สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Desmodesmus quadricauda* *Botryococcus braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5 เพื่อใช้เป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพโดยใช้แบบจำลอง

OPTIMIZATION MODEL FOR CULTIVATION OF GREEN ALGAE *Desmodesmus quadricauda*, *Botryococcus braunii* KMITL 2 AND *B.braunii* KMITL 5 AS FEEDSTOCK FOR BIOFUEL PRODUCTION

พัฒนศักดิ์ ชิวปรีชา

PATTANASAK CHIWPREECHA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2561

KMITL-2018-AG-081-280

สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Desmodesmus quadricauda* *Botryococcus braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5 เพื่อใช้เป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพโดยใช้แบบจำลอง

OPTIMIZATION MODEL FOR CULTIVATION OF GREEN ALGAE *Desmodesmus quadricauda*, *Botryococcus braunii* KMITL 2 AND *B.braunii* KMITL 5 AS FEEDSTOCK FOR BIOFUEL PRODUCTION

พัฒนศักดิ์ ชิวปรีชา

PATTANASAK CHIWPREECHA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2561

KMITL-2018-AG-081-280

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OPTIMIZATION MODEL FOR CULTIVATION OF GREEN ALGAE *Desmodesmus quadricauda*, *Botryococcus braunii* KMITL 2 AND *B.braunii* KMITL 5 AS FEEDSTOCK FOR BIOFUEL PRODUCTION

PATTANASAK CHIWPREECHA

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FISHERIES SCIENCE
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2018

KMITL-2018-AG-081-280

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2018

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Desmodesmus quadricauda, Botryococcus braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5 เพื่อใช้เป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพโดยใช้แบบจำลอง
นักศึกษา	นายพัฒนศักดิ์ ชิวปรีชา
รหัสประจำตัว	**56604051**
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมง
พ.ศ.	2561
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

บทคัดย่อ

การใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Desmodesmus quadricauda*, *Botryococcus braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5 สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบผลิตพลังงานชีวภาพโดยคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตและกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย 7 ปัจจัย คือ KNO_3, KH_2PO_4, $FeSO_4$, NaCl, วิตามินบี 12, ความเข้มแสงและ คาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตของสาหร่ายสีเขียว *D. quadricauda* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ KNO_3, KH_2PO_4, $FeSO_4$, NaCl และความเข้มแสง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *D. quadricauda* โดยใช้การทดลอง central composite design เพื่อหาสมการทำนายเมื่อใช้ ปริมาณ KNO_3 ที่ 2 กรัมต่อลิตร KH_2PO_4 ที่ 2 กรัมต่อลิตร $FeSO_4$ ที่ 0.1 กรัมต่อลิตร NaCl ที่ 0 กรัมต่อลิตร และความเข้มแสง ที่ 69 ไมโครโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที สามารถให้ชีวมวล 3.40 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต 0.77 กรัมต่อลิตรต่อวัน และให้ผลผลิตไขมัน 1.00 กรัมต่อลิตรต่อวัน สาหร่ายสีเขียว *B. braunii* KMITL 2 พบปัจจัยที่มีอิทธิพล 3 ปัจจัย คือ KNO_3, KH_2PO_4 และความเข้มแสง ทำนายผลตามสมการได้ชีวมวล 3.27 กรัมต่อลิตร ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต 0.94 กรัมต่อลิตรต่อวัน และผลผลิตไขมันที่ 0.66 กรัมต่อลิตรต่อวัน เมื่อใช้ KNO_3 ที่ 2.6.0 กรัมต่อลิตร KH_2PO_4 ที่ 2.60 กรัมต่อลิตร ความเข้มแสง ที่ 84 ไมโครโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที สาหร่าย *B. braunii* KMITL 5 พบว่ามีปัจจัยที่มีอิทธิพลทั้งหมด 2 ปัจจัย คือ KNO_3 ที่ 2.39 กรัมต่อลิตร และความเข้มแสง ที่ 79 ไมโครโฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้ชีวมวล 3.18 กรัมต่อลิตร ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต 0.81 กรัมต่อลิตรต่อวัน และผลผลิตไขมัน 0.80 กรัมต่อลิตรต่อวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Optimization model for cultivation of green algae, *Desmodesmus quadricauda*, *Botryococcus braunii* KMITL 2 and *B. braunii* KMITL 5 as feedstock for biofuel production
Student	Mr. Pattanasak Chiwpreecha
Student ID.	56604051
Degree	Master of Science
Program	Fisheries Science
Year	2018
Thesis advisor	Assoc. Prof Dr. Suneerat Ruangsomboon

ABSTRACT

Optimization model for cultivation of green microalgae, *Desmodesmus quadricauda*, *Botryococcus braunii* KMITL 2 and *B. braunii* KMITL 5 as feedstock for biodiesel production was performed by screening 7 factors which affected to biomass, carbohydrate and lipid production of algae. The factors KNO_3, KH_2PO_4, Fe SO_4, NaCl and light intensity had significant positive effect to *D. quadricauda*. The optimization value by using central composite design of this alga was: biomass 3.40 g/L carbohydrate production 0.77 g/L/day and lipid production 1.00 g/L/day when used KNO_3 2 g/L, KH_2PO_4 2 g/L, $FeSO_4$ 0.1 g/L, NaCl 0 g/L and light intensity 69μphotons/m^2/s. Three factors that affected to *B. braunii* KMITL 2 was KNO_3, KH_2PO_4 and light intensity. The optimization value by using central composite design of *B. braunii* was: Biomass 3.27 g/L carbohydrate production 0.94g/L/day and lipid production 0.66 g/L/day when used KNO_3 2.6.01 g/L, KH_2PO_4 2.60 g/L and light intensity 84 μphotons/m^2/s. The factors KNO_3 and light intensity had significant positive effect to *B. braunii* KMITL 5. The optimization value of *B. braunii* was: Bbiomass 3.18 g/L carbohydrate production 0.81 g/L/day and lipid production 0.80 g/L/day when used KNO_3 2.39 g/L and light intensity 79 μphotons/m^2/s.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำในการทำวิจัยแก้ปัญหาหาตลอดจนความรู้และประสบการณ์ที่ดี รวมทั้งตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณคณาอาจารย์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนคำแนะนำจนกระทั่งสำเร็จการศึกษาด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของหลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกและคำแนะนำต่างๆ ในการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือต่างๆ ระหว่างการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้พื้นที่ในการปลูกต้นไม้ เพื่อเป็นที่พักผ่อนจิตใจ และเป็นแปลงทดลองเพาะปลูกต้นไม้ทั้งไม้ดอกและไม้ใบนานาชนิด

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณครอบครัวของข้าพเจ้า ที่ให้ความรัก ความเข้าใจ และสนับสนุนส่งเสริมด้านการศึกษาให้แก่ข้าพเจ้าโดยเฉพาะด้านงบประมาณจำนวนมากที่โอนมาให้ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่านตลอดจนผู้ที่สามารถนำไปใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์

พัฒนศักดิ์ ชิวปรีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	IV
สารบัญ	VII
สารบัญตาราง	X
สารบัญภาพ	XIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 สมมุติฐานของการศึกษา	2
1.4 ขอบเขตการวิจัย	2
1.5 ขั้นตอนการศึกษา	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 เชื้อเพลิงชีวภาพ	4
2.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางชีวเคมีที่สำคัญต่อผลผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพของสาหร่าย	5
2.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางชีวเคมีที่สำคัญต่อผลผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพของสาหร่าย	8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	14
3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย	14
3.2 การคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและปริมาณไขมัน	14
3.3 เตรียมอาหารเลี้ยงสาหร่ายตามแผนทดลองที่กำหนด	15
3.4 การรวบรวมข้อมูลจากการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรมทางสถิติ	17
3.5 วิเคราะห์หาจุดที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป minitab	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6 สอบทานสมการทำนายผลที่ได้กับการทดลองจริง..... 17

บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 18

4.1 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda, Botryococcus braunii KMITL 2* และ *B.braunii* KMITL 5..... 18

4.2 ผลการคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda, Botryococcus braunii KMITL 2* และ *B.braunii* KMITL 5..... 21

4.3 สภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีอิทธิพลชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda, Botryococcus braunii KMITL 2* และ *B.braunii* KMITL 5..... 30

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง..... 38

บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง..... 46

บรรณานุกรม..... 49

ประวัติผู้เขียน..... 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 องค์ประกอบของผนังเซลล์สาหร่ายและรูปแบบการเก็บในเซลล์..... 7

2.2 องค์ประกอบพื้นฐานของเซลล์สาหร่ายที่แตกต่างกัน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)..... 7

3.1 ระดับของปัจจัยที่ต้องการคัดกรองทั้งหมด 7 ปัจจัย ในสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda* KMITL โดยกำหนด model เป็น A B C D E F G..... 14

3.2 ปัจจัยที่ต้องการคัดเลือกทั้งหมด 7 ปัจจัย ในสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 และ *B. braunii* KMITL 5 โดยกำหนด model เป็น A B C D E F G..... 15

3.3 แผนการทดลองแบบ Plackett-Burman Design ของสาหร่าย*D.quadricauda*..... 16

3.4 แผนการทดลองแบบ Plackett-Burman Design ของสาหร่าย สาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 และ *B. braunii* KMITL 5..... 17

4.1 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda*..... 18

4.2 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2..... 19

4.3 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย กำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5..... 20

4.4 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda*..... 30

4.5 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B.braunii* KMITL 2..... 32

4.5 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B.braunii* KMITL 5..... 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 แหล่งของเชื้อเพลิงชีวภาพ:ไบโอดีเซล และไบโอเอทานอล..... 5
4.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวลของสาหร่าย *D. quadricauda*..... 21
4.2 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *D.quadricauda*..... 22
4.3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตไขมันสาหร่าย *D.quadricauda*..... 23
4.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2..... 24
4.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5..... 25
4.3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2..... 26
4.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5..... 27
4.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2..... 28
4.6 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5..... 29
4.7 ผลการทำนายจากสมการการทำนายผลของสาหร่าย *D. quadricauda*..... 34
4.8 ผลการทำนายจากสมการการทำนายผลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2..... 36
4.9 ผลการทำนายจากสมการการทำนายผลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5..... 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แหล่งพลังงานจากถ่านหิน น้ำมันปิโตรเลียม เป็นแหล่งพลังงานที่มีปริมาณจำกัดมีราคาสูง การเผาไหม้เชื้อเพลิงเหล่านี้ส่งผลให้เกิดภาวะโลกร้อน ปัจจุบันแหล่งพลังงานทางเลือกหลายประเภทได้รับความสนใจโดยเฉพาะเชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuel) ซึ่งในอดีตผลิตจากพืชที่เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์หรืออาหารสำหรับมนุษย์ จึงทำให้ราคาของผลิตภัณฑ์สำหรับมนุษย์สูงขึ้น ก่อให้เกิดปัญหาตามมา ปัจจุบันได้มีการเปลี่ยนมาใช้วัตถุดิบที่ไม่ใช่อาหารสำหรับมนุษย์ โดยพบว่าสาหร่ายได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเพราะเจริญเติบโตเร็วกว่าพืชชั้นสูง เป็นแหล่งพลังงานที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สาหร่ายสามารถลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมได้มากถึง 82 เปอร์เซนต์สามารถนำสาหร่ายมาผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพได้ทั้งไบโอเอทานอล ไบโอมีเธน และไบโอดีเซล สาหร่ายขนาดเล็กมีน้ำมัน 20-80 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ให้น้ำมันได้มากถึง 58,700-136,900 ลิตรต่อเฮคแตร์ต่อปี โดยปริมาณคาร์โบไฮเดรท โปรตีน และน้ำมันที่พบในสาหร่ายจะผันแปรตามปริมาณสารอาหารเช่นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก วิตามิน และสภาวะในการเลี้ยงสาหร่าย เช่น แสง อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง เป็นต้น

เกณฑ์สำคัญที่จะทำให้การนำสาหร่ายมาใช้เป็นแหล่งเชื้อเพลิงชีวภาพ ได้สำเร็จในเชิงพาณิชย์คือ ต้องมีสายพันธุ์สาหร่ายที่เหมาะสม ให้ผลผลิตมวลชีวภาพ คาร์โบไฮเดรต และน้ำมันสูง และการเพาะเลี้ยงต้องมีต้นทุนต่ำ จากการศึกษาขั้นต้นพบว่าสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Desmodesmus quadricauda* และ *Botryococcus braunii* เป็นสาหร่ายที่เจริญเติบโตได้รวดเร็ว ปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้ดี และมีรายงานว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดนี้สามารถใช้เป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพได้เป็นอันดับต้น ดังนั้นการที่จะทำให้สาหร่ายทั้งสองชนิดนี้สามารถเป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพได้ในเชิงพาณิชย์ คือต้องทราบสภาวะที่กระตุ้นให้สาหร่ายมีมวลชีวภาพ คาร์โบไฮเดรทและน้ำมันสูงที่สุด ซึ่งสภาวะดังกล่าวต้องอาศัยหลายปัจจัยในการเลี้ยงร่วมกันอย่างเหมาะสม

การหาสภาวะในการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมในอดีตทำโดยการผันแปรความเข้มข้นของธาตุอาหารหรือภาวะในการเพาะเลี้ยงทีละปัจจัย หรือทำการผันแปรจับคู่ทีละสองชนิดหรือสามชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลายระดับ ซึ่งพบว่าวิธีการดังกล่าวเป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายสูง ใช้เวลานานและจำเป็นต้องมีชุดทดลองจำนวนมากและได้คำตอบที่ใกล้เคียงเท่านั้นแต่ไม่ถูกต้องแม่นยำ ซึ่งในปัจจุบันวิธีการหาปัจจัยร่วมในการเลี้ยงที่ได้คำตอบที่แม่นยำ รวดเร็ว ประหยัดเวลาและค่าจ่าย ได้แก่ การศึกษาโดยรูปแบบทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ในการหาความเหมาะสมของสภาวะต่างๆ หลายปัจจัยร่วมกัน

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อโดยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมที่ทำให้สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Desmodesmus quadricauda, B. braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5 ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพได้สูง โดยผันแปรปัจจัยต่าง ๆ ร่วมกัน รวมถึงศึกษาแนวทางการนำเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ในด้านพลังงานทดแทน เพื่อลดวิกฤตปัญหาด้านการขาดแคลนอาหารและพลังงานของมนุษย์ในอนาคต รวมถึงลดการพึ่งพาพลังงานจากต่างประเทศได้อีกทางหนึ่ง

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 ศึกษาสภาวะร่วมที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda, B. braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5

1.2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้เลี้ยงสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda, B. braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5 มีผลผลิตชีวมวล คาร์โบไฮเดรทและไขมันสูงที่สุดโดยโปรแกรมทางสถิติ

1.2.3 เพื่อสอบทานสภาวะในการเลี้ยงสาหร่ายที่เหมาะสมของแบบจำลอง

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา

สามารถคัดเลือกปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตที่ศึกษา พร้อมทั้งสามารถหาสภาวะร่วมที่เหมาะสมเพื่อปรับปรุงการเพาะเลี้ยง *Desmodesmus quadricauda,B. braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5ให้ได้ผลผลิตชีวมวล คาร์โบไฮเดรตและไขมันสูงที่สุด

1.4 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาปัจจัยร่วม 7 ปัจจัย คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก คาร์บอนไดออกไซด์ ความเค็ม วิตามิน และความเข้มแสง ต่อชีวมวล คาร์โบไฮเดรท และไขมัน ของ *Desmodesmus quadricauda,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B. braunii KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5 นำปัจจัยที่ผ่านการคัดกรองมาออกแบบการทดลองโดย เพื่อหาสภาวะร่วมที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ผลผลิตเหล่านั้นสูงที่สุด

1.5 ขั้นตอนของการศึกษา

เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda, B. braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5 โดยผันแปรปัจจัยร่วม 7 ปัจจัยได้แก่ความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก คาร์บอนไดออกไซด์ ความเค็ม วิตามิน และความเข้มแสง วิเคราะห์ผลผลิตชีวมวล คาร์โบไฮเดรท และไขมัน เพื่อคัดกรองปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตชีวมวล คาร์โบไฮเดรท และไขมัน นำปัจจัยที่ผ่านการคัดกรองมาออกแบบการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป ใช้สมการทางคณิตศาสตร์หาสภาวะร่วมที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ผลผลิตเหล่านั้นสูงที่สุด

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

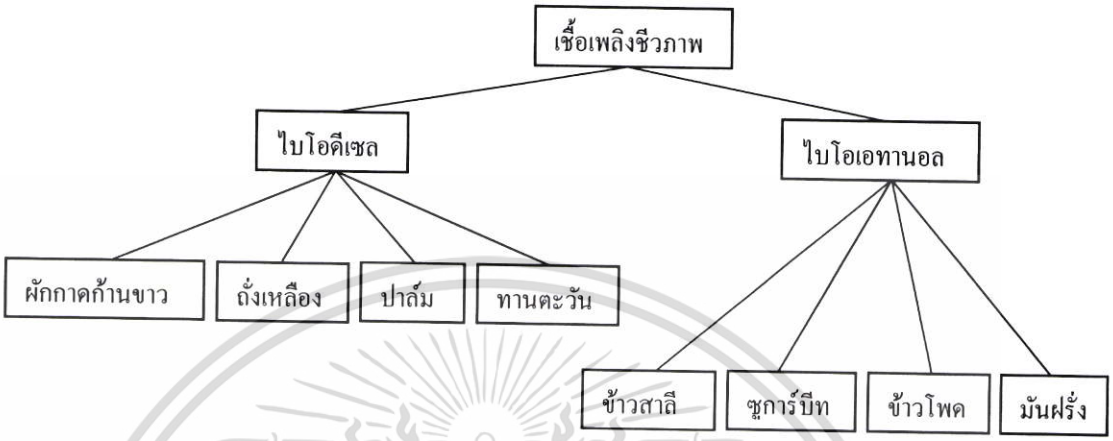
2.1 เชื้อเพลิงชีวภาพ

แหล่งพลังงานทางเลือกทดแทนที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบันที่สุดคือ เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยเฉพาะไบโอเอทานอลและไบโอดีเซล เนื่องจากเป็นแหล่งเชื้อเพลิงเหลวที่มีปริมาณความต้องการใช้มาก โดยเฉพาะในภาคคมนาคม การขนส่งและอุตสาหกรรม โดยพบว่า เชื้อเพลิงชีวภาพที่ผลิตจากสาหร่ายขนาดเล็กมีบทบาทที่สำคัญมากในอนาคต สาหร่ายขนาดเล็กโดยเฉพาะกลุ่มสาหร่ายสีเขียว มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วมากกว่าพืชบกที่ใช้เป็นแหล่ง เชื้อเพลิงชีวภาพในอดีต สามารถเพาะปลูกได้แม้ในพื้นที่ที่ไม่อุดมสมบูรณ์ จึงไม่แย่งพื้นที่การเพาะปลูกของพืชบก ด้วยเหตุผลเหล่านี้นักวิจัยจึงลงความเห็นว่าสาหร่ายขนาดเล็กเป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพที่มีคุณภาพสามารถทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิลได้ในอนาคต โดยเฉพาะน้ำมันหรือเชื้อเพลิงเหลว (Demirbas and Demirbas, 2011) เชื้อเพลิงชีวภาพ คือ เชื้อเพลิงที่ได้จากชีวมวล (biomass) โดยมีความได้เปรียบกว่าเชื้อเพลิงที่ได้จากปิโตรเลียมในหลายด้าน (Demirbas, 2008) (1) เชื้อเพลิงชีวภาพสามารถหาได้ง่ายจากแหล่งชีวมวลทั่วไป (2) เชื้อเพลิงชีวมวลเป็นการเผาไหม้ (3) เชื้อเพลิงชีวภาพเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (4) สิ่งแวดล้อม เศรษฐกิจ และผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพ และ (5) เชื้อเพลิงชีวภาพเป็นเชื้อเพลิงที่ย่อยสลายได้และนำไปสู่ความยั่งยืน (Mustafa, 2011)

แหล่งพลังงานทางเลือกทดแทนที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบันที่สุดคือ เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยเฉพาะไบโอเอทานอลและไบโอดีเซล เนื่องจากเป็นแหล่งเชื้อเพลิงเหลวที่มีปริมาณความต้องการใช้มาก โดยเฉพาะในภาคคมนาคม การขนส่งและอุตสาหกรรม โดยพบว่าเชื้อเพลิงชีวภาพที่ผลิตจากสาหร่ายขนาดเล็กมีบทบาทที่สำคัญมากในอนาคต สาหร่ายขนาดเล็กโดยเฉพาะกลุ่มสาหร่ายสีเขียว มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วมากกว่าพืชบกที่ใช้เป็นแหล่งเชื้อเพลิงชีวภาพในอดีต สามารถเพาะปลูกได้แม้ในพื้นที่ที่ไม่อุดมสมบูรณ์ จึงไม่แย่งพื้นที่การเพาะปลูกของพืชบก ด้วยเหตุผลเหล่านี้นักวิจัยจึงลงความเห็นว่าสาหร่ายขนาดเล็กเป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพที่มีคุณภาพสามารถทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิลได้ในอนาคต โดยเฉพาะน้ำมันหรือเชื้อเพลิงเหลว (Demirbas and Demirbas, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อเพลิงชีวภาพเหลว (Liquid Biofuel) เป็นทางเลือกจากสิ่งมีชีวิตในการทดแทนปิโตรเลียม เพราะเป็นเชื้อเพลิงที่ใช้ในการขนส่งทั่วไป เชื้อเพลิงเหลวที่ใช้ในการขนส่งมีไบโอเอทานอลกับไบโอดีเซล



ภาพที่ 2.1 แหล่งของเชื้อเพลิงชีวภาพ: ไบโอดีเซล และไบโอเอทานอล
ที่มา: Demirbas. (2008)

2.2. ความเหมาะสมของการใช้สาหร่ายผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ

สาหร่ายขนาดเล็กสามารถพบได้ในแหล่งน้ำทุกประเภท มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว มีการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับพืชชั้นสูง แต่มีข้อดีกว่าคือใช้เวลาในการเจริญเติบโตสูงสุดที่สั้นกว่าพืชชั้นสูงมาก โดยพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเป็นสองเท่าภายในเวลาเพียง 24 ชั่วโมงเท่านั้น (Chisti, 2007) และน้ำมัน (oil) จากสาหร่ายสามารถใช้เป็นแหล่งของไบโอดีเซล ได้ โดยทั่วไปสาหร่ายขนาดเล็กจะมีน้ำมัน 20-50 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง (Chisti, 2007) แต่ในสาหร่ายบางชนิดสามารถให้ปริมาณน้ำมันได้สูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง โดยปริมาณน้ำมันและกรดไขมันที่พบจะผันแปรตามปริมาณสารอาหารและสภาวะในการเลี้ยงสาหร่ายด้วย (Mulbry et al., 2008: สุนีรัตน์และคณะ, 2548; สุนีรัตน์ 2549)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กยังสามารถทำได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อยกว่าพืชทั่วไป โดยเมื่อเทียบต่อพื้นที่ 1 เฮคแตร์ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถให้น้ำมันได้มากถึง 58,700-136,900 ลิตร ซึ่งมากกว่าปาล์มน้ำมันที่ให้น้ำมันได้ 5,950 ลิตร (Chisti, 2007) นอกจากนี้ยังสามารถใช้น้ำทิ้งจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งต่าง ๆ เช่นของเสียจากธุรกิจปศุสัตว์ เช่นจากฟาร์มสุกร หรือกากน้ำตาล มาใช้เป็นสารอาหารในการเพาะเลี้ยง (Mulbry et al., 2008) และใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ในระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเร่งการเจริญเติบโต จึงทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำ นอกจากนี้ยังช่วยแก้ปัญหาการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ของโรงงานอุตสาหกรรมได้ด้วย โดยจากการทดลองในระบบปิดพบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสามารถลดปริมาณก๊าซเรือนกระจกได้มากถึง 82เปอร์เซนต์ (Scott et al, 2010)

ในการการศึกษาปริมาณน้ำมัน (oil) ในสาหร่ายขนาดเล็กพบปริมาณน้ำมัน (เปอร์เซนต์น้ำหนักแห้ง) ใน *Botryococcus braunii* 25-75เปอร์เซนต์, *Chlorella* sp. 28-32 เปอร์เซนต์, *Crypthecodinium cohnii* 20 เปอร์เซนต์, *Cylindrotheca* sp. 16-37 เปอร์เซนต์, *Dunaliella primolecta* 23 เปอร์เซนต์, *Isochrysis* sp. 25-33 เปอร์เซนต์, *Monallanthus salina* >20 เปอร์เซนต์, *Nannochloris* sp. 20-35 เปอร์เซนต์, *Nannochloropsis* sp. 31-68 เปอร์เซนต์, *Neochloris oleoabundans* 35-54 เปอร์เซนต์, *Nitzschia* sp. 45-47 เปอร์เซนต์, *Phaeodactylum tricornutum* 20-30เปอร์เซนต์, *Schizochytrium* sp. 50-77 เปอร์เซนต์, *Tetraselmis sueica* 15-23 เปอร์เซนต์ (Chisti, 2007)

Mata et al. (2010) รายงานปริมาณน้ำมัน (เปอร์เซนต์น้ำหนักแห้ง) ในสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิด โดยสาหร่ายมีน้ำมันในสาหร่ายต่าง ๆ เช่น *Ankistrodesmus* sp. 24.0–31.0 เปอร์เซนต์, *Botryococcus braunii* 25.0–75.0 เปอร์เซนต์, *Chlorella emersonii* 25.0–63.0 เปอร์เซนต์, *Chlorella protothecoides* 14.6–57.8 เปอร์เซนต์, *Chlorella sorokiniana* 19.0–22.0 เปอร์เซนต์, *Chlorella vulgaris* 5.0–58.0 เปอร์เซนต์, *Chlorella* sp. 10.0–48.0 เปอร์เซนต์, *Chlorella pyrenoidosa* 2.0 เปอร์เซนต์, *Chlorella* 18.0–57.0 เปอร์เซนต์, *Chlorococcum* sp 19.3 เปอร์เซนต์, *Scenedesmus obliquus* 11.0–55.0 เปอร์เซนต์, *Scenedesmus quadricauda* 1.9–18.4 เปอร์เซนต์, *Scenedesmus* sp. 19.6–21.1 เปอร์เซนต์, *Spirulina platensis* 4.0–16.6 เปอร์เซนต์, *Spirulina maxima* 4.0–9.0 เปอร์เซนต์ โดยสาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้สามารถผลิตน้ำมันได้ 10.3-142.0 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน และมีผลผลิตชีวมวลใน 0.003-10 กรัมต่อลิตรต่อวัน โดยใช้พื้นที่ในการผลิตมวลชีวภาพต่อกรัมคือ 0.57-130 ตารางเมตร ต่อวัน

นอกจากนี้ Chen et al. (2013) รายงานองค์ประกอบของเซลล์สาหร่ายที่สำคัญต่อการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพโดยแสดงส่วนที่เป็นผนังเซลล์และส่วนที่ทำหน้าที่กักเก็บของเซลล์ (ตารางที่ 1) โดยในส่วนที่เป็นพอลิแซคคาไรด์หรือแป้ง จะใช้เป็นแหล่งสำหรับการผลิตไบโอเอทานอลเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลัก ส่วนน้ำมันจะใช้เป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล หรือเศษเซลล์ที่เหลือจากการสกัดน้ำมันที่ประกอบด้วยแป้งและโปรตีนสามารถนำไปเป็นแหล่งผลิตไบโอมีเทนได้เช่นกัน

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของผนังเซลล์สาหร่ายและรูปแบบการเก็บในเซลล์

ดิวิชัน	ผนังเซลล์	อาหารสะสม
Cyanophyta	Lipopolysaccharides, peptidoglycan	Cyanophycean starch
Chlorophyta	เซลลูโลสเฮมิเซลลูโลส ,	แป้งน้ำมัน/
Dinophyta	ไม่พบ หรือ ประกอบด้วยเซลลูโลสในปริมาณต่ำ	แป้ง
Cryptophyta	Periplast	แป้ง
Euglenophyta	ไม่พบ	Paramylum/น้ำมัน
Rhodophyta	วุ้น, carrageenan, เซลลูโลส, แคลเซียมคาร์บอเนต	Floridean starch
Heterokontophyta	ไม่มี หรือ หุ้มด้วยซิลิกา	Leucosin/น้ำมัน

ที่มา : Chen et al. (2013)

Garcia-Moscoso et al. (2013) รายงานองค์ประกอบพื้นฐานของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถนำผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพได้ (ตารางที่ 2.2)โดยจะพิจารณาอาหารสะสมหลักสามประเภทคือ โปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรท โดยหากมีคาร์โบไฮเดรทมากจะพิจารณานำมาผลิตไบโอเอทานอล หากมีไขมันมากจะพิจารณานำมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล หากมีโปรตีนมากจะพิจารณานำมาหมักทำไบโอมีเทน หรือพิจารณานำเศษเซลล์ที่เหลือจากการสกัดน้ำมันไปเป็นแหล่งอาหารสัตว์ต่อไป

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบพื้นฐานของเซลล์สาหร่ายที่แตกต่างกัน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)

ALGA	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	ไขมัน
Chlamydomonas rheinhardii	48	17	21
Chlorella vulgaris	58-51	17-12	22-14
Euglena gracilis	61-39	18-14	20-14
Porphyridium cruentum	39-28	57-40	14-9
Scenedesmus obliquus	56-50	17-10	14-12
Spirulina platensis	63-46	14-8	9-4

ที่มา : Garcia-Moscoso et al. (2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3. ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางชีวเคมีที่สำคัญต่อผลผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพของสาหร่าย

สายพันธุ์สาหร่ายที่จะนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งของเชื้อเพลิงชีวภาพควรเป็นสายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงง่าย มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตหรือน้ำมันสูง และง่ายต่อการเก็บเกี่ยว โดยพบรายงานว่าปริมาณน้ำมันและกรดไขมันของสาหร่าย ผันแปรตามปริมาณสารอาหารและสภาวะในการเลี้ยงสาหร่ายด้วย (Khotimchenko and Yakovleva, 2004; Merzlyak et al., 2007; Mulbry et al., 2008; สุนีรัตน์ 2549) โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงสาหร่ายมีหลายปัจจัยด้วยกัน ได้แก่

ปัจจัยทางกายภาพ เช่น แสง (light) เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของสาหร่าย การเจริญเติบโตอาจถูกยับยั้งหากได้รับแสงมากเกินไป อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่าง ๆ ของสาหร่าย มีผลต่อโครงสร้างขององค์ประกอบภายในเซลล์โดยเฉพาะโปรตีนและน้ำมัน

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

ปริมาณเชื้อเพลิงชีวภาพที่ผลิตจากสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยปัจจัยที่แตกต่างกันจะได้ปริมาณแตกต่างกันด้วย เนื่องจากมวลชีวภาพสามารถเปลี่ยนพลังงานโดยวิธีทางชีววิทยาและทางเคมีไปเป็น ไบโอเอทานอล ไบโอบิวทานอล ไบโอไฮโดรเจนและก๊าซทางชีวภาพหรือการสกัดเพื่อไปเป็นน้ำมันไบโอดีเซล นอกจากนี้ เมื่อกล่าวถึงเชื้อเพลิงชีวภาพโดยทั่วไปมักนึกถึง ไบโอเอทานอลหรือไบโอดีเซล เป็นลำดับแรก อย่างไรก็ตามเทคโนโลยีในปัจจุบันเป็นตัวชักนำที่สามารถทำให้วัสดุต่าง ๆสามารถเปลี่ยนเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพได้ (Chen et al., 2013) ปัจจัยต่าง ๆ ล้วนแล้วส่งผลซึ่งกันและกันในสาหร่ายชนิดเดียวกันและได้ปริมาณของเชื้อเพลิงชีวภาพที่แตกต่างกัน เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก ความเข้มแสง ความเค็ม คาร์บอนไดออกไซด์ รวมถึงวิตามินบางชนิด เช่น B12

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

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

Hsieh and Wu. (2009) ได้ทดลองลดไนโตรเจน (ยูเรีย) ในการเลี้ยงสาหร่ายน้ำเค็ม *Chlorella* sp. ในสภาวะลดไนโตรเจน (ยูเรีย) ที่ 0.025, 0.050, 0.100, 0.150 และ 0.200 กรัมต่อลิตร ผลพบว่ายูเรียที่ระดับ 0.025 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้ *Chlorella* sp. มีปริมาณน้ำมันสูงสุดคือ 0.661 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งเพราะไนโตรเจนมีผลต่อขบวนการ metabolism ทำให้ปริมาณน้ำมันมากขึ้นในสาหร่ายขนาดเล็ก

Liu et al. (2008) ได้ทดลองเพิ่มเหล็กในการเลี้ยง *C. vulgaris* ในสภาวะ $FeCl_3$ ที่ 0, 1.2×10^{-8}, 1.2×10^{-7}, 1.2×10^{-6} และ 1.2×10^{-5} พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงใน Fe^{3+} ที่ 1.2×10^{-5} โมลต่อลิตร มีปริมาณไขมันสูงสุดคือ 56.6เปอร์เซนต์ เพราะ $FeCl_3$ ช่วยในการดูดซึมไนโตรเจน เมื่อเหล็กลดลงการดูดซึมไนโตรเจนลดลงทำให้ *C. vulgaris* เกิดความเครียดจึงทำให้เกิดสะสมไขมันเพิ่มขึ้น

นิพล (2547) ได้ทดลองเลี้ยง *Tetraselmis* sp. โดยให้ระยะเวลาการให้แสงสว่างแตกต่างกัน คือ ระยะเวลาการให้แสง : ไม่ให้แสง เท่ากับ 24 : 0 และ 12 : 12 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน พบว่าที่ระยะเวลาการให้แสง 24 : 0 น้ำมันมีค่าเท่ากับ 3.73 ± 0.72 เปอร์เซนต์ น้ำหนักแห้ง ส่วนการให้แสง 12 : 12 ไขมันเท่ากับ 0.62 ± 0.10เปอร์เซนต์น้ำหนักแห้ง การเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในช่วงสว่างต่อมืดเท่ากับ 16 : 8 ชั่วโมง จะให้ปริมาณน้ำมันสูงที่สุดคือ ร้อยละ 6.42 ซึ่งสูงกว่าการให้แสงสว่างต่อมืดเท่ากับ 12 : 12 เพราะสาหร่ายเกิดความเครียดจากระยะเวลาของการสังเคราะห์แสงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาก และมีระยะเวลาของการหยุดสังเคราะห์แสงน้อย ซึ่งทำให้เกิดการยับยั้งการแบ่งเซลล์ และทำให้มีการสะสมของน้ำมันเพิ่มขึ้น

คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนประเภทสารอนินทรีย์ที่จำเป็นต่อสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ โดยเพาะเลี้ยงในสภาวะ phototroph ซึ่งจะตรึงคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ในวัฏจักรคาร์วิน (calvin cycle) เพื่อสังเคราะห์ไปเป็นแป้งและไขมันในเซลล์ต่อไป ในอาหารเลี้ยงสาหร่ายนั้น การเขย่าจะให้คาร์บอนไดออกไซด์สำหรับการสังเคราะห์แสง ทั้งยังช่วยให้อาหารเลี้ยงสาหร่ายเข้ากันและรักษาสภาพให้เป็นเนื้อเดียวกันระหว่างเซลล์กับสารอาหาร (Amaro et al., 2012)

Takagi et al. (2006) ได้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Dunaliella teriolecta* ในระดับความ NaCl ที่ 0.5 และ 1.0 โมล พบว่าจากการเลี้ยงที่ให้ NaCl 1 โมล จะให้ปริมาณไขมัน 67 เปอร์เซนต์ ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงใน NaCl 0.5 โมล ซึ่งให้น้ำมัน 60 เปอร์เซนต์

ความสัมพันธ์กับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ของสาหร่ายชนิดนั้นๆ (Bekasova *et al.* 2002) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งภายในเซลล์ (intracellular polysaccharide, IPS) ส่วนที่หุ้มติดผนังเซลล์ (capsular polysaccharide, CPS) และส่วนที่ละลายในน้ำล้อมรอบเซลล์ (exocellular polysaccharide, EPS) ที่สร้างโดยสาหร่ายนั้นขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมในการเลี้ยงโดยขึ้นกับปัจจัยทางกายภาพและเคมี (Otero and Vincenzi. 2003; Allard and Tazi. 1993) พอลิแซ็กคาไรด์ของสาหร่ายสร้างขึ้นในเซลล์ระหว่างการเจริญเติบโต ดังนั้นปริมาณ IPS, CPS และ EPS จึงสัมพันธ์การเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งปัจจัยในการเลี้ยงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตย่อมมีผลต่อปริมาณ IPS, CPS และ EPS ด้วย

การเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิด *Gloeocapsa gelatinosa* ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันในสูตรอาหาร M-18 โดยสภาวะที่เหมาะสมคือ ได้รับแสง 24 ชั่วโมง ความเข้มแสง 400 ไมโครไอสไตน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที พีเอชอาหารเท่ากับ 7 (สภาวะควบคุม) และเลี้ยงในสภาวะที่ไม่เหมาะสม เลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า *G. gelatinosa* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะควบคุมมีปริมาณ CPS และ EPS สูงสุดคือ 35.4 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่าย และ 33.0±1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีปริมาณผลผลิตสูงสุดคือ 1.9±0.3 กรัมต่อลิตร การเลี้ยงภายใต้อาหารที่ไม่เติมไนเตรทและภายใต้ความเข้มแสงต่ำ จะทำให้มีปริมาณ CPS ต่ำ (Ruangsomboon *et al.* 2006)

Efremenko et al. (2012) ศึกษาความเป็นไปได้ในการปรับสภาพมวลชีวภาพของสาหร่ายขนาดเล็กและไซยาโนแบคทีเรียหลายชนิดเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมัก acetone–butanol–ethanol (ABE) โดยใช้การตรึงเซลล์ของ *Clostridium acetobutylicum* ใน poly (vinyl alcohol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1. การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย โดยเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda*, *B. braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5 ในอาหารสูตร Chlorella medium ในภาชนะแก้วที่บรรจุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ในห้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ปลอดเชื้อ มีการควบคุมแสงที่ระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สาหร่ายเป็นหัวเชื้อในการศึกษาขั้นต่อไป

3.2 การคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและปริมาณไขมัน

ออกแบบการทดลองแบบ Plackett-Burman Design มีปัจจัยที่ศึกษา 7 ปัจจัย คือ ไนโตรเจน (A), ฟอสฟอรัส (B), เหล็ก (C), คาร์บอนไดออกไซด์ (D), ความเข้มแสง (E), ความเค็ม (F) และวิตามินบี 12 (G) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป minitab 17 โดยใช้ระดับของแต่ต่ำ และระดับสูงของละปัจจัยดัง ตารางที่ 3.1 และ 3.2

ตารางที่ 3.1 ระดับของปัจจัยที่ต้องการคัดกรองทั้งหมด 7 ปัจจัย ในสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda* KMITL โดยกำหนด model เป็น A B C D E F G

ลำดับ	Model	ปัจจัย	ระดับต่ำ (-)	ระดับสูง (+)
1	A	KNO_3 (กรัม/ลิตร)	0.1	2
2	B	KH_2PO_4 (กรัม/ลิตร)	0.1	2
3	C	$FeSO_4.7H_2O$ (กรัม/ลิตร)	0	0.1
4	D	NaCl (กรัม/ลิตร)	0	0.01
5	E	ความเข้มแสง (โฟตอน/ตารางเมตร/วินาที)	22.0633	69.1967
6	F	วิตามินบี 12 (มิลลิกรัม/ลิตร)	0	0.02
7	G	คาร์บอนไดออกไซด์ (เปอร์เซนต์)	0	5

ที่มา: ดัดแปลงจาก Ling et al. (2014), Ruangsomboon (2012).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 ปัจจัยที่ต้องการคัดเลือกทั้งหมด 7 ปัจจัย ในสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2, 5 โดยกำหนด model เป็น A B C D E F G

ลำดับ	Model	ปัจจัย	ระดับต่ำ (-)	ระดับสูง (+)
1	A	KNO_3 (กรัมลิตร/)	0.1	2
2	B	KH_2PO_4 (กรัมลิตร/)	0.1	2
3	C	$FeSO_4.7H_2O$ (กรัมลิตร/)	0	0.1
4	D	NaCl (กรัมลิตร/)	0	0.02
5	E	ความเข้มแสง (โฟตอนวินาที/ตารางเมตร/)	22.0633	69.1967
6	F	วิตามินบี 12)มิลลิกรัม/ลิตร(	0	0.02
7	G	คาร์บอนไดออกไซด์ (เปอร์เซนต์)	0	5

ที่มา: ดัดแปลงจาก Ruangsomboon (2012).

3.3 เตรียมอาหารเลี้ยงสาหร่ายตามแผนทดลองที่กำหนด ดังตารางที่ 5 ทดลองเลี้ยงสาหร่ายโดยให้แสงที่ 12:12 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างเพื่อวัดชีวมวล (Dry weight) ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Phenol-sulfuric method) และปริมาณไขมัน (Bligh & Dyer method) ทุก 3 วัน ทดลองเป็นเวลา 28 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 แผนการทดลองแบบ Plackett-Burman Design ของสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda*

ชุดทดลอง	ปัจจัย						
	KNO_3	KH_2PO_4	$FeSO_4$	NaCl	ความเข้มแสง	วิตามินบี 12	คาร์บอนไดออกไซด์
1	2	0.1	0.1	0	22.0633	0	5
2	2	2	0	0.01	22.0633	0	0
3	0.1	2	0.1	0	69.1967	0	0
4	2	0.1	0.1	0.01	22.0633	0.00002	0
5	2	2	0	0.01	69.1967	0	5
6	2	2	0.1	0	69.1967	0.00002	0
7	0.1	2	0.1	0.01	22.0633	0.00002	5
8	0.1	0.1	0.1	0.01	69.1967	0	5
9	0.1	0.1	0	0.01	69.1967	0.00002	0
10	2	0.1	0	0	69.1967	0.00002	5
11	0.1	2	0	0	22.0633	0.00002	5
12	0.1	0.1	0	0	22.0633	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.4 แผนการทดลองแบบ Plackett-Burman Design ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL5

ชุดทดลอง	ปัจจัย						
	KNO_3	KH_2PO_4	$FeSO_4$	NaCl	ความเข้มแสง	วิตามินบี 12	คาร์บอนไดออกไซด์
1	2	0.1	0.1	0	22.0633	0	5
2	2	2	0	0.02	22.0633	0	0
3	0.1	2	0.1	0	69.1967	0	0
4	2	0.1	0.1	0.02	22.0633	0.00002	0
5	2	2	0	0.02	69.1967	0	5
6	2	2	0.1	0	69.1967	0.00002	0
7	0.1	2	0.1	0.02	22.0633	0.00002	5
8	0.1	0.1	0.1	0.02	69.1967	0	5
9	0.1	0.1	0	0.02	69.1967	0.00002	0
10	2	0.1	0	0	69.1967	0.00002	5
11	0.1	2	0	0	22.0633	0.00002	5
12	0.1	0.1	0	0	22.0633	0	0

3.4. การรวบรวมข้อมูลจากการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรมทางสถิติ เพื่อคัดกรองปัจจัยที่ต้องการจากค่า significant ค่า $P< 0.05$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำปัจจัยที่มีค่า significant ที่ได้อย่างน้อย 2 - 3 ปัจจัยไปศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่อไปโดยออกแบบการทดลองแบบ central composite design

3.5 วิเคราะห์หาจุดที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป minitab 17 เพื่อหาระดับที่เหมาะสมโดยวิธี optimization

3.6 สอบทานสมการทำนายผลที่ได้กับการทดลองจริง เพื่อทดสอบความแม่นยำของสมการทำนายผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda*, *Botryococcus braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *D. quadricauda* จำนวน 12 ชุดการทดลอง ด้วยการทดลองแบบ Plackett-Burman Design (ตารางที่ 5) ผลพบว่าสาหร่าย *D. quadricauda* มีชีวมวลสูงสุดในชุดการทดลองที่ 7 โดยมีค่าเท่ากับ 0.1886±0.02 กรัมต่อลิตร มีกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตสูงสุดในชุดการทดลองที่ 8 โดยมีค่าเท่ากับ 0.0547±0.00 กรัมต่อลิตรต่อวัน และมีกำลังผลิตไขมันสูงสุดที่ในชุดการทดลองที่ 7 โดยมีค่าเท่ากับ 0.0662±.0.00 กรัมต่อลิตรต่อวัน ในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda*

ชุดทดลอง	ชีวมวล (กรัม/ลิตร)	กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต (กรัม/ลิตร/วัน)	กำลังผลิตไขมัน (กรัม/ลิตร/วัน)
1	0.1683±0.01	0.0347±0.00	0.0436±0.04
2	0.1692±0.04	0.0339±0.00	0.0420±0.06
3	0.1383±0.07	0.0337±0.03	0.0338±0.00
4	0.1792±0.00	0.0359±0.02	0.0468±0.00
5	0.1865±0.01	0.0482±0.14	0.0479±0.01
6	0.1875±0.09	0.0488±0.05	0.0538±0.07
7	0.1886±0.02	0.0363±0.07	0.0662±.0.00
8	0.1884±0.07	0.0547±0.00	0.0645±0.01
9	0.1471±0.03	0.0415±0.01	0.0516±0.05
10	0.1597±0.01	0.0454±0.05	0.0427±0.01
11	0.0620±0.01	0.0114±0.04	0.0159±0.00
12	0.0574±0.01	0.0109±0.00	0.0143±0.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 จำนวน 12 ชุดการทดลอง จากการออกแบบการทดลองแบบ Plackett-Burman Design (ตารางที่ 6) ผลพบว่าสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 มีชีวมวลสูงสุดในชุดการทดลองที่ 6 โดยมีค่าเท่ากับ 2.0012±0.01 กรัมต่อลิตร มีกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตสูงสุดในชุดการทดลองที่ 5 โดยมีค่าเท่ากับ 0.0125±0.00 กรัมต่อลิตรต่อวัน และมีกำลังผลิตไขมันสูงสุดที่ในชุดการทดลองที่ 8 โดยมีค่าเท่ากับ 0.0198±0.02 กรัมต่อลิตรต่อวัน ในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2

ชุดทดลอง	ชีวมวล (กรัม/ลิตร)	กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต (กรัม/ลิตร/วัน)	กำลังผลิตไขมัน (กรัม/ลิตร/วัน)
1	1.5784±0.04	0.0052±0.00	0.0088±0.00
2	1.8002±0.07	0.0004±0.02	0.0005±0.01
3	1.2020±0.00	0.0060±0.01	0.0105±0.02
4	0.9980±0.00	0.0052±0.01	0.0102±0.01
5	1.9203±0.04	0.0125±0.00	0.0161±0.00
6	2.0012±0.01	0.0100±0.00	0.0152±0.04
7	1.4012±0.01	0.0037±0.07	0.0184±0.00
8	0.0665±0.00	0.0089±0.00	0.0198±0.02
9	0.6781±0.00	0.0068±0.14	0.0060±0.09
10	0.9778±0.11	0.0062±0.11	0.0089±0.07
11	0.6892±0.17	0.0035±0.00	0.0065±0.01
12	0.6843±0.08	0.0034±0.03	0.0062±0.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5 จำนวน 12 ชุดการทดลอง จากการออกแบบการทดลองแบบ Plackett-Burman Design (ตารางที่ 4.3) ผลพบว่าสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5 มีชีวมวลสูงสุดในชุดการทดลองที่ 6 โดยมีค่าเท่ากับ 2.0012±0.01 กรัมต่อลิตร มีกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตสูงสุดในชุดการทดลองที่ 10 โดยมีค่าเท่ากับ 0.4289±0.05 กรัมต่อลิตรต่อวัน และมีกำลังผลิตไขมันสูงสุดที่ในชุดการทดลองที่ 10 โดยมีค่าเท่ากับ 0.5357±0.02 กรัมต่อลิตรต่อวัน ในตารางที่ 4.3

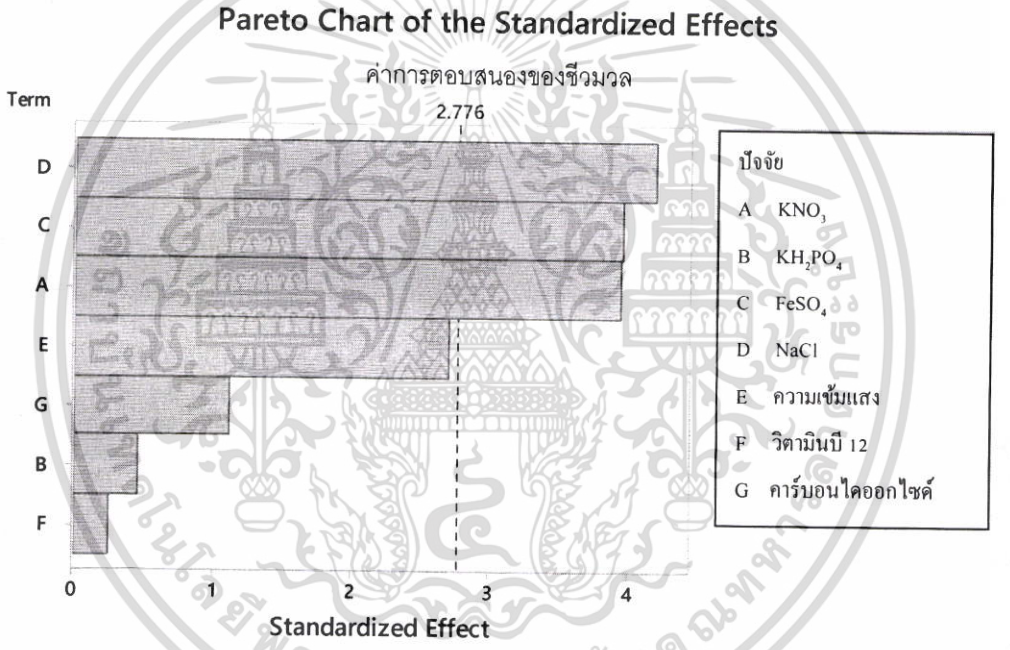
ตารางที่ 4.3 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย ของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5

ชุดทดลอง	ชีวมวล (กรัม/ลิตร)	กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต (กรัม/ลิตร/วัน)	กำลังผลิตไขมัน (กรัม/ลิตร/วัน)
1	1.9320±0.00	0.1866±0.04	0.3278±0.13
2	2.3440±0.02	0.1304±0.01	0.4315±0.04
3	0.8020±0.01	0.1274±0.01	0.2247±0.05
4	1.2011±0.10	0.1817±0.00	0.3627±0.07
5	2.0250±0.00	0.3852±0.00	0.3655±0.04
6	2.2970±0.00	0.3814±0.03	0.4049±0.02
7	1.5762±0.02	0.1374±0.08	0.3602±0.00
8	0.8890±0.05	0.3291±0.16	0.4977±0.01
9	0.8753±0.07	0.3043±0.11	0.4355±0.03
10	1.2412±0.01	0.4289±0.05	0.5357±0.02
11	0.7129±0.01	0.1068±0.00	0.2025±0.00
12	0.7353±0.00	0.1107±0.01	0.2029±0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda* , *Botryococcus braunii* KMITL2 และ B. braunii KMITL 5

จากการวิเคราะห์ผลชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda* ที่ได้จากการทดลอง Plackett-Burman Design ในตารางที่ 7 โดยใช้โปปแกรม minitab 17 เพื่อวิเคราะห์และคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda* พบว่า จากปัจจัย KNO_3, KH_2PO_4, $FeSO_4$ NaCl, ความเข้มแสง, วิตามิน บี 12 และ คาร์บอนไดออกไซด์ มีอิทธิพลดังภาพที่ 4.1 ,4.2 และ 4.3

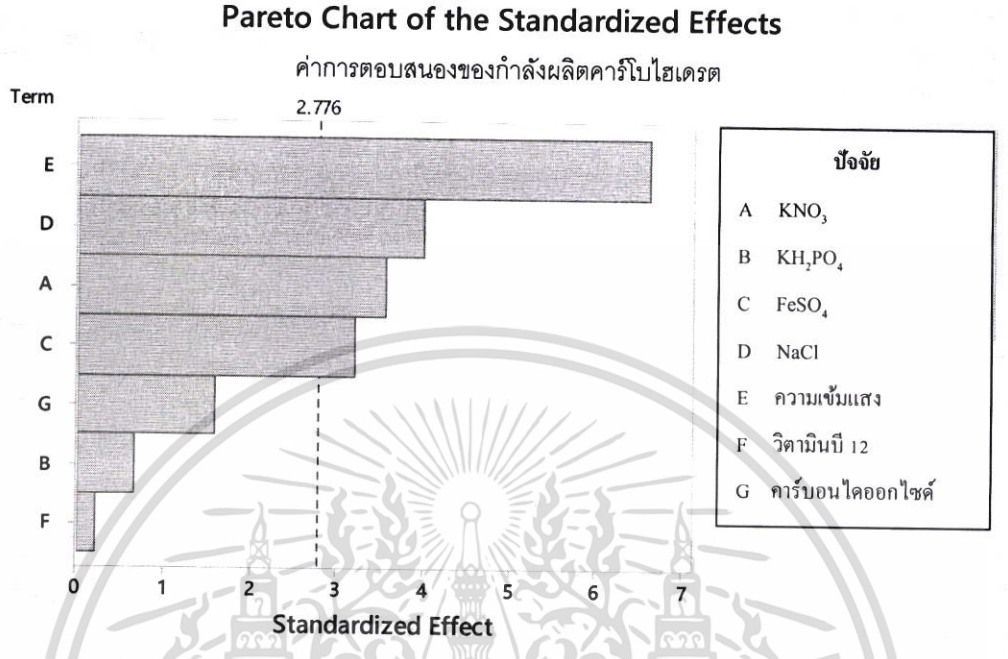


ภาพที่ 4.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวลของสาหร่าย *D. quadricauda*

จากการวิเคราะห์ชีวมวลของสาหร่าย *D. quadricauda* ด้วยโปรแกรม minitab17 (ภาพที่ 2) พบว่า ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ KNO_3, KH_2PO_4 และ$FeSO_4$ โดยมีอิทธิพลในทางบวก คือเมื่อเพิ่มปริมาณของปัจจัย ความเข้มแสง, NaCl, KNO_3 และ$FeSO_4$ จะส่งผลให้กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่ายสาหร่าย *D. quadricauda* เพิ่มขึ้น ปัจจัยที่มีอิทธิพลสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

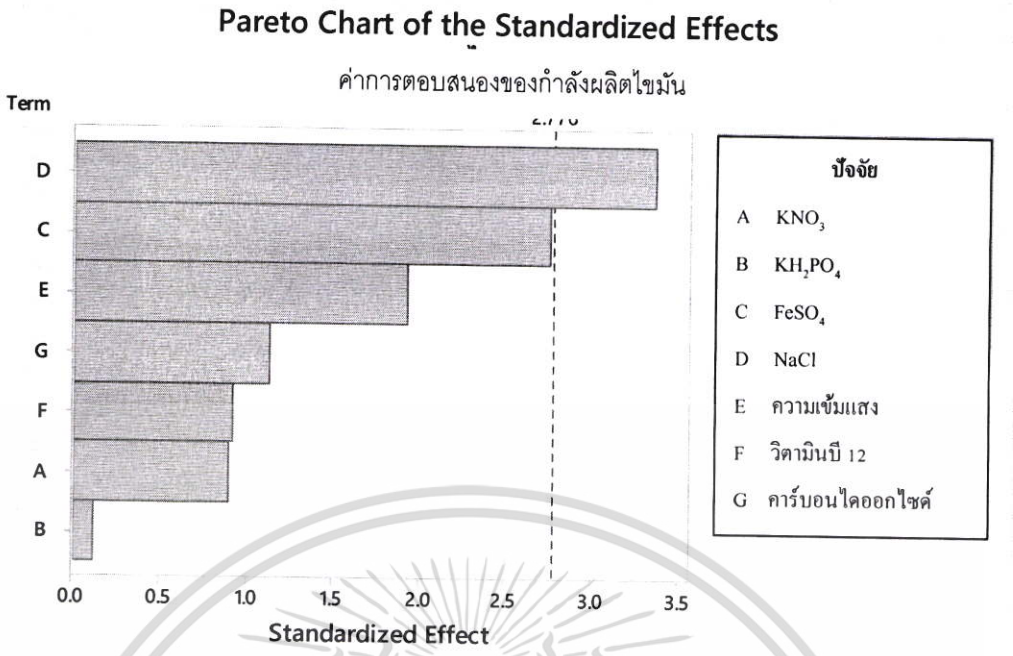
ต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต คือ ปัจจัยความเข้มแสง ในทางกลับกัน ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต คือ วิตามินบี 12



ภาพที่ 4.2 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *D. quadricauda*

จากการวิเคราะห์กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *D. quadricauda* ด้วยโปรแกรม minitab17 พบว่า ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ความเข้มแสง, NaCl, KNO_3 และ$FeSO_4$ โดยมีอิทธิพลในทางบวก คือเมื่อเพิ่มปริมาณของปัจจัย ความเข้มแสง, NaCl, KNO_3 และ$FeSO_4$ จะส่งผลให้กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่ายสาหร่าย *D. quadricauda* เพิ่มขึ้น ปัจจัยที่มีอิทธิพลสูงสุดต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต คือ ปัจจัยความเข้มแสง ในทางกลับกัน ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต คือ วิตามินบี 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



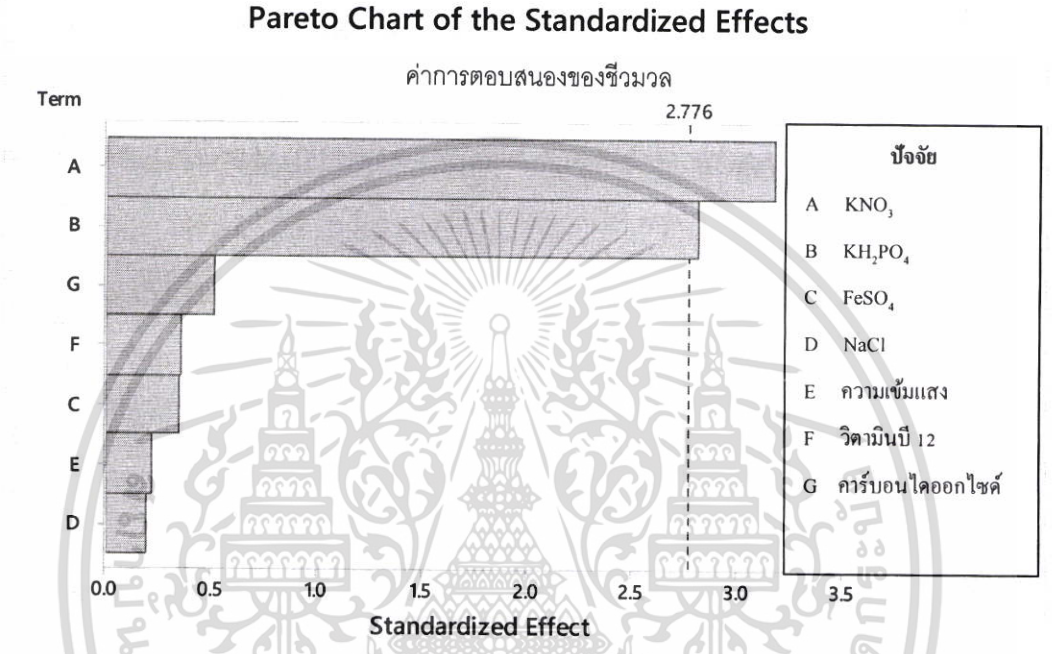
ภาพที่ 4.3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda*

จากการวิเคราะห์กำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda* ด้วยโปรแกรม minitab17 พบว่า ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตไขมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ NaClโดยมีอิทธิพลในทางบวก คือเมื่อเพิ่มปริมาณของปัจจัย ความเข้มแสง, NaCl, KNO_3 และ$FeSO_4$ จะส่งผลให้กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่ายสาหร่าย *D. quadricauda* เพิ่มขึ้น ปัจจัยที่มีอิทธิพลสูงสุดต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต คือ ปัจจัยความเข้มแสง ในทางกลับกัน ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต คือ วิตามินบี 12

การคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda* พบว่ามีปัจจัยที่มีอิทธิพลทั้งหมด 5 ปัจจัย คือ KNO_3, KH_2PO_4, $FeSO_4$, NaCl และความเข้มแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

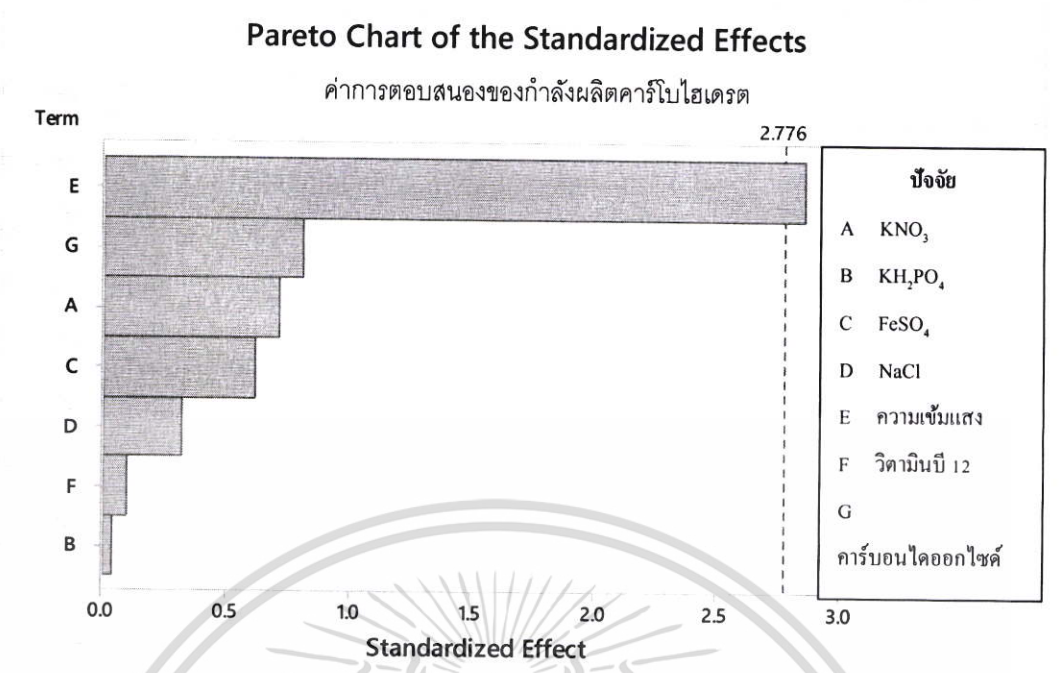
จากการวิเคราะห์ผลชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ที่ได้จากการทดลอง Plackett-Burman Design ในตารางที่ 7 โดยใช้โปแกรม minitab 17 เพื่อวิเคราะห์และคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 พบว่า จากปัจจัย KNO_3, KH_2PO_4, Fe, NaCl, ความเข้มแสง, วิตามิน บี 12 และ คาร์บอนไดออกไซด์ มีอิทธิพลดังภาพที่ 4.4, 4.5 และ 4.6



ภาพที่ 4.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

จากการวิเคราะห์ชีวมวลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ด้วยโปรแกรม minitab17 พบว่า ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ KNO_3 และ KH_2PO_4

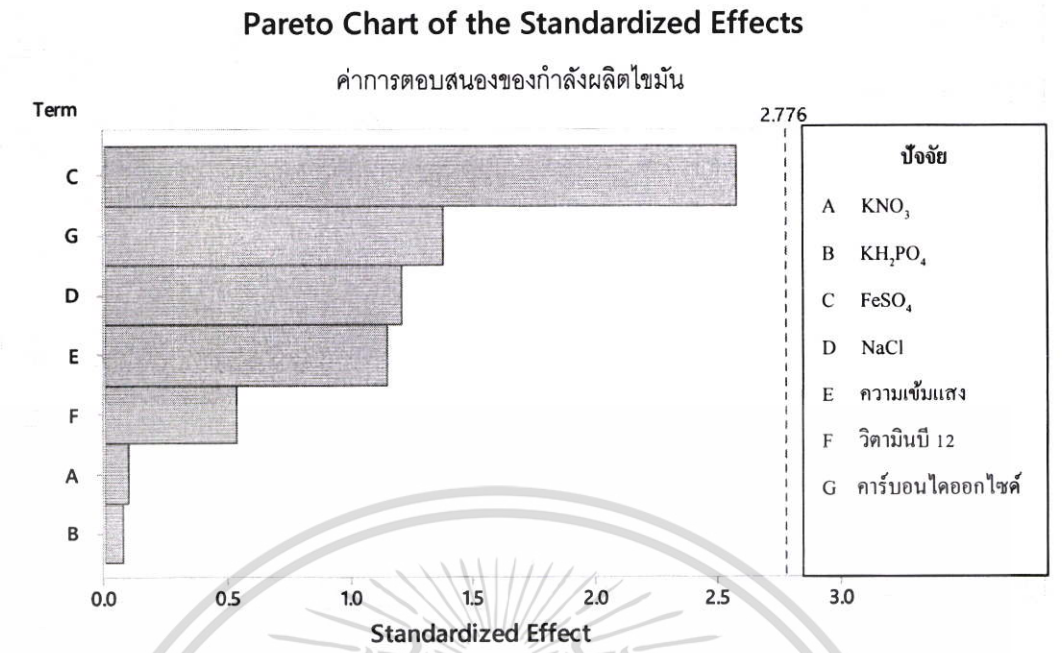
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

จากการวิเคราะห์กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ด้วยโปรแกรม minitab17 พบว่า ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ความเข้มแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



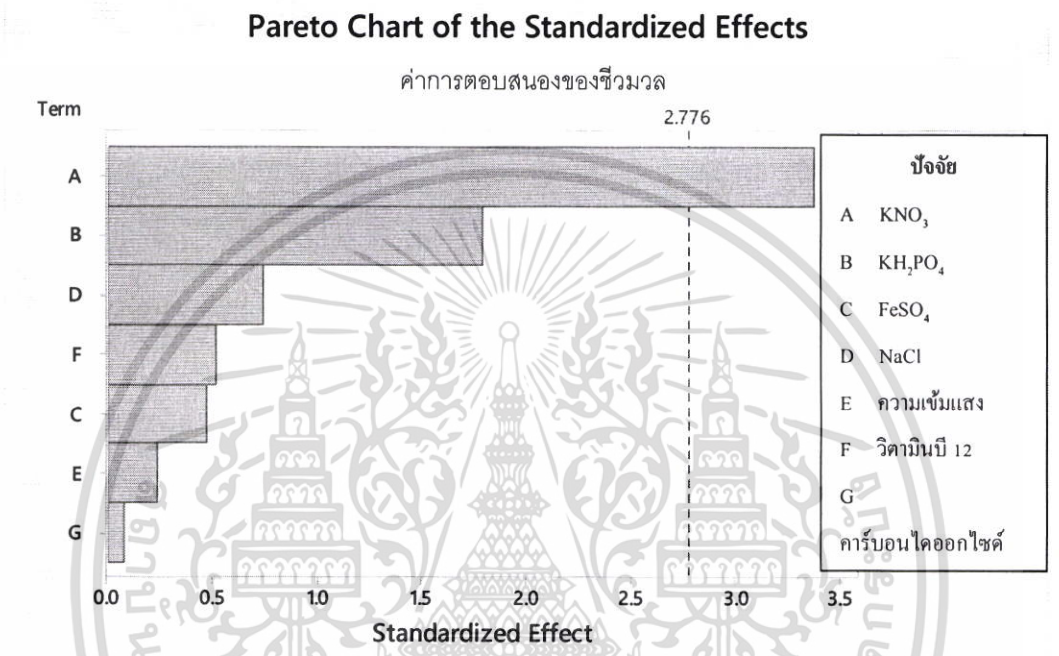
ภาพที่ 4.6 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

จากการวิเคราะห์กำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ด้วยโปรแกรม minitab17 พบว่าไม่มีปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตไขมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 พบว่ามีปัจจัยที่มีอิทธิพลทั้งหมด 3 ปัจจัย คือ KNO_3, KH_2PO_4และความเข้มแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

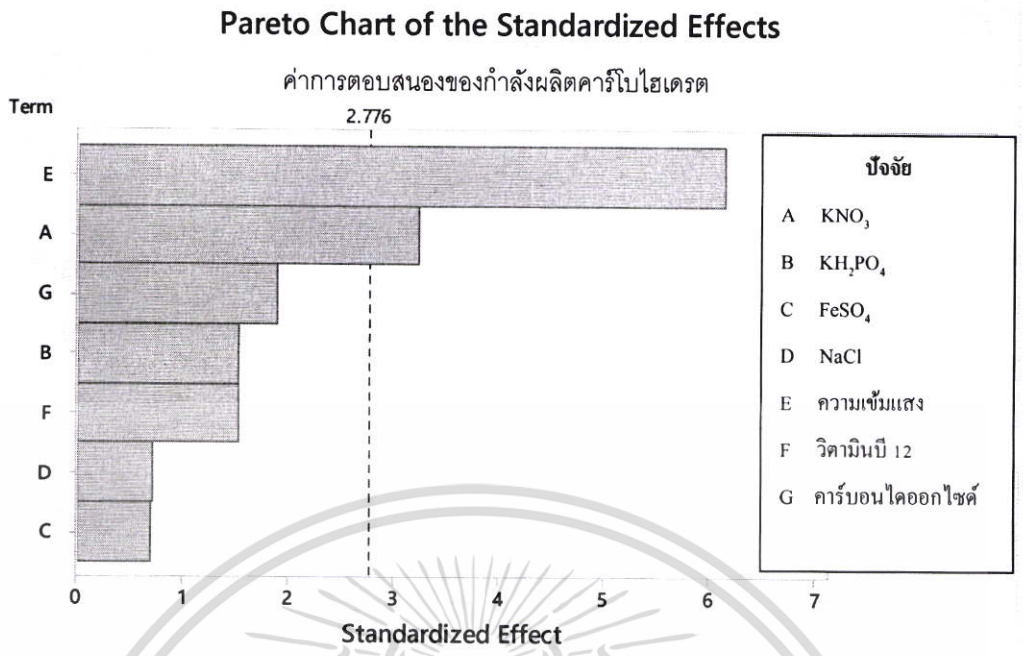
จากการวิเคราะห์ผลชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 ที่ได้จากการทดลอง Plackett-Burman Design ในตารางที่ 7 โดยใช้โปปแกรม minitab 17 เพื่อวิเคราะห์และคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 พบว่า จากปัจจัย KNO_3, KH_2PO_4, $FeSO_4$, NaCl, ความเข้มแสง, วิตามิน บี 12 และ คาร์บอนไดออกไซด์ มีอิทธิพลดังภาพที่ 4.7, 4.8 และ 4.9



ภาพที่ 4.7 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5

จากการวิเคราะห์ชีวมวลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5 ด้วยโปรแกรม minitab17 พบว่า ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ KNO_3

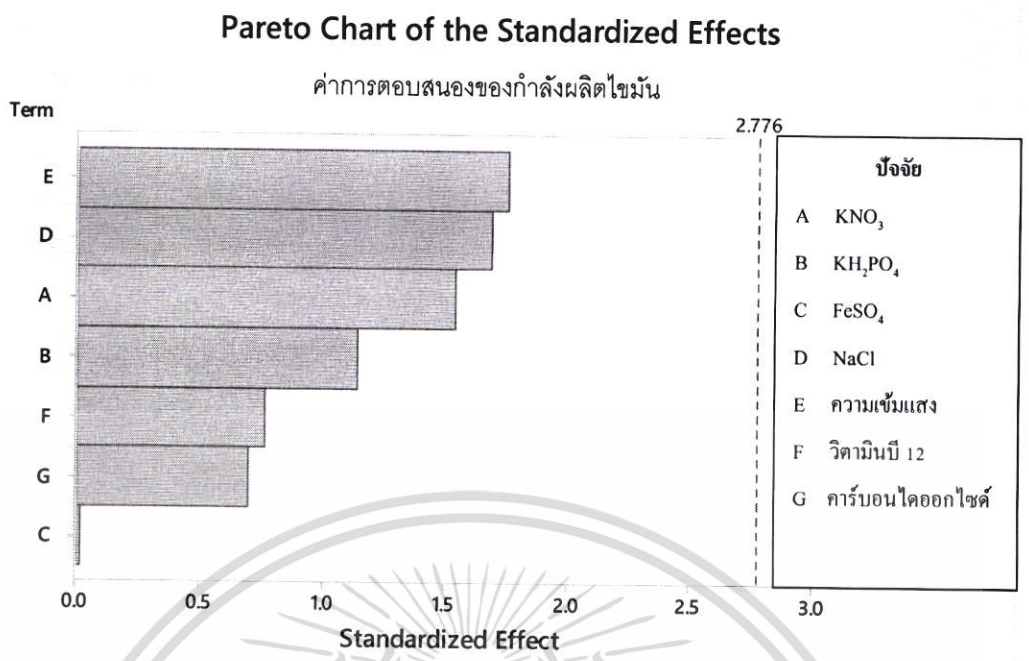
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5

จากการวิเคราะห์กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5ด้วยโปรแกรม minitab17 พบว่า ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตคาร์โบไฮเดรตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ความเข้มแสง และ KNO_3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5

จากการวิเคราะห์กำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5 ด้วยโปรแกรม minitab17 พบว่าไม่มีปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตไขมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกำลังผลิตชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5 พบว่ามีปัจจัยที่มีอิทธิพลทั้งหมด 2 ปัจจัย คือ KNO_3 และความเข้มแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 สภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีอิทธิพลชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda, Botryococcus braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5

จากการคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลด้วยการออกแบบการทดลองแบบ Plackett-Burman Design พบว่ามีปัจจัยที่มีอิทธิพลทั้งหมด 5 ปัจจัย คือ KNO_3, KH_2PO_4, $FeSO_4$, NaCl และความเข้มแสง นำปัจจัยที่มีอิทธิพลข้างต้นมาออกแบบการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ central composite design ได้ชุดทดลองทั้งหมด 54 ชุดทดลอง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วันแล้วนำผลมาวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม minitab 17 อีกครั้งเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม โดยผลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda* แสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda*

ชุดทดลอง	ชีวมวล (กรัม/ลิตร)	กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต (กรัม/ลิตร/วัน)	กำลังผลิตไขมัน (กรัม/ลิตร/วัน)
1	1.6761±0.01	0.2715±0.00	0.3185±0.01
2	1.6808±0.00	0.2891±0.00	0.3328±0.01
3	1.6011±0.00	0.2434±0.01	0.3201±0.05
4	1.8092±0.01	0.3193±0.13	0.3618±0.04
5	1.6032±0.03	0.2244±0.00	0.3126±0.16
6	1.8110±0.11	0.3260±0.00	0.3984±0.00
7	1.7039±0.00	0.2726±0.04	0.3237±0.00
8	1.9021±0.02	0.3424±0.11	0.4185±0.14
9	1.6711±0.05	0.3008±0.04	0.3342±0.06
10	1.8719±0.07	0.3407±0.06	0.4305±0.04
11	1.8038±0.06	0.3431±0.04	0.3608±0.00
12	1.9272±0.05	0.2698±0.00	0.5203±0.00
13	1.6770±0.02	0.2516±0.00	0.4193±0.00
14	1.7319±0.00	0.3117±0.04	0.4157±0.01
15	1.6112±0.01	0.2256±0.04	0.3706±0.01
16	1.8039±0.01	0.3067±0.15	0.4871±0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17	1.6880±0.01	0.2701±0.14	0.3714±0.01
18	1.8999±0.01	0.3230±0.00	0.4750±0.04
19	1.7098±0.00	0.2736±0.11	0.5984±0.06
20	1.9023±0.04	0.3510±0.00	0.7229±0.04
21	1.4774±0.05	0.2807±0.00	0.5466±0.05
22	1.8072±0.00	0.3370±0.04	0.6867±0.00
23	1.6074±.015	0.3093±0.03	0.5626±0.01
24	1.8978±0.11	0.3519±0.00	0.6832±0.00
25	1.4011±0.00	0.2466±0.05	0.5184±0.01
26	1.8038±0.01	0.3157±0.04	0.6854±0.01
27	1.6895±0.01	0.3041±0.03	0.6082±0.05
28	1.8139±0.01	0.3084±0.00	0.4716±0.06
29	1.4011±0.01	0.2522±0.00	0.3363±0.00
30	1.8300±0.11	0.3453±0.00	0.4575±.0.11
31	1.4827±0.01	0.2816±0.01	0.4745±0.01
32	1.3934±0.00	0.2717±0.07	0.4180±0.04
33	1.4313±0.07	0.2748±0.011	0.4437±0.01
34	1.4325±0.09	0.2865±0.01	0.4512±0.02
35	1.4322±0.05	0.2793±0.01	0.4511±0.00
36	1.4369±0.05	0.2855±0.02	0.4526±0.01
37	1.4329±0.04	0.2816±0.01	0.4514±0.05
38	1.4315±0.00	0.2844±0.02	0.4509±0.04
39	1.4317±0.01	0.2548±0.01	0.4510±0.06
40	1.4317±0.04	0.2577±0.04	0.4510±0.07
41	1.4013±0.04	0.2522±0.00	0.4414±0.07
42	2.2083±0.01	0.4448±0.04	0.5742±0.00
43	1.8619±0.04	0.3500±0.11	0.5213±0.04
44	2.1013±0.03	0.3929±0.24	0.5674±0.01
45	1.6317±0.02	0.3019±0.00	0.5221±0.05
46	1.9237±0.11	0.3540±0.00	0.5963±0.00
47	1.9653±0.00	0.3675±0.00	0.6289±0.01
48	2.0241±0.01	0.3745±0.01	0.7084±0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

49	1.8632±0.04	0.3354±0.04	0.4658±0.01
50	2.1647±0.04	0.5628±0.17	0.6494±0.04
51	1.8029±0.05	0.3426±0.12	0.5228±0.04
52	1.8035±0.01	0.3427±.0.03	0.5230±.0.00
53	1.8032±0.01	0.3426±0.01	0.5229±0.00
54	1.8030±0.00	0.3426±0.01	0.5229±0.01

จากการคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 โดยใช้แผนการทดลองแบบ Plackett-Burman Design ปัจจัยที่มีอิทธิพลทั้งหมด 3 ปัจจัย คือ KNO_3, KH_2PO_4และความเข้มแสง จากนั้นนำปัจจัยที่มีอิทธิพลข้างต้นมาออกแบบการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ central composite design ได้ชุดทดลองทั้งหมด 20 ชุดทดลอง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วันแล้วนำผลมาสิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม minitab 17 อีกครั้งเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม โดยผลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B.braunii* แสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

ชุดทดลอง	ชีวมวล (กรัม/ลิตร)	กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต (กรัม/ลิตร/วัน)	กำลังผลิตไขมัน (กรัม/ลิตร/วัน)
1	1.2024±0.01	0.1323±0.01	0.2886±0.04
2	0.9087±0.00	0.1090±0.11	0.1999±0.05
3	1.4003±0.02	0.1540±0.08	0.2941±0.11
4	1.6051±0.11	0.2568±0.06	0.3210±0.02
5	1.4056±0.15	0.2249±0.02	0.2530±0.03
6	1.7048±0.09	0.2728±0.11	0.3069±0.06
7	1.0142±0.00	0.2231±0.06	0.2231±0.14
8	2.2051±0.01	0.6174±0.06	0.5733±0.02
9	1.2028±0.08	0.2406±0.05	0.3608±0.00
10	1.2033±0.12	0.2407±0.13	0.3610±0.00
11	1.2200±0.00	0.2440±0.01	0.3660±0.01
12	1.2025±0.00	0.2405±0.00	0.3608±0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13	0.8968±0.00	0.1345±0.02	0.2063±0.06
14	1.9592±0.01	0.4114±0.04	0.4114±0.01
15	0.9098±0.04	0.1638±0.05	0.2002±0.00
16	1.8733±0.05	0.3372±0.05	0.3559±0.00
17	0.8771±0.04	0.1579±0.00	0.1491±0.07
18	1.8900±0.00	0.4347±0.00	0.5292±0.18
19	1.7498±0.01	0.3132±0.00	0.6124±0.11
20	1.7535±0.02	0.3191±0.00	0.6137±0.09

จากการคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B.braunii* KMITL 5 โดยใช้แผนการทดลองแบบ Plackett-Burman Design ปัจจัยที่มีอิทธิพลอิทธิพลทั้งหมด 2 ปัจจัย คือ KNO_3 และความเข้มแสง จากนั้นนำปัจจัยที่มีอิทธิพลข้างต้นมาออกแบบการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ central composite design ได้ชุดทดลองทั้งหมด 13 ชุดทดลอง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วันแล้วนำผลมาสิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม minitab 17 อีกครั้งเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม โดยผลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B.braunii* KMITL 5 แสดงในตารางที่ 4.6

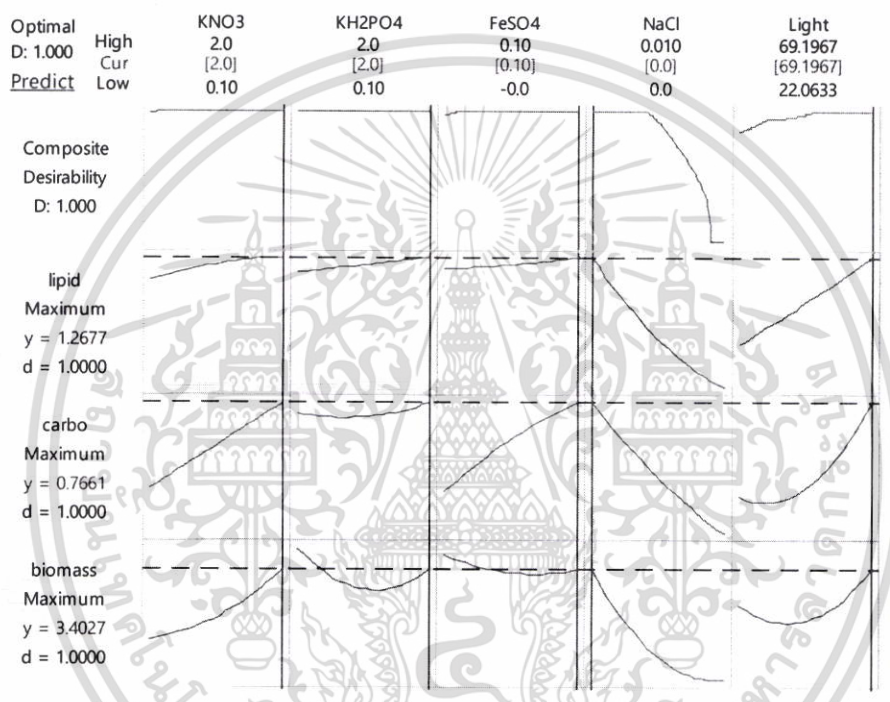
ตารางที่ 4.6 ชีวมวล กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต และกำลังผลิตไขมันของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5

ชุดทดลอง	ชีวมวล (กรัม/ลิตร)	กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต (กรัม/ลิตร/วัน)	กำลังผลิตไขมัน (กรัม/ลิตร/วัน)
1	0.0968±0.01	0.0116±0.01	0.0213±0.05
2	1.1000±0.02	0.1375±0.02	0.2640±0.01
3	1.0235±0.05	0.1351±0.05	0.2354±0.00
4	2.6024±0.06	0.6246±0.03	0.6506±0.00
5	0.9580±0.00	0.1533±0.02	0.1916±0.05
6	2.2041±0.01	0.4408±0.00	0.5510±0.06
7	1.3012±0.15	0.1627±0.00	0.2733±0.02
8	2.5695±0.05	0.5396±0.00	0.5653±0.00
9	1.5842±0.02	0.3010±0.01	0.3644±0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10	1.5865±0.00	0.3014±0.04	0.3649±0.11
11	1.5838±0.13	0.3009±0.05	0.3643±0.03
12	1.5840±0.09	0.3010±0.00	0.3643±0.02
13	1.5872±0.07	0.3016±0.14	0.3651±0.00

จากผลการทดลองแบบ Central composite design ที่แสดงในตารางที่ 10 จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม minitab 17 ได้กราฟทำนายและสมการทำนายผลดังภาพที่ 4.10



ภาพที่ 4.10 ผลการทำนายจากสมการการทำนายผลของสาหร่าย *D. quadricauda*

จากผลการทำนายปริมาณของปัจจัยที่เหมาะสมต่อชีวมวล ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต และผลผลิตน้ำมัน โดยพิจารณาจากผลผลิตทั้งหมด คือ ปริมาณ KNO_3 ที่ 2 กรัมต่อลิตร KH_2PO_4 ที่ 2 กรัมต่อลิตร $FeSO_4$ ที่ 0.1 กรัมต่อลิตร NaCl ที่ 0 กรัมต่อลิตร และ light intensity ที่ 69 ไมโครโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที สามารถให้ชีวมวลที่ 3.4027 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตคาร์โบไฮเดรตที่ 0.7661 กรัมต่อลิตรต่อวัน และให้ผลผลิตไขมันที่ 1.0 กรัมต่อลิตรต่อวัน และได้สมการทำนายผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

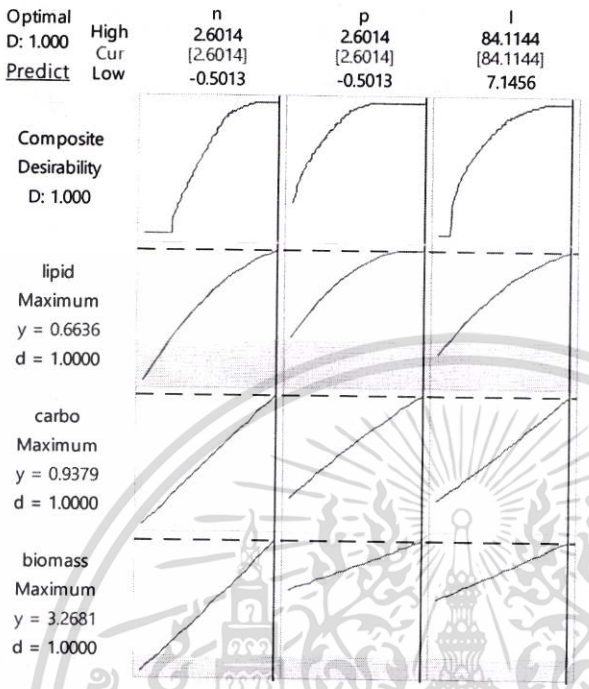
ชีวมวล = 2.476 - 0.128 KNO_3 - 0.273 KH_2PO_4 + 5.39 $FeSO_4$ + 18.0 NaCl - 0.0430 Light + 0.1426 KNO_3*KNO_3 + 0.3385 KH2PO4*KH2PO4 + 40.6 $FeSO_4$*$FeSO_4$ + 12744 NaCl*NaCl I+ 0.000608 Light*Light - 0.117 KNO_3*KH_2PO_4 + 0.53 KNO_3*$FeSO_4$ - 7.5 KNO_3*NaCl + 0.00548 KNO_3*Light - 1.84 KH_2PO_4*$FeSO_4$ - 13.0 KH_2PO_4*NaCl - 0.00196 KH_2PO_4*Light- 625 $FeSO_4$*NaCl - 0.121 $FeSO_4$*Light - 2.20 NaCl*Light

กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต = 0.428 + 0.109 KNO_3 + 0.016 KH_2PO_4 + 0.01 $FeSO_4$ + 32.0 NaCl - 0.01506 Light + 0.0005 KNO_3*KNO_3 + 0.0259 KH_2PO_4*KH_2PO_4 - 8.06 $FeSO_4$*$FeSO_4$ + 917 NaCl*NaCl + 0.000182 Light*Light - 0.0432 KNO_3*KH_2PO_4 + 0.851 KNO_3*$FeSO_4$ - 8.45 KNO_3*NaCl+ 0.00010 KNO3*Light- 0.083 KH_2PO_4*$FeSO_4$ 7.19 KH2PO4*NaCl+ 0.00058 KH_2PO_4*Light- 200 $FeSO_4$*NaCl+ 0.0229 $FeSO_4$*Light - 0.345 NaCl*Light

กำลังผลิตไขมัน = -0.716 + 0.271 KNO_3 + 0.145 KH_2PO_4 + 7.06 $FeSO_4$ + 95.4 NaCl + 0.01510 Light - 0.0403 KNO_3*KNO_3 + 0.0002 KH_2PO_4*KH_2PO_4 + 6.0 $FeSO_4$*$FeSO_4$ + 4982 NaCl*NaCl + 0.000024 Light*Light - 0.0504 KNO3*KH_2PO_4 + 0.18 KNO_3*$FeSO_4$ - 9.6 KNO_3*NaCl - 0.00017 KNO_3*Light - 1.23 KH2PO4*FeSO4 - 16.0 KH_2PO_4*NaCl + 0.00204 KH_2PO_4*Light - 687 $FeSO_4$*NaCl - 0.0672 $FeSO_4$*Light - 1.824 NaCl*Light

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองแบบ Central composite design ที่แสดงในตารางที่ 11 จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม minitab 17 ได้กราฟทำนายและสมการทำนายผลดังภาพที่ 13



ภาพที่ 4.11 ผลการทำนายจากสมการการทำนายผลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2

จากผลการทำนายปริมาณของปัจจัยที่เหมาะสมต่อชีวมวล ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต และผลผลิตน้ำมัน โดยพิจารณาจากผลผลิตทั้งหมด คือ ปริมาณ KNO_3 ที่ 2.6.014 กรัมต่อลิตร KH_2PO_4 ที่ 2.6014 กรัมต่อลิตร light intensity ที่ 84 ไมโครโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที สามารถให้ชีวมวลที่ 3.2681 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตคาร์โบไฮเดรตที่ 0.9379 กรัมต่อลิตรต่อวัน และให้ผลผลิตไขมันที่ 0.6636 กรัมต่อลิตรต่อวัน และได้สมการทำนายผลดังนี้

ชีวมวล = 0.987 - 0.406 KNO_3 + 0.184 KH_2PO_4 + 0.0037 l + 0.0236 KNO_3* KNO_3 + 0.0084 KH_2PO_4* KH_2PO_4 + 0.000008 Light intensity * Light intensity + 0.1925 KNO_3* KH_2PO_4 + 0.00882 KNO_3* Light intensity - 0.00439 KH_2PO_4*Light intensity

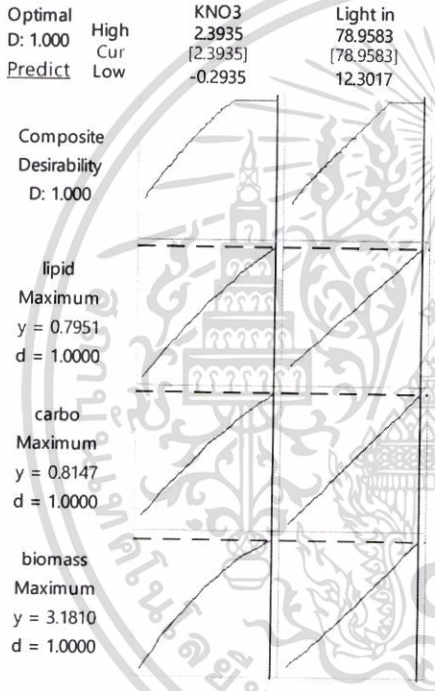
กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต = 0.1769 - 0.0764 KNO_3 - 0.0226 KH_2PO_4 - 0.00041 l - 0.0037 KNO_3* KNO_3 - 0.0131 KH_2PO_4* KH_2PO_4 + 0.000010 l*l + 0.0654 KNO_3 *

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

KH_2PO_4 + 0.002025 KNO_3* Light intensity + 0.000968 KH_2PO_4* Light intensity

กำลังผลิตไขมัน = 0.167 - 0.014 KNO_3 + 0.099 KH_2PO_4 + 0.00537 1 - 0.0528 KNO_3* KNO_3 - 0.0656 KH_2PO_4* KH_2PO_4 - 0.000065 1*1 + 0.0571 KNO_3* KH_2PO_4 + 0.00260 KNO_3* Light intensity + 0.00061 KH_2PO_4* Light intensity

จากผลการทดลองแบบ Central composite design ที่แสดงในตารางที่ 12 จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม minitab 17 ได้กราฟทำนายและสมการทำนายผลดังภาพที่ 4.12



ภาพที่ 4.12 ผลการทำนายจากสมการการทำนายผลของสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5

จากผลการทำนายปริมาณของปัจจัยที่เหมาะสมต่อชีวมวล ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต และผลผลิตน้ำมัน โดยพิจารณาจากผลผลิตทั้งหมด คือ ปริมาณ KNO_3 ที่ 2.3936 กรัมต่อ light intensity ที่ 78 ไมโครโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที สามารถให้ชีวมวลที่ 3.1810 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตคาร์โบไฮเดรตที่ 0.8147 กรัมต่อลิตรต่อวัน และให้ผลผลิตไขมันที่ 0.7951 กรัมต่อลิตรต่อวัน และได้สมการทำนายผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชีวมวล = 0.238 + 0.604 KNO_3 + 0.0096 Light intensity - 0.155 KNO_3*KNO_3 + 0.000067 Light intensity*Light intensity + 0.00643 KNO_3*Light intensity

กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต = 0.048 + 0.0104 KNO_3 + 0.00168 Light intensity - 0.0291 KNO_3*KNO_3+ 0.000001 Light intensity*Light intensity + 0.00406 KNO_3*Light intensity

กำลังผลิตไขมัน = 0.030 + 0.1173 KNO_3 + 0.00307 Light intensity - 0.0247 KNO_3*KNO_3 + 0.000003 Light intensity*Light intensity + 0.00193 KNO_3*Light intensity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวลของสาหร่าย *Desmodesmus quadricauda, Botryococcus braunii* KMITL 2 และ *B. braunii* KMITL 5 พบว่า KNO_3 มีอิทธพลต่อชีวมวล เนื่องจาก KNO_3 เป็นแหล่งของไนโตรเจน โดยไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ แหล่งไนโตรเจนหลักๆ ได้แก่ เกลือแอมโมเนีย ไนเตรท และยูเรีย ซึ่งยูเรียจะถูกสาหร่ายรีดิวซ์ เป็นแอมโมเนียมก่อนที่จะนำเข้าสู่เซลล์ เพื่อไปสังเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนของเซลล์ นอกจากนี้ยังมีหน้าที่หลักคือช่วยในการสังเคราะห์แสง สร้างรงควัตถุ เช่น ช่วยในกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ โดยทั่วไปไนโตรเจน มีประมาณ 7-10 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ (ยกเว้นไดอะตอมจะมีน้ำหนักน้อยกว่ากลุ่มอื่น) สาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะสร้างองค์ประกอบของคาร์บอนขึ้นมาแทน เช่น สร้างขึ้นมาในรูปของอน้ำมันหรือแป้ง การใช้ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงสาหร่ายจะใช้ในรูปอินทรีย์ไนโตรเจน เช่น ยูเรีย เอไมด์ กลูตามีน และในรูปอนินทรีย์ไนโตรเจน เช่น ไนเตรท ไนไตรท์ แอมโมเนีย และรูปแก๊สไนโตรเจน (ไซยาโนแบคทีเรียเท่านั้นที่นำไปใช้ได้) (สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2549) ดังนั้นรูปของไนโตรเจนในสารอาหารมีผลต่อการนำไปใช้ได้ของสาหร่าย โดยพบว่ารูปของสารประกอบไนโตรเจนที่แตกต่างกันส่งผลปฏิกิริยาในกระบวนแตกต่างกันของเซลล์สาหร่ายแต่ละชนิด รูปไนโตรเจนที่เหมาะสมเท่านั้นที่จะทำให้สาหร่ายชนิดนั้น นำไปใช้ในการเจริญเติบโตสูงสุด นอกจากนี้ไนโตรเจนนั้น มีหน้าที่หลักคือการสังเคราะห์ด้วยแสง สร้างรงควัตถุ กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ โดยทั่วไปไนโตรเจนมีประมาณ 7-10 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ (Xin et al. 2010) จากการศึกษานี้พบว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดที่เลี้ยงในอาหารที่มีการเพิ่มไนโตรเจนทำให้การเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น การการเพิ่มขึ้นของชีวมวลยังสอดคล้องกับการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus* sp. ในอาหารที่มีการเพิ่มไนโตรเจนจาก 2.5 ถึง 25 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นจาก 0.32±0.02 ถึง 1.34±0.08 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Ruangsomboon *et al.* 2006b) และพบว่าความหนาแน่นของเซลล์สูงที่สุดเมื่อความเข้มข้นของไนโตรเจนเริ่มต้นในอาหารสูงสุด (Xin *et al.* 2010) ในสาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus obliquus* และไซยาโนแบคทีเรีย *Anacystis nidulans*, *Microcystis aeruginosa, Oscillatoria rubescens* และ *Spirulina platensis* ที่เจริญเติบโตในอาหารที่มีปริมาณของไนโตรเจนแตกต่างกัน พบว่าเมื่อมีการเพิ่มระดับไนโตรเจนสาหร่ายทุกชนิดจะมีการเพิ่มมวลชีวภาพเฉลี่ยจาก 8 ถึง 450 มิลลิกรัมต่อลิตร (Piorreck *et al.* 1984) และการศึกษาของ Mohapatra *et al.* (2002) ทำการเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus dimorphus* ในสูตรอาหารที่มีระดับไนโตรเจนแตกต่างกัน พบว่าการขาดไนโตรเจนปริมาณมากเกินไปจะทำให้การเจริญเติบโตของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายทั้งสองชนิดหยุดชะงักได้ในระยะเวลาการเลี้ยงสั้นๆ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีไนโตรเจนสูงกว่าปกติพบว่ามีอัตราเจริญเติบโตรวดเร็วกว่า

เพราะการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางชีวเคมีจากการเพิ่มไนโตรเจนจะส่งผลต่อวิถีเมตาบอลิซึม เนื่องจากการแย่งใช้สารที่ได้จากการสังเคราะห์แสง จากการศึกษานี้ใช้ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งไนเตรทส่งผลให้เหนี่ยวนำให้ยีนควบคุมการสร้างโปรตีนซึ่งเร่งปฏิกิริยารีดักชัน รวมทั้งเอนไซม์ในวิถีเพนโทสฟอสเฟต (pentose phosphate pathway) และไกลโคไลซิส (glycolysis) เพื่อเบนจากการสังเคราะห์น้ำตาล แป้ง และไขมัน มาสู่การสังเคราะห์กรดอินทรีย์ (Tsujimoto *et al.* 2007) ดังนั้นถ้าลดการให้ไนเตรททำให้การสังเคราะห์โปรตีนลดลง (Valdivia *et al.* 2008) แต่จะทำให้มีการเพิ่มคาร์โบไฮเดรท และไขมัน ซึ่งจะไปลดวิถีเมตาบอลิซึมของกระบวนการสลายโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับคาร์โบไฮเดรท เพราะจะยับยั้งเอนไซม์ในวิถีเพนโทสฟอสเฟต (pentose phosphate pathway) และไกลโคไลซิส (glycolysis) จึงทำให้การสังเคราะห์น้ำตาลและแป้งเพิ่มมากขึ้นผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนไกลโคไลซิสจะเป็นไพรูเวท ซึ่งจะถูกเปลี่ยน Acetyl CoA ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ลิพิดหรือไขมันต่อไป (Barker and Bryson. 2007) จึงทำให้การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีการเพิ่มไนโตรเจนทำให้มีมวลชีวภาพเพิ่มขึ้นแต่ไขมันรวมทั้งหมดและผลผลิตไขมันลดลงในสาหร่ายสองชนิด เช่นรายงานของ Chen et al. (2014) พบว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Chodatella* sp. ภายใต้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารน้อยกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มากกว่าอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ผลผลิตไขมันเพิ่มขึ้น สำหรับการเลี้ยงสาหร่าย *Cylindrotheca closterium* ในช่วงการเจริญเติบโตคงที่ พบว่าเมื่อไนโตรเจนถูกเติมเข้าไปในช่วงการเจริญเติบโตคงที่นี้การสะสมพอลิแซ็กคาไรด์ส่และไขมันของเซลล์ลดลง (Staates *et al.* 2000) นอกจากนี้ Liu *et al* (2014) เลี้ยงสาหร่าย *Isochrysis* sp. เจริญเติบโตภายใต้การอดอาหารจากไนโตรเจนเป็นเวลา 1 ถึง 5 วัน พบว่า ปริมาณชนิดกรดไขมัน C16 เพิ่มขึ้นจาก 24.32 เป็น 29.42 เปอร์เซ็นต์

อิทธิพลของ KH_2PO_4 ต่อการเพิ่มขึ้นของชีวมวลนั้นเรื่องจากเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสที่เป็นธาตุอาหารสำคัญของสาหร่าย ฟอสฟอรัสเป็นสารอาหารที่ มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตเนื่องจากฟอสฟอรัส เนื่องจากเกี่ยวข้องกับขบวนการใช้พลังงาน ขบวนการสร้างกรดนิวคลีอิกของสาหร่าย ถ้าขาดฟอสฟอรัสจะทำให้ปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์ เอ RNA หรือ DNA ของสาหร่ายลดลง (Xin *et al.* 2010) ฟอสฟอรัสจึงมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยการเพิ่มฟอสฟอรัสในอาหารที่ใช้เลี้ยงจะเพิ่มปริมาณผลผลิตมวลชีวภาพของสาหร่ายได้ (Malone *et al.* 1996) เช่น การเลี้ยงสาหร่าย *Microcystis aeruginosa* และ *Microcystis wesenbergii* ด้วยอาหารปกติ (ควบคุม) และเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีฟอสฟอรัส พบว่าความหนาแน่นของเซลล์ของ *Microcystis* ทั้ง 2 ชนิดในอาหารปกติสูงกว่าในอาหารที่ไม่มีฟอสฟอรัส และพบว่า *M. aeruginosa* และ *M. wesenbergii* มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในอาหารปกติ และในอาหารที่ไม่มีฟอสฟอรัส เท่ากับ 0.24±0.02, 0.19±0.06, 0.09±0.03 และ0.18±0.09 ต่อวัน ตามลำดับ (Imai *et al.* 2009) สำหรับในการเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus* sp. ในอาหารที่มีการเพิ่มฟอสฟอรัส โดยเพิ่มฟอสฟอรัสจาก 0.1 ถึง 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นจาก 0.26±0.01 ถึง 0.98±0.12 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และพบว่าความหนาแน่นของเซลล์สูงที่สุดเมื่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้นในอาหารสูงสุด (Xin *et al.* 2010 นอกจากนี้สารประกอบอนินทรีย์ฟอสเฟตมีบทบาทสำคัญในการควบคุมเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรทและการสังเคราะห์แสง หากได้รับฟอสเฟตมากเกินไปอัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และการสังเคราะห์แป้งจะลดลง ถ้าหากมีปริมาณฟอสเฟตในระดับต่ำหรือไม่เพียงพอเซลล์จะรักษาระดับพลังงานต่อสารอาหารที่จำกัดโดยลดการใช้ ATP เพื่อไม่ให้เกิดกระบวนการสลายน้ำตาลหรือแป้งจึงส่งผลให้มีการสะสมแป้งและน้ำตาลมากกว่าที่จะนำมาใช้ นอกจากนี้สารอนินทรีย์ฟอสเฟตยังมีอิทธิพลต่อเมตาบอลิซึมของไขมัน ที่ต้องการใช้ฟอสเฟตพลังงานสูง เช่น ATP จึงต้องมีฟอสฟอรัสเพียงพอ (Epastein and Bloom. 2005) ในการศึกษานี้เมื่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในอาหารเมื่อเพิ่มขึ้นจาก 0.06 เป็น 1.0 กรัมต่อลิตรมีปริมาณชนิดกรดไขมัน C16 เพิ่มขึ้นตรงกันข้ามกับ Liu *et al* (2014)

ความสำคัญของ $FeSO_4$ ต่อสาหร่ายนั้นคือเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการสร้างคลอโรฟิลล์และโปรตีนบางชนิดที่ใช้ในปฏิกิริยา oxidation reduction เหล็กยังเป็นตัว electron carrier ในขบวนการสังเคราะห์แสง และการตรึงไนโตรเจน ถ้าหากมีเหล็กในอาหารไม่เพียงพอ จะส่งผลให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายลดลง เนื่องมาจากมีการสังเคราะห์แสงลดลง ซึ่งเป็นผลมาจากปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง โดย Wang et al. (1979) ได้กล่าวว่า ปริมาณเหล็กที่เหมาะสมจะทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้รวดเร็วหรือให้ค่าการเจริญเติบโตจำเพาะสูง เพราะสาหร่ายใช้พลังงานน้อยในการกระตุ้นการสังเคราะห์แสงเพื่อให้เจริญเติบโต อย่างไรก็ตามการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีปริมาณเหล็กเหมาะสมมีผลทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจของสาหร่ายเป็นไปตามปกติ (Lewin. 1962) ซึ่งจากทดลองพบว่าสอดคล้องกับก่อนหน้านี้ที่มีรายงานว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารที่ขาดเหล็กมีการเจริญเติบโตและค่าชีวมวลของสาหร่ายลดลง (Hu. 2004) และคล้ายกับการทดลองที่ว่าทั้งค่าชีวมวลและปริมาณไขมันของสาหร่ายจะเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณเหล็กมากขึ้น (Liu et *al.* 2008) และ Behrenfeld et *al.* (2008) กล่าวว่าเหล็กมีหน้าที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งส่งผลต่อค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่าย โดยการเพิ่มเหล็กในอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่ายใน late growth phase ส่งผลให้ปริมาณเซลล์สาหร่ายสุดท้ายเพิ่มขึ้น (Liu et *al.* 2008)

เมื่อความเข้มข้นของเหล็กเริ่มต้นที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงมีปริมาณที่มากพอจะส่งผลให้สาหร่ายเริ่มทำการสะสมไขมัน โดยปริมาณไขมันของสาหร่ายที่เพิ่มสูงขึ้นเกิดจากการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีปริมาณเหล็กมากขึ้น โดยไขมันที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากปริมาณไขมันเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลาง(neutral lipid) เพิ่มขึ้น (Khozin-Goldberg and Cohen. 2006) ซึ่งจากทดลองพบว่าสอดคล้องกับการทดลองของ Liu et al. (2008) ในกลุ่มที่ให้ความเข้มข้นเหล็กเพิ่มขึ้นเป็น$1.2x10^{-5}$ต่อโมล ส่งผลให้ *Chlorella vulgaris* มีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้นเป็น 56.6 เปอร์เซ็นต์ โดยความเข้มข้นเหล็กที่สูงขึ้นส่งผลให้เข้าสู่ระยะstationary เร็วขึ้นทำให้ช่วงเวลาการเก็บเกี่ยวลดลง แต่ปริมาณไขมันจะเพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มที่มีความเข้มข้นเหล็กต่ำ

โดยทั่วไปสาหร่ายที่เป็นสายพันธ์น้ำจืดทั่วไปมักเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะธรรมชาติที่เหมาะสมในแต่ละตัว แต่การกระตุ้นด้วยการเลี้ยงในสภาวะความเค็มระดับหนึ่งอาจส่งผลให้กระตุ้นการเจริญเติบโตหรือองค์ประกอบบางอย่างของเซลล์ได้ ดังนั้นจึงมักมีการทดลองการเลี้ยงสาหร่ายภายใต้ความเค็มที่แตกต่างกัน ส่วนหนึ่งเนื่องจากความเค็ม (Salinity) คือปริมาณความเข้มข้นทั้งหมดของอิออนที่ละลายในน้ำ (dissolved ions) ประกอบด้วยแร่ธาตุหลัก 7 ชนิดที่ในน้ำ คือ โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม คลอไรด์ ซัลเฟต และไบคาร์บอเนต ส่วนสารละลายอื่นๆ ในน้ำเค็มมีผลต่อความเค็มเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จะพบว่าส่วนหนึ่งคือธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามความเข้มข้นที่เหมาะสมเท่านั้นถึงจะกระตุ้นในการเจริญเติบโตของเซลล์ แต่อาจจะมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต (จำลอง, 2551) จากการศึกษาของ Rao *et al.* (2007) ได้นำสายพันธุ์ *Botrycoccus braunii* (LB 572) เลี้ยงในอาหารสูตร Chu 13 medium ที่ระดับ NaCl เท่ากับ 17 มิลลิโมล ถึง 85 มิลลิโมล พบว่าสาหร่าย *Botryococcus braunii* สามารถเจริญเติบโตได้ที่ระดับ NaCl เท่ากับ 17 มิลลิโมล ถึง 85 มิลลิโมล เมื่อระดับ NaCl เพิ่มขึ้นส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีมวล (biomass) เพิ่มขึ้นด้วย การเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงระหว่าง 8.5 ถึง 9.5 และได้รับมวลที่ผลิตได้สูงสุดที่ระดับความเค็มเท่ากับ17 มิลลิโมล และ 34 มิลลิโมล (ภาพที่ 2)

Ruangsomboon (2012) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL 2 ในอาหารสูตร Chlorella medium ที่มีการผันแปรระดับความเค็มในอาหารเลี้ยง 0, 5, 10, 15, 20 ส่วนในพัน พบว่าที่ 5 ส่วนในพัน มีมวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 1.1 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงภายใต้ความเค็มที่เพิ่มขึ้นทำให้มวลชีวภาพลดลง ตามลำดับ นอกจากนี้การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Botryococcus braunii* SK, *Botryococcus braunii* TRG และ *Botryococcus braunii* KB เลี้ยงในอาหารสูตร Chu 13 ที่ผันแปรความเข้มข้นความเค็ม 0, 43 และ 86 มิลลิโมล ตามลำดับ พบว่าเมื่อเลี้ยงที่ความเค็มสูงสุดยังคงสามารถมีการเจริญเติบโตแต่ต่ำกว่าระดับปกติ (Yeesong and Cheirsilp. 2011) อย่างไรการกระตุ้นด้วยความเค็มในระดับหนึ่งเท่านั้นที่จะทำให้มีการเจรญเติบโตที่ดีขึ้นกับสายพันธ์

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว *Desmodesmus quadricauda* และ *Botryococcus braunii* (KMITL 2, 5) ในการเลี้ยงที่มีความเข้มแสงที่แตกต่างกันในอาหาร โดยปริมาณมวลชีวภาพพบว่าความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นทำให้มีมวลชีวภาพที่เพิ่มมากขึ้นด้วย เนื่องจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ เอ ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสง แล้วดูดซึมสารอาหารภายนอกเซลล์เข้าไปใช้ในกระบวนการเจริญเติบโต ดังนั้นความเข้มแสงจึงมีผลต่อกระบวนการดังกล่าวโดยส่วนใหญ่แล้วความเข้มแสงเพิ่มขึ้นมักจะกระตุ้นให้มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจึงทำให้มีมวลชีวภาพมากขึ้นด้วย จึงส่งผลต่อการสังเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมี และการแบ่งเซลล์เพื่อการเจริญเติบโต ซึ่งแสงมีผลต่อการดูดซึมสารอาหาร (Sciandra *et al.* 2000) ทั้งนี้แสงและสารอาหาร มีผลต่อสรีรวิทยาของสาหร่ายขนาดเล็กรวมถึงการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเจริญเติบโต ขนาดของเซลล์ องค์ประกอบทางชีวเคมี (Lewitus and Caron. 1990) และปริมาณของรงควัตถุ (Sciandra *et al.* 2000) เช่น การเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Parietochloris incisa* ที่ความเข้มแสง 35, 200 และ 400 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 14 วัน พบว่าที่ความเข้มแสงสูงมีการเจริญเติบโตสูงกว่าที่ความเข้มแสงต่ำ โดยพบว่ามีมวลชีวภาพเท่ากับ 4.2, 7 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Solovchenko *et al.* 2008) ในไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* และ *Microcystis wesenbergii* ที่เลี้ยงด้วยความเข้มแสง 60, 30 และ 0 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที พบว่าความหนาแน่นของเซลล์ของ *Microcystis* ทั้ง 2 ชนิดที่ความเข้มแสง 60 และ 30 สูงกว่า 0 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที และพบว่า *M. aeruginosa* และ *M. wesenbergii* มีอัตราการเจริญเติบโตที่ความเข้มแสง 60, 30 และ 0 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที เท่ากับ 0.20±0.04, 0.21±0.08 และ 0.12±0.01 ต่อวัน และ 0.17±0.09, 0.15±0.08 และ 0.06±0.04 ต่อวัน ตามลำดับ (Imai *et al.* 2009) ในขณะที่แสงที่มีความเข้มสูงมากเกินไปอาจยับยั้งการเจริญเติบโตเพราะอาจเป็นการทำลายองค์ประกอบของเซลล์ได้โดยเฉพาะรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง เช่น การเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Haematococcus pluvialis* ภายใต้ความเข้มแสงระดับ 40, 50 และ 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที พบว่าที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที มีเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 9.50 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแสงที่ 40 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที เพียงพอต่อความต้องการใช้พลังงาน และความเข้มแสงที่เหมาะสมขึ้นกับชนิดสาหร่ายด้วย (Imanoglu *et al.* 2007) อย่างไรก็ตาม ในหลายๆ การศึกษาพบว่าความต้องการพลังงานในการสังเคราะห์แสงต่อการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายต่อความเหมาะสมของช่วงเวลาได้รับแสง (Loogman *et al.* 1980)

สอดคล้องกับการทดลองของ Fabregas et al. (2004) ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Nannochloropsis* sp. โดยเลี้ยงในขวดขนาด 120 ml ภายใต้แสงที่ต่างกันคือ 40, 60,80,220 และ 480 µmol quanta $m^{-2}s^{-1}$ โดยใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ให้แสงสว่างและไม่ให้แสงสว่างที่ 12:12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25°c น้ำเค็มที่ผ่านการฆ่าเชื้อมีความเค็ม 3.5% pH ต่ำกว่า 8 เมื่อเลี้ยงถึงระยะคงที่ให้เลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยเพิ่มอาหาร 40% ทุกๆวัน เพิ่มน้ำเค็มระหว่างชั่วโมงแรกของช่วงแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน จนได้ระยะคงที่และเลี้ยงต่อเป็นเวลา 7 วัน คำนวณทุกวันโดยใช้การนับด้วย Neubauer haematocytometer พบว่า ความหนาแน่นของเซลล์ระยะคงที่ (10^6cell ml^{-1}) ที่ความเข้มแสง 40, 60, 80, 220 และ 480 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็น 13.30±1.36, 11.83±0.96, 41.45±1.07, 116.71±0.56, 115.55±1.10x (10^6เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ การผลิตน้ำหนักแห้ง (mg/l/d) 53.33±0.44, 52±0.22, 283.06±0.43, 376±0.38, 374.00±0.55 ตามลำดับ ร้อยละขอ Yoshioka et al. (2012) ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Isocrysis galbana* ภายใต้ความเข้มแสงอย่างต่อเนื่องและไม่สม่ำเสมอ โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงจากหลอดไฟ LED ความเข้มแสงที่ให้อย่างต่อเนื่องอยู่ที่ 52 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที สำหรับแสงที่ไม่สม่ำเสมออัตราส่วนของแสงกำหนดอยู่ที่ 50 % และความเข้มแสงอยู่ที่ 104 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เวลาของการให้แสงอยู่ที่ 12 ชั่วโมง (12L:12D) ของแสงที่ให้อย่างต่อเนื่อง และ 24 ชั่วโมงของแสงที่ไม่สม่ำเสมอ แผงไฟ LED สีขาว สีน้ำเงิน และสีแดงจะใช้ในการทดลองผลของการเติบโตและกรดไขมันของแพลงก์ตอนพืชจากความแตกต่างในสีของแสงที่ไม่สม่ำเสมอกัน เป็นเวลา 12 วัน พบว่า ความหนาแน่นของเซลล์ *Isocrysis galbana* ที่เพิ่มขึ้นกลับชะลอตัวลงอย่างมีนัยสำคัญ หลังจาก 6 วันในอัตราการเติบโตภายใต้สภาวะแสงทั้งหมด ความหนาแน่นของเซลล์ที่เลี้ยงภายใต้แสงต่อเนื่อง (แสงสีขาว) และภายใต้แสงที่ไม่สม่ำเสมอที่แสงสีขาว สีแดง และสีน้ำเงินของวันที่ 6 ที่ 1.9±0.เซลล์ต่อมิลลิลิตร, 2.5±0.4x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร 2.0±0.4x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร, 3.5±0.6x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ความหนาแน่นของเซลล์ภายใต้แสงสีน้ำเงินที่ไม่สม่ำเสมอสูงกว่าแสงสีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจาก 6 วันของการเลี้ยงที่ 7-11.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ไขมันที่ได้จากการเลี้ยง *Isocrysis galbana* ภายใต้แสงสีน้ำเงินที่ไม่สม่ำเสมอ (11.7±1.7 มิลลิกรัมต่อลิตร) สูงกว่าแสงสีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ องค์ประกอบของกรดไขมันทั้งหมด (TL) ของ *I. galbana* ที่ถูกเลี้ยงภายใต้สภาวะแสงที่แตกต่างกัน ใน TL รวมของ *I. galbana* ที่ถูกเลี้ยงภายใต้การแปรปรวนของแสงเป็นเวลา 6 วัน ปริมาณ 26.2-29.4 เปอร์เซนต์ ของกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) 23.2-25.2 เปอร์เซนต์ ของกรดไขมัน ไม่อิ่มตัวเชิงเดียว (MUFA) และ 45.5-50.5 เปอร์เซนต์ ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) ปริมาณ 10.5-12.2 เปอร์เซนต์ ของกรดไขมัน ω-6 และ23.6-28.4 เปอร์เซนต์ ของกรดไขมัน ω-3 หลังจาก 6 วันของการเลี้ยง เปอร์เซ็นต์ของ MUFA จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (28.6 ถึง 23.2-25.2 เปอร์เซนต์) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ของ กรดไขมัน ω-6 จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (4.7 เปอร์เซนต์ ถึง 10.5-12.2 เปอร์เซนต์) ทุกทรีทเมนต์ และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของ SFA MUFA PUFA และ ω-6 และ ω-3 กรดไขมันที่จำแนกจาก TLของ *I. galbana* ที่ C16:0 (กรด palmitic 14.1-19.2 เปอร์เซนต์) , C16:1n-7 (กรด palmitoleic 12.8-16.8 เปอร์เซนต์) , C20:5n-3 (กรดeicosopemtaenoic , EPA , 13.7-20.6 เปอร์เซนต์) C22:6n-3 (กรด docosahexaenoic , DHA 4.85-9.07 เปอร์เซนต์) เปอร์เซ็นต์ของ กรด palmitic EPA และ DHA ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใน TL หลังจากการเลี้ยง 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายใต้สภาวะการแปรปรวนของแสงใน แสงที่เลี้ยงหัวเชื้อ C18:0 เป็น 2.17 เปอร์เซนต์ ของ TL และลดลงอย่างมีนัยสำคัญ 0.78-1.16 เปอร์เซนต์ ระหว่างการเลี้ยงภายใต้แสงของหลอด LED ไขมันอยู่ที่ 60.71, 28.72, 44.32, 33.25, 37.80 เปอร์เซนต์ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

การคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต และผลผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda* จากอาหารสูตร Chlorella medium ทั้งหมด 7 ปัจจัยพบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตที่ศึกษาและมีอิทธพลในทางบวกทั้งหมด 5 ปัจจัย คือ KNO_3, KH_2PO_4, $FeSO_4$, NaCl และความเข้มแสง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *D. quadricauda* โดยใช้แผนการทดลอง CCD ที่ 5 ปัจจัย ได้สมการทำนายผลผลิตดังนี้

ชีวมวล = 2.476 - 0.128 KNO_3 - 0.273 KH_2PO_4 + 5.39 $FeSO_4$ + 18.0 NaCl - 0.0430 Light + 0.1426 KNO_3*KNO_3 + 0.3385 KH2PO4*KH2PO4 + 40.6 $FeSO_4$*$FeSO_4$ + 12744 NaCl*NaCl l+ 0.000608 Light*Light - 0.117 KNO_3*KH_2PO_4 + 0.53 KNO_3*$FeSO_4$ - 7.5 KNO_3*NaCl + 0.00548 KNO_3*Light - 1.84 KH_2PO_4*$FeSO_4$ - 13.0 KH_2PO_4*NaCl - 0.00196 KH_2PO_4*Light- 625 $FeSO_4$*NaCl - 0.121 $FeSO_4$*Light - 2.20 NaCl*Light

กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต = 0.428 + 0.109 KNO_3 + 0.016 KH_2PO_4 + 0.01 $FeSO_4$ + 32.0 NaCl - 0.01506 Light + 0.0005 KNO_3*KNO_3 + 0.0259 KH_2PO_4*KH_2PO_4 - 8.06 $FeSO_4$*$FeSO_4$ + 917 NaCl*NaCl + 0.000182 Light*Light - 0.0432 KNO_3*KH_2PO_4 + 0.851 KNO_3*$FeSO_4$ - 8.45 KNO_3*NaCl+ 0.00010 KNO3*Light- 0.083 KH_2PO_4*$FeSO_4$ 7.19 KH2PO4*NaCl+ 0.00058 KH_2PO_4*Light- 200 $FeSO_4$*NaCl+ 0.0229 $FeSO_4$*Light - 0.345 NaCl*Light

กำลังผลิตไขมัน = -0.716 + 0.271 KNO_3 + 0.145 KH_2PO_4 + 7.06 $FeSO_4$ + 95.4 NaCl + 0.01510 Light - 0.0403 KNO_3*KNO_3 + 0.0002 KH_2PO_4*KH_2PO_4 + 6.0 $FeSO_4$*$FeSO_4$ + 4982 NaCl*NaCl + 0.000024 Light*Light - 0.0504 KNO3*KH_2PO_4 + 0.18 KNO_3*$FeSO_4$ - 9.6 KNO_3*NaCl - 0.00017 KNO_3*Light - 1.23 KH2PO4*FeSO4 - 16.0 KH_2PO_4*NaCl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

การคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต และผลผลิตไขมันของสาหร่าย *D. quadricauda* จากอาหารสูตร Chlorella medium ทั้งหมด 7 ปัจจัยพบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตที่ศึกษาและมีอิทธพลในทางบวกทั้งหมด 5 ปัจจัย คือ KNO_3, KH_2PO_4, $FeSO_4$, NaCl และความเข้มแสง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *D. quadricauda* โดยใช้แผนการทดลอง CCD ที่ 5 ปัจจัย ได้สมการทำนายผลผลิตดังนี้

ชีวมวล = 2.476 - 0.128 KNO_3 - 0.273 KH_2PO_4 + 5.39 $FeSO_4$ + 18.0 NaCl - 0.0430 Light + 0.1426 KNO_3*KNO_3 + 0.3385 KH2PO4*KH2PO4 + 40.6 $FeSO_4$*$FeSO_4$ + 12744 NaCl*NaCl l+ 0.000608 Light*Light - 0.117 KNO_3*KH_2PO_4 + 0.53 KNO_3*$FeSO_4$ - 7.5 KNO_3*NaCl + 0.00548 KNO_3*Light - 1.84 KH_2PO_4*$FeSO_4$ - 13.0 KH_2PO_4*NaCl - 0.00196 KH_2PO_4*Light- 625 $FeSO_4$*NaCl - 0.121 $FeSO_4$*Light - 2.20 NaCl*Light

กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต = 0.428 + 0.109 KNO_3 + 0.016 KH_2PO_4 + 0.01 $FeSO_4$ + 32.0 NaCl - 0.01506 Light + 0.0005 KNO_3*KNO_3 + 0.0259 KH_2PO_4*KH_2PO_4 - 8.06 $FeSO_4$*$FeSO_4$ + 917 NaCl*NaCl + 0.000182 Light*Light - 0.0432 KNO_3*KH_2PO_4 + 0.851 KNO_3*$FeSO_4$ - 8.45 KNO_3*NaCl+ 0.00010 KNO3*Light- 0.083 KH_2PO_4*$FeSO_4$ 7.19 KH2PO4*NaCl+ 0.00058 KH_2PO_4*Light- 200 $FeSO_4$*NaCl+ 0.0229 $FeSO_4$*Light - 0.345 NaCl*Light

กำลังผลิตไขมัน = -0.716 + 0.271 KNO_3 + 0.145 KH_2PO_4 + 7.06 $FeSO_4$ + 95.4 NaCl + 0.01510 Light - 0.0403 KNO_3*KNO_3 + 0.0002 KH_2PO_4*KH_2PO_4 + 6.0 $FeSO_4$*$FeSO_4$ + 4982 NaCl*NaCl + 0.000024 Light*Light - 0.0504 KNO3*KH_2PO_4 + 0.18 KNO_3*$FeSO_4$ - 9.6 KNO_3*NaCl - 0.00017 KNO_3*Light - 1.23 KH2PO4*FeSO4 - 16.0 KH_2PO_4*NaCl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

+ 0.00204 KH_2PO_4*Light - 687 $FeSO_4$*NaCl - 0.0672 $FeSO_4$*Light - 1.824 NaCl*Light

พิจารณาเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุดตามสมการทำนายผลจะใช้ ปริมาณ KNO_3 ที่ 2 กรัมต่อลิตร KH_2PO_4 ที่ 2 กรัมต่อลิตร $FeSO_4$ ที่ 0.1 กรัมต่อลิตร NaCl ที่ 0 กรัมต่อลิตร และ ความเข้มแสงที่ 69.1967 ไมโครโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที สามารถให้ชีวมวลที่ 3.4027 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตคาร์โบไฮเดรตที่ 0.7661 กรัมต่อลิตรต่อวัน และให้ผลผลิตไขมันที่ 1.0 กรัมต่อลิตรต่อวัน

สาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 เมื่อนำมาการคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต และผลผลิตไขมัน จากอาหารสูตร Chlorella medium ทั้งหมด 7 ปัจจัยพบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตที่ศึกษาและมีอิทธพลในทางบวกทั้งหมด 3 ปัจจัย คือ KNO_3, KH_2PO_4 และความเข้มแสง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* KMITL 2 โดยใช้แผนการทดลอง CCD ที่ 3 ปัจจัย ได้สมการทำนายผลผลิตดังนี้

ชีวมวล = 0.987 - 0.406 KNO_3 + 0.184 KH_2PO_4 + 0.00371 + 0.0236 KNO_3* KNO_3 + 0.0084 KH_2PO_4* KH_2PO_4 + 0.000008 Light intensity * Light intensity + 0.1925 KNO_3* KH_2PO_4 + 0.00882 KNO_3* Light intensity - 0.00439 KH_2PO_4*Light intensity

กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต = 0.1769 - 0.0764 KNO_3 - 0.0226 KH_2PO_4 - 0.00041 1 - 0.0037 KNO_3* KNO_3 - 0.0131 KH_2PO_4* KH_2PO_4 + 0.000010 1*1 + 0.0654 KNO_3 * KH_2PO_4 + 0.002025 KNO_3* Light intensity + 0.000968 KH_2PO_4* Light intensity

กำลังผลิตไขมัน = 0.167 - 0.014 KNO_3 + 0.099 KH_2PO_4 + 0.00537 1 - 0.0528 KNO_3* KNO_3 - 0.0656 KH_2PO_4* KH_2PO_4 - 0.000065 1*1 + 0.0571 KNO_3* KH_2PO_4 + 0.00260 KNO_3* Light intensity + 0.00061 KH_2PO_4* Light intensity

เมื่อพิจารณาจากสมการทำนายเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุดจะใช้ ปริมาณของปริมาณ KNO_3 ที่ 2.6.014 กรัมต่อลิตร KH_2PO_4 ที่2.6014 กรัมต่อลิตร ความเข้มแสง ที่ 84.1144 ไมโครโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที สามารถให้ชีวมวลที่ 3.2681 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตคาร์โบไฮเดรตที่ 0.9379 กรัมต่อลิตรต่อวัน และให้ผลผลิตไขมันที่ 0.6636 กรัมต่อลิตรต่อวัน

สาหร่าย *B. braunii* KMITL 5 เมื่อนำมาการคัดกรองปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีวมวล ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต และผลผลิตไขมัน จากอาหารสูตร Chlorella medium ทั้งหมด 7 ปัจจัยพบว่าปัจจัยที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีอิทธิพลต่อผลผลิตที่ศึกษาและมีอิทธพลในทางบวกทั้งหมด 2 ปัจจัย คือ KNO_3 และความเข้มแสง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* KMITL 5 โดยใช้แผนการทดลอง CCD ที่ 2 ปัจจัย ได้สมการทำนายผลผลิตดังนี้

ชีวมวล = 0.238 + 0.604 KNO_3 + 0.0096 Light intensity - 0.155 KNO_3*KNO_3 + 0.000067 Light intensity*Light intensity + 0.00643 KNO_3*Light intensity

กำลังผลิตคาร์โบไฮเดรต = 0.048 + 0.0104 KNO_3 + 0.00168 Light intensity - 0.0291 KNO_3*KNO_3+ 0.000001 Light intensity*Light intensity + 0.00406 KNO_3*Light intensity

กำลังผลิตไขมัน = 0.030 + 0.1173 KNO_3 + 0.00307 Light intensity - 0.0247 KNO_3*KNO_3 + 0.000003 Light intensity*Light intensity + 0.00193 KNO_3*Light intensity

จากผลการทำนายปริมาณของปัจจัยที่เหมาะสมต่อชีวมวล ผลผลิตคาร์โบไฮเดรต และผลผลิตน้ำมัน โดยพิจารณาจากผลผลิตทั้งหมด คือ ปริมาณ KNO_3 ที่ 2.3936 กรัมต่อ ความเข้มแสง ที่ 78.9999 ไมโครโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที สามารถให้ชีวมวลที่ 3.1810 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตคาร์โบไฮเดรตที่ 0.8147 กรัมต่อลิตรต่อวัน และให้ผลผลิตไขมันที่ 0.7951 กรัมต่อลิตรต่อวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2549. **การดูดซับโลหะหนักโดยสาหร่าย**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Amaro, H.M., A.C. Macedo and F.X. Malcata. 2012. "Microalgae: An alternative as sustainable source of biofuels". **Energy.** 44: 158-166.

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

Barker, A.V. and G.M. Bryson. 2007. **Nitrogen In Handbook of Plant nutrition**. Florida: CRC Press,.

Bekasova, O.D., A.A. Brekhovskikh and M.I. Moskvina. 2002. "Participation of extracellular polysaccharides in detoxification of cadmium ions by cyanobacteria *Nostoc muscorum*." **Biofizika.** 47 : 515:523.

Bertilson, S., O. Berglund , D.M. Karl and S.W. Chisholm. 2003. "Elemental composition of marine *Prochlorococcus* and *Synechococcus*: implications for the ecological stoichiometry of the sea." **Limnol. Oceanogr**. 48 : 1721–1731.
: 433-440.

Chen, K.C., M. Ren. and L. Kimberly. 2013. "Statistical optimization of culture media for growth and lipid production of *Chlorella protothecoides* UTEX 250". **Bioresour. Technol.** 128: 44-48.

Chisti, Y. 2007. "Biodiesel from microalgae." **Biotech. Adv**. 25: 294-306.

Fogg. 1955." Studies on fat accumu-lation by algae." **J. Exp. Bot**. 6:256- 275.

Converti, A., A.A. Casazza., E.Y.Ortiz., P. Perego and M.D. Borghi. 2009. "Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production." **Chem. Eng. Process: Process Intensification**.48: 1146–1151.

Eriksen, N.T. and L.J.J. Iversen. 1995. "Photosynthetic pigments as nitrogen stores in the cryptophyte alga *Rhodomonas* sp." **J. Mar. Biotechnol**. 3 : 193–195.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Epstein, E. and A.J. Bloom. 2005. **Mineral Nutrition of Plant: Principle and Perspectives.**, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers.

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

Imai, H., K.H. Chang and S.I. Nakano. 2009. "Growth Responses of Harmful Algal Species *Microcystis* (Cyanophyceae) under Various Environmental Conditions". **Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry-Environmental Research in Asia**, pp. 269–275.

Imanoglu, E., F.V. Sukan and M.C. Dalay. 2007. "Effect of different culture media and light intensities on growth of *Haematococcus pluvialis*". **Int. J. Natur. Eng. Sci**. 1 : 05-09.

Ji, F., R. Hao, Y. Liu, G. Li, Y. Zhou and R. Dong. 2013. "Isolation of a novel microalgae strain *Desmodesmus* sp. and optimization of environmental factors for its biomass production". **Bioresour. Technol.** 148: 249–254.

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

Lewin, R.A. 1962. InLewin, R.A.(ed.), Physiology and Biochemistry of Aae. London : Academic Press.

Lewitus, J.A. and D.A. Caron. 1990. "Relative effects of nitrogen or phosphorus depletion and light intensity on the pigmentation, chemical composition and volume of *Pyrenomonas salina* (Cryptophyceae)." **Mar. Ecol. Prog. Ser**. 61 : 171–181.

Liu, Z., G. wang and B. Zhou. 2008. "Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*". **Bioresour. Technol.** 99: 4717–4722.

Loogman, J.G., A.F. Post and L.R. Mur. 1980. "The influence of periodicity I light conditions as determined by the trophic state of the water, on the growth of the green alga *Scenedesmus proteberans* and the cyanobacterium *Oscillatoria agardhii*." **Hypertrophic. Ecosys**. pp. 79-82.

Malone, T.C., D.J. Conley, T.R. Fisher, P.M. Glibert and L.W. Harding. 1996. "Scales of nutrient-limited phytoplankton productivity in Cheasapeake Bay." **Estuaries**. 19 : 371–385.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mulbry, W., K. Shannon, P. Carolina and K.W. Elizabeth. 2008. "Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: Algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers". **Bioresour. Technol**. 99: 8137–8142.

Piorreck, M., K.H. Baasch and P. Pohl. 1984. "Biomass production, total protein, cholophyll, lipid and fatty acids of fresherwater green and blue green algae under different nitrogen regimes." **Phytochemistry**. 23 : 207-216.

Rao, A.R., C. Dayananda, R. Sarada, T.R. Shamala, G.A. Ravishankar. 2007. "Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents." **Bioresour. Technol**. 98, 560-564.

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

Sciandra, A., L. Lazzara, H. Claustre and M. Babin. 2000. "Response of growth rate, pigment composition and optical properties of *Cryptomonas* sp. to light and nitrogen stress." **Mar. Ecol. Prog. Ser**. 201 : 107–120.

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

Staates, N., L.J. Stal and L.R. Mur. 2000. "Exopolysaccharide production by the epipelic diatom *Cylindrotheca closterium*: effects of nutrient conditions." **Aqua. Toxicol**. 48 : 275-289.

Takagi, M., M. Karseno and T. Yoshida. 2006. "Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells." **J. Biosci. Bioeng**.101: 223-226.

Tsujimoto, R., H. Yamazaki, S.C. Maeda and T. Omata. 2007. "Distinct roles of nitrate and nitrite in regulation of expression of the nitrate transport gene in moss *Phycomitrella patens*." **Plant. Cell. Physiol**. 48 : 484-497.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Wang, D.I.C., C.L. Cooney, A.L. Demain, P. Dunhill, A.E. Humphrey and M. Lilly. 1979. "Fermentation and Enzyme Technology." New York : John Wiley and Sons.

Widjaja, A., C.C. Chien and Y.H. Ju. 2009. "Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*." **J. Taiwan Inst. Chem. Eng.** 40: 13-20.

Xie, T., Y. Sun, K. Du, B. Liang, R. Cheng and Y. Zhang. 2012. "Optimization of heterotrophic cultivation of *Chlorella* sp. for oil production". **Bioresour. Technol**. 118: 235-242.

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

Yeesong, C. and B. Cheirsilp. 2011. "Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand". **Bioresource Technology**. 102: 3034-3040.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายพัฒนศักดิ์ ชิวปรีชา
วัน เดือน ปีเกิด	15 มิถุนายน 2533
ที่อยู่	94/4 หมู่ 6 ตำบลห้วยจรเข้ อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม73000
ความชำนาญเฉพาะด้าน	สาหร่ายวิทยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้