# การคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่เก็บมาจากแหล่งน้ำในจังหวัดกรุงเทพฯ

# ISOLATION OF ALGAE AND CYANOBACTERIA FROM WATER RESOURCE IN BANGKOK

วรัญญา ชำนาญศิลป์
ศุภกร ซื่อดี

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

# การคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่เก็บมาจากแหล่งน้ำในจังหวัดกรุงเทพฯ

# ISOLATION OF ALGAE AND CYANOBACTERIA FROM WATER RESOURCE IN BANGKOK

วรัญญา ชำนาญศิลป์
ศุภกร ซื่อดี

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

# ISOLATION OF ALGAE AND CYANOBACTERIA FROM WATER RESOURCE IN BANGKOK

WARANYA CHAMNANSIL
SUPHAKORN SUEDEE

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2017

| | | |
|---|---|---|
| **หัวข้อสัมนา** | การคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่เก็บมาจากแหล่งน้ำในจังหวัดกรุงเทพฯ<br>Isolation of algae and cyanobacteria from water resource in Bangkok | |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาววรัญญา ชำนาญศิลป์ | รหัสนักศึกษา 57050757 |
| | นางสาวศุภกร ซื่อดี | รหัสนักศึกษา 57050767 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) | |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา | |
| **คณะ** | วิทยาศาสตร์ | |
| **มหาวิทยาลัย** | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) | |
| **ปีการศึกษา** | 2560 | |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม | |

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2560

| คณะกรรมการสอบ | ลายมือชื่อ |
|---|---|
| ผศ.วีนา ชูโชติ<br>ประธานกรรมการ | |
| ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์<br>กรรมการ | |
| ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม<br>กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา | |

ลิขสิทธิ์คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

| | |
|---|---|
| **หัวโครงงานพิเศษ** | การคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่เก็บมาจากแหล่งน้ำในจังหวัดกรุงเทพฯ |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาววรัญญา ชำนาญศิลป์ รหัสนักศึกษา 57050757<br>นางสาวศุภกร ซื่อดี รหัสนักศึกษา 57050767 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา |
| **คณะ** | วิทยาศาสตร์ |
| **มหาวิทยาลัย** | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) |
| **ปีการศึกษา** | 2560 |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม |


## บทคัดย่อ


เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นจึงมีทรัพยากรธรรมชาติที่สมบูรณ์ และมีแหล่งน้ำธรรมชาติที่อุดมไปด้วยสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กจำนวนมากมาย ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกสายพันธุ์ของสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียจากแหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศไทย โดยเฉพาะแหล่งน้ำในเขตจังหวัดกรุงเทพฯ จำนวน 4 แหล่ง ได้แก่ สวนพระนคร เขตลาดกระบัง, แขวงการทางสมุทรปราการ, คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และสวนหลวง ร.9 เขตประเวศด้วยเทคนิค streak plate และศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์ในระดับห้องปฏิบัติการ จากผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบสาหร่าย 2 สกุลและไซยาโนแบคทีเรีย 1 สกุล (*Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp, และ *Oscillatoria* sp. ตามลำดับ) รวมทั้งสิ้น 8 สายพันธุ์จาก 3 สกุล จากนั้นทำการเลี้ยงสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียเป็นระยะเวลา 30 วัน ด้วยอาหารสูตร BG11 และทำการศึกษาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ คลอโรฟิลด์เอ คลอโรฟิลด์บี และแคโรทีนอยด์ ด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่า *Scenedesmus* sp. มีค่าการผลิตคลอโรฟิลด์เอสูงสุด (35.344 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และ *Chlorella* sp. มีค่าการผลิตคลอโรฟิลด์บีสูงสุด (66.968 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ลำดับสุดท้ายคือ *Scenedesmus* sp. และ *Chlorella* sp. มีค่าการผลิตแคโรทีนอยด์ที่สูงที่สุด (122.394 มิลลิกรัม/ลิตร)



คำสำคัญ: สาหร่าย, ไซยาโนแบคทีเรีย, เทคนิค streak plate, *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., *Oscillatoria* sp., คลอโรฟิลด์เอ, คลอโรฟิลด์บี, แคโรทีนอยด์

| | |
|---|---|
| **Title** | Isolation of algae and cyanobacteria from water resource in Bangkok |
| **Students** | Miss Waranya Chamnansil Student ID 57050757 |
| | Miss Suphakorn Suedee Student ID 57050767 |
| **Degree** | Bachelor of Science (Biotechnology) |
| **Department** | Biology |
| **Faculty** | Science |
| **University** | King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL) |
| **Academic Year** | 2017 |
| **Advisor** | Asst.Prof.Dr.Duankamon Ruen-ngam |


## Abstract


Thailand is a tropical country. It has many complete natural water resources which is rich of micro organisms. This study has objective to isolate the strains of algae and cyanobacteria from natural water sources of Thailand, especially in Bangkok. There are 4 places to be discovered; Phranakorn Park in Ladkrabang zone, Department of highways, Ministry of transport highway Samut Prakan Province, Faculty of agricultural technology at King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang and Suan Luang Rama 9 at Pravet Technical, Prakhanong distrinct. This research used streak plate technique and studied on the characteristics of growth of purified algae and cyanobacteria in the laboratory scale. The results showed from the water that there are 2 genuses of algae and 1 genuses of cyanobacteria were isolated (*Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp and *Oscillatoria* sp. Respectively) They totally have 8 strains from totally 3 genuses. After that the algae was cultivated with BG11 medium for 30 days and studied the amount of bioactive substance; Chlorophyll A, Chlorophyll B and carotenoids in the algae by light absorption. The result showed that *Scenedesmus* sp. could produce the highest amount of Chlorophyll A at 35.344 µg/ml, Chlorella sp. could produce the highest amount of Chlorophyll B at 66.968 µg/ml. Finally, *Scenedesmus* sp. and *Chlorella* sp. could produce the highest carotenoids at 122,394 mg/L.



**Keywords** : algae, cyanobacteria, streak plate technique, *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp.,*Oscillatoria* sp., chlorophyll A, cholorophyll B, carotene

# กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีต้องขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ที่ปรึกษาที่คอยอบรมและให้คำแนะนำตลอดจนให้ความช่วยเหลือทั้งในด้านการปฏิบัติ และในส่วนของการแปลงานวิจัย พร้อมยังตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ กลุ่มผู้จัดทำจึงขอขอบพระคุณ มา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) สำหรับคำแนะนำสำหรับการแปลงานวิจัยในระหว่างการทำโครงงานพิเศษเล่มนี้

ขอขอบพระคุณห้องคอมพิวเตอร์ตึกจุฬาภรณ์ 2 และหอสมุดของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) ซึ่งเป็นที่สำหรับการค้นคว้า ค้นหาข้อมูลเกี่ยวกับโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติ และเจ้าหน้าที่ห้องธุรการประจำชั้นที่ 4 ของตึกพระจอมเกล้าฯ ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก ทั้งในเรื่องการเบิกและคำแนะนำสำหรับการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือ

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ สำหรับการสนับสนุนในทุกๆด้าน ทั้งการให้กำลังใจ กำลังทรัพย์ รวมถึงการดูแล ปลูกฝัง ให้มีความตั้งใจและความพยายามในการศึกษา จนกระทั่งทำโครงงานพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ไปด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่คอยให้คำปรึกษาและคำแนะนำในระหว่างการแปลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโครงงานพิเศษฉบับนี้จนทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ไปด้วยดี หากโครงงานพิเศษฉบับนี้มีสิ่งหนึ่งสิ่งใดผิดพลาดไปก็ขออภัยมา ณ ที่นี้

วรัญญา ชำนาญศิลป์
ศุภกร ชื่อดี

# สารบัญ

หน้า

**บทคัดย่อภาษาไทย** ..... ก
**บทคัดย่อภาษาอังกฤษ** ..... ข
**กิตติกรรมประกาศ** ..... ค
**สารบัญ** ..... ง
**สารบัญตาราง** ..... ฌ
**สารบัญรูป** ..... ญ
**บทที่ 1 บทนำ** ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ ..... 1
1.2 วัตถุประสงค์ ..... 2
1.3 ขอบเขต ..... 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ..... 2
**บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** ..... 3
2.1 สาหร่าย (algae) ..... 3
2.2 แหล่งที่พบสาหร่าย ..... 3
2.2.1 สาหร่ายที่เจริญภายใต้สภาพแวดล้อมที่เป็นอากาศ ..... 3
2.2.2 สาหร่ายที่เจริญอยู่ในน้ำ (Aquatic algae) ..... 4
2.2.3 สาหร่ายที่เจริญในสภาพผิดปกติ (Unusual Habitat Algae) ..... 6
2.3 การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย ..... 6
2.4 หลักเกณฑ์ในการจัดสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่ ..... 7
2.4.1 รงควัตถุ (pigment) ..... 7
2.4.2 อาหารสะสม (storage productions) ..... 7
2.4.3 องค์ประกอบของผนังเซลล์ ..... 8
2.4.4 จำนวนและตำแหน่งของแฟลเจลลัม ..... 8
2.4.5 ขนาด (size) ..... 9
2.4.6 รูปร่าง (shape) ..... 9
2.5 ความสำคัญของสาหร่าย ..... 11
2.5.1 ด้านระบบนิเวศแหล่งน้ำ ..... 11
2.5.2 ด้านอาหาร ..... 11
2.5.3 ด้านอุตสาหกรรม ..... 12

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5.4 ด้านเกษตรกรรม ..... 12
2.5.5 ด้านการแพทย์ ..... 12
2.5.6 ด้านการบำบัดน้ำเสีย ..... 12
2.5.7 ด้านการใช้เป็นสิ่งมีชีวิตติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำ ..... 12
2.5.8 ด้านการผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อวงการอุตสาหกรรมหลายชนิด ..... 12
2.6 การเก็บรักษาสาหร่าย ..... 12
2.7 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย ..... 13
2.8 ลักษณะของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหาร ..... 13
2.8.1 Unialgal culture ..... 13
2.8.2 Axenic culture ..... 13
2.8.3 Monoxenic culture ..... 13
2.8.4 Pure culture ..... 13
2.8.5 Stock culture ..... 13
2.9 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ ..... 13
2.9.1 ระยะการเจริญของสาหร่าย ..... 13
2.9.2 การวัดการเจริญและชีวมวลของสาหร่าย ..... 14
2.10 การเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ..... 15
2.11 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการดูดซึมธาตุอาหารของสาหร่าย ..... 15
2.11.1 ปัจจัยทางกายภาพ ..... 15
2.11.2 ปัจจัยทางเคมี ..... 15
2.11.3 ปัจจัยทางชีวภาพ ..... 16
2.12 สูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย ..... 16
2.12.1 Allen's blue-green medium (modifield) ..... 16
2.12.2 สูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายของชูเบอร์ 10
(Chu. No. 10 Medium) ..... 16
2.12.3 สูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหรายแตละสกุล ..... 16
2.13 วิธีการคัดแยกเชื้อสาหร่าย (Isolation method) ..... 17
2.13.1 Enrichment method ..... 17
2.13.2 Manipulative method ..... 17
2.13.3 Antibiotic method ..... 17

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.14 เทคนิคคัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย ..... 17
2.14.1 วิธีปั่นให้ตกตะกอน (Centrifugation Method) ..... 17
2.14.2 วิธีการแยกบนอาหารวุ้นในจานเพาะเชื้อ (Streak plate Method) ..... 17
2.14.3 วิธี Pick up (Pick up method) ..... 19
2.14.4 วิธี Stab-agar (Stab-agar Method) ..... 19
2.15 การเพิ่มจำนวนสาหร่าย ..... 19
2.16 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่าย ..... 20
2.16.1 ผลของความเครียดที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิตต่อการผลิตลูทีนและ β-carotene โดย *Chlamydomonas acidophila* ..... 20
2.16.2 β, ε-แคโรทีนอยด์ ลูทีนเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการก่อตัวของโอลิโกเมอร์ริค ซึ่งรูปแบบของการเก็บเกี่ยวแสงที่ซับซ้อนในสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus obliquus* ..... 20
2.16.3 ความเครียดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสังกะสีใน *Chlorella* ..... 20
2.16.4 ลักษณะและการเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิต exopolysaccharide จาก *Chlamydomonas reinhardtii* ..... 21
2.16.5 ผลกระทบระดับของแสงและความเค็มต่อองค์ประกอบและการสะสมของคาโรทีนอยด์ชนิดอิสระและเอสเทอร์ในสาหร่ายทะเล *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) ..... 21
2.17 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการแยกและการวิเคราะห์สายพันธุ์สาหร่าย ..... 22
2.17.1 การผลิตแคโรทีนอยด์ที่สูงขึ้นโดยการแยกแบบใหม่ ..... 22
2.17.2 ความคืบหน้าของการแยกสายพันธุ์และการตัดต่อพันธุกรรมทางวิศวกรรมของสาหร่ายเพื่อการผลิตเชื้อเพลิงทางชีวภาพและสารเคมีอื่นๆ ที่มีมูลค่าเพิ่ม ..... 22
2.17.3 การแยกสายพันธุ์สาหร่ายป่าที่ผลิตไฮโดรเจนปริมาณสูงจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ..... 23
2.17.4 การแยก การระบุ และค่าการเจริญเติบโตที่เหมาะสมของสาหร่ายที่มีแหล่งกำเนิดมาจากปะการังอ่อน *D. endronephthya* sp. ..... 24

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

**บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย** ..... 25
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี ..... 25
3.2 แผนผังการทดลอง ..... 26
3.3 การเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำ ..... 27
3.4 วิธีการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่าย ..... 31
3.4.1 การเตรียมอาหารเหลว ..... 31
3.4.2 การเตรียมอาหารแข็ง ..... 31
3.5 วิธีการแยกสาหร่ายด้วย Pour plate technique ..... 32
3.6 การทำให้สาหร่ายบริสุทธิ์ด้วย Streak plate technique ..... 32
3.7 การตรวจลักษณะของสาหร่าย ..... 33
3.8 การตรวจวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย ..... 33
3.8.1 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง ..... 33
3.8.2 การนับจำนวนเซลล์โดยสไลด์ Haemacytometer ..... 33
3.8.3 การวัดความหนาแน่นโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง ..... 34
3.8.4 การหาอัตราการเจริญจำเพาะ ..... 34
3.9 การหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี ..... 34
3.10 การหาปริมาณแคโรทีนอยด์ ..... 34
3.11 การขยายจำนวนเซลล์สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย ..... 34
3.12 การเก็บรักษาสาหร่ายสด ..... 35
**บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล** ..... 36
4.1 ลักษณะของสาหร่ายที่พบ ..... 36
4.1.1 สาหร่ายรหัส BN1 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* ..... 36
4.1.2 สาหร่ายรหัส BN 2 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* ..... 37
4.1.3 สาหร่ายรหัส SP เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* ..... 39
4.1.4 สาหร่ายรหัส SR-3 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* ..... 39
4.1.5 สาหร่ายรหัส SR-4 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* ..... 40
4.1.6 สาหร่ายรหัส SK เป็นสาหร่ายสกุล *Scenedesmus* ..... 41
4.1.7 สาหร่ายรหัส SR-5 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* ..... 41
4.1.8 สาหร่ายรหัส SR-7 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* ..... 42
4.2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย ..... 43

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า


4.2.1 สาหร่ายรหัส BN1 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* ..... 43
4.2.2 สาหร่ายรหัส BN 2 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* ..... 47
4.2.3 สาหร่ายรหัส SP เป็นสาหร่ายสกุล Chlorella ..... 51
4.2.4 สาหร่ายรหัส SR-3 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* ..... 55
4.2.5 สาหร่ายรหัส SR-4 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* ..... 58
4.2.6 สาหร่ายรหัส SK เป็นสาหร่ายสกุล *Scenedesmus* ..... 62
4.2.7 สาหร่ายรหัส SR-5 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* ..... 66
4.2.8 สาหร่ายรหัส SR-7 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* ..... 68
4.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี ..... 70
4.3.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส BN1 ..... 70
4.3.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส BN2 ..... 72
4.3.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SP ..... 74
4.3.4 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SR-3 ..... 76
4.3.5 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SR-4 ..... 78
4.3.6 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SK ..... 81
4.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ ..... 83
4.4.1 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส BN1 ..... 83
4.4.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส BN2 ..... 85
4.4.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SP ..... 86
4.4.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SR-3 ..... 88
4.4.5 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SR-4 ..... 89
4.4.6 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SK ..... 91
**บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ** ..... 94
5.1 สรุปผลการวิจัย ..... 94
5.2 ข้อเสนอแนะ ..... 95
เอกสารอ้างอิง ..... 96

# สารบัญตาราง

**ตารางที่** **หน้า**

4.1 สกุลของสาหร่ายรหัสต่างๆ ..... 36
4.2 แสดงค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส BN1 ในระยะเวลา 30 วัน ..... 44
4.3 แสดงค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส BN2 ในระยะเวลา 30 วัน ..... 48
4.4 แสดงค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SP ในระยะเวลา 30 วัน ..... 52
4.5 แสดงค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-3 ในระยะเวลา 30 วัน ..... 55
4.6 แสดงค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-4 ในระยะเวลา 30 วัน ..... 59
4.7 แสดงค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SK ในระยะเวลา 30 วัน ..... 63
4.8 แสดงค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-5 ในระยะเวลา 30 วัน ..... 66
4.9 แสดงค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-7 ในระยะเวลา 30 วัน ..... 69
4.10 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส BN1 ..... 71
4.11 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส BN2 ..... 73
4.12 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SP ..... 75
4.13 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SR-3 ..... 77
4.14 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SR-4 ..... 79
4.15 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SK ..... 81
4.16 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส BN1 ..... 84
4.17 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส BN2 ..... 85
4.18 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SP ..... 87
4.19 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SR-3 ..... 88
4.20 ปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่ายรหัส SR-4 ..... 90
4.21 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SK ..... 92
5.1 สกุล, การเจริญเติบโต, ปริมาณคลอโรฟิลล์เอบีและปริมาณแคโรทีนอยด์ของ
สาหร่ายรหัสต่างๆ ..... 94

# สารบัญรูป

**รูปที่** **หน้า**

2.1 กราฟแสดงระยะการเจริญของเซลล์ ..... 14
2.2 ลักษณะการลากเส้นบนอาหารวุ้น ..... 18
2.3 ขั้นตอนการแยกเชื้อบนอาหารวุ้น ..... 19
3.1 สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส BN1 ..... 27
3.2 สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส BN2 ..... 28
3.3 สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SK ..... 28
3.4 สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SP ..... 29
3.5 สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SR-3 ..... 29
3.6 สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SR-4 ..... 30
3.7 สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SR-5 ..... 30
3.8 สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SR-7 ..... 31
3.9 สาหร่ายที่ทำการ Pour plate แล้ว ..... 32
3.10 สาหร่ายที่ทำการ Streak plat แล้ว ..... 32
3.11 การขยายจำนวนสาหร่ายในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ..... 35
3.12 การเก็บรักษาสาหร่ายสด ..... 35
4.1 สาหร่ายรหัส BN1 เป็นสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* ..... 37
4.2 สาหร่ายรหัส BN 2 เป็นสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* ..... 38
4.3 สาหร่ายรหัส SP เป็นสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* ..... 39
4.4 สาหร่ายรหัส SK เป็นสาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus* ..... 40
4.5 สาหร่ายรหัส SR-3 เป็นสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* ..... 40
4.6 สาหร่ายรหัส SR-4 เป็นสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* ..... 41
4.7 สาหร่ายรหัส SR-5 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Oscillatoria* ..... 42
4.8 สาหร่ายรหัส SR-7 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Oscillatoria* ..... 43
4.9 แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส BN1 ..... 45
4.10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN1 ..... 45
4.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับเวลาของสาหร่าย BN1 ..... 46
4.12 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส BN1 ..... 46
4.13 การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายBN1 ..... 47

# สารบัญรูป (ต่อ)

**รูปที่** **หน้า**

4.14 แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส BN2 ..... 49
4.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN2 ..... 49
4.16 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส BN2 ..... 50
4.17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับ
เวลาของสาหร่าย BN2 ..... 50
4.18 การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายBN2 ..... 51
4.19 แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SP ..... 53
4.20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SP ..... 53
4.21 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร
กับเวลาของสาหร่าย SP ..... 54
4.22 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SP ..... 54
4.23 การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายSP ..... 55
4.24 แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SK ..... 56
4.25 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SK ..... 57
4.26 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับ
เวลาของสาหร่าย SK ..... 57
4.27 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SK ..... 58
4.28 การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SK ..... 58
4.29 แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-3 ..... 60
4.30ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-3 ..... 60
4.31 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับ
เวลาของสาหร่าย SR-3 ..... 61
4.32 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SR-3 ..... 61
4.33 การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SR-3 ..... 62
4.34 แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-4 ..... 64
4.35 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับ
เวลาของสาหร่ายรหัส SR-4 ..... 64
4.36 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับ
เวลาของสาหร่าย SR-4 ..... 65
4.37 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SR-4 ..... 65

# สารบัญรูป (ต่อ)

**รูปที่** **หน้า**

4.38 การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SR-4 ..... 66
4.39 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-5 ..... 67
4.40 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SR-5 ..... 67
4.41 การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SR-5 ..... 68
4.42 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-7 ..... 69
4.43 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SR-7 ..... 70
4.44 การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SR-7 ..... 70
4.45 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN1 ..... 72
4.46 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN1 ..... 72
4.47 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN2 ..... 74
4.48 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN2 ..... 74
4.49 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส SP ..... 76
4.50 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส SP ..... 76
4.51 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส SK ..... 78
4.52 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส SK ..... 78
4.53 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-3 ..... 80
4.54 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-3 ..... 80
4.55 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-4 ..... 82
4.56 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-4 ..... 83
4.57 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส BN1 ..... 85
4.58 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส BN2 ..... 86
4.59 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส SP ..... 88
4.60 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส SK ..... 89
4.61 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-3 ..... 91
4.62 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-4 ..... 93

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่สร้างอาหารได้ด้วยตนเองด้วยกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยสาหร่ายสามารถพบได้ในทุกที่ที่มีความชื้น โดยเฉพาะในน้ำ ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย น้ำเค็ม แม้ในที่ที่ร้อนจัด เช่น ในน้ำพุร้อน หรือบริเวณที่เย็นจัด เช่น ในหิมะก็สามารถพบสาหร่ายได้เช่นกัน สาหร่ายมีสารที่สำคัญ ได้แก่คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี แคโรทีนอยด์ เป็นต้นโดยมีงานที่เกี่ยวข้องกับสารสำคัญที่กล่าวไปข้างต้น 2 งานวิจัยคืองานวิจัยของ Ly H.T. Dao และ John Beardall (2016) ซึ่งกล่าวเกี่ยวกับเรื่องของความเข้มข้นของตะกั่วมีผลต่อคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของ *Chlorella* sp. และ *Scendesmus* sp. โดยถาความเข้มข้นของตะกั่วต่ำกว่า 0.87 x $10^{-9}$ โมลาร์ *Chlorella* sp. จะมีค่าคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีลดลง ส่วน *Scendesmus* sp. จะมีค่าคลอโรฟิลล์เอลดลงและคลอโรฟิลล์บีเพิ่มขึ้น ในทางกลับกันถ้าความข้มข้นของตะกั่วมีค่าที่มากกว่า 22.2 x $10^{-9}$ โมลาร์ คลอโรฟิลล์เอของ *Chlorella* sp. และ *Scendesmus* sp. จะมีค่าที่ลดลงและค่าคลอโรฟิลล์บีจะเพิ่มขึ้นแต่ค่าเพิ่มขึ้นไม่มาก และงานวิจัยของ Hamed.M.S และคณะ (2017) ได้กล่าวเกี่ยวกับความเข้มข้นของสังกะสี 1.0 และ 0.6 มิลลิโมลาร์ มาทำการทดสอบกับ *Chlorella* sp. และ *Scendesmus* sp. เพื่อหาค่าการเจริญเติบโตในสภาวะเครียดออกซิเดชั่น และหาค่าสารค้านอนุมูลอิสระ พบว่าใน *Chlorella* sp. มีค่าการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่าใน *Scendesmus* sp. ถึงแม้ว่า *Chlorella* sp. จะมีการสะสมสังกะสีเอาไว้ในตัวมากกว่า *Scendesmus* sp. ก็ตาม สาหร่ายมีความสำคัญอย่างมากต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม เช่น ด้านระบบนิเวศแหล่งน้ำ ซึ่งมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำอย่างสูง ด้านอาหาร ใช้เป็นอาหารมนุษย์หรือสัตว์ ด้านอุตสาหกรรม ใช้ในทั้งอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง ด้านการแพทย์ ใช้ทำยารักษาโรค เป็นต้น สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่สำคัญทางเศรษฐกิจของไทย โดยในแต่ละปีประเทศไทยมีการนำเข้าสาหร่ายทะเลและผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสาหร่ายเพื่อการบริโภคและใช้ในอุตสาหกรรมปีละเกือบร้อยล้านบาท สาหร่ายที่สำคัญทางเศรษฐกิจไทย ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (blue-green algae) *Chlorella* sp., *Spirulina* sp. สาหร่ายสีเขียว (green algae) *C. Pyrenoidosa*, *S. Acutus* สาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae) *Sargassum* sp. สาหร่ายสีแดง (red algae) *Porphyra* sp., *Gelidium* sp.

ประเทศไทยจึงได้มีการพัฒนาและทดลองเพื่อการผลิตทดแทนการนำเข้าของสาหร่าย ส่วนใหญ่สถานที่พัฒนาและทดลองอยู่ทางภาคเหนือ อ.ยุวดี พีรพริศาล อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่เป็นผู้วิจัยลักษณะสายพันธุ์ของสาหร่ายในภาคเหนือ โดยการวิจัยลักษณะสายพันธุ์ของสาหร่ายนี้อาจารย์ได้เก็บรวมรวมตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำต่างๆทางภาคเหนือมาทำการวิจัย

ตรวจดูลักษณะสายพันธุ์สาหร่าย เนื่องจากยังไม่มีใครทำการทดลองและวิจัยเกี่ยวกับสาหร่ายในภาคกลางเลย โครงงานวิจัยนี้จึงได้จัดทำขึ้น ซึ่งโครงงานวิจัยนี้เป็นการวิจัยศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายจากแหล่งน้ำต่างๆ โดยเฉพาะในภาคกลาง จังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยทำการเก็บตัวอย่างของสาหร่ายจากแหล่งน้ำต่างๆมาและทำการคัดแยกสายพันธุ์ให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี streak plate เมื่อได้สาหร่ายสายพันธุ์ที่บริสุทธิ์แล้วนำสายพันธุ์สาหร่ายที่บริสุทธิ์มาทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน เพื่อหาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ คลอโรฟิลด์เอ คลอโรฟิลด์บี และแคโรทีนอยด์

## 1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดแยกสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียจากแหล่งน้ำธรรมชาติในจังหวัด กรุงเทพฯ
2. เพื่อขยายปริมาณสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่บริสุทธิ์ในระดับห้องปฏิบัติการ
3. เพื่อศึกษาหาปริมาณสารคำคัญที่อยู่ในสาหร่ายบริสุทธิ์

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1. คัดแยกสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่ได้จากแหล่งน้ำในจังหวัด กรุงเทพฯ 4 แหล่ง ได้แก่ สวนพระนคร เขตลาดกระบัง, แขวงการทางสมุทรปราการ, คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และสวนหลวง ร.9 เขตประเวศ

2. ขยายขนาดสายพันธุ์สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่บริสุทธิ์ในระดับห้องปฏิบัติการ ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยภายในขวดรูปชมพู่มีอาหารสูตร BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

3. คัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ โดยใช้วิธีการ poure plate และวิธีการ streak plate

4. การเพาะเลี้ยงสายพันธุ์สาหร่ายที่บริสุทธิ์เพื่อหาปริมาณสารสำคัญ คลอโรฟิลด์เอ คลอโรฟิลด์บี และแคโรทีนอยด์ ด้วยเครื่องสเปกโตโฟรโตรมิเตอร์ โดยการคำนวณปริมาณสารสำคัญจะใช้สูตรการคำนวนณของ Wellburn (1994), Pribyl และคณะ (2015)

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ระบุสายพันธุ์ของสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งน้ำตามธรรมชาติในจังหวัดกรุงเทพฯ และนำสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่แยกได้ไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ทั้งในงานวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการและงานวิจัยในระดับโรงงานอุสาหกรรมได้

# บทที่ 2
## ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 สาหร่าย (algae) (ดัดแปลงมาจากยุวดี, 2549)

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถสร้างอาหารได้ด้วยตัวเองจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เช่นเดียวกับพืชทั่วไป มีขนาดเล็กตั้งแต่มองด้วยตาเปล่าไม่เห็นจนกระทั่งถึงขนาดใหญ่มีความยาวหลายเมตร เช่น สาหร่ายทะเลหลายชนิด สาหร่ายมีรูปร่างหลายแบบ อาจจะเป็นเซลล์เดี่ยวหลายเซลล์มารวมกลุ่มกันเรียกว่า กลุ่มเซลล์หรือโคโลนี เป็นเส้นสายทั้งแตกแขนงและไม่แตกแขนง เป็นทัลลัสที่คล้ายราก ลำต้น ใบคล้ายพืชชั้นสูงแต่ไม่มีระบบท่อลำเลียงดังเช่นพืชชั้นสูง

สาหร่ายมีความก้ำกึ่งระหว่างแบคทีเรียกับพืช คือมีโครงสร้างของเซลล์และการดำรงชีวิตสูงกว่าแบคทีเรียแต่ต่ำกว่าพืช จึงจัดได้ว่าสาหร่ายมีวิวัฒนาการเชื่อมโยงระหว่างสิ่งมีชีวิตดังกล่าว โดยเฉพาะสาหร่ายสีเขียวซึ่งมีวิวัฒนาการร่วมกับพืชชั้นสูงบางชนิด

### 2.2 แหล่งที่พบสาหร่าย (ดัดแปลงมาจากยุวดี, 2549)

สาหร่ายพบได้ทุกที่ที่มีความชื้น โดยเฉพาะในน้ำ ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม พบได้ทั้งในคู คลอง หนอง บึง อ่างเก็บน้ำ ทะเลสาบ ลำธาร แม่น้ำ ทะเล และมหาสมุทร แม้กระทั่งในอ่างเลี้ยงปลา หรือขวดใส่น้ำ ส่วนบนบกสามารถพบสาหร่ายได้ทั้งในดิน น้ำหน้าดิน บนใบไม้ ต้นไม้ พื้นผิวทั่วไป ทั้งผนังตึก รั้วบ้าน และลานซักล้าง บางครั้งพบอยู่ในใบพืช หรือในตัวสัตว์ แม้ในที่ร้อนจัด เช่น ในน้ำพุร้อน หรือบริเวณที่หนาวเย็น เช่น ในหิมะก็สามารถพบสาหร่ายได้

#### 2.2.1 สาหร่ายที่เจริญภายใต้สภาพแวดล้อมที่เป็นอากาศ

สาหร่ายพวกนี้มักจะทนต่อความแห้งแล้ง เมื่อมีความชื้นน้อยก็เจริญได้น้อยหรืออยู่ในสภาพที่เป็นสปอร์ แต่เมื่อมีความชื้นสูงก็สามารถเจริญได้ดีจะพบได้ตามเปลือกไม้ ใบไม้ ขอนไม้ รั้วบ้านที่เป็นไม้เรียกพวกนี้ว่า สาหร่ายอิพิไฟติค (Epiphytic algae) เช่น สาหร่ายสีเขียวพวก *Protococcus* (*Desmococcus* หรือ *Plaurococcus*), *Trentepohlia* และ *Prassiola* เป็นต้น สาหร่ายที่ขึ้นตามก้อนหินเป็นสาหร่ายอิพิลิธิต (Epilithic algae : lithic = stone) บนก้อนหินมีสภาพเป็นกรด (acidic rock) จะมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวก *Chroococcus*, *Gleoeapsa*, *Galothrix* ซึ่งจะเป็นบริเวณสีเขียวคล้ำ ถ้าเป็นบริเวณที่มีน้ำตาลมักจะเป็นพวกไดอะตอม เช่น *Diatoma*, *Tabellaria*, *Eunotia* และ *Pinnularia* เป็นต้น สาหร่ายที่เจริญภายใต้สภาพแวดล้อมที่เป็นอากาศเหล่านี้มักจะไม่ได้รับความชื้นอย่างเต็มที่ จึงมีการปรับตัวโดยมีเมือกซึ่งเป็น gelatinous sheath หุ้ม

**2.2.2 สาหร่ายที่เจริญอยู่ในน้ำ (Aquatic algae)**

สาหร่ายที่อยู่ในน้ำจะมีจำนวนชนิดและปริมาณมากที่สุดมีทั้งอยู่ในน้ำจืด (Freshwater algae) และในน้ำทะเล (Marine algae) จะได้ดังนี้

ก. สาหร่ายที่เจริญในน้ำจืด มีสภาพของแหล่งน้ำที่แตกต่างกันดังนี้

**1. น้ำไหล (Flowing water)** ได้แก่ แม่น้ำ ลำคลอง น้ำตก สาหร่ายที่ขึ้นในสภาพที่น้ำไหลเช่น น้ำตก มักพบสาหร่ายสีเขียว (*Ulothrix*) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (*Rivularia*) เป็นต้น

**2. บ่อน้ำและสระน้ำ (Ponds)** สาหร่ายที่เจริญในบ่อน้ำ สระน้ำ และทะเลสาบแยกออกกล่าวได้ดังนี้

2.1 พวกที่ลอยอยู่เป็นอิสระในมวลน้ำเรียกว่า แพลงก์ตอนพืช (Phytoplankton) ได้แก่ พวกสาหร่ายสีเขียวใน Order Desmidiaceae เช่น *Cosmarium* และพวกที่เป็นโคโลนีหรือมีเซลล์เดียว เช่น *Pediastrum*, *Scenedesmus* หรือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น *Microcystis* และ *Anabaena* เป็นต้น

2.2 พวกที่ขึ้นอยู่บนต้นไม้น้ำ เช่น ผักตบชวา จอกแหน เรียกสาหร่ายพวกนี้ว่า สาหร่ายอิพิไฟติก (epiphytic algae)

2.3 พวกที่ขึ้นหรือนอนก้นอยู่ตามพื้นน้ำเรียกสาหร่ายพวกนี้ว่า สาหร่ายอิพิเพลลิค (epipelic algae) แบ่งออกเป็น 3 พวกคือ

1. พวกที่ขึ้นอยู่ตามพื้นดินหรือทรายก้นท้องน้ำ เช่น สาหร่ายไฟ พวก *Chara, Nitella, Tolypella* เป็นต้น

2. พวกที่เคลื่อนที่ไม่ได้ ลักษณะเป็นเมือกอยู่ตามตะกอนก้นท้องน้ำ เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิด สาหร่ายใน Division Chrysophyta

3. พวกที่เคลื่อนที่ได้ตามตะกอนก้นท้องน้ำ เช่น ไดอะตอมและสาหร่ายสีเขียวพวกเดสมิต

4. พวกที่เกาะตามเม็ดทรายเรียกว่า สาหร่ายอิพิแซมมิค (episammic algae)

5. พวกที่เจริญเติบโตอยู่ในพืชเรียกว่า เอนโดไฟติก (endophytic algae)

6. พวกที่เกาะติดอยู่ตามตัวสัตว์ เช่น ปู หอย ปลา และสัตว์น้ำอื่นๆ เรียกว่า สาหร่ายอิพิซูอิค (epizooic algae)

7. พวกที่อาศัยอยู่ในตัวสัตว์เรียกว่า สาหร่ายเอนโดซูอิค (endozooic algae)

**3. ทะเลสาบ (Lakes)**

เป็นแหล่งน้ำขนาดใหญ่ที่มีปริมาณแสง อุณหภูมิ และลม ที่ส่งผลให้ทำให้น้ำในทะเลสาบแต่ละฤดูกาลแตกต่างกัน ปริมาณแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์มีการเปลี่ยนแปลงและทำให้ประชากรสัตว์น้ำในทะเลสาบมีปริมาณเปลี่ยนแปลงไปในแต่ละฤดูกาลเช่นกัน

ข. สาหร่ายที่เจริญในน้ำทะเล สาหร่ายที่เจริญในน้ำทะเลมีทั้งสาหร่ายที่เป็นเซลล์เดียว โคโลนี และที่เป็นทัลลัสที่มีขนาดยาวหลายๆฟุตในทะเลแบ่งออกเป็นหลายๆบริเวณ สาหร่ายที่เจริญได้ในแต่ละบริเวณก็ไม่เหมือนกันแยกได้ดังนี้

1. บริเวณชายฝั่ง บริเวณนี้จะมีรอยต่อระหว่างทะเลและแผ่นดิน แบ่งย่อยได้เป็น 4 ส่วนคือ

1.1 บริเวณที่อยู่ใต้น้ำตลอดเวลา (subtidal zone)

1.2 บริเวณน้ำขึ้นน้ำลง (intertidal zone)

1.3 บริเวณที่อยู่เหนือบริเวณน้ำขึ้นสูงสุด (supratidal zone)

1.4 ส่วนผิวน้ำทะเลบริเวณชายฝั่ง

2. บริเวณกลางทะเลและมหาสมุทร บริเวณนี้จะมีแต่พวกแพลงก์ตอนพืชลองลอยอยู่เป็นจำนวนมาก ถ้าเป็นบริเวณที่มีอุณหภูมิสูงจะมีไดโนแฟลกเจลเลตพวก *Ceratium* เป็นจำนวนมาก ถ้าอุณหภูมิต่ำ เช่น แถบแอนตาร์คติค (1.8–3.5 องศาเซลเซียส) จะมีไดอะตอมอยู่เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะพวก *Thalassiosira antarotica* นอกจากนั้นก็จะมีสาหร่ายสีเขียวหรือสีเขียวแกมน้ำเงินประเภทเซลล์เดียวหรือโคโลนีล่องลอยปะปนอยู่เสมอ ในน้ำทะเลนี้มักจะมีปรากฏการณ์ที่น่าสนใจเกี่ยวกับสาหร่ายเกิดขึ้นเสมอ เช่น ปรากฏการณ์ที่เรียกว่า เรดดิชบลูม (raddish bloom) ซึ่งสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวก *Oscillatoria* เจริญเพิ่มขึ้นอย่างมาก เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในบริเวณทะเลแดงหรือมหาสมุทรอินเดียทำให้สัตว์น้ำตายเป็นจำนวนมาก ปรากฏการณ์อีกประเภทหนึ่งเรียกว่า เรดไทล์ (red tide) หรือที่เรียกว่า ขี้ปลาวาฬ เกิดจากสาหร่ายไดโนแฟลเจลเลตพวก *Gonyaulax* และ *Gymnodinium* เจริญขึ้นอย่างมากมายแล้วปล่อยสารพิษลงในน้ำทะเลเป็นสีแดง และทำให้สัตว์น้ำบริเวณนั้นตายเป็นจำนวนมาก ปรากฏการณ์ทั้งสองประการดังกล่าวข้างต้นรวมทั้งวอเตอร์บลูมในน้ำจืดที่กล่าวมาแล้วรวมเรียกว่า ยูโทรพีเคชั่น (eutrophication) ซึ่งมีความหมายถึงการที่สาหร่ายประเภท แพลงก์ตอนพืชเจริญขึ้นอย่างรวดเร็วเต็มผิวน้ำ เนื่องจากสภาพแวดล้อมทางเคมี และทางกายภาพเหมาะสม การที่สาหร่ายเจริญเต็มผิวน้ำนี้ทำให้เกิดปัญหาต่อแหล่งน้ำนั้นได้ เช่น ทำให้สัตว์น้ำตายดังที่กล่าวมาแล้ว และอาจจะมีผลทำให้สัตว์น้ำอพยพไปอยู่ที่อื่น น้ำขาดออกซิเจน กลิ่น รส และสีของน้ำเปลี่ยนแปลงไป แหล่งน้ำจะตื้นเขิน ทำให้ทัศนียภาพของแหล่งน้ำนั้นเสียไป และเป็นการเพิ่มมลพิษของสิ่งแวดล้อมบริเวณนั้นด้วย

**2.2.3 สาหร่ายที่เจริญในสภาพผิดปกติ (Unusual Habitat Algae)**

สาหร่ายสามารถเจริญอยู่ได้ตามสภาพที่ผิดปกติหลายแหล่ง ดังต่อไปนี้

**1. สาหร่ายที่ขึ้นอยู่บนหิมะ (snow algae)**

มักจะพบในแถบอาค์คติคและแอนตาร์คติคหรือบนยอดเขาสูงๆที่มีหิมะตลอดปี สาหร่ายเหล่านี้เป็นสาเหตุทำให้หิมะมีสีแดง เหลือง เขียว และสีอื่นๆ เช่น *Chlamydomonas yellowstonensis* และ *Euglena* ทำให้หิมะมีสีแดง เนื่องจากมีรงควัตถุแคโรทีนอยด์เป็นเกราะป้องกันแสงซึ่งมีความเข้มสูง สาหร่ายที่มีชีวิตอยู่ได้ในสภาพที่เย็นจัดนี้เรียกว่า สาหร่ายไครโอฟลอรา (kryoflora algae)

**2. สาหร่ายแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiotic algae)**

สาหร่ายบางชนิดมีความเป็นอยู่แบบพึ่งพาอาศัย (symbiosis) กับสิ่งมีชีวิตอื่น เช่น ไลเคน (lichen) เป็นตัวอย่างของสาหร่ายที่อยู่รวมกับรา *Anabaena azollae* จะอยู่บริเวณช่องว่างภายในใบของแหนแดง (Azolla) *Anabaena*

**3. สาหร่ายพาราไซติค (parasitic algae)**

สาหร่ายบางชนิดขึ้นอยู่กับพืชอื่นแล้ว ทำให้พืชชนิดนั้นเกิดโรคขึ้นได้ เช่น สาหร่ายสีเขียวพวก *Cephaleuros* ขึ้นตามใบชาทำให้ต้นชาเป็นโรคหรืออาจจะขึ้นตามต้นแมกโนเลีย (Magnolia) กุหลายพันปี (*Rhododendron*) แล้วทำให้ต้นไม้เหล่านี้เป็นโรคได้

## 2.3 การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย

มีนักวิทยาศาสตร์หลายคนที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการจัดจำแนกสาหร่าย ซึ่งในการจัดจำแนกสาหร่ายนั้นมีวิธีการจัดจำแนกที่ไม่เหมือนกัน ดังนั้นตำแหน่งของสาหร่ายในอาณาจักรสิ่งมีชีวิตจึงแตกต่างกันไปดังนี้ (เรียบเรียงจากกาญจนภาชน์, 2527)

เริ่มจากปี ค.ศ. 1754 Carl Linnaeus ได้จัดจำแนกสาหร่ายไว้ใน Class Cryptogamia Order Algae และเป็นบุคคลที่เป็นผู้ก่อตั้งชื่อพืชชั้นต่ำชนิดที่กำลังจะกล่าวถึงนั้นคือ Algae

ปี ค.ศ. 1978 Antonie de Jussieu ได้จำแนกพืชออกเป็น 3 Subvision Acotyledon, Monocotyledon และ Dicotyledon และจัดสาหร่ายอยู่ใน Subdivision Acotyledon ซึ่งหมายถึงพืชที่ไม่มีใบเลี้ยง

ปี ค.ศ. 1838 F.J.A.N. Unger ได้รวมสาหร่ายไลเคน (lichen) และเห็ดรา (fungi) เข้าด้วยกันใน Division Thallophyta ซึ่งหมายถึงพืชที่ไม่มีส่วนของลำต้น ใบ อย่างชัดเจนส่วนที่คล้ายใบและลำต้นรวมเรียก thallus และไซโกต (zygote) ยังไม่มีการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอ (embryo) ซึ่งเป็นการจัดที่คล้ายกับ August Wilhelm Eichler ในปี ค.ศ. 1883

ตามระบบของ Copeland ได้จัดจำแนกสิ่งมีชีวิตออกเป็น 4 อาณาจักรคือ อาณาจักรโมเนอรา (Kingdom Monera) อาณาจักรโปรติสตา (Kingdom Protista) อาณาจักรเมตาไฟตา (Kingdom Metaphyta) และอาณาจักรเมตาซัว (Kingdom metazoa) สาหร่ายจัดอยู่ใน Kingdom แรกคือ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) จัดอยู่ในอาณาจักรโมเนอรา ได้แก่สิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอต (eukaryote) สิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ ส่วนมากเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดี่ยวที่สามารถทำหน้าที่ได้อย่างครบถ้วน บางชนิดมีหลายเซลล์แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่ทำหน้าที่เฉพาะอย่าง นอกจากสาหร่ายแล้วอาณาจักรนี้ยังประกอบไปด้วยเห็ดรา (fungi) ราเมือก (slime mold) และโปรโตซัว (protozoa)

ส่วนระบบของ Whittaker ได้แบ่งอาณาจักรสิ่งมีชีวิตออกเป็น 5 อาณาจักรคือ อาณาจักรโมเนอรา (Kingdom Monora) อาณาจักรโปรติสตา (Kingdom protistae) และอาณาจักรสัตว์ (Kingdom Animalia) และได้จัดสาหร่ายไว้ในอาณจักรต่างๆดังนี้

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจัดอยู่ในอาณาจักรโมเนอรา สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง (yellow-green) สาหร่ายน้ำตาลแกมทอง (golden algae) ไดอะตอม (diatoms) ไดโนแฟลเจลเลต (dinoflagellates) ยูกลีนอยด์ (euglenoids) และคริพโตโมแนดส์ (cryptomonads) จัดอยู่ในอาณาจักรโปรติสตา สาหร่ายสีเขียว (green algae) สาหร่ายไฟ (stoneworts) สาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae) และสาหร่ายสีแดง (red algae) จัดอยู่ในอาณาจักรพืช

## 2.4 หลักเกณฑ์ในการจัดสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่ (ดัดแปลงมาจากยุวดี, 2549)

การที่จะจัดจำแนกสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่ข้างต้นที่กล่าวไปในข้อ 2.3 พิจารณาจากลักษณะที่สำคัญดังนี้

### 2.4.1 รงควัตถุ (pigment)

สารที่มีความสามารถในการดูดกลืนแสงในช่วยความยาวคลื่นที่แตกต่างกันไปที่มีอยู่ในพืชและสิ่งมีชีวิต สารสีทุกชนิดจะทำหน้าที่รับพลังงานแสง รงควัตถุทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสง แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) แคโรทีนอยด์ (carotenoild) และไฟโคบิลิน (phycobilin) ซึ่งรงควัตถุในสาหร่ายแต่ละชนิดมีผลทำให้สาหร่ายเหล่านั้นมีสีที่แตกต่างกันไป เช่น สาหร่ายสีเขียว สีเขียวแกมน้ำเงิน สีน้ำตาล และสีแดง เป็นต้น รงควัตถุเหล่านี้อาจจะกระจายอยู่ในไซโตพลาสซึม เช่น ที่พบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือในพลาสมิด พวกคลอโรพลาสต์ เช่น ที่พบในสาหร่ายสีอื่นๆ

### 2.4.2 อาหารสะสม (storage productions) (ยุวดี, 2549 และวิภาวดี, 2555)

อาหารสะสมเป็นอาหารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นการใช้พลังงานของรังสีในการเปลี่ยนคาร์บอนได้ออกไซด์และไฮโดรเจนที่ได้มาจากน้ำหรือจากแหล่งไฮโดรเจนอื่นๆ ให้เป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งคือน้ำตาล นำน้ำตาลที่ได้นำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหายใจของกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) โดยอาหารสะสมของสาหร่ายจะได้สารประกอบเป็นพวกคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะเก็บสะสมไว้ในรูปแบบต่างๆ ส่วนใหญ่จะสะสมอยู่บริเวณผนังเซลล์หรือแวคิลโอลของสาหร่าย อาหารสะสมแบ่งออกเป็นแป้ง (starch) น้ำตาล (sugar) โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) และไขมัน (lipid)

**2.4.3 องค์ประกอบของผนังเซลล์** (ดัดแปลงมาจากยุวดี, 2549)

องค์ประกอบของผนังเซลล์ของสาหร่ายแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป บางชนิดจะเป็นพวกเซลลูโลส เช่น ในพืชบางชนิดอาจมีสารบางอย่างสะสม เช่น ซิลิกาในไดอะตอม อัลจินหรืออัลจิเนตในสาหร่ายสีน้ำตาล วุ้นในสาหร่ายสีแดง หรือแคลเซียมในสาหร่ายที่มีผนังเซลล์แข็งเช่น ในสาหร่ายสีเขียวและสีแดงบางชนิด เป็นต้น

**2.4.4 จำนวนและตำแหน่งของแฟลเจลลัม** (ดัดแปลงมาจากยุวดี, 2549)

สาหร่ายหลายชนิดเคลื่อนที่ด้วยแฟลเจลลัม อาจจะเรียกว่าหนวดหรือแส้ แต่บางชนิดก็ไม่มีแฟลเจลลัม จำนวนและตำแหน่งของแฟลเจลลัมในเซลล์ใช้ในการจัดจำแนกสาหร่ายได้

นักสาหร่ายวิทยาได้แบ่งกลุ่มของสาหร่ายออกเป็น (division) หรือไฟลัม (phylum) ซึ่งแต่ละคนก็มีแบบแผนในการจัดกลุ่มต่างกัน แต่อันนี้เราจะยึดตามหลักของ Bold และ Wynne (1978) ซึ่งแบ่งสาหร่ายออกเป็น 9 กลุ่มดังนี้

**1. สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae)**

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจัดอยู่ใน Division Cyanophyta หรือ cyanobacteria สาหร่ายกลุ่มนี้มีเกิดก่อนสาหร่ายกลุ่มอื่นๆ และมีคล้ายคลึงกับแบคทีเรีย โดยมีนิวเคลียสแต่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสหรือพวกโพรแคริโอต เรามักเรียกสาหร่ายประเภทนี้ว่า “ตะไคร่น้ำ” เป็นพวกที่ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืชในแหล่งน้ำจืดทั่วไป

**2. สาหร่ายสีเขียว (green algae)**

สาหร่ายสีเขียวจัดอยู่ใน Division Chlorophyta เป็นสาหร่ายที่พบเห็นในน้ำทั่วไป มีรูปร่างที่หลากหลายตั้งแต่เซลล์เดี่ยว เซลล์เดี่ยวเกาะกันเป็นกลุ่มที่เรียกว่าโคโลนี เป็นเส้นสาย เป็นทัลลัสส่วนใหญ่ดำรงชีวิตเหมือนแพลงก์ตอนพืช แต่มีบางชนิดซึ่งจัดเป็นสาหร่ายขนาดใหญ่จะยึดเกาะกับดิน หินใต้น้ำ หรือพืชน้ำ

**3. สาหร่ายไฟ (stoneworts)**

สาหร่ายไฟจัดอยู่ใน Division Charophyta เป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีข้อ (node) และ ปล้อง (internode) มีสารสีและอาหารสะสม เซลล์หลายเซลล์มีเซลล์กลาง (central cell) และเซลล์ล้อมรอบ (peripheral หรือ pericentral cell) ข้อเป็นจุดกำเนิดของการแตกแขนงและการเกิดใบ Chara มีคอร์ติเคชั่น (cortication) หรือมีcorticating cell หุ้มอยู่ตรงจุดที่คอร์ติเคติงเซลล์มาบรรจบกันอาจมีติ่งเล็กๆเกิดขึ้น เรียกว่า spine cell

**4. ยูกลีนอยด์ (euglenoids)**

ยูกลีนอยด์จัดอยู่ใน Division Euglenophyta ส่วนใหญ่เป็นพวกเซลล์เดียวที่มีหนวดเซลล์มีสีเขียวสด บางชนิดเซลล์ใสไม่มีสีดำรงชีวิตแบบสัตว์ โดยกินสิ่งเน่าเปื่อยเป็นอาหาร หนวดเส้นหนึ่งมีขนาดสั้นเรียกว่า nonemergent flagellum ช่องเปิดมีลักษณะคล้ายท่อเรียกว่า canal ส่วนล่างมีลักษณะรูปขวดชมพู่ เรียกว่า reservoir รวมกันเรียกว่า gultet หนวดเส้นที่ยื่นพ้นเซลล์เรียกว่า emergent flagellum โคนหนวดหนาเรียกว่า flagella swelling อาหารสะสมจะอยู่

ในรูปของ paramylon เป็นแป้งที่ไม่ละลายน้ำ สามารถพบสาหร่ายกลุ่มนี้ได้ในน้ำทั่วไป โดยเฉพาะแหล่งน้ำจืดที่มีพวกสารอินทรีย์อุดมสมบูรณ์จะพบมาก

**5. สาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae)**

สาหร่ายสีน้ำตาลจัดอยู่ใน Division Phaeophyta เป็นสาหร่ายที่มีทัลลัสขนาดใหญ่ ส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายทะเล บางชนิดคล้ายพืชน้ำที่เจริญอยู่ในทะเล สาหร่ายสีน้ำตาลจัดเป็นสาหร่ายเศรษฐกิจ เนื่องจากสามารถนำมาสกัดสารอัลจินหรืออัลจิเนตเพื่อนำไปใช้ในวงการอุตสาหกรรมที่สำคัญได้

**6. สาหร่ายคริสโซไฟต์ (chrysophytes)**

สาหร่ายคริสโซไฟต์จัดอยู่ใน Division Chrysophyta ส่วนใหญ่จะพบอยู่ในทะเล ไม่มีพวกที่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือกลุ่มเซลล์เลย ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืชทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม สาหร่ายกลุ่มนี้ที่พบส่วนมากเป็นไดอะตอม

**7. สาหร่ายไดโนแฟลเจลเลต (dinoflagellates)**

สาหร่ายไดโนแฟลเจลเลตจัดอยู่ใน Division Phyrrhophyta มีแฟลเจลลัม 2 เส้นช่วยในการเคลื่อนที่ เซลล์มักมีเยื่อหุ้มเป็นแผ่นธีกาคลุมอยู่คล้ายกระเบื้องโมเสก ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืชทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม

**8. สาหร่ายคริปโตโมแนด (cryptomonads)**

สาหร่ายคริปโตโมเนดจัดอยู่ใน Division Cryptophyta ซึ่งเป็นกลุ่มสาหร่ายที่มีจำนวนที่น้อยที่สุด มีแฟลเจลลัม 2 เส้นที่มีขนาดเท่ากัน ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืชทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม

**9. สาหร่ายสีแดง (red algae)**

สาหร่ายสีแดงจัดอยู่ใน Division Rhodophyta มีทัลลัสคล้ายพุ่มไม้ที่แตกแขนงเป็นฝอย ส่วนใหญ่จะพบในน้ำเค็ม เป็นสาหร่ายเศรษฐกิจที่สำคัญโดยนำใช้ในอุสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหารก็นำสาหร่ายกลุ่มนี้มาสกัดทำเป็นวุ้น

**2.4.5 ขนาด (size)**

ขนาดของสาหร่ายมีความแตกต่างกันมาก ตั้งแต่เซลล์เดียวที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ จนถึงสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลที่มีความยาวหลายร้อยฟุต

**2.4.6 รูปร่าง (shape)**

สาหร่ายมีรูปร่างลักษณะหลายแบบดังข้อมูลดังต่อไปนี้

**1. เซลล์เดียว (unicellular form หรือ unicells)**

ประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว อาจจะมีแฟลเจลลัมหรือไม่มีก็ได้ มีรายละเอียดดังนี้

1.1 แบบไรโซโปเดียล (rhizopodial type) เป็นพวกที่ไม่มีผนังเซลล์ที่

แท้จริงเซลล์ ไม่คงรูป มีส่วนของไซโตพลาสซึมที่เรียกว่า ไรโซโปเดียม (rhizopodium) ยื่นออกไปเคลื่อนที่แบบอะมีบา (amoeboid movement) พบในสาหร่าย Division Chrysophyta และพบในสาหร่าย Division Pyrrhophyta

1.2 แบบโปโตคอคคอยดัล (protococcoidal) มีรูปร่างหลายแบบ อาจเป็นทรงกลม สามเหลี่ยม สี่เหลี่ยม รูปมน หรือหยักโค้งมีลวดลายต่างๆ เป็นเซลล์ที่ไม่มีแฟลเจลลัม ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (nonmotile unicells) เช่น สาหร่ายสีเขียว *Chlorella* พวกเดสมิดส์ (desmids) ต่างๆ ได้แก่ *Cosmarium* และ *Micrasterias* เป็นต้น และสาหร่ายใน Division Chrysophyta ได้แก่ พวกไดอะตอม เช่น *Navicula* และ *Cyclotella*

1.3 แบบแฟลเจลลัมที่อยู่เดี่ยวๆ (flagellated unicells) มีเพียงเซลล์เดียว โดยแต่ละเซลล์จะมีแฟลเจลลัมสำหรับเคลื่อนที่ พบได้ในสาหร่ายหลายดิวิชัน เช่น สาหร่ายสีเขียว *Chlamydomonas* สาหร่ายยูกลีนอยด์ เช่น *Euglena* และ *Phacus* สาหร่ายใน Division Pyrrhophyta พวกไดโนแฟลเจลเลต เช่น *Peridinium* และ *Ceratium* เป็นต้น

**2. โคโลนี (colonial form หรือ colony)**

ประกอบด้วยเซลล์หลายๆเซลล์มาอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม เซลล์ที่มารวมกันจะมีรูปร่างเหมือนกันทำหน้าที่อย่างเดียวกัน ซึ่งโคโลนีมีรูปร่างหลายแบบแยกออกได้ดังนี้

2.1 ซีโนเบียม (coenobium) เป็นกลุ่มเซลล์ที่มีจำนวนที่แน่นอน เซลล์เรียงตัวกันเป็นระเบียบ เซลล์บางชนิดที่สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลเจลลัมเรียกเซลล์พวกนี้ว่า เซลล์แบบโคโลนมีแฟลเจลลัม (colonial flagellate cell type) พบในสาหร่ายสีเขียว *Gonium* และ *Chlorodesmus* หรือพบในสาหร่าย Division Chrysophyta

2.2 พาล์เมลลา (palmella form) ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์มารวมกันเป็นโคโลนี ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ฝังอยู่ในเมือก (mucilage) มักพบในสาหร่ายสีเขียมแกมน้ำเงิน เช่น *Chroococcus* และ *Gloeocapsa* เป็นต้น ถ้าแบ่งเซลล์แล้วจะอยู่ภายในเยื่อหุ้มเดียวกัน เรียกระยะนี้ว่า ระยะพาล์เมลลา (palmella stage) ซึ่งเป็นระยะหนึ่งในวงจรชีวิต

2.3 โคโลนีแบบเดนดรอยด์ (dendroid colony) โคโลนีมีลักษณะคล้ายกิ่งก้านของต้นไม้ ซึ่งเกิดจากเยื่อของเมือกในแต่ละเซลล์มาเชื่อมโยงกัน พบใน Division Chrysophyta เช่น *Chrysodensron* และ *Dinobryon* เป็นต้น

2.4 โคโลนีแบบไรโซโปรเดียล (rhizopodial colony) เป็นโคโลนีที่เกิดจากไรโซโปเดียมของแต่ละเซลล์มาเชื่อมโยงกัน พบในสาหร่าย *Chrysidiastrum*

**3. เส้นสาย (filamentous form หรือ filament)**

รูปร่างของสาหร่ายชนิดนี้เกิดจากเซลล์แต่ละเซลล์มาต่อกันจนมีลักษณะของเซลล์เป็นเส้นมี 2 แบบคือ

3.1 เส้นสายไม่แตกแขนง (unbranched filament) เกิดจากเซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นสายจะยาวหรือสั้นก็ได้ ไม่มีการแตกแขนง พบในสาหร่ายสีเขียว *Spirogyra* และ *Ulothrix* สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Osillatoria* และ *Phormidium* เป็นต้น

3.2 เส้นสายแตกแขนง (branched filament) รูปร่างของสาหร่ายมีการแตกแขนงออกไปด้านข้าง รูปร่างมีหลายรูปแบบ พบในสาหร่ายหลากพวกเช่น *Bulbochaete*, และ *Chaetophora* เป็นต้น

**4. หลอดหรือท่อติดต่อกันตลอด (siphonaceous form)** เป็นเซลล์ที่มีหลายนิวเคลียส รูปร่างเป็นหลอดหรือท่อติดต่อกันตลอดไม่มีผนังกั้น แต่ในระบบสืบพันธุ์จะมีผนังกั้นเพื่อสืบพันธุ์ พบในสาหร่าย Division Chrysophyta เช่น *Botrydium*, *Vaucheria* และสาหร่ายสีเขียว *Bryopsis* และ *Halimeda*

**5. เนื้อเยื่อพาเรนไคมา (parenchymatous form)** ประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมาที่สามารถแบ่งเซลล์ได้หลายทิศทาง ทำให้สาหร่ายมีลักษณะเป็นทัลลัส ถ้าเซลล์พาเรนไคมาแบ่งแบบ 2 ทิศทาง จะทำให้ทัลลัสมีลักษณะแบน พบในสาหร่ายสีเขียว *Monostorma* บางชนิดพาเรนไคมาแบ่งมากกว่า 2 ทิศทางจำทให้ทัลลัสมีลักษณะเป็นท่อ พบในสาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีน้ำตาล และสาหร่ายสีแดง

## 2.5 ความสำคัญของสาหร่าย (ดัดแปลงมาจากยุวดี, 2549)

สาหร่ายมีความสำคัญต่อมนุษย์ในด้านต่างๆทั้งด้านสิ่งแวดล้อมและการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆดังนี้

### 2.5.1 ด้านระบบนิเวศแหล่งน้ำ

สาหร่ายสังเคราะห์อาหารด้วยตัวเอง โดยในกระบวนการดังกล่าวจะได้ออกซิเจน ซึ่งออกซิเจนมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำมากที่สุด สาหร่ายจึงมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ นอกจากนั้นยังเป็นสิ่งมีชีวิตในลำดับแรกของห่วงโซ่อาหารในน้ำ โดยเป็นอาหารของแพลงก์ตอนสัตว์ ลูกกุ้ง ลูกปลา และสัตว์น้ำอื่นๆ

### 2.5.2 ด้านอาหาร

สาหร่ายขนาดใหญ่ถูกใช้เป็นอาหารของสัตว์เลี้ยง เช่น วัว ควาย หรือสุกร มนุษย์ก็บริโภคสาหร่ายทะเลมานาน โดยเฉพาะอาหารญี่ปุ่นจะมีสาหร่ายประกอบอยู่ด้วย ที่นิยมกันมากคือสาหร่ายสีแดง *Porphyra* spp. อาหารไทยประเภทต้มจืดก็นิยมใส่สาหร่ายประเภทนี้ ภาคเหนือและภาคอีสานของประเทศไทยนิยมบริโภคสาหร่ายสีเขียว *Spirogyra* spp. โดยนำมายำใส่เครื่องปรุงต่างๆ ส่วนสาหร่ายขนาดเล็ก เช่น *Chlorella* spp. และ *Spirulina* spp. จัดเป็นสาหร่ายเศรษฐกิจที่มีผู้นิยมรับประทานเป็นอาหารเสริมกันมากโดยเฉพาะ *Spirulina* spp.

**2.5.3 ด้านอุตสาหกรรม**

สาหร่ายหลายชนิดมีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรม ส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่นำไปทำเป็นวุ้น (agar) คาร์ราจีน (carrageenin) และอัลจินหรืออัลจิเนต (align หรือ alginate) เป็นต้น

**2.5.4 ด้านเกษตรกรรม**

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น *Anabeana azollae* สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศแล้วเปลี่ยนมาเป็นแอมโมเนีย นิยมนำมาทำปุ๋ยชีวภาพเพื่อช่วยให้ผลผลิตดีขึ้น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

**2.5.5 ด้านการแพทย์**

สาหร่ายหลายชนิดสามารถใช้เป็นยารักษาโรคได้ เช่น ยาสมุนไพร ยาปฏิชีวนะ

**2.5.6 ด้านการบำบัดน้ำเสีย**

ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียนั้น สารอินทรีย์ซึ่งมากับน้ำเสียจะถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายเป็นสารอนินทรีย์ เช่น ฟอสเฟต ไนเตรต แอมโมเนีย และอื่นๆ สาหร่ายสามารถใช้สารอินทรีย์เหล่านี้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม ทำให้น้ำเสียมีปริมาตรสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ลดลง พร้อมกันนั้นแหล่งน้ำจะมีออกซิเจนเพิ่มขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายมีผลทำให้คุณภาพน้ำดีขึ้น

**2.5.7 ด้านการใช้เป็นสิ่งมีชีวิตติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำ**

เนื่องจากสาหร่ายหลายชนิดสามารถเจริญในแหล่งน้ำที่มีคุณภาพต่างกันตัวอย่างเช่น *Euglena* spp. และ *Oscillatoria* spp. สามารถเจริญได้ในน้ำที่มีสารอินทรีย์สูงหรือน้ำคุณภาพไม่ดี ในขณะที่สาหร่ายสีเขียวกลุ่มเดสมิดส์เช่น *Cosmarium* spp. หรือ *Staurastrum* spp. เจริญในน้ำที่มีสารอาหารน้อยหรือน้ำที่มีคุณภาพดี ซึ่งความสามารถของการเจริญในแหล่งน้ำที่ต่างกันของสาหร่ายจะนำไปสู่การใช้สาหร่ายเป็นใช้ในตรวจสอบสภาวะแวดล้อมทางน้ำ

**2.5.8 ด้านการผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อวงการอุตสาหกรรมหลายชนิด**

ปัจจุบันได้มีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายมากขึ้น เช่น เอนไซม์หลายชนิดและบางชนิดมีความเป็นไปได้สูงในการไปใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรม สารโพลิเมอร์และรงควัตถุจากสาหร่ายหลายชนิดสามารถนำไปใช้ได้ในวงการอุตสาหกรรมด้านอาหาร เครื่องสำอาง และเวชภัณฑ์ต่างๆ

## 2.6 การเก็บรักษาสาหร่าย (ยุวดี, 2549 และขจรเกียรติ์, 2550)

การเก็บรักษาสาหร่ายทำได้ 2 ทางคือการเก็บรักษาแบบมีชีวิตและเก็บรักษาแบบไม่มีชีวิต การเก็บรักษาแบบมีชีวิตทำได้โดยแช่ในไนโตรเจนเหลวซึ่งใช้อุณหภูมิต่ำมากหรืออาจจะใช้วิธีทำให้เซลล์แห้งและแข็ง ซึ่ง 2 วิธีนี้จะสามารถเก็บสาหร่ายได้อย่างยาวนานเป็นสิบๆปี โดยเซลล์สาหร่ายไม่ตายและไม่ต้องเปลี่ยนอาหารบ่อย วิธีนี้มักใช้กับสาหร่ายที่มีขนาดเล็ก และการเก็บรักษาแบบไม่มีชีวิตส่วนใหญ่จะใช้กับสาหร่ายขนาดใหญ่ วิธีแรกเก็บรักษาโดยการทำแห้งบนกระดาษ วิธีนี้รูปร่างของ

สาหร่ายจะเปลี่ยนไปแต่สีของสาหร่ายชนิดนั้นๆไม่เปลี่ยนแปลง วิธีที่สองคือการทำสไลด์สำเร็จรูป มักจะใช้สาหร่ายขนาดเล็ก หรือเพื่อศึกษาโครงสร้างสำคัญของสาหร่ายขนาดใหญ่

## 2.7 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย (ดัดแปลงมาจากนายเริงฤทธิ์และคณะ, 2559)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร 2 ชนิดคืออาหารเหลว อาหารแข็งหรืออาหารวุ้นอาหาร 2ชนิดนี้ใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนหรือผลิตเป็นอุตสาหกรรม หรือเลือกใช้อาหารให้เหมาะสมกับสายพันธุ์ของสาหร่าย ซึ่งการเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีระยะแบ่งออกเป็น 2 ระยะคือ การเพาะเลี้ยงในระยะสั้นและการเพาะเลี้ยงในระยะยาว

## 2.8 ลักษณะของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหาร (ดัดแปลงมาจากขจรเกียรติ์, 2550)

มีทั้งหมด 5 ลักษณะดังนี้

**2.8.1 Unialgal culture** คือการเลี้ยงชนิดเดียวไม่มีชนิดอื่นปนอาจมีแบคทีเรียหรือโปรโตซัวอยู่ด้วย

**2.8.2 Axenic culture** การเลี้ยงชนิดเดียวหรือหลายชนิดต้องไม่มีแบคทีเรียปน อาจเจริญมาจากเซลล์หลายเซลล์รวมตัวกันจนเป็นชนิดเดียวกัน

**2.8.3 Monoxenic culture** คือสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงมีสิ่งมีชีวิตอื่นอีก 1 ชนิด ปะปนอยู่ด้วย

**2.8.4 Pure culture** คือการเลี้ยงชนิดเดียวเท่านั้นไม่มีสิ่งมีชีวิตอื่นใดปนเลยประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่เจริญมาจากเซลล์เพียง เซลล์เดียว จัดเป็น genetic purity

**2.8.5 Stock culture** คือการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ทราบชนิด เพาะเลี้ยงเอาไว้เพื่อใช้ในการศึกษาทดลองหรือการนำไปใช้ประโยชน์

## 2.9 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ (ดัดแปลงมาจากขจรเกียรติ์, 2550)

เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆได้ โดยทั่วไปนิยมเพาะเลี้ยงแบบเก็บเกี่ยวครั้งเดียว การเพาะเลี้ยงแบบนี้มีวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกัน เช่น เพื่อการศึกษารูปแบบของการเจริญ อัตราการเจริญ สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเช่น ความเข้มแสง อุณหภูมิ ระดับความเข้มข้นของอาหาร และสามารถรายงานผลการเจริญเหล่านี้ในรูปของค่า OD จำนวนเซลล์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ หรือน้ำหนักแห้ง ซึ่งแสดงให้เห็นในรูปของกราฟการเจริญ

**2.9.1 ระยะการเจริญของสาหร่าย**

สาหร่ายมีการเจริญและการขยายพันธุ์เช่นเดียวกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ซึ่งระยะการเจริญของสาหร่าย (รูปที่ 2.15) ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้ (รูปที่ 2.1)

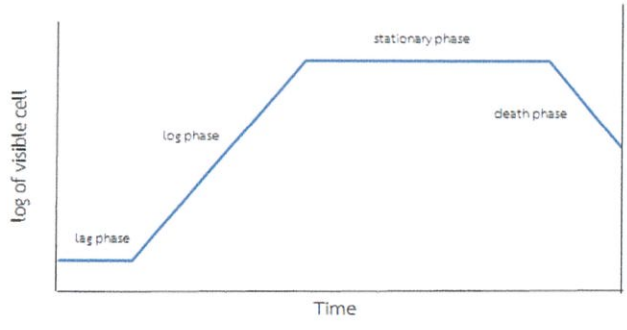
1. **lag phase** เป็นระยะที่เซลล์ของสาหร่ายปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่

สิ่งแวดล้อมใหม่ เช่น อาหาร แสง และอุณหภูมิ ซึ่งระยะนี้ไม่มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ สาหร่ายจะอยู่ในระยะนี้ได้นานแค่ไหนขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่ายและสูตรอาหารที่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยง

**2. log phase (exponential phase)** เป็นระยะที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ระยะแบ่งตัวมีอัตราการแบ่งตัวคงที่ ส่วนประกอบทางเคมีของเซลล์และกระบวนการต่างๆ ตลอดจนสมบัติทางสรีรวิทยาเป็นแบบเดียวกัน

**3. stationary phase** เป็นระยะที่สาหร่ายเจริญคงที่ มีอัตราการเกิดเท่ากับอัตราการตาย เนื่องจากการขาดแคลนอาหารและการเกิดสารพิษจากกระบวนการเมเทบอลิซึม ทำให้มีการสลายตัวของเซลล์สาหร่ายมากขึ้น

**4. death phase** เป็นระยะที่เซลล์หยุดการเจริญเติบโต เนื่องจากอาหารหมดลงและเซลล์มีการตายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว




**รูปที่ 2.1** กราฟแสดงระยะการเจริญของเซลล์

### 2.9.2 การวัดการเจริญและชีวมวลของสาหร่าย

การวัดมวลชีวภาพหรือปริมาณของสาหร่าย เพื่อศึกษาการเพิ่มจำนวนและการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยง ทำได้หลายวิธีการ ได้แก่ การนับจำนวน (Number) หรือหามวลชีวภาพ (Biomass) ของสาหร่ายต่อหน่วยปริมาตรน้ำ โดยการที่จะเลือกใช้วิธีใดนั้นต้องคำนึงถึงความเหมาะสมและ ข้อจำกัดของแต่ละวิธีตลอดจนชนิดของสาหร่าย อย่างไรก็ตามก็ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการศึกษาด้วย

การวัดมวลชีวภาพและการเจริญเติบโตของสาหร่ายแบ่งออกเป็น 2 วิธีใหญ่คือ

**1. การวัดโดยตรง (Direct measurement or Total Count)** แบ่งออกเป็น 4 วิธีดังนี้

1. การนับโดยใช้สไลด์นับเซลล์ (counting chamber) และกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound microscope)

2. การนับโดยใช้การตกตะกอนและกล้องจุลทรรศน์แบบ inverted microscope

3. การนับโดยใช้สไลด์ธรรมดาและจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound microscope)

4. การนับโดยใช้เครื่องนับจำนวน (counter count หรือ electronic counting)

**2. การวัดประชากรสาหร่ายโดยอ้อม (Indirect measurement)** แบ่งออกเป็น 6 วิธีดังนี้

1. การหาน้ำหนักแห้ง (day weight)
2. การหาน้ำหนักของขี้เถ้า (ash content)
3. การหาปริมาตรเซลล์ที่อัดกันอยู่ (pack cell volume)
4. การหาความหนาแน่นโดยอาศัยแสง (optical density)
5. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอน (analysis of carbon)
6. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และรงควัตถุอื่น (chlorophyll and other)

## 2.10 การเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ (ยุวดี,2549 และขจรเกียรติ์, 2550)

ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายในเวลาเช้าช่วงเวลา 7.00-9.00 น. บริเวณที่เก็บตัวอย่างต้องมีแสงแดดส่องผ่าน โดยจะทำการเก็บตัวอย่างด้วยอุปกรณ์จำพวกกระบอกน้ำ ขวดน้ำ ถังน้ำในการเก็บทำการเก็บตัวอย่างปริมาณ 50-100 มิลลิลิตร นำมาเก็บไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และมีแสงแดดส่องผ่าน เมื่อทำการเก็บตัวอย่างไว้ได้ระยะเวลาประมาณ 7 วันจะสังเกตเห็นได้ว่าสาหร่ายที่เก็บมามีสีที่ซีดซึ่งสีที่ซีดนั้นมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยของปริมาณสารสีสำหรับใช้ในการสังเคราะห์แสงลดลง ปัจจัยชองเซลล์ที่มีการสะสมอาหารเพิ่มมากกว่าปกติ และปัจจัยของเซลล์ที่มีการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิคและโปรตีนลดลง

## 2.11 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการดูดซึมธาตุอาหารของสาหร่าย

### 2.11.1 ปัจจัยทางกายภาพ

ปัจจัยทางกายภาพได้แก่ แสงซึ่งมีอิทธิพลทางอ้อมต่ออัตราการดูดซึมธาตุอาหาร อุณหภูมิมีผลต่อการดูดซึมธาตุอาหาร กระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ และการเคลื่อนตัวของน้ำมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

### 2.11.2 ปัจจัยทางเคมี (ยุวดี, 2549 และดวงกมล, 2555)

มีผลต่อการดูดซึมธาตุอาหารของสาหร่าย ความเข้มข้นของธาตุอาหาร กล่าวคือ ถ้าสาหร่ายอยู่ในน้ำที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารสูงๆจะทำให้อัตราการดูดซึมธาตุอาหารมีมากขึ้น ปัจจัยทางเคมีได้แก่ ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง

**2.11.3 ปัจจัยทางชีวภาพ** (ดัดแปลงมาจากยุวดี, 2549)

ปัจจัยทางชีวภาพได้แก่ อายุของทัลลัสสาหร่าย สาหร่ายที่ยังอ่อนหรืออายุน้อยจะสามารถดูดซึมธาตุอาหารได้ดีกว่าสาหร่ายที่มีอายุมาก และสภาพของสาหร่ายที่อยู่ในบริเวณที่มีธาตุอาหารแตกต่างกัน พบว่าสาหร่ายอยู่ในบริเวณที่มีธาตุอาหารปริมาณมาก เมื่อนำมาเลี้ยงใหม่เพื่อศึกษาการดูดซึมธาตุอาหาร พบว่าสาหร่ายดังกล่าวจะมีอัตราการดูดซึมน้อยกว่าสาหร่ายที่อยู่ในบริเวณที่มีธาตุอาหารปริมาณน้อย

## 2.12 สูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย (Borowizka, 1988)

เป็นสูตรอาหารที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีอยู่ด้วยกันหลายสูตรในที่นี้จะยกตัวอย่างสูตรอาหารที่สำคัญใช้สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดดังนี้

**2.12.1 Allen's blue-green medium (modifield)** เหมาะสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

**2.12.2 สูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายของชูเบอร์ 10** (Chu. No. 10 Medium) เป็นสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายได้หลายกลุ่ม เช่น ไดอะตอม สาหร่ายสีเขียวแกมเหลืองและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เป็นต้น

**2.12.3 สูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหรายแตละสกุล** แบ่งออกเป็น 6 สูตรดังนี้

**1. สูตรอาหารซารรุค (Zarrouk's medium)** เปนสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหรายสีเขียมแกมน้ำเงิน สกุล *Spirulina*

**2. สูตรอาหารเลี้ยงสาหรายคอลเรลลา ( Chlorella Medium)** เป็นสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหรายเซลลเดียวสกุล *Chlorella*

**3. อาหารสูตร Jaworski's Medium (JM)** เป็นสูตรอาหารที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืด พวกสาหร่ายสีเขียวและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

**4. สูตรอาหารของโบลด์ (Bold' s Basal Medium, BBM)** สูตรอาหารสูตรนี้สามารถใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายได้หลายกลุ่ม ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว (chlorophyta) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (cyanophyta) และสาหร่ายสีเขียมแกมเหลือง (chrysophyta)

**5. สูตรอาหาร BG-11 (blue-green medium)** เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสำหรับใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

**6. สูตรอาหาร N-8** (Atthasampunna, 1995) เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสำหรับใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว

**2.13 วิธีการคัดแยกเชื้อสาหร่าย (Isolation method)** (ดัดแปลงมาจากขจรเกียรติ์ ศรีนวลสม, 2550) แบ่งออกเป็น 3 วิธีดังนี้

**2.13.1 Enrichment method**

วิธีการแยกเอาทำให้สภาพแวดล้อมเหมาะสมเฉพาะสาหร่ายชนิดที่ต้องการเช่น การเตรียมอาหาร ที่เหมาะสมสำหรับสาหร่ายชนิดที่ต้องการศึกษา ซึ่งจะทำให้สาหร่ายชนิดอื่นไม่เจริญหรือเจริญได้น้อย

**2.13.2 Manipulative method**

วิธีการแยกสาหร่ายชนิดที่ต้องการออกจากสาหร่ายชนิดอื่นๆ โดยวิธี การปั่น การใช้ปิเปต การเขี่ยเชื้อบนอาหารวุ้น เป็นต้น

**2.13.3 Antibiotic method**

วิธีใช้ยาปฏิชีวนะฆ่าสาหร่ายหรือสิ่งมีชีวิตอื่นที่เราไม่ต้องการ ซึ่งยาปฏิชีวนะที่นิยมมีอยู่ 3 ชนิดคือ เพนนิซิลิน สเตรปโตมัยซิน และคลอแรมเฟนนิคอล

**2.14 เทคนิคคัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย** (ดัดแปลงมาจากวีนาและขจรเกียรติ์ ศรีนวลสม, 2550)

**2.14.1 วิธีปั่นให้ตกตะกอน (Centrifugation Method)**

วิธีนี้อาศัยหลักการที่สาหร่ายมีขนาดและน้ำหนักที่มากกว่าแบคทีเรีย ถ้าทำหลายๆ ครั้งก็จะได้สาหร่ายที่บริสุทธิ์มากขึ้นวิธีปั่นให้ตกตะกอนจะมีขั้นตอนการแยกสาหร่ายดังนี้

1. นำสาหร่ายที่จะแยกเชื้อใส่ลงในหลอดของเครื่องปั่นประมาณ 15 มิลลิลิตร ถ้าสาหร่ายที่มีลักษณะเป็นเส้นสายหรือทัลลัสให้ใช้ใบมีดโกนคมๆตัดสาหร่ายบนสไลด์ออกเป็นท่อนๆ ท่อนละประมาณ 1.5 มิลลิเมตร แล้วใส่ลงในหลอดสำหรับปั่น เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณครึ่งหลอด

2. นำสาหร่ายไปปั่นที่ความเร็วประมาณ 2,000 รอบต่อนาทีนานประมาณ 1-2 นาทีจนกระทั่งสาหร่ายตกตะกอนรวมกันอยู่ที่ก้นหลอดรินน้ำใสส่วนบนออกให้หมด

3. ใส่น้ำกลั่นลงไป 15 มิลลิลิตร ทำซ้ำเหมือนในข้อที่ 2 ประมาณ 7 ครั้ง เมื่อครบ 7 ครั้งแล้วให้รินน้ำใสๆข้างบนออกโดย ไม่ทำให้ตะกอนขุ่น เทตะกอนสาหร่ายในหลอดแก้วที่มีอาหารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 1 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตที่ปลอดเชื้อดูดสาหร่ายในหลอดนี้ 2–3 หยดไปใส่ในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารวุ้นเพื่อทำการคัดแยกเชื้อบนอาหารวุ้นต่อไป

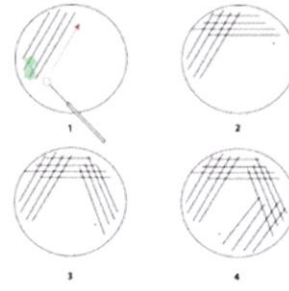
**2.14.2 วิธีการแยกบนอาหารวุ้นในจานเพาะเชื้อ (Streak plate Method)**

วิธีนี้นำความรู้ทางปฏิบัติการจุลชีววิทยามาใช้และอาจจะเป็นวิธีที่ทำให้ได้ axenic culture มากกว่าวิธีอื่นๆการแยกบนอาหารวุ้นในจานเพาะเชื้อมีขั้นตอนดังนี้

1. หยดน้ำตัวอย่างที่มีสาหร่ายที่ต้องการแยกในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารวุ้น 1–2 หยด หยดลงในบริเวณที่ใกล้ขอบจานเพาะเชื้อ

2. นำปลายห่วงเขี่ยเชื้อลนเปลวไฟ แล้วแตะที่หยดน้ำลากเส้นขนานออกไปสัก 3–4 เส้น โดยลากเส้นบนอาหารวุ้นเป็นรูปห้าเหลี่ยม เมื่อลากห่วงเขี่ยเชื้อมาสุดแต่ละมุมของรูปห้าเหลี่ยมนี้ต้องเผาห่วงเขี่ยเชื้อซ้ำทุกครั้ง เพื่อฆ่าเชื้อและให้ใช้เซลล์ที่ปลายสุดของการลากครั้งสุดท้ายเป็นเชื้อสำหรับการลากเส้นต่อไป (รูปที่ 2.2)

3. ปิดฝาจานเพาะเชื้อ พลิกเอาก้นจานเพาะเชื้ออยู่ข้างบนเทน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงไปในจานเล็กน้อย เพื่อป้องกันไม่ให้อาหารวุ้นแห้ง จากนั้นนำไปวางที่มีแสงสว่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 1–2 อาทิตย์ วิธีนี้จำนวนเซลล์สาหร่ายที่อยู่บนเส้นที่ลากจะลดน้อยลงทุกที ฉะนั้นเมื่อทำการเลี้ยงสาหร่ายได้ประมาณ 1–2 อาทิตย์ จะมีกลุ่มเซลล์สาหร่าย (colony) ขึ้นมา โดยจะมีช่องว่างห่างกันมากในบริเวณเส้นที่ลากท้ายๆ จนสามารถเก็บเซลล์เพียงเซลล์เดียวจากจานเพาะเชื้อได้



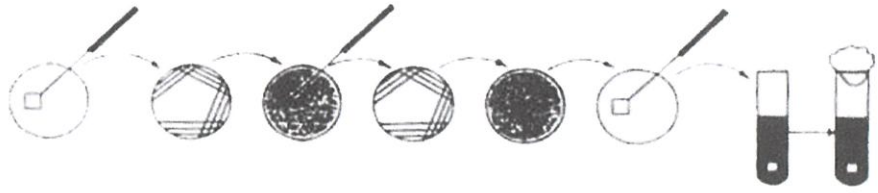
**รูปที่ 2.2** ลักษณะการลากเส้นบนอาหารวุ้น

**ที่มา:** http://fe.rmutl.ac.th/2012/wp-content/uploads/Lab2.-Basic-Techniques-for-Microbiology-56.pdf

4. เขี่ยเซลล์สาหร่ายเดียวๆมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อเผาไฟ แล้วเขี่ยเซลล์สาหร่ายบางส่วนของโคโลนีไปทำ wet mount

5. ถ้าเซลล์สาหร่ายที่เขี่ยมาตรวจเป็นชนิดเดียวกัน (บริสุทธิ์) ให้ถ่ายเชื้อของสาหร่าย (subculture) ลงในอาหารวุ้นชุด ใหม่ โดยให้ทำเหมือนข้อ 2 อีกครั้งในอาหารวุ้นจานใหม่ ซึ่งการถ่ายเชื้อสาหร่ายในครั้งที่ 2 นี้จะช่วยทำให้ได้สาหร่ายที่บริสุทธิ์ขึ้นจนอยู่ในสภาพ axenic culture แต่ถ้าเชื้อไม่บริสุทธิ์ให้ทำเหมือนข้อ 2-4 ซ้ำอีกครั้งหรือทำจนกว่าจะได้เชื้อบริสุทธิ์

6. ให้ถ่ายเชื้อของสาหร่ายที่บริสุทธิ์ลงในหลอดแก้วที่มีอาหารวุ้นเอียง (slant) และหลอดแก้วที่มีอาหารเหลว (broth) สำหรับเก็บไว้เป็น stock culture ต่อไป (รูปที่ 2.3)



**รูปที่ 2.3** ขั้นตอนการแยกเชื้อบนอาหารวุ้น (ลัดดา, 2543)

**2.14.3 วิธี Pick up (Pick up method)**

วิธีนี้เหมาะกับสาหร่ายที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ ซึ่งมีขั้นตอนการแยกสาหร่ายดังต่อไปนี้

1. ใชหวงเขี่ยเชื้อเขี่ยสาหรายที่ตองการจะแยกมาจุมน้ำที่เตรียมไวบนสไลดสองดูภายใตกลองจุลทรรศนเพื่อ กำหนดตำแหนงของสาหรายที่ตองการ จากนั้นใชปเปตดูดสาหรายขึ้นมา

2. นำสาหรายไปใสในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆาเชื้อแลวที่เตรียมไวบนสไลด์ โดยตองเปาอากาศใหน้ำในปเปตออกไปอยูบนสไลดใหหมดล่างสาหรายด่วยวิธีนี้อีก 4 ครั้ง เมื่อล่างสาหรายครบทั้ง 4 ครั้งแล่วจึงนำสาหรายใสลงในหลอดแก่วที่มีอาหารเหลว และนำหลอดไปวางในที่มีแสงสวางและสังเกตการณเจริญเติบโตของสาหราย

**2.14.4 วิธี Stab-agar (Stab-agar Method)**

วิธีนี้เหมาะกับสาหรายพวกเส่นสาย (filamentous form) ซึ่งมักจะมีสาหรายชนิดอื่นๆ อาศัยเกาะอยู มีขั้นตอนการแยกเชื้อสาหรายดังนี้

1. ลางสวนของ filament ดวยน้ำประปาที่ไหลแรง

2. ฝงชิ้นสวนของสาหรายลงในอาหารวุนในจานเพาะเชื้อ

3. นำจานเพาะเชื้อมาไวที่มีแสงสวาง แล้วปลอยใหสาหรายเจริญประมาณ 1-2 อาทิตย์จะมีสาหรายตนออนเกิดขึ้น

4. แยกตนออนออกแลวใชมีดตัดตนออนเปนชิ้นเล็กในหยดน้ำบนสไลด

5. ลางวุนที่ติดมาออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆาเชื้อแลว 3 ครั้งแลวนำไปใสในหลอดแกวที่มีอาหารเหลวอยูวางในที่มีแสงสวาง

## 2.15 การเพิ่มจำนวนสาหร่าย

การเพิ่มจำนวนสาหร่ายแบ่งออกเป็น 2 ระดับคือการเพิ่มจำนวนสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการซึ่งทำได้โดยนำสาหร่ายที่บริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยงไว้ในแสลน นำไปเพาะเลี้ยงต่อในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร และอีกระดับหนึ่งคือการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายในระดับอุตสาหากรรมทำได้โดยนำสาหร่ายที่บริสุทธิ์ที่ทำการเพาะเลี้ยงไว้นำไปเพิ่มจำนวนโดยทำการเพาะเลี้ยงต่อในบ่อดินหรือบ่อซีเมนต์

## 2.16 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่าย

มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทั้งหมด 5 งานวิจัย โดยเป็นงานวิจัยตั้งแต่ปี 1996-2017 ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

**2.16.1 ผลของความเครียดที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิตต่อการผลิตลูทีนและ β-carotene โดย *C. acidophila*** (Inés Garbayo และคณะ, 2008)

*C. acidophila* เจริญเติบโตและสร้างอาหารได้เองโดยได้รับแสง PAR (160 มิลลิลักซ์/ตารางเมตร·วินาที) อย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการสะสมคลอโรทีนอยด์ที่เพิ่มขึ้นการสะสมนี้เกิดจากการตอบสนองของความเครียดของสิ่งไม่มีชีวิต ความเครียดเกิดจากความเข้มแสงสูง ความผันผวนของรังสียูวีเอและอุณหภูมิสาหร่ายที่ได้แสง PAR ที่ความเข้ม 240 160 มิลลิลักซ์/ตารางเมตร·วินาที อย่างต่อเนื่อง หลังจาก 20 วันมีการเจริญเติบโตของแคโรทีนอย์ทั้งหมด 57.5±1.6 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการฉายรังสีที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิลักซ์/ตารางเมตร·วินาที มีการผลิตของลูทีน (20±0.5 มิลลิกรัม/ลิตร) และเบต้าแคโรทีน (8.3±0.2 มิลลิกรัม/ลิตร) ใน *C. acidophila* แต่ซีแทนซีนมีการผลิตที่น้อย (0.2±0.1 มิลลิกรัม/ลิตร) การผลิตลูทีน และเบต้าแคโรทีนที่เพิ่มขึ้นพบในสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้สภาวะมาตรฐานที่มีความเข้มของรังสี UV-A ระดับปานกลาง (10 มิลลิลักซ์/ตารางเมตร·วินาที) และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ค่าของ $Fe^{+3}$ ที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ในช่วงระหว่าง 5 และ 35 mM ส่งผลให้ความสามารถในการเจริญเติบโตของ *C. acidophila* และแคโรทีนอยด์ที่อยู่ภายในเซลล์มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรด์ตามที่ช่วงความเข้มข้นของทองแดง 1-5 การสังเคราะห์ของเบต้าแคโรทีนจะเพิ่มขึ้น สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตและมีความเข้มข้นของแคโรนอยด์ภายในเซลล์ได้ต้องเลี้ยงสาหร่ายภายใต้สภาวะมิกโซโทรฟิค โดยน้ำตาลกลูโครส 10 มิลลิโมล เป็นแหล่งคาร์บอน

**2.16.2 β, ε-แคโรทีนอยด์ ลูทีนเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการก่อตัวของโอลิโกเมอร์ริค ซึ่งรูปแบบของการเก็บเกี่ยวแสงที่ซับซ้อนในสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus obliquus*** (Bishop.I.N, 1996)

เซลล์เม็ดสีทั้งหมดถูกแยกออกจากปริมาตรมาตรฐานของเซลล์สาหร่าย (100~tl หรือ 500~tl PCV สำหรับการวิเคราะห์ HPLC หรือ TLC) โดยการต้มเป็นเวลา 1 นาทีในเมทานอล และนำไปทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1500 rpm เป็นเวลา 5 นาที เมื่อปั่นเหวี่ยงครบ 5 นาทีแล้วทำการสกัดจนกว่าจะไม่มีเม็ดสี สำหรับการศึกษานี้ความเข้มข้นของเม็ดสีแต่ละสีถูกวัดด้วย HPLC ที่เทียบได้กับสารละลายมาตรฐานของตัวอย่างบริสุทธิ์ของคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

**2.16.3 ความเครียดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสังกะสีใน *Chlorella sorokiniana* และ *Scenedesmus acuminatus*** (Hamed.M.S และคณะ, 2017)

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องสัมผัสกับโลหะที่เป็นพิษบ่อยๆและในปัจจุบันสังกะสีเป็นหนึ่งในสารพิษที่สำคัญ ในงานวิจัยนี้ได้นำความเข้มข้นของสังกะสีที่มีความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 1.0 และ 0.6 มิลลิโมล มาทำการทดสอบกับสาหร่ายสีเขียว 2 ชนิด ได้แก่ *Chlorella sorokiniana* และ

*Scenedesmus acuminatus* เป็นเวลา 7 วัน เพื่อทำการวิเคราะห์การตอบสนองของสาหร่ายนั้นคือ ค่าระดับการเจริญเติบโต ภาวะเครียดของออกซิเดชัน และสารต้านอนุมูลอิสระ พารามิเตอร์ของการเจริญเติบโต (ค่าผลผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ และปริมาณเม็ดสีได้รับผลกระทบน้อยลงจากสังกะสีใน *Chlorella sorokiniana* แม้ว่าจะสะสมสังกะสีมากกว่า *Scenedesmus acuminatus* ) ซึ่งการวัดสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (FRAP) ทำได้โดยการนำเซลล์สาหร่ายที่บดแล้ว 30 กรัม มาผสมกับสารสกัดที่เตรียมไว้ 2 มิลลิลิตร (0.3 โมลาร์ acetate buffer (pH3.6), 0.01 มิลลิโมลาร์ TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-striazine) เทลงใน 0.04 มิลลิโมลาร์ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) และ 0.02 โมลาร์ เฟอร์ริคคลอไรด ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) เป็นเวลา 30 นาที และวัดที่ 600 นาโนเมตร ด้วย micro-plate reader ใช้โทรลอกซ์เป็นสารละลายมาตรฐาน สารสกัดโทโคฟีรอลถูกสกัดในเฮกเซนและนำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยใช้ dimethyl tocol (DMT) เป็นมาตรฐานภายใน (5 ppm)

**2.16.4 ลักษณะและการเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิต exopolysaccharide จาก *Chlamydomonas reinhardtii*** (Amit Bafana, 2013)

การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดขึ้นอยู่กับการลด $MO^{6+}$ ให้เป็น $MO^{5+}$ โดยใช้ EPS และการสะสมที่ซับซ้อนของฟอสโฟโมลิบเดทที่ pH ที่มีค่าเป็นกรดซึ่งอ่านค่าได้ที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร การลด EPS ทำได้โดยลดโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตไปเป็นโปแตสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ ซึ่งโปแตสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์จะทำปฏิกิริยากับเฟอร์ริคคลอไรด์ เพื่อสร้างปรัสเซียนบลู (Prussian blue) ซึ่งสามารถวัดค่าได้ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร กรดแอสคอร์บิกถูกนำมาใช้เป็นสารละลายมาตรฐาน

**2.16.5 ผลกระทบระดับของแสงและความเค็มต่อองค์ประกอบและการสะสมของแคโรทีนอยด์ชนิดอิสระและเอสเทอร์ในสาหร่ายทะเล *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae)** (Pavel Přibyl และคณะ, 2016 )

การสกัดและการตรวจหาปริมาณแคโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์ทั้งหมด โดยเม็ดสีถูกสกัดจากตัวอย่างผงที่มีไดคลอโรมีเทนต่อเมทานอล (25:75 ปริมาตร/ปริมาตร) สำหรับซาพอนนิฟิเคชั่นของ แคโรทีนอยด์ทำโดยการเติมโซเดียมคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ เมทิลแอลกอฮอล์ในเมธานอลลงในสารละลายสีและเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสในที่มืดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดถูกวัดด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ การตรวจสอบสารแคโรทีนอยด์และ ester-type แคโรทีนอยด์ในสารสกัดจากเม็ดสีได้ดำเนินการตามวิธี HPLC ซึ่งทำโดยใช้โครมาโทกราฟีแบบแบบผันกลับเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยสารละลาย A (ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล:อาซีโตไนไตรล์:น้ำ = 25.0:425:27.5:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และ B (ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล:อาซีโตไนไตรล์:น้ำ= 125.0:140:212.5:15 ปริมาตร/ปริมาตร) ใช้ขั้นตอนการไล่ระดับสีดังต่อไปนี้ B ไล่ระดับสีเชิงเส้นตั้งแต่ 0 ถึง 60% นาน 7 นาที โดย 0% B นาน 5 นาที 60% B นาน 8 นาทีการไล่ระดับสีเชิงเส้นจาก 60 ถึง 100% เป็นเวลา 20 นาทีและ 100% B เป็นเวลา 20 นาที โดยมีอัตราการไหลของ 1.0 มิลลิลิตร/นาที อุณหภูมิที่ใช้คือ 50 องศาเซลเซียส และ 480 นาโนเมตร Liquid chromatography

ดำเนินการภายใต้เงื่อนไขเดียวกับ HPLC MS ได้รับแรงดันที่ใช้ในการตรวจสอบที่ 4.50 กิโลโวลต์ อุณหภูมิ CDL ที่ 200 องศาเซลเซียส ปิดกั้นอุณหภูมิเครื่องทำความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียส การไหลของก๊าซ nebulizer 1.5 ลิตร/นาที เวลาการสะสมไอออน 30 มิลลิวินาที MASS SPECTROMETRY รอบที่ 1 (MS1) มีช่วง m/z 200 ถึง 2000 MS2 ช่วง m/z 100 ถึง 1000 และ CID พารามิเตอร์พลังงาน 50% และ 100% collision gas

## 2.17 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการแยกและการวิเคราะห์สายพันธุ์สาหร่าย

มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทั้งหมด 4 งานวิจัย โดยเป็นงานวิจัยตั้งแต่ปี 2012-2016 ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

**2.17.1 การผลิตแคโรทีนอยด์ที่สูงขึ้นโดยการแยกแบบใหม่ของ *Scenedesmus* sp.** (Pavel Přibyl และคณะ, 2015)

เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการทดสอบการผลิตแคโรทีนอยด์ที่แยกได้สายพันธุ์ *Scenedesmus* sp. ในห้องปฏิบัติการพบว่า *Scenedesmus* sp. สายพันธุ์นี้มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กันกับจำนวนเซลล์ที่มีมากกว่า 2% DW *Scenedesmus* sp. มีปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์สูงมาก (สูงสุดถึง 20 มิลลิกรัม/ลิตร ต่อวัน) เนื่องจากค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะเจาะจงต่อวันมีค่าที่สูงสุด ($\mu_{max}$ = 2.7) และค่าการผลิตชีวมวล (สูงสุดถึง 2 กรัม/ลิตร ต่อวัน) นอกจากนี้ยังสามารถทนต่ออุณหภูมิที่สูงได้ ซึ่งความสามารถที่ทนต่ออุณหภูมิที่สูงจะลดลงเพียงเล็กน้อยในขั้นตอนสุดท้ายของชีวมวลคือที่ 38 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส เมื่อทำการเทียบกับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าค่าระหว่างอัตราการเจริญเติบโตที่เฉพาะเจาะจงกับอุณหภูมิไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ การเพาะเลี้ยง *Scenedesmus* sp. กลางแจ้งในถังหมักแบบให้แสง 150 ลิตร ประสบความสำเร็จ โดยมีค่าอัตราการเจริญเติบโตที่เฉพาะเจาะจงสูงสุดถึง 1.44 ต่อวัน และค่าการผลิตชีวมวลสูงสุดถึง 1.3 กรัม/ลิตร ต่อวัน หลังจาก 16 วันของการเพาะเลี้ยงพบว่ามีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมเพิ่มขึ้น 1.86% DW ของค่าการผลิตแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 9 มิลลิกรัม/ลิตร ต่อวัน การเจริญเติบโตที่ดีเยี่ยมของการผลิตแคโรทีนอยด์ที่สูงและความสามารถการทนอุณหภูมิที่สูงได้ของ *Scenedesmus* sp. นี้ทำให้ *Scenedesmus* sp. เป็นตัวเลือกที่ดีตัวเลือกหนึ่งสำหรับการผลิตทางชีวภาพของแคโรทีนอยด์ที่อุดมไปด้วยชีวมวล การอภิปรายผลนี้พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะใช้ *Scenedesmus* sp. สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์

**2.17.2 ความคืบหน้าของการแยกสายพันธุ์และการตัดต่อพันธุกรรมทางวิศวกรรมของสาหร่ายเพื่อการผลิตเชื้อเพลิงทางชีวภาพและสารเคมีอื่นๆที่มีมูลค่าเพิ่ม: บทวิจารณ์** (Ashmita Ghosh และคณะ, 2016)

สาหร่ายสีเขียวและไซยาโนแบคทีเรียเป็นแหล่งไบโอดีเซลล์ที่มีแนวโน้มว่าจะมีปริมาณของน้ำมันสูง (สูงมากกว่า 10 เท่า) ระยะเวลาของการเพาะเลี้ยงที่สั้นกว่า (น้อยกว่า 4 เท่า) และมีการผลิตน้ำมันที่มากกว่าพืชทั่วไป (เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด และสบู่ดำ) ยิ่งไปกว่านั้นสิ่งมีชีวิต

เหล่านี้ยังมีสารเคมีที่มีค่าหลากหลายในธรรมชาติ ได้แก่ เม็ดสี อาหารเสริม เช่น กรดอีโคซะเพนตะอีโนอิก (EPA) กรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิก (DNA) และวิตามิน นอกจากนี้ส่วนประกอบของเซลล์ของสิ่งมีชีสิตเหล่านี้ยังมีสารที่มีความสัมพันธ์ในการรักษาโรค เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ยาแก้อักเสบ ยากดภูมิคุ้มกัน และยาต้านไวรัส หลักสำคัญสำหรับการดำเนินงานเพื่อประสบความสำเร็จของไบโอดีเซลล์ที่ได้จากเซลล์ของสาหร่าย (หรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ)ในเชิงพาณิชย์คือการแยกและการระบุสายพันธุ์ที่ให้ค่าการผลิตสูงและอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว อย่างไรก็ตามยังไม่มีความเห็นเป็นเอกฉันท์จนถึงทุกวันนี้เกี่ยวกับสายพันธุ์ของสาหร่ายที่ดีที่สุดในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ การค้นหาสายพันธุ์ใหม่ของสาหร่ายและการตัดต่อ/ดัดแปลงสายพันธุ์ของสาหร่ายยังคงทำดำเนินต่อไป ในอนาคตอันใกล้คาดหวังว่าจะมีการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายได้ในเชิงพาณิชย์ อย่างไรก็ตามบทวิจารณ์ของรายงานเล่มนี้ได้รวบรวมคำแนะทางออกสำหรับการแยกและการระบุสายพันธุ์ของสาหร่ายร่วมกับการตัดต่อยีนเพื่อไม่ให้เกิดการปนเปื้อน บทวิจารณ์ให้ความสนใจเกี่ยวกับ 1. หลักสำคัญสำหรับการเก็บรวบรวมตัวอย่าง การแยก และการระบุของสาหร่ายสายพันธุ์ที่บริสุทธิ์ 2. เปอร์เซ็นต์ของสถานะภาพสำหรับการแยกสายพันธุ์สาหร่ายทั่วโลกซึ่งยึดสถานที่ตั้งและที่อยู่อาศัยเป็นหลัก 3. การวิจัยที่ได้รับการยอมรับเพื่อการประยุกต์เครื่องมือทางพันธุวิศวกรรมเพื่อการปรับปรุงการผลิต 4. การเปรียบเทียบความแตกต่างของระบบการเพาะเลี้ยงเพื่อการแก้ไขและพัฒนากลไก
ทางพันธุกรรม

**2.17.3 การแยกสายพันธุ์สาหร่ายป่าที่ผลิตไฮโดรเจนปริมาณสูงจากแหล่งน้ำธรรมชาติ** (Meilin He และคณะ, 2012)

ตั้งแต่ปี 2008 ได้ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างน้ำมากจากหลากหลายที่ ทะเล น้ำจืด และสิ่งแวดล้อมบนบกในจีน ทำการเก็บรวบรวมและทำการคัดแยกในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการโคลนสาหร่าย พบว่าสาร่ายมากว่า 100 สายพันธุ์เป็นสาหร่ายที่ผ่านการโคลน และนำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการขีดเชื้อในจานเพาะเลี้ยง (streak plate) 52 สายพันธุ์ที่แยกออกมาได้นั้นสามารถผลิตไฮโดรเจนภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจนได้ 28 สายพันธุ์ประกอบไปด้วย 13 สายพันธุ์เป็นสาหร่ายสรเขียวที่ได้มาจากน้ำจืด 12 สายพันธุ์เป็นสาหร่ายที่ได้มาจากน้ำทะเล และ 3 สายพันธุ์มาจากไซยาโนแบคทีเรียซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ภายใต้สภาวะไร้กรดด่างมะถันหรือไนโตรเจน ในบรรดาสายพันธุ์ทั้งหมดที่มีการผลิตไฮโดรเจนพบว่า สายพันธุ์ที่ได้มาจากน้ำจืด *C. protothecoides* มีการผลิตไฮโดรเจนสูงที่สุด (2.93 มิลลิลิตร/ลิตร/ชั่วโมง) และมีการผลิตที่สูงขึ้นถึง 123.6 มิลลิลิตร/ลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้กรดกำมะถัน สายพันธุ์ที่ได้มาจากทะเล 2 สายพันธุ์คือ *C. autotrophica* และ *T. striata* เป็นสาหร่ายสีเขียวที่สามารถที่มีลักษณะเด่นคือการสังเคราะห์แสงเพื่อผลิตไฮโดรเจนได้ โดยผลิตไฮโดรเจนได้ถึง 3.73 มิลลิลิตร/ลิตร และ 20.11 มิลลิลิตร/ลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้ถึงความเป็นไปได้ของสายพันธุ์ที่ผลิตไฮโดรเจนและค่าเฉลี่ยของการผลิตไฮโดรเจน ผลปรากฏว่าสายพันธุ์ที่ได้มาจากน้ำจืดมีการผลิตไฮโดรเจนได้สูงกว่าสายพันธุ์ที่ได้มาจากทะเล นอกจากนี้เวลาสำหรับการผลิตไฮโดรเจนของสายพันธุ์ที่ได้มาจากน้ำจืดยังมีเวลาในการ

ผลิตที่สั้นกว่าสายพันธุ์ที่ได้มาจากทะเล เมื่อนำสายพันธุ์ *Arithospira* ไปทำการทดสอบการผลิตไฮโดรเจนภายใต้สภาวะไร้กรดกำมะถันพบว่าสายพันธุ์ *Arithospira* สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ แต่เมื่อนำไปสายพันธุ์ *Arithospira* ไปเพาะเลี้ยงใยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของกรดกำมะถันผลปรากฏว่าสายพันธุ์ *Arithospira* ไม่สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ สิ่งที่น่าสนใจคือสายพันธุ์ *Arithospira* สามารถผลิตไฮโดรเจนภายใต้สภาวะไร้ไนโตรเจนได้ปริมาณที่สูงกว่าการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้กรดกำมะถัน อย่างไรก็ตามสไม่มีคริสโซไฟตาและไดอะตอมใดที่สามารถผลิตไฮโดรเจนภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจนและไร้กรดกำมะถันได้

**2.17.4 การแยก การระบุ และค่าการเจริญเติบโตที่เหมาะสมของสาหร่ายที่มีแหล่งกำเนิดมาจากปะการังอ่อน *D. endronephthya* sp.** (Hutagalung.A.H และคณะ, 2014 )

รูปร่างและสีของปะการังอ่อน *D. endronephthya* sp.จะสวยแต่กลับเป็นที่สนใจในเชิงของพาณิชย์น้อยกว่าปะการังประดับ เนื่องจากปะการังอ่อนมีโอกาสรอดน้อยกว่าเมื่อนำมาเลี้ยงที่อยู่อาศัยแบบเทียม ปะการังที่แตกต่างจากปะการังชนิดอื่นคือปะการัง *azooxhantellae* แตกต่างตรงที่ปะการังชนิดนี้จะกินอาหารจากภายนอก วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือการแยก การระบุ และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจากปะการังอ่อน *D. endronephthya* sp. ซึ่งสาหร่ายที่แยกได้แยกมาจากระบบทางเดินอาหาร ดีเอ็นเอในจีโนม และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทำได้โดยใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นแหล่งกำเนิด *Amphora* sp., *Navicula salinicola, Meyerella planktonica, Nannochloris* sp. และ *Nitzschia inconspicua* เป็นสายพันธุ์ของสาหร่ายที่สามารถแยกออกมาได้สำเร็จ ค่าชีวมวลของ *Amphora* sp. จะมีค่าสูงที่สุดเมื่อได้รับแอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจน ลำดับสุดท้ายนี้ค่าชีวมวลของ *N. salinicola* จะมีค่าสูงที่สุดเมื่อได้รับแอมโมเนียและไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน

# บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงาน

## 3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

### เครื่องมือ

1.กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) ยี่ห้อ Nikon eclipse รุ่น e200

2.เครื่องเขย่า (Shaker) ยี่ห้อ Scien-eng รุ่น TP178N ความเร็วรอบ 180 rpm

3.เครื่องชั่งสารเคมี (Balance) ยี่ห้อ Ohaus รุ่น PA214

4.เครื่องผสมสารละลาย (Vortex) ยี่ห้อ พี อินเตอร์เทรด รุ่น 146-30011-00

5.เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-1280

6.เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Hermle รุ่น Z383K

7.เครื่องหมุนเหวี่ยงขนาดเล็ก (Micro-centrifuge) ยี่ห้อ Labnet รุ่น B004193

8.ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) ยี่ห้อ Flexlab รุ่น BV4-02

9.ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ โซแอนติฟิค รุ่น ED115

10.โถดูดความชื้น (Desiccator) ยี่ห้อ Glaswerk werheim รุ่น GL32

11.หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ยี่ห้อ Tomy รุ่น SS-325

### อุปกรณ์

1.กระบวยตักน้ำ

2.กระบอกตวง ขนาด 500 มิลลิลิตร

3.ขวดดูแลน ขนาด 500 มิลลิลิตร

4.ขวดพลาสติก/ถุงพลาสติก

5.ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร

6.จานเพาะเลี้ยงเชื้อ

7.ตะเกียงแอลกอฮอล์

8.แท่งแก้ว

9.บีเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร

10.ปากคีบ

11.ปิเปต

12.สไลด์/กระจกปิดสไลด์

13.หลอดทดลอง

14.หลอดที่ใช้สำหรับ centrifuge

15.ห่วงลวดเขี่ยเชื้อ (loop)

16.ฮีมาไซโตมิเตอร์

**สารเคมีที่ใช้**

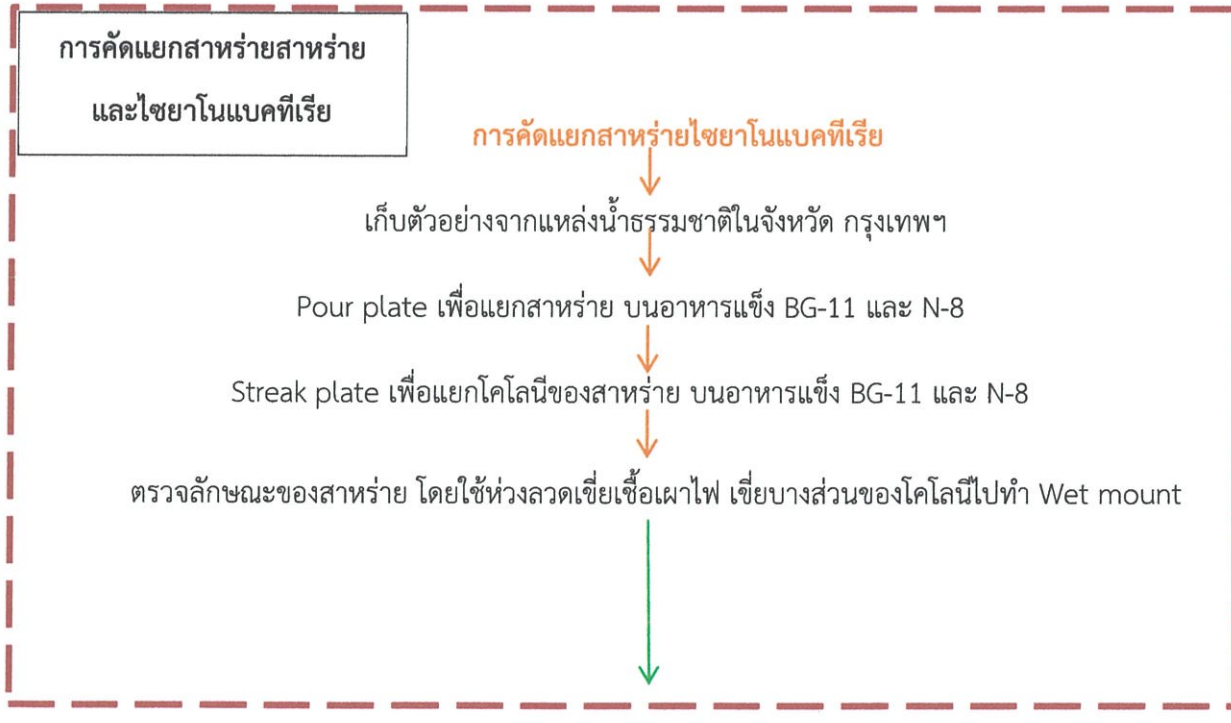
**1. สำหรับเตรียมอาหาร BG-11**

$NaNO_3$ 1.5 กรัม $KH_2HPO_4$ 0.04 กรัม $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.075 กรัม $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.036 กรัม Citric acid 0.006 กรัม Ferric ammonium citrate 0.006 กรัม EDTA (disodium salt) 0.001 กรัม $Na_2CO_3$ 0.02 กรัม Trace metal mix A5 1 มิลลิลิตร ($H_3BO_3$ 2.86 กรัม $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 1.81 กรัม $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.222 กรัม $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.39 กรัม $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.079 กรัม $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 49.4 กรัม)

**2. สำหรับอาหาร N-8**

$Na_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 0.26 กรัม $KH_2HPO_4$ 0.74 กรัม $KNO_3$ 0.01 กรัม FeEDTA 0.01 กรัม $MgSO_4 \cdot 18H_2O$ 0.05 กรัม $CaCl_2$ 1.0 กรัม Trace element 1 มิลลิลิตร ($Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ 3.58 กรัม $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 12.98 กรัม $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 1.83 กรัม $ZnSO_4 \cdot 7H_2$ 3.20 กรัม)

## 3.2 แผนผังการทดลอง



**การเลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการ และ การหาปริมาณสารสำคัญ**

นำไปขยายจำนวนเซลล์สาหร่ายโดยทำการเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยในขวดรูปชมพู่มีอาหารสูตร BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลตร (ทำ2 ซ้ำ)

↓

-การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย
-นับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์
-การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง
-การวัดค่าการดูดกลืนแสง

↓

การหาปริมาณ คลอโรฟิลล์ เอ,คลอโรฟิลล์ คลอโรฟิลด์บี และแคโรทีนอยด์

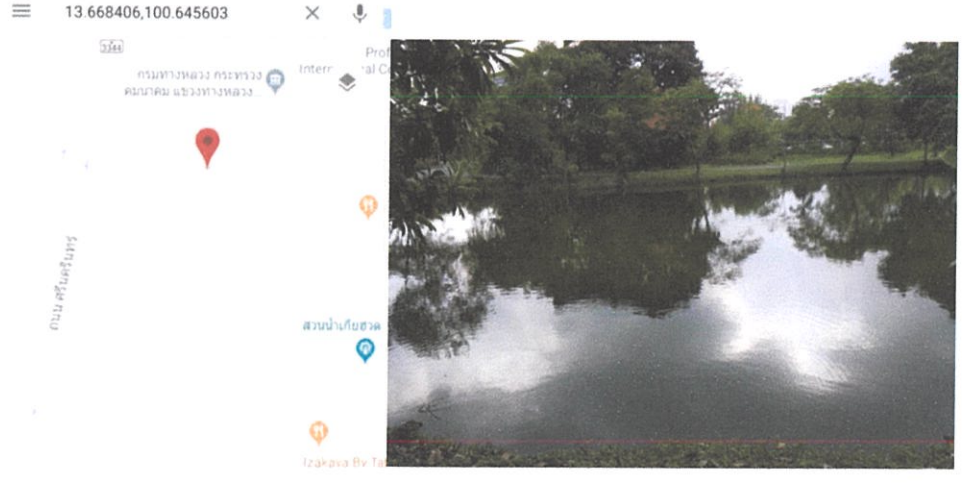
### 3.3 การเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำ

การเก็บสาหร่ายที่ลอยอยู่ในน้ำจืด หรือน้ำเค็ม จะขึ้นอยู่กับสถานที่ ลักษณะงาน และปริมาณที่ต้องการใช้ เราจะเก็บตัวอย่างสาหร่ายประมาณ 300-350 มิลลิลิตร โดยใช้กระบวยตักน้ำ ตักน้ำในส่วนที่มีสีเขียว หรือสีเขียวแกมน้ำเงินจากแหล่งน้ำ แล้วจึงนำใส่ขวด หรือถุงพลาสติก จากนั้นนำไปเลี้ยงไว้ในที่ที่มีแดดส่องผ่านแล้วเปิดฝาขวดเผื่อให้มีอากาศ

สถานที่ที่เก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำธรรมชาติ มีทั้งหมด 4 แหล่ง 8 บ่อ ดังนี้

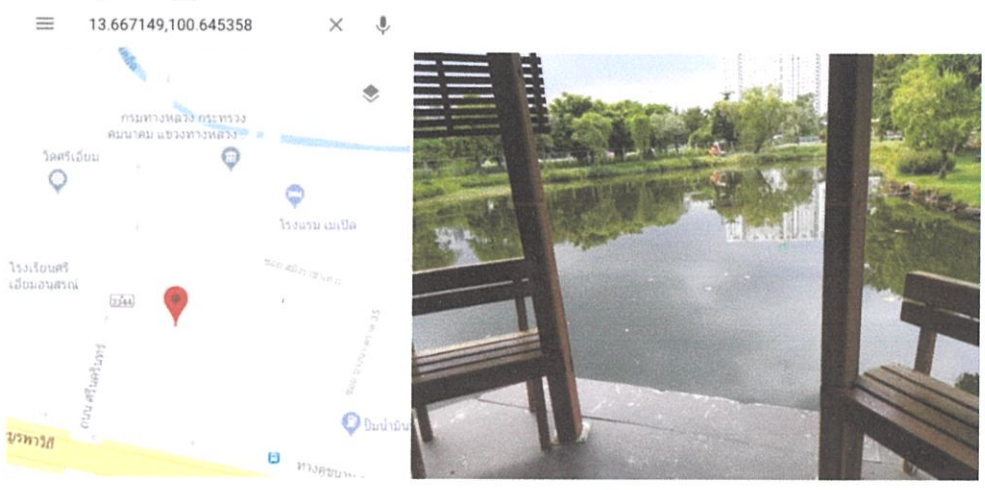
1.แขวงกลางทางสมุทรปราการ รหัส BN1 และ BN2

รหัส BN1




**รูปที่ 3.1** สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส BN1

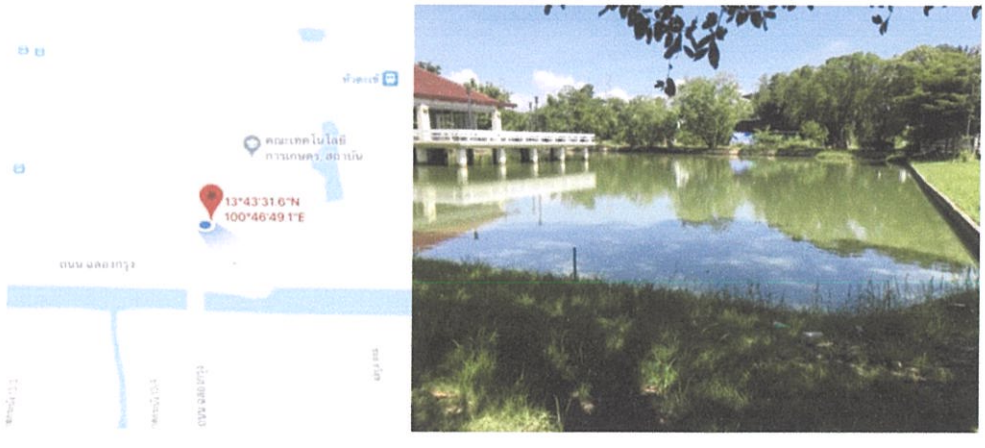
รหัส BN2




**รูปที่ 3.2** สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส BN2

2.คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถานบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

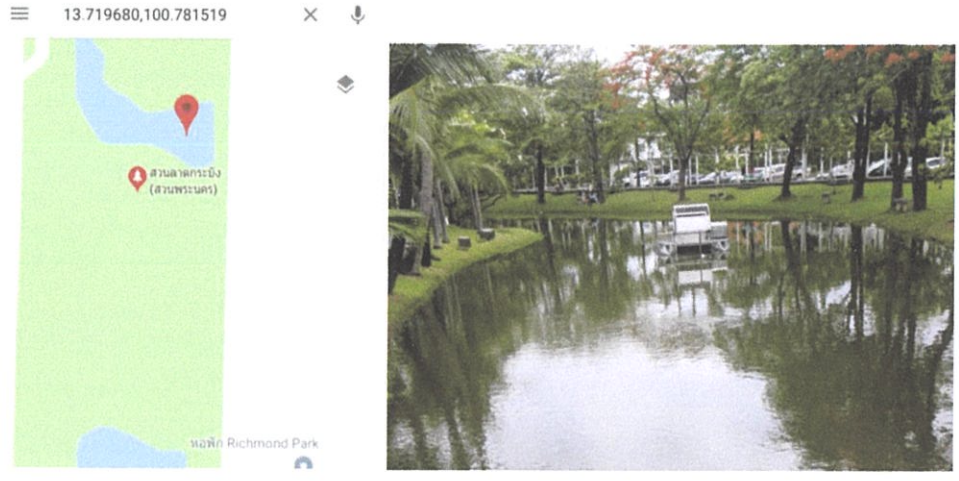
รหัส SK




**รูปที่ 3.3** สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SK

4.สวนพระนคร เขตลาดกระบัง

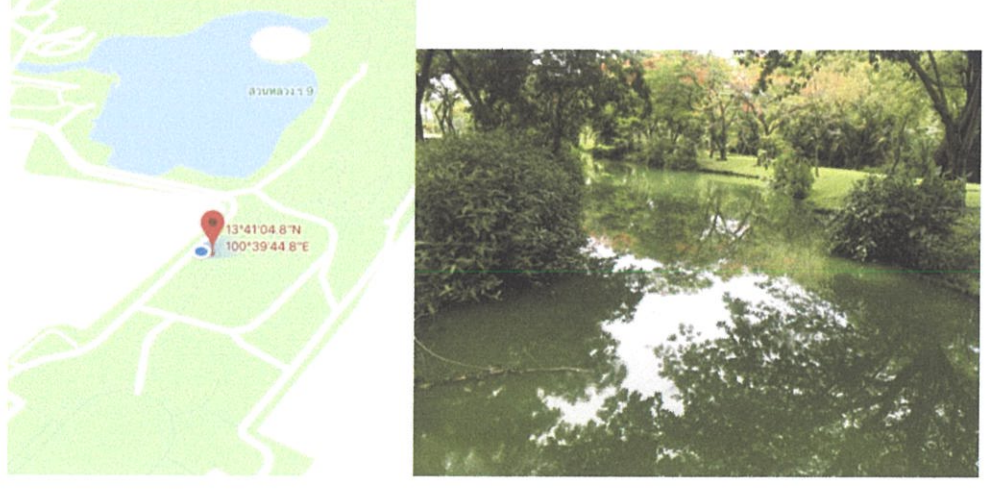
รหัส SP




**รูปที่ 3.4** สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SP

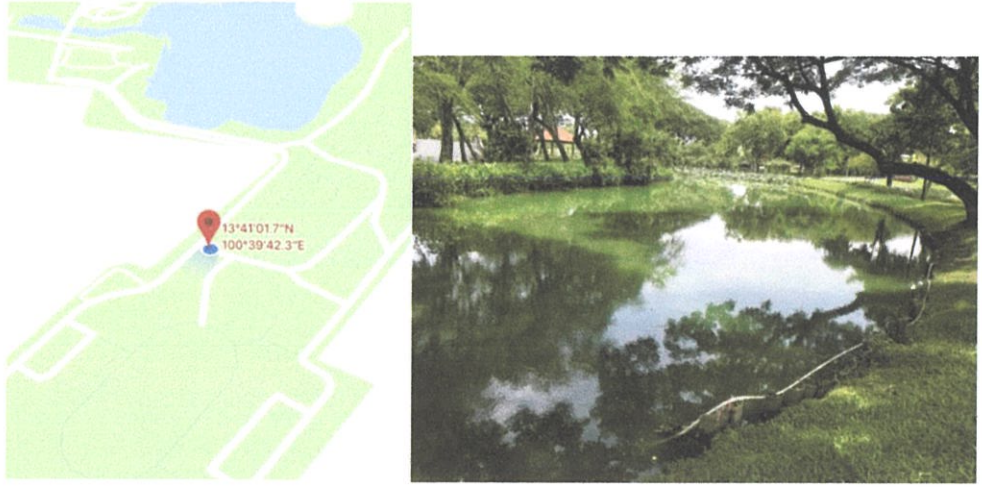
5.สวนหลวง ร.9

รหัส SR-3



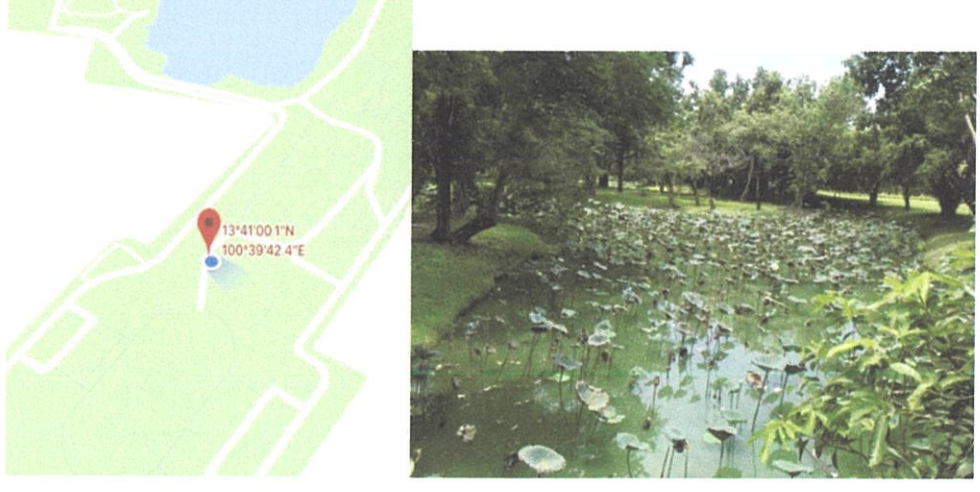

**รูปที่ 3.5** สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SR-3

รหัส SR-4



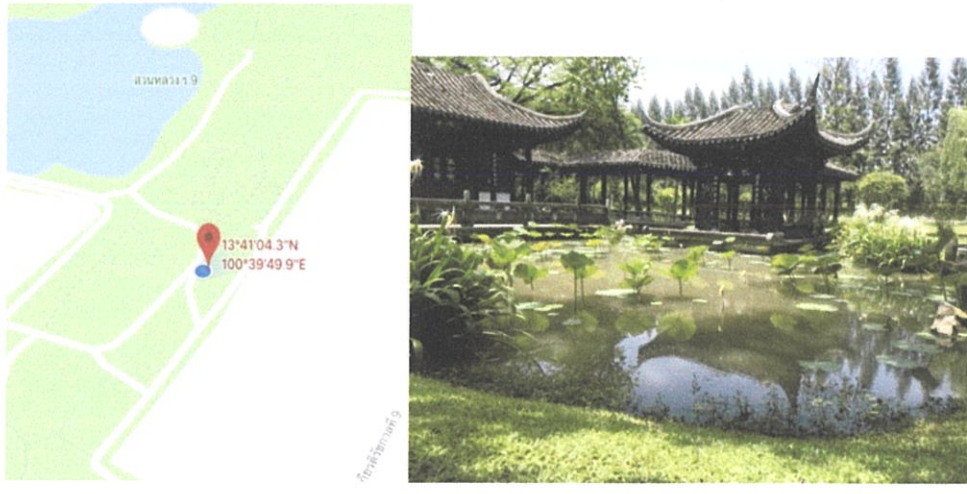

**รูปที่ 3.6** สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SR-4

รหัส SR-5




**รูปที่ 3.7** สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SR-5

รหัส SR-7




**รูปที่ 3.8** สถานที่เก็บตัวอย่างรหัส SR-7

## 3.4 วิธีการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่าย

### 3.4.1 การเตรียมอาหารเหลว

สูตรอาหาร BG-11 ซึ่งจะเหมาะกับการสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยมีส่วนประกอบต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ดังนี้ $NaNO_3$ 1.5 กรัม $K_2HPO_4$ 0.04 กรัม $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.075 กรัม $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.036 กรัม Citric acid 0.006 กรัม Ferric ammonium citrate 0.006 กรัม EDTA (disodium salt) 0.001 กรัม $Na_2CO_3$ 0.02 กรัม Trace metal mix A5 1 มิลลิลิตร ($H_3BO_3$ 2.86 กรัม $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 1.81 กรัม $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.222 กรัม $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.39 กรัม $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.079 กรัม $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 49.4 กรัม) นำส่วนประกอบทุกอย่างละลายรวมกันด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเทอาหารเหลวใส่ขวดดูแรน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

สูตรอาหาร N-8 ซึ่งจะเหมาะกับการสาหร่ายสีเขียว โดยมีส่วนประกอบต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ดังนี้ $\mathbf{Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O}$ 0.26 กรัม $K_2HPO_4$0.74 กรัม $\mathbf{KNO_3}$ 0.01 กรัม FeEDTA 0.01 กรัม $MgSO_4 \cdot 18H_2O$ 0.05 กรัม $CaCl_2$ 1.0 กรัม Trace element 1 มิลลิลิตร $\mathbf{(Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O}$ 3.58 กรัม $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 12.98 กรัม $CuSO_4 \cdot \bullet\ 5H_2O$ 1.83 กรัม $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 3.20 กรัม นำส่วนประกอบทุกอย่างละลายรวมกันด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเทอาหารเหลวใส่ขวดดูแรน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

### 3.4.2 การเตรียมอาหารแข็ง

ใช้สูตรอาหารและวิธีการเหมือน การเตรียมอาหารเหลวแต่จะมีการใส่ Agar เข้าไป 15 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร

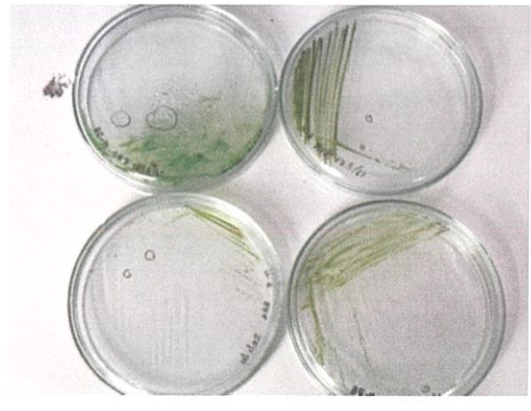
## 3.5 วิธีการแยกสาหร่ายด้วย Pour plate technique

นำตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บมาจากแหล่งน้ำมาเพิ่มจำนวนบนอาหารแข็ง โดยใช้วิธี Pour plate technique (ปิเปตตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ใส่ตัวอย่างลงบนจานเพาะเชื้อ และทำการเทอาหารวุ้นแข็ง BG-11 หรือ N-8 ผสมอาหารและเชื้อให้เข้ากันและให้เกิดการกระจายอย่างสม่ำเสมอด้วยการหมุนจานเพาะเชื้อปิดฝาจานโดยวางก้นจานอยู่ด้านบน) นำไปเพาะเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง ที่ที่มีแสงส่องผ่าน เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไป Streak plate เพื่อแยกต่อไป

**รูปที่ 3.9** สาหร่ายที่ทำการ Pour plate แล้ว

## 3.6 การทำให้สาหร่ายบริสุทธิ์ด้วย Streak plate technique

นำตัวอย่างของสาหร่ายที่ได้จากการทำ Pour plate หรือตัวอย่างที่เก็บได้จากแหล่งน้ำ มาทำการ Streak plat โดยใช้ลวดเขี่ยเชื้อ (loop) ลนไฟแล้วเขี่ยบางส่วนของโคโลนีไปลากบนอาหารวุ้นแข็ง 4-5 เส้น จากนั้นเผาห่วงลวดอีกครั้งหนึ่งแตะปลายห่วงลวดบนวุ้นที่ไม่มีตัวอย่างของสาหร่ายแล้วใช้ปลายห่วงลวดแตะปลายของเส้นขนาดชุดเดิม แล้วลากไปบนผิววุ้นไปยังขอบจานอีกด้านหนึ่ง ทำเป็นครั้งที่2 และทำจนครบ 4 ครั้ง จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง บริเวณที่มีแสงส่องผ่านเป็นเวลา 3-4 วัน



**รูปที่ 3.10** สาหร่ายที่ทำการ Streak plat แล้ว

## 3.7 การตรวจลักษณะของสาหร่าย

โดยใช้ห่วงลวดเขี่ยเชื้อเผาไฟแล้วเขี่ยบางส่วนของโคโลนีที่ผ่านการทำ Streak plat ไปทำ Wet mount บนสไลด์ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

## 3.8 การตรวจวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

### 3.8.1 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

เก็บตัวอย่างเซลล์สาหร่ายปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวส์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งเพื่อเป็นการล้างเซลล์ เทส่วนใสทิ้ง นำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งเพื่อหาน้ำหนักเซลล์แห้ง ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

### 3.8.2 การนับจำนวนเซลล์โดยสไลด์ Haemacytometer

หยดตัวอย่างสาหร่ายที่ต้องการนับจำนวนลงไป 1 หยด ในช่องใส่ตัวอย่าง (load port) ของสไลด์ Haemacytometer ที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ ตัวอย่างสาหร่ายจะกระจายไปทั่วตารางสี่เหลี่ยม วางสไลด์ Haemacytometer บนแท่นกล้องจุลทรรศน์ ปรับกล้องและเริ่มดูจากกำลังขยายจากต่ำไปสูง นับเซลล์สาหร่ายบนช่องสี่เหลี่ยมตรงกลาง (25 ช่องใหญ่ ภายในมีตารางขนาดเล็ก 16 ช่อง) วิธีนี้เหมาะสำหรับสาหร่ายที่เป็นพวกเซลล์เดียวที่มีขนาดเล็ก และไม่สามารถนับพวกที่อยู่เป็นโคโลนีได้ ในการนับเซลล์ถ้าจำนวนเซลล์หนาแน่นมาก อาจสุ่มนับ 5 ช่อง แต่ผลที่ได้ต้องคูณ 5 หรือ สุ่มนับ 10 ช่อง ผลที่ได้ต้องคูณ 2.5 ถ้าเซลล์สาหร่ายทับเส้นให้เลือกนับแบบใดแบบหนึ่งต่อไปนี้ ทับเส้นแนวบน และเส้นแนวขวาให้นับ (ซ้าย-ล่าง ไม่นับ) หรือ ทับเส้นแนวล่าง และเส้นแนวซ้ายให้นับ (ขวา-บน ไม่นับ)

**การคำนวณปริมาณสาหร่ายจากสูตร**

พื้นที่ 1 ช่องใหญ่ $= 1 \times 1 \times 0.1$

$= 0.1$ ลูกบาศก์เมตร $(mm^3)$

เปลี่ยนหน่วย $= 0.1$ ลูกบาศก์เมตร $\times \frac{1^3 \text{ ลูกบาศก์เมตร}}{10^3 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}}$

$= 1 \times 10^{-4}$

ใน 1 ช่องใหญ่ มี25 ช่อง $= \frac{1 \times 10^{-4}}{25} = 4 \times 10^{-6}$ ลูกบาศก์เซนติเมตร

ถ้าปริมาณ $4 \times 10^{-6}$ มิลลิลิตร มีปริมาณเซลล์ a เซลล์

ดั้งนั้นปริมาณ 1 มิลลิลิตร จะมีปริมาณเซลล์สาหร่าย/มิลลิลิตร $= \frac{1 \times a}{4 \times 10^{-6}}$.....สมการที่ 1

**3.8.3 การวัดความหนาแน่นโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density; OD)**

นำตัวอย่างสาหร่ายที่ต้องการหาความหนาแน่นใส่ในคิวเวตแก้ว แล้วนำไปวัดค่า OD ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร บันทึกค่า OD ที่วัดได้

**3.8.4 การหาอัตราการเจริญจำเพาะ**

$$\text{จาก } \frac{dx}{dt} = \mu x$$

$$\frac{dx}{x} = \mu dt$$

$$\int_{x_1}^{x_2} \frac{1}{x}\, dx = \mu \int_{t1}^{t2} dt$$

$$\ln x_2 - \ln x_1 = \mu (t_2 - t_1)$$

$$\mu = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{t_2 - t_1} \quad \text{.....สมการที่ 2}$$

## 3.9 การหาปริมาณคลอโรฟิลด์เอและคลอโรฟิลด์บี

นำตัวอย่างสาหร่ายใส่ในคิวเวตแก้ว แล้วนำไปวัดค่า OD ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 649 นาโนเมตร และ 665 นาโนเมตร บันทึกค่า OD ที่วัดได้แล้วจึงนำไปแทนในสูตร

ปริมาณคลอโรฟิลด์เอ = 12.19 A665 – 3.45 A649.....สมการที่ 3

ปริมาณคลอโรฟิลด์บี = 21.99 A665 – 5.32 A649.....สมการที่ 4

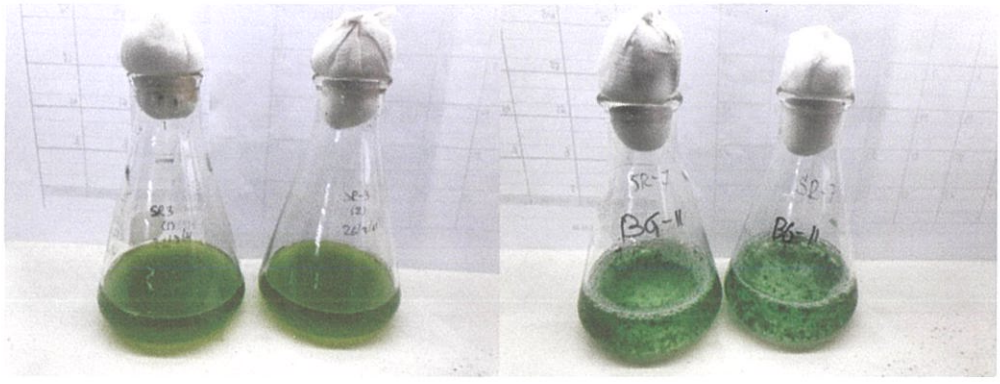
## 3.10 การหาปริมาณแคโรทีนอยด์

นำตัวอย่างสาหร่ายใส่ในคิวเวตแก้ว แล้วนำไปวัดค่า OD ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 464 นาโนเมตร บันทึกค่า OD ที่วัดได้แล้วจึงนำไปแทนในสูตร

ปริมาณแคโรทีนอยด์ = (A464 – 0.0222)/0.0325.....สมการที่ 5

## 3.11 การขยายจำนวนเซลล์สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย

หลังจากได้เชื้อสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่บริสุทธิ์แล้ว ขั้นตอนต่อไปเป็นการเพิ่มจำนวนเซลล์สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย โดยทำการเลี้ยงในระบบที่ใหญ่ขึ้นคือ เลี้ยงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยในขวดรูปชมพู่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อสาหร่ายที่เจริญเติบโตขึ้นทุกๆ 2 วัน ทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ



**รูปที่ 3.11** การขยายจำนวนสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

## 3.12 การเก็บรักษาสาหร่ายสด

นำตัวอย่างของสาหร่ายที่ต้องการเก็บรักษา มาทำการ Streak โดยใช้ลวดเขี่ยเชื้อ (loop) ลนไฟแล้วเขี่ยบางส่วนของโคโลนีไปลากบนอาหารวุ้นแข็งในหลอดทดลอง แล้วเลี้ยงไว้ในที่ที่มีแสงแดดส่องผ่านเป็นเวลา 7-14 วัน หลังจากนั้นจึงนำเข้าตู้เย็นเพื่อหยุดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

**รูปที่ 3.12** การเก็บรักษาสาหร่ายสด

# บทที่ 4
# ผลการทดลองและการอภิปราย

## 4.1 ลักษณะของสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่พบ

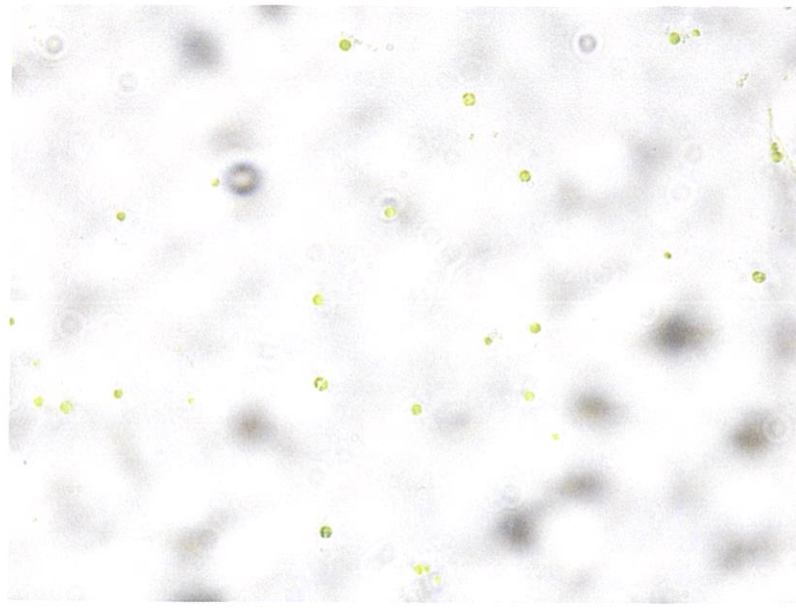
จากการตรวจลักษณะของสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ ทั้งหมด 4 แหล่ง 8 บ่อ พบว่ามีสายพันธุ์ของสาหร่ายอยู่ 2 สกุล และไซยาโนแบคทีเรีย 1 สกุลคือ *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp. และ *Oscillatoria* sp. ซึ่งในแต่ละรหัสสามารถระบุสายพันธุ์ของสาหร่ายได้ดังตารางที่ 4.1

**ตารางที่ 4.1** สกุลของสาหร่ายรหัสต่าง ๆ ที่ค้นพบจากการแยกเชื้อบริสุทธิ์

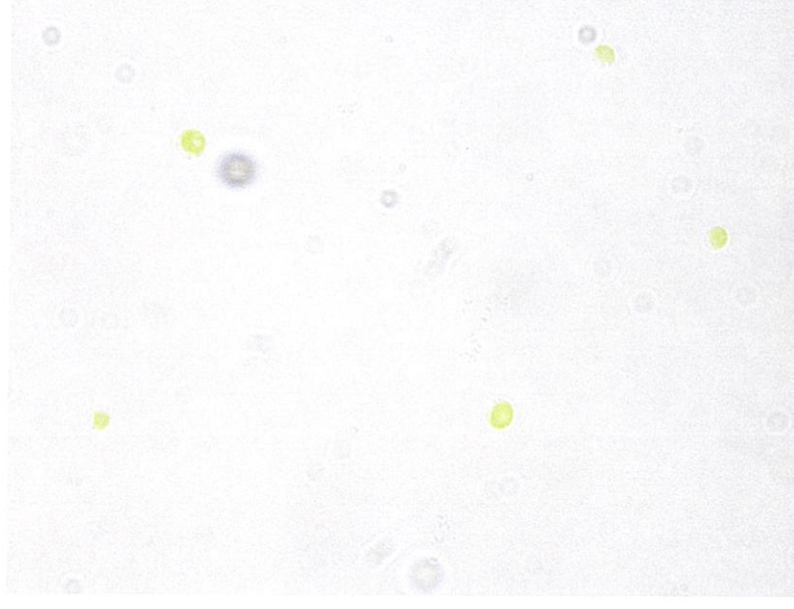
| รหัสสาหร่าย | สกุล (Genus) |
|---|---|
| BN1 | *Chlorella* sp. |
| BN1 | *Chlorella* sp. |
| SP | *Chlorella* sp. |
| SR-3 | *Chlorella* sp. |
| SR-4 | *Chlorella* sp. |
| SK | *Scenedesmus* sp. |
| SR-5 | *Oscillatoria* sp. |
| SR-7 | *Oscillatoria* sp. |

### 4.1.1 สาหร่ายรหัส BN1 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.

สาหร่ายสกุล *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว ดำรงชีวิตแบบล่องลอย เซลล์มีขนาดเล็ก เป็นทรงกลมหรือรูปไข่ อาจอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม คลอโรพลาสต์มีอันเดียวอยู่ด้านข้าง หรือเป็นรูปถ้วยและมักมีไพรีนอยด์ 1 อัน ดังรูปที่ 4.1



กำลังขยายที่ 40 เท่า

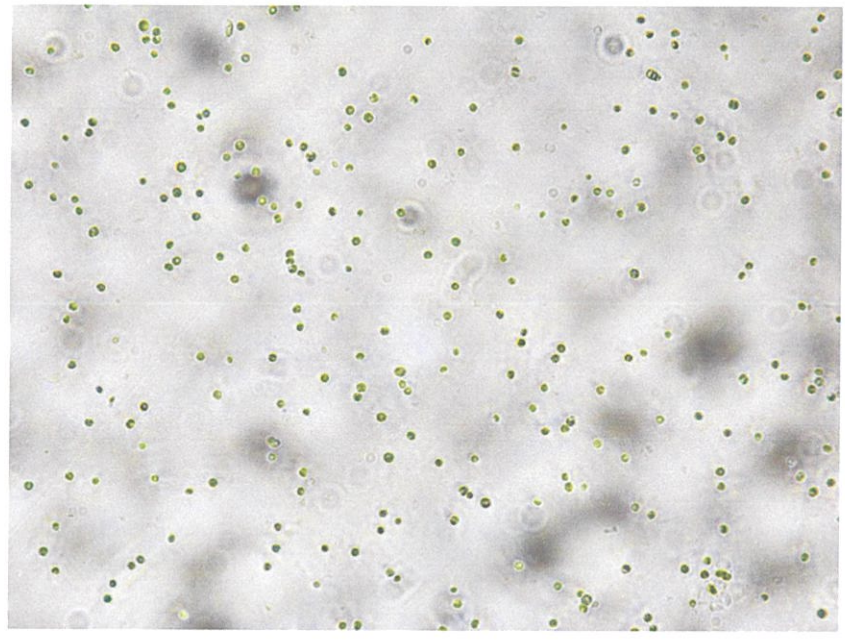


กำลังขยายที่ 100 เท่า

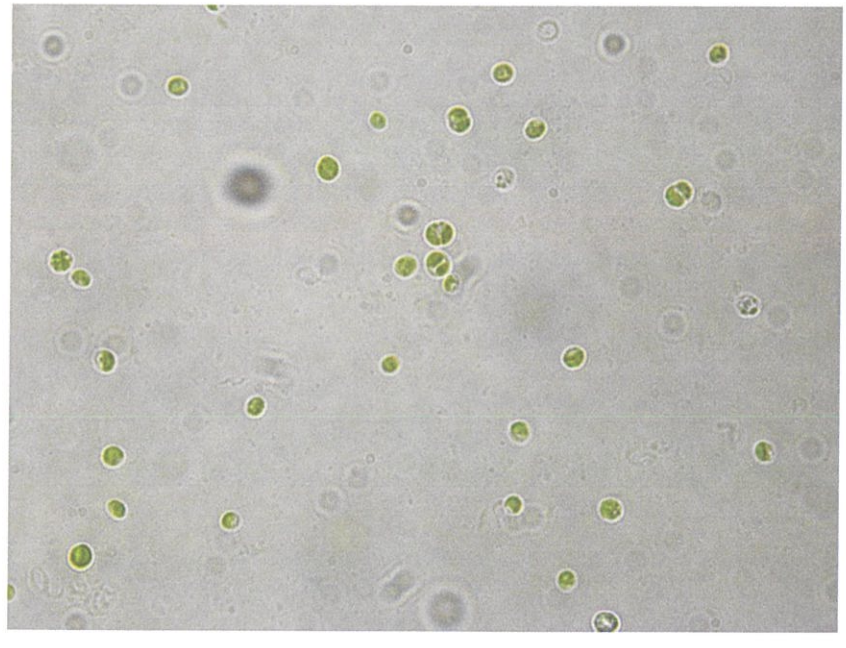
**รูปที่ 4.1** สาหร่ายรหัส BN1 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.

**4.1.2 สาหร่ายรหัส BN 2 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.**

สาหร่ายสกุล *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว ดำรงชีวิตแบบล่องลอย เซลล์มีขนาดเล็ก เป็นทรงกลมหรือรูปไข่ อาจอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม คลอโรพลาสต์มีอันเดียวอยู่ด้านข้าง หรือเป็นรูปถ้วยและมักมีไพรีนอยด์ 1 อัน ดังรูปที่ 4.2



กำลังขยายที่ 40 เท่า

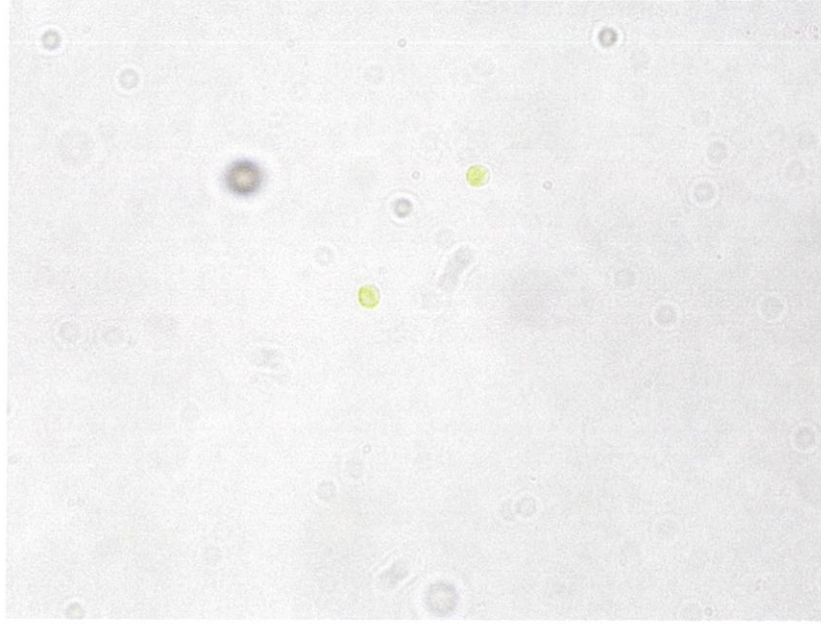


กำลังขยายที่ 100 เท่า

**รูปที่ 4.2** สาหร่ายรหัส BN 2 เป็นสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp.

**4.1.3 สาหร่ายรหัส SP เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.**

สาหร่ายสกุล *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว ดำรงชีวิตแบบล่องลอย เซลล์มีขนาดเล็ก เป็นทรงกลมหรือรูปไข่ อาจอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม คลอโรพลาสต์มีอันเดียวอยู่ด้านข้าง หรือเป็นรูปถ้วยและมักมีไพรีนอยด์ 1 อัน ดังรูปที่ 4.3

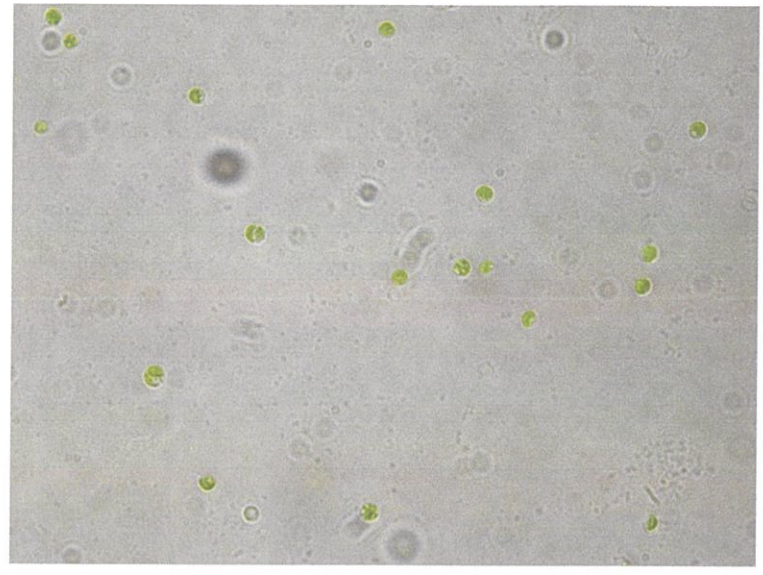


กำลังขยายที่ 100 เท่า

**รูปที่ 4.3** สาหร่ายรหัส SP เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.

**4.1.4 สาหร่ายรหัส SR-3 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.**

สาหร่ายสกุล *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว ดำรงชีวิตแบบล่องลอย เซลล์มีขนาดเล็ก เป็นทรงกลมหรือรูปไข่ อาจอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม คลอโรพลาสต์มีอันเดียวอยู่ด้านข้าง หรือเป็นรูปถ้วยและมักมีไพรีนอยด์ 1 อัน ดังรูป 4.4

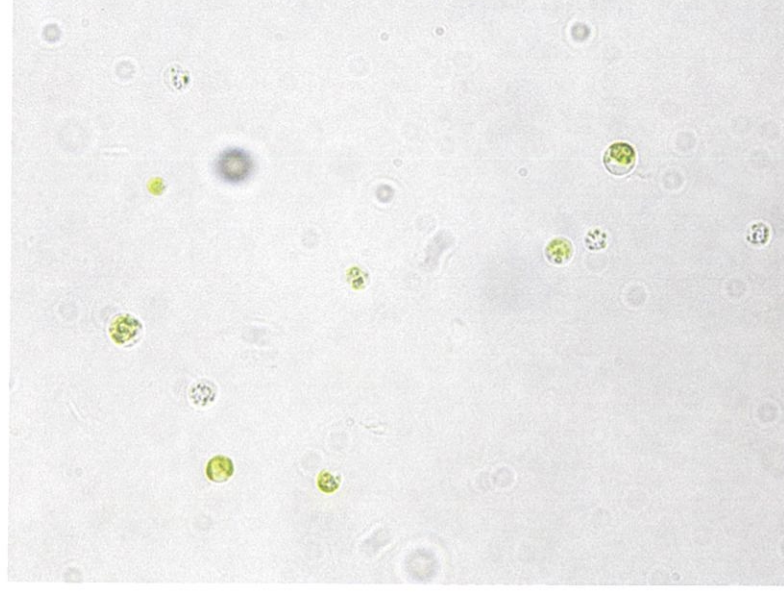


กำลังขยายที่ 100 เท่า

**รูปที่ 4.4** สาหร่ายรหัส SR-3 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.

**4.1.5 สาหร่ายรหัส SR-4 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.**

สาหร่ายสกุล *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว ดำรงชีวิตแบบล่องลอย เซลล์มีขนาดเล็ก เป็นทรงกลมหรือรูปไข่ อาจอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม คลอโรพลาสต์มีอันเดียวอยู่ด้านข้าง หรือเป็นรูปถ้วยและมักมีไพรีนอยด์ 1 อัน ดังรูปที่ 4.5

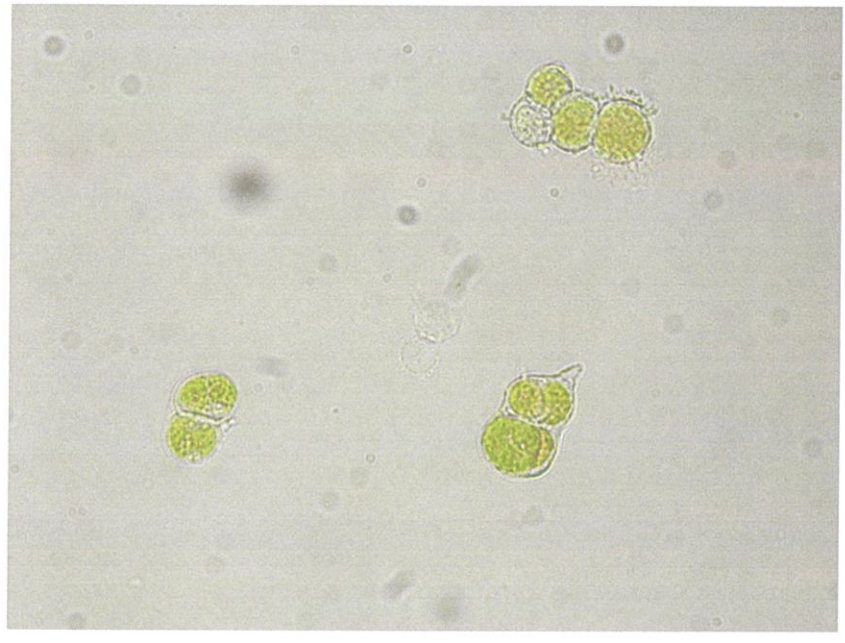


กำลังขยายที่ 100 เท่า

**รูปที่ 4.5** สาหร่ายรหัส SR-4 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.

**4.1.6 สาหร่ายรหัส SK เป็นสาหร่ายสกุล *Scenedesmus* sp.**

สาหร่ายสกุล *Scenedesmus* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว ดำรงชีวิตแบบล่องลอย หรือยึดเกาะ กลุ่มเซลล์แบน อาจพบลักษณะบิดเบี้ยวอยู่บ้าง เซลล์อยู่รวม 2-8 เซลล์ หรือ 16-32 เซลล์ ส่วนใหญ่มักพบแบบทวีคูณ 2 โดยจะมีลักษณะ โค้ง รูปไข่แบนหรือรูปไข่ ทรงกระบอก มีการเรียงตัวโดยใช้ด้านข้างของเซลล์เชื่อมต่อกัน ดังรูปที่ 4.6



กำลังขยายที่ 100 เท่า

**รูปที่ 4.6** สาหร่ายรหัส SK เป็นสาหร่ายสกุล *Scenedesmus* sp.

**4.1.7 สาหร่ายรหัส SR-5 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* sp.**

ไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ดำรงชีวิตแบบยึดเกาะ มีลักษณะเป็นเส้นสาย รูปทรงกระบอกตรงตรัยโคมไม่มีเมือกหุ้ม เส้นสายจะสร้างโฮโมโกเนียในการสืบพันธุ์ ดังรูปที่ 4.7

กำลังขยายที่ 100 เท่า

**รูปที่ 4.7** สาหร่ายรหัส SR-5 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* sp.

**4.1.8 สาหร่ายรหัส SR-7 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* sp.**

ไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ดำรงชีวิตแบบยึดเกาะ มีลักษณะเป็นเส้นสาย รูปทรงกระบอกตรงตรัยโคมไม่มีเมือกหุ้ม เส้นสายจะสร้างโฮโมโกเนียในการสืบพันธุ์ ดังรูปที่ 4.8

กำลังขยายที่ 100 เท่า

**รูปที่ 4.8** สาหร่ายรหัส SR-7 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* sp.

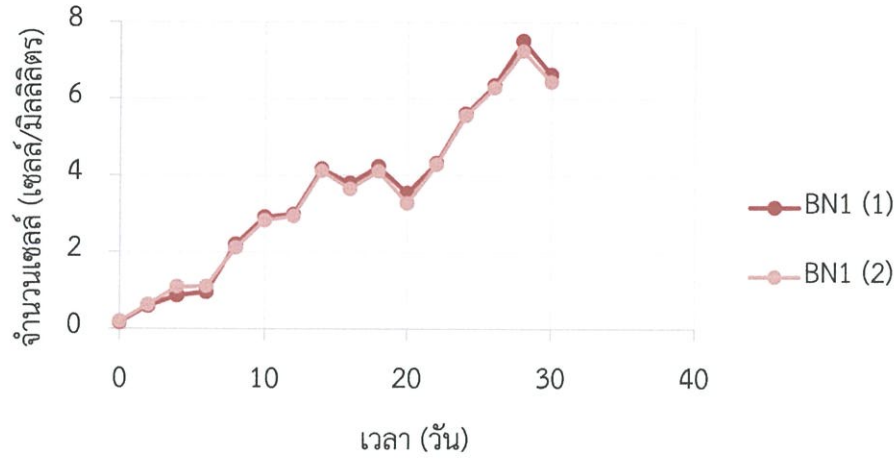
## 4.2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

### 4.2.1 สาหร่ายรหัส BN1 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.

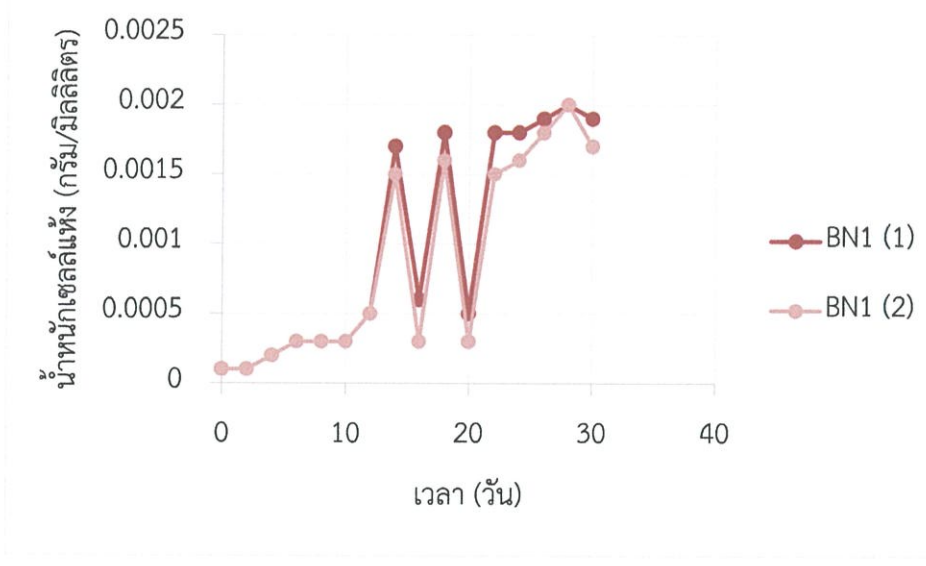
จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกได้ตามตารางที่ 4.2 และ รูปที่ 4.9-4.13 จากตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.9-4.13 พบว่าสาหร่ายรหัส BN1 มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในระยะเวลา 19 วัน แต่ในวันที่ 20 สาหร่ายมีปริมาณลดลง และหลังจากวันที่ 22 สาหร่ายมีปริมาณเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 28 แล้วจึงลดลงอีกครั้งในวันที่ 30 จากรูปที่ 4.12 พบว่า จากกราฟ y = 0.2562x-1.4315 ; μ จะมีค่า = 0.2562 พิสูจน์ค่า μ จากกราฟ $\mu = \frac{0.92+0.4}{9.2-7.2}$ μ = 0.26 ดังนั้นอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.26 ในรูปที่ 4.13 จะสังเกตได้ว่าสีของสาหร่ายจะมีความเข้มขึ้นเมื่อถูกเลี้ยงในระยะเวลาที่มากขึ้น

**ตารางที่ 4.2** ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส BN1 ในระยะเวลา 30 วัน

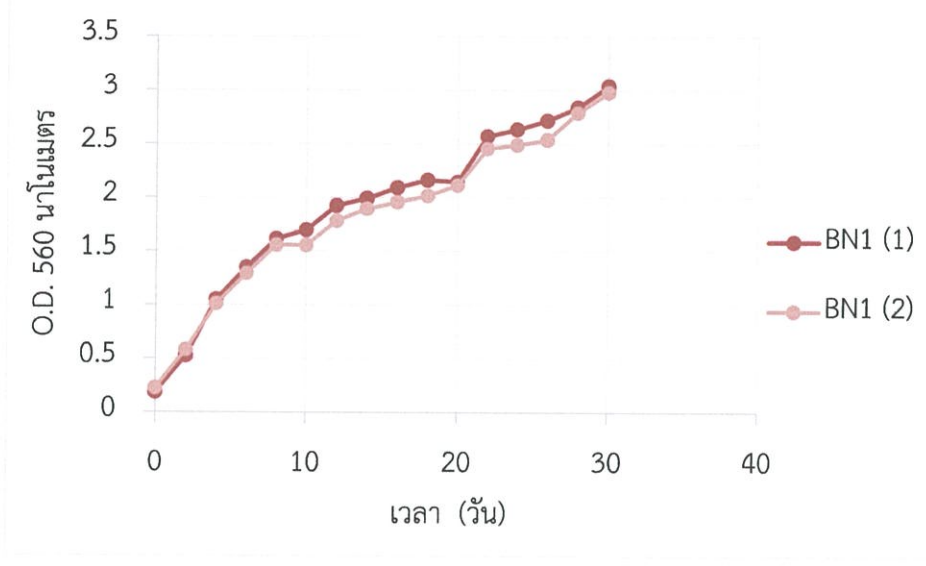
| เวลา (วัน) | จำนวนเซลล์ x $10^7$ (เซลล์/มิลลิลิตร) | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/มิลลิลิตร) | | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร | | ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ | ln จำนวนเซลล์เฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | | |
| 0 | 0.16 | 0.18 | 0.0001 | 0.0001 | 0.185 | 0.221 | 0.17 | -1.7719568 |
| 2 | 0.59 | 0.62 | 0.0001 | 0.0001 | 0.525 | 0.579 | 0.605 | -0.5025268 |
| 4 | 0.87 | 1.09 | 0.0002 | 0.0002 | 1.048 | 1.012 | 0.98 | -0.0202027 |
| 6 | 0.96 | 1.1 | 0.0003 | 0.0003 | 1.347 | 1.293 | 1.03 | 0.0295588 |
| 8 | 2.2 | 2.12 | 0.0003 | 0.0003 | 1.613 | 1.558 | 2.16 | 0.7701082 |
| 10 | 2.91 | 2.83 | 0.0003 | 0.0003 | 1.695 | 1.554 | 2.87 | 1.054312 |
| 12 | 2.98 | 2.94 | 0.0005 | 0.0005 | 1.923 | 1.78 | 2.96 | 1.0851893 |
| 14 | 4.17 | 4.12 | 0.0017 | 0.0015 | 1.991 | 1.894 | 4.145 | 1.4219028 |
| 16 | 3.79 | 3.65 | 0.0006 | 0.0003 | 2.09 | 1.956 | 3.72 | 1.3137237 |
| 18 | 4.23 | 4.11 | 0.0018 | 0.0016 | 2.161 | 2.013 | 4.17 | 1.427916 |
| 20 | 3.53 | 3.28 | 0.0005 | 0.0003 | 2.142 | 2.112 | 3.405 | 1.2252449 |
| 22 | 4.32 | 4.29 | 0.0018 | 0.0015 | 2.569 | 2.456 | 4.305 | 1.4597771 |
| 24 | 5.61 | 5.57 | 0.0018 | 0.0016 | 2.633 | 2.489 | 5.59 | 1.7209793 |
| 26 | 6.35 | 6.29 | 0.0019 | 0.0018 | 2.716 | 2.536 | 6.32 | 1.8437192 |
| 28 | 7.51 | 7.25 | 0.002 | 0.002 | 2.839 | 2.79 | 7.38 | 1.9987736 |
| 30 | 6.63 | 6.45 | 0.0019 | 0.0017 | 3.038 | 2.981 | 6.54 | 1.8779372 |



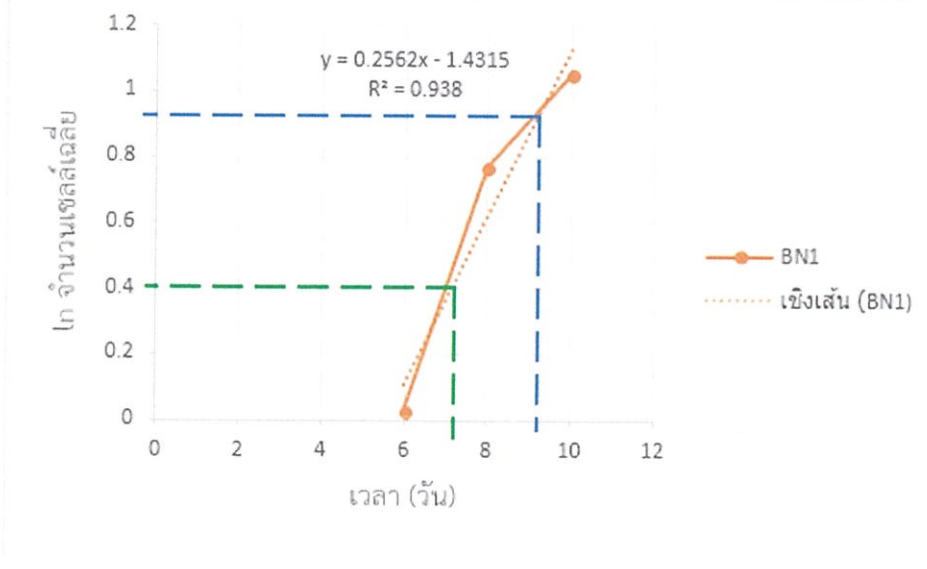

**รูปที่ 4.9** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส BN1 จำนวน 2 ซ้ำ



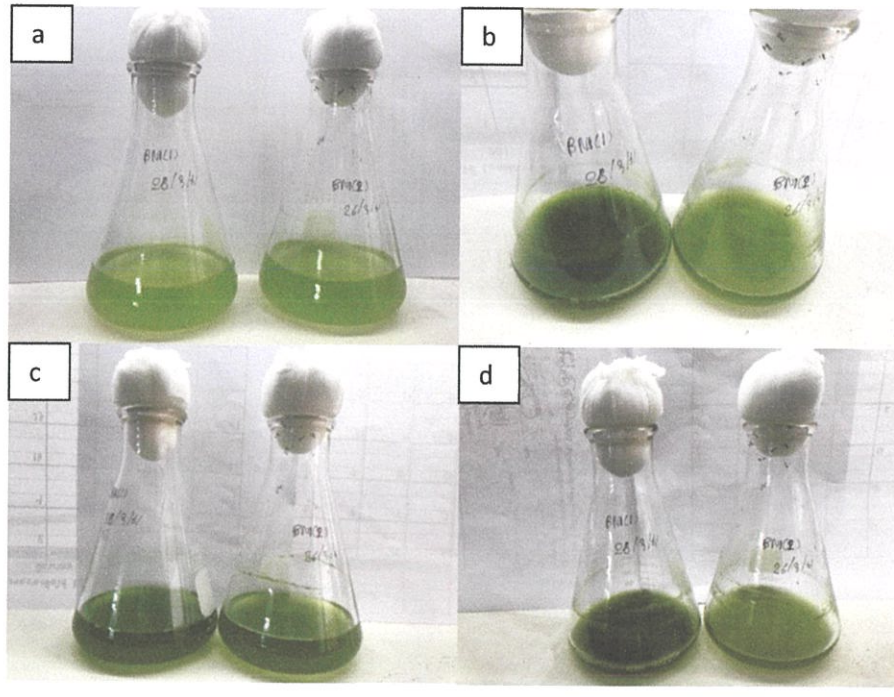

**รูปที่ 4.10** ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาที่ของสาหร่ายรหัส BN1 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.11** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับเวลาของสาหร่าย BN1 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.12** อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส BN1



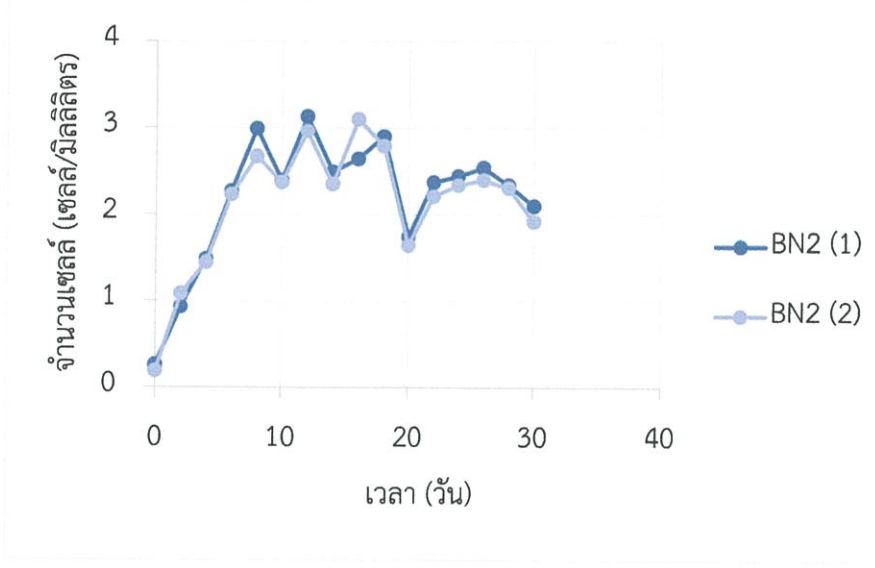

**รูปที่ 4.13** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย BN1 (a: 2วัน,b: 8วัน,c: 22วัน,d: 28วัน)

### 4.2.2 สาหร่ายรหัส BN2 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.

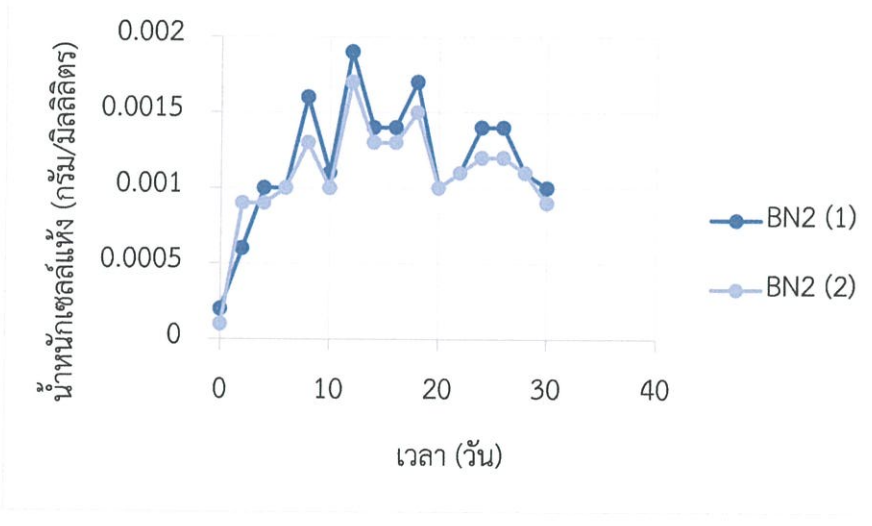
จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกผลได้ตามตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.14-4.18 จากตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.14-4.18 พบว่าสาหร่ายรหัส BN2 มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในระยะเวลา 8 วันหลังจากนั้น สาหร่ายมีปริมาณเพิ่มขึ้นและลดลงไม่คงที่จนถึงวันที่ 18 จากนั้นในวันที่ 20 สาหร่ายมีปริมาณลดลงอย่างเห็นได้ชัดและเพิ่มขึ้นเพิ่งเล็กน้อยจนถึงวันที่ 28 และมีการลดลงอีกครั้งในวันที่ 30 แต่ว่าค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่ายรหัส BN2 จะมีค่าเพิ่มขึ้น จนถึงวันที่ 20 ซึ่งจะมีค่าลดลงเพิ่งเล็กน้อย แล้วจะเพิ่มขึ้นอีกจนถึงวันที่ 30 แล้วจึงจะมีค่าลดลง ส่วนรูปที่ 4.17 จากกราฟ $y = 0.1769x-0.3259$; $\mu$ จะมีค่า = 0.1769 พิสูจน์ค่า $\mu$ จากกราฟ $\mu = \frac{0.92+0.44}{7.2-4.4}$ $\mu$ = 0.17ดังนั้นอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.17

**ตารางที่ 4.3** ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส BN2 ในระยะเวลา 30 วัน

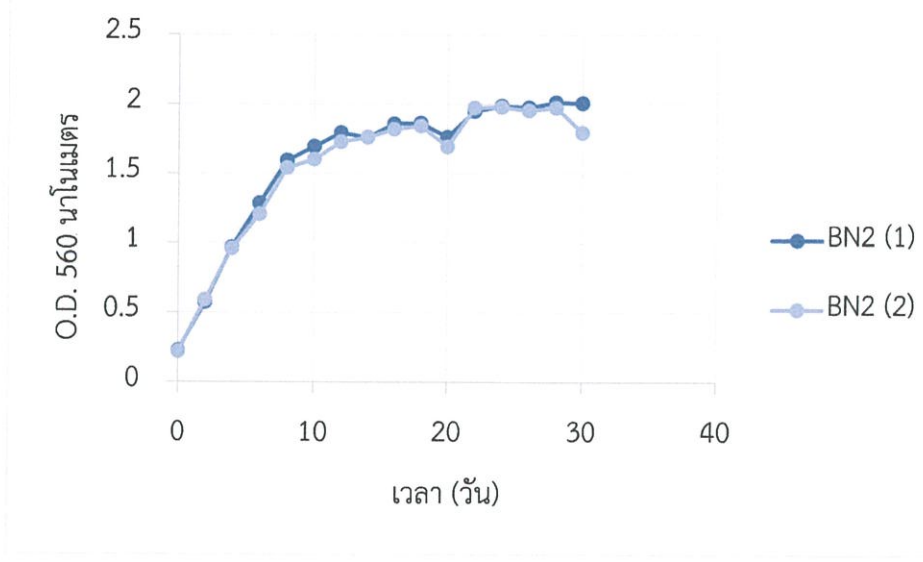
| เวลา (วัน) | จำนวนเซลล์ x $10^7$ (เซลล์/มิลลิลิตร) | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/มิลลิลิตร) | | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร | | ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ | ln จำนวนเซลล์เฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | | |
| 0 | 0.26 | 0.19 | 0.0002 | 0.0001 | 0.225 | 0.22 | 0.225 | -1.4916549 |
| 2 | 0.93 | 1.08 | 0.0006 | 0.0009 | 0.575 | 0.589 | 1.005 | 0.0049875 |
| 4 | 1.48 | 1.44 | 0.001 | 0.0009 | 0.967 | 0.959 | 1.46 | 0.3784364 |
| 6 | 2.27 | 2.23 | 0.001 | 0.001 | 1.285 | 1.208 | 2.25 | 0.8109302 |
| 8 | 2.99 | 2.67 | 0.0016 | 0.0013 | 1.594 | 1.54 | 2.83 | 1.0402767 |
| 10 | 2.39 | 2.37 | 0.0011 | 0.001 | 1.694 | 1.602 | 2.38 | 0.8671005 |
| 12 | 3.13 | 2.96 | 0.0019 | 0.0017 | 1.794 | 1.728 | 3.045 | 1.1135009 |
| 14 | 2.49 | 2.35 | 0.0014 | 0.0013 | 1.76 | 1.761 | 2.42 | 0.8837675 |
| 16 | 2.64 | 3.1 | 0.0014 | 0.0013 | 1.858 | 1.819 | 2.87 | 1.054312 |
| 18 | 2.9 | 2.79 | 0.0017 | 0.0015 | 1.863 | 1.842 | 2.845 | 1.0455631 |
| 20 | 1.74 | 1.64 | 0.001 | 0.001 | 1.761 | 1.694 | 1.69 | 0.5247285 |
| 22 | 2.37 | 2.21 | 0.0011 | 0.0011 | 1.949 | 1.972 | 2.29 | 0.8285518 |
| 24 | 2.44 | 2.34 | 0.0014 | 0.0012 | 1.987 | 1.98 | 2.39 | 0.8712934 |
| 26 | 2.54 | 2.4 | 0.0014 | 0.0012 | 1.977 | 1.956 | 2.47 | 0.9042182 |
| 28 | 2.34 | 2.31 | 0.0011 | 0.0011 | 2.014 | 1.976 | 2.325 | 0.84372 |
| 30 | 2.1 | 1.92 | 0.001 | 0.0009 | 2.008 | 1.794 | 2.01 | 0.6981347 |



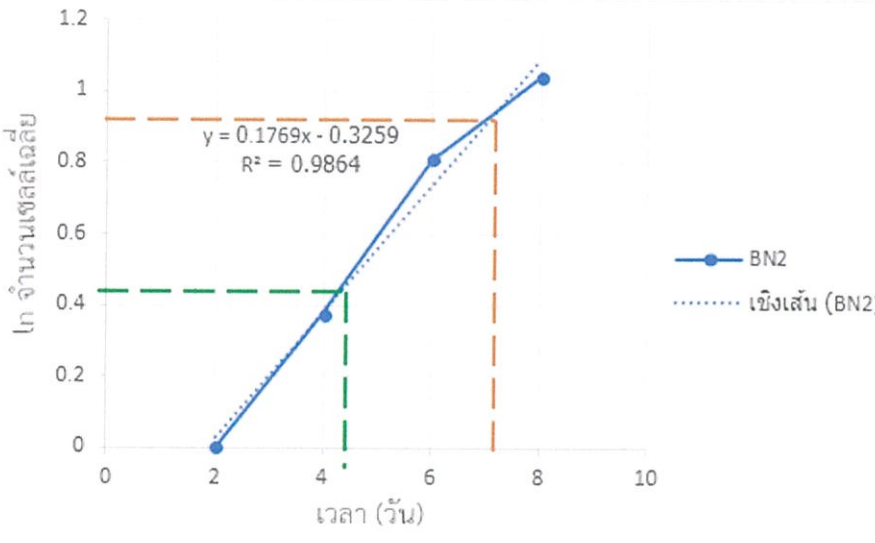

**รูปที่ 4.14** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส BN2 จำนวน 2 ซ้ำ



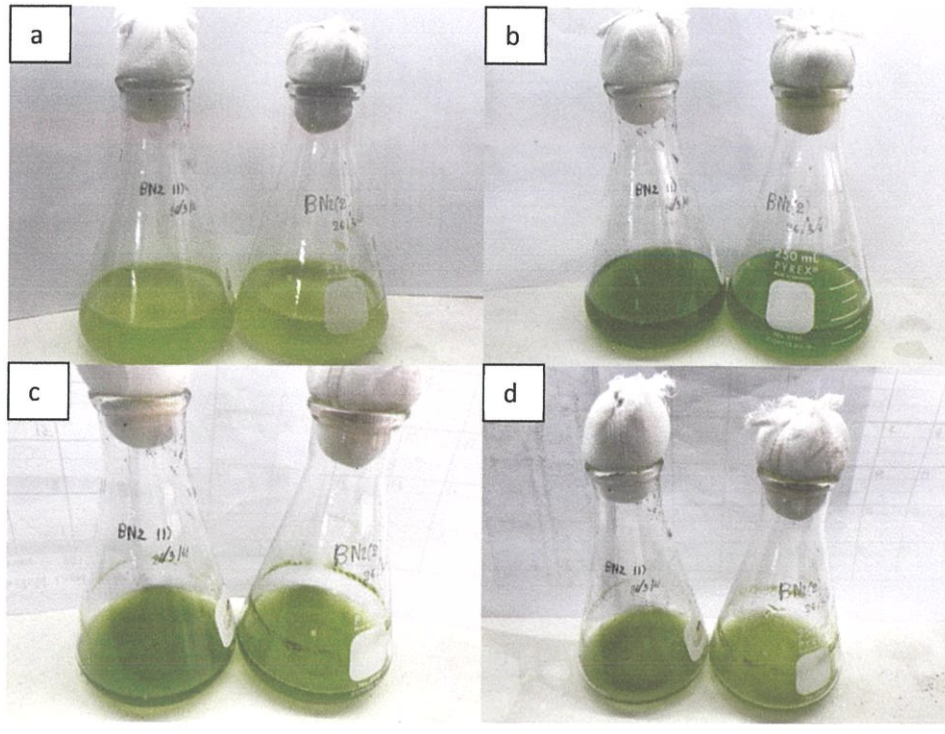

**รูปที่ 4.15** ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN2 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.16** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยงของสาหร่าย BN2 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.17** อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส BN2



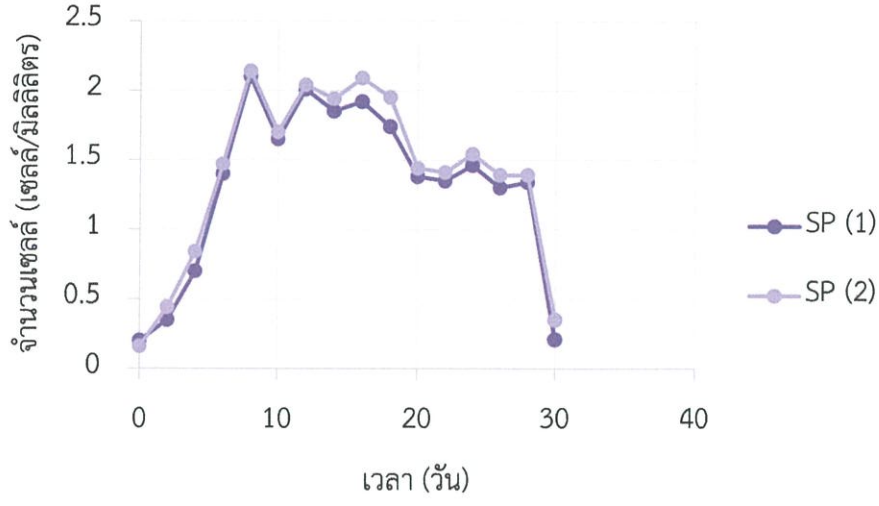

**รูปที่ 4.18** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย BN2 (a: 2วัน,b: 8วัน,c: 22วัน,d: 28วัน)

### 4.2.3 สาหร่ายรหัส SP เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.

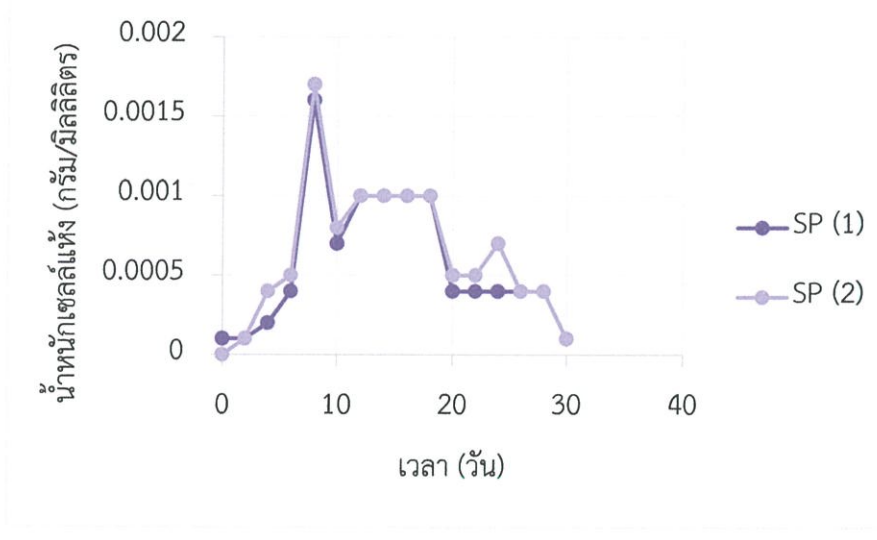
จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกผลได้ตามตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.19-4.23 จากตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.19-4.23 พบว่าสาหร่ายรหัส SP มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นสูงสุดในระยะเวลา 8 วัน และจะมีการเจริญเติบโตลดลงในวันที่ 10 หลังจากนั้นจะมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย แล้วจึงลงลดอีกครั้งในวันที่ 12 หลังจากวันที่ 12 สาหร่ายยังคงมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ จนลดลงต่ำสุดในวันที่ 30 ส่วนรูปที่ 4.22 จากกราฟ y = 0.3111x-1.603 ; μ จะมีค่า = 0.3111 พิสูจน์ค่า μ จากกราฟ $\mu = \frac{0.2+1.1}{5.6-1.6}$ μ = 0.32 ดังนั้นอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.32

**ตารางที่ 4.4** ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SP ในระยะเวลา 30 วัน

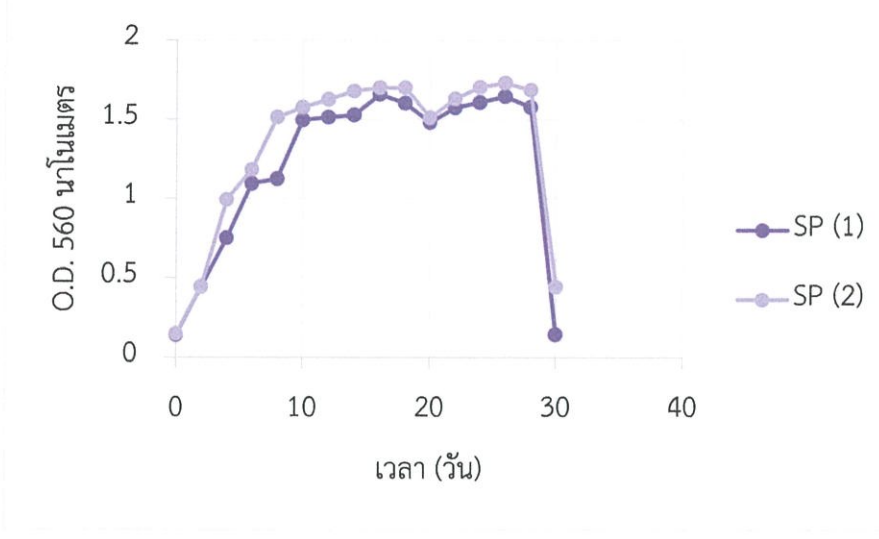
| เวลา (วัน) | จำนวนเซลล์ x $10^7$ (เซลล์/มิลลิลิตร) | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/มิลลิลิตร) | | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร | | ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ | ln จำนวนเซลล์เฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | | |
| 0 | 0.2 | 0.16 | 0.0001 | 0 | 0.142 | 0.148 | 0.18 | -1.714798428 |
| 2 | 0.35 | 0.44 | 0.0001 | 0.0001 | 0.444 | 0.445 | 0.395 | -0.928869514 |
| 4 | 0.7 | 0.84 | 0.0002 | 0.0004 | 0.752 | 0.993 | 0.77 | -0.261364764 |
| 6 | 1.4 | 1.47 | 0.0004 | 0.0005 | 1.094 | 1.181 | 1.435 | 0.361164849 |
| 8 | 2.1 | 2.14 | 0.0016 | 0.0017 | 1.125 | 1.514 | 2.12 | 0.751416089 |
| 10 | 1.65 | 1.7 | 0.0007 | 0.0008 | 1.496 | 1.576 | 1.675 | 0.515813165 |
| 12 | 2.01 | 2.04 | 0.001 | 0.001 | 1.514 | 1.627 | 2.025 | 0.705569701 |
| 14 | 1.85 | 1.94 | 0.001 | 0.001 | 1.529 | 1.68 | 1.895 | 0.639218839 |
| 16 | 1.92 | 2.09 | 0.001 | 0.001 | 1.659 | 1.7 | 2.005 | 0.695644061 |
| 18 | 1.74 | 1.95 | 0.001 | 0.001 | 1.603 | 1.7 | 1.845 | 0.612479277 |
| 20 | 1.38 | 1.44 | 0.0004 | 0.0005 | 1.482 | 1.51 | 1.41 | 0.343589704 |
| 22 | 1.35 | 1.41 | 0.0004 | 0.0005 | 1.574 | 1.63 | 1.38 | 0.322083499 |
| 24 | 1.46 | 1.54 | 0.0004 | 0.0007 | 1.607 | 1.703 | 1.5 | 0.405465108 |
| 26 | 1.3 | 1.39 | 0.0004 | 0.0004 | 1.645 | 1.731 | 1.345 | 0.296394013 |
| 28 | 1.34 | 1.39 | 0.0004 | 0.0004 | 1.578 | 1.686 | 1.365 | 0.311154429 |
| 30 | 0.21 | 0.35 | 0.0001 | 0.0001 | 0.144 | 0.444 | 0.28 | -1.272965676 |



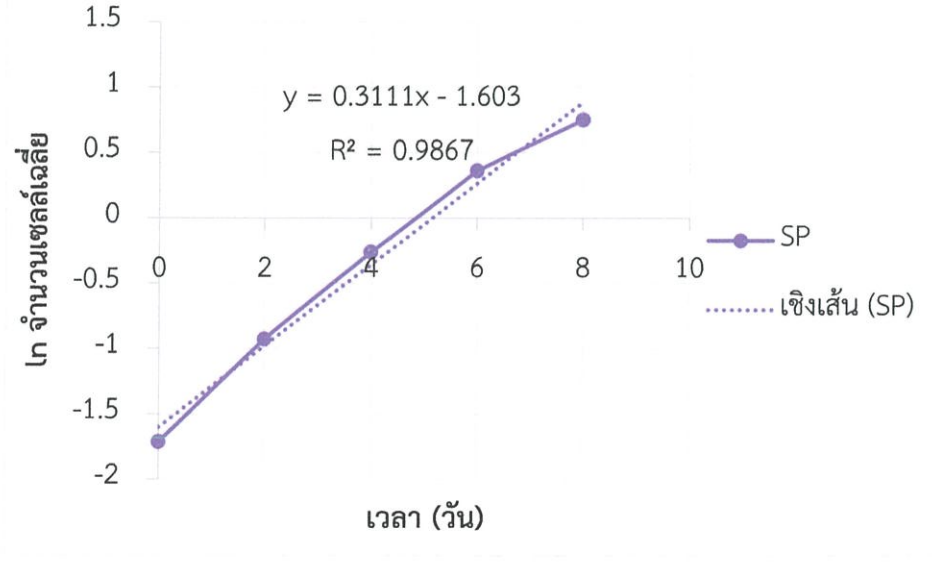

**รูปที่ 4.19** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SP จำนวน 2 ซ้ำ



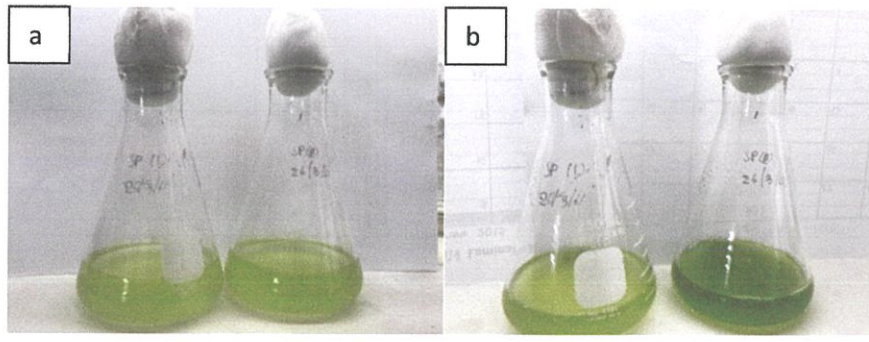

**รูปที่ 4.20** ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SP จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.21** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับเวลาของสาหร่าย SP จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.22** อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SP




**รูปที่ 4.23** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SP (a: 2วัน, b: 8วัน)

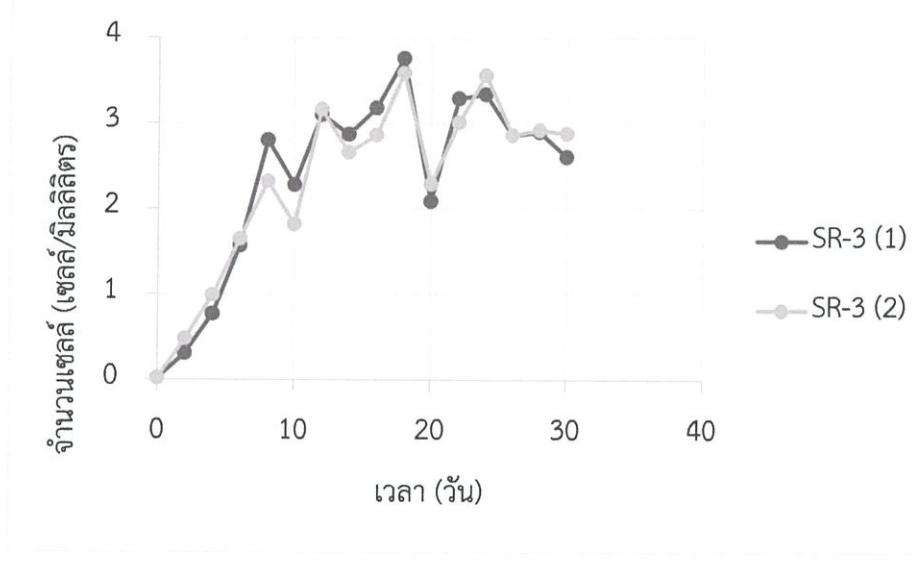
**4.2.4 สาหร่ายรหัส SR-3 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.**

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกได้ตามตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.24-4.28 จากตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.24-4.28 พบว่าสาหร่ายรหัส SR-3 มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในระยะเวลา 8 วัน หลังจากนั้น จะมีการเจริญเติบโตเพิ่งขึ้นและลดลงแบบไม่คงที่ แต่จะมีการเจริญเติบโตลดลงอย่างเห็นได้ชัดในวันที่ 20 หลังจากวันที่ 20 จะมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ส่วนค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่ายรหัส SR-3 มีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่20 จะมีค่าลดลง แล้วจะเพิ่มขึ้นอีกเมื่อผ่านวันที่ 20 ไป ส่วนรูปที่ 4.27 จากกราฟ $y = 0.3105x-1.4628$ ; $\mu$ จะมีค่า = 0.3105 พิสูจน์ค่า $\mu$ จากกราฟ $\mu = \frac{0.7+0.2}{6.8-4}$ $\mu = 0.32$ ดังนั้นอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.32

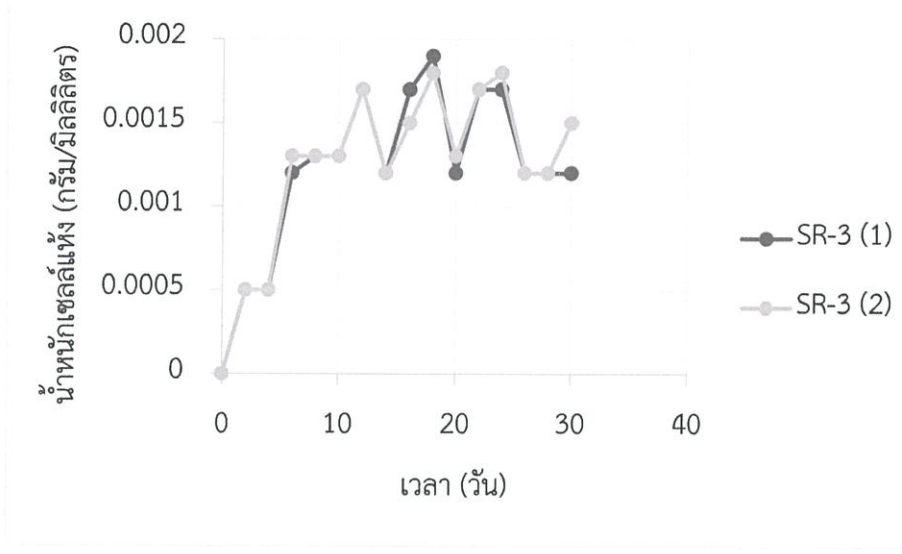
**ตารางที่ 4.5** ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-3 ในระยะเวลา 30 วัน

| เวลา (วัน) | จำนวนเซลล์ x $10^7$ (เซลล์/มิลลิลิตร) | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/มิลลิลิตร) | | ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร | | ค่าเฉลี่ย จำนวน เซลล์ | ln จำนวนเซลล์เฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | | |
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0 | 0 | 0.022 | 0.026 | 0.02 | -3.912023005 |
| 2 | 0.31 | 0.48 | 0.0005 | 0.0005 | 0.276 | 0.285 | 0.395 | -0.928869514 |
| 4 | 0.77 | 0.99 | 0.0005 | 0.0005 | 0.788 | 0.795 | 0.88 | -0.127833372 |
| 6 | 1.57 | 1.65 | 0.0012 | 0.0013 | 1.16 | 1.188 | 1.61 | 0.476234179 |
| 8 | 2.8 | 2.32 | 0.0013 | 0.0013 | 1.647 | 1.531 | 2.56 | 0.940007258 |
| 10 | 2.28 | 1.82 | 0.0013 | 0.0013 | 1.676 | 1.622 | 2.05 | 0.717839793 |
| 12 | 3.1 | 3.16 | 0.0017 | 0.0017 | 1.812 | 1.819 | 3.13 | 1.141033005 |

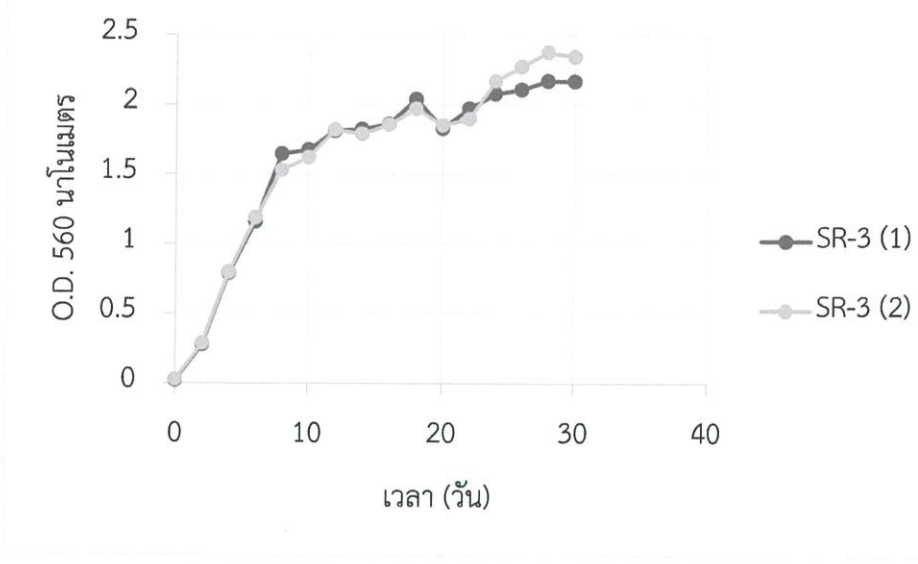
| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 14 | 2.87 | 2.66 | 0.0012 | 0.0012 | 1.824 | 1.791 | 2.765 | 1.017040635 |
| 16 | 3.18 | 2.86 | 0.0017 | 0.0015 | 1.862 | 1.858 | 3.02 | 1.105256831 |
| 18 | 3.76 | 3.59 | 0.0019 | 0.0018 | 2.04 | 1.974 | 3.675 | 1.301553133 |
| 20 | 2.09 | 2.29 | 0.0012 | 0.0013 | 1.83 | 1.851 | 2.19 | 0.783901544 |
| 22 | 3.29 | 3.01 | 0.0017 | 0.0017 | 1.973 | 1.9 | 3.15 | 1.147402453 |
| 24 | 3.34 | 3.56 | 0.0017 | 0.0018 | 2.079 | 2.17 | 3.45 | 1.238374231 |
| 26 | 2.86 | 2.86 | 0.0012 | 0.0012 | 2.109 | 2.275 | 2.86 | 1.050821625 |
| 28 | 2.9 | 2.92 | 0.0012 | 0.0012 | 2.172 | 2.377 | 2.91 | 1.068153081 |
| 30 | 2.61 | 2.88 | 0.0012 | 0.0015 | 2.168 | 2.346 | 2.745 | 1.009781075 |



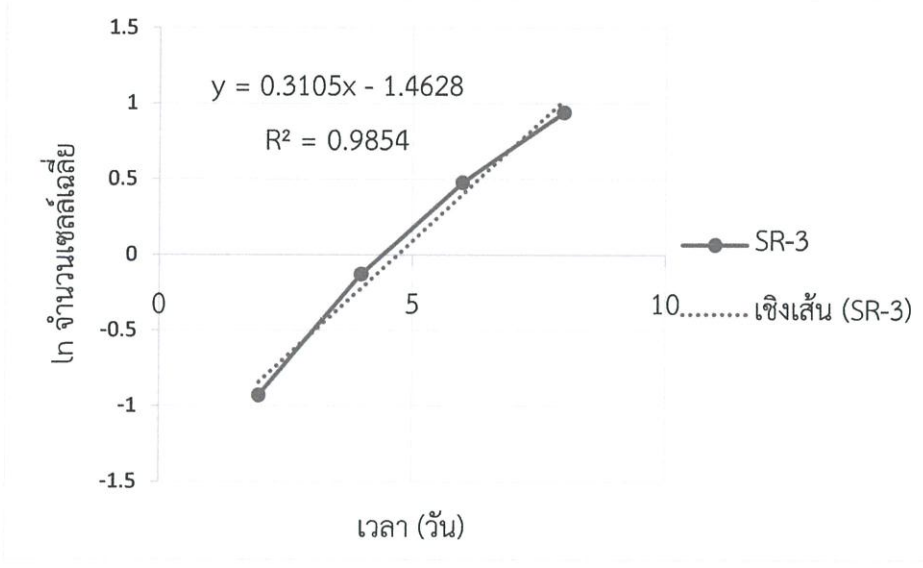

**รูปที่ 4.24** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-3 จำนวน 2 ซ้ำ



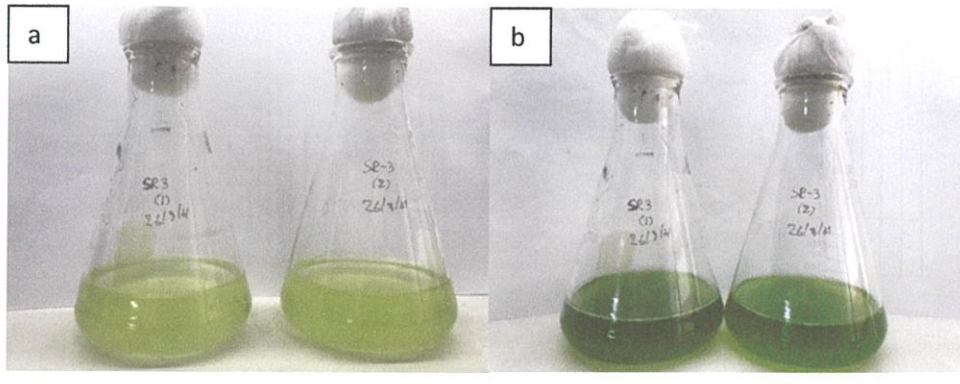

**รูปที่ 4.25** ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-3 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.26** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับเวลาของสาหร่าย SR-3 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.27** อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SR-3




**รูปที่ 4.28** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SR-3 (a: 2วัน, b: 8วัน)

**4.2.5 สาหร่ายรหัส SR-4 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp.**

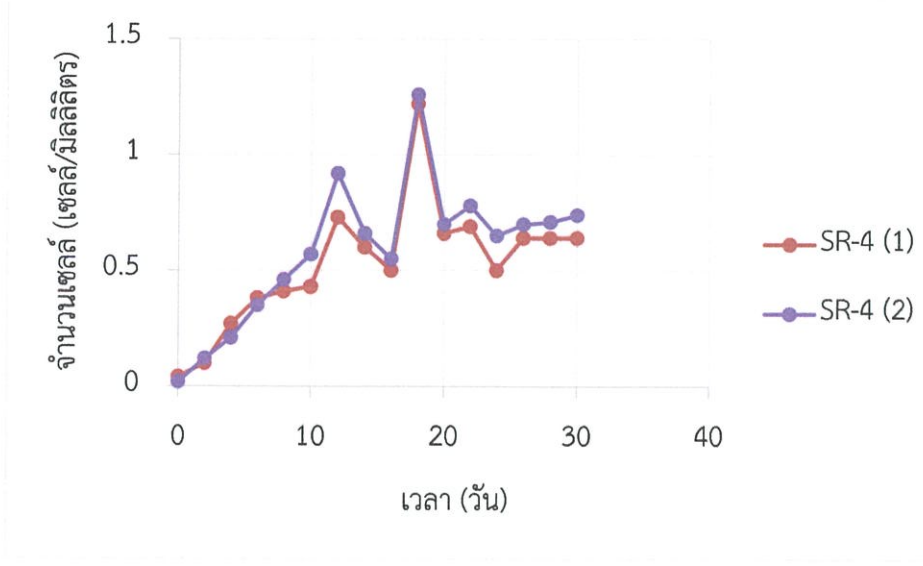
จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกผลได้ตามตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.29-4.33 จากตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.29-4.33 พบว่าสาหร่ายรหัส SR-4 มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในระยะเวลา 12 วัน แล้วจะมีการเจริญเติบโตลดลงในวันที่ 16 หลังจากวันที่ 16 จะมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และมีการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 18 และจะมีการเจริญเติบโตคงที่จนถึงวันที่ 30 ส่วนค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่ายรหัส SR-4 จะมีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 18 และจะมีค่าลดลงในวันที่ 20 หลังจะนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 30 แล้วมีแนวโน้มว่าจะมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ส่วนรูปที่ 4.32 จากกราฟ y = 0.5199x-3.42 ; μ จะมีค่า =

0.5199 พิสูจน์ค่า μ จากกราฟ $\mu = \frac{-1.9+3}{3-0.8}$ $\mu = 0.5$ ดังนั้นอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.5

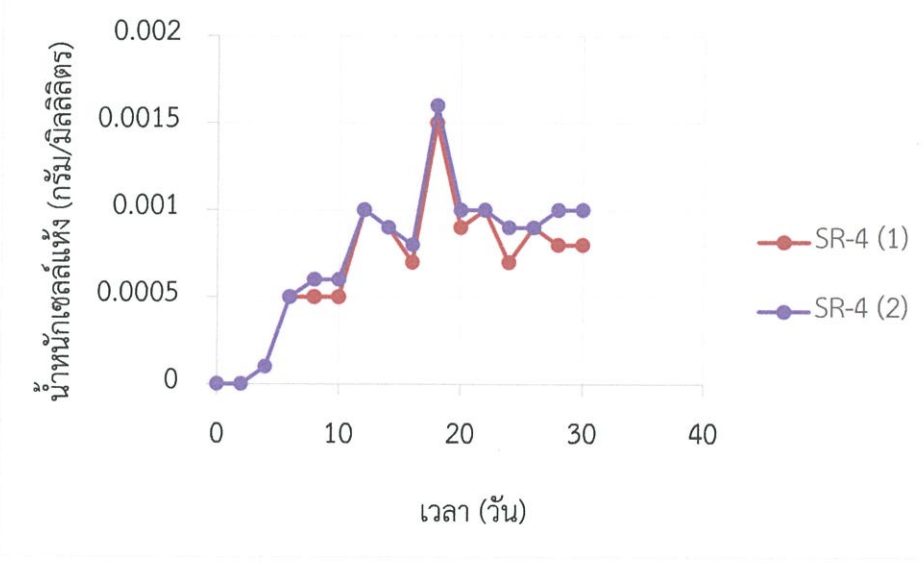
โดยจากงานวิจัยของ Zhu และคณะ (2017) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยง *Chlorella* sp. กับปุ๋ยหมักมูลสัตว์เพื่อผลิตไขมัน โดยทำการเลี้ยงในระดับความเข้มข้นของสารอาหารต่างกัน 5 ระดับ พบว่า *Chlorella* sp. ที่ถูกเลี้ยงในอาหาร BG-11 มีการเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ มีค่าอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.346±0.013 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของเราโดยมีแนวโน้มการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp. ที่เหมือนกันแล้ว และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะที่ใกล้เคียงกัน

**ตารางที่ 4.6** ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-4 ในระยะเวลา 30 วัน

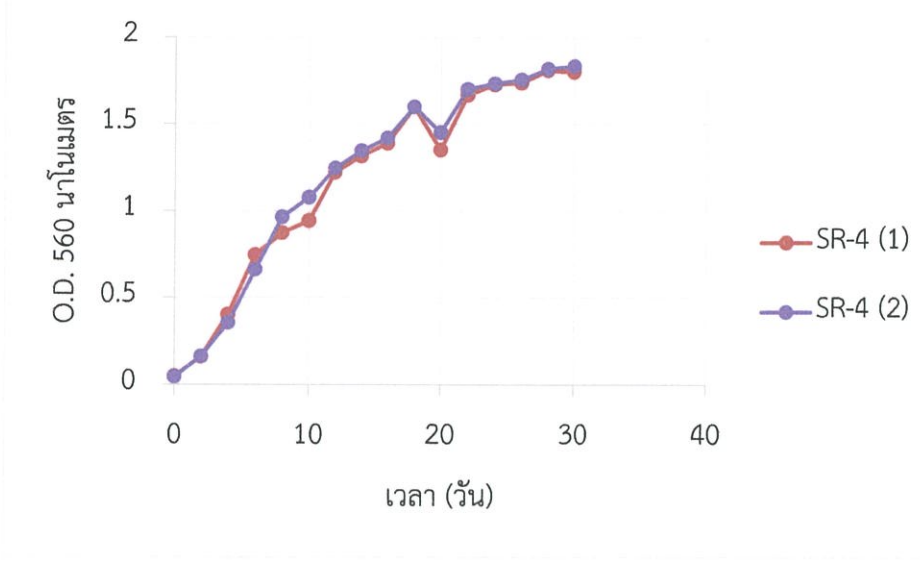
| เวลา (วัน) | จำนวนเซลล์ x $10^7$ (เซลล์/มิลลิลิตร) | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/มิลลิลิตร) | | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร | | ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ | ln จำนวนเซลล์เฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | | |
| 0 | 0.04 | 0.02 | 0 | 0 | 0.048 | 0.045 | 0.03 | -3.506557897 |
| 2 | 0.1 | 0.12 | 0 | 0 | 0.161 | 0.162 | 0.11 | -2.207274913 |
| 4 | 0.27 | 0.21 | 0.0001 | 0.0001 | 0.402 | 0.356 | 0.24 | -1.427116356 |
| 6 | 0.38 | 0.35 | 0.0005 | 0.0005 | 0.746 | 0.663 | 0.365 | -1.007857925 |
| 8 | 0.41 | 0.46 | 0.0005 | 0.0006 | 0.873 | 0.965 | 0.435 | -0.832409248 |
| 10 | 0.43 | 0.57 | 0.0005 | 0.0006 | 0.943 | 1.078 | 0.5 | -0.693147181 |
| 12 | 0.73 | 0.92 | 0.001 | 0.001 | 1.222 | 1.246 | 0.825 | -0.192371893 |
| 14 | 0.6 | 0.66 | 0.0009 | 0.0009 | 1.316 | 1.346 | 0.63 | -0.46203546 |
| 16 | 0.5 | 0.55 | 0.0007 | 0.0008 | 1.39 | 1.42 | 0.525 | -0.644357016 |
| 18 | 1.22 | 1.26 | 0.0015 | 0.0016 | 1.599 | 1.599 | 1.24 | 0.21511138 |
| 20 | 0.66 | 0.7 | 0.0009 | 0.001 | 1.351 | 1.452 | 0.68 | -0.385662481 |
| 22 | 0.69 | 0.78 | 0.001 | 0.001 | 1.667 | 1.701 | 0.735 | -0.30788478 |
| 24 | 0.5 | 0.65 | 0.0007 | 0.0009 | 1.727 | 1.734 | 0.575 | -0.553385238 |
| 26 | 0.64 | 0.7 | 0.0009 | 0.0009 | 1.739 | 1.756 | 0.67 | -0.400477567 |
| 28 | 0.64 | 0.71 | 0.0008 | 0.001 | 1.81 | 1.82 | 0.675 | -0.393042588 |
| 30 | 0.64 | 0.74 | 0.0008 | 0.001 | 1.802 | 1.834 | 0.69 | -0.371063681 |



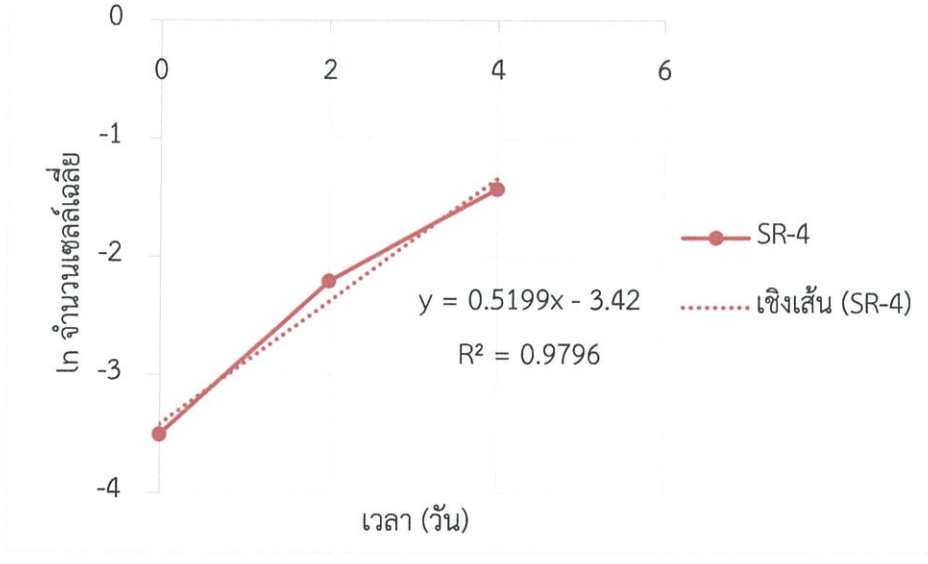

**รูปที่ 4.29** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-4 จำนวน 2 ซ้ำ



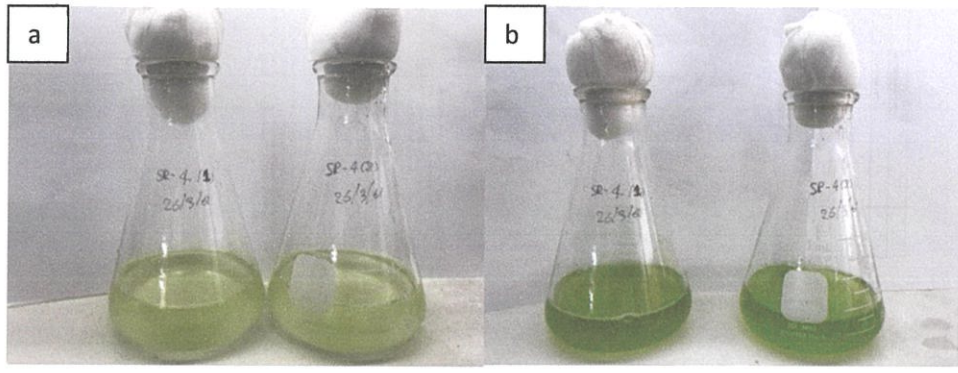

**รูปที่ 4.30** ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-4 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.31** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับเวลาของสาหร่าย SR-4 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.32** อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SR-4




**รูปที่ 4.33** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SR-4 (a: 2วัน, b: 8วัน)

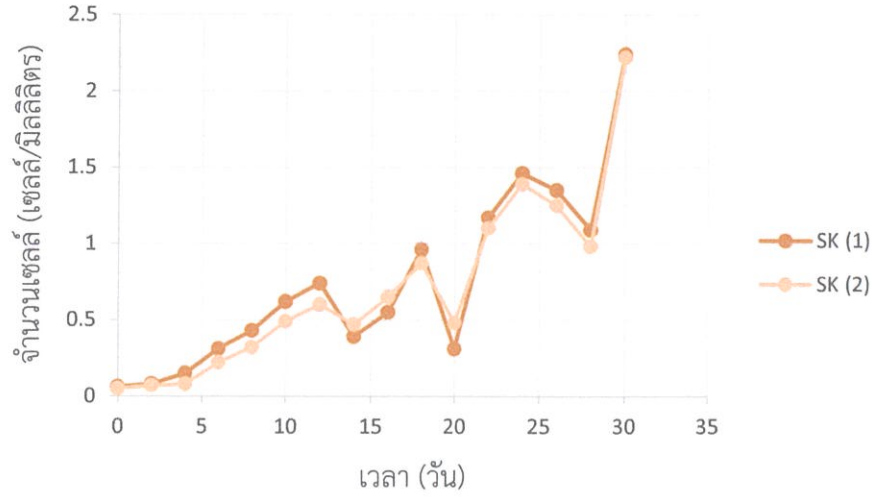
### 4.2.6 สาหร่ายรหัส SK เป็นสาหร่ายสกุล *Scenedesmus* sp.

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกผลได้ตามตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.34-4.38 จากตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.34-4.38 พบว่าสาหร่ายรหัส SK มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในระยะเวลา 12 วัน และมีการเจริญเติบโตลดลงในวันที่14 หลังจากนั้นจะมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอีก แล้วจึงจะลดลงอีกครั้งในวันที่ 20 หลังจากวันที่ 20 สาหร่ายได้มีการเจริญเติบโตสูงสุด จนถึงวันที่ 30 คาดว่าจะมีการเจริญเติบโตขึ้นอีกหลังจากวันที่ 30 ส่วนรูปที่ 4.37 จากกราฟ y = 0.1848x-2.444 ; μ จะมีค่า = 0.1848 พิสูจน์ค่า μ จากกราฟ μ $= \frac{-0.76+1.2}{9-7}$ μ = 0.2 ดังนั้นอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.2

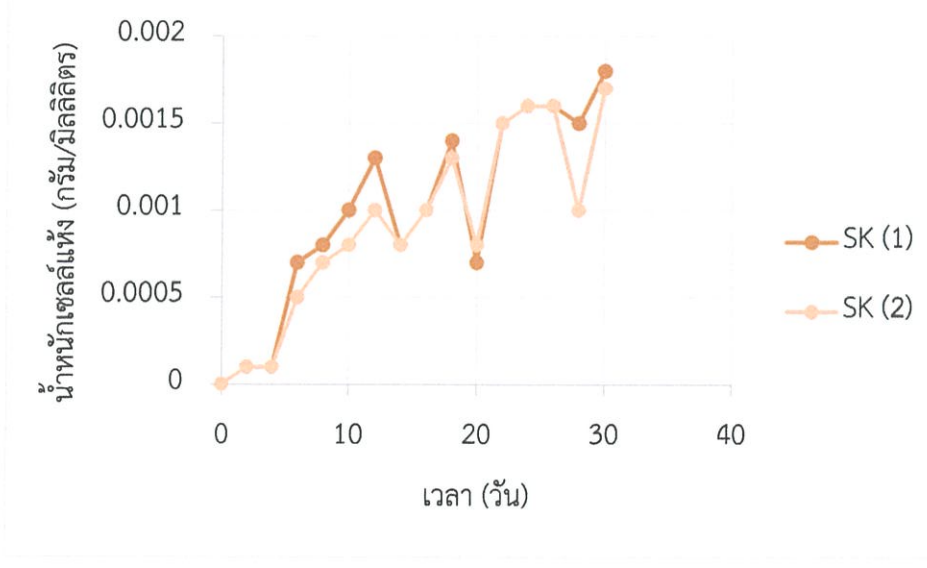
โดยจากงานวิจัยของ Pribyl และคณะ (2016) ได้ศึกษาบทบาทของแสงและไนโตรเจนในการเจริญเติบโตและการสะสมแคโรทีนอยด์ใน *Scenedesmus* sp. พบว่าหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Scenedesmus* sp. ในช่วงแรกโดยที่ยังไม่มีการเพิ่มแสงหรือลดแสง และการเพิ่มไนโตรเจนหรือลดไนโตรเจน เซลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมาก โดยปริมาณชีวมวล DW เพิ่มขึ้นจาก 0.3 เป็น 5.2 กรัมต่อลิตรในระยะเวลา 48 ชั่วโมง และจำนวนเซลล์ทั้งหมดจะเข้าสู่ระยะคงที่หลังจากผ่านไปประมาณ 6 วัน ซึ่งมีผลสอดคล้องกับงานวิจัยของเรา โดยมีแนวโน้มการเจริญเติบโตของ *Scenedesmus* sp. ไปในทิศทางเดียวกัน

**ตารางที่ 4.7** ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SK ในระยะเวลา 30 วัน

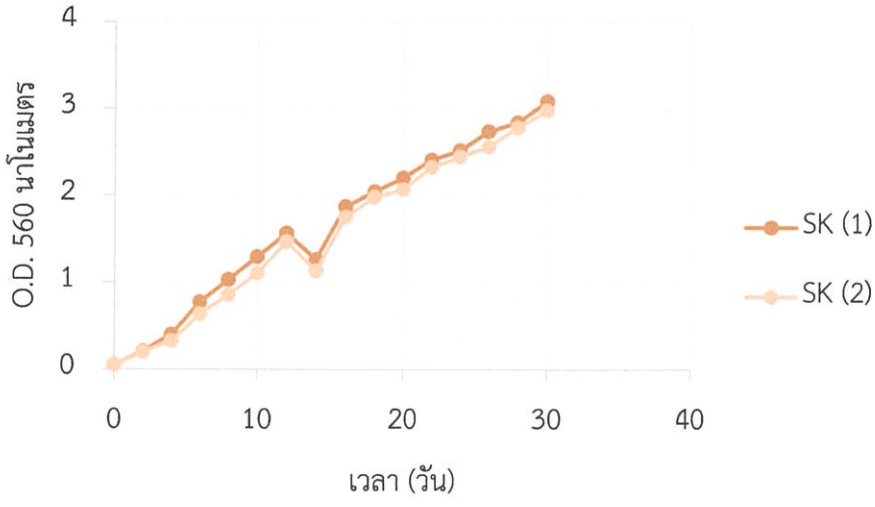
| เวลา (วัน) | จำนวนเซลล์ x $10^7$ (เซลล์/มิลลิลิตร) | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/มิลลิลิตร) | | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร | | ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ | ln จำนวนเซลล์เฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | | |
| 0 | 0.06 | 0.05 | 0 | 0 | 0.054 | 0.053 | 0.055 | -2.900422094 |
| 2 | 0.08 | 0.07 | 0.0001 | 0.0001 | 0.208 | 0.201 | 0.075 | -2.590267165 |
| 4 | 0.15 | 0.08 | 0.0001 | 0.0001 | 0.401 | 0.328 | 0.115 | -2.162823151 |
| 6 | 0.31 | 0.22 | 0.0007 | 0.0005 | 0.775 | 0.636 | 0.265 | -1.328025453 |
| 8 | 0.43 | 0.32 | 0.0008 | 0.0007 | 1.032 | 0.856 | 0.375 | -0.980829253 |
| 10 | 0.62 | 0.49 | 0.001 | 0.0008 | 1.295 | 1.106 | 0.555 | -0.588787165 |
| 12 | 0.74 | 0.6 | 0.0013 | 0.001 | 1.568 | 1.469 | 0.67 | -0.400477567 |
| 14 | 0.39 | 0.47 | 0.0008 | 0.0008 | 1.263 | 1.135 | 0.43 | -0.84397007 |
| 16 | 0.55 | 0.65 | 0.001 | 0.001 | 1.874 | 1.754 | 0.6 | -0.510825624 |
| 18 | 0.96 | 0.87 | 0.0014 | 0.0013 | 2.045 | 1.985 | 0.915 | -0.088831214 |
| 20 | 0.31 | 0.48 | 0.0007 | 0.0008 | 2.203 | 2.071 | 0.395 | -0.928869514 |
| 22 | 1.17 | 1.1 | 0.0015 | 0.0015 | 2.411 | 2.326 | 1.135 | 0.126632651 |
| 24 | 1.46 | 1.39 | 0.0016 | 0.0016 | 2.52 | 2.451 | 1.425 | 0.354171814 |
| 26 | 1.35 | 1.25 | 0.0016 | 0.0016 | 2.739 | 2.563 | 1.3 | 0.262364264 |
| 28 | 1.09 | 0.98 | 0.0015 | 0.001 | 2.843 | 2.784 | 1.035 | 0.034401427 |
| 30 | 2.24 | 2.22 | 0.0018 | 0.0017 | 3.085 | 2.981 | 2.23 | 0.802001585 |



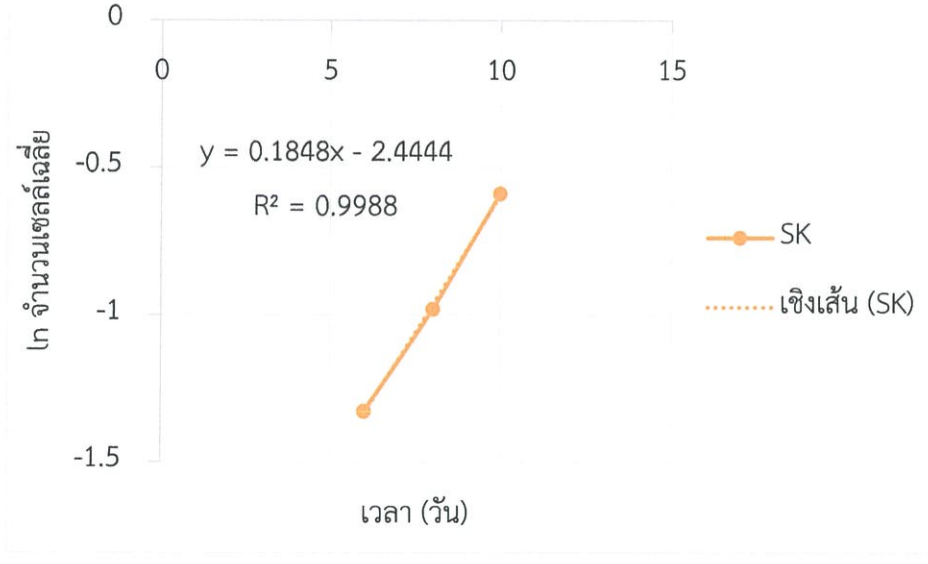

**รูปที่ 4.34** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SK จำนวน 2 ซ้ำ



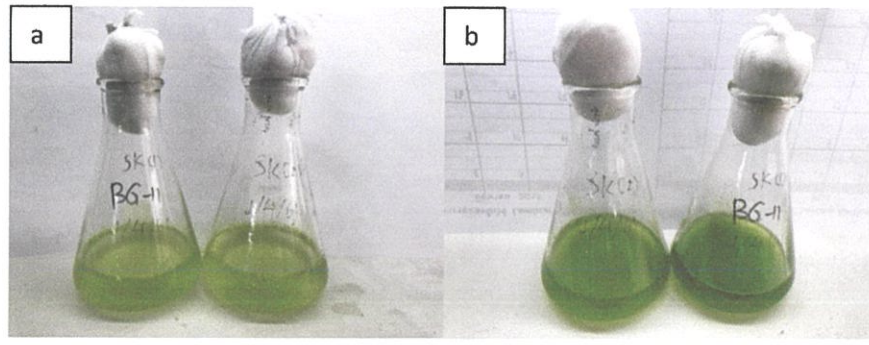

**รูปที่ 4.35** ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SK จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.36** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรกับเวลาของสาหร่าย SK จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.37** อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SK



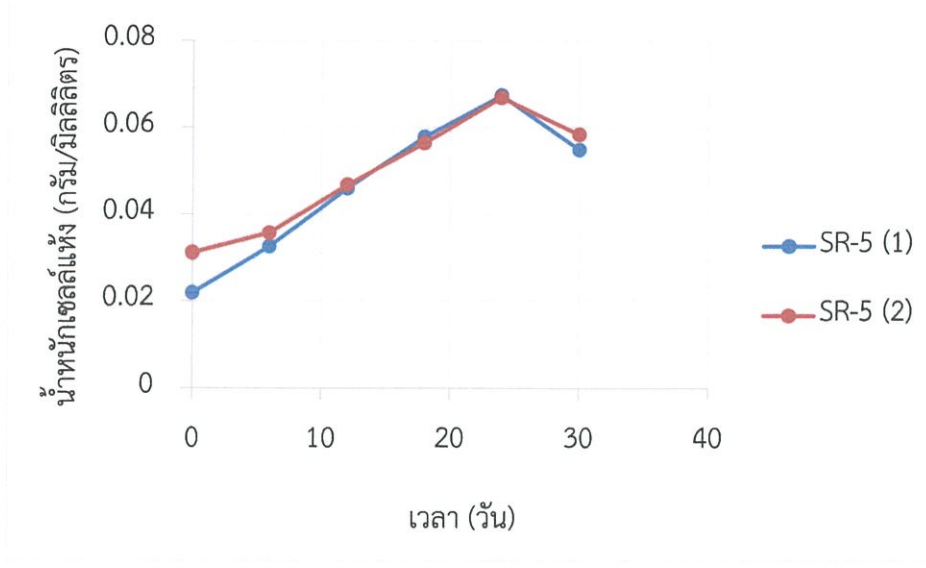

**รูปที่ 4.38** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SK (a: 2วัน, b: 8วัน)

### 4.2.7 สาหร่ายรหัส SR-5 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* sp.

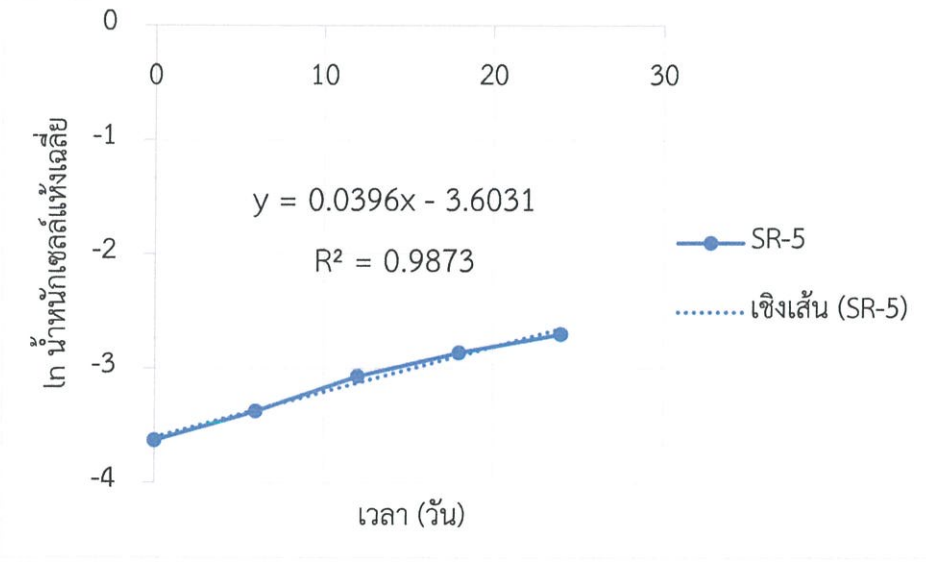
จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกผลได้ตามตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.39-4.41 จากตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.39-3.41 พบว่าสาหร่ายรหัส SR-5 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Oscillatoria* มีการดำรงชีวิตแบบล่องลอยเป็นอิสระหรือยึดเกาะทำให้ไม่ละลายน้ำ จึงไม่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงและนับจำนวนเซลล์ได้ แต่สามารถหาการเจริญเติบโตได้ด้วยการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งพบว่าสาหร่ายรหัส SR-5มีการเจริญเติบโตแบบเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 24 หลังจากวันที่ 24 จะมีการเจริญเติบโตลดลงจนถึงวันที่ 30 และมีอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.04 ส่วนรูปที่ 4.40 จะเห็นได้ว่าสีของสาหร่ายมีความเข้มข้นเมื่อเลี้ยงผ่านไปแล้ว 6 วัน ส่วนรูปที่ 4.40 จากกราฟ y = 0.0396x-3.6031 ; μ จะมีค่า = 0.0396 พิสูจน์ค่า μ จากกราฟ $\mu = \frac{-2.9+3.4}{18-6}$ μ = 0.04 ดังนั้นอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.04

**ตารางที่ 4.8** ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-5 ในระยะเวลา 30 วัน

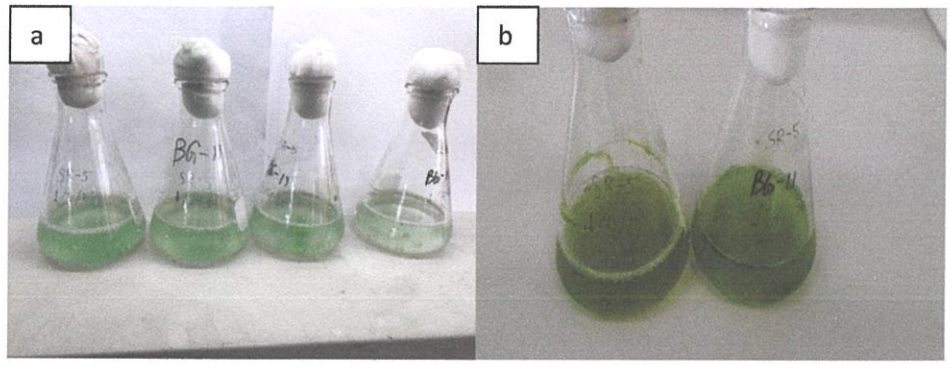
| เวลา (วัน) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/มิลลิลิตร) | | ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์ (กรัม/มิลลิลิตร) | ln น้ำหนักเซลล์เฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | | |
| 0 | 0.0219 | 0.0311 | 0.0265 | -3.630610546 |
| 6 | 0.0326 | 0.0357 | 0.03415 | -3.376992693 |
| 12 | 0.046 | 0.0468 | 0.0464 | -3.07045582 |
| 18 | 0.0578 | 0.0564 | 0.0571 | -2.862951162 |
| 24 | 0.0674 | 0.0669 | 0.06715 | -2.700826356 |
| 30 | 0.0549 | 0.0584 | 0.05665 | -2.870863292 |




**รูปที่ 4.39** ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-5 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.40** อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SR-5




**รูปที่ 4.41** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SR-5 (a: 0วัน, b: 6วัน)

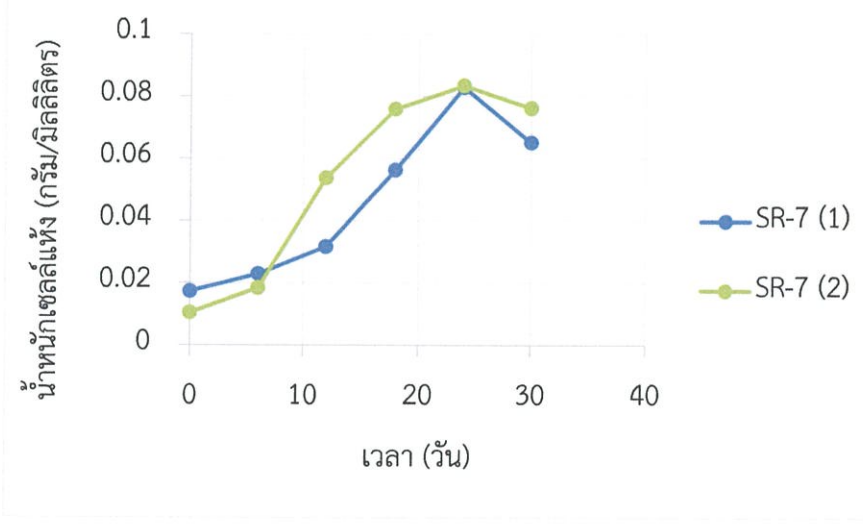
### 4.2.8 สาหร่ายรหัส SR-7 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria sp.*

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกผลได้ตามตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.42 -4.44 จากตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.42-4.44 พบว่าสาหร่ายรหัส SR-7 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Oscillatoria* มีการดำรงชีวิตแบบล่องลอยเป็นอิสระหรือยึดเกาะทำให้ไม่ละลายน้ำเหมือนกับสาหร่ายรหัส SR-5 จึงไม่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงและนับจำนวนเซลล์ได้ แต่สามารถหาการเจริญเติบโตได้ด้วยการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง เช่นเดียวกันกับสาหร่าย SR-5 พบว่าสาหร่ายรหัส SR-5 มีการเจริญเติบโตแบบเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 24 หลังจากวันที่ 24 จะมีการเจริญเติบโตลดลงจนถึงวันที่ 30 และรูปที่ 4.43 จากกราฟ y = 0.0937x-4.3338 ; μ จะมีค่า = 0.0937 พิสูจน์ค่า μ จากกราฟ $\mu = \frac{-3.5+4.1}{9-3}$ μ = 0.1 ดังนั้น อัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.1 ส่วนรูปที่ 4.43 จะเห็นได้ว่าสีของสาหร่ายมีความเข้มข้นเมื่อเลี้ยงผ่านไปแล้ว 6 วัน

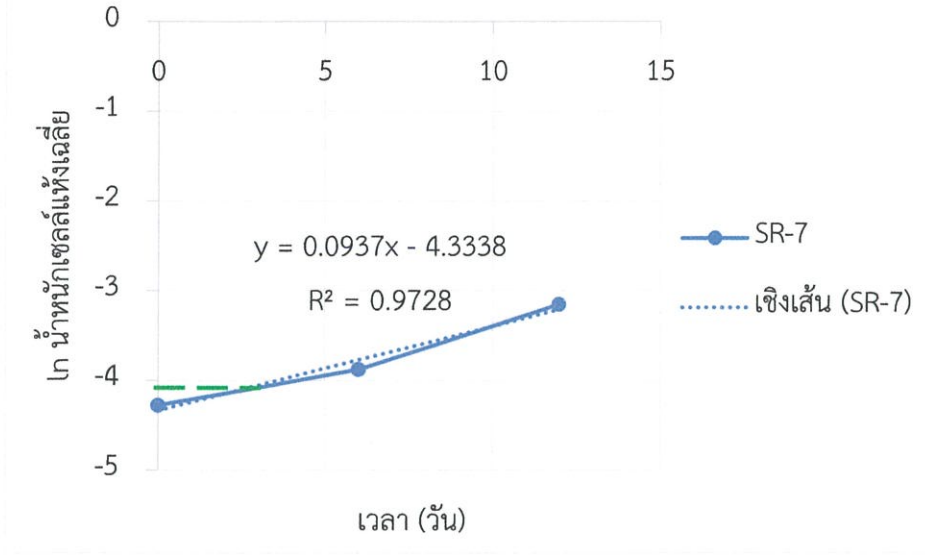
โดยจากงานวิจัยของ Clark และคณะ (2018) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียในสภาวะที่มีแสงเหมาะสม ขั้นตอนการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลและโมเลกุลที่หลั่งออกมาใน light-limited batch growth พบว่าจากการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียในอาหารสูตรต่างๆ ในอาหารสูตร BG-11 เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 15 ซึ่งมีผลสอดคล้องกับงานวิจัยของเรา โดยมีแนวโน้มการเจริญเติบโตไปในทิศทางเดียวกัน

**ตารางที่ 4.9** ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายรหัส SR-7 ในระยะเวลา 30 วัน

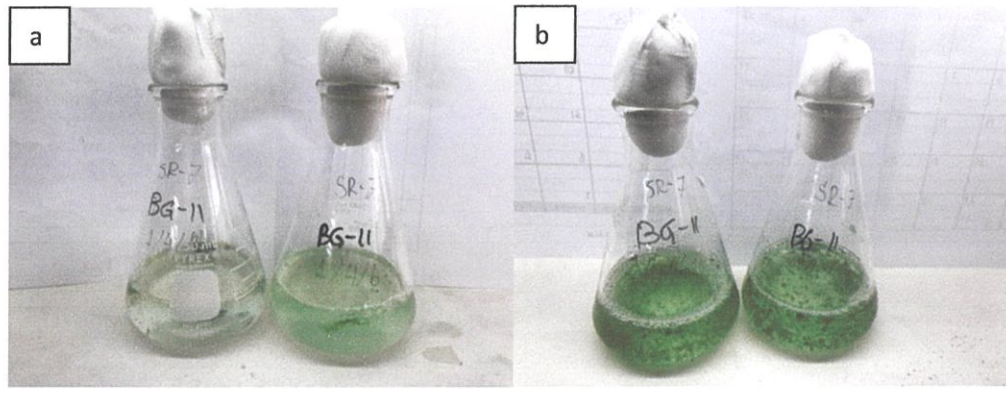
| เวลา (วัน) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/มิลลิลิตร) | | ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์ (กรัม/มิลลิลิตร) | ln น้ำหนักเซลล์เฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | | |
| 0 | 0.0173 | 0.0104 | 0.01385 | -4.279470046 |
| 6 | 0.0229 | 0.0184 | 0.02065 | -3.88003996 |
| 12 | 0.0316 | 0.0537 | 0.04265 | -3.154728005 |
| 18 | 0.0562 | 0.0759 | 0.06605 | -2.717343248 |
| 24 | 0.0829 | 0.0834 | 0.08315 | -2.487109073 |
| 30 | 0.0651 | 0.0762 | 0.07065 | -2.65001717 |




**รูปที่ 4.42** ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-7 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.43** อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายรหัส SR-7




**รูปที่ 4.44** การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย SR-7 (a: 0วัน, b: 6วัน)

## 4.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี

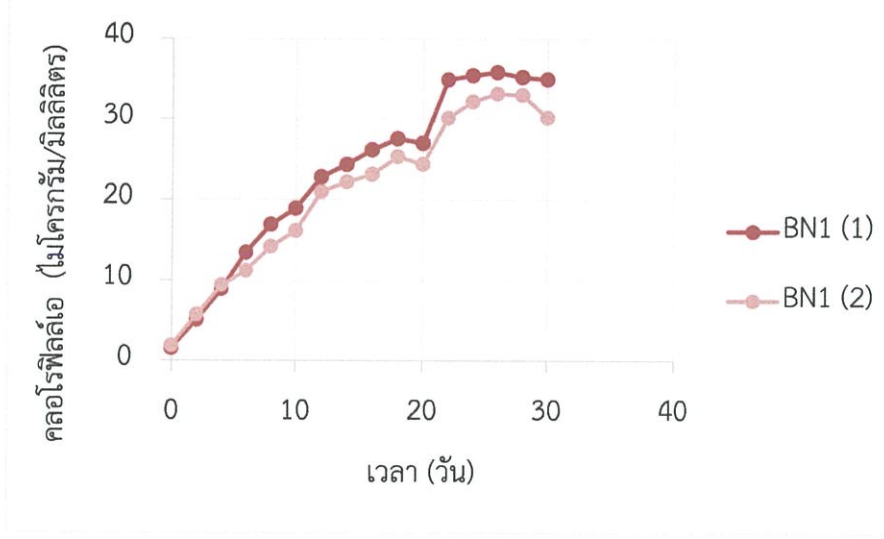
### 4.3.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส BN1

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีได้ผลตามตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.45-4.46 จากตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.45 พบว่าสาหร่ายรหัส BN1 มีปริมาณของคลอโรฟิลล์เอเพิ่มขึ้น จนถึงวันที่ 18 และในวันที่ 20 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจะมีปริมาณลดลง หลังจากวันที่ 20 ปริมาณของ คลอโรฟิลล์เอจะเพิ่มขึ้นอีก โดยมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 34.523 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในวันที่ 26 หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30 ส่วนรูปที่ 4.46 พบว่าสาหร่ายรหัส BN1 มีปริมาณของ คลอโรฟิลล์บีเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 18 เช่นเดียวกันกับปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและ

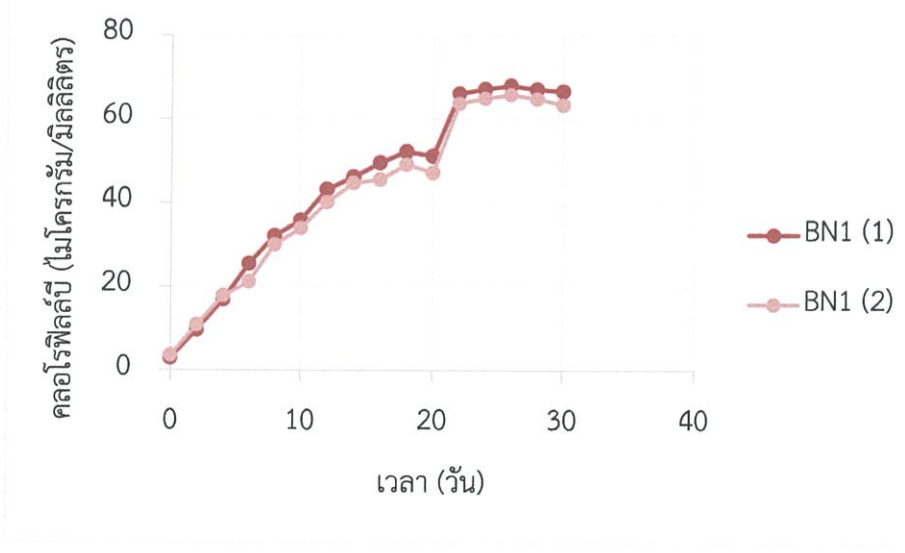
จะมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 หลังจากวันที่ 20 ปริมาณของ คลอโรฟิลล์บีจะเพิ่มขึ้นอีกครั้ง โดยมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 66.968 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในวันที่ 26 หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30

**ตารางที่ 4.10** ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส BN1

| เวลา (วัน) | คลอโรฟิลล์เอ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | | คลอโรฟิลล์บี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 0 | 1.557 | 1.834 | 2.967 | 3.495 |
| 2 | 5.071 | 5.663 | 9.675 | 10.823 |
| 4 | 8.898 | 9.368 | 16.949 | 17.843 |
| 6 | 13.432 | 11.161 | 25.499 | 21.246 |
| 8 | 16.925 | 14.175 | 32.127 | 30.079 |
| 10 | 18.912 | 16.124 | 35.855 | 33.985 |
| 12 | 22.817 | 20.984 | 43.233 | 40.185 |
| 14 | 24.374 | 22.194 | 46.158 | 44.785 |
| 16 | 26.172 | 23.142 | 49.552 | 45.591 |
| 18 | 27.568 | 25.318 | 52.193 | 49.157 |
| 20 | 26.999 | 24.379 | 51.158 | 47.184 |
| 22 | 34.923 | 30.144 | 66.135 | 63.754 |
| 24 | 35.442 | 32.196 | 67.193 | 64.981 |
| 26 | 35.857 | 33.188 | 68.063 | 65.873 |
| 28 | 35.257 | 33.014 | 67.138 | 64.873 |
| 30 | 34.96 | 2.88 | 66.68 | 63.451 |




**รูปที่ 4.45** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN1 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.46** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN1 จำนวน 2 ซ้ำ

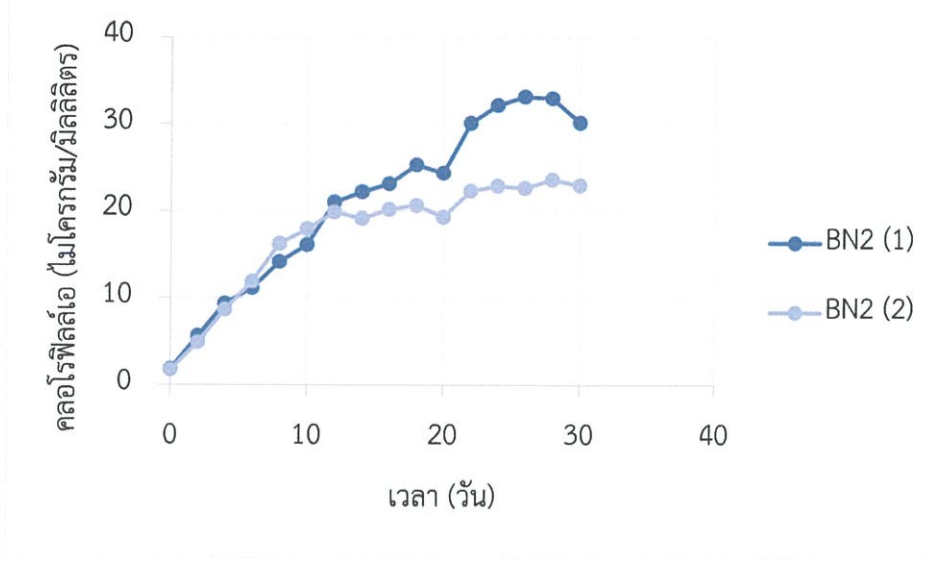
### 4.3.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส BN2

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีได้ตามตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.47-4.48 จากตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.47 พบว่าสาหร่ายรหัส BN2 มีปริมาณของคลอโรฟิลล์เอเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 18 และในวันที่ 20 ปริมาณของ คลอโรฟิลล์เอจะมีปริมาณลดลงหลังจากวันที่ 20 ปริมาณของ คลอโรฟิลล์เอจะเพิ่มขึ้นอีก โดยมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 27.904 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในวันที่ 26 หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30 ส่วนรูปที่ 4.48 พบว่าสาหร่ายรหัส BN2 มี

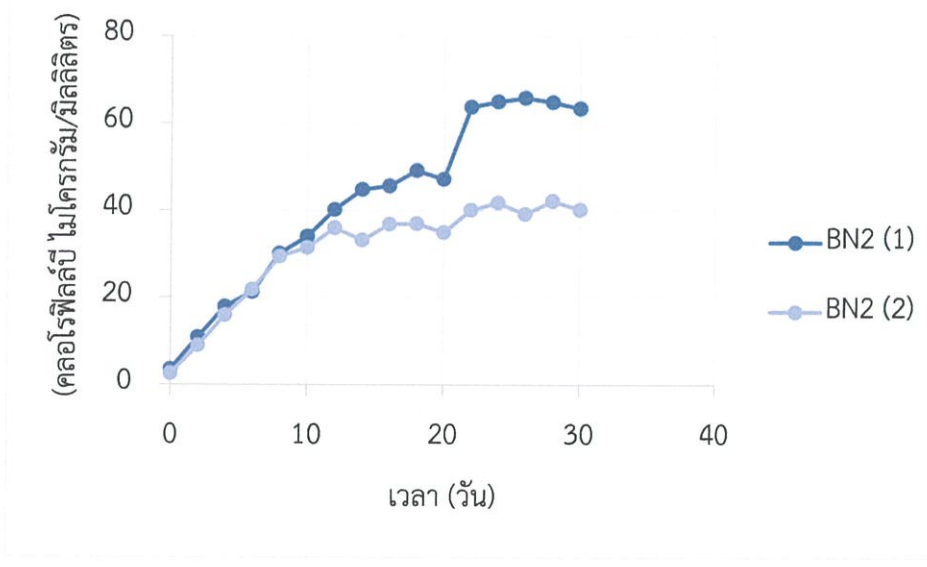
ปริมาณของคลอโรฟิลล์บีเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 18 เช่นเดียวกันกับปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 หลังจากวันที่ 20 ปริมาณของคลอโรฟิลล์บีจะเพิ่มขึ้นอีกครั้ง โดยมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 52.527 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในวันที่ 26 หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30

**ตารางที่ 4.11** ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส BN2

| เวลา (วัน) | คลอโรฟิลล์เอ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | | คลอโรฟิลล์บี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 0 | 1.834 | 1.764 | 3.495 | 2.566 |
| 2 | 5.663 | 4.93 | 10.823 | 8.96 |
| 4 | 9.368 | 8.697 | 17.843 | 15.962 |
| 6 | 11.161 | 11.917 | 21.246 | 21.806 |
| 8 | 14.175 | 16.251 | 30.079 | 29.442 |
| 10 | 16.124 | 17.93 | 33.985 | 31.454 |
| 12 | 20.984 | 19.887 | 40.185 | 35.954 |
| 14 | 22.194 | 19.152 | 44.785 | 33.19 |
| 16 | 23.142 | 20.179 | 45.591 | 36.88 |
| 18 | 25.318 | 20.63 | 49.157 | 36.981 |
| 20 | 24.379 | 19.285 | 47.184 | 34.953 |
| 22 | 30.144 | 22.282 | 63.754 | 40.122 |
| 24 | 32.196 | 22.872 | 64.981 | 41.781 |
| 26 | 33.188 | 22.619 | 65.873 | 39.18 |
| 28 | 33.014 | 23.593 | 64.873 | 42.175 |
| 30 | 30.192 | 22.95 | 63.451 | 40.199 |




**รูปที่ 4.47** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN2 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.48** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส BN2 จำนวน 2 ซ้ำ

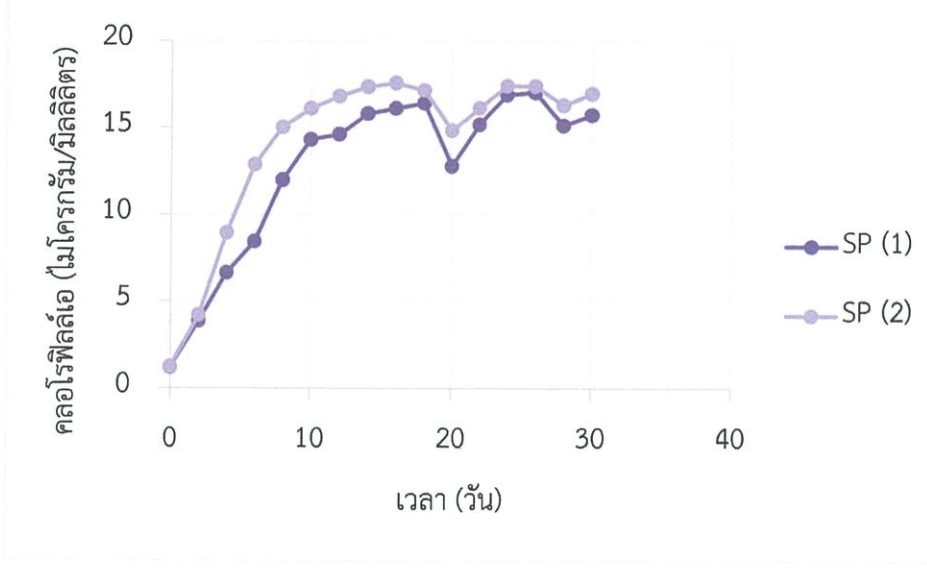
### 4.3.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SP

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีได้ตามตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.49-4.50 จากตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.49 พบว่า สาหร่ายรหัส SP มีปริมาณของคลอโรฟิลล์เอเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 18 และในวันที่ 20 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจะมีปริมาณลดลง หลังจากวันที่ 20 ปริมาณของ คลอโรฟิลล์เอจะเพิ่มขึ้นอีก แต่ไม่สูงเท่าวันที่ 18 โดยวันที่ 18 จะมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่

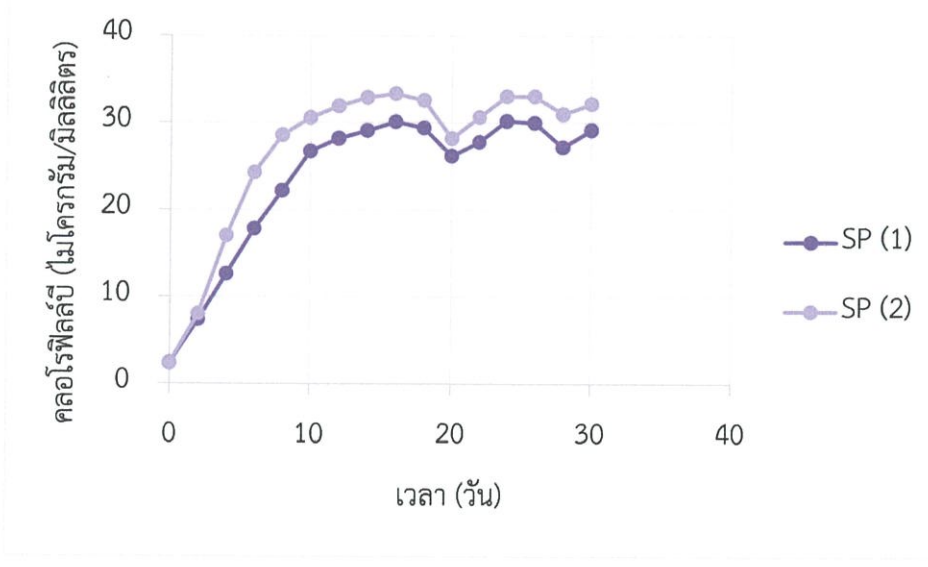
16.845 หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30 ส่วนรูปที่ 4.50 พบว่าสาหร่ายรหัส SP มีปริมาณของ คลอโรฟิลล์ บี เพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 18 เช่นเดียวกันกับปริมาณของ คลอโรฟิลล์ เอ และจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 หลังจากวันที่ 20 ปริมาณของ คลอโรฟิลล์ บี จะเพิ่มขึ้นอีกครั้ง แต่ยังคงไม่สูงเท่าวันที่ 18 โดยวันที่ 18 จะมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 31.733 หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30

**ตารางที่ 4.12** ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SP

| เวลา (วัน) | คลอโรฟิลล์เอ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | | คลอโรฟิลล์บี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 0 | 1.215 | 1.239 | 2.372 | 2.361 |
| 2 | 3.87 | 4.199 | 7.386 | 8.02 |
| 4 | 6.631 | 8.936 | 12.626 | 17.035 |
| 6 | 8.433 | 12.867 | 17.815 | 24.291 |
| 8 | 11.981 | 15.018 | 22.198 | 28.563 |
| 10 | 14.312 | 16.097 | 26.731 | 30.563 |
| 12 | 14.617 | 16.812 | 28.193 | 31.917 |
| 14 | 15.814 | 17.356 | 29.11 | 32.895 |
| 16 | 16.123 | 17.567 | 30.115 | 33.35 |
| 18 | 16.421 | 17.147 | 29.416 | 32.57 |
| 20 | 12.781 | 14.832 | 26.179 | 28.186 |
| 22 | 15.172 | 16.118 | 27.78 | 30.62 |
| 24 | 16.891 | 17.402 | 30.196 | 33.032 |
| 26 | 17.034 | 17.391 | 30.002 | 33.017 |
| 28 | 15.129 | 16.296 | 27.186 | 30.982 |
| 30 | 15.73 | 16.956 | 29.174 | 32.168 |




**รูปที่ 4.49** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส SP จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.50** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส SP จำนวน 2 ซ้ำ

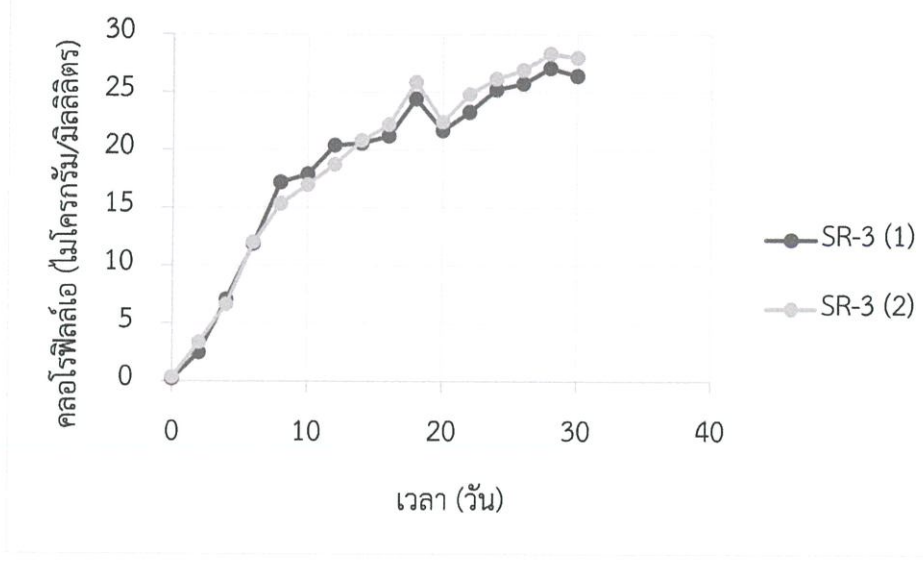
### 4.3.4 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SR-3

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีได้ตามตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.51-4.52 จากตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.51 พบว่าสาหร่ายรหัส SR-3 มีปริมาณของคลอโรฟิลล์เอเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 18 และในวันที่ 20 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจะมีปริมาณลดลง หลังจากวันที่ 20 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจะเพิ่มขึ้นอีก โดยวันที่ 28 จะมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 27.690 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30 ส่วนรูปที่ 4.52 พบว่าสาหร่ายรหัส SR-

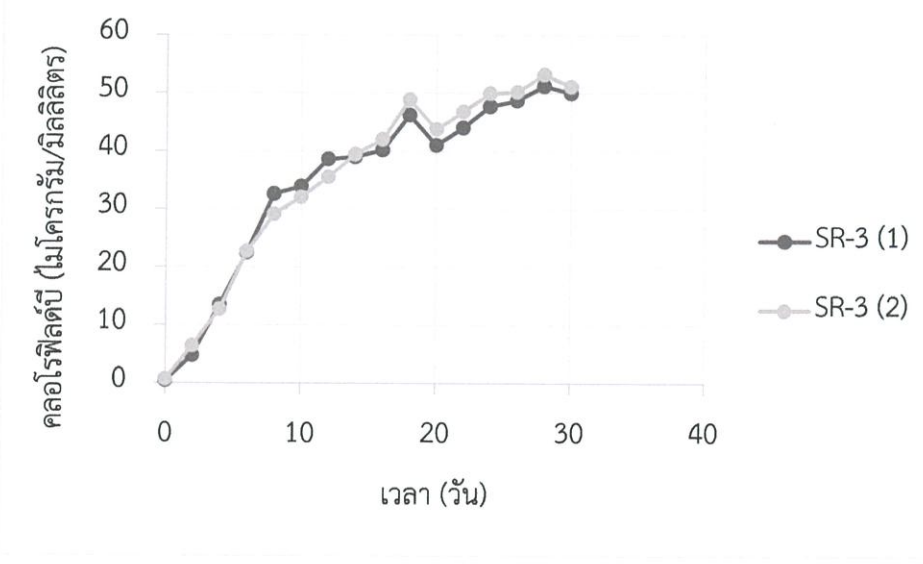
3 มีปริมาณของคลอโรฟิลล์บีเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 18 เช่นเดียวกันกับปริมาณของคลอโรฟิลล์เอ และจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 หลังจากวันที่ 20 ปริมาณของคลอโรฟิลล์บีจะเพิ่มขึ้นอีกครั้ง โดยวันที่ 28 จะมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 52.197 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30

**ตารางที่ 4.13** ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SR-3

| เวลา (วัน) | คลอโรฟิลล์เอ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | | คลอโรฟิลล์บี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 0 | 0.219 | 0.335 | 0.417 | 0.638 |
| 2 | 2.479 | 3.339 | 4.736 | 6.374 |
| 4 | 7.055 | 6.658 | 13.452 | 12.703 |
| 6 | 11.89 | 12.006 | 22.485 | 22.68 |
| 8 | 17.175 | 15.339 | 32.599 | 29.132 |
| 10 | 17.875 | 16.983 | 33.911 | 32.059 |
| 12 | 20.374 | 18.731 | 38.611 | 35.511 |
| 14 | 20.575 | 20.792 | 38.988 | 39.412 |
| 16 | 21.19 | 22.165 | 40.153 | 41.988 |
| 18 | 24.4 | 25.829 | 46.208 | 48.848 |
| 20 | 21.649 | 22.384 | 40.99 | 43.748 |
| 22 | 23.254 | 24.781 | 44.032 | 46.78 |
| 24 | 25.205 | 26.125 | 47.714 | 49.939 |
| 26 | 25.724 | 26.891 | 48.696 | 50.174 |
| 28 | 27.059 | 28.321 | 51.214 | 53.179 |
| 30 | 26.41 | 27.98 | 50.009 | 51.104 |




**รูปที่ 4.51** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-3 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.52** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-3 จำนวน 2 ซ้ำ

### 4.3.5 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SR-4

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีได้ตามตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.53-4.54 จากตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.53 พบว่า สาหร่ายรหัส SR-4 มีปริมาณของคลอโรฟิลล์เอเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 18 และในวันที่ 20 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจะมีปริมาณลดลง หลังจากวันที่ 20 ปริมาณของ คลอโรฟิลล์เอจะเพิ่มขึ้นอีก โดยวันที่ 28 จะมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 17.622 ไมโครกรัม/

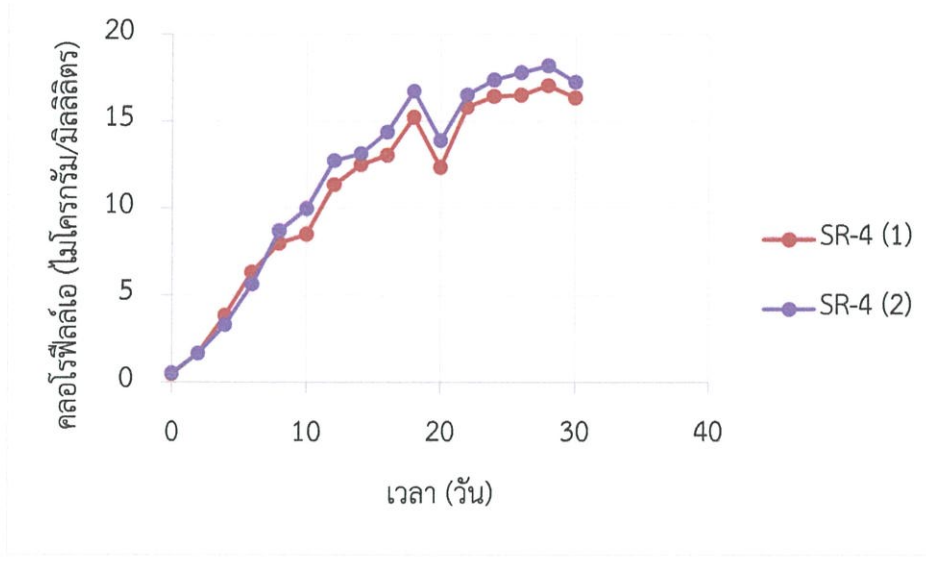
มิลลิลิตร หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30 ส่วนรูปที่ 4.54 พบว่าสาหร่ายรหัส SR-4 มีปริมาณของคลอโรฟิลล์บีเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 18 เช่นเดียวกันกับปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 หลังจากวันที่ 20 ปริมาณของคลอโรฟิลล์บีจะเพิ่มขึ้นอีกครั้ง โดยวันที่ 28 จะมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 33.113 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30

โดยจากงานวิจัยของ Jung และคณะ (2016) ได้ศึกษาผลของการสารโซเดียม pentaborate pentahydrate ต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella vulgaris*,ปริมาณคลอโรฟิลล์และกิจกรรมเอนไซม์ พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยไม่มีการเติมสารโซเดียม ในช่วงแรกจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์น้อย หลังจากนั้นปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีจะเพิ่มขึ้น โดยวันที่ 4 จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอถึง 6 มิลลิกรัม/ลิตร และคลอโรฟิลล์บีมีประมาณ 2.7 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งจะสอดคล้องกับงานวิจัยของเราที่ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีในช่วงแรกยังมีปริมาณไม่มากนัก หลังจากผ่านช่วงแรกไปปริมาณคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีของเราในช่วงวันที่ 4 มีปริมาณน้อยกว่างานวิจัยของ Jung และคณะ (2016) อาจจะเกิดจากการที่เราทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในปริมาณน้อยกว่า

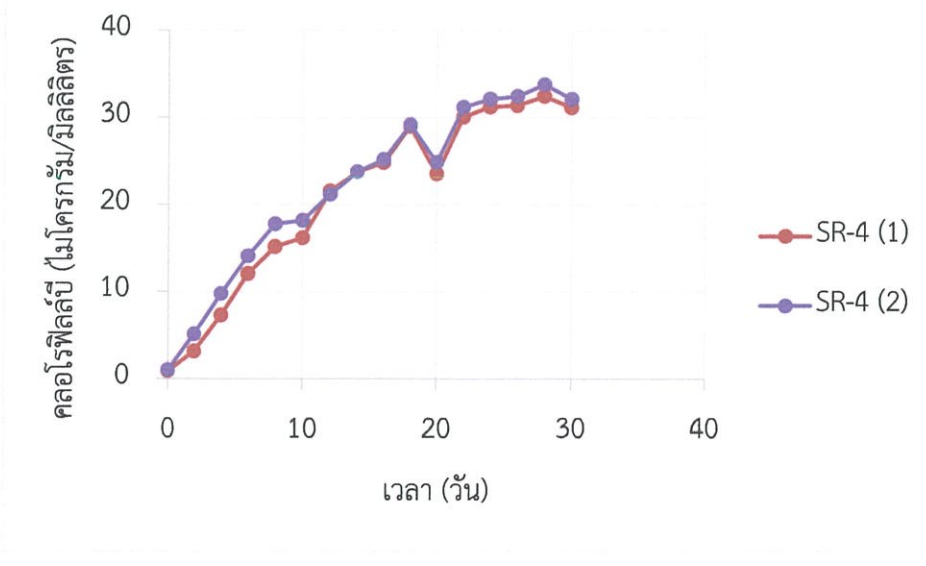
**ตารางที่ 4.14** ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SR-4

| เวลา (วัน) | คลอโรฟิลล์เอ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | | คลอโรฟิลล์บี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 0 | 0.458 | 0.514 | 0.872 | 0.984 |
| 2 | 1.65 | 1.648 | 3.145 | 5.126 |
| 4 | 3.837 | 3.297 | 7.318 | 9.784 |
| 6 | 6.318 | 5.626 | 12.08 | 14.111 |
| 8 | 7.973 | 8.687 | 15.181 | 17.79 |
| 10 | 8.491 | 9.961 | 16.178 | 18.174 |
| 12 | 11.336 | 12.731 | 21.573 | 21.19 |
| 14 | 12.505 | 13.15 | 23.787 | 23.794 |
| 16 | 13.047 | 14.378 | 24.828 | 25.186 |
| 18 | 15.237 | 16.732 | 28.993 | 29.177 |
| 20 | 12.341 | 13.89 | 23.529 | 24.865 |
| 22 | 15.808 | 16.516 | 30.075 | 31.19 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 24 | 16.43 | 17.385 | 31.241 | 32.126 |
| 26 | 16.504 | 17.79 | 31.403 | 32.45 |
| 28 | 17.046 | 18.198 | 32.444 | 33.781 |
| 30 | 16.349 | 17.249 | 31.143 | 32.102 |




**รูปที่ 4.53** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-4 จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.54** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-4 จำนวน 2 ซ้ำ

**4.3.6 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SK**

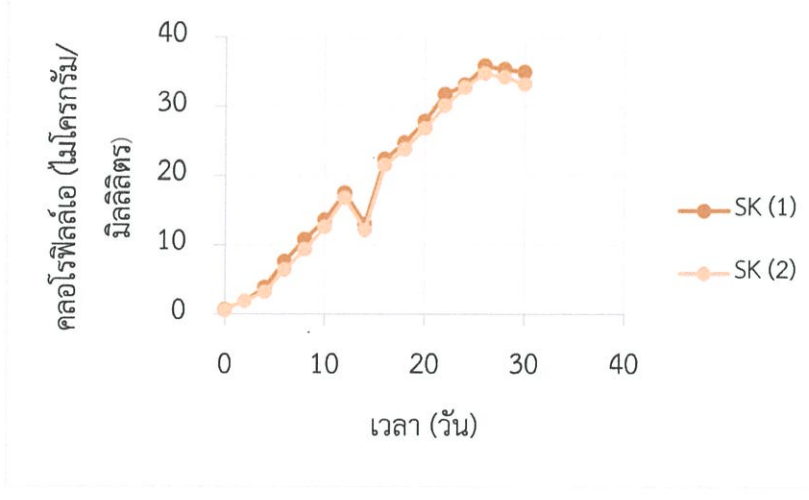
จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีได้ตามตารางที่ 4.15 และรูปที่ 4.55-4.56 จากตารางที่ 4.15 และรูปที่ 4.55 พบว่าสาหร่ายรหัส SK มีปริมาณของคลอโรฟิลล์เอเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 12 และในวันที่ 14 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจะมีปริมาณลดลง หลังจากวันที่ 14 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจะเพิ่มขึ้นอีก โดยวันที่ 26 จะมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 35.344 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30 ส่วนรูปที่ 4.56 พบว่าสาหร่ายรหัส SP มีปริมาณของ คลอโรฟิลล์บีเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 12 เช่นเดียวกันกับปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 14 หลังจากวันที่ 14 ปริมาณของคลอโรฟิลล์บีจะเพิ่มขึ้นอีกครั้ง โดยวันที่ 26 จะมีปริมาณสูงสุดเฉลี่ยอยู่ที่ 31.733 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30

โดยจากงานวิจัยของ Song และ Pei (2018) ที่ทำการศึกษาการเจริญเติบโตและการสะสมไขมันของ *Scenedesmus quadricauda* ในระหว่างการเพาะเลี้ยงแบบ mixotrophic/heterotrophic โดยใช้ไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Scenedesmus quadricauda* ในอาหาร BG-11 โดยมีความเข้มข้นของไซโลสเท่ากับ 0 กรัม/ลิตร ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี ในช่วง 0-6 วันจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ หรือน้อยมาก หลังจากวันที่ 6 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บีจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งปริมาณของคลอโรฟิลล์เอในวันที่8มีประมาณ 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของเราที่ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี ในช่วงแรกจะมีปริมาณน้อยแต่หลังจากวันที่ 6 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของเราจะมีปริมาณมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเช่นเดียวกัน

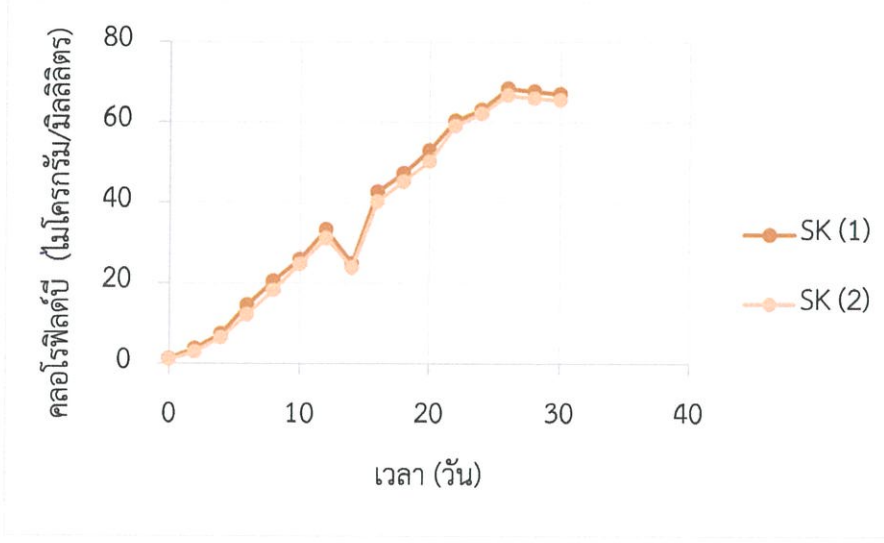
**ตารางที่ 4.15** ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของสาหร่ายรหัส SK

| เวลา (วัน) | คลอโรฟิลล์เอ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | | คลอโรฟิลล์บี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 0 | 0.627 | 0.523 | 1.186 | 0.983 |
| 2 | 1.9 | 1.882 | 3.635 | 2.871 |
| 4 | 3.843 | 3.166 | 7.346 | 6.439 |
| 6 | 7.588 | 6.411 | 14.501 | 12.178 |
| 8 | 10.753 | 9.324 | 20.507 | 18.196 |
| 10 | 13.573 | 12.591 | 25.901 | 24.732 |
| 12 | 17.472 | 16.784 | 33.307 | 31.164 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 14 | 13.012 | 12.124 | 24.851 | 23.89 |
| 16 | 22.371 | 21.497 | 42.584 | 40.194 |
| 18 | 24.76 | 23.815 | 47.143 | 45.176 |
| 20 | 27.839 | 26.794 | 52.966 | 50.178 |
| 22 | 31.752 | 30.134 | 60.393 | 59.14 |
| 24 | 33.141 | 32.731 | 63.096 | 62.136 |
| 26 | 35.899 | 34.788 | 68.417 | 66.739 |
| 28 | 35.381 | 34.234 | 67.678 | 65.987 |
| 30 | 34.96 | 33.186 | 67.04 | 65.548 |




**รูปที่ 4.55** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์เอกับเวลาของสาหร่ายรหัส SK จำนวน 2 ซ้ำ




**รูปที่ 4.56** ความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์บีกับเวลาของสาหร่ายรหัส SK จำนวน 2 ซ้ำ

จากการทดลอง หาปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี พบว่าสาหร่ายรหัส SK ที่เป็นสาหร่ายสกุล *Scenedesmus* sp. ให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีมากสุดเท่ากับ 35.344 และ 67.578 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสาหร่ายรหัส SP ที่เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp. มีปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีน้อยที่สุดคือ 16.845 และ 31.733 ตามลำดับ

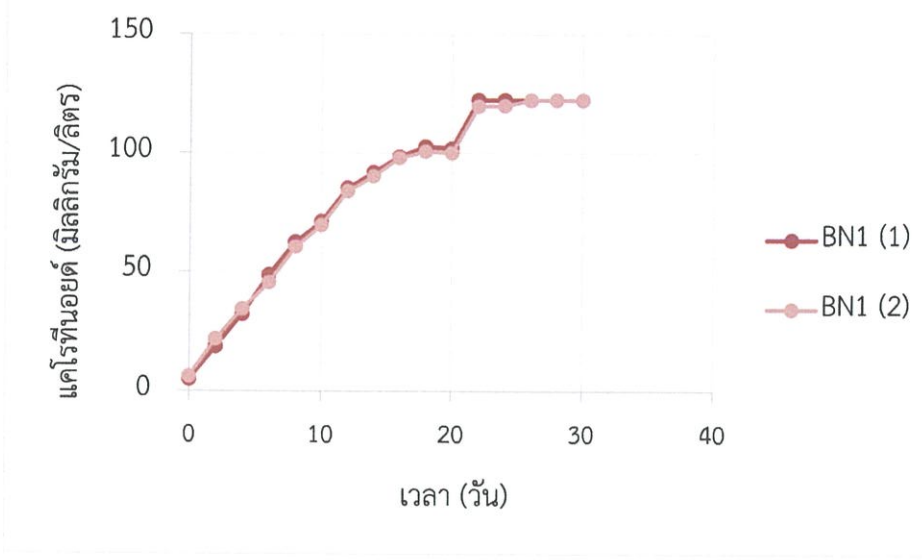
## 4.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์

### 4.4.1 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส BN1

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของแคโรทีนอยด์ได้ตามตารางที่ 4.16 และรูปที่ 4.57 จากตารางที่ 4.16 และรูปที่ 4.52 พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส BN1 จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งจะมีปริมาณคงที่ในวันที่ 26-30 โดยวันที่ 26-30 จะปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเฉลี่ยของสาหร่ายรหัส BN1 คือ 122.394 มิลลิกรัม/ลิตร

**ตารางที่ 4.16** ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส BN1

| เวลา (วัน) | แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/ลิตร) | |
|---|---|---|
| | 1 | 2 |
| 0 | 4.948 | 6.025 |
| 2 | 18.732 | 21.809 |
| 4 | 32.455 | 34.517 |
| 6 | 48.825 | 45.791 |
| 8 | 62.578 | 60.711 |
| 10 | 71.132 | 69.846 |
| 12 | 85.132 | 84.002 |
| 14 | 91.625 | 90.184 |
| 16 | 98.332 | 98.001 |
| 18 | 102.702 | 100.73 |
| 20 | 101.87 | 100.134 |
| 22 | 122.394 | 119.846 |
| 24 | 122.394 | 120.148 |
| 26 | 122.394 | 122.394 |
| 28 | 122.394 | 122.394 |
| 30 | 122.394 | 122.394 |




**รูปที่ 4.57** ความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส BN1 จำนวน 2 ซ้ำ

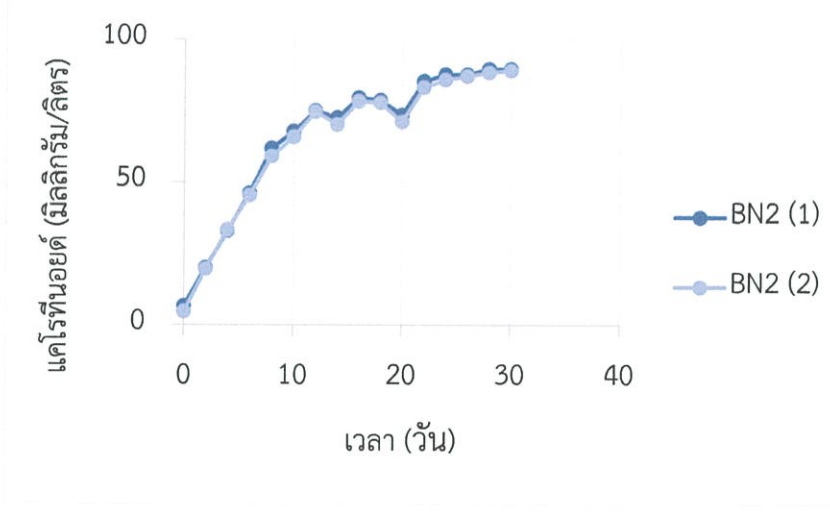
### 4.4.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส BN2

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของแคโรทีนอยด์ได้ตามตารางที่ 4.17 และ รูปที่ 4.58 จากตารางที่ 4.17 และรูปที่ 4.53 พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส BN2 จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 หลังจากนั้นจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอีกครั้ง โดยวันที่ 30 จะปริมาณ แคโรทีนอยด์ สูงสุดเฉลี่ยของสาหร่ายรหัส BN2 คือ 89.394 มิลลิกรัม/ลิตร

**ตารางที่ 4.17** ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส BN2

| เวลา (วัน) | แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/ลิตร) | |
|---|---|---|
| | 1 | 2 |
| 0 | 6.609 | 4.671 |
| 2 | 19.963 | 19.594 |
| 4 | 32.948 | 33.255 |
| 6 | 46.025 | 45.348 |
| 8 | 61.84 | 59.102 |
| 10 | 67.717 | 65.89 |
| 12 | 75.009 | 74.694 |

| | | |
|---|---|---|
| 14 | 72.548 | 70.169 |
| 16 | 79.502 | 78.344 |
| 18 | 78.609 | 77.84 |
| 20 | 73.502 | 71.194 |
| 22 | 85.286 | 83.196 |
| 24 | 87.625 | 85.884 |
| 26 | 87.625 | 87.132 |
| 28 | 89.625 | 88.429 |
| 30 | 89.625 | 89.16 |



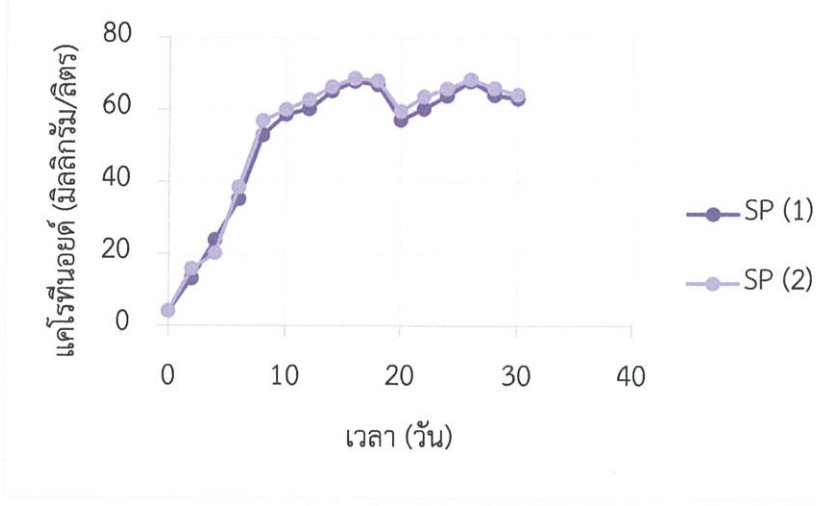

**รูปที่ 4.58** ความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส BN2 จำนวน 2 ซ้ำ

### 4.4.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SP

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของแคโรทีนอยด์ได้ตามตารางที่ 4.18 และรูปที่ 4.59 จากตารางที่ 4.18 และรูปที่ 4.59 พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SP จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 หลังจากนั้นจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอีกครั้ง โดยวันที่ 26 จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเฉลี่ยของสาหร่ายรหัส SP คือ 68.143 มิลลิกรัม/ลิตร หลังจากนั้นปริมาณของแคโรทีนอยด์จะลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30

**ตารางที่ 4.18** ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SP

| เวลา (วัน) | แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/ลิตร) | |
|---|---|---|
| | 1 | 2 |
| 0 | 4.055 | 4.117 |
| 2 | 13.132 | 15.778 |
| 4 | 23.809 | 20.11 |
| 6 | 35.184 | 38.548 |
| 8 | 52.936 | 56.917 |
| 10 | 58.732 | 60.025 |
| 12 | 60.194 | 62.763 |
| 14 | 65.193 | 66.394 |
| 16 | 67.862 | 68.671 |
| 18 | 66.943 | 68.025 |
| 20 | 57.112 | 59.502 |
| 22 | 60.195 | 63.594 |
| 24 | 63.874 | 65.809 |
| 26 | 67.891 | 68.394 |
| 28 | 64.125 | 65.963 |
| 30 | 63.11 | 64.178 |




**รูปที่ 4.59** ความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส SP จำนวน 2 ซ้ำ

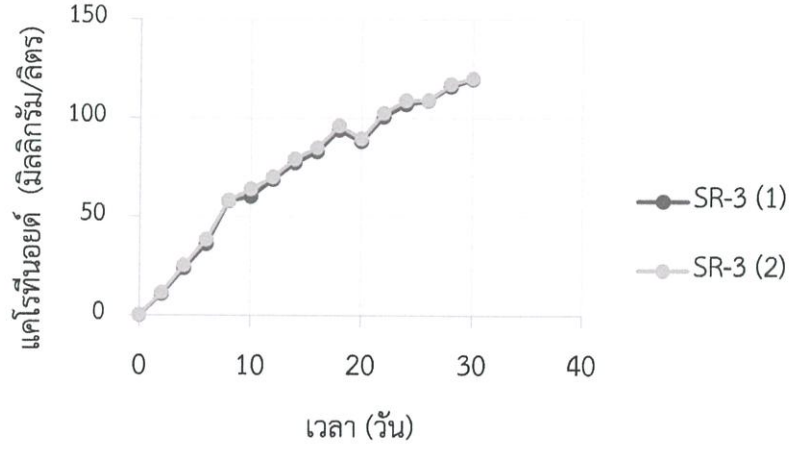
### 4.4.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SR-3

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของแคโรทีนอยด์ได้ตามตารางที่ 4.19 และรูปที่ 4.60 จากตารางที่ 4.19 และรูปที่ 4.60 พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SR-3 จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 หลังจากนั้นจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอีกครั้ง โดยวันที่ 30 จะปริมาณ แคโรทีนอยด์ สูงสุดเฉลี่ยของสาหร่ายรหัส SR-3 คือ 119.875 มิลลิกรัม/ลิตร

**ตารางที่ 4.19** ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SR-3

| เวลา (วัน) | แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/ลิตร) | |
|---|---|---|
| | 1 | 2 |
| 0 | 0.258 | 0.363 |
| 2 | 10.984 | 11.44 |
| 4 | 23.891 | 25.286 |
| 6 | 36.126 | 38.332 |
| 8 | 57.893 | 58.117 |
| 10 | 60.193 | 63.932 |
| 12 | 68.784 | 70.025 |
| 14 | 77.162 | 79.132 |

| | | |
|---|---|---|
| 16 | 82.93 | 84.855 |
| 18 | 93.887 | 95.963 |
| 20 | 88.125 | 89.348 |
| 22 | 100.561 | 102.455 |
| 24 | 106.824 | 108.825 |
| 26 | 108.832 | 109.009 |
| 28 | 115.97 | 117.071 |
| 30 | 119.724 | 120.025 |




**รูปที่ 4.60** ความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-3 จำนวน 2 ซ้ำ

### 4.4.5 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SR-4

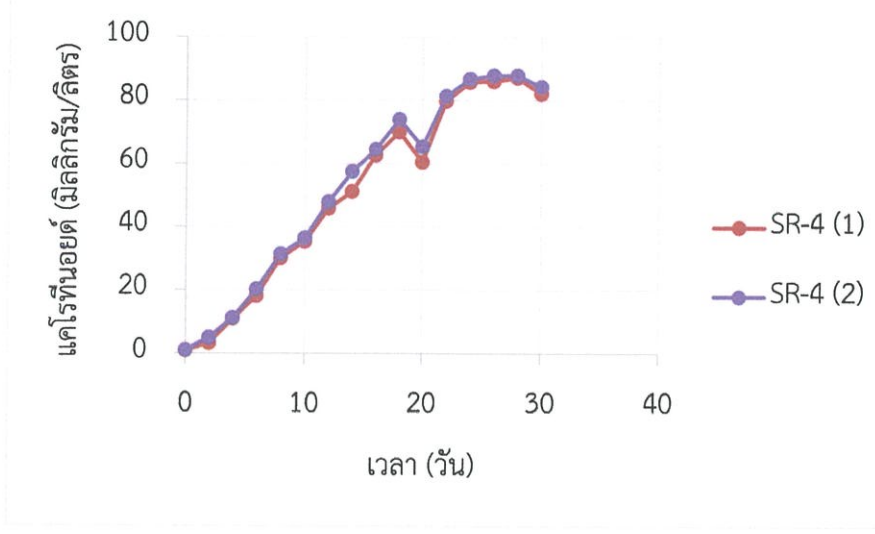
จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของแคโรทีนอยด์ได้ตามตารางที่ 4.20 และรูปที่ 4.61 จากตารางที่ 4.20 และรูปที่ 4.61 พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SR-4 จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 หลังจากนั้นจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอีก โดยวันที่ 28 จะปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเฉลี่ยของสาหร่ายรหัส SR-4 คือ 87.546 มิลลิกรัม/ลิตร หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 30

โดยจากงานวิจัยของ Chen และ Pei (2016) ได้ศึกษาผลของตะกั่วที่มีผลต่อการเจริญเติบโต, การสังเคราะห์แสง และการผลิตออกซิเจนของสาหร่ายน้ำจืดสีเขียว 2 ชนิด พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. จะมีปริมาณน้อยลงเมื่อสัมผัสกับสารเข้มข้นตะกั่วในระยะเวลานาน แต่จะไม่มีผลหากสัมผัสในระยะสั้น และความเข้มข้นของสารตะกั่วก็มีผลต่อปริมาณ

คลอโรฟิลล์เช่นเดียวกัน โดยถ้ามีความเข้มข้นขอสารตะกั่วสูงจะทำให้ปริมาณของคลอโรฟิลล์ลดลงด้วย ถ้าหากไม่มีสารตะกั่วหรือมีสารตะกั่วน้อยจะทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นและลดลงเพิ่งเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของเราที่พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 30

**ตารางที่ 4.20** ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SR-4

| เวลา (วัน) | แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/ลิตร) | |
|---|---|---|
| | 1 | 2 |
| 0 | 0.756 | 0.948 |
| 2 | 3.164 | 4.917 |
| 4 | 10.872 | 11.194 |
| 6 | 18.19 | 20.271 |
| 8 | 30.156 | 31.317 |
| 10 | 35.346 | 36.394 |
| 12 | 45.789 | 47.871 |
| 14 | 51.126 | 57.471 |
| 16 | 62.596 | 64.548 |
| 18 | 70.136 | 73.932 |
| 20 | 60.452 | 65.378 |
| 22 | 79.834 | 81.317 |
| 24 | 85.93 | 86.794 |
| 26 | 86.178 | 87.871 |
| 28 | 87.19 | 87.902 |
| 30 | 82.186 | 84.24 |




**รูปที่ 4.61** ความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส SR-4 จำนวน 2 ซ้ำ

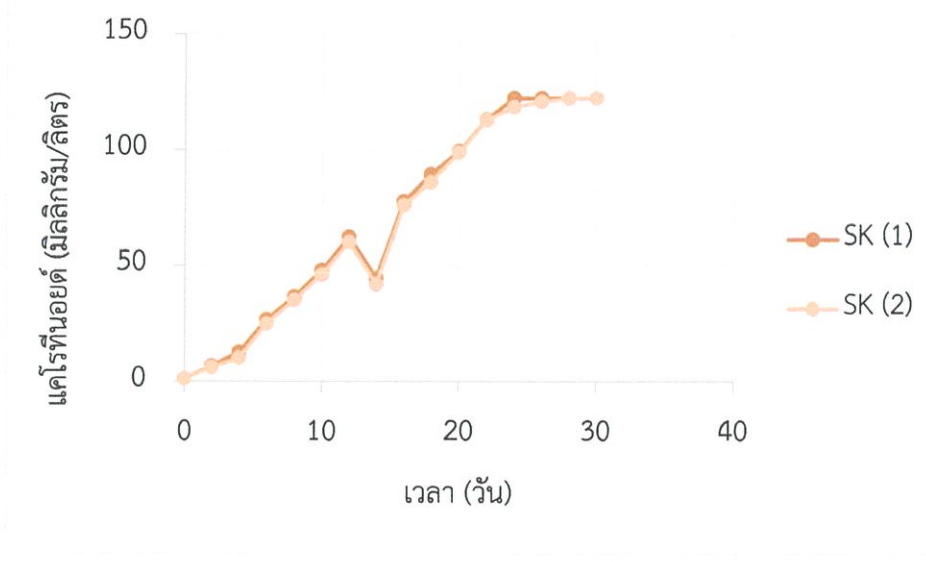
### 4.4.6 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SK

จากการทดลองขยายขนาดสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน สามารถบันทึกปริมาณของแคโรทีนอยด์ได้ตามตารางที่ 4.21 และรูปที่ 4.62 จากตารางที่ 4.21 และรูปที่ 4.62 พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SK จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 14 หลังจากนั้นจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอีกครั้ง ซึ่งจะมีปริมาณแคโรทีนอยด์คงที่ในวันที่ 26-30 โดยวันที่ 26 -30 จะปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเฉลี่ยของสาหร่ายรหัส SK คือ 122.394 มิลลิกรัม/ลิตร

โดยจากงานวิจัย Pribyl และคณะ (2016) ได้ศึกษาบทบาทของแสงและไนโตรเจนในการเจริญเติบโตและการสะสมแคโรทีนอยด์ใน *Scenedesmus* sp. พบว่าหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Scenedesmus* sp. ในช่วงแรกโดยที่ยังไม่มีการเพิ่มแสงหรือลดแสง และการเพิ่มไนโตรเจนหรือลดไนโตรเจน ปริมาณแคโรทีนอยด์มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงจนถึงวันที่ 14 ซึ่งปริมาณแคโรทีนอยด์ในวันที่8มีประมาณ 0.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของเราที่แนวโน้มปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงจนถึงวันที่ 12

**ตารางที่ 4.21** ปริมาณ แคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัส SK

| เวลา (วัน) | แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/ลิตร) | |
|---|---|---|
| | 1 | 2 |
| 0 | 1.071 | 1.082 |
| 2 | 6.455 | 6.025 |
| 4 | 12.609 | 10.086 |
| 6 | 26.702 | 24.849 |
| 8 | 36.548 | 35.182 |
| 10 | 47.994 | 45.934 |
| 12 | 62.425 | 60.182 |
| 14 | 44.455 | 41.874 |
| 16 | 77.594 | 75.88 |
| 18 | 89.255 | 85.93 |
| 20 | 99.317 | 98.751 |
| 22 | 113.102 | 112.793 |
| 24 | 122.394 | 118.524 |
| 26 | 122.394 | 120.975 |
| 28 | 122.394 | 122.394 |
| 30 | 122.394 | 122.394 |




**รูปที่ 4.62** ความสัมพันธ์ระหว่างแคโรทีนอยด์กับเวลาของสาหร่ายรหัส SK จำนวน 2 ซ้ำ

จากการทดลอง หาปริมาณแคโรทีนอยด์ พบว่าสาหร่ายรหัส สาหร่าย BN1 ที่เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp. และ SK ที่เป็นสาหร่ายสกุล *Scenedesmus* sp. ให้ปริมาณของแคโรทีนอยด์มากสุด คือ 122.394 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนสาหร่ายรหัส SP ที่เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp. มีปริมาณของ แคโรทีนอยด์น้อยสุดคือ 68.143 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

# บทที่ 5
# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิจัยพบสาหร่ายที่สามารถแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ ทั้งหมด 4 แหล่ง ได้แก่ บ่อน้ำสวนพระนคร, บ่อน้ำแขวงกลางทางสมุทรปราการ, บ่อน้ำคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และบ่อน้ำสวนหลวง ร.9 ซึ่งรวมทั้งหมด 8 บ่อ พบว่ามีสกุลของสาหร่ายอยู่ทั้ง 2 สกุลและไซยาโนแบคทีเรีย 1 สกุลได้แก่ *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp. และ *Oscillatoria* sp. ซึ่งสามารถจำแนก สกุล, ค่าการเจริญเติบโตสูงสุด, ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอและคลอโรฟิลล์ บีสูงสุด, ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด และอัตราการเจริญจำเพาะได้ตามตารางดังตารางที่ 5.1

**ตารางที่ 5.1** สกุล,การเจริญเติบโต,ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ บี และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายรหัสต่าง ๆ

| รหัส | สกุล | จำนวนเซลล์ $\times 10^7$ (เซลล์/มิลลิลิตร) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/มิลลิลิตร) | ค่าการดูดกลืนแสง | คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) | แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/ลิตร) | การตกของเซลล์ (วัน) | อัตราการเจริญจำเพาะ (วัน$^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BN1 | *Chlorella* sp. | 6.540 | 0.002 | 6.019 | 34.523,66.968 | 122.394 | 30 | 0.26 |
| BN2 | *Chlorella* sp. | 3.045 | 0.0018 | 3.990 | 27.904,52.527 | 89.394 | 20,30 | 0.17 |
| SP | *Chlorella* sp. | 2.120 | 0.0017 | 1.680 | 16.845,31.733 | 68.143 | 10,20 | 0.32 |
| SR-3 | *Chlorella* sp. | 3.675 | 0.0019 | 2.275 | 27.690,52.197 | 119.875 | 20 | 0.32 |
| SR-4 | *Chlorella* sp. | 1.240 | 0.0016 | 1.818 | 17.622,33.113 | 87.546 | 16,20 | 0.5 |
| SK | *Scenedesmus sp.* | 2.230 | 0.0018 | 3.033 | 35.344,67.578 | 122.394 | 14,20 | 0.2 |
| SR-5 | *Oscillatoria* sp. | - | 0.0672 | - | - | - | 30 | 0.04 |
| SR-7 | *Oscillatoria* sp. | - | 0.0832 | - | - | - | 30 | 0.1 |

จากตารางที่ 5.1 สามารถสรุปได้ว่า BN1, BN2, SP, SR-3 และ SR-4 เป็นสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp., SK เป็นสาหร่ายสกุล *Scenedesmus* sp. และ SR-5, SR-7 เป็นไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* sp. ซึ่งเป็นไซยาโนแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังพบว่า สาหร่ายรหัส BN1 เป็นสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด แต่สาหร่ายรหัส SR-4 มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด ในบรรดาสาหร่ายที่ไม่มีการดำรงชีวิตแบบยึดเกาะ ส่วนสาหร่ายรหัส SR-7 เป็นสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตสูงสุดและมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด ในบรรดาสาหร่ายที่ดำรงชีวิตแบบยึดเกาะและเป็นไซยาโนแบคทีเรีย สาหร่ายรหัส SK มีปริมาณของ คลอโรฟิลล์ เอและปริมาณ คลอโรฟิลล์ บี สูงสุด คือ 35.344 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 67.578 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้สาหร่าย BN1 และ SK ยังมีปริมาณของ แคโรทีนอยด์ สูงสุด คือ 122.394 มิลลิกรัม/ลิตร อีกด้วย ส่วนสาหร่ายรหัส SP มีปริมาณของ คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บีและแคโรทีนอยด์น้อยที่สุด คือ 16.845, 31.733 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 68.143 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียมีประโยชน์ที่หลากหลายทั้งในด้านอุตสาหกรรมอาหาร เกษตรกรรม การแพทย์ การบำบัดน้ำเสีย เราสามารถนำสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่ทำการคัดแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการ streak plate แล้ว นำไปประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมต่างๆต่อไป

2. การสร้างรายได้เพิ่มจากเดิมโดยการนำสาหร่ายที่สามารถระบุสายพันธุ์ได้ไปทำการขยายจำนวนให้เพิ่มมากขึ้นโดยการเพาะเลี้ยงกลางแจ้งในบ่อปูนซีเมน หรือเพาะเลี้ยงในถังหมักแบบเปิดกลางแจ้ง เมื่อสาหร่ายมีจำนวนที่มากเกินพอสามารถส่งต่อไปยังโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ

# เอกสารอ้างอิง

ขจรเกียรติ์ ศรีนวลสม. 2550. เทคนิคการคัดแยกเชื้อสาหร่ายและการทำให้เชื้อบริสุทธิ์. [Online]. Available : http://www.fishtech.mju.ac.th/FishNew1/OSS/files/TUjI3IXThu25949.pdf.

ขจรเกียรติ์ ศรีนวลสม. 2550. เทคนิคการคัดแยกเชื้อสาหร่ายและการทำให้เชื้อบริสุทธิ์. [Online]. Available : http://www.fishtech.mju.ac.th/fishnew1/OSS/files/B0XCL6LThu25957.pdf

ขจรเกียรติ์ ศรีนวลสม. 2550. ธาตุอาหารและสิ่งแวดล้อมที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย. [Online]. Available : http://www.fishtech.mju.ac.th/e learning/FA422/PDF/chapter3.pdf.

ประเสริฐ ภวสันต์ การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย. 2553. [Online]. Available: http://www.chulapedia.chula.ac.th/index.php/การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย.

ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม. 2557. การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่ผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ประสิทธิภาพสูง. โครงงานพิเศษระดับวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา Phycology. หนังสือประกอบการสอนวิชาสาหร่ายวิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วิภาวดี พลที. 2555. สาหร่าย. [Online].Available: http://wipadapoltee.blogspot.com/2012/02/blog-post.html.

Aburai, N., Sumida, D. & Abe, K. (2015). Effect of light level and salinity on the composition and accumulation of free and ester-type carotenoids in the aerial microalga *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae). Algal Research. 8, 30–36.

Bafana, A. (2013). Characterization and optimization of production of Exopolysaccharide from *Chlamydomonas reinhardtii*. Carbohydrate Polymers. 95, 746– 752.

Bishop, N. (1996). The/3,e-carotenoid, lutein, is specifically required for the formation of the oligomeric forms of the light harvesting complex in the green algae, *scenedesmus obliquus*. Journal of Photochemistry and Pl~obiology B: Biology. 36, 279-283.

Clarka, R.L., McGinleya, L.L., Purdya, H.M., Korosha, T.C., Reeda, J.L., Roota, T.W. & Pflegera, B.F. (2018). Light-optimized growth of cyanobacterial cultures: Growth phases and productivity of biomass and secreted molecules in light-

limited batch growth. Metabolic Engineering. 47, 230–242

Dao, L.H.T. & Beardall, J. (2016). Effects of lead on growth, photosynthetic characteristics and production of reactive oxygen species of two freshwater green alga. Chemosphere. 147, 420-429.

Garbayo, I., Cuaresma, M., Vı´lchez, C. & Vega, J.M. (2008). Effect of abiotic stress on the production of lutein and b-carotene by *Chlamydomonas acidophila*. Process Biochemistry. 43, 1158–1161.

Ghosh, A., Khanra, S., Mondal, M., Halder, G., Tiwari, O.N., Saini, Supreet., Bhowmick, T.K. & Gayen, K. (2016). Progress toward isolation of strains and genetically engineered strains of microalgae for production of biofuel and other value added chemicals: A review. Energy Conversion and Management. 113, 104–118.

Hameda, S.M., Zintab, G., Klöckd, G., Asardb, H., Selime, S. & AbdElgawadb, H. (2017). Zinc-induced differential oxidative stress and antioxidant responses in *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus acuminatus*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 140, 256–263.

He, M., Li, L. & Liu, J. (2012). Isolation of wild microalgae from natural water bodies for high hydrogen producing strains. International journal of hydrogen energy. 37, 4046-4056.

Hutagalunga, R.A., Sukocoa, A.E., Soedharmab, D., Goretic, L.M., Andrean, I., Elshaddaia, B. & Mulyono, N. (2014). Isolation, Identification and Growth Optimization of Microalgae Derived from Soft Coral *Dendronephthya* sp.. APCBEE Procedia. 10, 305 – 310.

Jung, H.Y., Ok, H.M., Park, M.Y., Kim, J.Y. & Kwon, O. (2016). Bioavailability of carotenoids from chlorella powder in healthy subjects: A comparison with marigold petal extract. Foods. 21, 27-35.

Küçük, K., Tevatia, R., Sorgüven, E., Demirel, Y. & Özilgen, M. (2015). Bioenergetics of growth and lipid production in *Chlamydomonas reinhardtii*. Energy. 83, 503-510.

Přibyl, P. l, Cepák, V., Kaštánek, P. & Zachleder, V. (2015). Elevated production of carotenoids by a new isolate of Scenedesmus sp. Algal Research. 11, 22–27.

Přibyl, P., Pilný, J., Cepák, V. & Kaštánek, P. (2016). The role of light and nitrogen in growth and carotenoid accumulation in *Scenedesmus* sp.. Algal Research. 16, 69–75

Qiua, R., Gaob, S., Lopezc, P.A. & Ogdena, K. (2017). Effects of pH on cell growth, lipid production and CO2 addition of microalgae *Chlorella sorokiniana.* Algal Research. 28, 192–199.

Songa, M. & Peic, H. (2018). The growth and lipid accumulation of *Scenedesmus quadricauda* during batch mixotrophic/heterotrophic cultivation using xylose as a carbon source. Bioresource Technology. 263, 8525–531.

Yuansheng Pei Xueqing Chen. (2016). Effects of sodium pentaborate pentahydrate exposure on*Chlorella vulgaris* growth, chlorophyll content and enzyme activities using xylose as a carbon source. Bioresource Technology. 263, 8525–531.

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 29 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2561

ข้าพเจ้า นางสาววรัญญา ชำนาญศิลป์ รหัสประจำตัว 57050757

นางสาวศุภกร ซื่อดี รหัสประจำตัว 57050767

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชา ชีววิทยา

ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียที่เก็บมาจากแหล่งน้ำในจังหวัดกรุงเทพฯ

ชื่อภาษาอังกฤษ Isolation of algae and cyanobacteria from water resource in Bangkok

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 1.64 % หรือโปรแกรม

Turnitin ..... %

ลงชื่อ วรัญญา ชำนาญศิลป์ ลงชื่อ ศุภกร ซื่อดี

(น.ส.วรัญญา ชำนาญศิลป์) ( น.ส.ศุภกร ซื่อดี )

นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ ..... ลงชื่อ ..... ลงชื่อ .....

ประธานกรรมการ คณะกรรมการ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา