหนาแน่นเท่ากับ 0.864 กิโลกรัมต่อลิตร และมีค่าความหนืดเท่ากับ 5.2×10^{-4} ปาสคาลต่อวินาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

Wyman และ Fay (1986) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียต่อการผลิตไฟโคบิลิโปรตีนพบว่า ความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไฟโคบิลิโปรตีนไซยาโนแบคทีเรีย 7 ชนิด ได้แก่ *Anabaena solitaria* MA7, *Anabaena circinalis* MA22, *Anabaena circinalis* X6, *Aphanizomenon flos-aquae* 1403/13f, *Oscillatoria redekei* X6, *Oscillatoria agardhii* 7821 และ *Microcystis aeruginosa* 7806 คือ 50-60 ไมโครไอนส์ต่อตารางเมตรต่อวินาที แต่ *Gloeotrichia echinulata* CC1 ผลิตไฟโคบิลิโปรตีนสูงที่ความเข้มแสงต่ำกว่า 20 ไมโครไอนส์ต่อตารางเมตรต่อวินาที

Kenekar และ Deodhar (2013) ได้ทำการศึกษารามิเตอร์ที่เหมาะสมต่อการผลิตไฟโคบิลิโปรตีนของ *Geitlerinema sulphureum* โดยศึกษาผลของโซเดียมไนเตรต และ โซเดียมเอ็กสตรานี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์บอนเนต ต่อการผลิตไฟโคอิริทรินพบว่า ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ โซเดียมไนเตรต 3.5 กรัมต่อลิตร และโซเดียมคาร์บอนเนต 6.24 กรัมต่อลิตร สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงคือ ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่เหมาะสมพบว่า ได้ผลผลิตไฟโคอิริทริน เพิ่มขึ้นจาก 0.27 เปอร์เซ็นต์ เป็น 0.53 เปอร์เซ็นต์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ไชยาโนแบคทีเรีย

ไชยาโนแบคทีเรียที่ใช้การทดลองคือ *Aphanothece halophytica* โดยได้รับการอนุเคราะห์จาก ศ.ดร.อรรณ อินเจริญศักดิ์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อไชยาโนแบคทีเรีย

อาหารเลี้ยงเชื้อไชยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองคือ อาหาร Blue green 11 (BG11) (Rippka *et al.*, 1979) ที่เสริมด้วย Turks Island salt solution (Garlick *et al.*, 1977)

3.3 สารเคมี

3.3.1 สารเคมีที่ใช้เป็นอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงไชยาโนแบคทีเรีย

3.3.1.1 กรดเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซีติก (EDTA)

3.3.1.2 ธาตุอาหาร (Trace mineral solution)

3.3.1.3 ทริสเบส (Tris-base)

3.3.1.4 กรดอะซีติก (Acetic Acid)

3.3.1.5 แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)

3.3.1.6 แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

3.3.1.7 แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

3.3.1.8 เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

3.3.1.9 ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

3.3.1.10 กรดบอริก (H_3BO_3)

3.3.1.11 แมงกานีสคลอไรด์เตตระไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)

3.3.1.12 คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

3.3.1.13 โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

3.3.1.14 โคบอลต์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)

3.3.1.15 ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.16 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

3.3.2 สารเคมีที่ใช้สำหรับสกัดลิพิดและวิเคราะห์กรดไขมันจากกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

3.3.2.1 คลอโรฟอร์ม (CHCl_3)

3.3.2.2 เมทานอล (CH_3OH)

3.3.2.3 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

3.3.2.4 ไตรตัน-เอกซ์ 100 (Triton X-100)

3.3.2.5 ไลโซไซม์ (Lysozyme)

3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.4.1 กล้องจุลทรรศน์ชนิดพื้นหลังสว่าง (Bright field microscope) (Nikon, Eclipse Ci-L, Japan)

3.4.2 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave) (Hirayama, HVE-50, Japan)

3.4.3 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) (Scientific Promotion, Binder, Thailand)

3.4.4 เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) (Gallenkamp T490811, UK)

3.4.5 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow cabinet) (ESCO, SCV4A1, Singapore)

3.4.6 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Delta Laboratory, 1375FX, Thailand)

3.4.7 ตู้ดูดควันสารเคมี (Protector laboratory hood)

3.4.8 เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge) (Hermle Labortechnik, Z38K, Germany)

3.4.9 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) (Heidolph, Germany)

3.4.10 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ (Gas Chromatograph, GC)

3.4.11 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer) (Shimadzu, UV-1800, Japan)

3.4.12 คิวเวตควอตซ์ (Quartz cuvette) (Starna scientific, StarnaTM 9/Q/10, England)

3.4.13 เครื่องชั่งละเอียด 3 และ 4 ตำแหน่ง (Balance) (Scientific Promotion, Sartorius BP2215, Thailand)

3.4.14 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Denver Instrument 215, USA)

3.4.15 เครื่องผสมสาร (Vortex) (Scientific Industries, Genies2 G560, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.4.16 ไมโครปิเปต (Micropipette)
- 3.4.17 ไมโครปิเปตทิว (Micropipette tip)
- 3.4.18 หลอดเหวี่ยงชนิดพิวจขนาด 50 มิลลิลิตร (Centrifuge tube) (Thermo Scientific, Nalgene, USA)
- 3.4.19 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ (Glasswares)
- 3.4.20 ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop)
- 3.4.21 สไลด์ (Slide)
- 3.4.22 จานเพาะเชื้อ (Petridish)
- 3.4.23 ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร (Flask)
- 3.4.24 อุปกรณ์สำหรับวางหลอดทดลอง (Rack)
- 3.4.25 สไลด์ชนิดฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) (Boeco, Neubauer improved bright line, Germany)
- 3.4.26 หลอดฟลูออเรสเซนต์ (Philips TL-D 18W/865 fluorescent lamp, Jiangsu, China)
- 3.4.27 หลอดแอลอีดี (STL Lighting Group (T8LED18W, Guangdong, China)
- 3.4.28 เครื่องวัดความเข้มแสง (PLA-20, Everfine, China)

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย

3.5.1.1 การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย

ทำการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* สำหรับใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น (Starter) โดยการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหาร BG11 หรือน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วย Turks Island salt solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำฟลาสก์ไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 30 ไมโครโวลต์ต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 14 วัน ทำการเก็บตัวอย่างเซลล์ทุก 2 วัน นำเซลล์ไปนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์ เพื่อวิเคราะห์ความหนาแน่นของเซลล์ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (OD_{730}) โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตร โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ และเก็บเกี่ยวเซลล์ทั้งหมดไปชั่งปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง เขียนกราฟการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย (Growth curve) เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของไซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาโนแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติกับอาหารเพาะเลี้ยง BG11 ที่เสริมด้วย Turks Island salt solution

3.5.1.2 การวิเคราะห์การเจริญเติบโต

1 วิธีการนับจำนวนเซลล์

การนับจำนวนเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ด้วยการใส่สไลด์ชนิดฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) ทำได้โดยปิเปตตัวอย่างไซยาโนแบคทีเรียปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนสไลด์ฮีโมไซโตมิเตอร์ที่ปิดกระจกเรียบร้อยแล้วโดยนำปลายปิเปตวางใกล้กับช่องใส่ตัวอย่างที่ขอบกระจก แล้วปล่อยตัวอย่างลงในช่องใส่ตัวอย่าง จากนั้น นำสไลด์ไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) (Nikon, Eclipse Ci-L, Japan) ที่กำลังขยายภาพ 400 เท่า บันทึกจำนวนเซลล์ที่นับได้ แล้วนำไปคำนวณหาจำนวนเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียต่อปริมาตรตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ตามวิธีในภาคผนวก ค

2 วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง

การวัดค่าความหนาแน่นของเซลล์ *A. halophytica* จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำได้โดยนำเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในคิวเวต โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสารละลายแบลนค์ (Blank) นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จดบันทึกค่า OD₇₃₀ ที่ได้จากการวัด

3 วิธีการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

การหาน้ำหนักเซลล์แห้งของ *A. halophytica* เริ่มจากการนำหลอดเซรินตริฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร ไปอบในตู้อบ (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกมาวางในโถดูดความชื้น (Desiccator) จนเย็น จากนั้น นำหลอดเซรินตริฟิวจ์ไปซั่งเพื่อหาน้ำหนักของหลอดเซรินตริฟิวจ์ จากนั้น นำหลอดเซรินตริฟิวจ์ที่ซั่งน้ำหนักแล้ว ไปทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียปริมาตร 50 มิลลิลิตร บันเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เทส่วนใส่ออก นำหลอดไปใส่ในตู้อบ อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น นำหลอดมาใส่ในโถดูดความชื้น (Desiccator) ทิ้งไว้จนเย็น ทำการซั่งน้ำหนัก และนำไปคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งดังสมการที่ 3.1

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/L)} = \frac{\text{น้ำหนักสาหร่ายและหลอดเซรินตริฟิวจ์ (g)} - \text{น้ำหนักหลอดเซรินตริฟิวจ์ (g)} \times 1,000}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (mL)}} \quad \text{สมการที่ 3.1}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

นำเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง เติมน้ำกลั่นความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มในที่มืด เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้น นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665 นาโนเมตร จดบันทึกค่าที่ได้และนำไปคำนวณความเข้มข้นโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ (Extinction coefficient) ตามวิธีของ Mackinney (1941)

3.5.2 การสกัดลิพิดจากไซยาโนแบคทีเรียด้วยวิธีการสกัดขั้นตอนเดียว (Single-step)

(Axelsson and Gentin, 2014)

นำเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* แห่งจากขั้นตอนที่ 3.5.1.1 มาทำการสกัดลิพิด โดยทำการล้างตัวอย่างไซยาโนแบคทีเรีย นำไซยาโนแบคทีเรียมาใส่ในหลอดเซ็นทริฟิวจ์ เติมน้ำทำละลายคลอโรฟอร์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วน 2:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ผสมโดยการ Vortex เติมน้ำกลั่น 0.73 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงไปในหลอด นำหลอดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้น ดูดชั้นคลอโรฟอร์มที่อยู่ชั้นล่างของหลอดไปใส่ยังหลอดใหม่ และทำการเติมตัวทำละลายผสมของคลอโรฟอร์มและเมทานอล สกัดซ้ำ 5 ครั้ง เมื่อสกัดลิพิดเสร็จ นำสารสกัดมารวมกันจะได้สารสกัดหยาบของลิพิดที่อยู่ในตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม นำสารสกัดลิพิดที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) จากนั้น ถ่ายสารสกัดลิพิดที่ได้ใส่ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำหลอดไปวางให้เย็นในโถดูดความชื้นก่อนที่จะนำไปชั่งน้ำหนักแล้วนำไปคำนวณหาปริมาณลิพิดทั้งหมด ดังสมการที่ 3.2 และ 3.3

$$\text{ปริมาณลิพิดทั้งหมด (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักลิพิด (g)} \times 1,000}{\text{เซลล์แห้งของสาหร่ายที่ใช้ในการสกัด (g)}} \quad \text{สมการที่ 3.2}$$

$$\text{ผลผลิตลิพิด (g/L)} = \frac{\text{น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่ายทั้งหมด (g/L)} \times \text{น้ำหนักลิพิด (g)}}{\text{น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่ายที่ใช้ในการสกัด (g)}} \quad \text{สมการที่ 3.3}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสะสมลิพิดของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย

นำไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* มาเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยสารละลายเกลือ (Turks Island salt solution) และมีความเข้มข้นของไนเตรทที่เหมาะสมต่อการเจริญ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เมื่อไซยาโนแบคทีเรียเจริญเติบโตถึงระยะเติบโตทวีคูณ (Exponential phase) เก็บเกี่ยวเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียโดยการปั่นเหวี่ยง ตามขั้นตอนที่ 3.5.2 มาทำการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสะสมลิพิด ซึ่งแบ่งเป็น 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยทางเคมี เช่น ปริมาณแหล่งคาร์บอน ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ และปัจจัยทางกายภาพ เช่น พีเอช อุณหภูมิ และความเข้มแสง

1. ปัจจัยทางเคมี

1.1 วิธีการศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนในอาหารต่อการสะสมลิพิด

นำไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* มาเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรทและสารละลายเกลือ (Turks Island salt solution) โดยมีการเติบโตของแหล่งคาร์บอนในอาหารคือ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส และแลคโตส ที่ความเข้มข้น 0.189 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 15 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน จากนั้น ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อนำไปสกัดลิพิด ทำการบันทึกและเปรียบเทียบปริมาณลิพิดทั้งหมดที่สกัดได้

1.2 วิธีการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนในอาหารต่อการสะสมลิพิด

นำไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* มาเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรทและสารละลายเกลือ (Turks Island salt solution) โดยได้เติมแหล่งคาร์บอนในอาหารที่แปรผันความเข้มข้นของกลูโคส 0.189, 1.89, 18.9, 189, 379 และ 756 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 15 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน จากนั้น ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อนำไปสกัดลิพิด ทำการบันทึกและเปรียบเทียบปริมาณลิพิดทั้งหมดที่สกัดได้

1.3 วิธีการศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ในอาหารต่อการสะสมลิพิด

นำไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* มาเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรทร่วมกับสารละลายเกลือ (Turks Island salt solution) และกลูโคสความเข้มข้น 1.89 ไมโครโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และแปรผันโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2 และ 3 โมลาร์ เขย่าบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 15 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน จากนั้น ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อนำไปสกัดลิพิด ทำการบันทึกและเปรียบเทียบปริมาณลิพิดทั้งหมดที่สกัดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปัจจัยทางกายภาพ

2.1 วิธีการศึกษาผลของพีเอชของในอาหารต่อการสะสมลิพิด

นำไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* มาเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรท ร่วมกับสารละลายเกลือ (Turks Island salt solution) และกลูโคสความเข้มข้น 1.89 ไมโครโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ เขย่าบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 15 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน จากนั้น ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อนำไปสกัดลิพิด ทำการบันทึกและเปรียบเทียบปริมาณลิพิดทั้งหมดที่สกัดได้

2.2 วิธีการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสะสมลิพิด

นำไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* มาเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรท ร่วมกับสารละลายเกลือ (Turks Island salt solution) และกลูโคสความเข้มข้น 1.89 ไมโครโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ เขย่าบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 20, 25, 30, 35, 40 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 15 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน จากนั้น ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อนำไปสกัดลิพิด ทำการบันทึกและเปรียบเทียบปริมาณลิพิดทั้งหมดที่สกัดได้

3.5.4 การศึกษาผลของคุณภาพแสง และความเข้มแสง ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุ และผลผลิตลิพิด

นำไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* มาเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรท ร่วมกับสารละลายเกลือ (Turks Island salt solution) และกลูโคสความเข้มข้น 1.89 ไมโครโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ เป็นเวลา 14 วัน โดยทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงจากหลอดแอลอีดีสีขาว โดยให้ความเข้มแสงเท่ากันที่ 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน เก็บเกี่ยวเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อนำไปวิเคราะห์การเจริญเติบโตตามวิธีในข้อ 3.5.1.2 ปริมาณรงควัตถุตามวิธีในข้อ 3.5.4 และผลผลิตลิพิดตามวิธีในข้อ 3.5.2 จากนั้น จึงศึกษาผลของคุณภาพของแสงแอลอีดีสีต่างๆ เช่น สีน้ำเงิน สีแดง สีเขียว และสีขาว ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุ และผลผลิตลิพิด สุดท้าย แปรผันความเข้มแสงของหลอดแอลอีดีสีที่เหมาะสมที่ระดับ 15, 30, 45 และ 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที วัดสเปกตรัมของแสงสีต่างๆ โดยใช้เครื่องวิเคราะห์แสงสำหรับพืช (PLA-20, Everfine, China)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์

วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์ ในเซลล์ *A. halophytica* ทุก 2 วัน ตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง โดยเก็บตัวอย่างเซลล์ *A. halophytica* ปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำกลั่นความเข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในตะกอนเซลล์ ผสมด้วยเครื่อง Vortex ปั่นอย่างแรงตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำสารสกัดเมทานอลมาวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665 นาโนเมตร และคำนวณความเข้มข้นโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ (Extinction coefficient) ตามวิธีของ Mackinney (1941) และนำสารสกัดเมทานอลมาวัดความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร และคำนวณความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ ตามวิธีของ Britton (1996)

2. การวิเคราะห์ปริมาณไฟโคบิลิโปรตีน

รงควัตถุไฟโคบิลิโปรตีนประกอบด้วย ไฟโคอีริทริน ไฟโคไซยานิน และอัลโลไฟโคไซยานิน เพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวเซลล์ *A. halophytica* โดยการปั่นเหวี่ยง ล้างตะกอนเซลล์ด้วยสารละลาย EDTA ที่มีความเข้มข้น 6 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง จากนั้น นำเซลล์ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาเติมสารละลาย EDTA ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ที่มีพีเอช 8.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ซึ่งมีส่วนผสมของ Triton X-100 ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) (Loba Chemic, India) และไลโซโซมความเข้มข้น 700 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Merck, Germany) จากนั้น นำส่วนผสมไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง บั่นเหวี่ยงและนำส่วนใสมาวัดความเข้มข้นของไฟโคอีริทริน ไฟโคไซยานิน และอัลโลไฟโคไซยานิน จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562, 615 และ 652 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณไฟโคบิลิโปรตีนตามวิธีของ Hsieh *et al.* (2013)

3.5.5 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica*

นำตัวอย่างลิวิดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมไปส่งตรวจวิเคราะห์เพื่อหาชนิดและปริมาณกรดไขมันที่พบในเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย ที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีไขมัน (Lipid Technology Laboratory) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตบางขุนเทียน โดยมี 2 ขั้นตอนคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 เตรียมอนุพันธ์ของกรดไขมัน

ซึ่งตัวอย่างลิพิดจากการสกัด 20 มิลลิกรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร เติมโทลูอีน 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ในเมทานอล (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาโดยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าผสมสารละลาย (vortex) เป็นเวลา 5 นาที ปล่อยให้แยกชั้นและดูดชั้นเมทานอลออก เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ในเมทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาในอ่างคลื่นความถี่สูงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ล้างกรดส่วนเกินออกด้วยน้ำกลั่น โดยเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เขย่าเบาๆ จากนั้น ปล่อยให้แยกชั้นและดูดชั้นน้ำออกมาทำละลายซ้ำอีก 2 รอบ หรือล้างจนชั้นน้ำกลั่นใส เติมสารโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส จนได้โทลูอีนใส นำตัวอย่างกรองผ่านไซริงค์ฟิลเตอร์ขนาด 13 มิลลิเมตร ขนาดรู 0.45 ไมโครเมตร จากนั้น นำตัวอย่างอนุพันธ์ของกรดไขมันไปวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

2 ขั้นตอนวิเคราะห์กรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

ลิพิดที่สกัดได้นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีพร้อมตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID) (Gas Chromatograph-Flame Ionization Detector, GC-FID) (Shimadzu, Tokyo, Japan) โดยนำลิพิดที่สกัดได้มาเติมสารละลายมาตรฐานสำหรับตรวจวิเคราะห์กรดไขมันที่ระเหยได้ (Fatty Acid Methyl Ester; FAMES) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จากนั้นทำการฉีดตัวอย่างเข้าสู่เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี โดยมีสถานะดังนี้ บริเวณฉีดสาร (injector port) ตั้งอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้คอลัมน์ขนาดเล็ก (Capillary column) ซึ่งเป็นเฟสคงที่ (Stationary phase) ที่เคลือบด้วย 5 เปอร์เซ็นต์ Diphenyl cross-linked กับ 95 เปอร์เซ็นต์ Dimethylpolysiloxane มีความยาว 300 มิลลิเมตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 250 ไมโครเมตร และมีความหนาของแผ่นเคลือบเท่ากับ 0.25 ไมโครเมตร โดยใช้แก๊สฮีเลียม (Helium; He) เป็นแก๊สตัวพาสาร (Carrier gas) เพื่อการแยกองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) โดยมีอัตราการไหลของสารภายในคอลัมน์สูงสุด เท่ากับ 3 มิลลิลิตรต่อนาที และมีอัตราการไหลของแก๊สตัวพาผ่านคอลัมน์เท่ากับ 20 มิลลิลิตรต่อนาที สารจะถูกทำให้แตกตัวเป็นไอออนด้วยอิเล็กตรอน (Electron impact mode) จากนั้น ตรวจจับไอออนของสารด้วยส่วนตรวจจับไอออน (Ion detector) และแสดงผลเป็นสเปกตรัม (Spectrum) ของการดูดกลืนแสงของแต่ละตัวอย่าง คำนวณความเข้มข้นของสารจากพื้นที่ใต้กราฟเทียบกับสารมาตรฐาน (Standard reagent, Sigma-Aldrich, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.6 วิเคราะห์คุณสมบัติของไบโอดีเซลจากไฮยาโนแบคทีเรีย

นำข้อมูลของกรดไขมันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (GC-FID) มาวิเคราะห์คุณสมบัติของไบโอดีเซลด้วยโปรแกรม Biodiesel Analyzer Version 2.2 โดยโปรแกรมจะวิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้นของกรดไขมัน เช่น ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated fatty acid) ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid) ระดับของความไม่อิ่มตัว (Degree of unsaturation) ค่าสaponification value) ค่าไอโอดีน (Iodine value) เลขซีเทน (Cetane number) กรดไขมันอิ่มตัวสายยาว (Long-chain saturated factor) จุดอุดตันไส้กรองที่อุณหภูมิต่ำ (Cold filter plugging point) จุดน้ำมันเป็นฝ้า (Cloud point) จุดไหลเท (Pour point) ตำแหน่งแอลลิล (Allylic position equivalent) ค่าการต้านทานการเกิดออกซิเดชัน (Oxidation stability) ค่าความร้อนสูงสุด (Higher heating value) ค่าความหนืดจลนศาสตร์ (Kinematic viscosity) และความหนาแน่น (Density)

3.5.7 การวิเคราะห์ผลลัพธ์ทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี One-way ANOVA โดยหาค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ P-value < 0.05 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics version 25 สำหรับ Windows เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดข้อมูล ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

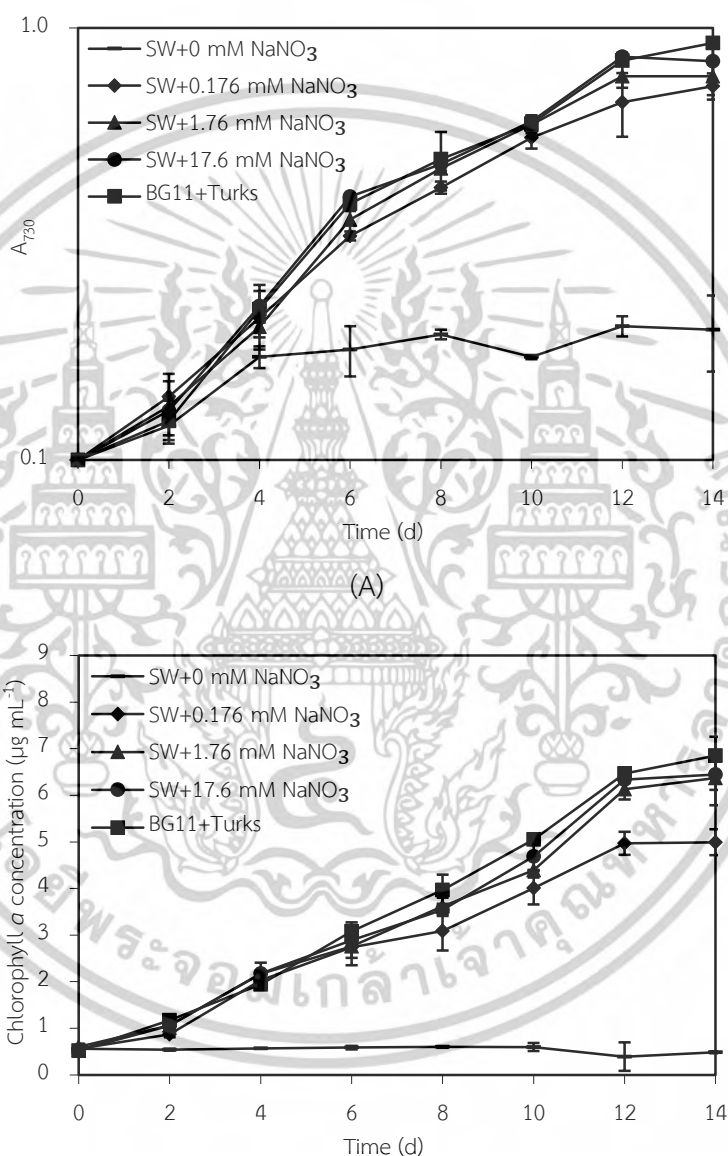
4.1 การเจริญเติบโตของ *A. halophytica* ในน้ำทะเลธรรมชาติ

4.1.1 การเจริญเติบโตของ *A. halophytica* ในน้ำทะเลธรรมชาติที่มีการแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่มีการเติมโซเดียมไนเตรทความเข้มข้น 0.176–17.6 มิลลิโมลาร์ เทียบกับอาหาร BG11 ที่เสริมด้วยสารละลาย Turks Island salt solution (อาหารควบคุม) เป็นเวลา 14 วัน โดยวัดความขุ่นของเซลล์จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร และวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่า *A. halophytica* สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำทะเลธรรมชาติที่มีการเติมโซเดียมไนเตรทในช่วงความเข้มข้น 0.176–17.6 มิลลิโมลาร์ แต่ไม่สามารถเจริญในน้ำทะเลธรรมชาติที่ปราศจากโซเดียมไนเตรท (รูปที่ 4.1A) อย่างไรก็ตาม *A. halophytica* มีการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร BG11 ที่เสริมด้วยสารละลาย Turks Island salt solution ซึ่งเป็นอาหารควบคุม (Control medium) ซึ่งให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (Specific growth rate) เท่ากับ 0.300 ± 0.001 ต่อวัน และใช้ระยะเวลาเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time) สั้นที่สุดเท่ากับ 2.310 ± 0.012 วัน (ตารางที่ 4.1) รองลงมาคือ การเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลที่เติมโซเดียมไนเตรท 17.6 มิลลิโมลาร์ (รูปที่ 4.1A) ซึ่งให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.228 ± 0.002 ต่อวัน และใช้ระยะเวลาเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time) สั้นที่สุดเท่ากับ 3.037 ± 0.026 วัน (ตารางที่ 4.1) จากการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ พบว่า ได้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร นั่นคือ *A. halophytica* มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร BG11 ที่เสริมด้วยสารละลาย Turks Island salt solution รองลงมาคือ เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่มีการเติมโซเดียมไนเตรทความเข้มข้น 17.6, 1.76 และ 0.176 มิลลิโมลาร์ แต่ไม่พบปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่ปราศจากโซเดียมไนเตรท (รูปที่ 4.1B) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแหล่งไนโตรเจนที่ใช้คือ โซเดียมไนเตรทมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ใน *A. halophytica* อย่างไรก็ตาม พบว่าความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดของ *A. halophytica* ในน้ำทะเลเติมโซเดียมไนเตรท 17.6 มิลลิโมลาร์ ($25.39 \pm 0.67 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ยังต่ำกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร BG11 ที่เสริมด้วยสารละลาย Turks Island salt solution ($67.67 \pm 1.37 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) (ตารางที่ 4.1) เป็นไปได้ว่า น้ำทะเลธรรมชาติอาจมีแร่ธาตุที่ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและเมแทบอลิซึมของเซลล์ จึงจำเป็นต้องทำการศึกษากการเจริญเติบโตของ *A. halophytica* เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลที่เติมโซเดียมไนเตรทและเสริมด้วยสารละลาย Turks Island salt solution ต่อไป



รูปที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (A) และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ เอ (B) ของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ เทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 ที่เสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นของเซลล์สูงสุด และระยะเวลาการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับการเติมและไม่เติม สารละลายเกลือ Turks Island salt solution เทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 ที่เสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (วัน ⁻¹)	ความหนาแน่นของเซลล์สูงสุด ($\times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ระยะเวลาการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (วัน)
BG11+Turks	0.300 \pm 0.001 ^a	67.67 \pm 1.37 ^a	2.310 \pm 0.012 ^a
SW + 0 mM NaNO ₃	0.059 \pm 0.015 ^e	3.33 \pm 0.52 ^s	12.275 \pm 2.667 ^d
SW + 0.176 mM NaNO ₃	0.213 \pm 0.001 ^c	20.92 \pm 0.46 ^e	3.243 \pm 0.024 ^b
SW + 1.76 mM NaNO ₃	0.215 \pm 0.001 ^c	21.49 \pm 0.08 ^e	3.212 \pm 0.004 ^b
SW + 17.6 mM NaNO ₃	0.228 \pm 0.002 ^c	25.39 \pm 0.67 ^d	3.037 \pm 0.026 ^b
SW + 0 mM NaNO ₃ + Turks	0.171 \pm 0.017 ^d	12.33 \pm 2.58 ^f	4.076 \pm 0.456 ^c
SW + 0.176 mM NaNO ₃ + Turks	0.264 \pm 0.002 ^b	41.33 \pm 1.66 ^c	2.624 \pm 0.023 ^a
SW + 1.76 mM NaNO ₃ + Turks	0.278 \pm 0.001 ^b	50.00 \pm 0.89 ^b	2.493 \pm 0.012 ^a
SW + 17.6 mM NaNO ₃ + Turks	0.301 \pm 0.001 ^a	68.67 \pm 1.37 ^a	2.302 \pm 0.011 ^a

4.1.2 การเจริญเติบโตของ *A. halophytica* ในน้ำทะเลธรรมชาติที่มีการแปรผันความเข้มข้นโซเดียมไนเตรทร่วมกับสารละลายเกลือ Turks Island salt solution

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลที่มีการเติมโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับการเติมและไม่เติมสารละลายเกลือ Turks Island salt solution เป็นเวลา 14 วัน พบว่า *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลที่มีการเติมโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ และเสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution มีค่าการเจริญเติบโตจาก

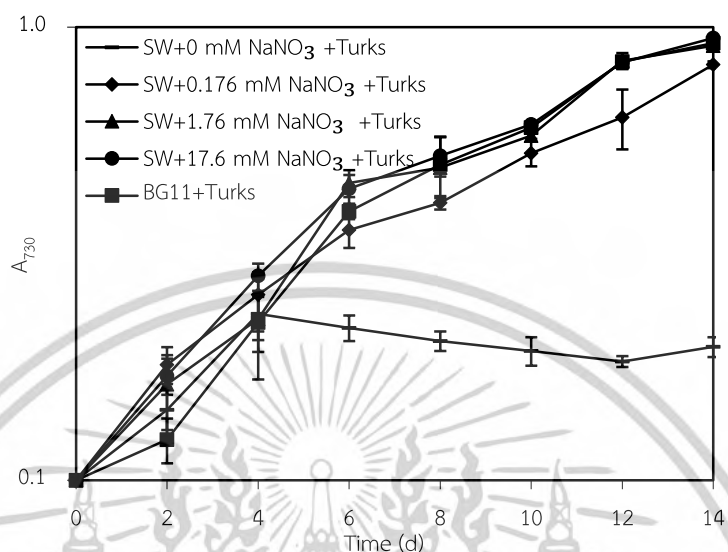
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่สูงกว่า เมื่อปราศจากการเสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution (รูปที่ 4.2) *A. halophytica* เจริญเติบโตสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลที่มีการเติมโซเดียมไนเตรทความเข้มข้น 17.6 มิลลิโมลาร์ และเสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution ซึ่งให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.301 ± 0.001 ต่อวัน ความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดเท่ากับ $68.67 \pm 1.37 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และใช้ระยะเวลาเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าเท่ากับ 2.301 ± 0.011 วัน (ตารางที่ 4.1) ซึ่งให้ค่าที่ใกล้เคียงกับค่าการเจริญเติบโตของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG11 ที่เสริมด้วยสารละลาย Turks Island salt solution แสดงให้เห็นว่า สารละลาย Turks Island salt solution มีเกลือแร่และแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์ การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ รวมถึงเมแทบอลิซึมในเซลล์ *A. halophytica*

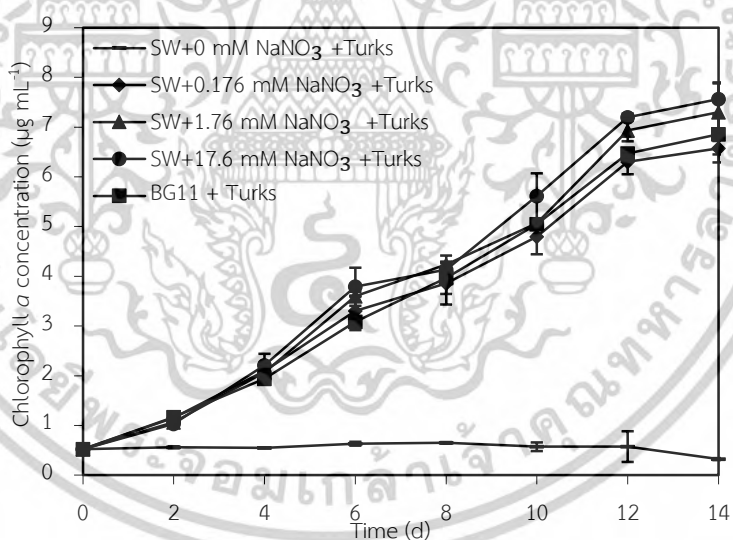
โดยปกติ อาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 ที่มีองค์ประกอบของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองหลายชนิด ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย และเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย (Prihantini *et al.*, 2019) ในขณะที่สารละลายเกลือ Turks Island salt solution ประกอบด้วยเกลือหลายชนิด รวมถึงโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ชอบเกลือสูง (Halophilic microorganisms) รวมถึงไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ที่ใช้ในการศึกษานี้ด้วย (Taikhao *et al.*, 2015) อย่างไรก็ตาม การใช้อาหาร BG11 ที่เติมสารละลายเกลือ Turks Island salt solution ในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียทะเลเพื่อผลิตไบโอดีเซล อาจไม่คุ้มค่าทางเศรษฐกิจ เนื่องจาก ต้องใช้สารเคมีจำนวนมาก ทำให้ราคาต้นทุนสูงขึ้น ดังนั้นการศึกษานี้ จึงได้มีการนำเอาน้ำทะเลธรรมชาติมาใช้เพาะเลี้ยง *A. halophytica* ที่สามารถทนเค็มได้ดี และศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* เพื่อให้ได้ผลผลิตชีวมวลและปริมาณลิพิดที่ใกล้เคียงกับค่าที่ได้จาก BG11 จากผลการทดลองพบว่าโซเดียมไนเตรทเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของ *A. halophytica* ในน้ำทะเลธรรมชาติ เนื่องจากการขาดโซเดียมไนเตรท ส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลงอย่างชัดเจน (รูปที่ 4.1 และ 4.2) โดยความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทที่เหมาะสมเท่ากับ 17.6 มิลลิโมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทในอาหาร BG11 นอกจากนี้ สารละลายเกลือ Turks Island salt solution ยังประกอบด้วยแมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของโมเลกุลคลอโรฟิลล์ และทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของพลังงาน (Cowan, 2002; Scholnick and Keren, 2006) ดังนั้น น้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรท 17.6 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเกลือ Turks Island salt solution จึงถูกเลือกให้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงน้ำทะเลที่เหมาะสมใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตของ *A. halophytica* และตั้งชื่อว่า น้ำทะเลธรรมชาติที่เหมาะสม (Suitable Natural Seawater, SNSW)



(A)



(B)

รูปที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (A) และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ เอ (B) ของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ และเสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution เทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 ที่เสริมด้วยสารละลายเกลือ Turks Island salt solution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2. ผลของปัจจัยทางเคมีที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิดใน *A. halophytica*

4.2.1 ผลของชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิดใน *A. halophytica*

จากการศึกษาการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ที่มีการแปรผันชนิดของแหล่งคาร์บอน ดังนี้ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส และแลคโตส โดยให้ความเข้มข้นของโมลคาร์บอนอะตอมที่เท่ากัน คือ 0.189 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร เทียบกับอาหาร SNSW ที่ปราศจากการเติมแหล่งคาร์บอนและอาหาร BG11 เป็นเวลา 14 วัน พบว่า *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ให้ปริมาณลิพิดสูงสุด โดยให้ปริมาณลิพิดเท่ากับ 25.20 ± 1.17 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการผลิตลิพิดสูงสุดที่ 8.73 ± 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (ตารางที่ 4.2) ซึ่งมีค่ามากกว่าลิพิดที่ได้จาก *A. halophytica* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ที่มีฟรุคโตส ซูโครส และแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4.2) อย่างไรก็ตาม ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดสูงสุดที่ได้จาก *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับอาหาร BG11 (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW (น้ำทะเลธรรมชาติซึ่งเสริมด้วยไฮเดียมไนเตรท 17.6 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเกลือ Turks Island salt solution) และเติมแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.189 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณลิพิด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการผลิตลิพิด (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน)
BG11+Turks	24.78 ± 0.66^a	8.61 ± 0.25^a
SNSW	19.77 ± 0.47^c	6.55 ± 0.17^c
SNSW + Glucose	25.20 ± 1.77^a	8.73 ± 0.40^a
SNSW + Fructose	20.73 ± 2.28^b	8.20 ± 0.39^b
SNSW + Sucrose	21.36 ± 0.76^b	8.39 ± 0.28^b
SNSW + Lactose	19.94 ± 1.26^c	8.18 ± 0.35^b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์บอนเป็นปัจจัยสำคัญหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและกระบวนการสังเคราะห์ลิพิดของไซยาโนแบคทีเรีย เนื่องจากคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักของชีวโมเลกุลทุกชนิด รวมถึงพบในโครงสร้างของลิพิดด้วย นอกจากนี้ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) ที่เหมาะสมยังมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการสะสมลิพิดในปริมาณสูง (Meireles *et al.*, 2017) จากการศึกษาพบว่า กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับการผลิตลิพิดใน *A. halophytica* โดยช่วยเพิ่มทั้งปริมาณลิพิดและผลผลิตลิพิด เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งคาร์บอนอื่นๆ (ตารางที่ 4.2) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่พบว่า การเติมกลูโคสลงในอาหารที่จำกัดไนโตรเจนทำให้ *Chlorella protothecoides* สามารถผลิตลิพิดได้มากขึ้นถึง 4 เท่า (Miao และ Wu, 2004) ในทำนองเดียวกัน *Chlorella sorokiniana* และ *Chlorella vulgaris* ESP-31 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคส 5 และ 10 กรัมต่อลิตรตามลำดับ มีปริมาณลิพิดสูงกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีการเติมกลูโคส (Wan *et al.*, 2011; Ych และ Chang, 2012) อย่างไรก็ตาม มีรายงานผลการศึกษาศึกษาการผลิตจากสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์อื่นที่ให้ผลที่แตกต่างออกไป เช่น *Chlorella* sp. และ *Chlorella pyrenoidosa* ไม่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณลิพิด เมื่อเติมกลูโคส 2 และ 0.5-5 กรัมต่อลิตรในอาหาร ตามลำดับ (Cheirsilp และ Torpee, 2012; Zhang *et al.*, 2015) สำหรับ *Scenedesmus obliquus* การเติมกลูโคสช่วยเพิ่มการผลิตได้เนื่องจากทำให้ปริมาณชีวมวลเพิ่มขึ้น (Mandal และ Mallick, 2009) จากผลการทดลอง จึงสรุปได้ว่าแหล่งคาร์บอนมีความสำคัญต่อการผลิตลิพิดใน *A. halophytica* และแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* คือกลูโคส จึงทำการคัดเลือกกลูโคสไปการศึกษาผลของความเข้มข้นต่อการผลิตลิพิดต่อไป

4.2.2 ผลของความเข้มข้นของกลูโคสต่อการผลิตลิพิดใน *A. halophytica*

จากการศึกษาศึกษาการผลิตของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NSW ที่มีการแปรผันความเข้มข้นของกลูโคส ตั้งแต่ 0-756 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร เทียบกับอาหาร BG11 เป็นเวลา 14 วัน พบว่า *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NSW ที่มีกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร ให้ปริมาณลิพิดสูงสุด โดยให้ปริมาณลิพิดเท่ากับ 26.53 ± 2.27 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการผลิตลิพิดสูงสุดที่ 10.16 ± 0.66 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (ตารางที่ 4.3) ปริมาณลิพิดที่ได้มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณลิพิดที่ได้จาก *A. halophytica* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร BG11 และอาหาร NSW ที่มีกลูโคสความเข้มข้น 0.189 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร (ตารางที่ 4.3) ในทางตรงกันข้าม เมื่อเพาะเลี้ยง *A. halophytica* ในอาหาร NSW ที่มีความเข้มข้นของกลูโคสสูง (379 และ

756 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร) ส่งผลให้ปริมาณและอัตราการผลิตลิพิดลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของกลูโคสมีผลต่อเมแทบอลิซึมของเซลล์ และทำให้เซลล์ตายในที่สุด

ตารางที่ 4.3 ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ที่เติมกลูโคสที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-756 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณลิพิด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการผลิตลิพิด (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน)
BG11+Turks	24.92±3.99 ^a	8.88±0.70 ^b
SNSW	19.21±1.28 ^c	6.99±0.45 ^c
SNSW + 0.189 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose	25.79±0.76 ^a	8.79±0.64 ^b
SNSW + 1.89 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose	26.53±2.27 ^a	10.16±0.66 ^a
SNSW + 18.9 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose	21.13±0.27 ^b	8.55±0.59 ^a
SNSW + 189 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose	20.53±1.83 ^b	8.16±0.67 ^b
SNSW + 379 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose	nd	nd
SNSW + 756 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose	nd	nd

ความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมสำหรับการผลิตลิพิดใน *A. halophytica* คือ 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร ซึ่งช่วยเพิ่มปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดได้ประมาณ 1.5 เท่า เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเติมกลูโคส (ตารางที่ 4.3) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่า *S. obliquus* ที่เลี้ยงในอาหารที่เติมกลูโคส 1.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) หรือ 0.089 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณลิพิดได้มากถึง 10 เท่า เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเติมกลูโคส (Mandal และ Mallick, 2009) เนื่องจากต้นทุนราคาของกลูโคสต่ำกว่าต้นทุนการผลิตไบโอดีเซลหรือชีวมวลไซยาโนแบคทีเรีย การเติมกลูโคสในปริมาณต่ำจึงอาจเป็นแนวทางที่มีประสิทธิภาพและคุ้มค่าทางเศรษฐกิจสำหรับการผลิตไบโอดีเซลจาก *A. halophytica* ดังนั้น ในการศึกษาต่อไป จึงเลือกใช้กลูโคสที่ความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร ใส่ในอาหาร SNSW สำหรับการผลิตลิพิดใน *A. halophytica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่อการผลิตลิพิดใน *A. halophytica*

จากการศึกษาการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ที่มีกลูโคส ความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และแปรผันความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ตั้งแต่ 0-3 โมลาร์ เทียบกับอาหาร BG11 เป็นเวลา 14 วัน พบว่า *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ที่มีกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ ให้ปริมาณลิพิดสูงสุด โดยให้ปริมาณลิพิดเท่ากับ 50.47 ± 2.46 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการผลิตลิพิดสูงสุดที่ 48.33 ± 0.61 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (ตารางที่ 4.4) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณลิพิดที่ได้เมื่อใช้ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์อื่นๆ ปริมาณและอัตราการการผลิตลิพิดที่สูงที่สุดนี้สูงกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์อื่นๆ ประมาณ 1.3–2.6 เท่า ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ มีบทบาทสำคัญต่อการผลิตไขมันของ *A. halophytica*

ตารางที่ 4.4 ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ 0-3 โมลาร์

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณลิพิด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการผลิตลิพิด (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน)
BG11+Turks	24.15 ± 2.85^c	8.70 ± 0.15^e
SNSW + 1.89 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose	19.31 ± 1.72^c	6.83 ± 0.42^f
SNSW + 1.89 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose + 0.25 M NaCl	28.62 ± 1.14^c	10.27 ± 0.36^e
SNSW + 1.89 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose + 0.5 M NaCl	30.51 ± 2.13^c	22.45 ± 0.54^c
SNSW + 1.89 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose + 0.75 M NaCl	50.47 ± 2.46^a	48.33 ± 0.61^a
SNSW + 1.89 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose + 1 M NaCl	39.89 ± 0.65^b	30.96 ± 1.06^b
SNSW + 1.89 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose + 2 M NaCl	28.19 ± 1.90^c	19.92 ± 0.65^d
SNSW + 1.89 mmolC-atom L ⁻¹ Glucose + 3 M NaCl	27.42 ± 1.41^c	2.62 ± 0.29^g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มีผลอย่างยิ่งต่อการผลิตลิพิดใน *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเล โดยทั่วไป น้ำทะเลธรรมชาติมีความเค็มสูง โดยมีองค์ประกอบของโซเดียมคลอไรด์คิดเป็นความเข้มข้นประมาณ 0.5 โมลาร์ หรือ 3.0-3.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) (Xie *et al.*, 1997) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงเกินไปสำหรับการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียน้ำจืด เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรียน้ำจืดมีกลไกการรักษาสมดุลไอออนและการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของไอออนภายในเซลล์จากการเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ (Pandit *et al.*, 2017) อย่างไรก็ตาม ไซยาโนแบคทีเรียทนเค็ม *A. halophytica* สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเค็มสูง ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.25-3.0 โมลาร์ (Waditee *et al.*, 2002) ดังนั้น การเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ในน้ำทะเลจะเป็นการเพิ่มความเค็มในน้ำทะเลให้สูงขึ้น และทำให้เซลล์ *A. halophytica* เกิดความเครียดและนำไปสู่การสะสมลิพิดภายในเซลล์ นอกจากนี้ ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตลิพิดยังขึ้นอยู่กับชนิดและลักษณะของไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายขนาดเล็ก รวมถึงระยะเวลาของการเพาะเลี้ยง

จากผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตและสะสมลิพิดใน *A. halophytica* คือ 0.75 โมลาร์ (ตารางที่ 4.4) ในทางตรงกันข้าม สาหร่ายสีเขียวน้ำจืด *C. vulgaris* และ *Acutodesmus obliquus* ให้ปริมาณลิพิดสูงสุด 49.5 และ 43.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารตัดแปลง BG11 ที่มีโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ เป็นเวลา 15 วัน (Pandit *et al.*, 2017) ในขณะที่สาหร่ายทะเลขนาดเล็ก *Nannochloropsis oculata* CS179 ให้ปริมาณลิพิดสูงสุด 32.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 25 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) หรือ 4.3 โมลาร์ (Gu *et al.*, 2012) นอกจากนี้ การเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร หรือ 0.34 โมลาร์ สามารถเพิ่มปริมาณลิพิดได้ถึง 32.4 เปอร์เซ็นต์ ในสาหร่ายน้ำจืด *Desmodesmus abundans* (Xia *et al.*, 2014) แสดงให้เห็นว่า การปรับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ให้เหมาะสมสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตลิพิดในสาหร่ายขนาดเล็กได้ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณลิพิดที่ได้ใน *A. halophytica* กับไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น พบว่า *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงใน SNSW ที่เสริมด้วยกลูโคส 1.89 มิลลิโมลาร์บอมนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ ให้ผลผลิตชีวมวล 95.76 ± 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ปริมาณลิพิด 50.47 ± 2.46 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก และ อัตราการผลิตลิพิด 48.33 ± 0.61 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (ตารางที่ 4.5) ในขณะที่ไซยาโนแบคทีเรียชนิดเส้นใยและชนิดเซลล์เดี่ยวอื่นๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารต่างชนิดกัน มีปริมาณลิพิดอยู่ระหว่าง 4-32 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาจากอัตราการการผลิตลิพิด พบว่า *A. halophytica* มีอัตราการการผลิตลิพิดสูงเป็นอันดับสอง รองจาก *Anabaena* sp. (g24) ซึ่งมีอัตราการการผลิตลิพิดสูงสุดที่ 79.1 ± 4.34 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (ตารางที่ 4.5) ซึ่งเป็นผลมาจากอัตราการผลิตชีวมวลของ *Anabaena* sp. (g24) ที่สูงกว่า โดยมีอัตราการผลิตชีวมวล

เท่ากับ 489.66 ± 12.77 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน แม้ว่า *A. halophytica* จะมีอัตราการผลิตลิพิดต่ำกว่า *Anabaena* sp. (g24) แต่ยังคงเป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีข้อได้เปรียบอย่างมากในการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตและสะสมลิพิดเมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติได้ ซึ่งแตกต่างจาก *Anabaena* sp. (g24) ที่เป็นสายพันธุ์น้ำจืด ดังนั้นข้อได้เปรียบนี้นำไปสู่แนวทางที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจสำหรับการประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม

4.2.4 ผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในลิพิดของ

A. halophytica และคุณสมบัติของไบโอดีเซล

เนื่องจากการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ ลงไปในอาหาร SNSW สามารถเพิ่มปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดถึงประมาณ 2.5 และ 8 เท่า ใน *A. halophytica* เมื่อเทียบกับเมื่อปราศจากการเติม แสดงให้เห็นว่าเซลล์มีการผลิตและสะสมลิพิดจากความเครียด และเมแทบอลิซึมที่เปลี่ยนแปลงไป โดยความเข้มข้นของเกลืออนาจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันที่อยู่ในลิพิด ในการทดลองนี้ จึงทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในลิพิดที่สกัดจาก *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงใน SNSW ซึ่งมีกลูโคส 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ 0.25 ถึง 3 โมลาร์ เทียบกับอาหาร BG11 ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ พบกรดไขมันทั้งหมด 10 ชนิด ที่ปรากฏในทุกตัวอย่าง คือ กรดไมริสติก (C14:0) กรดปาล์มิติก (C16:0) กรดปาล์มิตอเลอิก (C16:1) กรดสเตียริก (C18:0) กรดโอเลอิก (C18:1) กรดไลโนเลอิก (C18:2) กรดไลโนเลนิก (C18:3) กรดไอโคซาอีโนอิก (C20:1) กรดไดโฮโมแกมมาไลโนเลอิก (C20:3) และกรดครูซิก (C22:1) (ตารางที่ 4.6) โดยองค์ประกอบของกรดไขมันมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ โดยกรดไขมันหลักที่พบในปริมาณสูง ได้แก่ กรดปาล์มิติก กรดโอเลอิก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก (ตารางที่ 4.6) กรดปาล์มิติกเป็นกรดไขมันที่พบมากที่สุดภายในลิพิดของ *A. halophytica* โดยมีสัดส่วน 24–32 เปอร์เซ็นต์ กรดไลโนเลนิกมีปริมาณสูงสุดที่ 32.42 เปอร์เซ็นต์ ในเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงใน SNSW ที่เติมกลูโคส 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ และมีปริมาณ 31.03 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร BG11 ที่เสริมสารละลายเกลือTurks Island salt solution (ตารางที่ 4.6) กรดไลโนเลอิกมีปริมาณสูงสุดที่ 16.58 เปอร์เซ็นต์ ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ และต่ำสุดที่ 6.98 เปอร์เซ็นต์ ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ กรดไลโนเลนิกมีปริมาณสูงสุดที่ 32.42 เปอร์เซ็นต์ ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ และต่ำสุดที่ 9.89 เปอร์เซ็นต์ ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 3 โมลาร์ (ตารางที่ 4.6) ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์มีผลโดยตรงต่อองค์ประกอบของกรดไขมันใน *A. halophytica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบอัตราการผลิตชีวมวล ปริมาณลิพิด และอัตราการผลิตลิพิดของไซยาโนแบคทีเรียชนิดต่างๆ

ไซยาโนแบคทีเรีย	ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	อัตราการผลิตชีวมวล (mg L ⁻¹ day ⁻¹)	ปริมาณลิพิด (%)	อัตราการผลิตลิพิด (mg L ⁻¹ day ⁻¹)	เอกสารอ้างอิง
<i>Anabaena cycadeae</i>	BG11 ₀	131.67 ± 2.46	9.75 ± 0.25	12.84 ± 0.58	Nagappan <i>et al.</i> (2020)
<i>Anabaena cylindrica</i>	BG11	42.63 ± 0.20	4.79 ± 0.03	2.04 ± 0.01	Patel <i>et al.</i> (2018)
<i>Anabaena cylindrica</i>	BG11 ₀	303.06 ± 41.60	6.95 ± 0.20	21.02 ± 2.30	Nagappan <i>et al.</i> (2020)
<i>Anabaena doliolum</i>	BG11 ₀	183.95 ± 5.52	9.02 ± 0.52	16.58 ± 0.46	Nagappan <i>et al.</i> (2020)
<i>Anabaena fertilissima</i>	BG11 ₀	31.76 ± 1.96	7.60 ± 2.26	2.44 ± 0.87	Nagappan <i>et al.</i> (2020)
<i>Anabaena sp.</i> (g24)	BG11 ₀	489.66 ± 12.77	16.15 ± 0.47	79.10 ± 4.34	Nagappan <i>et al.</i> (2020)
<i>Aphanothece halophytica</i>	Natural seawater + Turks + 0.75 M NaCl	95.76 ± 0.25	50.47±2.46	48.33 ± 0.61	This study
<i>Leptolyngbya foveolarum</i> HNBGU001	BG11 + 300 mg L ⁻¹ S + 45.9 mgL ⁻¹ Carbonate + 10 mgL ⁻¹ P + 375 mgL ⁻¹ N	154.80 ± 3.60	32.10 ± 0.40	49.60 ± 0.70	Singh and Kumar (2021)
<i>Leptolyngbya sp.</i> ISTCY101	BG11	61.21 ± 0.09	19.00 ± 0.01	11.63 ± 0.02	Singh and Thakur (2015)
<i>Leptolyngbya sp.</i> ISTCY101	Wastewater	85.00 ± 0.28	25.00 ± 0.18	21.25 ± 0.05	Singh and Thakur (2015)
<i>Leptolyngbya sp.</i> ISTCY101	BG11 + 50 mM NaHCO ₃	79.80 ± 0.15	20.00 ± 0.11	15.96 ± 0.02	Singh and Thakur (2015)
<i>Lyngbyasp.</i>	BG11	33.79 ± 0.49	10.30 ± 0.03	3.48 ± 0.05	Patel <i>et al.</i> (2018)
<i>Nostoc muscorum</i>	BG11	40.47 ± 0.43	7.49 ± 0.08	3.03 ± 0.03	Patel <i>et al.</i> (2018)
<i>Nostoc muscorum</i>	BG11 ₀	91.03 ± 1.70	8.45 ± 1.21	7.68 ± 0.96	Nagappan <i>et al.</i> (2020)
<i>Nostoc sp.</i> MCC41	BG11 ₀	539.96 ± 39.44	15.69 ± 2.33	84.27 ± 6.42	Nagappan <i>et al.</i> (2020)
<i>Oscillatoria sp.</i>	BG11	40.00 ± 0.14	8.49 ± 0.01	3.40 ± 0.01	Patel <i>et al.</i> (2018)
<i>Oscillatoria PBGA3</i>	BBM	84.17 ± 4.88	12.23 ± 1.36	10.29 ± 1.15	Thangavel <i>et al.</i> (2018)
<i>Phormidium sp.</i>	BG11	56.32 ± 0.53	8.39 ± 0.09	4.73 ± 0.05	Patel <i>et al.</i> (2018)
<i>Synechococcus 7942</i>	BG11	57.37 ± 0.18	11.01 ± 0.31	6.32 ± 0.02	Patel <i>et al.</i> (2018)
<i>Synechocystis 6803</i>	BG11	62.43 ± 0.21	13.10 ± 0.12	8.18 ± 0.03	Patel <i>et al.</i> (2018)
<i>Synechocystis sp.</i>	BG11	423.52 ± 6.62	3.61 ± 0.48	15.27 ± 1.78	Nagappan <i>et al.</i> (2020)
<i>Tolypothrix sp.</i>	BG11 ₀	212.83 ± 11.6	7.74 ± 1.99	16.59 ± 5.12	Nagappan <i>et al.</i> (2020)
<i>Tolypothrix sp.</i> PBGA1	BBM	102.71 ± 4.72	10.58 ± 2.73	10.87 ± 2.80	Thangavel <i>et al.</i> (2018)
<i>Westiellopsis sp.</i>	BG11 ₀	262.50 ± 12.73	9.3 ± 0.66	24.45 ± 2.90	Nagappan <i>et al.</i> (2020)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลของความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อองค์ประกอบของกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงใน NSW ที่เสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดของกรดไขมัน	องค์ประกอบกรดไขมันสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)						
	BG11	0.25M NaCl	0.5 M NaCl	0.75M NaCl	1 M NaCl	2 M NaCl	3 M NaCl
Myristic acid (C14:0)	0.91	1.74	1.21	0.40	1.03	0.91	2.04
Palmitic acid (C16:0)	28.20	29.58	32.35	26.48	30.14	24.67	28.43
Palmitoleic acid (C16:1)	0.31	7.85	8.61	4.17	4.44	3.12	1.74
Stearic acid (C18:0)	5.98	9.33	9.38	2.61	7.59	7.80	11.83
Oleic acid (C18:1)	12.15	19.51	20.01	10.23	12.29	14.95	24.91
Linoleic acid (C18:2)	13.44	6.98	7.89	16.58	12.86	14.05	13.88
Linolenic acid (C18:3)	31.03	17.03	17.17	32.42	24.22	20.23	9.89
Eicosaenoic acid (C20:1)	2.93	3.25	1.52	3.17	3.19	5.56	3.14
Dihomo- γ -linoleic acid (C20:3)	2.63	2.39	1.13	2.37	2.42	4.86	2.31
Erucic acid (C22:1)	2.42	2.33	0.73	1.56	1.84	3.86	1.82

การผลิตและสะสมลิพิดเป็นกระบวนการปรับตัวทางสรีรวิทยาแบบหนึ่ง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทนทานต่อความเครียดจากสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไปของไซยาโนแบคทีเรีย มีรายงานการศึกษาบทบาทของไซยาโนแบคทีเรียในการล้างพิษของอนุมูลออกซิเจน (Reactive oxygen species) ที่ถูกกระตุ้นโดยโซเดียมไอออน (Na^+) (Yang *et al.*, 2024) ดังนั้น การใช้ความเครียดจากเกลือเพื่อเพิ่มการผลิตลิพิดในการนำไปทำไบโอดีเซลจึงได้รับความสนใจมากขึ้น (Yang *et al.*, 2024) ไซยาโนแบคทีเรียตอบสนองต่อความเครียดจากความเค็มผ่านกลไกทางสรีรวิทยาหลายรูปแบบ เช่น การดูดซึม การขับออก และการเปลี่ยนแปลงของโซเดียมไอออนทั้งภายในและภายนอกเซลล์ กลไกเหล่านี้อาจนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมขององค์ประกอบของกรดไขมัน จากการศึกษาพบว่า องค์ประกอบของกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไขมันใน *A. halophytica* แตกต่างกันไปภายใต้ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ต่างกัน กรดไขมันที่พบมากที่สุด ใน *A. halophytica* ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอน 16-18 ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของไบโอดีเซล (Miao and Wu, 2007) การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNPK (สารสกัดจากสาหร่ายทะเล + NPK) มีปริมาณกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ 11-ออกตะดีซิโนอิกแอซิด (C18:1) และ 13-โดโคซิโนอิกแอซิด (C22:1) เท่ากับ 32.39 และ 55.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Miriam *et al.*, 2017) ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษานี้ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ ให้ปริมาณกรดโอเลอิก (C18:1) 10.23 เปอร์เซ็นต์ และกรดอีรูซิก (C22:1) 1.56 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมัน

จากการนำองค์ประกอบของกรดไขมันของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงภายใต้การแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่างๆ ไปวิเคราะห์คุณสมบัติของไบโอดีเซล พบว่าความเครียดจากเกลือที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ ส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) ลดลง ในขณะที่ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.7) ในทางตรงกันข้าม ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่มากกว่าหรือน้อยกว่า 0.75 โมลาร์ ส่งผลให้ SFA และ MUFA เพิ่มขึ้น แต่ PUFA ลดลง (ตารางที่ 4.7) ในเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงใน SNSW ที่มีกลูโคส 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ พบว่า SFA, MUFA และ PUFA มีค่า 29.5, 17.6 และ 49.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าคล้ายคลึงกับองค์ประกอบของกรดไขมันที่พบเมื่อเลี้ยงเซลล์ในอาหาร BG11 ที่ โดยมีค่า SFA, MUFA และ PUFA เท่ากับ 35.1, 15.4 และ 44.5 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.7) ผลการทดลองนี้ ต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ทำให้ SFA และ MUFA เพิ่มขึ้น แต่ PUFA ลดลง ใน *Acutodesmus obliquus* และ *C. vulgaris* (Pandit *et al.*, 2017) ดังนั้นองค์ประกอบของกรดไขมันอาจได้รับอิทธิพลไม่เพียงแต่จากชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กเท่านั้น แต่ยังขึ้นอยู่กับสภาวะการเพาะเลี้ยงอีกด้วย

ตารางที่ 4.7 คุณสมบัติของไบโอดีเซลและองค์ประกอบของกรดไขมันในเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงใน SNSW ที่เสริมด้วยกลูโคส 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่างๆ

ลักษณะ	BG11	ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์						
		0.25M	0.5M	0.75M	1M	2M	3M	
องค์ประกอบกรดไขมัน (%)	SFA	35.1	40.7	42.9	29.5	38.8	33.4	42.3
	MUFA	15.4	30.6	30.1	17.6	19.9	23.6	29.8
	PUFA	44.5	24.0	25.1	49.0	37.1	34.3	23.8
	DU	104.3	78.6	80.3	115.6	94.1	92.2	77.3
คุณสมบัติของไบโอดีเซล	SV	194.9	197.2	203.7	197.4	197.4	186.7	196.9
	IV	122.9	87.3	89.1	134.7	107.7	101.9	78.9
	CN	46.7	54.3	53.0	43.6	49.7	52.6	56.3
	LCSF	5.8	7.6	7.9	3.9	6.8	6.4	8.8
	CFPP	1.8	7.5	8.4	-4.1	4.9	3.5	11.0
	CP	9.8	10.6	12.0	8.9	10.8	8.0	10.0
	PP	3.9	4.7	6.2	2.9	5.0	1.8	4.00
	APE	101.1	67.5	70.1	108.2	86.5	83.5	72.4
	BAPE	75.5	41.0	42.2	81.4	61.3	54.5	33.7
	OS	5.2	7.5	7.3	5.0	5.8	6.0	7.6
	HHV	37.3	37.5	38.6	37.7	37.6	36.0	37.8
	u	3.3	3.5	3.6	3.2	3.4	3.3	3.6
	ρ	837	835	860	848	842	802	839

SFA: Saturated fatty acid (%), MUFA: Monounsaturated fatty acid (%), PUFA: Polyunsaturated fatty acid (%), DU: Degree of unsaturation (% wt.), SV: Saponification value (mg g^{-1}), IV: Iodine value $\text{g I}_2 (100 \text{ g})^{-1}$, CN: Cetane number, LCSF: Long-chain saturated factor, CFPP: Cold filter plugging point ($^{\circ}\text{C}$), CP: Cloud point ($^{\circ}\text{C}$), PP: Pour point ($^{\circ}\text{C}$), APE: Allylic position equivalent, BAPE: Bis-allylic position equivalent, OS: Oxidation stability (h), HHV: Higher heating value (MJ kg^{-1}), **u**: Kinematic viscosity ($\text{mm}^2 \text{ s}^{-1}$), **ρ**: Density (kg m^{-3})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ PUFA ที่สูงส่งผลให้ไบโอดีเซลมีค่าดัชนีความไม่อิ่มตัว (Degree of unsaturation) สูงขึ้น (ตารางที่ 4.7) ไบโอดีเซลที่ได้จาก *A. halophytica* ภายใต้ทุกสภาวะมีค่าต่างๆ สรุปลงได้ดังนี้ ค่าซาฟอนนิฟิเคชัน (Saponification Value, SV) 186.7–203.7 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่าไอโอดีน (Iodine Value, IV) 78.9–134.7 ค่าซีเทน (Cetane Number, CN) 43.6–56.3 จุดอุดตันของตัวกรองเย็น (Cold Filter Plugging Point, CFPP) -4.1 ถึง 11 องศาเซลเซียส จุดเกิดคลาวด์ (Cloud Point, CP) 8–12 องศาเซลเซียส จุดไหลเท (Pour Point, PP) 1.8–6.2 องศาเซลเซียส ค่าตำแหน่งแอลลิล (Allylic Position Equivalent, APE) 70.1–108.2 ค่าตำแหน่งบิส-แอลลิล (Bis-Allylic Position Equivalent, BAPE) 33.7–81.4 ค่าความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชัน (Oxidation Stability, OS) 5.0–7.6 ชั่วโมง ค่าความร้อนสูงสุด (Higher Heating Value, HHV) 36.0–38.6 เมกะจูลต่อกิโลกรัม ค่าความหนืดจลนศาสตร์ (Kinematic Viscosity, ν) 3.2–3.6 ตารางมิลลิเมตรต่อวินาที ค่าความหนาแน่น (Density, ρ) 802–860 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร

โดยปกติ คุณสมบัติของไบโอดีเซลจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของกรดไขมัน โดยเฉพาะปริมาณของ SFA กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่มีโซ่ยาวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวช่วยให้ไบโอดีเซลมีคุณภาพสูง (Shekh *et al.*, 2016) มีรายงานว่า MUFA มีข้อได้เปรียบมากกว่า SFA และ PUFA ในด้านความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชัน สมบัติการไหลที่อุณหภูมิต่ำ และคุณสมบัติการเผาไหม้ (Knothe, 2009) ไบโอดีเซลที่ดีจะมีค่าซีเทน (Cetane Number, CN) ที่สูง โดยสามารถจุดระเบิดได้ดี ลดการเกิดเสียงเคาะเครื่องยนต์ และลดการปล่อยก๊าซไนโตรสออกไซด์ (Arias-Penarands *et al.*, 2013) ผลการศึกษาพบว่า ค่าซีเทนสูงสุดที่ 56.3 ในลิพิดที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *A. halophytica* ที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 3 โมลาร์ ในขณะที่ค่าซีเทนของไบโอดีเซลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ อยู่ที่ 43.6 ซึ่งไม่เป็นไปตามมาตรฐาน CN ที่กำหนดโดย ASTM D6751-08, EN 14214 และ IS 15607 (Mandotra *et al.*, 2014) ค่าไอโอดีน (Iodine Value, IV) สูงสุดที่กำหนดตามมาตรฐาน คือ 120 กรัมไอโอดีนต่อร้อยกรัม อย่างไรก็ตาม ค่าดัชนีไอโอดีนของไบโอดีเซลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ สูงถึง 134.7 กรัมไอโอดีนต่อร้อยกรัม ซึ่งเกิดจากสัดส่วน PUFA ที่สูง ดังนั้น จากผลการศึกษาข้างต้น กรดไขมันจากเซลล์ *A. halophytica* เพาะเลี้ยงที่โซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ จึงเหมาะสำหรับการผลิต Polyunsaturated fatty acid (PUFA) มากกว่าการผลิตไบโอดีเซล ตารางที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่าค่าความหนืดจลนศาสตร์ (Kinematic Viscosity) ในช่วง 3.2–3.6 ตารางมิลลิเมตรต่อวินาที ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐาน ASTM D6751-08 ที่กำหนดช่วงไว้ที่ 1.9–6.0 ตารางมิลลิเมตรต่อวินาที นอกจากนี้ ค่าความหนืดจลนศาสตร์ที่ 3.6 ตารางมิลลิเมตรต่อวินาที ของไบโอดีเซลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่โซเดียมคลอไรด์ 0.5 และ 3 โมลาร์ เป็นไปตามมาตรฐาน EN 14214 ซึ่งกำหนดช่วงไว้ที่ 3.5–

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.0 ตารางมิลลิเมตรต่อวินาที ไปโอดีเซลที่ได้จาก *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงที่โซเดียมคลอไรด์ 0.5 โมลาร์ มีค่าความหนาแน่น 860 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ซึ่งอยู่ในช่วงมาตรฐานที่กำหนด 860-900 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ดังนั้นกรดไขมันจากเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงที่โซเดียมคลอไรด์ 0.5 โมลาร์ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติที่ดีของไปโอดีเซลจึงเหมาะสมสำหรับใช้เป็นแหล่งผลิตไปโอดีเซล

4.3. ผลของปัจจัยทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิดใน *A. halophytica*

4.3.1 ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตลิพิดใน

A. halophytica

จากการศึกษาการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NSW ที่มีกลูโคส ความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ ที่แปรผัน ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น ตั้งแต่ 6.0 ถึง 8.5 เป็นเวลา 14 วัน พบว่า *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NSW ที่มีกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 7.5 ให้ปริมาณลิพิดสูงสุด โดยให้ปริมาณลิพิด เท่ากับ 50.59 ± 4.54 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการผลิตลิพิดสูงสุดที่ 48.52 ± 3.57 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (ตารางที่ 4.8) มีรายงานพบว่า *A. halophytica* เจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.7 (Tindall *et al.*, 1978; Takabe *et al.*, 1988) ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการผลิตลิพิดใน *Tetraselmis suecica* และ *Chlorella* sp. เท่ากับ 7.0 และ 7.5 ตามลำดับ (Moheimani, 2013) และ *Scenedesmus acutus* ผลิตกรดไขมันได้สูงสุดที่ 42.1 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 (El-Sheekh *et al.*, 2017) อย่างไรก็ตาม สำหรับทะเลขนาดเล็ก *Nannochloropsis salina* มีการสะสมลิพิดสูงสุดที่ 24.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8 (Bartley *et al.*, 2014) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 7.5 ค่อนข้างเป็นกลาง การเพิ่มขึ้นของการสะสมลิพิดใน *A. halophytica* จึงไม่น่าจะเกิดจากการตอบสนองต่อความเครียด แต่เป็นสภาวะที่เอื้อต่อการผลิตลิพิดของ *A. halophytica*

ตารางที่ 4.8 ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งแต่ 6.0 ถึง 8.5

ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณลิพิด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการผลิตลิพิด (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อ วัน)
6	32.33±3.08 ^b	17.93±1.81 ^b
6.5	36.13±1.03 ^b	17.53±2.11 ^b
7	49.80±3.32 ^a	43.74±2.75 ^a
7.5	50.59±4.54 ^a	48.52±3.57 ^a
8	37.87±2.22 ^b	18.99±2.04 ^b
8.5	13.95±1.05 ^c	8.60±0.59 ^c

4.3.2 ผลของอุณหภูมิของการเพาะเลี้ยงต่อการผลิตลิพิดใน *A. halophytica*

จากการศึกษาการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NSW ที่มีกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.5 นำไปบ่มที่อุณหภูมิของการเพาะเลี้ยงระหว่าง 20 ถึง 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่า *A. halophytica* ที่บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณลิพิดสูงสุดที่ 51.10±1.85 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการผลิตลิพิดเท่ากับ 46.24±3.51 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (ตารางที่ 4.9) อุณหภูมิจัดเป็นปัจจัยที่ควบคุมการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย (Stevenson *et al.*, 1996) การเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึงระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยไซยาโนแบคทีเรียแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมที่ต่างกัน อย่างไรก็ตาม หากอุณหภูมิสูงเกินระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์และเมแทบอลิซึมในเซลล์ ไซยาโนแบคทีเรียจะลดอัตราการเจริญเติบโตลงอย่างรวดเร็วและอาจตายในที่สุด (Vymazal, 1995) จากการทดลองพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและการเจริญเติบโตของ *A. halophytica* อยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิในการบ่ม (°C)	ปริมาณลิพิด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการผลิตลิพิด (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน)
20	35.47±3.69 ^b	26.18±1.69 ^b
25	50.11±0.23 ^a	46.18±1.61 ^a
30	51.10±1.85 ^a	46.24±3.51 ^a
35	50.38±3.12 ^a	45.89±2.28 ^a
40	18.92±0.55 ^c	6.64±0.44 ^c

4.3.3 ผลของแสงฟลูออเรสเซนต์สีขาว (Fluorescent tube) และแสงแอลอีดีสีขาว (Light-Emitting Diode) ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุ และปริมาณลิพิด

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร SNSW ที่มีกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสงแอลอีดีสีขาว ที่ความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที พบว่า เซลล์ *A. halophytica* มีการเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตรและความเข้มข้นของเซลล์ทั้งหมด ภายใต้แสงแอลอีดีสูงกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ (รูปที่ 4.3 A, B) *A. halophytica* มีค่าความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงแอลอีดีสีขาวเท่ากับ 26.16 ± 0.36 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 0.233 ± 0.001 ต่อวันตามลำดับ ในขณะที่มีค่าความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวเท่ากับ 20.56 ± 0.37 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 0.216 ± 0.001 ต่อวัน (ตารางที่ 4.10)

จากการวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุของเซลล์ภายใต้แหล่งกำเนิดแสง 2 ชนิด พบว่า *A. halophytica* ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างแหล่งกำเนิดแสงทั้งสอง

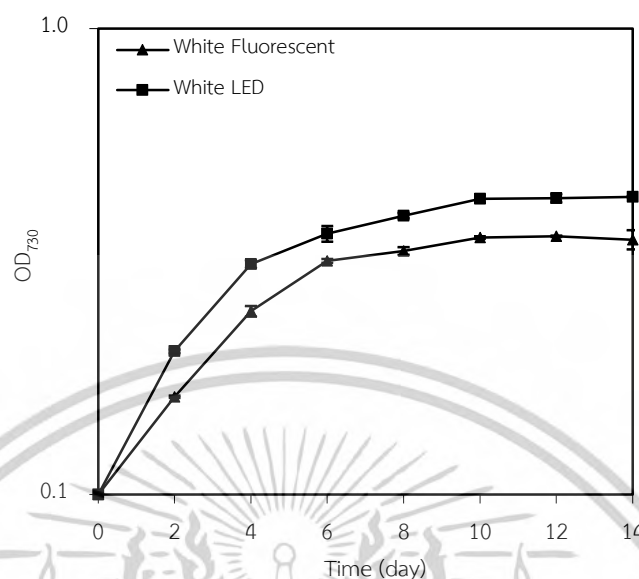
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตาม พบปริมาณไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) อัลโลไฟโคไซยานิน (Allophycocyanin) และไฟโคอีริทริน (Phycocerythrin) สูงขึ้นในเซลล์ที่บ่มภายใต้แสงแอลอีดีสีขาวย ในขณะที่เซลล์บ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวยมีปริมาณแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) สูงกว่าเมื่อบ่มภายใต้แสงแอลอีดีสีขาวย (ตารางที่ 4.11) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า แสงแอลอีดีเป็นแหล่งกำเนิดแสงที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการสังเคราะห์ด้วยแสงและการผลิตตรงควัตถุมากกว่าแสงฟลูออเรสเซนต์ และส่งผลให้เกิดการแบ่งเซลล์และการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นใน *A. halophytica*

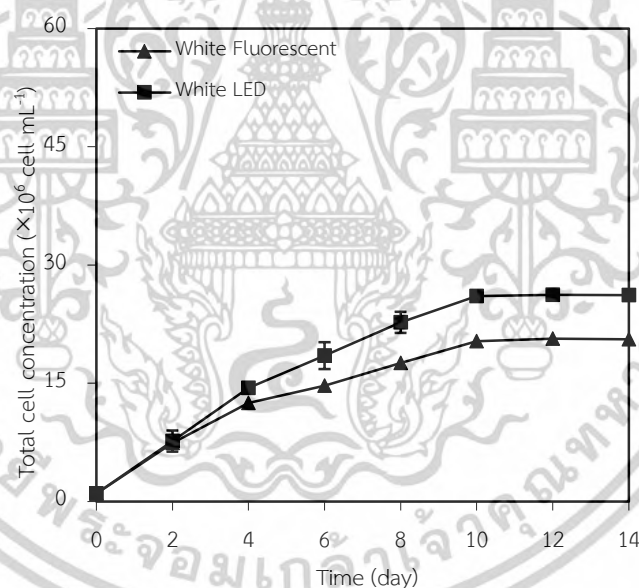
ตารางที่ 4.10 ความหนาแน่นของเซลล์ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ปริมาณลิวติด และอัตราการผลิตลิวติดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวยและแสงแอลอีดีสีขาวยที่มีความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

ประเภทของแหล่งกำเนิดแสง	ความหนาแน่นของเซลล์ ($\times 10^6$ เซลล์ต่อ มิลลิลิตร)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (วัน^{-1})	เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (วัน)	ปริมาณลิวติด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการผลิตลิวติด (มิลลิกรัมต่อ ลิตรต่อวัน)
แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวย	20.56 ± 0.37^b	0.216 ± 0.001^b	3.21 ± 0.02^b	43.12 ± 0.14^b	39.37 ± 0.87^b
แสงแอลอีดีสีขาวย	26.16 ± 0.36^a	0.233 ± 0.001^a	2.97 ± 0.01^a	50.63 ± 1.06^a	47.74 ± 0.97^a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(A)



(B)

รูปที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (A) และความเข้มข้นของเซลล์ (B) ของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมล คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาว และแสงแอลอีดีสีขาว ที่มีความเข้มแสงเท่ากันที่ 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ปริมาณรงควัตถุของเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงแอลอีดีที่มีความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

ประเภทของแหล่งกำเนิดแสง	คลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	แคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ไฟโคไซยานิน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	แอลโลไฟโคไซยานิน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ไฟโคอิริทริน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาว	2.57 ± 0.05 ^a	0.74 ± 0.01 ^a	4.52 ± 0.13 ^b	5.45 ± 0.11 ^b	1.66 ± 0.40 ^b
แสงแอลอีดีสีขาว	2.68 ± 0.09 ^a	0.66 ± 0.01 ^b	5.21 ± 0.80 ^a	7.78 ± 0.09 ^a	2.76 ± 0.31 ^a

จากการวิเคราะห์ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดพบว่า *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงใน SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีขาวให้ปริมาณลิพิดสูงสุดเท่ากับ 50.63±1.06 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการผลิตลิพิดเท่ากับ 47.74±0.97 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ซึ่งสูงกว่าประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาว (ตารางที่ 4.10) ดังนั้น แสงแอลอีดีสีขาวจึงถูกเลือกสำหรับการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาคุณภาพแสงที่เหมาะสม เนื่องจากให้ผลการเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุ และปริมาณลิพิดที่สูงกว่า

A. halophytica มีการเจริญเติบโตความหนาแน่นของเซลล์และความเข้มข้นของรงควัตถุ (ยกเว้นแคโรทีนอยด์) สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงแอลอีดีสีขาว เมื่อเทียบกับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (ตารางที่ 4.12 และ 4.13) แสดงว่า แสงแอลอีดีสีขาวมีสเปกตรัมของแสง ที่เอื้อต่อการผลิตชีวมวลมากกว่า อาจช่วยเพิ่มกิจกรรมสังเคราะห์แสงและการสังเคราะห์รงควัตถุ รูปที่ 4.4 A แสดงสเปกตรัมของแสงแอลอีดีและแสงฟลูออเรสเซนต์พบว่า แสงแอลอีดีสีขาวให้สเปกตรัมรังสีสูงในช่วง 420-460 นาโนเมตร และมีช่วงกว้างระหว่าง 500-680 นาโนเมตร ในขณะที่แสงฟลูออเรสเซนต์ปล่อยพลังงานในรูปของจุดพีกหลายจุดในช่วง 400-700 นาโนเมตร แม้จะมีความแตกต่างกัน แต่ทั้งสองแหล่งกำเนิดแสงมีช่วงความยาวคลื่นที่สำคัญต่อการดูดซับรงควัตถุและการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย ได้แก่ 420-470 นาโนเมตร และ 660-680 นาโนเมตร การผลิตรงควัตถุที่ดีกว่าภายใต้แสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอลอีดีสีขาวเป็นผลมาจากคุณภาพของสเปกตรัมที่สม่ำเสมอและการส่งพลังงานอย่างมีประสิทธิภาพ ผลของสเปกตรัมของแสงแอลอีดีและแสงฟลูออเรสเซนต์สอดคล้องกับช่วงการดูดกลืนแสงของรงควัตถุสังเคราะห์แสง (Park and Dinh, 2019) คลอโรฟิลล์ดูดซับแสงที่ความยาวคลื่น 440 และ 680 นาโนเมตร มีบทบาทสำคัญในการดูดซับแสงและถ่ายโอนพลังงาน ในขณะที่ไฟโคบิลิโพรตีนดูดซับแสงที่ความยาวคลื่น 620 และ 660 นาโนเมตร ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของระบบการเก็บเกี่ยวแสงในไซยาโนแบคทีเรีย (Larkum, 2020) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ซึ่งระบุว่าแสงแอลอีดีสีขาวเป็นหนึ่งในแหล่งกำเนิดแสงที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิด (Schulz *et al.*, 2014; Glemser *et al.*, 2016; Okamoto *et al.*, 2021)

เทคโนโลยีแอลอีดีมีข้อได้เปรียบ เนื่องจากใช้พลังงานน้อยกว่า สร้างความร้อนน้อยกว่า และมีประสิทธิภาพในการแปลงพลังงานสูงกว่าเมื่อเทียบกับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Schulze *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2013; Teo *et al.*, 2014) นอกจากนี้ แสงแอลอีดียังมีข้อดีหลายประการ เช่น อัตราการตอบสนองที่รวดเร็ว ต้นทุนการบำรุงรักษาต่ำ และอายุการใช้งานยาวนาน (Chang *et al.*, 2012) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของระบบแสงแอลอีดีในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไซยาโนแบคทีเรียเพื่อการประยุกต์ใช้ทางเทคโนโลยีชีวภาพ รวมถึงการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพและการสังเคราะห์รงควัตถุที่มีมูลค่าสูง นอกจากนี้ แอลอีดียังใช้พลังงานน้อยกว่าหลอดไฟแบบดั้งเดิม ทำให้เป็นทางเลือกที่ยั่งยืนและคุ้มค่าต่อการลงทุนสำหรับระบบเพาะเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรมที่ออกแบบมาเพื่อความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ

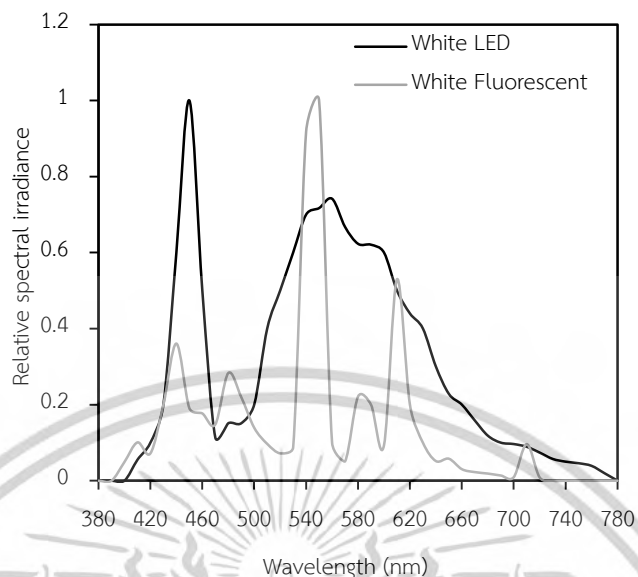
ตารางที่ 4.12 ความหนาแน่นของเซลล์ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ปริมาณลิกพิด และอัตราการผลิตลิกพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงแอลอีดีสีขาว ที่มีความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

ประเภทของแหล่งกำเนิดแสง	ความหนาแน่นของเซลล์ ($\times 10^6$ เซลล์ต่อ มิลลิลิตร)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (วัน ⁻¹)	เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (วัน)	ปริมาณลิกพิด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการผลิตลิกพิด (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน)
แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาว	20.56 ± 0.37^b	0.216 ± 0.001^b	3.21 ± 0.02^b	43.12 ± 0.14^b	39.37 ± 0.87^b
แสงแอลอีดีสีขาว	26.16 ± 0.36^a	0.233 ± 0.001^a	2.97 ± 0.01^a	50.63 ± 1.06^a	47.74 ± 0.97^a

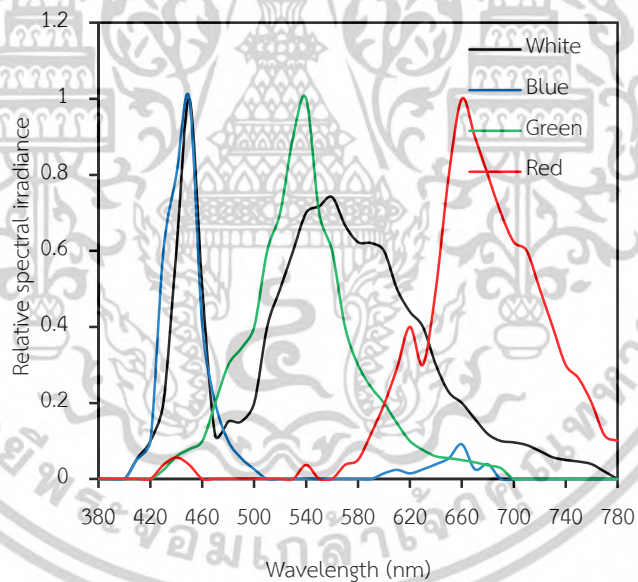
ตารางที่ 4.13 ปริมาณรงควัตถุของเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ซึ่งเสริมด้วยกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลคาร์บอนอะตอมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.5 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงแอลอีดี ที่มีความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

ประเภทของแหล่งกำเนิดแสง	คลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	แคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	ไฟโคไซยานิน (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	แอลโลไฟโคไซยานิน (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	ไฟโคอิริทริน (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)
แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาว	2.57 ± 0.05^a	0.74 ± 0.01^a	4.52 ± 0.13^b	5.45 ± 0.11^b	1.66 ± 0.40^b
แสงแอลอีดีสีขาว	2.68 ± 0.09^a	0.66 ± 0.01^b	5.21 ± 0.80^a	7.78 ± 0.09^a	2.76 ± 0.31^a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(A)



(B)

รูปที่ 4.4 สเปกตรัมของแสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวและแสงแอลอีดีสีขาว (A) และแสงแอลอีดีสีต่างๆ ได้แก่ ขาว เขียว แดง และน้ำเงิน (B) โดยมีค่าความเข้มแสงเท่ากับ 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

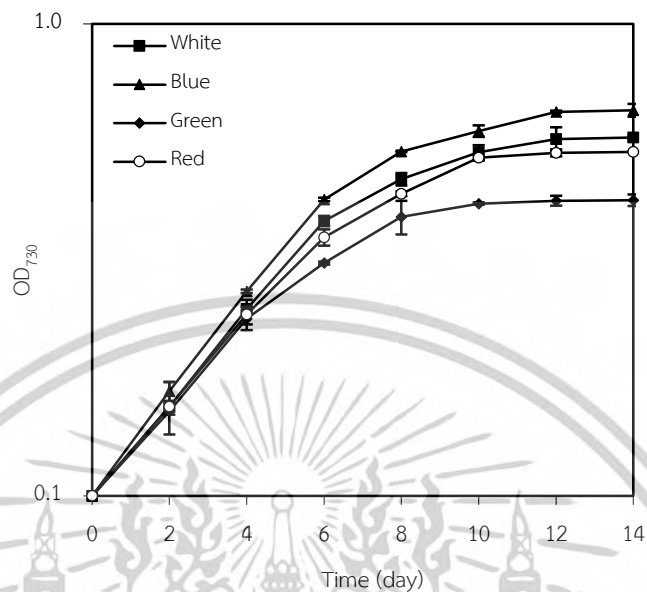
4.3.4 ผลของความเข้มแสงแอลอีดีต่อการเจริญเติบโต รงควัตถุ และปริมาณลิพิด

ในการทดลองเป็นเวลา 14 วัน เซลล์ *Aphanothece halophytica* ถูกเลี้ยงภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ได้แก่ สีน้ำเงิน, สีแดง, สีเขียว และสีขาว ที่ความเข้มแสงไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ได้มีการวัดการเจริญเติบโตโดยวัดค่าความหนาแน่นเชิงแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร และความเข้มข้นของเซลล์ทั้งหมด พบว่าการเจริญเติบโตของเซลล์สูงที่สุดภายใต้แสงแอลอีดีสีน้ำเงิน รองลงมาคือ แสงแอลอีดีสีขาว, สีแดง และสีเขียว ตามลำดับ (รูปที่ 4.5 A และ B) โดยค่าความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดคือ 32.33 ± 0.63 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะอยู่ที่ 0.248 ± 0.001 ต่อวัน และเวลาการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่า (doubling time) อยู่ที่ 2.79 ± 0.02 วัน (ตารางที่ 4.14) ในทางกลับกันการเจริญเติบโตต่ำที่สุดภายใต้แสงแอลอีดีสีเขียว โดยมีค่าความหนาแน่นของเซลล์สูงสุด 20.23 ± 0.59 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ 0.214 ± 0.002 ต่อวัน และเวลาการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่า 3.23 ± 0.03 วัน (ตารางที่ 4.14)

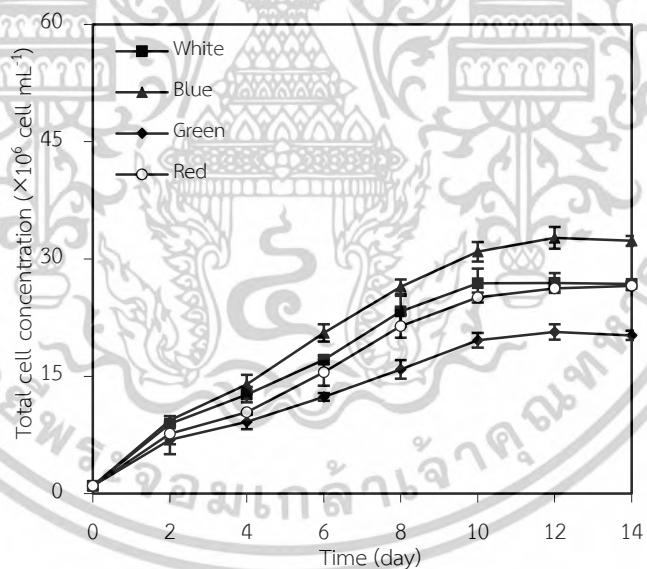
สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุพบว่า *A. halophytica* มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์สูงสุดในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงแอลอีดีสีน้ำเงิน นอกจากนี้ ยังมีปริมาณไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน สูงสุดในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงแอลอีดีสีน้ำเงินและสีแดง (ตารางที่ 4.13) ในการวิเคราะห์ปริมาณลิพิดทั้งหมดพบว่า แสงแอลอีดีสีน้ำเงินให้ค่าปริมาณลิพิดสูงสุดที่ 53.10 ± 0.73 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการผลิตลิพิดที่ 50.53 ± 0.59 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ได้รับแสงแอลอีดีสีอื่นๆ (ตารางที่ 4.14) ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า แสงแอลอีดีสีน้ำเงินช่วยส่งเสริมการสังเคราะห์รงควัตถุและเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งนำไปสู่การเจริญเติบโตของเซลล์ที่ดีขึ้น นอกจากนี้ แสงแอลอีดีสีน้ำเงินยังช่วยกระตุ้นการผลิตลิพิดในเซลล์ *A. halophytica* ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความเข้มแสงที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตลิพิดให้สูงสุด

คุณภาพของแสงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต ลักษณะทางสัณฐานวิทยา กระบวนการสังเคราะห์แสง และเมแทบอลิซึมของไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* มีการเจริญเติบโตสูงสุด ภายใต้แสงแอลอีดีสีน้ำเงิน (ตารางที่ 4.14) อาจเป็นผลมาจากการเพิ่มประสิทธิภาพของกิจกรรมการสังเคราะห์แสง ซึ่งเกิดจากความเข้มข้นที่สูงขึ้นของคลอโรฟิลล์ เอ แคโรทีนอยด์ ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่า แสงแอลอีดีสีน้ำเงินกระตุ้นให้เกิดความเข้มข้นสูงสุดของรงควัตถุทั้งหมดที่ทำารวัด (ตารางที่ 4.15) และสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า แสงแอลอีดีสีน้ำเงินเพิ่มการผลิตชีวมวล รวมถึงปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ได้มากกว่า แสงแอลอีดีสีอื่นๆ ใน *Oscillatoria* sp. (Sharmilla et al., 2018) นอกจากนี้ แสงแอลอีดีสีน้ำเงินยังเพิ่มการผลิตชีวมวลใน *Chlorella pyrenoidosa* (Asuthkar et al., 2016) *Chlorella* sp. (Liu et al., 2022) และ *Nannochloropsis* sp. (Das et al., 2011) นอกจากนี้ แสงสีน้ำเงินยังส่งเสริมการสังเคราะห์ไฟโคไซยานินใน *Spirulina platensis* (Tian et al., 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(A)



(B)

รูปภาพที่ 4.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (A) และความเข้มข้นของเซลล์ (B) ของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดี สีต่างๆ ที่ความเข้ม 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 ความหนาแน่นของเซลล์ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ระยะเวลาการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ปริมาณลิวติด และผลผลิตลิวติดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้ม 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

แสงแอลอีดี	ความหนาแน่นของเซลล์ ($\times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (วัน ⁻¹)	เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (วัน)	ปริมาณลิวติด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการผลิตลิวติด (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน)
สีขาว	26.82 \pm 0.22 ^b	0.235 \pm 0.001 ^b	2.95 \pm 0.01 ^b	51.51 \pm 0.81 ^b	46.38 \pm 2.15 ^b
สีน้ำเงิน	32.33 \pm 0.63 ^a	0.248 \pm 0.001 ^a	2.79 \pm 0.02 ^a	53.10 \pm 0.73 ^a	50.53 \pm 0.59 ^a
สีเขียว	20.23 \pm 0.59 ^c	0.214 \pm 0.002 ^c	3.23 \pm 0.03 ^c	47.87 \pm 0.42 ^c	43.05 \pm 0.24 ^c
สีแดง	26.56 \pm 0.54 ^b	0.234 \pm 0.002 ^b	2.96 \pm 0.02 ^b	50.38 \pm 0.66 ^b	47.33 \pm 0.78 ^b

ตารางที่ 4.15 ปริมาณรงควัตถุของเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้ม 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

แสงแอลอีดี	คลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	แคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ไฟโคไซยานิน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	แอลโลไฟโคไซยานิน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ไฟโคอิทริน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สีขาว	2.68 \pm 0.09 ^{ab}	0.66 \pm 0.01 ^e	5.21 \pm 0.80 ^c	7.78 \pm 0.09 ^c	2.76 \pm 0.31 ^c
สีน้ำเงิน	2.82 \pm 0.07 ^a	1.26 \pm 0.02 ^a	13.02 \pm 0.21 ^a	15.63 \pm 0.36 ^a	5.89 \pm 0.06 ^a
สีเขียว	2.60 \pm 0.08 ^b	0.93 \pm 0.01 ^c	7.12 \pm 0.46 ^b	10.90 \pm 0.46 ^b	4.39 \pm 0.24 ^b
สีแดง	2.57 \pm 0.10 ^b	1.02 \pm 0.01 ^b	13.57 \pm 1.44 ^a	16.16 \pm 1.04 ^a	6.23 \pm 0.40 ^a

โดยทั่วไป แสงสีน้ำเงินจะถูกดูดซับอย่างมีประสิทธิภาพโดยคลอโรฟิลล์ เอ ซึ่งทำหน้าที่ ดูดซับแสง แปลงพลังงานแสง และนำไปสู่การสะสมชีวมวล การผลิตรงควัตถุที่มากขึ้นภายใต้แสงสีน้ำเงินอาจเกิดจากประสิทธิภาพการดูดซับแสงที่สูงในช่วงแสงสีน้ำเงิน-ม่วง ที่ความยาวคลื่น 400-510 นาโนเมตร ในการศึกษาี้ แสงแอลอีดีสีน้ำเงินส่งเสริมการผลิตแคโรทีนอยด์ (ตารางที่ 4.15) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากฟิสิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของการดูดซับของแคโรทีนอยด์ที่อยู่ใกล้กับช่วงแสงสีน้ำเงิน ส่งผลให้แคโรทีนอยด์สามารถดูดซับแสงสีน้ำเงินได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ra *et al.*, 2018) ที่น่าสนใจคือแสงสีน้ำเงินยังช่วยกระตุ้นการผลิตไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิทริน โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีแดง (ตารางที่ 4.15) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ระบุว่า แสงสีน้ำเงินกระตุ้นการสังเคราะห์รงควัตถุสังเคราะห์แสงในระดับสูง โดยเฉพาะการสังเคราะห์ไฟโคไซยานินใน *Anabaena ambigua* Rao (Vijaya and Anand, 2009) อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าปริมาณรงควัตถุสังเคราะห์แสงที่ผลิตภายใต้แสงสีน้ำเงินมีค่าต่ำกว่าเมื่อเทียบกับแสงสีแดงและแสงสีขาวในสายพันธุ์ *Synechocystis* (Hauschild *et al.*, 2004) ผลการศึกษาของเราชี้ให้เห็นว่าความยาวคลื่นและความเข้มของแสงที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์รงควัตถุขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของไซยาโนแบคทีเรีย และจำเป็นต้องมีการปรับแต่งให้เหมาะสมกับแต่ละสายพันธุ์

4.3.5 ผลของความเข้มแสงแอลอีดีสีน้ำเงินต่อการเจริญเติบโต รงควัตถุ และปริมาณลิพิด

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของ *A. halophytica* ภายใต้ความเข้มของแสงแอลอีดีสีน้ำเงินที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ 15 ถึง 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที พบว่า *A. halophytica* มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มแสง (รูปที่ 4.6 A, B) โดยมีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดอยู่ที่ 68.96 ± 1.52 ล้านเซลล์ต่อมิลลิเมตร อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.302 ± 0.002 ต่อวัน และเวลาการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่า 2.29 ± 0.01 วัน เมื่อได้รับแสงแอลอีดีสีน้ำเงินที่ความเข้ม 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที (ตารางที่ 4.16) จากการวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุพบว่า รงควัตถุทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามความเข้มของแสงแอลอีดีสีน้ำเงินที่เพิ่มขึ้น ซึ่งบ่งชี้ถึงความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างความเข้มแสงสีน้ำเงินและการสังเคราะห์รงควัตถุ (ตารางที่ 4.17) นอกจากนี้ ที่ความเข้มแสง 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที พบว่า *A. halophytica* มีปริมาณลิพิดสูงสุดเท่ากับ 55.16 ± 0.10 เปอร์เซ็นต์และอัตราการผลิตลิพิดเท่ากับ 56.81 ± 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ซึ่งมีความมากกว่าความเข้มแสงระดับอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4.16)

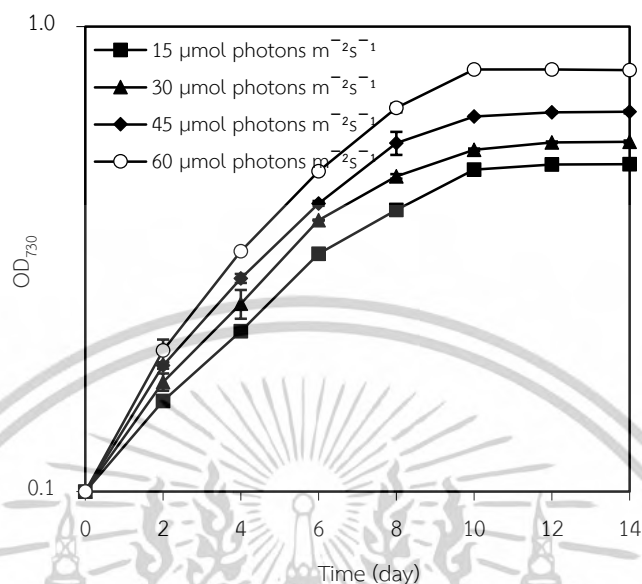
ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุ และการผลิตลิพิดเพิ่มขึ้นตามความเข้มของแสงแอลอีดีสีน้ำเงินที่เพิ่มขึ้น โดยมีความมากที่สุดที่ความเข้มแสง 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที (ตารางที่ 4.16 และ 4.17) ซึ่งเป็นความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์รงควัตถุที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสง และ ความเข้มแสงแอลอีดีสีน้ำเงินที่สูงขึ้นยังช่วยกระตุ้นการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ (ตารางที่ 4.17) นอกจากนี้ ความเข้มแสงที่ระดับ 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที อาจไม่สูงพอที่จะก่อให้เกิดความเครียดหรือความเสียหายต่อเซลล์ มีรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า ความเข้มแสงที่มากกว่า 120 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที อาจลดปริมาณไฟ

โคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิทรินอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งส่งผลให้การเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลใน *Oscillatoria* sp. ลดลง (Contreras-Ropero *et al.*, 2022) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากข้อจำกัดของอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ จึงไม่ได้ทำการทดสอบความเข้มของแสงแอลอีดีสีน้ำเงินที่สูงกว่า 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

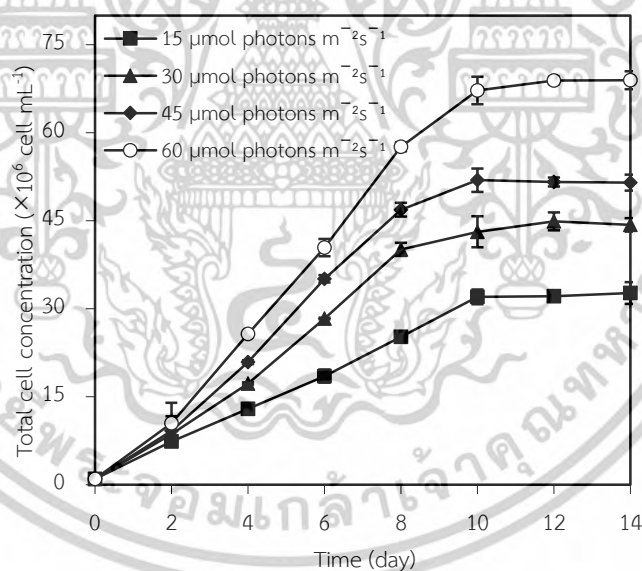
ตารางที่ 4.16 ความหนาแน่นของเซลล์ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ระยะเวลาเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า ปริมาณลิพิด และอัตราการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

แสง LED สีน้ำเงิน ($\mu\text{mol photons}$ $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	ความหนาแน่น ของเซลล์ ($\times 10^6$ เซลล์ต่อ มิลลิลิตร)	อัตราการ เจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (วัน ⁻¹)	เวลาในการเพิ่ม จำนวนเป็นสอง เท่า (วัน)	ปริมาณลิพิด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการผลิต ลิพิด (มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อวัน)
15	32.70 ± 1.86^d	0.249 ± 0.004^d	2.78 ± 0.04^d	52.97 ± 0.23^d	52.37 ± 0.77^d
30	44.33 ± 1.15^c	0.270 ± 0.002^c	2.56 ± 0.02^c	53.76 ± 0.34^c	53.82 ± 0.40^c
45	51.53 ± 1.37^b	0.281 ± 0.002^b	2.46 ± 0.02^b	54.41 ± 0.08^b	55.23 ± 0.45^b
60	68.96 ± 1.52^a	0.302 ± 0.002^a	2.29 ± 0.01^a	55.16 ± 0.10^a	56.81 ± 0.75^a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(A)



(B)

รูปที่ 4.6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (A) และความเข้มข้นของเซลล์ (B) ของ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีน้ำเงินที่มีความเข้มแสงตั้งแต่ 15 ถึง 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 ปริมาณรงควัตถุของเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้มแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

แสง LED สีน้ำเงิน ($\mu\text{mol photons}$ $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	คลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	แคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	ไฟโคไซยานิน (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	แอลโลไฟโคไซยานิน (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)	ไฟโคอิทริน (ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร)
15	3.41 ± 0.07^d	1.26 ± 0.02^d	12.71 ± 0.57^d	18.95 ± 0.21^d	6.73 ± 0.33^d
30	4.57 ± 0.05^c	1.74 ± 0.01^c	14.86 ± 0.34^c	21.79 ± 0.32^c	7.04 ± 0.64^c
45	5.15 ± 0.05^b	2.31 ± 0.01^b	15.99 ± 0.44^b	23.09 ± 0.34^b	7.61 ± 0.46^a
60	6.03 ± 0.05^a	2.81 ± 0.08^a	17.11 ± 0.73^a	24.01 ± 0.40^a	8.02 ± 0.49^a

4.3.6 ผลของสีแสงแอลอีดี ต่อองค์ประกอบกรดไขมันและคุณสมบัติของไบโอดีเซล

จากการนำเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงใน SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ เป็นเวลา 14 วัน มาสกัดลิพิดทั้งหมด และทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันโดยใช้เทคนิค GC พบกรดไขมันทั้งหมด 7 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย กรดไขมันอิ่มตัว 3 ชนิด ได้แก่ กรดไมริสติก (C14:0) กรดปาล์มิติก (C16:0) กรดสเตียริก (C18:0) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว 2 ชนิด ได้แก่ กรดปาล์มิโตเลอิก (C16:1) กรดโอเลอิก (C18:1) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน 2 ชนิด ได้แก่ กรดไลโนเลอิก (C18:2) กรด α -ไลโนเลนิก (C18:3) (ตารางที่ 4.18) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสีของแสงแอลอีดีมีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมันใน *A. halophytica* โดยกรดไขมันหลักที่พบในทุกตัวอย่าง ได้แก่ กรดปาล์มิติก กรดไลโนเลอิก และกรดแอลฟา-ไลโนเลนิก (ตารางที่ 4.18) ภายใต้แสงแอลอีดีสีขาว พบปริมาณ SFA โดยเฉพาะกรดปาล์มิติก (C16:0) ซึ่งมีสัดส่วน 52.51 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันทั้งหมด ปริมาณ MUFA อยู่ในช่วง 8.84-12.66 เปอร์เซ็นต์ ในทุกตัวอย่างเซลล์ที่ได้รับแสงแอลอีดีสีแดง สีน้ำเงิน และสีเขียว มีปริมาณ PUFA สูงกว่าเซลล์ที่ได้รับแสงแอลอีดีสีขาวประมาณ 2 เท่า (ตารางที่ 4.18)

ตารางที่ 4.18 องค์ประกอบของกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในลิปิดรวมที่สกัดได้จากเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้ม 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

กรดไขมัน	องค์ประกอบของกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์)			
	แอลอีดีสีขาว	แอลอีดีสีน้ำเงิน	แอลอีดีสีเขียว	แอลอีดีสีแดง
Myristic Acid (C14:0)	1.87	2.12	0.90	2.05
Palmitic Acid (C16:0)	52.51	35.62	37.02	28.62
Palmitoleic Acid (C16:1)	2.57	8.84	4.03	6.03
Stearic Acid (C18:0)	10.97	5.19	7.35	4.35
Oleic acid (C18:1)	8.12	3.82	4.81	3.10
Linoleic Acid (C18:2)	9.98	16.30	16.20	19.52
α -Linolenic acid (C18:3)	13.98	28.10	29.69	36.32
Saturated fatty acid (SFA)	65.35	42.93	45.27	35.02
Monounsaturated fatty acid (MUFA)	10.69	12.66	8.84	9.13
Polyunsaturated fatty acid (PUFA)	23.96	44.40	45.89	55.84

จากการศึกษาคุณสมบัติของไบโอดีเซลที่ได้จากองค์ประกอบของกรดไขมันใน *A. halophytica* ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ พบว่า ไบโอดีเซลที่ผลิตจากลิปิดของเซลล์ที่ได้รับแสงแอลอีดีสีขาว มีค่าซาฟอน นิฟิเคชัน (SV) สูงที่สุด ค่าซีเทน (CN) สูงที่สุด ค่าอิมตัวของสายโซ่ยาว (LCSF) สูงที่สุด ค่าจุดจุดตันของตัวกรองเย็น (CFPP) สูงที่สุด ค่าจุดเกิดคลาวด์ (CP) สูงที่สุด ค่าความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชัน (OS) สูงที่สุด เปรียบเทียบกับไบโอดีเซลจากแสง LED สีอื่นๆ (ตารางที่ 4.19) ในทางตรงกันข้าม ไบโอดีเซลจากลิปิดของเซลล์ที่ได้รับแสง LED สีแดง มีค่าดิกิริของไขมันไม่อิ่มตัว (DU) สูงกว่า มีค่าไอโอดีน (IV) สูงกว่า มีค่าตำแหน่งพันธะคู่ที่อยู่ข้างกัน (APE และ BAPE) สูงกว่า (ตารางที่ 4.17) อย่างไรก็ตาม ค่าไอโอดีน (IV) ของไบโอดีเซลนี้เท่ากับ 143.5 ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานสูงสุดที่กำหนดไว้ที่ 120 ตาม ASTM D6751-08 และ EN 14214 ในแง่ของค่าซีเทนไบโอดีเซลที่ได้จากแสงแอลอีดีสีน้ำเงิน สีแดง และสีเขียว มีค่าซีเทนอยู่ระหว่าง 40.3-45.7 ซึ่งต่ำกว่าค่าต่ำสุดที่กำหนดในมาตรฐาน ASTM D6751-08 และ EN 14214 สรุป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติของไบโอดีเซล ลิพิดที่ได้จากเซลล์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงแอลอีดีสีขาว แสดงให้เห็นว่ามีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตไบโอดีเซล

ตารางที่ 4.19 คุณสมบัติของไบโอดีเซลที่ได้จากลิพิดซึ่งสกัดจากเซลล์ *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SNSW ภายใต้แสงแอลอีดีสีต่างๆ ที่ความเข้ม 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

คุณสมบัติของไบโอดีเซล	แอลอีดีสีขาว	แอลอีดีสีน้ำเงิน	แอลอีดีสีเขียว	แอลอีดีสีแดง
DU	58.6	101.4	100.6	120.8
SV	210.6	209.4	207.9	207.5
IV	66.2	118.6	118.9	143.5
CN	57.3	45.6	45.7	40.3
LCSF	10.7	6.1	7.3	5.0
CFPP	17.2	2.8	6.7	-0.6
CP	22.6	13.7	14.4	10.0
APE	56.0	92.6	96.5	114.7
BAPE	37.9	72.5	75.5	92.1
OS	7.5	5.2	5.1	4.7
HHV	39.2	39.2	39.2	39.2
ν	3.69	3.44	3.46	3.35
ρ	870	870	870	880

DU: Degree of unsaturation (% wt.), SV: Saponification value (mg g^{-1}) IV: Iodine value g I_2 (100g^{-1}), CN: Cetane number, LCSF: Long-chain saturated factor, CFPP: Cold filter plugging point ($^{\circ}\text{C}$), CP: Cloud point ($^{\circ}\text{C}$), PP: Pour point ($^{\circ}\text{C}$), APE: Allylic position equivalent, BAPE: Bis-allylic position equivalent, OS: Oxidation stability (h), HHV: Higher heating value (MJ kg^{-1}), ν : Kinematic viscosity ($\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$), ρ : Density (kg m^{-3})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไขมันเป็นองค์ประกอบหลักของชีวมวลไซยาโนแบคทีเรีย การผลิตลิพิดใน *A. halophytica* เพิ่มขึ้นภายใต้แสงแอลอีดีสีขาวย เมื่อเปรียบเทียบกับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาวย (ตารางที่ 4.12) แสดงว่า แสงแอลอีดีเป็นแหล่งกำเนิดแสงที่เหมาะสมกว่าสำหรับการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย โดยอาจมีบทบาทในการส่งเสริมกระบวนการสังเคราะห์ทางชีวเคมีที่สำคัญ รวมถึงรงควัตถุที่จำเป็น เมื่อเปรียบเทียบสีของแสงแอลอีดีพบว่า แสงแอลอีดีสีน้ำเงินให้ปริมาณลิพิดและอัตราการผลิตลิพิดสูงสุด (ตารางที่ 4.14) โดยความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิดคือ 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที (ตารางที่ 4.16) นอกจากนี้ แสงแอลอีดีสีน้ำเงินไม่ได้เพียงแค่กระตุ้นการสะสมลิพิด แต่ยังช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและปริมาณรงควัตถุใน *A. halophytica* อีกด้วย ที่เป็นเช่นนี้ เนื่องจากประสิทธิภาพการดูดซับแสงสีน้ำเงินของ คลอโรฟิลล์ เอ และ ไฟโคบิลิโปรตีน ซึ่งช่วยเสริมประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง การเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงช่วยให้เกิดการสะสมชีวมวลมากขึ้น ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อการสังเคราะห์ลิพิด ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า ความเข้มแสงแอลอีดีสีน้ำเงินที่ 200 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ทำให้ *Chlorella vulgaris* มีปริมาณลิพิดสูงสุด โดยเซลล์ต้องการพลังงานแสง (รวมถึง ATP และ NADH) เพื่อสร้างไตรกลีเซอไรด์ (Atta *et al.*, 2013) ในทำนองเดียวกัน *Arthrospira platensis*, *Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus obliquus* สะสมลิพิดสูงสุด ภายใต้แสงแอลอีดีสีน้ำเงิน (Raqiba and Sibi, 2019) อย่างไรก็ตาม การตอบสนองต่อสีของแสงแอลอีดีอาจขึ้นอยู่กับลักษณะเฉพาะของแต่ละสายพันธุ์ โดยมี การศึกษาก่อนหน้านี้ว่า *Nannochloropsis* sp. มีการเจริญเติบโตสูงสุดภายใต้แสงแอลอีดีสีน้ำเงิน แต่มีการสะสมลิพิดมากกว่า ภายใต้แสงแอลอีดีสีเขียว (Ra *et al.*, 2016)

แสงสีของแอลอีดีมีผลต่อองค์ประกอบกรดไขมันใน *A. halophytica* (ตารางที่ 4.18) โดยแสงแอลอีดีสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ช่วยกระตุ้นการสร้างกรดไขมันตัว PUFA มากกว่าแสงแอลอีดีสีขาวยที่น่าสนใจคือ การผลิตกรดอัลฟาไลโนเลนิกสูงสุดที่ 36.32 เปอร์เซ็นต์ ในเซลล์ที่ได้รับแสงแอลอีดีสีแดง ซึ่งอาจเป็นผลจากการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ Desaturase ส่งผลให้เกิดสัดส่วนที่สูงขึ้นของกรดไขมันอีก และกรดอัลฟาไลโนเลนิก สอดคล้องกับรายงานที่พบว่า แสงสีแดงช่วยกระตุ้นการสังเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน PUFA ใน *Phaeodactylum tricornutum* (Sharma *et al.*, 2020) และส่งเสริมการผลิตกรดอีโคซะเพนตะอีโนอิก (Eicosapentaenoic acid, EPA) และกรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิก (Docosahexaenoic acid, DHA) ใน *Porphyridium purpureum* (Kim *et al.*, 2019) สำหรับ *C. vulgaris*, *Auxenochlorella pyrenoidosa*, *Scenedesmus quadricauda* และ *Tetradismus obliquus* มีปริมาณกรดไขมัน PUFA เพิ่มขึ้นภายใต้แสงแอลอีดีสีน้ำเงิน (Zhong *et al.*, 2018) อย่างไรก็ตาม สัดส่วนของกรดไขมัน PUFA ที่สูงขึ้นใน *A. halophytica* ภายใต้แสงแอลอีดีสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ส่งผลให้ค่าซีเทน (Cetane number, CN) ของไบโอดีเซลลดลง (ตารางที่ 4.19) ดังนั้น ไขมันจากเซลล์ที่ได้รับแสงแอลอีดีสีเหล่านี้จึงมีความเหมาะสมในการผลิตกรดไขมัน PUFA สำหรับเป็นอาหารเสริมมากกว่าการใช้เป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตลิพิดของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดียวทนเค็ม *A. halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติ เพื่อการผลิตไบโอดีเซลได้ดังนี้

1. การเพาะเลี้ยง *A. halophytica* ในน้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยไซโตเดียมไนเตรทความเข้มข้น 17.6 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเกลือ Turks Island salt solution ส่งผลให้ *A. halophytica* มีการเจริญเติบโตอยู่ในระดับใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.301 ± 0.001 ต่อวัน และมีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดเท่ากับ 68.67 ± 1.37 ล้านเซลล์ต่อวัน
2. สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* คือ ใช้น้ำทะเลธรรมชาติที่เสริมด้วยไซโตเดียมไนเตรทความเข้มข้น 17.6 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเกลือ Turks Island salt solution (SNSW) และเติมกลูโคสความเข้มข้น 1.89 มิลลิโมลาร์ บอนอะตอมต่อลิตร ไซโตเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 และควบคุมอุณหภูมิการบ่มเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส
3. ความเข้มข้นเกลือไซโตเดียมคลอไรด์มีผลต่อการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* อย่างมีนัยสำคัญ ในอาหารที่มีไซโตเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ *A. halophytica* มีปริมาณลิพิดสูงสุดเท่ากับ 50.47 ± 2.46 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราการผลิตลิพิดเท่ากับ 48.33 ± 0.61 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน โดยพบกรดไขมันไลโนเลอิกและกรดไลโนเลนิกถึง 32.42 และ 16.58 เปอร์เซ็นต์
4. การเพาะเลี้ยง *A. halophytica* ภายใต้ความเค็มที่มีความเข้มข้นของไซโตเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์ ส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนเพิ่มขึ้น ขณะที่กรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวลดลง ส่งผลให้ไบโอดีเซลมีค่าดัชนีความไม่อิ่มตัวและค่าไอโอดีนสูง ซึ่งไม่สอดคล้องกับมาตรฐานคุณภาพไบโอดีเซลที่กำหนดไว้ แม้ว่าคุณสมบัติและค่าความหนาแน่นจะอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน แต่ค่าซีเทนต่ำและค่าไอโอดีนสูงเกินกำหนด จึงเหมาะสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนมากกว่าการผลิตไบโอดีเซล อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงภายใต้ความเค็มที่มีไซโตเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ให้คุณสมบัติของไบโอดีเซลที่เหมาะสมและสอดคล้องกับมาตรฐานสากลมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. จากการศึกษาผลของแหล่งกำเนิดแสง คุณภาพแสง และความเข้มแสง พบว่า แสงแอลอีดีสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต การสังเคราะห์รงควัตถุ คลอโรฟิลล์ ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริธรีน และการผลิตลิพิดของ *A. halophytica* ได้ดีกว่าแสงฟลูออเรสเซนต์
6. แสงแอลอีดีสีน้ำเงินส่งผลให้การเจริญเติบโต การสังเคราะห์รงควัตถุ และการผลิตลิพิดสูงกว่าแสงแอลอีดีสีเขียว แดง และ ขาว โดยแสงแอลอีดีสีน้ำเงินความเข้มแสง 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาทีจะให้ปริมาณและอัตราการผลิตลิพิดสูงสุด
7. จากการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันจากลิพิดของ *A. halophytica* ภายใต้แสงต่างๆ สรุปได้ว่า ภายใต้แสงแอลอีดีสีขาว *A. halophytica* มีองค์ประกอบกรดไขมันที่เหมาะสมต่อการผลิตไบโอดีเซล ส่วนภายใต้แสงแอลอีดีสีน้ำเงิน สีแดง และสีเขียว *A. halophytica* มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) สูง จึงเหมาะสำหรับใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษากลไกระดับโมเลกุลที่ควบคุมการสังเคราะห์ลิพิดใน *A. halophytica* โดยวิเคราะห์การแสดงออกของยีน (Gene expression) และเมตาบอลอม (Metabolome) เพื่อทำความเข้าใจกลไกการควบคุมการสังเคราะห์และสะสมลิพิดภายใต้สภาวะต่างๆ อันจะเป็นพื้นฐานในการปรับปรุงสายพันธุ์หรือการออกแบบชีววิศวกรรมในอนาคต
2. ควรศึกษาการประยุกต์ใช้ชีววิศวกรรมเพื่อเพิ่มการผลิต ศึกษาแนวทางการดัดแปลงพันธุกรรมหรือการใช้เครื่องมือ Synthetic biology เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต เช่น การเหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไขมัน หรือการปิดยีนที่เกี่ยวข้องกับการสลายลิพิด
3. การออกแบบและพัฒนาระบบเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (Continuous cultivation) หรือระบบโฟโตไบโอริ แอ็กเตอร์ที่เหมาะสม ควรมีการพัฒนาเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (Photobioreactor) ที่มีประสิทธิภาพสูง และควบคุมสภาวะแวดล้อมได้อย่างแม่นยำ เพื่อรองรับการผลิตในระดับอุตสาหกรรม โดยคำนึงถึงต้นทุน พลังงาน และความยั่งยืน
4. การวิเคราะห์ผลกระทบตลอดวัฏจักรชีวิต (Life Cycle Assessment: LCA) ควรมีการประเมินวัฏจักรชีวิตของกระบวนการผลิตไบโอดีเซลจาก *Aphanothece halophytica* ตั้งแต่การเพาะเลี้ยง การสกัดลิพิด ไปจนถึงการผลิตไบโอดีเซล เพื่อประเมินความยั่งยืนและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในภาพรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การบูรณาการระบบการผลิตร่วม (Integrated biorefinery) ศึกษาการนำผลิตผลพลอยได้จากการผลิตลิพิด (เช่น โพรตีน คาร์โบไฮเดรต หรือรงควัตถุ) ไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบอื่นๆ เช่น อาหารสัตว์ วัสดุชีวภาพ หรือสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจและลดของเสียในระบบ
6. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียชนิดอื่น ควรมีการเปรียบเทียบกับไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ ที่มีความสามารถในการเจริญในน้ำทะเลและผลิตลิพิดสูง เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดในเชิงเศรษฐศาสตร์และเทคโนโลยีในอนาคต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- จตุพร วิทยาคุณ และนุรักษ์ กฤษดานุรักษ์. 2547. “การเร่งปฏิกิริยาพื้นฐานและการประยุกต์.” กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- ณัฐริกา เผื่อนบิดา และคณะ. 2560. “การผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียวในสภาวะขาดธาตุอาหาร.” วิทยาศาสตร์บัณฑิต เคมีสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- นฤตชวรรณ สัญญาโณ. 2556. “การเก็บเก็บวไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก.” วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- นัยนา บุญทวีวัฒน์. 2553. “ชีวเคมีทางโภชนาการ.” พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : เจริญดีมั่นคงการพิมพ์.
- พงษ์ผไท กิจรุ่งโรจนานพร. 2560. “การเจริญเติบโตและผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานฆ่าสุกร.” วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. 2546. “กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่ร้อนของรงควัตถุกลุ่มไฟโคบิลิโปรตีนจากไซยาโนแบคทีเรียในน้ำพุร้อนเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์ที่ร้อนด้านอื่น.” วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. 2549. “สาหร่ายวิทยา (Phycology).” พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ไชยยันต์ ไชยยะ วราภรณ์ธนะกุลรังสรรค์ และ ประเสริฐ เรียบร้อยเจริญ. 2551. “การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชใช้แล้วโดยการใส่ตัวเร่งปฏิกิริยาแบบวิวิธพันธุ์.” รายงานการวิจัย. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ.
- วิทยา เรื่องพรวิสุทธิ. 2547. “ปฏิกิริยาเร่งเคมีเกี่ยวกับผิวและปิโตรเคมี.” กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ ส.ส.ท.
- Abeynaïke, A. Sederma, Y.A. Khan, J. Johns, M.L. Davidson, J.F. and Mackley, M.R. 2012. “The experimental measurement and modeling of sedimentation and creaming for glycerol/biodiesel droplet dispersions.” *Chemical Engineering Science*. 79 : 125–137.
- Ahuja, P. Gupta, R. and Saxena, R.K. 1999. “Zn²⁺ biosorption by *Oscillatoria angustissima*.” *Process Biochem*. 34(1) : 77–85.
- Anagnostidis, K. and Komárek, J. 1988. “Modern approach to the classification system of Cyanophytes Oscillatoriales.” *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 80 (1-4)/Algological Studies. 50-53 : 327-472.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Anagnostidis, K. and Komárek, J. 1990. "Modern approach to the classification-system of Cyanophytes Stigonematales." *Archiv für Hydrobiologie Supplement 86/Algological Studies*. 59 : 1-73.
- Arias-Penarands, M.T. Cristiani-Urbina, E. Montes-Horcasitas, C.M. Esparza-Garcia, F. Torzillo, G. and Canizares-Villanueva, R.O. 2013. "Scenedesmus incrassatulus CLHE-Si01 : a potential source of renewable lipid for high quality biodiesel production." *Bioresour Technol*. 140 : 158–164.
- Asuthkar, M. Gunti, Y. Rao, R. Rao, C.S. and Yadavalli, R. 2016. "Effect of Different Wavelengths of Light on the Growth of *Chlorella pyrenoidosa*." *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 7(2) : 847–851.
- Atta, M. Idris, A. Bukhari, A. and Wahidin, S. 2013. "Intensity of Blue LED Light : A Potential Stimulus for Biomass and Lipid Content in Freshwater Microalgae *Chlorella vulgaris*". *Bioresour Technol*. 148 : 373–378.
- Axelsson, M. and Gentili, F. 2014. "A single-step method for rapid extraction of total lipids from green microalgae." *PLoS One*. 9:e89643
- Bailey-Watts, A.E. and Komárek, J. 1991. "Towards a formal description of a new species of *Synechococcus* (Cyanobacteria/Cyanophyceae) from the freshwater picoplankton." *Arch. Hydrobiol./Algolog. Stud.* 61 : 5-19.
- Baker, A.F. and Bold, H.C. 1970. "Phycological studies X. Taxonomic studies in the *Oscillatoriaceae*." *Univ Tex Publ.* 7004 : 1–105.
- Bartley, M.L. Boeing, W.J. Dungan, B.N. Holguin, F.O. and Schaub, T. 2014. "pH effects on growth and lipid accumulation of the biofuel microalgae *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *J Appl Phycol*. 26 : 1431–1437.
- Berland, B. Campion, T.L. and Campos-Baeta-Neves, MH. (1989). "Interaction de la salinité et de la température sur la morphologie, la croissance et la composition cellulaire d'une cyanobactérie halotolérante (*Aphanothece* sp.)." *Bot Marine* 32 : 317–329.
- Bhowmick, D.G. Koduru, L. and Sen, R. 2015. "Metabolic pathway engineering towards enhancing microalgal lipid biosynthesis for biofuel application - A review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 50 : 1239–1253.
- Bligh, E. G. and Dyer, W. J. 1959. "A rapid method of total lipid extraction and purification." *Can J Biochem Physiol*. 37(8) : 911-7.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Bold, H.C. and Wynne, M.J. 1985. "Introduction to the Algae. Structure and Reproduction." Englewood Cliffs. New Jersey, Prentice-Hall, xvi+720 p.
- Breuer, G. Lamers, P.P. Martens, D.E. Draaisma, R.B. and Wijffels, R.H. 2013. "Effect of light intensity, pH, and temperature on triacylglycerol (TAG) accumulation induced by nitrogen starvation in *Scenedesmus obliquus*. *Bioresour Technol.*" 143 : 1–9.
- Britton, G. 1996. Carotenoids. In : Hendry, G.A.F. Houghton, J.D. (eds) Natural Food Colorants. Boston, MA. *Springer*. 197–243.
- Brock, T.D. 1978. "Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperatures." New York. *Springer-Verlag*.
- Brown, A.J. and Sharpe, L.J. 2016. "Cholesterol synthesis." In: Vance, D.E. and Vance, J.E. (eds), *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 5th ed. 327–358. Amsterdam: Elsevier.
- Brown, D.M., and Glazer, A.N. 1979. "The structure of cyanobacterial phycobilisomes: a model." *Archives of Microbiology*. 123(1) : 1–7.
- Brüll, L. Huang, Z. Jane E. Oates, T. Paulsen, B. Cohen, E. and Michaelsen, T. 2000. "Studies of polysaccharides from three edible species of nostoc (cyanobacteria) with different colony morphologies : Structural characterization and effect on the complement system of polysaccharides from nostoc commune." *Journal of Phycology*. 36 : 871-881.
- Byreddy, A. R. Gupta, A. Barrow, C. J. and Puri, M. 2015. "Comparison of cell disruption methods for improving lipid extraction from thraustochytrid strains." *Mar Drugs*. 13 : 5111–27.
- Cao, J. Yuan, H. Li, B. and Yang, J. 2014. "Significance evaluation of the effects of environmental factors on the lipid accumulation of *Chlorella minutissima* UTEX 2341 under low-nutrition heterotrophic condition." *Bioresource Technology*. 152 : 177–184.
- Carvalho, A.P. Silva, S.O. Baptista, J.M. Malcata, F.X. 2011. "Light requirements in microalgal photobioreactors : an overview of biophotonic aspects." *Applied Microbiology and Biotechnology*. 89(5) : 1275-1288.

- Chang, J. Ossoff, S. Lobe, D. Dorfman, M. Dumais, C. Qualls, R. and Johnson, J. 1985. "UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms." *Appl Environ Microbiol.* 49(6) : 1361-5.
- Chang, M.H. Das, D. Varde, P.V. Pecht, M. 2012. "Light Emitting Diodes Reliability Review." 52 : 62–782.
- Chen, B. Wan C. Mehmood, M. A. Chang, J. Bai, F. and Zhao, X. 2017. "Manipulating environmental stresses and stress tolerance of microalgae for enhanced production of lipids and value-added products - A review." *Bioresource Technology.* 244 : 1198-1206.
- Chinchusak, N. Incharoensakdi, A. Phunpruch, S. 2022. "Enhancement of dark fermentative hydrogen production in nitrogen-deprived halotolerant unicellular cyanobacterium *Aphanothece halophytica* by treatment with reducing agents." *Biomass and Bioenergy.* 167 : 106624.
- Chinchusak, N. Incharoensakdi, A. Phunpruch, S. 2023. "Dark fermentative hydrogen production and transcriptional analysis of genes involved in the unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* under nitrogen and potassium deprivation." *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.* 10 : 1077742.
- Chisti, Y. 2007. "Biodiesel from microalgae." *Biotechnology Advances.* 25(1) : 294-306.
- Church, J. Oh, Y.K. Nam, B. Joo, J.C. and Lee, W.H. 2017. "Effect of salt type and concentration on the growth and lipid content of *Chlorella vulgaris* in synthetic saline wastewater for biofuel production." *Bioresource Technology.* 243 : 147–153.
- Contreras-Roper, J.E. Lidueñez-Ballesteros, V.S. Rodríguez-Bohórquez, A.D. García-Martínez, J.B. Urbina-Suarez, N.A. López-Barrera, G.L. Barrajas-Solano, A.F. Bryan, S.J. Zuorro, A. 2022. "The Effect of LEDs on Biomass and Phycobiliproteins Production in *Thermotolerant Oscillatoria* sp." *Appl. Sci.* 12 : 11664.
- Cowan, JA. 2002. "Structural and catalytic chemistry of magnesium dependent enzymes." *BioMetals.* 15 : 225–235
- Das, P. Aziz, S.S. Obbard, J.P. 2011. "Two-Phase Microalgae Growth in the Open System for Enhanced Lipid Productivity." *Renew. Energy.* 36(9) : 2524–2528.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- De Philippis, R. Ena, A. Paperi, R. Sili, C. and Vincenzini M. 2000. "Assessment of the potential of Nostoc strains from Pasteur Culture Collection for the production of polysaccharides of applied interest." *J. appl. Phycol.* 12 : 401-407.
- Deshmukh, S. Kumar, R. and Kiran, Bala. 2019. "Microalgae biodiesel: A review on oil extraction, fatty acid composition, properties and effect on engine performance and emissions." *Fuel Processing Technology*, 191 : 232-247.
- D'Oca, M.G.M. Viêgas, C.V. Lemões, J.S. Miyasaki, E.K. Morón-Villarreyes, J.A. Primel, E. G. and Abreu, P.C. 2011. "Production of FAMES from several microalgal lipidic extracts and direct transesterification of the *Chlorella pyrenoidosa*." *Biomass and Bioenergy*. 35(4) : 1533–1538.
- Dong, T. Knoshaug, E.P. Pienkos, P.T. and Laurens, L.M.L. 2016. "Lipid recovery from wet oleaginous microbial biomass for biofuel production : a critical review." *Appl Energy*. 177 : 879–95.
- Dufossé, L. Galaup, P. Yaron, A. Arad, S. M. Blanc, P. Murthy, K. N. C. and Ravishankar, G. A. 2005. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use : a scientific oddity or an industrial reality? *Trends in Food Science and Technology*. 16(9) : 389–406.
- El-Sheekh, M. El-Fatah A.A. EL-Azim, MA. and Abou-Shanab, R. 2017. "Effect of temperature on growth and fatty acids profile of the biodiesel producing microalga *Scenedesmus acutus*." *Biotechnol Agron Soc Environ*. 21 : 233–239.
- Enamala, M.K. Enamalab, S. Chavalic, M. Donepudid, J. Yadavallie, R. Kolapallia, B. Aradhyulaf, T.V. Velpurig, J. and Kuppam, C. 2018. "Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 94 : 49-68.
- Folch, J. Lees, M. and Sloane Stanley, G.H. 1957. "A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues." *J Biol Chem*. 226(1) : 497-509.
- Fukui, K. Saito, T. Noguchi Y. Kodera, Y. Matsushima, A. Nishimura, H. and Inada, Y. 2004. "Relationship between color development and protein conformation in the PC molecule." *Dyes Pigm.* 63 : 89–94.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ganzler, K. Salgó, A. and Valkó, K. 1986. "Microwave extraction. A novel sample preparation method for chromatography." *Journal of Chromatography A*. 371 : 299–306.
- Gebhardt, J.S. Nierzwicki-Bauer, S.A. 1991. "Identification of a common cyanobacterial symbiont associated with *Azolla* spp. through molecular and morphological characterization of freeliving and symbiotic cyanobacteria. *Appl Environ Microbiol*. 57 : 2141-2146.
- Geitler, L. 1932. "*Cyanophyceae*." In : Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, Band 14. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft.
- Ghosh, S. Das, P. and Halder, G. 2017. "Influence of fermentation media on mixotrophic cultivation of *Chlorella* sp. MJ 11/11 for biodiesel production in dark conditions." *Journal of Cleaner Production*. 166 : 1204–1210.
- Gingrich, J.C. Lundell, D.J. and Glazer, A.N. 1983. "Core substructure in cyanobacterial phycobilisomes." *Journal of Cellular Biochemistry*. 22(1) : 1–14.
- Glemser, M. Heining, M. Schmidt, J. Becker, A. Garbe, D. Buchholz, R. and Brück, T. 2016. "Application of Light-Emitting Diodes (LEDs) in Cultivation of Phototrophic Microalgae : Current State and Perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 100 : 1077–1088.
- Greenwell, H.C. Laurens, L.M.L. Shields, R.J. Lovitt, R.W. and Flynn, K.J. 2010. "Placing microalgae on the biofuels priority list : a review of the technological challenges." 7(46) : 703–726.
- Grima, E. M. Belarbi, E-H. Fernández Ación, F.G. Medina, AR. And Chisti, Y. 2003. "Recovery of microalgal biomass and metabolites : process options and economics." *Biotechnology Advances*. 20 : 491-515.
- Gu, N. Lin, Q. Li, G. Tan, Y. Huang, L. and Lin, J. 2012. "Effect of salinity on growth, biochemical composition, and lipid productivity of *Nannochloropsis oculata* CS179. *Eng Life Sci*. 12 : 631–637.
- Halim, R. Danquah, M.K. and Webley, P.A. 2012. "Extraction of oil from microalgae for biodiesel production : a review." *Biotechnology Advances*. 30 : 709-732.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hanzawa, H. Shinomura, T. Inomata†, K. Kakiuchi, T. Kinoshita, H. Wada, K. and Furuya, M. 2002. “Structural requirement of bilin chromophore for the photosensory specificity of phytochromes A and B.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 99(7) : 4725–4729.
- Hara, A. and Radin, N.S. 1978. “Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent.” *Analytical Biochemistry*. 90(1) : 420–426.
- Hauschild, C.A. Heather, M.C. Murter, H.J.G. and Pick, F.R. 2004. “Effect of Spectral Quality on Growth and Pigmentation of Picocyanobacteria.” *J. Phycol.* 27 : 6984–702.
- Helm, E.G. Prieto, D.O. Parker, J.E. and Russell, M.C. 2000. “Minority medical school faculty.” *Journal of the National Medical Association*. 92(8) : 411–414.
- Hemwimon, S. Pavasant, P. and Shotipruk, A. 2007. “Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*.” *Sep Purif Technol.* 54 : 44–50.
- Heywood, V.H. 1995. “A global strategy for the conservation of plant diversity.” *Grana* 34 : 363–366.
- Hibino, T. Kaku, N. Yoshikawa, H. Takabe, T. and Takabe, T. 1999. “Molecular characterization of DnaK from the halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* for ATPase, protein folding, and copper binding under various salinity conditions.” *Plant Molecular Biology*. 40(3) : 409–418.
- Hirata, T. Tanaka, M. Ooike, M. Ooike, M. Tsunomura, T. and Sakaguchi, M. 2000. “Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis*.” *Journal of Applied Phycology*. 12 : 435–439.
- Hoffmann, L. 1988. “The development of hormogonia, a possible taxonomic criterium in false-branching blue-green algae (Cyanophyceae, Cyanobacteria).” *Archiv für Protistenkunde*. 135 : 41–43.
- Hotos, G.N. and Antoniadis, T.I. 2022. “The Effect of Colored and White Light on Growth and Phycobiliproteins, Chlorophyll and Carotenoids Content of the Marine Cyanobacteria *Phormidium* sp. and *Cyanothece* sp. in Batch Cultures.” *Life*. 12 : 837.
- Hsieh, P. Pedersen, J. Z. and Bruno, L. 2013. “Photoinhibition of Cyanobacteria and its Application in Cultural Heritage Conservation. *Photochemistry and Photobiology*. 90 : 533–543.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hu, Q. Sommerfeld, M. Jarvis, E. Ghirardi, M. Posewitz, M. Seibert, M. and Darzins, A. 2008. "Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances." *The Plant Journal*. 54 : 621–639.
- Iqbal, J. and Theegala, C. 2013. "Optimizing a continuous flow lipid extraction system (CFLES) used for extracting microalgal lipids." *GCB Bioenergy*. 5(3) : 327–337.
- Ishitani, M. Takabe, T. Kojima, K. and Takabe, T. 1993. "Regulation of glycinebetaine accumulation in the halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*." *Aust. J. Plant Physiol*. 20 : 693-703.
- Lee, S.J. Go, S. Jeong, G.T. and Kim, S.K. 2011. "Oil production from five marine microalgae for the production of biodiesel." *Biotechnol Bioprocess Eng*. 16 : 561–6.
- Japar, A.S. Takriff, M.S. and Yasin, N.H.M. 2017. "Harvesting microalgal biomass and lipid extraction for potential biofuel production : a review." *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 5 : 555-563.
- Kabir, F. Gulfranz, M. Raja, G.K. Inam-ul-Haq, M. Awis, M. Mustafa, M.S. Khan, S.U. Tlili, I. and Shadloo, M.S. 2020. "Screening of native hyper-lipid producing Microalgae strains for biomass and lipid production." *Renewable Energy*. 160 : 1295-1307.
- Kenekar, A.A. and Deodhar, M.A. 2013. Effect of Varying Physicochemical Parameters on the Productivity and Phycobiliprotein Content of Indigenous Isolate *Geitlerinema sulphureum*. *Biotechnology*. 12(3) : 146–154.
- Kim, S.H. Sunwoo, L.Y. Hong, H.J. Awah, C.C. Jeong, G.T. and Kim, S.K. 2019. "Lipid and Unsaturated Fatty Acid Productions from Three Microalgae Using Nitrate and Light-Emitting Diodes with Complementary LED Wavelength in a Two-Phase Culture System. *Bioprocess Biosyst. Eng*. 42 : 1517–1526.
- Kim, Y.H. Park, S. Kim, M. H. Choi, Y.K. Yang, Y.H. Kim, H.J. Kim, H. Kim, H.S. Song, K.G., and Lee S.H. 2013. "Ultrasound-assisted extraction of lipids from *Chlorella vulgaris* using [Bmim][MeSO₄]." *Biomass Bioenergy*. 56 : 99–103.
- Knothe, G. 2009. "Improving biodiesel fuel properties by modifying fatty ester composition." *Energy Environ Sci*. 2 : 759–766.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Komárek, J. and Anagnostidis, K. 1989. "Modern approach to the classification system of Cyanophytes 4 Nostocales." *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 82. *Algological Studies*. 36 : 247-345.
- Komárek, J. and Anagnostidis, K. 1999. "Cyanoprokariota: Chroococcales. In: Süßwasserflora von Mitteleuropa 1^a edición vol. 19/1 (Ed. G. Fischer), Jena, Stuttgart, Lübeck, Ulm, Germany. G. Fischer Verlag. 545.
- Korbee, N. Figueroa, F.L. and Aguilera, J. 2005. "Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta)." *Journal of Photochemistry and Photobiology B : Biology*. 80 : 71-78.
- Krishan, R. Paqué, F. Ossareh, A. Kishen, A. Dao, T. and Friedman, S. 2014. "Impacts of conservative endodontic cavity on root canal instrumentation efficacy and resistance to fracture assessed in incisors, premolars and molars." *Journal of Endodontics*. 40(8) : 1160-1166.
- Kumar, R.R. Rao, P.H. and Arumugam, M. 2015. "Lipid extraction methods from Microalgae : a comprehensive review." *Front Energy Res*. 2(61). 1-9.
- Larkum, A.W.D. 2020. "Light-Harvesting in Cyanobacteria and Eukaryotic Algae: An Overview." In: *Photosynthesis in Algae: Biochemical and Physiological Mechanisms*. 207–260.
- Lawlor, D.W. 1987. "Photosynthesis : Metabolism, control and physiology." New York: *Longman Scientific and Technical*.
- Lee, J.Y. Yoo, C. Jun, S.Y. Ahn, C.Y. and Oh, H.M. 2010. "Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae." *Bioresource Technology*. 101(Suppl 1) : S75–S77.
- Lemberg, R. and Legge, J. W. 1949. "*Haematin Compounds and Bile Pigments*." New York: *Interscience Publishers*.
- Li, X. Song, M. Yu, Z. Wang, C. Sun, J. Su, K. Liu, N. Mou, Yiwen and Lu, T. 2022. "Comparison of heterotrophic and mixotrophic *Chlorella pyrenoidosa* cultivation for the growth and lipid accumulation through acetic acid as a carbon source." *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 10 : 107054.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Lima, S. Schulze, P.S.C. Schüler, L.M. Rautenberger, R. Morales-Sánchez, D. Santos, T.F. Pereira, H. Varela C.S.J. Scargiali, F. Wijffels R.H. and Kiron, V. 2020. "Flashing light emitting diodes (LEDs) induce proteins, polyunsaturated fatty acids and pigments in three microalgae." *Journal of Biotechnology*. 325 : 15-24.
- Liu, J. Huang, J. Sun, Z. Zhong, Y. Jiang, Y. and Chen, F. 2011. "Differential lipid and fatty acid profiles of photoautotrophic and heterotrophic *Chlorella zofingiensis* : assessment of algal oils for biodiesel production." *Bioresour Technol*. 102 : 106–10.
- Liu, X. Hong, Y. and Liu, Y. 2022. "Cultivation of *Chlorella* sp. HQ in Inland Saline-Alkaline Water under Different Light Qualities." *Front. Environ. Sci. Eng*. 16 : 1–10.
- Lv, J. Xie, J. Aya Mohamed, G.A. Zhang, X. Feng, Y. Jiao, L. Zhou, E. Yuan, D. and Wang, Y. 2022. "Solar utilization beyond photosynthesis." *Nature Reviews Chemistry*. 7 : 91–105.
- MacColl, R. 1998. "Cyanobacterial phycobilisomes." *Journal of Structural Biology*. 124(2-3) : 311–334.
- Mackinney, G. 1941. "Absorption of light by chlorophyll solutions." *Journal of Biological Chemistry*. 140 : 315–322.
- Mandal, S. and Mallick, N. 2009. Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. *Appl Microbiol Biotechnol*. 84 : 281–291.
- Mapato, C. Wanapat, M. and Cherdthong. A. 2010. "Effects of urea treatment of straw and dietary level of vegetable oil on lactating dairy cows." *Trop. Anim. Health Prod*. 42 : 1635-1642.
- Maltsev, Y. Maltseva, K. Kulikovskiy, M. and Maltseva, S. 2021. "Influence of Light Conditions on Microalgae Growth and Content of Lipids, Carotenoids, and Fatty Acid Composition." *Biology*. 10(10) : 1060.
- Mandotra, SK. Kumar, P. Suseela, MR. Ramteke, PW. 2014. "Fresh water green microalga *Scenedesmus abundans* : A potential feedstock for high quality biodiesel production." *Bioresour Technol*. 156 : 42–47.
- Mazel, D. Houmard, J. Castets, A.M. and Taodeau de Marsac, N. 1990. "Highly repetitive DNA sequences in cyanobacterial genomes." *J. Bacteriol*. 172 : 2755-2761.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- McDonald, P. Edwards, R.A. Greenhalgh, J.F.D. Morgan, C.A. Sinclair, L.A. and Wilkinson, R.G. 2011. "Animal Nutrition." 7th ed. Harlow, England: Pearson. 692.
- Menegazzo, M.L. and Fonseca, G.G. 2019. "Biomass recovery and lipid extraction processes for microalgae biofuels production : A review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 107 : 87-107.
- Meng, S.L. Chen, X. Wang, J. Fan, L.M. Qiu, L.P. Zheng, Y. Chen, J.Z. and Xu, P. 2021. "Interaction Effects of Temperature, Light, Nutrients, and pH on Growth and Competition of *Chlorella vulgaris* and *Anabaena* sp. Strain PCC" *Front. Environ. Sci.* 9 : 712963.
- Miao, X. and Wu, Q. 2004. "High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. *J Biotech.* 110 : 85–93.
- Miao, X. and Wu, Q. 2007. "Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresour Technol.* 97 : 841–846.
- Miriam, L.R.M. Raj, R.E. Kings, A.J. and Visvanathan, M.A. 2017. "Identification and characterization of a novel biodiesel producing halophilic *Aphanothece halophytica* and its growth and lipid optimization in various media." *Energy Conversion and Management*. 141 : 93-100.
- Moheimani, N.R. 2013. "Inorganic carbon and pH effect on growth and lipid productivity of *Tetraselmis suecica* and *Chlorella* sp. (Chlorophyta) grown outdoors in bag photobioreactors. *J Appl Phycol.* 25 : 387–398.
- Mubarak, M. Shaija, A. Suchithra, T.V. 2015. "A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production." *Algal Res.* 7 : 117–23.
- Nagappan, S. Bhosale, R. Nguyen, D.D. Pugazhendhi, A. Tsai, P.C. Chang, S.W. Ponnusamy, V.K. and Kumar, G. 2020. "Nitrogen-fixing cyanobacteria as a potential resource for efficient biodiesel production." *Fuel.* 279 : 118440.
- Naghdi, F.G. Gonzalez, L.M. Chan, W. and Schenk, P.M. 2016. "Progress on lipid extraction from wet algal biomass for biodiesel production." *Microbial Biotechnology*. 9(6) : 718-726.
- National Research Council. 2007. "Nutrient Requirements of Small Ruminants." Washington DC. National Academy Press.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M. 2000 "Lehninger principles of biochemistry, 3rd ed." New York: Worth Publishers. 363–399 (Chapters 11–12).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ohlrogge, J. and Browse, J. 1995. "Lipid Biosynthesis." *The Plant Cell*. 7 : 957-970.
- Okamoto, A. Imamura, M. Tani, K. and Matsumoto, T. 2021. "The Effect of Using Light Emitting Diodes and Fluorescent Lamps as Different Light Sources in Growth Inhibition Tests of Green Alga, Diatom, and Cyanobacteria." *PLoS ONE*. 16 : e0247426.
- OpenStax College. 2013. Lipids. Connexions module : m44401. [Online]. Available : <http://cnx.org/content/m44401/1.7/>
- Pandit, P.R. Fulekar, M.H. and Karuna, M.S.L. 2017. "Effect of salinity stress on growth, lipid productivity, fatty acid composition, and biodiesel properties in *Acutodesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris*." *Environ Sci Pollut Res Int*. 24 : 13437–13451.
- Park, J. and Dinh, T.B. 2019. "Contrasting Effects of Monochromatic LED Lighting on Growth, Pigments and Photosynthesis in the Commercially Important Cyanobacterium *Arthrospira maxima*." *Bioresour. Technol*. 291 : 121846.
- Park, Y. Kim, J. Scrimgeour, A.G. Condlin, M.L. Kim, D. and Park, Y. 2013. "Conjugated linoleic acid and calcium co-supplementation improves bone health in ovariectomised mice." *Food Chemistry*. 140 : 280-288.
- Pham, T.L. Dao, T.S. Tran, N.D. Nimptsch, J. Wiegand, C. and Motoo, U. 2017. "Influence of environmental factors on cyanobacterial biomass and microcystin concentration in the Dau Tieng Reservoir, a tropical eutrophic water body in Vietnam." *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*. 53 : 89-100.
- Porta, D. Rippka, R. and Hernandezmarine, M. 2000. "Unusual ultrastructural features in three strains of Cyanothecae (cyanobacteria)." *Archives of Microbiology*. 173 : 154-163.
- Pragya, N. Pandey K.K. Sahoo, P.K. 2013. "A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 24 : 159-171.
- Prihantini, N.B. Pertiwi, Z.D. Yuniati, R. Sjamsuridzal, W. and Putrika, A. 2019. "The effect of temperature variation on the growth of *Leptolyngbya* (cyanobacteria) HS-16 and HS-36 to biomass weight in BG-11 medium." *Biocatal Agric Biotechnol*. 19 : 101-105.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ra, C.H. Kang, C.H. Jung, J.H. Jeong, G.T. and Kim, S.K. 2016. "Effects of light-emitting diodes (LEDs) on the accumulation of lipid content using a two-phase culture process with three microalgae." *Bioresour. Technol.* 212 : 254–261.
- Ra, C.H. Sirisuk, P. Jung, J.H. Jeong, G.T. and Kim, S.K. 2018. "Effects of Light-Emitting Diode (LED) with a Mixture of Wavelengths on the Growth and Lipid Content of *Microalgae*. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 41 : 457–465.
- Radakovits, R. Jinkerson, E.R. Darzins, A. and Posewitz, C.M. 2010. "Genetic Engineering of Algae for Enhanced Biofuel Production." *Eukaryotic Cell.* 4 : 486–501.
- Raqiba, H. and Sibi, G. 2019. "Light-Emitting Diode (LED) Illumination for Enhanced Growth and Cellular Composition in Three Microalgae." *Adv. Microb. Res.* 3 : 007.
- Ran, W. Wang, H. Liu, Y. Qi, M. Xiang, Q. Yao, C. Zhang, Y. Lan, X. 2019. "Storage of starch and lipids in microalgae : Biosynthesis and manipulation by nutrients." *Bioresource Technology.* 291 : 121894.
- Rasmussen, U. and Svenning, M.M. 2001. "Characterization by genotypic methods of symbiotic Nostoc strains isolated from five species of Gunnera." *Arch Microbiol.* 179 : 204–210.
- Rippka, R. Stanier, R.Y. Deruelles, J. Herdman, M. and Waterbury, J.B. 1979. "Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria." *J Gen Microbiol.* 111 : 1–61.
- Roselet, F. Burkert, J. and Cesar, P. 2016. "Flocculation of *Nannochloropsis oculata* using a tannin-based polymer : Bench scale optimization and pilot scale reproducibility." *Biomass and Bioenergy.* 87 : 55-60.
- Ryckebosch, E. Bruneel, C. Termote-Verhalle, R. Muylaert, K. and Foubert, I. 2014. "Influence of extraction solvent system on extractability of lipid components from different microalgae species." *Algal Research.* 3 : 36–43.
- Sajjadi, B. Chen, W. Abdul Raman, A.A. and Ibrahim, S. 2018. "Microalgae lipid and biomass for biofuel production : A comprehensive review on lipid enhancement strategies and their effects on fatty acid composition." *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 97 : 200-232.
- Sati, Himanshu. Mitra, Madhusree. Mishra, Sandhya. And Baredar, Prashant. 2019. "Microalgal lipid extraction strategies for biodiesel production : A review." *Algal Research.* 38 : 101413.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sato, N. Hagio, M. Wada, H. Tsuzuki, M. 2000. "Requirement of phosphatidylglycerol for photosynthetic function in thylakoid membranes." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97 : 10655–10660.
- Scanlan, D.J. and West, N.J. 2002. "Molecular ecology of the marine cyanobacterial genera *Prochlorococcus* and *Synechococcus*." *FEMS Microbiology Ecology*. 40 : 1-12.
- Scholnick, S. and Keren, N. 2006. "Metal homeostasis in cyanobacteria and chloroplasts. Balancing benefits and risks to the photosynthetic apparatus." *Plant Physiol*. 141 : 805–810.
- Schulze, P.S.C. Barreira, L.A. Pereira, H.G.C. Perales, J.A. and Varela, J.C.S. 2014. "Light Emitting Diodes (LEDs) Applied to Microalgal Production." *Trends Biotechnol*. 32 : 422–430.
- Sharma, N. Fleurent, G. Awwad, F. Cheng, M. Meddeb-Mouelhi, F. Budge, S.M. Germain, H. and Desgagné-Penix, I. 2020. "Red Light Variation as an Effective Alternative to Regulate Biomass and Lipid Profiles in *Phaeodactylum tricornutum*." *Appl. Sci.* 10(7) : 2531.
- Sharmila, D. Suresh, A. Suresh, A. Indhumathi, J. and Velmurugan, N. 2018. "Impact of Various Color Filtered LED Lights on Microalgae Growth, Pigments and Lipid Production." *Eur. J. Biotechnol. Biosci.* 6(6) : 1–7.
- Shekh, A.Y. Shrivastava, P. Gupta, A. Krishnamurthi, K. Devi, S.S. and Mudliar, S.N. 2016. "Biomass and lipid enhancement in *Chlorella* sp. With emphasis on biodiesel quality assessment through detailed FAME signature." *Bioresour Technol*. 201 : 276–286.
- Sheng, S. Zhou, K.Z. and Li, L.L. 2011. "The Effects of Business and Political Ties on Firm Performance: Evidence from China." *Journal of Marketing*. 75(1) : 1-15.
- Siaut, M. Cuiné, S. Cagnon, C. Fessler, B. Nguyen, M. Carrier, P. Beyly, A. Beisson, F. Triantaphylidès, C. Li-Beisson, Y. and Peltier, G. 2011. "Oil accumulation in the model green alga *Chlamydomonas reinhardtii*." *BMC Biotechnology*. 11 : 7.
- Silva, A.P.F.S. Costa, M.C. Lopes, A.C. Abdala Neto, E.F. Leitão, R.C. Mota, C.R. and Santos, A.B. 2014. "Comparison of pretreatment methods for total lipids extraction from mixed microalgae." *Renew Energy*. 63 : 762–766.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Šoštarič, M. Klinar, D. Bricelj, M. Golob, J. Berovič, M. and Likozar B. 2012. "Growth, lipid extraction and thermal degradation of the microalga *Chlorella vulgaris*." *N Biotechnol.* 29 : 325–31.
- Soxhlet, F. 1879. "Die gewichtsanalytische Bestimmung des Milchfettes." *Dinglers Polytechnisches Journal.* 232 : 461-465.
- Stevenson, R.J. Bothwell, M.L. and Lowe, R.L. 1996. "Algal ecology: freshwater benthic ecosystems." San Diego, CA: Academic Press.
- Taikhao, S. Incharoensakdi, A. and Phunpruch, S. 2015. "Dark fermentative hydrogen production by the unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* grown in seawater." *J Appl Phycol.* 27 : 187–196.
- Takabe, T. Incharoensakdi, A. Arakawa, K. and Yokota, S. 1988. "CO₂ Fixation rate and RuBisCO content increase in the halotolerant cyanobacterium, *Aphanothece halophytica*, grown in high salinities." *Plant Physiol.* 88 : 1120–1124.
- Tandeau de Marsac, N. 1977. Occurrence and nature of chromatic adaptation in cyanobacteria. *Journal of Bacteriology.* 130(1) : 82–91.
- Teo, C.L. Atta, M. Bukhari, A. Taisir, M. Yusuf, A.M. and Idris, A. 2014. "Enhancing Growth and Lipid Production of Marine Microalgae for Biodiesel Production via the Use of Different LED Wavelengths." *Bioresour. Technol.* 162 : 38–44.
- Tian, J.-H. Pourcher, A.-M. Bize, A. Wazeri, A. and Peu, P. 2017. "Impact of Wet Aerobic Pretreatments on Cellulose Accessibility and Bacterial Communities in Rape Straw." *Bioresour. Technol.* 237 : 31–38.
- Tindall, D.R. Yopp, J.H. Miller, D.M. and Schmid, W.E. 1978. "Physico-chemical parameters governing the growth of *Aphanothece halophytica* (Chroococcales) in hypersaline media." *Phycologia.* 17 : 179–185.
- Van den Hoek, C. Mann, D.G. and Jahns, H.M. 1995. "Algae : An Introduction to Phycology." Cambridge: Cambridge University Press.
- Vijaya, V. and Anand, N. 2009. "Blue Light Enhances the Pigment Synthesis in Cyanobacterium *Anabaena ambigua* Rao (Nostocales)." *ARPJ. Agric. Biol. Sci.* 4(3) : 1–5.
- Viskari, P.J. and Colyer, C.L. 2003. "Rapid extraction of phycobiliproteins from cultured cyanobacterial samples." *Analytical Biochemistry.* 319(2) : 263–271.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Vymazal J. 1995. "Algae and element cycling in wetlands." Chelsea, Michigan: Lewis Publishers. 698.
- Waditee, R. Hibino, T. Nakamura, T. Incharoensakdi, A. and Takabe, T. 2002. "Overexpression of a Na^+/H^+ antiporter confers salt tolerance on a freshwater cyanobacterium, making it capable of growth in sea water." *Proc Natl Acad Sci USA*. 99 : 4109–4114.
- Waditee, R. Tanaka, Y. and Aoki, K. 2003. "Isolation and functional characterization of N-methyltransferases that catalyze betaine synthesis from glycine in a halotolerant photosynthetic organism *Aphanothece halophytica*." *J Biol Chem*. 278 : 4932–42.
- Wan, C. Bai, F.W. and Zhao, X.Q. 2013. "Effects of nitrogen concentration and media replacement on cell growth and lipid production of oleaginous marine microalga *Nannochloropsis oceanica* DUT01." *Biochem Eng J*. 78 : 32–38.
- Wan, M. Liu, P. Xia, J. Rosenberg, J.N. Oyler, G.A. Michael, J. Betenbaugh, M.J. Nie, Z. and Qiu, G. 2011. "The effect of mixotrophy on microalgal growth, lipid content, and expression levels of three pathway genes in *Chlorella sorokiniana*." *Appl Microbiol Biotechnol*. 91 : 835–844.
- Whitton, B.A. 1992. "Diversity, ecology, and taxonomy of the cyanobacteria." In: Mann, N.H. and Carr, N.G. (eds), *Photosynthetic Prokaryotes*. 1–51.
- Whitton, B. and Potts, M. 2001. "Introduction to the cyanobacteria." In: Whitton, B.A. and Potts, M. (eds), *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. 1–11. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Wilmotte, A. and Golubic, S. 1991. Morphological and genetic criteria in the taxonomy of Cyanophyta/Cyanobacteria." *Algological Studies* (Stuttgart). 64 : 1–24.
- Wyatt, K.H. Turetsky, M.R. Rober, A.R. Giroldo, D. Kane, E.S. and Stevenson, R.J. 2012. "Contributions of algae to GPP and DOC production in an Alaskan fen : effects of historical water table manipulations on ecosystem responses to a natural flood." *Oecologia*. 169 : 821–832.
- Wyman, M. and Fay, P. 1986. "Underwater light climate and the growth and pigmentation of some planktonic blue-green algae (cyanobacteria)." *New Phytologist*. 102(4) : 593–615.

- Xia, L. Rong, J. Yang, H. He, Q. Zhang, D. and Hu, C. 2014. "NaCl as an effective inducer for lipid accumulation in freshwater microalgae *Desmodesmus abundans*." *Bioresour Technol.* 161 : 402–409.
- Xu, N. Zhang, X. Fan, X. Han, L. and Zeng, C. 2001. "Effects of nitrogen source and concentration on growth rate and fatty acid composition of *Ellipsoidion sp.* (*Eustigmatophyta*)." *Journal of Applied Phycology.* 13(6) : 463–469.
- Xu, H. Miao, X. and Wu, Q. 2006. "High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters." *Journal of Biotechnology.* 126(4) : 499–507.
- Yang, Z. Chen, J. Tang, B. Lu, Y. Ho, SH. Wang, Y. Chen, C. and Shen, L. 2024. "Metabolic interpretation of NaCl stress-induced lipid accumulation in microalgae for promising biodiesel production with saline wastewater." *Chem Eng Sci.* 284 : 119447.
- Yu, W. Ansari, W. Schoepp, A.G. Hannanon, J.M. Mayfield, P.S. and Burkart, D.M. 2011. "Modifications of the metabolic pathways of lipid and triacylglycerol production in microalgae." *Microbial Cell Factories.* 10 : 91.
- Zhang, W. Li, P. and Yang, R. 2015. "Enzymes in Oil- and Lipid-Based Industries." In: Zhong, J. (ed), *Enzymes in Food and Beverage Processing.* 227–253. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Zhao, Y. Wang, J. Zhang, H. Yan, C. and Zhang, Y. 2013. "Effects of Various LED Light Wavelengths and Intensities on Microalgae-Based Simultaneous Biogas Upgrading and Digestate Nutrient Reduction Process." *Bioresour. Technol.* 136 : 461–468.
- Zhong, Y. Jin, P. and Cheng, J.J. 2018. "A Comprehensive Comparable Study of the Physiological Properties of Four Microalgal Species under Different Light Wavelength Conditions." *Planta.* 248 : 489–498.



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Blue green (BG) 11 medium (Rippka *et al.*, 1979)

Trace metal mix (1000X)

H ₃ BO ₃	46.30	mM
MnCl ₂ .4H ₂ O	4.15	mM
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.77	mM
NaMoO ₄ .2H ₂ O	1.61	mM
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.32	mM
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.17	mM

Composition of BG11 (100X)

NaNO ₃	1.76	M
MgSO ₄ .7H ₂ O	30.40	mM
CaCl ₂ .2H ₂ O	24.50	mM
Citric Acid	3.12	mM
Na ₂ EDTA	279	mM

Composition of BG11

BG11 (100X)	10	mL
Na ₂ CO ₃ (2 g/100 mL)	1	mL
K ₂ HPO ₄ (3.05 g/100 mL)	1	mL
FeNH ₄ .Citrate (0.60 g/100 mL)	1	mL

ปรับปริมาตร 1 ลิตรด้วยน้ำดีไอออนไนซ์ และปรับค่าความเป็นกรดต่าง 7.5 ด้วย 2 N NaOH ก่อนนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Blue green 11 (BG11) medium supplemented with Turk Island salt solution (Garlick et al., 1977)

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 เสริมด้วย Turk island salt solution

100XBG11 (ภาคผนวก ก)	10	mL
*Stock A solution	100	mL
**Stock B solution	100	mL
Na ₂ CO ₃ (2 g/100 mL)	1	mL
K ₂ HPO ₄ (3.05 g/100 mL)	1	mL
FeNH ₄ .Citrate (0.60 g/100 mL)	1	mL
NaCl	28.16	g

ปรับปริมาตร 1 ลิตรด้วยน้ำดีไอออนไนซ์ และปรับค่าความเป็นกรดด่าง 7.5 ด้วย 2 N NaOH

*Stock A solution

Composition per liter

KCl	6.6	g
MgCl ₂ .6H ₂ O	55	g
CaCl ₂ .2H ₂ O	14.66	g

**Stock B solution

Composition per liter

MgSO ₄ .7H ₂ O	74.48	g
--------------------------------------	-------	---

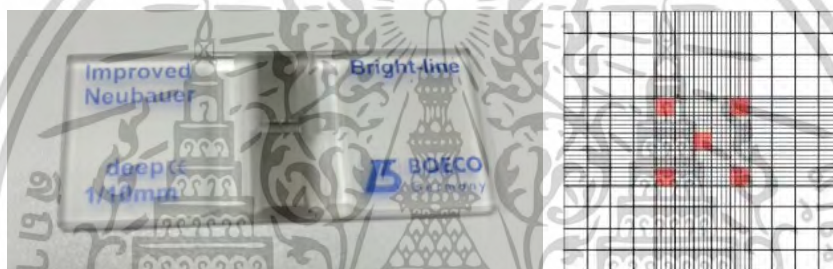
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์

วิธีการคำนวณหาความหนาแน่นของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย

ฮีโมไซโตมิเตอร์เป็นอุปกรณ์ที่ช่วยนับจำนวนเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย โดยจะนำมาใช้คำนวณหาความหนาแน่นของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย โดยบนสไลด์นั้นจะมีตารางสี่เหลี่ยม 2 ขนาด อยู่ตรงกลาง โดยจะมีความลึกของแต่ละช่องอยู่ที่ 0.1 มิลลิเมตร เมื่อปัดกระຈກครอบสไลด์แล้ว ใส่ตัวอย่างที่ต้องการนับจำนวนเซลล์แล้วส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) แล้วทำการนับจำนวนเซลล์ ดังแสดงในรูป ค-1



รูปที่ ค-1 สไลด์ฮีโมไซโตมิเตอร์

การนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์

นับเซลล์สาหร่ายบนช่องสี่เหลี่ยมตรงกลาง (25 ช่องใหญ่ ซึ่งภายในมีตารางขนาดเล็กจำนวน 16 ช่อง) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายภาพ 400 เท่า หากมีจำนวนเซลล์หนาแน่นมากเกินไป ให้ทำการสุมนับจำนวน 5 ช่อง แล้วทำการหาค่าเฉลี่ยต่อพื้นที่ 25 ช่อง ดังนี้

$$\text{จำนวนเซลล์สาหร่าย (Cells/mL)} = \frac{(X_1+X_2+X_3+X_4+X_5)}{5} \times 25 \times 10^4$$

5

ในกรณีที่เซลล์สาหร่ายทับเส้นใหญ่เลือกนับแบบใดแบบหนึ่งดังนี้

- 1) นับสาหร่ายบนเส้นแนวนอนและเส้นแนวขวา ไม่นับเส้นแนวซ้ายและเส้นแนวกลาง
- 2) นับสาหร่ายบนเส้นแนวกลางและเส้นแนวซ้าย ไม่นับเส้นแนวขวาและเส้นแนวนอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

สภาวะของ Gas-Chromatograph และผลการวิเคราะห์ ชนิดและองค์ประกอบของกรดไขมัน

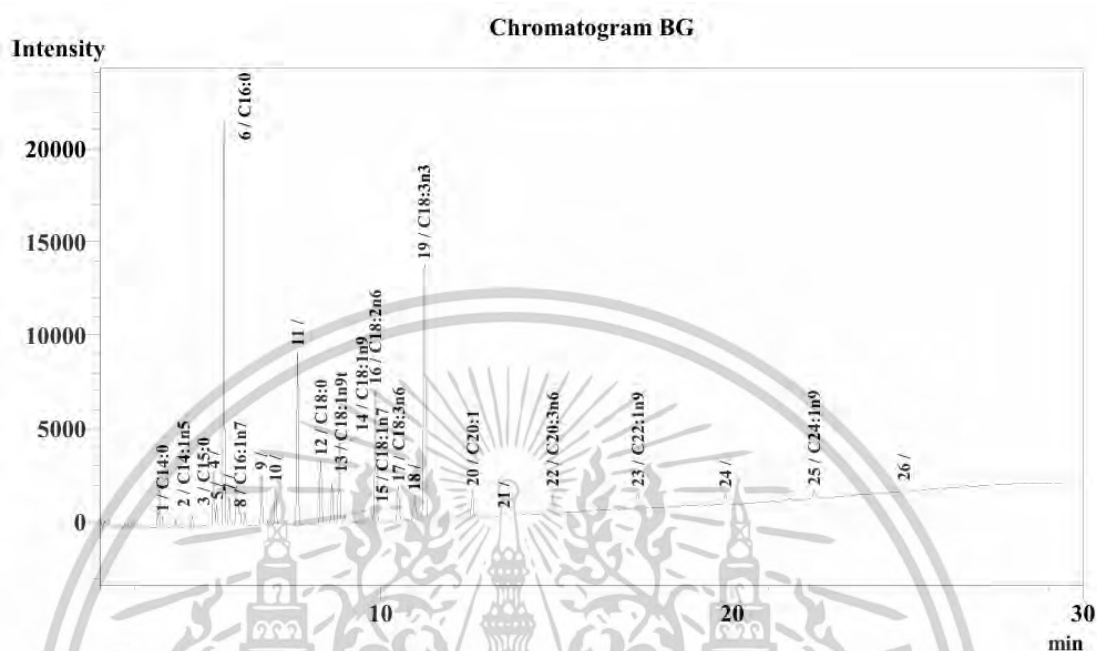
ตารางที่ ง-1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิดและองค์ประกอบของกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีพร้อมตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (Gas Chromatograph-Flame Ionization Detector, GC-FID)

พารามิเตอร์	สภาวะในการเดินระบบ
Gas Chromatograph	Gas Chromatograph-Flame Ionization Detector (Shimadzu, Tokyo, Japan)
Column	BPX70 30 m. x 0.25 mm. i.d. x 0.25 μ m
Detector	Flame Ionization Detector (FID)
Temperature Program	Injector temperature: 250°C Oven temperature: 160°C hold 2 min, 2°C/min to 210°C hold 20 min Detector temperature: 250°C
Injection mode	Mode: Split Sample volume: 1 μ L Split ratio: 50:1
Carrier gas	Helium gas
Carrier gas flow rate	1.04 mL/min

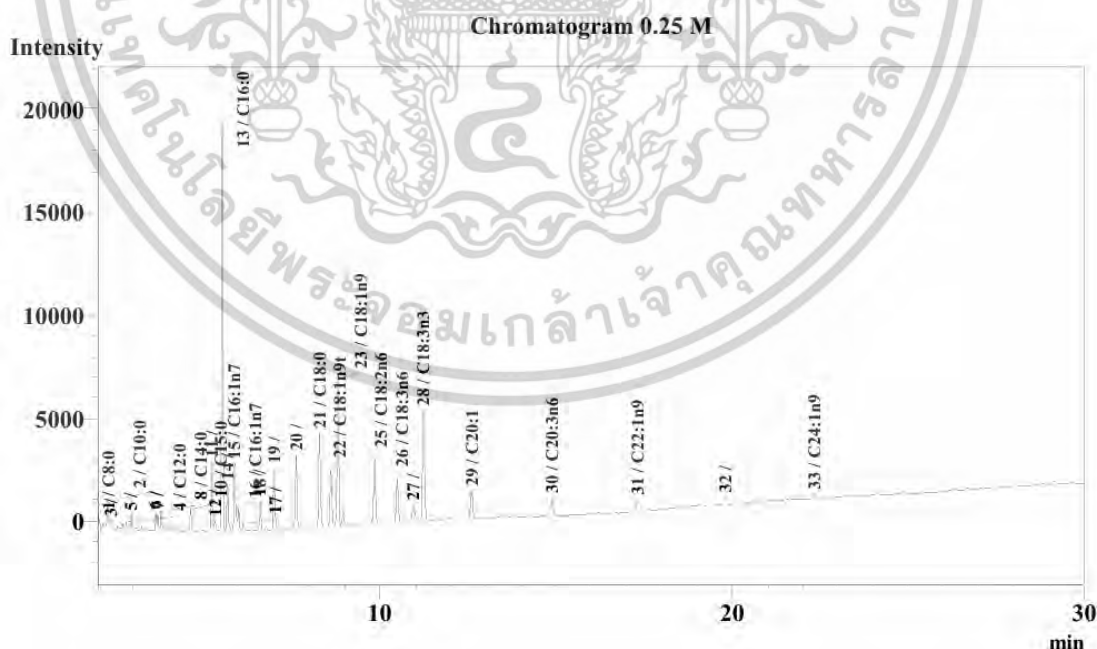
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง (ต่อ)

ผลการวิเคราะห์ชนิดและองค์ประกอบของกรดไขมัน

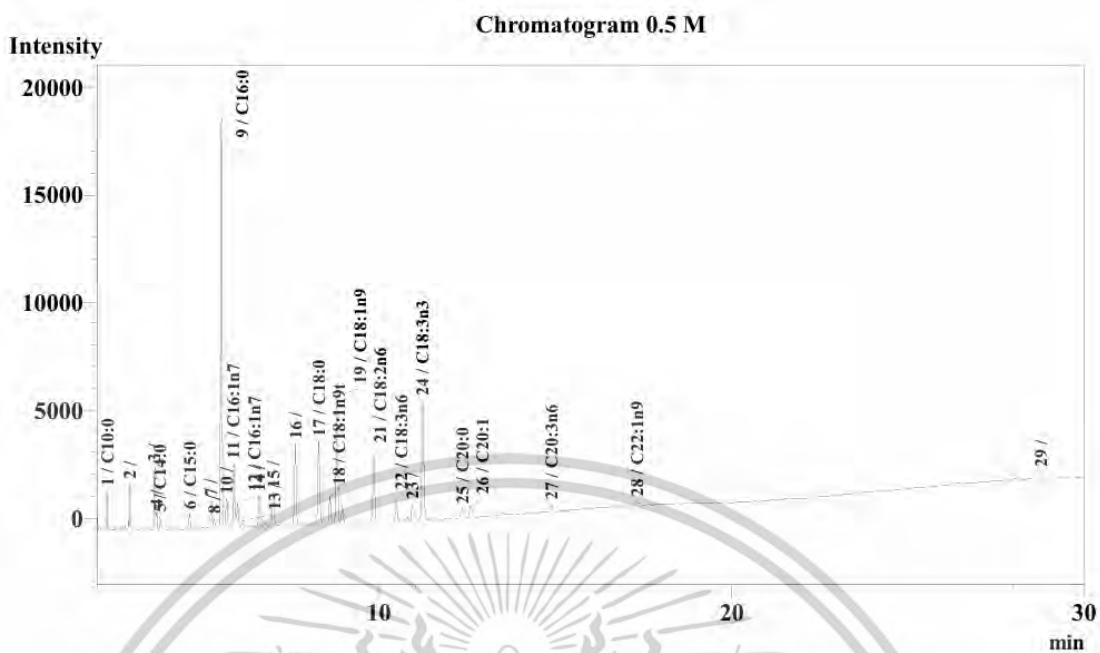


รูปที่ ง-2 แสดงโครมาโทแกรม (Chromatogram) ของกรดไขมันที่พบใน *A. halophytica* ที่มีการเพาะเลี้ยงในอาหาร BG11

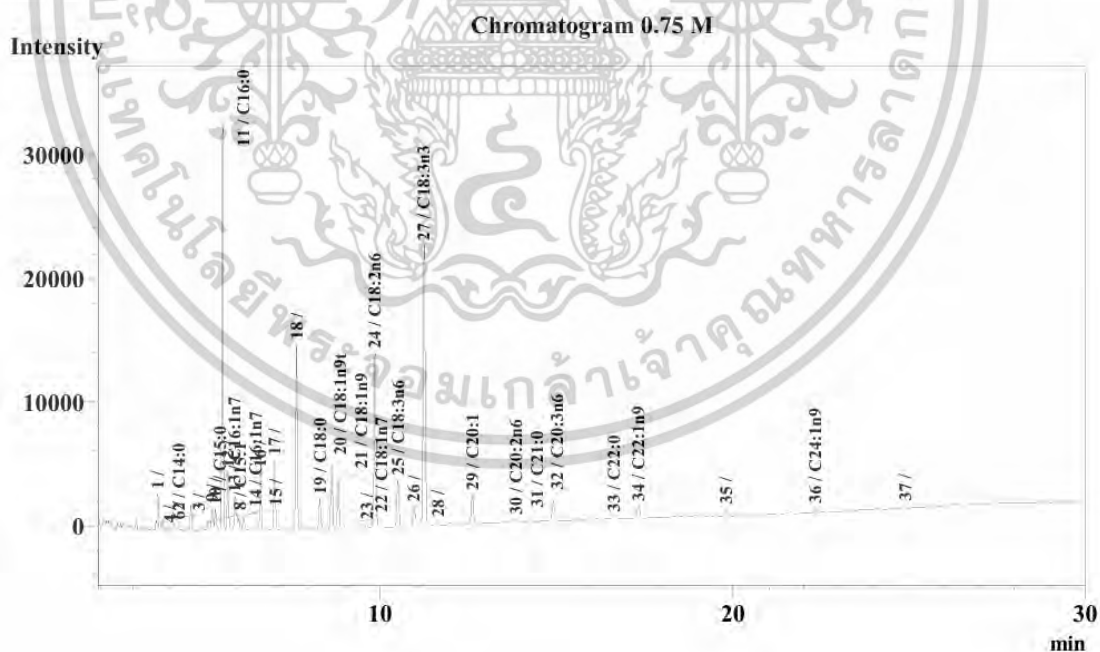


รูปที่ ง-3 แสดงโครมาโทแกรม (Chromatogram) ของกรดไขมันที่พบใน *A. halophytica* ที่มีการเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติซึ่งเสริมด้วย 17.6 มิลลิโมลาร์โซเดียมไนเตรท สารละลายเกลือเดิร์ก

และกลูโคส 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.25 โมลาร์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

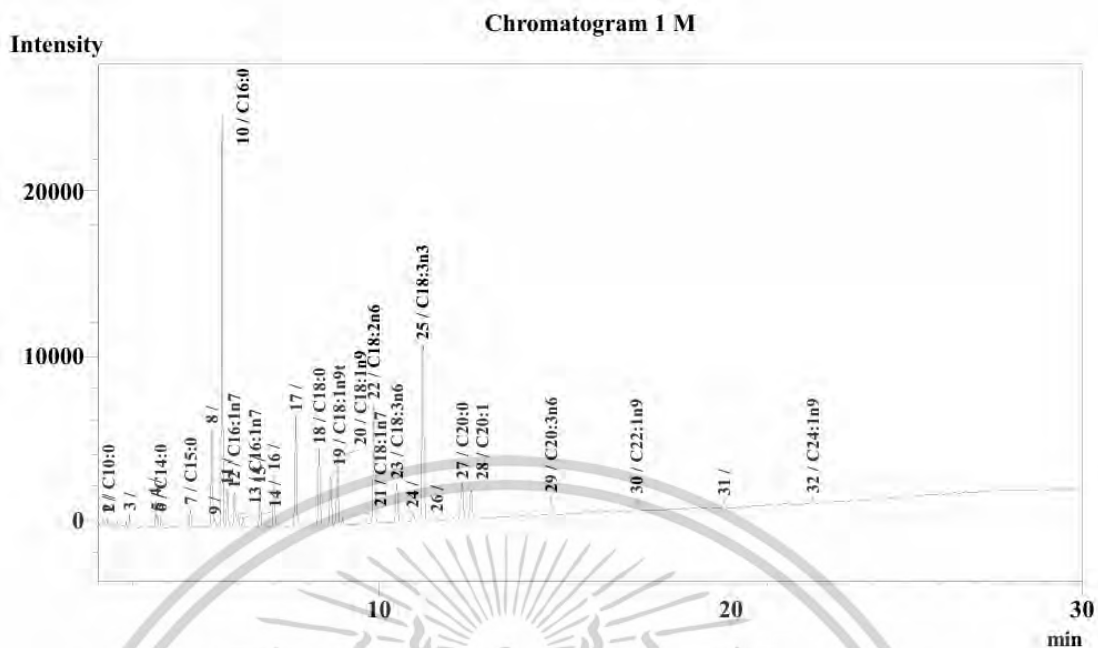


รูปที่ ง-4 แสดงโครมาโทแกรม (Chromatogram) ของกรดไขมันที่พบใน *A. halophytica* ที่มีการเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติซึ่งเสริมด้วย 17.6 มิลลิโมลาร์โซเดียมไนเตรท สารละลายเกลือเดิร์ก และกลูโคส 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.5 โมลาร์

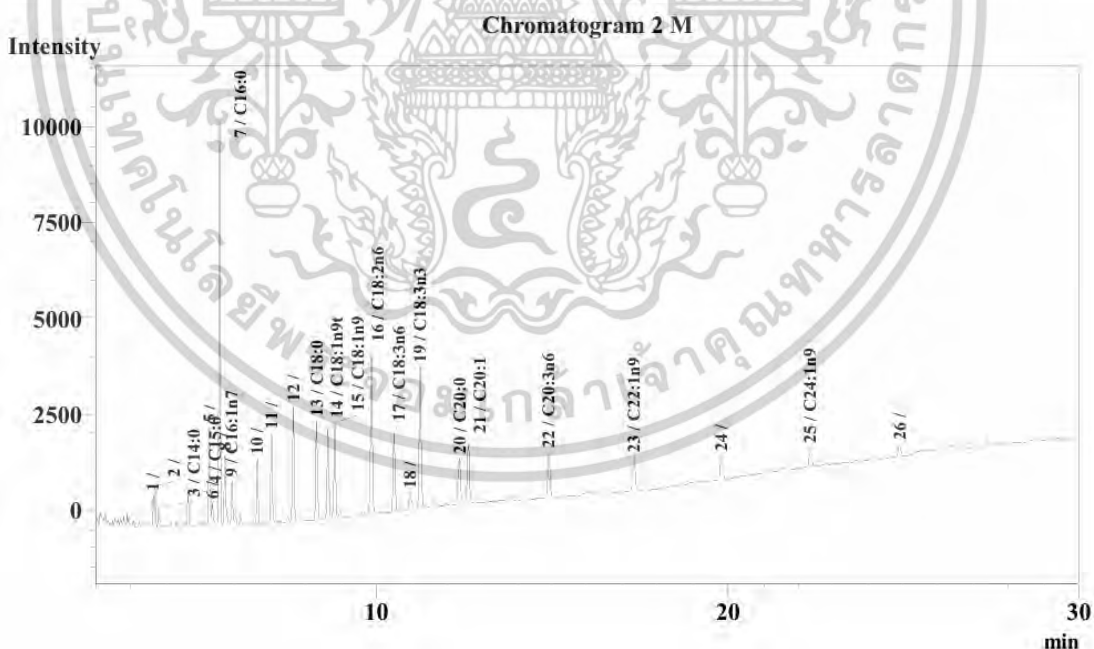


รูปที่ ง-5 แสดงโครมาโทแกรม (Chromatogram) ของกรดไขมันที่พบใน *A. halophytica* ที่มีการเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติซึ่งเสริมด้วย 17.6 มิลลิโมลาร์โซเดียมไนเตรท สารละลายเกลือเดิร์ก และกลูโคส 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.75 โมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สแกนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

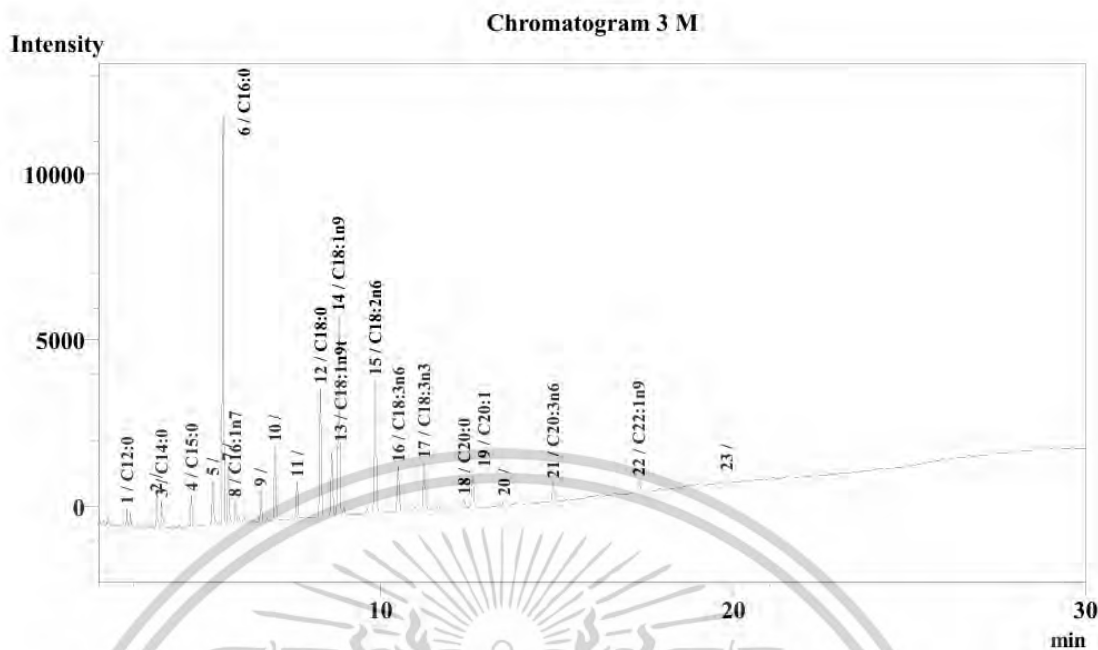


รูปที่ ง-6 แสดงโครมาโทแกรม (Chromatogram) ของกรดไขมันที่พบใน *A. halophytica* ที่มีการเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติซึ่งเสริมด้วย 17.6 มิลลิโมลาร์โซเดียมไนเตรท สารละลายเกลือเดิร์ก และกลูโคส 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเติมโซเดียมคลอไรด์ 1 โมลาร์



รูปที่ ง-7 แสดงโครมาโทแกรม (Chromatogram) ของกรดไขมันที่พบใน *A. halophytica* ที่มีการเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติซึ่งเสริมด้วย 17.6 มิลลิโมลาร์โซเดียมไนเตรท สารละลายเกลือเดิร์ก และกลูโคส 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเติมโซเดียมคลอไรด์ 2 โมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

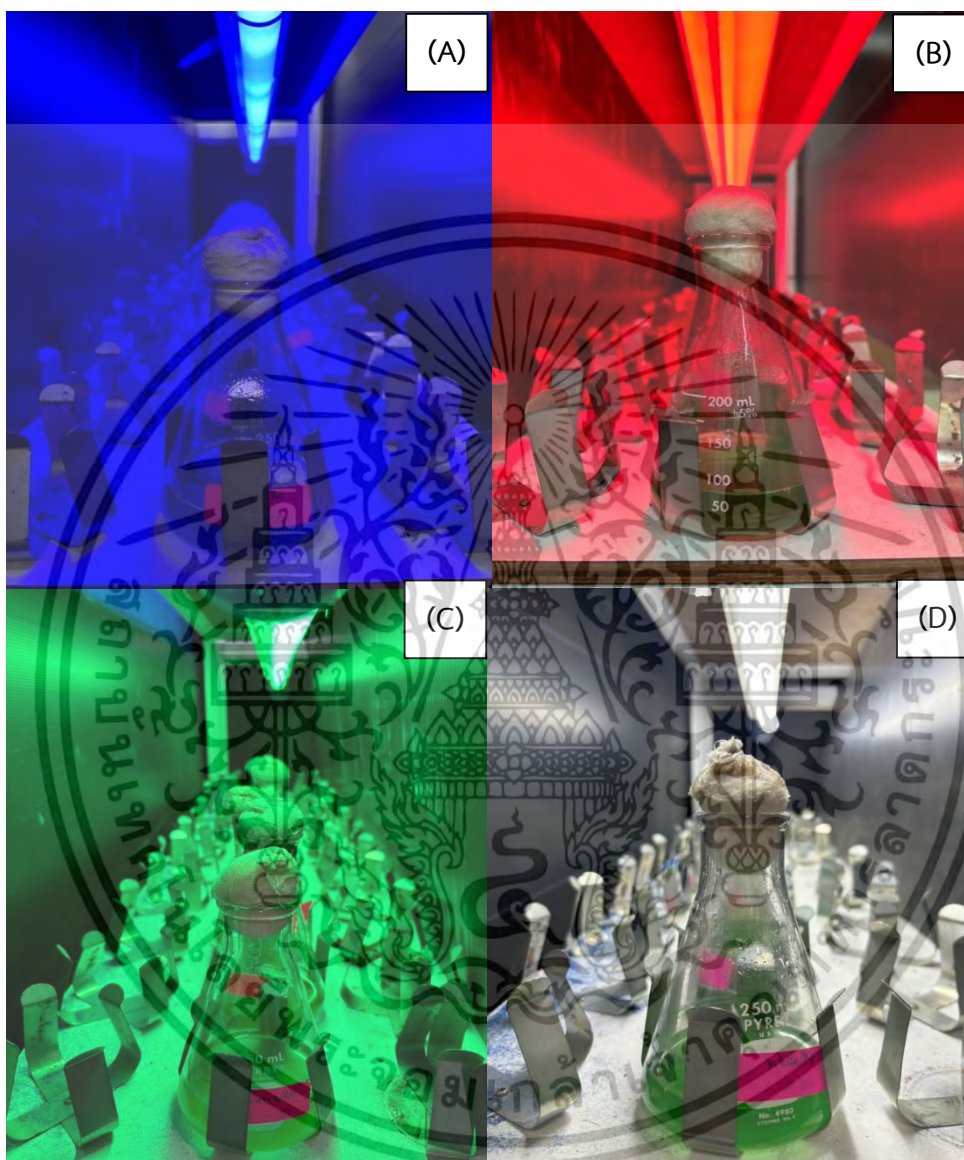


รูปที่ ง-8 แสดงโครมาโทแกรม (Chromatogram) ของกรดไขมันที่พบใน *A. halophytica* ที่มีการเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติซึ่งเสริมด้วย 17.6 มิลลิโมลาร์โซเดียมไนเตรท สารละลายเกลือเตีร์ก และกลูโคส 1.89 มิลลิโมลาร์คาร์บอนอะตอมต่อลิตร และเติมโซเดียมคลอไรด์ 3 โมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียในแสงแอลอีดี สีต่างๆ



รูปที่ จ-1 การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ในแสงแอลอีดี สีน้ำเงิน (A) สีแดง (B) สีเขียว (C) และสีขาว (D)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นาย สิทธิชัย ทองทา
วัน เดือน ปีเกิด	1 ตุลาคม 2528
ที่อยู่ปัจจุบัน	88 นาซ่าเวกัส เซอร์วิสอพาร์ทเมนท์ ถนนรามคำแหง แขวงสวนหลวง เขตสวนหลวง กรุงเทพฯ 10250
ประวัติการศึกษา	2552 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ 2554 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการทรัพยากรชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนผู้ช่วยวิจัยและทุนผู้ช่วยสอน (ระดับปริญญาเอก) คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	1. Thongtha, S., Aryasuk, K., Kittiwongwattana, C., Incharoensakdi, A. and Phunpruch, S. 2024. “Modified natural seawater as growth medium for the halotolerant cyanobacterium <i>Aphanothece halophytica</i> to increase lipid content for biodiesel production.” <i>Journal of Applied Phycology</i> . 37(1) : 83-95. (DOI.org/10.1007/s10811-024-03375-y) 2. Thongtha, S., Kittiwongwattana, C., Incharoensakdi, A. and Phunpruch, S. 2025. “Light-Emitting Diode Illumination Enhances Biomass, Pigment, and Lipid Production in Halotolerant Cyanobacterium <i>Aphanothece halophytica</i> ” <i>Phycology</i> . 5(2) : 12. (DOI.org/10.3390/phycolgy5020012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้