บทความวิจัย

การพัฒนาระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยระบบการหมุนเวียนน้ำ

วราทิตย์ ดลสุจิต*
สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก
คณาธิป คำเพราะ
สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรและเทคโนโลยี คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 0 8634 4285 อีเมล: waratit17@hotmail.com DOI: 10.14416/j.kmutnb.2020.04.005
รับเมื่อ 28 ตุลาคม 2562 แก้ไขเมื่อ 23 ธันวาคม 2562 ตอบรับเมื่อ 7 มกราคม 2563 เผยแพร่ออนไลน์ 16 เมษายน 2563
© 2020 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบแบตช์ และแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนที่มีใบพัดกวนน้ำกลางแจ้งด้วยระบบการหมุนเวียนน้ำ โดยทำการบำบัดน้ำที่ผ่านการเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายแล้วนำมาหมุนเวียนใช้ใหม่ โดยใช้อาหารสูตรปรับปรุง ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า ในการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์สาหร่ายมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 448×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด 0.67 ต่อวัน และจากการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องที่มีการเติมอาหารใหม่ และนำเซลล์ออกตลอดเวลา ในระหว่างการทดลองได้แปรผันอัตราการเจือจาง ระหว่าง 0.50–0.77 ต่อวัน พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยอัตราการเจือจางต่ำ 0.50 ต่อวัน มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 344×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และการเพิ่มอัตราการเจือจางส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายลดลง โดยเมื่อปรับอัตราการเจือจางเพิ่มขึ้นเป็น 0.77 ต่อวัน พบว่า สาหร่ายมีความหนาแน่นเฉลี่ยลดลงเหลือ 109×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อพิจารณาอัตราผลผลิต พบว่า ที่ระดับอัตราการเจือจาง 0.57 ต่อวัน จะให้อัตราผลผลิตเซลล์สูงสุดที่ 263×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน หรือเท่ากับ 463 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (น้ำหนักแห้ง) สำหรับปริมาณไขมันของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 22% (น้ำหนักแห้ง) และอัตราผลผลิตไขมันเฉลี่ยเท่ากับ 2,032 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน

คำสำคัญ: สาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* การเพาะเลี้ยง ระบบการหมุนเวียนน้ำ ไขมัน ไบโอดีเซล

การอ้างอิงบทความ: วราทิตย์ ดลสุจิต และ คณาธิป คำเพราะ, "การพัฒนาระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยระบบการหมุนเวียนน้ำ," *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, ปีที่ 30, ฉบับที่ 4, หน้า 645–655, ต.ค.–ธ.ค. 2563.

วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ปีที่ 30, ฉบับที่ 4 ต.ค.–ธ.ค. 2563
The Journal of KMUTNB., Vol. 30, No. 4, Oct.–Dec. 2020

Research Article

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

Waratit Donsujit*
Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chon Buri, Thailand
Kanatip Kumproa
Department of Agriculture Engineering and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chon Buri, Thailand

* Corresponding Author, Tel. 0 8634 4285, E–mail: waratit17@hotmail.com DOI: 10.14416/j.kmutnb.2020.04.005
Received 28 October 2019; Revised 23 December 2019; Accepted 7 January 2020; Published online: 16 April 2020
© 2020 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

Batch and semi-continuous culture of freshwater microalgae *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 were conducted outdoors in paddlewheel-driven raceway ponds implementing recirculating aquaculture systems. The used water from microalgae harvest tank was treated and recycled for microalgae cultivation. The medium were prepared from modified medium and cultured for 20 days. With batch cultivation, *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 achieved the maximum cell density of 448×10^4 cells/ml and maximum specific growth rate of 0.67 day^{-1}. During semi-continuous cultivation, addition of fresh medium and removal of microalgae cells were conducted. 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}, average cell density of the microalgae 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 average lipid productivity of 2,032 mg/L/day were obtained in semi-continuous cultivation.

Keywords: Microalgae, *Ankistrodesmus*, Cultivation, Recirculating Water System, Lipid, Biodiesel

Please cite this article as: W. Donsujit and K. Kumproa, "The development of cultivation system of microalgae with outdoor raceway pond by recirculating water system," *The Journal of KMUTNB*, vol. 30, no. 4, pp. 645–655, Oct.–Dec. 2020 (in Thai).

1. บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยผลิตไบโอดีเซลจากปาล์มน้ำมันเป็นหลัก ซึ่งปาล์มน้ำมันเป็นพืชอาหารและเริ่มมีปริมาณจำกัด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาแหล่งวัตถุดิบจากพืชอื่นๆ ที่ไม่ใช่พืชอาหารมาผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ โดยประเทศต่างๆ ทั่วโลกเริ่มตระหนักถึงข้อเท็จจริงดังกล่าว และหันมาให้ความสนใจกับการศึกษาวิจัยเรื่องสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เพื่อนำมาผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซลหรือเชื้อเพลิงทดแทน ย่อมสามารถลดการเกิดปัญหาในการแย่งส่วนแบ่งทางอาหารหรือเกษตรกรรมจากพืชน้ำมันทั่วไปได้ สาหร่ายขนาดเล็กมีศักยภาพในการให้น้ำมันได้ในปริมาณสูง เนื่องจากใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงสั้นกว่า และมีผลผลิตต่อพื้นที่สูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น [1] สามารถเก็บเกี่ยวได้อย่างต่อเนื่อง ช่วยดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และบำบัดน้ำเสีย [2], [3] อีกทั้งยังสามารถแปรรูปกากสาหร่ายเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้ เช่น การอัดทำแท่งเชื้อเพลิงหรือถ่านชีวภาพ (Biochar) อาหารสัตว์และปุ๋ย [4]

โดยกระบวนการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายประกอบด้วย 5 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย การเพาะเลี้ยงขยายเพื่อผลิตชีวมวลสาหร่าย การเก็บเกี่ยวชีวมวล การสกัดน้ำมัน และการผลิตไบโอดีเซล [5] ซึ่งขั้นตอนการเพาะเลี้ยงขยายเพื่อผลิตชีวมวลสาหร่ายนับว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่ต้องดำเนินการต่อเนื่องหลังจากได้คัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีคุณสมบัติเหมาะสมแล้ว ทั้งนี้ การเพาะเลี้ยงขยายกลางแจ้งมีทั้งระบบเปิด และระบบปิดขึ้นกับปัจจัยหลายๆ ด้าน เช่น พื้นที่ ค่าใช้จ่ายในการก่อสร้าง สภาพภูมิอากาศ ภูมิประเทศ แรงงาน และผลผลิตที่ต้องการต่อพื้นที่ [6], [7] สำหรับประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศ และภูมิประเทศที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบระบบเปิดกลางแจ้ง (Open Pond) ซึ่งการเลี้ยงในบ่อเปิดทำให้เซลล์สาหร่ายสามารถรับแสงอาทิตย์ได้โดยตรงและมีการเติบโตได้ดี [8], [9] ทำให้ได้ผลผลิตหรือชีวมวลสาหร่ายสูง สำหรับสายพันธุ์ของสาหร่ายขนาดเล็กพบว่า มีหลายสายพันธุ์ที่น่าสนใจ และมีศักยภาพที่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้ ซึ่งพบว่า สายพันธุ์ *Ankistrodesmus* sp. มีปริมาณไขมันสะสมภายในเซลล์ถึง 24–31% [10] และยังเป็นสายพันธุ์ที่สามารถพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำท้องถิ่นของประเทศไทย [11]

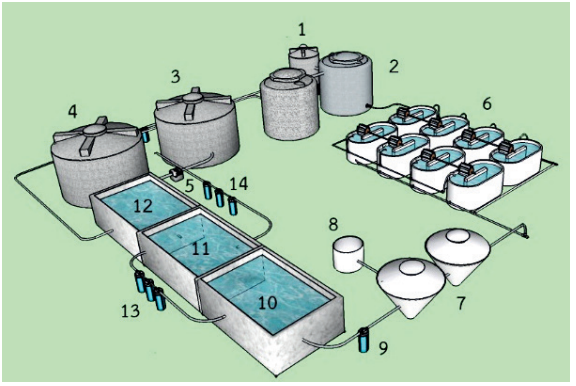
ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ในรูปแบบกลางแจ้งให้เป็นระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องด้วยวิธีคีโมสแตท (Chemostat) ซึ่งเป็นวิธีการจำกัดสารอาหาร โดยเติมสารอาหารและนำสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงออกจากระบบด้วยอัตราคงที่ เป็นการควบคุมการเติบโตของเซลล์สาหร่ายให้อยู่ในระยะคงที่ (Steady State) ตลอดเวลา [12] พร้อมทั้งมีระบบการหมุนเวียนน้ำ เพื่อนำสารอาหารที่เหลือในน้ำเลี้ยงหมุนเวียนนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก ซึ่งจะเป็นการประหยัดต้นทุนค่าใช้จ่ายโดยเฉพาะค่าปุ๋ย และลดปริมาณการใช้น้ำในการเลี้ยง รวมทั้งการลดและควบคุมการปล่อยน้ำทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในกระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายระดับมหมวล และสามารถพัฒนาไปสู่การเพาะเลี้ยงระดับเชิงพาณิชย์ สำหรับผลิตน้ำมันไบโอดีเซลเพื่อเป็นพลังงานเชื้อเพลิงทดแทนในอนาคตต่อไป

2. วิธีการวิจัย

2.1 หัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กและอาหารเลี้ยงเชื้อ

สายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 โดยทำการเก็บรักษาสายพันธุ์ภายในห้องเลี้ยงสาหร่าย สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ในอาหารเหลวสูตร BG11 [13] ปริมาตร 1,500 มิลลิลิตร ในขวดแล็บฝาเกลียวขนาด 2,000 มิลลิลิตร โดยเติมหัวเชื้อสาหร่ายเริ่มต้น 10% ของปริมาตรอาหารเลี้ยง โดยเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ ที่ความเข้มแสง 60 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ช่วงเวลาได้รับแสง : ไม่ได้รับแสงคือ 16 : 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้อากาศตลอดเวลา จนกระทั่งสาหร่ายเข้าสู่ระยะเอกซ์โพเนนเชียล แล้วจึงต่อหัวเชื้อเพื่อขยายปริมาณมากต่อไป



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

สำหรับหัวเชื้อที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง ได้ทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงในขวด PET แบบใส ขนาด 10 ลิตร เจาะรูที่ฝา 2 รู สำหรับใส่ท่อให้อากาศและท่อระบายก๊าซต่างๆ ซึ่งในขวดบรรจุอาหารเลี้ยงปริมาตร 8 ลิตร ทำการขยายหัวเชื้อให้ได้ปริมาตรประมาณ 10^4 ลิตรต่อบ่อเลี้ยง (เติมหัวเชื้อ 10% ของปริมาณน้ำเลี้ยงในบ่อเลี้ยงกลางแจ้ง) เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7–10 วัน จึงนำไปถ่ายลงสู่บ่อเลี้ยงระบบน้ำวนกลางแจ้งต่อไป (รูปที่ 1)

2.2 ระบบที่ใช้ในการทดลอง

2.2.1 การเตรียมและการออกแบบระบบ

การพัฒนาและออกแบบระบบที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กด้วยระบบหมุนเวียนน้ำ ซึ่งเป็นแบบกึ่งต่อเนื่อง ใช้รูปแบบการเลี้ยงแบบกลางแจ้งในระดับมหมวล โดยในช่วงเวลาที่มีแสงสว่างจากธรรมชาติ (สาหร่ายขนาดเล็กมีการสังเคราะห์แสงและเติบโต) จะมีการเติมสารอาหารเข้าสู่ระบบเลี้ยง และเมื่อช่วงเวลาที่ไม่มีแสงสว่างจากธรรมชาติ (สาหร่ายขนาดเล็กไม่มีการสังเคราะห์แสง) จะหยุดการเติมสารอาหารเข้าสู่ระบบเลี้ยง ทั้งนี้ มีแนวคิดในการลดการใช้พื้นที่ สามารถสร้างผลผลิตชีวมวลได้อย่างต่อเนื่อง สะดวกต่อการดูแล และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ 1) ชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก 2) ชุดเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายแบบตกตะกอน และ 3) ชุดระบบบำบัดและหมุนเวียนน้ำ (รูปที่ 1)

2.2.2 ลักษณะบ่อเลี้ยงสาหร่าย

เป็นบ่อแบบลู่หรือบ่อระบบน้ำวน (Raceway Pond) มีลักษณะเป็นลู่โดยมีสันตรงกลาง 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 ภายในบ่อทาด้วยสีอิพ็อกซีเรซินสีขาวทั้งหมดเพื่อให้เกิดการสะท้อนแสงที่ดี

2.2.3 การติดตั้งใบพัด

มีลักษณะเป็นใบพัดแบบ 6 ใบพัด เป็นใบพัดที่ใช้ตีน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งทำจากสแตนเลส โดยนำมาประยุกต์ด้วยการต่อใบให้กว้างและยาวขึ้น ซึ่งใบที่นำมาต่อทำมาจากอะคริลิกสีขาวหนา 1 เซนติเมตร กว้าง 25 เซนติเมตร ยาว 45 เซนติเมตร ติดตั้งไว้บ่อละ 1 จุด ซึ่งใบพัดจะหมุนที่ความเร็วต่ำประมาณ 12–15 รอบต่อนาที โดยใช้มอเตอร์เกียร์ 1 HP ยี่ห้อ Suntech ต่อผ่านเกียร์บล็อกสามทาง โดยใส่แกนเพลาที่เป็นท่อเหล็กขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว ยาว 2 เมตร เป็นตัวขับให้ใบพัดหมุน เพื่อให้น้ำเลี้ยงมีการไหลวนตลอดเวลา ช่วยทำให้สาหร่ายไม่ตกตะกอนอยู่ก้นบ่อและทำให้สาหร่ายได้รับแสงแดดอย่างทั่วถึง อีกทั้งยังช่วยเติมอากาศให้สาหร่ายในบ่อเลี้ยง

2.2.4 การเตรียมน้ำก่อนนำเข้าสู่ระบบ

น้ำที่ใช้เป็นน้ำจืดในบ่อพักของฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสาขาวิชาประมง เติมโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 10% (คลอรีนน้ำ) ลงในน้ำให้มีความเข้มข้น 50 ส่วนในล้าน ทิ้งไว้กลางแดดพร้อมเปิดใบพัดให้กวนน้ำตลอดเวลาเป็นเวลา 2–3 วัน จากนั้นพ่นโอโซนเพื่อฆ่าเชื้อปนเปื้อนเป็นเวลาอีก 1 วัน แล้วเปิดใบพัดให้กวนน้ำตลอดเวลาเพื่อให้โอโซนสลายเป็นเวลาอย่างน้อย

3 ชั่วโมง แล้วใช้ปั๊มดูดกรองผ่านผ้ากรองไนลอนขนาด 80–100 ไมครอน แล้วจึงนำไปใช้งานกับชุดระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย และชุดระบบหมุนเวียนน้ำโดยเติมน้ำสะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงในบ่อเลี้ยงสาหร่ายบ่อละ 1,000 ลิตร

2.2.5 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง

สำหรับสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระบบ คืออาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสูตรเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวปริมาณมาก (สูตรปรับปรุง) ประกอบด้วยสารเคมีเกรดอุตสาหกรรม 4 ชนิด ได้แก่ ประกอบด้วย $NaNO_3$ 750 mg/L, $MnCl_2.4H_2O$ 1.8 mg/L, Fe-EDTA 15 mg/L และ $Na_2HPO_4.2H_2O$ 20 mg/L [14]

เริ่มต้นด้วยการเติมน้ำใหม่และสารอาหารเข้าสู่บ่อเลี้ยงสาหร่ายปริมาณ 1,000 ลิตร และเติมหัวเชื้อสาหร่ายเริ่มต้นปริมาณ 10% ของน้ำเลี้ยง จำนวน 8 บ่อ โดยทำการทดลองพร้อมกันทั้ง 8 บ่อ (8 ซ้ำ) เพื่อลดความเสี่ยงจากปัจจัยกลางแจ้งที่ไม่สามารถควบคุมได้ คือ การปนเปื้อนจากอากาศและน้ำ (อาจทำให้บ่อที่มีการปนเปื้อนเสียหายอย่างฉับพลันภายใน 1–2 วัน) จากนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกดูดเข้าสู่บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายระบบน้ำวนตลอดระยะเวลาที่ได้รับแสงด้วยปั๊มสูบจ่ายสารเคมี (Metering Pump) ที่ทำการปรับอัตราการไหลที่เหมาะสม จากการคำนวณค่าอัตราเจือจาง (Dilution Rate) ของการเพาะเลี้ยง จากสูตรคำนวณในสมการที่ (1) [15] (มีค่าเท่ากับอัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยง: μ) โดยทำการทดลอง 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 กำหนดให้อัตราการเจือจาง 3 ระดับ แบบเท่ากันทุกซ้ำ และครั้งที่ 2 กำหนดให้อัตราการเจือจาง 3 ระดับ แบบไม่เท่ากันทุกซ้ำ

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

D = อัตราการเจือจาง (ต่อวัน)

F = อัตราการไหลของอาหารเลี้ยงเชื้อ (ลิตรต่อวัน)

V = ปริมาตรของระบบเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง (ลิตร)

2.2.6 รูปวาดและรายละเอียดการทำงานของชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยการหมุนเวียนน้ำ

รูปวาดแสดงให้เห็นภาพโดยรวมของโครงสร้างชุดระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยระบบการหมุนเวียนน้ำและส่วนประกอบต่างๆ (รูปที่ 1)

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

- ถังสารอาหารเข้มข้น (หมายเลข 1) เป็นถังพลาสติกทรงกระบอกทึบแสงที่มีฝาปิดปริมาตร 500 ลิตร จำนวน 1 ใบ (ศก.= 0.6 เมตร สูง = 1.5 เมตร) ภายในบรรจุสารอาหารเข้มข้น (สูตรปุ๋ย) ที่ประกอบด้วยสารเคมี 4 ชนิด โดยเริ่มทำงานด้วยชุดสวิตช์ตั้งเวลาเปิด-ปิดให้ปั๊มน้ำขนาดเล็กทำงาน โดยดูดสารอาหารจากถังสารอาหารเข้มข้นเข้าสู่ถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ ซึ่งตั้งเวลาหน่วงให้ใบพัดในถังทำงานก่อน 1 นาที เพื่อกวนสารอาหารที่ตกตะกอนให้เข้ากันก่อนที่จะเติมลงในถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ (หมายเลข 2) ในขณะเดียวกันน้ำจากถังเก็บน้ำใหม่ (หมายเลข 3) และถังเก็บน้ำใช้แล้ว (หมายเลข 4) ถูกดูดเข้าสู่ถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ด้วยปั๊มน้ำซึ่งควบคุมการทำงานด้วยสวิตช์ลูกลอยที่ตั้งค่าจากระดับความสูงของน้ำในถัง เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อในถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ถูกใช้จนถึงระดับต่ำสุดที่ตั้งไว้ น้ำใหม่จะถูกดูดเข้าถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้โดยอัตโนมัติ พร้อมกับการทำงานของชุดเติมสารอาหารตามลำดับ (สารอาหารเข้มข้นที่เติมลงไปในน้ำเรียกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ) ในอัตราส่วนน้ำต่อสารอาหาร คือ 750 ต่อ 1
- ถังอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ (หมายเลข 2) เป็นถังพลาสติกทรงกระบอกทึบแสงปริมาตร 1,500 ลิตร มีฝาปิด (ศก. = 1 เมตร สูง = 2 เมตร) จำนวน 2 ใบ เมื่อสวิตช์ลูกลอยทำงาน ก็จะปล่อยน้ำใหม่เข้าถัง ภายในถังมีปั๊มน้ำ 1 ตัว ทำหน้าที่ดูดน้ำเข้าออกผ่านชุดแสงอัลตราไวโอเลต (UV) ที่ติดตั้งอยู่ในถัง เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ในน้ำ ซึ่งควบคุมการทำงานด้วยตัวจับเวลา (Timer) ที่ติดตั้งอยู่บนแผงควบคุม ตั้งเวลาทำงานให้เปิดปิดเป็นจังหวะได้ ภายในถังมีสวิตช์ลูกลอย 2 ชุด ชุดแรกควบคุมน้ำ และสารอาหารเข้าสู่ถังอาหารเลี้ยงเชื้อ

พร้อมใช้ ชุดสองควบคุมการทำงานของเครื่องผลิตโอโซน (หมายเลข 5) โดยตั้งค่าให้หยุดการผลิตโอโซนเพื่อฆ่าเชื้อปนเปื้อนในถังเก็บน้ำใหม่ (หมายเลข 3) และถังเก็บน้ำใช้แล้ว (หมายเลข 4) ก่อนที่น้ำถูกดึงเข้าสู่ถังอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 4–6 ชั่วโมง

- บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กระบบน้ำวนที่มีใบพัดกวนน้ำ (หมายเลข 6) การติดตั้งใบพัดกวนน้ำเพื่อให้น้ำเลี้ยงมีการไหลวนตลอดเวลา ช่วยทำให้สาหร่ายไม่ตกตะกอนอยู่ก้นบ่อและทำให้สาหร่ายได้รับแสงแดดอย่างทั่วถึง อีกทั้งยังช่วยเติมอากาศให้สาหร่ายในบ่อเลี้ยง จากนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อถูกดูดเข้าสู่บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยปั๊มสูบจ่ายสารเคมี (Metering Pump) ซึ่งสามารถควบคุมอัตราการไหลของอาหารเพาะเชื้อให้คงที่ได้ตลอดเวลา โดยปรับให้มีอัตราการเจือจางอยู่ในช่วง 0.50–0.77 ต่อวัน

2) ชุดเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายแบบตกตะกอน ประกอบด้วยอุปกรณ์ 2 ส่วน คือ ถังเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายและถังสเตนเลสเก็บชีวมวล โดยถังเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย (หมายเลข 7) เป็นถังพลาสติกสีขาวกึ่งโปร่งแสง มีลักษณะรูปทรงกรวย (สูง 1.1 เมตร ศก.บน = 0.8 เมตร ศก.ล่าง = 0.6 เมตร) เมื่อน้ำสาหร่ายจากบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายระบบน้ำวน (หมายเลข 6) ถูกปั๊มออกมาจะเข้าสู่ถังเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย (หมายเลข 7) เมื่อปริมาณน้ำสาหร่ายถึงระดับที่กำหนด จะทำการเติมสารตกตะกอน (พอลิอะลูเนียมคลอไรด์; PAC) ความเข้มข้น 0.20 กรัมต่อลิตร สาหร่ายจะตกตะกอนอยู่ด้านล่าง (ก้นถัง) น้ำใสอยู่ด้านบน 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)

เก็บตัวอย่างชีวมวลสาหร่ายแล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปคำนวณกำลังผลิต ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน

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) แล้วจะทำการเติมสารตกตะกอนเพื่อตกตะกอนอนุภาคขนาดเล็กที่ยังหลงเหลือในน้ำ 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 น้ำที่ผ่านการกรองแล้ว จะเข้าสู่บ่อบำบัด 2 (หมายเลข 11) ซึ่งน้ำในนี้ก่อนที่จะถูกปั๊มเข้าสู่ถังเก็บน้ำใช้แล้ว (หมายเลข 4) จะต้องทำการตรวจวัดค่าไนเตรทและฟอสเฟตก่อน ซึ่งน้ำเลี้ยงนี้ยังคงมีสารอาหาร (ปุ๋ย) เหลืออยู่ ทำการตรวจวัดปริมาณสารอาหารคงเหลือ จากนั้นทำการเติมน้ำใหม่และสารอาหารใหม่ เพื่อทำให้มีอัตราส่วนของสารอาหารในน้ำเลี้ยงคงที่เหมือนน้ำเลี้ยงตั้งต้นเสมอ ซึ่งจะเป็นน้ำเลี้ยงพร้อมหมุนเวียนใช้ในระบบต่อไป

2.3 การศึกษาการเติบโต ความหนาแน่น และน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่ายในระบบที่ใช้ในการทดลอง

ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งทุกวันและนำไปวิเคราะห์การเติบโตโดยการนับจำนวนเซลล์ และวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นแสง 680 นาโนเมตร โดยคำนวณหาความหนาแน่นของสาหร่ายในหน่วย เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำค่าจำนวนเซลล์ไปสร้างกราฟการเติบโตของสาหร่าย แล้วนำไปวิเคราะห์หาอัตราการเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate; μ) (ต่อวัน) สูตรคำนวณดังสมการที่ (2)

$$\mu = \frac{Ln(N_2 / N_1)}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

เมื่อ N_1 = จำนวนเซลล์วันแรก (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

N_2 = จำนวนเซลล์วันสุดท้าย (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

t_1 = วันที่เก็บตัวอย่างวันแรก

t_2 = วันที่เก็บตัวอย่างวันสุดท้าย

ทำการชั่งหาน้ำหนักแห้งสุดท้ายของสาหร่ายและคำนวณ น้ำหนักเซลล์แห้ง ให้อยู่ในหน่วย มิลลิกรัมต่อลิตร

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันรวมของสาหร่ายในระบบที่ใช้ในการทดลอง

เก็บเซลล์สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบแบตช์และแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง นำมาวิเคราะห์ปริมาณไขมันรวมตามวิธีดัดแปลงของ Bligh and Dyer [16]

2.5 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ทำการตรวจวัดปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท และฟอสเฟตทุกวัน ในบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย ถังเก็บน้ำเลี้ยงที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวชีวมวล และถังเก็บน้ำใช้แล้ว โดยใช้วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์น้ำ [17]

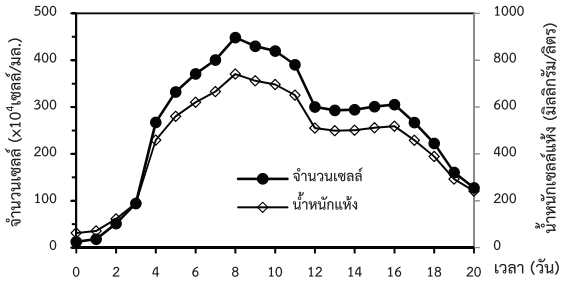
3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

3.1 การเติบโต ความหนาแน่น และน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่ายขนาดเล็ก Ankistrodesmus sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบแบตช์ในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบแบตช์ในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่ามีอัตราการเติบโตจำเพาะในช่วงวันที่ 2–4 (ระยะเอกซ์โพเนนเชียล) ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 0.67 ต่อวัน มีความหนาแน่นสูงสุดที่ 448×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง หรือเท่ากับ 741 มิลลิกรัมต่อลิตร (น้ำหนักแห้ง) และมี (รูปที่ 2)

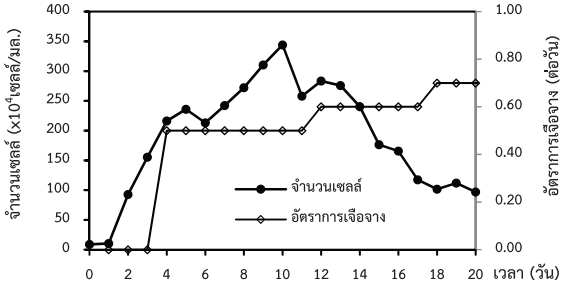
3.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยระบบการหมุนเวียนน้ำ

3.2.1 ผลของอัตราการเจือจางต่อการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง (ที่อัตราการเจือจาง 3 ระดับ แบบเท่ากันทุกซ้ำ รอบการทดลองครั้งที่ 1)



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

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งเป็นเวลา 20 วัน ผลการศึกษาพบว่า หลังจากที่เพาะเลี้ยงแบบแบตช์เป็นเวลา 3 วัน เพื่อให้สาหร่ายมีการเติบโตเพิ่มจำนวนแบบทวีคูณและเข้าสู่ระยะเอกซ์โพเนนเชียล (โดยใช้ข้อมูลจากผลการศึกษาข้อ 3.1) จากนั้นจึงเริ่มรอบการทดลองครั้งที่ 1 ด้วยการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยทดลองปรับอัตราการเจือจาง 3 ระดับ แบบเท่ากันทุกซ้ำ โดยเริ่มต้นจากการใช้อัตราการเจือจาง 0.50 ต่อวัน ในวันที่ 4–11 จากนั้นปรับอัตราการเจือจางเป็น 0.60 ต่อวัน ในวันที่ 12–17 และปรับอัตราการเจือจางเป็น 0.70 ต่อวัน ในวันที่ 18–20 (รูปที่ 3) พบว่า สาหร่ายมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดที่ 344×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 10 โดยมีความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์ที่ 249×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่อัตราการเจือจางที่ 0.50 ต่อวัน จากนั้นจึงได้เพิ่มอัตราเจือจางขึ้นเป็น 0.60 และ 0.70 ต่อวัน ตามลำดับ ส่งผลให้ความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์ลดลงเหลือ 233×10^4 และ 107×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 3) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งเป็นไปตามรูปแบบของคีโมสแตท ซึ่งเซลล์จะมีการเติบโตในระยะทวีคูณหรือระยะเอกซ์โพเนนเชียลตลอดเวลา และความเข้มข้นของสารอาหารจะเป็นปัจจัยที่กำหนดอัตรา



รูปที่ 3 ความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง ที่อัตราการเจือจาง 3 ระดับ (0.50, 0.60 และ 0.70 ต่อวัน ตามลำดับ)

การเติบโต ซึ่งในสภาวะดังกล่าวความหนาแน่นเซลล์จะแปรผกผันกับอัตราการเจือจาง [18] จากการแปรผันอัตราการเจือจางในการทดลองเป็น 3 ระดับ พบว่า การเพิ่มอัตราการเจือจางส่งผลให้ความหนาแน่นเซลล์ลดลง และที่อัตราการเจือจางที่ 0.70 ต่อวัน เหลือความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์เพียง 107×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งหากเพิ่มอัตราการเจือจางให้สูงกว่านี้ก็จะเกิดปรากฏการณ์ที่เซลล์ถูกชะล้าง (Wash Out) ออกจากระบบการเพาะเลี้ยงจนหมด

3.2.2 ผลของอัตราการเจือจางต่อการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง (ที่อัตราการเจือจาง 3 ระดับ แบบไม่เท่ากันทุกซ้ำ รอบการทดลองครั้งที่ 2)

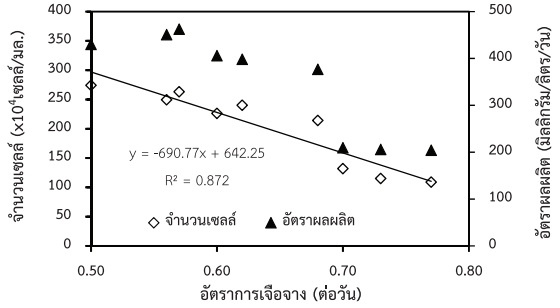
เริ่มรอบการทดลองครั้งที่ 2 ด้วยการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยทดลองปรับอัตราการเจือจาง 3 ระดับ แบบไม่เท่ากันทุกซ้ำ โดยเริ่มต้นซ้ำที่ 1 ใช้อัตราการเจือจาง 0.50 ต่อวัน ในวันที่ 4–11 จากนั้นปรับอัตราการเจือจางเป็น 0.60 ต่อวัน ในวันที่ 12–17 และปรับอัตราการเจือจางเป็น 0.70 ต่อวัน ในวันที่ 18–20 ซ้ำที่ 2 ใช้อัตราการเจือจาง 0.56 ต่อวัน ในวันที่ 4–11 จากนั้นปรับอัตราการเจือจางเป็น 0.62 ต่อวัน ในวันที่ 12–17 และปรับอัตราการเจือจางเป็น 0.73 ต่อวัน ในวันที่ 18–20 และซ้ำที่ 3 ใช้อัตราการเจือจาง 0.57 ต่อวัน ในวันที่ 4–11 จากนั้นปรับอัตราการเจือจางเป็น 0.68 ต่อวัน ในวันที่ 12–17 และปรับอัตราการเจือจางเป็น 0.77 ต่อวัน ในวันที่ 18–20 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 อัตราการเจือจางของสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง (ค่าเฉลี่ย±S.D.; n = 3)

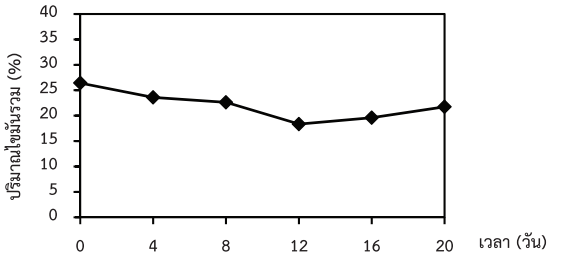
ซ้ำที่	อัตราการเจือจาง (ต่อวัน)		
	วันที่ 4–11	วันที่ 12–17	วันที่ 18–20
1	0.50±0.03	0.60±0.03	0.70±0.02
2	0.56±0.02	0.62±0.04	0.73±0.05
3	0.57±0.05	0.68±0.03	0.77±0.01

เมื่อคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจือจางและความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 พบว่า ความหนาแน่นเซลล์จะแปรผกผันกับอัตราการเจือจางของระบบในลักษณะที่อธิบายได้ด้วยสมการเส้นตรง ซึ่งผลจากการคำนวณจากสมการมีความแม่นยำประมาณ 87% (R^2 = 0.87) (รูปที่ 4) เมื่อเทียบกับค่าที่วัดได้จริงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจือจางและอัตราผลผลิตเซลล์ของระบบการเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องโดยทั่วไปมีแนวโน้มความสัมพันธ์เป็นแบบโพลีโนเมียล [18] ซึ่งการชะล้างเซลล์ออกจากระบบ จะเกิดขึ้นเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบต่อเนื่องด้วยอัตราการเจือจางสูงกว่าอัตราการเติบโตสูงสุดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ ทั้งนี้ เนื่องจากเซลล์ไม่สามารถเติบโตแบ่งตัวได้ทันกับอัตราการเจือจางซึ่งเป็นการกำจัดเซลล์ออกจากถังเลี้ยง ดังนั้นหากต้องการให้เซลล์มีความหนาแน่นสูงควรใช้อัตราการเจือจางที่มีค่าต่ำ

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบกึ่งต่อเนื่องที่อัตราการเจือจาง 0.50 ต่อวัน จะให้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 344×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่อัตราผลผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ในงานวิจัยนี้มีค่าสูงสุดเท่ากับ 263×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน หรือเท่ากับ 463 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (น้ำหนักแห้ง) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงด้วยอัตราการเจือจาง 0.57



รูปที่ 4 ความหนาแน่นเซลล์และอัตราผลผลิตของสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง



รูปที่ 5 ปริมาณไขมันรวมของสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง

ต่อวัน (รูปที่ 4) ผลจากการทดลองนี้พบว่า สาหร่ายขนาดเล็กมีอัตราผลผลิตสูงเมื่อทำการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องด้วยอัตราการเจือจางระหว่าง 0.5–0.6 ต่อวัน และอัตราการเจือจางที่ควรนำมาใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งมีค่าประมาณ 0.57 ต่อวัน เพราะจะทำให้ทั้งอัตราผลผลิตต่อวันที่สูงและความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่ผลิตได้ก็มีค่าสูงด้วย แต่ทั้งนี้อาจมีปัจจัยเรื่องแสงที่ทำให้ผลผลิตและความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายมีการแปรผันเนื่องจากแสงธรรมชาติควบคุมได้ยาก อาจแรงเกินไปในวันที่แดดจ้า หรือน้อยเกินไปในวันที่มีฝนตก

3.3 ปริมาณไขมันรวมของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบแบตช์และแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง

ปริมาณไขมันรวมของสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบแบตช์ ในวันที่ 0-3 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25.48±1.71% ส่วนที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง ในวันที่ 4–20 มีปริมาณไขมันรวมเฉลี่ยเท่ากับ 21.18±1.8 % (น้ำหนักแห้ง) (ตารางที่ 2) ปริมาณไขมันรวมในสาหร่ายมีแนวโน้มลดลง (รูปที่ 5) เนื่องจากการเติมอาหารเข้าสู่ระบบแบบต่อเนื่อง ทำให้สาหร่ายขนาดเล็กเน้นการเติบโตมากกว่าการสะสมไขมัน [19], [20] มีรายงานการศึกษาไว้ว่าเมื่อเซลล์สาหร่ายมีการแบ่งตัวเป็นปกติจากสารอาหารที่เพียงพอทำให้เซลล์สะสมอาหารในรูปคาร์โบไฮเดรต แต่ถ้าอยู่ในภาวะที่สารอาหารไม่เพียงพอทำให้เซลล์เลือกที่จะสะสมอาหารในรูปของไขมันเพราะเอนไซม์ที่ใช้เพื่อการสังเคราะห์ไขมันสามารถทนต่อการขาดไนโตรเจนได้ดีกว่าเอนไซม์ที่ใช้เพื่อการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต ทำให้สามารถพบปริมาณไขมันสูงในภาวะที่มีไนโตรเจนจำกัด [21]

ตารางที่ 2 อัตราการเติบโตจำเพาะ ชีวมวล และปริมาณไขมันรวมของสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้ง (ค่าเฉลี่ย±S.D.; n = 3)

วันที่	อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	ชีวมวล (มก./ล.)	ปริมาณไขมันรวม (% นน.แห้ง)	ผลผลิตไขมัน (มก./ล.)	อัตราผลผลิตไขมัน (มก./ล./วัน)
0	-	210±20	26.42±1.17	80±10	-
4	0.54±0.06	580±100	23.59±0.69	110±20	3,510±560
8	0.54±0.06	620±40	22.62±0.98	190±10	2,460±630
12	0.63±0.04	640±80	18.34±0.94	170±10	1,550±340
16	0.63±0.04	810±110	19.60±0.73	200±20	1,260±270
20	0.73±0.05	930±220	21.73±1.02	290±50	1,380±120

3.4 คุณภาพน้ำ

จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย ถังเก็บน้ำเลี้ยงที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวชีวมวล และถังเก็บ

น้ำใช้แล้วตลอดระยะเวลา 20 วัน พบว่า มีปริมาณแอมโมเนียอยู่ในช่วง 0–0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.04–0.21 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 30.74–52.63 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณฟอสเฟตอยู่ในช่วง 1.52–3.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งค่าทั้งหมดไม่ได้ส่งผลกระทบต่อการเติบโตของสาหร่ายในระบบ เนื่องจากมีการเติมสารอาหารใหม่เข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่อง

4. สรุป

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR1102 แบบแบตช์และแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อระบบน้ำวนกลางแจ้งด้วยระบบการหมุนเวียนน้ำ โดยทำการบำบัดน้ำที่ผ่านการเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายแล้วนำมาหมุนเวียนใช้ใหม่ ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า ในการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์สาหร่ายมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 448×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด 0.67 ต่อวัน และจากการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องที่มีการเติมอาหารใหม่และนำเซลล์ออกตลอดเวลา ในระหว่างการทดลองได้แปรผันอัตราการเจือจางระหว่าง 0.50–0.77 ต่อวัน พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยอัตราการเจือจางต่ำ 0.50 ต่อวัน มีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดที่ 344×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และการเพิ่มอัตราการเจือจางส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายลดลง โดยเมื่อปรับอัตราการเจือจางเพิ่มขึ้นเป็น 0.77 ต่อวัน พบว่า สาหร่ายมีความหนาแน่นลดลงเหลือ 109×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อพิจารณาอัตราผลผลิต พบว่า ระดับอัตราการเจือจาง 0.57 ต่อวัน จะให้อัตราผลผลิตเซลล์สูงสุดที่ 263×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน หรือเท่ากับ 463 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน (น้ำหนักแห้ง) สำหรับปริมาณไขมันรวมของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 22% น้ำหนักแห้ง และอัตราผลผลิตไขมันเฉลี่ยเท่ากับ 2,032 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ ที่ได้รับจากสาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตบางพระ จนทำงานได้สำเร็จลุล่วง โดยงานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 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*. Elservier, 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, no. 6, 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, no. 2, 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*. 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: Elservier, 2005, pp. 205–218.

[9] J. A. V. Costa and M. G. Morais, "An open pond system for microalgal cultivation," in *Biofuels from Algae*. Elservier, 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 Textbook Publishing Center, 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)," *Bacteriology Reviews*, vol. 35, no. 2, pp. 171–205, 1971.

[14] M. Okauch and K. Kawamura, "Optimum medium for large-scale culture of *Tetraselmis tetrathele*," *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," *Journal of Biochemistry and Physiology*, vol.37, no. 8, pp. 911–917, 1959.

[17] *Standard Method for the Examination of Water and Wastewater*, 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, no. 4, pp. 1471–1483, 2014.

[21] L. Xin, H. Hong-ying, G. Ke, and S. Ying-Xue, "Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp," *Bioresource Technology*, vol. 101, no. 14, pp. 5494–5500, 2010.