การศึกษาการเพิ่มผลผลิตแบบมหมวลของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวน ความยาวคลื่นแสง และระยะเวลาที่ให้แสง

STUDY ON MASS PRODUCTION ENHANCEMENT OF *Chlorella* sp. UNDER STIRRING PATTERNS, LIGHT WAVELENGTHS AND PHOTOPERIOD

กัญญารัตน์ พูลทะจิตร์

KANYARAT POOLTAJIT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการจัดการทรัพยากรทางน้ำ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2567

KMITL-2024-AG-M-081-436

STUDY ON MASS PRODUCTION ENHANCEMENT OF *Chlorella* sp. UNDER STIRRING PATTERNS, LIGHT WAVELENGTHS AND PHOTOPERIOD

KANYARAT POOLTAJIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN

AQUACULTURAL TECHNOLOGY AND AQUATIC RESOURCE MANAGEMENT

SCHOOL OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2024

KMITL-2024-AG-M-081-436

COPYRIGHT 2024
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ใบรับรองวิทยานิพนธ์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาการเพิ่มผลผลิตแบบมหมวลของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวน ความยาวคลื่นแสง และระยะเวลาที่ให้แสง
STUDY ON MASS PRODUCTION ENHANCEMENT OF *Chlorella* sp. UNDER STIRRING PATTERNS, LIGHT WAVELENGTHS AND PHOTOPERIOD

ชื่อนักศึกษา นางสาวกัญญารัตน์ พูลทะจิตร์
รหัสประจำตัว 65046003
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการจัดการทรัพยากรทางน้ำ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รศ.ดร.สมเกียรติ สีสนอง

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ดร.มณีรัตน์	หวังวิบูลย์กิจ	
ผศ.ดร.อัจฉรี	เรืองเดช	
ดร.สุวรีย์	กิติเขียว	
รศ.ดร.สมเกียรติ	สีสนอง	
รศ.ดร.นงนุช	เลาหะวิสุทธิ์	

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ 12 พฤศจิกายน 2567
สถานที่สอบ A 208 ชั้น 2 อาคารเจ้าคุณทหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ธงชัย

(ผศ.ดร.ธงชัย พุฒทองศิริ)
คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร
วันที่ 21 **เดือน** พฤศจิกายน **พ.ศ.** 2567

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการเพิ่มผลผลิตแบบมหมวลของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวน ความยาวคลื่นแสง และระยะเวลาที่ให้แสง
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกัญญารัตน์ พูลทะจิตร์
รหัสประจำตัว	65046003
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการจัดการทรัพยากรทางน้ำ
พ.ศ.	2567
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.ดร.สมเกียรติ สีสนอง

บทคัดย่อ

การเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) แบบดั้งเดิมของเกษตรกรประสบปัญหาสาหร่ายตกตะกอน การเจริญเติบโตช้า เพราะขาดระบบการกวน และแสงช่วงฤดูฝนหรือช่วงอากาศปิดสาหร่ายไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาการเพิ่มผลผลิตแบบมหมวลของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวน ความยาวคลื่นแสง และระยะเวลาที่ให้แสงแตกต่างกัน ประกอบด้วย 3 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษารูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ได้แก่ การกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง และการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง ระยะเวลาทดลอง 10 วัน พบว่า รูปแบบการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งส่งผลให้มีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งสูงกว่าการกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) 100% มีค่า $1,580.08\times10^4$ เซลล์/มล. ต่อมานำรูปแบบการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งร่วมกับการศึกษาระยะเวลาการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ได้แก่ ระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม) 4/16 2/8 และ 1/4 นาที (กวน/หยุด) ระยะเวลาทดลอง 10 วัน พบว่า ระยะเวลากวน 1/4 นาที มีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง 17% มีค่า $3,562.50\times10^4$ เซลล์/มล. อีกทั้งสามารถประหยัดค่าใช้ไฟฟ้า 43.03 บาท/เดือน เมื่อเทียบกับระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม) การทดลองที่ 2 ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ได้แก่ สีขาว (380-760 นาโนเมตร) สีแดง (630-680 นาโนเมตร) สีน้ำเงิน (400-480 นาโนเมตร) และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน (630-680, 400-680 นาโนเมตร) ระยะเวลาทดลอง 10 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยง

สาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินส่งผลให้จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นในวันที่ 8 มีจำนวน 717.20×10^4 เซลล์/มล. สูงกว่าแสงสีขาว 80% หลังจากนั้นเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้การเลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม (400-700 นาโนเมตร) กับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ระยะเวลาทดลอง 10 วัน พบว่า แสงฟูลสเปกตรัมมีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งสูงกว่าแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน 5 เท่า มีค่า $2,121.25\times10^4$ เซลล์/มล. และการทดลองที่ 3 การทดลองสุดท้ายเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาจากการเพิ่มระยะเวลาให้แสงจากหลอด LED โดยให้ระยะเวลาให้แสงในช่วงกลางคืน ตั้งแต่ 18.00 น. ได้แก่ แสงจากธรรมชาติ (ชุดควบคุม) เพิ่มแสง 3 ชั่วโมง (15/9) เพิ่มแสง 6 ชั่วโมง (18/6) และเพิ่มแสง 12 ชั่วโมง (24/0, สว่าง/มืด) ระยะเวลาทดลอง 10 วัน พบว่า ระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 3 ชั่วโมง (15/9) มีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง 9% $4,108.75\times10^4$ เซลล์/มล. สูงกว่าแสงธรรมชาติ (ชุดควบคุม) ดังนั้นการเพิ่มผลผลิตแบบมหมวลของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งที่ระยะเวลากวน 1/4 นาที ความยาวคลื่นแสงฟูลสเปคตรัม 400-700 นาโนเมตร และระยะเวลาที่ให้แสงเพิ่ม 3 ชั่วโมง (15/9) มีประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโต อีกทั้งสามารถเพิ่มผลผลิตของสาหร่ายคลอเรลลาได้ถึง 4 เท่า เมื่อเทียบกับการเลี้ยงแบบดั้งเดิม

Thesis Title	Study on mass production enhancement of *Chlorella* sp. under stirring patterns, light wavelengths and photoperiod
Student Name	Miss Kanyarat Pooltajit
Student ID	65046003
Degree	Master of Science
Program	Aquacultural Technology and Aquatic Resource Management
Year	2024
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nongnuch Laohavisuti
Thesis Co-advisor	Assoc. Prof. Dr. Somkiat Seesanong

Abstract

The traditional cultivation of *Chlorella* sp. by farmers faces issues such as algae settling, slow growth, and lack of a stirring system. During the rainy season or cloudy weather, the struggle to preform photosynthesis efficiently. Therefore, the objective of this study on mass production enhancement of *Chlorella* sp. under stirring patterns, light wavelengths and photoperiod. The study comprised three experiments. Experiment 1: The first experiment focused on determining the most suitable stirring method for the growth of *Chlorella* sp. The stirring methods studied included aeration using air stone bubbler (control), horizontal water circulation, vertical water circulation, and a combination of horizontal and vertical water circulation. The experiment was conducted for 10 days. The results showed that the combined horizontal and vertical water circulation system resulted in the highest cell count on day the 8th of cultivation, which was 100% higher than the aeration system (control), with a value of 1,580.08×10^4 cells/ml. Next, the study tested the most suitable stirring duration for the growth of *Chlorella* sp. using the combined horizontal and vertical water circulation system. The stirring durations tested were continuous stirring (control), 4/16, 2/8, and 1/4 minutes (stirring/rest). The experimental duration was 10 days. The results showed that the 1/4-minute stirring duration resulted in the highest cell count on day the 10th, reaching at 3,562.50×10^4 cells/ml, which was 17% higher than continuous stirring (control). Addititionally, it reduced electricity costs by

43.03 Baht per month compared to continuous stirring (control). Experiment 2: The second experiment investigated the effect of light wavelength from different LED colors on the growth of *Chlorella* sp. The light colors tested included white (380-760 nm), red (630-680 nm), blue (400-480 nm), and a combination of red and blue (630-680, 400-480 nm). The experiment was conducted for 10 days. The results showed that cultivation under red and blue light together led to an increase in cell count on day the 8^{th}, with a count of 717×10^4 cells/ml, which was 80% higher than under white light. After that, the growth of *Chlorella* sp. was compared between full-spectrum light (400-700 nm) and the red and blue combination. It was found that full-spectrum light resulted in the highest cell count on day the 8^{th}, which was five times higher than that of red and blue combination, with a value of $2{,}121\times10^4$ cells/ml. Experiment 3: The third experiment compared the growth of *Chlorella* sp. under different light durations, provided by LED lights during the night starting at 6:00 PM. The light durations tested included natural light (control), an additional 3 hours (15/9), 6 hours (18/6), and 12 hours (24/0, light/dark). The experiment was conducted for 10 days. The results showed that the light duration of 3 additional hours (15/9) produced the highest cell count on day the 8^{th}, with a 9% increase, reaching $4{,}108\times10^4$ cells/ml, which was higher than the natural light control. In conclusion, the increase in the overall productivity of *Chlorella* sp. algae under the stirring system with a combination of horizontal and vertical water circulation, with a stirring time of 1/4 minute, a full-spectrum light wavelength of 400-700 nm, and an additional 3 hours of light (15/9), has proven to be effective for growth. Furthermore, it can increase the productivity of *Chlorella* sp. algae by up to 4 times compared to traditional cultivation methods.

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และ รศ.ดร.สมเกียรติ สีสนอง อาจารย์ที่ปรึกษาของข้าพเจ้าเป็นอย่างยิ่งที่ให้คำแนะนำในการแก้ไขปัญหาต่างๆ และให้กำลังใจในการทำงานวิจัยครั้งนี้ รวมไปถึงแนวทางในการดำเนินการทดลอง และชี้ข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาการทดลองอย่างใกล้ชิดจนวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.อัจฉรี เรืองเดช และดร.สุวรีย์ กิติเขียว เป็นอย่างยิ่งที่สละเวลา ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ และให้ความรู้อันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำจนวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จ

ขอขอบพระคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือทั้งในด้านคำแนะนำต่างๆ สารเคมี และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณครอบครัวของข้าพเจ้าที่คอยสนับสนุน และเป็นแรงผลักดันอยู่เบื้องหลัง ให้ข้าพเจ้าขยัน และเอาใจใส่ในการศึกษา

ขอขอบพระคุณ คุณวรารัตน์ น้ำผึ้ง คุณปรีดา ไวยเจริญ คุณเบญญากร หล่าบรรเทา และคุณปิยวัฒน์ คงคาวารี ที่คอยเป็นกำลังใจ ช่วยเหลือในด้านต่างๆ จนวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วง

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยหวังว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้คงเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจศึกษาต่อไป

กัญญารัตน์ พูลทะจิตร์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ค

กิตติกรรมประกาศ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ญ

สารบัญภาพ..... ฏ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา..... 2

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา..... 2

1.4 ทฤษฎีหรือแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย..... 3

1.5 ขอบเขตการวิจัย..... 3

1.6 ขั้นตอนการศึกษา..... 4

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

2.1 สาหร่ายคลอเรลลา..... 5

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายคลอเรลลา..... 7

2.2.1 โปรตีน (proteins)..... 8

2.2.2 ไขมัน (lipids)..... 8

2.2.3 คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates)..... 9

2.2.4 สารสี (pigment)..... 9

2.2.4.1 คลอโรฟิลล์ (chlorophyll)..... 9

2.2.4.2 แคโรทีนอยด์ (carotenoid)..... 9

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 10

2.3.1 ปัจจัยทางกายภาพ..... 10

2.3.1.1 แสง..... 10

2.3.1.2 อุณหภูมิ..... 10

2.3.2 ปัจจัยทางเคมี..... 10

2.3.2.1 ธาตุอาหาร..... 10

2.3.2.2 ความเป็นกรดด่าง (pH) ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา..... 11

2.3.2.3 คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)..... 11

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4 การกวนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย..... 11
2.4.1 รูปแบบการกวนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย..... 13
2.4.2 ระยะเวลาการกวนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย..... 14
2.5 แสงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 15
2.5.1 ความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 15
2.5.2 ช่วงเวลาให้แสงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 19
2.5.3 ความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 19
2.6 การใช้ประโยชน์ของสาหร่ายคลอเรลลา..... 20
2.6.1 อาหารเสริม..... 20
2.6.1.1 โภชนาการของมนุษย์..... 20
2.6.1.2 อาหารสำหรับสัตว์..... 20
2.6.2 พลังงาน..... 21
2.6.2.1 ไบโอดีเซล..... 21
2.6.2.2 แก๊สชีวภาพ..... 21
2.6.3 เครื่องสำอาง..... 22
2.6.4 บำบัดน้ำเสีย..... 22
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 24
3.1 สาหร่ายคลอเรลลา..... 24
3.2 อุปกรณ์ และสารเคมี..... 24
3.2.1 ปุ๋ยสำหรับการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา..... 24
3.2.2 อุปกรณ์ในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน..... 24
3.2.3 อุปกรณ์ควบคุมระยะเวลาในการกวน..... 24
3.2.4 อุปกรณ์ในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยความยาวคลื่นแสงแสงจากหลอด LED.. 24
3.2.5 อุปกรณ์ในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยการเปรียบเทียบระหว่างแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน..... 24
3.2.6 อุปกรณ์ในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบและระยะเวลากวน ช่วงความยาวคลื่นแสงและระยะเวลาให้แสง LED ประกอบด้วย..... 24
3.2.7 อุปกรณ์การนับเซลล์..... 24
3.2.8 อุปกรณ์การหาน้ำหนักแห้งเซลล์..... 24

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.9 อุปกรณ์การวัดการเจริญเติบโต..... 24
3.2.10 อุปกรณ์วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll a) และปริมาณฟีโอไฟติน (pheophytin)..... 24
3.2.11 สารเคมีวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และปริมาณฟีโอไฟติน..... 25
3.3 แผนผังการทดลอง..... 26
3.4 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายคลอเรลลา..... 27
3.5 วิธีการดำเนินงานทดลอง..... 27
3.5.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา 27
3.5.1.1 การทดลองที่ 1.1 ศึกษารูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 27
3.5.1.2 การทดลองที่ 1.2 ศึกษาระยะเวลาการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 30
3.5.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 31
3.5.2.1 การทดลองที่ 2.1 ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 31
3.5.2.2 การทดลองที่ 2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 32
3.5.3 การทดลองที่ 3 ศึกษารูปแบบและระยะเวลากวน ช่วงความยาวคลื่นแสงและระยะเวลาให้แสงจากหลอด LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 34
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล..... 35
3.7 สถานที่ทำการวิจัย..... 35
3.8 ระยะเวลาทำการทดลอง..... 35
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... 36
4.1 การทดลองที่ 1 การกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ประกอบด้วย 2 การทดลอง..... 36
4.1.1 การทดลองที่ 1.1 ศึกษารูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 36

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.1.2 การทดลองที่ 1.2 ศึกษาระยะเวลาการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 40

4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ประกอบด้วย 2 การทดลอง..... 46

4.2.1 การทดลองที่ 2.1 ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 46

4.2.2 การทดลองที่ 2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 48

4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษารูปแบบและระยะเวลากวน ช่วงความยาวคลื่นแสงและระยะเวลาให้แสง LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา..... 53

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 59

5.1 สรุปผลการวิจัย..... 59

5.2 ข้อเสนอแนะ..... 60

เอกสารอ้างอิง..... 61

ภาคผนวก..... 72

ประวัติผู้เขียน..... 91

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายคลอเรลลา.....	8
2.2	การเจริญเติบโตของ *Cyanobium* sp. และ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงด้วยรูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน ผลผลิตชีวมวลสูงสุด (Pmax), ความเข้มข้นของชีวมวลสูงสุด (Xmax) และอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (μmax).....	13
2.3	อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ และการเพิ่มเวลาเป็นสองเท่าของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ความยาวคลื่นแสงแตกต่างกัน.....	17
2.4	ลักษณะของไฟ LED ภายใต้ความยาวคลื่น และความเข้มของแสงที่แตกต่างกัน...	18
2.5	สารป้องกันรังสี UV ที่ผลิตโดยสาหร่ายคลอเรลลา.....	22
4.1	ปริมาณการใช้ไฟฟ้า และค่าไฟฟ้าเฉลี่ย.....	45
4.2	ปริมาณแสงรอบวัน และเวลา (μmol/m^2·s).....	57

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	สาหร่ายคลอเรลลา	5
2.2	ภาพแสดงระยะต่างๆ ของการสร้างผนังเซลล์คลอเรลลา (a) ระยะการเจริญเติบโตของเซลล์ในช่วงต้น (b) ระยะการเจริญเติบโตของเซลล์ตอนปลาย (c) ระยะการแบ่งคลอโรพลาสต์ (d) ระยะการแบ่งโปรโตพลาสต์ระยะแรก (e) ระยะการแบ่งโปรโตพลาสต์ตอนปลาย (f) ระยะการเจริญเติบโตของเซลล์ และ (g) ระยะฟัก	6
2.3	กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย	7
2.4	ผลของการกวนต่อความหนาแน่นของเซลล์: (●) ด้วยการกวน (■) โดยไม่กวน	12
2.5	อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กที่เพาะเลี้ยงด้วยเครื่องไบโอรีแอคเตอร์แบบหมุนเวียนน้ำแนวตั้ง (WCC–PBR) และเครื่องไบโอรีแอคเตอร์แบบอัดอากาศแนวตั้ง (ALC-PBR)	14
2.6	การเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาภายใน 3 สัปดาห์หลังการเพาะเลี้ยง	15
2.7	การเจริญเติบโตของเซลล์ *Chlorella vulgaris* ที่เพาะเลี้ยงด้วยความยาวคลื่นแสง และความเข้มต่างๆ (A) 50, (B) 80 และ (C) 110 ($\mu mol/m^2 \cdot s$)	18
2.8	สเปคตรัมแสง	18
3.1	แผนผังการศึกษาการเพิ่มผลผลิตแบบมหมวลของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวน ความยาวคลื่นแสง และระยะเวลาที่ให้แสง	26
3.2	รูปแบบการกวนที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา	27
3.3	ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา	30
3.4	ความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา	31
3.5	แสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา	33
3.6	ระยะเวลาให้แสงจากหลอด LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา	34
4.1	จำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน	36
4.2	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.3	ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน	38
4.4	ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน	39
4.5	pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน	39
4.6	จำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน	41
4.7	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน	42
4.8	ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน	42
4.9	ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน	43
4.10	pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน	44
4.11	อุณหภูมิน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน	44
4.12	ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED ที่แตกต่างกันต่อจำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลา	46
4.13	ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED ที่แตกต่างกันต่อน้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลา	47
4.14	จำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม	48
4.15	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม./มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม	49
4.16	ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม	50
4.17	ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม	50
4.18	pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม	51
4.19	อุณหภูมิน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม	51

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.20	จำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน	53
4.21	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน	54
4.22	ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน	55
4.23	ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน	55
4.24	pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน	56
4.25	อุณหภูมิน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน	56

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) เป็นแพลงก์ตอนพืชสีเขียว ไม่มีรากหรือใบที่แท้จริง เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวที่มีขนาดเล็กประมาณ 2.5-3.5 ไมครอน เซลล์รูปร่างกลม มีผนังเซลล์หนา คลอโรพลาสต์มีลักษณะเป็นรูปถ้วยหรือเป็นแผ่นอยู่ริมเซลล์ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเซลล์ มีรงควัตถุที่ช่วยสังเคราะห์แสง คือ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ สาหร่ายคลอเรลลาเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งน้ำที่มีธาตุอาหารสูง และมีปริมาณแสงที่เพียงพอ (ณรงค์ กมลรัตน์ และคณะ, 2562) สาหร่ายคลอเรลลามีคุณค่าทางอาหารสูง ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 64.15 (ภานุ เทวรัตน์มณีกุล และคณะ, 2549) เจริญเติบโตง่าย ขยายพันธุ์ได้เร็วสามารถให้ผลผลิตสูงในระยะเวลาสั้น จึงมีการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น อาหารเสริม ยารักษาโรคสำหรับมนุษย์ ผลิตน้ำมันไบโอดีเซล ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย และเป็นอาหารของแพลงก์ตอนสัตว์จำพวก ไรแดง ซึ่งเป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน เมื่อความต้องการสาหร่ายคลอเรลลาเพิ่มมากขึ้นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาก็สูงขึ้นเช่นเดียวกัน ถ้าภายในบ่อเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลามีความหนาแน่นของเซลล์มากขึ้นทำให้เกิดการบดบังแสงระหว่างเซลล์ (Becker, 1994) ทำให้สาหร่ายคลอ-เรลลาที่อยู่ด้านล่างได้รับแสงปริมาณน้อยส่งผลต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของเซลล์ เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยเครื่องไบโอรีแอคเตอร์ที่ไม่มีระบบการกวน ส่งผลให้ปริมาณแสงมีจำกัด เซลล์ได้รับแสงไม่เพียงพอส่งผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง (Henrard *et al.,* 2015) และการเจริญเติบโตของเซลล์ (Pulz, 2001) โดยทั่วไปแล้วระบบการกวนจะใช้การกวนแบบหัวทราย ใบพัด หรือกังหันน้ำ การกวนด้วยรูปแบบดังกล่าวส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาเนื่องจากใบพัดจะทำลายผนังเซลล์ทำให้จำนวนเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลาค่อยๆ ลดลงเกิดจากการตายของเซลล์ ซึ่งการเติมอากาศโดยใช้ปั๊มน้ำสามารถกวนผสมสาหร่ายคลอเรลลาภายในบ่อเลี้ยง ป้องกันการตกตะกอน เพิ่มการแลกเปลี่ยนก๊าซ และการกระจายอาหารทั่วทั้งบ่อเลี้ยง (Isiya and Sani, 2020) การกวนจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมซึ่งจะช่วยให้เซลล์สาหร่ายคลอเรลลาที่อยู่ด้านล่างขึ้นมารับแสงได้อย่างทั่วถึง อีกทั้งยังช่วยให้ธาตุอาหารถูกผสมผสานกัน และทำให้สาหร่ายนำไปใช้ในการเจริญเติบโต (Contreras *et al.,* 1998) นอกจากนั้นการกวนยังช่วยเพิ่มการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Becker, 1994) อีกทั้งทำให้สาหร่ายคลอเรลลาอยู่ในสภาวะที่สัมผัสแสงอย่างต่อเนื่อง เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง และยังเพิ่มความถี่ในการสัมผัสแสงส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายเพิ่มขึ้น (จักรี หม่องเขียว, 2555)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในบ่อเลี้ยงพื้นที่กลางแจ้ง ปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ได้แก่ อุณหภูมิ คาร์บอนไดออกไซด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง แสง เป็นปัจจัย

ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโต แต่มักจะพบปัญหาแสงแดดไม่เพียงพอในช่วงฤดูฝนหรือช่วงสภาพอากาศปิดประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายคลอเรลลาลดลง จึงมีการศึกษาการใช้แสงเทียมจากหลอด LED (Light-emitting diodes: LED) ซึ่งเป็นหลอดไฟที่ประหยัดพลังงานมากกว่าหลอดไฟประเภทอื่นๆ มีอายุการใช้งานที่ยาวนาน 5 หมื่น ถึง 1 แสนชั่วโมง ประหยัดไฟได้ถึง 75% (ธวัชชัย ประดู่, 2558) อีกทั้งหลอดฟูลสเปคตรัม (Full Spectrum) เป็นแสงที่มีความยาวคลื่นหลากหลายตลอด Spectrum ที่สามารถมองเห็นได้มีตั้งแต่ประมาณ 400 ถึง 700 นาโนเมตร แหล่งกำเนิดแสงแบบฟูลสเปคตรัมจะปล่อยแสงภายในช่วงนี้ ทำให้เกิดการผสมผสานของสีที่สมดุลแสงเป็นสีของแสงที่ดีขึ้น และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช อีกทั้งพืชจะดูดซึมแสงเพื่อสร้างคลอโรฟิลล์ เอ และ บี (chlorophyll molecules type a & b) ได้ดีที่สุดระหว่างช่วงความยาวคลื่น 400-480 นาโนเมตร (แสงสีน้ำเงิน) และระหว่าง 630-680 นาโนเมตร (แสงสีแดง) (Giacomelli, 1998) แสงสีน้ำเงินหรือแสงสีแดงสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาส่งผลให้มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 23% (Duarte and Costa, 2018) ช่วงระยะเวลาให้แสงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน (Fabregas *et al*., 2002) ซึ่งความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณคลอโรฟิลล์ (Kendirloglu *et al*., 2015) และปริมาณไขมันในสาหร่ายคลอเรลลาสูงขึ้น (He *et al*., 2015)

ดังนั้นการศึกษาการเพิ่มผลผลิตแบบมหมวลของสาหร่ายคลอเรลลา ภายใต้รูปแบบและระยะเวลากวน ช่วงความยาวคลื่น และระยะเวลาที่ให้แสงจะสามารถเพิ่มปริมาณสาหร่ายคลอเรลลาสูงขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษารูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.2.2 เพื่อศึกษาระยะเวลาการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.2.3 เพื่อศึกษาความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.2.4 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.2.5 เพื่อศึกษาระยะเวลาให้แสงจากหลอด LED ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา

1.3.1 รูปแบบการกวนส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.3.2 ระยะเวลาการกวนส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.3.3 ความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.3.4 ประสิทธิภาพของแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.3.5 ระยะเวลาให้แสงจากหลอด LED ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาวิธีแบบดั้งเดิมประสบปัญหาการกวนที่ไม่เพียงพอ อีกทั้งช่วงฤดูฝนหรือช่วงอากาศปิดสาหร่ายไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้ผลผลิตหรือจำนวนเซลล์ลดน้อยลง จากการศึกษาการเพิ่มผลผลิตของสาหร่ายคลอเรลลา พบว่า รูปแบบการกวนส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาที่เพิ่มขึ้น เช่น จำนวนเซลล์ น้ำหนักแห้ง รวมถึงปริมาณคลอโรฟิลล์ ซึ่งการกวนส่งผลให้มีผลผลิตชีวมวลเพิ่มขึ้นเนื่องจากช่วยเพิ่มการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงสู่อาหารเลี้ยงให้นำคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ดี อีกทั้งการใช้แสงจากหลอด LED ช่วยให้สาหร่ายสามารถสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น ดังนั้นการศึกษารูปแบบการกวน ระยะเวลากวน ความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED ประสิทธิภาพของแสงฟูลสเปคตรัมและระยะเวลาให้แสงเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.5 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาเพื่อให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้นโดยใช้ระบบการเพาะเลี้ยงแบบดั้งเดิม และแสงธรรมชาติเป็นปัจจัยควบคุม ประกอบด้วย 3 การทดลอง ได้แก่

การทดลองที่ 1 ศึกษาการกวนที่เหมาะสมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ประกอบด้วย 2 การทดลองย่อย คือ

การทดลองที่ 1.1 ศึกษารูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

การทดลองที่ 1.2 ศึกษาระยะเวลาการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของแสงที่เหมาะสมต่อการการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ประกอบด้วย 2 การทดลองย่อย คือ

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

การทดลองที่ 2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา และ

การทดลองที่ 3 ศึกษารูปแบบและระยะเวลากวน ช่วงความยาวคลื่นแสงและระยะเวลาให้แสงจากหลอด LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.6 ขั้นตอนการศึกษา

1.6.1 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาโดยใช้รูปแบบการกวนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.6.2 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาโดยใช้ระยะเวลาการกวนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.6.3 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาโดยใช้ความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.6.4 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาโดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

1.6.5 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาโดยใช้ระยะเวลาให้แสงจากหลอด LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่ายคลอเรลลา

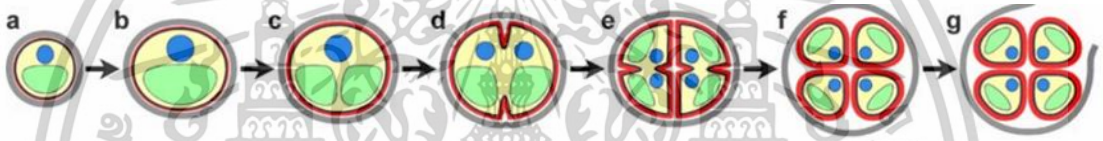
สาหร่ายคลอเรลลาเป็นสาหร่ายสีเขียวในปี ค.ศ. 1890 Matinus Beijerinck นักจุลชีววิทยาชาวดัตช์ได้ค้นพบสาหร่ายคลอเรลลาเป็นคนแรก และได้ตั้งชื่อว่า *Chlorella* มาจากภาษากรีก Chloros แปลว่า สีเขียว มาจากภาษาละติน ella ที่แปลว่า เล็ก สาหร่ายชนิดนี้มีลักษณะเซลล์เป็นวงกลม และอาจมีเซลล์เป็นรูปวงรีเป็นเซลล์เดี่ยวที่มีขนาดเล็ก โดยเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-10 ไมโครเมตร (ภาพที่ 2.1) ไม่มีแฟลกเจลลา (Flagella) ผนังของเซลล์ค่อนข้างบาง มีกระบวนการสังเคราะห์แสงคล้ายพืชดอก (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2542) มีรงควัตถุที่ช่วยสังเคราะห์แสง คือ คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี โดยอยู่ในคลอโรพลาส ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปถ้วยหรือเป็นแผ่นอยู่ริมเซลล์สืบพันธุ์ การสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศโดยสร้างออโตสปอร์จำนวน 4, 8 หรือ 16 เซลล์ สาหร่ายชนิดนี้พบทั่วไปในน้ำจืด และน้ำเค็มเจริญเติบโตง่าย (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี, 2547)

ภาพที่ 2.1 สาหร่ายคลอเรลลา
ที่มา: Agarwal *et al*. (2019)

สาหร่ายคลอเรลลาเป็นสาหร่ายขนาดเล็กมากที่มีขนาด 2 -10 ไมโครเมตร และมีโครงสร้างคล้ายกับพืชชั้นสูง เนื่องจากประกอบด้วย ผนังเซลล์ ไมโทคอนเดรีย และคลอโรพลาสต์ ซึ่งคลอโรพลาสต์จำเป็นต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง (Safi *et al*., 2014) ผนังเซลล์ป้องกันปัจจัยทางชีวภาพของสาหร่ายขนาดเล็กที่ความหนาประมาณ 2 นาโนเมตร และเมื่อสาหร่ายขนาดเล็กเจริญเติบโต ความหนาจะเพิ่มขึ้นถึง 21 นาโนเมตร (Yamamoto *et al*., 2004) สำหรับไมโทคอนเดรียมีหน้าที่ในกระบวนการ

เมตาบอลิซึม ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กจะได้รับพลังงานที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต ประกอบด้วยเยื่อหุ้มสองชั้น โปรตีน และฟอสโฟลิพิด โดยเยื่อหุ้มชั้นนอกสามารถซึมผ่านไปยังสารเมตาบอไลต์ และไอออน บางชนิดได้เยื่อหุ้มชั้นในมีคุณสมบัติเฉพาะทำหน้าที่ขนส่งโปรตีน (Safi *et al*., 2014) คลอโรพลาสต์มีไทลาคอยด์ เป็นโครงสร้างที่ใช้รับพลังงานจากแสงเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง

สาหร่ายคลอเรลลาสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างสปอร์ในตัวเองใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมงในการแบ่งตัว ประกอบด้วย 6 ขั้นตอน (ภาพที่ 2.2) ได้แก่ 1) การเพิ่มขนาดเซลล์ 2) การก่อตัวของผนังเซลล์ชั้นในสำหรับเซลล์ 3) การแบ่งคลอโรพลาสต์ออกเป็น 2 เซลล์ 4) คลอโรพลาสต์การแบ่งชั้นที่สองเพื่อสร้าง 4 เซลล์ 5) การก่อตัว และการเจริญเต็มที่ของผนังเซลล์ลูกจะได้เซลล์ลูกที่มีลักษณะเหมือนกับเซลล์แม่ทุกประการ และ 6) การแตกของผนังเซลล์เก่าเพื่อปล่อยเซลล์ลูก (Yamamoto *et al*., 2005) สิ่งสำคัญคือ กระบวนการนี้จะสามารถดำเนินได้เนื่องจากเซลล์อยู่ในสภาพการเจริญเติบโตที่ดี หากอยู่ภายใต้ความเครียดเซลล์จะมีระยะเวลาการเจริญเติบโตที่นานขึ้น (Safi *et al*., 2014)



ภาพที่ 2.2 ภาพแสดงระยะต่างๆ ของการสร้างผนังเซลล์คลอเรลลา (a) ระยะการเจริญเติบโตของเซลล์ในช่วงต้น (b) ระยะการเจริญเติบโตของเซลล์ตอนปลาย (c) ระยะการแบ่งคลอโรพลาสต์ (d) ระยะการแบ่งโปรโตพลาสต์ระยะแรก (e) ระยะการแบ่งโปรโตพลาสต์ตอนปลาย (f) ระยะการเจริญเติบโตของเซลล์ และ (g) ระยะฟัก

ที่มา: Yamamoto *et al*. (2005)

การเจริญเติบโตของสาหร่าย หมายถึง การเพิ่มจำนวนของเซลล์ โดยการเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์หรือมวลชีวภาพ (biomass) ของประชากรต่อหนึ่งหน่วยเวลา เรียกว่า อัตราการเจริญเติบโต (growth rate) กราฟแสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยการเจริญเติบโตแบ่งออกเป็น 5 ระยะ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543) ได้แก่ (ภาพที่ 2.3)

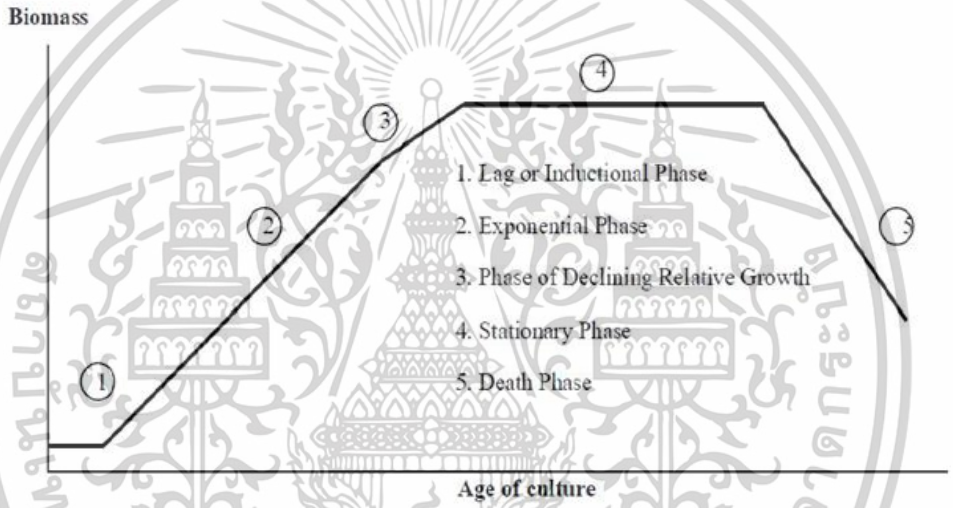
ระยะปรับตัว (lag phase or induction phase) เป็นเพียงระยะเวลาสั้นๆ ที่สาหร่ายจะมีการปรับตัวเพื่อให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ยังไม่มีการเพิ่มจำนวน โดยเซลล์จะมีการปรับทางสรีรวิทยาต่างๆ ให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อม

ระยะเอ็กซ์โพเนนเชียล (exponential phase) เป็นระยะที่เซลล์มีการเจริญเติบโตอย่างเต็มที่ ความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มมากขึ้นจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล

ระยะเฉื่อย (phase of declining relative growth) เป็นระยะที่เซลล์มีการแบ่งเซลล์ช้าลง เนื่องจากปัจจัยทางกายภาพและเคมีที่ใช้ในการเจริญเติบโตลดลงหรือมีการเปลี่ยนแปลง เช่น สารอาหาร แสง และค่าพีเอช (pH) เป็นต้น

ระยะคงที่ (stationary phase) เป็นระยะที่มีจำนวนเซลล์สูงสุดและคงที่ ไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์อีก โดยมีอัตราการแบ่งเซลล์เท่ากับอัตราการตาย เนื่องจากเป็นช่วงที่สารอาหารถูกใช้ไปจนเกือบหมดไม่เพียงพอต่อจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้น

ระยะการตาย (death phase) เป็นระยะที่เซลล์มีอัตราการตายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ความหนาแน่นของเซลล์ และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตลดลง เนื่องจากสารอาหารหมดไปและสภาวะต่างๆ คลาดเคลื่อนไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์



ภาพที่ 2.3 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย
ที่มา: ลัดดา วงศ์รัตน์ (2543)

จากการศึกษาของ Collet *et al*. (2011) พบว่า สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella vulgaris*) มีอัตราการเจริญเติบโต (growth rate) 25 กรัม/ตร.ม./วัน สำหรับเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนประชากรจากเดิมเป็นสองเท่า เรียกว่า generation time ซึ่งแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายคลอเรลลา

องค์ประกอบของสาหร่ายคลอเรลลาประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และสารสีบางชนิดที่เกิดจากเมแทบอลิซึมทุติยภูมิทั่วไปของสาหร่ายคลอเรลลา แสดงในตารางที่ 2.1 ซึ่งคุณค่าทางอาหารสูง ปริมาณโปรตีนในสาหร่ายคลอเรลลาประมาณ 51.45 เปอร์เซ็นต์ (Mohamed *et al*., 2013) ซึ่งสูงมากพอจะเป็นแหล่งอาหารสำหรับมนุษย์ และสัตว์ จากคุณสมบัติดังกล่าวคลอเรลลาจึงถูดจัดเป็นโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein) ที่มีการพยายามศึกษาเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ใน

มนุษย์ และสัตว์ จนมีชื่อที่กล่าวถึงคุณสมบัติพิเศษของคลอเรลลา เช่น solar-powered nutrient, the food of century, the emeral food และ the gem of orient (วีนา ชูโชติ, 2541)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายคลอเรลลา

องค์ประกอบ	(%)
ความชื้น	5.83
น้ำหนักแห้ง	94.17
โปรตีน	51.45
คาร์โบไฮเดรต	11.86
ไขมัน	12.18
เส้นใย	9.18
เถ้า	9.50

ที่มา: ดัดแปลงจาก Mohamed *et al*. (2013)

2.2.1 โปรตีน (proteins)

องค์ประกอบของโปรตีนในสาหร่ายคลอเรลลาคิดเป็น 42-58% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่ง 20% เกาะที่ผนังเซลล์ทำหน้าที่ด้านโครงสร้าง และลำเลียงโมเลกุลของสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ 50% เป็นโปรตีนภายในเซลล์ที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ และอีก 30% จะถูกหลั่งออกมานอกเซลล์ โปรตีนมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดในปริมาณที่มาก รวมทั้งกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปกรดไขมันไม่อิ่มตัว อีกทั้งยังพบวิตามินและเกลือแร่ที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น วิตามิน A, B1, B2, B6, B12 และไนอะซีน (niacin) เป็นต้น กรดอะมิโนที่อยู่ในอาหารเลี้ยงสามารถสกัดได้โดยใช้สารละลายอัลคาไลน์ (alkaline) กรองแบบอัลตราฟิลเตรชัน (ultrafiltration) หรือการตกตะกอนด้วยกรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid) หรือกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) 0.1 N (Safi *et al*., 2014) กรดอะมิโนที่มีลักษณะเฉพาะต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ได้แก่ aspartic acid, threonine, serine, glutamic acid, glycine, alanine, cysteine, valine, methionine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, histidine, lysine, arginine, tryptophan, ornithine และ proline โดยกรด กลูตามิก (glutamic acid) เป็นกรดที่สังเคราะห์ได้ปริมาณมากที่สุด ตามด้วยกรดแอสพาร์ติก (aspartic acid) ที่มีความเข้มข้น 13.7 กรัม/โปรตีน 100 กรัม และโปรตีน 10.94 กรัม/ โปรตีน 100 กรัม ตามลำดับ (Ursu *et al*., 2014)

2.2.2 ไขมัน (lipids)

ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน โมเลกุลของไขมัน ประกอบด้วย กลีเซอรีน 1 โมเลกุล และกรดไขมัน 3 โมเลกุล สาหร่ายมีปริมาณไขมันสูง 30-50 เปอร์เซ็นต์ของ

น้ำแห้ง (Yen *et al*., 2013) ไขมันของสาหร่ายมีลักษณะคล้ายน้ำมันพืช คือ มีส่วนประกอบที่เป็นไตรกลีเซอไรด์ ไขมันที่พบในสาหร่ายส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีจำนวนคาร์บอน 16-18 อะตอมต่อโมเลกุล สาหร่ายบางสายพันธุ์สามารถสร้างกรดไขมันจำเป็น (polyunsaturated fatty acids) ที่มีคุณภาพสูงเป็นจำนวนมาก และเป็นประเภทเดียวกับที่พบในน้ำมันปลา (fish oil) เช่น สาหร่าย *Chlorella minutissima* มีปริมาณกรดไอโคซาเพนทาอีโนอิก (eicosapentaenoic, EPA) มากกว่าร้อยละ 90 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด (Guschina and Harwood, 2006)

2.2.3 คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates)

คาร์โบไฮเดรตเป็นกลุ่มของน้ำตาล และพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น แป้งและเซลลูโลส แป้งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีอยู่มากที่สุดใน *Chlorella vulgaris* โดยทั่วไปจะอยู่ในคลอโรพลาสต์ ประกอบด้วย อะไมโลส และอะไมโลเพคติน ซึ่งทำงานร่วมกับน้ำตาลเพื่อเป็นแหล่งเก็บพลังงานสำหรับเซลล์ เซลลูโลสเป็นพอลิแซ็กคาไรด์เชิงโครงสร้างที่มีความต้านทานสูง ซึ่งอยู่ที่ผนังเซลล์ของ *C. vulgaris* ทำหน้าที่ป้องกันลักษณะเป็นเส้นใย นอกจากนี้ หนึ่งในพอลิแซ็กคาไรด์ที่สำคัญมากที่สุดที่มีอยู่ใน *C. vulgaris* คือ β 1-3 กลูแคน (Lordan *et al*., 2011) ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพ และโภชนาการ

2.2.4 สารสี (pigment)

ทุกชนิดที่อยู่ในเซลล์จะรวมอยู่ในออร์แกเนลล์ (organelle) ที่เรียกว่าพลาสทิด (plastid) ซึ่งมีรูปร่างที่แน่นอน โดยสารสีที่พบในสาหร่ายคลอเรลลา ประกอบด้วย 2 กลุ่ม ได้แก่ (สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, 2563)

2.2.4.1 คลอโรฟิลล์ (chlorophyll)

เป็นสารสีที่มีสีเขียว ซึ่งประกอบด้วย chlorophyll a, b, c, d และ e ละลายในสารอินทรีย์ สารที่นิยมใช้สกัดคลอโรฟิลล์ ได้แก่ เมทานอล โดยคลอโรฟิลล์ เอ สามารถพบได้ในสาหร่ายขนาดเล็กทุกชนิด และคลอโรฟิลล์ทุกตัวจะทำหน้าที่ในการดูดกลืนแสง แต่มีเพียงคลอโรฟิลล์ เอ เท่านั้นที่สามารถเกิดการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ ส่วนคลอโรฟิลล์ตัวอื่นๆ จะทำหน้าที่ดูดกลืนแสงและส่งต่อให้คลอโรฟิลล์ เอ เพื่อให้นำไปใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง

2.2.4.2 แคโรทีนอยด์ (carotenoid)

มีหน้าที่รับแสง และส่งต่อไปยังคลอโรฟิลล์โดยแสงยิ่งน้อยยิ่งพบแคโรทีนอยด์มาก โดยแคโรทีนอยด์แบ่งเป็นสองกลุ่มหลักๆ คือ แคโรทีน (carotene) มีสีส้ม และแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) มีสีเหลือง ซึ่งแคโรทีนแบ่งออกได้เป็น α, β. δ, ε-carotene โดยในสาหร่ายขนาดเล็กทุกชนิดจะพบว่ามี β-carotene เป็นสารสีช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสงอยู่ส่วนแซนโทฟิลล์แบ่งเป็นประเภทย่อยๆ ได้อีก เช่น lutein, fucoxanthin, myxoxanthophyll ฯลฯ ในการสกัดสารสีกลุ่มนี้ พบว่าแคโรทีนละลายได้ดีในปิโตเลียมอีเธอร์ ส่วนแซนโทฟิลล์นั้นละลายได้ดีใน 90% ของเมทานอล โดยในแคโรทีนอยด์ทั้งหมดจะประกอบด้วยสัดส่วนของแคโรทีน:แซนโทฟิลล์ เท่ากับ 3:2 Ohse *et al*. (2008) กล่าวว่า สารสีที่พบมากที่สุดในสาหร่ายคลอเรลลา คือ คลอโรฟิลล์ ซึ่งคิดเป็น

1- 2% ของน้ำหนักแห้งของชีวมวล พบแคโรทีนอยด์อยู่ในกลุ่มของสารทุติยภูมิที่เรียกว่า เทอร์พีน (terpenes) แคโรทีนอยด์ในสาหร่ายขนาดเล็กเป็นเบต้าแคโรทีนสัมพันธ์กับไขมันที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ เช่นเดียวกับคลอโรฟิลล์และไทลาคอยด์ในคลอโรพลาสต์ สารสีได้รับการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีรายงานว่าสกัดได้โดยใช้ตัวทำละลาย เช่น ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (dimethylformamide), ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane), อะซิโตน (acetone), เฮกเซน (hexane), และเอธานอล (ethanol) โดยผ่านวิธีการต่างๆ เช่น ซอกซ์เล็ต (Soxhlet) สารสีหลักที่พบในสาหร่ายคลอเรลลา ได้แก่ β-แคโรทีน แอสตาแซนธิน แคนทาแซนธิน ลูทีน คลอโรฟิลล์ เอ บี ฟีโอไฟติน เอ บี และไวโอโลแซนธิน จากการสังเกต พบว่ามีโพลีฟีนอลบางชนิด เช่น ลูทีโอลิน ดังนั้นสามารถใช้ตัวทำละลายอื่นๆ ที่สามารถประเมิน และระบุลักษณะเฉพาะได้

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

2.3.1 ปัจจัยทางกายภาพ

2.3.1.1 แสง

แสงเป็นปัจจัยทางกายภาพที่มีความสำคัญต่อการเจริญของสาหร่าย นอกจากนี้ควรมีการควบคุมความเข้มแสงและช่วงเวลาการให้แสงกับการหยุดให้แสงที่เหมาะสม โดยช่วงเวลาการให้แสงที่นิยม คือ 16 ชั่วโมงต่อวัน กระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. มักเกิดขึ้นในสภาวะความเข้มแสงต่ำประมาณ 3,000 ลักซ์ และความยาวคลื่นในช่วงที่สามารถมองเห็นได้ (ชาญชัย อมรรัตนานุเคราะห์, 2543)

2.3.1.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิ เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่าย โดยทั่วไปอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นกว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะลดต่ำลงตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะเอนไซม์ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่พอเหมาะ ถ้าสูงเกินเอนไซม์จะเสื่อมสภาพทำให้การทำงานของเอนไซม์ชะงักลง ดังนั้นอุณหภูมิจึงมีความสัมพันธ์ต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงด้วยและส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่ดีของสาหร่าย สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมแตกต่างกัน Chinnasamy *et al*. (2009) กล่าวว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับสาหร่ายคลอเรลลาอยู่ในช่วง 28-35°C ถ้าอุณหภูมิต่ำสาหร่ายคลอเรลลาจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เนื่องจากกระบวนการเมแทบอลิก (metabolic) หยุดทำงาน แต่เมื่ออุณหภูมิสูงส่งผลให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง

2.3.2 ปัจจัยทางเคมี

2.3.2.1 ธาตุอาหาร

สาหร่ายต้องการสารอาหารในปริมาณที่สูง เพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของเซลล์ ซึ่งจะประกอบด้วยธาตุอาหาร 2 กลุ่มหลักๆ คือ (สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, 2563)

(1) ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) ได้แก่ คาร์บอน (C) ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S)

(2) ธาตุอาหารรอง (Micronutrients) ได้แก่ เหล็ก (Fe) โบรอน (Bo) แมงกานีส (Mn) โมลิบดีนัม (Mo) วานาเดียม (Va) โคบอล (Co) นิกเกิล (Ni) ซิลิกา (Si) และเซลิเนียม (Se)

มีส่วนช่วยในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ภายในเซลล์สาหร่าย Grobbelaar (2004) กล่าวว่า อาหารเพาะเลี้ยงที่เสริมด้วยฟอสฟอรัสช่วยในเรื่องการเจริญเติบโต เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กจะมีอะตอมที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์ของกรดนิวคลีอิก และกระบวนการเมตาโบลิซึม เช่น ATP แหล่งฟอสฟอรัสสามารถผสมกับอาหารเพาะเลี้ยงในรูปของฟอสเฟตได้ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 1% ต่อลิตรของอาหารที่เตรียม

2.3.2.2 ความเป็นกรดด่าง (pH) ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ที่ pH 8 ถ้าเกิดการเปลี่ยนแปลงของ pH ส่งผลต่อการผลิตชีวมวลปัจจัยที่สามารถเปลี่ยนแปลง ได้แก่ การหายใจระดับเซลล์ ความเป็นด่างของอาหารในขณะที่เตรียมอาหารเพาะเลี้ยง และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหาร ถ้าสะสมและไม่ได้รับการแก้อาหารเพาะเลี้ยงจะมีสภาวะที่เป็นด่าง สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ (2563) กล่าวว่า อาหารมีการแตกตัวเป็นไอออนสาหร่ายจึงนำไอออนต่างๆ ไปใช้ประโยชน์ได้แต่ถ้าในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายแล้วไม่ปรับ pH ให้เหมาะสมสารเคมีไม่แตกตัว สาหร่ายจะไม่สามารถนำธาตุอาหาร ไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ และหลังจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไปแล้วระยะหนึ่งค่า pH ของอาหารจะสูงขึ้นจากการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่าย และมี OH- เกิดขึ้นมากในระบบเพาะเลี้ยง โดยอาจสูงจนเกินค่า pH ที่เหมาะสมต่อสาหร่าย ซึ่งสามารถเติมคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มในระบบเพื่อควบคุมไม่ให้ pH สูงมากเกินไป (Bartley *et al*., 2013)

2.3.2.3 คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)

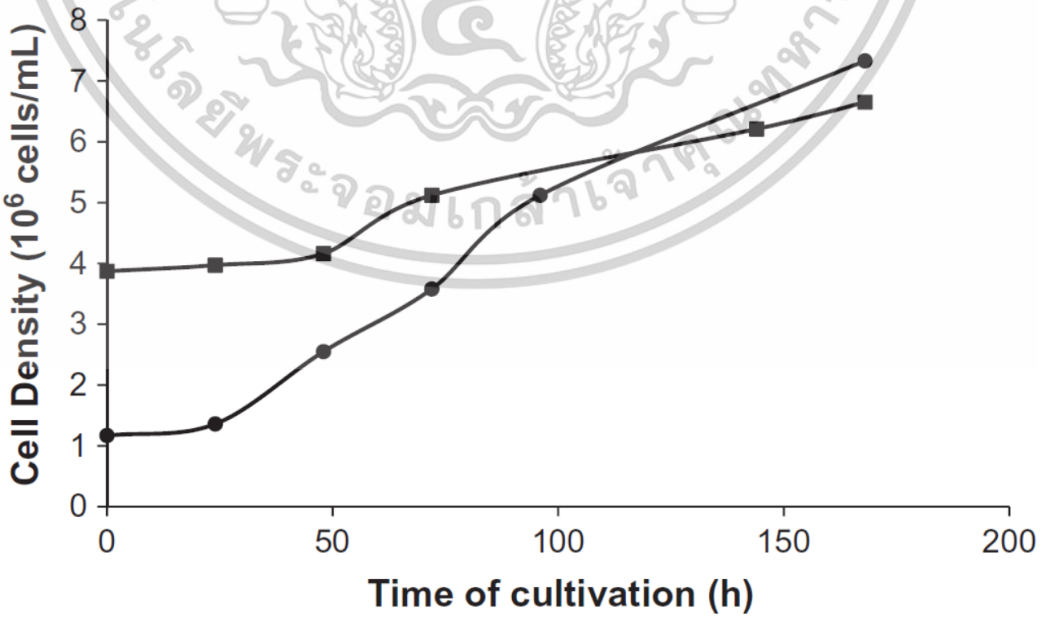
มีผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง แต่จะมีผลมากน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น เช่น ความเข้มข้นสูงขึ้น ซึ่งในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายหากมีปริมาณ CO_2 มากขึ้น ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้รวดเร็ว และมีผลิตชีวมวลสูงขึ้น สาหร่ายคลอเรลลาเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่ 5% (สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และ จันทรา ดีมาก, 2563) เมื่อ CO_2 เพิ่มขึ้นช่วยให้สาหร่ายคลอเรลลานำ CO_2 ไปใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงได้มากขึ้น แต่หากได้รับ CO_2 มากไปสาหร่ายคลอเรลลานำไปใช้ไม่ทันจะทำให้น้ำมีค่าเป็นกรดทำให้สาหร่ายคลอเรลลาตาย

2.4 การกวนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

"การบังแสงด้วยตนเอง" มีความหมายว่า เซลล์ที่อยู่ใกล้แสงจะสามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้โดยไม่มีปัญหาแต่จะค่อยๆ บังเซลล์ที่อยู่ด้านหลัง ดังนั้นการเจริญเติบโตจึงถูกยับยั้ง จึงมีการใช้อุปกรณ์การเลี้ยงในลักษณะที่ช่วยให้การไหลเวียนของเซลล์เพื่อให้เซลล์สามารถสัมผัสกับแหล่งกำเนิดแสงได้สม่ำเสมอ และไม่แนะนำให้ใช้ใบพัดเนื่องจากสามารถทำลายเซลล์ได้ พิจารณาทิศทางของแสงใน

ระหว่างการเจริญเติบโตของสาหร่าย เช่น เครื่องไบโอรีแอคเตอร์ในลักษณะทิศทางของแสงจะถูกกำหนดโดยความลึกของของเหลวในเครื่องไบโอรีแอคเตอร์ (Flores *et al*., 2003) การกวนผสมอาหารเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการเพิ่มจำนวนเซลล์ การกวนมีหน้าที่รักษาเซลล์ให้อยู่ในสภาพแขวนลอย ลดการแบ่งชั้น ช่วยกระจายธาตุอาหารทำให้เซลล์สามารถดูดซึมธาตุอาหารได้ดี (Kim *et al*., 2014) ทำให้การแลกเปลี่ยนก๊าซมีประสิทธิภาพมากขึ้น การกวนสามารถลดการบังเงาในตัวเองของเซลล์สาหร่าย และลดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (Agarwal *et al*., 2019 ; Mohammed *et al*., 2014 ; Pedruzi *et al*., 2020) โดยแสงจะกระจายทั่วบ่อเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กทั้งหมด (Zhu, 2015) นอกจากนี้ช่วยลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จากชั้นบรรยากาศ และช่วยในการถ่ายเทออกซิเจนที่สังเคราะห์จากสถานะของเหลวไปยังสถานะก๊าซ ซึ่งกระตุ้นการสังเคราะห์ด้วยแสงในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (Zhu *et al*., 2014) ได้แก่ *Chlorella* sp. (Doucha *et al*., 2009) *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella tertiolecta* (Wang and Lan, 2018)

Lv *et al*. (2017) รายงานว่า การกวนไม่เพียงแต่เป็นประโยชน์ต่อการถ่ายโอนมวลคาร์บอนไดออกไซด์ แต่ยังป้องกันการตกตะกอนของสาหร่าย *Chlorella* sp. และ *Scenedesmus* sp. ตลอดการเพาะเลี้ยง จากการศึกษาของ Sánchez *et al*. (2013) สังเกตได้ว่าในระบบการเพาะเลี้ยงในบ่อแบบร่องน้ำที่กวนด้วยใบพัดหรือกังหันน้ำ การเจริญเติบโตในแต่ละวันของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Isochrysis galbana* เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าเมื่อเปรียบเทียบกับระบบที่ไม่มีการกวน 8.8×10^6 และ 4.0×10^6 เซลล์/มล./วัน ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า การกวนผสมอาหารมีความสำคัญอย่างมากในกระบวนการทางอุตสาหกรรมของการผลิตสาหร่ายขนาดเล็ก (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.4 ผลของการกวนต่อความหนาแน่นของเซลล์: (●) ด้วยการกวน (■) โดยไม่กวน

ที่มา: Sánchez *et al*. (2013)

2.4.1 รูปแบบการกวนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

การศึกษาของ Henrard *et al*. (2015) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Cyanobium* sp. และ *Chlorella* sp. ภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน ทำการทดลองในเครื่องไบโอรีแอคเตอร์แบบร่องน้ำ เป็นเวลา 10 วัน ผลการศึกษา พบว่ารูปแบบการกวนโดยการใช้ปั๊มน้ำจำนวนสองตัว ส่งผลให้สาหร่ายทั้งสองชนิดมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด ซึ่งมีความเข้มข้นของสารชีวมวลสูงสุด 1.21 และ 0.93 กรัม/ลิตร ผลผลิตชีวมวลสูงสุด 0.10 และ 0.11 กรัม/ลิตร/วัน และอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด 0.18 และ 0.27 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 2.2) แสดงให้เห็นว่าการกวนอย่างต่อเนื่องด้วยปั๊มน้ำจำนวนสองตัวขณะเพาะเลี้ยงมีประสิทธิภาพในการผลิตชีวมวล และการเพิ่มจำนวนเซลล์ตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงทั้งหมด

ตารางที่ 2.2 การเจริญเติบโตของ *Cyanobium* sp. และ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงด้วยรูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน ผลผลิตชีวมวลสูงสุด (Pmax), ความเข้มข้นของชีวมวลสูงสุด (Xmax) และอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (μmax)

Stirring settings	*Cyanobium* sp.			*Chlorella* sp.		
	Xmax ($g\ L^{-1}$)	Pmax ($g\ L^{-1}d^{-1}$)	μmax (d^{-1})	Xmax ($g\ L^{-1}$)	Pmax ($g\ L^{-1}d^{-1}$)	μmax (d^{-1})
Rotating blades	-	-	-	0.48^{a}	0.064^{a}	0.071^{a}
Rotating blades and porous curtain	-	-	-	$0.45^{a,b}$	0.048^{b}	0.086^{b}
Rotating blades and elongated stones	0.41^{a}	0.008^{a}	0.150^{a}	0.44^{ab}	0.082^{c}	0.068^{a}
Rotating blades and cylindrical stones	0.40^{a}	0.007^{a}	0.140^{a}	0.43^{b}	0.029^{d}	0.092^{bc}
2 submersible pumps	1.21^{b}	0.108^{b}	0.176^{b}	0.71^{c}	0.067^{e}	0.133^{d}
1 submersible pump	1.12^{c}	0.113^{c}	0.176^{b}	0.71^{d}	0.067^{f}	0.133^{e}
Porous curtains	0.68^{d}	0.034^{d}	*N.E.P	0.29^{e}	0.016^{g}	0.041^{f}
Elongated stones	0.41^{a}	0.008^{a}	*N.E.P	0.24^{f}	0.014^{h}	0.022^{g}

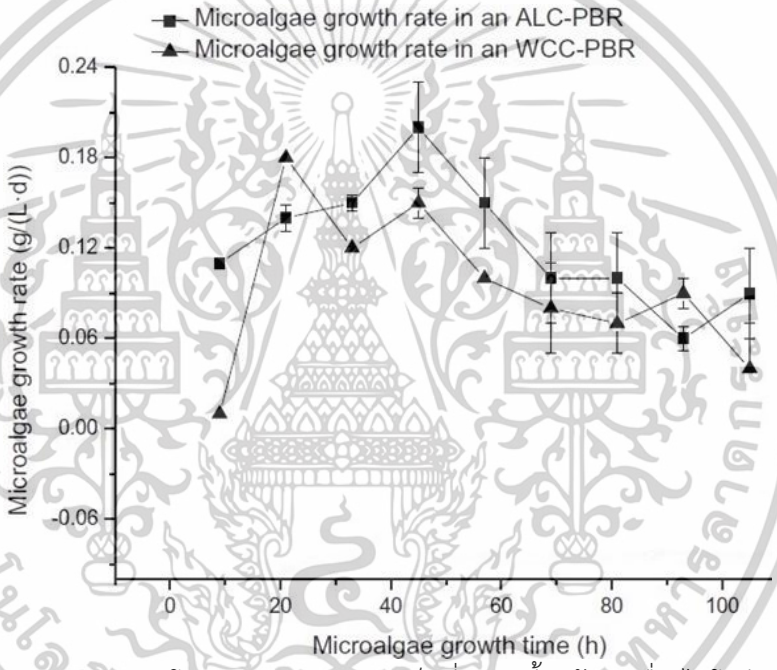
หมายเหตุ: อักษรยกกำลังที่เท่ากันในแนวตั้งหมายถึงค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

*N.E.F: ไม่มีระยะการเจริญเติบโตในลักษณะของการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Henrard *et al*. (2015)

จากการศึกษาของ Yang *et al*. (2016) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella PY-ZU1* ด้วยเครื่องไบโอรีแอคเตอร์แบบหมุนเวียนน้ำแนวตั้ง (WCC–PBR) มีอัตราการเจริญเติบโตลดลงจาก 128.9 มก./ลิตร/วัน เป็น 12.7% เนื่องจากฟองอากาศลดลง และแรงเฉือนเพิ่มขึ้น พลังงานทั้งหมดของ WCC–PBR ประกอบด้วย ปั๊มลม และปั๊มน้ำที่มีพลังงานต่ำกว่าของเครื่องไบโอรีแอคเตอร์แบบอัดอากาศแนวตั้ง (ALC-PBR) ที่มีเฉพาะปั๊มลม 21.1% (ภาพที่ 2.5) อัตราการเติมอากาศถูกจำกัดหากมีส่วนประกอบของก๊าซพิษ (NOx/SOx) แต่สามารถใช้ปั๊มน้ำเพื่อให้สาหร่ายขนาดเล็กเคลื่อนที่ด้วย

ความเร็วที่เหมาะสม สารอาหารสามารถกระจายอย่างสม่ำเสมอมากขึ้นทำให้สาหร่ายขนาดเล็กสามารถนำไปใช้ได้ดีขึ้น อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยระบบการเพาะเลี้ยง WCC-PBR สามารถเปลี่ยน และนำปั๊มน้ำที่มีแรงเฉือนน้อยกว่า เช่น ปั๊มรีดท่อ (Chen *et al*., 2013) การใช้พลังงานของระบบเพาะเลี้ยง WCC–PBR สามารถลดลงได้อีกโดยการปรับระยะห่างระหว่างปั๊มลมกับพื้นผิวสารละลาย และรูเส้นผ่านศูนย์กลางของปั๊มลมให้เหมาะสม มีการใช้ปั๊มน้ำใน PBR แบบท่อปิดบางรุ่น (Nwoba *et al*., 2016 ; Pawar, 2016) ดังนั้นจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อลดการลงทุนและการบำรุงรักษาปั๊มน้ำได้ WCC–PBR มีแนวโน้มสูงสำหรับการใช้งานในกระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กทางอุตสาหกรรม ในแง่ของความได้เปรียบทางเศรษฐกิจ และทางเทคนิค (Yang *et al*., 2016)



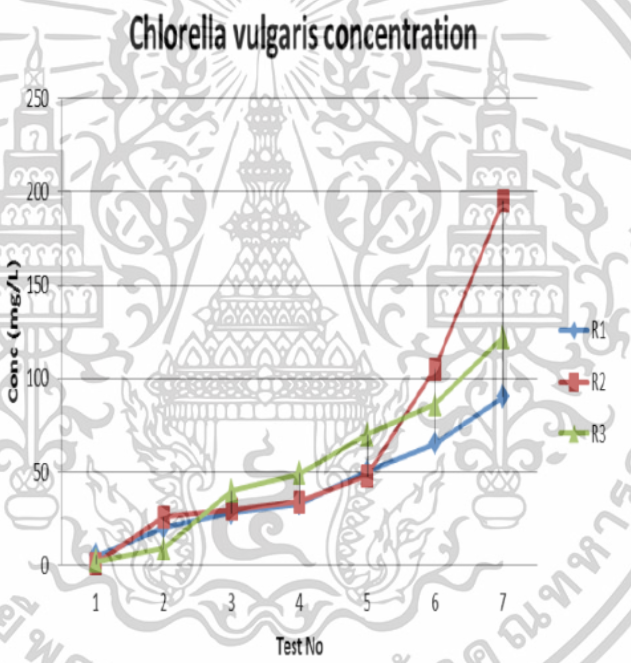
ภาพที่ 2.5 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กที่เพาะเลี้ยงด้วยเครื่องไบโอรีแอคเตอร์แบบหมุนเวียนน้ำแนวตั้ง (WCC–PBR) และเครื่องไบโอรีแอคเตอร์แบบอัดอากาศแนวตั้ง (ALC-PBR)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Yang *et al*. (2016)

2.4.2 ระยะเวลาการกวนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

การเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กเพิ่มขึ้นตามอัตราการกวนที่เพิ่มขึ้นจนได้ระยะเวลาการกวนที่เหมาะสมที่สุด การเจริญเติบโตจะลดลงอย่างรวดเร็วสังเกตได้จากอัตราการกวนที่สูงขึ้น ซึ่งทำลายเซลล์เนื่องจากสาหร่ายบางชนิดมีผนังเซลล์ที่เปราะบาง เป็นเส้นใยหรือเคลื่อนที่ได้ ซึ่งไวต่อความเครียดทางกายภาพ (Sobczuk *et al*., 2006)

Isiya and Sani (2020) ศึกษาอัตราการกวนที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella vulgaris*) ที่อัตราการกวน 50 100 และ 120 รอบ/นาที พบว่า อัตราการกวน 50 รอบ/นาที มีความเข้มข้นของสารชีวมวลจากความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 5 มก./ลิตร สูงสุดที่ 90 มก./ลิตร ภายใน 2 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา จากนั้นเจริญเติบโตขึ้นอย่างช้าๆ จนถึงสัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ในอัตราการกวน 100 รอบ/นาที มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จากความเข้มข้นเริ่มต้นประมาณ 1 มก./ลิตร สูงถึง 26 มก./ลิตร ภายใน 3 วัน ซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วขึ้นอย่างรวดเร็วถึง 195 มก./ลิตร ภายใน 3 สัปดาห์ และอัตราการกวน 120 รอบ/นาที มีความเข้มข้นของสารชีวมวลระดับปานกลางจนถึง 9 มก./ลิตร หลังจากนั้นการเติบโตจำเพาะที่สูงขึ้นโดยเฉพาะหลังจากสัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยง และในสัปดาห์ที่ 3 ของการเพาะเลี้ยงมีความเข้มข้นของสารชีวมวล 122 มล./ลิตร (ภาพที่ 2.6)



ภาพที่ 2.6 การเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาภายใน 3 สัปดาห์หลังการเพาะเลี้ยง

หมายเหตุ: R1= อัตราการกวนที่ 50 รอบ/นาที R2= อัตราการกวนที่ 100 รอบ/นาที และ R3=อัตราการกวนที่ 120 รอบ/นาที

ที่มา: Isiya and Sani (2020)

2.5 แสงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

2.5.1 ความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในเชิงพาณิชย์ จำเป็นต้องใช้แหล่งกำเนิดแสงที่ทนทาน เชื่อถือได้ ต้นทุนต่ำ และมีประสิทธิภาพสูง ในปัจจุบันมีแหล่งกำเนิดแสงที่หลากหลาย เช่น

ไดโอดเปล่งแสง (LED) ไฟ LED มีน้ำหนักเบา และขนาดเล็ก ข้อดีของไฟ LED ได้แก่ สร้างความร้อนที่ต่ำ อายุการใช้งานที่ยาวนาน มีประสิทธิภาพสูงขึ้น และอื่นๆ ทำให้สามารถใช้งานได้ในเชิงพาณิชย์ (Chen *et al*., 2011) สำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิดต่างๆ จำเป็นต้องใช้สารอาหารที่แตกต่างกันในการเจริญเติบโตและความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน ความยาวคลื่นของแสงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ สารเมตาบอไลต์ การสังเคราะห์ด้วยแสง สัณฐานวิทยา และการพัฒนาในสาหร่าย (Meireles *et al*., 2008) มีรายงานที่แตกต่างกันเกี่ยวกับผลของความยาวคลื่นแสงต่อสาหร่ายขนาดเล็ก เช่น แสงสีน้ำเงินหรือแสงสีแดงสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก และควบคุมเอนไซม์ที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสง (Das *et al*., 2011) และสามารถใช้หลอดไฟ LED แทนหลอดฟลูออเรสเซนต์เป็นแหล่งกำเนิดแสงได้ หลอดไฟ LED มีคุณภาพสูง ทนทาน การกระจายความร้อนต่ำ และความยาวคลื่นเดียว (Carvalho *et al*., 2011) การศึกษา Duarte and Costa (2018) ศึกษาการใช้หลอดไฟ LED สีน้ำเงินเป็นแหล่งพลังงานในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella fusca*) ผลจากการศึกษา พบว่า หลอดไฟ LED แสงสีน้ำเงินมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงถึง 80% เมื่อเทียบกับแสงมาตรฐาน อีกทั้งจำนวนเซลล์เพิ่ม 23% หลอดไฟ LED สีน้ำเงินเป็นแหล่งกำเนิดแสงที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถกระตุ้นการผลิตชีวมวลสาหร่ายคลอเรลลา

Guo and Fang (2020) ศึกษาผลของคุณภาพแสง ได้แก่ แสงสีแดง สีน้ำเงิน สีขาว อัตราส่วนของแสงสีแดง 8 ส่วนต่อแสงสีน้ำเงิน1 ส่วน (8/1), อัตราส่วนของแสงสีแดง 8 ส่วนต่อแสงสีน้ำเงิน 2 ส่วน (8/2) และอัตราส่วนของแสงสีแดง 8 ส่วนต่อแสงสีน้ำเงิน 3 ส่วน (8/3) ต่อลักษณะการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella pyrenoidosa*) โดยใช้หลอดไฟ LED พบว่าสาหร่ายคลอเรลลาเจริญเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้แสงสีน้ำเงินโดยมีความหนาแน่นแสง อัตราการเติบโตจำเพาะ และชีวมวลอยู่ที่ประมาณ 2.4, 0.10 วัน และ 6.4 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มแสงของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้คุณภาพแสงอื่นๆ มีค่าระหว่าง 1.0-1.7 อัตราการเติบโตจำเพาะอยู่ระหว่าง 0.06-0.10 วัน และชีวมวลอยู่ระหว่าง 2.7-3.8 กรัม/ลิตร หลังจาก 30 วัน ของการเพาะเลี้ยง ความเข้มแสง และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายคลอเรลลาอยู่ที่ประมาณ 2.05 เท่า และ 1.33 เท่า ภายใต้แสงสีน้ำเงินเมื่อเทียบกับแสงสีแดงตามลำดับ นอกจากนี้ แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินมีปริมาณการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์สูงสุด เท่ากับ 13.5 มก./กรัม พลังงานแสงที่ได้โดยการสังเคราะห์ด้วยแสงในสาหร่ายขนาดเล็กส่วนใหญ่มาจากรงควัตถุที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ผลที่ตามมาคือการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพแสง ความเข้มของแสง และช่วงแสงมีความสำคัญต่อรงควัตถุที่สังเคราะห์แสงจากสาหร่ายขนาดเล็ก (Han *et al*., 2003) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าแสงสีแดงรวมกับสีน้ำเงินเอื้อต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ และแสงสีน้ำเงินสามารถเร่งการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ บี ได้ Asuthkar *et al*. (2016) ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella pyrenoidosa*) ภายในเครื่องไบโอรีแอคเตอร์แบบส่องสว่างเป็นเวลา 10 วัน ได้แก่ แสงสีเขียว 450 ลักซ์ (495–570 นาโนเมตร) แสงสีแดง 480 ลักซ์ (620–750 นาโนเมตร) แสงสีน้ำเงิน

1,663 ลักซ์ (450–495 นาโนเมตร) และแสงสีขาว 1,986 ลักซ์ (380 - 750 นาโนเมตร) พบว่าหลังจากระยะเวลา 10 วัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้แสงสีน้ำเงินสูงสุด 0.506 วัน แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายคลอเรลลาเจริญเติบโตได้ดีภายใต้แสงสีน้ำเงินเมื่อเทียบกับแสงประเภทอื่น (ตารางที่ 2.3) Chu *et al*. (2021) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพแสง LED ที่มีความยาวคลื่นผสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella pyrenoidosa*) ได้แก่ สีขาว สีม่วง สีน้ำเงิน สีเขียว สีเหลือง และสีแดง ที่ความเข้มแสงที่ 200 ไมโครโมล/ตารางเมตร พบว่า แสงสีแดงเหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา จากการศึกษาของ Matthijs *et al*. (1995) ; Yan *et al*. (2013) กล่าวว่า รงควัตถุที่สังเคราะห์แสงหลักของสาหร่ายคลอเรลลา คือ คลอโรฟิลล์ซึ่งสามารถดูดซับแสงสีแดงได้ดีที่สุด (Zhao *et al*., 2013) ในขณะเดียวกัน มีรายงานว่าแสงสีแดงช่วยในการแบ่งเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็ก (Ooms *et al*., 2016)

ตารางที่ 2.3 อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ และการเพิ่มเวลาเป็นสองเท่าของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ความยาวคลื่นแสงแตกต่างกัน

S.no	Lights	Specific Growth rate in day^{-1} (μ)	Doubling time (t_d) in hours
1	Blue	0.506	32.86
2	White	0.240	69.30
3	Red	0.215	77.35
4	Green	0.240	69.30

ที่มา: ดัดแปลงจาก Asuthkar *et al*. (2016)

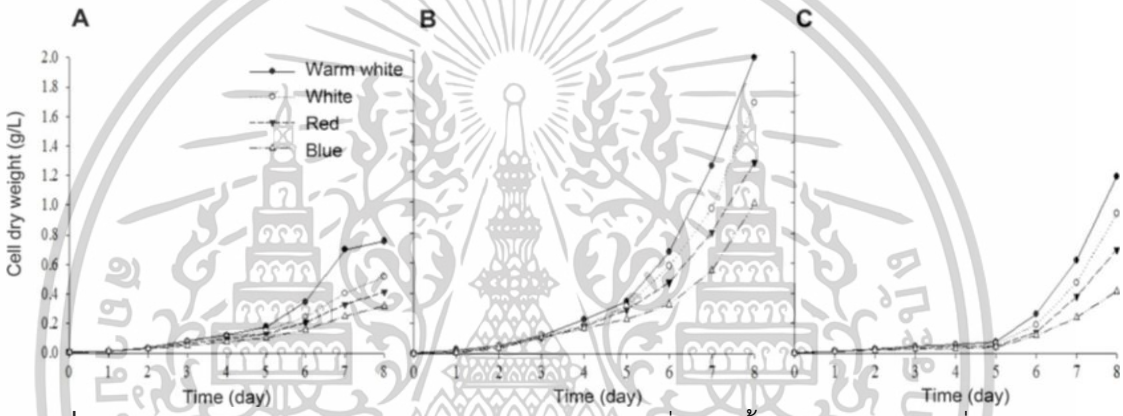
Khalili *et al*. (2015) ศึกษาอิทธิพลของธาตุอาหารและสีของแสงจากหลอด LED ต่อการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* พบว่าความยาวคลื่นของแสง LED ที่แตกต่างกันต่อการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *C. vulgaris* แสงสีขาวอมเหลือง (warm white) ที่มีความเข้มแสง 80 μmol/m^2·s เป็นแสงที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตชีวมวล และมีอัตราการใช้พลังงาน 13 กิโลวัตต์/ชม. (ตารางที่ 2.4 ภาพที่ 2.7 และ 2.8)

จากการศึกษาของ ณัฐสิทธิ์ จำรัสฉาย (2017) ศึกษาผลของอุณหภูมิสีของ LED แสงสีขาวและการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ผลการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบแบทช์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบถังกวนขนาด 1 ลิตร พบว่าแสงสีขาวอมฟ้า (day light) ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีกว่าการใช้แสงสีขาวเย็นตา (cool white) และสีขาวอมเหลือง (warm white) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 2.4 ลักษณะของไฟ LED ภายใต้ความยาวคลื่น และความเข้มของแสงที่แตกต่างกัน

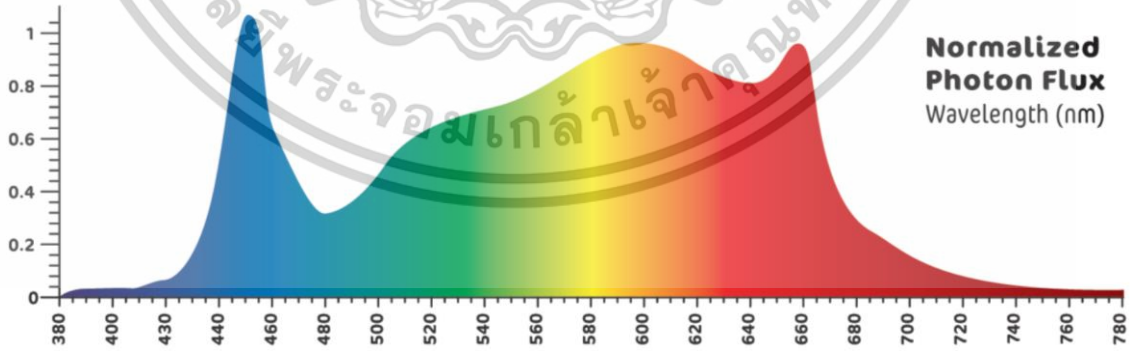
Light	Wavelength (nm)	Energy consumption (kw/h)		
		50 ($\mu mol/m^2 \cdot s$)	80 ($\mu mol/m^2 \cdot s$)	110 ($\mu mol/m^2 \cdot s$)
Red	660	7.5	14	21.3
Natural white	380-760	7.5	13.5	21.2
Warm white	380-760	7.2	13	20.4
Blue	460	7.4	13.2	20.7

ที่มา: ดัดแปลงจาก Khalili *et al*. (2015)



ภาพที่ 2.7 การเจริญเติบโตของเซลล์ *Chlorella vulgaris* ที่เพาะเลี้ยงด้วยความยาวคลื่นแสง และความเข้มต่างๆ (A) 50, (B) 80 และ (C) 110 ($\mu mol/m^2 \cdot s$)

ที่มา: Khalili *et al*. (2015)



ภาพที่ 2.8 สเปคตรัมแสง

ที่มา: บริษัทแลมป์ตั้น ไลท์ติ้ง (2001)

2.5.2 ช่วงเวลาให้แสงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

เนื่องจากสาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถสังเคราะห์แสงได้จึงมีความสัมพันธ์กับแสง ซึ่งสิ่งสำคัญ คือ ความเข้มแสง เมื่อสาหร่ายสังเคราะห์แสงโดยไม่มีแหล่งคาร์บอนอินทรีย์สาหร่ายจะรับพลังงานจากปริมาณแสง เมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้นสาหร่ายที่สังเคราะห์ด้วยแสงก็จะเพิ่มขึ้นเช่นกัน สาหร่ายที่ดูดซับพลังงานหากมากเกินจะเกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่าการยับยั้งแสง (Seyfabadi *et al*., 2011) ซึ่งหมายถึง การยับยั้งการสังเคราะห์ด้วยแสง เนื่องจากการแผ่รังสีส่วนเกินส่งผลโดยตรงต่อการผลิตชีวมวล การสังเคราะห์แสงภายใต้ความเครียดส่งผลให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายลดลง (Posada, 2007) จากการศึกษาของ Gunawan *et al*. (2018) ศึกษาความเข้มแสงและช่วงให้แสงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella pyrenoidosa*) ทำการทดลองด้วยเครื่องไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 1,000 มล. ที่ความเข้มของแสง 4 ระดับ 2000, 4000, 6000 และ 8000 ลักซ์ โดยมีช่วงให้แสงที่แตกต่างกัน 3 ช่วง ได้แก่ 8/16, 12/12 และ 16/8 ชั่วโมง (สว่าง/มืด) ผลการศึกษา พบว่าสาหร่ายคลอเรลลาเจริญเติบโตที่ดีที่สุดในช่วงเวลาให้แสง 16/8 ชั่วโมง และความเข้มของแสงที่ 8000 ลักซ์ อีกทั้งการศึกษาของ Kendirloglu *et al*. (2015) ศึกษาช่วงเวลาให้แสงและปริมาณสารสีต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella vulgaris*) ทำการทดลองเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. ที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ช่วงให้แสงที่แตกต่างกัน 5 ช่วง ได้แก่ 16/8, 17/7, 18/6, 19/5 และ 20/4 ชั่วโมง (สว่าง/มืด) ผลการศึกษา พบว่าอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดอยู่ที่ช่วงเวลาให้แสง 16/8 ชั่วโมง ปัจจัยทางกายภาพ และเคมี เช่น อุณหภูมิของน้ำ ความเค็ม pH และแสง ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย สภาวะแสงที่ไม่ต่อเนื่อง และความเข้มแสงแตกต่างกันในแต่ละวัน การเปลี่ยนแปลงของค่าความสว่าง คุณภาพ และช่วงแสงทำให้เกิดมวลชีวภาพ และองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นถึงการปรับตัวกับสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน (Katalay *et al*., 2012) การเปลี่ยนแปลงของแสงแสดงให้เห็นว่าเกิดความแตกต่างในโครงสร้างทางชีวเคมี และสารสีของสาหร่ายขนาดเล็ก (Saavedra and Voltolina, 2002 ; Fabregas *et al*., 2002) อีกทั้งยังพบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นในช่วงเวลาให้แสงที่ต่างกัน จึงกล่าวได้ว่า ช่วงแสงที่ต่างกันทำให้เกิดความแตกต่างของสารสี และปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เพิ่มขึ้นในช่วงเวลา 16/8 ชม. ดังนั้นสาหร่ายสามารถปรับตัวหรือตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของช่วงเวลาให้แสงที่แตกต่างกันได้

2.5.3 ความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

โดยทั่วไปแล้วความเข้มของแสงส่งผลให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มของแสงเพิ่มขึ้น แต่เมื่อความเข้มของแสงเกินจุดที่สาหร่ายสามารถรับได้อัตราการเจริญเติบโตจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Chang *et al*., 2016) ภายใต้ความเข้มของแสงที่ 400 μmol/m^2·s ผลผลิตมวลชีวภาพของ *Chlorella* sp. ในเครื่องไบโอรีเอคเตอร์ (PBRs) มีค่าประมาณ 2 เท่าที่ 0.518 กรัม/ลิตร/วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตในบ่อเลี้ยงกลางแจ้ง (Kuo *et al*., 2018) การเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาเพิ่มขึ้นโดยการให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยไดโอดเปล่งแสง (LED)

(Zhao *et al*., 2013) ที่ความเข้มของแสงที่เหมาะสม โดยไม่ขาดแสง การเพิ่มความเข้มของแสงเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการปรับปรุงการเจริญเติบโตของสาหร่าย เพราะช่วยแก้ปัญหาการยับยั้งด้วยแสงในระยะเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง และความเข้มของแสงที่ไม่เพียงพอในระยะหลังการเลี้ยง (Yan *et al*., 2016) ตามงานวิจัยของ Parmar *et al*. (2011) ความเข้มของแสง เป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของการผลิตสาหร่ายขนาดเล็ก การเปลี่ยนแปลงในปริมาณของแสงทำให้โครงสร้างทางเมตาบอลิซึมของสาหร่ายขนาดเล็กเปลี่ยนแปลงไป

2.6 การใช้ประโยชน์ของสาหร่ายคลอเรลลา

2.6.1 อาหารเสริม

สาหร่ายคลอเรลลาอุดมไปด้วยสารอาหารที่จำเป็น มีโปรตีนสูงถึง 50-70% (กรดอะมิโนที่จำเป็น) ไขมัน 30% (กรดไขมันไม่อิ่มตัว) และมีเบต้าแคโรทีนสูงถึง 8-14% รวมถึงมีวิตามินต่างๆ เช่น B1, B2, B3, B6, B12, E, K และ D ในความเข้มข้นที่ค่อนข้างสูง ดังนั้นสารสกัดจากสาหร่ายคลอเรลลาจึงสามารถใช้เป็นอาหารเสริมได้ (de Andrade and Lidiane, 2017)

2.6.1.1 โภชนาการของมนุษย์

การผลิตสาหร่ายคลอเรลลาในเชิงพาณิชย์ขนาดใหญ่เริ่มต้นในทศวรรษที่ 1960 โดยบริษัท Nohon *Chlorella* ของญี่ปุ่น การบริโภคมวลชีวภาพจากสาหร่ายของมนุษย์มีอยู่ไม่กี่ชนิด โดยชนิดที่ผลิตในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่ *Chlorella*, *Spirulina* และ *Dunaliella* มวลชีวภาพจากสาหร่ายมักจะถูกจำหน่ายในรูปแบบแคปซูล หรือผงในตลาดอาหารเพื่อสุขภาพ (Spolaore *et al*., 2006) นอกจากนี้ สารสกัดจากสาหร่ายคลอเรลลายังป้องกันภาวะไตล้มเหลว และส่งเสริมการเจริญเติบโตของ Lactobacillus (โปรไบโอติก) ในลำไส้ (Brennan and Owende, 2010) งานวิจัยของ Ebrahimi-Mameghani *et al*. (2017) ศึกษาเรื่องการเสริมสาหร่ายคลอเรลลาต่อการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ความต้านทานอินซูลิน ในผู้ป่วยที่เป็นโรคไขมันพอกตับที่ไม่ได้เกิดจากการดื่มแอลกอฮอล์ ผู้เขียนระบุว่าการเสริมสาหร่ายคลอเรลลาขนาด 1,200 มิลลิกรัม สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด รวมถึงการทำงานของตับในผู้ป่วยโรคไขมันพอกตับที่ไม่ได้เกิดจากการดื่มแอลกอฮอล์ ขณะที่ Cherng *et al*. (2010) ได้พิสูจน์ว่าสาหร่ายคลอเรลลามีเปปไทด์ที่รู้จักกันในชื่อ *Chlorella-11* (Val-Glu-Cys-Tyr-Gly-Pro-Asn-Arg-Pro-Gln-Phe) ซึ่งต้านการอักเสบที่เกิดจากลิพอโปรตีนจากแบคทีเรียแกรมลบ

2.6.1.2 อาหารสำหรับสัตว์

(1) อนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน

การเพาะพันธุ์ลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนจะต้องมีอาหารให้เพียงพอ อาหารที่สำคัญที่ใช้เลี้ยงลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนนั้นคือ แพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเล็ก เช่น โรติเฟอร์ และไรแดง เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง และไม่ทำให้น้ำเน่าเสีย ขณะเดียวกันแพลงก์ตอนสัตว์ต้องการอาหารจำพวก

แพลงก์ตอนพืช เช่น *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus* และ *Chlorococcum* (กัญญา สุจริตวงศานนท์ และ สัณห์ชัย สุจริตวงศานนท์, 2529)

(2) สำหรับสัตว์เลี้ยง

สาหร่ายขนาดเล็กบางชนิดเหมาะสมที่จะใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์ เช่น การเสริมอาหารสัตว์ด้วย *Chlorella*, *Scenedesmus* และ *Spirulina* ที่ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ปรับปรุงการเจริญพันธุ์ ควบคุมน้ำหนักได้ดีขึ้น ช่วยให้ผิวหนังมีสุขภาพดี และมีขนที่เงางาม (Brennan and Owende, 2010)

2.6.2 พลังงาน

สภาพภูมิอากาศทั่วโลกมีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น เนื่องจากการปล่อยก๊าซเรือนกระจกจากเชื้อเพลิงฟอสซิล ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการค้นคว้า และสำรวจแหล่งพลังงานทางเลือก แบ่งเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ ซึ่งเป็นเชื้อเพลิงที่ผลิตจากกระบวนการทางชีวภาพ เช่น ไบโอแอลกอฮอล์ (เอทานอล โพรพานอล บิวทานอล) ไบโอดีเซล และแก๊สชีวภาพ (ไบโอมีเทน ไบโอไฮโดรเจน) เป็นต้น

2.6.2.1 ไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลเป็นแหล่งเชื้อเพลิงทางเลือกที่สะอาดซึ่งสามารถใช้แทนเชื้อเพลิงฟอสซิลได้ โดยทั่วไปไบโอดีเซลผลิตจากพืช เช่น ถั่วเหลือง และดอกทานตะวัน ซึ่งนำไปสู่ปัญหา เช่น การตัดไม้ทำลายป่า และมลพิษจากดิน ดังนั้น จึงมีการสำรวจแหล่งไขมันอื่นๆ ไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นวัตถุดิบที่มีแนวโน้มดีที่สุดในการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากไม่แข่งขันกับพืชอาหารและมีปริมาณไขมันสูง (สูงถึง 75% น้ำหนัก) การใช้ไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็กในการผลิตไบโอดีเซลยังมีข้อดีในเรื่องของการเผาผลาญแบบมิกซ์โทรฟ (mixotroph) ซึ่งบางชนิดสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้ เช่น *Chlorella protothecoides* โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟีค (heterotrophy) มีค่าใช้จ่ายต่ำ ง่ายกว่า เหมาะสมในสภาพอากาศที่หนาวเย็น และสามารถใช้ของเสียจากกอุตสาหกรรมเกษตรเป็นสารตั้งต้นได้ (Veillette *et al*., 2017)

2.6.2.2 แก๊สชีวภาพ

การผลิตแก๊สชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กเกิดจากการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนของชีวมวลสาหร่ายโดยแบคทีเรียไร้ออกซิเจน ซึ่งกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนประกอบด้วย 4 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ การไฮโดรไลซิส การหมัก การสร้างกรดอะซิติก และการผลิตมีเทน สัดส่วนของแก๊สชีวภาพประกอบด้วย CH_4 (55–75%) และ CO_2 (25–45%) Jankowska *et al*. (2017) ได้รวบรวมผลผลิตแก๊สชีวภาพจากสาหร่าย ตัวอย่างเช่น *Chlorella kessleri* [0.335 L biogas/g.VS (65% CH_4) (0.218 L CH_4/g.VS)]; *Chlorella vulgaris* (0.337 L CH_4/g.VS); *C. vulgaris* (0.180 L CH_4/g.CODin); *C. vulgaris* (0.156 L CH_4/g.COD); *C. vulgaris* [(0.364 L biogas/g.VS) (62.6% CH_4) (0.228 L CH_4/g.VS)]; *C. vulgaris* [(0.366 L biogas/g.VS) (62.5% CH_4) (0.229 L CH_4/g.VS)]; และ *C. vulgaris* (0.139 L CH_4/g.COD)

2.6.3 เครื่องสำอาง

ส่วนประกอบของสาหร่ายคลอเรลลาถูกนำมาใช้ในเครื่องสำอาง สาหร่ายคลอเรลลามีความสามารถในการป้องกันแสงแดดเนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ เอ ในองค์ประกอบ นอกจากนี้สารสกัดจากสาหร่ายคลอเรลลา ยังถูกใช้ในอุตสาหกรรมดูแลผิว เนื่องจากสารบางชนิดจากสารสกัดสาหร่ายคลอเรลลา มีคุณสมบัติต้านวัย ฟื้นฟู บรรเทา และป้องกันการระคายเคืองของผิวหนัง (Stolz and Obermayer, 2005) สาหร่ายคลอเรลลาสามารถผลิตสารเมตาบอไลต์ เช่น สปอโรพอลเลนิน (Sporopollenin) และกรดอะมิโนที่คล้ายไมโคสปอรีน (Mycosporine-like amino acid) เพื่อป้องกันตัวเองจากรังสีอัลตราไวโอเลต (UV) (ตารางที่ 2.5) (Priyadarshani and Rath, 2012)

ตารางที่ 2.5 สารป้องกันรังสี UV ที่ผลิตโดยสาหร่ายคลอเรลลา

UV Screening Compound	Specie
Sporopollenin	*Chlorella fusca*
Mycosporine-like amino acid	*Chlorella minutissima*
	Chlorella sorokiniana

ที่มา: ดัดแปลงจาก Priyadarshani and Rath (2012)

ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ผลิตจากสาหร่ายคลอเรลลาจำหน่ายในเชิงพาณิชย์อยู่หลายรายการ ตัวอย่างเช่น ครีมบำรุงผิวหน้า Sun *Chlorella* Cream ซึ่งผลิตโดยบริษัท Sun *Chlorella* ของญี่ปุ่น โดยใช้สารสกัดจาก *Chlorella pyrenoidosa* ครีมบำรุงผิวหน้านี้ช่วยให้ความชุ่มชื้นแก่ผิว และช่วยในการฟื้นฟูเซลล์ผิว อีกตัวอย่างคือ Dermochlorella ซึ่งผลิตโดยบริษัท ProTec Ingredia ของฝรั่งเศส Dermochlorella ผลิตจากสารสกัด *Chlorella vulgaris* ซึ่งช่วยกระชับผิว ปรับโครงสร้าง และผิวรอบดวงตา นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน และลดลักษณะของรอยแตกลาย

2.6.4 บำบัดน้ำเสีย

การบำบัดน้ำเสีย หมายถึง การดำเนินการเปลี่ยนสภาพของสิ่งที่ปนเปื้อนมากับน้ำให้มีปริมาณลดลงหรือมีปริมาณที่เหมาะสม วัตถุประสงค์หลักของการบำบัดน้ำเสียคือลดสิ่งปนเปื้อนในน้ำ เช่น ไขมัน สารอินทรีย์ สารพิษ และโลหะหนัก ให้หมดไปหรือมีปริมาณน้อยที่สุด เพื่อเปลี่ยนสภาพน้ำให้สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ (สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, 2563) ในการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจะใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์ และรับคาร์บอน ไนโตรเจน แร่ธาตุต่างๆ จากสารอินทรีย์ที่อยู่ในแหล่งน้ำ ดังการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนเซลล์ สาหร่ายช่วยลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำ จึงมีการนำสาหร่ายไปใช้ในการบำบัดน้ำเสีย สาหร่าย *Chlorella* sp. และ *Scenedesmus* sp. ใช้ในการดูดซับสารประกอบไนโตรเจนของเสียจากสัตว์น้ำ (พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย, 2539) จากการศึกษาของ Hammouda *et al*. (1995) ได้ทดสอบ *Chlorella* sp. และ *Scenedesmus* sp. สำหรับการบำบัด

น้ำเสียทั้งในระบบแบทช์และระบบต่อเนื่อง ผู้เขียนรายงานว่ามีการลดปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมีและมีประสิทธิภาพสูงที่ 89% และ 91.7% ในระบบแบทช์และระบบต่อเนื่อง ตามลำดับ ทดสอบการนำสาหร่ายคลอเรลลามาใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ฟาร์มปลา) ด้วยน้ำเสียจากการเผาไหม้ก๊าซจากหม้อไอน้ำ ผู้เขียนจึงได้พิสูจน์สามารถลดการปล่อย CO_2 พร้อมกับผลิตชีวมวลจากสาหร่ายขนาดเล็กได้ในเวลาเดียวกัน (Kuo *et al*., 2016)

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สาหร่ายคลอเรลลา

หัวเชื้อสาหร่ายคลอเรลลา จากกองวิจัย และพัฒนาอาหารสัตว์น้ำ กรมประมง กรุงเทพฯ

3.2 อุปกรณ์ และสารเคมี

3.2.1 ปุ๋ยสำหรับการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา ประกอบด้วย ปุ๋ยสูตรเสมอ (16-16-16) ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ปลาป่น และอามิ-อามิ

3.2.2 อุปกรณ์ในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน ได้แก่ ถังทดลองพลาสติกทรงกลมขนาด 200 ลิตร หัวทราย สายออกซิเจน ปั๊มลม ปลั๊กไฟ ปั๊มน้ำ SONIC-AP1600 อัตราการไหล 900 ลิตร/ชั่วโมง 50 เฮิรตซ์ กำลังไฟฟ้า 20-23 วัตต์ ท่อ PE เครื่องเป่าลมร้อน ข้องอ 90 °C ข้อต่อสามทาง และวาล์วปรับแรงดันน้ำ ถุงกรองแพลงก์ตอน ขวดเก็บน้ำ วัดค่าความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิด้วยเครื่อง pH meter

3.2.3 อุปกรณ์ควบคุมระยะเวลาในการกวนด้วยเครื่องตั้งเวลา (Timer)

3.2.4 อุปกรณ์ในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกัน ประกอบด้วย ถังทดลองขนาด 20 ลิตร หลอดไฟ LED สีขาว (380-760 นาโนเมตร) สีแดง (630-680 นาโนเมตร) สีน้ำเงิน (400-480 นาโนเมตร) กำลังไฟฟ้า 6 วัตต์

3.2.5 อุปกรณ์ในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยการเปรียบเทียบระหว่างแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน ประกอบด้วย ถังทดลองขนาด 20 ลิตร หลอดไฟฟูลสเปคตรัม (400-700 นาโนเมตร) สีแดง (630-680 นาโนเมตร) สีน้ำเงิน (400-480 นาโนเมตร) กำลังไฟฟ้า 18 วัตต์

3.2.6 อุปกรณ์ในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบและระยะเวลากวน ช่วงความยาวคลื่นแสงและระยะเวลาให้แสง LED ได้แก่ เครื่องวัดแสง Light meter รุ่น LI-250A

3.2.7 อุปกรณ์การนับเซลล์ ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ สไลด์นับเซลล์ (Hemacytometers) เครื่องนับจำนวน ดรอปเปอร์ และหลอดทดลอง

3.2.8 อุปกรณ์การหาน้ำหนักแห้งเซลล์ ประกอบด้วย กระดาษกรอง GF/C (Glass fiber filter) ขนาด 55 มม. ชุดกรองแพลงก์ตอน ขวดรูปชมพู่ 125 มล. กระบอกตวง 100 มล. ขวดน้ำกลั่น เครื่องดูดอากาศ เครื่องอบ เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง ฟอร์เซฟ และถาดสแตนเลท

3.2.9 อุปกรณ์การวัดการเจริญเติบโต ประกอบด้วย คิวเวท และเครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง Spectrophotometer รุ่น GENESYS 10S Vis

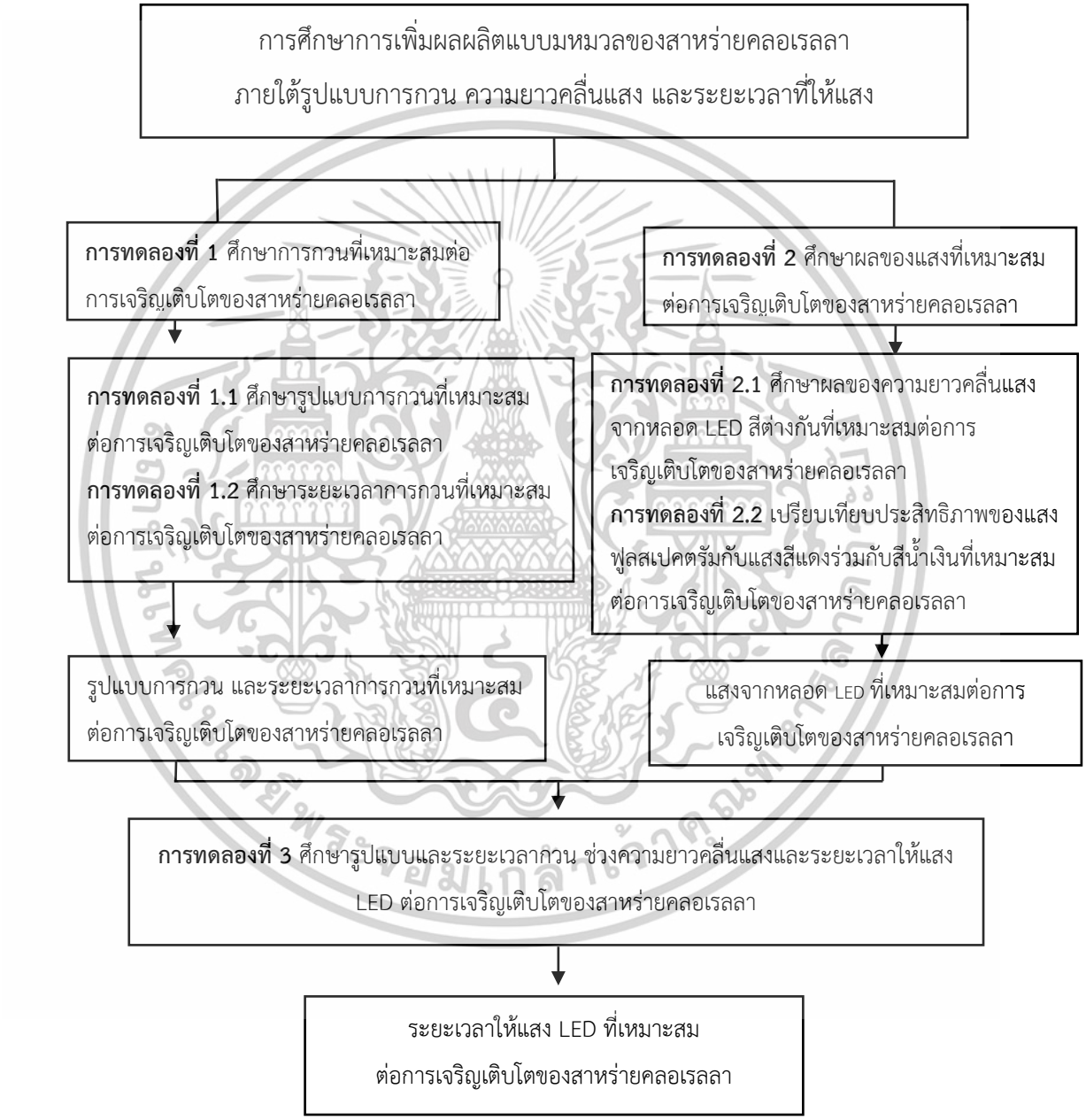
3.2.10 อุปกรณ์วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll a) และปริมาณฟีโอไฟติน (pheophytin) ประกอบด้วย กระดาษกรอง GF/C (Glass fiber filter) ขนาด 55 มม. ชุดกรอง

แพลงก์ตอน เครื่องดูดอากาศ กระบอกตวง ฟอร์เซฟ หลอด centrifuge เครื่องปั่นเหวี่ยง โกร่งบดยา ตู้เย็น ไมโครปิเปต และทิป

3.2.11 สารเคมีวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และปริมาณฟีโอไฟติน ประกอบด้วย Acetone 90%, HCl 0.1N และ $MgCO_3$ 1%

3.3 แผนผังการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 ปัจจัย ได้แก่ การกวน และผลของแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา หลังจากนั้นนำผลการทดลองที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยมาศึกษารูปแบบและระยะเวลากวน ช่วงความยาวคลื่นแสงและระยะเวลาให้แสง LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ดังภาพ 3.1



ภาพที่ 3.1 แผนผังการศึกษาการเพิ่มผลผลิตแบบมหมวลของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวน ความยาวคลื่นแสง และระยะเวลาที่ให้แสง

3.4 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายคลอเรลลา

ทำการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในสูตรอาหารที่ดัดแปลงจากกรมประมง (ภานุ เทวรัตน์มณีกุล และคณะ, 2549) เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ก่อนการใช้ทดลอง เพาะเลี้ยงพื้นที่กลางแจ้ง ในถังขนาด 200 ลิตร และให้อากาศผ่านหัวทรายตลอดเวลา ระยะเวลา 5 วัน

3.5 วิธีการดำเนินงานทดลอง

3.5.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ประกอบด้วย 2 การทดลอง ดังนี้

3.5.1.1 การทดลองที่ 1.1 ศึกษารูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ปัจจัยที่ศึกษาคือ เพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวน แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ ระยะเวลาทดลอง 10 วัน (ภาพที่ 3.2) ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 การกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ

ชุดการทดลองที่ 3 การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง

ชุดการทดลองที่ 4 การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 ชุดการทดลองที่ 3 ชุดการทดลองที่ 4

ภาพที่ 3.2 รูปแบบการกวนที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

(1) การเตรียมระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

ชุดการทดลองที่ 1 เตรียมอุปกรณ์การกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย ติดตั้งปั๊มออกซิเจนให้อากาศผ่านหัวทราย เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ชุดการทดลองที่ 2 เตรียมอุปกรณ์การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ เตรียมปั๊มน้ำโดยใช้ปั๊ม SONIC-AP1600 อัตราการไหล 900 ลิตร/ชั่วโมง 50 เฮิรตซ์ กำลังไฟฟ้า 20-23 วัตต์ ตัวกำหนดทิศทางน้ำในแนวราบใช้ท่อ PE ขนาด 14 มม. ยาว 30 ซม. ใช้เครื่องเป่าลมร้อน

เป่าเพื่อดัดทรงท่อ PE ให้มีลักษณะโค้งตามแนวถัง จากนั้นนำมาต่อกับตัวปั๊มน้ำ ติดตั้งปั๊มบริเวณก้นถังเลี้ยงหมุนทิศทางตามเข็มนาฬิกา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ชุดการทดลองที่ 3 เตรียมอุปกรณ์การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง เตรียมปั๊มน้ำโดยใช้ปั๊ม SONIC-AP1600 อัตราการไหล 900 ลิตร/ชั่วโมง 50 เฮิรตซ์ กำลังไฟฟ้า 20-23 วัตต์ ตัวกำหนดทิศทางน้ำในแนวตั้งใช้ท่อ PE ขนาด 14 มม. ยาว 10 ซม. ต่อกับข้องอ 90 °C จากนั้นนำมาต่อกับปั๊มน้ำ ติดตั้งปั๊มบริเวณก้นถังเลี้ยงให้เกิดการหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ชุดการทดลองที่ 4 เตรียมอุปกรณ์การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง เตรียมปั๊มน้ำโดยใช้ปั๊ม SONIC-AP1600 อัตราการไหล 900 ลิตร/ชั่วโมง 50 เฮิรตซ์ กำลังไฟฟ้า 20-23 วัตต์ ตัวกำหนดทิศทางน้ำในแนวราบรวมกับแนวตั้งใช้ท่อ PE ขนาด 14 มม. ยาว 5 ซม. จำนวน 1 อัน ต่อเข้ากับปั๊มน้ำ นำสามทางมาต่อเชื่อมทางระหว่างการหมุนแนวราบกับแนวตั้ง โดยเริ่มจากการต่อการกวนแนวตั้งก่อน ต่อท่อ PE ขนาด 14 มม. ยาว 5 ซม. จำนวน 1 อัน เข้าวาล์วปรับแรงดันน้ำเพื่อจะได้การกวนแนวตั้ง จากนั้นนำท่อ PE ขนาด 14 มม. ยาว 30 ซม. เป่าลมร้อนเป่าเพื่อดัดทรงท่อ PE ให้มีลักษณะโค้งตามแนวถัง แล้วต่อวาล์วปรับแรงดันน้ำ จำนวน 1 อัน จะได้การกวนแนวราบนำไปต่อกับสามทางอีกด้าน จากนั้นติดตั้งปั๊มบริเวณก้นถังเลี้ยงหมุนทิศทางตามเข็มนาฬิกา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

(2) การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

อาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาดัดแปลงจากกรมประมง ประกอบด้วย ปุ๋ยสูตรเสมอ (16-16-16) 0.15 กรัม/ลิตร ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) 0.15 กรัม/ลิตร ปลาป่น 0.2 กรัม/ลิตร และอามิ-อามิ 0.8 มล./ลิตร

(3) ขั้นตอนในการทดลอง

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ในถังทดลองบรรจุน้ำผสมอาหาร 100 ลิตร ความลึกของน้ำ 34 ซม. ในถังทดลองขนาด 200 ลิตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 73.6 ซม. สูง 68 ซม. โดยเติมสาหร่ายคลอเรลลาในถังเพาะเลี้ยงมีจำนวนเซลล์เริ่มต้น 4.7×10^4 เซลล์/มล. ตามชุดการทดลองที่กำหนดไว้ และเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาพื้นที่กลางแจ้ง

(4) การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา และ pH ของน้ำ

วัดค่าความเป็นกรดด่างของน้ำ (pH) ด้วยเครื่อง pH meter และเก็บน้ำโดยใช้ถุงกรองแพลงก์ตอนขนาด 30 ไมครอน เพื่อแยกเฉพาะสาหร่ายคลอเรลลา เนื่องจากขนาด 2-10 ไมครอน จะมีสิ่งสกปรกต่างๆ ติดมากับน้ำ จากนั้นกรองน้ำสาหร่ายคลอเรลลาที่ปริมาตร 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 อีกส่วนหนึ่งนำมาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร (Gunawan *et al.*, 2018) ด้วยเครื่อง

Spectrophotometer รุ่น GENESYS 10S Vis เพื่อหาปริมาณเซลล์ และนับจำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาด้วยสไลด์นับเซลล์ โดยหยดน้ำสาหร่ายคลอเรลลาบนสไลด์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า เก็บข้อมูลทุกวันเป็นระยะเวลา 10 วัน

(5) การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ และปริมาณฟีโอไฟติน

เก็บน้ำสาหร่ายคลอเรลลาปริมาตร 50 มล. จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C (Glass fiber filter) ขนาด 55 มม. บดกระดาษกรองด้วยที่บดเซลล์ให้ละเอียด แล้วเติมอะซีโตน 90 % ลงในภาชนะที่ใช้บดปริมาตร 10 มล. ถ่ายตัวอย่างทั้งหมดลงในหลอดเซนติฟิวก์ (centrifuge tube) สีชา หรือหลอดทึบแสง เก็บที่ 4°C เป็นเวลา 6-24 ชั่วโมง นำตัวอย่างในหลอดเซนติฟิวก์มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500 รอบ นาน 10 นาที ด้วยเครื่องเซนติฟิวก์รุ่น Consul 21R ค่อย ๆ ดูดสารละลายที่มีสี ด้านบน คือคลอโรฟิลล์และรงควัตถุอื่น ๆ ที่ละลายอยู่ในอะซีโตน ออกมาวัดการดูดกลืนแสง โดยระวังอย่าให้รบกวนตะกอนด้านล่าง วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750, 663, 645, 630 นาโนเมตร นำมาคำนวณโดยหักลบค่าความขุ่นจาก 750 นาโนเมตร ก่อน (EPA, 1991) คำนวณคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ตามสมการ (3.1)

$$\text{คลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัม/ลิตร)} = \frac{[11.64\,(Abs663) - 2.16\,(Abs645) + 0.1\,(Abs630)]\,E(F)}{V\,(L)} \quad 3.1$$

ทำการวัดตัวอย่างอีกครั้งหลังจากเติมกรดลงไปเพื่อหาค่า Pheophytin แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 และ 665 นาโนเมตร โดยหักลบค่าความขุ่นจาก 750 นาโนเมตร ก่อน (EPA, 1991) แล้วคำนวณตามสมการ (3.2) และ (3.3)

$$\text{ฟีโอไฟติน (ไมโครกรัม/ลิตร)} = \frac{26.73\,(1.7 \times [665a] - 663b)\,E(F)}{V\,(L)} \quad 3.2$$

$$\text{*คลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัม/ลิตร)} = \frac{26.73\,(663b - 630a)\,E(F)}{V\,(L)} \quad 3.3$$

หมายเหตุ: *คลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัม/ลิตร) ที่หักค่าฟีโอไฟตินแล้ว

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

3.5.1.2 การทดลองที่ 1.2 ศึกษาระยะเวลาการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

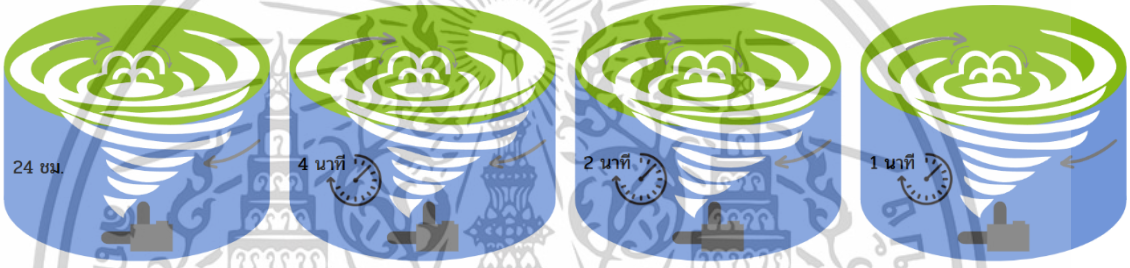
วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ปัจจัยที่ศึกษาคือ ระยะเวลาการกวน โดยใช้รูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาจากผลการทดลองที่ 1.1 คือ การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลองชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ ระยะเวลาทดลอง 10 วัน (ภาพที่ 3.3) ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาระยะเวลากวน 4/16 นาที (กวน/หยุด)

ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาระยะเวลากวน 2/8 นาที (กวน/หยุด)

ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาระยะเวลากวน 1/4 นาที (กวน/หยุด)



ชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 ชุดการทดลองที่ 3 ชุดการทดลองที่ 4

ภาพที่ 3.3 ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

(1) การเตรียมระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

ชุดการทดลองที่ 1 ตั้งระยะเวลาการกวนโดยใช้เครื่องตั้งเวลาระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง

ชุดการทดลองที่ 2 ตั้งระยะเวลาการกวนโดยใช้เครื่องตั้งเวลาระยะเวลากวน 4 นาที (เวลากวน 3 ครั้ง/ชั่วโมง) และเวลาหยุดทำงาน 16 นาที

ชุดการทดลองที่ 3 ตั้งระยะเวลาการกวนโดยใช้เครื่องตั้งเวลาระยะเวลากวน 2 นาที (เวลากวน 6 ครั้ง/ชั่วโมง) และเวลาหยุดทำงาน 8 นาที

ชุดการทดลองที่ 4 ตั้งระยะเวลาการกวนโดยใช้เครื่องตั้งเวลาระยะเวลากวน 1 นาที (เวลากวน 12 ครั้ง/ชั่วโมง) และเวลาหยุดทำงาน 4 นาที

(2) การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (2)

(3) ขั้นตอนในการทดลอง

เพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (3)

(4) การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา และ pH ของน้ำ

วัดอุณหภูมิของน้ำ และบันทึกข้อมูลทุกวันเป็นระยะเวลา 10 วัน ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (4)

(5) การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ และปริมาณฟีโอไฟติน

วิธีการวิเคราะห์ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (5)

(6) คำนวณค่าพลังงานไฟฟ้า

กำลังไฟฟ้า (วัตต์) x จำนวนเครื่องใช้ไฟฟ้า ÷ 1000 x จำนวนชั่วโมงที่ใช้ใน 1 วัน = จำนวนหน่วยต่อวัน (ยูนิต)

3.5.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ประกอบด้วย 2 การทดลอง ดังนี้

3.5.2.1 การทดลองที่ 2.1 ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

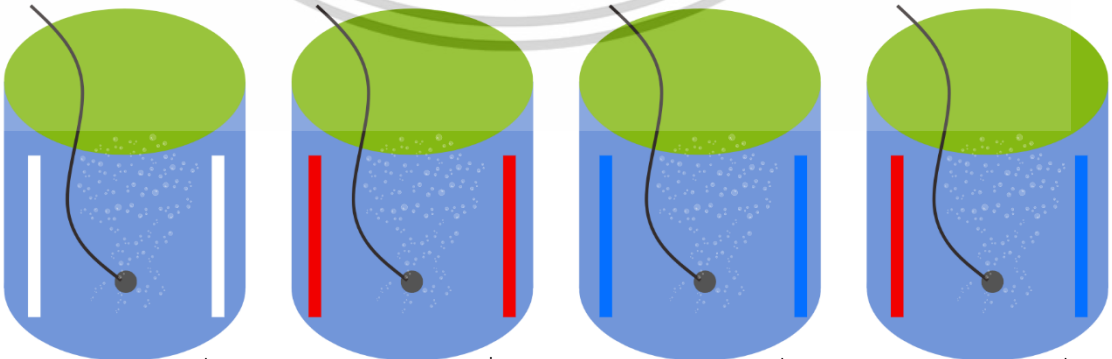
วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยแหล่งกำเนิดจากหลอดไฟ LED กันน้ำที่มีความยาวคลื่นแสงของสีต่างกัน 4 สี ได้แก่ สีขาว (380-760 นาโนเมตร) (ชุดควบคุม) สีแดง (630-680 นาโนเมตร) สีน้ำเงิน (400-480 นาโนเมตร) และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน (630-680, 400-480 นาโนเมตร) แบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ ระยะเวลาทดลอง 10 วัน (ภาพที่ 3.4) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยให้ความยาวคลื่น 380-760 นาโนเมตร (แสงสีขาว) จากหลอด LED

ชุดการทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยให้ความยาวคลื่น 630-680 นาโนเมตร (แสงสีแดง) จากหลอด LED

ชุดการทดลองที่ 3 การเพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยให้ความยาวคลื่น 400-480 นาโนเมตร (แสงสีน้ำเงิน) จากหลอด LED

ชุดการทดลองที่ 4 การเพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยให้แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินจากหลอด LED



ภาพที่ 3.4 ความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

(1) การเตรียมระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

ชุดการทดลองที่ 1 เพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยติดตั้งไฟ LED แสงสีขาวจำนวน 2 หลอด ที่ความยาวคลื่นแสง 380-760 นาโนเมตร กำลังไฟฟ้า 6 วัตต์ บริเวณข้างถังเลี้ยงขนาด 20 ลิตร และให้อากาศด้วยหัวทรายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลี้ยงในพื้นที่ที่ไม่มีแสงภายนอกรบกวน

ชุดการทดลองที่ 2 เพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยติดตั้งไฟ LED แสงสีแดงจำนวน 2 หลอด ที่ความยาวคลื่นแสง 630-680 นาโนเมตร กำลังไฟฟ้า 6 วัตต์ บริเวณข้างถังเลี้ยงขนาด 20 ลิตร และให้อากาศด้วยหัวทรายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลี้ยงในพื้นที่ไม่มีแสงภายนอกรบกวน

ชุดการทดลองที่ 3 เพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยติดตั้งไฟ LED แสงสีน้ำเงินจำนวน 2 หลอด ที่ความยาวคลื่นแสง 400-480 นาโนเมตร กำลังไฟฟ้า 6 วัตต์ บริเวณข้างถังเลี้ยงขนาด 20 ลิตร และให้อากาศด้วยหัวทรายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลี้ยงในพื้นที่ไม่มีแสงภายนอกรบกวน

ชุดการทดลองที่ 4 เพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยติดตั้งไฟ LED แสงสีแดงจำนวน 1 หลอด และสีน้ำเงินจำนวน 1 หลอด ที่ความยาวคลื่นแสง 400-680 นาโนเมตร กำลังไฟฟ้า 6 วัตต์ บริเวณข้างถังเลี้ยงขนาด 20 ลิตร และให้อากาศด้วยหัวทรายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลี้ยงในพื้นที่ไม่มีแสงภายนอกรบกวน

(2) การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (2)

(3) ขั้นตอนในการทดลอง

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ในถังทดลองบรรจุน้ำผสมอาหาร 18 ลิตร ในถังทดลองขนาด 20 ลิตร โดยเติมสาหร่ายคลอเรลลาในถังเพาะเลี้ยงมีจำนวนเซลล์เริ่มต้น 4.7×10^4 เซลล์/มล. ตามชุดการทดลองที่กำหนดไว้ และเลี้ยงสาหร่ายในพื้นที่ที่ไม่มีแสงจากภายนอกรบกวน

(4) การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

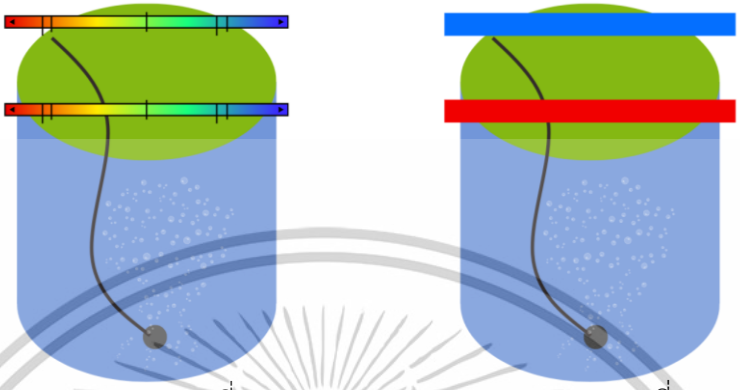
เก็บน้ำโดยใช้ถุงกรองแพลงก์ตอนขนาด 30 ไมครอน กรองน้ำสาหร่ายคลอเรลลาที่ปริมาตร 50 มล. จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร (Gunawan *et al.,* 2018) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น GENESYS 10S Vis เพื่อหาปริมาณเซลล์ เก็บข้อมูลทุกๆ 2 วัน เป็นระยะเวลา 10 วัน

3.5.2.2 การทดลองที่ 2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

เปรียบเทียบชุดการทดลองแบบ Independent sample t-test โดยศึกษาเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน โดยใช้ผลการทดลองที่ดีสุดของการทดลองที่ 2.1 คือ แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ (ภาพที่ 3.5) ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยให้แสงฟูลสเปคตรัม (400-700 นาโนเมตร)

ชุดการทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยให้แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินจากหลอด LED สีแดง (630-680 นาโนเมตร) และสีน้ำเงิน (400-480 นาโนเมตร)



ชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2

ภาพที่ 3.5 แสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

(1) การเตรียมระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

ชุดการทดลองที่ 1 เพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยติดตั้งแสงฟูลสเปคตรัม จำนวน 4 หลอด ที่ความยาวคลื่นแสง 400-700 นาโนเมตร กำลังไฟฟ้า 18 วัตต์ บริเวณข้างบนถังเลี้ยงขนาด 20 ลิตร และให้อากาศด้วยหัวทรายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลี้ยงในพื้นที่ที่ไม่มีแสงภายนอกรบกวน

ชุดการทดลองที่ 2 เพาะเลี้ยงคลอเรลลา โดยติดตั้งหลอด LED แสงสีแดงจำนวน 2 หลอด ที่ความยาวคลื่นแสง 630-680 นาโนเมตร และแสงสีน้ำเงินจำนวน 2 หลอด ที่ความยาวคลื่นแสง 400-480 นาโนเมตร กำลังไฟฟ้า 18 วัตต์ บริเวณข้างบนถังเลี้ยงขนาด 20 ลิตร และให้อากาศด้วยหัวทรายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลี้ยงในพื้นที่ที่ไม่มีแสงภายนอกรบกวน

(2) การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (2)

(3) ขั้นตอนในการทดลอง

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1 ข้อ (3)

(4) การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา และ pH ของน้ำ

วัดอุณหภูมิของน้ำ และบันทึกข้อมูลทุกวันเป็นระยะเวลา 10 วัน ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (4)

(5) การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ และปริมาณฟีโอไฟติน

วิธีการวิเคราะห์ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (5)

3.5.3 การทดลองที่ 3 ศึกษารูปแบบและระยะเวลากวน ช่วงความยาวคลื่นแสงและระยะเวลาให้แสงจากหลอด LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

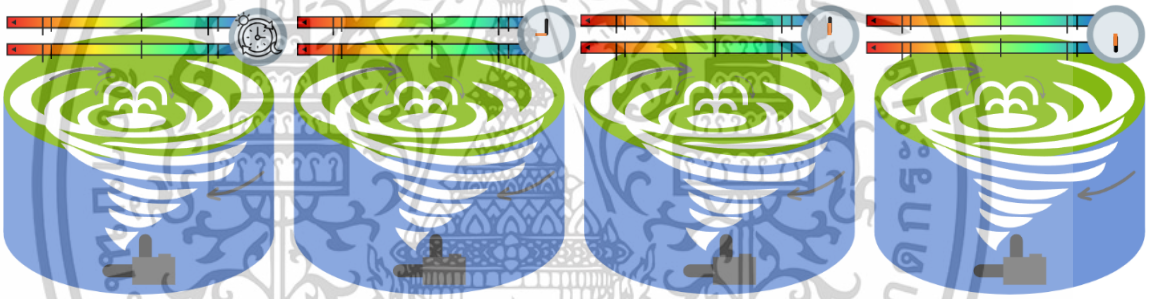
วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ศึกษาทำการทดลองเดือนมีนาคมโดยตั้งระยะเวลาให้แสงเพิ่มขึ้นในช่วงกลางคืน ตั้งแต่ 18.00 น. ใช้แสงจากผลการทดลองที่ดีที่สุดของการทดลองที่ 2.2 คือ แสงฟูลสเปคตรัม แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ ระยะเวลาทดลอง 10 วัน (ภาพที่ 3.6) ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงจากธรรมชาติ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 เพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 3 ชั่วโมง (15/9, สว่าง/มืด)

ชุดการทดลองที่ 3 เพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 6 ชั่วโมง (18/6, สว่าง/มืด)

ชุดการทดลองที่ 4 เพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 12 ชั่วโมง (24/0, สว่าง/มืด)



ชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2 ชุดการทดลองที่ 3 ชุดการทดลองที่ 4

ภาพที่ 3.6 ระยะเวลาให้แสงจากหลอด LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

3.5.3.1 การเตรียมระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

ชุดการทดลองที่ 1 ให้แสงจากธรรมชาติในช่วงเดือนมีนาคม ติดตั้งระบบการกวนที่เหมาะสมตามผลการทดลองที่ 1.1 คือ รูปแบบการกวนในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง และตั้งระยะเวลาที่เหมาะสมตามผลการทดลองที่ 1.2 คือ การกวน 1/4 นาที

ชุดการทดลองที่ 2 ตั้งระยะเวลาให้แสง LED เพิ่ม 3 ชั่วโมง (15/9, สว่าง/มืด) โดยจะให้แสงเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 18.00 น. จนถึง 21.00 น. รวมเวลาให้แสงทั้งหมด 15 ชั่วโมง (แสงจากธรรมชาติ 12 ชั่วโมง, แสงจากหลอดไฟ LED 3 ชั่วโมง)

ชุดการทดลองที่ 3 ตั้งระยะเวลาให้แสง LED เพิ่ม 6 ชั่วโมง (18/6, สว่าง/มืด) โดยจะให้แสงเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 18.00 น. จนถึง 00.00 น. รวมเวลาให้แสงทั้งหมด 18 ชั่วโมง (แสงจากธรรมชาติ 12 ชั่วโมง, แสงจากหลอดไฟ LED 6 ชั่วโมง)

ชุดการทดลองที่ 4 ตั้งระยะเวลาให้แสง LED เพิ่ม 12 ชั่วโมง (24/0, สว่าง/มืด) โดยจะให้แสงเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 18.00 น. จนถึง 6.00 น. รวมเวลาให้แสงทั้งหมด 24 ชั่วโมง (แสงจากธรรมชาติ 12 ชั่วโมง, แสงจากหลอดไฟ LED 12 ชั่วโมง)

ชุดการทดลองที่ 2-4 ติดตั้งระบบการกวนที่เหมาะสมตามผลการทดลองที่ 1.1 คือ รูปแบบการกวนในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง และตั้งระยะเวลาที่เหมาะสมตามผลการทดลองที่ 1.2 คือ การกวน 1/4 นาที และแสงจากหลอด LED ที่เหมาะสมตามผลการทดลองที่ 2.2 คือ แสงฟูลสเปคตรัม

3.5.3.2 การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (2)

3.5.3.3 ขั้นตอนในการทดลอง

เพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (3)

3.5.3.4 การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา และ pH ของน้ำ

อุณหภูมิของน้ำ และบันทึกข้อมูลทุกวันเป็นระยะเวลา 10 วัน ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (4)

3.5.3.5 การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ และปริมาณฟีโอไฟติน

วิธีการวิเคราะห์ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 ข้อ (5)

3.5.3.6 วัดปริมาณแสง

วัดแสงทั้งหมด 3 วัน ได้แก่ วันที่ 0, 5 และ 10 เวลา 9.30, 13.30 และ 15.30 น.

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลการเจริญเติบโต และปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายคลอเรลลา มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance; ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองตามวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วย Independent sample t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 16.0

3.7 สถานที่ทำการวิจัย

สาขาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการจัดการทรัพยากรทางน้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.8 ระยะเวลาทำการทดลอง

กุมภาพันธ์ 2566 - เมษายน 2567

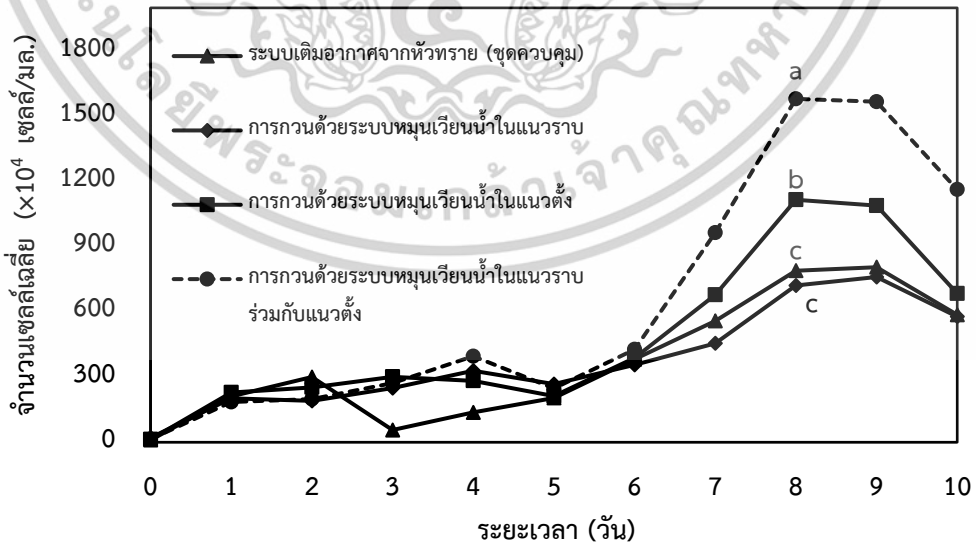
บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การทดลองที่ 1 การกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา ประกอบด้วย 2 การทดลอง ดังนี้

4.1.1 การทดลองที่ 1.1 ศึกษารูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

4.1.1.1 จำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน ได้แก่ การกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง และการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า ทุกชุดการทดลองมีปริมาณจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงระยะปรับตัว (Lag phase) ไปสู่ระยะการเพิ่มเซลล์อย่างรวดเร็วหรือระยะเอ็กซ์โพแนนเชียล (Exponential phase) ภายในวันที่ 6 ส่งผลต่อปริมาณธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาทำให้เข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) ในวันที่ 8 และเข้าสู่ระยะการตายของแพลงก์ตอน (Death phase) ในวันที่ 9 เมื่อเทียบกับชุดการทดลองจะเห็นได้ว่ามีจำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาลดลง จากการทดลองพบว่า ทุกชุดการทดลองมีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 มีค่า 789.64×10^4, 721.63×10^4, $1,116.28\times10^4$ และ $1,580.08\times10^4$ เซลล์/มล. ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($p\leq0.05$) (ภาพที่ 4.1 และตารางผนวกที่ 1)

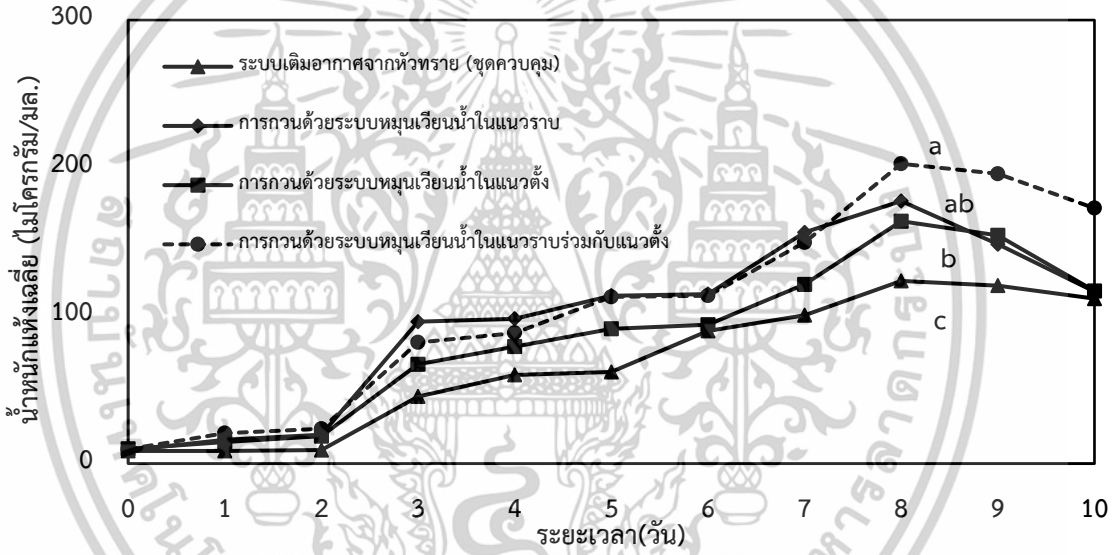


ภาพที่ 4.1 จำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

4.1.1.2 น้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกันต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลา พบว่า ทุกชุดการทดลองมีน้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลาเพิ่มขึ้นตั้งแต่เริ่มการทดลองจนมีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงครบ 8 วัน ซึ่งรูปแบบการกวนที่มีน้ำหนักแห้งสูงสุดได้แก่ การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง 202.80 ไมโครกรัม/มล. รองลงมาเป็นการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ 177.60 ไมโครกรัม/มล. การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง 164.00 ไมโครกรัม/มล. และการกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) 123.60ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ โดยที่น้ำหนักแห้งมีค่าลดลงในวันที่ 9 และลดลงเรื่อย ๆ จนสิ้นสุดการทดลอง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 4.2 และตารางผนวกที่ 2)

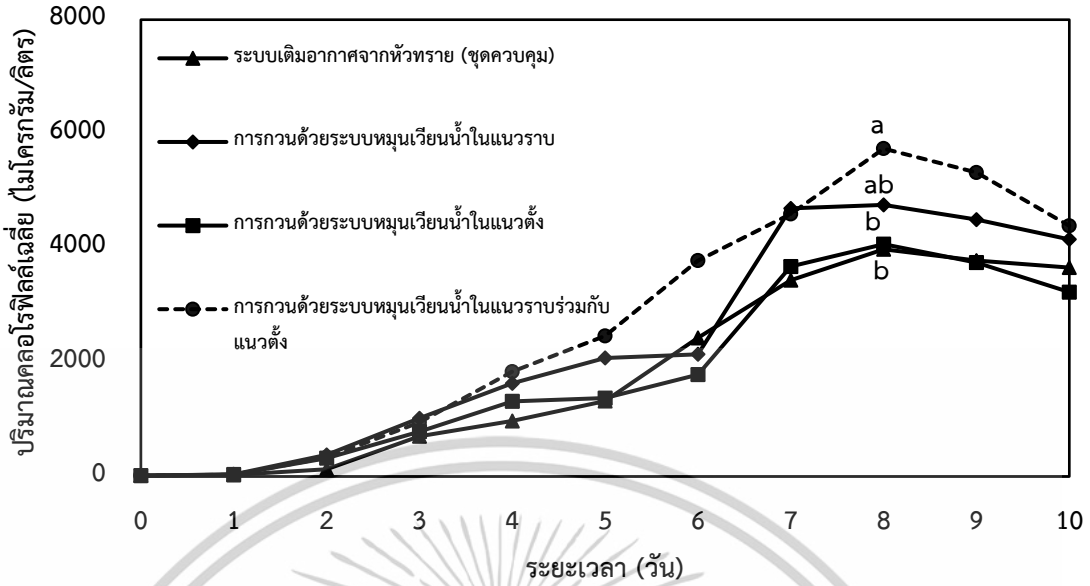


ภาพที่ 4.2 น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.1.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ พบว่า เมื่อเลี้ยงเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาครบ 8 วัน ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งมีค่าสูงสุด 5,741.60 ไมโครกรัม/ลิตร ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลองอื่นๆ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 4.3 และตารางผนวกที่ 3)



ภาพที่ 4.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน

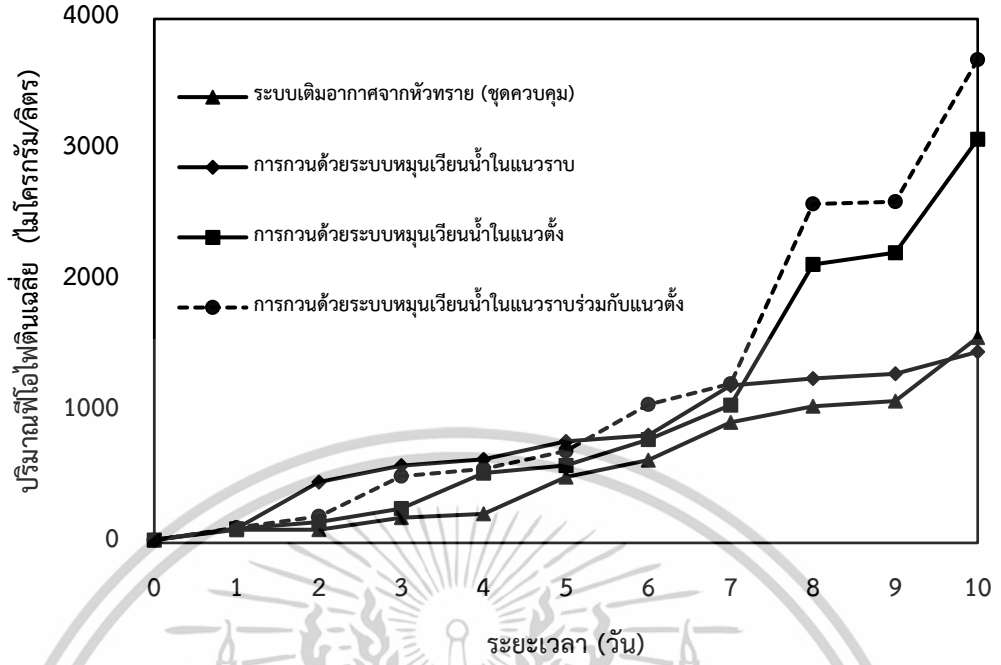
หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.1.4 ปริมาณฟีโอไฟตินของสาหร่ายคลอเรลลา

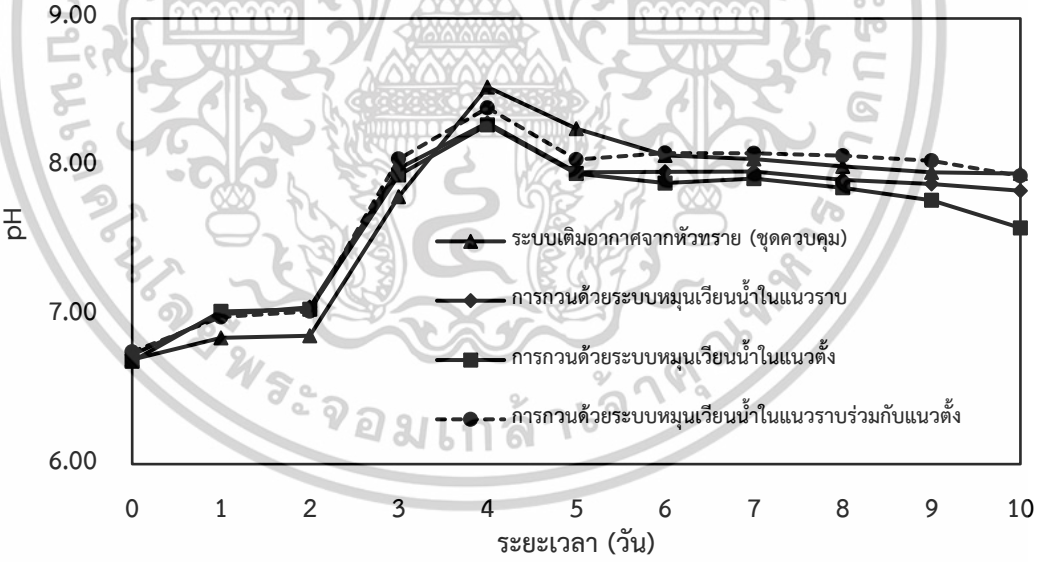
จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกันต่อปริมาณ ฟีโอไฟติน พบว่าตั้งแต่วันที่ 1 ทุกชุดการทดลองมีปริมาณฟีโอไฟตินเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 8 ของการทดลองมีค่า 1,043.00, 1,255.24, 2,125.57 และ 2,587.80 ไมโครกรัม/ลิตร ($p \leq 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองรูปแบบการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งมีค่าสูงสุดมีค่า เท่ากับ 3,688.74 ไมโครกรัม/ลิตร ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ภาพที่ 4.4 และตารางผนวกที่ 4)

4.1.1.5 ความเป็นกรดด่าง (pH) ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกันต่อความเป็นกรดด่างของน้ำ พบว่า วันที่ 8 ของการทดลองมีค่า pH เท่ากับ 8.00, 7.91, 7.86 และ 8.08 ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($p \leq 0.05$) ซึ่งตลอดระยะเวลา 10 วัน pH ของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่างช่วง 6.70-8.54, 6.74-8.30, 6.69-8.28 และ 6.76-8.40 ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ภาพที่ 4.5 และตารางผนวกที่ 5)



ภาพที่ 4.4 ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 4.5 pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่าง 4 รูปแบบ ได้แก่ การกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม), การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ, การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง และการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง ระยะเวลาทดลอง 10 วัน พบว่า การกวนด้วยระบบหมุนเวียน

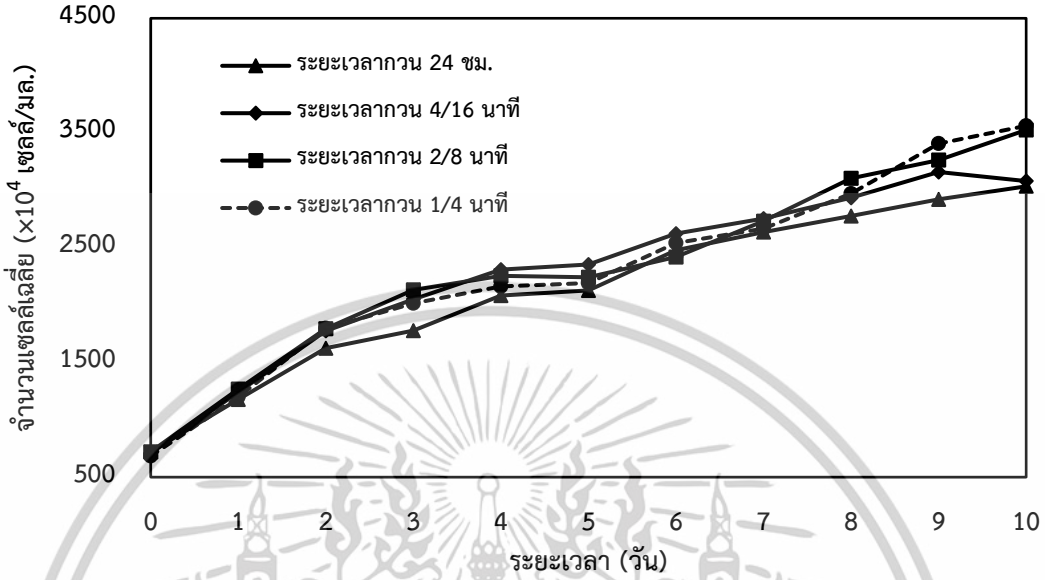
น้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งส่งผลให้จำนวนเซลล์ และน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น เนื่องจากปั๊มน้ำช่วยป้องกันการรวมกลุ่มของเซลล์คลอเรลลา ทำให้เซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลาไม่ตกตะกอน โดยการทำงานและทิศทางของปั๊มน้ำส่งผลให้มีการหมุนเวียนสาหร่ายตลอดเวลา ทำให้สาหร่ายคลอเรลลาสามารถดูดซับ CO_2 ในบรรยากาศ และปล่อย O_2 นอกจากนี้ยังช่วยเรื่องการผสมของอาหารเหลว (ปุ๋ย) ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (Jiménez *et al*., 2003) สาหร่ายจึงนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับ Henrard *et al*. (2015) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไซยาโนเบียม (*Cyanobium* sp.) และคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) ภายใต้การกวนที่แตกต่างกัน พบว่าการกวนด้วยปั๊มน้ำสามารถช่วยให้สาหร่ายไซยาโนเบียม และคลอเรลลามีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าเมื่อเทียบกับรูปแบบการกวนโดยใช้ใบพัด และหัวทราย ซึ่งมีความเข้มข้นของชีวมวลสูงสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่าปั๊มน้ำช่วยให้ผลผลิตชีวมวลเพิ่มขึ้น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับรูปแบบการกวนชนิดอื่นๆ ในรายงานของ สุนทรต์ ชูลักษณ์ และคณะ (2564) กล่าวว่าสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในเซลล์แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และปัจจัยภายนอกอื่นๆ เช่น อุณหภูมิ และความเข้มของแสง เป็นต้น ซึ่งจะพบคลอโรฟิลล์อยู่ในช่วงร้อยละ 0.5 ถึง 4 ของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย (Levasseur *et al*., 2020) ปริมาณฟีโอไฟตินเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์จากการศึกษานี้ปริมาณฟีโอไฟตินสูงสุดเมื่อสิ้นสุดการทดลองซึ่งเข้าสู่ระยะการตายของสาหร่ายทำให้มีการผลิตคลอโรฟิลล์ลดลง พัตรเพ็ญ เพ็ญจำรัส และคณะ (2562) กล่าวว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาฟีโอไฟติไนเซชั่น (Pheophytinization) คือ แมกนีเซียมไอออนจะถูกแทนที่ด้วยไฮโดรเจนอะตอม ทำให้คลอโรฟิลล์ถูกเปลี่ยนโครงสร้างเป็นฟีโอไฟติน จึงเป็นการสูญเสียแร่ธาตุแมกนีเซียมออกไปจากโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ สีเขียวของพืชจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (Olive-brown) ของฟีโอไฟติน และ pH ของน้ำอยู่ที่ช่วง 6.76-8.40 จากรายงานของ เจนจิรา แซ่คู และธนวรรณ พาณิชพัฒน์ (2560) กล่าวว่าในช่วง 7.99-8.98 จัดอยู่ในน้ำที่มีค่าความเป็นด่างเล็กน้อย และเป็นช่วงที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดี

4.1.2 การทดลองที่ 1.2 ศึกษาระยะเวลาการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

4.1.2.1 จำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวน โดยใช้รูปแบบการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาจากผลการทดลองที่ 1.1 คือ การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม) ระยะเวลากวน 4/16 ระยะเวลากวน 2/8 และระยะเวลากวน 1/4 นาที (กวน/หยุด) เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า ทุกชุดการทดลองมีปริมาณจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เริ่มการทดลองซึ่งวันที่ 9 มีค่า $2,921.25\times10^4$ $3,160.00\times10^4$ $3,263.75\times10^4$ และ $3,407.50\times10^4$ เซลล์/มล. ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่

เมื่อสิ้นสุดการทดลองระยะเวลากวน 1/4 นาที มีจำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาสูงสุดที่ 3,562.50×10^4 เซลล์/มล. ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.6 และตารางผนวกที่ 6)



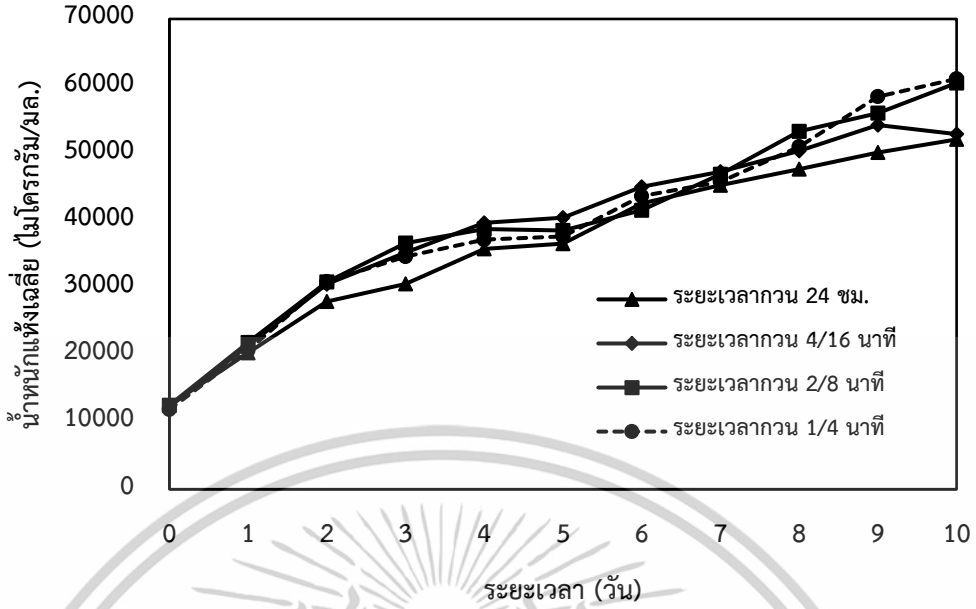
ภาพที่ 4.6 จำนวนเซลล์เฉลี่ย (×10^4 เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

4.1.2.2 น้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลา

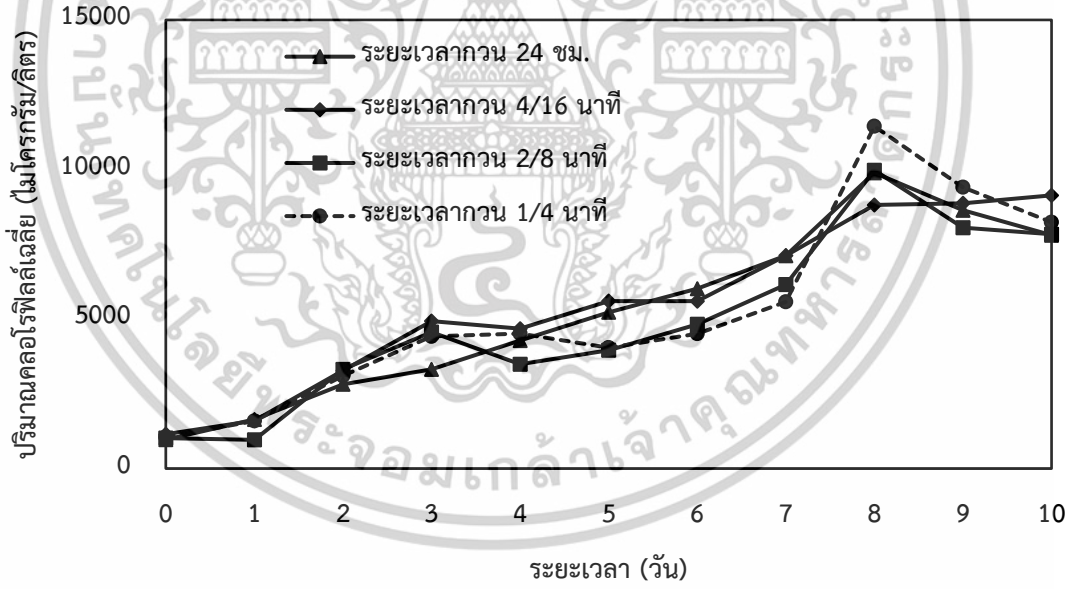
จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนเป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า ทุกชุดการทดลองมีปริมาณน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เริ่มการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งวันที่ 9 ทุกชุดการทดลองมีค่า 50,128.53 54,211 55,985.96 และ 58,444.38 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ สาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยระยะเวลากวน 1/4 มีน้ำหนักแห้งสูงสุด และระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม) มีน้ำหนักแห้งต่ำสุดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($p\leq0.05$) แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.7 และตารางผนวกที่ 7)

4.1.2.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน ได้แก่ ระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม), ระยะเวลากวน 4/16, ระยะเวลากวน 2/8 และระยะเวลากวน 1/4 นาที (กวน/หยุด) เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า เมื่อเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาครบ 8 วันของการเพาะเลี้ยงทุกชุดการทดลองมีปริมาณคลอโรฟิลล์ 9,890.11 8,814.22 9,973.64 และ 11,443.78 ไมโครกรัม/ลิตร ($p>0.05$) ตามลำดับ สูงสุดที่ระยะเวลากวน 1/4 นาที แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.8 และตารางผนวกที่ 8)



ภาพที่ 4.7 น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

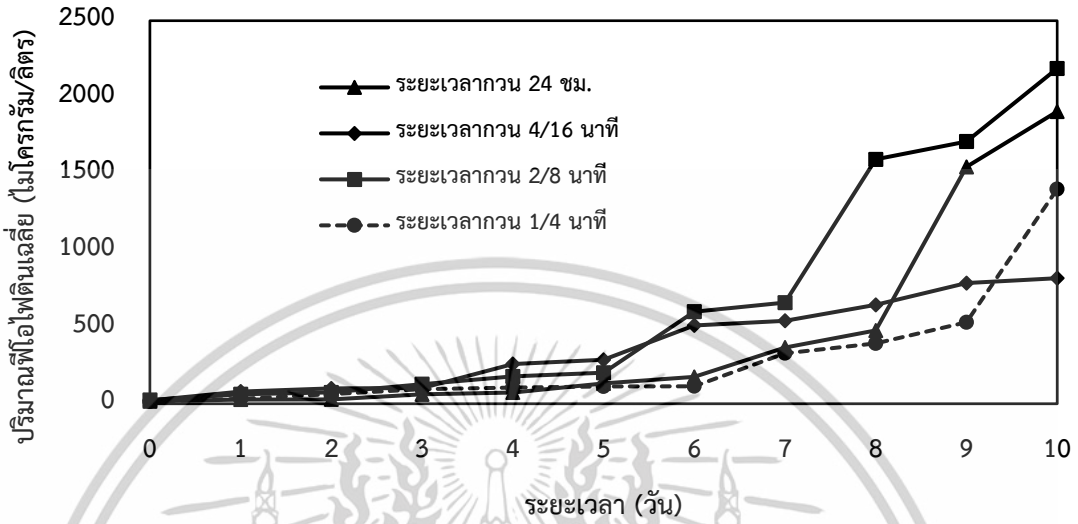


ภาพที่ 4.8 ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

4.1.2.4 ปริมาณฟีโอไฟตินของสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกันต่อปริมาณฟีโอไฟติน พบว่าทุกชุดการทดลองมีปริมาณฟีโอไฟตินเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เริ่มการ

ทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง มีค่า 1,907.19 819.61 2,188.18 และ 1,400.98 ไมโครกรัม/ลิตร ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) (ภาพที่ 4.9 และ ตารางผนวกที่ 9)



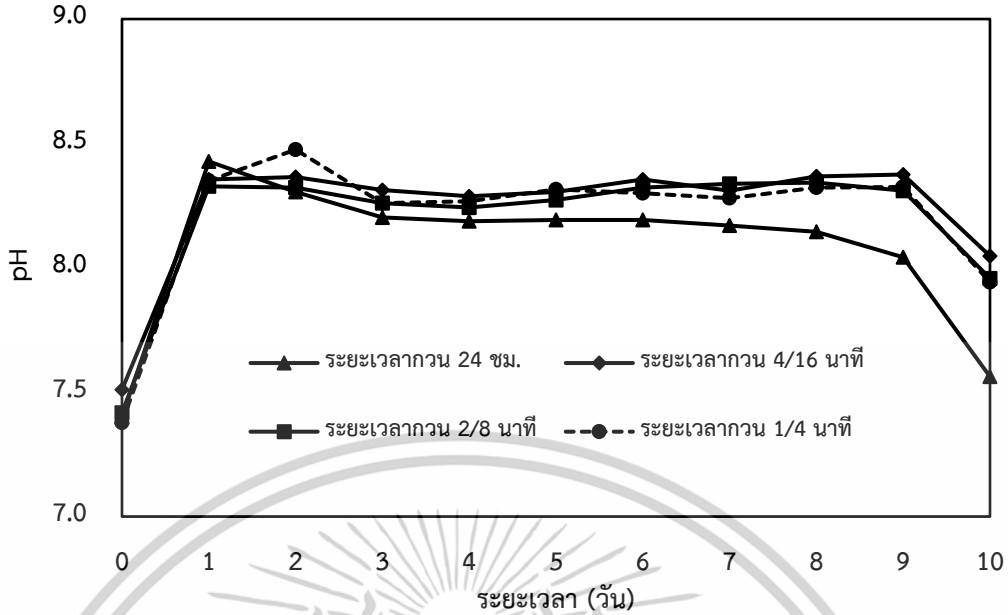
ภาพที่ 4.9 ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

4.1.2.5 ความเป็นกรดด่าง (pH) ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

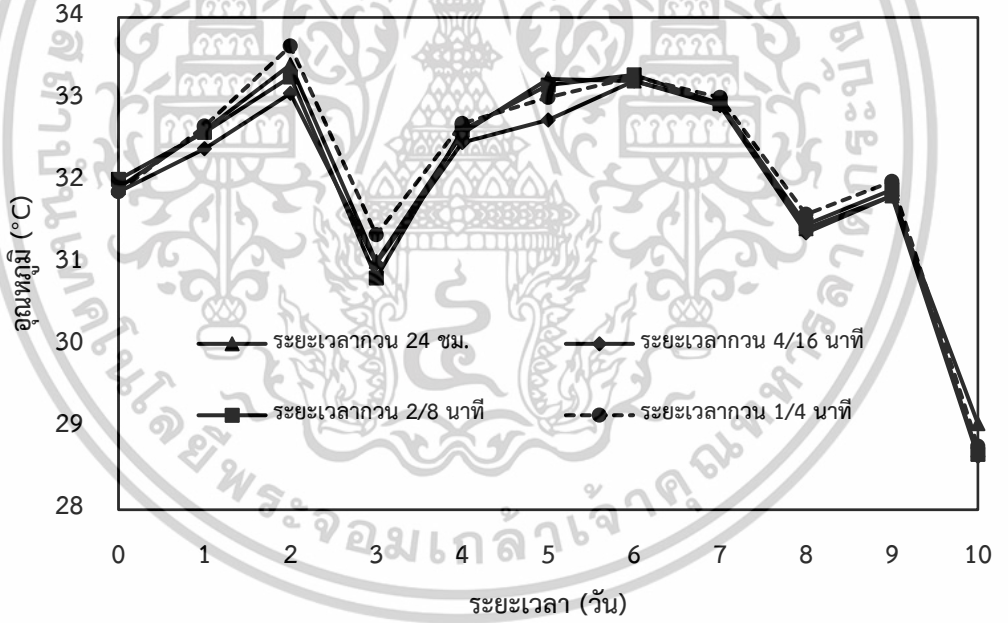
จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกันต่อความเป็นกรด-ด่างของน้ำ พบว่า วันที่ 8 ของการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลามีค่า pH เท่ากับ 8.14, 8.36, 8.34 และ 8.32 ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับในทุกชุดการทดลอง ($p \leq 0.05$) ซึ่งตลอดระยะเวลา 10 วัน pH ของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่างช่วง 7.40-8.42, 7.51-8.37, 7.41-8.34 และ 7.37-8.47 ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 4.10 และตารางผนวกที่ 10)

4.1.2.6 อุณหภูมิน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน ได้แก่ ระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม), ระยะเวลากวน 4/16, ระยะเวลากวน 2/8 และ ระยะเวลากวน 1/4 นาที (กวน/หยุด) เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีอุณหภูมิเท่ากับ 29.05, 28.65, 28.67 และ 28.77 °C ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($p \leq 0.05$) ซึ่งตลอดระยะเวลา 10 วัน อุณหภูมิของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่างช่วง 29.05-33.42, 28.65-33.22, 28.67-33.30 และ 28.77-33.65 °C ตามลำดับ (ภาพที่ 4.11 และตารางผนวกที่ 11)



ภาพที่ 4.10 pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)



ภาพที่ 4.11 อุณหภูมิน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

จากตารางที่ 4.1 พบว่าปริมาณการใช้ไฟฟ้า และค่าไฟฟ้าเฉลี่ยรายเดือน ของการใช้ปั๊มน้ำในการตั้งระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกันทั้งหมด 4 แบบ ได้แก่ เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม), ระยะเวลากวน 4/16, ระยะเวลากวน 2/8 และระยะเวลากวน 1/4 นาที (หยุด/กวน) โดยระยะเวลากวนที่ 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม) มีค่าสูงกว่าทุกชุดการทดลอง มีปริมาณการใช้ไฟฟ้า และค่าไฟฟ้าเฉลี่ยรายเดือน เท่ากับ 0.55 หน่วย/วัน และ 53.79 บาท

ตามลำดับ ปริมาณการใช้ไฟฟ้า และค่าไฟฟ้าเฉลี่ยรายเดือนของทั้ง 3 ชุดการทดลอง เท่ากับ 0.10 หน่วย/วัน และ 10.04 บาท ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ปริมาณการใช้ไฟฟ้า และค่าไฟฟ้าเฉลี่ย

ชุดการทดลอง	ระยะเวลากวน/ชม.	จำนวนหน่วยยูนิต (หน่วย/วัน)	(หน่วย/เดือน)	ค่าไฟ (บาท/เดือน)
ระยะเวลากวน 24 ชม.	24	0.55	16.56	53.79
ระยะเวลากวน 4/16 นาที	4.48	0.10	3.09	10.04
ระยะเวลากวน 2/8 นาที	4.48	0.10	3.09	10.04
ระยะเวลากวน 1/4 นาที	4.48	0.10	3.09	10.04

หมายเหตุ: ค่าพลังงานไฟฟ้าที่ใช้คำนวณ คิดตามอัตราค่าไฟฟ้า การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค ประเภทที่ 1 ค่าพลังงานไฟฟ้า 3.2484 บาท/หน่วย

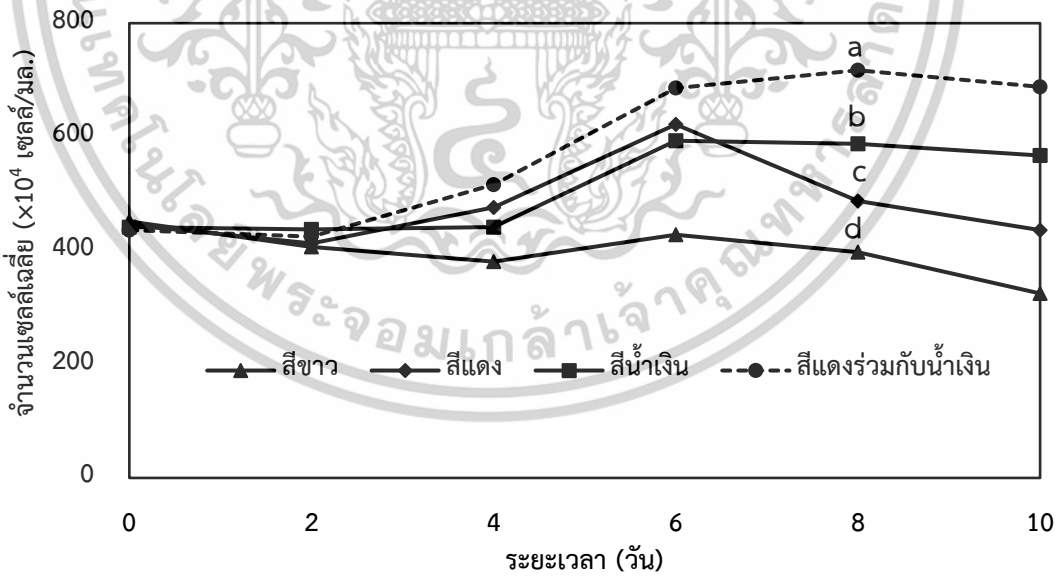
จากการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่าง 4 แบบ ได้แก่ เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม) ระยะเวลากวน 4/16 ระยะเวลากวน 2/8 และระยะเวลากวน 1/4 นาที (กวน/หยุด) ระยะเวลาทดลอง 10 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ระยะเวลากวน 1/4 นาที ส่งผลให้มีจำนวนเซลล์ น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุด Sobczuk *et al*. (2006) กล่าวว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กเพิ่มขึ้นตามอัตราการกวนที่เพิ่มขึ้นจนได้ระยะเวลาการกวนที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย การเจริญเติบโตจะลดลงอย่างรวดเร็วสังเกตได้จากอัตราการกวนที่สูงขึ้น ดังการทดลองนี้ที่ระยะการกวนที่ 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม) มีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าทุกชุดการทดลอง เนื่องจากการกวนที่มากเกินไปทำลายเซลล์สาหร่ายมีผนังเซลล์ที่เปราะบาง ซึ่งไวต่อความเครียดทางกายภาพ (Flores *et al*., 2003) การกวนผสมอาหารเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการเพิ่มจำนวนเซลล์ การกวนมีหน้าที่รักษาเซลล์ให้อยู่ในสภาพแขวนลอย ลดการแบ่งชั้น ช่วยกระจายธาตุอาหารทำให้เซลล์สามารถดูดซึมธาตุอาหารได้ดี การกวนที่เหมาะสม จะช่วยเพิ่มการกระจายของแสงและ CO_2 ในระบบน้ำ ทำให้การสังเคราะห์แสงมีประสิทธิภาพสูงขึ้น ซึ่งการสังเคราะห์แสงเป็นกระบวนการหลักในการผลิตคลอโรฟิลล์ในเซลล์สาหร่าย อีกทั้ง pH ของน้ำอยู่ที่ 7.37-8.47 สิตา ไชยช่วย (2558) กล่าวว่า สาหร่ายคลอเรลลาสามารถเจริญเติบโตได้ที่ pH ในช่วงกว้าง และจะเจริญเติบโตได้ดีในช่วงที่มีค่าเป็นกรดเล็กน้อยจนถึงกลาง Chinnasamy *et al*. (2009) กล่าวว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับสาหร่ายคลอเรลลาอยู่ในช่วง 28-35 ℃ ถ้าอุณหภูมิต่ำสาหร่ายคลอเรลลาจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้เนื่องจากกระบวนการเมแทบอลิก (metabolic) หยุดทำงาน แต่เมื่ออุณหภูมิสูงส่งผลให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง การศึกษาของธิดา เพชรมณี (2542) พบว่า สาหร่ายคลอเรลลาเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะอุณหภูมิตั้งแต่ 35 ℃ ขึ้นไปจะทำให้เซลล์มีสีซีด และไม่สามารถเจริญเติบโตได้

4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลาประกอบด้วย 2 การทดลอง ดังนี้

4.2.1 การทดลองที่ 2.1 ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

4.2.1.1 จำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาโดยแหล่งกำเนิดจากหลอด LED กันน้ำที่มีช่วงความยาวคลื่นแสงของสีต่างกัน 4 สี ได้แก่ สีขาว (380-760 นาโนเมตร) (ชุดควบคุม), สีแดง (630-680 นาโนเมตร), สีน้ำเงิน (400-480 นาโนเมตร) และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน (630-680, 400-480 นาโนเมตร) เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า การทดลองในวันที่ 0-2 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่การใช้แสงสีแดงร่วมกับแสงสีน้ำเงินส่งผลให้จำนวนเซลล์คลอเรลลาเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงสุดในวันที่ 8 ซึ่งเป็นระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) มีจำนวน 717.20×10^4 เซลล์/มล. แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($p \leq 0.05$) ซึ่งในวันที่ 10 ของการทดลองเป็นการเข้าสู่ระยะการตายของแพลงก์ตอน (death phase) ส่งผลให้จำนวนเซลล์ของคลอเรลลาลดลง และชุดการทดลองแสงสีขาวมีจำนวนเซลล์ของสาหร่ายคลอเรลลาน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทุกชุดการทดลอง (ภาพที่ 4.12 และตารางผนวกที่ 12)

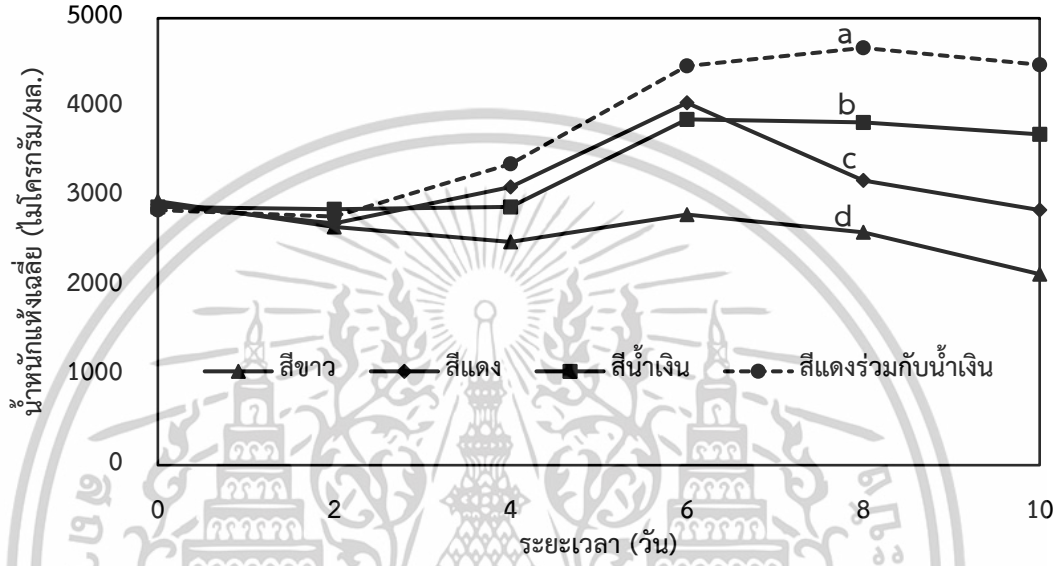


ภาพที่ 4.12 ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันต่อจำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลา

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2.1.2 น้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลา

สีของแสงจากหลอด LED ที่แตกต่างกันต่อน้ำหนักแห้ง พบว่า เมื่อเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาถึงวันที่ 8 น้ำหนักแห้งสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินมีค่าสูงสุด 4,667.66 ไมโครกรัม/มล. ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 4.13 และตารางผนวกที่ 13)



ภาพที่ 4.13 ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันต่อน้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลา

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

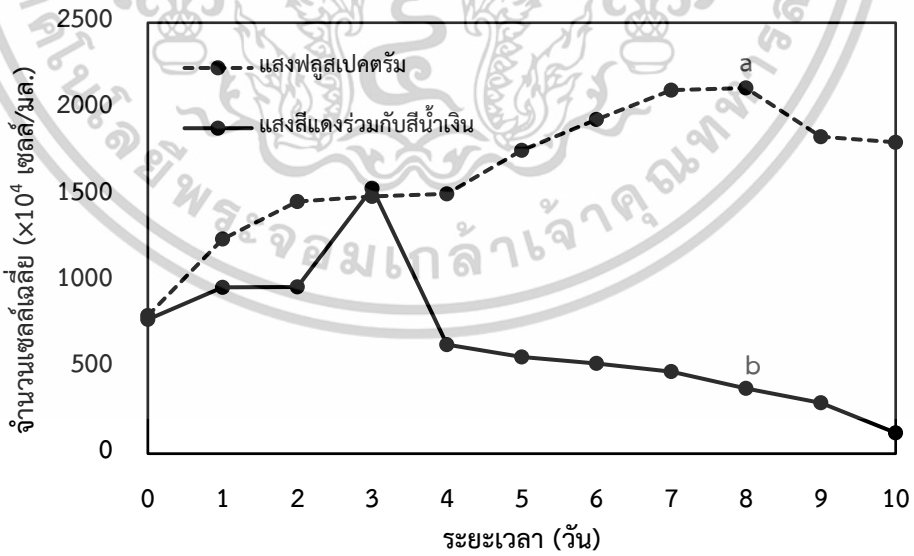
ผลของการใช้ช่วงความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของคลอเรลลาภายใต้สีของแสงจากหลอด LED ต่างกัน 4 สี ได้แก่ สีขาว (380-760 นาโนเมตร) (ชุดควบคุม) สีแดง (630-680 นาโนเมตร) สีน้ำเงิน (400-480 นาโนเมตร) และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน (630-680, 400-480 นาโนเมตร) ระยะเวลา 10 วัน พบว่า ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินส่งผลให้จำนวนเซลล์ และน้ำหนักแห้งสาหร่ายคลอเรลลาเพิ่มขึ้นมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับ Guo and Fang (2020) แสดงให้เห็นว่าแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินช่วยส่งเสริมการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนของ *Chlorella pyrenoidosa* อีกทั้งแสงสีแดงร่วมกับน้ำเงินช่วยส่งเสริมการสะสมโปรตีนและไขมันรวม และแสงสีน้ำเงินสามารถเร่งการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ ได้ งานวิจัยอื่นๆ ระบุว่าแสงสีน้ำเงินช่วยในการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีน (Shen *et al*., 1999) จากการศึกษาของ ณรงค์ กมลรัตน์ และคณะ (2562) พบว่า แสง LED สีน้ำเงินทำให้สาหร่ายคลอเรลลามีอัตราการเจริญเติบโต และน้ำหนักเซลล์แห้งดีที่สุด อีกทั้งแสง LED สีแดงมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลาสั้น

ดังนั้นการใช้แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลามีประโยชน์หลายประการ เนื่องจากแสงแต่ละความยาวคลื่นมีผลต่อการเจริญเติบโต และการผลิตสารเมตาบอไลต์ของสาหร่ายในลักษณะที่แตกต่างกัน (Sathasivam *et al*., 2019)

4.2.2 การทดลองที่ 2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

4.2.2.1 จำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลา

จากการเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน แบ่งเป็น 2 ชุดการทดลอง ได้แก่ แสงฟูลสเปคตรัม (400-700 นาโนเมตร) และแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินจากหลอด LED เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า สาหร่ายคลอ-เรลลาที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัมมีการเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง มีค่า 2,121.25×10^4 เซลล์/มล. แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากนั้นเข้าสู่ระยะการตายของเซลล์ ซึ่งต่างจากการเลี้ยงด้วยแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินมีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ 1,540×10^4 เซลล์/มล. ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และหลังจากนั้นเข้าสู่ระยะการตายของเซลล์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีจำนวนเซลล์ 1,806.25×10^4 และ 121.25×10^4 เซลล์/มล. ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 4.14 และตารางผนวกที่ 14)

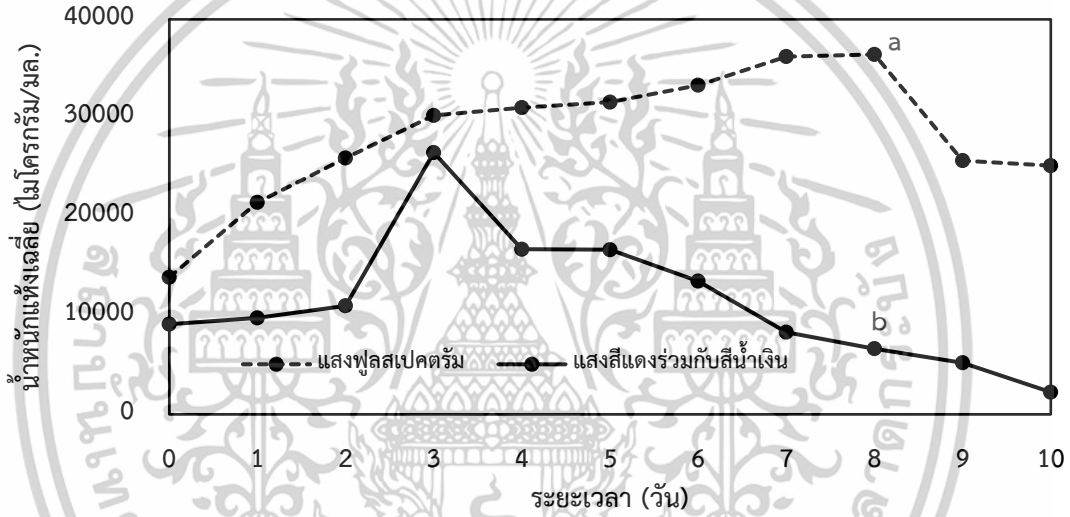


ภาพที่ 4.14 จำนวนเซลล์เฉลี่ย (×10^4 เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2.2.2 น้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลา

จากการเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน พบว่า วันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลามีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 30,268.83 และ 26,506.39 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินมีการเจริญเติบโตลดลงตั้งแต่วันที่ 4 ของการทดลอง แสงฟูลสเปกตรัมมีการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 8 มีค่า 36,446.93 ไมโครกรัม/มล. ($p\leq0.05$) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีน้ำหนักแห้ง 25,180.98 และ 2,242.93 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) (ภาพที่ 4.15 และตารางผนวกที่ 15)



ภาพที่ 4.15 น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม
หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

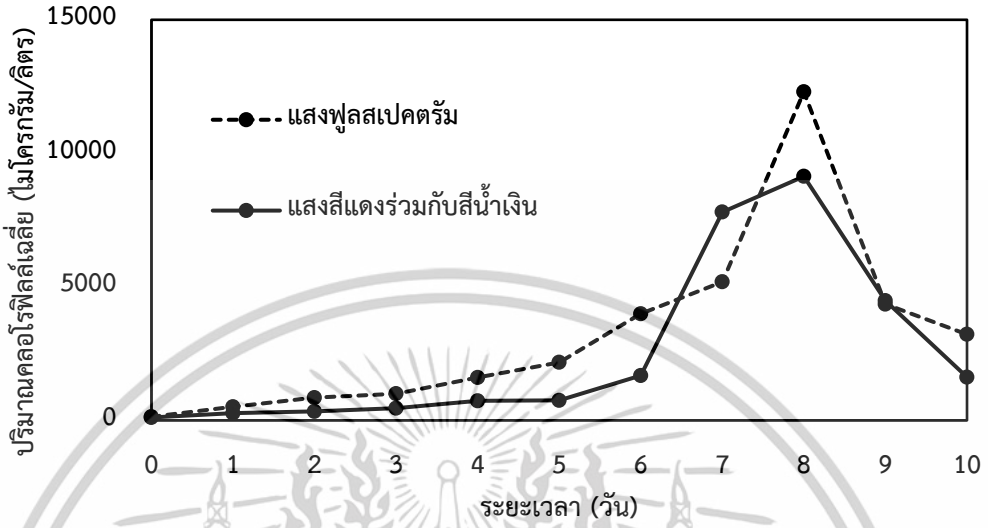
4.2.2.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายคลอเรลลา

จากการเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ พบว่า ทุกชุดการทดลองมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้นเมื่อครบ 8 วัน ของการเพาะเลี้ยงโดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดที่เลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมมีค่าเท่ากับ 12,301.53 ไมโครกรัม/ลิตร แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินมีค่า 9,134.98 ไมโครกรัม/ลิตร ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.16 และตารางผนวกที่ 16)

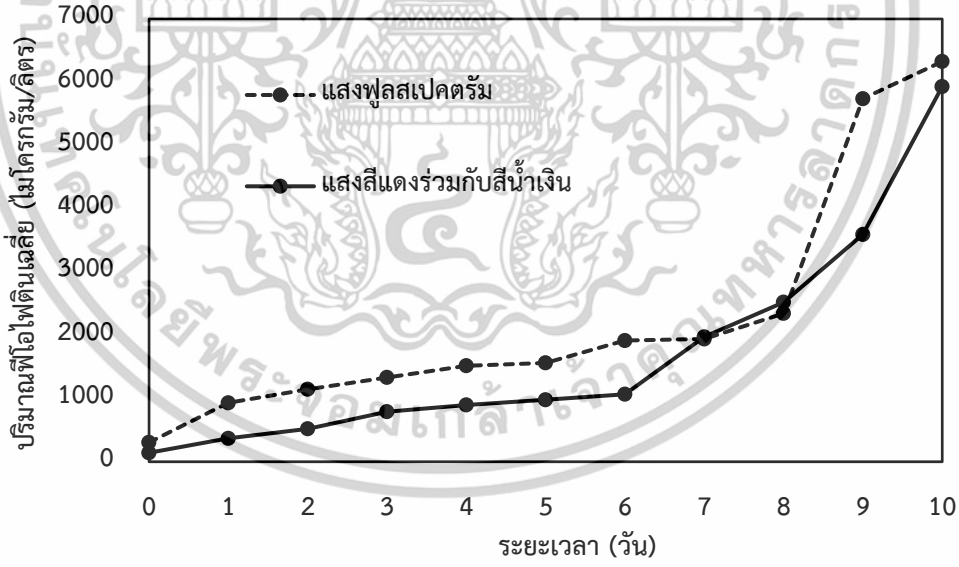
4.2.2.4 ปริมาณฟีโอไฟตินของสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินต่อปริมาณฟีโอไฟติน พบว่า ทุกชุดการทดลองมี

ปริมาณฟีโอไฟตินสูงขึ้นเรื่อยๆ จนสิ้นสุดการทดลอง มีค่า 6,326.99 และ 5,932.05 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.17 และตารางผนวกที่ 17)



ภาพที่ 4.16 ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

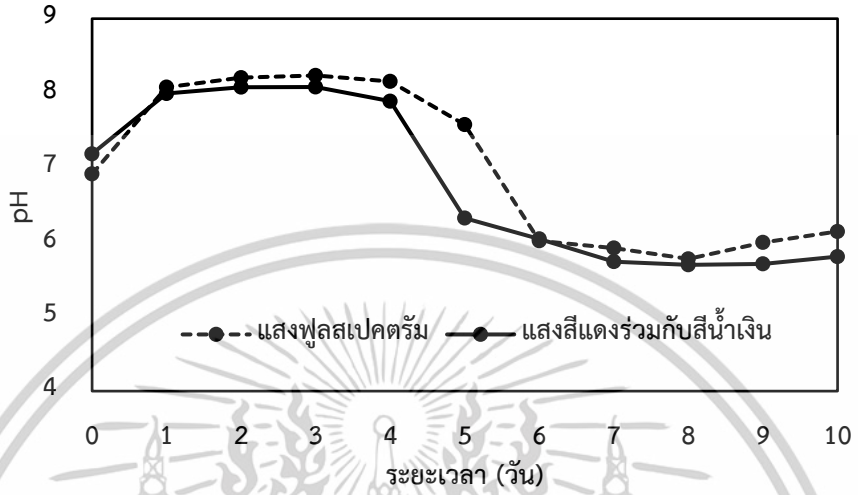


ภาพที่ 4.17 ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

4.2.2.5 ความเป็นกรดด่าง (pH) ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินต่อความเป็นกรดด่างของน้ำ พบว่า ตั้งแต่วันที่ 6 ของ

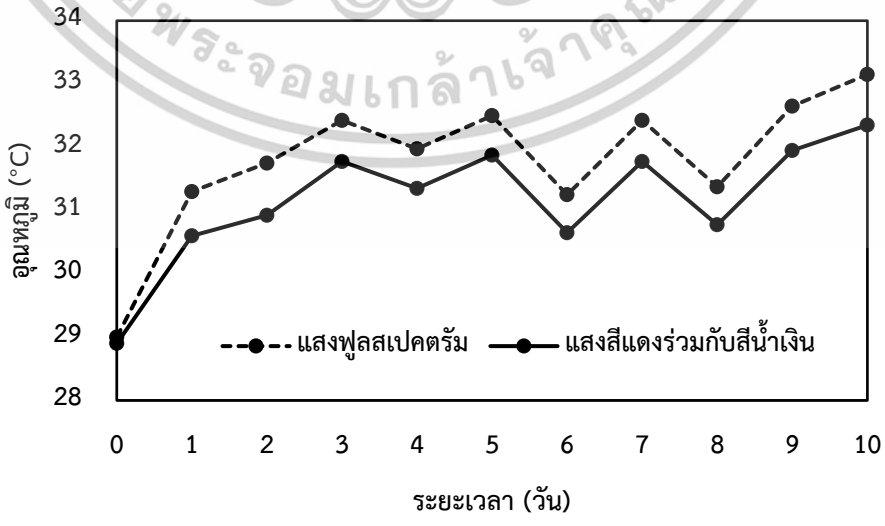
การเพาะเลี้ยง pH ลดลง และลดลงต่ำที่สุดในวันที่ 8 ของการทดลองมีค่า 5.78 และ 5.69 ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) อีกทั้งตลอดระยะเวลา 10 วัน pH ของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่างช่วง 5.77-8.23 และ 5.69-8.08 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.18 และตารางผนวกที่ 18)



ภาพที่ 4.18 pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

4.2.2.5 อุณหภูมิน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินต่ออุณหภูมิ พบว่า ตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยงมีอุณหภูมิแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ตลอดระยะเวลา 10 วัน อุณหภูมิของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่างช่วง 29.0-33.15 และ 28.90-32.35 °C ตามลำดับ (ภาพที่ 4.19 และตารางผนวกที่ 19)



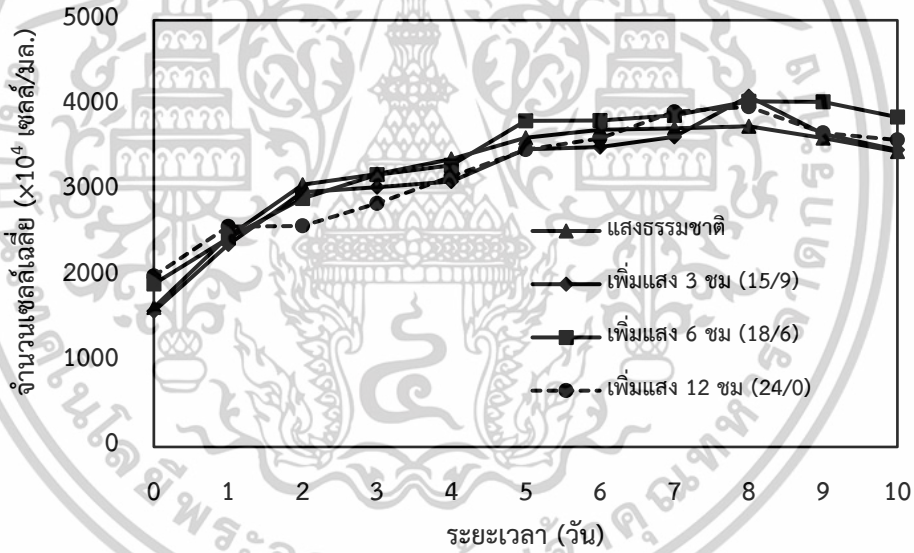
ภาพที่ 4.19 อุณหภูมิน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

จากการทดลองเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมและแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน แบ่งเป็น 2 ชุดการทดลอง ได้แก่ แสงฟูลสเปคตรัมกับแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินจากหลอด LED เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมส่งผลให้มีจำนวนเซลล์ น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง มีค่า 2,121.25×10^4 เซลล์/มล. 36,446.93 ไมโครกรัม/มล. และ 12,301.53 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) Lee and Bernhard (1996) กล่าวว่า แสงฟูลสเปคตรัมมักถูกใช้ในการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งช่วงแสงที่มีประโยชน์ในการสังเคราะห์แสงอยู่ที่ 400-700 นาโนเมตร (Emerson and Lewis, 1943) แสดงให้เห็นถึงช่วงการดูดซึมแสงสีฟ้า (420-450 นาโนเมตร) และสีแดง (660-700 นาโนเมตร) สอดคล้องกับการศึกษาของ Nwoba (2017) ศึกษาผลของสเปกตรัมแสงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา มีผลผลิตชีวมวลน้ำหนักแห้งสูงสุดภายใต้แสงสีขาว (400 – 700 นาโนเมตร) มีค่า 60.07 มก./ลิตร/วัน จากการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้ง 2 ชุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เนื่องจากแสงฟูลสเปกตรัม แสงสีแดง และสีน้ำเงินกระตุ้นการสังเคราะห์แสง และอยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่คลอโรฟิลล์ดูดซึมได้ดี การศึกษาของ Han *et al*. (2003) แสดงให้เห็นว่าแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินเอื้อต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ และแสงสีน้ำเงินสามารถเร่งการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ บี Sakarika and Kornaros (2016) ศึกษาผลของ pH ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella vulgaris*) ได้แก่ 5.0, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 และ 8.0 กล่าวว่าค่า pH ที่ 3.0, 4.0 และ 11.0 เป็นค่าที่ไม่เหมาะสมเนื่องจากมีการทำลายเซลล์เกิดขึ้นภายในสองวันแรกของการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ pH 9.5 สาหร่ายไม่สามารถเจริญเติบโตได้ตลอดระยะเวลา 15 วันที่เพาะเลี้ยง โดยเกิดการรวมตัวของกลุ่มเซลล์ pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของชีวมวล คือ 7.5 และ 8.0 โดยค่า pH ของทุกชุดการทดลองนี้อยู่ระหว่างช่วง 5.77-8.23 และ 5.69-8.08 ตามลำดับ pH สูงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในช่วง 5.7–6.5 การผลิตชีวมวลที่ pH สูงระหว่าง 8.3–8.8 ลดลง (Tan et al., 2016) อุณหภูมิตลอดระยะเวลา 10 วัน ของทุกชุดการทดลองนี้อยู่ระหว่างช่วง 29-33.15 และ 28.9-32.35 °C ตามลำดับ สอดคล้องกับ Coronado-Reyes *et al.* (2022) กล่าวว่าอุณหภูมิเหมาะสมสำหรับสาหร่ายคลอเรลลาต่อการเจริญเติบโต อยู่ระหว่าง 28 ถึง 35 °C หากอุณหภูมิต่ำกว่าช่วงที่กำหนด สาหร่ายจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้เนื่องจากระบบเมตาบอลิซึมหยุดทำงาน แต่หากอุณหภูมิสูงเกินไป การหายใจของพืชจะเริ่มขึ้น คือ แทนที่จะทำการตรึง CO_2 แต่จะเริ่มตรึง O_2 แทน ซึ่งส่งผลให้การผลิตเมตาบอไลต์ (Chinnasamy *et al*., 2009)

4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษารูปแบบและระยะเวลากวน ช่วงความยาวคลื่นแสงและระยะเวลาให้แสง LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

4.3.1 จำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงเพิ่มขึ้นในช่วงกลางคืน ตั้งแต่ 18.00 น. โดยใช้แสงจากผลการทดลองที่ 2.2 คือ แสงฟูลเปคตรัม แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ แสงจากธรรมชาติ (ชุดควบคุม), ระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 3 ชั่วโมง 15/9, ระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 6 ชั่วโมง 18/6 และระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 12 ชั่วโมง 24/0 (สว่าง/มืด) ระยะเวลาทดลอง 10 วัน พบว่าทุกชุดการทดลองมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 8 ของการทดลองซึ่งเป็นช่วงที่จำนวนเซลล์สูงสุด มีค่าเท่ากับ $3,757.50\times10^4$, $4,108.75\times10^4$, $4,050.00\times10^4$ และ $3,986.25\times10^4$ เซลล์/มล. ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองจะเห็นว่าทุกชุดการทดลองมีจำนวนเซลล์ลง มีค่า $3,461.25\times10^4$, $3,481.25\times10^4$, $3,865.00\times10^4$ และ $3,597.50\times10^4$ เซลล์/มล. ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.20 และตารางผนวกที่ 20)

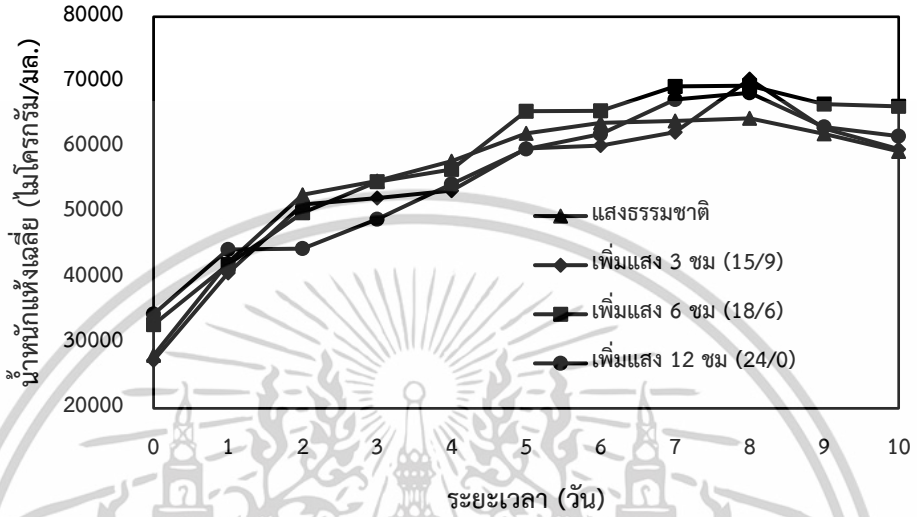


ภาพที่ 4.20 จำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)

4.3.2 น้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงต่อน้ำหนักแห้ง พบว่า ในวันที่ 8 ของการทดลองมีปริมาณน้ำหนักแห้งสูงสุดมีค่า 64,430.22 70,437.30 69,432.56 และ 68,342 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) จากนั้นเข้าสู่ระยะ

การตายของเซลล์น้ำหนักแห้งลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง มีค่า 59,363.75 59,705.79 66,268.69 และ 61,693.90 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ (p>0.05) (ภาพที่ 4.21 และตารางผนวกที่ 21)



ภาพที่ 4.21 น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)

4.3.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายคลอเรลลา

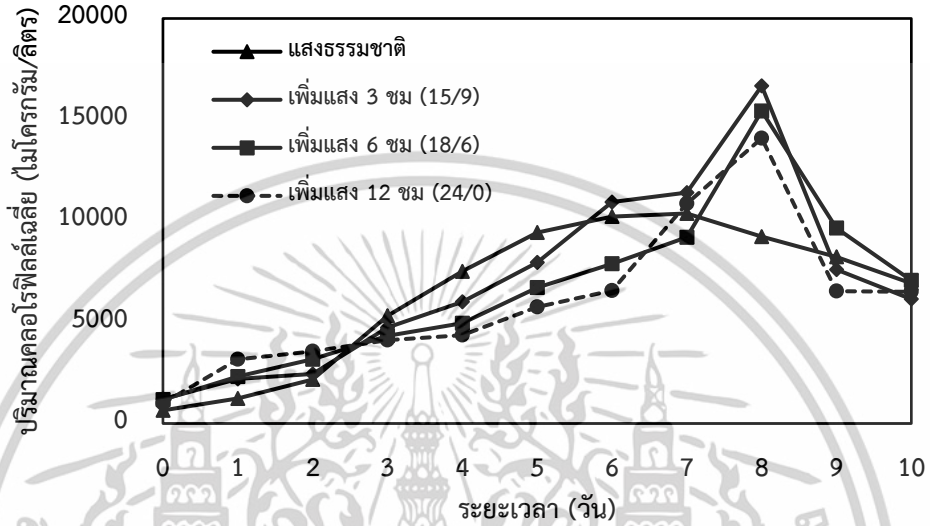
จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงจากธรรมชาติ (ชุดควบคุม) มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดในวันที่ 7 ของการทดลอง มีค่า 10,371.24 ไมโครกรัม/ลิตร (p>0.05) อีก 3 ชุดการทดลองมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดในวันที่ 8 มีค่า 16,666.90 15,429.89 และ 14,086.71 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ (p>0.05) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) (ภาพที่ 4.22 และตารางผนวกที่ 22)

4.3.4 ปริมาณฟีโอไฟตินของสาหร่ายคลอเรลลา

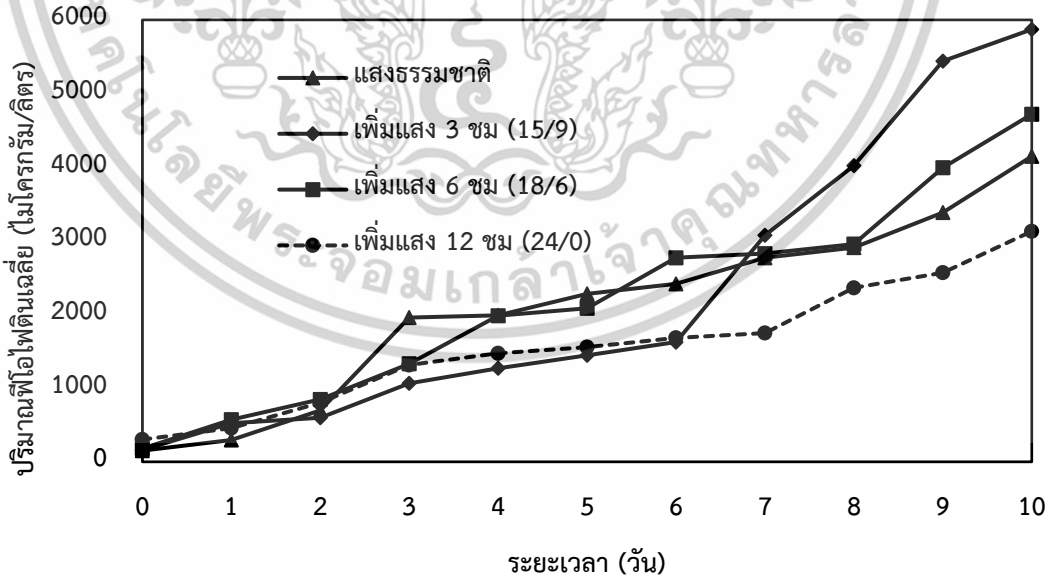
จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงต่อปริมาณฟีโอไฟติน พบว่า ปริมาณฟีโอไฟตินเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตั้งแต่เริ่มการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง มีค่าเท่ากับ 4,147.82 5,871.24 4,719.84 และ 3,130.08 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) (ภาพที่ 4.23 และตารางผนวกที่ 23)

4.3.5 ความเป็นกรดด่าง (pH) ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงต่อความเป็นกรดด่างของน้ำ พบว่า ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาทั้งหมด 10 วัน pH ของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่างช่วง 6.34-8.15, 6.28-8.02, 6.20-7.98 และ 6.47-7.90 ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.24 และตารางผนวกที่ 24)



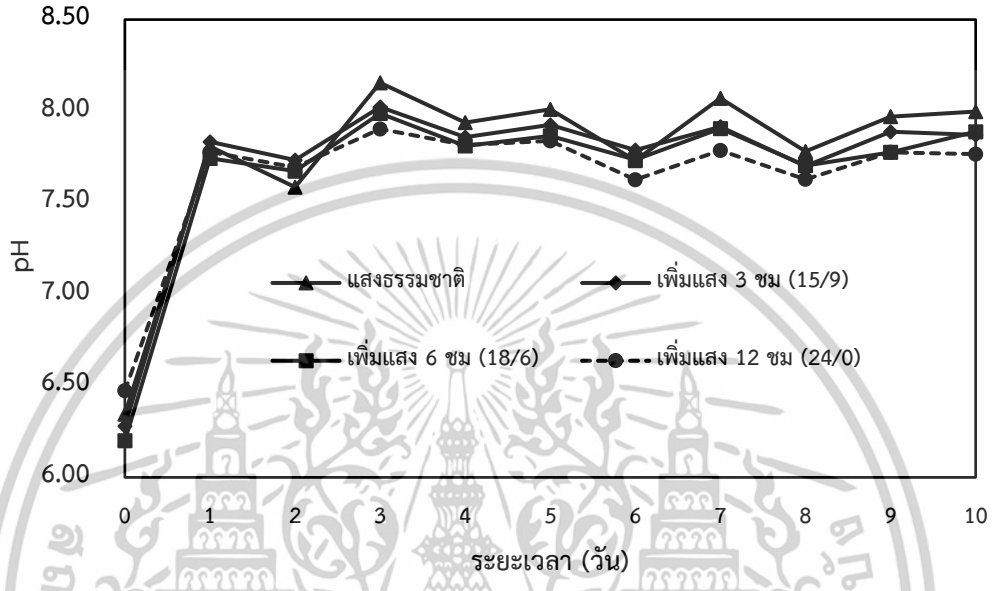
ภาพที่ 4.22 ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)



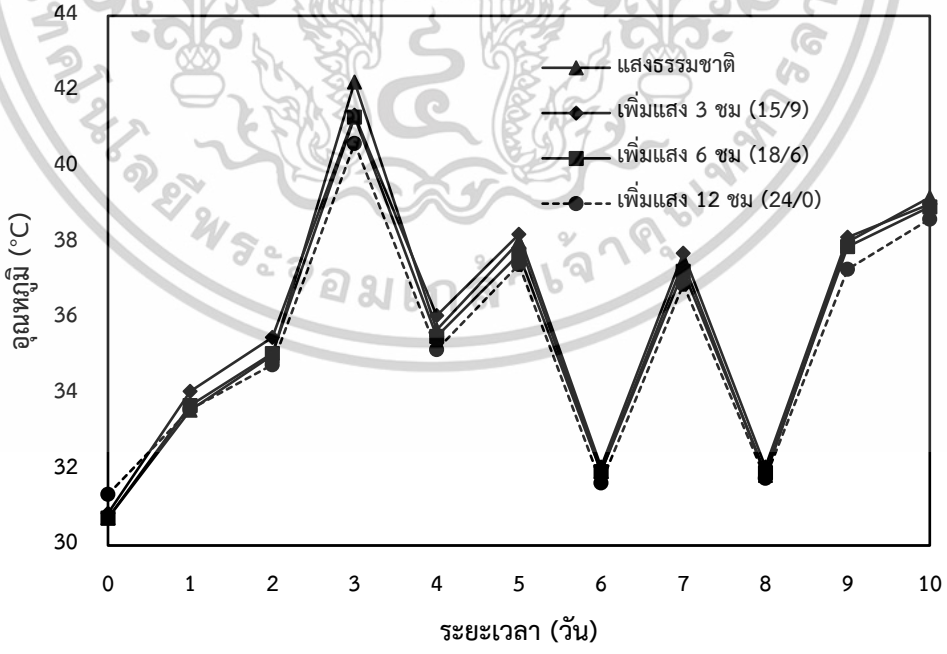
ภาพที่ 4.23 ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)

4.3.6 อุณหภูมิของสาหร่ายคลอเรลลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 10 วันต่ออุณหภูมิ พบว่า ตลอดระยะเวลา 10 วัน อุณหภูมิของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่างช่วง 30.72-42.25, 30.85-41.37, 30.72-41.32 และ 31.35-40.62 ℃ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.25 และตารางผนวกที่ 25)



ภาพที่ 4.24 pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)



ภาพที่ 4.25 อุณหภูมิน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)

4.3.1.7 วัดปริมาณแสงรอบวัน และเวลา

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน โดยทำการวัดแสงทั้งหมด 3 วัน ได้แก่ วันที่ 0, 5 และ 10 เวลา 9.30, 13.30 และ 15.30 น. พบว่า แสงธรรมชาติที่ไม่ได้วัดในน้ำจะมีปริมาณแสงที่สูง แต่เมื่อวัดแสงในน้ำเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาจะพบว่าแสงสามารถส่องผ่านได้ลดลง สังเกตได้จากระยะวันเริ่มต้นของการเลี้ยง (วันที่ 0) ความหนาแน่นของเซลล์น้อยแสงสามารถส่องผ่านได้ แต่เมื่อเข้าสู่วันที่ 5 ความหนาแน่นของเซลล์สูงขึ้น ทำให้ปริมาณแสงที่สามารถส่องผ่านได้ลดน้อยลงเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งปริมาณแสงที่ได้รับในแต่ละวัน และช่วงเวลาแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับระดับแสงอาทิตย์ภายนอกในแต่ละวัน (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณแสงรอบวัน และเวลา (μmol/m^2·s)

ชุดการทดลอง	วันที่ 0			วันที่ 5			วันที่ 10		
	9.30 น.	13.30 น.	15.30 น.	9.30 น.	13.30 น.	15.30 น.	9.30 น.	13.30 น.	15.30 น.
แสงธรรมชาติ	15.93	188.57	10.29	24.06	9.77	5.39	13.88	7.48	4.45
(+3 ชม.) 15/9	13.89	151.15	14.53	13.53	15.96	7.71	15.68	10.81	4.17
(+6 ชม.) 18/6	15.17	196.27	6.37	27.87	9.59	6.98	14.81	9.63	4.28
(+12 ชม.) 24/0	17.07	122.03	11.34	13.22	8.56	9.07	16.68	8.76	5.00
แสงธรรมชาติ (ไม่วัดในน้ำ)	1,261.80	1,831.40	110.68	1,031.50	1,631.90	119.73	1,323.80	1,518.30	198.56

จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงเพิ่มขึ้นในช่วงกลางคืน ตั้งแต่ 18.00 น. โดยใช้แสงฟูลสเปคตรัมเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ แสงจากธรรมชาติ (ชุดควบคุม), ระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 3 ชั่วโมง 15/9, ระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 6 ชั่วโมง 18/6 และระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 12 ชั่วโมง 24/0 (สว่าง/มืด) ระยะเวลาทดลอง 10 วัน พบว่า จำนวนเซลล์ น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์ทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 8 ของการทดลอง ($p>0.05$) ซึ่งการเพิ่มแสงระหว่างการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาที่ 3 ชั่วโมง (15/9, สว่าง/มืด) มีปริมาณของจำนวนเซลล์ น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์สูงกว่าทุกชุดการทดลอง เท่ากับ 4,108.75×10^4 เซลล์/มล. 70,437.30 ไมโครกรัม/มล. และ 16,666.90 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ Kamolrat *et al*. (2023) กล่าวว่า ในสภาวะปกติสาหร่ายตามธรรมชาติจะรับแสงอยู่ที่ 12/12 ชั่วโมง เมื่อช่วงแสงที่ 16/8 ชั่วโมง สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ต่อเนื่อง และเมื่อเพิ่มแสงเป็น 24/0 ชั่วโมง สาหร่ายยังสามารถเจริญเติบโตได้โดยควรจำกัดช่วงความมืดประมาณ 20% ของเวลาเพื่อรักษาผลผลิตชีวมวล การทำงานของ photosystem II ตอบสนองต่อความเข้มของแสงที่ใช้ในการเจริญเติบโตในระหว่างช่วงแสง (Li *et al*., 2017) การตรึงคาร์บอนและปริมาณของ Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase Oxygenase (RUBISCO) มีการตอบสนองต่อระยะเวลาให้แสงมากกว่าความเข้มของแสงในขณะนั้น การเปลี่ยนแปลงระยะเวลา

ให้แสงทำให้เกิดปฏิกิริยาของผลผลิตทางเคมีต่อความเข้มของแสงในการเจริญเติบโต (Li *et al*., 2017) ระยะเวลาให้แสงที่เหมาะสมสาหร่ายจะสามารถดำเนินกระบวนการสังเคราะห์แสงได้เต็มที่ ผลิตน้ำตาล สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และการแบ่งเซลล์ มีผลต่อจำนวนเซลล์ น้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลอเรลลาสอดคล้องกับ Khoeyi *et al*. (2012) ที่พบว่าการผลิตชีวมวลของคลอเรลลาเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาแสงเพิ่มขึ้น ยังสอดคล้องกับ Niangoran *et al*. (2021) รายงานว่าชีวมวลของ *Spirulina platensis* เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาแสงเพิ่มขึ้น โดยมีช่วงแสงที่ดีที่สุดคือ 24:0 ชั่วโมง Fakhri *et al*. (2017) รายงานว่าการผลิตคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดของ *Nannochloropsis* sp. BJ17 เกิดขึ้นภายใต้การให้แสงที่ต่อเนื่อง อีกทั้งการศึกษาของ Fábregas *et al*. (2002) พบว่าการผลิตคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้นเมื่อ *Nannochloropsis gaditana* ได้รับแสงในระยะเวลานานระยะเวลาให้แสงที่ยาวนานขึ้นจะช่วยกระตุ้นการผลิตคลอโรฟิลล์และการสังเคราะห์แสงที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น pH ทุกชุดการทดลองนี้อยู่ระหว่างช่วง 6.34-8.15, 6.28-8.02, 6.20-7.98 และ 6.47-7.90 ตามลำดับ ระยะเวลาแสงที่นานขึ้นจะทำให้ pH ของน้ำสูงขึ้น (น้ำเป็นด่างมากขึ้น) เนื่องจากการดูดซึม CO_2 จากการสังเคราะห์แสง การทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ภายในเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาสามารถเจริญเติบโตได้ที่ค่า pH ในช่วงกว้าง และจะเจริญเติบโตได้ดีในช่วงที่มีค่าเป็นกรดเล็กน้อยจนถึงกลาง (ลิตา ไชยช่วย , 2558) อุณหภูมิของทุกชุดการทดลองนี้อยู่ระหว่างช่วง 30.72-42.25, 30.85-41.37, 30.72-41.32 และ 31.35-40.62 °C ตามลำดับ การเลี้ยงสาหร่ายพื้นที่กลางแจ้งแสงจากดวงอาทิตย์ในแต่ละวันมีผลต่อการเพิ่มของอุณหภูมิ ซึ่งจะส่งผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสง และการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา หากอุณหภูมิสูงเกินไปทำให้การเจริญเติบโตลดลงหรือเซลล์ของสาหร่ายเกิดความเครียดจากความร้อน ดังการทดลองนี้ ที่มีอุณหภูมิสูงสาหร่ายมีการเจริญเติบโตช้า ไม่สอดคล้องกับ Chinnasamy *et al*. (2009) ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับสาหร่ายคลอเรลลาอยู่ในช่วง 28-35 °C ถ้าอุณหภูมิต่ำสาหร่ายคลอเรลลาจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เนื่องจากกระบวนการเมแทบอลิก (metabolic) หยุดทำงาน แต่เมื่ออุณหภูมิสูงส่งผลให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง Parveen *et al*. (2009) กล่าวว่า แสงจากดวงอาทิตย์เป็นแหล่งแสงธรรมชาติที่มีสเปกตรัมที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กพื้นที่กลางแจ้ง มักใช้แสงจากดวงอาทิตย์เป็นแหล่งแสง แสงจากดวงอาทิตย์เป็นที่นิยมเพราะมีต้นทุนต่ำและไม่มีที่สิ้นสุด แต่เนื่องจากความหนาแน่นของการเลี้ยงสาหร่ายแสงจึงสามารถส่องผ่านเข้าไปในระบบเพาะเลี้ยงได้เพียงเล็กน้อย วัฏจักรแสง สภาพอากาศที่แปรปรวน และการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลต่างๆ ล้วนส่งผลต่อความเข้มของแสงจากดวงอาทิตย์ในระบบการเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง สาหร่ายขนาดเล็กที่เพาะเลี้ยงในพื้นที่กลางแจ้งสามารถเจริญเติบโตได้ด้วยแสงธรรมชาติ ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนโดยรวมของการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย (Oh *et al*., 2010)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยรูปแบบการกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้งส่งผลให้มีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งสูงกว่าการกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (ชุดควบคุม) 100% มีค่าเท่ากับ $1,580.08\times10^4$ เซลล์/มล. อีกทั้งมีน้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์ 202.80 ไมโครกรัม/มล. และ 5,741.60 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ สิ้นสุดการทดลองปริมาณฟีโอไฟตินมีค่าเท่ากับ 3,688.74 ไมโครกรัม/ลิตร

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยระยะเวลากวน 1/4 นาที (กวน/หยุด) มีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งสูงกว่าระยะเวลากวน 24 ชั่วโมง (ชุดควบคุม) 17% มีค่าเท่ากับ $3,562.50\times10^4$ เซลล์/มล. น้ำหนักแห้ง 61,095.19 ไมโครกรัม/มล. อีกทั้งมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดในวันที่ 8 มีค่า 11,443.78 ไมโครกรัม/ลิตร สิ้นสุดการทดลองปริมาณฟีโอไฟตินมีค่าสูงสุดในระยะเวลากวน 8/2 นาที ปริมาณการใช้ไฟฟ้า และค่าไฟฟ้าเฉลี่ยรายเดือน เท่ากับ 0.10 หน่วย/วัน และ 10.04 บาท ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมจะสามารถประหยัดค่าใช้ไฟฟ้า 43.75 บาท/เดือน

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินส่งผลให้จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นในวันที่ 8 มีค่าสูงกว่าแสงสีขาว 80% จำนวน 717.20×10^4 เซลล์/มล. และน้ำหนักแห้ง 4,667.66 ไมโครกรัม/มล.

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัมมีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงสูงกว่าแสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน 5 เท่า มีค่า $2,121.25\times10^4$ เซลล์/มล. อีกทั้งน้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์ 36,446.93 ไมโครกรัม/มล. และ 12,301.53 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ สิ้นสุดการทดลองมีปริมาณฟีโอไฟตินเท่ากับ 6,326.99 ไมโครกรัม/ลิตร

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยระยะเวลาให้แสงเพิ่ม 3 ชั่วโมง (15/9,สว่าง/มืด) มีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงสูงกว่าแสงธรรมชาติ 9% มีค่า $4,108.75\times10^4$ เซลล์/มล. น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์ 70,437.30 ไมโครกรัม/มล. และ 16,666.90 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ปริมาณฟีโอไฟตินสูงสุดในวันที่ 10 มีค่า 5,871.24 ไมโครกรัม/ลิตร

ดังนั้นการศึกษาการเพิ่มผลผลิตแบบมหมวลของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวน ความยาวคลื่นแสง และระยะเวลาที่ให้แสง มีประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโต อีกทั้งสามารถเพิ่มผลผลิตของสาหร่ายคลอเรลลาได้ถึง 4 เท่า เมื่อเทียบกับการเลี้ยงแบบดั้งเดิม

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรเพิ่มระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาในการทดลองที่ 1.2 ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา เนื่องจากผลการทดลองพบว่ามีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง การเพิ่มระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงอาจช่วยให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนยิ่งขึ้นเกี่ยวกับผลกระทบของระยะเวลาการกวนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

เอกสารอ้างอิง

กัญญา สุจริตวงศานนท์ และ สัณห์ชัย สุจริตวงศานนท์. 2529. การศึกษาเบื้องต้นของการเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว. **วิทยาสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์.** 20(3) : 338-346.

จักรี หม่องเขียว. 2555. **การผลิตน้ำมันชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยระบบน้ำเขียว.** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาประยุกต์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เจนจิรา แซ่คู และ ธนวรรณ พาณิชพัฒน์. 2560. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กในน้ำทิ้งฟาร์มสุกรและการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย. **สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยศิลปากร.** 4(4) : 41-52.

ชาญชัย อมรรัตนานุเคราะห์. 2543. **ผลของตัวแปรต่อการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์โดยสาหร่ายขนาดเล็กในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ณรงค์ กมลรัตน์ เจษฎา ภัทรเลอพงศ์ และศุภสิทธิ์ สิทธาพานิช. 2562. ผลของแสงจากหลอด LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella vulgaris*). **แก่นเกษตร.** 47(3) : 559-566.

ณัฐสิทธิ์ จำรัสฉาย. 2017. **ผลของอุณหภูมิสีของหลอดแอลอีดีขาว และการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงแบบอากาศยกต่อการเติบโต และการผลิตแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola*.** วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรม, จุฬาลงกรมหาวิทยาลัย.

ธวัชชัย ประดู่. 2558. ประสิทธิภาพการใช้หลอด LED ในการเพิ่มแสงสว่างและลดการใช้พลังงานภายในศูนย์บรรณสารและสื่อการศึกษา. **PULINET Journal.** 2(3) : 50-56.

ธิดา เพชรมณี. 2542. **คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน.** กรมประมง สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา, สงขลา.

บริษัท แลมป์ตั้น ไลท์ติ้ง. 2001. **Horticulture lighting หลอดไฟปลูกพืชสำหรับเกษตรกรรมภายในอาคาร.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://storage.lamptan.co.th/docs/ctl/Lamptan-Catalogue-Horticulture_22022024.pdf.

พัตรเพ็ญ เพ็ญจำรัส เทวนาถ ชุ่มสา และ อิศรา วัฒนนภาเกษม. 2562. การปรับปรุงสีและความคงตัวของน้ำผักฟิลเลย์ไอซ์เบิร์กด้วยโซเดียมคลอไรด์และไฮโดรคอลลอยด์. **วารสารวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มทร. สุวรรณภูมิ.** 3(1) : 75-87.

พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย. 2539. **มลพิษทางน้ำ.** ภาควิชาเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร.

ภานุ เทวรัตน์มณีกุล สำรวย เสร็จกิจ และทัศนีย์ วัชรกรโยธิน. 2549. **การเพาะเลี้ยงไรแดง.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. **แพลงก์ตอนพืช.** คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. 2543. **คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน.** คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วีนา ชูโชติ. 2541. **การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสาหร่าย *Chlorella* sp.** ภาควิชาวิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี. 2547. **ลักษณะของคลอเรลลา.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.fisheries.go.th/cf-chan.

สิตา ไชยช่วย. 2558. **การสะสมออกซีเตตราซัยคลินในสาหร่าย *Chlorella vulgaris*.** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

สุนทรต์ ชูลักษณ์ ปุริดา สุพิทิพย์ และ วิชุดา จันทร์ข้างแรม. 2564. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก. **วารสารวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยบลราชธานี.** 23(3) : 97-111.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และจันทรา ดีมาก. 2563. ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตชีวมวลและการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของ *Scenedesmus dimorphus* KMITL. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.** 38(4) : 535-544.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2563. **การเพาะเลี้ยงขนาดเล็กและการใช้ประโยชน์.** หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Agarwal, P., Gupta, R. and Agarwal, N. 2019. Advances in synthesis and applications of microalgal nanoparticles for wastewater treatment. **Journal of Nanotechnology.** 1 : 1-9

Asuthkar, M., Gunti, Y., Rao, R., Rao, C. S. and Yadavalli, R. 2016. Effect of different wavelengths of light on the growth of *Chlorella pyrenoidos*. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.** 7(2) : 1000-1005.

Bartley, M. L., Boeing, W. J., Dungan, B. N., Holguin, F. O. and Schaub, T. 2013. pH effects on growth and lipid accumulation of the biofuel microalgae

nannochloropsis salina and Invading Organisms. **Journal of Applied Phycology.** 26 : 1431-1437.

Becker, E.W. 1994. **Microalgae: Biotechnology and Microbiology.** Greath Britain. Cambridge University Press.

Brennan, L. and Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and coproducts. **Renewable and Sustainable Energy Reviews.** 14(2) : 557-577.

Carvalho, A. P., Silva, S. O., Baptista, J. M. and Malcata, F. X. 2011. Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 89 : 1275-1288.

Chang, H. X., Huang, Y., Fu, Q., Liao, Q. and Zhu, X. 2016. Kinetic characteristics and modeling of microalgae *Chlorella vulgaris* growth and CO_2 biofixation considering the coupled effects of light intensity and dissolved inorganic carbon. **Bioresource Technology.** 206 : 231–238.

Chen, C. Y., Yeh, K. L., Aisyah, R., Lee, D. J. and Chang, J. S. 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology.** 102 : 71–81.

Chen, Y., Wang, J., Zhang, W., Chen, L., Gao, L. and Liu, T. 2013. Forced light/dark circulation operation of open pond for microalgae cultivation. **Biomass and Bioenergy.** 56 : 464-470.

Cherng, J. Y., Liu, C. C., Shen, C. R., Lin, H. H. and Shih, M. F. 2010. Beneficial effects of *Chlorella*-11 peptide on blocking LPS-induced macrophage activation and alleviating thermal injury-induced inflammation in rats. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology.** 23(3) : 811-820.

Chinnasamy, S., Ramakrishnan, B., Bhatnagar, A. and Das, K. C. 2009. Biomass production potential of a wastewater alga *Chlorella vulgaris* ARC 1 under elevated levels of CO_2 and temperature. **International Journal of Molecular Sciences.** 10 : 518-532.

Chu, B., Zhao, J., Zheng, H., Gong, J., Chen, K., Zhang, S., Xiao, G. and He, Y. 2021. Performance of LED with mixed wavelengths or two-phase culture on the growth and lipid accumulation of *Chlorella pyrenoidosa*. **Journal of Agricultural and Biological Engineering**. 14(1) : 90-96.

Collet, P., Hélias, A., Lardon, L., Ras, M., Goy, R. A. and Steyer, J. P. 2011. Life-cycle assessment of microalgae culture coupled to biogas production. **Bioresource Technology.** 102 : 207-214.

Contreras, A., García, F., Molina, E. and Merchuk, J. C. 1998. Interaction between CO_2-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.

Coronado-Reyes, J. A., Salazar-Torres, J. A., Juárez-Campos, B. and Gonzalez-Hernandez, J. C. 2022. *Chlorella vulgaris*, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review. **Food Science and Technology.** 42 : e37320.

Das, P., Lei, W., Aziz, S. S. and Obbard, J. P. 2011. Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light. **Bioresource Technology.** 102(4) : 3883-3887.

de Andrade, C. J., and Lidiane, de. A. 2017. An overview on the application of genus *Chlorella* in biotechnological processes. **Journal of Advanced Research in Biotechnology.** 2 : 1-9.

Doucha, J., Livansky, K., Kotrbacek, V. and Zachleder, V. 2009. Production of *Chlorella* biomass enriched by selenium and its use in animal nutrition: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 83 : 1001–1008.

Duarte, J. H and Costa, A.V. 2018. Blue light emitting diodes (LEDs) as an energy source in *Chlorella fusca* and *Synechococcus nidulans* cultures. **Bioresource Technology.** 247 : 1242–1245.

Ebrahimi-Mameghani, M., Sadeghi, Z., Farhangi, M. A., Vaghef-Mehrabany, E., and Aliashrafi, S. 2017. Glucose homeostasis, insulin resistance and inflammatory biomarkers in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Beneficial effects of supplementation with microalgae *Chlorella vulgaris*: A double-blind placebo-controlled randomized clinical trial. **Clinical Nutrition.** 36(4) : 1001-1006.

Emerson, R. and Lewis, C. M. 1943. The dependence of the quantum yield of *Chlorella* photosynthesis on wave lenghth of light. **American Journal of Botany.** 165-178.

EPA. 1991. pp. 359-363. **ESS Method 150.1: Chlorophyll-Spectrophotometric.** Environmental Sciences Section Inorganic Chemistry Unit Wisconsin State Lab of Hygiene 465 Henry Mall Madison, WI 53706.

Fabregas, J., Maseda, A., Domínguez, A., Ferreira, M. and Otero, A. 2002. Changes in the cell composition of the marine microalga, *Nannochloropsis gaditana*, during a light:dark cycle. **Biotechnology Letters.** 24 : 1699-1703.

Fakhri, M., Arifin, N. B., Yuniarti, A. and Hariati, A. M. 2017. The influence of salinity on the growth and chlorophyll content of *Nannochloropsis* sp. BJ17. **Nature Environment and Pollution Technology.** 16(1) : 209.

Flores, C., Julian, M. P. C., Luis, B. F. C. and Rosa, O. C. V. 2003. Avances en el diseno conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. **Version Impresa.** 28(8) : 0378-1844.

Giacomelli, G. 1998. Lecture 1 Components of Radiation: Definition of Units, Measuring Radiation Transmission, Sensors, **Greenhouse Glazing & Solar Radiation Transmission Workshop.** CCEA, Center for Controlled Environment Agriculture, Rutgers University Cook College.

Grobbelaar J. U. 2004. Algal nutrition: mineral nutrition. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology.** Oxford: Blackwell Science.

Gunawan, T. J., Ikhwan, Y., Restuhadi, F. and Pato, U. 2018. Effect of light Intensity and photoperiod on growth of *Chlorella pyrenoidosa* and CO_2 Biofixation. **E3S Web of Conferences.** 31 : 1-7.

Guo, H. and Fang, Z. 2020. Effect of light quality on the cultivation of *chlorella pyrenoidosa*. **E3S Web of Conferences.** 143 : 1-6.

Guschina, I. A. and Harwood, J. L. 2006. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. **Progress in Lipid Research.** 45(2) : 160-186.

Hammouda, O., Gaber, A. and Abdelraouf, N. 1995. Microalgae and wastewater treatment. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** 31(3) : 205-210.

Han, B. P., Han, Z. G. and Fu, X. 2003. **Photosynthesis Models and Mechanisms.** Beijing : Science Press.

He, Q., Yang, H., Wu, L. and Hu, C. 2015. Effect of light intensity on physiological changes, carbon allocation and neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae. **Bioresource Technology.** 191 : 219-228.

Henrard, A. A., da Rosa, G. M., Moraes, L., de Morais, M. G., and Costa, J. A. V. 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 Sani, M. 2020. Different stirring rates on the *Chlorella vulgaris* growth for wastewater treatment systems. **International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology.** 4(11) : 454-460.

Jankowska, E., Sahu, A. K. and Oleskowicz-Popiel, P. 2017. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews.** 75 : 692-709.

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., Kamuang, S., Khamket, T., Sangmek, P. and Sitthaphanit, S. 2023. The Effect of Optimum Photoperiod from Blue LED Light on Growth of *Chlorella Vulgaris* in Photobioreactor Tank. **Natural and Life Sciences Communications.** 22(3) : e2023038.

Katalay, S., Boyacioglu, M., Arslan, O. C., Parlak, H. and Karaaslan, M. A. 2012. Phytotoxicity of water and sediment from Nif brook (Izmir, Turkey) on green algae *Desmodesmus* (=*Scenedesmus*) subspicatus. **Ekoloji.** 21(83) : 25-31.

Kendirlioglu, G., Agirman, N. and Cetin, A. K. 2015. The effects of photoperiod on the growth, protein amount and pigment content of *Chlorella vulgaris*. **Turkish Journal of Science and Technology.** 10(2) : 7-10.

Khalili, A., Najafpour, G. D., Amini, G. and Samkhaniyani, F. 2015. Influence of nutrients and LED light intensities on biomass production of microalgae *Chlorella vulgaris*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering.** 20 : 284-290.

Khoeyi, Z. A., Seyfabadi, J. and Ramezanpour, Z. 2012. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. **Aquaculture International.** 20 : 41-49.

Kim, J., Lee, J. Y. and Lu, T. 2014. Effects of dissolved inorganic carbon and mixing on autotrophic growth of *Chlorella vulgaris.* **Biochemical Engineering Journal.** 82 : 34– 40.

Kuo, C. M., Jian, J. F., Lin, T. H., Chang, Y. B., Wan, X. H., Lai, J. T., Chang, J. S. and Lin, C. S. 2016. Simultaneous microalgal biomass production and CO_2 fixation by cultivating *Chlorella* sp. GD with aquaculture wastewater and boiler flue gas. **Bioresource Technology.** 221 : 241-250.

Kuo, C. M., Jian, J. F., Sun, Y. L., Lin, T. H., Yang, Y. C., Zhang, W. X., Chang, H. F., Lai, J. T., Chang, J. S. and Lin, C. S. 2018. An efficient Photobioreactors/Raceway circulating system combined with alkaline-CO_2 capturing medium for microalgal cultivation. **Bioresource Technology.** 266 : 398–406.

Lee, C. G. and Palsson, B. Ø. 1996. Photoacclimation of *Chlorella vulgaris* to red light from light-emitting diodes leads to autospore release following each cellular division. **Biotechnology Progress.** 12(2) : 249-256.

Levasseur, W., Perré, P. and Pozzobon, V. 2020. A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. **Biotechnology Advances.** 41: 107545.

Li, G., Talmy, D. and Campbell, D. A. 2017. Diatom growth responses to photoperiod and light are predictable from diel reductant generation. **Journal of Phycology.** 53(1) : 95-107.

Lordan, S., Ross, R. P. and Stanton, C. 2011. Marine bioactives as functional food ingredients: potential to reduce the incidence of chronic diseases. **Marine Drugs.** 9(6) : 1056-1100.

Lv, J., Feng, J., Liu, Q. and Xie, S. 2017. Microalgal cultivation in secondary effluent: recent developments and future work. **International Journal of Molecular Sciences.** 18 : 1-18.

Matthijs, H. C., Balke, H., Van Hes, U. M., Kroon, B. M., Mur, L. R. and Binot, R. A. 1995. Application of light-emitting diodes in bioreactors: flashing light effects and energy economy in algal culture (*Chlorella pyrenoidosa*). **Biotechnology and Bioengineering.** 50 : 98-107.

Meireles, L. A., Guedes, A. C., Barbosa, C. R., Azevedo, J. L., Cunha, J. P. and Malcata, F. X. 2008. On-line control of light intensity in a microalgal bioreactor using

a novel automatic system. **Enzyme and Microbial Technology.** 42 : 554-559.

Mohamed, A. G., Abo-El-Khair, B. E. and Shalaby, S. M. 2013. Quality of novel healthy processed cheese analogue enhanced with marine microalgae *Chlorella vulgaris* biomass. **World Applied Sciences Journal.** 23(7) : 914-925.

Mohammed, K., Ahammad, S. Z., Sallis, P. J. and Mota, C. R. 2014. Energy-efficient stirred-tank photobioreactors for simultaneous carbon capture and municipal wastewater treatment. **Water Science and Technology.** 69(10) : 2106-2112.

Niangoran, U., Buso, D., Zissis, G. and Prudhomme, T. 2021. Influence of light intensity and photoperiod on energy efficiency of biomass and pigment production of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*). **Oilseeds and fats, Crops and Lipids.** 28 : 37.

Nwoba, E. G. 2017. Effect of selected light spectra on the growth of *Chlorella* spp. (Chlorophyta). **Nigerian Journal of Biotechnology.** 32 : 69-76.

Nwoba, E. G., Ayre, J. M., Moheimani, N. R., Ubi, B. E. and Ogbonna, J. C. 2016. Growth comparison of microalgae in tubular photobioreactor and open pond for treating anaerobic digestion piggery effluent. **Algal Research.** 17 : 268-276.

Oh, S. H., Kwon, M. C., Choi, W. Y., Seo, Y. C., Kim, G. B., Lee, S. Y. and Lee, H. Y. 2010. Long-term outdoor cultivation by perfusing spent medium for biodiesel production from *Chlorella minutissima*. **Journal of Bioscience and Bioengineering.** 110(2) : 194-200.

Ohse, S., Derner, R. B., Ozório, R. Á., da Costa Braga, M. V., Cunha, P., Lamarca, C. P. and dos Santos, M. E. 2008. Crescimento de microalgas em sistema autotrófico estacionário. **Biotemas.** 21(2) : 7-18.

Ooms, M. D., Dinh, C. T., Sargent, E. H. and Sinton, D. 2016. Photon management for augmented photosynthesis. **Nature Communications.** 7 : 1-13.

Parmar, A., Singh, N. K., Pandey, A., Gnansounou, E., and Madamwar, D. 2011. Cyanobacteria and microalgae: A positive prospect for biofuels. **Bioresource Technology.** 102(22) : 10163-10172.

Parveen, A., Bhatnagar, P., Gautam, P., Bisht, B., Nanda, M., Kumar, S., Vlaskin, M. S. and Kumar, V. 2023. Enhancing the bio-prospective of microalgae by

different light systems and photoperiods. **Photochemical & Photobiological Sciences**. 22(11) : 2687-2698.

Pawar, S. 2016. Effectiveness mapping of open raceway pond and tubular photobioreactors for sustainable production of microalgae biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 62 : 640–653.

Pedruzi, G. O., Amorim, M. L., Santos, R. R., Martins, M. A. and Vaz, M. G. 2020. Biomass accumulation-influencing factors in microalgae farms. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. 24(2) : 134-139.

Posada, F.C. 2007. Photoinhibition: physiological response of plants to high-irradiance stress. **Revista Colombiana de Ciencias Horticolas.** 1(1) : 114-123.

Priyadarshani, I. and Rath, B. 2012. Commercial and industrial applications of micro algae-A review. **Journal of Algal Biomass Utilization.** 3(4) : 89-100.

Pulz, O. 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology.** 57 : 287-293.

Saavedra, M.P.S. and Voltolina, D. 2002. Effect of photon fluence rates of white blue-green light on growth efficiency and pigment content of three diatom species in batch cultures. **Ciencias Marinas.** 28(3) : 273-279.

Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y. and Vaca-Garcia, C. 2014. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews.** 35 : 265–278.

Sakarika, M. and Kornaros, M. 2016. Effect of pH on growth and lipid accumulation kinetics of the microalga *Chlorella vulgaris* grown heterotrophically under sulfur limitation. **Bioresource Technology.** 219 : 694-701.

Sánchez, Á., Maceiras, R., Cancela, Á. and Pérez, A. 2013. Culture aspects of *Isochrysis galbana* for biodiesel production. **Applied Energy.** 101 : 192–197.

Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A. and Abd_Allah, E. F. 2019. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. **Saudi Journal of Biological Sciences.** 26(4) : 709-722.

Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z. and Amini Khoeyi, Z. 2011. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. **Journal of Applied Phycology.** 23 : 721-726.

Shen, Y. W., Zhu, Y. Z. and Liu, Y. D. 1999. Effects of different light quality on Richelia sinica. **Acta Hydrobiology Sinica.** 23 (3) : 285-287.

Sobczuk, T. M., Camacho, F. G., Grima, E. M. and Chisti, Y. 2006. Effects of agitation on the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* and *Porphyridium cruentum*. **Bioprocess and Biosystems Engineering.** 28 : 243-250.

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., and Isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering.** 101(2) : 87-96.

Stolz, P. and Obermayer, B. 2005. Manufacturing microalgae for skin care. **Cosmetics and Toiletries.** 120(3) : 99-106.

Tan, X. B., Zhang, Y. L., Yang, L. B., Chu, H. Q. and Guo, J. 2016. Outdoor cultures of *Chlorella pyrenoidosa* in the effluent of anaerobically digested activated sludge: the effects of pH and free ammonia. **Bioresource Technology.** 200 : 606-615.

Ursu, A. V., Marcati, A., Sayd, T., Sante-Lhoutellier, V., Djelveh, G. and Michaud, P. 2014. Extraction, fractionation and functional properties of proteins from the microalgae *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology.** 157 : 134-139.

Veillette, M., Giroir-Fendler, A., Faucheux, N. and Heitz, M. 2017. Esterification of free fatty acids with methanol to biodiesel using heterogeneous catalysts: from model acid oil to microalgae lipids. **Chemical Engineering Journal.** 308 : 101-109.

Wang, C. and Lan, C.Q. 2018. Effects of shear stress on microalgae - A review. **Biotechnology Advances.** 36 : 986-1002.

Yamamoto, M., Fujishita, M., Hirata, A. and Kawano, S. 2004. Regeneration and maturation of daughter cell walls in the autospore-forming green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). **Journal of Plant Research.** 117 : 257–264.

Yamamoto, M., Kurihara, I. and Kawano, S. 2005. Late type of daughter cell wall synthesis in one of the *Chlorellaceae*, *Parachlorella kessleri* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). **Planta.** 221 : 766–775.

Yan, C., Muñoz, R., Zhu, L. and Wang, Y. 2016. The effects of various LED (light emitting diode) lighting strategies on simultaneous biogas upgrading and

biogas slurry nutrient reduction by using of microalgae *Chlorella* sp. **Energy.** 106 : 554–561.

Yan, C., Zhang, L., Luo, X. and Zheng, Z. 2013. Effects of various LED light wavelengths and intensities on the performance of purifying synthetic domestic sewage by microalgae at different influent C/N ratios. **Ecological Engineering.** 51 : 24-32.

Yang, Z., Cheng, J., Yang, W., Zhou, J. and Cen, K. 2016. Developing a water circulating column photobioreactor for microalgal growth with low energy consumption. **Bioresource Technology.** 221 : 492-497.

Yen, H. W., Hu, I. C., Chen, C. Y., Ho, S. H., Lee, D. J. and Chang, J. S. 2013. Microalgae- based biorefinery-from biofuels to natural products. **Bioresource technology.** 135 : 166-174.

Zhao, Y., Wang, J., Zhang, H., Yan, C. and Zhang, Y. 2013. Effects of various LED light wavelengths and intensities on microalgae-based simultaneous biogas upgrading and digestate nutrient reduction process. **Bioresource Technology.** 136 : 461–468.

Zhu, L. 2015. Microalgal culture strategies for biofuel production: a review. Biofuels, **Bioproducts and Biorefining.** 9(6) : 801-814.

Zhu, L. D., Hiltunen, E., Antila, E., Zhong, J. J., Yuan, Z. H. and Wang, Z. M. 2014. Microalgal biofuels: Flexible bioenergies for sustainable development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews.** 30 : 1035-1046.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 จำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	หัวทราย (ชุดควบคุม)	กวนแนวราบ	กวนแนวตั้ง	กวนแนวราบร่วมกับแนวตั้ง	
0	9.98±4.12	20.36±6.67	13.08±7.43	13.67±30.56	ns
1	211.04±13.36	202.42±14.07	228.71±76.40	185.13±64.83	ns
2	299.89±87.67^{a}	190.32±19.82^{b}	252.34±66.35^{ab}	198.80±39.33^{b}	0.034
3	55.92±30.68^{b}	249.25±16.32^{a}	301.06±72.53^{a}	272.28±25.98^{a}	0.000
4	136.93±44.72^{c}	328.96±36.12^{ab}	282.73±88.05^{b}	395.90±31.14^{a}	0.000
5	203.67±70.60	267.55±43.38	212.30±52.80	247.79±77.93	ns
6	382.27±100.63	355.95±67.19	387.89±81.48	427.23±108.07	ns
7	558.11±96.55^{bc}	455.20±100.73^{c}	678.28±126.65^{b}	964.42±186.36^{a}	0.000
8	789.64±125.36^{c}	721.63±127.42^{c}	1,116.28±164.74^{b}	1,580.08±211.21^{a}	0.000
9	805.75±139.83^{c}	760.71±63.25^{c}	1,089.27±204.76^{b}	1,567.69±204.40^{a}	0.000
10	586.64±231.79^{b}	578.33±59.57^{b}	684.55±234.60^{b}	1,163.23±243.26^{a}	0.001

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 2 น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	หัวทราย (ชุดควบคุม)	กวนแนวราบ	กวนแนวตั้ง	กวนแนวราบรวมกับแนวตั้ง	
0	8.60±1.52	9.00±2.24	10.00±2.24	9.80±3.56	ns
1	8.60±3.51^{bc}	16.20±5.63^{ab}	14.60±2.61^{b}	20.60±4.56^{a}	0.003
2	9.20±2.49^{b}	19.60±6.84^{a}	18.60±3.85^{a}	23.60±5.59^{a}	0.002
3	45.40±3.21^{d}	96.00±8.60^{a}	67.20±13.01^{c}	82.00±9.06^{b}	0.000
4	60.00±5.66	98.00±41.83	79.20±8.32	88.40±14.10	ns
5	62.00±9.49^{b}	113.60±17.57^{a}	91.20±23.86^{a}	112.80±13.24^{a}	0.001
6	89.80±8.81^{b}	114.70±3.49^{a}	94.00±18.33^{b}	113.60±3.24^{a}	0.002
7	100.40±12.28^{b}	156.40±26.77^{a}	121.20±14.32^{b}	149.60±22.20^{a}	0.001
8	123.60±13.59^{c}	177.60±16.82^{ab}	164.00±14.56^{b}	202.80±28.80^{a}	0.000
9	120.40±22.86^{c}	148.40±9.84^{b}	154.40±27.33^{b}	196.00±13.04^{a}	0.000
10	111.60±33.54^{b}	116.40±19.46^{b}	116.80±33.27^{b}	172.80±29.52^{a}	0.014

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 3 ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	หัวทราย (ชุดควบคุม)	กวนแนวราบ	กวนแนวตั้ง	กวนแนวราบรวมกับแนวตั้ง	
0	16.30±6.14	15.17±4.98	15.85±3.93	16.77±6.16	ns
1	27.11±10.87	38.03±10.44	34.06±10.19	31.39±9.98	ns
2	127.54±104.28	378.04±139.94	320.76±127.88	331.45±173.28	ns
3	704.91±91.99	1,020.48±404.75	786.63±337.55	947.01±110.70	ns
4	971.90±106.27	1,630.53±542.89	1,315.12±785.11	1,835.82±427.79	ns
5	1,321.53±715.43	2,075.68±1,294.16	1,373.92±238.12	2,461.30±323.48	ns
6	2,427.08±577.45^{b}	2,140.54±290.38^{b}	1,784.50±221.02^{b}	3,779.62±904.01^{a}	0.000
7	3,437.48±762.99	4,694.74±859.95	3,677.75±1,246.93	4,597.56±1,116.12	ns
8	3,859.81±1,166.45^{b}	4,756.69±548.95^{ab}	4,068.30±1,497.17^{b}	5,741.60±577.45^{a}	0.044
9	3,978.37±651.99	4,498.84±802.55	3,746.30±1,502.56	5,322.42±2,122.48	ns
10	3,659.81±995.62	4,152.59±2,480.66	3,228.88±1,312.17	4,389.07±610.24	ns

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 4 ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	หัวทราย (ชุดควบคุม)	กวนแนวราบ	กวนแนวตั้ง	กวนแนวราบรวมกับแนวตั้ง	
0	23.40±2.42	23.64±3.77	21.88±4.36	21.88±4.36	ns
1	100.50±108.52	111.10±33.80	107.56±12.90	116.43±23.21	ns
2	100.89±15.89	464.57±327.06	159.85±156.85	202.61±219.55	ns
3	192.68±116.31^{b}	590.09±180.10^{a}	262.49±120.22^{b}	508.94±206.20^{a}	0.003
4	221.86±97.78	638.08±188.13	532.99±626.14	564.66±600.17	ns
5	502.52±491.94	775.17±1,554.69	591.57±485.80	701.40±762.34	ns
6	630.90±481.80	822.21±482.66	789.07±488.66	1,056.83±202.51	ns
7	920.47±1,547.38	1,201.24±216.49	1,052.09±317.50	1,214.61±1,192.46	ns
8	1,043.00±807.46^{b}	1,255.24±372.82^{b}	2,125.57±1,405.22^{ab}	2,587.80±577.88^{a}	0.043
9	1,083.10±1,043.74	1,291.17±481.54	2,215.38±2,096.28	2,605.11±2,217.58	ns
10	1,568.21±319.99	1,458.39±1,060.89	3,081.97±1,624.51	3,688.74±2,387.56	ns

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 5 pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	หัวทราย (ชุดควบคุม)	กวนแนวราบ	กวนแนวตั้ง	กวนแนวราบร่วมกับแนวตั้ง	
0	6.70±0.10	6.74±0.09	6.69±0.11	6.76±0.18	ns
1	6.85±0.02^{b}	7.01±0.02^{a}	7.03±0.13^{a}	6.99±0.06^{a}	0.005
2	6.86±0.03^{b}	7.06±0.04^{a}	7.04±0.12^{a}	7.03±0.07^{a}	0.003
3	7.80±0.06^{c}	7.99±0.03^{ab}	7.95±0.05^{b}	8.05±0.11^{a}	0.000
4	8.54±0.08^{a}	8.30±0.04^{c}	8.28±0.04^{c}	8.40±0.08^{b}	0.000
5	8.26±0.07^{a}	7.96±0.04^{b}	7.96±0.07^{b}	8.05±0.10^{b}	0.000
6	8.08±0.07^{a}	7.97±0.07^{ab}	7.89±0.06^{b}	8.09±0.14^{a}	0.008
7	8.05±0.06^{ab}	7.97±0.07^{bc}	7.92±0.04^{c}	8.09±0.11^{a}	0.011
8	8.00±0.07^{ab}	7.91±0.07^{b}	7.86±0.05^{b}	8.08±0.18^{a}	0.021
9	7.96±0.11^{a}	7.89±0.07^{ab}	7.78±0.12^{b}	8.04±0.15^{a}	0.015
10	7.96±0.23	7.84±0.14	7.59±0.22	7.94±0.28	ns

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 6 จำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	24 ชม. (ชุดควบคุม)	4/16 นาที	2/8 นาที	1/4 นาที	
0	721.25±41.90	708.05±40.28	721.25±40.49	683.75±18.87	ns
1	1,177.50±24.15	1,240.00±79.32	1,267.50±88.03	1,198.75±38.16	ns
2	1,623.75±52.65^{b}	1,775.00±70.05^{a}	1,793.75±126.44^{a}	1,797.50±40.62^{a}	0.027
3	1,777.50±93.71^{b}	2,025.00±191.15^{a}	2,132.50±141.53^{a}	2,015.00±65.12^{a}	0.014
4	2,082.50±93.00	2,308.75±192.37	2,255.00±110.26	2,162.50±114.23	ns
5	2,127.50±160.46	2,353.75±215.34	2,242.50±106.61	2,191.25±129.83	ns
6	2,477.50±237.52	2,622.50±265.67	2,418.75±91.04	2,541.25±232.03	ns
7	2,636.25±279.29	2,753.75±292.24	2,731.25±219.25	2,666.25±285.52	ns
8	2,776.25±195.66	2,935.00±288.05	3,105.00±419.21	2,971.25±275.90	ns
9	2,921.25±150.85^{b}	3,160.00±310.38^{ab}	3,263.75±218.60^{ab}	3,407.50±145.48^{a}	0.047
10	3,035.00±100.70	3,081.25±391.75	3,526.25±245.50	3,562.50±460.77	ns

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 7 น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	24 ชม. (ชุดควบคุม)	4/16 นาที	2/8 นาที	1/4 นาที	
0	12,504.13±716.70	12,290.35±688.96	12,504.13±692.49	11,862.80±322.79	ns
1	20,306.92±413.05	21,375.79±1,356.53	21,846.10±1,505.56	20,670.33±652.63	ns
2	27,938.68±900.57^{b}	30,525.36±1,198.16^{a}	30,846.02±2,162.55^{a}	30,910.16±694.69^{a}	0.027
3	30,568.12±1,602.79^{b}	35,228.41±3,269.20^{a}	36,639.33±2,420.60^{a}	34,629.84±1,113.82^{a}	0.014
4	35,784.23±1,590.58	39,653.55±3,289.91	38,734.32±1,885.75	37,152.39±1,953.67	ns
5	36,553.82±2,744.32	40,423.15±3,082.81	38,520.55±1,823.32	37,644.07±2,220.38	ns
6	42,539.52±4,062.10	45,019.31±4,543.58	41,534.77±1,557.09	43,629.77±3,968.24	ns
7	45,254.46±4,776.52	47,263.94±4,997.95	46,879.15±3,749.71	45,767.52±4,883.00	ns
8	47,648.74±3,351.57	50,363.68±3,900.16	53,271.02±7,169.42	50,983.63±4,718.51	ns
9	50,128.53±2,579.87^{b}	54,211.63±5,308.28^{ab}	55,985.96±3,738.64^{ab}	58,444.38±2,488.13^{a}	0.047
10	52,073.88±1,722.27	52,864.85±6,699.81	60,475.24±4,198.63	61,095.19±7,880.23	ns

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 8 ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	24 ชม. (ชุดควบคุม)	4/16 นาที	2/8 นาที	1/4 นาที	
0	967.62±48.80	1149.39±240.15	1019.75±54.58	1054.50±103.42	ns
1	1,641.22±39.52	1,599.79±555.70	960.95±601.22	1,590.44±762.29	ns
2	2,816.68±292.69	3,274.43±298.45	3,317.87±332.31	3,097.34±39.91	ns
3	3,317.87±500.95	4,931.68±1,187.70	4,560.81±813.28	4,420.48±368.18	ns
4	4,280.14±1,134.81	4,677.75±1,318.15	3,488.27±2,107.69	4,514.03±440.89	ns
5	5,225.72±491.55^{ab}	5,599.94±1,001.22^{a}	3,956.05±1,096.58^{b}	4,042.92±702.69^{b}	0.041
6	6,014.25±661.53	5,596.60±1274.63	4,824.77±325.55	4,507.35±488.55	ns
7	7,116.87±846.16	7,120.21±1,741.74	6,151.24±1,292.12	5,573.21±1,335.56	ns
8	9,890.11±2,290.32	8,814.22±2,366.43	9,973.64±3,127.89	11,443.78±2,032.31	ns
9	8,637.14±220.79	8,871.02±1,685.60	8,052.42±2,067.98	9,405.62±2,117.68	ns
10	7,801.82±639.51	9,134.98±4,830.16	7,835.23±990.23	8,236.19±1284.68	ns

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 9 ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	24 ชม. (ชุดควบคุม)	4/16 นาที	2/8 นาที	1/4 นาที	
0	16.75±4.65	21.75±5.68	24.50±24.73	14.50±3.69	ns
1	27.75±13.72^{c}	80.00±14.07^{a}	62.25±33.15^{ab}	33.00±9.56^{bc}	*
2	29.00±22.73^{b}	100.16±24.00^{a}	74.25±39.33^{a}	62.75±17.19^{ab}	*
3	62.00±12.65	102.38±104.67	127.90±93.32	95.75±22.78	ns
4	74.00±4.69	259.62±289.21	178.76±229.91	105.38±30.81	ns
5	132.58±58.53	287.35±397.75	202.81±342.88	112.93±132.22	ns
6	175.75±351.50	511.55±412.96	601.43±1202.85	114.27±228.54	ns
7	367.40±322.19	541.95±666.91	660.23±959.78	329.78±233.87	ns
8	478.80±397.21	645.66±768.65	1,595.45±1,688.36	393.93±787.87	ns
9	1,546.33±1,516.80	787.87±1,398.22	1,711.92±953.38	531.93±1,039.04	ns
10	1,907.19±1,060.18	819.61±1,639.22	2,188.18±3,277.41	1,400.98±970.44	ns

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 10 pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	24 ชม. (ชุดควบคุม)	4/16 นาที	2/8 นาที	1/4 นาที	
0	7.40±0.06	7.51±0.12	7.41±0.05	7.37±0.01	ns
1	8.42±0.08	8.35±0.10	8.32±0.10	8.35±0.04	ns
2	8.30±0.06	8.36±0.03	8.32±0.03	8.47±0.28	ns
3	8.20±0.06	8.31±0.08	8.26±0.00	8.26±0.03	ns
4	8.18±0.08	8.28±0.02	8.24±0.08	8.26±0.02	ns
5	8.19±0.06	8.30±0.02	0.27±0.07	8.31±0.07	ns
6	8.19±0.08^{b}	8.35±0.05^{a}	8.32±0.78^{a}	8.30±0.04^{a}	0.026
7	8.17±0.07	8.31±0.08	8.33±0.09	8.28±0.08	ns
8	8.14±0.12^{b}	8.36±0.05^{a}	8.34±0.05^{a}	8.32±0.03^{a}	0.006
9	8.04±0.19^{b}	8.37±0.05^{a}	8.31±0.77^{a}	8.32±0.03^{a}	0.004
10	7.56±0.16^{b}	8.04±0.08^{a}	7.95±0.14^{a}	7.94±0.14^{a}	0.001

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 11 อุณหภูมิน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาการกวนที่แตกต่างกัน (กวน/หยุด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	24 ชม. (ชุดควบคุม)	4/16 นาที	2/8 นาที	1/4 นาที	
0	31.92±0.17	31.87±0.09	32.02±0.05	31.87±0.09	ns
1	32.62±0.26	32.40±0.27	32.60±0.18	32.67±0.09	ns
2	33.42±0.47	33.07±0.17	33.27±0.92	33.65±0.34	ns
3	31.02±0.92	31.00±0.24	30.82±0.53	31.35±0.69	ns
4	32.58±0.42	32.47±0.23	32.62±0.40	32.70±0.53	ns
5	33.25±0.61	32.75±0.36	33.17±0.42	33.02±0.82	ns
6	33.22±0.54	33.22±0.29	33.30±0.24	33.27±0.52	ns
7	32.95±0.59	32.92±0.27	32.95±0.30	33.02±0.34	ns
8	31.42±0.32	31.37±0.25	31.47±0.28	31.46±0.26	ns
9	31.82±0.45	31.82±0.15	31.90±0.25	32.00±0.38	ns
10	$29.05±0.17^{a}$	$28.65±0.12^{b}$	$28.67±0.05^{b}$	$28.77±0.95^{b}$	0.002

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 12 ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันต่อจำนวนเซลล์เฉลี่ย ($x10^4$ เซลล์/มล.) สาหร่ายคลอเรลลา

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	แสงสีขาว	แสงสีแดง	แสงสีน้ำเงิน	แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน	
0	451.20±6.00	445.20±20.78	441.20±2.00	435.86±4.61	ns
2	406.53±22.74	412.53±13.61	437.20±19.69	424.53±20.52	ns
4	$380.53±22.03^{c}$	$475.86±6.11^{ab}$	$441.20±38.15^{b}$	$515.86±46.36^{a}$	0.005
6	$427.86±13.31^{c}$	$621.86±18.04^{b}$	$593.20±10.00^{b}$	$685.86±44.73^{a}$	0.000
8	$397.20±39.85^{c}$	$487.20±59.19^{bc}$	$587.86±62.36^{b}$	$717.20±92.45^{a}$	0.002
10	$324.53±63.95^{d}$	$435.86±9.86^{c}$	$567.20±90.59^{b}$	$687.86±33.54^{a}$	0.000

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 13 ผลของความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกันต่อน้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) สาหร่ายคลอเรลลา

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	แสงสีขาว	แสงสีแดง	แสงสีน้ำเงิน	แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน	
0	2,953.19±38.67	2,914.51±133.96	2,888.73±12.89	2,854.35±29.77	ns
2	2,665.29±146.60	2,703.96±87.74	2,862.95±126.95	2,781.30±132.30	ns
4	2,497.71±141.99^{c}	3,112.17±39.38^{ab}	2,888.73±245.94^{b}	3,369.98±298.81^{a}	0.005
6	2,802.79±85.83^{c}	4,053.20±116.25^{b}	3,868.43±64.45^{b}	4,465.70±288.34^{a}	0.000
8	2,605.13±256.84^{c}	3,185.22±381.53^{bc}	3,834.05±401.91^{b}	4,667.66±595.93^{a}	0.002
10	2,136.77±412.16^{d}	2,854.35±63.59^{c}	3,700.85±583.94^{b}	4,478.59±216.22^{a}	0.000

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 14 จำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง		t-test
	แสงฟูลสเปคตรัม	แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน	
0	801.25±336.49	778.75±67.62	ns
1	1,245.00±67.94	965.00±74.27	0.001
2	1,462.50±82.21	967.50±30.14	0.000
3	1,492.50±503.07	1,540.00±293.12	ns
4	1,507.50±295.03	632.50±59.23	0.001
5	1,760.00±125.70	561.25±63.43	0.000
6	1,938.75±200.27	523.75±44.98	0.000
7	2,108.75±196.36	476.25±34.25	0.000
8	2,121.25±218.57	378.75±133.32	0.000
9	1,838.75±147.05	295.00±142.30	0.000
10	1,806.25±236.02	121.25±54.68	0.000

หมายเหตุ: ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 15 น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง		t-test
	แสงฟูลสเปคตรัม	แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน	
0	13,872.29±5,754.59	9,126.48±769.19	ns
1	21,461.30±1,162.01	9,767.81±1,084.72	0.000
2	25,950.58±5,045.57	10,986.33±1,012.97	0.001
3	30,268.83±2,149.69	26,506.39±5,012.86	ns
4	31,059.80±1,036.44	16,765.50±515.43	0.000
5	31,615.61±2,514.80	16,672.74±1,270.24	0.000
6	33,325.81±3,424.94	13,487.49±1,156.49	0.000
7	36,233.15±3,358.11	8,314.14±585.71	0.000
8	36,446.93±3ม737.99	6,646.69±2,279.95	0.000
9	25,694.05±8,603.43	5,214.40±2,433.66	0.004
10	25,180.98±1,405.94	2,242.93±935.09	0.000

หมายเหตุ: ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางผนวกที่ 16 ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง		t-test
	แสงฟูลสเปคตรัม	แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน	
0	132.40±50.11	106.92±30.86	ns
1	507.87±229.94	267.30±173.23	ns
2	848.68±1697.36	334.13±229.42	ns
3	995.69±485.27	454.41±339.52	ns
4	1,603.80±1,462.59	728.39±458.52	ns
5	2,171.81±528.49	748.44±351.24	0.004
6	3,989.45±899.70	1,677.31±312.77	0.003
7	5,185.62±4,374.04	7,798.48±1,253.63	ns
8	12,301.53±5,671.15	9,134.98±1,260.26	ns
9	4,350.31±660.68	4,477.28±607.38	ns
10	3,220.96±1,869.89	1,617.16±378.33	ns

หมายเหตุ: ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางผนวกที่ 17 ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง		t-test
	แสงฟูลสเปคตรัม	แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน	
0	306.05±384.70	142.33±284.67	ns
1	932.20±287.89	370.87±663.99	ns
2	1,146.04±1,529.25	520.56±278.21	ns
3	1,332.49±1,655.25	791.20±222.26	ns
4	1,518.26±1,099.19	897.46±330.78	ns
5	1,563.03±1,022.84	980.32±731.62	ns
6	1,916.54±656.02	1,067.86±456.15	ns
7	1,941.93±1,545.21	1,974.01±622.76	ns
8	2,345.56±378.53	2,521.70±2,076.62	ns
9	5,739.60±3,626.54	3,593.84±5,251.17	ns
10	6,326.99±1,362.56	5,932.05±1,325.18	ns

หมายเหตุ: ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางผนวกที่ 18 pH ของน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง		t-test
	แสงฟูลสเปคตรัม	แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน	
0	6.92±0.40	7.19±0.17	0.021
1	8.08±0.08	7.99±0.03	ns
2	8.21±0.08	8.08±0.02	ns
3	8.24±0.09	8.08±0.06	0.023
4	8.16±0.06	7.89±0.18	ns
5	7.58±0.46	6.32±1.13	ns
6	6.02±0.46	6.04±0.65	ns
7	5.92±0.06	5.74±0.04	0.003
8	5.78±0.08	5.69±0.05	ns
9	5.99±0.11	5.70±0.42	0.003
10	6.14±0.12	5.80±0.10	0.006

หมายเหตุ: ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางผนวกที่ 19 อุณหภูมิน้ำในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาด้วยแสงฟูลสเปคตรัม

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง		t-test
	แสงฟูลสเปคตรัม	แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน	
0	29.00±0.00	28.90±0.08	ns
1	31.30±0.00	30.60±0.81	0.000
2	31.75±0.06	30.93±0.05	0.000
3	32.43±0.10	31.78±0.10	0.000
4	31.98±0.05	31.35±0.06	0.000
5	32.50±0.14	31.88±0.13	0.001
6	31.25±0.13	30.65±0.17	0.001
7	32.43±0.10	31.78±0.10	0.000
8	31.38±0.10	30.78±0.10	0.000
9	32.65±0.10	31.95±0.06	0.000
10	33.15±0.10	32.35±0.13	0.000

หมายเหตุ: ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางผนวกที่ 20 จำนวนเซลล์เฉลี่ย ($\times 10^4$ เซลล์/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	แสงธรรมชาติ (ชุดควบคุม)	เพิ่ม 3 ชม. 15/9	เพิ่ม 6 ชม. 18/6	เพิ่ม 12 ชม. 24/0	
0	1,633.75±78.67	1,590.00±145.05	1,910.00±366.93	2,003.75±214.36	ns
1	2,465.00±171.53	2,372.50±43.77	2,447.50±302.57	2,582.50±224.87	ns
2	3,072.50±157.32	2,985.00±493.33	2,911.25±609.17	2,590.00±203.32	ns
3	3,196.25±348.36	3,043.75±115.35	3,190.00±276.72	2,853.75±226.91	ns
4	3,373.75±235.84	3,110.00±574.88	3,300.00±391.67	3,168.75±116.71	ns
5	3,622.50±232.27	3,487.50±992.53	3,821.25±353.35	3,482.50±349.88	ns
6	3,717.50±675.01	3,513.75±855.29	3,825.00±443.66	3,616.25±499.97	ns
7	3,733.75±726.37	3,633.75±1121.00	3,885.00±634.01	3,926.25±657.75	ns
8	3,757.50±234.76	4,108.75±1814.80	4,050.00±459.42	3,986.25±119.81	ns
9	3,681.75±775.06	3,667.50±894.88	4,043.75±621.50	3,680.00±154.83	ns
10	3,461.25±664.57	3,481.25±903.58	3,865.00±478.35	3,597.50±459.58	ns

หมายเหตุ: ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางผนวกที่ 21 น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (ไมโครกรัม/มล.) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	แสงธรรมชาติ (ชุดควบคุม)	เพิ่ม 3 ชม. 15/9	เพิ่ม 6 ชม. 18/6	เพิ่ม 12 ชม. 24/0	
0	28,109.85±1,345.48	27,361.64±2,480.77	32,834.28±6,275.33	34,437.59±4,127.79	ns
1	42,325.89±2,933.62	40,743.95±748.72	42,026.60±5,174.59	44,335.37±3,845.73	ns
2	52,715.35±2,690.50	51,218.93±8,436.93	49,957.65±10,418.04	44,463.64±3,477.28	ns
3	54,831.72±5,957.69	52,223.67±1,972.76	54,724.84±4,732.49	48,974.29±3,880.66	ns
4	57,867.33±4,033.42	53,356.68±9,831.66	56,606.06±6,698.40	54,361.42±1,996.09	ns
5	62,121.45±3,972.30	59,812.68±16,974.25	65,520.47±6,042.99	59,727.17±5,983.66	ns
6	63,746.14±11,544.16	60,261.61±14,627.18	65,584.61±7,587.61	62,014.56±8,550.53	ns
7	64,024.05±12,422.49	62,313.85±19,171.45	69,325.67±10,629.03	67,316.18±11,248.89	ns
8	64,430.22±4,015.02	70,437.30±31,036.74	69,432.56±7,857.15	68,342.30±2,049.12	ns
9	62,057.32±13,255.13	62,891.04±15,304.29	66,610.73±10,842.92	63,104.82±2,648.05	ns
10	59,363.75±11,365.51	59,705.79±15,453.17	66,268.69±8,180.85	61,693.90±7,859.79	ns

หมายเหตุ: ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางผนวกที่ 22 ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	แสงธรรมชาติ (ชุดควบคุม)	เพิ่ม 3 ชม. 15/9	เพิ่ม 6 ชม. 18/6	เพิ่ม 12 ชม. 24/0	
0	648.20±165.31	1,202.85±650.00	1,176.12±446.74	995.69±745.05	ns
1	1,236.26±1,419.85	2,198.54±1,308.10	2,318.82±523.51	3,167.50±2,326.73	ns
2	2,171.81±1,386.42	2,445.79±1,306.67	3,174.18±965.33	3,561.77±701.58	ns
3	5,319.27±936.94	4,737.89±3,375.98	4,330.26±392.24	4,116.42±2,351.12	ns
4	7,511.13±3,741.88	6,007.56±1,377.97	4,951.73±3,660.96	4,363.67±1,295.66	ns
5	9,429.00±1,253.05^{a}	7,952.17±2,199.50^{ab}	6,709.23±1,923.81^{b}	5,753.63±1,071.73^{b}	0.046
6	10,217.54±4,586.27	10,932.57±5,199.33	7,885.35±5,527.61	6,562.21±2,013.87	ns
7	10,371.24±7,384.86	11,400.34±3,662.59	9,195.12±5,823.46	10,859.06±5,090.98	ns
8	9,228.53±7,650.17	16,666.90±6,723.46	15,429.89±5,271.18	14,086.71±5,916.05	ns
9	8,226.15±4,512.72	7,598.00±3,236.97	9,649.53±1,576.69	6,535.48±1,576.31	ns
10	6,923.07±2,713.23	6,141.21±4,688.06	7,063.40±1,225.18	6,502.07±1,195.87	ns

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางผนวกที่ 23 ปริมาณฟีโอไฟตินเฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) ของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	แสงธรรมชาติ (ชุดควบคุม)	เพิ่ม 3 ชม. 15/9	เพิ่ม 6 ชม. 18/6	เพิ่ม 12 ชม. 24/0	
0	152.36±176.79	161.00±174.30	179.75±359.51	303.38±606.77	ns
1	296.70±593.40	523.90±695.25	573.35±381.64	458.41±916.83	ns
2	697.65±1,314.61	599.42±755.27	848.00±967.67	802.56±416.17	ns
3	1,959.30±1,033.71	1,065.85±508.50	1,331.15±1,488.15	1,315.11±879.98	ns
4	1,990.04±977.95	1,271.01±1,809.02	1,984.70±1,034.24	1,474.15±1,598.55	ns
5	2,281.40±2,217.63	1,446.09±1,674.93	2,084.94±4,114.82	1,557.02±2,115.32	ns
6	2,417.06±2,297.21	1,625.85±2,311.01	2,771.23±3,253.88	1,683.99±1,325.12	ns
7	2,771.23±2,946.95	3,075.95±2,659.59	2,827.36±2,803.43	1,748.81±707.72	ns
8	2,908.89±1,977.79	4,021.52±5,480.88	2,956.33±749.82	2,362.93±3,571.75	ns
9	3,384.68±2,393.36	5,440.89±2,668.59	3,993.46±1,511.85	2,568.08±1,230.02	ns
10	4,147.82±2,351.95	5,871.24±1,941.55	4,719.84±8,984.22	3,130.08±859.09	ns

หมายเหตุ: ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางผนวกที่ 24 pH ในการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)

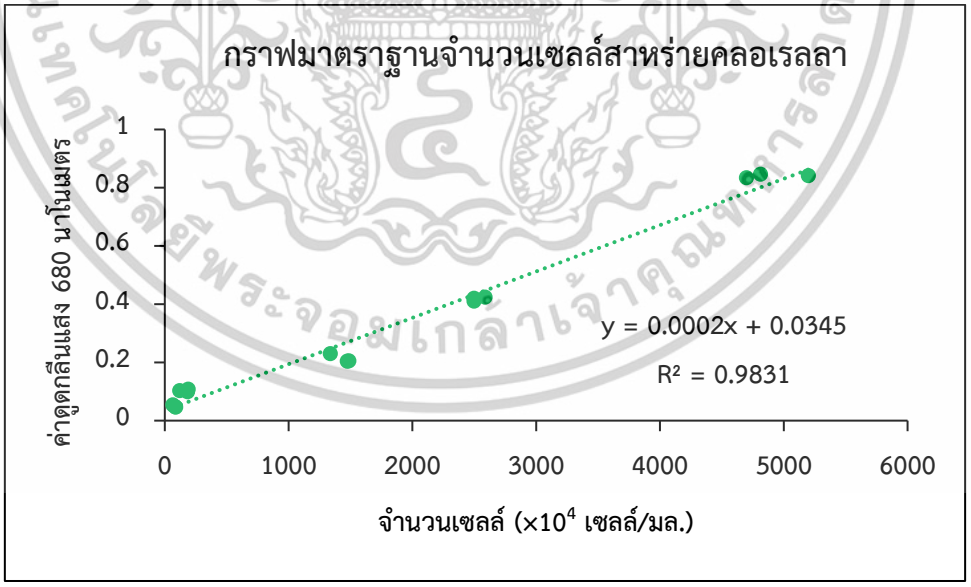
ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	แสงธรรมชาติ (ชุดควบคุม)	เพิ่ม 3 ชม. 15/9	เพิ่ม 6 ชม. 18/6	เพิ่ม 12 ชม. 24/0	
0	6.35±0.14	6.28±0.05	6.20±0.07	6.47±0.27	ns
1	7.81±0.04	7.83±0.05	7.74±0.12	7.78±0.07	ns
2	7.59±0.30	7.73±0.04	7.67±0.06	7.69±0.04	ns
3	8.16±0.08^{a}	8.02±0.08^{b}	7.99±0.08^{b}	7.90±0.77^{b}	0.006
4	7.94±0.05^{a}	7.86±0.02^{b}	7.81±0.02^{b}	7.82±0.06^{b}	0.006
5	8.01±0.07^{a}	7.93±0.03^{ab}	7.87±0.02^{b}	7.84±0.08^{b}	0.004
6	7.73±0.08	7.79±0.06	7.74±0.04	7.63±0.34	ns
7	8.07±0.08^{a}	7.92±0.13^{ab}	7.91±0.06^{ab}	7.79±0.16^{b}	0.029
8	7.78±0.05	7.70±0.19	7.70±0.09	7.63±0.11	ns
9	7.97±0.11	7.89±0.12	7.78±0.28	7.78±0.10	ns
10	7.99±0.06	7.87±0.16	7.89±0.10	7.77±0.14	ns

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)
ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

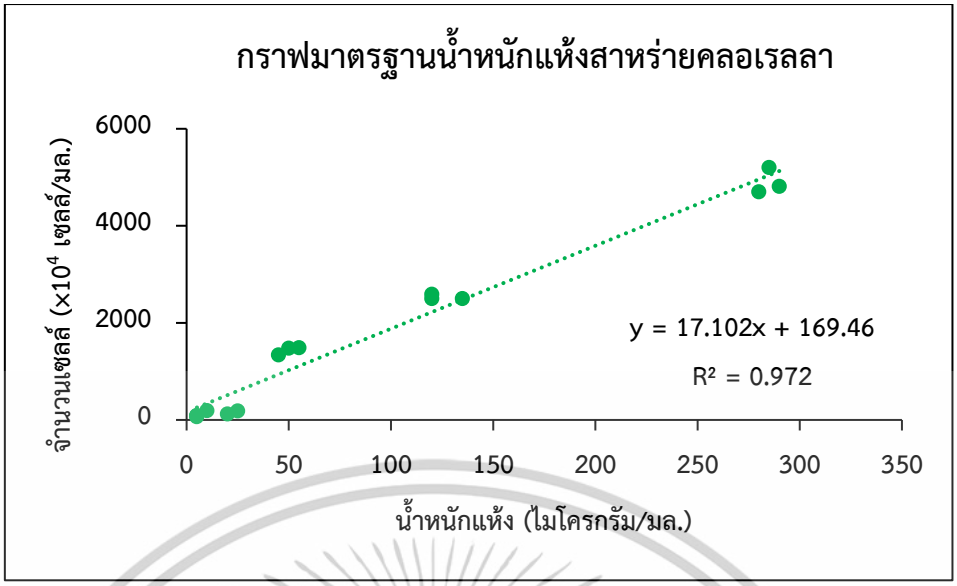
ตารางผนวกที่ 25 อุณหภูมิของสาหร่ายคลอเรลลาภายใต้ระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน (สว่าง/มืด)

ระยะเวลา (วัน)	ชุดการทดลอง				p-value
	แสงธรรมชาติ (ชุดควบคุม)	เพิ่ม 3 ชม. 15/9	เพิ่ม 6 ชม. 18/6	เพิ่ม 12 ชม. 24/0	
0	30.73±0.05	30.85±0.26	30.72±0.30	31.35±0.63	ns
1	33.58±0.19^{b}	34.08±0.26^{a}	33.70±0.12^{b}	33.60±0.16^{b}	0.010
2	35.03±0.25	35.50±0.40	35.08±0.25	34.78±0.36	ns
3	42.25±0.31^{a}	41.38±0.29^{b}	41.33±0.17^{b}	40.63±0.42^{c}	0.000
4	35.70±0.55^{ab}	36.08±0.28^{a}	35.53±0.30^{ab}	35.18±0.38^{b}	0.043
5	38.03±0.35^{a}	38.23±0.26^{a}	37.70±0.27^{b}	37.43±0.41^{b}	0.023
6	31.95±0.13	32.08±0.26	31.95±0.13	31.65±0.37	ns
7	37.48±0.28^{a}	37.73±0.35^{a}	37.25±0.31^{ab}	36.90±0.42^{b}	0.032
8	31.85±0.13	32.08±0.17	31.93±0.05	31.78±0.26	ns
9	38.03±0.17^{a}	38.15±0.21^{a}	37.90±0.42^{a}	37.30±0.35^{b}	0.009
10	39.20±0.23	39.03±0.05	38.95±0.42	38.63±0.35	ns

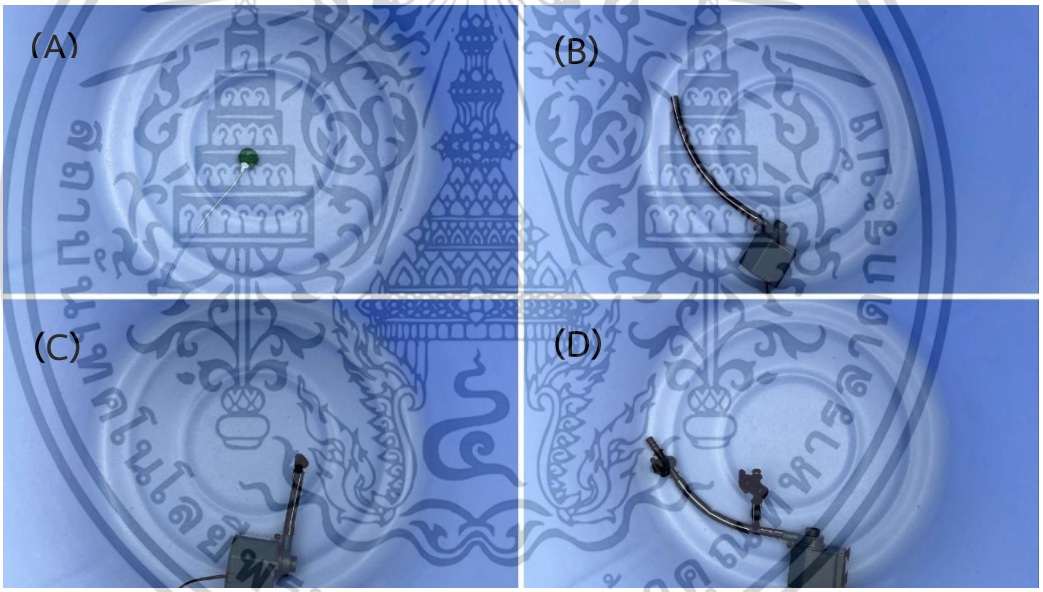
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ns = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของจำนวนเซลล์สาหร่ายคลอเรลลา



ภาพผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานของน้ำหนักแห้งสาหร่ายคลอเรลลา



ภาพผนวกที่ 3 รูปแบบการกวนที่แตกต่างกัน

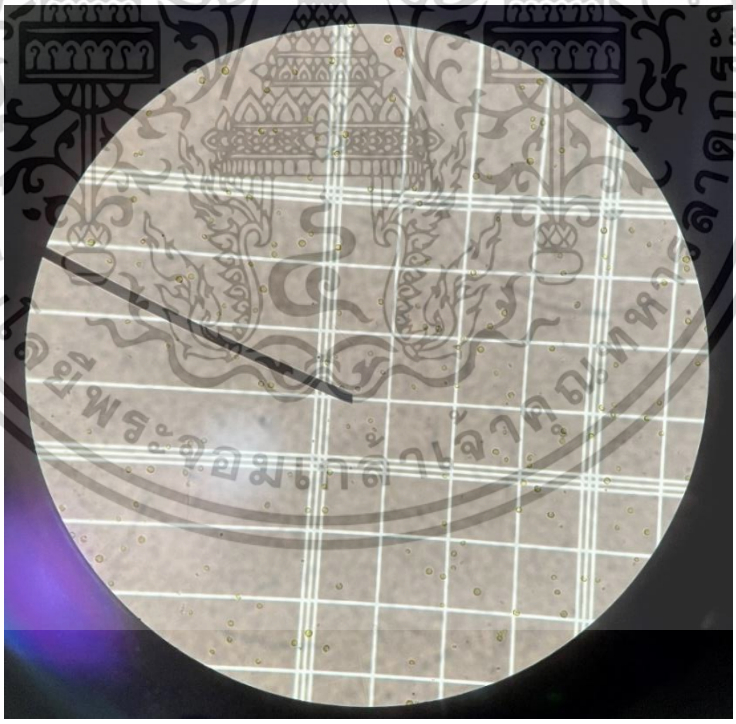
หมายเหตุ: (A)= การกวนด้วยระบบเติมอากาศจากหัวทราย (B)= การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบ (C)= การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวตั้ง (D)= การกวนด้วยระบบหมุนเวียนน้ำในแนวราบร่วมกับแนวตั้ง

ภาพผนวกที่ 4 ความยาวคลื่นแสงจากหลอด LED สีต่างกัน

หมายเหตุ: (A)= แสงสีขาว (380-760 นาโนเมตร) (B)= แสงสีแดง (630-680 นาโนเมตร) (C)= แสงสีน้ำเงิน (400-480 นาโนเมตร) (D)= แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน (630-680, 400-480 นาโนเมตร)

ภาพผนวกที่ 5 การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา

ภาพผนวกที่ 6 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาพื้นที่กลางแจ้ง



ภาพผนวกที่ 7 เซลล์คลอเรลลาที่กำลังขยาย 40 เท่า

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวกัญญารัตน์ พูลทะจิตร์
วัน เดือน ปีเกิด	29 พฤศจิกายน 2542
ที่อยู่	659/46 หมู่บ้านสินทวีท่าข้าม 2 ถนนอนามัยงามเจริญ แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร 10150
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2565 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง