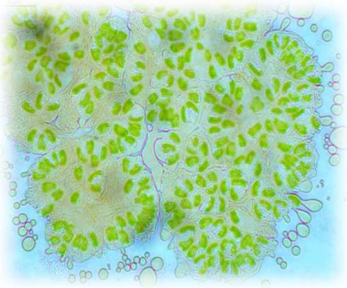
รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และการปรับปรุงคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซล ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 โดยการใช้อิทธิพลร่วมกันของวิตามินไบโอติน, ไทเอมีน และโคบาลามีน ที่เหมาะสม

Enhance hydrocarbon production and improve biodiesel properties of *Botryococcus braunii* KMITL 2 by optimum interaction of vitamins biotin, thiamine and cobalamin



รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์
อาจารย์ดุสิต เอื้ออำนวย
ผศ. พรทิวา กัญยวงศ์หา

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยเงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประจำปีงบประมาณ 2561

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และการปรับปรุงคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซล ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 โดยการใช้อิทธิพลร่วมกันของวิตามินไบโอติน, ไทเอมีน และโคบาลามีน ที่เหมาะสม

Enhance hydrocarbon production and improve biodiesel properties of *Botryococcus braunii* KMITL 2 by optimum interaction of vitamins biotin, thiamine and cobalamin

รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์
อาจารย์ดุสิต เอื้ออำนวย
ผศ. พรทิวา กัญยวงศ์หา

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยเงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประจำปีงบประมาณ 2561

ชื่อโครงการ การเพิ่มผลผลิตไฮโดรคาร์บอน และการปรับปรุงคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซล ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 โดยการใช้อิทธิพลร่วมกันของวิตามินไบโอติน, ไทเอมีน และโคบาลามีน ที่เหมาะสม

แหล่งเงิน เงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ 2561 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 400,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2560 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2561

หัวหน้าโครงการและผู้ร่วมโครงการวิจัย รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์
อาจารย์ดุสิต เอื้ออำนวย
ผศ. พรทิวา กัญยวงศ์หา
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine, และ cyanocobalamin โดยออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล (4x4x4) ต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 โดยผันแปร biotin (B) ที่ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 µg/l, thiamine (T) 0, 100, 200, 300 µg/l, และ cyanocobalamin (C) 0, 2, 4, 6 µg/l พบว่า สาหร่ายที่ได้รับ B:T:C ที่ 2:100:0 µg/l มีชีวมวลและผลผลิตไขมันสูงสุดเท่ากับ 1.89±0.20 g/l และ 39.10±3.36 g/l ส่วนสาหร่ายที่มีคาร์โบไฮเดรท (359.97±37.15 mg/l) และโปรตีน (318.01±69.61 mg/l) สูงที่สุดคือสาหร่ายที่ได้รับ B:T:C ที่ 2:100:2 และ 2:100:6 µg/l ตามลำดับ และพบว่าวิตามินทั้งสามชนิดมีอิทธิพลร่วมกันในทางบวกต่อการเจริญเติบโต ปริมาณคาร์โบไฮเดรทต่อกรัม เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรท ปริมาณโปรตีนต่อกรัม เปอร์เซ็นต์โปรตีน และที่สำคัญนั้นส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์, ผลผลิต และกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอน องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่ายทุกชุดการทดลองมีกรดไขมัน (C10 – C18:2) สูง ซึ่งเหมาะสมต่อการผลิตไบโอดีเซล และเมื่อนำน้ำมันจากสาหร่ายมาผลิตเป็นไบโอดีเซล พบว่ามีค่าซีเทนและไอโอดีนอยู่ในค่าผ่านเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ ดังนั้นการใช้วิตามินผสมในอาหารเลี้ยงสาหร่ายสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตและเพิ่มคุณภาพของน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตจากสาหร่ายสายพันธุ์นี้ได้

คำสำคัญ : ไบโอดีเซล, โบทริโอคอคคัส, วิตามิน, แฟคทอเรียล, ซีเทน

Research Title: Enhance hydrocarbon production and improve biodiesel properties of *Botryococcus braunii* KMITL 2 by optimum interaction of vitamins biotin, thiamine and cobalamin

Researcher: Assoc. Prof. Dr. Suneerat Ruangsomboon
Dusit Aue-Amnuay
Asst. Prof. Pornthiwa Kanyawongha

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

ABSTRACT

The interaction of vitamins biotin, thiamine, and cyanocobalamin on growth and chemical compositions of *Botryococcus braunii* KMITL 2 were studied. The factorial design (4x4x4) were biotin (B) 0, 1, 2, 3 µg/l, thiamine (T) 0, 100, 200, 300 µg/l, and cyanocobalamin (C) 0, 2, 4, 6 µg/l. This algal strain supplemented with B:T:C 2:100:0 µg/l showed the maximum biomass and lipid yield 1.89±0.20 g/l and 39.10±3.36 g/l, respectively. The maximum carbohydrate (359.97±37.15 mg/l) and protein content (318.01±69.61 mg/l) were present when alga supplemented with B:T:C 2:100:2 and 2:100:6 µg/l, respectively. All vitamins tested showed positive interaction on growth carbohydrate (mg/g, %), protein (mg/g, %), especially hydrocarbon content, yield and productivity. Major fatty acid composition of all treatment were C10 – C18:2 which suitable for biodiesel production. Biodiesel quality of this alga showed higher cetane and lower iodine value than the ASTM standard. The result suggested that supplemented vitamin in culture media of this algal strain could enhanced biodiesel quantity and quality.

Key words: biodiesel, *Botryococcus*, vitamin, factorial, cetane

กิตติกรรมประกาศ

“การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัย เงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. -2561”

รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	IX
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 สมมุติฐานงานวิจัย	2
1.5 คำสำคัญของการวิจัย	2
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม	3
2.1 ปัญหาเชื้อเพลิงฟอสซิลและการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuels) ทดแทน	3
2.2 น้ำมันไบโอดีเซล (Biodiesel) และไบโอดีเซลจากสาหร่าย	3
2.3 ความเหมาะสมของสาหร่ายขนาดเล็กในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมันและอาหารสัตว์	5
2.4 บทบาทวิตามินต่อสาหร่าย	5
2.5 ผลของวิตามินต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก	8
2.6 ผลของวิตามินต่อคาร์โบไฮเดรท โปรตีน ไขมันและกรดไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก	14
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	17
3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย	17
3.2 ระดับและอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ไฮโดรคาร์บอน และองค์ประกอบทางชีวเคมี	19
3.3 ศึกษาคุณสมบัติไบโอดีเซลที่ได้จาก *B. braunii* KMITL 2	19
3.4 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์ จากเซลล์สาหร่ายหลังการสกัดน้ำมัน	19
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล	20

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย	21
4.1 ระดับและอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ไฮโดรคาร์บอน และองค์ประกอบทางชีวเคมี.....	21
4.2 อิทธิพลร่วมกันของวิตามินต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางเคมีของ *B. braunii*	62
4.3 ศึกษาคุณสมบัติไบโอดีเซลที่ได้จาก *B. braunii* KMITL 2.....	72
4.4 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์ จากเซลล์สาหร่ายหลังการสกัดน้ำมัน.....	75
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	76
บรรณานุกรม.....	77
ประวัติผู้เขียน.....	82

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 การประมาณคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย..... 5
2.2 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล.... 6
4.1 ไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 27
4.2 การเจริญเติบโตและไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 28
4.3 องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 29
4.4 ไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 37
4.5 การเจริญเติบโตและไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 38
4.6 องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 39
4.7 ไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 46
4.8 การเจริญเติบโตและไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 48
4.9 องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 49
4.10 ไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.11 การเจริญเติบโตและไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 58
4.12 องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 59
4.13 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii*..... 62
4.14 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อคาร์โบไฮเดรต (mg/l) ของสาหร่าย *B. braunii*..... 63
4.15 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการสะสมคาร์โบไฮเดรต (mg/g) ของสาหร่าย *B. braunii*..... 64
4.16 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต (%) ของสาหร่าย *B. braunii*..... 65
4.17 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อโปรตีน (mg/l) ของสาหร่าย *B. braunii*..... 66
4.18 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการสะสมโปรตีน (mg/g) ของสาหร่าย *B. braunii*..... 67
4.19 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อปริมาณโปรตีน (%) ของสาหร่าย *B. braunii*..... 68
4.20 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อไขมัน (%) ของสาหร่าย *B. braunii*..... 69
4.21 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อไขมัน (g/l) ของสาหร่าย *B. braunii*..... 70
4.22 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อไขมัน (mg/l/d) ของสาหร่าย *B. braunii*..... 71
4.23 คุณสมบัติไบโอดีเซลของ *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินแตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 72

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.24 คุณสมบัติไบโอดีเซลของ *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินแตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 73

4.25 คุณสมบัติไบโอดีเซลของ *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินแตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 74

4.26 คุณสมบัติไบโอดีเซลของ *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินแตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 75

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* ที่ได้รับวิตามินบี 12 (รูปสี่เหลี่ยม) และ ไม่ได้รับวิตามินบี 12 เป็นอาหารเสริม (รูปสามเหลี่ยม) 8
2.2 การเจริญเติบโตและจำนวนเซลล์ของ *B. braunii* BOT-22 ที่ได้รับวิตามินบี 12 และไม่มีวิตามินบี 12 ในอาหารเสริม a. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ/d b. น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l)..... 8
2.3 ผลของวิตามินบี 12 และวิตามิน H ต่อความหนาแน่นของเซลล์ *H. pluvialis*..... 9
2.4 ผลของวิตามินบี12 และวิตามิน H ต่อปริมาณเซลล์ของ *H. pluvialis*..... 9
2.5 น้ำหนักแห้งและจำนวนเซลล์ *H. pluvialis* ที่ได้รับการใช้วิตามิน..... 10
2.6 จำนวนของเซลล์, ขนาดของเซลล์ของ *Cyclotella nana* เมื่อได้รับ วิตามิน B_{12} ที่ความ เข้มข้น 2 ng/l..... 10
2.7 จำนวนของเซลล์, ขนาดของเซลล์ ของ *Monochrysis lutheri* เมื่อได้รับ thiamine ที่ความเข้มข้น 15 ng/l..... 11
2.8 จำนวนของเซลล์, ขนาดของเซลล์ ของ *Amphidinium carterae* เมื่อได้รับ biotin ที่ความเข้มข้น 3 ng/l..... 11
2.9 อัตราการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชขนาด >5μm และ <5μm ที่ศึกษาจากแม่น้ำ Peconic ที่มีการเติม N : ไนไตรท, วิตามิน B_1 และ วิตามิน B_{12}..... 12
2.10 อัตราการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชขนาด >5μm และ <5μm ที่ศึกษาจาก Old Fort Pond ที่มีการเติม N : ไนไตรท, วิตามิน B_1 และ วิตามิน B_{12}..... 12
2.11 ผลของวิตามินบี 12 ของ *Stichococcus* sp. ใน A คือน้ำทะเลธรรมชาติ, มีสารอาหารกับแร่ธาตุ (SWM), B น้ำทะเลเทียมมีสารอาหารและแร่ธาตุคล้ายใน A (SSM) และ C น้ำทะเล Norit มีสารอาหารและแร่ธาตุคล้ายใน A, B และ C..... 13
2.12 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (น้ำหนักแห้ง μg mg-1) ของ Scenedesmus obliquus ที่ ความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ CoCl2 และ ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก และไทอามีน ที่ความเข้มข้น 200 ppm..... 14
2.13 ปริมาณของไขมัน และ ความสามารถในการผลิตไขมันในแต่ละปัจจัย ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp. โดยมี N: ไนโตรเจน, P: ฟอสฟอรัส, V: วิตามิน, CP: จุดศูนย์กลาง..... 15
2.14 ปริมาณไขมัน (น้ำหนักไขมัน / น้ำหนักเซลล์แห้ง) ในสาหร่าย *B. braunii* BOT-22 ที่ได้รับวิตามินและ ไม่มีวิตามินบี 12 เป็นอาหารเสริม..... 15
2.15 ปริมาณกรดไขมัน (%) ที่พบในการเจริญเติบโตของ *Skeletonama* sp. เพาะเลี้ยงใน อาหารสูตร Walne และ Guillard..... 16
3.1 ลักษณะของสาหร่าย *B. braunii* ในธรรมชาติ (บน) และที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (ล่าง) 17
3.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในห้องปฏิบัติการจนเซลล์แก่เต็มที่..... 18
3.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในห้องปฏิบัติการ..... 18

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

3.4 เซลล์สาหร่ายฟรีสดรายด์ ก่อนสกัดไขมัน..... 19
4.1 ชีวมวลของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)..... 24
4.2 คาร์โบไฮเดรทของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 25
4.3 โปรตีนของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)..... 26
4.4 ชีวมวลของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)..... 34
4.5 คาร์โบไฮเดรทของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 35
4.6 โปรตีนของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)..... 36
4.7 ชีวมวลของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)..... 43
4.8 คาร์โบไฮเดรทของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 44
4.9 โปรตีนของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)..... 45
4.10 ชีวมวลของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)..... 54
4.11 คาร์โบไฮเดรทของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l) 55
4.12 โปรตีนของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)..... 56

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การใกล้หมดไปของเชื้อเพลิงฟอสซิล ทำให้มีการพยายามหาแหล่งพลังงานใหม่ขึ้นมาทดแทน เช่นพลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม พลังงานนิวเคลียร์ แต่พลังงานที่ยังคงมีความต้องการมากที่สุดคือพลังงานที่อยู่ในรูปเชื้อเพลิงเหลว เนื่องจากเครื่องจักรและรถยนต์ส่วนใหญ่ยังคงใช้เชื้อเพลิงเหลวอยู่เป็นจำนวนมาก เชื้อเพลิงเหลวชนิดไบโอดีเซลเป็นชนิดที่ได้รับความนิยมในการหาแหล่งวัตถุดิบอื่นขึ้นมาผลิตทดแทน โดยได้มีการหาแหล่งวัตถุดิบเช่นสบู่ดำ ปาล์มน้ำมัน มันสำปะหลัง แต่พบว่าให้ผลผลิตช้า และกระทบต่อแหล่งอาหารของมนุษย์อย่างมาก ในประเทศไทยบางช่วงถึงขั้นขาดแคลนน้ำมันพืชที่ผลิตจากปาล์ม จึงต้องแก้ไขด้วยการหาแหล่งวัตถุดิบใหม่มาทดแทนพืชบกเหล่านี้ สาหร่ายเป็นแหล่งทางเลือกใหม่ของพลังงานที่นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกยอมรับให้มาทดแทนพืชบก โดยมีข้อดีคือไม่ใช่อาหารของมนุษย์ ไม่ต้องใช้ดินที่อุดมสมบูรณ์ในการเพาะปลูก เจริญเติบโตรวดเร็วเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ไว สามารถปรับปริมาณไฮโดรคาร์บอนและน้ำมันที่มีในสาหร่ายได้โดยการปรับสภาพทางเคมีและกายภาพในการเพาะเลี้ยง เมื่อเทียบระยะเวลาและพื้นที่ ที่เท่ากัน สาหร่ายให้น้ำมันได้สูงกว่าปาล์มน้ำมัน 10-25 เท่า

Botryococcus braunii เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก ได้รับการยอมรับว่ามีการผลิตไฮโดรคาร์บอนและน้ำมันในปริมาณสูง แต่การเจริญเติบโตจะขึ้นกับสายพันธุ์ของสาหร่ายที่แตกต่างกันไป ซึ่งพบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ที่แยกจากประเทศนั้น ๆ เอง จะทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่ดี เพราะปรับตัวเข้ากับสภาพภูมิอากาศได้ โดยการที่จะทำให้สาหร่ายเป็นวัตถุดิบผลิตไบโอดีเซลได้นั้น ต้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ได้ผลผลิตและน้ำมันปริมาณมาก นอกจากนี้น้ำมันที่ได้ต้องมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำไปทำเป็นไบโอดีเซลด้วย โดยปัจจัยที่จะทำให้สาหร่ายมีผลผลิตชีวมวลและน้ำมันสูงนั้นมีหลายปัจจัยที่ได้รับการศึกษาไว้แล้ว แต่ยังไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาอิทธิพลร่วมกันของวิตามินบีหลายชนิดต่อการผลิตไฮโดรคาร์บอนหรือไขมันของ *B. braunii* ไว้เลย ซึ่งโดยปกติแล้ววิตามินบีมีบทบาทต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตและกระตุ้นการสร้างไขมันในสาหร่ายได้ ซึ่งวิตามินบีแต่ละชนิดจะมีบทบาทต่างกัน

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาระดับที่เหมาะสมและอิทธิพลร่วมกันของ วิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ต่อผลผลิตชีวมวล ปริมาณไฮโดรคาร์บอน ผลผลิตไขมัน และคุณสมบัติไบโอดีเซล ของสาหร่าย *B. braunii* KMITL2 GenBank accession no. KX470608 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผู้วิจัยแยกมาจากแหล่งน้ำในเขตภาคกลางของไทย โดยการศึกษาขั้นต้นพบว่ามีปริมาณไฮโดรคาร์บอนสูง เหมาะที่จะพัฒนาการเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอดีเซลต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1 เพิ่มผลผลิตชีวมวล ไฮโดรคาร์บอน ไขมัน และพัฒนาคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซล ของ *B. braunii* KMITL 2 โดยใช้ระดับวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ที่เหมาะสม

2 ใช้ข้อมูลอิทธิพลร่วมกัน (interaction) ของวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ต่อผลผลิตชีวมวล ไฮโดรคาร์บอน และไขมัน ของ *B. braunii* KMITL 2 เพื่อปรับปรุงการผลิตสาหร่าย

3. ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่ายที่เหลือจากการสกัดน้ำมันเป็นอาหารสัตว์น้ำและใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงดิน การเป็นปุ๋ยชีวภาพ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาระดับที่เหมาะสม และอิทธิพลร่วมกันของ วิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ต่อผลผลิตชีวมวล ไฮโดรคาร์บอน ไขมัน และคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซล ของ *B. braunii* (แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล) เพื่อสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายชนิดนี้ให้เพียงพอต่อการเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้ และศึกษาการนำสาหร่ายหลังสกัดน้ำมันไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับสัตว์น้ำ

1.4 สมมุติฐานงานวิจัย

วิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin มีผลต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *B. braunii* โดยมีผลต่อการนำไนโตรเจนไปใช้ การทำงานของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่สร้างไขมัน และวิตามินแต่ละชนิดทำหน้าที่แตกต่างกัน จึงควรศึกษาหาอัตราส่วนของวิตามินแต่ละชนิดที่เหมาะสมกับสาหร่ายสายพันธุ์นี้

1.5 คำสำคัญของการวิจัย

ไบโอดีเซล, โบทริโอคอคคัส, วิตามิน, กรดไขมัน, ไฮโดรคาร์บอน

biodiesel, *Botryococcus*, vitamin, fatty acid, hydrocarbon

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ด้านวิชาการ

เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยสำหรับนักวิจัยท่านอื่น ๆ ทั้งจากสังกัดรัฐบาลและเอกชน ทางด้าน สาหร่ายวิทยา การผลิตน้ำมันจากสาหร่าย การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

1.6.2 ด้านนโยบาย

ผลงานวิจัยที่ได้จะเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกใหม่ ที่ไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม

1.6.3 ด้านเศรษฐกิจ/พาณิชย์อุตสาหกรรม ซึ่งประกอบด้วย 42 กลุ่มอุตสาหกรรม (ผนวก 4) โดยระบุเพียง 1 กลุ่ม

กลุ่มอุตสาหกรรมด้านพลังงาน ได้ข้อมูลวิธีที่เหมาะสมในการปรับปรุงปริมาณน้ำมันในสาหร่าย เพื่อนำไปออกแบบระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบมหมวล

1.6.4 ด้านสังคมและชุมชน

สามารถแก้ปัญหาด้านการขาดแคลนพลังงานและปัญหาภาวะโลกร้อนจากแหล่งพลังงานปิโตเลียม

1.6.5 อื่น ๆ (ระบุ)

สามารถเผยแพร่ผลงานวิจัยในระดับนานาชาติ ที่อยู่ในฐาน ISI และสามารถผลิตบัณฑิตให้เป็นนักวิจัยที่มีความรู้ด้านการเพาะเลี้ยงสาหร่าย การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย

1.6.6 ระบุชื่อหน่วยงานทั้งภาครัฐและภาคเอกชนที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

มหาวิทยาลัยและสถาบันการศึกษาต่างๆ ที่มีนักวิจัยทำการวิจัยด้านพลังงานทางเลือก ภาคเอกชนที่ทำวิจัยด้านการใช้สาหร่ายเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล เช่น บางจาก และ ปตท.

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปัญหาเชื้อเพลิงฟอสซิลและการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuels) ทดแทน

ราคาน้ำมันเชื้อเพลิงฟอสซิลที่มีการผันแปรสูงและปริมาณเชื้อเพลิงฟอสซิลที่มีจำกัดใกล้หมดไปในอีกไม่นาน จึงทำให้พลังงานทางเลือกได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก และมีหลายทางเลือกทั้งพลังงานนิวเคลียร์ แสงอาทิตย์ ไฮโดรเจน ลม และ biofuels (Patil, 2008) โดย biofuel เป็นพลังงานที่ได้จากสิ่งมีชีวิต อาจอยู่ในรูปของแข็ง ของเหลว หรือแกส ได้มีการใช้ biofuel มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 โดยได้มาจากผลิตผลทางการเกษตร และ biofuel ช่วยแก้ปัญหาเรื่องโลกร้อนจากภาวะเรือนกระจกและปัญหาจากราคาที่ผันผวนของปิโตรเลียมได้ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลิตผลทางการเกษตรมาเป็นวัตถุดิบในการผลิต biofuel นั้นได้รับการวิพากษ์วิจารณ์ในหลายด้าน ทั้งด้านการใช้พื้นที่ปริมาณมากในการปลูกพืช รวมทั้งผลิตผลหลายชนิดเช่นปาล์มน้ำมัน อ้อย ข้าวโพด นั้น เดิมล้วนใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์หรืออาหารสำหรับมนุษย์ เมื่อวัตถุดิบจำนวนมากถูกเปลี่ยนไปเป็น biofuel แทน จึงทำให้ราคาของผลิตภัณฑ์สำหรับการบริโภคของมนุษย์สูงขึ้น นอกจากนี้แม้ในทางสิ่งแวดล้อม biofuel จะทำให้อากาศสะอาดขึ้นเมื่อเทียบกับควันการเผาไหม้จากน้ำมันธรรมดา แต่กระแสต่อต้าน biofuel คือการเป็นห่วงความสิ้นเปลืองของการใช้พืชเกษตรที่อาจต้องตัดไม้ทำลายป่าเพิ่มขึ้นมาก เพื่อหาพื้นที่เพาะปลูกที่สมบูรณ์พอเพียง

2.2 น้ำมันไบโอดีเซล (Biodiesel) และไบโอดีเซลจากสาหร่าย

ไบโอดีเซล (Biodiesel) เป็นประเภทหนึ่งของ biofuel ซึ่งอยู่ในรูปของเหลว ในระดับอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลเป็นการนำน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นไตรกลีเซอไรด์และแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ เช่น เอทานอลหรือเมทานอล ในปริมาณที่มากมาทำปฏิกิริยาเคมีทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น (Transesterification) โดยใช้กรดหรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อเกิดการรวมพันธะของไตรกลีเซอไรด์และแอลกอฮอล์ เปลี่ยนวัตถุดิบตั้งต้นไปเป็นเอทิลเอสเทอร์ (FAEs) หรือเมทิลเอสเทอร์ (FAMEs) และมีกลีเซอรีนเป็นผลพลอยได้ ซึ่งเอสเทอร์มีคุณสมบัติที่เหมือนกับน้ำมันดีเซลมากที่สุด ข้อดีคือค่าซีเทน (cetane ค่าดัชนีการจุดติดไฟ) สูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้ติดเครื่องดี การสันดาปสมบูรณ์ เกิดคาร์บอนมอนอกไซด์น้อย ไม่มีควันดำและซัลเฟอร์ไดออกไซด์ สามารถใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้โดยตรงไม่มีผลกระทบกับเครื่องยนต์ในระยาว ส่วนกลีเซอรีนที่ได้จากการผลิต ถือเป็นผลพลอยได้ใช้เป็นวัตถุดิบ สำหรับอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง น้ำมันหล่อลื่น ฯลฯ

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

ซึ่งประเด็นเหล่านี้ไม่ใช่สิ่งที่ยุ่งยาก ซับซ้อนจนเกินไป โดยพบว่านักวิทยาศาสตร์สหรัฐอเมริกาได้มีการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่สามารถนำมาผลิตเป็น biodiesel ได้ในเชิงพาณิชย์ได้สำเร็จ และเพาะเลี้ยง

สาหร่ายในบ่อกักน้ำเสียโรงงาน เนื่องจากมีฟอสเฟต และไนเตรทปนเปื้อนอยู่ สารทั้งสองชนิดมีผลเสียต่อแม่น้ำ ลำคลอง แต่กลับเป็นปุ๋ยที่ดีสำหรับทำฟาร์มสาหร่าย จึงมีการทำฟาร์มสาหร่ายใกล้กับโรงบำบัดเสีย และพบว่าการใช้น้ำมันจากสาหร่ายเป็นไบโอดีเซลสามารถนำมาใช้ได้กับรถเครื่องยนต์ดีเซล และเครื่องบินไอพ่นได้ (http://sciinaction)

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

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

ค่าความไม่อิ่มตัว Degree of unsaturation (DU) ซึ่งจะบอกความคงตัว หรือระยะเวลาที่สามารถเก็บน้ำมันนั้นไว้ ว่าได้นานมากน้อย อย่างไร โดยค่า DU ที่ต่ำคือไบโอดีเซลนั้นมีค่าความคงตัวดี เก็บรักษาได้นานกว่าค่า DU ที่สูง โดยค่า DU ของน้ำมันไบโอดีเซลที่ได้จากสาหร่ายที่มีรายงานไว้คือ *Scenedesmus obliquus* และ *Chlorella pyrenoidosa* มีค่า DU อยู่ในช่วง 76.53-132.08 % (Wu and Miao, 2014)

ค่าจุดน้ำมันอุดตันไส้กรองที่อุณหภูมิต่ำ Cold filter plµg/lging point (CFPP) เป็นค่าที่บอกความสามารถในการไหลของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิต่ำ ถ้าค่า CFPP มีค่าสูงจะหมายถึงมีคุณสมบัติการไหลที่ไม่ดีที่อุณหภูมิต่ำ (Wu et al., 2005) เนื่องจากแสดงว่าน้ำมันมีแนวโน้มที่จะตกตะกอนและอุดตันไส้กรองได้ง่าย (Mittelbach and Remschmidt, 2004)

ค่าสปอนิฟิเคชั่น Saponification value (SV) จะบ่งบอกถึงน้ำหนักโมเลกุลหรือความยาวของสายกรดไขมันที่มีในไบโอดีเซลส่วนค่าไอโอดีน Iodine value (IV) คือค่าที่วัดผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมดในไบโอดีเซลซึ่งสัมพันธ์กับค่า oxidative stability หากค่า IV สูงคือจะมีค่า oxidative ที่คงตัวมากกว่าค่า IV ต่ำ (Knothe, 2009) โดยค่า maximum IV value ตามมาตรฐาน European standard กำหนดไว้คือ 120 g I_2 100 g^{-1}

รายการการศึกษาการประมาณคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายบางชนิด พบว่ามีค่า CN ทั้งที่สูงกว่ามาตรฐานและต่ำกว่ามาตรฐาน (ตารางที่ 2.1) แต่คุณสมบัติเหล่านี้ขึ้นอยู่กับภาวะในการเพาะเลี้ยงเช่นกัน (Talebi et al., 2013)

ตารางที่ 2.1 การประมาณคุณสมบัติน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย

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

ที่มา : Talebi et al. (2013)

2.3 ความเหมาะสมของสาหร่ายขนาดเล็กในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมันและอาหารสัตว์

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสามารถทำได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อยกว่าพืชทั่วไป โดยเมื่อเทียบต่อพื้นที่ 1 เฮคแตร์ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถให้น้ำมันได้มากถึง 58,700-136,900 ลิตร ซึ่งมากกว่าน้ำมันปาล์มที่ให้น้ำมันได้ 5,950 ลิตร (Chisti, 2007) สาหร่ายให้ผลผลิตน้ำมันมากกว่าพืชหลายชนิด (ตารางที่ 2.2) โดยพบว่าหากสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณน้ำมันในเซลล์ที่ร้อยละ 30 น้ำหนักแห้ง สามารถให้น้ำมันได้ถึง 58,700 ลิตรต่อเฮคแตร์ต่อหนึ่งปี โดยสามารถผลิตไบโอดีเซลได้สูงถึง 51,927 กิโลกรัมต่อเฮคแตร์ต่อปี ซึ่งสูงกว่าพืชอื่นทั้งข้าวโพด ปาล์ม ถั่วเหลือง ฯล

นอกจากนี้ชีวมวลของสาหร่ายยังมีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรทและสารอาหารอื่นๆ สูง ดังนั้นชีวมวลดังกล่าวเมื่อนำมาสกัดน้ำมันเพื่อผลิต biodiesel แล้ว เศษของชีวมวลยังนำไปสกัดผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงอื่นๆ เช่นสารสี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แล้วนำส่วนที่เหลือไปผลิตพลังงานอื่นเช่น มีเทน หรือนำไปทำอาหารสัตว์ได้ด้วย ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กที่ใช้ว่ามีอะไรเป็นองค์ประกอบบ้าง (Chisti, 2007)

2.4 บทบาทวิตามินต่อสาหร่าย

ในอาณาจักร (kingdom) ของสาหร่าย พบว่าสาหร่ายประมาณครึ่งของอาณาจักรมีความต้องการวิตามินเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Croft et al., 2005; Helliwell et al., 2011; Grant et al., 2014) โดยพบว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของวิตามินที่สาหร่ายได้รับ (Carlucci and Silbernagel, 1969) และยังพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละชนิดมีความต้องการวิตามินในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และแต่ละชนิดยังต้องการการผสมของวิตามิน 3 ชนิดในอัตราส่วนที่แตกต่างกันอีกด้วย โดยวิตามิน 3 ชนิดที่สาหร่ายต้องการใช้ได้แก่ vitamin B_{12} (cobalamin), vitamin B_1 (thiamine) และ vitamin H หรือ vitamin B_7 (biotin) (Croft et al., 2006; Tang et al., 2010)

โดยพบว่าสาหร่ายที่อยู่ตามธรรมชาติในมหาสมุทร จะใช้วิตามิน cobalamin ที่ละลายอยู่ในมหาสมุทร ช่วยในการนำโปรตีนหรือไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในน้ำเข้าสู่เซลล์ จึงทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (Lippsett, 2012) ส่วนไบโอติน เป็นวิตามินที่ละลายน้ำซึ่งมีซัลเฟอร์เป็นส่วนประกอบและจัดอยู่ในกลุ่มวิตามินบีรวม เป็นวิตามินที่ทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์ที่สำคัญมากคือ carboxylase และ acetyl coenzyme A (CoA) carboxylase ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สร้างกรดไขมัน ซึ่งสาหร่ายทุกชนิดต้องการวิตามินนี้ในการช่วยสังเคราะห์กรดไขมันทางอ้อม กลุ่มสาหร่ายพวก auxotrophs ต้องการ biotin, cobalamin หรือ thiamine หรืออาจต้องการทั้งสามชนิด เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Croft et al., 2005)

สาหร่ายขนาดเล็กมีความต้องการวิตามินแตกต่างกัน สาหร่ายบางชนิดต้องการวิตามินเพียงชนิดเดียว บางชนิดต้องการสองชนิด หรือบางชนิดต้องการผสมกันทั้งสามชนิด ในสาหร่ายขนาดเล็ก *Haematococcus* พบว่าต้องการเพียง thiamin เท่านั้นในการเจริญเติบโต เพราะสาหร่ายที่ได้รับเพียง thiamine ให้ผลการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกับการได้รับวิตามินผสม (B_1, B_{12} และ B_7) (Göksan et al., 2011)

ตารางที่ 2.2 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล

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

ที่มา: Mata et al. (2010)

ไบโอติน (Biotin) หรือ วิตามิน B_7 หรือ วิตามิน H เป็นวิตามินที่ละลายน้ำซึ่งมีซัลเฟอร์เป็นส่วนประกอบ และ จัดอยู่ในกลุ่มวิตามินบีรวม โดยมีส่วนสำคัญในการเผาผลาญไขมัน, โปรตีน และ การสังเคราะห์กรดแอสคอร์บิกต้องใช้ไบโอตินเป็นตัวช่วยโดยแบคทีเรียในลำไส้ก็สามารถ สังเคราะห์ไบโอตินได้ สำหรับประโยชน์โดยรวมไบโอตินจะช่วยรักษาสุขภาพผิวพรรณ เส้นผมและ เล็บ แหล่งที่พบไบโอตินตามธรรมชาติ ได้แก่ ตับวัว ไข่แดง นม แป้ง ถั่วเหลือง เนย ถั่วลิสง ข้าว ที่ ไม่ผ่านการสี เป็นต้น โรคจากการขาดไบโอติน ได้แก่ ซึมเศร้า เบื่ออาหาร อ่อนเพลีย หมด เรี่ยวแรง การเผาผลาญไขมันทำงานไม่สมบูรณ์ เป็นผื่น ผิวหนังอักเสบ เป็นต้น ปัจจุบันยังไม่พบผู้ที่มีอาการ เป็นพิษจากการรับประทานไบโอตินเกินขนาดติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน และ ศัตรูของไบโอติน ได้แก่ ไข่ดิบ (เพราะมีอะวิดินซึ่งเป็นตัวขัดขวางการดูดซึม

ของวิตามินเอวหรือไบโอติน) น้ำ แอลกอฮอล์ ยาในกลุ่มซัลฟา ฮอร์โมน เอสโตรเจนและกระบวนการแปรรูปอาหาร บทบาทไบโอติน ต่อสาหร่ายจะสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และการผลิตกรดไขมัน

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

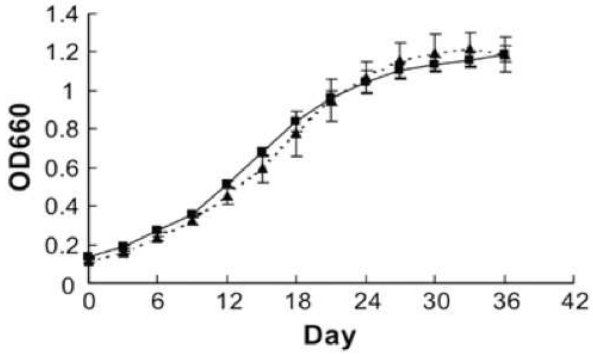
ไทอามีน (Thiamine) หรือ วิตามิน B_1 เป็นวิตามินที่ละลายในน้ำ จะถูกทำลายด้วยความ ร้อน ถ้าอยู่ในสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นด่างหรือเป็นกลางและทนได้ถึง 120 องศาเซลเซียล ถ้าอยู่ใน สารละลายที่เป็นกรดร่างกายมนุษย์จะไม่สามารถสังเคราะห์ไทอามีนได้จำเป็นต้อได้รับจาก อาหารที่กินไทอามีนที่ได้รับจากอาหาร ที่เรากินเข้าไปส่วนใหญ่อยู่ในรูปของไทอามีนอิสระ และ ไทอามีน ไพโรฟอสเฟต (Thiamine Pyrophosphate, TPP) หรือรวมอยู่กับโปรตีนฟอสเฟตเป็นสาร เชิงซ้อน ซึ่งจะต้องถูกย่อยสลายในระบบทางเดินอาหารก่อนที่จะดูดซึมผ่านผนังลำไส้ร่างกายจะ สะสมไทอามีนไว้ได้เพียงเล็กน้อยกระจายอยู่ตามเนื้อเยื่อต่างๆ ได้แก่ ตับ ไต หัวใจ สมอง และ กล้ามเนื้อ ซึ่งจะมีความเข้มข้นสูงกว่าในเลือดเล็กน้อย ไทอามีนจะถูกนำไปใช้จนหมดอย่างรวด เร็วถ้าไม่ได้รับเพิ่มจากอาหาร บทบาทของไทอามีนต่อสาหร่ายจะช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโต ของเซลล์

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

โคบาลามิน (Cyanocobalamin) หรือ วิตามิน B_{12} เป็นวิตามินที่ละลายในน้ำมีประสิทธิ- ภาพดีแม้เพียงปริมาณเล็กน้อย มีอีกชื่อที่รู้กันดี คือ วิตามินแดง เป็นวิตามินเพียงตัวเดียวที่มีแร่ ธาตุที่จำเป็นประกอบอยู่และแตกตัวได้ไม่ดีนักในกระเพาะอาหารต้องรวมตัวกับแคลเซียมเพื่อให้ ดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ดีขึ้น โดยร่างกายสามารถเก็บสะสมวิตามิน B_{12} ไว้ได้ซึ่งจะแตกต่างจาก วิตามินบีชนิดอื่น โดยใช้เวลาถึง 3 ปี กว่าที่วิตามินจถสูญสลายไปจากร่างกายนอก จากนี้การ ทำงานของต่อมไทรอยด์ที่เป็นปกติจะช่วยการดูดซึมของวิตามิน B_{12} อาหารของการขาดวิตามิน B_{12} อาจใช้เวลาถึง 5 ปี หลังจากที่สะสมในร่างกายหมดไปจึงจะปรากฏให้เห็น วิตามิน B_{12} จะพบ ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์เป็นหลัก ส่วนอาหารจากพืชจะไม่มีวิตามิน B_{12} อาหารที่มีวิตามิน B_{12} เช่น ตับ ไต นม ไขแดง ชีส ปลา เนื้อหมู เนื้อวัว อาหารหมักดอง เป็นต้น หากร่างกายขาดวิตามิน B_{12} อาจจะทำให้เกิดโรคโลหิตจางและโรคเกี่ยวกับระบบประสาทได้ ปัจจุบันยังไม่มีรายงานว่าหากรับประทานเกินขนาดติดต่อกันทุกวันจะเกิดอันตรายต่อร่างกายแม้ในปริมาณที่สูงมากๆ โดยศัตรู ของวิตามิน B_{12} คือ น้ำ กรด ด่าง แอลกอฮอล์ แสงแดด ยานอนหลับ ฮอร์โมนเอสโตรเจน เป็นต้น บทบาทของไซยาโนโคบาลามินต่อสาหร่ายมีความจำเป็นต่อกระบวนการที่เกี่ยวกับปฏิกิริยาทาง ชีวเคมี (metabolism) ของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน ในด้านการเจริญเติบโต และ การแบ่งตัว ของเซลล์ ทั้งยังช่วยให้สาหร่ายมีการใช้ไขมันและโปรตีนได้อย่างเหมาะสม

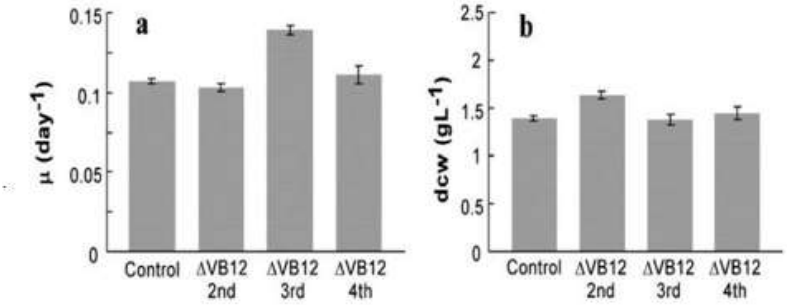
2.5 ผลของวิตามินต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก

Tanabe et al. (2014) ศึกษาผลของวิตามินบี 12 ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* BOT พบว่าสาหร่ายที่ได้รับและไม่ได้รับวิตามินมีการเจริญเติบโตที่ใกล้เคียงกัน โดยผู้วิจัยได้สรุปว่าสาหร่ายที่ไม่ได้รับวิตามินสามารถสร้างวิตามินบี 12 จากอนินทรียสารขึ้นมาใช้เองได้บ้างบางส่วน แต่การไม่เสริมวิตามินเลยนั้นจะทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ช้าลง มีวัฏจักรชีวิตที่สั้นลง Lewin (1954*)* รายงานว่าวิตามินบี 12 0.2 µg/l มีส่วนช่วนเสริมการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Stichococcus* sp. ได้ดีที่สุด



ภาพที่ 2.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* ที่ได้รับวิตามินบี 12 (รูปสี่เหลี่ยม) และ ไม่ได้รับวิตามินบี 12 เป็นอาหารเสริม (รูปสามเหลี่ยม)

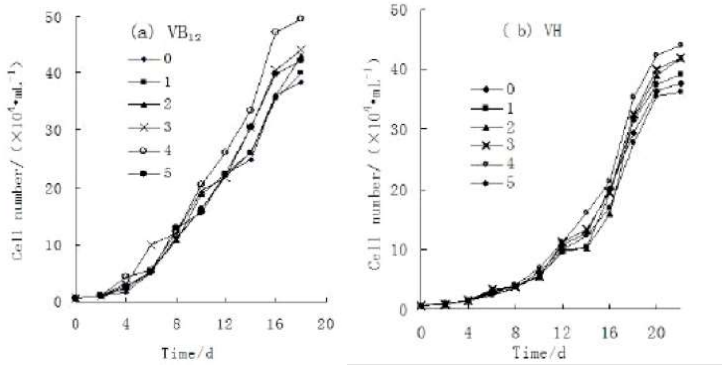
ที่มา: Tanabe et al. (2014)



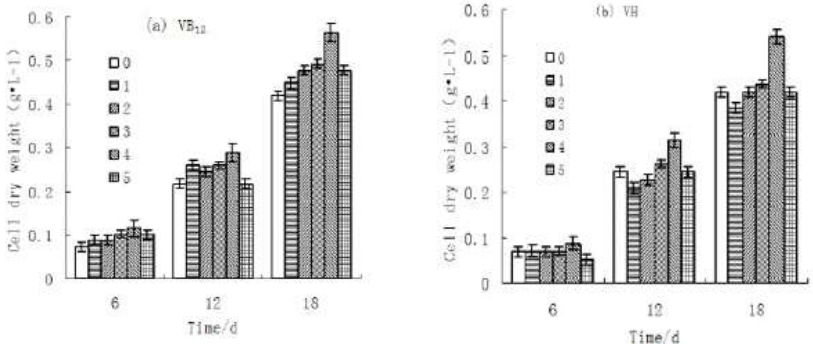
ภาพที่ 2.2 การเจริญเติบโตและจำนวนเซลล์ของ *B. braunii* BOT-22 ที่ได้รับวิตามินบี 12 และไม่มีวิตามินบี 12 ในอาหารเสริม a. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ/d b. น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l)

ที่มา : Tanabe et al. (2014)

Li et al. (2013) ศึกษาผลของวิตามินบี 12 และวิตามิน H ต่อความหนาแน่นของเซลล์ *Haematococcus pluvialis* พบว่าความหนาแน่นของเซลล์ *H. pluvialis* สูงที่สุด 4.96×105 cell/ml เมื่อเติมวิตามินบี 12 ที่ 50 µg/l สูงขึ้นถึง 29.5% มากกว่าชุดการทดลองควบคุม ($p<0.01$) แต่เมื่อเติม 500 µg/l ความหนาแน่นของเซลล์ต่ำกว่าชุดควบคุมและพบว่าความหนาแน่นของเซลล์ *H. pluvialis* เพิ่มขึ้น เมื่อเติมวิตามิน H ในความเข้มข้นที่ 0.5-500 µg/l โดยความเข้มข้นที่ 500 µg/l ความหนาแน่นของเซลล์สูงกว่าการทดลองอื่นๆ เป็นจำนวนถึง 4.36×105 cell/ml สูงขึ้นถึง 17.1% มากกว่าชุดควบคุม ($p<0.05$) เมื่อเติมความเข้มข้นที่ 5,000 µg/l เซลล์มีความหนาแน่นต่ำกว่าชุดควบคุม แสดงว่าวิตามินที่ความเข้มข้นสูงไม่ได้ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของสาหร่ายเสมอไป อาจยับยั้งการเจริญเติบโตได้ หากความเข้มข้นไม่เหมาะสม

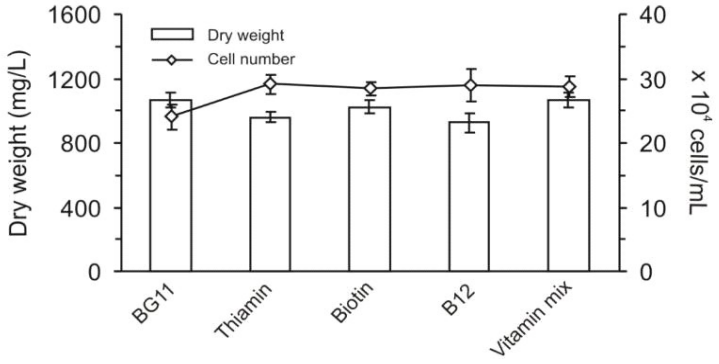


ภาพที่ 2.3 ผลของวิตามินบี 12 และวิตามิน H ต่อความหนาแน่นของเซลล์ *H. pluvialis*
ที่มา : Li et al. (2013)



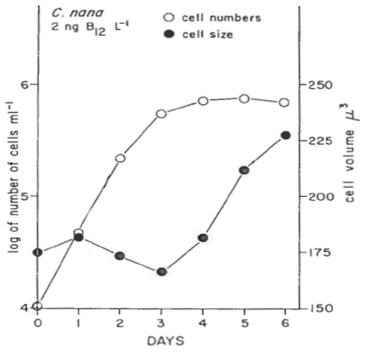
ภาพที่ 2.4 ผลของวิตามินบี12 และวิตามิน H ต่อปริมาณเซลล์ของ *H. pluvialis*
ที่มา : Li et al. (2013)

Gokson et al. (2011) ศึกษาผลของวิตามิน ไทเอมิน, ไบโอติน และ ไซยาโนโคบาลามิน ต่อสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* โดยใช้ พบว่าสาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (0.26 /d) สูงกว่ากลุ่มไม่มีวิตามิน (0.22 /d) และวิตามินยังเพิ่มจำนวนเซลล์สาหร่ายได้ประมาณ 15%



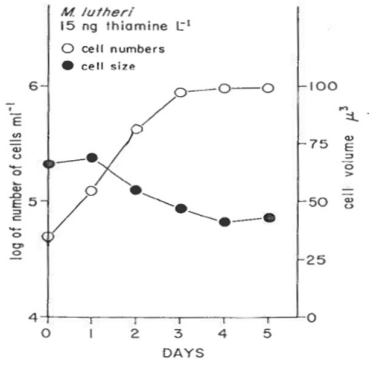
ภาพที่ 2.5 น้ำหนักแห้งและจำนวนเซลล์ *H. pluvialis* ที่ได้รับการใช้วิตามิน
ที่มา : Gokson et al. (2011)

Carlucci and Silbernagel (1969) ได้ศึกษาผลของวิตามิน B12, thiamine และ biotin ต่อการเจริญเติบ โตของสาหร่าย *Cyclotella nana, Monochrysis lutheri* และ *Amphidinium carterae* พบว่าสาหร่าย *C. nana* มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับวิตามิน B12 เพิ่มขึ้น และสูงกว่าชุดควบคุม สาหร่าย *M. lutheri* จะเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับ thiamine สาหร่าย *A. carterae* จะเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับไบโอติน แสดงให้ทราบว่าสาหร่ายแต่ละชนิดมีความต้องการชนิดวิตามินที่แตกต่างกัน



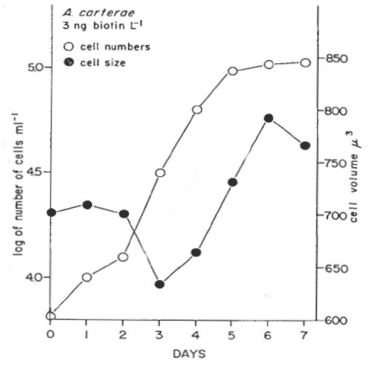
ภาพที่ 2.6 จำนวนของเซลล์, ขนาดของเซลล์ของ *Cyclotella nana* เมื่อได้รับ วิตามิน B_{12} ที่ความ เข้มข้น 2 ng/l

ที่มา : Carlucci and Silbernagel (1969)



ภาพที่ 2.7 จำนวนของเซลล์, ขนาดของเซลล์ ของ *Monochrysis lutheri* เมื่อได้รับ thiamine ที่ความเข้มข้น 15 ng/l

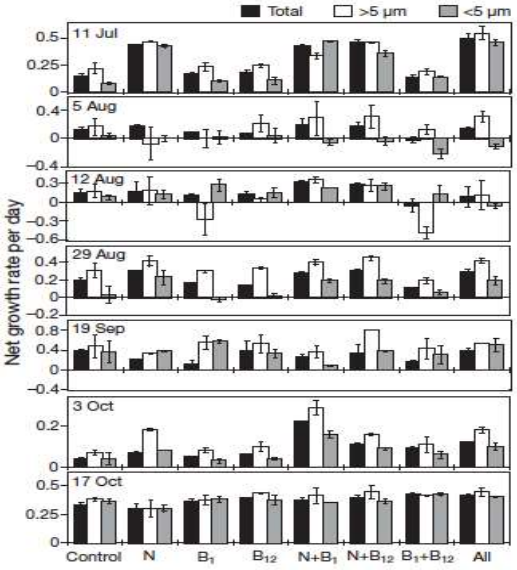
ที่มา : Carlucci and Silbernagel (1969)



ภาพที่ 2.8 จำนวนของเซลล์, ขนาดของเซลล์ ของ *Amphidinium carterae* เมื่อได้รับ biotin ที่ความเข้มข้น 3 ng/l

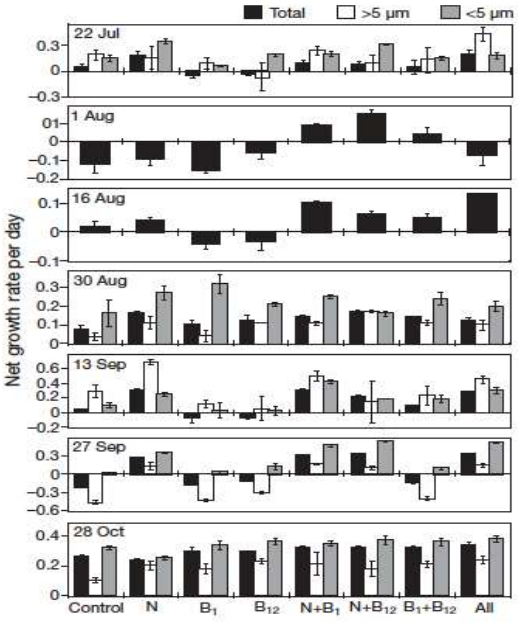
ที่มา : Carlucci and Silbernagel (1969)

Gobler et al. (2007) ศึกษาผลของวิตามิน B_1 และ B_{12} ต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชในบริเวณปากแม่น้ำ Peconic และ Old Fort Pond ในนิวยอร์ก พบว่าการใส่วิตามิน B_{12} เพิ่มการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ 28% และ วิตามิน B_1 เพิ่มการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ 7 % เมื่อเทียบกับตัวควบคุม



ภาพที่ 2.9 อัตราการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชขนาด >5µm และ <5µm ที่ศึกษาจากแม่น้ำ Peconic ที่มีการเติม N : ไนไตรท, วิตามิน B_1 และ วิตามิน B_{12}

ที่มา : Gobler et al. (2007)

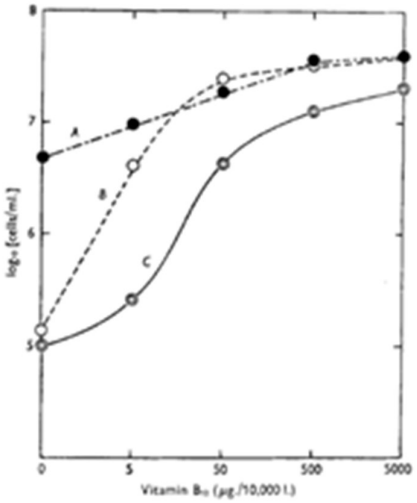


ภาพที่ 2.10 อัตราการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชขนาด >5µm และ <5µm ที่ศึกษาจาก Old Fort Pond ที่มีการเติม N : ไนไตรท, วิตามิน B_1 และ วิตามิน B_{12}

ที่มา : Gobler et al. (2007)

Lewin (1954) ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Stichococcus* sp. ใน A คือ น้ำทะเลธรรม ชาติ มีสารอาหารกับแร่ธาตุ (SWM), B คือ น้ำทะเลเทียม มีสารอาหารและแร่ธาตุคล้ายใน A (SSM), C คือ น้ำทะเล Norit มีสารอาหารและแร่ธาตุคล้ายใน A, B และ C ศึกษาผลผลิตสุดท้าย ที่ได้โดยใช้หลอดทดลอง 15 cm.,

acid- cleaned และขวดแก้วเล็กๆมีฝาครอบใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ml ลงในหลอดทดลอง น้ำทะเลที่ใช้มี 3 แบบ คือ น้ำทะเลจากธรรมชาติ, น้ำทะเลที่มีการเติม สารอาหารและแร่ธาตุ คือ K_2HPO_4 0.02 g/l, $Ca(NO_3).4H_2O$ 0.10 g/l และ Fe, Mn, Mo, B, Cu, Zn ปริมาณเล็กน้อย และ น้ำทะเลสังเคราะห์มีสารอาหารและแร่ธาตุคล้ายในน้ำทะเลที่มีการเติม สารอาหารจากข้างต้นที่กล่าวมาแต่มีการเติมเพิ่ม คือ NaCl 23.0 g/l, $MgCl_2$ 5.0 g/l, Na_2SO_4 4.0 g/l, $NaHCO_3$ 0.2 g/l ทำให้ปราศจากเชื้อโดย autoclave ที่ 15 lb/sq.in ใช้เวลา 15 นาที ตัวทำ ปฏิกิริยากระตุ้นด้วยถ่าน ปัจจัยในการเพาะเลี้ยงจะใช้แสงสว่างคงที่ 220 f.c จากหลอดฟลูออเรส- เซนต์สีขาวที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเมื่อสาหร่ายมีจำนวนเซลล์ลดลง ในน้ำทะเลที่มีการเติมแร่ธาตุสารอาหาร สังเกตจากการมองเห็นสีของสาหร่าย ทำการวัดความ เข้มแสงด้วย Klett densitometer กับอุปกรณ์ ruby filter สำหรับการนับจำนวนเซลล์จะใช้เครื่อง Fisher Heamocytometer ในการนับจำนวนเซลล์ จากการทดลองปริมาณวิตามินที่ละลายน้ำได้ มีการทดสอบในถ่านกัมมันต์ในน้ำทะเลที่เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแต่วิตามินบี 12 (cobalamin) เป็นวิตามินเดียวที่พิสูจน์ให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของสาหร่าย ใน ความเป็นจริงแล้วการเจริญเติบโตของสาหร่ายอาจจะได้รับแร่ธาตุมาจากที่ผสมไว้ในน้ำทะเล เทียมที่มีสารอาหารและแร่ธาตุคล้ายในน้ำทะเลธรรมชาติโดยเสริมด้วยวิตามินบี 12 เพียงอย่าง เดียวใน (ภาพที่ 2.11) แสดงให้เห็นว่าไม่มีปัจจัยการเจริญเติบโตอื่นๆที่ต้องการสำหรับการเจริญเติบ โตสูงสุด คือ 0.2 µg.cobalamin/l คือ ความต้องการตั้งแต่วิตามินบี 12 ถูกทำลายด้วย autoclave เป็นเพียงการทำลายบางส่วนจากการนึ่งฆ่าเชื้อ ข้อผิดพลาดที่แนะนำเมื่อนำอาหารเลี้ยงเชื้อผ่าน การฆ่าเชื้อด้วยความร้อนไม่ได้มีผลต่อปริมาณที่ให้ในหนึ่งเซลล์มีความต้องการวิตามินบี 12 ไม่ น้อยกว่า 1.25 x 10-19 กรัมต่อวิตามินบี 12

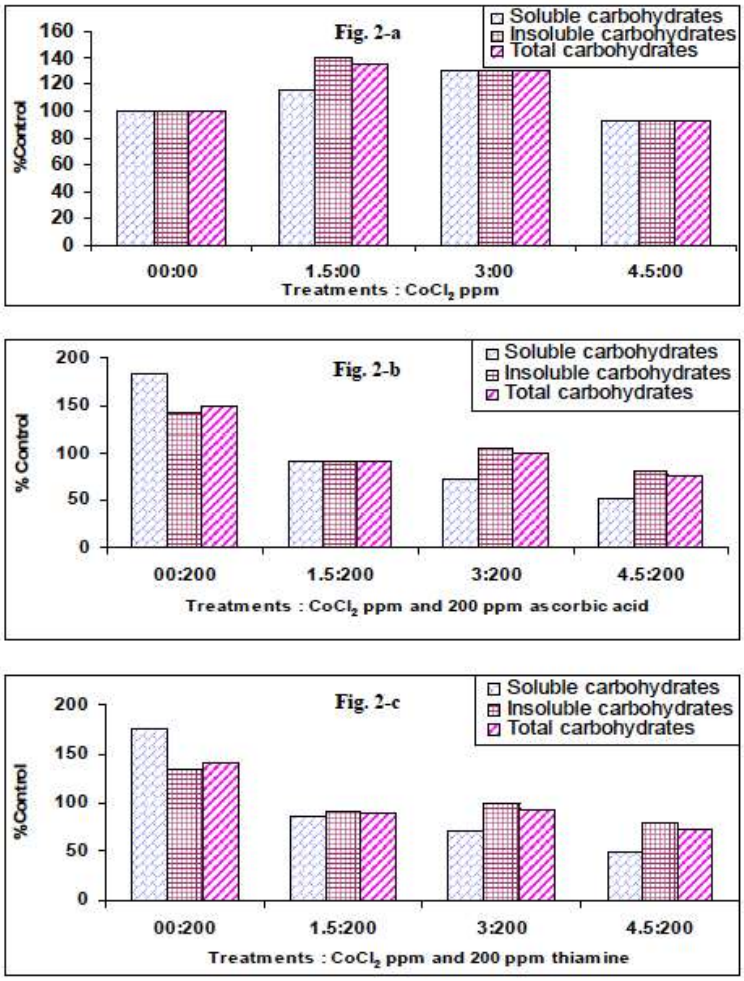


ภาพที่ 2.11 ผลของวิตามินบี 12 ของ *Stichococcus* sp. ใน A คือน้ำทะเลธรรมชาติ, มีสารอาหารกับแร่ธาตุ (SWM), B น้ำทะเลเทียมมีสารอาหารและแร่ธาตุคล้ายใน A (SSM) และ C น้ำทะเล Norit มีสารอาหารและแร่ธาตุคล้ายใน A, B และ C

ที่มา :Lewin (1954)

2.6 ผลของวิตามินต่อคาร์โบไฮเดรท โปรตีน ไขมันและกรดไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก

Desouky (2011) ได้ศึกษาผลของวิตามิน thiamine ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* พบว่าสาหร่ายที่ได้รับวิตามินมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ, ไม่ละลายน้ำ และ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเพิ่มขึ้น 80%, 32% และ 42% เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

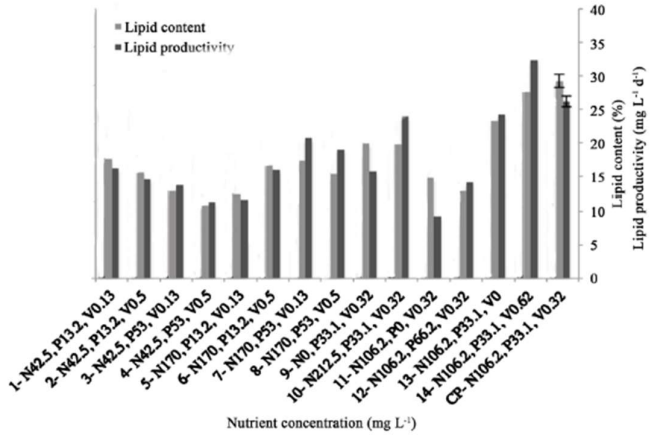


ภาพที่ 2.12 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (น้ำหนักแห้ง μg mg-1) ของ Scenedesmus obliquus ที่ ความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ CoCl2 และ ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก และไทอามีน ที่ความเข้มข้น 200 ppm
ที่มา : Desouky (2011)

Desouky (2011) ได้ศึกษาผลของวิตามินที่ส่งผลต่อสัดส่วนโปรตีนของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ภายใต้ ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน pyridoxine (วิตามิน B_6) และ riboflavin (วิตามิน B_2) ที่ 200 ppm พบว่าสาหร่ายมีปริมาณโปรตีนที่สูงว่าชุดควบคุม 47% - 54%

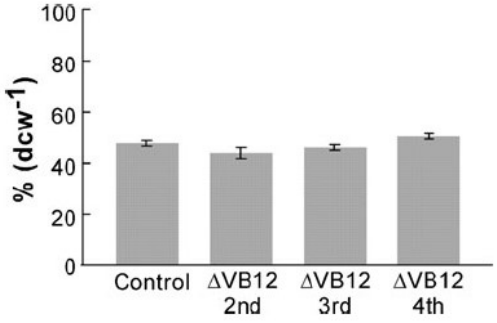
Hakalin et al. (2014) ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณไขมันและผลิตไขมันของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. โดยใส่วิตามิน (V) 0-0.63 mg /l, ไนโตรเจน (N) 0-170 mg/l และ ฟอสฟอรัส (P) 0-66.2 mg/l พบว่าปัจจัยที่มี N=106.2, P=33.1 และ V=0.62 มีปริมาณไขมัน 27.6% เป็นปริมาณที่มากที่สุด และ ในปัจจัยที่มี N=0, P=33.1 และ V=0.32 และ ปัจจัยที่มี N=212.5, P=33.1 และ V=0.32 ทั้ง สองปัจจัยนี้มีปริมาณ ไขมันที่เท่ากันคือ 19 ปัจจัยที่ N=106.2, P=0 และ V=0.32 มีปริมาณไขมันที่ลดลง 49%

และ ปัจจัยที่มี N=106.2, P=66.2 และ V=0.32 มีปริมาณไขมันลดลง 56% โดยเมื่อเพิ่มวิตามินเข้าไป 0.62 mg/l ทำให้ปริมาณของไขมันในสาหร่ายเพิ่มขึ้น 16%



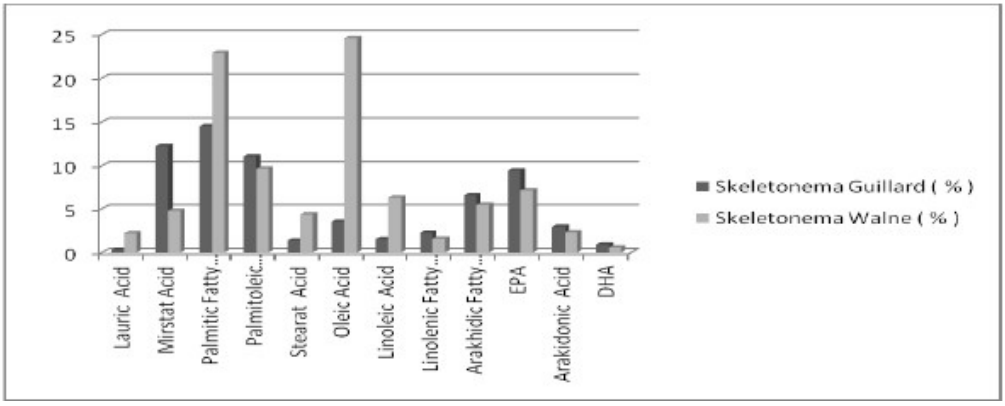
ภาพที่ 2.13 ปริมาณของไขมัน และ ความสามารถในการผลิตไขมันในแต่ละปัจจัย ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp. โดยมี N: ไนโตรเจน, P: ฟอสฟอรัส, V: วิตามิน, CP: จุดศูนย์กลาง
ที่มา : Hakalin et al. (2014)

Tanabe et al. (2014) ศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณไขมันของสาหร่าย *B. braunii* BOT-22 ที่ได้รับวิตามินจากการ autotroph (สิ่งมีชีวิตที่เปลี่ยนอนินทรีย์สารเป็นอาหาร) และไม่มีวิตามินบี 12 พบว่าปริมาณไขมันของสาหร่ายสายพันธุ์นี้ไม่ขึ้นอยู่กับการขาดแคลนวิตามินบี 12 ของการเพาะเลี้ยง โดยสาหร่ายที่ไม่ได้รับการเสริมวิตามินบี 12 มีไขมันประมาณ 42% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดที่ได้รับวิตามิน



ภาพที่ 2.14 ปริมาณไขมัน (น้ำหนักไขมัน / น้ำหนักเซลล์แห้ง) ในสาหร่าย *B. braunii* BOT-22 ที่ได้รับวิตามิน และ ไม่มีวิตามินบี 12 เป็นอาหารเสริม
ที่มา :Tanabe et al. (2014)

Endar et al. (2012) ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อกรดไขมันของสาหร่าย *Skeletonama* sp. โดยทำการเพิ่มวิตามิน biotin (b), thiamine (t) และ cyanocobalamin (c) ลงในสูตรอาหาร 2 สูตร ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ อาหารสูตร Walne จะใส่วิตามิน b:t:c ที่ความเข้มข้น 0.1:20:0.1 µg/l และอาหารสูตร Guillard จะใส่วิตามิน b:t:c ที่ความเข้มข้น 0.01:0.2:0.01 µg/l พบว่ากรดไขมันของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตร Guillard นั้นมีปริมาณกรดไขมันมากที่สุด เมื่อเทียบกับปริมาณกรดไขมันทั้งหมด โดยกรดไขมันอิ่มตัวเป็นองค์ประกอบของกรดไขมันที่เด่นในทุกๆการเจริญเติบโต โดยกรดไขมัน Palmitic acid และ Oleic acid มีมากที่สุด



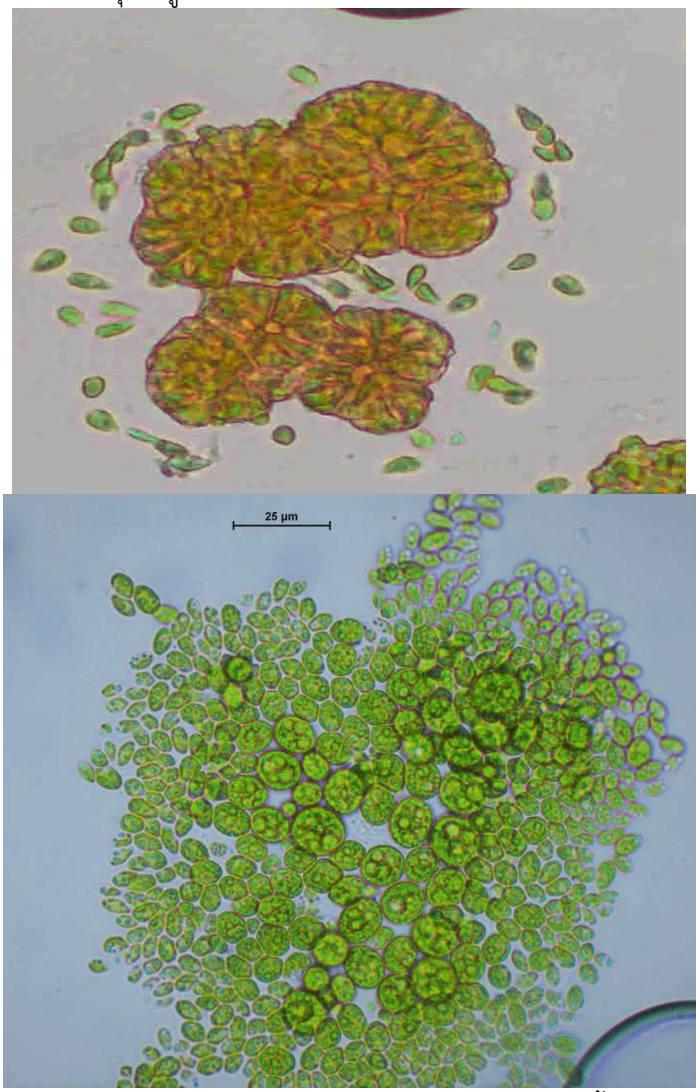
ภาพที่ 2.15 ปริมาณกรดไขมัน (%) ที่พบในการเจริญเติบโตของ *Skeletonama* sp. เพาะเลี้ยงใน อาหารสูตร Walne และ Guillard

ที่มา : Endar et al. (2012)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

เพาะเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย *Botryococcus braunii* strain KMITL 2 ซึ่งแยกมาจากอ่างเก็บน้ำคลองโบด จังหวัดนครนายก GenBank accession no. KX470608 ในอาหารสูตร Chlorella medium (ซึ่งเป็นอาหารที่สาหร่ายสายพันธุ์นี้เจริญเติบโตได้ดีที่สุด) ให้อากาศตลอดเวลา ในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมแสงต่อเนื่องที่ 200 $\mu E/m^2/s^1$ อุณหภูมิที่ 25±1 °C เพื่อเป็นหัวเชื้อสำหรับการทดลองขั้นต่อไป



ภาพที่ 3.1 ลักษณะของสาหร่าย *B. braunii* ในธรรมชาติ (บน) และที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (ล่าง)

ภาพที่ 3.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในห้องปฏิบัติการจนเซลล์แก่เต็มที่

ภาพที่ 3.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในห้องปฏิบัติการ

ภาพที่ 3.4 เซลล์สาหร่ายฟรีสดรายด์ ก่อนสกัดไขมัน

3.2 ระดับและอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโต ไฮโดรคาร์บอน และองค์ประกอบทางชีวเคมี

เพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหาร Chlorella medium ที่มีความเข้มข้นของวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin โดยจัดชุดการทดลองแบบแฟคทอเรียล 4x4x4 (รวม 64 ชุดการทดลอง) โดยมี

ความเข้มข้นของ biotin เท่ากับ 0, 1, 2 และ 3 µg/l

ความเข้มข้นของ thiamine เท่ากับ 0, 100, 200 และ 300 µg/l

ความเข้มข้นของ cobalamin เท่ากับ 0, 2, 4 และ 6 µg/l

โดยมีค่ากลางของวิตามินคือค่าที่ใช้ในสูตรอาหารเลี้ยงสาหร่ายทั่วไป และมีชุดควบคุมคือสาหร่ายที่ไม่ได้รับวิตามิน

เพาะเลี้ยงสาหร่ายในฟลาสก์ขนาด 1 ลิตร ในห้องปฏิบัติการแบบปลอดเชื้อ ศึกษาการเจริญเติบโต คาร์โบไฮเดรท และ โปรตีนทุก 2 วัน วิเคราะห์ปริมาณไฮโดรคาร์บอน และ ไขมัน เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตเข้าระยะ late exponential phase

3.3 ศึกษาคุณสมบัติไบโอดีเซลที่ได้จาก *B. braunii* KMITL 2

นำน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในทุกชุดการทดลอง (64 ชุด) มาศึกษาคุณสมบัติการทำเป็นไบโอดีเซล โดยศึกษาค่า Cetane number (CN), Degree of unsaturation (DU), Cold filter plugging point (CFPP), Saponification value (SV) และ Iodine value (IV)

3.4 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์ จากเซลล์สาหร่ายหลังการสกัดน้ำมัน

เซลล์สาหร่ายที่เหลือหลังจากการสกัดไฮโดรคาร์บอนและไขมัน วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรท โปรตีน และรงควัตถุกลุ่มคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ และศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ และใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงดิน การเป็นปุ๋ยชีวภาพ

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

ทุกชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับคอมพิวเตอร์ ใช้ analysis of variance (ANOVA) และ Tukey-Kramer HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์อิทธิพลร่วมกัน (interaction) ของวิตามินต่อค่าต่าง ๆ ของสาหร่ายที่ทำการศึกษา

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

4.1 ระดับและอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine และ cobalamin ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ไฮโดรคาร์บอน และองค์ประกอบทางชีวเคมี

การศึกษาผลของวิตามิน thiamine ที่แปรผันกับ cyanocobalamin ต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 โดยผันแปร thiamine ที่ความเข้มข้น 0, 100, 200 และ 300 µg/l กับ cyanocobalamin ที่ความเข้มข้น 0, 2, 4 และ 6 µg/l พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ thiamine:cyanocobalamin ที่ความเข้มข้น 200:2 µg/l มีชีวมวลสูงที่สุดคือ 1.23±0.00 g/l ส่วนที่ความเข้มข้น 200:2 µg/l มีคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนสูงที่สุดคือ 282.76±40.22 และ 175.35±42.87 mg/l ตามลำดับ และ ที่ความเข้มข้น 200:2 µg/l มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 85.09±1.33 % และ ที่ความเข้มข้น 100:6 µg/l มีผลผลิตไขมันสูงสุด 186.53±31.72 mg/l องค์ประกอบกรดไขมันพบว่าสาหร่ายมีกรดไขมัน (C16 – C18) อยู่ในช่วง 26.09 – 64.84 % ซึ่งเหมาะแก่การผลิตไบโอดีเซลและมีกรดไขมัน (C10 – C18:2) มีองค์ประกอบอยู่ถึง 77.67-85.73 % และการมีอิทธิพลร่วมกันระหว่างวิตามิน thiamine และ cyanocobalamin นั้นไม่มีผลร่วมกันในด้านการเจริญเติบโต การสะสมคาร์โบไฮเดรตและการสะสมโปรตีนแต่จะมีอิทธิพลร่วมกันในด้านการสะสมไขมัน โดยมีรายละเอียดต่าง ๆ ดังนี้

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน thiamine (t) และ cyanocobalamin (c) แตกต่างกัน 4 ระดับคือ biotin (b) ที่ความเข้มข้น 0 µg/l แปรผันกับ thiamine (t) ที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300 µg/l และ cyanocobalamin (c) ที่ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6 µg/l ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 วัน พบว่า สาหร่ายที่ได้รับ $B_0T_{200}C_2$ (ความเข้มข้น biotin ที่ 0 µg/l, thiamine ที่ 200 µg/l และ cyanocobalamin ที่ 2 µg/l) มีผลผลิตชีวมวลสูงที่สุดคือ 1.23±0.00 g/l ในวันที่ 24 (ภาพที่ 4.1) โดยมีความแตกต่างทางสถิติกับความเข้มข้น $B_0T_{300}C_4$ ซึ่งวิตามิน thiamine , cyanocobalamin จะช่วยในด้านการเจริญเติบโต และช่วยในกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ เพราะถ้าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่ดีและเพิ่มมากขึ้นก็จะส่งผลทำให้ได้ผลผลิตชีวมวลที่เพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เพิ่มขึ้น และในการทดลองปัจจัยที่มี biotin:thiamine:cyanocobalalmin ที่ความเข้มข้น 0:100:6 µg/l มีผลผลิตชีวมวลน้อยที่สุดคือ 0.1567±0.00 g/l ในวันที่ 2 และ เข้าสู่ระยะ Satationary phase ที่ 22 วัน ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับ การทดลองของ Carlucci and Silbernagel (1969) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ผลจากการศึกษาพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กมีการเจริญเติบโตในด้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์นั้นแตกต่างกัน วิตามินที่ช่วยทำให้เพิ่มจำนวนของเซลล์มากที่สุดคือ bitotin รองลง คือ วิตามิน cyanocobalamin และ thiamine ตามลำดับ โดยวิตามิน biotin จะช่วยในเรื่องการเจริญเติบโตของเซลล์นั้นได้ดีที่สุด และ ช่วงระยะเวลาที่เจริญเติบโตสูงที่สุด (specific growth) จะอยู่ในระยะเวลาประมาณ 3 - 6 วัน และ หลังจากนั้นการเจริญเติบโตก็จะลดลง

คาร์โบไฮเดรต : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 24 วัน พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_0T_{200}C_2$ มีคาร์โบไฮเดรตในที่สูงที่สุดคือ 282.76±40.22 mg/l (ภาพที่ 4.2) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติกับความเข้มข้น $B_0T_0C_0$ ส่วนสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน $B_0T_{100}C_0$ มีการสะสมคาร์โบไฮเดรตสูงสุดอยู่ที่ 494.70±49.93 mg/g และ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุดที่ 49.47±4.99 % โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_0T_0C_0$ และ $B_0T_{300}C_6$ ซึ่งวิตามินทั้ง 2 ชนิดไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อ การสะสมคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย และ

เข้าสู่ระยะ stationary phase ที่ 24 วัน ของการเพาะเลี้ยง

ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Desouky (2011) ที่ได้มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไปในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย แล้วผลที่ได้นั้นพบว่าสาหร่ายที่มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไป มีคาร์โบไฮเดตรสูงขึ้น 85% เมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไป

โปรตีน : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 วัน พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_0T_{200}C_2$ มีโปรตีนในที่สูงที่สุดคือ 175.35±42.87 mg/l (ภาพที่ 4.3) โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับความเข้มข้น $B_0T_0C_0$, $B_0T_0C_2$, $B_0T_0C_4$, $B_0T_0C_6$, $B_0T_{100}C_0$, $B_0T_{100}C_2$, $B_0T_{100}C_4$, $B_0T_{100}C_6$, $B_0T_{200}C_0$, $B_0T_{200}C_4$, $B_0T_{200}C_6$, $B_0T_{300}C_0$, $B_0T_{300}C_2$, $B_0T_{300}C_4$ และ $B_0T_{300}C_6$ ส่วนสาหร่ายที่ได้ รับวิตามิน $B_0T_0C_6$ มีการสะสมโปรตีนที่สูงที่สุดคือ 343.10±34.83 mg/g และ มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือ 34.31±3.48 % โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_0T_0C_0$, $B_0T_0C_2$, $B_0T_0C_4$, $B_0T_0C_6$, $B_0T_{100}C_0$, $B_0T_{100}C_2$, $B_0T_{100}C_4$, $B_0T_{100}C_6$, $B_0T_{200}C_0$, $B_0T_{200}C_2$, $B_0T_{200}C_4$, $B_0T_{200}C_6$, $B_0T_{300}C_2$, $B_0T_{300}C_4$ และ $B_0T_{300}C_6$ ซึ่งวิตามินทั้ง 2 ชนิดไม่มีอิทธิพลร่วมกัน ต่อการสะสมโปรตีนของสาหร่าย ซึ่งการเสริมวิตามิน cyanocobalamin ที่จะช่วยในกระบวนการที่เกี่ยวกับปฏิกิริยาทางชีวเคมี (metabolism) ของโปรตีนและ thiamine จะช่วยเกี่ยวกับการเจริญเติบโตจึงสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนได้ โดยปริมาณโปรตีนของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเจริญเติบโตที่เพิ่มมากขึ้น และ เข้าสู่ระยะ stationary phase ที่ 24 วันของการเพาะเลี้ยง

สอดคล้องกับการทดลองของ Desouky (2011) ที่ได้มีการเพิ่มวิตามิน บี2 และ บี6 ที่ความเข้มข้น 200 ppm ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ทำให้มีปริมาณโปรตีนเพิ่ม มากขึ้นเมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่มวิตามินลงไป

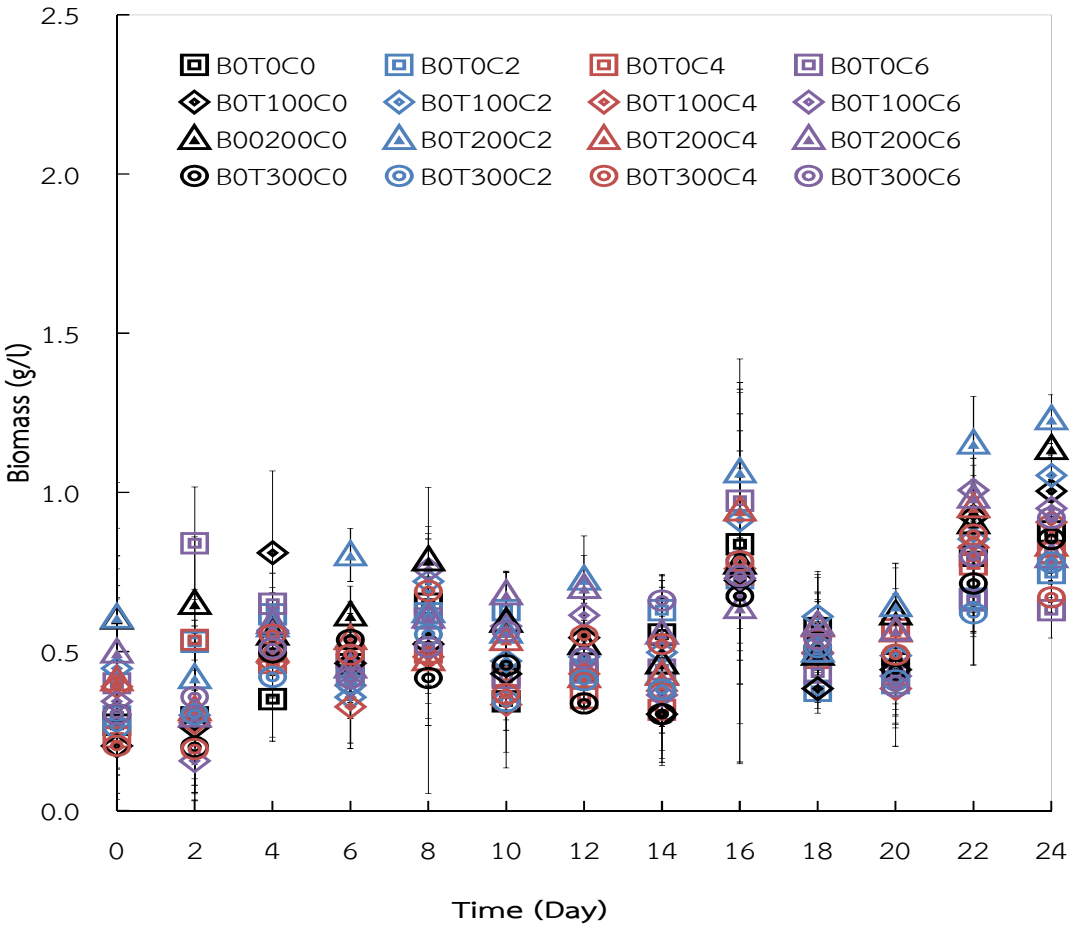
ไขมัน : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 วัน ทำการวิเคราะห์ไขมันวันแรกและวันสิ้นสุดการทดลอง พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_0T_{200}C_2$ มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 85.09±1.33 % โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_0T_0C_2$, $B_0T_0C_4$, $B_0T_0C_6$, $B_0T_{100}C_0$, $B_0T_{200}C_4$, $B_0T_{200}C_6$, $B_0T_{300}C_0$, $B_0T_{300}C_2$, $B_0T_{300}C_4$ และ $B_0T_{300}C_6$ และสาหร่ายที่ได้ รับวิตามิน $B_0T_{100}C_6$ ผลผลิตไขมันสูงสุดคือ 18.65±3.17 g/l โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_0T_0C_4$ และสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน $B_0T_{100}C_6$ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.23±0.04 /d โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_0T_0C_0$, $B_0T_0C_2$, $B_0T_0C_4$, $B_0T_0C_6$, $B_0T_{100}C_0$, $B_0T_{100}C_2$, $B_0T_{100}C_4$, $B_0T_{200}C_0$, $B_0T_{200}C_2$, $B_0T_{200}C_4$, $B_0T_{200}C_6$, $B_0T_{300}C_0$, $B_0T_{300}C_2$, $B_0T_{300}C_4$ และ $B_0T_{300}C_6$ กำลังการผลิตไขมันสูงสุด เท่ากับ 186.53±31.72 mg/l/d (ตารางที่ 4.1-4.2) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_0T_0C_2$ ซึ่งวิตามินทั้ง 2 ชนิดมีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณไขมันของสาหร่าย เพราะวิตามิน cyanocobalamin และ thiamine จะเข้าไปช่วยในกระบวนการสังเคราะห์ไขมัน โดยจะเข้าไปกระตุ้นเอนไซม์ Diacylglycerol Transferase ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยน Diacylglycerol เป็น Triacylglyceriade จึงทำให้ได้ปริมาณไขมันเพิ่มมากขึ้น โดยปริมาณไขมันของสาหร่ายมีการผันแปรตลอดระยะ เวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มวิตามินเข้าไปจะทำให้สาหร่ายมีปริมาณไขมันที่เพิ่มขึ้นตามไปด้วย

ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hakalin et al. (2014) ที่ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณไขมัน และ การผลิตไขมันของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. โดยจะทำการเพิ่มวิตามินที่ความเข้มข้น 0-0.63 mg/l เข้าไปในการเพาะเลี้ยงที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสรวมอยู่ด้วย ผลที่ออกมานั้นพบว่า ปัจจัยที่มีความเข้มข้นของวิตามินสูงสุดและต่ำสุดมีปริมาณไขมันต่างกัน 16 % ซึ่งแสดงให้เห็นว่า วิตามิน นี้มีผลต่อ

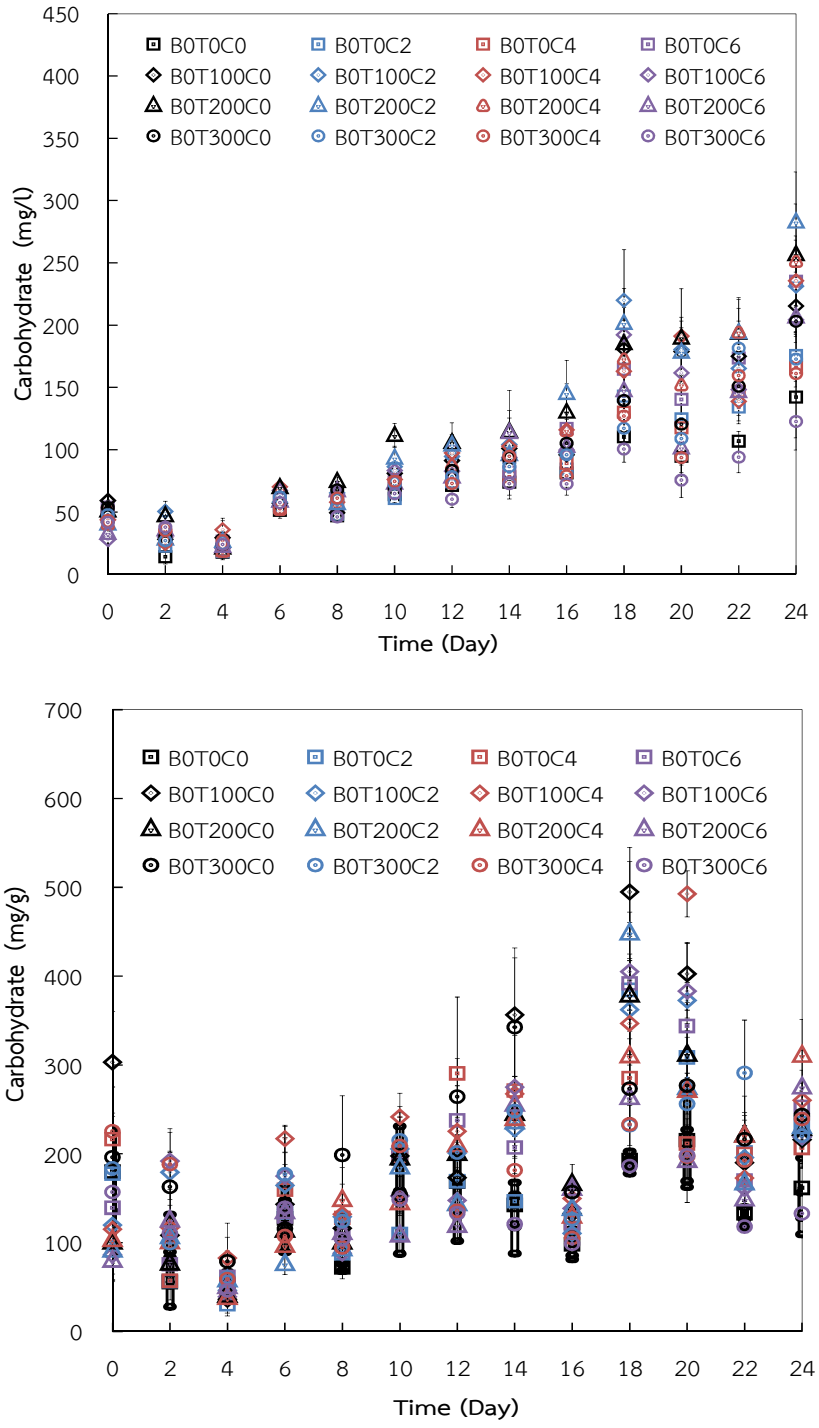
ปริมาณไขมันในสาหร่ายแต่ถ้าเทียบกันระหว่างวิตามิน กับ ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส ก็จะพบว่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัสนั้นมีผลต่อการเพิ่มปริมาณไขมัน ในเซลล์ของสาหร่ายมากกว่าวิตามิน

กรดไขมัน : สาหร่าย *B. braunii* ที่ได้รับความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกัน นำผลผลิตไขมันที่ได้ มาวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมัน พบว่ากรดไขมัน Capric Acid (C10:0) สูงที่สุดที่ความ เข้มข้น $B_0T_{100}C_2$ พบ 25.87 % ในวันที่ 24 ของการทดลอง รองลงมาเป็น Palmitic Acid (C16:0) ที่ความเข้มข้น $B_0T_{300}C_6$ พบ 19.95 % ซึ่งเหมาะแก่การผลิตไบโอดีเซล และมีกรดไขมัน C10 – C18:2 ที่มีค่าซีเทนสูงกว่ามาตรฐานของ ASTM D975 (ซึ่งกำหนดว่าค่าซีเทนไว้ว่าต้องไม่ต่ำกว่า 40) เป็น องค์ประกอบอยู่ถึง 85.73 % ในวันที่ 24 (ตารางที่ 4.3) ซึ่งจะสอดคล้องกับการทดลองของ Hakalin et al. (2014) ที่ได้ทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thaimine และ cyanocobalamin ในการ เพาะเลี้ยงสาหร่ายแล้วทำให้มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น 16 % เมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่ม วิตามินเข้าไป

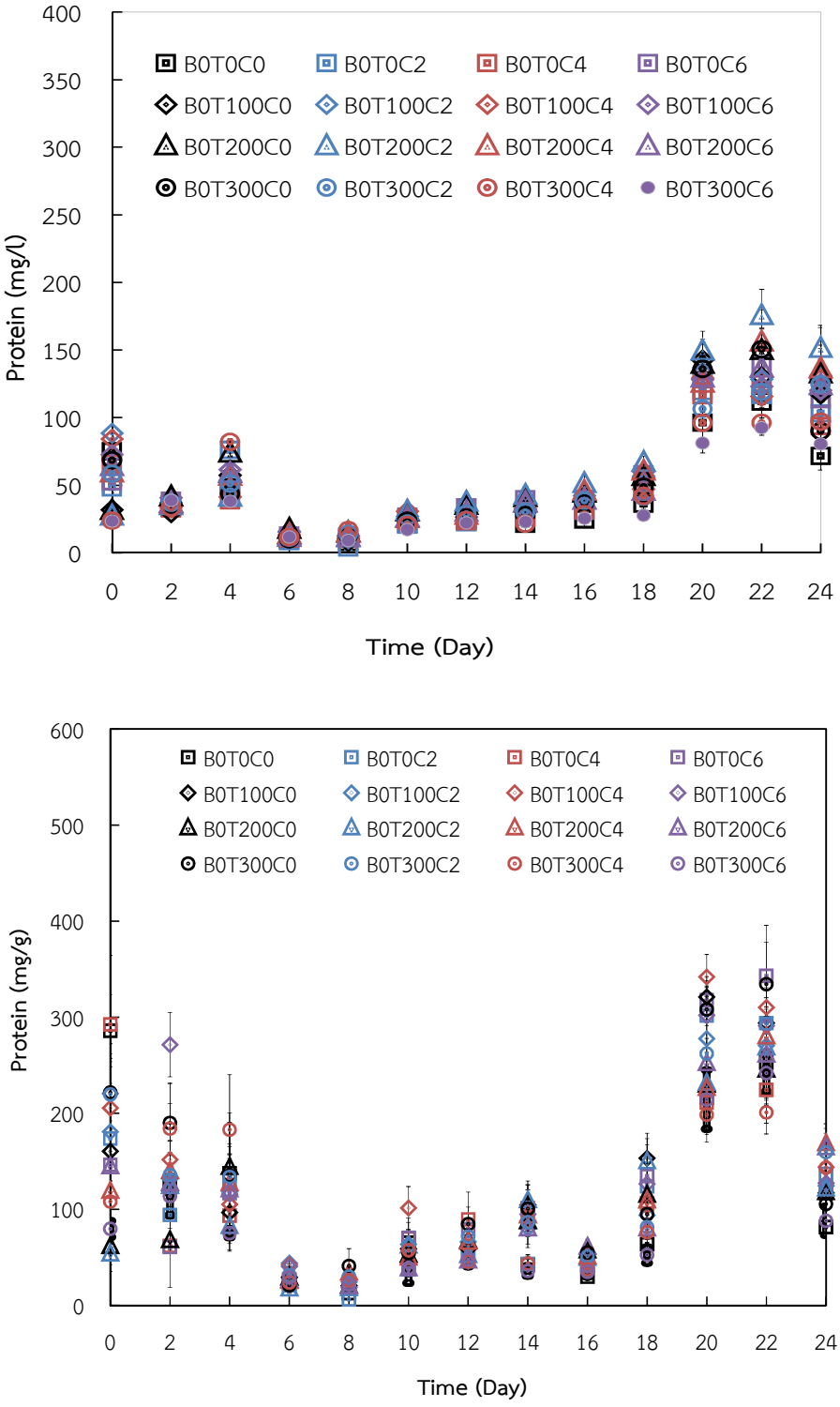
ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Endar et al. (2012) ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อกรดไขมันของสาหร่าย *Skeletonama* sp. โดยจะทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thiamine และ cyanocobalamin ลงในสูตรอาหาร 2 สูตร ที่ความเข้มข้น 0.1:20:0.1 และ 0.01:0.2:0.01 µg/l ผลการทดลองพบว่า ปริมาณกรดไขมันในสาหร่ายนั้นมีเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบ เทียบกันระหว่างปัจจัยที่มีวิตามินสูงสุดและต่ำสุด



ภาพที่ 4.1 ชีวมวลของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)



ภาพที่ 4.2 คาร์โบไฮเดรทของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)



ภาพที่ 4.3 โปรตีนของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

ตารางที่ 4.1 ไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	Hydrocarbon content (%)	Hydrocarbon yield (g/l)	Hydrocarbon productivity (mg/l/d)
	36.94±2.85	-	-
$B_0T_0C_0$	47.30±3.44	9.14±0.66	109.26±12.41
$B_0T_0C_2$	39.71±1.59	6.05±0.94	43.39±7.87
$B_0T_0C_4$	38.62±2.09	4.64±1.43	46.39±14.30
$B_0T_0C_6$	38.13±1.89	8.13±1.88	81.35±18.81
$B_0T_{100}C_0$	35.79±0.68	8.32±0.31	83.24±3.13
$B_0T_{100}C_2$	45.70±3.14	9.84±0.81	98.37±8.07
$B_0T_{100}C_4$	39.70±2.94	9.73±1.95	97.30±19.55
$B_0T_{100}C_6$	44.44±1.68	9.90±1.65	98.97±16.52
$B_0T_{200}C_0$	41.74±0.79	5.96±0.09	59.63±0.87
$B_0T_{200}C_2$	46.45±3.24	9.00±0.15	90.04±1.53
$B_0T_{200}C_4$	35.60±2.49	5.86±0.09	58.63±0.88
$B_0T_{200}C_6$	43.69±3.26	6.39±0.26	57.03±6.97
$B_0T_{300}C_0$	36.84±0.94	5.95±1.07	59.53±10.74
$B_0T_{300}C_2$	35.80±0.95	6.28±2.35	62.75±23.48
$B_0T_{300}C_4$	33.67±0.95	5.70±0.58	56.96±5.73
$B_0T_{300}C_6$	38.98±0.95	9.31±0.98	93.11±9.79

ตารางที่ 4.2 การเจริญเติบโตและไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	µ	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (mg/l/d)
	-	0.09±0.00	40.43±2.74	-	-
$B_0T_0C_0$	0.21±0.02^{a}	0.90±0.01^{c}	74.32±2.60^{abcd}	14.37±0.50^{ab}	178.44±31.84^{b}
$B_0T_0C_2$	0.10±0.01^{a}	0.78±0.02^{abc}	64.48±0.63^{a}	9.35±1.30^{ab}	69.51±11.03^{a}
$B_0T_0C_4$	0.12±0.03^{a}	0.78±0.01^{abc}	68.54±1.25^{ab}	7.98±2.25^{a}	79.82±22.55^{ab}
$B_0T_0C_6$	0.21±0.03^{a}	0.86±0.07^{bcd}	65.68±1.96^{ab}	13.87±2.85^{ab}	138.70±28.55^{ab}
$B_0T_{100}C_0$	0.21±0.01^{a}	0.97±0.01^{cdef}	67.25±3.59^{ab}	15.14±0.90^{ab}	151.42±9.09^{ab}
$B_0T_{100}C_2$	0.22±0.01^{a}	1.08±0.03^{ef}	80.15±1.58^{bcd}	17.80±0.12^{ab}	178.02±1.22^{b}
$B_0T_{100}C_4$	0.20±0.01^{a}	0.82±0.04^{abcd}	74.33±5.10^{abcd}	16.79±3.21^{ab}	167.91±32.19^{ab}
$B_0T_{100}C_6$	0.23±0.04^{a}	1.01±0.04^{def}	84.63±1.77^{cd}	18.65±3.17^{b}	186.53±31.72^{b}
$B_0T_{200}C_0$	0.13±0.00^{a}	1.10±0.02^{fg}	75.60±2.45^{abcd}	10.74±0.04^{ab}	107.45±0.40^{ab}
$B_0T_{200}C_2$	0.22±0.03^{a}	1.31±0.04^{g}	85.09±1.33^{d}	17.55±0.60^{ab}	175.57±6.07^{ab}
$B_0T_{200}C_4$	0.15±0.01^{a}	0.89±0.04^{cdef}	69.39±3.59^{abc}	11.48±0.62^{ab}	114.86±6.20^{ab}
$B_0T_{200}C_6$	0.12±0.00^{a}	0.66±0.07^{ab}	67.48±3.49^{ab}	9.91±0.49^{ab}	87.91±8.94^{ab}
$B_0T_{300}C_0$	0.16±0.02^{a}	0.88±0.05^{cde}	66.59±2.47^{ab}	10.49±2.06^{ab}	104.92±20.64^{ab}
$B_0T_{300}C_2$	0.17±0.06^{a}	0.88±0.00^{cde}	65.87±2.17^{ab}	11.07±3.59^{ab}	110.77±35.91^{ab}
$B_0T_{300}C_4$	0.15±0.00^{a}	0.64±0.01^{a}	60.54±3.63^{a}	10.18±0.81^{ab}	101.04±7.35^{ab}
$B_0T_{300}C_6$	0.22±0.01^{a}	0.89±0.02^{cde}	68.66±4.91^{ab}	16.63±1.60^{ab}	166.39±16.05^{ab}

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Fatty acid	B0T0C0	B0T0C2	B0T0C4	B0T0C6	B0T100C0	B0T100C2	B0T100C4	B0T100C6	B0T200C0	B0T200C2	B0T200C4	B0T200C6	B0T300C0	B0T300C2	B0T300C4	B0T300C6
C4:0	0.81	0.95	1.29	1.03	0.45	2.05	1.43	1.36	1.57	1.45	3.41	1.36	1.41	12.27	8.21	1.38
C6:0	1.75	1.78	1.03	1.80	1.07	1.73	2.95	2.49	2.94	2.84	7.23	2.49	4.44	6.09	3.99	2.87
C8:0	5.11	5.61	5.33	5.05	3.74	9.74	7.50	6.90	7.16	8.17	5.19	6.90	4.50	1.87	2.11	5.19
C10:0	13.19	16.88	14.01	12.97	13.06	25.87	22.43	17.81	22.07	21.68	24.28	17.81	18.36	23.97	24.31	5.30
C11:0	6.65	11.96	7.14	9.80	10.99	12.24	12.09	9.05	1.23	11.60	16.43	9.05	11.59	0.94	0.79	5.33
C12:0	8.92	12.12	4.29	9.96	5.49	3.63	8.63	10.49	8.36	9.64	5.55	10.49	11.28	3.23	3.12	4.19
C13:0	6.91	4.00	5.32	3.89	9.30	4.29	5.23	6.99	2.27	10.26	4.48	6.99	5.22	5.29	1.13	2.41
C14:0	2.19	1.92	0.79	1.06	1.48	0.41	1.56	1.18	1.68	1.11	1.76	1.18	5.81	0.24	10.73	8.34
C14:1	1.00	1.50	0.86	0.87	0.85	0.27	0.63	0.96	0.27	1.05	0.86	0.96	2.57	1.46	0.33	0.98
C15:0	1.15	1.53	0.74	1.65	0.93	0.24	1.09	1.26	0.33	0.67	0.56	1.26	0.97	2.71	1.67	0.93
C15:1	0.56	1.13	0.26	0.36	0.89	0.00	1.12	0.69	0.12	1.04	0.21	0.69	1.41	2.33	2.39	0.81
C16:0	14.70	11.69	13.95	12.39	12.61	11.18	11.25	10.91	15.64	8.26	10.12	10.91	13.32	8.09	11.69	19.95
C16:1	2.26	1.98	2.17	2.28	2.33	1.55	2.11	2.13	2.21	2.15	1.72	2.13	2.10	0.00	0.52	2.45
C17:0	2.45	2.52	3.50	3.40	3.40	2.37	2.66	2.83	3.41	2.09	1.56	2.83	2.33	18.28	16.38	4.31
C17:1	2.83	3.16	4.75	4.50	3.99	3.58	3.61	3.59	4.47	2.37	1.74	3.59	1.59	2.95	2.98	4.01
C18:0	1.33	1.40	0.63	0.94	1.34	0.68	0.60	0.69	1.38	0.60	0.45	0.69	0.73	7.53	7.05	1.20
C18:1n9t	1.04	1.58	2.92	2.67	2.23	2.02	1.55	1.71	2.72	1.19	0.92	1.71	0.48	0.00	0.00	1.68
C18:1n9c	6.23	5.01	6.60	5.77	5.77	1.24	3.43	4.08	5.41	3.24	3.95	4.08	3.47	0.13	0.16	8.64
C18:2n6t	0.27	0.22	0.33	10.69	0.16	3.01	6.60	0.29	0.00	0.07	0.20	0.29	0.17	0.35	0.34	0.41
C18:2n6c	9.38	6.90	11.25	2.05	10.11	8.16	0.96	7.84	9.82	5.12	5.60	7.84	4.34	0.17	0.13	11.38

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

Fatty acid	B0T0C0	B0T0C2	B0T0C4	B0T0C6	B0T100C0	B0T100C2	B0T100C4	B0T100C6	B0T200C0	B0T200C2	B0T200C4	B0T200C6	B0T300C0	B0T300C2	B0T300C4	B0T300C6
C18:3n3	4.18	0.13	0.11	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.16
C18:3n6	1.74	1.40	2.22	6.26	1.87	1.51	2.56	1.25	1.71	1.00	0.86	1.25	0.69	0.24	0.28	1.99
C20:0	4.18	3.60	6.14	0.32	5.53	3.71	0.00	3.55	4.82	2.49	2.36	3.55	1.74	0.00	0.00	5.30
C20:1	0.22	0.25	0.38	0.08	0.34	0.25	0.00	0.21	0.40	0.18	0.15	0.21	0.00	0.00	0.00	0.39
C20:2	0.00	0.06	0.13	0.00	0.60	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.44	0.00	0.00	0.31
C20:3n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.19	0.00	0.00
C20:3n6	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.49	0.47	0.00
C20:4n6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.45	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.11	0.00
C:20:5n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C21:0	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00
C22:0	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.32	0.26	0.00
C22:1n9	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.53	0.37	0.00
C22:2	0.40	0.19	0.56	0.00	0.25	0.00	0.00	0.58	0.00	0.00	0.08	0.58	0.00	0.17	0.11	0.08
C22:6n3	0.00	0.08	0.59	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.16	0.00
C23:0	0.30	0.12	0.43	0.05	0.31	0.13	0.00	1.15	0.00	1.72	0.13	1.15	1.04	0.00	0.00	0.00
C24:0	0.00	0.04	1.61	0.00	0.45	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C24:1	0.23	0.05	0.65	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

Fatty acid	B0T0C0	B0T0C2	B0T0C4	B0T0C6	B0T100C0	B0T100C2	B0T100C4	B0T100C6	B0T200C0	B0T200C2	B0T200C4	B0T200C6	B0T300C0	B0T300C2	B0T300C4	B0T300C6
Saturated fatty acid	59.96	69.66	76.25	66.20	64.32	70.16	78.28	77.42	76.67	72.86	82.58	83.52	76.67	82.74	90.82	91.64
Unsaturated fatty acid	40.04	30.34	23.75	33.80	35.68	29.84	21.72	22.58	23.33	27.14	17.42	16.48	23.33	17.26	9.18	8.36
Monounsaturated fatty acid	15.97	14.36	14.73	18.60	16.58	16.40	8.92	12.47	13.37	15.60	11.23	9.54	13.37	11.63	7.41	6.74
Polyunsaturated fatty acid	24.07	15.98	9.02	15.20	19.10	13.44	12.80	10.11	9.96	11.53	6.19	6.93	9.96	5.63	1.77	1.62
Total fatty acid	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
C16-C18	64.84	46.41	35.98	48.45	50.99	43.81	35.30	35.33	35.32	46.77	26.09	27.20	35.32	29.22	37.74	39.53
C10:0-C18:2	82.25	81.07	85.50	79.52	85.26	84.94	80.74	85.57	82.51	81.39	82.16	80.38	82.51	85.73	77.67	83.72

การศึกษาผลของวิตามิน thiamine ที่แปรผันกับ cyanocobalamin โดยมีความเข้มข้นวิตามิน biotin คงที่ 1 µg/l ต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 โดยผันแปร thiamine ที่ความเข้มข้น 0, 100, 200 และ 300 µg/l กับ cyanocobalamin ที่ความเข้มข้น 0, 2, 4 และ 6 µg/l พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ biotin:thiamine:cyanocobalamin ที่ความเข้มข้น 1:200:6 µg/l มีชีวมวลสูงที่สุดคือ 1.66±0.00 g/l ส่วนที่ความเข้มข้น 1:200:0 µg/l มีคาร์โบไฮเดรตสูงสุดคือ 345.27±23.90 mg/l และที่ความเข้มข้น 1:100:6 µg/l มีโปรตีนและปริมาณไขมันสูงสุดคือ 209.23±36.68 mg/l และ 95.90±9.92 % ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 1:0:0 µg/l มีผลผลิตไขมันสูงสุดคือ 250.48±48.28 mg/l องค์ประกอบกรดไขมันพบว่าสาหร่ายมีกรดไขมัน (C16 – C18) อยู่ในช่วง 17.12 – 71.98 % ซึ่งเหมาะแก่การผลิตไบโอดีเซลและมีกรดไขมัน (C10 – C18:2) มีองค์ประกอบอยู่ถึง 66.80 – 82.25 % และการมีอิทธิพลร่วมกันระหว่างวิตามิน thiamine และ cyanocobalamin นั้นไม่มีผลร่วมกันในด้านการเจริญเติบโต การสะสมคาร์โบไฮเดรตและการสะสมโปรตีนแต่จะมีอิทธิพลร่วมกันในด้านการสะสมไขมัน

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. Braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน thiamine (t) และ cyanocobalamin (c) แตกต่างกัน 4 ระดับคือ biotin (b) ที่ความเข้มข้น 1 µg/l แปรผันกับthiamine (t) ที่ความเข้มข้น 0, 100, 200 และ 300 µg/l และ cyanocobalamin (c) ที่ความเข้มข้น 0, 2, 4 และ 6 µg/l ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 วันพบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_1T_{200}C_6$ (ความเข้มข้น biotin ที่ 1 µg/l, thiamine ที่ 200 µg/l และcyanocobalamin ที่ 6 µg/l) มีผลผลิตชีวมวลสูงที่สุดคือ 1.66±0.00 g/l ในวันที่ 24 (ภาพที่ 4.4) โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติซึ่งวิตามิน thiamine จะช่วยในด้านการเจริญเติบโตและ cyanocobalamin จะช่วยในกระบวนการที่เกี่ยวกับปฏิกิริยาทางชีวเคมี (metabolism) โดยการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เพิ่มขึ้นและในการทดลองปัจจัยที่มี biotin:thiamine:cyanocobalalmin ที่ความเข้มข้น 1:300:2 µg/l มีผลผลิตชีวมวลน้อยที่สุดคือ 0.1367±0.00 g/l ในวันที่ 2 และเข้าสู่ระยะ Satationary phase ที่ 22 วันของการเพาะเลี้ยงซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Carlucci and Silbernagel (1969) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กผลจากการศึกษาพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กมีการเจริญเติบโตในด้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์นั้นแตกต่างกันวิตามินที่ช่วยทำให้เพิ่มจำนวนของเซลล์มากที่สุดคือ bitotin รองลงคือวิตามิน cyanocobalamin และ thiamine ตามลำดับโดยวิตามิน biotin จะช่วยในเรื่องการเจริญเติบโตของเซลล์นั้นได้ดีที่สุดและช่วงระยะเวลาที่เจริญเติบโตสูงที่สุด (specific growth) จะอยู่ในระยะเวลาประมาณ 3 - 6 วันและหลังจากนั้นการเจริญเติบโตก็จะลดลง

คาร์โบไฮเดรต : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 24 วัน พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_1T_{200}C_0$ มีคาร์โบไฮเดรตในที่สูงที่สุดคือ 345.27±23.90 mg/l (ภาพที่ 4.5) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_1T_{100}C_6$ และ $B_1T_{200}C_0$ ส่วนสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน $B_1T_{100}C_6$ มีการสะสมคาร์โบไฮเดรตสูงสุดอยู่ที่ 522.05±72.97 mg/g และมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุดที่ 108.56±45.05 % โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_1T_{200}C_4$ ซึ่งวิตามินทั้ง 2 ชนิดไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการสะสมคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย และเข้าสู่ระยะ stationary phase ที่ 24 วัน ของการเพาะเลี้ยง

ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Desouky (2011) ที่ได้มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไปในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย แล้วผลที่ได้นั้นพบว่าสาหร่ายที่มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไป มีคาร์โบไฮเดตรสูงขึ้น 85% เมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไป

โปรตีน : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 24 วัน พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_1T_{100}C_6$ มีโปรตีนในที่สูงที่สุดคือ 209.23±36.68 mg/l (ภาพที่ 4.6) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_1T_0C_0$, $B_1T_0C_2$, $B_1T_0C_4$, $B_1T_0C_6$, $B_1T_{100}C_0$, $B_1T_{200}C_4$,$B_1T_{300}C_0$, $B_1T_{300}C_2$, $B_1T_{300}C_4$ และ $B_1T_{300}C_6$ ส่วนสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน $B_1T_{200}C_4$ มีการสะสมโปรตีนที่สูงที่สุดคือ 431.59±116.82 mg/g และมีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือ 43.15±11.68 % โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งวิตามินทั้ง 2 ชนิดไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการสะสมโปรตีนของสาหร่าย แต่การเสริมวิตามิน cyanocobalamin ซึ่งจะช่วยในกระบวนการที่เกี่ยวกับปฏิกิริยาทางชีวเคมี (metabolism) ของโปรตีนและ thiamine จะช่วยเกี่ยวกับการเจริญเติบโตจึงสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนได้ โดยปริมาณโปรตีนของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น และเข้าสู่ระยะ stationary phase ที่ 24 วันของการเพาะเลี้ยง

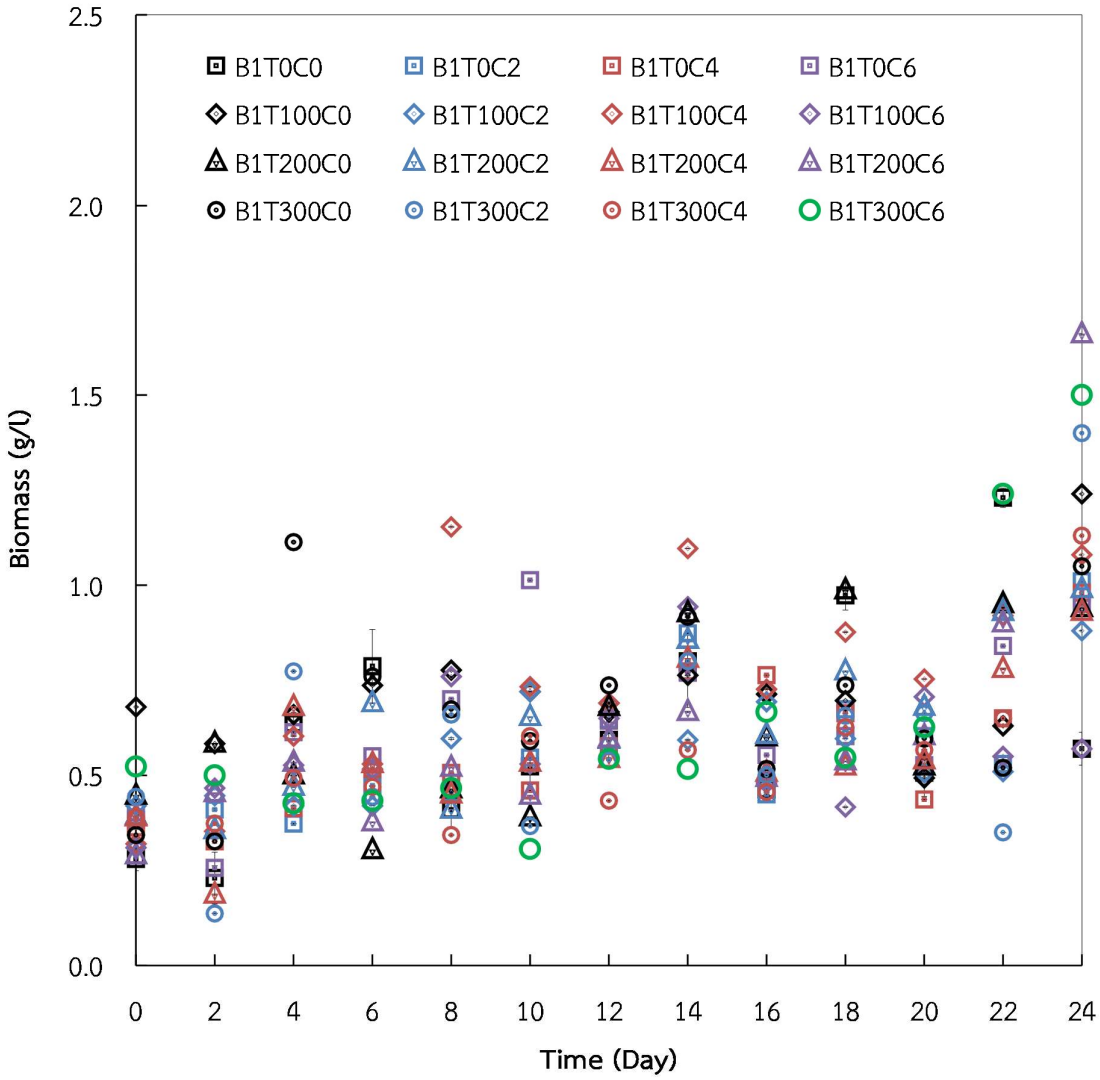
ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Desouky (2011) ที่ได้มีการเพิ่มวิตามินบี 2 และ วิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้น 200 ppm ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ทำให้มีปริมาณโปรตีนเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่มวิตามินลงไป

ไขมัน : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 24 วัน ทำการวิเคราะห์ไขมันวันแรกและวันสิ้นสุดการทดลอง พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_1T_{100}C_6$มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 95.90±9.92 % และที่ความเข้มข้น $B_1T_0C_0$ ผลผลิตไขมันสูงสุด 25.00±4.82 g/l อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.48±0.05 /d ที่ความเข้มข้น $B_1T_0C_0$ กำลังการผลิตไขมันสูงสุดเท่ากับ 250.09±48.28 mg/l/d (ตารางที่ 4.4-4.5) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสาหร่ายที่ความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งวิตามินทั้ง 2 ชนิดมีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณไขมันของสาหร่ายเพราะวิตามิน cyanocobalamin จะช่วยในกระบวนการที่เกี่ยวกับปฏิกิริยาทางชีวเคมี (metabolism) และ thiamine ช่วยในด้านการเจริญเติบโต เมื่อชีวมวลมากก็จะทำให้ได้ปริมาณของไขมันที่เพิ่มขึ้น โดยปริมาณไขมันของสาหร่ายมีการผันแปรตลอดระยะ เวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มวิตามินเข้าไปจะทำให้สาหร่ายมีปริมาณไขมันที่เพิ่มขึ้นตามไปด้วย

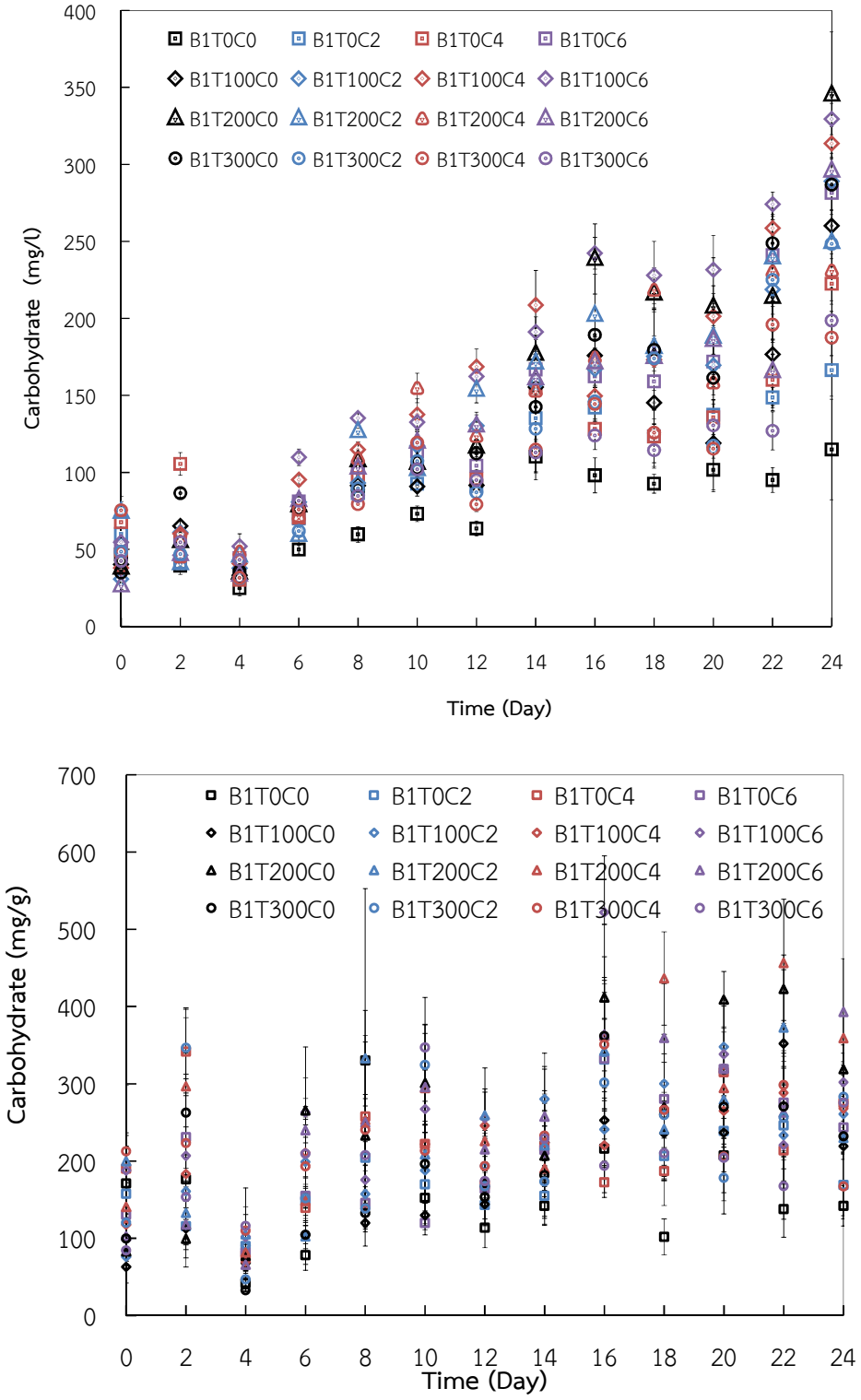
ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hakalin et al. (2014) ที่ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณไขมัน และการผลิตไขมันของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. โดยจะทำการเพิ่มวิตามินที่ความเข้มข้น 0-0.63 mg/l เข้าไปในการเพาะเลี้ยงที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสรวมอยู่ด้วยผลที่ออกมานั้นพบว่าปัจจัยที่มีความเข้มข้นของวิตามินสูงสุดและต่ำสุดมีปริมาณไขมันต่างกัน 16 % ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิตามินนี้มีผลต่อปริมาณไขมันในสาหร่ายแต่ถ้าเทียบกันระหว่างวิตามิน กับ ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส ก็จะพบว่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัสนั้นมีผลต่อการเพิ่มปริมาณไขมันในเซลล์ของสาหร่ายมากกว่าวิตามิน

กรดไขมัน : สาหร่าย *B. braunii* ที่ได้รับความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกัน นำผลผลิตไขมันที่ได้ มาวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมัน พบว่ากรดไขมัน Capric Acid (C10:0) สูงที่สุดที่ความเข้มข้น $B_1T_{300}C_6$ พบ 23.40 %ในวันที่ 24 ของการทดลอง รองลงมาเป็น Palmitoleic Acid (C16:1) 22.83 %ซึ่งเหมาะแก่การผลิตไบโอดีเซล และมีกรดไขมัน C10 – C18:2 ที่มีค่าซีเทนสูงกว่ามาตรฐานของ ASTM D975 (ซึ่งกำหนดว่าค่าซีเทนไว้ว่าต้องไม่ต่ำกว่า 40) เป็น องค์ประกอบอยู่ถึง 82.25 % ในวันที่ 24 (ตารางที่ 4.6) ซึ่งจะสอดคล้องกับการทดลองของ Hakalin et al. (2014) ที่ได้ทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thiamine และ cyanocobalamin ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแล้วทำให้มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น 16% เมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่ม วิตามินเข้าไป

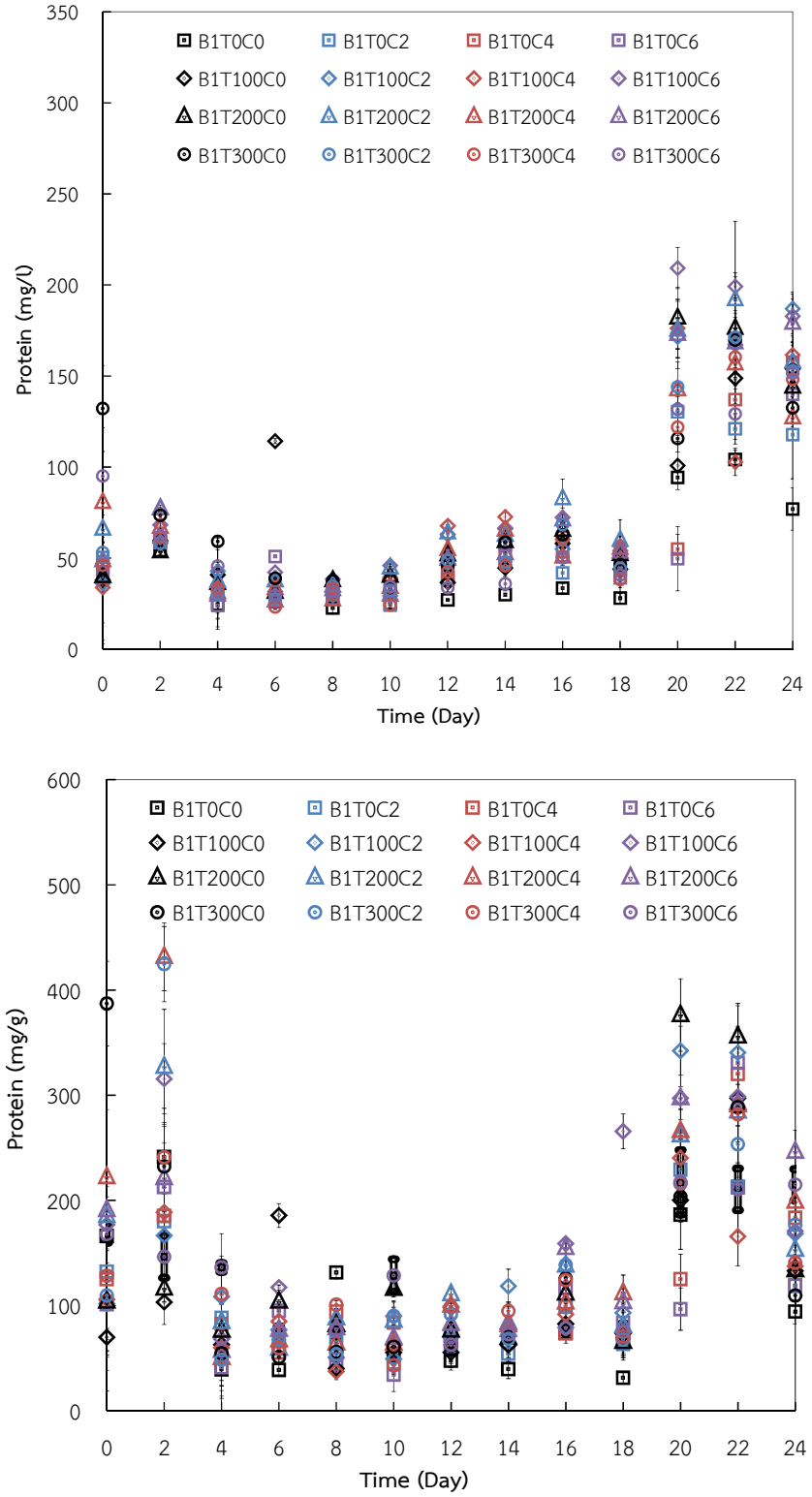
ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Endar et al. (2012) ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อ กรดไขมันของสาหร่าย *Skeletonema* sp. โดยจะทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thiamine และ cyanocobalamin ลงในสูตรอาหาร 2 สูตร ที่ความเข้มข้น 0.1:20:0.1 และ 0.01:0.2:0.01µg/l ผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดไขมันในสาหร่ายนั้นมีเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างปัจจัยที่มีวิตามินสูงสุดและต่ำสุด



ภาพที่ 4.4 ชีวมวลของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)



ภาพที่ 4.5 คาร์โบไฮเดรทของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)



ภาพที่ 4.6 โปรตีนของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

ตารางที่ 4.4 ไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	Hydrocarbon content (%)	Hydrocarbon yield (g/l)	Hydrocarbon productivity (mg/l/d)
	36.94±2.85	-	-
$B_1T_0C_0$	25.80±6.46	13.13±4.68	108.24±59.51
$B_1T_0C_2$	28.77±7.56	3.60±0.78	29.62±6.59
$B_1T_0C_4$	43.09±10.08	6.26±0.47	62.59±4.72
$B_1T_0C_6$	28.73±3.45	6.78±0.85	67.75±8.46
$B_1T_{100}C_0$	41.90±10.00	9.46±3.59	94.57±35.94
$B_1T_{100}C_2$	40.00±6.02	6.13±1.19	61.29±11.91
$B_1T_{100}C_4$	45.56±5.37	5.25±2.26	52.48±22.64
$B_1T_{100}C_6$	41.15±9.03	10.22±0.39	102.20±3.93
$B_1T_{200}C_0$	33.84±7.68	7.76±1.41	77.63±14.05
$B_1T_{200}C_2$	44.02±6.70	2.97±0.95	29.70±9.48
$B_1T_{200}C_4$	31.48±2.18	3.46±0.23	34.62±2.28
$B_1T_{200}C_6$	40.72±5.89	7.23±1.41	91.09±16.44
$B_1T_{300}C_0$	33.26±9.42	5.10±2.58	50.97±25.83
$B_1T_{300}C_2$	19.44±4.68	5.03±0.69	50.29±6.90
$B_1T_{300}C_4$	20.35±2.25	4.10±1.49	41.04±14.91
$B_1T_{300}C_6$	22.47±6.64	3.76±0.67	37.59±6.73

ตารางที่ 4.5 การเจริญเติบโตและไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	µ	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (mg/l/d)
	-	0.09±0.00	40.43±2.74	-	-
$B_1T_0C_0$	0.48±0.05^{g}	0.85±0.14^{a}	50.85±4.60^{abc}	25.00±4.82^{f}	250.09±48.28^{e}
$B_1T_0C_2$	0.10±0.01^{abc}	1.02±0.11^{a}	72.81±5.84^{cde}	7.91±1.48^{abc}	79.19±14.86^{abc}
$B_1T_0C_4$	0.17±0.00^{bcde}	0.92±0.09^{a}	71.70±11.49^{cde}	12.68±1.55^{bcde}	107.50±9.64^{abc}
$B_1T_0C_6$	0.23±0.00^{def}	1.19±0.23^{a}	74.61±6.67^{cde}	16.53±2.63^{cdef}	165.31±26.34^{cde}
$B_1T_{100}C_0$	0.12±0.02^{abcd}	1.12±0.04^{a}	93.94±1.25^{e}	10.52±2.15^{abcd}	105.27±21.55^{abc}
$B_1T_{100}C_2$	0.13±0.01^{abcd}	0.94±0.10^{a}	81.08±3.24^{de}	10.11±0.56^{abcd}	101.18±5.67^{abc}
$B_1T_{100}C_4$	0.08±0.02^{ab}	0.86±0.11^{a}	79.09±4.20^{cde}	5.54±1.55^{ab}	55.48±15.53^{ab}
$B_1T_{100}C_6$	0.29±0.05^{ef}	1.00±0.05^{a}	95.90±9.92^{e}	21.31±0.69^{ef}	213.14±6.99^{de}
$B_1T_{200}C_0$	0.17±0.02^{bcde}	1.09±0.03^{a}	81.79±3.04^{de}	18.40±3.02^{def}	136.04±20.16^{bcd}
$B_1T_{200}C_2$	0.03±0.00^{a}	1.10±0.13^{a}	57.97±4.46^{bcd}	2.20±0.61^{a}	22.00±6.15^{a}
$B_1T_{200}C_4$	0.11±0.00^{abcd}	0.78±0.04^{a}	53.16±5.49^{abcd}	5.79±0.07^{ab}	57.93±0.74^{ab}
$B_1T_{200}C_6$	0.22±0.01^{cdef}	1.02±0.05^{a}	57.35±2.45^{bcd}	9.52±1.54^{abcd}	116.78±16.71^{abcd}
$B_1T_{300}C_0$	0.13±0.02^{abcd}	1.15±0.09^{a}	38.32±6.30^{ab}	6.94±2.73^{abc}	106.87±29.30^{abc}
$B_1T_{300}C_2$	0.30±0.01^{f}	0.76±0.04^{a}	30.80±4.16^{ab}	10.93±0.73^{abcde}	109.33±7.38^{abc}
$B_1T_{300}C_4$	0.15±0.01^{abcd}	1.15±0.15^{a}	25.89±3.69^{a}	4.03±0.32^{ab}	40.33±3.26^{ab}
$B_1T_{300}C_6$	0.18±0.01^{bcdef}	0.76±0.10^{a}	40.88±4.18^{ab}	6.21±0.24^{abc}	62.11±2.43^{ab}

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.6 องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Fatty acid	B1T0C0	B1T0C2	B1T0C4	B1T0C6	B1T100C0	B1T100C2	B1T100C4	B1T100C6	B1T200C0	B1T200C2	B1T200C4	B1T200C6	B1T300C0	B1T300C2	B1T300C4	B1T300C6
C4:0	2.16	0.08	0.95	0.38	0.38	0.18	0.20	1.04	0.50	0.26	0.71	1.04	0.51	0.32	0.75	0.25
C6:0	1.72	0.32	0.87	0.93	1.84	2.81	2.13	2.45	0.47	0.34	7.17	2.45	3.04	2.92	0.92	1.32
C8:0	21.56	9.67	5.89	8.34	6.13	7.85	8.39	7.14	8.77	7.36	6.65	7.14	9.42	7.75	9.96	22.37
C10:0	4.49	3.95	4.10	4.26	4.48	7.64	8.97	5.13	4.60	4.13	12.62	5.13	6.24	7.51	9.50	23.40
C11:0	6.43	4.84	1.80	0.00	1.17	0.95	3.05	3.32	3.12	2.63	3.00	3.32	4.08	2.98	3.64	19.82
C12:0	6.90	4.55	8.06	8.09	6.07	8.43	7.82	7.29	6.74	8.57	7.69	7.29	3.60	6.43	4.98	6.86
C13:0	2.96	2.21	1.87	1.90	6.63	2.02	1.80	3.28	2.22	1.01	2.00	3.28	0.91	2.29	2.34	3.05
C14:0	1.65	1.61	1.59	1.76	1.93	2.11	1.15	0.61	1.87	0.46	1.62	0.61	0.92	1.96	1.49	2.28
C14:1	0.49	0.55	0.33	0.36	0.84	0.98	0.00	0.00	0.83	0.00	0.57	0.00	0.15	0.45	0.33	1.22
C15:0	0.18	0.81	0.67	0.71	0.94	1.08	0.81	1.24	1.05	0.81	0.81	1.24	0.50	0.88	0.93	1.87
C15:1	0.18	0.09	0.15	0.45	0.36	0.15	0.18	0.46	0.00	0.19	0.33	0.46	0.05	0.00	0.16	0.00
C16:0	14.21	18.60	0.07	18.77	16.90	16.28	16.06	17.90	18.32	18.01	14.09	17.90	15.21	17.70	15.66	4.71
C16:1	2.98	3.05	22.83	2.23	2.70	2.78	2.78	2.97	3.12	3.21	2.41	2.97	15.21	2.92	2.27	0.00
C17:0	2.76	2.48	2.81	3.16	3.26	2.45	2.94	3.44	2.45	3.07	2.25	3.44	2.30	2.69	2.95	1.13
C17:1	3.85	5.89	5.38	5.91	6.30	6.06	6.11	3.60	4.78	6.36	4.54	3.60	4.57	5.45	5.87	2.53
C18:0	1.56	0.46	0.38	4.69	1.38	0.45	0.36	1.30	0.25	0.31	1.35	1.30	3.18	0.29	0.27	1.24
C18:1n9t	2.04	4.60	9.27	3.80	3.44	4.20	3.99	1.91	3.12	4.13	1.93	1.91	0.00	5.35	3.55	0.00
C18:1n9c	2.41	0.00	0.00	4.68	8.61	0.00	0.00	2.65	0.00	0.00	7.77	2.65	0.00	0.00	0.00	0.00
C18:2n6t	4.48	9.72	11.35	5.07	0.21	8.33	8.32	6.82	10.43	10.00	0.76	6.82	8.31	9.30	7.90	2.24

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

Fatty acid	B1T0C0	B1T0C2	B1T0C4	B1T0C6	B1T100C0	B1T100C2	B1T100C4	B1T100C6	B1T200C0	B1T200C2	B1T200C4	B1T200C6	B1T300C0	B1T300C2	B1T300C4	B1T300C6
C18:2n6c	9.25	13.07	10.93	12.75	13.76	12.96	13.59	13.48	14.09	15.16	10.85	13.48	11.03	11.98	13.41	3.11
C18:3n3	0.45	7.72	6.59	0.09	0.15	0.10	6.88	0.00	7.82	7.97	5.69	0.00	6.19	6.50	7.48	1.60
C18:3n6	1.78	2.85	2.38	2.77	3.19	2.84	2.72	3.33	3.18	3.30	2.43	3.33	2.43	2.53	2.46	0.56
C20:0	5.12	0.00	0.00	7.03	7.73	7.50	0.00	8.77	0.00	0.00	0.31	8.77	0.00	0.55	0.00	0.00
C20:1	0.42	0.55	0.60	0.54	0.75	0.63	0.51	0.76	0.71	0.83	0.96	0.76	0.83	0.00	0.70	0.12
C20:2	0.00	0.22	0.13	0.21	0.11	0.15	0.17	0.00	0.05	0.00	0.29	0.00	0.07	0.05	0.10	0.00
C20:3n3	0.00	0.27	0.05	0.05	0.00	0.07	0.04	0.00	0.07	0.05	0.08	0.00	0.00	0.05	0.07	0.00
C20:3n6	0.00	0.10	0.03	0.04	0.05	0.04	0.08	0.00	0.08	0.05	0.05	0.00	0.14	0.07	0.27	0.00
C20:4n6	0.00	0.18	0.08	0.14	0.00	0.02	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.04	0.00
C:20:5n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C21:0	0.00	0.28	0.27	0.23	0.15	0.17	0.25	0.31	0.30	0.41	0.45	0.31	0.12	0.36	0.27	0.06
C22:0	0.00	0.11	0.24	0.14	0.25	0.17	0.11	0.43	0.14	0.11	0.09	0.43	0.13	0.17	0.30	0.06
C22:1n9	0.00	0.15	0.07	0.13	0.12	0.18	0.27	0.38	0.59	0.38	0.23	0.38	0.56	0.18	0.54	0.04
C22:2	0.00	0.05	0.03	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02	0.01	0.03	0.00
C22:6n3	0.00	0.56	0.00	0.05	0.05	0.12	0.07	0.00	0.10	0.09	0.11	0.00	0.09	0.02	0.12	0.01
C23:0	0.00	0.28	0.22	0.31	0.07	0.19	0.15	0.00	0.13	0.58	0.12	0.00	0.06	0.26	0.35	0.10
C24:0	0.00	0.12	0.04	0.06	0.04	0.12	0.08	0.00	0.06	0.23	0.09	0.00	0.14	0.06	0.41	0.05
C24:1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

Fatty acid	B1T0C0	B1T0C2	B1T0C4	B1T0C6	B1T100C0	B1T100C2	B1T100C4	B1T100C6	B1T200C0	B1T200C2	B1T200C4	B1T200C6	B1T300C0	B1T300C2	B1T300C4	B1T300C6
Saturated fatty acid	71.67	50.37	29.82	60.74	59.36	60.39	54.25	63.66	51.00	48.29	61.01	63.66	50.35	55.12	54.70	88.57
Unsaturated fatty acid	28.33	49.63	70.18	39.26	40.64	39.61	45.75	36.34	49.00	51.71	38.99	36.34	49.65	44.88	45.30	11.43
Monounsaturated fatty acid	12.37	14.88	38.62	18.10	23.12	14.97	13.83	12.71	13.16	15.10	18.74	12.71	21.37	14.35	13.42	3.90
Polyunsaturated fatty acid	15.96	34.74	31.57	21.16	17.52	24.64	31.91	23.63	35.84	36.61	20.25	23.63	28.28	30.53	31.88	7.53
Total fatty acid	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
C16-C18	45.76	68.45	71.98	63.92	59.90	56.44	63.74	57.39	67.57	71.52	54.06	57.39	68.42	64.71	61.82	17.12
C10:0-C18:2	66.80	76.50	81.57	78.58	78.97	76.86	77.92	75.39	77.02	78.04	74.59	75.39	76.25	78.19	75.23	73.47

การศึกษาผลของวิตามิน biotin, thiamine และ cyanocobalamin ต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 โดยมีความเข้มข้นของ biotin คงที่ที่ความเข้มข้น 2 µg/l และแปรผันกับความเข้มข้นของ thiamine ที่ 0, 100, 200, 300 µg/l และความเข้มข้นของ cyanocobalamin ที่ 0, 2, 4, 6 µg/l พบว่า สาหร่าย *B. braunii* ที่ความเข้มข้น 2:100:0 มีผลผลิตชีวมวล เท่ากับ 1.89±0.20 g/l ที่ความเข้มข้น 2:100:2 มีคาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 359.97±37.15 mg/l และที่ความเข้มข้น 2:100:6 มีโปรตีน เท่ากับ 318.01±69.61 mg/l ซึ่งความเข้มข้น (biotin:thiamine: cyanocobalamin) ส่วนใหญ่มีการเสริมวิตามินครบทั้ง 3 ชนิด แสดงให้เห็นว่า การเสริมวิตามินในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้ ทำให้การเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายเพิ่มขึ้น ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน พบว่า มีกรดไขมัน C10:0 - C18:2 เป็นองค์ประกอบอยู่ถึง 86.13 % (ค่าชีเทนสูงกว่ามาตรฐาน) และการมีอิทธิพลร่วมกันระหว่างวิตามิน thiamine และ cyanocobalamin ไม่มีผลร่วมกันในด้านการเจริญเติบโต ปริมาณการสะสมคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน แต่จะมีอิทธิพลร่วมกันในด้านการสะสมไขมัน

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน biotin (B) ที่คงที่ แปรผันกับ thiamine (T) และ cyanocobalamin (C) แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ biotin (B) ที่ความเข้มข้น 2 µg/l แปรผันกับ thiamine (T) ที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300 µg/l และ cyanocobalamin (C) ที่ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6 µg/l ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 วัน พบว่า สาหร่ายที่ได้รับ $B_2T_{100}C_0$ (ความเข้มข้น biotin ที่ 2 µg/l,ความเข้มข้น thiamine ที่ 100 µg/l, ความเข้มข้น cyanocobalamin ที่ 0 µg/l) มีผลผลิตชีวมวลสูงที่สุดคือ 1.89±0.20 g/l ในวันที่ 18 (ภาพที่ 4.7) โดยมีความแตกต่างทางสถิติกับความเข้มข้น $B_2T_0C_2$ และ $B_2T_{300}C_4$ ซึ่งวิตามินทั้ง 3 ชนิด ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อมีระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เพิ่มขึ้น และในการทดลองปัจจัยที่มี biotin:thiamine: cyanocobalalmin ที่ความเข้มข้น 2:200:6 µg/l มีผลผลิตชีวมวลน้อยที่สุดคือ 0.93±0.10 g/l ในวันที่ 24 และความเข้มข้นที่ไม่มี thiamine และ cyanocobalamin นั้นมีผลผลิตชีวมวลมากที่สุดอยู่ที่ 1.0467 g/l และเข้าสู่ระยะ Satationary phase ที่ 24 วัน ของการเพาะเลี้ยง

ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Carlucci and Silbernagel (1969) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ผลจากการศึกษาพบว่า สาหร่ายขนาดเล็ก *C. nana*, *M. lutheri* และ *A. carterae* มีการเจริญเติบโตในด้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์นั้นแตกต่างกัน วิตามินที่ช่วยทำให้เพิ่มจำนวนของเซลล์มากที่สุดคือ bitotin รองลง คือ วิตามิน cyanocobalamin และ thiamine ตามลำดับ โดยวิตามิน biotin จะช่วยในเรื่องการเจริญเติบโตของเซลล์นั้นได้ดีที่สุด และช่วงระยะเวลาที่เจริญเติบโตสูงที่สุด (specific growth) จะอยู่ในระยะเวลาประมาณ 3 - 6 วัน และ หลังจากนั้นการเจริญเติบโตก็จะลดลง

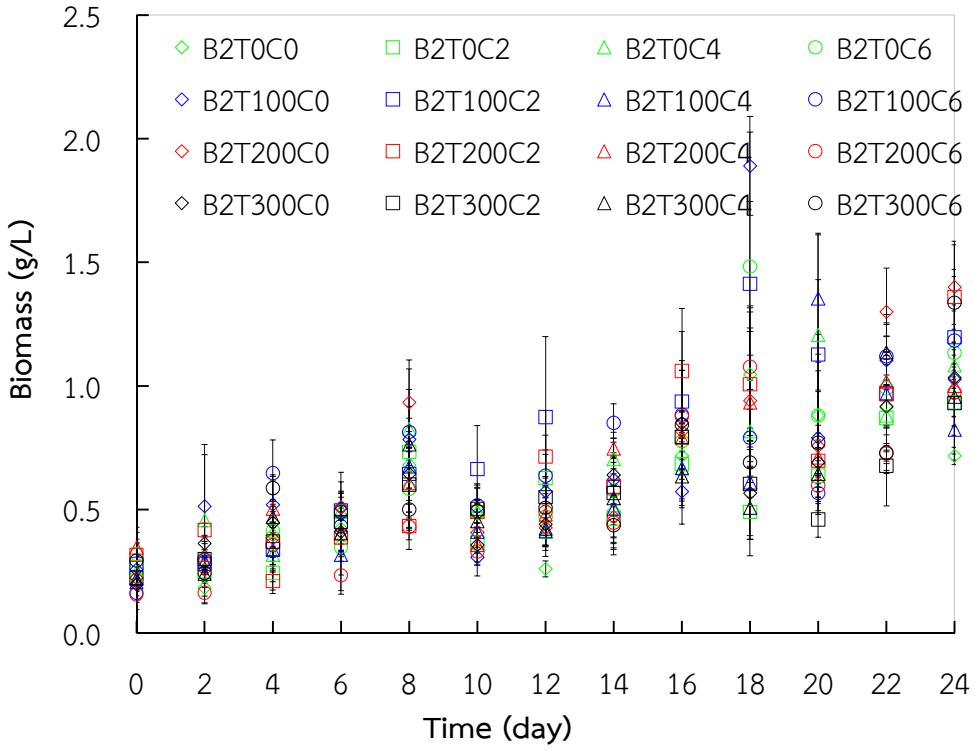
คาร์โบไฮเดรต : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 วัน พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_2T_{200}C_2$ มีคาร์โบไฮเดรตในที่สูงที่สุดคือ 359.97±37.15 mg/l (ภาพที่ 4.8) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_2T_0C_0$ ส่วนสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน $B_2T_{100}C_6$ มีการสะสมคาร์โบไฮเดรตสูงสุดอยู่ที่ 382.73±25.07 mg/g และ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุดที่ 38.27±2.51 % โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_2T_0C_0$, $B_2T_0C_2$, $B_2T_0C_4$, $B_2T_0C_6$, $B_2T_{100}C_0$, $B_2T_{100}C_2$, $B_2T_{100}C_4$, $B_2T_{200}C_0$, $B_2T_{200}C_2$, $B_2T_{200}C_4$, $B_2T_{200}C_6$, $B_2T_{300}C_0$, $B_2T_{300}C_2$, $B_2T_{300}C_4$, และ $B_2T_{300}C_6$ ซึ่งวิตามินทั้ง 3 ชนิด ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการสะสมคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย โดยปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้นในสาหร่ายที่ไม่ได้ใส่ thiamine และ cyanocobalamin มีคาร์โบไฮเดรตมากที่สุดอยู่ที่ 142.03 mg/l

และเข้าสู่ระยะ stationary phase ที่ 24 วัน ของการเพาะเลี้ยง

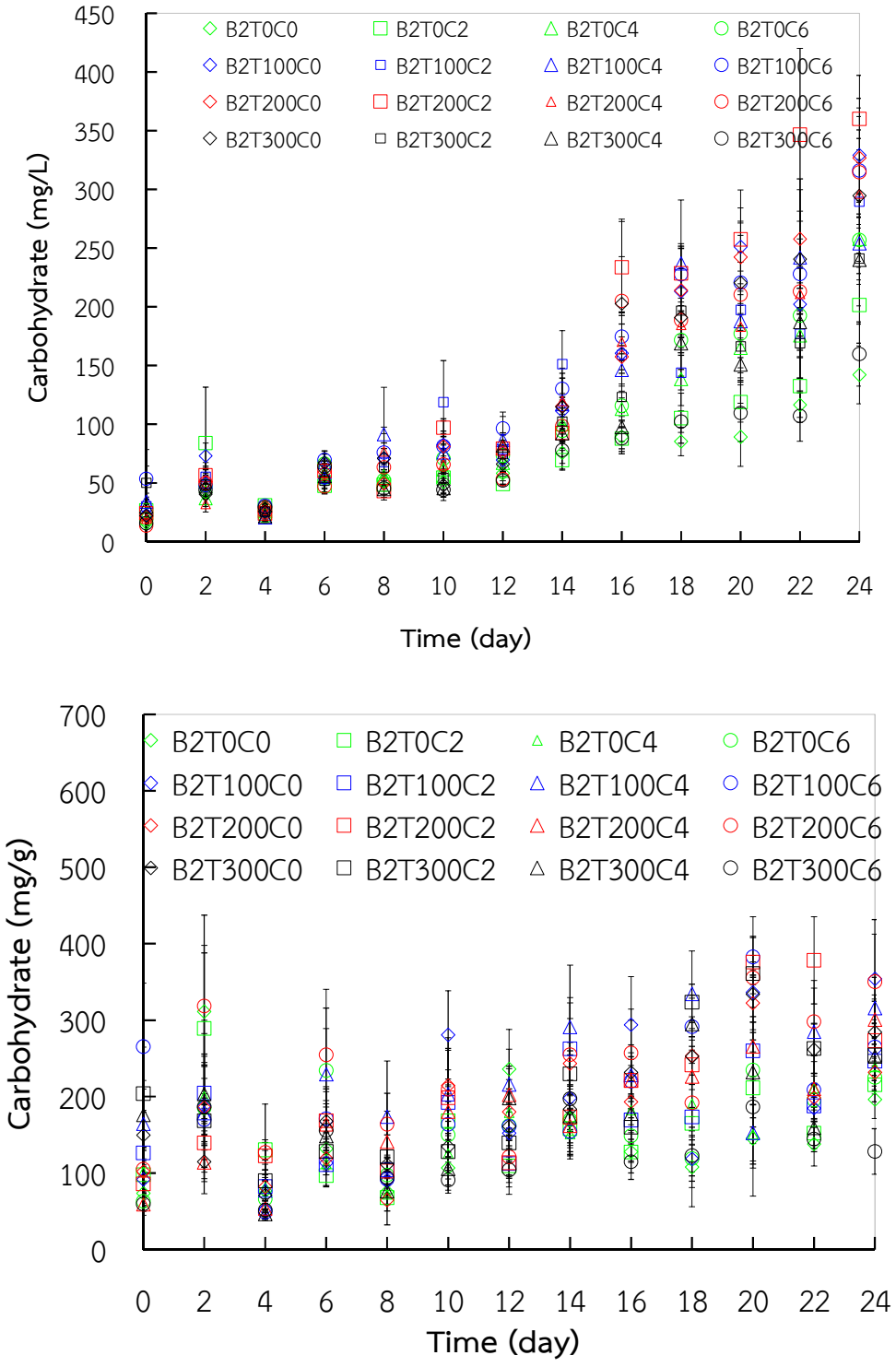
ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Desouky (2011) ที่ได้มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไปในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* แล้วผลที่ได้นั้นพบว่าสาหร่ายที่มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไป มีคาร์โบไฮเดตรสูงขึ้น 85% เมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไป

โปรตีน : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 วัน พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_2T_{100}C_6$ มีโปรตีนในที่สูงที่สุดคือ 318.01±69.61 mg/l (ภาพที่ 4.9) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_2T_0C_0$, $B_2T_0C_2$ และ $B_2T_{300}C_6$ ส่วนสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน $B_2T_{300}C_2$ มีการสะสมโปรตีนที่สูงที่สุดคือ 382.11±17.72 mg/g และมีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือ 38.21±1.77 % โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_2T_0C_0$, $B_2T_0C_2$, $B_2T_0C_4$, $B_2T_0C_6$, $B_2T_{100}C_0$, $B_2T_{100}C_2$, $B_2T_{100}C_4$, $B_2T_{100}C_6$, $B_2T_{200}C_0$, $B_2T_{200}C_2$, $B_2T_{200}C_4$, $B_2T_{200}C_6$, $B_2T_{300}C_0$, $B_2T_{300}C_4$ และ $B_2T_{300}C_6$ ซึ่งวิตามินทั้ง 3 ชนิดไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการสะสมโปรตีนของสาหร่าย โดยปริมาณโปรตีนของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น และเข้าสู่ระยะ stationary phase ที่ 22 วันของการเพาะเลี้ยง

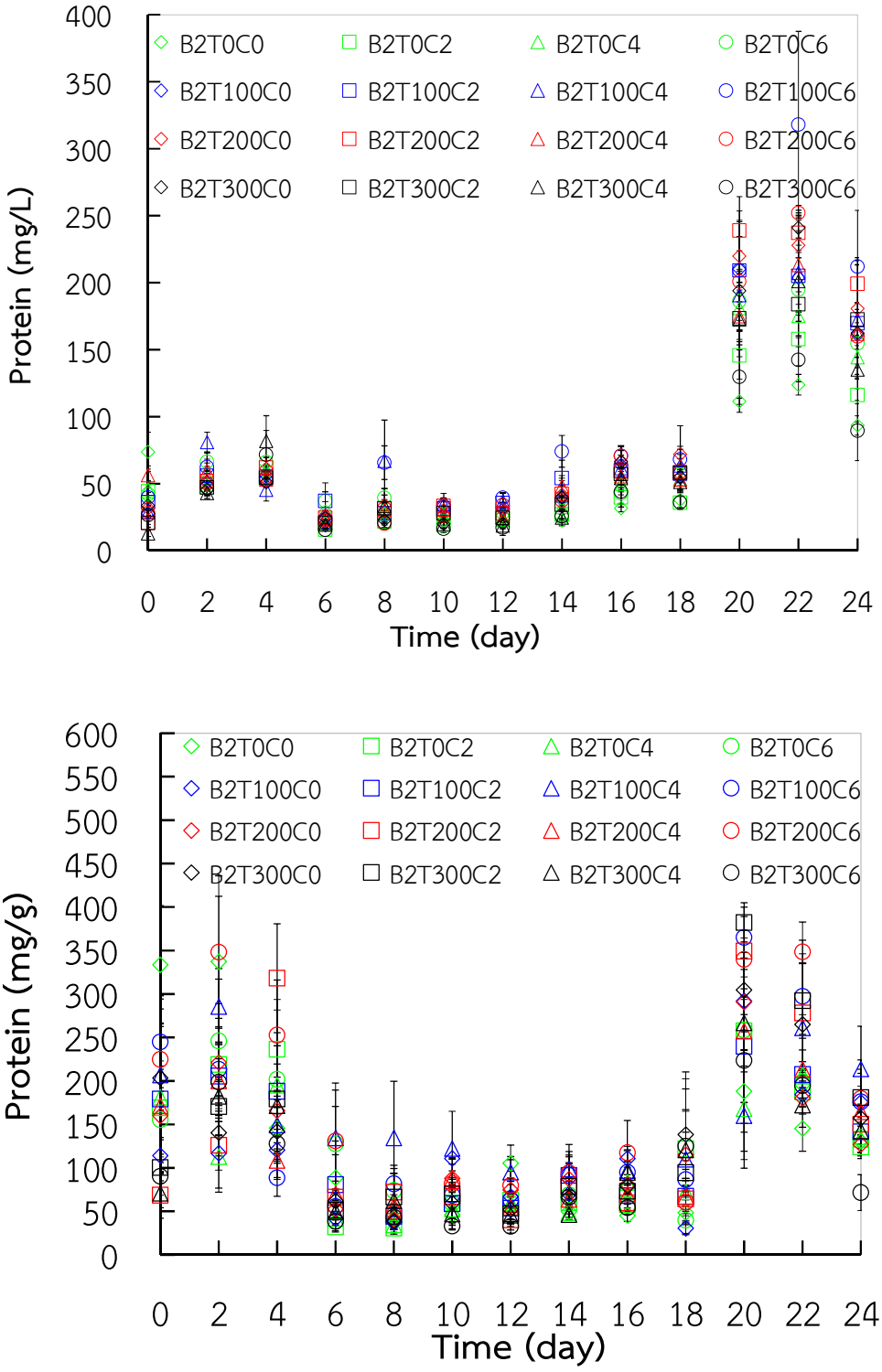
ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Desouky (2011) ที่ได้มีการเพิ่มวิตามิน บี2 และ บี6 ที่ความเข้มข้น 200 ppm ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp ทำให้มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเป็น 400.00% เมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่มวิตามินลงไป



ภาพที่ 4.7 ชีวมวลของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)



ภาพที่ 4.8 คาร์โบไฮเดรทของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)



ภาพที่ 4.9 โปรตีนของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

ตารางที่ 4.7 ไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	Hydrocarbon content (%)	Hydrocarbon yield (g/l)	Hydrocarbon productivity (mg/l/d)
	36.94±2.85	-	-
$B_2T_0C_0$	24.05±4.05	8.05±1.25	77.55±11.90
$B_2T_0C_2$	16.67±2.62	6.81±1.96	63.03±23.19
$B_2T_0C_4$	26.80±1.86	9.33±2.34	93.27±23.38
$B_2T_0C_6$	27.81±4.45	4.27±0.63	42.75±6.35
$B_2T_{100}C_0$	29.72±0.81	12.13±4.19	121.34±41.94
$B_2T_{100}C_2$	26.78±0.36	8.09±1.71	80.94±17.15
$B_2T_{100}C_4$	36.41±1.27	8.78±2.24	87.79±22.40
$B_2T_{100}C_6$	39.72±6.30	9.72±2.85	97.24±28.52
$B_2T_{200}C_0$	26.85±2.29	7.03±0.42	70.29±4.21
$B_2T_{200}C_2$	44.42±1.28	10.88±0.79	108.78±7.87
$B_2T_{200}C_4$	49.29±5.55	8.27±3.49	82.73±34.88
$B_2T_{200}C_6$	56.58±5.10	12.46±2.27	198.88±51.97
$B_2T_{300}C_0$	60.90±9.21	7.23±2.72	72.25±27.23
$B_2T_{300}C_2$	46.78±5.02	6.24±1.31	62.36±13.10
$B_2T_{300}C_4$	26.87±5.98	5.85±0.77	58.17±7.93
$B_2T_{300}C_6$	20.60±6.28	3.51±0.48	35.15±4.78

ไขมัน : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 วัน ทำการวิเคราะห์ไขมันวันแรกและวันสิ้นสุดการทดลอง พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_2T_{100}C_4$ มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 95.09±0.35 % โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_2T_0C_0$, $B_2T_0C_2$, $B_2T_0C_4$, $B_2T_0C_6$, $B_2T_{200}C_6$, $B_2T_{300}C_0$, $B_2T_{300}C_2$, $B_2T_{300}C_4$ และ $B_2T_{300}C_6$ สาหร่ายที่ได้รับ $B_2T_{100}C_0$ ผลผลิตไขมันสูงสุด 39.10±3.36 g/l โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_2T_0C_0$, $B_2T_0C_2$, $B_2T_0C_4$, $B_2T_0C_6$, $B_2T_{100}C_2$, $B_2T_{100}C_4$, $B_2T_{200}C_0$, $B_2T_{200}C_2$, $B_2T_{200}C_4$, $B_2T_{200}C_6$, $B_2T_{300}C_0$, $B_2T_{300}C_2$, $B_2T_{300}C_4$ และ $B_2T_{300}C_6$ สาหร่ายที่ได้รับ $B_2T_{100}C_4$ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.26±0.04 /d โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_2T_{100}C_0$ สาหร่ายที่ได้รับ $B_2T_{100}C_0$ กำลังการผลิตไขมันสูงสุด เท่ากับ 391.01±33.64 mg/l/d ลิตร โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_2T_0C_0$, $B_2T_0C_2$, $B_2T_0C_4$, $B_2T_0C_6$, $B_2T_{100}C_2$, $B_2T_{100}C_4$, $B_2T_{100}C_6$, $B_2T_{200}C_0$, $B_2T_{200}C_2$, $B_2T_{200}C_4$, $B_2T_{200}C_6$, $B_2T_{300}C_0$, $B_2T_{300}C_2$, $B_2T_{300}C_4$ และ $B_2T_{300}C_6$ (ตารางที่ 4.7-4.8) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสาหร่ายที่ความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งวิตามินทั้ง 3 ชนิดมีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณไขมันของสาหร่าย โดยปริมาณไขมันของสาหร่ายมีการผันแปรตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

เพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มวิตามินเข้าไปจะทำให้สาหร่ายมีปริมาณไขมันที่เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hakalin et al. (2014) ที่ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณไขมัน และการผลิตไขมันของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. โดยจะทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thiamine และ cyanocobalamin ที่ความเข้มข้น 0 - 0.63 mg/l เข้าไปในการเพาะเลี้ยงที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสรวมอยู่ด้วย ผลที่ออกมานั้น พบว่าปัจจัยที่มีความเข้มข้นของวิตามินสูงสุดและต่ำสุดมีปริมาณไขมันต่างกัน 16 % ซึ่งแสดงให้เห็นว่า วิตามินทั้ง 3 ตัว นี้มีผลต่อปริมาณไขมันในสาหร่ายแต่ถ้าเทียบกันระหว่างวิตามินทั้ง 3 ชนิด กับไนโตรเจนและฟอสฟอรัสก็จะพบว่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัสนั้นมีผลต่อการเพิ่มปริมาณไขมัน ในเซลล์ของสาหร่ายมากกว่าวิตามิน

กรดไขมัน : สาหร่าย *B. braunii* ที่ได้รับความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกัน นำผลผลิตไขมันที่ได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมัน พบว่า กรดไขมัน Palmitic Acid (C16:0) สูงที่สุดที่ความเข้มข้น $B_2T_{300}C_2$ พบ 31.37 % ในวันที่ 24 ของการทดลอง รองลงมาเป็น Linoleic acid 18.39 % และมีกรดไขมัน C10 – C18:2 ที่มีค่าซีเทนสูงกว่ามาตรฐานของ ASTM D975 (ซึ่งกำหนดค่าซีเทนไว้ว่าต้องไม่ต่ำกว่า 40) เป็นองค์ประกอบอยู่ถึง 86.13 % ในวันที่ 24 (ตารางที่ 4.9) ซึ่งจะสอดคล้องกับการทดลองของ Hakalin et al. (2014) ที่ได้ทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thaimine และ cyanocobalamin ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแล้วทำให้มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น 16% เมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่มวิตามินเข้าไป

ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Endar et al. (2012) ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อกรดไขมันของสาหร่าย *Skeletonama* sp. โดยจะทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thiamine และ cyanocobalamin ลงในสูตรอาหาร 2 สูตร ที่ความเข้มข้น 0.1:20:0.1 และ 0.01:0.2:0.01 ไมโคร- g/l ผลการทดลองพบว่า ปริมาณกรดไขมันในสาหร่ายนั้นมีเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างปัจจัยที่มีวิตามินสูงสุดและต่ำสุด

ตารางที่ 4.8 การเจริญเติบโตและไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	µ	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (mg/l/d)
	-	0.09±0.00	40.43±2.74	-	-
$B_2T_0C_0$	0.30±0.01^{bc}	0.70±0.02^{a}	48.82±0.95^{bc}	13.79±0.28^{abcde}	137.85±2.84^{abcde}
$B_2T_0C_2$	0.25±0.02^{abc}	0.99±0.04^{abc}	55.56±2.71^{bc}	12.72±1.24^{abcd}	127.21±12.40^{abcd}
$B_2T_0C_4$	0.31±0.06^{c}	1.05±0.08^{bc}	56.09±1.99^{bc}	18.11±2.56^{cde}	181.07±25.59^{cde}
$B_2T_0C_6$	0.14±0.03^{abc}	1.16±0.02^{bcd}	74.15±0.71^{de}	13.78±1.32^{abcde}	137.83±13.20^{abcde}
$B_2T_{100}C_0$	0.50±0.07^{d}	0.83±0.12^{ab}	83.73±0.94^{ef}	39.10±3.36^{f}	391.01±33.64^{f}
$B_2T_{100}C_2$	0.22±0.02^{abc}	1.04±0.11^{bc}	83.97±0.72^{ef}	18.32±2.21^{cde}	183.16±22.10^{cde}
$B_2T_{100}C_4$	0.26±0.04^{abc}	0.90±0.06^{ab}	95.09±0.35^{f}	24.60±4.42^{e}	246.01±44.21^{e}
$B_2T_{100}C_6$	0.23±0.01^{abc}	1.12±0.08^{bcd}	89.72±2.33^{ef}	18.48±1.56^{cde}	184.82±15.58^{cde}
$B_2T_{200}C_0$	0.28±0.01^{abc}	1.29±0.06^{cd}	82.64±0.60^{ef}	23.02±1.01^{de}	230.24±10.12^{de}
$B_2T_{200}C_2$	0.23±0.01^{abc}	1.43±0.04^{d}	85.29±0.62^{ef}	20.39±1.16^{de}	203.89±11.58^{de}
$B_2T_{200}C_4$	0.12±0.03^{a}	0.92±0.04^{ab}	84.95±3.97^{ef}	15.86±2.66^{bcde}	158.61±26.57^{bcde}
$B_2T_{200}C_6$	0.24±0.04^{abc}	1.08±0.08^{bc}	62.20±1.83^{cd}	15.08±2.13^{abcde}	150.79±21.25^{abcde}
$B_2T_{300}C_0$	0.21±0.02^{abc}	1.00±0.01^{abc}	61.97±9.62^{cd}	8.11±2.73^{abc}	81.05±27.34^{abc}
$B_2T_{300}C_2$	0.16±0.03^{abc}	0.99±0.05^{abc}	44.30±3.09^{ab}	6.90±1.47^{ab}	69.03±14.70^{ab}
$B_2T_{300}C_4$	0.21±0.03^{abc}	0.91±0.03^{ab}	40.48±1.79^{ab}	8.99±1.07^{abc}	89.88±10.70^{abc}
$B_2T_{300}C_6$	0.12±0.02^{ab}	0.94±0.03^{ab}	32.32±1.88^{a}	4.51±0.28^{a}	45.07±2.77^{a}

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.9 องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Fatty acid	$B_2T_0C_0$	$B_2T_0C_2$	$B_2T_0C_4$	$B_2T_0C_6$	$B_2T_{10_0}C_0$	$B_2T_{10_0}C_2$	$B_2T_{100}C_4$	$B_2T_{100}C_6$	$B_2T_{20_0}C_0$	$B_2T_{200}C_2$	$B_2T_{200}C_4$	$B_2T_{200}C_6$	$B_2T_{300}C_0$	$B_2T_{300}C_2$	$B_2T_{300}C_4$	$B_2T_{300}C_6$
C4:0	0.53	0.72	0.37	0.60	0.38	0.47	0.71	0.42	0.47	0.00	1.26	0.28	0.97	0.00	0.78	0.15
C6:0	2.01	1.81	1.54	1.25	0.95	1.19	2.27	1.55	1.55	1.45	3.60	2.37	4.63	0.56	2.65	3.21
C8:0	4.49	3.69	4.45	2.59	2.20	1.79	5.92	3.27	3.34	4.53	7.64	5.44	11.22	2.95	5.44	10.82
C10:0	0.00	0.96	0.00	0.64	0.63	0.58	0.00	0.89	1.16	0.00	2.50	2.06	2.74	1.24	1.77	4.83
C11:0	1.09	1.76	1.33	1.33	1.30	1.04	1.03	1.10	1.14	1.15	2.29	1.41	2.12	1.36	1.25	2.49
C12:0	7.44	7.63	7.05	4.21	3.40	5.38	7.73	4.89	4.03	6.35	3.81	5.68	5.42	3.93	6.27	3.77
C13:0	0.74	0.00	0.84	0.29	0.00	0.67	0.00	0.00	0.28	0.00	0.00	0.33	0.00	0.28	0.00	0.00
C14:0	0.81	1.64	1.27	1.22	0.94	1.81	1.36	2.21	1.54	1.19	1.22	1.37	1.20	0.96	1.57	1.45
C14:1	0.00	0.65	0.67	0.86	0.54	0.40	0.55	0.72	0.69	0.63	0.00	1.19	0.60	0.52	1.00	0.50
C15:0	0.00	0.28	0.20	0.15	0.07	0.54	0.00	0.33	0.21	0.27	0.25	0.18	0.00	0.17	0.00	0.47
C15:1	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.24	0.00	0.14	0.00	0.41
C16:0	27.38	26.26	26.05	23.15	23.19	26.69	30.28	30.05	24.11	27.66	25.89	26.87	26.30	31.37	28.02	25.84
C16:1	1.71	1.77	2.41	4.11	3.63	4.20	1.67	3.24	3.51	1.82	1.62	1.91	2.09	2.41	2.43	0.85
C17:0	8.24	10.60	11.53	12.28	9.81	10.13	5.95	6.15	10.78	7.60	8.05	9.27	5.48	9.63	7.87	8.07
C17:1	0.00	0.00	0.36	0.49	0.44	0.44	0.00	0.00	0.52	0.42	0.33	0.34	0.00	0.36	0.00	0.00
C18:0	3.88	3.96	3.58	5.59	5.00	2.59	6.15	13.75	6.17	4.82	4.91	3.39	4.60	3.47	4.40	5.18
C18:1n9t	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C18:1n9c	11.13	10.75	10.82	10.24	6.69	5.90	11.57	11.31	9.97	10.80	11.11	10.90	9.91	12.24	10.68	7.57
C18:2n6t	0.00	0.00	0.58	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 4.9 (ต่อ)

Fatty acid	$B_2T_0C_0$	$B_2T_0C_2$	$B_2T_0C_4$	$B_2T_0C_6$	$B_2T_{10}{}_0C_0$	$B_2T_{10}{}_0C_2$	$B_2T_{100}C_4$	$B_2T_{100}C_6$	$B_2T_{20}{}_0C_0$	$B_2T_{200}C_2$	$B_2T_{200}C_4$	$B_2T_{200}C_6$	$B_2T_{300}C_0$	$B_2T_{300}C_2$	$B_2T_{300}C_4$	$B_2T_{300}C_6$
C18:2n6c	17.90	18.14	16.14	18.39	17.67	17.95	15.17	11.50	17.49	17.88	14.74	15.01	13.70	17.27	16.63	12.92
C18:3n3	0.00	0.00	0.00	0.00	8.87	10.03	0.40	0.00	8.51	0.49	0.42	0.94	0.00	0.00	0.00	1.37
C18:3n6	3.39	2.41	3.02	3.35	3.71	3.16	2.55	2.24	3.33	3.31	2.63	2.75	2.33	2.80	2.35	1.86
C20:0	8.68	6.34	7.37	8.26	8.87	0.00	6.66	4.82	0.00	9.60	7.19	7.23	6.69	6.86	5.93	7.73
C20:1	0.36	0.37	0.40	0.59	0.60	0.88	0.00	0.72	0.64	0.00	0.00	0.00	0.00	0.36	0.26	0.00
C20:2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.19	0.00	0.12	0.10	0.00	0.00	0.13	0.00	0.31	0.00	0.00
C20:3n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:3n6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.13	0.00	0.09	0.08	0.00	0.00	0.07	0.00	0.18	0.00	0.00
C20:4n6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C:20:5n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C21:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.00
C22:1n9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:2	0.21	0.09	0.00	0.11	0.11	0.18	0.00	0.19	0.14	0.00	0.10	0.17	0.00	0.24	0.27	0.00
C22:6n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.44	0.00
C23:0	0.00	0.00	0.00	0.07	0.14	0.04	0.00	0.09	0.10	0.00	0.22	0.33	0.00	0.29	0.00	0.53
C24:0	0.00	0.18	0.00	0.12	0.11	0.19	0.00	0.24	0.17	0.00	0.22	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00
C24:1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 4.9 (ต่อ)

Fatty acid	$B_2T_0C_0$	$B_2T_0C_2$	$B_2T_0C_4$	$B_2T_0C_6$	$B_2T_{10}{}_0C_0$	$B_2T_{10}{}_0C_2$	$B_2T_{100}C_4$	$B_2T_{100}C_6$	$B_2T_{20}{}_0C_0$	$B_2T_{200}C_2$	$B_2T_{200}C_4$	$B_2T_{200}C_6$	$B_2T_{300}C_0$	$B_2T_{300}C_2$	$B_2T_{300}C_4$	$B_2T_{300}C_6$
Saturated fatty acid	65.30	65.82	65.60	61.72	57.12	53.33	68.07	69.75	55.04	64.64	69.06	66.35	71.37	63.17	65.94	74.54
Unsaturated fatty acid	34.70	34.18	34.40	38.28	42.88	46.67	31.93	30.25	44.96	35.36	30.94	33.65	28.63	36.83	34.06	25.46
Monounsaturated fatty acid	13.20	13.54	14.66	16.43	11.91	15.02	13.80	16.12	15.32	13.68	13.06	14.57	12.60	16.02	14.37	9.32
Polyunsaturated fatty acid	21.50	20.64	19.74	21.84	30.96	31.64	18.13	14.14	29.64	21.68	17.89	19.07	16.04	20.80	19.68	16.14
Total fatty acid	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
C16-C18	73.64	73.88	74.50	77.58	79.02	84.23	73.75	78.24	84.39	74.81	69.69	71.38	64.41	79.55	72.37	63.65
C10:0-C18:2	80.33	84.39	82.85	83.08	73.32	81.46	81.48	86.13	81.59	80.61	76.71	80.15	74.16	85.34	81.89	74.33

การศึกษาผลของวิตามิน thiamine ที่แปรผันกับ cyanocobalamin (โดยมี biotin ที่ความเข้มข้นคงที่) ต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 โดยกำหนดความเข้มข้น biotin ที่ความเข้มข้น 3 µg/l และผันแปร thiamine ที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300 µg/l กับ cyanocobalamin ที่ความ เข้มข้น 0, 2, 4, 6 µg/l พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ biotin:thiamine:cyanocobalamin ที่ความเข้มข้น 3:100:4 µg/l มีชีวมวลสูงที่สุดคือ 1.58±0.48 g/l ส่วนที่ ความเข้มข้น 3:200:6 µg/l มีคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนสูงที่สุดคือ 264.45±53.10 และ 166.79±24.90 mg/l ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 3:300:0 µg/l มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 74.19±1.29 % และ ที่ความเข้มข้น 3:100:4 ไมโครกรัมต่อ ลิตร มีผลผลิตไขมันสูงสุด 176.21±3.59 mg/l องค์ประกอบกรดไขมันพบว่าสาหร่าย จากทุกชุดการทดลองมีกรดไขมัน (C16 – C18) อยู่ในช่วง 46.26 - 79.41 % ซึ่งเหมาะ แก่การผลิตไบโอดีเซล และ มีกรดไขมัน (C10 – C18:2) มีองค์ประกอบอยู่ถึง 66.62 – 86.29 % และ การมีอิทธิพลร่วมกันระหว่างวิตามิน thiamine และ cyanocobalamin นั้นไม่มีผล ร่วมกันในด้านการเจริญเติบโต, การสะสมคาร์โบไฮเดรต และ การสะสมโปรตีนแต่จะมีอิทธิพล ร่วมกันในด้านการสะสมไขมัน

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามิน biotin (b) ที่คงที่ แปรผันกับ thiamine (t) และ cyanocobalamin (c) แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ biotin (b) ที่ความ เข้มข้น 3 µg/l แปรผันกับ thiamine (t) ที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300 µg/l และ cyanocobalamin (c) ที่ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6 µg/l ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 วัน พบว่า สาหร่ายที่ได้รับ B3T100C4 (ความเข้มข้น biotin ที่ 3 ไมโคร g/l, thiamine ที่ 100 µg/l และ cyanocobalamin ที่ 4 µg/l) มีผลผลิตชีวมวลสูงที่สุดคือ 1.58±0.48 g/l ในวันที่ 16 (ภาพที่ 4.10) โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับความเข้มข้น B3T0C0, B3T0C2, B3T0C4, B3T0C6, B3T100C0, B3T100C2, B3T100C6, B3T200C0, B3T200C2, B3T200C4, B3T200C6, B3T300C0, B3T300C2, B3T300C4 และ B3T300C6 ซึ่งวิตามินทั้ง 3 ชนิด ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการ เจริญเติบโตของสาหร่าย) โดยการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อมีระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เพิ่มขึ้น และ ในการทดลองปัจจัยที่มี biotin:thiamine:cyanocobalalmin ที่ความเข้มข้น 3:300:6 ไมโครกรัม ต่อลิตร มีผลผลิตชีวมวลน้อยที่สุดคือ 0.2533±0.00 g/l ในวันที่ 14 และความ เข้มข้นที่ไม่มี thiamine และ cyanocobalamin นั้นมีผลผลิตชีวมวลมากที่สุดอยู่ที่ 0.8967 กรัม ต่อลิตร และ เข้าสู่ระยะ Satationary phase ที่ 22 วัน ของการเพาะเลี้ยง

ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับ การทดลองของ Carlucci and Silbernagel (1969) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ผลจากการศึกษาพบว่า สาหร่ายขนาดเล็กมีการเจริญเติบโตในด้านการ เพิ่มจำนวนของเซลล์ นั้นแตกต่างกัน วิตามินที่ช่วยทำให้เพิ่มจำนวนของเซลล์มากที่สุดคือ bitotin รองลง คือ วิตามิน cyanocobalamin และ thiamine ตามลำดับ โดยวิตามิน biotin จะช่วยใน เรื่องการเจริญเติบโตของเซลล์นั้นได้ดีที่สุด และ ช่วงระยะเวลาที่เจริญเติบโตสูงที่สุด (specific growth) จะอยู่ในระยะเวลาประมาณ 3 - 6 วัน และ หลังจากนั้นการเจริญเติบโตก็จะลดลง

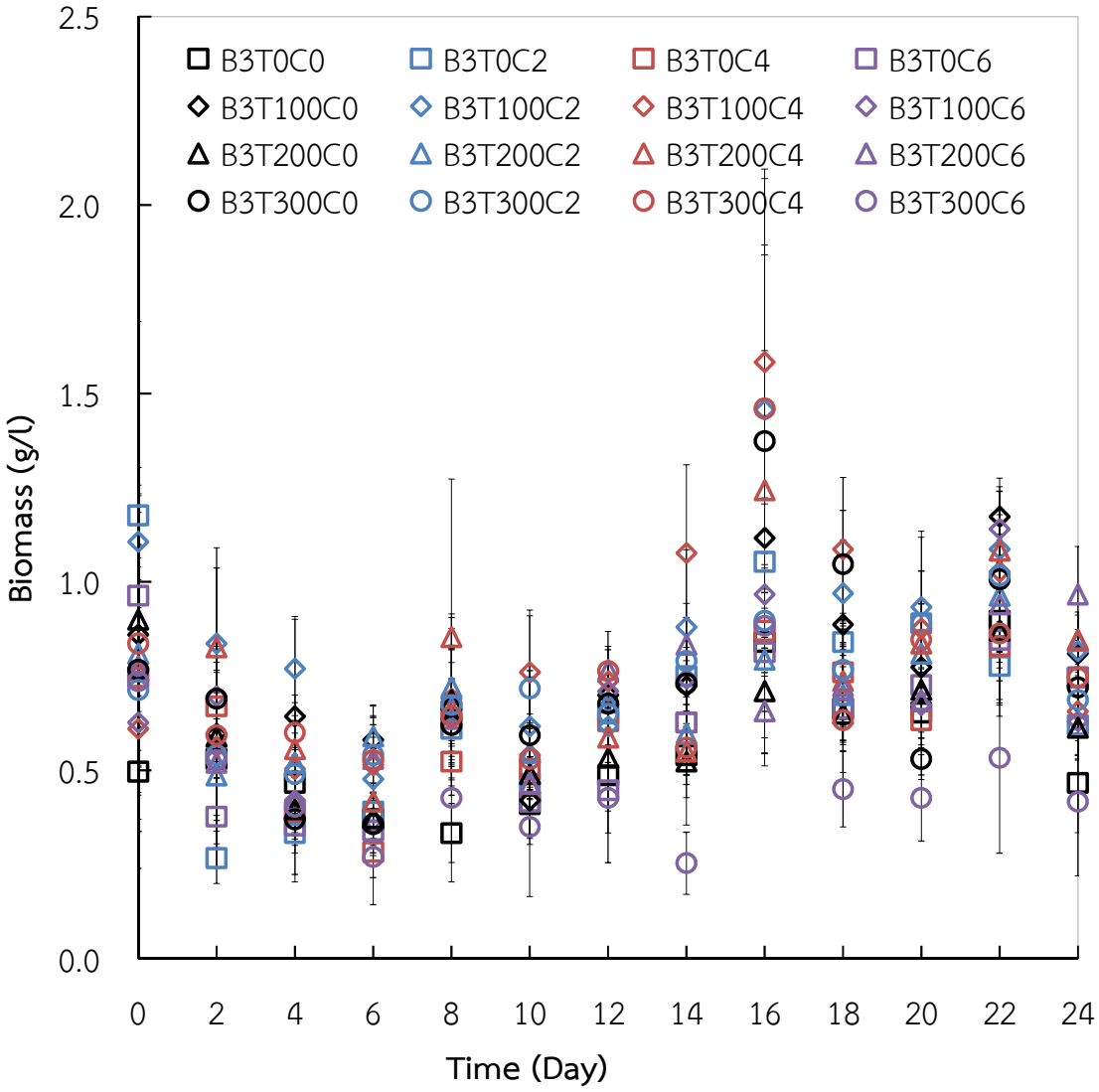
คาร์โบไฮเดรต : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 24 วัน พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_3T_{200}C_6$ มีคาร์โบไฮเดรตในที่สูงที่สุดคือ 264.45±53.10 mg/l (ภาพที่ 4.11) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติกับความเข้มข้น $B_3T_0C_0$, $B_3T_0C_2$, $B_3T_0C_4$, $B_3T_0C_6$, $B_3T_{100}C_0$, $B_3T_{100}C_2$, $B_3T_{100}C_4$, $B_3T_{100}C_6$, $B_3T_{200}C_0$, $B_3T_{200}C_2$, $B_3T_{200}C_4$, $B_3T_{300}C_2$, $B_3T_{300}C_4$ และ $B_3T_{300}C_6$ ส่วนสาหร่ายที่ได้รับวิตามิน $B_3T_{300}C_6$ มีการสะสมคาร์โบไฮเดรตสูงสุดอยู่ที่

443.38±30.65 mg/g และ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุดที่ 44.33±3.06 % โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_3T_0C_0$, $B_3T_0C_2$, $B_3T_0C_4$, $B_3T_0C_6$, $B_3T_{100}C_0$, $B_3T_{100}C_2$, $B_3T_{100}C_4$, $B_3T_{100}C_6$, $B_3T_{200}C_0$, $B_3T_{200}C_2$, $B_3T_{200}C_4$, $B_3T_{200}C_6$, $B_3T_{300}C_0$, $B_3T_{300}C_2$ และ $B_3T_{300}C_4$ ซึ่งวิตามินทั้ง 3 ชนิดไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อ การสะสมคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย โดยปริมาณคาร์โบไฮเดรตของ สาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่ม ขึ้นในสาหร่ายที่ไม่ได้ใส่ thiamine และ cyanocobalamin มีคาร์โบไฮเดรตมากที่สุดอยู่ที่ 109.90 g/l และเข้าสู่ระยะ stationary phase ที่ 24 วัน ของการเพาะเลี้ยง

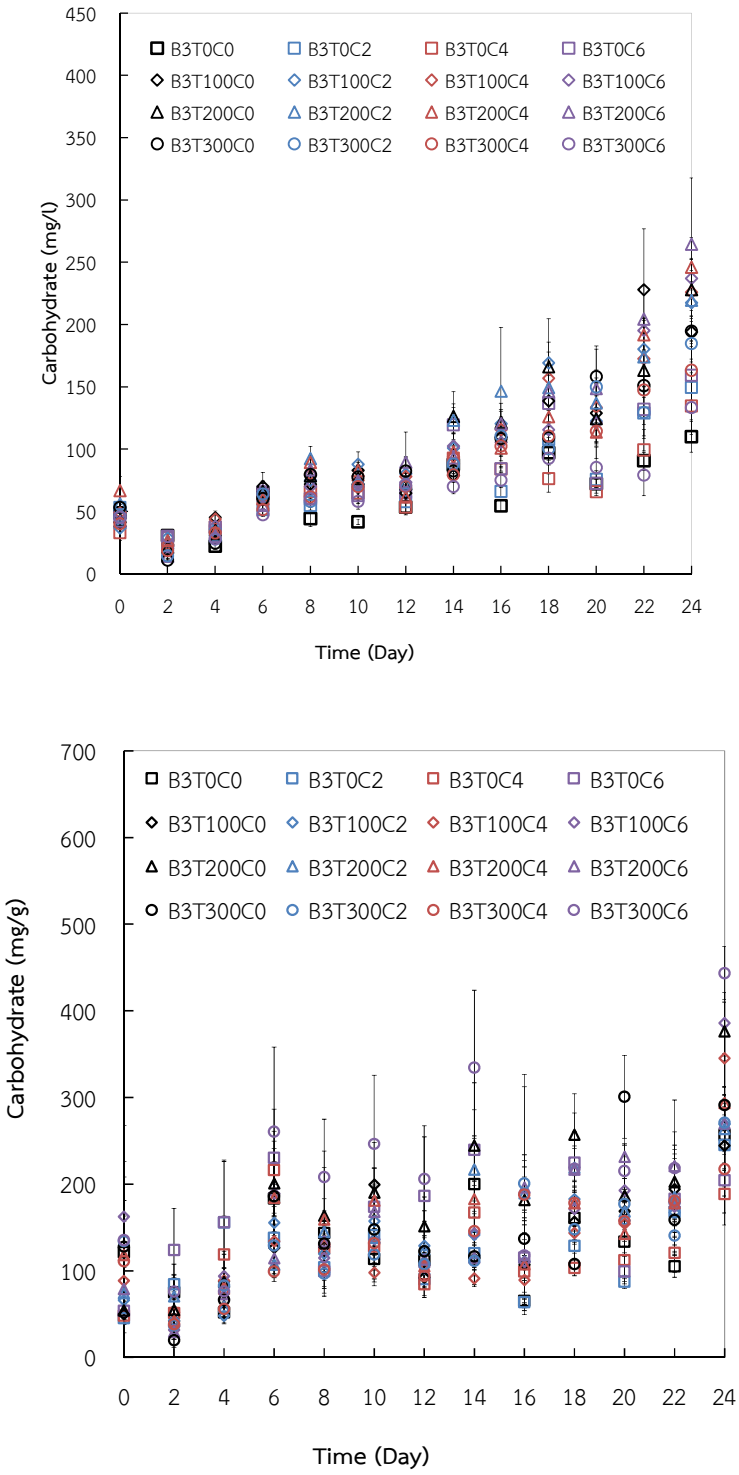
ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Desouky (2011) ที่ได้มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไปในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย แล้วผลที่ได้นั้นพบว่าสาหร่ายที่มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไป มีคาร์โบไฮเดตรสูงขึ้น 85% เมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่มวิตามิน thiamine ลงไป

โปรตีน : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกันเป็นเวลา 24 วัน พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_3T_{200}C_6$ มีโปรตีนในที่สูงที่สุดคือ 166.79±24.90 mg/l (ภาพที่ 4.12) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับความเข้มข้น $B_3T_0C_0$, $B_3T_0C_2$, $B_3T_0C_4$, $B_3T_0C_6$, $B_3T_{100}C_0$, $B_3T_{100}C_2$, $B_3T_{100}C_4$, $B_3T_{100}C_6$, $B_3T_{200}C_0$, $B_3T_{200}C_2$, $B_3T_{200}C_4$, $B_3T_{300}C_0$, $B_3T_{300}C_2$, $B_3T_{300}C_4$ และ $B_3T_{300}C_6$ ส่วนสาหร่ายที่ได้ รับวิตามิน $B_3T_{300}C_0$ มีการสะสมโปรตีนที่สูงที่สุดคือ 263.90±25.23 mg/g และ มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือ 26.39±2.52 % โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้น $B_3T_0C_0$, $B_3T_0C_2$, $B_3T_0C_4$, $B_3T_0C_6$, $B_3T_{100}C_0$, $B_3T_{100}C_2$, $B_3T_{100}C_4$, $B_3T_{100}C_6$, $B_3T_{200}C_0$, $B_3T_{200}C_2$, $B_3T_{200}C_4$, $B_3T_{200}C_6$, $B_3T_{300}C_2$, $B_3T_{300}C_4$ และ $B_3T_{300}C_6$ ซึ่งวิตามินทั้ง 3 ชนิดไม่มีอิทธิพลร่วมกัน ต่อการสะสมโปรตีนของสาหร่าย โดยปริมาณโปรตีนของสาหร่ายมีแนว โน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น และ เข้าสู่ระยะ stationary phase ที่ 24 วันของการ เพาะเลี้ยง

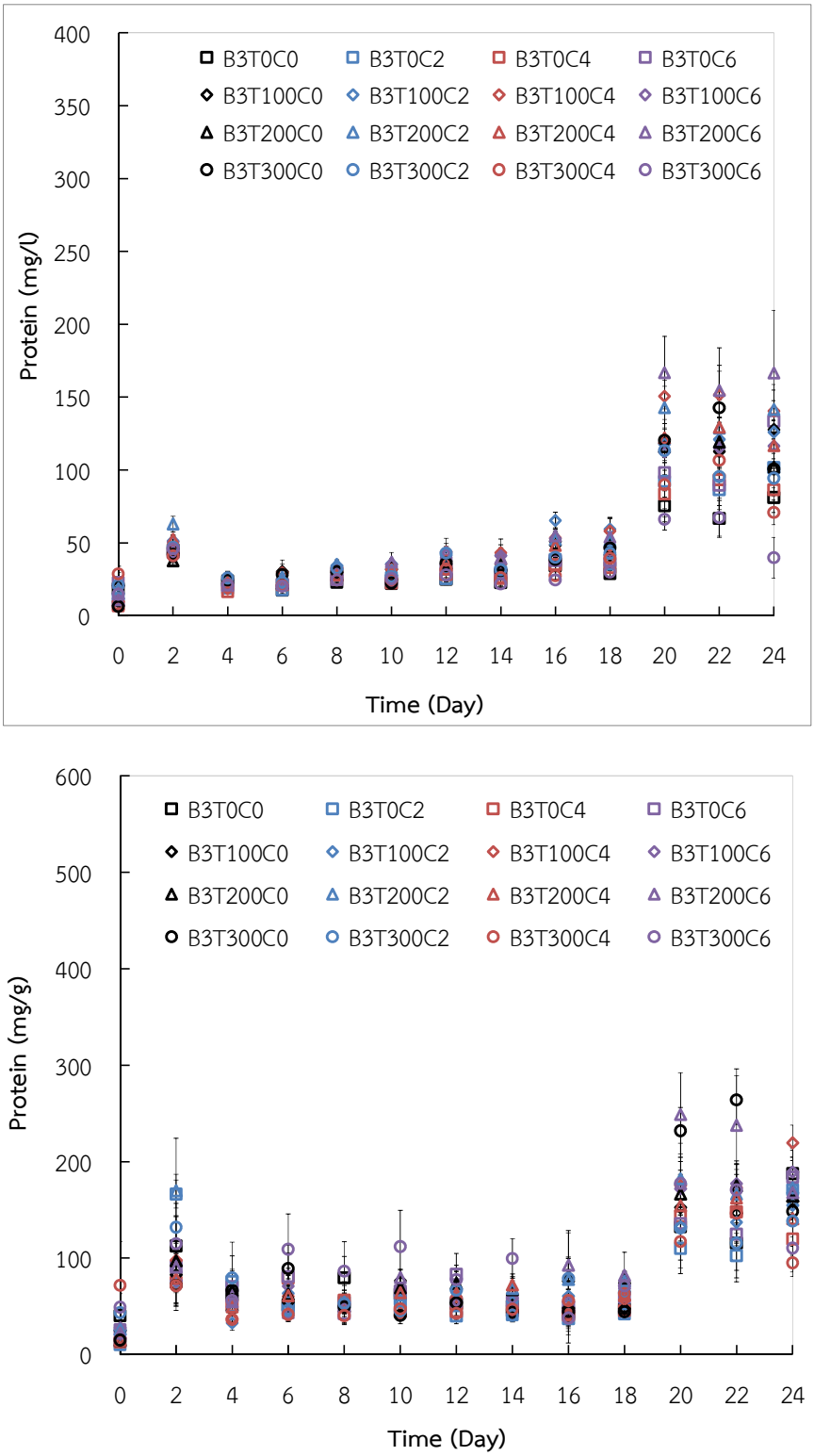
ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Desouky (2011) ที่ได้มีการเพิ่มวิตามิน บี2 และ บี6 ที่ความเข้มข้น 200ppm ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp ทำให้มีปริมาณโปรตีนเพิ่ม มากขึ้นเมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่มวิตามินลงไป



ภาพที่ 4.10 ชีวมวลของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)



ภาพที่ 4.11 คาร์โบไฮเดรทของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)



ภาพที่ 4.12 โปรตีนของ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0,100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

ไขมัน : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 24 วัน ทำการวิเคราะห์ไขมันวันแรกและวันสิ้นสุดการทดลอง พบว่าสาหร่ายที่ได้รับ $B_3T_{300}C_0$ มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 74.19±1.29 % ส่วนที่ความเข้มข้น $B_3T_{300}C_0$ ผลผลิตไขมันสูงสุด 17.62±3.59 g/l อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.18±0.01 /d กำลังการผลิตไขมันสูงสุด เท่ากับ 176.21±35.97 mg/l/d (ตารางที่ 4.10-4.11) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสาหร่ายที่ความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งวิตามินทั้ง 3 ชนิด มีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณไขมันของ สาหร่าย โดยปริมาณไขมัน ของสาหร่ายมีการผันแปรตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มวิตามินเข้าไปจะทำให้สาหร่าย มีปริมาณไขมันที่เพิ่มขึ้นตามไปด้วย

ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hakalin et al. (2014) ที่ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อปริมาณไขมัน และ การผลิตไขมันของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. โดยจะทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thiamine และ cyanocobalamin ที่ความเข้มข้น 0-0.63 mg/l เข้าไปในการเพาะเลี้ยงที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสรวมอยู่ด้วย ผลที่ออกมานั้นพบว่า ปัจจัยที่มี ความเข้มข้นของวิตามินสูงสุดและต่ำสุดมีปริมาณไขมันต่างกัน 16 % ซึ่งแสดงให้เห็นว่า วิตามินทั้ง 3 ตัว นี้มีผลต่อปริมาณไขมันในสาหร่ายแต่ถ้าเทียบกันระหว่างวิตามินทั้ง 3 ชนิด กับ ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส ก็จะพบว่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัสนั้นมีผลต่อการเพิ่มปริมาณไขมัน ในเซลล์ของสาหร่ายมากกว่าวิตามิน

ตารางที่ 4.10 ไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µ g/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µ g/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	Hydrocarbon content (%)	Hydrocarbon yield (g/l)	Hydrocarbon productivity (mg/l/d)
	36.94±2.85	-	-
$B_3T_0C_0$	54.07±6.04	9.09±2.35	98.06±16.58
$B_3T_0C_2$	40.24±2.51	5.29±0.11	50.86±2.30
$B_3T_0C_4$	36.98±2.35	3.91±0.27	39.14±2.71
$B_3T_0C_6$	41.30±0.97	5.99±0.73	59.91±7.27
$B_3T_{100}C_0$	41.75±2.33	5.76±1.56	57.61±15.62
$B_3T_{100}C_2$	41.82±2.30	9.11±0.83	91.05±8.30
$B_3T_{100}C_4$	40.49±2.68	10.22±2.73	102.24±27.32
$B_3T_{100}C_6$	38.82±2.64	4.35±0.49	43.49±4.91
$B_3T_{200}C_0$	40.23±1.57	5.41±1.09	54.09±10.95
$B_3T_{200}C_2$	41.03±1.77	7.91±2.84	79.12±28.38
$B_3T_{200}C_4$	19.94±2.22	2.87±1.15	28.74±11.52
$B_3T_{200}C_6$	38.14±4.85	4.50±1.18	50.48±11.53
$B_3T_{300}C_0$	37.10±6.49	9.38±2.90	93.77±28.96
$B_3T_{300}C_2$	37.34±6.44	9.95±2.67	99.51±26.67
$B_3T_{300}C_4$	28.39±0.95	8.47±2.00	92.28±18.12
$B_3T_{300}C_6$	43.14±8.35	7.93±1.77	79.31±17.68

ตารางที่ 4.11 การเจริญเติบโตและไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	µ	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Lipid productivity (mg/l/d)
	-	0.09±0.00	40.43±2.74	-	-
$B_3T_0C_0$	0.13±0.01^{ab}	0.51±0.11^{a}	54.07±4.54^{ab}	11.28±1.99^{abc}	80.16±18.63^{abc}
$B_3T_0C_2$	0.14±0.00^{ab}	0.56±0.03^{ab}	51.47±0.96^{a}	7.15±0.20^{ab}	71.56±2.06^{ab}
$B_3T_0C_4$	0.11±0.00^{a}	0.70±0.07^{ab}	58.15±1.64^{ab}	6.00±0.41^{a}	60.05±4.15^{a}
$B_3T_0C_6$	0.14±0.01^{ab}	0.69±0.04^{ab}	56.65±6.34^{ab}	10.75±0.96^{abc}	87.16±13.87^{abc}
$B_3T_{100}C_0$	0.20±0.01^{ab}	0.78±0.01^{ab}	51.02±1.58^{a}	8.32±0.82^{ab}	83.23±8.26^{abc}
$B_3T_{100}C_2$	0.17±0.01^{ab}	0.77±0.01^{ab}	61.14±2.65^{ab}	11.35±1.84^{abc}	113.51±18.41^{abcd}
$B_3T_{100}C_4$	0.17±0.02^{ab}	0.58±0.04^{ab}	50.79±4.32^{a}	17.62±3.59^{c}	176.21±35.97^{d}
$B_3T_{100}C_6$	0.15±0.00^{ab}	0.68±0.04^{ab}	66.45±2.98^{ab}	7.73±1.45^{ab}	77.35±14.55^{abc}
$B_3T_{200}C_0$	0.13±0.01^{ab}	0.55±0.02^{ab}	47.05±1.99^{a}	6.97±1.32^{ab}	50.06±12.11^{a}
$B_3T_{200}C_2$	0.14±0.03^{ab}	0.89±0.02^{b}	59.41±2.20^{ab}	14.00±2.67^{abc}	94.40±24.24^{abc}
$B_3T_{200}C_4$	0.15±0.01^{ab}	0.80±0.02^{ab}	50.96±3.83^{a}	8.04±2.72^{ab}	49.52±6.20^{a}
$B_3T_{200}C_6$	0.16±0.02^{ab}	0.88±0.05^{b}	55.43±6.42^{ab}	7.89±1.19^{ab}	78.99±11.99^{abc}
$B_3T_{300}C_0$	0.18±0.01^{ab}	0.72±0.14^{ab}	74.19±1.29^{b}	12.64±0.20^{abc}	126.46±2.07^{abcd}
$B_3T_{300}C_2$	0.22±0.02^{ab}	0.72±0.02^{ab}	64.16±1.88^{ab}	15.66±1.77^{bc}	156.62±17.78^{cd}
$B_3T_{300}C_4$	0.25±0.02^{b}	0.77±0.03^{ab}	52.11±0.95^{a}	14.59±1.11^{abc}	145.93±11.13^{bcd}
$B_3T_{300}C_6$	0.23±0.01^{b}	0.51±0.13^{a}	61.20±8.71^{ab}	13.02±0.62^{abc}	130.26±6.28^{abcd}

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$)

กรดไขมัน : สาหร่าย *B. braunii* ที่ได้รับความเข้มข้นของวิตามินที่แตกต่างกัน นำผลผลิตไขมันที่ได้ มาวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมัน พบว่ากรดไขมัน Palmitic Acid (C16:1) สูงที่สุดที่ความ เข้มข้น $B_3T_{300}C_6$ พบ 25.82 % ในวันที่ 24 ของการทดลอง รองลงมาเป็น Linoleic Acid (C18:2n6c) 18.48 % ซึ่งเหมาะแก่การผลิตไบโอดีเซล และมีกรดไขมัน C10 – C18:2 ที่มีค่าซีเทนสูงกว่ามาตรฐานของ ASTM D975 (ซึ่งกำหนดว่าค่าซีเทนไว้ว่าต้องไม่ต่ำกว่า 40) เป็น องค์ประกอบอยู่ถึง 86.29 % ในวันที่ 24 (ตารางที่ 4.12) ซึ่งจะสอดคล้องกับการทดลองของ Hakalin et al. (2014) ที่ได้ทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thaimine และ cyanocobalamin ในการ เพาะเลี้ยงสาหร่ายแล้วทำให้มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น 16% เมื่อเทียบกับปัจจัยที่ไม่ได้มีการเพิ่ม วิตามินเข้าไป

ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Endar et al. (2012) ได้ทำการศึกษาผลของวิตามินต่อ กรดไขมันของสาหร่าย *Skeletonama* sp. โดยจะทำการเพิ่มวิตามิน biotin, thiamine และ cyanocobalamin ลงในสูตรอาหาร 2 สูตร ที่ความเข้มข้น 0.1:20:0.1 และ 0.01:0.2:0.01 µg/l ผลการทดลองพบว่า ปริมาณกรดไขมันในสาหร่ายนั้นมีเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบ เทียบกันระหว่างปัจจัยที่มีวิตามินสูงสุดและต่ำสุด

ตารางที่ 4.12 องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินที่แตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Fatty acid	B3T0C0	B3T0C2	B3T0C4	B3T0C6	B3T100C0	B3T100C2	B3T100C4	B3T100C6	B3T200C0	B3T200C2	B3T200C4	B3T200C6	B3T300C0	B3T300C2	B3T300C4	B3T300C6
C4:0	0.40	0.47	0.12	0.13	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.16	0.00	0.12	0.00
C6:0	3.02	1.10	0.91	0.32	0.41	0.00	0.00	0.42	0.45	0.55	0.33	0.42	0.40	0.57	2.51	1.30
C8:0	10.60	13.84	2.43	1.31	1.65	0.87	0.65	1.32	2.30	1.70	1.58	1.32	1.10	1.73	6.27	5.40
C10:0	3.37	15.67	1.68	0.98	2.57	2.83	1.94	5.23	7.50	7.08	3.95	5.23	4.61	2.62	9.32	5.68
C11:0	1.87	6.85	0.53	0.68	0.53	0.50	1.38	2.77	5.55	2.04	2.20	2.77	0.70	0.86	5.61	1.82
C12:0	8.83	6.25	3.54	5.45	2.90	15.72	8.26	4.22	4.58	4.96	3.58	4.22	2.49	2.32	4.46	6.84
C13:0	1.44	2.83	5.85	7.92	7.84	0.00	3.62	7.65	6.09	8.58	6.72	7.65	7.46	3.06	0.72	0.86
C14:0	0.87	0.30	0.51	1.02	0.88	0.29	0.31	0.24	0.33	0.40	0.29	0.24	0.91	0.44	0.51	1.21
C14:1	0.57	0.47	0.85	0.70	0.70	0.48	0.73	0.40	0.45	0.59	0.49	0.40	0.68	0.25	0.35	0.56
C15:0	0.95	0.44	1.27	1.16	1.15	0.90	1.17	0.71	0.54	0.75	0.84	0.71	1.16	0.80	0.64	1.03
C15:1	0.39	0.13	0.51	0.19	0.14	0.07	0.24	0.23	0.20	0.16	0.25	0.23	0.15	1.44	0.35	0.28
C16:0	22.79	15.81	21.45	18.77	19.38	17.86	18.80	17.44	19.11	16.65	20.50	17.44	19.43	15.42	20.51	25.82
C16:1	3.51	1.86	3.82	3.71	3.38	3.23	3.45	3.16	2.96	2.91	3.24	3.16	3.54	4.52	3.46	3.90
C17:0	3.84	2.38	5.04	3.85	4.00	4.57	5.44	4.55	4.60	4.58	4.63	4.55	3.80	2.79	3.91	4.29
C17:1	3.01	4.18	5.96	7.00	7.90	7.19	7.53	6.99	5.69	6.66	5.76	6.99	7.74	3.43	4.72	5.63
C18:0	1.59	0.70	0.86	0.43	0.48	1.13	1.19	1.09	1.20	1.12	1.30	1.09	0.90	4.89	1.34	1.87
C18:1n9t	1.26	0.91	2.12	3.49	4.39	4.34	4.41	4.25	3.16	4.14	3.22	4.25	2.93	1.59	2.02	3.14
C18:1n9c	2.30	6.89	11.25	5.19	10.00	9.55	9.77	9.45	2.43	2.54	3.21	9.45	0.00	7.15	2.57	2.63
C18:2n6t	7.93	0.00	0.00	4.73	0.00	0.00	0.00	0.00	6.58	6.59	7.66	0.00	10.89	4.67	6.67	5.92

ตารางที่ 4.12 (ต่อ)

Fatty acid	B3T0C0	B3T0C2	B3T0C4	B3T0C6	B3T100C0	B3T100C2	B3T100C4	B3T100C6	B3T200C0	B3T200C2	B3T200C4	B3T200C6	B3T300C0	B3T300C2	B3T300C4	B3T300C6
C18:2n6c	12.09	11.69	18.01	18.48	17.28	17.63	17.84	17.03	15.01	15.92	17.05	17.03	17.67	10.35	13.63	12.58
C18:3n3	0.45	0.18	0.26	8.97	8.67	0.00	0.00	0.00	0.18	0.07	0.00	0.00	0.19	0.19	0.21	0.00
C18:3n6	2.00	1.65	3.52	3.98	3.94	3.50	3.55	3.62	3.08	3.44	3.50	3.62	3.41	1.89	2.31	2.38
C20:0	4.53	4.02	7.84	0.00	0.00	8.70	8.96	8.43	6.58	7.58	8.14	8.43	7.77	8.36	5.72	5.73
C20:1	0.31	0.18	0.53	0.58	0.61	0.51	0.53	0.56	0.43	0.50	0.54	0.56	0.49	0.55	0.33	0.37
C20:2	0.30	0.14	0.20	0.10	0.09	0.00	0.00	0.00	0.21	0.07	0.22	0.00	0.12	4.32	0.53	0.32
C20:3n3	0.07	0.09	0.00	0.03	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	3.55	0.27	0.00
C20:3n6	0.20	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00
C20:4n6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
C:20:5n3	0.00	0.21	0.00	0.09	0.06	0.00	0.15	0.09	0.00	0.00	0.00	0.09	0.07	3.45	0.00	0.00
C21:0	0.05	0.07	0.00	0.04	0.10	0.00	0.00	0.00	0.03	0.06	0.09	0.00	0.30	0.20	0.20	0.00
C22:0	0.12	0.01	0.00	0.03	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.25	0.00	0.25	0.00	0.10	0.00
C22:1n9	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
C22:2	0.24	0.21	0.32	0.32	0.24	0.12	0.10	0.17	0.45	0.10	0.14	0.17	0.27	0.00	0.22	0.15
C22:6n3	0.00	0.04	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.01	0.00	0.00
C23:0	0.37	0.13	0.09	0.05	0.04	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.07	0.00	0.04	0.00	0.09	0.16
C24:0	0.43	0.22	0.51	0.19	0.35	0.00	0.00	0.00	0.19	0.23	0.24	0.00	0.24	7.56	0.33	0.00
C24:1	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.13

ตารางที่ 4.12 (ต่อ)

Fatty acid	B3T0C0	B3T0C2	B3T0C4	B3T0C6	B3T100C0	B3T100C2	B3T100C4	B3T100C6	B3T200C0	B3T200C2	B3T200C4	B3T200C6	B3T300C0	B3T300C2	B3T300C4	B3T300C6
Saturated fatty acid	65.09	71.09	52.65	42.34	42.54	53.37	51.71	54.06	59.12	56.32	54.72	54.06	51.71	51.64	62.35	62.02
Unsaturated fatty acid	34.91	28.91	47.35	57.66	57.46	46.63	48.29	45.94	40.88	43.68	45.28	45.94	48.29	48.36	37.65	37.98
Monounsaturated fatty acid	11.64	14.63	25.04	20.91	27.13	25.38	26.66	25.03	15.31	17.50	16.71	25.03	15.55	18.93	13.80	16.64
Polyunsaturated fatty acid	23.27	14.28	22.31	36.75	30.33	21.25	21.64	20.91	25.57	26.18	28.56	20.91	32.74	29.43	23.85	21.34
Total fatty acid	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
C16-C18	60.75	46.26	72.30	78.59	79.41	69.00	71.98	67.57	63.99	64.63	70.06	67.57	70.50	56.89	61.35	68.15
C10:0-C18:2	76.61	77.36	83.27	83.74	83.51	86.29	86.07	85.41	85.98	85.66	84.89	85.41	85.07	66.62	80.79	84.06

4.2 อิทธิพลร่วมกันของวิตามินต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางเคมีของ *B. braunii*

การศึกษาอิทธิพลร่วมกันของ biotin, thiamine กับ cobalamin ต่อสาหร่าย *B. braunii* พบว่า วิตามินทั้งสามชนิดมีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญเติบโต ปริมาณคาร์โบไฮเดรท (mg/g, %) โปรตีน (mg/g, %) ไขมัน (%, g/l, mg/l/d) (ตารางที่ 4.13-4.22)

ตารางที่ 4.13 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:drwieght

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	8.632[a]	63	.137	2.846	.000
Intercept	164.280	1	164.280	3.412E3	.000
biotin	3.637	3	1.212	25.184	.000
thiamine	.582	3	.194	4.028	.009
cobalamin	.223	3	.074	1.547	.206
biotin * thiamine * cobalamin	4.190	54	.078	1.612	.015
Error	6.162	128	.048		
Total	179.074	192			
Corrected Total	14.794	191			

a. R Squared = .583 (Adjusted R Squared = .378)

ตารางที่ 4.14 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อคาร์โบไฮเดรต (mg/l) ของสาหร่าย *B. braunii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:carbomg.L

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	719195.239[a]	63	11415.797	3.568	.000
Intercept	1.002E7	1	1.002E7	3.132E3	.000
biotin	193144.814	3	64381.605	20.123	.000
thiamine	284362.398	3	94787.466	29.626	.000
cobalamin	1698.259	3	566.086	.177	.912
biotin * thiamine * cobalamin	239989.768	54	4444.255	1.389	.068
Error	409527.239	128	3199.432		
Total	1.115E7	192			
Corrected Total	1128722.477	191			

a. R Squared = .637 (Adjusted R Squared = .459)

ตารางที่ 4.15 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการสะสมคาร์โบไฮเดรต (mg/g) ของสาหร่าย *B. braunii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:carbomg.g

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	724243.237[a]	63	11495.924	2.510	.000
Intercept	1.274E7	1	1.274E7	2.781E3	.000
biotin	78473.873	3	26157.958	5.711	.001
thiamine	166733.062	3	55577.687	12.133	.000
cobalamin	27292.493	3	9097.498	1.986	.119
biotin * thiamine * cobalamin	451743.809	54	8365.626	1.826	.003
Error	586310.635	128	4580.552		
Total	1.405E7	192			
Corrected Total	1310553.872	191			

a. R Squared = .553 (Adjusted R Squared = .332)

ตารางที่ 4.16 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต (%) ของสาหร่าย *B. braunii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:carbo

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7242.429[a]	63	114.959	2.510	.000
Intercept	127367.606	1	127367.606	2.781E3	.000
biotin	784.739	3	261.580	5.711	.001
thiamine	1667.330	3	555.777	12.133	.000
cobalamin	272.925	3	90.975	1.986	.119
biotin * thiamine * cobalamin	4517.434	54	83.656	1.826	.003
Error	5863.109	128	45.806		
Total	140473.144	192			
Corrected Total	13105.538	191			

a. R Squared = .553 (Adjusted R Squared = .332)

ตารางที่ 4.17 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อโปรตีน (mg/l) ของสาหร่าย *B. braunii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Proteinmg.L

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	229249.137[a]	63	3638.875	2.628	.000
Intercept	3320200.263	1	3320200.263	2.398E3	.000
biotin	80285.032	3	26761.677	19.329	.000
thiamine	63413.727	3	21137.909	15.267	.000
cobalamin	10449.613	3	3483.204	2.516	.061
biotin * thiamine * cobalamin	75100.765	54	1390.755	1.004	.480
Error	177220.025	128	1384.531		
Total	3726669.425	192			
Corrected Total	406469.161	191			

a. R Squared = .564 (Adjusted R Squared = .349)

ตารางที่ 4.18 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการสะสมโปรตีน (mg/g) ของสาหร่าย *B. braunii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Proteinmg.g

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	225710.974[a]	63	3582.714	1.927	.001
Intercept	4192662.311	1	4192662.311	2.255E3	.000
biotin	28444.555	3	9481.518	5.099	.002
thiamine	28808.773	3	9602.924	5.164	.002
cobalamin	13188.336	3	4396.112	2.364	.074
biotin * thiamine * cobalamin	155269.310	54	2875.358	1.546	.024
Error	238030.326	128	1859.612		
Total	4656403.612	192			
Corrected Total	463741.301	191			

a. R Squared = .487 (Adjusted R Squared = .234)

ตารางที่ 4.19 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อปริมาณโปรตีน (%) ของสาหร่าย *B. braunii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Protein

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2257.107[a]	63	35.827	1.927	.001
Intercept	41926.614	1	41926.614	2.255E3	.000
biotin	284.445	3	94.815	5.099	.002
thiamine	288.087	3	96.029	5.164	.002
cobalamin	131.883	3	43.961	2.364	.074
biotin * thiamine * cobalamin	1552.692	54	28.754	1.546	.024
Error	2380.300	128	18.596		
Total	46564.021	192			
Corrected Total	4637.407	191			

a. R Squared = .487 (Adjusted R Squared = .234)

ตารางที่ 4.20 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อไขมัน (%) ของสาหร่าย *B. braunii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Lipid

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	48800.861[a]	63	774.617	15.744	.000
Intercept	803617.987	1	803617.987	1.633E4	.000
biotin	5303.020	3	1767.673	35.929	.000
thiamine	16329.331	3	5443.110	110.634	.000
cobalamin	490.626	3	163.542	3.324	.022
biotin * thiamine * cobalamin	26677.884	54	494.035	10.041	.000
Error	6297.519	128	49.199		
Total	858716.366	192			
Corrected Total	55098.379	191			

a. R Squared = .886 (Adjusted R Squared = .829)

ตารางที่ 4.21 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อไขมัน (g/l) ของสาหร่าย *B. braunii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Lipidg.l

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7085.068[a]	63	112.461	9.977	.000
Intercept	31564.546	1	31564.546	2.800E3	.000
biotin	988.040	3	329.347	29.218	.000
thiamine	975.686	3	325.229	28.853	.000
cobalamin	244.681	3	81.560	7.236	.000
biotin * thiamine * cobalamin	4876.662	54	90.309	8.012	.000
Error	1442.814	128	11.272		
Total	40092.427	192			
Corrected Total	8527.882	191			

a. R Squared = .831 (Adjusted R Squared = .748)

ตารางที่ 4.22 การมีอิทธิพลร่วมกันของวิตามิน biotin, thiamine กับ cobalamin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อไขมัน (mg/l/d) ของสาหร่าย *B. braunii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Lipidmg.L.D

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	735508.825[a]	63	11674.743	10.502	.000
Intercept	3036861.206	1	3036861.206	2.732E3	.000
biotin	120388.554	3	40129.518	36.100	.000
thiamine	99538.876	3	33179.625	29.848	.000
cobalamin	28256.100	3	9418.700	8.473	.000
biotin * thiamine * cobalamin	487325.295	54	9024.542	8.118	.000
Error	142289.439	128	1111.636		
Total	3914659.470	192			
Corrected Total	877798.264	191			

a. R Squared = .838 (Adjusted R Squared = .758)

4.3 ศึกษาคุณสมบัติไบโอดีเซลที่ได้จาก *B. braunii* KMITL 2

การศึกษาคุณสมบัติการทำเป็นไบโอดีเซล โดยศึกษาค่า Cetane number (CN), Degree of unsaturation (DU), Cold filter plµg/lging point (CFPP), Saponification value (SV) และ Iodine value (IV) (ตารางที่ 4.23-4.26) พบว่าน้ำมันจากสาหร่ายในทุกชุดการทดลองมีค่าซีเทนสูงกว่า 40 และมีค่าไอโอดีนอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดคือต่ำกว่า 120 g I_2 100/g ส่วนค่าการอุดตันมีค่าต่ำซึ่งเหมาะต่ออุณหภูมิในประเทศไทย

ตารางที่ 4.23 คุณสมบัติไบโอดีเซลของ *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินแตกต่างกัน (B0=biotin 0 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	Biodiesel properties					
	SV	IV (g I_2 100/g)	CN	DU (wt.%)	LCSF (wt. %)	CFPP (°C)
Control	221.25	58.05	56.16	64.11	10.59	16.79
B0T0C0	240.21	45.50	57.42	46.31	6.32	3.37
B0T0C2	251.06	30.45	60.27	32.78	5.67	1.35
B0T0C4	235.32	46.10	57.74	49.00	11.08	18.33
B0T0C6	243.04	53.46	55.13	54.78	2.03	-10.10
B0T100C0	236.57	40.03	59.16	43.29	8.35	9.77
B0T100C2	264.18	31.55	58.91	34.52	5.17	-0.23
B0T100C4	263.50	31.00	59.11	32.69	1.42	-12.00
B0T100C6	254.14	30.19	60.08	33.29	4.99	-0.80
B0T200C0	250.71	35.19	59.10	38.67	7.07	5.75
B0T200C2	264.66	21.81	61.36	23.61	3.61	-5.13
B0T200C4	279.10	21.34	60.41	23.41	3.60	-5.17
B0T200C6	254.14	30.19	60.08	33.29	4.99	-0.80
B0T300C0	261.01	21.19	61.81	22.89	3.44	-5.68
B0T300C2	288.66	10.94	62.42	10.96	5.05	-0.61
B0T300C4	271.51	10.24	63.79	9.99	5.08	-0.53
B0T300C6	232.90	43.47	58.65	47.63	7.90	8.33

ตารางที่ 4.24 คุณสมบัติไบโอดีเซลของ *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินแตกต่างกัน (B1=biotin 1 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	Biodiesel properties					
	SV	IV (g I_2 100 g^{-1})	CN	DU (wt.%)	LCSF (wt. %)	CFPP (°C)
Control	221.25	58.05	56.16	64.11	10.59	16.79
B1T0C0	257.87	40.61	57.11	44.29	7.32	6.51
B1T0C2	225.07	84.55	48.99	84.37	2.48	-8.67
B1T0C4	223.60	97.88	45.75	101.75	0.63	-14.51
B1T0C6	222.39	55.40	56.72	60.41	11.57	19.88
B1T100C0	223.56	53.78	57.00	58.16	10.57	16.72
B1T100C2	230.42	58.97	54.95	64.25	9.84	14.45
B1T100C4	233.17	76.10	50.30	77.66	2.10	-9.87
B1T100C6	229.76	54.96	56.04	59.97	11.86	20.78
B1T200C0	226.46	83.65	49.07	84.84	2.28	-9.30
B1T200C2	221.66	86.77	48.80	88.32	2.58	-8.37
B1T200C4	247.90	58.92	53.29	59.24	2.71	-7.96
B1T200C6	229.76	54.96	56.04	59.97	11.86	20.78
B1T300C0	234.29	76.45	50.10	77.93	3.57	-5.25
B1T300C2	232.74	73.61	50.98	75.41	2.84	-7.56
B1T300C4	233.86	76.24	50.20	77.18	2.98	-7.13
B1T300C6	283.88	18.60	60.78	18.96	1.28	-12.46

ตารางที่ 4.25 คุณสมบัติไบโอดีเซลของ *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินแตกต่างกัน (B2=biotin 2 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	Biodiesel properties					
	SV	IV (g I_2 100 g^{-1})	CN	DU (wt.%)	LCSF (wt. %)	CFPP (°C)
Control	221.25	58.05	56.16	64.11	10.59	16.79
B2T0C0	214.76	51.45	58.60	56.20	13.36	25.50
B2T0C2	216.09	49.55	58.92	54.81	11.32	19.08
B2T0C4	214.02	49.59	59.16	54.13	11.77	20.49
B2T0C6	209.06	55.21	58.33	60.12	13.60	26.26
B2T100C0	205.51	75.50	53.61	73.84	14.09	27.79
B2T100C2	210.02	79.47	52.02	78.31	4.44	-2.53
B2T100C4	219.38	45.95	59.46	50.05	12.76	23.62
B2T100C6	211.78	40.51	61.74	44.39	15.17	31.19
B2T200C0	212.35	75.10	52.85	74.60	5.85	1.89
B2T200C2	210.99	52.77	58.71	57.05	14.78	29.96
B2T200C4	227.35	44.85	58.87	48.83	12.68	23.37
B2T200C6	218.46	49.07	58.77	52.72	11.87	20.80
B2T300C0	236.38	40.81	58.98	44.67	11.61	20.01
B2T300C2	207.12	52.41	59.29	57.63	11.90	20.92
B2T300C4	220.93	49.85	58.29	53.74	10.93	17.87
B2T300C6	230.65	38.90	60.04	41.61	12.91	24.07

ตารางที่ 4.26 คุณสมบัติไบโอดีเซลของ *B. braunii* KMITL 2 ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับวิตามินแตกต่างกัน (B3=biotin 3 µg/l; T0, 100, 200, 300= thiamine 0, 100, 200, 300 µg/l; C0, 2, 4, 6 = cobalamin 0, 2, 4, 6 µg/l)

Treatment	Biodiesel properties					
	SV	IV (g I_2 100 g^{-1})	CN	DU (wt.%)	LCSF (wt. %)	CFPP (°C)
Control	221.19	57.99	56.19	64.04	10.74	17.26
B3T0C0	233.02	52.85	56.25	58.18	8.64	10.67
B3T0C2	249.37	39.84	58.03	43.19	6.41	3.67
B3T0C4	208.99	63.95	56.11	69.67	11.43	19.43
B3T0C6	208.91	93.69	48.53	94.41	2.52	-8.58
B3T100C0	209.49	87.49	50.04	87.78	3.05	-6.89
B3T100C2	209.52	62.10	56.51	67.88	11.05	18.25
B3T100C4	206.09	64.36	56.37	69.93	11.44	19.45
B3T100C6	211.82	61.51	56.38	66.85	10.71	17.19
B3T200C0	218.26	60.57	55.86	66.45	9.48	13.30
B3T200C2	215.27	63.85	55.37	69.86	10.33	15.98
B3T200C4	209.58	67.22	55.20	73.84	11.71	20.31
B3T200C6	211.82	61.51	56.38	66.85	10.71	17.19
B3T300C0	208.95	73.90	53.58	81.03	11.01	18.11
B3T300C2	198.99	81.89	52.85	77.79	27.47	69.82
B3T300C4	229.48	55.81	55.85	61.49	9.25	12.59
B3T300C6	220.86	53.76	57.30	59.32	9.25	12.58

4.4 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์ จากเซลล์สาหร่ายหลังการสกัดน้ำมัน

หลังจากนำเซลล์สาหร่ายที่เหลือหลังจากการสกัดไฮโดรคาร์บอนและไขมัน วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรท โปรตีน พบว่ามีโปรตีนอยู่ในช่วง 24-31 % และมีคาร์โบไฮเดรทอยู่ในช่วง 22-30 % ซึ่งมีค่าสูงกว่าโปรตีนขั้นต่ำที่กำหนดไว้สำหรับเป็นอาหารสัตว์จึงสามารถนำไปทำเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้ และส่วนของคาร์โบไฮเดรทสามารถนำไปผสมลงในดินร่วนหรือดินร่วนปนทราย เพื่อเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำให้กับดินได้จึงสามารถใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพได้ ในส่วนของรงควัตถุกลุ่มคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ หลังจากสกัดน้ำมันออก มีรงควัตถุลดลงประมาณ 58-66 % จากค่าเริ่มต้นก่อนการสกัด ซึ่งรงควัตถุที่เหลือในเซลล์สามารถใช้กระตุ้นภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์ได้ แต่อยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากรงควัตถุส่วนใหญ่ ถูกสกัดไปพร้อมกับไฮโดรคาร์บอนและไขมัน

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาอิทธิพลร่วมกันของ biotin, thiamine กับ cobalamin ต่อสาหร่าย *B. braunii* พบว่า วิตามินทั้งสามชนิดมีอิทธิพลร่วมกันในทางบวกต่อการเจริญเติบโต ปริมาณคาร์โบไฮเดรทต่อกรัม เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรท ปริมาณโปรตีนต่อกรัม เปอร์เซ็นต์โปรตีน และที่สำคัญนั้นส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์, ผลผลิต และกำลังการผลิตไฮโดรคาร์บอน นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันจากสาหร่ายในทุกชุดการทดลองมีค่าซีเทนสูงกว่า 40 ซึ่งสูงกว่าค่าต่ำสุดที่กำหนดตามเกณฑ์มาตรฐานของน้ำมันไบโอดีเซล เซลล์สาหร่ายที่ผ่านการสกัดไฮโดรคาร์บอนมีคุณสมบัติที่สามารถนำไปทำเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์และเป็นปุ๋ยชีวภาพได้

บรรณานุกรม

Ahloowalia B.S., Maluszynski M. 2001. Induced mutations – a new paradigm in plant breeding. Euphytica. 118:167–173.

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

ASTM D6751, 2012. Standard Specification for Biodiesel Fuel (B100) Blend Stock for Middle Distillate Fuels. Retrieved from https://www.dieselnet.com/tech/fuel_biodiesel_std.php on 5 November 2015.

Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Phys. 37, 911–917.

Cabanelas, I.T.D., Arbib, Z., Chinalia, F.A., Souza, C.O., Perales, J.A., Almeida, P.F., Druzian, J.I., Nascimento, I.A., 2013. From waste to energy: Microalgae production in wastewater and glycerol. Appl. Energ. 109, 283-290.

Cabanelas, I.T.D., Marques, S.S.I., de Souza, C.O., Druzian, J.I., Nascimento, I.A., 2015. *Botryococus*, what to do with it? Effect of nutrient concentration on biorefinery potential. Algal Res. 11, 43-49.

Carlucci, A.F. and S.B. Silbernagel. 1969. Effect of vitamin concentrations on growth and development of vitamin-requiring algae. Journal Phycology 5: 64–67.

CCAP (Culture Collection of Algae and Protozoa), 2014. 3NBBM+V (Bold Basal Medium with 3fold nitrogen and vitamins; modified). Retrieved from http://www.ccap.ac.uk/media/documents/3N_BBM_V.pdf on 5 September 2014.

Cheng, P., Wang, J., Liu, T., 2015. Effect of cobalt enrichment on growth and hydrocarbon accumulation of *Botryococcus braunii* with immobilized biofilm attached cultivation. Bioresource Technol. 177, 204-208.

Croft, M.T., Lawrence, A.D., Raux-Deery, E.R., Warren, M.J., Smith, A.G., 2005. Algae acquire vitamin B_{12} through a symbiotic relationship with bacteria. Nature. 438, 90-93.

Croft, M.T., Warren, M.J., Smith, A.G., 2006. Algae need their vitamins. Eukaryot. Cell. 5, 1175-1183.

Dayananda, C., Sarada, R., Bhattacharya, S., Ravishankar, G.A., 2005. Effect of media and culture conditions on growth and hydrocarbon production by *Botryococcus braunii*. Process. Biochem. 40, 3125-3131.

Desouky, A.S. Usama, A.M. AhMED and A.W. 2011. Effect of vitamins on growth photosynthetic pigments and some metabolic products of cobalte, criteria

chloride stressed *Scenedesmus obliquus* cultures. Ass University Bull Environment Respones.14(2)

Desouky, S.A. 2011. Response of vitamin on the growth criteria and some mteabolic activities of stressed *Scenedesmus Obliquus* cultures. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 5(6): 88-99.

DuBois, D.M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analy. Chem. 28, 350-356.

Dufosse, L., Galaup, P., Yaron, A., Arad, S.M., Blanc, P., Chidambara Murthy, K.N., Pavishankar, G.A., 2005. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or and industrial reality?. Trends Food Sci. Technol. 16, 389-406.

Endar, V., S., J. Hutabarat and B. Prayitno. 2012. Effect of using guillard and walne Technical culture media on growth and fatty acid profiles of microalgae *Skeletonema* sp. In mass culture. Jounal of Coastal Development 16: 50-56.

Fang, J.Y., Chiu, H.C., Wu, J.T., Chiang, Y.R., Hsu, S.H., 2004. Fatty acids in *Botryococcus braunii* accelerate topical delivery of flurbiprofen into and across skin. Int. J. Pharm. 276, 163-173.

Farias Silva, C.E., Bertucco, A., 2016. Bioethanol from microalgae and cyanobacteria: A review and technological outlook. Process. Biochem. 51, 1833-1842.

Francisco, E.C., Neves, D.B., Lopes, E.J., Franco, T.T., 2010. Microalgae as feedstock for biodiesel production: carbon dioxide sequestration, lipid production and biofuel quality. J. Chem. Technol. Biotechnol. 85, 395–403.

Fuel Standard (Biodiesel) Determination, 2003. Approved Under section 21 of the Fuel Quality Standard Act 2002 by the Australian Minister for the Environment and Heritage. Retreived from https://www.comlaw.gov.au/Details/F2006B01373 on 5 September 2016.

Furuhashi, K., Hasegawa, F., Saga, K., Kudou, S., Okada, S., Kaizu, Y., Imou, K., 2016. Effects of culture medium salinity on the hydrocarbon extractability, growth and morphology of *Botryococcus braunii*. Biomass. Bioenerg. 91, 83-90.

Garcia, M.C.C., Sanchez, M.A., Fernandez, S.J.M., Molina, G.E., Garcia, C.F., 2005. Mixotrophic growth of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*, influence of different nitrogen and organic carbon sources on productivity and biomass composition. Process Biochem. 40, 297–305.

Gobler, C.J., C. Norman, C. Panzeca, G.T. Taylor and S.A. Sanudo-Wilhelmy. 2007. Effect of B-vitamins (B_1, B_{12}) and inorganic nutrient on algal bloom dynamics in a coastal ecosystem. Aquatic Microbial Ecology. 49: 181-194.

Goksan, T.G., I.-K. Ak and C.-K. Kihc. 2011. Growth Characteristics of the Alga *Haematococcus pluvialis* Flotow as affected by nitrogen source, Vitamin, Light and Aeration. Turkish Journal of Fisheries and aquatic sciences. 11: 377-383.

Hakalin, N.L.S., P.A. Paz, D.A.G. Aranda and L.M.P. Moraes. 2014. Enhancement of cell growth and lipid content of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. by optimizing nitrogen, phosphorus and vitamin concentration for biodiesel production. Natural Science 6: 1044-1054.

Helliwell, K.E., Wheeler, G.L., Leptos, K.C., Goldstein, R.E., Smith, A.G., 2011. Insights into the evolution of vitamin B_{12} auxotrophy from sequenced algal genomes. Mol. Biol. Evol. 28, 2921-2933.

Knothe, G., 2005. "Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters." Fuel Process. Technol. 86, 1059-1070.

Knothe, G., 2008. "Designer" biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. Energy Fuels. 22, 1358–1364.

Knothe, G., 2009**.** Improving biodiesel fuel properties by modifying fatty ester composition. Energy Environ. Sci. 2, 759–766.

Lewin, R.A. 1954. A marine *Stichococcus* sp. Which requires vitamin B12 (Cobalamin). J.gen. Microbiol 10: 93-96.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., 2003. Brock Biology of Microorganisms. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.

Miao, X.L., Li, R.X., Yao, H.Y., 2009. Effective acid-catalyzed transesterification for biodiesel production. Energy Convers. Manage. 50, 2680–2684.

Mittelbach, M., Remschmidt, C., 2004. Biodiesel: the Comprehensive Handbook, Boersedruck Ges. M.B.H., Vienna.

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

Nascimento, I.A., Marques, S.S.I., Cabanelas, I.T.D., Pereira, S.A., Druzian, J.I., Oliveira de Souza, C., Vich, D.V., Correia de Carvalho, G., Nascimento, M.A., 2013. Screening microalgae strains for biodiesel production: lipid productivity and estimation of fuel quality based on fatty acid profiles as selective criteria. Bioenergy Res. 6, 1-13.

Philipose, M.T., 1967. Chlorococcales. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.

Quinn, J.C., Hanif, A., Sharvelle, S., Bradley, T.H., 2014. Microalgae to biofuels: Life cycle impacts of methane production of anaerobically digested lipid extracted algae. Bioresource Technol. 171**,** 37-43.

Ramos, M.J., Fernandez, C.M., Casas, A., Rodŕiguez, L.A., 2009. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. Bioresource Technol. 100, 261–268.

Ranga Rao, A., Sarada, R., Ravishankar, G.A., 2007. Influence of CO_2 on growth and hydrocarbon production in *Botryococcus braunii*. J. Microbiol. Biotechnol. 17, 414-419.

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

Ruangsomboon, S., 2015. Effects of different media and nitrogen sources and levels on growth and lipid of green microalga *Botryococcus braunii* KMITL and its biodiesel properties based on fatty acid composition. Bioresource Technol. 191, 377-384.

Ruangsomboon, S., Ganmanee, M., Choochote, S., 2013. Effects of different nitrogen, phosphorus, and iron concentrations and salinity on lipid production in newly isolated strain of the tropical green microalga, *Scenedesmus dimorphus* KMITL. J. Appl. Phycol. 25, 867-874.

Sinnott, M. (ed)., 1998. Thiamine-dependent enzymes: comprehensive biological catalysis. Academic, San Diego, vol 2, pp. 217-266.

Stein, E.D., 1973. Isolation and Culture of Algae, Handbook of Phycological Methods. Culture methods and growth measurements. Cambridge University Press.

Tanabe, Y., Ioki, M., Watanabe, M.M., 2014. The fast-growing strain of hydrocarbon-rich green alga *Botryococcus braunii*, BOT-22, is a vitamin B_{12} autotroph. J. Appl. Phycol. 126, 9-13.

Tanabe, Y.H., M.-H. Ioki and M.-M. watanabe. 2014. The fast-growing strain of hydrocarbon-rich green alga *Botryococcus braunii*, BOT-22, is a vitamin B_{12} autotroph. Appl Phycol. 26: 9-13.

Tang, Y.Z., Koch, F., Gobler, C.J., 2010. Most harmful algal bloom species are vitamin B_1 and B_{12} auxotrophs. PNAS. 107, 20756-20761.

Vonshak, A., Maske, H., 1982. Algae: growth techniques and biomass production, in: Coombs, J., Hall, D.O., (Eds.), Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis. Pergamon Press, Oxford.

Wu, H., Miao, X., 2014. Biodiesel quality and biochemical changes of microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* in response to nitrate levels. Bioresource Technol. 170, 421-427.

Wu, M., Wu, G., Han, L., Wang, J., 2005. Low-temperature fluidity of bio-diesel fuel prepared from edible vegetable oil. Petrol. Process. Petrochem. 36, 57-60.

Yoo, C., Jun, S.Y., Lee, J.Y., Ahn, C.Y, Oh, H.M., 2010. Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. Bioresource Technol. 101, 571-574.

Zhila, N.O., Kalacheva, G.S., Volova, T.G., 2005a. Effect of nitrogen limitation on the growth and lipid composition of the green alga *Botryococcus braunii*; Kutz IPPAS H-252. Russ. J. Plant Physiol. 52, 311-319.

Zhila, N.O., Kalacheva, G.S., Volova, T.G., 2005b. Influence of nitrogen deficiency on biochemical composition of the green alga *Botryococcus*. J. Appl. Phycol. 17, 309-315.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ปวีณา ทวีกิจการ และมณฑล แก่นมณี 2555. การคัดเลือกสายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีไขมันสูงแบบมหมวล เพื่อความเป็นไปได้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 76 น.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์
Miss Suneerat Ruangsomboon

เพศ หญิง

ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ8

ประวัติการศึกษา

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

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

อนุกรมวิธานของแพลงก์ตอน การใช้ประโยชน์สารสกัดจากสาหร่าย การบำบัดน้ำเสีย

ทุนวิจัยที่เคยได้รับ

1. ความเป็นไปได้ในการผลิตไข่พักไรแดงเป็นการค้า (งบประมาณแผ่นดิน 2544)
2. การบำบัดน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์และสีย้อมปนเปื้อนโดยใช้ *Lemna, Chlorella* และ *Phormidium* (ทุนอุดหนุนการวิจัย ม.ศรีปทุม 2544)
3. การกำจัดสารอินทรีย์และสีย้อมจากน้ำเสียโดยใช้ *Oscillatoria* และ *Microcystis* (งบประมาณแผ่นดิน 2546)
4. การสะสมและถ่ายทอดแคดเมียมผ่านทางห่วงโซ่อาหารในแหล่งน้ำ (สกว. มิ.ย. 2546- มิ.ย. 2547)
5. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดลาบ *Nostoc commune* เพื่อการค้า (รายได้ภาคฯ 2547)
6. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดลาบ (*Nostoc commune*) และสาหร่ายสไปรูไลน่า (*Spirulina platensis*) ในน้ำนมดิบที่ทิ้งจากโรงงานผลิตนมเพื่อใช้เป็นอาหารปลาสวยงามและปลาเศรษฐกิจ (งบประมาณแผ่นดิน 2548-2549)
7. ผลกระทบของแสง และอุณหภูมิ ที่มีต่อเสถียรภาพการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากสาหร่ายในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของเมล็ดพืชทดสอบ (รายได้ภาคฯ 2549)
8. ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาสารสกัดจากสาหร่ายต่อการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ (รายได้ภาคฯ 2550)
9. การกำจัดสีย้อมจากน้ำเสียโดยใช้วัสดุเหลือใช้จากสัตว์น้ำ (เปลือกกุ้ง เปลือกปู) (รายได้คณะฯ 2550)

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

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

1. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2544. การใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ควบคุมปริมาณแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria*. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 9(3):19-23.
2. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2545. การควบคุมการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* โดยใช้ฟอร์มาลินและคลอรีน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 18(3):30-37.
3. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2545. การบำบัดน้ำเสียที่มีตะกั่วและแคดเมียมปนเปื้อนโดยใช้แหนเป็ดเล็ก (*Lemna perpusilla* Torr.). วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 20 (3):1-11.
4. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ, ปวีณา ทวีกิจการ และ กลิ่นสุคนธ์ สุวรรณรัตน์. 2546. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย : *Oscillatoria* sp., *Microcystis* sp. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 21:48-60.
5. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ, ปวีณา ทวีกิจการ และ จตุพร บัณฑิต. 2546. ผลของความเข้มแสงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและการสร้างไข่พักของไรแดง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 21:61-68
6. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2547. การกำจัดตะกั่วและแคดเมียมโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็ก *Phormidium angustissimum* และ *Chlorella vulgaris*. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ (Section T) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 3(1): 287-296.
7. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2547. การดูดซับตะกั่วและแคดเมียมจากน้ำเสียโดยใช้ *Scenedesmus dimorphus* เป็นตัวดูดซับ. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 12(1):42-47.
8. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2547. การผลิตไข่พักของไรแดงภายใต้สภาวะการควบคุมระดับพีเอชและแอมโมเนีย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 22(2):65-75.
9. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และ จำรูญ เล้าสินวัฒนา. 2548. ผลของสารสกัดจากสาหร่ายต่อการงอกของพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 36:978-981.
10. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ บุปผา จงพัฒน์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ปวีณา ทวีกิจการ. 2548. คุณค่าทางโภชนาการของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23(2):38-47.
11. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2549. การสร้างไข่พักของไรแดงที่ระดับอุณหภูมิต่ำและอัตราฟักของไข่พักที่ฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลิน และไข่พักที่เก็บรักษาไว้ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(2):54-62.

12. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2549. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ไข่น้ำ *Wolffia arrhiza* (L.) Wimmer. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(3):1-14.
13. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และ จำรูญ เล้าสินวัฒนา. 2549. ผลของแสงและอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Phormidium angustissimum* ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 37(6):925-928.
14. ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher. 2549. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 14(2):40-49.
15. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2550. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Calothrix marchica* Lemm. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 25:13-26.
16. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2550. การกำจัดตะกั่วจากน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria jasorvensis* และ *Microcystis aeruginosa*. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 14:46-54.
17. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ปวีณา ทวีกิจการ นิธิ พันธุ์คงชื่น. 2551. การเจริญเติบโตของปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Spirulina platensis* แห้ง. การประชุมวิชาการประมงครั้งที่ 3 “เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ” 8-9 ธันวาคม 2551. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ น. 95-104.
18. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ปวีณา ทวีกิจการ ชาติสุพล เตรียมธนานันท์. 2551. คุณค่าทางโภชนาการและปริมาณรงควัตถุของ *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงในปุ๋ยผสมมูลสุกร. การประชุมวิชาการประมงครั้งที่ 3 “เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ” 8-9 ธันวาคม 2551. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ น. 105-115
19. อทิยา สะพานกลาง และ สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. .การดูดซับตะกั่วโดยไซยาโนแบคทีเรีย Stigonema sp. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28:20-30.
20. อภิญญา สโมสร, สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, อำมร อินทร์สังข์ และ จรงศักด์ พุมนวน. 2553. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายขนาดใหญ่ ต่อไรฝุ่น *Dematophagoides pteronyssinus* (Trouessart) โดยวิธีสัมผัส. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. น 184-191.
21. อทิยา สะพานกลาง และ สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2553. การเจริญเติบโตและการดูดซับตะกั่วจากน้ำเสียโดยไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สารอาหารที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. น 193-202.
22. นำถม ตั้งคำ และ สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2553. คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาดุกที่มีการเจริญเติบโตอย่างหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. หน้า 305-312.
23. อทิยา สะพานกลาง และ สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2553. ผลของการจำกัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและความสามารถในการดูดซับตะกั่วของไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 7 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 7-8 ธันวาคม 2553. หน้า 1931-1938.

24. กวิน พันธุ์สัมฤทธิ์ และ สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2553. ผลของพีเอชต่อการดูดซับสีย้อม benewol red โดยสาหร่าย. การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 8 สาขาวิทยาศาสตร์การเกษตร. มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก. ระหว่างตีพิมพ์.
25. กวิน พันธ์สัมฤทธิ์ อทิยา สะพานกลาง และสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2554. การดูดซับสีย้อมแอซิด benewol red โดยสาหร่ายสีแดง *Gracilaria fisheri*. ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ กุมภาพันธ์ 2554. หน้า 497-506.
26. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ปวีณา ทวีกิจการ. 2555. การใช้อาหารผสมไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* สดและแห้งในการเลี้ยงปลาหมอสี Kenyi Cichlid, Pseudotropheus lombardoi. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 40:208-217.
27. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ดุสิต เอื้ออำนวย. 2556. ผลของระยะเวลา แสง และอุณหภูมิในการเก็บรักษาสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย, *Phormidium angustissimum* ต่อความสามารถในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* var. *parachinensis* Tsen & Lee). วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 41:973-984.
28. ปิยมาภรณ์ เวียนรอบทิศ และ สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2556. ผลของเหล็กต่อการเจริญเติบโต ปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันในไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria limnetica* (Lemmermann). ในการประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติครั้งที่ 6 เชียงใหม่ มีนาคม 2556. หน้า 28-37.
29. ศุภลักษณ์ โภชนสมบูรณ์ เสาวนีย์ วิจิตรโกสุม และ สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2556. ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำและแพลงก์ตอนพืชในระบบเครือข่ายอ่างเก็บน้ำ (อ่างพวง) บริเวณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยทรายอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเพชรบุรี. ในการประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติครั้งที่ 6 เชียงใหม่ มีนาคม 2556. หน้า 77-89
30. จิรรัตน์ พรหมนารถ และสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2556. ผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus*. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. 7:92-101
31. วัฒนา นุซซอและ และสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2556. ผลของความเข้มข้นของเหล็กที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus*. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. 7:14-24.
32. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ มณฑล แก่นมณี และ จรงศักดิ์ พุมนวน. 2557. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาชะโดและบ่อปลูกผักกระเฉด. ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ กุมภาพันธ์ 2557. หน้า 275-283.
33. ปิยมาภรณ์ เวียนรอบทิศ และสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2557. ผลของเหล็กต่อการเจริญเติบโต ปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Botryococcus braunii*. ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ กุมภาพันธ์ 2557. หน้า 334-342.
34. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, อำมร อินทร์สังข์ และ จรงศักดิ์ พุมนวน. 2557. ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium angustissimum* ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารต่างกัน ที่มีต่อฤทธิ์การกำจัดไรฝุ่น *Dermatophagoides pteronyssinus*. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 32:(1)13-20.

35. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และ ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2557. องค์ประกอบทางเคมีและการเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสี*เขียว Cladophora glomerata*.วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 32:(2)1-8
36. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2558. การดูดซับสีย้อมแอซิด เบเนวอล เรด โดยใช้สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus* ที่มีชีวิตแบบตรึงเซลล์. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 33:(2) 82-92.

งานวิจัยที่ตีพิมพ์เป็นภาษาอังกฤษ

1. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2004. Bioremoval of Lead by cyanobacteria : *Gloeocapsa* sp. and *Calothrix marchi*ca. Proceeding of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science and technology. 2:188-191.
2. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2004 . Lead (Pb^{2+}) Adsorption potentials of *Gloeocapsa* sp. and role of its capsular polysaccharides. Proceeding of The International Conference on Sustainable Energy and Environment. 3(011):210-213 .
3. Ruangsomboon, S., A. Chidthaisong, B. Bunnag, D. Inthorn and N.W. Harvey. 2004b. Lead (Pb^{2+}) Adsorption potentials of *Gloeocapsa* sp. and role of its capsular polysaccharides. Proceeding of The International Conference on Sustainable Energy and Environment. 3(011):210-213 .
4. Ruangsomboon, S. and Wongrat, L. 2006. Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*C. regularis)*, zooplankton (*M. macrocopa)*, and the predatory catfish. Aquatic Toxicology. 78:15-20.
5. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2006. Production, composition and Pb^{2+} adsorption characteristics of capsular polysaccharides extracted from a cyanobacterium *Gloeocapsa gelatinosa.* Water Research. 40:3759-3766.
6. Ruangsomboon, S. and Wongrat, L. 2007. Bioaccumulation of Cadmium in an Experimental Aquatic Ecosystem Involving Phytoplankton, Zooplankton, Catfish and Sediment. Kasetsart Journal (Natural Science) 41:180-185.
7. Ruangsomboon, S. 2007. Removal of lead (Pb^{2+}) by the cyanobacterium *Phormidium angustissimum*. Proceedings of The International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST) “Biological Diversity, Food and Agricultural Technology”, Bangkok, Thailand. 26-27 April 2007, 340-344.
8. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2007. Lead (Pb^{2+}) adsorption characteristics and sμg/lar composition of capsular polysaccharides of cyanobacterium *Calothrix marchica.* Songklanakarin Journal of Science and Technology. 29:529-541.

9. Ruangsomboon, S. 2007. Removal of lead (Pb^{2+}) by the cyanobacterium *Phormidium angustissimum*. Proceedings of The International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST) "Biological Diversity, Food and Agricultural Technology". 26-27 April 2007. p. 340-344.
10. Ruangsomboon, S. 2007. Nitrate, ammonia and orthophosphate removal from wastewater by duckweed *Lemna perpusilla* Torr. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 922-925.
11. Ruangsomboon, S. 2007. Study of the parameters affecting the binding of cadmium (Cd^{2+}) in solution by *Phormidium angustissimum* West & G.S. West. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 918-921.
12. Ruangsomboon, S. and Choochote, S. 2007. Effect of feeding diets containing *Nostoc commune* on growth, survival, protein and carotenoid content of red tilapia *Oreochromis niloticus*. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 772-775.
13. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2008. Removal of lead (Pb^{2+}) by cyanobacteria *Gloeocapsa sp*. Bioresource Technology. 99:5650-5658.
14. Ruangsomboon, S. Choochote, S. and Taveekijakarn P. 2010. Growth performance and nutritional composition of red tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus*) fed Diets containing raw *Spirulina platensis*. The international conference on Sustainable community development 2010. 21-23 January, 2010. Khon Kaen University, Nong Khai campus, Thailand and Vientiane, Lao PDR. P. 27-31.
9. Saparnklang, A. and Ruangsomboon, S. 2010. Effects of Nitrogen and Phosphorus Limitation on Polysaccharides Content and Lead (Pb2+) Biosorption Capacity of Cyanobacterium *Phormidium* sp. Proceedings of 16th Asian Agricultural Symposium and 1st International Symposium on Agricultural Technology "Sufficiency Agriculture". 25-27 Aμg/lust 2010, Bangkok, Thailand. p. 476-479.
10. Samosorn, A., Pumnuan, J., Insung, A. and Ruangsomboon, S. 2010. Effectiveness of Cyanobacteria Extracts on the House Dust Mite, *Dermatophagoides Pteronyssinus* (Trouessart) by Contact Method. Proceedings of 16th Asian Agricultural Symposium and 1st International Symposium on Agricultural Technology "Sufficiency Agriculture". 25-27 Aμg/lust 2010, Bangkok, Thailand. p. 700-703.
11. Pumnuan, J., Ruangsomboon, S., Kangkunt, S. 2010. Insecticide Residues in Neptunia Plantation Water and Related Canals:A Case Study in Amphur Bangplee, Samutprakarn Province. .Proceedings of 16th Asian Agricultural Symposium and 1st

International Symposium on Agricultural Technology “Sufficiency Agriculture”. 25-27 Aμg/lust 2010, Bangkok, Thailand. p. 460-463.

12. Samosorn, A., Pumnuan, J., Insung, A. and Ruangsomboon, S. 2010. Effects Of Nitrogen And Phosphorus In Culture Medium On Bioactive Compounds Of *Oscillatoria* sp. Extracts On The House Dust Mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart). The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. 4-6 October, 2010, Pattaya, Thailand. 215-219.
13. Pansamrit, K. and Ruangsomboon, S. 2010. Effect of pH on biosorption of basic-dye malachite green by algae. The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. 4-6 October, 2010, Pattaya, Thailand. 220-224.
14. Saparnklang, A. and Ruangsomboon S. 2010. Effects of nitrogen and phosphorus limitation on polysaccharides content and lead (Pb^{2+}) biosorption capacity of cyanobacterium *Hapalosiphon* sp. The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. 4-6 October, 2010, Pattaya, Thailand. 225-230.
15. Ruangsomboon S., Choochote S., Taveekijakarn P. and Worasing S. 2010. Antibacterial activity of lipophilic and hydrophilic extracts of algae. The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. 4-6 October, 2010, Pattaya, Thailand. 231-237.
16. Suneerat Ruangsomboon and Ladda Wongrat. 2012. Toxic Effects of Low pH and Pb^{2+} on Chlorophyll Fluorescence and Growth of Cyanobacterium, *Hapalosiphon* sp. 2012 International Conference on Sustainable Environmental Technologies (ICSET). Century Park Hotel, Bangkok, Thailand; 26-27 April, 2012. p. 1-7
17. Suneerat Ruangsomboon and Sakchai Choochote. 2012. Effects of Different media on growth and lipid production in the green microalga, Botryococcus braunii KMITL2. Proceeding of 2nd Asia-Oceania algae innovation summit: algae for sustainable development, September 3-5, 2012.
18. Suneerat Ruangsomboon, Sakchai Choochote, Paveena Thaweekijakarn, Dusit Aue-umneoy. 2012. Nitrogen and Phosphorus removal from wastewater by green microalga, Scenedesmus dimorphus. Proceeding of 2nd Asia-Oceania algae innovation summit: algae for sustainable development, September 3-5, 2012.
19. Suneerat Ruangsomboon, Sakchai Choochote, Paveena Thaweekijakarn, Monthon Ganmanee and Chamroon Laosinwattana. 2012. Acute toxicity of cyanotbacterial extracts, Oscillatoria tenuis and Phormidium angustissimum on freshwater invertebrate, Water flea (Moina Macrocopa). Proceeding of 2nd International symposium of Biopesticides and Ecotoxicological Network (ISBioPEN): Contribution ot Organic Agriculture in the 21st Centrury”. September 24-26, 2012, Bangkok Thailand, p.329-338.

20. Ruangsomboon S., Choochote S., Taveekijakran P., and Ganmanee M. 2012. Effect of different nitrogen sources and concentrations on growth and microcystin production of toxic cyanobacterium, *Microcystis aerµg/linosa*. Proceeding of 2nd International symposium of Biopesticides and Ecotoxicological Network (ISBioPEN): Contribution ot Organic Agriculture in the 21st Century". September 24-26, 2012, Bangkok Thailand, p 339-346.
21. Ruangsomboon S., Choochote S., Taveekijakran P., and Ganmanee M. 2012. Toxic effect of *Oscillatoria tenuis* and *Arthrospira platensis* extracts on freshwater invertebrate, Lanchester's freshwater prawn (*Macrobrachium lanchesteri*). Proceeding of 2nd International symposium of Biopesticides and Ecotoxicological Network (ISBioPEN): Contribution to Organic Agriculture in the 21st Centrury". September 24-26, 2012, Bangkok Thailand, p 347-354.
22. Ruangsomboon S., Aue-Umneoy D., and Saparnklang A. 2013. Biosorption of basic dye, malachite green by brown alga Padina sp. Proceeding of 2nd International conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST 2013): Biological diversity, food and agricultural technology. November 28-29, 2013, Bangkok Thailand, p.490-501
23. Saparnklang A. and Ruangsomboon S. 2013. Growth, polysaccharide contents and biosorption of lead (Pb2+) by the cyanobacterium *Hapalosiphon* sp. cultured under different medium concentrations. Proceeding of 2nd International conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST 2013): Biological diversity, food and agricultural technology. November 28-29, 2013, Bangkok Thailand, p.193-202.
24. Ruangsomboon S. 2015. Preliminary study on used microalga (*Nostoc commune*) as a protein supplement in dry-wet mixtures feed for juveniles snakehead (*Channa striata*). Proceeding of 2nd International Symposium on Agricultural Technology:Global Agriculture Trends for Sustainability (ISAT). July 1-3, 2015, Pattaya, Thailand, p. 321-324.

International Journal

1. Ruangsomboon, S. and Wongrat, L. 2006. Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*C. regularis)*, zooplankton (*M. macrocopa)*, and the predatory catfish. Aquatic Toxicology. 78:15-20.
2. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2006. Production, composition and Pb^{2+} adsorption characteristics of capsular polysaccharides extracted from a cyanobacterium *Gloeocapsa gelatinosa.* Water Research. 40:3759-3766.

3. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2008. Removal of lead (Pb^{2+}) by cyanobacteria *Gloeocapsa sp*. Bioresource Technology. 99:5650-5658.
4. Ruangsobmoon S. 2012. Effect of Light, Nutrient, Cultivation Time and Salinity on Lipid Production of Newly Isolated Strain of the Green Microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2. Bioresource Technology. 109:261-265.
5. Ruangsomboon S., Ganmanee M, and Choochote S. 2013. Effects of different nitrogen, phosphorus, and iron concentrations and salinity on lipid production in newly isolated strain of the tropical green microalga, *Scenedesmus dimorphus* KMITL. Journal of Applied Phycology. 25:867-874.
6. Ruangsomboon S., Wongrat L., Choochote S., Ganmanee M. and Saparnklang A. 2013. Effects of low pH and Pb^{2+} stress on living cyanobacterium, *Phormidium angustissimum* West & G.S. West : A test of its feasibility as a living biosorbent. Journal of Applied Phycology. 25:905-911.
7. Ruangsomboon S. 2013. The effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of the tropical cyanobacterium, *Oscillatoria limnetica* KMITL. Academic Journal of Science. 2:311-321.
8. Ruangsomboon S. 2014. Effect of media and salinity on lipid content of cyanobacterium *Hapalosiphon* sp. *Chiang Mai J. Sci*. 41:307-315.
9. Ruangsomboon S., Yongmanitchai W., Taveekijakarn P., Ganmanee M. 2014. Cyanobacterial Composition and Microcystin Accumulation in Catfish Pond. *Chiang Mai J. Sci.* 41:27-38.
10. Ruangsomboon S. 2014. Biosorption of lead (Pb^{2+}) by living cyanobacterium, *Oscillatoria limnetica* Lemmermann. Academic Journal of Science. 03(02):459-469.
11. Ruangsomboon S. 2015. Enhanced Production of Polysaccharides and Protein Content in Cyanobacterium, *Oscillatoria limnetica* as a Defense Mechanism Against Low pH and Pb^{2+}. *Chiang Mai J. Sci.* 42(1):34-43.
12. Ruangsomboon S. 2015. Effects of different media and nitrogen sources and levels on growth and lipid of green microalga *Botryococcus braunii* KMITL and its biodiesel properties based on fatty acid composition Bioresource Technology. 191:377-384.
13. Ruangsomboon S. and Pumnuan J. 2016. Acaricidal activities of algal extracts against the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart). Journal of The Acarological Society of Japan. 25:169-178.
14. Ruangsomboon S., Prachom N. and Sornchai P. 2017. Enhanced growth and hydrocarbon production of *Botryococcus braunii* KMITL 2 by optimum carbon dioxide concentration and concentration-dependent effects on its biochemical composition and biodiesel properties. Bioresource Technology. 244:1358-1366, http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.042

15. Ruangsomboon S., Sornchai P. and Prachom N. 2018. Enhanced hydrocarbon production and improved biodiesel qualities of Botryococcus braunii KMITL 5 by vitamins thiamine, biotin and cobalamin supplementation. Algal Research. 29:159-169.
16. Ruangsomboon S. 2018. Hydrocarbon Production and Biodiesel Properties of a Green Microalga *Botryococcus braunii* KMITL 2 Cultivated Outdoor in Open Pond and Closed Photobioreactor. *Chiang Mai J. Sci*. 45(2):668-679.

ชื่อ นามสกุล นายดุสิต เอื้ออำนวย
สถานที่ติดต่อ คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 แขวงลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์สถานที่ทำงาน 02-3298517
โทรศัพท์มือถือ 081-914-2122
Email: kadusit@kmitl.ac.th

วุฒิการศึกษา (เอก โท และตรี)

ปีการศึกษาที่เข้าศึกษา พ.ศ. 2542 **ปีการศึกษาที่จบการศึกษา พ.ศ.** 2547
สถาบันการศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ปริญญาและสาขาที่สำเร็จการศึกษา วท.ม. (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

ปีการศึกษาที่เข้าศึกษา พ.ศ. 2538 **ปีการศึกษาที่จบการศึกษา พ.ศ.** 2542
สถาบันการศึกษา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปริญญาและสาขาที่สำเร็จการศึกษา วท.บ. (วิทยาศาสตร์การประมง)

ประสบการณ์การทำงาน

- อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ตั้งแต่ พ.ศ. 2549 – ปัจจุบัน

ประสบการณ์การทำงานที่เกี่ยวข้องกับที่ได้รับมอบหมาย ลำดับล่าสุด (5 ปีย้อนหลัง) เช่นงานโครงการต่างๆ

- การติดตามตรวจสอบการปฏิบัติตามมาตรการป้องกัน แก้ไข และลดผลกระทบสิ่งแวดล้อมและติดตามตรวจสอบคุณภาพสิ่งแวดล้อมในระยะดำเนินการของท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ปีงบประมาณ 2553 พ.ศ. 2553-2554 ตำแหน่ง ผู้เชี่ยวชาญด้านคุณภาพน้ำทิ้ง

ผลงานวิชาการ/ผลงานตีพิมพ์/ผลงานอื่นๆ

- รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ **ดุสิต เอื้ออำนวย** ปวีณา ทวีกิจการ และชลลดา มีอนันต์. 2551. การศึกษาวิธีการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กในปลาดุกบิ๊กอุย. การประชุมวิชาการประมง ครั้งที่ 3 “เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ” 8-9 พฤศจิกายน มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ **ดุสิต เอื้ออำนวย** ปวีณา ทวีกิจการ และ สรัญญา พันธุ์พฤกษ์. 2551. การใช้เทคโนโลยี RFID ในสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี: ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.
- รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และ**ดุสิต เอื้ออำนวย.** 2552. การใช้ระบบฟิชเทคฟาร์มบันทึกข้อมูลแบบรายตัวในปลานิล (*Oreochromis niloticus,* Linn.). ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 วันที่ 17-20 มีนาคม 2552.
- ชลดา มีอนันต์ รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ **ดุสิต เอื้ออำนวย** ชัยชนะ มิตรพันธ์ และ ปวีณา ทวีกิจการ. 2552. การฝังอาร์เอฟไอดีแท็กต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาดุกลูกผสม.ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 วันที่ 17-20 มีนาคม 2552.

- ณิชนันทน์ ทินปราณี ชัยชนะ มิตรพันธ์ **ดุสิต เอื้ออำนวย** รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และสรัญญา พันธุ์พฤกษ์. 2552. การศึกษาเบื้องต้นของการแสดงออกของยีนฮีตช็อคโปรตีนในเนื้อเยื่อที่แตกต่างกันของปลานิล. ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 วันที่ 17-20 มีนาคม 2552.
- **Aue-umneoy D.** and Y. Musig. 2009. Laboratory Scale Evaluation of a Treatment System for Effluents from Hybrid Catfish Ponds. Kasetsart University Fisheries Research Bulletin. Vol. 33 pp 22-31.
- Musig Y. and **D. Aue-umneoy**. 2009. Quality and Charecteristics of Effluents from Hybrid Catfish Ponds. Kasetsart University Fisheries Research Bulletin. Vol. 32 pp 1-8.
- Tsutsui I., P. Kanjanaworakul., P. Srisapoome., **D. Aue-umneoy**. and K. Hamano. 2009. Growth of giant tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius, under co-culture with a discarded filamentous seaweed, *Chaetomorpha ligustica* (Kützing) Kützing, at an aquarium-scale. Aquaculture International. *Online*
- Yano Y. , K. Hamano., M. Satomi., I. Tsutsui. and **D. Aue-umneoy**. 2011. Diversity and characterization of oxytetracycline-resistant bacteria associated with non-native species, white-leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*), and native species, black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), intensively cultured in Thailand. Journal of applied microbiology. Vol. 110 pp 713–722.
- Tsutsui I., **Aue-umneoy D.**, Songphatkaew J., Meeanan C., Klomkling S., Sukchai, H., Ganmanee M., Maeno Y., Miyoshi T. and Hamano K. 2013. Development of a co-culture system of giant tiger prawn with a filamentous seaweed, *Chaetomorpha* sp. for small-scale shrimp farmer, I: A concept of a co-culture system based on *Chaetomorpha* sp. 21st International seaweed symposium, Bali, Indonesia, 21-26 April 2013.
- Miyoshi T., Hamano K., **Aue-umneoy D.**, Songphatkaew J., Meeanan C., Klomkling S., Sukchai H., Ganmanee M., Maeno Y. and Tsutsui I. 2013. Development of a co-culture system of giant tiger prawn with a filamentous seaweed, *Chaetomorpha* sp. for small-scale shrimp farmer, II: Morphological, and molecular-sequencing analyses of *Chaetomorpha* sp. 21st International seaweed symposium, Bali, Indonesia, 21-26 April 2013.
- Tsutsui I., Miyoshi T., **Aue-umneoy D.**, Songphatkaew J., Meeanan C., Klomkling S., Sukchai H., Ganmanee M., Maeno Y. and Hamano K. 2013. Development of a co-culture system of giant tiger prawn with a filamentous seaweed, *Chaetomorpha* sp. for small-scale shrimp farmer, III: Euryhaline, eurythermal and high growth rate of *Chaetomorpha* sp. 21st International seaweed symposium, Bali, Indonesia, 21-26 April 2013.

- **Aue-umneoy D.**, Songphatkaew J., Meeanan C., Klomkling S., Sukchai H., Ganmanee M., Maeno Y., Miyoshi T., Hamano K. and Tsutsui I. 2013. Development of a co-culture system of giant tiger prawn with a filamentous seaweed, *Chaetomorpha* sp. for small-scale shrimp farmer, IV: Advantages of *Stenothyra* sp. 21 st International seaweed symposium, Bali, Indonesia, 21-26 April 2013.
- Songphatkaew J., Meeanan C., Klomkling S., Sukchai, H., **Aue-umneoy D.**, Ganmanee M., Maeno Y., Miyoshi T., Hamano K. and Tsutsui I. 2013. Development of a co-culture system of giant tiger prawn with a filamentous seaweed, *Chaetomorpha* sp. for small-scale shrimp farmer, V: Effect of *Chaetomorpha* sp. on shrimp color and free amino acid composition under co-culture system. 21st International seaweed symposium, Bali, Indonesia, 21-26 April 2013.
- Hamano K., **Aue-umneoy D.**, Songphatkaew J., Meeanan C., Klomkling S., Sukchai H., Ganmanee M., Maeno Y., Miyoshi T. and Tsutsui I. 2013. Development of a co-culture system of giant tiger prawn with a filamentous seaweed, *Chaetomorpha* sp. for small-scale shrimp farmer, VI: Effect of *Chaetomorpha* sp. on shrimp growth under co-culture system. 21 st International seaweed symposium, Bali, Indonesia, 21-26 April 2013.
- Yano Y., K. Hamano, M. Satomi, I. Tsutsui, M. Ban and **D. Aue-umneoy**. 2014. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio* species related to food safety isolated from shrimp cultured at inland ponds in Thailand. Food Control 38: 30-36.
- Hamano K., Miyoshi T., **Aue-umneoy D.**, P. Srisapoome., Maeno Y. and I. Tsutsui. 2015. Waterborne and cannibalism-mediated transmission of the Yellow head virus in *Penaeus monodon*. In Aquaculture 437: 161–166.
- Tsutsui I,. Miyoshi T., **Aue-umneoy D.**, Songphatkaew J., Meeanan C., Klomkling S., Sukchai H., Pinphoo P., Yamaguchi I., Ganmanee M., Maeno Y. and Hamano K. 2015. High tolerance of *Chaetomorph*a sp. to salinity and water temperature enables survival and growth in stagnant waters of central Thailand. In International Aquatic Research 7: 47–62.
- Yurimoto T., **Aue-umneoy D.**, Meeanan C., Tsutsui I. 2015. Bloom of the two dinoflagellates *Ceratium furca* and *Diplopsalis lenticula* in a mangrove estuary of Thailand. In International Aquatic Research 7(2): 133–141.
- Tsutsui I,. Miyoshi T., Sukchai H., Pinphoo P., **Aue-umneoy D.**, Meeanan C., Songphatkaew J., Klomkling S., Yamaguchi I., Ganmanee M., Sudo H. and Hamano K. 2015. Ecological and Morphological Profile of Floating Spherical

Cladophora socialis Aggregations in Central Thailand. In PLOS one: Published online 2015 Apr 21. DOI: 10.1371/journal.pone.0124997

- Tsutsui I., Songphatkaew J., Meeanan C., **Aue-umneoy D.**, Sukchai H., Pinphoo P., Klomkling S., Ganmanee M., Sudo H., and Hamano K. 2015. Co-culture with *Chaetomorpha* sp. enhanced growth performance and reduced feed conversion ratio of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. In International Aquatic Research: publish online May 2015 DOI: 10.1007/s40071-015-0103-0
- Yano Y., Hamano K., Tsutsui I., **Aue-umneoy D.**, Ban M., Satomi M. 2015. Occurrence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas* spp. in marine species of shrimps cultured at inland low salinity ponds. In Food Microbiology 47: 21-27

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวพรทิวา กัญยวงศ์หา

(ภาษาอังกฤษ) Miss Pornthiwa Kanyawongha

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3 4099 00845 86 3

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์และโทรสาร

วิชาเอกปฐพีวิทยา ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์ 087-503-7737 e-mail: kkpornth@gmail.com

5. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา (ตรี โท เอก) และประกาศนียบัตร	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2529	ตรี	วท.บ วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	ปฐพีวิทยา	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย
2532	โท	วท.ม วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	ปฐพีวิทยา	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย
2535	โท	M.Agr. Master of Agriculture	Tropical Agriculture	Kyoto University	Japan

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา

- การสำรวจข้อมูลระยะไกล
- การตีความภาพถ่ายทางอากาศ
- การวิเคราะห์ดินทางกายภาพ, เคมี และแร่วิทยา
- ธรณีสัณฐานวิทยา

7. งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว **: ชื่อเรื่อง ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และสถานภาพในการวิจัย**

ชื่อเรื่อง	ปีที่พิมพ์	สถานภาพในการทำวิจัย (แหล่งทุน)
- การกำเนิดและสมรรถนะความสมบูรณ์ของดินกรดจัดในบริเวณที่ราบลุ่มภาคกลางของประเทศไทย	2532	หัวหน้าโครงการ
- Landform and Soil Relationships of Northeast Thailand : A Case Study of Yasothon Province	1992	หัวหน้าโครงการ
- ความสัมพันธ์ระหว่างดินกับสภาพภูมิประเทศบริเวณตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย :-กรณีศึกษาแอ่ง	2542	หัวหน้าโครงการ (เงินงบประมาณ)

โคราช		
- อิทธิพลของวัตถุต้นกำเนิดดินและขนาดอนุภาคดินที่มีต่อการแจกกระจายของฟอสฟอรัสในดินกรดจัดของประเทศไทย	2543	ผู้ร่วมโครงการ (เงินงบประมาณ)
- การแจกกระจายของฟอสฟอรัสในหน้าตัดดินที่มีหินพื้นต่างกัน	2543	หัวหน้าโครงการ
- สมบัติและความอุดมสมบูรณ์ของดินบริเวณขอบแอ่งโคราชด้านตะวันออก	2547	หัวหน้าโครงการ (เงินงบประมาณ)
- ผลของพัฒนาการของดินต่อการแจกกระจายของฟอสฟอรัสในดิน.	2547	หัวหน้าโครงการ (เงินรายได้คณะฯ)
- การจัดการธาตุอาหารและการเพิ่มประสิทธิภาพของปุ๋ยในสวนทุเรียน	2547	ผู้ร่วมโครงการ (สกว.)
- การวิเคราะห์พืชเพื่อเป็นแนวทางการใส่ปุ๋ยในมังคุด	2548	ผู้ร่วมโครงการ (สกว.)
- การศึกษาปริมาณ รูปและการแจกกระจายของฟอสฟอรัสในดินด่างจัดเพื่อการผลิตพืช	2550	หัวหน้าโครงการ (เงินรายได้คณะฯ)
- สมบัติของหน้าตัดดินบนสัณฐานภูมิประเทศเนินลมพาทรายแผ่บริเวณลุ่มน้ำชีตอนล่าง	2551	หัวหน้าโครงการ (เงินงบประมาณ)
- ปริมาณธาตุอาหารในดิน ใบและผลผลิตมะม่วงจากแหล่งปลูกต่างๆ ในประเทศไทย	2552	ผู้ร่วมโครงการ (เงินงบประมาณ)
- การใช้ปุ๋ยแคลเซียมและโบรอนในการปรับปรุงคุณภาพมะม่วง	2553	หัวหน้าโครงการ (เงินงบประมาณ)
- การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการใช้แคลเซียมเพื่อปรับปรุงคุณภาพสละ	2554	หัวหน้าโครงการ (เงินงบประมาณ)

1. นารี พันธุ์จินดาวรรณ วรรณิศา พลัดบุญทอง พรทิวา กัญยวงศ์หา และสุมิตรา ภู่วโรดม. 2554. การเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงปริมาณธาตุอาหารในผลสะละ หน้า..... *ใน* การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 2 “การจัดการดินและปุ๋ยในสภาวะโลกร้อน” ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ วันที่ 11-13 พฤษภาคม 2554. (บรรยาย).
2. นุจรี บุญแปลง พรทิวา กัญยวงศ์หา และสุมิตรา ภู่วโรดม. 2549. อิทธิพลของปุ๋ย K และ N ต่อความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบมังคุด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 37 (6) (พิเศษ): 647-650. (โปสเตอร์แสดงในการประชุมพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 6 วันที่ 7-10 พฤศจิกายน 2549 เชียงไหม่).
3. นุจรี บุญแปลง นารี พันธุ์จินดาวรรณ และพรทิวา กัญยวงศ์หา. 2552. ปริมาณธาตุอาหารในดินและใบมะม่วงจากแหล่งปลูกต่างๆของประเทศไทย. น. 166-173. *ใน* การประชุมวิชาการดิน

และปุ๋ยแห่งชาติครั้งที่ 1 “ดินและปุ๋ยในภาวะวิกฤตอาหารและพลังงาน.” 23-24 เมษายน 2552. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน, นครปฐม.

4. นุจรี บุญแปลง นารี พันธุ์จินดาวรรณ และ พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2554. ธาตุอาหารในใบและผลมะม่วงจากแหล่งปลูกต่างๆ ในประเทศไทย หน้า... *ใน* การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 2 “การจัดการดินและปุ๋ยในสภาวะโลกร้อน” ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ วันที่ 11-13 พฤษภาคม 2554. (บรรยาย).
5. นุจรี บุญแปลง พรทิวา กัญยวงศ์หา และ อนงนาฏ ศรีประโชติ. 2559. สมบัติของดินและความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบยางพารา ปลูกบนดินที่เกิดจากหินบะซอลท์ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย *ใน* งานประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 15 “พืชสวนไทย ปลอดภัย มั่งคั่ง และยั่งยืน” 9-12 พฤศจิกายน 2559. โรงแรม ลี การ์เด้น พลาซ่า อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา (โปสเตอร์).
6. ปิยะพร นาคกล่ำ พรทิวา กัญยวงศ์หา อนงนาฏ ศรีประโชติ และ รัตนวลี ศักดิ์เทวิน. 2558. ความผันแปรเชิงพื้นที่ของแคดเมียม และจุลธาตุในดินนาปนเปื้อนแคดเมียมที่ได้รับน้ำจากลำห้วยแม่ตาวและลำรางชลประทานพื้นบ้าน หน้า 261-270 *ใน* การประชุมวิชาการดินและปุ๋ยแห่งชาติครั้งที่ 4 “ธรรมชาติของดินและความจริงของปุ๋ยเพื่อการเกษตรอย่างยั่งยืน” ณ โรงแรม เจบี หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 2-4 กรกฎาคม 2558.
7. พรทิวา กัญยวงศ์หา และณัฏฐิกา จอมเกาะ. 2542. อิทธิพลของปริมาณเซลล์ครีมในปุ๋ยอามิ อามิแอลใหม่ ต่อการเจริญเติบโตของพืช. น. 45-53. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการ 30 ปีเกษตรเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 24-25 มิถุนายน 2542. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
8. พรทิวา กัญยวงศ์หา และจุฑามาศ พิมพ์คงคา. 2542. การใช้ประโยชน์ Cell Cream เป็นปุ๋ยไนโตรเจนในการปลูกผัก. น. 54-63. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการ 30 ปีเกษตรเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 24-25 มิถุนายน 2542. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
9. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2542. การใช้ภาพถ่ายทางอากาศศึกษาการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินบริเวณฝั่งตะวันตกของกรุงเทพมหานคร. น. 84-96. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการ 30 ปี เกษตรเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 24-25 มิถุนายน 2542. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
10. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2543. การแจกกระจายของฟอสฟอรัสในหน้าตัดดินที่มีหินพื้นต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 18(3): 10-20.
11. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2544. สมบัติของดินปลูกข้าวบริเวณลุ่มน้ำชีตอนล่าง: I. สัณฐานวิทยาสนามและการแจกกระจายของขนาดอนุภาคดิน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 19(1): 33-45.
12. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2544. สมบัติของดินปลูกข้าวบริเวณลุ่มน้ำชีตอนล่าง: II. การแจกกระจายของขนาดอนุภาคดินและการจัดกลุ่มวัสดุดิน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 19(1): 46-58.
13. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2544. สมบัติของดินปลูกข้าวบริเวณลุ่มน้ำชีตอนล่าง: III. องค์ประกอบของแร่ดินเหนียว. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 19(1): 59-69.
14. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2544. สมบัติของดินปลูกข้าวบริเวณลุ่มน้ำชีตอนล่าง: IV. สมบัติทางเคมี. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 19(1): 70-80.

15. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2544. การประยุกต์ใช้รูปถ่ายทางอากาศเพื่อการเกษตร. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 19(1): 90-98.
16. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2548. บทบาทของตำแหน่งบนภูมิภาพที่มีต่อสมบัติของดิน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23(2): 72-85.
17. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2548. ลักษณะของดินไร่บนธรณีสัณฐานภูเขาไฟในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23(3): 68-82.
18. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2549. สมบัติของหน้าตัดดินที่เกิดจากการผุพังอยู่กับที่ในจังหวัดจันทบุรี ภาคชายฝั่งทะเลตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศไทย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(1): 20-35.
19. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2549. ความผันแปรขนาดปานกลางของดินบริเวณบ้านอุ่มเม่า อำเภอเกษตรวิสัย จังหวัดร้อยเอ็ด. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 24(2): 1-13.
20. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2549. ผลของพัฒนาการของหน้าตัดดินที่มีต่อการแจกกระจายของฟอสฟอรัสในดิน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(3): 15-31.
21. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2550. การแจกกระจายของฟอสฟอรัสในหน้าตัดดินที่เกิดจากการผุพังอยู่กับที่ของหินพื้นในจังหวัดจันทบุรีภาคชายฝั่งทะเลตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศไทย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 25(2): 30-43.
22. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2554. การแจกกระจายของฟอสฟอรัสในดินด่างบริเวณภาคตะวันตกของประเทศไทย หน้า 630-640 *ใน* การประชุมวิชาการดินและปุ๋ยแห่งชาติ ครั้งที่ 2 “การจัดการดินและปุ๋ยในสภาวะโลกร้อน” ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ วันที่ 11-13 พฤษภาคม 2554. (โปสเตอร์).
23. พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2556. ลักษณะของดินยกร่องปลูกปาล์มน้ำมันบนดินกรดจัดจังหวัดสระบุรี หน้า 372-379 *ใน* การประชุมวิชาการดินและปุ๋ยแห่งชาติ ครั้งที่ 3 “วิกฤตของดินและการเกษตรในโลกที่เปลี่ยนแปลง” วันที่ 25-27 เมษายน 2556 ณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (โปสเตอร์).
24. พรทิวา กัญยวงศ์หา และณัฏฐา แสงแก้ว. 2549. สภาวะความอุดมสมบูรณ์ของดินปลูกยางพาราในจังหวัดระยอง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 37 (6) (พิเศษ) : 573-576. (โปสเตอร์แสดงในการประชุมพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 6 วันที่ 7-10 พฤศจิกายน 2549 เชียงใหม่).
25. พรทิวา กัญยวงศ์หา และนารี พันธุ์จินดาวรรณ. 2546. สมบัติและความอุดมสมบูรณ์ของดินบริเวณขอบแอ่งโคราชด้านตะวันออก. น. 40-41. *ใน* บทคัดย่อผลงานวิจัยพระจอมเกล้าลาดกระบังครั้งที่ 1. วันที่ 25 สิงหาคม 2546. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
26. พรทิวา กัญยวงศ์หา และนารี พันธุ์จินดาวรรณ. 2552. องค์ประกอบของแร่ดินเหนียวในดินบริเวณภูเขาล้อมรอบของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. น. 554-563. *ใน* การประชุมวิชาการดินและปุ๋ยแห่งชาติครั้งที่ 1 “ดินและปุ๋ยในภาวะวิกฤตอาหารและพลังงาน.” 23-24 เมษายน 2552. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน, นครปฐม. (โปสเตอร์).
27. พรทิวา กัญยวงศ์หา นารี พันธุ์จินดาวรรณ และ อนงนาฏ ศรีประโชติ. 2559. สถานะของธาตุอาหารพืชในดินปลูกไม้ผล จังหวัดจันทบุรี *ใน* งานประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 15

“พืชสวนไทย ปลอดภัย มั่งคั่ง และยั่งยืน” 9-12 พฤศจิกายน 2559. โรงแรม ลี การ์เด้น พลาซ่า อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา (โปสเตอร์).

28. พรทิวา กัญยวงศ์หา และนุจรี บุญแปลง. 2552. แร่ดินเหนียวในดินภาคตะวันออกเฉียงเหนือ : จากเทือกเขาภูพานถึงแม่น้ำชี. น. 564-573. *ใน* การประชุมวิชาการดินและปุ๋ยแห่งชาติครั้งที่ 1 “ดินและปุ๋ยในภาวะวิกฤตอาหารและพลังงาน”. 23-24 เมษายน 2552. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน, นครปฐม. (โปสเตอร์).
29. พรทิวา กัญยวงศ์หา นุสบา ทองเนียม อนงนาฏ ศรีประโชติ และนุจรี บุญแปลง. 2559. สมบัติของดินและความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบลิ้นจี่ ปลูกบนดินยกร่อง เขตจอมทอง กรุงเทพมหานคร. *ใน* การประชุมวิชาการระดับชาติ ประจำปี 2559 (ครั้งที่ 1) “ด้านสารสนเทศ การเกษตร การจัดการ บริหารธุรกิจ วิศวกรรมศาสตร์ วิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี (IAMBEST)” 19-21 พฤษภาคม 2559 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์, ชุมพร (โปสเตอร์)”
30. พรทิวา กัญยวงศ์หา และสุมิตรา ภู่วโรดม. 2548. สมบัติดินปลูกทุเรียนของเกษตรกรในภาคตะวันออกของประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร: 36 [5-6 (พิเศษ)]: 429-432. (โปสเตอร์แสดงในการประชุมพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 วันที่ 26-29 เมษายน 2548 ชลบุรี).
31. พรทิวา กัญยวงศ์หา และอนงนาฏ ศรีประโชติ. 2556. สมบัติของหน้าตัดดินที่มีศิลาแลงในเขตภูมิอากาศมรสุมเขตร้อนของประเทศไทย. แก่นเกษตร ฉบับพิเศษ (2) 2556: 155-164.
32. พรทิวา กัญยวงศ์หา และอนงนาฏ ศรีประโชติ. 2558. ความเป็นไปได้ในการใช้สมบัติพื้นฐานของดินเพื่อทำนายความรุนแรงของกระบวนการสร้างดินเหนียวสีแดงของประเทศไทย หน้า 283-296 *ใน* การประชุมวิชาการดินและปุ๋ยแห่งชาติครั้งที่ 4 “ธรรมชาติของดินและความจริงของปุ๋ยเพื่อการเกษตรอย่างยั่งยืน” ณ โรงแรม เจบี หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 2-4 กรกฎาคม 2558.
33. สุมิตรา ภู่วโรดม พรทิวา กัญยวงศ์หา และนุจรี บุญแปลง. 2547. การกำหนดค่ามาตรฐานธาตุอาหารในใบสำหรับมังคุด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร: 35 (3-4): 87-95.
34. อนงนาฏ ศรีประโชติ พรภัสสร ศุขะพันธุ์ ปิยธิดา ชัยดำรงโรจน์ นุจรี บุญแปลง และ พรทิวา กัญยวงศ์หา. 2559. ความผันแปรของสมบัติดินและธาตุอาหารมหัพภาค (ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม) ในใบกาแฟปลูกบนพื้นที่ขนาดเล็ก: กรณีศึกษาอำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย. ไทย *ใน* งานประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 15 “พืชสวนไทย ปลอดภัย มั่งคั่ง และยั่งยืน” 9-12 พฤศจิกายน 2559. โรงแรม ลี การ์เด้น พลาซ่า อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา (โปสเตอร์).
35. Kanyawongha, P. 2007. Relationship between Landuse and Sandy Soils in the Khorat Basin, Northeast Thailand, pp 451-455. *In* Proceedings of the International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development “ Biological Diversity, Food and Agricultural Technology” 26-27 April, 2007. Fac. of Agri. Tech., KMITL, Bangkok, Thailand.
36. Kanyawongha, P. 2007. Properties of Soils in the Encircle Area-the Relative Closed System of the Khorat Basin, Northeast Thailand, pp 344-347. *In* International Conference on Engineering, Applied Science and Technology, November 21-23, 2007. The Swissotel Le Concorde, Bangkok, Thailand.

37. Kanyawongha, P. 2007. Properties of Soils on the Open System of the Khorat Basin, Northeast Thailand, pp 717-720. *In* International Conference on Engineering, Applied Science and Technology, November 21-23, 2007. The Swissotel Le Concorde, Bangkok, Thailand.
38. Kanyawongha, P. 2010. Distribution of Micronutrient Cations (Fe, Mn, Cu and Zn) in Sandy Paddy Soils of the Khorat Basin, Northeast Thailand 5 p. *In* The International Conference on Sustainable Community Development (CSCD 2010) January 2010, Khon Kaen University, Nong Kai Campus. Nong Kai.
39. Kanyawongha, P. and A. Sriprachote. 2007. Fertility of Sµg/larcane-growing Soils in Western Thailand. pp 361-365. *In* Proceedings of the International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development "Biological Diversity, Food and Agricultural Technology" 26-27 April, 2007. Fac. of Agri. Tech., KMITL, Bangkok, Thailand.
40. Kanyawongha, P. and A. Sriprachote. 2007. Characterization of *In situ* Weathering Soils in the Khorat Plateau, Northeast Thailand, pp 340-343. *In* International Conference on Engineering, Applied Science and Technology, November 21-23, 2007. The Swissotel Le Concorde, Bangkok, Thailand.
41. Kanyawongha, P. and A. Sriprachote. 2013: Properties of raised-bed oil palm-growing soils on acid sulfate soils of Thailand: A case study on 3 to 6 years oil palm orchards. *Acad. Sci. J.* 2: 301 – 310.
42. Kanyawongha, P. and A. Sriprachote. 2013. Hillslope soils of Khao Yai area, Nakhon Ratchasima Province, Thailand. *59th The Annual Meetings, Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition (2013)*, September 11-13, 2013, Nagoya, JAPAN (Oral)
43. Kanyawongha, P. and A. Sriprachote. 2014. Hillslope soils of Khao Yai area, Nakhorn Ratchasima Province, Northeast Thailand. *The 20th World Congress of Soil Science (2014)*, June 8-13, 2014, Jeju, KOREA (Poster)
44. Kanyawongha, P. and A. Sriprachote. 2015. Sand-size Distribution of Soils on the so-called Aeolian Sand Splay Landform in the Lower Mun-Chi Basin, Northeast Thailand, pp 277-280. *In* The 2nd International Symposium on Agricultural Technology :Global Agriculture Trends for Sustainability" 1-3 July, 2015. A-One The Royal Cruise Hotel. Pattaya, Thailand. (Poster).
45. Kanyawongha, P and Kanyawongha, P. and A. Sriprachote. 2015. Comparison of Soils on the so-called Aeolian Sand Splay Landform and the River-Influenced Landform : A Case Study on the Lower Mun-Chi Basin, Northeast Thailand. In International Soil Conference : Sustainable Uses of Soils in Harmony with Food Security On the Auspious Occasion for Celebration of the International Year of

Soils 2015. 18-21 Aµg/lust 2015. The Regent Cha Am Beach Resort, Phetchaburi, Thailand. (Poster).

46. Kanyawongha, P., N. Boonplang and A. Sriprachote. 2015. Parent Material Affecting Phosphorus Distributions in Acid Sulfate Soils of Thailand, pp 281-284. *In* The 2nd International Symposium on Agricultural Technology : Global Agriculture Trends for Sustainability" 1-3 July, 2015. A-One The Royal Cruise Hotel. Pattaya, Thailand. (Poster).
47. Kanyawongha, P., A. Sriprachote and N. Boonplang. 2015. Soil Properties and Nutrient Concentrations of Oil Palm Leaf Collected from Small Orchards on Central Plain of Thailand. In International Symposium on Biological Engineering and Natural Sciences. July 19-21, 2016. Hokkaido, Japan. (Poster).
48. Kanyawongha, P. and N. Phanchindawan. 2007. Evaluation of Cassava-growing Soils in Rayong Province. Pp 388-392. *In* Proceedings of the International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development " Biological Diversity, Food and Agricultural Technology" 26-27 April, 2007. Fac. of Agri. Tech., KMITL, Bangkok, Thailand. (Poster).
49. Phanchindawan, N and P Kanyawongha. 2012. Effects of Calcium and Boron Application on Salak Quality and Nutrient Concentrations. *In* The VII International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Crops. 19-25 May. 2012. Chantaburi, Thailand. (Poster).
50. Poovarodom, S., P. Kanyawongha, P. Lertrat and N. Boonplang. 2002. Leaf Age and Position on Mineral Composition of Mangosteen Leaves. Transaction of the 17th World Congress of Soil Science, 14-21 Aµg/lust 2002, Bangkok, Thailand. (Poster).
51. Sriprachote, A., K. Manantapong, P. Kanyawongha, K. Ochiai, and T. Matoh. 2014: Variation in iron and zinc minerals of a promising low-grain cadmium (*Oryza sativa* L.) cultivars. *The 20th World Congress of Soil Science (2014)*, June 8-13, 2014, Jeju, KOREA (Poster).
52. Sriprachote, A., S. Pengprecha, P. Pengprecha, P. Kanyawongha, K. Ochiai, and T Matoh. 2013. Assessment of cadmium and zinc contamination in the soil around Pha Te village, Mae Sot District, Tak Province, Thailand. *App. Environ. Res.*, 36, 67-79.
53. Sriprachote, A., P. Kanyawongha, K. Ochiai, and T. Matoh. 2013. Influence of soil properties and cadmium concentration on cadmium accumulation level in rice grains. *59th The Annual Meetings, Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition (2013)*, September 11-13, 2013, Nagoya, JAPAN (Oral).

54. Sriprachote, A., P. Kanyawongha, G. Pantuwan, K. Ochiai, and T. Matoh. 2012. Evaluation of Thai rice cultivars with low-grain cadmium. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 58, 568-572.

55. Sriprachote, A., P. Kanyawongha, K. Ochiai, and T. Matoh. 2012. Current situation of cadmium pollute paddy soil, rice and soybean in the Mae Sot District, Tak Province, Thailand. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 58, 349-359.

56. Sriprachote, A., P. Kanyawongha, G. Pantuwan, K. Ochiai, and T. Matoh. 2012. Promising of Thai rice cultivars with low-grain cadmium. *58th The Annual Meetings, Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition (2012)* , September 4-6, 2012, Tottori, JAPAN (Oral)

57. Sriprachote, A., P. Kanyawongha, M. Keisuke, K. Ochiai, and T. Matoh. 2011. Variation in grain Cd among traditional Thai rice cultivars. *57th The Annual Meetings, Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition (2011),* Aμg/lust 8-10, 2011, Tsukuba, JAPAN (Poster)

58. Sriprachote, A., P. Kanyawongha, K. Ochiai, and T. Matoh. 2012. Cadmium levels in the grains of rice and soybean under Cd contaminated field in Mae Sot District, Tak Province, Thailand. 56th *The Annual Meetings, Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition (2010),* September 7-9, 2010, Hokkaido, JAPAN (Oral)