# บทที่ 4

# วิจารณ์ผลการทดลอง

## 1. การทดลองที่ อ. บ้านดุง จ. อุดรธานี

อ. บ้านดุง จ. อุดรธานี เป็นแหล่งเกลือสินเธาว์ ประกอบกับราคาเช่าพื้นที่เพื่อใช้ทดลองไม่แพงมากนัก จึงเหมาะที่จะดำเนินการทดลอง และน้ำเกลือที่ใช้ทดลองเป็นน้ำเกลือที่สูบขึ้นมาจากใต้พื้นดิน ความเค็มประมาณ 250 ppt.

### 1.1. การทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลา

#### 1.1.1 การปรับเปลี่ยนสูตรอาหาร

จากการทดลอง พบว่า การผลิตปริมาณแคโรทีนอยด์สูง (3.459 pg/cell) เมื่อความเข้มข้นของ $KNO_3$ 0.5 g/l แต่มีอัตราการเจริญจำเพาะต่ำ (0.138 ต่อวัน) และความเข้มข้นของ $KNO_3$ 1.0 g/l มีอัตราการเจริญจำเพาะสูง (0.217 ต่อวัน) แต่จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์ต่ำ (2.36 pg/cell) ซึ่งจะใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Powtongsook (1993) ศึกษาระดับความเข้มข้นของ $KNO_3$ ในสูตรอาหารต่ออัตราการเจริญและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย D. salina พบว่า สาหร่ายจะมีอัตราการเจริญลดลงเมื่อลดปริมาณไนเตรทในสูตรอาหาร แต่จะสะสมแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อลดปริมาณไนเตรทลงเหลือ 10% ของสูตรอาหาร J/1 (0.1 g/l) และงานทดลองของ Ben-Amotz และ Avron (1983) ที่ศึกษาผลความเข้มข้นของไนเตรทแต่การสะสมเบตาแคโรทีนของสาหร่าย D. bardawil พบว่า เบตาแคโรทีนจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไนเตรทลดลง และเมื่อความเข้มข้นของไนเตรทลดลงเข้าใกล้ 0 ปริมาณเบตาแคโรทีนจึงจะลดลง

ปริมาณไนเตรทมีผลต่อทั้งอัตราการเจริญและการสะสมแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายดูนาลิเอลลา (D. salina or D. bardawil) โดยความเข้มข้นไนเตรทน้อยเป็นปัจจัยให้เกิดการสะสมแคโรทีนอยด์ เมื่ออยู่ในสภาวะความเข้มแสงและความเค็มสูง (Semenenko and Abdullaev , 1980 ; Ben-Amotz and Avron , 1983 ; Borowitzka and Borowitzka , 1988a , Junmin , 1990 , Powtongsook , 1993)

จากการทดลอง ผลของสารอาหาร Fe-solution และ Trace element พบว่า การเติมสารอาหารทั้ง 2 ตัว (II)คือ Fe-solution และ Trace element ตามสูตรอาหาร modified J/1 มีอัตราการเจริญใกล้เคียงกับการทดลองไม่เติมสารอาหารทั้ง 2 ตัว (III) แต่การเติมเฉพาะ Fe-solution (IV) ทำให้อัตราการเจริญดีขึ้น ซึ่งการทดลองปรับเปลี่ยน Trace element ยังไม่มีข้อมูลแสดงมาก Noro (1981) พบว่า ความเข้มข้นของ Mn ที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย D. tertiolecta คือ 0.1 ถึง 0.5 ppm ถ้าความเข้มข้นน้อยทำให้การเจริญลดลง แต่ถ้าความเข้มข้นมากกว่า 10 ppm จะเป็นพิษ ความเข้มข้นของ Cu ที่เหมาะสำหรับการเจริญของสาหร่าย D. bardawil ประมาณ 0.1 uM และ Mil'ko (1962) พบว่า Fe ความเข้มข้นต่ำเป็นสิ่งจำเป็นต่อการเจริญของสาหร่าย Dunaliella ความเข้มข้นที่เหมาะสำหรับ D. salina และ D. viridis คือ 1.25 ถึง 3.75 mg/l การเจริญจะถูกยับยั้งเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น และไม่พบรายงานถึงผลของ Fe-solution และ Trace element ต่อการผลิตแคโรทีนอยด์

จากการทดลองนี้ ได้ผลของสารอาหาร 2 ตัว คือ Fe-solution และ Trace element ต่อการสะสมแคโรทีนอยด์ พบว่าการเติมสารอาหารทั้ง 2 ตัว ปริมาณแคโรทีนอยด์จะสูง (3.459 pg./cell) มากกว่าการไม่เติมหรือการเติมเฉพาะ Fe-solution

การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายดูนาลิเอลลาที่ให้ผลผลิตแคโรทีนอยด์สูงของ Powtongsook (1993) พบว่า สาหร่าย D. salina ทุกสายพันธุ์โดยรวมแล้ว ที่ความเค็ม 10% NaCl มีอัตราการเจริญสูง และจะลดลงตามระดับความเค็มที่เพิ่มขึ้น ที่ความเค็ม 30% NaCl มีอัตราการเจริญต่ำตามระดับความเค็มที่สูงขึ้น แต่มีการสะสมแคโรทีนอยด์สูงขึ้น จากงานของ Loeblich (1982) ศึกษาการสะสมเม็ดสี (Pigment) ของสาหร่าย D. salina ที่ความเค็ม 5 ระดับ พบว่า ที่ความเค็ม 5% ถึง 10% NaCl ไม่มีการสะสมแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น แต่หลังจากนั้นจะเกิดการสะสมเพิ่มขึ้น ตามระดับความเค็มที่สูงขึ้น ในการทดลองนี้จึงใช้ความเค็มประมาณ 22%

**1.1.2. การทดลองระดับความลึก**

จากการทดลองนี้ ความลึกของน้ำเลี้ยง 20 เซนติเมตร มีอัตราการเจริญจำเพาะและการสะสมแคโรทีนอยด์ดีที่สุด ซึ่งจะใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Liangchen (1990) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลาในบ่อขนาดใหญ่ แสงมีความจำเป็นต่อการเจริญของสาหร่าย ถ้าสามารถควบคุมปัจจัยการเลี้ยงอื่นๆ เช่นปริมาณอาหาร ระดับความเค็ม ได้แล้ว แสงจะกลายเป็นปัจจัยที่สำคัญ บ่อเลี้ยงลึกมาก เซลล์ที่อยู่พื้นบ่อจะเจริญช้าตามความเข้มแสงที่ลดลง จึงไม่สามารถทำให้ผลผลิตสูงสุดได้ แต่ถ้าความลึกน้อยเกินไปแสงจะส่องผ่านได้มากอาจทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสงได้ (Photosynthesis inhibition) เนื่องจากความเข้มแสงที่มากเกินไป ระดับความลึกที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Dunaliella ประมาณ 10-20 เซนติเมตร (Cordero et al., 1990)

จากการทดลองนี้ความลึก 10 และ 30 เซนติเมตร มีความเปลี่ยนแปลงมากจากฝนตก ทำให้มีน้ำจืดไปผสมกับน้ำเลี้ยงเนื่องจากไม่ได้ปิดบ่อทดลอง สภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ก็จะเปลี่ยนแปลง ที่สำคัญ คือ ความเค็ม ความเข้มข้นของอาหารจะลดลง โดยเฉพาะการทดลองความลึก 10 เซนติเมตร ความเค็มเปลี่ยนแปลงจาก 220 ppt. เหลือประมาณ 110 ppt. เกิดการเจือจางมากกว่าระดับความลึกอื่น ๆ พบว่า เกิดการเจริญอย่างรวดเร็วหลังจากฝนตก ในวันต่อไป ส่วนความลึก 30 เซนติเมตร มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญมาก ขณะฝนตกไม่ได้ปิดบ่อทดลองเช่นเดียวกัน ทำให้น้ำเลี้ยงล้นออกนอกบ่อ จากความเค็มประมาณ 220 ppt. เป็น 190 ppt. การทดลองความลึก 10 เซนติเมตร มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มมาก ทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์เปลี่ยนแปลงไปด้วย แต่ที่ความลึก 30 เซนติเมตร การสะสมแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์น้อย อาจเป็นเพราะมีความลึกมากเกินไป ทำให้แสงไม่สามารถส่องผ่านถึงเซลล์สาหร่ายได้ทั่วถึงดังกล่าวแล้วตอนต้น ตลอดจนเนื่องมาจากเซลล์บดบังกันเอง ดังนั้นระดับความลึกประมาณ 20 เซนติเมตร จึงเป็นระดับความลึกที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลาเพื่อผลิตแคโรทีนอยด์

**1.2. ทดลองระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลา**

**1.2.1. ระบบการเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง (Extensive culture)**

จากการทดลองนำสาหร่าย D. salina ทำการเพาะเลี้ยงในน้ำเกลือสินเธาว์โดยใช้กระแสลมเพื่อให้เกิดการหมุนเวียนของน้ำเลี้ยง พื้นที่ทดลอง 36 ตารางเมตร ความลึกของน้ำเลี้ยงประมาณ 20 เซนติเมตร ได้จำนวนเซลล์สูงสุด $3.458x10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ในวันที่ 29 ของการเลี้ยง และปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 3.81 pg/cell ในวันที่ 25 ของการเลี้ยง การสะสมแคโรทีนอยด์เปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อม เช่น ฝนตกจะทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง (ภาพที่ 26,27) อาจมีสาเหตุเนื่องมาจาก ฝนตกทำให้ระดับน้ำเลี้ยงสูงขึ้นมาก เซลล์สาหร่ายไม่สามารถรับแสงได้ทั่วถึง แสงไม่มากพอสำหรับการสะสมแคโรทีนอยด์ ระดับความลึกที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยง 10-20 เซนติเมตร (Liangchen , 1990) ปริมาณน้ำฝนทำให้น้ำเลี้ยงเจือจาง ความเค็มลดลง ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบสาหร่ายเซลล์สีเขียว ตัวขนาดเล็ก คาดว่าจะเป็น D. viridis แต่ไม่พบโปรโตซัวเลย Moulton, Sommer, BurFord and Borowitzka (1987) รายงานการอยู่รวมกันแบบแก่งแย่งแข่งขัน (Competition) ระหว่าง D. salina และ D. viridisในการเพาะเลี้ยง Dunaliella ประเทศออสเตรเลีย พบว่า D. viridis มีอัตราการเจริญรวดเร็วมาก แต่ไม่มีผลกับ D. salina ในการเลี้ยงแบบเก็บผลผลิตกึ่งต่อเนื่อง การปนเปื้อนนี้จะเป็นตัวควบคุมที่สำคัญต่อการผลิตสาหร่าย D. salina ระดับอุตสาหกรรม

Borowitzka และ Borowitzka (1990) รายงานว่า D. viridis ไม่มีผลต่อการเจริญของ D. salina แต่ถ้าหากมีการปนเปื้อนมาก ๆ จะมีผลต่อคุณภาพของผลผลิตสาหร่ายที่ได้ เพราะจะมีเบตาแคโรทีนต่อน้ำหนักแห้งลดลง วิธีที่ยับยั้งการเจริญของ D. viridis ในบ่อสาหร่าย Dunaliella โดยการลดความเข้มข้นของไนเตรท (ประมาณ 0.1 g/l หรือ 10% ของไนเตรทในสูตรอาหาร J/l) ทั้งนี้เพราะ D. salina สามารถเจริญในความเข้มข้นของระดับไนเตรทต่ำได้ดีกว่า D. viridis (Borowitzka and Borowitzka , 1988b)

ดังนั้น Extensive culture นอกจากจะมีปัญหาจากสภาพภูมิอากาศและสิ่งปนเปื้อนจากสาหร่ายตัวอื่นแล้ว ปัญหาที่สำคัญมากอีกอย่างหนึ่งคือ การชำรุดของพลาสติกที่ใช้ปูพื้นบ่อ ใช้เวลามากในการซ่อมแซมพลาสติกและเกิดขึ้นบ่อยครั้ง

Ben-Amotz และ Avron (1990) กล่าวว่า การเพาะเลี้ยงแบบ Extensive โดยไม่มีการหมุนเวียนน้ำใช้สภาพแวดล้อมควบคุม ทำให้มีสภาพเหมาะที่จะเกิดศัตรูของสาหร่าย สาหร่ายจะมีปริมาณลดลง ถ้าไม่เพาะเลี้ยงในความเค็มสูง แต่ถ้าเพาะเลี้ยงในระดับความเค็มสูง Dunaliella เจริญได้ช้า และศัตรูของสาหร่ายก็จะถูกกำจัดไปได้ เฉลี่ยผลผลิตที่ได้จากการเลี้ยงแบบนี้มีค่าต่ำกว่า 100 มิลลิกรัม สาหร่ายแห้ง หรือ 10 มิลลิกรัม เบตาแคโรทีน/ตารางเมตร/วัน

จากการทดลองนี้ไม่สามารถเก็บเกี่ยวเซลล์ที่สะสมแคโรทีนอยด์ได้เนื่องจากสภาพอากาศมีฝนตกนักติดต่อกันและท่วมบ่อทดลอง

**1.2.2. ระบบการใช้อากาศผ่านท่อ PVC**

พื้นที่ทดลองขนาด 150 ตารางเมตร ระดับน้ำเลี้ยง ประมาณ 20 เซนติเมตร ได้จำนวนเซลล์สูงสุด $1.8x10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ในวันที่ 23 ของการเลี้ยง และปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 18.5 pg/cell ในวันที่ 9 ของการทดลองเลี้ยง ขณะทำการทดลองไม่พบโปรโตซัว แต่พบเซลล์สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก โดยเฉพาะหลังฝนตก (วันที่ 19) จากการเจริญของ Dunaliella ถ้าฝนตกไม่มากนัก ขณะเซลล์แบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ จะไม่มีผลทำให้การเจริญลดลง การสะสมแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นถึงประมาณวันที่ 9 ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะลดลงตามลำดับ สาเหตุที่ทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง อาจเป็นเพราะความเข้มข้นของไนเตรทลดลงมากจนเข้าใกล้ 0 ทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง (Ben-Amotz and Avron , 1983) เมื่อฝนตกความเข้มข้นของไนเตรทยิ่งลดลง

จากการวัดปริมาณไนเตรทในน้ำเกลือสินเธาว์ พบว่า ได้ค่าประมาณ 8.26 ug/l ซึ่งค่อนข้างน้อยมาก ฉะนั้นความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงขึ้นกับปริมาณไนเตรทที่เติมตามสูตรอาหาร

ระบบการเพาะเลี้ยงแบบให้อากาศผ่านท่อ PVC ต้องรู้ถึงแรงดันของอากาศว่าสามารถกระจายได้ทั่วบ่อหรือไม่ ขนาดรูของท่อ PVC ควรมีความกว้างและห่างมากเพียงไหนจึงจะทำให้น้ำเลี้ยงเกิดการหมุนเวียนและกระจายได้ทั่วบ่อ ปัญหาอีกอย่างของการให้อากาศผ่านท่อ PVC คือ เมื่ออากาศอยู่ในท่อ ทำให้ท่อ PVC ลอยขึ้นบนผิวน้ำ ควรต้องทำอุปกรณ์เพื่อยึดท่อ PVC ไว้กับพื้นบ่อ แต่ต้องไม่ทำให้พลาสติกปูพื้นบ่อรั่ว ปัญหาที่สำคัญของบ่อที่ปูพื้นด้วยพลาสติกคือการรั่ว บ่อใหญ่มากขึ้นปัญหาการรั่วก็มากตามไปด้วย

**1.2.3 ระบบการเพาะเลี้ยงแบบเข้ม (Intensive culture)**

พื้นที่ทดลองขนาด 570 ตารางเมตร ระดับน้ำเลี้ยงประมาณ 20 เซนติเมตร การทดลองนี้ฝนตกมากที่สุด (เมษายน-พฤษภาคม 2540) ทำการทดลอง 36 วัน อัตราการเจริญช่วงที่ไม่มีฝนตกน้อยกว่าช่วงหลังฝนตก ซึ่งจะพบเซลล์สาหร่ายสีเขียว ขนาดเล็ก คาดว่าจะเป็น D. viridis ปริมาณแคโรทีนอยด์มีการสะสมเพิ่มขึ้นตามลำดับ และมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 82.8 pg/cell

การทดลองเพาะเลี้ยง 3 ระบบ (Extensive , ให้อากาศผ่านท่อ PVC และ Intensive) พบว่าระบบ Intensive มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด (82.8 pg/cell) ให้อากาศผ่านท่อ PVC (18.5 pg/cell) และระบบ Extensive เกิดการสะสมแคโรทีนอยด์น้อยที่สุด (3.81 pg/cell) Liangchen (1990) ศึกษาการเพาะเลี้ยงขนาดใหญ่ ของสาหร่าย Dunaliella รายงานว่า ปัญหาการเพาะเลี้ยงคือ การจมตัวของเซลล์ และการไม่กระจายของอาหาร ภายใต้ความเข้มแสงสูงและการสะสมของออกซิเจนในน้ำเพิ่มขึ้น ความเข้มแสงและระดับออกซิเจนสูงจะยับยั้งการเจริญ การหมุนเวียนน้ำไม่เพียงช่วยลดปัญหานี้ยังช่วยกระจายแสงและเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย เครื่องมือที่ใช้ในการหมุนเวียนน้ำมีดังนี้คือ คราด (Planks, Drag boards) ใบพัด (Paddle wheel) ปั๊มกับการไหลตามแรงดึงดูด (Pumps with gravitational flow) การให้อากาศ (Air-lifting) และ การฉีดน้ำให้เป็นฟอง (Spraying) วิธีการที่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย คือ Paddle wheel แต่ต้องหมุนด้วยอัตราความเร็วต่ำ เพราะ Dunaliella ไม่มีผนังเซลล์ ทำให้ถูกทำลายได้ง่าย Benemann, Tillett และ Weissman (1987) กล่าวว่าการใช้ใบพัด (Paddle wheel) เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยง Dunaliella และ Spirulina ในระดับอุตสาหกรรม บ่อขนาดประมาณ 4,000-5,000 ตารางเมตร

Cordero et al. (1990) ศึกษาการเพาะเลี้ยงแบบเข้มของสาหร่าย D. salina ที่ได้รับคัดเชื้อจากทะเลทราย Chilean รายงานว่า การเพาะเลี้ยงในบ่อขนาด 100 ตารางเมตร การใช้คราด (drag board) ให้ผลผลิตเบตาแคโรทีน (1.16 ug/ml day) มากกว่าการใช้ใบพัด (Paddle wheel = 1.03 ug/ml day) และการสิ้นเปลืองพลังงานในระบบก็น้อยกว่าด้วย

## 2. การทดลองที่ อ. วังสามหมอ จ. อุดรธานี

### 2.1 ระบบการเพาะเลี้ยงแบบสองขั้นตอน (Two-step culture)

การเพาะเลี้ยงแบบสองขั้นตอน ขั้นตอนแรก การปรับปัจจัยต่าง ๆ เพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายคือ ความเค็มต่ำและสารอาหารมากพอสำหรับการเจริญอย่างเต็มที่ (โดยเฉพาะไนเตรท) เมื่อได้จำนวนเซลล์สูงสุดจึงนำไปสู่ขั้นตอนที่สอง การเลี้ยงเพื่อการสะสมเบตาแคโรทีน ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสะสมเบตาแคโรทีนคือ เพิ่มความเค็มให้สูงขึ้นและลดปริมาณสารอาหาร (Borowilzka and Borowitzka , 1990 ; Ben-Amotz , 1995) จากการทดลองนี้ ขั้นตอนแรก ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย D. salina ความเค็ม 100 ppt. ได้เซลล์สาหร่ายเป็นสีเขียว ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด $2x10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร เมื่อทำการเลี้ยงไปหลายวันจะพบโปรโตซัว (Heteramoeba sp.)

ขั้นตอนที่สอง นำสาหร่ายไปเลี้ยงที่ความเค็ม 200 ppt. โดยมีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นต่าง ๆ กันไป พบว่า ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น $5x10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร มีการสะสมแคโรทีนอยด์สูงที่สุด แสดงว่าต้องทำการเจือจางจากขั้นตอนแรก ($2x10^5$ เซลล์/มล.) เพื่อทดลองขั้นตอนที่สอง ($5x10^4$ เซลล์/มล.) ประมาณ 4 เท่า ใช้ระยะเวลาการเลี้ยงทั้งสองขั้นตอนประมาณ 15 วัน ซึ่งจะคล้ายกับงานทดลองของ Ben-Amotz (1995) ศึกษาการเลี้ยงสองขั้นตอนของสาหร่าย D. bardawil ทำการเจือจางประมาณ 4 เท่า เพื่อทำการทดลองขั้นที่สอง ใช้ระยะเวลาการเลี้ยงทั้งสองขั้นตอนประมาณ 20 วัน ระบบการทดลองนี้มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง

จากการทดลองนี้ พบว่าการสะสมแคโรทีนอยด์จะเพิ่มอย่างรวดเร็วช่วง 3 วันแรกของการทดลองในขั้นตอนที่สอง หลังจากนั้นจะลดลง อาจเป็นเพราะความเข้มข้นของไนเตรทลดน้อยลงมากจากการนำไปใช้ของสาหร่ายจนเข้าใกล้ 0 ทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง ดังงานทดลองของ Ben-Amotz และ Avron (1983) ศึกษาผลความเข้มข้นของไนเตรทต่อการสะสมเบตาแคโรทีนของสาหร่าย D. bardawil พบว่า เบตาแคโรทีนจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไนเตรทลดลง จนกระทั่งความเข้มข้นของไนเตรทลดลงเข้าใกล้ 0 ปริมาณเบตาแคโรทีนจึงจะลดลง จากการวัดปริมาณไนเตรทในน้ำเกลือสินเธาว์ พบว่า ได้ค่าประมาณ 8.26 ug/l ซึ่งค่อนข้างน้อยมาก ฉะนั้นความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงขึ้นกับปริมาณไนเตรทที่เติมตามสูตรอาหาร

Borowitzka และ Borowitzka (1990) พบ โปรโตซัว Heteramoeba sp. และ Cladotricha sigmoidea ปะปนในบ่อ Dunaliella เมื่อความเค็มต่ำ

## 2.2. การประเมินความคุ้มค่าต่อการลงทุน

การผลิต Beta-carotene หรือ glycerol จาก D. salina เพื่อผลของการค้า ต้องรู้ปัจจัยดังต่อไปนี้

1. สภาวะที่เหมาะสม เพื่อการผลิตเซลล์สาหร่ายและผลิตผลจากสาหร่าย
2. การพัฒนาระบบการเลี้ยง ที่มีสภาวะแวดล้อม ภูมิประเทศ ภูมิอากาศ ฤดูกาล และศัตรู เป็นปัจจัยควบคุม
3. วิธีเก็บเกี่ยวที่ใช้ต้นทุนต่ำ (Borowitzka and Borowitzka , 1988a)

จากการทดลองนี้ ทำการเพาะเลี้ยงในบ่อซีเมนต์พื้นที่ 62.5 ตารางเมตร ในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ ความเค็มมากกว่า 220 ppt. ได้จำนวนเซลล์สูงสุด $2x10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 21.7 pg/cell ทดลองเลี้ยงประมาณ 23 วัน จึงทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 80 กรัม/ตารางเมตร การเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการตกตะกอนด้วยสารส้ม (Aluminum sulphate) แล้วจึงนำไปกรองด้วยผ้าขาวบาง ผ้ากรองที่ใช้ถ้าหากมีขนาดรู (Pore size) ใหญ่เกินไปจะทำให้เซลล์สาหร่ายรั่วออกมาได้ แต่ถ้ารูเล็กเกินไปทำให้กรองยากต้องใช้เวลามาก เมื่อกรองเสร็จ ล้างด้วยน้ำจืด นำไปผึ่งแดดให้แห้ง ใช้เวลาประมาณ 3-4 วัน บางครั้งทำให้เกิดผลเสียต่อคุณภาพของสาหร่าย สาหร่ายถ้าไม่ใช้วิธีการทำแห้งอย่างรวดเร็ว อาจทำให้สูญเสียคุณภาพได้ (Oswald , 1988) เมื่อนำสาหร่ายมาหาน้ำหนักแห้งปราศจากเถ้า (Ash free dry weight) ได้ 23% ของน้ำหนักแห้ง อีก 77% น่าจะเป็นเกลือเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากเลี้ยงด้วยน้ำเกลือ ที่มีความเค็มสูงถึงจะล้างออกก็ยังมีเกลือติดค้าง

การเก็บเกี่ยววิธีนี้ ง่าย ค่าใช้จ่ายไม่มาก แต่ต้องทำหลายขั้นตอน และไม่สามารถนำน้ำเลี้ยงเก่าหมุนกลับมาใช้ได้อีก คือน้ำเกลือสามารถใช้เลี้ยงสาหร่ายได้ครั้งเดียว แล้วต้องทิ้งหรือนำไปผลิตเกลือ ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเก็บเกี่ยวผลผลิตแบบกึ่งต่อเนื่องได้ เนื่องจากไม่สามารถใช้สารส้มตกตะกอนได้อย่างมีประสิทธิภาพ การใช้สารส้มจะใช้ได้ดีในช่วงแรก ๆ หลังจากนั้นปริมาณสารส้มสะสมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวนมากขึ้นจะทำให้การตกตะกอนเป็นไปได้ยาก สาหร่ายมีแนวโน้มจับตัวและลอยขึ้นที่ผิวทำให้แยกสาหร่ายออกจากน้ำได้ยาก (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต และคณะ, 2537) อย่างไรก็ตาม การเก็บเกี่ยวผลผลิตในระดับอุตสาหกรรมของสาหร่ายมักนิยม 2 วิธี คือ การตกตะกอน (Flocculation) และการหมุนเหวี่ยง (Centrifugation) มีผลการทดลองว่า การตก

ตะกอนสาหร่าย D. salina ด้วย Aluminum sulphate ได้ผลเป็นที่น่าพอใจ แต่ไม่ปลอดภัยพอที่จะเป็นอาหาร และ Aluminum sulphate ทำให้อัตราการเจริญของสาหร่ายลดลง (Cordero et al., 1990) ในการเก็บเกี่ยวผลผลิตแบบกึ่งต่อเนื่อง

นอกจากความรู้แรื่องการผลิต และการเก็บเกี่ยวแล้ว ต้องรู้จักเกี่ยวกับการจัดการผลิตผลและแนวโน้มการตลาดในอนาคต เพื่อสามารถประเมินการลงทุนได้ ทุกวันนี้ผลผลิตของสาหร่ายอยู่ใน 2 รูปแบบ คือ 1) สาหร่ายแห้ง 2) การสกัดเบตาแคโรทีน สาหร่ายใช้การเก็บเกี่ยวแบบ Centrifugation แล้วทำให้แห้งด้วยวิธี Spraydriers เป้าหมายต้องการใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพและใช้กับมนุษย์โดยตรง ราคามากกว่า 2,000 เหรียญสหรัฐ/กิโลกรัมของเบตาแคโรทีน ผลผลิตสาหร่ายรูปแบบที่ 2 ทำการเก็บเกี่ยวโดยการตกตะกอน และสกัดเบตาแคโรทีนในน้ำมันพืช (Vegetable Oil) ซึ่งเบตาแคโรทีนจะผสมกับน้ำมันพืช สามารถปรับปรุงเป็นอาหารเสริมสำหรับมนุษย์ ปลา ไก่ หรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์ ราคาประมาณ 1,000 - 1,200 เหรียญสหรัฐ/กิโลกรัมของเบตาแคโรทีน (Vonshak, 1994)