สภาวะที่เหมาะสมในการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

นางสาวสมรลักษณ์ แจ่มแจ้ง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2542

ISBN 974-334-257-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I19009922

OPTIMAL CONDITIONS FOR CARBON DIOXIDE UTILIZATION BY MICROALGAE

Miss Samornluk Chamchaeng

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Environmental Science
Inter-Department of Environmental Science
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 1999

ISBN 974-334-257-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สภาวะที่เหมาะสมในการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก
โดย	นางสาวสมรลักษณ์ แจ่มแจ้ง
สหสาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา กีระนันทน์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พรพจน์ เปี่ยมสมบูรณ์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สมรลักษณ์ แจ่มแจ้ง : สภาวะที่เหมาะสมในการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก. (OPTIMAL CONDITIONS FOR CARBON DIOXIDE UTILIZATION BY MICROALGAE) อ. ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร , 92 หน้า. ISBN 974-334-257-5

สาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III ภายใต้สภาวะที่มีความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิเฉลี่ย 30 องศาเซลเซียส ช่วงมืดและช่วงสว่างเท่ากับ 12 และ 12 ชั่วโมง และพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ ,ท่ากับ 6.6 ตามลำดับ มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเท่ากับ 1.90±0.29 ต่อวัน ค่าพีเอชต่ำสุดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่สาหร่ายชนิดนี้สามารถทนอยู่ได้คือ 4.60 ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาเมื่อเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอช แตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 4.6, 5.1, 5.6, 6.1 และ 6.6 มีค่าไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เมื่อเลี้ยงคลอเรลลาในสูตรอาหารที่มีค่าความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตแตกต่างกัน พบว่าสูตรที่มีไนโตรเจน เท่ากับ 10.00 ไมโครโมลต่อลิตร และฟอสฟอรัส 1.69 มิลลิโมลต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตสูงที่สุดคือมีค่าเท่ากับ 1.36±0.01 ต่อวัน ประสิทธิภาพการใช้คาร์บอนไดออกไซด์สูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร และความสามารถในการเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์เป็นมวลสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาค่าคาร์บอนไดออกไซด์และปริมาณคาร์บอนในเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีอัตราการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำสูงสุด สามารถนำมาเขียนเป็นสมการถดถอยเพื่อใช้ในการทำนายปริมาณคาร์บอนในเซลล์ได้ดังนี้ ปริมาณคาร์บอนในเซลล์ = 4.78(คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ)^2-71.89(คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลาย)+296.54 โดยมีค่า r^2 = 0.95

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สหสาขาวิชา...วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม..... ลายมือชื่อนิสิต .....สมรลักษณ์ แจ่มแจ้ง.....

สาขาวิชา.....วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา.....2542..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

3971986123 :MAJOR INTERDEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL SCIENCE
KEY WORD: CHLORELLA/ CARBON DIOXIDE/ pH/ NITRATE/ PHOSPHATE

SAMORNLUK CHAMCHAENG : THESIS TITLE. OPTIMAL CONDITIONS FOR CARBON DIOXIDE UTILIZATION BY MICROALGAE.THESIS ADVISOR : ASST. PROF. AJCHARAPORN PIUMSOMBOON, Ph.D., THESIS COADVISOR : ASST. PROF. SUMATE TANTRATIAN Ph.D., ๑๒pp. ISBN 974-334-257-5

Chlorella sp. was cultured in NS III media under the following conditions: 3,000 lux, 30 degree celcius, 12-12 hours of light–dark period and 6.6 of pH media. The specific growth rate was 1.90±0.29 per day. The low tolerant pH limit is less than 4.60. The specific growth rate in media with different value; 4.70, 5.10, 5.60, 6.10 and 6.60, are not significant difference (p=0.05).

The specific growth rate in media with varies concentration of nitrate and phosphate was highest in the media with nitrate concentration 10.00 millimol/l and phosphate concentration 1.69 millimol/l. The efficiency of carbon dioxide reduction in the media with 5.00 g/l dry ice addition was 95.35%. The rate of carbon biomass production can be expressed as carbon biomass (mg/l) = 4.78 $(CO_{2(aq)})^2$-71.89$CO_{2(aq)}$+296.54 (r^2 = 0.95). Chlorella in media with dry ice 10 g/l showed the highest efficiency to change carbon dioxide to biomass.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สหสาขาวิชา...วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม..... ลายมือชื่อนิสิต .....สมรลักษณ์ แซมแก้ว.....
สาขาวิชา.....วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา.....2542..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร ที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านวิชาการ ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พรพจน์ เปี่ยมสมบูรณ์ ที่เป็นกรรมการและแนะนำเอกสารและแนวคิดที่เป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จเรียบร้อย ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์ ซึ่งเป็นประธานการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ ที่เป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และให้คำแนะนำแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณทุนเมธีวิจัยอาวุโสของ ศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ ดำรงเลิศ โครงการส่งเสริมกลุ่มวิจัยและพัฒนาด้านวิศวกรรมเคมีและงานด้านประยุกต์ ที่สนับสนุนทุนการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ศูนย์พัฒนาการประมงแห่งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (SEAFDEC) ที่เอื้อเฟื้อโปรแกรม Surfer และอาจารย์สุริยัณห์ สาระมูลที่ช่วยสอนการใช้โปรแกรมนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆพี่ๆและน้องๆ สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อมและภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเลและสมาชิกกลุ่มห้องสมุดพันทิพย์ทุกคนที่ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจอย่างดียิ่ง

และสุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณมารดาสำหรับกำลังใจในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จไปด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญตาราง.....ช

สารบัญภาพ.....ฌ

บทที่

1. บทนำ.....1
2. สำรวจเอกสาร.....3
3. อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย.....16
4. ผลการวิจัย.....21
5. วิจารณ์ผลการทดลอง.....60
6. สรุปและข้อเสนอแนะ.....76

รายการอ้างอิง.....78

ภาคผนวก.....83

ประวัติผู้วิจัย.....92

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง หน้า

2-1 องค์ประกอบของอากาศ.....4

5-1 เปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III และ Guillard.....61

5-2 เปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาชนิดต่างๆ 62

5-3 เปรียบเทียบการเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตที่แตกต่างกัน 66

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ หน้า

2-1 ระดับของคาร์บอนไดออกไซด์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2293 –2531.....6

2-2 รูปร่างและลักษณะของสาหร่ายคลอเรลลา.....8

2-3 การสืบพันธุ์โดยการสร้างออโตสปอร์ของสาหร่ายคลอเรลลา 9

2-4 รูปแบบของอนินทรีย์คาร์บอนที่ปรากฏในระดับพีเอชต่างๆ 10

4-1 ลักษณะและเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลา.....21

4-2 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อ.....22

4-3 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ.....24

4-4 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อ
เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 4.70.....25

4-5 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อ
เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.10.....27

4-6 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อ
เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.60.....28

4-7 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อ
เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.10.....30

4-8 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อ
เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.60.....31

4-9 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรท
และฟอสเฟตเท่ากับ 10.00 และ 3.39 มิลลิโมล/ลิตร.....33

4-10 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรท
และฟอสเฟตเท่ากับ 10.00 และ 1.69 มิลลิโมล/ลิตร.....34

4-11 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรท
และฟอสเฟตเท่ากับ 10.00 และ 0.03 มิลลิโมล/ลิตร.....36

4-12 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรท
และฟอสเฟตเท่ากับ 5.71 และ 3.39 มิลลิโมล/ลิตร.....37

4-13 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรท
และฟอสเฟตเท่ากับ 5.71 และ 1.69 มิลลิโมล/ลิตร.....39

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพประกอบ หน้า

4-14 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรท และฟอสเฟตเท่ากับ 5.71 และ 0.03 มิลลิโมล/ลิตร.....40

4-15 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรท และฟอสเฟตเท่ากับ 1.48 และ 3.39 มิลลิโมล/ลิตร.....42

4-16 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรท และฟอสเฟตเท่ากับ 1.48 และ 1.69 มิลลิโมล/ลิตร.....43

4-17 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรท และฟอสเฟตเท่ากับ 1.48 และ 0.03 มิลลิโมล/ลิตร.....45

4-18 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัลคาลินิตี้ และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ เมื่อไม่ใส่น้ำแข็งแห้ง.....46

4-19 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัลคาลินิตี้ และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ เมื่อมีการใส่น้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัม/ลิตร.....47

4-20 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัลคาลินิตี้ และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ เมื่อมีการใส่น้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัม/ลิตร.....49

4-21 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำกรองที่ใช้เลี้ยงเซลล์ โดยไม่ใส่น้ำแข็งแห้ง.....51

4-22 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำกรองที่ใช้เลี้ยงเซลล์ โดยใส่น้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัม/ลิตร.....52

4-23 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำกรองที่ใช้เลี้ยงเซลล์ โดยใส่น้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัม/ลิตร.....53

4-24 การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ใส่น้ำแข็งแห้ง.....55

4-25 การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 5 กรัม/ลิตร.....57

4-26 การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 10 กรัม/ลิตร.....58

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันโลกของเรากำลังเผชิญกับปัญหาภาวะเรือนกระจก (Greenhouse Effect) และภาวะโลกร้อนขึ้น (Global Warming) เป็นผลมาจากก๊าซเรือนกระจกซึ่งจะเป็นตัวคอยดักความร้อน ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) มีเทน (CH_4) ไนตรัสออกไซด์ (N_2O) โอโซน (O_3) คลอโรฟลูออโรคาร์บอน (CFCs) โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้อุณหภูมิของโลกร้อนขึ้น ผลกระทบโดยตรงจากปัญหาโลกร้อนขึ้นนี้ส่งผลให้น้ำแข็งขั้วโลกละลาย ทำให้ระดับน้ำทะเลสูงขึ้น ผลกระทบอีกประการคือเกิดความแปรปรวนของอากาศ เนื่องจากมีความร้อนสะสมในชั้นบรรยากาศเพิ่มมากขึ้น บรรยากาศมีพลังงานสะสมมากขึ้น จนอาจทำให้เกิดภัยธรรมชาติอย่างรุนแรง เช่น พายุไซโคลน พายุลม ความแห้งแล้ง น้ำท่วม เป็นต้น การเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิลจากกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์เป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้มีการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาสู่บรรยากาศมากกว่าสาเหตุอื่น เช่น การตัดไม้ทำลายป่าซึ่งถือว่าเป็นการทำลายแหล่งกักเก็บคาร์บอนธรรมชาติ ประเทศต่างๆ ทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยได้ให้ความสนใจกับปัญหาดังกล่าวนี้อย่างจริงจังมากขึ้น และได้มีการประชุมเพื่อหาทางแก้ไขเกี่ยวกับปัญหานี้และร่วมมือกันในความพยายามที่จะลดปริมาณของก๊าซเรือนกระจกให้ออกสู่บรรยากาศน้อยลง

แนวทางในการกำจัด/แปรรูปก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สามารถทำได้หลายวิธี โดยอาศัยกระบวนการทั้งทางเคมีและทางชีววิทยา ซึ่งแต่ละวิธีจะมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันไป โดยวิธีที่น่าสนใจและน่าจะมีความเป็นไปได้ในการกำจัดหรือลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ คือการนำสาหร่ายมาใช้เป็นตัวลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยอาศัยกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย ซึ่งในกระบวนการนี้ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารตั้งต้น และยังได้สาหร่ายเป็นผลพลอยได้ ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์อื่นๆต่อได้ การศึกษาครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในสภาวะที่เป็นตัวแทนของการมีคาร์บอนไดออกไซด์ละลายอยู่ในตัวกลางและหาอัตราการใช้คาร์บอนไดออกไซด์และการผลิตมวลชีวภาพของสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นระบบขนาดใหญ่ขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบความทนทานต่อสภาวะที่เป็นกรดของสาหร่ายขนาดเล็กชนิด *Chlorella* sp.
2. เพื่อหาสัดส่วนของสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในสภาวะที่เป็นกรด
3. เพื่อศึกษาการเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่างๆในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบอัตราการเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อและอัตราการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายคลอเรลลา
2. สามารถกำหนดสภาวะที่เหมาะสมที่จะใช้สาหร่ายคลอเรลลาในการกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
3. เพิ่มมวลชีวภาพของสาหร่ายซึ่งสามารถนำไปใช้ในกระบวนการที่เป็นประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ต่อไปได้
4. ได้ข้อมูลไปประยุกต์ใช้ในทางปฏิบัติเพื่อลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปลดปล่อยสู่บรรยากาศของโรงงานอุตสาหกรรม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

การสำรวจเอกสาร

คาร์บอนไดออกไซด์

ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

คาร์บอนไดออกไซด์เป็นก๊าซไม่มีสี ไม่ติดไฟ หนักกว่าอากาศประมาณ 1.5 เท่า สามารถอยู่ได้ทั้ง 3 สถานะ คือ ก๊าซ ของแข็ง และของเหลว สามารถทำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นของเหลวได้โดยใช้ความดันประมาณ 300 psi ที่อุณหภูมิ –21 องศาเซลเซียส และเมื่อลดอุณหภูมิลงถึง –56.6 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 60.4 psi จะทำให้คาร์บอนไดออกไซด์เหลวนั้นเริ่มแข็งตัว และเมื่อลดอุณหภูมิถึง –78.5 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์เหลวดังกล่าวจะจับตัวกันกลายเป็นน้ำแข็งแห้ง (Parker, 1992)

ประโยชน์ของคาร์บอนไดออกไซด์

คาร์บอนไดออกไซด์สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้านโดยใช้เป็นสารทำความเย็น เช่น ในอุตสาหกรรมอาหารแช่แข็ง ทำให้สามารถเก็บอาหารไว้ได้ยาวนานขึ้น ในอุตสาหกรรมพลาสติก จะใช้ในการลดความร้อนของแม่พิมพ์ขณะขึ้นรูปพลาสติกทำให้สามารถเริ่มชิ้นงานต่อไปได้เร็วขึ้นซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณการผลิต ในอุตสาหกรรมหนักนำไปใช้ช่วยลดอุณหภูมิในกระบวนการหลอมเหล็กและการเชื่อมโลหะในการประกอบอุปกรณ์บางชนิดเข้าด้วยกันเช่น การสวมตลับลูกปืนเข้าในเพลา โดยคาร์บอนไดออกไซด์จะทำให้เพลาหดตัวลงทำให้สามารถสวมตลับลูกปืนเข้าไปได้ง่ายยิ่งขึ้น ในทางการแพทย์นั้นสามารถนำไปใช้ในการเก็บรักษาเนื้อเยื่อได้ สำหรับอุตสาหกรรมน้ำอัดลมจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นส่วนประกอบอีกด้วย ในการปรับปรุงคุณภาพของน้ำเสียจากโรงงานซึ่งอาจมีสภาพเป็นด่างสามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการปรับสภาพของน้ำเสียนั้นให้เป็นกลางได้ นอกจากนี้ยังใช้คาร์บอนไดออกไซด์มาทำเป็นสารดับเพลิงได้อีกด้วย (Parker, 1992)

สถานการณ์ของภาวะอากาศโลก

อากาศประกอบด้วยก๊าซชนิดต่างๆหลายชนิด (ตารางที่ 2-1) โดยที่ก๊าซไนโตรเจนมีปริมาณมากที่สุด และก๊าซออกซิเจนมีปริมาณในลำดับที่รองลงมา (Kemp, 1990) แม้ว่า

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะมีในอากาศเพียงเล็กน้อยคือร้อยละ 0.03 (Parker, 1992) แต่สามารถทำให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจกและภาวะโลกร้อนขึ้นได้ เนื่องมาจากคุณสมบัติในการดูดซับความร้อน โดยสามารถดูดซับเอารังสีความร้อนได้ดีในช่วงคลื่น 12,500–17,000 นาโนเมตร (มูลนิธิโลกสีเขียว, 2535)

ตารางที่ 2-1 องค์ประกอบของอากาศ

ส่วนประกอบ	โดยปริมาตร	ปริมาณเป็น ppm
ไนโตรเจน (N_2)	78.08	780,840.00
ออกซิเจน (O_2)	20.95	209,500.00
อาร์กอน (Ar)	0.93	9,300.00
คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)	0.0345	345.00
มีเทน (CH_4)	0.00014	1.40
คริปตอน (Krypton)	0.00010	1.00
ไฮโดรเจน (H_2)	0.00005	0.50
ซีนอน (Xenon)	0.000009	0.09
นีออน (Neon)	0.0018	18.00
โอโซน (Ozone)	0.000002	0.02

(ที่มา: Kemp, 1990)

ปรากฏการณ์เรือนกระจกมีสาเหตุมาจากการเพิ่มปริมาณของก๊าซบางชนิดที่มีคุณสมบัติในการดูดซับความร้อนได้ดี เรียกว่า ก๊าซเรือนกระจก (Greenhouse gas) ซึ่งประกอบด้วย ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน ไนตรัสออกไซด์ โอโซน และคลอโรฟลูออโรคาร์บอน โดยที่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นก๊าซเรือนกระจกที่มีปริมาณมากที่สุดและเป็นตัวการสำคัญที่สุดที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจกสูงถึงร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับก๊าซเรือนกระจกชนิดอื่น เป็นที่น่าสังเกตว่าประเทศอุตสาหกรรมและประเทศที่มีประชากรหนาแน่นจะเป็นตัวการสำคัญในการเพิ่มปริมาณก๊าซเรือนกระจกในบรรยากาศมากกว่าประเทศอื่นๆ ประเทศเหล่านี้ได้แก่ สหรัฐอเมริกา สหภาพโซเวียต บราซิล แคนาดา และจีน (เนื่องจากมีประชากรมาก) และเมื่อพิจารณาปริมาณการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลของประเทศต่างๆในปี พ.ศ. 2533 (โฟลเลย์, 2538) พบว่าสหรัฐอเมริกามีปริมาณการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลมากที่สุดคือคิดเป็นร้อยละ 24.8 ของปริมาณ

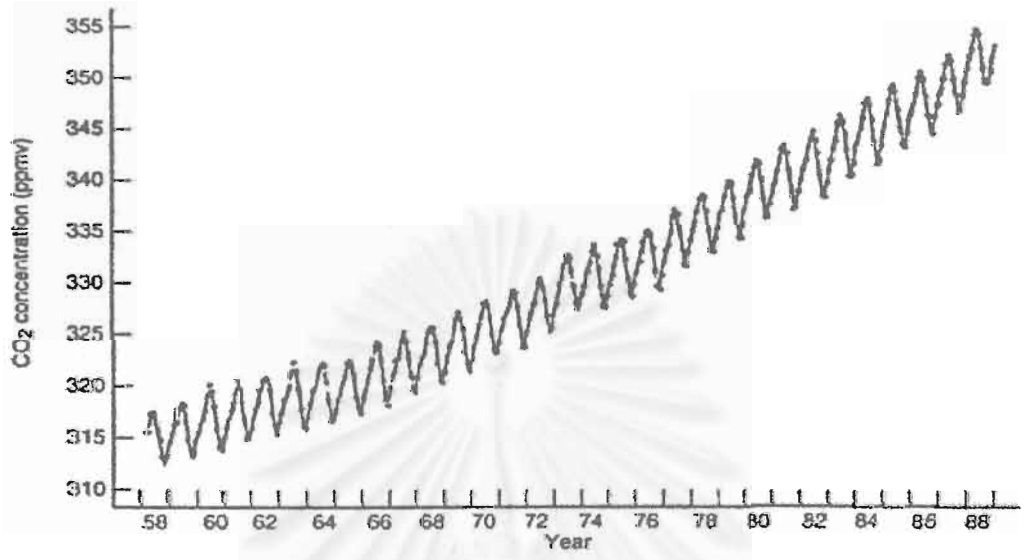
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่ใช้รวมทั้งโลก รองลงมาคือสหภาพโซเวียตและยุโรปตะวันตก ซึ่งมีปริมาณการใช้เท่ากับร้อยละ 17.7 และร้อยละ 16.4 ตามลำดับ (โฟลเลย์, 2538)

ในอดีตมีการเผาไหม้ไม้หรือพืชอื่นๆเพื่อตอบสนองความต้องการของมนุษย์ในด้านความร้อนและแสงสว่างซึ่งความต้องการนี้มีความสัมพันธ์กับจำนวนประชากร คือเมื่อประชากรเพิ่มขึ้น ความต้องการเหล่านี้จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ในศตวรรษที่ 18 ได้มีการนำเอาถ่านหินมาใช้แทนไม้ซึ่งเริ่มหายากขึ้น และหลังจากช่วงปฏิวัติอุตสาหกรรมเป็นต้นมามีการเผาไหม้เชื้อเพลิงเหล่านี้สูงมากขึ้นซึ่งเป็นผลให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ถูกปล่อยออกสู่บรรยากาศมากขึ้น ต่อมามีการใช้น้ำมันและก๊าซธรรมชาติเป็นแหล่งเชื้อเพลิงเพิ่มขึ้น เนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการเผาไหม้ถ่านหินจะมากกว่าการเผาไหม้เชื้อเพลิงพวกน้ำมันและก๊าซธรรมชาติ การเผาไหม้ก๊าซธรรมชาติจะให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์น้อยกว่าน้ำมันและถ่านหินคิดเป็นร้อยละ 40 และร้อยละ 25 ตามลำดับ ประเทศที่มีการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกสู่บรรยากาศมากที่สุดได้แก่ สหรัฐอเมริกา รองลงมาคือสหภาพโซเวียต (Graves and Reavey, 1996) นอกจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิลแล้ว การตัดไม้ทำลายป่ายังมีผลทำให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศเพิ่มขึ้นอีกด้วย มีผลให้การใช้คาร์บอนไดออกไซด์โดยพืชเพื่อการสังเคราะห์แสงลดลง ทำให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศจึงยังคงมีปริมาณมากเช่นเดิม (Graves and Reavey, 1996)

นับจากยุคปฏิวัติอุตสาหกรรมเป็นต้นมาพบว่า คาร์บอนไดออกไซด์มีแนวโน้มเพิ่มปริมาณอย่างมากและการเพิ่มปริมาณเป็นไปอย่างต่อเนื่องจาก 280 ส่วนในล้านส่วน ในปี พ.ศ. 2293 เป็น 315 ส่วนในล้านส่วน ในปี พ.ศ. 2500 และเป็น 350 ส่วนในล้านส่วน ในปี พ.ศ. 2531 (O'Riordan,1995) ซึ่งเพิ่มขึ้นจากเดิมประมาณร้อยละ 25 (รูปที่ 2-1) โดยที่มีสาเหตุสำคัญมาจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิลนั่นเอง จากเอกสารของโครงการสิ่งแวดล้อมขององค์การสหประชาชาติได้ประมาณว่าในราวปี พ.ศ. 2543 จะมีคาร์บอนเพิ่มขึ้นในบรรยากาศประมาณปีละ 10 พันล้านตัน และคาดว่าในปี พ.ศ. 2573 อุณหภูมิเฉลี่ยของโลกจะสูงขึ้นประมาณ 3 องศาเซลเซียส การที่อุณหภูมิโลกสูงขึ้นจะส่งผลต่อเนื่องให้น้ำในมหาสมุทรขยายตัว และน้ำแข็งในเขตขั้วโลกละลายทำให้มีน้ำในมหาสมุทรมากขึ้น มีผลให้ระดับน้ำทะเลมีแนวโน้มสูงขึ้น จากรายงานของคณะกรรมการร่วมนานาชาติว่าด้วยเรื่องการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศ (IPCC) คาดว่าระดับน้ำทะเลน่าจะสูงขึ้นประมาณ 20 เซนติเมตร ภายในปี พ.ศ. 2573 การที่ระดับน้ำทะเลเพิ่มขึ้นนี้จะมีผลกระทบอื่นๆเกิดขึ้นอีกมากมาย เช่น ภัยพิบัติจากการยกระดับของน้ำทะเลที่จะก่อปัญหากับประเทศที่เป็นหมู่เกาะและอยู่ติดทะเล เกิดการพังทะลายของชายฝั่ง ซึ่งจะมีผล

กระทบไปถึงเรื่องปะการังถูกทำลาย และการท่องเที่ยว การรุกล้ำของน้ำทะเลซึ่งผลกระทบเหล่านี้ยังส่งผลกระทบไปถึงการเกษตรและการประมงอีกด้วย (โฟลเลย์, 2538)



รูปที่ 2-1 ระดับของคาร์บอนไดออกไซด์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2293 –2531 (O'Riodan, 1995)

การที่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นอาจจะมีผลดีต่อพืชบางชนิด ได้แก่ ข้าวสาลี มันฝรั่ง ฝ้าย ข้าว ข้าวบาร์เลย์ มันสำปะหลัง ไม้ผลหลายชนิดและผัก ซึ่งผลผลิตของพืชเหล่านี้จะเพิ่มขึ้นร้อยละ 10–15 เมื่อมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นจากเดิม 2 เท่า ซึ่งอาจเป็นผลดีของปรากฏการณ์เรือนกระจกและภาวะโลกร้อน แต่จากการที่เกิดสภาวะดังกล่าวนี้ขึ้นสภาพภูมิอากาศในเขตต่างๆทั่วโลกย่อมมีการเปลี่ยนแปลงโดยอาจจะทำให้เกิดปัญหาการขาดแคลนน้ำหรืออาจจะเกิดอุทกภัยได้ ซึ่งย่อมจะก่อให้เกิดปัญหากับการเกษตรได้ (โฟลเลย์, 2538)

การลดคาร์บอนไดออกไซด์โดยวิธีทางเคมี

ในการกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ออกมาจากกระบวนการผลิตต่างๆในปริมาณมากนั้นได้มีการทดลองเก็บก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์เหลวไว้ที่ก้นทะเลลึก (Shido และคณะ, 1994; Noda และคณะ, 1994; Horzog และ Edmond, 1994) ซึ่งคาดว่าทะเลจะสามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยออกมาในปริมาณมากได้ โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ดังนี้

$$CO_2 + H_2O \quad \Leftrightarrow \quad CO_2.nH_2O + \Delta H$$

ผลึกของแข็งที่ได้ ($CO_2.nH_2O$) ประกอบด้วยน้ำ 46 โมเลกุล และคาร์บอนไดออกไซด์ 8 โมเลกุล โดยปฏิกิริยานี้จะเกิดที่อุณหภูมิต่ำกว่า –0.15 องศาเซลเซียส ความดันสูงกว่า 1.18 MPa หรือ 4.31 MPa (ที่อุณหภูมิ 9.85 องศาเซลเซียส) และนำผลึกของแข็งที่ได้ไปแทนที่น้ำที่ใต้ทะเลลึก วิธีนี้สามารถช่วยลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงได้

นอกจากนี้อาจนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารประกอบเคมีชนิดต่างๆได้ เช่น Super, Parks และ Beckman (1994) ได้ทดลองใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นวัตถุดิบในการทำพลาสติกบางชนิด คือใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นโคโมโนเมอร์ในการเตรียมโพลีคาร์บอเนต โพลียูรีเทน โพลียูเรีย และโพลีเอสเตอร์ เมื่อนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาทำปฏิกิริยากับก๊าซไฮโดรเจนจะได้ก๊าซมีเทน โดยทำปฏิกิริยาในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 200-400 องศาเซลเซียส และความดัน 1-5 MPa (Souma, Ando และ Fujiwara, 1994) ซึ่งจะได้ก๊าซมีเทนออกมาคิดเป็นร้อยละ 93 นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์เมธานอลโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนมาทำปฏิกิริยากัน (Kanai, Watanabe และ Saito, 1994; Joo, Han และ Uhm, 1994)

การลดคาร์บอนไดออกไซด์โดยวิธีทางชีวภาพ

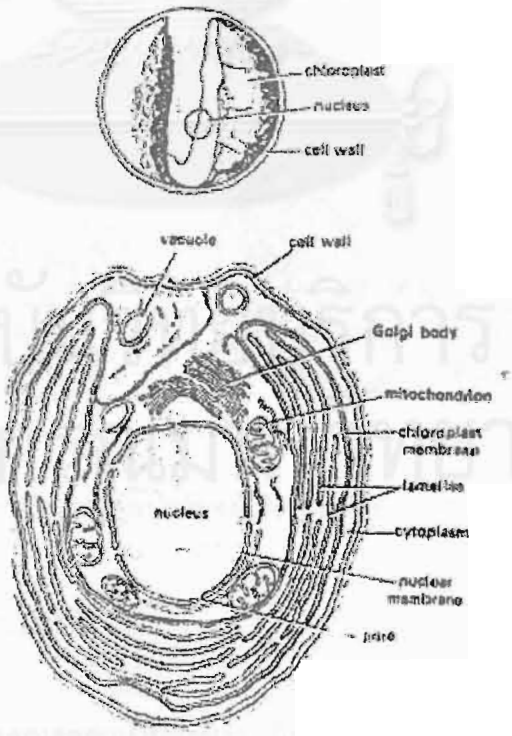
กระบวนการทางชีวภาพที่สามารถลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้คือ กระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช โดยพืชจะใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการนี้ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงและความสามารถในการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ของพืชบกและสาหร่าย พบว่าสาหร่ายมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงและความสามารถในการใช้คาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าของพืชบกชนิดอื่นๆ (Murakami และ Masahiro, 1997; Watanabe, Ohmura และ Saiki, 1992; Miyachi, 1997) นอกจากนี้ยังมีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมสูงและขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว (Kurano และคณะ, 1995) ซึ่งจะง่ายต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในระบบของโรงงานอุตสาหกรรมได้ มากกว่าพืชชนิดอื่น (Murakami และ Masahiro, 1997) ดังนั้นสาหร่ายจึงมีความเหมาะสมมากกว่าพืชบก (Watanabe, Ohmura และ Saiki, 1992)

อนุกรมวิธานของสาหร่ายสกุล *Chlorella* (Hoek, Mann และ Jahns 1995)

Division	Chlorophyta
Class	Chlorophyceae
Order	Chlorococcales
Family	Chlorellaceae
Genus	Chlorella

รูปร่างและลักษณะ

เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้เอง มีสีเขียว มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ มีขนาดเล็กมาก โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ประมาณ 2-12 ไมโครเมตร มีรูปร่างเป็นทรงกลม เซลล์ถูกล้อมรอบด้วยผนังเซลลูโลสบางๆ และพบสปอโรพอลลีนินในผนังเซลล์ ซึ่งเป็นสารประกอบที่สามารถพบได้ที่ผนังของอับละอองเรณูในพืชชั้นสูง มีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วย อาจมีหรือไม่มีไพรีนอยด์ ไม่มีแฟลกเจลลา มีสติกมาและคอนแทรกไทล์แวคิวโอล พบนิวเคลียสอยู่ตรงกลางเซลล์ มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส 2 ชั้น พบไมโตคอนเดรีย กอลจิบอดี้ และแวคิวโอล เล็กน้อยในไซโตพลาสซึม (Bold and Wynne, 1978) (รูปที่ 2-2)



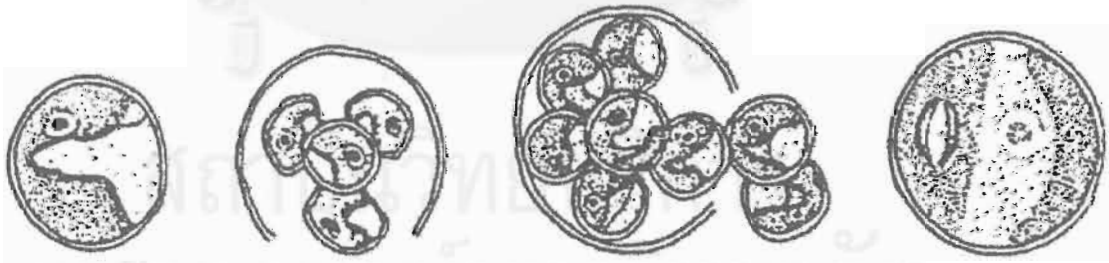
รูปที่ 2-2 รูปร่างและลักษณะของคลอเรลลา (Sharma, 1992)

การแพร่กระจาย

สาหร่ายสกุล *Chlorella* พบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม โดยชนิดที่พบได้ในน้ำเค็มมีขนาดเล็กกว่าที่พบจากแหล่งอื่นๆ คือจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 ไมโครเมตร รวมทั้งยังพบได้บนพื้นดินที่เปียกชื้นและบนกำแพง สาหร่ายชนิดนี้มักเป็นชนิดที่ปนเปื้อนในภาชนะบรรจุน้ำ บางชนิดอาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์ชนิดอื่นๆ เช่น *Chlorella parasitica* มักอาศัยอยู่ร่วมกับพารามีเซียมชนิด *Paramecium bursaria* ส่วน *Chlorella lichina* พบว่าจะอาศัยอยู่ร่วมกับไลเคนส์ชนิด *Calicium chlorina* สาหร่ายในสกุลนี้มี 14 ชนิด ได้แก่ *C. vulgaris*, *C. pyrenoidosa*, *C. concloverata*, *C. simplex*, *C. ellipsoidea*, *C. miniala*, *C. protothecoides*, *C. saccharophila*, *C. acuminata*, *C. faginea*, *C. variegata*, *C. parasitica*, *C. conductrix*, และ *C. lichina* (Bold and Wynne, 1978)

การสืบพันธุ์

คลอเรลลามีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเพียงแบบเดียว (Sharma, 1992) โดยการสร้างออโตสปอร์ (autospores) ขึ้นในเซลล์แม่ ออโตสปอร์เป็นสปอร์ (spore) ที่ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่เคลื่อนที่ มีรูปร่างเหมือนเซลล์ปกติ โดยในแต่ละครั้งของการสร้างออโตสปอร์นั้นสามารถสร้างได้ตั้งแต่ 2-16 เซลล์ แต่ละออโตสปอร์นี้จะค่อยๆพัฒนาเซลล์จนเหมือนกับเซลล์แม่ แต่ต่างกันที่ออโตสปอร์นี้จะมีขนาดเล็กกว่า และจะถูกปล่อยออกมาจากผนังเซลล์ (รูปที่ 2-3)



รูปที่ 2-3 การสืบพันธุ์โดยการสร้างออโตสปอร์ของสาหร่ายคลอเรลลา (Sharma, 1992)

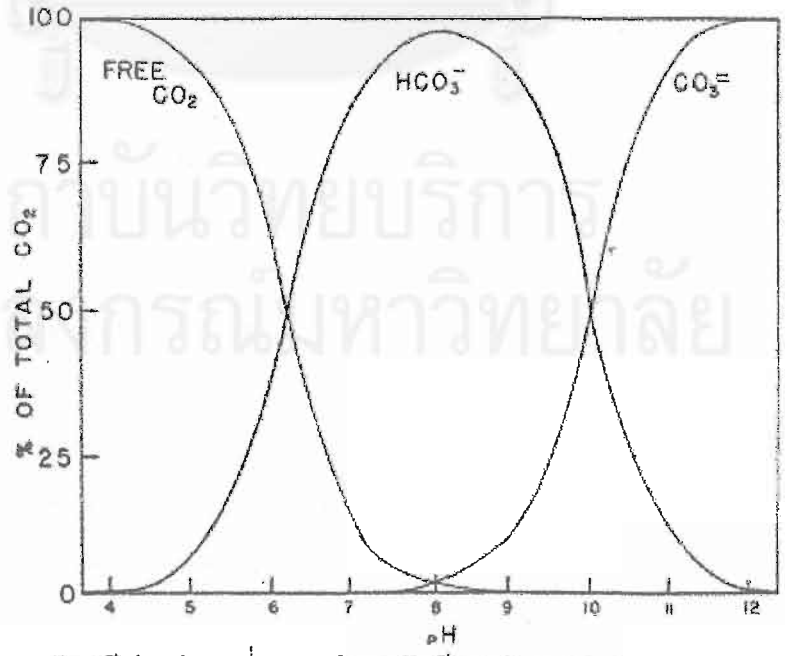
การนำคลอเรลลามาใช้ประโยชน์

เนื่องจากสาหร่ายคลอเรลลาเป็นสาหร่ายที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง กล่าวคือเซลล์คลอเรลลาประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน คิดเป็นร้อยละ 50, 20 และ 20

ตามลำดับ และส่วนที่เหลือเป็นกรดอะมิโน วิตะมิน และแร่ธาตุบางชนิด (Beaker, 1994) ดังนั้นจึงสามารถนำเอาสาหร่ายคลอเรลลานี้ไปใช้ทำเป็นอาหารสำหรับคนและสัตว์ได้ สามารถนำไปสกัดวิตะมินที่จำเป็นต่อร่างกายได้แก่ วิตะมินบี1, วิตะมินบี2, วิตะมินบี6, วิตะมินบี12 และวิตะมินซี นอกจากนี้ยังสามารถใช้ทำเป็นยาฆ่าเชื้อได้เนื่องจากมีสารคลอเรลลิน (Chlorellin) ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย ใช้สร้างออกซิเจนและกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ในยานอวกาศและเรือดำน้ำ และยังสามารถใช้เป็นอาหารของนักบินอวกาศได้อีกด้วย และสามารถลดปัญหาน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายคลอเรลลาในการบำบัดน้ำเสียได้ (Vymazal, 1995)

ความสามารถในการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารตั้งต้นหลักในกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยรูปแบบของคาร์บอนไดออกไซด์ที่พืชใช้นั้นจะอยู่ในรูปของสารละลายโดยมีน้ำเป็นตัวทำละลาย การละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของตัวทำละลาย ความดันย่อยของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ลักษณะทางเคมีของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และตัวทำละลายที่คาร์บอนไดออกไซด์ละลายอยู่ สำหรับสารละลายเจือจางตามกฎของ Henry กล่าวไว้ว่าที่อุณหภูมิคงที่ ปริมาตรหรือมวลของก๊าซที่ละลายในของเหลวจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความดัน ในกรณีของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ความดันย่อย 34 Pa จะมีความสามารถในการละลายในน้ำเท่ากับ 0.888 m^3CO_2/m^3 นั่นคือ ในน้ำปริมาตร 1000 cm^3 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สามารถละลายได้ 0.29 cm^3 (Dean, 1999)



รูปที่ 2-4 รูปแบบของอนินทรีย์คาร์บอนที่ปรากฏในระดับพีเอชต่างๆ (Burlew, 1953)

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำมากกว่า 99 เปอร์เซ็นต์ จะอยู่ในรูปของสารละลาย และเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำก็จะอยู่ในรูปของกรดคาร์บอนิกและสามารถแตกตัวต่อไปเป็นไบคาร์บอเนตอิออนซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับได้ ดังสมการที่ 1 และจะเกิดในช่วงพีเอชระหว่าง 4-12 (รูปที่ 2- 4)

$$\underset{\text{dissolved}}{CO_2 + H_2O} \Leftrightarrow \underset{\text{solution}}{H_2CO_3} \Leftrightarrow \underset{\text{solution}}{H^+ + HCO^-_3} \qquad (1)$$

เมื่อพิจารณาสมการที่ 1 สามารถจะเขียนแยกทีละปฏิกิริยาได้ดังนี้

$$CO_2\,(g) \rightarrow CO_2\,(aq) \qquad (2)$$

$$CO_2\,(aq) + H_2O \rightarrow H_2CO_3 \qquad (3)$$

$$H_2CO_3 \rightarrow H^+ + HCO^-_3 \qquad (4)$$

$$HCO^-_3 \rightarrow CO^{2-}_3 + H^+ \qquad (5)$$

โดยปฏิกิริยาในสมการที่ 3 จะเกิดช้ามาก ซึ่งแตกต่างจากปฏิกิริยาในสมการที่ 2 และ 4 ที่ใช้เวลาเพียง 10^{-3} และ 10^{-5} วินาที ตามลำดับ (มนุวดี หังสพฤกษ์, 2532) ปฏิกิริยาในสมการที่ 3 นี้สามารถเกิดขึ้นได้โดยอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น เอนไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรส (Carbonic anhydrase: CA) ที่พบในสาหร่ายหลายชนิดที่อาศัยอยู่ในน้ำจืดและในน้ำเค็ม ได้แก่ Cyanophyta Rhodophyta Cryptophyta Chromophyta Euglenophyta และ Chlorophyta (Bowes, 1969 อ้างถึงใน Tsuzuki และ Miyachi, 1989) โดยทั่วไปคาร์บอนิกแอนไฮเดรสมักพบอยู่ที่คลอโรพลาสต์ แต่ในบางชนิดจะพบที่ผิวเซลล์ของสาหร่าย ในสภาวะที่ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำมักจะพบคาร์บอนิกแอนไฮเดรสอยู่ที่ผิวเซลล์ ส่วนในสภาวะที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงจะพบคาร์บอนิกแอนไฮเดรสอยู่ที่คลอโรพลาสต์ (Miyachi, Tsuzuki และ Avramova ,1983)

การเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปในน้ำ ไม่เพียงแต่จะทำให้ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น ยังมีผลต่อปัจจัยอื่น ๆ เช่น ทำให้มีค่าพีเอชเป็นกรดและมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอีกด้วย (Miyachi,1997) ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรดสูงจะมีสาหร่ายเพียงบางชนิดเท่านั้นที่สามารถทนอยู่ได้ เช่น *Dunaliella acidophila* พบได้ในสภาวะที่มีระดับพีเอชเท่ากับ 0.3-1 Gimmler และ Weis, (1992) รายงานว่าพบ *Cyanidium caldarium, Galderia sulphuraria, Cyanidioschyzon merolae, Euglena mutabilis* และ *Dunaliella acidophila*

พบในสภาวะที่มีระดับพีเอชเท่ากับ 1.5 นอกจากนี้ยังพบสาหร่ายสีแดงชนิด *Gardieria parita* ในสภาวะที่มีระดับ พีเอชเท่ากับ 1 (Miyachi, 1997)

การใช้คาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่าย

สาหร่ายสามารถใช้รูปแบบของอนินทรีย์คาร์บอนได้หลายชนิด เช่น *Chlorella vulgaris* สายพันธุ์ 11h และ *C. miniata* จะใช้อนินทรีย์คาร์บอนในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ แต่สาหร่ายบางชนิดใช้ไบคาร์บอเนตอิออนเช่น *C. vulgaris* สายพันธุ์ c-3, *Chlorella ellipsoida* และ *Chlorella* sp สายพันธุ์ K ซึ่งสาหร่ายบางชนิดสามารถใช้ได้ทั้งคาร์บอนไดออกไซด์และไบคาร์บอเนตอิออน คือ *C. pyrenoidosa* โดยจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายเมื่ออยู่ในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายสูง และใช้ไบคาร์บอเนตเมื่ออยู่ในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้อย แต่ในสาหร่ายชนิด *Chlorella pyrenoidosa* ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำน้อย จะใช้อนินทรีย์คาร์บอนในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ (Shelp และ Canvin, 1980 อ้างถึงใน Immamura et al.,1983) สาหร่ายบางชนิดสามารถใช้รูปแบบของอนินทรีย์คาร์บอนได้เพียงอย่างใดอย่างหนึ่งหรืออาจจะใช้ได้ทั้งสองอย่าง

การเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงนั้น Kodama, Ikemoto และ Miyachi, (1993) ได้ทำการศึกษาสาหร่ายสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากโรงงานอุตสาหกรรมและพบว่า *Chlorococcum littorale* ซึ่งแยกได้จากบ่อน้ำเค็ม สามารถเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเค็มร้อยละ 1.5 (15 ppt) ในสภาวะที่เป็นกรดโดยให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 20 และไม่มีการปรับพีเอช สาหร่ายชนิดนี้สามารถเติบโตได้แม้ว่าระดับพีเอชจะต่ำถึง 4 ก็ตาม นอกจากนี้เขาได้ทำการศึกษาการเติบโตของสาหร่ายชนิดนี้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่าง ๆ พบว่าเมื่อทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลาประมาณ 20 วัน สาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับร้อยละ 5 และ 20 จะมีการเติบโตดีกว่าในระดับอื่น ๆ เมื่อเปรียบเทียบการเติบโตของสาหร่ายพบว่าในสภาวะที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับร้อยละ 40 และในสภาวะที่ให้อากาศธรรมดา สาหร่ายมีอัตราการเติบโตใกล้เคียงกัน ส่วนในสภาวะที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์นั้นสาหร่ายจะมีการเติบโตที่ต่ำมาก ซึ่งสาหร่ายบางชนิดมีความสามารถในการทนทานต่อคาร์บอนไดออกไซด์ได้แตกต่างกัน Pronina และคณะ (1994) ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเติบโตของสาหร่ายสีเขียว พบว่า *Chlorella* sp.K สามารถเติบโตได้

เมื่อมีการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงถึงร้อยละ 100 แต่สำหรับสาหร่ายน้ำเค็มอีก 3 ชนิด คือ *Chlrococcum littorale*, *Chlorella saccharophila*, และ *Stichococcus bacillaris* นั้นเติบโตได้ในระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงสุดเพียงร้อยละ 20-40

สำหรับการใช้ก๊าซจากโรงงานมาเลี้ยงสาหร่ายนั้น นอกจากคาร์บอนไดออกไซด์แล้วยังมีก๊าซชนิดอื่นรวมอยู่ด้วยซึ่งจะมีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย Matsumoto, Hamasaki และ Sioji (1997) ได้ทำการศึกษาผลของคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2), ไนโตรเจนออกไซด์ (NO) และฝุ่นเขม่าต่อผลผลิตเบื้องต้นของสาหร่ายสีเขียวชนิด *Nannochloropsis salina* และ *Phaeodactylum tricorrutum* พบว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดนี้สามารถเติบโตได้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 15 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ SO_2 ไม่มีผลต่อการเติบโต แต่เมื่อความเข้มข้นของ SO_2 เพิ่มขึ้นจะทำให้ค่าพีเอชลดลงต่ำกว่า 4 และผลผลิตลดลง ส่วน NO นั้นจะละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อและเปลี่ยนเป็น NO_2^- โดยจะถูกใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนของสาหร่าย ส่วนในฝุ่นเขม่านั้นมีนิกเกิลและวาเนเดียม ถ้ามีนิกเกิลและวาเนเดียมละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเกิน 1.0 และ 0.1 ppm ตามลำดับ จะทำให้ผลผลิตลดลง แต่โดยทั่วไปค่าความเข้มข้นของโลหะทั้งสองชนิดนี้มีน้อยมาก

นอกจากคาร์บอนไดออกไซด์ในความเข้มข้นที่มากเกินไปจะมีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายแล้ว ยังมีผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสงอีกด้วย Pesheva, และคณะ (1994) ได้ศึกษาการเติบโตของ *Chlorococcum littorale* ที่เลี้ยงโดยให้อากาศธรรมดาผสมคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าถ้าให้คาร์บอนไดออกไซด์ 20 เปอร์เซ็นต์ การเติบโตจะเพิ่มขึ้นหลังจากระยะ lag phase 1-2 วัน ถ้าให้คาร์บอนไดออกไซด์ 40 เปอร์เซ็นต์ การเติบโตเพิ่มขึ้นหลังจากมีระยะ lag phase 3-6 วัน การเปลี่ยนแปลงอัตราการสังเคราะห์แสง วัดโดยใช้ค่าการสร้างออกซิเจนและการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 40 เปอร์เซ็นต์ ช่วงแรกจะมีการยับยั้งการสังเคราะห์แสงนั้นเนื่องจากการทำงานของ PS II ถูกระงับ แต่การทำงานของ PS I เพิ่มขึ้น *C. littorale* ที่เติบโตในสภาวะที่ให้อากาศจะมีการทำงานของคาร์บอนิกแอนไฮเดรสสูงในเซลล์และบนผิวของเซลล์ ที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์สูงการทำงานของคาร์บอนิกแอนไฮเดรสจะถูกยับยั้งมาก และยังมีผลต่อ Phosphoenol pyruvate carboxylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกระบวนการ Carboxylation ซึ่งมีหน้าที่เปลี่ยน Phosphoenol pyruvate เป็น Oxaloacetate โดยสภาวะที่มีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์สูงจะทำให้การทำงานของ Phosphoenol pyruvate carboxylase ในเซลล์จะถูกยับยั้ง ส่วนการทำงานของ Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์นั้น

ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์นี้ในเซลล์ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงจะมีประสิทธิภาพการทำงานมากกว่าที่เลี้ยงในสภาวะที่ให้อากาศธรรมดา แสดงว่าที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 40 เปอร์เซ็นต์นั้นจะทำให้ระยะ lag phase เพิ่มขึ้น เนื่องจากมีการยับยั้งการทำงานของ PS II ส่วน Laws และ Berning (1991) เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Tetraselmis suecica* ด้วยน้ำเค็มในร่องน้ำตื้นกลางแจ้งนาน 6 เดือน โดยให้แสงแดดเต็มที่พบว่าอัตราการสร้างผลผลิตเบื้องต้นรวมเท่ากับ 15-20 $gCm^{-2}d^{-1}$ ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงประมาณร้อยละ 9-10 อัตราการหายใจมีค่าประมาณครึ่งหนึ่งของอัตราการสร้างผลผลิตเบื้องต้นรวม ประสิทธิภาพการใช้คาร์บอนไดออกไซด์คิดเป็นร้อยละ 96$\pm$11 แต่ประสิทธิภาพการใช้พลังงานในรูปแบบของคาร์บอเนตคิดเป็นร้อยละ 81$\pm$11

นอกจากนี้คาร์บอนไดออกไซด์ยังมีผลต่อระดับกรดไขมันของสาหร่ายอีกด้วย โดย Tsuzuki และคณะ (1990) พบว่าระดับของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวของ *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้อากาศธรรมดามีค่าสูงกว่าใน *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อย้ายเซลล์มาเลี้ยงในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำ (อากาศธรรมดา) พบว่าจำนวนกรดไขมันยังคงเท่าเดิม แต่สารประกอบของ α-linolinic acid เพิ่มขึ้นระหว่างชั่วโมงที่ 6 ของระยะ lag phase และเมื่อถ่ายเซลล์จากสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำไปสู่สภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงพบว่าปริมาณกรดไขมันและสารประกอบโอเลอิคสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณ α-linolinic acid เกือบจะคงที่แต่ palmitic, oleic, linoleic acids เพิ่มขึ้น ในสาหร่ายชนิด *Chlamydomonas reinhardtii* และ *Dunaliela tertiolecta* มีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะนี้เช่นกัน แต่มีการเพิ่มขึ้นในปริมาณที่น้อยกว่า ส่วนในสาหร่ายชนิด *Euglena gracillis, Porphyridium aruentum, Anabena variabilis* และ *Anacystis nidulans* นั้นพบว่าไม่มีการเพิ่มปริมาณ กรดไขมัน

อย่างไรก็ตามอาจจะพบว่าคาร์บอนไดออกไซด์ไม่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายในบางกรณี Pruder และ Bolton (1979) ได้ทำการศึกษาผลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเติบโตของไดอะตอม *Thalassiosira pseudonana* (Hustedt) Hasle และ Heimdal สายพันธ์ 3H ที่ความเข้มแสงในช่วง 1150-11500 ลักซ์ และ ความเข้มข้นของออกซิเจน 15 ไมโครโมล/ลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อน้ำเค็มสังเคราะห์ พบว่าการเติบโตไม่เพิ่มเมื่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นถึง 16 ไมโครโมลต่อลิตร สาหร่ายที่สุ่มมาใหม่ๆถูกนำไปใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีคาร์บอนอินทรีย์ซึ่งมีการให้อากาศธรรมดาจะไม่เติบโต

การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อในแต่ละวันนั้น Yamasaki และ Hirata (1995) ศึกษาความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเติบโต ของ *Nanochloropsis* sp. โดยเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน แล้วดูค่าความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์วันละ 3 ครั้ง คือช่วงเริ่มต้นให้แสง ช่วงกลางของการให้แสง และช่วงสุดท้ายของการให้แสง พบว่า ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในแต่ละวันเมื่ออยู่ในช่วงที่มีแสงจะลดลงมากกว่า 100 ppm และเพิ่มขึ้นในช่วงที่ไม่มีแสง และวันที่ 3 หลังจากใส่เซลล์เริ่มต้นในช่วงมีแสงนั้นความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ลดลงจนแทบวัดไม่ได้

Amoroso และคณะ (1998) ศึกษาการรับคาร์บอนไดออกไซด์และส่งไบคาร์บอเนตในเซลล์และคลอโรพลาสต์ของสาหร่ายสีเขียว *Dunaliella tertiolecta* และ *Chlamydomonas reinhardtii* เมื่อเลี้ยงอยู่ในอาหารที่มีการให้อากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ และอากาศธรรมดา พบว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์และที่ให้อากาศอย่างเดียวจะมีความสามารถในการขนส่งคาร์บอนไดออกไซด์และไบคาร์บอเนตสูง สำหรับ เซลล์ของ *D. Tertiolecta* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์และที่ให้อากาศอย่างเดียวนั้นไบคาร์บอเนตจะเป็นอนินทรีย์คาร์บอนตัวหลักที่ถูกนำไปใช้ ในขณะที่ *C. reinhardtii* นั้นทั้งคาร์บอนไดออกไซด์และไบคาร์บอเนตถูกรับเข้าไปในอัตราที่พอกัน โดยที่การขนส่งไบคาร์บอเนตและรับคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นจาก 3 เป็น 9 เท่าในสาหร่ายทั้งสองชนิดในสภาวะที่มีอากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์และที่ให้อากาศอย่างเดียว คลอโรพลาสต์ที่แยกจากสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดนั่นสามารถขนส่งไบคาร์บอเนตและคาร์บอนไดออกไซด์ได้ โดยที่ในสภาวะที่ให้อากาศธรรมดาไบคาร์บอเนตและคาร์บอนไดออกไซด์ในคลอโรพลาสต์ของ *C. reinhardtii* จะลดลงจาก 446 ไมโครโมลาร์ และ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็น 33 ไมโครโมลาร์ และ 6.6 ไมโครโมลาร์ และสำหรับค่าไบคาร์บอเนตและคาร์บอนไดออกไซด์ในคลอโรพลาสต์ของ *D. tertiolecta* จะลดลงจาก 203 ไมโครโมลาร์ และ 5.8 ไมโครโมลาร์ เป็น 58 ไมโครโมลาร์ และ 0.5 ไมโครโมลาร์

การเลี้ยงสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวขนาดเล็กชนิด *Synechococcus sp.* ในปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีการให้แสง (light diffusing optical (LDOF) photobioreactor) โดยเลี้ยงในสภาวะที่มีการให้แสง 20 $\mu Em^{-2}s^{-1}$ และให้คาร์บอนไดออกไซด์ 0.55 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 6.8 กรัมต่อลิตร จะมีการใช้คาร์บอนสูงสุดเท่ากับ 4.44 กรัมต่อลิตรต่อวัน และมวลชีวภาพเท่ากับ 0.97 กรัมต่อลิตร (Takano และคณะ, 1992)

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง

สาหร่ายคลอเรลลาที่ใช้ในการทดลองคือ *Chlorella* sp. เป็นสายพันธุ์ที่นำมาจากสถานีประมงน้ำจืด จังหวัดปทุมธานี

1. การทำสายพันธุ์สาหร่ายให้บริสุทธิ์

นำสาหร่ายชนิดนี้มาทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธีการเพาะเชื้อบนอาหารแข็งหลายๆครั้ง (Hoshaw และ Rosowki, 1973) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III (ภาคผนวก ก) ที่ได้นึ่งฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1.5 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที โดยมีสภาวะการเลี้ยงดังนี้ ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (60 $\mu Em^{-2}s^{-1}$) อุณหภูมิ 30±3 องศาเซลเซียส ช่วงมืดและช่วงสว่าง 12:12 ชั่วโมง หลังจากที่แยกได้สาหร่ายที่ปราศจากเชื้อแบคทีเรียแล้ว ทำการเขี่ยโคโลนีของสาหร่ายที่ขึ้นแล้วในอาหารวุ้นดังกล่าวลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว โดยเลี้ยงในขวดกลมก้นแบนขนาด 50 มิลลิลิตร ซึ่งมีอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 25 มิลลิลิตร โดยใช้สูตรอาหารและสภาวะการเลี้ยงเดิม เมื่อสาหร่ายมีการเติบโตมากขึ้น จึงทำการถ่ายเชื้อสาหร่ายอีกครั้งลงในขวดกลมก้นแบนขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ประมาณ 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปเลี้ยงที่สภาวะเดิม สาหร่ายที่มีการเติบโตแล้วทำการแยกสาหร่ายมาใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ประมาณ 2 ครั้งต่อเดือน เพื่อเก็บเป็นหัวเชื้อที่ใช้สำหรับการทดลองในขั้นต่อไป

2. การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทำการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III โดยใช้ขวดกลมก้นแบนขนาด 250 มิลลิลิตร และใส่อาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่หัวเชื้อสาหร่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ โดยให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายเริ่มต้นมีค่าประมาณ 1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยมีสภาวะการเลี้ยงเช่นเดียวกับการเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่ายดังที่กล่าวมาแล้ว ทำการสุ่มตัวอย่างที่เวลาเดียวกันทุกวัน สุ่มตัวอย่างสาหร่ายออกมานับจำนวนเซลล์โดยใช้ Haemacytometer และวัดการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชโดยใช้เครื่องวัดพีเอช หาค่าอัลคาลินิตี้โดยวิธีไตเตรทด้วยใช้อินดิเคเตอร์ (Eaton, Clesceri และ Greenberg, 1995) และการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวิธีไตเตรทด้วยอินดิเคเตอร์ (Eaton, Clesceri และ

Greenberg, 1995) เลี้ยงสาหร่ายจนกระทั่งสาหร่ายมีการเติบโตอยู่ในช่วงคงที่ (Stationary phase) ซึ่งมีระยะเวลาประมาณ 7-10 วัน นำค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายและจำนวนวันมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (วัน) และความหนาแน่นของเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) แล้วคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต (μ) ในระยะ Exponential ของการเติบโตของสาหร่ายดังสมการ

$$\mu = [\ln (N_1/N_0)] / \Delta t$$

โดย μ = สัมประสิทธิ์การเติบโต (ต่อวัน)

N_1 = ความหนาแน่นของเซลล์ของสาหร่ายวันสุดท้าย (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

N_0 = ความหนาแน่นของเซลล์ของสาหร่ายวันแรก (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

Δt = ช่วงเวลา (วัน) ระหว่าง N_1 และ N_0 (วัน)

3. ค่าพีเอชต่ำสุดที่สาหร่ายคลอเรลลาสามารถทนอยู่ได้

การหาระดับพีเอชต่ำสุดที่สาหร่ายคลอเรลลาสามารถเติบโตได้ โดยเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III ภายใต้สภาวะการเลี้ยงดังที่กล่าวมาแล้วในข้อ 1. โดยใช้ขวดกลมก้นแบนขนาด 250 มิลลิลิตร และใส่อาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น เท่ากับ 3.08, 4.17 และ 4.61 โดยทำการปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ต่ำลงด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ใส่หัวเชื้อสาหร่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ โดยให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายเริ่มต้นมีค่าประมาณ 1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยมีสภาวะการเลี้ยงเช่นเดียวกับการเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่ายดังที่กล่าวมาแล้ว ทำการสุ่มตัวอย่างที่เวลาเดียวกันทุกวัน โดยสุ่มตัวอย่างสาหร่ายออกมานับจำนวนเซลล์โดยใช้ Haemacytometer และวัดการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องวัดพีเอช นำจำนวนเซลล์ที่ได้มาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต ทำการทดลองซ้ำ 3 ซ้ำ

4. การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในสภาวะที่เป็นกรด

ในการทดลองครั้งนี้จะทำการปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อศึกษาถึงการเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชแตกต่างกัน โดยค่าพีเอชปกติของอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าประมาณ 6.6 และทำการปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 5 ระดับ คือ 6.60

(ระดับปกติ), 6.10, 5.60, 5.10 และ 4.70 โดยทำการปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ต่ำลงด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในแต่ละระดับพีเอชระดับละ 3 ซ้ำ โดยมีปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 1 ลิตร ใส่หัวเชื้อสาหร่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ โดยให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าประมาณ 1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยมีสภาวะการเลี้ยงเช่นเดียวกับการเลี้ยงหัวเชื้อดังที่กล่าวมาแล้ว โดยทำการสุ่มตัวอย่างที่เวลาเดียวกันทุกวันสุ่มตัวอย่างสาหร่ายออกมานับจำนวนเซลล์โดยใช้ Haemacytometer slide และวัดการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชโดยใช้เครื่องวัดพีเอช หาค่าอัลคาลินิตี้โดยการไตเตรทด้วยอินดิเคเตอร์ และหาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยการไตเตรทชั่นด้วยอินดิเคเตอร์ เลี้ยงสาหร่ายจนกระทั่งสาหร่ายมีการเติบโตอยู่ในช่วงคงที่ (Stationary phase) ซึ่งมีระยะเวลาประมาณ 7-10 วัน นำค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายและจำนวนวันมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (วัน) และความหนาแน่นของเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) แล้วคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต (μ) ในระยะ Exponential ของการเติบโตของสาหร่าย

5. การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน อย่างละ 3 ระดับ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน ชนิดละ 3 ระดับ โดยใช้ความเข้มข้นของไนโตรเจน (KNO_3) 3 ระดับความเข้มข้นคือ 10.00, 5.71 และ 1.48 มิลลิโมลต่อลิตร และความเข้มข้นของฟอสฟอรัส ($K_2HPO_4.3H_2O$ และ KH_2PO_4) 3 ระดับความเข้มข้นคือ 3.39, 1.69 และ 0.03 มิลลิโมลต่อลิตร โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรวมทั้งหมด 9 ชุดการทดลอง และเตรียมชุดการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ ปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นให้มีค่าพีเอช เท่ากับ 4.6 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ใส่หัวเชื้อของสาหร่ายให้มีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แล้วทำการเลี้ยงที่สภาวะการเลี้ยงเดิม

ทำการสุ่มตัวอย่างสาหร่ายทุกวัน ที่เวลาเดิม นับจำนวนเซลล์ คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่าย และนำตัวอย่างน้ำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทโดยวิธีแคดเมี่ยมรีดักชั่น (Eaton, Clesceri และ Greenberg, 1995) และปริมาณฟอสเฟตด้วยวิธีกรดแอสคอร์บิก (Eaton,

Clesceri และ Greenberg, 1995) เพื่อหาปริมาณธาตุอาหารต่ำสุดที่จะไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของการเติบโตของสาหร่ายในสภาวะที่มีค่าพีเอชเป็นกรด

6. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเพิ่มการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยน้ำแข็งแห้ง

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III ที่ผสมน้ำแข็งแห้งระดับต่างๆ คือ 0, 5.00 และ 10.00 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร แบ่งใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกไปได้น้อยที่สุด ตั้งทิ้งไว้จนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง วัดพีเอชที่เปลี่ยนแปลงโดยใช้เครื่องวัดพีเอช ทำการวิเคราะห์หาอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อและปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลาย โดยวิธีการไตเตรทด้วยอินดิเคเตอร์ สุ่มตัวอย่างออกมาวัดทุกวัน เป็นเวลา 10 วัน ที่เวลาเดียวกัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

7. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำที่กรองจากอาหารเลี้ยงเชื้อสต๊อคสาหร่ายและเพิ่มการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยน้ำแข็งแห้ง

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III ที่ผสมน้ำแข็งแห้งระดับต่างๆ คือ 0, 5.00 และ 10.00 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร แบ่งใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองน้ำเลี้ยงที่ใช้เลี้ยงสต๊อคสาหร่ายด้วยกระดาษกรอง GF/C แล้วใส่น้ำที่กรองได้ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ ปิดฝาขวดให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกไปได้น้อยที่สุด ตั้งทิ้งไว้จนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง วัดพีเอชที่เปลี่ยนแปลงโดยใช้เครื่องวัดพีเอช ทำการวิเคราะห์หาอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อและปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายโดยวิธีการไตเตรทด้วยอินดิเคเตอร์ สุ่มตัวอย่างออกมาวัดทุกวัน เป็นเวลา 10 วัน ที่เวลาเดียวกัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

8. การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์

ทำการเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ได้จากการทดลองที่ 6 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III ที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเท่ากับความเข้มข้นระดับต่ำที่สุดที่สาหร่ายเติบโตได้ใกล้เคียงกับการเลี้ยงสาหร่ายด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน ในการทดลองนี้จะใช้น้ำแข็งแห้งเป็นแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ โดยจะทำการเตรียมความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์

ในน้ำเป็น 3 ระดับ โดยการใส่น้ำแข็งแห้งในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยปริมาณที่ต่างกันคือ 0, 5.00 และ 10.00 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่ไม่ทำให้ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำกว่า 4.60 ในการใส่น้ำแข็งแห้งทำโดยการทุบน้ำแข็งแห้งให้เป็นก้อนเล็กๆ แล้วใส่ตามปริมาณที่กำหนดไว้ ปิดฝาขวดอาหารเลี้ยงเชื้อโดยให้ก๊าซสามารถออกมาได้น้อยที่สุด เพื่อต้องการให้ก๊าซทำปฏิกิริยากับอาหารเลี้ยงเชื้อได้มากที่สุด เมื่อใส่น้ำแข็งแห้งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วจะทำให้อุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อลดต่ำลง รอจนอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อขึ้นถึงอุณหภูมิห้อง แล้วค่อยทำการแบ่งใส่ขวดเลี้ยงที่มีขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใส่อาหารเลี้ยงเชื้อขวดละ 100 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดเลี้ยงจำนวน 7 ขวดต่อหนึ่งความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ จนครบทุกความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ สุ่มสาหร่ายใส่ในแต่ละขวดโดยให้มีความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายขณะเริ่มต้นการทดลองเท่ากับ 1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แล้วทำการสุ่มตัวอย่างออกมาวันละขวดต่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเริ่มนับวันแรกที่ทำการทดลองเป็นวันที่ 0 เมื่อถึงวันที่ 1 ของชุดการทดลองแรก เตรียมชุดการทดลองทั้งหมดอีกครั้งโดยทำเหมือนชุดการทดลองที่ 1 และถือชุดการทดลองใหม่นี้เป็นชุดการทดลองที่ 2 และนับวันที่ 1 ของชุดการทดลองของชุดที่ 1 เป็นวันที่ 0 ของชุดการทดลองที่ 2 เมื่อถึงวันที่ 1 ของชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งเป็นวันที่ 2 ของชุดการทดลองที่ 1 ให้ทำการเตรียมชุดการทดลองเหมือนเดิมอีกชุดหนึ่ง โดยให้เป็นชุดการทดลองที่ 3 ทำซ้ำเหมือนเดิม ทำการเก็บตัวอย่างออกมาวันละ 1 ขวดต่อหนึ่งความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ ของทุกชุดการทดลอง พารามิเตอร์ที่ทำการวัดได้แก่ ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย โดยทำการสุ่มตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร แล้วนับจำนวนเซลล์สาหร่ายโดยใช้ Haemacytometer slide นำค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ได้ทุกวันมาหาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของเซลล์และเวลาที่ทำการทดลอง วัดค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องวัดพีเอช สุ่มตัวอย่างน้ำมาวิเคราะห์หาค่า อัลคาลินิตี้ที่ละลายในน้ำตัวอย่างโดยการไตเตรทด้วยอินดิเคเตอร์ ส่วนตัวอย่างน้ำอีกขวดละ 10 มิลลิลิตร จะถูกกรองผ่านกระดาษกรอง GF/C ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนรวมในเซลล์ของสาหร่ายโดยใช้เครื่อง CHN Analyzer โดยวิธีการเผาโดยใช้อุณหภูมิสูง (อัมพร อึ้งปกรณ์แก้ว, 2540) นำน้ำที่เหลือมาหาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำตัวอย่างดังกล่าวโดยใช้วิธีการไตเตรทด้วยอินดิเคเตอร์

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4
ผลการวิจัย

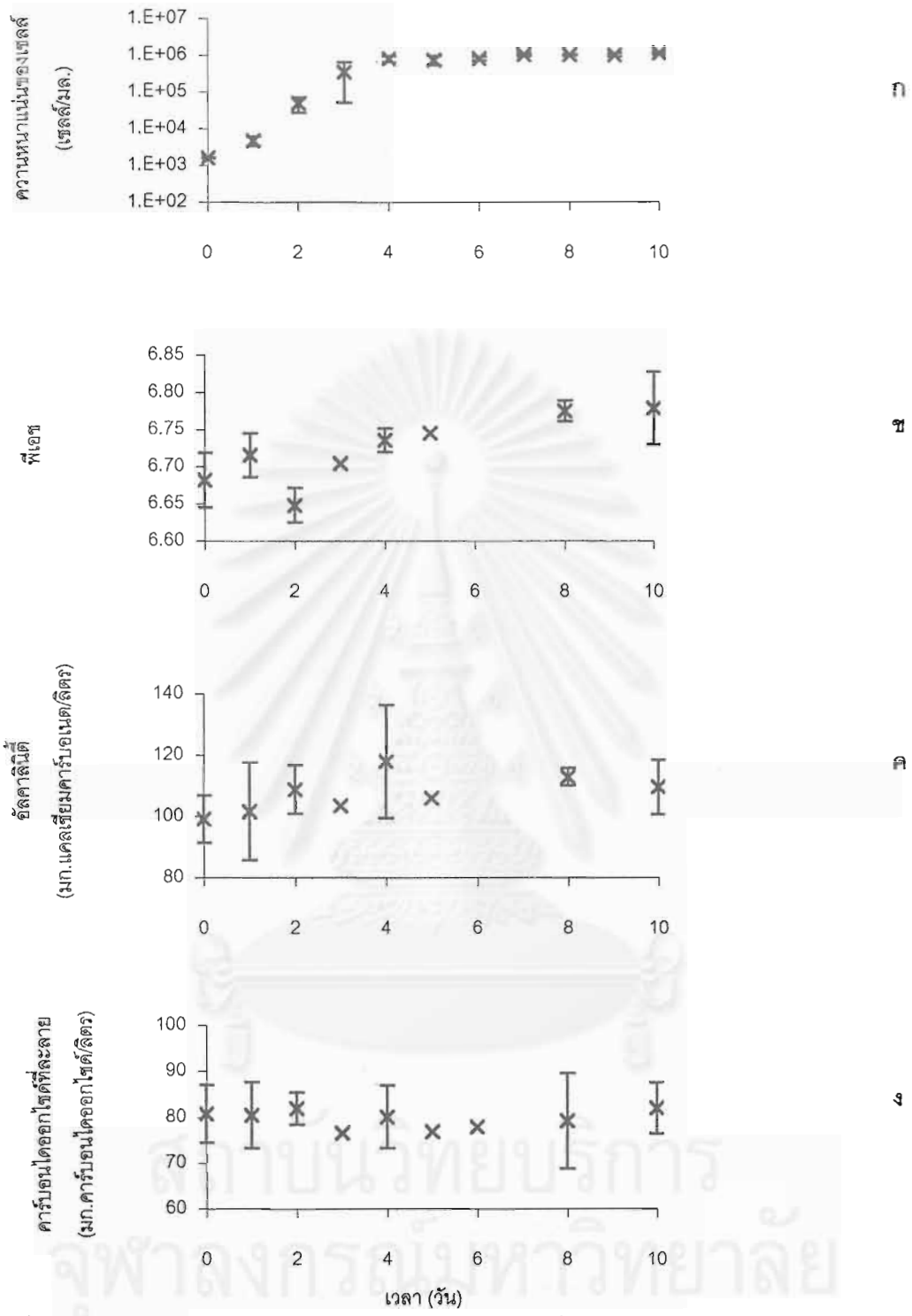
1. การทำสายพันธุ์สาหร่ายให้บริสุทธิ์

นำสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) มาแยกให้บริสุทธิ์โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NS III เพื่อลดการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรีย แล้วเขี่ยเอาโคโลนีเดี่ยวๆของสาหร่ายที่แยกจากอาหารแข็งดังกล่าวมาเลี้ยงในอาหารเหลว สาหร่ายที่แยกได้เมื่อทำการศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์แสงธรรมดา (รูปที่ 4-1) พบว่ามีรูปร่างรีค่อนข้างกลม สีเขียว เป็นเซลล์เดี่ยวๆ ไม่สามารถเคลื่อนที่เองได้ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.71$\pm$0.95 ไมโครเมตร

รูปที่ 4-1 ลักษณะเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลา (X600)

2. การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III ที่สภาวะการเลี้ยงดังนี้ ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (60 $\mu Em^{-2}s^{-1}$) อุณหภูมิ 30$\pm$3 องศาเซลเซียส ช่วงมืดและช่วงสว่าง 12 และ 12 ชั่วโมง สาหร่ายมีรูปแบบการเติบโตดังรูปที่ 4-2ก โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.63$\pm$0.05x10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เซลล์อยู่ในระยะ exponential phase ประมาณ 4 วัน ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในระยะนี้เท่ากับ 1.91$\pm$0.29 ต่อวัน และหลังจากนั้นเซลล์จะเริ่มเข้าสู่ระยะ stationary phase โดยมีจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ 1.16$\pm$0.09x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 7 ของการเลี้ยง และค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจากเริ่มต้นจนสิ้นสุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4-2ข) โดยค่าพีเอชเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.68$\pm$0.04 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.78$\pm$0.05 และค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น 10.42$\pm$1.31 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร คือเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง



รูปที่ 4-2 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก. การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข. การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค. การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง. การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

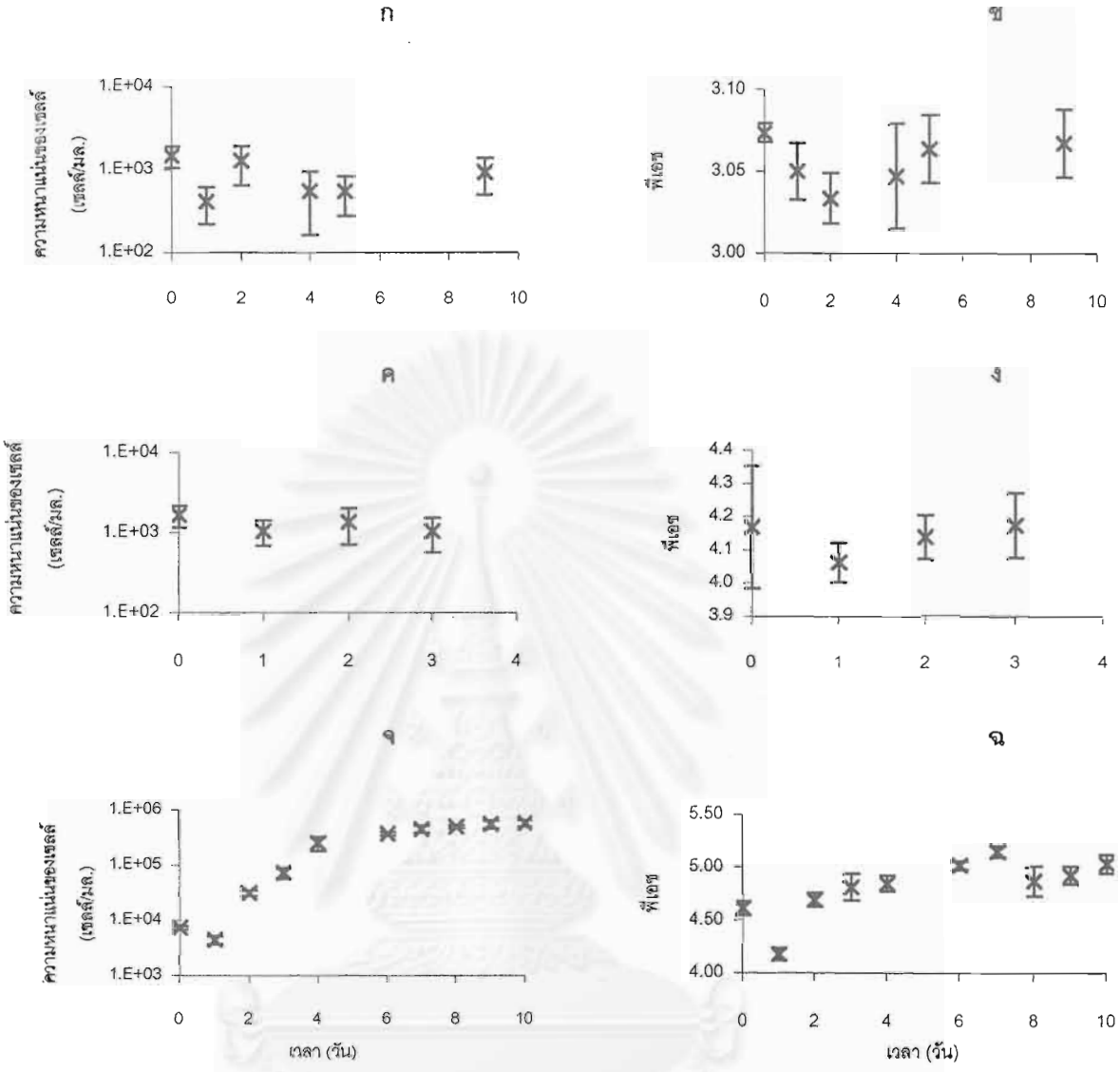
มีค่าอัลคาลินิตี้เท่ากับ 99.25±7.65 และ 109.67±8.96 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-2ค) ค่าคาร์บอนไดออกไซด์ของอาหารเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น 1.22±0.64 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร คือค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 80.89±6.24 และ 82.11±5.60 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-2ง)

3. ค่าพีเอชต่ำสุดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่สาหร่ายคลอเรลลาสามารถทนอยู่ได้

ผลการศึกษาพบว่าสาหร่ายคลอเรลลาไม่สามารถเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชตั้งต้นเท่ากับ 3.08 และ 4.17 (รูปที่ 4-3ก และ 4-3ค) แต่สามารถเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชตั้งต้นเท่ากับ 4.61 (รูปที่ 4-3จ) จากรูปแบบการเติบโตพบว่าเซลล์อยู่ในระยะ lag phase 1 วัน และหลังจากนั้นเข้าสู่ระยะ Exponential phase โดยจะอยู่ในระยะนี้ 4 วันแล้วจึงเข้าสู่ระยะ Station phase โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase เท่ากับ 1.06±0.10 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ 5.79±0.78 $x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยที่ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองแต่ละชุดมีค่า 3.07±0.02, 4.17±0.08 และ 5.02±0.09 ตามลำดับ

4. การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในสภาวะที่เป็นกรด

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน 5 ระดับคือ 4.70, 5.10, 5.60, 6.10 และ 6.60 (ระดับปกติ) พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.70 นั้นเซลล์จะอยู่ในระยะ Lag phase 1 วัน แล้วจึงเข้าสู่ระยะ Exponential phase ในวันต่อมา ซึ่งจะใช้เวลาในระยะนี้ประมาณ 5 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.70±0.15 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ 1.08±0.10 $x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-4ก) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น คือเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าพีเอช เท่ากับ 4.77±0.01 และ 5.53±0.13 ตามลำดับ (รูปที่ 4-4ข) ค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น 8.00 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร คือค่าอัลคาลินิตี้เมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 28.33±0.58 และ 36.33±0.58 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-4ค) และค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มลดลงในสองวันแรก



รูปที่4-3 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก การเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 3.08

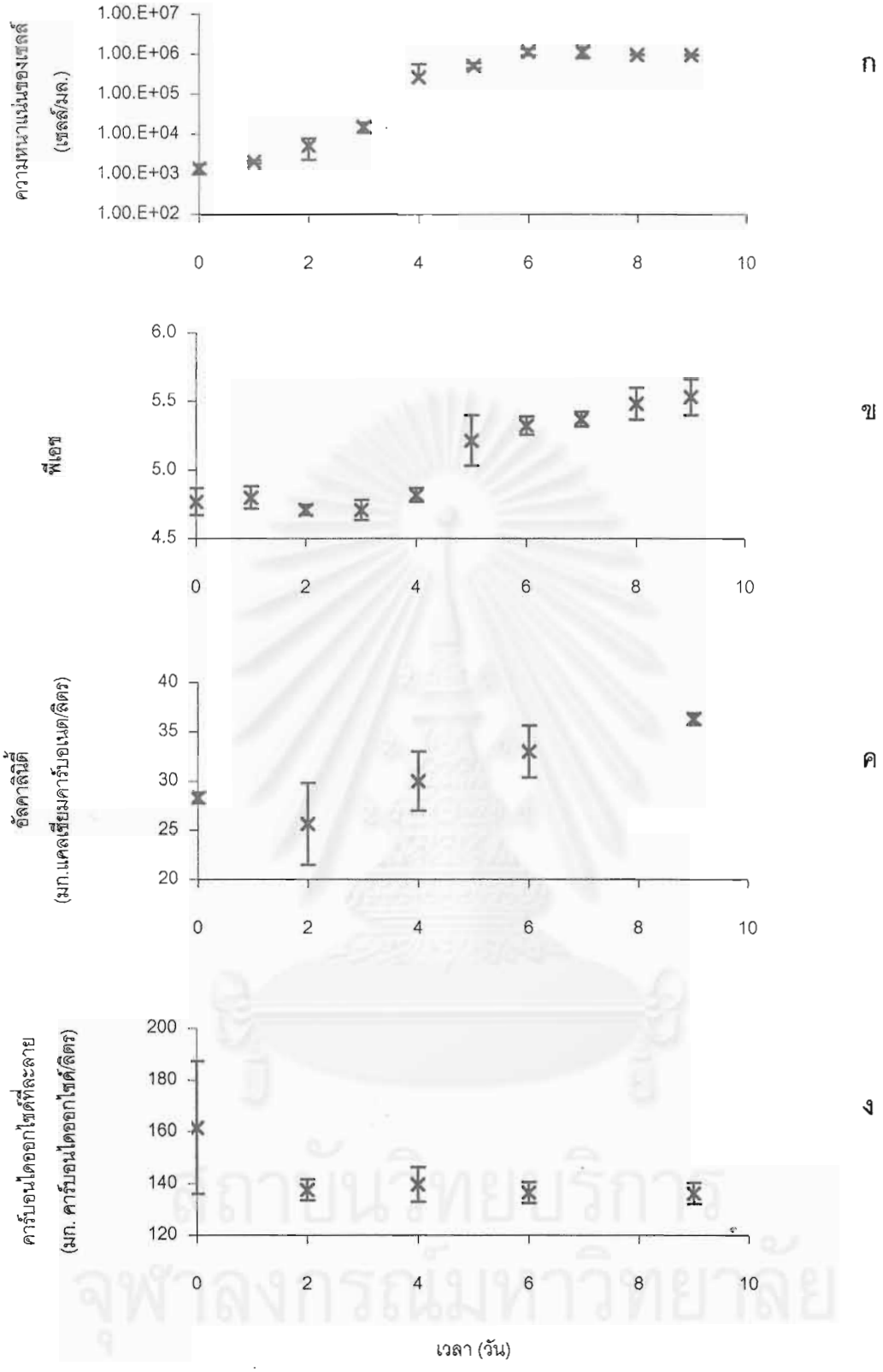
ข การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 3.08

ค การเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 4.17

ง การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 4.17

จ การเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 4.61

ฉ การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 4.61



รูปที่ 4-4 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 4.70

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

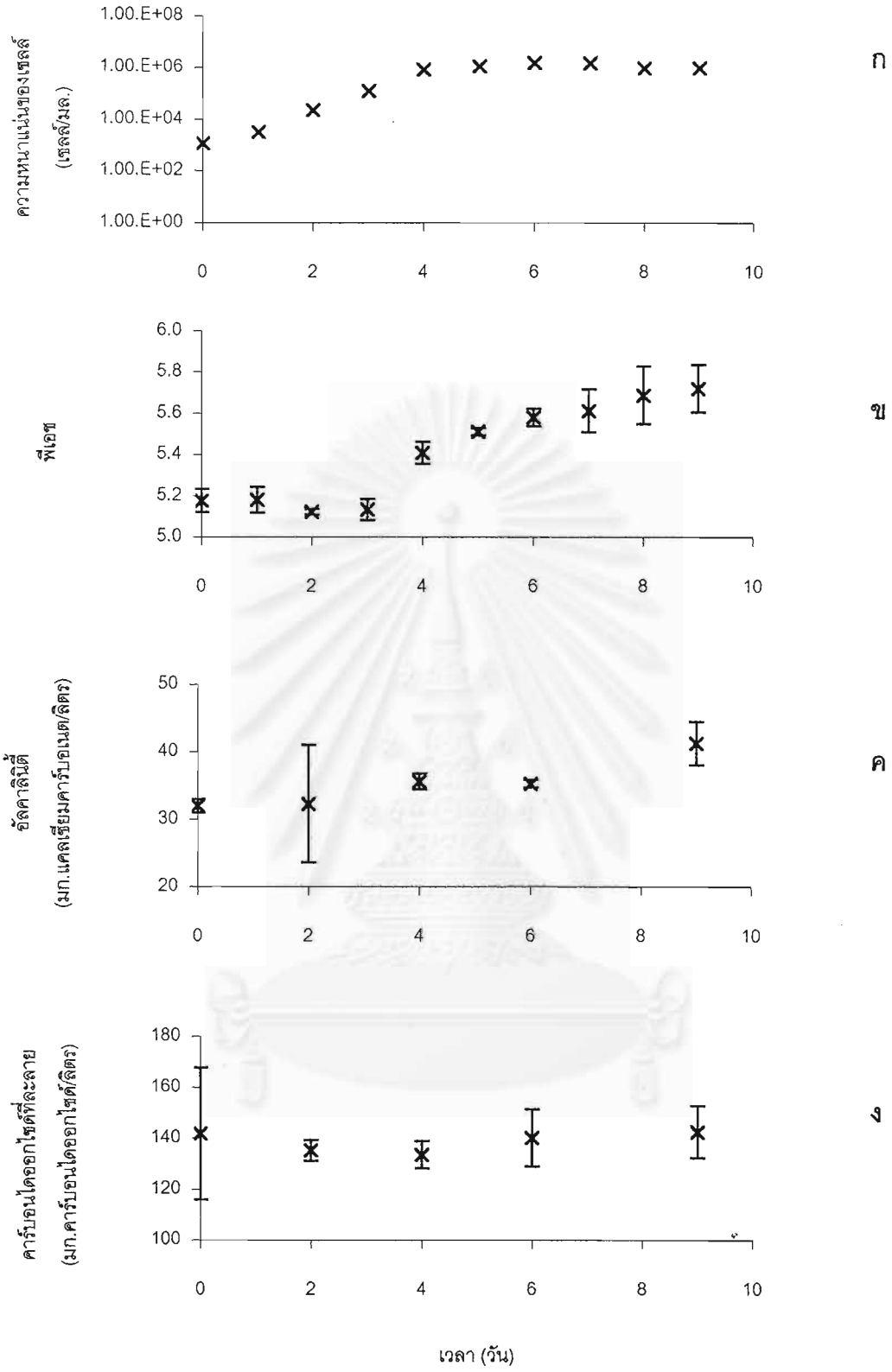
ค การเปลี่ยนแปลงอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

และเริ่มคงที่ ค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 167.33±25.58 และ 136.22±3.98 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตรตามลำดับ (รูปที่4-4ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5.10 นั้นเซลล์จะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 4 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.70±0.40 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $1.22\pm0.37\times10^{6}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-5ก) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น คือค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.18±0.06 และ 5.72±0.12 ตามลำดับ (รูปที่ 4-5ข) ค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองสูงขึ้น 9.33±2.21 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร คือค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 28.33±0.58 และ 36.33±0.58 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-5ค) และค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองลดลงเล็กน้อยในช่วงแรกของการทดลอง และค่าเริ่มเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 6 ของการทดลอง และค่าคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 141.78±25.87 และ 142.56±10.22 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-5ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5.60 นั้นจะเห็นว่า เซลล์จะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 5 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.78±0.14 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $1.17\pm0.11\times10^{6}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-6ก) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองในช่วงสามวันแรกมีแนวโน้มคงที่ และเริ่มเพิ่มขึ้นในวันที่ 4 และจะเริ่มคงที่อีกครั้งในวันที่ 6 ของการทดลอง ค่าพีเอชเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.64±0.04 และ 5.93±0.06 ตามลำดับ (รูปที่ 4-6ข) ค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองลดลงในช่วงแรกของการทดลองและจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยหลังจากนั้น โดยมีค่าการเปลี่ยนแปลงของค่าอัลคาลินิตี้ที่จากวันแรกและวันสุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 4.33±3.05 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร โดยค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 41.00±5.57 และ 45.33±2.52 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-6ค) และค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้นจากเดิมเล็กน้อยนั่นคือมีค่าประมาณ 4.22 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์



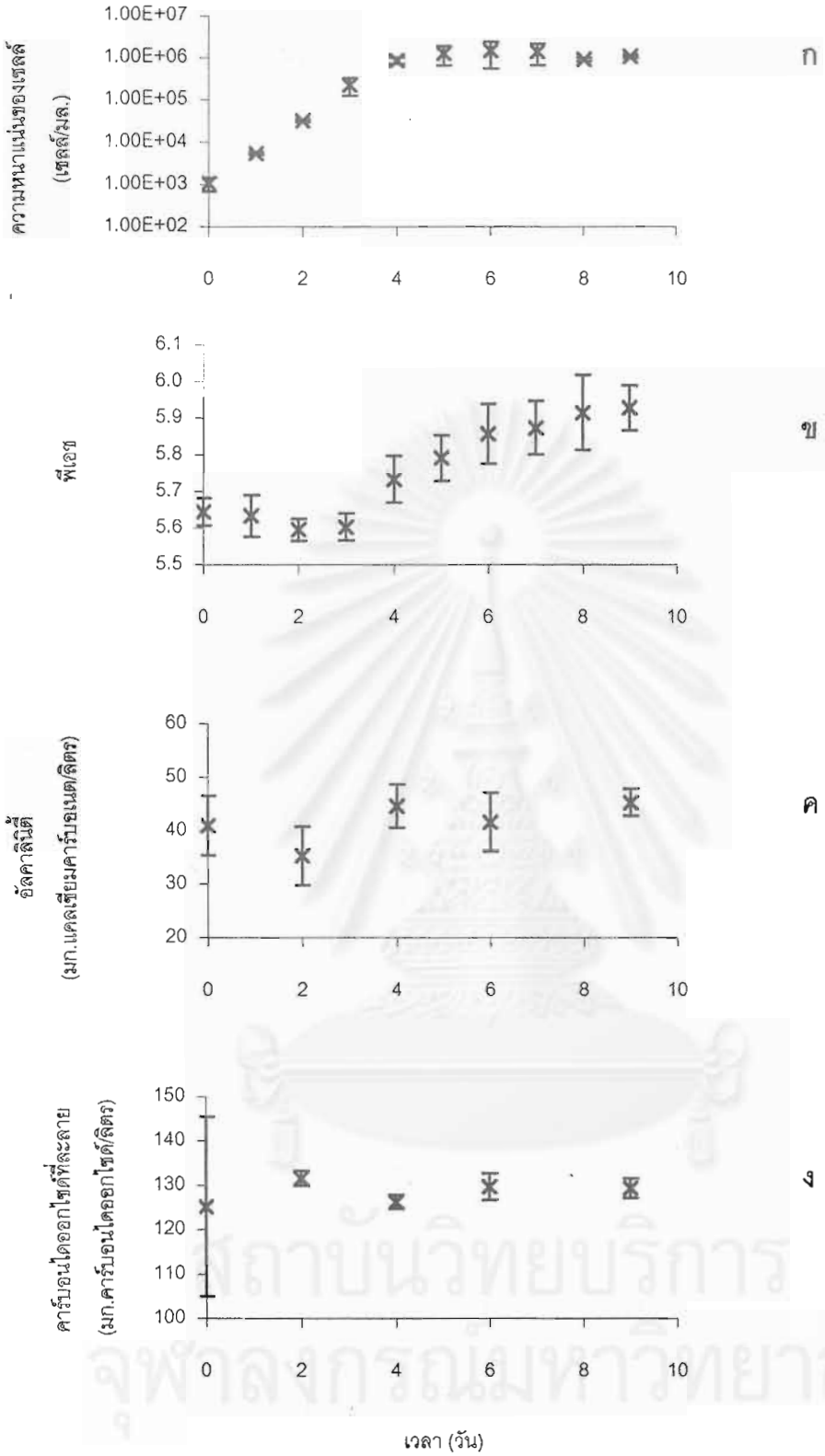
รูปที่ 4-5 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 5.10

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 4-6 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 5.60

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

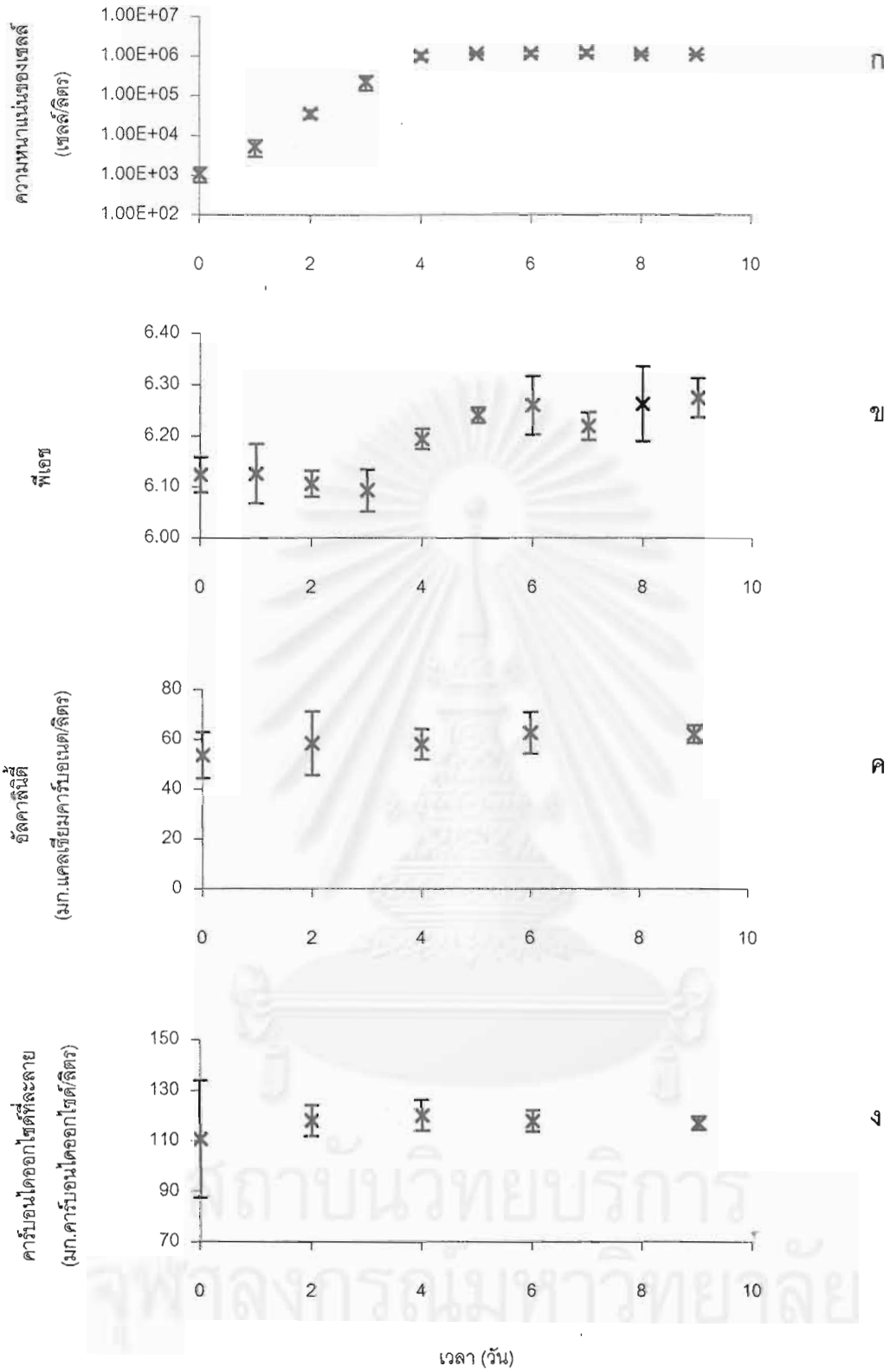
ค การเปลี่ยนแปลงอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ต่อลิตร โดยมีค่าคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 125.22±20.26 และ 129.44±2.22 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-6ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.10 นั้นจะเห็นว่าเซลล์จะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 4 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.84±0.16 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $1.17\pm0.18\times10^{6}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-7ก) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มเพิ่ม โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.12±0.03 และ 6.27±0.04 ตามลำดับ (รูปที่ 4-7ข) ค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นประมาณ 8.33±5.83 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร โดยค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 53.67±9.29 และ 62.00±3.46 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-7ค) และค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการทดลองและเริ่มคงที่ โดยมีค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้นประมาณ 6.22 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร ค่าคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 110.78±23.19 และ 117.00±2.65 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ ต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-7ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.60 นั้นจะเห็นว่า เซลล์จะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 4 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.76±0.09 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $8.73\pm3.33\times10^{5}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-8ก) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อคงที่ในช่วงสามวันแรกของการทดลองและเริ่มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และในช่วงหลังการทดลองมีแนวโน้มที่จะคงที่ โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.61±0.03 และ 6.72±0.04 ตามลำดับ (รูปที่ 4-8ข) ค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยมีค่าเพิ่มขึ้นประมาณ 8.00±0.55 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร โดยค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 85.33±2.08 และ 92.33±1.53 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-8ค) และค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงในวันที่ 2 ของการทดลอง และเริ่มเพิ่มขึ้นและคงที่ โดยมีค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้นประมาณ 2.12±1.36 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร



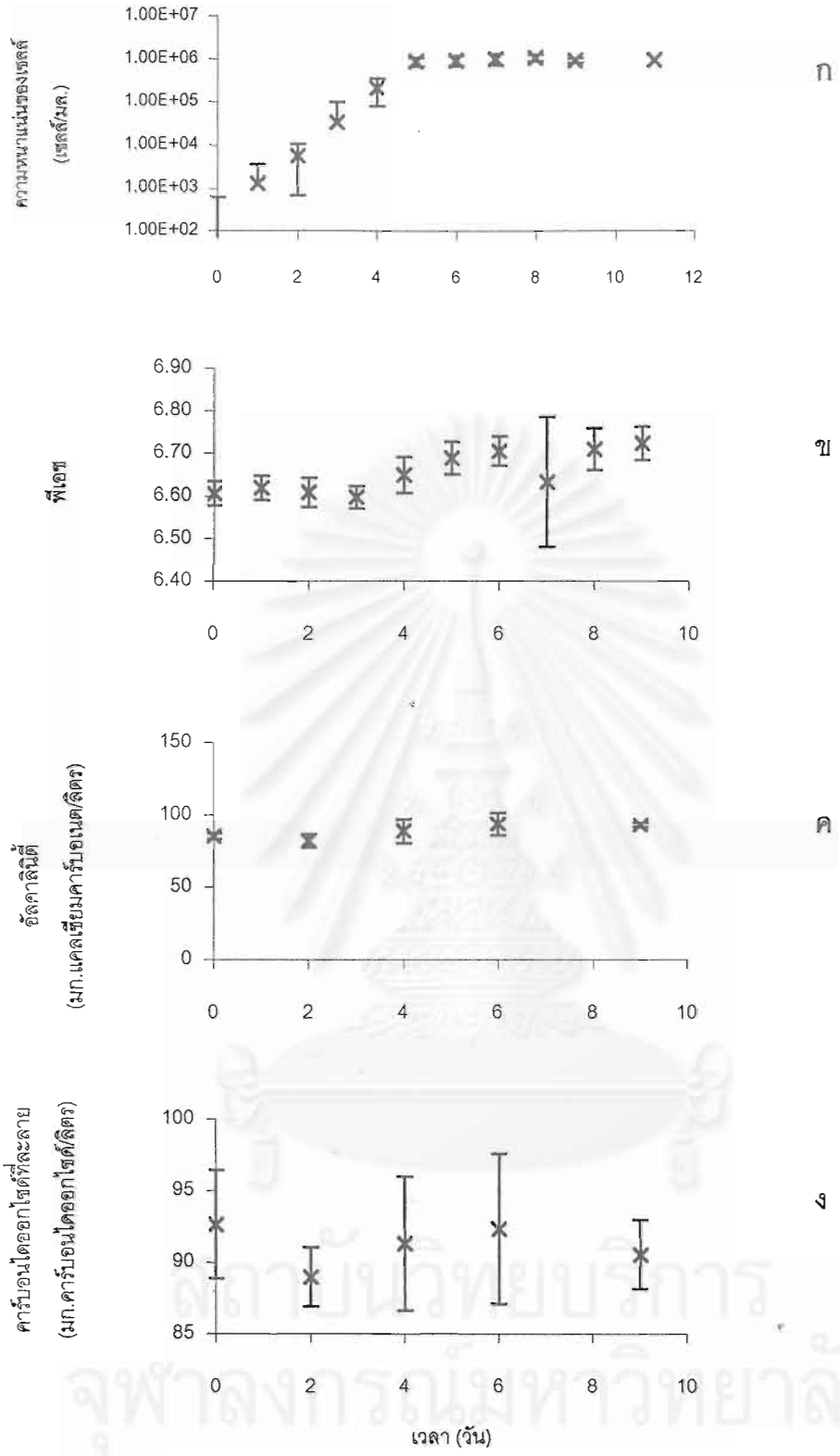
รูปที่ 4-7 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 6.10

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 4-8 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 6.60

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

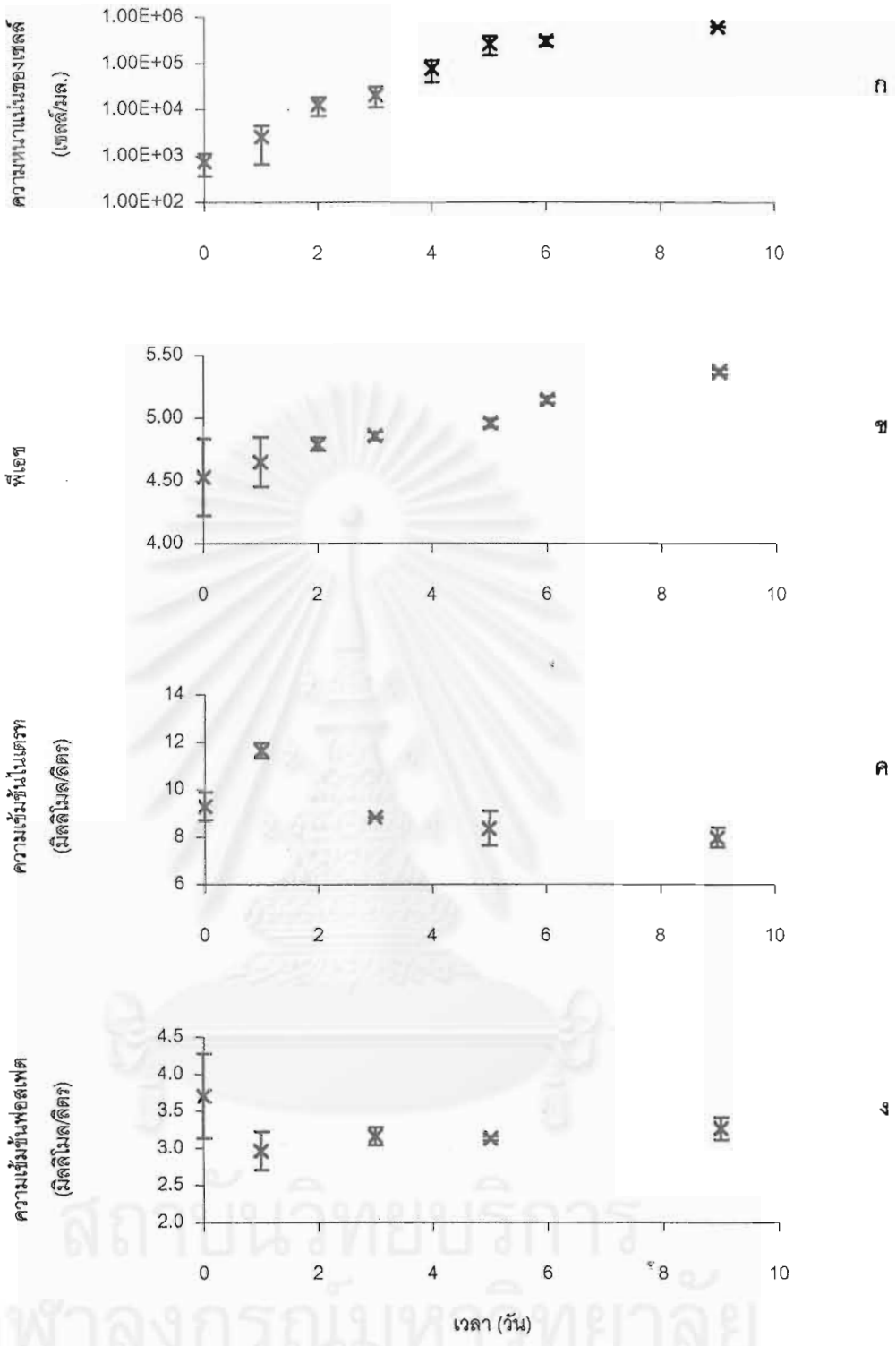
และมีค่าคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 92.67±3.77 และ 90.55±2.41 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-8ง)

5. อัตราการเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตที่แตกต่างกัน อย่างละ 3 ระดับ

จากการทดลองที่ผ่านมา พบว่า สาหร่ายคลอเรลลาสามารถเติบโตได้ในสภาวะที่เป็นกรด โดยค่าพีเอชเริ่มต้นต่ำสุดที่สาหร่ายสามารถเติบโตได้คือ ไม่ต่ำกว่า 4.60 ซึ่งถ้าค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าต่ำกว่าค่านี้ พบว่าสาหร่ายไม่เติบโตและตายในที่สุด โดยในการทดลองนี้จะใช้ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.60 ซึ่งจะเป็นสภาวะที่ใช้แทนสภาวะที่มีการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับอาหารเลี้ยงเชื้อและทำให้ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนแปลงและเข้าสู่สภาวะที่เป็นกรด

จากข้อมูลในภาคผนวก ค และ ง การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.60 และมีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 10.00 และ 3.39 มิลลิโมลต่อลิตร (ชุดควบคุม) เซลล์จะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 6 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.28±0.01 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $6.02\pm0.08\times10^{5}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-9ก, ภาคผนวก ฉ1) โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.53±0.31 และจะเพิ่มขึ้นเป็น 5.38±0.02 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (รูปที่ 4-9ข) ความเข้มข้นไนเตรทของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีค่าลดลง จาก 9.29±0.61 เป็น 8.00±0.42 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-9ค) ความเข้มข้นฟอสเฟตของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากคือจาก 3.71±0.57 เป็น 3.27±0.15 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-9ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 4.60 และมีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต เท่ากับ 10.00 และ 1.69 มิลลิโมลต่อลิตร เซลล์จะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 9 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.36±0.01 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $5.40\pm0.17\times10^{5}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-10ก, ภาคผนวก ฉ2) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น



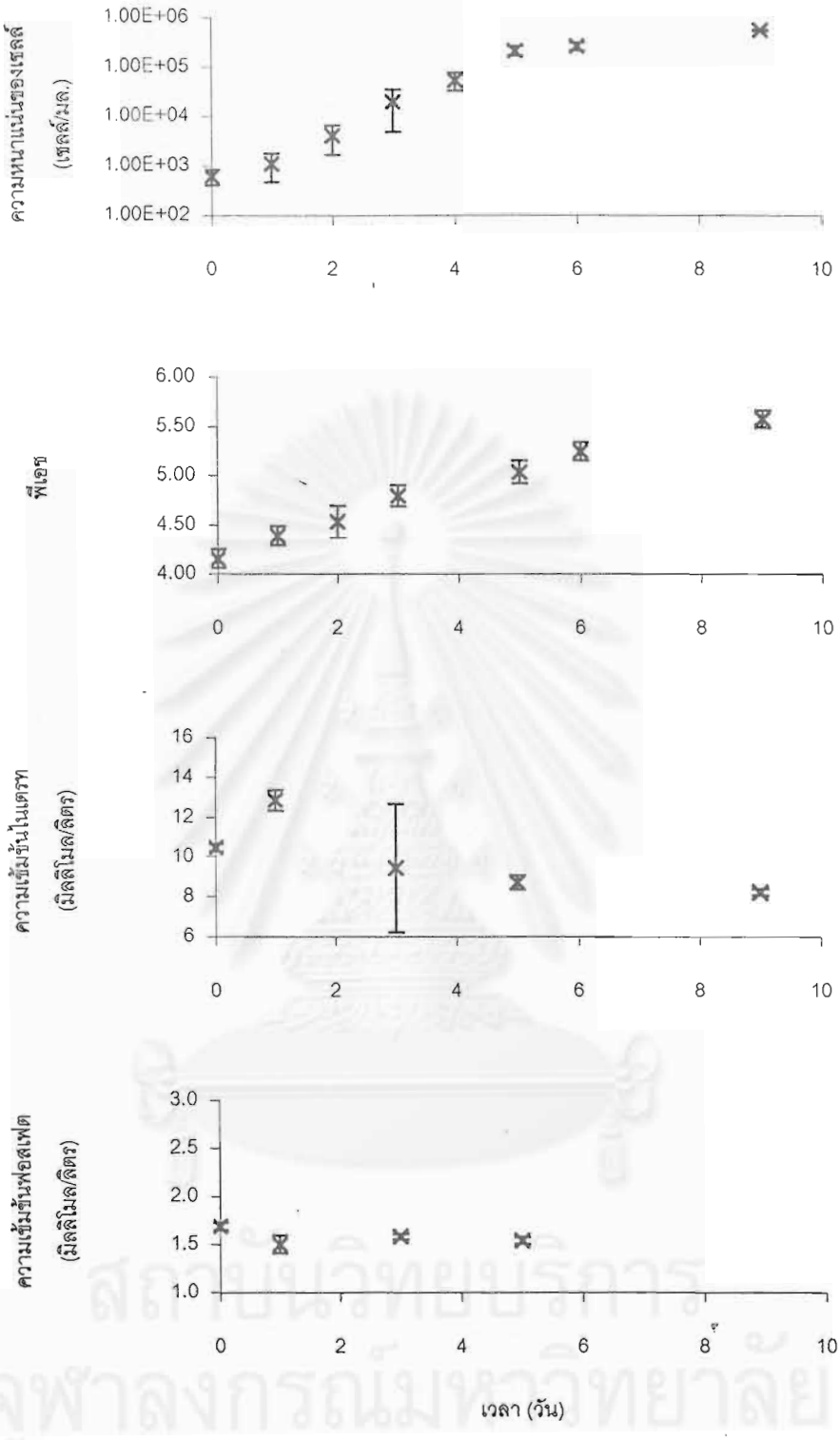
รูปที่ 4-9 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 10.00 และ 3.39 มิลลิโมล/ลิตร

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 4-10 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 10.00 และ 1.69 มิลลิโมล/ลิตร

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

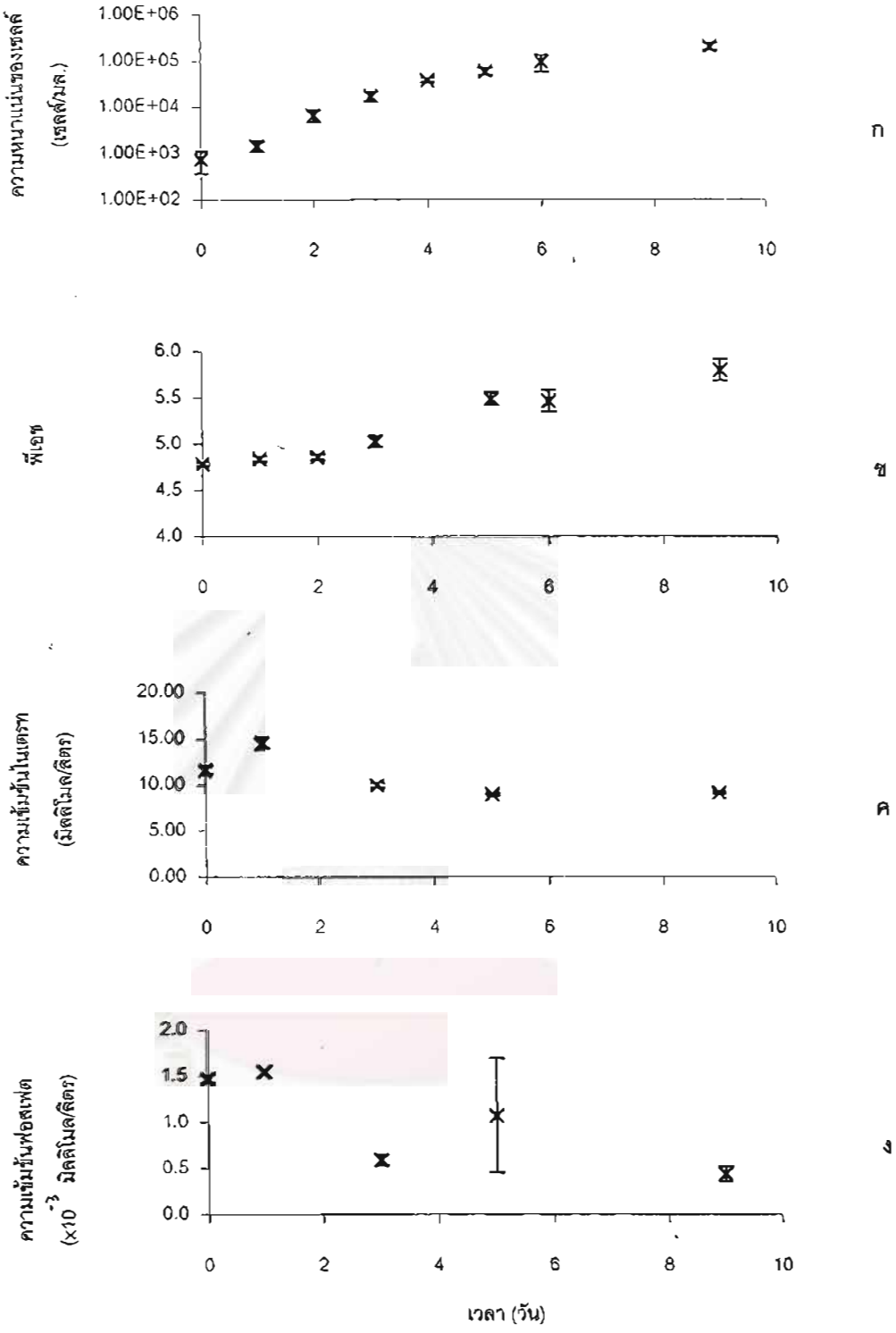
ง การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดยเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.16±0.09 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.58±0.09 (รูปที่ 4-10ข) ความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มลดลง คือค่าความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเท่ากับ 10.46±0.19 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 8.26±0.16 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-10ค) ความเข้มข้นของฟอสเฟตของอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มลดลง โดยเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าความเข้มข้นของฟอสเฟตของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 1.68±0.04 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 2.48±0.01 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-10ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.60 และมีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต เท่ากับ 10.00 และ 0.03 มิลลิโมลต่อลิตร เซลล์จะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 6 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.09±0.002 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $1.91 \times 10^{5} \pm 3.45 \times 10^{4}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-11ก, ภาคผนวก ฉ3) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.79±0.02 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.80±0.12 (รูปที่ 4-11ข) ความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มลดลง โดยค่าความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 11.62±0.43 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 9.10±0.12 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-11ค) ความเข้มข้นของฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มลดลง โดยค่าความเข้มข้นของฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ $1.50 \pm 0.40 \times 10^{-3}$ มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ $0.40 \pm 0.10 \times 10^{-3}$ มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-11ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.60 และมีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 5.71 และ 3.39 มิลลิโมลต่อลิตร เซลล์จะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 8 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.31±0.03 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $4.98 \pm 0.72 \times 10^{5}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-12ก, ภาคผนวก ฉ4) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.40±0.06 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.30±0.04 (รูปที่ 4-12ข) ความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อ



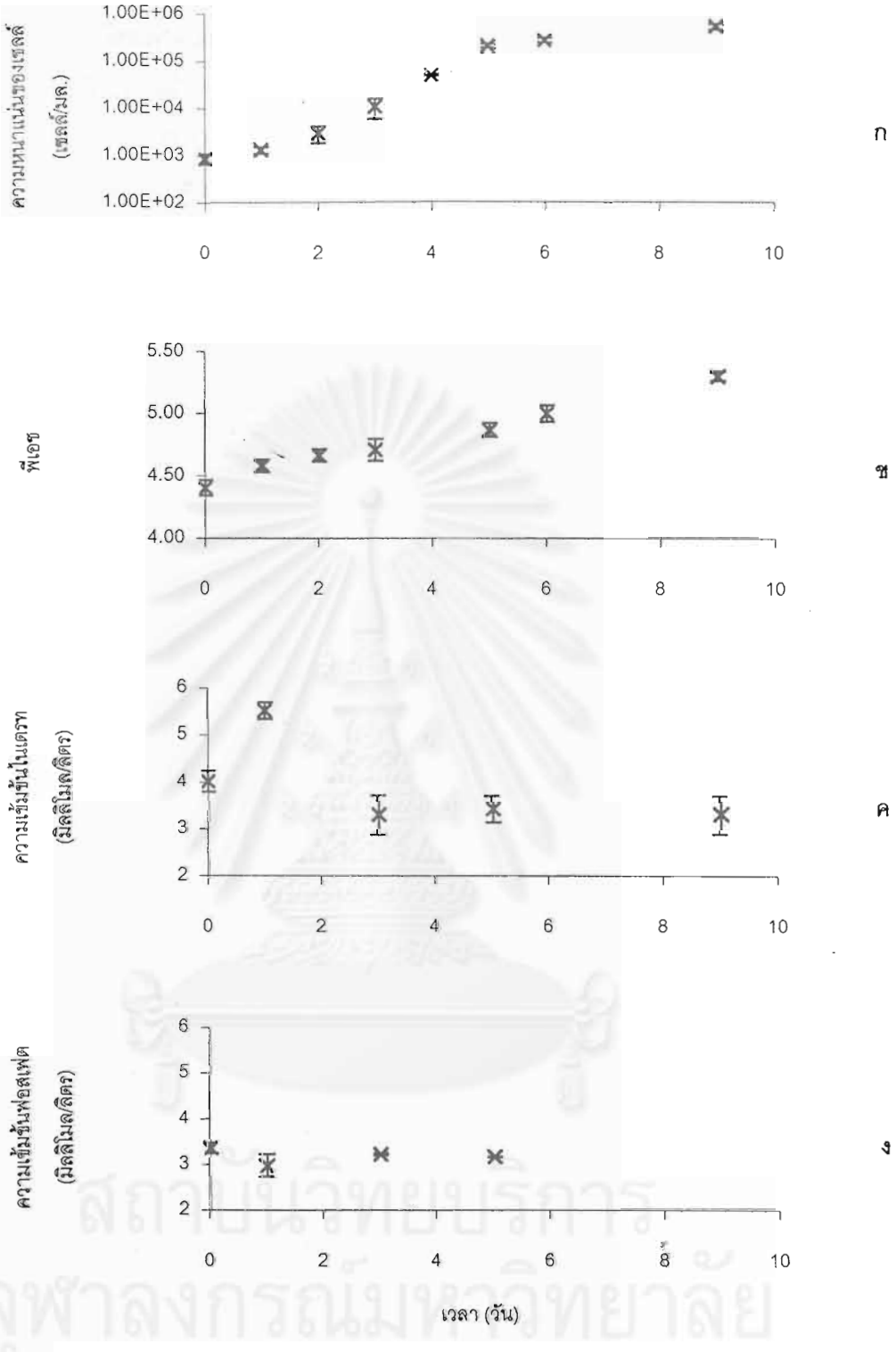
รูปที่ 4-11 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 10.00 และ 0.03 มิลลิโมล/ลิตร

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 4-12 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 5.71 และ 3.39 มิลลิโมล/ลิตร

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

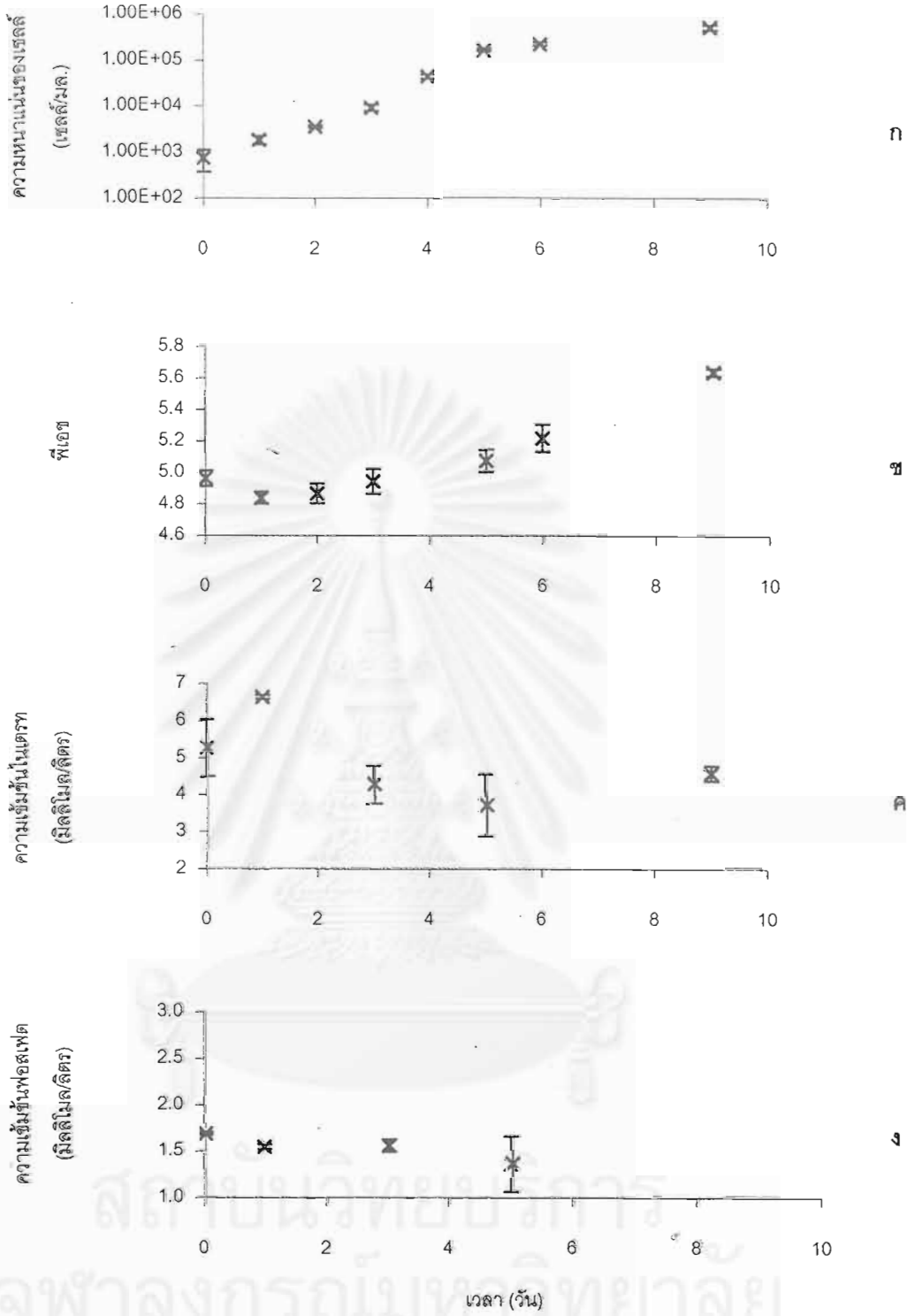
ค การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

มีแนวโน้มลดลง โดยค่าความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.01±0.22 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 3.30±0.41 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-12ค) ความเข้มข้นของฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มลดลง โดยค่าความเข้มข้นของฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 3.36±0.12 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-12ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.60 และมีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต เท่ากับ 5.71 และ 1.69 มิลลิโมลต่อลิตร เซลล์จะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 8 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.32±0.01 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $5.08\pm0.63\times10^{5}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-13ก, ภาคผนวก ฉ5) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อในช่วงสามวันแรกของการทดลองค่อนข้างคงที่และเริ่มเพิ่มขึ้นในวันต่อมา โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.96±0.05 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีเท่ากับ 5.53±0.02 (รูปที่ 4-13ข) ความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มลดลง โดยค่าความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.27±0.78มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีเท่ากับ 4.57±0.20 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-13ค) ความเข้มข้นฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มลดลง โดยค่าความเข้มข้นฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเท่ากับ 1.68±0.01 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-13ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.60 และมีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต เท่ากับ 5.71 และ 0.03 มิลลิโมลต่อลิตร เซลล์จะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 6 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.21±0.03 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $3.19\pm1.21\times10^{5}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-14ก, ภาคผนวก ฉ6) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.52±0.02 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีเท่ากับ 6.19±0.04 (รูปที่ 4-14ข) ความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.42±0.34 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.26±0.47 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-14ค) ความเข้มข้นของฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น



รูปที่ 4-13 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 5.71 และ 1.69 มิลลิโมล/ลิตร

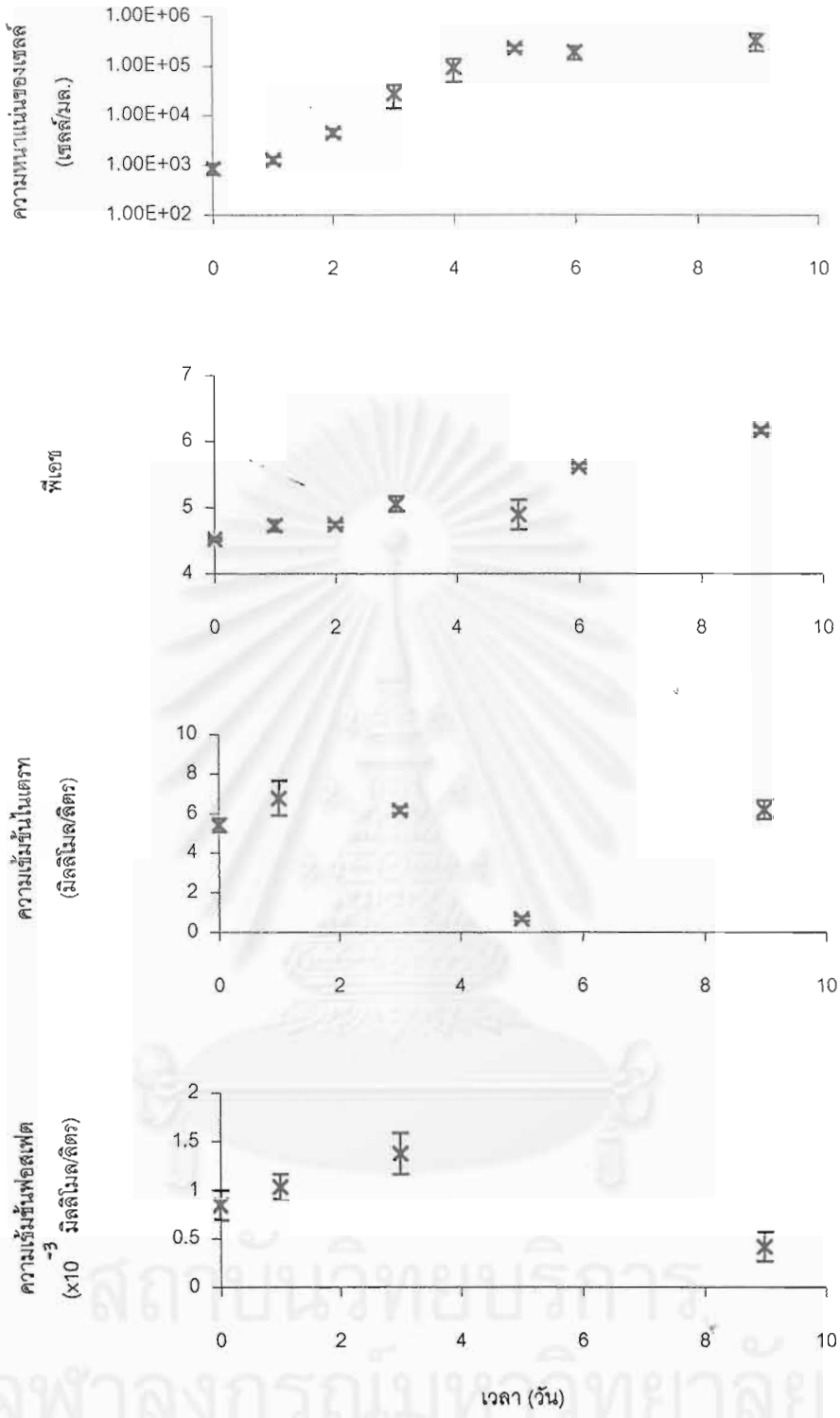
ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4-14 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 5.71 และ 0.03 มิลลิโมล/ลิตร

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

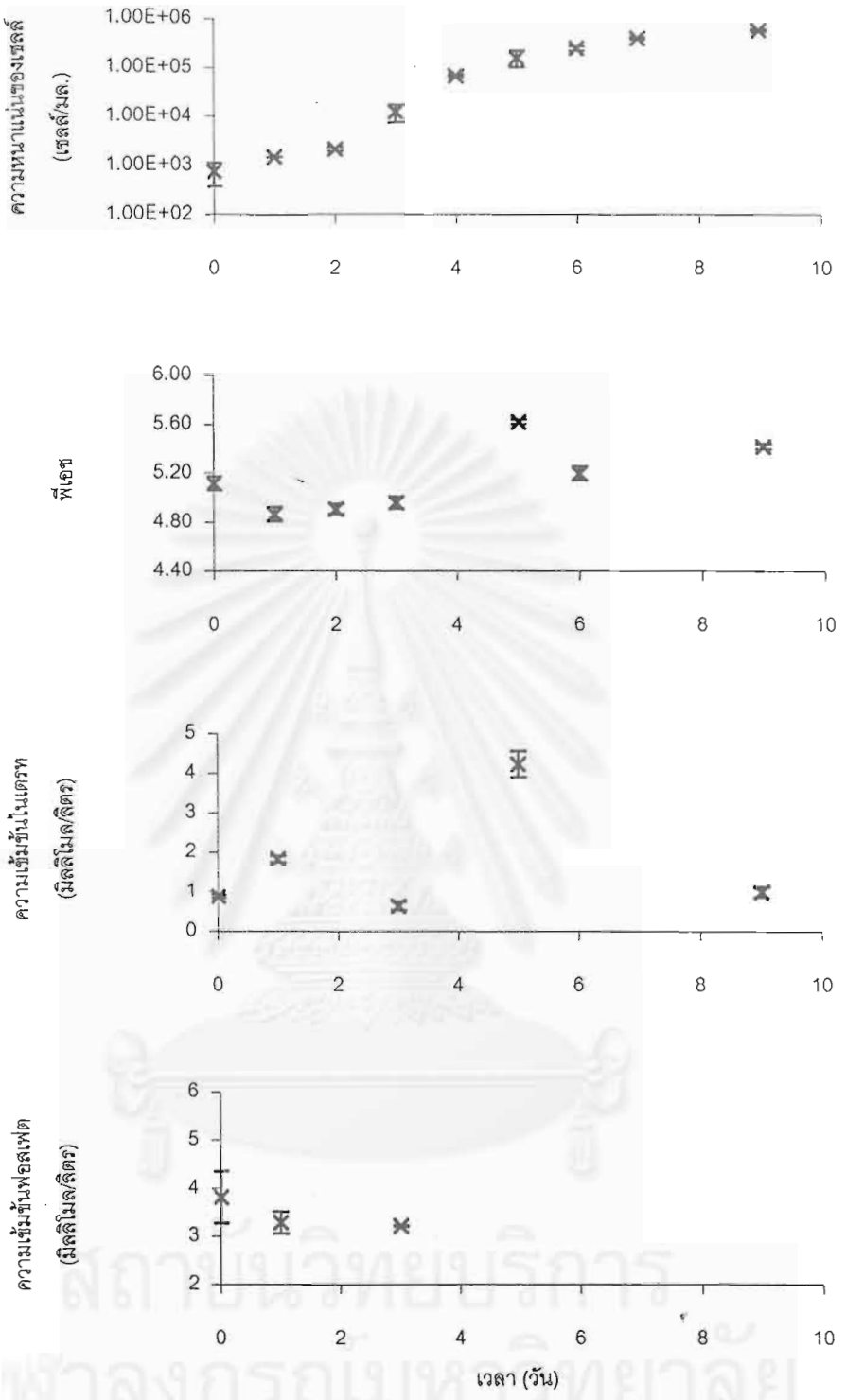
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดลองมีค่าเท่ากับ $0.90\pm0.10\times10^{-3}$ มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ $0.40\pm0.02\times10^{-3}$ มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-14ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.60 และมีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต เท่ากับ 1.48 และ 3.39 มิลลิโมลต่อลิตร เซลล์จะเข้าสู่ระยะ lag phase 2 วัน และจะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 5 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.16 ± 0.03 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $5.43\pm0.32\times10^{5}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-15ก, ภาคผนวก ฉ7) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.12 ± 0.06 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.42 ± 0.02 (รูปที่ 4-15ข) ความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.88 ± 0.04 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.99 ± 0.13 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-15ค) ความเข้มข้นของฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 3.81 ± 0.54 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-15ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.60 และมีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต เท่ากับ 1.48 และ 1.69 มิลลิโมลต่อลิตร เซลล์จะเข้าสู่ระยะ lag phase 1 วัน และจะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 6 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.25 ± 0.03 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $5.62\times10^{5}\pm0.09$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-16ก, ภาคผนวก ฉ8) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.90 ± 0.45 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.66 ± 0.06 (รูปที่ 4-16ข) ความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อค่อนข้างคงที่ โดยค่าความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 1.14 ± 0.03 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 1.35 ± 0.01 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-16ค) ความเข้มข้นของฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 1.67 ± 0.09 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-16ง)

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.60 และมีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต เท่ากับ 1.48 และ 0.03 มิลลิโมลต่อลิตร เซลล์จะเข้าสู่ระยะ lag phase 4 วัน และจะอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ



รูปที่ 4-15 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 1.48 และ 3.39 มิลลิโมล/ลิตร

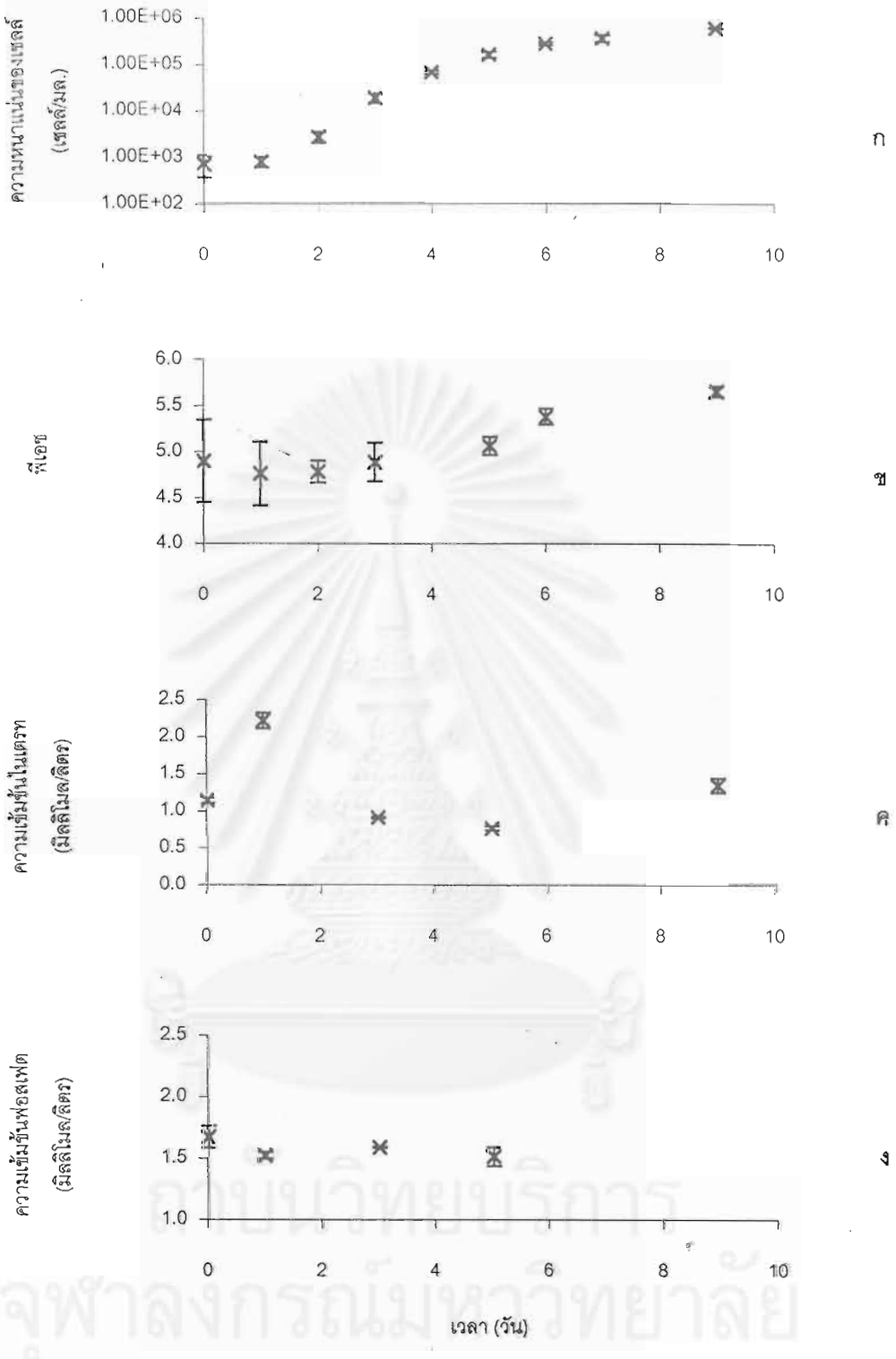
ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4-16 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 1.48 และ 1.69 มิลลิโมล/ลิตร

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5 วัน แล้วเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.18±0.03 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $2.71\pm1.19\times10^{5}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4-17ก, ภาคผนวก ฉ9) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.80±0.20 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.15±0.16 (รูปที่ 4-17ข) ความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อค่อนข้างคงที่ โดยค่าความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 1.68±0.02 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 1.81±0.27 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-17ค) ความเข้มข้นฟอสเฟตของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ $0.60\pm0.30\times10^{-3}$ มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4-17ง)

6. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเพิ่มการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยน้ำแข็งแห้ง

ในการทดลองนี้ได้ใช้น้ำแข็งแห้งเป็นแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าเมื่อปริมาณน้ำแข็งแห้งที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้นจะมีผลให้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเพิ่มขึ้นและค่าพีเอชลดลงด้วย ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ใส่น้ำแข็งแห้งลดลงตลอดการทดลอง โดยเมื่อเริ่มการทดลองมีพีเอชเท่ากับ 6.89 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.28 (รูปที่ 4-18ก) ค่าอัลคาลินิตี้มีแนวโน้มลดลงเช่นกัน โดยเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าอัลคาลินีตี้เท่ากับ 70.00 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 57.50 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร (รูปที่ 4-18ข) ส่วนค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำจะแปรผันอยู่ในช่วง 59.64-62.56 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร (รูปที่ 4-18ค) โดยมีการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์ดังสมการ

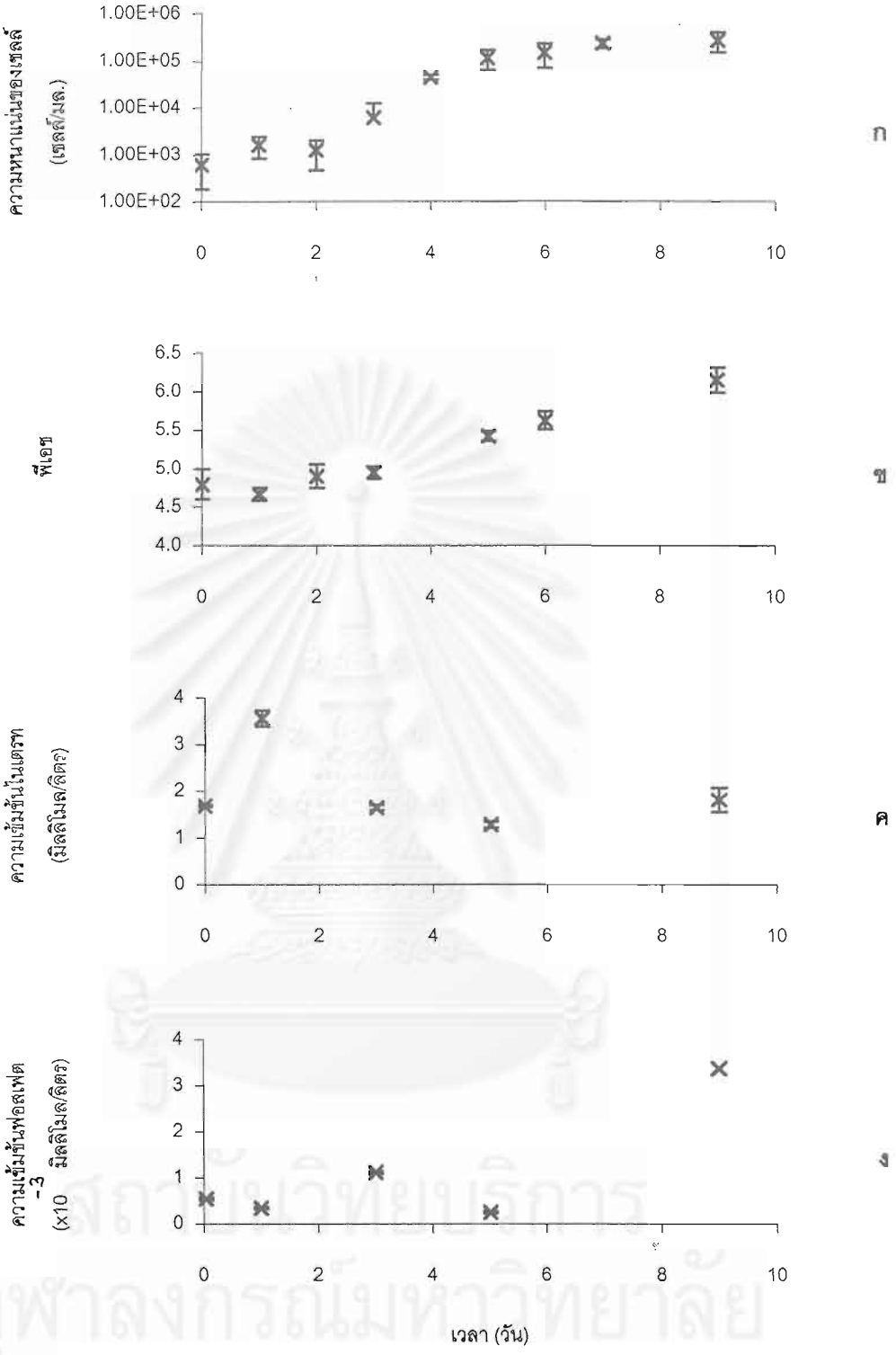
$$y = 1.48x^{2} - 14.96x + 92.04 \qquad (r^{2} = 0.61)$$

โดยที่

y = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มก.คาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร)

x = เวลา (วัน); $x<10$

ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร มีค่าค่อนข้างคงที่ โดยเมื่อเริ่มการทดลองมีพีเอชเท่ากับ 5.46 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.41 (รูปที่ 4-19ก) ค่าอัลคาลินิตี้มีการเปลี่ยนแปลงไม่มากคือเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าอัลคาลินีตี้เท่ากับ 65.00 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 60.00 มิลลิกรัม



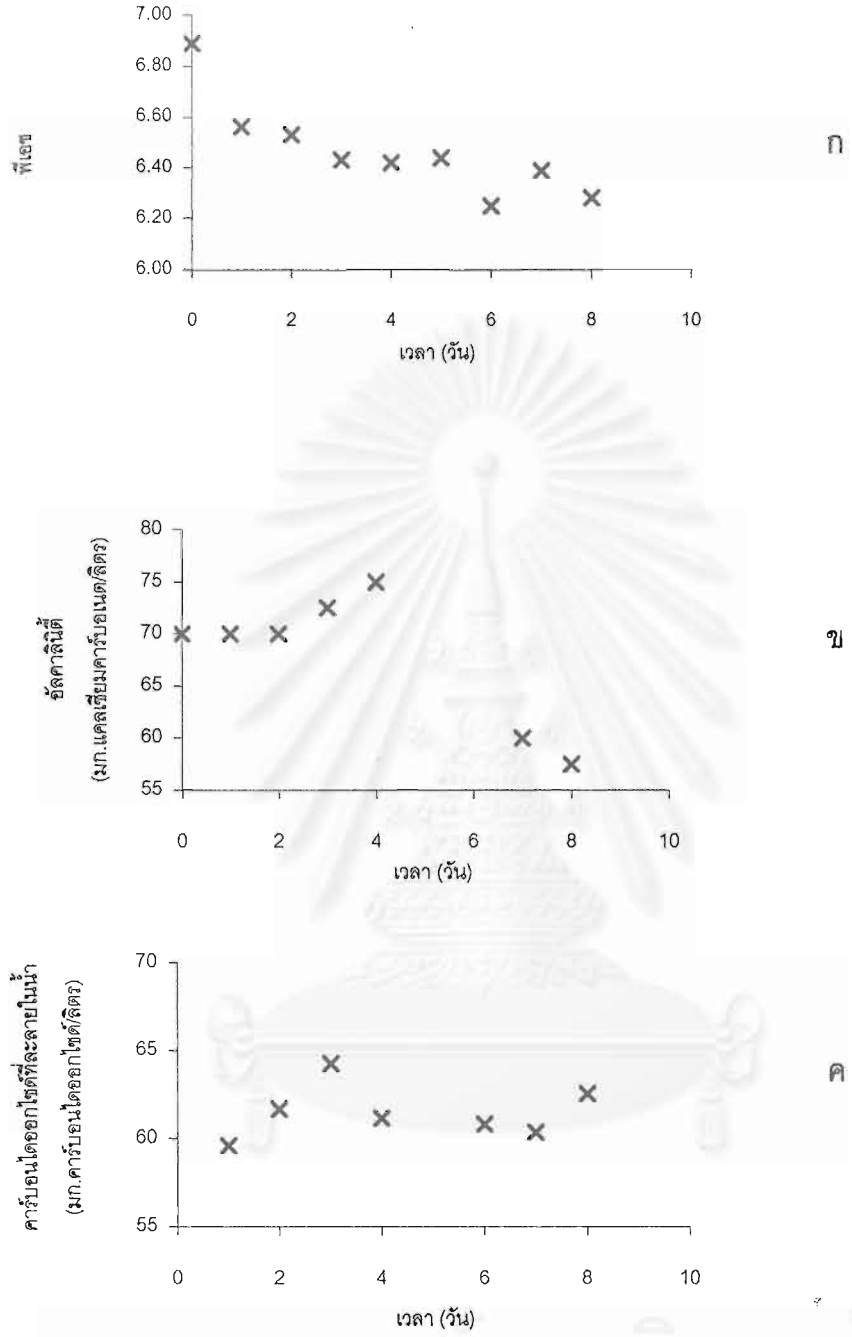
รูปที่ 4-17 การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 1.48 และ 0.03 มิลลิโมล/ลิตร

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ



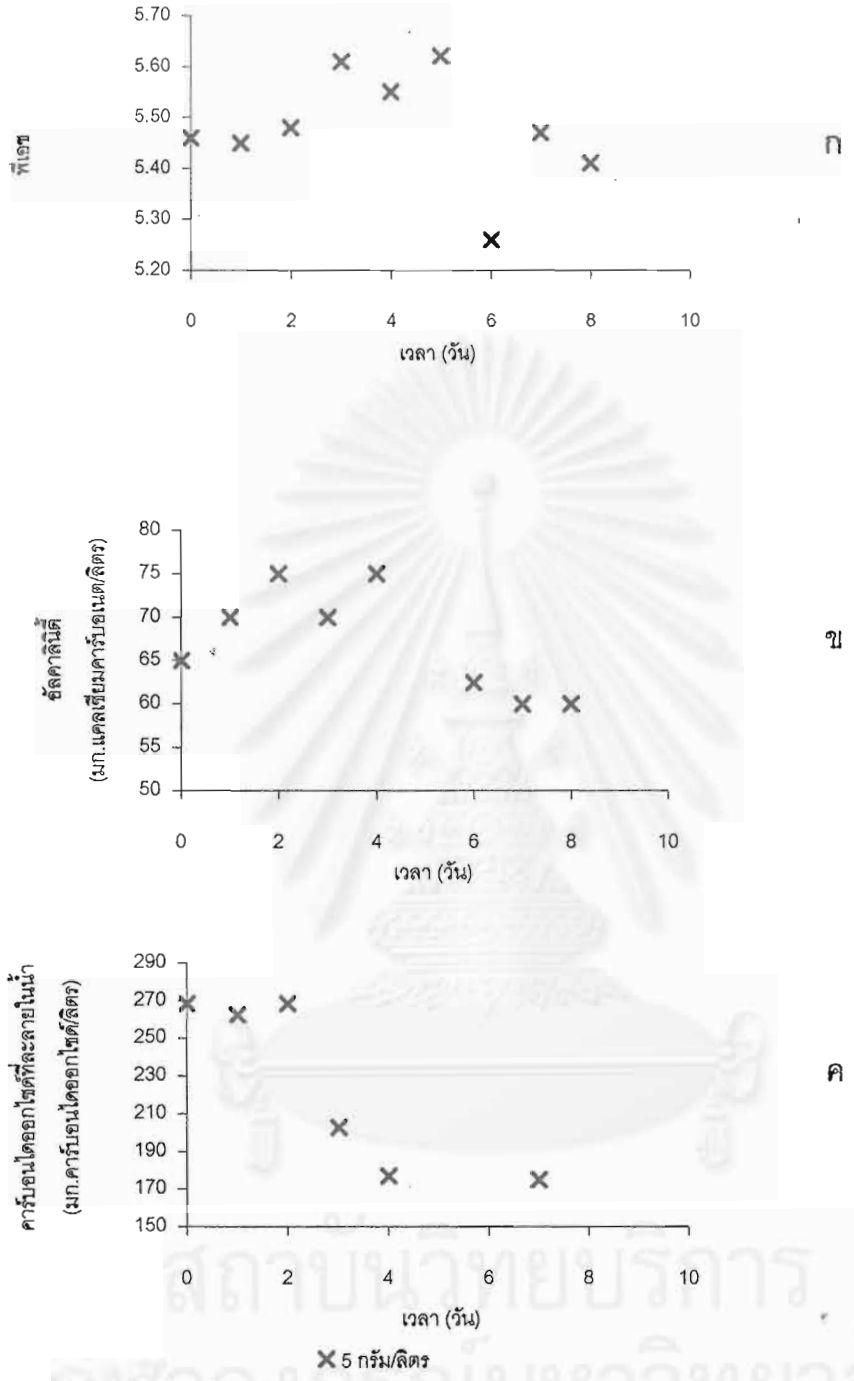
รูปที่ 4-18 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัลคาลินิตี้ และค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเมื่อไม่ใส่น้ำแข็งแห้ง

ก การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4-19 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัลคาลินิตี้ และค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ เมื่อมีการใส่น้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัม/ลิตร

ก การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

แคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร (รูปที่ 4-19ข) ส่วนค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำมีค่าลดลงอย่างชัดเจน โดยค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 268.46 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 174.86 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร (รูปที่ 4-19ค) ทั้งนี้อัตราการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์สามารถแสดงได้ด้วยสมการ

$$y = 3.06x^2 - 35.3x + 287.9 \qquad (r^2 = 0.73)$$

โดยที่

y = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มก.คาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร)

x = เวลา (วัน); x<10

ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัมต่อลิตร มีค่าค่อนข้างคงที่ในช่วงแรกๆ จากนั้นจะเพิ่มขึ้นโดยเมื่อเริ่มการทดลองมีพีเอชเท่ากับ 5.26 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.80 (รูปที่ 4-20ก) ส่วนค่าอัลคาลินิตี้ค่อนข้าคงที่ โดยเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าอัลคาลินีตี้เท่ากับ 65.00 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 72.50 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร (รูปที่ 4-20ข) ส่วนค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำมีค่าลดลง โดยค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 434.21 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 127.96 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร (รูปที่ 4-20ค) โดยการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์สามารถแสดงได้ด้วยสมการ

$$y = 5.87x^2 - 83.52x + 430.74 \qquad (r^2 = 0.93)$$

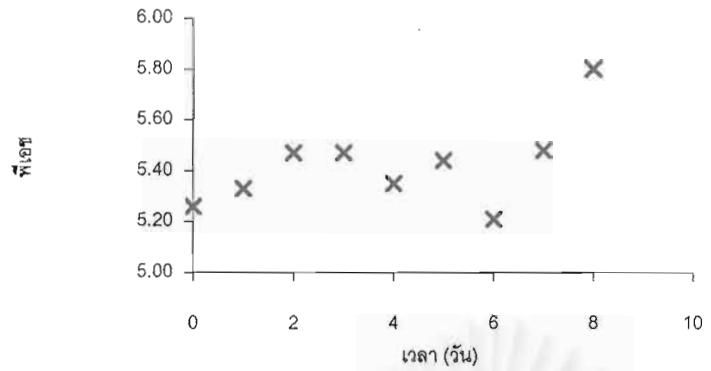
โดยที่

y = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มก.คาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร)

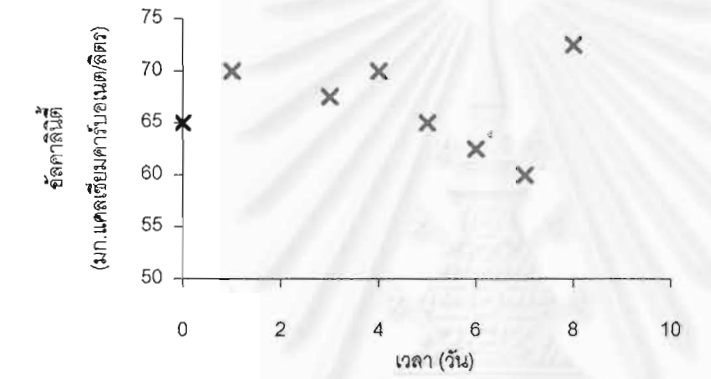
x = เวลา (วัน); x<10

7. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำกรองที่ใช้เลี้ยงเซลล์และเพิ่มการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยน้ำแข็งแห้ง

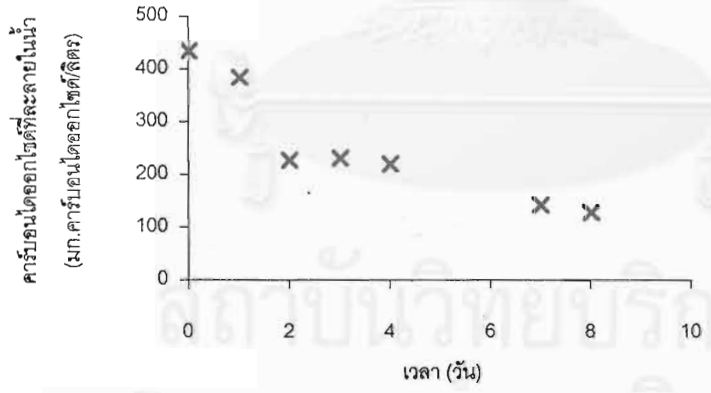
การทดลองนี้ใส่น้ำที่กรองที่ใช้เลี้ยงเซลล์สต๊อคของสาหร่ายเพื่อดูผลของแบคทีเรียที่อาจติดมากับหัวเชื้อสาหร่ายต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำกรองที่ใช้เลี้ยงเซลล์และไม่ใส่น้ำแข็งแห้งมีค่าเพิ่มขึ้น โดยเมื่อเริ่มการทดลองมีพีเอชเท่ากับ 6.39 ± 0.15 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.92 (รูปที่ 4-21ก)



ก



ข



ค

รูปที่ 4-20 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัลคาลินิตี้ และค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ เมื่อมีการใส่น้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัม/ลิตร

ก การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค่าอัลคาลินิตี้มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นไม่มากคือเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าอัลคาลินีตี้เท่ากับ 65.00±7.07 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 72.50 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร (รูปที่ 4-21ข) ส่วนค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำมีค่าลดลงเล็กน้อย โดยค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 64.57±0.72 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 57.69 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร (รูปที่ 4-21ค)

ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร มีค่าเพิ่มขึ้น โดยเมื่อเริ่มการทดลองมีพีเอชเท่ากับ 5.29±0.02 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.70±0.01 (รูปที่ 4-22ก) ค่าอัลคาลินิตี้มีการเปลี่ยนแปลงไม่มากคือเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าอัลคาลินีตี้เท่ากับ 65.00±7.07 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 70.00 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร (รูปที่ 4-22ข) ส่วนค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำมีค่าลดลงอย่างชัดเจน โดยค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 287.78 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 59.52±7.86 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร (รูปที่ 4-22ค) ทั้งนี้อัตราการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์สามารถแสดงได้ด้วยสมการ

$$y = 5.05x^2-65.47+260.33 \qquad (r^2 = 0.93)$$

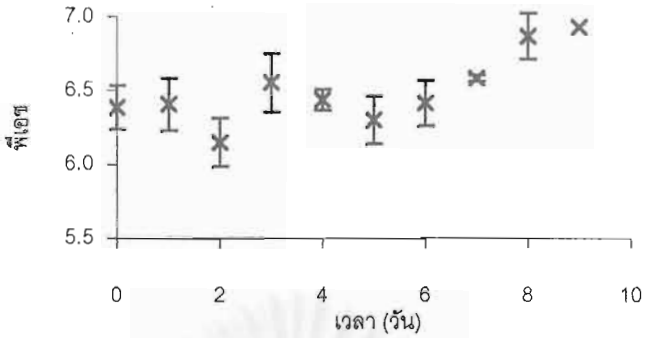
โดยที่

y = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มก.คาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร)

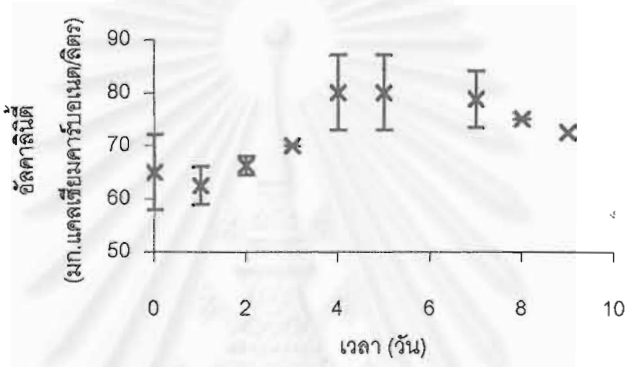
x = เวลา (วัน); x<10

ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัมต่อลิตร มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยเมื่อเริ่มการทดลองมีพีเอชเท่ากับ 5.19±0.17 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.76±0.30 (รูปที่ 4-23ก) ค่าอัลคาลินิตี้มีการเปลี่ยนแปลงไม่มากคือเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าอัลคาลินีตี้เท่ากับ 65.00 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 70.00 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร (รูปที่ 4-23ข) ส่วนค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำมีค่าลดลงอย่างชัดเจน โดยค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 302.52±52.49 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 59.06±9.36 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร (รูปที่ 4-23ค) ทั้งนี้อัตราการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์สามารถแสดงได้ด้วยสมการ

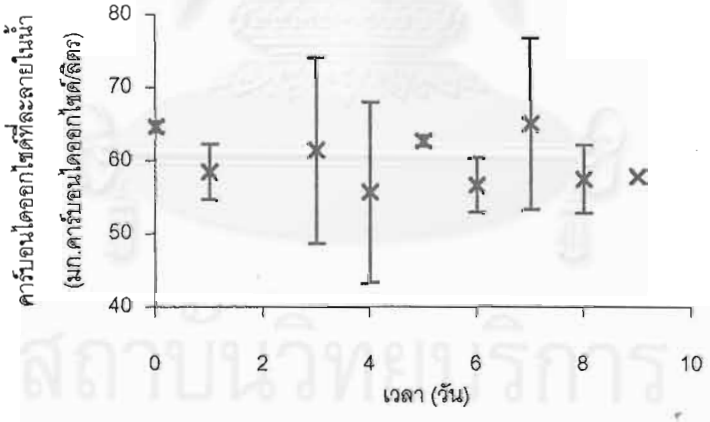
$$y = 5.18x^2-64.41x+247.16 \qquad (r^2 = 0.82)$$



ก



ข



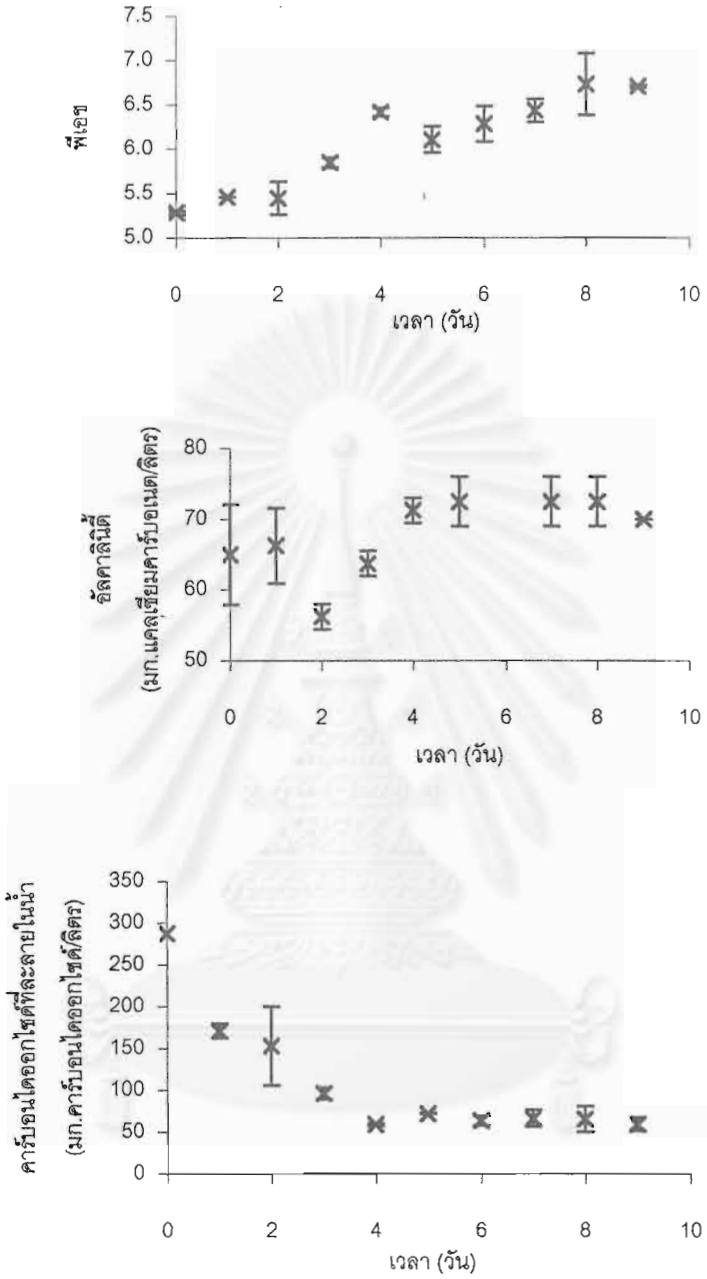
ค

รูปที่ 4-21 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำกรองที่ใช้เลี้ยงเซลล์โดยไม่ใส่น้ำแข็งแห้ง

ก การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข การเปลี่ยนแปลงอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

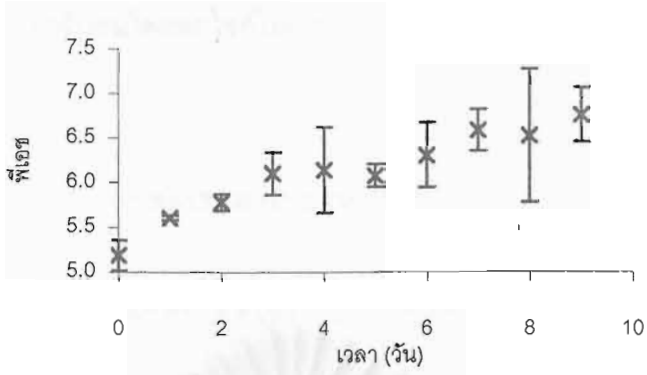


รูปที่ 4-22 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำกรองที่ใช้เลี้ยงเซลล์ โดยใส่น้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร

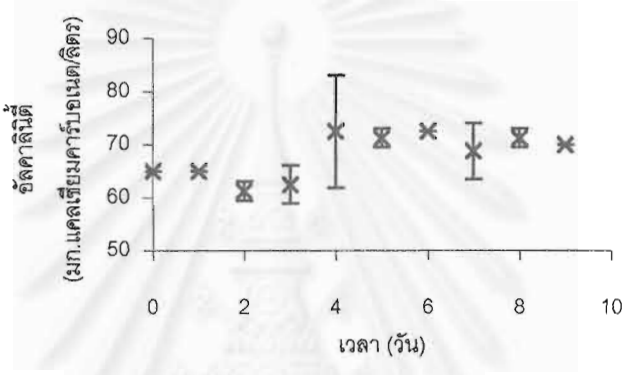
ก การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข การเปลี่ยนแปลงอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

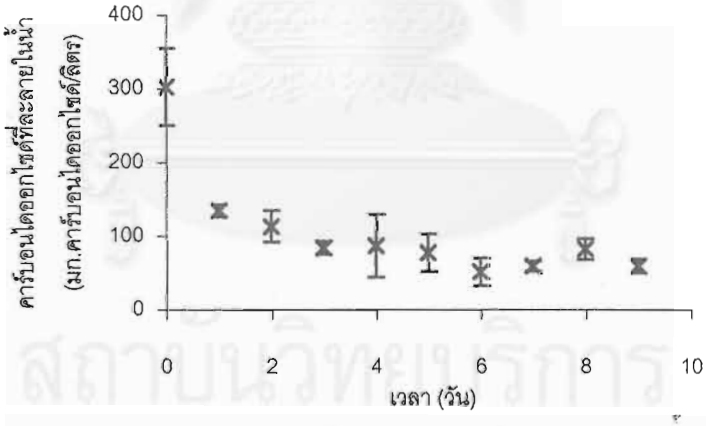
ค การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ของอาหารเลี้ยงเชื้อ



ก



ข



ค

รูปที่ 4-23 การเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำกรองที่ใช้เลี้ยงเซลล์ โดยใส่น้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัมต่อลิตร

ก การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข การเปลี่ยนแปลงอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

โดยที่

y = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มก.คาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร)

x = เวลา (วัน); x<10

8. การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์

เมื่อเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ให้กับอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้น้ำแข็งแห้งเป็นแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าที่ระดับต่างๆของน้ำแข็งแห้งที่เพิ่มลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นสาหร่ายมีการเติบโตดังนี้ การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ใส่น้ำแข็งแห้ง สาหร่ายมีรูปแบบการเติบโตดังรูปที่ 4-24ก สาหร่ายอยู่ในระยะ Exponential phase ประมาณ 4 วัน แล้วจึงเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.36 ± 0.12 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในระยะ Stationary phase เท่ากับ $1.13\pm0.06\times10^{6}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.45 ± 0.16 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าพีเอชเท่ากับ 6.82 ± 0.26 (รูปที่ 4-24ข) ค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อค่อนข้างคงที่ โดยค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 61.88 ± 25.35 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 74.38 ± 4.27 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร (รูปที่ 4-24ค) ค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มลดลง โดยเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 64.47 ± 6.89 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 40.62 ± 6.61 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร (รูปที่ 4-24ง) และค่ามวลชีวภาพของสาหร่ายในรูปของคาร์บอนรวมในเซลล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4-24จ โดยค่าคาร์บอนรวมที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลองเท่ากับ 10.29 ± 0.74 มิลลิกรัมต่อลิตร และการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์สามารถแสดงได้ด้วยสมการ

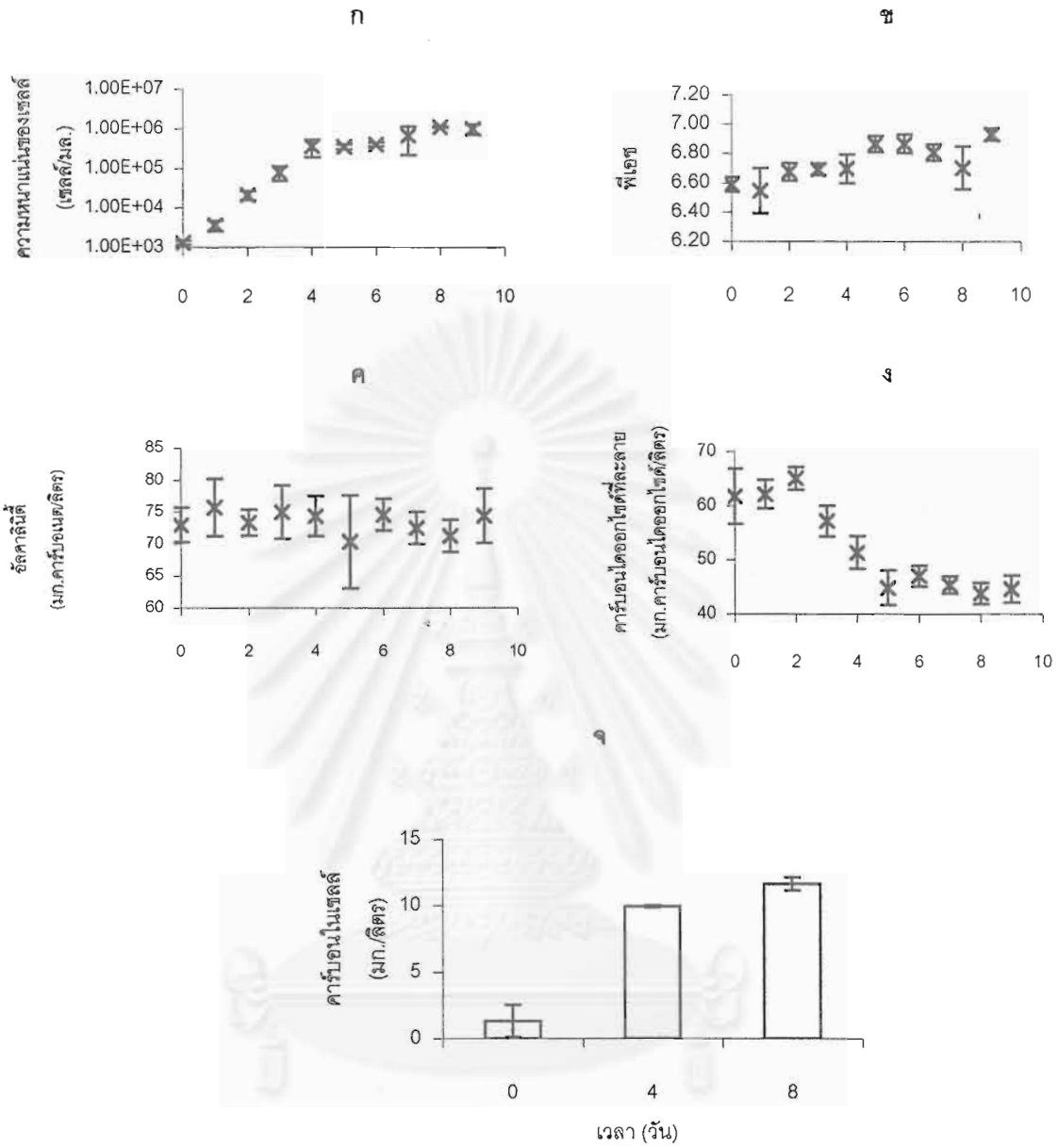
$$y = 0.16x^{2}-3.98+65.63 \qquad (r^{2} = 0.85)$$

โดยที่

y = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มก.คาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร)

x = เวลา (วัน); x<10

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร สาหร่ายมีรูปแบบการเติบโตดังรูปที่ 4-25ก โดยสาหร่ายอยู่ในระยะ Exponential phase 9 วัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.39 ± 0.12 ต่อวัน



รูปที่ 4-24 การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ใส่น้ำแข็งแห้ง

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงของค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงของค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

จ การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนรวมในเซลล์

เมื่อเข้าสู่ระยะ Stationary phase และมีจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ $1.03\pm0.16x10^{7}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.42 ± 0.24 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.53 ± 0.81 (รูปที่ 4-25ข) ค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเท่ากับ 69.06 ± 6.81 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 90.00 ± 16.71 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร (รูปที่ 4-25ค) และค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มลดลง โดยค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 273.78 ± 115.13 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 75.93 ± 48.15 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร (รูปที่ 4-25ง) และค่ามวลชีวภาพของสาหร่ายในรูปของคาร์บอนรวมในเซลล์มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นดังรูปที่ 4-25จ โดยคาร์บอนรวมที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลองมีค่าเท่ากับ 12.42 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์สามารถแสดงได้ด้วยสมการ

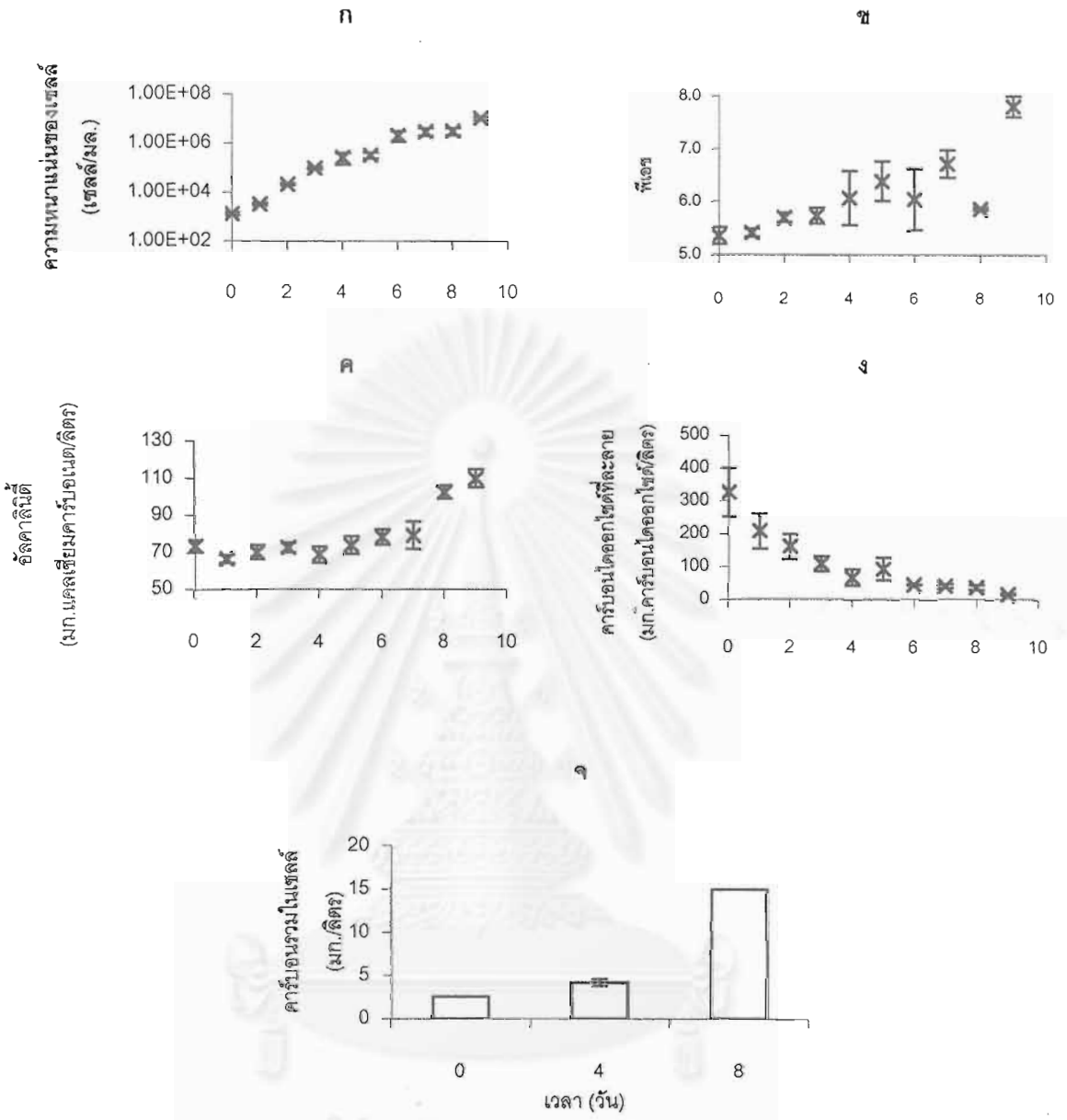
$$y = 4.78x^{2}-71.89x+296.54 \qquad (r^{2} = 0.95)$$

โดยที่

y = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มก.คาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร)

x = เวลา (วัน); $x<10$

การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัมต่อลิตร สาหร่ายมีรูปแบบการเติบโตดังรูปที่ 4-26ก ตลอดการทดลองทั้ง 8 วันเซลล์ยังคงอยู่ในระยะ Exponential phase ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตในระยะ Exponential phase มีค่าเท่ากับ 1.32 ± 0.16 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ $8.55\pm1.64x10^{6}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่า เท่ากับ 5.32 ± 0.24 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.12 ± 0.96 (รูปที่ 4-26ข) ค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มคงที่ ยกเว้นวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น โดยค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 71.56 ± 8.01 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 83.13 ± 13.44 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร (รูปที่ 4-26ค) และค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มลดลง โดยค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 329.06 ± 203.7 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 114.12 ± 107.09 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร (รูปที่ 4-26ง) และค่า



รูปที่ 4-25 การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 5 กรัม

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

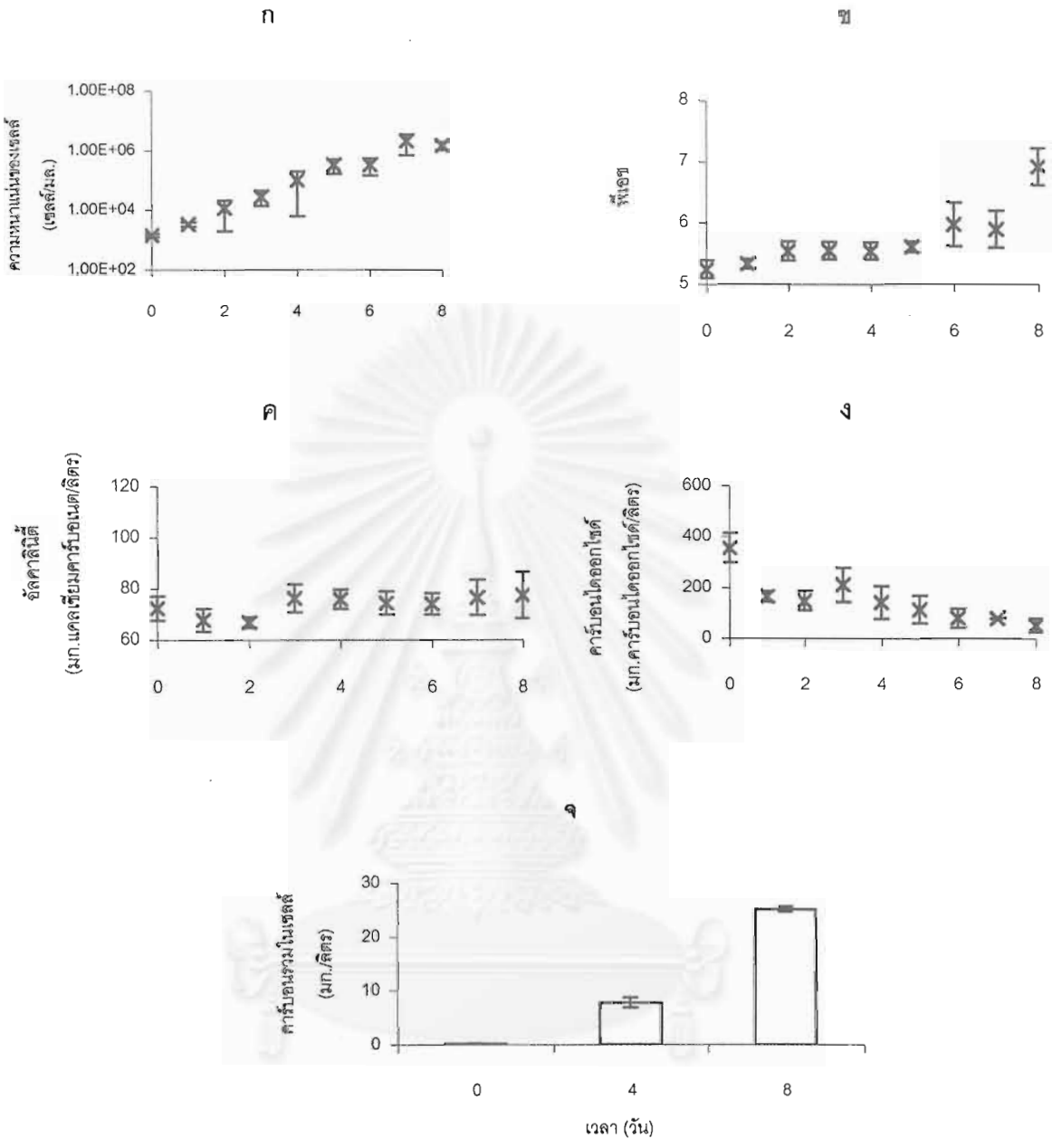
ข การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงของค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงของค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

จ การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนรวมในเซลล์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4-26 การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 10 กรัม

ก การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ข การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค การเปลี่ยนแปลงของค่าอัลคาลินิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ง การเปลี่ยนแปลงของค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

จ การเปลี่ยนแปลงค่าคาร์บอนรวมในเซลล์

มวลชีวภาพของสาหร่ายในรูปของคาร์บอนรวมในเซลล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นดังรูปที่ 4-26จ โดยคาร์บอนรวมที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง เท่ากับ 25.02±0.41 มิลลิกรัมต่อลิตร และการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์สามารถแสดงได้ด้วยสมการ

$$y = 291.42e^{-0.20x} \qquad (r^2 = 0.90)$$

โดยที่

y = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มก.คาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร)

x = เวลา (วัน); x<10

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในสภาวะปกติ

สภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในการทดลองนี้คือ ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (60 $\mu Em^{-2}s^{-1}$) อุณหภูมิเฉลี่ย 30 องศาเซลเซียส ช่วงมืดและช่วงสว่าง เท่ากับ 12 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III ซึ่งเป็นสูตรที่เหมาะสมสำหรับสาหร่ายน้ำจืดทั่วไป โดยเป็นสูตรที่ทางสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ทำการทดลองค้นคว้าขึ้น เมื่อเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรดังกล่าวในช่วงเวลาประมาณ 10 วัน พบว่า เมื่อเลี้ยงสาหร่ายไปได้ 4 วัน จำนวนเซลล์ของสาหร่ายจะเริ่มคงที่ คือเข้าสู่ระยะ Stationary มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต เท่ากับ 1.91 ± 0.29 ต่อวัน ซึ่งจากการทดลองของ มาวิทย์ อัศวอารีย์ และ ธิดา เพชรมณี (2534) ได้เลี้ยง *Chlorella* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเข้มแสง อุณหภูมิ และความเค็มที่แตกต่างกันหลายสภาวะ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมกับการเติบโตของสาหร่ายชนิดนี้คือใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Guillard ความเข้มแสงเท่ากับ 1,000 ลักซ์ (20 $\mu Em^{-2}s^{-1}$) ความเค็ม 25 ส่วนในพัน และอุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส จำนวนเซลล์เพิ่มเป็นสองเท่าในเวลา 1.3 วัน (ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเท่ากับ 0.23 ต่อวัน) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของการทดลองครั้งนี้พบว่าการศึกษาครั้งนี้มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตสูงกว่ามาก ทั้งนี้เนื่องจากสูตรอาหาร NS III มีปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตมากกว่าสูตร Guillard ประมาณ 10 และ 50 เท่า ตามลำดับ (ตารางที่ 5-1) ซึ่งทั้งสองธาตุนี้เป็นธาตุอาหารหลักของพืช ส่วนธาตุอื่นๆ ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Guillard จะพบว่ามีปริมาณมากกว่าทุกสาร นอกจากนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III จะมีธาตุอาหารปริมาณน้อยบางตัว เช่น อลูมิเนียม, โคบอลต์, นิกเกิล, โบรอน และวาเนเดียม ซึ่งไม่พบในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Guillard แม้ว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III จะไม่มีวิตะมินเหมือนกับสูตร Guillard เนื่องจากสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตสูงมากจึงคาดว่าวิตะมินไม่มีอิทธิพลต่อการเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาชนิดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ตารางที่ 5-1 เปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III และ Guillard

สารเคมี	NS III (กรัม/ลิตร)	Guillard (กรัม/ลิตร)
KNO_3	1.011	-
$NaNO_3$	-	0.150
KH_2PO_4	0.24	-
$K_2HPO_4.3H_2O$	0.284	-
$NaKH_2PO_4$	-	0.01
$MgSO_4.7H_2O$	0.124	-
$CaCl_2.2H_2O$	0.0148	-
NaCl	0.233	-
KBr	0.013	-
KI	0.009	-
LiCl	$4x10^{-4}$	-
H_3BO_3	0.002	-
$ZnSO_4.7H_2O$	$3x10^{-4}$	$4x10^{-5}$
$NiSO_4.6H_2O$	$1.4x10^{-3}$	-
$CoSO_4.7H_2O$	$2x10^{-4}$	-
$CuSO_4.5H_2O$	0.003	$2x10^{-5}$
$Al_2(SO_4)_3.18H_2O$	$4x10^{-4}$	-
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$	$8x10^{-5}$	-
$Na_2MoO_4.2H_2O$	-	$1x10^{-5}$
NH_3VO_3	$6x10^{-4}$	-
$MnCl_2.4H_2O$	$1x10^{-4}$	$3x10^{-4}$
$Fe(NO_3)_3.9H_2O$	$3x10^{-4}$	-
Na-EDTA	$3x10^{-4}$	-
Thiamine	-	$2x10^{-4}$
Biotin	-	$1x10^{-6}$
Cyanocobalamin	-	$1x10^{-6}$
$NaSiO_3.9H_2O$	-	0.005
Na_2EDTA	-	0.009
$FeCl_3.6H_2O$	-	0.006
$CoCl_3.6H_2O$	-	$2x10^{-5}$

ตารางที่ 5-2 เปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาชนิดต่างๆ

ชนิดสาหร่าย	ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต (ต่อวัน)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	สภาวะการเลี้ยง
Chlorella pyrenoidosa (emerson strain)	1.96	25	ให้แสง, ให้ไนเตรทและคาร์บอนไดออกไซด์,
	0.92	25	เลี้ยงในที่มืด, ให้กลูโคสและไนเตรท
	0.48	25	เลี้ยงในที่มืด, ให้กลูโคส, และแอมโมเนียมไนเตรท
	2.0	25	ให้แสง, ให้กลูโคส, คาร์บอนไดออกไซด์,และไนเตรท
Chlorella vulgaris (Wann strain)	1.1	23	ให้แสง, ให้กลูโคส และแอมโมเนียมไนเตรท
	0.67	23	เลี้ยงในที่มืด, ให้กลูโคส, และแอมโมเนียมไนเตรท
Chlorella sp. (Tx115)	5.8	39	ให้แสง, ให้ไนเตรทและคาร์บอนไดออกไซด์,

(ที่มา: Venkataraman, 1969)

จากตารางที่ 5-2 พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในบางสภาวะจะมีค่าใกล้เคียงกับค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของการทดลองครั้งนี้ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายได้แก่ ธรรมชาติของสาหร่ายชนิดนั้น คุณภาพและปริมาณของแสง ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณธาตุอาหาร ความเค็มของน้ำ อุณหภูมิ พีเอชเป็นต้น ซึ่งสาหร่ายชนิดต่างๆ มีความต้องการต่อปัจจัยเหล่านี้แตกต่างกัน จากตาราง 5-2 สาหร่ายชนิด *Chlorella pyrenoidosa* สายพันธุ์ Emerson เมื่อให้คาร์บอนไดออกไซด์กับสาหร่าย พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายมีค่าสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะที่ไม่ได้ให้คาร์บอนไดออกไซด์ และยังมีค่าใกล้เคียงกับค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของการทดลองในครั้งนี้ซึ่งไม่ได้ให้คาร์บอนไดออกไซด์อีกด้วย เมื่อเปรียบเทียบแหล่งคาร์บอนที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *C. pyrenoidosa* สายพันธุ์ Emerson ในกรณีที่เลี้ยงสาหร่ายโดยไม่ให้แสงและให้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนแทนคาร์บอนไดออกไซด์

พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตต่ำกว่าในสภาวะที่ให้คาร์บอนไดออกไซด์และให้แสง ดังนั้นคาร์บอนไดออกไซด์จึงเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมกว่ากลูโคสสำหรับสาหร่ายสายพันธุ์นี้ และเมื่อพิจารณาถึงแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม พบว่าไนเตรทน่าจะมีความเหมาะสมกว่าแอมโมเนียมไนเตรท ดังจะเห็นได้จากค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีแสงและมีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนมีค่าสูงเมื่อได้รับไนเตรท ส่วนในสาหร่ายชนิด *Chlorella vulgaris* สายพันธุ์ Wann เมื่อเปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายในสภาวะที่ให้แสงและไม่ให้แสง พบว่าแสงมีความจำเป็นต่อการเติบโตของสาหร่ายชนิดนี้ เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายสายพันธุ์นี้ในสภาวะที่ให้แสงจะมีค่ามากกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะที่ไม่ให้แสง ส่วนอุณหภูมิในการเลี้ยงนั้นสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการทนทานต่อสภาวะต่างๆที่แตกต่างกัน โดยที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. สายพันธุ์ TX115 มีความสามารถที่จะเติบโตได้ในสภาวะนี้ซึ่งมีอุณหภูมิค่อนข้างสูง และมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตสูงเท่ากับ 5.8 ต่อวัน อาจเป็นไปได้ว่า *Chlorella* สายพันธุ์ TX115 มีความทนทานต่อสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง สาหร่ายบางชนิดอาจไม่สามารถทนต่อสภาพนี้ได้ ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตที่สูงนี้อาจจะเป็น ผลร่วมระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์และอุณหภูมิได้

2. ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่สาหร่ายคลอเรลลาสามารถทนอยู่ได้

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชต่ำกว่าปกติ พบว่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่ำกว่า 4.60 นั้น สาหร่ายคลอเรลลาไม่สามารถเติบโตได้ ซึ่งจะเห็นว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอช 3.08 และ 4.17 นั้นไม่มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลา (รูปที่ 4-3ก และ 4-4ก) ซึ่งแตกต่างจากสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอช 4.61 ซึ่งจะเห็น มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ (รูปที่ 4-5ก) ลัดดา วงศ์รัตน์ (2539) รายงานว่าพีเอชเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งซึ่งสาหร่ายแต่ละชนิด มีความทนทานแตกต่างกัน เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นกลางจนถึงจนถึงสภาพเป็นด่างคือมีค่าพีเอชประมาณ 6.5-7.5 สาหร่ายสีเขียวบางกลุ่ม เช่น เดสมิดชอบน้ำในสภาพเป็นกรดอ่อนหรือมีค่าพีเอชระหว่าง 5.5-6.5 จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเป็นปัจจัยจำกัดอย่างหนึ่งของการเติบโตของสาหร่ายชนิดนี้ นั่นคือในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชต่ำกว่า 4.61 สาหร่ายคลอเรลลาชนิดนี้จะไม่สามารถเติบโตเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ จากการทดลองของ Hopkins และ Wann, 1925 อ้างถึงใน Venkataraman, 1969 พบว่าค่าพีเอชต่ำสุดที่สาหร่ายคลอเรลลาสามารถเติบโตได้คือ 3.4 ซึ่งต่ำกว่าพีเอชที่ใช้ในการทดลองนี้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากสายพันธุ์ที่แตกต่างกันทำให้คลอเรลลาแต่ละชนิดมีความทนทานต่อสภาวะ

แวดล้อมได้แตกต่างกัน แม้ว่าสาหร่ายชนิดและสายพันธุ์เดียวกันที่อยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ต่างกันย่อมมีความสามารถในการทนทานต่อสภาวะที่เปลี่ยนแปลงไปอย่างฉับพลันได้แตกต่างกันด้วย ดังนั้นจึงใช้พีเอชต่ำสุดของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III เท่ากับ 4.6 ในการทดลองขั้นต่อไป

3. การเติบโตของของสาหร่ายคลอเรลลาในสภาวะที่เป็นกรด

เมื่อเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 4.70, 5.10, 5.60, 6.10 และ 6.60 พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลามีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.10 และค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาที่มีค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.70, 5.10, 5.60, 6.10 และ 6.60 มีค่าเท่ากับ 1.70 ± 0.15, 1.70 ± 0.40, 1.78 ± 0.14, 1.84 ± 0.16 และ 1.76 ± 0.09 ต่อวัน ตามลำดับ เมื่อทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน 5 ระดับนั้น พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชแต่ละระดับนั้นไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงว่าสาหร่ายสามารถเติบโตได้ไม่แตกต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับพีเอชระหว่าง 4.70 ถึง 6.60

ในสารละลายที่มีพีเอชน้อยกว่า 6 นั้นรูปแบบของอนินทรีย์คาร์บอนจะอยู่ในรูปของ $CO_{2(aq)}$ และHCO_3^- (รูปที่ 2-4) โดยเฉพาะเมื่อระดับพีเอชเท่ากับ 4 จะพบอนินทรีย์คาร์บอนชนิดคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ ($CO_{2(aq)}$) เพียงอย่างเดียว เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำจะลดลงและเริ่มมีไบคาร์บอเนตอิออนเพิ่มมากขึ้น ในช่วงพีเอช 4-6 จะมีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำมากกว่าไบคาร์บอเนตอิออน แต่ไม่พบว่ามีคาร์บอเนตอิออนร้อยละของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำเท่ากับไบคาร์บอเนตอิออนที่พีเอชประมาณ 6.2-6.3 ดังนั้นการที่ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของคลอเรลลาที่เลี้ยงในพีเอชต่ำกว่า 6.1 ลงไปมีค่าต่ำกว่าค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.6 อาจเนื่องมาจากการที่มีคาร์บอนอยู่ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ (free CO_2) มากและสาหร่ายคลอเรลลาไม่สามารถนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในช่วงพีเอช 6-8 จะมีไบคาร์บอเนตอิออนมากที่สุด รองลงมาคือคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำและคาร์บอเนตอิออน ตามลำดับ เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำจะลดลง ในขณะเดียวกันไบคาร์บอเนตอิออนและคาร์บอเนตอิออนจะเพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับช่วงพีเอชเท่ากับ 6.1 และ 6.6 ซึ่งสาหร่ายคลอเรลลา

มีอัตราการเติบโตสูงสุด ที่ระดับพีเอชเท่ากับ 8 จะพบรูปแบบของอนินทรีย์คาร์บอนทั้งสามชนิดคือ คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ ไบคาร์บอเนตอิออน และคาร์บอเนตอิออน โดยที่คาร์บอเนตอิออนเริ่มมีตั้งแต่ที่ระดับพีเอช 7.5 ขึ้นไป จนถึงที่ระดับพีเอชเท่ากับ 8 ไบคาร์บอเนตอิออนจะเริ่มลดลง นั่นคือในช่วงพีเอช 8-10 จะมีไบคาร์บอเนตอิออนมากที่สุด รองลงมาคือคาร์บอเนตอิออนและคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำตามลำดับ (Burlew, 1953) เมื่อพีเอชลดลงสมดุลย์ปฏิกิริยาของอนินทรีย์คาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อจะย้อนกลับมาในทิศทางการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ โดยที่ไบคาร์บอเนตอิออนจะเปลี่ยนรูปมาเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ โดยทำปฏิกิริยากับน้ำในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำมาก (พีเอช 4-6) การทำงานของคาร์บอนิกแอนไฮเดรสที่ผนังเซลล์ของสาหร่ายจะน้อย แต่ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำน้อย (พีเอชมากกว่า 6) การทำงานของคาร์บอนิกแอนไฮเดรสในการเปลี่ยนไบคาร์บอเนตอิออนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำจะมากขึ้น (Miyachi, Tsuzuki และ Avramova, 1983) และจากการทดลองได้ทำการเลี้ยงสาหร่ายในหลายระดับพีเอชตั้งแต่ระดับ 6.6 ลดลงมาถึง 4.7 ในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าพีเอชประมาณ 4.7 มีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำมากกว่าไบคาร์บอเนตอิออน และในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชประมาณ 6.6 นั้นจะมีไบคาร์บอเนตอิออนมากกว่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำเช่นกัน ซึ่งน่าจะเป็นไปได้ว่าสาหร่ายที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้น่าจะมีความสามารถในการใช้อนินทรีย์คาร์บอนในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์และไบคาร์บอเนตอิออน เพราะเมื่อทำการเลี้ยงสาหร่าย ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชระดับที่ต่ำกว่าปกติ พบว่าสาหร่ายสามารถเติบโตได้

ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชระดับ 4.70 และ 5.10 จะมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตต่ำสุด คือ 1.70 ± 0.15 และ 1.70 ± 0.40 ต่อวัน ที่เป็นเช่นนี้เพราะสาหร่ายต้องมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมใหม่นั่นคือ พยายามปรับตัวให้เข้ากับอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชในสภาวะที่เป็นกรดและมีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำสูง ซึ่งโดยปกติแล้วสาหร่ายชนิดนี้จะถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกลาง คือประมาณ 6.6 และมีไบคาร์บอเนตอิออนมากกว่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชต่ำกว่าปกติทันที จึงมีผลทำให้การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาลดลงเมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของสาหร่ายในระยะ Stationary ในทุกระดับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ามีจำนวนเซลล์ใกล้เคียงกัน

จากการทดลองนี้ได้ปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยกรดไฮโดรคลอริก ซึ่งเมื่อมีการเพิ่มกรดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณไฮโดรเนียมอิออนจะเพิ่มขึ้น การที่สาหร่ายคลอเรลลาเติบโตไม่ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชเท่ากับ 4.6 และ 5.1 จึงอาจเนื่องจากผลของพีเอชที่ลดลงด้วย ดังที่

ตารางที่ 5-3 เปรียบเทียบการเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตที่แตกต่างกัน

ชนิดสาหร่าย	ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต (ต่อวัน)	จำนวนเซลล์สูงสุด (เซลล์/มล.)	สภาวะการเลี้ยง	ปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยง (มก./ลิตร)	ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยง (มก./ลิตร)	ที่มา
Chlorella sp.	1.28±0.01	$6.02\pm0.08\times10^5$	NS III media, 3,000 ลักซ์, 30 °c	10.00	3.39	การศึกษาครั้งนี้
Chlorella sp.	1.36±0.01	$5.40\pm0.17\times10^5$	NS III media, 3,000 ลักซ์, 30 °c	10.00	1.69	การศึกษาครั้งนี้
Chlorella sp.	1.09±0.03	$1.90\pm0.35\times10^5$	NS III media, 3,000 ลักซ์, 30 °c	10.00	0.03	การศึกษาครั้งนี้
Chlorella sp.	1.31±0.03	$4.98\pm0.75\times10^5$	NS III media, 3,000 ลักซ์, 30 °c	5.71	3.39	การศึกษาครั้งนี้
Chlorella sp.	1.32±0.01	$5.08\pm0.32\times10^5$	NS III media, 3,000 ลักซ์, 30 °c	5.71	1.69	การศึกษาครั้งนี้
Chlorella sp.	1.21±0.03	$3.19\pm1.21\times10^5$	NS III media, 3,000 ลักซ์, 30 °c	5.71	0.03	การศึกษาครั้งนี้
Chlorella sp.	1.16±0.03	$5.43\pm0.32\times10^5$	NS III media, 3,000 ลักซ์, 30 °c	1.48	3.39	การศึกษาครั้งนี้
Chlorella sp.	1.25±0.03	$5.62\pm0.09\times10^5$	NS III media, 3,000 ลักซ์, 30 °c	1.48	1.69	การศึกษาครั้งนี้
Chlorella sp.	1.18±0.03	$2.71\pm1.19\times10^5$	NS III media, 3,000 ลักซ์, 30 °c	1.48	0.03	การศึกษาครั้งนี้
Chlorella sp.	0.23	-	Guillard media, 20 $\mu Em^{-2}s^{-1}$, 21 °c, 25 ppt	0.15	0.01	มานิทย์ อัศวอารีย์ และธิดา เพชรมณี (2534)

ตารางที่ 5-3 (ต่อ) เปรียบเทียบการเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตที่แตกต่างกัน

ชนิดสาหร่าย	ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต (ต่อวัน)	จำนวนเซลล์สูงสุด (เซลล์/มล.)	สภาวะการเลี้ยง	ปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยง (มก./ลิตร)	ปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยง (มก./ลิตร)	ที่มา
Chlorella vulgaris	0.2291	$2.5x10^7$	ใช้น้ำเสีย, 24 °c, 95,000 $\mu Em^{-2}s^{-1}$	0.2	3.68	Leu , Tam และ Wong, 1996
Chlorella vulgaris	0.420	-	ใช้น้ำเสีย, 24 °c, 95,000 $\mu Em^{-2}s^{-1}$	<0.1	3.1-4.3	Leu , Tam และ Wong, 1997
Chlorella vulgaris	0.229	$6.78x10^7$	Bold basal media, 20 °c, 86±6 $\mu Em^{-2}s^{-1}$	40	53	Tam และ Wong, 1996

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Venkataraman (1969) รายงานว่าค่าพีเอชมีผลต่อการกระจายของคอลลอยดอลในโปรโตพลาสซึม (Protoplasm) ความสามารถในการให้น้ำผ่านของผนังเซลล์ การเคลื่อนที่ของสาหร่ายบางชนิด เช่น *Oscillatoria* sp. ในช่วงพีเอช 6.4-9.5 จะเป็นช่วงพีเอชที่ทำให้การเคลื่อนที่มากสุด (Burkholder, 1933 อ้างถึงใน Venkataraman, 1969) ทั้งนี้มีรายงานว่าค่าพีเอชต่ำสุดที่สาหร่ายคลอเรลลาสามารถเติบโตได้คือ 3.4 (Hopkins และ Wann, 1925 อ้างถึงใน Venkataraman, 1969)

นอกจากนี้พีเอชมีผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายด้วย Gehl (1985) พบว่าสาหร่ายชนิด *Chlorella saccharophila* สามารถเติบโตได้ในช่วงพีเอชกว้าง โดยพบว่าที่พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 จะเป็นค่าที่ทำให้มีอัตราการสังเคราะห์แสงที่เหมาะสมที่สุด เมื่อพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.0 จะทำให้ค่าอัตราการสังเคราะห์แสงลดลงร้อยละ 33 เมื่อเทียบกับอัตราการสังเคราะห์แสงที่มีค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 7.0 และเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าพีเอชต่ำลงถึง 3.0 จะทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดลงถึงร้อยละ 50 ดังนั้นในการทดลองที่เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชเท่ากับ 4.6 และ 5.1 อาจจะมีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลงจึงทำให้มีค่าสัมประสิทธิ์ต่ำกว่าสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชสูงกว่า

4. อัตราการเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตที่แตกต่างกัน ชนิดละ 3 ระดับ

เมื่อเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟต ที่แตกต่างกันอย่างละ 3 ระดับ พบว่าการเติบโตของสาหร่ายที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของไนเตรทเท่ากับ 10.00 มิลลิโมลต่อลิตร และความเข้มข้นของฟอสเฟต เท่ากับ 1.69 มิลลิโมลต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตสูงที่สุดคือ 1.36$\pm$0.01 ต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบการเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาสายพันธุ์ต่างๆที่ระดับความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตต่างๆ (ตารางที่ 5-3) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตสูงกว่าการทดลองของผู้อื่น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตมากกว่า จึงส่งผลให้มีการเติบโตของสาหร่ายมากกว่า นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อเติบโตของการศึกษาในครั้งนี้ได้แก่ แสง อุณหภูมิ เป็นต้น และอาจเป็นไปได้สาหร่ายคลอเรลลาได้รับปัจจัยเหล่านี้อย่างพอเพียง จึงช่วยส่งเสริมให้มีการเติบโตมาก

ความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อในแต่ละหน่วยย่อยของการทดลองนั้นพบว่ามีแนวโน้มลดลง เนื่องจากสาหร่ายคลอเรลลานำไนโตรเจนไปใช้ในเกิดการเติบโต โดยไนโตรเจนที่

ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้อยู่ในรูปของไนเตรทอิออนเท่านั้น เมื่อไนเตรทอิออนถูกดึงผ่านเข้ามาในเซลล์สาหร่ายแล้วจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรท์และแอมโมเนียมอิออน โดยอาศัยเอนไซม์ 2 ชนิดคือ Nitrate reductase และ Nitrite reductase ตามลำดับ (Bray, 1983)

ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของฟอสเฟตทั้ง 3 ระดับ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 0.03 มิลลิโมลต่อลิตร นั้นสาหร่ายมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตต่ำกว่าสาหร่ายที่เติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของฟอสเฟตอีกสองระดับ คือ 3.39 และ 1.969 มิลลิโมล ตามลำดับ เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเติบโตของพืช จะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายเทพลังงานและกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก ถ้าขาดฟอสฟอรัสจะทำให้ปริมาณโปรตีน ปริมาณคลอโรฟิลด์เอ ปริมาณ RNA และDNA ลดลง แต่คาร์โบไฮเดรตอาจเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์เปลี่ยนรูปร่างได้ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539) พืชและสาหร่ายจะใช้ฟอสฟอรัสในรูปของสารอนินทรีย์มากกว่าสารอินทรีย์ ซึ่งในแหล่งน้ำธรรมชาติพบว่ามีสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสมากกว่าสารอนินทรีย์ฟอสฟอรัส ซึ่งจะถูกออกซิไดซ์แล้วแตกตัวเป็นสารอนินทรีย์ฟอสฟอรัสได้เป็นฟอสฟอรัสและออโธฟอสเฟต หรือฟอสเฟต เช่น HPO_4^{2-} และ $H_2PO_4^-$ โดยอาศัยเอนไซม์ที่เรียกว่าฟอสฟาเทสหรือฟอสโฟเอสเทอเรส (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539) การจำกัดปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงมีผลต่ออัตราการเติบโตของสาหร่าย

เมื่อเลี้ยงคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 4.6 พบว่าค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น Goldman และคณะ (1972) อ้างถึงใน Brewer และ Goldman (1976) รายงานว่า ในกระบวนการสังเคราะห์แสงนั้นจะมีการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ไปสร้างเป็นสารอินทรีย์ และให้ก๊าซออกซิเจนออกมา เมื่อมีการนำไนเตรทไปสร้างเป็นโปรตีนในช่วงที่มีการสังเคราะห์แสงนั้น จะเกิดไฮดรอกไซด์อิออนด้วย ดังสมการ

$$106CO_2 + 138H_2O + 16NO_3^- \rightarrow (CH_2O)_{106}(NH_3)_{16} + 16OH^- + 138O_2$$

จะเห็นว่าเมื่อมีการใช้ไนเตรท จะมีไฮดรอกไซด์อิออนเกิดขึ้นซึ่งเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นไนเตรทและฟอสเฟตระดับต่างๆ โดยวิเคราะห์การแปรปรวนแบบจำแนกสองทาง พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทเท่ากับ 10.00 มิลลิโมลต่อลิตรนั้น ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของฟอสเฟตเท่ากับ 0.03 มิลลิโมลต่อลิตร แตกต่างกับค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี

ความเข้มข้นของฟอสเฟตเท่ากับ 3.39 และ 1.69 มิลลิโมลตามลำดับ โดยที่ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของฟอสเฟตเท่ากับ 3.39 และ 1.69 มิลลิโมลต่อลิตรนั้นไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาการเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไนโตรเตรทเท่ากับ 5.71 มิลลิโมลต่อลิตร พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของฟอสเฟตเท่ากับ 3.39 และ 1.69 มิลลิโมลต่อลิตร ไม่แตกต่างกันแต่จะแตกต่างจากค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของฟอสเฟตเท่ากับ 0.03 มิลลิโมล ส่วนที่ระดับฟอสเฟต 1.69 มิลลิโมลต่อลิตร นั้นค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไนเตรท 10.00 และ 5.71 มิลลิโมลต่อลิตร มีค่าไม่แตกต่างกัน ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเลือกเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 5.71 และ 1.69 มิลลิโมล ตามลำดับ

5. การเปลี่ยนแปลงในอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำกรองจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เลี้ยงสต๊อคเมื่อเพิ่มการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยน้ำแข็งแห้ง

ในการทดลองที่ใส่น้ำแข็งแห้งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าเมื่อค่าพีเอชที่ระดับต่างๆของน้ำแข็งแห้งมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test พบว่าค่าพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้ง 5.00 และ 10.00 กรัมต่อลิตร นั้นมีค่าไม่แตกต่างกันแต่จะแตกต่างกับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีน้ำแข็งแห้ง และค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำที่ได้จากการกรองเอาเซลล์ออกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำที่ได้จากการกรองเอาเซลล์ออกและใส่น้ำแข็งแห้ง 5.00 และ 10.00 กรัมต่อลิตรนั้นมีค่าไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เนื่องจากการเพิ่มน้ำแข็งแห้งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นมีผลทำให้คาร์บอนไดออกไซด์แตกตัวเป็นอิอนต่างๆ ดังสมการที่ 1 ในบทที่ 2 โดยจะเกิดได้ไฮโดรเนียมอิออนขึ้น มีผลทำให้ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง

จากผลการทดลองเมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายที่ระดับต่างๆของน้ำแข็งแห้ง โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว พบว่ามีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test พบว่าค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ใส่น้ำแข็งแห้งนั้นมีค่าแตกต่างกับค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้ง 5.00 และ 10.00 กรัมต่อลิตร โดยที่ค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้ง 5.00 และ 10.00 กรัมต่อลิตร นั้นจะไม่มีความแตกต่างกัน เพราะเมื่อใส่น้ำแข็งแห้งลงใน

อาหารเลี้ยงเชื้อน้ำแข็งแห้งจะเปลี่ยนรูปเป็นกรดคาร์บอนิก ไบคาร์บอเนต และคาร์บอเนตอิออน ดังสมการที่ 1-5 ในบทที่ 2 เมื่อมีการละลายน้ำแข็งแห้งมากจะทำให้มีคาร์บอนไดออกไซด์ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อมากขึ้นด้วย

ส่วนค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการใส่น้ำกรองที่ได้จากการกรองเอาเซลล์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำกรองและไม่ใส่น้ำแข็งแห้งมีค่าใกล้เคียงกับค่าคาร์บอนไดออกไซด์ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ใส่น้ำแข็งแห้ง ซึ่งเป็นไปได้ว่าผลการเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไม่ขึ้นกับแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่น้ำที่ใช้เลี้ยงเซลล์แล้วกรองเอาเซลล์ออก

ส่วนการที่ค่าอัลคาลินิตี้ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ให้กับอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเนื่องจากการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ ดังที่อานนท์ สนิทวงศ์ ณ อยุธยา (2539) ได้กล่าวว่าการเติมก๊าซที่มีสมบัติเป็นกรดอ่อนหรือเป็นกลาง เช่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองพบว่าค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้งในปริมาณต่างๆ กันนั้นไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และค่าอัลคาลินิตี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำที่ได้จากการกรองและใส่น้ำแข็งแห้งระดับต่างๆนั้นพบว่า ค่าอัลคาลินิตี้ในทุกการทดลองที่ใส่น้ำที่ได้จากการกรองนี้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

จากค่าการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชุดการทดลองคือชุดที่ใส่และไม่ใส่น้ำที่ได้จากการกรองเอาเซลล์ออกนั้นพบว่ามีค่าการเปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างกัน และจากค่าการเปลี่ยนแปลงในชุดการทดลองที่มีการใส่เซลล์สาหร่ายพบว่ามีค่าการเปลี่ยนแปลงมากกว่าในชุดการทดลองที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ใส่อะไรและชุดการทดลองที่ใส่น้ำที่ได้จากการกรอง สรุปได้ว่าผลของกระบวนการทางเคมีในอาหารเลี้ยงเชื้อและผลทางกระบวนการชีวภาพจากแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนอยู่ในน้ำที่กรองเอาเซลล์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นมีผลเพียงเล็กน้อยต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัลคาลินิตี้ และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ

6. การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์

การเพิ่มน้ำแข็งแห้งเป็นการเพิ่มอนินทรีย์คาร์บอนในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ ซึ่งมีผลทำให้พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง จากการทดลองเมื่อเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III ที่มีค่าความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน 3 ระดับ พบว่า การเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเท่ากับ 1.39$\pm$0.12 ต่อวัน ซึ่งมีค่าสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ใส่น้ำแข็งแห้งและใส่น้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเท่ากับ 1.36$\pm$0.12 และ 1.32$\pm$0.16 ต่อวัน ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยของคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้งปริมาณต่างๆ พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตนี้ไม่มีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 แต่เมื่อพิจารณาถึงจำนวนเซลล์สุงสุดของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้งปริมาณต่างๆ พบว่าคลอเรลลามีการเติบโตดีที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 5 กรัมต่อลิตร คือมีจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ 1.03$\pm$0.16x10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีน้ำแข็งแห้งและมีน้ำแข็งแห้งเท่ากับ 10 กรัมต่อลิตร นั้นมีจำนวนเซลล์เท่ากับ 1.13$\pm$0.06x10^6 และ 8.55$\pm$1.64x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับซึ่งจำนวนเซลล์ของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ใส่น้ำแข็งแห้งมีค่าต่ำสุด แสดงว่าคาร์บอนไดออกไซด์เป็นปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย

เมื่อเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ในรูปของน้ำแข็งแห้งแก่อาหารเลี้ยงเชื้อมีผลทำให้พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงและพบว่าทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาเพิ่มขึ้นดังเห็นได้จากการเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเท่ากับ 1.39$\pm$0.12 ต่อวัน ซึ่งมีค่าสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ใส่น้ำแข็งแห้งและใส่น้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเท่ากับ 1.36$\pm$0.12 และ 1.32$\pm$0.16 ต่อวัน ตามลำดับ แสดงว่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ แต่ในการทดลองที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัมต่อลิตรนั้นมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตต่ำกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร อาจเป็นไปได้ว่าปริมาณน้ำแข็งแห้งที่ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณ 10.00 กรัมต่อลิตรนั้นมีคาร์บอนไดออกไซด์ละลายอยู่มากเกินไปจึงทำให้มีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตคือมีค่าสัมประสิทธิ์ลดลง แต่เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยของคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้งปริมาณต่างๆ พบว่าค่า

สัมประสิทธิ์การเติบโตนี้ไม่มีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 แต่เมื่อพิจารณาถึงจำนวนเซลล์สุงสุดของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำแข็งแห้งปริมาณต่างๆ พบว่าคลอเรลลามีการเติบโตดีที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำแข็งแห้ง 5 กรัมต่อลิตร คือมีจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ $1.03\pm0.16\times10^{7}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีน้ำแข็งแห้งและมีน้ำแข็งแห้งเท่ากับ 10 กรัมต่อลิตร นั้นมีจำนวนเซลล์เท่ากับ $1.13\pm0.06\times10^{6}$ และ $8.55\pm1.64\times10^{6}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับซึ่งจำนวนเซลล์ของสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ใส่น้ำแข็งแห้งมีค่าต่ำสุด แสดงว่าคาร์บอนไดออกไซด์เป็นปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย ทั้งนี้ในสาหร่ายสกุลเดียวกันหรือชนิดเดียวกันอาจมีความสามารถในการใช้รูปแบบอิออนของอนินทรีย์คาร์บอนที่แตกต่างกัน เช่น *Chlorella vulgaris* สายพันธุ์ 11h และ *Chlorella miniata* มีความสามารถในการใช้คาร์บอนไดออกไซด์มากกว่า ไบคาร์บอเนตอิออน ส่วน *Chlorella vulgaris* สายพันธุ์ c-3 และ *Chlorella ellipsoidea* มีความสามารถในการใช้ไบคาร์บอเนตออนมากกว่า แต่ *Chlorella pyrenoidosa* สามารถใช้อนินทรีย์คาร์บอนได้ทั้งสองแบบคือทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำและไบคาร์บอเนตอิอ่อน โดยที่ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูง *Chlorella pyrenoidosa* จะใช้คาร์บอนในรูปคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำจะใช้คาร์บอนในรูปของไบคาร์บอเนตอิออน (Miyachi, Tsuzuki และ Avramova, 1983) ในการใส่น้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงเป็นซึ่งที่ค่าพีเอชนี้จะมีคาร์บอนอยู่ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์มากกว่าไบคาร์บอนเนตและคาร์บอเนต แสดงว่า สาหร่ายคลอเรลลาชนิดนี้สามารถใช้ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ได้ดี

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมน้ำแข็งแห้งและผสมน้ำแข็งแห้ง 5 และ 10 กรัมต่อลิตร มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงจากเมื่อเริ่มต้นการทดลองเท่ากับ 17.11 ± 2.57, 310.96 ± 71.53 และ 314.86 ± 31.53 มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ามีค่าเท่ากับ 27.7, 95.35 และ 87.93 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณเริ่มต้น ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อของสาหร่ายที่ผสมน้ำแข็งแห้งปริมาณ 5 กรัมต่อลิตร ลดลงมากกว่าที่สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมน้ำแข็งแห้งและผสมน้ำแข็งแห้ง 10 กรัมต่อลิตร แสดงว่าสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการผสมน้ำแข็งแห้ง 5 กรัมต่อลิตร มีความสามารถในการใช้คาร์บอนไดออกไซด์มากกว่าที่สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมน้ำแข็งแห้งและที่ผสมน้ำแข็งแห้ง 10 กรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อสังเกตค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายพบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำแข็งแห้ง 5 กรัมต่อลิตร นั้นมีค่ามากกว่าด้วยเช่นกัน แต่เมื่อพิจารณาค่าคาร์บอนรวมในเซลล์ของสาหร่าย

คลอเรลลานั้นพบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำแข็งแห้ง 10 กรัมต่อลิตร นั่นมีค่าคาร์บอนรวมในเซลล์มากกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมน้ำแข็งแห้งและผสมน้ำแข็งแห้ง 5 กรัมต่อลิตร นั่นคือคาร์บอนรวมในเซลล์ของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีน้ำแข็งแห้งและมีน้ำแข็งแห้งเท่ากับ 5 และ 10 กรัมต่อลิตรมีค่าเท่ากับ 1.28, 1.56 และ 3.13 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ แสดงว่าความสามารถในการเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์เป็นมวลของสาหร่ายมีความสัมพันธ์กับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ นั่นคือสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อมากนั้น สาหร่ายสามารถเอาคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำไปใช้สร้างเป็นมวลได้มากขึ้น เมื่อพิจารณาถึงขนาดเซลล์ของในแต่ละการทดลอง พบว่าขนาดเซลล์ไม่แตกต่างกันเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นในทุกการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมน้ำแข็งแห้งมีอัตราการลดลงของค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายต่ำกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำแข็งแห้ง 5.00 และ 10.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์ตลอดการทดลองเท่ากับ 36.93 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาค่าคาร์บอน ในเซลล์และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำสามารถเขียนเป็นสมการการถดถอยเพื่อใช้ใน การทำนายค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำได้ดังนี้

$$y = 2.98x-0.034x^2-54.35 \qquad (r^2=1)$$

โดยที่ y = ปริมาณคาร์บอนในเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลา (มิลลิกรัมต่อลิตร)

x = ค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตร มีอัตราการลดลงของค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายสูงที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การลดลงตลอดการทดลองเท่ากับ 72.27 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาค่าคาร์บอนในเซลล์และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำสามารถเขียนเป็นสมการการถดถอยเพื่อใช้ในการทำนายค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำได้ดังนี้

$$y = 128.6x^{-0.702} \qquad (r^2=0.76)$$

โดยที่ y = ปริมาณคาร์บอนในเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลา (มิลลิกรัมต่อลิตร)

x = ค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำแข็งแห้ง 10.00 กรัมต่อลิตร มีอัตราการลดลงของค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์ตลอดการทดลองเท่ากับ 65.32 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาค่าคาร์บอนในเซลล์และ

คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำสามารถเขียนเป็นสมการการถดถอยเพื่อใช้ในการทำนายค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำได้ดังนี้

$$y = 71.05e^{-0.02x} \qquad (r^2=0.99)$$

โดยที่ y = ปริมาณคาร์บอนในเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลา (มิลลิกรัมต่อลิตร)

x = ค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

จะเห็นว่าค่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำแข็งแห้ง 5.00 และ 10.00 กรัมต่อลิตรตามลำดับนั้นมีเปอร์เซ็นต์การลดลงที่สูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมน้ำแข็งแห้งประมาณ 1.96 และ 1.77 เท่าตามลำดับ และจากสมการการถดถอยจะเห็นได้ว่าการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีน้ำแข็งแห้งนั้นจะมีการลดลงที่ช้ากว่าในชุดการทดลองอื่นๆ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 6

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1. ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาแยกจากสายพันธุ์ของสถานีประมงน้ำจืดจังหวัดปทุมธานี โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NS III ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (60 $\mu Em^{-2}s^{-1}$) อุณหภูมิเฉลี่ย 30 องศาเซลเซียส และช่วงมืดและ ช่วงสว่าง เท่ากับ 12 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ มีค่าเท่ากับ 1.91$\pm$0.29 ต่อวัน

2. สาหร่ายคลอเรลลาสายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จะไม่เติบโตในสภาวะที่มีค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4.10

3. ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 4.6, 5.1, 5.6, 6.1 และ 6.6 พบว่าไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แต่มีแนวโน้มว่าสาหร่ายคลอเรลลาเติบโตได้ดีเมื่อพีเอชมากกว่า 5.60

4. สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของไนเตรทและฟอสเฟตเท่ากับ 10.00 และ1.69 มิลลิโมลต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตสูงที่สุดคือ 1.36$\pm$0.01 ต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่มีการแปรผันของไนเตรทระหว่าง 10.00 ถึง 1.48 มิลลิโมล และฟอสเฟตระหว่าง 3.39 ถึง 0.03 มิลลิโมล

5. ประสิทธิภาพการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายสูงที่สุดเมื่อใส่น้ำแข็งแห้ง 5 กรัมต่อลิตร คือปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง 95.35 เปอร์เซ็นต์ หรือเป็นปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ 310.96$\pm$71.53 มิลลิกรัมต่อลิตรและมีความสามารถในการเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นมวลได้ดีในสภาวะที่มีน้ำแข็งแห้ง 10 กรัมต่อลิตร โดยมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในเซลล์เพิ่มขึ้น 3.13 มิลลิกรัมคาร์บอนต่อลิตรต่อวัน

6. สมการการเพิ่มขึ้นของคาร์บอนในเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลาเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำแข็งแห้ง 5.00 กรัมต่อลิตรนั้นมีอัตราการลดลงของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำสูงที่สุด โดยมีค่าสมการถดถอยดังนี้

$$y = 4.78x^2-71.89x+296.54 \qquad (r^2 = 0.95)$$

โดยที่

y = ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (มก.คาร์บอนไดออกไซด์ต่อลิตร)

x = เวลา (วัน); $x<10$

ข้อเสนอแนะ

1. ผลการทดลองนี้แสดงถึงความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่ายคลอเรลลาในการลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ แต่เนื่องจากการทดลองขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ จึงควรมีการศึกษาในระบบ Continuous culture ที่มีการเก็บเกี่ยวมวลของสาหร่ายออกไปเพื่อใช้ประโยชน์และมีการใช้คาร์บอนโดยสาหร่ายอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา
2. ควรมีการทดลองนำก๊าซที่ปล่อยออกจากโรงงานมาทดลองจริงกับสาหร่ายเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้สาหร่าย
3. น่าจะมีการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่ายคลอเรลลานี้ในการกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และบำบัดน้ำเสียจากโรงงานควบคู่กันไปพร้อมกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เจอรัล โฟลเลย์. 2538. โลกร้อน: บทเรียนจากอนาคต. แปลโดย วิฑูรย์ ปัญญากุล กรุงเทพมหานคร: สถาบันชุมชนท้องถิ่นพัฒนา.

มานิทย์ อัศวอารีย์ และธิดา เพชรมณี 2534. ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของคลอเรลล่าในห้องปฏิบัติการ เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2534. สถานีวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา.

มนุวดี หังสพฤกษ์. 2532. สมุทรศาสตร์เคมี. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มูลนิธิโลกสีเขียว. 2535. หนังสือชุดโลกสีเขียว: อากาศ.ม.ท.ป.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2539. คู่มือการเลี้ยงแพลงค์ตอน. ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อานนท์ สนิทวงศ์ ณ อยุธยา. 2539. ระบบคาร์บอเนตในแหล่งน้ำธรรมชาติ. เอกสารประกอบการสอนวิชาสมุทรศาสตร์เคมี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (เอกสารอัดสำเนา)

อัมพร อึ้งปกรณ์แก้ว. 2540. เครื่องวิเคราะห์คาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน ซัลเฟอร์ และออกซิเจน (CHNS/O Analyser). Journal of Strec. 6(1): 51-71.

ภาษาอังกฤษ

Amoroso, G., Sültemeyer, D., Thyssen, C. and Fock, H.P. 1998. Uptake of HCO_3^- and CO_2 in cells and chloroplasts from the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Dunaliella tertiolecta*. Plant Physiol 116: 193-201.

Beaker, E.W. 1994. Microalgae: biotechnology and microbiology. Cambridge: Cambridge University Press.

Bold, H.C. and Wynne, M.J. 1978. Introduction to the algae: structure and reproduction. New Jersey: Prentice-Hall.

Bowes, G.W. 1969. Carbonic anhydrase in marine algae. Plant Physiol 44: 726-732. cited in M., Tsuzuki and Y., Miyachi, The function of carbonic anhydrase in aquatic photosynthesis. Aquatic Botany 34: 85-104. 1989.

Bray, C.M. 1983. Nitrogen metabolism in plants. New York: Longman.

Burlew, J.S.(ed.) 1953. Algal culture: from laboratory to pilot plant. Washington D.C.: Kirby Lithographic.

Burkholder, P.R. 1933. Quart. Rev. Biol., 9: 438. cited in G.S., Venkataraman. The cultivation of algae. New Delhi: Job Press Private. 1969.

Dean, J.A., 1999. Lenge's handbook of Chemistry. 15th ed. USA: McGraw-Hill.

Eaton. A.D., Clesceri, L.s. and Greenberg, A.E. (eds.) 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19th ed. Washington: American Public Health Association.

Fogg, G.E. 1960. In Proc. Symp. Algology. pp. 115-119. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi. Cited in G.S. Venkataraman. The cultivation of algae. New Delhi: Job Press Private. 1969.

Gehl, K.A. and Colman, B. 1985. Effect of external pH on the internal pH of *Chlorella saccharophila*. Plant Physiol 77: 917-921.

Gimmler, H. and Weis, U. 1992. *Dunaliella acidophila* : life at pH 1.0 In M. Aveon and A. Ben-amotz (eds.), Dunaliella: physiology, biochemistry and biotechnology. pp. 99-133. Florida: CRC.

Goldman,J.C., Porcella, D.B., Middlebrooks, E.J. and Toerien, D.F. 1972. The effect of carbon on algal growth-its relationship to eutrophication. Water Res 6:637-679. cited in P.G. Brewer and J.C. Goldman. 1976. Alkalinity changes generated by phytoplankton growth. Limnol Oceangr 21(1):108-117.

Graves, L. and Reavy, D. 1996. Global Environmental change : plants, animals and communities. Essex: Longman.

Herzog, H.J. and Edmond, J. 1994. Diposing of CO_2 in the ocean. In J. Paul and C. Pradier (eds.), Carbon dioxide chemistry: environmental issues, pp. 329-337. Cambridge: Athenaeum.

Hoek, C.V., Mann, D.G. and Jahns, H.M. 1995. Algae: an introduction to phycology. USA: Cambridge University press.

Hopkins E.F. and Wann, F.B. 1925. J gen Physiol, 9:205. cited in G.S. Venkataraman, The cultivation of algae. New Delhi: Job Press Private. 1969.

Hoshaw, R.W., and Rosowki, J.R. 1973. Methods for microscopic algae. In J.R. Steins

(ed.), Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements, pp. 53-68. USA: Cambridge University Press.

Joo, O.S., Jung, K.D., Han, S.H. and Uhm, S.J. 1994. Effects of compositional changes of Cu/ZnO, Cu/Al_2O_3, Cu/ ZnO/Al_2O_3 catalysts on methanol synthesis from CO_2 hydrogenation. In J. Paul and C. Pradier (eds.), Carbon dioxide chemistry: environmental issues, pp. 93-101. Cambridge: Athenaeum.

Kanai, Y., Watanabe, T. and Saito, M. 1994. Catalytic conversion of carbon dioxide to methanol over palladium-promoted Cu/ZnO catalysts. In J. Paul and C. Pradier (eds.), Carbon dioxide chemistry: environmental issues, pp. 102-109. Cambridge: Athenaeum.

Kemp, D.D. 1990. Global environment issues: a climatological approach. 1st ed. London: Routledge. P.14

Kodama, M., Ikemoto, H. and Miyachi, S. 1993. A new species of highly CO_2- tolerant-growing marine microalga suitable for high-density culture. J Mar Biotechnol 1: 21-25.

Kurano, N., Ikemoto, H., Miyashita, H., Hasegawa, T., Hata, H. and Miyachi, S. 1995. Fixation and utilization of carbon dioxide by microalgal photosynthesis. Energy Converse. Mgmt 36(6-9): 689-692.

Laws, E.A. and Berning,J.L. 1991. A study of the energinics and economica of microalgal mass culture with the marine chlorophyte *Tetraselmis suecica*: implications for use of power plant stack gases. Biotech Bioeng 37: 936-947.

Leu, P.S., Tam, N.F.Y. and Wong, Y.S. 1996. Wastewater nutrients removal by *Chlorella vulgaris* :optimization through acclimation. Environ Tech 17:183-189.

Leu, P.S., Tam, N.F.Y. and Wong, Y.S. 1997. Wastewater nutrients(N and P) removal by carragenan and alginate immobilized *Chlorella vulgaris*. Environ Tech 18:945-951.

Matsumoto, H., Hamasaki, A. and Sioji, N. 1997. Influence of CO_2, SO_2 and NO in flue gas on microalgae productivity. J Chem Eng Japan 30(4): 620-624.

Miyachi, S. 1997. Use of microalgae as a measure to counter increasing atmospheric CO_2 concentration. Abstract of the 2nd Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference and 3rd Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology.3-4

Miyachi, S., Tsuzuki, M. and Avramova, S.T. 1983. Utilization modes of inorganic carbon for photosynthesis in various species of *Chlorella*. Plant Cell Physiol. 24(3): 441-451.

Murakami, M. and Ikenouchi, M. 1997. The biological CO_2 fixation and utilization project by RITE (2)- screening and breeding of microalgae with high capability in fixing CO_2. Energy Converse. Mgmt 38(Suppl): S493-S497.

Noda, H., Saji, A., Sakai, M., Tanii, T., Kamata, T. and Kitamura, H. 1994. Extended CO_2 phase analysis: clathrates hydrates. In J. Paul and C. Pradier (eds.), Carbon dioxide chemistry: environmental issues, pp. 338-347. Cambridge: Athenaeum.

O'riordan, T. ed. 1995. Environmental science for environmental management. Singapore: Longman.

Parker, S.P.ed. 1992. McGraw-Hill encyclopedia of chemistry. 2nd ed. New York: McGraw-Hill.

Pesheva, I., Dionoisio-Sese, M.L. and Miyachi, S. 1994. Changes in photosynthetics induced by transferring air-grown cells of *Chlorococcum littorale* to high - CO_2 conditions. Plant Cell Physiol 35(3): 379-387.

Pronina, N.A., Kurano, N., Ikemoto, H., and Miyachi, S. 1994. Capability of regulating intracellular pH in various green algae grown under different CO_2 concentrations. (CD-ROM). 3rd International Marine Biotechnology Conference :Program, Abstracts, and Lists of Participants. Tromsoe, Norway. p.120. Abstract from: Life Sciences 1993-1995 Item: 3630096

Pruder, G.D.and Bolton, E.T. 1979. The role of CO_2 enrichment of aerating gas in the growth of an estuarine diatom. Aquaculture 17: 1-15.

Sharma, O.P. 1992. Textbook of algae. London: McGraw-Hill.

Shelp, D.J. and Canvin, D.T. 1980. Utilization of exogenous inorganic carbon species in photosynthesis by *Chlorella pyrenoidosa*. Plant Physiol 65: 774-779. cited in M. Imamura, M. Tsuzuki, Y. Dhiraiwa and S. Miyachi 1983. From of inorganic carbon utilizied for photosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Cell and Physiol 24(3): 533-540.

Shido, Y., Fujioka, Y., Takeuchi, K., Hakuta, T. and Komiyama, H. 1994. Deep sea CO_2 sequeatration. In J. Paul and C. Pradier (eds.), Carbon dioxide chemistry: environmental issues, pp. 348-360. Cambridge: Athenaeum.

Souma, Y., Ando, Y. and Fujiwara, M. 1994. Hydrogenation of carbon dioxide to hydrocarbons. In J. Paul and C. Pradier (eds.), Carbon dioxide chemistry: environmental issues, pp. 110-116. Cambridge: Athenaeum.

Super, M.S., Parks, K.L. and Beckman, E.J. 1994. Carbon dioxide as both solvent and monomer in copolymerizations. In J. Paul and C. Pradier (eds.), Carbon dioxide chemistry: environmental issues, pp. 396-401. Cambridge: Athenaeum.

Takano, H., Takeyama, H., Nakamura, N., Sode, K., Burgess, J.G., Manabe, E., Hirano, M. and Matsunaga, T. 1992. CO_2 removal by high-density culture of a marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. using an improved photobioreactor employing light diffusing optical fibers. Appl Biochem Biotech 34/35: 449-458.

Tam, N.F.Y. and Wong, Y.S. 1996. Effect of ammonia concentrations on growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen removal from media. Bioresource Tech 57: 45-50.

Tsuzuki, M., Ohnuma, E., Sato, N., Takaku, T. and Kawaguchi, A. 1990. Effect of CO_2 concentration during growth on fatty acid composition in microalgae. Plant Physiol 93: 851-856.

Venkataraman, G.S. 1969. The cultivation of algae. New Delhi: Job Press Private.

Vymazal, J. 1995. Algae and element cycling in wetlands. Florida: CRC.

Watanabe, Y., Ohmura, N. and Saiki, H. 1992. Isolation and determination of cultural characteristics of microalgae which functions under CO_2 enriched atmosphere. Energy Converse. Mgmt 33(5-8): 545-552.

Yamasaki, S. and Hirata, H. 1995. CO_2 concentration change in *Nannochloropsis* sp. Culture medium. Aqua Eng 14(4): 357-365.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร NS III (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)

สารเคมี	ปริมาณของสารเคมี (กรัม)	ปริมาตรของสารละลายสุดท้าย (มล.)	ปริมาณการใช้ (มล./ลิตร)
KNO_3	10.11	100	10
KH_2PO_4+	12.00		
$K_2HPO_4.3H_2O$	14.20	100	2
$MgSO_4.7H_2O$	6.20	100	2
$CaCl_2.2H_2O$	0.74	100	2
NaCl	11.68	100	0.1
Micro A		100 มล.ของ A1+1 มล. ของ A2	2
A1			
KBr	0.238	+ HCl 1.2 มล.	
KI	0.166	ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้	
LiCl	0.00848	ปริมาตร 400 มล.	
H_3BO_3	0.0308		
A2			
$ZnSO_4.7H_2O$	0.144	+ HCl 0.3 มล.	
$NiSO_4.6H_2O$	0.658	ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้	
$CoSO_4.7H_2O$	0.070	ปริมาตร 100 มล.	
$CuSO_4.5H_2O$	0.125		
$Al_2(SO_4)_3.18H_2O$	0.167		
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$	0.044		
NH_3VO_3	0.029		
Micro B			2
$MnCl_2.4H_2O$	0.05	+HCl 3 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำ กลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร	
Micro C			
$Fe(NO_3)_3.9H_2O$	0.81	+ HCl 0.6 มล.	2
Na-EDTA	0.75	ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ ปริมาตร 100 มล.	

ภาคผนวก ข การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัลคาลินิตี้ คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับพีเอชต่างๆ

ชุดการทดลอง	ค่าพีเอช		ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต (ต่อวัน)	จำนวนเซลล์สูงสุด (เซลล์/มิลลิลิตร)	ค่าอัลคาลินิตี้ (มก.แคลเซียมคาร์บอเนต/ลิตร)		คาร์บอนไดออกไซด์ (มก.คาร์บอนไดออกไซด์/ลิตร)	
	เริ่มต้น	สุดท้าย			เริ่มต้น	สุดท้าย	เริ่มต้น	สุดท้าย
1	4.77±0.10	5.53±0.13	1.70±0.15	$9.70\pm0.33\times10^{5}$	28.33±0.58	36.33±0.58	161.67±25.58	136.22±3.98
2	5.18±0.06	5.72±0.12	1.70±0.40	$9.39\pm1.23\times10^{5}$	32.00±1.00	41.33±3.21	141.78±25.87	142.56±10.22
3	5.64±0.04	5.93±0.06	1.78±0.14	$1.10\pm0.09\times10^{6}$	41.00±5.57	45.33±2.52	125.22±20.26	129.44±2.22
4	6.12±0.03	6.27±0.04	1.84±0.16	$1.08\pm0.01\times10^{6}$	53.67±9.29	62.00±3.46	110.78±23.19	117.00±2.65
5	6.61±0.03	6.72±0.04	1.76±0.09	$9.50\pm1.08\times10^{5}$	85.33±2.08	93.33±1.53	92.67±3.77	90.55±2.41

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค การเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนและฟอสฟอรัสแตกต่างกันอย่างละ 3 ระดับ โดยให้พีเอชของอาหารเลี้ยงชื้อเริ่มต้น เท่ากับ 4.6

ความเข้มข้น (มิลลิโมล/ลิตร)		N:P	ระยะlag phase (วัน)	ระยะexponential phase (วัน)	จำนวนเซลล์สูงสุด (เซลล์/มล.)	ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต (ต่อวัน)
ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส					
10.00	3.39	2.94:1	-	6	$6.02\pm0.08\times10^5$	1.28 ± 0.01^{cdf}
	1.69	5.92:1	-	9	$5.40\pm0.17\times10^5$	1.36 ± 0.01^{f}
	0.03	333.33:1	-	6	$1.90\pm0.35\times10^5$	1.09 ± 0.03^{a}
5.71	3.39	1.68:1	-	8	$4.98\pm0.75\times10^5$	1.31 ± 0.03^{df}
	1.69	3.38:1	-	8	$5.08\pm0.32\times10^5$	1.32 ± 0.01^{df}
	0.03	190.33:1	-	6	$3.19\pm1.21\times10^5$	1.21 ± 0.03^{bcd}
1.48	3.39	0.44:1	2	6	$5.43\pm0.32\times10^5$	1.16 ± 0.03^{ab}
	1.69	0.87:1	1	6	$5.62\pm0.09\times10^5$	1.25 ± 0.03^{bcdf}
	0.03	49.33:1	4	5	$2.71\pm1.19\times10^5$	1.18 ± 0.03^{abc}

หมายเหตุ: ตัวอักษรมุมบนที่ต่างกันหมายความว่า มีความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 (โดยใช้วิธีของ Duncan's multiple range test)

ภาคผนวก ง การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัลคาลินิตี้ คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลาย ฟอสฟอรัส และไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อของสาหร่ายคลอเรลลา ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนและฟอสฟอรัสแตกต่างกันอย่างละ 3 ระดับ โดยให้พีเอชของอาหารเลี้ยงชื้อเริ่มต้น เท่ากับ 4.6

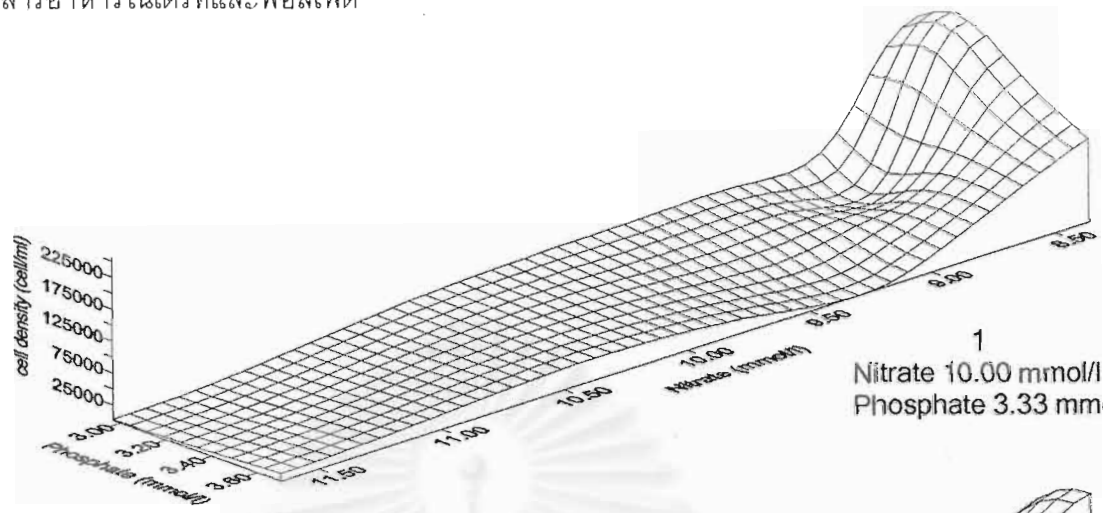
ความเข้มข้น (มิลลิโมล/ลิตร)		N:P	ความเข้มข้นของฟอสเฟต (มิลลิโมล /ลิตร)		ความเข้มข้นของไนเตรท (มิลลิโมล/ลิตร)	
ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส		เริ่มต้น	สุดท้าย	เริ่มต้น	สุดท้าย
10.00	3.39	2.94:1	3.27±0.57	3.27±0.15	9.29±0.61	8.00±0.42
	1.69	5.92:1	1.68±0.04	2.48±0.01	10.46±0.19	8.26±0.16
	0.03	333.33:1	$1.47\pm0.42 \times 10^{-3}$	$4.4\pm0.08 \times 10^{-4}$	11.62±0.43	9.10±0.12
5.71	3.39	1.68:1	3.36±0.12	5.01±0.04	4.01±0.22	3.30±0.41
	1.69	3.38:1	1.68±0.01	2.48±0.05	5.27±0.78	4.57±0.20
	0.03	190.33:1	$8.50\pm1.45 \times 10^{-4}$	$4.20\pm1.50 \times 10^{-4}$	5.42±0.34	6.26±0.47
1.48	3.39	0.44:1	3.84±0.54	4.81±0.26	0.88±0.04	0.99±0.13
	1.69	0.87:1	1.67±0.09	2.40	1.14±0.04	1.35±0.10
	0.03	49.33:1	$8.81\pm3.36 \times 10^{-4}$	3.39×10^{-3}	1.68±0.02	1.81±0.27

ภาคผนวก จ การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัลคาลินิตี้ คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ.คาร์บอนรวมในเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ต่าง ๆ

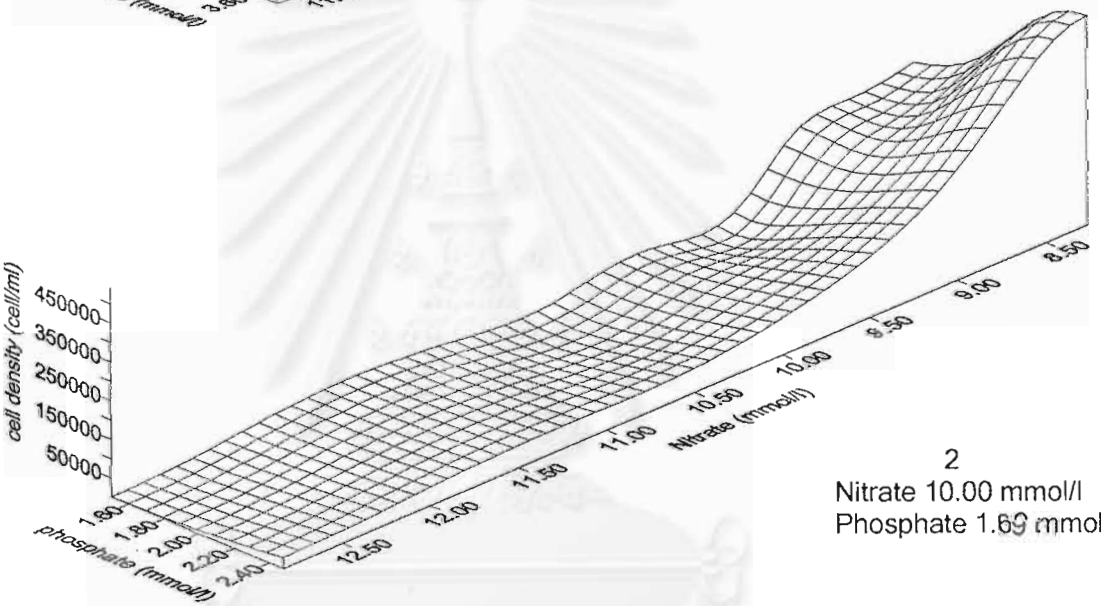
ปริมาณน้ำเข็งแห้ง (กรัม/ลิตร)	ระยะ Exponential Phase (วัน)	จำนวนเซลล์สูงสุด (เซลล์/มล.)	ค่าสปส. การเติบโต (ต่อวัน)	ค่าพีเอช	
				เริ่มต้น	สุดท้าย
0	4	$1.13\pm0.06\times10^{6}$	1.36 ± 0.12	6.45 ± 0.16	6.82 ± 0.26
5	9	$1.03\pm0.16\times10^{7}$	1.39 ± 0.12	5.42 ± 0.24	6.53 ± 0.81
10	9	$8.55\pm1.64\times10^{6}$	1.32 ± 0.16	5.32 ± 0.24	6.12 ± 0.96

ปริมาณน้ำเข็งแห้ง (กรัม/ลิตร)	ค่าอัลคาลินิตี้ (มก.$CaCO_3$/ลิตร)		คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลาย (มก.CO_2/ลิตร)		คาร์บอนในเซลล์ (มิลลิกรัม/ลิตร)	
	เริ่มต้น	สุดท้าย	เริ่มต้น	สุดท้าย	เริ่มต้น	สุดท้าย
0	61.88 ± 25.35	71.25 ± 2.50	64.47 ± 6.89	40.62 ± 6.61	1.38 ± 1.22	11.62 ± 0.48
5	69.06 ± 6.81	90.00 ± 16.71	273.78 ± 115.13	75.93 ± 48.15	2.53	14.95 ± 0.01
10	71.56 ± 8.01	83.13 ± 13.44	329.06 ± 203.7	114.12 ± 107.09	0.17 ± 0.07	25.19 ± 0.48

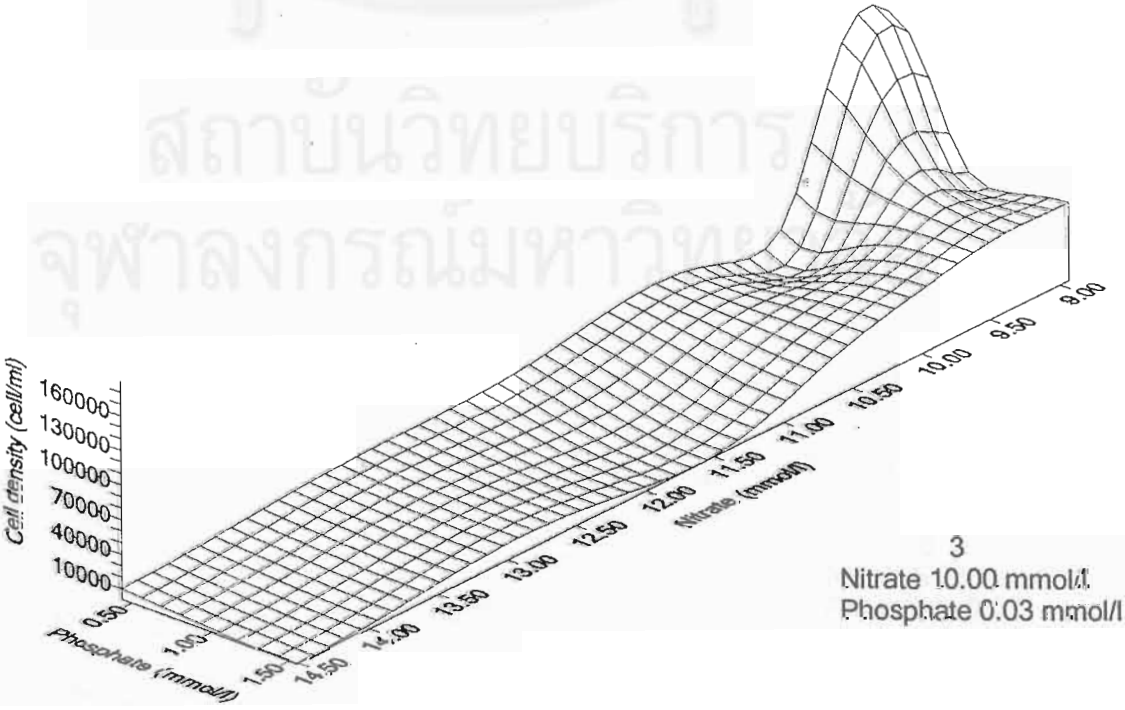
ภาคผนวก ฉ การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของเซลล์เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารอาหารไนเตรทและฟอสเฟต



1
Nitrate 10.00 mmol/l
Phosphate 3.33 mmol/l



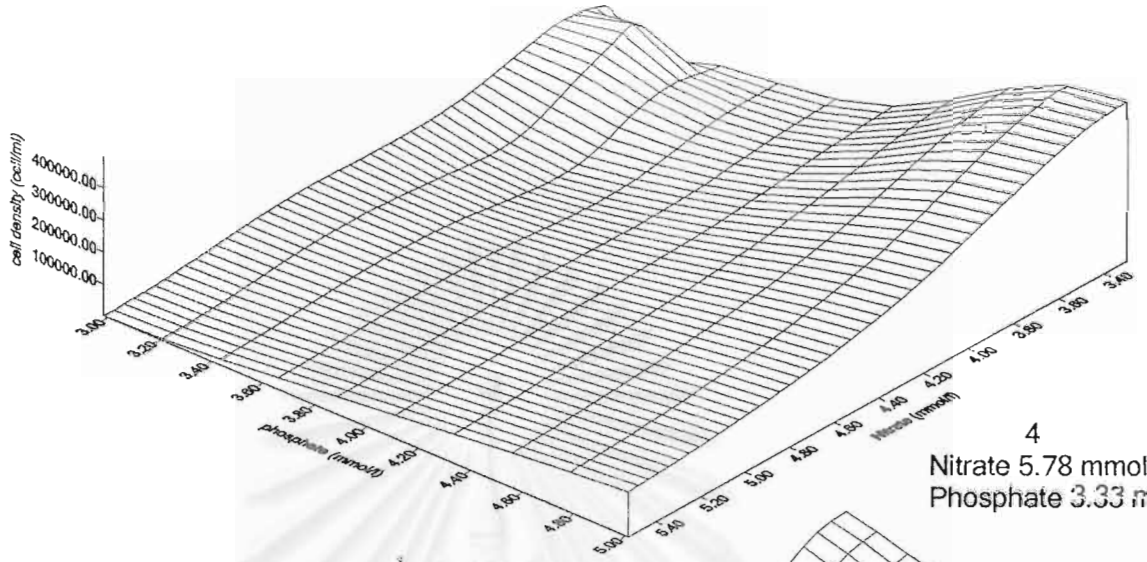
2
Nitrate 10.00 mmol/l
Phosphate 1.69 mmol/l



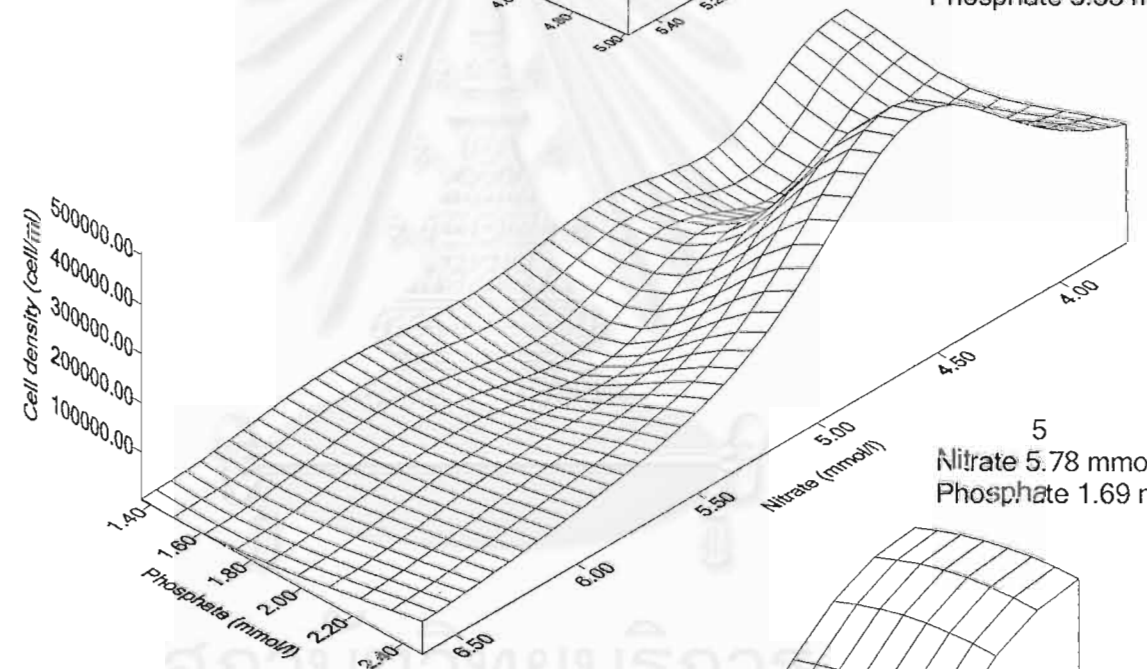
3
Nitrate 10.00 mmol/l
Phosphate 0.03 mmol/l

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

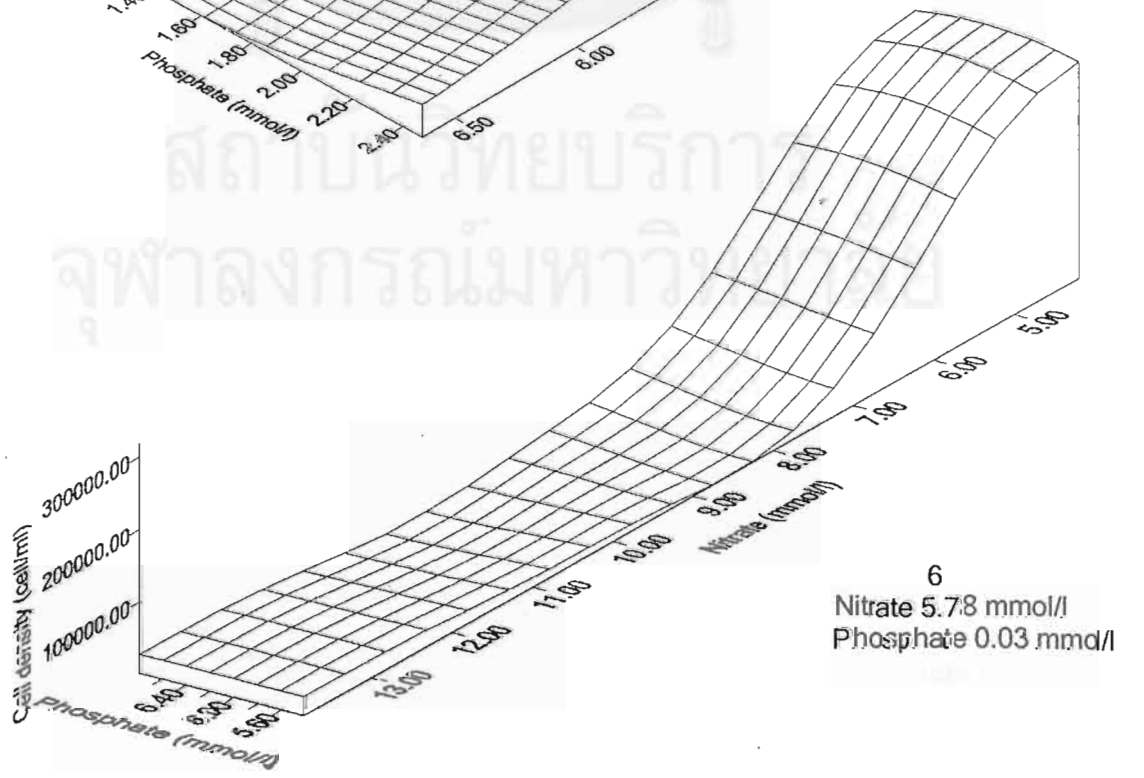
ภาคผนวก ฉ (ต่อ) การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของเซลล์เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารอาหารไนเตรทและฟอสเฟต



4
Nitrate 5.78 mmol/l
Phosphate 3.33 mmol/l

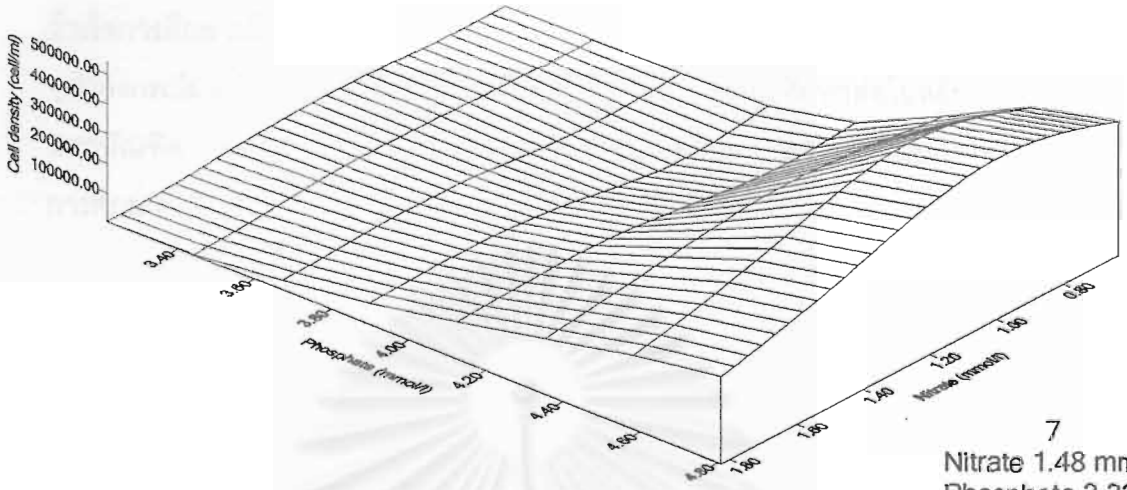


5
Nitrate 5.78 mmol/l
Phosphate 1.69 mmol/l

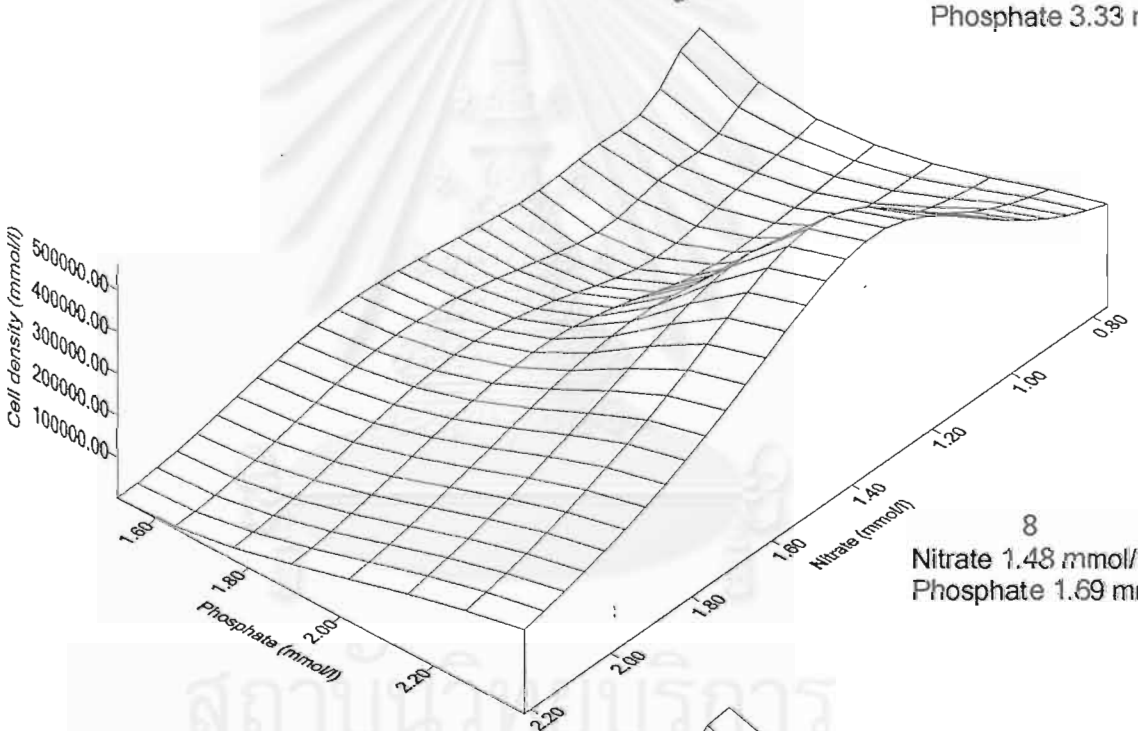


6
Nitrate 5.78 mmol/l
Phosphate 0.03 mmol/l

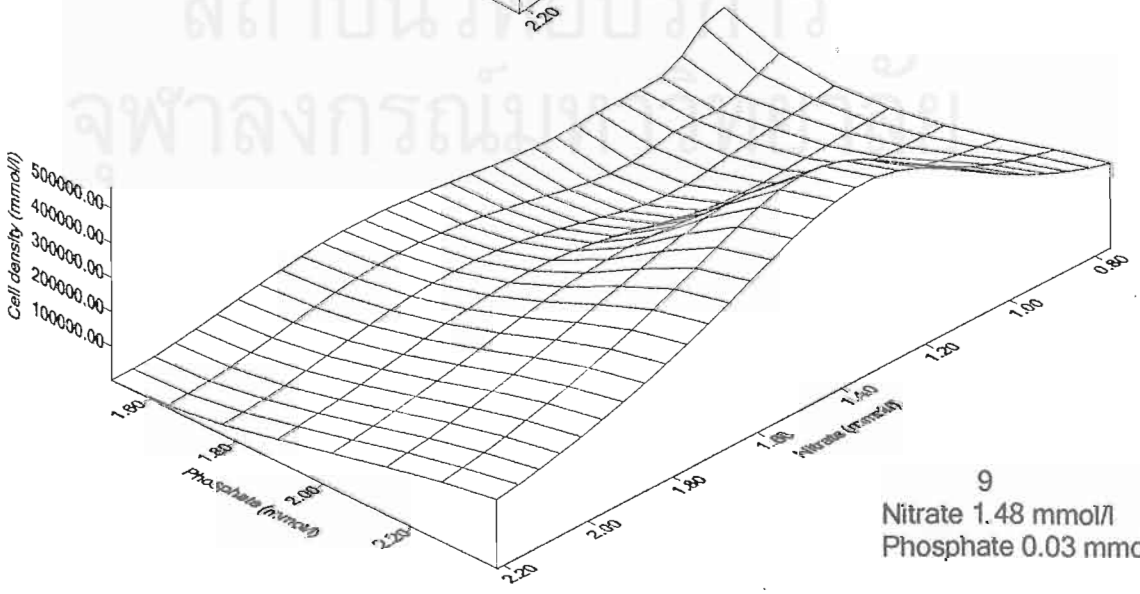
ภาคผนวก ฉ (ต่อ) การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของเซลล์เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารอาหารไนเตรทและฟอสเฟต



7
Nitrate 1.48 mmol/l
Phosphate 3.33 mmol/l



8
Nitrate 1.48 mmol/l
Phosphate 1.69 mmol/l



9
Nitrate 1.48 mmol/l
Phosphate 0.03 mmol/l

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสมรลักษณ์ แจ่มแจ้ง เกิดเมื่อวันที่ 2 กุมภาพันธ์ 2517 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล) จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2538 และศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จากสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2539

พอลนุตกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย