



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย
Chlorella sp. ในห้องปฏิบัติการและกลางแจ้ง

Effects of Temperature And Nutrient on the Growth Rate of
Chlorella sp. in Laboratory and Outdoor

ทัศนภา ว่องสนั่นศิลป์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณประจำปี 2550

จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง พ.ศ. 2551

ผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย
Chlorella sp. ในห้องปฏิบัติการและกลางแจ้ง

ทัศนภาพ ว่องสนั่นศิลป์

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในการทดลองเลี้ยงสาหร่ายในโพลีพลาสติก ซึ่งมีอาหารสูตร Conway, สูตรที่ 3, สูตรที่ 6 เลี้ยงโดยให้ออกซิเจนช่วงรับแสง 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 21 และ 31°C พบว่า การเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตร Conway สาหร่ายมีการเติบโตสูงสุดการเติบโตเท่ากับ 285×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 21°C ระยะเวลาเลี้ยง 12 วัน โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการเติบโตมีแนวโน้มลดลง รองลงมาคือเลี้ยงที่สูตรอาหารที่ 3 มีการเติบโตเท่ากับ 195×10^5 เซลล์/มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 21 °C ระยะเวลาเลี้ยง 12 วัน และจากการวิเคราะห์ทางสถิติ เมื่อเลี้ยงคลอเรลล่าด้วยอาหารต่างชนิดกัน ในห้องปฏิบัติการและกลางแจ้ง พบว่าจำนวนเซลล์ และค่าดูดกลืนแสงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมงมหาวิทยาลัยเทคโนโลยี
ราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

Effects of Temperature And Nutrient on the Growth Rate of *Chlorella* sp. in Laboratory and Outdoor

Tassnapa Wongsansilp

ABSTRACT

The effects of temperature And Nutrient on the Growth Rate of *Chlorella* sp. in Laboratory and Outdoor. The experiment algal cells were grown in 3 food formulas. The light / dark cycle was 16:8 h and the temperature was varie at 21 and 31°C .The highest cell numbers were obtained at 21 °C of 285×10^5 cell/ml on day 12 of Conway media , the the algal growth decreased with increasing temperature. In the second, algal cells were grown in formulas 3 cell numbers were obtained at 21 °C of 195×10^5 cell/ml on day 12 and statistically significant *Chlorella* sp. in 3 food formulas in Laboratory and Outdoor.

¹ Department of Aquaculture , Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of technology Srivijaya , Trang Campus

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	6
วิธีการวิจัย	6
ผลการทดลอง	10
สรุปผลการทดลอง	21
บรรณานุกรม	22
ภาคผนวก	23



สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
15. การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์และค่าการดูดกลืนแสง ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส	37
16. การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจำนวนเซลล์ และค่าการดูดกลืนแสง ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส	38
17. การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ของจำนวนเซลล์และค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี Scheffe	39
18. การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์และค่าการดูดกลืนแสง ที่อุณหภูมิต่างกัน	40
19. การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจำนวนเซลล์ และค่าการดูดกลืนแสง ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส	41
20. การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ของจำนวนเซลล์และค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี Scheffe	42



บทนำ

คลอเรลล่าสามารถพบได้ตามแหล่งน้ำจืดสะอาดทั่วโลก และมีชีวิตนานกว่า 2,500 ล้านปีแล้ว คลอเรลล่าเป็นแพลงก์ตอนที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง สำหรับการใช้เป็นอาหารของไรแดงและโรติเฟอร์ซึ่งเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน นอกจากนี้ก็มีการศึกษาและวิจัยอย่างกว้างขวางเพื่อนำมาผลิตในการบริโภคโดยพบว่า คลอเรลล่ามีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายคน มีดังนี้ มีโปรตีนสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ หรือ 3 เท่าของโปรตีนจากเนื้อสัตว์ ซึ่งช่วยเสริมสร้างและซ่อมแซมเนื้อเยื่อ มีคลอโรฟิลล์ สูงกว่าพืชชนิดอื่นๆ ให้ธาตุเหล็ก เสริมสร้างเม็ดโลหิตแดง และขจัดสิ่งมีพิษออกจากร่างกาย มีสารซี.จี.เอฟ. พบเฉพาะในคลอเรลล่าเท่านั้น ให้พลังมหาศาลแก่นุษย์ ช่วยสร้างความแข็งแกร่งให้กับเซลล์ เสริมสร้างระบบต่อต้านโรคและกระตุ้นร่างกายให้มีชีวิตชีวา มีผนังเซลล์ของคลอเรลล่า มีผลช่วยในการต่อต้านมะเร็งและกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน มีคุณลักษณะพิเศษในการกำจัดสารไฮโดรคาร์บอนและสารโลหะที่เป็นพิษออกจากร่างกายมนุษย์ได้ แต่ผนังเซลล์ของคลอเรลล่ามีความแข็งแกร่งมากจึงทำให้ร่างกายย่อยสลายคลอเรลล่าได้ในปริมาณน้อย มีกรดโฟลิก ช่วยป้องกันมิให้สตรีแท้งบุตร มีวิตามินเอและสารเบต้าแคโรทีน เป็นโปรวิตามินเอ ย่อยง่าย ไม่สะสมจนเกิดพิษในร่างกาย บำรุงสายตา ช่วยให้ปอดแข็งแรงและสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ มีสารไนอาซีน ช่วยบำบัดโรคจิตประสาท ทำให้ร่างกายกระชุ่มกระชวยและยังช่วยเสริมการบำบัดโรคหัวใจ มีแคลเซียมช่วยเสริมสร้างกระดูกและฟัน ทั้งช่วยให้ระบบประสาททำงานได้เต็มที่ มีธาตุเหล็ก ช่วยสร้างเม็ดโลหิตแดงและเป็นตัวนำออกซิเจนไปเลี้ยงร่างกาย นอกจากนี้ก็มีสังกะสีที่ช่วยสร้างสมรรถรูปของสมองและช่วยให้ร่างกายฟื้นไข้เร็ว

การเลี้ยงคลอเรลล่าสำหรับใช้เป็นอาหารของไรแดงหรือโรติเฟอร์ในปัจจุบันนั้น มีการเลี้ยงกันโดยใช้อาหารหลายชนิด เช่นปุ๋ยหรือมูลสัตว์ต่างๆ ดังนั้นเมื่อเลี้ยงก็จะได้คลอเรลล่าที่ปนเปื้อนกับเชื้อโรคต่างๆ ซึ่งจะมีผลทำให้สัตว์น้ำวัยอ่อนติดโรคจากอาหารที่เลี้ยงได้ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จะใช้อาหารซึ่งเป็นปุ๋ยวิทยาศาสตร์ในการทดลองเลี้ยงคลอเรลล่าดังกล่าวเพื่อให้คลอเรลล่าที่ได้จะไม่ต้องปนเปื้อนด้วยเชื้อโรค

สาหร่ายสีเขียวเป็นพวกที่พบทั่วไปทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย และในทะเล หรือแม้แต่บนดินก็ขึ้นอยู่ได้ขนาดมีตั้งแต่ขนาดเล็กมาก ซึ่งประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว ไปจนถึงขนาดใหญ่มีลักษณะเป็นต้นหรือทาลัส พวกที่มีขนาดเล็กมักอยู่ในลักษณะเป็นแพลงก์ตอน ส่วนพวกที่มีขนาดใหญ่มักมีที่ยึดเกาะ สาหร่ายชนิดนี้พบในน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่ ในน้ำเค็มมีบ้างตามที่ขึ้นและทั่วไป เปลือกไม้ ใบไม้ ก้อนหินเปียกๆ และบนหิมะก็มี บางชนิดก็มีชีวิตแบบ epiphyte บางชนิดก็เป็น symbiosis กับพวกรา เกิดเป็น lichen และบางชนิดก็เป็น parasite ของพืชชั้นสูง รงควัตถุที่อยู่ภายในเซลล์ของสาหร่ายพวกนี้ประกอบด้วย Chlorophyll a , Chlorophyll b, Carotene, Carotenoid, Xanthophyll รงควัตถุทั้งหมดนี้จะ

ประกอบกันด้วยอัตราส่วนที่เหมือนกับพืชชั้นสูง จึงทำให้มีสีเขียวสด รังควัตถุทั้งหมดนี้จะรวมกันอยู่ภายใน plastid ที่มีชื่อว่าคลอโรพลาสต์ อาจจะมี 1 อันหรือมากกว่า 1 อัน คลอโรพลาสต์ของสาหร่ายชนิดนี้มีรูปร่างหลายแบบด้วยกัน เช่น รูปร่างเป็นคล้ายร่างแห , รูปร่างเป็นเม็ด ๆ, รูปร่างเป็นแผ่น ,รูปร่างเป็นเกลียว ,รูปร่างเป็นรูปดาว,รูปร่างเป็นรูปตัว U ด้วยเหตุนี้เองจึงมีสาหร่ายที่ถูกแบ่งออกเป็น family และ genus ต่าง ๆ โดยใช้ลักษณะการแตกต่างของรูปของคลอโรพลาสต์มาแบ่งเป็นกลุ่มย่อย ๆ สาหร่ายบางพวกก็ใช้ลักษณะรูปร่างของคลอโรพลาสต์มาตั้งเป็นชื่อของสาหร่ายนั้น เช่น สาหร่ายสีเขียวชนิดหนึ่งมีคลอโรพลาสต์พื้นเป็นเกลียว ก็เลยเรียกสาหร่ายนั้นว่า Spirogyra ซึ่งมาจากคำว่า Spiral นั่นเองผนังเซลล์ของสาหร่ายสีเขียวประกอบด้วย cellulose ซึ่งบางชนิดก็มี pectin มาเคลือบอยู่ภายนอกบาง ๆ บางชนิดก็มี chitin เคลือบบาง ๆ ด้วย บางชนิดก็จะมี calcium carbonate แทรกอยู่ในชั้นของ pectin layer นิเวศวิทยาของสาหร่ายสีเขียวคล้ายคลึงกับของพืชชั้นสูง โดยมีรูปร่างเป็นกลุ่มก้อนเห็นได้ชัดเจน (eukaryotic nucleus) แต่ละเซลล์ก็มีนิวเคลียส 1 อัน ซึ่งอาจจะมี nucleolus 1 หรือมากกว่า 1 อยู่ในไซโทพลาซึม ยกเว้นในบางชนิดเท่านั้นที่จะมีหลาย ๆ นิวเคลียสภายใน 1 เซลล์ นอกจากนี้แล้วยังมีแวคิวโอลขนาดใหญ่อยู่ภายในเซลล์อีกด้วย พวก motile cell จะมี contractile vacuole ซึ่งอยู่ใกล้ฐานของ flagellum อาหารที่เก็บไว้ก็คือ pyrenoids ฝังอยู่ในคลอโรพลาสต์ เข้าใจว่า pyrenoid นี้เป็นโครงสร้างที่มีโปรตีนเป็นแกนกลางและมีแผ่นแป้งหุ้มล้อมรอบอยู่เนื่องจากสาหร่ายสีเขียวมีจำนวนมากมาย ดังนั้นจึงมีรูปร่างหลายชนิด มีตั้งแต่เซลล์เดียวจนถึงหลายเซลล์ พวกที่มีรูปร่างเซลล์เดียวอาจจะเคลื่อนที่ได้ หรือเคลื่อนที่ไม่ได้ ถ้าเคลื่อนที่ได้ก็มักจะมี flagellum อยู่ทางด้านหน้า flagellum อาจจะมี 1,2 หรือ 4 เส้นซึ่งแต่ละเส้นมักจะยาวเท่า ๆ กันพวกที่อยู่เป็นโคโลนีอาจจะเป็นพวกเซลล์เดียวมาอยู่รวมกันหรือเป็นพวกหลายเซลล์ก็ได้ โดยจะอยู่เป็นกลุ่มหรือเป็นสายยาว หรือเป็นแผ่น หนาหลายชั้นก็มีทั้ง 2 พวกนี้อาจจะมีเมือกหุ้มหรือไม่ก็ได้

Chlorella sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีรูปร่างกลม ๆ เซลล์เดี่ยว ขนาดเล็กมากจนไม่สามารถจะศึกษาโครงสร้างภายในเซลล์ได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ภายในเซลล์มีคลอโรพลาสต์ ที่เป็นแผ่นและโค้งเป็นรูปตัวยูอยู่ทางด้านหนึ่งของเซลล์ มีนิวเคลียส ไมโทคอนเดรียและแวคิวโอลด้วยพบได้ตามน้ำจืดทั่วไป หรือภายในเซลล์หรือเนื้อเยื่อของพวกฟองน้ำ *Stentor*, *Paramecium* และ *Hydra* สืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่อาจจะเป็น 2, 4 , 8 หรือ 16 สปอร์ เมื่อออกมาจากเซลล์แม่แล้วก็เจริญเติบโตเป็นเซลล์ของ *Chlorella* ใหม่ต่อไป

การทำสต็อกของคลอเรลลา ทำได้ดังนี้ ใช้พลาสติกแก้วความจุ 250 มล. ใส่สารละลายคอนเวย์ อุณหภูมิในการเลี้ยง 20°C อัตราส่วนแสงมืด/สว่าง เท่ากับ 12/12 ความเข้มแสงที่ระดับ 2,000 ลักซ์ ทำการเพาะเชื้อใหม่ (subculture) ทุก 2 ชั่วโมง เพื่อเก็บรักษาสต็อกให้มีคุณภาพดี

การขยายพันธุ์คลอเรลลาเพื่อให้ได้ปริมาณมาก (mass culture) ให้ทำดังนี้ ใส่เชื้อสาหร่ายปริมาณ 100 มิลลิลิตร ลงเลี้ยงในขวดแก้วคาร์บอย (carboy) ขนาด 1 ลิตร ซึ่งได้เติมสารละลายสูตร

เกี่ยวกับที่ใช้กับสต็อค อุณหภูมิที่เลี้ยง 25-30 °C ความเข้มแสง 6,000-9,000 ลักซ์ ช่วงแสงมืด/สว่าง เท่ากับ 12/12 ชั่วโมง โดยให้อาหารตลอดเวลา จะได้ผลผลิตสูงสุดภายใน 4-5 วัน

ต่อจากนั้นนำสาหร่ายที่มีความหนาแน่น 2×10^7 เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 ลิตร ไปเลี้ยงในบีกเกอร์ที่มีความจุมากขึ้น เติมน้ำทะเลที่ต้มแล้ว 10 ลิตร ซึ่งผสมด้วยปุ๋ยที่ใช้ในการเกษตร เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต 150 มิลลิลิตร/ลิตร ยูเรีย 7.5 มิลลิกรัม/ลิตร และแคลเซียมซูเปอร์ฟอสเฟต 25 มิลลิกรัม/ลิตร ควรวางถังเลี้ยงใกล้หน้าต่างหรือที่ ๆ มีแสงสว่าง ให้อากาศโดยใช้แอร์สโตน รักษาอุณหภูมิแวดล้อมของการเลี้ยงให้เหมือนกับการเลี้ยงในภาชนะความจุ 1 ลิตร ครอบกำหนด 4-5 วัน นำเชื้อสาหร่ายซึ่งมีความหนาแน่น $1-1.5 \times 10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาณ 10 ลิตร ใส่ลงเลี้ยงในถังพลาสติกความจุ 500 ลิตร ซึ่งภายในถังมีน้ำทะเลซึ่งผ่านการกรองสิ่งสกปรกด้วยทรายจำนวน 250 ลิตร เติมหาอาหารที่ต้องการในถังเลี้ยง ทำการขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้จากถังเลี้ยงความจุ 450 ลิตร เรือยไปจนกระทั่งได้สัดส่วนของปริมาณน้ำเริ่มต้น/ปริมาณน้ำที่ต้องการ เท่ากับ 1/5 หรือ 1/10

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

1. แสงสว่าง (Illumination) การเปลี่ยนเชื้อสาหร่ายจากสต็อคสาหร่ายไปใส่สารอาหารที่เตรียมขึ้นมาใหม่นั้นควรใช้ปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยวางหลอดแก้วที่มีเชื้อสาหร่ายในที่มีแสงฟลูออเรสเซนส์ประมาณ 400 แรงเทียน นาน 7-10 วัน เพื่อให้สาหร่ายเจริญเติบโต เมื่อสาหร่ายเจริญดีแล้วควรย้ายหลอดแก้วไปเลี้ยงในที่มีแสงน้อยลง (50-100 แรง-เทียน) เพื่อให้การเติบโตของสาหร่ายลดลงจะได้เก็บเชื้อได้เป็นเวลานาน ถ้าต้องการเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเก็บรักษาระยะยาว ให้เก็บหลอดแก้วไว้ในที่มีระดับแสงปริมาณนี้นานตั้งแต่ 3 เดือน ถึง 1 ปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดสาหร่ายที่เลี้ยง ระยะเวลาที่เก็บจะนานเท่าใดมีผลอยู่ถ้าเป็นสาหร่ายที่มีหนวดควรมีการถ่ายเชื้อเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 3-4 เดือน ส่วนสาหร่ายที่ไม่มีหนวด และชนิดเส้นสาย (filamentous algae) ควรถ่ายเชื้อทุก 6 เดือนถึง 1 ปี หรือถ้าต้องการนำสาหร่ายไปใช้เพื่อการสอน ควรทำการถ่ายเชื้อ (subculture) อีกครั้งหนึ่งก่อนการนำไปใช้ภายในเวลาตั้งแต่ 10-30 วัน

นอกจากนี้ Richmond (1986) กล่าวว่าเมื่อความเข้มของแสงเพิ่มขึ้นการเติบโตของสาหร่ายจะเพิ่มสูงขึ้นด้วย โดยจะเพิ่มการสังเคราะห์ด้วยแสงและเร่งการทำงานของเซลล์แต่ความเข้มแสงที่สูงเกินไปจะมีผลไปยับยั้งการหายใจของเซลล์ ส่วนการเกิดปรากฏการณ์การยับยั้งด้วยแสง (photoinhibition) ขึ้นกับสายพันธุ์ของสาหร่าย และช่วงระยะเวลาที่รับแสง สาหร่ายได้รับแสงที่ความเข้มสูงเป็นเวลานาน จะเกิดการยับยั้งการหายใจของเซลล์

จากการศึกษาของ Lorenzen (1963) อ้างโดย Richmond, 1986 พบว่า *Chlorella* sp. เติบโตในสถานะที่มีทั้งช่วงมืดและสว่าง แต่ไม่สามารถเติบโตในสถานะที่มีแสงอย่างต่อเนื่อง การให้ความเข้มแสงสูงอย่างต่อเนื่อง มีผลทำให้เซลล์มีสีเขียวหรือปรากฏลักษณะสีเหลืองอมน้ำตาล ซึ่งเป็นผลมาจากการที่เม็ด

สีถูกทำลาย และจากการศึกษาของ สรวิศ เผ่าทองสุข และคณะ (2538ข) พบว่าความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง *D. salina* จะอยู่ในช่วง 5000-15000 ลักซ์

2. อุณหภูมิ (Temperature) สาหร่ายน้ำจืดเกือบทุกชนิดเจริญเติบโตได้ดีที่ระดับอุณหภูมิตั้งแต่ 15-25°C ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 30°C สาหร่ายจะตาย สาหร่ายน้ำเค็มชอบอุณหภูมิระหว่าง 5-15°C และจะตายถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 20°C แต่มีสาหร่ายบางชนิดสามารถทนอุณหภูมิสูง ๆ ได้ดี เช่น *Anacystis nidulans* ซึ่งทนอุณหภูมิสูงกว่า 30°C ได้ แต่ต้องควบคุมอุณหภูมิในการเลี้ยงให้คงที่ตลอดเวลา

จากการศึกษาของ Borowitzka and Borowitzka (1988) พบว่าสาหร่าย *Dunaliella* sp.ส่วนใหญ่จะทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้ในช่วงกว้าง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *D. salina* จะอยู่ในช่วงระหว่าง 20-40 องศาเซลเซียส ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *D. viridis* จะอยู่ในช่วง 14-30 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส จะทำให้สาหร่ายตายได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *D. bioculata* และ *D. primolecta* จะอยู่ในช่วง 25-29 องศาเซลเซียส และ *D. tertiolecta* จะเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

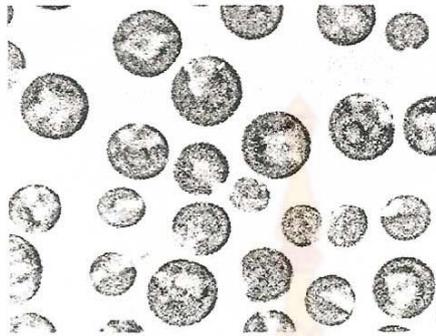
3. ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งเพราะสาหร่ายแต่ละชนิดมีความต้องการ pH ในระดับที่แตกต่างกันเช่นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสรีรูปเป็นกลางจนถึงมีสรีรูปเป็นด่างจนถึงมีสรีรูปเป็นด่าง หรือมีค่าของ pH ประมาณ 6.0-7.5 สาหร่ายสีเขียวบางกลุ่มเช่นเดสมิด ชอบน้ำที่มีสรีรูปเป็นกรดอ่อนหรือเป็นกรดซึ่งมีค่าของ pH ระหว่าง 5.5-6.5 โดยทั่วไปสาหร่ายส่วนมากจะเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสรีรูปเป็นด่าง

ธาตุอาหารเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเติบโตของสาหร่าย ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับสาหร่ายคือ คาร์บอน ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส การดำรงชีวิตของสาหร่ายแบ่งเป็น 2 แบบคือ autotrophy ซึ่งเป็นการที่สาหร่ายได้รับธาตุอาหารต่างๆ จากสารประกอบอนินทรีย์และได้รับพลังงานจากแสงหรือจากการออกซิเดชัน และอีกแบบ คือ heterotrophy เป็นการที่สาหร่ายได้รับสารอาหารและพลังงานจากสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งสังเคราะห์จากสิ่งมีชีวิตอื่น ปริมาณธาตุอาหารที่พอเหมาะสำหรับสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ มีการเปลี่ยนแปลงขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ความหนาแน่นของสาหร่าย แสง อุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-เบส (Richmond,1986)

4. ความเค็ม (Salinity) มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลี้ยงสาหร่ายน้ำเค็ม สาหร่ายบางชนิดชอบอยู่ในน้ำกร่อยที่มีความเค็มประมาณ 28-30 ส่วนในล้าน บางชนิดทนต่อความเค็มสูงได้ดี เช่น สาหร่ายสีเขียวสกุล *Dunaliella* เป็นต้น

นอกจากปัจจัยที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นแล้ว ยังมีปัจจัยชนิดอื่นที่มีส่วนเกี่ยวข้องต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายอีก เช่น แก๊สออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ ความกระด้างของน้ำ เป็นต้น ซึ่งมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อสาหร่าย เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ กล่าวคือพืชใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์ และในเวลาเดียวกันปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จะมีผล

ต่อระดับความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ หากพืชสังเคราะห์แสงมาก ค่า pH จะสูงขึ้น และหากสูงถึง 9-11 จะทำให้สาหร่ายไม่เติบโตหรือตายได้



รูปที่ 1 สาหร่าย *Chlorella* sp.



วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella sp.*
2. เพื่อให้ทราบแนวทางในการพัฒนาการเลี้ยงคลอเรลล่าของสาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในอนาคตต่อไป

วิธีการวิจัย

ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella sp.* ในห้องปฏิบัติการ และเลี้ยงกลางแจ้ง ในอาหารสูตร ดังนี้

1. เตรียมภาชนะสำหรับทดลอง เตรียมภาชนะ โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุดคือ
 - ชุดที่ 1 ใช้โหลขนาด 5 ลิตร จำนวน 9 โหลสำหรับเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ
 - ชุดที่ 2 ใช้โหลขนาด 5 ลิตร จำนวน 9 โหลสำหรับเลี้ยงสาหร่ายกลางแจ้ง
2. เตรียมหัวเชื้อสาหร่ายและอาหาร ที่ใช้ในการเลี้ยงสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายมี 3 สูตร คือ
 - สูตรที่ 1 สูตรอาหาร Conway ประกอบด้วย

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2.60	กรัม
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.72	กรัม
H_3BO_3	67.20	กรัม
EDTA	90	กรัม
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	40	กรัม
NaNO_3	200	กรัม

ใช้สารละลายที่เตรียมได้ 1 ml ใส่ในน้ำความเค็ม 25 ppt ที่อบฆ่าเชื้อและทิ้งไว้ให้เย็นแล้ว 1 ลิตร แล้วเติมสารละลายวิตามินลงไป 0.1 ml

สารละลายสูตร A ประกอบด้วย

ZnCl_2	2.10	กรัม
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2	กรัม
$(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.90	กรัม
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	2	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ml

สารละลายวิตามิน

วิตามิน B ₁₂	10	มิลลิลิตร
วิตามิน B ₁	200	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

สูตรที่ 3 สูตรอาหาร สำหรับเพาะสาหร่ายสีเขียว ในน้ำ 40 ลิตร ประกอบด้วย

แอมโมเนียมซัลเฟต	4	กรัม
แคลเซียมซูปเปอร์ฟอสเฟต	0.6	กรัม
ยูเรีย	0.2	กรัม

สูตรที่ 6 สูตรอาหาร สำหรับเพาะสาหร่ายสีเขียว ในน้ำ 40 ลิตร ประกอบด้วย

ปุ๋ย 16-20-0	6	กรัม
ยูเรีย	8	กรัม
แคลเซียมซูปเปอร์ฟอสเฟต	1.04	กรัม
ปุ๋ยขาว	3.6	กรัม
รำหมัก	200	มิลลิลิตร

หมายเหตุ : รำหมักเตรียมโดยใช้รำ 50 กรัม ปุ๋ยขาว 20 กรัม น้ำ 1 ลิตร ทิ้งไว้ 3 วัน

3. แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง

ชุดทดลองที่ 1 แบ่งออกเป็น 3 ชุดๆละ 3 โหล ชุดที่ 1 ใส่อาหารสูตรที่ 1 ชุดที่ 2 ใส่อาหารสูตรที่ 3 ชุดที่ 3 ใส่อาหารสูตรที่ 6 แต่ละชุดทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำไปไว้ในห้องปฏิบัติการ

ชุดทดลองที่ 2 แบ่งออกเป็น 3 ชุดๆละ 3 โหล ชุดที่ 1 ใส่อาหารสูตรที่ 1 ชุดที่ 2 ใส่อาหารสูตรที่ 3 ชุดที่ 3 ใส่อาหารสูตรที่ 6 แต่ละชุดทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำไปไว้กลางแจ้ง

4. ทำการเก็บผลการทดลองทุก 2 วัน โดยนำตัวอย่างมานับจำนวนเซลล์, วัดค่าการดูดกลืนแสง, ความเค็ม, ค่าออกซิเจนละลายน้ำ และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง



รูปที่ 2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.



ขอบเขตของโครงการวิจัย

ทำการทดลองการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงด้วยอาหาร 3 สูตร ในห้องปฏิบัติการและกลางแจ้ง

วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

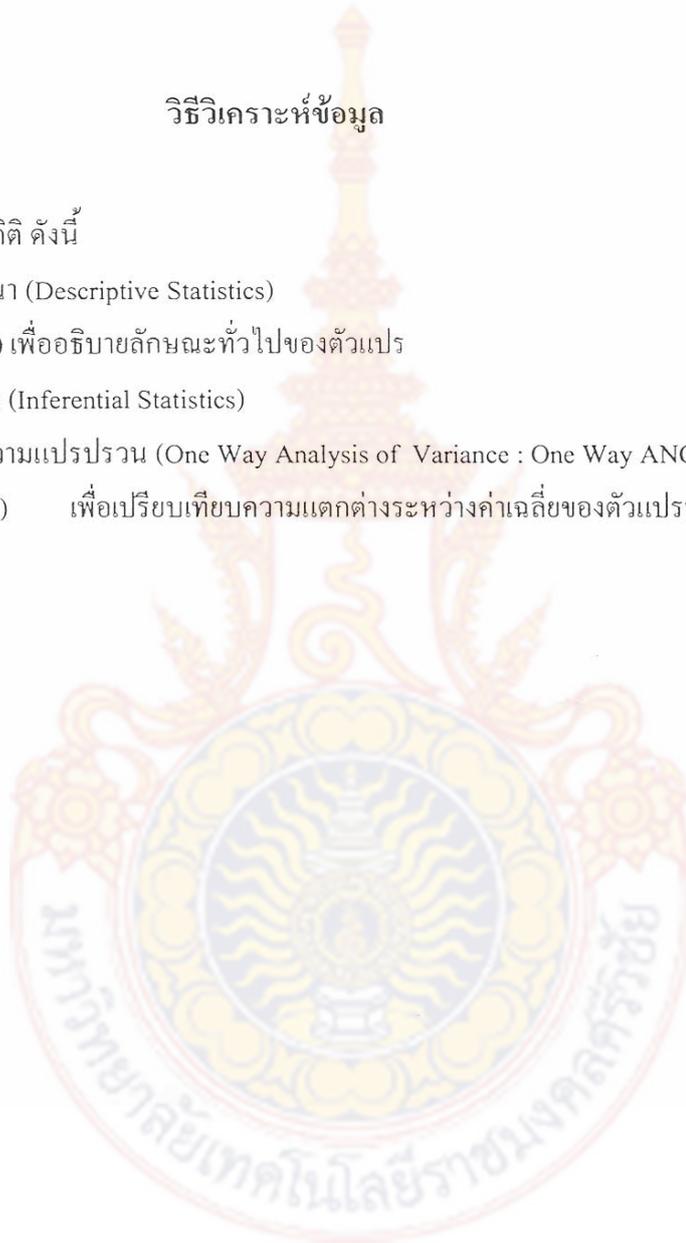
มีวิธีการวิเคราะห์โดยใช้สถิติ ดังนี้

1. สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive Statistics)

ใช้ค่าเฉลี่ย (Mean) เพื่ออธิบายลักษณะทั่วไปของตัวแปร

2. สถิติเชิงอนุมาน (Inferential Statistics)

ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (One Way Analysis of Variance : One Way ANOVA) โดยใช้ค่าสถิติทดสอบเอฟ (F-test) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่มีประชากรมากกว่า 2 กลุ่ม



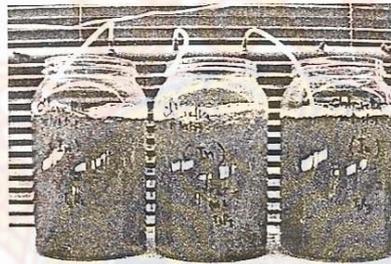
ผลการทดลอง

1. ผลของสารอาหารต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp.

1.1 ผลของสารอาหารต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการ

เลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหารที่ต่างกัน คือ สูตร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส พบว่าการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตร Conway สาหร่ายมีการเติบโตสูงสุดการเติบโตเท่ากับ 285×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเลี้ยง 12 วัน รองลงมาคือเลี้ยงที่สูตรอาหารที่ 3 มีการเติบโตเท่ากับ 195×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเลี้ยง 12 วัน และการเลี้ยงที่สูตรอาหารที่ 6 สาหร่ายจะมีการเติบโตต่ำสุดเท่ากับ 68×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน

จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าเมื่อเลี้ยงคลอเรลล่าด้วยอาหารต่างชนิดกันในห้องปฏิบัติการพบว่า จำนวนเซลล์ และค่าดูดกลืนแสงไม่มีความแตกต่างกัน โดย อาหารสูตร Conway สาหร่ายจะมีจำนวนเซลล์มากที่สุดเมื่อเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ รองลงมาคือ อาหารสูตร 3 และ อาหารสูตร 6 ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันอาหารสูตร Conway จะมีค่าดูดกลืนแสงดีที่สุดในห้องปฏิบัติการ รองลงมาคือ อาหารสูตร 3 และ อาหารสูตร 6 ตามลำดับ



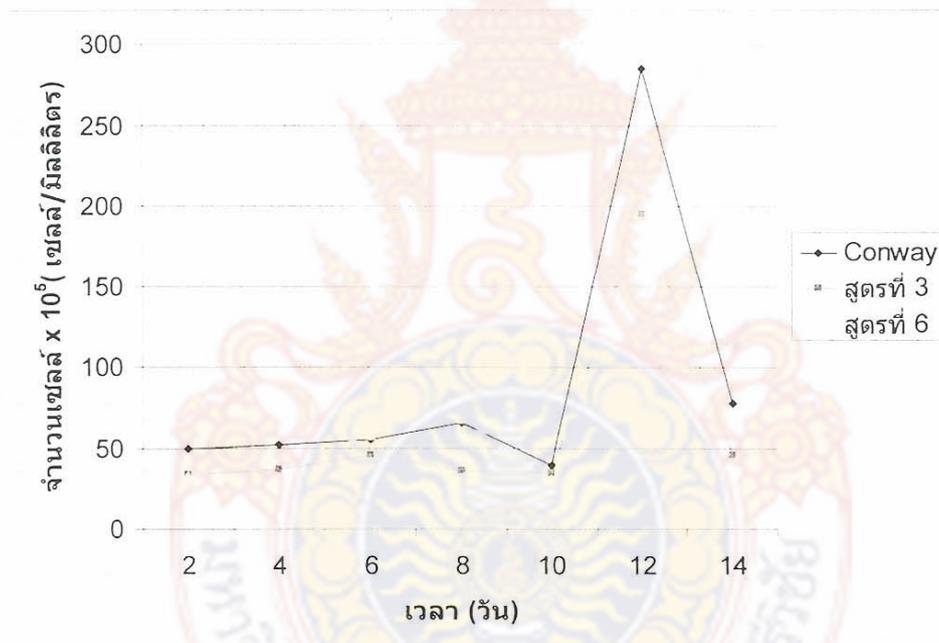
รูปที่ 3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตร Conway



รูปที่ 4 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตรที่ 3



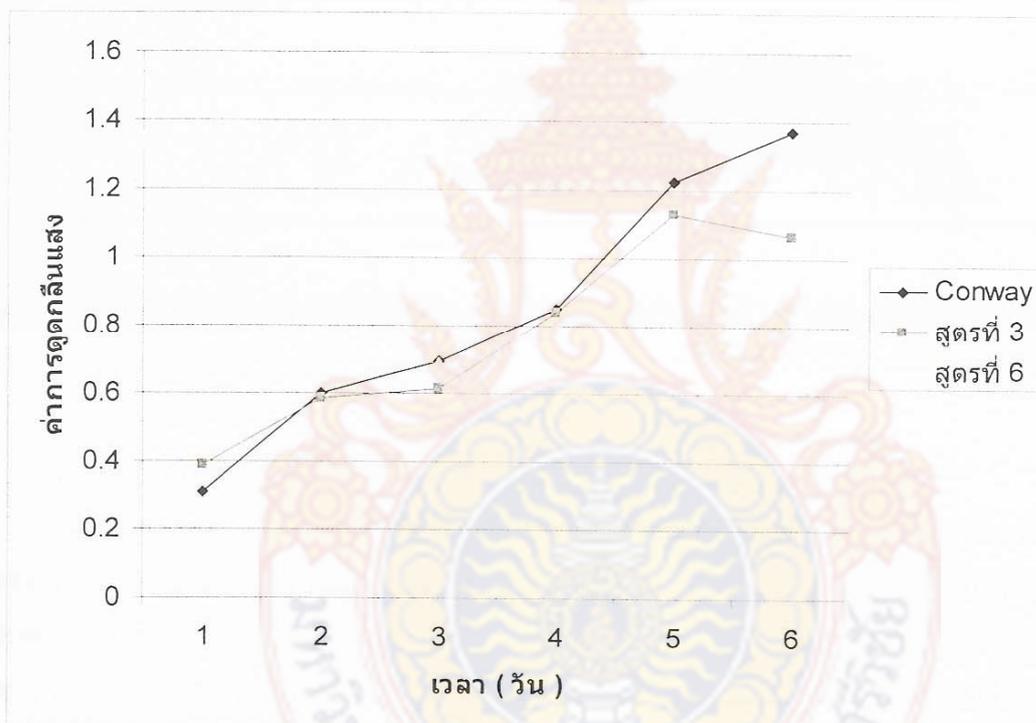
รูปที่ 5 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตรที่ 6



รูปที่ 6 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตรอาหาร Conway, สูตรที่ 3, สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส

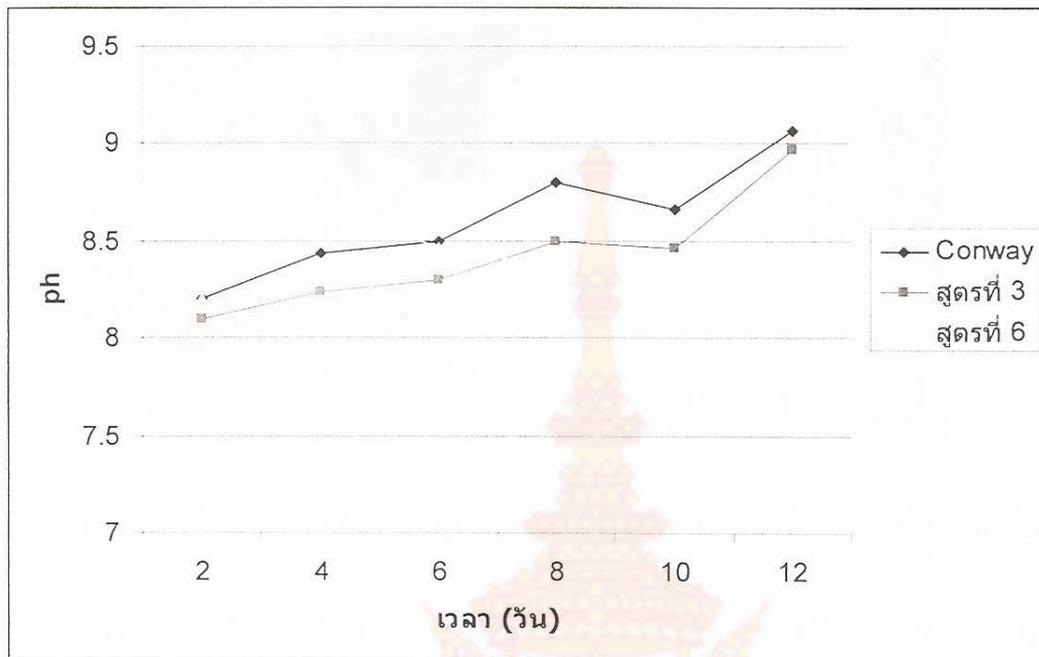
ตารางที่ 1 การเติบโตสูงสุดของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่สูตรอาหารต่างกันในห้องปฏิบัติการ

สูตรอาหาร	การเติบโตสูงสุด (เซลล์/มิลลิลิตร)
Conway	285×10^5
สูตรที่ 3	195×10^5
สูตรที่ 6	68×10^5



รูปที่ 7 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการในสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3, สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส

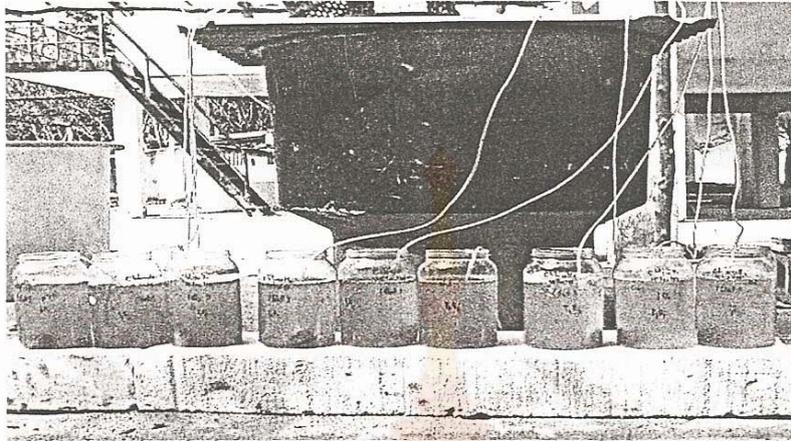
การเปลี่ยนแปลงค่ากรด-เบส ในการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหารที่สูตร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 พบว่า การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ใกล้เคียงกัน โดยค่ากรด-เบสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ที่ระยะเวลาเลี้ยง 12 วัน เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร Conway และ สูตรที่ 3 โดยเพิ่มจากค่ากรด-เบส 8.1 เป็น 8.9 หลังจากนั้นค่ากรด-เบสค่อนข้างคงที่จนถึงสิ้นสุดการทดลอง



รูปที่ 8 การเปลี่ยนแปลงค่ากรด-เบสระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการในสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6

1.2 ผลของสารอาหารต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. เมื่อเลี้ยงกลางแจ้ง

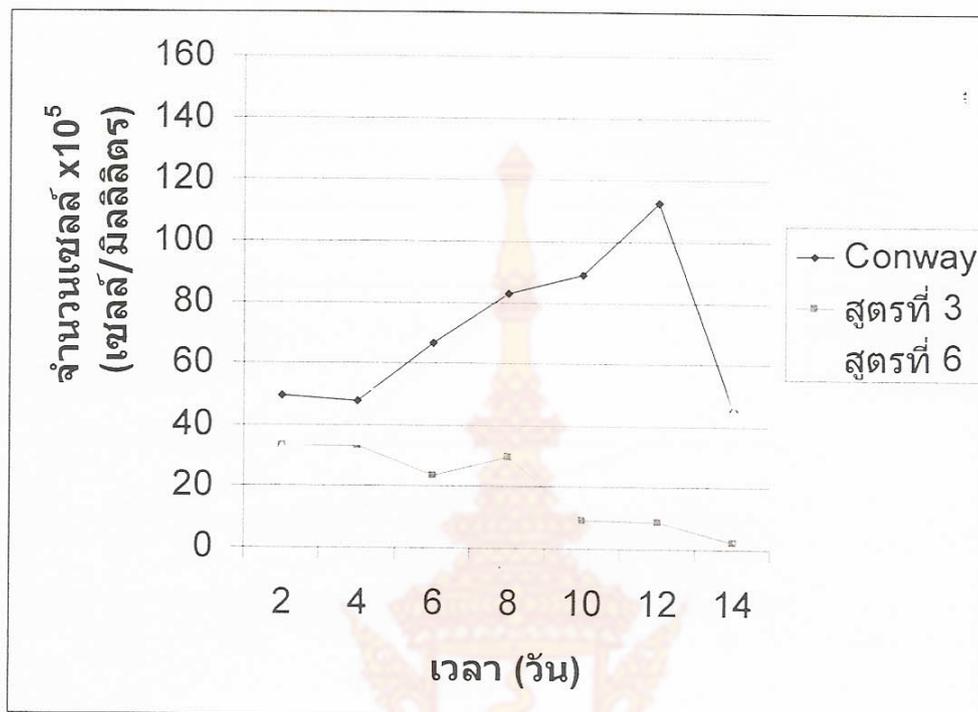
เลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหารที่ต่างกัน คือ สูตร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส พบว่าการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตรที่ 6 สาหร่ายมีการเติบโตสูงสุดการเติบโตเท่ากับ 143×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน รองลงมาคือเลี้ยงที่สูตรอาหาร Conway มีการเติบโตเท่ากับ 113×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเลี้ยง 12 วัน และการเลี้ยงที่สูตรอาหารที่ 3 สาหร่ายจะมีการเติบโตต่ำสุดเท่ากับ 33×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน



รูปที่ 9 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. กลางแจ้งในสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6

จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า เมื่อเลี้ยงคลอเรลล่าด้วยอาหารต่างชนิดกันกลางแจ้ง พบว่า จำนวนเซลล์ และค่าดูดกลืนแสงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 โดย อาหารสูตร 6 จะมีจำนวนเซลล์มากที่สุดเมื่ออยู่กลางแจ้ง รองลงมาคือ อาหารสูตร Conway และ อาหารสูตร 3 ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันอาหารสูตร 6 จะมีค่าการดูดกลืนแสงดีที่สุดในเมื่ออยู่กลางแจ้ง รองลงมาคือ อาหารสูตร Conway และ อาหารสูตร 3 ตามลำดับ

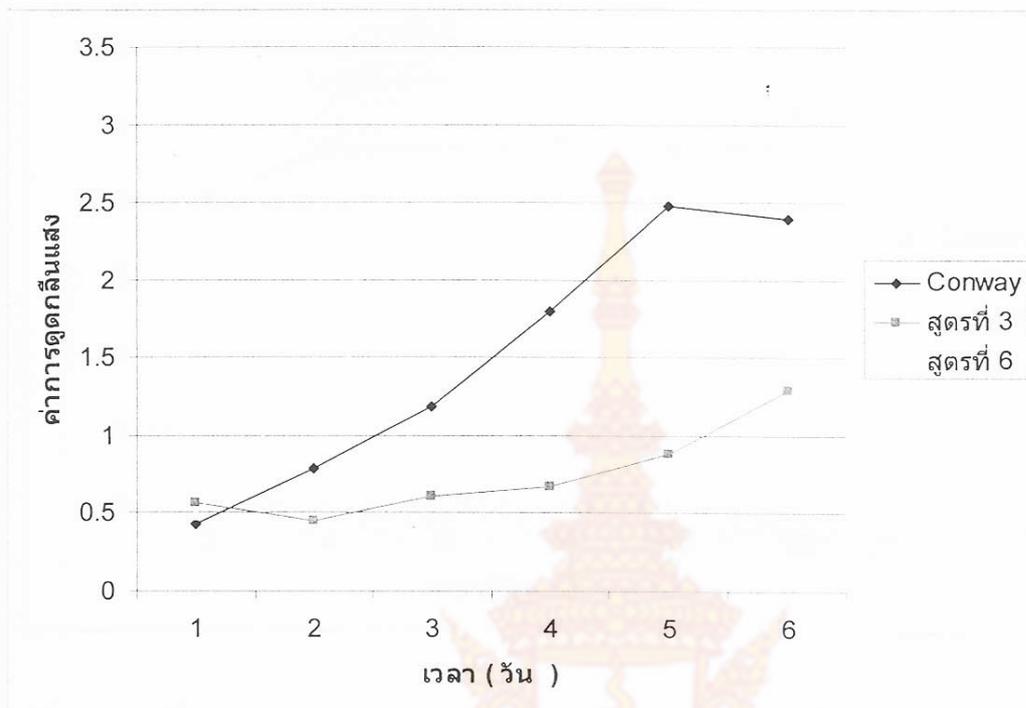
ผลของการวิเคราะห์ความแปรปรวนเป็นการยืนยันว่าค่าเฉลี่ยของกลุ่มทั้ง 3 กลุ่มไม่เท่ากัน จึงทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วยวิธี Scheffe ผลการเปรียบเทียบพหุคูณแสดงให้เห็นว่าทั้งจำนวนเซลล์ และค่าดูดกลืนแสง มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอาหารสูตร Conway กับ อาหารสูตร 3 และระหว่างอาหารสูตร 6 กับ อาหารสูตร 3 นั่นคืออาหารสูตร 3 ที่มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดแตกต่างจากอีก 2 กลุ่ม ส่วนอาหารสูตร Conway กับ อาหารสูตร 6 มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน



รูปที่ 10 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. กลางแจ้งในสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส

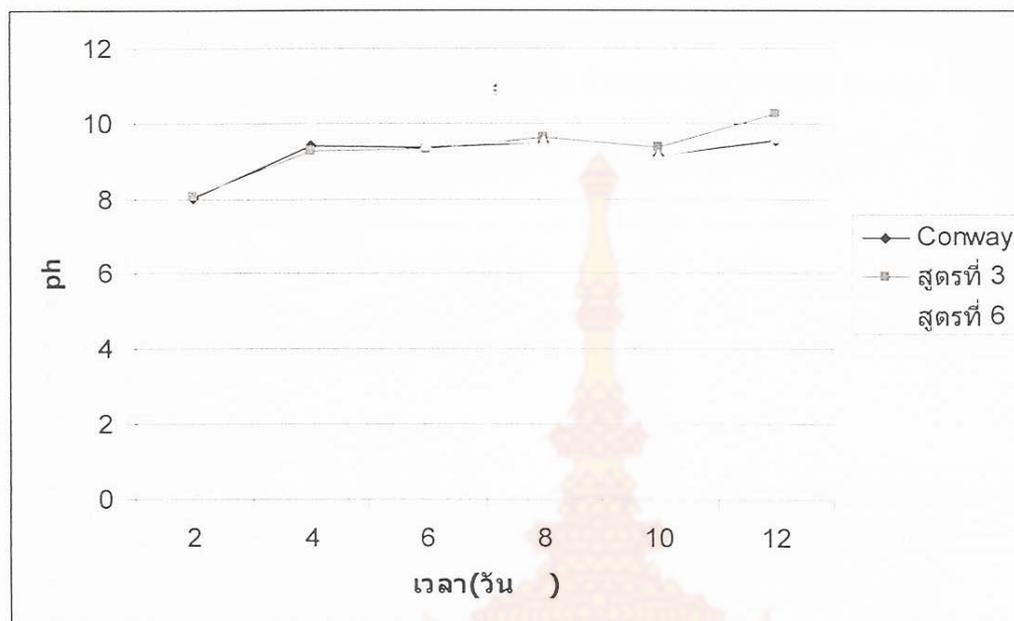
ตารางที่ 2 การเติบโตสูงสุดของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่สูตรอาหารต่างกันเมื่อเลี้ยงกลางแจ้ง

สูตรอาหาร	การเติบโตสูงสุด (เซลล์/มิลลิลิตร)
สูตรที่ 6	143 x 10 ⁵
Conway	113 x 10 ⁵
สูตรที่ 3	33 x 10 ⁵



รูปที่ 11 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. กลางแจ้งในสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส

การเปลี่ยนแปลงค่ากรด-เบส ในการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ในอาหารสูตรที่ 3 พบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp. มีการเติบโตสูงที่สุด โดยค่ากรด-เบสเพิ่มขึ้นที่ระยะเวลาเลี้ยง 2 วัน ส่วนการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารสูตร Conway, สูตรที่ 6 ค่ากรด-เบส จะเพิ่มขึ้นจนถึงระยะเวลาเลี้ยง 12 วันจนถึงสิ้นสุดการทดลอง



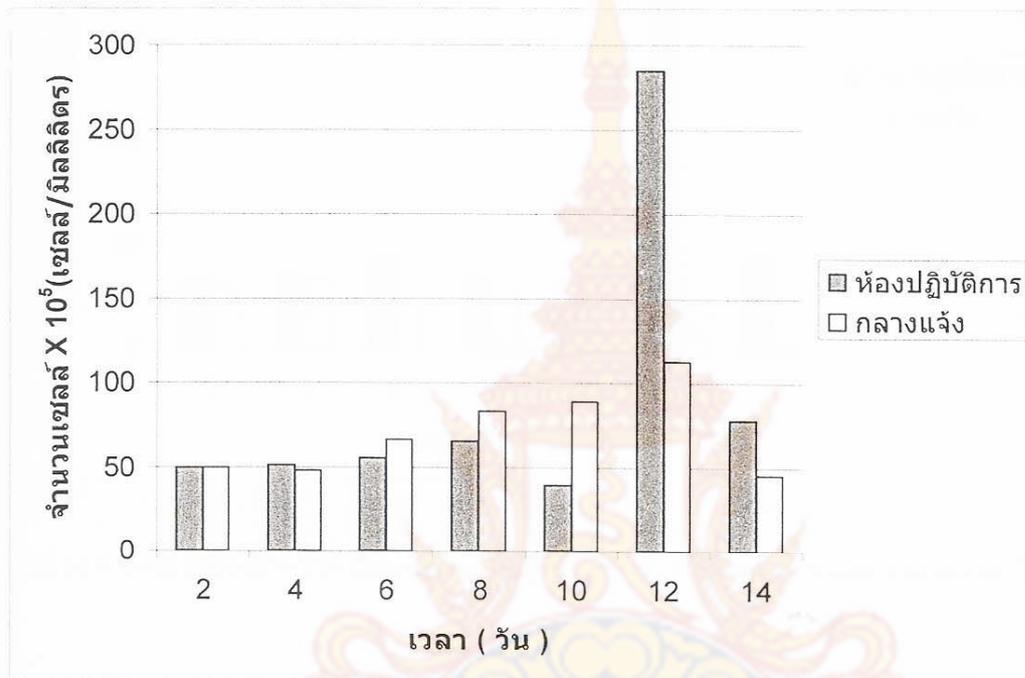
รูปที่ 12 การเปลี่ยนแปลงค่ากรด-เบสระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6

2. ผลของอุณหภูมิและสารอาหารต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp.

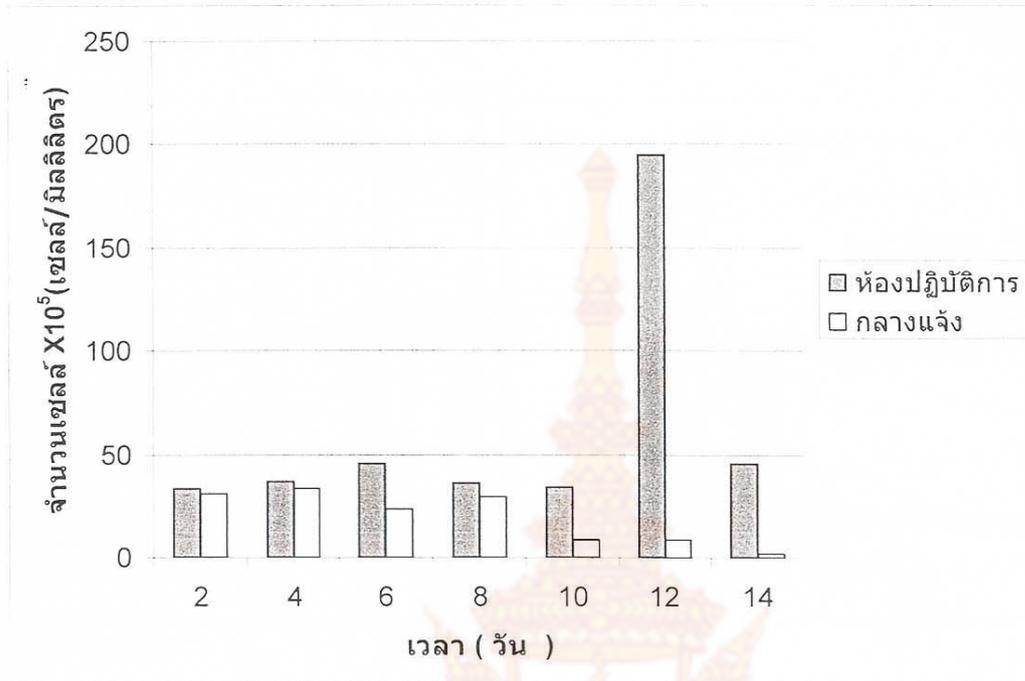
จากการทดลองผลของอุณหภูมิต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 21 และ 31 องศาเซลเซียสในอาหารสูตร Conway พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. ส่วนใหญ่มีการเติบโตเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 12 ในทุกชุดการทดลองโดยสาหร่ายมีการเติบโตสูงสุด เท่ากับ 285×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาเลี้ยง 12 วัน โดย รองลงมาคือเลี้ยงในสูตรอาหารที่ 3 มีการเติบโตสูงสุด เท่ากับ 195×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาเลี้ยง 12 วัน จากการวิเคราะห์ทางสถิติเมื่อเลี้ยงคลอเรลล่าด้วยอาหารต่างชนิดกันพบว่า มีจำนวนเซลล์ และค่าดูดกลืนแสงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 โดย อาหารสูตร Conway ช่วยให้สร้างจำนวนเซลล์ได้มากที่สุด รองลงมาคือ อาหารสูตร 6 และ อาหารสูตร 3 ตามลำดับ แต่อาหารสูตร 6 ช่วยให้ดูดกลืนแสงได้ดีที่สุด รองลงมาคือ อาหารสูตร Conway และ อาหารสูตร 3 ตามลำดับ

ผลของการวิเคราะห์ความแปรปรวนเป็นการยืนยันว่าค่าเฉลี่ยของกลุ่มทั้ง 3 กลุ่มไม่เท่ากัน จึงทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วยวิธี Scheffe ผลการเปรียบเทียบพหุคูณแสดงให้เห็นว่าทั้งจำนวนเซลล์ มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอาหารสูตร Conway กับ อาหารสูตร 3 และระหว่างอาหาร

สูตร 6 กับ อาหารสูตร 3 นั้นคืออาหารสูตร 3 ที่มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดแตกต่างจากอีก 2 กลุ่ม ส่วนอาหารสูตร Conway กับ อาหารสูตร 6 มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน และผลการเปรียบเทียบพหุคูณแสดงให้เห็นว่า ทั้งค่าคุณลักษณะ มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอาหารสูตร 6 กับ อาหารสูตร 3 นั้นคืออาหารสูตร 3 ที่มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดแตกต่างจากอีก 2 กลุ่ม ส่วนระหว่างอาหารสูตร Conway กับ อาหารสูตร 3 และอาหารสูตร Conway กับ อาหารสูตร 6 มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน

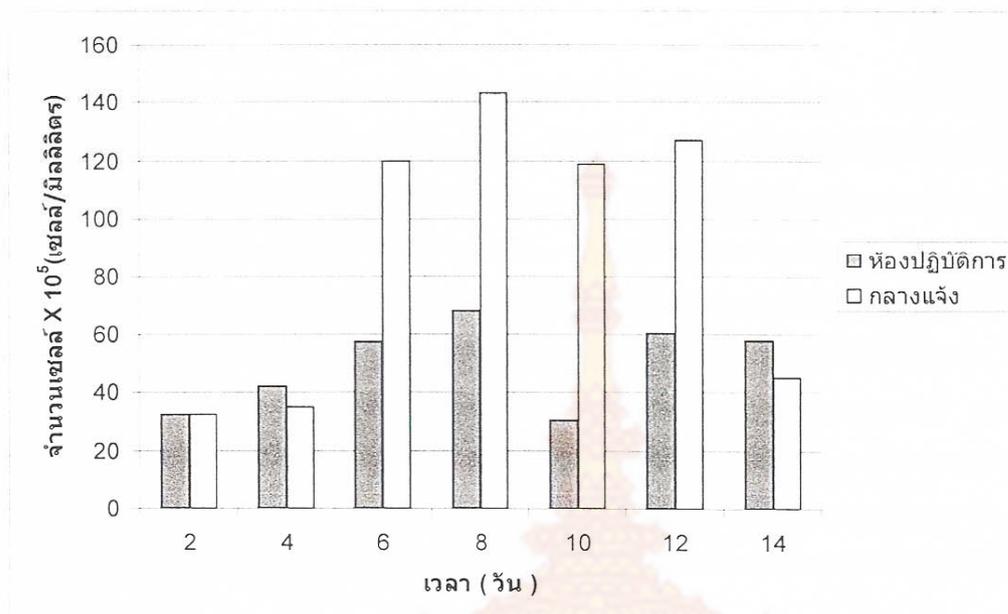


รูปที่ 13 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหาร Conway ที่อุณหภูมิ 21 และ 31 องศาเซลเซียส



รูปที่ 14 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหารที่ 3 ที่อุณหภูมิ 21 และ 31 องศาเซลเซียส





รูปที่ 15 การเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหารที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 และ 31 องศาเซลเซียส





สรุปผลการทดลอง

1. จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยง ในสูตรอาหารที่ต่างกัน คือ สูตร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส พบว่าการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตร Conway สาหร่ายมีการเติบโตสูงสุดการเติบโตเท่ากับ 285×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเลี้ยง 12 วัน ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการเติบโตมีแนวโน้มลดลง และจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า จำนวนเซลล์ และค่าดูดกลืนแสงไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

2. การเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. กลางแจ้งในสูตรอาหารที่ต่างกัน คือ สูตร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส พบว่าการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตรที่ 6 สาหร่ายมีการเติบโตสูงสุดการเติบโตเท่ากับ 143×10^7 เซลล์/มิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน และจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า จำนวนเซลล์ และค่าดูดกลืนแสงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01



บรรณานุกรม

- พิมพ์พรรณ ต้นสกุล. 2540. บทปฏิบัติการสาหร่ายวิทยา. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 110 น.
- ยูวดี พีรพรพิศาล. 2547. สาหร่ายวิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ถัดดา วงศ์รัตน์. 2545 .เพลงตอนวิทยา. ภาควิชาวิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สรวิศ เผ่าทองสุข, สุชญา วิเศษสังข์ และเปี่ยมศักดิ์ เมณะเสวต. 2538 ข. ผลของความเข้มแสง ปริมาณไนเตรทและฟอสเฟต และความเป็นกรด-ด่างต่ออัตราการเจริญและปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Dunaliella salina*. ว.วาริชศาสตร์. 1(2) : 117-184.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2544. สรีรวิทยาของพืช, หน้า 108. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สัมพันธ์ กัมภีรานนท์ และ วรวรรณ ถิ่นทอง. 2526. สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J. 1988. Micro-algal Biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Richmond A. 1986. Handbook of Microalgal Mass Culture. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.



ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการโดยเลี้ยงในอาหารสูตร Conway, สูตรที่ 3, สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 2 วัน

ในห้องปฏิบัติการ					
สูตรอาหาร	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูดกลืนแสง
Conway1	8.3	10.8	38	57	0.301
Conway2	8.1	9.7	38	53	0.325
Conway3	8.2	10.7	39	45	0.301
สูตร 3/1	8.1	10.5	40	40	0.417
สูตร 3/2	8.1	10.1	39	39	0.406
สูตร 3/3	8.1	10.4	31	31	0.348
สูตร 6/1	8.3	10.7	40	40	0.639
สูตร 6/2	8.1	10.3	41	41	0.406
สูตร 6/3	8.2	11.8	46	46	0.348

ตารางภาคผนวกที่ 3 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการโดยเลี้ยงในอาหารสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 4 วัน

ในห้องปฏิบัติการ					
สูตรอาหาร	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูดกลืนแสง
Conway1	8.6	12.6	40	63	0.581
Conway2	8.6	12.6	41	41	0.693
Conway3	8.1	12.6	40	62	0.526
สูตร 3/1	8.2	12.8	40	54	0.641
สูตร 3/2	8.2	12.7	40	47	0.611
สูตร 3/3	8.3	12.8	40	36	0.51
สูตร 6/1	8.7	12.6	40	70	0.69
สูตร 6/2	8.7	12.8	41	48	0.643
สูตร 6/3	8.7	12.6	40	54	0.871



ตารางภาคผนวกที่ 4 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. กลางแจ้งโดยเลี้ยงในอาหารสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 4 วัน

กลางแจ้ง					
สูตรอาหาร	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูคกลีนแสง
Conway1	9.3	13.3	40	62	0.695
Conway2	9.4	13.6	32	58	0.561
Conway3	9.6	12.6	38	80	1.12
สูตร 3/1	9.3	12.3	38	30	0.518
สูตร 3/2	9.3	12.4	38	24	0.472
สูตร 3/3	9.2	12.3	38	17	0.361
สูตร 6/1	10.1	12.2	38	132	1.362
สูตร 6/2	10	12.7	38	124	1.417
สูตร 6/3	9.9	12.3	38	104	1.386



ตารางภาคผนวกที่ 5 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงในอาหารสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 6 วัน

ในห้องปฏิบัติการ					
สูตรอาหาร	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูดกลืนแสง
Conway1	8.5	9.2	40	68	0.732
Conway2	8.5	9.4	40	62	0.637
Conway3	8.5	7.2	40	67	0.714
สูตร 3/1	8.3	9.4	40	23	0.6
สูตร 3/2	8.3	9.9	40	46	0.684
สูตร 3/3	8.3	7.9	40	39	0.568
สูตร 6/1	8.5	8.4	40	58	0.66
สูตร 6/2	8.5	8.7	40	48	0.68
สูตร 6/3	8.4	8.6	40	98	0.728



ตารางภาคผนวกที่ 6 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. กลางแจ้ง โดยเลี้ยงในอาหารสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 6 วัน

กลางแจ้ง					
สูตรอาหาร	ความ เป็นกรด-ด่าง	ค่า ออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูดกคืนแสง
Conway1	9.3	10.9	44	81	0.996
Conway2	9.5	12	41	72	0.797
Conway3	9.3	8	43	96	1.765
สูตร 3/1	9.4	9.7	43	24	0.753
สูตร 3/2	9.4	9.4	43	18	0.558
สูตร 3/3	9.2	10	42.5	47	0.53
สูตร 6/1	9.5	8.2	44.5	108	1.603
สูตร 6/2	9.5	6.8	44.5	156	1.806
สูตร 6/3	9.4	7.2	44.5	165	1.913



ตารางภาคผนวกที่ 7 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงในอาหารสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 8 วัน

ในห้องปฏิบัติการ					
สูตรอาหาร	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูดกลืนแสง
Conway1	8.9	0.3	45	37	0.94
Conway2	8.7	0.3	46	35	0.767
Conway3	8.8	0.3	43	46	0.849
สูตร 3/1	8.5	0.3	44	32	0.906
สูตร 3/2	8.5	0.3	43	43	0.892
สูตร 3/3	8.5	0.3	43	28	0.717
สูตร 6/1	8.4	0.3	43	26	0.819
สูตร 6/2	8.4	0.3	43	33	0.721
สูตร 6/3	8.3	0.3	42	32	0.863



ตารางภาคผนวกที่ 8 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. กลางแจ้ง โดยเลี้ยงในอาหารสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 8 วัน

กลางแจ้ง					
สูตรอาหาร	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูดกลืนแสง
Conway1	9.4	0.3	41	79	1.629
Conway2	9.6	0.3	46	62	1.16
Conway3	9.5	0.3	40	126	2.613
สูตร 3/1	9.7	0.4	44	12	0.804
สูตร 3/2	9.7	0.2	44	7	0.763
สูตร 3/3	9.6	0.3	44	8	0.439
สูตร 6/1	9.4	0.4	46	107	2.051
สูตร 6/2	9.6	0.3	46	156	2.571
สูตร 6/3	9.5	0.4	46	93	2.334

ตารางภาคผนวกที่ 9 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงในอาหารสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 10 วัน

ในห้องปฏิบัติการ					
สูตรอาหาร	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูดกลืนแสง
Conway1	8.7	13.7	48	323	1.322
Conway2	8.7	13.8	49	269	1.178
Conway3	8.6	11.8	49	263	1.181
สูตร 3/1	8.5	13.5	48	227	1.216
สูตร 3/2	8.5	13.3	46	173	1.108
สูตร 3/3	8.4	12.3	48	185	1.068
สูตร 6/1	7.8	12.8	49	60	0.957
สูตร 6/2	7.8	12.6	48	47	0.882
สูตร 6/3	7.7	11.2	48	74	0.961



ตารางภาคผนวกที่ 10 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. กลางแจ้งโดยเลี้ยงในอาหารสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 10 วัน

กลางแจ้ง					
สูตรอาหาร	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูดกลืนแสง
Conway1	9.1	12.9	68	114	2.128
Conway2	9.4	12.4	54	63	1.71
Conway3	9	9.7	68	161	3.612
สูตร 3/1	9.4	12.8	69	6	0.783
สูตร 3/2	9.5	12.8	62	9	1.151
สูตร 3/3	9.3	12.7	62	11	0.72
สูตร 6/1	9.1	12.5	73	121	2.613
สูตร 6/2	9.2	12.8	75	111	2.683
สูตร 6/3	9.2	12.8	76	149	3.317



ตารางภาคผนวกที่ 11 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการโดยเลี้ยงในอาหารสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 12 วัน

ในห้องปฏิบัติการ					
สูตรอาหาร	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูดกลืนแสง
Conway1	9.1	11.2	44	72	1.43
Conway2	9	13.3	44	69	1.301
Conway3	9.1	9.8	44	93	1.377
สูตร 3/1	9	10.5	42	31	0.807
สูตร 3/2	9	11.2	42	48	1.197
สูตร 3/3	8.9	11	42.5	58	1.185
สูตร 6/1	8.3	10.4	42	42	0.834
สูตร 6/2	8.5	10.8	43	60	0.857
สูตร 6/3	8.2	8.2	43	71	0.934

ตารางภาคผนวกที่ 12 การเลี้ยงของสาหร่าย *Chlorella* sp. กลางแจ้ง โดยเลี้ยงในอาหารสูตรอาหาร Conway , สูตรที่ 3 , สูตรที่ 6 ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 12 วัน

กลางแจ้ง					
สูตรอาหาร	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ	ความเค็ม	จำนวนเซลล์	ค่าดูดกลืนแสง
Conway1	9.6	16.5	73	39	1.789
Conway2	9.8	18.5	50	41	1.473
Conway3	9.3	10.6	85	56	3.913
สูตร 3/1	10.1	10.7	70	5	1.474
สูตร 3/2	10.5	18.9	59	0	1.304
สูตร 3/3	10.2	12	50	1	1.099
สูตร 6/1	9.7	9.4	79	55	2.683
สูตร 6/2	9.6	10.2	80	47	3.311
สูตร 6/3	9.6	9.5	78	33	2.767

ตารางภาคผนวกที่ 13 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์และค่าการดูดกลืนแสง ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
						Lower Bound	Upper Bound
จำนวนเซลล์	conway	18	95.8333	88.90990	20.95626	51.6195	140.0472
	สูตร3	18	65.5556	61.01227	14.38073	35.2149	95.8962
	สูตร6	18	52.6667	17.72336	4.17744	43.8530	61.4803
	Total	54	71.3519	64.52794	8.78114	53.7391	88.9646
ค่าดูดกลืนแสง	conway	18	.8419	.37804	.08910	.6540	1.0299
	สูตร3	18	.7712	.28859	.06802	.6277	.9147
	สูตร6	18	.7496	.17337	.04086	.6634	.8358
	Total	54	.7876	.28945	.03939	.7086	.8666



ตารางภาคผนวกที่ 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจำนวนเซลล์ และค่าการดูดกลืนแสง ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
จำนวนเซลล์	Between Groups	17677.370	2	8838.685	2.220	.119
	Within Groups	203006.944	51	3980.528		
	Total	220684.315	53			
ค่าดูดกลืนแสง	Between Groups	.084	2	.042	.492	.614
	Within Groups	4.356	51	.085		
	Total	4.440	53			



ตารางภาคผนวกที่ 15 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์และค่าการดูคลิ่นแสง ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
						Lower Bound	Upper Bound
จำนวนเซลล์	conway	18	74.0556	32.48796	7.65748	57.8997	90.2114
	สูตร3	18	17.7222	13.55514	3.19498	10.9814	24.4630
	สูตร6	18	98.1111	46.79227	11.02904	74.8419	121.3804
	Total	54	63.2963	47.49881	6.46377	50.3316	76.2610
ค่าดูคลิ่นแสง	conway	18	1.5133	1.03280	.24343	.9997	2.0269
	สูตร3	18	.7466	.31499	.07424	.5900	.9033
	สูตร6	18	1.9614	.90383	.21304	1.5120	2.4109
	Total	54	1.4071	.94464	.12855	1.1493	1.6649



ตารางภาคผนวกที่ 16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจำนวนเซลล์ และค่าการดูดกลืนแสง ที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
จำนวนเซลล์	Between Groups	61286.926	2	30643.463	26.812	.000
	Within Groups	58288.333	51	1142.908		
	Total	119575.259	53			
ค่าดูดกลืนแสง	Between Groups	13.587	2	6.793	10.278	.000
	Within Groups	33.708	51	.661		
	Total	47.294	53			



ตารางภาคผนวกที่ 17 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ของจำนวนเซลล์และค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี Scheffe

Multiple Comparisons

Scheffe

Dependent Variable	(I) สูตรอาหาร	(J) สูตรอาหาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
จำนวนเซลล์	conway	สูตร 3	56.33333*	11.26898	.000
		สูตร 6	-24.05556	11.26898	.113
	สูตร 3	conway	-56.33333*	11.26898	.000
		สูตร 6	-80.38889*	11.26898	.000
	สูตร 6	conway	24.05556	11.26898	.113
		สูตร 3	80.38889*	11.26898	.000
ค่าดูดกลืนแสง	conway	สูตร 3	.76667*	.27099	.024
		สูตร 6	-.44817	.27099	.264
	สูตร 3	conway	-.76667*	.27099	.024
		สูตร 6	-1.21483*	.27099	.000
	สูตร 6	conway	.44817	.27099	.264
		สูตร 3	1.21483*	.27099	.000

*. The mean difference is significant at the .05 level.

ตารางภาคผนวกที่ 18 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเซตต์และค่าการดูคกิ้นแสง ที่อุณหภูมิ
ต่างกัน

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
						Lower Bound	Upper Bound
จำนวนเซตต์	conway	36	84.9444	66.88922	11.14820	62.3124	107.5765
	สูตร3	36	41.6389	49.85645	8.30941	24.7699	58.5079
	สูตร6	36	75.3889	41.79834	6.96639	61.2464	89.5314
	Total	108	67.3241	56.53645	5.44022	56.5395	78.1087
ค่าดูคกิ้นแสง	conway	36	1.1776	.83869	.13978	.8938	1.4614
	สูตร3	36	.7589	.29800	.04967	.6581	.8597
	สูตร6	36	1.3555	.88826	.14804	1.0550	1.6561
	Total	108	1.0973	.76181	.07331	.9520	1.2427



ตารางภาคผนวกที่ 19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจำนวนเซลล์และค่าการดูดกลืนแสงที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
จำนวนเซลล์	Between Groups	37268.907	2	18634.454	6.421	.002
	Within Groups	304742.750	105	2902.312		
	Total	342011.657	107			
ค่าดูดกลืนแสง	Between Groups	6.756	2	3.378	6.409	.002
	Within Groups	55.343	105	.527		
	Total	62.098	107			



ตารางภาคผนวกที่ 20 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ของจำนวนเซลล์และค่าการดูคกิ้นแสงด้วยวิธี Scheffe

Multiple Comparisons

Scheffe

Dependent Variable	(I) สูตรอาหาร	(J) สูตรอาหาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
จำนวนเซลล์	conway	สูตร3	-43.30556*	12.69801	.004	11.7753	74.8358
		สูตร6	9.55556	12.69801	.754	-21.9747	-41.0858
	สูตร3	conway	-43.30556*	12.69801	.004	-74.8358	-11.7753
		สูตร6	-33.75000*	12.69801	.033	-65.2802	-2.2198
	สูตร6	conway	-9.55556	12.69801	.754	-41.0858	21.9747
		สูตร3	33.75000*	12.69801	.033	2.2198	65.2802
ค่าดูคกิ้นแสง	conway	สูตร3	.41872	.17112	.054	-.0062	.8436
		สูตร6	-.17792	.17112	.584	-.6028	.2470
	สูตร3	conway	-.41872	.17112	.054	-.8436	.0062
		สูตร6	-.59664*	.17112	.003	-1.0215	-.1717
	สูตร6	conway	.17792	.17112	.584	-.2470	.6028
		สูตร3	.59664*	.17112	.003	.1717	1.0215

*. The mean difference is significant at the .05 level.

