รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

สภาวะในการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียว *Botryococcus braunii* KMITL 2 และไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria limnetica* ในระดับมหมวล

Optimum culture conditions for increasing lipid productivity of green alga, *Botryococcus braunii* KMITL 2 and cyanobacterium, *Oscillatoria limnetica* for mass cultivation

รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

รศ. ศักดิ์ชัย ชูโชติ

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

สภาวะในการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียว *Botryococcus braunii* KMITL 2 และไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria limnetica* ในระดับมหมวล

Optimum culture conditions for increasing lipid productivity of green alga, *Botryococcus braunii* KMITL 2 and cyanobacterium, *Oscillatoria limnetica* for mass cultivation

รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์
รศ. ศักดิ์ชัย ชูโชติ
ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

RCH
ส821ส
2556
สจหม.
เลขทะเบียน 142684
รับเดือน.ปี 23 มิ.ย. 2559

b 12779088
i

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ สภาวะในการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียว *Botryococcus braunii* KMITL 2 และไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria limnetica* ในระดับมหมวล

แหล่งเงิน เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556

ประจำปีงบประมาณ 2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 575,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2555 ถึง 30 กันยายน 2556

หัวหน้าโครงการและผู้ร่วมโครงการวิจัย รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

รศ. ศักดิ์ชัย ชูโชติ

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะในการเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันในสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* พบว่า *O. limnetica* ให้ไขมันได้สูงเมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้ $NaNO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ความเข้มข้น 0.125 กรัมต่อลิตร หรือเลี้ยงในอาหารที่มีฟอสฟอรัส 0.1 กรัมต่อลิตร, เหล็ก 0.009 กรัมต่อลิตร, ความเค็ม 0 psu, ความเข้มแสง 0 Lux ส่วน *B. braunii* พบว่าให้ไขมันได้สูงเมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้ KNO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ความเข้มข้น 0.125 กรัมต่อลิตร หรือเลี้ยงในอาหารที่มีฟอสฟอรัส 2.5 กรัมต่อลิตร, เหล็ก 0.625 กรัมต่อลิตร, ความเค็ม 0 psu, ความเข้มแสง 4120 Lux

การเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* โดยเริ่มต้นเลี้ยงในสภาวะที่สาหร่ายโตดีที่สุด จากนั้นนำไปเลี้ยงในอาหารที่ให้ไขมันสูงที่สุดพบว่าสามารถกระตุ้นให้สาหร่ายเพิ่มปริมาณไขมันได้ทุกสภาวะการกระตุ้น โดยการกระตุ้นด้วยการเลี้ยงที่ความเค็ม 15 psu จากนั้นย้ายมาเลี้ยงที่ความเค็ม 0 psu สามารถกระตุ้นให้มีไขมันสูงถึง 32 % และจากการศึกษากรดไขมันพบว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดมีกรดไขมัน C16-C18 เป็นองค์ประกอบหลักมากกว่า 50 % ซึ่งเหมาะสมกับการนำไปทำไบโอดีเซล

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน จากสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* พบว่าทั้งสามค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้น โดยเมื่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตลดลง ปริมาณไขมันจะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น การเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิด raceway pond สามารถเพิ่มปริมาณไขมันของสาหร่ายได้มากกว่าการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดย *O. limnetica* และ *B. braunii* มีไขมันสูงถึง 35 และ 47 % ตามลำดับ

คำสำคัญ : โบทริโอคอคคัส บราวนี, ออสซิลลาทอเรีย, ไขมัน, กรดไขมัน, ไบโอดีเซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Optimum culture conditions for increasing lipid productivity of green alga, *Botryococcus braunii* KMITL 2 and cyanobacterium, *Oscillatoria limnetica* for mass cultivation

Researcher: Assoc. Prof. Dr. Suneerat Ruangsomboon

Faculty: Faculty of Agricultural Technology **Department:** Department of Fisheries Science

ABSTRACT

The optimal culture conditions for growth and lipid content of cyanobacterium *O. limnetica* and green microalga *Botryococcus braunii* were studied by varying parameters one at a time. When *O. limnetica* was cultured in BG-11 medium containing $NaNO_3$ 0.125 mg/l, or 0.1 g/l phosphorus, 0.009 g/l iron, high lipid content was obtained under illumination of 0 lux with salinity 0 psu. *B. braunii* showed high lipid content when cultured in Chlorella medium containing KNO_3 0.125 g/l, or 2.5 g/l phosphorus, 0.625 g/l iron, under continuous illumination of 4120 lux with salinity 0 psu.

To enhance lipid production of *B. braunii* by two-steps cultivation, *B. braunii* was cultured in medium which enhance the maximum biomass, after that transfer to the medium which enhance the maximum lipid content. The result showed that *B. braunii* could increase lipid content up to 32% by cultivated in medium with salinity 15 psu and then transferred to medium with salinity 0 psu. The C16-C18 fatty acid groups of both microalgae, occupied up to 50% of total fatty acids, thus it preferable for biodiesel fuel.

Carbohydrate, protein and lipid content of *O. limnetica* and *B. braunii* were increased when the cultivation time increased. Lipid content tended to increased when carbohydrate decreased. Lipid content of *O. limnetica* and *B. braunii* cultured in raceway pond was 35 and 47% respectively, which was higher than that of cultured in laboratory.

Key words: *Botryococcus braunii*, *Oscillatoria*, lipid, fatty acid, biodiesel

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

"การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุนงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556"

รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์
รศ. ศักดิ์ชัย ชูโชติ
ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 สมมุติฐานงานวิจัย	2
1.5 คำสำคัญของการวิจัย	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม	4
2.1 ไบโอดีเซล (Biodiesel)	4
2.2 สาหร่ายและความเหมาะสมในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมัน	5
2.3 กรดไขมันในสาหร่าย	8
2.4 การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการผลิตน้ำมัน	10
2.5 ปริมาณไขมันในสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยปัจจัยทางเคมีและกายภาพที่แตกต่างกัน	10
2.6 ความสัมพันธ์ของปริมาณไขมัน คาร์โบไฮเดรท และโปรตีนในสาหร่าย	14
2.7 ความเหมาะสมของสาหร่าย *B. braunii* และ *O. limnetica* ในการนำมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล	15
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	18
3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย	18
3.2 การศึกษาสภาวะในการเลี้ยงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันในสาหร่าย	18
3.3 การศึกษาความเป็นไปได้ในการเลี้ยงแบบมหภาค	20
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	22
4.1 หัวเชื้อสาหร่าย	22
4.2 สภาวะในการเลี้ยงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันในสาหร่าย	22
4.3 ความเป็นไปได้ในการเลี้ยงแบบมหภาค	59
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	68
เอกสารอ้างอิง	69
ประวัติผู้เขียน	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิต ไบโอดีเซล	7
2.2 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก (% น้ำหนักแห้ง)	7
2.3 เปรียบเทียบปริมาณไขมันในสาหร่าย *B. braunii* จากงานวิจัยต่าง ๆ	17
4.1 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงระยะเวลาต่างกัน	23
4.2 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่ระยะเวลาต่างกัน	23
4.3 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน	25
4.4 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน	25
4.5 กรดไขมันของของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน	26
4.6 กรดไขมันของของสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน	27
4.7 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในปริมาณไนโตรเจนที่ต่างกัน	28
4.8 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในปริมาณไนโตรเจนที่ต่างกัน	29
4.9 กรดไขมันของของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในไนโตรเจนที่เข้มข้นต่างกัน	29
4.10 กรดไขมันของของสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในไนโตรเจนที่เข้มข้นต่างกัน	30
4.11 กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นไนโตรเจนที่เหมาะสม	33
4.12 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ *O. limnetica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน	36
4.13 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. branuii* ที่เลี้ยงในปริมาณฟอสฟอรัสที่ต่างกัน	36
4.14 กรดไขมันของของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในฟอสฟอรัสที่เข้มข้นต่างกัน	36
4.15 กรดไขมันของของสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในฟอสฟอรัสที่เข้มข้นต่างกัน	38
4.16 กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเหมาะสม	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.17	การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ *O. limnetica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณเหล็กที่แตกต่างกัน.....	42
4.18	การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. branuii* ที่เลี้ยงในปริมาณเหล็กที่ต่างกัน.....	43
4.19	กรดไขมันของ *O. limnetica* ที่เลี้ยงในความเข้มข้นของเหล็กแตกต่างกัน.....	43
4.20	กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เลี้ยงในความเข้มข้นของเหล็กแตกต่างกัน.....	44
4.21	กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เลี้ยงในความเข้มข้นเหล็กที่เหมาะสม.....	47
4.22	การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ *O. limnetica* ที่เพาะเลี้ยงในความเค็มที่แตกต่างกัน	48
4.23	การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน *B. braunii* ในความความเค็มที่แตกต่างกัน	49
4.24	กรดไขมันของ *O. limnetica* ที่เลี้ยงในความเค็มแตกต่างกัน.....	49
4.25	กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เลี้ยงในความเค็มแตกต่างกัน.....	50
4.26	กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เลี้ยงในความเค็มที่เหมาะสม.....	53
4.27	การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ *O. limnetica* ที่เพาะเลี้ยงในความเข้มแสงที่แตกต่างกัน.....	56
4.28	การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน *B. braunii* ในความเข้มแสงที่แตกต่างกัน.....	56
4.29	กรดไขมันของ *O. limnetica* ที่เลี้ยงในความเข้มแสงที่แตกต่างกัน.....	57
4.30	กรดไขมันของ *B. branii* ที่เลี้ยงในความแข้มแสงแตกต่างกัน.....	58
4.31	ปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้สูตรอาหารเกรดการค้า ในถังขนาด 500 ลิตร (นอกห้องปฏิบัติการ)	59
4.32	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway.	63
4.33	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* เพาะเลี้ยงในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway	63
4.34	กรดไขมัน(เปอร์เซนต์)ของ *O. limnetica* ที่เลี้ยงในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway	65
4.35	กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway.....	66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
4.1 น้ำหนักแห้งของ *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เลี้ยงที่ระยะเวลาต่างกัน.....	22
4.2 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน.....	24
4.3 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย สาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เลี้ยงในระดับไนโตรเจนที่ต่างกัน.....	28
4.4 น้ำหนักแห้ง โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และ ไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นไนโตรเจนที่เหมาะสม.....	32
4.5 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย สาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัส ($K_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) แตกต่างกัน.....	35
4.6 น้ำหนักแห้ง โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และ ไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นฟอสฟอรัสที่เหมาะสม.....	39
4.7 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณเหล็กแตกต่างกัน.....	42
4.8 น้ำหนักแห้ง โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และ ไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นเหล็กที่เหมาะสม.....	46
4.9 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย สาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาปณความเค็มแตกต่างกัน.....	48
4.10 น้ำหนักแห้ง โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และ ไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเค็มที่เหมาะสม.....	52
4.11 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เพาะเลี้ยงในที่มีความเข้มแสงแตกต่างกัน.....	55
4.12 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway	59
4.13 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway.....	60
4.14 ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway.....	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

4.15 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway..... 62

4.16 ปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway..... 64

4.17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน จากสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway..... 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัญหาน้ำมันเชื้อเพลิงราคาสูง ปัญหาการขาดแคลนน้ำมันพืชสำหรับบริโภคในครัวเรือน เป็นปัญหาที่มีความรุนแรงมากขึ้นในปัจจุบัน ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของประชากร และการพัฒนาทางเศรษฐกิจ ทำให้มีความต้องการในการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงและน้ำมันพืชที่แหล่งอาหารเพิ่มขึ้น แหล่งพลังงานดั้งเดิมจากน้ำมันปิโตรเลียมเป็นแหล่งพลังงานที่มีปริมาณจำกัด มีความผันแปรของราคาสูง และการเผาไหม้แหล่งพลังงานนี้มีผลต่อการเกิดภาวะเรือนกระจก (green house gases) ซึ่งแนวทางแก้ไขคือหาแหล่งพลังงานทางเลือกแหล่งใหม่ ซึ่งแหล่งทางเลือกแหล่งหนึ่งที่ได้รับความนิยม คือ biofuels (Patil, 2008) ซึ่งเป็นพลังงานที่ได้จากสิ่งมีชีวิต โดยสามารถแก้ปัญหาเรื่องโลกร้อนจากภาวะเรือนกระจกและปัญหาจากราคาที่ผันผวนของปิโตรเลียม แต่พบว่าการแก้ไขปัญหาราคาน้ำมันปิโตเลียมสูง โดยการนำพืชที่เป็นอาหารของมนุษย์ เช่นปาล์มน้ำมัน อ้อย ข้าวโพด มาผลิตเป็นไบโอดีเซล พบว่าทำให้เกิดปัญหาการเพิ่มราคาของผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับมนุษย์ และรุนแรงจนถึงการขาดแคลนน้ำมันพืชสำหรับการบริโภคเนื่องจากวัตถุดิบเหล่านั้นถูกเปลี่ยนไปเป็น biodiesel แทน

ดังนั้นวิธีการแก้ไขปัญหาเหล่านี้ที่ดีที่สุดคือหาแหล่งวัตถุดิบที่ไม่ใช่อาหารสำหรับมนุษย์มาเป็นแหล่งผลิต biodiesel ซึ่งพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่ง เพราะไม่กระทบต่อแหล่งอาหารมนุษย์ และเป็นแหล่งพลังงานที่มีความปลอดภัย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ช่วยแก้ปัญหาการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ของโรงงานอุตสาหกรรมได้ โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสามารถลดปริมาณก๊าซเรือนกระจกได้มากถึง 82%

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสามารถทำได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อยกว่าพืชทั่วไป สาหร่ายขนาดเล็กสามารถให้น้ำมันได้มากถึง 58,700-136,900 ลิตรต่อเฮคแตร์ ซึ่งมากกว่าปาล์มน้ำมันที่ให้น้ำมันได้ 5,950 ลิตรต่อเฮคแตร์ (Chisti, 2007) นอกจากนี้ยังสามารถใช้น้ำทิ้งจากแหล่งต่าง ๆ มาใช้เป็นสารอาหารในการเพาะเลี้ยง และใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ในระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเร่งการเจริญเติบโต จึงทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำ โดยเกณฑ์สำคัญที่จะทำให้การนำสาหร่ายมาใช้เป็นแหล่งไบโอดีเซลได้สำเร็จคือ ต้องมีสายพันธุ์สาหร่ายที่เหมาะสมให้ปริมาณน้ำมันได้สูง มีการเจริญเติบโตที่สูง นอกจากนี้ต้องมีการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงโดยใช้ต้นทุนต่ำ และเก็บผลผลิตได้ง่ายด้วย

สาหร่ายที่ให้ไขมัน (lipid) ได้สูงพบได้หลายชนิด โดยทั่วไปสาหร่ายขนาดเล็กมีไขมัน 20-50 % ของน้ำหนักแห้ง แต่สาหร่ายบางชนิดให้ไขมันสูงถึง 80 %ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งพบว่าจากการศึกษาขั้นต้นสาหร่ายสีเขียว *B. braunii* strain KMITL 2 สามารถให้ไขมันได้สูงถึง 52 % ส่วนไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria limnetica* พบว่ามีไขมัน 19.5 % ให้ผลผลิตไขมัน 1.8 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน และมีผลผลิตชีวมวลที่สูง เก็บเกี่ยวง่าย เจริญเติบโตได้แม้ในน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงปลา จึงมีต้นทุน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงที่ต่ำ และมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นประโยชน์อยู่มาก ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้สามารถนำมาใช้เป็นส่วนหนึ่งของอุตสาหกรรมอาหารของมนุษย์ (Ruangsomboon, 2010) ซึ่ง สภาวะในการเลี้ยงสาหร่ายที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อผลผลิตไขมันและชนิดกรดไขมันที่ต่างกัน การผันแปรสภาวะเหล่านี้จนเหมาะสมจะส่งผลให้ปริมาณไขมันในสาหร่ายเพิ่มขึ้นได้ 30-80 % ของน้ำหนักแห้ง

ดังนั้นจึงได้ดำเนินการศึกษาหาสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *B. braunii* strain KMITL 2 และไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria limnetica* ที่เหมาะสมเพื่อให้ผลผลิตไขมันได้สูงสุดและได้ชนิดกรดไขมันที่เหมาะสม เพื่อนำไขมันจากสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ ทั้งในด้านอาหารของมนุษย์และพลังงานทดแทน ช่วยลดวิกฤตปัญหาด้านการขาดแคลนอาหารและพลังงานของมนุษย์ในอนาคต รวมถึงลดการพึ่งพาพลังงานจากต่างประเทศได้อีกทางหนึ่ง

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1. ศึกษาปัจจัยในการเลี้ยงที่เหมาะสม ที่สามารถเพิ่มผลผลิตไขมันในสาหร่าย *B. braunii* และ *Oscillatoria limnetica* ได้สูงที่สุด

1.2.2. ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณไขมัน โปรตีน และ คาร์โบไฮเดรต ในสาหร่าย *B. braunii* และ *Oscillatoria limnetica* ที่เลี้ยงในสภาวะที่ให้ผลผลิตไขมันสูง

1.2.3. ศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* และ *Oscillatoria limnetica* ที่เลี้ยงในสภาวะที่ให้ผลผลิตไขมันสูง เพื่อเป็นแนวทางนำไปใช้ประโยชน์ ทั้งในด้านอาหารของมนุษย์ และพลังงาน

1.2.4. ศึกษาความเป็นไปได้และความคุ้มทุนในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* และ *Oscillatoria limnetica* เพื่อเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลในระดับมหภาค

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาปัจจัยในการเลี้ยงที่เหมาะสมและโดยผันแปรทีละปัจจัยจนได้ระดับที่เหมาะสมและจึงทดลองนำระดับที่เหมาะสมมาศึกษาอิทธิพลร่วมของปัจจัยอื่น ๆ ที่มีต่อผลผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* และ *Oscillatoria limnetica* และศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในสภาวะที่สาหร่ายให้ผลผลิตไขมันได้สูงที่สุดมีชนิดกรดไขมันที่เหมาะสม คือหากมีปริมาณ triacylglyceral สูงจะเหมาะสมกับการทำเป็นไบโอดีเซล แต่หากมีกรดไขมันที่เป็นประโยชน์สูงเช่น EPA, DHA, linoleic ฯล จะเหมาะกับการนำมาใช้เป็นแหล่งน้ำมันพืชสำหรับมนุษย์ และคำนวนต้นทุนในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเป็นแหล่งผลิตน้ำมัน

1.4 สมมุติฐานงานวิจัย

สาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ KMITL 2 และ *Oscillatoria limnetica* เป็นสาหร่ายที่ทางผู้วิจัยคัดแยกสายพันธุ์จากธรรมชาติและสามารถทำการเพาะเลี้ยงจนได้ปริมาณมาก จากการศึกษาขั้นต้นพบว่าสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ให้ไขมันได้สูงถึง 52 % ส่วน *O. limnetica* ให้ไขมันได้ %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19.5 % และมีการเจริญเติบโตที่ดี เพาะเลี้ยงง่าย ซึ่งการผันแปรสภาวะในการเลี้ยงเพิ่มเติม จะทำให้สามารถหาสภาวะที่สามารถทำให้สาหร่ายเพิ่มผลผลิตไขมันได้มากกว่าค่าดังกล่าว และสามารถนำมาเป็นแหล่งน้ำมันเพื่อผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพจะช่วยแก้ไขปัญหาการขาดแคลนพลังงานได้

1.5 คำสำคัญของการวิจัย

โบทริโอคอคคัส บราวนี, ออสซิลลาทอเรีย, ไขมัน, กรดไขมัน, ไบโอดีเซล

B. braunii, *Oscillatoria*, lipid, fatty acid, biodiesel

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1. ทราบสภาวะในการเลี้ยงที่เหมาะสม ที่ทำให้สาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 และ *O. limnetica* ผลิตไขมันได้สูง และมีชนิดกรดไขมันที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในการเป็นแหล่งผลิตน้ำมันสำหรับผลิตไบโอดีเซล

1.6.2. ทราบถึงความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมันใน *B. braunii* และ *O. limnetica* ที่เลี้ยงในสภาวะที่ให้ผลผลิตไขมันสูง

1.6.3. ทราบถึงความเป็นไปได้และความคุ้มทุนในการเพาะเลี้ยง *B. braunii* และ *O. limnetica* เพื่อเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลในระดับมหภาค

1.6.4. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยสำหรับนักวิจัยท่านอื่น ๆ ต่อไปทางด้าน สาหร่ายวิทยาด้านการศึกษาพลังงานทางเลือก

1.6.5. สามารถนำสาหร่ายที่ไม่มีมูลค่าในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์

1.6.6. สามารถผลิตมหาบัณฑิต (อย่างน้อย 1 คน) ให้เป็นนักวิจัยที่มีความรู้ด้านการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเพิ่มขึ้นของประชากร และการพัฒนาทางเศรษฐกิจ ทำให้มีความต้องการในการใช้พลังงานและแหล่งอาหารโดยรวมเพิ่มขึ้น แหล่งพลังงานจากถ่านหิน น้ำมันปิโตรเลียม เป็นแหล่งพลังงานที่มีปริมาณจำกัด มีความผันแปรของราคาสูง และการเผาไหม้แหล่งพลังงานเหล่านี้ ยังมีผลต่อการเกิดภาวะเรือนกระจก (green house gases) เนื่องจากมีการปล่อย CO_2, SO_2 และ NO_x ปัจจุบันแหล่งพลังงานทางเลือกได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก และมีหลายทางเลือกทั้งพลังงานนิวเคลียร์ แสงอาทิตย์ ไฮโดรเจน ลม และ biofuels (Patil, 2008) โดย biofuel เป็นพลังงานที่ได้จากสิ่งมีชีวิต อาจอยู่ในรูปของแข็ง ของเหลว หรือแกส

ได้มีการใช้ biofuel มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 โดยได้มาจากผลิตผลทางการเกษตร แต่ในช่วงต้นศตวรรษที่ 20 เมื่อน้ำมันปิโตเลียมราคาถูกลง ความนิยมใน biofuel จึงลดลง แต่หลังจากนั้นก็ได้รับความสนใจอีกครั้งเพราะต้องการแก้ปัญหาเรื่องโลกร้อนจากภาวะเรือนกระจกและปัญหาจากราคาที่ผันผวนของปิโตรเลียม ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการหันมาเลือกใช้วัตถุดิบทางการเกษตรเป็นแหล่งผลิต biofuel แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลิตผลทางการเกษตรมาเป็นวัตถุดิบในการผลิต biofuel นั้นได้รับการวิพากษ์วิจารณ์ในหลายด้าน ทั้งด้านการใช้พื้นที่ปริมาณมากในการปลูกพืช รวมทั้งผลิตผลหลายชนิดเช่นปาล์มน้ำมัน อ้อย ข้าวโพด นั้น เดิมล้วนใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์หรืออาหารสำหรับมนุษย์ เมื่อวัตถุดิบจำนวนมากถูกเปลี่ยนไปเป็น biofuel แทน จึงทำให้ราคาของผลิตภัณฑ์สำหรับการบริโภคของมนุษย์สูงขึ้น นอกจากนี้แม้ในทางสิ่งแวดล้อม biofuel จะทำให้อากาศสะอาดขึ้นเมื่อเทียบกับควันการเผาไหม้จากน้ำมันธรรมดา แต่กระแสต่อต้าน biofuel คือการเป็นห่วงความสิ้นเปลืองของการใช้พืชเกษตรที่อาจต้องตัดไม้ทำลายป่าเพิ่มขึ้นมาก เพื่อหาที่เพาะปลูกสมบูรณ์พอเพียง

2.1 ไบโอดีเซล (Biodiesel)

Biodiesel เป็นประเภทหนึ่งของ biofuel ซึ่งอยู่ในรูปของเหลว ในระดับอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลเป็นการนำน้ำมันพืชและไขมันสัตว์ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นไตรกลีเซอไรด์และแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ เช่น เอทานอลหรือเมทานอล ในปริมาณที่มากมาทำปฏิกิริยาเคมี ทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น (Transesterification) โดยใช้กรดหรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อเกิดการรวมพันธะของไตรกลีเซอไรด์และแอลกอฮอล์ เปลี่ยนวัตถุดิบตั้งต้นไปเป็นเอทิลเอสเทอร์ (FAEs) หรือเมทิลเอสเทอร์ (FAMEs) และมีกลีเซอรีนเป็นผลพลอยได้ ซึ่งเอสเทอร์มีคุณสมบัติที่เหมือนกับน้ำมันดีเซลมากที่สุด ข้อดีคือค่าซีเทน (cetane ค่าดัชนีการจุดติดไฟ) สูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้ติดเครื่องดี การสันดาปสมบูรณ์ เกิดคาร์บอนมอนอกไซด์น้อย ไม่มีควันดำและซัลเฟอร์ไดออกไซด์ สามารถใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้โดยตรงไม่มีผลกระทบกับเครื่องยนต์ในระยาว ส่วนกลีเซอรีนที่ได้จากการผลิตถือเป็นผลพลอยได้ใช้เป็นวัตถุดิบ สำหรับอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง น้ำมันหล่อลื่น ฯลฯ

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

biodiesel เป็นแหล่งพลังงานที่ได้รับความต้องการและมีบทบาทที่สำคัญเพิ่มขึ้น ในปัจจุบันการหันมาเลือกใช้วัตถุดิบที่ไม่ใช่อาหารสำหรับมนุษย์ในการผลิต biodiesel ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก โดยสาหร่ายได้รับความสนใจอย่างยิ่งในการนำมาเป็นทางเลือกแทนพืชที่เป็นแหล่งอาหารเช่น ถั่วเหลือง ปาล์ม และคาโนลา เพราะทำให้ไม่กระทบต่อแหล่งอาหารมนุษย์ และเป็นแหล่งพลังงานที่มีความปลอดภัย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดยังมีปริมาณน้ำมันที่สูงมาก และน้ำมันจากสาหร่ายสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย นอกจากนี้ข้อดีของสาหร่ายคือสามารถกำจัด ฟอสฟอรัส ไนโตรเจนจากน้ำเสีย และสามารถกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์จึงช่วยแก้ปัญหาภาวะเรือนกระจกได้ (Antoni et al., 2007, Chisti, 2008; Huang et al., 2010)

แต่สิ่งที่เป็นประเด็นสำคัญในการนำสาหร่ายมาใช้เป็นแหล่งน้ำมันคือ ต้องเลือกสายพันธุ์สาหร่ายให้เหมาะสม คือให้ปริมาณน้ำมันได้สูงที่สุดและมีการเจริญเติบโตที่สูงด้วย นอกจากนี้การพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงให้ใช้ต้นทุนต่ำ และพัฒนาวิธีการเก็บผลผลิตให้ง่าย ยังเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการที่จะนำสาหร่ายมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลได้สำเร็จอีกด้วย ซึ่งประเด็นเหล่านี้ไม่ใช่สิ่งที่ยุ่งยาก ซับซ้อนจนเกินไป โดยพบว่านักวิทยาศาสตร์สหรัฐอเมริกาได้มีการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่สามารถนำมาผลิตเป็น biodiesel ได้ในเชิงพาณิชย์ได้สำเร็จ และเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อกักน้ำเสียโรงงาน เนื่องจากมีฟอสเฟต และไนเตรทปนเปื้อนอยู่ สารทั้งสองชนิดมีผลเสียต่อแม่น้ำ ลำคลอง แต่กลับเป็นปุ๋ยที่ดีสำหรับทำฟาร์มสาหร่าย จึงมีการทำฟาร์มสาหร่ายใกล้กับโรงบำบัดเสีย และพบว่าการใช้น้ำมันจากสาหร่ายเป็นไบโอดีเซลสามารถนำมาใช้ได้กับรถเครื่องยนต์ดีเซล และเครื่องบินไอพ่นได้ (http://sciinaction)

2.2 สาหร่ายและความเหมาะสมในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมัน

2.2.1 ความเหมาะสมในด้านปริมาณและการเพาะเลี้ยงของสาหร่าย

สาหร่ายมีความเหมาะสมในการนำมาใช้เนื่องจากสาหร่ายมีอยู่มากมายในธรรมชาติ โดยการสังเคราะห์แสงที่เกิดขึ้นทั้งหมดบนโลกนั้น เกิดจากสาหร่ายถึง 90 % นอกจากนี้การเก็บสาหร่ายจากธรรมชาติมาเป็นอาหารหรือนำมาสกัดผลผลิตต่าง ๆ มีมากเกิน 3 ล้านตันต่อปี โดยพบว่าผลผลิตที่มีอยู่ตามธรรมชาติมีปริมาณให้เก็บเกี่ยวได้ สำหรับสาหร่ายสีแดงมีประมาณ 2.6 ล้านตัน และ สาหร่ายสีน้ำตาลมีสูงถึงประมาณ 16 ล้านตัน (Schiewer and Volesky, 2000)

สาหร่ายขนาดเล็กสามารถพบได้ในแหล่งน้ำทุกประเภท มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว มีการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับพืชชั้นสูง แต่มีข้อดีกว่าคือใช้เวลาในการเจริญเติบโตสูงสุดที่สั้นกว่าพืชชั้นสูงมาก โดยพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเป็นสองเท่าภายในเวลาเพียง 24 ชั่วโมงเท่านั้น (Chisti, 2007) และน้ำมัน (oil) จากสาหร่าย สามารถใช้เป็นแหล่งของ biodiesel ได้ โดยทั่วไปสาหร่ายขนาดเล็กจะมีน้ำมัน 20-50 % ของน้ำหนักแห้ง (Chisti, 2007) แต่ในสาหร่ายบางชนิดสามารถให้ปริมาณน้ำมันได้สูงถึง 80 %ของน้ำหนักแห้ง โดยปริมาณน้ำมันและกรดไขมันที่พบจะผันแปรตามปริมาณสารอาหารและสภาวะในการเลี้ยงสาหร่ายด้วย (Mulbry et al., 2008: สุนีรัตน์ และคณะ, 2548; สุนีรัตน์ 2549) สาหร่ายขนาดเล็กบางชนิดสามารถเก็บจากธรรมชาติและนำมาใช้ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยไม่ต้องทำการเพาะเลี้ยงเอง เช่นสาหร่ายกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* ซึ่งเป็นชนิดที่พบว่ามีการบลูมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำทั้งน้ำจืดและน้ำเค็ม หรือในแหล่งน้ำธรรมชาติได้บ่อยและมีปริมาณมาก ซึ่งสาหร่ายที่เก็บได้เองจากธรรมชาติย่อมมีต้นทุนต่ำ มีเฉพาะค่าเดินทางในการเก็บ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กยังสามารถทำได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อยกว่าพืชทั่วไป โดยเมื่อเทียบต่อพื้นที่ 1 เฮคแตร์ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถให้น้ำมันได้มากถึง 58, 700-136, 900 ลิตร ซึ่งมากกว่าน้ำมันปาล์มที่ให้น้ำมันได้ 5950 ลิตร (Chisti, 2007) นอกจากนี้ยังสามารถใช้น้ำทิ้งจากแหล่งต่าง ๆ เช่นของเสียจากธุรกิจปศุสัตว์ เช่นจากฟาร์มสุกร หรือกากน้ำตาล มาใช้เป็นสารอาหารในการเพาะเลี้ยง (Mulbry et al., 2008) และใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ในระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเร่งการเจริญเติบโต จึงทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำ นอกจากนี้ยังช่วยแก้ปัญหาการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ของโรงงานอุตสาหกรรมได้ด้วย โดยจากการทดลองในระบบปิดพบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสามารถลดปริมาณก๊าซเรือนกระจกได้มากถึง 82% (Scott et al, 2010)

2.2.2 ความเหมาะสมในด้านปริมาณน้ำมัน (oil) ในสาหร่าย

สาหร่ายสามารถนำมาเป็นแหล่งน้ำมันได้เนื่องจากสาหร่ายมีอาหารสะสมเป็นแป้ง ไขมันและกลีเซอรอล ปัจจุบันสาหร่ายขนาดเล็กเป็นทางเลือกใหม่ในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานทดแทน การนำสาหร่ายมาใช้เป็นแหล่งน้ำมัน จะไม่ส่งผลกระทบต่อราคาของอาหารหรือสินค้าอุปโภคประเภทอื่น ๆ จากการเปรียบเทียบปริมาณไขมันในสาหร่ายกับพืชชนิดอื่นต่อพื้นที่ผลิตที่เท่ากัน พบว่าสาหร่ายให้ผลผลิตน้ำมันมากกว่าพืชหลายชนิด (ตารางที่ 2.1) โดยพบว่าหากสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณน้ำมันในเซลล์ที่ร้อยละ 30 น้ำหนักแห้ง สามารถให้น้ำมันได้ถึง 58, 700 ลิตรต่อเฮคแตร์ต่อหนึ่งปี โดยสามารถผลิตไบโอดีเซลได้สูงถึง 51, 927 กิโลกรัมต่อเฮคแตร์ต่อปี ซึ่งสูงกว่าพืชอื่น ทั้งข้าวโพด ปาล์ม ถั่วเหลือง ฯล

สาหร่ายหลายชนิดสามารถให้น้ำมันได้สูง เช่นในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายสีเขียว (ตารางที่ 2.2) สาหร่ายที่ให้ปริมาณน้ำมันสูงคือ *Schizochytrium* sp. 77%, *B. braunii* 75%, *Nannochloropsis* sp. 68% และ *Chlorella vulgaris* 58% โดยสาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้สามารถผลิตไขมันได้ 10.3-142.0 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน และมีมวลชีวภาพใน 0.003-10 กรัมต่อลิตรต่อวัน โดยใช้พื้นที่ในการผลิตมวลชีวภาพต่อกรัมคือ 0.57-130 ตารางเมตร การศึกษาถึงปริมาณน้ำมัน (oil) ใน diatoms 6 ชนิดโดย Ying et al. (2001) พบปริมาณน้ำมัน (% น้ำหนักแห้ง) อยู่ใน *Chaetoceros gracilis* 6.97-10.78%, *Phaeodactylum tricornutum3.6-13.8* %, *Cylindrotheca fusiformis* 13.0-15.9%, *Nitzschia closterium* 4.1-5.4% (Xin et al., 2010; Ying et al., 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล

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

ที่มา: Mata et al. (2010)

ตารางที่ 2.2 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก (% น้ำหนักแห้ง)

สาหร่าย	ปริมาณน้ำมัน (%)	อ้างอิง
B. braunii	25-75	Chisti *et al.* (2007)
Chlorella sp.	28-32	Chisti *et al.* (2007)
Crypthecodinium cohnii	20	Chisti *et al.* (2007)
Cylindrotheca sp.	16-37	Chisti *et al.* (2007)
Nannochloris sp.	20-35	Chisti *et al.* (2007)
Nannochlorpossis sp.	31-68	Chisti *et al.* (2007)
Schizochytrium sp.	50-77	Chisti *et al.* (2007)
Ankistrodesmus sp.	24–31	Mata *et al.* (2010)
B. braunii	25–75	Mata *et al.* (2010)
Chlorella vulgaris	5–58	Mata *et al.* (2010)
Scenedesmus sp.	19.6–21.1	Mata *et al.* (2010)
Spirulina platensis	4–16.6	Mata *et al.* (2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาปริมาณน้ำมัน (oil) ในสาหร่ายขนาดเล็ก พบปริมาณน้ำมัน (% น้ำหนักแห้ง) ใน *B. braunii* 25-75%, *Chlorella* sp. 28-32%, *Crypthecodinium cohnii* 20%, *Cylindrotheca* sp. 16-37%, *Dunaliella primolecta* 23%, *Isochrysis* sp. 25-33%, *Monallanthus salina* >20%, *Nannochloris* sp. 20-35%, *Nannochlorpossis* sp. 31-68%, *Neochloris oleoabundans* 35-54%, *Nitzschia* sp. 45-47%, *Phaeodactylum tricornutum* 20-30%, *Schizochytrium* sp. 50-77%, *Tetraselmis sueica* 15-23% (Chisti, 2007)

Parson et al. (1961) ศึกษาไขมันไดอะตอม *Tetraselmis* sp. พบว่ามีไขมัน (lipid) 4% ปริมาณไขมันในสาหร่ายสีเขียว 3 ชนิด คือ *Chlorella* น้ำเค็ม, *Dunaliella tertiotecta* และ *Tetraselmis nele* พบว่าในตัวอย่างสาหร่ายแห้งดังกล่าวมีปริมาณไขมันดังนี้คือ *Dunaliella tertiotecta* 17.52 ± 0.07 % *Chlorella* 11.91 ± 0.3676 % และ *Tetraselmis nele* 11.05 ± 0.51 %

Mata et al. (2010) รายงานปริมาณไขมัน (% น้ำหนักแห้ง) ในสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิด โดยสาหร่ายมีไขมันในสาหร่ายต่าง ๆ เช่น *Ankistrodesmus* sp. 24.0–31.0%, *B. braunii* 25.0–75.0%, *Chlorella emersonii* 25.0–63.0%, *Chlorella protothecoides* 14.6–57.8%, *Chlorella sorokiniana* 19.0–22.0%, *Chlorella vulgaris* 5.0–58.0%, *Chlorella* sp. 10.0–48.0%, *Chlorella pyrenoidosa* 2.0%, *Chlorella* 18.0–57.0%, *Chlorococcum* sp19.3%., *Scenedesmus obliquus* 11.0–55.0%, *Scenedesmus quadricauda* 1.9–18.4%, *Scenedesmus* sp. 19.6–21.1%, *Spirulina platensis* 4.0–16.6%, *Spirulina maxima* 4.0–9.0% โดยสาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้สามารถผลิตไขมันได้ 10.3-142.0 mg/L/d และมีมวลชีวภาพใน 0.003-10 g/Lต่อวัน โดยใช้พื้นที่ในการผลิตมวลชีวภาพต่อกรัมคือ 0.57-130 ตารางเมตร ต่อวัน

2.3 กรดไขมันในสาหร่าย

น้ำมันที่ได้จากสาหร่ายมีความแตกต่างจากน้ำมันพืชชนิดอื่นคือน้ำมันจากสาหร่ายมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีพันธะคู่ตั้งแต่สี่คู่ขึ้นไปประกอบอยู่ปริมาณมาก (Bellabi et al., 2000) และกรดไขมันชนิดที่มีประโยชน์มากได้แก่ eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3; 5 พันธะคู่) docosahexaenoic acid (DHA, C22:6n-3 พันธะคู่ 6 คู่) และlinolenic acid (C18:3n-3 พันธะคู่ 3 คู่) เป็นต้น โดย EPA ช่วยกระตุ้นการสร้างโครงสร้างที่สำคัญในระบบประสาทส่วนกลางและเรตินาให้ทำงานได้ดียิ่งขึ้น (Meharban, 2005) ลดอาการอักเสบของไขข้อ อักเสบของผิว (โรคสะเก็ดเงิน) ลดอาการอักเสบในลำคอ นอกจากนี้ยังลดอาการอักเสบของเนื้อร้าย (เซลล์มะเร็ง) ลดการเกาะตัวเป็นก้อนของเม็ดเลือดหรือที่เรียกว่าลิ่มเลือด กรดไขมัน EPA จึงนับได้ว่าเป็นกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับทุกคน แต่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเองต้องรับประทานเข้าไปเท่านั้นกรดไขมัน DHA ช่วยป้องกันการสะสมตัวของไขมันอิ่มตัวหรือคอเลสเตอรอลอันเป็นสาเหตุให้เส้นเลือดอุดตัน ซึ่งนำไปสู่โรคหัวใจและเส้นเลือดในสมองแตก ลดความเสี่ยงของโรคหัวใจ บำรุงสมอง บรรเทาอาหารของโรคไขข้ออักเสบ ลดการอักเสบของโรคผิวหนัง ช่วยลดความเครียด และกรดไขมัน EPA พบได้โดยมากในน้ำมันปลาทะเลทั่วไป แต่การที่ปลามี EPA ได้ก็มาจากอาหารที่กินเข้าไปไม่ใช่จากการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังเคราะห์ขึ้นมาเอง การใช้สาหร่ายมาสกัดกรดไขมัน EPA จึงเป็นสิ่งที่นักวิจัยด้านสิ่งมีชีวิตให้ความสนใจเป็นอย่างมาก (Chen *et al.*, 2007)

กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบในสาหร่าย เช่น arachidonic acid (AA) และ gamma-linolenic acid (GLA) (Chisti, 2007; Nuutila and Aura, 1997; Khozin-Goldberg and Cohen, 2006; Patil et al., 2005; Solovchenko et al., 2008; Vieler et al, 2007) สำหรับกรดไขมันที่พบมีรายงานในสาหร่าย *B. braunii* โดย Fang *et al.* (2004) ได้แก่กรดไขมันไม่อิ่มตัว 3 ชนิด คือ Oleic acid (C18:1) 22.92%, Linoleic acid (C18:2) 1.21% และ Linolenic acid (C18:3) 11.77% และไขมันอิ่มตัว 1 ชนิด คือ Palmatic acid (C16:0) 19.51% และมีกรดไขมันทั้งหมด 55.41% และ Petkov *et al.* (2007) และ Li *et al.* (2001) ศึกษาชนิดของกรดไขมันในไซยาโนแบคทีเรีย *Anabaena affinis* (NIES-40) พบกรดไขมัน Myristic (C14:0) 4.4%, Palmitic (C16:0) 30.3%, Palmitoleic (C16:1) 6.2%, Hexadecadienoic (C16:2) 5.3%, Hexadecatrienoic (C16:3) 8.5%, Stearic (C18:0) 1%, Oleic (C18:1) 2.5%, Linoleic (C18:2) 6.2% และ Alpha-linolenic (C18:3) 35.6%

ซึ่งกรดไขมันจากสาหร่ายสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ดี จึงได้มีการศึกษาหาชนิดสาหร่ายขนาดเล็กที่ให้กรดไขมันที่มีประโยชน์ในปริมาณมาก เพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ต่อไป โดยพบมีรายงานการศึกษาดังนี้ การศึกษากรดไขมันในไดอะตอม *Nitzsghia laevis* แบ่งออกได้เป็น neutral lipid (NLs), glycolipid (GLs) และ phospholipids (PLs) โดย neutral lipid มีมากที่สุดคือ 78.6 % ของไขมันทั้งหมด triacylglycerol (TAG) จะมีมากใน neutral lipid (NLs) ถึง 87.9 % glycolipid มีอยู่ 8.1 % และ phospholipids มีอยู่ 11.6 % ของไขมันทั้งหมดและพบว่ามี phosphatidylcholine อยู่มากที่สุด 69.7 % กรดไขมันที่พบมากกว่าชนิดอื่นคือ tetradecanoic acid (C14:0), hexadecanoic acid (C16:0), palmitoleic acid (C16:1) และ EPA พบว่ากรดไขมัน EPA จะกระจายอยู่ทั่วไปในทุกชั้นของไขมันทั้ง triacylglycerol (TAG), monoglacylglycerol และ phosphatidylcholine (PC) (Chen et al., 2007)

Matsunaga *et al.* (1995) ทำการศึกษาปริมาณกรดไขมัน palmitoleic acid (C16:1) ในสาหร่าย 150 ชนิด พบว่าในไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium* sp. NKBG 041105 และ *Oscillatoria* sp. NKBG 091600 มีปริมาณกรดไขมัน palmitoleic acid (C16:1) สูง คือ 54.5 และ 54.4% ตามลำดับ ซึ่งในสาหร่าย *Oscillatoria* sp. NKBG 091600 พบชนิดของกรดไขมันคือ Palmitic (C16:0) 26.2%, Palmitoleic (C16:1) 54.4%, Stearic (C18:0) 0.4% และ Oleic (C18:1) 6.1% และมีปริมาณไขมันทั้งหมด 54% โดยสาหร่าย *Oscillatoria* sp. มีข้อดีคือ เป็นสาหร่ายที่สามารถแพร่กระจายตามแหล่งน้ำทั่วไป สามารถเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวได้ง่าย ส่วนสาหร่าย *Oscillatoria* sp. ที่ทำการเก็บมาจากบ่อเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย ประเทศไทย โดยพบชนิดของกรดไขมันคือ Palmitic (C16:0) 34.63%, Palmitoleic (C16:1) 8.46%, Oleic (C18:1) 27.74% และ Linoleic (C18:2) 18.51% และมีปริมาณไขมันทั้งหมด 2.13% (ธีรวัฒน์, 2552)

ซึ่งกรดไขมันที่มีพันธะคู่ตั้งแต่สี่คู่ขึ้นไปจะสามารถเกิดการออกซิไดซ์ได้ระหว่างการเก็บรักษาจึงไม่ค่อยเหมาะสมในการนำมาเป็นไบโอดีเซล แต่กรดไขมันเหล่านี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุตสาหกรรมอาหารได้ดี จึงได้มีการศึกษาหาชนิดของกรดไขมันในสาหร่าย เพื่อการนำมาใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสมต่อไป

2.4 การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการผลิตน้ำมัน

สายพันธุ์สาหร่ายที่จะนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งของน้ำมัน ควรเป็นสายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงง่าย มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว มีปริมาณน้ำมันสูง และง่ายต่อการเก็บเกี่ยว โดยพบรายงานว่าปริมาณน้ำมันและกรดไขมันของสาหร่าย ผันแปรตามปริมาณสารอาหารและสภาวะในการเลี้ยงสาหร่ายด้วย (Khotimchenko and Yakovleva, 2004; Merzlyak et al., 2007; Mulbry et al., 2008; สุนีรัตน์ 2549) โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงสาหร่ายมีหลายปัจจัยด้วยกันได้แก่

ปัจจัยทางกายภาพ เช่น แสง (light) เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของสาหร่าย การเจริญเติบโตอาจถูกยับยั้งหากได้รับแสงมากเกินไป อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่างๆ ของสาหร่าย มีผลต่อโครงสร้างขององค์ประกอบภายในเซลล์โดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน

ปัจจัยทางเคมี เป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการ เช่น ไนโตรเจน มีหน้าที่หลักช่วยในการสังเคราะห์แสง สร้างรงควัตถุ ช่วยในกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ สาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะสร้างสารประกอบคาร์บอนขึ้นมาทดแทน เช่น สร้างขึ้นมาในรูปของน้ำมัน หรือแป้ง ฟอสฟอรัส เกี่ยวข้องกับขบวนการถ่ายทอดพลังงาน ขบวนการสร้างกรดนิวคลีอิกของสาหร่าย ถ้าขาดฟอสฟอรัสจำให้ปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์-เอ RNA, DNA ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินลดลง ส่วนปริมาณแป้ง คาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มขึ้น เหล็กช่วยในการดูดซึมไนโตรเจนของสาหร่าย ช่วยในขบวนการสังเคราะห์แสง ช่วยสร้างคลอโรฟิลล์-เอ phycocyanin

2.5 ปริมาณไขมันในสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยปัจจัยทางเคมีและกายภาพที่แตกต่างกัน

2.5.1 ผลของไนโตรเจน ต่อปริมาณไขมันในสาหร่าย

Widjaja et al. (2009) ทำการทดลองโดยเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* โดยเปรียบเทียบปริมาณไขมันรวมระหว่างสูตรอาหารปกติและสูตรอาหารขาดไนโตรเจน พบว่าปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นในสภาวะที่ไนโตรเจนลดลงเพราะในสภาวะที่ไนโตรเจนลดลง ทำให้ *C. vulgaris* เกิดความเครียดทำให้เกิดการยับยั้งการแบ่งเซลล์ จึงส่งผลทำให้เกิดการสะสมไขมันเพิ่มขึ้น

Converti et al. (2009) ได้ทดลองลดความเข้มข้น $NaNO_3$ ในการเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ในสภาวะ $NaNO_3$ ที่ 1.500, 0.750 และ 0.375 g/L ผลพบว่าระดับ $NaNO_3$ ที่ 0.375 g/L มีผลทำให้ *C. vulgaris* มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 15.31 ± 0.51% เพราะเมื่อ $NaNO_3$ ลดลง ทำให้สาหร่ายเกิดความเครียดจะทำให้มีปริมาณไขมันสูงและไขมันที่มาจากขบวนการ metabolism ซึ่งเมื่อเทียบกับการทดลองลดความเข้มข้น $NaNO_3$ ในการเลี้ยง *Navicula oculata* ในสภาวะ $NaNO_3$ ที่ 0.300, 0.150 และ 0.075 g/L พบว่าระดับ $NaNO_3$ ที่ 0.075 g/L มีผลทำให้ *N. oculata* มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 15.86 ± 0.59%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hsieh and Wu (2009) ได้ทดลองลดไนโตรเจน (ยูเรีย) ในการเลี้ยงสาหร่ายน้ำเค็ม *Chlorella* sp. ในสภาวะลดไนโตรเจน (ยูเรีย) ที่ 0.025, 0.050, 0.100, 0.150 และ 0.200 g/L ผลพบว่า ยูเรียที่ระดับ 0.025 g/L มีผลทำให้ *Chlorella* sp. มีปริมาณไขมันสูงสุดคือ 0.661 g/g เพราะไนโตรเจนมีผลต่อขบวนการ metabolism ทำให้ปริมาณไขมันมากขึ้นในสาหร่ายขนาดเล็ก

ปิยนารถ (2548) ได้ทำการศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนต่อไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* โดยทดลองผันแปรแหล่งไนโตรเจนคือ CH_4NO_2, $NaNO_3$ และ KNO_3 พบว่า CH_4NO_2 เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด สำหรับปริมาณไขมันในสาหร่าย *N. commune* พบว่าเมื่อใช้ KNO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้มีปริมาณไขมันสูงสุดคือ 28.94%

กันต์กนิษฐ และคณะ (2554) ได้ศึกษาถึงผลของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc* sp. และ *Anabaena* spp. โดยเลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่ไม่มีไนโตรเจนและสูตรอาหาร BG-11 ที่มีไนโตรเจนในรูป $NaNO_3$ 3 g/L พบว่าสาหร่าย *Nostoc* sp. ในสูตรอาหาร BG-11 ที่ไม่มีไนโตรเจนและมีไนโตรเจน มีอัตราการเติบโตจำเพาะ 6.64×10^{-3} และ 6.47×10^{-3} ต่อชั่วโมง มีปริมาณเซลล์สูงสุด 0.53 และ 0.38 mL และมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุด 1.12 และ 0.97 g/L ตามลำดับ ส่วนสาหร่าย *Anabaena* spp.ในสูตรอาหาร BG-11 ที่ไม่มีไนโตรเจนและมีไนโตรเจน มีอัตราการเติบโตจำเพาะ 9.85×10^{-3} และ 1.12×10^{-3} ต่อชั่วโมง มีปริมาณเซลล์สูงสุด 5.06 และ 3.64 mL และมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุด 1.04 และ 3.30 g/L ตามลำดับ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *Anabaena* spp. มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่า *Nostoc* sp. ทั้งในสูตรอาหารที่ไม่มีไนโตรเจนและมีไนโตรเจน โดยไนโตรเจนไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *Nostoc* sp. แต่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Anabaena* spp.

Colla *et al.* (2007) ได้ทำการทดลองเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *Spirulina platensis* สายพันธุ์ LEB-52 โดยใช้ sodium nitrate เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน 4 ระดับ ที่ 0.625, 1.250, 1.875 และ 2.500 g/L โดยใช้ Zarrouk's medium เป็นอาหารมาตรฐาน (Zarrouk, 1966) เพาะเลี้ยง *S. platensis* ใน photo-bioreactors ให้แสงที่ 31.35 μmolphotons m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิที่ 30 °C และ 35 °C พบว่าที่ความเข้มข้นของ sodium nitrate 2.500 g/L พบปริมาณไขมันสูงสุดคือ 8.16±0.23 % และที่ความเข้มข้นของ sodium nitrate 1.250 g/L ให้ปริมาณไขมันต่ำที่สุดคือ 6.69±0.27 % ที่ความเข้มข้นของ sodium nitrate 1.875 g/L พบปริมาณไขมันสูงสุดคือ 10.37±0.63 % และที่ความเข้มข้นของ sodium nitrate 0.625 g/L ให้ปริมาณไขมันต่ำที่สุดคือ 7.49±1.10 % จะเห็นได้ว่า ที่ความเข้มข้นของ sodium nitrate 1.875 g/L ให้ปริมาณไขมันสูงที่สุด

2.5.2 ผลของฟอสฟอรัสต่อปริมาณไขมันในสาหร่าย

Xin *et al.* (2010) ทำการทดลองโดยเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ในอาหารที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/L พบว่าที่ระดับ 2.0 mg/L สาหร่าย *Scenedesmus* sp. มีการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ 0.98×10^{6} cells $(mL\ d)^{-1}$ และที่ระดับฟอสฟอรัส 2.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

mg/L สาหร่าย *Scenedesmus* sp. มีปริมาณไขมันสูงสุดคือ 14 mg (Ld) $^{-1}$ ปริมาณไขมันที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากปริมาณ triglyceride เพิ่มขึ้นจาก 6.5% เป็น 39.3% ของปริมาณไขมันทั้งหมด

สุนีรัตน์ (2554) ได้ศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสต่อปริมาณไขมันของไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. พบว่า เมื่อเลี้ยงสาหร่าย *Hapalosiphon* sp. ในอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัส 10 mg/L ทำให้มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 11.50% และเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัส 20 mg/L ทำให้มีผลผลิตไขมันสูงที่สุดคือ 0.044 g/L

การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่ลดปริมาณฟอสฟอรัสจะคล้ายกับอาหารที่ลดปริมาณไนโตรเจน โดยปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และโปรตีนลดลง ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น ของสาหร่ายที่เลี้ยงในสารอาหารที่มีการลดฟอสฟอรัสมีการเจริญเติบโตลดลงเพราะมีปริมาณฟอสฟอรัสที่จะนำไปใช้ได้ลดลง และสภาวะที่มีฟอสฟอรัสจำกัดได้ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคือ จะไปลดปริมาณของ thylakoid membrane, กิจกรรมของ acyl hydrolase และจะไปกระตุ้น phospholipid ทำให้ปริมาณ fatty acid acyl-CoA ในเซลล์เพิ่มมากขึ้น และกระตุ้น diacylglycerol acyltransferase โดยจะเร่งการเปลี่ยน acyl-CoA ให้เป็น triglyceride (TAG) ซึ่งส่งผลทำให้มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น

2.5.3 ผลของเหล็กต่อปริมาณไขมันในสาหร่าย

Liu et al. (2008) ได้ทดลองเพิ่มเหล็กในการเลี้ยง *C. vulgaris* ในสภาวะ $FeCl_3$ ที่ 0, 1.2×10^{-8}, 1.2×10^{-7}, 1.2×10^{-6} และ 1.2×10^{-5} พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงใน Fe^{3+} ที่ 1.2×10^{-5} mol/L มีปริมาณไขมันสูงสุดคือ 56.6% เพราะ $FeCl_3$ ช่วยในการดูดซึมไนโตรเจน เมื่อเหล็กลดลงการดูดซึมไนโตรเจนลดลงทำให้ *C. vulgaris* เกิดความเครียดจึงทำให้เกิดสะสมไขมันเพิ่มขึ้น สุนีรัตน์ (2554) ได้ศึกษาปริมาณเหล็กต่อปริมาณไขมันของไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. พบว่า เมื่อเลี้ยงสาหร่าย *Hapalosiphon* sp. ในอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัส 9 mg/L ทำให้มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 12.64% และเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัส 12 mg/L ทำให้มีผลผลิตไขมันสูงที่สุดคือ 0.063 g/L

ปริมาณ Fe ที่สูง จะทำให้เซลล์สาหร่ายเริ่มสะสมไขมันเร็วขึ้น เข้าสู่ระยะ stationary ได้เร็วขึ้น จึงส่งผลทำให้ช่วงการเก็บเกี่ยวลดลง แต่ปริมาณไขมันโดยรวมจะสูงกว่ากลุ่มที่มีปริมาณ Fe ต่ำ ส่วนการที่มีไนโตรเจนจำกัด เป็นการเพิ่มปริมาณ fatty acid acyl-CoA ในเซลล์และกระตุ้น diacylglycerol acyltransferase โดยจะเร่งการเปลี่ยน fatty acid acyl-CoA เป็น triglyceride และส่งผลทำให้มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น

2.5.4 ผลของความเค็มต่อปริมาณไขมันในสาหร่าย

Rao *et al.* (2007) ได้ทำการศึกษาผลของความเค็มที่ระดับ 0, 34 และ 85 mM ต่อองค์ประกอบของไขมันในสาหร่าย *B. braunii* โดยไขมันที่พบในสาหร่าย *B. braunii* คือ Palmitic acid (16:0), Palmitoleic acid (C16:1), Stearic acid (C18:0), Oleic acid (C18:1), Linoleic acid (C18:2), Behenic acid (C22:0), Erucic acid (C22:1) และ Lignoceric acid (C24:0) พบว่า ในกลุ่มควบคุมมีปริมาณ Stearic acid (C18:0) และ Linoleic acid (C18:2) มากที่สุดคือ 28.19% และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

22.12% ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเค็ม 0, 34 และ 85 mM มีปริมาณ Palmitic acid (C16:0) และ Oleic acid (C18:1) มากที่สุด

โพธิธรณ์ และคณะ (2554) ศึกษาผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตและรงควัตถุในไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria* sp. โดยทำการติดตามการเจริญเติบโตที่ pH 8.5 และความเค็ม 0-2 M พบว่า *Oscillatoria* sp. สามารถเจริญเติบโตดีที่สุดที่ความเค็มเท่ากับ 0.5 M จากการศึกษาอธิบายได้ว่า *Oscillatoria* sp. สามารถเจริญเติบโตได้ภายใต้สภาวะที่มีความเค็ม เนื่องจากสาหร่ายจะสร้างสารออสโมโพรแทคแทนต์ ชนิดโพรลีน เพื่อรักษาการเจริญเติบโตของเซลล์ และสุมนทิพย์ และปิยะดา (2554) ได้ศึกษาความสามารถในการทนต่อความเค็มของ *Oscillatoria* sp. โดยเลี้ยงสาหร่ายในอาหารสูตรModified Allen's Medium ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0 - 40 ppt พบว่าระดับความ เข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่สูงที่สุดที่ *Oscillatoria* sp. สามารถทนได้เท่ากับ 28 ppt ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Oscillatoria* sp. เท่ากับ 2 ppt

Hu (2004) กล่าวว่า ความเค็มที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณไขมันไซยาโนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ปริมาณไขมันสูงสุดคือ 9.95% ซึ่งได้จากที่ระดับความเค็ม 10 ppt ส่วนที่ระดับความเค็มที่มากกว่า 10 ppt ไม่ส่งผลกระทบต่อการสะสมไขมันในไซยาโนแบคทีเรีย เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรียจะใช้พลังงานในการขับ Na^+ ออกจากเซลล์ เพื่อรักษาออสโมติคให้เกิดความสมดุล ส่งผลให้การสะสมปริมาณไขมันลดลง

การเพิ่มความเค็มในอาหารเลี้ยงสาหร่ายจาก 0 เป็น 20 mg/L ทำให้ชีวมวลของสาหร่าย *Hapalosiphon* เพิ่มขึ้น 1.6 เท่า และชีวมวลของสาหร่าย *Hapalosiphon* ที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 15 ppt (0.76 g/L) สูงกว่าที่ระดับความเค็ม 0-10 ppt โดยความเค็มจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของสาหร่ายนี้ และในสาหร่าย *Chlorella* น้ำจืดสามารถเจริญเติบโตในน้ำทะเลได้ดีกว่าอาหารสูตรปกติ เนื่องจากน้ำทะเลเป็นแหล่งอาหารธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ ซึ่งมีทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

2.5.5 ผลของแสงต่อปริมาณไขมันในสาหร่าย

ชิโนรส และคณะ (2551) ได้ทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมันของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยช่วงเวลาของการให้แสงสว่างต่อมืดเท่ากับ 12 : 12 และ 16 : 8 ชั่วโมง ความเข้มแสง 3,000 Lux และ 5,000 Lux ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. มีการไขมันสะสมสูงคือในช่วงสว่างต่อมืดเท่ากับ 16 : 8 ชั่วโมง ในช่วงความเข้มแสง 5,000 Lux จะให้ปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 6.42% เนื่องสาหร่ายเกิดความเครียดจากระยะเวลาของการสังเคราะห์แสงที่มาก และมีระยะเวลาของการหยุดสังเคราะห์แสงน้อย ซึ่งทำให้เกิดการยับยั้งการแบ่งเซลล์ และทำให้มีการสะสมของไขมันเพิ่มขึ้น

รัตนา (2548) ได้เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* C1 แบบกะที่อุณหภูมิ 35 $^{\circ}C$ ความเข้มแสง 100 $\mu Em^{-2}s^{-1}$ พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่า 0.0247 ต่อชั่วโมง ถ้าเพิ่มความเข้มแสงจาก 100 $\mu Em^{-2}s^{-1}$ เป็น 500 $\mu Em^{-2}s^{-1}$ มีผลต่อกิจกรรมการสังเคราะห์แสงซึ่งวัดในรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

O_2-evolution สูงขึ้น รวมทั้งรงควัตถุ (คลอโรฟิลล์และไฟโคไซยานิน) ความเข้มแสงสูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณโปรตีนลดลง ขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น และจากการศึกษาองค์ประกอบไขมัน พบว่า ที่ความเข้มแสงสูงขึ้นส่งผลกรดไขมัน linoleic acid (C18:2) เพิ่มขึ้น ในขณะที่ oleic acid (C18:1) และปริมาณกรดไขมันทั้งหมดลดลง

นิพล (2547) ได้ทดลองเลี้ยง *Tetraselmis* sp. โดยให้ระยะเวลาการให้แสงสว่างแตกต่างกัน คือ ระยะเวลาการให้แสง : ไม่ให้แสง เท่ากับ 24 : 0 และ 12 : 12 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน พบว่าที่ระยะเวลาการให้แสง : 24 : 0 ไขมันมีค่าเท่ากับ 3.73 ± 0.72 %น้ำหนักแห้ง ส่วนการให้แสง 12 : 12 ไขมันเท่ากับ 0.62 ± 0.10%น้ำหนักแห้ง การเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในช่วงสว่างต่อมืดเท่ากับ 16 : 8 ชั่วโมง จะให้ปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ ร้อยละ 6.42 ซึ่งสูงกว่าการให้แสงสว่างต่อมืดเท่ากับ 12 : 12 เพราะสาหร่ายเกิดความเครียดจากระยะเวลาของการสังเคราะห์แสงที่มาก และมีระยะเวลาของการหยุดสังเคราะห์แสงน้อย ซึ่งทำให้เกิดการยับยั้งการแบ่งเซลล์ และทำให้มีการสะสมของไขมันเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาของ de la Pena (2007) ที่ศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตในไดอะตอมน้ำลึกที่อยู่ในเขตร้อน *Amphora* sp. ซึ่งใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 8 วัน โดยให้ความเข้มแสงที่แตกต่างกัน 3 ความเข้มแสง ได้แก่ 11.4 µmol photon/m^2/s, 16.1 µmol photon/m^2/s และ 31.3 µmol photon/m^2/s โดยแต่ละความเข้มแสงก็จะให้อาหารทั้ง 3 สูตรที่แตกต่างกัน ผลที่ได้คือที่ความเข้มแสงต่ำที่สุด11.4 µmol photon/m^2/s มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยที่สูงที่สุดเท่ากับ 0.2±0.1 เพราะ ในความเข้มแสงต่ำจะมีประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากการย่อยและการดูดซึมสารอนินทรีย์ได้ดีกว่า

การเลี้ยง marine diatoms 6 ชนิดแล้วนำมาเปรียบเทียบปริมาณไขมันที่ได้ที่ความเข้มแสง 5000 Lux และ 1500 Lux โดยเลี้ยงใน flask ขนาด 3 ลิตร ในสูตรอาหาร f/2 medium ที่อุณหภูมิ 22±1 °C และความเค็มที่ 28 ppt พบว่าปริมาณไขมันที่ของ *Chaetoceros gracilis* B13, *Phaeodactylum tricornutum* B118, *Phaeodactylum tricornutum* B221 และ *Cylindrotheca fusiformis* B211 ที่ความเข้มแสง 1500 Lux ให้ปริมาณไขมันสูง คือร้อยละ 10.78 ± 2.69, 5.93 ± 1.03, 13.38 ± 1.80 และ15.93 ± 0.91 ตามลำดับ สาเหตุที่เลี้ยงในความเข้มแสงต่ำแล้วให้ปริมาณไขมันสูง เพราะในความเข้มแสงต่ำสาหร่ายจะความเครียดทำให้เกิดการยับยั้งการแบ่งเซลล์ จึงส่งผลทำให้มีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้น (Ying et al., 2001)

2.6 ความสัมพันธ์ของปริมาณไขมัน คาร์โบไฮเดรท และโปรตีนในสาหร่าย

อาหารสะสมของสาหร่ายที่พบได้มีทั้งคาร์โบไฮเดรท ไขมัน และโปรตีน โดยการเลี้ยงสาหร่ายเพื่อผลิตไบโอดีเซล จะเน้นให้สาหร่ายสะสมไขมันมากที่สุด โดยพบว่าการสะสมอาหารสะสมประเภทใดมากนั้น ขึ้นอยู่กับสภาวะในการเลี้ยงด้วยเช่นกัน สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารที่มีการลดไนโตรเจนมีการเจริญเติบโตลดลงเพราะสาหร่ายนำไนโตรเจนไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ลดลง และพบว่าการลดความเข้มข้นของไนโตรเจนทำให้มีการเพิ่มการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรทแต่จะทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณโปรตีนลดลง (Valdivia *et al.*, 2008) และในสภาวะที่มีไนโตรเจนจำกัดได้ส่งผลให้สาหร่ายเกิดความเครียด และทำให้มีปริมาณการสะสมไขมันเพิ่มขึ้น สภาวะที่มีไนโตรเจนจำกัดได้ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคือ จะไปลดปริมาณของ thylakoid membrane, กิจกรรมของ acyl hydrolase และจะไปกระตุ้น phospholipid ทำให้ปริมาณ fatty acid acyl-CoA ในเซลล์เพิ่มมากขึ้น และกระตุ้น diacylglycerol acyltransferase โดยจะเร่งการเปลี่ยน acyl-CoA ให้เป็น triglyceride (TAG) ซึ่งส่งผลทำให้มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น

Li *et al.* (2008) ทำการศึกษาแหล่งของไนโตรเจนคือ ไนเตรท ยูเรีย และแอมโมเนียต่อสาหร่าย *Neochloris oleoabundans* พบว่า ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดสำหรับ *N.oleoabundans* โดยทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุดคือ 2.5 g/L และมีปริมาณไขมันสูงสุดคือ 38% และสาหร่ายสีเขียวที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่มีปริมาณไนโตรเจนจำกัด พบว่าจะมีไขมันเพิ่มจาก 28% เป็น 70% และปริมาณโปรตีนจะลดลงจาก 30% เหลือเพียง 8% และยังพบว่าการเลี้ยงสาหร่ายในที่ที่ขาดน้ำจะทำให้สาหร่ายมีไขมันเพิ่มขึ้น โดยสาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะสร้างสารประกอบคาร์บอนขึ้นมาทดแทน เช่น สร้างขึ้นมาในรูปของน้ำมันหรือ แป้ง (Becker, 1994)

Rao *et al.* (2007) ได้รายงานไว้ว่าที่ระดับความเค็มต่ำ (17-34 mM) ปริมาณชีวมวลคาร์โบไฮเดรต และแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *B. braunii* มีปริมาณสูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ระดับความเค็ม 0 mM อาจจะเนื่องมาจากการปรับตัวของสิ่งมีชีวิตที่ระดับความเค็มต่ำ อย่างไรก็ตาม Vazquez-Duhalt and Arredondo-Vega (1991) ได้รายงานว่า ที่ระดับความเค็มสูง พบว่าปริมาณโปรตีนและชีวมวลของสาหร่าย *B. braunii* จะลดลง ในขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไขมันไม่มีการเปลี่ยนแปลง และการเจริญเติบโตของสาหร่ายลดลง เนื่องจากอัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายลดลง (Hart *et al.*, 1991)

ซึ่งจะพบว่าสภาวะในการเลี้ยงจะส่งผลต่อปริมาณไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรทในสาหร่าย ซึ่งหากทราบความสัมพันธ์ของปริมาณอาหารสะสมทั้ง 3 ประเภทหลักนี้ อาจทำให้สามารถเพิ่มปริมาณไขมันในสาหร่ายได้สูงมากยิ่งขึ้น ซึ่งอาจเลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่อง (continuous culture) โดยกระตุ้นให้สร้างอาหารสะสมบางประเภทให้มีปริมาณมาก จากนั้นกระตุ้นให้สาหร่ายเครียดเพื่อให้สาหร่ายเปลี่ยนการสะสมอาหารดังกล่าวไปเป็นไขมันแทน ซึ่งอาจทำให้ได้ปริมาณไขมันที่สูงมากขึ้นมากกว่าการเลี้ยงเพียงขั้นตอนเดียวแล้วเก็บเกี่ยว (batch culture)

2.7 ความเหมาะสมของสาหร่าย *B. braunii* และ *O. limnetica* ในการนำมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล

สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กชนิด *B. braunii* เป็นชนิดที่ได้รับการยอมรับว่าเหมาะสมต่อการนำมาเป็นแหล่งผลิตน้ำมันไบโอดีเซล โดยสาหร่ายชนิดนี้สามารถผลิตน้ำมันได้สูงสุดถึง 75 % (Chisti *et al.*, 2007) และมีรายงานว่าองค์ประกอบของน้ำมันของสาหร่ายชนิดนี้มีความเหมาะสมต่อการทำเป็นน้ำมันไบโอดีเซล โดยพบว่าคุณภาพของน้ำมันจากสาหร่ายชนิดนี้ มีคุณภาพที่สูงกว่าน้ำมันปิโตเลียม (Nagano et al., 2010) แต่ในหลาย ๆ พื้นที่ พบว่าสาหร่ายชนิดนี้มีปัญหาด้านการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ช้า เนื่องจากสายพันธุ์ไม่เหมาะสมกับพื้นที่ และแต่ละสายพันธุ์มีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการผลิตไขมันที่แตกต่างกัน และมีความสามารถในการปรับตัวเข้ากับสภาวะในการเลี้ยงได้แตกต่างกันด้วย (Hotimchenko, 2002)

สาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ KMITL 2 เป็นสาหร่ายที่ทางคณะผู้วิจัยได้ทำการแยกเซลล์จากแหล่งน้ำภาคกลาง และทำการเพาะเลี้ยงได้สำเร็จในสูตรอาหารที่เหมาะสม โดยจากการศึกษาขั้นต้นพบว่าสาหร่ายสายพันธุ์นี้ให้น้ำมันได้สูงถึง 55 % ซึ่งค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับสาหร่ายชนิดเดียวกันในอีกหลายการศึกษา (ตารางที่ 2.3) จึงเป็นที่แน่นอนว่าสาหร่ายสายพันธุ์นี้มีความเหมาะสมในการนำมาทำเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล แต่ควรต้องมีการหาสภาวะในการเพาะเลี้ยงอื่น ๆ ว่าสภาวะใดจะทำให้มีผลผลิตน้ำมันได้สูงที่สุด รวมทั้งมีชนิดกรดไขมันที่เหมาะสมอีกด้วย

สาหร่ายชนิด *Oscillatoria limnetica* มีลักษณะเป็นเส้นสายเดี่ยว ๆหรืออยู่รวมเป็นกลุ่มหนาแน่น แต่ละสายไม่แตกแขนงทรัยโคมประกอบด้วยเซลล์แถวเดียวเรียงต่อกันเป็นสาย โดยมีความกว้างของเซลล์สม่ำเสมอตลอดสาย โดยปกติแต่ละเซลล์มีขนาดกว้างมากว่ายาว ยกเว้นบางชนิดเท่านั้นที่เฉพาะเซลล์ปลาย ๆ ทรัยโคมเท่านั้นที่อาจเรียงยาวหรือแคบลง และเซลล์ปลายสุด (apical cell) อาจมีคาลิปทรา (calyptra) อยู่ ซึ่งมีลักษณะคล้ายหมวกปีกหรือมีผนังเซลล์พองออก (capitate) *Oscillatoria* เป็นสกุลที่ไม่มีชีทหุ้ม แต่อาจมีน้ำใส ๆ หุ้มอยู่ เป็นสกุลที่สามารถเคลื่อนไหวได้ทั้ง แบบเลื่อนไหล (gliding) หรือแกว่งซ้ายขวา (Oscillating) สืบพันธุ์โดยการเกิดเซลล์ตายภายในสายและสร้างเซพาเรชันดิส (separation disc) แบ่งทรัยโคมออกเป็นออกเป็นฮอร์โมโกนหรือฮอร์โมโกเนียเป็นแพลงก์ตอนที่พบทุกแหล่งน้ำ ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย ทะเล และทะเลสาบน้ำเค็มหรือตามที่ชื้นแฉะทั่วไป

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือไซยาโนแบคทีเรียชนิด *Oscillatoria limnetica* เป็นชนิดที่พบบลูมได้บ่อยในบ่อเลี้ยงปลา ทางคณะผู้วิจัยจึงได้ทำการแยกเซลล์มาทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และจากการศึกษาขั้นต้น สาหร่ายชนิดนี้ให้น้ำมันได้สูงถึง 19.5 % ให้ผลผลิตไขมัน 1.8 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (ข้อมูลการวิจัยขั้นต้น) แม้ไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้จะให้ผลผลิตไขมันที่น้อยกว่า *B. braunii* แต่พบว่า *O. limnetica* มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วกว่า ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงที่สั้นกว่า การเก็บเกี่ยวผลผลิตสะดวกและง่ายกว่า เมื่อนำออกมาเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ พบว่าไม่มีปัญหาด้านการปนเปื้อนของสาหร่ายชนิดอื่นเกิดขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าแม้มีปริมาณสารอาหารเพียงเล็กน้อย หรือใช้น้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงปลามาเพาะเลี้ยง *O. limnetica* ยังสามารถเจริญเติบโตได้ดี ดังนั้นหากสามารถกระตุ้นให้สร้างผลผลิตไขมันให้สูงมากขึ้น จะทำให้เป็นทางเลือกที่ดีทางหนึ่งในการนำมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล ดังนั้นจึงควรมีการหาสภาวะที่สามารถกระตุ้นให้เพิ่มผลผลิตไขมันได้ รวมทั้งต้องมีการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมัน เพื่อเป็นทางเลือกในการนำน้ำมันจากสาหร่ายไปใช้ให้เหมาะสมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 2.3 เปรียบเทียบปริมาณไขมันในสาหร่าย *B. braunii* จากงานวิจัยต่าง ๆ

ปริมาณไขมัน (% dry wt.)	อ้างอิง
12-55	Ruangsoomboon (2012)
10-33	Okada et al. (1995)
50	Kojima and Zhang (1999)
6-17	Kalacheva et al. (2001)
13-18	Dayananda et al. (2007)
25-75	Chisti (2007)
11-18	Orpez et al. (2009)
9-20	Zhila et al. (2011)
6-36	Yeesang and Cheirsilp (2011)
10-13	Ge et al. (2011)

ดังนั้นจึงพบได้ว่าการใช้สาหร่ายเป็นแหล่งน้ำมันเพื่อผลิตไบโอดีเซลให้ได้ผลสำเร็จนั้น นอกจากต้องมีสายพันธุ์สาหร่ายที่เหมาะสม เจริญเติบโตได้ดี ให้ปริมาณไขมันสูง ยังต้องทราบสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่ายชนิดนั้น ๆ เพื่อให้สาหร่ายมีผลผลิตไขมันสูงที่สุด และมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่เหมาะสมต่อการนำไปทำไบโอดีเซลหรือนำไปทำเป็นแหล่งทดแทนน้ำมันพืช และเมื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมแล้ว ในการเลี้ยงสาหร่ายเหล่านั้นต้องสามารถเก็บเกี่ยวได้ง่ายและใช้ต้นทุนในการเพาะเลี้ยงต่ำ จึงจะสามารถลดวิกฤตปัญหาด้านการขาดแคลนอาหารและพลังงานของมนุษย์ในอนาคต รวมถึงลดการพึ่งพาพลังงานจากต่างประเทศได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

ทำการแยกเซลล์สาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำคลองโบด จังหวัดนครนายก และแยกเซลล์ *Oscillatoria limnetica* จากบ่อเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย เขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยทำการเลี้ยง *B. braunii* ในอาหารสูตร Chlorella medium, Kratz and Myers media และ 3Nitrogen – Bold Basal Medium + Vitamin และเพาะเลี้ยง *O. limnetica* ในอาหารสูตร BG-11 ในหลอดแก้วที่บรรจุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว 15 นาที จากนั้นขยายหัวเชื้อลงฟลาสก์ขนาด 250 ml จนเจริญเติบโตเต็มที่จึงขยายลงในขวดแก้วหรือ flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร โดยใส่หัวเชื้อสาหร่าย 100 มิลลิลิตร จากนั้นทำการต่อสายอากาศและปิดปากขวดด้วยสำลี และฟอยล์ วางไว้บนชั้นที่มีการให้แสงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมง ความเข้มแสง 726 Lux ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยพบว่าสาหร่าย *B. braunii* เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร Chlorella Medium จึงเลือกอาหารสูตรนี้ในการเพาะเลี้ยงต่อไป ณ ปัจจุบันทางคณะผู้วิจัยมีหัวเชื้อสายพันธุ์สาหร่าย 2 ชนิดนี้ เรียบร้อยแล้ว

3.2. การศึกษาสภาวะในการเลี้ยงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันในสาหร่าย

3.2.1 ผลของระยะเวลาการเลี้ยงที่แตกต่างกัน

นำสาหร่ายสีเขียว *B. braunii* และไซยาโนแบคทีเรีย *O. limnetica* เลี้ยงในอาหารสูตร Chlorella Medium และ BG-11 ตามลำดับ วิเคราะห์ปริมาณไขมันที่ระยะเวลาการเลี้ยงแตกต่างกันคือ 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 วัน (สำหรับ *B. braunii*) และ 10, 20, 30 และ 40 วัน (สำหรับ *O. limnetica*) ทำการวัดปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน

3.2.2 ไนโตรเจน

3.2.2.1 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

นำสาหร่ายสีเขียว *B. braunii* และไซยาโนแบคทีเรีย *O. limnetica* เลี้ยงในอาหารสูตร Chlorella Medium และ BG-11 ตามลำดับ โดยมีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันคือ sodium nitrate, urea และ ammonium bicarbonate เลี้ยงในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 2.1 ทำการวิเคราะห์ปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน และวัดปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันที่สิ้นสุดการทดลอง

3.2.2.2 ผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

เมื่อทราบแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดแล้ว นำมาผันแปรระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด โดยผันแปรความเข้มข้นของไนโตรเจน 10, 25, 50, 100 และ 200% โดยใช้อาหารสูตร Chlorella Medium และ BG-11 สูตรปกติเป็นชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ เข้มข้น 100% เลี้ยงในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 2.1 ทำการหาปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน และวัดปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันที่สิ้นสุดการทดลอง

3.2.2.3 ศึกษาแนวทางในการกระตุ้นการผลิตไขมันของสาหร่าย

เลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ให้ปริมาณ biomass สูงสุด 7 วัน ทำการวัดปริมาณไขมัน จากนั้นนำเซลล์สาหร่ายไปเลี้ยงในอาหารที่ให้ปริมาณ lipid content สูงสุดเป็นเวลา 7 และ 13 วัน ทำการวัดปริมาณไขมันทุก 4 วัน และชนิดกรดไขมันทุก 7 วัน ทำการวัดปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน และศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมัน

3.2.3 ฟอสฟอรัส

3.2.3.1 ผลของความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน

ทำการผันแปรระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด โดยผันแปรความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 50, 100, 150, 200 และ 250% โดยใช้อาหารสูตร Chlorella Medium และ BG-11 สูตรปกติเป็นชุดควบคุมคือ เข้มข้น 100% เลี้ยงในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 2.1ทำการหาปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน และวัดปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันที่สิ้นสุดการทดลอง

3.2.3.2 ศึกษาแนวทางในการกระตุ้นการผลิตไขมันของสาหร่าย

เลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ให้ปริมาณ biomass สูงสุด 12 วัน ทำการวัดปริมาณไขมัน จากนั้นนำเซลล์สาหร่ายไปเลี้ยงในอาหารที่ให้ปริมาณ lipid content สูงสุดเป็นเวลา 7 และ 13 วัน ทำการวัดปริมาณไขมันทุก 4 วัน และชนิดกรดไขมันทุก 7 วัน ทำการวัดปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน และศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมัน

3.2.4 เหล็ก

3.2.4.1 ผลของความเข้มข้นของเหล็กที่แตกต่างกัน

ทำการผันแปรระดับความเข้มข้นของเหล็กเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด โดยผันแปรความเข้มข้นของเหล็ก 50, 100, 150, 200 และ 250% โดยใช้อาหารสูตร Chlorella Medium และ BG-11 สูตรปกติเป็นชุดควบคุมคือ เข้มข้น 100% เลี้ยงในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 2.1 ทำการหาปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน และวัดปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันที่สิ้นสุดการทดลอง

3.2.4.2 ศึกษาแนวทางในการกระตุ้นการผลิตไขมันของสาหร่าย

เลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในความเข้มข้นของเหล็กที่ให้ปริมาณ biomass สูงสุด 12 วัน ทำการวัดปริมาณไขมัน จากนั้นนำเซลล์สาหร่ายไปเลี้ยงในอาหารที่ให้ปริมาณ lipid content สูงสุดเป็นเวลา 7 และ 13 วัน ทำการวัดปริมาณไขมันทุก 4 วัน และชนิดกรดไขมันทุก 7 วัน ทำการวัดปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน และศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5 ความเค็ม

3.2.5.1 ผลของความเข้มข้นของความเค็มที่แตกต่างกัน

ทำการผันแปรระดับความเข้มข้นของความเค็มเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด โดยผันแปรความเข้มข้นของความเค็ม 0, 5, 10, 15 และ 20 psu เลี้ยงในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 2.1 ทำการหาปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน และวัดปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันที่สิ้นสุดการทดลอง

3.2.5.2 ศึกษาแนวทางในการกระตุ้นการผลิตไขมันของสาหร่าย

เลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในความเข้มข้นของความเค็มที่ให้ปริมาณ biomass สูงสุด 12 วัน ทำการวัดปริมาณไขมัน จากนั้นนำเซลล์สาหร่ายไปเลี้ยงในอาหารที่ให้ปริมาณ lipid content สูงสุดเป็นเวลา 7 และ 13 วัน ทำการวัดปริมาณไขมันทุก 4 วัน และชนิดกรดไขมันทุก 7 วัน ทำการวัดปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน และศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมัน

3.2.6 ความเข้มแสง

3.2.6.1 ผลของความเข้มแสงที่แตกต่างกัน

ทำการผันแปรระดับความเข้มแสง โดยใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 1, 2, 3 และ 4 หลอด เลี้ยงในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 2.1 ทำการวิเคราะห์ปริมาณ dry weight ทุก 2 วัน และวัดปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันที่สิ้นสุดการทดลอง

3.3. การศึกษาความเป็นไปได้และต้นทุนในการเลี้ยงแบบมหภาค

3.3.1 การเลี้ยงในถังขนาด 500 ลิตร

นำสาหร่าย *B. braunii* และ *O. limnetica* มาเลี้ยงในถังกลางแจ้งขนาด 500 ลิตร ด้วยสารเคมีเกรดการค้า (commercial grade) โดยสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยง จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 2 คือนำปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก และความเค็มที่เหมาะสม มาทดลองเลี้ยงสาหร่าย และเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่ใช้ในทางการเกษตรเช่นสูตร 16-16-16 หรือ 16-20-0 และสูตรอื่น ๆ ที่หาได้จากท้องตลาด เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและผลผลิตไขมัน

โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณ Chlorophyll โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันทุก 2 วัน และศึกษาชนิดกรดไขมันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และคำนวณต้นทุนในการเพาะเลี้ยง

**โดยปริมาณสารเคมีที่เหมาะสมจะได้จากผลจากการทดลองในข้อ 2 ส่วนด้านปริมาณแสงต้องใช้แสงจากธรรมชาติ ผลจากข้อ 2 ทำให้ทราบแนวโน้มของแสงที่เหมาะสมว่ามากหรือน้อยเท่าใด เมื่อได้ผลจาก 3.1 แล้ว นำผลที่ได้ทำการปรับให้เหมาะสมเช่นเวลาที่เหมาะสม ปริมาณแสงที่เหมาะสมอีกครั้งหนึ่ง

3.3.2 การเลี้ยงในบ่อเปิดกลางแจ้ง (raceway pond)

นำสาหร่าย *B. braunii* และ *O. limnetica* มาเลี้ยงในบ่อ raceway pond ขนาดความจุขั้นต่ำ 10,000 ลิตร ด้วยสารเคมีเกรดการค้า (commercial grade) โดยสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 3.1 ทำการวิเคราะห์ปริมาณ Chlorophyll, ปริมาณโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ทุก 2 วัน และศึกษาชนิดกรดไขมันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

3.4. การวิเคราะห์ข้อมูล

3.4.1 การวิเคราะห์ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรท รงควัตถุ

ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีของ Lowry method วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรทตามวิธี Phenol-Sulfuric acid method วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธีของ Pearson *et al.* (1976) และสกัดไขมันตามวิธีของ Bligh and Dyer (1959)

3.4.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน (Determination of lipid content) ทำตามวิธีของ Holub and Skeaff (1987)

3.4.3 วิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ

วิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลทั้งหมดด้วยวิธี (One-way ANOVA) เพื่อหาความแตกต่างในแต่ละสภาวะการเลี้ยง โดยใช้โปรแกรม Microsoft Office Excel 2007 และโปรแกรม SPSS for windows version 16.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

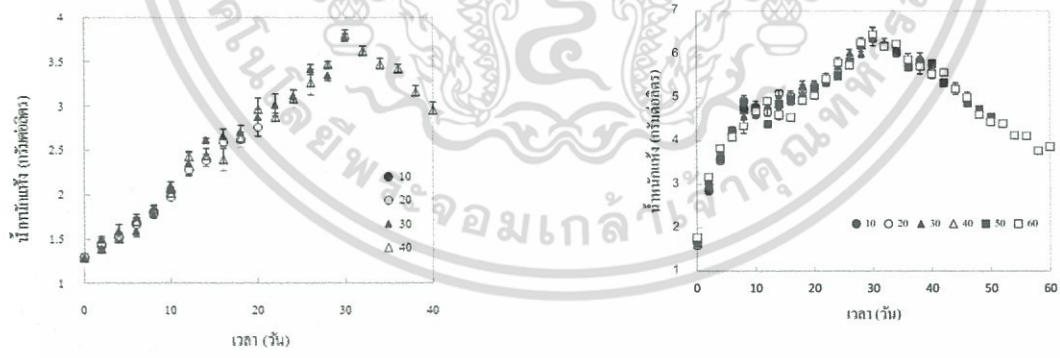
4.1 หัวเชื้อสาหร่าย

ทำการแยกเซลล์สาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำคลองโบด จังหวัดนครนายก และแยกเซลล์ *Oscillatoria limnetica* จากบ่อเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย เขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร เพาะเลี้ยง *Oscillatoria limnetica* ในอาหารสูตร BG-11 เพาะเลี้ยง *B. braunii* ในอาหารสูตร Chlorella medium นำไปเป็นหัวเชื้อเมื่อถึงช่วงปลายระยะการเจริญเติบโตเต็มที่หรือ exponential phase

4.2. การศึกษาสภาวะในการเลี้ยงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันในสาหร่าย

4.2.1 ผลของระยะเวลาการเลี้ยงที่แตกต่างกัน

นำสาหร่ายสีเขียว *B. braunii* และไซยาโนแบคทีเรีย *O. limnetica* เลี้ยงในอาหารสูตร Chlorella Medium และ BG-11 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเลี้ยงแตกต่างกัน พบว่าสาหร่าย *O. limnetica* มีการเจริญเติบโตสูงสุดวันที่ 27 ส่วน *B. braunii* มีการเจริญเติบโตสูงสุดวันที่ 28 (ภาพที่ 4.1) โดย *O. limnetica* และ *B. braunii* มีปริมาณไขมันรวมทั้งหมดสูงที่สุดในวันที่ 30 ของการเลี้ยง (ตารางที่ 4.1, 4.2)



A B

ภาพที่ 4.1 น้ำหนักแห้งของ *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เลี้ยงที่ระยะเวลาต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงระยะเวลาต่างกัน

Time (d)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
10	0.04±0.00^{a}	2.0±0.02^{c}	5.9479±0.0419^{c}	0.1204±0.0017^{d}	2.9171±0.3544^{b}
20	0.04±0.00^{ab}	2.76±0.09^{b}	9.1109±0.0812^{b}	0.2515±0.0086^{b}	3.8071±0.2996^{a}
30	0.03±0.00^{b}	3.78±0.05^{a}	11.7509±0.2748^{a}	0.4442±0.0062^{a}	4.2440±0.1372^{a}
40	0.03±0.00^{b}	3.73±0.04^{a}	5.4098±0.2228^{c}	0.2021±0.0026^{c}	1.9080±0.0332^{c}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.2 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่ระยะเวลาต่างกัน

Time (d)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
10	0.12±0.00^{c}	4.66±0.02^{b}	7.76±0.27^{d}	0.362±0.001^{c}	9.493±0.595^{e}
20	0.05±0.02^{b}	5.27±0.12^{c}	8.32±0.09^{e}	0.4388±0.10^{d}	5.474±2.737^{d}
30	0.04±0.00^{a}	6.54±0.07^{e}	9.53±0.19^{f}	0.6239±0.0068^{e}	4.363±2.181^{c}
40	0.043±0.002^{a}	5.72±0.10^{d}	6.40±0.06^{c}	0.3668±0.0068^{c}	2.754±1.377^{b}
50	0.043±0.000^{a}	4.55±0.06^{b}	5.42±0.02^{b}	0.2471±0.0036^{b}	2.388±1.149^{b}
60	0.04±0.00^{a}	3.88±0.07^{a}	2.01±0.06^{a}	0.0782±0.0015^{a}	0.863±0.931^{a}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

4.2.2 ไนโตรเจน

ไนโตรเจน มีความสำคัญรองจากคาร์บอนในแง่ของปริมาณไนโตรเจนในสาหร่ายมีประมาณ 7–10 %ของน้ำหนักแห้ง ปริมาณไนโตรเจนในอากาศมีอยู่ถึง 78 % แต่สาหร่ายไม่สามารถนำไปใช้ได้ นอกจากพวกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มี Heterocyst ซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้สาหร่ายสามารถใช้ไนโตรเจนในรูปของ NH_3-N

อนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนีย (ammonia) ไนไตรท์ (nitrite) และไนเตรท (nitrate) แอมโมเนียจะถูกสาหร่ายนำไปใช้ก่อน ไนเตรท ส่วนไนไตรท์ สาหร่ายต้องการในปริมาณที่น้อยหรืออาจจะไม่ใช้เลย สำหรับไนเตรทนั้นถ้าสาหร่ายนำไปใช้เมื่อดูดซึมเข้าสู่เซลล์แล้วต้องเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียก่อนจึงจะนำไปใช้ได้ ถ้าในน้ำมีทั้งแอมโมเนียและไนเตรทสาหร่ายจะเลือกดูด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

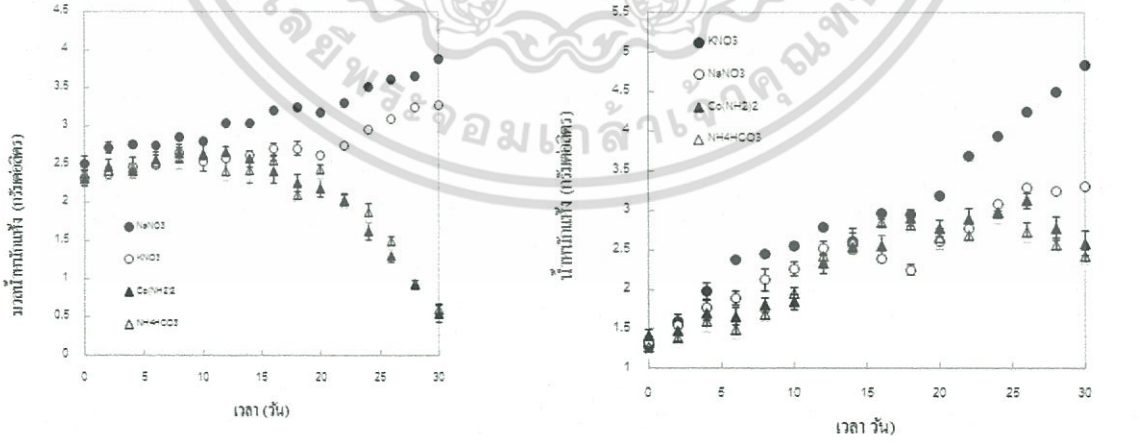
ซึมแอมโมเนียก่อน เพราะจะได้ไม่ต้องเสียพลังงานในการเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นแอมโมเนียดังนั้นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยเฉพาะสาหร่ายทะเล แอมโมเนียจึงเป็นแหล่งไนโตรเจนของสาหร่าย

อินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ ยูเรีย (Urea) เอไมด์ (amide) กลูทามีน (glutamine) และแอสพาราจีน (asparagine) ซึ่งจัดว่าเป็นแหล่งไนโตรเจนชนิดดี ส่วนสารอินทรีย์ไนโตรเจนชนิดอื่นได้แก่ กรดอะมิโน (โดยเฉพาะกรดไกลซีน เซรีน อะลามีน กรดกลูทามิคและกรดแอสพาร์ติค) นั้นสาหร่ายต้องการใช้เพื่อการเติบโตซึ่งแตกต่างกันตามชนิด ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญต่อกระบวนการสร้างสารพันธุกรรมของสาหร่ายโดยเป็นองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) กรดอะมิโนและสารสีบางชนิด เช่น คลอโรฟิลล์ ถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสงและปริมาณสารสีของเซลล์รวมทั้งทำให้กิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดลดลง

4.2.2.1 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

นำสาหร่ายสีเขียว *B. braunii* และไซยาโนแบคทีเรีย *O. limnetica* เลี้ยงในอาหารสูตร Chlorella Medium และ BG-11 ตามลำดับ โดยมีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันคือ sodium nitrate, urea และ ammonium bicarbonate พบว่าสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี $NaNO_3$ และ KNO_3 มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด 3.88±0.02 และ 4.84±0.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2, ตารางที่ 4.3, 4.4) โดยในแหล่งไนโตรเจนดังกล่าวยังให้ปริมาณไขมันสูงที่สุดอีกด้วย โดยมีไขมันเท่ากับ 12.16±0.38 และ 15.44±0.28 % ตามลำดับ

ผลผลิตไขมันที่ได้นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* พบว่ากรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ Palmitic Acid (C16:0) มีค่าในช่วง 58-66 % รองลงมาเป็น Oleic Acid (C18:1n9c) 10.20 % (ตารางที่ 4.5) ใน B. braunii พบ Palmitic Acid มากที่สุดเช่นกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 51-64 % (ตารางที่ 4.6)



A B

ภาพที่ 4.2 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน

N source	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
$NaNO_3$	0.01±0.00^{b}	3.88±0.02^{a}	12.16±0.38^{a}	0.47±0.00^{a}	1.77±0.14^{a}
KNO_3	0.01±0.00^{b}	3.28±0.07^{b}	9.86±0.25^{b}	0.31±0.00^{b}	1.21±0.16^{b}
$Co(NH_2)_2$	0.02±0.00^{a}	0.54±0.11^{c}	4.22±0.40^{c}	0.02±0.00^{c}	1.14±0.17^{b}
NH_4HCO_3	0.01±0.00^{b}	0.61±0.07^{c}	3.68±0.22^{c}	0.02±0.00^{c}	0.62±0.04^{c}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.4 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน

N source	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
KNO_3	0.04±0.00^{a}	4.84±0.06^{a}	15.44±0.28^{a}	0.7475±0.0094^{a}	7.0131±0.2682^{a}
$NaNO_3$	0.03±0.00^{a}	3.31±0.11^{b}	12.56±0.38^{b}	0.4160±0.0146^{b}	4.1860±0.3376^{b}
$Co(NH_2)_2$	0.03±0.00^{a}	2.59±0.15^{c}	7.91±0.09^{c}	0.2051±0.0122^{c}	2.5113±0.1602^{c}
NH_4HCO_3	0.04±0.00^{a}	2.41±0.10^{c}	5.99±0.21^{d}	0.1448±0.0061^{d}	2.6506±0.5086^{c}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 กรดไขมันของของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน

Fatty Acid (%)		แหล่งไนโตรเจน			
Component		KNO_3	$NaNO_3$	$Co(NH_2)_2$	NH_4HCO_3
Butyric Acid	C4:0	1.48	0.69	-	0.28
Caproic Acid	C6:0	-	-	4.21	-
Capric Acid	C10:0	1.02	0.87	1.70	2.14
Undecanoic Acid	C11:0	-	0.47	0.70	0.21
Lauric Acid	C12:0	3.29	3.94	2.59	1.94
Tridecanoic Acid	C13:0	1.67	0.89	2.02	1.51
Myristic Acid	C14:0	9.96	4.57	3.83	2.95
Myristoleic Acid	C14:1	1.07	1.04	0.34	1.81
Pentadecanoic Acid	C15:0	4.35	1.72	3.38	1.24
cis-10-Pentadecenoic Acid	C15:1	0.76	-	1.35	-
Palmitic Acid	C16:0	58.59	58.75	66.05	63.14
Palmitoleic Acid	C16:1	2.85	3.03	2.42	2.28
Heptadecanoic Acid	C17:0	3.73	2.93	4.06	2.41
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	-	0.33	-	-
Stearic Acid	C18:0	1.25	1.74	3.21	1.27
Elaidic Acid	C18:1n9t	4.67	1.21	1.56	3.57
Oleic Acid	C18:1n9c	2.65	10.20	0.97	7.21
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	-	0.40	-	0.85
Linoleic Acid	C18:2n6c	2.65	4.31	-	3.74
Y-Linolenic Acid	C18:3n6	-	0.67	0.36	0.93
Linolenic Acid	C18:3n3	-	2.24	-	1.80
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	-	-	-	0.37
Heneicosanoic Acid	C21:0	-	-	-	0.33
Behenic Acid	C22:0	-	-	0.40	-
Erucic Acid	C22:1n9	-	-	0.84	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

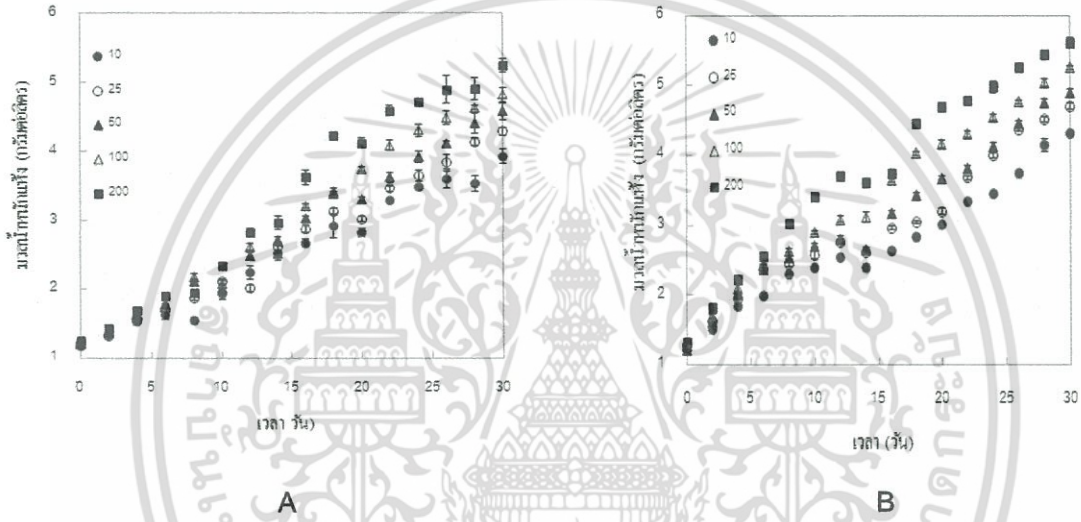
ตารางที่ 4.6 กรดไขมันของของสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน

Component (%)	KNO_3	$NaNO_3$	$Co(NH_2)_2$	NH_4HCO_3
Butyric Acid	1.48	0.40	-	0.29
Caproic Acid	-	2.66	-	-
Capric Acid	1.02	0.59	1.72	1.67
Undecanoic Acid	-	-	0.84	0.24
Lauric Acid	3.29	2.72	1.30	3.64
Tridecanoic Acid	1.67	0.60	1.70	1.29
Myristic Acid	9.96	2.81	4.72	2.77
Myristoleic Acid	1.07	0.54	0.52	1.83
Pentadecanoic Acid	4.35	1.50	3.71	1.49
cis-10-Pentadecenoic Acid	0.76	-	1.16	-
Palmitic Acid	58.59	56.64	64.42	51.29
Palmitoleic Acid	2.85	2.66	2.94	4.72
Heptadecanoic Acid	3.73	1.44	7.55	4.14
cis-10-Heptadecenoic Acid	-	0.38	-	0.46
Stearic Acid	1.25	2.70	-	1.36
Elaidic Acid	4.67	0.85	3.09	0.37
Oleic Acid	2.65	12.26	2.77	13.30
Linolelaidic Acid	-	0.33	-	0.46
Linoleic Acid	2.65	5.32	-	5.86
Y-Linolenic Acid	-	0.82	-	1.03
Linolenic Acid	-	3.05	-	3.29
cis-11-Eicosenoic Acid	-	0.18	-	-
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	-	0.05	-	-
cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid	-	0.30	-	0.28
Erucic Acid	-	0.77	2.54	-
cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid	-	0.44	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2.2 ผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *B. braunii* และไซยาโนแบคทีเรีย *O. limnetica* เลี้ยงในอาหารสูตร Chlorella Medium และ BG-11 ตามลำดับ โดยมีความเข้มข้นของไนโตรเจนที่แตกต่างกัน พบว่าทั้งสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นไนโตรเจนมากจะมีการเจริญเติบโตที่สูงสุด เท่ากับ 5.25±0.00 และ 5.61±0.06 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3, ตารางที่ 4.7, 4.8) แต่พบว่าที่ความเข้มข้นไนโตรเจนต่ำที่สุดจะให้ปริมาณไขมันสูงที่สุด เท่ากับ 16.58±0.22 และ 21.60±0.10 % ตามลำดับ กรดไขมันของ *O. limnetica* และ *B. braunii* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีไนโตรเจนเข้มข้นต่างกัน พบว่ามี C16:0 สูงที่สุดในสาหร่ายทั้งสองชนิด โดยใน *O. limnetica* มีค่าอยู่ในช่วง 33-57 % และใน *B. braunii* มีค่าอยู่ในช่วง 34-52 % (ตารางที่ 4.9, 4.10)



ภาพที่ 4.3 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย สาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เลี้ยงในระดับไนโตรเจนที่ต่างกัน

ตารางที่ 4.7 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในปริมาณไนโตรเจนที่ต่างกัน

N (g/l)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0.1250	0.0425±0.0010^{b}	3.92±0.10^{d}	16.58±0.22^{a}	0.65±0.01^{a}	7.0424±0.2070^{a}
0.3125	0.0429±0.00015^{b}	4.28±0.05^{c}	14.75±0.17^{b}	0.63±0.00^{a}	6.3243±0.2217^{bc}
0.6250	0.0467±0.0013^{ab}	4.57±0.12^{bc}	14.12±0.42^{b}	0.64±0.01^{a}	6.5999±0.1872^{ab}
1.2500	0.0473±0.0008^{ab}	4.82±0.10^{b}	12.21±0.32^{c}	0.58±0.01^{b}	5.7755±0.0985^{c}
2.5000	0.0514±0.0024^{a}	5.25±0.00^{a}	12.83±0.16^{c}	0.67±0.01^{a}	6.5939±0.3102^{c}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในปริมาณไนโตรเจนที่ต่างกัน

N (g/l)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0.1250	0.0427±0.0010^{b}	4.31±0.03^{e}	21.60±0.10^{a}	0.9322±0.0078^{c}	9.2217±0.2174^{a}
0.3125	0.0439±0.0009^{b}	4.70±0.04^{d}	19.84±0.35^{b}	0.9339±0.0086^{c}	8.7046±0.1839^{a}
0.6250	0.0474±0.0011^{a}	4.89±0.06^{c}	18.24±0.24^{c}	0.8923±0.0114^{d}	8.6548±0.2023^{a}
1.2500	0.0481±0.0006^{a}	5.20±0.02^{b}	18.44±0.19^{c}	0.9703±0.0054^{b}	8.8803±0.1155^{a}
2.5000	0.0490±0.0007^{a}	5.61±0.06^{a}	18.47±0.34^{c}	1.0375±0.0111^{a}	9.0500±0.1324^{a}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.9 กรดไขมันของของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในไนโตรเจนที่เข้มข้นต่างกัน

กรดไขมัน	ไนโตรเจน (g/L)				
	0.125	0.3125	0.625	1.25	2.5
C4:0	0.04	0.04	0.00	0.00	0.00
C6:0	0.28	0.28	0.00	0.01	0.32
C8:0	0.80	0.43	0.69	1.15	2.66
C10:0	1.13	0.96	2.19	1.79	3.48
C11:0	1.83	1.31	2.38	4.35	10.65
C12:0	8.83	3.29	5.71	11.13	11.54
C13:0	8.85	4.50	1.97	1.87	3.03
C14:0	3.27	3.32	7.33	5.21	4.08
C14:1	0.52	2.81	5.44	2.41	1.87
C15:0	0.52	1.33	2.12	1.89	1.81
C15:1	0.86	1.56	0.81	0.94	1.01
C16:0	37.31	46.52	57.17	45.23	33.16
C16:1	4.72	5.16	2.91	3.58	3.55
C17:0	2.05	2.82	1.97	1.94	1.26
C17:1	2.53	1.98	0.46	0.07	0.59
C18:0	8.83	8.59	7.29	9.34	10.27
C18:1n9t	2.96	1.55	0.00	6.09	5.38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 (ต่อ)

	ไนโตรเจน (g/L)				
	0.125	0.3125	0.625	1.25	2.5
C18:1n9c	4.94	3.98	0.00	0.00	0.00
C18:2n6t	0.56	0.61	0.61	0.00	0.00
C19	3.70	2.82	0.00	0.00	2.12
C18:2n6c	0.29	0.76	0.98	0.38	0.63
C18:3n6	1.15	1.20	0.00	0.00	0.00
C18:3n3	1.71	1.26	0.00	0.25	0.68
C20:0	0.00	0.12	0.00	0.00	0.00
C20:1	0.19	0.37	0.00	0.98	0.35
C20:2	0.18	0.16	0.00	0.22	0.00
C21:0	0.04	0.06	0.00	0.00	0.00
C20:3n6	0.20	0.20	0.00	0.18	0.00
C20:3n3	0.03	0.09	0.00	0.00	0.00
C20:4n6	0.11	0.32	0.00	0.00	1.18
C22:0	0.33	0.20	0.00	0.30	0.00
C22:1n9	0.45	0.52	0.00	0.21	0.00
C:20:5n3	0.42	0.29	0.00	0.00	0.00
C23:0	0.00	0.18	0.00	0.00	0.00
C22:2	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00
C24:0	0.38	0.27	0.00	0.48	0.39

ตารางที่ 4.10 กรดไขมันของของสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในไนโตรเจนที่เข้มข้นต่างกัน

กรดไขมัน	ความเข้มข้นของไนโตรเจน (g/L)				
	0.125	0.3125	0.625	1.25	2.5
C4:0	0.62	0.00	0.00	0.07	0.04
C6:0	1.78	0.00	0.00	0.48	0.28
C8:0	1.23	0.00	0.00	1.27	0.43
C10:0	3.42	1.31	0.26	1.18	0.96
C11:0	2.50	0.62	0.88	1.50	1.31
C12:0	8.65	3.10	5.61	8.84	3.29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

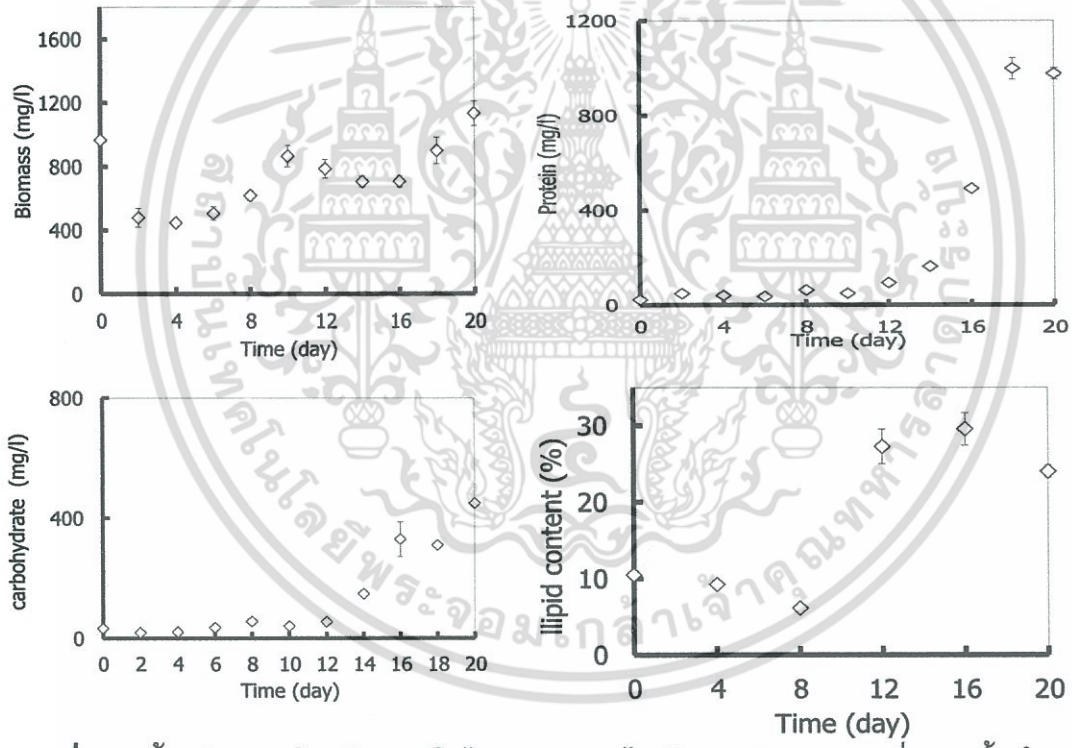
ตารางที่ 4.10 (ต่อ)

	ไนโตรเจน (g/L)				
	0.125	0.3125	0.625	1.25	2.5
C13:0	7.50	6.32	1.75	6.44	4.50
C14:0	3.87	10.44	1.68	3.35	3.32
C14:1	1.90	5.65	1.02	2.16	2.81
C15:0	2.01	2.76	0.00	2.05	1.33
C15:1	1.52	1.48	0.40	1.29	1.56
C16:0	34.67	52.47	38.36	39.75	46.52
C16:1	3.97	3.07	7.56	4.90	5.16
C17:0	1.75	1.36	1.85	3.17	2.82
C17:1	1.24	0.00	0.00	1.88	1.98
C18:0	10.06	10.07	7.81	8.32	8.59
C18:1n9t	2.47	0.31	2.72	2.30	1.55
C18:1n9c	1.85	0.44	13.52	2.61	3.98
C18:2n6t	0.30	0.03	1.45	0.35	0.61
C19:0	2.74	0.04	8.59	2.90	2.82
C18:2n6c	0.63	0.33	0.00	0.73	0.76
C20:0	0.87	0.06	2.01	0.97	1.20
C18:3n6	1.05	0.15	2.77	1.86	1.26
C20:1	0.35	0.00	0.26	0.02	0.12
C18:3n3	0.32	0.00	0.00	0.15	0.37
C21:0	0.26	0.00	0.00	0.10	0.16
C20:2	0.22	0.00	0.00	0.03	0.06
C22:0	0.40	0.00	0.15	0.21	0.20
C20:3n6	0.10	0.00	0.00	0.04	0.09
C22:1n9	0.08	0.00	0.23	0.09	0.32
C20:3n3	0.16	0.00	0.36	0.21	0.20
C20:4n6	0.57	0.00	0.40	0.32	0.52
C23:0	0.19	0.00	0.00	0.16	0.29
C22:2	0.20	0.00	0.00	0.00	0.18
C24:0	0.13	0.00	0.00	0.00	0.13
C:20:5n3	0.36	0.00	0.35	0.31	0.27
C24:1	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:6n3	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2.3 ศึกษาแนวทางในการกระตุ้นการผลิตไขมันของสาหร่าย

เนื่องจากพบว่าปริมาณไขมันในสาหร่าย *B. braunii* มีปริมาณมากกว่าไขมันใน *O. limnetica* ดังนั้นขั้นตอนการกระตุ้นจึงศึกษาเพียง ชนิดเดียว *B. braunii* โดยทำการเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ให้ปริมาณ biomass สูงสุด (ไนโตรเจน 2.5 กรัมต่อลิตร) 7 วัน ทำการวัดปริมาณไขมัน จากนั้นนำเซลล์สาหร่ายไปเลี้ยงในอาหารที่ให้ปริมาณ lipid content สูงสุด (ไนโตรเจน 0.125 กรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 7 และ 13 วัน ทำการวัดปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันทุก 7 วัน ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมัน พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรท และไขมันเพิ่มอย่างต่อเนื่อง โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 20, 18, 20 และ 16 ของการเลี้ยง ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4) โดยชนิดกรดไขมันที่พบ มีกรดไขมันชนิดอิ่มตัว Saturated fatty acids (SFAs) 54.59-64.00 % รองลงมาเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว Monounsaturated fatty acids (MUFAs) 6.08-12.46 % และ Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) 0.50-6.54 % ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการทำไบโอดีเซล (ตารางที่ 4.11)



ภาพที่ 4.4 น้ำหนักแห้ง โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และ ไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นไนโตรเจนที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นไนโตรเจนที่เหมาะสม

Fatty Acid (%)				
FA	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 20
Saturated fatty acids (SFAs)				
C16:0	58.59	58.89	55.79	51.55
C17:0	3.73	1.33	4.98	2.08
C18:0	1.25	1.12	3.24	0.96
C20:0	-	0.22	-	-
Total	63.57	61.56	64.00	54.59
Monounsaturated fatty acids (MUFAs)				
C16:1	2.85	5.48	3.89	5.27
C17:1	-	0.49	-	0.43
C18:1	3.66	6.49	2.19	6.61
Total	6.51	12.46	6.08	12.31
Polyunsaturated fatty acids (PUFAs)				
C18:2	2.65	4.42	0.50	3.20
C18:3	-	1.63	-	2.10
C20:0	-	0.22	-	-
C20:2	-	0.27	-	-
Total	2.65	6.54	0.50	5.30

ปริมาณไนโตรเจนจะมีผลต่อน้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่าย ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย โดยในปกติไนโตรเจน มีหน้าที่หลักในการสังเคราะห์แสง เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสารหลายชนิดภายในเซลล์ เช่น โปรตีน คลอโรฟิลล์ กรดนิวคลิอิก สร้างรงควัตถุ ช่วยในกิจกรรมการทำงานเอมไซม์ (สุนีรัตน์ ,2549) ในสภาวะที่มีการขาดไนโตรเจนหรือมีการจำกัดปริมาณไนโตรเจน จะส่งผลต่อการสังเคราะห์แสง และปริมาณรงควัตถุของเซลล์ ในส่วนของอาหารสะสมจะเกิดการสะสมของสารประกอบคาร์บอนในปริมาณเพิ่มขึ้น อย่างเช่น พวกไขมัน หรือ โพลีแซคคาไรด์ เป็นผลให้เกิดการสะสมไขมันภายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Hammond และ Glatz, 1988)

Xin et al.(2010) ศึกษาผลของไนโตรเจนในสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ต่อปริมาณไขมัน โดยมีระดับความเข้มข้นของไนโตรเจน(NO_3–N)แตกต่างกันที่ 2.5 - 25.0 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ความเข้มข้นไนโตรเจน 2.5 มิลลิกรัม/ลิตร ให้ปริมาณไขมันสูงสุดถึง 30 % Widjaja et al. (2009) ทำการทดลองโดยเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* เก็บเกี่ยวเซลล์ที่ระยะใกล้ linear หลังจากนั้นตรวจสอบผลกระทบของการทำให้ขาดไนโตรเจน โดยเปรียบเทียบปริมาณไขมันรวมระหว่างสูตรอาหารปกติและสูตรอาหารขาดไนโตรเจน พบว่าปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น เพราะในสภาวะที่ไนโตรเจนลดลง ทำให้ *C. vulgaris* เกิดความเครียดทำให้เกิดการยับยั้งการแบ่งเซลล์ จึงส่งผลทำให้เกิดการสะสมไขมันเพิ่มขึ้น

Converti et al. (2009) ได้ทดลองลดความเข้มข้น $NaNO_3$ ในการเลี้ยง *C. vulgaris* ในสภาวะ $NaNO_3$ ที่ 1.500, 0.750 และ 0.375 g/L ตามลำดับ ผลพบว่าระดับ $NaNO_3$ ที่ 0.375 g/L มีผลทำให้ *C. vulgaris* มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 15.31 ± 0.51% เพราะเมื่อ $NaNO_3$ ลดลง ทำให้สาหร่ายเกิดความเครียด จึงทำให้มีปริมาณไขมันสูงและไขมันที่มาจากขบวนการ metabolism โดยสาหร่ายจะเปลี่ยนอาหารสะสมจากแป้งเป็นไขมันแทน เมื่อเทียบกับการทดลองลดความเข้มข้น $NaNO_3$ ในการเลี้ยง *Nannochloropsis oculata* ในสภาวะ $NaNO_3$ ที่ 0.300, 0.150 และ 0.075 g/L ตามลำดับ ผลพบว่าระดับ $NaNO_3$ ที่ 0.075 g/L มีผลทำให้ *N. oculata* มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 15.86 ± 0.59% เพราะเมื่อ $NaNO_3$ ลดลง แต่สาเหตุที่ในการทดลองปริมาณไนโตรเจนที่ 100% มีปริมาณไขมันดีที่สุด คาดว่า *Hapalosiphon* sp. เป็นสาหร่ายกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งมี heterocyst ที่สามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศเองได้ ดังนั้นเมื่อมีการลดปริมาณไนโตรเจนลงจึงไม่มีผลต่อปริมาณไขมันใน *Hapalosiphon* sp.

3.2.3 ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อกระบวนการต่างๆ ของเซลล์โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงาน และกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิค แม้ว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีปริมาณสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงกว่าอนินทรีย์ฟอสฟอรัส แต่สาหร่ายต้องการใช้อนินทรีย์ฟอสฟอรัสมากกว่าโดยสาหร่ายต้องการใช้จะอยู่ในรูปออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate) ซึ่งสาหร่ายสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง ความต้องการฟอสฟอรัสของสาหร่ายแต่ละชนิดไม่เท่ากันสาหร่ายสีเขียวจะมีความต้องการฟอสฟอรัสมากกว่าสาหร่ายกลุ่มอื่น ถ้าสาหร่ายขาดฟอสฟอรัสจะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโตทำให้ปริมาณสารสีชนิดคลอโรฟิลล์เอ อาร์เอ็นเอ และดีเอ็นเอลดลงแต่แป้งหรือคาร์โบไฮเดรตกลับเพิ่มขึ้น มีผลทำให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

3.2.3.1 ผลของความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน

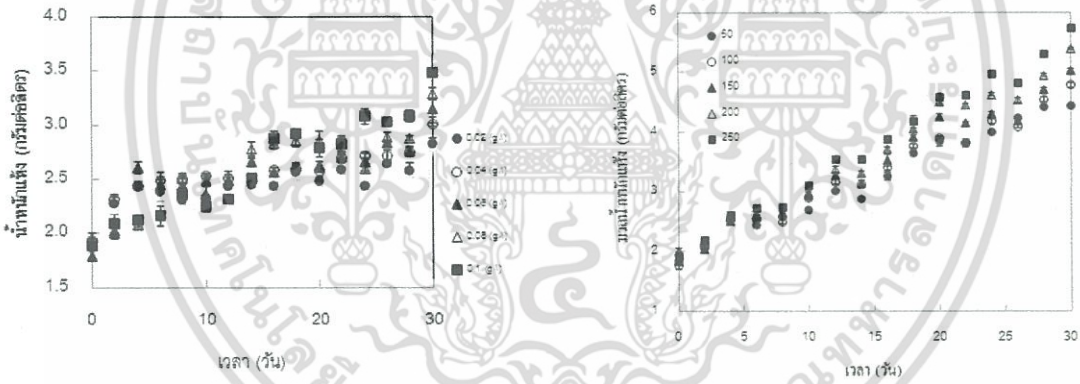
ทำการผันแปรระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัส ($K_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด โดยผันแปรความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 0.02, 0.04 (ชุดควบคุม), 0.06, 0.08, และ0.10 กรัมต่อลิตร จากการศึกษาเลี้ยงสาหร่าย *O. limnetica* พบว่าที่ปริมาณฟอสฟอรัส 0.10 กรัมต่อลิตรมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุด โดยพบในวันที่ 30 ของการเลี้ยงเท่ากับ 3.48±0.04 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.5, ตารางที่ 4.12, 4.13) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ปริมาณฟอสฟอรัส 0.10 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดที่สุดคือ 0.02±0.00 ต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณฟอสฟอรัสที่ 0.06 กรัมต่อลิตร และที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณฟอสฟอรัสที่ 0.10 กรัมต่อลิตรให้น้ำหนักสาหร่ายแห้ง สูงสุด คือ 3.48±0.04 กรัมต่อลิตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน ปริมาณไขมัน พบว่าที่ปริมาณฟอสฟอรัส 0.10 กรัมต่อลิตรมีปริมาณไขมันสูงสุดเท่ากับร้อยละ 14.85±0.22 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับทุกปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน ปริมาณไขมันสูงสุด ที่ปริมาณฟอสฟอรัส 0.10 กรัมต่อลิตรคือ 0.517±0.006 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณฟอสฟอรัสที่ 0.06 และ 0.08 กรัมต่อลิตร ที่ผลผลิตไขมัน ที่ปริมาณฟอสฟอรัส 0.10 กรัมต่อลิตรให้ผลผลิตสูงสุด คือ 3.04±0.03 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณฟอสฟอรัสที่ 0.06 กรัมต่อลิตร

B. braunii มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเพิ่มมากขึ้น โดยสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในฟอสฟอรัส 3.125 กรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสาหร่ายมากที่สุดคือ 5.74±0.03กรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณไขมันจะพบสูงสุด 27.11±0.62 % เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีฟอสฟอรัส 2.5 กรัมต่อลิตร

กรดไขมันของ *O. limnetica* และ *B. braunii* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีฟอสฟอรัสเข้มข้นต่างกัน พบว่ามี C16:0 สูงที่สุดในสาหร่ายทั้งสองชนิด โดยใน *O. limnetica* มีค่าอยู่ในช่วง 35-52 % และใน *B. braunii* มีค่าอยู่ในช่วง 33-49 % (ตารางที่ 4.14, 4.15)



ภาพที่ 4.5 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย สาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัส ($K_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ *O. limnetica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน

P (g/l)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0.02	0.01±0.00^{c}	2.82±0.06^{d}	13.38±1.40^{a}	0.37±0.00^{b}	1.84±0.07^{c}
0.04	0.01±0.00^{c}	3.01±0.02^{c}	12.47±1.06^{a}	0.37±0.00^{b}	1.83±0.01^{c}
0.06	0.01±0.00^{ab}	3.15±0.08^{bc}	14.53±0.25^{a}	0.45±0.01^{a}	2.73±0.15^{ab}
0.08	0.01±0.00^{b}	3.29±0.05^{b}	14.16±0.23^{a}	0.46±0.00^{a}	2.50±0.10^{b}
0.1	0.0204±0.0004^{a}	3.48±0.04^{a}	14.85±0.22^{ab}	0.51±0.00^{a}	3.04±0.03^{a}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.13 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. branuii* ที่เลี้ยงในปริมาณฟอสฟอรัสที่ต่างกัน

P (g/l)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0.625	0.02±0.00^{ab}	4.44±0.02^{e}	17.6089±0.5540^{c}	0.7818±0.0043^{e}	5.2594±0.2644^{c}
1.250	0.03±0.00^{a}	4.78±0.02^{e}	22.5994±0.6652^{b}	1.0803±0.0088^{d}	7.1506±0.0295^{b}
1.875	0.02±0.00^{b}	5.03±0.02^{c}	25.9608±0.3185^{a}	1.3058±0.0062^{c}	7.1323±0.3819^{b}
2.500	0.02±0.00^{b}	5.39±0.02^{b}	27.1144±0.6223^{a}	1.4615±0.0056^{b}	7.2897±0.3245^{b}
3.125	0.03±0.00^{a}	5.74±0.03^{a}	26.2692±0.7182^{a}	1.5079±0.0098^{a}	8.8887±0.3554^{a}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.14 กรดไขมันของของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในฟอสฟอรัสที่เข้มข้นต่างกัน

กรดไขมัน	ฟอสฟอรัส (g/L)				
	0.625	0.125	1.875	2.500	3.125
C4:0	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
C6:0	0.28	0.00	0.00	2.84	0.46
C8:0	0.80	0.00	0.65	1.06	2.79
C10:0	1.13	1.31	0.00	1.94	1.81
C11:0	1.83	0.62	1.77	2.85	3.45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 (ต่อ)

	ฟอสฟอรัส (g/L)				
กรดไขมัน	0.625	0.125	1.875	2.500	3.125
C12:0	8.83	3.10	3.45	6.50	11.14
C13:0	8.85	6.32	5.52	1.19	7.67
C14:0	3.27	10.44	2.98	4.41	3.79
C14:1	0.52	5.65	0.80	1.16	2.12
C15:0	0.52	2.76	0.65	1.45	2.12
C15:1	0.86	1.48	0.00	0.59	1.24
C16:0	37.31	52.47	51.62	35.18	35.75
C16:1	4.72	3.07	5.55	3.56	3.63
C17:0	2.05	1.36	1.41	1.82	1.68
C17:1	2.53	0.00	0.00	0.46	0.84
C18:0	8.83	10.07	6.07	11.33	12.74
C18:1n9t	2.96	0.31	2.55	7.07	2.87
C18:1n9c	4.94	0.44	8.90	2.40	0.97
C18:2n6t	0.56	0.03	1.30	0.68	0.10
C19:0	3.70	0.04	0.31	0.00	1.35
C18:2n6c	0.29	0.33	4.27	1.00	1.07
C20:0	1.15	0.06	0.00	0.36	0.49
C18:3n6	1.71	0.15	1.46	0.50	0.43
C20:1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14
C18:3n3	0.19	0.00	0.00	5.08	0.42
C21:0	0.18	0.00	0.00	2.31	0.14
C20:2	0.04	0.00	0.00	0.96	0.00
C22:0	0.20	0.00	0.19	1.24	0.22
C20:3n6	0.03	0.00	0.00	0.18	0.08
C22:1n9	0.11	0.00	0.16	0.00	0.03
C20:3n3	0.33	0.00	0.00	0.48	0.07
C20:4n6	0.45	0.00	0.21	0.28	0.23
C23:0	0.42	0.00	0.00	0.00	0.00
C24:0	0.00	0.00	0.00	1.06	0.00
C:20:5n3	0.38	0.00	0.19	0.36	0.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 กรดไขมันของของสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในฟอสฟอรัสที่เข้มข้นต่างกัน

กรดไขมัน	ความเข้มข้นของฟอสฟอรัส (g/L)				
	0.625	0.125	1.875	2.500	3.125
C4:0	0.04	0.62	0.00	0.00	0.00
C6:0	0.28	1.78	0.00	0.27	0.96
C8:0	0.80	1.23	0.69	0.61	3.22
C10:0	1.13	3.42	0.85	3.68	2.58
C11:0	1.83	2.50	2.05	0.00	3.42
C12:0	8.83	8.65	7.97	2.70	12.46
C13:0	8.85	7.50	10.31	9.20	7.40
C14:0	3.27	3.87	2.84	4.98	4.97
C14:1	0.52	1.90	1.40	0.82	2.33
C15:0	0.52	2.01	0.92	1.75	2.01
C15:1	0.86	1.52	0.00	0.93	1.24
C16:0	37.31	34.67	44.30	49.66	33.08
C16:1	4.72	3.97	2.05	2.01	4.41
C17:0	2.05	1.75	2.24	1.22	1.33
C17:1	2.53	1.24	0.00	0.00	0.87
C18:0	8.83	10.06	5.01	14.36	10.00
C18:1n9t	2.96	2.47	2.55	4.33	3.96
C18:1n9c	4.94	1.85	4.40	1.92	1.31
C18:2n6t	0.56	0.30	0.44	0.00	0.14
C19:0	3.70	2.74	0.57	0.48	0.91
C18:2n6c	0.29	0.63	6.89	0.00	0.73
C20:0	1.15	0.87	1.42	0.00	0.51
C18:3n6	1.71	1.05	2.82	0.51	0.47
C20:1	0.00	0.35	0.00	0.00	0.17
C18:3n3	0.19	0.32	0.28	0.00	0.32
C21:0	0.18	0.26	0.00	0.00	0.19
C20:2	0.04	0.22	0.00	0.00	0.15
C22:0	0.20	0.40	0.00	0.00	0.21
C20:3n6	0.03	0.10	0.00	0.00	0.09
C22:1n9	0.11	0.08	0.00	0.00	0.02
C20:3n3	0.33	0.16	0.00	0.00	0.03

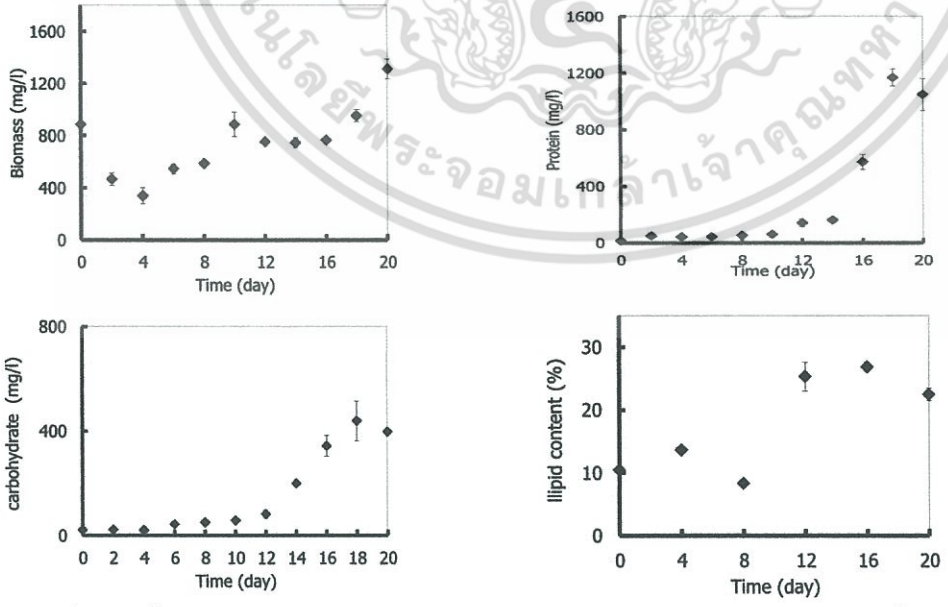
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 (ต่อ)

	ฟอสฟอรัส (g/L)				
กรดไขมัน	0.625	0.125	1.875	2.500	3.125
C20:4n6	0.45	0.57	0.00	0.00	0.18
C23:0	0.42	0.19	0.00	0.00	0.00
C22:2	0.00	0.20	0.00	0.00	0.00
C24:0	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00
C:20:5n3	0.38	0.36	0.00	0.58	0.31

4.2.3.2 ศึกษาแนวทางในการกระตุ้นการผลิตไขมันของสาหร่าย

เนื่องจากพบว่าปริมาณไขมันในสาหร่าย *B. braunii* มีปริมาณมากกว่าไขมันใน *O. limnetica* ดังนั้นขั้นตอนการกระตุ้นจึงศึกษาเพียง ชนิดเดียว *B. braunii* โดยทำการเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ให้ปริมาณ biomass สูงสุด (ฟอสฟอรัส 3.125 กรัมต่อลิตร) 7 วัน ทำการวัดปริมาณไขมัน จากนั้นนำเซลล์สาหร่ายไปเลี้ยงในอาหารที่ให้ปริมาณ lipid content สูงสุด (ฟอสฟอรัส 2.5 กรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 7 และ 13 วัน ทำการวัดปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันทุก 7 วัน ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมัน พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรท และไขมันเพิ่มอย่างต่อเนื่อง โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 20, 20, 18 และ 16 ของการเลี้ยง ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6) โดยชนิดกรดไขมันที่พบ Saturated fatty acids 56.3-71.8% รองลงมาเป็น Monounsaturated fatty acids 2.7-11.7 % และ Polyunsaturated fatty acids 0.0-4.7 % (ตารางที่ 4.16)



ภาพที่ 4.6 น้ำหนักแห้ง โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และ ไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นฟอสฟอรัสที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเหมาะสม

Fatty Acid (%)				
FA	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 20
Saturated fatty acids (SFAs)				
C16:0	58.59	60.07	63.25	53.16
C17:0	3.73	2.41	4.28	1.79
C18:0	1.25	3.98	4.34	1.40
Total	63.57	66.45	71.88	56.35
Monounsaturated fatty acids (MUFAs)				
C16:1	2.85	0.34	1.46	4.74
C17:1	-	-	-	0.46
C18:1	3.66	3.50	1.28	6.52
Total	6.51	3.84	2.74	11.72
Polyunsaturated fatty acids (PUFAs)				
C18:2	2.65	2.65	-	3.30
C18:3	-	0.73	-	1.48
Total	2.65	3.38	0.00	4.78

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต มีบทบาทต่อกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงาน และกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก รวมทั้งทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ช่วยให้ค่ากรด-เบส ค่อนข้างคงที่ ถ้าสาหร่ายขาดฟอสฟอรัสจะมีผลต่อการเจริญเติบโต คือ โปรตีน รงควัตถุชนิดคลอโรฟิลล์-เอ RNA และ DNA จะลดลง แต่แป้งหรือคาร์โบไฮเดรตกลับเพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลทำให้รูปร่างเซลล์เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (ลัดดา,2540) ผลที่มักเกิดขึ้นในการตอบสนองต่อความเครียดจากสารอาหารของเซลล์สาหร่ายคือ เปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecule) ของเซลล์ เมื่อฟอสฟอรัสที่จำนวนจำกัดจะทำให้มีการลดลงของปริมาณโปรตีน และค่อนข้างเพิ่มการสะสมของไขมันและคาร์โบไฮเดรต (Bertilsson et al., 2003) สำหรับฟอสฟอรัสที่มีจำกัดสามารถทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วน โปรตีน, ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Xin *et al.* (2010) ทำการทดลองโดยเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ในอาหารที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 0.1 - 2.0 mg/L พบว่าที่ระดับ 2.0 mg/L สาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ $0.98x10^{6}$ cells $(mgd)^{-1}$ และมีปริมาณไขมันสูงสุดคือ 14 mg $(Ld)^{-1}$ ปริมาณไขมันที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณ triglyceride เพิ่มขึ้นจาก 6.5% เป็น 39.3% ของปริมาณไขมันทั้งหมด การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่ลดปริมาณฟอสฟอรัสจะคล้ายกับอาหารที่ลดปริมาณไนโตรเจน โดยปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และโปรตีนลดลง ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น (Healey,1982) เซลล์ของสาหร่ายที่เลี้ยงในสารอาหารที่มีการลดฟอสฟอรัสมีการเจริญเติบโตลดลงเพราะสามารถนำฟอสฟอรัสไปใช้ได้ลดลง และสภาวะที่มีฟอสฟอรัสจำกัดได้ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคือ จะไปลดปริมาณของ thylakoid membrane, กิจกรรมของ acyl hydrolase และจะไปกระตุ้น phospholipid ทำให้ปริมาณ fatty acid acyl-CoA ในเซลล์เพิ่มมากขึ้น และกระตุ้น diacylglycerol acyltransferase โดยจะเร่งการเปลี่ยน acyl-CoA ให้เป็น triglyceride (TAG) ซึ่งส่งผลทำให้มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น

4.2.4 เหล็ก

เหล็ก เป็นธาตุอาหารที่ช่วยในการดูดซึมไนโตรเจนและกระบวนการสังเคราะห์แสง คือ ช่วยสร้างคลอโรฟิลล์เอ และซี–ไฟโคไซยานิน มีความจำเป็นต่อกระบวนการ เมตาบอลิซึมของเซลล์ ในน้ำทะเลจะมีเหล็กอยู่มากเกินพอสำหรับความต้องการของสาหร่าย แต่อาจจะขาดแคลนได้ เนื่องจากเหล็กเมื่อถูกชะล้างลงสู่น้ำทะเลแล้วส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ เฟอร์ริคไฮดรอกไซด์ (ferric hydroxide) สารตัวนี้มีลักษณะเป็นคอลลอยด์ (colloid) คล้ายวุ้นใสๆและจับกันสารอินทรีย์อื่นจมลงสู่พื้นทะเล ถ้าสาหร่ายขาดเหล็กจะทำให้เมตาบอลิซึมต่ำลงส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลงด้วย

4.2.4.1 ผลของความเข้มข้นของเหล็กที่แตกต่างกัน

ทำการผันแปรระดับความเข้มข้นของเหล็ก ($C_6H_8O_7 \cdot FeH_3N$) เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด สาหร่าย *O. limnetica* ที่ปริมาณเหล็ก 0.015 กรัมต่อลิตรมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดเท่ากับ 3.35 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.7, ตารางที่ 4.17, 4.18) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่าทุกปริมาณเหล็กไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณไขมัน พบว่าที่ปริมาณเหล็ก 0.009 กรัมต่อลิตร มีปริมาณไขมันสูงสุดเท่ากับร้อยละ 20.90±0.12 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณเหล็กที่ 0.006, 0.012, และ 0.015 กรัมต่อลิตร ปริมาณไขมันสูงสุดที่ปริมาณเหล็ก 0.015 กรัมต่อลิตร คือ 0.683±0.019 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณเหล็กที่ 0.006 และ 0.009 กรัมต่อลิตร และที่ผลผลิตไขมัน ที่ปริมาณเหล็ก 0.009 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตสูงสุด คือ 4.27±0.70 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณเหล็ก 0.06 และ 0.015 กรัมต่อลิตร *B. braunii* มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของเหล็กเพิ่มมากขึ้น โดยสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในเหล็ก 3.125 กรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสาหร่ายมากที่สุดคือ 4.48±0.04 กรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณไขมันจะพบสูงสุด 19.70±0.14 % เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีเหล็ก 0.625 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดไขมันของ *O. limnetica* และ *B. braunii* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีเหล็กเข้มข้นต่างกัน พบว่ามี C16:0 สูงที่สุดในสาหร่ายทั้งสองชนิด โดยใน *O. limnetica* มีค่าอยู่ในช่วง 44.3-57.1 % และใน *B. braunii* มีค่าอยู่ในช่วง 35.1-49.6 % (ตารางที่ 4.19, 4.20)

ซึ่งการศึกษาของ Sun *et al.* (2005) ได้ทำการทดลองศึกษาไซยาโนแบคทีเรีย *Anabaena circinalis* NIES-41 เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรใช้ modified CT โดยมีการปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของเหล็กจากเดิม 2.2×10^{-6} M เป็น 2.2×10^{-5} M, 2.2×10^{-6} M, 2.2×10^{-7} M, 2.2×10^{-8} M, 2.2×10^{-9} M และ 0 M พบว่าที่ความเข้มข้นของเหล็กน้อยกว่า 2.2×10^{-8} M เซลล์มีการเจริญเติบโตน้อย สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นเหล็กมากกว่า 2.2×10^{-7} M มีการเติบโตอย่างต่อเนื่อง 3-4 เท่ามากกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในระดับเหล็กต่ำ ผลเหล่านี้บ่งแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของ *A.circinalis* ถูกจำกัดโดยความเข้มข้นของเหล็กน้อยกว่า 2.2×10^{-8} M

ภาพที่ 4.7 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณเหล็กแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.17 แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ *O. limnetica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณเหล็กที่แตกต่างกัน

Fe (g/l)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0.003	0.0192±0.0010^{a}	3.25±0.08^{a}	18.67±0.28^{b}	0.61±0.15^{c}	3.58±0.84^{b}
0.006	0.0195±0.0011^{a}	3.30±0.04^{a}	19.50±0.16^{ab}	0.64±0.01^{abc}	3.80±0.21^{ab}
0.009	0.0204±0.0004^{a}	3.20±0.07^{a}	20.90±0.12^{a}	0.66±0.00^{ab}	4.27±0.70^{a}
0.012	0.0176±0.0011^{a}	3.16±0.02^{a}	20.65±1.25^{a}	0.64±0.00^{bc}	3.65±0.23^{b}
0.015	0.0200±0.0009^{a}	3.35±0.12^{a}	20.70±0.33^{a}	0.67±0.02^{a}	4.15±0.02^{ab}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. branuii* ที่เลี้ยงในปริมาณเหล็กที่ต่างกัน

Fe (g/l)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0.625	0.04±0.00^{c}	3.3950±0.0222^{e}	19.70±0.14^{a}	0.66±0.00^{d}	8.2329±0.1549^{b}
1.250	0.04±0.00^{b}	3.7350±0.0330^{d}	18.08±0.31^{b}	0.67±0.00^{d}	8.2289±0.1182^{b}
1.875	0.07±0.00^{b}	3.8900±0.0265^{c}	17.95±0.49^{b}	0.68±0.00^{c}	8.5622±0.1805^{ab}
2.500	0.04±0.00^{b}	4.1450±0.0435^{b}	17.79±0.26^{b}	0.73±0.00^{b}	8.4360±0.0679^{b}
3.125	0.05±0.00^{a}	4.4850±0.0411^{a}	17.65±0.06^{b}	0.79±0.00^{a}	8.8960±0.1435^{a}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.19 กรดไขมันของ *O. limnetica* ที่เลี้ยงในความเข้มข้นของเหล็กแตกต่างกัน

กรดไขมัน	เหล็ก (g/L)				
	0.625	0.125	1.875	2.500	3.125
C8:0	0.69	0.65	0.00	0.84	0.69
C10:0	0.85	0.00	1.08	0.86	2.19
C11:0	2.05	1.77	1.84	2.98	2.38
C12:0	7.97	3.45	7.54	8.59	5.71
C13:0	10.31	5.52	1.15	7.70	1.97
C14:0	2.84	2.98	4.76	4.83	7.33
C14:1	1.40	0.80	0.00	1.75	5.44
C15:0	0.92	0.65	1.37	1.39	2.12
C15:1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.81
C16:0	44.30	51.62	55.50	52.49	57.17
C16:1	2.05	5.55	4.05	2.03	2.91
C17:0	2.24	1.41	1.22	1.82	1.97
C17:1	0.00	0.00	0.39	0.00	0.46
C18:0	5.01	6.07	11.35	2.86	7.29
C18:1n9t	2.55	2.55	5.90	3.73	0.00
C18:1n9c	4.40	8.90	1.86	2.46	0.00
C18:2n6t	0.44	1.30	0.00	0.31	0.61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 (ต่อ)

	เหล็ก (g/L)				
กรดไขมัน	0.625	0.125	1.875	2.500	3.125
C19:0	0.57	0.31	1.37	3.20	0.00
C18:2n6c	6.89	4.27	0.00	0.00	0.98
C20:0	1.42	0.00	0.00	0.00	0.00
C18:3n6	2.82	1.46	0.63	2.16	0.00
C18:3n3	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.00	0.19	0.00	0.00	0.00
C20:3n6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:1n9	0.00	0.16	0.00	0.00	0.00
C20:4n6	0.00	0.21	0.00	0.00	0.00
C:20:5n3	0.00	0.19	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 4.20 กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เลี้ยงในความเข้มข้นของเหล็กแตกต่างกัน

กรดไขมัน	เหล็ก (g/L)				
	0.625	0.125	1.875	2.500	3.125
C6:0	0.27	2.84	0.42	0.35	0.01
C8:0	0.61	1.06	2.59	0.00	1.15
C10:0	3.68	1.94	0.00	1.08	1.79
C11:0	0.00	2.85	3.42	2.59	4.35
C12:0	2.70	6.50	12.48	11.60	11.13
C13:0	9.20	1.19	9.05	4.09	1.87
C14:0	4.98	4.41	4.73	3.65	5.21
C14:1	0.82	1.16	1.96	0.67	2.41
C15:0	1.75	1.45	1.77	1.35	1.89
C15:1	0.93	0.59	0.66	0.72	0.94
C16:0	49.66	35.18	41.71	45.75	45.23
C16:1	2.01	3.56	1.79	2.07	3.58
C17:0	1.22	1.82	1.57	1.32	1.94
C17:1	0.00	0.46	0.15	0.00	0.07
C18:0	14.36	11.33	7.46	10.33	9.34
C18:1n9t	4.33	7.07	7.33	7.20	6.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

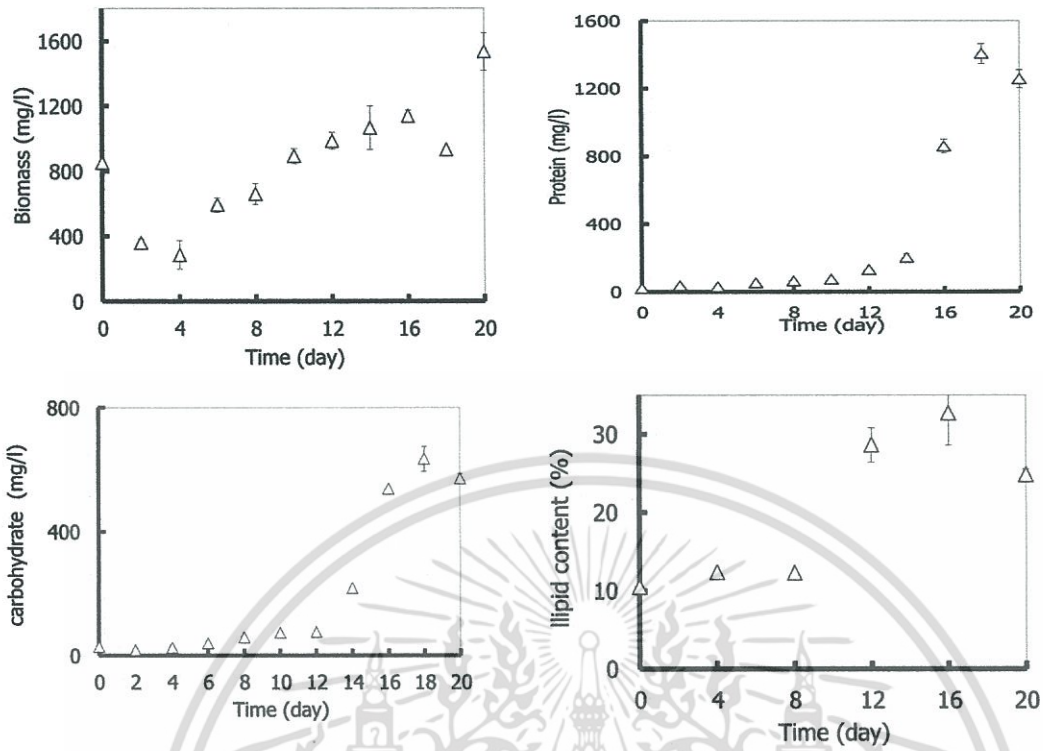
ตารางที่ 4.20 (ต่อ)

	เหล็ก (g/L)				
กรดไขมัน	0.625	0.125	1.875	2.500	3.125
C18:1n9c	1.92	2.40	0.00	2.50	0.00
C18:2n6t	0.00	0.68	1.01	0.13	0.00
C19:0	0.48	0.00	0.53	1.17	0.00
C18:2n6c	0.00	1.00	0.00	2.00	0.38
C20:0	0.00	0.36	0.43	0.43	0.00
C18:3n6	0.51	0.50	0.54	0.73	0.25
C18:3n3	0.00	5.08	0.00	0.14	0.98
C21:0	0.00	2.31	0.00	0.00	0.22
C20:2	0.00	0.96	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.00	1.24	0.00	0.00	0.18
C20:3n6	0.00	0.18	0.00	0.00	0.00
C22:1n9	0.00	0.00	0.00	0.19	0.00
C20:3n3	0.00	0.48	0.00	0.43	0.30
C20:4n6	0.00	0.28	0.11	0.00	0.21
C24:0	0.00	1.06	0.00	0.00	0.00
C:20:5n3	0.58	0.36	0.31	0.00	0.48

4.2.4.2 ศึกษาแนวทางในการกระตุ้นการผลิตไขมันของสาหร่าย

ทำการเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในความเข้มข้นของเหล็กที่ให้ปริมาณ biomass สูงสุด (เหล็ก 3.125 กรัมต่อลิตร) 7 วัน ทำการวัดปริมาณไขมัน จากนั้นนำเซลล์สาหร่ายไปเลี้ยงในอาหารที่ให้ปริมาณ lipid content สูงสุด (เหล็ก 0.625 กรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 7 และ 13 วัน ทำการวัดปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันทุก 7 วัน ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมัน พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรท และไขมันเพิ่มอย่างต่อเนื่อง โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 20, 18, 18 และ 16 ของการเลี้ยง ตามลำดับ (ภาพที่ 4.8) โดยชนิดกรดไขมันที่พบ Saturated fatty acids 63.4-73.4% รองลงมาเป็น Monounsaturated fatty acids 3.6-7.6 % และ Polyunsaturated fatty acids 0.6-4.0 % (ตารางที่ 4.21)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 น้ำหนักแห้ง โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และ ไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นเหล็กที่เหมาะสม

เหล็กเป็นธาตุอาหารรอง (micronutrients) สาหร่ายต้องการใช้ในปริมาณน้อย เหล็กช่วยในการดูดซึมไนโตรเจนของสาหร่าย ช่วยในขบวนการสังเคราะห์แสง ช่วยสร้างคลอโรฟิลล์-เอ phycocyanin ถ้าสาหร่ายขาดเหล็กจะมีผลต่อการเจริญเติบโต และสรีระของเซลล์ โดยทั่วไปเหล็กมักตกตะกอนในสารละลายจึงต้องใส่สารกันการตกตะกอน สาหร่ายจึงนำไปใช้ได้

ปริมาณเหล็กเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของรงควัตถุ,โปรตีนหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจ สาหร่ายจะดูดซึมในรูป Fe^{+2} หรือ Fe^{+3} ถ้าหากขาดจะส่งผลต่อการเจริญเติบโต และรูปร่างเซลล์ (สุนีรัตน์, 2549) โดยเหล็กเป็นธาตุอาหารที่ช่วยในการดูดซึมไนโตรเจน Liu et al. (2008) ศึกษาผลของความเข้มข้นเหล็กในการสะสมไขมันใน *C. vulgaris* พบว่าการเพาะเลี้ยงที่เสริมด้วยความเข้มข้น Fe^{3+} สูง มีความหนาแน่นเซลล์ระยะสุดท้ายต่ำกว่าความเข้มข้น Fe^{3+} ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.21 กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เลี้ยงในความเข้มข้นเหล็กที่เหมาะสม

Fatty Acid (%)				
FA	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 20
Saturated fatty acids (SFAs)				
C16:0	58.59	58.75	66.05	63.14
C17:0	3.73	2.93	4.06	2.41
C18:0	1.25	1.74	3.21	1.27
C20:0	-	-	0.12	-
Total	63.57	63.42	73.44	66.82
Monounsaturated fatty acids (MUFAs)				
C16:1	2.85	3.03	2.42	2.28
C17:1	-	0.33	-	-
C18:1	3.66	5.71	1.27	5.39
Total	6.51	9.07	3.69	7.68
Polyunsaturated fatty acids (PUFAs)				
C18:2	2.65	2.35	-	2.30
C18:3	-	1.46	0.36	1.37
C20:2	-	-	-	0.37
Total	2.65	3.81	0.36	4.04

4.2.5 ความเค็ม

4.2.5.1 ผลของความเข้มข้นของความเค็มที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาเลี้ยงสาหร่าย *O. limnetica* โดยให้ความเค็มที่แตกต่างกัน คือ 0, 5, 10, 15 และ 20 psu พบว่าที่ความเค็ม 0 psu มีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดโดยพบในวันที่ 30 ของการเลี้ยงเท่ากับ 4.62±0.02 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.9, ตารางที่ 4.22, 4.23) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ที่ความเค็ม 0 psu มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดที่สุดคือ 0.02±0.00 ต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับที่ความเค็ม 5 psu และที่ความเค็ม 0 psu มีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดโดยพบในวันที่ 30 ของการเลี้ยงเท่ากับ 4.62±0.02 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับที่ความเค็ม 5 และ 10 psu ปริมาณไขมัน พบว่าที่ความเค็ม 0 psu มีปริมาณไขมันสูงสุดเท่ากับร้อยละ 23.02±0.10 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเค็มที่แตกต่างกัน ปริมาณไขมัน สูงสุดพบที่ความเค็ม 0 psu คือ 1.06±0.00 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกความเค็ม และที่ผลผลิตไขมัน ที่ความเค็ม 0 psu ให้ผลผลิตสูงสุด คือ 6.03±0.11 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกความเค็ม ส่วน *B. braunii* มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเค็ม 15 psu โดยมีน้ำหนัก 2.14±0.11 กรัมต่อลิตร และมีไขมันมากที่สุด 9.81±0.38 % เมื่อเพาะเลี้ยงในความเค็ม 0 psu

กรดไขมันของ *O. limnetica* และ *B. braunii* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเค็มต่างกัน พบว่ามี C16:0 สูงที่สุดในสาหร่ายทั้งสองชนิด โดยใน *O. limnetica* มีค่าอยู่ในช่วง 33.0-38.2 % และใน *B. braunii* มีค่าอยู่ในช่วง 44.6-53.3 % (ตารางที่ 4.24, 4.25)

ภาพที่ 4.9 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย สาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณความเค็มแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.22 แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ *O. limnetica* ที่เพาะเลี้ยงในความเค็มที่แตกต่างกัน

S% (psu)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0	0.02±0.00^{b}	4.60±0.12^{a}	22.1212±0.2362^{a}	1.0176±0.0272^{a}	5.7192±0.4620^{b}
5	0.24±0.00^{b}	4.52±0.04^{a}	19.5491±0.2867^{b}	0.8836±0.0094^{b}	5.1005±2.5503^{b}
10	0.03±0.00^{a}	4.17±0.17^{b}	19.3350±0.1388^{b}	0.8072±0.0341^{c}	7.5574±3.7787^{a}
15	0.01±0.00^{c}	3.27±0.06^{c}	19.3974±0.2347^{b}	0.6353±0.0134^{d}	2.5801±1.2900^{c}
20	0.01±0.00^{c}	3.31±0.10^{c}	12.5188±0.1625^{c}	0.4144±0.0125^{e}	1.9933±0.9966^{c}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.23 แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน *B. braunii* ในความความเค็มที่แตกต่างกัน

S% (psu)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0	0.08±0.01^{a,b}	0.70±0.05^{a}	9.81±0.386^{c}	0.847±0.109^{b}	0.068±0.001^{a}
5	0.06±0.00^{a}	1.29±0.10^{b}	6.255±0.401^{b}	0.397±0.016^{a}	0.080±0.008^{b}
10	0.07±0.00^{a}	2.06±0.10^{c}	5.797±0.079^{a,b}	0.440±0.045^{a}	0.119±0.002^{b}
15	0.08±0.00^{a,b}	2.14±0.11^{c}	6.343±0.592^{b}	0.542±0.029^{a}	0.136±0.016^{c}
20	0.10±0.00^{b}	2.12±0.21^{c}	4.987±0.230^{a}	0.535±0.048^{a}	0.106±0.012^{b}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.24 กรดไขมันของ *O. limnetica* ที่เลี้ยงในความเค็มแตกต่างกัน

	ความเค็ม (psu)				
กรดไขมัน	0	5	10	15	20
C6:0	0.96	0.46	0.50	0.00	0.32
C8:0	3.22	2.79	0.85	1.99	2.66
C10:0	2.58	1.81	1.39	2.61	3.48
C11:0	3.42	3.45	4.57	3.41	10.65
C12:0	12.46	11.14	9.09	11.49	11.54
C13:0	7.40	7.67	1.90	7.86	3.03
C14:0	4.97	3.79	4.19	3.99	4.08
C14:1	2.33	2.12	2.73	2.24	1.87
C15:0	2.01	2.12	3.00	2.29	1.81
C15:1	1.24	1.24	1.54	1.27	1.01
C16:0	33.08	35.75	38.21	35.16	33.16
C16:1	4.41	3.63	5.84	4.53	3.55
C17:0	1.33	1.68	1.62	1.37	1.26
C17:1	0.87	0.84	1.20	1.08	0.59
C18:0	10.00	12.74	11.16	9.30	10.27
C18:1n9t	3.96	2.87	5.28	4.60	5.38
C18:1n9c	1.31	0.97	1.85	1.75	0.00
C18:2n6t	0.14	0.10	0.15	0.26	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.24 (ต่อ)

	ความเค็ม (psu)				
กรดไขมัน	0	5	10	15	20
C19:0	0.91	1.35	1.42	1.44	2.12
C18:2n6c	0.73	1.07	0.72	0.61	0.63
C20:0	0.51	0.49	0.55	0.35	0.00
C18:3n6	0.47	0.43	0.00	0.35	0.68
C20:1	0.17	0.14	0.00	0.07	0.00
C18:3n3	0.32	0.42	0.41	0.59	0.35
C21:0	0.19	0.14	0.00	0.00	0.00
C20:2	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.21	0.22	0.26	0.25	0.00
C20:3n6	0.09	0.08	0.14	0.00	0.00
C22:1n9	0.02	0.03	0.05	0.27	1.18
C20:3n3	0.03	0.07	0.43	0.19	0.00
C20:4n6	0.18	0.23	0.17	0.41	0.00
C23:0	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00
C24:0	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00
C:20:5n3	0.31	0.15	0.19	0.21	0.39

ตารางที่ 4.25 กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เลี้ยงในความเค็มแตกต่างกัน

กรดไขมัน	ความเค็ม (psu)				
	0	5	10	15	20
C6:0	2.10	2.56	3.26	1.77	1.16
C8:0	0.90	0.85	0.94	0.00	0.39
C10:0	0.41	0.16	0.27	0.30	0.19
C11:0	0.51	0.44	0.55	0.60	0.34
C12:0	7.53	8.83	8.86	9.81	9.38
C13:0	1.20	1.12	1.05	1.14	0.93
C14:0	2.24	1.74	1.77	1.92	1.13
C14:1	0.33	0.66	0.54	0.68	0.22
C15:0	3.00	1.78	1.47	0.88	1.16
C15:1	0.32	0.44	0.76	0.00	0.24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

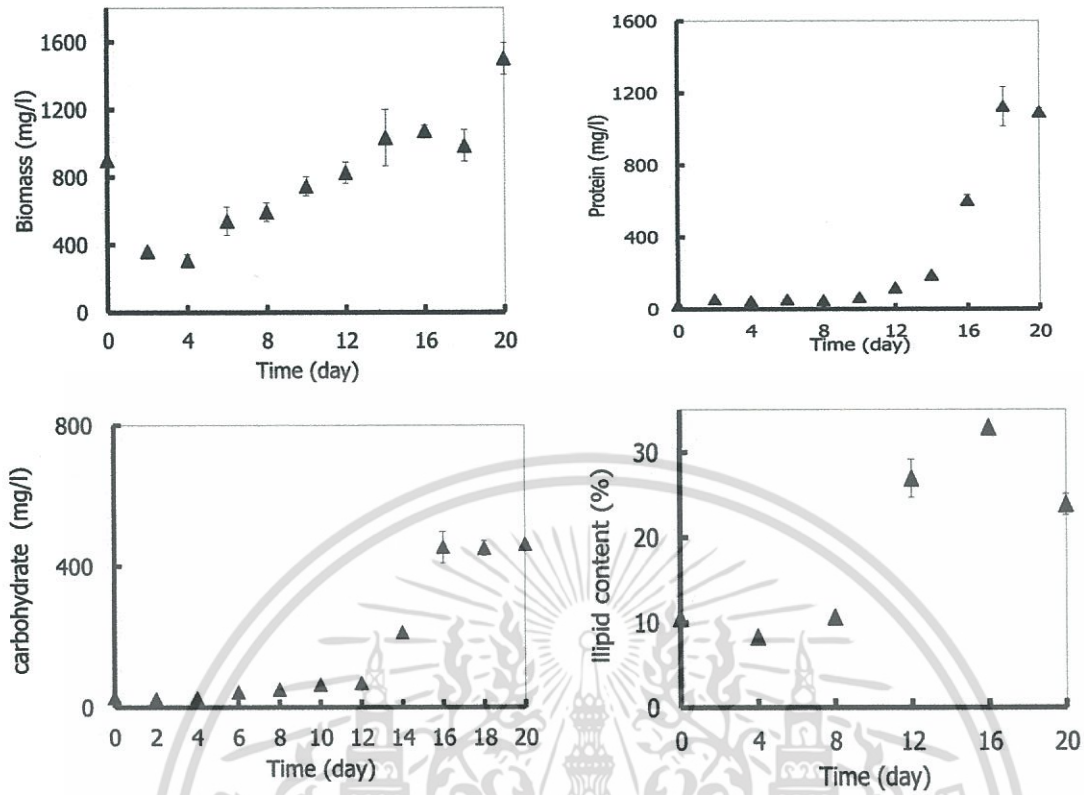
ตารางที่ 4.25 (ต่อ)

	ความเค็ม (psu)				
กรดไขมัน	0	5	10	15	20
C16:0	53.36	50.11	46.17	47.89	44.64
C16:1	4.80	5.52	4.23	4.75	4.80
C17:0	2.73	2.47	2.79	2.71	2.94
C17:1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30
C18:0	0.21	0.99	1.74	1.86	1.90
C18:1n9t	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00
C18:1n9c	5.86	6.08	7.45	9.00	9.74
C19:0	6.82	6.39	5.39	4.69	5.27
C18:2n6c	3.57	4.91	6.74	6.45	7.73
C20:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.52
C18:3n6	3.28	3.55	5.53	4.84	5.99
C20:1	0.00	0.14	0.17	0.00	0.09
C20:2	0.00	0.27	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00
C20:3n3	0.11	0.23	0.23	0.11	0.06
C20:4n6	0.41	0.42	0.00	0.37	0.38
C23:0	0.00	0.10	0.00	0.00	0.22
C22:2	0.00	0.00	0.00	0.10	0.14
C:20:5n3	0.31	0.16	0.00	0.13	0.15

4.2.5.2 ศึกษาแนวทางในการกระตุ้นการผลิตไขมันของสาหร่าย

ทำการเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในความเค็มที่ให้ปริมาณ biomass สูงสุด (ความเค็ม 15 psu) 7 วัน ทำการวัดปริมาณไขมัน จากนั้นนำเซลล์สาหร่ายไปเลี้ยงในอาหารที่ให้ปริมาณ lipid content สูงสุด (ความเค็ม 0 psu) เป็นเวลา 7 และ 13 วัน ทำการวัดปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันทุก 7 วัน ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมัน พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรท และไขมันเพิ่มอย่างต่อเนื่อง โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 20, 18, 16 และ 16 ของการเลี้ยง ตามลำดับ (ภาพที่ 4.10) โดยชนิดกรดไขมันที่พบ Saturated fatty acids 56.79-71.97 % รองลงมาเป็น Monounsaturated fatty acids 5.87-12.02 % และ Polyunsaturated fatty acids 0.00-5.60 % (ตารางที่ 4.26)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 น้ำหนักแห้ง โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และ ไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเค็มที่เหมาะสม

ความเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เนื่องจากในน้ำทะเลมีธาตุอาหารอยู่เป็นจำนวนมาก ทำให้สาหร่ายดึงเอาธาตุอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ ซึ่งทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้น ทำให้ผลผลิตไขมันมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากความเค็มที่สูงส่งผลต่อเซลล์สาหร่าย ทำให้มีการสร้างคาร์โบไฮเดรตขึ้นมาป้องกันเซลล์มากขึ้น คาร์โบไฮเดรตที่มากส่งผลให้ให้ไขมันเพิ่มขึ้น โดยคาร์โบไฮเดรตที่มากถูกเปลี่ยนเป็นไขมันสะสมในเซลล์ ความเข้มข้นเกลือสูงนำไปสู่กลไกการปรับตัวของสาหร่ายเพื่อให้มีชีวิตอยู่รอดและเจริญเติบโตได้ ในสภาวะดังกล่าวจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายในทางสรีรวิทยาและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย โดยพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กจำนวนมากจะสะสมสารอาหารเช่น กรีเซอรอล น้ำตาลแมนนิทอล (Mannitol) และ glycerol galatoside เมื่อต้องการความคุมน้ำและเกลือในเซลล์ (Osmoregulatory) ในการตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของความเค็มหรือความดันออสโมติก (osmotic pressure) จากสภาพแวดล้อม ความเค็มที่เพิ่มขึ้นอาจส่งผลให้ปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในสาหร่าย (Hu, 2004) Hu (2004) กล่าวว่า ความเค็มที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ปริมาณไขมันสูงสุดคือ 9.95% ซึ่งได้จากที่ระดับความเค็ม 10 ppt ส่วนที่ระดับความเค็มที่มากกว่า 10 ppt ไม่ส่งผลกระทบต่อการสะสมไขมันในไซยาโนแบคทีเรีย เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรียจะใช้พลังงานในการขับ Na^+ ออกจากเซลล์ เพื่อรักษาออสโมติคให้เกิดความสมดุล ส่งผลให้การสะสมปริมาณไขมันลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.26 กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เลี้ยงในความเค็มที่เหมาะสม

Fatty Acid (%)				
FA	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 20
Saturated fatty acids (SFAs)				
C16:0	58.59	56.64	64.42	51.29
C17:0	3.73	1.44	7.55	4.14
C18:0	1.25	2.70	-	1.36
Total	63.57	60.78	71.97	56.79
Monounsaturated fatty acids (MUFAs)				
C16:1	2.85	2.66	2.94	4.72
C17:1	-	0.38	-	0.46
C18:1	3.66	6.55	2.93	6.83
C20:1	-	0.18	-	-
Total	6.51	9.77	5.87	12.02
Polyunsaturated fatty acids (PUFAs)				
C18:2	2.65	2.83	-	3.16
C18:3	-	1.93	-	2.16
C20:2	-	0.05	-	-
C20:3	-	0.30	-	0.28
Total	2.65	5.11	0.00	5.60

การเพิ่มขึ้นของความเค็มตั้งแต่ 0 ถึง 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของผลผลิตมวล 1.6 เท่าของมวลชีวภาพในสาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย โดยในสาหร่าย *Hapalosiphon* sp. มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของมวลชีวภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเค็มสูง 15 ppt (0.76±0.01 กรัมต่อลิตร) เมื่อเปรียบเทียบกับ 0-10 ppt ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความเค็มกระตุ้นการเจริญเติบโตในสายพันธุ์สาหร่ายนี้ การค้นพบนี้คล้ายกับรายงานของ Becker (1994) ที่พบว่าบางสายพันธุ์ของสาหร่ายน้ำจืดสามารถเพาะเลี้ยงได้ดีขึ้นในน้ำทะเลมากกว่าในอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายปกติ Becker (1994) รายงานว่าน้ำทะเลในแหล่งธรรมชาตินั้นอุดมสมบูรณ์ไปด้วยแร่ธาตุหลัก และจุลธาตุอาหาร เป็นที่ต้องการสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายน้ำจืดหลายชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อไซยาโนแบคทีเรีย ได้รับความเค็มจะมีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง ทำให้มีการสะสมไขมันไว้ในเซลล์มากกว่านำไปใช้ในการเจริญเติบโต Khatoon *et al.* (2010) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย (*Oscillatoria* sp.) ใช้ระดับความเค็ม 6 ระดับ 0- 35 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าระดับความเค็มที่แตกต่างแสดงการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ การเจริญเติบโตของ *Oscillatoria* sp. ที่ดีที่สุดคือ 25 g/L ปริมาณไขมันใน *Oscillatoria* sp. สูงสุด 25-35 g/L ดังนั้นระดับความเค็มที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของ *Oscillatoria* sp. คือ 25 g/L แต่ในทางกลับกันปริมาณไขมันใน *Oscillatoria* sp. จะมีปริมาณไขมันมากที่ระดับความเค็มสูง

ผุสดี (2525) รายงานว่า ความเค็มของน้ำทะเล ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชชนิดต่างๆแตกต่างกัน เช่น *Chorella* sp. เจริญได้ที่ความเค็มระหว่าง 5-40 ส่วนในพันส่วน *Isochrysis* sp. เจริญเติบโตได้ที่ความเค็มระหว่าง 5-25 ส่วนในพันส่วน *Skeletonema costatum* และ *Chlamydomonas* sp. เจริญเติบโตได้ที่ความเค็มระหว่าง 5-30 ส่วนในพันส่วนตามลำดับ และ ธิดา (2543) รายงานว่า แพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดเจริญเติบโตได้ดีที่ระดับความเค็มต่างกัน อย่างไรก็ตามแพลงก์ตอนพืชส่วนใหญ่จะเจริญเติบโตได้ในความเค็มช่วงกว้าง

Rao et al. (2007) ทำการศึกษาความเค็มในสาหร่าย *Botryococcus braunii* พบว่า B. *braunii* สามารถเจริญเติบโตได้ทุกความเค็มที่ทดสอบ (17-85 mM) ชีวมวลเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของความเค็มและชีวมวลสูงสุดคือ 17 mM และ 34 mM และภายใต้ความเค็มที่ 34-85 mM จะทำให้มีส่วนประกอบของไขมันในส่วนของ palmitic acid เพิ่มขึ้นเป็น 1.7-2.25 เท่า และมี oleic acid เพิ่มเป็น 2 เท่า ตามลำดับ Takagi et al. (2006) ได้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Dunaliella teriolecta* ในระดับความเข้มข้น NaCl ที่ 0.5 และ 1.0 M พบว่าจากการเลี้ยงที่ให้ NaCl ที่ 1.0 M ให้ปริมาณไขมันร้อยละ 67 % สูงกว่าที่ระดับความเข้มข้น NaCl ที่ 0.5 M ให้ปริมาณไขมันร้อยละ 60 โดยที่ระดับความเข้มข้น NaCl ที่ 0.5 M มี Tricylglycerides (TG) ในไขมัน 40.8 %น้อยกว่าที่ความเข้มข้น NaCl ที่ 1.0 M มี Tricylglycerides (TG) ในไขมัน 56.6 %

โดยรูปแบบของกรดไขมันจะเปลี่ยนไปตามสรีรวิทยาของสาหร่าย จะเปลี่ยนไปตามลักษณะของการเลี้ยง Sarada (2002) ได้รายงานไว้ว่าที่ระดับความเค็มสูงกว่า 170 mM ทำให้สาหร่าย *Haematacoccus* ตายได้และที่ระดับความเค็มต่ำสามารถทำให้สาหร่ายมีการสะสมปริมาณ carotenoid เพิ่มขึ้น และ Rao *et al.* (2007) ได้รายงานไว้ว่าที่ระดับความเค็มต่ำ (17-34 mM) ปริมาณชีวมวล คาร์โบไฮเดรต และแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *B. braunii* มีปริมาณสูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ระดับความเค็ม 0 mM อาจจะเนื่องมาจากการปรับตัวของสิ่งมีชีวิตที่ระดับความเค็มต่ำ อย่างไรก็ตาม Vazquez-Duhalt and Arredondo-Vega (1991) ได้รายงานว่า ที่ระดับความเค็มสูง พบว่าปริมาณโปรตีนและชีวมวลจะลดลง ในขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไขมันไม่มีการเปลี่ยนแปลง และการเจริญเติบโตของสาหร่ายลดลง เนื่องจากอัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายลดลง (Hart *et al.*, 1991)

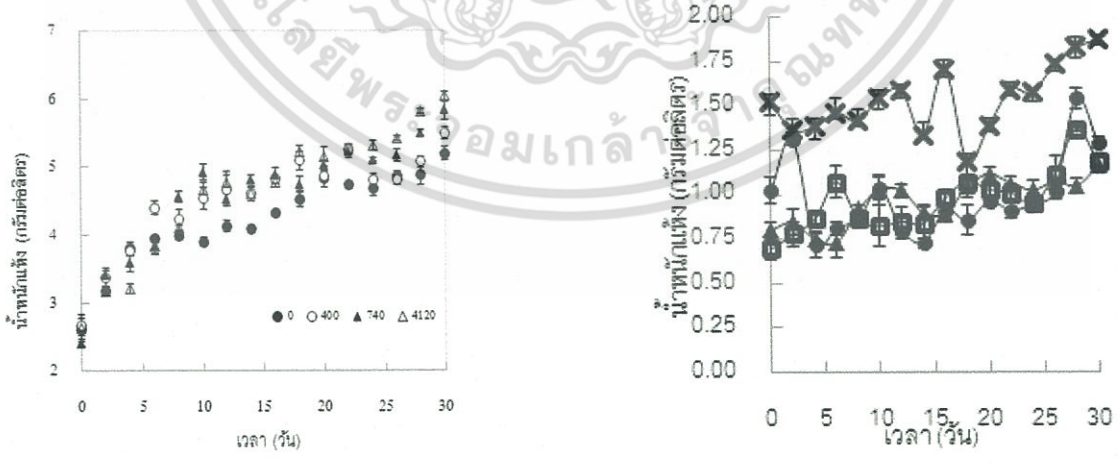
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.6 ความเข้มแสง

4.2.6.1 ผลของความเข้มแสงที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาเลี้ยงสาหร่าย *O. limnetica* โดยให้ความเข้มแสงที่แตกต่างกันคือ 0, 400, 740 และ 4120 Lux พบว่าที่ความเข้มแสง 4120 Lux มีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดโดยพบในวันที่ 30 ของการเลี้ยงเท่ากับ 5.54±0.03 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.11, ตารางที่ 4.27, 4.28) พบว่าที่ความเข้มแสง 740 Lux มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดที่สุดคือ 0.02±0.00 ต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับที่ความเข้มแสง 4120 Lux และที่ความเข้มแสง 4120 Lux มีค่าน้ำหนักสาหร่ายแห้งสูงสุดคือ 5.54±0.06 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกความเข้มแสง ที่ความเข้มแสง 0 Lux มีปริมาณไขมันสูงสุดเท่ากับร้อยละ 7.29±0.00 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกความเข้มแสงที่แตกต่างกัน lipid yield สูงสุดพบที่ความเข้มแสง 0 Lux คือ 0.33±0.00 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มแสง 400 Lux จากการทดลองผลที่ความเข้มแสงที่ 0 Lux มีปริมาณไขมันสูงที่สุดแต่มีการเจริญเติบโตต่ำที่สุดอาจเป็นเพราะว่าสาหร่ายต้องการแสงไปใช้ในขบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อการเจริญเติบโตเมื่อไม่มีแสงทำให้สาหร่ายเกิดความเครียดและไม่สามารถเจริญเติบโตได้จึงมีการสะสมอาหารและไขมันไว้ทำให้มีปริมาณไขมันมากที่สุด *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 4120 Lux มีการเจริญเติบโตมากที่สุด 2.02±0.12 กรัม และมีไขมันมากที่สุดเท่ากับ 13.85±0.87 % ที่ความเข้มแสงระดับเดียวกัน

กรดไขมันของ *O. limnetica* และ *B. braunii* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มแสงต่างกัน พบว่ามี C16:0 สูงที่สุดในสาหร่ายทั้งสองชนิด โดยใน *O. limnetica* มีค่าอยู่ในช่วง 27.2-43.7 % และใน *B. braunii* มีค่าอยู่ในช่วง 43.1-45.2 % (ตารางที่ 4.29, 4.30)



ภาพที่ 4.11 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ที่เพาะเลี้ยงในที่มีความเข้มแสงแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.27 แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ *O. limnetica* ที่เพาะเลี้ยงในความเข้มแสงที่แตกต่างกัน

I (Lux)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0	0.02±0.00^{a}	4.69±0.09^{b}	7.29±0.00^{a}	0.34±0.00^{a}	1.93±0.08^{a}
400	0.03±0.00^{a}	4.99±0.09^{b}	6.69±0.06^{b}	0.33±0.00^{ab}	1.86±0.16^{a}
740	0.03±0.00^{a}	5.33±0.13^{a}	6.11±0.02^{c}	0.32±0.00^{ab}	2.09±0.02^{a}
4120	0.03±0.00^{a}	5.54±0.06^{a}	5.73±0.06^{d}	0.31±0.00^{b}	1.84±0.15^{a}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.28 แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน *B. braunii* ในความเข้มแสงที่แตกต่างกัน

I (Lux)	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0	0.06±0.00^{a}	0.32±0.02^{a}	6.27±0.73^{a}	0.33±0.09^{a}	0.02±0.00^{a}
400	0.10±0.00^{b}	0.64±0.10^{b}	7.72±0.24^{a,b}	0.58±0.19^{a}	0.04±0.00^{b}
740	0.14±0.01^{c}	1.03±0.03^{c}	8.30±0.28^{b}	0.83±0.26^{a}	0.08±0.00^{c}
4120	0.17±0.00^{d}	2.02±0.12^{d}	13.85±0.87^{c}	1.95±0.61^{b}	0.28±0.01^{d}

หมายเหตุ: แสดงค่าเฉลี่ย (n=4) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันคือมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

แสงจัดเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเติบโตของสาหร่าย ภายในเซลล์ของสาหร่ายจะมีรงควัตถุหลักคือคลอโรฟิลล์ เอ ซึ่งจะใช้พลังงานแสงเพื่อเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนที่ได้มาจากน้ำ หรือแหล่งให้ไฮโดรเจนอื่นๆ เพื่อสร้างอาหารสำหรับใช้ในการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามแสงอาจมีผลต่อการเจริญเติบของสาหร่ายได้มากขึ้นหรือน้อยลง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับช่วงเวลาที่ได้รับแสงความเข้มแสง และคุณภาพแสงที่เหมาะสม และนอกจากแสงจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยตรงแล้วยังมีบทบาทในด้านการกระตุ้นหรือลดการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการทางสรีรวิทยาของไซยาโนแบคทีเรียอีกด้วย สาหร่ายสีเขียวมีช่วงความเข้มแสงที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5-7.5 กิโลลักซ์ ถ้าสาหร่ายได้รับความเข้มแสงมากเกินไปจะทำให้การสังเคราะห์แสงลดลงเนื่องจากกระบวนการต่างๆภายในเซลล์ถูกยับยั้ง ส่งผลให้การสะสมปริมาณสารภายในเซลล์เกิดความเปลี่ยนแปลงเพราะมีผลทำให้การสังเคราะห์ ATP ลดลง โดยความเข้มแสงที่เหมาะสมก็ขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายซึ่งอาจมาจากลักษณะของถิ่นที่อยู่ที่แตกต่างกันในธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ที่ความเข้มแสงสูงมีผลต่อการสังเคราะแสงของเซลล์สาหร่าย เมื่อมีปริมาณแสงมาก การสังเคราะแสงก็จะมากขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตมากสูงขึ้น และส่งผลให้ปริมาณไขมันสูงขึ้น เนื่องจากสาหร่าย *B. braunii* มีการสะสมไขมันภายในเซลล์มากอยู่แล้ว เมื่อมีปริมาณเซลล์มากจึงทำให้ปริมาณไขมันสูงขึ้นตามไปด้วย ซึ่งสอดคล้องกับ รายงานของ Li และ Qin. (2005) ที่ได้ศึกษาสาหร่าย *B. braunii* สามสายพันธุ์จากจีน (CHN) , สหราชอาณาจักรอังกฤษ (UK) และ ญี่ปุ่น (JAP) ที่ 3 ระดับความเข้มแสงที่ 60,100 และ 300 W/m^2 ถูกใช้ในการทดลองกับ *B. braunii* สามสายพันธุ์ สำหรับดูการเจริญเติบโตและปริมาณไขมัน ในแต่ละความเข้มแสงมีการทำซ้ำ 3 ซ้ำใน flask 250 ML แสงใช้หลอด cool fluorescent ที่แตกต่างกันเพื่อให้ได้ความเข้มแสงต่างกัน ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C พบว่าสายพันธุ์เจริญเติบโตที่เร็วที่สุดที่ CHN ที่ 60 W/m^2 และเจริญเติบโตช้าที่สุดที่ 300 W/m^2 ($p < 0.05$) ความเข้มแสงที่เหมาะสมกับสาหร่าย *B.braunii* ทั้งสามสายพันธุ์คือที่ความเข้มแสง 60 W/m^2 โดยมีอัตราการเจริญดีที่สุดในทุกสายพันธุ์ เมื่อมีการเพิ่มความเข้มแสงจะพบว่าในสายพันธุ์ CHN มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง ในขณะที่บางสายพันธุ์ เช่น สายพันธุ์ JAP การเพิ่มความเข้มแสงกลับทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.29 กรดไขมันของ *O. limnetica* ที่เลี้ยงในความเข้มแสงที่แตกต่างกัน

	0 Lux	400 Lux	740 Lux	4120Lux
Capric (C10:0)	0.54	0.48	0.67	0.87
Myristic (C14:0)	0.52	0.40	0.98	0.68
Pentadecanoic (C15:0)	0.23	0.14	0.37	0.25
Palmitic (C16:0)	43.79	43.53	27.28	38.60
palmitoleic (C16:1)	1.49	0.97	1.94	2.02
Heptadecanoic (C17:0)	1.47	0.28	1.12	1.51
Stearic (C18:0)	2.87	3.76	9.35	4.39
Elaidic (C18:1n9t)	5.99	0.64	0.43	0.30
Oleic (C18:1n9c)	27.15	24.41	19.55	19.52
Linoleic (C18:2n6c)	11.21	21.54	25.94	26.21
Arachidic C20:0)	0.06	0.16	0.32	0.12
y-Linolenic (C18:3n3)	0.05	0.09	0.66	0.17
cis-11-Eicosenoic (C20:1)	0.00	0.00	0.00	0.00
cis-8,11,14-Eicosatrienoic (C20:3n6)	4.29	2.96	7.33	4.00
cis-11,14,17-Eicsotrienoic (C20:3n3)	0.32	0.66	4.06	1.34

สายพันธุ์ CHN ปริมาณไขมันสูงที่ 60 และ 100 W/m^2 ในขณะที่ปริมาณไขมันจากสายพันธุ์ UK สูงสุดที่ 60 W/m^2, และต่ำสุดที่ 300 W/m^2 เมื่อแสงถึง 300 W/m^2 ไขมันไม่แตกต่างกันระหว่างสามสายพันธุ์ ความเข้มแสงที่เหมาะสมกับสาหร่าย *B.braunii* ทั้งสามสายพันธุ์ต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณไขมันในแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันไป เช่น ในสายพันธุ์ JAP เมื่อมีการเพิ่มความเข้มแสงจะพบว่า ที่ 60 W/m^2 ถึง 300 W/m^2 เป็นช่วงความเข้มแสงที่สาหร่ายสายพันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยมีปริมาณไขมันสูงสุดที่ความเข้มแสง 100 W/m^2 และเมื่อเลี้ยงที่ความเข้มแสงสูง 300 W/m^2 ปริมาณไขมันลดลง ในขณะที่สายพันธุ์ UK การเพิ่มความเข้มแสงจาก 60 W/m^2 ที่เป็นความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเป็น 100 W/m^2 กลับทำให้มีปริมาณไขมันลดลง

Solovchenko *et al.* (2008) ทำการศึกษาถึงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *P. incisa* ผลที่ได้คือความเข้มแสงที่สูงที่สุด 400 µmol photon/m^2/s มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยที่ดีที่สุดเท่ากับ 0.47 mg DW/day เพราะในความเข้มแสงที่สูงที่สุด 400 µmol photon/m^2/s จะทำให้สาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นซึ่งจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายให้เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ying et al. (2001) โดยเลี้ยง marine diatoms 6 ชนิดแล้วนำมาเปรียบเทียบปริมาณไขมันที่ได้ที่ความเข้มแสง 5000 Lux และ 1500 Lux พบว่าปริมาณไขมันของ *Chaetoceros gracilis* B13, *Phaeodactylum tricornutum* B118, *Phaeodactylum tricornutum* B221 และ *Cylindrotheca fusiformis* B211 ที่ความเข้มแสง 1500 Lux ให้ปริมาณไขมันสูง คือร้อยละ 10.78 ± 2.69, 5.93 ± 1.03, 13.38 ± 1.80 และ15.93 ± 0.91 ตามลำดับ สาเหตุที่เลี้ยงในความเข้มแสงต่ำแล้วให้ปริมาณไขมันสูง เพราะในความเข้มแสงต่ำสาหร่ายจะความเครียดทำให้เกิดการยับยั้งการแบ่งเซลล์ จึงส่งผลทำให้มีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.30 กรดไขมันของ *B. branii* ที่เลี้ยงในความเข้มแสงแตกต่างกัน

	0 Lux	400 Lux	740 Lux	4120Lux
Capric (C10:0)	0.63	0.36	0.87	0.93
Myristic (C14:0)	0.67	0.87	0.66	0.54
Pentadecanoic (C15:0)	0.22	0.50	0.36	0.28
Palmitic (C16:0)	44.64	45.21	45.14	43.13
palmitoleic (C16:1)	1.99	5.62	1.86	1.84
Heptadecanoic (C17:0)	0.83	1.11	0.36	0.31
Stearic (C18:0)	3.23	6.55	4.56	4.24
Elaidic (C18:1n9t)	0.72	0.48	0.37	0.90
Oleic (C18:1n9c)	24.24	15.51	23.84	27.98
Linoleic (C18:2n6c)	15.24	10.91	18.34	17.87
Arachidic C20:0)	0.09	1.04	0.19	0.15
y-Linolenic (C18:3n3)	0.04	0.19	0.05	0.06
cis-11-Eicosenoic (C20:1)	0.13	0.19	0.78	0.20
cis-8,11,14-Eicosatrienoic (C20:3n6)	6.77	10.73	1.75	1.14
cis-11,14,17-Eicsotrienoic (C20:3n3)	0.38	0.51	0.69	0.53
Arachidonic (C20:4n6)	0.17	0.20	0.17	0.08

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3. การศึกษาความเป็นไปได้ในการเลี้ยงแบบมหภาค

4.3.1 การเลี้ยงในถังขนาด 500 ลิตร

นำสาหร่าย *B. braunii* และ *O. limnetica* มาเลี้ยงในถังกลางแจ้งขนาด 500 ลิตร ด้วยสารเคมีเกรดการค้า (commercial grade) โดยสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยง จะใช้สภาวะที่เหมาะสม โดยจากขั้นต้นพบว่าสภาวะที่ทำให้ *B. braunii* และ *O. limnetica* มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือเลี้ยงในอาหารที่มี ฟอสฟอรัส 2.5 กรัมต่อลิตร และอาหารปกติ ตามลำดับ จึงทำการเลี้ยงสาหร่ายทั้งสองชนิดในอาหารดังกล่าว นอกห้องปฏิบัติการ พบว่ามีน้ำหนักแห้งอยู่ในช่วง 1.96-1.32 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.31) และมีไขมันที่ 29.6-17.6 %ตามลำดับ

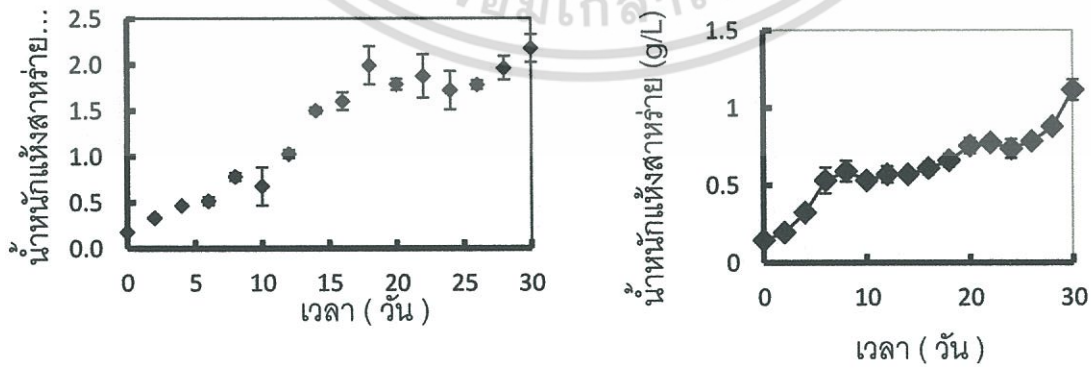
ตารางที่ 4.31 ปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้สูตรอาหารเกรดการค้า ในถังขนาด 500 ลิตร (นอกห้องปฏิบัติการ)

	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
O. limnetica	0.07±0.00^{a}	1.32±0.03^{a}	17.60±0.41^{b}	0.23±0.01^{b}	11.81±0.75^{a}
B. braunii	0.03±0.00^{a}	1.96±0.02^{a}	29.63±1.35^{a}	1.96±0.02^{a}	9.40±0.31^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

4.3.2 การเลี้ยงในบ่อเปิดกลางแจ้ง (raceway pond)

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* ในอาหารเกรดการค้าเหมือนกับขั้น 4.3.1 ในบ่อ raceway พบว่ามีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการเลี้ยง โดย *O. limnetica* ให้ผลผลิต 2.17± 0.06 กรัมต่อลิตร มากกว่า *B. braunii* ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.12±0.07 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.12)

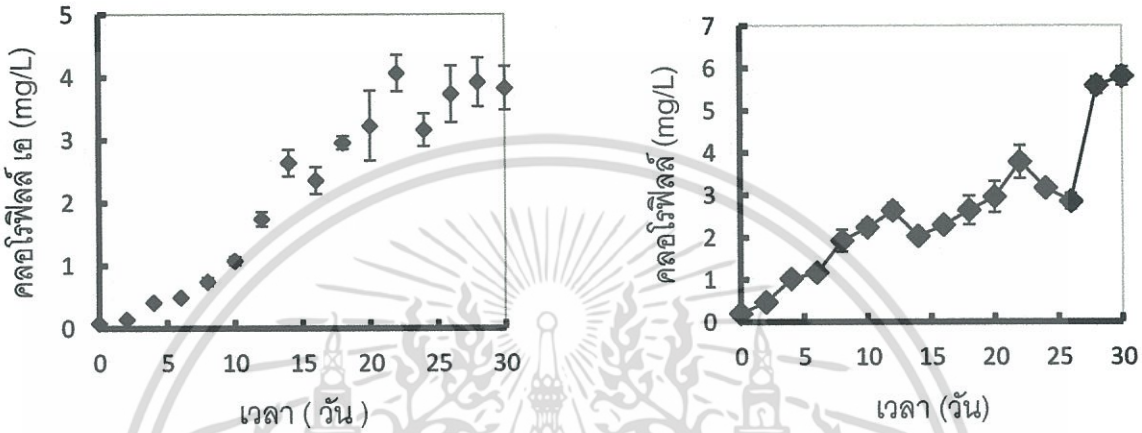


A B

ภาพที่ 4.12 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในสาหร่าย *O. limnetica* เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 22 และมีปริมาณคงที่ถึงวันที่ 30 ค่าคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดวันที่ 22 มีค่าเท่ากับ 4.06±0.29 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กับวันที่ 30 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.52±0.34 มิลลิกรัมต่อลิตรของวันการทดลอง ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ *B. braunii* มีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ค่าคลอโรฟิลล์เอสูงสุดเท่ากับ 5.80± 0.22 มิลลิกรัมต่อลิตร พบในวันที่ 30 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกวัน (ภาพที่ 4.13)

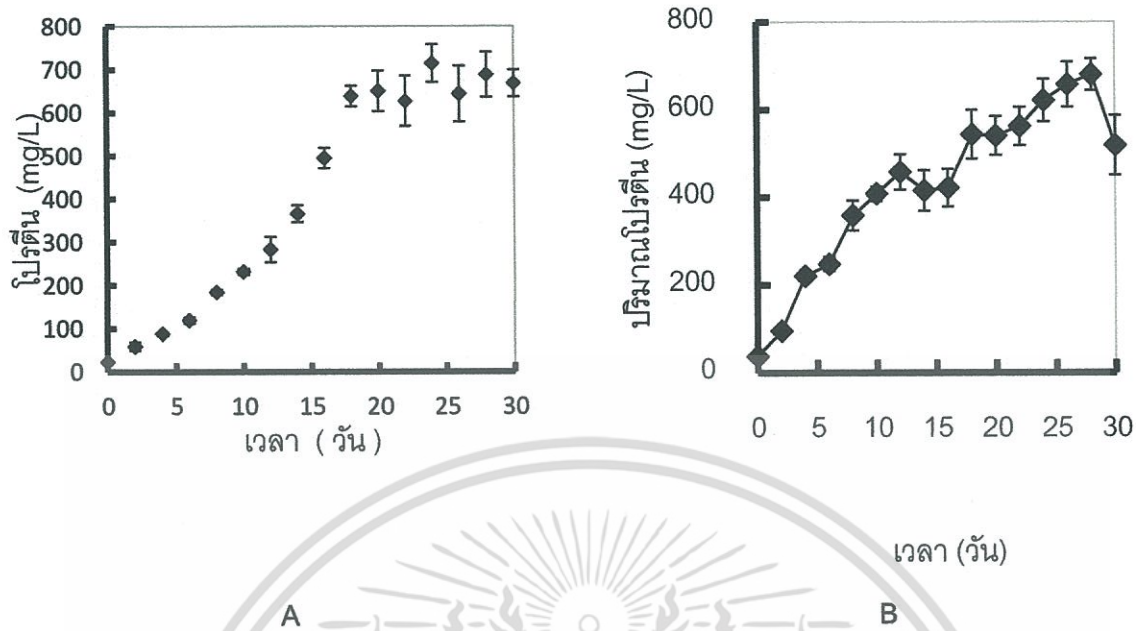


A B

ภาพที่ 4.13 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway

ปริมาณโปรตีนในสาหร่าย *O. limnetica* มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 18 และมีปริมาณคงที่จนถึงวันที่ 30 ค่าโปรตีนสูงสุดวันที่ 24 คือ 713.56±43.70 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กับวันที่ 30 ของการทดลอง โปรตีนใน *B. braunii* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจากวันที่ 0 ถึง 28 พบว่าค่าโปรตีนที่สูงที่สุดอยู่ในวันที่ 28 คือ 679.99±36.19 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่วันที่ 30 พบว่าค่าโปรตีนมีค่าเท่ากับ 518.31±68.59 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันที่ 28 (ภาพที่ 4.14) พบว่าปริมาณโปรตีนสูงกว่าในงานวิจัยของ Baba *et al.* (2012) ที่เพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ด้วยสูตรอาหาร AF-6 medium ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้อากาศที่ผ่านตัวกรองปราศจากเชื้อ โดยผันแปรการเลี้ยงที่แสงสีน้ำเงิน แสงสีเขียว และแสงสีแดง เลี้ยงภายใต้ปริมาณความเข้มแสงที่ 60 μmol m^{-2} s^{-1} เท่าๆกันทั้ง 3 สี พบว่าที่แสงสีเขียวปริมาณโปรตีนสูงสุดได้ 160 มิลลิกรัมต่อกรัม

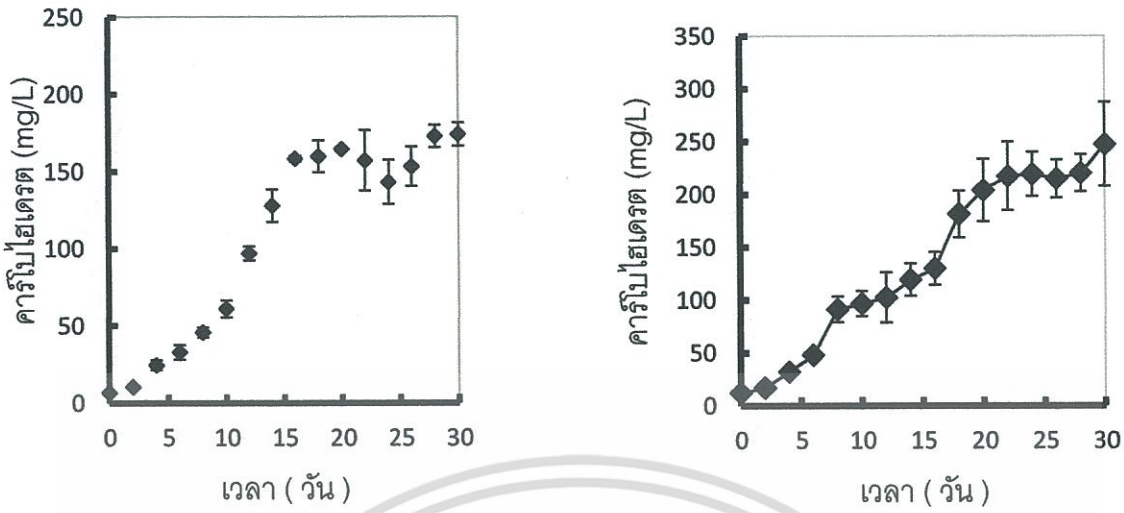
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.14 ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway

ในสาหร่าย *O. limnetica* มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 16 และมีปริมาณค่อนข้างคงที่จนถึงวันที่ 30 โดยค่า คาร์โบไฮเดรต มีค่าสูงสุดวันที่ 30 คิดเป็น 174.02±7.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับวันที่ 16 (ภาพที่ 4.15) ค่าคาร์โบไฮเดรต *B. braunii* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ค่าคาร์โบไฮเดรตที่สูงที่สุดเท่ากับ 247.30±39.92 มิลลิกรัมต่อลิตร พบในวันที่ 30 แต่พบว่าเมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Singh และ Kumar. (Inpress) จากการเลี้ยง *B. braunii* และ *Botryococcus* sp. อีกสายพันธุ์ที่แยกได้จากบ่อใกล้ๆ Banaras Hindu University, Varanasi. โดยใช้ชื่อว่า *B.protuberans* เลี้ยงในอาหารสูตร Chu 13 medium ผันแปรการทดลองโดยให้ไนโตรเจนและไม่ให้ไนโตรเจน ที่อุณหภูมิ 27±1°C ให้แสง 18 ชั่วโมงและ 6 ชั่วโมงไม่ให้แสง ได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรต 161.25 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A B

ภาพที่ 4.15 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway

จากการทดลองพบว่าปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงระดับคงที่ สอดคล้องงานวิจัยของ Wang *et al.* (2013) ได้ศึกษาวิเคราะห์ โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ในสาหร่าย *Scendesmus dimorphus* เพาะเลี้ยงภายในห้องแล็บ พบว่า ในช่วง 3-5 วัน ปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและลดลงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยพบค่าสูงสุด คิดเป็น 0.7 และ 0.2 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยกล่าวว่า สาหร่ายขนาดเล็กมีความสามารถในการผลิตโปรตีนสูงที่สุดเท่า 30-60% ของน้ำหนักแห้ง ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลักในโปรตีน ระดับโปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตระยะเข้าสู่ Exponential phase ส่วนคาร์โบไฮเดรตเป็นอาหารสะสมในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กเป็นผลผลิตจากการสังเคราะห์แสง สภาวะการเพาะเลี้ยงปกติหรือขาดไนโตรเจน

การอัตราการเจริญเติบโตและไขมัน พบว่า *O. limnetica* มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่าสูงสุดวันที่ 12 คือ 0.222±0.084 ต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติยกเว้นวันที่ 18 และ 30 ปริมาณไขมันทั้งหมดมีค่าสูงสุดวันที่ 0 คือ 61.85±12.209เปอร์เซ็น ซึ่งความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกวัน และ ผลผลิตไขมันมีค่าสูงสุด วันที่ 12 คือ 6.65±2.525 กรัมต่อลิตรต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติยกเว้นวันที่ 18 และ 30 (ตารางที่ 4.32)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ *B. braunii* ผลผลิตไขมันต่อลิตรต่อวัน และเปอร์เซ็นไขมันทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะค่าสูงสุด 0.35±0.05 ต่อวัน พบในวันที่ 6 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับวันที่ 12, 18, 24 และ30 ผลผลิตไขมันต่อลิตรต่อวันสูงสุด 6.75±2.31 กรัมต่อลิตรต่อวัน พบในวันที่ 6 มีความแตกต่างอย่างมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยสำคัญทางสถิติกับทุกวัน และเปอร์เซ็นไขมันทั้งหมดสูงสุดได้ 57.05±7.79 % พบในวันที่ 0 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกวัน (ตารางที่ 4.33)

ตารางที่ 4.32 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* ที่เลี้ยงในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway

Time	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0	-	0.17±0.016^{a}	61.85±12.209^{b}	0.10±0.008^{a}	-
6	0.209±0.036^{cd}	0.51±0.060^{b}	29.34±3.968^{a}	0.15±0.012^{a}	6.13±1.083^{d}
12	0.222±0.084^{d}	1.02±0.047^{c}	29.84±6.690^{a}	0.30±0.009^{b}	6.65±2.525^{d}
18	0.125±0.011^{bc}	1.99±0.082^{e}	31.60±7.726^{a}	0.61±0.016^{c}	3.97±0.355^{c}
24	0.201±0.061^{cd}	1.72±0.133^{d}	35.12±3.086^{a}	0.60±0.069^{c}	6.06±2.614^{d}
30	0.094±0.024^{b}	2.17±0.097^{f}	28.81±4.450^{a}	0.62±0.019^{c}	2.72±0.698^{b}

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

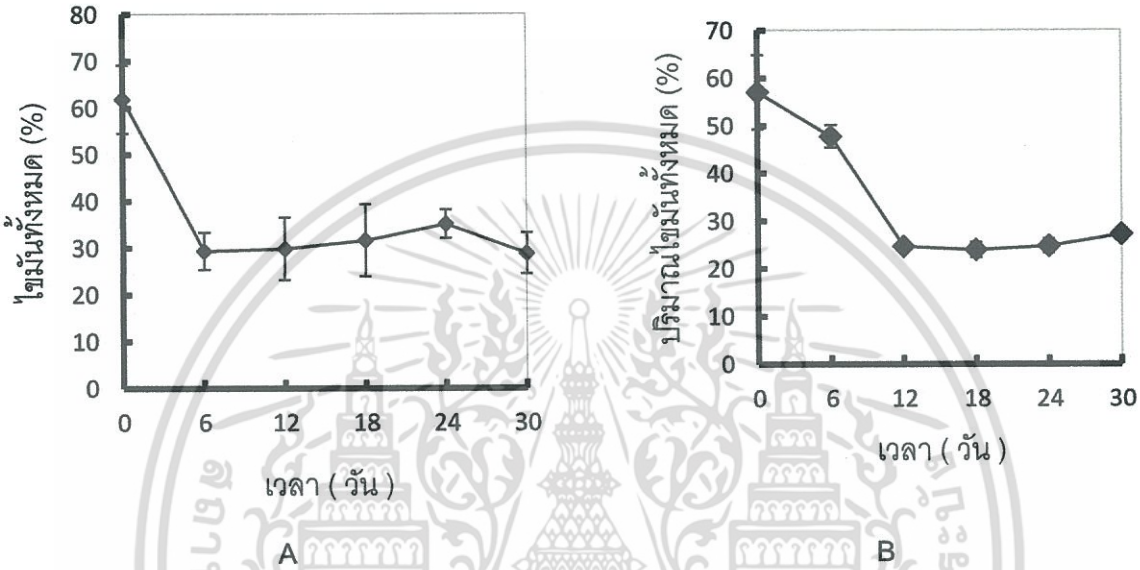
ตารางที่ 4.33 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* เพาะเลี้ยงในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway

Time	μ (/d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (g/l/d)
0	-	0.13±0.01^{a}	57.05±7.79^{a}	0.07±0.01^{a}	-
6	0.035±0.05^{a}	0.10±0.09^{b}	47.72±2.38^{b}	0.28±0.04^{b}	6.75±2.31^{a}
12	0.028±0.06^{a}	0.57±0.56^{b}	24.65±0.56^{c}	0.14±0.01^{c}	2.78±1.56^{b}
18	0.024±0.04^{a}	0.66±1.61^{b}	23.96±1.61^{c}	0.16±0.01^{c}	2.27±0.93^{bc}
24	0.012±0.01^{a}	0.74±1.50^{b}	24.74±1.49^{c}	0.18±0.02^{c}	1.15±0.27^{c}
30	0.021±0.00^{a}	1.12±1.22^{c}	27.16±1.22^{c}	0.30±0.02^{b}	2.26±0.09^{c}

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณไขมันทั้งหมด ของสาหร่าย *O. limnetica* สูงที่สุด วันที่ 0 คือ 61.85 % ซึ่งมีความแตกต่างนัยสำคัญทางสถิติกับทุกวัน ปริมาณไขมันเริ่มลดลงอย่างต่อเนื่อง อาจเนื่องมาจากการใช้เซลล์แห้งของสาหร่ายในการเริ่มต้นสกัดต่างกัน ในวันที่ 6 – 30 เซลล์ที่ใช้สกัดมากกว่าวันที่ 0 จึงอาจทำให้การสกัดเซลล์ในวันที่ 6 – 30 เซลล์ไม่แตกจึงได้ไขมันน้อย (ภาพที่ 4.16) %ไขมันที่สูงที่สุด *B. braunii* เท่ากับ 57.05 % พบในวันที่ 0 %ไขมันที่ได้มากกว่างานวิจัยของ Liu et al.(2012) ที่พบว่า *Scenedesmus* sp. ให้ผลผลิตไขมันสูงที่สุด คือ 37.00 %



ภาพที่ 4.16 ปริมาณไขมันของสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway

ผลผลิตไขมันที่ได้นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันจากสาหร่าย *O. limnetica* พบว่ากรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ Palmitic Acid (C16:0) 38.95 % และรองลงมาเป็น Oleic Acid (C18:1n9c) 28.30 % (ตารางที่ 4.34) กรดไขมันที่พบมากที่สุดของ *B. braunii* คือ Palmitic Acid (C16:0) 49.50 % รองลงมาเป็น Linoleic Acid (C18:2n6c) 21.35 % (ตารางที่ 4.35) กรดไขมันจากสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรนี้ พบว่าผลกรดไขมันมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sydney et al. (2011) และ Dayananda et al. (2006) ที่เพาะเลี้ยง *B. braunii* ที่พบกรดไขมันชนิด C18:1 สูงสุดและรองลงมาพบชนิด C16:0 Tan *et al.* (2011) กล่าวว่า โดยทั่วไปกรดไขมันในสาหร่ายขนาดเล็กจะมีจำนวนคาร์บอนเป็นเลขคู่เสมอในโมเลกุล ซึ่งมีความยาวตั้งแต่ 12 ถึง 24 โมเลกุล แต่พบเป็นจำนวนมากจะมีจำนวนคาร์บอน 16 และ 18 ซึ่งมีคุณสมบัติเหมาะสมผลิตน้ำมันไบโอดีเซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.34 กรดไขมัน(เปอร์เซนต์)ของ *O. limnetica* ที่เลี้ยงในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway

		วัน					
Component		0	6	12	18	24	30
Caproic Acid	C6:0	-	-	-	-	-	-
Capric Acid	C10:0	-	-	0.16	0.14	-	-
Undecanoic Acid	C11:0	-	-	0.07	0.05	-	-
Lauric Acid	C12:0	1.13	7.41	6.91	8.92	1.37	7.73
Tridecanoic Acid	C13:0	-	-	-	0.05	-	0.22
Myristic Acid	C14:0	-	1.60	1.41	0.73	1.06	1.39
Myristoleic Acid	C14:1	0.66	0.25	0.10	-	0.11	0.14
Pentadecanoic Acid	C15:0	0.47	0.62	0.52	0.33	0.39	0.54
Palmitic Acid	C16:0	38.95	35.00	29.06	25.41	36.42	28.79
Palmitoleic Acid	C16:1	4.26	9.03	1.09	8.85	2.81	1.69
Heptadecanoic Acid	C17:0	-	0.51	0.41	0.65	0.33	0.34
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	-	0.15	0.23	1.02	0.35	0.52
Stearic Acid	C18:0	9.36	7.50	12.07	12.97	13.96	12.73
Elaidic Acid	C18:1n9t	4.10	0.44	0.37	0.33	1.30	2.09
Oleic Acid	C18:1n9c	28.30	20.96	18.74	19.98	19.78	19.23
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	-	-	9.79	-	-	-
Linoleic Acid	C18:2n6c	-	0.95	1.43	1.76	1.97	1.26
Y-Linolenic Acid	C18:3n6	0.93	8.17	-	-	16.88	11.96
Arachidic Acid	C20:0	4.13	-	12.57	17.06	-	8.09
Linolenic Acid	C18:3n3	-	-	-	-	-	-
cis-11-Eicosenoic Acid	C20:1	-	-	-	-	-	1.27
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	-	0.42	-	-	-	-
Heneicosanoic Acid	C21:0	-	1.42	-	0.39	-	-
cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	C20:3n6	7.66	-	0.70	0.19	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.34 (ต่อ)

		วัน					
Component		0	6	12	18	24	30
Behenic Acid	C22:0	-	-	1.16		-	-
Erucic Acid	C22:1n9	-	1.04	0.79	-	-	-
cis-13,16-Docosadienoic Acid	C22:2	-	3.31	1.51	-	-	-
Lignoceric Acid	C24:0	-	1.06	0.80	1.12	1.18	0.99

ตารางที่ 4.35 กรดไขมันของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway

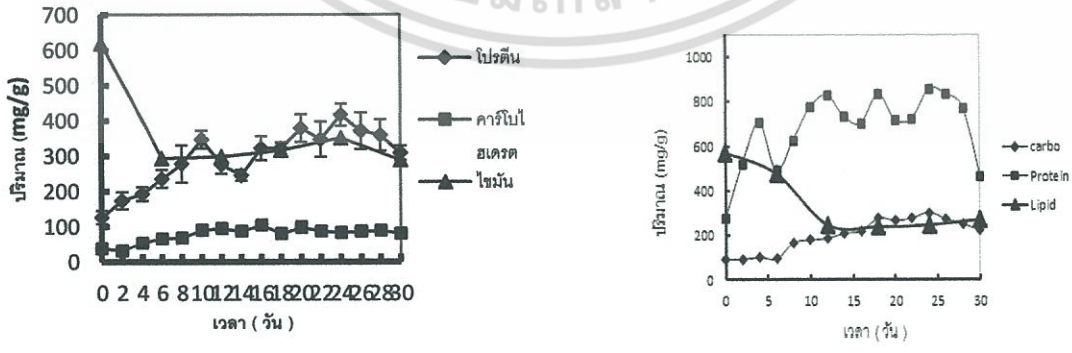
วัน							
Component		0	6	12	18	24	30
Caproic Acid	C6:0	0.05	-	-	-	-	-
Capric Acid	C10:0	0.05	0.29	-	0.38	0.79	0.73
Undecanoic Acid	C11:0	-	-	-	-	0.11	0.13
Lauric Acid	C12:0	3.73	7.02	7.18	10.46	10.06	8.48
Tridecanoic Acid	C13:0	0.12	0.05	0.03	0.05	0.12	0.05
Myristic Acid	C14:0	1.27	0.44	0.52	0.56	0.87	0.83
Myristoleic Acid	C14:1	0.24	0.14	0.28	0.52	0.07	0.49
Pentadecanoic Acid	C15:0	0.65	0.17	0.16	0.16	-	0.28
Palmitic Acid	C16:0	22.22	21.71	31.59	32.09	49.50	42.76
Palmitoleic Acid	C16:1	-	3.56	-	0.32	1.43	-
Heptadecanoic Acid	C17:0	0.40	0.31	0.49	0.55	0.78	0.77
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	3.24	10.25	7.54	7.93	-	-
Stearic Acid	C18:0	1.78	1.39	1.25	1.45	1.96	1.82
Elaidic Acid	C18:1n9t	-	7.54	7.72	8.90	3.94	1.95
Oleic Acid	C18:1n9c	3.68	2.93	6.88	9.04	12.43	10.27
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	-	0.07	-	-	1.53	0.11
Linoleic Acid	C18:2n6c	8.76	21.35	14.79	0.18	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.35 (ต่อ)

วัน							
Component		0	6	12	18	24	30
Y-Linolenic Acid	C18:3n6	1.17	3.23	3.62	3.34	-	-
Arachidic Acid	C20:0	3.55	-	8.95	-	13.79	8.99
Linolenic Acid	C18:3n3	-	11.91	-	9.11	-	-
cis-11-Eicosenoic Acid	C20:1	0.42	-	-	-	-	3.09
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	-	-	0.15	-	0.28	-
Heneicosanoic Acid	C21:0	-	0.26	0.53	1.04	0.58	1.15
cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	C20:3n6	-	-	0.06	-	-	-
Behenic Acid	C22:0	-	-	0.42		-	0.34
Erucic Acid	C22:1n9	0.12	0.08	-	-	0.51	0.50
cis-13,16-Docosadienoic Acid	C22:2	1.36	0.60	0.26	0.16	0.22	0.17
Lignoceric Acid	C24:0	1.43	0.11	0.55	-	1.04	1.11

ซึ่งสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* เหมาะสมนำไปใช้เป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากกรดไขมันชนิดอิ่มตัวไม่มีพันธะคู่จึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ยากกว่าและจุดเดือดสูงกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวใกล้เคียงงานวิจัยของ Tan *et al.* (2011) จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน จากสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway พบว่าปริมาณโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ปริมาณไขมันมีความสัมพันธ์กับคาร์โบไฮเดรต โดยพบว่าปริมาณไขมันมีแนวโน้มลดลงแต่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเริ่มมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 4.17)



ภาพที่ 4.17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน จากสาหร่าย *O. limnetica* (A) และ *B. braunii* (B) ในอาหารเกรดการค้าในบ่อ raceway

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สภาวะในการเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันในสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* พบว่า *O. limnetica* ให้ไขมันได้สูงเมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้ $NaNO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ความเข้มข้น 0.125 กรัมต่อลิตร หรือเลี้ยงในอาหารที่มีฟอสฟอรัส 0.1 กรัมต่อลิตร, เหล็ก 0.009 กรัมต่อลิตร, ความเค็ม 0 psu, ความเข้มแสง 0 Lux ส่วน *B. braunii* พบว่า ให้ไขมันได้สูงเมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้ KNO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ความเข้มข้น 0.125 กรัมต่อลิตร หรือเลี้ยงในอาหารที่มีฟอสฟอรัส 2.5 กรัมต่อลิตร, เหล็ก 0.625 กรัมต่อลิตร, ความเค็ม 0 psu, ความเข้มแสง 4120 Lux

การเลี้ยงสาหร่ายโดยเริ่มต้นเลี้ยงในสภาวะที่สาหร่ายโตดีที่สุด จากนั้นเลี้ยงในอาหารที่ให้ไขมันสูงที่สุดพบว่าสามารถกระตุ้นให้สาหร่ายเพิ่มปริมาณไขมันได้ทุกสภาวะการกระตุ้น โดยการกระตุ้นด้วยการเลี้ยงที่ความเค็ม 15 psu จากนั้นย้ายมาเลี้ยงที่ความเค็ม 0 psu สามารถกระตุ้นให้เพิ่มไขมันได้ถึง 22.19 % และจากการศึกษากรดไขมันพบว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดมีกรดไขมัน C16-C18 เป็นองค์ประกอบหลัก จึงเหมาะสมกับการนำไปทำไบโอดีเซล

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน จากสาหร่าย *O. limnetica* และ *B. braunii* พบว่าทั้งสามค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้น โดยเมื่อปริมาณคาร์โบไฮเดรทลดลง ปริมาณไขมันจะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น การเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิด raceway pond สามารถเพิ่มปริมาณไขมันของสาหร่ายได้มากกว่าการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดย *O. limnetica* และ *B. braunii* มีไขมันสูงถึง 35 และ 47 % ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กันต์กนิษฐ เสือเปลี่ยว, ญาวดี แก้วสุกใส, กัญญาลักษณ์ สังข์ประไพ, เทพปัญญา เจริญรัตน์ และสุเปญญา จิตตพันธ์. 2554. ผลของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนซึ่งคัดแยกจากพื้นที่เกษตรอินทรีย์ การประชุมวิชาการ สาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5. โรงแรมบีพี สมิหลา บีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท จังหวัดสงขลา.

กุลยา จันทร์อรุณ. 2533. เคมีอาหาร. ตำรา – เอกสารวิชาการ. ภาคพัฒนาตำราและเอกสารวิชาการ. หน่วยศึกษานิเทศก์. กรมการฝึกหัดครู. 89 – 94 น.

จงกล พรมยะ. 2552. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย http://www.fishtech.mju.ac.th/e-learning/ FA422/ index. php?select=main

ชลินดา อริยเดช. 2554. การคัดเลือกสาหร่ายเพื่อผลิตไบโอดีเซลในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี. การประชุมวิชาการ สาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5. โรงแรมบีพี สมิหลา บีช โฮเทล แอนด์รีสอร์ท จังหวัดสงขลา.

ชิโนรส ศรีศิริ, ยิ่งยศ ลับภู, ประสงค์ วงศ์วิชา และกันยารัตน์ โหละสุด. 2551. ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมันของสาหร่ายท้องถิ่นเซลล์เดียว. เอกสารการประชุมวิชาการ. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ทักษพร รัตนมขุย์. 2552. การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก. วารสารการประชุมทางวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 11: 659-665.

ธีรวัฒน์ อินทร์แจง. 2552. การศึกษาปริมาณไขมันและกรดไขมันจากสาหร่าย. ปัญหาพิเศษ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นิพล ชุมสุวรรณ์. 2546. ผลของระยะเวลาการให้แสงต่อปริมาณโปรตีน และไขมันในสาหร่าย *(Tetraselmis* sp.). ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 20 น.

ปิยนารถ ศรชัย. 2548. ผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Nostoc commune*. การประชุมวิชาการ สาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 2. โรงแรมฮอลิเดย์การ์เดน จังหวัดเชียงใหม่.

ผุสดี ศรีพยัตต์. 2529. การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่อใช้เป็นอาหารลูกสัตว์น้ำ. เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 29 ฝ่ายสถานีวิจัยประมงทะเล กองประมงทะเล กรมประมง. 10 หน้า

พรพจน์ ศรีสุขชยะกุล. 2549. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เทคโนธานี ตำบลคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี. 54 น.

โพธิภรณ์ ครรชิตานุรักษ์, กนกกานต์ นาคทอง, ชัยศาสตร์ คเชนทร์สุวรรณ, ทอรุ้ง บุญส่ง, อภิรดา สถาปัตยานนท์, อนิษฐาน ศรีนวล, สุภาภรณ์ ศิริโสภณา, สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. 2554. ผลของความเค็มต่อการเจริญ รงควัตถุ และสารออสโมโพรเทคแทนต์ในไซยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โนแบคทีเรีย *Oscillatoria* sp. การประชุมวิชาการ สาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5. โรงแรมบีพี สมิหลา บีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท จังหวัดสงขลา.

ไพบูลย์ จิตต์แก้ว. 2554. ผลของสภาวะในการเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ*ไซยาโนแบคทีเรีย Oscillatoria limnetica.* ปัญหาพิเศษ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2546. สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่

รวมทรัพย์ ชำนาญธนา. 2540. การเลี้ยง Dunaliella salina ในช่วงระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

รัตนา ชัยกล้าหาญ, ณัฐยาภรณ์ ชิระสุวรรณ, มารศรี เรืองจิตชัชวาล และบุษยา บุนนาค. 2548. การตอบสนองของ *Spirulina platensis* C1 ต่ออุณหภูมิและความเข้มแสงสูง. การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 2 . โรงแรมฮอลิเดย์การ์เดน จังหวัดเชียงใหม่.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544. แพลงก์ตอนพืช. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สมถวิล จริตควร และอมรรัตน์ ชมรุ่ง. 2550. ผลของระยะเวลาการให้แสงต่อปริมาณโปรตีนและไขมันในสาหร่าย *Nannochloropsis oculata* น. 57. ในการประชุมวิชาการสาหร่ายและสาหร่ายแห่งชาติ ครั้งที่ 3. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุนิสา บุญมา, ปานมุก วัชระปิยะโสภณ และยุวดี พีรพลพิศาล. 2554. ผลของอุณหภูมิและสภาวะในการเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* Kutzing PK5. การประชุมวิชาการ สาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5. โรงแรมบีพี สมิหลา บีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท จังหวัดสงขลา.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ บุปผา จงพัฒน์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ปวีณา ทวีกิจการ. 2548. คุณค่าทางโภชนาการของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23(2):38-47.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2549. การดูดซับโลหะหนักโดยสาหร่าย. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.489 น.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2549. แพลงก์ตอนวิทยา. คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 490 หน้า.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2554. ปริมาณไขมันของไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก และความเค็ม ที่แตกต่างกัน. การประชุมวิชาการ สาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5. โรงแรมบีพี สมิหลา บีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท จังหวัดสงขลา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุมนทิพย์ บุนนาค และปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์ . การเปรียบเทียบความสามารถในการทนต่อความเค็มของ ออสซิลลาทอเรีย (Oscillatoria sp.) และสไปรูไลน่า (*Spirulina* sp.) อ้างจาก http://reocities.com/SoHo/museum/3211/osc.htm

อาภา รัตน์ มหาขันธ์ วัชรีพร ลือคำหาญ จิราพัชร์ พลชัย จิราภรณ์ วัฒนกุล อุทัย เกตุนุติ ทวีศักดิ์ สุนธนศาสตร์ วัลลภา อรุณไพโรจน์ ประไพศรี สมใจ. 2545. การ ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในการควบคุมหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* (Hubner) (*Lepidoptera* : Noctuidae)). *วารสารแก่นเกษตร*. 30:64-76.

อาภารัตน์ มหาขันธ์ อุษา กลิ่นหอม มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์ เจษฎา ทิพยะสุขศรี และวัชรี กัลยาลัง. 2546. วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดลาบ (*Nostoc commune*, Cyanophyta). 1-84 น

Antoni, D.; Zverlov, V.V.; and Schwarz, H. 2007. Biofuels from Microbes. Appl. Microbiol. Biotechnol. 77:23-35.

Becker, E.W. 1994. Microalgae : biotechnology and microbiology In:Baddiley,J.(Ed.) Cambridge University Press, Cambridge, NewYork.

Behrenfeld, M.J., Worthington, K., Sherrell, R.M., Chavez, F.P., Strutton, P., McPhaden, M., Shea, D.M., 2006. Controls on tropical Pacific Ocean productivity revealed through nutrient stress diagnostics. Nature 442: 1025–1028.

Belarbi E-H, Molina Grima E., Chisti Y. 2000. A process for high yield and acaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid ewsters from microalgae and fish oil. Enzyme Microb technol. 26: 516-529.

Bertilsson, S., O. Berglund, D.M. Karl, S.W. Chisholm. 2003. Elemental composition of marine Prochlorococcus and Synechococcus: implications for the ecological stoichiometry of the sea, Limnol. Oceanogr. 48 : 1721–1731.

Chen, G. Q., Jiang, Y. and Chen, F. 2007. Fatty acid and lipid class composition of the eicosapentaenoic acid-producing microalga, *Nitzschia laevis*. Food Chemistry. 104 : 1580–1585.

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances 25:294–306.

Chisti, Y. 2008. Biodiesel from Microalgae Beats Bioethanol. Trends Biotechnol. 26:126-131.

Chunleuchanon, S., Sooksawang, A., teaumroong, N and Bookerd. 2003. Diversity of nitrogen-fixing cyanobacteria under various ecosystems of Thailand: population dynamics as affected by environmental factors. World Journal of Microbiology & Biotechnology 19 : 167-173.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colla, L.M., C.O.Reinehr, C.Reichert and J.A.V.Costa. 2007. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. Bioresource Technology 98 : 1489–1493.

Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P., and Borghi, M.D. 2009. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. Chemical Engineering and Processing 48:1146-1151.

Critchley, A.T. 1993. Seaweed cultivation and marine ranching. Kanagawa International Fisheries Training Center, Japan International Cooperation Agency, Yokosuka.

Dayananda, C., Sarada, R., Usha Rani, M., Shamala, T.R., Ravishankar, G.A., 2007. Autotrophic cultivation of *B. braunii* for the production of hydrocarbons and exopolysaccharides in various media. Biomass Bioenergy. 31, 87-93.

Desikachary, T.V., 1959. Cyanophyta. Botany Department, University of Madras. Indian Council of Agricultural Research. New Delhi, Indian. 868 page.

Fang, J.Y., Chiu, H.C., Wu, J.T., Chiang, Y.R. and Hsu, S.H. 2004. "Fatty acid in *B. braunii* accelerate tropical delivery of flurbiprofen into and across skin." International Journal of Pharm. 276 : 163–173.

Ge, Y., Liu, J., Tian, G., 2011. Growth characteristics of *B. braunii* 765 under high CO_2 concentration in photobioreactor. Bioresour. Technol. 102, 130-134.

Hamdy, A.E.A, and Dawes, C.J.1988. Proximate constituents and lipid chemistry in two species of from the west coast of Florida. Bot Mar. 31:79–81.

Hart, B.T., Bailey, P., Edwards, R., Hortlek, K., James, K., McMohan, A., Meredith, C. and Swading, K. 1991. "A review of the salt sensitivity of the Australian fresh water biota." Hydrobiologia. 210 : 105–144.

Herbreteau F, Coffard L.J.M., Derrien A, . De Roeck-Holzharuer Y. 1997. The fatty acid composition of five species of macroalgae. Bot Mar. 40:25–27.

Ho Oh, S., J.G. Han, Y.Kim, J.H. Ha, S.S. Kim, M.H. Jeong, H.S. Jeong, N.Y.kim, J.S. Cho, W.B. Yoon, S.Y. Lee, D.H. Kang, and H.Y. Lee 2009. Lipid production in *Porphyridium cruentum* growth under different culture condition. Journal of Bioscience and Bioengineering. 5:429-434

Hotimchenko, S. V. 2002. Fatty Acid Composition of Algae from Habitats with Varying Amounts of Illumination. *Russian Journal of Marine Biology*. 28(3) : 218–220.

Hsieh, C.H., and W.T. Wu. 2009. Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation. Bioresource Technology 100 : 3921-3926.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http://sciinaction.blogspot.com/2007/12/blog-post_18.html

http://www.ku.ac.th/emagazine/july46/agri/seaweed.html

http://www.neduet.edu.pk/environmental/Bio_Diesel_Online/algae_biodiesel.ht

http://www.omega3.truebc.com/epa.html

http://www.thaidogcenter.com/vb/showthread.php

Hu, Q. 2004. Environmental effects on cell composition, in: Richmond, A., (Eds.). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Science, Victoria, pp. 83-93.

Huang, G.H., Chen, F., Wei, D., Zhang, X., and Chen, G. 2010. Biodiesel production by microalgal biotechnology. Applied Energy. 87:38–46

Kalacheva, G.S., Zhila, N.O., Volova, T.G., 2001. Lipids of the green alga *Botryococcus* cultured in a batch mode. Microbiol. 70, 256-262.

Khatoon, H., S. Banerjee, F. M.Yusoff ang M. Shariff .2010. Effects of salinity on the growth and proximate composition of selected tropical marine periphytic diatoms and cyanobacteria. Aquaculture Research 41:1348-1355

Khotimchenko ,S.V. and Yakovleva, I.M. 2004. Effect of solar irradiance on lipids of the green alga *Ulva fenestrata* Postels et Ruprecht. Bot Mar. 47:395–401.

Khotimchenko S.V., I.M. Yakovleva 2005. Lipid composition of the red alga *Tichocarpus crinitus* exposed to different levels of photon irradiance Phytochemistry 66: 73–79

Khotimchenko, S.V. 2002. Fatty Acid Composition of Algae from Habitats with Varying Amounts of Illumination. *Russian Journal of Marine Biology.* 28(3) : 218–220.

Khotimchenko, S.V. and Yakovleva, I.M. 2004. Effect of solar irradiance on lipids of the green alga *Ulva fenestrata* Postels et Ruprecht. Bot Mar. 47:395–401.

Khozin-Goldberg, I. and Cohen, Z. 2006. The effect of phosphate starvation on the lipid and fatty acid composition of the fresh water eustigmatophyte Monodus subterraneus. Phytochemistry 67:696–701.

Kojima, E., Zhang, K., 1999. Growth and hydrocarbon production by microalga *B. braunii* in bubble column photobioreactor. J. Biosci. Bioeng. 87, 811-817.

Li,Y. and J.G.Qin. 2001. Comparison of growth and lipid content in three *B. braunii* strains. Journal of Applied Phycology.17:551-556.

Li,Y., M.Horsman, B.Wang, N.Wu and C.Q.Lan. 2008. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans.* Appl Microbiol Biotechnol.81:629-636.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Liu, Z., G.C. Wang and B.C. Zhou. 2008. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. Bioresource technology 99: 4717-4722.

Mata, T.M., Martins, A.A., and Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 14 :217–232

Matanjun, P., Mohamed, N., Mustapha, M., and Muhammad, K. 2008. Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. J Appl Phycol. DOI10.1007/s10811-008-93264.

Matsunaga, T., Takeyama, H., Miura, Y., Yamazaki, T., Furuya, H. and Sode, K. 1995. Screening of marine cyanobacteria for high palmitoleic and production. FEMS Microbiology Letters. 133 : 137-141.

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.

Meharban, S. 2005. Essential Fatty Acids, DHA and Human Brain. Indian J Pediatr. 72 : 239-242.

Merzlyak, M.N., Chivkunova, O.B., Gorelova ,O.A., Reshetnikova, I.V., Solovchenko, A.E., Khozin-Goldberg, I., and Cohen, Z. 2007. Effect of nitrogen starvation on optical properties, pigments and arachidonic acid content of the unicellular green alga Parieto-chloris incisa Trebouxiophyceae, Chlorophyta). J Phycol 43:833–843.

Meseck, L. S., J.H. Alix and G.H.Wikfors. 2005. Photoperiod and light intensity effects on growth and utilization of nutrients by the aquaculture feed microalga, Tetraselmis chui (PLY429). Aquaculture. 246: 393-404

Mohammad, I. W. Amino acid macroalgae and fatty acid profiles of four species of from Aqaba and their suitability for usein fish diets. 1997. Aquaculture. 159 : 101-109.

Mulbry, W., Kondrad, S., Pizarro, C., Kebede-Westhead, E., 2008. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers. Bioresour. Technol. 99:8137–8142.

Nagai, T., A. Imai, K. Natsushige and T. Fukushima. 2007. Growth characteristics and growth modeling of *Microcystis aeruginosa* and *Planktothrix agardhii* under iron limitation. Limnology 8: 261-270.

Nagano, S., Yamamoto, S., Nagakubo, M., Atsumi, K., Watanabe, M.M. 2010. Automotive fuel and micro algae oil. P. 27. Proceeding of The 1st Asia-Oceania Innovation Summit, 13-14 December, 2010, Tsukuba, Japan.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nuutila, A.M. and Aura, A.M. 1997. The effect of salinity, nitrate concentration, pH and temperature on eicosapentaenoic acid (EPA) production by the red unicellular alga *Porphyridium purpureum*." Journal of Biotechnology 55: 55-63.

Okada, S., Murakami, M., Yamaguchi, K., 1995. Hydrocarbon composition of newly isolated strains of the green microalga *B. braunii*. J. Appl. Phycol. **7**, 555–559.

Orpez, R., Martºinez, M.E., Hodaifa, G., El Yousfi, F., Jbari, N., Sanchez, S., 2009. Growth of the microalga *B. braunii* in secondarily treated sewage. Desalin. 246, 625-630.

Parsons, T.R., Maita, Y., and Lalli, C.M., 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press.

Patil, V. 2007. The Relevance of Biofuels. Curr. Sci. p. 92, 707.

Patil, V., Tran, K.Q., Khanh-Quang, Giselrød H. R. 2008. Towards Sustainable Production of Biofuels from Microalgae. International Journal of Molecular Sciences. 9:1188-1195.

Patil, V.; Reitan, K.I.; Knudsen, G.; Mortensen, L.; Kallqvist, T.; Olsen, E.; Vogt, G.; and Gislerød, H.R. 2005. Microalgae as Source of Polyunsaturated Fatty Acids for Aquaculture. Curr. Topics Plant Biol., 6:57-65.

Peña, M. R. de la. 2007. Cell growth and nutritive value of the tropical benthic diatom, *Amphora* sp., at varying levels of nutrients and light intensity, and different culture locations. J Appl Phycol 19:647–655

Petkov,G. and G.Garcia.2007. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*?. Biochemical Systematics and Ecology.35:281-285.

Rao, A. R., C. Dayananda, R. Sarada, T.R. Shamala, and G.A. Ravishankar. 2007. Effect of salinity on growth of green alga *B. braunii* and its constituents. Bioresource Technology. 98: 560-564

Rippka, R. 1988. Recognition and identification of cyanobacteria. Methods in Enzymol. 167:28-67.

Ruangsomboon, S. 2012. Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *B. braunii* KMITL 2. Bioresource technology 109: 261-265.

Ruangsomboon, S., Choochote, S. and Worasing, S. 2010. "Study of total lipid content of fifteen genera of algae." Proceedings of 6th Asian Agriculture Symposium and 1st International Symposium on Agriculture Technology

Schiewer, S. and Volesky, B. 2000. Biosorption Process for Heavy Metal Removal In: Environmental Microbe-Metal Interactions. ASM Press. Washington.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Scott S.A., Davey M.P, Dennis J.S, Horst I., Howe C.J., Lea-Smith D. and Smith A.G. 2010. Biodiesel from algae: challenges and prospects. Current Opinion in Biotechnology. 21:277–286.

Solovchenko A. E., Khozin-Goldberg I., Didi-Cohen S., Cohen Z., and Merzlyak M.N. 2008. Effects of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga *Parietochloris incise*. J Appl Phycol. 20:245–251.

Spolaore, P.C. Joannis-cassan, E. Duran and A. Isambert. 2006. Commercial Applications of microalgae. Journal of bioscience and bioengineering. 101(2) : 87 – 96.

Sun, B.K., Y. Tanji and H. Unno. 2005. Influences of iron and humic acid on the growth of the cyanobacterium *Anabaena circinalis*. Biochemical engineering journal 24: 195-201.

Takagi, M., Karseno and Yohida, T. 2006. Effect of Salt Concentration on Intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* Cells. J. Biosci. Bioeng. 101: 223-226.

Valdivia, M.D., P.M. Aparicio-Tejo, C. Lamsfus, C. Cruz, M.A. Martins-Loucoa and J.F. Moran. 2008. "Nitrogen nutrition and oxidant metabolism in ammonium-tolerant and sensitive plants." Physiol Plant. 132 : 359-369.

Vazquez-Duhalt, R. and Arredondo-Vega, B.O., 1991. "Haloadaptation of the green alga *B. braunii* ('A' Race)." Phytochemistry. 30 (9) : 2919–2925.

Venkataraman, G. S. 1975. The role of blue-green algae in tropical rice cultivation. *In* W. D. P. Stewart. Nitrogen Fixation by Free-living Microorganisms. Cambridge University Press, Cambridge. 207-218.

Vieler, A., Wilhelmb, C., Goss, R., Siib, R., and Schiller, J. 2007. The lipid composition of the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* and the diatom *Cyclotella meneghiniana* investigated by MALDI-TOF MS and TLC. Chemistry and Physics of Lipids 150:143–155.

Wahbeh, M.I. 1997. Amino acid macroalgae and fatty acid profiles of four species of from Aqaba and their suitability for use in fish diets. Aquaculture, 159, 101–109.

Widjaja, A., Chao-Chang, Chien C., Yi-Hsu, C., Ju, Y.H. 2009. Study of increasing lipid production fromfreshwatermicroalgae Chlorella vulgaris. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 40:13-20.

Xin, L., H. Hong-ying, G. Ke and S. Ying-xue. 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp.. Bioresource technology 101: 5494-5500.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Xin, L., Hong-ying, H. and Jia, Y. 2010. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent. New Biotechnology. 27:59-63.

Yeesang, C., Cheirsilp, B., 2011. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. Bioresour. Technol. 102, 3034-3040.

Ying, L.M., Kang-Sen, Shi-Chun, S. and Dao-Zhan, Y. 2001. Effect of light intensity on the total lipid and fatty acid composition of six strains of Marine diatoms. Chinese Journal of Oceanology and Limnology 19: 249-254

Yusuf, C. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances. 25 : 294 – 306.

Zhila, N., Kalacheva, G., Volova, T., 2011. Effect of salinity on the biochemical composition of the alga *B. braunii* Kütz IPPAS H-252. J. Appl. Phycol. 23, 47-52.

Zhila,N.O., G.S.Kalacheva and T.G.Volova. 2004. Effect of nitrogen limitation on the growth and lipid composition of the green alga *B. braunii* Kutz IPPAS H-252. Russian Journal of Plant Physiology.52:311-319.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

Miss Suneerat Ruangsomboon

เพศ หญิง วันเดือนปีเกิด 9 พฤศจิกายน 2515 อายุ 41 ปี

ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ8

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
2538	ตรี	วท.บ. (ประมง) วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยม)	ม.เกษตรศาสตร์	ไทย
2541	โท	วท.ม. (วิทยาศาสตร์การประมง) วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	ม.เกษตรศาสตร์	ไทย
2549	เอก	Ph.D. (Environmental Technology)	King Mongkut's University of Technology Thonburi (International program)	ไทย

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

อนุกรมวิธานของแพลงก์ตอน การใช้ประโยชน์สารสกัดจากสาหร่าย การบำบัดน้ำเสีย

ทุนวิจัยที่เคยได้รับ

1. ความเป็นไปได้ในการผลิตไข่พักไรแดงเป็นการค้า (งบประมาณแผ่นดิน 2544)
2. การบำบัดน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์และสีย้อมปนเปื้อนโดยใช้ *Lemna, Chlorella* และ *Phormidium* (ทุนอุดหนุนการวิจัย ม.ศรีปทุม 2544)
3. การกำจัดสารอินทรีย์และสีย้อมจากน้ำเสียโดยใช้ *Oscillatoria* และ *Microcystis* (งบประมาณแผ่นดิน 2546)
4. การสะสมและถ่ายทอดแคดเมียมผ่านทางห่วงโซ่อาหารในแหล่งน้ำ (สกว. มิ.ย. 2546- มิ.ย. 2547)
5. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดลาบ *Nostoc commune* เพื่อการค้า (รายได้ภาคฯ 2547)
6. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดลาบ (*Nostoc commune*) และสาหร่ายสไปรูไลน่า (*Spirulina platensis*) ในน้ำนมดิบที่ทิ้งจากโรงงานผลิตนมเพื่อใช้เป็นอาหารปลาสวยงามและปลาเศรษฐกิจ(งบประมาณแผ่นดิน 2548-2549)
7. ผลกระทบของแสง และอุณหภูมิ ที่มีต่อเสถียรภาพการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากสาหร่ายในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของเมล็ดพืชทดสอบ (รายได้ภาคฯ 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาสารสกัดจากสาหร่ายต่อการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ (รายได้ภาคฯ 2550)
9. การกำจัดสีย้อมจากน้ำเสียโดยใช้วัสดุเหลือใช้จากสัตว์น้ำ (เปลือกกุ้ง เปลือกปู) (รายได้คณะฯ 2550)
10. แนวทางในการเพิ่มผลผลิต และปริมาณโปรตีนในปลาช่อนโดยการเลี้ยงด้วยอาหารผสม *Spirulina platensis* (เครือข่ายการวิจัยภาคกลางตอนบนประจำปีงบประมาณ 2550)
11. การเจริญเติบโต และคุณค่าทางโภชนาการของปลาช่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* (รายได้ภาคฯ 2551)
12. ศักยภาพและแนวทางการใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Nostoc commune* (งบประมาณแผ่นดิน 2551-2552)
13. ศักยภาพและความเป็นไปได้ในการใช้เซลล์สาหร่ายไซยาโนแบคทีเรียที่มีชีวิตในการกำจัดตะกั่วจากน้ำเสีย (สกว. มิ.ย. 2550- มิ.ย. 2552)

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

1. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2544. การใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ควบคุมปริมาณแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria*. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 9(3):19-23.
2. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2545. การควบคุมการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* โดยใช้ฟอร์มาลินและคลอรีน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 18(3):30-37.
3. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2545. การบำบัดน้ำเสียที่มีตะกั่วและแคดเมียมปนเปื้อนโดยใช้แหนเป็ดเล็ก (*Lemna perpusilla* Torr.). วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 20 (3):1-11.
4. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ, ปวีณา ทวีกิจการ และ กลิ่นสุคนธ์ สุวรรณรัตน์. 2546. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย : *Oscillatoria* sp., *Microcystis* sp. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 21:48-60.
5. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ, ปวีณา ทวีกิจการ และ จตุพร บัณฑิต. 2546. ผลของความเข้มแสงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและการสร้างไข่พักของไรแดง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 21:61-68
6. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2547. การกำจัดตะกั่วและแคดเมียมโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็ก *Phormidium angustissimum* และ *Chlorella vulgaris*. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ (Section T) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 3(1): 287-296.
7. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2547. การดูดซับตะกั่วและแคดเมียมจากน้ำเสียโดยใช้ *Scenedesmus dimorphus* เป็นตัวดูดซับ. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 12(1):42-47.
8. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2547. การผลิตไข่พักของไรแดงภายใต้สภาวะการควบคุมระดับพีเอชและแอมโมเนีย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 22(2):65-75.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และ จำรูญ เล้าสินวัฒนา. 2548. ผลของสารสกัดจากสาหร่ายต่อการงอกของพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 36:978-981.
10. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ บุปผา จงพัฒน์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ปวีณา ทวีกิจการ. 2548. คุณค่าทางโภชนาการของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23(2):38-47.
11. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2549. การสร้างไข่พักของไรแดงที่ระดับอุณหภูมิต่ำและอัตราฟักของไข่พักที่ฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลิน และไข่พักที่เก็บรักษาไว้ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(2):54-62.
12. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2549. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ไข่น้ำ *Wolffia arrhiza* (L.) Wimmer. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(3):1-14.
13. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และ จำรูญ เล้าสินวัฒนา. 2549. ผลของแสงและอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Phormidium angustissimum* ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 37(6):925-928.
14. ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher. 2549. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 14(2):40-49.
15. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2550. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Calothrix marchica* Lemm. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 25:13-26.
16. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2550. การกำจัดตะกั่วจากน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria jasorvensis* และ *Microcystis aeruginosa*. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 14:46-54.
17. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ปวีณา ทวีกิจการ นิธิ พันธุ์คงชื่น. 2551. การเจริญเติบโตของปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Spirulina platensis* แห้ง. การประชุมวิชาการประมงครั้งที่ 3 "เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ" 8-9 ธันวาคม 2551. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ น. 95-104.
18. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ปวีณา ทวีกิจการ ชาติสุพล เตรียมธนานันท์. 2551. คุณค่าทางโภชนาการและปริมาณรงควัตถุของ *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงในปุ๋ยผสมมูลสุกร. การประชุมวิชาการประมงครั้งที่ 3 "เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ" 8-9 ธันวาคม 2551. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ น. 105-115
19. อทิยา สะพานกลาง และ สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. .การดูดซับตะกั่วโดยไซยาโนแบคทีเรีย Stigonema sp. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28:20-30.
20. อภิญญา สโมสร, สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, อำมร อินทร์สังข์ และ จรงศักด์ พุมนวน. 2553. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายขนาดใหญ่ ต่อไรฝุ่น *Dematophagoides*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

pteronyssinus (Trouessart) โดยวิธีสัมผัส. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. น 184-191.

21. อทิยา สะพานกลาง และ สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2553. การเจริญเติบโตและการดูดซับตะกั่วจากน้ำเสียโดยไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สารอาหารที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. น 193-202.
22. นำถม ตั้งคำ และสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2553. คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาดุกที่มีการเจริญเติบโตอย่างหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. น 305-312.

งานวิจัยที่ตีพิมพ์เป็นภาษาอังกฤษ

1. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2004. Bioremoval of Lead by cyanobacteria : *Gloeocapsa* sp. and *Calothrix marchica*. Proceeding of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science and technology. 2:188-191.
2. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2004 . Lead (Pb^{2+}) Adsorption potentials of *Gloeocapsa* sp. and role of its capsular polysaccharides. Proceeding of The International Conference on Sustainable Energy and Environment. 3(011):210-213 .
3. Ruangsomboon, S., A. Chidthaisong, B. Bunnag, D. Inthorn and N.W. Harvey. 2004b. Lead (Pb^{2+}) Adsorption potentials of *Gloeocapsa* sp. and role of its capsular polysaccharides. Proceeding of The International Conference on Sustainable Energy and Environment. 3(011):210-213 .
4. Ruangsomboon, S. and Wongrat, L. 2006. Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*C. regularis)*, zooplankton (*M. macrocopa)*, and the predatory catfish. Aquatic Toxicology. 78:15-20.
5. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2006. Production, composition and Pb^{2+} adsorption characteristics of capsular polysaccharides extracted from a cyanobacterium *Gloeocapsa gelatinosa*. Water Research. 40:3759-3766.
6. Ruangsomboon, S. and Wongrat, L. 2007. Bioaccumulation of Cadmium in an Experimental Aquatic Ecosystem Involving Phytoplankton, Zooplankton, Catfish and Sediment. Kasetsart Journal (Natural Science) 41:180-185.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. Ruangsomboon, S. 2007. Removal of lead (Pb^{2+}) by the cyanobacterium *Phormidium angustissimum*. Proceedings of The International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST) "Biological Diversity, Food and Agricultural Technology", Bangkok, Thailand. 26-27 April 2007, 340-344.
8. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2007. Lead (Pb^{2+}) adsorption characteristics and sugar composition of capsular polysaccharides of cyanobacterium *Calothrix marchica.* Songklanakarin Journal of Science and Technology. 29:529-541.
9. Ruangsomboon, S. 2007. Removal of lead (Pb^{2+}) by the cyanobacterium *Phormidium angustissimum*. Proceedings of The International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST) "Biological Diversity, Food and Agricultural Technology". 26-27 April 2007. p. 340-344.
10. Ruangsomboon, S. 2007. Nitrate, ammonia and orthophosphate removal from wastewater by duckweed *Lemna perpusilla* Torr. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 922-925.
11. Ruangsomboon, S. 2007. Study of the parameters affecting the binding of cadmium (Cd^{2+}) in solution by *Phormidium angustissimum* West & G.S. West. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 918-921.
12. Ruangsomboon, S. and Choochote, S. 2007. Effect of feeding diets containing *Nostoc commune* on growth, survival, protein and carotenoid content of red tilapia *Oreochromis niloticus*. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 772-775.
13. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2008. Removal of lead (Pb^{2+}) by cyanobacteria *Gloeocapsa sp.* Bioresource Technology. 99:5650-5658.
14. Ruangsomboon, S. Choochote, S. and Taveekijakarn P. 2010. Growth performance and nutritional composition of red tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus*) fed Diets containing raw *Spirulina platensis*. The international conference on Sustainable community development 2010. 21-23 January, 2010. Khon Kaen University, Nong Khai campus, Thailand and Vientiane, Lao PDR. P. 27-31.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้