

ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์  
เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง



นางสาว ฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

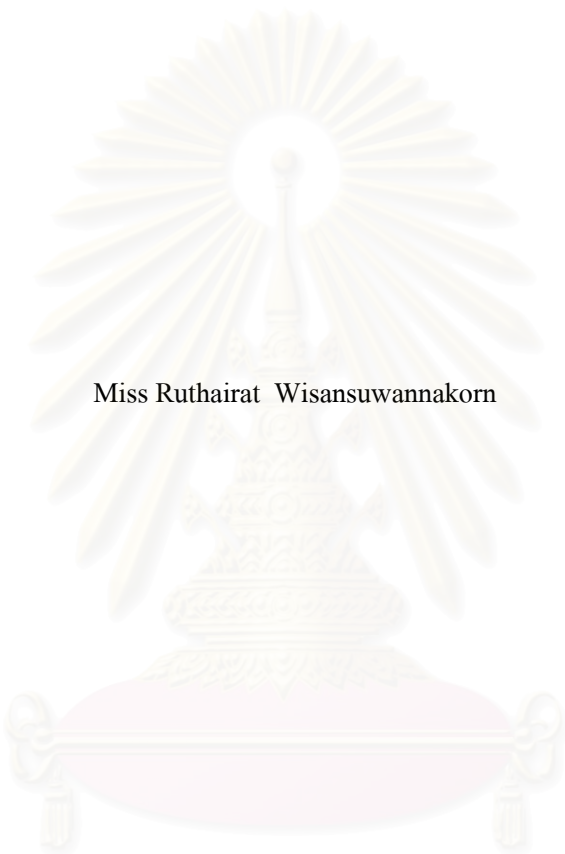
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-3337-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

OPTIMAL CONDITIONS FOR GROWTH OF *Chlorella* sp. BY USING CARBON DIOXIDE  
AS A CARBON SOURCE IN PHOTOBIOREACTOR

Miss Ruthairat Wisansuwannakorn



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science


Chulalongkorn University

Academic Year 2005

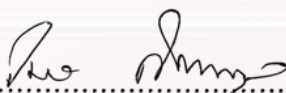
ISBN 974-14-3337-9

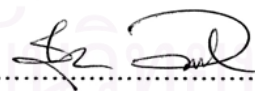
หัวข้อวิทยานิพนธ์	ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง
โดย	นางสาว ฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเชียร
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.พรพจน์ เปี่ยมสมบูรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

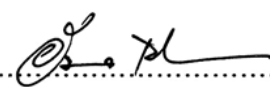
  
..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนศิริกุล)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเชียร)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพจน์ เปี่ยมสมบูรณ์)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์)

นตยา งามโรจนวิชัย  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.นตยา งามโรจนวิชัย)

ฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร: ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง (OPTIMAL CONDITIONS FOR GROWTH OF *Chlorella* sp. BY USING CARBON DIOXIDE AS A CARBON SOURCE IN PHOTOBIOREACTOR อ. ที่ปรึกษา: ผศ.ดร. สุเมธ ต้นตระเชียร, อ. ที่ปรึกษาร่วม: รศ.ดร.พรพจน์ เปี่ยมสมบูรณ์ และ ผศ.ดร.อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์, 136 หน้า. ISBN 974-14-3337-9

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของความเข้มแสง ( $60$   $240$  และ  $540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในก๊าซผสม ( $10\%$  และ  $20\%$ ) เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ต่อการเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงขนาด  $20$  ลิตร ที่ใส่อาหารเลี้ยงสาหร่ายปริมาตรรวม  $15$  ลิตร กวนด้วยใบพัดความเร็ว  $100$  รอบต่อนาที อัตราการไหลของก๊าซผสมเท่ากับ  $0.013$  vvm ระยะเวลาในการให้แสงสลับมืด  $12:12$  ชั่วโมง พบว่า ความเข้มแสงเป็นปัจจัยเดียวที่มีอิทธิพลต่อการเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย โดยไม่พบอิทธิพลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อเพิ่มความเข้มแสงจาก  $60$  เป็น  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  มีผลทำให้สาหร่ายมีอัตราการเติบโตสูงขึ้น และพบว่าจะไม่เพิ่มขึ้นอีกแม้ว่าจะได้รับความเข้มแสงสูงขึ้น โดยภาวะที่สาหร่ายมีอัตราการเติบโตสูงสุด คือ การได้รับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์  $10\%$  โดยมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ  $2.48$  ต่อวัน นอกจากนี้ยังได้เสนอสมการจลนศาสตร์การเติบโตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพนี้ โดยมีค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการประมาณค่า คือ  $\mu_{max}$  และ  $K_I$  โดยมีค่าเท่ากับ  $1.16$  ต่อวัน และ  $12.7 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์สาหร่ายพบว่า ความเข้มแสงยังคงเป็นปัจจัยเดียวที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตภายในเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. โดยการเพิ่มความเข้มแสงมีผลทำให้ปริมาณไขมันมีค่าลดลง ในขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มขึ้น

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ.....ลายมือชื่อนิสิต.....ฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร.....  
ปีการศึกษา.....2548.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

# # 4572458223: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORD: *Chlorella* sp. / CARBON DIOXIDE / BIOCHEMICAL COMPOSITION

RUTHAIRAT WISANSUWANNAKORN: OPTIMAL CONDITIONS FOR GROWTH OF *Chlorella* sp. BY USING CARBON DIOXIDE AS A CARBON SOURCE IN PHOTOBIOREACTOR

THESIS ADVISOR: ASST. PROF. SUMATE TANTRATIAN, Ph.D.,

THESIS COADVISOR: ASSOC. PROF. PORNPOTE PIUMSOMBOON, Ph.D., AND

ASST. PROF. AJCHARAPORN PIUMSOMBOON, Ph.D., 136 pp.

ISBN 974-14-3337-9

The effect of light intensity (60 240 and 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) and carbon source as carbon dioxide (10% and 20%) on the growth and biochemical compositions of the microalga *Chlorella* sp. were investigated. The *Chlorella* sp. was cultivated in a 20 litre photobioreactor contained 15 litre media, stirred with single impeller agitator at 100 rpm. The carbon dioxide mixed gas was feed into the system at 0.013 vvm . The system was set in a cabinet and luminated every other 12 hrs. The results indicated that only light intensity effected on growth and biochemical compositions of the microalga. Increasing light intensity from 60 to 240  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  increased the specific growth rate ( $\mu_{max}$ ), however 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  had no effect on growth. The highest specific growth rate was found when the microalga was cultivated under 240  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  and 10% carbon dioxide. The growth parameter estimation can be calculated as  $\mu_{max}$  and  $K_I$  were 1.16  $\text{day}^{-1}$  and 12.7  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , respectively.

The biochemical compositions, total fat and total carbohydrate content, in the microalga cells also effected only light intensity. The increase of total carbohydrate was found when increasing light intensity and was conversely with total fat.

Field of study.....Biotechnology.....Student's signature.....*Ruthairat Wisansuwannakorn*  
 Academic year.....2005.....:.....Advisor's signature.....*Sumate Tantratian*  
 Co-advisor's signature.....*Pornpote Piumsomboon*  
 Co-advisor's signature.....*Ajcharaporn Piumsomboon*

## กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเชียร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.พรพจน์ เปี่ยมสมบูรณ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัครภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางการทำงานวิจัย ให้ความเห็นในการปรับปรุงงานวิจัยให้สำเร็จโดยสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รณณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.นาตยา งามโรจนวิชัย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความเห็น และคำแนะนำในการจัดทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ อ.วิชญา กันบัว ที่ให้คำแนะนำด้านวิชาการในเรื่องการวิเคราะห์หั่งควัดด้วย HPLC

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ช่วยเหลือให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ เจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเคมีเทคนิค และภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ที่ให้ความช่วยเหลือด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย ตลอดจนคำแนะนำต่าง ๆ ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนนิสิตที่ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้เสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ที่มีส่วนช่วยเหลือให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจให้สามารถทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีรวมทั้งพี่และน้องสาวที่เป็นกำลังใจให้เสมอมา



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ฉ
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง .....	ฌ
สารบัญภาพ .....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ.....	ฒ
<b>บทที่</b>	
1 บทนำ .....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 การสังเคราะห์แสงและการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	4
2.2 ลักษณะทางชีววิทยาของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ....	8
2.3 การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก.....	9
2.4 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	13
2.5 ผลของการปรับภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงต่อการเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	20
2.6 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบกะ (Batch culture).....	22
2.7 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบกะ (Batch culture) ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง.....	24
3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย.....	27
3.1 สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการวิจัย.....	27
3.2 ปฏิกรณ์ชีวภาพแสงและระบบเพาะเลี้ยงสาหร่าย.....	27
3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์อื่น ๆ .....	31
3.4 ขั้นตอนและวิธีการวิจัย .....	33

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	39
4.1 ผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอน ไดออกไซด์ต่อการเติบโตของ สาหร่าย <i>Chlorella</i> sp.....	39
4.2 ผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอน ไดออกไซด์ต่อองค์ประกอบ ทางชีวเคมีของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ....	55
4.3 องค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ในระยะการเติบโต ต่างกัน.....	63
4.4 ชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ....	64
4.5 ภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อจุดมุ่งหมายในการเพาะเลี้ยงต่างกัน.....	66
4.6 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการทำนายการเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ....	68
5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ .....	74
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	74
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	75
รายการอ้างอิง .....	76
ภาคผนวก .....	83
ภาคผนวก ก .....	84
ภาคผนวก ข .....	86
ภาคผนวก ค .....	88
ภาคผนวก ง .....	92
ภาคผนวก จ .....	100
ภาคผนวก ฉ .....	107
ภาคผนวก ช .....	112
ภาคผนวก ซ .....	113
ภาคผนวก ฅ .....	130
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	136



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย.....	10
2.2 กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย.....	10
2.3 ชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเซลล์ของสาหร่าย.....	11
2.4 น้ำตาลหลักที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย.....	13
4.1 การเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ที่ภาวะการทดลองต่าง ๆ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3).....	40
4.2 การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์อิสระในอาหารเลี้ยงสาหร่ายที่ภาวะการทดลองต่าง ๆ .....	53
4.3 องค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ.....	55
4.4 ปริมาณลูทีนและคลอโรฟิลล์-เอ (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) และสัดส่วนของลูทีนต่อคลอโรฟิลล์-เอ ภายในเซลล์ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ..	60
4.5 องค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ในระยะการเติบโตของสาหร่ายที่ต่างกัน (ภาวะในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย คือที่ระดับความเข้มแสง $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%).....	63
4.6 ชนิดของกรดอะมิโนที่พบเป็นองค์ประกอบในโปรตีนของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ....	65
4.7 ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อจุดมุ่งหมายในการเพาะเลี้ยงที่ต่างกัน.....	67
4.8 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่คำนวณได้จากแบบจำลองที่แต่ละระดับความเข้มแสง.....	69
4.9 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่ได้จากการทดลองและค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่ประมาณได้ที่แต่ละระดับความเข้มแสง.....	70
ก อาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร NSIII (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์).....	84
ง-1 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ.....	93
ง-2 น้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่ายในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ.....	94

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ง-3	ค่า pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่ายในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ.....	95
ง-4	ค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระของอาหารเลี้ยงสาหร่ายในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ.....	96
ง-5	ค่าอัลคาลินิตีของอาหารเลี้ยงสาหร่ายในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ.....	97
ง-6	อุณหภูมิของตัวอย่างสาหร่าย ณ เวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ.....	98
ง-7	ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต (%น้ำหนักแห้ง) และปริมาณลูทีนและคลอโรฟิลล์-เอ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ	99
ช-1	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายเนื่องมาจากความเข้มแสง และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์.....	119
ช-2	ค่าเฉลี่ยของอัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง.....	119
ช-3	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเนื่องมาจาก ความเข้มแสง และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์.....	120
ช-4	ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง.....	120
ช-5	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงต่างกัน.....	121
ช-6	ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ.....	121
ช-7	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงต่างกัน.....	122
ช-8	ค่าเฉลี่ยของปริมาณไขมันที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ.....	122
ช-9	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงต่างกัน.....	123

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ซ-10	123
ซ-11	124
ซ-12	124
ซ-13	125
ซ-14	125
ซ-15	126
ซ-16	126
ซ-17	127
ซ-18	127
ซ-19	128
ซ-20	128
ซ-21	129
ซ-22	129
ฉ-1	135

สารบัญญภาพ

รูปที่	หน้า
2.1	5
2.2	7
2.3	9
2.4	14
2.5	17
2.6	24
3.1	27
3.2	28
3.3	29
3.4	29
3.5	30
3.6	31
4.1	41
4.2	41
4.3	45
4.4	49
4.5	50
4.6	51
4.7	54
4.8	57
4.9	61

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า	
4.10	เปรียบเทียบความหนาแน่นเซลล์ระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการคำนวณในภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 60 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .....	70
4.11	เปรียบเทียบความหนาแน่นเซลล์ระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการคำนวณในภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 240 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .....	71
4.12	เปรียบเทียบความหนาแน่นเซลล์ระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการคำนวณในภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 60 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .....	71
ค-1	กราฟมาตรฐานสำหรับการคำนวณความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรต.....	88
ค-2	กราฟมาตรฐานสำหรับการคำนวณความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์-เอ.....	91
จ-1	การเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella</i> และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง 60 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 10%.....	101
จ-2	การเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella</i> และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง 60 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 20%.....	102
จ-3	การเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella</i> และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง 240 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 10%.....	103
จ-4	การเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella</i> และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง 240 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 20%.....	104
จ-5	การเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella</i> และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง 540 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 10%.....	105
จ-6	การเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella</i> และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง 540 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 20%.....	106
ฉ-1	โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานคลอโรฟิลล์-เอ จากเครื่อง HPLC ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ (0.803 3.562 และ 8.599ng/ $\mu\text{l}$ ).....	107



## สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
ฉ-2	โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานคลอโรฟิลล์-เอ ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ที่ได้จากเครื่อง UV-Visible spectrophotometer..... 108
ฉ-3	ตัวอย่างโครมาโตแกรมที่แสดงองค์ประกอบของรงควัตถุภายในเซลล์ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. (ที่ภาวะในการเลี้ยงคือ ระดับความเข้มแสง $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%)..... 111
ช-1	โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่ายที่วิเคราะห์โดยใช้ HPLC (ผลการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ของสาหร่ายตัวอย่างที่ 1) (ภาวะในการเพาะเลี้ยง คือที่ระดับความเข้มแสง $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%)..... 112
ช-2	โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่าย วิเคราะห์โดยใช้ HPLC (ผลการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ของสาหร่ายตัวอย่างที่ 2) (ภาวะในการเพาะเลี้ยง คือการได้รับความเข้มแสง $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%)..... 114
ช-3	โครมาโตแกรมมาตรฐานของกรดอะมิโนทั้ง 3 ความเข้มข้น สำหรับการวิเคราะห์กรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่ายด้วยวิธี HPLC..... 116
ฅ-1	ระยะเวลาในการเลี้ยง (t) และความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย (X)..... 131
ฅ-2	ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการคำนวณโดยใช้ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่กำหนดขึ้น..... 131
ฅ-3	คำนวณหาค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองและค่ากำลังสองของสัมประสิทธิ์สหพันธ์ ( $R^2$ )..... 132
ฅ-4	ค้นหาค่าเป้าหมายโดยการกำหนดให้ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเข้าใกล้ศูนย์โดยการเปลี่ยนค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่ได้กำหนดขึ้น..... 132
ฅ-5	ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่คำนวณได้ที่ระดับความเข้มแสง $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ..... 133
ฅ-6	ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่คำนวณได้ที่ระดับความเข้มแสง $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ..... 133
ฅ-7	ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่คำนวณได้ที่ระดับความเข้มแสง $540 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ..... 134
ฅ-8	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $1/I$ และ $1/\mu$ เพื่อนำไปประมาณค่า $K_I$ และ $\mu_{max}$ ..... 135

## คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ

$\mu_{\max}$	ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (ต่อวัน)
$\mu$	ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)
$X$	ความหนาแน่นของเซลล์สำหรับย (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
$X_0$	ความหนาแน่นของเซลล์สำหรับย ณ เวลาเริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
$X_t$	ความหนาแน่นของเซลล์สำหรับย ณ เวลา $t$
$t$	ระยะเวลาในการเลี้ยง (วัน)
$I$	ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )
$K_I$	ค่าคงที่อิ่มตัวของแสง ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )
$T$	อุณหภูมิ
$S$	สารอาหาร
$P_{\max}$	อัตราการสังเคราะห์แสงสูงสุด
$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที
$\text{mgCO}_2/\text{l}$	มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร
$\text{mgCO}_3/\text{l}$	มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร
$\text{pg}/\text{cell}$	พิโกกรัมต่อเซลล์

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO<sub>2</sub>) ในชั้นบรรยากาศของโลกยังคงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงส่งผลกระทบต่อการเกิดปรากฏการณ์ทางธรรมชาติที่มีความแปรปรวนมากขึ้นทุกขณะ การเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ดังกล่าวมีสาเหตุสำคัญมาจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิล ได้แก่ ถ่านหิน น้ำมัน และก๊าซธรรมชาติ เชื้อเพลิงเหล่านี้นิยมใช้เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในการคมนาคมขนส่งและโรงงานอุตสาหกรรม โดยทั่วไปก๊าซเสียที่เกิดจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงเหล่านี้จะประกอบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10-20% ซึ่งมีความเข้มข้นมากกว่าในบรรยากาศถึง 50 เท่า (Kurano และคณะ, 1995)

จากการตระหนักถึงความสำคัญของปัญหานี้ จึงมีการวิจัยและการพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อย่างต่อเนื่อง โดยมุ่งเน้นในการนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กลับมาใช้ประโยชน์ผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านกระบวนการทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพและไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กที่มีการเติบโตโดยใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน และใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนในการสังเคราะห์แสง (Photoautotrophic growth) จำเป็นต้องใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารอาหารหลักเพื่อการเติบโตและการสร้างชีวมวล ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และสามารถนำชีวมวลของสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้อีกด้วย ซึ่งจากรายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็กมีคุณค่าทางโภชนาการ และมีสารเคมีที่มีมูลค่าสูง ซึ่งสามารถนำมาสกัดเพื่อนำไปใช้ได้ทั้งในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำ อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และทางการแพทย์ นอกจากนี้ยังสามารถนำเซลล์ที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์แล้วกลับไปใช้เป็นเชื้อเพลิงที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ (Renewable fuel) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นสามารถนำกลับไปใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้ใหม่ (Kojima และ Lee, 2001)

สาหร่ายขนาดเล็กที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยในหลาย ๆ ประเทศ ได้แก่ สาหร่ายในสกุลคลอเรลลา (*Chlorella*) ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีการเติบโตที่รวดเร็ว เพาะเลี้ยงง่าย มีความสามารถในการสังเคราะห์แสงสูง รวมทั้งมีศักยภาพในการเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

จากก๊าซเสียที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมและโรงงานผลิตไฟฟ้าไปเป็นชีวมวลได้ดีกว่าสาหร่ายชนิดอื่น (Hanagata และคณะ, 1992) นอกจากนี้ยังสามารถเติบโตได้ในภาวะที่ใช้ก๊าซเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมในการเพาะเลี้ยง โดยในก๊าซเสียประกอบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีความเข้มข้นสูง (10-20%) นอกจากนี้ยังมีไนตริกออกไซด์ (NO) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO<sub>2</sub>) และฝุ่น รวมทั้งอนุภาคของก๊าซเสียยังค่อนข้างสูงอีกด้วย (Matsukawa และคณะ, 2000) สำหรับชีวมวลของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงภายใต้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงนั้นมีคุณค่าทางอาหารที่ดี ซึ่งพบว่า *Chlorella* sp. สายพันธุ์ HA-1 ประกอบด้วยโปรตีน 57.1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง กรดไขมันไม่อิ่มตัวคือ กรดลิโนเลนิก และกรดลิโนเลนิก เป็นองค์ประกอบ 13.4 และ 26.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไขมันทั้งหมด ตามลำดับ รวมทั้งมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายด้วย (Yanagi, Watanabe และ Saiki, 1995)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า การเติบโตและองค์ประกอบของสาหร่ายขนาดเล็กจะขึ้นอยู่กับภาวะแวดล้อมที่สาหร่ายเติบโต เช่น ความเข้มแสง อนุภาค ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ สารอาหาร เป็นต้น ถึงแม้ว่าจะมีงานวิจัยที่ศึกษาถึงการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กภายใต้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงออกมาอย่างต่อเนื่อง แต่งานวิจัยเหล่านั้นก็ศึกษาการเติบโตและการลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายเป็นส่วนใหญ่ ทำให้ขาดข้อมูลในเรื่องความเป็นไปได้ในการนำสาหร่ายชนิดนั้นพัฒนาไปสู่ระบบอุตสาหกรรม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาทั้งการเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *Chlorella* sp. ภายใต้การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงเป็นแหล่งคาร์บอน รวมทั้งได้เสนอสมการคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายผลกระทบของปัจจัยทางภาวะแวดล้อมที่ได้ศึกษาต่อการเติบโตของสาหร่ายด้วย ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการนำไปใช้เป็นข้อมูลสำหรับการพิจารณาถึงศักยภาพและความเป็นไปได้ของการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายในด้านอุตสาหกรรมและในเชิงพาณิชย์ต่อไป

การศึกษาก๊าซเสียสาหร่าย *Chlorella* sp. ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ได้มีการดำเนินการวิจัยมาแล้วโดยชาญชัย อมรรัตนาคุณเคราะห์ (2543) ที่ได้ศึกษาปัจจัยความเข้มแสง อัตราการป้อนและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และความเร็วรอบในการกวน ที่มีผลต่ออัตราการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงขนาด 15 ลิตร พบว่าความเข้มแสงเป็นเพียงปัจจัยเดียวที่มีอิทธิพลต่อสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่าย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาก๊าซเสียที่เพิ่มความเข้มแสงที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีความเข้มข้น 10% และ 20% เป็นแหล่งคาร์บอน

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการสร้างองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella* sp. ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง

1.2.2 ศึกษาการเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ

1.2.3 เสนอแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายผลของปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายภายใต้การเติบโตในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงนี้

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ทราบภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella* sp. ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง

1.3.2 ทราบองค์ประกอบทางชีวเคมีของมวลชีวภาพของสาหร่ายเพื่อนำไปใช้ประโยชน์

1.3.3 ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่สามารถนำไปทำนายและอธิบายผลของปัจจัยทางภาวะแวดล้อมที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 การสังเคราะห์แสงและการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

การสังเคราะห์แสง คือ การใช้พลังงานจากแสงเพื่อเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศและไฮโดรเจนซึ่งอาจมาจากน้ำหรือแหล่งไฮโดรเจนอื่น ๆ ให้เป็นสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรต โดยเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่มีรงควัตถุที่สามารถดูดพลังงานจากแสงได้

การสังเคราะห์แสงของพืชและสาหร่ายจะใช้พลังงานจากแสงในช่วงคลื่นที่เรียกว่า Photosynthetic active radiation (PAR) ซึ่งมีความยาวคลื่นระหว่าง 400-700 นาโนเมตร พลังงานที่ได้จากแสงจะนำไปใช้ในขั้นตอนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (CO<sub>2</sub> fixation reaction) ในวัฏจักรคัลวิน (Calvin cycle)

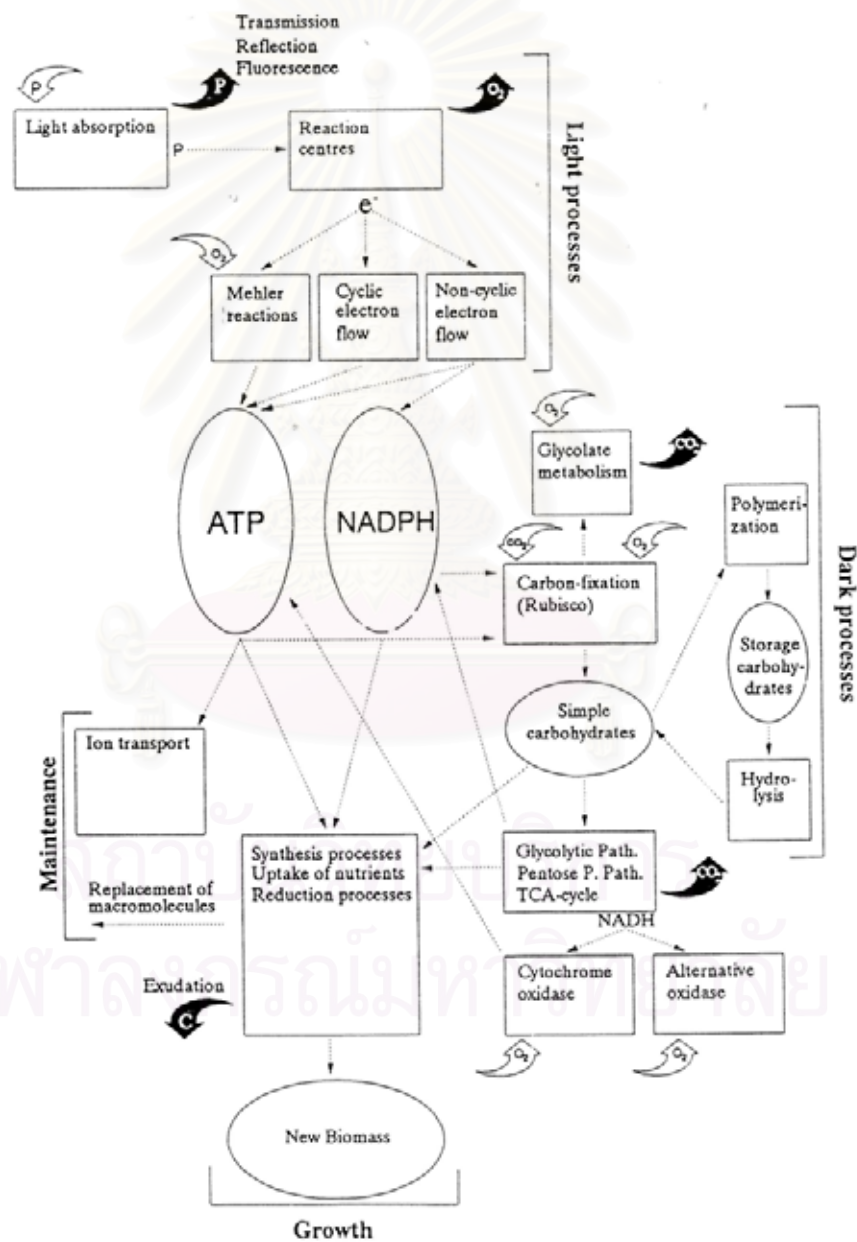


จากสมการข้างต้น แสดงให้เห็นว่าเมื่อพืชหรือสาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงจะมีการปลดปล่อยออกซิเจนออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งแตกต่างจากการสังเคราะห์แสงของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria) ที่จะใช้สารประกอบอินทรีย์หรือสารประกอบอนินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ น้ำ เช่น H<sub>2</sub>S แทนที่จะเป็น H<sub>2</sub>O ทำให้การสังเคราะห์แสงของแบคทีเรียไม่มีการปลดปล่อยออกซิเจน (สรวิศ เผ่าทองสุข, 2543)

ปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงของพืชและสาหร่าย แบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอน (ดังแสดงในรูปที่ 2.1) คือ (Brock, Smith และ Madigan, 1984)

1. ปฏิกิริยาที่ใช้แสง (Light reaction) เป็นปฏิกิริยาที่ต้องอาศัยแสงเพื่อทำให้น้ำแตกตัวไปเป็นไฮโดรเจนไอออน ออกซิเจน และอิเล็กตรอน โดยมีรงควัตถุเป็นตัวรับพลังงานรังสีในช่วงคลื่นที่เหมาะสม โดยมีคลอโรฟิลล์-เอเป็นรงควัตถุหลัก ส่วนรงควัตถุอื่นจัดเป็นรงควัตถุประกอบ

ทำหน้าที่ดูดแสงในความยาวคลื่นอื่นนอกเหนือจากคลอโรฟิลล์ และส่งพลังงานกระตุ้นให้แก่ โมเลกุลของคลอโรฟิลล์ที่อยู่ถัดไป ทำให้คลอโรฟิลล์มีพลังงานสูงขึ้น อิเล็กตรอนที่หลุดออกจาก โมเลกุลของคลอโรฟิลล์จะมีสารมารับและถ่ายทอดอิเล็กตรอนต่อไปเป็นทอด ๆ (Electron transfer) ในขณะที่มีการถ่ายทอดอิเล็กตรอนนี้พลังงานในอิเล็กตรอนจะลดลง พลังงานที่ถูกปล่อยออกมาจะ ถูกนำไปสร้าง ATP จาก ADP เรียกกระบวนการนี้ว่า โฟโตฟอสฟอริเลชัน (Photophosphorylation) และสารที่รับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายคือ NADP ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์คือ NADPH ทั้ง ATP และ NADPH จะถูกนำไปใช้ในการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาไม่ใช้แสง (Dark reaction)



รูปที่ 2.1 ขั้นตอนต่าง ๆ ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงของพืช (Markager และ Sand-Jensen, 1994)

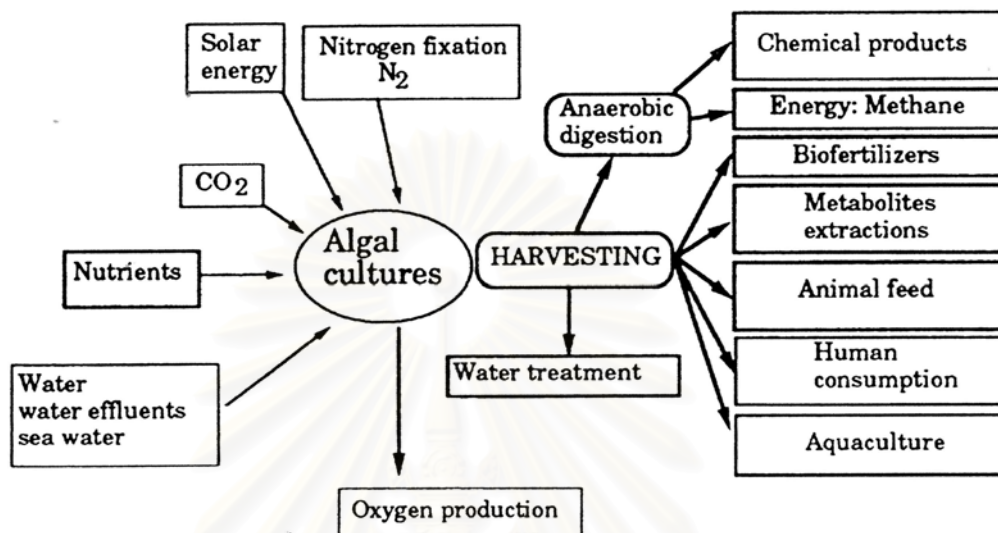


2. ปฏิกิริยาไม่ใช้แสง (Dark reaction) เป็นกระบวนการต่อเนื่องจากปฏิกิริยาใช้แสง โดยสาหร่ายจะทำการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ และใช้พลังงานเคมีจาก ATP และ NADPH ซึ่งเป็นผลผลิตจากปฏิกิริยาที่ใช้แสง (Light reaction) มาช่วยในการเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นน้ำตาลและสารประกอบคาร์โบไฮเดรต อาจเรียกกระบวนการนี้ว่า การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$  fixation reaction) ซึ่งเกิดในวัฏจักรคัลวิน (Calvin cycle)

กระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชและสาหร่าย เป็นกระบวนการทางชีวภาพที่สามารถลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ได้ ซึ่งพืชและสาหร่ายจะใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แร่ธาตุต่าง ๆ และน้ำ เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการนี้ แต่การลดคาร์บอนไดออกไซด์โดยกระบวนการทางชีวภาพ (Biological  $\text{CO}_2$  reduction) ที่ได้มีงานวิจัยออกมาอย่างต่อเนื่องนั้น เป็นการลดคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศโดยสาหร่ายขนาดเล็ก เนื่องด้วยข้อได้เปรียบและคุณสมบัติที่แตกต่างของสาหร่ายขนาดเล็กจากพืช ดังต่อไปนี้ (Kurano และคณะ, 1995; Murakami และ Ikeueouchi, 1997)

1. สาหร่ายมีความสามารถในการเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นสารอินทรีย์ประเภทคาร์โบไฮเดรตและสารที่มีประโยชน์อื่น ๆ เช่น ไขมันและโปรตีน โดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง
2. สาหร่ายสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงและมีความสามารถในการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้มากกว่าพืชทั่วไป
3. สาหร่ายมีอัตราการเติบโตที่เร็ว ทำให้สามารถขยายพันธุ์ได้ง่าย ซึ่งเหมาะต่อการนำไปผลิตในเชิงอุตสาหกรรมได้
4. สาหร่ายมีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมและรุนแรงได้ โดยสาหร่ายบางสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีอุณหภูมิ ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และความเข้มแสงที่มีค่าสูงได้ เช่น *Chlorella* sp. สายพันธุ์ K35 สามารถเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
5. สาหร่ายมีความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในการกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยจากโรงงานมากกว่าพืชชั้นสูงชนิดอื่น

การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนของสาหร่ายขนาดเล็กเป็นกระบวนการทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพมาก โดยสาหร่ายจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์ รวมทั้งสารอาหารอื่น ๆ ในการเติบโต และสร้างชีวมวลที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ดังภาพที่ 2.2



รูปที่ 2.2 การผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยกระบวนการทางชีวภาพและการนำชีวมวลไปใช้ประโยชน์ (Vonshak, 1997)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า สาหร่ายขนาดเล็กมีอัตราการเติบโตที่ดีแม้จะได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูง จากรายงานของ Watanabe, Ohmura และ Saiki (1992) พบว่า *Chlorella* สายพันธุ์ HA-1 มีอัตราการเติบโตสูงสุดที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ป้อนเข้าเท่ากับ 5% และ 10% แต่อัตราการเติบโตจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่า 10% แต่มีรายงานเสนอไว้ด้วยว่าสาหร่าย *Chlorella* สามารถเติบโตได้ดีจนถึงภาวะที่มีการป้อนคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 30% (Hanagata และคณะ, 1992; Sung และคณะ, 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *Chlorella* สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ดีโดยสามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 45 องศาเซลเซียส *Chlorella* ไม่สามารถเติบโตได้ นอกจากนี้ Maeda และคณะ (1995) ได้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* สายพันธุ์ T-1 ในภาวะที่ป้อนอากาศจนถึงช่วงที่มีการป้อนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 100% ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงทั้งหมด 5 วัน พบว่าสาหร่ายสายพันธุ์นี้เติบโตได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ป้อนเข้าเท่ากับ 15% ด้วยค่าปริมาณชีวมวลที่ผลิตได้สูงสุดประมาณ 1 กรัมต่อลิตร



## 2.2 ลักษณะทางชีววิทยาของสาหร่าย *Chlorella* sp.

### การจัดลำดับอนุกรมวิธาน

*Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่มีลำดับอนุกรมวิธาน ตามระบบการจัดหมวดหมู่ของ Hoek, Mann และ Jahns (1995)

Division Chlorophyta

Class Chlorophyceae

Order Chlorococcales

Family Chlorellaceae

Genus *Chlorella*

### รูปร่างลักษณะ

สาหร่ายคลอเรลลา (รูปที่ 2.3 ก) เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยวที่มีขนาดเล็กมาก โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ประมาณ 2-12 ไมโครเมตร มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ (Unicellular) หรืออาจอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (Colony) ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้เอง รูปร่างเซลล์มีลักษณะกลมหรือกลมรี และมีขนาดแตกต่างกันทั้ง ๆ ที่พบในที่เดียวกัน มีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วย หรือเป็นแผ่นอยู่ริมเซลล์ อาจมีหรือไม่มีไพรีนอยด์ ไม่มีแฟลกเจลลา มีสติมาและคอนแทรกไทล์แวกิวโอล พบนิวเคลียสอยู่ตรงกลางเซลล์ มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส 2 ชั้น พบไมโทคอนเดรีย กอลจิบอดี และแวกิวโอลเล็กน้อยในไซโตพลาสซึม (Bold และ Wynne, 1978)

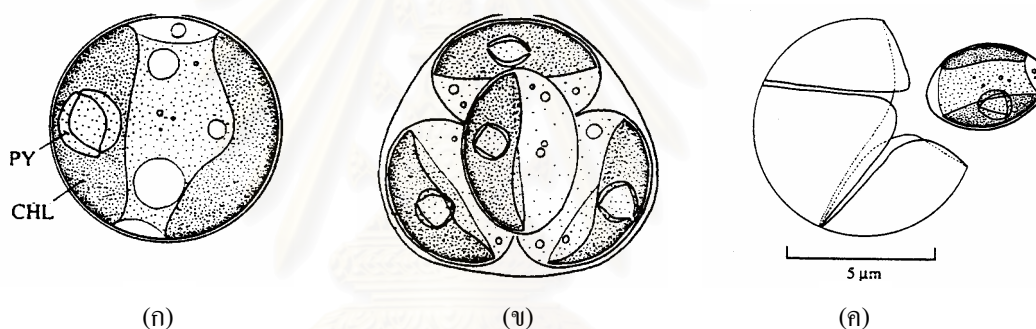
### การกระจายพันธุ์

สาหร่ายสกุล *Chlorella* พบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม โดยชนิดที่พบได้ในน้ำเค็มมีขนาดเล็กกว่าที่พบจากแหล่งอื่น ๆ คือ มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 ไมโครเมตร รวมทั้งยังพบได้บนพื้นดินที่เปียกชื้นและบนกำแพง สาหร่ายชนิดนี้มักเป็นชนิดที่ปนเปื้อนในภาชนะบรรจุน้ำ บางชนิดอาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์ชนิดอื่น ๆ เช่น *Chlorella parasitica* มักอาศัยอยู่ร่วมกับพารามีเซียม ชนิด *Paramecium bursaria* ส่วน *Chlorella lichina* พบว่าจะอาศัยอยู่ร่วมกับไลเคนส์ ชนิด *Calicium chlorine* สาหร่ายในสกุลนี้มี 14 สกุล ได้แก่ *C. vulgaris*, *C. pyrenoidosa*, *C. concloverata*,

*C. simplex*, *C. ellipsoidea*, *C. miniala*, *C. protothecoides*, *C. saccharophila*, *C. acuminata*, *C. faginea*, *C. variegata*, *C. parasitica*, *C. conductrix* และ *C. lichina* (Bold และ Wynne, 1978)

### การสืบพันธุ์

สาหร่ายคลอเรลลามีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเพียงแบบเดียว (Sharma, 1992) โดยการสร้างอโตสปอร์ (Autospore) ขึ้นในเซลล์แม่ อโตสปอร์เป็นสปอร์ที่ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่เคลื่อนที่ มีรูปร่างเหมือนเซลล์ปกติ โดยในแต่ละครั้งของการสร้างอโตสปอร์นั้นสามารถสร้างได้ตั้งแต่ 2-16 สปอร์ แต่ละอโตสปอร์นี้จะค่อย ๆ พัฒนาเซลล์จนเหมือนกับเซลล์แม่ แต่ต่างกันที่อโตสปอร์จะมีขนาดเล็กกว่า และถูกปล่อยออกมาจากผนังเซลล์แม่ (รูปที่ 2.3 ข และ 2.3 ค)



รูปที่ 2.3 (ก) รูปร่างลักษณะของสาหร่าย *Chlorella* sp.

(ข และ ค) การสืบพันธุ์โดยการสร้างอโตสปอร์

(CHL คือ Chloroplast; PY คือ Pyrenoid) (Hoek และคณะ, 1995)

### 2.3 การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายขนาดเล็กถูกนำมาใช้ประโยชน์เพื่อเป็นอาหารสุขภาพ (Health food) สารเติมแต่งอาหาร (Food additives) และสารเสริมในอาหารสัตว์ (Feed supplement) กันเป็นระยะเวลานานแล้ว โดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่น โดยเริ่มมีการก่อตั้งบริษัทที่ผลิตสาหร่าย *Chlorella* sp. ขึ้นในปี ค.ศ. 1969 เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ (Lee, 1997) นอกจากนี้ยังมีการผลิตสาหร่ายขนาดเล็กในประเทศต่าง ๆ อีกหลายประเทศ ได้แก่ ใต้หวัน จีน อินเดีย อินโดนีเซีย เป็นต้น รวมทั้งประเทศไทยด้วย เนื่องจากภายในเซลล์ของสาหร่ายมีองค์ประกอบของสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ

ทั้งต่อมนุษย์และสัตว์ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน โพลีแซคคาไรด์ และวิตามิน (Liang และคณะ, 2004) โดยในตารางที่ 1 ถึงตารางที่ 3 ได้แสดงองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย กรดไขมัน และกรดอะมิโน ที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย ตามลำดับ

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย

องค์ประกอบ	% น้ำหนักแห้ง		
	<i>Chlorella</i> sp. HA-1 <sup>(1)</sup>	<i>Chlorella vulgaris</i> <sup>(2)</sup>	<i>Spirulina platensis</i> <sup>(2)</sup>
โปรตีน	57.1	56.0	56.6
ไขมัน	18.4	8.6	7.5
คาร์โบไฮเดรต	0.7	17.9	16
เส้นใย	2	-	-
เถ้า	11.3	7.3	14.0
กรดนิวคลีอิก	-	5.4	4.8

หมายเหตุ : (1) Yanagi, และคณะ (1995)

(2) Ortega-Calvo และคณะ (1993)

ตารางที่ 2.2 กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย

กรดไขมัน	% ไขมันทั้งหมด		
	<i>Chlorella</i> sp. HA-1 <sup>(1)</sup>	<i>Chlorella vulgaris</i> <sup>(2)</sup>	<i>Spirulina platensis</i> <sup>(2)</sup>
Palmitoleic (16:1)	-	18.7	7.0
Palmitic (16:0)	14.2	25.1	52.4
$\alpha$ -linolenic (18:3)	26.5	-	5.9
Linoleic (18:2)	13.4	16.1	12.6
Oleic (18:1)	-	25.3	-
Stearic (18:0)	-	5.6	21.3

หมายเหตุ : (1) Yanagi และคณะ (1995)

(2) Ortega-Calvo และคณะ (1993)

ตารางที่ 2.3 ชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเซลล์ของสาหร่าย

Amino acid	% น้ำหนักแห้ง		
	<i>Chlorella</i> sp. HA-1 <sup>(1)</sup>	<i>Chlorella vulgaris</i> <sup>(2)</sup>	<i>Spirulina platensis</i> <sup>(2)</sup>
Aspartic acid	4.66**	11.7	7.6
Serine	1.04	5.3	5.4
Glutamic acid	5.78***	10.4	10.4
Glycine	3.35	7.9	6.4
Histidine	2.18	2.6	1.6
Arginine	3.06	9.7	9.9
Threonine*	2.46	6.6	6.6
Alanine*	4.55	10.9	8.8
Proline	2.52	6.0	4.5
Tyrosine	2.40	6.4	8.6
Valine*	3.03	0.8	8.7
Lysine*	3.98	6.9	6.2
Isoleucine*	2.01	3.7	4.8
Leucine*	4.71	6.9	6.4
Phenylalanine*	2.69	2.0	1.7
Methionine*	1.19	2.1	2.0
Cystine	0.65	0.4	0.3
Tryptophan*	1.04	-	-

หมายเหตุ : \* กรดอะมิโนที่จำเป็น

\*\* Aspartic+Aspartine

\*\*\* Glutamic+Glutamine

(1) Yanagi และคณะ (1995)

(2) Ortega-Calvo และคณะ (1993)

นอกจากนี้สาหร่ายขนาดเล็กยังได้รับความสนใจ ในการเป็นแหล่งผลิตรงควัตถุในกลุ่ม แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) (ได้แก่ เบต้าแคโรทีน แอสตาแซนทีน และลูทีน เป็นต้น) เพื่อใช้ ประโยชน์ทั้งในส่วนของอาหารเสริมสุขภาพ และเป็นสารสีธรรมชาติที่ใช้ในการเติมแต่งสีใน อาหาร (Food additives) ยา เครื่องสำอาง และช่วยในการสร้างสีในเนื้อเยื่อสัตว์โดยเฉพาะสัตว์น้ำ

ลูทีน (Lutein) เป็นรงควัตถุชนิดหนึ่งในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่ได้รับความสนใจในทาง อุตสาหกรรม ในประเทศสหรัฐอเมริกา มูลค่าทางการตลาดของลูทีนเพื่อใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหาร สัตว์มีมูลค่าสูงถึง 150 ล้านดอลลาร์ต่อปี (Del Campo และคณะ, 2001) นอกจากนี้ลูทีนจะมีประโยชน์ เช่นเดียวกับรงควัตถุอื่น ๆ ในกลุ่มแคโรทีนอยด์แล้ว ยังพบว่า การได้รับลูทีนทำให้ลดความเสี่ยงของ การเกิดโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อมสภาพของเรตินาอันมีสาเหตุจากความชราอีกด้วย (Richmond, 1990)

สาหร่ายหลายชนิดสามารถใช้เป็นแหล่งของรงควัตถุในกลุ่มแคโรทีนอยด์ ได้เช่น แอสตาแซนทีน (Astaxanthin) จาก *Haematococcus* sp. (Harker, Tsavalos และ Young, 1996) *Chlorococcum* sp. (Yuan และคณะ, 2002) และ *Chlorella zofingiensis* (Ip และ Chen, 2005) และ ลูทีน จาก *Chlorella protothecoides* (Shi และคณะ, 1999) และ *Muriellopsis* sp. (Del Campo และ คณะ, 2000)

นอกจากการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา มี งานวิจัยที่ใช้ประโยชน์จากมวลชีวภาพของสาหร่ายเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตเชื้อเพลิง ดังเช่น การผลิตเอทานอลจากสาหร่าย *Chlorella* sp. (Hirano และคณะ, 1997) และการผลิตก๊าซไฮโดรเจน จาก *Chlamydomonas reinhardtii* (Ike และคณะ, 1997) เนื่องจากองค์ประกอบภายในเซลล์ของ สาหร่ายมีแป้งและน้ำตาลเป็นองค์ประกอบซึ่งจุลินทรีย์สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารในการเติบโตได้ โดยในตารางที่ 4 แสดงชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่าย สาเหตุที่มีความ สนใจในการนำชีวมวลของสาหร่ายมาใช้เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์เนื่องมาจากพืชที่ใช้เป็น วัตถุดิบในการผลิตเชื้อเพลิง (เช่น อ้อยและข้าวโพด เป็นต้น) เพื่อเป็นแหล่งของน้ำตาลในการผลิต เอทานอลโดยการหมักของจุลินทรีย์นั้น ต้องใช้พื้นที่และน้ำในการเพาะปลูกมาก ซึ่งอาจเป็นปัญหา หรือข้อได้เปรียบในการเพาะปลูกพืชเพื่อเป็นแหล่งอาหารได้ (Hirano และคณะ, 1997)

ตารางที่ 2.4 น้ำตาลหลักที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย (Ortega-Calvo และคณะ, 1993)

Sugar	ปริมาณ (% น้ำหนักแห้ง)	
	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>
Erythrose	0.05	-
Rhamnose	0.57	0.63
Fucose	0.1	0.04
Ribose	0.57	0.25
Arabinose	0.05	0.22
Xylose	0.2	0.07
Mannose	0.26	0.15
Galactose	1.11	1.78
Glucose	6.94	2.65

## 2.4 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก

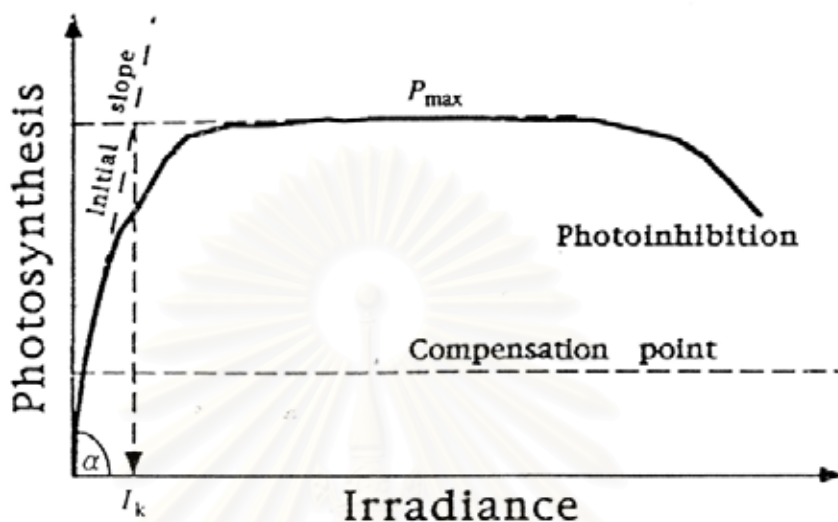
### 1. แสง

แสงเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญมากในการสังเคราะห์แสง เนื่องจากเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง จึงมีผลต่อการสังเคราะห์แสง การเติบโต การสร้างรงควัตถุ การหายใจ และรูปร่างลักษณะของเซลล์ (Brown and Richardson, 1963) นอกจากนี้แสงยังเป็นปัจจัยจำกัด (Limiting factor) ที่สำคัญมากปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายด้วย

ตามปกติการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจะเพิ่มขึ้น เมื่อสาหร่ายได้รับแสงที่มีความเข้มแสงสูงขึ้น จนกระทั่งถึงความเข้มแสงที่ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงไม่เพิ่มสูงขึ้นอีก เรียกว่า ความเข้มแสงอิ่มตัว (Light-saturation intensity)  $I_0$  ความเข้มแสงอิ่มตัวนี้มีผลทำให้สาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงสูงสุด ( $P_{max}$ ) (Devlin และ Barker, 1971) ดังแสดงในรูปที่ 2.4 เรียกกราฟในรูปนี้ว่า Light saturation curve และถ้าความเข้มแสงที่สาหร่ายได้รับสูงกว่าความเข้มแสงอิ่มตัวมาก ๆ อาจเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง หรือ Photoinhibition ขึ้นได้ แต่การยับยั้งการสังเคราะห์แสงนี้สามารถคืนสภาพได้หลังจากการพักตัวสักระยะหนึ่ง ทั้งนี้ระดับความอิ่มตัวของแสงจะแปรผันขึ้นกับชนิดของสาหร่ายด้วย โดยมีรายงานว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. และ *Scenedesmus* sp.



มีระดับความเข้มแสงอิ่มตัวอยู่ที่ประมาณ  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Hanagata และคณะ, 1992) นอกจากนี้ระดับความเข้มแสงอิ่มตัวยังขึ้นกับปัจจัยภาวะแวดล้อมด้วย โดยมีรายงานว่าอัตราการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มขึ้นถ้าปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์มีมากถึงจุดอิ่มตัว (Devlin และ Barker, 1971)



รูปที่ 2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างการสังเคราะห์แสงกับความเข้มแสง (Vonshak, 1997)

## 2. อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อการสังเคราะห์แสงและการหายใจของสาหร่าย โดยเมื่ออุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมสูงขึ้นอัตราการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น อัตราการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มตามการเพิ่มของอุณหภูมิจนถึงระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นกว่านี้อัตราการเติบโตจะลดลง (Darley, 1982) แต่อุณหภูมิจะไม่มีผลต่อการสังเคราะห์แสงถ้าถูกจำกัดด้วยแสงหรือคาร์บอนไดออกไซด์

นอกจากนี้อุณหภูมียังมีผลต่ออัตราการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเมื่ออุณหภูมิลดลงจะทำให้อัตราการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดลงด้วย (Devlin และ Barker, 1971)

มานิพย์ อัสวารีย์ และธิดา เพชรมณี (2534) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ 21, 28 และ 35 องศาเซลเซียส โดยให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์วันละ 8 ชั่วโมง เลี้ยงจนได้ความหนาแน่นประมาณ  $1 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่าค่าเฉลี่ยของระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็น 2 เท่า เท่ากับ 1.3, 1.3 และ 5 วัน ตามลำดับ



### 3. ค่า pH

สาหร่ายแต่ละชนิดสามารถเติบโตได้ที่ระดับ pH ต่างกัน สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จะเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นกลางจนถึงมีสภาพเป็นเบส หรือประมาณ 6.5-7.5 ส่วนสาหร่าย สีเขียวบางกลุ่ม เช่น เดสมิด เป็นต้น ชอบน้ำที่มีสภาพเป็นกรดอ่อนหรือเป็นกรด ซึ่งมีค่า pH อยู่ระหว่าง 5.5-6.5 สำหรับค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* อยู่ในช่วง 5.5-6 (Hirata และคณะ, 1996)

ค่า pH ของสารละลายอาหารมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม ของสาหร่าย และยังมีบทบาทต่อการละลายของเกลือและสารประกอบเชิงซ้อนชนิดต่าง ๆ ใน สารละลาย ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษหรือยับยั้งการเติบโตของสาหร่าย ขณะเดียวกันค่า pH ยังส่งผลต่อการละลายของสารประกอบโลหะ โดยการเพิ่ม pH จะเป็นสาเหตุให้สารประกอบโลหะ ที่เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นบางชนิดตกตะกอนดังนั้นสาหร่ายจึงอาจขาดธาตุอาหารที่จำเป็นบางตัวได้

นอกจากนี้ pH ยังมีผลต่อการละลายของธาตุอาหารจำพวกฟอสฟอรัส คือ ที่ pH สูงกว่า 7 ฟอสเฟตจะเปลี่ยนเป็นฟอสเฟตไอออน ซึ่ง *Chlorella* นำไปใช้ไม่ได้ ในขณะที่ pH ในช่วง 5.6-6.5 ฟอสเฟตจะอยู่ในรูป ไคไฮโดรเจนฟอสเฟตไอออน และไฮโดรเจนฟอสเฟตไอออน ซึ่ง *Chlorella* สามารถใช้ได้ แต่ถ้าสภาพสารละลายมีความเป็นกรดมาก ฟอสเฟตจะรวมตัวกับเหล็กหรือ อะลูมิเนียมและตกตะกอนได้

Kodama, Ikemoto และ Miyachi (1993) ได้ศึกษาผลของ pH ต่อการเติบโตของ *Chlorococcum littorale* พบว่า ถ้า pH มากกว่า 4 การเติบโตไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ถ้า pH เท่ากับ 3.5 การเติบโตจะลดลง 50 % ของการเติบโตที่ pH มากกว่า 4 และที่ pH น้อยกว่า 4 การเติบโต จะลดลง และที่ pH เท่ากับ 3 สาหร่ายไม่สามารถเติบโตได้

### 4. ธาตุอาหาร

การเติบโตของสาหร่ายซึ่งเป็นผลมาจากการสังเคราะห์แสงนั้นขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เลี้ยง ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่าย ดังนั้นถ้าในน้ำที่เลี้ยงสาหร่ายมีความเข้มข้นของอาหารไม่ เพียงพอกับความต้องการของสาหร่าย จะทำให้อัตราการเติบโตลดลง (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540)

ธาตุอาหารเป็นปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียว ทั้งในด้าน ปริมาณ และด้านชนิดของธาตุอาหาร โดยทั่วไปธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวจะแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) และธาตุอาหารรอง (Micronutrients)

#### 4.1 ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) ประกอบด้วยธาตุต่อไปนี้

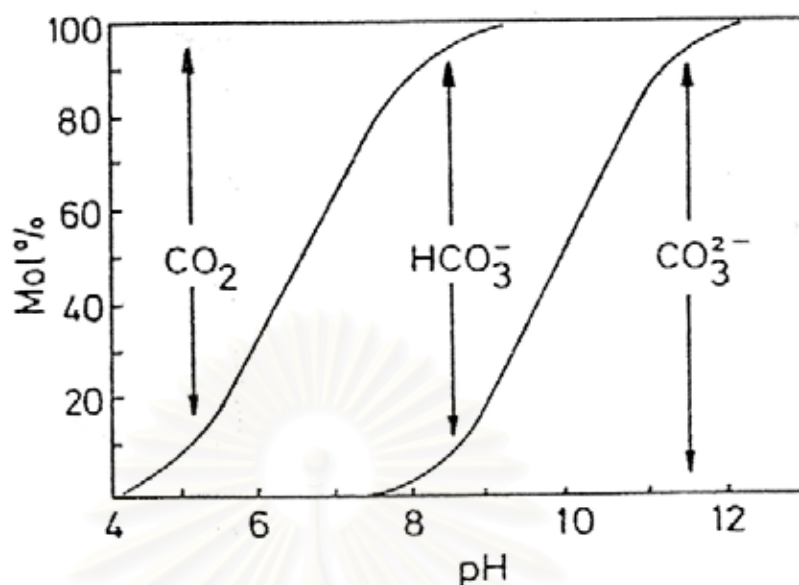
4.1.1. คาร์บอน คาร์บอนที่สาหร่ายนำไปใช้ได้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ คาร์บอนอินทรีย์และคาร์บอนอนินทรีย์

##### 4.1.1.1. คาร์บอนอินทรีย์

สารคาร์บอนอินทรีย์จะทำหน้าที่เป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน แทนพลังงานที่สาหร่ายจะได้รับจากแสง (Ogbonna, Masui และ Tanaka, 1997) ดังนั้นสาหร่าย บางชนิดสามารถเติบโตได้แม้จะเลี้ยงในที่มืด (Heterotrophic culture) สารคาร์บอนอินทรีย์ที่ใช้ ในการเลี้ยงสาหร่าย ได้แก่ น้ำตาล (กลูโคส, ซูโครส), ไขมัน และกรดอินทรีย์ (กรดอะซิติก) เป็นต้น (Gladue, 1991)

##### 4.1.1.2. คาร์บอนอนินทรีย์

ในแหล่งน้ำธรรมชาติพบคาร์บอนอนินทรีย์ได้ 3 รูปแบบ คือ คาร์บอน- ไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ ไบคาร์บอเนต และคาร์บอเนตไอออน ซึ่งคาร์บอนอนินทรีย์จะอยู่ใน รูปแบบใดมากหรือน้อย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่า pH น้ำ ดังแสดงในรูปที่ 2.5 โดยที่ค่า pH อยู่ในช่วง 7-9 จะอยู่ในรูปของเกลือไบคาร์บอเนต ( $\text{HCO}_3^-$ ) เมื่อ pH มากกว่า 9.5 จะอยู่ในรูปเกลือคาร์บอเนต ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) และเมื่อ pH มีค่าประมาณ 5 คาร์บอนไดออกไซด์จะอยู่ในรูปก๊าซที่ละลายน้ำ ซึ่งจะถูกตรึง โดยเอนไซม์ Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) ทั้งนี้คาร์บอนอนินทรีย์ จะมีการเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่สาหร่ายเองสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง ซึ่งจะอยู่ในรูปแบบ ไคเนสขึ้นอยู่กัชนิดของสาหร่ายด้วย (Kaplan และ คณะ, 1986)



รูปที่ 2.5 รูปแบบของคาร์บอนอนินทรีย์ที่ปรากฏที่ระดับ pH ต่าง ๆ (Becker, 1993)

#### 4.1.2. ไนโตรเจน

สำหรับส่วนใหญ่สามารถใช้ไนเตรท ไนไตรท์ และแอมโมเนียมได้ นอกจากนี้สำหรับบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนได้จากอากาศ ได้แก่ สำหรับสีเขียวแกมน้ำเงิน (Darley, 1982) โดยสำหรับส่วนใหญ่จะเลือกใช้แอมโมเนียก่อน เนื่องจากสำหรับสามารถใช้แอมโมเนียในกระบวนการเมตาบอลิซึมโดยเฉพาะการสร้างกรดอะมิโนได้โดยตรง ในขณะที่ถ้าใช้ไนเตรทต้องเปลี่ยนไนเตรทให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียก่อน เซลล์จึงจะสามารถนำไปใช้ได้ (Lobban และ Harrison, 1994)

#### 4.1.3. ฟอสฟอรัส

เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเติบโตของสำหรับ เนื่องจากฟอสฟอรัสมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการต่าง ๆ ของเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายทอดพลังงาน และกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก ออโรฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัสอนินทรีย์ที่สำคัญต่อการเติบโตของสำหรับ โดยสำหรับส่วนใหญ่จะเก็บฟอสฟอรัสส่วนเกินไว้ในรูปโพลีฟอสเฟตในไซโทพลาสซึมเกรนูล (Darley, 1982) แต่การได้รับฟอสฟอรัสที่ไม่เพียงพออาจไม่มีผลต่อการสังเคราะห์แสงของสำหรับเมื่ออยู่ในภาวะความเข้มแสงต่ำ แต่จะส่งผลชัดเจนเมื่อเพิ่มความเข้มแสง (Szerenos, Bialuk และ Maleszewski, 2004)

#### 4.1.4. แคลเซียม

แคลเซียมเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเติบโตสำหรับสาหร่ายสีเขียว โดยมีส่วนเกี่ยวข้องในการสร้างโครงสร้างของสาหร่ายโดยเฉพาะในสาหร่ายทะเล และมีบทบาทในการสร้างผนังเซลล์ของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540) ซึ่งปริมาณแคลเซียมที่พืชต้องการขึ้นอยู่กับปริมาณของธาตุอาหารชนิดอื่นด้วย เช่น แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี โคบอลต์ ทองแดง โมลิบดีนัม นิกเกิล อะลูมิเนียม โซเดียม โปรทเจน และตะกั่ว เป็นต้น

#### 4.1.5. โพแทสเซียมและแมกนีเซียม

โพแทสเซียมเป็นธาตุอาหารที่เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์หลายชนิดในสาหร่าย และมีผลในการยับยั้งการเติบโตของสาหร่ายบางชนิด (Wiessner, 1962) ส่วนแมกนีเซียมมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540)

#### 4.1.6. ซัลเฟอร์

เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อสาหร่ายทุกชนิด ซัลเฟอร์ในสาหร่ายมีหลายรูปแบบ เช่น กรดอะมิโน, วิตามิน บี, กรดแพนโทเทนิก ซัลเฟอร์ที่สาหร่ายใช้อยู่ในรูปสารอนินทรีย์ ได้แก่ ซัลเฟต ( $\text{Sulfate}=\text{SO}_4^{2-}$ ) (Schiff, 1962)

### 4.2 ธาตุอาหารรอง (Micronutrients)

เป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการใช้ในปริมาณที่น้อย แต่สามารถช่วยให้สาหร่ายเติบโตได้ดีขึ้น ซึ่งธาตุอาหารรองนี้ถูกนำไปใช้เป็นสารประกอบของโมเลกุลที่จำเป็นต่อเซลล์ เช่น เอนไซม์ และวิตามินต่าง ๆ เป็นต้น แบ่งได้เป็นธาตุอาหารรองอนินทรีย์ และธาตุอาหารรองอินทรีย์

#### 4.2.1. ธาตุอาหารรองอนินทรีย์ (Inorganic micronutrients) ได้แก่

##### 4.2.1.1. เหล็ก

เป็นธาตุอาหารที่ช่วยคลุขิมไนโตรเจน และเหล็กเป็นองค์ประกอบของรงควัตถุ ถ้าสาหร่ายขาดเหล็กจะมีผลต่อสรีระและการเติบโตของสาหร่าย (Brock และคณะ, 1984)

นอกจากนี้เหล็กยังเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์หลายชนิด เช่น เฟอร์ดอกซิน (Ferredoxin) คตะเลส (Catalase) อีกทั้งยังเป็นองค์ประกอบของไซโตโครม (Cytochrome) และพอร์ฟริน (Porphyrins) (Warburg, 1948) เหล็กเป็นธาตุที่มักตกตะกอนในสารละลาย ฉะนั้นจึงต้องใส่สารที่ป้องกันการตกตะกอนที่เรียกว่า คีเลเตอร์ หรือ Chelating agent ในอัตราส่วนคีเลเตอร์กับเหล็ก เท่ากับ 1:1 โมลาร์ เสมอ

#### 4.2.1.2. โบรอน

เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อสาหร่ายบางชนิด เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และไดอะตอม เป็นต้น

#### 4.2.1.3. แมงกานีส

เป็นธาตุที่จำเป็นต่อสาหร่ายเซลล์เดียวหลายชนิด ซึ่งแมงกานีสเป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย โดย Wiessner (1962) ได้ทดลองเติมแมงกานีสลงในอาหารเลี้ยงสาหร่าย พบว่ามีผลในการเพิ่มอัตราการเติบโตของสาหร่าย

#### 4.2.1.4. สังกะสี

เป็นธาตุอาหารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งมีผลต่อการเติบโตของ *Stichococcus bacillaris* (Wiessner, 1962) ในอาหารเลี้ยงสาหร่ายหลายชนิดจะมีสังกะสีอยู่ในความเข้มข้นประมาณ 0.01-0.1 มิลลิกรัม/ลิตร โดยมี EDTA เป็นคีเลเตอร์ นอกจากนี้ Staggmann (1940) พบว่าเมื่อปริมาณสังกะสีลดลงจะทำให้การสร้างคลอโรฟิลล์ลดลง

#### 4.2.1.5. ทองแดง

พบในเอนไซม์สำหรับกระบวนการออกซิเดชัน และนอกจากนี้ทองแดงยังมีความสำคัญต่อกระบวนการหายใจ โดยพบว่าการหายใจลดลงเมื่อปริมาณทองแดงลดลง (Wiessner, 1962) สำหรับ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการจะมีอาการผิดปกติ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงสาหร่ายที่มีทองแดงต่ำกว่า 10<sup>-7</sup> โมลาร์ (Walker, 1953)

#### 4.2.1.6. ซิลิกา

ซิลิกาเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นที่สุดของสาหร่ายจำพวกไดอะตอมเพื่อให้ในการสร้างเปลือก ในขณะที่สาหร่ายชนิดอื่นไม่จำเป็นต้องใช้

**4.2.2. ธาตุอาหารรองอินทรีย์ (Organic micronutrients)** ธาตุอาหารประเภทนี้อาจเรียกอีกชื่อว่า แร่ธาตุปริมาณน้อย (Trace metals) แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่

คาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาลเดกซ์โตรส เข้มข้น 0.2-0.5% ควรเติมหลังจากการฆ่าเชื้อแล้ว เพราะมีจะนั้นน้ำตาลจะสลายตัว

เกลืออินทรีย์หรือสารประกอบที่มีเกลืออินทรีย์อยู่ด้วย ได้แก่ เกลืออะซิเตตต่างๆ นิยมใช้ความเข้มข้น 0.1-0.5% อยู่ในรูปของธาตุโซเดียม โปแตสเซียม

วิตามิน ได้แก่ วิตามิน 3 ชนิด คือ วิตามินบี 1, บี 12 และบีรวม นิยมเติมในอาหารหลังจากผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

อาหารเสริม ได้แก่ อาหารที่ช่วยการเติบโตของสาหร่าย คือ เป็นสารเสริมการเติบโต (Growth factor) ตัวอย่างเช่น อะเดนิน (Adenine) ไคเนติน (Kinetin) ทั้ง 2 ชนิดนี้ละลายในน้ำได้เล็กน้อย แต่ละลายได้ดีในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต อาหารเสริมอีก 2 ชนิดที่นิยมใช้คือ Gibberellic acid ละลายในน้ำได้ดี และ Indole acetic acid (IAA) มีคุณสมบัติละลายได้เล็กน้อยในน้ำร้อนและสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกแสงสว่าง

## 2.5 ผลของการปรับภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงต่อการเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อให้ได้ชีวมวลหรือผลผลิตอื่นให้ได้สูงที่สุด จำเป็นต้องศึกษาสรีรวิทยาการเติบโตภายใต้ภาวะแวดล้อมต่าง ๆ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในแต่ละภาวะจะมีความแตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตหรือการผลิตสารเมตาบอไลต์ที่ต้องการจึงเป็นสิ่งจำเป็น



จากการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Dunaliella* เพื่อผลิตเบต้าแคโรทีนนั้น ได้มีการทดลองเลี้ยงแบบสองขั้นตอนทำได้โดยในระยะแรกจะเป็นการเลี้ยงเซลล์ในน้ำที่มีความเค็มต่ำและมีธาตุไนโตรเจนสูง เซลล์จะเจริญได้เร็วแต่มีสีเขียว (มีปริมาณเบต้าแคโรทีนต่ำ) หลังจากนั้นจะเพิ่มความเค็มของน้ำอย่างฉับพลันทำให้เซลล์ปรับสภาพสะสมเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้น ซึ่งเซลล์จะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีส้มหลังจากนั้นจึงทำการเก็บเซลล์ (สรวิศ เผ่าทองสุข, 2543)

Shifrin และ Chisholm (1981) รายงานว่าองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายเซลล์เดียวสามารถควบคุมได้โดยการปรับภาวะแวดล้อมของการเติบโต โดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงให้อยู่ในภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโต เซลล์จะสังเคราะห์โปรตีนเพื่อใช้ในการเติบโตเป็นส่วนใหญ่ หากทำการเพาะเลี้ยงให้อยู่ในภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเติบโตเนื่องจากปัจจัยที่ใช้ในการเติบโตถูกจำกัด เช่น สารอาหาร หรือ อุณหภูมิไม่เหมาะสม องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายจะเปลี่ยนเป็นสะสมไขมัน คาร์โบไฮเดรต หรือสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) อื่น ๆ แทน

Chrismadha และ Borowitzka (1994) ศึกษาความหนาแน่นของเซลล์และความเข้มโฟตอนฟลักซ์ที่ใช้ในการเติบโตของ *Phaeodactylum tricornutum* ที่ทำการเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงแบบท่อ (Tubular photobioreactor) พบว่าอัตราการผลิตชีวมวลและอัตราการผลิต EPA จะมีปริมาณสูงขึ้น เมื่อมีความหนาแน่นของเซลล์เพียงพอที่จะส่งเสริมให้มีอัตราการเติบโตอย่างรวดเร็ว และพบว่าปริมาณโปรตีนในเซลล์สูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มโฟตอนฟลักซ์ ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไขมันจะสูงขึ้น เมื่อเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์และเติบโตที่ความเข้มโฟตอนฟลักซ์สูง

Szerenos Bialuk และ Maleszewski (2004) ศึกษาการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในภาวะที่ได้รับฟอสเฟตไม่เพียงพอ พบว่าการให้อินทรีย์คาร์บอน (Dissolved inorganic carbon; DIC) 50  $\mu\text{M}$  และความเข้มแสง 150  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  สาหร่ายมีอัตราการปลดปล่อยออกซิเจนจากการสังเคราะห์แสงไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจนกับเซลล์ในชุดควบคุม (ได้รับฟอสเฟตที่เพียงพอ) แต่เมื่อเพิ่มอินทรีย์คาร์บอนและความเข้มแสงเท่ากับ 150  $\mu\text{M}$  และ 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ตามลำดับ พบว่าในเซลล์ที่ได้รับฟอสเฟตไม่เพียงพอ มีอัตราการปลดปล่อยออกซิเจนจากการสังเคราะห์แสงมากกว่าเซลล์ชุดควบคุมอย่างเด่นชัด นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ที่ได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอมีการปรับเปลี่ยนสัดส่วนโดยมวลของรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง โดยสัดส่วนของรงควัตถุคลอโรฟิลล์ต่อแคโรทีนอยด์มีการลดลงอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อีกทั้งยังรายงานว่าผลของการได้รับฟอสเฟตที่ไม่เพียงพอขึ้นอยู่กับความเข้มแสงที่ได้รับด้วย โดยที่ระดับความเข้มแสงต่ำ (150  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) การได้รับฟอสเฟตไม่เพียงพอส่งผลในการยับยั้งการปลดปล่อย



ออกซิเจนเพียงเล็กน้อย แต่การยับยั้งนี้จะหายไปเมื่อได้รับความเข้มแสงเพิ่มเป็น  $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และการปลดปล่อยออกซิเจนจะเพิ่มมากกว่าชุดควบคุมเมื่อความเข้มแสงเพิ่มมากยิ่งขึ้น

Yuan และคณะ (2002) ศึกษาองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงภาวะในการเพาะเลี้ยง พบว่า *Chlorococum* ที่ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้การให้ได้รับแสง  $90 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และมีการเติมและไม่เติมกลูโคส 0.3% (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่า ในอาหารที่ไม่มีการเติมคาร์บอน ปริมาณแอสตาแซนทีน (Astaxanthin) และ อะโดนิแซนทีน (Adonixanthin) มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย แต่จะมีความแตกต่างกันมากเมื่อมีการเติมกลูโคสในอาหาร และเมื่อพิจารณาองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ในภาวะที่ได้รับและไม่ได้รับแสง พบว่า ลูทีน และ เบต้าแคโรทีน เป็นรงควัตถุหลักเมื่อ *Chlorococum* อยู่ในภาวะที่ไม่ได้รับแสง ส่วนคีโตแคโรทีนอยด์ (Ketocarotenoid; ประกอบด้วย Astaxanthin, Adonixanthin และ Canthaxanthin) จะสร้างในปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่การสะสมคีโตแคโรทีนอยด์จะเกิดขึ้นเป็นจำนวนมากภายใต้การได้รับแสงเท่านั้น ในส่วนผลกระทบของกลูโคสพบว่า ถึงแม้ความเข้มข้นของน้ำหนักรวมจะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคส แต่ความเข้มข้นของกลูโคสที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ลูทีนและเบต้าแคโรทีน คลอโรฟิลล์-เอ และ คลอโรฟิลล์-บี มีปริมาณลดลง และเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสมากกว่า 0.2% ปริมาณของแคโรทีนและคลอโรฟิลล์มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย

## 2.6 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบกะ (Batch culture)

ในระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบกะ (Batch culture) อัตราการเติบโตของสาหร่ายมีแนวโน้มเข้าสู่ศูนย์ เนื่องจากการมีปริมาณสารอาหารเริ่มต้นที่จำกัด เมื่อสาหร่ายมีการเติบโตมากขึ้น สารอาหารจะถูกใช้ไปจนเริ่มขาดแคลน และปริมาณเซลล์สาหร่ายที่มากขึ้นส่งผลให้สาหร่ายเกิดการบังแสงซึ่งกันและกัน ทำให้การเติบโตของสาหร่ายมีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 2.7 ซึ่งสามารถแบ่งระยะการเติบโตออกเป็น 6 ระยะ (Vonshak, 1997) ดังนี้

1. ระยะปรับตัว (Lag phase) เป็นระยะที่เซลล์มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ เช่น แสง อุณหภูมิ และสารอาหาร เป็นต้น ระยะนี้สาหร่ายยังไม่มี การเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ ดังนั้นจึงยังไม่มี การแบ่งเซลล์เพิ่ม ช่วงระยะนี้จะเร็วเพียงใดขึ้นอยู่กับอายุหรือความแข็งแรงของเซลล์สาหร่ายตั้งต้นที่นำมาใช้ และความอุดมสมบูรณ์ของอาหารที่เลี้ยง ถ้าสภาพทั้งสองมีความเหมาะสม สาหร่ายจะเข้าสู่ระยะที่สองได้เร็วขึ้น

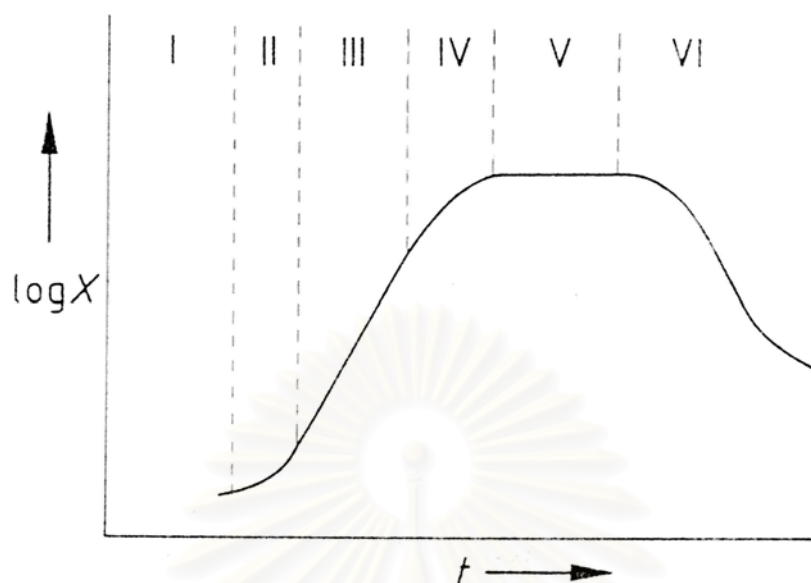
2. ระยะเวลาเร่งตัว (Accelerating) เป็นช่วงที่สาหร่ายเริ่มแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้น เนื่องจากเซลล์เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการเมแทบอลิซึม มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) และโปรตีนจนได้เซลล์ใหม่

3. ระยะเวลาเติบโตทวีคูณ (Exponential phase หรือ Log phase) เป็นระยะที่สาหร่ายมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว เซลล์ใหม่จะถูกสร้างขึ้นในอัตราที่คงที่และเพิ่มเป็นจำนวนมากอย่างต่อเนื่อง และเป็นระยะที่เซลล์มีเมแทบอลิซึมสูงสุด จึงมีอัตราการเติบโตสูงที่สุดด้วย ระยะนี้จะนานเท่าใดขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหารและคุณสมบัติทางกายภาพของสภาพแวดล้อม รวมทั้งปริมาณของเสียที่สาหร่ายขับออกมา

4. ระยะเวลาถดถอย (Decelerating phase) เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายมีอัตราการเพิ่มจำนวนลดลง เนื่องจากสาหร่ายมีความหนาแน่นมากขึ้น ทำให้ธาตุอาหารต่าง ๆ เริ่มลดลง และเกิดการบังแสงกันเองของสาหร่ายเพิ่มมากขึ้นจึงทำให้แต่ละเซลล์ได้รับแสงน้อยลง อัตราการสังเคราะห์แสงจึงลดลง

5. ระยะเวลาคงที่ (Stationary phase) เป็นระยะที่สาหร่ายมีปริมาณสูงสุดและค่อนข้างคงที่ อัตราการเติบโตจะเท่ากับอัตราการตายรวมกับการแตกสลายของเซลล์ ดังนั้น อัตราการเพิ่มจำนวนจึงมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ ทั้งนี้เนื่องมาจากในระยะนี้สาหร่ายมีการปลดปล่อยสารพิษออกมามากขึ้น มีการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบสในอาหาร หรือการได้รับแสงไม่เพียงพอเนื่องจากการบังแสงซึ่งกันและกันของสาหร่าย อย่างไรก็ตามองค์ประกอบบางอย่างภายในเซลล์สาหร่ายอาจมีปริมาณเพิ่มขึ้นหรือบางอย่างอาจมีปริมาณลดลงเนื่องจากการขาดแคลนแร่ธาตุอาหารที่สำคัญ

6. ระยะเวลาตาย (Death phase) เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายเริ่มลดลง อัตราส่วนของการหายใจต่อการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารอาหารหมดลง สารพิษที่ปล่อยออกมานอกเซลล์มีความเข้มข้นมากขึ้น จึงทำให้สาหร่ายเริ่มตายเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ อย่างรวดเร็ว



รูปที่ 2.6 การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กที่ระยะการเติบโตต่าง ๆ (Richmond, 1983)

I คือ ระยะปรับตัว (Lag phase); II คือ ระยะเร่งตัว (Accelerating phase); III คือระยะเติบโตทวีคูณ (Exponential phase); IV คือ ระยะถดถอย (Decelerating phase); V คือ ระยะคงที่ (Stationary phase); VI คือ ระยะตาย (Decline phase)

## 2.7 แบบจำลองคณิตศาสตร์สำหรับระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบกะ (Batch culture) ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เป็นการอธิบายปรากฏการณ์ที่สนใจด้วยชุดของสมการคณิตศาสตร์ที่มีความสัมพันธ์กัน ซึ่งไม่เพียงแต่จะสามารถอธิบายผลของปัจจัยทางภาวะแวดล้อมที่มีต่ออัตราการเติบโตของสาหร่ายเท่านั้น แต่ยังสามารถทำนายปรากฏการณ์ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นภายในปฏิกรณ์ เช่น การเปลี่ยนแปลงสารตั้งต้น การเกิดผลผลิต เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถอธิบายถึงภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตหรือควรดำเนินการเพื่อให้ได้ผลที่ดีที่สุด ทั้งนี้สมการคณิตศาสตร์ที่สร้างขึ้นจะสามารถอธิบายปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นได้ใกล้เคียงกับการทดลองจริงหรือไม่ ย่อมขึ้นอยู่กับค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการประมาณจากผลการทดลอง

จากการศึกษานงานวิจัยที่ผ่านมาสรุปได้ว่า ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะมีค่าเป็นฟังก์ชันกับปัจจัยทางภาวะแวดล้อม ได้แก่ ความเข้มแสง อุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารอาหาร ค่า pH ช่วงเวลาที่มีการให้แสง ปริมาณความเสียหายจากแสง (Huang และ Rorrer, 2002) เป็นต้น นอกจากนี้ยัง

ขึ้นกับชนิดของสาหร่ายด้วย (Goldman, 1979) ดังนั้นปัจจัยเหล่านี้จึงเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญในการควบคุมอัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่าย ( $\mu$ ) ดังสมการที่ 1

$$\mu = f(I, T, S, pH, \text{etc.}) \quad (1)$$

สมการจลนศาสตร์การเติบโตของสาหร่ายได้ถูกเสนอโดย Prokop และ Erickson (1995) ซึ่งเป็นรูปแบบโดยทั่วไปของสมการแสดงอัตราการเติบโตของสาหร่ายประเภท Photoautotrophic คือใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน โดยกำหนดให้อัตราการเติบโตจำเพาะเป็นค่าคงที่ที่เป็นสัดส่วนโดยตรงสำหรับปฏิกิริยาที่มีการเร่งโดยอัตโนมัติ (Autocatalytic reaction) ของสาหร่าย ดังนี้

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (2)$$

เมื่อ  $\mu$  คือ ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ,  $X$  คือ ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย และ  $t$  คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย

งานวิจัยที่ผ่านมาได้มีผู้นำเสนอสมการทางคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายการเติบโตของสาหร่าย ในรูปของอัตราการเติบโตจำเพาะซึ่งเป็นค่าที่ขึ้นกับปัจจัยหลายปัจจัยดังได้กล่าวแล้วข้างต้นแต่ทั้งนี้ ย่อมขึ้นอยู่กับผู้วิจัยว่าต้องการศึกษาปัจจัยใดหรือปัจจัยใดที่มีผลต่อการเติบโต ซึ่งต้องพิจารณาจากผลการทดลองที่ได้ อาจเป็นสมการที่ทำนายอัตราการเติบโตจำเพาะที่พิจารณาปัจจัยเพียงปัจจัยเดียว ดังเช่นสมการที่ (3) เป็นสมการแสดงค่าอัตราการเติบโตจำเพาะเมื่อคาร์บอนไดออกไซด์ยับยั้งการเติบโต (นงศ์นุช เรื่องจิตต์, 2546) สมการที่ (4) และ (5) (Lee, Erickson และ Yang, 1987) พิจารณาความเข้มแสงที่ได้รับต่ออัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่าย

$$\mu = \frac{\mu_{max}}{\frac{(1+K_A)}{C_A} \frac{(1+C_A)}{K_i}} \quad (3)$$

$$\mu_{avg} = \frac{\mu_{max} I_{avg}}{K_i + I_{avg}} \quad (4)$$

$$\mu_{avg} = \frac{\mu_{max} I_{avg}}{K_I + I_{avg} + K_i I_{avg}^2} \quad (5)$$

เมื่อ  $\mu$ ,  $\mu_{max}$ ,  $K_A$ ,  $K_i$  และ  $C_A$  ในสมการที่ (3) คือ อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน), อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (ต่อวัน), ค่าคงที่อิ่มตัวของคาร์บอนไดออกไซด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร), ค่าคงที่การยับยั้งคาร์บอนไดออกไซด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ (มิลลิโมลต่อลิตร) ตามลำดับ และ  $\mu_{avg}$ ,  $\mu_{max}$ ,  $I_{avg}$ ,  $K_I$  และ  $K_i$  ในสมการที่ (4) และ (5) คือ อัตราการเติบโตจำเพาะเฉลี่ย (ต่อชั่วโมง), อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (ต่อชั่วโมง), ความเข้มแสงเฉลี่ย (วัตต์ต่อตารางเมตร;  $W/m^2$ ), ค่าคงที่อิ่มตัวของความเข้มแสง (วัตต์ต่อตารางเมตร;  $W/m^2$ ) และค่าคงที่การยับยั้งแสง (ตารางเมตรต่อวัตต์;  $m^2/W$ ) ตามลำดับ



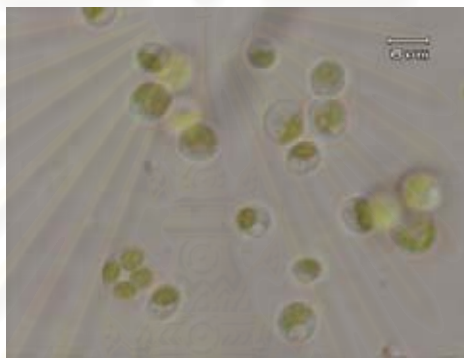
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการทำวิจัย

สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง คือ *Chlorella* sp. K3 (ดังแสดงในรูปที่ 3.1) เป็นสายพันธุ์ที่นำมาจากศูนย์ปฏิบัติการสาหร่าย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

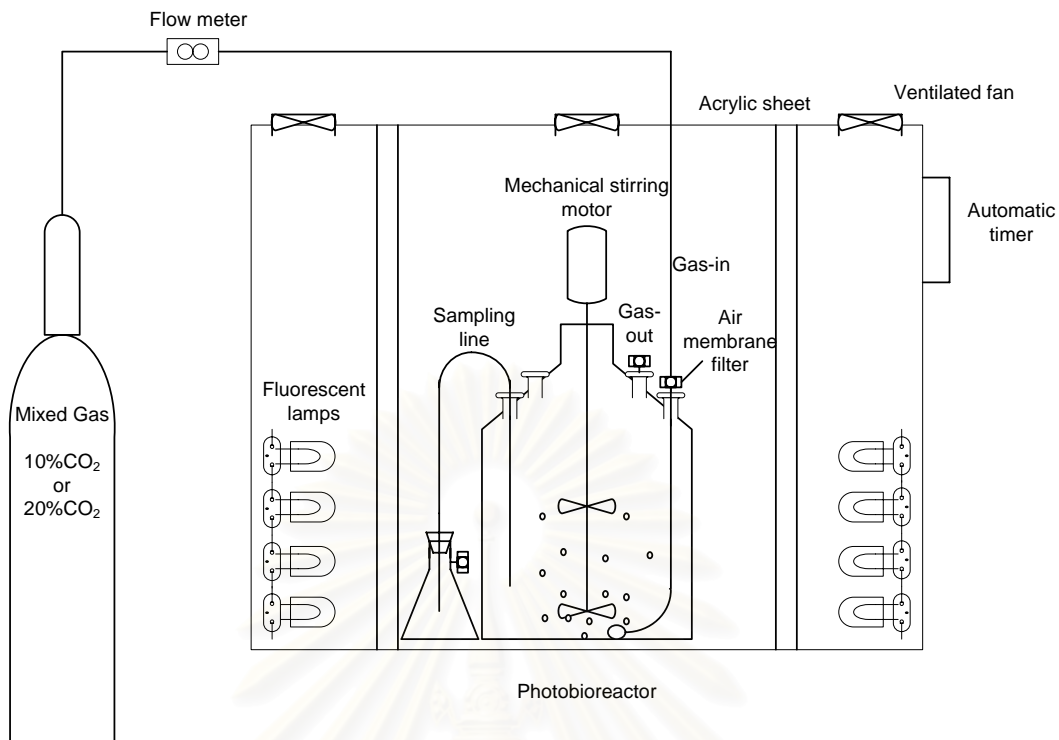


รูปที่ 3.1 รูปร่างลักษณะเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K3

#### 3.2 ปฏิกรณ์ชีวภาพแสงและระบบเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในงานวิจัยนี้ เป็นการเพาะเลี้ยงแบบกะ (Batch cultivation) ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงแบบปิด (Closed-photobioreactor) ที่มีลักษณะเป็นถังทรงกลม โดยใส่อาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร NSIII (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; ภาคผนวก ก) ปริมาตร 15 ลิตร และทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในตู้เพาะเลี้ยงที่มีการติดหลอดไฟเพื่อเป็นแหล่งกำเนิดแสงและให้ก๊าซผสมที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นส่วนประกอบ 10% และ 20% (โดยปริมาตร) เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย *Chlorella* โดยก๊าซผสมนี้จะต้องผ่านแผ่นเยื่อกรองอากาศ (Air membrane filter) เพื่อป้องกันจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนอยู่ภายในสายส่งก๊าซ แผ่นผังระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายแสดงดังรูปที่ 3.2



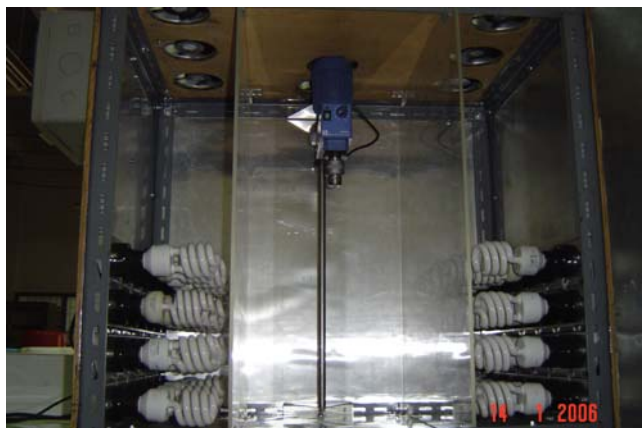


รูปที่ 3.2 แผนผังระบบเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ใช้ในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย

### 1. ตู้เพาะเลี้ยงสาหร่าย

ตู้เพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นตู้ไม้ขนาด 1.0 x 0.75 x 0.8 เมตร ที่ได้ติดหลอดไฟ (Sylvania fluorescent lamp; Minilyn spiral-type; 130 W Daylight) ไว้ที่ด้านข้างภายในตู้ด้านละ 4 แถว แถวละ 6 หลอด เมื่อเปิดไฟทุกหลอดจะทำให้ภายในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงได้รับความเข้มแสงเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ  $540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และทำการติดแผ่นอะคริลิก (Acrylic sheet) ที่มีความหนา 6 มิลลิเมตร ระหว่างหลอดไฟและปฏิกรณ์ชีวภาพแสง เพื่อช่วยลดการสะสมความร้อนในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงที่เกิดจากการเปิดไฟ รวมทั้งติดพัดลมระบายความร้อน (Ventilated fan) ไว้ด้านบน และอุปกรณ์ควบคุมการเปิด-ปิดไฟ (Automatic timer; National TB179) ไว้ที่ด้านข้างของตู้ (ดังแสดงในรูปที่ 3.3 และ 3.4)



รูปที่ 3.3 ตู้เพาะเลี้ยงสาหร่าย



รูปที่ 3.4 พัดลมระบายความร้อนและอุปกรณ์ควบคุมการเปิด-ปิดไฟ

## 2 ปฏิกรณ์ชีวภาพแสง (Photobioreactor; PBR)

มีลักษณะเป็นถังทรงกลมที่ทำจากโพลีคาร์บอเนต (polycarbonate) (Nalgene<sup>®</sup> Culture Vessels with ports; EW-50301-50) ขนาดความจุ 20 ลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 28.9 เซนติเมตร และสูง 42.9 เซนติเมตร (ดังแสดงในรูปที่ 3.5)

## 3. อุปกรณ์สำหรับกวนผสม

ประกอบด้วยมอเตอร์สำหรับกวนผสม (Mechanical stirring motor; IKA Model: RW20n; speed 60-2000 rpm) และใบพัดกวนทำจากสแตนเลส (ดังแสดงในรูปที่ 3.5)



รูปที่ 3.5 ปฏิกรณ์ชีวภาพแสง พร้อมอุปกรณ์สำหรับกวนผสมและชุดเก็บตัวอย่างสาหร่าย

#### 4. ชุดเก็บตัวอย่างสาหร่าย

ประกอบด้วยท่อสแตนเลสขนาด 1/4 นิ้วที่จุ่มลงในอาหารเลี้ยงสาหร่าย และต่อเข้ากับสายซิลิโคนที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 6 มิลลิเมตร ซึ่งต่ออยู่กับพลาสติกสำหรับดูดตัวอย่างสาหร่ายที่มีขนาดความจุ 500 มิลลิลิตร (ดังแสดงในรูปที่ 3.5)

#### 5. วัสดุสำหรับกรองก๊าซผสมที่เข้าและออกจากระบบ

สำหรับก๊าซผสมที่จะเข้าสู่ปฏิกรณ์ชีวภาพแสงและก๊าซที่ออกจากระบบ จะผ่านแผ่นเยื่อกรองอากาศ (Air-membrane filter) ขนาดรูพรุน 0.2 ไมครอน สำหรับกรองจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนภายในสายส่งก๊าซและป้องกันจุลินทรีย์จากอากาศภายนอกเข้าสู่ระบบ

#### 6. ถังก๊าซผสม (Gas cylinder)

เป็นถังก๊าซที่บรรจุก๊าซผสม (Mixed gas) ซึ่งประกอบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 10% และ 20% (โดยปริมาตร) (Air-balance) สำหรับใช้เป็นแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่าย

### 3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์อื่น ๆ

#### 3.3.1 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerator thermostat)

ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (VELP Scientific; Model: FTC 90 E) ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายตั้งต้นสำหรับการเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง โดยทำการติดหลอดไฟจำนวน 7 หลอด (Lampam fluorescent lamp; 10W daylight, 45 lm/W) ไว้ภายในด้านบนของตู้เพื่อเป็นแหล่งกำเนิดแสง และควบคุมการเปิด-ปิดไฟด้วยอุปกรณ์ควบคุมการปิด-เปิดไฟ (Timer; National TB179) (ดังแสดงในรูปที่ 3.6)



รูปที่ 3.6 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerator thermostat) สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายตั้งต้น

#### 3.3.2 เครื่องวัด pH และอุณหภูมิ

เครื่องวัด pH และอุณหภูมิ (Consort; Model: C832) สำหรับวัดค่า pH และอุณหภูมิของตัวอย่างสาหร่าย ณ เวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง

#### 3.3.3 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

หม้อนึ่งความดันไอ (Isuzu Seisakusho) ใช้สำหรับฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงและอาหารเลี้ยงสาหร่าย โดยใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที สำหรับปฏิกรณ์ชีวภาพแสงที่ใส่อาหารเลี้ยงสาหร่ายปริมาตร 4 ลิตร และนาน 20 นาที สำหรับการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงสาหร่ายปริมาตร 300-1000 มิลลิลิตร ที่ใส่ในพลาสติกขนาด 500-2000 มิลลิลิตร

### 3.3.4 เครื่องวัดความเข้มข้นของสารละลาย

เครื่องวัดความเข้มข้นของสารละลาย (Genesy; Model: spectronic 20) สำหรับวัดความเข้มข้นของตัวอย่างสาหร่าย

### 3.3.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

เครื่องปั่นเหวี่ยง (MSE; FALCON 6/300) ใช้สำหรับแยกเซลล์สาหร่ายจากอาหารภายหลังจากเสร็จสิ้นการทดลอง

### 3.3.6 เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze-dryer)

เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Heto; Model: Lypro 6000) เป็นเครื่องมือที่ใช้หลักการระเหิดน้ำออกจากเซลล์สาหร่าย เพื่อให้สามารถเก็บตัวอย่างสาหร่ายได้นานขึ้นและองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด

### 3.3.7 ตู้แช่แข็ง (Freezer)

สำหรับเก็บรักษาตัวอย่างและสารสกัดจากสาหร่ายที่อุณหภูมิต่ำกว่า -30 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ต่อไป

### 3.3.8 เครื่อง HPLC

HPLC (High performance liquid chromatography) ใช้สำหรับการวิเคราะห์รงควัตถุภายในเซลล์สาหร่าย

### 3.4 ขั้นตอนและวิธีการวิจัย

#### 3.4.1 ทำสาหร่าย *Chlorella* ให้บริสุทธิ์

เชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp. K3 ที่อยู่ในหลอดทดลองบนอาหารแข็งวุ้นเอียง (Slant culture) มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง (อาหารสูตร NSIII ที่เติมวุ้น 1.5% น้ำหนักต่อปริมาตร) ในจานเพาะเลี้ยงและต่อเชื้อ (Subculture) หลาย ๆ ครั้งเพื่อให้แน่ใจว่าสาหร่ายที่ได้มีความบริสุทธิ์ปราศจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ตั้งค่าอุณหภูมิที่ตู้ 28 องศาเซลเซียส ช่วงสว่างและช่วงมืด 12:12 ชั่วโมง หลังจากแยกได้สาหร่ายที่ปราศจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์แล้ว จึงเชื้อโคลนเดี่ยว ๆ ลงในอาหารแบบเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อยู่ในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีจุกสำลีปิดปากขวดเพื่อป้องกันการปนเปื้อน และเลี้ยงที่ภาวะดังกล่าวข้างต้น โดยเขย่าขวดวันละ 1-2 ครั้ง และถ่ายสาหร่ายลงในอาหารใหม่ทุก ๆ 2 สัปดาห์ เพื่อเป็นหัวเชื้อสาหร่าย (Stock culture) สำหรับทำสาหร่ายตั้งต้น (Inoculum) เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง

#### 3.4.2 เตรียมสาหร่ายตั้งต้น (Inoculum)

เป็นการเตรียมเพิ่มปริมาณเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* เพื่อใช้เป็นสาหร่ายเริ่มต้นสำหรับการใช้ในการทดลอง โดยนำหัวเชื้อสาหร่ายปริมาตร 15 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีอาหารเหลวปริมาตร 300 มิลลิลิตร และนำไปเพาะเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (ดังรูปที่ 3.6) ที่ภาวะในการเลี้ยงเดิม แต่จะมีการพ่นอากาศผ่านแผ่นเยื่อกรองอากาศที่มีรูพรุน 0.2 ไมครอน เข้าไปในขวดเพาะเลี้ยงด้วย เพื่อเป็นแหล่งของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $0.03\% \text{CO}_2$ ) และช่วยในการกวนผสมสาหร่าย ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน จึงนำไปใช้เป็นสาหร่ายตั้งต้นสำหรับการเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงต่อไป

#### 3.4.3 เตรียมอาหารและปฏิกรณ์ชีวภาพแสงสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* ในงานวิจัยนี้ จะทำการเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงที่ใส่อาหารปริมาตรรวม 15 ลิตร แต่การทำให้อาหารทั้ง 15 ลิตรปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถทำได้ จึงทำการแบ่งการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงสาหร่ายโดยใส่อาหารเลี้ยงสาหร่ายปริมาตร 4 ลิตรลงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงและทำการต่ออุปกรณ์ต่าง ๆ (ได้แก่ ใบพัด ท่อเก็บตัวอย่างสาหร่าย และแผ่นเยื่อกรองอากาศทั้งขาเข้าและออกจากปฏิกรณ์) ให้เรียบร้อยแล้วจึงนำปฏิกรณ์ชีวภาพแสงนี้ไปทำการ



ฆ่าเชื้อโดยนำเข้าเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที ส่วนอาหารเลี้ยงสาหร่ายอีก 11 ลิตร ให้ทำการแบ่งใส่ขวดรูปชมพู่แล้วนำไปทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธีเดียวกัน โดยใช้เวลา 20 นาที (เนื่องจากมีปริมาตรน้อยกว่า) และเมื่อทำการฆ่าเชื้ออาหารและปฏิกรณ์ชีวภาพแสงเรียบร้อยแล้ว จึงทำการเติมอาหารอีก 11 ลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงด้วยวิธีปลอดเชื้อ โดยการทำในตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow)

#### 3.4.4 เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง ที่ภาวะการเพาะเลี้ยงต่างกัน

นำสาหร่ายตั้งต้นที่ได้จากข้อ 3.4.2 ใส่รวมในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.3 โดยให้มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นประมาณ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงนำปฏิกรณ์ชีวภาพแสงที่เติมสาหร่ายตั้งต้นแล้วนี้ไปวางในตู้เพาะเลี้ยงสาหร่าย โดยการควบคุมอัตราเร็วในการกวนให้เท่ากับ 100 รอบต่อนาที อัตราการไหลของก๊าซผสมที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10% และ 20% เท่ากับ 0.2 ลิตรต่อนาที ระยะเวลาในการเปิด-ปิดไฟ คือ 12:12 ชั่วโมง และทำการศึกษาปัจจัยทางภาวะแวดล้อมโดยการวางแผนการทดลองแบบ Full factorial (3x2) ทำการแปรความเข้มแสง 3 ระดับ คือ 60 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 ระดับ คือ 10% และ 20% ทำการทดลอง 3

##### 3.4.4.1 วัดการเติบโตของสาหร่ายและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยง

สาหร่าย

เก็บเกี่ยวตัวอย่างสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในแต่ละการทดลองที่เวลาเดียวกันทุกวัน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เพื่อศึกษาการเติบโตของสาหร่ายและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงสาหร่ายที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวัน โดยที่ ณ เวลาเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (วันที่ 0) จะทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายก่อนที่จะมีการให้แสงและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อใช้ค่าต่าง ๆ ที่จะทำการวิเคราะห์ต่อไปนี้เป็นค่าตั้งต้นที่ใช้ในการเปรียบเทียบก่อนและหลังจากการที่สาหร่ายได้รับปัจจัยทางภาวะแวดล้อมที่ต้องการศึกษา

3.4.4.1.1 pH และอุณหภูมิของตัวอย่างสาหร่าย โดยจะทำการวัดทันที หลังจากการเก็บตัวอย่างสาหร่าย

3.4.4.1.2 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย โดยนำตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บมาจากปฏิกรณ์ชีวภาพแสงมาหยดลงบนสไลด์นับเซลล์ (Haemocytometer) แล้วนำไปนับจำนวนเซลล์

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ้าหากสาหร่ายมีจำนวนเซลล์มากเกินไปให้ทำการเจือจางในอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อ ให้ง่ายต่อการนับจำนวนเซลล์จากนั้นจึงคำนวณหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่นับได้ ตามสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{จำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร} = \text{จำนวนเซลล์ที่นับได้} \times \text{Dilution factor} \times 10^4$$

จากนั้นจึงสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และระยะเวลาที่เลี้ยง (วัน) แล้วคำนวณหาอัตราการเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate;  $\mu$ ) (ต่อวัน) ในระยะการเติบโตวิถุณ (exponential phase) ของสาหร่าย ดังสมการ

$$\mu = \frac{[\ln X_t - \ln X_0]}{\Delta t}$$

โดยที่  $\mu$  = อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)  
 $X_t$  = ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา  $t$  วัน  
 $X_0$  = ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายเริ่มต้น  
 $t$  = ช่วงเวลาระหว่าง  $X_t$  และ  $X_0$  (วัน)

3.4.4.1.3 น้ำหนักแห้ง โดยนำตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บมาจากปฏิกรณ์ชีวภาพ แสงปริมาตร 50-400 มิลลิลิตร (ขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์สาหร่าย) มากรองผ่านกระดาษกรอง GF/F ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ คำนวณหาน้ำหนักแห้งจากน้ำหนักที่หายไป ส่วนน้ำที่ไต่จากการกรองจะนำไปวิเคราะห์หาค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระและค่าอัลคาไลน์ิตีต่อไป

3.4.4.1.4 ค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระ (Free CO<sub>2</sub>) โดยนำส่วนน้ำที่ไต่จากการกรองปริมาตร 10 มิลลิลิตร มาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.2 นอร์มัล โดยใช้ฟีนอล์ฟธาไลน์เป็นอินดิเคเตอร์ (Eaton, Clesceri และ Greengerg, 1995) (ภาคผนวก ข-1)

3.4.4.1.5 ค่าอัลคาไลน์ิตี (Alkalinity) โดยนำส่วนน้ำที่ไต่จากการกรอง ปริมาตร 10 มิลลิลิตร มาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มัล โดยใช้ อินดิเคเตอร์ผสมระหว่างบรอมครีซอลกรีนและเมธิลเรด (Eaton และคณะ, 1995) (ภาคผนวก ข-2)

### 3.4.4.2 ศึกษาผลของปัจจัยทางภาวะแวดล้อมที่มีต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *Chlorella* ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง

เมื่อสาหร่าย *Chlorella* sp. มีการเติบโตเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ (Stationary phase) จึงทำการเก็บเกี่ยวออกจากปฏิกรณ์ชีวภาพแสง แล้วนำไปทำการแยกเซลล์ออกจากอาหารเลี้ยงโดยใช้การปั่นเหวี่ยงที่ 2000 g นาน 25 นาที และล้างเซลล์สาหร่ายด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง จากนั้นจึงนำไปทำแห้งโดยการทำแห้งแบบเยือกแข็ง หลังจากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์เพื่อศึกษาอิทธิพลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่าย ดังนี้

3.4.4.2.1 วิเคราะห์โปรตีนทั้งหมด โดยนำตัวอย่างสาหร่ายส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ Kjeldahl' method (AOAC, 2000)

3.4.4.2.2 วิเคราะห์ไขมันทั้งหมด โดยนำตัวอย่างสาหร่ายส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ SFE (Supercritical fluid extraction) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ไขมันที่ใช้อุณหภูมิและความดันสูง โดยมีหลักการคือสกัดไขมันจากตัวอย่างโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ในสภาวะวิกฤตอย่างยิ่งยวด (Supercritical CO<sub>2</sub>) ซึ่งต้องให้ความดันและอุณหภูมิสูง ๆ แก่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เหลว เพื่อให้อยู่ในสภาวะวิกฤตอย่างยิ่งยวด จากนั้นจึงใช้ความดันในการสกัดไล่เอาไขมันที่ต้องการออกมา สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นดังนี้ :

Extraction pressure : 9000 psi

Extraction temperature : 100 °C

HVR temperature : 100 °C

Hold time : 15 min

Extraction time : 45 min

Flow rate : 1.3 lpm (litre per min)

3.4.4.2.3 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid และหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 485 นาโนเมตร (Kochert, 1978) (วิธีการแสดงในภาคผนวก ก-1)

3.4.4.2.4 วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่าย โดยนำตัวอย่างสาหร่ายส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือ คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ AccQ•Tag (ภาคผนวก ก-2) และวิเคราะห์หาองค์ประกอบของกรดอะมิโนด้วย HPLC ซึ่งมีระบบดังนี้

HPLC system : WATERS Alliance 2690 with heater  
 WATERS 2475 Multi  $\lambda$  Fluorescence Detector  
 (EX: 250, EM 395 nm)

Column : AccQ•Tag column  
 (dimension 3.9 x 150 mm particle size 4  $\mu$ m)  
 Control Temp. 37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C

Injection volume : 5  $\mu$ l

Eluents : AccQ•Tag Eluent A  
 60% Acetonitrile  
 Deionized water

3.4.4.2.5 วิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุ โดยการสกัดตัวอย่างสาหร่ายด้วยเมทานอลที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (วิธีการดังแสดงในภาคผนวก ก-3) และวิเคราะห์องค์ประกอบของรงควัตถุด้วย HPLC ตามวิธีการของ Suzuki (1993) โดยใช้สารละลายมาตรฐานคลอโรฟิลล์-เอ ในการคำนวณหาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์-เอ และลูทีน ระบบของ HPLC เป็นดังนี้

HPLC system : WATERS 600 pump and controller  
 WATERS 996 photodiode array detector

Column : WATERS Nova-pak C18 column  
 (dimension 3.9x150 mm particle size 5  $\mu$ m)

Injection volume : 100  $\mu$ l

Eluents : Solvent A: MeOH  
 Solvent B: Acetone  
 Solvent C: Distilled water

Flow rate : 1 ml/min

### 3.4.4.3 คำนวณค่าทางสถิติ

วิเคราะห์ผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่มีต่อการเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) โดยใช้โปรแกรม SPSS.13 และหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan'New Multiple Range Test

### 3.4.5 สร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับทำนายผลการเติบโตของสาหร่ายในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง

ในงานวิจัยนี้ได้เสนอสมการจลนศาสตร์การเติบโตของสาหร่ายเพื่อใช้ในการทำนายการเติบโตของสาหร่ายในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงที่ได้ทำการทดลองในครั้งนี้ ทั้งนี้จะต้องอาศัยข้อมูลจากการทดลองมาใช้ในการประมาณค่าพารามิเตอร์ของสมการ โดยจะต้องทราบผลของปัจจัยที่มีต่อการเติบโตของสาหร่ายก่อน จึงจะสามารถทราบว่าจะต้องทำการประมาณค่าพารามิเตอร์ใดบ้าง หลังจากการประมาณค่าพารามิเตอร์ของสมการแล้ว จึงจะนำแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่สร้างขึ้นเปรียบเทียบกับผลการทดลองจริง

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ในงานวิจัยนี้ศึกษาปัจจัยทางภาวะแวดล้อม 2 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่มีผลต่อการเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยทำการเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงที่ใส่อหารเลี้ยงสาหร่ายปริมาตร 15 ลิตร ศึกษาที่ความเข้มแสง 3 ระดับ คือ 60 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 ระดับ คือ 10% และ 20% โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial (3x2) เพื่อศึกษาผลของแต่ละปัจจัยและผลของปัจจัยร่วมที่มีต่อการเติบโต และองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย

#### 4.1 ผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp.

จากผลการทดลองพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. K3 มีการเติบโตที่ค่อนข้างรวดเร็ว เนื่องจากไม่พบระยะพักตัว (Lag phase) และมีระยะการเติบโตที่วิฤณ (Exponential phase) เพียง 2 วัน หลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ (Stationary phase) รวมระยะเวลาในการเลี้ยงทั้งหมด 4 วัน และเป็นเช่นเดียวกันนี้ในทุกภาวะการทดลอง (ดังแสดงในรูปที่ จ-1 ถึง จ-6 ในภาคผนวก จ) อย่างไรก็ตามอาจเห็นว่าการทดลองที่ภาวะการได้รับความเข้มแสง 60  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ทั้งที่ระดับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10% และ 20% การเติบโตของสาหร่ายยังคงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแม้เป็นวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง แต่การที่ไม่ได้ดำเนินการเพาะเลี้ยงสาหร่ายต่อไป เนื่องจากการทดลองในเบื้องต้นพบว่าในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง สาหร่ายมีการเกาะบริเวณผิวด้านในของปฏิกรณ์และเกิดการตกตะกอน จากการรายงานของชิตา เพชรมณี (2543) ที่กล่าวว่าถ้าสาหร่ายมีสีจางลงมีตะกอนแขวนลอยบ้างแสดงว่าสาหร่ายเริ่มตาย ถ้าไม่มีสีแต่มีกลุ่มตะกอนแขวนลอยมาก ตกอยู่ก้นภาชนะหรือเกาะข้างภาชนะแสดงว่าตายเกือบหมดแล้ว อย่างไรก็ตามสำหรับในงานวิจัยนี้แม้ว่าจะสังเกตเห็นไม่เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของสีได้ชัดเจนมากนัก เนื่องจากความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่สูง แต่การเกิดตะกอนแขวนลอยและตกอยู่ก้นภาชนะก็แสดงถึงการเกิดภาวะในปฏิกรณ์ที่ไม่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย ดังนั้นจึงเลือกใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 4 วัน เท่ากับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในภาวะการเพาะเลี้ยงอื่น ซึ่งถือเป็นข้อดีอย่างหนึ่งในการที่จะเปรียบเทียบการเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์สาหร่ายเมื่อใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่เท่ากัน



#### 4.1.1 ผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp.

จากตารางที่ 4.1 เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (Maximum specific growth rate;  $\mu_{max}$ ) และน้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้นของสาหร่าย พบว่าความเข้มแสงเป็นเพียงปัจจัยเดียวที่มีผลต่ออัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ ๕-1 ถึง ๕-4 ในภาคผนวก ๕) โดยการเพิ่มความเข้มแสงจาก 60 เป็น 240  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยของอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของสาหร่ายเพิ่มขึ้นจาก 1.61 เป็น 2.25 ต่อวัน และน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเพิ่มขึ้นจาก 0.12 เป็น 0.33 กรัมต่อลิตร ในขณะที่การเพิ่มความเข้มแสงจาก 240 เป็น 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยของอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเพิ่มขึ้นจาก 2.25 เป็น 2.27 ต่อวัน และ 0.33 เป็น 0.35 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

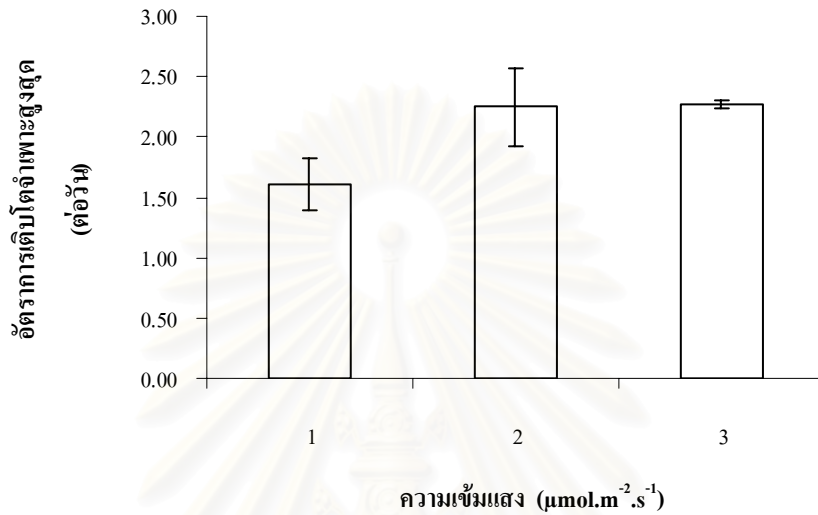
ตารางที่ 4.1 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะการทดลองต่าง ๆ (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	ความเข้มข้นของ $\text{CO}_2$ (%)	อัตราการเติบโต จำเพาะสูงสุด (ต่อวัน)	น้ำหนักเซลล์แห้งที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อลิตร)
60	10	$1.76 \pm 0.29^a$	$0.1 \pm 0.01^a$
	20	$1.46 \pm 0.22^a$	$0.11 \pm 0.02^a$
240	10	$2.48 \pm 0.28^b$	$0.34 \pm 0.09^b$
	20	$2.02 \pm 0.62^b$	$0.30 \pm 0.08^b$
540	10	$2.30 \pm 0.57^b$	$0.34 \pm 0.06^b$
	20	$2.25 \pm 0.14^b$	$0.31 \pm 0.06^b$

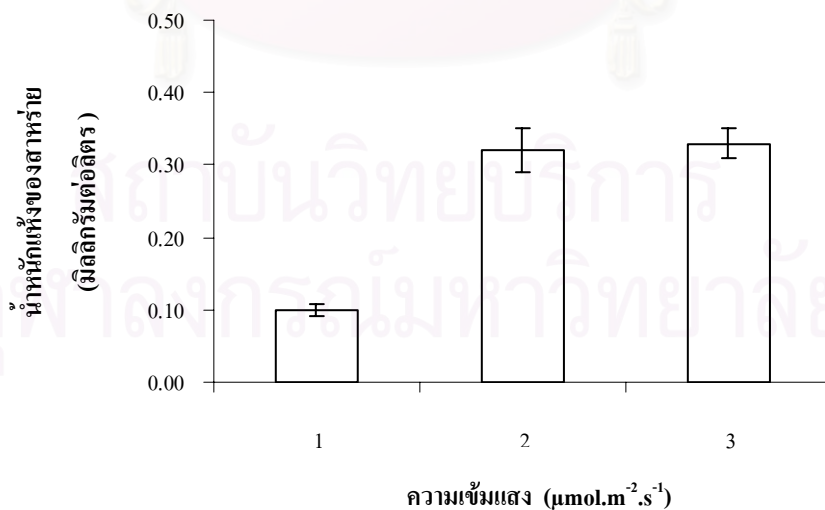
หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน (a และ b) มีความแตกต่างกันทางสถิติ

( $p \leq 0.05$ )

ดังนั้นเมื่อพิจารณาการเติบโตของสาหร่ายอันเป็นผลเนื่องมาจากความเข้มแสงเพียงปัจจัยเดียวและสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดและความเข้มแสงกับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย ได้ความสัมพันธ์ดังแสดงในรูปที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ



รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ของความเข้มแสงและอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของสาหร่าย (1 2 และ 3 คือ ความเข้มแสง 60 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ตามลำดับ)



รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ของความเข้มแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่าย (1 2 และ 3 คือ ความเข้มแสง 60 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ตามลำดับ)

จากรูปที่ 4.1 และ 4.2 พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. K3 มีการเติบโตอันเป็นผลเนื่องมาจากปัจจัยความเข้มแสงใน 2 ลักษณะ คือ สาหร่ายถูกจำกัดการเติบโตอันเป็นผลเนื่องมาจากความเข้มแสงที่จำกัด (Light limitation) และสาหร่ายมีการเติบโตคงที่อันเป็นผลเนื่องมาจากความเข้มแสงอิ่มตัว (Light saturation) โดยการเพิ่มระดับความเข้มแสงจาก 60 เป็น 240  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  พบว่าสาหร่ายมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดและน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าที่ระดับความเข้มแสง 60  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  เป็นความเข้มแสงที่จำกัดของการเติบโตของสาหร่าย ซึ่งหมายถึง การให้สาหร่ายได้รับความเข้มแสงสูงกว่า 60  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  มีผลทำให้การเติบโตของสาหร่ายเพิ่มขึ้น แต่เมื่อความเข้มแสงเพิ่มจาก 240 เป็น 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  พบว่าสาหร่ายมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดและน้ำหนักแห้งคงที่ แสดงให้เห็นว่าที่ระดับความเข้มแสง 240  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  เป็นความเข้มแสงอิ่มตัวของสาหร่าย ซึ่งพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับที่ Hanagata และคณะ (1992) ได้รายงานไว้ว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. จะมีระดับความเข้มแสงอิ่มตัวอยู่ที่ประมาณ 200  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ซึ่งที่ความเข้มแสงอิ่มตัวนี้จะทำให้สาหร่ายมีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงสุดด้วย

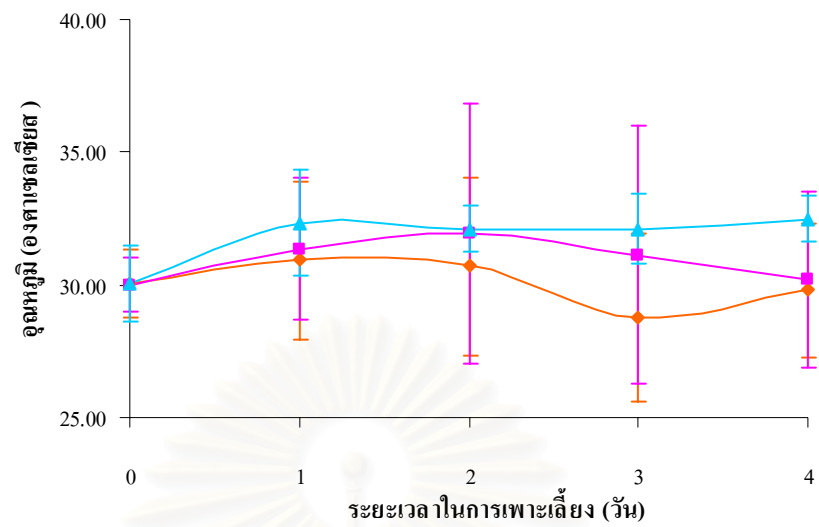
จากงานวิจัยที่ผ่านมาที่ได้มีผู้ศึกษาการเพิ่มความเข้มแสงต่ออัตราการเติบโตของสาหร่ายชนิดต่าง ๆ พบว่ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ แต่ทั้งนี้ระดับความเข้มแสงอิ่มตัวจะมีค่าแตกต่างกันตามชนิดของสาหร่าย ผลการศึกษาของ Gordillo และคณะ (1998) พบว่าการเพิ่มความเข้มแสงจากความเข้มแสงที่ระดับ 0 เป็น 700  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  มีผลทำให้อัตราการเติบโตของสาหร่าย *Dunaliella viridis* เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มแสงขึ้นเป็น 1500  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  อัตราการเติบโตกลับลดลง 63% เทียบกับผลของความเข้มแสง 700  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ซึ่งเป็นความเข้มแสงอิ่มตัวของสาหร่ายชนิดนี้

ความเข้มแสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญมาก และถือเป็นปัจจัยจำกัดสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง เนื่องจากเมื่อสาหร่ายมีการเติบโตเพิ่มมากขึ้นเซลล์แต่ละเซลล์ของสาหร่ายจะได้รับความเข้มแสงที่ลดลง อันเป็นผลมาจากการบังแสงซึ่งกันและกันของเซลล์สาหร่าย และผลจากงานวิจัยนี้แสดงว่าสาหร่ายเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ในวันที่สองของการเพาะเลี้ยงซึ่งการเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ที่เร็วของสาหร่ายชนิดนี้อาจเกิดจากสภาพของสาหร่ายชนิดนี้มีการเติบโตรวดเร็ว แต่ก็ต้องพิจารณาปัจจัยที่อาจจำกัดการเติบโตของสาหร่ายด้วย ทั้งนี้อาจเกิดจากการขาดแคลนสารอาหารอื่นที่ไม่ใช่แหล่งคาร์บอน (เนื่องจากในงานวิจัยนี้มีการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ตลอดเวลา) หรืออาจถูกจำกัดการได้รับแสง เนื่องจากปฏิกรณ์ชีวภาพแสงที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีลักษณะเป็นถังทรงกระบอก ทำให้มีสัดส่วนของพื้นที่รับแสงต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงสาหร่ายต่ำกว่าปฏิกรณ์ชีวภาพแสงแบบอื่น ดังนั้นประสิทธิภาพในการใช้แสงของสาหร่ายจึงลดลง และอาจถูกจำกัดการใช้แสงได้มากกว่าเมื่อสาหร่ายมีความหนาแน่นเซลล์เพิ่มมากขึ้นอันเป็น

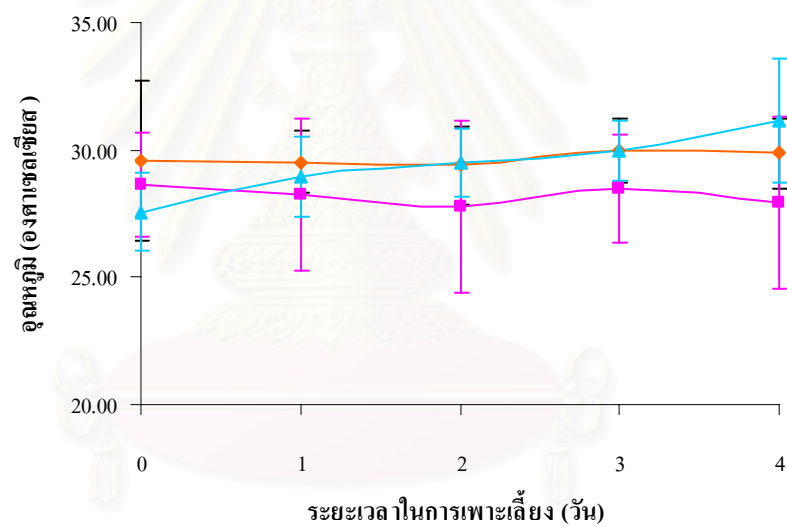
ผลเนื่องมาจากการบังแสงซึ่งกันและกันของสาหร่าย ทำให้ความเข้มแสงเฉลี่ยที่เซลล์สาหร่ายแต่ละเซลล์จะได้รับลดลง การสังเคราะห์แสงและการเติบโตของสาหร่ายจึงลดลง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Watanabe และ Saiki (1997) ที่เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. HA-1 ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงแบบ Cone-shaped Helical Tubular ขนาด 22 ลิตรโดยใช้อาหารสูตร M4N ทำการเพาะเลี้ยง 6 วัน ช่วงมืดและช่วงสว่าง 12:12 ชั่วโมง โดยป้อนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10% อุณหภูมิช่วงสว่างเท่ากับ 32 องศาเซลเซียส และช่วงมืด 25 องศาเซลเซียส พบว่ามีค่าน้ำหนักแห้งเท่ากับ 1.4 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าในการทดลองนี้กว่า 3 เท่า ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากข้อดีของปฏิกรณ์ชีวภาพแสงแบบ Cone-shaped Helical Tubular ที่มีระยะเวลาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในระบบนานกว่าปฏิกรณ์ชีวภาพแสงที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ นอกจากนี้ยังมีพื้นที่ในการรับแสงมาก โดยมีอัตราส่วนของพื้นที่ในการรับแสงต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงสาหร่ายมีค่ามากส่งผลให้สามารถใช้พลังงานแสงได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วย โดยในงานวิจัยนี้พบว่าความเข้มแสงเป็นเพียงปัจจัยเดียวที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายเช่นเดียวกัน

นอกจากปัจจัยแสงจะเป็นปัจจัยจำกัดที่สำคัญแล้ว อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญซึ่งโดยปกติแล้วจะสัมพันธ์กับการได้รับแสง สำหรับในงานวิจัยนี้ไม่ได้ทำการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่เพียงแต่ระบายความร้อนที่เกิดการสะสมอันเนื่องมาจากการได้รับแสงสว่าง เพื่อให้ความร้อนภายในระบบไม่มากเกินไป รูปที่ 4.3 แสดงอุณหภูมิของตัวอย่างสาหร่ายที่ทำการเก็บเกี่ยวในแต่ละวันที่ภาวะในการทดลองต่าง ๆ (ข้อมูลการทดลองแสดงในตาราง ง-6 ในภาคผนวก ง) จะสังเกตได้ว่าในแต่ละภาวะการทดลองจะมีความแปรปรวนของอุณหภูมิมาก ทั้งนี้มีสาเหตุมาจากการได้รับความร้อนที่เกิดขึ้นจากการเปิดไฟ โดยภาวะในการได้รับแสงที่ระดับ  $540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  จะส่งผลให้อุณหภูมิในระบบสูงกว่าที่การทดลองด้วยความเข้มแสง 240 และ  $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ตามลำดับ นอกจากนี้อุณหภูมิกายในระบบยังขึ้นกับสภาวะอากาศในห้องปฏิบัติการในระหว่างการทดลองด้วย เนื่องจากถ้าอุณหภูมิในสภาวะอากาศแวดล้อมต่ำจะมีผลทำให้การระบายความร้อนจากระบบออกสู่อากาศแวดล้อมเกิดขึ้นได้ดี ส่งผลให้อุณหภูมิภายในระบบต่ำลงมากกว่าแม้จะได้รับแสงที่ความเข้มแสงสูงกว่า (พิจารณาที่การได้รับที่ความเข้มแสง 60 และ  $540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มขึ้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20%) แต่การที่ไม่ได้ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่อุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่งอาจเป็นข้อดีในการที่จะพิจารณาความเป็นไปได้ในการนำสาหร่ายไปประยุกต์สำหรับการเพาะเลี้ยงกลางแจ้งซึ่งจะต้องประสบกับสภาวะอากาศที่มีความแปรปรวนตลอดเวลา ซึ่งสาหร่าย *Chlorella* sp. สายพันธุ์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้สามารถเติบโตได้เป็นอย่างดีแม้จะไม่ได้ควบคุมอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง

การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. จากการเพิ่มความเข้มแสงจาก 60 เป็น 240  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  มีอัตราการเติบโตจำเพาะเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มแสงจาก 240 เป็น 540  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  พบว่ามีการเติบโตคงที่ ซึ่งถ้าพิจารณาในส่วนของอุณหภูมิได้มีผู้รายงานว่ามีอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมสูงขึ้นอัตราการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มขึ้น อัตราการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มตามการเพิ่มของอุณหภูมิจนถึงระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงกว่านี้อัตราการเติบโตของสาหร่ายจะลดลง (Darley, 1982) ซึ่งถ้าพิจารณาในส่วนของอุณหภูมิการเพิ่มความเข้มแสงทำให้อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์แสงและอัตราการเติบโตของสาหร่ายสูงขึ้น แต่อุณหภูมิที่สูงขึ้นนี้จะต้องไม่มากไปกว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายซึ่งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่ายด้วย (Goldman, 1979) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าทำให้สาหร่ายได้รับความเข้มแสงสูงก็ไม่ควรที่จะทำการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสงต่ำ เพราะจะเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายได้ ซึ่งจากรายงานของ Jensen และ Knutsen (1993) ที่ศึกษาถึงการยับยั้งการสังเคราะห์แสงที่เกิดขึ้นใน *Spirulina platensis* พบว่าเมื่อ *S. platensis* ได้รับความเข้มแสง 1720  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราการสังเคราะห์แสงลดลง 50% ภายใน 1 ชั่วโมง แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 35 องศาเซลเซียส พบว่าไม่มีผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสงในเชิงลบ ซึ่งได้สรุปไว้ว่าอุณหภูมิของการเพาะเลี้ยงเป็นสิ่งสำคัญในการควบคุมการเกิด Photoinhibition เนื่องจากที่ความเข้มแสงสูง (1800  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) และควบคุมอุณหภูมิที่ 20-25 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิด Photoinhibition ขึ้นได้ ในขณะที่ไม่พบปรากฏการณ์นี้ที่อุณหภูมิ 35-38 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่าโคอะตอม *Detonula confervacae* ที่เติบโตในสิ่งแวดล้อมที่มีอุณหภูมิต่ำจะตอบสนองต่อแสงที่มีความเข้มแสงต่ำได้ดี ส่วนเซลล์ที่เลี้ยงในที่อุณหภูมิสูงจะตอบสนองต่อแสงที่มีความเข้มแสงสูงได้ดี (Smayda, 1969)



(ก)



(ข)

◆ 60  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$    
 ■ 240  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$    
 ▲ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในอาหารเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ตามระยะเวลาในการเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง 60 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

(ก) ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 10%

(ข) ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 20%



จากค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของสาหร่าย ( $\mu_{max}$ ) ที่แสดงในตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. K3 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีอัตราการเติบโตที่ดีแม้จะได้รับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับ 20% เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ ธราดล ภิรมย์ชาติ (2545) ที่ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงแบบ Baffled Bubble Photobioreactor (BBP) ขนาด 20 ลิตร และให้แสงที่ระดับ 8,900 ลักซ์ พบว่าการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 20% อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สาหร่ายไม่มีการเติบโตเพิ่มขึ้นจากวันที่ทำการเพาะเลี้ยง ซึ่งผู้วิจัยได้ให้ความเห็นไว้ว่าอาจเกิดการยับยั้งการเติบโตเนื่องมาจากการได้รับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มาก ในขณะที่การได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 15% เป็นภาวะที่มีการเติบโตสูงสุดซึ่งมีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.463 ต่อวัน และมีค่าน้ำหนักแห้งประมาณ 0.415 กรัมต่อลิตร ภายในระยะเวลา 5 วัน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยนี้พบว่าค่าอัตราการเติบโตจำเพาะมีค่าสูงกว่าโดยการได้รับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 20% และความเข้มแสง  $60-540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  สาหร่ายมีอัตราการเติบโตจำเพาะ (คิดจากน้ำหนักแห้งของสาหร่าย) อยู่ในช่วง 0.9-1.14 ต่อวัน อย่างไรก็ตามแม้จะมีอัตราการเติบโตจำเพาะที่สูงกว่า แต่เมื่อพิจารณาถึงน้ำหนักแห้งของสาหร่ายพบว่ามีค่าสูงสุดที่ 0.35 กรัมต่อลิตร ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่ขนาดเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K3 อาจมีขนาดเล็กกว่าซึ่งเป็นข้อเสียเปรียบในขั้นตอนการเก็บเกี่ยวเซลล์ที่ต้องใช้ต้นทุนสูงกว่า ดังนั้นจึงควรศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายสูงหรือการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องเพื่อช่วยลดต้นทุนในส่วนนี้

แม้ว่าในงานวิจัยนี้จะไม่ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในภาวะที่มีการให้อากาศ (0.03%  $\text{CO}_2$ ) เพื่อเป็นการยืนยันว่าการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นสูง (10-20%  $\text{CO}_2$ ) มีอัตราการเติบโตที่ดีกว่า แต่จากภาวะที่มีการให้อากาศเมื่อสาหร่ายมีการเติบโตมากขึ้น จะมีการปล่อยของเสียออกมาในรูปของแอมโมเนีย (Shuler และ Kargi, 1992) ซึ่งจะทำให้ระบบมีค่า pH สูงขึ้น การให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แทนการให้อากาศ จะทำให้ค่า pH ในระบบต่ำลง เนื่องจากเกิดการคาร์บอนิกอันเป็นผลมาจากการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จึงทำให้สาหร่ายสามารถเติบโตได้ดีกว่าระบบที่ป้อนด้วยอากาศ (ธราดล ภิรมย์ชาติ, 2545)

จากผลการทดลอง ระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 10% และ 20% ไม่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายตามรูปที่ 4.1 อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ต้องการทราบภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. สายพันธุ์นี้ด้วย ดังนั้นจึงจะทำการพิจารณาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ที่ระดับความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซ

คาร์บอนไดออกไซด์ต่างกัน เพื่อให้สามารถอธิบายเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นต่อการเติบโตของสาหร่ายได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

#### 4.1.2 ผลของการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารต่อการเติบโตของสาหร่าย

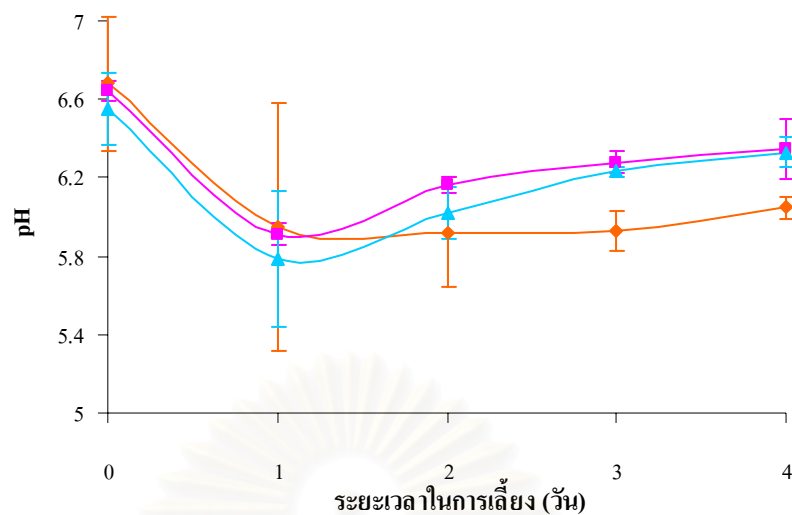
การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในงานวิจัยนี้มีจุดประสงค์หลักในการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นจึงใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวในการเลี้ยงสาหร่าย และเนื่องจากการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในอาหารเลี้ยงสาหร่าย ได้แก่ ค่า pH ค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระ และค่าอัลคาไลน์ตี้ ดังนั้นการศึกษากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเหล่านี้ อาจช่วยอธิบายการเติบโตของสาหร่ายได้ดียิ่งขึ้น การเปลี่ยนแปลงค่า pH คาร์บอนไดออกไซด์อิสระ และอัลคาไลน์ตี้ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ที่เกิดขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงในแต่ละภาวะการทดลอง แสดงได้ดังรูปที่ 4.4 ถึง 4.6 โดยที่ค่า pH คาร์บอนไดออกไซด์อิสระ และอัลคาไลน์ตี้ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ วันที่ 0 ของการเพาะเลี้ยงเป็นค่าเริ่มต้นที่พบในอาหารเลี้ยงสาหร่ายก่อนทำการให้แสงและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นจึงใช้เป็นค่าเริ่มต้นที่แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงสาหร่ายในแต่ละภาวะการเพาะเลี้ยงที่ต่างกัน

หลังจากการให้แสงและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ใน 24 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง พบว่า pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่ายในทุกภาวะการทดลองมีค่าลดลง (ดังแสดงในรูปที่ 4.4) ในขณะที่ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระมีค่าเพิ่มขึ้น (ดังแสดงในรูปที่ 4.5) ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่อาหารเลี้ยงสาหร่ายนั่นเอง โดยการป้อนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นมากขึ้น มีผลทำให้ปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายในอาหารเลี้ยงสาหร่ายมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งที่ภาวะในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 10% มีผลทำให้ค่า pH ลดลงจาก 6.55-6.68 เป็น 5.79-5.95 โดยมีค่าการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์อิสระเท่ากับ 104.46-109.41 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร และที่ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20% มีผลให้ pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่ายมีค่าลดลงจาก 6.48-6.63 เป็น 5.49-5.56 โดยมีค่าการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์อิสระเท่ากับ 126.50-170.14 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร อย่างไรก็ตามการลดลงของ pH ในระดับ 5.49-5.95 ในช่วงเริ่มต้นการเพาะเลี้ยงนี้ อาจจะยังไม่มผลต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* เนื่องจากมีรายงานว่าสาหร่าย *Chlorella* สามารถเติบโตได้ในอาหารที่มีค่า pH เริ่มต้น 4.6-6.6 โดยไม่มีความแตกต่างของอัตราการเติบโตของสาหร่าย (สมรลักษ์ณ์ แจ่มแจ้ง, 2542) ซึ่งจะสังเกตได้ว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถเติบโตได้ในช่วง pH ที่กว้าง ในขณะที่สาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ที่ทำการ

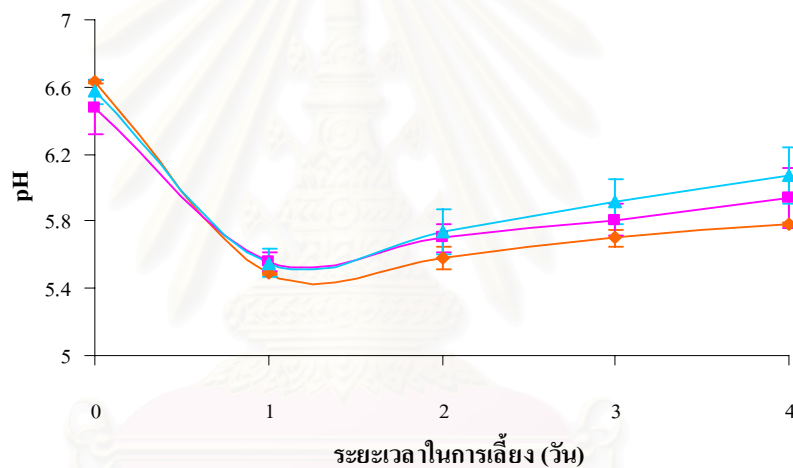
เพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic มีช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการเติบโตที่แคบ โดยพบว่า สาหร่ายไม่มีการเติบโตเมื่อ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.23 ในขณะที่อัตราการเติบโตจะต่ำมากเมื่อ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.14 แต่เมื่อ pH เริ่มต้นเท่ากับ 7.85 สาหร่ายมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด และมีค่า pH เมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 8.15 สำหรับค่า pH เริ่มต้นที่ 9.15 และ 10.05 พบว่า pH จะลดลงในช่วงการเพาะเลี้ยงและอัตราการเติบโตมีค่าประมาณครึ่งหนึ่งของค่าอัตราการเติบโตที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 7.85 (Hata และคณะ, 2001) ในขณะที่การเติบโตของ *Chlorococcum littorale* พบว่า ถ้า pH มากกว่า 4 การเติบโตไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ถ้า pH เท่ากับ 3.5 การเติบโตจะลดลง 50 % ของการเติบโตที่ pH มากกว่า 4 และที่ pH น้อยกว่า 4 การเติบโตจะลดลง และไม่สามารถเติบโตได้ที่ pH เท่ากับ 3 (Kodama, และคณะ, 1993)

หลังจาก 24 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยงค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระในสารละลายอาหารที่ทุกภาวะการเพาะเลี้ยงมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง แม้ว่าจะมีการป้อนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ตลอดเวลา และในเวลากลางคืนสาหร่ายจะใช้ก๊าซออกซิเจนในการหายใจและปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่ระบบ ซึ่งน่าจะทำให้ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยรวมของระบบมีค่าเพิ่มขึ้น แต่จากการเก็บตัวอย่างสาหร่าย ณ เวลาที่สาหร่ายได้รับแสงผ่านไปเพียง 1 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เริ่มต้นในการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย กลับพบว่าค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระในสารละลายอาหารมีค่าลดลง ซึ่งน่าจะเป็นสิ่งที่แสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. สายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้สามารถเติบโตได้ดีและไม่เกิดการยับยั้งการเติบโตของสาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญเมื่อได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับ 10-20% และเมื่อเข้าสู่วันที่ 2 จนถึงวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงพบว่า ค่า pH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่จะไม่เพิ่มขึ้นจนมีค่าเท่ากับวันเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นเช่นเดียวกันในทุกภาวะการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 4.4

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



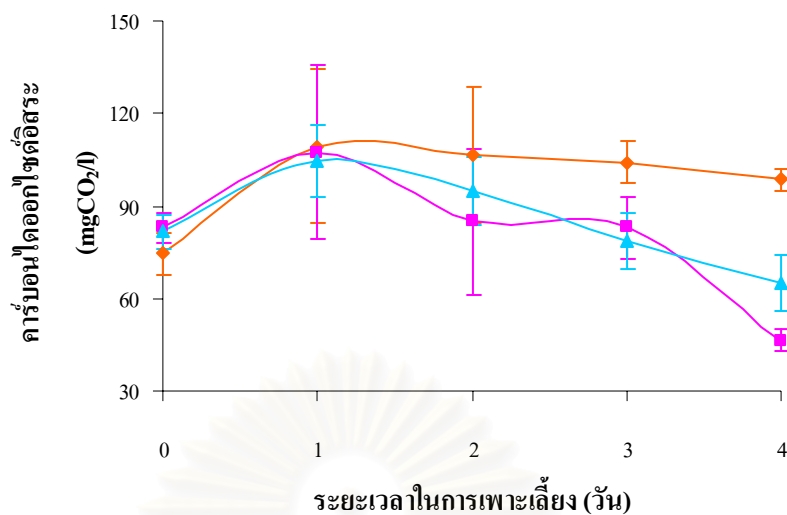
(ก)



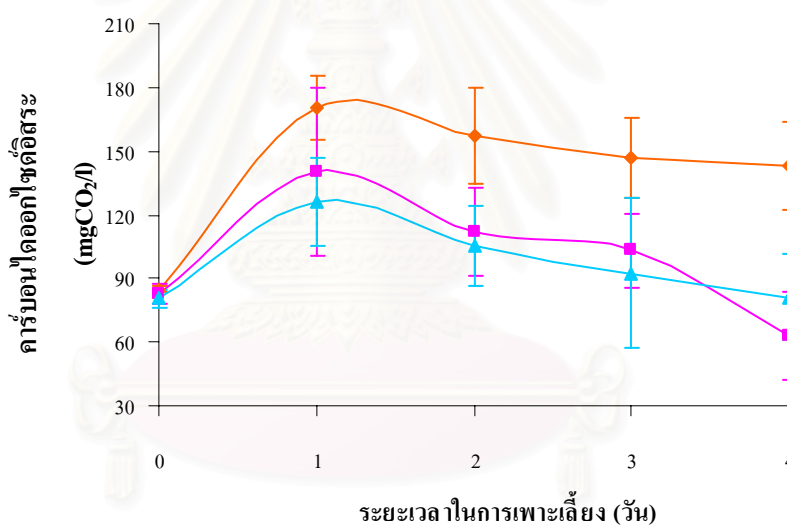
(ข)

—◆— 60  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  —■— 240  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  —▲— 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ตามระยะเวลาในการเลี้ยง ที่ระดับความเข้มข้น 60 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$   
 (ก) ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 10%  
 (ข) ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 20%



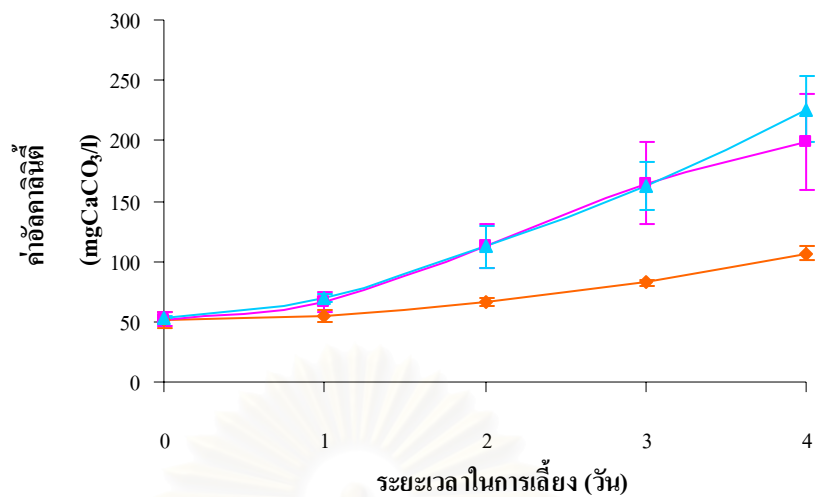
(ก)



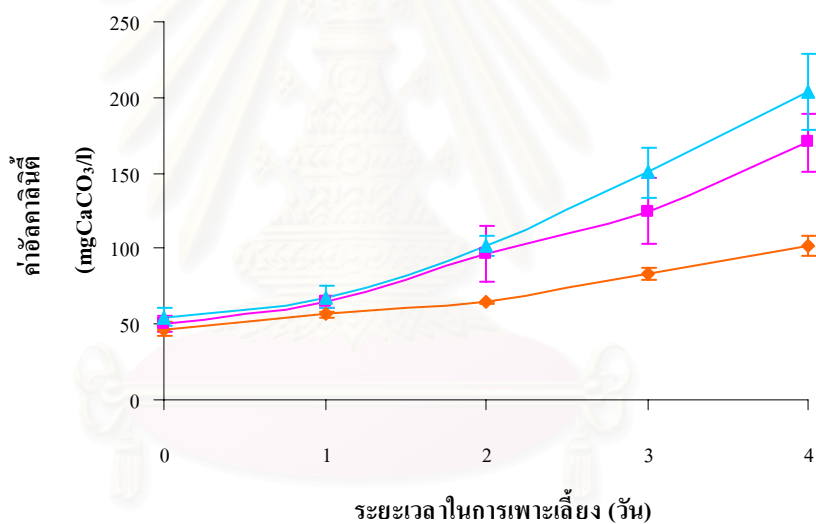
(ข)

◆ 60  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ 
■ 240  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ 
▲ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระในอาหารเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ตามระยะเวลาในการเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง 60 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$   
 (ก) ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 10%  
 (ข) ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 20%



(ก)



(ข)

◆ 60  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ 
■ 240  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ 
▲ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาไลน์ในอาหารเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ตามระยะเวลาในการเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง 60 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

(ก) ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 10%

(ข) ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 20%



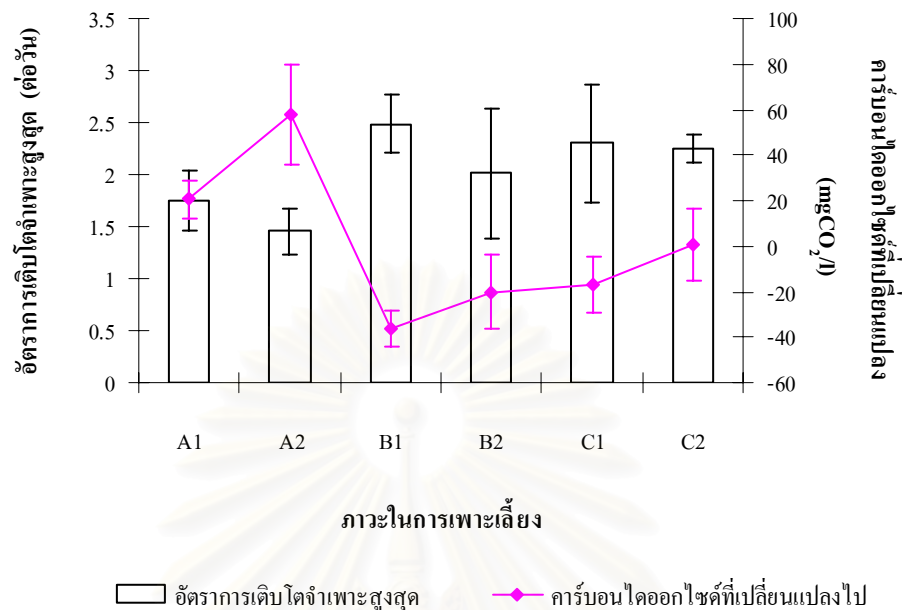
จากรูปที่ 4.4 แนวโน้มของการเพิ่มขึ้นของค่า pH นี้จะแตกต่างกันไปในแต่ละการทดลอง โดยพบว่าค่า pH จะสัมพันธ์กับการเติบโตของสาหร่าย ภาวะการทดลองที่สาหร่ายมีอัตราการเติบโตมากจะทำให้ค่า pH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นมากกว่าภาวะที่สาหร่ายมีอัตราการเติบโตที่ช้ากว่า และการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงในภาวะที่สาหร่ายมีอัตราการเติบโตเร็วจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระลดลงมากกว่าภาวะที่สาหร่ายมีอัตราการเติบโตที่ช้ากว่า ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.7 ทั้งนี้เป็นผลมาจากการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ในการสังเคราะห์แสงและการเติบโตของสาหร่ายนั่นเอง โดยภาวะที่มีการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์อิสระมากที่สุดคือที่ระดับความเข้มแสง 240  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10% ซึ่งเป็นภาวะที่ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของสาหร่าย ( $\mu_{max}$ ) มีค่าสูงสุดด้วย โดยมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระลดลง  $36.39\pm 7.83$  มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร รองลงมาคือ  $20.18\pm 16.32$  มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร โดยยังคงเป็นภาวะที่ระดับความเข้มแสง 240  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 20% ซึ่งจะสังเกตได้ว่าเป็นภาวะอิ่มตัวแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. สายพันธุ์นี้นั่นเอง ซึ่งที่ภาวะอิ่มตัวแสงนี้จะทำให้สาหร่ายสามารถสังเคราะห์แสงได้มากที่สุด (Devlin และ Barker, 1971) จึงส่งผลให้สาหร่ายมีการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ในการเติบโตได้มาก

สำหรับค่าอัลคาลินิตีของอาหารเลี้ยงสาหร่ายซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงปริมาณเกลือคาร์บอเนตในอาหารเลี้ยงสาหร่าย โดยรายงานค่าในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนตที่ละลายอยู่ในอาหาร ซึ่งพบว่าจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงที่ทุกภาวะการทดลอง (รูปที่ 4.6) ซึ่งสอดคล้องกับกระบวนการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายที่ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระจะลดลงและค่าอัลคาลินิตีจะเพิ่มขึ้น

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์อิสระในอาหารเลี้ยงสาหร่ายที่ภาวะการทดลองต่าง ๆ (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	ความเข้มข้นของ CO <sub>2</sub> (%)	คาร์บอนไดออกไซด์อิสระ(มิลลิกรัมต่อลิตร)		การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์อิสระ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
		เริ่มต้นการทดลอง	สิ้นสุดการทดลอง	
60	10	74.47 $\pm$ 6.58	98.44 $\pm$ 3.51	เพิ่มขึ้น 20.68 $\pm$ 8.19
	20	85.08 $\pm$ 1.32	142.77 $\pm$ 20.8	เพิ่มขึ้น 57.7 $\pm$ 22.07
240	10	82.89 $\pm$ 4.76	46.5 $\pm$ 3.71	ลดลง 36.39 $\pm$ 7.83
	20	82.95 $\pm$ 4.53	62.77 $\pm$ 20.64	ลดลง 20.18 $\pm$ 16.32
540	10	81.6 $\pm$ 5.44	65.04 $\pm$ 9.06	ลดลง 16.56 $\pm$ 12.30
	20	80.46 $\pm$ 4.14	81.27 $\pm$ 19.89	เพิ่มขึ้น 0.8 $\pm$ 15.76



รูปที่ 4.7 คาร์บอนไดออกไซด์ที่เปลี่ยนแปลงไปตามอัตราการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงต่างกัน โดยที่

A1 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

A2 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

B1 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

B2 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

C1 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

C2 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

#### 4.2 ผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *Chlorella* sp.

นอกจากปัจจัยทางภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงจะมีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. แล้ว ยังพบว่าองค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์ของสาหร่ายสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามภาวะแวดล้อมที่สาหร่ายเติบโตอยู่ (Hoek และคณะ, 1995) ดังนั้นในงานวิจัยจึงได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางชีวเคมีได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และรงควัตถุ ที่ภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์ของสาหร่ายอันเป็นผลเนื่องมาจากการแปรความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 4.3 (ข้อมูลการทดลองแสดงดังตารางที่ ง-7 ในภาคผนวก ง)

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 2)

ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	ความเข้มข้นของ $\text{CO}_2$ (%)	ปริมาณ (%น้ำหนักแห้ง)		
		โปรตีน <sup>ns</sup>	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต
60	10	19.39 $\pm$ 2.75	2.49 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	19.71 $\pm$ 3.56 <sup>a</sup>
	20	19.78 $\pm$ 6.57	1.90 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>	20.1 $\pm$ 1.74 <sup>a</sup>
240	10	20.72 $\pm$ 0.23	0.76 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>	30.16 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>
	20	21.20 $\pm$ 0.10	1.03 $\pm$ 0.37 <sup>b</sup>	33.41 $\pm$ 0.75 <sup>b</sup>
540	10	20.20 $\pm$ 0.25	0.81 $\pm$ 0.65 <sup>b</sup>	28.03 $\pm$ 1.63 <sup>b</sup>
	20	22.72 $\pm$ 2.13	0.38 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	28.60 $\pm$ 4.18 <sup>b</sup>

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน (a และ b) มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง

#### 4.2.1 ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp.

จากตารางที่ 4.3 พบว่าความเข้มแสงและความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนในเซลล์สาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ผลการวิเคราะห์แสดงในตาราง ซ-5 และ ซ-6 ในภาคผนวก ซ) และการเพิ่มความเข้มแสงก็ไม่ได้แสดงแนวโน้มใด ๆ ต่อค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *Chlorella* sp. ซึ่งมีค่าเท่ากับ 19.58-21.45 % ของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย

#### 4.2.2 ปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp.

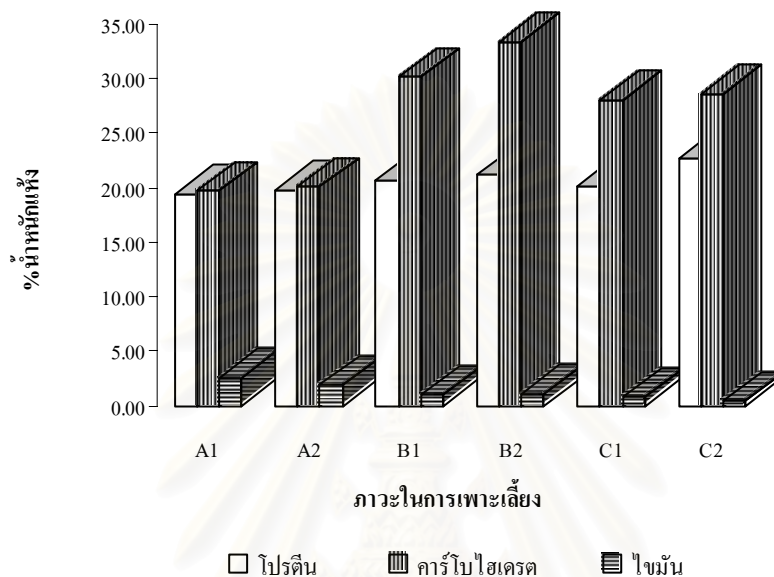
จากตารางที่ 4.3 พบว่าความเข้มแสงเป็นเพียงปัจจัยเดียวที่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของปริมาณไขมันในเซลล์สาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ผลการวิเคราะห์แสดงในตาราง ซ-7 และ ซ-8 ในภาคผนวก ซ) โดยการเพิ่มความเข้มแสงจาก 60 เป็น 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณไขมันในเซลล์ของสาหร่ายมีค่าลดลงจาก 2.2 เป็น 0.9 และ 0.59% ของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณไขมันที่ 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

#### 4.2.3 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp.

จากตารางที่ 4.3 พบว่าความเข้มแสงเป็นเพียงปัจจัยเดียวที่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย โดยพบว่า การเพิ่มความเข้มแสงมีผลต่อการเพิ่มของค่าเฉลี่ยของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในเซลล์สาหร่าย อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ผลการวิเคราะห์แสดงในตาราง ซ-9 และ ซ-10 ในภาคผนวก ซ) โดยการเพิ่มความเข้มแสงจาก 60 เป็น 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 19.71 เป็น 31.2 และ 28.31 % ของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย

จากผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *Chlorella* sp. สายพันธุ์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ พบว่าความเข้มแสงยังคงเป็นปัจจัยเดียวที่มีผลต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย โดยมีผลต่อปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรต แต่ไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนภายในเซลล์ของสาหร่าย เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรต พบว่าภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ทำให้เกิดการสะสมไขมันและคาร์โบไฮเดรตภายในเซลล์เป็นปริมาณมากจะเป็นภาวะที่ตรงข้ามกัน กล่าวคือที่ความเข้มแสงต่ำ ( $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )

สำหรับจะสะสมไขมันมากกว่าที่ความเข้มแสงสูง และที่ความเข้มแสงสูง ( $240$  และ  $540 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) สำหรับจะมีการสะสมคาร์โบไฮเดรตมากกว่า ดังแสดงความสัมพันธ์ในรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ตามภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง โดยที่

A1 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

A2 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

B1 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

B2 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

C1 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

C2 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20%



องค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายสามารถควบคุมได้โดยการปรับภาวะแวดล้อมของการเติบโต (Shifrin และ Chisholm, 1981) ดังนั้นจึงมีงานวิจัยที่ศึกษาถึงปัจจัยทางภาวะแวดล้อมที่มีผลต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายชนิดต่าง ๆ ทั้งปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อนำเซลล์สาหร่ายไปใช้ประโยชน์ต่อไป จากการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. สายพันธุ์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ พบว่า ปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตมีการเปลี่ยนแปลงตามภาวะแวดล้อมในการทดลอง โดยการเพิ่มความเข้มแสงมีผลทำให้ปริมาณไขมันในเซลล์ลดลง ในขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น และโปรตีนไม่มีการเปลี่ยนแปลง

การที่สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีปริมาณไขมันในเซลล์ลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มแสงจาก 60 เป็น 540  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  พบว่าสอดคล้องกับการทดลองของ Gordillo และคณะ (1998) ที่รายงานว่าปริมาณไขมันทั้งหมดของสาหร่าย *Dunaliella viridis* โดยการให้ได้รับความเข้มแสงเพิ่มขึ้นจากการเลี้ยงในที่มืดมีผลทำให้ปริมาณไขมันลดลง โดยสาหร่ายที่เติบโตในที่มืดจะมีปริมาณไขมัน 3.55 pg/cell และเมื่อได้รับความเข้มแสงเป็น 1500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ปริมาณไขมันกลับลดลงเป็น 0.77 pg/cell ซึ่งในงานวิจัยนี้สรุปไว้ว่าการสะสมไขมันทั้งหมดในเซลล์ของสาหร่าย *Dunaliella viridis* จะเกิดขึ้นเมื่อความเข้มแสงลดลงจนมีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงในที่มืด ซึ่งพบว่าตรงข้ามกับรายงานของ Claustre และ Gostan (1987) ที่พบว่า สาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* จะมีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มแสงจาก 35  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  เป็นความเข้มแสงอิ่มตัวที่ 400  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ในขณะที่ Parrish Bodenne และ Gentien (1994) พบว่าความเข้มแสงไม่มีผลต่อปริมาณไขมันทั้งหมดของ dinoflagellate *Gymnodinium* cf. *nagasakiense*

การที่สาหร่ายมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มความเข้มแสงอาจเป็นผลเนื่องมาจากที่ภาวะในการได้รับความเข้มแสงสูงสาหร่ายมีอัตราการเติบโตที่รวดเร็ว สารอาหารถูกใช้ไปในการเติบโตมาก ดังนั้นจึงอาจทำให้เกิดการจำกัดสารอาหารโดยเฉพาะไนโตรเจนซึ่งเป็นสารอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการสร้างโปรตีนของสาหร่าย เมื่อปริมาณไนโตรเจนลดลงจึงเกิดภาวะในการจำกัดไนโตรเจนจึงส่งผลต่อการสังเคราะห์โปรตีน ในขณะที่คาร์บอนซึ่งเป็นสารอาหารหลักที่มีความสำคัญมากอีกชนิดหนึ่งไม่ถูกจำกัด (เนื่องจากมีการให้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งของอนินทรีย์คาร์บอนตลอดเวลา) ดังนั้นสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนในสารละลายอาหารจึงเพิ่มขึ้น ซึ่งการจำกัดไนโตรเจนนี้เป็นสาเหตุทำให้เกิดการใช้คาร์บอนในช่วงที่ได้รับแสง (Photoassimilated Carbon) ไปในการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตแทนการสังเคราะห์โปรตีนและคลอโรฟิลล์ (Turpin, 1991)

และจากการที่ภายในเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงภายใต้ภาวะการได้รับความเข้มแสง  $240-540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  มีปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด) เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์มากที่สุดคือประมาณ 28-33 % น้ำหนักแห้ง ดังนั้นอาจนำสาหร่ายชนิดนี้ไปใช้ประโยชน์ในการเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลได้ เนื่องจากได้มีรายงานการใช้ชีวมวลของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (IAM C-534) ที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ 37% ในการเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอล และพบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้ 0.24% (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) จากน้ำตาลที่ถูกย่อยจากแป้งของสาหร่าย 0.66% (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) (Hirano และคณะ, 1997) ซึ่งน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในเซลล์สาหร่ายแสดงดังตารางที่ 2.4

จากการศึกษาของ Chrismadha และ Borowitzka (1994) รายงานว่า ความเข้มแสงและความหนาแน่นของเซลล์มีผลต่อองค์ประกอบและอัตราการผลิต EPA (Eicosapentaenoic acid) ของ *Phaeodactylum tricornutum* ที่ทำการเพาะเลี้ยงใน Tubular photobioreactor ซึ่งพบว่าอัตราการผลิตชีวมวลและอัตราการผลิต EPA จะมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อมีความหนาแน่นของเซลล์เพียงพอที่จะส่งเสริมให้มีอัตราการเติบโตอย่างรวดเร็วโดยความสัมพันธ์กับความเข้มแสงที่ใช้ในการเติบโต และปริมาณโปรตีนในเซลล์สูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มแสง ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไขมันจะสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์และเติบโตที่ความเข้มแสงสูง

สำหรับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่างานวิจัยที่มีรายงานผลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่ายนั้นจะศึกษาที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ไม่สูงจากความเข้มข้นในบรรยากาศมากเท่าในงานวิจัยนี้ ซึ่งการให้ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูงกว่าความเข้มข้นในบรรยากาศก็เพื่อปรับสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนให้ต่ำลง เพื่อให้สาหร่ายอยู่ในภาวะขาดแคลนไนโตรเจน ซึ่งการขาดไนโตรเจนจะมีผลทำให้สาหร่ายมีการสะสมปริมาณไขมันภายในเซลล์เพิ่มขึ้น โดยในการทดลองให้  $1\% \text{CO}_2$  เพื่อให้เกิดภาวะไนโตรเจนจำกัดใน *Dunaliella viridis* พบว่าปริมาณไขมันมีค่าลดลงจากภาวะการนำให้อากาศ (Atmospheric  $\text{CO}_2$ ) เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Gordillo และคณะ, 1998)

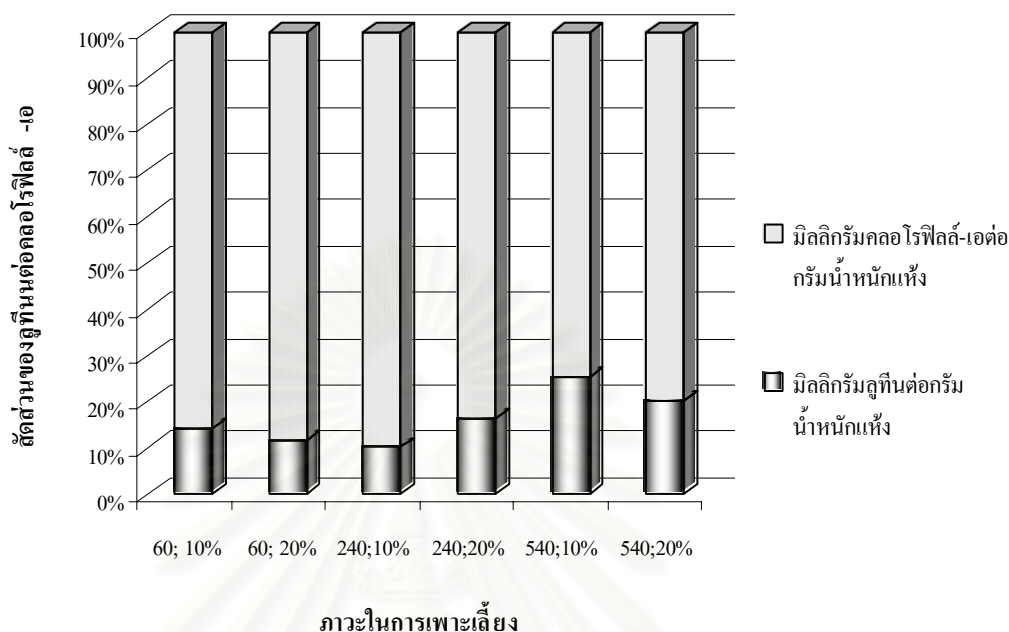
#### 4.2.4 ปริมาณรงควัตถุที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp.

นอกจากองค์ประกอบทางชีวเคมีที่มีอยู่ภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ดังกล่าวข้างต้นแล้ว รงควัตถุที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายเป็นอีกองค์ประกอบหนึ่งที่มีความสำคัญเช่นเดียวกัน และพบว่าสามารถเปลี่ยนแปลงตามปัจจัยทางภาวะแวดล้อมที่สาหร่ายเติบโตอยู่ได้ โดยเฉพาะความเข้มแสง โดยรงควัตถุที่สำคัญภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ได้แก่ ลูทีน (รงควัตถุในกลุ่ม Carotenoids) และคลอโรฟิลล์-เอ ในตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณลูทีนและคลอโรฟิลล์-เอ และสัดส่วนลูทีนต่อคลอโรฟิลล์-เอ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ผลการวิเคราะห์แสดงในตาราง ซ-11 และ ซ-16 ในภาคผนวก ซ) พบว่าความเข้มแสงและความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยของปริมาณลูทีน คลอโรฟิลล์-เอ และสัดส่วนลูทีนต่อคลอโรฟิลล์-เอ ในเซลล์สาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่มีแนวโน้มว่าการเพิ่มความเข้มแสงจาก 60 เป็น 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยของสัดส่วนของลูทีนต่อคลอโรฟิลล์-เอ เพิ่มขึ้น โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.145 เป็น 0.18 และ 0.33 ตามลำดับ และแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนของลูทีนต่อคลอโรฟิลล์-เอ แสดงในรูปที่ 4.9

ตารางที่ 4.4 ปริมาณลูทีน และคลอโรฟิลล์-เอ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และสัดส่วนลูทีนต่อคลอโรฟิลล์-เอ ภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 2)

ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	ความเข้มข้นของ CO <sub>2</sub> (%)	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง)		สัดส่วนลูทีนต่อคลอโรฟิลล์-เอ <sup>ns</sup> (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)
		ลูทีน <sup>ns</sup>	คลอโรฟิลล์-เอ <sup>ns</sup>	
60	10	1.49 $\pm$ 0.92	8.98 $\pm$ 4.88	0.16 $\pm$ 0.02
	20	2.14 $\pm$ 0.39	16.16 $\pm$ 3.70	0.13 $\pm$ 0.03
240	10	1.90 $\pm$ 0.58	16.71 $\pm$ 11.31	0.14 $\pm$ 0.07
	20	1.41 $\pm$ 0.15	7.07 $\pm$ 3.88	0.22 $\pm$ 0.12
540	10	1.13 $\pm$ 0.37	3.34 $\pm$ 1.96	0.39 $\pm$ 0.16
	20	1.15 $\pm$ 0.07	4.52 $\pm$ 1.25	0.27 $\pm$ 0.08

หมายเหตุ : ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของลูทีนต่อคลอโรฟิลล์-เอ ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ โดยที่

A1 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

A2 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

B1 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

B2 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

C1 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

C2 คือ ภาวะที่การได้รับความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

จากผลการเติบโตของสาหร่ายที่พบว่า ความเข้มแสงเป็นปัจจัยเดียวที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายโดยการเพิ่มความเข้มแสงมีผลทำให้สาหร่ายมีการเติบโตเพิ่มมากขึ้นแต่สำหรับปริมาณรงควัตถุ การเพิ่มความเข้มแสงไม่มีผลต่อการเพิ่มหรือลดลงของรงควัตถุหลักในการสังเคราะห์แสงคือ คลอโรฟิลล์-เอ และรงควัตถุประกอบ (Accessory pigment) คือ ลูทีน แต่พบว่าสัดส่วนของลูทีนต่อคลอโรฟิลล์-เอมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มแสง แสดงว่าที่ความเข้มแสงสูงจะมีการสะสมลูทีนเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการปกป้องเซลล์ของสาหร่ายต่อความเสียหายจากการเกิด Photooxidation ภายใต้การได้รับแสงสูง แต่ที่ระดับความเข้มแสงที่ใช้ในงานวิจัยนี้พบว่า ที่ความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ไม่ได้เป็นความเข้มแสงที่ยับยั้งการเติบโตของสาหร่ายเนื่องจากมีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดและน้ำหนักแห้งไม่ต่างจากการได้รับแสงที่ระดับ  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ดังนั้นจึงอาจยังไม่เห็นผลไม่ชัดเจนมากนัก ซึ่งระดับความเข้มแสงที่มีผลต่อการสะสมของรงควัตถุ Carotenoids อาจมีความแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของสาหร่ายและภาวะการเพาะเลี้ยง เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Chen, Zhang และ Guo (1996) พบว่าสาหร่ายสามารถสะสมรงควัตถุได้เพิ่มขึ้นภายใต้ความเข้มแสงต่ำกว่าที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ซึ่งผลจากการศึกษาพบว่าความเข้มแสงมีผลต่อปริมาณ Phycocyanin ซึ่งเป็นรงควัตถุที่พบในเซลล์ของ *Spirulina platensis* โดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมกลูโคส 2.5 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากการศึกษาพบว่าการเพิ่มความเข้มแสงจาก 0.5 กิโลลักซ์ เป็น 2.0 และ 4.0 กิโลลักซ์ มีผลทำให้ *S. platensis* มีปริมาณ Phycocyanin ในเซลล์เพิ่มมากขึ้น โดยที่ความเข้มแสง 0.5 กิโลลักซ์ และ 2.0 กิโลลักซ์ มีปริมาณ Phycocyanin น้อยกว่าที่ความเข้มแสง 4.0 กิโลลักซ์ ประมาณ 80% และ 77% ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแสงมีบทบาทสำคัญที่ส่งผลต่อการสร้าง Phycocyanin เนื่องจาก Phycocyanin เป็นรงควัตถุประกอบที่สำคัญในการสังเคราะห์แสงของ *S. platensis*

จากการสังเกตการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  พบว่า ในช่วง 2 วันแรกของการเพาะเลี้ยง เซลล์สาหร่ายในปฏิกรณ์ชีวภาพแสงมีสีเหลืองเขียว แต่เมื่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงนานขึ้นเซลล์สาหร่ายจะกลับเป็นสีเขียวปกติ ซึ่งอาจเกิดจากในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีความหนาแน่นเซลล์ไม่สูงมากนัก ดังนั้นเซลล์แต่ละเซลล์ของสาหร่ายจะได้รับความเข้มแสงเฉลี่ยที่สูง อาจเป็นไปได้ที่สาหร่ายมีการสังเคราะห์รงควัตถุในกลุ่ม Carotenoids มากขึ้นเพื่อป้องกันความเสียหายจากการได้รับความเข้มแสงที่สูง จึงทำให้เห็นสีของสาหร่ายมีสีเหลืองเขียว แต่เมื่อสาหร่ายมีการเติบโตเพิ่มมากขึ้นสาหร่ายจะเกิดการบังแสงซึ่งกันและกันทำให้เซลล์แต่ละเซลล์ของสาหร่ายได้รับความเสียหายจากระดับความเข้มแสงสูงลดลง ทำให้เซลล์สาหร่ายกลับคืนสู่สภาวะปกติจึงเห็นเซลล์สาหร่ายมีสีเขียวปกติ อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ไม่ได้ทำการวิเคราะห์รงควัตถุที่ระยะการเติบโตทวีคูณ (Exponential phase) ซึ่งเป็นช่วง 2 วันแรกในการเพาะเลี้ยง



#### 4.3 องค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในระยะการเติบโตที่ต่างกัน

องค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์สาหร่ายสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามระยะการเติบโตของสาหร่าย เนื่องมาจากระยะการเติบโตที่ต่างกันสาหร่ายจะมีการใช้และการสะสมองค์ประกอบทางชีวเคมีเพื่อการเติบโตที่แตกต่างกันไป ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อผลิตสารชีวเคมีชนิดที่ต้องการ จึงจำเป็นต้องศึกษาการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางชีวเคมีเหล่านี้ตามระยะการเติบโตของสาหร่ายด้วย สำหรับในงานวิจัยนี้ใช้ตัวอย่างสาหร่าย *Chlorella* sp. จากภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายมาใช้ในการวิเคราะห์ นั่นคือภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในระยะการเติบโตของสาหร่ายที่ต่างกัน (ภาวะในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย คือที่ระดับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%) (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 2)

ระยะการเติบโต	%น้ำหนักแห้ง		
	โปรตีน	ไขมัน <sup>ns</sup>	คาร์โบไฮเดรต <sup>ns</sup>
ระยะการเติบโตที่คูณ (Exponential phase)	16.2 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>	0.58 $\pm$ 0.04	30.03 $\pm$ 0.8
ระยะการเติบโตคงที่ (Stationary phase)	20.72 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>	0.76 $\pm$ 0.54	30.16 $\pm$ 0.58

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน (a และ b) มีความแตกต่างกันทางสถิติ

( $p \leq 0.05$ )

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง



จากตารางที่ 4.5 พบว่าโปรตีนเป็นองค์ประกอบทางชีวเคมีเพียงชนิดเดียวที่มีความแตกต่างกันตามระยะการเติบโตของสาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนในตารางที่ ซ-17 และ ซ-22 ในภาคผนวก ซ) โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนในระยะการเติบโตคงที่ (Stationary phase) มากกว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนในระยะการเติบโตทวีคูณ (Exponential phase) ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $20.72 \pm 0.23$  และ  $16.2 \pm 0.44$  % น้ำหนักแห้งตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตไม่มีความแตกต่างกันตามระยะการเติบโตของสาหร่าย

การทดลองของ Brown และคณะ (1993) ที่เพาะเลี้ยงสาหร่ายใน Polyethylene bags ควบคุมอุณหภูมิที่  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  ที่ความเข้มแสง  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ช่วงสว่าง:มืด 12: 12 ชั่วโมง และให้อากาศ ( $0.5\% \text{CO}_2$ ) 20 ลิตรต่อนาทีต่อถัง และทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย 3 ชนิด ได้แก่ คือ *Isochrysis* sp. (clone T.ISO) *Pavlova lutheri* และ *Nannochloropsis oculata* ในการเพาะเลี้ยงแบบ Batch พบว่าในระยะ exponential phase สาหร่ายทุกชนิดมีโปรตีนอยู่ในระดับสูง (25.2-41.1%) และมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตต่ำ (7.1-10.3%) และไขมันต่ำ (8.8-14.9%) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับระยะ stationary phase พบว่า *Isochrysis* sp. (clone T.ISO) และ *Nannochloropsis oculata* มีโปรตีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (t-test,  $p \leq 0.05$ ) ขณะที่สาหร่ายทุกชนิดจะมีคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น และ *Pavlova lutheri* จะมีไขมันเพิ่มขึ้น ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลกับงานวิจัยนี้พบว่ามีความสอดคล้องกันในส่วนของคุณค่าไขมันที่เพิ่มขึ้นในระยะ Stationary phase ถึงแม้จะไม่มีค่าความแตกต่างกันในทางสถิติเนื่องจากค่าที่วิเคราะห์ได้มีความผิดพลาดมาก

#### 4.4 ชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp.

จากการศึกษาภาวะแวดล้อมที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ดังได้กล่าวไปแล้วในเบื้องต้น ซึ่งพบว่าภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายคือ ที่ความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10% และจากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของสาหร่ายที่ภาวะแวดล้อมต่าง ๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นจึงเลือกที่จะนำตัวอย่างสาหร่ายจากภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตไปทำการวิเคราะห์ชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยการวิเคราะห์ด้วย HPLC (แสดงโครมาโตแกรมในภาคผนวก ซ) ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.6 ซึ่งพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีชนิดของกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วน (ยกเว้น Methionine และ Tryptophan ที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้) โดยชนิดของกรดอะมิโนจำเป็นที่มีปริมาณมากที่สุดได้แก่ Leucine 5.18% (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)

รองลงมาคือ Lysine และ Alanine ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.58 และ 4.38% (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่าย *Chlorella* sp. HA-1 พบว่ามีปริมาณกรดอะมิโนใกล้เคียงกัน (ดังแสดงในตารางที่ 4.6) และมีรายงานว่าองค์ประกอบของกรดอะมิโนอาจพบว่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเมื่อสาหร่ายเติบโตภายใต้สภาวะแวดล้อมที่ต่างกัน (Fowden, 1962)

ตารางที่ 4.6 ชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp.

ชนิดของกรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (%น้ำหนัก)	
	<i>Chlorella</i> sp. <sup>(1)</sup>	<i>Chlorella</i> sp. HA-1 <sup>(2)</sup>
Aspartic acid	4.23	-
Serine	2.72	1.04
Glutamic acid	6.01	-
Glycine	3.72	3.35
Histidine	1.50	2.18
Arginine	5.39	3.06
Threonine*	3.17	2.46
Alanine*	4.38	4.55
Proline	3.06	2.52
Tyrosine	2.14	2.40
Valine*	3.29	3.03
Lysine*	4.58	3.98
Isoleucine*	2.31	2.01
Leucine*	5.18	4.71
Phenylalanine*	3.02	2.69
Methionine*	ND	1.19
Cystine	ND	0.65
Tryptophan*	ND	1.04

หมายเหตุ : \* กรดอะมิโนที่จำเป็น

(1) สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

(2) Yanagi และคณะ (1995)

ND ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้

#### 4.5 ภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อจุดมุ่งหมายในการเพาะเลี้ยงที่ต่างกัน

สำหรับการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในงานวิจัยแต่ละเรื่องนั้น จะมีวัตถุประสงค์ที่ต่างกันไป แต่ทั้งนี้ย่อมต้องการภาวะในการเพาะเลี้ยงที่สามารถบรรลุวัตถุประสงค์ในแต่ละงานวิจัยได้สูงสุด และการศึกษาภาวะในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายส่วนมากจะเป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม ทั้งนี้ถ้าทราบภาวะที่เหมาะสมสำหรับวัตถุประสงค์เพื่อการใช้ประโยชน์ที่ต่างกัน จะทำให้สามารถลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงลงได้ ดังนั้นจึงได้สรุปภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการผลิตของงานวิจัยนี้ รวมทั้งงานวิจัยอื่น ทั้งนี้เพื่อวัตถุประสงค์ในการนำไปใช้ประโยชน์ที่ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.7



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.7 ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อจุดมุ่งหมายในการเพาะเลี้ยงที่ต่างกัน

<i>Chlorella</i> sp.		<i>Chaetoceros</i> sp. *		<i>Isochrysis</i> sp. **	
ภาวะในการเพาะเลี้ยง	จุดมุ่งหมาย / ผลที่ได้	ภาวะในการเพาะเลี้ยง	จุดมุ่งหมาย / ผลที่ได้	ภาวะในการเพาะเลี้ยง	จุดมุ่งหมาย / ผลที่ได้
ความเข้มแสง 240 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ 10%CO <sub>2</sub>	$\mu$ / 2.48 ต่อวัน	ความเข้มแสง 547 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Blue green plus 6.5 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	$\mu$ / 2.63 ต่อวัน	-	-
ความเข้มแสง 540 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ 20%CO <sub>2</sub>	โปรตีน / 22.72%	ความเข้มแสง 540 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Blue green plus 6.5 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	โปรตีน / 51.26%	ความเข้มแสง 1200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	โปรตีน / 41.7%
ความเข้มแสง 60 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ 10%CO <sub>2</sub>	ไขมัน / 2.49 %	ความเข้มแสง 100 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Blue green plus 6.5 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	ไขมัน / 24.12 %	ความเข้มแสง 140 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	ไขมัน / 41.4 %
ความเข้มแสง 240 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ 20%CO <sub>2</sub>	คาร์โบไฮเดรต / 33.41%	ความเข้มแสง 400 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Blue green)	คาร์โบไฮเดรต/16.26%	ความเข้มแสง 1200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	คาร์โบไฮเดรต / 16.4%
ความเข้มแสง 60 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ 10%CO <sub>2</sub>	ลูทีน / 2.14 มิลลิกรัม ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง	-	-	-	-

หมายเหตุ: \* Pilar, Saavendra และ Voltolina (1996)

\*\* Renaud และคณะ (1991)

#### 4.6 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการทำนายการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp.

จากการศึกษาในงานวิจัยนี้พบว่าความเข้มแสงเป็นปัจจัยเดียวที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. สายพันธุ์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ โดยการเพิ่มความเข้มแสงมีผลทำให้สาหร่ายมีอัตราการเติบโตจำเพาะเพิ่มขึ้น ดังนั้นพารามิเตอร์ที่สำคัญในการควบคุมอัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายจึงเป็นความเข้มแสงเพียงปัจจัยเดียวดังแสดงในสมการที่ 1 และในงานวิจัยนี้อาศัยสมการของ Monod เป็นสมการในการทำนายการเติบโตของสาหร่ายเนื่องจากเป็นสมการที่มีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับทำนายการเติบโต การใช้สารอาหาร รวมทั้งผลผลิตที่ได้ของสาหร่าย ดังนั้นจึงสามารถเขียนสมการในรูปแบบของสมการ Monod ที่อัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายขึ้นอยู่กับความเข้มแสงเพียงปัจจัยเดียวได้ดังแสดงในสมการที่ 2

$$\mu = f(I) \quad (1)$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} I}{K_I + I} \quad (2)$$

โดยที่ $\mu$	คือ อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)
$\mu_{max}$	คือ อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (ต่อวัน)
$I$	คือ ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )
$K_I$	คือ ค่าคงที่อิ่มตัวแสง ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )

ดังนั้นพารามิเตอร์ของสมการที่ 2 ที่จะต้องทำการประมาณค่า คือ  $\mu_{max}$  และ  $K_I$  โดยอาศัยผลของความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย (เซลล์ต่อมิลลิเมตร) ที่ได้จากการทดลอง ณ เวลาต่าง ๆ ที่ภาวะการได้ความเข้มแสง 3 ระดับ คือ 60 240 และ 540  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และใช้โปรแกรม Microsoft Excel ช่วยในการประมาณค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่ทำให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการคำนวณมีค่าใกล้เคียงกับความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการทดลองมากที่สุด โดยอาศัยสมการที่ 3 ในการหาค่าความหนาแน่นของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (นงคัณูช เรื่องจิตต์, 2546) (แสดงวิธีการในภาคผนวก ณ)

$$X = X_0 e^{\mu t} \quad (3)$$

โดยที่  $X$  คือ ความหนาแน่นของเซลล์สำหรับ ณ เวลาต่าง ๆ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

$X_0$  คือ ความหนาแน่นของเซลล์สำหรับ ณ เวลาเริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

$\mu$  คือ อัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่าย (ต่อวัน)

$t$  คือ เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)

ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่คำนวณได้ในแต่ละระดับความเข้มแสงแสดงดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ ( $\mu$ ) ที่คำนวณได้จากแบบจำลองที่แต่ละระดับความเข้มแสง

ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	$\mu$ ที่คำนวณได้จากแบบจำลอง (ต่อวัน)
60	0.96
240	1.11
540	1.14

ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะจากตารางที่ 4.8 นี้จะนำไปใช้ในการประมาณค่าพารามิเตอร์  $\mu_{max}$  และ  $K_I$  โดยจัดสมการที่ 2 ให้อยู่ในรูปสมการเส้นตรง ดังแสดงในสมการที่ 4 ดังนั้นเมื่อทำการพล็อตกราฟระหว่าง  $1/\mu$  และ  $1/I$  จะสามารถหาค่า  $\mu_{max}$  และ  $K_I$  ได้ (ดังในรูปที่ ฅ-8 ในภาคผนวก ฅ)

$$1/\mu = [K_I/\mu_{max}] [1/I] + 1/\mu_{max} \quad (4)$$

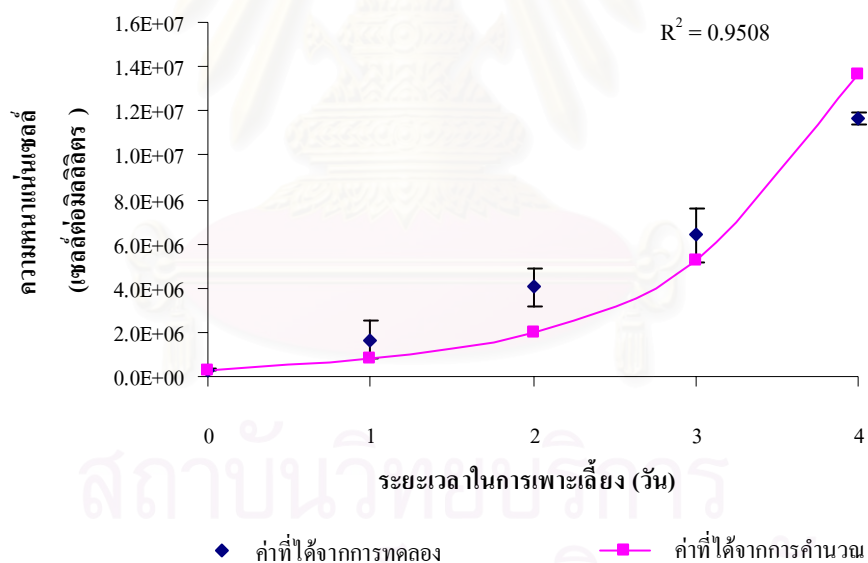
จากการพล็อตกราฟระหว่าง  $1/\mu$  และ  $1/I$  ดังนั้นจะได้ค่าพารามิเตอร์  $\mu_{max}$  และ  $K_I$  เท่ากับ 1.16 ต่อวัน และ  $12.7 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าพารามิเตอร์ที่ใช้สำหรับทำนายอัตราการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella sp.* ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ และเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการเติบโตจำเพาะที่ได้จากการทดลอง (อัตราการเติบโตจำเพาะเฉลี่ย) ดังแสดงในตารางที่ 4.9 พบว่ามีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกัน



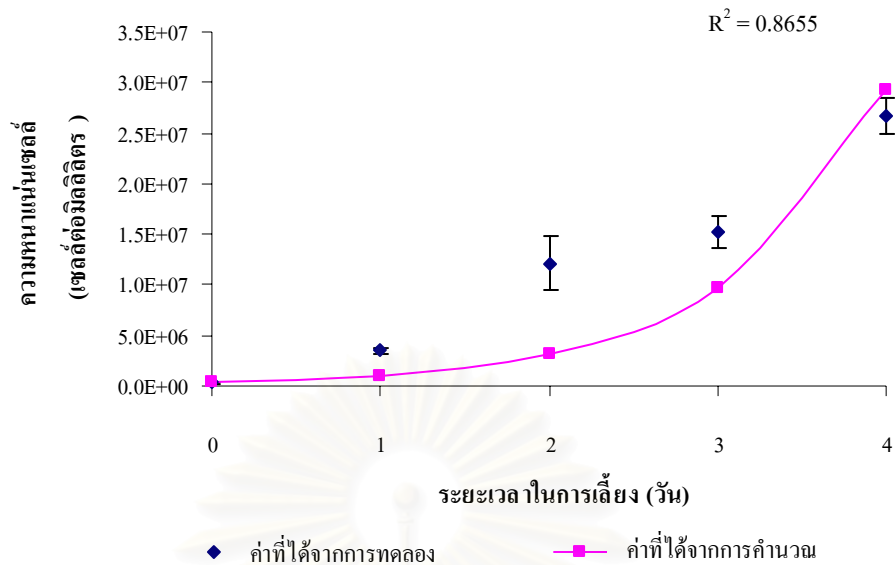
ตารางที่ 4.9 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ ( $\mu$ ) ที่ได้จากการทดลองและค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ ( $\mu$ ) ที่ได้จากการคำนวณที่แต่ละระดับความเข้มแสง

ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	$\mu$ ที่ได้จากการทดลอง (ต่อวัน)	$\mu$ ที่คำนวณได้ (ต่อวัน)
60	0.91	0.96
240	1.08	1.11
540	1.01	1.14

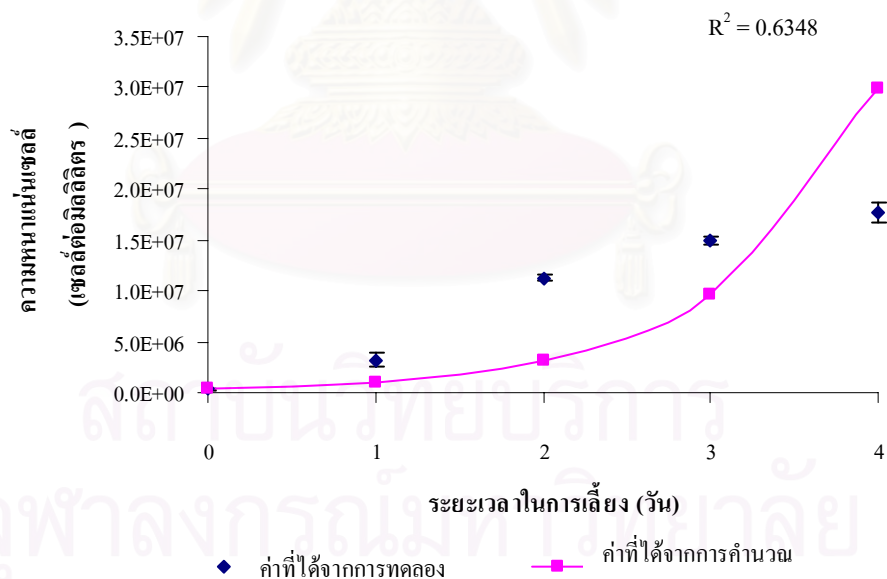
เมื่อนำค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่คำนวณได้ไปใช้ในการทำนายความหนาแน่นของเซลล์ที่เกิดขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงโดยใช้สมการที่ 3 ได้กราฟแสดงการเติบโตของสาหร่ายที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.10-4.12



รูปที่ 4.10 เปรียบเทียบความหนาแน่นเซลล์ระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการคำนวณในภาวะการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$



รูปที่ 4.11 เปรียบเทียบความหนาแน่นเซลล์ระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการคำนวณในภาวะการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$



รูปที่ 4.12 เปรียบเทียบความหนาแน่นเซลล์ระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการคำนวณในภาวะการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

จากรูปที่ 4.10-4.12 ที่เปรียบเทียบความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายที่ได้จากการคำนวณกับความหนาแน่นเซลล์ที่ได้จากการทดลอง โดยใช้ค่าพารามิเตอร์  $\mu_{max}$  และ  $K_I$  ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.16 ต่อวัน และ  $12.7 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ตามลำดับ และค่า  $\mu$  ที่ได้จากการคำนวณค่าที่แต่ละระดับความเข้มแสงโดยใช้สมการ 2 แสดงดังตารางที่ 4.9 พบว่าที่ความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ผลของความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายที่ได้จากการคำนวณค่ามีความสอดคล้องกับข้อมูลของความหนาแน่นเซลล์ที่ได้จากการทดลองโดยมีค่ากำลังสองของสัมประสิทธิ์สหพันธ์ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.9508 แต่เมื่อระดับความเข้มแสงเพิ่มขึ้นค่า  $R^2$  กลับมีค่าลดลง โดยที่ระดับความเข้มแสง 240 และ  $540 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  มีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.8655 และ 0.6348 ตามลำดับ ซึ่งสังเกตได้ว่าที่ระดับความเข้มแสงสูงขึ้นความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการคำนวณมีความต่างจากความหนาแน่นที่ได้จากการทดลองจริงมากขึ้น แสดงว่าน่าจะมีปัจจัยบางอย่างที่ส่งผลต่อการประมาณค่าพารามิเตอร์ของสมการจลนศาสตร์การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ซึ่ง Myers (1962) พบว่าเส้นโค้งการเติบโต (Growth curve) ของสาหร่ายคล้ายกับที่พบในจุลินทรีย์อื่น ๆ และปัจจัยของการให้แสงมีผลต่อรูปร่างของเส้นโค้งการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย

จากผลการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ( $\mu_{max}$ ) ของสาหร่ายมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มแสงจาก 60 เป็น  $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ในขณะที่การเพิ่มความเข้มแสงจาก 240 เป็น 540 ไม่มีผลต่อการเพิ่มอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของสาหร่าย ซึ่งค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดนี้เป็นค่าอัตราการเติบโตจำเพาะในระยะเวลาเติบโตทวีคูณ (Exponential phase) ซึ่งเป็นระยะที่สาหร่ายมีการเติบโตเร็วที่สุด ดังนั้นจะสังเกตได้ว่าในระยะ Exponential (2 วันแรกของการเพาะเลี้ยง) ความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายที่ได้จากการทดลองจริงมีค่าสูงกว่าความหนาแน่นจากการคำนวณ และแม้จะเข้าสู่ระยะการเติบโตคงที่ (Stationary phase) ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยงความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายที่ได้จากการทดลองจริงยังพบว่ามีค่าสูงกว่าความหนาแน่นจากการคำนวณ แต่ในวันที่ 4 ซึ่งเป็นวันสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายที่ได้จากการทดลองจริงมีค่าต่ำกว่าความหนาแน่นจากการคำนวณ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากอัตราการเติบโตจำเพาะมีการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงและที่ความหนาแน่นของเซลล์ที่ระยะเวลาหนึ่ง ๆ จะมีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่ต่างกัน โดยมีค่าสูงสุดในช่วงระยะ Exponential และมีค่าลดลงจนกระทั่งคงที่ที่ระยะ Stationary ซึ่งในช่วงนี้อัตราการเติบโตของสาหร่ายจัดเป็นปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (Zero order reaction) นั่นคือ อัตราการเติบโตของสาหร่ายจะไม่ขึ้นกับความเข้มแสง แต่การคำนวณความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายใช้ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะเฉลี่ย ดังนั้นถ้าอัตราการเติบโตจำเพาะในแต่ละวันแตกต่างจากอัตราการ

เติบโตจำเพาะเฉลี่ยที่ได้จากการคำนวณมากเท่าใดก็จะมีค่าแตกต่างของความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายที่ได้จากการทดลองจริงกับความหนาแน่นจากการคำนวณเพิ่มมากขึ้น

แต่จากงานวิจัยที่มีการเสนอสมการในการทำนายการเติบโตหรือผลผลิตที่ได้จากสาหร่ายพบว่าสามารถทำนายได้ผลค่อนข้างดี ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการสร้างสมการทำนายการเติบโตจะต้องอาศัยข้อมูลต่าง ๆ ในการทดลองเพื่อนำมาใช้ในการจำลองแบบเพื่อให้สมการที่ได้สามารถใช้ในการทำนายได้ดีที่สุด แต่จากในงานวิจัยนี้อาจยังไม่มีเก็บข้อมูลที่เพียงพอ เช่น พารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับแสง เนื่องจากเมื่อสาหร่ายมีการเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ทำให้เกิดการบังแสงซึ่งกันและกันของสาหร่าย ทำให้การได้รับแสงเป็นปัจจัยที่จำกัดในระยะการเติบโตที่เป็นเส้นตรง (Linear growth phase) (Contreras และคณะ, 1998) นอกจากนี้การลดลงของสารอาหาร (ยกเว้นแหล่งคาร์บอน) ที่จำเป็นต่อการเติบโตและอุณหภูมิในระหว่างการเพาะเลี้ยง ก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องคำนึงถึงเช่นกัน เนื่องจากสารอาหารจะลดน้อยลงตามการเติบโตของสาหร่ายที่เพิ่มขึ้นซึ่งส่งผลต่อการเติบโตของสาหร่าย ซึ่งโดยทั่วไปการศึกษาผลของปัจจัยหนึ่งที่มีต่อการเติบโตของสาหร่ายจะต้องให้ปัจจัยอื่นที่มากพอ เพื่อให้ผลของการเติบโตเกิดขึ้นจากปัจจัยที่ต้องการศึกษาเท่านั้น สำหรับอุณหภูมิในการทดลองนี้ไม่ได้ทำการควบคุมให้คงที่ จึงไม่สามารถนำพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับอุณหภูมิมาใช้ในจำลองแบบได้

ค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการประมาณคืออัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ( $\mu_{max}$ ) และค่าคงที่อิ่มตัวแสง ( $K_L$ ) เท่ากับ 1.16 ต่อวัน และ  $12.7 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ตามลำดับ ซึ่งทั้งสองค่านี้ขึ้นกับชนิดของสาหร่ายและภาวะในการเพาะเลี้ยง จากค่าคงที่อิ่มตัวแสง  $12.7 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  แสดงให้เห็นว่าสามารถ *Chlorella* sp. ชนิดที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีความสามารถในการใช้แสงสูง เนื่องจากค่าคงที่อิ่มตัวแสงเป็นค่าที่แสดงถึงความเข้มแสงที่สาหร่ายใช้ในการเติบโตให้ได้เท่ากับครึ่งหนึ่งของค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Ación Fernández และคณะ (1998) พบว่าสาหร่าย *Phaeodactylum tricornutum* ที่ทำการเพาะเลี้ยงกลางแจ้งใน Tubular photobioreactor มีค่าคงที่อิ่มตัวแสงเท่ากับ  $94.3 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ในขณะที่มีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.063 ต่อชั่วโมง ทั้งนี้ค่าคงที่อิ่มตัวแสงนี้จะแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่ายและภาวะในการเพาะเลี้ยง

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

สาหร่าย *Chlorella* sp. K3 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ สามารถเติบโตได้เมื่อใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10-20 % เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยง โดยภาวะที่มีอัตราการเติบโตสูงสุดคือ การได้รับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10% อัตราการเติบโตเท่ากับ 2.48 ต่อวัน และระยะเวลาในการแบ่งตัวเป็นสองเท่า เท่ากับ 0.28 วัน และพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย คือความเข้มแสงเพียงปัจจัยเดียวโดยไม่มีผลแตกต่างในแต่ละระดับของความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และพบว่าการเพิ่มความเข้มแสงจาก 60 เป็น  $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  มีผลทำให้สาหร่ายมีอัตราการเติบโตเพิ่มขึ้น และการเพิ่มความเข้มแสงจาก 240 เป็น  $540 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  สาหร่ายมีอัตราการเติบโตคงที่ นอกจากนี้ความเข้มแสงยังมีผลต่อปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตในเซลล์สาหร่าย โดยที่การเพิ่มความเข้มแสง 60 เป็น 240 และ  $540 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  มีผลทำให้ปริมาณไขมันลดลงจาก 2.2 เป็น 0.9 และ 0.59 % ของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 19.71 เป็น 31.2 และ 28.31 % ของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย ตามลำดับ

สำหรับแบบจำลองสมการจลนศาสตร์การเติบโตของสาหร่ายที่ได้มีการนำเสนอในงานวิจัยนี้คือ

$$\mu = \frac{\mu_{max} I}{K_I + I}$$

โดยมีค่าพารามิเตอร์ที่ได้ทำการประมาณค่าคือ  $\mu_{max}$  และ  $K_I$  เท่ากับ 1.16 ต่อวัน และ  $12.7 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ตามลำดับ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาปัจจัยทางภาวะแวดล้อมอื่น เช่น อุณหภูมิ และความเข้มข้นของสารอาหาร เป็นต้น เพื่อให้สามารถอธิบายการเติบโตของสาหร่ายได้ดียิ่งขึ้น
2. ควรศึกษาการเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายในการเพาะเลี้ยงแบบต่างๆ เพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงในทางอุตสาหกรรมและมีศักยภาพในการแข่งขันได้



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- ชาญชัย อมรรัตนานุเคราะห์. 2543. ผลของตัวแปรต่อการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์โดยสาหร่ายขนาดเล็กในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีเทคนิค ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 65 หน้า.
- ธราดล กิรมย์ชาติ. 2545. การออกแบบและทดสอบถังเลี้ยงสาหร่าย Baffled Bubble Photobioreactor เพื่อกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 150 หน้า.
- ธิดา เพชรมณี. 2543. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา. 49 หน้า.
- นงศ์นุช เรืองจิตต์. 2546. แบบจำลองคณิตศาสตร์ของปริมาณการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบใช้แสง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 109 หน้า.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2540. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 250 หน้า.
- สมรลักษ์ณ์ แจ่มแจ้ง. 2542. สภาวะที่เหมาะสมในการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 92 หน้า.
- สรวิศ เผ่าทองสุข. 2543. สาหร่าย: ศักยภาพการวิจัยและพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายในประเทศไทย. เอกสารเผยแพร่ชุดโครงการ “อุตสาหกรรมสัตว์น้ำ” สกว, ชุดที่ 2. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 356 หน้า.
- มานิตย์ อัสวารีย์ และธิดา เพชรมณี. 2534. ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของคลอเรลล่าในห้องปฏิบัติการ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2534. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา.

## ภาษาอังกฤษ

- AOAC, 2000. Official method of analysis. 18<sup>th</sup> ed. Washington: The Association of Official Agricultural Chemists.
- Becker, E.W. 1993. Microalgae Biotechnology and Microbiology. Cambridge University Press. 293 p.
- Bold, H.C. and Wynne, M.J. 1978. Introduction to the Algae: Structure and Reproduction. New Jersey: Prentice-Hall.
- Brock, T.D., Smith, D.W. and Madigan, M.T. 1984. Biology of Microorganisms. U.S.A.: Prentice- Hall Inc. 130-223 pp.
- Brown, T.E. and Richardson, F.L. 1963. The Effect of Growth Environment on the Physiology of Algae: Light Intensity. Journal of Phycology. 5: 38-54.
- Brown, M.R., Garland, C.D., Jeffrey, S.W., Jameson, I.D. and Leroi, J.M. 1993. The gross and amino acid compositions of batch and semi-continuous cultures of *Isochrysis* sp. (clone T.ISO), *Pavlova lutheri* and *Nannochloropsis oculata*. Journal of Applied Phycology, 5: 285-296.
- Chen, F., Zhang, Y. and Guo, S. 1996. GROWTH AND PHYCOCYANIN FORMATION OF *SPIRULINA PLATENSIS* IN PHOTOHETEROTROPHIC CULTURE. BIOTECHNOLOGY LETTERS. Vol.18, No. 5: 603-608.
- Chrimadha, T. and Borowitzka, M.A. 1994. Effect of cell density and irradiance on growth, proximate composition and eicosapentaenoic acid production of *Phaeodactylum tricornutum* growth in a tubular photobioreactor. Journal of Applied Phycology. 6: 67-74.
- Claustre, H. and Gostan, J. 1987. Adaptation of biochemical composition and cell size to irradiance in two microalgae: possible ecological implications. Mar. Ecol. Progr. Ser. 40: 167-174.
- Contreras, A., Garcia, F., Molina, E. And Merchuk, J.C. 1998. Interaction Between CO<sub>2</sub>-Mass Transfer, Light Availability, and Hydrodynamic Stress in the Growth of *Phaeodactylum tricornutum* in a Concentric Tube Airlift Photobioreactor. BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING. Vol. 60, No. 3 November 5.
- Darley, W.M. 1982. Algal biology a physiological approach. In Wikinson, J. F. (ed). Basic Microbiology. London: Blackwell scientific publication. pp. 21-53.

- Del Campo, J.A., Moreno, J., Rodriguez, H., Vargas, M.A., Rivas, J. and Guerrero, M.G. 2000. Carotenoid content of chlorophycean microalgae. Factors determining lutein accumulation in *Muriellopsis* sp. (Chlorophyta). J. Biotechnol. 76: 51-59.
- Del Campo, J.A., Rodriguez, H., Moreno, J., Vargas, M.A., Rivas, J. and Guerrero, M.G. 2001. Lutein production by *Muriellopsis* sp. in an outdoor tubular photobioreactor. J. Biotechnol. 85: 289-295.
- Devlin, R.M. and Barker, A.V. 1971. Photosynthesis. London: Litton Educational Publication Inc. pp. 251-277.
- Eaton, A.D., Clesceri, L.S. and Greengerg, A.E. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19<sup>th</sup> ed. Washington: American Public Health Association.
- Ación Fernández, F.G., García Camacho, F., Sánchez Pérez, P.A., Fernández Sevilla, J. and Molina Grima, E. 1998. Modelling of biomass productivity in tubular photobioreactors for microalgal cultures. Effects of dilution rate, tube diameter and solar irradiance. Biotechnol. Bioeng. 58: 605-611.
- Fowden, L. 1962. Aminoacids and protein. In: Biochemistry and physiology of algae. In Lewin, R.A. (ed.). Academic Press, New York. pp. 189-209.
- Gladue, R.R.L. 1991. Heterotrophic microalgae production: Potential for application to aquaculture feeds. In Rotifer and Microalgae Culture System. Proceeding of a U.S.-Asia Workshop. Honolulu. The Oceanic Institute. pp. 275-286.
- Goldman, J.C. 1979. Water Res. 13: 119. In Dellweg, H. 1986. Biotechnology: A Comprehensive Treatise in 8 volumes (Vol. 3) VCH Verlagsgesellschaft mbH. 642 p.
- Gordillo, F.J.L., Goutx, M., Figueroa, F.L. and Niell, F. X. 1998. Effects of light intensity, CO<sub>2</sub> and nitrogen supply on lipid class composition of *Dunaliella viridis*. Journal of Applied Phycology, 10: 135-144.
- Hanagata, N., Takeuchi, T., Fukuju, Y., Barnes, D.J., and Karube, I. 1992. Tolerance of microalgae to high CO<sub>2</sub> and high temperature. Phytochemistry. 31(10): 3345-3348.
- Harker, M., Tsavalos, A.J. and Young, A.J. 1996. Autotrophic Growth and Carotenoid Production of *Haematococcus pluvialis* in a 30 Liter Air-Lift Photobioreactor. Journal of Fermentation and Bioengineering. Vol. 82, No. 2, 113-118.
- Hata, N., Ogonna, J.C., Hasegawa, Y., Taroda, H. And Tanaka, H. 2001. Production of astaxanthin by *Haematococcus pluvialis* in a sequential heterotrophic-photoautotrophic culture. Journal of Applied Phycology. 13: 395-402.

- Hirano, A., Uedae, R., Hirayama, S. and Ogushi, Y. 1997. CO<sub>2</sub> FIXATION AND ETHANOL PRODUCTION WITH MICROALGAL PHOTOSYNTHESIS AND INTRACELLULAR ANAEROBIC FERMENTATION. Energy. Vol. 22, No. 2/3, pp. 137-142.
- Hirata, S., Hayashitani, M., Taya, M. And Tone, S. 1996. Technical Note Carbon Dioxide Fixation in Batch Culture of *Chlorella* sp. Using a Photobioreactor with a Sunlight-Collection Device. Journal of Fermentation and Bioengineering. 81(5): 470-472.
- Hoek, C.V., Mann, D.G. and Jahns, H.M. 1995. Algae: An Introduction to Phycology. USA: Cambridge University press.
- Huang, Y.M. and Rorrer, G.L. 2002. Dynamics of Oxygen Evolution and Biomass Production during Culturing Cultivation of *Agardhiella subulata* Microplantlets in a Bubble-Column Photobioreactor under Medium Perfusion. Biotechnol. Prog. 18: 62-71.
- Ike, A., Toda, N., Hirata, K. and Miyamoto, K. 1997. Hydrogen Photoproduction from CO<sub>2</sub>-Fixing Microalgal Biomass: Application of Lactic Acid Fermentation by *Lactobacillus amylovorus*. Journal of Fermentation and Bioengineering. Vol. 84, No. 5: 428-433.
- Ip, P.F. and Chen, F. 2005. Production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingiensis* in the dark. Process Biochem. 40: 733-738.
- Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C. and Wright, S.W. 1997. Phytoplankton pigments in oceanography Monograph. Oceanogr. UNESCO, Paris 661 p.
- Jensen, S. and Knutsen, G. 1993. Influence of light and temperature on photoinhibition of photosynthesis in *Spirulina platensis*. Journal of Applied Phycology. 5: 495-504.
- Kaplan, D.S., Richmond, A.E., Dubinsky, Z. and Aaronson, S. 1986. Algal nutrition. In Richmond, A. (ed.). Handbook of microalgal Mass Culture. CRC Press, Inc., Boca Raton. pp. 147-198.
- Kochert, A.G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol-sulphuric acid method. In Hellebust, J.A. and Craigie, J.S. (eds.), Handbook of Phycological method-Physiological and Biochemical Method. Cambridge: Cambridge university Press. pp. 95-97.
- Kodama, M., Ikemoto, H. and Miyachi, S. 1993. A new species of highly CO<sub>2</sub>-tolerant growing marine microalga suitable for high-density culture. J. Mar. Biotechnol. 1: 2-25.
- Kojima, H. and Lee, Y.K. 2001. Photosynthetic Microorganisms in Environmental Biotechnology. Springer-Verlag Hong Kong.

- Kurano, N., Ikemoto, H., Miyashita, H., Hasegawa, T., Hata H. and Miyachi S. 1995. Fixation and utilization of carbon dioxide by microalgal photosynthesis. Energy Convers. Mgmt. 36(6-9): 689-692.
- Lee, Y.K. 1997. Commercial production of microalgae in the Asia-Pacific rim. Journal of Applied Phycology. 9: 403-411.
- Lee, H.Y., Erickson, L.E. and Yang, S.S. 1987. Kinetic and bioenergetics of light-limited photoautotrophic growth of *Spirulina platensis*. Biotechnol. Bioengng. 29: 832-843.
- Liang, S.Z., Liu, X.M., Chen, F. and Chen, Z. 2004. Current microalgal health food R&D activities in China. Hydrobiologia. 512: 45-48.
- Lobban, C.S. and Harrison, P.J. 1994. Seaweed Ecology and Physiology. Cambridge University Press. pp. 181-182.
- Maeda, K., Owada, M., Kimura, N., Omata, K. And Karube, I. 1995. CO<sub>2</sub> fixation from the flue gas on coal-fired thermal power plant by microalgae. Energy Convers. Mgmt. 36 (6-9): 717-720.
- Markager, S. and Sand-Jensen, K. 1994. The physiology and ecology of light-growth relationship in Macroalgae, pp. 209-298. In Round, F.E. and Chapman, D.J. (eds.). Progress in Phycological Research. Vol. 10. Biopress Ltd.
- Matsukawa, R., Hotta, M., Masuda, Y., Chihara, M., and Karube, I. 2000. Antioxidants from carbon dioxide fixing *Chlorella sorokiniana*. Journal of Applied Phycology. 12: 263-267.
- Murakami, M. and Ikenouchi, M. 1997. The biological CO<sub>2</sub> fixation project by RITE(2)-Screening and breeding of microalgae with high capability in fixation CO<sub>2</sub>. Energy Convers. Mgmt. 38: S493-S497.
- Myers, J. 1962. Laboratory cultures. In Lewin, R.A. (ed.). Biochemistry and physiology of algae. Academic Press. New York. 603-615.
- Ogbonna, J.C., Masui, H. and Tanaka., H. 1997. Sequential heterotrophic autotrophic cultivation—An efficient method of producing *Chlorella* biomass for health food and animal faaed. Journal of Applied Phycology. 9: 359-366.
- Ortega-Calvo, J.J., Mazuelos, C., Hermosin, B. and Saiz-Jimenez, C. 1993. Chemical composition of *Spirulina* and eukaryotic algae food products marketed in Spain. Journal of Applied Phycology. 5: 425-435.



- Parrish, C.C., Bodennec, G. and Gentien, P. 1994. Time courses of intracellular and extracellular lipid classes in batch cultures of the toxic dinoflagellate, *Gymnodinium cf. nagasakiense*. Mar. Chem. 48: 71-82.
- Prokop, A. and Erickson, L.E. 1995. Photobioreactors. In Asenjo, J.A. and Merchuk, J.C., eds. 2<sup>nd</sup> ed. Bioreactor System Design. Marcel Dekker, Inc., New York, USA. 620 p.
- Richmond, A. 1983. Phototrophic Microalgae. In Dellweg, H. (ed). Biotechnology: A Comprehensive Treatise in 8 volumes (Vol. 3). VCH Verlagsgesellschaft mbH. 642 p.
- Richmond, A. 1990. Large scale microalgal culture and applications. In Round, M. and Chapman, S. (eds). Progress in Phycological Research 7. Biopress Bristol. pp. 269-330.
- Schiff, J.A. 1962. Sulfer. In Lewin, R. A. (ed). Physiology and Biochemistry of Algae. London: Academic Press. pp. 239-244.
- Sharma, O.P. 1992. Textbook of algae. London: McGraw-Hill.
- Shi, X.M., Liu, H.J., Zhang, X.W. and Chen, F. 1999. Production of biomass and lutein by *Chlorella protothecoides* at various glucose concentrations in heterotrophic cultures. PROCESS BIOCHEMISTRY. 34: 341-347.
- Shifrin, N.S. and Chisholm, S.W. 1981. Phytoplankton lipids: Interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light-dark cycles. Journal of Applied Phycology. 17: 374-384.
- Shuler, M.L. and Kargi, F. 1992. Bioprocess Engineering. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. 479 p.
- Smayda, T.J. 1969. The suspension and sinking of phytoplankton in the sea. Marine Biology. 8: 353-414.
- Stagman, G. 1940. Die Bedeutung der Spurenelemente für *Chlorella*. Journal of Botany. 35: 385-422.
- Sung, K.D., Lee, J.S., Shin, C.S., Park S.C. and Choi, M.J. 1999. CO<sub>2</sub> fixation by *Chlorella* sp. KR-1 and its cultural characteristics. Bioresource Technology. 68: 269-273.
- Suzuki, R., Takahashi, M., Furuya, K. and Ishimaru, T. 1993. Simplified technique for the rapid determination of phytoplankton by reverse-phase High-performance liquid chromatography. Journal of oceanography. Vol. 19, pp. 571-580.
- Szerenos, B.K., Bialuk, I. and Maleszewski, S. 2004. Enhancement of photosynthetic O<sub>2</sub> evolution in *Chlorella vulgaris* under high light and increased CO<sub>2</sub> concentration as a sign of acclimation to phosphate deficiency. Plant Physiology and Biochemistry. 42: 403-409.



- Turpin, D.H. 1991. Effects of inorganic N availability on algal photosynthesis and carbon metabolism. J. Phycol. 27: 14-20.
- Vonshak, A. 1997. Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology. Taylor&Francis.
- Walker, J.B. 1953. Inorganic micronutrient requirement of *Chlorella*. I. Requirements for calcium (or strontium), copper and molybdenum. Archives of Biochemistry and Biophysic. 46: 1-11.
- Warburg, O. 1948. Schwermetalle aks Wirkungsgruppen von Fermenten. Berlin: Springer. pp. 170-184.
- Watanabe, Y.O., Ohmura, N. and Saiki, H. 1992. Isolation and determination of cultural microalgae with functions under CO<sub>2</sub> enriched atmosphere. Energy Convers. Mgmt. 33(5-8): 545-552.
- Watanabe, Y. and Saiki, H. 1997. Development of A Photobioreactor Incorporating *Chlorella* sp. for Removal of CO<sub>2</sub> In Stack Gas. Energy Convers. Mgmt. 38(Suppl): S499-S503.
- Wiessner, W. 1962. Inorganic micronutrients. In Lewin, R. A. (ed). Physiology and Biochemistry of Algae. London. Academic Press. pp. 239-244.
- Yanagi, M., Watanabe, Y., and Saiki, H. 1995. CO<sub>2</sub> fixation by *Chlorella* sp. HA-1 and its utilization. Energy Convers. Mgmt. 36(6-9): 713-716.
- Yuan, J.P., Chen, F., Liu, X. and Li, X.Z. 2002. Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum*. Food Chemistry. 76: 319-325.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

## อาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร NSIII

(สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)

สารเคมี	ปริมาณของสารเคมี (กรัม)	ปริมาตรของสารละลายสุดท้าย (มิลลิลิตร)	ปริมาณการใช้ (มิลลิลิตร/ลิตร)
$\text{KNO}_3$	10.11	100	10
$\text{KH}_2\text{PO}_4^+$	12		
$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	14.2	100	2
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6.2	100	2
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.74	100	2
$\text{NaCl}$	11.68	100	0.1
Micro A			2
Micro B			2
Micro C			2

**Micro A** (100 มิลลิลิตร ของ A1 + 1 มิลลิลิตร ของ A2)**A1**

$\text{KBr}$	0.238	
$\text{KI}$	0.166	+ HCl 1.2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย
$\text{LiCl}$	0.00848	น้ำกลั่นจนได้ ปริมาตร 400 มิลลิลิตร
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0.0308	

**A2**

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.144	+ HCl 0.3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย
$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.658	น้ำกลั่นจนได้ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.07	

---

**Micro B**

$\text{CoSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.125
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 15\text{H}_2\text{O}$	0.167
$(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.044
$\text{NH}_3\text{VO}_3$	0.029

**Micro C**

$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	0.81	+ HCl 0.6 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
Na-EDTA	0.75	จนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

---



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ข

## วิธีวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในอาหารเลี้ยงสาหร่าย

## ข-1 วิธีวิเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลาย (Eaton และคณะ, 1995)

1. ใช้น้ำที่ได้จากการกรองสาหร่ายปริมาณ 10 มิลลิลิตร
2. เติมสารอินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟธาไลน์ 2 หยด
3. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.02N จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไตเตรท
4. ทำการไตเตรทซ้ำอีกครั้ง โดยใช้ปริมาตรตัวอย่างเท่าเดิม เติมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตรเท่ากับการไตเตรทในครั้งแรกโดยไม่ต้องเขย่าขวด เมื่อใกล้ถึงจุดยุติจึงเขย่าเบา ๆ และค่อย ๆ เติมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู ซึ่งการไตเตรทครั้งที่สองนี้จะทำให้คาร์บอนไดออกไซด์เกิดการสูญเสียออกไปจากตัวอย่างน้อยที่สุด
5. คำนวณหาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายได้จากสูตร

$$\text{มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร} = \frac{A \times N \times 44000}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

โดยที่ A = มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท

N = นอร์มัลลิตีของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

ข-2 วิธีวิเคราะห์ค่าอัลคาไลน์ (Eaton และคณะ, 1995)

1. ใช้น้ำเลี้ยงสาหร่ายที่ได้จากการกรองปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. เติมสารอินดิเคเตอร์ผสมระหว่างบรอมครีซอลกรีนและเมทิลเรด 2 หยด
3. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.02N จนสารละลายเปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีชมพูอมส้ม บันทึกปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไตเตรท
4. คำนวณหาค่าอัลคาไลน์ในอาหารเลี้ยงสาหร่ายได้จากสูตร

$$\text{มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร} = \frac{B \times N \times 50000}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

โดยที่ B = มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรท

N = นอร์มัลลิตีของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

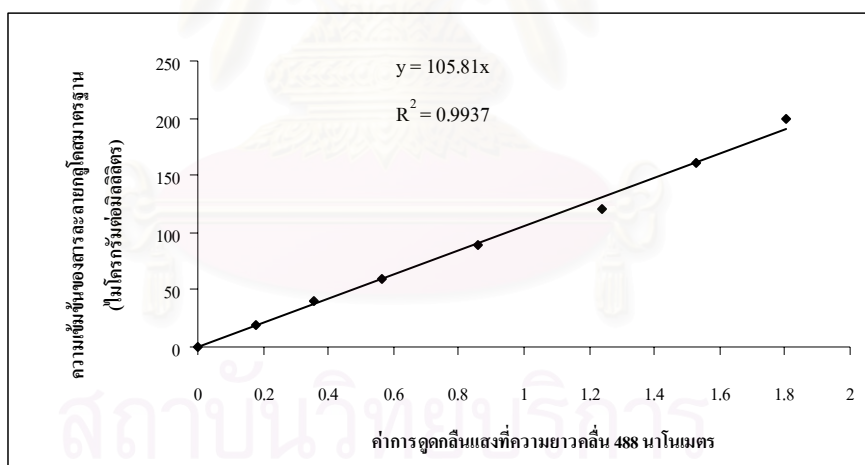


## ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์หองค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp.

## ค-1 วิธีวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต (Kochert, 1978)

1. ชั่งตัวอย่างสาหร่ายประมาณ 0.1 กรัม (จดน้ำหนักที่แน่นอน) แล้วนำมาเติม 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง
2. วางทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปปั่นแยกตะกอน
3. ผสมส่วนน้ำใสมา 1 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมสารละลายฟีนอล 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นจึงเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตรและผสมให้เข้ากันทันที วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 30 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของคาร์โบไฮเดรต



รูปที่ ค-1 กราฟมาตรฐานสำหรับการคำนวณความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรต

## ค-2 วิธีวิเคราะห์กรดอะมิโน

วิเคราะห์หองค์ประกอบของกรดอะมิโนตามวิธีการของ AccQ•Tag โดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่างดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างสาหร่ายประมาณ 50 มิลลิกรัม เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 นอร์มัล แล้วนำไปไว้ใน heating block ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 22 ชั่วโมง
2. หลังจากนั้นจึงเติม Internal standard ในตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแล้ว และทำการเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออน
3. นำไปกรองด้วยกระดาษกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.2 ไมครอน หลังจากนั้นจึงผสมสารที่ได้จากการกรองด้วย AccQ• fluor derivatization buffer และเติม AccQ•fluor reagent ในอนุพันธ์ที่ได้
4. ให้ความร้อนกับตัวอย่างที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ใน heating block จากนั้นจึงนำตัวอย่างไปวิเคราะห์กรดอะมิโนด้วย HPLC

## ค-3 วิธีวิเคราะห์รงควัตถุ

ตัวอย่างสาหร่ายที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์รงควัตถุ เป็นตัวอย่างสาหร่ายที่กรองผ่านกระดาษแผ่นกรอง GF/F ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร

วิธีการสกัดรงควัตถุจากตัวอย่างสาหร่าย เป็นดังต่อไปนี้

1. ตัดแผ่นเยื่อกรองออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงในหลอดทดลองที่หุ้มด้วยกระดาษอะลูมิเนียมเพื่อป้องกันแสง แล้วจึงเติมเมทานอลปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
2. หลังจากนั้นจึงดูดสารสกัดซึ่งมีรงควัตถุละลายอยู่ในหลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง แล้วนำไปแช่เย็นไว้
3. ทำการสับให้เป็นที่เล็กลง จากนั้นจึงเติมเมทานอลลงไปเพื่อทำการสกัดรงควัตถุซ้ำจนกระทั่งแผ่นเยื่อกรองไม่มีสี
4. นำสารสกัดที่รวมกันในหลอดปั่นเหวี่ยง ไปทำการปั่นเหวี่ยงที่ 2000g นาน 15 นาที เพื่อแยกเยื่อกระดาษกรองที่ติดมากับสารสกัดออก หลังจากนั้นจึงดูดส่วนน้ำใสด้านบนไปทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของรงควัตถุที่อยู่ภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีการวิเคราะห์ของ Suzuki (1993)

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอโรฟิลล์สำหรับวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Jeffrey, Mantoura และ Wright, 1997)

1. ทำการละลายสารสีคลอโรฟิลล์มาตรฐานด้วย 90%acetone ในขวดวัดปริมาตร
2. ทำการเจือจางสารนำสารสีคลอโรฟิลล์มาตรฐานให้มีความเข้มข้นลดลง อย่างน้อย 3 ความเข้มข้น
3. แล่งสารสีคลอโรฟิลล์มาตรฐานประมาณ 10 มิลลิลิตร ไปทำการสแกนด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 350-750 นาโนเมตร (visible light)
4. ทำการวิเคราะห์หาจุดสูงสุดของ peak ที่ช่วงคลื่นสีแดง ( $\approx 600-700$  นาโนเมตร) และตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นดังกล่าว
5. นำไปคำนวณหาความเข้มข้นในสมการ

$$C \text{ (g/l)} = \frac{A_{\alpha_{max}} \times P_c}{\alpha \times d \times 100}$$

โดย  $C$  = ความเข้มข้นของสารละลายคลอโรฟิลล์มาตรฐาน

$A_{\alpha_{max}}$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด

$$P_c = \text{Purity} = \frac{\text{Area}_{\text{STD}} \times 100}{[\text{Area}_{\text{STD}} + \sum \text{Area}]}$$

$\alpha$  = specific extinction coefficient (depend on solvent reagent)

$d$  = ระยะทางที่แสงผ่าน cuvet

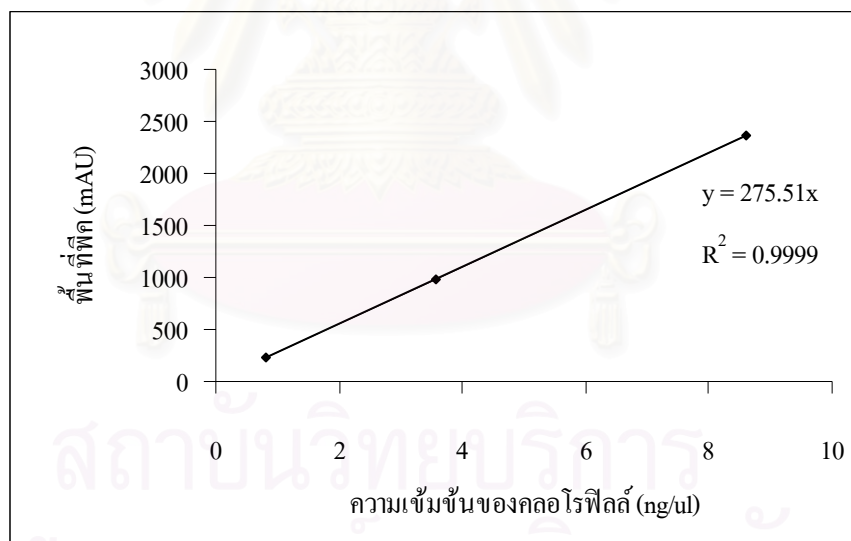
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ตัวอย่างการคำนวณ

ละลายคลอโรฟิลล์-เอ ด้วยสารละลาย 90%acetone ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แบ่งมา 1 มิลลิลิตร เจือจางในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร แบ่งสารเจือจางมา 10 มิลลิลิตร ไปทำการสแกน ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 350-750 นาโนเมตร ซึ่งได้ค่าในช่วงคลื่นสีแดง สูงสุดที่ 664 นาโนเมตร แล้วทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นดังกล่าว ได้ 0.0304 Abs นำไปตรวจสอบ Purity ด้วยเครื่อง HPLC ได้ค่าเท่ากับ 100 เสร็จแล้วเปิดดูค่า  $\alpha$  ของคลอโรฟิลล์-เอ ที่ละลายด้วย 90%acetone ใน Jeffrey และคณะ (1997) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 87.67 นำค่าทั้งหมดไป คำนวณค่าในสมการ

$$C \text{ (g/l)} = \frac{0.0304 \times 100}{87.67 \times 1 \times 100}$$

$$= 0.0003467549 \text{ หรือ } 346.7549 \text{ } \mu\text{g/l}$$



รูปที่ ค-2 กราฟมาตรฐานสำหรับการคำนวณความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์



ภาคผนวก ง

ข้อมูลการทดลอง

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ง-1 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ

สภาวะในการเพาะเลี้ยง		ชุดการทดลอง	ความหนาแน่นเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ( $\times 10^6$ )				
ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	CO <sub>2</sub> (%)		วันที่				
			0	1	2	3	4
60	10	1	0.5	4.01	6.17	-	11.81
		2	0.28	1.50	3.54	6.75	11.75
		3	0.27	1.23	4.25	7.75	10.83
		mean	0.35	2.25	4.65	7.25	11.46
		SD	0.13	1.53	1.36	0.71	0.55
	20	1	0.18	0.98	3.61	5.58	10.73
		2	0.27	0.94	3.10	5.33	12.46
		3	0.29	1.25	3.57	5.58	12.35
		mean	0.25	1.05	3.43	5.50	11.84
		SD	0.06	0.17	0.28	0.15	0.97
240	10	1	0.24	2.12	9.67	9.08	12.7
		2	0.32	4.69	17.2	21.46	40.83
		3	0.32	4.32	15.12	18.33	330.58
		mean	0.29	3.71	14.00	16.29	28.04
		SD	0.04	1.39	3.89	6.44	14.24
	20	1	0.32	4.75	8.30	14.40	19.50
		2	0.45	2.03	7.79	10.58	26.00
		3	0.47	2.90	14.50	17.50	30.92
		mean	0.41	3.23	10.20	14.16	25.47
		SD	0.08	1.39	3.73	3.46	5.73
540	10	1	0.23	4.50	16.30	21.20	23.42
		2	0.33	2.28	7.75	10.17	12.80
		3	0.21	1.55	9.25	12.50	14.80
		mean	0.26	2.78	11.10	14.62	17.00
		SD	0.06	1.53	4.56	5.81	5.64
	20	1	0.34	3.07	10.90	14.30	19.35
		2	0.45	5.03	11.67	15.00	18.25
		3	0.33	2.86	11.83	16.17	17.80
		mean	0.37	3.65	11.47	15.15	18.47
		SD	0.06	1.20	.50	9.43	0.80



ตารางที่ 2-2 น้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่ายในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ

สภาวะในการเพาะเลี้ยง		ชุดการทดลอง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)				
ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	CO <sub>2</sub> (%)		วันที่				
			0	1	2	3	4
60	10	1	0.0100	0.0200	0.0400	-	0.1500
		2	0.0025	0.0115	0.0315	0.0590	0.1067
		3	0.0026	0.0115	0.0315	0.0640	0.0965
		mean	0.0050	0.0143	0.0343	0.0615	0.1177
		SD	0.0043	0.0049	0.0049	0.0035	0.0284
	20	1	0.0016	0.0074	0.037	0.0806	0.138
		2	0.0035	0.013	0.032	0.069	0.106
		3	0.0042	0.0125	0.032	0.0625	0.0975
		mean	0.0031	0.0110	0.0337	0.0707	0.1138
		SD	0.0013	0.0031	0.0029	0.0092	0.0214
240	10	1	0.005	0.049	0.1104	0.173	0.25
		2	0.0043	0.047	0.168	0.306	0.43
		3	0.0023	0.045	0.1533	0.271	0.365
		mean	0.0039	0.0470	0.1439	0.2500	0.3483
		SD	0.0014	0.0020	0.0299	0.0689	0.0912
	20	1	0.0045	0.04	0.0987	0.1625	0.225
		2	0.0051	0.0190	0.0720	0.1670	0.3080
		3	0.0060	0.0400	0.1600	0.2600	0.3880
		mean	0.0052	0.0330	0.1102	0.1965	0.3070
		SD	0.0008	0.0121	0.0451	0.0550	0.0815
540	10	1	0.003	0.052	0.181	0.311	0.4
		2	0.0067	0.062	0.1363	0.214	0.281
		3	0.002	0.042	0.266	0.259	0.3617
		mean	0.0039	0.0520	0.1944	0.2613	0.3476
		SD	0.0025	0.0100	0.0659	0.0485	0.0607
	20	1	0.0034	0.04	0.11	0.2	0.277
		2	0.0038	0.057	0.13	0.215	0.295
		3	0.0028	0.032	0.1446	0.2772	0.3815
		mean	0.0033	0.0430	0.1282	0.2307	0.3178
		SD	0.0005	0.0128	0.0174	0.0409	0.0559

ตารางที่ ง-3 ค่า pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่ายในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ

สภาวะในการเพาะเลี้ยง		ชุดการทดลอง	pH				
ความเข้มข้นแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	CO <sub>2</sub> (%)		วันที่				
			0	1	2	3	4
60	10	1	6.75	6.29	6.09	-	6.06
		2	6.65	5.77	5.81	5.93	6.04
		3	6.64	5.78	5.86	5.94	6.05
		mean	6.68	5.95	5.92	5.94	6.05
		SD	0.06	0.30	0.15	0.01	0.01
60	20	1	6.62	5.49	5.66	5.75	5.79
		2	6.64	5.49	5.52	5.65	5.77
		3	6.64	5.5	5.57	5.69	5.78
		mean	6.63	5.49	5.58	5.70	5.78
		SD	0.01	0.01	0.07	0.05	0.01
240	10	1	6.67	5.97	6.2	6.22	6.18
		2	6.66	5.86	6.12	6.27	6.39
		3	6.58	5.89	6.16	6.34	6.48
		mean	6.64	5.91	6.16	6.28	6.35
		SD	0.05	0.06	0.04	0.06	0.15
240	20	1	6.31	5.57	5.67	5.76	5.78
		2	6.5	5.5	5.64	5.75	5.91
		3	6.64	5.61	5.8	5.92	6.13
		mean	6.48	5.56	5.70	5.81	5.94
		SD	0.17	0.06	0.09	0.10	0.18
540	10	1	6.57	5.79	6.06	6.28	6.34
		2	6.53	5.76	5.94	6.09	6.23
		3	6.55	5.82	6.06	6.31	6.42
		mean	6.55	5.79	6.02	6.22666	6.33
		SD	0.02	0.03	0.07	0.12	0.10
540	20	1	6.49	5.46	5.6	5.79	5.91
		2	6.58	5.63	5.74	5.92	6.06
		3	6.64	5.55	5.87	6.06	6.24
		mean	6.57	5.55	5.74	5.92	6.07
		SD	0.08	0.09	0.14	0.14	0.17

ตารางที่ 4-4 ค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระของอาหารเลี้ยงสาหร่ายในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ

สภาวะในการเพาะเลี้ยง		ชุดการทดลอง	คาร์บอนไดออกไซด์อิสระ (mgCO <sub>2</sub> /l)				
ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	CO <sub>2</sub> (%)		วันที่				
			0	1	2	3	4
60	10	1	67.90	80.90	80.90	-	-
		2	74.45	126.56	120.77	109.19	100.92
		3	81.06	120.77	117.46	99.26	95.95
		mean	74.47	109.41	106.38	104.23	98.44
		SD	6.58	24.86	22.13	7.02	3.51
60	20	1	85.42	155.58	137.28	132.1	143.38
		2	83.62	185.83	181.84	168.57	163.26
		3	86.19	169	152.1	140.27	121.68
		mean	85.08	170.14	157.07	146.98	142.77
		SD	1.32	15.16	22.70	19.14	20.80
240	10	1	77.43	77.14	59.23	82.92	49.12
		2	85.03	133.16	105.89	93.05	48.13
		3	86.2	111.54	89.57	72.67	42.25
		mean	82.89	107.28	84.90	82.88	46.50
		SD	4.76	28.25	23.68	10.19	3.71
240	20	1	84.79	94.77	87.78	83.13	64.84
		2	77.79	166.26	122.03	112.87	41.18
		3	86.28	159.28	126.1	114.15	82.3
		mean	82.95	140.10	111.97	103.38	62.77
		SD	4.53	39.41	21.05	17.55	20.64
540	10	1	78.46	93.55	83	70.92	58.85
		2	78.46	103.21	96.57	89.02	75.44
		3	87.88	116.61	104.78	76.05	60.84
		mean	81.60	104.46	94.78	78.66	65.04
		SD	5.44	11.58	11.00	9.33	9.06
540	20	1	76.95	102.6	84.5	53.21	63.37
		2	85.03	139.58	120.33	120.33	102.68
		3	79.41	137.31	112.5	104.23	77.75
		mean	80.46	126.50	105.78	92.59	81.27
		SD	4.14	20.73	18.84	35.04	19.89

ตารางที่ ง-5 ค่าอัลคาลินิตีของอาหารเลี้ยงสาหร่ายในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย  
*Chlorella* sp. ตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ

สภาวะในการเพาะเลี้ยง		ชุดการทดลอง	ค่าอัลคาลินิตี (mgCaCO <sub>3</sub> /l)				
ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	CO <sub>2</sub> (%)		วันที่				
			0	1	2	3	4
60	10	1	58.22	59.88	69.86	-	-
		2	46.47	49.56	63.48	83.64	102.23
		3	48.02	53.60	65.05	80.54	111.52
		mean	50.90	54.35	66.13	82.09	106.88
		SD	6.38	5.20	3.32	2.19	6.57
60	20	1	49.36	55.05	64.54	87.16	106.31
		2	41.34	58.25	63.89	82.68	105.22
		3	49.09	56.1	65.45	79.47	93.5
		mean	46.60	56.47	64.63	83.10	101.68
		SD	4.56	1.63	0.79	3.86	7.10
240	10	1	52.56	61.54	96.47	128.08	154.69
		2	57.21	76.28	131.58	194.5	231.88
		3	46.75	62.33	110.64	171.42	208.82
		mean	52.17	66.72	112.90	164.67	198.46
		SD	5.24	8.29	17.66	33.72	39.62
240	20	1	56.18	69.3	91.76	121.72	153.56
		2	45.56	62.64	81.63	104.41	165.15
		3	48.85	62.01	116.5	148.44	191.66
		mean	50.20	64.65	96.63	124.86	170.12
		SD	5.44	4.04	17.94	22.18	19.53
540	10	1	54.18	72.86	132.65	184.14	255.96
		2	52.31	71	104.63	145.73	201.78
		3	54.54	65.45	100.51	156.14	219.72
		mean	53.68	69.77	112.60	162.00	225.82
		SD	1.20	3.86	17.49	19.86	27.60
540	20	1	57.92	69.13	95.28	134.52	184.96
		2	57.97	74.37	102.97	148.74	194.5
		3	48.02	60.41	108.42	167.28	232.34
		mean	54.64	67.97	102.22	150.18	203.93
		SD	5.73	7.05	6.60	16.43	25.06

ตารางที่ 6-6 อุณหภูมิของตัวอย่างสาหร่าย ณ เวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างในแต่ละวัน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ

สภาวะในการเพาะเลี้ยง		ชุดการทดลอง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)				
ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	CO <sub>2</sub> (%)		วันที่				
			0	1	2	3	4
60	10	1	31.5	34.3	34.1	-	32.4
		2	29.4	28.6	27.4	26.5	28.0
		3	29.2	29.9	30.6	31.0	31.6
		mean	30.0	31.0	30.7	28.7	30.7
		SD	1.3	3.0	3.3	3.2	2.3
60	20	1	26.8	28.5	27.9	28.8	28.6
		2	29.0	29.2	29.3	29.9	29.7
		3	33.0	30.9	31.0	31.3	31.3
		mean	29.6	29.5	29.4	30.0	29.9
		SD	3.1	1.2	1.5	1.2	1.3
240	10	1	30.6	33.3	37.3	35.8	32.3
		2	28.8	28.3	27.6	26.1	26.4
		3	30.6	32.5	30.9	31.5	31.9
		mean	30	31.4	31.9	31.1	30.2
		SD	1.0	2.7	4.9	4.9	3.3
240	20	1	30.5	30.9	31.3	30.4	30.5
		2	26.5	25	24.5	26.2	24.1
		3	28.9	28.9	27.5	28.9	29.2
		mean	28.6	28.3	27.8	28.5	27.9
		SD	2.0	3.0	3.4	2.1	3.4
540	10	1	28.5	30.6	31.3	30.9	32.0
		2	30.3	31.9	32.0	31.9	32.0
		3	31.3	34.5	33.0	33.5	33.5
		mean	30.0	32.3	32.1	32.1	32.5
		SD	1.4	2.0	0.8	1.3	0.9
540	20	1	27.1	27.2	28.0	28.7	28.3
		2	29.3	29.4	30.3	30.3	32.6
		3	26.3	30.3	30.3	31.0	32.5
		mean	27.6	29.0	29.5	30.0	31.1
		SD	1.5	1.6	1.3	1.2	2.4

ตารางที่ 7-7 ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต (% น้ำหนักแห้ง) และปริมาณลูทีนและคลอโรฟิลล์-เอ (มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง) ที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายตามภาวะในการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ

สภาวะในการเพาะเลี้ยง		ชุดการทดลอง	% น้ำหนักแห้ง			มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง	
ความเข้มแสง ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	CO <sub>2</sub> (%)		โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	ลูทีน	คลอโรฟิลล์-เอ
60	10	1	21.33	2.79	17.2	2.29	13.16
		2	17.44	2.19	22.23	0.70	4.81
		mean	19.39	2.49	19.715	1.49	8.98
		SD	2.75	0.43	3.56	1.12	5.91
60	20	1	24.42	1.64	18.85	1.85	16.92
		2	15.13	2.15	21.32	2.33	15.65
		mean	19.78	1.895	20.09	2.10	16.29
		SD	6.57	0.36	1.74	0.34	0.89
240	10	1	20.88	0.76	21.68	1.44	7.70
		2	20.55	1.14	24.51	2.35	25.73
		mean	20.72	0.95	23.10	1.90	16.71
		SD	0.23	0.27	2.00	0.64	12.75
240	20	1	21.27	0.77	27.57	1.32	9.29
		2	21.13	1.3	26.71	1.49	4.86
		mean	21.20	1.035	27.14	1.40	7.07
		SD	0.10	0.37	0.61	0.12	3.13
540	10	1	20.02	0.35	34.94	1.33	4.83
		2	20.37	1.27	37.93	0.93	1.84
		mean	20.20	0.81	36.43	1.13	3.34
		SD	0.25	0.65	2.11	0.28	2.11
540	20	1	21.21	0.53	20.43	1.14	5.36
		2	24.22	0.23	25.64	1.17	3.67
		mean	22.72	0.38	23.03	1.15	4.52
		SD	2.13	0.21	3.68	0.02	1.19

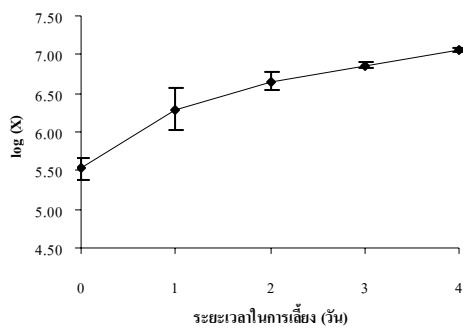




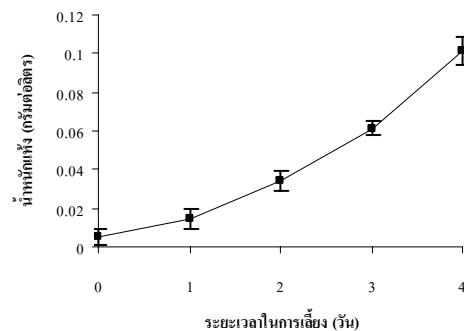
ภาคผนวก จ

รูปแบบการเติบโตของสาหร่าย

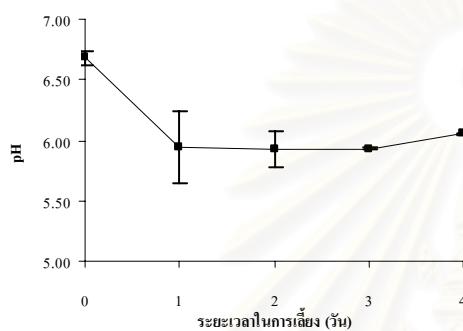
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



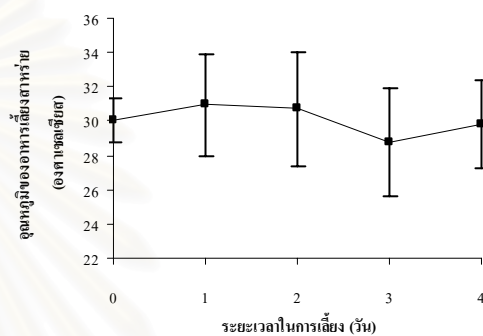
(ก)



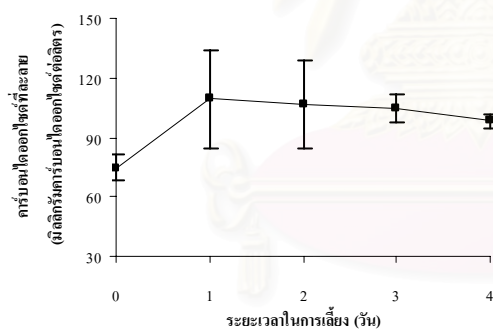
(ข)



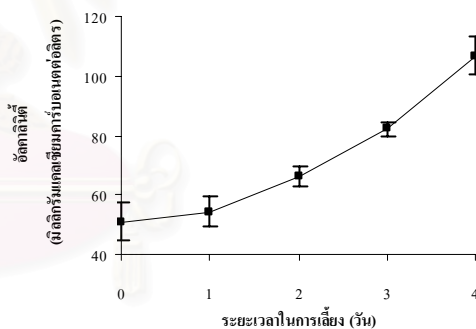
(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

รูปที่ จ-1 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

(ก) ความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายในมาตรส่วนลอการิทึม

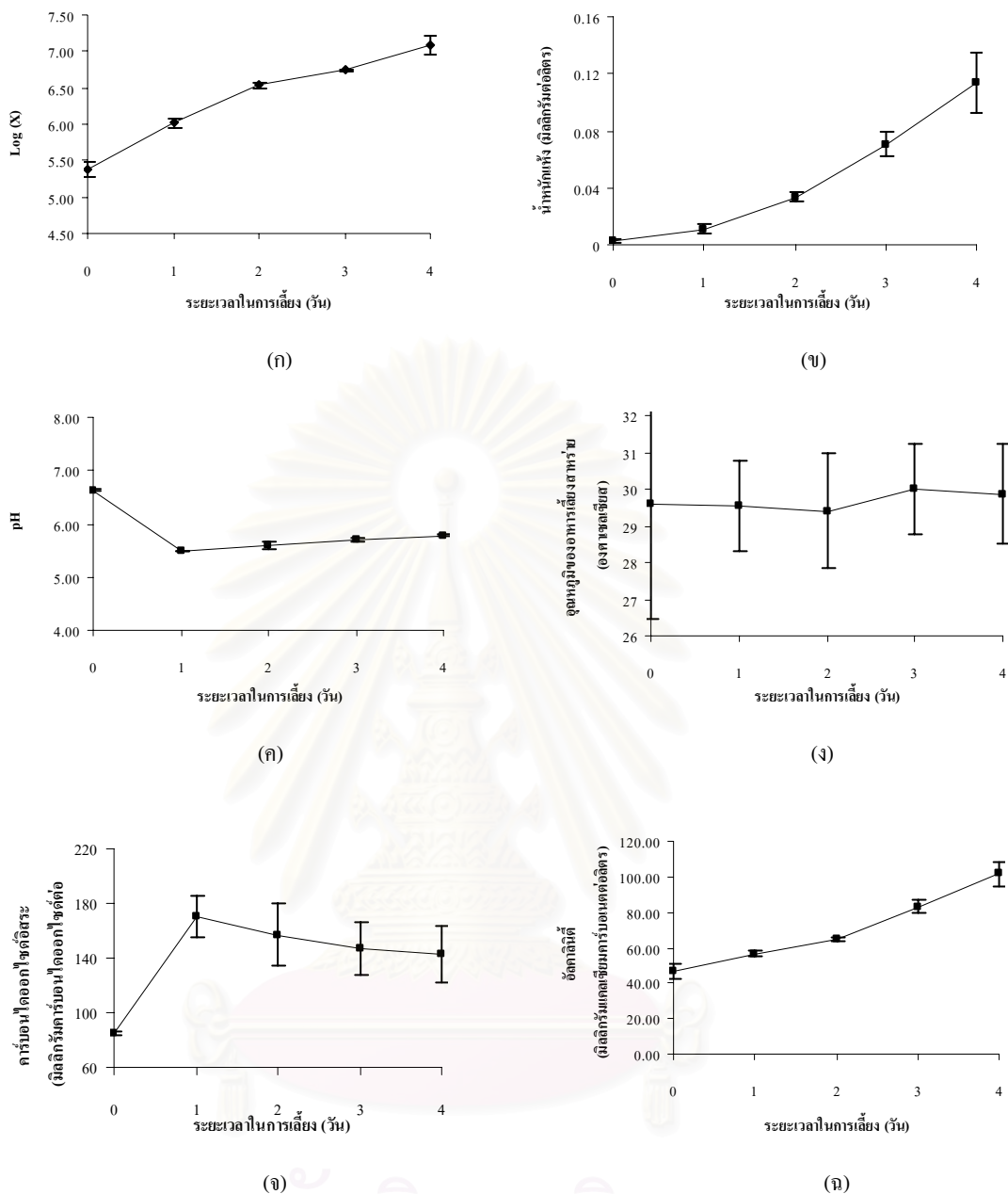
(ข) การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย

(ค) การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(ง) การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(จ) การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายในอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(ฉ) การเปลี่ยนแปลงค่ากรดคลอโรฟิลล์ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย



รูปที่ ๒-2 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

(ก) ความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายในมาตราส่วนลอการิทึม

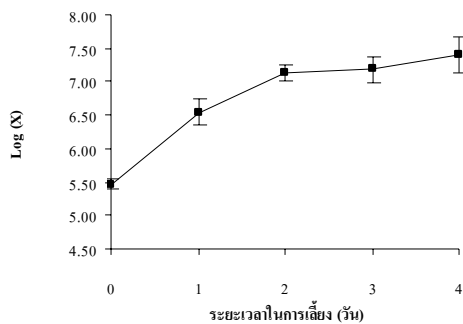
(ข) การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย

(ค) การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

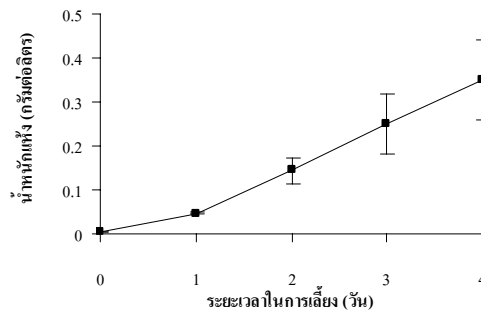
(ง) การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(จ) การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระที่ละลายในอาหารเลี้ยงสาหร่าย

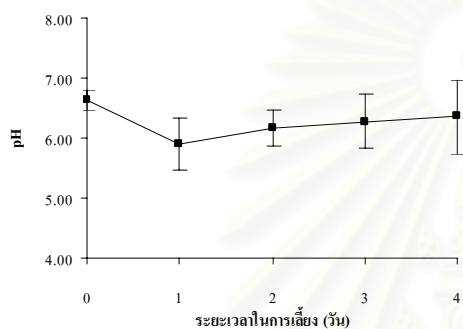
(ฉ) การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาไลน์ตีของอาหารเลี้ยงสาหร่าย



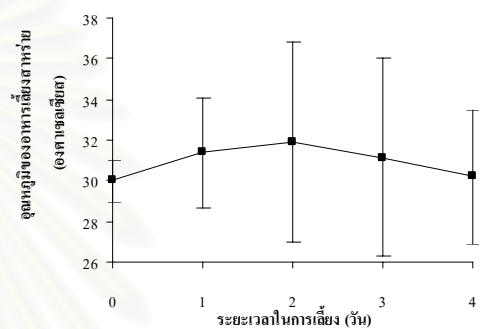
(ก)



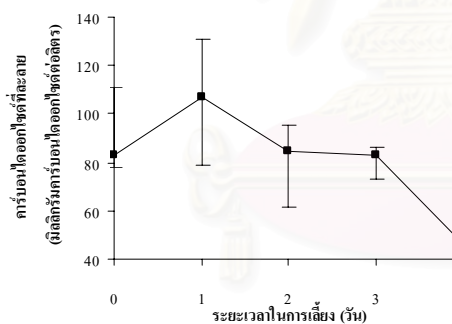
(ข)



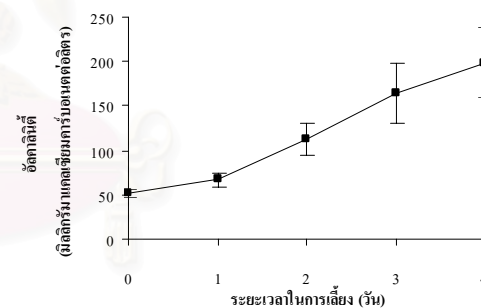
(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

รูปที่ จ-3 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

(ก) ความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายในมาตรฐานลอการิทึม

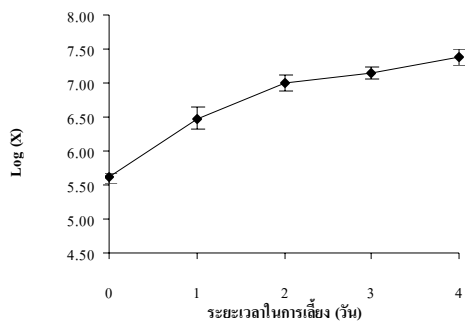
(ข) การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย

(ค) การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

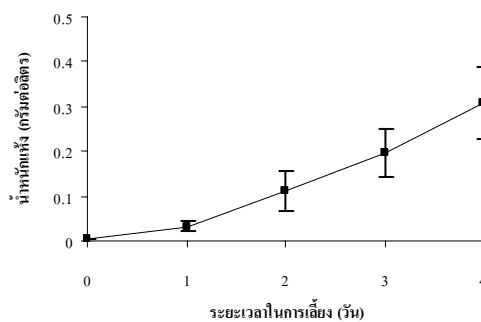
(ง) การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(จ) การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงสาหร่าย

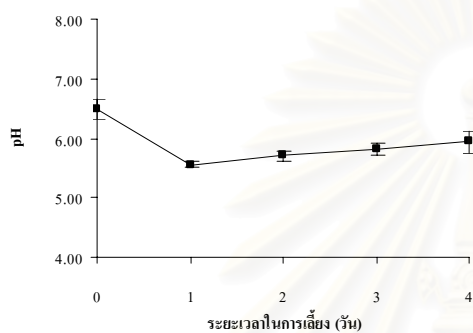
(ฉ) การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย



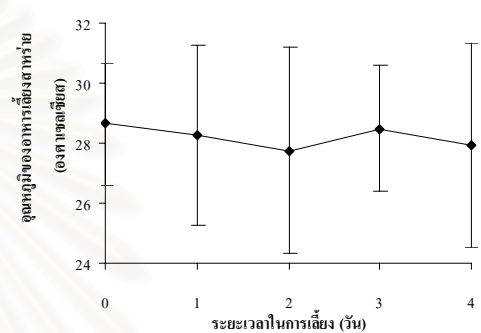
(ก)



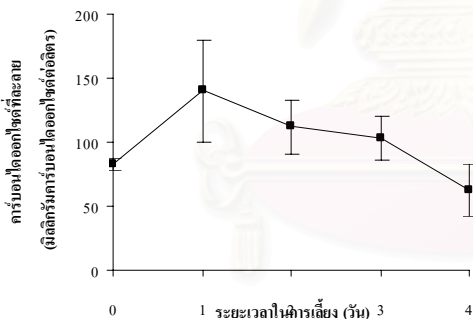
(ข)



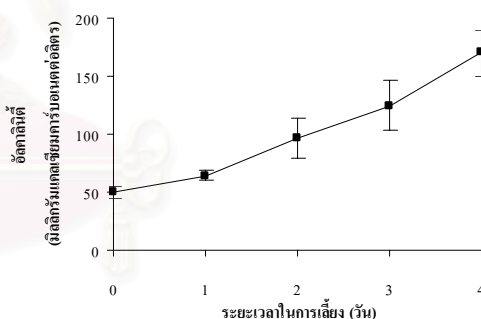
(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

รูปที่ จ-4 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

(ก) ความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายในมาตรฐานลอการิทึม

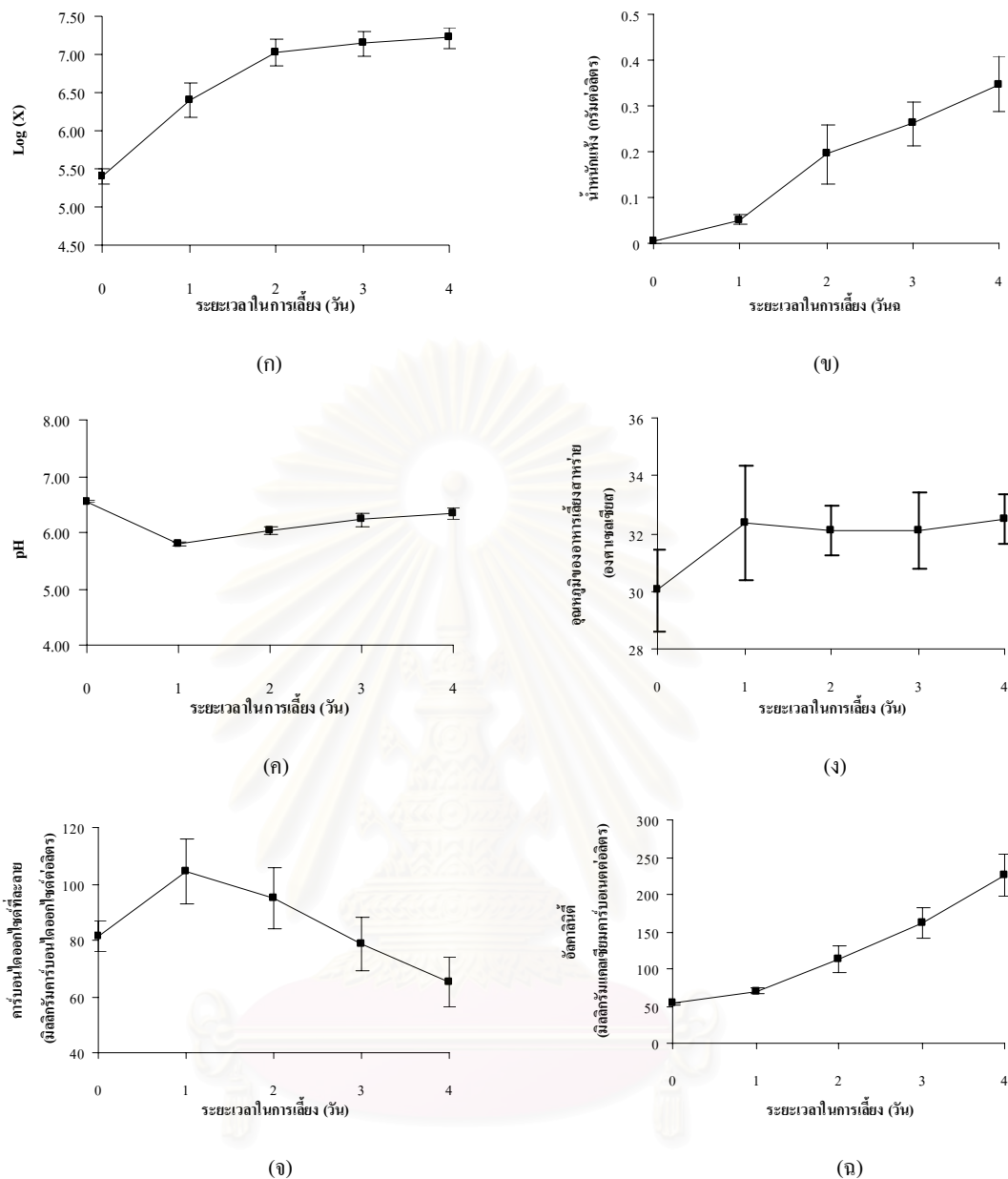
(ข) การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย

(ค) การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(ง) การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(จ) การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(ฉ) การเปลี่ยนแปลงค่าออปติคัลดีนิตี้ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย



รูปที่ ๕-5 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 10%

(ก) ความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายในมาตรฐานลอการิทึม

(ข) การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย

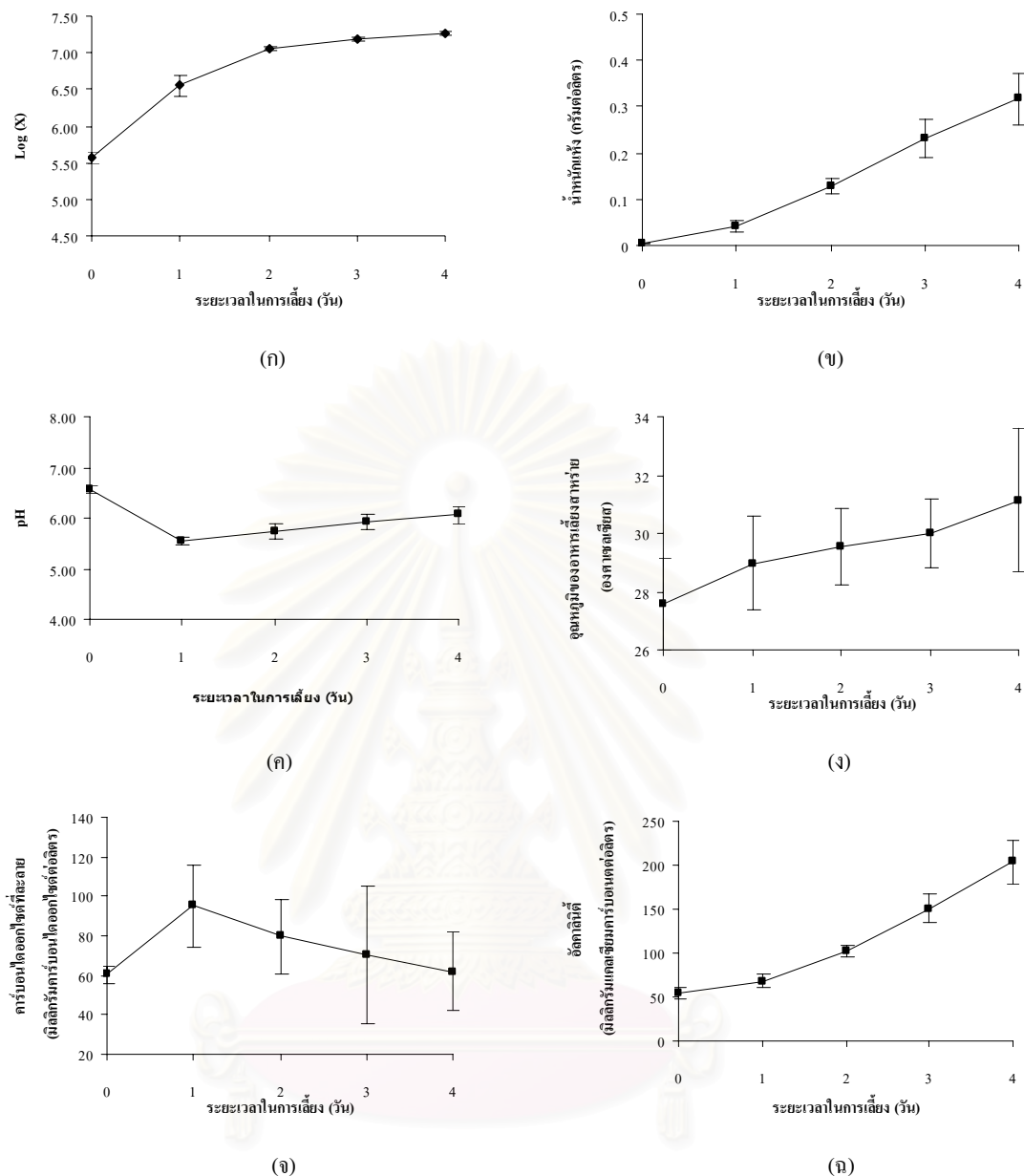
(ค) การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(ง) การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(จ) การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(ฉ) การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตีของอาหารเลี้ยงสาหร่าย





รูปที่ จ-6 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* และการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความเข้มแสง  $540 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 20%

(ก) ความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายในมาตรฐานลอการิทึม

(ข) การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย

(ค) การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(ง) การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

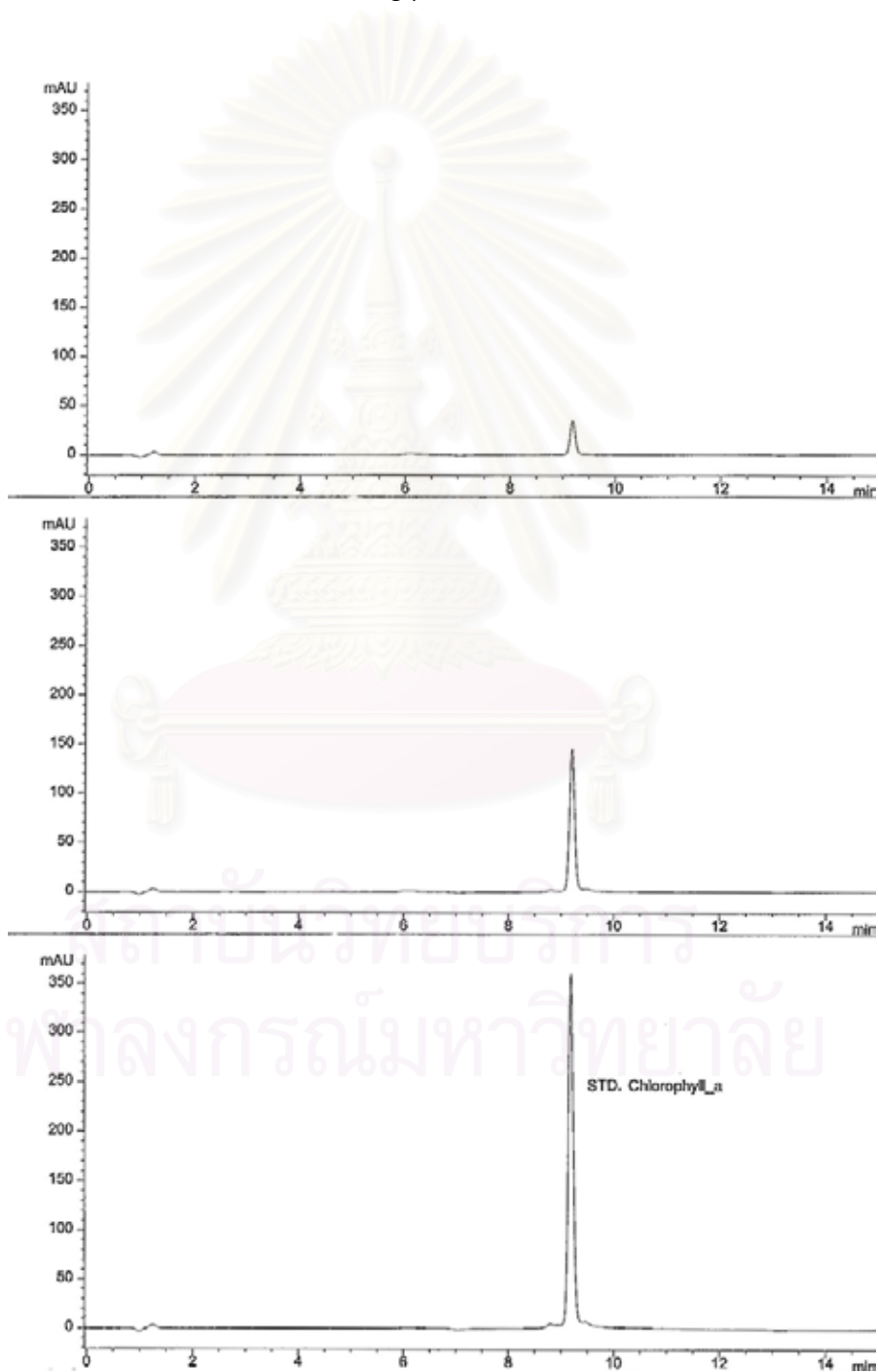
(จ) การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงสาหร่าย

(ฉ) การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตีของอาหารเลี้ยงสาหร่าย

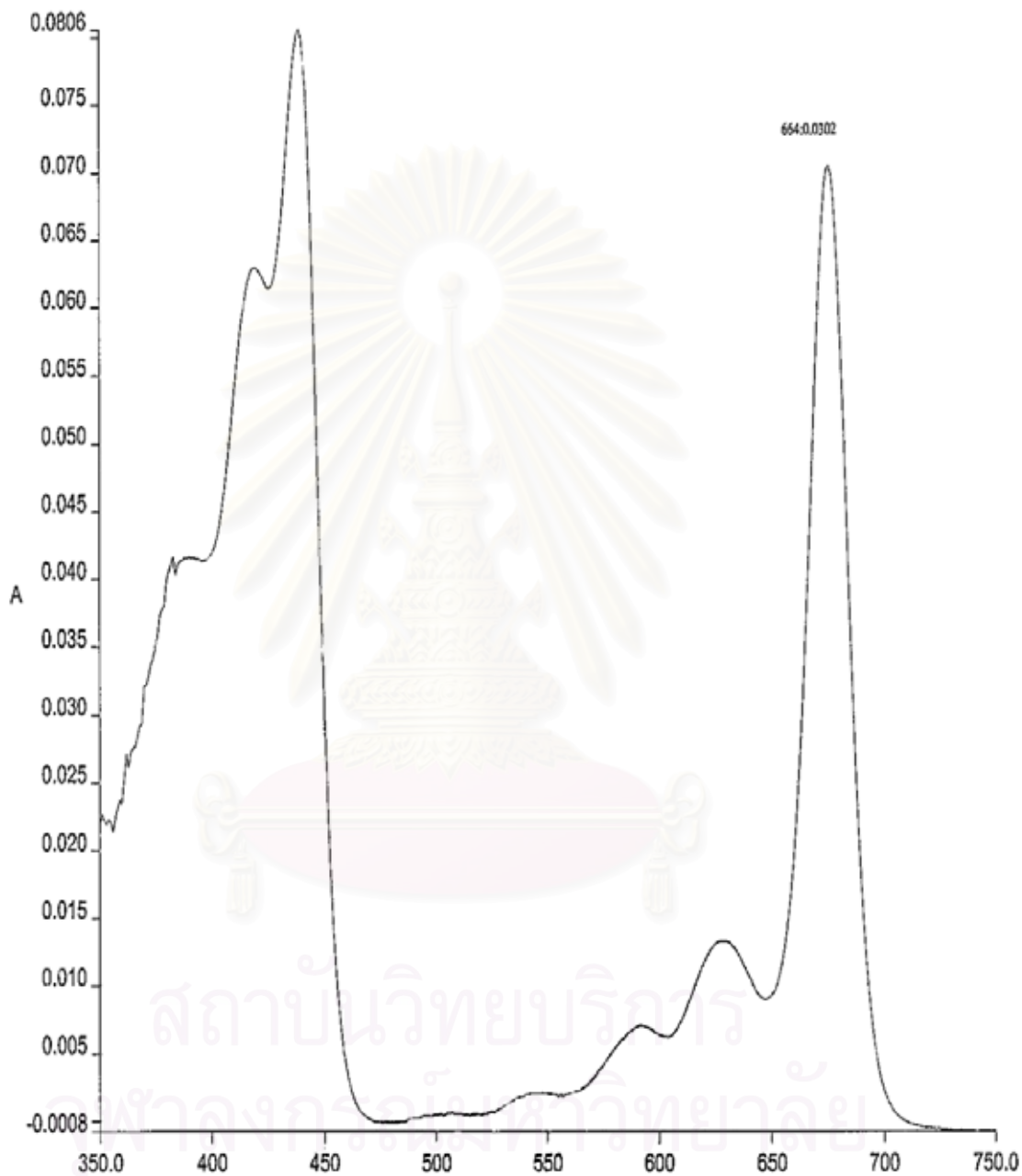
## ภาคผนวก ฉ

## โครมาโตแกรมของรงควัตถุ

รูปที่ ฉ-1 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานคลอโรฟิลล์-เอ จากเครื่อง HPLC ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ (0.803 3.562 และ 8.599 ng/ $\mu$ l)

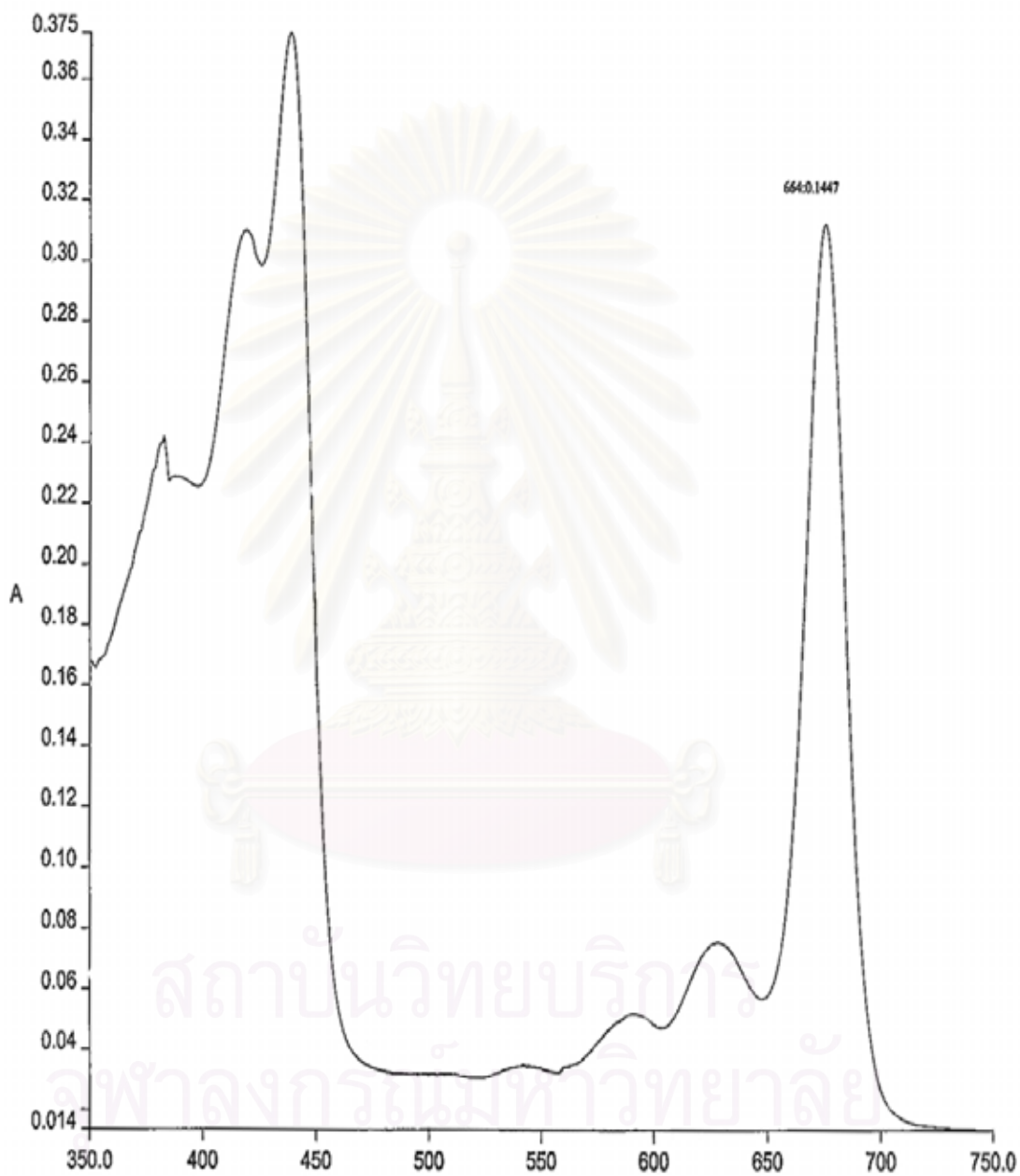


รูปที่ ๑-2 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานคลอโรฟิลล์-เอ ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ที่ได้จาก  
เครื่อง UV-Visible spectrophotometer



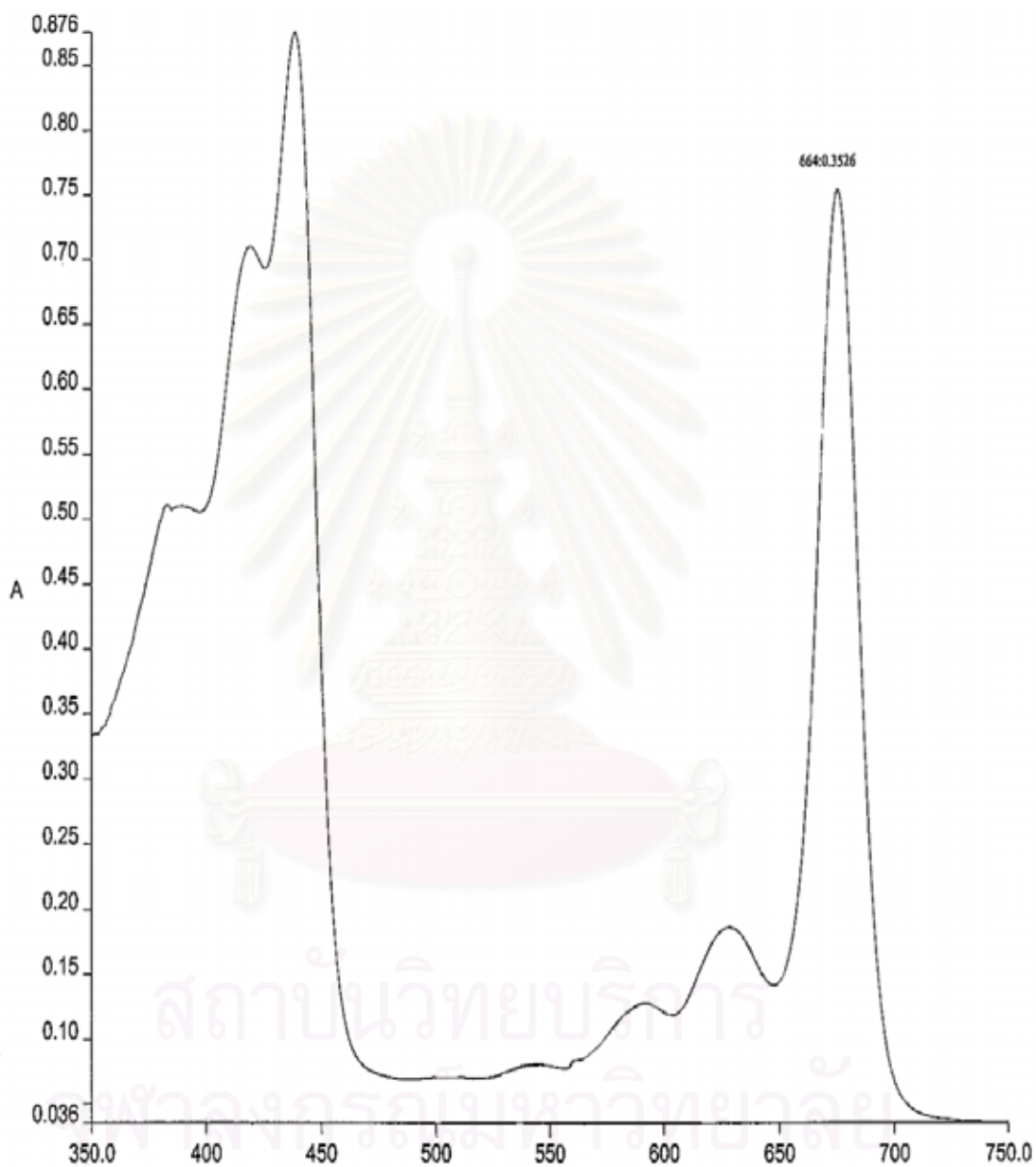
(ก) ความเข้มข้น 0.803 ng/μl

รูปที่ ๑-2 (ต่อ) โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานคลอโรฟิลล์-เอ ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ที่ได้จากเครื่อง UV-Visible spectrophotometer



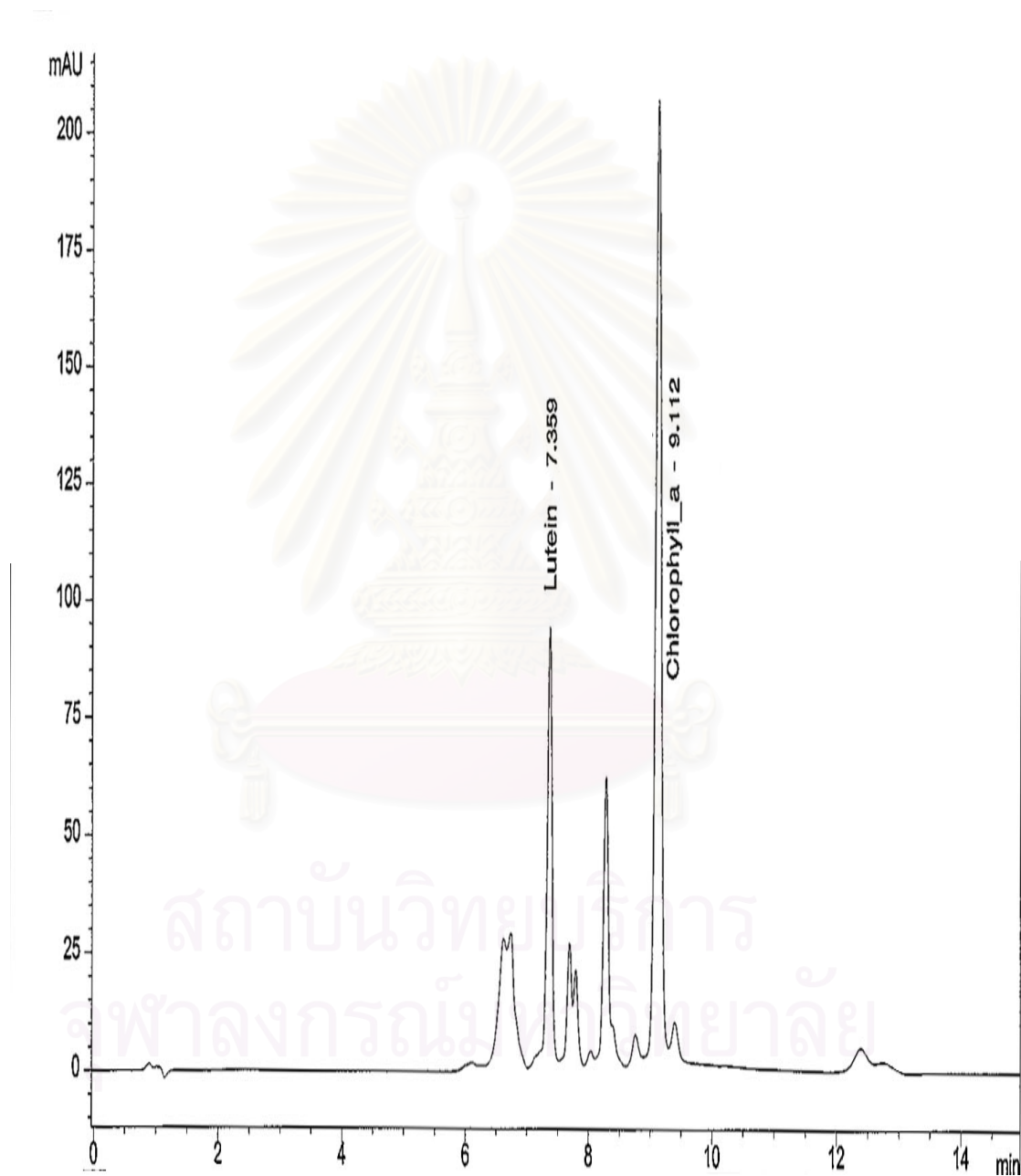
(ข) ความเข้มข้น 3.562 ng/ $\mu$ l

รูปที่ ๑-2 (ต่อ) โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานคลอโรฟิลล์-เอ ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ที่ได้จากเครื่อง UV-Visible spectrophotometer



(ค) ความเข้มข้น 8.599 ng/ $\mu$ l

รูปที่ ๓-3 ตัวอย่างโครมาโตแกรมที่แสดงองค์ประกอบของรงควัตถุภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. (ภาวะในการเลี้ยงคือ ระดับความเข้มแสง  $240 \text{ umol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%)

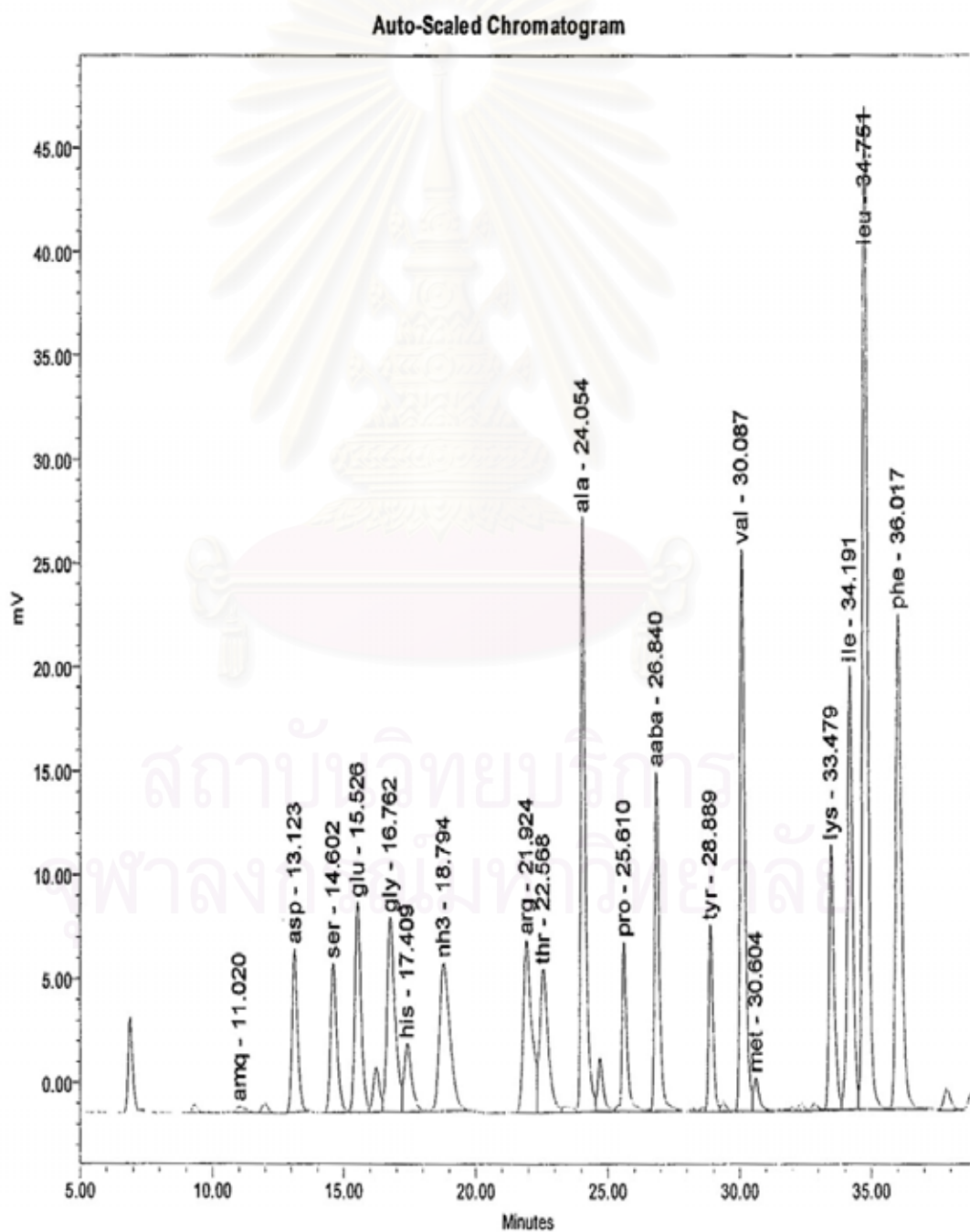




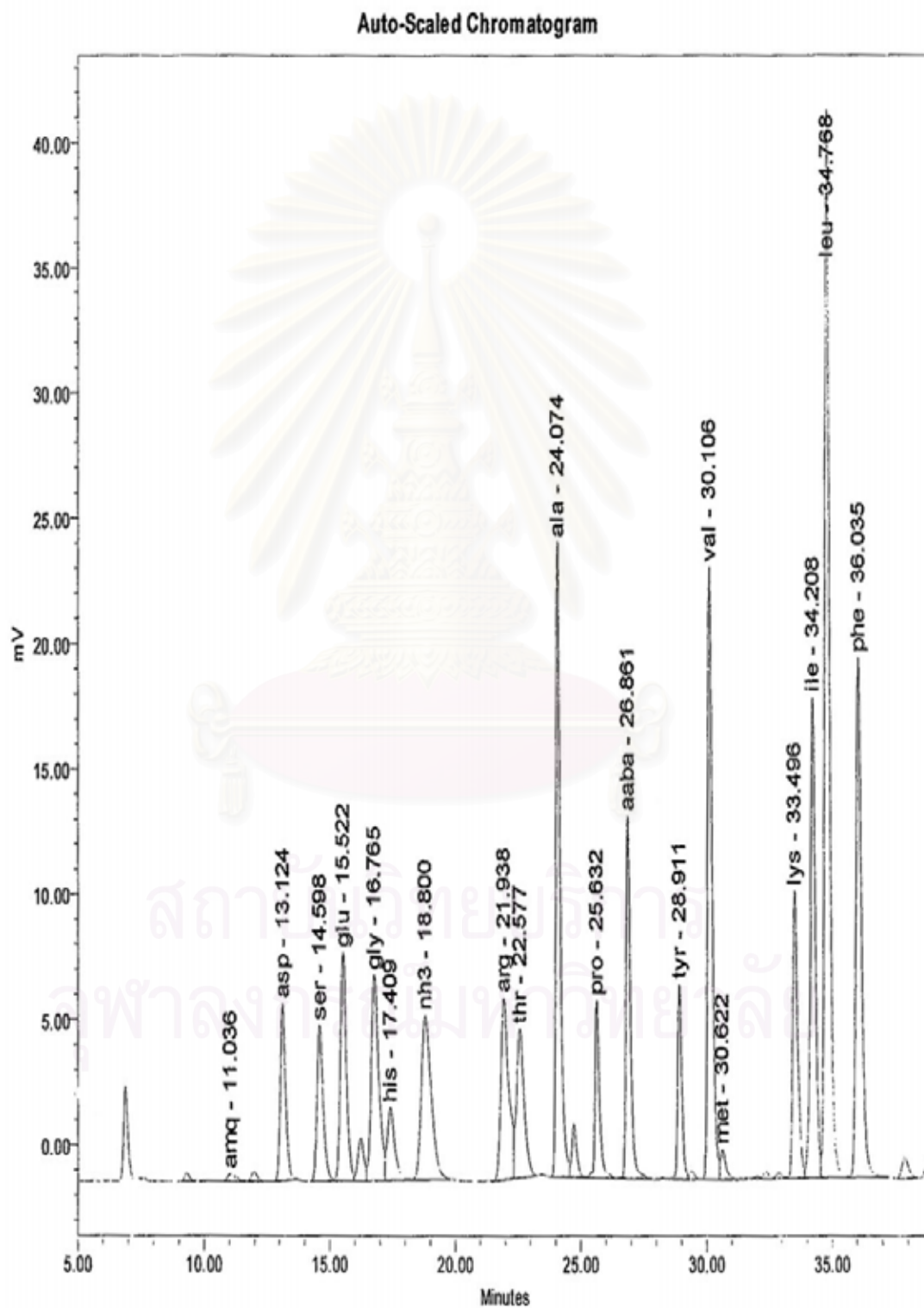
## ภาคผนวก ข

## โครมาโตแกรมของกรดอะมิโน

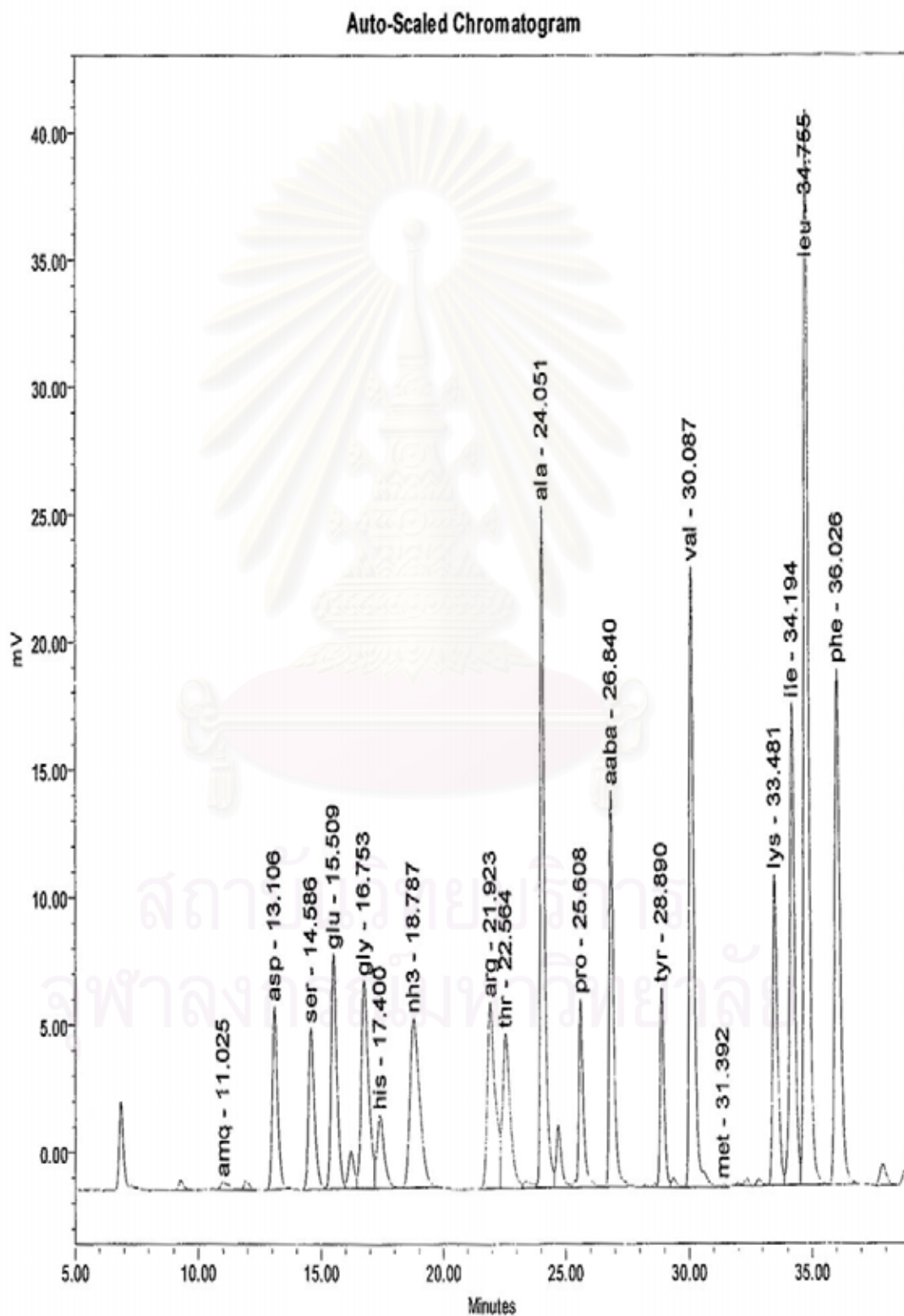
รูปที่ ข-1 โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่ายที่วิเคราะห์โดยใช้ HPLC (ผลการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ของสาหร่ายตัวอย่างที่ 1) (ภาวะในการเพาะเลี้ยง คือที่ระดับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%)



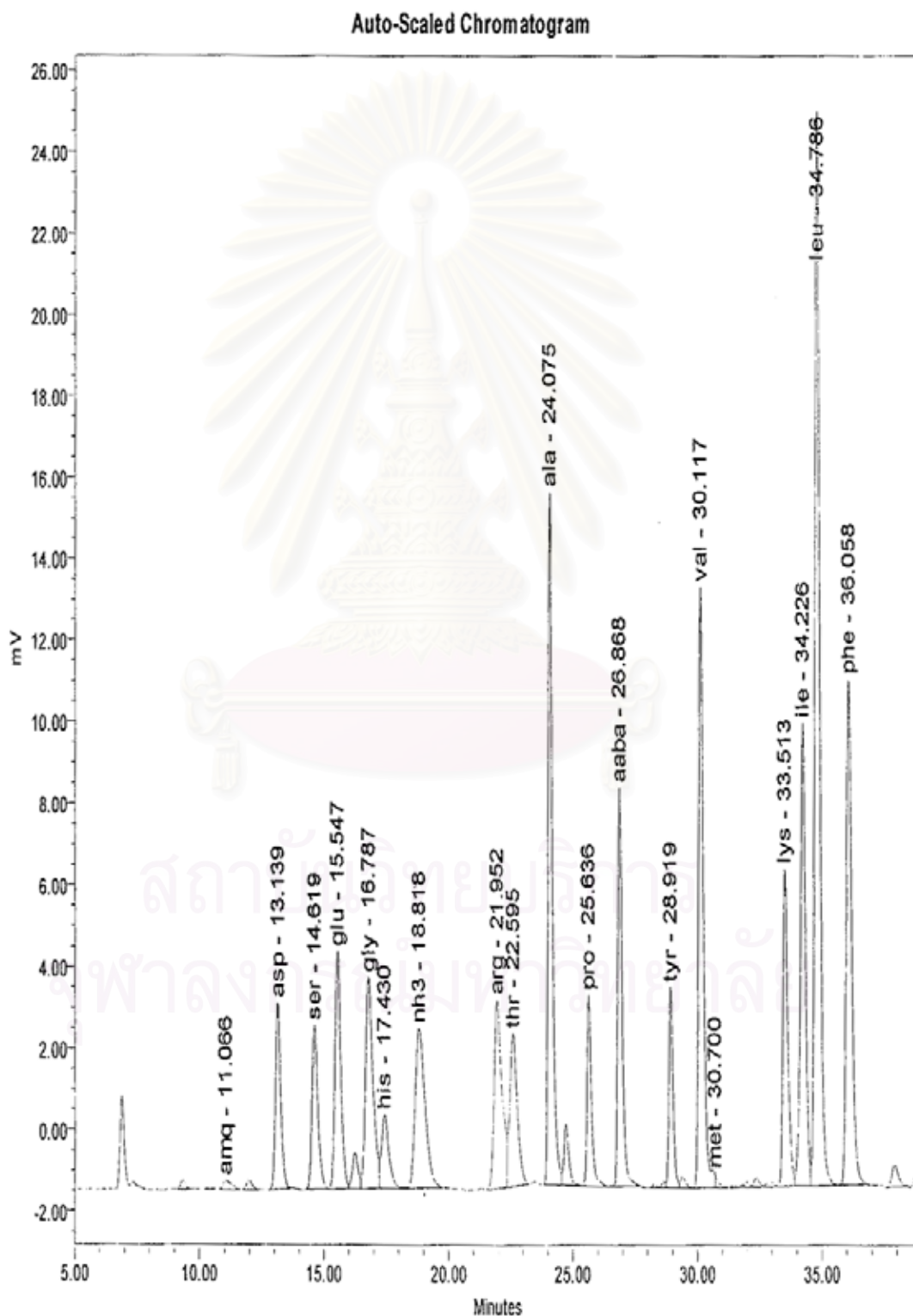
รูปที่ ข-1 (ต่อ) โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่ายที่วิเคราะห์โดยใช้ HPLC (ผลการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ของสาหร่ายตัวอย่างที่ 1) (ภาวะในการเพาะเลี้ยง คือที่ระดับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%)



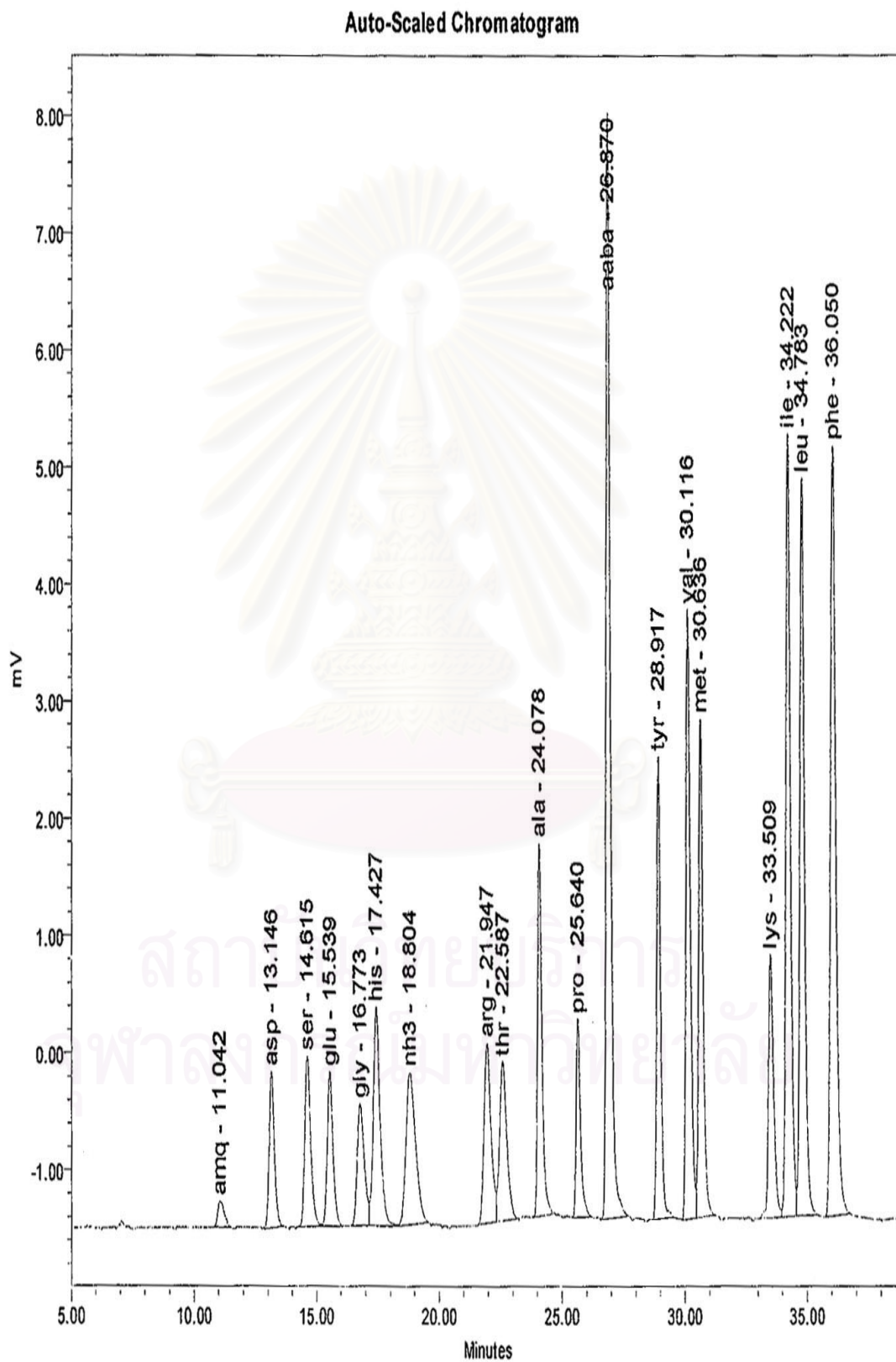
รูปที่ ข-2 โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่าย วิเคราะห์โดยใช้ HPLC (ผลการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ของสาหร่ายตัวอย่างที่ 2) (ภาวะในการเพาะเลี้ยง คือการได้รับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%)



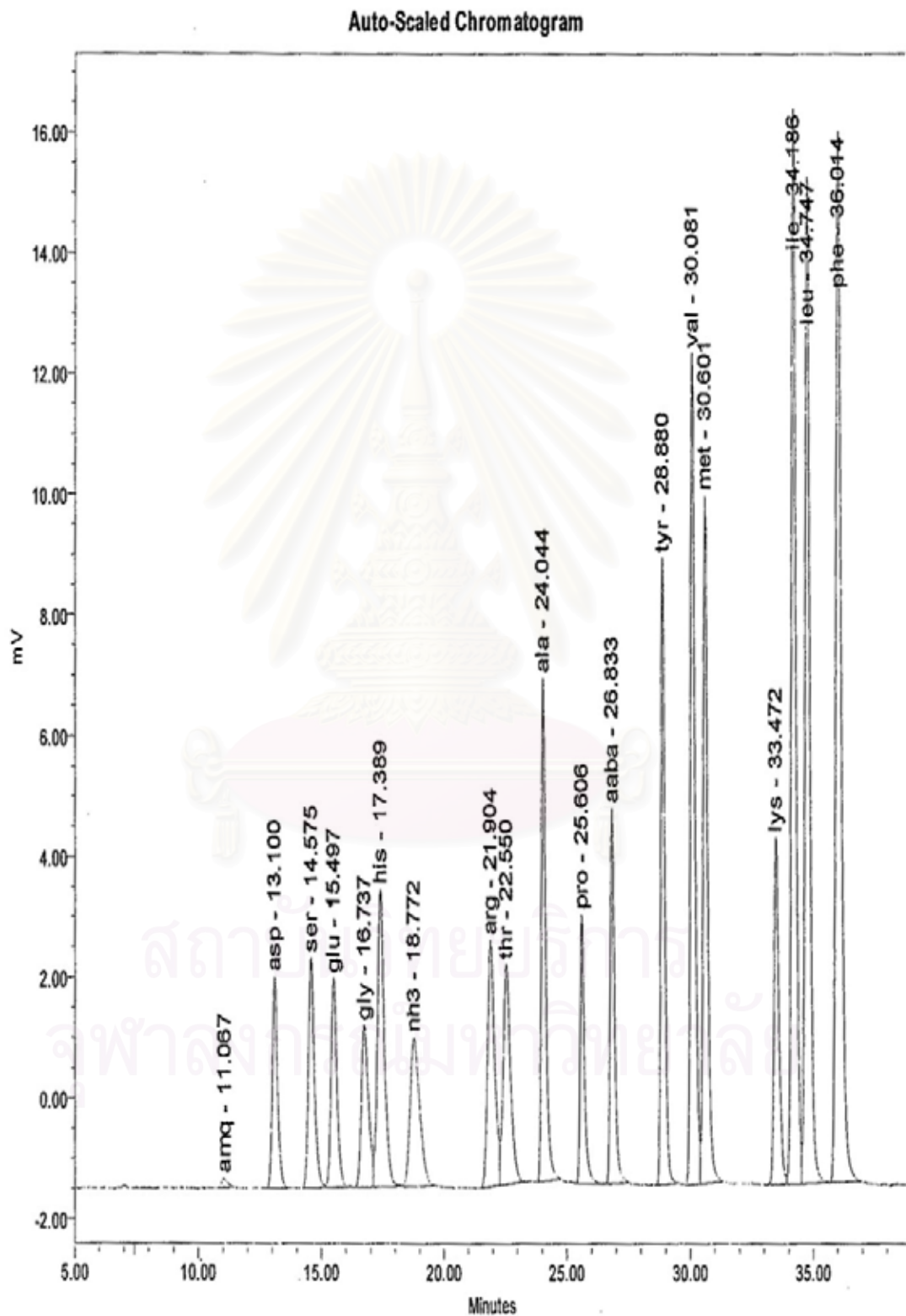
รูปที่ ข-2 (ต่อ) โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่าย วิเคราะห์โดยใช้ HPLC (ผลการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ของสาหร่ายตัวอย่างที่ 2) (ภาวะในการเพาะเลี้ยง คือการได้รับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10%)



รูปที่ ๓-3 โครมาโตแกรมมาตรฐานของกรดอะมิโนทั้ง 3 ความเข้มข้น สำหรับการวิเคราะห์กรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่ายด้วยวิธี HPLC

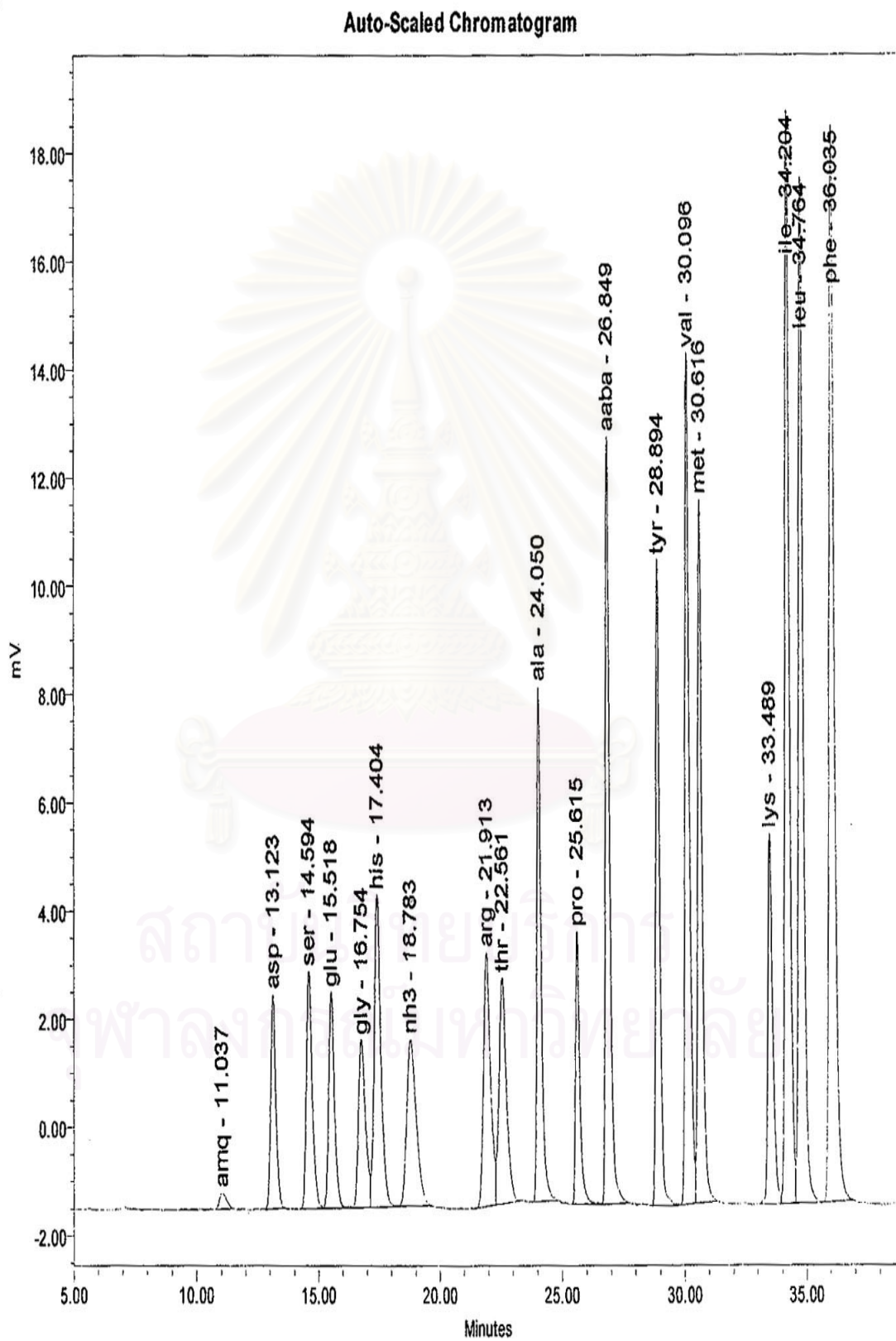


รูปที่ ๓-3 (ต่อ) โครมาโตแกรมมาตรฐานของกรดอะมิโนทั้ง 3 ความเข้มข้น สำหรับการวิเคราะห์ กรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่ายด้วยวิธี HPLC





รูปที่ ข-3 (ต่อ) โครมาโตแกรมมาตรฐานของกรดอะมิโนทั้ง 3 ความเข้มข้น สำหรับการวิเคราะห์  
กรดอะมิโนในตัวอย่างสาหร่ายด้วยวิธี HPLC



## ภาคผนวก ข

## ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ข-1 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของสาหร่ายที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ระดับต่าง ๆ ของความเข้มแสง และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

Dependent Variable: umax

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.175 <sup>a</sup>	5	.435	2.786	.068
Intercept	75.236	1	75.236	481.833	.000
light	1.714	2	.857	5.487	.020
CO2	.325	1	.325	2.084	.174
light * CO2	.136	2	.068	.436	.656
Error	1.874	12	.156		
Total	79.284	18			
Corrected Total	4.049	17			

a. R Squared = .537 (Adjusted R Squared = .344)

ตารางที่ ข-2 ค่าเฉลี่ยของอัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายที่ระดับความเข้มแสงต่างกัน

light	N	Subset	
		1	2
Duncan <sup>a,b</sup>	60	6	1.6083
	240	6	2.2500
	540	6	2.2750
Sig.			1.000
			.915

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .156.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

ตารางที่ ซ-3 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายที่ภาวะในการเพาะเลี้ยงที่ระดับต่าง ๆ ของความเข้มแสง และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

Dependent Variable: DW

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.199 <sup>a</sup>	5	.040	11.900	.000
Intercept	1.290	1	1.290	386.006	.000
Light	.189	2	.094	28.219	.000
CO2	.009	1	.009	2.553	.136
Light * CO2	.002	2	.001	.254	.780
Error	.040	12	.003		
Total	1.529	18			
Corrected Total	.239	17			

a. R Squared = .832 (Adjusted R Squared = .762)

ตารางที่ ซ-4 ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายที่ระดับความเข้มแสงต่างกัน

Light	N	Subset	
		1	2
Duncan <sup>a,b</sup> 60	6	.123633	
240	6		.327667
540	6		.351908
Sig.		1.000	.482

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .003.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

ตารางที่ ๕-5 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยง ต่างกัน

Dependent Variable: protein

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	14.285 <sup>a</sup>	5	2.857	.310	.890
Intercept	5124.093	1	5124.093	555.220	.000
light	7.548	2	3.774	.409	.682
CO2	3.842	1	3.842	.416	.543
light * CO2	2.896	2	1.448	.157	.858
Error	55.374	6	9.229		
Total	5193.752	12			
Corrected Total	69.659	11			

a. R Squared = .205 (Adjusted R Squared = -.457)

ตารางที่ ๕-6 ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ

Duncan<sup>a,b</sup>

light	N	Subset
		1
60	4	19.5800
240	4	20.9575
540	4	21.4550
Sig.		.430

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 9.229.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

ตารางที่ ๗-7 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยง ต่างกัน

Dependent Variable: fat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6.375 <sup>a</sup>	5	1.275	6.336	.022
Intercept	18.106	1	18.106	89.966	.000
light	5.761	2	2.880	14.312	.005
CO2	.188	1	.188	.932	.372
light * CO2	.427	2	.214	1.061	.403
Error	1.208	6	.201		
Total	25.688	12			
Corrected Total	7.583	11			

a. R Squared = .841 (Adjusted R Squared = .708)

ตารางที่ ๗-8 ค่าเฉลี่ยของปริมาณไขมันที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ

Duncan<sup>a,b</sup>

light	N	Subset	
		1	2
540	4	.5950	
240	4	.8975	
60	4		2.1925
Sig.		.377	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .201.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

ตารางที่ ซ-9 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เป็นองค์ประกอบ  
ภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยง ต่างกัน

Dependent Variable: C2H5O6

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	212.836 <sup>a</sup>	4	53.209	10.840	.004
Intercept	7542.117	1	7542.117	1536.486	.000
light	169.658	2	84.829	17.281	.002
CO2	8.625	1	8.625	1.757	.227
light * CO2	4.306	1	4.306	.877	.380
Error	34.361	7	4.909		
Total	9874.297	12			
Corrected Total	247.196	11			

a. R Squared = .861 (Adjusted R Squared = .782)

ตารางที่ ซ-10 ค่าเฉลี่ยของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ

	light	N	Subset	
			1	2
Duncan <sup>a,b,c</sup>	60	2	19.7150	
	540	4		28.3150
	240	6		31.2000
	Sig.		1.000	.140

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 4.909.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.273.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = .05.



ตารางที่ ซ-11 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณลูทีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยง ต่างกัน

Dependent Variable: Result1

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.529 <sup>a</sup>	5	.306	.971	.502
Intercept	28.030	1	28.030	89.068	.000
light	.934	2	.467	1.484	.300
CO2	.006	1	.006	.018	.898
light * CO2	.589	2	.295	.936	.443
Error	1.888	6	.315		
Total	31.446	12			
Corrected Total	3.417	11			

a. R Squared = .447 (Adjusted R Squared = -.013)

ตารางที่ ซ-12 ค่าเฉลี่ยของปริมาณลูทีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ

	light	N	Subset
			1
Duncan <sup>a,b</sup>	540	4	1.1425
	240	4	1.6500
	60	4	1.7925
Sig.			.164

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .315.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

ตารางที่ ซ-13 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยง ต่างกัน

Dependent Variable: chl\_a

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	334.189 <sup>a</sup>	5	66.838	1.875	.233
Intercept	1079.583	1	1079.583	30.280	.002
Light	186.577	2	93.288	2.617	.152
CO2	.449	1	.449	.013	.914
Light * CO2	147.163	2	73.582	2.064	.208
Error	213.919	6	35.653		
Total	1627.690	12			
Corrected Total	548.108	11			

a. R Squared = .610 (Adjusted R Squared = .284)

ตารางที่ ซ-14 ค่าเฉลี่ยของปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ

Duncan<sup>a,b</sup>

Light	N	Subset
		1
540	4	3.9250
240	4	11.8950
60	4	12.6350
Sig.		.093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 35.653.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

ตารางที่ ซ-15 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของสัดส่วนของลูทีนต่อคลอโรฟิลล์ (น้ำหนักต่อ น้ำหนัก) ในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ภาวะในการเพาะเลี้ยง ต่างกัน

Dependent Variable: Result7

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.097 <sup>a</sup>	5	.019	2.309	.169
Intercept	.569	1	.569	67.391	.000
light	.074	2	.037	4.393	.067
CO2	.002	1	.002	.187	.680
light * CO2	.022	2	.011	1.286	.343
Error	.051	6	.008		
Total	.717	12			
Corrected Total	.148	11			

a. R Squared = .658 (Adjusted R Squared = .373)

ตารางที่ ซ-16 ค่าเฉลี่ยของสัดส่วนของลูทีนต่อคลอโรฟิลล์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ในเซลล์ของ สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ระดับความเข้มแสงต่าง ๆ

	light	N	Subset	
			1	2
Duncan <sup>a,b</sup>	60	4	.14447082	
	240	4	.18198506	.18198506
	540	4		.32682338
Sig.			.585	.067

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .008.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

ตารางที่ ซ-17 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนในระยะเวลาเติบโตที่ต่างกัน  
ของสาหร่าย *Chlorella* sp.

Dependent Variable: Protein

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	20.385 <sup>a</sup>	1	20.385	165.297	.006
Intercept	1362.717	1	1362.717	11049.805	.000
Light	.000	0	.	.	.
Growth	20.385	1	20.385	165.297	.006
Error	.247	2	.123		
Total	1383.349	4			
Corrected Total	20.632	3			

a. R Squared = .988 (Adjusted R Squared = .982)

ตารางที่ ซ-18 ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนในระยะเวลาเติบโตที่ต่างกันของสาหร่าย *Chlorella* sp.  
(1 คือ ระยะเวลาเติบโตคงที่ และ 2 คือ ระยะเวลาเติบโตวิถุณ)

Dependent Variable: Protein

Growth	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	20.715	.248	19.647	21.783
2	16.200	.248	15.132	17.268

ตารางที่ ซ-19 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณไขมันในระยะเวลาเติบโตที่ต่างกัน  
ของสาหร่าย *Chlorella* sp.

Dependent Variable: Fat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.137 <sup>a</sup>	1	.137	3.700	.194
Intercept	2.341	1	2.341	63.268	.015
Light	.000	0	.	.	.
Growth	.137	1	.137	3.700	.194
Error	.074	2	.037		
Total	2.552	4			
Corrected Total	.211	3			

a. R Squared = .649 (Adjusted R Squared = .474)

ตารางที่ ซ-20 ค่าเฉลี่ยของปริมาณไขมันในระยะเวลาเติบโตที่ต่างกันของสาหร่าย *Chlorella* sp.  
(1 คือ ระยะเวลาเติบโตคงที่ และ 2 คือ ระยะเวลาเติบโตวิฤณ)

Dependent Variable: Fat

Growth	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	.950	.136	.365	1.535
2	.580	.136	-.005	1.165

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ซ-21 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในระยะเวลาเติบโตที่ต่างกันของสาหร่าย *Chlorella* sp.

Dependent Variable: C2H5O6

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.017 <sup>a</sup>	1	.017	.035	.869
Intercept	3622.836	1	3622.836	7520.939	.000
Light	.000	0	.	.	.
Growth	.017	1	.017	.035	.869
Error	.963	2	.482		
Total	3623.816	4			
Corrected Total	.980	3			

a. R Squared = .017 (Adjusted R Squared = -.474)

ตารางที่ ซ-22 ค่าเฉลี่ยของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในระยะเวลาเติบโตที่ต่างกันของสาหร่าย *Chlorella* sp. (1 คือ ระยะเวลาเติบโตคงที่ และ 2 คือ ระยะเวลาเติบโตวิถุณ)

Dependent Variable: C2H5O6

Growth	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	30.160	.491	28.048	32.272
2	30.030	.491	27.918	32.142



## ภาคผนวก ฅ

### การคำนวณค่าพารามิเตอร์ในสมการจลนศาสตร์การเติบโตของสาหร่าย

#### ตัวอย่างการประมาณค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ ( $\mu$ )

การประมาณค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ ( $\mu$ ) ที่ภาวะการได้รับความเข้มแสง 60  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel มีขั้นตอนคือ เริ่มจากการใส่ข้อมูลของระยะเวลาในการเลี้ยง ( $t$ ) และความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย ( $X$ ) ที่ระยะเวลาต่างๆ ในคอลัมน์ A และ B ตามลำดับ (ดังแสดงในรูปที่ ฅ-1) จากนั้นให้กำหนดค่าอัตราการเติบโตจำเพาะขึ้นมาค่าหนึ่งเพื่อใช้ในการประมาณค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย ฅ เวลาต่าง ๆ (ดังแสดงในรูปที่ ฅ-2) โดยใช้สมการที่ 1

$$X = X_0 e^{\mu t} \quad (1)$$

จากนั้นให้คำนวณหาค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองระหว่างค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการทดลองจริงกับค่าที่ได้จากการคำนวณ และคำนวณหาค่ากำลังสองของสัมประสิทธิ์สหพันธ์ ( $R^2$ ) (ดังแสดงในรูปที่ ฅ-3) เมื่อกำหนดค่าครบแล้วให้ไปเลือกคำสั่งเครื่องมือและค้นหาค่าเป้าหมาย กำหนดให้ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเข้าใกล้ศูนย์โดยการเปลี่ยนค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่ได้กำหนดขึ้น (ดังแสดงในรูปที่ ฅ-4) ในกรณีที่ไม่สามารถค้นหาค่าเป้าหมายได้ให้ทำการเปลี่ยนค่าอัตราการเติบโตจำเพาะจนกว่าค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองจะมีค่าน้อยที่สุด โดยค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่เดาขึ้นในตอนเริ่มต้นจะมีผลต่อการคำนวณค่อนข้างมาก ซึ่งในการพิจารณาความถูกต้องของค่าผลลัพธ์ที่ได้ให้สังเกตจากการเปรียบเทียบค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการทดลองจริงกับค่าที่ได้จากการประมาณ กรณีที่ผลลัพธ์ที่ได้ยังไม่ถูกต้องให้เดาค่าอัตราการเติบโตจำเพาะใหม่อีกครั้ง

ผลการคำนวณค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่ระดับความเข้มแสง 60 240 และ 540  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  แสดงดังรูปที่ ฅ-5 ถึง ฅ-7

วันที่	ความหนาแน่นเซลล์จากการทดลอง (cells/ml)	ความหนาแน่นเซลล์จากการคำนวณ (cells/ml)	ค่าความคลาดเคลื่อน กำลังสอง
0	299223.3333		
1	1652161.667		
2	4040833.333		
3	6374333.333		
4	11655325		
ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิกรัม)			299223.3333
ค่าอัตราการเติบโตเฉพาะ (ต่อวัน)			
ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองสูงสุด			
$R^2$			

รูปที่ ฅ-1 ระยะเวลาในการเลี้ยง ( $t$ ) และความหนาแน่นของเซลล์สำหรับ ( $X$ )

วันที่	ความหนาแน่นเซลล์จากการทดลอง (cells/ml)	ความหนาแน่นเซลล์จากการคำนวณ (cells/ml)	ค่าความคลาดเคลื่อน กำลังสอง
0	299223.3333	299223.3333	
1	1652161.667	898916.5716	
2	4040833.333	2700494.6227	
3	6374333.333	8112734.1933	
4	11655325	24372000.4248	
ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิกรัม)			299223.3333
ค่าอัตราการเติบโตเฉพาะ (ต่อวัน)			1.1000
ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองสูงสุด			
$R^2$			

รูปที่ ฅ-2 ความหนาแน่นของเซลล์สำหรับที่ได้จากการคำนวณโดยใช้ค่าอัตราการเติบโตเฉพาะที่กำหนดขึ้น

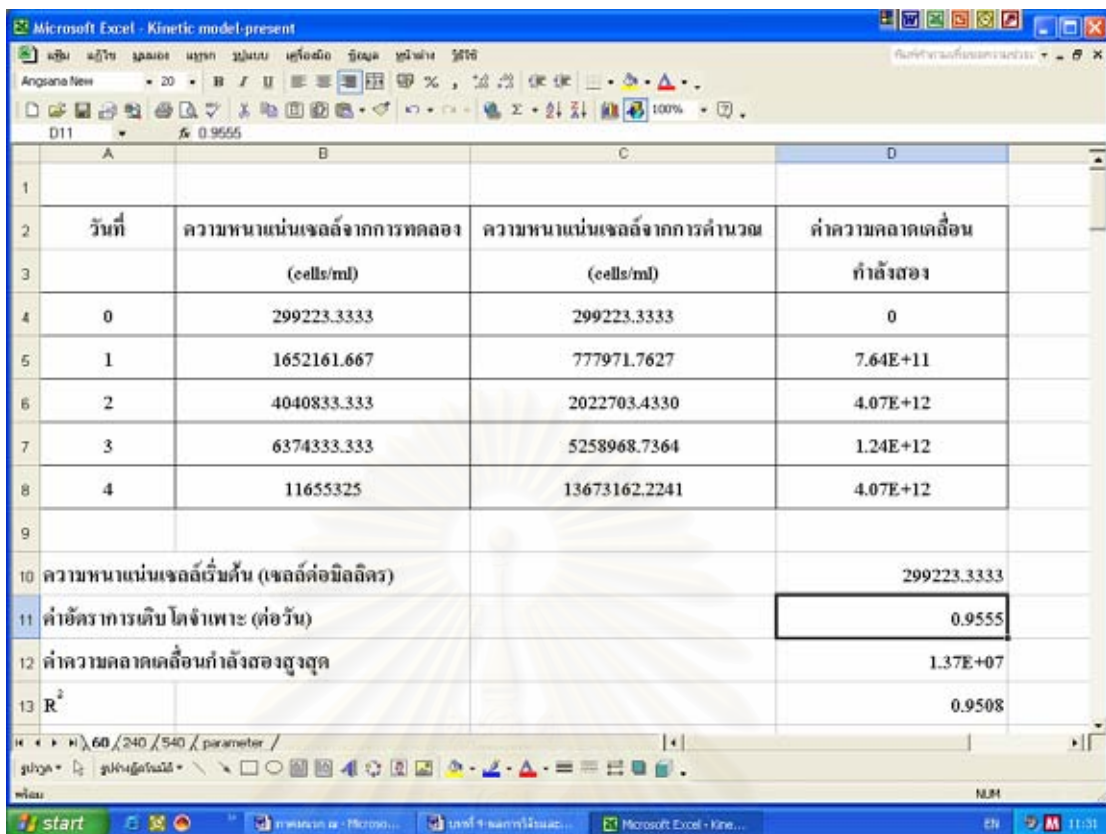
วันที่	ความหนาแน่นเซลล์จากการทดลอง (cells/ml)	ความหนาแน่นเซลล์จากการคำนวณ (cells/ml)	ค่าความคลาดเคลื่อน กำลังสอง
0	299223.3333	299223.3333	0
1	1652161.667	898916.5716	5.67E+11
2	4040833.333	2700494.6227	1.80E+12
3	6374333.333	8112734.1933	3.02E+12
4	11655325	24372000.4248	1.62E+14
ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิกรัม)			299223.3333
ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)			1.1000
ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองสูงสุด			1.62E+14
$R^2$			0.9302

รูปที่ ๓-3 คำนวณหาค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองและค่ากำลังสองของสัมประสิทธิ์สหพันธ์ ( $R^2$ )

วันที่	ความหนาแน่นเซลล์จากการทดลอง (cells/ml)	ความหนาแน่นเซลล์จากการคำนวณ (cells/ml)	ค่าความคลาดเคลื่อน กำลังสอง
0	299223.3333	299223.3333	0
1	1652161.667	898916.5716	5.67E+11
2	4040833.333	2700494.6227	1.80E+12
3	6374333.333	8112734.1933	3.02E+12
4	11655325	24372000.4248	1.62E+14
ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิกรัม)			299223.3333
ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)			1.1000
ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองสูงสุด			1.62E+14
$R^2$			0.9302

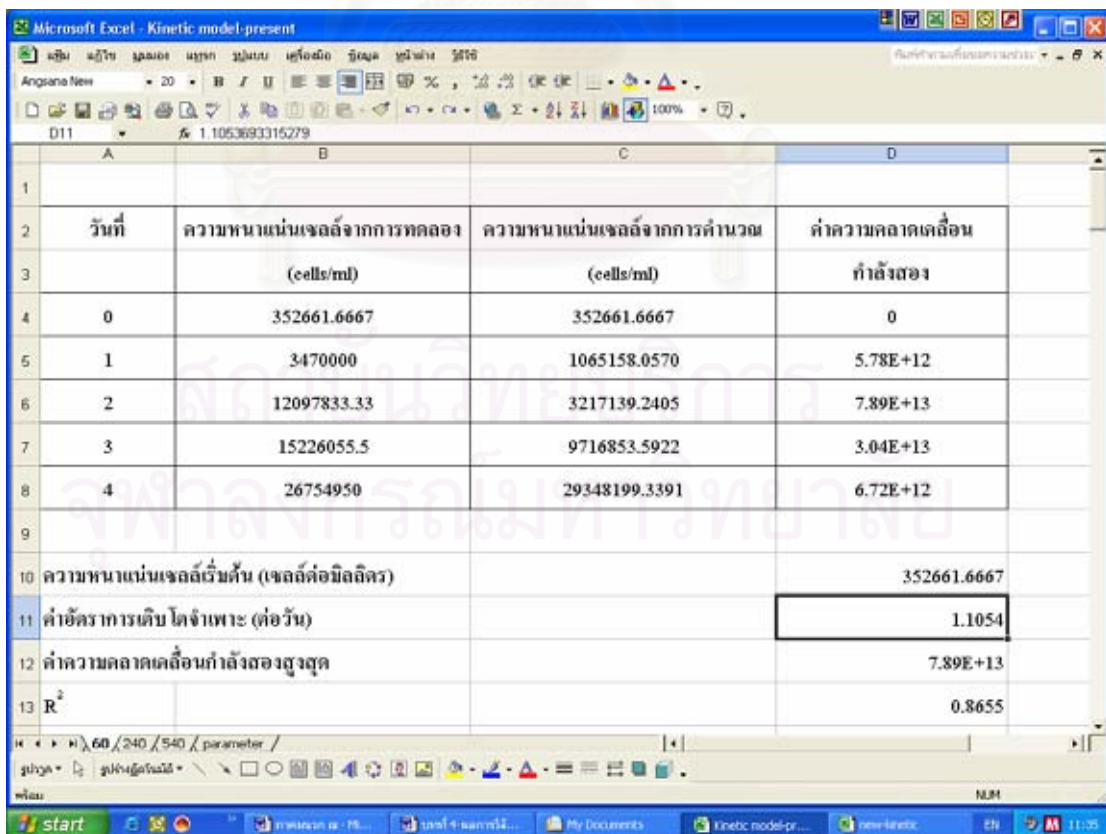
รูปที่ ๓-4 ค้นหาค่าเป้าหมายโดยการกำหนดให้ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเข้าใกล้ศูนย์โดยการเปลี่ยนค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่ได้กำหนดคั้ง





วันที่	ความหนาแน่นเซลล์จากการทดลอง (cells/ml)	ความหนาแน่นเซลล์จากการคำนวณ (cells/ml)	ค่าความคลาดเคลื่อน กำลังสอง
0	299223.3333	299223.3333	0
1	1652161.667	777971.7627	7.64E+11
2	4040833.333	2022703.4330	4.07E+12
3	6374333.333	5258968.7364	1.24E+12
4	11655325	13673162.2241	4.07E+12
ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิตร)			299223.3333
ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)			0.9555
ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองสูงสุด			1.37E+07
R <sup>2</sup>			0.9508

รูปที่ ๕-5 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่คำนวณได้ที่ระดับความเข้มแสง  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$



วันที่	ความหนาแน่นเซลล์จากการทดลอง (cells/ml)	ความหนาแน่นเซลล์จากการคำนวณ (cells/ml)	ค่าความคลาดเคลื่อน กำลังสอง
0	352661.6667	352661.6667	0
1	3470000	1065158.0570	5.78E+12
2	12097833.33	3217139.2405	7.89E+13
3	15226055.5	9716853.5922	3.04E+13
4	26754950	29348199.3391	6.72E+12
ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิตร)			352661.6667
ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)			1.1054
ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองสูงสุด			7.89E+13
R <sup>2</sup>			0.8655

รูปที่ ๕-6 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่คำนวณได้ที่ระดับความเข้มแสง  $240 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

วันที	ความหนาแน่นเซลล์จากการทดลอง (cells/ml)	ความหนาแน่นเซลล์จากการคำนวณ (cells/ml)	ค่าความคลาดเคลื่อน กำลังสอง
0	316666.6667	316666.6667	0
1	3215716.667	987300.3379	4.97E+12
2	11283833.33	3078195.6545	6.73E+13
3	14889000	9597169.2941	2.80E+13
4	17735333.33	29921963.6435	1.49E+14
ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิตร)			316666.6667
ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)			1.14
ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองสูงสุด			1.49E+14
R <sup>2</sup>			0.6348

รูปที่ ๗-7 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่คำนวณได้ที่ระดับความเข้มแสง 540  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่ภาวะความเข้มแสง 60 240 และ 540  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  มีค่าเท่ากับ 0.95 1.11 และ 1.14 ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งสามารถนำมาคำนวณหาค่าพารามิเตอร์  $\mu_{\text{max}}$  และ  $K_I$  ได้ โดยจัดรูปสมการจลนศาสตร์การเติบโตในสมการที่ 2 ให้อยู่ในรูปสมการเส้นตรงดังแสดงในสมการที่ 3

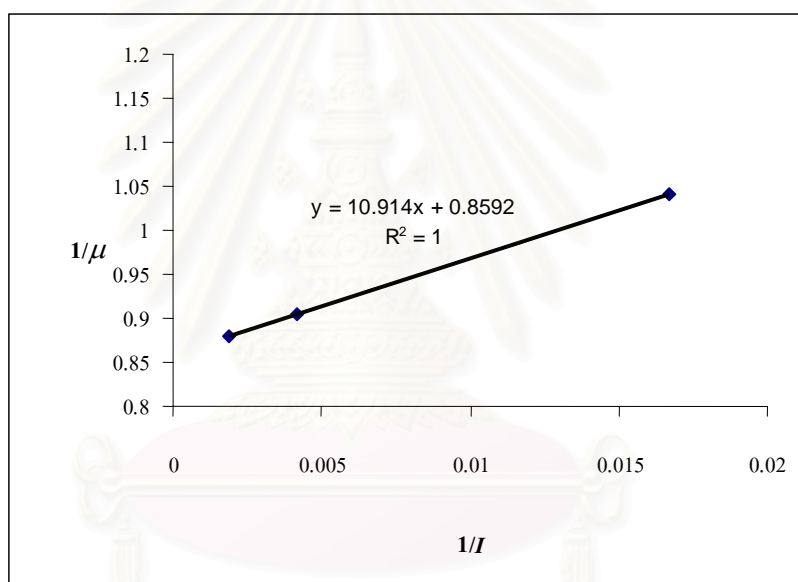
$$\mu = \frac{\mu_{\text{max}} I}{K_I + I} \tag{2}$$

$$1 / \mu = \left[ K_I / \mu_{\text{max}} \right] [1/I] + 1 / \mu_{\text{max}} \tag{3}$$

ดังนั้นเมื่อทำการพลอตกราฟระหว่าง  $1/I$  และ  $1/\mu$  จะได้สมการสำหรับประมาณค่า  $\mu_{\text{max}}$  และ  $K_I$  ได้ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ ๗-1 และ รูปที่ ๗-8

ตารางที่ ฅ-1 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่คำนวณได้ที่ความเข้มแสงต่าง ๆ และค่าส่วนกลับของค่าอัตราการเติบโตจำเพาะและความเข้มแสง ( $I$  คือ ความเข้มแสง และ  $\mu_{\max}$  คืออัตราการเติบโตจำเพาะ)

$I$	60	240	540
$\mu$	0.96	1.11	1.14
$1/I$	0.0167	0.0042	0.0018
$1/\mu$	1.0411	0.9047	0.8794



รูปที่ ฅ-8 ความสัมพันธ์ระหว่าง  $1/I$  และ  $1/\mu$

สมการจากการพลอตกราฟ :  $y = 10.914X + 0.8592$

สมการจลนศาสตร์ในรูปเชิงเส้น:  $1/\mu = (K_I / \mu_{\max}) * (1/I) + (1/\mu_{\max})$

จุดตัดแกน X:  $0.8592 = 1/\mu_{\max}$

ดังนั้น  $\mu_{\max} = 1.16$

ความชันของกราฟ :  $(K_I / \mu_{\max}) = 10.914$

ดังนั้น  $K_I = 12.7$



## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร เกิดเมื่อวันที่ 25 สิงหาคม พ.ศ. 2522 ที่จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ในปีการศึกษา 2543 และเข้าศึกษาต่อหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2545



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย