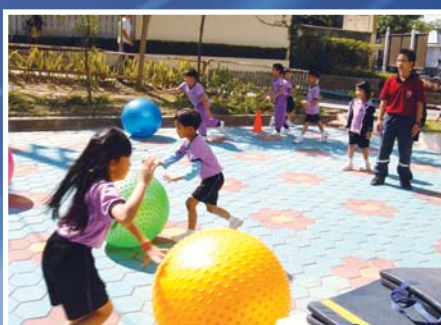




วารสารวิจัย ราชภัฏเชียงใหม่

ประจำปีที่ 12 ฉบับที่ 2 เมษายน - กันยายน 2554



ISSN 1513-8410



วารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่

RAJABHAT CHIANG MAI RESEARCH JOURNAL

ประจำปีี่ 12 ฉบับที่ 2 เมษายน – กันยายน 2554

ISSN 1513-8410

ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เรืองเดช วงศ์หล้า

อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

ผู้ทรงคุณวุฒิ

ศ.ดร.สายสมร ล้ายอง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ศ.ดร.มนัส สุวรรณ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ศ.อำนวยการ ชนนไทย

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

รศ.ดร.อารณ์ โอภาสพัฒนกิจ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

รศ.โกสุม สายใจ

มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

อ.ดร.สินธุ์ สโรบล

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

รศ.ดร.อมรา ทีปะปาล

ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกของสถาบันวิจัยและพัฒนา

รศ.ดร.ประพันธ์ ธรรมไชย

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

รศ.ดร.เกตุมณี มากมี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

รศ.สนิท สัตโยภาส

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

อ.ดร.ไพรัช โกศลย์พิพัฒน์

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

อ.ดร.ศุภกฤษ เมธีโกภพวงษ์

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

อ.ดร.ณัฐพร จักรวิเชียร

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

บรรณาธิการ

ผศ.มนตรี ศิริจันทร์ชื่น

ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ผศ.ดร.นครินทร์ พรธิไพ

รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

ผศ.วิไลลักษณ์ กิตติบุตร

รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

หัวหน้ากองบรรณาธิการ

อ.ดร.จิตติมา กัตถัญญ

รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

กองบรรณาธิการ

นางสุมาลี แก้วไสย

หัวหน้าสำนักงานสถาบันวิจัยและพัฒนา

น.ส.ณัฐธยาน์ สมาเกต

นักวิชาการศึกษา

น.ส.กรทอง ลีสุวรรณ

นักวิชาการวิจัย

น.ส.ศิริพร ริพล

นักวิเคราะห์นโยบายและแผน

นายปรัชญา ไชยวงศ์

นักวิชาการคอมพิวเตอร์

น.ส.กรรณิการ์ ช่าง

นักวิชาการเงินและพัสดุ

นายวชิราวุธ สุวรรณคำ

เจ้าหน้าที่ธุรการ

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

อาคารราชภัฏเฉลิมพระเกียรติ ชั้น 14 เลขที่ 202 ถ.โชตนา ต.ช้างเผือก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50300

โทรศัพท์/โทรสาร 0-5388-5950

คำนำ

วารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่เป็นวารสารทางวิชาการที่มีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่ แลกเปลี่ยน ประสบการณ์ ความรู้ งานวิจัย งานวิชาการและงานวิทยานิพนธ์ของคณาจารย์ บุคลากร นักศึกษาของ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่และสถาบันการศึกษาอื่นๆ ตลอดจนนักวิจัยทั่วไป มีการพิมพ์เผยแพร่ปีละ 2 ฉบับ (ประจำเดือนตุลาคม-เดือนมีนาคม และเดือนเมษายน-เดือนกันยายน) ดำเนินการเผยแพร่โดย จัดส่งให้สถาบันอุดมศึกษาทุกสถาบัน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ สำนักงานการอุดมศึกษา และหน่วยงานวิจัยต่างๆ การตีพิมพ์ต้นฉบับที่เสนอขอลงตีพิมพ์จะต้องไม่เคยลงตีพิมพ์ในวารสารใดๆ มาก่อนหรือไม่อยู่ระหว่างเสนอขอลงตีพิมพ์ในวารสารอื่น และต้องผ่านการประเมินกลั่นกรองให้ ความเห็นและตรวจแก้ไขโดยผู้ทรงคุณวุฒิในสาขาที่เกี่ยวข้อง เมื่อได้รับการตีพิมพ์ในวารสารนี้ถือเป็น สิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ การนำต้นฉบับไปตีพิมพ์ใหม่ต้องได้รับอนุญาตจากมหาวิทยาลัย ราชภัฏเชียงใหม่และเจ้าของต้นฉบับก่อน ผลการวิจัยและความคิดเห็นที่ปรากฏในบทความต่างๆ เป็นความรับผิดชอบของผู้เขียนบทความ ทั้งนี้ไม่รวมความผิดพลาดอันเกิดจากเทคนิคการพิมพ์

ในฉบับนี้เป็นปีที่ 12 ฉบับที่ 2 เวลาการดำเนินการอยู่ในช่วงเดือนเมษายน-กันยายน 2554 วารสารฉบับนี้ได้นำเสนอบทความวิจัย 12 เรื่อง มีความเด่น 3 ด้าน คือ บทความเรื่องที่ 1-5 มีความเด่นด้านการวิจัยพัฒนาท้องถิ่น บทความเรื่องที่ 6-10 มีความเด่นด้านการพัฒนาการเรียน การสอน และบทความเรื่องที่ 11-12 มีความเด่นด้านเกษตรศาสตร์

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ขอขอบคุณนักวิจัยทุกท่านที่ส่งบทความ วิจัยมาลงในวารสาร และหวังว่าบทความดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ในแวดวงวิชาการที่เกี่ยวข้องต่อไป

บรรณาธิการ
วารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่

01

การจัดการการเรียนรู้เพื่อเพิ่มศักยภาพทรัพยากรมนุษย์ต่อการยกระดับเศรษฐกิจและสังคมของภาคชนบทและชุมชนเมือง จังหวัดเชียงใหม่

อ.ดร.กาญจนา สุระ

13

คุณธรรมตามปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียงกับการพัฒนาเศรษฐกิจชุมชน จังหวัดเชียงใหม่

ผศ.วีระศักดิ์ สมยานะ

25

โครงการบูรณาการการจัดการเรียนรู้การสื่อสารชุมชนแบบมีส่วนร่วม เพื่อพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมของท้องถิ่น จังหวัดเชียงใหม่

ผศ.ทวีศักดิ์ ปั่นทอง

35

การศึกษาการจัดการทรัพยากรน้ำในพื้นที่บ้านเอืยก ตำบลสันป่ายาง อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

อ.ดร.ทัตพร คุณประดิษฐ์

45

การบริหารต้นทุนและการประเมินมูลค่าการผลิตโดยรวมของผลิตภัณฑ์จากไม้เพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืนในตำบลท่าเสา อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี

อ.ขวัญนรี กล้าปราบโจร

55

การพัฒนาแผนการจัดการศึกษาเฉพาะบุคคลสำหรับเด็กพิเศษโดยมีส่วนร่วมของผู้เกี่ยวข้อง : ศูนย์พัฒนามนุษย์และบุคคลที่มีความพิการ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

อ.อติทยา ใจเตี้ย

67 การพัฒนาหลักสูตรท้องถิ่น ดนตรีล้านนา ในเขตวัฒนธรรมน่าน
อ.อำนาจ บุญอนันต์

79 การพัฒนาบทเรียนคอมพิวเตอร์ช่วยสอนบนเว็บ
เรื่อง การเขียนประโยค สำหรับผู้เริ่มเขียนภาษาอังกฤษ ระดับปริญญาตรี
รศ.ดร.พรหทัย ตัณห์จิตานนท์

89 ผลการใช้โปรแกรมสร้างเสริมสมรรถภาพทางกายแบบสถานี
สำหรับนักเรียนระดับปฐมวัย
ชวกรณ์ สุริยจันทร์

99 แรงจูงใจในการเลือกเล่นกีฬายิมนาสติก ของนักกีฬายิมนาสติก
ในการแข่งขันกีฬาแห่งชาติ ครั้งที่ 39
ราชวัตร แก้วปัญญา

111 การเพาะเลี้ยง *Botryococcus braunii* ในไบโอรีแอกเตอร์
ที่ผลิตจากขวดน้ำพลาสติก
อ.ดร.ธัญญา ทะพิงค์แก

121 การใช้สมุนไพรผสมอาหารเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของปลานิล
อ.วชิรนนท์ แก้วตาปี

การเพาะเลี้ยง *Botryococcus braunii*
ในไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดน้ำพลาสติก

Cultivation of *Botryococcus Braunii* in
Plastic-Bottle Bioreactor

อ.ดร.ธัญญา ทะพิงค์แก

RAJABHAT CHIANGMAI
Research Journal

การเพาะเลี้ยง *Botryococcus braunii* ในไบโอรีแอคเตอร์ ที่ผลิตจากขวดน้ำพลาสติก

Cultivation of *Botryococcus Braunii* in Plastic-Bottle Bioreactor

อ.ดร.ธัญญา ทะพิงค์แก*

บทคัดย่อ

ไบโอรีแอคเตอร์เป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับงานทดลองต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ เนื้อเยื่อพืช และสัตว์ งานวิจัยนี้ได้พัฒนาไบโอรีแอคเตอร์ให้มีราคาถูกและทำได้ง่ายเหมาะสมสำหรับใช้ในห้องทดลองทั่วไป จากการนำเอาขวดน้ำดื่มพลาสติกมาดัดแปลงเป็นไบโอรีแอคเตอร์สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* โดยติดตั้งระบบเติมอากาศที่ผ่านจานกรองแบบละเอียดมากให้ได้อากาศที่ปราศจากเชื้อปนเปื้อนป้อนลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงที่บรรจุในขวด การฆ่าเชื้อขวดและอุปกรณ์ด้วยโอโซน 4 ชั่วโมง ร่วมกับการใช้สารควบคุมการปนเปื้อนต่างๆ ได้แก่ แอมพิซิลลิน เบนเลท กรดอะเซทิลซาลิไซลิก ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และโซเดียมไฮโปคลอไรด์ พบว่าสามารถใช้แทนการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันได้

คำสำคัญ : ไบโอรีแอคเตอร์ การปนเปื้อน สาหร่าย

Abstract

Recycle drinking water bottles were modified to be bioreactor for growing biofuel producer green algae, *Botryococcus braunii*. The HEPA disk air filters were attached to supply clean air to the liquid nutrient media inside the bottles. Sterilizing the bottles and all accessories with ozone for 4 hours and adding some anti-contaminant agents (ampicillin, benlate, acetylsalicylic acid, hydrogen peroxide and sodium hypochloride) could replace the traditional sterilizing process (autoclaving).

Keywords : bioreactor, contamination, algae

* สาขาวิชาเทคโนโลยีและพัฒนากาเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

บทนำ

Botryococcus braunii เป็นจุลสาหร่ายสีเขียวที่เจริญเป็นโคโลนี มีความสามารถในการสะสมสารไฮโดรคาร์บอนได้ถึง 25-75% ของน้ำหนักแห้ง (Metzger and Largeau, 2005) สาหร่ายชนิดนี้พบได้ในแหล่งน้ำจืดในประเทศเขตอบอุ่นและเขตร้อนทั่วไป เซลล์มีสีเขียว สีส้ม สีแดง หรือน้ำตาล ขึ้นอยู่กับสภาวะของเซลล์และสภาพแวดล้อม (Chisti, 2007) จัดได้ว่าเป็นสาหร่ายที่มีศักยภาพเป็นแหล่งพลังงานเชื้อเพลิงให้แก่โลก โดยใช้พื้นที่และน้ำในการเลี้ยงน้อย เพราะสาหร่ายเจริญเติบโตได้เร็วกว่าพืชชนิดอื่นๆ มีรายงานการเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ (Bioreactor) อยู่มากมาย (Doucha and Livansky, 2009; Lehr and Posten, 2009; Um and Kim, 2009)

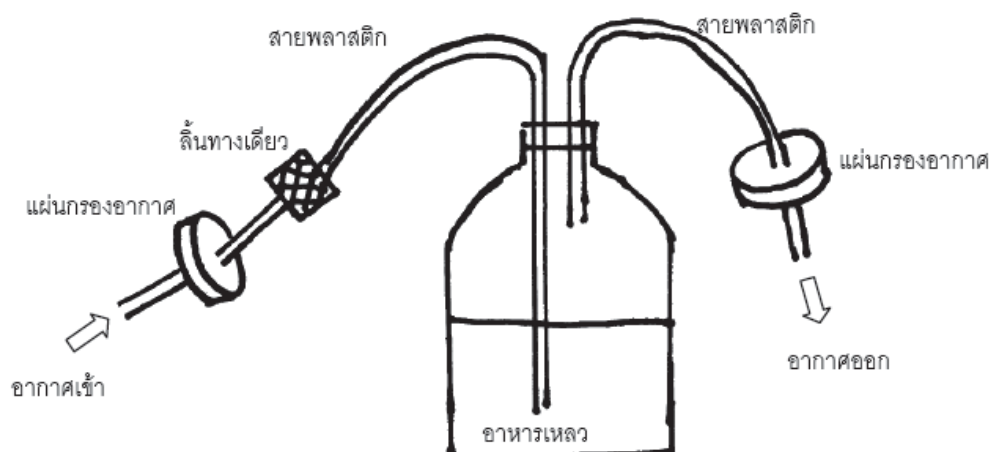
ไบโอรีแอคเตอร์ เป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับงานทดลองต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ เนื้อเยื่อพืช และสัตว์ ไบโอรีแอคเตอร์ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ และพัฒนาวิธีการต่างๆ ด้วยการผสมผสานเทคโนโลยีหลายด้านเข้าด้วยกัน เพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตทั้งในแง่ปริมาณและคุณภาพ มีรูปแบบต่างๆ กันออกไป แต่โดยมากจะมีขั้นตอนการผลิตที่ซับซ้อนและมีราคาแพง ดังนั้นนักวิจัยจึงสนใจทำการศึกษาการใช้ขวดพลาสติกมาผลิตเป็นไบโอรีแอคเตอร์โดยทำการทดสอบกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย เพื่อที่จะได้ลดต้นทุนการผลิตและสามารถทำได้โดยไม่ต้องมีขั้นตอนซับซ้อน โดยใช้สารควบคุมการปนเปื้อนควบคุมเชื้อแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยง

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการใช้ไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดพลาสติกในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii*

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

หัวเชื้อสาหร่าย *B. braunii* ได้มาจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทำเป็น Stock culture โดยนำเชื้อ *B. braunii* บริสุทธิ์ถ่ายลงในขวดอาหารเพาะเลี้ยงที่มีอาหารสูตร Modified Chu 13 ของ Largeau *et al.* (1980) (อ้างโดย ยศวิติ, 2547) ปิดขวดด้วยสำลี ใช้เครื่องพ่นอากาศผ่านทางหลอดแก้วที่เสียบผ่านจุกสำลีลงในอาหาร บ่มที่อุณหภูมิห้อง ให้รับแสงตลอด 24 ชั่วโมง 10 วัน จากนั้นนำมาใส่ลงในไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดน้ำพลาสติกขนาด 6 ลิตร (ธัญญา ทะพิงค์แก, 2553) ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยโอโซนเป็นเวลานาน 4 ชั่วโมง



ภาพที่ 1 แสดงระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดพลาสติก

ทำการเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Modified Chu 13 ที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันแบบปกติ กับอาหารเพาะเลี้ยงที่เติมสารควบคุมการปนเปื้อน ดังนี้ แอมพิซิลลิน เบนเลท กรดอะเซทิลซาลิไซลิก ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 0.15% v/v โซเดียมไฮโปคลอไรต์ 0.02% v/v โดยที่ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร ใช้สต็อกสาหร่ายเริ่มต้นปริมาณ 10% v/v วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design 4 ซ้ำ

ดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ต.สะลวง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ โดยวางไบโอรีแอคเตอร์บนชั้นวางที่ติดตั้งระบบไฟหลอดไฟโกรลักซ์ (Gro-Lux) ให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง อุณหภูมิห้อง 25-30 องศาเซลเซียส ทำการทดลองเดือนตุลาคม 2551 ถึง กันยายน 2552 ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตครั้งเดียวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 20 วัน โดยกรองสาหร่ายแล้วนำไปอบแห้งด้วยตู้อบ Hot air oven 70 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่แล้วบันทึกน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)

ผลการศึกษา

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในสูตรอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ที่เติมสารควบคุมการปนเปื้อน พบว่า สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่ได้ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแต่เติมสารยับยั้งการปนเปื้อนแอมพิซิลลิน เบนเลท และกรดอะเซทิลซาลิไซลิก ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยเท่ากับ 2.71, 2.67 และ 2.61 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างกับการเพาะเลี้ยงในอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อแบบปกติที่ให้น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยเท่ากับ 2.81 กรัมต่อลิตร การเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.15% v/v และ โซเดียมไฮโปคลอไรด์ 0.02% v/v ให้ผลผลิตน้ำหนักเซลล์สาหร่ายแห้งเท่ากับ 1.07 และ 1.02 กรัมต่อลิตร ซึ่งต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ข้างต้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 น้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่าย *Botryococcus braunii* ในสูตรอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ที่เติมสารควบคุมการปนเปื้อนชนิดต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงได้ 20 วัน

สารควบคุมการปนเปื้อน	น้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่าย (กรัม/ลิตร)
ชุดควบคุม (Control)	2.81 ± 0.63 a ^{1/}
แอมพิซิลลิน	2.71 ± 0.10 a
เบนเลท	2.67 ± 0.12 a
กรดอะเซทิลซาลิไซลิก	2.61 ± 0.11 a
ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	1.07 ± 0.13 b
โซเดียมไฮโปคลอไรด์	1.02 ± 0.15 b
F-test	**
C.V. (%)	10.86

^{1/} Different letters in a column indicate a significant difference at 0.01 probability levels by Least Significant Difference test.

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในไบโโรวีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดน้ำพลาสติก สามารถทำได้โดยการเติมแอมพิซิลลิน เบนเลท และกรดอะเซทิลซาลิไซลิก ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Modified Chu 13 ที่ไม่ได้นึ่งฆ่าเชื้อ และให้ผลผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งเทียบเท่ากับการเลี้ยงในอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อตามปกติ

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในไบโรวีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดพลาสติกโดยใช้อาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ที่อุณหภูมิห้อง ให้อากาศจากเครื่องปั๊มอากาศผ่านสายยางที่มีแผ่นกรองอากาศ ให้แสงตลอดเวลา ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 20 วัน ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 10% v/v ให้ผลผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยเท่ากับ 2.81 กรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับงานทดลองของ วลัยลักษณ์ บุญชม (2549) ที่เพาะเลี้ยง *B. braunii* ในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ที่อุณหภูมิห้อง โดยเลี้ยงในขวดน้ำเกลือให้อากาศจากเครื่องปั๊มอากาศผ่านสายยาง ให้แสงตลอดเวลา ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 5% v/v พบว่าสาหร่ายเจริญสูงสุด

ในวันที่ 20 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.73 กรัมต่อลิตร แสดงว่าการเลี้ยงเชื้อสาหร่ายในไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดพลาสติกใช้ได้ค่อนข้างดี เนื่องจากเชื้อที่ใช้ในงานทดลองทั้งสองมาจากแหล่งเดียวกัน

ผลผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่ายที่เลี้ยงในไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดพลาสติกในงานทดลองนี้น้อยกว่าผลที่ได้จากการทดลองของ ยศวดี สวัสดิรักษา (2547) ที่รายงานว่า สาหร่าย *B. braunii* เจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 4 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 3.52 กรัมต่อลิตร การเลี้ยงสาหร่ายใช้อาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 เลี้ยงในอ่างแก้วควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้น (OD_{435}) เท่ากับ 0.2 ทำการเลี้ยงแบบกะในหลอดแก้วปริมาตร 200 มิลลิลิตรให้อากาศผสม CO_2 1% อัตรา 1 ลิตรต่อนาที พวงผกา ดำรัตน และพิมพ์พรณ ต้นสกุล (2549) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 โดยทำการเลี้ยงแบบกะในขวดแก้วกันแบน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาให้แสง 24 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 10,000 ลักซ์ ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 0.75 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตร พบว่า สาหร่ายเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 14 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 11.97 กรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่าแสงมีความจำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นอย่างมาก แสงทำหน้าที่เปลี่ยนอนินทรีย์คาร์บอน (CO_2) ไปเป็นสารประกอบอินทรีย์ (Organic matter) โดยปริมาณความเข้มของแสง คุณภาพของสเปกตรัมและระยะเวลาในการรับแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งปริมาณความต้องการแสงขึ้นอยู่กับปริมาตรของขนาดของไบโอรีแอคเตอร์และความหนาแน่นของสาหร่าย (Chisti, 2007)

Kojima and Zhang (1999) เลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ใน Bubble column photobioreactor ความจุ 800 มิลลิลิตร ในอาหาร Chu 13 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 10 กิโลลักซ์ และให้ 1% CO_2 สาหร่ายเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 25 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 7 กิโลกรัมต่อตารางเมตร เนื่องจากการเพาะเลี้ยงใน Bubble column photobioreactor สามารถควบคุมการถ่ายเทของอากาศ และควบคุมปริมาณสารอาหารให้คงที่ได้ดีกว่าการเลี้ยงในขวดแก้วธรรมดา ตลอดจนความเข้มของแสงสูงจึงให้ผลผลิตที่ดี

การที่น้ำหนักเซลล์แห้งแตกต่างกันเนื่องจากสภาพการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิ แสง (ความเข้มของแสง, ความยาวของแสงต่อวัน และคุณภาพแสง) อาหารเพาะเลี้ยง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้น ภาชนะและระบบที่ใช้เลี้ยง การกระจายตัวของเชื้อ การไหลเวียนของอาหารในขวดเพาะเลี้ยง ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ยิ่งไปกว่านั้นสาหร่าย *B. braunii* แต่ละสายพันธุ์มีความต้องการที่แตกต่างกัน จึงเป็นการยากที่จะทำการเปรียบเทียบผลกับงานทดลองอื่นๆ เนื่องจากสภาพการทดลองแตกต่างกัน และที่มาของเชื้อก็มาจากต่างแหล่งกัน

อาหารที่ไม่ได้พึ่งพาเชื้อแต่เติมสารยับยั้งการปนเปื้อน แอมพิซิลลิน เบนเลท และกรดอะเซทิลซาลิไซลิก ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร ให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งของสาหร่ายไม่แตกต่างกับอาหารที่พึ่งพาเชื้อแบบปกติ แสดงว่าความเข้มข้นของสารยับยั้งการปนเปื้อนที่ใช้ในงานทดลองอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *B. braunii* ทำให้สาหร่ายเจริญได้เป็นปกติ และประสิทธิภาพของสารควบคุมการปนเปื้อนขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง (Leifert *et al.*, 1991) ในงานทดลองนี้อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่ายไม่มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบดังนั้นการปนเปื้อนจึงควบคุมได้ดี จัดเป็นการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic culture

มีการใช้ปฏิชีวนะสารแอมพิซิลลินควบคุมเชื้อปนเปื้อนในการเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* แทนการพึ่งพาเชื้อตามปกติ พบว่าสามารถควบคุมเชื้อปนเปื้อนต่างๆ ได้ดี โดยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Hyun and Choul, 2007) ปฏิชีวนะสารแอมพิซิลลิน และสารยับยั้งเชื้อรา เบนเลท สามารถควบคุมการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงส่วนของใบ Annonaceae ในสภาพปลอดเชื้อ (Santana *et al.*, 2003) เบนเลทที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถควบคุมเชื้อราในการเพาะเลี้ยงยอดของ *Hibiscus moscheutos* ในสภาพปลอดเชื้อได้ (West and Preece, 2006) Marino *et al.* (1997) พบว่าการเติมกรดอะเซทิลซาลิไซลิก ลงในอาหารสามารถลดการเจริญของแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยง Apricot

ในขณะอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เติมไฮโดรเจนเปอร์ไซด์ ความเข้มข้น 0.15% v/v และโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.02% v/v ผลผลิตน้ำหนักรเซลล์สาหร่ายแห้งต่ำ อาจเป็นเพราะสารนี้ไม่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* หรือ ความเข้มข้นที่ใช้ในงานทดลองไม่เหมาะสม อาจจะไปเป็นพิษ (Phytotoxicity) ทำให้เชื้อสาหร่ายเจริญเติบโตได้ไม่ดี มีรายงานว่า การเติมปฏิชีวนะสารลงในอาหารเพาะเลี้ยงยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช (Leifert *et al.*, 2000; Teixeira de Silva *et al.*, 2003)

การใช้สารควบคุมการปนเปื้อนเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงอาจไม่สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด เพียงแต่ยับยั้งการแสดงออกของเชื้อปนเปื้อน (Leifert and Cassells, 2001) ซึ่งเหมาะต่อการนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ที่ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงจนถึงวันเก็บผลผลิตสั้น แต่อย่างไรก็ตามหากมีการศึกษาต่อควรศึกษาถึงเปอร์เซ็นต์น้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย เพราะสารควบคุมการปนเปื้อนอาจมีผลต่อการสะสมน้ำมันของเซลล์สาหร่าย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนทุนวิจัย รศ.ดร.ยุวดี พิธีพรพิศาล คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณามอบเชื้อสาหร่ายใช้ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- ธัญญา ทะพิงค์แก. (2553). รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ การศึกษาการใช้ขวดพลาสติกมาบรรจุอาหารเหลวเพื่อผลิตเป็นไบโอดีเซล. ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปีงบประมาณ 2552. พวงผกา ดำรัตน์ และ พิมพรรณ ตันสกุล. (2549). ผลของช่วงแสงต่อการเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนในสาหร่าย *B. braunii*. วารสารสงขลานครินทร์ วิทยาศาสตร์, 28, 100-105.
- ยศวิทย์ สวัสดิรักษา. (2547). การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances, 25, 294-306.
- Doucha, J. and Livansky, K. (2009). Outdoor open thin-layer microalgal photobioreactor: potential productivity. Journal of Applied Phycology, 21(1), 111-117.
- Hyun, N. J. and Choul, G. L. (2007). Antibiotics addition as an alternative sterilization method for axenic cultures in *Haematococcus pluvialis*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 13(1), 110-115.
- Kojima, E. and Zhang, K. (1999). Growth and hydrocarbon production of microalga *Botryococcus braunii* in bubble column photobioreactors. Journal of Bioscience and Bioengineering, 87(6), 811-815.

- Lehr, F. and Posten, C. (2009). **Closed photo-bioreactors as tools for biofuel production.** Current Opinion in Biotechnology, 20(3), 280-285.
- Leifert, C. and Cassells, A. C. (2001). **Microbial hazards in plant tissue and cell cultures.** In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 37(2), 133-138.
- Leifert, C., Ritchie, J. Y. and Waites, W. M. (1991). **Contaminants of plant-tissue and cell cultures.** World Journal of Microbiology & Biotechnology, 7, 452-469.
- Leifert, C., Waites, B., Keetley, J. W., Wright, S. M., Nicholas, J. R. and Waites, W. M. (2000). **Effect of medium acidification on filamentous fungi, yeasts and bacterial contaminants in *Delphinium* tissue cultures.** Plant Cell Tissue and Organ Culture, 42, 149-155.
- Marino, G., Nanni, E., Biavati, B., Pesenti, M. and Doro Altan, A. (1997). **The effect of acetylsalicylic acid on development of bacterial contaminants and gas evolution in apricot cultures.** In: Cassells, A., ed. Pathogen and microbial contamination management in micropropagation. London: Kluwer Academic Publishers. 201-206.
- Metzger, P. and Largeau, C. (2005). ***Botryococcus braunii* : a rich source for hydrocarbons and related ether lipids.** Applied Microbiology and Biotechnology, 66(5), 486-496.
- Santana, J. R. F., Paiva, R., Alouf, M. A. I. and Lemos, E. E. P. (2003). **Efficiency of ampicillin and benomyl at controlling contamination of annonaceae leaf segments cultured *in vitro*.** Fruits: Paris, 58, 357-361.
- Teixeira de Silva, J. A., Duong, N. T., Michi, T. and Seiichi, F. (2003). **The effect of antibiotic on the *in vitro* growth response of chrysanthemum and tobacco stem transverse thin cell layers (tTCLs).** Scientia Horticulturae, 97, 397-410.
- Um, B. H. and Kim, Y. S. (2009). **Review: A chance for Korea to advance algal-biodiesel technology.** Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 15(1), 1-7.
- West, T. P. and Preece, J. E. (2006). **Use of acephate, benomyl and alginate encapsulation for eliminating culture mites and fungal contamination from *in vitro* cultures of hardy hibiscus (*Hibiscus moscheutos* L.).** In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 42(3), 301-304.

บทปริทรรศน์

การเพาะเลี้ยง *Botryococcus braunii* ในไบโอรีแอคเตอร์ ที่ผลิตจากขวดน้ำพลาสติก

Cultivation of *Botryococcus braunii* in plastic-Bottle bioreactor

โดย รศ.ดร.อมรา ธีปะปาล

ผู้ทรงคุณวุฒิ

กรรมการประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้ขวดน้ำพลาสติกแทนไบโอรีแอคเตอร์เพื่องานทดลองทางชีววิทยา เป็นงานที่น่าสนใจ เพราะเป็นการประยุกต์ใช้วัสดุเหลือใช้ให้เกิดประโยชน์ทางการศึกษาด้านวิทยาศาสตร์ ทดแทนอุปกรณ์ที่ใช้จริงๆ ในงานทดลองซึ่งมีราคาสูง งานนี้ถ้าได้พัฒนาจนได้ผลเป็นที่ยอมรับและ พอใจสำหรับงานวิทยาศาสตร์ จะเป็นประโยชน์อย่างมากในเบื้องต้นสำหรับเผยแพร่งานทดลอง ให้กับการเรียนการสอน การทำโครงงานวิทยาศาสตร์ในโรงเรียนและสถานศึกษาที่มีปัญหาด้าน งบประมาณสำหรับอุปกรณ์การทดลองด้านวิทยาศาสตร์นับเป็นการจุดประกายการเป็นต้นแบบที่ดี ในการดัดแปลงปรับปรุงพัฒนาการผลิตอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ สำหรับบุคลากรทางการศึกษาทั้งใน ระดับมหาวิทยาลัยราชภัฏ และสถานศึกษาที่มีการเรียนการสอนที่เน้นการสอนที่เป็นกระบวนการ วิทยาศาสตร์ จะเป็นการแก้ปัญหาแบบพึ่งพาตนเองรูปแบบหนึ่งที่ไม่ต้องอ้างว่า ไม่สามารถดำเนินการ เรียนการสอนแบบที่มีการทดลองได้เพราะขาดอุปกรณ์ ขาดงบประมาณ

อนึ่งการนำเอาสาหร่าย *Botryococcus Braunii* มาเป็นวัสดุทดลองในครั้งนี้เป็นการกระตุ้น ความสนใจให้กับนักวิจัยอื่นๆ ได้มองเห็นความสำคัญของการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับพลังงานทดแทน ที่เป็นประเด็นการศึกษาที่ทุกฝ่ายควรทุ่มเทความสนใจตามศักยภาพของตน ในระดับนักเรียน นักศึกษาจะได้มีความรู้ทันโลกกว่า สาหร่ายเป็นแหล่งที่มาของพลังงานได้อย่างหนึ่ง ในระดับนักวิจัย จะได้ศึกษาพัฒนาเรื่องนี้เพื่อหาคำตอบมาใช้แก้ปัญหาเรื่องพลังงานได้เหมือนๆ กับประเทศตะวันตก หลายประเทศ

สำหรับผู้วิจัยเรื่องนี้ ควรจะหาโอกาสศึกษาต่อยอด ว่าถ้าปรับเปลี่ยนปัจจัยบางอย่าง ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย อาจจะลดเวลาของการสร้างความเจริญเติบโตสูงสุดลงได้ และได้สาหร่ายที่มีคุณภาพปริมาณในการใช้เป็นแหล่งของพลังงานต่อไป



Rajabhat Chiang Mai University Research Journal



สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
โทรศัพท์/โทรสาร 0-5388-5950

<http://www.research.cmru.ac.th>