

การเปรียบเทียบรูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา Comparison of Stirring Patterns Suitable for the Growth of *Chlorella* sp.

กัญญารัตน์ พูลทะจิตร์¹ นงนุช เลหาวิสุทธิ^{1*} สมเกียรติ สีสนอง² และอัจฉรี เรืองเดช¹

Kanyarat Pooltajit¹, Nongnuch Laohavisuti^{1*}, Somkiat Seesanong² and Uscharee Ruangdej¹

¹สาขาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการจัดการทรัพยากรทางน้ำ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

²สหวิทยาการเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

¹Department Aquacultural Technology and Aquatic Resource Management, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Bangkok, Thailand 10520

²Office of Administrative Interdisciplinary Program on Agricultural Technology, Faculty of Agricultural Technology
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand 10520

*Corresponding author: nongnuch.la@kmitl.ac.th

Received: January 04, 2024

Revised: August 31, 2024

Accepted: September 30, 2024

Abstract

The study aimed to compare suitable stirring patterns for the growth of *Chlorella* sp. A completely randomized experimental design was conducted with four sets of experiments, each repeated five times. Set 1 served as the control with air-stone bubbler stirring. Sets 2 and 3 utilized horizontal and vertical stirring circulation, respectively, while Set 4 combined horizontal and vertical stirring circulation. *Chlorella* sp. cells, initially at 9.8×10^4 cells/mL, were cultured outdoors for 10 days using modified nutrient media. Growth parameters, including cell count, dry weight, chlorophyll a content, pheophytin content, and pH were recorded. The results showed that all experimental sets reached maximum growth rates on day 8, with values of 789.64×10^4 , 721.63×10^4 , $1,116.28 \times 10^4$ and $1,580.08 \times 10^4$ cells/mL, respectively, significantly differing ($P < 0.05$). Dry weight values were 123.60, 177.60, 164.00 and 202.80 $\mu\text{g/mL}$, respectively, also significantly different ($P < 0.05$). Chlorophyll a content was 3,859.81, 4,756.69, 4,068.30 and 5,741.60 $\mu\text{g/L}$, respectively ($P < 0.05$). Pheophytin content did not significantly differ ($P > 0.05$), and pH values showed minor alkalinity, favoring *Chlorella* sp. growth. In conclusion, the combined horizontal and vertical water circulation system proved to be the most suitable stirring pattern for cultivating *Chlorella* sp., resulting in superior cell count, dry weight, chlorophyll a content, and pheophytin content compared to other experimental sets.

Keywords: *Chlorella* sp., growth, submersible pump, stirring

บทคัดย่อ

การเปรียบเทียบรูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 5 ซ้ำ ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 1 การกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบและแนวตั้ง ตามลำดับ และชุดการทดลองที่ 4 การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง โดยนำสาหร่ายคลอเรลลาที่มีจำนวนเซลล์เริ่มต้น 9.8×10^4 เซลล์/มล. มาเลี้ยงในสูตรอาหารสาหร่ายคลอเรลลาที่ดัดแปลงจากกรมประมง เลี้ยงในที่กลางแจ้ง ระยะเวลา 10 วัน โดยเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ จำนวนเซลล์ น้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณพีโอไฟติน และค่าความเป็นกรด-ด่าง ผลการศึกษาพบว่า ทุกชุดการทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 8 มีค่าเท่ากับ 789.64×10^4 , 721.63×10^4 , $1,116.28 \times 10^4$ และ $1,580.08 \times 10^4$ เซลล์/มล. ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) น้ำหนักแห้งมีค่าเท่ากับ 123.60, 177.60, 164.00 และ 202.80 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ($P < 0.05$) ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ มีค่าเท่ากับ 3,859.81, 4,756.69, 4,068.30 และ 5,741.60 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ($P < 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการทดลองปริมาณพีโอไฟตินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และค่าความเป็นกรด-ด่าง มีความต่างเล็กน้อยทำให้สาหร่ายคลอเรลลาสามารถเจริญเติบโตได้ดี สรุปได้ว่าการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งเป็นรูปแบบการกวนที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา ส่งผลให้มีจำนวนเซลล์ น้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และปริมาณพีโอไฟตินดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ

คำสำคัญ: สาหร่ายคลอเรลลา การเจริญเติบโต
ปั๊มได้น้ำ การกวน

คำนำ

สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่มีคลอโรฟิลล์เอ เป็นรงควัตถุหลักที่ช่วยในการสังเคราะห์แสง สาหร่ายคลอเรลลาเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งน้ำที่มีธาตุอาหารสูง และมีปริมาณแสงที่เพียงพอ (Kamolrat *et al.*, 2019) มีคุณค่าทางอาหารสูง ประกอบด้วยโปรตีน 64.15% (Tavarutmaneekul *et al.*, 2006) สาหร่ายคลอเรลลาถือว่ามีค่าเป็นต่ออาหารอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนอย่างมาก โดยนำสาหร่ายคลอเรลลามาเพาะเลี้ยงไรแดงซึ่งเป็นอาหาร (ให้กับอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน) รวมทั้งสามารถช่วยลดความโปร่งใสของน้ำในช่วงการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน ทำให้ลูกสัตว์น้ำอยู่ในสภาวะไม่เครียด อัตรารอดสูง (Tavarutmaneekul *et al.*, 2006) แต่เมื่อสาหร่ายคลอเรลลามีความหนาแน่นของเซลล์มากขึ้น ทำให้เซลล์กระจายในบ่อเลี้ยงไม่ทั่วถึงเนื่องจากเกิดความขุ่น และเมื่อปริมาณเซลล์มากขึ้นทำให้เกิดการบดบังแสงระหว่างเซลล์ (Becker, 1994) ส่วนที่อยู่ด้านล่างได้รับปริมาณแสงน้อยส่งผลต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของเซลล์ ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยเครื่องไบโอรีแอคเตอร์ โดยไม่มีการเคลื่อนไหวของน้ำ ส่งผลให้ปริมาณแสงมีจำกัด เซลล์ได้รับแสงไม่เพียงพอ ซึ่งส่งผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง (Henrard *et al.*, 2015) และการเจริญเติบโตของเซลล์ การเติมอากาศโดยใช้ปั๊มได้น้ำเพื่อให้สามารถกวนผสมสาหร่ายคลอเรลลาภายในบ่อเพาะเลี้ยง ป้องกันการตกตะกอน เพิ่มการแลกเปลี่ยนก๊าซและการกระจายอาหารทั้งบ่อเลี้ยง (Isiya and Sani, 2020) การกวนจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมซึ่งจะช่วยให้เซลล์สาหร่ายคลอเรลลาที่อยู่ด้านล่างขึ้นมารับแสงได้อย่าง

ทั่วถึง (Venkatarman, 1983) อีกทั้งยังช่วยให้ธาตุอาหาร ถูกผสมและนำไปใช้ได้ดีขึ้น (Contreras *et al.*, 1998) นอกจากนี้การกวนยังช่วยเพิ่มการละลายของก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ลงสู่สูตรอาหารที่เลี้ยงทำให้สามารถ นำคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ได้ขึ้น (Becker, 1994) อีกทั้ง ยังทำให้สาหร่ายคลอเรลลาอยู่ในสภาวะที่สัมผัสแสงอย่าง ต่อเนื่อง เซลล์จะมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง เพิ่มขึ้น และเมื่อเซลล์สัมผัสแสงด้วยความถี่เพิ่มขึ้นอัตรา การเจริญเติบโตของสาหร่ายจะเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน (Mhongkeaw, 2012)

ดังนั้นการเปรียบเทียบรูปแบบการกวนต่อการ เจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาเพื่อเพิ่มปริมาณ สาหร่ายคลอเรลลาจะส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตไรแดงที่กิน สาหร่ายคลอเรลลาเป็นอาหาร เพื่อนำไปใช้เป็นอาหาร ของสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป และสามารถพัฒนาระบบการ เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาให้มีผลผลิตเพิ่มขึ้นจากวิธีแบบ ดั้งเดิมที่เกษตรกรใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) โดยแบ่ง รูปแบบ การกวนออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 5 ซ้ำ ได้แก่ 1) การกวนด้วยระบบเดิมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) 2) การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ 3) การ กวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง และ 4) การกวน ด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง โดย เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในระบบการกวนรูปแบบต่าง ๆ เลี้ยงพื้นที่กลางแจ้ง เป็นระยะเวลา 10 วัน

วิธีการทดลอง

การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายคลอเรลลา

หัวเชื้อสาหร่ายคลอเรลลาจากกองวิจัย และ พัฒนาอาหารสัตว์น้ำ กรมประมง กรุงเทพฯ และนำมา

เพาะเลี้ยง ภายในคณะเทคโนโลยีการเกษตร สาขา เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการจัดการ ทรัพยากรทางน้ำ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ โดยใช้อาหารเลี้ยง สาหร่ายคลอเรลลาที่ดัดแปลงจากกรมประมง (Tavarutmaneekul *et al.*, 2006) เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ ก่อนการใช้ทดลอง เพาะเลี้ยงพื้นที่กลางแจ้งในถังขนาด 200 ลิตร และให้อากาศผ่านหัวทรายตลอดเวลา ระยะเวลา 5 วัน

การเตรียมระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

ชุดการทดลองที่ 1 การกวนด้วยระบบเดิม อากาศจากหัวทราย ติดตั้งปั๊มออกซิเจนให้อากาศผ่าน หัวทราย เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชุดการทดลองที่ 2 การกวน ด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ เตรียมปั๊มได้น้ำโดยใช้ ปั๊ม SONIC-AP1600 900 ลิตร/ชั่วโมง ตัวกำหนดทิศทาง น้ำในแนวราบใช้ท่อ PE ขนาด 14 มม. ยาว 30 ซม. ใช้ เครื่องเป่าลมร้อนเป่าเพื่อตัดทรงท่อ PE ให้มีลักษณะโค้ง ตามแนวถัง จากนั้นนำมาต่อกับตัวปั๊มได้น้ำ ติดตั้งปั๊ม บริเวณกันถังเลี้ยงหมุนทิศทางการเข้มนาฬิกา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชุดการทดลองที่ 3 การกวนด้วยระบบ หมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง เตรียมปั๊มได้น้ำโดยใช้ปั๊ม SONIC-AP1600 900 ลิตร/ชั่วโมง ตัวกำหนดทิศทางน้ำในแนวตั้ง ใช้ท่อ PE ขนาด 14 มม. ยาว 10 ซม. ต่อกับข้อต่อ 90 องศา จากนั้นนำมาต่อกับปั๊มได้น้ำ ติดตั้งปั๊มบริเวณกันถังเลี้ยง ให้เกิดการหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และชุดการทดลองที่ 4 การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำ ในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง เตรียมปั๊มได้น้ำโดยใช้ปั๊ม SONIC-AP1600 900 ลิตร/ชั่วโมง ตัวกำหนดทิศทางน้ำ ในแนวราบรวมกับแนวตั้งใช้ท่อ PE ขนาด 14 มม. ยาว 5 ซม. จำนวน 1 อัน ต่อเข้ากับปั๊มได้น้ำ นำสามทางมาต่อ เชื่อมทางระหว่างการหมุนแนวราบกับแนวตั้ง โดยเริ่ม จากการต่อการกวนแนวตั้งก่อน ต่อท่อ PE ขนาด 14 มม. ยาว 5 ซม. จำนวน 1 อัน เช้าวาล์วปรับแรงดันน้ำเพื่อจะ ได้การกวนแนวตั้ง จากนั้นนำท่อ PE ขนาด 14 มม. ยาว

30 ซม. เป่าลมร้อนเป่าเพื่อตัดทรงท่อ PE ให้มีลักษณะโค้งตามแนวถัง แล้วต่อวาล์วปรับแรงดันน้ำ จำนวน 1 อัน จะได้รับการกวนแนวราบนำไปต่อกับสามทางอีกด้าน จากนั้นติดตั้งปั๊มบริเวณก้นถังเลี้ยงหมุนทิศทางตามเข็มนาฬิกา

เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเฉพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในถังทดลองปริมาตร 200 ลิตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 73.6 ซม. สูง 68 ซม. (Figure 1)

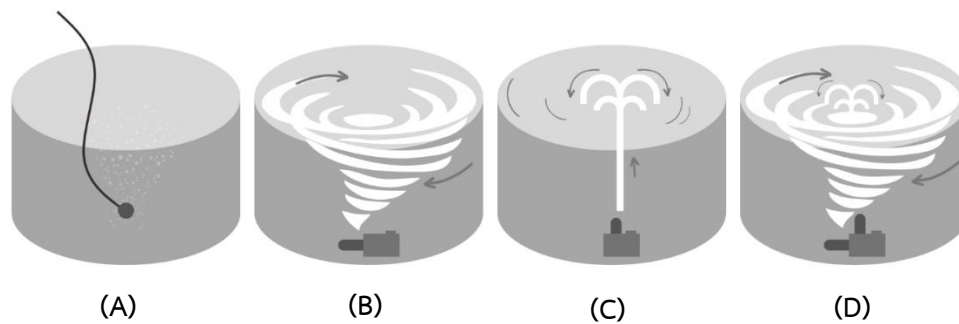


Figure 1 Different stirring patterns (A) air stone bubbler (control), (B) horizontal stirring, (C) vertical stirring and (D) horizontal and vertical stirring

การเตรียมสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ดัดแปลงจากกรมประมง (Tavarutmaneekul *et al.*, 2006) ประกอบด้วย ปุ๋ยสูตรเสมอ (16-16-16) 0.15 กรัม/ลิตร ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) 0.15 กรัม/ลิตร ปลาป่น 0.2 กรัม/ลิตร และปุ๋ยน้ำอามิ 0.8 มล./ลิตร

ขั้นตอนในการทดลอง

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ในถังทดลองบรรจุน้ำผสมอาหาร 100 ลิตร โดยเติมสาหร่ายคลอเรลลาจำนวนเซลล์เริ่มต้น 9.8×10^4 เซลล์/มล. ในถังเพาะเลี้ยง แต่ละชุดการทดลองที่กำหนดไว้ และเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลากกลางแจ้งระยะเวลาทดลอง 10 วัน

การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาและวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำ

ทำการเก็บน้ำโดยใช้กรองแพลงก์ตอนขนาด 10 ไมครอน ต่อมากรองน้ำสาหร่ายคลอเรลลาที่ปริมาตร 200 มล. ลงในขวดเก็บน้ำ จากนั้นหาน้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลา โดยใช้น้ำสาหร่ายคลอเรลลาปริมาตร 50 มล. กรองด้วยกระดาษกรอง GF/C (Glass fiber filter) ขนาด 55 มม. นำไปอบที่อุณหภูมิ 105°C นาน 1-2 ชั่วโมง พักให้เย็นแล้วนำไปชั่งด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นนำน้ำสาหร่ายคลอเรลมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร (Gunawan *et al.*, 2018) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น GENESYS 10S Vis เพื่อหาปริมาณเซลล์ และนับจำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาด้วยสไลด์นับเซลล์ (Hemocytometer) โดยหยดน้ำสาหร่ายคลอเรลลาบนสไลด์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า และวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำด้วยเครื่อง pH meter เก็บข้อมูลทุกวันเวลา 11.00 น. เป็นระยะเวลา 10 วัน

การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์เอและพีโอไฟติน

เก็บน้ำสาหร่ายคลอเรลลาปริมาตร 50 มล. จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C (Glass fiber filter) ขนาด 55 มม. บดกระดาษกรองด้วยที่บดเซลล์ให้ละเอียด แล้วเติมอะซีโตน 90% ลงในภาชนะที่ใช้บด ปริมาตร 10 มล. ถ่ายตัวอย่างทั้งหมดลงในหลอด Centrifuge สีขาว หรือหลอดทึบแสง เก็บที่ 4°C. เป็นเวลา 6-24 ชั่วโมง นำตัวอย่างในหลอด Centrifuge มาปั่น

เหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,500 รอบ นาน 10 นาที ด้วยเครื่อง centrifuge รุ่น Consul 21R ค่อย ๆ ดูดสารละลายที่มีสี ด้านบน คือ คลอโรฟิลล์และรงควัตถุอื่น ๆ ที่ละลายอยู่ในอะซีโตน มาวัดการดูดกลืนแสง โดยระวังอย่าให้รบกวนตะกอนด้านล่าง วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750, 663, 645, 630 นาโนเมตร นำมาคำนวณโดยหาค่าความขุ่นจาก 750 นาโนเมตร ก่อน (EPA, 1991) คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์เอตามสมการ (1)

$$\text{Chl a (ไมโครกรัม/ลิตร)} = \frac{[11.64 (\text{Abs}663) - 2.16 (\text{Abs}645) + 0.1 (\text{Abs}630)]E(F)}{V(L)} \quad (1)$$

ทำการวัดตัวอย่างอีกครั้งหลังจากเติมกรดลงไปเพื่อหาค่า Pheophytin แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 และ 665 นาโนเมตร โดยหาค่าความขุ่นจาก 750 นาโนเมตร ก่อน (EPA, 1991) แล้วคำนวณตามสมการ (2) และ (3)

$$\text{Chl a (ไมโครกรัม/ลิตร) ที่หักค่า Pheophytin แล้ว} = \frac{26.73 (663_b - 630_a) E(F)}{V(L)} \quad (2)$$

$$\text{Pheophytin (ไมโครกรัม/ลิตร)} = \frac{26.73 (1.7 \times [665_a] - 663_b) E(F)}{V(L)} \quad (3)$$

โดย	F	= Dilution factor (ถ้า Abs มากกว่า 0.99 ควรทำการเจือจางตัวอย่างก่อนวัด)
	E	= ปริมาตรของอะซีโตนที่ใช้ในการสกัด (มล.)
	V	= ปริมาตรของน้ำที่ใช้กรอง (ลิตร)
	L	= ความกว้างของเซลล์ที่ใช้วัด (ซม.)
	665a	= Abs665 - Abs750 หลังเติมกรด
	663b	= Abs663 - Abs750 ก่อนเติมกรด

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณพีโอไฟตินมาวิเคราะห์ ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลอง ตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ผลการวิจัย

จำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาจำแนกตามรูปแบบการกวน
จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน ได้แก่ การกวนด้วยระบบ เต็มอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) การกวนด้วยระบบ หมุนเวียนน้ำในแนวราบ การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำ ในแนวตั้ง และการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ ร่วมกับแนวตั้ง เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่าทุกชุดการ

ทดลองมีปริมาณจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงระยะปรับตัว (Lag phase) ไปสู่ระยะการเพิ่มเซลล์อย่างรวดเร็วหรือระยะเอ็กซีโพเนนเชียล (Exponential phase) ภายในวันที่ 6 ส่งผลต่อปริมาณธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา ทำให้เข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) ในวันที่ 8 และเข้าสู่ระยะการตายของแพลงก์ตอน (Death phase) ในวันที่ 9

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองจะเห็นได้ว่ามีจำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาลดลง จากการทดลองพบว่า ทุกชุดการทดลองมีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 มีค่าเท่ากับ 789.64×10^4 , 721.63×10^4 , $1,116.28 \times 10^4$ และ $1,580.08 \times 10^4$ เซลล์/มล. ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($P < 0.05$) (Figure 2 และ Table 1)

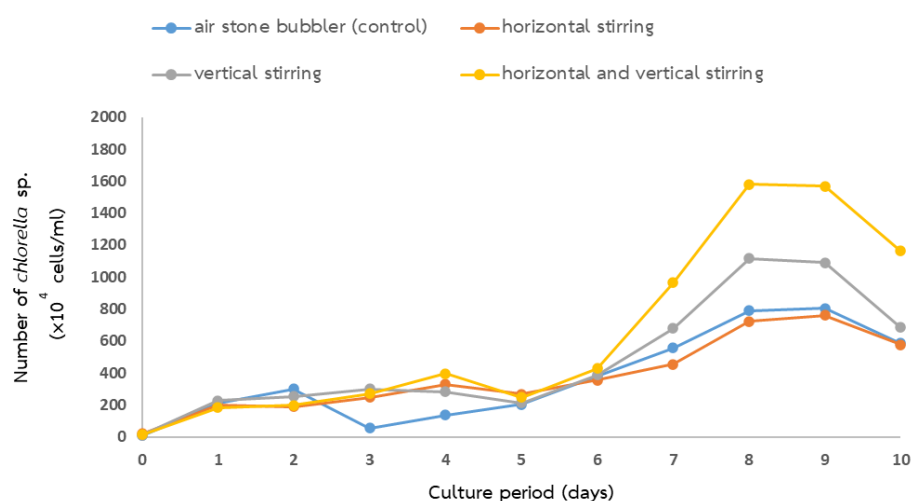


Figure 2 Number of *Chlorella* sp. with the different stirring patterns

น้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลาจำแนกตามรูปแบบการกวน

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกันต่อน้ำหนักแห้ง พบว่าทุกชุดการทดลองมีน้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลาเพิ่มขึ้นตั้งแต่เริ่มการทดลองจนมีค่าสูงสุดเมื่อทำการเลี้ยงได้ระยะเวลา 8 วัน ซึ่งรูปแบบการกวนที่มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงสุด ได้แก่ การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง 202.80 ไมโครกรัม/มล. รองลงมา

เป็นการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ 177.60 ไมโครกรัม/มล. การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง 164 ไมโครกรัม/มล. และการกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) 123.60 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ โดยที่น้ำหนักแห้งเฉลี่ยมีค่าลดลงในวันที่ 9 และลดลงเรื่อย ๆ จนสิ้นสุดการทดลอง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($P < 0.05$) (Figure 3 และ Table 1)

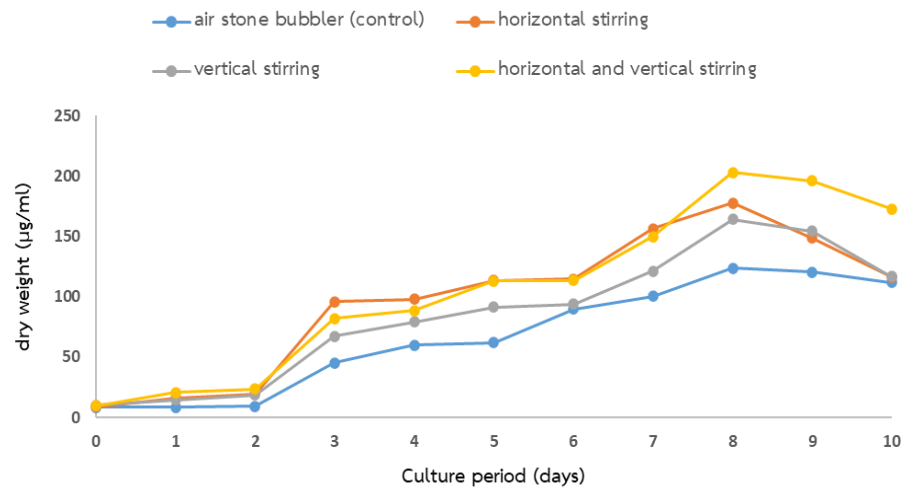


Figure 3 Dry weight of *Chlorella* sp. for the different stirring patterns

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Chlorophyll a) ของสาหร่าย คลอเรลลาจำแนกตามรูปแบบการกวน

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอ พบว่าทุกชุดการทดลองมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ เพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุดเมื่อทำการเลี้ยงได้ระยะเวลา 8 วัน โดยที่ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ เฉลี่ยสูงสุดเมื่อทำการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง มีค่าเท่ากับ

5,741.60 ไมโครกรัม/ลิตร และปริมาณต่ำสุดในรูปแบบการกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) มีค่าเท่ากับ 3,859.81 ไมโครกรัม/ลิตร ($P < 0.05$) และมีปริมาณลดลงในวันที่ 9 จนสิ้นสุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เนื่องจากการตายของสาหร่ายคลอเรลลาทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ น้อยลง (Figure 4 และ Table 1)

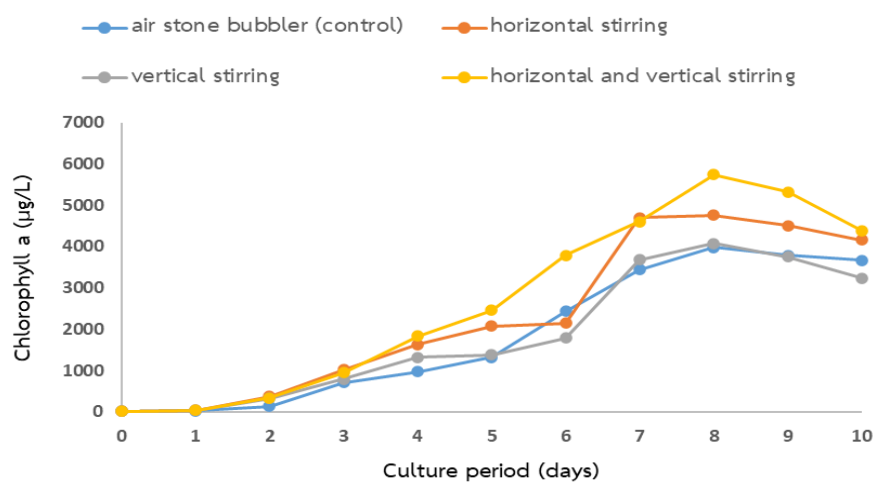


Figure 4 Chlorophyll a content of *Chlorella* sp. for the different stirring patterns

ปริมาณฟีโอฟิติน (Pheophytin) ของสาหร่ายคลอเรลลาจำแนกตามรูปแบบการกวน

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกันต่อปริมาณฟีโอฟิติน พบว่าตั้งแต่วันที่ 1 ทุกชุดการทดลองมีปริมาณฟีโอฟิตินเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ถึงวันที่ 8 ของการทดลองมีค่าเท่ากับ 1,043, 1,255.24, 2,125.57 และ 2,587.80

ไมโครกรัม/ลิตร ($P < 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองรูปแบบการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งมีค่าที่สูงกว่าทั้ง 3 รูปแบบ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3,688.74 ไมโครกรัม/ลิตร ทั้งนี้เพราะการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งมีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด จึงเกิดปริมาณฟีโอฟิตินมากกว่าทุกชุดการทดลอง ($P > 0.05$) (Figure 5 และ Table 1)

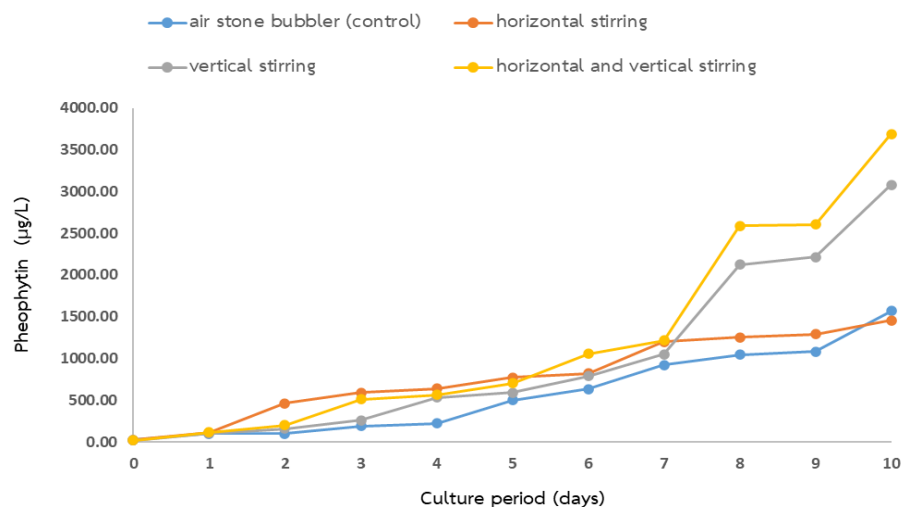
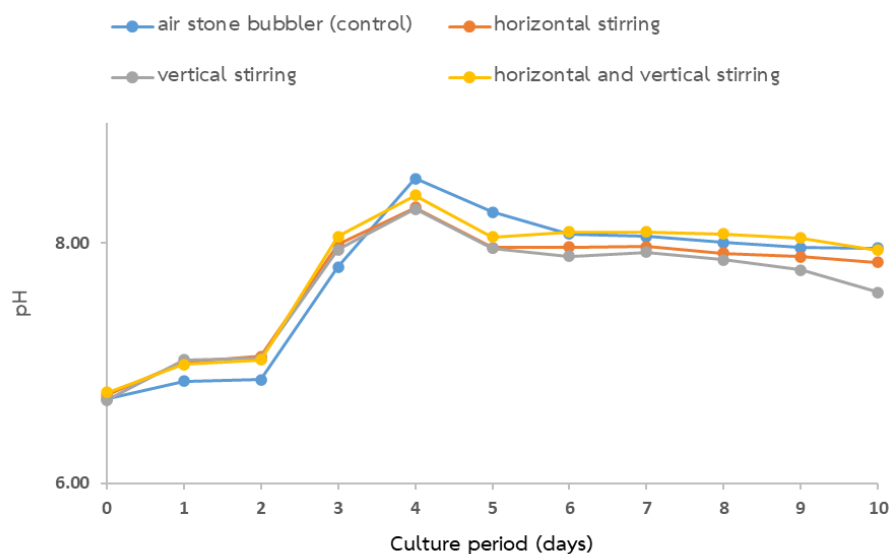


Figure 5 Pheophytin content of *Chlorella* sp. for the different stirring patterns

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสาหร่ายคลอเรลลาจำแนกตามรูปแบบการกวน

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกันต่อความเป็นกรด-ด่างของน้ำ พบว่าวันที่ 8 ของการทดลองมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8.00, 7.91, 7.86 และ 8.08 ตามลำดับ มีความ

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกชุดการทดลอง ($P < 0.05$) ซึ่งตลอดระยะเวลา 10 วัน ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่างช่วง 6.70-8.54, 6.74-8.30, 6.69-8.28 และ 6.76-8.40 ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (Figure 6 และ Table 1)

Figure 6 pH of *Chlorella* sp. for the different stirring patternsTable 1 Peak population on day 8 of *Chlorella* sp. with the different stirring patterns

Stirring patterns	Growth parameter				
	Number of <i>Chlorella</i> sp.	Dry weight	Chlorophyll a	Pheophytin	pH
	($\times 10^7$ cells/ml)	($\mu\text{g/ml}$)	($\mu\text{g/L}$)	($\mu\text{g/L}$)	
Air stone bubbler (control)	789.64 $\pm$ 125.36 ^c	123.60 $\pm$ 13.59 ^c	3,859.81 $\pm$ 1166.45 ^b	1,043.00 $\pm$ 807.46 ^b	8.00 $\pm$ 0.07 ^{ab}
Horizontal stirring	721.63 $\pm$ 127.42 ^c	177.60 $\pm$ 16.82 ^{ab}	4,756.69 $\pm$ 548.95 ^a	1,255.24 $\pm$ 372.82 ^b	7.91 $\pm$ 0.07 ^b
Vertical stirring	1,116.28 $\pm$ 164.74 ^b	164.00 $\pm$ 14.56 ^b	4,068.30 $\pm$ 1,497.17 ^b	2,125.57 $\pm$ 1,405.22 ^{ab}	7.86 $\pm$ 0.05 ^b
Horizontal and vertical stirring	1,580.08 $\pm$ 211.21 ^a	202.80 $\pm$ 28.80 ^a	5,741.60 $\pm$ 577.45 ^a	2,587.80 $\pm$ 577.88 ^a	8.08 $\pm$ 0.18 ^a
P-value	*	*	*	*	*

Mean $\pm$ SE values within a column followed by the different superscripts are significantly at $P < 0.05$.

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน 4 รูปแบบ ได้แก่ การกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง และการกวนด้วย

ระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง ระยะเวลาทดลอง 10 วัน พบว่าการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง ส่งผลให้จำนวนเซลล์และน้ำหนักรวมเพิ่มขึ้น เนื่องจากปั๊มได้นำช่วยป้องกันการรวมกลุ่มของเซลล์สาหร่ายคลอเรลลา ทำให้เซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลาไม่แตกตะกอน โดยการทำงานของปั๊มน้ำมีการหมุนเวียนสาหร่ายตลอดเวลา ทำให้สาหร่ายคลอเรลลา

สามารถ ดูดซับ CO_2 ในบรรยากาศ และปล่อย O_2 นอกจากนี้ยังช่วยเรื่องการผสมของอาหารเหลว (ปุ๋ย) ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (Jiménez *et al.*, 2003) สำหรับนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับ Henrard *et al.* (2015) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไซยาโนแบียมและคลอเรลลาภายใต้การกวนที่แตกต่างกัน พบว่าการกวนด้วยปั้มน้ำสามารถช่วยให้สาหร่ายไซยาโนแบียมและคลอเรลลา มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับรูปแบบการกวนโดยใช้ใบพัดและหัวทราย ซึ่งมีความเข้มข้นของชีวมวลสูงสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าปั้มน้ำช่วยให้ผลผลิตชีวมวลเพิ่มขึ้น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับรูปแบบการกวนชนิดอื่น ๆ ในรายงานของ Chooluck *et al.* (2021) กล่าวว่าสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ในเซลล์แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และปัจจัยภายนอกอื่น ๆ เช่น อุณหภูมิและความเข้มของแสง เป็นต้น ซึ่งจะพบคลอโรฟิลล์อยู่ในช่วงร้อยละ 0.5 ถึง 4 ของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย (Levasseur *et al.*, 2020) ปริมาณฟิโอฟิตินเกิดเมื่อคลอโรฟิลล์ทำปฏิกิริยากับกรด Penjumras *et al.* (2017) กล่าวว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาฟิโอฟิตินในเซลล์ (Pheophytinization) คือแมกนีเซียมไอออนจะถูกแทนที่ด้วยไฮโดรเจนอะตอม ทำให้คลอโรฟิลล์ถูกเปลี่ยนโครงสร้างเป็นฟิโอฟิติน จึงเป็นการสูญเสียแร่ธาตุแมกนีเซียมออกไปจากโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ สีเขียวของพืชจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (Olive-brown) ของฟิโอฟิติน และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำ อยู่ที่ช่วง 6.76-8.40 จากรายงานของ Saekoo and Panichpat (2017) กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ อยู่ในช่วง 7.99-8.98 จัดเป็นน้ำที่มีค่าความเป็นด่างเล็กน้อย และเป็นช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดี

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการเปรียบเทียบรูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา พบว่าในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงรูปแบบการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด โดยมีจำนวนเซลล์ 1,580.08 เซลล์/มล. น้ำหนักแห้ง 202.80 ไมโครกรัม/มล. ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ 5,741.60 ไมโครกรัม/ลิตร ปริมาณฟิโอฟิติน 2,587.80 ไมโครกรัม/ลิตร ($P < 0.05$) และมีค่าความเป็นกรด-ด่างเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง จากการศึกษาครั้งนี้สามารถเพิ่มปริมาณสาหร่ายคลอเรลลาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเป็นการเพิ่มผลผลิตให้คุ้มค่าต่อการเพาะเลี้ยง และสามารถพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ สำหรับคำแนะนำในการทำวิจัยให้ถูกต้องและสมบูรณ์ รวมไปถึงคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์และพื้นที่ดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Becker, E.W. 1994. **Microalgae: Biotechnology and Microbiology.** Cambridge: Cambridge University Press. 304 p.
- Chooluck, S., P. Supitip and W. Jankhangram. 2021. Bioactive compounds from microalgae. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University** 23(3): 97-111. [in Thai]

- Contreras, A., F. García, E. Molina and J.C. Merchuk. 1998. Interaction between CO₂-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of *Phaeodactylum tricornutum* in a concentric tube airlift photobioreactor. **Biotechnology and Bioengineering** 60(3): 317-325.
- EPA. 1991. **ESS Method 150.1: Chlorophyll-Spectrophotometric**. Wisconsin: Environmental Sciences Section, Inorganic Chemistry Unit, Wisconsin State Lab of Hygiene. 363 p.
- Gunawan, T.J., Y. Ikhwan, F. Restuhadi and U. Pato. 2018. Effect of light Intensity and photoperiod on growth of *Chlorella pyrenoidosa* and CO₂ biofixation. **E3S Web of Conferences** 31: 03003.
- Henrard, A.A., G. Martins da Rosa, L. Moraes, M. Greque de Moraes and J. Alberto Vieira Costa. 2015. The cultivation of microalgae *Cyanobium* sp. and *Chlorella* sp. in different culture media and stirring setting. **African Journal of Microbiology Research** 9(21): 1431-1439.
- Isiya, D.A and M. Sani. 2020. Effects of different stirring rates on the *Chlorella vulgaris* growth for wastewater treatment systems. **International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology** 4(11): 454-460.
- Jiménez, C., B.R. Cossío, D. Labella and F. Xavier Niell. 2003. The feasibility of industrial production of *Spirulina (Arthrospira)* in Southern Spain. **Aquaculture** 217: 179-190.
- Kamolrat, N., J. Phattaralephon and S. Sitthaphanit. 2019. Effects of LED light on growth performance of *Chlorella vulgaris*. **Khon Kaen Agriculture Journal** 47(3): 559-566. [in Thai]
- Levasseur, W., P. Perré and V. Pozzobon. 2020. A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. **Biotechnology Advances** 41: 107545.
- Mhongkeaw, C. 2012. **Bio-oil Production from Microalgae by Green Water System**. 131 p. In Research Report. Chiang Mai: Chiang Mai University. [in Thai]
- Penjumras, P., T. Chumsa and I. Wattananapakasem. 2017. Color and stability improvement of frillice iceberg juice using sodium chloride and hydrocolloid. **The Journal of Science and Technology RMUTSB** 3(1): 75-75. [in Thai]
- Saekoo, J. and T. Panichpat. 2017. The study of optimum conditions for microalgae culture in piggery wastewater and algae oil production. **Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University** 4(4): 41-52. [in Thai]

Tavarutmaneekul P., S. Setkij and

T. Watcharakonyothin. 2006.

Cultivation of Water Flea (*Moina macrocopa*). Bangkok: The Agricultural Co-operative of Thailand (ACFT) Press. 36 p. [in Thai]

Venkatarman, L.V. 1983. **Bluegreen Algae:**

***Spirulina*.** Mysore: Central Food Technological Research Institute. 120 p.