- 8 มี.ค. 2559

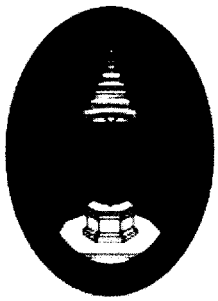
การแยกสาหร่าย *Botryococcus braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา

Isolation of *Botryococcus braunii* from Freshwater Ponds of Songkhla

ฮาบีบ๊ะ ดาแลหมัน
ฮายัร หลงกอหราบ

สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ แขนงวิชาจุลชีววิทยา (Microbiology)
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
2558



ใบรับรองงานวิจัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์

ชื่อเรื่องงานวิจัย การแยกสาหร่าย *Botryococcus braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา

ชื่อผู้ทำงานวิจัย นางสาวฮาบีบ๊ะ ดาแลหมัน

นางสาวฮายัร หลงกอหราบ

คณะกรรมการสอบโครงการวิจัย

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(อาจารย์สัลวา ตอปี)

.....กรรมการสอบ

(ดร. นิศากร วิทจิตสมบูรณ์)

.....กรรมการสอบ

(ดร. สายใจ วัฒนเสน)

คณะกรรมการประจำสาขาวิชารับรองแล้ว

.....

(ดร. สายใจ วัฒนเสน)

ประธานโปรแกรมวิชา

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทัศนา ศิริโชติ)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

เมื่อวันที่..... เดือน..... พ.ศ.....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ชื่อเรื่อง การแยกสาหร่าย *Botryococcus braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา
ชื่อผู้ทำงานวิจัย นางสาวฮาบีบ๊ะ ดาแลหมัน
นางสาวฮายัร หลงกอหราบ
อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย อาจารย์สัลวา ตอปี
ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์แขนงวิชาจุลชีววิทยา
สถาบัน มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
ปีที่พิมพ์ 2558

บทคัดย่อ

การแยกสาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา ได้แก่ อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และอ่างเก็บน้ำคลองหลา พบว่าสามารถแยกสาหร่าย *B. braunii* ได้ทั้งหมด 27 ไอโซเลท ได้แก่อ่างเก็บน้ำมหาลัยราชภัฏสงขลา 9 ไอโซเลท อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 9 ไอโซเลท และอ่างเก็บน้ำคลองหลา 9 ไอโซเลท ซึ่งลักษณะของสาหร่ายที่พบเป็นสาหร่ายสีเขียว โดยลักษณะโคโลนีมีสีเขียว ความยาวของสาหร่ายประมาณ 5 - 10 ไมโครเมตร และความกว้างประมาณ 4 - 6 ไมโครเมตร ซึ่งสาหร่าย *B. braunii* ที่แยกได้มีการเจริญสูงสุดคือ จากอ่างเก็บน้ำ วค. 1/1 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.7400 ± 0.0600 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ มอ. 2/2 และคลองหลา 1/2 ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.6267 ± 0.0115 และ 0.5733 ± 0.0808 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *B. braunii* ที่แยกได้จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา มีศักยภาพในการนำไปสกัดน้ำมัน และใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานทางเลือกต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : การแยกสาหร่าย, อ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา, สาหร่าย *B. braunii*

เลข Bib# 1137095
วันที่ 3 ม.ค. 2559
เลขเรียกหนังสือ 579.8 ส 25 ก

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้โดย ได้รับความกรุณาจากอาจารย์สัลวา ตอปี ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยครั้งนี้ ทั้งเป็นผู้ให้คำแนะนำ ชี้แนะวิธีการต่างๆ และตรวจทานแก้ไขรายงานวิจัยเรื่อง การแยกสาหร่าย *Botryococcus braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา ให้เสร็จสมบูรณ์ตลอดจน ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสาวนิตย์ ชอบบุญ และ ดร. สายใจ วัฒนเสน ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้สอนและอาจารย์ประจำโปรแกรมชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่คอยแนะนำและให้คำปรึกษาเพิ่มเติมทำให้งานวิจัยครั้งนี้เสร็จสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ บิดามารดาและพี่น้องที่อุปถัมภ์กำลังทรัพย์และเป็นกำลังใจตลอดมา ตลอดจนเพื่อนๆ น้องๆ โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ที่เป็นกำลังใจมาโดยตลอด

ฮาบีบ๊ะ ดาแลหมัน
ฮายัร หลงกอหราบ

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
~~บทคัดย่อภาษาไทย~~	(ก)
กิตติกรรมประกาศ	(ข)
สารบัญ	(ค)
สารบัญ (ต่อ)	(ง)
สารบัญภาพ	(จ)
สารบัญตาราง	(ฉ)
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
สมมติฐานในการทำวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	2
ตัวแปรที่ศึกษา	2
นิยามคำศัพท์ที่ใช้ในการทำวิจัย	2
ประโยชน์ที่จะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
สาหร่าย	3
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	
อุปกรณ์และสารเคมี	15
วิธีการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการทดลอง	
การแยกสาหร่าย *B. braunii*	18
การคัดเลือกสาหร่าย *B. braunii* ที่เจริญได้สูง	21
บทที่ 5 สรุป และข้อเสนอแนะ	
สรุปผลการทดลอง	26
ข้อเสนอแนะ	26
เอกสารอ้างอิง	27

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญ(ต่อ)

เรื่อง	หน้า
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	30
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง	32
ภาคผนวก ค ภาพผลการทดลอง	33
ประวัติย่อผู้วิจัย	45

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

4.1 รูปสาหร่าย *B. braunii* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 19
4.2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำ
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 23
4.3 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 24
4.4 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำคลองหลา 25

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 คุณสมบัติทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายจากอ่างเก็บน้ำ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 20

4.2 จำนวนไอโซเลทของสาหร่าย *B. braunii* ที่แยกได้จากอ่างเก็บน้ำ ในจังหวัดสงขลา 21

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

จากวิกฤติการณ์ทางด้านพลังงาน ราคาน้ำมันได้เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลกระทบรุนแรงต่อระบบเศรษฐกิจ ประเทศผู้ใช้น้ำมันจึงเริ่มตระหนักและเห็นความสำคัญของพลังงานโดยหันมาสำรวจหาแหล่งน้ำมันและก๊าซธรรมชาติรวมทั้งการหาพลังงานในรูปแบบอื่นๆ มาใช้ทดแทนน้ำมัน ด้วยความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีทำให้มีการพัฒนาการผลิตพลังงานทดแทนเพื่อให้สอดคล้องต่อความต้องการของมนุษย์ ไบโอดีเซลเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทน อย่างไรก็ตามในการผลิตไบโอดีเซลส่วนใหญ่จะใช้น้ำมันจากพืช แต่การผลิตให้ได้ปริมาณมากนั้นต้องใช้พื้นที่ในการปลูกพืชน้ำมันขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการผลิตไบโอดีเซล สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งที่มีการรายงานถึงการสะสมปริมาณกรดไขมันในเซลล์สูงจึงมีศักยภาพที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบผลิตน้ำมันชีวภาพ นอกจากนี้สาหร่ายยังมีข้อดีคือ สามารถเพาะเลี้ยงได้ทุกฤดูกาลใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อยและใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงไม่นานเมื่อเทียบกับพืชนิดอื่น จากการรายงานของ (ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์, 2553) ศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กโดยได้นำสาหร่ายขนาดเล็ก หรือ Microalgae บางสายพันธุ์ที่มีปริมาณน้ำมัน และปริมาณสารอินทรีย์ไฮโดรคาร์บอนเหมาะสมเพื่อผลิตเป็นพลังงาน และใช้เวลาในการเจริญเติบโตเพียง 1 สัปดาห์ สามารถนำไปสกัดน้ำมันได้ และจากงานวิจัยของ (สมศักดิ์ ไทยเจริญสุจริต, 2555) ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายโดยพบว่าสาหร่ายมีปริมาณน้ำมันได้สูงถึง 40 - 80 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง เมื่อเทียบกับการปลูกพืชน้ำมัน 10 - 20 เท่า นอกจากนี้น้ำมันและไบโอดีเซลจากสาหร่ายไม่มีซัลเฟอร์เจือปน และยังช่วยลดภาวะโลกร้อนเนื่องจากสาหร่ายต้องใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสง ซึ่งอ่างเก็บน้ำมีสภาพแวดล้อมทางกายภาพเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย เช่น ปริมาณแสง อุณหภูมิ ซึ่งลักษณะทางกายภาพและสิ่งแวดล้อมมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเป็นอย่างยิ่ง ปัจจัยที่สำคัญคือความขุ่นของน้ำ ความเร็วของกระแสน้ำ สิ่งยึดเกาะที่พื้นท้องน้ำรวมถึงปริมาณของสารอาหารและแสง (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2551) ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแยกสาหร่าย *Botryococcus braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลาเพื่อประยุกต์ใช้ในการผลิตไบโอดีเซลต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อแยกสาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา

1.2.2 เพื่อคัดเลือกสาหร่าย *B. braunii* ที่มีการเจริญได้สูง

1.3 สมมติฐานในการทำวิจัย

ในอ่างเก็บน้ำจังหวัดสงขลามีสาหร่าย *B. braunii*

1.4 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาเกี่ยวกับการแยกสาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา คืออ่างเก็บน้ำในมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อ่างเก็บน้ำในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และอ่างเก็บน้ำคลองหลา โดยทดลองในห้องปฏิบัติการโปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์

1.5 ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรต้น : ตัวอย่างน้ำที่เก็บจากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา

ตัวแปรตาม : สาหร่าย *B. braunii*

ตัวแปรควบคุม : สภาพแวดล้อมทางกายภาพ เช่น อาหาร ปริมาณแสง อุณหภูมิ ระยะเวลาในการบ่ม เป็นต้น

1.6 นิยามคำศัพท์ที่ใช้ในการทำวิจัย

สาหร่าย *B. braunii* เป็นสาหร่ายสีเขียวที่สามารถผลิตไฮโดรคาร์บอนได้ในปริมาณมาก ลักษณะโคโลนีมีสีเขียว ความยาวประมาณ 5 - 7 ไมโครเมตรและกว้างประมาณ 4 - 6 ไมโครเมตร

อ่างเก็บน้ำคืออ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ และอ่างเก็บน้ำคลองหลา ซึ่งมีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย เช่น ปริมาณแสง อุณหภูมิ เป็นต้น

1.7 ประโยชน์ที่จะได้รับ

ได้สาหร่าย *B. braunii* ที่เจริญได้สูงเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการประยุกต์ใช้ในการผลิตไบโอดีเซลต่อไป

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่าย (Algae)

สาหร่าย (Algae) คือพืชชั้นต่ำส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในน้ำ ทั้งน้ำจืดและน้ำเค็ม บางชนิดพบอยู่ในดิน ในทรายตามชายหาด บนก้อนหินชื้นๆ หรือแม้แต่ในบ่อน้ำร้อน สาหร่ายมีรงควัตถุ 3 ชนิดคือ คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) และไฟโคบิลิน (Phycobilin) ซึ่งรงควัตถุเหล่านี้กระจายอยู่ในไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ขนาดของสาหร่ายมีตั้งแต่ขนาดเล็กมากประกอบด้วยเซลล์เดียวซึ่งไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จนถึงขนาดใหญ่ยาวประกอบด้วยเซลล์จำนวนมากอาจมีลักษณะเป็นเส้นสาย (Filament) หรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูงโดยมีส่วนคล้ายราก ลำต้น และใบ รวมเรียกโครงสร้างที่ไม่แท้จริงนี้ว่าทัลลัส (Thallus)

2.1.1 ชนิดของสาหร่าย

สาหร่ายถูกจัดจำแนกได้ตามชนิดของรงควัตถุ (Pigments) และในบางชนิดที่มีลักษณะพิเศษสามารถจำแนกได้โดยอาหารที่ถูกเก็บสะสมไว้ภายในเซลล์ความแตกต่างของรงควัตถุนั้น (Pigments) ใช้บอกถึงการแพร่กระจายของที่อยู่อาศัยในชนิดที่มีความเฉพาะเจาะจง สาหร่ายสามารถปรับตัวได้ในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย โดยทั่วไปจะพบได้ในน้ำ ทั้งน้ำจืด และน้ำเค็ม บางชนิดสามารถพบได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต เช่น หิมะ น้ำแข็ง หรือแม้แต่ในน้ำพุร้อน

2.1.1.1 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue Green Algae, BGA)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า "ไซยาโนแบคทีเรีย" (Cyanobacteria) ซึ่งเป็นชื่อเรียกพื้นฐานที่สุดของสาหร่ายกลุ่มนี้ ยกตัวอย่างสาหร่ายในกลุ่มนี้ เช่น *Nostoc* และ *Calothrix* สาหร่ายเหล่านี้มีสีเขียวแกมน้ำเงินดำรงชีวิตแบบเซลล์เดี่ยว (Single-Celled) หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (Colony) ภายในเซลล์ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอ บี และไฟโคบิลิน (Phycobilin) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นโพรคาลิโอติก (Prokaryotic) เซลล์เหมือนกับแบคทีเรีย ดังนั้นจึงพิจารณาให้อยู่ระหว่างแบคทีเรียและพืช ชื่อเรียก "ไซยาโนแบคทีเรีย" (Cyanobacteria) จึงเป็นอีกชื่อหนึ่งของสาหร่ายกลุ่มนี้ เนื่องจากสาหร่ายกลุ่มนี้ไม่มีออร์แกเนลล์เฉพาะภายในเซลล์ กระบวนการสังเคราะห์แสงจึงเกิดขึ้นโดยตรงผ่านไซโทพลาซึม (Cytoplasm)

2.1.1.2 สาหร่ายสีเขียว (Green Algae)

สาหร่ายสีเขียวจัดอยู่ในไฟลัมคลอโรไฟตา (Chlorophyta) ภายในเซลล์ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอ บี แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) และแซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) อาหารหลักที่ถูกเก็บสะสมไว้ภายใน

เซลล์ของสาหร่ายกลุ่มนี้คือแป้ง (Starch) ยกตัวอย่างสาหร่ายสีเขียว เช่น *Ulva, Codium, Caulerpa* ในปัจจุบันสาหร่ายกลุ่มนี้ที่ถูกจัดจำแนกไว้มีประมาณ 7,000 ชนิดเป็นทั้งเซลล์เดียว (Unicellular) และหลายเซลล์ (Multicellular) ส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายน้ำจืด ซึ่งมีส่วนน้อยพบได้ในทะเล เช่น *B. braunii*, *Chlorella* sp. *Oocystis* sp. เป็นต้น *B. braunii* เป็นสาหร่ายสีเขียวที่สามารถผลิตไฮโดรคาร์บอนได้ในปริมาณมาก ซึ่งจัดอยู่ในดิวิชัน Chlorophyta ชั้น Chlorophyceae ตระกูล Dictyosphaeriaceae สกุล Botrycoccus ซึ่ง *Botryococcus* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวมีลักษณะสำคัญคืออยู่รวมกันเป็นโคโลนี โคโลนีมีสีเขียว สีน้ำตาลหรือสีส้ม ความยาวประมาณ 6 - 10 ไมโครเมตร และความกว้าง 3 - 6 ไมโครเมตร รอบนอกมีเมือกหุ้มจึงมีลักษณะไม่สม่ำเสมอและเมือกทำให้โคโลนีมีขนาดใหญ่ขึ้นและลอยน้ำได้ ซึ่งเกิดจากสารไฮโดรคาร์บอนที่ถูกผลิตขึ้นมาจากความสามารถในการสะสมไฮโดรคาร์บอน จึงมีแนวคิดของการใช้สาหร่ายชนิดนี้มาผลิตเป็นน้ำมันในอนาคต ซึ่งสามารถนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงได้ เช่น ไบโอดีเซล เอทานอล ไฮโดรเจน ที่สำคัญเป็นจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงง่ายเจริญเติบโตเร็วและลดปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบได้ และจากการคัดเลือกสาหร่ายกว่า 1,000 ชนิด พบสาหร่ายสายพันธุ์ *Botryococcus* sp. กลุ่มสีเขียวซึ่งจากการค้นพบในประเทศไทยพบว่ามีคุณสมบัติในการให้น้ำมันเหมาะแก่การนำมาผลิตเป็นไบโอดีเซล และนอกจากนี้สามารถพบสาหร่าย *Botryococcus* sp. ได้ทั่วไปในแหล่งน้ำจืด ทะเลสาบ น้ำกร่อย อ่างเก็บน้ำ และบ่อน้ำ

2.1.1.3 สาหร่ายสีแดง (Red Algae)

สาหร่ายสีแดงอยู่ในไฟลัมโรโดไฟตา (Rhodophyta) ภายในเซลล์ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอ ดี แคโรทีนอยด์ แซนโทฟิลล์ และไฟโคบิลิน อาหารที่เก็บสะสมไว้ภายในเซลล์คือแป้ง ซึ่งเรียกว่าฟลอริเดียนสตาร์ช (Floridean Starch) เป็นโมเลกุลแป้งชนิดหนึ่งที่มีแขนงมากกว่าโมเลกุลของอะไมโลแพคติน (Amylopectin) ตัวอย่างของสาหร่ายสีแดง เช่น *Chondrus* และ *Gelidiella* ส่วนใหญ่สาหร่ายสีแดงเป็นสาหร่ายน้ำเค็มที่ถูกจัดจำแนกไว้มีประมาณ 6,500 ชนิด และอีกประมาณ 200 ชนิดพบในน้ำจืด แสงจากรงควัตถุสีแดง ไฟโคบิลินช่วยในการเก็บเกี่ยวผลผลิตสาหร่ายในบริเวณที่น้ำมากและลึก สาหร่ายสีแดงบางชนิดพบได้ในพื้นท้องทะเลที่ไม่มีสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์แสงชนิดอื่นปรับตัวอยู่ได้

2.1.1.4 สาหร่ายสีน้ำตาล (Brown Algae)

สาหร่ายสีน้ำตาลอยู่ชั้น Paeophyceae ภายในเซลล์ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอ ซี และฟูโคแซนทิน (Fucoxanthin) อาหารที่ถูกเก็บสะสมไว้ภายในเซลล์คือ พอลลิเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่เรียกว่าลามินาริน (Laminarin) ลามินาริน และมาโครซิสทีส (Macrocystis) เป็นตัวอย่างชนิดของสาหร่ายในกลุ่มสาหร่ายสีน้ำตาลส่วนมากสาหร่ายกลุ่มนี้ปรับตัวได้ดีในน้ำทะเลคล้ายคลึงกับสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีน้ำตาลเป็นสาหร่ายที่มีความซับซ้อนมากที่สุด ซึ่งในบางชนิดสามารถปรับตัวอาศัยอยู่ได้ในทะเลและมหาสมุทรที่มีความลึกมาก สาหร่ายสีน้ำตาลขนาดใหญ่ (Giant Kelp) พบได้ที่พื้นท้อง

ทะเลอยู่ในลำดับ Laminarales และเป็นสาหร่ายชิดเดียวที่มีเนื้อของสาหร่ายแตกต่างจากสาหร่ายสีน้ำตาลชนิดอื่น (Sandhyarani, 2011)

2.1.2 ความสำคัญของสาหร่าย

สาหร่ายมีความสำคัญต่อมนุษยชาติในด้านต่างๆ ทั้งด้านสิ่งแวดล้อมและการนำมาใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ ดังนี้

2.1.2.1 ด้านระบบนิเวศแหล่งน้ำ

สาหร่ายดำรงชีวิตด้วยการสังเคราะห์แสงหรือสังเคราะห์อาหารด้วยตัวเอง กระบวนการดังกล่าวจะได้ออกซิเจนซึ่งมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆในแหล่งน้ำ และมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำอย่างยิ่ง นอกจากนั้นสาหร่ายยังเป็นผู้ผลิตขั้นต้น (Primary Productivity) ในแหล่งน้ำจึงเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ เป็นอาหารของแพลงก์ตอนสัตว์ ลูกกุ้ง ลูกปลา และสัตว์น้ำอื่นๆ ซึ่งเท่ากับว่าเป็นสิ่งมีชีวิตในลำดับแรกของห่วงโซ่อาหารในแหล่งน้ำ

2.1.2.2 ด้านลดก๊าซเรือนกระจก

ในกระบวนการสังเคราะห์แสง สาหร่ายจะใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเป็นวัตถุดิบ ซึ่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นก๊าซเรือนกระจกที่มีผลให้อุณหภูมิของโลกร้อนขึ้น ในกรณีนี้สาหร่ายจึงเป็นสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งที่ช่วยลดปรากฏการณ์โลกร้อนเช่นเดียวกับพืชทั่วไป (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2556)

2.1.2.3 ด้านอาหาร

- ใช้เป็นอาหารมนุษย์

มนุษย์รู้จักนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์เป็นเวลานานกว่า 400 ปีส่วนใหญ่นำมาใช้ประกอบอาหาร ประเทศที่นิยมบริโภคสาหร่ายได้แก่ ญี่ปุ่น จีน เกาหลี ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย ไทย อินเดีย ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ เป็นต้น ชาวจีน ญี่ปุ่น ใช้สาหร่ายสีน้ำตาล (Laminaria) และสาหร่ายสีแดง (Porphyra) หรือที่เรียกว่า จีฉ่าย มาทำอาหารพวกแกงจืด ญี่ปุ่นผสม *Chlorella* sp. ลงในชา ซุป น้ำผลไม้ บะหมี่ และไอศกรีม สาหร่ายที่สามารถใช้เป็นอาหารได้มีมากกว่า 100 ชนิด (นวรัตน์ เหล่าชวลิตกุล, 2554) สำหรับประเทศไทยสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ที่สามารถนำมาทำเป็นอาหารได้มี 3 ชนิด คือสาหร่ายเตาหรือเทา น้ำสาหร่ายไก และสาหร่ายลอน หรือไข่หิน ดอกหิน หรือลอน (ยุวดี พีรพรพิศาล, ม.ป.ป.) คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด มีโปรตีนอยู่ในระดับสูงใกล้เคียงกับปลาน้ำจืดมีวิตามินหลายชนิดโดยเฉพาะวิตามินบี มีเกลือแร่ที่สำคัญหลายตัว โดยเฉพาะแคลเซียมในสาหร่ายลอนและซีลิเนียมในสาหร่ายไก ซึ่งเป็นสารป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ ในสาหร่ายเตาพบสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือสาหร่ายไกและสาหร่ายลอน ตามลำดับ สาหร่ายไกที่นำมาใช้ประโยชน์มี 2 จีนัสคือ *Cladophora* spp. และ *Microspora* spp. ส่วนสาหร่ายลอนมีเพียง 1 จีนัส คือ *Nostochopsis* spp. (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2551)

- ใช้เป็นอาหารสัตว์

สาหร่ายสามารถนำไปเลี้ยงสัตว์กระเพาะเดี่ยว เช่น หมู และสัตว์ปีกได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังเป็นอาหารที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนที่กินพืชเป็นอาหาร เช่น ปลา กุ้ง และแพลงตอนสัตว์ เช่น ไรแดง ไรน้ำเค็ม ในประเทศญี่ปุ่นใช้สาหร่ายเกลียวทองเลี้ยงปลาไหล ปลาเทร้า กุ้ง เป็นต้น (ไปรมา ยงมานิตชัย, 2546)

2.1.2.4 ด้านอุตสาหกรรม

สาหร่ายทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่มีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรมหลายประเภทดังรายละเอียดต่อไปนี้

- วุ้น (Agar) ได้มาจากการสกัดสาหร่ายสีแดง เช่น *Gelidium* spp. และ *Gracilaria* spp. วุ้นใช้ประกอบอาหารจำพวกขนมหวาน หรือใช้ทำอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการใช้เป็นสารที่ทำให้เกิดความนิ่มและข้นในพวกแยม ลูกอม ไอศครีม เนย มายองเนส กันสนิมในอาหารกระป๋องใช้ผสมเบียร์และไวน์ให้มีสีใส ใช้ในอุตสาหกรรมเวชภัณฑ์ เช่น ยาระบายแคปซูล ยาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น ครีม โลชั่น น้ำมันใส่ผม ใช้ย้อมเส้นด้ายให้ทอง่ายขึ้น เคลือบกระดาษ เคลือบฟิล์ม ทำกาว หมึกพิมพ์ เป็นต้น

- คาร์ราจีนีน (Carrageenin) ได้มาจากการสกัดสาหร่ายสีแดงเช่นเดียวกันมีคุณสมบัติคล้ายวุ้นแต่ต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่าการใช้ประโยชน์เช่นเดียวกับวุ้น

- อัลจินหรืออัลจิเนต (Align or alginate) ได้มาจากการสกัดสาหร่ายสีน้ำตาลบางชนิด เช่น *Laminaria* spp., *Macrocystis* spp., *Ascophyllum* spp. และ *Fucus* spp. เป็นต้น สารดังกล่าวเป็นสารที่ทำให้เกิดความเหนียวใช้ในอุตสาหกรรมที่ต้องการให้เกิดความคงรูปหรือความเหนียว เช่น ใส่ในอาหาร เครื่องสำอางเวชภัณฑ์ สีทาบ้าน และอื่นๆ

- ไดอะโตไมท์หรือไดอะโตมาเซียสเอิร์ธ (Diatomite หรือ Diatomaceous earth) ได้มาจากไดอะตอมที่ตายแล้วมาทับถมกันกลายเป็นซากเหลือของผนังเซลล์ ซึ่งเป็นซิลิกาที่ไม่สลายเกิดในสมัยเทอเทียรี (Tertiary) และควอเทอนารี (Quaternary) นำมาใช้เป็นเครื่องกรองในโรงงานอุตสาหกรรมฉนวนกันความร้อนในอุปกรณ์ไฟฟ้า ใช้เป็นผงขัดเงาโลหะต่างๆ หรือส่วนประกอบของยาสีฟัน ในภาคเหนือมีมากที่อำเภอเกาะคา จังหวัดลำปาง

2.1.2.5 ด้านการใช้เป็นพลังงานชีวภาพ

สาหร่ายขนาดเล็กที่ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืชมีคุณสมบัติที่มีกรดไขมันสูงถึงประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ในบางชนิดสูงถึง 60 - 70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง มีการศึกษาวิจัยเพื่อนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนแก้ไขปัญหาการลดลงอย่างรวดเร็วของพลังงานจากน้ำมันและถ่านหินในทุกภูมิภาคของโลก ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กนับว่าเป็นความหวังอย่างสูงของมนุษย์ที่จะใช้เป็นพลังงานชีวภาพอย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

2.1.2.6 ด้านเกษตรกรรม

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศโดยเปลี่ยนมาเป็นแอมโมเนีย ซึ่งสามารถใช้สาหร่ายเหล่านั้นใส่ลงแทนปุ๋ยในนาข้าวหรือแหล่งเกษตรกรรมอื่นๆ ทำให้ได้ปุ๋ยชีวภาพ ซึ่งช่วยให้ผลผลิตดีขึ้นและลดต้นทุน การผลิตสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น *Nostocazollae* อาศัยอยู่ในใบของแหนแดงจึงสามารถใช้แหนแดงเป็นปุ๋ยพืชสดในนาข้าวได้เช่นกัน

2.1.2.7 ด้านการแพทย์

สาหร่ายหลายชนิดสามารถใช้เป็นยารักษาโรคได้ดังรายละเอียดต่อไปนี้

- ยาสมุนไพร

ในประเทศจีนตอนใต้มีการใช้สาหร่ายสีแดง *Digenia simplex* เป็นยาถ่ายพยาธิและรักษาโรคตานขโมย ใช้โซเดียมมลานินารินซัลเฟต และฟิวคอยดินที่สกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาลเป็นยาให้เลือดแข็งตัว ใช้สาหร่ายสีน้ำตาลพวก *Sargassum* spp. รักษาโรคคอพอก ใช้สาหร่ายสีแดง *Chondruscrispus* (Lris Moss) รักษาโรคท้องร่วง โรคทางเดินปัสสาวะ และลำไส้อักเสบ ในประเทศญี่ปุ่นมีการสกัดสารจากสาหร่าย *Spirulina* spp. มารักษาโรคมะเร็งบางชนิด ประชาชนแถวลุ่มน้ำน่านใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Nostochopsis* spp. หรือที่เรียกว่าลอนหรือ "ไข่หิน" แก้โรคร้อนใน

- ยาปฏิชีวนะ

สาหร่ายบางชนิดสามารถสร้างสารต้านการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบเช่น สาร Chlorellin จากสาหร่าย *Chlorella* spp. นอกจากนั้นยังมีสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีน้ำตาลและไดอะตอมบางชนิดที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ ปัจจุบันมีการศึกษาสาระสำคัญในสาหร่ายหลายชนิดทั้งสาหร่ายน้ำจืดและสาหร่ายน้ำเค็มเพื่อนำมาพัฒนาเป็นตัวยารักษาโรค เช่น โรคเริมที่เกิดจากไวรัส โรคแผลในกระเพาะอาหาร ลดความดันโลหิต เบาหวาน และมะเร็ง เป็นต้น

2.1.2.8 ด้านบำบัดน้ำเสีย

ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียนั้นสารอินทรีย์ที่มากับน้ำเสียจะถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายเป็นสารอนินทรีย์ เช่น ฟอสเฟต ไนเตรท แอมโมเนีย และอื่นๆ สาหร่ายสามารถใช้สารอนินทรีย์เหล่านี้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมทำให้ในน้ำเสียมีปริมาณสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ลดลง ส่งผลให้แหล่งน้ำมีออกซิเจนเพิ่มขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายคุณภาพน้ำจะดีขึ้น ดังนั้นสาหร่ายจึงเป็นสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่ช่วยในการบำบัดน้ำเสียทั้งน้ำเสียจากชุมชนและโรงงานอุตสาหกรรม

2.1.2.9 ด้านการใช้เป็นสิ่งมีชีวิตติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำ

เนื่องจากสาหร่ายหลายชนิดสามารถเจริญเติบโตในแหล่งน้ำที่มีคุณภาพต่างกัน ตัวอย่างเช่น *Euglena* spp. และ *Oscillatoria* spp. สามารถเจริญได้ในน้ำที่มีสารอินทรีย์สูงหรือน้ำที่มีคุณภาพไม่ดี ในขณะที่สาหร่ายสีเขียวกลุ่มเดสมิดส์ เช่น *Cosmarium* spp. หรือ *Staurastrum* spp. เจริญในน้ำที่มี

สารอาหารน้อยหรือน้ำที่มีคุณภาพดี ซึ่งสาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่ใช้ติดตามตรวจสอบสภาวะแวดล้อมทางน้ำได้อีกทางหนึ่งนอกจากการตรวจสอบคุณภาพน้ำทางกายภาพและทางเคมี

2.1.2.10 ด้านการใช้ไดอะตอมเป็นหลักฐานนิติเวชศาสตร์

การใช้ไดอะตอมในเนื้อเยื่อต่างๆ โดยเฉพาะเนื้อเยื่อปอดของศพที่จมน้ำเป็นอีกวิธีการหนึ่งในงานนิติเวชศาสตร์ทำให้สามารถทราบได้ว่า ศพเสียชีวิตจากการจมน้ำตายถ้าพบไดอะตอมในเนื้อเยื่อปอดจำนวนมาก ส่วนกรณีที่เสียชีวิตมาก่อนถูกทิ้งลงในแหล่งน้ำจะไม่พบไดอะตอมเลย

2.1.2.11 ด้านการผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อวงการอุตสาหกรรมหลายชนิด

ปัจจุบันได้มีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายมากขึ้น เช่น เอนไซม์หลายชนิดและบางชนิดมีความเป็นไปได้สูง ในการนำไปใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรมสารโพลิเมอร์และรงควัตถุสาหร่ายบางชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง สามารถนำไปใช้ในวงการอุตสาหกรรมด้านอาหาร เครื่องสำอาง และเวชภัณฑ์ต่างๆ (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2556)

2.1.3 ความต้องการสารอาหารของสาหร่าย

ธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการในการเจริญเจริญเติบโตคล้ายกับพืชชั้นสูง แต่ธาตุอาหารบางตัวมีความต้องการแตกต่างจากพืชโดยทั่วไป ซึ่งธาตุอาหารที่จำเป็นต้องการปริมาณมาก (Macronutrient Elements) เช่น คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปตัสเซียมแคลเซียม แมกนีเซียม และซัลเฟอร์ ธาตุอาหารที่จำเป็นต้องการปริมาณน้อย (Micronutrient Elements) เช่น เหล็ก คลอไรด์ แมงกานีส โบรอน ทองแดง โมลิบ ดีนัม และสังกะสี สาหร่ายบางชนิดต้องการธาตุอาหารที่แตกต่างกันออกไปจากที่กล่าวมา เช่น พวกไดอะตอมต้องการซิลิกาสำหรับสร้างฟรัสตูล สาหร่ายบางชนิดใน Division Chrysophyta ที่มีสเกลเป็นซิลิกาต้องการซิลิกามากเช่นกัน บางชนิดสเกลเป็นหินปูนก็ต้องการแคลเซียมมากกว่าชนิดอื่นๆ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น *Anabaena, Anacystis, Nostoc* ต้องการโซเดียมในการเจริญเติบโต นอกจากนี้สาหร่ายต้องการเปอร์เซ็นสารอินทรีย์ชนิดต่างๆในการเจริญเติบโต เช่น วิตามินบี 12 วิตามินบี 1 และไบโอติน ซึ่งสาหร่ายแต่ละชนิดอาจต้องการวิตามินดังกล่าวทุกชนิดหรือต้องการเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งวิตามินบี 12 เป็นวิตามินที่สาหร่ายต้องการมากไม่ว่าจะเป็นสาหร่ายใน Division Chlorophyta, Chrysophyta, Cryptophyta หรือ Euglenophyta ล้วนแต่ต้องการวิตามินบี 12 ทั้งสิ้น สาหร่ายที่พบวิตามินบี 12 มากกว่าสาหร่ายชนิดอื่นคือ *Euglena* และ *Phormidium* และพบว่า *Chlorella* และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดสามารถสังเคราะห์วิตามินบี 12 ได้ จึงคาดว่าสาหร่ายและแบคทีเรียอาจเป็นแหล่งสร้างวิตามินบี 12 ที่สำคัญในแหล่งน้ำธรรมชาติได้ วิตามินบี 1 เป็นส่วนประกอบของโคเอนไซม์สำหรับเอนไซม์คาร์บอกซีเลส (Carboxylase) สำหรับไบโอตินเป็นวิตามินที่สาหร่ายต้องการน้อยกว่า 2 ชนิดแรก (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2549)

2.1.4 สาหร่ายกับปริมาณสารอาหารในแหล่งน้ำ

สาหร่ายแต่ละชนิดมีแหล่งที่อยู่อาศัยและช่วงของความทน (Range of tolerance) ต่อสภาพแวดล้อมไม่เหมือนกัน ดังนั้นในแหล่งน้ำต่างกันจึงมีชนิดของสาหร่ายไม่เหมือนกัน โดยทั่วไปสามารถแบ่งแหล่งน้ำตามความมากน้อยของสารอาหาร (Trophic level) ออกเป็น 3 ระดับคือแหล่งน้ำที่มีสารอาหารน้อย (Oligotrophic) น้ำจะมีคุณภาพดี แหล่งน้ำที่มีสารอาหารปานกลาง (Mesotrophic) น้ำมีคุณภาพปานกลางและแหล่งน้ำที่มีสารอาหารมาก (Eutrophic) น้ำมีคุณภาพไม่ดี ซึ่งในแหล่งน้ำแต่ละสภาพจะมีสาหร่ายที่อยู่ในรูปของแพลงก์ตอนพืชแตกต่างกัน ดังนี้

ในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารน้อยจะพบสาหร่ายสีเขียวประเภทเดสมิดส์ได้แก่ *Staurastrum, Staurodesmus, Cosmarium* และ *Closterium* เป็นต้น ในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารปานกลางจะพบสาหร่ายไดโนแฟลเจลเลต เช่น *Peridinium, Gymnodinium* และ *Ceratium* เป็นต้น ส่วนแหล่งน้ำที่มีสารอาหารมากจะพบสาหร่ายน้อยประเภท แต่ละประเภทมีจำนวนมากอาจพบสาหร่ายเพียงชนิดเดียวแต่มีปริมาณมาก ซึ่งส่วนใหญ่พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* และ *Phormidium* สาหร่ายยูกลีนอยด์ เช่น *Euglena, Phacus* และ *Trachelomonas* (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2549) และนอกจากนี้สามารถพบสาหร่ายในอ่างเก็บน้ำได้ เนื่องจากอ่างเก็บน้ำมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย เช่น อุณหภูมิ ความขุ่น และค่าพีเอช (พิพัฒน์ ชนาเทพาพร, 2557)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุนิสา บุญมา (2553) ศึกษาการคัดแยกและการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* Kutzing ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูงโดยการนำสาหร่าย *B. braunii* PK5 เลี้ยงในอาหาร CA ที่มีพีเอช 7.2 ที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ อัตรา 100 ลิตรต่อนาที เป็นเวลา 10 วัน พบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้ง 6.31 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณไฮโดรคาร์บอน 41.74 เปอร์เซ็นต์ และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของไฮโดรคาร์บอนที่สกัดได้ด้วยเครื่อง Gas Chromatography Mass Spectrometer พบว่าเป็นไฮโดรคาร์บอนชนิดอิ่มตัว ส่วนใหญ่เป็นสารพวก N-Alkane ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะนำสาหร่ายชนิดนี้มาเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตน้ำมันชีวภาพได้

ภูวดล บางรักษ์ (2554) ศึกษาการสะพรั่งและการเจริญของสาหร่าย *B. braunii* จากบริเวณอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ โดยจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างพบการสะพรั่งของสาหร่าย *B. braunii* บริเวณอ่างเก็บน้ำภายในมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ โดยมีความหนาแน่นประมาณ 153 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อศึกษาลักษณะโคโลนีของสาหร่าย *B. braunii* พบว่ามีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันคือ โคโลนีสีเขียว และโคโลนีสีน้ำตาล ซึ่งอาจเป็นผลจากระยะการเจริญ และสภาวะแวดล้อม (อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส, ค่าความเป็นกรดด่าง 10.8, ค่าออกซิเจนละลายน้ำ 9.25 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อคัดแยกโคโลนี *B. braunii* จากธรรมชาติจนได้เชื้อบริสุทธิ์เลี้ยงในอาหารเหลว Modified CHU 13 ที่ความเป็นกรดด่าง 7.5 ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ ให้แสง 24 ชั่วโมง บ่มที่อุณหภูมิ 25

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบการเจริญโดยมีการเพิ่มจำนวนเซลล์และโคโลนีใหม่ของ *B. braunii* 55 โคโลนีต่อสัปดาห์ และเมื่อศึกษาการเจริญโดยเลี้ยง *B. braunii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งดัดแปลงจากอาหารเหลว Modified CHU 13 ทั้งหมด 7 สูตร (สูตรปกติ, ไนเตรท 1 ต่อ10 เท่า, ไนเตรท 3 เท่า, ฟอสเฟต 1 ต่อ 10 เท่า, ฟอสเฟต 3 เท่า, ไนเตรทและฟอสเฟต 1 ต่อ 10 เท่า และไนเตรทและฟอสเฟต 3 เท่า) ในสภาวะเดิมพบว่า *B. braunii* มีมวลชีวภาพสูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เพิ่มปริมาณฟอสเฟตเป็นสามเท่าจากปกติ (0.002356 กรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคืออาหารที่เพิ่มปริมาณไนเตรตเป็นสามเท่าจากปกติ (0.002178 กรัมต่อมิลลิลิตร) และอาหารที่เพิ่มปริมาณทั้งฟอสเฟตและไนเตรทเป็นสามเท่าจากปกติ (0.001922 กรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ

พวงผกา ดำรัตนา และพิมพรรณ ตันสกุล (2548) ศึกษาผลของช่วงแสงต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนในสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล โดยเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูงในอาหารสังเคราะห์ Modifide Chu 13 ความเป็นกรด-เบส 6.7 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 10000 ลักซ์ ช่วงสว่างต่อมืดเท่ากับ 12:12 ชั่วโมง 16:8 ชั่วโมง และให้แสงอย่างต่อเนื่อง (24 ชั่วโมง) ทำการเลี้ยงแบบกะ พบว่าสาหร่ายเติบโตดีที่สุดเมื่อรับแสงอย่างต่อเนื่อง มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 11.97 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 14 อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 3.6 ต่อวัน ซึ่งแตกต่างจากชุดที่ให้แสงเป็นช่วงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล (ปริมาณไนเตรท 78 มิลลิกรัมต่อลิตร) น้ำทิ้งที่ปรับปริมาณสารอาหาร (ไนเตรท) ให้ลดลง 3 เท่า (ปริมาณไนเตรท 26 มิลลิกรัมต่อลิตร) เลี้ยงเปรียบเทียบกับในสารอาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu 13 ให้แสงอย่างต่อเนื่อง พบว่าสาหร่ายเติบโตดีที่สุดในน้ำทิ้งมีค่าเท่ากับ 13.61 กรัมต่อลิตร โดยสาหร่ายสามารถลดปริมาณไนเตรท ฟอสเฟส และแอมโมเนียในน้ำทิ้งได้เท่ากับ 73 เปอร์เซ็นต์, 74 เปอร์เซ็นต์ และ 79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนั้นสามารถสกัดไฮโดรคาร์บอนจากสาหร่าย *B. braunii* ได้ 34 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง

ชิโนรส ศรีศิริ และคณะ (2550) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและเปอร์เซ็นต์ของการสะสมไขมันในการเลี้ยงสาหร่ายพื้นเมืองโดยการเลี้ยงในขวดแก้วใส (PET) โดยใช้สูตรอาหารดัดแปลงของวาตานาเบ้และกอนซาเลซมีการให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ 1 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ และ 5,000 ลักซ์ โดยใช้แสงสีส้มและแสงสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ขนาด 36 วัตต์ ช่วงเวลาของการให้แสงสว่างต่อมืด เท่ากับ 12:12 และ 16:8 ชั่วโมง อุณหภูมิประมาณ 27 - 29 องศาเซลเซียส เลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมันของสาหร่ายท้องถิ่นพื้นเมือง จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้สาหร่ายพื้นเมืองมีการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.542 ต่อวัน และมีไขมันสะสมในเซลล์ร้อยละ 6.42 ตามลำดับ ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ โดยมีแสงสีส้มเป็น

แหล่งพลังงาน ช่วงสว่างต่อมืดเท่ากับ 16:8 ชั่วโมง ปริมาณเฟอร์ริคคลอไรด์และกลูโคสเท่ากับ 0.003 และ 0.45 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ทิพวรรณ ประเสริฐสินธุ์(2553) ศึกษาการติดตามตรวจสอบการเจริญอย่างรวดเร็วของสาหร่าย *B. braunii* Kutzing และคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำสถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ จังหวัดเชียงใหม่ โดยศึกษาจากอ่างเก็บน้ำ 2 แหล่ง คืออ่างเก็บน้ำแม่เหียะ 2 และอ่างเก็บน้ำแม่เหียะ 3 และการศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และชีวภาพบางประการเพื่อหาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของสาหร่ายชนิดดังกล่าว จากผลการศึกษาพบว่าอ่างเก็บน้ำแม่เหียะ 2 มีการเจริญของสาหร่าย *B. braunii* มากกว่าอ่างเก็บน้ำแม่เหียะ 3 โดยพบว่ามีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงต้นฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงกรกฎาคม

ปิยมาภรณ์ เวียนรอบทิศ และสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ (2557) ศึกษาผลของเหล็กต่อการเจริญเติบโตปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *B. braunii* โดยเลี้ยงในอาหาร Chlorella Medium ที่ระดับความเข้มข้นเหล็กแตกต่างกัน 5 ระดับคือ 0.025, 0.05 (ชุดควบคุม), 0.075, 0.1 และ 0.125 กรัมต่อลิตร ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ในห้องปฏิบัติการ ผลการศึกษาพบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มวลชีวภาพ ไขมัน และผลผลิตไขมันมีปริมาณสูงสุดคือ 0.050 ต่อวัน, 4.49 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร, 0.79 กรัมต่อลิตร และ 8.90 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ซึ่งพบในสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารที่มีเหล็ก 0.125 กรัมต่อลิตร โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม ในขณะปริมาณไขมันมีปริมาณสูงสุดคือ 19.71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบในอาหารที่มีเหล็ก 0.025 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่มีเหล็ก 0.05 - 0.125 กรัมต่อลิตร องค์ประกอบกรดไขมันที่มีมากใน *B. braunii* ได้แก่ Palmitic Acid (C16:0) โดยมีปริมาณสูงสุดคือ 64.07 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบในอาหารที่มีเหล็ก 0.125 กรัมต่อลิตร

ประไพพิมพ์ ทองเปราะ และเสาวรจนี จันทรเสนา (2555) ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในบ่อเลี้ยงแบบคลองวนเวียน โดยศึกษาการใช้บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายของโรงงานแห่งหนึ่งในจังหวัดขอนแก่นเป็นกรณีศึกษา ซึ่งบ่อเลี้ยงเป็นแบบคลองวนเวียนมีขนาดความกว้าง 2 เมตร ความยาว 20 เมตร ความลึก 0.60 เมตร ความหนา 0.10 เมตร และที่จุดกึ่งกลางของบ่อมีบ่อตกตะกอนที่มีความกว้าง 1 เมตร ความยาว 1 เมตร ความลึก 2 เมตร เชื่อมต่อกันโดยทางโรงงานได้ทำการติดตั้งใบพัดขนาดความกว้าง 0.60 เมตร และความยาว 0.80 เมตร ไว้ 2 จุดคือที่หัวและท้ายของบ่อเลี้ยง เพื่อให้น้ำมีการไหลวนอยู่ตลอดเวลาทำให้สาหร่ายไม่ตกตะกอนอยู่ในก้นบ่อจึงได้รับปริมาณแสงแดดอย่างทั่วถึง นอกจากนี้ใบพัดยังช่วยในการเติมอากาศให้สาหร่ายในบ่อเลี้ยง สารอาหารหลักของสาหร่ายได้แก่ คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซึ่งในการศึกษานี้ได้ใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต ปุ๋ยยูเรีย และปุ๋ยฟอตเฟสเป็นแหล่งอาหาร ตามลำดับ จากนั้นได้เก็บตัวอย่างสาหร่ายที่บ่อเลี้ยงและบ่อตกตะกอนเพื่อนำตัวอย่างน้ำสาหร่ายมานับจำนวนเซลล์ วัดค่าความขุ่น และความ

หนาแน่น แล้วนำค่าทั้งสามมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์กับความขุ่น และความหนาแน่นของเซลล์ ซึ่งพบว่าแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์กับความขุ่น และจำนวนเซลล์กับความหนาแน่นของเซลล์มีความสัมพันธ์กันแบบเส้นตรงดังสมการ y= 2.093X + 320.6 และ y= 20.40X – 72.959 ตามลำดับ และจากการศึกษาการเจริญเติบโตในบ่อเพาะเลี้ยงพบว่าสาหร่ายเข้าสู่ช่วง Stationary Phase ในวันที่ 27 ของการเพาะเลี้ยงโดยมีการนับจำนวนเซลล์สาหร่าย 346.8 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีการใช้สารอาหารคือคาร์บอนไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเฉลี่ยในแต่ละวันในปริมาณ 13.71, 11.72 และ 3.46 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

ประยูร เอ็นมาก (2553) ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์และความเค็มต่อการเร่งการสะสมน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล โดยทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งกักเก็บน้ำธรรมชาติโดยใช้ตาข่ายแพลงค์ตอน จากนั้นนำมาคัดแยกภายใต้กล้องจุลทรรศน์และจำแนกได้สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Scenedesmus obliquus, S. armatus และ S. bernardii* อย่างไรก็ตามสาหร่าย *S. obliquus* ให้ผลเชิงบวกว่ามีปริมาณไขมันสะสมภายในเซลล์มากที่สุด เมื่อทำการย้อมเซลล์ด้วยสีซูดานแบลคบี ดังนั้นจึงได้เลือกสาหร่ายสายพันธุ์นี้เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์แบบท่อแก้วขนาด 3 ลิตร ที่มีอาหารสูตร Modified Chu 13 ในปริมาณ 2 ลิตร เพื่อศึกษาอิทธิพลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเร่งการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยทำการแปรผันระดับความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์, 10 เปอร์เซ็นต์ และ 15 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับอากาศและพ่นลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง ในขณะเดียวกันชุดควบคุมที่ไม่มีการผสมคาร์บอนไดออกไซด์จะศึกษาควบคู่กันไป ผลการทดลองพบว่าคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อการเร่งการเจริญเติบโตของสาหร่ายทุกระดับความเข้มข้น และที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด 2.182 กรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.451 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุด 3025 x 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อนำเซลล์สาหร่ายภายหลังจากการเก็บเกี่ยวไปศึกษาองค์ประกอบภายในสาหร่ายพบว่าโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และปริมาณเยื่อใยเท่ากับ 23.19 เปอร์เซ็นต์, 11.0 เปอร์เซ็นต์, 12.34 เปอร์เซ็นต์ และ 9.18 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงให้สาหร่ายเจริญเข้าสู่ช่วงต้นของระยะพักตัว ความเค็มที่เตรียมในรูปของโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.3 โมลาร์ จะถูกเติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์สาหร่ายมีการสะสมน้ำมันไว้ภายในเซลล์สูงที่สุดเท่ากับ 32.13 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วันและเมื่อนำเซลล์เปียกของสาหร่ายมาทดสอบการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมีแบบ In - Situ Acidic Transesterification พบว่าได้ไบโอดีเซลเท่ากับ 97.42 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) ซึ่งไบโอดีเซลที่ผลิตได้พบกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือกรดปาล์มมิติค กรดสเตียริก และกรดโอเลอิกในปริมาณ 74.45 เปอร์เซ็นต์,

4.93 เปอร์เซ็นต์ และ 3.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และท้ายสุดเมื่อนำน้ำมันไบโอดีเซลมาทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นบางประการ เช่น ค่าความเป็นกรดด่าง ค่าความหนาแน่น และค่าของกรด พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับมาตรฐานไบโอดีเซลที่กำหนดโดยสถาบันมาตรฐานการทดสอบของสหรัฐอเมริกา

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และคณะ (2555) ศึกษาการคัดเลือกสายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีไขมันสูงแบบมหมวล เพื่อความเป็นไปได้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ โดยทำการคัดเลือกจากไซยาโนแบคทีเรีย (*Phormidium*, *Stigonema*, *Oscillatoria*, *Fischerella*, *Hapalosiphon*, *Arthrospira*, *Nostoc*, *Mastigocladopsis*) สาหร่ายสีเขียว (*B. braunii*, *Chlorella*, *Ulva*intestinalis, *U. rigida*, *Cladophra*, *Cauler paracemosa*, *C. lentilifera*) ไดอะตอม (*Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Tetraselmis*) สาหร่ายสีแดง (*Acanthophora*) และสาหร่ายสีน้ำตาล (*Sargassum*, *Padina*) พบว่าสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *B. braunii* มีไขมันมากที่สุด 13.2 ± 0.2 เปอร์เซ็นต์ กรดไขมันที่มีปริมาณมากที่สุดในสาหร่ายทุกชนิดคือ Palmiticacid พบกรดไขมันโอเมกา Linoleic acid ในสาหร่ายเกือบทุกชนิด พบ DHA ใน *Mastigocladopsis*, *Chlorella*, *Chaetoceros*, *Tetraselmis* และ *Sargassum* พบ EPA ใน *Chlorella*, *U. intestinalis*, *Chaetoceros*, *Isochrysis*, Tetraselmis และ *Acanthophora* สภาวะที่เหมาะสมต่อสาหร่ายแต่ละชนิดในการผลิตน้ำมันคือ สาหร่าย *Hapalosiphon* sp. เลี้ยงภายใต้การได้รับแสงต่อเนื่องมีไขมันสูงสุด 11.09 ± 0.46 เปอร์เซ็นต์, *Mastigocladopsis* sp. เลี้ยงภายใต้การได้รับแสง 4120 ลักซ์ มีไขมันสูงสุด 23.31 ± 1.92 เปอร์เซ็นต์, *Oscillatorialimnetica* เลี้ยง 40 วัน มีไขมันสูงสุด 19.45 ± 0.61 เปอร์เซ็นต์, *B. braunii* เลี้ยง 40 วัน มีไขมันสูงสุด 46.56 ± 10.43 เปอร์เซ็นต์ และ *Scenedesmus dimorphus* เลี้ยงภายใต้อาหารเพิ่มเหล็กขึ้น 250 เปอร์เซ็นต์ มีไขมันสูงสุด 24.7 ± 0.49 เปอร์เซ็นต์ การเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ในระดับมหมวลด้วยปุ๋ยสูตร 18-12-6 ที่ 5 กรัมต่อลิตร ให้ไขมันมากที่สุด 44.83 ± 2.10 เปอร์เซ็นต์

จรุงวิทย์ บุญโนรัตน์ และคณะ (2555) ศึกษากระบวนการบำบัดน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดกลับมาใช้ใหม่ โดยถังปฏิกรณ์เมมเบรนแบบใช้แสงเพื่อเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก โดยสาหร่ายที่เลือกใช้ในการศึกษานี้มีทั้งหมด 3 สายพันธุ์ คือ *Spirulina, platensis*, *Chlorella vulgaris* และ *B. braunii* ซึ่งสาหร่ายสายพันธุ์ดังกล่าวนี้สามารถหาได้ง่ายในธรรมชาติและมีคุณสมบัติช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำให้ดีขึ้น รวมทั้งสาหร่ายบางสายพันธุ์ที่มีลักษณะพิเศษที่น่าสนใจ เช่น *B. braunii* เป็นสายพันธุ์ที่ให้น้ำมันที่นำไปใช้ผลิตเป็นพลังงานทดแทน เช่น ไบโอดีเซล ถังปฏิกรณ์เมมเบรนแบบใช้แสงที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายมีปริมาตร 9 ลิตร โดยใช้หลอด Light Emitting Diode (LED) เป็นแหล่งแสง เนื่องจากเป็นหลอดประหยัดพลังงาน และกำหนดความยาวคลื่นที่ต้องการได้ คือ 627 นาโนเมตร (แสงสีแดง) และ 455 นาโนเมตร (แสงสีน้ำเงิน) ระยะเวลากักน้ำในถังปฏิกรณ์กำหนดให้เท่ากับ 1 - 2 วัน จากผลการทดลองพบว่า สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่ผ่านการบำบัด รวมทั้งช่วยในการบำบัดคุณภาพของน้ำให้ดีขึ้น เซลล์สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงได้สามารถนำไปเป็นอาหารสัตว์ เป็นปุ๋ยหมัก นำไปปรับปรุง

คุณภาพดินในพื้นที่การเกษตร ใช้ในอุตสาหกรรมยา นำมาสกัดหรือแปรรูปเพื่อใช้ในอุตสาหกรรม เครื่องสำอาง หรือใช้เป็นพลังงานทดแทนได้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

3.1.1.1 ขวดดูแรน

3.1.1.2 หลอดทดลอง

3.1.1.3 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.1.4 ไมโครปิเปต

3.1.1.5 เพลต

3.1.1.6 ปากคีบ

3.1.1.7 บีกเกอร์

3.1.1.8 ถังตักน้ำ

3.1.1.9 ขวดแก้วเลี้ยงสาหร่าย

3.1.1.10 ปิเปต

3.1.1.11 กระดาษฟรอยด์

3.1.1.12 เข็มเขี่ยเชื้อ

3.1.1.13 สายยาง

3.1.2 เครื่องมือ

3.1.2.1 กล้องจุลทรรศน์

3.1.2.2 ตาข่ายแพลงตอน

3.1.2.3 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง

3.1.2.4 เครื่องปั่นเหวี่ยง

3.1.2.5 ตู้ดูดความชื้น

3.1.2.6 เครื่องผสมสารละลาย

3.1.2.7 ตู้ดูดควัน

3.1.2.8 หม้อนึ่งความดัน

3.1.2.9 เทอร์โมมิเตอร์

3.1.2.10 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

3.1.2.11 จานวัดความโปร่งแสง

3.1.3 สารเคมี

3.1.3.1 $NaNO_3$

3.1.3.2 K_2HPO_4

3.1.3.3 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$

3.1.3.4 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$

3.1.3.5 Citric acid

3.1.3.6 Ferric ammonium citrate

3.1.3.7 EDTA (disodium salt)

3.1.3. 8 $NaCO_3$

3.1.3.9 Trace metal mix A5

3.1.3.10 Silica gel

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเก็บตัวอย่างน้ำ

การเก็บตัวอย่างน้ำ เก็บจากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา คือ อ่างเก็บน้ำในมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อ่างเก็บน้ำในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และอ่างเก็บน้ำคลองหลา โดยกรองตัวอย่างน้ำผ่านถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตา 22 ไมครอน ล้างถุงลากแพลงก์ตอน 2 - 3 ครั้ง เพื่อให้สาหร่ายที่ติดอยู่กับถุงลากแพลงก์ตอนไหลลงในขวดเก็บตัวอย่างที่ปราศจากเชื้อ (sterilization) แล้วนำตัวอย่างน้ำที่ได้ไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

3.2.2 การแยกสาหร่าย *B. braunii*

นำตัวอย่างน้ำจากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลาไปให้แสง 1 สัปดาห์ จากนั้นดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้พาสเจอร์ปิเปตดูดตัวอย่างน้ำลงบนจานหลุมที่ปราศจากเชื้อแล้วนำมาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เมื่อพบเซลล์สาหร่าย *B. braunii* ใช้หลอดคาปิลลารีดูดเซลล์สาหร่ายที่ละเซลล์ หลังจากนั้นนำเซลล์สาหร่ายที่ได้ไปใส่ในหลอดน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว (ประมาณ 2 ครั้ง) จากนั้นนำสาหร่ายที่ได้ใส่ในหลอดที่มีอาหาร BG-11 แล้วนำไปให้แสงที่ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ โดยใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ขนาด 36 วัตต์ ให้แสงอย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน แล้วนำมา Streak บนอาหารแข็ง BG-11 จนได้เซลล์สาหร่ายที่บริสุทธิ์

3.2.3 การคัดเลือกสาหร่าย *B. braunii* ที่เจริญได้สูง

3.2.3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

นำเชื้อบริสุทธิ์ 1 - 2 ลูป มาเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปให้แสงที่ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ โดยใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์

ขนาด 36 วัตต์ ให้แสงอย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร และเจือจางหัวเชื้อให้ได้ค่า OD 580 นาโนเมตร เท่ากับ 0.5 เพื่อเอาไปใช้เป็นหัวเชื้อในขั้นตอนต่อไป

3.2.3.2 การคัดเลือกสาหร่าย *B. braunii* ที่เจริญได้สูง

จากนั้นนำหัวเชื้อจากข้อ 3.2.3.1 ปริมาตรร้อยละ 10 ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ไอโซเลตละ 3 ซ้ำ แล้วนำสาหร่ายมาให้แสงที่ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ โดยใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ขนาด 36 วัตต์ ให้แสงอย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วเก็บตัวอย่างทุก 3 วัน จนครบ 21 วัน และนำมาหาน้ำหนักเซลล์แห้งดังแสดงในภาคผนวก ค

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การแยกสาหร่าย *B. braunii*

การแยกสาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา คืออ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และอ่างเก็บน้ำคลองหลา ซึ่งเก็บตัวอย่างน้ำจากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา 3 แหล่งคือ อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และอ่างเก็บน้ำคลองหลา ซึ่งแต่ละแหล่งมีการเก็บตัวอย่างน้ำ 3 จุด พร้อมโดยศึกษาลักษณะทางกายภาพของอ่างเก็บน้ำโดยการวัดอุณหภูมิและความโปร่งแสงของน้ำ จากผลการทดลองพบว่า ลักษณะทางกายภาพของอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา โดยการวัดอุณหภูมิและความโปร่งแสงของน้ำ ซึ่งวิเคราะห์ 3 จุดพบว่าอุณหภูมิจุดที่ 1 มีอุณหภูมิคือ 32.33 ± 1 องศาเซลเซียส จุดที่ 2 มีอุณหภูมิคือ 33.00 ± 0 องศาเซลเซียส และจุดที่ 3 มีอุณหภูมิคือ 33.00 ± 0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วนความโปร่งแสงจุดที่ 1 มีความโปร่งแสงคือ 40 ± 1 เซนติเมตร จุดที่ 2 มีความโปร่งแสงคือ 35.33 ± 2 เซนติเมตร และจุดที่ 3 มีความโปร่งแสงคือ 38.00 ± 3 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนลักษณะทางกายภาพของอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยการวัดอุณหภูมิและความโปร่งแสงของน้ำ ซึ่งวิเคราะห์ 3 จุด พบว่าอุณหภูมิจุดที่ 1 มีอุณหภูมิคือ 31.00 ± 0 องศาเซลเซียส จุดที่ 2 มีอุณหภูมิคือ 31.00 ± 0 องศาเซลเซียส และจุดที่ 3 มีอุณหภูมิคือ 31.00 ± 0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วนความโปร่งแสงจุดที่ 1 มีความโปร่งแสงคือ 27.00 ± 2 เซนติเมตร จุดที่ 2 มีความโปร่งแสงคือ 28.67 ± 2 เซนติเมตร และจุดที่ 3 มีความโปร่งแสงคือ 27.00 ± 1 เซนติเมตร ตามลำดับ และลักษณะทางกายภาพของอ่างเก็บน้ำคลองหลา โดยการวัดอุณหภูมิและความโปร่งแสงของน้ำ ซึ่งวิเคราะห์ 3 จุด พบว่าอุณหภูมิจุดที่ 1 มีอุณหภูมิคือ 32.00 ± 0 องศาเซลเซียส จุดที่ 2 มีอุณหภูมิคือ 32.67 ± 1 องศาเซลเซียส และจุดที่ 3 มีอุณหภูมิคือ 32.67 ± 1 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วนความโปร่งแสงจุดที่ 1 มีความโปร่งแสงคือ 18.67 ± 1 เซนติเมตร จุดที่ 2 มีความโปร่งแสงคือ 19.33 ± 1 เซนติเมตร และจุดที่ 3 มีความโปร่งแสงคือ 20.00 ± 1 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

จากนั้นแยกสาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลาพบว่าสามารถแยกสาหร่าย *B. braunii* ได้ทั้งหมด 27 ไอโซเลท ได้แก่ อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 9 ไอโซเลท, อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 9 ไอโซเลท และอ่างเก็บน้ำคลองหลา 9 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งลักษณะของสาหร่าย *B. braunii* ที่พบคือ เป็นสาหร่ายสีเขียว ลักษณะโคโลนีมีสีเขียว

ความยาวของสาหร่ายประมาณ 5 - 10 ไมโครเมตร และความกว้างประมาณ 4 - 6 ไมโครเมตร ดังแสดงในภาพที่ 4.1

ภาพที่ 4.1 สาหร่าย *B. braunii* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ภูวดล บางรักษ์ (2554) ศึกษาการสะพรั่งและการเจริญของสาหร่าย *B. braunii* จากบริเวณอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ โดยจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างพบการสะพรั่งของสาหร่าย *B. braunii* บริเวณอ่างเก็บน้ำภายในมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ โดยมีความหนาแน่นประมาณ 153 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อศึกษาลักษณะโคโลนีของสาหร่าย *B. braunii* พบว่ามีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันคือ โคโลนีสีเขียว และโคโลนีสีน้ำตาล ซึ่งอาจเป็นผลจากระยะ การเจริญและสภาวะแวดล้อม (อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส, ค่าความเป็นกรดด่าง 10.8, ค่าออกซิเจนละลายน้ำ 9.25 มิลลิกรัมต่อลิตร)

ตารางที่ 4.1 คุณสมบัติทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายจากอ่างเก็บน้ำในมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ตัวอย่าง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ± SD	ความโปร่งแสง (เซนติเมตร) ± SD
วค.		
จุดที่ 1	32.33 ± 1	40.00 ± 1
จุดที่ 2	33.00 ± 0	35.33 ± 2
จุดที่ 3	33.00 ± 0	38.00 ± 3
มอ.		
จุดที่ 1	31.00 ± 0	27.00 ± 2
จุดที่ 2	31.00 ± 0	27.67 ± 2
จุดที่ 3	31.00 ± 0	27.00 ± 1
คลองหลา		
จุดที่ 1	32.00 ± 0	18.67 ± 1
จุดที่ 2	32.67 ± 1	19.33 ± 1
จุดที่ 3	32.67 ± 1	20.00 ± 1

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ตารางที่ 4.2 จำนวนไอโซเลทของสาหร่าย *B. braunii* ที่แยกได้จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา

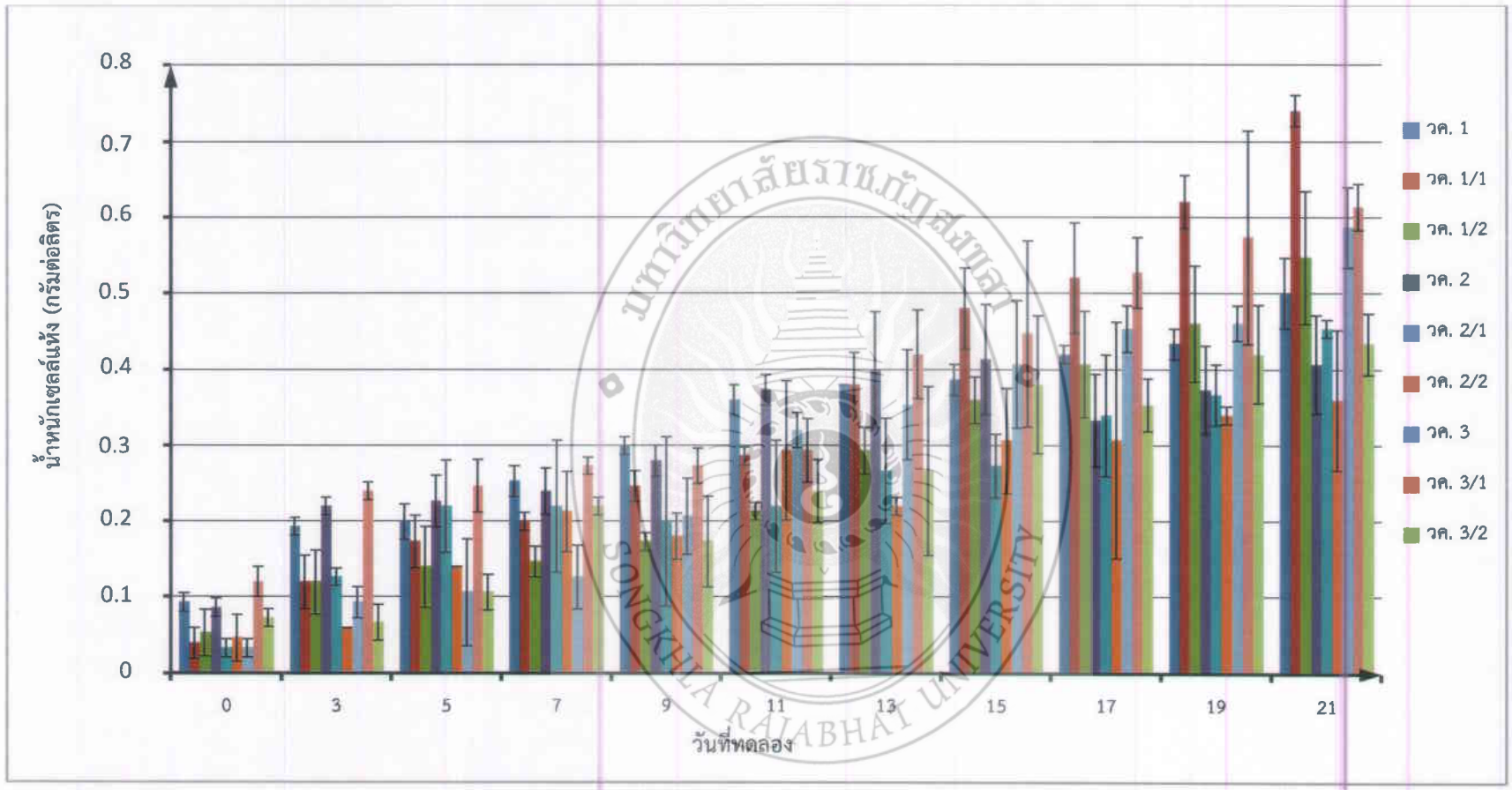
ตัวอย่าง	ไอโซเลท
วค.	
จุดที่ 1	3
จุดที่ 2	3
จุดที่ 3	3
มอ.	
จุดที่ 1	3
จุดที่ 2	3
จุดที่ 3	3
คลองหลา	
จุดที่ 1	3
จุดที่ 2	3
จุดที่ 3	3
รวม	27

4.2 การคัดเลือกสาหร่าย *B. braunii* ที่เจริญได้สูง

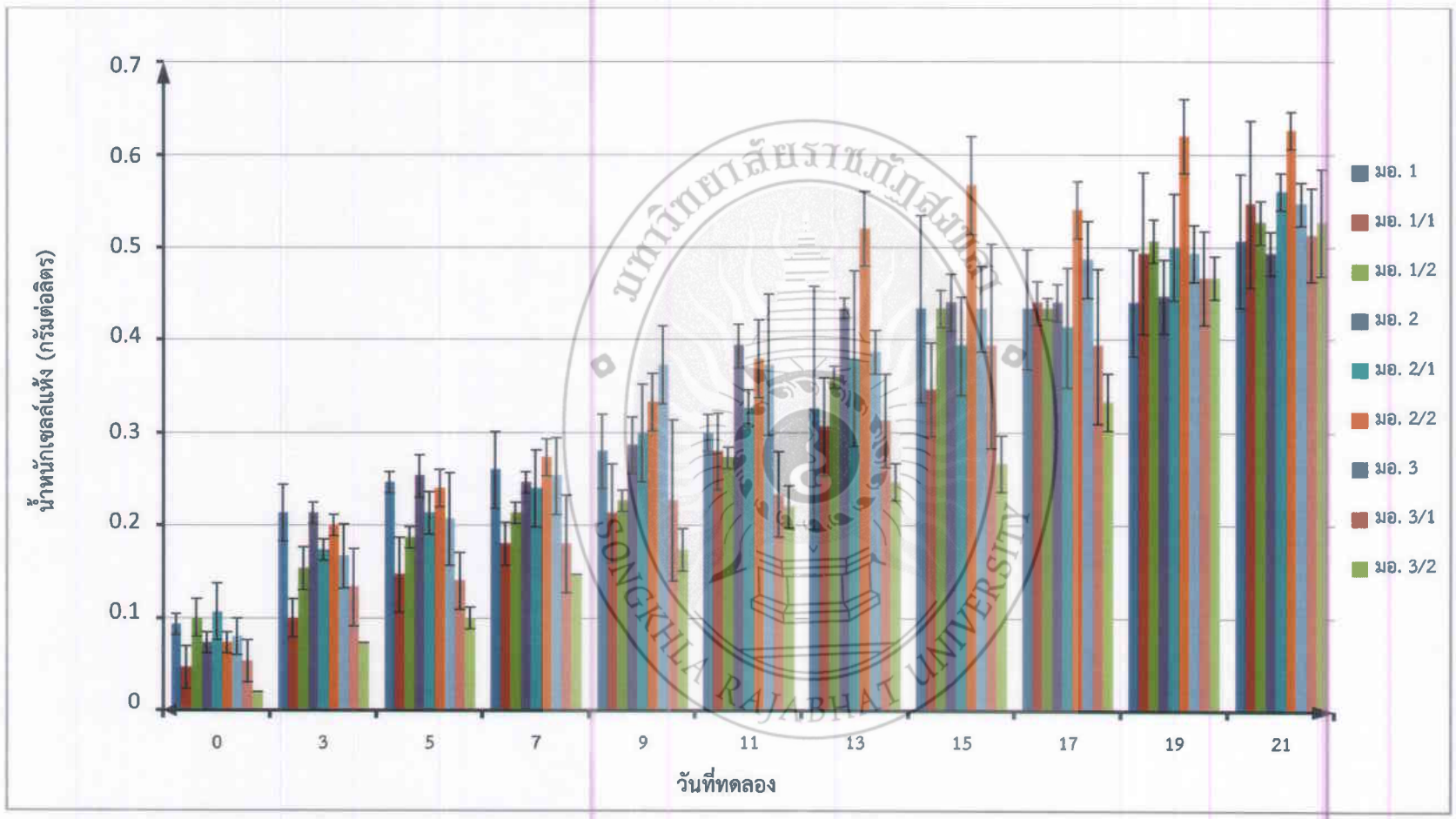
จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* โดยให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ขนาด 36 วัตต์ ให้แสงอย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน แล้วหาน้ำหนักเซลล์แห้งทุกๆ 3 วัน พบว่าสาหร่ายที่แยกจากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลาทั้ง 3 แหล่ง ได้แก่ อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จุดที่สาหร่ายมีการเจริญสูงสุดคือ วค. 1/1 มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.7400 ± 0.0600 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ วค. 3/1 และ วค. 3 ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.6133 ± 0.0231 และ 0.5867 ± 0.1172 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.2 ส่วนอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จุดที่สาหร่ายมีการเจริญสูงสุดคือ มอ. 2/2 ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.6267 ± 0.0115 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ มอ. 2/1 และมอ. 3 ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.5600 ± 0.0529 และ 0.5467 ± 0.0611 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.3 และอ่างเก็บน้ำคลองหลา จุดที่สาหร่ายมีการเจริญสูงสุดคือ คลองหลา 1/2 ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.5733 ± 0.0808 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือคลองหลา 2 และคลองหลา 1 ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักเซลล์

แห้งเท่ากับ 0.5667 ± 0.0924 และ 0.4933 ± 0.0115 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.4 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ พวงผกา ดำรัตนา และพิมพรรณ ตันสกุล (2548) ศึกษาผลของช่วงแสงต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนในสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล โดยเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูงในอาหารสังเคราะห์ Modifide Chu 13 ความเป็นกรด - เบส 6.7 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 10000 ลักซ์ ช่วงสว่างต่อมืดเท่ากับ 12:12 ชั่วโมง 16:8 ชั่วโมง และให้แสงอย่างต่อเนื่อง (24 ชั่วโมง) พบว่าสาหร่ายเติบโตดีที่สุดเมื่อรับแสงอย่างต่อเนื่อง มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 11.97 กรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างจากชุดที่ให้แสงเป็นช่วงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล เลี้ยงเปรียบเทียบกับในสารอาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu 13 ให้แสงอย่างต่อเนื่อง พบว่าสาหร่ายเติบโตดีที่สุดในน้ำทิ้งมีค่าเท่ากับ 13.61 กรัมต่อลิตร ซึ่งจากงานวิจัยข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของผู้วิจัยเมื่อให้แสงอย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง ดังข้อมูลที่กล่าวไว้ข้างต้น

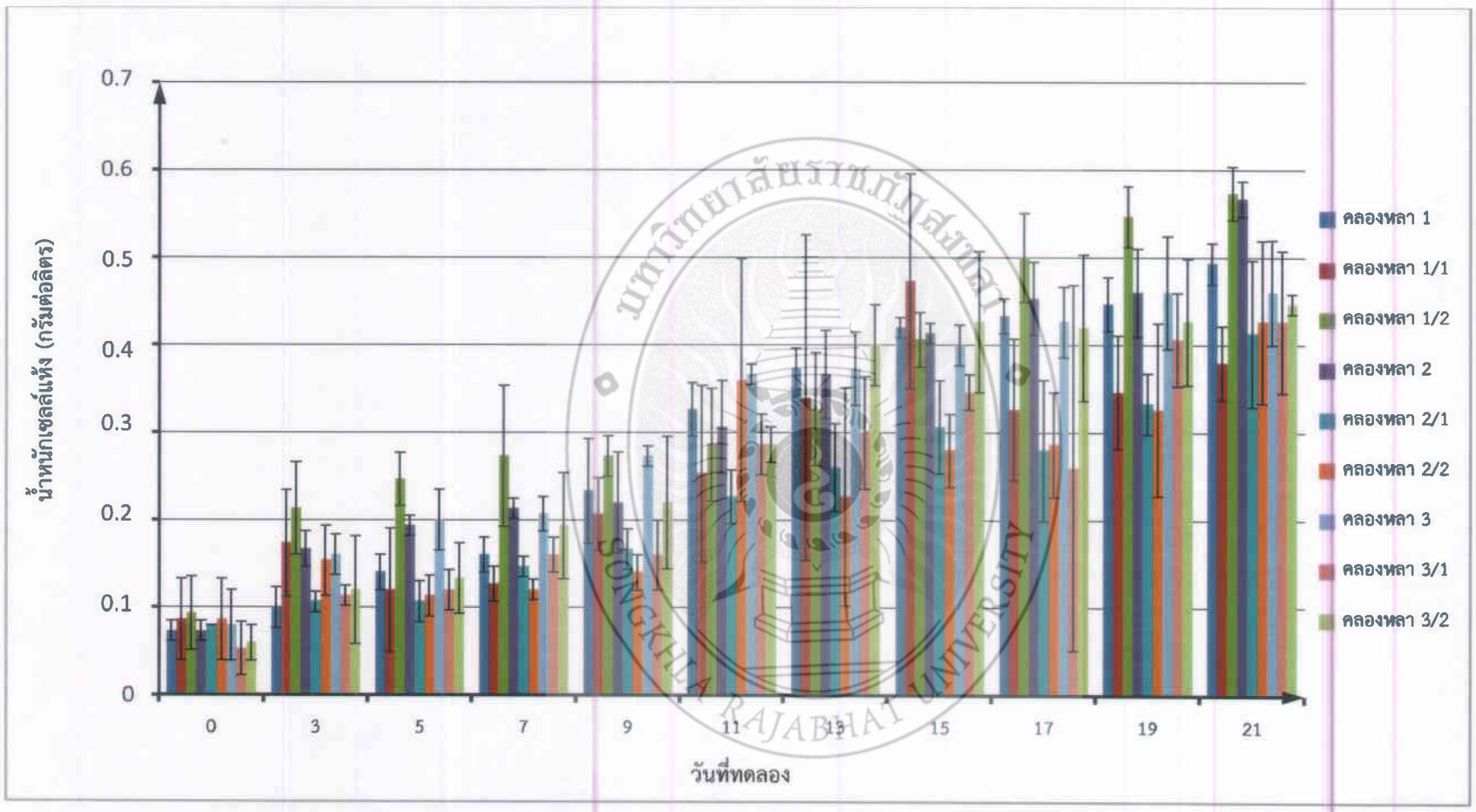
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY



ภาพที่ 4.2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* ไอโซเลทต่างๆที่แยกได้จากอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา



ภาพที่ 4.3 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* ไอโซเลทต่างๆที่แยกได้จากอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



ภาพที่ 4.4 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* ไอโซเลทต่างๆที่แยกได้จากอ่างเก็บน้ำคลองหลา

3 ก.พ. 2559

บทที่ 5
สรุป และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการแยกสาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา คืออ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และอ่างเก็บน้ำคลองหลา โดยมีการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพของอ่างเก็บน้ำทั้ง 3 แหล่ง ได้แก่ วัดอุณหภูมิและความโปร่งแสงของน้ำ พบว่าอ่างเก็บน้ำทั้ง 3 แหล่ง มีอุณหภูมิและความโปร่งแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย โดยอุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 31 - 32.7 องศาเซลเซียส และความโปร่งแสงของน้ำอยู่ระหว่าง 18.7 - 40 เซนติเมตร จากนั้นแยกสาหร่าย *B. braunii* จากอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลา ซึ่งลักษณะของสาหร่ายที่พบคือ โคโลนีมีสีเขียว ความยาวของสาหร่ายประมาณ 5 - 10 ไมโครเมตร และความกว้างประมาณ 4 - 6 ไมโครเมตร และจากการแยกสาหร่ายจากอ่างเก็บน้ำทั้ง 3 แหล่ง พบว่าสามารถแยกสาหร่ายได้ทั้งหมด 27 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 9 ไอโซเลท อ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 9 ไอโซเลท และอ่างเก็บน้ำคลองหลา 9 ไอโซเลท จากนั้นนำสาหร่ายที่ได้ทั้งหมด 27 ไอโซเลท มาคัดเลือกสาหร่าย *B. braunii* ที่เจริญได้สูง โดยนำมาเลี้ยงในอาหาร BG-11 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน พบว่าสาหร่ายที่เจริญได้สูง 5 อันดับแรกคือ วค. 1/1, มอ. 2/2, วค. 3/1, วค. 3 และคลองหลา 1/2 ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.7400 ± 0.0600, 0.6267 ± 0.0115, 0.6133 ± 0.0231, 0.5867 ± 0.1172, 0.5733 ± 0.0808 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรเพิ่มตัวอย่างของอ่างเก็บน้ำในจังหวัดสงขลาให้หลากหลายเพื่อจะได้ทราบว่าอ่างเก็บน้ำแหล่งใดที่มีการเจริญเติบโตของสาหร่าย *B. braunii* ได้ดีที่สุด

5.2.2 ควรนำเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการแยกในครั้งนี้ไปศึกษาต่อเพื่อนำไปสกัดน้ำมันในการผลิตไบโอดีเซลต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จรุงวิทย์ บุญโนรัตน์ และคณะ. 2555. **ศึกษากระบวนการบำบัดน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดกลับมาใช้ใหม่โดยถังปฏิกรณ์เมมเบรนแบบใช้แสงเพื่อเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก.** ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชิโนรส ศรีศิริ, ยิ่งยศ ลับภู, ประสงค์ วงศ์วิชา และกันยรัตน์ โหละสุต. 2550. **ศึกษาสภาวะที่ เหมาะสมและเปอร์เซ็นต์ของการสะสมไขมันในการเลี้ยงสาหร่ายพื้นเมือง.** ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ทิพวรรณ ประเสริฐสินธุ์. 2553. **ศึกษาการติดตามตรวจสอบการเจริญอย่างรวดเร็วของสาหร่าย *B.braunii* Kutzing และคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำสถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ จังหวัดเชียงใหม่.** วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

นวรัตน์ เหล่าชวลิตกุล. 2554. **สาหร่ายที่รับประทานได้** [ออนไลน์]. ที่มา http://www.tistr.or.th/ t/publication/page_area_show_bc.asp?i1=64&i2=44.

ประยูร เอ็นมาก. 2553. **ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์และความเค็มต่อการเร่งการสะสมน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ปิยมาภรณ เวียนรอบทิศ และสุนีรัตน เรืองสมบูรณ์. 2555. **ศึกษาผลของเหล็กตอการเจริญเติบโตปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันในสาหรายสีเขียวขนาดเล็ก *B. braunii*.** ฐานขอมูลการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร ครั้งที่ 52 สาขาประมง สาขาสงเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร.

ประไพพิมพ์ ทองเปราะ และเสาวรจนี จันทรเสนา. 2555. **ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในบ่อเลี้ยงแบบคลองวนเวียน**. ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดลอม คณะวิศวกรรมศาสตร มหาวิทยาลัยขอนแกน.

ไปรมา ยงมานิตชัย. 2546. **สาหร่ายกับสาระที่น่ารู้** [ออนไลน์].ที่มา http://www.ku.ac.th/emagazine/july 46/agri/seaweed.html.

ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์. 2553. **ศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก.** ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พวงผกา ดำรัตนา และพิมพรรณ ตันสกุล. 2548. **ศึกษาผลของช่วงแสงต่อการเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนในสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล.** วารสารสงขลานครินทร์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

พิพัฒน์ ชนาเทพาพร และนางสาวณัฐรินทร์ ศิริรัตนนันท. 2557. **ความแปรปรวนของปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเตา และสาหร่ายลอนในแหล่งน้ำธรรมชาติของจังหวัดเพชรบูรณ์.** ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประเภทงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556.

ภูวดล บางรักษ์. 2554. **ศึกษาการสะพรั่งและการเจริญของสาหร่าย *B. braunii* จากบริเวณอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์**. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ยุวดี พีรพรพิศาล. ม.ป.ป. **ศักยภาพของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่.** วารสารนานาสัตว์น้ำ. 8(2):20-21

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. **สาหร่ายวิทยา**. พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่ : ภาควิชาชีววิทยา คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2551. **งานวิจัยสาหร่ายน้ำจืดที่กินได้ในภาคเหนือของ ประเทศไทย.** วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. 2(1) : 178-189

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2556. **สาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทย**. เชียงใหม่:ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุนิสา บุญมา. 2553. **ศึกษาการคัดแยกและการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* Kiitzing ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูง**. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สาขาวิชาชีววิทยา.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และคณะ. 2555. **ศึกษาการคัดเลือกสายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีไขมันสูงแบบมหมวลเพื่อความเป็นไปได้.** คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สมศักดิ์ ไทยเจริญสุจริต. 2555. **ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากสาหราย**. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร.

Sandhyarani,N:2011.Type of algae [ออนไลน์]. ที่มา http://www.nuzzle.com/articles/types-of algae.html.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 Agar

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 Agar

สาร	ปริมาตร (g/l)
$NaNO_3$	1.500
K_2HPO_4	0.040
$MgSO_4 \cdot 7H2O$	0.075
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.036
Citric acid	0.006
Ferric ammonium citrate	0.006
EDTA (disodium salt)	0.001
Na_2CO_3	0.020
Trace metal solution*	1.000
Agar	15.000

ละลายส่วนผสมทั้งหมดแล้วปรับพีเอชให้ได้เท่ากับ 7 จากนั้นใส่ agar ปรับปริมาตรน้ำให้ครบ 1 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ *Trace metal solution มีสวนประกอบดังนี้

สาร	ปริมาตร (g/l)
H_3BO_3	2.8600
$MnCl_2.4H_2O$	1.8100
$ZnSO_4.7H_2O$	0.2220
$NaMoO_4.5H_2O$	0.0390
$CuSO_4.5H_2O$	0.0790
$Co(NO_3)_2.6H_2O$	0.0494

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11

สาร	ปริมาตร (g/l)
$NaNO_3$	1.500
K_2HPO_4	0.040
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.075
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.036
Citric acid	0.006
Ferric ammonium citrate	0.006
EDTA (disodium salt)	0.001
Na_2CO_3	0.020
Trace metal solution*	1.000

ละลายส่วนผสมทั้งหมดแล้วปรับพีเอชให้ได้เท่ากับ 7 จากนั้นปรับปริมาตรน้ำให้ครบ 1 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ *Trace metal solution มีสวนประกอบดังนี้

สาร	ปริมาตร (g/l)
H_3BO_3	2.8600
$MnCl_2.4H_2O$	1.8100
$ZnSO_4 .7H_2O$	0.2220
$NaMoO_4.5H_2O$	0.0390
$CuSO_4.5H_2O$	0.0790
$Co(NO_3)_2 .6H_2O$	0.0494

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง

วิธีการ

1. นำหลอดเซนติฟิวขนาด 10 มิลลิลิตร ไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. ใช้ปิเปตดูดสาหร่ายที่เลี้ยงไว้ลงในหลอดเซนติฟิวปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบ เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้งจากนั้นใช้พาสเจอร์ปิเปตที่ปราศจากเชื้อดูดสาหร่ายที่ก้นหลอดใส่ลงในภาชนะ แล้วล้างหลอดด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 2 - 3 ครั้งและดูดสาหร่ายลงในภาชนะอีกครั้ง
4. นำสาหร่ายจากข้อที่ 3 ไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. จากนั้นนำสาหร่ายออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

การคำนวณ

น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักของสาหร่ายหลังชั่ง} - \text{น้ำหนักของสาหร่ายก่อนชั่ง}) * 1000 \text{ มิลลิลิตร}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น 5 มิลลิลิตร}}$$

ภาคผนวก ค

ภาพผลการทดลอง

1. ภาพสาหร่าย *B. braunii* บนอาหาร BG-11 Agar

1.1 การแยกสาหร่ายให้บริสุทธิ์จากอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

วค. 1

วค. 1/1

วค. 1/2

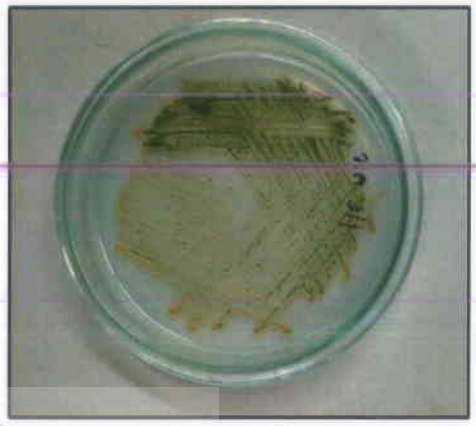
วค. 2

วค. 2/1

วค. 2/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

วค. 3



วค. 3/1

วค. 3/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

1.2 การแยกสาหร่ายให้บริสุทธิ์จากอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

มอ. 1

มอ. 1/1

มอ. 1/2

มอ. 2

มอ. 2/1

มอ. 2/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

มอ. 3

มอ. 3/1

มอ. 3/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

1.3 การแยกสาหร่ายให้บริสุทธิ์จากอ่างเก็บน้ำคลองหลา

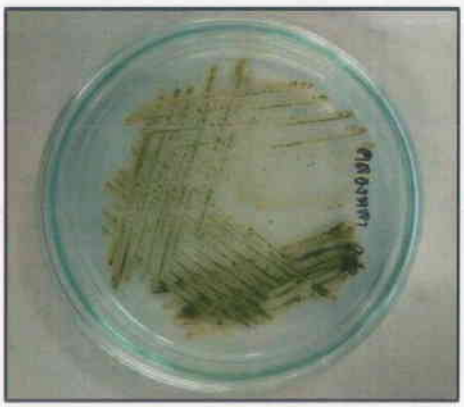
คลองหลา 1

คลองหลา 1/1

คลองหลา 1/2

คลองหลา 2

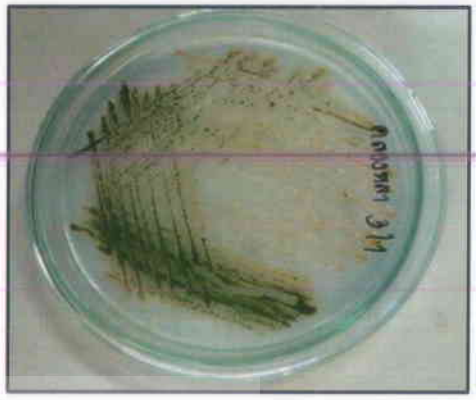
คลองหลา 2/1



คลองหลา 2/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

คลองหลา 3



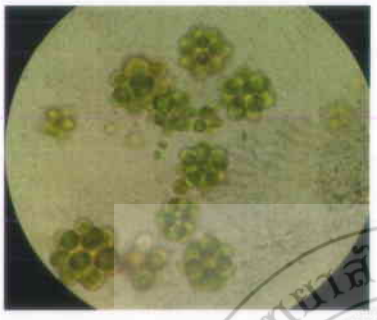
คลองหลา 3/1

คลองหลา 3/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

2. ภาพสาหร่าย *B. braunii* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 400 เท่า)

2.1 สาหร่ายบริสุทธิ์จากอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา



วค. 1

วค. 1/1

วค. 1/2

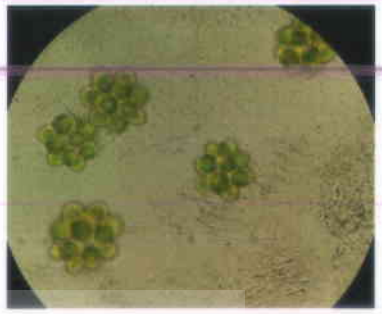
วค. 2

วค. 2/1

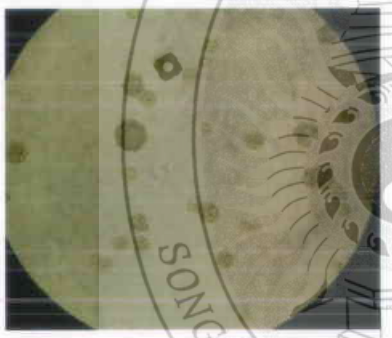
วค. 2/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

วค. 3



วค. 3/1



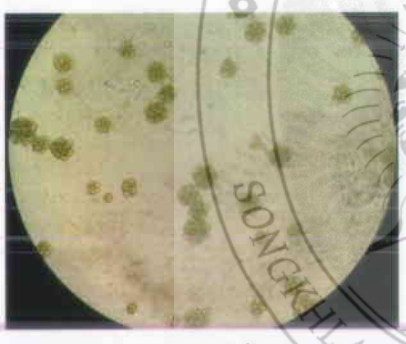
วค. 3/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

2.2 สาหร่ายบริสุทธิ์จากอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

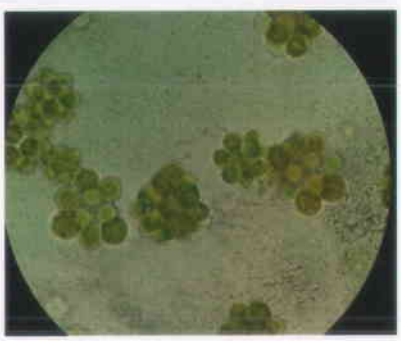
มอ. 1

มอ. 1/1

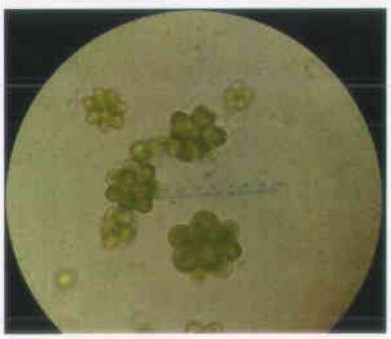


มอ. 1/2

มอ. 2

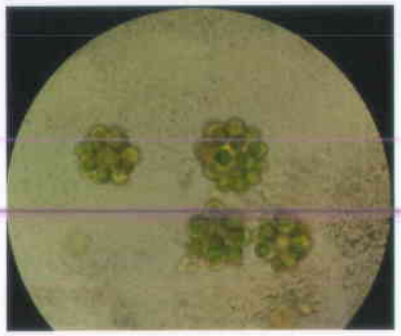


มอ. 2/1

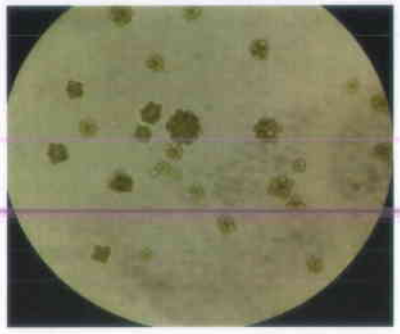


มอ. 2/2

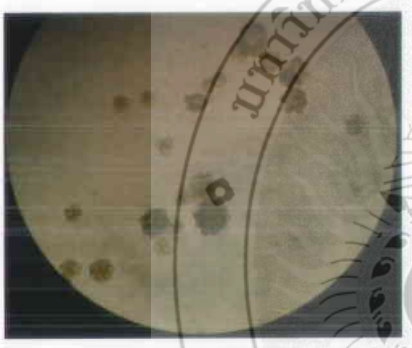
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY



มอ. 3



มอ. 3/1

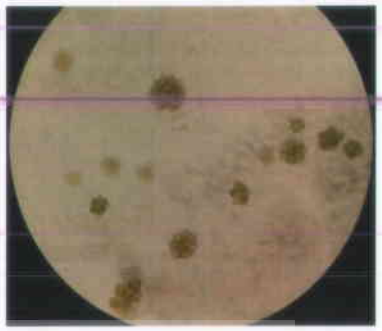


มอ. 3/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

2.3 สาหร่ายบริสุทธิ์จากอ่างเก็บน้ำคลองหลา

คลองหลา 1

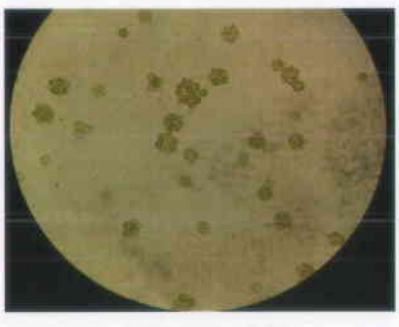


คลองหลา 1/1

คลองหลา 1/2

คลองหลา 2

คลองหลา 2/1

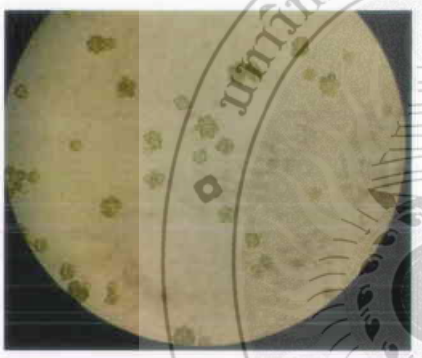


คลองหลา 2/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

คลองหลา 3

คลองหลา 3/1



คลองหลา 3/2

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาว ฮาบีบ๊ะ ดาแลหมัน

วันเดือนปีเกิด 17 มิถุนายน 2534

สถานที่เกิด อำเภอควนกาหลง จังหวัดสตูล

สถานที่อยู่ปัจจุบัน 135 หมู่ 1 ตำบลควนกาหลง อำเภอควนกาหลง จังหวัดสตูล 91130

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2546 ชั้นประถมศึกษา โรงเรียนบ้านห้วยน้ำดำ

พ.ศ. 2549 ชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนธรรมศาสน์วิทยา

พ.ศ. 2552 ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนธรรมศาสน์วิทยา

พ.ศ. 2558 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ แขนงวิชาวิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาว ฮายัร หลงกอหราบ

วันเดือนปีเกิด 15 กุมภาพันธ์ 2534

สถานที่เกิด อำเภอท่าแพ จังหวัดสตูล

สถานที่อยู่ปัจจุบัน 88 หมู่ 5 ตำบลสาคร อำเภอท่าแพ จังหวัดสตูล 91150

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2546 ประถมศึกษาโรงเรียนสมาคมเลขานุการสตรี 3

พ.ศ. 2549 มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนสาครพิทยาคาร

พ.ศ. 2552 มัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนสาครพิทยาคาร

พ.ศ. 2558 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ แขนงวิชาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY