

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- ประสิทธิ์ ตงยั้งศิริ. 2540. การวิเคราะห์และประเมินโครงการ. พิมพ์ครั้งที่ 6. โครงการส่งเสริมเอกสารวิชาการ. สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.
- เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต, สุชนา วิเศษสังข์, สมเกียรติ ปิยะธีรธิตวิรกุล, วรณา คุณยภัณฑ, สมภพ รุ่งสุภา, สรวิศ เผ่าทองสุข และ ประสาท กิตตะคุปต์. 2537. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ การเพาะเลี้ยง *Dunaliella* เพื่อผลิต *Betacarotene*. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สมศรี อรุณินท. 2536. ดินเค็ม. กลุ่มปรับปรุงดินเค็ม, กองอนุรักษ์ดินและน้ำ, กรมพัฒนาที่ดิน, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- อรุณี ยูวะนิยม. 2536. ดินเค็ม : ดินเค็มภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. กลุ่มปรับปรุงดินเค็ม, กองอนุรักษ์ดินและน้ำ, กรมพัฒนาที่ดิน, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ภาษาอังกฤษ

- Anon. 1983. Effect of pH on *Dunaliella bardawil* Biomss and Production of Carotenoids. **News Quarterly , Sanitary Engineering and Environmental Health Research Laboratory, University of California , Berkeley.**
- Bauernfeind , J. C. 1981. **Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors.** New York : Academic Press.
- Ben-Amotz, A. 1995. New Mode of *Dunaliella* Biotechnology : Two-phase Growth for Beta-carotene Production. **Journal of Applied Phycology.** 7:65-68.
- Ben-Amotz, A. and Avron, M. 1981. Glycerol and Beta-carotene Metabolism in the Halotolerant Alga *Dunaliella* : a Model System for Biosolar Energy Conversion. **Trends Biochem Sci.** 6 : 297-299.

- Ben-Amotz, A. and Avron, M. 1983. On the Factors Which Determine Massive Beta-carotene Accumulation in the Halotolerant Alga Dunaliella bardawil. **Plant Physiol.** 72:593-597.
- Ben-Amotz, A. and Avron, M. 1990. The Biotechnology of Cultivating the Halotolerant Alga Dunaliella. **Trends in Biotechnology.** 8(5): 121-126.
- Ben-Amotz, A., Grassel, J. and Avron, M, 1987. Massive Accumulation of Phytoene Induced by Norflurazon Dunaliella bardawil (Chlorophyceae) Prevents Recovery from Photoinhibition. **J. Phycol.** 23 : 176-181.
- Ben-Amotz, A. Katz, A. and Avron, M. 1982. Accumulation of Beta-carotene in Halotolerant Algae : Purification and Characterisation of Beta-carotene-rich Globules from Dunaliella bardawil (Chlorophyceae). **Journal of Phycology.** 18 : 529-537.
- Ben-Amotz, A., Lers, A. and Avron, M. 1988. Stereoisomers of Beta-carotene and Phytoene in the Alga Dunaliella bardawil. **Plant Physiol.** 86 : 1286-1291.
- Ben-Amotz, A., Shaish, A. and Avron, M. 1989. Mode of Action of the Massive Accumulated Beta-carotene of Dunaliella bardawil in Protecting the Alga against Damage by Excess Irradiation. **Plant Physiol.** 91 : 1040-1043.
- Benemann, J. R., Tillett, D. M. and Weissman, J. C. 1987. Microalgae Biotechnology. **Tibtech.** Feb. Vol. 5 : 47-53.
- Bold, H. C. and Wynne, M. J. 1978. **Introduction to the Algae : Structure and Reproduction.** New Jersey : Prentice-Hall.
- Borowitzka, L. J. 1981. The Microflora. Adaptations to Life in Extremely Saline Lakes. **Hydrobiologia.** 81 : 33-46.
- Borowitzka, M. A. 1991. Standard Methods for Total Carotenoid Assay Suitable for Dunaliella salina. In A. Vonshak and M. A. Borowitzka (eds.), **Laboratory Manual : Research Seminar and Workshop on Mass Cultures of Microalgae.** Silpakorn University, Thailand, Nov.
- Borowitzka, M. A. and Borowitzka, L. J. 1988a. Dunaliella. In M. A. Borowitzka and L. J. Borowitzka (eds.), **Micro-algal Biotechnology,** Cambridge : Cambridge University Press. pp. 27-58.

- Borowitzka, M. A. and Borowitzka, L. J. 1988b. Limits to Growth and Carotenogenesis in Laboratory and Large-Scale Outdoor Cultures of *Dunaliella salina*. In T. Stadler, J. Mollion, M. C. Verdus, Y. Karamanos, H. Morvan and D. Christiaen (eds.), **Algal Biotechnology**. Elsevier Applied Science publisher, Ltd. pp. 371-381.
- Borowitzka, L. J. and Borowitzka, M. A. 1990. Commercial Production of Beta-carotene by *Dunaliella salina* in Open Pond. **Bulletin of Marine Science**. 47(1):244-252.
- Borowitzka, M. A., Post, F. and Borowitzka, L. J. 1982. The Life Cycle of *Dunaliella salina*. **Australasian Society for Phycology and Aquatic Botany, Annual Meeting Abstracts**. p. 6.
- Borowitzka, L. J., Borowitzka, M. A. and Moulton, T. P. 1984. The Mass Culture of *Dunaliella salina* for Fine Chemicals : from Laboratory to Pilot Plant. **Hydrobiologia**. 116/117 : 115-121.
- Cintron, I. 1993. Beta-carotene Growth, Demand, Output gain. **Chemical Marketing Report** 243(1), Jan 4. p.21-21.
- Cordero, M., Enrico, Y. and Erazo, S. 1990. Intensive Culture of A *Dunaliella salina* Isolated from The Chilean Desert. **Proceeding of International Seminar on Biotechnology of Saltpond, China**, Sep 18-21. pp. 16-22.
- Dunal, M. F. 1837. Note sur les algues qui colorent en rouge certaines eaux des marais salants méditerranéens. **Comptes Rendus de la Académie de Science, Paris**. 15:585-587.
- Gannon, K. 1993. Beta-carotene Give Lift to Nutrition Market Sales. **Drug Topics** 137(17), p 6. pp. 28-33.
- Gibor, A. 1956. The Culture of Brine Algae. **Biological Bulletin, Woods Hole**. 3 : 223- 229.
- Goodwin, T. W. 1980. **The Biochemistry of Carotenoids**. 2nd Ed. vol 1. London : Chapman and Hall.
- Hamburger, C. 1908. Zur Kenntnis der *Dunaliella salina* und einer Amöbe aus Salinenwasser von Cagliari. **Archiv für Protistenkunde**. 6: 111-130.

- Henriksen, R. 1989. Reprinted with Permission from **Earth Food Spirulina**, Ranore Enterprises, Inc.
- Junmin, P. 1990. Effects of Environmental Factors on the Growth and Pigment of the Brine alga, *Dunaliella salina*. **Proceeding of International Symposium on Biotechnology of Saltpond, China**, Sep.pp.18-21.
- Klut, M. E., Bisalpultra, T. and Antia, N. J. 1983. Agglutination of the Chlorophycean Flagellate *Dunaliella tertiolecta* by Treatment with Lectins or Divalent Cation at Alkaline pH. **Journal of Phycology**. 19:112-115.
- Labbé, A. 1923. Les cycles biologiques des *Dunaliella*. **Archives d' anatomie microscopique**. 21: 313-399.
- Lerche, W. 1937. Untersuchungen über die Entwicklung und Fortpflanzung in der Gattung *Dunaliella*. **Archiv für Protistenkunde**. 88: 236-239.
- Liangchen, G. 1990. Large-Scale Culture of *Dunaliella* and Its Applications. **Proceeding of International Seminar on Biotechnology of Saltpond, China**, Sep 18-21. pp. 23-30.
- Loeblich, L.A. 1982. Photosynthesis and Pigments Influenced by Light Intensity and Salinity in the Halophile *Dunaliella salina* (Chlorophyta). **J. Mar. Biol. Ass. U.K.** 62:493-508.
- Margulis, L., Barghoorn, E. S., Ashendorf, D., Banerjee, S., Chase, D., Francis, S., Giovanonni, S. and Stolz, J. 1980. The Microbial Community in the Layered Sediment at Laguna Figueroa, Baja California, Mexico : Does it have Precambrian analogues? **Precambrian Research**. 11 : 93-123.
- Massyuk, N. P. 1966. Mass Culture of the Carotene-bearing Alga *Dunaliella salina* Teod. **Ukranskya Botanichnya Zhournal**. 23 : 12-19.
- Massyuk, N. P. 1973. **Morphology, Taxonomy, Ecology and Geographic Distribution of the Genus *Dunaliella* Teod and Prospects for its Potential Utilisation**. Kiev : Naukova Dumka.
- Mil'ko, E. S. 1962. Study of the Requirements of Two *Dunaliella* spp. in Mineral and Organic Components of the Medium. **Moscow University Vestnik, Biologiya**. 6 : 21-3.

- Moulton, T. P., Sommer, T. R., Burford, M. A. and Borowitzka, L. J. 1987. Competition Between *Dunaliella* Species at High Salinity. **Hydrobiologia**. 151/152 : 107-116.
- Noro, T. 1981. Effect of Mn on the Growth of a Marine Green Alga, *Dunaliella tertiolecta*. **Japanese Journal of Phycology**. 26 : 69-72.
- Oliviera, L., Bisalpultra, T. and Antia, N. J. 1980. Ultrastructural Observation of the Surface Coat of *Dunaliella tertiolecta* from Staining with Cationic Dyes and Enzyme Treatments. **New Phytologist**. 85:385-392.
- Oswald, W. J. 1988. Large-scale Algal Culture Systems (Engineering Aspects). In M. A. Borowitzka and L. J. Borowitzka (eds.), **Micro-algal Biotechnology**, Cambridge : Cambridge University Press. pp. 357-394.
- Peterfi, L. S. and Manton, I. 1968. Observation with the Electron Microscope on *Asteromonas gracilis* Atari emend. (*Stephanoptera gracilis* (Atari) Wisl.) with some Comparative Observations on *Dunaliella* sp. **British Phycological Bulletin**. 3:423-440.
- Powtongsook, S. 1993. **Strain Selection and Culture of *Dunaliella salina* (Chlorophyceae) for Beta-carotene Production**. A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of The Requirements for the Degree of Master of Science. Department of Marine Science, Chulalongkorn University.
- Riisgard, H. U. 1981. Cell-volume Responses in the Naked Marine Flagellate *Dunaliella marina* Transferred from Darkness to Light to Different Intensities. **Botanica marina**. 24:657-659.
- Semenenko, V. E. and Abdullaev, A. A. 1980. Parametric Control of Beta-carotene Biosynthesis in *Dunaliella salina* Cells Under Conditions of Intensive Cultivation. **Fiziologiya Rastanii**. 27:31-41.
- Shaish, A., Avron, M. and Ben-Amotz, A. 1990. Effect of Inhibitors on the Formation of Stereoisomers in the Biosynthesis of Beta-carotene in *Dunaliella bardawil*. **Plant Cell Physiol**. 31 : 689-696.

- Smith, G. M. 1933. **The Fresh-water Algae of the United States**. New York : McGraw-Hill Book Company.
- Sinaruwong, S. and Takaya, Y. 1974. Saline Soils in Northeast Thailand. **Southeast Asian-Studies**. 12 : 105-120.
- Tanticharoen, M. 1994. Chemical from Microalgae. In **Microalgal Biotechnology Workshop**. King Mongkut's Institute of Technology Thonburi (KMITT), Thailand, December 6-9.
- Teodoresco, E. C. 1905. Organisation et développement du *Dunaliella* nouveau genre de Volvocacée- Polyblepharidée. **Botanisches Zentralblatt, Beihefte**. 18:215-232.
- Teodoresco, E. C. 1906. Observations morphologiques et biologiques sur le genre *Dunaliella*. **Revue générale de Botanique**. 18 : 353-371.
- UNIDO, 1972. **Guidelines for Project Evaluation**. New York : United Nations Publication.
- Vonshak, A. 1994. Recent Advances in Microalgal Biotechnology. In **Microalgal Biotechnology Workshop**. King Mongkut's Institute of Technology Thonburi (KMITT), Thailand, December 6-9. pp. A1-A16.
- Wongsomsak, S. 1986. Salinization in Northeast Thailand. **Southeast Asian-Studies**. 24 : 133-153.
- Wegmann, K., Ben-Amotz, A. and Avron, M. 1980. Effect of Temperature on Glycerol Retention in the Halotolerant Algae *Dunaliella* and *Asteromonas*. **Plant Physiology**. 66 : 1196-1197.
- Yurina, E. V. 1966. Experiment on Cultivation of the Halobiontic Algae *Asteromonas gracilis* Artari and *Dunaliella salina* Teod. **Moscow University Vestnik, Biologiya**. 21: 76-83.
- Zarborsky, O. R. 1985. Feeds from *Spirulina* : Process Engineering and Genetic Engineering Analysis of Co-products, **OMEC International, Inc.**

ภาคผนวก

**ภาคผนวกที่ 1. Modified Johnson'S medium (J/1) for *Dunaliella* spp.
(Borowitzka, 1988)**

to 980 ml of distilled water add :

NaCl	as needed to obtain required salinity	
MgCl ₂ .6H ₂ O	1.5	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5	g
KCl	0.2	g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.2	g
KNO ₃	1.0	g
NaHCO ₃	0.043	g
KH ₂ HPO ₄	0.035	g
Fe-solution	10	ml
Trace-element solution	10	ml

Fe-solution (for 1 liter)

Na ₂ EDTA	189	mg
FeCl ₃ .6H ₂ O	244	mg

autoclave to dissolve

Trace-element Solution (for 1 liter)

H ₃ BO ₃	61.0	mg
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	38.0	mg
CuSO ₄ .4H ₂ O	6	mg
CoCl ₂ .6H ₂ O	5.1	mg
ZnCl ₂	4.1	mg
MnCl ₂ .4H ₂ O	4.1	mg

adjust pH to 7.5 with HCl

ภาคผนวกที่ 2 Specific growth rate and Division time

(calculated by the following equations (Schoen, 1988))

$$\text{Specific growth rate } (\mu) = \frac{\ln (X_2 - X_1)}{t_2 - t_1}$$

X_2 and X_1 are the number of cells at time 2 (t_2) and time 1 (t_1) in day .

Division time, is the time required for cell division (in days) and can be calculated from the growth rate

$$\text{Division time} = \frac{0.6931}{\text{Specific growth rate}}$$

ภาคผนวกที่ 3. Total Carotenoid assay (Borowitzka, 1991)

(suitable for Dunaliella salina)

1. Filter 10 - 20 ml of culture volume through a glass fibre filter
2. Cut the dry filter into small pieces and add 10 ml 90% (v/v) cold acetone containing a little $MgCO_3$
3. Store filter in 90% acetone in the dark and on ice until assayed
4. Grind filter and then Transfer to graduated glass centrifuge tube and centrifuge at 3000 - 5000 rpm for 2-3 min
5. Measure volume of supernatant and measure absorbance at 452 nm
6. Calculate the total carotenoid content (in $ug.ml^{-1}$ culture volume) by using the following equation

$$\text{Total Carotenoids} = \text{ABS}_{452} \times 3.86 \times \frac{\text{Total Vol of extract(ml)}}{\text{Total Vol of Culture Sample (ml)}}$$

ภาคผนวกที่ 4. Ash free dry weight (AFDW) determination.

Pretreatment

1. Precombust Whatman GF/C filters at 100°C for 1 h.
2. Store filters in vacuum desiccator over KMnO_4 crystals until use.

Dry weight Determination

1. Carefully weigh precombusted filters to 4 decimal places.
2. Place filters in filter unit and filter culture until filter appears completely dry.
3. Wash filter with 10 ml of isotonic ammonium formate solution (0.65 M for marine spp.)
4. Remove filter from filter unit and dry at 100 °C for 1 h and then place in vacuum desiccator over KMnO_4 over night.
5. Weigh dried filter containing algae to 4 decimal places.

Dry weight = (weight of filter plus algae)-(weight of filter)

Ash-free dry weight (organic dry weight) determination

1. take filters from above dry weight determination and ash at 450°C for 5 h.
2. Cool filters in a vacuum desiccator over KMnO_4
3. Rapidly and carefully weight filter.

Ash-free dry weight = Dry weight - Weight after ashing.

ภาคผนวกที่ 5. ค่าใช้จ่ายจากการทดลองเพื่อนำไปประเมินความคุ้มค่าต่อการลงทุน
(ปีที่ 1 ของโครงการ พ.ศ. 2540)

1. ค่าใช้จ่ายคงที่ 5 ปี

1.1. ค่าใช้จ่ายในการทำบ่อทดลอง

- อิฐบล็อก	2,660	บาท
- ทราช	1,300	บาท
- หินกรวด	1,000	บาท
- ปูนซีเมนต์	8,496	บาท
- สีสีฟ็อกซ์	4,500	บาท
- ทินเนอร์	751	บาท
- ค่าจ้างช่าง	10,000	บาท
- อื่น ๆ	469	บาท

1.2. อุปกรณ์เพื่อช่วยหมุนใบพัด

- มอเตอร์ไฟฟ้า	2,300	บาท
- มูเลย์	640	บาท
- เกียร์ทด	3,000	บาท
- ตุ๊กตา	2,280	บาท
รวมทั้งหมด	37,396	บาท

ภาคผนวกที่ 5 (ต่อ) ค่าใช้จ่ายจากการทดลองเพื่อนำไปประเมินความคุ้มค่าต่อการลงทุน
(ปีที่ 1 ของโครงการ พ.ศ. 2540)

2. ค่าใช้จ่ายคงที่ 3 ปี (ค่าใช้จ่ายในการทำไบพัต)

- เหล็ก	3,905	บาท
- นอต	82	บาท
- กิ่งเพลลา	400	บาท
- ค่าจ้างช่าง	7,500	บาท
- ปูนน้ำ	1,800	บาท
รวมทั้งหมด	13,687	บาท

3. ค่าใช้จ่ายในการดำเนินงาน (คิดปีต่อปี)

3.1. ค่าใช้จ่ายในการดำเนินงาน ปีที่ 1 (พ.ศ. 2540)

- น้ำจืด	3,150	บาท
- น้ำเกลือสินเธาว์	17,850	บาท
- ค่าไฟฟ้า	3,021.32	บาท
- สารส้ม	165	บาท
- ค่าเช่าที่	7,000	บาท
รวมทั้งหมด	31,186.32	บาท

3.2. ค่าใช้จ่ายในการดำเนินงาน ที่คาดว่าจะเกิดขึ้น ในปี 2-5

- น้ำจืด	3,150	บาท
- น้ำเกลือสินเธาว์	83,300	บาท
- ค่าไฟฟ้า	3,021.32	บาท
- สารส้ม	741	บาท
- ค่าเช่าที่	7,000	บาท
รวมทั้งหมด	97,212.32	บาท

ประวัติผู้เขียน

นางสาวนิศาชล แสนละมุล เกิดวันที่ 10 สิงหาคม 2513 ที่จังหวัดสกลนคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาประมง จากคณะเกษตรศาสตร์บางพระ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล เมื่อปีการศึกษา 2535 และศึกษาคือในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2537 โดยได้รับการสนับสนุนเงินทุนการวิจัยจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

