การเพาะเลี้ยง *Botryococcus braunii* ในไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดน้ำพลาสติก

Cultivation of *Botryococcus Braunii* in Plastic-Bottle Bioreactor

อ.ดร.ธัญญา ทะพิงค์แก

RAJABHAT CHIANGMAI
Research Journal

การเพาะเลี้ยง *Botryococcus braunii* ในไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดน้ำพลาสติก

Cultivation of *Botryococcus Braunii* in Plastic-Bottle Bioreactor

อ.ดร.ธัญญา ทะพิงค์แก*

บทคัดย่อ

ไบโอรีแอคเตอร์เป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับงานทดลองต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ เนื้อเยื่อพืช และสัตว์ งานวิจัยนี้ได้พัฒนาไบโอรีแอคเตอร์ให้มีราคาถูกลงและทำได้ง่ายเหมาะสำหรับใช้ในห้องทดลองทั่วไป จากการนำเอาขวดน้ำดื่มพลาสติกมาดัดแปลงเป็นไบโอรีแอคเตอร์สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* โดยติดตั้งระบบเติมอากาศที่ผ่านจานกรองแบบละเอียดมากให้ได้อากาศที่ปราศจากเชื้อปนเปื้อนป้อนลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงที่บรรจุในขวด การฆ่าเชื้อขวดและอุปกรณ์ด้วยโอโซน 4 ชั่วโมง ร่วมกับการใช้สารควบคุมการปนเปื้อนต่างๆ ได้แก่ แอมพิซิลีน เบนเลท กรดอะเซททิลซาลิไซลิก 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

* สาขาวิชาเทคโนโลยีและพัฒนาการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

บทนำ

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

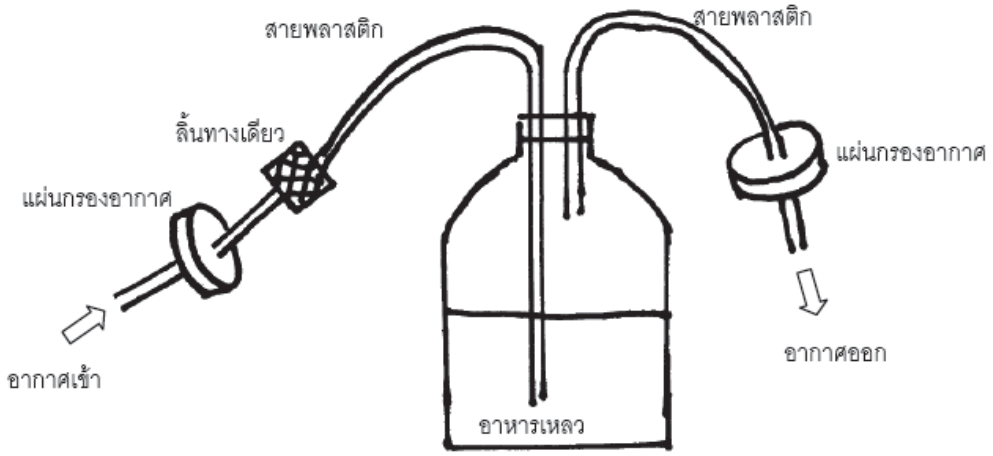
ไบโอรีแอคเตอร์ เป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับงานทดลองต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ เนื้อเยื่อพืชและสัตว์ ไบโอรีแอคเตอร์ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ และพัฒนาวิธีการต่างๆ ด้วยการผสมผสานเทคโนโลยีหลายด้านเข้าด้วยกัน เพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตทั้งในแง่ปริมาณและคุณภาพ มีรูปแบบต่างๆ กันออกไป แต่โดยมากจะมีขั้นตอนการผลิตที่ซับซ้อนและมีราคาแพง ดังนั้นนักวิจัยจึงสนใจทำศึกษาการใช้ขวดพลาสติกมาผลิตเป็นไบโอรีแอคเตอร์โดยทำการทดสอบกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย เพื่อที่จะได้ลดต้นทุนการผลิตและสามารถทำได้โดยไม่ต้องมีขั้นตอนซับซ้อน โดยใช้สารควบคุมการปนเปื้อนควบคุมเชื้อแปลกปลอมในการเพาะเลี้ยง

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 ยศวดี, 2547) ปิดขวดด้วยสำลี ใช้เครื่องพ่นอากาศผ่านทางหลอดแก้วที่เสียบผ่านจุกสำลีลงไปในอาหาร 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 แอมพิซิลีน เบนเลท กรดอะเซททิลซาลิไซลิก ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 0.15% v/v โซเดียมไฮโปคลอไรด์ 0.02% v/v โดยที่ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร ใช้สต็อกสาหร่ายเริ่มต้นปริมาณ 10% v/v วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design 4 ซ้ำ

ดำเนินงานทดลองที่ห้องปฏิบัติการพืช 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 และกรดอะเซททิลซาลิไซลิก ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยเท่ากับ 2.71, 2.67 และ 2.61 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างกับการเพาะเลี้ยงในอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อแบบปกติที่ให้น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยเท่ากับ 2.81 กรัมต่อลิตร การเติมไฮโดรเจนเพอร์ไซด์ 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/]
แอมพิซิลีน	2.71 ± 0.10 a
เบนเลท	2.67 ± 0.12 a
กรดอะเซททิลซาลิไซลิก	2.61 ± 0.11 a
ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์	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* ในไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดน้ำพลาสติก สามารถทำได้โดยการเติมแอมพิซิลลิน เบนเลท และกรดอะเซททิลซาลิไซลิก ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Modified Chu 13 ที่ไม่ได้นึ่งฆ่าเชื้อ และให้ผลผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งเทียบเท่ากับการเลี้ยงในอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อตามปกติ

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดพลาสติกโดยใช้อาหารสังเคราะห์ 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 ดำรัตนา และพิมพรรณ ตันสกุล (2549) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 โดยทำการเลี้ยงแบบกะในขวดแก้วก้นแบน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาให้แสง 24 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 10,000 ลักซ์ ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 0.75 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร 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

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

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

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

การใช้สารควบคุมการปนเปื้อนเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงอาจไม่สามารถกำจัดเชื้อแปลกปลอมได้ทั้งหมด เพียงแต่ยับยั้งการแสดงออกของเชื้อปนเปื้อน (Leifert and Cassells, 2001) ซึ่งเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ที่ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงจนถึงวันเก็บผลผลิตสั้น แต่อย่างไรก็ตามหากมีการศึกษาต่อควรศึกษาถึงเปอร์เซ็นต์น้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย เพราะสารควบคุมการปนเปื้อนอาจมีผลต่อการสะสมน้ำมันของเซลล์สาหร่าย

กิตติกรรมประกาศ

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

เอกสารอ้างอิง

ธัญญา ทะพิงค์แก. (2553). **รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ การศึกษาการใช้ขวดพลาสติกมาบรรจุอาหารเหลวเพื่อผลิตเป็นไบโอรีแอคเตอร์.** ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปีงบประมาณ 2552.

พวงผกา ดำรัตนา และ พิมพรรณ ตันสกุล. (2549). **ผลของช่วงแสงต่อการเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนในสาหร่าย *B. braunii*.** วารสารสงขลานครินทร์ วิทยาศาสตร์, 28, 100-105.

ยศวดี 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., Aloufam, 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 brauii* ในไบโอรีแอคเตอร์ที่ผลิตจากขวดน้ำพลาสติก

Cultivation of *Botryococcus braunii* in plastic-Bottle bioreactor

โดย รศ.ดร.อมรา ธีปะปาล
ผู้ทรงคุณวุฒิ
กรรมการประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้ขวดน้ำพลาสติกแทนไบโอรีแอคเตอร์เพื่องานทดลองทางชีววิทยาเป็นงานที่น่าสนใจ เพราะเป็นการประยุกต์ใช้วัสดุเหลือใช้ให้เกิดประโยชน์ทางการศึกษาด้านวิทยาศาสตร์ทดแทนอุปกรณ์ที่ใช้จริงๆ ในงานทดลองซึ่งมีราคาสูง งานนี้ถ้าได้พัฒนาจนได้ผลเป็นที่ยอมรับและพอใจสำหรับงานวิทยาศาสตร์ จะเป็นประโยชน์อย่างมากในเบื้องต้นสำหรับเผยแพร่งานทดลองให้กับการเรียนการสอน การทำโครงงานวิทยาศาสตร์ในโรงเรียนและสถานศึกษาที่มีปัญหาด้านงบประมาณสำหรับอุปกรณ์การทดลองด้านวิทยาศาสตร์นับเป็นการจุดประกายการเป็นต้นแบบที่ดีในการดัดแปลงปรับปรุงพัฒนาการผลิตอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ สำหรับบุคลากรทางการศึกษาทั้งในระดับมหาวิทยาลัยราชภัฏ และสถานศึกษาที่มีการเรียนการสอนที่เน้นการสอนที่เป็นกระบวนการวิทยาศาสตร์ จะเป็นการแก้ปัญหาแบบพึ่งพาตนเองรูปแบบหนึ่งที่ไม่ต้องอ้างว่า ไม่สามารถดำเนินการเรียนการสอนแบบที่มีการทดลองได้เพราะขาดอุปกรณ์ ขาดงบประมาณ

อนึ่งการนำเอาสาหร่าย Botryococcus Braunii มาเป็นวัสดุทดลองในครั้งนี้เป็นการกระตุ้นความสนใจให้กับนักวิจัยอื่นๆ ได้มองเห็นความสำคัญของการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับพลังงานทดแทนที่เป็นประเด็นการศึกษาที่ทุกฝ่ายควรทุ่มเทความสนใจตามศักยภาพของตน ในระดับนักเรียนนักศึกษาจะได้มีความรู้ทันโลกว่า สาหร่ายเป็นแหล่งที่มาของพลังงานได้อย่างหนึ่ง ในระดับนักวิจัยจะได้ศึกษาพัฒนาเรื่องนี้เพื่อหาคำตอบมาใช้แก้ปัญหาเรื่องพลังงานได้เหมือนๆ กับประเทศตะวันตกหลายประเทศ

สำหรับผู้วิจัยเรื่องนี้ ควรจะหาโอกาสศึกษาต่อยอด ว่าถ้าปรับเปลี่ยนปัจจัยบางอย่างที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย อาจจะลดเวลาของการสร้างความเจริญเติบโตสูงสุดลงได้และได้สาหร่ายที่มีคุณภาพปริมาณในการใช้เป็นแหล่งของพลังงานต่อไป