

บทที่ 1

บทนำ



สาหร่ายคูนาลิเอลลา *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco เป็นสาหร่ายสีเขียว เซลล์เดี่ยว มีการพบครั้งแรกประมาณ 90 ปีมาแล้วโดย Teodoresco (1905) สาหร่ายชนิดนี้มีการแพร่กระจายกว้างมากพบได้ในแหล่งน้ำทั่วโลก โดยเฉพาะแหล่งน้ำที่มีความเค็มสูงมาก เช่น Dead sea ประเทศอิสราเอล (Borowitzka and Borowitzka, 1988a) Great salt lake ในประเทศสหรัฐอเมริกา หรือทะเลสาบน้ำเค็มบริเวณฝั่งตะวันตกของประเทศออสเตรเลีย เป็นต้น สาหร่ายชนิดนี้มีความสามารถในการสะสมเบตาแคโรทีนซึ่งเป็นรงควัตถุที่สำคัญ โดยเซลล์ของสาหร่ายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีส้มเนื่องจากการสะสมเบตาแคโรทีนเมื่อเซลล์อยู่ในสภาวะแวดล้อมจำกัด เช่น ความเข้มของแสงสูง ความเค็มสูง ปริมาณอาหารน้อย เป็นต้น

เบตาแคโรทีนพบได้ทั่วไปในพืชเนื่องจากเป็นรงควัตถุในกระบวนการสังเคราะห์แสงสำหรับในสัตว์นั้น เบตาแคโรทีนทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของวิตามิน เอ อีกทั้งยังเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีความเชื่อว่าจะสามารถต่อต้านโรคมะเร็ง เบตาแคโรทีนที่มีการผลิตในปัจจุบันแบ่งได้เป็นสองกลุ่ม คือ เบตาแคโรทีนจากการสังเคราะห์ และเบตาแคโรทีนจากธรรมชาติ การสังเคราะห์ทางเคมีจะมีกระบวนการโดยการเตรียม Beta-ionone จาก Citral หรือ Acetone และนำมาผ่านกระบวนการจนได้สารเบตาแคโรทีน การสังเคราะห์เบตาแคโรทีนมีการดำเนินการในระดับอุตสาหกรรมมาเป็นระยะเวลานานแล้ว อย่างไรก็ตาม เบตาแคโรทีนจากธรรมชาติกำลังได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น และผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมากกว่า

ตลาดของเบตาแคโรทีนในปัจจุบันจะเป็นเบตาแคโรทีนที่ได้จากการสังเคราะห์ 90% ที่เหลือจะเป็นผลผลิตจากธรรมชาติ มูลค่าของตลาดเบตาแคโรทีนสังเคราะห์อยู่ระหว่าง 75-100 ล้านดอลลาร์สหรัฐต่อปี โดยเป็นตลาดของสหรัฐอเมริกาประมาณหนึ่งในสามถึงครึ่งหนึ่ง คิดเป็นมูลค่าระหว่าง 33-50 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ราคาของเบตาแคโรทีนที่ได้จากการสังเคราะห์อยู่ระหว่าง 400-1,000 เหรียญสหรัฐต่อกิโลกรัม ในขณะที่เบตาแคโรทีนจากธรรมชาติจะมีราคาสูงกว่า คือระหว่าง 1,500-2,000 เหรียญสหรัฐต่อกิโลกรัม (Cintron, 1993) ตลาดส่วนใหญ่จะเป็นสหรัฐ

อเมริกา และญี่ปุ่น มูลค่าของตลาดของผลิตภัณฑ์เบตาแคโรทีนโดยรวมในปี 1992 เพิ่มขึ้น 37.5% จากปี 1991 โดยมีมูลค่ารวมถึง 550 ล้านดอลลาร์ (Gannon, 1993) ในปัจจุบันตลาดของเบตาแคโรทีนจากธรรมชาติมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จากที่มีส่วนแบ่งการตลาด 10% ของเบตาแคโรทีนทั้งหมด ความต้องการส่วนแบ่งการตลาดจะเพิ่มขึ้นเป็น 25% ในปี 1995 แม้ว่าเบตาแคโรทีนจากธรรมชาติจะมีราคาแพงกว่า ทั้งนี้เนื่องจากผู้บริโภคยินดีที่จะจ่ายเงินมากขึ้นกับผลผลิตจากธรรมชาติ ซึ่งมีความมั่นใจว่าปลอดภัยมากกว่าจากสารเคมีสังเคราะห์

ในปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคูลานีเอลลาเพื่อผลิตเบตาแคโรทีนในระดับอุตสาหกรรมในหลายประเทศ เช่น อิสราเอล ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา จีน และซีลี เป็นต้น ผลผลิตหลักของสาหร่ายคูลานีเอลลาจะอยู่ในสองรูปแบบ ได้แก่ สาหร่ายแห้งสำหรับใช้เป็นอาหารเสริมและเป็นส่วนผสมในอาหาร และในรูปสารสกัดเบตาแคโรทีนสำหรับใช้ในอุตสาหกรรม ในประเทศดังกล่าวมีลักษณะภูมิประเทศและสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น ประเทศอิสราเอลใช้ระบบการเลี้ยงแบบเข้ม (Intensive) ซึ่งมีระบบการผลิตที่ซับซ้อน ทำให้การผลิตสาหร่ายมีต้นทุนการผลิตสูง เนื่องจากบริษัทที่ทำธุรกิจมีความจำกัดเรื่องที่ดินและแหล่งน้ำเค็ม ในขณะที่ประเทศออสเตรเลียใช้ระบบการเลี้ยงในพื้นที่กว้าง (Extensive) เนื่องจากมีพื้นที่มาก แม้ว่าระบบนี้จะให้ผลผลิตที่ต่ำกว่า แต่ก็ทำให้ใช้การลงทุนต่ำลงเช่นกัน ผลผลิตมูลค่าสูงของสาหร่ายคูลานีเอลลาในปัจจุบันมีวางจำหน่ายในหลายประเทศ

สำหรับในประเทศไทยได้มีการสำรวจพบสาหร่ายคูลานีเอลลาในบริเวณพื้นที่ทำนาเกลือ บริเวณชายฝั่งทะเล และพื้นที่ดินเค็มภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (Powtongsook, 1993) แล้วนำตัวเซลล์สาหร่ายชนิดนี้ที่พบในประเทศไทยมาทำการทดลองในหลายสภาวะเพื่อหาจุดที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงในประเทศ เนื่องจากประเทศไทยมีปัจจัยหลายอย่างที่เอื้ออำนวยต่อการผลิตสาหร่ายคูลานีเอลลา โดยประเทศไทยมีพื้นที่ดินเค็มในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวนมากกว่า 17.8 ล้านไร่ (สมศรี อรุณินท์, 2536) เป็นพื้นที่ที่ไม่สามารถทำประโยชน์ได้ในทางเกษตรกรรม นอกจากการทำนาเกลือ ซึ่งมีราคาก่อนขังต่ำ รวมทั้งพื้นที่บริเวณชายฝั่งทะเล โดยเฉพาะที่เคยเป็นบ่อเลี้ยงกุ้งและปัจจุบันไม่ได้เลี้ยงกุ้งแล้ว เนื่องจากกุ้งตายจากปัญหาสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมจนทำให้เกษตรกรต้องเลิกเลี้ยงกุ้งไปเกือบทั้งหมด ทำให้ในปัจจุบันเกษตรกรมาปรับพื้นที่บางส่วนกลับมาเป็นนาเกลือ แต่ยังมีนาเกลืออีกมากมายที่ยังถูกปล่อยให้รกร้างว่างเปล่า

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคูนาลิเอลลาในพื้นที่ดังได้กล่าวน่าจะเป็นวิธีหนึ่งที่อาจประยุกต์ใช้ในพื้นที่การเลี้ยงกุ้งไม่ได้ผลดังกล่าว นอกจากนี้ยังเป็นหนทางในการนำพื้นที่ที่ไม่สามารถใช้ประโยชน์ทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้เป็นประโยชน์และคุ้มค่ามากกว่า

วัตถุประสงค์การทดลอง

1. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมเพื่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคูนาลิเอลลาในน้ำเกลือสินเธาว์
2. เพื่อประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์สำหรับการพัฒนาไปสู่การเพาะเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคูนาลิเอลลาจะให้ผลผลิตที่มีมูลค่าสูง
2. ข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลที่สำคัญเพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคูนาลิเอลลาในระดับอุตสาหกรรม
3. เป็นหนทางในการให้เกษตรกรนำพื้นที่ที่ไม่สามารถใช้ประโยชน์ทางการเกษตรมาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายคูนาลิเอลลา โดยเฉพาะพื้นที่ดินเค็มหรือพื้นที่ทำนาเกลือในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
4. เป็นการส่งเสริมอาชีพเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกร

การสำรวจเอกสาร

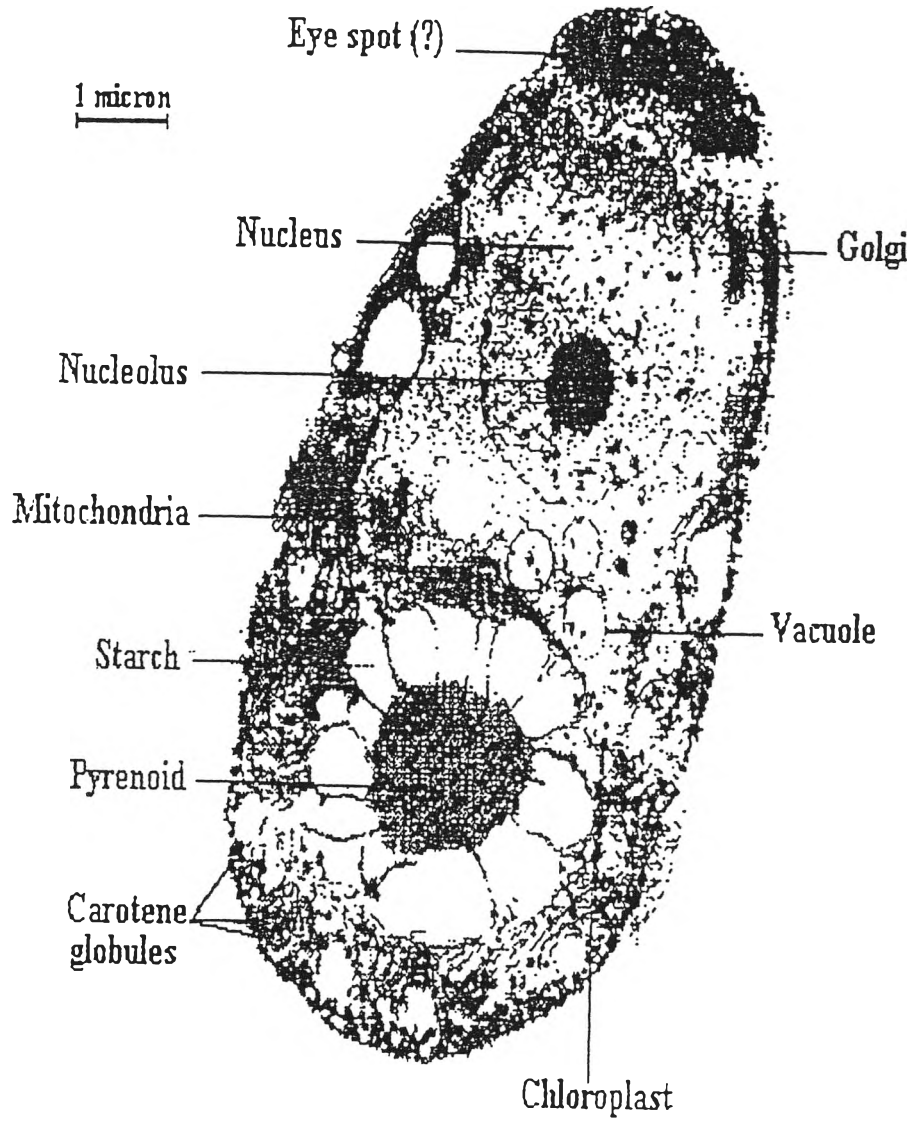
สาหร่ายคูนาลีเอลลา

อนุกรมวิธาน และลักษณะทั่วไป

Division	Chlorophyta
Class	Chlorophyceae
Order	Volvocales
Family	Polyblepharidaceae
Genus	Dunaliella
	<i>Dunaliella salina</i> (Dunal) Teodoresco

สาหร่ายคูนาลีเอลลา เป็นสาหร่ายสีเขียว เซลล์เดี่ยว มีแฟลกเจลลา 2 เส้น ขนาดเซลล์ด้านยาวประมาณ 8-25 ไมครอน ด้านกว้างประมาณ 5-15 ไมครอน รูปร่างมีการเปลี่ยนแปลงได้ อาจเป็นรูปไข่ รูปทรงกลม รูปทรงกระบอก หรือรูปกระสวย เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงรูปร่างขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม เช่น ความเข้มข้นแสง (Riisgard, 1981) หรือลักษณะเฉพาะแต่ละสายพันธุ์ สาหร่ายคูนาลีเอลลามีรูปร่างลักษณะภายนอกคล้าย *Chlamydomonas* ต้องใช้ Electron micrographs ตรวจสอบว่า สาหร่ายคูนาลีเอลลาไม่มีผนังเซลล์ แต่มี Glycocalyx-type ห่อหุ้มเซลล์ไว้ (Oliviera, Bisalpultra and Antia, 1980; Klut, Bisalpultra and Antia, 1983) และตำแหน่งของ Golgi bodies และ Mitochondrial profiles ของคูนาลีเอลลาก็แตกต่างจาก *Chlamydomonas* (Peterfi and Manton, 1968) คูนาลีเอลลา Chloroplast เป็นรูปถ้วย มี Pyrenoid ขนาดใหญ่ และ Nucleus มี 1 อัน (ภาพที่ 1)

สาหร่ายคูนาลีเอลลา ได้มีการนำเสนอครั้งแรกโดย Teodoresco (1905) แต่ M.F. Dunal (1837) ทำให้ *D. salina* เป็นที่รู้จักกันดีในการให้สารสีแดง เมื่ออยู่ในความเค็มสูง (Borowitzka and Borowitzka, 1988a) ปรากฏว่า *D. salina* เกิดการสะสมสารสีแดง คือ เบตาแคโรทีน ปริมาณมากเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมจำกัด (Massyuk, 1973)



ภาพที่ 1 แสดงส่วนประกอบภายในเซลล์ของ *Dunaliella bardawil* (Ben-Amotz and Avron, 1990)

การสืบพันธุ์

การสืบพันธุ์มีทั้งอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ แบบไม่อาศัยเพศ (Vegetative reproduction) โดยการแบ่งตัวตามยาว ในระยะ Motile state (Hamburger, 1908; Labbe, 1923; Lerche, 1937; Bold and Wynne, 1978) จะเกิดเมื่อเซลล์อยู่ในสภาพขาดอาหาร (ปริมาณอาหารน้อย) อย่างรุนแรง หรือสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้ง โดยเซลล์จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ Cysts (Aplanospores) หรือ Palmellae (Margulis, Barghoorn, Ashendorf, Banerjee, Chase, Francis, Giovanonni and Stolz, 1980) ตัวลูกจะได้ แพลกเจลลาจากตัวแม่ไปตัวละ 1 เซลล์ (Smith, 1933) แบบอาศัยเพศ (Sexual reproduction) โดย Isogamy ผสมกัน (Conjugation) ได้ Zygote และพัฒนาจนถึงระยะ Resting state หลังจากนั้นนิวเคลียสของ Zygote จะพัฒนาถึง 32 เซลล์ แล้วจะได้รับการปลดปล่อยออกจากเซลล์แม่ (Lerche, 1937; Borowitzka, Post and Borowitzka, 1982)

การแพร่กระจาย

สาหร่ายดุนาเลียเอลลาพบได้อย่างกว้างขวางเกือบทั่วโลก พบ 29 สายพันธุ์ (Massyuk, 1973) มีทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย น้ำเค็ม และในดินเค็ม ในน้ำจืด เช่น *D. flagellata* *D. chordata* *D. lateralis* *D. paupera* น้ำกร่อย ตัวอย่างเช่น *D. tertiolecta* *D. bioculata* *D. primolecta* อาศัยในน้ำเค็ม เช่น *D. salina* *D. minuta* *D. parva* *D. viridis* และดำรงชีวิตในดินเค็ม เช่น *D. terricola* (Borowitzka and Borowitzka, 1988a)

ดุนาเลียเอลลาสามารถดำรงชีวิตได้ในช่วงความเค็มที่กว้างมาก โดยเฉพาะ *D. salina* สามารถอยู่ในความเค็มได้ตั้งแต่ 0.2%-35% NaCl (Ben-Amotz and Avron, 1981) เมื่ออยู่ในสภาพปกติความเค็มที่ไม่สูงมาก จะเห็นไม่เด่นชัดคล้ายสาหร่ายอื่นๆทั่วไป แต่พอความเค็มสูงถึงสูงมาก เช่นที่ ทะเลสาบน้ำเค็ม หรือแหล่งน้ำที่ความเค็มสูงๆ สาหร่ายชนิดนี้จะเป็นสาหร่ายที่โดดเด่น (Predominate) ดังที่ได้สำรวจพบที่ Dead Sea ประเทศอิสราเอล Pink Lake ในบริเวณชายฝั่งตะวันตกของประเทศออสเตรเลีย และ Great Salt Lake ประเทศสหรัฐอเมริกา (Ben-Amotz and Avron, 1990) แหล่งน้ำเค็มจะกลายเป็นสีแดง (Borowitzka, 1981)

สาหร่ายดุนาเลียเอลลาสามารถเจริญเติบโตในแหล่งที่มีความเค็มของเกลือสูงๆได้ โดยการสะสมกลีเซอรอลเพื่อปรับความดันออสโมติกภายนอกและภายในเซลล์ ซึ่งสะสมได้สูงถึง 50% ของน้ำหนักแห้ง (Ben-Amotz and Avron, 1990) ในประเทศอิสราเอลมีการเลี้ยงสาหร่ายนี้ในระดับโรงงานค้นแบบ เพื่อผลิตกลีเซอรอลและเบตาแคโรทีน

นอกจากสามารถทนต่อความเค็มได้ในช่วงกว้างแล้ว ยังสามารถทนต่อ pH และ อุณหภูมิได้ในช่วงกว้างเช่นเดียวกัน สาหร่ายคูนาลิเอลลาสายพันธุ์ *D. acidophila* พบในแหล่งน้ำที่มี pH 1 และ *D. salina* พบในแหล่งน้ำที่มี pH 11 (Borowitzka and Borowitzka, 1988a) แต่ pH 9 เหมาะสมในการสะสมเบตาแคโรทีนของ *D. bardawil* (= *salina*) (Anon, 1983)

อุณหภูมิที่สาหร่ายคูนาลิเอลลา (*D. salina*) สามารถทนอยู่ได้ตั้งแต่ -35°C (Teodoresco, 1906; Massyuk, 1966) ถึงประมาณ 40°C (Wegmann, Ben-Amotz and Avron, 1980) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 20°C ถึง 40°C (Gibor, 1956; Yurina, 1966; Borowitzka, 1981) *D. salina* สามารถทนอยู่ในสภาพที่มีความเข้มข้นแสงสูงได้ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดการสะสมเบตาแคโรทีน (Ben-Amotz, Lers and Avron, 1988; Ben-Amotz, Shaish and Avron, 1989; Borowitzka and Borowitzka, 1988a)

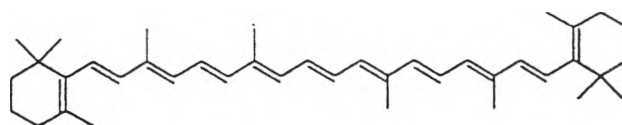
การสะสมเบตาแคโรทีน

แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นรงควัตถุพบได้กว้างขวางในพืชและสัตว์ สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มได้แก่ แคโรทีน (Carotene) ซึ่งเป็น Polyenes ที่ประกอบด้วยโมเลกุลของไฮโดรคาร์บอน ตัวอย่างของแคโรทีนได้แก่ แอลฟา และเบตาแคโรทีน เป็นต้น แคโรทีนอยด์อีกกลุ่มเรียกว่า แซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) เป็น Polyenes ที่มีออกซิเจนในโมเลกุล แซนโทฟิลล์ที่เป็นที่รู้จักกันดีได้แก่ Lutein และ Zeaxanthin เป็นต้น

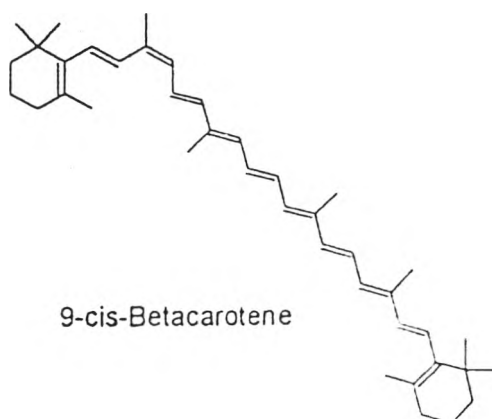
บทบาทที่สำคัญของแคโรทีนอยด์ในพืชก็คือ การป้องกันเซลล์จากการเสียหายเนื่องจากแสง (Photodynamic destruction) และเป็นรงควัตถุในการสังเคราะห์แสง รูปแบบหนึ่งของแคโรทีนที่พบได้มากและมีความสำคัญได้แก่ เบตาแคโรทีน ซึ่งเป็นแคโรทีนที่ประกอบด้วยเส้นสายคาร์บอนไม่อิ่มตัว 40 อะตอม (C-40 unsaturated hydrocarbon) เบตาแคโรทีนพบได้ทั่วไปในพืชเนื่องจากเป็นรงควัตถุในการสังเคราะห์แสง สำหรับในสัตว์นั้นเบตาแคโรทีนทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของวิตามิน เอ (Provitamin A) ตามปกติจะพบ เบตาแคโรทีนได้ใน 2 รูปแบบ (Isomers) คือ all-Trans betacarotene และ 9-Cis betacarotene (ภาพที่ 2) สัดส่วนของ all-Trans betacarotene และ 9-Cis betacarotene จะแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด

แคโรทีนอยด์มีความสำคัญทางโภชนาการ และมีคุณสมบัติในแง่ของสีธรรมชาติ โดยมีสีอยู่ในช่วงแถบสีเหลืองถึงแดง ขึ้นอยู่กับสัดส่วนของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ในสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นๆ แคโรทีนอยด์หลายชนิดมีคุณสมบัติเป็น Provitamin A ซึ่งจะถูกลดเปลี่ยนเป็นวิตามินเอในสัตว์ชั้นสูง การบริโภควิตามินเอมากเกินไปเป็นพิษต่อร่างกาย แต่การ บริโภคเบตาแคโรทีน หรือ Provitamin A จากอาหารหรืออาหารเสริมไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกาย อีกทั้งยังเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สามารถต่อต้านโรคมะเร็ง (Zarborsky, 1985; Henrikson, 1989)

จากการศึกษาทางการแพทย์พบว่า การได้รับเบตาแคโรทีนในระดับปกติหรือระดับสูงจะมีผลช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็งในมนุษย์ และจากการศึกษาในระยะยาวโดย US National Cancer Institute มีผลสนับสนุนเกี่ยวกับการใช้เบตาแคโรทีนเสริมในอาหารเพื่อลดโอกาสการเกิดโรคมะเร็งในมนุษย์ ส่วนในสัตว์นั้นได้มีการศึกษาในวัวพบว่า การเพิ่มเบตาแคโรทีนในอาหารมีความสัมพันธ์กับการเจริญพันธุ์



all trans - Betacarotene



9-cis-Betacarotene

ภาพที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้างของ all-Trans และ 9-Cis betacarotene

เบตาแคโรทีนที่ใช้ในอุตสาหกรรมเกือบทั้งหมดมาจากการสังเคราะห์ ซึ่งอยู่ในรูปแบบของ all-Trans betacarotene ในขณะที่ 9-Cis betacarotene ไม่สามารถสังเคราะห์ได้และจะพบในธรรมชาติเท่านั้น all-Trans betacarotene จะละลายได้ยากในน้ำมันและมีแนวโน้มจะตกเป็นผลึก ในขณะที่ 9-Cis betacarotene จะสามารถละลายได้ดีใน hydrophobic solvents และจะตกเป็นผลึกได้ยาก ในพืชบางชนิดเช่นแครอท มีเบตาแคโรทีนที่ประกอบด้วย all-Trans betacarotene เป็นส่วนใหญ่ ต่างไปจากในสาหร่าย *Dunaliella* ที่มีรูปแบบของ all-Trans betacarotene และ 9-Cis betacarotene อยู่รวมกันในอัตราส่วนประมาณ 1:1 (Tanticharoen, 1994)

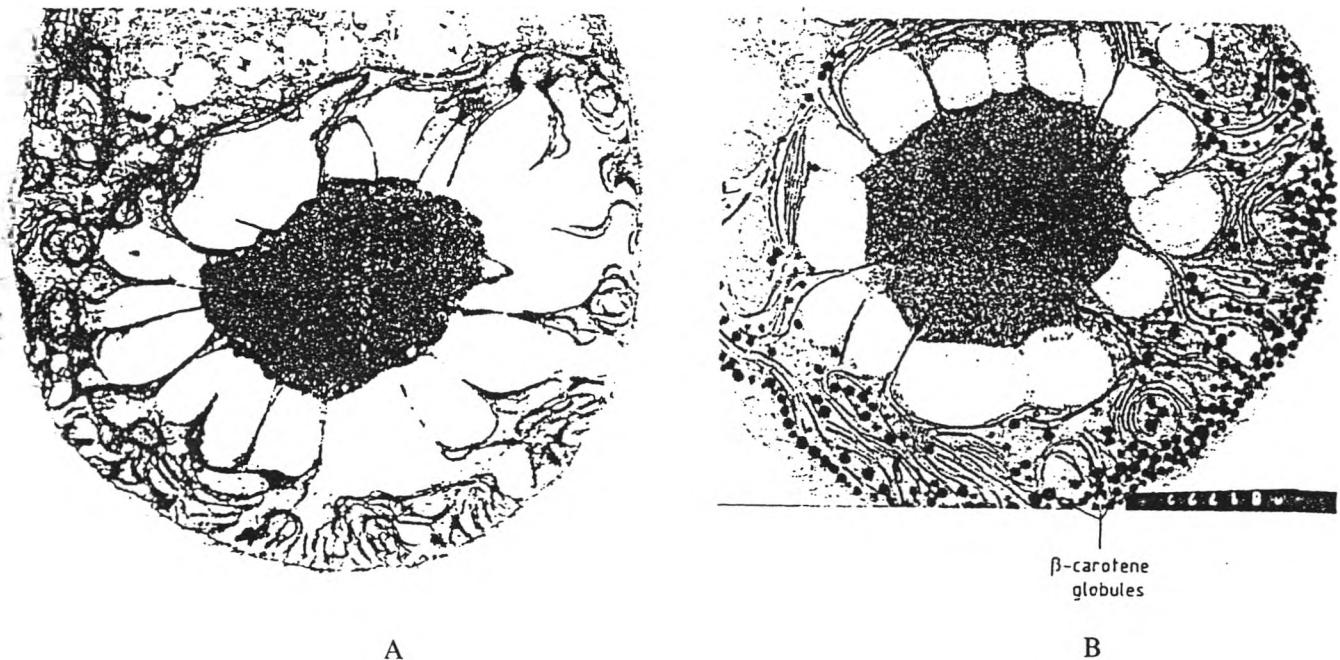
โดยทั่วไปสาหร่ายมีเบตาแคโรทีนประมาณ 0.3% ของน้ำหนักแห้ง แต่ใน *D. salina* สามารถสะสมได้มากกว่า 14% ของน้ำหนักแห้ง (Ben-Amotz, Katz and Avron, 1982; Borowitzka, Borowitzka and Moulton, 1984) ภายใน Oily globules ใน Interthylakoid ของ Chloroplast (Ben-Amotz et al., 1988) เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมบางประการ เช่น ความเข้มแสงสูง ความเค็มสูง ปริมาณอาหารน้อย หรืออุณหภูมิสูง (Ben-Amotz et al., 1982; Ben-Amotz and Avron, 1983; Ben-Amotz et al., 1989; Powtongsook, 1993) ดังแสดงในภาพที่ 3

Loeblich (1982) ได้ศึกษาระดับความเค็มต่อการสะสมเบตาแคโรทีน พบว่า *D. salina* สะสมแคโรทีนออกซ์ค่อนข้าน้อยเมื่อเลี้ยงในระดับความเค็มต่ำ (ประมาณ 5-10% NaCl) และมีการสะสมแคโรทีนออกซ์เพิ่มมากขึ้นเมื่อความเค็มสูงขึ้น อัตราส่วนระหว่างแคโรทีนออกซ์และคลอโรฟิล (Total carotenoid : chlorophyll a+b ratio) ก็จะเพิ่มขึ้นตามระดับความเค็มที่เพิ่มขึ้น

Ben-Amotz and Avron (1983) พบว่า ปริมาณไนเตรทช่วง 0-1 mM สำหรับ *D. bardawil* จะมีการสะสมเบตาแคโรทีนเพิ่มขึ้นตามลำดับ นอกจากปริมาณช่วงนี้แล้วเบตาแคโรทีนจะลดลง จะเห็นได้ว่าไนเตรทในปริมาณที่น้อยทำให้เกิดการสะสมเบตาแคโรทีน ส่วนคลอโรฟิลจะแปรผันตามปริมาณไนเตรท ปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของการสะสมเบตาแคโรทีนคือ ความเข้มแสงสูง การสะสมเบตาแคโรทีนในปริมาณสูงเพื่อป้องกันการเสียหายของเซลล์หรือการตายของสาหร่ายคูนาลีเอลลา โดยเฉพาะช่วงแสงสีน้ำเงิน (Ben-Amotz et al., 1989) การเพาะเลี้ยง *D. bardawil* ในสภาพที่ความเข้มแสงสูงและความเค็มของอาหารเลี้ยงสูง จะเกิดการสะสมเบตาแคโรทีนทั้ง 2 รูปแบบ (Isomers) ในอัตราที่สูงใกล้เคียงกัน (50% all-Trans and 40% 9-Cis) (Ben-Amotz et al., 1988)

Powtongsook (1993) พบว่าการเพาะเลี้ยง *D. salina* ที่ระดับความเค็มสูง และลดปริมาณไนเตรทจะทำให้อัตราการเจริญลดลงแต่ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น การทดลองเลี้ยง *D. salina* ในความเข้มแสงต่างๆ พบว่ามีอัตราการเจริญไม่แตกต่างกันแต่ปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มแสงสูงขึ้น และเซลล์จะเปลี่ยนเป็นสีส้ม วิเคราะห์พบว่า แคโรทีนอยด์เกือบทั้งหมด (98%) คือ เบตาแคโรทีน

กระบวนการสังเคราะห์เบตาแคโรทีนในธรรมชาติ (Biosynthetic pathway) มี 4 ขั้นตอน คือ (1) Mevalonic acid เปลี่ยนรูปไปเป็น Geranylgeranyl pyrophosphate (2) ผ่านกระบวนการ Condensation ไปอยู่ในรูป Phytoene (3) ลดการอิ่มตัวของ Phytoene ไปเป็น Lycopene และ (4) Lycopene ผ่านขบวนการต่างๆ และได้ Beta-carotene มีการศึกษากระบวนการสังเคราะห์เบตาแคโรทีนจากพืชชั้นสูง แบคทีเรีย (Goodwin, 1980; Bauernfeind, 1981) และสาหร่ายคูนาลิเอลลา (Ben-Amotz, Grassel and Avron, 1987; Shaish, Avron and Ben-Amotz, 1990)



ภาพที่ 3 แสดงการสะสมเบตาแคโรทีนของ *Dunaliella bardawil* (A) ก่อนเกิดการสะสมเบตาแคโรทีน (B) เกิดการสะสมเบตาแคโรทีน (Ben-Amotz et al., 1988)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคูนาลิเอลลา

สาหร่ายขนาดเล็กชนิดแรกที่ทำกรเพาะเลี้ยงระดับใหญ่ (Large-scale) ก็คือ *Chlorella* เพื่อผลิตโปรตีน ในปี 1950 ต่อมาก็เพาะเลี้ยง *Spirulina* เพื่อเป็นอาหารเสริมสุขภาพสำหรับมนุษย์ การเพาะเลี้ยง *Dunaliella* ในระดับอุตสาหกรรมมีหลายประเทศ เช่น อิสราเอล ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา เป็นต้น การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคูนาลิเอลลาเพื่อการค้า ประเทศออสเตรเลียเลี้ยงในพื้นที่กว้าง (Extensive culture) ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ต่ำแต่การลงทุนก็น้อย ประเทศสหรัฐอเมริกามีการเพาะเลี้ยงแบบควบคุม (Intensive culture) ลงทุนสูงแต่ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ก็สูงเช่นกัน (Liangchen, 1990)

ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดใหญ่เพื่อการค้า โดยทั่วไปมี 2 แบบ คือ ระบบการเพาะเลี้ยงแบบเข้ม (Intensive culture) และ ระบบการเพาะเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง (Extensive culture) การเพาะเลี้ยงแบบเข้ม ทำกรสร้างบ่อด้วยอิฐ คอนกรีต หรือบ่อด้วยพลาสติก เป็นบ่อแบบ raceway รูปวงรี ทำให้เกิดการไหลเวียนของน้ำด้วยใบพัด (Paddle wheel) บ่อขนาด 1,000-4,000 ตารางเมตร ควบคุมปัจจัยการเลี้ยงทุกอย่าง ได้ผลผลิตสาหร่ายแห้ง 10 กรัม หรือ เบตาแคโรทีน 300 มิลลิกรัม/ตารางเมตร/วัน ระบบการเพาะเลี้ยงแบบพื้นที่กว้าง เป็นระบบที่ควบคุมโดยธรรมชาติ ไม่มีใบพัดช่วยหมุนเวียนน้ำ ต้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายในความเค็มสูง เพื่อหลีกเลี่ยงสิ่งมีชีวิตอื่นที่จะกินสาหร่าย (Predators) ทำให้อัตราการเจริญลดลง ได้ผลผลิตสาหร่ายแห้งต่ำกว่า 100 มิลลิกรัม หรือ เบตาแคโรทีน 10 มิลลิกรัม/ตารางเมตร/วัน (Ben-Amotz and Avron, 1990)

Powtongsook (1993) ทดลองเพาะเลี้ยง *D. salina* ในบ่อเลี้ยงสาหร่ายกลางแจ้งขนาด 9.1 ตารางเมตร ความลึก 20 เซนติเมตร มีใบพัดหมุนเวียนน้ำในบ่อให้มีสภาวะแวดล้อมสม่ำเสมอ กัน ได้ค่าอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายเท่ากับ 0.15 ต่อวัน หรือใช้เวลา 4.62 วัน ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า ได้ผลผลิตสาหร่ายสูงสุด 12.04 กรัม/ตารางเมตร ในวันที่ 22 ของการเพาะเลี้ยง

Cordero, Enrico and Erazo (1990) ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายคูนาลิเอลลาแบบเข้ม โดยใช้อุปกรณ์เพื่อทำให้น้ำหมุนเวียน 2 อย่าง คือ Drag-board และ Paddle wheel บ่อทดลองขนาด 100 ตารางเมตร พบว่า Drag-board ได้เบตาแคโรทีนมากกว่า (1.16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร/วัน) การใช้ Paddle wheel (1.03 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร/วัน) และสิ้นเปลืองพลังงานน้อยกว่า

Ben-Amotz (1995) ทดลองเลี้ยงสาหร่ายดุนาเลียเอลลาแบบ 2 ขั้นตอน (Two-phase) เพื่อผลิตเบตาแคโรทีน 1) เพาะเลี้ยงในที่มีอาหารมากเพียงพอสำหรับการเจริญอย่างเต็มที่ เซลล์สาหร่ายจะสีเขียวขนาดเล็ก อัตราส่วนเบตาแคโรทีนต่อคลอโรฟิลล์ต่ำ (5.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) 2) ลดปริมาณอาหารในเตรท ประมาณ 4 เท่า เพื่อให้เกิดการสะสมเบตาแคโรทีน พบว่า ผลผลิตเบตาแคโรทีนจาก 450 มิลลิกรัม/ตารางเมตร/วัน ในขั้น 1 เป็น 300 มิลลิกรัม/ตารางเมตร/วันของขั้น 2 อัตราส่วนเบตาแคโรทีนต่อคลอโรฟิลล์มากขึ้น(10.0มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เซลล์สาหร่ายสีส้มขนาดโต การเลี้ยงสาหร่ายดุนาเลียเอลลาโดยปกติจะได้ ผลผลิตเบตาแคโรทีนประมาณ 200 มิลลิกรัม/ตารางเมตร/วัน

เกลือสินเธาว์

องค์ประกอบของเกลือในดินเค็มเกิดจากการรวมตัวของธาตุ ที่มีประจุบวกพวกโซเดียม แมกนีเซียม ร่วมกับธาตุที่มีประจุลบ เช่น คลอไรด์ ซัลเฟต ไบคาร์บอเนต และไนเตรท ดินเค็มที่เกิดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อยู่ในรูปของ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) กลายคลึงกับดินเค็มชายทะเล ยกเว้นแต่ดินเค็มชายทะเลมีแมกนีเซียม อยู่ในรูปคลอไรด์ และซัลเฟต มากกว่าดินเค็มในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อรุณี ยูวะนิยม, 2536)

แหล่งกำเนิดเกลือ

ดินเค็มในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีแหล่งกำเนิดมาจากสาเหตุใหญ่ ๆ ดังนี้

1. ชั้นหินเกลือในหน่วยหินมหาสารคาม พบบริเวณตอนกลางของแอ่งสกลนคร และแอ่งโคราช ชั้นหินเกลือนี้อยู่ลึกห่างจากผิวดินมากเกลือไม่สามารถซึมผ่านขึ้นมาบนผิวดินได้ โดยแรงดึงดูดของน้ำ แต่ส่วนใหญ่จะขึ้นมาปรากฏด้วยวิธีการทำเหมืองแร่
2. การผุพังสลายตัวของวัตถุกำเนิดดินที่เป็นหินทรายและหินดินดาน ที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบอยู่ไม่ห่างจากผิวดินมากนักในฤดูฝนจะถูกละลายชะล้างโดยน้ำ เมื่อน้ำระเหยออกมาจะเห็นคราบเกลือตามผิวดินในฤดูแล้ง
3. น้ำใต้ดินเค็มที่อยู่ระดับตื้นใกล้ผิวดิน ส่วนน้ำใต้ดินเค็มที่อยู่ลึกจากดินนั้นจะถูกสูบขึ้นมาตากหรือต้มเพื่อทำเกลือ (Wongsomsak, 1986 ; Sinaruwong and Takaya, 1974)

การวิเคราะห์และประเมินโครงการเพื่อการลงทุน

เกณฑ์การตัดสินใจเพื่อการลงทุน

เกณฑ์การตัดสินใจแบบไม่ต้องปรับค่าของเวลา

เกณฑ์การตัดสินใจแบบนี้มีหลายวิธีด้วยกัน

1. การตรวจสอบอย่างง่าย ๆ (Ranking by inspection) เกณฑ์การวัดชนิดนี้เป็นวิธีที่ง่ายและช่วยการตัดสินใจได้อย่างคร่าว ๆ เพียงแค่ทราบปริมาณการลงทุนและผลตอบแทน

2. ระยะคืนทุน (Payback period) ระยะคืนทุน ได้แก่ ระยะเวลาที่ผลตอบแทนสุทธิจากการดำเนินงานมีค่าเท่ากับค่าลงทุนของโครงการ ถ้าหากโครงการมีอายุยืน หรือยังคงสามารถให้ผลประโยชน์ตอบแทนได้นานกว่าระยะคืนทุนที่คำนวณได้ก็จะได้รับกำไร การคำนวณสามารถคำนวณได้ง่าย ๆ คือ

$$\text{ระยะคืนทุน} = \frac{\text{ค่าใช้จ่ายในการลงทุน}}{\text{ผลตอบแทนสุทธิเฉลี่ยต่อปี}}$$

3. อัตราผลตอบแทนต่อการลงทุน วิธีมุ่งวัดค่าของโครงการในรูปของอัตราต่อการลงทุนยิ่งสูงเท่าไรก็ยิ่งดีเท่านั้น

$$\text{อัตราผลตอบแทนต่อการลงทุน} = \frac{\text{ผลตอบแทนสุทธิเฉลี่ยจากการดำเนินงาน} \times 100}{\text{การลงทุน}}$$

เกณฑ์การตัดสินใจแบบปรับค่าของเวลา

หลังจากที่ได้ปรับค่าของเวลาของค่าใช้จ่ายและผลตอบแทน หรือผลตอบแทนสุทธิของโครงการแล้ว ผู้วิเคราะห์โครงการก็อยู่ในฐานะที่จะทำการวินิจฉัยได้ว่า โครงการนั้นจะให้ผลตอบแทนคุ้มค่าหรือไม่ โดยอาศัยเกณฑ์การตัดสินใจแบบที่มีการปรับค่าของเวลาเกณฑ์ใดเกณฑ์หนึ่งหรือทั้งสามเกณฑ์ ดังนี้

1. มูลค่าปัจจุบันสุทธิ (Net present value method หรือ NPV) ถ้าค่าของ NPV ที่ได้ออกมามีค่ามากกว่า 0 หรือเป็น + ก็เป็นการลงทุนที่คุ้มค่า แต่ถ้า NPV ที่ได้ออกมาเป็น - หรือต่ำกว่า 0 แสดงว่าการลงทุนตามโครงการนั้นจะไม่คุ้มค่า สามารถคำนวณได้ ดังนี้

$$\text{NPV} = \sum_{t=1}^n \frac{B_t}{(1+i)^t} - \sum_{t=1}^n \frac{C_t}{(1+i)^t}$$

หรือ

$$\text{NPV} = \sum_{t=1}^n \frac{B_t - C_t}{(1+i)^t}$$

อนึ่ง ถ้าค่าใช้จ่ายที่นำมาหักออกจากผลตอบแทน เป็นค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานและบำรุงรักษา โดยมีค่าใช้จ่ายในการลงทุนเริ่มแรก (K_0) เพียงปีแรกปีเดียว คำนวณได้ดังนี้

$$\text{NPV} = -K_0 + \frac{b_1 - c_1}{(1+i)} + \frac{b_2 - c_2}{(1+i)^2} + \dots + \frac{b_n - c_n}{(1+i)^n}$$

เมื่อ

- NPV = มูลค่าปัจจุบันสุทธิของโครงการ
- B_t = ผลตอบแทนในปีที่ 1, 2, ..., n
- C_t = ค่าใช้จ่ายในปีที่ 1, 2, ..., n ซึ่งอาจจะรวม K_0 หรือไม่รวมแล้วแต่กรณี
- i = อัตราดอกเบี้ยหรือค่าเสียโอกาสของทุน
- t = ปีของโครงการคือปีที่ 1, 2, ..., n
- n = อายุของโครงการ

นอกจากการประเมินโครงการโดยวิธีการหามูลค่าปัจจุบันสุทธิแล้ว ยังสามารถหา “ผลตอบแทนสุทธิเฉลี่ยต่อปี” (Average annual net benefit) ได้

2. อัตราผลตอบแทนของโครงการ (Internal rate of return หรือ IRR) IRR คือ อัตราที่จะทำให้ผลตอบแทนและค่าใช้จ่ายที่ได้คิดลดเป็นค่าในปัจจุบันเท่ากัน สูตรที่ใช่ก็คือ

$$\text{IRR คือค่า } r \text{ (อัตราส่วนลด) ที่จะทำให้ } \sum_{t=1}^n \frac{B_t - C_t}{(1+r)^t} = 0$$

เพื่อช่วยการตัดสินใจ เมื่อได้ IRR ออกมาแล้ว ก็นำไปเปรียบเทียบกับค่าเสียโอกาสของทุน ถ้า IRR ที่ได้สูงกว่าค่าเฉลี่ยโอกาสตอบแทน จะเป็นการลงทุนที่คุ้มค่า แต่ถ้า IRR ที่ได้ ต่ำกว่าค่าเสียโอกาสของทุน จะเป็นการลงทุนที่ไม่คุ้มค่า

3. อัตราผลตอบแทนต่อค่าใช้จ่าย (Benefit cost ratio หรือ B/C ratio) สูตรที่ใช้ในการคำนวณ คือ

$$B/C = \text{PV of benefits} / \text{PV of cost}$$

$$\text{หรือ} \quad = \frac{\sum_{t=1}^n \frac{B_t}{(1+i)^t}}{\sum_{t=1}^n \frac{C_t}{(1+i)^t}}$$

เมื่อ B_t = ผลตอบแทนในปีที่ t
 C_t = ค่าใช้จ่ายในปีที่ t
 t = ปีของโครงการ 1,2,...,n
 i = อัตราส่วนลดหรืออัตราดอกเบี้ยที่เหมาะสม

เกณฑ์ที่ใช้ในการตัดสินใจคือ เลือกโครงการต่างๆ ที่มีค่า B/C เกินกว่า 1 ทั้งนี้ เพราะเมื่อค่า B/C เกินกว่า 1 แล้ก็หมายความว่า ผลตอบแทนที่ได้จากโครงการจะมีมากกว่าค่าใช้จ่ายที่เสียไปในการนั้น

เพื่อให้สามารถทำการประเมินโครงการตามเกณฑ์ต่าง ๆ ดังกล่าวได้ ขั้นตอนของการวิเคราะห์โครงการจึงประกอบด้วย

1. การระบุรายการและปริมาณของค่าใช้จ่าย และผลตอบแทนจากการมีโครงการเป็นรายปี ตลอดชั่วอายุของโครงการ
2. การตีราคาค่าใช้จ่าย และผลตอบแทน โดยนำเอาปริมาณในรายการค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนคูณด้วยราคาที่เหมาะสม เพื่อประมาณการเป็นค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนที่ตัดออกมาเป็นมูลค่า
3. การปรับค่าของเวลาของค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนหรือผลตอบแทนสุทธิ

การวิเคราะห์ค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนของโครงการ

ค่าใช้จ่ายของโครงการประกอบด้วยสินค้าและบริการที่นำมาใช้กับโครงการ (UNIDO, 1972) และเมื่อคิดเป็นมูลค่าแล้ว ค่าใช้จ่ายของโครงการจึงได้แก่มูลค่าของการใช้สิ่งที่ใส่เข้าไปหรือสินค้าและบริการ อันเป็นผลจากการมีโครงการ มูลค่าของสิ่งที่ใส่เข้าไปนั้นอาจเป็นทางด้านการลงทุน (Investment costs) การดำเนินงานและบำรุงรักษา

ค่าใช้จ่ายในการลงทุน หมายถึงมูลค่าของการใช้สิ่งที่ใส่เข้าไปเพื่อสิ่งอำนวยความสะดวกหรือเป็นฐานของการผลิตผลผลิตออกมา เช่น ที่ดิน สิ่งก่อสร้าง เครื่องจักร เครื่องมือ และอุปกรณ์การผลิต และการติดตั้ง ส่วนค่าใช้จ่ายทางด้านงานดำเนินงานและบำรุงรักษา หมายถึง มูลค่าของการใช้สิ่งที่ใส่เข้าไปเพื่อการดำเนินงานและบำรุงรักษาโครงการ เช่น ค่าแรงงานและเจ้าหน้าที่ วัสดุคิบ น้ำมันเชื้อเพลิงและหล่อลื่น ค่าไฟฟ้า น้ำปะปา โทรศัพท์ อะไหล่ ค่าฝึกอบรม ค่าล่วงเวลาและค่าเดินทาง เป็นต้น

ผลตอบแทนโครงการ ผลผลิตของโครงการในที่นี้จะใช้ในความหมายที่กว้าง คือ หมายถึงผลผลิตออกทั้งหมดของโครงการ และรวมถึงกิจกรรมส่วนอื่น ๆ ซึ่งจะไม่มีผลผลิตเลย หากไม่มีโครงการ (UNIDO, 1972) ผลตอบแทนโครงการจึงสามารถแบ่งออกได้เป็น ผลตอบแทนทางตรง (Direct benefits) หรือบางครั้งอาจเรียกว่าผลตอบแทนขั้นต้น (Primary benefits) ซึ่งได้แก่มูลค่าของสินค้าและบริการที่ผลิตได้โดยตรงจากโครงการ และผลตอบแทนทางอ้อม (Indirect benefits) หรือที่บางครั้งอาจเรียกว่า ผลตอบแทนขั้นรอง (Secondary benefits) ค่าของสินค้าและบริการที่ได้เพิ่มขึ้นจากกิจกรรมส่วนอื่น ๆ หรือเป็นผลตอบแทนที่เกิดขึ้นภายนอกโครงการ

โดยทั่วไปหากระบบเศรษฐกิจมีการแข่งขันที่สมบูรณ์ ราคาตลาดที่ปรากฏอยู่ก็คือ ราคาคุณภาพที่สะท้อนถึงมูลค่าที่แท้จริงของสินค้าและบริการ เมื่อราคาตลาดเป็นราคาที่แท้จริงของสินค้าและบริการที่สะท้อนถึงการให้ทรัพยากรที่มีอยู่อย่างจำกัด ราคาตลาดจึงสามารถนำมาใช้ในการตีค่าของผลตอบแทนของโครงการได้เช่นเดียวกับการตีราคาที่ใช้จ่ายของโครงการ (ประสิทธิ์ ดงยิ่งศิริ, 2540)