ผลของอัตราการไหลของอากาศและความยาวคลื่นแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์
ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง

นางสาวภูไพรำ ภู่ไพบูลย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF AERATION RATE AND LIGHT WAVELENGTH ON GROWTH AND CAROTENOIDS PRODUCTION IN MICROALGA *CHLOROCOCCUM HUMICOLA* IN PHOTOBIOREACTOR

Miss Phupairum Phuphaibul

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering
Department of Chemical Engineering
Faculty of Engineering
Chulalongkorn University
Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของอัตราการไหลของอากาศและความยาวคลื่นแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง
โดย	นางสาวภูไพรำ ภู่ไพบูลย์
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. กษิดิศ หนูทอง
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ ดร. สรวิศ เผ่าทองศุข

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ธวัชชัย ชรินพาณิชกุล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. กษิดิศ หนูทอง)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(อาจารย์ ดร. สรวิศ เผ่าทองศุข)

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร. พิมพ์พร พลเพชร)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(อาจารย์ ดร. วิภาวรรณ เสียงดัง)

ภูไพรำ ภู่ไพบูลย์ : ผลของอัตราการไหลของอากาศและความยาวคลื่นแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง (EFFECTS OF AERATION RATE AND LIGHT WAVELENGTH ON GROWTH AND CAROTENOIDS PRODUCTION IN MICROALGA *CHLOROCOCCUM HUMICOLA* IN PHOTOBIOREACTOR) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร. กษิดิศ หนูทอง, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ. ดร. สรวิศ เผ่าทองศุข, 134 หน้า.

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของความยาวคลื่นแสงและอัตราการให้อากาศต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่ายสีเขียว *Chlorococcum humicola* ผลการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบกะในขวดแก้วดูแรนขนาด 1 ลิตร พบว่าแสงสีขาวที่ 5,000 ลักซ์ มีความเหมาะสมในการใช้เตรียมหัวเชื้อและเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายจนสิ้นสุดระยะการเติบโตแบบทวีคูณเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้แสงสีอื่น ๆ โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งที่ 601 มิลลิกรัมต่อลิตร และการใช้งานแสงสีขาวที่ความเข้มแสง 10^5 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในระยะการเติบโตคงที่ช่วยให้จุลสาหร่ายมีการสะสมแคโรทีนอยด์ได้เพิ่มขึ้นถึง 7.96 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง (4.67 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งมากกว่าการใช้งานแสงสีขาวที่ความเข้มแสง 10^5 ลักซ์ ถึงร้อยละ 12 การทดลองต่อมาได้คัดเลือกถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงเพื่อใช้เพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย โดยใช้ความสามารถในการฟุ้งกระจายของชีวมวลจุลสาหร่ายเป็นเกณฑ์ซึ่งพบว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกมีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง *C. humicola* มากกว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศในช่วงอัตราการให้อากาศระหว่าง 0.1 ถึง 1.25 vvm และการทดลองต่อมาพบว่าการควบคุมอัตราการให้อากาศที่ 0.8 vmm ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกช่วยให้จุลสาหร่ายเติบโตและผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด ข้อมูลที่ได้รับทั้งในส่วนของความยาวคลื่นแสงและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมได้ถูกนำมาทดสอบอีกครั้ง โดยเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก ผลการเพาะเลี้ยงพบว่าการให้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงปรับตัวถึงช่วงทวีคูณ ตามด้วยแสงสีขาวความเข้มแสง 10^5 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในระยะเติบโตคงที่ ทำให้จุลสาหร่ายเติบโตซึ่งตรวจวัดในรูปน้ำหนักแห้งได้ถึง 880 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าผลการทดลองในขวดดูแรน ขณะที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นถึง 7.81 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง (6.87 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) จากความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงในขวดดูแรน

ภาควิชา	วิศวกรรมเคมี	ลายมือชื่อนิสิต	.....
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก	.....
ปีการศึกษา	2559	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม	.....

5770449721 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORDS: MICROALGAE / CAROTENOIDS PRODUCTION / PHOTOBIOREACTOR / CHLOROCOCCUM HUMICOLA / AERATION RATE / LIGHT

PHUPAIRUM PHUPHAIBUL: EFFECTS OF AERATION RATE AND LIGHT WAVELENGTH ON GROWTH AND CAROTENOIDS PRODUCTION IN MICROALGA *CHLOROCOCCUM HUMICOLA* IN PHOTOBIOREACTOR. ADVISOR: ASSOC. PROF. KASIDIT NOOTONG, Ph.D., CO-ADVISOR: SORAWIT POWTONGSOOK, Ph.D., 134 pp.

This research studied the effects of light wavelength and aeration rate on growth and carotenoid production in green microalgal *Chlorococcum humicola*. Results of batch cultivation in 1-L Duran bottle recommended using white light at 5,000 lux until the end of exponential phase as compared to other light wavelength, with 601 mg/L of the dry weight concentrations. Application of white light at 10^5 lux along with blue light at constant power of 6 W led to the increased carotenoid production during stationary phase measured at 7.96 mg/g-dw (i.e., 4.67 mg/L), which 12% higher than applying only white light at 10^5 lux. Subsequent experiment aimed to select suitable photobioreactor which focus on suspensioning of biomass. The results indicated that airlift photobioreactor was more suitable for *C. humicola* cultivation than bubble column photobioreactor for the aeration rates from 0.1 to 1.25 vvm, and moreover, the aeration rate at 0.8 vvm yielded the highest cell growth and carotenoid concentrations. Finally, cultivation of *C. humicola* was conducted in the airlift photobioreactor using all findings described previously. The cultivation in airlifit photobioreactors using aeration rates of 0.8 vvm and white light at 5,000 lux during the exponential phase followed by the white light at 10^5 lux and blue light at constant power of 6 W during stationary phase yielded cell dry weight at 880 mg/L, which were greater than the results from Duran bottles, while increased carotenoid concentrations measured as high as 7.81 mg/g-dw (i.e., 6.87 mg/L), yet statistically insignificant different (p>0.05) from the results from Duran bottle.

Department: Chemical Engineering Student's Signature .....

Field of Study: Chemical Engineering Advisor's Signature .....

Academic Year: 2016 Co-Advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จขึ้นได้ เนื่องมาจากอาจารย์ที่ปรึกษาผู้มีพระคุณสองท่าน ท่านแรก ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.กษิดิศ หนูทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ คอยชี้แนะ และให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านตลอดมา ท่านที่สอง ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.สรวิศ เผ่าทองศุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่คอยให้คำปรึกษา อธิบายแนวทาง และช่วยเหลือในการปฏิบัติงานในแต่ละขั้นตอนของงานวิจัยนี้ ผู้เขียนขอขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านอย่างยิ่ง สำหรับคำแนะนำและความรู้ต่าง ๆ ทั้งในตำราและนอกตำราที่มีคุณค่า รวมถึงการตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์จนวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเสร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ธวัชชัย ชรินพาณิชกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.พิมพ์พร พลเพชร และ อาจารย์ ดร.วิภาวรรณ เสียงดัง กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งมีความกรุณาให้คำแนะนำ และตรวจทานวิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ที่ผู้เขียนเคยเล่าเรียนด้วยตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้อันเป็นประโยชน์ให้แก่ผู้เขียนจนกระทั่งมีวันนี้ได้

ขอขอบคุณศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ทั้งสถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัยนี้ และขอขอบคุณพี่ปวีณา ตปนียวรวงศ์ ที่สละเวลาให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ต่าง ๆ

ขอขอบคุณพี่ เพื่อน และน้อง ที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทุกคน ที่ร่วมทุกข์ร่วมสุข และให้ความช่วยเหลือเกื้อกูลตลอดมา ขอขอบคุณพี่ เพื่อน และน้อง จากภาควิชาวิศวกรรมเคมี สำหรับมิตรภาพ กำลังใจ ตลอดจนความช่วยเหลือด้านต่าง ๆ และขอขอบคุณเพื่อนที่คอยรับฟัง ไถ่ถามด้วยความห่วงใย และให้กำลังใจผู้เขียนตลอดระยะเวลาการทำวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อสัมพันธ์ คุณแม่รุจา พี่ภูริพันธ์ ที่มอบความรัก กำลังใจ และสนับสนุนผู้เขียนเสมอมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฏ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความสำคัญของงานวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 3

1.3 ขอบเขตงานวิจัย 4

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ 5

บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 6

2.1 สัณฐานวิทยาและลักษณะทั่วไปของจุลสาหร่ายสีเขียวคลอโรคอคคัม (*Chlorococcum*) 6

2.2 การเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย 7

2.2.1 กราฟทั่วไปของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบแบตช์ 7

2.2.2 การสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่าย 8

2.2.3 ปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* 10

2.3 รงควัตถุ (Pigment) 15

2.3.1 ข้อมูลทั่วไปของรงควัตถุในจุลสาหร่าย *Chlorococcum* 15

2.3.2 แคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum* 16

2.3.3 ผลของความเข้มแสงต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum* 16

2.4 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง (Photobioreactor) 18

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

2.4.1 รูปแบบของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง 18
2.4.2 ข้อดีและข้อจำกัดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแต่ละรูปแบบ 21
2.4.3 รูปแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum* 22
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย 24
3.1 การเพาะหัวเชื้อจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* 24
3.2 การศึกษาเบื้องต้นถึงผลของความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและผลผลิต แคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* 25
3.3 การศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของ *C. humicola* ในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) 27
3.4 การศึกษารูปแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *C. humicola* 29
3.5 การศึกษาผลของอัตราการไหลของอากาศต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* 31
3.6 การศึกษาผลของการประยุกต์ใช้สภาวะแสงและอัตราไหลของอากาศที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* 32
3.7 การวิเคราะห์ผล 33
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง 35
4.1 ผลของการศึกษาเบื้องต้นถึงผลของความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* 35
4.2 ผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) 41
4.3 การศึกษารูปแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง *C. humicola* 47
4.4 ผลของอัตราไหลของอากาศที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* 51
4.5 ผลของการประยุกต์สภาวะแสงและอัตราการไหลของอากาศที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* 54
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 61

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

5.1 สรุปผลการทดลอง 61
5.2 ข้อเสนอแนะ 65
รายการอ้างอิง 66
ภาคผนวก 72
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 134

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* 11

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างงานวิจัยที่ผ่านมาของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสีเขียวโดยการใช้ความยาวคลื่นแสงต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสีเขียวแบบแบตช์ 12

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ผ่านมาของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสีเขียวโดยการใช้ค่าอัตราไหลอากาศต่าง ๆ การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum* แบบแบตช์ 14

ตารางที่ 2.4 งานวิจัยที่ผ่านมาของความเข้มแสงที่มีผลต่อแคโรทีนอยด์ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum* 17

ตารางที่ 2.5 ข้อดีและข้อจำกัดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแต่ละรูปแบบ 21

ตารางที่ 2.6 งานวิจัยที่ผ่านมาของการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอย์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดต่าง ๆ 22

ตารางที่ 3.1 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 สำหรับเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* 25

ตารางที่ 3.2 สภาวะในการศึกษาผลเบื้องต้นของความยาวคลื่นของแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของจุลสาหร่าย *C. humicola* เบื้องต้น 26

ตารางที่ 3.3 สภาวะในการศึกษาผลของความยาวคลื่นของแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและผลผลิต แคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* โดยมีการเปลี่ยนสีของแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ 28

ตารางที่ 3.4 ขนาดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงในงานวิจัยนี้ 30

ตารางที่ 3.5 สภาวะในการศึกษาผลของการประยุกต์ใช้สภาวะแสงและอัตราไหลของอากาศที่เหมาะสมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ที่อัตราการไหลอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที 33

ตารางที่ 4.1 สรุปค่าน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 15 ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่อัตราไหลของอากาศต่าง ๆ 54

ตารางที่ 4.2 สภาวะแสงที่ใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก 55

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 5.1 สรุปผลของการศึกษาอัตราไหลของอากาศต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก โดยใช้แสงสีขาว ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ 63

ตารางที่ 5.2 สรุปผลของการศึกษาสภาวะแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ในขวดแก้ว Duran และถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก 64

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2.1 เซลล์จุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* 6

รูปที่ 2.2 กราฟการเติบโตของสาหร่าย 7

รูปที่ 2.3 แคโรทีนอยด์หลักที่ตรวจพบในจุลสาหร่าย *Chlorococcum* 16

รูปที่ 2.4 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอมลัมน์เติมอากาศ (Bubble Column Photobioreactor) 18

รูปที่ 2.5 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก (Airlift Photobioreactor) 19

รูปที่ 2.6 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบน (Flat plate Photobioreactor) 20

รูปที่ 2.7 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบท่อ (Tubular Photobioreactor) 20

รูปที่ 3.1 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง (a) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก (b) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ 29

รูปที่ 3.2 รูปสามมิติของแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ใช้ในการทดลอง 30

รูปที่ 4.1 การเติบโตในรูปน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งเพาะเลี้ยงโดยใช้แสงสีแดง สีน้ำเงิน และสีขาว โดยเส้นทึบคือการเพาะเลี้ยงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีเดียวกัน และเส้นประคือการเพาะเลี้ยงด้วยหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีขาว 37

รูปที่ 4.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง สีน้ำเงิน และสีขาว โดยเส้นทึบคือการเพาะเลี้ยงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีนั้น และเส้นประคือการเพาะเลี้ยงด้วยหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว 38

รูปที่ 4.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักแห้งจากเซลล์จุลสาหร่าย *C. humicol*a ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง สีน้ำเงิน และสีขาว ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ 39

รูปที่ 4.4 ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* โดยใช้แสงสีแดง สีขาว และสีน้ำเงิน จากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีแดง สีขาว และสีน้ำเงินตามลำดับ 40

รูปที่ 4.5 ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* โดยใช้แสงสีแดง สีขาว และสีน้ำเงิน จากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีขาว 41

รูปที่ 4.6 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวในช่วงระยะปรับตัวจนถึงระยะทวีคูณ และเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ 43

รูปที่ 4.7 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในจุลสาหร่าย *C. humicola* เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนแปลงความเข้มแสง/ความยาวคลื่นแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ 44

รูปที่ 4.8 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ และเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ 45

รูปที่ 4.9 ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีขาวในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ 46

รูปที่ 4.10 ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีขาวในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ และเปลี่ยนแปลงความความยาวคลื่นแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ 47

รูปที่ 4.11 น้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและแบบคอลัมน์เติมอากาศ 48

รูปที่ 4.12 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งเพาะเลี้ยงในถั’ปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและแบบคอลัมน์เติมอากาศ 49

รูปที่ 4.13 ค่าความขุ่นของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและแบบคอลัมน์เติมอากาศเมื่อเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่อัตราการไหลอากาศ 0.2 0.6 1.2 1.6 และ 2.5 ลิตรต่อนาที (0.1 0.3 0.6 0.8 และ 1.25 vvm ตามลำดับ) 50

รูปที่ 4.14 น้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกโดยใช้อัตราการของไหลอากาศในช่วง 0.2 ถึง 2.5 ลิตรต่อนาที (0.1 ถึง 1.25 vmm) 52

รูปที่ 4.15 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกโดยใช้อัตราการของอากาศในช่วง 0.2 ถึง 2.5 ลิตรต่อนาที (0.1 ถึง 1.25 vvm) 53

รูปที่ 4.16 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ในการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกที่สภาวะแตกต่างกัน T1 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T2 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T3 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่, และ T4 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่ 56

รูปที่ 4.17 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร) ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกในสภาวะแตกต่างกัน T1 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T2 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T3 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่ และ, T4 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่ 58

รูปที่ 4.18 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกในสภาวะแตกต่างกัน T1 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T2 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T3 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่, และ T4 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่ 59

รูปที่ 4.19 ปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในขวด Duran และถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกโดยให้แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ + แสงสีน้ำเงิน 6 วัตต์ 60

รูปที่ 4.20 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในวันที่ 15 ของการทดลองของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในขวด Duran และถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกโดยให้แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ + แสงสีน้ำเงิน 6 วัตต์..... 60

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญของงานวิจัย

แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เป็นสารรงควัตถุสีเหลืองและสีแดง ซึ่งนำมาใช้อย่างกว้างขวางเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารเติมแต่งในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และเป็นองค์ประกอบในอาหารสำหรับมนุษย์และสัตว์ [1,2] แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ (1) กลุ่มแคโรทีน เช่น แอลฟาแค-โรทีน (Alpha-carotene) เบตาแคโรทีน (Beta-carotene) และ ไลโคปีน (Lycopene) ซึ่งเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนบริสุทธิ์ และ (2) กลุ่มแซนโธฟิลล์ หรือ ออกซิแคโรทีน (Oxycarotene) เช่น ลูทีน (Lutein) แอสตาแซนทีน (Astaxanthin) ซีแซนธิน (Zeaxanthin) ไวโอโลแซนธิน (Violoxanthin) และ นีโอแซนธิน (Neoxanthin) เป็นต้น [3] จากรายงานในปี 2008 พบว่ามูลค่าทางการตลาดทั่วโลกของแคโรทีนอยด์มีมูลค่าถึง 766 ล้านดอลลาร์ (27,300 ล้านบาท) โดยเบตาแคโรทีนมีมูลค่าทางการตลาดประมาณ 247 ล้านดอลลาร์ (8,800 ล้านบาท) แอสต้าแซนทีนมีมูลค่าทางการตลาดของอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประมาณ 260 ล้านดอลลาร์ (9,300 ล้านบาท) และแอสตาแซนทีนยังมีมูลค่าในท้องตลาดสูงถึง 2,500 ดอลลาร์ต่อกิโลกรัม (89,000 บาทต่อกิโลกรัม) [4] และยังมีรายงานว่าแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการผลิตทางชีวภาพมีอุปสงค์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องอีกด้วย [5]

จุลสาหร่ายคลอโรคอคคัม (*Chlorococcum*) เป็นจุลสาหร่ายน้ำจืดที่มีรูปร่างกลม มักพบเป็นกลุ่มโคโลนีประมาณ 2 ถึง 4 เซลล์ จุลสาหร่ายสายพันธุ์นี้ได้รับการแนะนำในการใช้ผลิตสารกลุ่มแคโรทีนอยด์เนื่องจากสามารถทนต่อสภาวะพีเอชและอุณหภูมิได้เป็นช่วงกว้าง (pH 6.1 – 9 และ อุณหภูมิ 25 – 45 องศาเซลเซียส) เพาะเลี้ยงได้ง่ายและเจริญเติบโตเร็วภายใต้สภาววะกลางแจ้ง เมื่อเปรียบเทียบกับจุลสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ซึ่งในปัจจุบันเป็นจุลสาหร่ายที่ได้รับความนิยมในการใช้ผลิตสารแอสตาแซนทีน ซึ่งมีช่วงอุณหภูมิสำหรับเพาะเลี้ยงที่แคบ (24 – 28 องศาเซลเซียส) และเจริญเติบโตช้า [6,7] จุดเด่นอีกประการของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* คือมีน้ำหนักมากและขนาดเซลล์ใหญ่ซึ่งทำให้เก็บเกี่ยวเซลล์ได้ง่ายด้วยวิธีดั้งเดิม เช่น การกรอง และการตกตะกอน [5,6]

อย่างไรก็ตามน้ำหนักของเซลล์ที่มากยังอาจเป็นข้อจำกัดของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* เนื่องจากเซลล์สามารถจมตัวลงสู่ก้นถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงได้ง่าย ทำให้ต้องติดตั้งอุปกรณ์ป้องกันการตกตะกอนหรือให้อากาศแรงเพื่อช่วยให้เซลล์ฟุ้งกระจายอย่างสม่ำเสมอ [8,9] จากงานวิจัยที่ผ่านมาซึ่งพบว่าการใช้อากาศและการปั่นกวนของเหลวที่ไม่เพียงพอในถังปฏิกรณ์ชีวภาพอากาศยกเชิงแสงแบบแผ่นแบน (Flat-Panel Airlift Photobioreactor) ทำให้เกิดการตกตะกอนของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* ที่ก้นถังปฏิกรณ์ อีกทั้งมีเซลล์ติดที่ผนังของถังปฏิกรณ์อย่างเห็นได้ชัด [8] ข้อสังเกตที่พบเป็นผลเสียต่อการเพาะเลี้ยงเนื่องจากการตกตะกอนที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดการสูญเสียชีวมวล อีกทั้งเซลล์ที่เกาะบนผนังของถังปฏิกรณ์จะบดบังแสงทำให้ประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสงลดลง [8] นอกจากนี้งานวิจัยในอดีตได้รายงานถึงความสำคัญของอัตราการไหลของอากาศที่เหมาะสมเพื่อป้องกันการเกิดแรงเฉือนที่มากเกินไป ซึ่งส่งผลกระทบทางลบต่อการเติบโตของจุลสาหร่ายในหลายสายพันธุ์ [10,11] จากการค้นคว้างานพบว่าการศึกษาเกี่ยวกับค่าอัตราการไหลของอากาศในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum* ยังมีอยู่ค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่อากาศไหลขึ้นด้านบน เช่น ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก (Airlift Photobioreactor) และ ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบหออากาศ (Bubble Column Photobioreactor) ซึ่งนิยมใช้อย่างแพร่หลายในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายและจุลินทรีย์อื่นๆ [12-14] จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่ามีความจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาผลกระทบจากอัตราการไหลของอากาศต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* ทั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและแบบหออากาศ เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลในการพัฒนากระบวนการผลิตแคโรทีนอยด์ให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นต่อไป

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการปรับเปลี่ยนความยาวคลื่นของแสงที่ให้แก่จุลสาหร่าย สามารถเพิ่มอัตราการเติบโตและมีผลต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีในจุลสาหร่าย การทดลองในจุลสาหร่ายสีเขียว *Nannochloropsis* พบว่าการให้แสงสีน้ำเงินที่ความยาวคลื่น 470 nm ส่งผลให้อัตราการเติบโตจำเพาะมากกว่าการใช้แสงสีขาวและแสงสีแดงประมาณร้อยละ 26 และ ร้อยละ 10 ตามลำดับ และการทดลองในจุลสาหร่าย *Chlorella vulgulis* โดยให้แสงสีน้ำเงินที่ความยาวคลื่น 475 nm พบว่าจุลสาหร่ายมีการเติบโตและการสะสมของไขมันมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงที่ความยาวคลื่น 650 nm [15-17] นอกจากนี้ในการทดลองเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. vulgulis* ของ Kim et al. (2014) พบว่าการเปลี่ยนคุณภาพแสงระหว่างการทดลองส่งผลดีต่อการสะสมชีวมวลของจุลสาหร่าย โดยการให้แสงสีน้ำเงินก่อนแล้วเปลี่ยนเป็นแสงสีแดงพบว่าสามารถเพิ่มชีวมวลของจุลสาหร่ายได้ถึงร้อยละ 18 – 20 เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวเพียงอย่างเดียว [18] และ

งานวิจัยของ Xi et al, (2016) ซึ่งได้ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *H. pluvialis* พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงให้จำนวนเซลล์จุลสาหร่ายมากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยสีน้ำเงินประมาณ 1.5 เท่า และได้ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *H. pluvialis* โดยเปลี่ยนแสงจากสีแดงเป็นสีน้ำเงินในช่วงระยะการเติบโตคงที่ (Stationary Growth Phase) พบว่าส่งผลดีต่อการสะสมแอสตาแซนทีนมากกว่าการใช้สีแดงเพียงสีเดียว โดยให้ปริมาณแอสตาแซนทีน 35 ppm และ 20 ppm ตามลำดับ [19] อย่างไรก็ตามยังไม่พบงานวิจัยเกี่ยวกับผลกระทบของคุณภาพแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* รวมถึงแนวทางในการใช้แสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ดังนั้นจึงเห็นควรศึกษาการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum* ในประเด็นที่กล่าวมาควบคู่กับการศึกษาอัตราการไหลของกาศต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- ศึกษาผลของอัตราการไหลของอากาศต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum*
- ศึกษาถึงความยาวคลื่นของแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum*
- ศึกษาถึงแนวทางที่เหมาะสมของการปรับความยาวคลื่นแสงเพื่อเพิ่มการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง

Chulalongkorn University

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 3 ส่วนหลัก คือ (1) การศึกษาถึงความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* และ (2) การศึกษาถึงผลกระทบของอัตราการไหลของอากาศต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum*

1.3.1 ผลของความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum*

- ใช้จุลสาหร่ายสายพันธุ์ *C. humicola* ในการทดลอง
- เพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* แบบแบตช์ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 ที่อุณหภูมิห้องในช่วง 28 - 32 ºC และให้อัตราการไหลของอากาศที่ 0.8 ลิตรต่อนาที
- เพาะเลี้ยงในขวด Duran ขนาด 1 ลิตร ที่วางบนเครื่องกวนสารที่ความเร็วรอบ 300 rpm
- ศึกษาถึงผลการใช้แสงสีแดงที่ความยาวคลื่น 639 nm แสงสีน้ำเงินที่ความยาวคลื่น 460 nm และแสงสีขาวที่ความยาวคลื่น 442 – 655 nm ต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* รวมถึงการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงระหว่าง 5,000 – 100,000 ลักซ์ และความยาวคลื่นแสงระหว่างการเติบโตในช่วงระยะคงที่ (Stationary Growth Phase)
- เก็บตัวอย่างของเหลวจากขวด Duran ทุกวันเพื่อวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ ฟอสเฟต และไนเตรท

1.3.2 ผลของอัตราการไหลของอากาศต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola*

- เพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* แบบแบตช์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 ที่อุณหภูมิห้องในช่วง 28 - 32 ºC
- เพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศและแบบอากาศยกเพื่อเลือกชนิดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่จะใช้งานต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

- ศึกษาถึงผลของอัตราการไหลของอากาศต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ได้ทำการคัดเลือกก่อนหน้านี้ โดยปรับอัตราการไหลของอากาศระหว่าง 0.2 – 2.5 ลิตรต่อนาที (0.1 – 1.25 vvm)
- ควบคุมระดับความเข้มแสงที่ 5,000 และ 100,000 ลักซ์
- เก็บตัวอย่างของเหลวจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงทุกวันเพื่อวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ ฟอสเฟต และไนเตรท

1.3.3 ผลของการประยุกต์ใช้สภาวะแสงและอัตราการไหลของอากาศต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola*

- เพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* แบบแบตช์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11ที่อุณหภูมิห้องในช่วง 28 - 32 °C
- เพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ได้คัดเลือกในส่วนที่ 1.3.2 ใช้ค่าอัตราการไหลของอากาศที่เหมาะสมจากส่วนที่ 1.3.2 และสภาวะแสงที่เหมาะสมจากส่วนที่ 1.3.1
- เก็บตัวอย่างของเหลวจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงทุกวันเพื่อวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ ฟอสเฟต และไนเตรท

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

จากงานวิจัยจะได้ข้อมูลอัตราการไหลของอากาศที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอมลัมน์เติมอากาศหรือถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ซึ่งเป็นระบบที่ใช้อย่างแพร่หลาย อีกทั้งผลของการศึกษาเกี่ยวกับความยาวคลื่นแสงจะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งมีศักยภาพในการแข่งขันกับจุลสาหร่าย *H. pluvialis* นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังช่วยเป็นแรงผลักดันให้เกิดการพัฒนากระบวนการชีวภาพเพื่อใช้ผลิตแคโรทีนอยด์และผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพอื่นๆ ที่มีมูลค่าสูงและมีอุปสงค์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในปัจจุบัน ข้อมูลที่ได้รับจากงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้อ้างอิงได้สำหรับงานวิจัยในอนาคตที่ต้องการออกแบบการทดลองเพื่อเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง

บทที่ 2
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 สัณฐานวิทยาและลักษณะทั่วไปของจุลสาหร่ายสีเขียวคลอโรคอคคัม (*Chlorococcum*)

จุลสาหร่ายสีเขียว *Chlorococcum* จัดอยู่ในดิวิชั่น *Chlorophyta* เป็นพวกที่ไม่เคลื่อนที่ มีรูปร่างกลม แสดงในรูปที่ 2.1 สามารถพบจุลสาหร่ายชนิดนี้พบได้ตามแหล่งน้ำทั่วไป ในสภาพปกติจะเป็นเซลล์เดียว แต่บางครั้งอาจจะเห็นเป็นกลุ่มโคโลนีเล็กๆ ประกอบไปด้วย 2-4 เซลล์ มีสารพวกเจลาตินหุ้มเซลล์ มีลักษณะเป็นทรงกลมหรือรูปไข่ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ [20] และลำดับด้านล่างนี้แสดงการจัดเรียงอนุกรมวิธานของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* ที่ใช้ศึกษาในงานวิจัยนี้

Division Chlorophyta

Class Chlorophyceae

Order Chlorococcales

Family Chlorococcaceae

Genus Chlorococcum

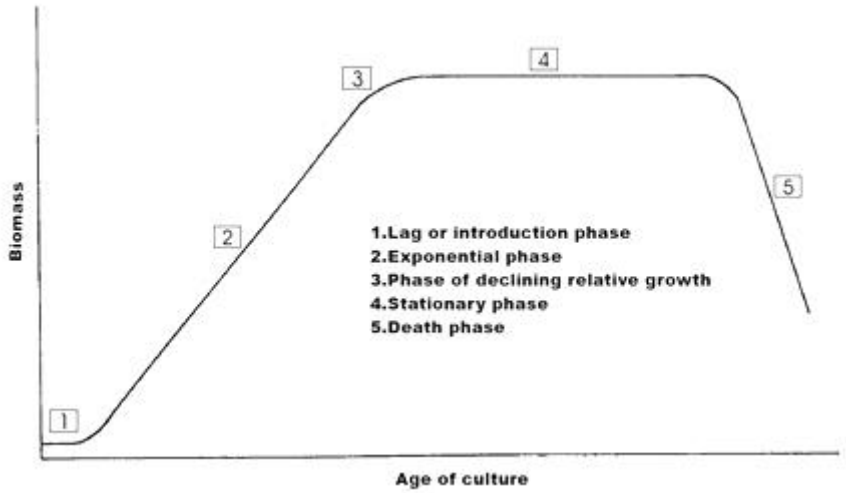
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 2.1 เซลล์จุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola*

2.2 การเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย

การเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ (Batch) โดยทั่วไปแล้วจะเป็นไปตามกราฟรูปตัว S โดยมีระยะ (Phase) ต่าง ๆ แบ่งออกเป็น 5 ระยะ ซึ่งจะอธิบายในส่วนต่อไป

2.2.1 กราฟทั่วไปของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบแบตช์



รูปที่ 2.2 กราฟการเติบโตของสาหร่าย [21]

การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายในช่วงแรกๆ เซลล์จะยังไม่ได้จำนวนมากนัก เมื่อเวลาผ่านไปสักระยะหนึ่ง ถึงจะเริ่มมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้นจะเริ่มช้าลงจนคงที่ และหลังจากนั้นเซลล์จะเริ่มมีจำนวนลดลงในที่สุด ทั้งนี้การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายมีลักษณะโค้งรูปตัว S (Sigmoid curve) โดยแบ่งออกได้ 5 ระยะ ตามรูปที่ 2.2 ระยะแรกคือระยะปรับตัว (Lag phase) เป็นช่วงที่เซลล์ปรับตัวให้คุ้นเคยต่อสิ่งแวดล้อม ระยะนี้จะยังไม่เกิดการแบ่งเซลล์ เซลล์ที่ไม่สามารถปรับตัวได้จะตายลง ระยะที่สอง คือ ระยะทวีคูณ (Exponential phase) หลังจากที่เซลล์ปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ได้แล้ว เซลล์จะเติบโตและแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว ลักษณะกราฟจะมีความชันมาก ระยะที่สาม คือ ระยะเฉื่อย (Phase of declineing relative growth) เป็นระยะที่เซลล์มีการเติบโตช้าลงเมื่อเทียบกับช่วงระยะทวีคูณ เนื่องจากขาดแคลนอาหารภายในระบบ หรืออาจเกิดจากเซลล์มีความหนาแน่นมากเกินไปทำให้เกิดการบดบังกันเอง (Auto-Shading) ระยะที่สี่ คือ ระยะคงที่ (Stationary Phase) เป็นช่วงที่การเติบโตของจุลสาหร่ายคงที่ เนื่องจากธาตุอาหารลดน้อยลง หรืออาจเกิดการสะสมของสารพิษบางอย่างในระบบ ระยะสุดท้าย คือ ระยะตาย (Death phase)

เมื่อธาตุอาหารในระบบหมดลงเซลล์จุลสาหร่ายก็จะหยุดการเจริญเติบโต และเริ่มตายลงในที่สุด [21] ในการคำนวณอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$m = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \qquad (2.1)$$

เมื่อ μ คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (d^{-1}) โดย N_1 และ N_2 คือ น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่ายที่เวลา t_1 และ t_2 ตามลำดับ

2.2.2 การสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่าย

แสงสว่างเป็นปัจจัยหนึ่งในการในการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย เนื่องจากจุลสาหร่ายได้พลังงานส่วนใหญ่มาจากกระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) การสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่ายจะใช้พลังงานจากแสงในช่วงคลื่นที่เรียกว่า Photosynthetically active radiation (PAR) ซึ่งมีความยาวคลื่น 400-700 nm พลังงานที่ได้จากแสงจะนำไปใช้ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในวัฏจักรคาลวิน (Calvin cycle) สมการโดยภาพรวมของการสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่ายแสดงในสมการที่ 2.2 ทั้งนี้ การให้สภาวะแสงที่ไม่อยู่ในระดับที่เหมาะสม อาจจะส่งผลด้านลบต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย เช่น สาหร่ายที่ได้รับแสงที่มีความเข้มต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมทำให้สาหร่ายมีการเติบโตช้า ในขณะที่ความเข้มแสงที่สูงมากเกินไป อาจทำให้เกิดสภาวะการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (Photoinhibition) เนื่องจากความเข้มแสงที่มากเกินไป

$$6CO_2 + 12H_2O \longrightarrow [CH_2O]_6 + 6H_2O + 6O_2 \qquad (2.2)$$

เซลล์ที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้จะต้องมีรงควัตถุสำหรับการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งประกอบด้วยคลอโรฟิลล์และสารสีประกอบชนิดอื่น เซลล์จุลสาหร่ายจะมีคลอโรฟิลล์และสารสีประกอบอยู่ในคลอโรพลาสต์ ซึ่งเป็นแหล่งเกิดการสังเคราะห์ด้วยแสง คลอโรฟิลล์ชนิดต่าง ๆ มีสมบัติในการดูดพลังงานแสงแต่ละสีได้ต่างกัน มีรายงานว่าคลอโรฟิลล์ดูดแสงสีเขียวได้น้อยที่สุด แต่ดูแสงสีน้ำเงินได้ดี

ที่สุด และแสงสีแดงรองลงมา ยังแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นรงควัตถุที่พบได้ในจุลสาหร่ายทำหน้าที่ช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสงอีกด้วย [17,22] ซึ่งจะกล่าวถึงรงควัตถุในจุลสาหร่ายในส่วนต่อไป

ปฏิกิริยาในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เกิดขึ้น 2 ขั้นตอน ดังนี้
(1) ปฏิกิริยาที่ใช้แสง (Light reaction) เป็นปฏิกิริยาที่จะเกิดขึ้นได้ต้องมีแสงจากดวงอาทิตย์หรือแสงประดิษฐ์ก็ได้ และมีคลอโรฟิลล์เป็นตัวรับพลังงานในช่วงคลื่นที่เหมาะสม ทำให้คลอโรฟิลล์มีพลังงานเพิ่มขึ้น พลังงานที่เพิ่มขึ้นต้องมีมากพอที่จะทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลของคลอโรฟิลล์อยู่ในสภาวะกระตุ้น (Excited State) และถ้าได้รับพลังงานรังสีมากพออิเล็กตรอนจะหลุดออกมาจากโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ ซึ่งอิเล็กตรอนที่หลุดออกมาจากโมเลกุลของคลอโรฟิลล์อาจมีจำนวนมาก และจะมีสารรับและถ่ายทอดอิเล็กตรอนต่อไปเป็นทอดๆ (Electron transfer) ในขณะที่การถ่ายทอดอิเล็กตรอนนี้พลังงานของอิเล็กตรอนจะลดลง พลังงานที่ถูกปล่อยจะถูกนำไปสร้างสารประกอบ ATP และ ADP ในการบวนการโฟโตฟิสโฟริเลชั่น (Photophosphorylation) พลังงานอีกส่วนหนึ่งจะนำไปสร้าง NADPH + H^+ จาก $NADP^+$ (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)

สารสีในคลอโรพลาสต์ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ด้วยแสงนี้จะรวมกันเป็นหน่วยย่อย เรียกว่า หน่วยสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthetic unit) หรือควอนทาโซม (Quantasome) บนไทลาคอยด์ (Thylakoid) จะมีคลอโรฟิลล์รวมกันอยู่ประมาณ 400-600 โมเลกุล และจะมีคลอโรฟิลล์ เอ รูปพิเศษเป็นศูนย์กลางรวมรับพลังงานจากสารสีอื่น แล้วทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีรังสี เรียกคลอโรฟิลล์ เอ รูปพิเศษนี้ว่า ศูนย์ปฏิกิริยาเคมีรังสี (Photochemical reaction center) หน่วยสังเคราะห์ด้วยแสงแต่ละหน่วยประกอบด้วย Photosystem 2 ระบบ คือ Photosystem I หรือ PS I ซึ่งมี Pigment system I เป็นตัวรับพลังงานแสงในช่วงความยาวคลื่นสูงสุดที่ประมาณ 700 nm เมื่อได้รับพลังงานจากแสงจะทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกและส่งผ่านไปยังอิเล็กตรอนอื่น ๆ ไปยังอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย คือ Ferredoxin (Fdx) เพื่อนำไปใช้ในการสร้าง NADPH บางส่วนได้รับกลับคืนจากการที่อิเล็กตรอนที่หลุดออกไปวนย้อนกลับคือมาจากระบบ PS I อิเล็กตรอนอีกส่วนได้รับมาจากระบบ PS II ซึ่งหมายถึง Photosystem II ที่มี Pigment system II เป็นตัวรับพลังงานแสงสูงสุดในช่วงความยาวคลื่นที่ประมาณ 680 nm แต่ละระบบจะมีคลอโรฟิลล์ประมาณ 200-300 โมเลกุล เมื่อได้รับพลังงานจากแสง ทำให้อิเล็กตรอนหลุดออก และน้ำจะถูกทำให้แตกตัว ปล่อยอิเล็กตรอนออกมา และเคลื่อนที่ไปแทนอิเล็กตรอนที่หลุดออกไปจาก PS II อิเล็กตรอนที่หลุดจากคลอโรฟิลล์ที่ได้รับพลังงานนั้น จะมีศักยภาพในการรีดิวซ์หรืออาจจะเรียกว่ามีศักย์ทางรีดักชั่นสูงมาก จะทำให้เอนไซม์ทำงานดีขึ้นจนทำให้โมเลกุลของน้ำแตกตัวออกได้ โดยการออกซิไดซ์ให้น้ำกลายเป็นออกซิเจน (O_2) และไฮโดรเจนหรือโปรตอน (H^+) แสดงในสมการที่ 2.3 :

$H_2O \longrightarrow (½)O_2 + 2H^+ + 2e^-$ (2.3)

อิเล็กตรอนที่ได้จากการแตกตัวของน้ำ ดังสมการข้างต้นจะเข้าไปแทนที่อิเล็กตรอนที่หลุดไปจาก PS II เนื่องจากได้รับพลังงานโฟตอนจากการถ่ายทอดคลอโรฟิลล์ที่อยู่รอบข้าง

(2) ปฏิกิริยาที่ไม่ใช้แสง (Dark reaction) ปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นได้โดยไม่ต้องมีแสง เป็นกระบวนการต่อเนื่องจากปฏิกิริยาที่ใช้แสงในการที่จะเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้ผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาที่ใช้แสง คือ NADPH + H^+ และ ATP ให้ไปเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรต ปฏิกิริยานี้ยังมีชื่อเรียกอีก 2 ชื่อ คือ คาร์บอนไดออกไซด์ ฟิกเซชั่น (Carbondioxide fixation) และวัฏจักรเคลวิน-เบนสัน (Calvin-Benson cycle) ซึ่งถูกค้นพบในปี พ.ศ.2492 พบว่าสารที่มาเป็นตัวรับ CO_2 คือ RDP (Ribulose disphosphate) ส่วน PGA (phosphoglyceric acid) เป็นสารชนิดแรกที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาไม่ใช้แสง [22]

2.2.3 ปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorococcum*

การเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ตารางที่ 2.1 สรุปปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* ตารางที่ 2.2 สรุปงานวิจัยที่ผ่านมาของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสีเขียวโดยการใช้ความยาวคลื่นแสงต่าง ๆ และตารางที่ 2.3 สรุปงานวิจัยที่ผ่านมาของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสีเขียวโดยการใช้ค่าอัตราไหลอากาศต่าง ๆ การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum* แบบแบตช์

ตารางที่ 2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorococcum*

ปัจจัย	ค่าที่เหมาะสม	หมายเหตุ	อ้างอิง
อุณหภูมิ	25 – 45 °C	อุณหภูมิที่น้อยไปอาจส่งผลให้สาหร่ายเติบโตช้า, อุณหภูมิที่มากไปจะทำให้จุลสาหร่ายตายได้	[6] [23] [24]
แสงสว่าง	1,000 – 10^5 lux	ทั้งนี้ความเข้มแสงขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ของการเพาะเลี้ยง	[6] [24]
ไนโตรเจน	0-0.247 g/L	สารอาหารที่จำเป็นของจุลสาหร่ายในการเติบโต	[23] [24]
การให้อากาศ	0.58 vvm	ให้อากาศที่เพียงพอและช่วยให้ของเหลวในถังปฏิกรณ์ผสมกันอย่างทั่วถึง ทำให้จุลสาหร่ายไม่จับตัวเป็นก้อนหรือเกิดการตกตะกอน เพราะจะส่งผลให้จุลสาหร่ายรับแสงได้ไม่เต็มที่	[8]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างงานวิจัยที่ผ่านมาของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสีเขียวโดยการใช้ความยาวคลื่นแสงต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสีเขียวแบบแบตช์

ชนิดของจุลสาหร่าย	สภาวะ	สภาวะแสง	ผลการเพาะเลี้ยง	อ้างอิง
Nanno-chloropsis	- ขวดรูปชมพู่ 250 ml	แสงสีขาว-ความเข้มแสง 6000 mcd/LED, แสงสีแดงและแสงสีน้ำเงิน 680 และ 470 nm ตามลำดับ ความเข้มแสง 2000 mcd/LED	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเมื่อเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินให้ผลดีกว่าแสงสีแดงและแสงสีขาว 25.49% และ 10.34% ตามลำดับ	[15]
Chlorella vulgaris	- ถังใสขนาด 6 L	แสงสีขาว, แสงสีแดง (475 nm) และแสงสีน้ำเงิน)650 nm) ความเข้มแสง 276 μmol/m^2s	พบว่าในการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินให้ความเข้มข้นเซลล์ที่มากกว่าแสงสีอื่นมากกว่า 20% เมื่อเพาะเลี้ยงในระยะยาว (12 วันขึ้นไป)	[17]
Chlorella sp.	- ปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอมลัมน์เติมอากาศ 2 L	แสงสีแดง (650-680 nm), แสงสีน้ำเงิน (440-470 nm) และแสงสีเขียว (510-540 nm) ความเข้มแสง 2,000 lux	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเมื่อใช้แสงสีแดง น้ำเงิน เขียว เท่ากับ 1.08 0.60 0.38 ต่อวัน ตามลำดับ การเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงส่งผลดีต่อชีวมวลมากที่สุด	[16]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่ผ่านมาของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสีเขียวโดยการใช้ความยาวคลื่นแสงต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสีเขียวแบบแบตช์ (ต่อ)

ชนิดของจุลสาหร่าย	สภาวะ	สภาวะแสง	ผลการเพาะเลี้ยง	อ้างอิง
*Tetraselmis sp .*และ *Nanno-chloropsis sp.*	- ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร	แสงสีแดง (660-700 nm) แสงสีน้ำเงิน (420-450 nm) ความเข้มแสง 100 μmol/m^2s	แสงสีน้ำเงินส่งผลต่อเจริญเติบโตได้ดีกว่าการให้แสงสีแดง จากการวัดผล Absorbance แล้ว พบว่าการให้แสงสีน้ำเงินได้ค่า Abs สูงกว่า	[25]
Chlorella vulgaris	- ขวดรูปชมพู่ 1,000 มิลลิลิตร	แสงสีขาว,แสงสีแดง (660 nm) ,แสงสีน้ำเงิน (450 nm) ความเข้มแสง 100 μmol/m^2s	การให้แสงสีน้ำ ก่อน 2 วัน แล้วให้แสงสีแดง 3 วันส่งผลให้ชีวมวลเพิ่มขึ้น 18 - 20% เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว	[18]
H. pluvialis	- ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร	แสงสีแดง (660 nm) , แสงสีน้ำเงิน (450 nm) ความเข้มแสง 150 μmol/m^2s	การเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงให้จำนวนเซลล์ที่มากกว่าแสงสีน้ำเงินถึง 1.5 เท่า และการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงแล้วจึงให้แสงสีน้ำเงินในวันที่ 7 พบว่าปริมาณแอสตาแซนทิน แซนทินที่ได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงแบบให้แสงสีแดงสีเดียว (35 ppm และ 20 ppm ตามลำดับ)	[19]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ผ่านมาของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสีเขียวโดยการใช้ค่าอัตราไหลอากาศต่าง ๆ การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum* แบบแบตช์

อัตราไหลอากาศ (L/min)	**สภาวะ**	**ผลการเพาะเลี้ยง**	**อ้างอิง**
0.97, 2.3 (0.25, 0.58 vvm)	- เพาะเลี้ยงในร่ม - ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกปริมาตร 4 L	- ในการเพาะเลี้ยงโดยใช้อัตราไหลของอากาศ 0.97 และ 2.3 L/min ได้น้ำหนักแห้งในวันที่ 11 เท่ากับ 257 และ 1,008 mg/L ตามลำดับ - ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกเมื่อใช้อัตราไหลสูงทำให้จุลสาหร่ายฟุ้งกระจายในของเหลวได้ดีและสามารถรับแสงได้อย่างทั่วถึง	[8]
3.0, 6.0 (1.1, 2.1 vvm)	- เพาะเลี้ยงในร่ม - ขวดรูปชมพู่ 2.8 L	- พบว่าให้อัตราไหลอากาศที่มากให้ผลอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะโดยรวมมากกว่า ซึ่งเท่ากับ 0.12 ต่อวัน และ 0.15 ต่อวัน เมื่อให้อัตราไหลของอากาศ 3.0 และ 6.0 L/min ตามลำดับ	[26]
3.0, 6.0 (1.1, 2.1 vvm)	- เพาะเลี้ยงกลางแจ้ง - ขวดรูปชมพู่ 2.8 L	- ได้ผลอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะโดยรวมเท่ากับ 0.07 ต่อวัน และ 0.10 ต่อวัน เมื่อให้อัตราไหลของอากาศ 3.0 ลิตร/นาที และ 6.0 L/min ตามลำดับ - การเพิ่มอัตราไหลของอากาศส่งผลดีต่อการเพิ่มขึ้นของชีวมวลจุลสาหร่าย *Chlorococcum*	

2.3 รงควัตถุ (Pigment)

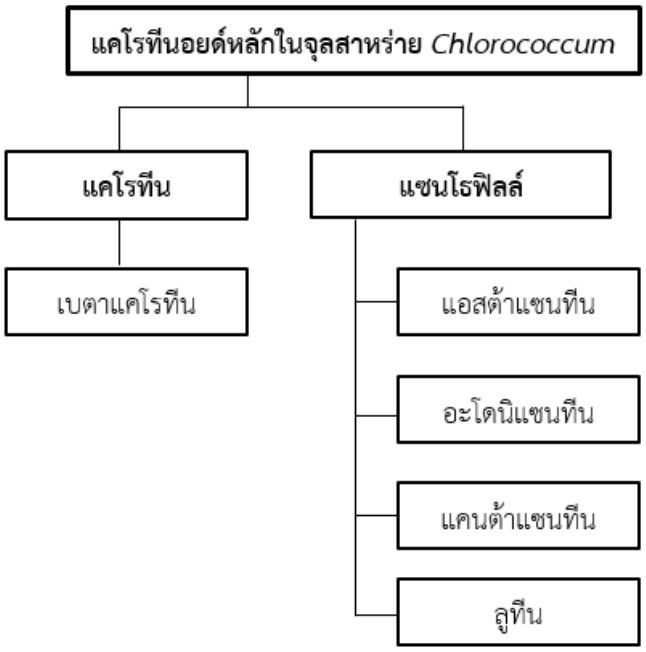
2.3.1 ข้อมูลทั่วไปของรงควัตถุในจุลสาหร่าย *Chlorococcum*

รงควัตถุหลักในจุลสาหร่ายสีเขียว *Chlorococcum* แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) และแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) คลอโรฟิลล์ เป็นรงควัตถุสีเขียวในคลอโรพลาสต์พบได้ในพืชและจุลสาหร่ายทั่วไป เป็นแหล่งเกิดการสังเคราะห์ด้วยแสงของจุลสาหร่าย คลอโรฟิลล์ดูดแสงในช่วงคลื่นแถบสีน้ำเงินและสีแดงได้ดีกว่าช่วงความยาวคลื่นอื่นๆ ส่วนช่วงคลื่นสีเขียวคลอโรฟิลล์ดูดกลืนแสงได้น้อยที่สุด จึงให้เรามองเห็นสีคลอโรฟิลล์เป็นสีเขียว ปัจจุบันมีการสกัดคลอโรฟิลล์จากจุลสาหร่าย และได้รับความนิยมทางเศรษฐกิจในการนำไปผลิตเป็น อาหาร ยา และเครื่องสำอางค์ คลอโรฟิลล์แบ่งย่อยออกเป็นชนิดต่างๆ ได้แก่ คลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์ บี (Chlorophyll b) เป็นต้น [27]

รงควัตถุอีกชนิด คือ แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่มีสีเหลือง สีส้ม และสีแดง สามารถพบได้ในจุลสาหร่ายหลายชนิด จะแคโรทีนอยด์แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มแคโรทีน ซึ่งประกอบไปด้วย แอลฟาแคโรทีน (Alpha-carotene) เบตาแคโรทีน (Beta-carotene) และ ไลโคปีน (Lycopene) เป็นต้น อีกกลุ่มหนึ่งคือ แซนโธฟิลล์ (Xanthophyll) ซึ่งมีอยู่หลายชนิดด้วยกัน ชนิดที่มีมากคือ ลูเทอิน (Lutein), แอสตาแซนทิน แซนทีน (Astaxanthin), ซีแซนธิน (Zeaxanthin), ไวโอโลแซนธิน (Violoxanthin) และนีโอแซนธิน (Neoxanthin) [27] สารสีแคโรทีนอยด์ถูกนำไปใช้งานด้านต่าง ๆ ได้แก่ อาหารเสริม สารต้านมะเร็ง สารกระตุ้นเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ส่วนผสมอาหารสำหรับสัตว์ปีกเพื่อให้ได้ไข่แดงที่มีสีสวย และส่วนผสมอาหารสำหรับสัตว์น้ำเพื่อกระตุ้นให้สัตว์น้ำมีสีสันที่สวยงาม [1,28,29] มีรายงานว่าจุลสาหร่ายสีเขียว เช่น *Chlorella, Haematacoccus* และ *Chlorococcum* เกิดการสะสมแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์มากขึ้นเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะเครียด [24,27]

2.3.2 แคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum*

จากงานวิจัยที่ผ่านมารายงานพบองค์ประกอบแซลล์จุลสาหร่าย *Chlorococcum* จำพวกแคโรทีนอยด์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เบตาแคโรทีน ซึ่งอยู่ในจำพวกแคโรทีน นอกจากนี้ยังมี แอสตาแซนทิน อะโดนิแซนทีน แคนต้าแซนทีน และลูทีน ซึ่งอยู่ในจำพวกแซนโธฟิลล์ มีรายงานว่าจุลสาหร่าย Chlorococcum มีการสะสมแคโรทีนอยด์ภายในคลอโรพลาสต์และไซโทพลาซึม [6] รูปที่ 2.3 แสดงแคโรทีนอยด์หลักในจุลสาหร่าย *Chlorococcum*



รูปที่ 2.3 แคโรทีนอยด์หลักที่ตรวจพบในจุลสาหร่าย *Chlorococcum* [3,30]

2.3.3 ผลของความเข้มแสงต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum*

มีรายงานว่าเมื่อเซลล์มีความเครียดมากขึ้นจะส่งผลให้เซลล์สะสมแคโรทีนอยด์มากขึ้น ความเข้มแสงเป็นปัจจัยที่ส่งผลให้เซลล์มีความเครียดได้ โดยแคโรทีนอยด์มีบทบาทในการป้องกันเซลล์จากการเสียสภาพเนื่องจากอยู่ในสภาวะเครียด ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนที่ 1 เกิดขึ้นในช่วง 0 - 8 ชั่วโมง ซึ่งในขั้นตอนนี้มีการเพิ่มขึ้นของ Primary และ Secondary carotenoid จะทำหน้าที่ในการป้องกันการเกิด Photo-oxidation ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มแสงที่จุลสาหร่ายได้รับด้วย

ขั้นตอนที่ 2 เกิดขึ้นในช่วง 4-12 ชั่วโมง เซลล์จะสะสม Secondary carotenoid เพิ่มมากขึ้น ส่วน Primary carotenoid มีปริมาณค่อนข้างคงที่ และขั้นตอนที่ 3 ตั้งแต่ช่วงระยะเวลา 12 ชั่วโมงเป็นต้นไป Secondary carotenoid จะเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ในขณะที่ Primary carotenoid ลดลง [31] ตารางที่ 2.4 สรุปงานวิจัยที่ผ่านมาของความเข้มแสงที่มีผลต่อแคโรทีนอยด์ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum*

ตารางที่ 2.4 งานวิจัยที่ผ่านมาของความเข้มแสงที่มีผลต่อแคโรทีนอยด์ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum*

ความเข้มแสง (lux)	**สภาวะ**	**ผลการเพาะเลี้ยง**	**อ้างอิง**
3,500 – 100,000	- เพาะเลี้ยงในร่ม - ขวด Duran 2 ลิตร เรียงต่อกัน 5 ขวด	- เพาะเลี้ยงแบบระบบต่อเนื่อง ความเข้มแสง 3,500 50,000 และ 100,000 พบว่าได้ค่าการผลิตชีวมวล 154 214 และ 299 mg/L/day ตามลำดับ และได้ค่าการสะสมของแคโรทีนอยด์ 0.22 0.49 0. 57 mg/L/day ตามลำดับ - ความเข้มแสงมากที่สุด 100,000 lux ให้ผลการเติบโตและแคโรทีนอยด์ที่ดีที่สุด	[8]
3,000 - 21,000	- เพาะเลี้ยงในร่ม - ขวดรูปชมพู่ 210 cm^3	- ให้ค่าความเข้มแสง 3,000 6,000 9,000 21,000 lux พบว่าค่าการผลิตแคโรทีนอยด์มีคาประมาณ 0.24 2.88 3.12 2.16 wt%DW/day ตามลำดับ การเพิ่มความเข้มแสงส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ แต่ความเข้มแสงที่มากเกินอาจส่งผลทางลบได้ โดยที่ความเข้มแสง 9,000 lux ให้ค่าผลผลิตแคโรทีนอยด์ที่มากที่สุด	[32]

2.4 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง (Photobioreactor)

ในระดับห้องปฏิบัติการนั้น มักใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบระบบปิด ซึ่งประกอบไป 3 วัฏภาค ได้แก่ - วัฏภาคของเหลว : อาหารของจุลสาหร่าย

- วัฏภาคของแข็ง : เซลล์ของจุลสาหร่าย

- วัฏภาคแก๊ส : อากาศ

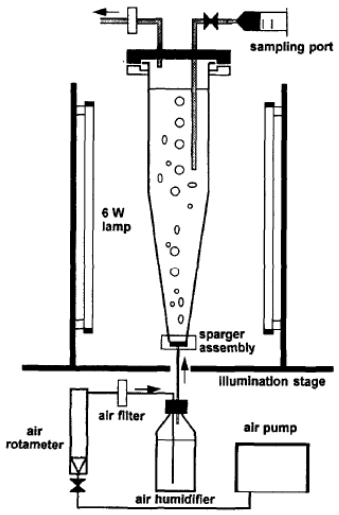
ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงมีหลายรูปแบบ รูปแบบที่นิยมใช้ในกาะเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายมีดังนี้

2.4.1 รูปแบบของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง

ประเภทของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง สามารถแบ่งประเภทหลัก ๆ ได้ดังนี้

1. ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอมลัมน์เติมอากาศ (Bubble Column Photobioreactor

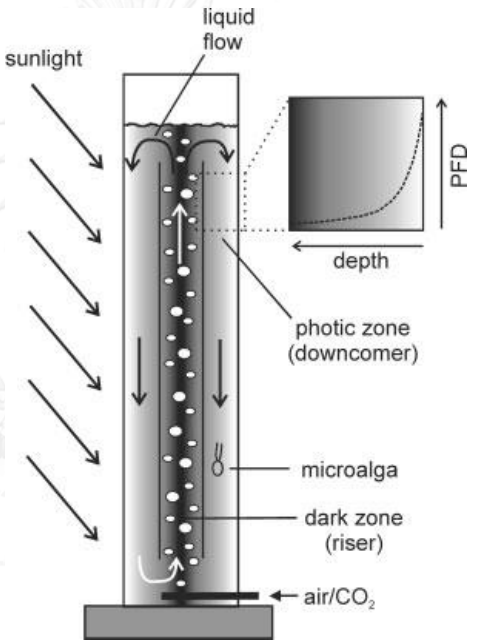
   ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงประเภทนี้จะมีลักษณะเป็นทรงกระบอกตามแนวตั้ง โดยมีหัวจ่ายอากาศติดอยู่ที่ก้นถัง เมื่อจ่ายฟองอากาศก็จะทำให้ของเหลวในถังปฏิกรณ์หมุนสวนกันแบบปั่นป่วน อย่างไรก็ตามการเพิ่มอากาศมากอาจทำให้เกิดฟองที่มากเกินไป ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ได้



รูปที่ 2.4 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอมลัมน์เติมอากาศ (Bubble Column Photobioreactor) [33]

2. ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก (Airlift Photobioreactor)

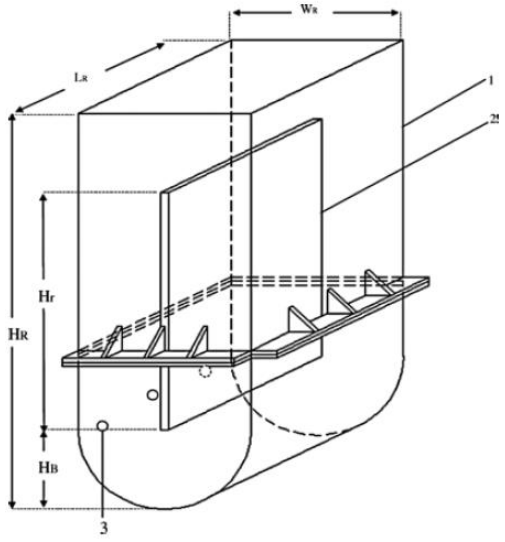
ลักษณะเด่นของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกนี้คือจะใช้ลมในการทำให้เกิดการผสม ซึ่งในถังปฏิกรณ์จะมีท่ออากาศยก (Draft tube) อยู่ตรงกลางของตัวถังปฏิกรณ์ เมื่อลมผ่านเข้าด้านในของท่อดราฟท์ทิวบ์ ลมจะลอยขึ้นด้านบน (Riser) แล้วส่งผลให้ของเหลวบางส่วนหมุนวนลงมาด้านนอกของท่อดราฟ์ทิวบ์ (Downcomer) ลงสู่ด้านล่างของถังก่อนที่จะเคลื่อนที่ขึ้นสู่ด้านบนอีกครั้ง ส่งผลให้เกิดการหมุนวนของของเหลวในถังปฏิกรณ์ ซึ่งในการไหลวนในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงประเภทนี้จะมีทิศทางที่แน่นอนกว่าแบบคอลัมน์เติมอากาศ



รูปที่ 2.5 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก (Airlift Photobioreactor) [34]

3. ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบน (Flat plate Photobioreactor)

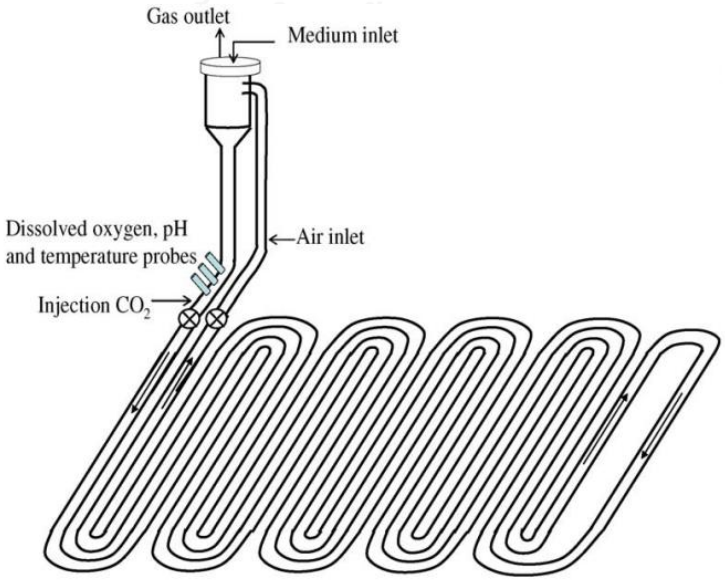
ตัวถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงนี้จะมีความหนาประมาณ 5 – 10 เซนติเมตร เพื่อไม่ให้เซลล์บดบังแสงกันเองและสามารถรับแสงได้อย่างทั่วถึง ทั่วไปจะแบ่งถังออกเป็น 2 ส่วน คือส่วน Riser และ Downcomer ซึ่งจะช่วยให้เกิดการไหลวนของของไหลในถังได้ดีและลดการจมตัวของเซลล์อีกด้วย



รูปที่ 2.6 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบแผ่นแบน (Flat plate Photobioreactor) [7]

4. ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบท่อ (Tubular Photobioreactor)

ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบท่อนี้มักนิยมสำหรับเลี้ยงสาหร่ายกลางแจ้งเพราะมีพื้นที่รับแสงที่มาก โดยสามารถติดตั้งได้ทั้งแนวนอนหรือแนวเอียง อาจใช้ระบบการหมุนวนของเหลวโดยเครื่องสูบน้ำหรือแบบอากาศยกก็ได้ แต่ถังปฏิกรณ์ชนิดมีค่าการถ่ายโอนออกซิเจนค่อนข้างต่ำ จึงมักจะเกิดปัญหาเวลาขยายขนาดให้ใหญ่ขึ้น



รูปที่ 2.7 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบท่อ (Tubular Photobioreactor) [35]

เซลล์จุลสาหร่ายมีความหนาแน่นที่มากกว่าน้ำ จึงส่งผลให้เซลล์จมลงสู่ก้นถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง พฤติกรรมนี้อาจส่งผลดีในขั้นตอนการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ก่อนนำไปสกัดผลิตภัณฑ์และทำให้บริสุทธิ์ แต่ในการเพาะเลี้ยงนั้น เมื่อเซลล์จมอยู่ที่ก้นถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง จะส่งผลให้เซลล์ได้รับอาหารและแสงที่ไม่เพียงพอ เป็นผลเสียต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ อีกทั้งจุลสาหร่าย *Chlorococcum* มีขนาดเซลล์ที่ค่อนข้างใหญ่ ซึ่งมีขนาดเซลล์ประมาณ 7.8 - 15.2 ไมโครเมตร [36] ทำให้เกิดปัญหาการจมตัวสู้ก้นถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง [8] ตารางที่ 2.3 สรุปข้อดีและข้อจำกัดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแต่ละรูปแบบ และตารางที่ 2.4 สรุปงานวิจัยที่ผ่านมาของการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอย์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดต่าง ๆ

2.4.2 ข้อดีและข้อจำกัดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแต่ละรูปแบบ

ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแต่ละรูปแบบมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกันไป ตารางที่ 2.5 สรุปข้อดีและข้อจำกัดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแต่ละรูปแบบ

ตารางที่ 2.5 ข้อดีและข้อจำกัดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแต่ละรูปแบบ

รูปแบบ	ข้อดี	ข้อจำกัด	อ้างอิง
Bubble Column	- ต้นทุนต่ำ - ทำความสะอาดง่าย	- ต้องใช้อัตราไหลอากาศสูงเพื่อให้ของเหลวผสมกันได้ดี	[8]
Airlift with draft tube	- ใช้อัตราไหลอากาศที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับ Bubble Column	- ทำความสะอาดยาก	[8]
Tubular	- เหมาะสำหรับเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง	- เกิดผลต่างของ pH, DO, CO_2 ตามแนวท่อ - ทำความสะอาดยาก	[37,38]
Flat plate	- เหมาะสำหรับเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง	- เกิดปัญหาในการขยายขนาดเพราะต้องใช้อัตราไหลที่มาก	[39]

2.4.3 รูปแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum*

ตารางที่ 2.6 งานวิจัยที่ผ่านมาของการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอย์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดต่าง ๆ

ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง	ขนาด	สภาวะ	ผลการเพาะเลี้ยง	อ้างอิง
Air-lift with draft tube	- ปริมาตร 4 L - เส้นผ่านศูนย์กลางท่อ/ท่อใน 10 cm/5 cm - ความสูงของท่อ/ความสูงท่อใน 55 cm /25 cm - AD/AR = 3.87	- เพาะเลี้ยงในร่ม - ความเข้มแสง 5,000-10^5 lux - อัตราไหลอากาศ 0.97-2.3 L/นาที	- ที่อัตราไหลอากาศ 2.3 L/min ให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 1,008 mg/L - แคโรทีนอยด์ 5.54 mg/L	[8]
Tubular	- ปริมาตร 50 L - ความยาว 2 m จำนวน 10 ท่อ - เส้นผ่านศูนย์กลางท่อด้านใน 48.5 mm	- เพาะเลี้ยงกลางแจ้ง - ความเข้มแสง 10,800 lux - คงปริมาณอ็อกซิเจนที่ละลาย 20 mg/L	- อัตราการเติบโตจำเพาะของวันแรกและวันที่สอง เท่ากับ 1.34 และ 1.22 ต่อวัน ตามลำดับ - แคโรทีนอยด์ 4.88 mg/L	[40]

ตารางที่ 2.6 (ต่อ) งานวิจัยที่ผ่านมาของการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอย์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum* โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดต่าง ๆ

ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง	ขนาด	สภาวะ	ผลการเพาะเลี้ยง	อ้างอิง
Tubular	- ปริมาตร 10 L - ความยาว 1 m จำนวน 34 ท่อ - เส้นผ่านศูนย์กลางท่อด้านใน 12 mm	- เพาะเลี้ยงกลางแจ้ง - ความเข้มแสง 32,400 lux - อัตราไหลอากาศ 2 L/min	- น้ำหนักชีวมวลสูงสุด 8.8 g/L - แคโรทีนอยด์ 41.8 mg/L	[5]
Flat-panel	- ปริมาตร 1.4 ลิตร - สูง 50 มิลลิเมตร - ความยาว 380 มิลลิเมตร	- เพาะเลี้ยงในร่ม - ความเข้มแสง 148,000 ลักซ์ - อัตรการไหลของอากาศ 3 vvm	- อัตราการผลิตชีวมวล 380 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (เพาะเลี้ยงความเข้มข้นเซลล์แบบ Ultrahigh)	[13]
Flask with bubbling gas	- ขวดรูปชมพู่ขนาด 300 ml - ปริมาตร 210 ml	- เพาะเลี้ยงในร่ม - ความเข้มแสง 1,000 lux - อัตราไหลอากาศ 0.1 L/min - ทำการทดลองช่วงอุณภูมิ 8-28°C	- อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด 3.41 ต่อวัน ณ อุณหภูมิ 25 °C	[41]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การเพาะหัวเชื้อจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola*

หัวเชื้อจุลสาหร่าย *C. humicola* (TISTR Number : 8461) ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการของศูนย์เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สารอาหารที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นสูตรมาตรฐาน BG-11 (ตารางที่ 3.1) [42] ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการเตรียมหัวเชื้อจุลสาหร่าย *C. humicola* ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในขวดรูปชมพู่ในอัตราส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 ต่อหัวเชื้อจุลสาหร่ายเท่ากับ 9:1 โดยปริมาตร จากนั้นนำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 – 5,000 ลักซ์ โดยให้ความยาวคลื่นแสงในการเพาะหัวเชื้อ ได้แก่ สีน้ำเงินที่ความคลื่นแสง 460 nm สีแดงที่ความยาวคลื่นแสง 639 nm และสีขาวที่ความยาวคลื่นแสงระหว่าง 442 – 655 nm ในระหว่างทำการวิจัยได้เปลี่ยนถ่ายหัวเชื้อทุกสัปดาห์เพื่อให้มีปริมาณเพียงพอ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 3.1 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 สำหรับเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* [42]

ส่วนประกอบ	**กรัม/ลิตร**
$NaNO_3$	1.500
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	0.040
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.075
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.036
Na_2CO_3	0.020
Citric acid	0.006
Ferric ammonium citrate	0.006
EDTA	0.001
Trace metal mix A5	1 มิลลิลิตร
ส่วนประกอบของ Trace metal mix A	
H_3BO_3	2.860
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.810
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.390
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.222
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.079
$(NO_3)_2 \cdot 6H2O$	0.050

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2 การศึกษาเบื้องต้นถึงผลของความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola*

หลังจากฆ่าเชื้อขวด Duran ขนาด 1 ลิตร และสารอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 ด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้ว จึงนำจุลสาหร่าย *C. humicola* ปริมาตร 0.1 ลิตร ที่เตรียมไว้จากขั้นตอนที่ 3.1 เติมลงขวดแก้ว Duran และเติมสารอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11

ปริมาตร 0.9 ลิตร เพื่อให้ได้ปริมาตรทั้งหมด 1 ลิตร ให้อากาศแก่ระบบโดยผ่านตัวกรอง Gelman Acrodisc 50 ซึ่งมีขนาดรูพรุนเฉลี่ยเท่ากับ 0.2 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหลของอากาศ 0.8 ลิตรต่อนาที ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* แบบแบตช์ ณ อุณหภูมิห้องในช่วง 28 – 32 องศาเซลเซียส ควบคุมความเข้มแสงจากหลอด LED ที่ 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง โดยในส่วนนี้จะให้แสงสีแดง (639 nm) สีน้ำเงิน (460 nm) และสีขาว (442 – 655 nm) ในการเพาะเลี้ยง โดยชุดการทดลองที่ T1 (n = 3) ได้เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายด้วยแสงสีขาวจากหัวเชื้อซึ่งเตรียมด้วยแสงสีขาวเช่นกัน ในชุดการทดลองที่ T2 (n = 3) ได้เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมด้วยแสงสีขาว ในชุดการทดลองที่ T3 (n = 3) ได้เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายด้วยแสงสีน้ำเงินจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีน้ำเงิน ในชุดการทดลองที่ T4 (n = 3) ได้เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีแดง และในชุดการทดลองที่ T5 (n = 3) ได้เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายด้วยแสงสีน้ำเงินจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีน้ำเงิน ในระหว่างการเพาะเลี้ยงได้เก็บตัวอย่างน้ำจากขวด Duran มาในปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทุกวันเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักแห้ง คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต ตารางที่ 3.2 สรุปสภาวะในการศึกษาเบื้องต้นถึงผลของความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของจุลสาหร่าย *C. humicola*

ตารางที่ 3.2 สภาวะในการศึกษาผลเบื้องต้นของความยาวคลื่นของแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของจุลสาหร่าย *C. humicola* เบื้องต้น

การทดลอง	**ความยาวคลื่นระหว่างการเตรียมหัวเชื้อ**	**ความยาวคลื่นแสงระหว่างการเพาะเลี้ยง**	**ความเข้มแสง**
T1	สีขาว	สีขาว	5,000 ลักซ์
T2	สีขาว	สีแดง	5,000 ลักซ์
T3	สีขาว	สีน้ำเงิน	5,000 ลักซ์
T4	สีแดง	สีแดง	5,000 ลักซ์
T5	สีน้ำเงิน	สีน้ำเงิน	5,000 ลักซ์

3.3 การศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของ *C. humicola* ในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase)

นำหัวเชื้อจุลสาหร่าย *C. humicola* ปริมาตร 0.1 ลิตร ที่เตรียมไว้จากขั้นตอนที่ 3.1 เติมลงขวดแก้ว Duran ขนาด 1 ลิตร เติมสารอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว ปริมาตร 0.9 ลิตร เพื่อให้ได้ปริมาตรทั้งหมด 1 ลิตร ให้อากาศแก่ระบบผ่านตัวกรอง Gelman Acrodisc 50 ซึ่งมีขนาดรูพรุนเฉลี่ย 0.2 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหลของอากาศ 0.8 ลิตรต่อนาที ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* แบบแบตช์ที่อุณหภูมิห้องในช่วง 28 – 32 องศาเซลเซียส โดยแสงที่ใช้เพาะเลี้ยงในช่วงแรก (ระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ) จะเป็นแสงสีที่ให้ผลการเติบโตสูงสุดจากผลการทดลองส่วนที่ 3.2 และเมื่อเข้าสู่ระยะคงที่ได้เปลี่ยนความยาวคลื่นแสงดังนี้ (1) การทดลองชุดที่ T1 ใช้แสงสีแดง ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ (2) การทดลองชุดที่ T2 ใช้แสงสีน้ำเงินที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ (3) การทดลองชุดที่ T3 ใช้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ (4) การทดลองชุดที่ 4 ใช้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ (5) การทดลองชุดที่ T5 ใช้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ + แสงสีแดงที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ คิดเป็นความเข้มแสงรวม 101,000 ลักซ์ และ (6) การทดลองชุดที่ T6 ใช้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ + แสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ คิดเป็นความเข้มแสงรวม 100,800 ลักซ์ การกำหนดค่าตัวแปรแสงเพิ่มเติมในหน่วยวัตต์เนื่องจากต้องการเปรียบเทียบผลของแสงสีแดงและแสงสีน้ำเงินต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเมื่อใช้พลังงานไฟฟ้าเท่ากัน ระหว่างการเพาะเลี้ยงได้เก็บตัวอย่างน้ำจากขวด Duran แต่ละขวด ในปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทุกวัน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักแห้ง คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ตารางที่ 3.3 สรุปสภาวะในการศึกษาผลของความยาวคลื่นของแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola*

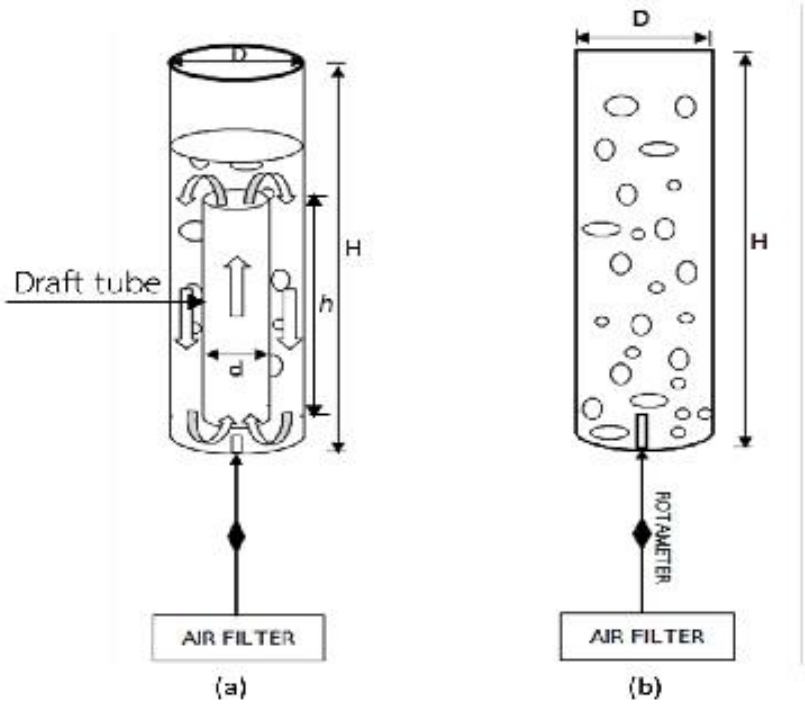
ตารางที่ 3.3 สภาวะในการศึกษาผลของความยาวคลื่นของแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* โดยมีการเปลี่ยนสีของแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่

การทดลอง	**ความยาวคลื่นแสงแรกในช่วง Lag และ Exponential Phase**	**ความยาวคลื่นแสงและความเข้มแสงในช่วง Stationary Phase**
T1	ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 3.2 (สีขาว 5,000 ลักซ์)	สีแดง 5,000 ลักซ์
T2	ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 3.2 (สีขาว 5,000 ลักซ์)	สีน้ำเงิน 5,000 ลักซ์
T3	ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 3.2 (สีขาว 5,000 ลักซ์)	สีขาว 5,000 ลักซ์
T4	ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 3.2 (สีขาว 5,000 ลักซ์)	สีขาว 100,000 ลักซ์
T5	ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 3.2 (สีขาว 5,000 ลักซ์)	สีขาว 10^5 ลักซ์ + สีแดง 6 วัตต์ (รวม 101,000 ลักซ์)
T6	ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 3.2 (สีขาว 5,000 ลักซ์)	สีขาว 100,000 ลักซ์ + สีน้ำเงิน 6 วัตต์ (รวม100,800 ลักซ์)

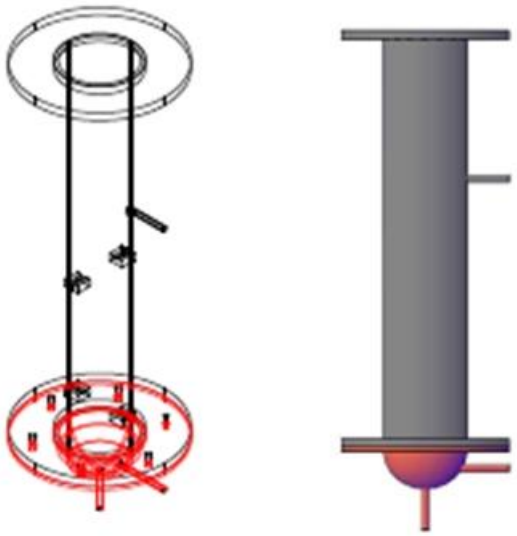
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.4 การศึกษารูปแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *C. humicola*

ในงานวิจัยนี้ใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง 2 แบบ คือ (1) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก และ (2) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอมลัมน์เติมอากาศ ซึ่งทำมาจากอะคริลิคใส ภาพของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแสดงตามรูปที่ 3.1 และรูปที่ 3.2 โดยตารางที่ 3.4 สรุปขนาดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงในงานวิจัยนี้



รูปที่ 3.1 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง (a) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก (b) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ [8]



รูปที่ 3.2 รูปสามมิติของแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 3.4 ขนาดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงในงานวิจัยนี้

ขนาด (cm)	**ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง แบบคอลัมน์เติมอากาศ**	**ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง แบบอากาศยก**
เส้นผ่านศูนย์กลางท่อ (*D*)	9	9
เส้นผ่านศูนย์กลางท่อใน (*d*)	-	4.4
ความสูงท่อ (*H*)	50	50
ความสูงท่อใน (*h*)	-	25
A_D/A_R*	-	3.18

*A_D/A_R คือ อัตราส่วนพื้นที่ที่ของเหลวไหลลงด้านนอกท่อในต่อพื้นที่ที่ของเหลวไหลขึ้นภายในท่อใน

ทำการเตรียมหัวเชื้อของจุลสาหร่าย *C. humicola* ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ซึ่งจะนำไปเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก และถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ ซึ่งภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 ปริมาตร 1.8 ลิตร (ปริมาตรรวม 2 ลิตร) ให้อากาศที่ผ่านตัวกรอง Gelman Acrodisc 50 ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้แสงขาวตลอดการทดลองที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ทำการทดสอบที่อัตราการไหลของอากาศที่ 1.2 ลิตรต่อนาที (0.6 vvm) ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวปริมาณ 10 มิลลิลิตรทุกวันเพื่อวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์

ศึกษาการฟุ้งกระจายของเซลล์จุลสาหร่ายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง โดยนำเซลล์จุลสาหร่ายที่มีความเข้มข้นน้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 450 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสง 5,000 ลักซ์ เติมลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก และถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศให้มีปริมาตร 2 ลิตร โดยใช้อัตราการไหลของอากาศ 0.2 0.6 1.2 1.6 และ 2.5 ลิตรต่อนาที (0.2 0.3 0.6 0.8 และ 1.25 vvm ตามลำดับ) เก็บตัวอย่างของเหลวที่ตำแหน่งใต้ผิวน้ำ 15 เซ็นติเมตร หลังจากเดินระบบจนคงที่ประมาณ 1 ชั่วโมง นำของเหลวมาวิเคราะห์ค่าความขุ่น (OD 680 nm)

3.5 การศึกษาผลของอัตราการไหลของอากาศต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola*

นำหัวเชื้อจุลสาหร่าย *C. humicola* ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้จากส่วนที่ 3.1 เติมลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงชนิดที่ให้ผลการเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุดจากส่วนที่ 3.4 และเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 ปริมาตร 1.8 ลิตร เพื่อให้ได้ปริมาตรทั้งหมด 2 ลิตร ทำการให้อากาศแก่ระบบโดยผ่านตัวกรอง Gelman Acrodisc 50 ซึ่งมีขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร โดยใช้อัตราการไหลของอากาศ 0.2 0.6 1.2 1.6 และ 2.5 ลิตรต่อนาที (0.2 0.3 0.6 0.8 และ 1.25 vvm ตามลำดับ) ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* แบบแบตช์ ให้แสงสีขาว ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ระหว่างการเพาะเลี้ยงได้เก็บตัวอย่างของเหลวจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทุกวันเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักแห้ง คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.6 การศึกษาผลของการประยุกต์ใช้สภาวะแสงและอัตราไหลของอากาศที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola*

นำหัวเชื้อจุลสาหร่าย *C. humicola* ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้จากส่วนที่ 3.1 เติมลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่ให้ผลการเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุดจากการทดลองส่วนที่ 3.4 และเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 ปริมาตร 1.8 ลิตร เพื่อให้ได้ปริมาตรทั้งหมด 2 ลิตร ให้อากาศแก่ระบบผ่านตัวกรอง Gelman Acrodisc 50 ซึ่งมีขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร ใช้สภาวะแสงดังนี้ (1) การทดลองชุดที่ T1 แสงสีขาว 5,000 ลักซ์ตลอดการทดลอง (2) การทดลองชุดที่ T2 แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง (3) การทดลองชุดที่ T3 ให้แสงสีขาว 5,000 ลักซ์ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ แล้วให้แสงสีขาว 10^{5} ลักซ์ + สีน้ำเงิน 6 วัตต์ (รวม 100,800 ลักซ์) ในช่วงระยะคงที่ และ (4) การทดลองชุดที่ T4 ให้แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ แล้วให้แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ + สีน้ำเงิน 6 วัตต์ (รวม 100,800 ลักซ์) ในช่วงระยะคงที่ โดยใช้อัตราการไหลของอากาศที่เหมาะสมจากการทดลองส่วนที่ 3.5 ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* แบบแบตช์ ระหว่างการทดลองได้เก็บตัวอย่างของเหลวจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทุกวันเพื่อวิเคราะห์ปริมาตรน้ำหนักแห้ง คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ตารางที่ 3.5 สรุปสภาวะในการศึกษาผลของการประยุกต์ใช้สภาวะแสงและอัตราไหลของอากาศที่เหมาะสม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 3.5 สภาวะในการศึกษาผลของการประยุกต์ใช้สภาวะแสงและอัตราไหลของอากาศที่เหมาะสมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ที่อัตราการไหลอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที

การทดลอง	ความยาวคลื่นแสงในช่วง Lag และ Stationary phase	ความยาวคลื่นแสงในช่วง Stationary phase
T1	แสงสีขาว 5,000 ลักซ์	แสงสีขาว 5,000 ลักซ์
T2	แสงสีขาว 100,000 ลักซ์	แสงสีขาว 100,000 ลักซ์
T3	แสงที่เหมาะสมจาก ส่วนที่ 3.3 (แสงสีขาว 5,000 ลักซ์)	แสงที่เหมาะสมจากส่วนที่ 3.3 (สีขาว 100,000 ลักซ์ + สีน้ำเงิน 6 วัตต์)
T4	แสงสีขาว 100,000 ลักซ์	แสงที่เหมาะสมจากส่วนที่ 3.3 (สีขาว 100,000 ลักซ์ + สีน้ำเงิน 6 วัตต์)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.7 การวิเคราะห์ผล

นำตัวอย่างของเหลวที่เก็บได้ในแต่ละวันมาวิเคราะห์ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ ทำได้โดยการนำตัวอย่างของเหลวมาแยกเซลล์จุลสาหร่ายและของเหลวออกจากกันโดยใช้การหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 rpm จากนั้นจึงนำของเหลวใสไปสกัดด้วยอะซิโตนและนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยแคโทรีนอยด์ได้ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร และคลอโรฟิลล์ได้ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 630 ถึง 665 นาโนเมตร โดยรายละเอียดสามารถศึกษาได้จากภาคผนวก ก ในส่วนของการเติบโตของจุลสาหร่ายได้ทำการวิเคราะห์โดยการหาน้ำหนักเซลล์แห้งจากการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll Determination) โดยสร้างกราฟมาตรฐานของคลอโรฟิลล์และน้ำหนักเซลล์แห้ง [43] ซึ่งรายละเอียดสามารถศึกษาได้จากภาคผนวก ข ข้อมูลการเติบโตที่ได้รับจะนำมาคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะ (μ) ได้จากสมการที่ 3.1 :

$$m = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \qquad (3.1)$$

เมื่อ μ คือ อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน) และ N_1 และ N_2 คือ น้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายที่เวลา t_1 และ t_2 ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์ไนเตรทและฟอสเฟตสามารถทำได้โดยนำตัวอย่างของเหลวมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman GF/C จากนั้นนำของเหลวไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต ในส่วนของไนเตรททำการวิเคราะห์โดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 220 และ 275 นาโนเมตร โดยใช้วิธี Ultraviolet Spectrophotometric Screening และในส่วนของฟอสเฟตทำการวิเคราะห์โดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 885 นาโนเมตร โดยใช้ Spectrophotometer (ภาคผนวก ค) [44] ในส่วนของความเข้มแสงนั้นได้ตรวจวัดโดยใช้เครื่อง Digicon-LX lux meter และในส่วนของการวัดความยาวคลื่นแสง (ภาคผนวก ฌ) ได้ดำเนินการโดยอาศัยการเลี้ยวเบนของแสงเมื่อผ่านเกรตติ้ง โดยใช้แผ่นเกรตติ้งที่มีความถี่ 13,400 เส้นต่อนิ้ว และคำนวณความยาวคลื่น (λ) ได้จากสมการที่ 3.2 :

$$d(\sin\theta) = n(\lambda) \qquad (3.2)$$

เมื่อ n = 1, 2, 3, ... และ λ คือ ความยาวของคลื่นแสง (nm) และ d คือ ระยะห่างระหว่างช่องของเกรตติ้ง (nm)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

4.1 ผลของการศึกษาเบื้องต้นถึงผลของความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola*

นำหัวเชื้อจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เตรียมไว้มาเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ในขวดแก้ว Duran ปริมาตร 1 ลิตร ที่เติมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการโดยให้ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ อย่างต่อเนื่อง ปริมาณเซลล์เริ่มต้นประมาณ 66 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลองโดยให้ความยาวคลื่นแสงต่างกัน ได้แก่ สีแดง (639 nm) สีน้ำเงิน (460 nm) และสีขาว (442 – 655 nm) เพื่อเปรียบเทียบผลของความยาวคลื่นแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ในการทดลองนี้ได้เปรียบเทียบผลของการใช้หัวเชื้อจุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงและสีน้ำเงินที่มีต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์

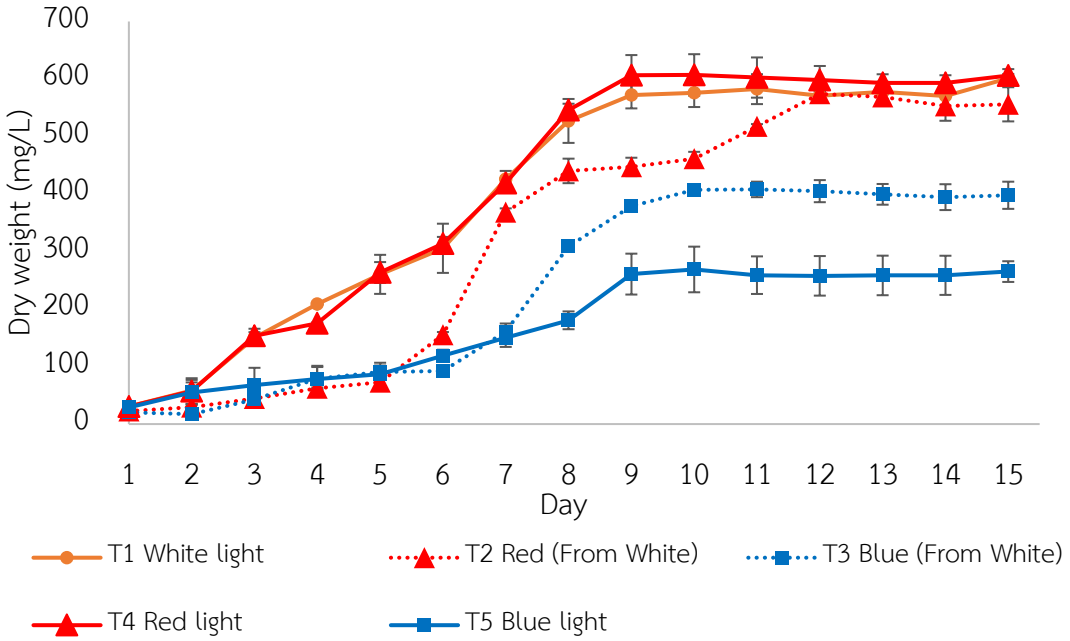
รูปที่ 4.1 แสดงการเติบโตของจุลสาหร่ายในรูปน้ำหนักแห้ง ผลการทดลองพบว่าจุลสาหร่ายมีการเติบโตเพิ่มมากขึ้น เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมโดยใช้แสงสีขาวพบว่ามีระยะปรับตัว (Lag phase) มากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีแดงประมาณ 3 - 4 วัน ซึ่งคาดว่าเป็นผลจากการที่เซลล์จุลสาหร่ายต้องปรับตัวสู่สภาวะแสงใหม่ หลังจากนั้นจุลสาหร่ายเริ่มเข้าสู่ระยะทวีคูณ (Exponential phase) และเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) และในวันสุดท้ายของการทดลองพบว่ามีน้ำหนักแห้งที่ใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีแดง ผลการวิเคราะห์น้ำหนักแห้งในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีแดงและสีขาวได้ 605 ± 11.48 และ 556 ± 29.69 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายจากการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินโดยใช้หัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีน้ำเงินและสีขาว พบว่าน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายที่เตรียมจากแสงสีขาวมีค่ามากกว่าการเตรียมจากแสงสีน้ำเงิน โดยมีน้ำหนักแห้งในวันสุดท้ายเท่ากับ 398 ± 23.64 และ 265 ± 23.64 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้แสงสีแดงและสีขาว จากการค้นคว้างานวิจัยที่ผ่านมายังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาถึงผลของความยาวคลื่นแสงต่อการเติบโตในจุลสาหร่าย *C. humicola* จึงได้นำผลการทดลองมา

เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ซึ่งเป็นจุลสาหร่ายสีเขียวเช่นเดียวกับ *C. humicola* โดยเปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยง *H. pluvialis* ด้วยแสงสีแดง (ความเข้มแสงประมาณ 2,750 ลักซ์) และแสงสีน้ำเงินท (ความเข้มแสงประมาณ 250 ลักซ์) ซึ่งพบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงให้จำนวนเซลล์ที่มากกว่าแสงสีน้ำเงินถึง 1.5 เท่า เนื่องจากแสงสีแดงช่วยกระตุ้นให้จุลสาหร่ายแบ่งเซลล์ได้ดีกว่าแสงสีน้ำเงิน [19]

เมื่อพิจารณาการเติบโตของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวพบว่าจุลสาหร่ายเติบโตขึ้นจนเข้าสู่ช่วงคงที่เมื่อประมาณวันที่ 8 ของการทดลอง และมีน้ำหนักแห้งในวันสุดท้ายเท่ากับ 601 ± 7.43 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับข้อมูลการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในขวด Duran ขนาด 2 ลิตร โดยใช้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 3,500 ลักซ์ ซึ่งให้น้ำหนักแห้ง 556 ± 29.69 มิลลิกรัมต่อลิตร [8] ทั้งนี้เมื่อทดสอบข้อมูลน้ำหนักแห้งของการการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงที่เตรียมหัวเชื้อจากแสงสีแดงและสีขาว (605 ± 11.48 และ 556 ± 29.69 มิลลิกรัมต่อลิตร) และน้ำหนักแห้งที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว (601 ± 7.43 มิลลิกรัมต่อลิตร) ด้วยวิธี One-Way ANOVA พบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05)

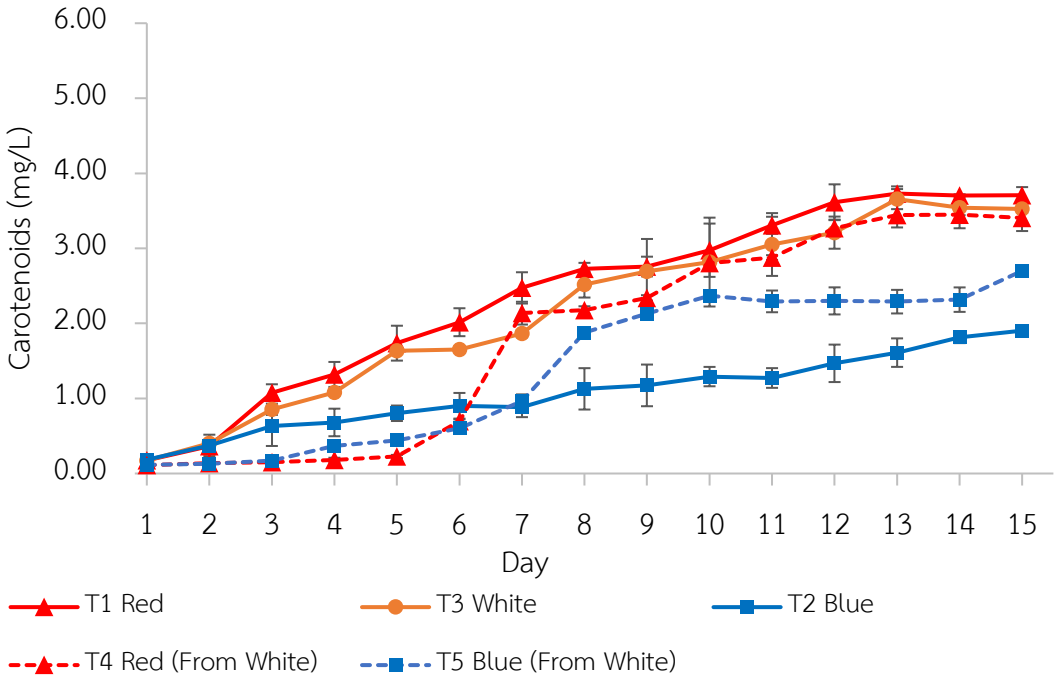
ข้อมูลอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ได้สำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมแสงสีแดงอยู่ในช่วงระหว่างวันที่ 2 ถึง 3 โดยมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.94 และ 0.98 ต่อวัน ตามลำดับ ส่วนการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินจากหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินพบว่ามีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเพียง 0.23 ต่อวัน ส่วนการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงและแสงสีน้ำเงินจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีขาวพบว่ามีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.86 และ 0.65 ต่อวัน ตามลำดับ จากการค้นคว้างานวิจัยที่ผ่านมาไม่พบการศึกษาผลของความยาวคลื่นแสงในจุลสาหร่าย *C. humicola* จึงนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของการศึกษาในจุลสาหร่าย *Chlorella sp*. ซึ่งเป็นจุลสาหร่ายสีเขียวเช่นเดียวกับ *C. humicola* การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorella sp.* โดยให้แสงสีแดง สีน้ำเงิน และสีเขียว ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดมีค่าเท่ากับเท่ากับ 1.08 0.60 และ 0.38 ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้รับซึ่งชี้ว่าแสงสีแดงส่งดีต่อการเติบโตของจุลสาหร่ายมากกว่าแสงสีน้ำเงิน [16] มีรายงานการเพาะเลี้ยง *H. pluvailis* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ ขนาด 2 ลิตร ด้วยแสงสีขาว มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.50 ต่อวัน [35] ซึ่งน้อยกว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่ได้จาก

การเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงและแสงสีขาวในการทดลองนี้ ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่สามารถเติบโตที่เติบโตได้เร็วกว่าจุลสาหร่าย *H. pluvailis*



รูปที่ 4.1 การเติบโตในรูปน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งเพาะเลี้ยงโดยใช้แสงสีแดง สีน้ำเงิน และสีขาว โดยเส้นทึบคือการเพาะเลี้ยงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีเดียวกัน และเส้นประคือการเพาะเลี้ยงด้วยหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีขาว

ปริมาณแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง สีน้ำเงิน และสีขาว แสดงในรูปที่ 4.2 ผลการทดลองพบว่าแนวโน้มของข้อมูลมีความคล้ายคลึงกับข้อมูลน้ำหนักแห้งในรูปที่ 4.1 โดยในวันสุดท้ายของการทดลอง จุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีน้ำเงินและสีขาวสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้เท่ากับ 1.90 ± 0.07 และ 2.70 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและสีแดง ในวันสุดท้ายของการทดลองการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ 3.53 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร และการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีแดงและสีขาวให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ 3.71 ± 0.11 และ 3.41 ± 0.18 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบข้อมูลปริมาณแคโรทีนอยด์ของการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว (3.53 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร) และการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีแดงและสีขาว (3.71 ± 0.11 และ 3.41 ± 0.18 มิลลิกรัมต่อลิตร) ด้วยวิธี One-Way ANOVA พบว่าค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

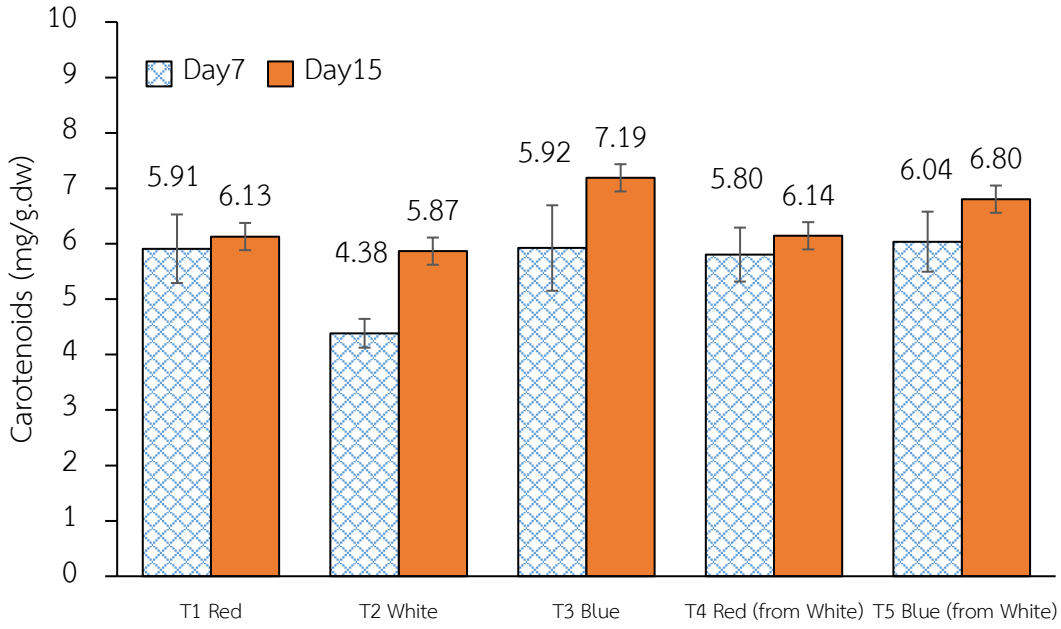


รูปที่ 4.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง สีน้ำเงิน และสีขาว โดยเส้นทึบคือการเพาะเลี้ยงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีนั้น และเส้นประคือการเพาะเลี้ยงด้วยหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เมื่อพิจารณาปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักแห้งจากการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในวันที่ 7 และ วันที่ 15 ของการทดลอง (รูปที่ 4.3) เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักแห้งเมื่อเวลาผ่านไปของการเพาะเลี้ยงด้วยแสงแต่ละสี พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักแห้งมีค่าเพิ่มขึ้นในการเพาะเลี้ยงด้วยแสงทุกสี โดยในการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวมีปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งจาก 4.38 ± 0.26 เป็น 5.87 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งของการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงและหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว เพิ่มขึ้นจาก 5.91 ± 0.62 และ 5.80 ± 0.49 เป็น 6.13 ± 0.29 และ 6.14 ± 0.50 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนังแห้ง ตามลำดับ ซึ่งถือว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งของวันที่ 7 และวันนที่ 15 ไม่ต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อคำนวณด้วยวิธี One-Way ANOVA ปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งของการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินจากหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินและหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว มีค่าเพิ่มจาก 5.92 ± 0.77 และ 6.04 ± 0.54 เป็น 7.19 ± 0.22 และ 6.80 ± 0.45 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

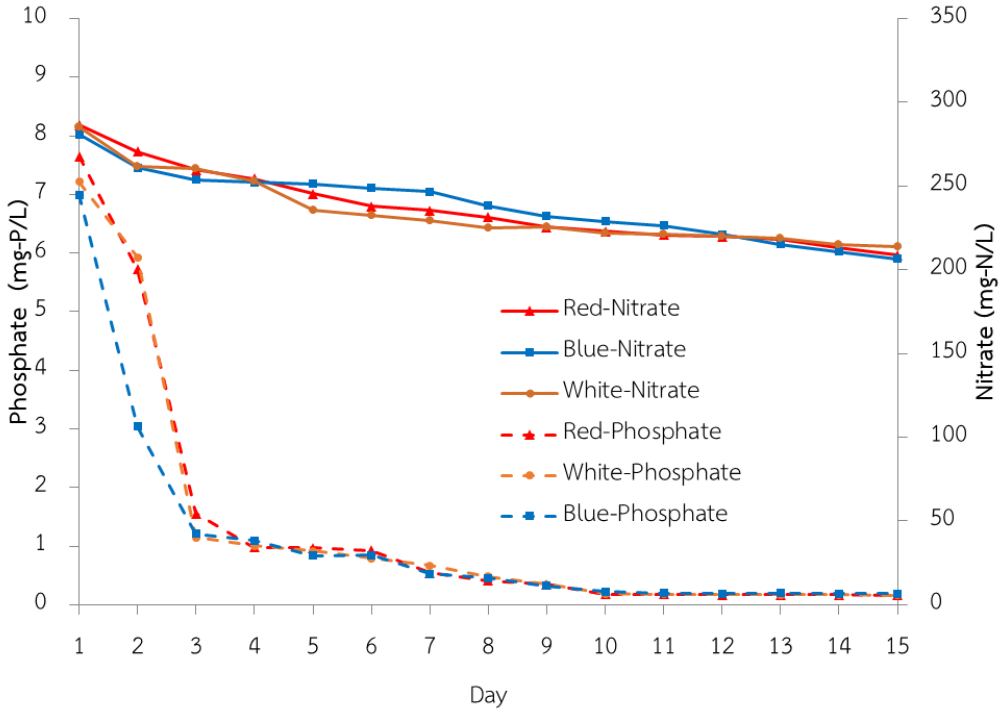
ตามลำดับ ถึงแม้ว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงิน ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุด แต่เมื่อพิจารณาปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อลิตรจากรูปที่ 4.2 พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อลิตรที่น้อยกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและแสงสีแดง เนื่องจากการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินทำให้จุลสาหร่ายเติบโตได้น้อย จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าในการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสงเท่ากัน (5,000 ลักซ์) แสงสีขาวและแสงสีแดงส่งผลดีต่อการเติบของจุลสาหร่าย *C. humicola* ได้มากกว่าแสงสีน้ำเงิน ในขณะที่แสงสีน้ำเงินส่งผลให้เซลล์จุลสาหร่ายเกิดความเครียดได้มากที่สุดแล้วกระตุ้นให้เกิดการสะสมแคโรทีนอยด์ในเซลล์จุลสาหร่ายได้มากกว่าแสงสีขาวและแสงสีแดง



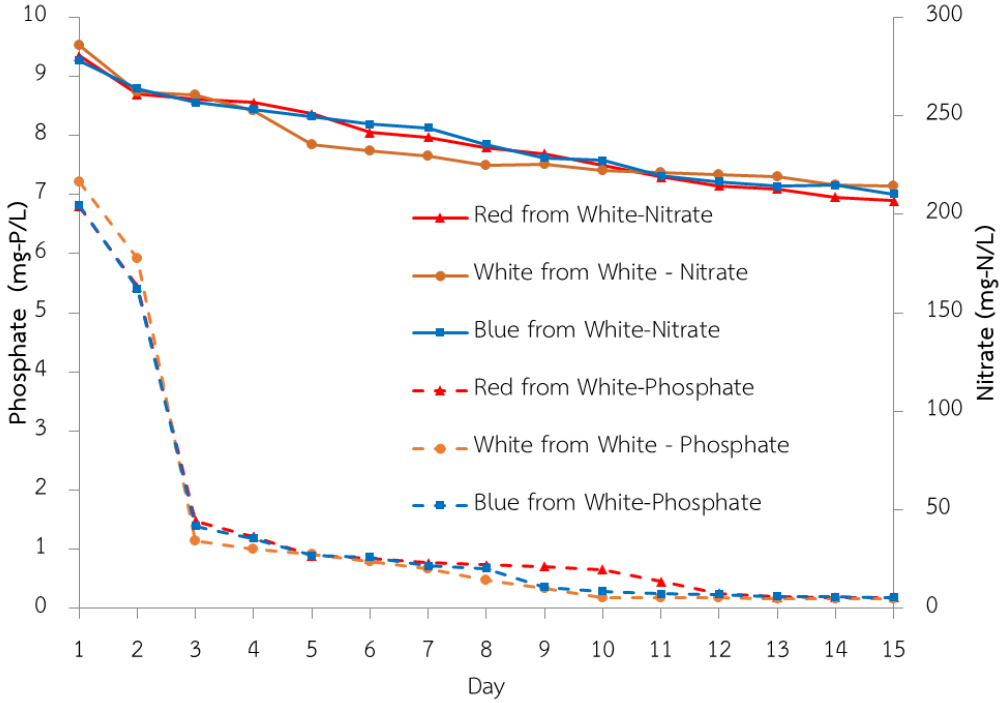
รูปที่ 4.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักแห้งจากเซลล์จุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง สีน้ำเงิน และสีขาว ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

เมื่อทำการตรวจวัดความเข้มข้นของสารอาหารหลัก ได้แก่ ไนเตรทและฟอสเฟต ตลอดการทดลอง พบว่าจุลสาหร่ายมีการใช้ไนโตรเจนในการเติบโต โดยความเข้มข้นของไนเตรทลดลงจากประมาณ 280 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร ในวันแรกของการเพาะเลี้ยง เหลือประมาณ 200 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในวันที่ 15 (ลดลง 29 เปอร์เซ็นต์) ในส่วนของฟอสเฟตได้ลดลงจากความเข้มข้นเริ่มต้นประมาณ 7 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร เหลือประมาณ 0.9 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ในวันที่ 5 จนกระทั่งสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง เมื่อพิจารณาข้อมูลการเติบโตของจุลสาหร่ายควบคู่กับความเข้มข้นของสารอาหารทำให้สรุปได้ปริมาณธาตุอาหารหลัก (ไนโตรเจน และ

ฟอสฟอรัส) ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 ยังคงมีเพียงพอและไม่ใช่ปัจจัยจำกัดของการเติบโตของจุลสาหร่าย *C. humicola* ข้อมูลความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟสที่ได้รับในการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองในงานวิจัยที่ผ่านมา ซึ่งเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกโดยให้แสงสีขาวและอาหารสูตร BG-11 [8] และเมื่อพิจารณาผลของคุณภาพแสงซึ่งพบว่าการใช้งานแสงสีต่างๆ รวมถึงการเตรียมหัวเชื้อจากแสงสีต่าง ๆ ไม่ได้ทำให้แนวโน้มของความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟสมีการเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ได้สังเกตพบว่ามีไนเตรทเหลืออยู่ในปริมาณมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (200 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร) ดังนั้นเพื่อป้องกันการสูญเสียไนเตรทซึ่งเป็นสารเคมีที่มีราคาสูงโดยไม่จำเป็น จึงเสนอแนะให้ปรับลดปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 ซึ่งการลดปริมาณไนเตรทอาจเป็นประโยชน์ต่อการสะสมแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *C. humicola* [8]



รูปที่ 4.4 ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* โดยใช้แสงสีแดง สีขาว และสีน้ำเงิน จากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีแดง สีขาว และสีน้ำเงิน ตามลำดับ



รูปที่ 4.5 ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* โดยใช้แสงสีแดง สีขาว และสีน้ำเงิน จากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีขาว

ข้อมูลจากการทดลองพบว่าการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีขาว และการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีแดง ให้ผลของการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีเป็น 2 อันดับแรก และเมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ด้วยเทคนิค One-Way ANOVA พบว่าค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่อพิจารณาถึงความสะดวกระหว่างการปฏิบัติการซึ่งทำได้ง่ายเมื่อใช้แสงสีขาว รวมถึงต้นทุนของการเพาะเลี้ยงในอนาคต จึงสรุปว่าการใช้แสงสีขาวมีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* มากกว่าแสงสีแดง และจะใช้แสงสีขาวเพื่อเพาะเลี้ยงในช่วง Lag และ Exponential Phase ในการทดลองที่เหลือ

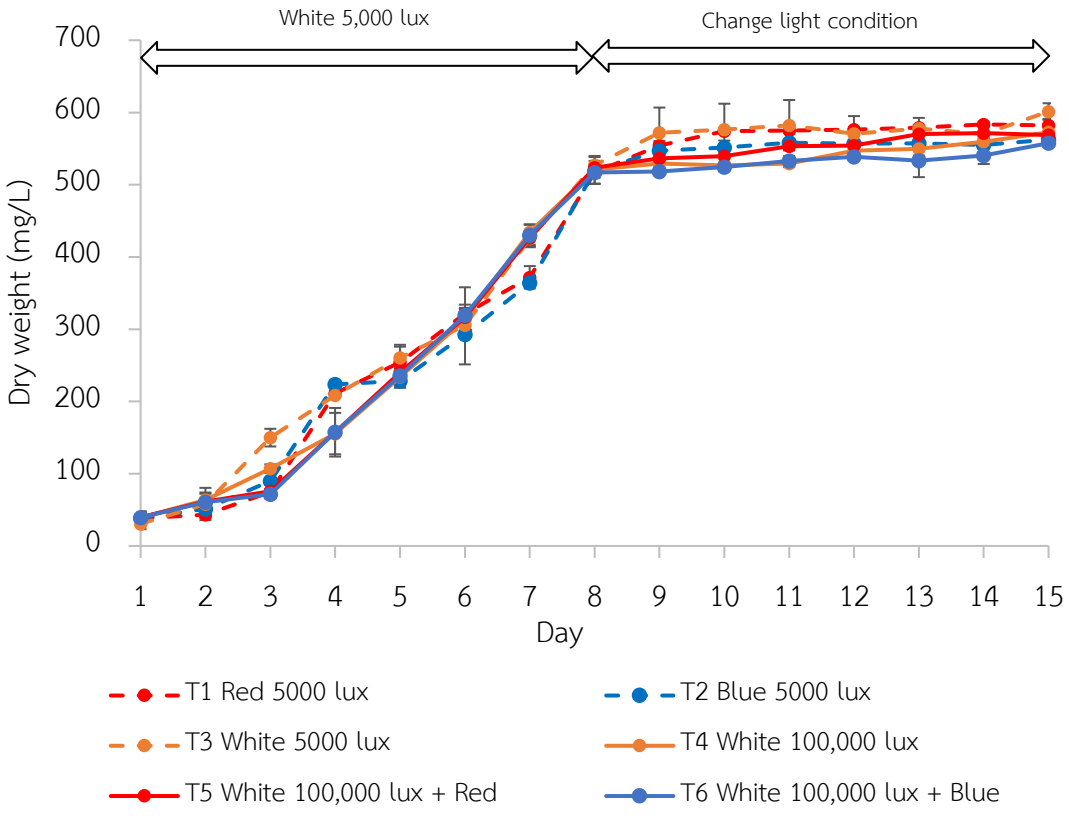
4.2 ผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase)

การทดลองส่วนนี้ได้เปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงโดยมีสมมติฐานว่าเมื่อจุลสาหร่ายเกิดความเครียดจากแสงที่มีความเข้มสูง และ/หรือ จากการเปลี่ยนความยาวคลื่นแสง

ส่งผลให้เกิดการสะสมแคโรทีนอยด์ในเซลล์มากขึ้น จากผลสรุปในหัวข้อ 4.1 ซึ่งพบว่าแสงสีขาวเหมาะสมต่อการเติบโตของจุลสาหร่าย *C. humicola* มากที่สุด ในการทดลองส่วนนี้จะทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในขวดแก้ว Duran ปริมาตร 1 ลิตร ที่เติมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 เป็นเวลา 15 วัน ปริมาณเซลล์เริ่มต้นประมาณ 66 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการไหลอากาศ 0.8 ลิตรต่อนาที โดยใช้แสงสีขาวที่มีความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตั้งแต่วันที่ 1 ของการทดลอง จนถึงวันที่ 8 ซึ่งเริ่มเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) จึงได้ทำการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงทั้งหมด 5 สภาวะ ดังนี้ (1) แสงสีแดงความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ (2) แสงสีน้ำเงินความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ (3) แสงสีขาวความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ (4) แสงสีขาวความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ร่วมกับการให้แสงสีแดงที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ (คิดเป็นความเข้มแสงรวม 101,000 ลักซ์) และ (5) แสงสีขาวความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ (คิดเป็นความเข้มแสงรวม 100,800 ลักซ์)

ผลการทดลองซึ่งแสดงน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย (รูปที่ 4.6) พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในทุกชุดการทดลองและเข้าสู่ระยะคงที่ในวันที่ 8 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักแห้งในวันที่ 8 พบว่าแต่ละชุดทดลองมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 562 ± 2.00 – 582 ± 9.10 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากในช่วงระยะปรับตัวถึงช่วงเติบโตแบบทวีคูณ (วันที่ 1-7) จุลสาหร่ายเติบโตในสภาวะแสงเดียวกันจึงให้อัตราการเติบโตที่ใกล้เคียงกัน ผลการวิเคราะห์เชิงสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA พบว่าน้ำหนักแห้งในแต่ละสภาวะการทดลองในวันที่ 8 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

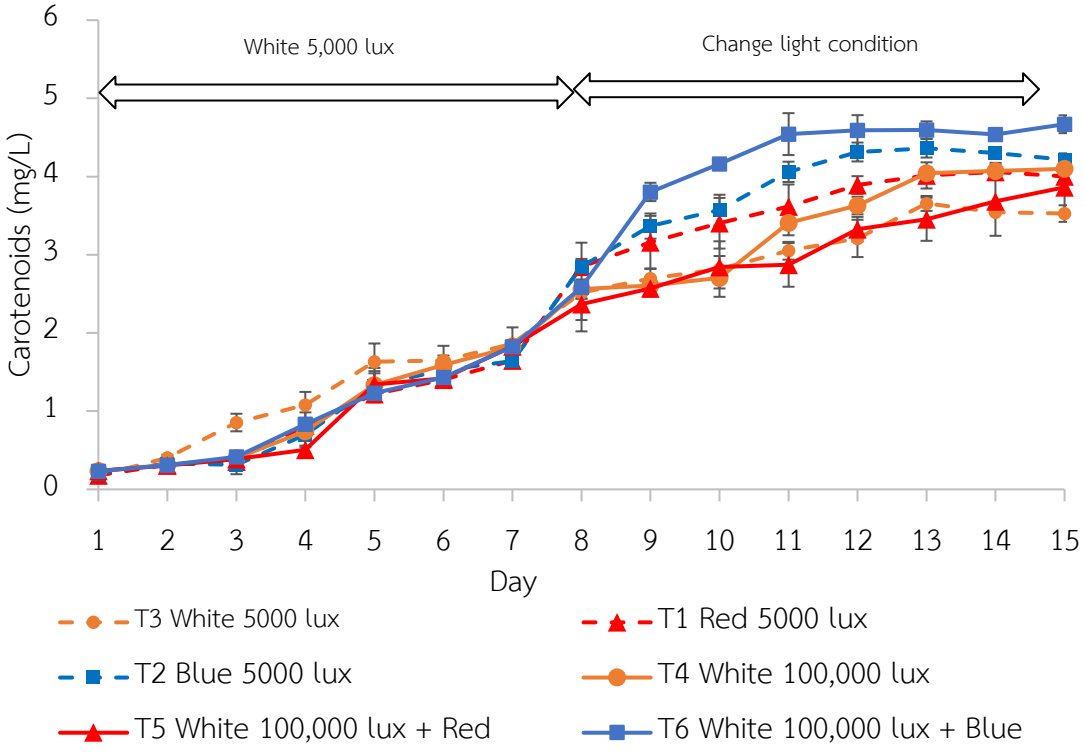


รูปที่ 4.6 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวในช่วงระยะปรับตัวจนถึงระยะทวีคูณ และเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผลการตรวจวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ในแต่ละสภาวะการทดลอง (รูปที่ 4.7) พบว่าจุลสาหร่าย *C. humicola* มีการสะสมแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะปรับตัวจนถึงระยะทวีคูณโดยเพิ่มขึ้นจาก ประมาณ 0.18 ± 0.02 ถึง 1.82 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อทำการเปลี่ยนความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงในวันที่ 8 พบว่าการเปลี่ยนความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงส่งผลต่อการสะสมแคโรทีนอยด์จุลสาหร่าย โดยการให้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ส่งผลดีต่อผลผลิตแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร) มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้รับในสภาวะอื่นๆ ในสภาวะดังกล่าวพบว่ามีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ 4.67 ± 0.11 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันสุดท้ายของการทดลอง การให้แสงสีน้ำเงินที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ พบว่าส่งผลดีต่อผลผลิตแคโรทีนอยด์รองลงมา (4.22 ± 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่วนการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ให้ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ 4.07 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่การให้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง

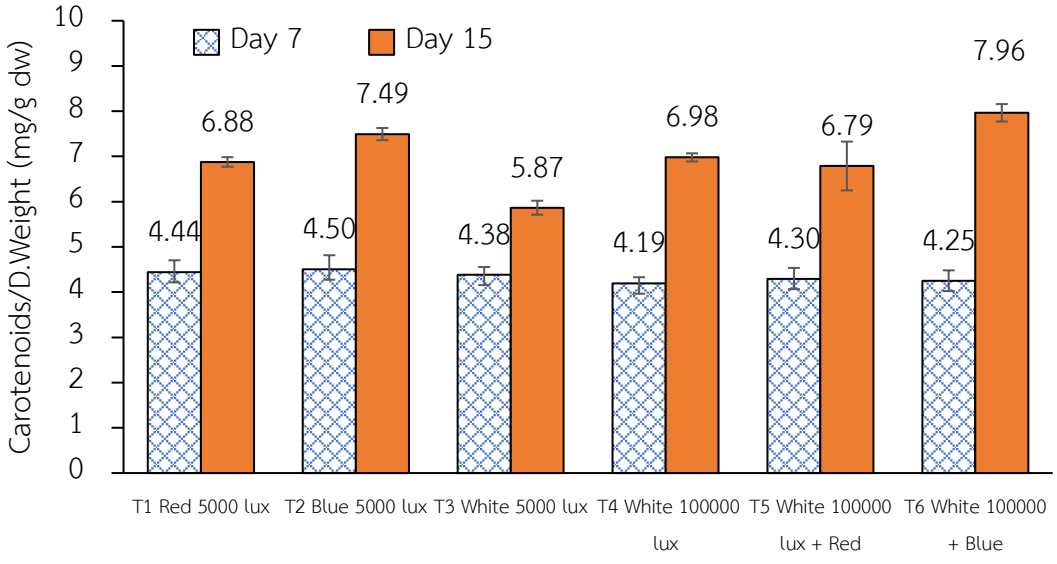
100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีแดงที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ 3.86 ± 0.33 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง



รูปที่ 4.7 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในจุลสาหร่าย *C. humicola* เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนแปลงความเข้มแสง/ความยาวคลื่นแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่

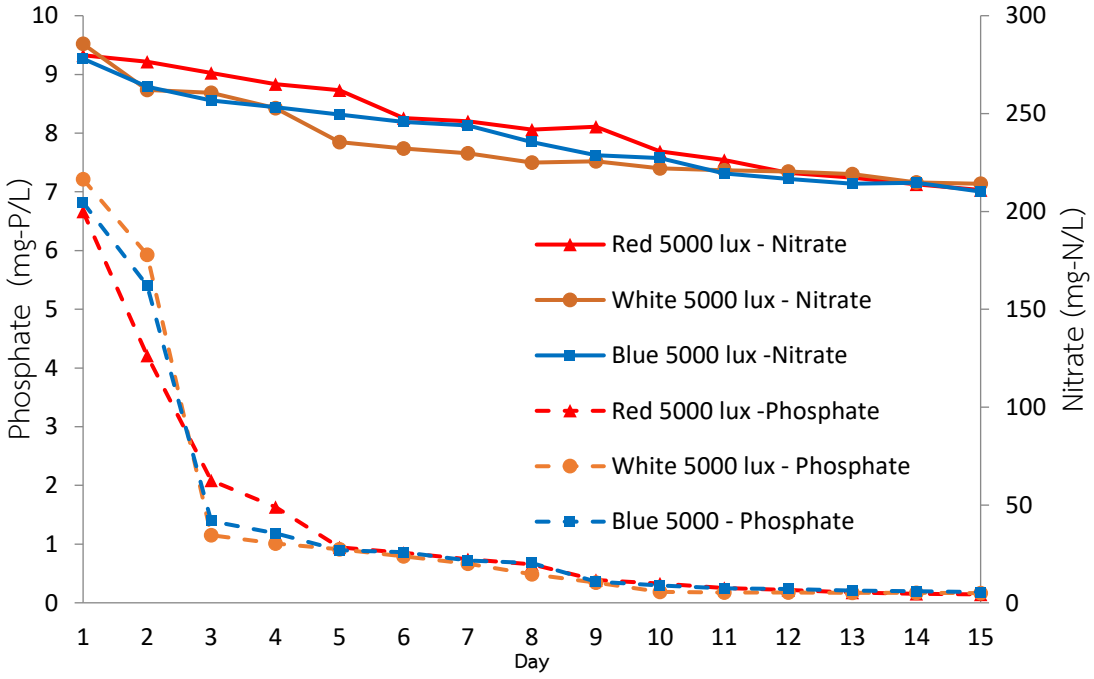
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) ของวันที่ 7 และวันที่ 15 ของการทดลอง ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.8 พบว่าในวันที่ 7 ของการทดลองมีปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง (4.04 ± 0.23 – 4.58 ± 0.17 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง) เนื่องจากเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว 5,000 ลักซ์เหมือนกัน หลังจากวันที่ 8 มีการเปลี่ยนสภาวะแสง โดยการเปลี่ยนสภาวะแสงเป็นการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 6.98 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งมากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ซึ่งให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ 5.87 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ผลการทดลองที่ได้รับชี้ให้เห็นว่าเมื่อใช้ความเข้มแสงสูงขึ้นจะส่งผลให้เกิดการสะสมของแคโรทีนอยด์ในเซลล์เพิ่มมากขึ้นเนื่องจากเซลล์เกิดความเครียด เมื่อเซลล์เกิดความเครียดจะผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้นเพื่อปกป้องเซลล์จากการเสียสภาพ [31] การเพาะเลี้ยง

ด้วยแสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ซึ่งคิดเป็นความเข้มแสงรวมประมาณ 100,800 ลักซ์ จุลสาหร่ายสามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้ถึง 7.96 ± 0.19 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งมากกว่าในสภาวะอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ประมาณร้อยละ 12 (6.98 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) จากผลการทดลองที่ได้รับจะเห็นว่าการเพิ่มแสงสีน้ำเงินเข้าไปส่งผลให้เซลล์จุลสาหร่าย *C. humicola* เกิดความเครียดซึ่งนำไปสู่การผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น ผลการทดลองในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา ซึ่งได้ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *H. pluvialis* โดยใช้แสงสีแดงและแสงสีน้ำเงิน ซึ่งพบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินและแสงสีแดงให้ปริมาณแอสตาแซนทีน 35 และ 25 ppm ตามลำดับ โดยให้เหตุผลว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินจะส่งผลให้เซลล์อยู่ในสภาวะเครียดมากกว่าแสงสีแดง เนื่องจากความยาวคลื่นแสงสีน้ำเงินมีพลังงานมากกว่าแสงสีแดงซึ่งเป็นการกระตุ้นให้จุลสาหร่ายผลิตแอสตาแซนทินเพิ่มมากขึ้นตามมา [19] ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้รับซึ่งชี้ให้เห็นว่าการให้แสงสีขาวที่ความเข้มสูง ควบคู่กับการให้แสงสีน้ำเงินที่มีพลังงานสูง (ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ + แสงสีน้ำเงิน 6 วัตต์) สามารถช่วยให้จุลสาหร่าย *C. humicola* สะสมแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุด โดยแคโรทีนอยด์ที่ผลิตขึ้นมาจะใช้ในการป้องกันเซลล์จากการเสียสภาพจากปฏิกิริยา Photo-oxidation [31]

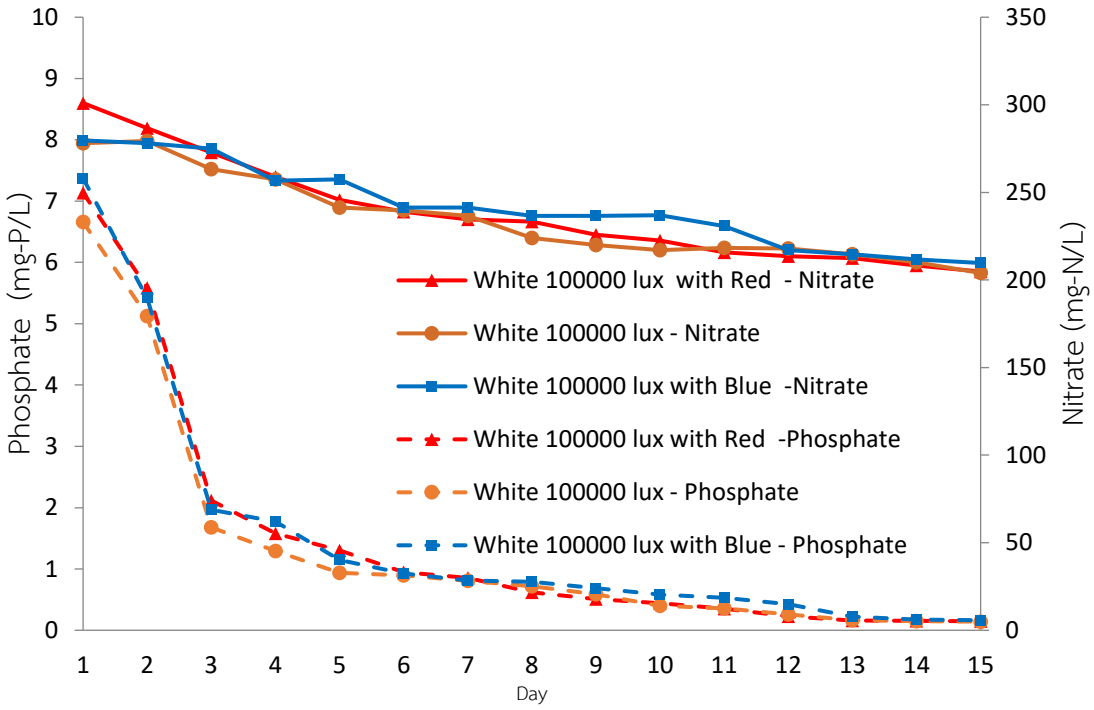


รูปที่ 4.8 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ และเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่

ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตซึ่งแสดงในรูปที่ 4.9 และ 4.10 พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยงมีความเข้มข้นไนเตรทประมาณ 280 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในวันที่ 15 มีความเข้มข้นของไนเตรทเหลือประมาณ 200 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร (ลดลง 29 เปอร์เซ็นต์) ในส่วนของฟอสเฟสพบว่าลดลงจากความเข้มข้นเริ่มต้นประมาณ 7 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร และลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงวันที่ 5 ที่มีความเข้มข้นของฟอสเฟสประมาณ 0.9 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร และลดลงอย่างช้าๆ จนเหลือประมาณ 0.2 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ผลการทดลองที่รับมีความคล้ายคลึงกับความเข้มของธาตุอาหารหลักในการทดลองส่วนที่ 4.1 และยังพบว่าการเปลี่ยนสภาวะแสงในช่วงระยะคงที่ไม่ได้ส่งต่อการใช้ธาตุอาหารหลักของจุลสาหร่าย *C. humicola* มากนัก และเมื่อเปรียบเทียบกับแนวโน้มการเติบโตของจุลสาหร่ายแล้วนั้น จะพบว่าปริมาณธาตุอาหารหลักยังคงมีเพียงพอและไม่ใช่ปัจจัยจำกัดต่อการเติบโตของจุลสาหร่าย *C. humicola*



รูปที่ 4.9 ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีขาวในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

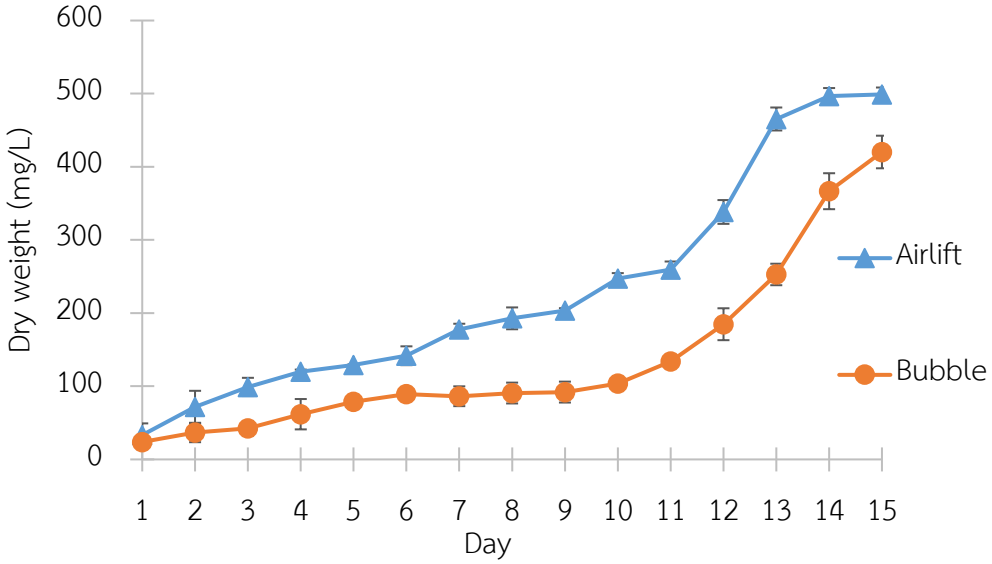


รูปที่ 4.10 ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีขาวในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ และเปลี่ยนแปลงความความยาวคลื่นแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่ ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์

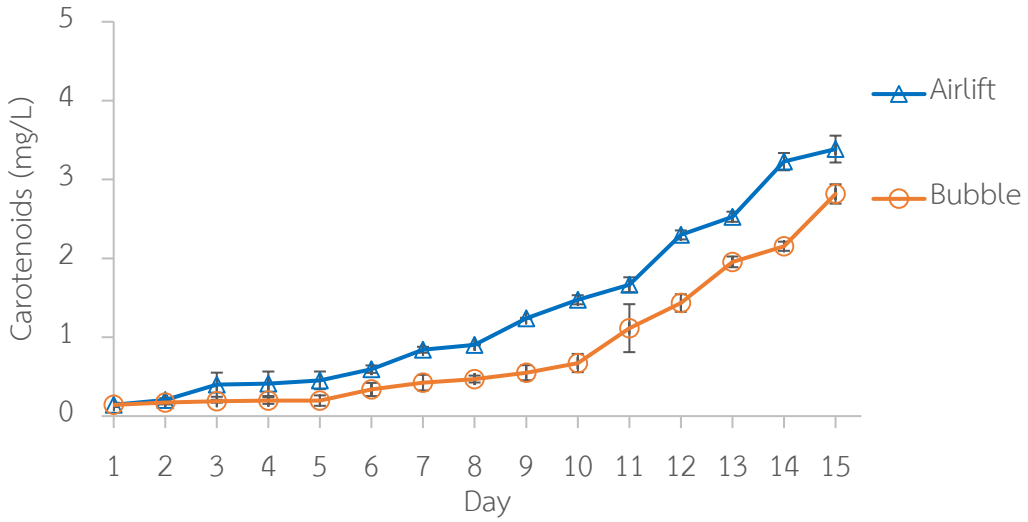
4.3 การศึกษารูปแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง *C. humicola*

การทดลองนี้เป็นการคัดเลือกรูปแบบของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่เหมาะแก่การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* โดยเปรียบเทียบระหว่างถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและแบบคอลัมน์เติมอากาศ โดยควบคุมสภาวะในการทดลองให้เหมือนกัน คือ ปริมาตรรวม 2 ลิตร อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ และปริมาณเซลล์เริ่มต้นประมาณ 66 มิลลิกรัมต่อลิตร จากงานวิจัยที่ผ่านมาซึ่งได้ศึกษาถึงผลของอัตราการไหลของอากาศระหว่าง 0.24 ถึง 0.58 vmm ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและแบบคอลัมน์เติมอากาศ พบว่าที่การควบคุมอัตราการไหลของอากาศที่ 0.58 vmm ส่งผลดีต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* มากที่สุด [8] ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้อัตราไหลของอากาศที่ 1.2 ลิตรต่อนาที ซึ่งเทียบเท่ากับ 0.6 vvmในการทดลอง โดยจ่ายอากาศผ่านหัวทรายสำหรับเลี้ยงสัตว์น้ำซึ่งติดตั้งไว้บริเวณด้านล่างของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงทั้งสองรูปแบบ ผลการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในสภาวะที่กล่าวมาในข้างต้นแสดงในรูปที่ 4.11 ซึ่งพบว่าน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก และแบบคอมลัมน์เติมอากาศมีค่าเพิ่มขึ้น โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 15 มีปริมาณ

น้ำหนักแห้งเท่ากับ 499 ± 0.43 และ 420 ± 22.28 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในส่วนของปริมาณแคโรทีนอยด์ (รูปที่ 4.12) พบว่าทั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและแบบคอลัมน์เติมอากาศมีการสะสมแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้นตามเวลาเช่นกัน โดยในวันสุดท้ายของการทดลองมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 3.39 ± 0.17 และ 2.82 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองเบื้องต้นที่ได้รับแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกมีประสิทธิภาพมากกว่าการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพทั้งสองแบบจากงานวิจัยในอดีต [8]



รูปที่ 4.11 น้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและแบบคอลัมน์เติมอากาศ

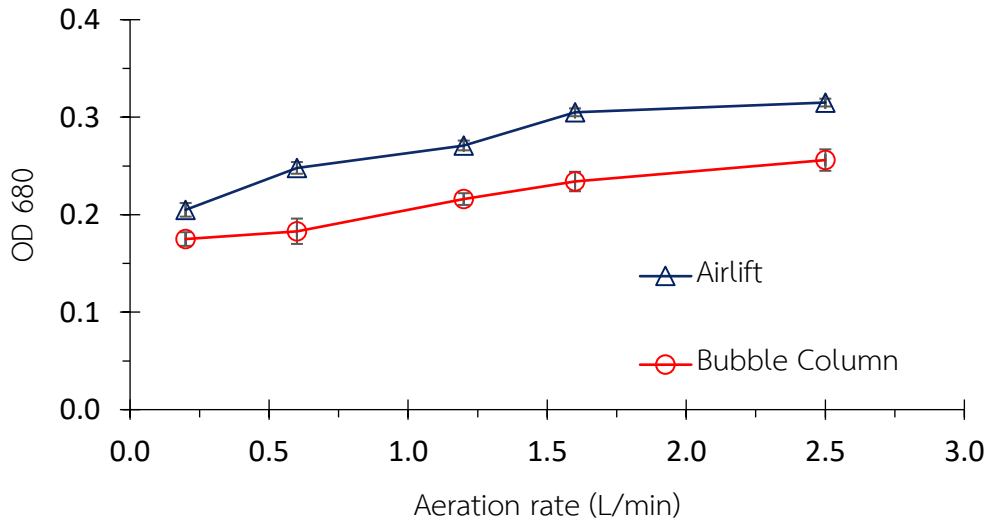


รูปที่ 4.12 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งเพาะเลี้ยงในถัง ปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและแบบคอลัมน์เติมอากาศ

นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงการฟุ้งกระจายของชีวมวลจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงทั้งสองแบบ ซึ่งผลที่ได้รับจะแสดงถึงความสามารถในการหวุนวนของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง อีกทั้งมีรายงานว่าพบการเกาะติดของจุลสาหร่าย *C. humicola* บนผนังของขวดเพาะเลี้ยง และหากของเหลวในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงไม่สามารถหมุนวนและผสมกันได้ดี ก็อาจทำให้ชีวมวลของจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งมีขนาดใหญ่และน้ำหนักมากจมตัวและทับถมที่ก้นถังปฏิกรณ์ชีวภาพ [8] ดังนั้นการใช้อัตราการไหลของอากาศที่เหมาะสมจะช่วยให้ชีวมวลจุลสาหร่ายฟุ้งกระจายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงได้ดี ในการทดลองนี้ได้ตรวจวัดการฟุ้งกระจายของชีวมวลจุลสาหร่ายด้วยการวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่นแสง 680 nm (OD_{680}) โดยที่ค่าการดูดกลืนแสง (หรือความขุ่น) ที่มีค่ามากจะแสดงว่าชีวมวลสามารถฟุ้งกระจายในของเหลวได้ดี

ผลการทดลองซึ่งแสดงในรูปที่ 4.13 พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของอากาศจะส่งผลให้ความขุ่นมีค่ามากขึ้น ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศพบว่าค่าความขุ่นเพิ่มจาก 0.175 ถึง 0.256 เมื่อปรับเพิ่มอัตราการไหลของอากาศจาก 0.2 ถึง 2.5 vvm ในส่วนของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกพบว่าค่าความขุ่นเพิ่มจาก 0.250 เป็น 0.315 ในช่วงอัตราการไหลของอากาศเดียวกัน ผลการทดลองที่ได้รับแสดงให้เห็นว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกมีประสิทธิภาพในหมุนวนและผสมของเหลวได้ดีมากกว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศในช่วงอัตราการ

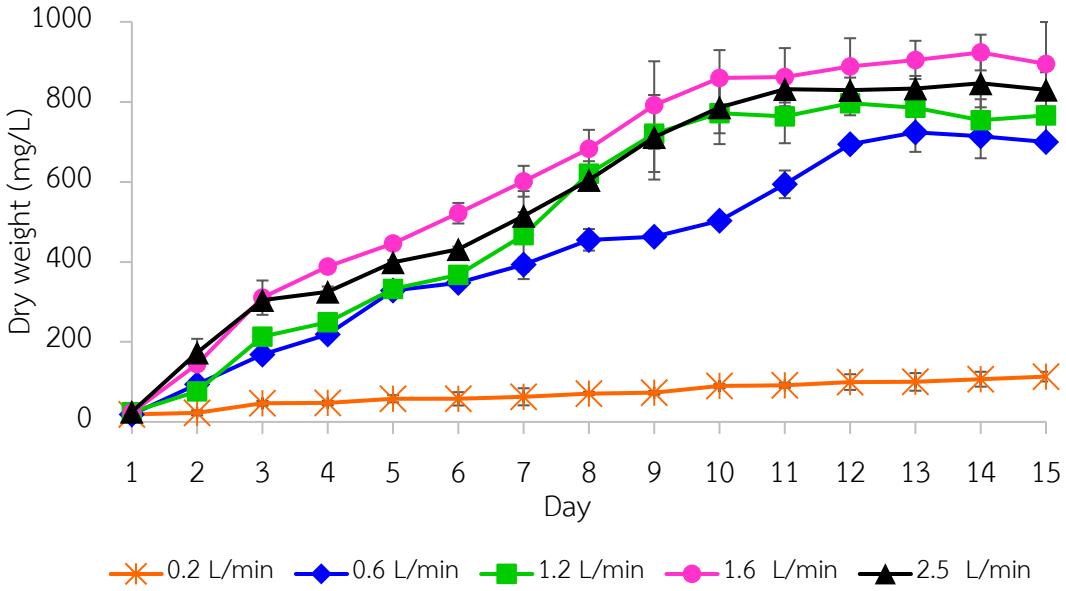
ไหลของอากาศที่ทำการทดสอบ ประสิทธิภาพที่ดีกว่าของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกสามารถอธิบายได้ดังนี้ เนื่องจากถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกมีท่ออากาศยก (Draft tube) ที่ติดตั้งอยู่บริเวณส่วนกลางของตัวถังปฏิกรณ์ เมื่ออากาศผ่านเข้าสู่ด้านในของท่ออากาศยก ฟองอากาศจะลอยขึ้นด้านบนและส่งผลให้ของเหลวบางส่วนหมุนวนลงมาสู่บริเวณด้านนอกของท่ออากาศยกและไหลลงสู่ด้านล่างของถังปฏิกรณ์ จะเห็นได้ว่าการไหลวนของของเหลวในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกจะมีทิศทางที่แน่นอนกว่าแบบคอลัมน์เติมอากาศซึ่งเป็นการผสมแบบไร้ทิศทาง ทำให้อาจเกิดจุดอับที่ของเหลวไม่สามารถผสมกับอากาศได้ดี ทั้งนี้การหมุนวนของของเหลวในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่มีประสิทธิภาพจะช่วยให้เซลล์จุลสาหร่ายฟุ้งกระจายได้ดี ส่งผลให้สามารถรับแสงได้อย่างทั่วถึงและอาจช่วยลดปัญหาเซลล์เกาะติดอยู่ที่ผนังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง [8,9,14] และจากการสังเกตระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศมีเซลล์จุลสาหร่ายบางส่วนตกตะกอนที่ก้นถังปฏิกรณ์มากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องมาจากการหมุนวนของของเหลวในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกช่วยให้เซลล์จุลสาหร่ายฟุ้งกระจายได้ดีกว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* มากกว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ



รูปที่ 4.13 ค่าความขุ่นของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและแบบคอลัมน์เติมอากาศเมื่อเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่อัตราการไหลอากาศ 0.2 0.6 1.2 1.6 และ 2.5 ลิตรต่อนาที (0.1 0.3 0.6 0.8 และ 1.25 vvm ตามลำดับ)

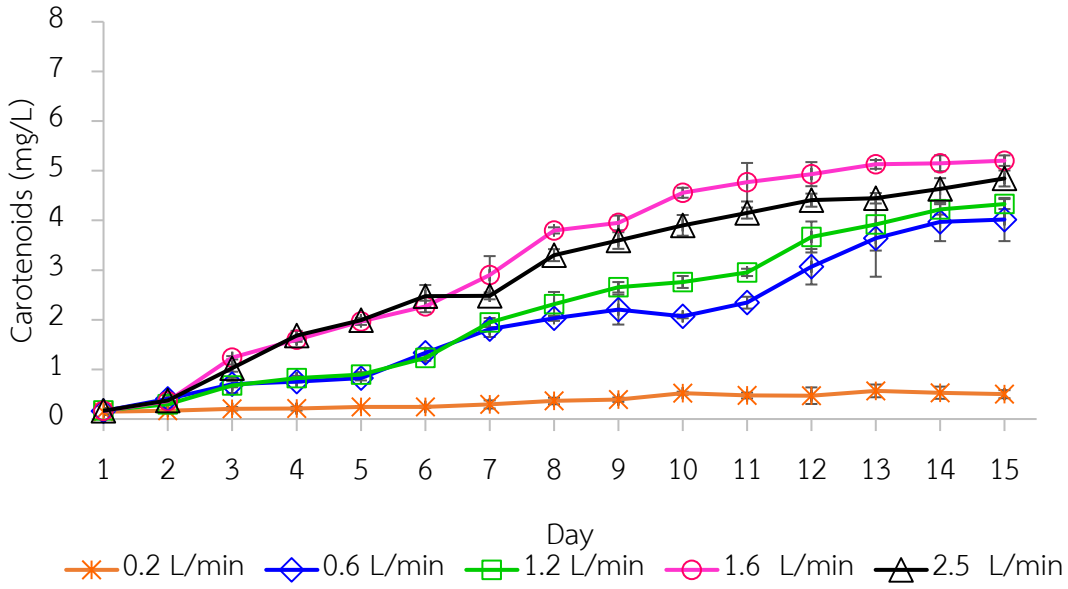
4.4 ผลของอัตราไหลของอากาศที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola*

จากการทดลองส่วนที่ 4.3 พบว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกมีความเหมาะสมในการใช้เพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ดังนั้นในการทดลองส่วนนี้จึงเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ปริมาตร 2 ลิตร ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 ปริมาณเซลล์ทดลองเริ่มต้นประมาณ 66 มิลลิกรัมต่อลิตร และควบคุมความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง 15 วัน เพื่อศึกษาถึงอัตราการไหลของอากาศที่เหมาะต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* โดยใช้อัตราไหลของอากาศในช่วง 0.2 ถึง 2.5 ลิตรต่อนาที ผลการตรวจวัดน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.14 พบว่าจุลสาหร่าย *C. humicola* มีการเติบโตมากขึ้นตามเวลา ยกเว้นการเพาะเลี้ยงที่ใช้อัตราการไหลของอากาศที่ 0.2 ลิตรต่อนาที (0.1 vvm) ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักแห้งในวันสุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 113 ± 12.06 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองที่ได้รับคาดว่าเกิดจากการควบคุมอัตราไหลของอากาศที่ต่ำเกินไปซึ่งทำให้ของเหลวในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงไม่สามารถหมุนวนได้ดี และเกิดการจมตัวของชีวมวลจุลสาหร่ายที่ก้นถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงตามมา อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของอากาศจะได้รับน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายมากขึ้นอย่างชัดเจน โดยมีน้ำหนักแห้งสูงสุดที่ 895 ± 55.05 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อควบคุมอัตราการไหลของอากาศที่ 1.6 ลิตรต่อนาที (0.8 vvm) การใช้อัตราการไหลของอากาศมากขึ้นช่วยให้ชีวมวลจุลสาหร่ายสามารถฟุ้งกระจายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงได้ดี ส่งผลให้สามารถรับแสงได้อย่างทั่วถึง และยังลดข้อจำกัดในการถ่ายเทมวลก๊าซและสารอาหารได้ด้วย [45] อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายลดลงเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของอากาศเป็น 2.5 ลิตรต่อนาที (1.25 vvm) การลดลงของน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายคาดว่าเกิดจากการที่ฟองอากาศขนาดใหญ่ที่ลอยจากด้านล่างขึ้นมาเกิดการแตกออกบริเวณด้านบนผิวน้ำทำให้เซลล์แตกกระจายติดอยู่ที่ผนังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงส่งผลให้เกิดการสูญเสียชีวมวล นอกจากนี้มีรายงานว่าการเพาะเลี้ยง *Protoceratium reticulatum* ที่อัตราการให้อากาศที่มากเกินไปจะทำให้เกิดแรงเฉือน (Shear force) จากฟองอากาศและจากการไหลแบบปั่นป่วนซึ่งอาจทำให้เซลล์เกิดความเสียหายและส่งผลทางลบต่อการเติบโตได้ [10]



รูปที่ 4.14 น้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกโดยใช้อัตราการของไหลอากาศในช่วง 0.2 ถึง 2.5 ลิตรต่อนาที (0.1 ถึง 1.25 vmm)

จากรูปที่ 4.15 ซึ่งแสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร) จากการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกด้วยแสงสีขาว ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ และมีอัตราการไหลของอากาศในช่วง 0.2 ถึง 2.5 ลิตรต่อนาที พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์มีแนวโน้มคล้ายคลึงกับน้ำหนักแห้ง โดยปริมาณแคโรทีนอยด์ในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงที่ใช้อัตราการไหลของอากาศ 0.2 ลิตรต่อนาที มีค่าเพียง 0.50 ± 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งน้อยกว่าที่อัตราการไหลของอากาศอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์มีค่ามากขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของอากาศ โดยมีค่าสูงสุดที่ 5.20 ± 0.11 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อควบคุมอัตราการไหลที่ 1.6 ลิตรต่อนาที (0.8 vvm) อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์มีค่าลดลงเหลือ 4.85 ± 0.16 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของอากาศเป็น 2.5 ลิตรต่อนาที



รูปที่ 4.15 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกโดยใช้อัตราการของอากาศในช่วง 0.2 ถึง 2.5 ลิตรต่อนาที (0.1 ถึง 1.25 vvm)

เมื่อพิจารณาปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) ในวันที่ 7 พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์มีค่าใกล้เคียงกันในช่วงอัตราการไหลของอากาศที่ทดสอบโดยมีค่าระหว่าง 4.30 ± 0.91 – 4.85 ± 0.90 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์ในวันสุดท้ายของการทดลองพบว่ามีปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) มีค่าเพิ่มมากขึ้นในทุกอัตราการไหลของอากาศโดยอยู่ในช่วงระหว่าง 5.75 ± 0.69 – 5.87 ± 0.75 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ยกเว้นที่อัตราการไหลของอากาศ 0.2 ลิตรต่อนาที ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าน้ำหนักแห้งของทั้งวันที่ 7 และวันที่ 15 ของการทดลอง โดยใช้ One-Way ANOVA พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ผลการทดลองที่ได้รับแสดงให้เห็นว่าค่าอัตราการไหลของอากาศไม่มีผลต่อการสะสมของปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง แต่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* และสามารถสรุปได้ว่าควรใช้ค่าอัตราการไหลของอากาศเท่ากับ 1.6 ลิตรต่อนาที (0.8 vvm) ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ตารางที่ 4.1 สรุปค่าน้ำหนักแห้ง ปริมาณแคโรทีนอยด์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 15 ทั้งในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร และหน่วยมิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง ระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่อัตราการไหลของอากาศที่ค่าต่าง ๆ

ตารางที่ 4.1 สรุปค่าน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 15 ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่อัตราไหลของอากาศต่าง ๆ

อัตราไหลของอากาศ (ลิตรต่อนาที)	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	แคโรทีนอยด์ มิลลิกรัมต่อกรัม) (น้ำหนักเซลล์แห้ง
0.2	113 ± 12.06	0.50 ± 0.08	4.48 ± 1.11
0.6	699 ± 9.03	4.02 ±0.43	5.75 ± 0.69
1.2	766 ± 66.35	4.33 ± 0.10	5.69 ± 0.59
1.6	895 ± 55.05	5.20 ± 0.11	5.87 ± 0.76
2.5	830 ± 44.26	4.85 ± 0.16	5.84 ± 0.16

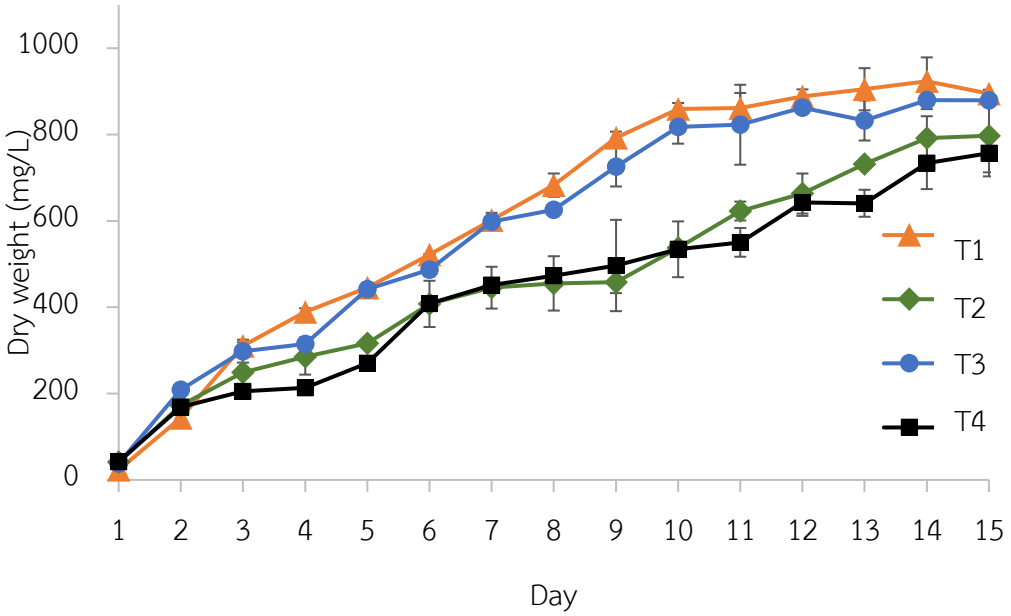
4.5 ผลของการประยุกต์สภาวะแสงและอัตราการไหลของอากาศที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola*

การทดลองส่วนนี้ได้นำสภาวะของแสงที่เหมาะสม รูปแบบของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง และอัตราไหลของอากาศที่เหมาะสม มาใช้เพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกขนาด 2 ลิตรด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG-11 ควบคุมอัตราการไหลของกาศที่ 1.6 ลิตรต่อนาที (0.8 vvm) และใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นประมาณ 66 มิลลิกรัมต่อลิตร การทดลองนี้ใช้ค่าความเข้มแสงและความยาวคลื่นแสง 4 สภาวะ คือ (1) แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง (2) แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง (3) สภาวะแสงที่เหมาะสมจากผลการทดลองส่วนที่ 4.2 คือ ใช้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ และเปลี่ยนเป็นความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงระยะคงที่ และ (4) ใช้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ และเปลี่ยนเป็นความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงระยะคงที่ ตารางที่ 4.2 สรุปสภาวะแสงที่ใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก

ตารางที่ 4.2 สภาวะแสงที่ใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก

การทดลอง	แสงในช่วงระยะปรับตัวถังระยะทวีคูณ	แสงในช่วงระยะคงที่
(1)	สีขาว 5,000 ลักซ์	สีขาว 5,000 ลักซ์
(2)	สีขาว 100,000 ลักซ์	สีขาว 100,000 ลักซ์
(3)	สีขาว 5,000 ลักซ์	สีขาว 10^5 ลักซ์ + น้ำเงิน 6 วัตต์ (100,800 ลักซ์)
(4)	สีขาว 100,000 ลักซ์	สีขาว 10^5 ลักซ์ + น้ำเงิน 6 วัตต์ (100,800 ลักซ์)

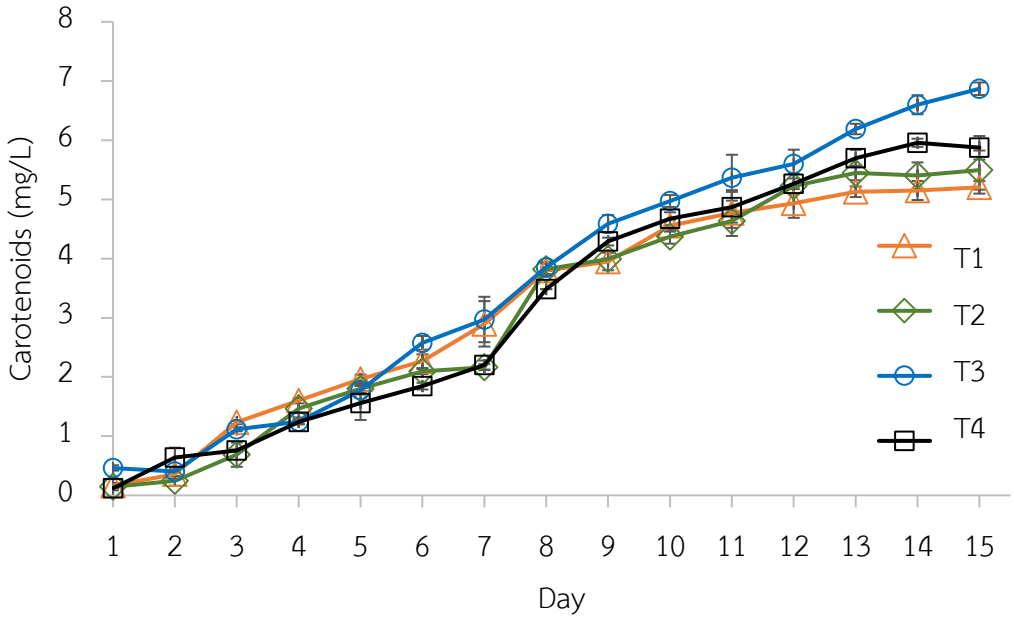
เมื่อพิจารณารูปที่ 4.16 พบว่าสภาวะที่ (1) และสภาวะที่ (3) ให้ค่าน้ำหนักแห้งที่ใกล้เคียงกัน เนื่องจากทั้งสองสภาวะใช้ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณเหมือนกัน โดยสภาวะที่ (1) และ (3) ได้น้ำหนักแห้งในวันสุดท้ายเท่ากับ 895 ± 55.05 และ 880 ± 10.93 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งของสภาวะที่ (2) และ (4) ซึ่งใช้ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ได้รับน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายที่ใกล้เคียงกันคือ 797 ± 94.15 และ 757 ± 20.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้พบว่าการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ จะส่งผลดีต่อการเติบโตมากกว่าการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ และการให้ที่มากเกินอาจส่งผลให้จุลสาหร่ายเติบโตได้ไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากความเข้มแสงที่มากเกินไปสามารถยับยั้งการเติบโตของจุลสาหร่ายได้ [19,22]



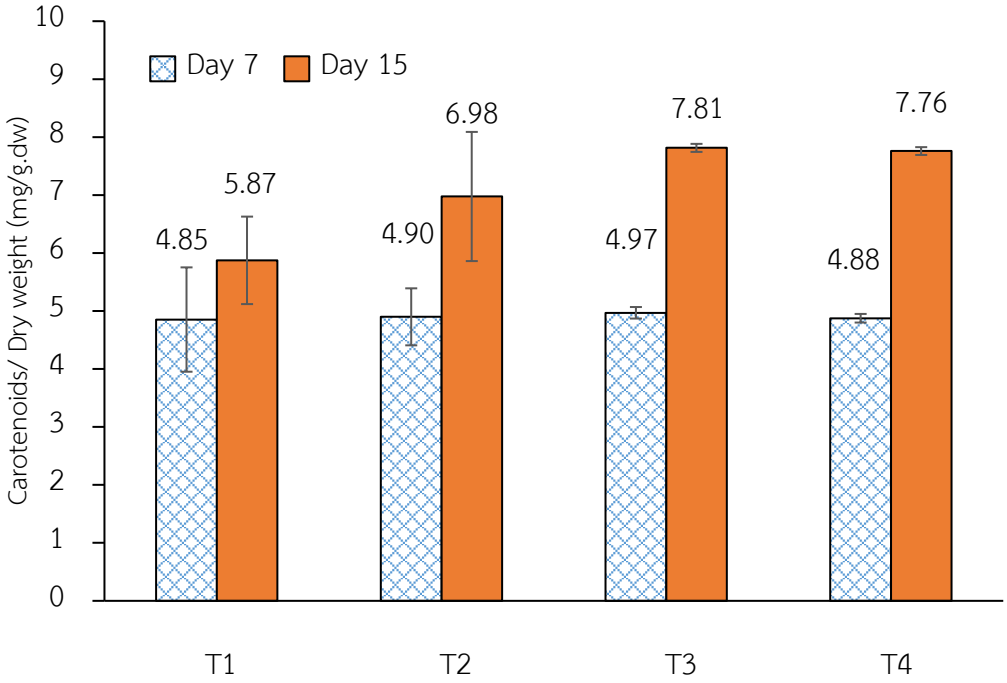
รูปที่ 4.16 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ในการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกที่สภาวะแตกต่างกัน T1 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T2 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T3 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่, และ T4 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่

ผลการตรวจวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.17 พบว่าสภาวะที่ (1) และ (2) มีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 5.20 ± 0.11 และ 5.50 ± 0.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งน้อยกว่าสภาวะที่ (3) และ (4) ที่มีการเร่งการสะสมแคโรทีนอยด์ด้วยแสงสีน้ำเงินซึ่งให้ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 6.87 ± 0.06 และ 5.88 ± 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ผลการทดลองที่ได้รับยืนยันว่าแสงสีน้ำเงินเป็นปัจจัยที่กระตุ้นให้จุลสาหร่าย *C. humicola* สังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้มากขึ้นซึ่งคาดว่าเป็นผลจากการที่แสงสีน้ำเงินมีพลังงานมากกว่าแสงที่อื่นๆ จึงทำให้เซลล์เกิดความเครียดได้มาก [19] เมื่อพิจารณาปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.18 พบว่าจุลสาหร่าย *C. humicola* มีการสะสมแคโรทีนอยด์มากขึ้นในวันสุดท้ายของการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับในวันที่ 7 ซึ่งอยู่ในช่วงระยะทวีคูณ โดยในสภาวะที่

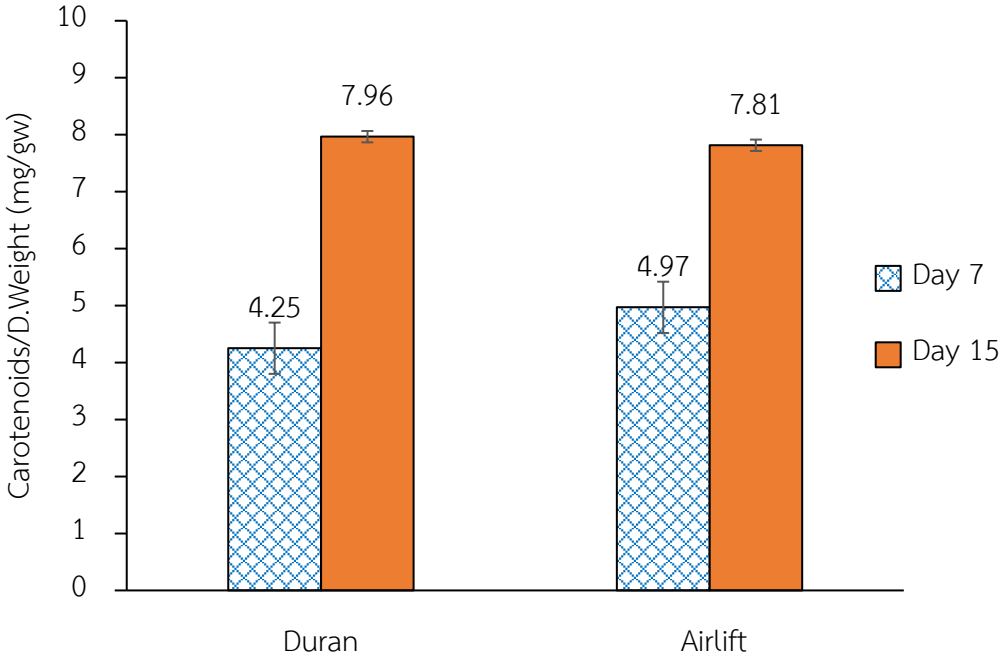
(1) มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในวันที่ 15 เท่ากับ 5.88 ± 0.20 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมากกว่าในวันที่ 7 ประมาณร้อยละ 21 ในส่วนของสภาวะที่ (2) ที่ใช้ความเข้มแสงมากขึ้นที่ 100,000 ลักซ์ พบว่าจุลสาหร่ายสามารถผลิตแคโรทีนอยด์มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ (1) โดยมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 6.98 ± 1.11 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณแคโรทีนอยด์ในวันที่ 7 พบว่ามีการสะสมเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 42 ในส่วนของสภาวะที่ (3) และ (4) พบว่ามีการสะสมของแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 57 – 59 เมื่อปรับเปลี่ยนคุณภาพและความเข้มแสงในช่วงการเติบโตคงที่ นอกจากนี้การใช้สภาวะการทดลองที่ (3) และ (4) ซึ่งมีการเร่งการสะสมของแคโรทีนอยด์ด้วยแสงสีน้ำเงิน สามารถทำให้จุลสาหร่ายสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้มากกว่าสภาวะทดลองที่ (1) และ (2) โดยมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 7.81 ± 0.07 และ 7.55 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในสภาวะที่ (3) และ (4) ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี One-Way ANOVA พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักแห้งในวันที่ 15 ของสภาวะทดลองที่ (3) และ (4) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) จากผลการทดลองที่ได้รับอาจกล่าวได้ว่านอกจากการเพิ่มความเข้มแสงให้สูงขึ้นเพื่อให้จุลสาหร่ายเกิดความเครียด การให้แสงสีน้ำเงินที่มีพลังงานสูงยังเป็นอีกหนึ่งวิธีการที่ส่งผลให้เซลล์เกิดความเครียดและเกิดสะสมแคโรทีนอยด์ตามมา โดยแคโรทีนอยด์มีบทบาทในการป้องการจากการเสื่อมสภาพของเซลล์จากปฏิกิริยา Photo-oxidation [19,31] นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรต่อน้ำหนักแห้ง) ของการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกขนาด 2 ลิตร และในขวด Duran ขนาด 1 ลิตร(การทดลองที่ 4.2) พบว่าไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) โดยมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับในวันที่ 15 เท่ากับ 7.81 ± 0.07 และ 7.96 ± 0.19 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (รูปที่ 4.19) แม้ว่าในการเพาะเลี้ยงทั้งนี้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและขวด Duran ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่ใกล้เคียงกัน ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกสามารถผลิตชีวมวลจุลสาหร่ายได้ถึง 880 ± 10.93 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ขวด Duran ให้ปริมาณชีวมวลประมาณ 558 ± 3.50มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร) ระหว่างผลผลิตแคโรทีนอยด์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกและขวด Duran พบกว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกให้ปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าขวด Duran ถึงร้อยละ 47 (6.87 ± 0.06 และ 4.67 ± 0.11 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ) (รูปที่ 4.20)



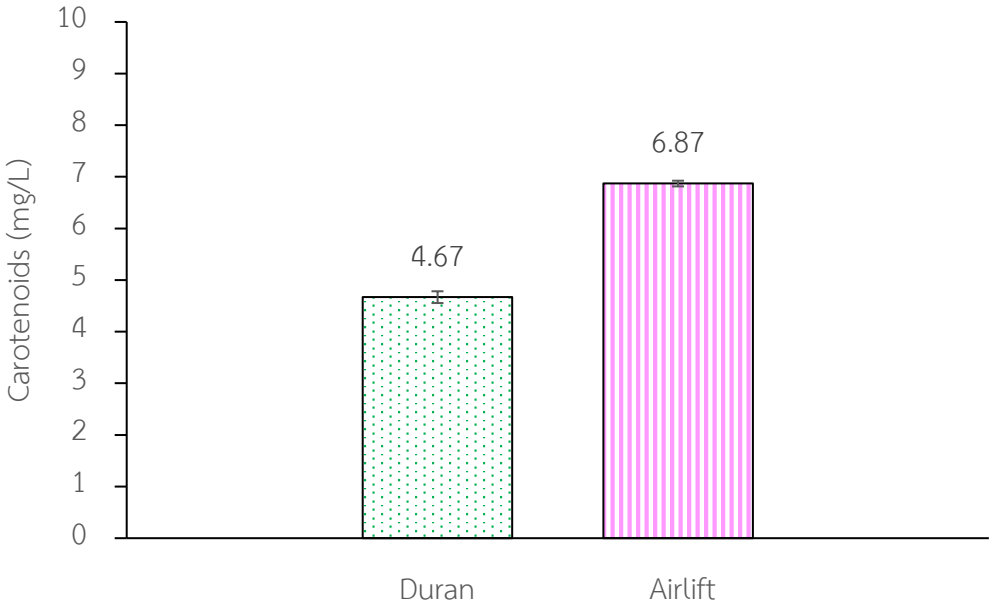
รูปที่ 4.17 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร) ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกในสภาวะแตกต่างกัน T1 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T2 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T3 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่ และ, T4 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่



รูปที่ 4.18 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ในจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกในสภาวะแตกต่างกัน T1 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T2 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ตลอดการทดลอง, T3 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่, และ T4 คือ แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ในช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณและเปลี่ยนความเข้มแสงเป็น 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ ในช่วงการเติบโตคงที่



รูปที่ 4.19 ปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในขวด Duran และถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกโดยให้แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ + แสงสีน้ำเงิน 6 วัตต์



รูปที่ 4.20 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในวันที่ 15 ของการทดลองของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในขวด Duran และถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกโดยให้แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ + แสงสีน้ำเงิน 6 วัตต์

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในระบบแบตช์โดยศึกษาถึงผลของสภาวะแลดล้อม คือ อัตราการไหลของอากาศและความยาวคลื่นแสง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการสะสมแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* รวมถึงรูปแบบของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงที่เหมาะแก่การใช้งาน โดยผลการทดลองสามารถสรุปได้ดังนี้

1. ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีน้ำเงิน (460 nm) ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ พบว่าการใช้หัวเชื้อจุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว (442 – 653 nm) ส่งผลดีต่อการเพาะเลี้ยงมากกว่าการใช้หัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีน้ำเงิน ซึ่งได้ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 398 และ 266 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2.70 และ 1.90 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการศึกษาการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีแดง (639 nm) ที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อที่เตรียมจากแสงสีขาวจะเกิด Lag phase นานมากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงจากหัวเชื้อเตรียมจากแสงสีแดงประมาณ 3-4 วัน โดยในวันสุดท้ายของการทดลองจะได้รับปริมาณน้ำหนักแห้งเท่ากับ 556 และ 605 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และได้ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 3.41 และ 3.71 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

2. จากการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ในขวด Duran 1 ลิตร ที่ให้สภาวะแสงต่าง ๆ ซึ่งพบว่าการเพิ่มความเข้มแสงและการปรับความยาวคลื่นแสงเป็นปัจจัยที่สามารถเพิ่มการสะสมของแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *C. humicola* โดยการให้แสง

สีขาว 5,000 ลักซ์ ในช่วงเพาะเลี้ยงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ แล้วเปลี่ยนสภาวะแสงในช่วงเข้าสู่ระยะคงที่เป็นแสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงินที่ควบคุมกำลังที่ 6 วัตต์ จะให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักแห้งเท่ากับ 7.96 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีค่าสูงมากกว่าการเพาะเลี้ยงในสภาวะอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. จากการทดลองเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* โดยให้แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ อัตราไหลของอากาศ 1.2 ลิตรต่อนาที ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก พบว่าส่งผลดีต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* มากกว่าการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ ซึ่งให้น้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายเท่ากับ 499 และ 420 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และผลการศึกษาอัตราการไหลของอากาศต่อการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ พบว่าที่อัตราไหลของอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที (0.8 vvm) ส่งผลดีต่อการเติบโตของจุลสาหร่าย *C. humicola* มากที่สุด โดยให้ปริมาณน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายเท่ากับ 895 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. ในส่วนสุดท้ายของงานวิจัย ได้นำผลการทดลองข้างต้นคือใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ปริมาตรใช้งาน 2 ลิตร เพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ให้อัตราไหลของอากาศที่ 1.6 ลิตรต่อนาที โดยให้แสงสีขาวความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ในระยะปรับตัวถึงระยะคงที่ แล้วให้ะแสงสีขาวความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ร่วมกับแสงสีน้ำเงิน 6 วัตต์ (100,800 ลักซ์) ในช่วงระยะเติบโตคงที่ ผลการทดลองพบว่าได้รับน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย 880 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์ 6.87 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และเมื่อเปรียบเทียบทางสถิติของปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งของการเพาะเลี้ยงในขวด Duran ขนาด 1 ลิตร ที่สภาวะแสงเดียวกัน ซึ่งได้ปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง 7.96 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่าไม่ต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) การให้แสงสีขาวที่ความเข้มแสงสูง ควบคู่กับการให้แสงสีน้ำเงินส่งผลให้เซลล์เกิดการสะสม

แคโรทีนอยด์ได้มากที่สุด เนื่องจากเป็นสภาวะที่ทำให้แสงเกิดความเครียด ส่งผลให้เซลล์ผลิตแคโรทีนอยด์ขึ้น ซึ่งแคโรทีนอยด์มีบทบาทป้องกันเซลล์จากการเสียสภาพจากการเกิดปฏิกิริยา Photo-oxidation

ตารางที่ 5.1 สรุปผลของการศึกษาอัตราไหลของอากาศต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก โดยใช้แสงสีขาว ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

ระบบ	อัตราไหลของอากาศ (ลิตรต่อนาที)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/L)
ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ปริมาตร 2 ลิตร	0.2 (0.1 vvm)	113	0.50
ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ปริมาตร 2 ลิตร	0.6 (0.3 vvm)	699	4.02
ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ปริมาตร 2 ลิตร	1.2 (0.6 vvm)	766	4.33
ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ปริมาตร 2 ลิตร	1.6 (0.8 vvm)	895	5.20
ถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก ปริมาตร 2 ลิตร	2.5 (1.25 vvm)	830	4.85

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 5.2 สรุปผลของการศึกษาสภาวะแสงต่อการเติบโตและผลผลิตแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ในขวดแก้ว Duran และถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก

ระบบ	แสงช่วงระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ	แสงช่วงเข้าสู่ระยะคงที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/L)
Duran 1 L	สีขาว 5,000 ลักซ์	สีขาว 5,000 ลักซ์	601	3.53
Duran 1 L	สีขาว 5,000 ลักซ์	สีแดง 5,000 ลักซ์	582	4.07
Duran 1 L	สีขาว 5,000 ลักซ์	สีน้ำเงิน 5,000 ลักซ์	562	4.22
Duran 1 L	สีขาว 5,000 ลักซ์	สีขาว 100,000 ลักซ์	573	4.10
Duran 1 L	สีขาว 5,000 ลักซ์	สีขาว 100,000 ลักซ์ + แดง 6 วัตต์ (101,000 ลักซ์)	569	3.86
Duran 1 L	สีขาว 5,000 ลักซ์	สีขาว 100,000 ลักซ์ + น้ำเงิน 6 วัตต์ (100,800 ลักซ์)	558	4.67
Airlift Photobioreactor 2 L	สีขาว 5,000 ลักซ์	สีขาว 100,000 ลักซ์ + น้ำเงิน 6 วัตต์ (100,800 ลักซ์)	880	6.87
Airlift Photobioreactor 2 L	สีขาว 100,000 ลักซ์	สีขาว 100,000 ลักซ์ + น้ำเงิน 6 วัตต์ (100,800 ลักซ์)	757	5.87

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. จากการวิเคราะห์สารอาหารไนเตรทของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* แต่ละวัน พบว่ามีปริมาณไนเตรทคงเหลืออยู่ในระบบเพาะเลี้ยงมากเกินพอ ซึ่งเป็นการสูญเสียสารเคมีโดยไม่จำเป็น ดังนั้นจึงควรปรับลดปริมาณไนเตรทในสูตรอาหาร BG-11 ซึ่งการลดปริมาณไนเตรทอาจเป็นประโยชน์ส่งผลให้เซลล์ *C. humicola* สะสมแคโรทีนอยด์ในเซลล์มากขึ้น

2. จากการสังเกตระหว่างการเพาะเลี้ยง *C. humicola* ผนังด้านบนเหนือผิวน้ำของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง พบเซลล์จุลสาหร่ายบางส่วนเกาะที่ผนังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง เนื่องมาจากเมื่อฟองอากาศไหลจากด้านล่างสู้ด้านบนแล้วแตกบริเวณผิวน้ำ ส่งผลให้เซลล์แตกกระจายบนผิวน้ำไปติดที่ผนังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสง ดังนั้นจึงควรพิจารณาศึกษาถึงประเภทของวัสดุที่เหมาะสมที่ลดการเกาะติดของจุลสาหร่าย หรืออาจทำการติดตั้งอุปกรณ์ตะแกรงบริเวณผิวน้ำ เพื่อช่วยลดการแตกกระจายของจุลสาหร่ายจากฟองบริเวณผิวน้ำ

3. นอกจากความยาวคลื่นแสงที่สามารถเพิ่มการผลิตของแคโรทีนอยด์ในเซลล์จุลสาหร่าย ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ทำให้เซลล์อยู่ในสภาวะเครียด และผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น เช่น การลดธาตุอาหารไนโตรเจนในอาหารสูตร BG-11 และการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรแทนอากาศ เป็นต้น อาจทำการศึกษาการประยุกต์ใช้สภาวะต่าง ๆ ที่ทำให้เซลล์ผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้นเข้าด้วยกัน

รายการอ้างอิง

1. Ambati, R.R., Moi, P.S., Ravi, S., and Aswathanarayana, R.G. Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications - A review. Marine Drugs. 12(1) (2014): 128.

2. Berman, J., López, U., Farré, G., Zhu, C., Sandmann, G., Twyman, R.M., Capell, T., and Christou, P. Nutritionally important carotenoids as consumer products. Phytochemistry Reviews. 14(5) (2015): 727.

3. Sivathanu, B. and Palaniswamy, S. Purification and characterization of carotenoids from green algae *Chlorococcum humicola* by HPLC-NMR and LC-MS-APCI. Biomedicine & Preventive Nutrition. 2(4) (2012): 276.

4. Vilchez, C., Forjan, E., Cuaresma, M., Bedmar, F., Garbayo, I., and Vega, J.M. Marine carotenoids: biological functions and commercial applications. Marine Drugs. 9(3) (2011): 319.

5. Zhang, D.H. and Lee, Y.K. Ketocarotenoid production by a mutant of *Chlorococcum sp.* in an outdoor tubular photobioreactor. Biotechnology Letters. 21(1) (1999): 7.

6. Zhang, D.H., Lee, Y.M., Ng, M.L., and Phang, S.M. Composition and accumulation of secondary carotenoids in *Chlorococcum sp.* Journal of Applied Phycology. 2(9) (1997): 147.

7. Issarapayup, K., Powtongsook, S., and Pavasant, P. Flat panel airlift photobioreactors for cultivation of vegetative cells of microalga *Haematococcus pluvialis.* J Biotechnol. 142(3-4) (2009): 227.

8. Wannasutthiwat, S. Growth and enhancement of carotenoids production in microalga *Chlorococcum humicola* in continuous cultivation. Master's Thesis, Department of Chemical Engineering,Engineering faculty, Chulalongkorn University, 2014

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

9. Nootong, K. and Powtongsook, S. Performance evaluation of the compact aquaculture system integrating submerged fibrousnitrifying biofilters. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 34(1) (2012): 53.

10. Camacho, F.G., Rodríguez, J.J.G., Mirón, A.S., Belarbi, E.H., Chisti, Y., and Grima, E.M. Photobioreactor scale-up for a shear-sensitive dinoflagellate microalga. Process Biochemistry. 46(4) (2011): 936.

11. Moheimani, N.R., Isdepsky, A., Lisec, J., Raes, E., and Borowitzka, M.A. Coccolithophorid algae culture in closed photobioreactors. Biotechnol Bioeng. 108(9) (2011): 2078.

12. Kaewpintong, K., Shotipruk, A., Powtongsook, S., and Pavasant, P. Photoautotrophic high-density cultivation of vegetative cells of Haematococcus pluvialis in airlift bioreactor. Bioresour Technol. 98(2) (2007): 288.

13. Hu, Q., Kurano, N., Kawachi, M., Iwasaki, I., and Miyachi, S. Ultrahigh-cell-density culture of a marine green alga *Chlorococcum littorale* in a flat-plate photobioreactor. Applied Microbiology and Biotechnology. 49(6) (1998): 655.

14. Monkonsit, S., Powtongsook, S., and Pavasant, P. Comparison between Airlift Photobioreactor and Bubble Column for Skeletonema Costatum Cultivation. Engineering Journal. 15(4) (2011): 53.

15. Das, P., Lei, W., Aziz, S.S., and Obbard, J.P. Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light. Bioresource Technology. 102(4) (2011): 3883.

16. Shu, C.-H., Tsai, C.-C., Liao, W.-H., Chen, K.-Y., and Huang, H.-C. Effects of light quality on the accumulation of oil in a mixed culture of *Chlorella sp.* and *Saccharomyces cerevisiae.* Journal of Chemical Technology & Biotechnology. 87(5) (2012): 601.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

17. Blair, M.F., Kokabian, B., and Gude, V.G. Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production. Journal of Environmental Chemical Engineering. 2(1) (2014): 665.

18. Kim, D.G., Lee, C., Park, S.M., and Choi, Y.E. Manipulation of light wavelength at appropriate growth stage to enhance biomass productivity and fatty acid methyl ester yield using *Chlorella vulgaris.* Bioresour Technol. 159(2014): 240.

19. Xi, T., Kim, D.G., Roh, S.W., Choi, J.S., and Choi, Y.E. Enhancement of astaxanthin production using *Haematococcus pluvialis* with novel LED wavelength shift strategy. Applied Microbiology and Biotechnology. 100(14) (2016): 6231.

20. Peerapornpisan, Y. Phycology, ed. 1. 2003, Chaingmai: Department of Biology,Departments of Faculty of Science, Chiang Mai University.

21. McVey, J.P. CRC handbook of mariculture. v 1: CRC series in marine science. 1983, Boca Raton, Fla.: CRC Press.

22. Phome, R. The Growth rate of Chartoceros Calcitrans Culture with Difference Colour of light. Bachelor's degree, Department of Agricultural Technology PHETCHABURI RAJABHAT, 2005

23. Karemore, A., Pal, R., and Sen, R. Strategic enhancement of algal biomass and lipid in *Chlorococcum infusionum* as bioenergy feedstock. Algal Research. 2(2) (2013): 113.

24. Feng, P., Deng, Z., Hu, Z., Wang, Z., and Fan, L. Characterization of *Chlorococcum pamirum* as a potential biodiesel feedstock. Bioresour Technol. 162(2014): 115.

25. Teo, C.L., Idris, A., Wahidin, S., and Lai, L.W. Effect of Different Light Wavelength on the Growth of Marine Microalgae. Jurnal Teknologi. 67(3) (2014): 97.

26. Aravantinou, A.F. and Manariotis, I.D. Effect of operating conditions on *Chlorococcum sp.* growth and lipid production. Journal of Environmental Chemical Engineering. 4(1) (2016): 1217.

27. Christaki, E., Bonos, E., and Florou-Paneri, P., *Innovative Microalgae Pigments as Functional Ingredients in Nutrition*, in *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*. 2015, Elsevier Inc. p. 223-243.

28. Minerva, G.-C. and Maurilio, L.-F. The use of carotenoid in aquaculture. Res J Fisheries and Hydrobiol. 8(2) (2013): 38.

29. Karadas, F., Grammenidis, E., Surai, P.F., Acamovic, T., and Sparks, N.H.C. Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. British Poultry Science. 47(5) (2006): 561.

30. Yuan, J.-P., Chen, F., Liu, X., and Li, X.-Z. Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum.* Food Chemistry. 76(3) (2002): 319.

31. Bar, E., Rise, M., Vishkautsan, M., and Arad, S. Pigment and Structural Changes in *Chlorella zofingiensis* upon Light and Nitrogen Stress. Journal of Plant Physiology. 146(4) (1995): 527.

32. Ota, M., Watanabe, H., Kato, Y., Watanabe, M., Sato, Y., Smith, R.L., Jr., and Inomata, H. Carotenoid production from Chlorococcum littorale in photoautotrophic cultures with downstream supercritical fluid processing. J Sep Sci. 32(13) (2009): 2327.

33. Zhi, C. and Rorrer, G.L. Photolithotrophic cultivation of Laminaria saccharina gametophyte cells in a bubble-column bioreactor. Enzyme and Microbial Technology. 18(4) (1996): 291.

34. Barbosa, M.J., Janssen, M., Ham, N., Tramper, J., and Wijffels, R.H. Microalgae cultivation in air-lift reactors: modeling biomass yield and growth rate as a function of mixing frequency. Biotechnol Bioeng. 82(2) (2003): 170.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

35. Lopez, M.C., Sanchez Edel, R., Lopez, J.L., Fernandez, F.G., Sevilla, J.M., Rivas, J., Guerrero, M.G., and Grima, E.M. Comparative analysis of the outdoor culture of *Haematococcus pluvialis* in tubular and bubble column photobioreactors. J Biotechnol. 123(3) (2006): 329.

36. Klochkova, T.A., Kang, S.-H., Cho, G.Y., Pueschel, C.M., West, J.A., and Kim, G.H. Biology of a terrestrial green alga, Chlorococcum sp. (Chlorococcales, Chlorophyta), collected from the Miruksazi stupa in Korea. Phycologia. 45(3) (2006): 349.

37. Molina, E., Fernandez, J., Acien, F.G., and Chisti, Y. Tubular photobioreactor design for algal cultures. J Biotechnol. 92(2) (2001): 113.

38. Richmond, A., Boussiba, S., Vonshak, A., and Kopel, R. A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. Journal of Applied Phycology. 5(3) (1993): 327.

39. Marsullo, M., Mian, A., Ensinas, A.V., Manente, G., Lazzaretto, A., and Marechal, F. Dynamic Modeling of the Microalgae Cultivation Phase for Energy Production in Open Raceway Ponds and Flat Panel Photobioreactors. Frontiers in Energy Research. 3(41) (2015): 101.

40. Masojidek, J., Torzillo, G., Kopecky, J., Koblížek, M., Nidiaci, L., Komenda, J., Lukavska, A., and Sacchi, A. Changes in chlorophyll fluorescence quenching and pigment composition in the green alga *Chlorococcum sp.* grown under nitrogen deficiency and salinity stress. Journal of Applied Phycology. 4(12) (2000): 417.

41. Ota, M., Kato, Y., Watanabe, M., Sato, Y., Smith, R.L., Rosello-Sastre, R., Posten, C., and Inomata, H. Effects of nitrate and oxygen on photoautotrophic lipid production from *Chlorococcum littorale.* Bioresource Technology. 102(3) (2011): 3286.

42. Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J.B., Herdman, M., and Stanier, R.Y. Generic Assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria. Microbiology. 111(1) (1979): 1.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

43. Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R. A Practical Handbook of Seawater Analysis. 1972: Fisheries Research Board of Canada.

44. American Public Health Association (APHA). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1998: American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation: Washington DC.

45. Jodłowska, S. and Latała, A. The Comparison of Spectrophotometric Method and High-Performance Liquid Chromatography in Photosynthetic Pigments Analysis. Journal of Biological Sciences. 11(2) (2011): 63.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

Strickland and Parsons et al., (1972)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. UV-Vis Spectrophotometer
2. เครื่อง Centrifuge
3. เครื่อง Vortex
4. สารละลาย 90% Acetone
5. แท่งแก้วบดสาร
6. กระดาษ Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร
7. ชุดเครื่องแก้วทดลอง

วิธีการวิเคราะห์

1. เก็บตัวอย่างจากการทดลอง
2. นำจุลสาหร่ายตัวอย่างมาปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรใส่ลงใน Eppendorf แล้ว Centrifuge เพื่อแยกชั้นของน้ำและเซลล์จุลสาหร่าย
3. ดูดส่วนที่เป็นน้ำออก หลังจากนั้นบดเซลล์ด้วยแท่งแก้วเพื่อให้เซลล์แตก
4. เติมสารละลาย 90% Acetone ลงไปด้วยอัตราส่วนที่เท่ากับปริมาตรของของเหลวตัวอย่างที่เก็บมา
5. นำไป Centrifuge ที่ 5000 rpm เป็นเวลา 5 นาที และ Vortex ที่ 5000 rpm อีก 5 นาที ทาซ้ำ 3 ครั้ง
6. เก็บตัวอย่างข้ามคืนในที่เย็นและห้ามโดนแสง
7. นำตัวอย่างที่เก็บข้ามคืนมา Centrifuge ที่ 5000 rpm เป็นเวลา 5 นาที และ Vortex ที่ 5000 rpm อีก 5 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง
8. นำสารละลายส่วนที่ใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ช่วงความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง

1. คลอโรฟิลล์ (Chlorophylls) ช่วงความยาวคลื่น 665, 645, และ 630 นาโนเมตร

2. แคโรทีนอยด์ (Total carotenoids) ช่วงความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร

วิธีการคำนวณ

Total carotenoids (µg/mL) = $(4*E_{480}).\ V_a \cdot V_b^{-1}$

Chlorophyll A (µg/mL) = $(11.6*E_{665}-1.31*E_{645}-0.014*E_{630}).V_a \cdot V_b^{-1}$

สำหรับ cuvette ความกว้าง 1 cm

เมื่อ

V_a คือ ปริมาตรสารละลาย (mL)

V_b คือ ปริมาตรของเหลวตัวอย่าง (mL)

อ้างอิงสมการประยุกต์จาก Jodłowska and Latała [45]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง (Dry weight)

APHA, (1992)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง 4 ตาแหน่ง
2. กระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร
3. ตู้อบ
4. Vacuum dessicator

วิธีการ

1. นำกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร ไปอบที่อุณหภูมิประมาณ 95 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ และเก็บไว้ใน Vacuum dessicator
2. เก็บของเหลวตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร
3. กรองของเหลวตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร ที่ผ่านการอบ จากข้อ 1
4. ล้างเซลล์จุลสาหร่ายบนกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น
5. นำกระดาษกรองที่ผ่านการกรองตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิประมาณ 95 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท
6. นำค่าน้ำหนักตัวอย่างที่วัดได้ลบกับค่าน้ำหนักของกระดาษกรองเริ่มต้น ทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและฟอสเฟต

APHA, (1992) และ Strickland and Parsons et al., (1972)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. UV-Vis Spectrophotometer

2. เครื่อง Vortex

3. กระดาษ Whatman GF/C ขนาด 47 มิลลิเมตร

4. ชุดเครื่องแก้วทดลอง

5. Ammonium molybdate: $(NH_4)_6Mo_7O_{24}•4H_2O$

6. Sulfuric Acid: H_2SO_4

7. Ascorbic Acid

8. Potassium antimony tartrate: $K(SbO)C_4H_4O_6•0.5H_2O$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิธีการเตรียมสารละลายรีเอเจนต์สาหรับวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

1. Ammonium molybdate ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ $4H_2O$)
   - ละลาย Ammonium molybdate 15 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวด พลาสติกทึบแสง)
2. Sulfuric Acid (H2SO4):
   - เติม Sulfuric Acid 140 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 900 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดแก้วและเก็บไว้ในที่เย็น)
3. Ascorbic Acid:
   - ละลาย Ascorbic Acid (AR grade) 27 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวด พลาสติกและเก็บไว้ในที่เย็น)

4. Potassium antimony tartrate solution:

- ละลาย Potassium antimony tartrate 0.34 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดพลาสติกหรือขวดแก้ว)

5. Mixed reagent

- นำสารที่เตรียมในข้อ 1-4 มาผสมกันโดยเรียงลำดับดังนี้ Ammonium molybdate solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร Sulfuric Acid solution ปริมาตร 250 มิลลิลิตร Ascorbic Acid solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร Potassium antimony tartrate solution ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

หมายเหตุ: ควรเตรียมสารใหม่ทุกครั้ง และไม่สามารถเก็บสารได้นานเกิน 6 ชั่วโมง ปริมาตรดังกล่าวนี้สามารถใช้ได้กับตัวอย่างน้ำจำนวน 50 ตัวอย่าง

สร้างค่ามาตรฐาน (Standard) ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต

1. เตรียมความเข้มข้นของสารละลายไนเตรท 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสารละลาย $(KNO_3)NO_3^-$

2. เตรียมความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟต 0.2, 0.4, 0.6, 1.8 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสารละลาย PO_4

3. นำสารทั้งสองชนิดไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยไนเตรทวัดช่วงความยาวคลื่น 220 และ 275 นาโนเมตร ฟอสเฟตวัดช่วงความยาวคลื่น 885 นาโนเมตร

4. สร้างกราฟความเข้มข้นมาตรฐานของไนเตรทและฟอสเฟต

ขั้นตอนการวิเคราะห์ไนเตรท

1. กรองของเหลวตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 25 มิลลิเมตร
2. Dilute สารละลายตัวอย่าง 50 เท่า
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 220 และ 275 นาโนเมตร
4. คำนวณผลที่ได้เทียบกับค่ามาตรฐาน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ขั้นตอนการวิเคราะห์ฟอสเฟต

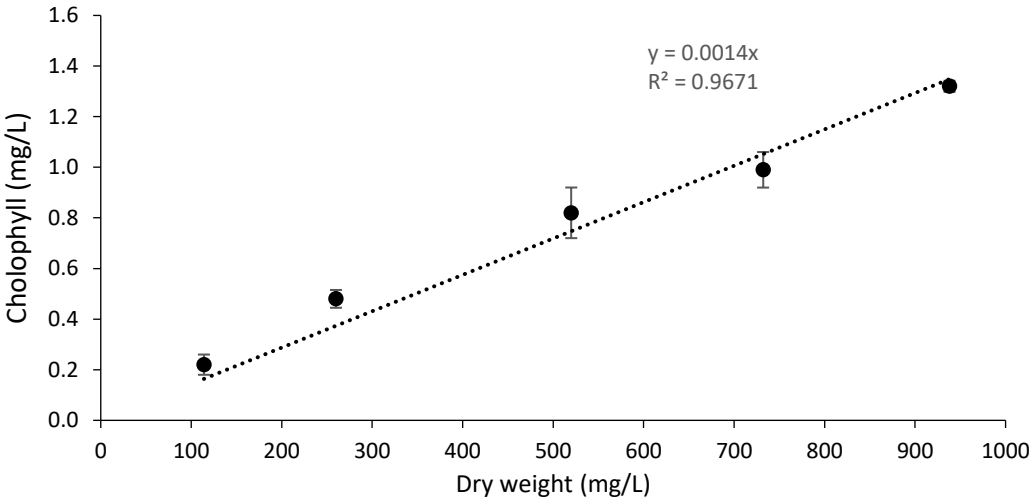
1. กรองของเหลวตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 25 มิลลิเมตร
2. เติมรีเอเจนต์ลงในน้ำตัวอย่างด้วยอัตราส่วนของรีเอเจนต์ต่อปริมาณของเหลวตัวอย่าง 1:10
3. ทำให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วย Vortex
4. ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที แต่ไม่ควรเกิน 2 ชั่วโมง
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 885 นาโนเมตร
6. คำนวณผลที่ได้เทียบกับค่ามาตรฐาน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ง

การติดตามผลการทดลอง

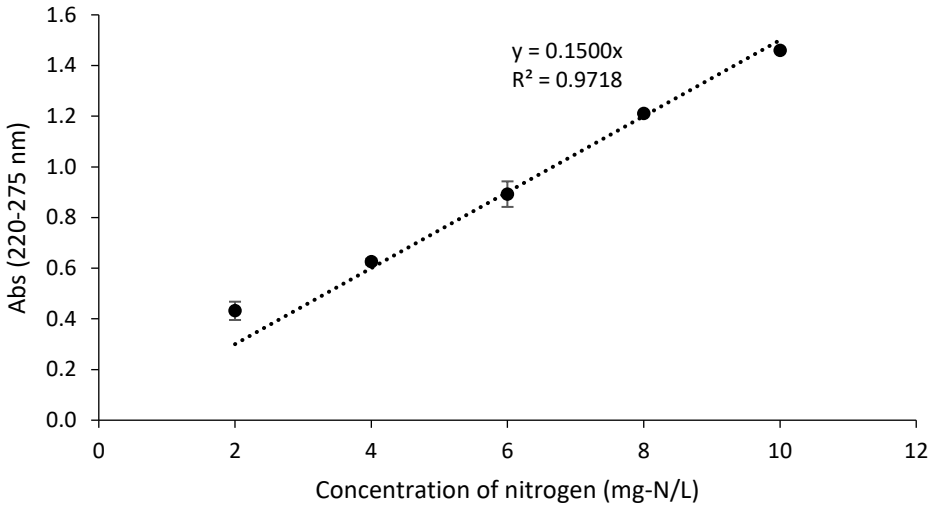
1. การวิเคราะห์มวลชีวภาพจากการวัดคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll determination)



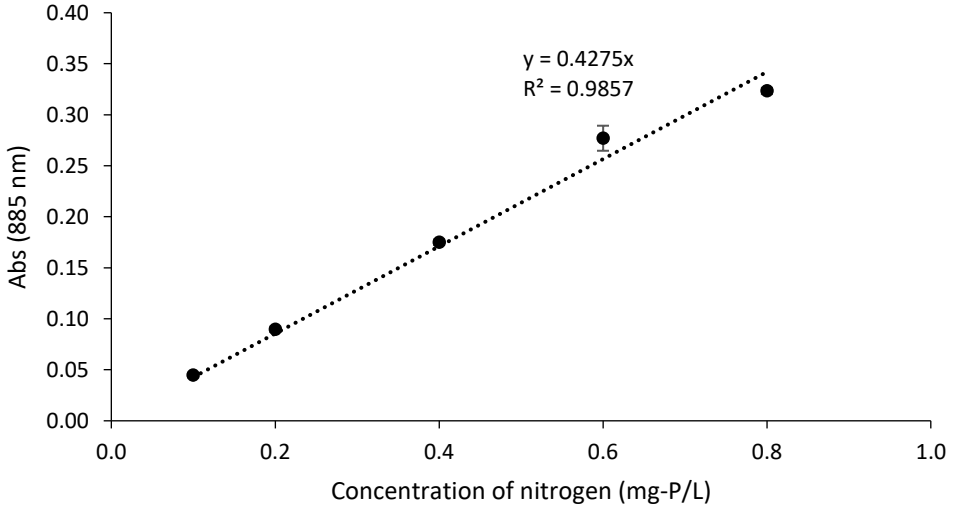
ภาพที่ ง-1 กราฟมาตรฐานมวลชีวภาพจุลสาหร่าย *C. humicola* ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน



ภาพที่ ง-2 กราฟมาตรฐานสารละลายไนเตรท



ภาพที่ ง-3 กราฟมาตรฐานสารละลายฟอสเฟต

3.การคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะของจุลสาหร่าย

เมื่อทราบความหนาแน่นของเซลล์จากการวัดค่าการดูดกลืนแสง สามารถคำนวณอัตราการเติบโตของจุลสาหร่ายได้จากสมการ

$$m = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1}$$

เมื่อ μ คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

N_1 คือ น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่ายที่เวลา t_1

N_2 คือ น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่ายที่เวลา t_2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก จ

ผลการเติบโตของจุลสาหร่ายโดยวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง

ตารางที่ จ-1 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	37.39	22.64	31.26	30.43±7.41
2	81.15	36.84	54.18	57.39±22.33
3	165.32	140.87	154.21	153.47±12.24
4	177.13	173.66	174.35	175.05±1.84
5	243.12	277.85	269.52	263.50±18.13
6	323.75	316.56	300.78	313.70±11.75
7	423.73	424.42	409.14	419.10±8.63
8	532.79	552.24	552.24	545.76±11.23
9	569.60	639.07	611.28	606.65±34.97
10	568.91	640.46	611.98	607.12±36.02
11	573.08	641.15	593.22	602.48±34.97
12	580.02	625.87	589.05	598.31±24.29
13	580.72	609.89	589.05	593.22±15.03
14	583.50	608.50	586.97	592.99±13.54
15	605.03	617.53	594.61	605.72±11.48

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-2 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	39.59	21.66	30.56	30.6±8.97
2	74.18	46.50	53.49	58.06±14.39
3	161.03	146.28	142.40	149.90±9.83
4	208.39	209.09	207.70	208.39±0.70
5	298.81	234.79	247.29	260.30±33.93
6	303.51	349.40	263.96	305.62±42.76
7	410.45	426.51	439.71	425.56±14.65
8	483.71	555.71	541.82	527.08±38.20
9	546.68	577.24	591.83	571.92±23.04
10	548.07	595.59	584.88	576.18±24.93
11	563.35	611.98	571.69	582.34±26.01
12	564.74	577.94	569.60	570.76±6.68
13	570.99	597.59	564.05	577.54±17.70
14	584.19	584.19	541.82	570.07±24.46
15	596.69	609.89	597.39	601.32±7.43

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-3 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงิน

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	33.30	36.84	16.79	28.98±10.7
2	70.16	64.73	29.82	54.90±21.89
3	95.17	72.43	35.43	67.68±30.15
4	97.25	84.72	52.24	78.07±23.23
5	100.77	95.17	63.21	86.38±20.26
6	114.62	111.14	130.72	118.83±10.45
7	155.96	161.85	131.98	149.93±15.82
8	174.35	197.97	168.80	180.37±15.49
9	292.44	267.44	222.28	260.72±35.56
10	291.72	291.75	222.98	268.82±39.70
11	288.27	264.66	223.67	258.87±32.69
12	292.44	257.02	223.67	257.71±34.39
13	293.14	257.71	224.37	258.41±34.39
14	293.14	257.71	225.06	258.64±34.05
15	285.50	258.41	251.46	265.12±17.99

ตารางที่ จ-4 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง จากหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	14.12	23.62	29.87	22.54±7.93
2	23.68	28.48	35.43	29.20±5.91
3	38.90	46.54	47.93	44.46±4.86
4	61.16	61.82	63.91	62.30±1.44
5	63.98	69.46	84.75	72.73±10.76
6	151.35	154.21	160.46	155.34±4.66
7	375.10	368.16	361.91	368.39±6.60
8	445.26	416.78	458.46	440.17±21.30
9	448.04	462.63	430.68	447.12±16.00
10	452.90	475.13	455.68	461.24±12.11
11	521.67	517.50	514.03	517.73±3.83
12	579.33	569.60	573.08	574.00±4.93
13	569.60	564.05	573.08	568.91±4.55
14	563.35	523.76	571.69	552.93±25.61
15	572.38	521.67	573.77	555.94±29.69

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-5 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินจากหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	19.33	22.92	19.33	20.53±2.07
2	18.06	17.37	15.98	17.14±1.06
3	42.37	46.54	38.90	42.6±3.83
4	78.69	99.33	59.04	79.02±20.15
5	84.75	103.50	83.36	90.54±11.25
6	90.49	100.72	86.14	92.45±7.49
7	156.48	176.44	148.65	160.52±14.33
8	310.81	316.06	300.08	308.98±8.15
9	382.05	384.83	369.55	378.81±8.14
10	411.88	413.31	395.94	407.04±9.64
11	411.23	419.56	393.16	407.98±13.5
12	411.23	420.26	383.44	404.98±19.19
13	384.83	419.56	393.86	399.42±18.02
14	378.58	420.26	384.83	394.56±22.48
15	379.27	424.42	389.69	397.79±23.64

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-6 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะคงที่

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	36.22	35.43	43.07	38.24±4.20
2	48.17	38.21	43.76	43.38±4.99
3	77.15	70.85	76.41	74.80±3.44
4	209.51	209.09	215.34	211.31±3.49
5	246.60	236.87	278.55	254.01±21.8
6	316.46	319.53	328.56	321.52±6.29
7	361.05	364.68	389.69	371.81±15.59
8	509.60	524.45	517.50	517.18±7.43
9	550.15	555.71	556.40	554.09±3.43
10	574.67	570.30	577.94	574.30±3.83
11	573.08	573.77	578.63	575.16±3.02
12	574.47	575.85	579.33	576.55±2.50
13	575.16	582.80	579.33	579.10±3.83
14	586.97	583.50	580.02	583.50±3.48
15	587.66	586.97	571.69	582.11±9.03

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-7 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะคงที่

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	47.67	31.26	36.82	38.58±8.35
2	63.61	48.17	42.37	51.38±10.98
3	108.36	77.15	83.36	89.62±16.52
4	219.37	222.28	229.23	223.63±5.07
5	225.76	223.67	235.48	228.30±6.30
6	307.72	324.40	245.90	292.67±41.36
7	360.52	369.55	361.91	363.99±4.86
8	515.42	523.76	517.50	518.89±4.34
9	559.88	548.07	532.79	546.91±13.58
10	557.79	556.40	540.43	551.54±9.65
11	557.10	560.57	557.10	558.26±2.00
12	557.10	558.49	555.02	556.87±1.75
13	561.96	554.32	555.71	557.33±4.07
14	555.02	557.10	553.63	555.25±1.75
15	564.74	561.27	561.27	562.43±2.00

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-8 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ในช่วงระยะคงที่

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	33.72	45.15	38.21	39.03±5.76
2	75.16	55.57	60.43	63.72±10.20
3	109.55	100.03	111.14	106.91±6.01
4	183.81	126.42	156.29	155.51±28.70
5	245.90	217.42	238.26	233.86±14.74
6	319.53	308.42	313.28	313.74±5.57
7	445.96	429.98	425.81	433.92±10.64
8	540.43	502.22	519.59	520.75±19.13
9	530.70	530.01	527.23	529.31±1.84
10	523.76	524.45	531.40	526.54±4.23
11	524.45	534.87	529.31	529.54±5.21
12	548.07	545.98	547.37	547.14±1.06
13	555.02	539.04	555.71	549.92±9.43
14	556.40	557.10	564.74	559.41±4.63
15	570.30	563.35	584.19	572.61±10.61

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-9 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ + แสงสีน้ำเงิน 6 วัตต์ ในช่วงระยะคงที่

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	45.97	34.73	37.51	39.40±5.85
2	58.31	60.43	63.21	60.65±2.46
3	65.30	77.80	72.24	71.78±6.26
4	118.51	177.13	176.44	157.36±33.65
5	216.73	245.90	243.82	235.48±16.27
6	307.72	327.17	323.01	319.3±10.24
7	416.09	428.59	445.96	430.21±15.00
8	500.83	532.79	517.50	517.04±15.98
9	515.42	522.37	517.50	518.43±3.57
10	530.01	525.15	518.20	524.45±5.94
11	537.65	525.15	536.26	533.02±6.85
12	538.34	541.82	536.26	538.81±2.81
13	548.07	507.09	544.60	533.25±22.72
14	554.32	535.57	532.09	540.66±11.96
15	561.27	557.10	554.32	557.56±3.50

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-10 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ + แสงสีแดง 6 วัตต์ ในช่วงระยะคงที่

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	37.23	45.15	36.82	39.73±4.70
2	59.30	62.52	61.82	61.21±1.69
3	73.21	83.36	70.85	75.81±6.65
4	153.99	159.77	157.68	157.15±2.93
5	243.82	238.26	237.57	239.88±3.43
6	327.61	315.37	307.03	316.67±10.35
7	441.09	416.09	422.34	426.51±13.01
8	519.59	534.87	516.12	523.53±9.98
9	521.67	546.68	540.43	536.26±13.02
10	531.40	555.02	532.09	539.5±13.44
11	548.07	557.10	554.32	553.16±4.62
12	556.40	548.07	558.49	554.32±5.51
13	577.94	570.30	561.96	570.07±7.99
14	578.63	571.69	564.05	571.46±7.29
15	570.30	571.69	564.74	568.91±3.68

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-11 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.2 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	38.70	15.28	45.85	33.28±15.99
2	84.05	45.85	84.75	71.55±22.26
3	106.97	84.75	105.58	99.10±12.45
4	122.26	116.70	120.87	119.94±2.89
5	129.90	129.20	127.81	128.97±1.06
6	142.40	128.51	154.21	141.71±12.86
7	185.47	177.83	170.19	177.83±7.64
8	193.11	207.70	177.83	192.88±14.94
9	205.61	199.36	204.92	203.30±3.43
10	239.65	246.60	254.93	247.06±7.65
11	261.18	247.29	269.52	259.33±11.23
12	348.71	319.53	346.62	338.29±16.28
13	469.57	448.04	478.61	465.41±15.70
14	488.33	509.17	492.50	496.67±11.03
15	493.89	509.86	493.19	498.98±9.43

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-12 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ อัตราไหลของอากาศ 1.2 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	25.65	15.28	30.56	23.83±7.80
2	38.21	22.92	49.32	36.82±13.26
3	46.85	31.26	49.32	42.48±9.79
4	70.16	38.21	77.10	61.82±20.74
5	75.72	76.41	84.75	78.96±5.03
6	83.36	92.39	91.69	89.15±5.02
7	86.14	72.94	100.03	86.37±13.55
8	91.00	76.41	104.89	90.77±14.24
9	93.44	77.10	105.58	92.04±14.29
10	103.50	103.50	104.20	103.73±0.40
11	128.51	142.40	130.59	133.83±7.49
12	175.18	169.49	209.78	184.82±21.81
13	241.73	247.29	269.52	252.85±14.70
14	379.63	382.05	338.29	366.66±24.60
15	400.81	444.57	415.39	420.26±22.28

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-13 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 0.2 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	13.89	18.76	23.62	18.76±4.87
2	15.98	23.62	28.48	22.69±6.3
3	40.95	45.15	52.79	46.30±60
4	43.76	44.46	53.49	47.24±5.43
5	54.18	51.40	68.07	57.88±8.93
6	63.21	38.90	70.85	57.65±16.68
7	77.10	38.21	72.94	62.75±21.35
8	66.69	72.24	74.33	71.09±3.95
9	68.07	72.94	77.10	72.70±4.52
10	91.69	84.05	93.08	89.61±4.86
11	93.08	84.75	97.25	91.69±6.36
12	121.56	84.05	93.08	99.56±19.58
13	125.03	83.36	91.69	100.03±22.05
14	127.81	100.03	92.39	106.74±18.64
15	123.65	116.08	100.03	113.25±12.06

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-14 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 0.6 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	19.55	22.92	13.89	18.79±4.56
2	97.25	84.05	100.72	94.01±8.8
3	160.46	167.59	177.13	168.39±8.36
4	211.17	216.73	228.54	218.81±8.87
5	316.75	330.65	337.59	328.33±10.61
6	345.93	348.01	348.71	347.55±1.45
7	411.64	377.88	389.69	393.07±17.13
8	432.06	448.74	484.86	455.22±26.99
9	448.04	463.32	477.22	462.86±14.6
10	502.22	489.72	516.81	502.92±13.56
11	600.86	556.40	624.48	593.91±34.57
12	708.53	676.58	696.72	693.94±16.15
13	698.11	693.25	780.08	723.81±48.79
14	687.00	677.97	777.99	714.32±55.32
15	709.92	693.94	694.64	699.50±9.03

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-15 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.2 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	24.03	18.76	31.26	24.68±6.28
2	84.75	77.10	68.07	76.64±8.35
3	213.25	209.09	216.03	212.79±3.49
4	246.60	250.76	250.07	249.14±2.23
5	337.59	331.34	327.87	332.27±4.93
6	369.55	377.88	355.65	367.69±11.23
7	379.27	431.37	590.44	467.03±110.01
8	604.33	601.56	656.43	620.77±30.91
9	609.89	772.44	780.08	720.80±96.13
10	693.94	848.15	772.44	771.51±77.11
11	771.05	826.55	693.25	763.62±66.96
12	802.31	764.10	823.84	796.75±30.26
13	786.33	794.67	774.52	785.17±10.12
14	773.83	793.97	694.64	754.15±52.51
15	832.87	764.10	700.19	765.72±66.35

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-16 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	22.70	31.26	15.98	23.31±7.66
2	139.62	137.54	154.90	144.02±9.48
3	331.53	261.18	338.98	310.56±42.93
4	392.47	384.83	389.00	388.77±3.83
5	432.76	448.04	456.38	445.73±11.98
6	496.67	548.07	520.28	521.67±25.73
7	563.35	640.46	600.86	601.56±38.56
8	628.65	704.36	715.48	682.83±47.25
9	725.20	918.31	732.84	792.12±109.35
10	787.02	926.65	864.82	859.50±69.97
11	787.72	864.82	932.90	861.81±72.64
12	859.27	837.04	969.02	888.44±70.66
13	863.43	894.00	957.21	904.88±47.83
14	955.82	872.46	941.93	923.4±44.66
15	803.00	871.77	1009.31	894.69±55.05

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-17 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 2.5 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	37.24	22.92	14.59	24.92±11.46
2	168.80	141.71	209.78	173.43±34.27
3	312.59	307.72	292.44	304.25±10.51
4	338.29	312.59	325.78	325.55±12.85
5	392.47	400.81	403.58	398.95±5.78
6	433.45	424.42	436.93	431.60±6.46
7	504.92	515.42	524.45	514.93±9.77
8	618.92	609.89	585.58	604.80±17.24
9	654.35	646.71	833.56	711.54±105.74
10	725.90	777.99	854.40	786.10±64.63
11	793.28	850.24	851.63	831.72±33.29
12	817.59	864.82	805.08	829.16±31.51
13	833.56	864.82	802.31	833.56±31.26
14	779.38	895.39	864.82	846.53±60.13
15	778.69	856.25	854.40	829.78±44.25

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-18 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที ให้แสงสีขาว ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	52.10	31.26	40.98	41.45±10.43
2	162.55	177.13	177.13	172.27±8.42
3	293.83	191.72	261.88	249.14±52.23
4	316.06	238.26	301.47	285.26±41.35
5	323.70	315.37	310.50	316.52±6.67
6	375.10	469.57	378.58	407.75±53.57
7	392.47	487.64	455.68	445.26±48.43
8	418.17	419.56	527.92	455.22±62.97
9	486.94	446.65	440.40	458.00±25.26
10	532.79	546.68	532.79	537.42±8.02
11	648.10	609.89	610.59	622.86±21.86
12	687.00	609.89	693.25	663.38±46.43
13	735.80	721.81	744.58	731.58±10.03
14	779.38	847.46	748.82	791.89±50.49
15	759.24	904.42	727.98	797.21±94.15

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-19 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที ให้แสงสีขาว ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ในระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ และให้แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ + แสงน้ำเงิน 6 วัตต์ในระยะคงที่

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	24.31	52.10	38.21	38.21±13.89
2	204.22	208.03	210.19	209.11±4.57
3	323.01	270.21	301.47	298.23±26.55
4	331.34	311.89	300.78	314.67±15.47
5	439.71	445.96	439.22	441.63±3.76
6	470.96	501.53	489.02	487.17±15.37
7	589.75	594.61	609.20	597.85±10.12
8	624.48	625.87	626.56	625.64±1.06
9	778.69	696.72	701.58	725.66±45.98
10	819.67	855.79	777.99	817.82±38.93
11	722.42	840.51	905.11	822.68±92.64
12	855.79	864.13	866.21	862.05±5.51
13	853.44	779.38	864.82	832.55±46.39
14	903.03	872.46	863.43	879.64±20.75
15	878.34	880.11	878.72	879.05±10.93

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ จ-20 น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที ให้แสงสีขาว ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ในระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ และให้แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ + แสงน้ำเงิน 6 วัตต์ในระยะคงที่

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	31.26	45.15	50.01	42.14±9.73
2	192.19	153.51	161.16	168.95±20.48
3	199.92	207.70	209.09	205.57±4.94
4	209.78	211.17	218.81	213.25±4.86
5	301.47	279.24	231.31	270.68±35.86
6	378.58	377.19	469.57	408.45±52.94
7	458.46	455.68	440.40	451.51±9.72
8	463.22	477.91	477.91	473.01±8.48
9	469.57	487.64	532.79	496.67±32.56
10	546.68	538.34	517.50	534.18±15.03
11	543.49	589.05	518.20	550.25±35.91
12	625.87	648.79	654.35	643.00±15.10
13	633.38	645.77	649.22	640.78±10.22
14	766.88	716.87	717.56	733.77±28.68
15	771.05	766.19	732.84	756.69±20.80

ภาคผนวก ฉ

ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola*

ตารางที่ ฉ-1 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.22	0.18	0.12	0.17±0.05
2	0.40	0.37	0.32	0.36±0.04
3	0.98	1.05	1.20	1.08±0.11
4	1.25	1.20	1.51	1.32±0.17
5	1.65	1.56	2.00	1.74±0.23
6	1.83	2.02	2.20	2.02±0.19
7	2.29	2.43	2.70	2.47±0.21
8	2.72	2.65	2.81	2.73±0.08
9	2.72	2.65	2.90	2.76±0.13
10	2.60	3.03	3.30	2.98±0.36
11	3.21	3.28	3.43	3.31±0.11
12	3.54	3.88	3.42	3.61±0.24
13	3.80	3.62	3.77	3.73±0.10
14	3.69	3.72	3.70	3.70±0.02
15	3.72	3.60	3.81	3.71±0.11

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงน้ำเงิน

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.16	0.20	0.19	0.18±0.02
2	0.47	0.44	0.21	0.37±0.14
3	0.93	0.55	0.42	0.63±0.27
4	0.89	0.60	0.55	0.68±0.18
5	0.90	0.82	0.69	0.80±0.10
6	0.80	0.80	1.10	0.90±0.17
7	1.04	0.83	0.79	0.89±0.14
8	1.35	0.82	1.21	1.13±0.28
9	1.43	0.88	1.21	1.17±0.28
10	1.44	1.21	1.22	1.29±0.13
11	1.15	1.41	1.26	1.27±0.13
12	1.20	1.70	1.50	1.47±0.25
13	1.43	1.81	1.59	1.61±0.19
14	1.76	1.90	1.78	1.81±0.08
15	1.98	1.88	1.85	1.90±0.07

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.23	0.19	0.10	0.17±0.07
2	0.41	0.40	0.40	0.40±0.01
3	0.80	0.82	0.94	0.85±0.07
4	1.12	1.07	1.05	1.08±0.04
5	1.61	1.66	1.63	1.63±0.03
6	1.65	1.66	1.64	1.65±0.01
7	1.92	1.83	1.84	1.86±0.05
8	2.32	2.64	2.59	2.52±0.17
9	2.20	2.87	3.01	2.69±0.43
10	2.26	2.76	3.44	2.82±0.59
11	2.64	3.03	3.48	3.05±0.42
12	3.43	3.20	3.00	3.21±0.21
13	3.69	3.77	3.51	3.66±0.13
14	3.46	3.66	3.52	3.54±0.10
15	3.55	3.47	3.56	3.53±0.05

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง จากหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.09	0.14	0.10	0.11±0.03
2	0.11	0.17	0.13	0.14±0.03
3	0.12	0.18	0.15	0.15±0.03
4	0.15	0.21	0.18	0.18±0.03
5	0.21	0.25	0.22	0.23±0.02
6	0.70	0.72	0.67	0.70±0.03
7	2.11	2.00	2.30	2.14±0.15
8	2.20	2.12	2.21	2.18±0.05
9	2.37	2.35	2.30	2.34±0.04
10	2.87	2.78	2.76	2.8±0.06
11	2.91	2.87	2.85	2.88±0.03
12	3.21	3.20	3.40	3.27±0.11
13	3.28	3.45	3.61	3.44±0.17
14	3.24	3.56	3.55	3.45±0.18
15	3.21	3.45	3.56	3.41±0.18

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-5 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินจากหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาว

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.14	0.10	0.11	0.12±0.02
2	0.12	0.13	0.14	0.13±0.01
3	0.16	0.17	0.18	0.17±0.01
4	0.35	0.36	0.40	0.37±0.03
5	0.42	0.45	0.46	0.44±0.02
6	0.58	0.61	0.62	0.60±0.02
7	1.04	0.99	0.87	0.97±0.09
8	1.89	1.91	1.84	1.88±0.04
9	2.11	2.18	2.10	2.13±0.04
10	2.35	2.43	2.33	2.37±0.05
11	2.22	2.46	2.20	2.29±0.14
12	2.10	2.45	2.35	2.3±0.18
13	2.12	2.43	2.32	2.29±0.16
14	2.13	2.39	2.43	2.32±0.16
15	2.65	2.67	2.78	2.70±0.07

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-6 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดงความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะคงที่

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.17	0.18	0.19	0.18±0.01
2	0.26	0.33	0.36	0.32±0.05
3	0.30	0.35	0.41	0.35±0.06
4	0.88	0.76	0.81	0.82±0.06
5	1.21	1.23	1.22	1.22±0.01
6	1.38	1.43	1.40	1.40±0.03
7	1.63	1.72	1.60	1.65±0.06
8	2.94	2.75	2.86	2.85±0.10
9	2.96	3.55	2.97	3.16±0.34
10	3.32	3.76	3.13	3.4±0.32
11	3.88	3.66	3.32	3.62±0.28
12	3.99	3.92	3.77	3.89±0.11
13	4.00	4.19	3.85	4.01±0.17
14	4.00	4.16	4.01	4.06±0.09
15	4.00	4.01	4.00	4.00±0.01

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-7 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีน้ำเงินความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในช่วงระยะคงที่

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.22	0.21	0.18	0.20±0.02
2	0.32	0.36	0.32	0.33±0.02
3	0.18	0.41	0.35	0.31±0.12
4	0.52	0.76	0.82	0.70±0.16
5	1.54	1.23	1.22	1.33±0.18
6	1.69	1.49	1.40	1.53±0.15
7	1.65	1.71	1.56	1.64±0.08
8	2.76	2.87	2.91	2.85±0.08
9	3.22	3.54	3.34	3.37±0.16
10	3.45	3.80	3.47	3.57±0.20
11	3.98	4.21	3.99	4.06±0.13
12	4.43	4.32	4.19	4.31±0.12
13	4.42	4.44	4.23	4.36±0.12
14	4.32	4.22	4.36	4.30±0.07
15	4.26	4.12	4.26	4.22±0.08

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-8 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ ในช่วงระยะคงที่

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.20	0.25	0.26	0.24±0.03
2	0.32	0.29	0.33	0.31±0.02
3	0.39	0.40	0.41	0.40±0.01
4	0.69	0.74	0.80	0.74±0.06
5	1.56	1.32	1.12	1.33±0.22
6	1.67	1.65	1.45	1.59±0.12
7	1.83	1.87	1.76	1.82±0.06
8	2.45	2.69	2.55	2.56±0.12
9	2.54	2.55	2.73	2.61±0.11
10	2.55	2.76	2.80	2.7±0.13
11	3.43	3.56	3.24	3.41±0.16
12	3.56	3.57	3.76	3.63±0.11
13	4.01	4.00	4.13	4.05±0.07
14	4.00	4.03	4.19	4.07±0.10
15	3.99	4.19	4.12	4.10±0.10

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-9 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ + แสงสีน้ำเงิน 6 วัตต์ ในช่วงระยะคงที่

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.24	0.19	0.27	0.23±0.04
2	0.30	0.28	0.35	0.31±0.04
3	0.45	0.38	0.42	0.42±0.04
4	1.01	0.75	0.74	0.83±0.15
5	1.12	1.32	1.25	1.23±0.10
6	1.32	1.56	1.42	1.43±0.12
7	1.87	1.82	1.79	1.83±0.04
8	3.17	2.55	2.04	2.59±0.57
9	3.85	3.67	3.89	3.80±0.12
10	4.15	4.21	4.12	4.16±0.05
11	4.42	4.36	4.85	4.54±0.27
12	4.52	4.44	4.81	4.59±0.20
13	4.65	4.66	4.47	4.59±0.11
14	4.59	4.56	4.47	4.54±0.06
15	4.44	4.56	4.33	4.67±0.11

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-10 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีขาวความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ + แสงสีแดง 6 วัตต์ ในช่วงระยะคงที่

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.26	0.25	0.20	0.24±0.03
2	0.28	0.35	0.29	0.31±0.04
3	0.30	0.45	0.41	0.39±0.08
4	0.52	0.55	0.45	0.51±0.05
5	1.49	1.33	1.21	1.34±0.14
6	1.51	1.43	1.32	1.42±0.10
7	1.78	1.86	1.85	1.83±0.04
8	2.13	2.48	2.50	2.37±0.20
9	2.46	2.66	2.60	2.57±0.10
10	2.78	2.75	3.01	2.84±0.14
11	3.10	2.56	2.95	2.87±0.28
12	3.15	3.38	3.45	3.33±0.16
13	3.57	3.14	3.66	3.45±0.28
14	3.24	4.12	3.69	3.68±0.44
15	3.98	4.12	3.49	3.86±0.33

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-11 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.2 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.16	0.12	0.15	0.14±0.02
2	0.23	0.20	0.19	0.21±0.02
3	0.40	0.55	0.24	0.40±0.15
4	0.42	0.56	0.25	0.41±0.16
5	0.48	0.55	0.33	0.45±0.11
6	0.65	0.57	0.57	0.60±0.05
7	0.84	0.80	0.88	0.84±0.04
8	0.91	0.90	0.90	0.90±0.01
9	1.25	1.24	1.23	1.24±0.01
10	1.43	1.54	1.46	1.48±0.06
11	1.58	1.66	1.77	1.67±0.09
12	2.32	2.34	2.23	2.30±0.06
13	2.57	2.45	2.57	2.53±0.06
14	3.23	3.12	3.33	3.23±0.11
15	3.32	3.58	3.26	3.39±0.17

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-12 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบคอลัมน์เติมอากาศ อัตราไหลของอากาศ 1.2 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.12	0.17	0.14	0.14±0.03
2	0.15	0.20	0.17	0.17±0.03
3	0.18	0.21	0.18	0.19±0.02
4	0.21	0.23	0.15	0.20±0.04
5	0.23	0.24	0.12	0.20±0.07
6	0.32	0.43	0.27	0.34±0.08
7	0.49	0.31	0.48	0.43±0.10
8	0.52	0.45	0.44	0.47±0.04
9	0.54	0.46	0.65	0.55±0.10
10	0.77	0.70	0.55	0.67±0.12
11	0.77	1.23	1.34	1.12±0.30
12	1.55	1.43	1.32	1.43±0.11
13	1.88	1.99	2.00	1.96±0.07
14	2.22	2.13	2.11	2.15±0.06
15	2.68	2.90	2.88	2.82±0.12

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-13 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 0.2 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.09	0.22	0.13	0.15±0.07
2	0.12	0.23	0.15	0.17±0.06
3	0.17	0.21	0.24	0.21±0.04
4	0.18	0.20	0.25	0.21±0.04
5	0.23	0.25	0.26	0.25±0.02
6	0.24	0.27	0.23	0.25±0.02
7	0.35	0.20	0.33	0.29±0.08
8	0.32	0.33	0.44	0.36±0.07
9	0.36	0.37	0.44	0.39±0.04
10	0.49	0.52	0.55	0.52±0.03
11	0.45	0.43	0.54	0.47±0.06
12	0.32	0.44	0.65	0.47±0.17
13	0.62	0.42	0.66	0.57±0.13
14	0.48	0.44	0.67	0.53±0.12
15	0.52	0.41	0.57	0.50±0.08

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-14 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 0.6 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.12	0.13	0.23	0.16±0.06
2	0.45	0.32	0.44	0.40±0.07
3	0.63	0.72	0.75	0.70±0.06
4	0.77	0.74	0.75	0.75±0.02
5	0.85	0.86	0.77	0.83±0.05
6	1.23	1.42	1.35	1.33±0.10
7	1.81	1.65	1.96	1.81±0.16
8	2.05	2.07	1.97	2.03±0.05
9	2.55	2.05	2.01	2.20±0.30
10	2.11	2.04	2.05	2.07±0.04
11	2.38	2.44	2.21	2.34±0.12
12	2.66	3.21	3.33	3.07±0.36
13	3.16	3.23	4.54	3.64±0.78
14	3.56	4.02	4.33	3.97±0.39
15	3.52	4.21	4.32	4.02±0.44

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-15 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.2 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.23	0.14	0.16	0.18±0.05
2	0.34	0.33	0.22	0.3±0.07
3	0.54	0.65	0.84	0.68±0.15
4	0.85	0.77	0.85	0.82±0.05
5	0.95	0.88	0.85	0.89±0.05
6	1.21	1.19	1.30	1.23±0.06
7	1.98	1.84	2.01	1.94±0.09
8	2.33	2.55	2.06	2.31±0.25
9	2.65	2.55	2.76	2.65±0.11
10	2.76	2.88	2.64	2.76±0.12
11	2.87	3.01	2.98	2.95±0.07
12	3.55	4.02	3.43	3.67±0.31
13	3.32	4.32	4.11	3.92±0.53
14	4.32	4.11	4.23	4.22±0.10
15	4.32	4.23	4.43	4.33±0.10

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-16 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.12	0.16	0.21	0.16±0.05
2	0.44	0.35	0.29	0.36±0.08
3	1.27	1.22	1.21	1.23±0.03
4	1.56	1.65	1.59	1.60±0.05
5	1.98	1.89	2.03	1.97±0.07
6	2.21	2.19	2.40	2.27±0.12
7	3.12	2.45	3.12	2.90±0.38
8	3.77	3.76	3.87	3.80±0.06
9	3.78	4.02	4.05	3.95±0.15
10	4.66	4.55	4.46	4.56±0.10
11	4.98	5.01	4.32	4.77±0.39
12	5.03	5.11	4.66	4.93±0.24
13	5.22	5.04	5.12	5.13±0.09
14	5.32	5.01	5.12	5.15±0.16
15	5.32	5.12	5.17	5.20±0.11

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-17 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 2.5 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.13	0.20	0.17	0.17±0.04
2	0.34	0.37	0.41	0.37±0.04
3	0.96	1.02	1.10	1.03±0.07
4	1.67	1.78	1.59	1.68±0.10
5	1.97	1.98	2.03	1.99±0.03
6	2.23	2.66	2.54	2.48±0.22
7	2.45	2.56	2.43	2.48±0.07
8	3.23	3.44	3.23	3.30±0.12
9	3.55	3.78	3.45	3.59±0.17
10	3.66	4.03	4.01	3.90±0.21
11	4.21	4.21	4.02	4.15±0.11
12	4.32	4.34	4.56	4.41±0.13
13	4.34	4.44	4.55	4.45±0.11
14	4.45	4.88	4.57	4.63±0.22
15	4.67	4.99	4.88	4.85±0.16

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-18 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที ให้แสงสีขาว ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.12	0.16	0.16	0.15±0.02
2	0.22	0.33	0.18	0.24±0.08
3	0.84	0.77	0.45	0.69±0.21
4	1.62	1.45	1.32	1.47±0.15
5	1.77	1.88	1.77	1.80±0.06
6	2.12	2.04	2.11	2.09±0.04
7	2.12	2.16	2.22	2.17±0.05
8	3.68	3.88	3.90	3.82±0.12
9	4.00	3.99	4.00	4.00±0.01
10	4.45	4.23	4.43	4.37±0.12
11	4.56	4.58	4.77	4.64±0.12
12	5.23	5.23	5.21	5.23±0.01
13	5.45	5.57	5.32	5.45±0.12
14	5.32	5.23	5.65	5.40±0.22
15	5.32	5.29	5.88	5.49±0.33

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-19 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที ให้แสงสีขาว ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ในระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ และให้แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ + แสงน้ำเงิน 6 วัตต์ในระยะคงที่

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.12	1.14	0.12	0.46±0.59
2	0.55	0.33	0.33	0.40±0.12
3	1.00	1.23	1.11	1.12±0.11
4	1.77	1.78	0.19	1.24±0.91
5	1.57	1.88	1.88	1.78±0.18
6	3.12	2.16	2.45	2.58±0.50
7	2.89	3.02	3.00	2.97±0.07
8	3.78	3.88	3.90	3.85±0.06
9	5.21	4.56	3.99	4.59±0.61
10	5.68	4.68	4.57	4.97±0.61
11	5.43	5.23	5.43	5.37±0.12
12	5.79	5.57	5.44	5.60±0.18
13	6.32	6.12	6.12	6.19±0.12
14	6.78	6.79	6.23	6.60±0.32
15	6.93	6.83	6.84	6.87±0.06

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ-20 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของจุลสาหร่าย *C. humicola* ที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยก อัตราไหลของอากาศ 1.6 ลิตรต่อนาที ให้แสงสีขาว ความเข้มแสง 100,000 ลักซ์ในระยะปรับตัวถึงระยะทวีคูณ และให้แสงสีขาว 100,000 ลักซ์ + แสงน้ำเงิน 6 วัตต์ในระยะคงที่

วัน	แคโรทีนอยด์ (mg/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	0.11	0.16	0.09	0.12±0.03
2	0.45	0.78	0.68	0.64±0.17
3	0.77	0.73	0.77	0.76±0.02
4	1.23	1.21	1.28	1.24±0.03
5	1.77	1.23	1.68	1.56±0.29
6	1.78	1.88	1.88	1.85±0.06
7	2.23	2.26	2.12	2.20±0.08
8	3.36	3.38	3.49	3.48±0.09
9	4.21	4.32	4.33	4.29±0.07
10	4.57	4.68	4.78	4.67±0.11
11	5.02	5.01	4.57	4.87±0.26
12	5.11	5.45	5.23	5.26±0.17
13	5.53	5.79	5.77	5.70±0.14
14	5.87	6.00	5.98	5.96±0.07
15	5.97	6.01	5.64	5.87±0.20

ภาคผนวก ช

ความเข้มข้นของธาตุอาหารไนเตรทและฟอสเฟต

ตารางที่ ช-1 ความเข้มข้นไนโตรเจนในรูปไนเตรทในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีแดง

วัน	ไนเตรท (mg-N/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	313.333	277.333	269.000	286.556±23.562
2	284.333	259.333	268.333	270.667±12.662
3	260.000	248.667	270.000	259.556±10.674
4	240.333	255.533	267.000	254.289±13.377
5	240.333	240.333	255.333	245.333±8.660
6	236.667	236.667	240.333	237.889±2.117
7	241.333	228.000	236.667	235.333±6.766
8	240.333	226.333	228.000	231.556±7.647
9	236.667	220.000	220.000	225.556±9.623
10	235.000	217.000	217.000	223.000±10.392
11	233.333	214.667	214.667	220.889±10.777
12	233.333	214.593	211.667	219.865±11.756
13	228.333	214.067	211.667	218.022±9.010
14	219.667	210.307	209.333	213.102±5.706
15	209.667	207.333	209.333	208.778±1.262

ตารางที่ ช-2 ความเข้มข้นฟอสฟอรัสในรูปฟอสเฟตในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีแดง

วัน	ฟอสเฟต (mg-P/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	7.002	8.234	7.710	7.649±0.618
2	4.780	6.596	5.804	5.727±0.911
3	1.107	2.164	1.412	1.561±0.544
4	1.053	0.936	0.954	0.981±0.063
5	1.076	0.865	0.965	0.969±0.106
6	1.029	0.819	0.921	0.923±0.105
7	0.497	0.585	0.545	0.542±0.044
8	0.384	0.433	0.411	0.409±0.025
9	0.351	0.353	0.351	0.352±0.001
10	0.178	0.187	0.183	0.183±0.005
11	0.175	0.185	0.174	0.178±0.006
12	0.171	0.181	0.172	0.175±0.006
13	0.166	0.175	0.171	0.171±0.004
14	0.166	0.170	0.167	0.168±0.002
15	0.164	0.161	0.164	0.163±0.002

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ช-3 ความเข้มข้นไนโตรเจนในรูปไนเตรทในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีขาว

วัน	ไนเตรท (mg-N/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	292.667	279.667	284.333	285.555±6.586
2	263.000	254.000	269.000	262.000±7.550
3	253.333	260.333	268.333	260.667±7.505
4	246.667	256.667	255.000	252.778±5.358
5	240.333	233.333	232.667	235.445±4.247
6	236.667	229.333	230.667	232.222±3.906
7	236.667	224.333	228.000	229.667±6.333
8	236.667	218.333	220.000	225.000±10.138
9	243.000	216.667	217.000	225.556±15.108
10	242.667	211.667	211.667	222.000±17.898
11	242.333	210.333	210.333	221.000±18.475
12	242.333	209.333	209.333	220.333±19.053
13	240.333	209.333	207.333	219.000±18.502
14	233.333	203.933	207.333	214.867±16.083
15	231.667	203.333	207.333	214.111±15.335

ตารางที่ ช-4 ความเข้มข้นฟอสฟอรัสในรูปฟอสเฟตในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีขาว

วัน	ฟอสเฟต (mg-P/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	6.441	8.070	7.132	7.214±0.818
2	5.357	6.246	6.176	5.926±0.494
3	1.419	0.784	1.245	1.149±0.328
4	1.216	0.819	0.987	1.007±0.200
5	1.008	0.877	0.854	0.913±0.083
6	0.795	0.795	0.788	0.793±0.004
7	0.725	0.648	0.632	0.668±0.050
8	0.434	0.561	0.457	0.484±0.068
9	0.311	0.377	0.352	0.347±0.033
10	0.187	0.185	0.184	0.185±0.002
11	0.168	0.184	0.175	0.176±0.008
12	0.180	0.180	0.174	0.178±0.003
13	0.175	0.171	0.170	0.172±0.003
14	0.168	0.169	0.167	0.168±0.001
15	0.166	0.164	0.165	0.165±0.001

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ช-5 ความเข้มข้นไนโตรเจนในรูปไนเตรทในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีน้ำเงิน

วัน	ไนเตรท (mg-N/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	275.000	283.000	285.000	281.000±5.292
2	257.333	256.667	269.000	261.000±6.936
3	241.333	251.667	268.333	253.778±13.623
4	239.667	250.000	267.000	252.222±13.802
5	236.667	247.333	270.333	251.444±17.206
6	241.667	237.000	268.000	248.889±16.714
7	239.667	232.667	267.333	246.556±18.331
8	230.667	229.333	255.000	238.333±14.449
9	229.667	214.667	251.667	232.000±18.610
10	226.667	213.333	247.000	229.000±16.954
11	224.000	211.100	244.667	226.589±16.932
12	218.333	207.407	237.333	221.024±15.144
13	221.000	206.667	218.333	215.333±7.623
14	214.333	204.000	214.333	210.889±5.966
15	209.667	202.880	207.333	206.627±3.448

ตารางที่ ช-6 ความเข้มข้นฟอสฟอรัสในรูปฟอสเฟตในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีน้ำเงิน

วัน	ฟอสเฟต (mg-P/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	6.729	7.602	6.643	6.992±0.531
2	2.758	2.807	3.545	3.037±0.441
3	1.326	1.132	1.172	1.210±0.102
4	1.053	1.150	1.076	1.093±0.051
5	0.953	0.843	0.713	0.836±0.120
6	0.982	0.702	0.843	0.842±0.140
7	0.561	0.561	0.468	0.530±0.054
8	0.458	0.409	0.489	0.452±0.040
9	0.360	0.327	0.271	0.320±0.045
10	0.196	0.213	0.264	0.224±0.035
11	0.126	0.190	0.281	0.199±0.078
12	0.133	0.185	0.236	0.185±0.051
13	0.196	0.176	0.210	0.194±0.017
14	0.196	0.175	0.194	0.188±0.012
15	0.189	0.171	0.195	0.185±0.013

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ช-7 ความเข้มข้นไนโตรเจนในรูปไนเตรทในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีแดง เพาะเลี้ยงหัวเชื้อด้วยแสงสีขาว

วัน	ไนเตรท (mg-N/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	280.667	275.000	285.000	280.222±5.015
2	268.667	256.667	257.333	260.889±6.744
3	268.333	251.667	255.000	258.333±8.819
4	267.667	247.333	255.000	256.667±10.269
5	268.333	237.000	247.000	250.778±16.005
6	255.000	232.667	237.000	241.556±11.843
7	255.000	229.333	232.667	239.000±13.956
8	247.000	224.000	230.667	233.889±11.834
9	247.000	221.000	224.000	230.667±14.224
10	241.667	214.000	218.333	224.667±14.881
11	230.667	211.667	214.333	218.889±10.287
12	224.000	207.407	211.667	214.358±8.618
13	224.000	207.333	207.333	212.889±9.623
14	218.333	204.000	203.933	208.755±8.295
15	214.333	202.880	202.880	206.698±6.612

ตารางที่ ช-8 ความเข้มข้นฟอสฟอรัสในรูปฟอสเฟตในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีแดง เพาะเลี้ยงหัวเชื้อด้วยแสงสีขาว

วัน	ฟอสเฟต (mg-P/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	6.199	7.543	6.642	6.795±0.685
2	5.848	5.356	5.124	5.443±0.370
3	1.429	1.462	1.541	1.477±0.057
4	1.146	1.254	1.249	1.216±0.061
5	0.821	0.942	0.912	0.892±0.063
6	0.819	0.841	0.867	0.842±0.024
7	0.770	0.742	0.796	0.769±0.027
8	0.750	0.721	0.732	0.734±0.015
9	0.710	0.703	0.722	0.712±0.010
10	0.643	0.642	0.697	0.661±0.031
11	0.468	0.456	0.454	0.459±0.007
12	0.234	0.296	0.229	0.253±0.037
13	0.201	0.198	0.194	0.198±0.004
14	0.193	0.185	0.185	0.188±0.005
15	0.187	0.185	0.176	0.183±0.006

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ช-9 ความเข้มข้นไนโตรเจนในรูปไนเตรทในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีน้ำเงิน เพาะเลี้ยงหัวเชื้อด้วยแสงสีขาว

วัน	ไนเตรท (mg-N/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	279.333	279.667	275.000	278.000±2.604
2	274.333	259.333	257.330	263.665±9.293
3	273.333	255.533	241.333	256.733±16.034
4	271.333	248.667	239.667	253.222±16.317
5	263.333	248.667	236.667	249.556±13.355
6	255.333	240.333	241.667	245.778±8.302
7	255.333	236.667	239.667	243.889±10.024
8	247.000	229.333	229.667	235.333±10.105
9	237.000	228.000	221.000	228.667±8.021
10	237.000	226.333	218.333	227.222±9.365
11	224.000	220.000	214.333	219.444±4.857
12	221.000	217.000	211.667	216.556±4.682
13	218.000	214.667	209.667	214.111±4.194
14	221.000	213.333	209.667	214.667±5.783
15	209.667	213.333	207.333	210.111±3.025

ตารางที่ ช-10 ความเข้มข้นฟอสฟอรัสในรูปฟอสเฟตในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *C. humicola* ด้วยแสงสีแดง เพาะเลี้ยงหัวเชื้อด้วยแสงสีขาว

วัน	ฟอสเฟต (mg-P/L)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1	6.409	7.598	6.444	6.817±0.676
2	5.427	5.659	5.125	5.404±0.268
3	1.310	1.433	1.426	1.390±0.069
4	1.170	1.255	1.134	1.186±0.062
5	0.823	0.953	0.913	0.896±0.066
6	0.809	0.932	0.850	0.864±0.062
7	0.700	0.723	0.743	0.722±0.022
8	0.610	0.701	0.721	0.677±0.059
9	0.345	0.387	0.356	0.363±0.022
10	0.286	0.298	0.295	0.293±0.006
11	0.254	0.254	0.233	0.247±0.012
12	0.241	0.239	0.231	0.237±0.005
13	0.214	0.201	0.203	0.206±0.007
14	0.194	0.197	0.195	0.195±0.002
15	0.179	0.195	0.176	0.183±0.010

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ซ
ค่าความขุ่นของถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแต่ละรูปแบบ

ตารางที่ ซ-1 ค่าความขุ่น (680 nm) ของการศึกษารูปแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงและอัตราไหลของอากาศต่อ การฟุ้งกระจายของเซลล์จุลสาหร่าย *C. humicola* (ผลการทดลองในหัวข้อ 4.4.1)

อัตราไหลอากาศ (L/min)	Airlift				Bubble Column			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
0.20	0.206	0.211	0.198	0.205±0.007	0.181	0.168	0.175	0.175±0.007
0.60	0.243	0.254	0.247	0.248±0.006	0.195	0.170	0.184	0.183±0.013
1.20	0.269	0.267	0.276	0.271±0.005	0.222	0.215	0.210	0.216±0.006
1.60	0.305	0.308	0.301	0.305±0.004	0.245	0.225	0.231	0.234±0.010
2.50	0.318	0.316	0.311	0.315±0.004	0.267	0.256	0.246	0.256±0.011

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ฌ

การคำนวณความยาวคลื่นแสง

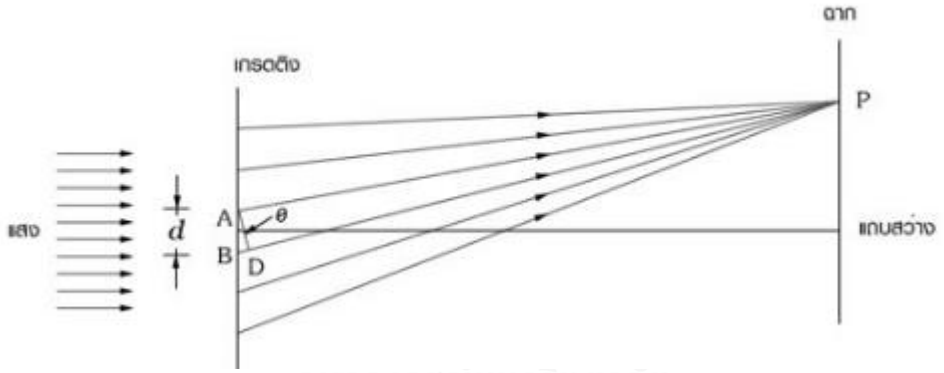
คำนวณความยาวคลื่นแสง (λ) ได้จากสมการ

$$d \sin\theta = n\lambda$$

เมื่อ n = 1, 2, 3, ...

λ คือ ความยาวของคลื่นแสง

d คือ ระยะห่างระหว่างช่องของเกรตติ้ง



รูปที่ 6.1 ภาพแสดงการเลี้ยวเบนของแสงผ่านเกรตติ้ง

[อ้างอิง : http://www.scimath.org/]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวภูไพรำ ภู่ไพบูลย์ เกิดเมื่อวันที่ 11 กรกฎาคม 2533 ที่จังหวัดขอนแก่น จบการศึกษาระดับมัธยมต้นและมัธยมปลายจากโรงเรียนกาญจนาภิเษกวิทยาลัย นครปฐม (พระตำหนักสวนกุหลาบมัธยม) สำเร็จการศึกษาระดับ ปริญญาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี (หลักสูตรสองภาษา) คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ปีการศึกษา 2555 หลังจากนั้นได้บรรจุเป็นพนักงานประจำ แผนก Technical บริษัท บริดจสโตน ไทร์ แมนูแฟคเจอริ่ง (ประเทศไทย) จำกัด จังหวัดชลบุรี ต่อมาได้รับการคัดเลือกเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต ณ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2557

ผลงานวิจัยที่ได้รับการเผยแพร่

Phuphaibul P., Powtongsook S., Nootong K. Effects of aeration rates on growth and carotenoids production in microalgae Chlorococcum humicola. Proceedings of the 42th Congress on Science and Technology of Thailand (STT42) Bangkok, Thailand, November 30th - December 2nd, 2016 (Oral presentation)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University