การผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon welwitschii* TISTR 8237

Biomass production and starch accumulation of cyanobacterium, *Hapalosiphon welwitschii* TISTR 8237

สมรักษ์ รอดเจริญ[1*], อดิศักดิ์ เกลี้ยงตะพงศ์[2], ชุตินุช สุจริต[3] และ เอนก สาวะอินทร์[4]

[1*]สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ [2]สาขเทคโนโลยีการประมง [3]สาขาอุตสาหกรรมอาหารและผลิตภัณฑ์ประมง [4]สาขาสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.สิเกา จ.ตรัง 92150 [*]Email: Somrak_25@hotmail.co.th

บทคัดย่อ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon welwitschii* TISTR 8237 เป็นสาหร่ายเส้นสายขนาดเล็กที่มีชีวโมเลกุลและคุณค่าทางอาหารสูง สาหร่ายสามารถเลี้ยงง่ายและโตเร็วซึ่งมีศักยภาพสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำและผลิตพลังงานทางเลือก การวิจัยในครั้งนี้เป็นการศึกษาการผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งของสาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 ในการเลี้ยงระดับห้องปฏิบัติการ โดยเปรียบเทียบในสูตรอาหาร 5 ชนิด (CHU medium, Bold medium, BGA medium and BG-11 medium) ความเข้มข้นของ $NaNO_3$ 5 ระดับ (0.00, 0.75, 1.50, 3.00 และ 6.00 กรัมต่อลิตร) ความเข้มข้นของ $K_2HPO_4.H_2O$ 5 ระดับ (0.00, 0.02, 0.04, 0.08 และ 0.16 กรัมต่อลิตร) และค่าความเป็นกรดเบส 5 ระดับ (5, 6, 7, 8 และ 9) สาหร่ายเลี้ยงภายใต้สภาวะความเข้มแสง 60 μmol photon/m^2/s ให้แสงสว่าง : มืด เท่ากับ 12 : 12 ชั่วโมง เขย่า 150 rpm อุณหภูมิ 28±1°C เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่าสาหร่ายสามารถผลิตชีวมวล (0.45±0.04 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร) และสะสมแป้ง (23.39±1.23 เปอร์เซนต์) สูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium และมีความแตกต่างทางสถิติ การผลิตชีวมวลสูงสุดในอาหารที่เติม $NaNO_3$ 1.50 กรัมต่อลิตร ในขณะที่การสะสมแป้งสูงสุดในอาหารที่ไม่เติม $NaNO_3$ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับระดับ 1.50 กรัมต่อลิตร สำหรับความเข้มข้น $K_2HPO_4.H_2O$ พบว่าที่ระดับ 0.04 กรัมต่อลิตร มีค่าชีวมวลและสะสมแป้งสูงสุด การศึกษาระดับความเป็นกรดเบส พบว่าสาหร่ายสามารถผลิตชีวมวลและสะสมแป้งสูงสุดที่ระดับความเป็นกรดเบส 7 ผลการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าอาหารสูตร BG-11 medium ที่เติม $NaNO_3$ 1.50 กรัมต่อลิตร, $K_2PO_4.H_2O$ 0.04 กรัมต่อลิตร และระดับความเป็นกรดเบส 7 เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งของสาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237

คำสำคัญ: การผลิตชีวมวล, การสะสมแป้ง, สาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237

Abstract

The cyanobacterium, *Hapalosiphon welwitschii* TISTR 8237 is filamentous microalgae that have a high biomolecules and a high nutritional value. It is easy to culture and fast growing with potential use as an aquaculture feed. The cultivation of the blue-green algae, *H. welwitschii* TISTR 8237 was compared in four different media (CHU medium, Bold medium, BGA medium and BG-11 medium), five $NaNO_3$ concentrations (0.00, 0.75, 1.50, 3.00 and 6.00 g/L), five $K_2HPO_4.H_2O$ concentrations (0.00, 0.02, 0.04, 0.08 and 0.16 g/L) and five pH levels (5, 6, 7, 8 and 9), to assess the changes in biomass production and starch accumulation. Algal cells were grown under illumination at 60 μmol photon/m^2/s using cool white fluorescence lamps with 12 h dark and 12 h light cycle and shaken at 150 rpm on orbital shaker at 28±1°C for 21 days. *H. welwitschii* TISTR 8237 grew faster in the BG-11 medium than in others where algae showed the best results in biomass production of 0.45±0.04 gDW/L with starch accumulation of up to 23.39±1.23%. The algal biomass in $NaNO_3$ concentration was the highest at 1.50 g/L, while starch accumulation was the highest at without $NaNO_3$, but was not significantly different with 1.50 g/L. For K_2HPO_4 concentrations, algal biomass and starch accumulation were the highest at 0.04 g/L. Based on the results from this study, BG-11 medium, 1.50 g/L of $NaNO_3$, 1.00 g/L of $K_2HPO_4.H_2O$ and pH 7 would be the optimal conditions culture for algal biomass and starch accumulation by *H. welwitschii* TISTR 8237.

Keywords: biomass production, starch accumulation, *H. welwitschii* TISTR 8237

1. บทนำ

ปัจจุบันสาหร่ายเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันอย่างมากและกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเลี้ยงสาหร่ายเพื่อผลิตพลังงานทดแทน เช่น การผลิตไฮโดรเจน [1,2] เอทานอล และไบโอดีเซล [3,4,5] ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกหนึ่งที่มีความสำคัญในอนาคต นอกจากนี้ยังมีการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ อีกมากมาย เช่น ด้านอุตสาหกรรม ด้านการเกษตร ด้านใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆ ความสำคัญในการบำบัดน้ำเสีย รวมไปถึงการนำสาหร่ายมาเป็นอาหารมนุษย์และอาหารสัตว์ [6,7] ในธุรกิจสัตว์น้ำก็เช่นกัน มีการใช้สาหร่ายมาผสมในอาหารสัตว์น้ำเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอด เพิ่มประสิทธิภาพอัตราการแลกเนื้อ (feed conversion ratio; FCR) เพิ่มภูมิคุ้มกันแก่สัตว์น้ำ [8] และการเพิ่มสีแก่สัตว์น้ำ [9]

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต การผลิตชีวมวลและการผลิตแป้งของสาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์น้ำ รวมทั้งนำสาหร่ายชนิดนี้ไปเลี้ยงในน้ำเสียจากการเกษตรเพื่อลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและผลพลอยได้ยังช่วยการบำบัดน้ำเสียทำให้เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

2. วิธีดำเนินงาน

2.1 การเตรียมเชื้อสาหร่ายเริ่มต้น

นำหัวเชื้อสาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 จากฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) มาเลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 medium ในขวดชมภู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยเติมอาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปวางบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที โดยให้ความเข้มแสง 60 μmol photon/m^3/s จากหลอดฟรอเรสเซนต์ ช่วงรับแสงมืด : สว่าง; 12 : 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28±1°C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ [2] เมื่อได้ความหนาแน่นของเชื้อเพียงพอ นำเชื้อไปขยายต่อในขวดชมภู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วนำไปเลี้ยงที่สภาวะเหมือนเดิม จนได้ปริมาตรของเชื้อเพียงพอสำหรับการทดลองขั้นต่อไป

2.2 การเลี้ยงสาหร่าย

นำสาหร่ายมาเลี้ยงเพื่อหาสภาวะต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตชีวมวล โดยเลี้ยงสาหร่ายในสูตรอาหารต่างกัน 4 สูตร คือ BG-11 medium, BGA medium, Bold medium และ Chu medium จากนั้นคัดเลือกสูตรอาหารที่สาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 เจริญเติบโตดีและสะสมแป้งสูง นำไปทดสอบระดับความเข้มข้นของไนโตรเจน ($NaNO_3$) 5 ระดับ คือ 0.00, 0.75, 1.50, 3.00 และ 6.00 กรัมต่อลิตร ระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัส ($K_2HPO_4.H_2O$) 5 ระดับ คือ 0.00, 0.02, 0.04, 0.08 และ 0.16 กรัมต่อลิตร และระดับความเป็นกรดเบส 5 ระดับ คือ 5, 6, 7, 8 และ 9 โดยแต่ละระดับมี 3 ซ้ำ เลี้ยงในขวดชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่เติมอาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยความเข้มข้นเริ่มต้นที่ OD_{1000} = 0.5 ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะเดิมเป็นระยะเวลา 21 วัน และเก็บตัวอย่างทุก 2 วัน จนกระทั่งเข้าสู่ระยะ Stationary phase

2.3 การศึกษาชีวมวลสาหร่ายและการสะสมแป้ง

ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายหลังสิ้นสุดการทดลองในแต่ละชุดการทดลอง มากรองด้วยชุดกรองที่มีปั๊มอากาศช่วย ใช้กระดาษกรองชนิด Wathman GF/C ขนาดรู 45 ไมครอน มาชั่งน้ำหนักสาหร่ายเปียก จากนั้นนำไปหาน้ำหนักสาหร่ายแห้ง โดยนำสาหร่ายมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 105°C และหาปริมาณแป้งตามวิธีของ Kochart's method [10]

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วย one-way ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของชุดทดลองด้วย Tukey's multiple comparison tests ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ [11] ด้วยโปรแกรม SPSS version 12.0.

3. ทฤษฎี กรอบแนวคิดการวิจัยและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการที่ปัจจุบันหลายประเทศประสบปัญหาการจัดสรรทรัพยากรธรรมชาติจนส่งผลต่อระบบเศรษฐกิจและประชาชนในประเทศ จนส่งผลให้มีการศึกษาพัฒนารูปแบบการผลิตอาหาร พลังงานทางเลือก และอื่นๆ เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ในอนาคตก่อให้เกิดความยั่งยืนของการพัฒนาเศรษฐกิจ งานวิจัยนี้จึงเป็นอีกหนึ่งของการศึกษาหาแนวทางการพัฒนาการผลิตสาหร่ายซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก พัฒนารูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายให้ได้ปริมาณมากในขณะที่มีต้นทุนการผลิตต่ำทั้งนี้เนื่องจากสาหร่ายสามารถเลี้ยงให้มีการเจริญเติบโตปริมาณมากจนสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งในรูปแบบของชีวมวล เช่น เชื้อเพลิงชีวมวลสาหร่าย ปุ๋ยหมัก เป็นต้น หรือการสกัดสารที่เป็นประโยชน์ออกจากเซลล์สาหร่ายนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้ เช่น แป้ง น้ำมัน เป็นต้น อันนำไปสู่การใช้สาหร่ายเป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับกระบวนการผลิตในภาคอุตสาหกรรมได้ในอนาคต

4. ผลการทดลอง

4.1 ระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *H. welwitschii* TISTR 8237 เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 medium ที่ระยะเวลา 7-35 วัน พบว่า การผลิตชีวมวลเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย โดยมีค่าสูงสุดที่ 35 วัน (0.61±0.11 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร) และ

มีความแตกต่างทางสถิติกับทุกระยะเวลาการเลี้ยง (p<0.05) ยกเว้นที่ 21 และ 28 วัน ในขณะที่การสะสมแป้งพบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่เริ่มต้นการเลี้ยงสาหร่ายจนกระทั่งครบ 21 วัน จากนั้นการสะสมแป้งค่อนข้างคงที่จนสิ้นสุดการทดลอง (26.25±0.88-27.80±1.34 เปอร์เซนต์) โดยที่ระยะการเลี้ยง 21-35 วัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งของ *H. welwitschii* TISTR 8237 เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 medium ที่ระยะเวลาต่างกัน

Day	Biomass production (g DW/l)	Starch accumulation (%)
7	0.31±0.04^{a}	22.73±1.74^{a}
14	0.40±0.04^{ab}	23.65±1.14^{a}
21	0.48±0.01^{b}	26.25±0.88^{b}
28	0.56±0.12^{b}	27.80±1.34^{b}
35	0.61±0.11^{b}	27.77±1.76^{b}

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

4.2 สูตรอาหาร

การทดลองเลี้ยงสาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 ในอาหารแตกต่างกัน 4 สูตร เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า การผลิตชีวมวลอยู่ในช่วง 0.29±0.07-0.45±0.04 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร โดยสาหร่ายสามารถผลิตชีวมวลสูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium (0.45±0.04 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร) และมีความแตกต่างทางสถิติกับทุกสูตรอาหาร (p<0.05) ยกเว้นในสูตร Bold medium เช่นเดียวกันกับการสะสมแป้งพบว่า มีค่าสูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium (23.39±1.23 เปอร์เซนต์) และมีความแตกต่างทางสถิติกับทุกสูตรอาหาร (p<0.05) ยกเว้นในสูตร BGA medium (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งของ *H. welwitschii* TISTR 8237 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างกัน เป็นระยะเวลา 21 วัน

Medium type	Biomass production (g DW/l)	Starch accumulation (%)
CHU medium	0.30±0.03^{a}	12.64±0.78^{a}
Bold medium	0.36±0.02^{ab}	16.87±1.97^{ab}
BGA medium	0.29±0.07^{a}	20.59±3.17^{bc}
BG-11 medium	0.45±0.04^{b}	23.39±1.23^{c}

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

4.3 ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจน

การผลิตชีวมวลของสาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 ในอาหารสูตร BG-11 medium ที่เติมไนโตรเจน 5 ระดับ คือ 0.00, 0.75, 1.50, 3.00 และ 6.00 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายสามารถผลิตชีวมวลได้สูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium ที่เติมไนโตรเจน 1.5 กรัมต่อลิตร (0.51±0.03 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร) รองลงมาคือ 3, 0.75, 6 และสูตรที่ไม่เติมไนโตรเจน ตามลำดับ โดยที่ระดับความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับทุกระดับความเข้มข้น ยกเว้นที่ระดับ 0.75 และ 3.00 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม การสะสมแป้งพบว่า มีค่าสูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium ที่ไม่เติมไนโตรเจน (24.91±1.14 เปอร์เซนต์) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) กับที่เติมไนโตรเจน 1.5 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งของ *H. welwitschii* TISTR 8237 ที่เลี้ยงในระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนต่างกันของอาหารสูตร BG-11 medium เป็นระยะเวลา 21 วัน

$NaNO_3$ concentration (g/l)	Biomass production (g DW/l)	Starch accumulation (%)
0.00	0.25±0.11[a]	25.13±1.72[b]
0.75	0.35±0.02[ab]	16.90±0.75[a]
1.50	0.51±0.03[b]	24.91±1.14[b]
3.00	0.48±0.03[b]	14.30±4.42[a]
6.00	0.31±0.04[a]	15.61±2.25[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

4.4 ระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัส

การผลิตชีวมวลของสาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 ในอาหารสูตร BG-11 medium ที่เติมฟอสฟอรัสแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0.00, 0.02, 0.04, 0.08 และ 0.16 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายผลิตชีวมวลต่ำที่สุดในอาหารสูตร BG-11 medium ที่ไม่เติมฟอสฟอรัส และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับทุกระดับความเข้มข้น แต่เมื่อเติมฟอสฟอรัสตั้งแต่ 0.02-0.16 กรัมต่อลิตร สาหร่ายสามารถผลิตชีวมวลได้ใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.42±0.02-0.47±0.06 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) สำหรับการสะสมแป้งพบว่า มีค่าสูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium ที่เติมฟอสฟอรัส 0.04 กรัมต่อลิตร (23.91±0.36 เปอร์เซนต์) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับทุกระดับความเข้มข้น (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งของ *H. welwitschii* TISTR 8237 ที่เลี้ยงในระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสต่างกันของอาหารสูตร BG-11 medium เป็นระยะเวลา 21 วัน

$K_2HPO_4.H_2O$ concentration (g/l)	Biomass production (g DW/l)	Starch accumulation (%)
0.00	0.31±0.03[a]	12.11±1.62[a]
0.02	0.42±0.02[ab]	19.01±0.86[b]
0.04	0.47±0.03[b]	23.91±0.36[c]
0.08	0.47±0.06[b]	16.40±1.37[b]
0.16	0.45±0.07[b]	14.13±0.55[ab]

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

4.5 ระดับความเป็นกรดเบส

การผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งของสาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 เลี้ยงในอาหาร BG-11 medium ที่ระดับ pH 5 ระดับ คือ pH 5, 6, 7, 8 และ 9 เป็นระยะเวลา 21 วัน ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายสามารถผลิตชีวมวลและสะสมแป้งสูงสุดที่ระดับ pH 7 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.52±0.05 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร และ 24.23±0.70 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับทุกระดับ pH อย่างไรก็ตามการสะสมที่ pH 7, 8 และ 9 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) นอกจากนี้ที่ระดับ pH 5 สาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (ดังตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 การผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งของ *H. welwitschii* TISTR 8237 ที่เลี้ยงในระดับความเป็นกรดเบสต่างกันของอาหารสูตร BG-11 medium เป็นระยะเวลา 21 วัน

pH	Biomass production (g DW/l)	Starch accumulation (%)
5	-	-
6	0.42 ± 0.02^{a}	18.06 ± 1.50^{a}
7	0.52 ± 0.05^{b}	24.23 ± 0.70^{b}
8	0.40 ± 0.02^{a}	23.37 ± 0.90^{b}
9	0.37 ± 0.01^{a}	24.56 ± 1.14^{b}

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

6. สรุปและการอภิปรายผล

การเลี้ยงสาหร่ายการหาระยะเวลาการเจริญเติบโตที่เหมาะสำหรับการเก็บสาหร่ายเป็นปัจจัยสำคัญมาก เพราะจะช่วยลดต้นทุน เวลา และแรงงานในการผลิตสาหร่าย จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าที่ระยะเวลา 21 วัน เหมาะสมสำหรับการเก็บเซลล์สาหร่ายชนิดนี้ เพราะถึงแม้เราจะเพิ่มระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย แต่ผลการผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งก็ไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับ Rodjaroen [2] พบว่า สาหร่าย 29 ชนิด (สาหร่ายสีเขียว 14 ชนิด และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 15 ชนิด) สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ 20 วัน เช่นเดียวกันกับสุพรรษา [4] พบว่า *Nostoc* sp. TISTR 8290, *N. muscorum* TISTR 9054, *N. muscorum* TISTR 8871 and *Nostoc* sp. TISTR 8873 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ 21 วัน

สูตรอาหารจากการทดลองนี้พบว่า *H. welwitschii* TISTR 8237 สามารถผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งมีค่าสูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium จึงเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้ เมื่อดูองค์ประกอบสารอาหารในแต่ละสูตร พบว่า อาหารสูตร BG-11 medium มีประมาณสารอาหารมากที่สุด สอดคล้องกับสมรักษ์ [12] พบว่าสาหร่าย *N. muscorum* TISTR 8871 ที่เลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 medium สามารถผลิตชีวมวลเท่ากับ 0.38±0.00 gDW/l และสะสมแป้งเท่ากับ 33.49±0.89 เปอร์เซนต์ ซึ่งในสาหร่ายสกุล *Nostoc* ก็สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสูตรอาหาร BG-11 medium [4]

สำหรับระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสซึ่งเป็นปัจจัยจำกัดต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย (limited factor) จากการทดลองนี้พบว่า ในสูตรอาหารสูตรที่ไม่เติมไนโตรเจนจะมีการสะสมแป้งสูง เนื่องจากสาหร่ายผลิตโพลีแซคคาไรด์ออกมามาก แต่การผลิตชีวมวลต่ำที่สุด ซึ่งเป็นการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดของสาหร่ายในสภาพการขาดสารอาหาร [2] เมื่อพิจารณาทั้งการผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งจึงเลือกเติมไนโตรเจนที่ระดับ 1.5 กรัมต่อลิตร สำหรับฟอสฟอรัสพบว่าสาหร่ายผลิตชีวมวลและสะสมแป้งสูงที่ระดับฟอสฟอรัส 0.04 กรัมต่อลิตร จากการศึกษาในสาหร่าย *N. muscorum* TISTR 8871 พบว่า ผลิตชีวมวลและสะสมแป้งสูงที่ระดับไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในอาหาร BG-11 medium เท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร และ 0.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ [12] ในขณะที่สาหร่าย *Phormedium* sp. เจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลสูงที่ระดับไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในอาหาร BG-11 medium เท่ากับ 6.00 กรัมต่อลิตร และ 0.16 กรัมต่อลิตร [13]

ระดับความเป็นกรดเบส ผลการทดลองนี้พบว่า *H. welwitschii* TISTR 8237 สามารถผลิตชีวมวลและการสะสมแป้งมีค่าสูงสุดที่ความเป็นกรดเบส 7 จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มหรือลดค่าความเป็นกรดเบสจะทำให้สาหร่ายชนิดนี้ผลิตชีวมวลต่ำ เช่นเดียวกับมยุรี [14] พบว่าสาหร่าย *N. muscorum* TISTR 8871 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในสูตรอาหาร N-free BGA ค่าความเป็นกรดเบสเริ่มต้นเท่ากับ 7.5 โดยให้ผลผลิตชีวมวลเฉลี่ยหลังจากการเพาะเลี้ยง 0.58±0.04 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร คิดเป็น 3.22 เท่าของน้ำหนักแห้งเริ่มต้น ในขณะที่คนึงกานต์ [15] พบว่า *Synechococcus lividus* strain SKP50 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ความเป็นกรดเบส 6.0 แต่อัญชลี [16] พบว่า *S. lividus* Copeland DSK74 และ *S. bigranulatus* Skuji เลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่ระดับความเป็นกรดเบส 11 และ 7 สามารถสร้างไฟโคไซยานินได้ดีที่สุด เช่นเดียวกับสมถวิล [17] พบว่าสาหร่ายสกุล *Nostoc* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในระดับความเป็นกรดเบส 7-7.9

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงสาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 เพื่อผลิตชีวมวลและการสะสมแป้ง คือ ควรเก็บเซลล์สาหร่ายที่ระยะเวลา 21 วัน โดยเลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 medium ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร $NaNO_3$ และ 0.04 กรัมต่อลิตร $K_2HPO_4.H_2O$ และค่าความเป็นกรดเบส 7

7. เอกสารอ้างอิง

[1] H. Masukawa, M. Mochimaru and H. Sakurai, "Hydrogenases and photobiological hydrogen production utilization nitrogenase system in cyanobacteria", International Journal of Hydrogen Energy, 27, 1471-1474, 2002.

[2] S. Rodjaroen, “Photobiological Hydrogen Production from Native Green Algal Strains and Cyanobacterial Strains of Thailand”, 176 p. Thesis of Ph D. Kasetsart University. 2010.

[3] กรองกาญจน์ จันต๊ะ, ชยากร ภูมาศ และยุวดี พีรพรพิศาล, “การศึกษาสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กและการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเพื่อหาความเป็นไปได้ในการผลิตน้ำมันชีวภาพ”, ใน: การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, 2554.

[4] สุพรรษา ขันธโสภา, อรรถพล มะตนเด, ศุภชัย ฤกษ์เกษม กันย์ กังวานสายชล และอาภารัตน์ มหาขันธ์ม, “การวิจัยและพัฒนาการการผลิตพลังงานที่ยั่งยืนของสาหร่ายขนาดเล็กในคลังเก็บสาหร่าย วว.”, ใน: การการประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5, หน้า 131, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, 2554.

[5] S.S. Oncel, “Microalgae for a macroenergy world”, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 26, 241-264.

[6] P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran and A. Isambert, “Commercial Applications of Microalgae”, Journal of Bioscience and Bioengineering, 101 (2), 87-96, 2006. 2013.

[7] N. Abdel-Raouf, A.A. Al-Homaidan and I.B.M. Ibraheem. “Review: Microalgae and wastewater treatment”, Saudi Journal of Biological Sciences, 19, 257-275, 2012.

[8] V.D. Peiiaflorida and V.D. Golez, “Use of seaweed meals from *Kappaphycus aluarezii* and *Gracilaria heteroclada* as binders in diets for juvenile shrimp *Penaeus monodon*” Aquaculture, 143, 393-401, 1996.

[9] จงกล พรหมยะ, ขจรเกียรติ ศรีนวลสม และศิริเพ็ญ ตรัยไชยาพร, “ผลของสาหร่ายสไปรูลิน่าต่อการเติบโตดัชนีการเจริญพันธุ์ สารสีแคโรทีนอยด์และการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในการเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ฟ”, ใน: การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, 2554.

[10] A.G. Kochert, “Carbohydrate determination by the phenol-sulphuric acid method”, *In* Handbook of phycological and biochemical methods, edited by Hellebust, J.A. and Craigie, J.S., pp. 95-97, Cambridge Univ. Press Publ., 1978.

[11] J.H. Zar, “Biostatistical Analysis”, 3rd ed. 918 p., Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ. 1996.

[12] สมรักษ์ รอดเจริญ, นิรันดร์ จันทวงศ์, อาภารัตน์ มหาขันธ์ และคาซูฮสะ มิยาโมโตะ, “การผลิตไฮโดรเจนจากชีวมวลสาหร่าย *Nostoc muscorum* TISTR 8871 โดยวิธี three-step microbial”, ใน: การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, 2554.

[13] เลอศักดิ์ ธนบัตร, ธรรมวุธ วรวงศ์เวทย์ มาโนช ขำเจริญ และ สมรักษ์ รอดเจริญ, “การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Phormedium* sp. ในระดับห้องปฏิบัติการ”, ใน: การสัมนาวิชาการวิทยาศาสตร์การประมง ระดับปริญญาตรี ครั้งที่ 9, มหาวิทยาลัยวลัยลักษ์, นครศรีธรรมราช, 2557.

[14] มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์, นาริสรา วงศ์สิงห์ และอาภารัตน์ มหาขันธ์, “การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Nostoc muscorum* TISTR 8871 ในระดับห้องปฏิบัติการ”, ใน: การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, 2554.

[15] คนึงกานต์ กลั่นบุศย์. 2547. เอนไซม์ไฟเตสจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางสายพันธุ์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

[16] อัญชลี เขื่อนเพชร, “ผลของปัจจัยในการเพาะเลี้ยงบางประการต่อการผลิตไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนร้อน *Synechococcus* spp.”, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2546.

[17] สมถวิล วัลลิสุด, “การศึกษาการแพร่กระจายและคัดเลือกสาหร่ายสีน้ำเงินแกรมเขียวที่ตึงไนโตรเจนได้เพื่อนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2531.