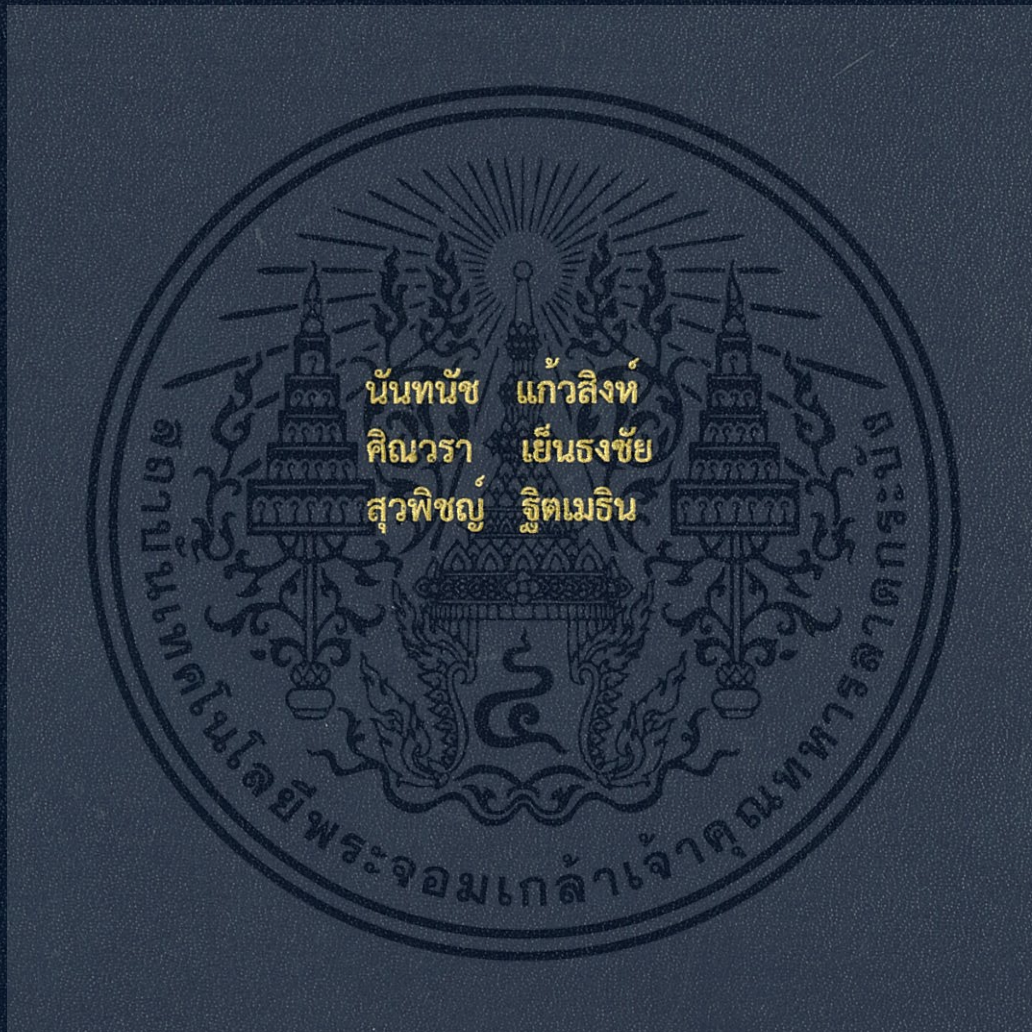


การผลิตชีวมวลของสาหร่ายสีเขียวในสภาวะแวดล้อมเกลือ
Green algal biomass production in salt environment



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การผลิตชีวมวลของสาหร่ายสีเขียวในสภาวะแวดล้อมเกลือ
Green algal biomass production in salt environment



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Green algal biomass production in salt environment




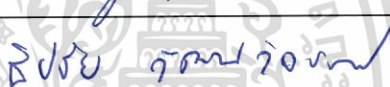

Nantanat Kaewsingha
Sinawara Yentongchai
Suvaphit Titmatin

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (ENVIRONMENTAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตชีวมวลของสาหร่ายสีเขียวในสภาวะแวดล้อมเกลือ Green algal biomass production in salt environment
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนันท์นัช แก้วสิงห์ รหัสนักศึกษา 57050611 นางสาวศิวฉวีรดา เย็นธงชัย รหัสนักศึกษา 57050643 นายสุวิทย์ ฐิตเมธิน รหัสนักศึกษา 57050656
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเคมีสิ่งแวดล้อม) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ชมพูนุท ไชยรักษ์ ประธานกรรมการ	
ดร. ธิปชัย วัฒนวิจารณ์ กรรมการ	
ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตชีวมวลของสาหร่ายสีเขียวในสภาวะแวดล้อมเกลือ
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนันทน์ช แก้วสิงห์ รหัสนักศึกษา 57050611 นางสาวศิณวรา เย็นธงชัย รหัสนักศึกษา 57050643 นายสุวิษญ์ จิตเมธิน รหัสนักศึกษา 57050656
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชา	เคมี
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์

บทคัดย่อ

สาหร่ายสีเขียวจัดเป็นจุลินทรีย์ที่อุดมไปด้วยโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมันสูง สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมได้หลากหลายรูปแบบ โครงการพิเศษนี้ต้องการศึกษาชนิดและสภาวะที่เหมาะสมของเกลือต่อการเพิ่มปริมาณสาหร่าย โดยใช้สาหร่ายสีเขียว 4 สายพันธุ์ เกลือ 21 ชนิด โดยการปรับความหนาแน่นเริ่มต้นของสาหร่ายเป็น 0.1 ($OD_{750}=0.1$) บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิภายใต้ความเข้มแสง 1,500 LUX อุณหภูมิ 36 °C จากการศึกษาพบว่าสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้น 10 mM เป็นเวลา 2 วัน มีจำนวนเซลล์, ความหนาแน่น, น้ำหนักเซลล์แห้ง, Chlorophyll A, Chlorophyll B, Total Chlorophyll และ Carotenoid โดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็นคิดเป็น 1.1103, 1.0610, 1.0604, 1.1555, 1.2466, 1.1162 และ 1.0528 เท่าของชุดควบคุมตามลำดับ ส่วนสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $NaNO_3$ 5 mM มีจำนวนเซลล์, ความหนาแน่น, น้ำหนักเซลล์แห้ง Chlorophyll A, Chlorophyll B และ Total Chlorophyll โดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นคิดเป็น 1.2094, 1.0811, 1.0812, 1.0278, 1.4755 และ 1.1735 เท่าของชุดควบคุมตามลำดับ แต่ Carotenoid มีค่าเฉลี่ยลดลงคิดเป็น 0.8191 เท่าของชุดควบคุม

คำสำคัญ : สาหร่าย, สาหร่ายสีเขียว, ชีวมวล, เกลือ, รงควัตถุ, คลอโรฟิลล์, แคโรทีนอยด์, ความหนาแน่น

Title	Green algal biomass production in salt environment	
Students	Miss Nantanat Kaewsingha	Student ID 57050611
	Miss Sinawara Yentongchai	Student ID 57050643
	Mr. Suvaphit Titmatin	Student ID 57050656
Degree	Bachelor of Science (Environmental Chemistry)	
Department	Chemistry	
Faculty	Science	
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
Academic Year	2017	
Advisor	Dr. Cherdsak Maneeruttanarungroj	

Abstract

Green algae were identified as the organism enriched with protein, carbohydrate and lipid. Algae can be used in a various industries such as food industry, cosmetic industry and etc. In this special project, biomass production was studied under salt stress. Four algal strains were used to screen with 21 different salt types. Cells with initial density of 0.1 ($OD_{750} = 0.1$) were incubated under light intensity of 1,500 LUX, temperature of 36 °C. The results showed that KS01 cultivated in 10 mM H_2PO_4 for 2 days showed an increase of cell count, cell density, cell dry wight, Chlorophyll A, Chlorophyll B, Total chlorophyll and Carotenoid as 1.0103, 1.0610, 1.0604, 1.1555, 1.2466, 1.1162 and 1.0528 folds when compared to control, respectively. Algal KS03 cultivated in 5 mM $NaNO_3$ showed an increase of cell count, cell density, cell dry wight, Chlorophyll A, Chlorophyll B and Total chlorophyll as 1.2094, 1.0811, 1.0812, 1.0278, 1.4755 and 1.1735 folds when compared to control, respectively. Only Carotenoid was found to decreases as 0.8191 folds when compared to control.

Keywords : Algae, Green algal, Biomass, Salt, Pigment, Chlorophyll A, Chlorophyll B, Total chlorophyll, Carotenoid

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีพระคุณ
ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ดร. เชิดศักดิ์ มณีรัตน์รุ่งโรจน์ อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา อาจารย์ที่
ปรึกษาโครงการพิเศษที่ให้ความช่วยเหลือ เสนอแนะ แก้ไข ปรับปรุงให้ความอนุเคราะห์และเอาใจใส่
ในรายละเอียดของการทำโครงการพิเศษอย่างใกล้ชิด

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ชมพูนุท ไชยรักษ์ ประธานกรรมการสอบโครงการพิเศษและ ดร. ธิปชัย วัฒน
วิจารณ์ กรรมการสอบโครงการพิเศษที่ให้ความช่วยเหลือและให้ข้อเสนอแนะ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และบุคลากร ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยี
พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำให้ความรู้ อีกทั้งสนับสนุนในการทำโครงการ
พิเศษครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาเคมี ที่ให้ความรู้และความช่วยเหลือในการใช้
อุปกรณ์เครื่องมือและสารเคมีในการทำโครงการพิเศษ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้อุปกรณ์
การวิเคราะห์ทางชีววิทยา

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำสำนึกในพระคุณของทุกๆท่าน และขอถือโอกาสนี้กราบขอบพระคุณทุกท่าน
ที่ให้ความอนุเคราะห์ ให้กำลังใจและคำปรึกษา ในการทำโครงการพิเศษนี้มาโดยตลอด

นันท์นัช แก้วสิงห์
ศิวารา เย็นธงชัย
สุวิพิชญ์ ฐิตเมธิน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	1
1.3 ขอบเขต.....	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 หลักเกณฑ์ในการจัดสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่.....	5
2.1.1 ประเภทของรงควัตถุ.....	5
2.1.2 ประเภทของอาหารสะสม.....	6
2.1.3 ประเภทขององค์ประกอบของผนังเซลล์.....	6
2.1.4 จำนวนและตำแหน่งของแฟลกเจลลัม.....	7
2.2 การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย.....	7
2.3 การเพาะเลี้ยงและปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก... ..	7
2.3.1 รูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก.....	7
2.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	9
2.4 การใช้ประโยชน์สาหร่ายขนาดเล็กในรูปแบบต่างๆ.....	11
2.5 การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย.....	12
2.5.1 การวัดโดยตรง.....	12
2.5.2 การวัดประชากรสาหร่ายโดยอ้อม.....	13
2.6 การทำให้เชื้อบริสุทธิ์.....	13
2.7 เกลือ.....	15
2.7.1 คุณสมบัติของเกลือ.....	15
2.7.2 การเรียกชื่อ.....	16
2.7.3 การสังเคราะห์.....	16
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	16
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	19
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	19
3.1.1 เครื่องมือ.....	19
3.1.2 อุปกรณ์.....	19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2 สารเคมี.....	20
3.2.1 สารเคมีสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย สูตร Tris-Acetate-Phosphate ..	20
3.2.2 สารละลายเกลือ.....	20
3.2.3 สารเคมีอื่นๆ.....	21
3.2.4 สาหร่าย.....	21
3.3 วิธีการเตรียมสารเคมี.....	21
3.3.1 สารละลายสต็อก NaCl เข้มข้น 1 M.....	21
3.3.2 สารละลายสต็อก $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M.....	21
3.3.3 สารละลายสต็อก NaNO_3 เข้มข้น 1 M.....	21
3.3.4 สารละลายสต็อก Na_2CO_3 เข้มข้น 1 M.....	21
3.3.5 สารละลายสต็อก Na_2SO_4 เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.6 สารละลายสต็อก Na_2HPO_4 เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.7 สารละลายสต็อก KCl เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.8 สารละลายสต็อก KNO_3 เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.9 สารละลายสต็อก KF เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.10 สารละลายสต็อก KI เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.11 สารละลายสต็อก KH_2PO_4 เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.12 สารละลายสต็อก K_2HPO_4 เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.13 สารละลายสต็อก $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.14 สารละลายสต็อก K_2CO_3 เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.15 สารละลายสต็อก $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.16 สารละลายสต็อก CaCO_3 เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.17 สารละลายสต็อก $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.18 สารละลายสต็อก $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.19 สารละลายสต็อก $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.20 สารละลายสต็อก $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M.....	22
3.3.21 สารละลายสต็อก NH_4Cl เข้มข้น 1 M.....	22
3.4 การเตรียมอาหาร Tris-Acetate-Phosphate (TAP).....	22
3.4.1 อาหารเหลว.....	22
3.4.2 อาหารวุ้น.....	23
3.5 การเพิ่มปริมาณสาหร่าย.....	23
3.6 การคัดกรองเกลือ.....	24
3.7 การปรับความเข้มข้นของเกลือให้เหมาะสม.....	24
3.8 การวัดชีวมวลและการเจริญเติบโตของสาหร่าย.....	24
3.8.1 การนับเซลล์ใช้ Heamacytometer counting chamber.....	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปเผยแพร่ภายนอก

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.8.2 การหาความหนาแน่นโดยอาศัยแสง.....	25
3.8.3 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง.....	25
3.8.4 การวิเคราะห์ปริมาณ Chlorophyll A.....	25
3.8.5 การวิเคราะห์ปริมาณ Chlorophyll B.....	26
3.8.6 การวิเคราะห์ปริมาณ Total Chlorophyll.....	26
3.8.7 การวิเคราะห์ปริมาณ Carotenoid.....	26
3.9 การคำนวณทางสถิติ.....	26
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	27
4.1 การคัดกรองชนิดของเกลือ.....	27
4.1.1 สาหร่าย KS01 ที่ความเข้มข้นเกลือ 20 mM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	27
4.1.2 สาหร่าย KS03 ที่ความเข้มข้นเกลือ 20 mM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	28
4.1.3 สาหร่าย <i>Bumilleriopsis peterseniana</i> ที่ความเข้มข้นเกลือ 20 mM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	30
4.1.4 สาหร่าย <i>Tetraspora</i> sp. CU2551 ที่ความเข้มข้นเกลือ 20 mM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	31
4.1.5 สาหร่าย <i>Tetraspora</i> sp. CU2551 ที่ความเข้มข้นเกลือ 20 mM เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	33
4.2 การปรับความเข้มข้นของเกลือให้เหมาะสม.....	34
4.3 การวัดชีวมวลและการเจริญเติบโตของสาหร่าย.....	44
4.3.1 ความสัมพันธ์ของเกลือ KH_2PO_4 10 mM ต่อสาหร่าย KS01.....	44
4.3.2 ความสัมพันธ์ของเกลือ NaNO_3 5 mM ต่อสาหร่าย KS03.....	49
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	54
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	54
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	55
เอกสารอ้างอิง.....	56
ภาคผนวก.....	58
ภาคผนวก ก.....	59
ภาคผนวก ข.....	74

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 การกระจายตัวของรงควัตถุต่างๆ ในสิ่งมีชีวิตประเภท Eukaryotic และ Prokaryotic	5
2.2 ข้อจำกัดของรูปแบบของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก.....	8
3.1 การเตรียมอาหาร Tris-Acetate-Phosphate (TAP)	23
4.1 สรุปผลการคัดกรองชนิดของเกลือ	34
4.2 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaNO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ	35
4.3 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KI ที่ความเข้มข้นต่างๆ	35
4.4 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KCl ที่ความเข้มข้นต่างๆ	36
4.5 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KNO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ	36
4.6 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ	37
4.7 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ CaCO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ	37
4.8 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ	38
4.9 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้นต่างๆ	38
4.10 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KNO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ	39
4.11 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้นต่างๆ	39
4.12 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ CaCO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ	40
4.13 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ	40
4.14 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NH_4Cl ที่ความเข้มข้นต่างๆ	41
4.15 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaNO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ	41
4.16 สรุปความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมแต่ละสาหร่าย	42
4.17 ค่าการดูดกลืนแสงของเกลือ CaCO_3 ที่ความยาวคลื่น 750 nm	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 กระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสีเขียว.....	4
2.2 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย.....	12
2.3 Single Beam Spectrophotometer.....	13
2.4 Split Beam Spectrophotometer.....	13
2.5 ลักษณะการลากเส้นบนอาหารวุ้น.....	14
2.6 ขั้นตอนการลากเส้นบนอาหารวุ้น.....	15
3.1 Heamacytometer counting chamber.....	25
4.1 ผลการคัดกรองเกลือของสาหร่าย KS01.....	28
4.2 ผลการคัดกรองเกลือของสาหร่าย KS03.....	29
4.3 ผลการคัดกรองเกลือของสาหร่าย <i>Bumilleriopsis peterseniana</i>	31
4.4 ผลการคัดกรองเกลือของสาหร่าย <i>Tetraspora</i> sp. CU2551 24 ชั่วโมง.....	32
4.5 ผลการคัดกรองเกลือของสาหร่าย <i>Tetraspora</i> sp. CU2551 48 ชั่วโมง.....	33
4.6 สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5 mM สาหร่ายเกิดการจับตัวเป็นก้อน ภายในขวดรูปชมพู่.....	43
4.7 สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 15 mM เมื่อส่องกล้องจุลทรรศน์ เพื่อนับจำนวนเซลล์ปรากฏว่ามีตะกอนสาหร่ายขวางอยู่ทำให้นับจำนวนเซลล์ไม่ได้.....	43
4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และจำนวนเซลล์สาหร่าย KS01 ($\times 10^6$ cell/ml).....	44
4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และความหนาแน่นเซลล์สาหร่าย KS01 ที่ความยาวคลื่น 750 nm.....	45
4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย KS01 (mg/ml).....	45
4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Chlorophyll A ของสาหร่าย KS01 ($\mu\text{g/ml}$).....	46
4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Chlorophyll B ของสาหร่าย KS01 ($\mu\text{g/ml}$).....	47
4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Total Chlorophyll ของสาหร่าย KS01 ($\mu\text{g/ml}$).....	47
4.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Carotenoid ของสาหร่าย KS01 ($\mu\text{g/ml}$).....	48
4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และจำนวนเซลล์สาหร่าย KS03 ($\times 10^6$ cell/ml).....	49
4.16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และความหนาแน่นเซลล์สาหร่าย ของสาหร่าย KS03 ที่ความยาวคลื่น 750 nm.....	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย KS03 (mg/ml).....	50
4.18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Chlorophyll A ของสาหร่าย KS03 (µg/ml).....	51
4.19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Chlorophyll B ของสาหร่าย KS03 (µg/ml).....	52
4.20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Total Chlorophyll ของสาหร่าย KS03 (µg/ml).....	52
4.21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Carotenoid ของสาหร่าย KS03 (µg/ml).....	53



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ภายใต้การแข่งขันของภาคอุตสาหกรรมในปัจจุบัน นับว่ามีการแข่งขันที่สูงมาก ซึ่งผู้ประกอบการล้วนต้องการลดต้นทุนในการผลิตของผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อให้ได้กำไรสุทธิที่มาก ซึ่งเกิดจากการพัฒนาองค์ความรู้และเทคโนโลยีให้ล้ำสมัย เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของตลาดในยุคโลกาภิวัตน์ ดังนั้นอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจึงเป็นที่น่าสนใจ ทางผู้จัดทำจึงสนใจที่จะทำการเพิ่มปริมาณสาหร่ายให้มากขึ้น ในเวลาที่น้อยลงหรือเท่าเดิม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของอุทิศ และคณะเป็นการศึกษาเกี่ยวกับความเค็มที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสไปรูไลนา ผู้จัดทำมีความสนใจที่จะใช้วิธีดังกล่าว จึงได้ทำการศึกษาโดย การนำสาหร่าย 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Tetraspora* sp. CU2551, *Bumilleriopsis peterseniana*, KS01 และ KS03 ซึ่งสาหร่ายทั้ง 4 สายพันธุ์นี้ เป็นสาหร่ายน้ำจืดสีเขียว ที่มีอยู่ในภาควิชาเคมี *Tetraspora* sp. CU2551 ได้มาจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, *Bumilleriopsis peterseniana* ได้จากโรงงานผลิตเอทานอลเพื่อการบำบัดเสียสำน้ำตาล ส่วน KS01 และ KS03 พบที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง นำสาหร่าย 4 สายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีความแตกต่างกัน โดยเกลือที่นำมาศึกษามีธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองในโครงสร้างของเกลือ ผลผลิตที่เกิดจากสาหร่ายนั้น จัดเป็นผลผลิตที่มีประโยชน์อย่างมากมายนับไปถ้าวาน โดยมนุษย์ได้มีการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายมาอย่างยาวนาน เช่น การทำปุ๋ย ทำอาหารสัตว์เลี้ยง อุตสาหกรรมอาหารที่ใช้สารสกัดจากสาหร่ายมาเป็นส่วนผสมในการผลิตอาหาร อาหารเสริม ผลิตภัณฑ์ลดความอ้วน รวมถึงใช้ในการบำรุงคุณภาพน้ำเสีย ที่สาหร่ายสามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมาย เป็นเพราะสาหร่ายนั้นอุดมไปด้วยสารอาหารและแร่ธาตุอีกมากมาย (ส่วนวิจัยเกษตรกรรมฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย, 2557)

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาชนิดของเกลือและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณของสาหร่าย
2. เพื่อศึกษาการเพิ่มขึ้นของชีวมวลในเชิงการนับเซลล์, ความหนาแน่น, น้ำหนักเซลล์แห้งและรงควัตถุชนิดต่างๆ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. สายพันธุ์สาหร่าย

1.1 สาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ได้มาจากภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 สาหร่าย *Bumilleriopsis peterseniana* ได้มาจากงานวิจัยการคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจากน้ำเสียโรงงานผลิตเอทานอลเพื่อการบำบัดน้ำเสียน้ำตาลของ นายปัญญา รัชช์ รุ่งนุรักษ์, นางสาวมดา โล่ห์วีรหัตถ์ และนายพรพล พุกพิบูลย์

1.3 สาหร่าย KS01 ได้มาจากงานวิจัยการคัดแยกสาหร่ายในบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังเพื่อการผลิตไฮโดรเจนชีวภาพ ของนางสาววีรชราภรณ์ เสมาศัย, นางสาววิภารัตน์ ชูจง และนายอดิสรณ์ รักษาสิริ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 สาหร่าย KS03 ได้มาจากงานวิจัยการคัดแยกสาหร่ายในบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังเพื่อการผลิตไฮโดรเจนชีวภาพ ของนางสาววัชรภรณ์ เสมาศัย, นางสาววิภารัตน์ ชูทอง และนายอดิสรณ์ รักษาสิริ

2.เกลือที่ใช้ในการศึกษามีทั้งหมด 21 ชนิด คือ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl), โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), โซเดียมไนเตรต (NaNO_3), โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3), โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4), ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4), โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl), โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3), โพแทสเซียมฟลูออไรด์ (KF), โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI), โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4), ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4), ไตรโพแทสเซียมฟอสเฟตไตรไฮเดรต ($\text{K}_3\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), โพแทสเซียมคาร์บอเนต (K_2CO_3), แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3), แคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), สารส้ม ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$), แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), กรดซิติค ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) และ แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)

3.การคัดกรองชนิดของเกลือ

นำสาหร่ายมาเพาะเลี้ยงด้วยเกลือลงในจานเพาะเชื้อแบบ 3x4 หลุม บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิภายใต้ความเข้มแสง 1,500 LUX อุณหภูมิ 36 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกเกลือที่มีสีเขียวเข้มกว่าชุดควบคุม

4.การปรับความเข้มข้นของเกลือให้เหมาะสม

นำสาหร่ายมาเพาะเลี้ยงด้วยเกลือที่คัดกรองได้ ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 mM ลงในจานเพาะเชื้อแบบ 3x4 หลุม บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิภายใต้ความเข้มแสง 1,500 LUX อุณหภูมิ 36 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกความเข้มข้นที่มีค่าความหนาแน่นที่ 750 nm มากกว่าชุดควบคุม

5.การติดตามการเพิ่มขึ้นของชีวมวล

5.1 การนับเซลล์

5.1.1 หยดตัวอย่างสาหร่ายลงในช่องใส่ตัวอย่างของ Hemacytometer จากนั้นจึงใช้ Cover Glass ปิดทับตัวอย่าง แล้วทิ้งไว้ 1 นาทีเพื่อให้เซลล์สาหร่ายลอยตัวลงไปสู่พื้นของสไลด์

5.1.2 ส่องเซลล์ผ่านกล้องจุลทรรศน์ โดยเริ่มที่กำลังขยายที่ต่ำที่สุดแล้วค่อยเพิ่มกำลังขยายที่สูงขึ้นจนสามารถมองเห็นเซลล์สาหร่ายบนแถบเส้น โดยจะต้องเห็นโคโลนีของสาหร่ายอย่างชัดเจน ถ้าหากไม่สามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจนจะต้องทำการเจือจางสาหร่ายจนสามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจน

5.1.3 ทำการนับเซลล์สาหร่ายที่อยู่ภายในช่องสี่เหลี่ยม 25 ช่อง แล้วคำนวณในสมการ (3.1)

5.2 การหาความหนาแน่นโดยอาศัยแสง

นำตัวอย่างสาหร่ายมาวัดความหนาแน่นที่ความยาวคลื่น 750 nm

5.3 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

นำค่าความหนาแน่นโดยอาศัยแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm มาคำนวณในสมการ (3.2)

5.4 การวิเคราะห์ปริมาณ Chlorophyll A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำสาหร่ายที่ถูกสกัดด้วยเมทานอลมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665.2 และ 652.4 nm คำนวณในสมการ (3.3)

5.5 การวิเคราะห์ปริมาณ Chlorophyll B

นำสาหร่ายที่ถูกสกัดด้วยเมทานอลมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665.2 และ 652.4 nm คำนวณในสมการ (3.4)

5.6 การวิเคราะห์ปริมาณ Total Chlorophyll

นำค่าที่คำนวณได้จากสมการ (3.3) และ (3.4) มาบวกกัน

5.7 การวิเคราะห์ปริมาณ Carotenoid

นำสาหร่ายที่ถูกสกัดด้วยเมทานอลมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 nm คำนวณในสมการ (3.5)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. นำความรู้ที่ได้จากโครงการพิเศษไปเผยแพร่สู่สาธารณชนเพื่อนำไปประกอบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อนำเข้าสู่ภาคอุตสาหกรรม

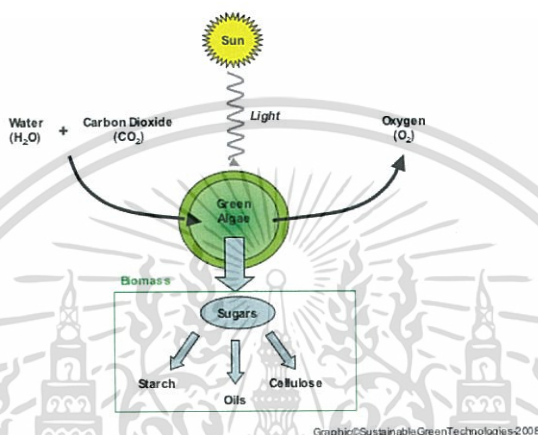


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สาหร่าย (algal) เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์จนถึงขนาดใหญ่ที่มองดูเหมือนมีราก, ลำต้นและใบซึ่งรวมเรียกว่า ทัลลัส (thallus) ส่วนใหญ่มีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์แสง ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 กระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสีเขียว
(ที่มา : Sustainable Green Technologies, 2008)

ชาวจีนเป็นชนชาติแรกที่รู้จักใช้ประโยชน์จากสาหร่าย โดยได้เขียนไว้ในหนังสือชื่อ Material Medica ซึ่งเป็นตำรายาโบราณกล่าวถึง การนำเอาสาหร่ายบางชนิดมาเป็นอาหาร (Papenfuss, 1976) เช่น *Nostoc*, *Hydrodictyon* และ *Laminaria* งานทางด้านวิชาการของสาหร่ายเริ่มจากประเทศในทวีปยุโรปก่อนปี ค.ศ. 1800 จุดเริ่มต้นที่สำคัญมากคือการตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ของสาหร่ายกลุ่มหนึ่งโดย Carl Linnaeus ส่วน Samvel Gottlieb Gmelin ได้คิดวิธีเก็บตัวอย่างสาหร่ายโดยการอัดแห้งและได้เขียนหนังสือเกี่ยวกับพืชทะเล ซึ่งรวมทั้งสาหร่ายทะเลด้วยชื่อว่า *Historia Forum* สำหรับประเทศสหรัฐอเมริกา ได้มีการศึกษาสาหร่ายทะเลเมื่อกลางศตวรรษที่ 19 และต่อมาปลายศตวรรษที่ 19 William Gibbs Farlow แห่งมหาวิทยาลัยฮาร์วาร์ด เป็นผู้บุกเบิกงานด้านสาหร่ายและจัดตั้ง Farlow Herbarium and library ขึ้นที่มหาวิทยาลัยฮาร์วาร์ด ซึ่งเป็นแหล่งรวบรวมสาหร่ายที่มีชื่อเสียงมากแห่งหนึ่งของโลก ต่อมา มีผู้ศึกษาสาหร่ายอีกเป็นจำนวนมากที่ศึกษาสาหร่ายตามแหล่งต่าง ๆ ของสหรัฐอเมริกาและได้เขียนตำราทางสาหร่าย ซึ่งมีชื่อเสียงเป็นที่รู้จักกันหลายคน เช่น William Randolph Taylor, George Hollengerg, Gillbert Morgan Smith, Felix E. Fritsch, Maxwell Doty, Gerald W. Prescott, Elmer Yale Dawson, Geroge F. และ Papenfuss เป็นต้น (Prescott, 1951)

กระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจะมีลักษณะคล้ายกับพืชชั้นสูง คือ ใช้คลอโรฟิลล์ - เอ เป็นตัวรับพลังงานจากแสง (antenna molecules) และมีการปลดปล่อยออกซิเจนซึ่งจะมีความแตกต่างจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสิ่งมีชีวิตในกลุ่มแบคทีเรียสังเคราะห์แสง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(photosynthetic bacteria) อย่างไรก็ตาม ยังมีข้อยกเว้นให้กับสาหร่ายบางชนิดที่สามารถดำรงชีวิตในรูปแบบอื่น ๆ นอกเหนือไปจากออโตโทรฟิก (autotrophic) เช่น สาหร่ายหลายชนิดสามารถเจริญได้ทั้งแบบออโตโทรฟิก (สร้างอาหารเองได้โดยการสังเคราะห์แสง) และแบบเฮเทอโรโทรฟิก (heterotrophic หมายความว่า สร้างอาหารเองจากสารอินทรีย์ไม่ได้ จึงต้องมีการบริโภคสารอินทรีย์เข้าสู่เซลล์) หรือบางชนิดอาจดำรงชีวิตแบบเฮเทอโรโทรฟิกเพียงอย่างเดียวตัวอย่างเช่น *Schizochytrium* เป็นจุลชีพในกลุ่ม Thraustochytrids ที่ไม่สังเคราะห์แสง แต่บางครั้งก็ถูกจัดอยู่ในกลุ่มสาหร่าย แม้กระทั่งผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์น้ำที่ผลิตจาก *Schizochytrium* ก็ถูกเรียกว่า สาหร่าย จุลชีพกลุ่มนี้เคยถูกจำแนกอยู่ในกลุ่มของราชั้นต่ำ (lower fungi) แต่ที่ได้รับการจำแนกกว่าเป็นสาหร่ายเนื่องจากมีสายวิวัฒนาการร่วมกับสาหร่ายในกลุ่ม *Chromophyta* การที่สาหร่ายแต่ละชนิดมีขนาดและการดำรงชีวิตที่แตกต่างกัน ตั้งแต่สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเพียง 3 μm จนถึงสาหร่าย *Macrocystis pyrifera* ที่มีความยาวมากกว่า 50 เมตร ทำให้ผู้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสาหร่ายมักจะแยกความสนใจออกเป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มของจุลสาหร่าย (microalgae) และมหาสาหร่าย (macroalgae) โดยจุลสาหร่ายนั้น มีความหมายครอบคลุมสาหร่ายขนาดเล็กที่มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น (microscopic algae) ในขณะที่มหาสาหร่ายจะหมายถึง สาหร่ายที่มีขนาดใหญ่ โดยเฉพาะกลุ่มของสาหร่ายทะเล (seaweeds) และก็รวมถึงสาหร่ายน้ำจืดที่มีขนาดใหญ่ด้วย (สรวิศ, 2543)

2.1 หลักเกณฑ์ในการจัดสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่

2.1.1 ประเภทของรงควัตถุ (Type of Pigment) รงควัตถุในสาหร่ายมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น คลอโรฟิลล์ มี 4 ชนิด Chlorophyll a, b, c, d แครโทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นสารสีประกอบ (Accessory pigments) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด แคโรทีน (Carotenes) มีสีส้ม เป็นสารสีพวกไฮโดรคาร์บอนและแซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) หรือ ออกซีแคโรทีน (Oxycarotene) มีสีเหลือง ไฟโคบิลโพรตีน (Phycobiloproteins) เป็นสารสีประกอบเช่นเดียวกันแคโรทีนอยด์ แต่ไฟโคบิลโพรตีนเป็นสารประกอบเชิงซ้อน สาหร่ายแต่ละชนิดมี รงควัตถุแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 การกระจายตัวของรงควัตถุต่างๆในสิ่งมีชีวิตประเภท Eukaryotic และ Prokaryotic

ประเภทของรงควัตถุ	สิ่งมีชีวิต	แสงที่ดูดกลืน
Chlorophyll a	พืชชั้นสูง, สาหร่ายสีเขียว, สาหร่ายไดอะตอม, สาหร่ายสีแดง, สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน	แสงสีแดงและสีม่วง-น้ำเงิน
Chlorophyll b	พืชชั้นสูง, สาหร่ายสีเขียว	แสงสีแดงและสีม่วง-น้ำเงิน
Chlorophyll c	สาหร่ายสีน้ำตาล, สาหร่ายไดอะตอม	แสงสีแดงและสีม่วง-น้ำเงิน
Chlorophyll d	สาหร่ายสีแดง	แสงสีแดงและสีม่วง-น้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1(ต่อ) การกระจายตัวของรงควัตถุต่างๆในสิ่งมีชีวิตประเภท Eukaryotic และ Prokaryotic

ประเภทของรงควัตถุ	สิ่งมีชีวิต	แสงที่ดูดกลืน
Protochlorophyll	พืชที่ไม่ได้รับแสง	แสงสีที่ใกล้ช่วงแสงสีแดงและแสงสีม่วง-น้ำเงิน
Bacteriochlorophyll a	แบคทีเรียสีม่วง, แบคทีเรียสีเขียว	แสงสีที่ใกล้ช่วงแสงสีแดงและแสงสีม่วง-น้ำเงิน
Bacteriochlorophyll b	แบคทีเรียสีม่วง	แสงสีที่ใกล้ช่วงแสงสีแดงและแสงสีม่วง-น้ำเงิน
Phycobilins		
Phycocerythrobilin	สาหร่ายสีแดง	แสงสีเขียว
(ii) Phycocyanobilin	สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน	แสงสีแดง-ส้ม
Caratenoides (Santhophylls, Caratenes)	พืชและแบคทีเรีย	แสงสีน้ำเงินและสีเขียว-น้ำเงิน

(ที่มา : Rivika B)

2.1.2 ประเภทของอาหารสะสม (Type of reserved product) อาหารสะสมเป็นผลจากการสังเคราะห์แสงซึ่งเป็นการใช้พลังงานรังสีเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนที่ได้มาจากน้ำหรือจากแหล่งไฮโดรเจนอื่น ๆ ผลจากการสังเคราะห์แสงได้น้ำตาลซึ่งนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหายใจในขบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) อาหารสะสมของสาหร่ายจะได้สารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเก็บสะสมไว้ในรูปของแป้ง (Starch) เลียวโคซิน (Leucosin) ลามินาริน (Laminarin) แมนนิทอล (Manitol) ไขมัน (Fat) น้ำมัน (Oil) คอเรสเตอรอล (Cholesterol) เออโกสเตอรอล (Ergosterol) ฟิวโดสเตอรอล (Focosterol) พารามายรอน (Paramyron) เป็นต้น

2.1.3 ประเภทขององค์ประกอบของผนังเซลล์ (Type of cell wall components) เซลล์ของสาหร่ายคล้ายกับเซลล์ของพืชทั่วไป คือ ประกอบด้วยโครงสร้างที่สำคัญ 3 ประการ คือ ผนังเซลล์ ไซโทพลาสซึมและนิวเคลียส ผนังเซลล์ สาหร่ายหลายชนิดไม่มีผนังเซลล์ บางชนิดผนังเซลล์ก็เปลี่ยนแปลงไปโดยมีสารอื่นมาห่อหุ้ม แต่ส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารจำพวกคาร์โบไฮเดรตบางชนิดประกอบด้วยซิลิเกต (Silicate) เช่น ผนังเซลล์ของไดอะตอมบางชนิดประกอบด้วยโปรตีนลิปิด มิวโคเพปไทด์ (Mucopetide) และเซลลูโลส ฯลฯ ผนังเซลล์ส่วนใหญ่มี 2 ชั้นชั้นนอกมีลักษณะอ่อนนุ่มหรือเป็นเมือกละลายได้ในน้ำเดือดเป็นพวกเพคติน ส่วนผนังชั้นในประกอบด้วยเซลลูโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 จำนวนและตำแหน่งของแฟลกเจลลัม (Flagellum) สาหร่ายหลายชนิดมีโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ ซึ่งอาจพบทั้งในเซลล์ปกติ (Vegetative cell) หรือผนังเซลล์สืบพันธุ์ (Reproduction cell) เซลล์ของสาหร่ายทุกดิวิชันยกเว้น Cyanophyta จะมีขนาด จำนวนหน่วยในแต่ละเซลล์มี 1, 2, 4, 8 หรือเป็นวง แต่ส่วนใหญ่มักมีขนาด 2 เส้นในเซลล์ปกติ ส่วนเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศหรือซุโอสปอร์ (Zoospore) มักมีขนาด 2 หรือ 4 เส้น ส่วนเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือแกมีต (Gamete) มักมีขนาด 2 เส้น สาหร่ายแต่ละชนิดจะมีจำนวนลักษณะและตำแหน่งที่แฟลกเจลลัมฝังตัวอยู่นั้นแตกต่างกัน ซึ่งสามารถใช้ความแตกต่างดังกล่าวนี้แยกหมวดหมู่ของสาหร่ายได้

2.2 การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย

Smith (1950) ได้จำแนกหมวดหมู่สาหร่ายโดยใช้รูปร่างและลักษณะภายนอกที่เหมือนกันและคล้ายคลึงจัดรวมไว้ในกลุ่มเดียวกัน และดูจากสิ่งที่ปรากฏออกมาให้เห็นจึงแยกออกเป็น 7 กลุ่มดังนี้

1. Division Cyanophyta (blue-green algae)
2. Division Chlorophyta (green algae)
3. Division Rhodophyta (red algae)
4. Division Phaeophyta (brown algae)
5. Division Chrysophyta (Golden, yellow green, Diatom)
6. Division Pyrrophyta (dinoflagellate)
7. Division Euglenophyta (euglenoids)

สำหรับการจัดหมวดหมู่ในหนังสือเล่มนี้ยึดตาม Bold and Wynne (1978) มีทั้งหมด 9 Division

1. Division Cyanophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae)
2. Division Chlorophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีเขียว (Green algae)
3. Division Charophyta ได้แก่ สาหร่ายไฟ (Stoneworts)
4. Division Euglenophyta ได้แก่ Euglenoids
5. Division Phaeophyta ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาล (Brown algae)
6. Division Chrysophyta ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง (Golden algae) สาหร่ายสีเขียว แกมเหลือง (Yellow green algae และ diatom)
7. Division Pyrrophyta ได้แก่ Dinoflagellates
8. Division Cryptophyta ได้แก่ Cryptomonads
9. Division Rhodophyta ได้แก่ สาหร่ายสีแดง (Red algae)

2.3 การเพาะเลี้ยงและปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก

2.3.1 รูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก รูปแบบของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กมี 2 รูปแบบ ได้แก่ การเพาะเลี้ยงในบ่อเปิด และการเพาะเลี้ยงโดยใช้ถังปฏิกรณ์ ซึ่งมีหลายลักษณะ เช่น แบบแนวตั้ง แนวราบ และทรงกระบอก เป็นต้น โดยข้อดีและข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงในรูปแบบเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่างๆ นี้ สรุปได้ดังตารางที่ 2.2 โดยจากตารางที่ 2.2 จะเห็นว่า รูปแบบของการเพาะเลี้ยงแต่ละรูปแบบมีข้อดีและข้อจำกัดที่ต่างกัน ดังนั้นจึงต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ในการเพาะเลี้ยง ชนิดของสาหร่ายและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ รวมทั้งสภาพแวดล้อมของพื้นที่ที่จะใช้ในการเพาะเลี้ยง

ตารางที่ 2.2 ข้อจำกัดของรูปแบบของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

รูปแบบการเพาะเลี้ยง	ข้อดี	ข้อเสีย
<p>ในธรรมชาติ</p> <p>บ่อเปิด (Open ponds)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - เหมาะสำหรับเพาะเลี้ยงในเชิงธุรกิจ เนื่องจากจะสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตชีวมวลได้ในปริมาณมาก - ทำความสะอาดพื้นที่เพาะเลี้ยงได้ง่าย - ภายหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต 	<ul style="list-style-type: none"> - ต้องควบคุมสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง - การเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานานๆ ทำได้ยาก - ต้องการพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมาก - มีบางสายพันธุ์ไม่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ในบ่อเปิด - เกิดการปนเปื้อนในระหว่างการเพาะเลี้ยงได้ง่าย
<p>ในห้องปฏิบัติการ</p> <p>ถังปฏิกรณ์แบบแนวตั้ง (vertical-column photobioreactors)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - ใช้พลังงานน้อย - เกิดการผสมและการเคลื่อนที่ของชีวมวลได้ดี - ควบคุมสภาวะต่างๆ ได้ง่าย เช่น อุณหภูมิ และปัจจัยยับยั้งที่จะมีผลต่อการเพาะเลี้ยง - เหมาะสำหรับการตรึงเซลล์สาหร่าย (immobilization of algae) 	<ul style="list-style-type: none"> - พื้นที่ผิวที่แสงส่องผ่านมีน้อย - มีความยุ่งยากในการสร้างถังปฏิกรณ์ - เกิดความเค้นเฉือน (shear stress) ต่อสาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยง - พื้นที่ผิวที่แสงส่องผ่านจะลดลงหากทำการเพาะเลี้ยงในสเกลที่ใหญ่ขึ้น
<p>ถังปฏิกรณ์แบบแนวราบ (flat-plate photobioreactors)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - มีพื้นที่ผิวในการสังเคราะห์แสงมาก - เนื่องจากแสงส่องถึงได้ดี 	<ul style="list-style-type: none"> - ต้องการวัสดุและส่วนประกอบหลายอย่างในการสร้างถังปฏิกรณ์ที่มีขนาดใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2(ต่อ) ข้อจำกัดของรูปแบบของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

รูปแบบการเพาะเลี้ยง	ข้อดี	ข้อเสีย
ถังปฏิกรณ์แบบ แนวราบ (flat-plate photobioreactors)	- มีพื้นที่ผิวในการ สังเคราะห์แสงมาก เนื่องจากแสงส่องถึงได้ดี เหมาะสำหรับการ เพาะเลี้ยงภายนอกห้อง - เหมาะสำหรับการตรึง เซลล์สาหร่าย - ได้ผลผลิตชีวมวลใน ปริมาณสูง - ทำความสะอาดง่ายและ ค่าใช้จ่ายต่ำ - ต้องการออกซิเจน เพิ่มเติมสำหรับการ เพาะเลี้ยงน้อย	- ต้องการวัสดุและส่วน ประกอบหลายอย่างใน การสร้างถังปฏิกรณ์ที่มี ขนาดใหญ่ - ควบคุมอุณหภูมิในการ เพาะเลี้ยงยาก - อาจมีการเจริญบริเวณ ผนังของถังปฏิกรณ์ - อาจมีผลต่อสาหร่ายบาง สายพันธุ์ เนื่องจากแรง กระทำภายในถังปฏิกรณ์ (hydrodynamic stress)
ถังปฏิกรณ์แบบ ทรงกระบอก หรือแบบ ท่อ (tubular photobioreactors)	- มีพื้นที่ผิวในการ สังเคราะห์แสงมาก เหมาะ สำหรับการเพาะเลี้ยง ภายนอกห้อง - ได้ผลผลิตชีวมวลใน ปริมาณหนึ่ง - ค่าใช้จ่ายต่ำ	- เกิด gradient ของค่า ความเป็นกรด ด่าง (pH) ออกซิเจนละลายน้ำและ คาร์บอนไดออกไซด์ ตาม ความยาวของถังปฏิกรณ์ - อดต้นได้ง่าย - อาจมีการเจริญบริเวณ ผนังถังปฏิกรณ์ - ต้องการพื้นที่มาก

ใน
ห้องปฏิบัติการ

(ที่มา : Ugwu et al., 2008)

2.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตหรือการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่าย เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการเพาะเลี้ยงระดับใหญ่ขึ้น ซึ่งจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่ายชนิดต่างๆ โดยปัจจัยที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ แสง ธาตุอาหาร คาร์บอนไดออกไซด์ ค่าความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ และออกซิเจน (Junying et al., 2013) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

2.3.2.1 แสง (light) ความเข้ม ความยาวคลื่น และความถี่ของแสง มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์

แสงและการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยความสามารถในการดูดซับแสงในช่วงความเอกลสาร์เป็นเอกลสาร์ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาวคลื่นสูงสุดของสาหร่าย (680 nm หรือ 700 nm) จะแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ของสาหร่ายแต่ละชนิด เช่น *Chlorella* จะมีความสามารถดูดซับแสงสีแดงและสีเหลือง ตามลำดับ

โดยทั่วไป ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กจะใช้แสงสว่างจากธรรมชาติ เนื่องจากสเปกตรัมของแสงธรรมชาติมีประโยชน์ต่อสาหร่ายมากกว่าแสงประดิษฐ์ (เช่น แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์) อย่างไรก็ตาม แสงจากธรรมชาติควบคุมได้ยาก อาจแรงเกินไปในวันที่แดดจ้า หรือน้อยเกินไปในวันที่มีฝนตก ดังนั้นในการศึกษาวิจัย จะใช้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ควบคุมไปกับแสงจากธรรมชาติ เพื่อเร่งปริมาณผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก

2.3.2.2 ธาตุอาหาร (nutrients) ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้มีอัตราการเติบโตที่เหมาะสม ต้องใช้อาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารที่จำเป็นในปริมาณเพียงพอ โดยทั่วไปธาตุอาหารหลักของสาหร่าย ได้แก่ คาร์บอน (C) ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส (N, P) ซัลเฟอร์ (S) โพแทสเซียม (K) ซิลิคอน (Si สำหรับไดอะตอม) นอกจากนั้นเป็นเกลือแร่อื่นๆ เช่น โคบอลต์ (Co), โมลิบดีนัม (Mo), แมงกานีส (Mn) และวิตามินชนิดต่างๆ เช่น บี12 เป็นต้น ซึ่งโดยทั่วไป แหล่งของคาร์บอนมาจากอากาศ นอกจากสาหร่ายบางชนิด เช่น *Spirulina* ที่สามารถใช้ไบคาร์บอเนตที่ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงๆ ได้ และการใช้แหล่งสารอินทรีย์คาร์บอน เช่น กลูโคส หรือ อะซิเตต (acetate) จะสามารถเร่งผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายได้ดี แต่เป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงให้สูงขึ้น (de la Noue et al., 1988) ส่วนไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ และโพแทสเซียม ได้จากอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

ทั้งนี้ ธาตุอาหารที่มีผลต่ออัตราการเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่ายขนาดเล็กคือ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ดังนั้น สัดส่วนของไนโตรเจนและฟอสฟอรัส จึงถูกใช้เป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะเลี้ยง โดยหากสัดส่วนระหว่างธาตุดังกล่าวสูงเกินไป แสดงว่า ปริมาณของฟอสฟอรัสในอาหารเลี้ยงเชื้อน้อยเกินไป และในทางตรงกันข้าม หากสัดส่วนมีค่าต่ำเกินไป ควรเพิ่มปริมาณของไนโตรเจนในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง จะเห็นได้ว่า ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญธาตุหนึ่งสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยปริมาณของไนโตรเจนมีผลต่อการสะสมไขมันของสาหร่าย ซึ่งโดยปกติจะใช้เกลือแอมโมเนียม ไนเตรต ยูเรีย (urea) เป็นต้น เป็นแหล่งของไนโตรเจน แต่อัตราการดูดซึมเพื่อนำไปใช้ประโยชน์จะแตกต่างกัน ดังนี้ แอมโมเนีย > ยูเรีย > ไนเตรต > ไนไตรท์ (Junying et al., 2013)

2.3.2.3 คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นปัจจัยที่จำกัด (limiting factor) สำหรับกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายขนาดเล็กและของพืชอื่นๆ โดยกระบวนการสังเคราะห์แสงจะเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดในช่วงความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ระหว่าง 1-5 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) (Junying et al., 2013) นอกจากนี้ การเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก นอกจากใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเร่งปริมาณผลผลิตแล้วยังเป็นการช่วยควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างด้วย

จากการที่สาหร่ายขนาดเล็กใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตชีวมวล ดังนั้น ในการเพาะเลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการ นอกจากสูตรอาหารที่เหมาะสมกับสายพันธุ์ของสาหร่ายแต่ละชนิดแล้ว จึงจำเป็นต้องมีแหล่งที่มาของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งแหล่งของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อาจมาจากระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศหรือระบบผลิตก๊าซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชีวภาพ (Collet et al., 2011) ก๊าซสังเคราะห์ที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์หรือก๊าซร้อนจากกระบวนการเผาไหม้เชื้อเพลิง ทั้งนี้ ต้องมีกระบวนการในการแยกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากก๊าซชนิดอื่นๆ และหากจะใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เป็นส่วนประกอบอยู่ในก๊าซร้อน (flue gas) ต้องระวังในเรื่องของก๊าซพิษอื่นๆ ที่รวมอยู่ในก๊าซร้อน โดยต้องทำการกำจัดก๊าซพิษนั้นด้วยเช่นกัน

2.3.2.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เนื่องจากมีอิทธิพลต่อความหลากหลายของสารอนินทรีย์คาร์บอน (inorganic carbon) ในรูปต่างๆ (dissolved inorganic carbon ; DIC) (Junying et al., 2013) เช่น เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 5 รูปของ DIC ส่วนใหญ่คือ CO_2 เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่าง = 6.6 จะมี DIC ในรูปของ CO_2 และ HCO_3^- ในปริมาณเท่าๆ กันและเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างสูงถึง 8.3

ดังนั้น การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง จึงมีความสำคัญในการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้ เพื่อให้สาหร่ายขนาดเล็กสามารถดูดซึมและนำ CO_2 มาใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้น

อุณหภูมิ สาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์จะสามารถทนอุณหภูมิได้ในช่วงที่แตกต่างกัน โดยสาหร่ายน้ำจืด เช่น *Chlorella* และ *Scenedesmus* มีความสามารถในการปรับตัวได้ในช่วงอุณหภูมิกว้าง ตั้งแต่ 5-35 °C แต่ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 25-30 °C

ออกซิเจน (oxygen) ออกซิเจนเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย โดยจะละลายสะสมอยู่ในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้นๆ ซึ่งจะนำไปสู่การมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่สูงเกินไป ที่อาจทำอันตรายและส่งผลต่อการอยู่รอดของสาหร่ายขนาดเล็กได้

2.4 การใช้ประโยชน์สาหร่ายขนาดเล็กในรูปแบบต่างๆ

สาหร่ายขนาดเล็กได้ถูกนำมาทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาภาพในการนำมาใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ ดังต่อไปนี้

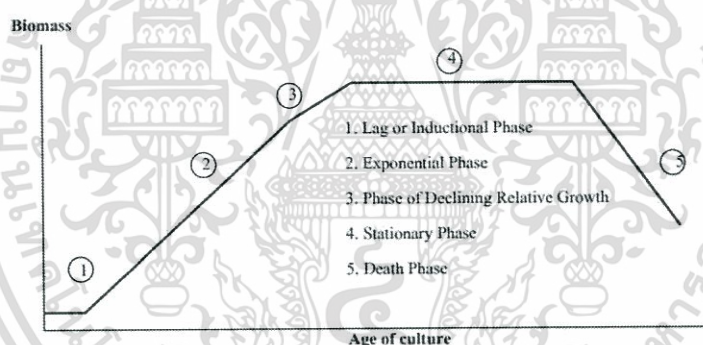
1. ใช้ในอุตสาหกรรมยา โดยจากการศึกษาของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย พบว่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Scytonema* No.11 สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบางชนิดได้
2. ใช้ในทางการเกษตร โดยใช้เพื่อผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizers) เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Nostoc*, *Anabaena*, *Scytonema* เป็นต้น เนื่องจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเหล่านี้มีเมือกหนาหุ้มเซลล์ จึงเหมาะที่จะใช้เป็นวัสดุในการปรับปรุงคุณภาพดินและดูดเก็บความชื้นให้แก่พืช
3. ใช้เพื่อการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Hsueh et al., 2007) โดยสาหร่ายขนาดเล็กสามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญเติบโต ซึ่งจากการศึกษาพบว่า อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 1-15 เมื่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น (Lam et al., 2012)
4. ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย โดยจากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า สาหร่ายขนาดเล็ก (*Oscillatoria* sp.) สามารถใช้ในการดูดซับตะกั่วในน้ำเสีย โดยสามารถดูดซับตะกั่วได้ 82.56 ± 6.70 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้งของสาหร่าย (ที่พีเอช 5) (สุนิรัตน์, 2552) รวมทั้งยังสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ในรูป

ของซีไอดี (ร้อยละ 86.03) และสารอาหารในรูปของแอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ 52.74) และ ฟอสฟอรัสทั้งหมด (ร้อยละ 52.55) ในน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพ (สุจยา, 2551)

นอกจากนี้ สาหร่ายขนาดเล็กยังมีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์อื่นๆ เช่น การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อสกัดผลผลิตไขมัน โดยพบว่า *Chlorella* sp. WUW05 มีอัตราการผลิตไขมันเชิงปริมาตรสูงเท่ากับ 2.02 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (สมฤทัย, 2553) เป็นต้น

2.5 การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

การวัดมวลชีวภาพและการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะทำให้ทราบอัตราการเติบโต หรือ “Growth rate” ของเซลล์สาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีความสำคัญต่อการตรวจสอบประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงสาหร่ายตลอดจน ระบบการจัดการเพาะเลี้ยงให้ได้ผลผลิตของสาหร่ายสูงสุด ทั้งนี้ การเจริญเติบโตของสาหร่ายมีลักษณะกราฟโค้งรูปตัว “S” (sigmoid curve) ซึ่งเรียกว่าเส้นโค้งการเติบโต (growth curve) โดยเส้นกราฟหรือเส้นโค้งการเจริญเติบโต แบ่งออกได้ 5 ระยะ คือ 1. ระยะปรับตัว (Lag phase or inductinal phase) 2. ระยะเอ็กซ์โพเนนเชียล (Exponential phase) 3. ระยะเฉื่อย (Retardation phase or phase of declining relative growth) 4. ระยะคงที่ (Stationary phase) 5. ระยะตาย (Death phase)



รูปที่ 2.2 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย

(ที่มา : ลัดดา, 2543)

2.5.1 การวัดโดยตรง (Direct measurement or Total Count)

2.5.1.1 การนับโดยใช้สไลด์นับเซลล์ (counting chamber) และกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound microscope)

2.5.1.2 การนับโดยใช้การตกตะกอนและกล้องจุลทรรศน์แบบ inverted microscope

2.5.1.3 การนับโดยใช้สไลด์ธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound microscope)

2.5.1.4 การนับโดยใช้เครื่องนับจำนวน (counter count หรือ electronic counting)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 การวัดประชากรสาหร่ายโดยอ้อม (Indirect measurement)

2.5.2.1 การหาน้ำหนักแห้ง (dry weight)

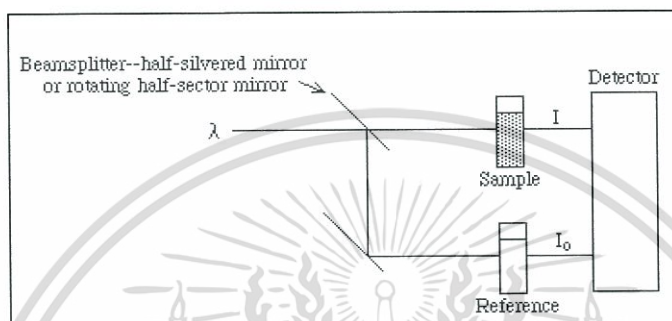
2.5.2.2 การหาน้ำหนักของขี้เถ้า (ash content)

2.5.2.3 การหาปริมาตรเซลล์ที่อัดกันอยู่ (pack cell volume)

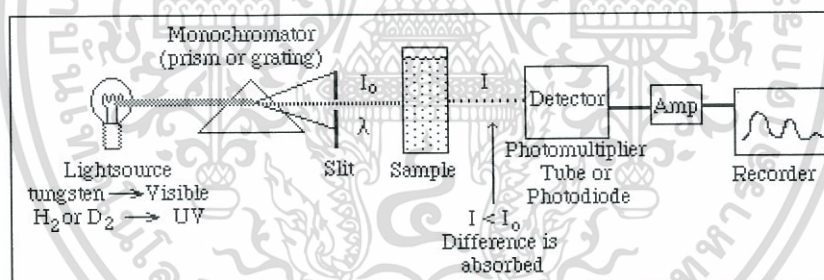
2.5.2.4 การหาความหนาแน่นโดยอาศัยแสง (optical density)

2.5.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอน (analysis of carbon)

2.5.2.6 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และรงควัตถุอื่น (chlorophyll and other pigment analysis)



รูปที่ 2.3 Single Beam Spectrophotometer
(ที่มา : SDSU News Center)



รูปที่ 2.4 Split Beam Spectrophotometer
(ที่มา : SDSU News Center)

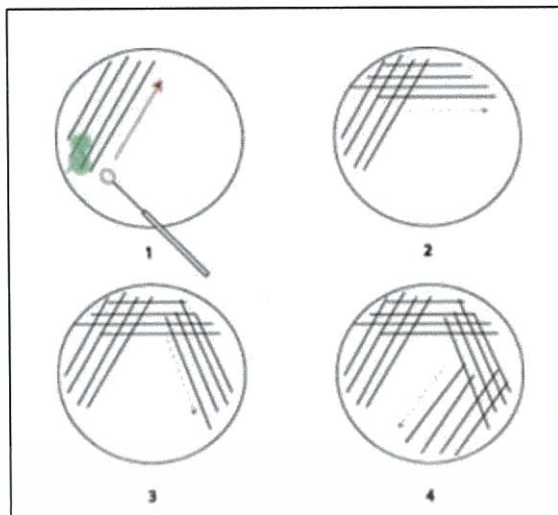
2.6 การทำให้เชื้อบริสุทธิ์

วิธีการแยกบนอาหารรูนในจานเพาะเชื้อ (Streak plate Method)

1. หยดน้ำตัวอย่างที่มีสาหร่ายที่ต้องการแยกในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารรูน 1-2 หยด บริเวณใกล้ขอบจานเพาะเชื้อ

2. นำปลายหวงเชียวเชื่อมเปลวไฟ แล้วแตะที่หยดน้ำลากเส้นขนานออกไปสัก 3-4 เส้น โดยลากเส้นบนอาหารรูนเป็นรูปห้าเหลี่ยม เมื่อลากหวงเชียวเชื่อมมาสุดแต่ละมุมของรูปห้าเหลี่ยมนี้ต้องเผาหวงเชียวเชื่อมซ้ำทุกครั้งเพื่อฆ่าเชื้อ และให้ใช้เซลล์ที่ปลายสุดของการลากครั้งสุดท้ายเป็นเชื้อสำหรับการลากเส้นต่อไป (รูปที่ 2.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



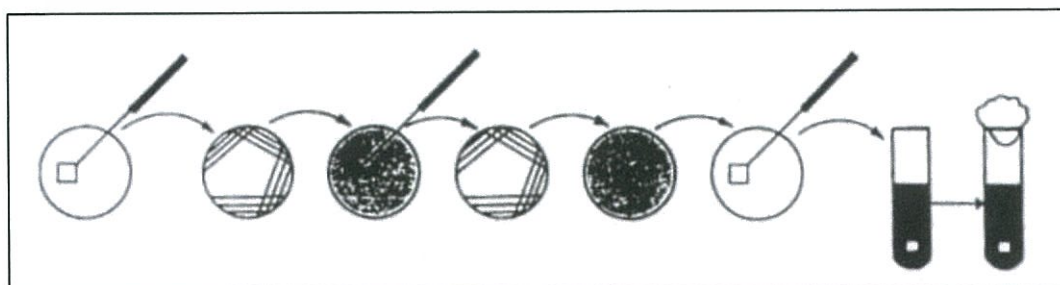
รูปที่ 2.5 ลักษณะการลากเส้นบนอาหารวุ้น
(ที่มา : ลัดดา, 2543)

3. ปิดฝาจานเพาะเชื้อ พลิกเอาก้นจานเพาะเชื้ออยู่ข้างบน รินน้ำกลั่นที่นิ่งมาเชื้อแล้วลงไป
จานเล็กน้อย เพื่อป้องกันไม่ให้อาหารวุ้นแห้งจากนั้นนำไปวางในที่ที่มีแสงสว่างและอุณหภูมิที่เหมาะสม
ประมาณ 1-2 อาทิตย์ วิธีนี้จำนวนเซลล์สาหร่ายที่อยู่บนเส้นที่ลากจะลดน้อยลงทุกทีฉะนั้นเมื่อทำการ
เลี้ยงสาหร่ายประมาณ 1-2 อาทิตย์ มีกลุ่มเซลล์สาหร่าย (colony) ขึ้นมา โดยจะมีช่องว่างห่างกัน
มากในบริเวณเส้นที่ลากท่ายๆ จนสามารถเก็บเซลล์ เพียงเซลล์เดียวจากจานเพาะเชื้อได้

4. เชียเซลล์สาหร่ายเดี่ยวๆ มาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้ห้วงเชียวเชื้อเผาไฟแล้วเชียว
เซลล์สาหร่าย บางส่วนของโคโลนีไปทำ wet mount

5. ถ้าเซลล์สาหร่ายที่เชียวมาตรวจเป็นชนิดเดียวกัน (บริสุทธิ์) ให้ถ่ายเชื้อสาหร่าย (subculture)
ลงในอาหารวุ้นชุดใหม่โดยให้ทำซ้ำ 2 อีกครั้งในอาหารวุ้นจานใหม่การถ่ายเชื้อสาหร่ายในครั้งที่ 2 นี้
จะช่วยให้ได้สาหร่ายที่บริสุทธิ์ขึ้น จนอยู่ในสภาพ axenic culture แต่ถ้าเชื้อไม่บริสุทธิ์ให้ทำซ้ำ 2-4
ซ้ำอีกครั้ง หรือจนกว่าจะได้เชื้อบริสุทธิ์

6. ให้ถ่ายเชื้อสาหร่ายที่บริสุทธิ์ลงในหลอดแก้วที่มีอาหารวุ้นเอียง (slant) และหลอดแก้วที่มี
อาหารเหลว (broth) สำหรับเก็บไว้เป็น stock culture ต่อไป



รูปที่ 2.6 ขั้นตอนการลากเส้นบนอาหารวุ้น
(ที่มา : ลัดดา, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 เกลือ

เกลือ หมายถึง สารประกอบไอออนิกที่ประกอบด้วย แคตไอออนและแอนไอออน ทำให้ผลผลิตที่ได้เป็นกลาง (ประจุสุทธิเป็นศูนย์) ไอออนเหล่านี้อาจเป็นอนินทรีย์ (Cl^-) กับอินทรีย์ (CH_3COO^-) หรือไอออนอะตอมเดี่ยว (F^-) กับไอออนหลายอะตอม (SO_4^{2-}) ก็ได้ เกลือจะเกิดขึ้นได้เมื่อกรดและเบสทำปฏิกิริยากัน

คุณสมบัติของเกลือ

1. สี เกลือส่วนมากมีลักษณะใสและไม่มีสี ในหลายกรณี สีและความใสจะถูกกำหนดโดยขนาดของรูปผลึก ตัวอย่างเช่น

สีเหลือง (โซเดียมโครเมต)

สีส้ม (โพแทสเซียมไดโครเมต)

สีฟ้า (คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต, เพอร์ริกเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต)

สีม่วง (โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต)

สีเขียว (นิกเกิลคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต)

สีขาว (โซเดียมคลอไรด์)

ไม่มีสี (แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต)

สีดำ (แมงกานีสไดออกไซด์)

แร่ธาตุและรงควัตถุส่วนใหญ่ รวมไปถึง สีย้อมอินทรีย์เป็นเกลือ สีของเกลือแต่ละชนิด ขึ้นกับการคงอยู่ของอิเล็กตรอนที่ไม่เกิดพันธะใน d-orbital ของธาตุโลหะทรานซิชัน

2. รสชาติ เกลือที่แตกต่างกันสามารถลิ้มเอารสชาติออกมาได้ทั้ง 5 รสพื้นฐาน ตัวอย่างเช่น รสเค็ม (โซเดียมคลอไรด์), รสหวาน (เลตโตอะซิเตต), รสเปรี้ยว (โพแทสเซียม ไบคาร์บอเนต), รสขม (แมกนีเซียมซัลเฟต) และรสอูมามิ (โมโนโซเดียมกลูตาเมต)

3. กลิ่น เกลือของกรดแก่และเบสแก่ เป็นเกลือที่ไม่สามารถระเหยได้ และไม่มีกลิ่น แต่เกลือของกรดอ่อนและเบสอ่อน สามารถเกิดกลิ่นได้หลังจากกระบวนการการเกิดคู่กรด-เบส (เช่น สารประกอบอะซิเตต สามารถให้อะซิเตตไอออน (น้ำส้มสายชู) หรือ สารประกอบไซยาไนด์ สามารถให้ไฮโดรเจนไซยาไนด์ (อัลมอนด์)) ของไอออนประกอบ กระบวนการนี้เกิดขึ้นอย่างช้าๆ และส่วนใหญ่จะถูกเร่งโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสอันเกิดจากการมีน้ำหรืออยู่ในสภาพสารละลาย

2.7.2 การเรียกชื่อ

ชื่อของเกลือเริ่มด้วยการเรียกชื่อของแคตไอออน (เช่น โซเดียม หรือ แอมโมเนียม) ตามด้วยชื่อของแอนไอออน (เช่น คลอไรด์ หรือ อะซิเตต) เกลือมักถูกกล่าวถึงโดยชื่อของแคตไอออนเพียงอย่างเดียว (เช่น เกลือโซเดียม หรือ เกลือแอมโมเนียม) หรือเรียกโดยชื่อของแอนไอออน

แคทไอออนพื้นฐานที่เป็นองค์ประกอบสามัญ ประกอบด้วย แอมโมเนียม NH_4^+ , แคลเซียม Ca^{2+} , เหล็ก Fe^{2+} และ Fe^{3+} , แมกนีเซียม Mg^{2+} , โพแทสเซียม K^+ และพีริมีดีน $\text{C}_5\text{H}_5\text{NH}^+$

แอนไอออนพื้นฐานที่เป็นองค์ประกอบสามัญ ประกอบด้วย อะซิเตต CH_3COO^- (กรดน้ำส้ม), คาร์บอเนต CO_3^{2-} (กรดคาร์บอนิก), คลอไรด์ Cl^- (กรดเกลือ), ซิเตรต $\text{HOC}(\text{COO}^-)(\text{CH}_2\text{COO}^-)_2$ (กรดซิตริก), ไฮยาไนต์ CN^- (N/A), ไฮดรอกไซด์ OH^- (N/A), ไนเตรต NO_3^- (กรดไนตริก), ออกไซด์ O^{2-} (N/A), ฟอสเฟต PO_4^{3-} (กรดฟอสฟอริก) และซัลเฟต SO_4^{2-} (กรดกำมะถัน)

2.7.3 การสังเคราะห์

เกลือสามารถสังเคราะห์จากปฏิกิริยาเคมีระหว่าง :

กรดและเบส เช่น $\text{NH}_3 + \text{HCl} \rightarrow \text{NH}_4\text{Cl}$

โลหะและกรด เช่น $\text{Mg} + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{MgSO}_4$

โลหะและอโลหะ เช่น $\text{Ca} + \text{Cl}_2 \rightarrow \text{CaCl}_2$

เกลือสามารถเกิดจากกระบวนการการสลับหมู่ของสารประกอบเกลือ 2 ประเภท เกิดเป็นสารประกอบเกลือใหม่ที่ไม่ละลายน้ำ เช่น



2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Maneeruttanarungroj et al. (2010) จากการค้นพบสาหร่ายสายพันธุ์ *Tetraspora* sp. CU2551 ซึ่งค้นพบที่ประเทศไทย สาหร่ายชนิดนี้มีความสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์เป็น 2 เท่าโดยใช้เวลาในการเพิ่มที่สั้นที่สุดเมื่ออยู่ในอาหารเลี้ยง TAP โดยอายุของสาหร่ายอยู่ที่ 24 ชั่วโมง ภายใต้ความเข้มแสง $37 \mu\text{Photon}/\text{m}^2/\text{s}$ ที่อุณหภูมิ 36°C

วัชรภรณ์ และคณะ (2559) สาหร่ายสายพันธุ์ *Bumileriopsis peterseniama* เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก คัดแยกได้จากน้ำเสียจากสำน้ำตาลจากโรงงานผลิตเอทานอล จังหวัดราชบุรี สาหร่ายชนิดนี้สามารถเจริญได้ทั้งอาหาร TAP และ TP-HCl แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายนี้เป็น mixotroph แต่สาหร่ายชนิดนี้จะผลิตก๊าซ H_2 เมื่ออยู่ในอาหาร TAP เท่านั้นโดยจะผลิตได้สูงสุด $0.39 \mu\text{mol}/\text{mg}$

ปัญญารักษ์ และคณะ (2558) สาหร่ายสายพันธุ์ KS01 และ KS03 เป็นสาหร่ายสีเขียวที่พบภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงทำให้พบว่ามีลักษณะของเซลล์สาหร่ายเป็นทรงกลมเดี่ยว อยู่แยกจากกันโดยอิสระ จากการวิเคราะห์ Bootstrap NI Phylogenetic Tree โดยใช้ยีน 18S rDNA พบว่าสาหร่ายสายพันธุ์ KS01 และ KS03 มีความใกล้เคียงกับสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella sonokiniana* KU948991 มากที่สุด อีกทั้งสาหร่ายสายพันธุ์ KS01 มีการเจริญเติบโตที่มากกว่าสายพันธุ์ KS03 และได้ผลผลิตของ H_2 สูงที่สุดในน้ำตาลโรบอสและซูโครสที่ความเข้มข้น 20 mmol ต่อค่าความขุ่นที่ 730 nm แล้วโรบอสจะให้ผลผลิต H_2 สูงสุดเมื่อบ่มไว้ 6-12 ชั่วโมง ส่วนซูโครสจะให้ผลผลิต H_2 สูงสุดเมื่อบ่มไว้ 18 ชั่วโมง

Nguyen et al. (2016) บัฟเฟอร์ที่ชื่อว่า Tris-(hydroxymethyl)-amino methane ถูกใช้ในการเพิ่มการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยการคงสภาพความเป็นกรด-ด่างในสาหร่าย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดเล็กให้เสถียร ผลลัพธ์ของงานวิจัยชิ้นนี้เพื่อเป็นการคาดคะเนอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตที่สร้างได้จากสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ภายใต้สภาวะที่มี Tris และปราศจาก Tris ซึ่งทั้ง 2 สภาวะนั้นจะทำงานได้ในอัตราส่วนของ N:P เพราะเลี้ยงใน photobioreactors (ความเข้มข้นของ CO₂ 5% (v/v), ความเข้มแสงที่ 3.3 klux) แล้วจะมีการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารในแต่ละวัน (Nitrogen, Phosphorus) รวมไปถึงความเข้มข้นเซลล์ ค่า DO อุณหภูมิและค่า pH ซึ่งจะถูกนำไปวัดเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ ผลที่ได้ของผลผลิตของชีวมวลที่ใหญ่ที่สุดนั้นจะมีอัตราส่วนของ N:P ที่ 15:1 และปราศจาก Tris หลังจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในช่วงสุดท้ายที่ 92 ชั่วโมง ความเข้มข้นของสาหร่ายในอัตราส่วนนี้จะอยู่ที่ 1250 mg/L และ 3568 mg/L โดยมี Tris และปราศจาก Tris ตามลำดับ จึงบ่งชี้ได้ว่าการเพิ่ม Tris เข้าไปใน photobioreactor ส่งผลให้ชีวมวลของสาหร่ายลดลงไปอย่างมากอันเนื่องมาจากการแข่งขันของแบคทีเรีย

Sumanta et al. (2014) การตรวจสอบเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดของรงควัตถุที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช (chlorophyll-a, chlorophyll-b และ carotenoids) โดยการใช้ตัวทำละลายที่มีความแตกต่างกันทางเคมี อีกทั้งในการวิจัยนี้ยังมีข้อกังวลเกี่ยวกับอัตราส่วนการสกัดของสารชีวโมเลกุลในรูปของ ระยะเวลา/ความแปรผัน แนวนอนที่แตกต่างกันถูกเป็นที่น่าสนใจตามองในเรื่องอัตราการสกัดของ chlorophylls และ carotenoids และในการสกัดที่สูงที่สุดของ chlorophylls (Ch-a และ Ch-b) เป็นที่น่าสนใจสำหรับ DEE (Diethyl-ether) ยกเว้น chlorophyll-b ใน *Adiantum* sp. แต่ทว่าการสกัดที่สูงสุดของ carotenoids จะใช้ acetone ใน *Adiantum* sp. และใน *Crystiella* sp. และ *Drypteris* sp. จะใช้ DMSO (Dimethyl-sulphoxide) ในการสกัด carotenoids ได้ดี นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ในความเข้มข้นของรงควัตถุที่สังเกตเห็นว่าชนิดของตัวอย่างแสดงออกต่อสารเคมีที่นำมาใช้เป็นตัวทำละลายเพื่อสกัดนั้นจะมีความแตกต่างกันในเรื่องของระยะเวลาที่สกัด

เมธา (2554) ทดสอบผลของระดับความเค็มของน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงต่อการเจริญและการผลิตไขมันของคลอเรลลา สายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ในการทดลอง *C. vulgaris* ถูกเลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 เป็นเวลา 7 วัน ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการที่ให้แสงสีขาว 5,000 LUX ตลอดเวลา ให้อากาศปกติที่อัตราการไหล 1 ml อากาศต่อนาที่ต่ออาหาร 1 ml และควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C การเพิ่มระดับความเค็มทำได้โดยการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) ที่ความเข้มข้น 100, 200, 300 หรือ 400 mM ซึ่งมีการทดลองเปรียบเทียบการเติมโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่เริ่มต้นการเลี้ยง และในช่วงหลังของการเลี้ยง คือวันที่ 5 และวันที่ 6 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าระดับความเค็มที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้อัตราการเจริญจำเพาะของ *C. vulgaris* ลดลง แต่ในทางกลับกันส่งผลให้เซลล์สาหร่ายสะสมไขมันเพิ่มขึ้น เมื่อคำนวณผลผลิตไขมันต่อวันของ *C. vulgaris* ซึ่งคำนึงถึงทั้งปัจจัยการเจริญและปริมาณไขมันสะสม พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเลี้ยงที่เติม 100, 200, 300 หรือ 400 mM โซเดียมคลอไรด์ ตั้งแต่เริ่มต้นหรือในวันที่ 5 ได้ผลผลิตไขมันต่อวันเทียบเท่าหรือสูงกว่าการเลี้ยงในอาหารปกติ

อุทิศ และคณะ (2556) ได้ศึกษาผลของเบนซีนต่อการเติบโตของสาหร่ายสไปรูไลนา (*Spirulina platensis*) โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Zarrouk ที่ระดับความเข้มข้นเบนซีนแตกต่างกัน (0.05-0.25 %) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นวัดการเติบโตโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง spectrophotometer และหาปริมาณ Chlorophyll A ผลการศึกษาพบว่า *S. platensis* ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของเบนซีน 0.25 % มีการเจริญเติบโตสูงสุด และเมื่อนำความเข้มข้นดังกล่าวไปศึกษาผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของ *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเบนซีน โดยปรับค่าความเข้มข้นของ NaCl ให้เพิ่มขึ้น (1.0-3.0 ppt) เป็นเวลา 28 วัน พบว่า *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือ 2.5 ppt มีการเติบโตสูงสุด เมื่อเทียบกับระดับความเข้มข้นเกลืออื่นๆ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.1 เครื่องมือ

1. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น JSAC-60 บริษัท JS RESEARCH INC.
2. ตู้อบ รุ่น UN55 บริษัท memmert
3. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar Biological Safety Cabinet) รุ่น JSCB-1200SB บริษัท JS RESEARCH INC.
4. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น ML204/01 บริษัท Mettler Toledo
5. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Spectrophotometer) รุ่น GENESYS 10S UV-Vis บริษัท Thermo SCIENTIFIC
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง รุ่น Megafuge 8R บริษัท Thermo SCIENTIFIC
7. เครื่องเขย่าแบบใช้แสง (Illumination Orbital Shaker)
8. เครื่องให้ความร้อน
9. ไมโครเวฟ
10. ตู้เย็น
11. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง รุ่น CH30 บริษัท Olympus
12. ตู้ดูดควัน (HOOD)

3.1.2 อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปต (Micropipettes) ขนาด 200 และ 1000 μ l
2. ปิเปตทิป (Pipette Tips)
3. บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100 และ 600 ml
4. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 100 ml
5. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 10, 100, 250 และ 1000 ml
6. ปิเปต (Pipette) ขนาด 1, 10 และ 25 ml
7. แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)
8. กรวยกรอง (Funnel)
9. หลอดหยดสาร (Dropper)
10. จุกยาง (Pipette Bulb)
11. ช้อนตักสารพลาสติก (Plastic Spatula)
12. หลอดเซนตริฟิวพลาสติก (Centrifuge Tube) ขนาด 2, 15 และ 50 ml
13. จานเพาะเชื้อพลาสติกแบบวงกลมและแบบ 3x4 หลุม (Petri Dish and Cell Culture Plate)
14. เข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (Loop)
15. คีมคีบ (Forceps)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16. ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)
17. ไฟแช็ก (lighter)
18. สำลีและผ้าก๊อช (Cotton Balls and Conforming Bandage)
19. กรรไกร (Scissors)
20. แถบพลาสติกและยาง (Plastic Band and Rubber)
21. ภาชนะพลาสติก (Cuvette)
22. พาราฟิล์ม (Parafilm)
23. ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Heamacytometer)
24. กระจกปิดสไลด์ (Cover Slide)

3.2 สารเคมี

3.2.1 สารเคมีสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย สูตร Tris-Acetate-Phosphate (TAP)

1. Tris-(hydroxymethyl)-aminomethane เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba
2. แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
3. แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
4. แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Ajax Finechem
5. ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
6. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
7. เกลือไดโซเดียมอีดีทีเอ ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
8. ซิงค์ซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
9. กรดบอริก (H_3BO) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
10. แมงกานีส (II) คลอไรด์ เตตระไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
11. เฟอร์รัส (II) ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
12. โคบอลต์ (II) คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba
13. คอปเปอร์ (II) ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
14. แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
15. กรดแอซีติก (CH_3COOH (conc.)) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Duksan
16. ผงวุ้น (Agar agar Bacto) บริษัท SDFCL

3.2.2 สารละลายเกลือ

1. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
2. โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
3. โซเดียมไนเตรต (NaNO_3) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
4. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เกรดวิเคราะห์ บริษัท loba chemie

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba
6. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba
7. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Ajax Finechem
8. โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3) เกรตวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
9. โพแทสเซียมฟลูออไรด์ (KF) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba
10. โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba
11. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) เกรตวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
12. ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) เกรตวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
13. ไดโพแทสเซียมฟอสเฟตไตรไฮเดรต ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Panreac
14. โพแทสเซียมคาร์บอเนต (K_2CO_3) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba
15. แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Ajax Finechem
16. แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) เกรตวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
17. แคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba
18. สารส้ม ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$) เกรตวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
19. แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) เกรตวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
20. กรดซิตริก ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) เกรตวิเคราะห์ บริษัท loba chemie
21. แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) เกรตวิเคราะห์ บริษัท loba chemie

3.2.3 สารเคมีอื่นๆ

1. เอทิลแอลกอฮอล์ ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba
2. เมทิลแอลกอฮอล์ (CH_3OH) เกรตวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba

3.2.4 สาหร่าย

1. *Tetraspora* sp. CU2551
2. *Bumilleriopsis peterseniana*
3. KS01
4. KS03

3.3 วิธีการเตรียมสารเคมี

3.3.1 สารละลายสต็อก NaCl เข้มข้น 1 M

ชั่ง NaCl มา 0.5844 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร 10 ml

3.3.2 สารละลายสต็อก $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M

ชั่ง $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ มา 1.79 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร 10 ml

3.3.3 สารละลายสต็อก NaNO_3 เข้มข้น 1 M

ชั่ง NaNO_3 มา 0.8499 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร 10 ml

3.3.4 สารละลายสต็อก Na_2CO_3 เข้มข้น 1 M

ชั่ง Na_2CO_3 มา 1.06 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร 10 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับกรรณการวิจัยในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 สารละลายสต็อก Na_2SO_4 เข้มข้น 1 M

ชั่ง Na_2SO_4 มา 1.4204 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.6 สารละลายสต็อก Na_2HPO_4 เข้มข้น 1 M

ชั่ง Na_2HPO_4 มา 1.42 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.7 สารละลายสต็อก KCl เข้มข้น 1 M

ชั่ง KCl มา 0.7455 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.8 สารละลายสต็อก KNO_3 เข้มข้น 1 M

ชั่ง KNO_3 มา 1.0110 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.9 สารละลายสต็อก KF เข้มข้น 1 M

ชั่ง KF มา 0.58 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.10 สารละลายสต็อก KI เข้มข้น 1 M

ชั่ง KI มา 1.66 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.11 สารละลายสต็อก KH_2PO_4 เข้มข้น 1 M

ชั่ง KH_2PO_4 มา 1.3608 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.12 สารละลายสต็อก K_2HPO_4 เข้มข้น 1 M

ชั่ง K_2HPO_4 มา 1.742 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.13 สารละลายสต็อก $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M

ชั่ง $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ มา 2.28 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.14 สารละลายสต็อก K_2CO_3 เข้มข้น 1 M

ชั่ง K_2CO_3 มา 1.38 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.15 สารละลายสต็อก $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M

ชั่ง $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ มา 1.47 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.16 สารละลายสต็อก CaCO_3 เข้มข้น 1 M

ชั่ง CaCO_3 มา 1.0004 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.17 สารละลายสต็อก $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M

ชั่ง $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ มา 1.72 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.18 สารละลายสต็อก $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M

ชั่ง $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ มา 6.664 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.19 สารละลายสต็อก $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M

ชั่ง $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ มา 2.03 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.20 สารละลายสต็อก $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 1 M

ชั่ง $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ มา 2.1014 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.3.21 สารละลายสต็อก NH_4Cl เข้มข้น 1 M

ชั่ง NH_4Cl มา 0.5349 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 10 ml

3.4 การเตรียมอาหาร Tris-Acetate-Phosphate (TAP)

3.4.1 อาหารเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตรียมอาหารเหลวดังตาราง 3.1 จากนั้นนำเข้าเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

ตารางที่ 3.1 ตารางการเตรียมอาหาร Tris-Acetate-Phosphate (TAP)

No.	Chemical	Amount (g)	Volume to (mL)	V/1L TAP	Final Conc. (µM)
1	Tris	24.20	100	10	20,000
2	NH ₄ Cl	3.75	250	25	7,000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	1.00			830
	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.50			450
3	K ₂ HPO ₄	2.88	10	1	1,650
	KH ₂ PO ₄	1.44			1,050
4*	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0.5000	10	1	134
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.2200			136
	H ₃ BO ₃	0.1140			184
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0.0500			40
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0.0500			33
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.0160			12
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.0160			10
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.0077	4			
5	CH ₃ COOH (conc.)	-	-	1 ml	0.1% (v/v)

* เก็บในภาชนะพลาสติกเท่านั้น สามารถเปลี่ยนเป็นสีแดงภายใน 2 สัปดาห์ แต่ยังสามารถใช้งานได้

3.4.2 อาหารวุ้น

นำอาหารเหลว 200 มิลลิลิตร และผงวุ้น 3 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ ปิดปากขวดรูปชมพู่ด้วยฟอยล์ นำเข้าเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดต่ำลง เทอาหารวุ้นลงจานเพาะเชื้อ 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้จนวุ้นแข็งตัว

3.5 การเพิ่มปริมาณสาหร่าย

1. เชื้อเชื้อสาหร่าย ขีดลงจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารวุ้นพันพาราฟิล์ม บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิภายใต้ความเข้มแสง 1,500 LUX อุณหภูมิ 36 °C เป็นเวลา 3 วัน

2. เทอาหารเหลวลงขวดรูปชมพู่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปริมาตร 50 ml แล้วเชื้อเชื้อสาหร่ายจากอาหารวุ้น 1-5 colony ลงในขวดรูปชมพู่ ปิดด้วยจุกสำลี แล้วบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิภายใต้ความเข้มแสง 1,500 LUX อุณหภูมิ 36 °C เป็นเวลา 4 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. นำสาหร่ายที่เลี้ยงเพื่อใส่หลอดเซนตริฟิวจ์ ปั่นเหวี่ยง 4500 rpm เป็นเวลา 2 นาที วัดความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ 750 nm โดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Visible Spectrophotometer) แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณ โดยให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย เท่ากับ 0.1 (คำนวณโดยใช้สูตร $C_1V_1=C_2V_2$) เพื่อนำค่าที่ได้ไปใช้ในการปิเปตเซลล์สาหร่าย

3.6 การคัดกรองเกลือ

1. ปิเปตเซลล์สาหร่ายที่ปรับ $OD_{750}=0.1$ ปริมาตร 1,960 μl และเกลือแต่ละชนิดจำนวนทั้งสิ้น 40 μl (ชุดควบคุมใส่น้ำกลั่นแทนเกลือ) สุดท้ายจะได้ความเข้มข้น 20 mM ลงในจานเลี้ยงเชื้อแบบ 3x4 หลุม พันพาราฟิล์ม
2. บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิภายใต้ความเข้มแสง 1,500 LUX อุณหภูมิ 36 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองโดยเลือกเกลือที่มีสีเขียวเข้มกว่าชุดควบคุม

3.7 การปรับความเข้มข้นของเกลือให้เหมาะสม

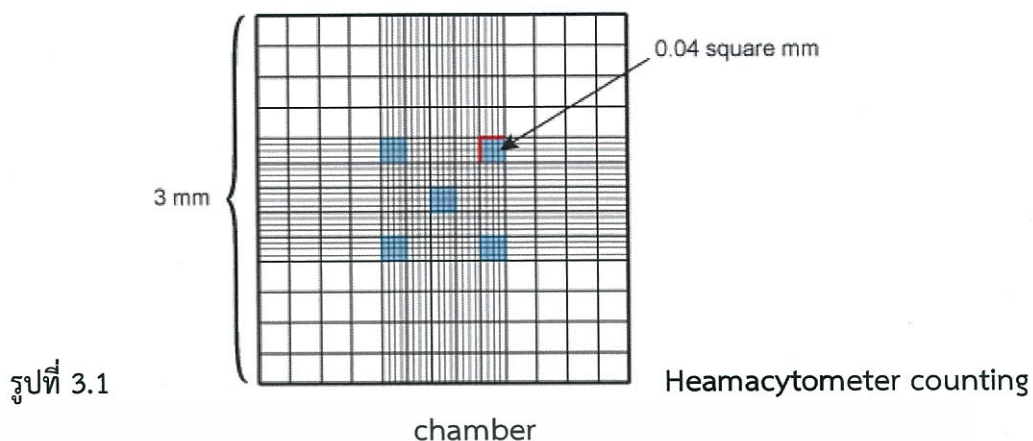
1. ปิเปตเซลล์สาหร่ายที่ปรับ $OD_{750}=0.1$ ปริมาตร 1,950 μl และชนิดเกลือที่คัดกรอง ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 mM (ใส่เกลือปริมาตร 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 μl ตามลำดับ จากนั้นใส่น้ำกลั่นให้ปริมาตรแต่ละหลุมครบ 2,000 μl) ลงในจานเลี้ยงเชื้อแบบ 3x4 หลุม พันพาราฟิล์ม
2. บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิภายใต้ความเข้มแสง 1,500 LUX อุณหภูมิ 36 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองโดยวัดความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ความยาวคลื่น 750 nm

3.8 การวัดชีวมวลและการเจริญเติบโตของสาหร่าย

นำความเข้มข้นที่เหมาะสมมาเพาะเลี้ยงแล้ววัดตรงชนิ่ววัดชีวมวลและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยเก็บผลการทดลองทุกๆ 6-8 ชั่วโมง ตามตรงชนิ่ววัดดังต่อไปนี้

3.8.1. การนับเซลล์ใช้ Heamacytometer counting chamber

1. เก็บตัวอย่างสาหร่ายที่ต้องการวิเคราะห์มา 1 ml
2. หยดตัวอย่างสาหร่ายลงในช่องใส่ตัวอย่างของ Heamacytometer จากนั้นจึงใช้ Cover Glass ปิดทับตัวอย่าง แล้วทิ้งไว้ 1 นาทีเพื่อให้เซลล์สาหร่ายลอยตัวลงไปสู่พื้นของสไลด์
- 3.ส่องเซลล์ผ่านกล้องจุลทรรศน์ โดยเริ่มที่กำล้งขยายที่ต่ำที่สุดแล้วค่อยเพิ่มกำล้งขยายที่สูงขึ้นจนสามารถมองเห็นเซลล์สาหร่ายบนแถบเส้น โดยจะต้องเห็นโคโลนีของสาหร่ายอย่างชัดเจน ถ้าหากไม่สามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจนจะต้องทำการเจือจางสาหร่ายจนสามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจน
4. ทำการนับเซลล์สาหร่ายที่อยู่ภายในช่องสี่เหลี่ยม 25 ช่อง โดยให้นับที่ช่องสี่ฟ้า ดังรูปที่ 3.1
5. เมื่อนับจำนวนเซลล์สาหร่ายจนครบให้นำไปคำนวณในสมการ (3.1) (ศุภย์วิชัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี, 2548)



การคำนวณ

$$\text{จำนวนเซลล์ (cell/ml)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่นับได้} \times 10^6}{\text{จำนวนช่องที่นับ} \times 4} \quad (3.1)$$

3.8.2 การหาความหนาแน่นโดยอาศัยแสง

นำตัวอย่างสาหร่ายมาวัดความหนาแน่นที่ความยาวคลื่น 750 nm

3.8.3 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

นำค่าความหนาแน่นโดยอาศัยแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm มาคำนวณในสมการ (3.2)

$$Y = 2.2938X \quad (3.2)$$

เมื่อ Y = ค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ความยาวคลื่น 750 nm

X = น้ำหนักแห้ง (mg/ml)

3.8.4 การวิเคราะห์ปริมาณ Chlorophyll A

1. นำตัวอย่างสาหร่าย 200 μl ปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมเมทานอล 2 ml แล้วต้มที่อุณหภูมิ 120 $^{\circ}\text{C}$ จนตะกอนขาว (ประมาณ 10 นาที)

2. นำมาปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที แล้วดูดส่วนใสวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665.2 และ 652.4 nm คำนวณในสมการ (3.3) (Sumanta et al., 2014)

$$C_a = (16.72 \times A_{665.2}) - (9.16 \times A_{652.4}) \quad (3.3)$$

เมื่อ A = ค่าดูดกลืนแสง ณ ช่วงความยาวคลื่นนั้นๆ

C_a = Chlorophyll A ($\mu\text{g/ml}$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8.5 การวิเคราะห์ปริมาณ Chlorophyll B

- นำตัวอย่างสาหร่าย 200 μl ปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมเมทานอล 2 ml แล้วต้มที่อุณหภูมิ 120 $^{\circ}\text{C}$ จนตะกอนขาว (ประมาณ 10 นาที)
- นำมาปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที แล้วดูดส่วนใสวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665.2 และ 652.4 nm คำนวณในสมการ (3.4) (Sumanta et al., 2014)

$$C_b = (34.09 \times A_{652.4}) - (15.28 \times A_{665.2}) \quad (3.4)$$

เมื่อ A = ค่าดูดกลืนแสง ณ ช่วงความยาวคลื่นนั้นๆ
 C_b = Chlorophyll B ($\mu\text{g/ml}$)

3.8.6 การวิเคราะห์ปริมาณ Total Chlorophyll

นำค่าที่คำนวณได้จากสมการ (3.3) และ (3.4) มาบวกกัน

3.8.7 การวิเคราะห์ปริมาณ Carotenoid

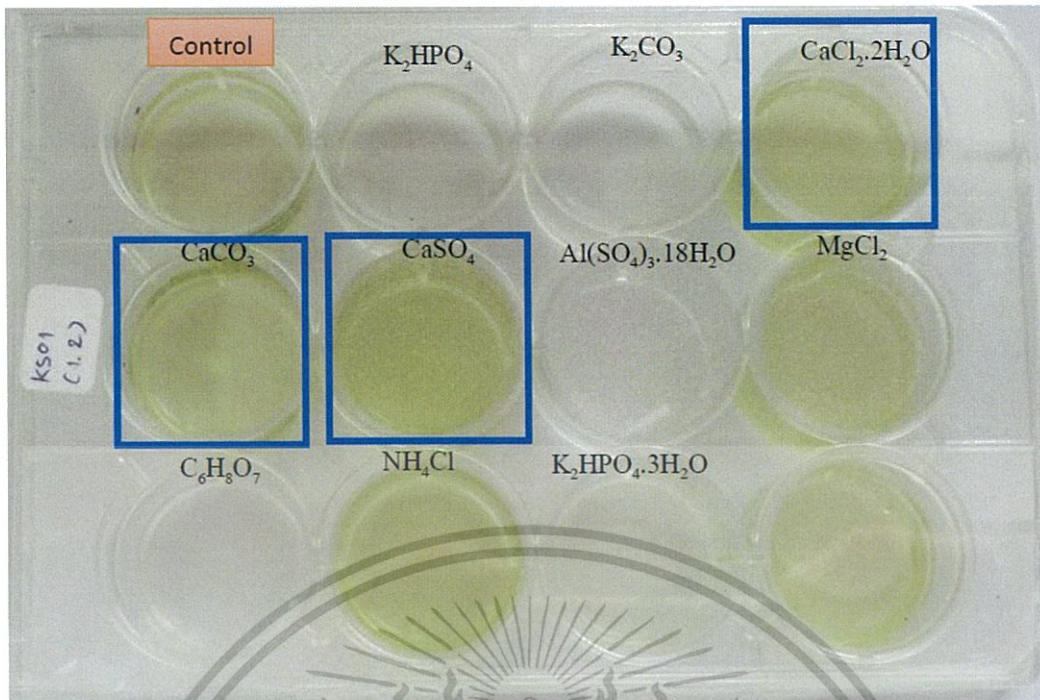
- นำตัวอย่างสาหร่าย 200 μl ปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมเมทานอล 2 ml แล้วต้มที่อุณหภูมิ 120 $^{\circ}\text{C}$ จนตะกอนขาว (ประมาณ 10 นาที)
- นำมาปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที แล้วดูดส่วนใสวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 nm คำนวณในสมการ (3.5) (Sumanta et al., 2014)

$$C_{x+c} = \frac{(1000 \times A_{470}) - (1.63 \times C_a) - (104.96 \times C_b)}{221} \quad (3.5)$$

เมื่อ A = ค่าดูดกลืนแสง ณ ช่วงความยาวคลื่นนั้นๆ
 C_a = Chlorophyll A ($\mu\text{g/ml}$)
 C_b = Chlorophyll B ($\mu\text{g/ml}$)
 C_{x+c} = Carotenoid ($\mu\text{g/ml}$)

3.9 การคำนวณทางสถิติ

ใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ Minitab 17 โดยใช้วิธีคิดแบบ Factorial Experiment in CRD



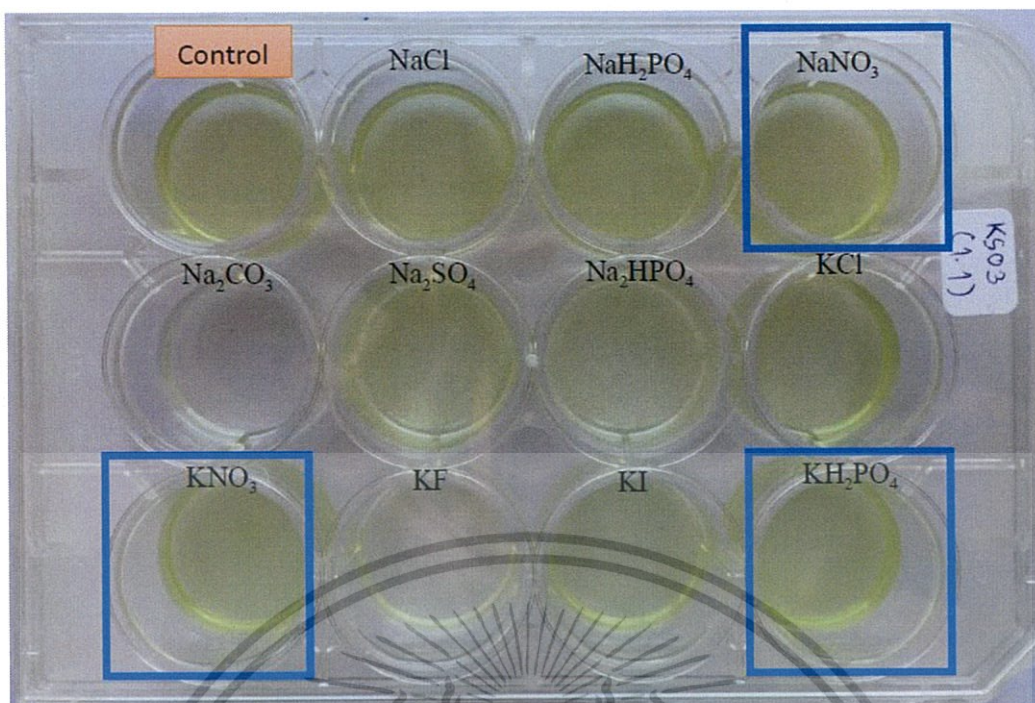
รูปที่ 4.1 ผลการคัดกรองเกลือของสาหร่าย KS01

หมายเหตุ : หมายถึง เกลือที่ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุม (มีสีเขียวเข้มกว่าชุดควบคุม)

จากรูปที่ 4.1 พบว่าสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaNO_3 , KCl , KNO_3 , KI , KH_2PO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CaCO_3 และ CaSO_4 มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุมคาดว่าเป็นผลมาจาก NO_3^- , K^+ , Ca^{2+} , PO_4^{3-} , I^- , SO_4^{2-} และ CO_3^{2-} ในทางตรงกันข้ามคาดว่า Na^+ , Cl^- , F^- , Al^{3+} , Mg^{2+} และ NH_4^+ จะยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย KS01

4.1.2 สาหร่าย KS03 ที่ความเข้มข้นเกลือ 20 mM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



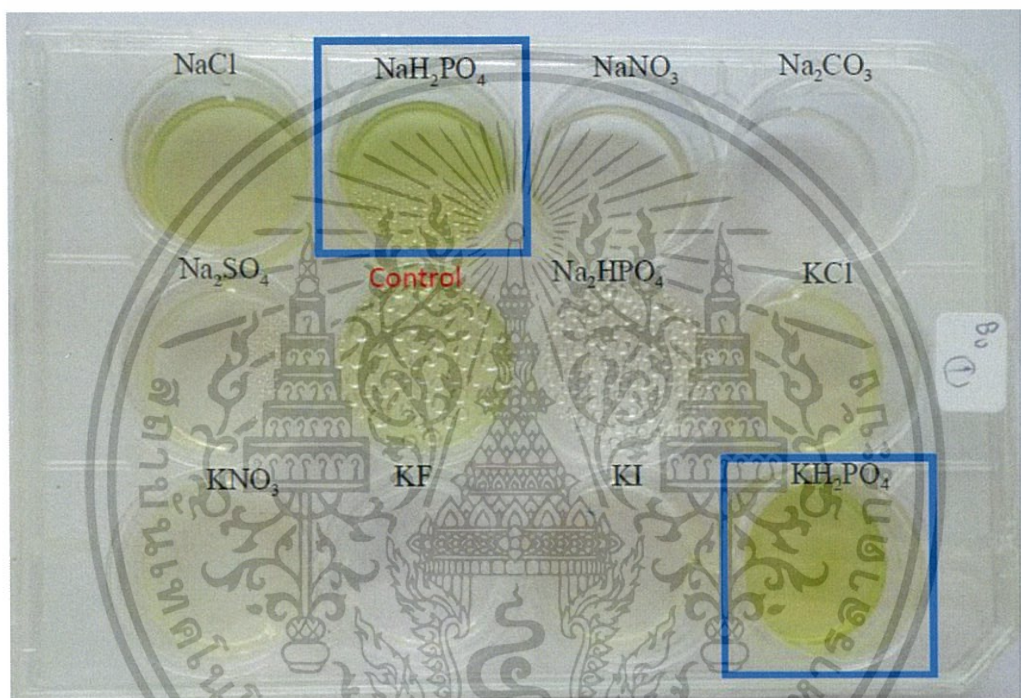
รูปที่ 4.2 ผลการคัดกรองเกลือของสาหร่าย KS03

หมายเหตุ : หมายถึง เกลือที่ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุม (มีสีเขียวเข้มกว่าชุดควบคุม)

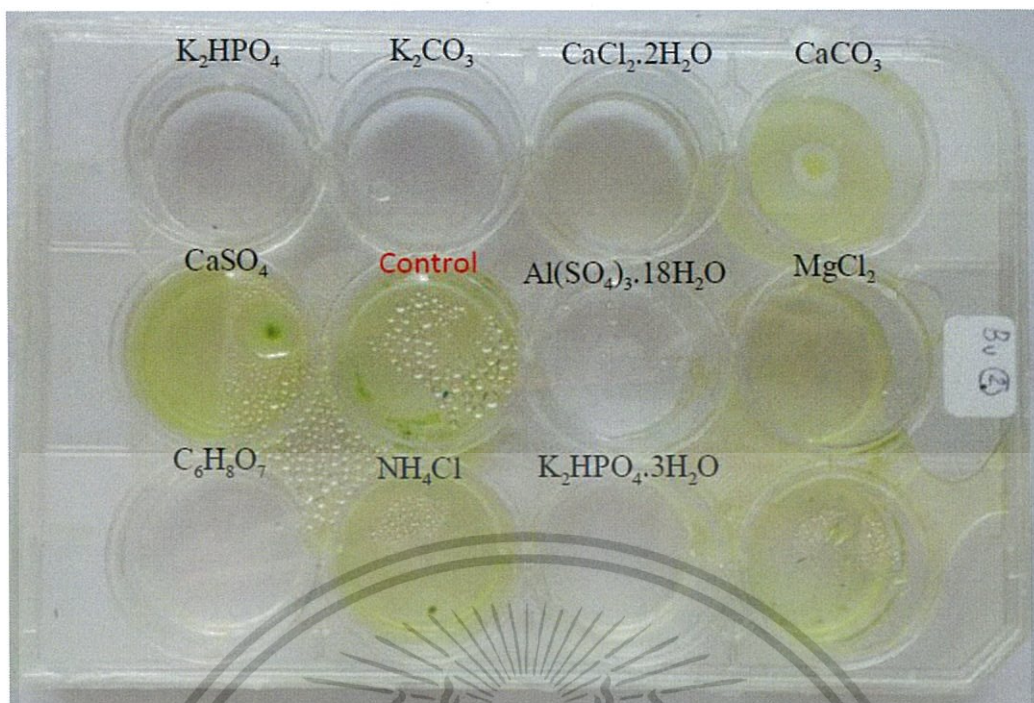
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.2 พบว่าสาหร่าย KS03 ที่มีเกลือ NaNO_3 , KNO_3 , KH_2PO_4 , CaCO_3 และ NH_4Cl ที่ความเข้มข้น 20 mM มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุมคาดว่า เป็นผลมาจาก NO_3^- , PO_4^{3-} , NH_4^+ และ CO_3^{2-} ในทางตรงกันข้ามคาดว่า Na^+ , K^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , Al^{3+} , Mg^{2+} , I^- และ F^- จะยับยั้งการเจริญเติบโตของ สาหร่ายKS03

4.1.3 สาหร่าย *Bumilleriopsis peterseniana* ที่ความเข้มข้นของเกลือ 20 mM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

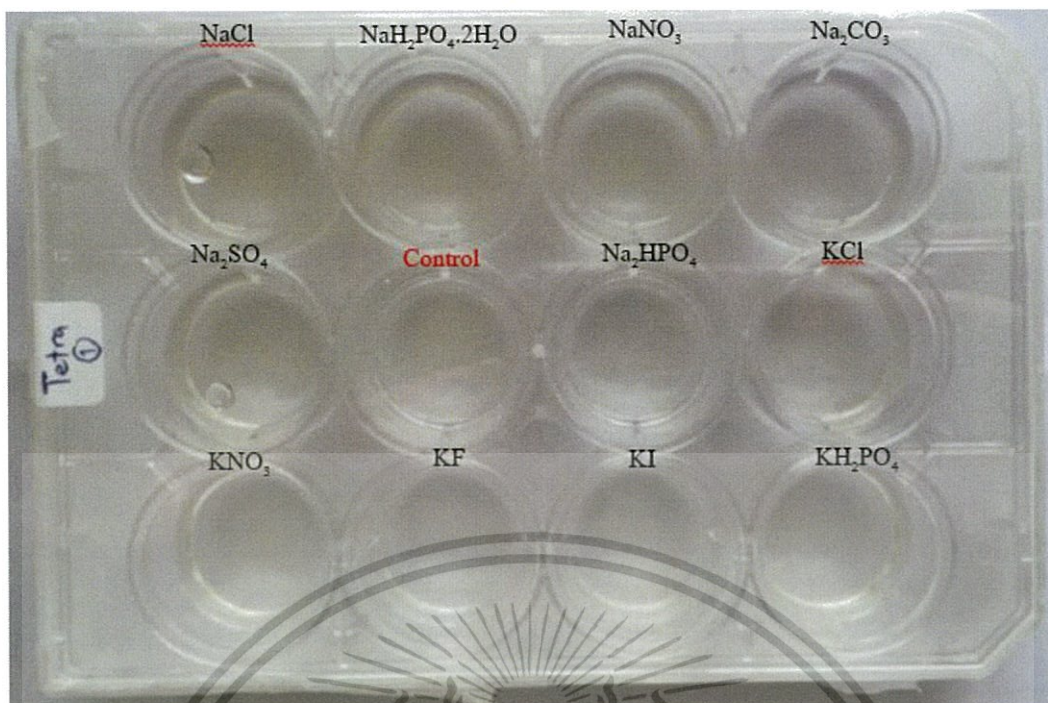


รูปที่ 4.3 ผลการคัดกรองเกลือของสาหร่าย *Bumilleriopsis peterseniana*

หมายเหตุ : หมายถึง เกลือที่ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุม (มีสีเขียวเข้มกว่าชุดควบคุม)

จากรูปที่ 4.3 พบว่าสาหร่าย *Bumilleriopsis peterseniana* ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaH_2PO_4 และ KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้น 20 mM มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุมคาดว่าเป็นผลมาจาก PO_4^{3-} ในทางตรงกันข้ามคาดว่า Na^+ , K^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , Al^{3+} , Mg^{2+} , I^- , F^- , NH_4^+ , NO_3^- และ CO_3^{2-} จะยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Bumilleriopsis peterseniana*

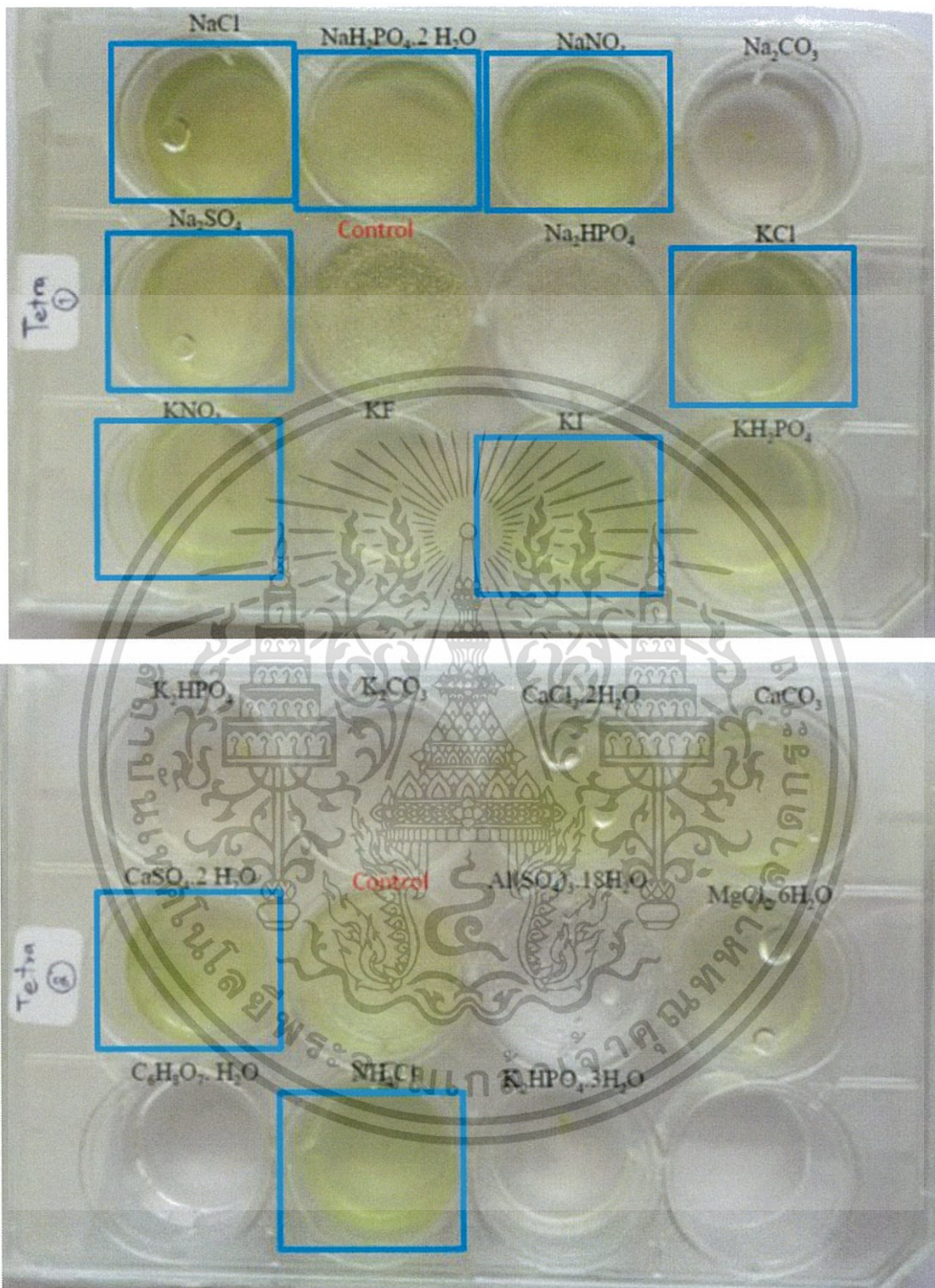
4.1.4 สาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ที่ความเข้มข้นเกลือ 20 mM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 4.4 ผลการคัดกรองเกลือของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.5 สาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ที่ความเข้มข้นเกลือ 20 mM เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.5 ผลการคัดกรองเกลือของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 48 ชั่วโมง

หมายเหตุ : หมายถึง เกลือที่ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุม (มีสีเขียวเข้มกว่าชุดควบคุม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.5 พบว่าสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ที่ 24 ชั่วโมง ไม่มีการเจริญเติบโตที่มองเห็นได้ชัดเจน จึงเพิ่มระยะเวลาเป็น 48 ชั่วโมง พบว่า NaCl, NaH₂PO₄·2H₂O, NaNO₃, Na₂SO₄, KCl, KNO₃, KI, CaSO₄·2H₂O และ NH₄Cl ที่ความเข้มข้น 20 mM มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุม คาดว่าเป็นผลมาจาก Na⁺, NO₃⁻, Cl⁻, SO₄²⁻, I⁻ และ NH₄⁺ ในทางตรงกันข้ามคาดว่า K⁺, Mg²⁺, Al³⁺, F⁻, CO₃²⁻ และ PO₄³⁻ จะยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย

เนื่องจาก *Bumilleriopsis peterseniana* และ *Tetraspora* sp. CU2551 ใช้เวลาในการเพิ่มปริมาณสาหร่ายนานจึงไม่ทำการศึกษาต่อไป

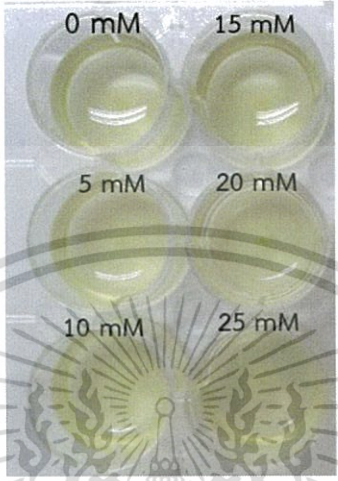
ตารางที่ 4.1 สรุปผลการคัดกรองชนิดของเกลือ

สาหร่าย	เกลือที่คาดว่าจะสามารถใช้เพิ่มชีวมวลได้
KS01	NaNO ₃ , KCl, KNO ₃ , KI, KH ₂ PO ₄ , CaCl ₂ ·2H ₂ O, CaCO ₃ และ CaSO ₄
KS03	NaNO ₃ , KNO ₃ , KH ₂ PO ₄ , CaCO ₃ และ NH ₄ Cl
<i>Bumilleriopsis peterseniana</i>	NaH ₂ PO ₄ และ KH ₂ PO ₄
<i>Tetraspora</i> sp. CU2551	NaCl, NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O, NaNO ₃ , Na ₂ SO ₄ , KCl, KNO ₃ , KI, CaSO ₄ ·2H ₂ O และ NH ₄ Cl

4.2 การปรับความเข้มข้นของเกลือให้เหมาะสม

การปรับความเข้มข้นของเกลือ นำเกลือที่คัดกรองที่สรุปได้ดังตารางที่ 4.1 มาทำการคัดกรองที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 mM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2-4.15

ตารางที่ 4.2 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaNO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

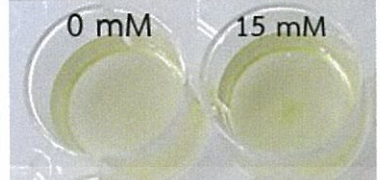
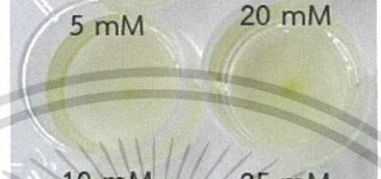

ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปงานเพาะเชื้อสาหร่าย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	1.002		15	0.982
5	0.982		20	0.868
10	0.958		25	0.764

ตารางที่ 4.3 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KI ที่ความเข้มข้นต่างๆ


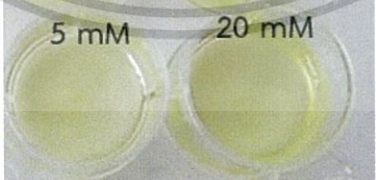
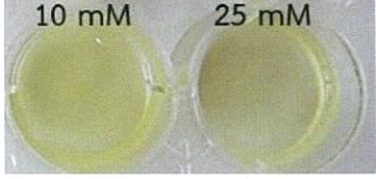
ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปงานเพาะเชื้อสาหร่าย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	0.920		15	0.432
5	0.816		20	0.152
10	0.888		25	0.114

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KCl ที่ความเข้มข้นต่างๆ

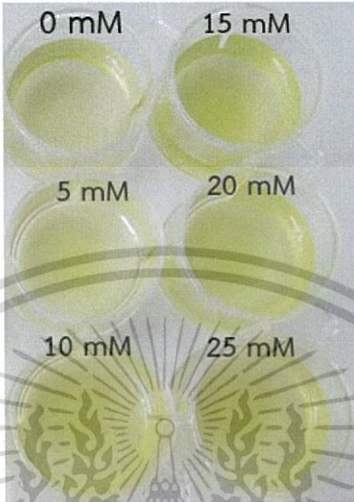
ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปงานเพาะเชื้อสาหร่าย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	0.926		15	0.880
5	0.900		20	0.862
10	0.916		25	0.816

ตารางที่ 4.5 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KNO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปงานเพาะเชื้อสาหร่าย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	0.770		15	0.922
5	0.820		20	0.788
10	0.892		25	0.638

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงรูปและความหนาแน่นของสสาร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปงานเพาะเชื้อสสาร่าย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	1.028		15	1.330
5	1.434		20	1.254
10	1.376		25	1.122

ตารางที่ 4.7 แสดงรูปและความหนาแน่นของสสาร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ CaCO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปงานเพาะเชื้อสสาร่าย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	0.880		15	1.538
5	1.000		20	1.770
10	1.372		25	2.992

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงรูปและความหนาแน่นของสารห้ำย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ

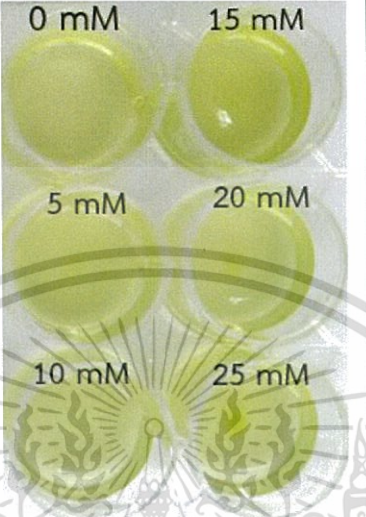
ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปจานเพาะเชื้อสารห้ำย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	0.976	0 mM 15 mM	15	1.432
5	0.880	5 mM 20 mM	20	1.420
10	1.294	10 mM 25 mM	25	1.350

ตารางที่ 4.9 แสดงรูปและความหนาแน่นของสารห้ำย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้นต่างๆ


ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปจานเพาะเชื้อสารห้ำย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	1.000	0 mM 15 mM	15	1.136
5	1.122	5 mM 20 mM	20	1.078
10	1.274	10 mM 25 mM	25	0.998

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงรูปและความหนาแน่นของสารละลาย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KNO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

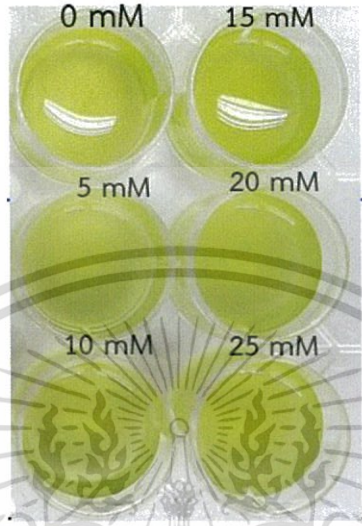
ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปจานเพาะเชื้อสารละลาย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	1.754		15	1.858
5	1.758		20	1.880
10	1.802		25	1.804

ตารางที่ 4.11 แสดงรูปและความหนาแน่นของสารละลาย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปจานเพาะเชื้อสารละลาย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	1.776		15	1.702
5	1.742		20	1.568
10	1.705		25	1.580

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ CaCO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

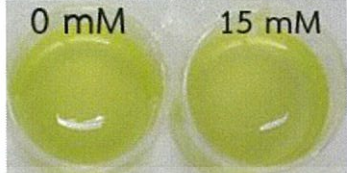
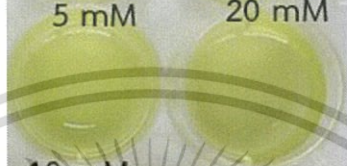

ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปจานเพาะเชื้อสาหร่าย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	1.800		15	2.688
5	2.116		20	2.932
10	2.374		25	3.500

ตารางที่ 4.13 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ

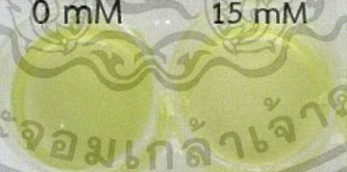
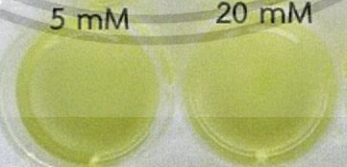

ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปจานเพาะเชื้อสาหร่าย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	1.842		15	1.646
5	1.720		20	1.486
10	1.712		25	1.504

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NH_4Cl ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปงานเพาะเชื้อสาหร่าย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	1.708	0 mM 15 mM 	15	1.694
5	1.614	5 mM 20 mM 	20	1.588
10	1.640	10 mM 25 mM 	25	1.632

ตารางที่ 4.15 แสดงรูปและความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaNO_3 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm	รูปงานเพาะเชื้อสาหร่าย	ความเข้มข้น (mM)	ค่าความหนาแน่นที่ 750 nm
0	1.738	0 mM 15 mM 	15	1.722
5	2.334	5 mM 20 mM 	20	1.648
10	1.794	10 mM 25 mM 	25	1.638

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการปรับความเข้มข้นพบว่าเกลือต่างๆที่สามารถเพิ่มสาหร่ายได้ดังสรุปแสดงในตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 สรุปความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมแต่ละสาหร่าย

สาหร่าย	เกลือ	ความเข้มข้น (mM)	ความเข้มข้นที่ดีที่สุด (mM)	Biomass ที่เพิ่มขึ้น
KS01	KNO ₃	5-20	15	1.197
	CaCl ₂ .2H ₂ O	5-25	10	1.274
	CaCO ₃	5-25	5	1.395
	CaSO ₄ .2H ₂ O	10-25	25	3.400
	KH ₂ PO ₄	5-20	15	1.467
KS03	KNO ₃	5-25	5	1.343
	CaCO ₃	5-25	20	1.072
	NaNO ₃	5-10	25	1.944

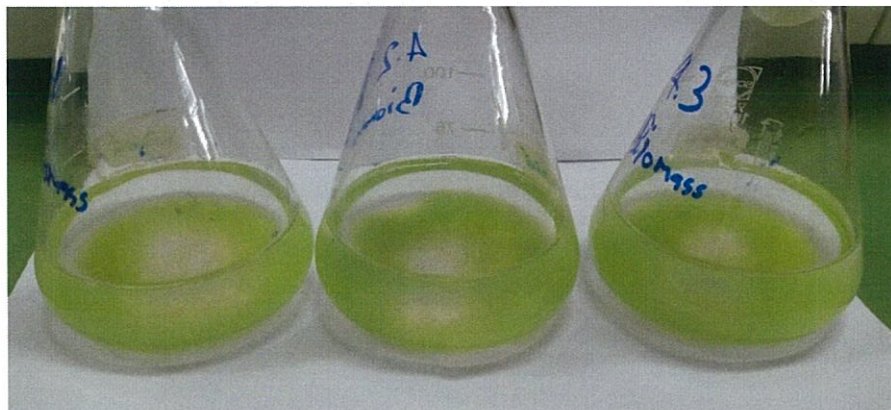
เป็นที่สังเกตว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วย CaCO₃ มีความหนาแน่นสูงและเกลือ CaCO₃ ก็มีความหนาแน่นสูงเช่นกันดังตาราง 4.17 สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วย KNO₃ 15 mM และสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วย KNO₃ 20 mM คาดว่าจะมีการเพิ่มขึ้นของชีวมวลคิดเป็น 1.197 และ 1.072 เท่าของชุดควบคุมตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่น้อยเมื่อเทียบกับเกลืออื่น สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วย CaCl₂.2H₂O 5 mM สาหร่ายเกิดการจับตัวเป็นก้อน ตกลงสู่ก้นขวดรูปชมพู ดังรูปที่ 4.6 และที่เพาะเลี้ยงด้วย CaSO₄.2H₂O 15 mM เมื่อส่องกล้องจุลทรรศน์เพื่อนับจำนวนเซลล์ปรากฏว่ามีตะกอนสาหร่ายขวางอยู่ทำให้นับจำนวนเซลล์ไม่ได้ ดังรูปที่ 4.7 ด้วยเหตุผลที่กล่าวมานั้นทำให้ไม่นำเกลือเหล่านั้นมาศึกษาต่อ

ดังนั้นจึงเลือกเฉพาะสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วย KH₂PO₄ 10 mM และ KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วย NaNO₃ 5 mM ไปทำการศึกษชีวมวลต่อไป

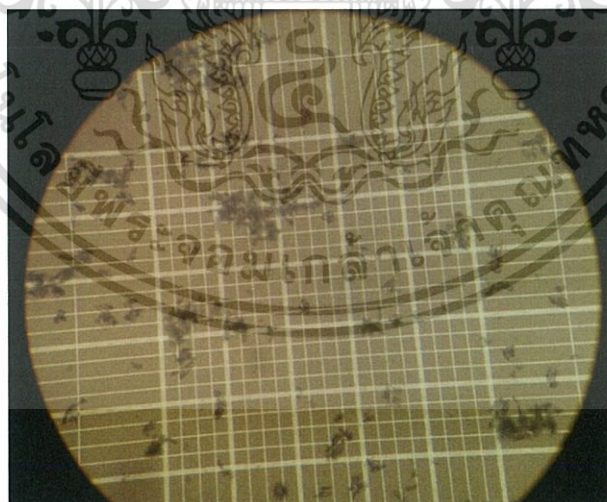
ตารางที่ 4.17 ค่าความขุ่นของเกลือ CaCO₃ ที่ความยาวคลื่น 750 nm

เกลือ	ความเข้มข้น (mM)					
	0	5	10	15	20	25
CaCO ₃	0	1.089	1.711	2.251	2.326	2.523

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5 mM สาหร่ายเกิดการจับตัวเป็นก้อนภายในขวดรูปชมพู่



รูปที่ 4.7 สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 15 mM เมื่อส่องกล้องจุลทรรศน์เพื่อนับจำนวนเซลล์ปรากฏว่ามีตะกอนสาหร่ายขวางอยู่ทำให้นับจำนวนเซลล์ไม่ได้

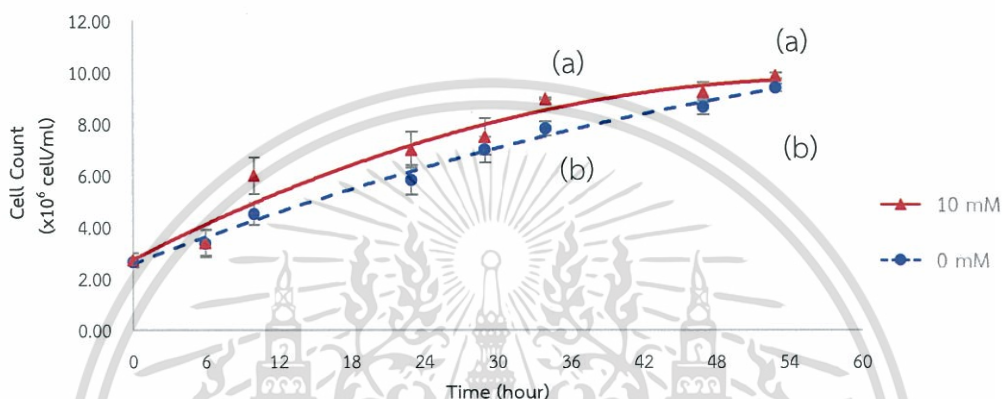
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การวัดชีวมวลและการเจริญเติบโตของสาหร่าย

ผลจากการนำความเข้มข้นที่เหมาะสมมาเพาะเลี้ยงแล้ววัดตรงขึ้นชี้วัดชีวมวลและการเจริญเติบโตของสาหร่ายประมาณ 48 ชั่วโมง โดยเก็บผลการทดลองทุกๆ 6-8 ชั่วโมง ได้ผลดังต่อไปนี้

4.3.1 ความสัมพันธ์ของเกลือ KH_2PO_4 10 mM ต่อสาหร่าย KS01

4.3.1.1 การนับจำนวนเซลล์สาหร่าย

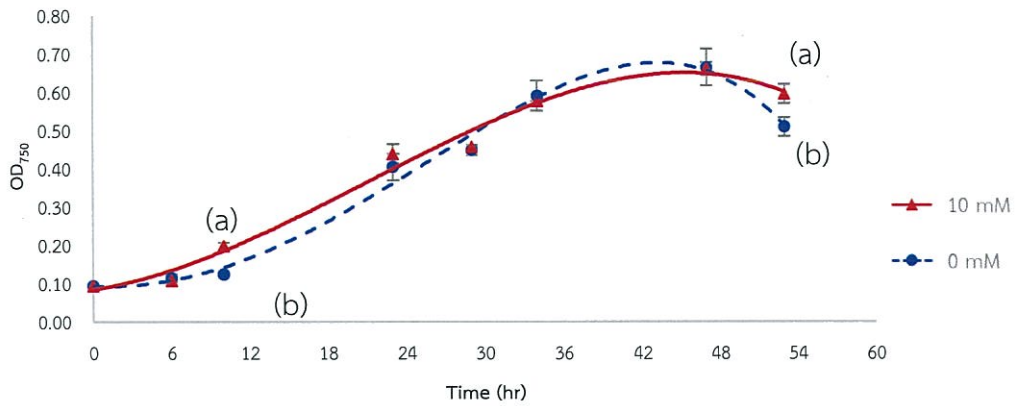


รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และจำนวนเซลล์สาหร่าย KS01 ($\times 10^6$ cell/ml)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.8 พบว่าจำนวนเซลล์สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วย KH_2PO_4 10 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.1103 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.1.2 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย

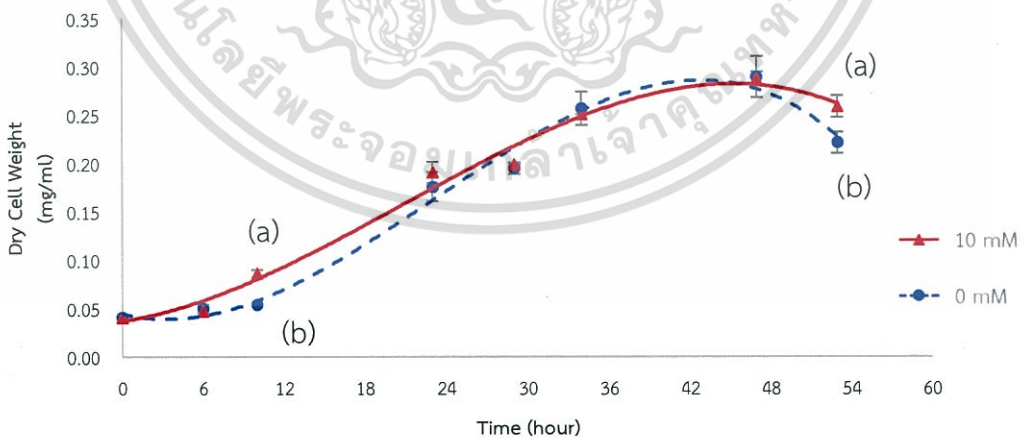


รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และความหนาแน่นของเซลล์สำหรับสาย KS01 ที่ความยาวคลื่น 750 nm

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.9 พบว่าความหนาแน่นของเซลล์สำหรับสาย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วย KH_2PO_4 10 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.0610 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.1.3 น้ำหนักเซลล์แห้งของเซลล์สำหรับสาย



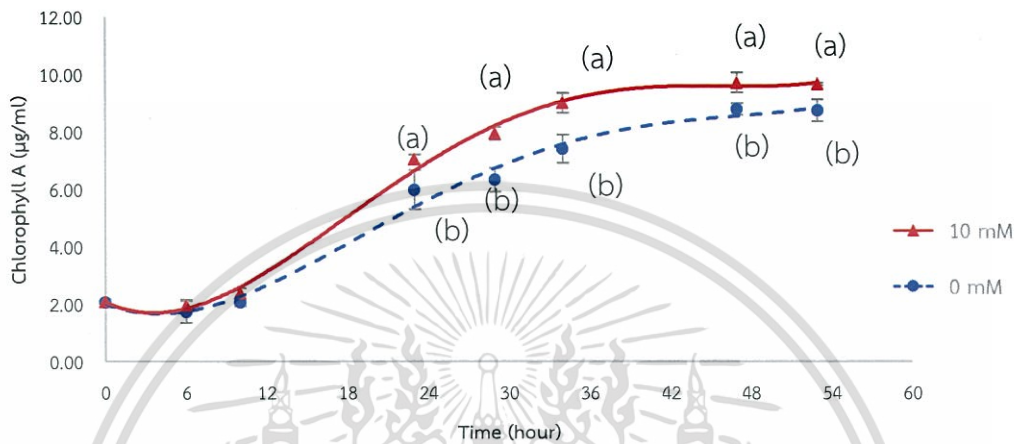
รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และน้ำหนักเซลล์แห้งของสาย KS01 (mg/ml)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.10 พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วย KH_2PO_4 10 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.0604 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.1.4 ปริมาณ Chlorophyll A

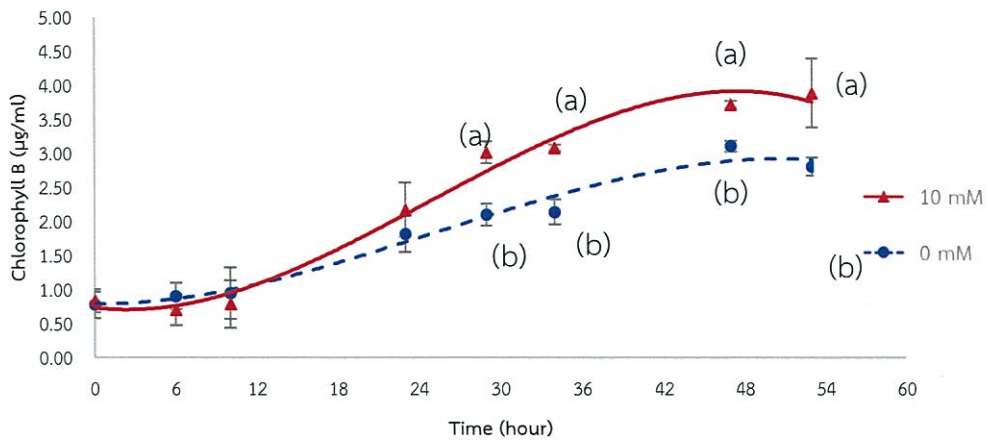


รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Chlorophyll A ของ KS01 (µg/ml)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.11 พบว่า Chlorophyll A ของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วย KH_2PO_4 10 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.1555 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.1.5 ปริมาณ Chlorophyll B

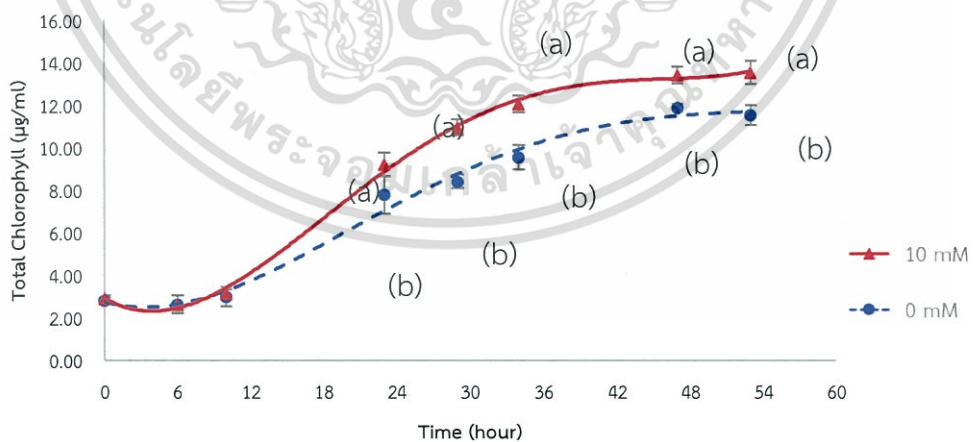


รูปที่ 4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Chlorophyll B ของ KS01 (µg/ml)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.12 พบว่า Chlorophyll B ของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วย KH_2PO_4 10 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.2466 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.1.6 ปริมาณ Total Chlorophyll



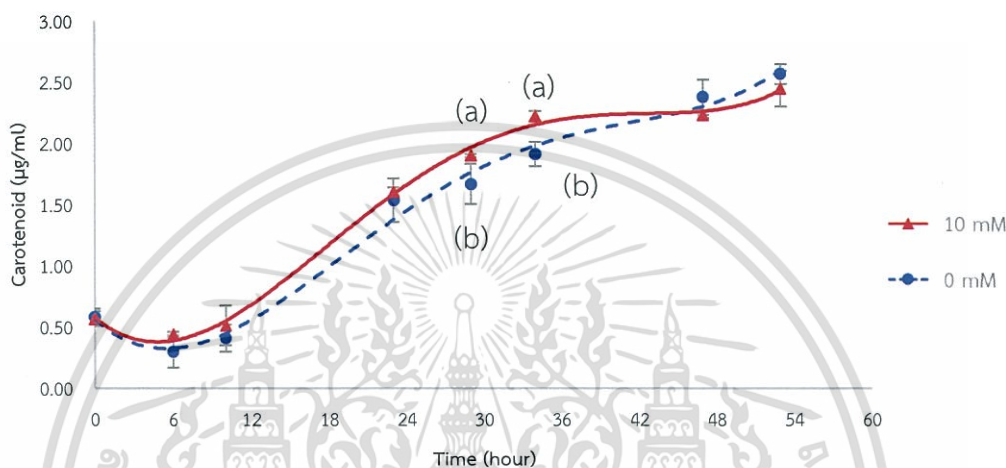
รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Total Chlorophyll ของ KS01 (µg/ml)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.13 พบว่า Total Chlorophyll ของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วย KH_2PO_4 10 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.1162 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.1.7 ปริมาณ Carotenoid



รูปที่ 4.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Carotenoid ของ KS01 ($\mu\text{g/ml}$)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.14 พบว่า Carotenoid ของสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วย KH_2PO_4 10 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.0528 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

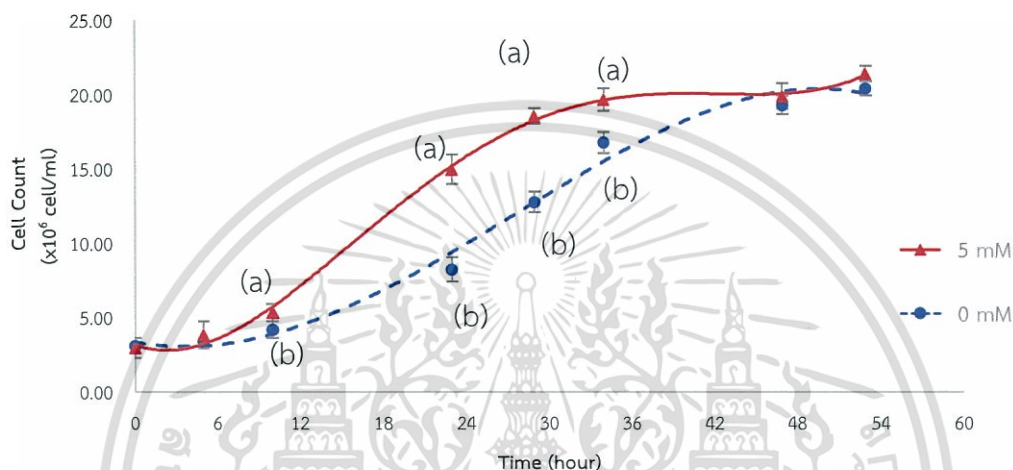
จากรูปที่ 4.8-4.14 พบว่าสาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KH_2PO_4 มีค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์สาหร่าย, ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย, น้ำหนักเซลล์แห้ง, Chlorophyll A, Chlorophyll B, Total Chlorophyll และ Carotenoid มากกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ถ้าต้องการเพิ่มปริมาณสาหร่าย KS01 ด้วยเกลือ KH_2PO_4 ที่ 10 mM จะสามารถเพิ่มปริมาณความหนาแน่นของสาหร่ายได้ 1.0610 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยคาดว่าอาจเป็นเพราะมีหมู่ฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ซึ่งเป็นส่วนประกอบอันสำคัญของสารพลังงานสูง (Adenosine triphosphate ; ATP) ที่อยู่ใน mitochondria คอยเป็นตัวการสำคัญของการรับ-ส่งอิเล็กตรอนเพื่อใช้ในการเมตาบอลิซึม เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซิมและหมู่ฟอสเฟต (PO_4^{3-}) เป็นส่วนประกอบของ DNA เมื่อสร้าง DNA ได้ไวก็สามารถแบ่งเซลล์ได้ไว จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น

4.3.2 ความสัมพันธ์ของเกลือ NaNO_3 5 mM ต่อสาหร่าย KS03

4.3.2.1 การนับจำนวนเซลล์สาหร่าย

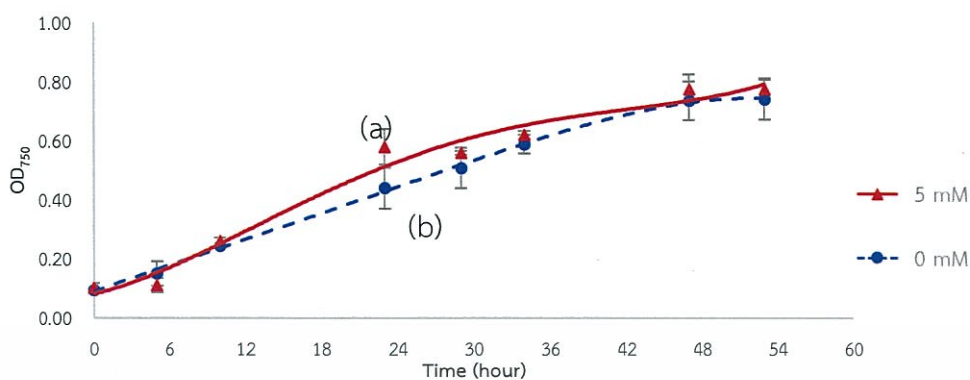


รูปที่ 4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และจำนวนเซลล์สาหร่าย KS03 ($\times 10^6$ cell/ml)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.15 พบว่าจำนวนของเซลล์สาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วย NaNO_3 5 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.2094 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.2.2 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย

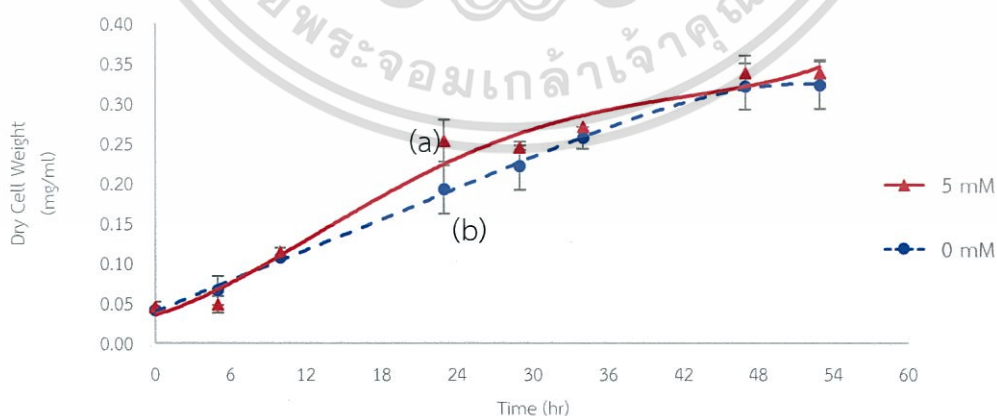


รูปที่ 4.16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย KS03 ที่ความยาวคลื่น 750 nm

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.16 พบว่าความหนาแน่นของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วย NaNO_3 5 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.0811 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.2.3 น้ำหนักเซลล์แห้งของเซลล์สาหร่าย



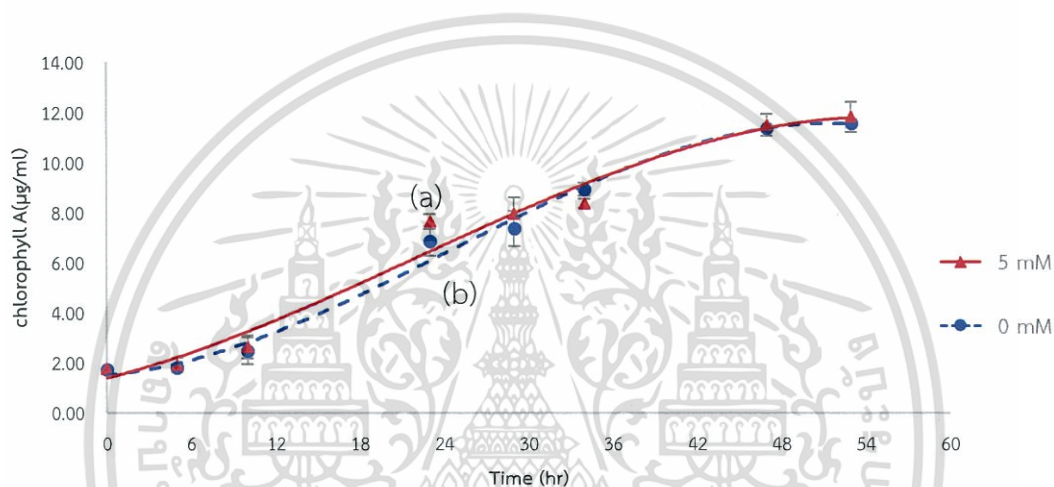
รูปที่ 4.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และน้ำหนักเซลล์แห้งของเซลล์สาหร่าย KS03 (mg/ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.17 พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วย NaNO_3 5 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.0812 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.2.3 ปริมาณ Chlorophyll A



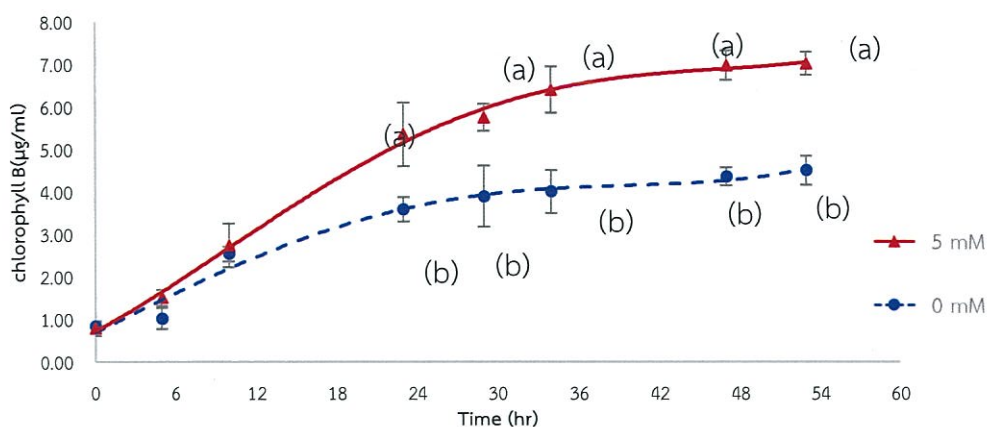
รูปที่ 4.18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Chlorophyll A ของ KS03 ($\mu\text{g/ml}$)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.18 พบว่า Chlorophyll A ของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วย NaNO_3 5 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.0278 เท่าของชุดควบคุม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.2.4 ปริมาณ Chlorophyll B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

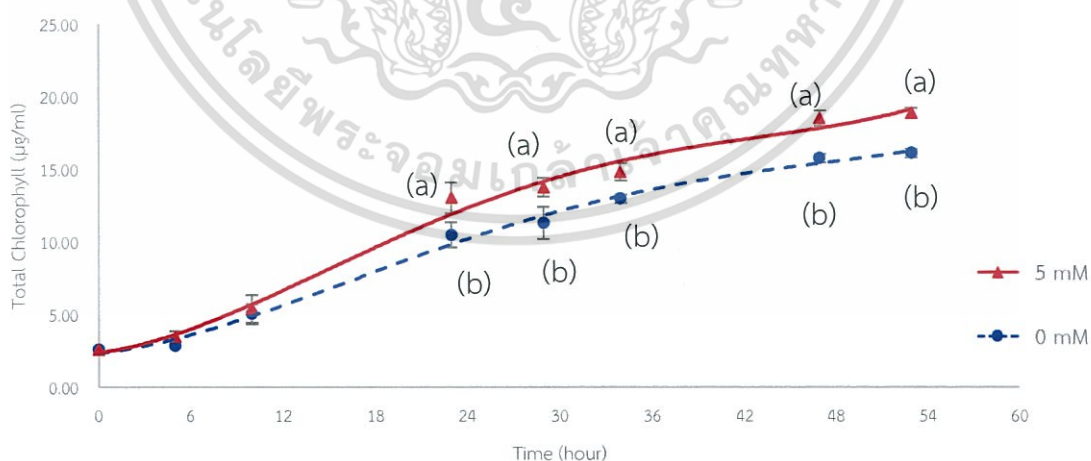


รูปที่ 4.19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Chlorophyll B ของ KS03 (µg/ml)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.19 พบว่า Chlorophyll B ของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วย NaNO₃ 5 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.4755 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.2.5 ปริมาณ Total Chlorophyll



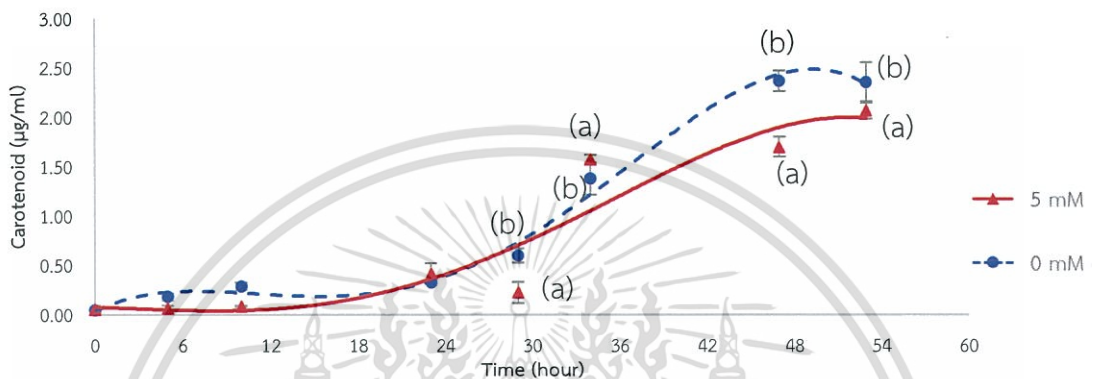
รูปที่ 4.20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Total Chlorophyll ของ KS03 (µg/ml)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿去ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.20 พบว่า Total Chlorophyll ของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วย NaNO_3 5 mM เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.1735 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3.2.6 ปริมาณ Carotenoid



รูปที่ 4.21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (hr) และปริมาณ Carotenoid ของ KS03 (µg/ml)

หมายเหตุ : ถ้าระบุ (a), (b) แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ถ้าไม่ได้ระบุแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.21 พบว่า Carotenoid ของสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วย NaNO_3 5 mM ลดลงโดยเฉลี่ยคิดเป็น 0.8191 เท่าของชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากรูปที่ 4.15-4.21 พบว่าสาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaNO_3 มีค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์สาหร่าย, ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย, น้ำหนักเซลล์แห้ง, Chlorophyll A, Chlorophyll B และ Total Chlorophyll มากกว่าชุดควบคุม แต่ Carotenoid น้อยกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่ทว่า Chlorophyll A ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ถ้าต้องการเพิ่มปริมาณสาหร่าย KS03 ด้วยเกลือ NaNO_3 ที่ 5 mM จะสามารถเพิ่มปริมาณความหนาแน่นของสาหร่ายได้ 1.0811 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม คาดว่ามีสาเหตุมาจาก NO_3^- ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่เป็นธาตุอาหารหลักใช้ในการเจริญเติบโตของสาหร่าย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การคัดกรองเกลือโดยใช้สาหร่าย 4 สายพันธุ์ และเกลือ 21 ชนิดที่ความเข้มข้น 20 mM เพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมงในงานเพาะเชื้อแบบหลุม โดยคัดกรองด้วยสายตา ได้ผลดังนี้ คือ

1.สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaNO_3 , KI , KCl , KNO_3 , KH_2PO_4 , CaCO_3 , $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ มีการเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุม

2.สาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaNO_3 , NaH_2PO_4 , KNO_3 , KH_2PO_4 , CaCO_3 และ NH_4Cl มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุม

3.สาหร่าย *Bumilleriopsis peterseniana* ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaH_2PO_4 และ KH_2PO_4 มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุม

4.สาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 เวลาในการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมงไม่สามารถบันทึกผลได้จึงศึกษาต่อเป็น 48 ชั่วโมงจะเห็นผลว่า NaCl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaNO_3 , NaSO_4 , KCl , KNO_3 , KI , $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และ NH_4Cl มีการเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุม

เนื่องจาก *Bumilleriopsis peterseniana* และ *Tetraspora* sp. CU2551 ใช้เวลาในการเพิ่มปริมาณหรือเลี้ยงสาหร่ายนานจึงไม่ทำการศึกษาต่อไป

การปรับความเข้มข้นเกลือให้เหมาะสมโดยใช้สาหร่าย 2 สายพันธุ์และเกลือที่ได้จากการคัดกรอง ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 mM เพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมงในงานเพาะเชื้อแบบหลุม คัดกรองโดยการวัดความหนาแน่นโดยอาศัยแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm ได้ผลดังนี้ คือ

1.สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KH_2PO_4 10 mM, KNO_3 15 mM, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5 mM, CaCO_3 5 mM และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 15 mM มีความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายมากเหมาะแก่การศึกษาต่อ

2.สาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaNO_3 5 mM, KNO_3 5 mM และ CaCO_3 20 mM มีความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายมากเหมาะแก่การศึกษาต่อ

3.สาหร่าย KS01 และ KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KNO_3 คาดว่าจะมีการเพิ่มขึ้นของชีวมวลน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับเกลืออื่น จึงไม่ทำการศึกษาต่อไป

4.สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5 mM สาหร่ายเกิดการจับตัวเป็นก้อนภายในขวดรูปชมพู่จึงไม่ทำการวิเคราะห์ต่อไป

5.สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 15 mM เมื่อส่องกล้องจุลทรรศน์เพื่อ นับจำนวนเซลล์ปรากฏว่ามีตะกอนสาหร่ายขวางอยู่ทำให้นับจำนวนเซลล์ไม่ได้จึงไม่ทำการวิเคราะห์ต่อไป

6.เกลือ CaCO_3 มีค่าความขุ่นสูงจึงไม่ทราบได้อย่างแน่ชัดว่าค่าความหนาแน่นที่วัดได้เป็นค่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายหรือความขุ่นของเกลือจึงไม่ทำการศึกษาต่อไป

การวัดชีวมวลและการเจริญเติบโตสำหรับนำเกลือและความเข้มข้นที่ได้จากการปรับให้เหมาะสมมาทดลองเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยเก็บผลการทดลองทุก 6-8 ชั่วโมง ได้ผลดังนี้ คือ

1. สาหร่าย KS01 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ KH_2PO_4 10 mM มีจำนวนเซลล์, ความหนาแน่น, น้ำหนักเซลล์แห้ง, chlorophyll A, chlorophyll B, Total Chlorophyll และ Carotenoid เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.1103, 1.0610, 1.0604, 1.1555, 1.2466, 1.1162 และ 1.0528 เท่าของชุดควบคุม ซึ่งทุกการวิเคราะห์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. สาหร่าย KS03 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเกลือ NaNO_3 5 mM มีจำนวนเซลล์, ความหนาแน่น, น้ำหนักเซลล์แห้ง, chlorophyll A, chlorophyll B และ Total Chlorophyll เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยคิดเป็น 1.2094, 1.0811, 1.0812, 1.0278, 1.4755, 1.1735 เท่าของชุดควบคุม แต่ Carotenoid มีค่าลดลงโดยเฉลี่ยคิด 0.8191 เท่าของชุดควบคุม ซึ่งทุกการวิเคราะห์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม ยกเว้น Chlorophyll A ที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากที่กล่าวมาทั้งหมดสรุปได้ว่าสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มปริมาณสาหร่ายของสาหร่าย KS01 คือ KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้น 10 mM และสาหร่าย KS03 คือ NaNO_3 ที่ความเข้มข้น 5 mM

5.2 ข้อเสนอแนะ

การคัดกรองเกลือควรใช้วิธีการวัดความหนาแน่นโดยอาศัยแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm แทนการสังเกตด้วยสายตา

การวัดชีวมวลและการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วยการวัดความหนาแน่นโดยอาศัยแสง อาจมีข้อผิดพลาดได้เนื่องจากไม่ทราบว่าคุณสมบัติที่วัดได้นั้นมาจากสาหร่ายที่เจริญเติบโตมากขึ้น, จากการตายของเซลล์สาหร่าย หรือความขุ่นของเกลือ

นอกจากนี้ควรเพิ่มชนิดของเกลือให้หลากหลายมากกว่านี้เพื่อค้นหาความเข้มข้นที่เหมาะสมแก่การนำไปศึกษาต่อ

เอกสารอ้างอิง

- ขจรเกียรติ ศรีนวลสม. 2551. การวัดมวลชีวภาพและการเจริญเติบโตของสาหร่าย. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.fishtech.mju.ac.th/FishNew1/OSS/files/TmBcVklThu30003.pdf>
- ขจรเกียรติ ศรีนวลสม. 2551. เทคนิคการคัดแยกเชื้อสาหร่ายและการทำให้เชื้อบริสุทธิ์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.fishtech.mju.ac.th/fishnew1/OSS/files/BOXCL6LThu25957.pdf>
- นุชนาด เข้มซ้อย. 2557. “สาหร่ายขนาดเล็ก : การเพาะเลี้ยงและการนำมาใช้ประโยชน์.” *วารสาร มจร.วิชาการ.* 17(34) : 169-183.
- วิภาดา พลที. สาหร่าย. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://wipadapoltee.blogspot.com/2012/02/blog-post.html>.
- ปัญญารักษ์ รุ่งนุรักษ์, ผดุง โล่ห์วีรหัตถ์ และเพชรพล พุกพิบูลย์. 2559. การคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจากน้ำเสียโรงงานผลิตเอทานอลเพื่อการบำบัดน้ำเสียสาหร่ายน้ำตาล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม) คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- วัชรภรณ์ เสมาศัย, วิจารณ์ ชูจง และอดิสรณ์ รักษาสิริ. 2559. การคัดแยกสาหร่ายในบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังเพื่อการผลิตไฮโดรเจนชีวภาพ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม) คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เมธา มีแต้ม. 2554. ผลกระทบของความเครียดที่เกิดจากระดับความเค็มต่อการเจริญและเมแทบอลิซึมของสาหร่ายน้ำจืด *Chlorella vulgaris*. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.eht.sc.mahidol.ac.th/project/1051>.
- ส่วนวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย. 2557. ประโยชน์ของสาหร่ายและผลิตภัณฑ์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.thaikasetsart.com/%E0%B8%9B%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%B9%82%E0%B8%A2%E0%B8%8A%E0%B8%99%E0%B9%8C%E0%B8%82%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%AB%E0%B8%A3%E0%B9%88%E0%B8%B2%E0%B8%A2/>.
- ศุภย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี. 2548. การนับพลวงค์ตอนด้วย Hamacytometer. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.fisheries.go.th/cf-chan/plankton/hema/hema.htm>.
- อุทิศ เชื้อบัณฑิต และสมนทิพย์ บุณนาค. ผลของเบนซีนต่อการเติบโตของสาหร่ายสไปรูไลนา (*Spirulina platensis*). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Maneeruttanarungroj, C., Lindblad, P. and Incharoensakdi, A. 2010. A newly isolated green alga, *Tetraspora* sp. CU2551, from Thailand with efficient hydrogen production. *Journal of hydrogen energy* 35 : 13193-13199.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nguyen, T. T., Bui, X. T., Pham, M. D., Guo, W. and Ngo, H. H. 2016. Effect of Tris-(hydroxymethyl)-amino methane on microalgae biomass growth in a photobioreator. *Bioresource Technology* 208 : 1-6.

Paricha. 2008. เกล็ดและองค์ประกอบ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://saltony.blogspot.com>.

Sumanta, N., Haque, C. I., Nishika, J. and Suprakash, R. 2014. Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents. *Journal of Chemical Science* 4(9) : 63-69.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลทางสถิติของสาหร่าย KS01 และ KH_2PO_4 10 mM

ตารางที่ ก-1 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์สาหร่าย KS01 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 10 mM
Time	8	0, 6, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	4.661	4.6612	25.27	0.000
time	7	248.158	35.4512	192.19	0.000
Salt*time	7	2.652	0.3788	2.05	0.086
Error	26	4.796	0.1845		
Total	41	260.405			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์สาหร่ายที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
10 mM	18	6.83750	A
0 mM	24	6.15833	B

ตารางที่ ก-2 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์สาหร่าย KS01 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		6 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	2.717	A	3.383	A	6.000	A	7.000	A
0	2.650	A	3.367	A	4.517	A	5.833	A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-2(ต่อ) ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์สาหร่าย KS01 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	7.500	A	8.975	A	9.250	A	9.875	A
0	7.000	A	7.817	B	8.667	A	9.417	B

ตารางที่ ก-3 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย KS01 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 10 mM
Time	8	0, 6, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	0.00500	0.005003	9.09	0.006
time	7	1.89631	0.270902	492.41	0.000
Salt*time	7	0.01282	0.001832	3.33	0.011
Error	26	0.01430	0.000550		
Total	41	1.97393			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกัน โดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
10 mM	18	0.39050	A
0 mM	24	0.36825	B

ตารางที่ ก-4 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อความหนาแน่นเซลล์สาหร่าย KS01 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		6 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	0.094	A	0.114	A	0.198	A	0.438	A
0	0.094	A	0.108	A	0.124	B	0.404	A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-4(ต่อ) ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อความหนาแน่น เซลล์สาหร่าย KS01 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	0.456	A	0.590	A	0.664	A	0.594	A
0	0.448	A	0.576	A	0.660	A	0.508	B

ตารางที่ ก-5 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งของ เซลล์สาหร่าย KS01 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 10 mM
Time	8	0, 6, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	0.000950	0.000950	9.09	0.006
time	7	0.360461	0.051494	492.28	0.000
Salt*time	7	0.002433	0.000348	3.32	0.012
Error	26	0.002720	0.000105		
Total	41	0.375216			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
10 mM	18	0.170240	A
0 mM	24	0.160542	B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-6 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง
สาหร่าย KS01 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		6 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	0.041	A	0.050	A	0.086	A	0.191	A
0	0.041	A	0.047	A	0.054	B	0.176	A

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	0.199	A	0.257	A	0.289	A	0.259	A
0	0.195	A	0.251	A	0.288	A	0.221	B

ตารางที่ ก-7 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการสร้าง
Chlorophyll A ของเซลล์สาหร่าย KS01 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ
ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 10 mM
Time	8	0, 6, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	7.100	7.1002	63.99	0.000
time	7	356.216	55.6023	501.08	0.000
Salt*time	7	3.382	0.4831	4.35	0.003
Error	26	2.885	0.1110		
Total	41	398.508			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Chlorophyll A ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher
Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
10 mM	18	6.22943	A
0 mM	24	5.3910	B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-8 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Chlorophyll A ของสาหร่าย KS01 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		6 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	2.088	A	1.957	A	2.374	A	7.047	A
0	2.063	A	1.734	A	2.058	A	5.988	B

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	7.956	A	9.011	A	9.724	A	9.678	A
0	6.331	B	7.414	B	8.794	B	8.748	B

ตารางที่ ก-9 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Chlorophyll B ของเซลล์สาหร่าย KS01 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 10 mM
Time	8	0, 6, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	2.046	2.04633	36.09	0.000
time	7	44.935	6.41926	113.22	0.000
Salt*time	7	2.365	0.33790	5.96	0.000
Error	26	1.474	0.05669		
Total	41	48.215			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Chlorophyll B ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
10 mM	18	2.27458	A
0 mM	24	1.82458	B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-10 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Chlorophyll B ของสาหร่าย KS01 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		6 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	0.835	A	0.698	A	0.788	A	2.176	A
0	0.772	A	0.902	A	0.948	A	1.815	A

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	3.016	A	3.081	A	3.716	A	3.886	A
0	2.101	B	2.142	B	3.109	B	2.807	B

ตารางที่ ก-11 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Total Chlorophyll ของเซลล์สาหร่าย KS01 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 10 mM
Time	8	0, 6, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	16.777	16.7766	83.30	0.000
time	7	695.440	99.3486	493.27	0.000
Salt*time	7	10.537	1.5052	7.47	0.000
Error	26	5.237	0.2014		
Total	41	712.361			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Total chlorophyll ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
10 mM	18	8.50401	A
0 mM	24	7.21553	B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-12 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Total Chlorophyll ของสาหร่าย KS01 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		6 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	2.923	A	2.655	A	3.162	A	9.223	A
0	2.835	A	2.635	A	3.006	A	7.803	B

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	10.97	A	12.09	A	13.44	A	13.56	A
0	8.43	B	9.55	B	11.90	B	11.56	B

ตารางที่ ก-13 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Carotenoid ของเซลล์สาหร่าย KS01 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 10 mM
Time	8	0, 6, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	0.0565	0.05653	4.64	0.041
time	7	27.5343	3.93347	322.69	0.000
Salt*time	7	0.2276	0.03252	2.67	0.032
Error	26	0.3169	0.01219		
Total	41	28.9035			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Carotenoid ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
10 mM	18	1.49255	A
0 mM	24	1.41776	B

ตารางที่ ก-14 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ KH_2PO_4 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Carotenoid ของสาหร่าย KS01 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		6 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	0.568	A	0.438	A	0.513	A	1.607	A
0	0.583	A	0.298	A	0.409	A	1.537	A

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
10	1.902	A	2.226	A	2.236	A	2.449	A
0	1.650	B	1.915	B	2.380	A	2.569	A

ข้อมูลทางสถิติของสาหร่ายKS03 และเกลือ NaNO_3 5 mM

ตารางที่ ก-15 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นจำนวนเซลล์สาหร่าย KS03 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 5 mM
Time	8	0, 5, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	64.06	64.056	143.53	0.000
time	7	2358.47	336.925	54.93	0.000
Salt*time	7	71.62	10.231	22.92	0.000
Error	32	14.28	0.446		
Total	47	2508.43			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์สาหร่ายที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
5 mM	24	13.3438	A
0 mM	24	11.0333	B

ตารางที่ ก-16 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์สำหรับยีส KS03 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		5 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	2.967	A	3.850	A	5.333	A	15.00	A
0	3.100	A	3.400	A	4.183	B	8.25	B

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	18.58	A	19.68	A	19.92	A	21.42	A
0	12.78	B	16.78	B	19.32	A	20.45	A

ตารางที่ ก-17 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อความหนาแน่นของเซลล์สำหรับยีส KS03 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 5 mM
Time	8	0, 5, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	0.01512	0.015123	8.05	0.008
time	7	2.92896	0.418422	222.62	0.000
Salt*time	7	0.02709	0.003870	2.06	0.078
Error	32	0.06014	0.001879		
Total	47	3.03132			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของเซลล์สำหรับยีสที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกัน โดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
5 mM	24	0.4730	A
0 mM	24	0.4375	B

ตารางที่ ก-18 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อความหนาแน่นเซลล์
สำหรับ KS03 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		5 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	0.102	A	0.110	A	0.260	A	0.580	A
0	0.094	A	0.150	A	0.244	A	0.440	B

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	0.560	A	0.620	A	0.776	A	0.776	A
0	0.508	A	0.558	A	0.736	A	0.740	A

ตารางที่ ก-19 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง
ของเซลล์สำหรับ KS03 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 5 mM
Time	8	0, 5, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	0.002877	0.002877	8.05	0.008
time	7	0.556726	0.079532	222.68	0.000
Salt*time	7	0.005149	0.000736	2.06	0.078
Error	32	0.011429	0.000357		
Total	47	0.576181			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher
Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
5 mM	24	0.206204	A
0 mM	24	0.190721	B

ตารางที่ ก-20 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง
สำหรับ KS03 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		5 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	0.044	A	0.048	A	0.113	A	0.253	A
0	0.041	A	0.065	A	0.106	A	0.192	B

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	0.244	A	0.270	A	0.338	A	0.338	A
0	0.221	A	0.256	A	0.321	A	0.323	A

ตารางที่ ก-21 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อการสร้าง
Chlorophyll A ของเซลล์สำหรับ KS03 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ
ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 5 mM
Time	8	0, 5, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	0.393	0.393	2.41	0.131
time	7	706.246	100.892	617.15	0.000
Salt*time	7	1.516	0.217	1.32	0.271
Error	32	5.231	0.163		
Total	47	713.387			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Chlorophyll A ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher
Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
5 mM	24	6.69670	A
0 mM	24	6.51567	A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-22 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Chlorophyll A ของสาหร่าย KS03 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		5 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	1.764	A	1.905	A	2.627	A	7.642	A
0	1.709	A	1.784	A	2.470	A	6.947	B

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	7.955	A	8.368	A	11.49	A	11.82	A
0	7.360	A	8.929	A	11.36	A	11.57	A

ตารางที่ ก-23 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Chlorophyll B ของเซลล์สาหร่าย KS03 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 5 mM
Time	8	0, 5, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	26.085	26.0854	159.61	0.000
time	7	165.439	23.6342	144.61	0.000
Salt*time	7	12.596	1.7995	11.01	0.000
Error	32	5.230	0.1634		
Total	47	209.350			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Chlorophyll B ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
5 mM	24	4.57482	A
0 mM	24	3.10045	B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-24 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Chlorophyll B ของสาหร่าย KS03 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		5 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	0.788	A	1.517	A	2.743	A	5.362	A
0	0.839	A	1.027	A	2.543	A	3.594	B

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	5.761	A	6.412	A	6.984	A	7.031	A
0	3.904	B	4.014	B	4.367	B	4.516	B

ตารางที่ ก-25 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Total Chlorophyll ของเซลล์สาหร่าย KS03 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 5 mM
Time	8	0, 5, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	33.34	33.342	85.62	0.000
time	7	1528.48	218.354	560.73	0.000
Salt*time	7	14.13	2.018	5.18	0.001
Error	32	12.46	0.389		
Total	47	1588.41			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Total chlorophyll ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
5 mM	24	11.2715	A
0 mM	24	9.6046	B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-26 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Total Chlorophyll ของสาหร่าย KS03 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		5 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	2.552	A	3.422	A	5.370	A	13.00	A
0	2.548	A	2.811	A	5.014	A	10.45	B

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	13.72	A	14.78	A	18.48	A	18.85	A
0	11.26	B	12.94	B	15.73	B	16.08	B

ตารางที่ ก-27 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Carotenoid ของเซลล์สาหร่าย KS03 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Factor Information

Factor	Levels	Values
Salt	2	0, 5 mM
Time	8	0, 5, 10, 23, 29, 34, 47, 53 hr

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
salt	1	0.3467	0.34672	42.83	0.000
time	7	34.0969	4.87099	601.65	0.000
Salt*time	7	0.8139	0.11626	14.36	0.000
Error	32	0.2591	0.00810		
Total	47	35.5166			

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย carotenoid ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือต่างกันโดยวิธี Fisher Pairwise Comparison

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt	N	Mean	Grouping
0 mM	24	0.939938	A
5 mM	24	0.769958	B

ตารางที่ ก-28 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ NaNO_3 ที่ส่งผลต่อการสร้าง Carotenoid ของสาหร่าย KS03 ในแต่ละช่วงเวลาโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA

Grouping Information Using Fisher LSD Method and 95% Confidence

Salt (mM)	0 hr		5 hr		10 hr		23 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	0.050	A	0.065	A	0.080	A	0.414	A
0	0.042	A	0.178	A	0.282	B	0.324	A

Salt (mM)	29 hr		34 hr		47 hr		53 hr	
	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping	Mean	Grouping
5	0.222	A	1.569	A	1.696	A	2.064	A
0	0.595	B	1.376	B	2.367	B	2.355	B



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ผลการทดลอง

ตารางที่ ข-1 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย KS01 ที่ทำการทดลองเกลือ KH_2PO_4 10 mM

Time (hr)	จำนวนเซลล์ ($\times 10^6$ cell/ml)			
	0 mM	SD	10 mM	SD
0	2.6500	0.1323	2.7167	0.2843
6	3.3667	0.5346	3.3833	0.5008
10	4.5167	0.4252	6.0000	0.7071
23	5.8333	0.5774	7.0000	0.7071
29	7.0000	0.5000	7.5000	0.7071
34	7.8167	0.2754	8.9750	0.0354
47	8.6667	0.2887	9.2500	0.3536
53	9.4167	0.1443	9.8750	0.1061

ตารางที่ ข-2 ค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย KS01 ที่ทำการทดลองเกลือ KH_2PO_4 10 mM

Time (hr)	ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ความยาวคลื่น 750 nm			
	0 mM	SD	10 mM	SD
0	0.0940	0.0069	0.0940	0.0069
6	0.1140	0.0104	0.1080	0.0120
10	0.1240	0.0035	0.1980	0.0085
23	0.4040	0.0346	0.4380	0.0255
29	0.4480	0.0139	0.4560	0.0000
34	0.5900	0.0399	0.5760	0.0000
47	0.6640	0.0485	0.6600	0.0170
53	0.5080	0.0250	0.5940	0.0255

ตารางที่ ข-3 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย KS01 ที่ทำการทดลองเกลือ KH_2PO_4 10 mM

Time (hr)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/ml)			
	0 mM	SD	10 mM	SD
0	0.0410	0.0030	0.0410	0.0030
6	0.0497	0.0045	0.0471	0.0052
10	0.0541	0.0015	0.0863	0.0037
23	0.1761	0.0151	0.1909	0.0111

ตารางที่ ข-3 (ต่อ) ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย KS01 ที่ทำการทดลองเกลือ KH_2PO_4 10 mM

Time (hr)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/ml)			
	0 mM	SD	10 mM	SD
29	0.1953	0.0060	0.1988	0.0000
34	0.2572	0.0174	0.2511	0.0000
47	0.2895	0.0211	0.2877	0.0074
53	0.2215	0.0109	0.2590	0.0111

ตารางที่ ข-4 ค่า Chlorophyll A ของสาหร่าย KS01 ที่ทำการทดลองเกลือ KH_2PO_4 10 mM

Time (hr)	Chlorophyll A ($\mu\text{g/ml}$)			
	0 mM	SD	10 mM	SD
0	2.0631	0.0529	2.0883	0.0837
6	1.7340	0.3844	1.9569	0.1988
10	2.0577	0.1176	2.3742	0.1830
23	5.9876	0.6760	7.0470	0.1604
29	6.3312	0.4123	7.9564	0.2251
34	7.4139	0.4928	9.0112	0.3434
47	8.7936	0.2062	9.7236	0.3434
53	8.7485	0.3815	9.6778	0.0421

ตารางที่ ข-5 ค่า Chlorophyll B ของสาหร่าย KS01 ที่ทำการทดลองเกลือ KH_2PO_4 10 mM

Time (hr)	Chlorophyll B ($\mu\text{g/ml}$)			
	0 mM	SD	10 mM	SD
0	0.7722	0.1968	0.8349	0.1708
6	0.9015	0.1940	0.6978	0.2281
10	0.9486	0.3777	0.7880	0.3491
23	1.8151	0.2630	2.1758	0.3990
29	2.1012	0.1600	3.0164	0.1580
34	2.1405	0.1848	3.0812	0.0499
47	3.1086	0.0800	3.7161	0.0499
53	2.8069	0.1301	3.8866	0.5071

ตารางที่ ข-6 ค่า Total Chlorophyll ของสาหร่าย KS01 ที่ทำการทดลองเกลือ KH_2PO_4 10 mM

Time (hr)	Total Chlorophyll ($\mu\text{g/ml}$)			
	0 mM	SD	10 mM	SD
0	2.8353	0.1439	2.9232	0.1483
6	2.6355	0.4220	2.6547	0.4091
10	3.0063	0.4526	3.1622	0.1661
23	7.8027	0.8836	9.2228	0.5594
29	8.4324	0.3298	10.9728	0.3831
34	9.5544	0.5756	12.0924	0.3933
47	11.9022	0.1649	13.4397	0.3933
53	11.5554	0.4776	13.5644	0.5492

ตารางที่ ข-7 ค่า Carotenoid ของสาหร่าย KS01 ที่ทำการทดลองเกลือ KH_2PO_4 10 mM

Time (hr)	Carotenoid ($\mu\text{g/ml}$)			
	0 mM	SD	10 mM	SD
0	0.5833	0.0670	0.5685	0.0585
6	0.2981	0.1320	0.4385	0.0222
10	0.4091	0.1082	0.5132	0.1644
23	1.5372	0.1772	1.6070	0.0333
29	1.6703	0.1630	1.9024	0.0127
34	1.9151	0.0989	2.2258	0.0377
47	2.3803	0.1450	2.2358	0.0262
53	2.5692	0.0809	2.4493	0.1451

ตารางที่ ข-8 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย KS03 ที่ทำการทดลองเกลือ NaNO_3 5 mM

Time (hr)	จำนวนเซลล์ ($\times 10^6$ cell/ml)			
	0 mM	SD	5 mM	SD
0	3.1000	0.2179	2.9667	0.6602
5	3.4000	0.1000	3.8500	0.9042
10	4.1833	0.5485	5.3333	0.5774
23	8.2500	0.8352	15.0000	1.0000
29	12.7833	0.7006	18.5833	0.5204
34	16.7833	0.7147	19.6833	0.7588
47	19.3167	0.5923	19.9167	0.8780
53	20.4500	0.5074	21.4167	0.5204

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-9 ค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย KS03 ที่ทำการทดลองเกลือ NaNO_3 5 mM

Time (hr)	ความหนาแน่นของสาหร่ายที่ความยาวคลื่น 750 nm			
	0 mM	SD	5 mM	SD
0	0.0940	0.0069	0.1020	0.0159
5	0.1500	0.0420	0.1100	0.0242
10	0.2440	0.0069	0.2600	0.0125
23	0.4400	0.0693	0.5800	0.0604
29	0.5080	0.0693	0.5600	0.0069
34	0.5880	0.0317	0.6200	0.0139
47	0.7360	0.0661	0.7760	0.0485
53	0.7400	0.0682	0.7760	0.0367

ตารางที่ ข-10 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย KS03 ที่ทำการทดลองเกลือ NaNO_3 5 mM

Time (hr)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/ml)			
	0 mM	SD	5 mM	SD
0	0.0410	0.0030	0.0445	0.0069
5	0.0654	0.0183	0.0480	0.0106
10	0.1064	0.0030	0.1133	0.0054
23	0.1918	0.0302	0.2529	0.0263
29	0.2215	0.0302	0.2441	0.0030
34	0.2563	0.0138	0.2703	0.0000
47	0.3209	0.0288	0.3383	0.0211
53	0.3226	0.0297	0.3383	0.0160

ตารางที่ ข-11 ค่า Chlorophyll A ของสาหร่าย KS03 ที่ทำการทดลองเกลือ NaNO_3 5 mM

Time (hr)	Chlorophyll A ($\mu\text{g/ml}$)			
	0 mM	SD	5 mM	SD
0	1.7088	0.0436	1.7645	0.0837
5	1.7844	0.1312	1.9051	0.2904
10	2.4701	0.5366	2.6267	0.4612
23	6.8551	0.5905	7.6416	0.3024
29	7.3605	0.7034	7.9547	0.6529
34	8.9288	0.2625	8.3685	0.1845
47	11.3568	0.0873	11.4944	0.4304
53	11.5691	0.1675	11.8181	0.5940

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-12 ค่า Chlorophyll B ของสาหร่าย KS03 ที่ทำการทดลองเกลือ NaNO_3 5 mM

Time (hr)	Chlorophyll B ($\mu\text{g/ml}$)			
	0 mM	SD	5 mM	SD
0	0.8388	0.1086	0.7879	0.1708
5	1.0269	0.2528	1.5167	0.1925
10	2.5435	0.1681	2.7433	0.5110
23	3.5942	0.2891	5.3616	0.7524
29	3.9039	0.7243	5.7613	0.3163
34	4.0138	0.5055	6.4119	0.5445
47	4.3668	0.2172	6.9844	0.3463
53	4.5157	0.3415	7.0315	0.2711

ตารางที่ ข-13 ค่า Total Chlorophyll ของสาหร่าย KS03 ที่ทำการทดลองเกลือ NaNO_3 5 mM

Time (hr)	Total Chlorophyll ($\mu\text{g/ml}$)			
	0 mM	SD	5 mM	SD
0	2.5476	0.1522	2.5524	0.1483
5	2.8113	0.1400	3.4218	0.4155
10	5.0136	0.6932	5.3700	0.9668
23	10.4493	0.8775	13.0032	1.0548
29	11.2644	1.1170	13.7160	0.6429
34	12.9426	0.2799	14.7804	0.6008
47	15.7236	0.3045	18.4788	0.5424
53	16.0848	0.2965	18.8496	0.3464

ตารางที่ ข-14 ค่า Carotenoid ของสาหร่าย KS03 ที่ทำการทดลองเกลือ NaNO_3 5 mM

Time (hr)	Carotenoid ($\mu\text{g/ml}$)			
	0	SD	5	SD
0	0.0415	0.0260	0.0502	0.0410
5	0.1779	0.0366	0.0650	0.0247
10	0.2821	0.0380	0.0804	0.0061
23	0.3239	0.0180	0.4138	0.1045
29	0.5954	0.0695	0.2217	0.1085
34	1.3763	0.1623	1.5688	0.0466
47	2.3672	0.1048	1.6961	0.1012
53	2.3552	0.1993	2.0636	0.0804

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้