

การพัฒนาระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยการหมุนเวียนน้ำ

วราทิพย์ ดลสุจิต*

สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

คณาธิป คำเพราะ

สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรและเทคโนโลยี คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 0 8634 4285 อีเมล: waratit17@hotmail.com DOI: 0.14416/j.kmutnb.YYYY.MM.NO.

รับเมื่อ DD MMMM YYYY แก้ไขเมื่อ DD MMMM YYYY ตอรับเมื่อ DD MMMM YYYY เผยแพร่ออนไลน์ DD MMMM YYYY

© 2019 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบแบตช์และแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนที่มีใบพัดกวนน้ำกลางแจ้งด้วยระบบการหมุนเวียนน้ำ โดยทำการบำบัดน้ำที่ผ่านการเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายแล้วนำมาหมุนเวียนใช้ใหม่ โดยใช้อาหารสูตรปุ๋ย ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่าในการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์สาหร่ายมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 448×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร และมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด 0.67 ต่อวัน และจากการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องที่มีการเติมอาหารเพาะเชื้อใหม่และนำเซลล์ออกตลอดเวลา ในระหว่างการทดลองได้แปรผันอัตราการเจือจางระหว่าง 0.50-0.77 ต่อวัน พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอัตราการเจือจางต่ำ 0.50 ต่อวัน มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 344×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร และการเพิ่มอัตราการเจือจางส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายลดลง โดยเมื่อปรับอัตราการเจือจางเพิ่มขึ้นเป็น 0.77 ต่อวัน พบว่าสาหร่ายมีความหนาแน่นลดลงเหลือ 109×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร แต่เมื่อพิจารณาอัตราผลผลิตพบว่าระดับอัตราการเจือจาง 0.57 ต่อวัน จะให้อัตราผลผลิตเซลล์สูงสุด 263×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน หรือเท่ากับ 463 มิลลิกรัม/ลิตร/วัน (น้ำหนักแห้ง) สำหรับปริมาณไขมันของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 22% (น้ำหนักแห้ง) และอัตราผลผลิตไขมัน 2.03 กรัม/ลิตร/วัน

คำสำคัญ: สาหร่ายขนาดเล็ก, *Ankistrodesmus*, การเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง, ไขมัน, ไบโอดีเซล

The Development of Cultivation System of Microalgae with Raceway Pond by Recirculating Water System

Waratit Donsujit*

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala University of Technology
Tawan-ok

Kanatip Kumproa

Department of Agriculture Engineering and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala
University of Technology Tawan-ok

* Corresponding Author, Tel. 0 8634 4285, E-mail: waratit17@hotmail.com DOI: 0.14416/j.kmutnb.YYYY.MM.NO.

Received DD MMMM YYYY; Revised DD MMMM YYYY; Accepted DD MMMM YYYY; Published online: DD MMMM YYYY

© 2019 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved

Abstract

Batch and continuous culture of freshwater microalgae *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 were conducted in outdoor raceway pond with paddlewheel by recirculating water system. The used water from microalgae harvest tank was treated and recycled in culture system. The medium were prepared from modified medium and cultured for 20 days. With batch cultivation, *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 had the maximum cell density of 448×10^4 cells/ml and maximum specific growth rate of 0.67 day^{-1} . During continuous cultivation, addition of fresh medium and removal of microalgae cells were conducted using a metering pump. The dilution rate was varied from 0.50 - 0.77 day^{-1} . The result showed that the highest cell density of 344×10^4 cells/ml was obtained at the lowest dilution rate (0.50 day^{-1}). When the dilution rate was increased to 0.77 day^{-1} , cell density of the microalgae at steady state was decreased to 109×10^4 cells/ml. However, the highest productivity was obtained at 0.57 day^{-1} dilution rate which provided cell productivity of 263×10^4 cells/ml/day (463 mg/L/day dry weight). The average lipid contents of 22% dry weight and lipid productivity of 2.03 g/L/day were obtained in continuous cultivation.

Keywords: Microalgae, *Ankistrodesmus*, Continuous cultivation, Lipid, Biodiesel

1. บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยผลิตไบโอดีเซลจากปาล์มน้ำมันเป็นหลัก ซึ่งปาล์มน้ำมันเป็นพืชอาหารและเริ่มมีปริมาณจำกัด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาแหล่งวัตถุดิบจากพืชอื่นๆ ที่ไม่ใช่พืชอาหารมาผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ โดยประเทศต่างๆ ทั่วโลกเริ่มตระหนักถึงข้อเท็จจริงดังกล่าวและหันมาให้ความสนใจกับการศึกษาวิจัยเรื่องสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) เพื่อนำมาผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซลหรือเชื้อเพลิงทดแทน ย่อมสามารถลดการเกิดปัญหาในการแย่งส่วนแบ่งทางอาหารหรือเกษตรกรรมจากพืชน้ำมันทั่วไปได้ สาหร่ายขนาดเล็กมีศักยภาพในการให้น้ำมันได้ในปริมาณสูง เนื่องจากใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงสั้นกว่าและมีผลผลิตต่อพื้นที่สูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น [1] สามารถเก็บเกี่ยวได้อย่างต่อเนื่อง ช่วยดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และบำบัดน้ำเสีย [2], [3] อีกทั้งยังสามารถแปรรูปกากสาหร่ายเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้ เช่น การอัดทำแท่งเชื้อเพลิงหรือถ่านชีวภาพ (biochar) อาหารสัตว์ และปุ๋ย [4]

โดยกระบวนการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายประกอบด้วย 5 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย การเพาะเลี้ยงขยายเพื่อผลิตชีวมวลสาหร่าย การเก็บเกี่ยวชีวมวล การสกัดน้ำมัน และการผลิตไบโอดีเซล [5] ซึ่งขั้นตอนการเพาะเลี้ยงขยายเพื่อผลิตชีวมวลสาหร่ายนับว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่ต้องดำเนินการต่อเนื่องหลังจากได้คัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีคุณสมบัติเหมาะสมแล้ว ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงขยายกลางแจ้งมีทั้งระบบเปิดและระบบปิดขึ้นกับปัจจัยหลายๆ ด้าน เช่น พื้นที่ ค่าใช้จ่ายในการก่อสร้าง สภาพภูมิอากาศ ภูมิประเทศ แรงงาน และผลผลิตที่ต้องการต่อพื้นที่ [6], [7] สำหรับประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศและภูมิประเทศที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบระบบเปิดกลางแจ้ง (open pond) ซึ่งการเลี้ยงในบ่อเปิดทำให้เซลล์สาหร่ายสามารถรับแสงอาทิตย์ได้โดยตรงและมีการเติบโตได้ดี [8], [9] ทำให้ได้ผลผลิตหรือชีวมวลสาหร่ายสูง สำหรับสายพันธุ์ของสาหร่ายขนาดเล็กพบว่าหลายสายพันธุ์ที่น่าสนใจและมีศักยภาพที่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้ ซึ่งพบว่าสายพันธุ์ *Ankistrodesmus* sp. มีปริมาณไขมันสะสมภายในเซลล์ถึง 24-31 เปอร์เซ็นต์ [10] และยังเป็นสายพันธุ์ที่สามารถพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำตื้นของประเทศไทย [11]

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ในรูปแบบกลางแจ้งให้เป็นระบบการเลี้ยง

แบบต่อเนื่องด้วยวิธีคิโมสแตท (chemostat) ซึ่งเป็นวิธีการจำกัดสารอาหาร โดยเติมสารอาหารและนำสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงออกจากระบบด้วยอัตราคงที่ เป็นการควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายให้อยู่ในระยาคงที่ (steady state) ตลอดเวลา [12] พร้อมทั้งมีระบบการหมุนเวียนน้ำ เพื่อนำสารอาหารที่เหลือในน้ำเลี้ยงหมุนเวียนนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก ซึ่งจะเป็นการประหยัดต้นทุนค่าใช้จ่ายโดยเฉพาะค่าปุ๋ยและลดปริมาณการใช้น้ำในการเลี้ยง รวมทั้งการลดและควบคุมการปล่อยน้ำทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในกระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายระดับมหวมวล และสามารถพัฒนาไปสู่การเพาะเลี้ยงระดับเชิงพาณิชย์ สำหรับผลิตน้ำมันไบโอดีเซลเพื่อเป็นพลังงานเชื้อเพลิงทดแทนในอนาคตต่อไป

2. วิธีการวิจัย

2.1. การเตรียมและการออกแบบระบบ

การพัฒนาและออกแบบระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบต่อเนื่องด้วยระบบหมุนเวียนน้ำ รูปแบบการเลี้ยงแบบกลางแจ้งในระดับมหวมวล มีแนวคิดเพื่อลดการใช้พื้นที่สามารถสร้างผลผลิตได้อย่างต่อเนื่อง สะดวกต่อการดูแลและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ 1) ชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก 2) ชุดระบบบำบัดและหมุนเวียนน้ำ และ 3) ชุดเก็บเกี่ยวสาหร่ายแบบตกตะกอน (รูปที่ 1)

2.2. หัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กและอาหารเลี้ยงเชื้อ

สายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่ใช้ในการศึกษารังนี้คือ *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 โดยทำการเก็บรักษาสายพันธุ์ภายในห้องเลี้ยงสาหร่าย สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ในอาหารเหลวสูตร BG11 [13] ปริมาตร 1,500 มิลลิลิตร ในขวดแกล์ฝาเกลียวขนาด 2,000 มิลลิลิตร โดยเติมหัวเชื้อสาหร่ายเริ่มต้น 10% ของปริมาตรอาหารเลี้ยงโดยเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ ที่ความเข้มแสง 60 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ช่วงเวลาได้รับแสง:ไม่ได้รับแสงคือ 16:8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียสให้อากาศตลอดเวลา ทำการขยายปริมาณเป็น 20-30 ลิตรจนกระทั่งเข้าสู่ระยะเอกซ์โพเนนเชียล แล้วจึงขยายปริมาณมากเพื่อนำเข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งต่อไป

2.3 การเตรียมระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยการหมุนเวียนน้ำ

2.3.1 การเตรียมน้ำก่อนนำเข้าสู่ระบบ

น้ำที่ใช้เป็นน้ำจืดในบ่อพักของงานฟาร์มสาขาวิชาประมง เติมแคลเซียมไฮโปคลอไรด์ (คลอรีนผง) ให้มีความเข้มข้น 50-80 ส่วนในล้าน ทั้งไว้กลางแดดพร้อมพ่นอากาศเป็นเวลา 4-5 วัน จากนั้นพ่นโอโซนเพื่อฆ่าเชื้อปนเปื้อนเป็นเวลาอีก 1 วัน แล้วพ่นอากาศทิ้งไว้เพื่อให้โอโซนสลายเป็นเวลอย่างน้อย 3 ชั่วโมง จากนั้นใช้ปั๊มดูดกรองผ่านผ้ากรองในลอนขนาด 80-100 ไมครอน แล้วจึงนำไปใช้งานกับชุดระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย และชุดระบบหมุนเวียนน้ำ

2.3.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในถังเลี้ยงกลางแจ้ง

สำหรับสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบ คืออาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสูตรเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวปริมาณมาก (สูตรปุ๋ยดัดแปลง) ประกอบด้วยสารเคมี 4 ชนิด ได้แก่ ประกอบด้วย NaNO_3 750 mg/L, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.8 mg/L, Fe-EDTA 15 mg/L และ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 20 mg/L [14]

เริ่มต้นด้วยการเติมน้ำใหม่และสารอาหาร (ปุ๋ย) เข้าสู่ถังเลี้ยงสาหร่ายขนาด 1,000-1,500 ลิตร และใส่เซลล์สาหร่ายเริ่มต้นปริมาณ 25% ของน้ำเลี้ยง ให้อากาศตลอดเวลา จากนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกดูดเข้าสู่ถังเลี้ยงสาหร่ายตลอดระยะเวลาที่ได้รับแสงด้วยปั๊มสุบจ่ายสารเคมี (metering pump) ที่ทำการปรับอัตราการไหลที่เหมาะสมจากการคำนวณค่าอัตราเจือจาง (dilution rate) ของการเพาะเลี้ยง [15] มีค่าเท่ากับอัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยง (μ) จากสูตรคำนวณ (1)

$$D = \frac{F}{V} \quad (1)$$

D = อัตราการเจือจาง (ต่อวัน)

F = อัตราการไหลของอาหารเลี้ยงเชื้อ (ลิตรต่อวัน)

V = ปริมาตรของระบบเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (ลิตร)

2.3.3 ชุดเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย

น้ำเลี้ยงสาหร่ายจากถังเลี้ยงถูกดูดเข้าสู่ชุดเก็บเกี่ยวสาหร่ายซึ่งประกอบด้วยถังตกตะกอนรูปกรวยและถังเก็บน้ำเลี้ยง (ปราศจากเซลล์สาหร่าย)

2.3.4 ชุดระบบบำบัดและหมุนเวียนน้ำ

น้ำเลี้ยงที่มาจากชุดเก็บเกี่ยว ไหลลงสู่ชุดระบบหมุนเวียนน้ำซึ่งจะเป็นน้ำเลี้ยงที่เหลือจากการเก็บเกี่ยว โดยจะถูกบำบัดด้วยโอโซนเพื่อกำจัดเซลล์สาหร่ายที่ยังมีชีวิตอยู่ จากนั้นน้ำเลี้ยงจะถูกกรองผ่านระบบกรองเพื่อกำจัดเศษซากสาหร่าย ตะกอน และสารแขวนลอยขนาด

เล็กต่างๆ ซึ่งน้ำเลี้ยงนี้ยังคงมีสารอาหาร (ปุ๋ย) เหลืออยู่ ทำการตรวจวัดปริมาณสารอาหารคงเหลือ จากนั้นทำการเติมน้ำใหม่และสารอาหารใหม่ เพื่อทำให้มีอัตราส่วนของสารอาหารในน้ำเลี้ยงคงที่เหมือนน้ำเลี้ยงตั้งต้นเสมอ ซึ่งจะเป็นน้ำเลี้ยงที่พร้อมหมุนเวียนใช้ในระบบต่อไป

2.4 การเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย

น้ำเลี้ยงสาหร่ายที่มาจากถังเลี้ยงจะถูกดูดเข้าสู่ชุดเก็บเกี่ยวสาหร่ายซึ่งประกอบด้วยถังตกตะกอนรูปกรวยและถังเก็บน้ำเลี้ยงหลังจากตกตะกอนแล้ว โดยทำการตกตะกอนสาหร่ายโดยใช้สารตกตะกอนพอลิอลูมิเนียมคลอไรด์ (PAC) ความเข้มข้น 0.20 กรัม/ลิตร จากนั้นทำการอบเซลล์สาหร่ายให้แห้งที่อุณหภูมิ 70-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปคำนวณกำลังผลิต ในหน่วย กรัม/ลิตร/วัน

2.5 การศึกษาความหนาแน่นของสาหร่ายในระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยการหมุนเวียนน้ำ

2.5.1 การนับเซลล์

ทำการเก็บเซลล์สาหร่ายจากถังเลี้ยงสาหร่ายกลางแจ้งในเวลาเดียวกันทุก 2 ชั่วโมงแล้วนำมาดองด้วยน้ำยา Lugol ไอโอดีน จากนั้นสุมเซลล์สาหร่ายใส่ในสไลด์นับเม็ดเลือด (haemocytometer) ทำการนับทั้งหมด 3 ซ้ำ แล้วคำนวณหาความหนาแน่นของสาหร่าย ในหน่วย เซลล์/มิลลิลิตร

2.5.2 การวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย (Optical Density: OD)

วัดความขุ่นของเซลล์สาหร่ายด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 680 นาโนเมตร ทำการวัดค่าตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และหาค่าเฉลี่ยของแต่ละตัวอย่าง

2.5.3 การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่าย

นำตัวอย่างสาหร่ายในถังเลี้ยงปริมาณ 50 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง ขนาดรู 0.6 ไมครอนเมตร โดยต่อชุดกรองเข้ากับปั๊มสุบจ่ายอากาศเพื่อแยกเอาส่วนใสออก หลังจากนั้นนำแผ่นกระดาษกรองที่มีเซลล์สาหร่ายติดอยู่ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ เพื่อให้น้ำหนักคงที่ปราศจากความชื้น ก่อนนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้งสุดท้ายและนำค่าที่ได้ไปคำนวณให้อยู่ในหน่วยน้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันของสาหร่าย ดัดแปลงตามวิธีของ Bligh and Dyer [16]

เก็บเซลล์สาหร่ายจากถังเลี้ยงสาหร่ายกลางแจ้งในระยะเอกซ์โพเนนเชียล มาทำให้แห้งด้วยการอบลมร้อน

อุณหภูมิไม่เกิน 70 องศาเซลเซียส บดสาหร่ายที่แห้งแล้วให้ละเอียด จากนั้นชั่งสาหร่ายแห้งประมาณ 1 กรัม เติมน้ำละลายคลอโรฟอร์ม:เมทานอล (2:1) เขย่า แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 5 นาที แล้วใส่ในเครื่องโซนิเคเตอร์ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำการกรองเซลล์สาหร่ายออก แล้วนำไปประเหยสารละลายคลอโรฟอร์มและเมทานอลออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) จนได้น้ำหนักคงที่ นำไปใส่ในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง และคำนวณปริมาณไขมันรวม

2.7 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ทำการตรวจวัดปริมาณแอมโมเนีย ไนโตรเจน ไนเตรต และฟอสเฟต ทุกวัน ในถังเลี้ยงสาหร่าย ถึงเก็บน้ำเลี้ยงที่เหลือจากการเก็บเกี่ยว และถังน้ำเลี้ยงพร้อมหมุนเวียน โดยใช้วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์น้ำ [17]

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

3.1 การเตรียมและการออกแบบระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยการหมุนเวียนน้ำ

การพัฒนาและออกแบบชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบต่อเนื่องด้วยระบบหมุนเวียนน้ำ รูปแบบการเลี้ยงแบบกลางแจ้งในระดับมหวมล มีแนวคิดเพื่อลดการใช้พื้นที่ สามารถสร้างผลผลิตได้อย่างต่อเนื่อง สะดวกต่อการดูแล และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ 1) ชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก 2) ชุดเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายแบบตกตะกอน และ 3) ชุดระบบบำบัดและหมุนเวียนน้ำ

3.1.1 ลักษณะบ่อเลี้ยงสาหร่าย

เป็นบ่อแบบลู่วิ่งหรือบ่อระบบน้ำวน (raceway pond) มีลักษณะเป็นลู่วิ่งโดยมีสันตรงกลาง ขนาดบ่อกว้าง 1 เมตร ยาว 2 เมตร สูง 0.8 เมตร หนา 0.10 เมตร สันตรงกลางกว้าง 0.1 เมตร ยาว 1 เมตร สูง 0.8 เมตร จำนวน 8 บ่อ โดยบ่อเลี้ยงเป็นบ่อปูนซีเมนต์ขัดผิวหน้ามัน ภายในบ่อทาด้วยสปีฟ็อกซีเรซินสีขาวทั้งหมดเพื่อให้เกิดการสะท้อนแสงที่ดี

3.1.2 การติดตั้งใบพัด

มีลักษณะเป็นใบพัดแบบ 6 ใบพัด เป็นใบพัดที่ใช้ตีน้ำในบ่อเลี้ยงกึ่ง ทำจากสแตนเลส โดยนำมาประยุกต์ด้วยการต่อใบให้กว้างและยาวขึ้น ซึ่งใบที่นำมาต่อทำมาจากอะครีลิกสีขาวหนา 1 เซนติเมตร กว้าง 25 เซนติเมตร ยาว 45 เซนติเมตร ติดตั้งไว้บ่อละ 1 จุด ซึ่งใบพัดจะหมุนที่ความ

เร็วต่ำประมาณ 12-15 รอบต่อนาที โดยใช้มอเตอร์เกียร์ 1 HP ยี่ห้อ Suntech ต่อผ่านเกียร์บล็อกสามทาง โดยใส่แกนเพลที่เป็นท่อเหล็กขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว ยาว 2 เมตร เป็นตัวขับให้ใบพัดหมุน เพื่อให้น้ำเลี้ยงมีการไหลวนตลอดเวลา ช่วยทำให้สาหร่ายไม่ตกตะกอนอยู่ก้นบ่อและทำให้สาหร่ายได้รับแสงแดดอย่างทั่วถึง อีกทั้งยังช่วยเติมอากาศให้สาหร่ายในบ่อเลี้ยง

3.1.3 การเตรียมน้ำก่อนนำเข้าสู่ระบบ

น้ำที่ใช้เป็นน้ำจืดในบ่อพักของฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสาขาวิชาประมง เติมน้ำเค็มไฮโปคลอไรต์ 10% (คลอรีนน้ำ) ลงในน้ำให้มีความเข้มข้น 50 ส่วนในล้าน ทั้งไว้กลางแดดพร้อมเปิดใบพัดให้กวนน้ำตลอดเวลาเป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นพ่นโอโซนเพื่อฆ่าเชื้อปนเปื้อนเป็นเวลาอีก 1 วัน แล้วเปิดใบพัดให้กวนน้ำตลอดเวลาเพื่อให้โอโซนสลายเป็นเวลอย่างน้อย 3 ชั่วโมง แล้วใช้ปั๊มดูดกรองผ่านผ้ากรองนําล่อนขนาด 80-100 ไมครอน แล้วจึงนำไปใช้งานกับชุดระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย และชุดระบบหมุนเวียนน้ำ โดยเติมน้ำสะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงในบ่อเลี้ยงสาหร่ายบ่อละ 1,000 ลิตร

3.1.4 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายกลางแจ้ง

ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปุ๋ย ประกอบไปด้วยสารเคมีเกรดอุตสาหกรรม 4 ชนิด [14]

3.1.5 รูปวาดและรายละเอียดการทำงานของชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยการหมุนเวียนน้ำ

รูปวาดแสดงให้เห็นภาพโดยรวมของโครงสร้างชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยการหมุนเวียนน้ำและส่วนประกอบต่าง ๆ ซึ่งประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ 1) ชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก 2) ชุดระบบบำบัดและหมุนเวียนน้ำ และ 3) ชุดเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายแบบตกตะกอน (รูปที่ 1)

1) ชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่าย ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ถังสารอาหารเข้มข้น (หมายเลข 1) ถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ (หมายเลข 2) และบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายระบบน้ำวน (หมายเลข 6)

1.1) ถังสารอาหารเข้มข้น (หมายเลข 1) เป็นถังพลาสติกทรงกระบอกทึบแสงที่มีฝาปิดปริมาตร 500 ลิตร จำนวน 1 ใบ (ศก.= 0.6 เมตร, สูง = 1.5 เมตร) ภายในบรรจุสารอาหารเข้มข้น (สูตรปุ๋ย) ที่ประกอบด้วยสารเคมี 4 ชนิด โดยเริ่มทำงานด้วยชุดสวิตซ์ตั้งเวลาเปิด-ปิดให้ปั๊มน้ำขนาดเล็กทำงาน โดยดูดสารอาหารจากถังสารอาหารเข้มข้นเข้าสู่ถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ ซึ่งตั้งเวลาหน่วงให้

ใบพัดในถังทำงานก่อน 1 นาที เพื่อกววนสารอาหารที่ตกตะกอนให้เข้ากันก่อนที่จะเติมลงในถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ (หมายเลข 2) ในขณะเดียวกันน้ำจากถังเก็บน้ำใหม่ (หมายเลข 3) และถังเก็บน้ำใช้แล้ว (หมายเลข 4) ถูกดูดเข้าสู่ถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ด้วยปั๊มน้ำซึ่งควบคุมการทำงานด้วยสวิตช์กลอยที่ตั้งค่าจากระดับความสูงของน้ำในถัง เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อในถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ถูกใช้จนถึงระดับต่ำสุดที่ตั้งไว้ น้ำใหม่จะถูกดูดเข้าสู่ถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้โดยอัตโนมัติ พร้อมกับการทำงานของชุดเติมสารอาหารตามลำดับ (สารอาหารเข้มข้นที่เติมลงไปใต้น้ำเรียกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ) ในอัตราส่วนน้ำต่อสารอาหารคือ 750 ต่อ 1

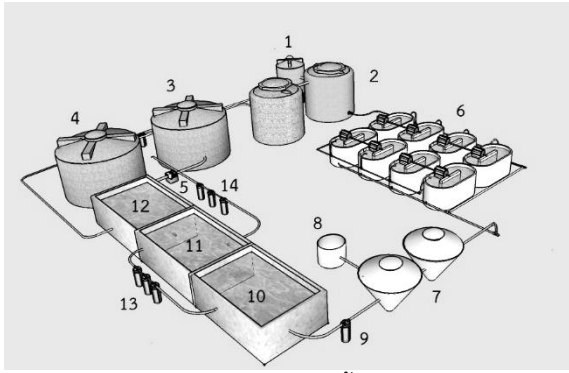
1.2) ถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ (หมายเลข 2) เป็นถังพลาสติกทรงกระบอกทึบแสงปริมาตร 1,500 ลิตร มีฝาปิด (ศก.= 1 เมตร, สูง = 2 เมตร) จำนวน 2 ใบ เมื่อสวิตช์กลอยทำงาน ก็จะปล่อยน้ำใหม่เข้าถัง ภายในถังมีปั๊มน้ำ 1 ตัว ทำหน้าที่ดูดน้ำเข้าออกผ่านชุดแสงอัลตราไวโอเลต (UV) ที่ติดตั้งอยู่ในถัง เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในน้ำ ซึ่งควบคุมการทำงานด้วยตัวจับเวลา (timer) ที่ติดตั้งอยู่บนแผงควบคุม ตั้งเวลาทำงานให้เปิดปิดเป็นจังหวะได้ ภายในถังมีสวิตช์กลอย 2 ชุด ชุดแรกควบคุมน้ำและสารอาหารเข้าสู่ถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ ชุดสองควบคุมการทำงานของเครื่องผลิตโอโซน (หมายเลข 5) โดยตั้งค่าให้หยุดการผลิตโอโซนเพื่อฆ่าเชื้อบนเป็อนในถังเก็บน้ำใหม่ (หมายเลข 3) และถังเก็บน้ำใช้แล้ว (หมายเลข 4) ก่อนที่น้ำจะถูกดึงเข้าสู่ถังอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง

1.3) บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายระบบน้ำวนที่มีใบพัดกวนน้ำ (หมายเลข 6) เป็นบ่อระบบ จำนวน 8 บ่อ ติดตั้งใบพัดกวนน้ำทุกบ่อ เพื่อให้น้ำเลี้ยงมีการไหลวนตลอดเวลา ช่วยทำให้สาหร่ายไม่ตกตะกอนอยู่ก้นบ่อและทำให้สาหร่ายได้รับแสงแดดอย่างทั่วถึง อีกทั้งยังช่วยเติมอากาศให้สาหร่ายในบ่อเลี้ยง จากนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อถูกดูดเข้าสู่บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยปั๊มสูบลำสารเคมี (metering pump) ซึ่งสามารถควบคุมอัตราการไหลของอาหารเพาะเชื้อให้คงที่ได้ตลอดเวลา โดยปรับให้มีอัตราการเจือจางอยู่ในช่วง 0.50-0.77 ต่อวัน

2) ชุดเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายแบบตกตะกอน ประกอบด้วยอุปกรณ์ 2 ส่วน คือ ถังเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย และถังสแตนเลสเก็บชีวมวล โดยถังเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย (หมายเลข 7) เป็นถังพลาสติกสีขาวทึบโปร่งแสง มีลักษณะรูปทรงกรวย (สูง 1.1 เมตร, ศก.บน = 0.8 เมตร, ศก.ล่าง = 0.6 เมตร) เมื่อน้ำสาหร่ายจากบ่อ

เพาะเลี้ยงสาหร่ายระบบน้ำวน (หมายเลข 6) ถูกปั๊มออกมา จะเข้าสู่ถังเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย (หมายเลข 7) เมื่อปริมาณน้ำสาหร่ายถึงระดับที่กำหนด จะทำการเติมสารตกตะกอน สาหร่ายจะตกตะกอนอยู่ด้านล่าง (ก้นถัง) น้ำใสอยู่ด้านบนถัง เนื้อสาหร่ายที่อยู่ด้านล่างมีลักษณะเข้มข้นจะถูกปล่อยลงสู่ถังสแตนเลสเก็บชีวมวล (หมายเลข 8) ซึ่งเป็นถังรูปทรงกระบอก (ศก.= 0.4 เมตร, สูง = 0.6 เมตร) สำหรับใช้บรรจุชีวมวลของสาหร่ายหลังตกตะกอนแล้ว ส่วนน้ำใสด้านบนจะถูกปั๊มผ่านชุดกรอง (หมายเลข 9) ซึ่งเป็นไส้กรองหยาบชนิด PP (polypropylene filter) ขนาดรูพรุน 10 ไมครอน ซึ่งน้ำที่กรองแล้วจะผ่านเข้าสู่บ่อบำบัด 1 (หมายเลข 10)

3) ชุดระบบบำบัดและหมุนเวียนน้ำ ประกอบด้วยบ่อบำบัด 1 (หมายเลข 10) บ่อบำบัด 2 (หมายเลข 11) และบ่อน้ำใหม่ (หมายเลข 12) ซึ่งเป็นบ่อปูนซีเมนต์ขนาดกว้าง 2 เมตร ยาว 3 เมตร สูง 1 เมตร เมื่อน้ำจากชุดเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายถูกปั๊มเข้าสู่บ่อบำบัด 1 (หมายเลข 10) แล้ว จะทำการเติมสารตกตะกอนเพื่อตกตะกอนอนุภาคขนาดเล็กที่ยังหลงเหลือในน้ำ เช่น เศษซากสาหร่าย ตะกอน และสารแขวนลอยขนาดเล็กต่างๆ โดยน้ำใสด้านบนจะถูกปั๊มผ่านชุดกรอง 3 ตัว ตามลำดับ คือ 1) ไส้กรองหยาบชนิด PP ขนาดรูพรุน 5 ไมครอน 2) ไส้กรองคาร์บอน (active carbon filter) ชนิดคาร์บอนเกล็ด granular active carbon (GAC) เป็นไส้กรองที่ทำหน้าที่ดักจับ สี กลิ่น สารอินทรีย์ คลอรีน และสารพิษบางชนิด 3) ไส้กรองหินปูน (resin water softener) เป็นไส้กรองทำหน้าที่ดักจับหินปูน ลดความกระด้างของน้ำ น้ำที่ผ่านการกรองแล้วจะเข้าสู่บ่อบำบัด 2 (หมายเลข 11) ซึ่งน้ำในบ่อนี้ก่อนที่จะถูกปั๊มเข้าสู่ถังเก็บน้ำใช้แล้ว (หมายเลข 4) จะต้องทำการตรวจวัดค่าไนเตรทและฟอสเฟตก่อน ซึ่งน้ำเลี้ยงนี้ยังคงมีสารอาหาร (ปุ๋ย) เหลืออยู่ ทำการตรวจวัดปริมาณสารอาหารคงเหลือ จากนั้นทำการเติมน้ำใหม่และสารอาหารใหม่ เพื่อทำให้มีอัตราส่วนของสารอาหารในน้ำเลี้ยงคงที่เหมือนน้ำเลี้ยงตั้งต้นเสมอ ซึ่งจะเป็นน้ำเลี้ยงพร้อมหมุนเวียนใช้ในระบบต่อไป



รูปที่ 1 รูปวาดชุดระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยการหมุนเวียนน้ำ (การศึกษานี้)
(1) ถังสารอาหารเข้มข้น (2) ถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ (3) ถังเก็บน้ำใหม่ (4) ถังเก็บน้ำใช้แล้ว (5) เครื่องผลิตโซนา (6) บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายระบบน้ำวนที่มีใบพัดกวนน้ำ (7) ถังเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย (8) ถังสแตนเลสเก็บชีวมวล (9) ชุดกรอง 1 ตัว (10) บ่อบำบัด 1 (11) บ่อบำบัด 2 (12) บ่อน้ำใหม่ (13) ชุดกรอง 3 ตัว (14) ชุดกรอง 3 ตัว

3.2 ความหนาแน่นของสาหร่ายในระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยการหมุนเวียนน้ำ

3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ

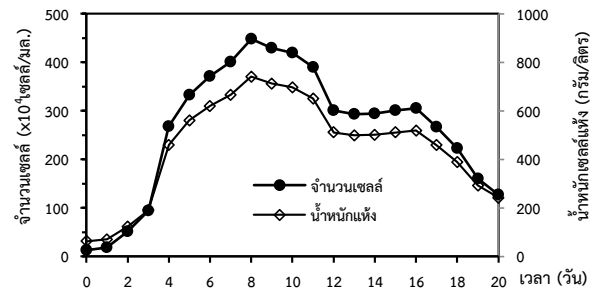
ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ในสูตรอาหาร BG11 โดยใช้หัวเชื้อสาหร่ายเริ่มต้น 10% ของอาหารเลี้ยงเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ ที่ความเข้มแสง 45 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ช่วงเวลาได้รับแสง:ไม่ได้รับแสงคือ 18:6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส

สำหรับหัวเชื้อที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง ได้ทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงในขวด PET แบบใส ขนาด 10 ลิตร เติมน้ำที่ฝา 2 รู สำหรับใส่ท่อให้อากาศ และท่อระบายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งในขวดบรรจุอาหารเลี้ยงปริมาณ 8 ลิตร ทำการขยายหัวเชื้อให้ได้จำนวน 13 ขวด (104 ลิตร) ต่อการเลี้ยง 1 บ่อ (หัวเชื้อ 10% ของปริมาณน้ำเลี้ยงในบ่อเลี้ยงกลางแจ้ง) เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7-10 วัน จึงนำไปถ่ายลงสู่บ่อเลี้ยงกลางแจ้งต่อไป (รูปที่ 1)

3.2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบแบตช์ในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง

ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบแบตช์ในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งปริมาณ

1,000 ลิตร พบว่าสาหร่ายมีความหนาแน่นสูงสุด 448×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง หรือเท่ากับ 741 มิลลิกรัม/ลิตร (น้ำหนักแห้ง) และมีอัตราการเติบโตจำเพาะในช่วงวันที่ 0-6 ของการเพาะเลี้ยง เท่ากับ 0.67 ต่อวัน (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบแบตช์ในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง (ซ้าย: จำนวนเซลล์สาหร่าย, ขวา: น้ำหนักเซลล์แห้งสาหร่าย)

3.2.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง

1) ผลของอัตราการเจือจางต่อการเติบโตของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งเป็นเวลา 20 วัน ผลการศึกษาพบว่าหลังจากที่เลี้ยงแบบแบตช์เป็นเวลา 2 วัน สาหร่ายมีการเติบโตเพิ่มจำนวนแบบทวีคูณ ดังนั้นจึงเริ่มทำการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องโดยทดลองปรับอัตราการเจือจาง 3 ระดับ เริ่มต้นจากการใช้อัตราการเจือจาง 0.50 ต่อวัน ในช่วงวันที่ 3-11 พบว่าสาหร่ายมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเฉลี่ย 344×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร หลังจากนั้นจึงได้เพิ่มอัตราเจือจางขึ้นเป็น 0.60 และ 0.70 ต่อวัน ตามลำดับ ส่งผลให้ความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์ในช่วงที่มีการเติบโตแบบต่อเนื่องลดลงเหลือ 233×10^4 และ 107×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 3) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติบโตของสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งเป็นไปตามรูปแบบของคีโมสแตท (chemostat culture) ซึ่งเซลล์จะมีการเติบโตในระยะทวีคูณหรือระยะเอกซ์โพเนนเชียลตลอดเวลา และความเข้มข้นของสารอาหารจะเป็นปัจจัยที่กำหนดอัตราการเติบโต ซึ่งใน

สภาวะดังกล่าวความหนาแน่นเซลล์จะแปรผกผันกับอัตราการเจริญ [18]

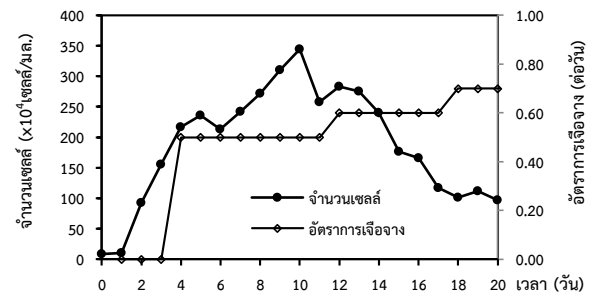
ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งเป็นเวลา 20 วัน โดยแต่ละบ่อมีการแปรผันอัตราการเจริญ 3 ระดับ (ตารางที่ 1) ทำให้มีอัตราเจริญทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง 9 ระดับ เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลเข้าด้วยกัน จะได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3 พบว่าการเพิ่มอัตราการเจริญส่งผลให้ความหนาแน่นเซลล์ลดลง และที่อัตราการเจริญที่ 0.77 ต่อวัน เหลือความหนาแน่นเซลล์เพียง 109×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งหากเพิ่มอัตราการเจริญให้สูงกว่านี้ก็จะเกิดปรากฏการณ์ที่เซลล์ถูกชะล้าง (wash out) ออกจากระบบการเพาะเลี้ยงทั้งหมด

เมื่อคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญและความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 พบว่าความหนาแน่นเซลล์จะแปรผกผันกับอัตราการเจริญของระบบในลักษณะที่อธิบายได้ด้วยสมการเส้นตรง ซึ่งผลการคำนวณจากสมการมีความแม่นยำประมาณ 87% ($R^2 = 0.87$) (รูปที่ 4) เมื่อเทียบกับค่าที่วัดได้จริงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญและอัตราผลิตเซลล์ของระบบการเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องโดยทั่วไปมีแนวโน้มความสัมพันธ์เป็นแบบโพลิโนเมียล [18] ซึ่งการชะล้างเซลล์ออกจากระบบ จะเกิดขึ้นเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบต่อเนื่องด้วยอัตราการเจริญสูงกว่าอัตราการเติบโตสูงสุดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์ไม่สามารถเติบโตแบ่งตัวได้ทันกับอัตราการเจริญซึ่งเป็นการกำจัดเซลล์ออกจากถังเลี้ยง ดังนั้นหากต้องการเซลล์ที่มีความหนาแน่นสูงควรใช้อัตราการเจริญที่มีค่าต่ำ

ตารางที่ 1 อัตราการเจริญของสาหร่าย

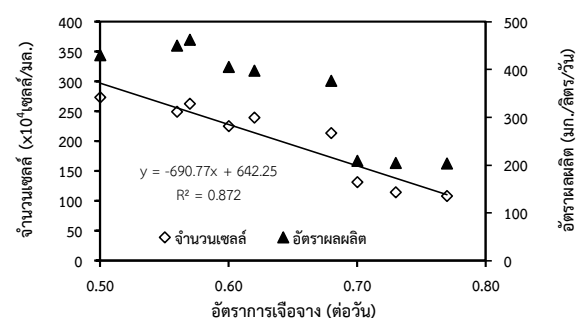
Ankistrodesmus sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง (ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.; n = 3)

บ่อที่	อัตราการเจริญ (ต่อวัน)		
	วันที่ 3-11	วันที่ 11-17	วันที่ 17-20
1	0.50 ± 0.03	0.60 ± 0.03	0.70 ± 0.02
2	0.56 ± 0.02	0.62 ± 0.04	0.77 ± 0.01
3	0.57 ± 0.05	0.68 ± 0.03	0.73 ± 0.05



รูปที่ 3 ความหนาแน่นเซลล์สาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง ที่อัตราการเจริญ 3 ระดับ (0.50, 0.60 และ 0.70 ต่อวัน ตามลำดับ)

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบต่อเนื่องที่อัตราการเจริญ 0.50 ต่อวัน จะให้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 344×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร แต่อัตราผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ในงานวิจัยนี้มีค่าสูงสุดเท่ากับ 263×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน หรือเท่ากับ 0.46 กรัม/ลิตร/วัน (น้ำหนักแห้ง) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงด้วยอัตราการเจริญ 0.57 ต่อวัน (รูปที่ 4) เนื่องจากความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญและอัตราผลิตเซลล์ของระบบการเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องโดยทั่วไปมีแนวโน้มความสัมพันธ์เป็นแบบโพลิโนเมียล [18] ผลจากการทดลองนี้พบว่าสาหร่ายมีอัตราผลิตสูงเมื่อทำการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องด้วยอัตราการเจริญระหว่าง 0.5-0.6 ต่อวัน และอัตราการเจริญที่ควรนำมาใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งมีค่าประมาณ 0.57 ต่อวัน เพราะจะทำให้ทั้งอัตราผลิตต่อวันที่สูงและความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ผลิตได้ก็มีค่าสูงด้วย



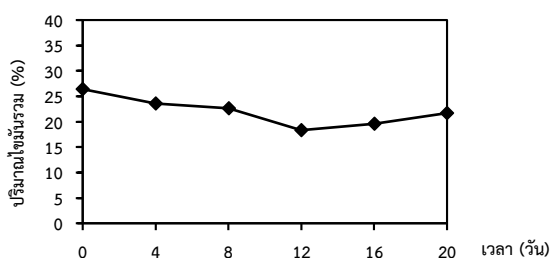
รูปที่ 4 ความหนาแน่นเซลล์และอัตราผลผลิตของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง

3.3 ปริมาณไขมันของสาหร่ายในระบบการเลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่องโดยใช้ระบบหมุนเวียนน้ำ

ปริมาณไขมันของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง มีปริมาณไขมันรวมสูงสุด เท่ากับ 26.42 ± 2.61 % (น้ำหนักแห้ง) โดยสาหร่ายมีแนวโน้มที่ผลิตไขมันลดลง อาจเป็นเพราะการเติมอาหารเพิ่มในระบบ ทำให้สาหร่ายเน้นการเติบโตมากกว่าการสะสมไขมัน [19], [20] (ตารางที่ 2 และรูปที่ 5)

ตารางที่ 2 อัตราการเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง

วันที่	อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	ชีวมวล (ก./ล.)	ปริมาณไขมัน (% นน.แห้ง)	ผลผลิตไขมัน (มก./ล.)	อัตราผลผลิตไขมัน (ก./ล./วัน)
0	-	0.21 ± 0.02	26.42 ± 1.17	0.08 ± 0.01	-
4	0.54 ± 0.06	0.58 ± 0.10	23.59 ± 0.69	0.11 ± 0.02	3.51 ± 3.56
8	0.54 ± 0.06	0.62 ± 0.04	22.62 ± 0.98	0.19 ± 0.01	2.46 ± 0.63
12	0.63 ± 0.04	0.64 ± 0.08	18.34 ± 0.94	0.17 ± 0.01	1.55 ± 0.34
16	0.63 ± 0.04	0.81 ± 0.11	19.60 ± 0.73	0.20 ± 0.02	1.26 ± 0.27
20	0.73 ± 0.05	0.93 ± 0.22	21.73 ± 1.02	0.29 ± 0.05	1.38 ± 0.12



รูปที่ 5 ปริมาณไขมันของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง

4. สรุป

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบแบตช์และแบบต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนที่มีใบพัดกวนน้ำกลางแจ้งด้วยระบบการหมุนเวียนน้ำ โดยทำการบำบัดน้ำที่ผ่านการเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายแล้วนำมาหมุนเวียนใช้ใหม่ โดยใช้อาหารสูตรปุ๋ยทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่าในการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์

สาหร่ายมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 448×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร และมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด 0.67 ต่อวัน และจากการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องที่มีการเติมอาหารเพาะเชื้อใหม่และนำเซลล์ออกตลอดเวลา ในระหว่างการทดลองได้แปรผันอัตราการเจริญระหว่าง 0.50-0.77 ต่อวัน พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอัตราการเจริญต่ำ 0.50 ต่อวัน มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 344×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร และการเพิ่มอัตราการเจริญส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายลดลง โดยเมื่อปรับอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นเป็น 0.77 ต่อวัน พบว่าสาหร่ายมีความหนาแน่นลดลงเหลือ 109×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร แต่เมื่อพิจารณาอัตราผลผลิตพบว่าระดับอัตราการเจริญ 0.57 ต่อวัน จะให้อัตราผลผลิตเซลล์สูงสุด 263×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน หรือเท่ากับ 463 มิลลิกรัม/ลิตร/วัน (น้ำหนักแห้ง) สำหรับปริมาณไขมันของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 22% น้ำหนักแห้ง และอัตราผลผลิตไขมัน 2.03 กรัม/ลิตร/วัน

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสิ่งอำนวยความสะดวกต่าง ๆ ที่ได้รับจาก สาขาวิชา ประ ม ง ค ณ ะ เก ช ต ร ศ า ส ต ร และ ทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตบางพระ จนทำงานได้สำเร็จลุล่วง โดยงานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2560 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

เอกสารอ้างอิง

- [1] Y. Chisti, "Biodiesel from microalgae," *Biotechnology*, vol. 25, pp. 294-306, 2007.
- [2] M. A. Quader and S. Ahmed, "Bioenergy with carbon capture and storage (BECCS): future prospects of carbon-negative technologies," in, *Clean energy for sustainable development*. USA: Elsevier, 2017, pp.91-140.
- [3] L. Christenson and R. Sims, "Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts," *Biotechnology Advances*, vol. 29, pp. 686-702, 2011.
- [4] L. Brennan and P. Owende, "Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of

- biofuels and co-products,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, pp. 557–577, 2010.
- [5] Oilgae, *Comprehensive Oilgae Report Energy from Algae : Products, Market, Processes & Strategies*, India: Tamilnadu, 2013.
- [6] Y. Christi, “Raceways-based production of algal crude oil,” in *Microalgal Biotechnology: Potential and Production*. USA: De Gruyter, 2012, pp. 115-146.
- [7] A. Richmond, “Outdoor mass culture of microalgae,” in *CRC Handbook of microalgae mass culture*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1986, pp. 285-329.
- [8] M. A. Borowitzka, “Culturing microalgae in outdoor ponds,” in *Algal Culturing Techniques*. China: Elsevier, 2005, pp. 205-218.
- [9] J. A. V. Costa, and M. G. Morais, “An open pond system for microalgal cultivation,” in *Biofuels from Algae*. USA: Elsevier, 2014, pp. 1-22.
- [10] D. Xiaodong, L. Yajun and F. Xiaowen, “A promising feedstock for biodiesel,” *African Journal of Microbiology Research*, vol. 3, no. 13, pp. 1008-1014, 2009.
- [11] Y. Peerapornpisal, *Freshwater algae in Thailand*, 2nd ed. Chiang Mai: Department of biology, Faculty of science, Chiang Mai University, 2013 (in Thai).
- [12] A. Vonshak, “Laboratory techniques for the cultivation of microalgae,” in *CRC Handbook of microalgae mass culture*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1986, pp. 117-145.
- [13] R. Y. Stanier, R. Kunisawa, M. Mandel, and B. G. Cohen-Bazire, “Purification and properties of unicellular blue green algae (Order Chroococcales),” *Bacteriol. Rev.*, vol. 35, pp. 171-205, 1971.
- [14] M. Okauchi, and K. Kawamura, “Optimum medium for large-scale culture of *Tetraselmis tetraathele*,” *Hydrobiologia*, vol. 358, pp. 217-222, 1997.
- [15] A. Richmond and E. W. Becker, “Technological aspects of mass cultivation-a general outline,” in *CRC Handbook of microalgae mass culture*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1986, pp. 245-263.
- [16] E. G. Bligh and W. J. Dyer, “A rapid method of total lipid extraction and purification,” *J. Biochem. Physiol.*, vol.37, pp. 911-917, 1959.
- [17] APHA., *Standard Method for the Examination of Water and Wastewater*, 22th ed. Washington D.C.: American Public Health Association, 2012.
- [18] J. E. Bailey and D. F. Ollis, *Biochemical Engineering Fundamental*, 2nd ed. Singapore: McGraw-Hill, 1986.
- [19] C. Paliwal, T. Ghosh, and S. Mishra, “Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus* – A potential strain for bio-fuel production.” *Bioresource Technology*, vol. 171, pp. 367–374, 2014.
- [20] P. D, Álvarez-Díaz, J. Ruiz, Z. Arbib, J. Barragán, C. Garrido-Pérez, and J. A. Perales, “Lipid Production of Microalga *Ankistrodesmus falcatus* Increased by Nutrient and Light Starvation in a Two-Stage Cultivation Process” *Appl Biochem Biotechnol*, vol. 174, pp. 1471–1483, 2014.