

## การเปรียบเทียบสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยง *Chlorella ellipsoidea*

### Comparision of culture media for *Chlorella ellipsoidea* culture

ดำรงค์ โลหะลักษณาเดช ทศนีย์ ชวนประชุมและเอกพงศ์ แก้วสุทธิ

<sup>1</sup> คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

<sup>1</sup> Faculty of Science and Fishery Technology, Rajamangala University of Technology

#### บทคัดย่อ

ประสิทธิภาพสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยง *Chlorella ellipsoidea* ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารต่างกัน 5 สูตร โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ใช้ระยะเวลาในการทดลอง 72 ชั่วโมง โดยทำการทดลองในตู้กระจกขนาดบรรจุ 40 ลิตร เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตด้านจำนวนเซลล์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า มีจำนวนเซลล์สูงสุดในสูตรอาหาร C รองลงมา คือ สูตรอาหาร D สูตรอาหาร E สูตรอาหาร A และสูตรอาหาร B ตามลำดับ โดยมีจำนวนเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $3.23 \pm 0.19 \times 10^4$ ,  $2.04 \pm 0.15 \times 10^4$ ,  $2.03 \pm 0.02 \times 10^4$ ,  $1.05 \pm 0.03 \times 10^4$  และ  $1.04 \pm 0.05 \times 10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบจำนวนเซลล์พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

คำสำคัญ : *Chlorella ellipsoidea*

#### Abstract

The efficiency of culture media for *Chlorella ellipsoidea* cultured in five different culture media, each treatment was done in triplicate. *Chlorella ellipsoidea* in each replicates were cultured in glass tank containers containing 40 litres of culture media. The period time of experiment was 72 hrs. The result showed that the highest cell number was found in media C. followed by medias D, E, A and B as  $3.23 \pm 0.19 \times 10^4$ ,  $2.04 \pm 0.15 \times 10^4$ ,  $2.03 \pm 0.02 \times 10^4$ ,  $1.05 \pm 0.03 \times 10^4$  and  $1.04 \pm 0.05 \times 10^4$  cell/ml, respectively ( $P \leq 0.05$ )

Keyword: *Chlorella ellipsoidea*

#### คำนำ

คลอเรลล่าน้ำจืดเป็นแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า คลอเรลล่าน้ำจืดใช้เป็นอาหารของไรแดงรวมทั้งใช้ทำสีน้ำในบ่ออนุบาล จะทำให้ลูกสัตว์น้ำมีสุขภาพดี มีอัตราการรอดสูงและทางด้านอุตสาหกรรมเรานิยมนำคลอเรลล่าน้ำจืดมาสกัดคลอโรฟิลล์ใช้เป็นอาหารเสริมได้ เนื่องจากคลอเรลล่าน้ำจืดมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูง (Wongsapin and Chunhawadikul, 2536) การจำแนกหมวดหมู่คลอเรลล่าน้ำจืดใช้ระบบการจำแนกหมวดหมู่ตามระบบ Christensen (1962, 1966) Division: Chlorophyta Class: Chlorophyceae Order: Chlorococcales Family: Docystaceae Genus: Chlorella Species: Ellipsoidea (Ladda, 2542)

คลอเรลล่า สามารถเปลี่ยนแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ให้กลายเป็นแก๊สออกซิเจนได้ทันที (Peerapornpisal, 2546) Wongrat (2544) กล่าวว่า ชนิดของคลอเรลล่า (*Chlorella* sp.) มี 2 ชนิด *C. ellipsoidea* มีลักษณะเซลล์รูปรี และ *C. vulgarinck* มีลักษณะเซลล์เป็นรูปกลม ปัจจุบันสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงคลอเรลล่าน้ำจืดที่ใช้กันทั่วไปมีหลายสูตร แต่ยังไม่มีความชัดเจนว่าสูตรอาหารสูตรใดเป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงคลอเรลล่าน้ำจืด งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาสูตรอาหารที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงคลอเรลล่าน้ำจืดว่าสูตรใดที่ทำให้คลอเรลล่าน้ำจืดมีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดและสูตรใดมีความคุ้มค่าต่อการเพาะเลี้ยงคลอเรลล่าน้ำจืดในทางเศรษฐศาสตร์

## วิธีการ

### 1. การเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดลอง

1.1 เตรียมตู้กระจกขนาดบรรจุ 40 ลิตร จำนวน 15 ใบ ซึ่งแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง โดยในแต่ละการทดลองใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน ชุดละ 3 ซ้ำ และเพิ่มออกซิเจนในตัวเพาะเลี้ยงโดยใส่เครื่องทำออกซิเจน

1.2 ทำการนับหัวเชื้อ *C. ellipsoidea* เริ่มต้น โดยนำหัวเชื้อ *C. ellipsoidea* ที่มีความเข้มข้นเท่ากัน จำนวน  $1 \times 10^4$  เซลล์/มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดโหลทั้ง 5 ชุดการทดลอง

1.3 เติมหิวเชื้อลงในโหลโหลละ 400 ml แล้วเติมสูตรอาหารแต่ละสูตรที่เตรียมไว้ ดังนี้

#### สูตร A

ปุ๋ยสูตร 18-46-0	52	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปุ๋ยนาสูตร 16-20-0	300	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปูนขาว	180	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร

#### สูตรอาหาร B

ปุ๋ยนาสูตร 16-20-0	300	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปุ๋ยสูตร 18-46-0	100	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปูนขาว	90	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
รำ	500	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร

#### สูตรอาหาร C

อามิ-อามิ	100	มล. ต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปุ๋ยนาสูตร 16-20-0	100	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปุ๋ยยูเรียสูตร 46-0-0	150	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
โพแทสเซียมไนเตรต	200	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร

**สูตรอาหาร D**

อามิ-อามิ	100	มล. ต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปุ๋ยนาสูตร 16-20-0	200	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปุ๋ยสูตร 18-46-0	100	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
โฟแทสเซียมไนเตรต	100	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปูนขาว	100	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
รำ	100	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร

**สูตรอาหาร E**

อามิ-อามิ	100	มล. ต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปุ๋ยนาสูตร 16-20-0	400	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปุ๋ยสูตร 18-46-0	100	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
ปูนขาว	70	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร
รำ	100	กรัมต่อน้ำ 1000 ลิตร

**2. การตรวจสอบการเจริญของ *C. ellipsoidea***

วิธีตรวจนับจำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) *C. ellipsoidea* ทุก ๆ 12 ชั่วโมง คือชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ตามวิธีของ (Wongrat and Boonyapiwat, 2546)

**3. การแผนการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ**

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD, Analysis of Variance in Completely Designs) โดยแบ่งการทดลองเป็น 5 ชุดการทดลอง การทดลองละ 3 ซ้ำ

- ชุดการทดลองที่ 1 ใช้สูตรอาหารที่ A ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ
- ชุดการทดลองที่ 2 ใช้สูตรอาหารที่ B ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ
- ชุดการทดลองที่ 3 ใช้สูตรอาหารที่ C ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ
- ชุดการทดลองที่ 4 ใช้สูตรอาหารที่ D ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ
- ชุดการทดลองที่ 5 ใช้สูตรอาหารที่ E ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

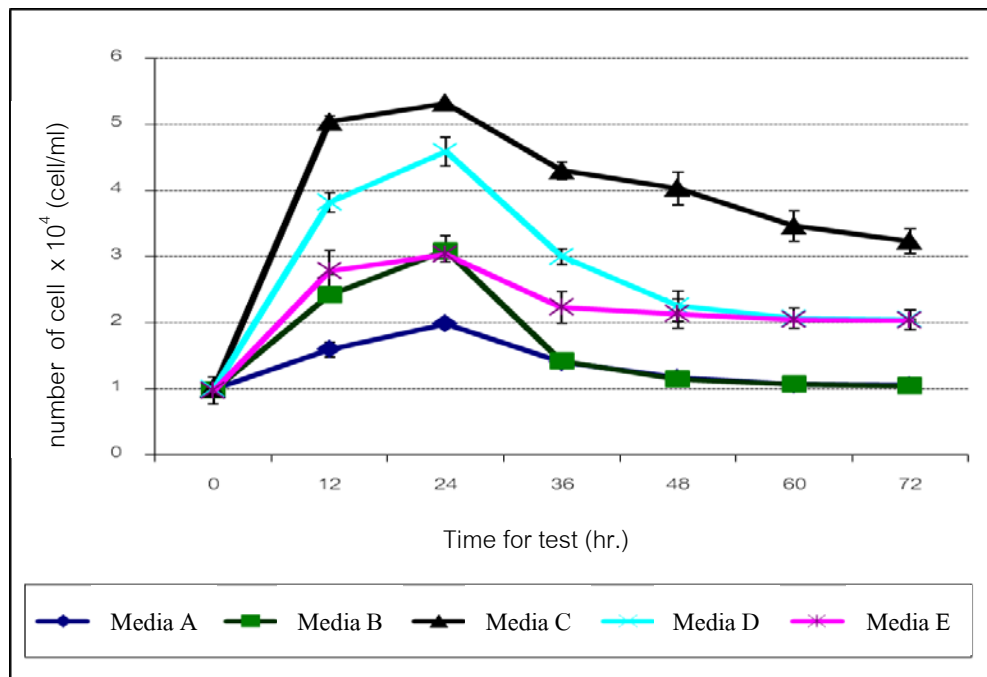
วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD, Completely Randomized Design) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลตามวิธีของ Duncan 's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป โปรแกรม spss. Version 11

### ผลและวิจารณ์ผล

จากการทดลองเลี้ยง *C. ellipsoidea* ในสูตรอาหารต่างกัน 5 สูตร คือ สูตรอาหาร A สูตรอาหาร B สูตรอาหาร C สูตรอาหาร D และสูตรอาหาร E โดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นการทดลองเลี้ยง  $0.99 \pm 0.03 \times 10^4$ ,  $0.99 \pm 0.02 \times 10^4$ ,  $0.98 \pm 0.03 \times 10^4$ ,  $0.99 \pm 0.03 \times 10^4$  และ  $0.97 \pm 0.33 \times 10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) จำนวนเซลล์ *C. ellipsoidea* ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร 5 สูตร เมื่อเลี้ยงครบ 12 ชั่วโมง พบว่าสูตรอาหารที่มีจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุด คือ สูตรอาหาร C ( $1.59 \pm 0.11 \times 10^4$ ) รองลงมาสูตรอาหาร D ( $2.42 \pm 0.31 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร E ( $5.04 \pm 0.81 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร B ( $3.82 \pm 0.75 \times 10^4$ ) และสูตรอาหาร A ( $2.78 \pm 0.45 \times 10^4$ ) เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* พบว่าจำนวนเซลล์ของ *Chlorella ellipsoidea* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อเลี้ยงครบ 24 ชั่วโมง พบว่าสูตรอาหารที่มีจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดคือ สูตรอาหาร C ( $1.98 \pm 0.06 \times 10^4$ ) รองลงมาคือสูตรอาหาร D ( $3.09 \pm 0.23 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร B ( $5.32 \pm 0.78 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร E ( $4.59 \pm 0.42 \times 10^4$ ) และสูตรอาหาร A ( $3.03 \pm 0.37 \times 10^4$ ) เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* พบว่าจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อเลี้ยงครบ 36 ชั่วโมง พบว่าสูตรอาหารที่มีจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดคือ สูตรอาหาร C ( $1.40 \pm 0.08 \times 10^4$ ) รองลงมาคือสูตรอาหาร D ( $1.42 \pm 0.08 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร E ( $4.30 \pm 0.68 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร B ( $3.00 \pm 0.12 \times 10^4$ ) และสูตรอาหาร A ( $2.23 \pm 0.24 \times 10^4$ ) เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจำนวนเซลล์ได้มีการลดลง และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* พบว่าจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อเลี้ยงครบ 48 ชั่วโมง พบว่าสูตรอาหารที่มีจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดคือสูตรอาหาร C ( $1.16 \pm 0.08 \times 10^4$ ) รองลงมาคือสูตรอาหาร D ( $1.14 \pm 0.14 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร E ( $4.03 \pm 0.53 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร A ( $2.23 \pm 0.30 \times 10^4$ ) และสูตรอาหาร B ( $2.13 \pm 0.22 \times 10^4$ ) เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจำนวนเซลล์ได้มีการลดลง และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* พบว่าจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเลี้ยงครบ 60 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ได้มีการลดลง และสูตรอาหารที่มีจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดคือสูตรอาหาร C ( $1.06 \pm 0.03 \times 10^4$ ) รองลงมาคือสูตรอาหาร D ( $1.07 \pm 0.04 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร E ( $3.46 \pm 0.23 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร A ( $2.06 \pm 0.15 \times 10^4$ ) และสูตรอาหาร B ( $2.04 \pm 0.02 \times 10^4$ ) เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* พบว่าจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อเลี้ยงครบ 72 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ได้มีการลดลง และสูตรอาหารที่มีจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุด คือ สูตรอาหาร C ( $1.05 \pm 0.03 \times 10^4$ ) รองลงมาคือสูตรอาหาร D ( $1.04 \pm 0.04 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร E ( $3.23 \pm 0.23 \times 10^4$ ) สูตรอาหาร A ( $2.04 \pm 0.15 \times 10^4$ ) และสูตรอาหาร B ( $2.03 \pm 0.02 \times 10^4$ ) เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์

ทางสถิติ เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* พบว่าจำนวนเซลล์ของ *C. ellipsoidea* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

จากการศึกษาประสิทธิภาพของอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *C. ellipsoidea* โดยการศึกษาจากจำนวนเซลล์ ซึ่งมีสูตรอาหารที่ต่างกัน 5 สูตร คือ สูตรอาหาร A สูตรอาหาร B สูตรอาหาร C สูตรอาหาร D และสูตรอาหาร E ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่มีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) โดยสูตรอาหาร C มีธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม (N-P-K) สูงกว่าสูตรอาหาร A สูตรอาหาร B สูตรอาหาร D และ สูตรอาหาร E มีการเพิ่มจำนวนสูงสุดที่ในระยะเวลาที่ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 1 ซึ่งธาตุอาหารเหล่านี้เป็นธาตุอาหารที่ช่วยให้พืชมีการเจริญเติบโตและช่วยในกระบวนการต่าง ๆ ของพืช เช่น กระบวนการสังเคราะห์แสง กระบวนการหายใจของพืช กระบวนการสร้างน้ำตาลและแป้ง ทำให้สูตรอาหาร C มีจำนวนเซลล์สูงสุดจากสูตรอาหารอื่น ซึ่งสอดคล้องกับ Wongrat (2543) ซึ่งพบว่าธาตุอาหารหลักคือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม (N-P-K) มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช การเจริญเติบโตของ *C. ellipsoidea* Krutkun (2544) กล่าวว่า บัญชี คือ วัตถุหรือสารที่เราใส่ลงไป โดยมีความประสงค์ที่จะให้ธาตุอาหาร เช่น ไนโตรเจน, ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม เพื่อให้พืชได้มีธาตุอาหารดังกล่าว เป็นปริมาณที่เพียงพอ และสมดุลกันตามที่พืชนั้นต้องการ และให้ได้ผลผลิตสูงขึ้นเป็นไปตามหลักการของการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชสี่เหลี่ยมขนาดเล็กๆ ตามรายงานของ (Fox, 1963) คือ การเจริญเติบโตแบ่งออกเป็น 5 ระยะ คือ 1. ระยะปรับตัว (lag phase) เป็นระยะที่เซลล์ปรับตัวให้เท่ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ 2. ระยะเอกซ์โพเนนเชียล (exponential phase) เป็นระยะที่แพลงก์ตอนพืชเจริญเติบโตเนื่องจากมีธาตุอาหารเพียงพอ และแพร่ขยายอย่างรวดเร็ว 3. ระยะเฉื่อย (retardation phase) เป็นช่วงที่เซลล์มีการเจริญเติบโตช้าลง เพราะขาดแคลนอาหาร 4. ระยะคงที่ (stationary phase) เป็นระยะที่การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชหยุดนิ่ง เนื่องจากธาตุอาหารลดน้อยลง 5. ระยะตาย (death phase) เป็นระยะที่เซลล์หยุดการเจริญเติบโตโดยสิ้นเชิง เนื่องจากธาตุอาหารลดลง เซลล์จะเริ่มตาย



Picture 1 Comparison of density *Chlorella ellipsoidea* in media for culture.

### สรุปการทดลอง

จากการทดลองเพาะเลี้ยง *C. ellipsoidea* สูตรอาหารที่ต่างกัน 5 สูตร คือ สูตรอาหาร A สูตรอาหาร B สูตรอาหาร C สูตรอาหาร D และสูตรอาหาร E เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง โดยจำนวนเซลล์เริ่มต้นในการทดลองเลี้ยงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) สรุปได้ว่า เมื่อทำการทดลองครบ 72 ชั่วโมง พบว่า โดยสูตรอาหาร C มีจำนวนเซลล์สูงสุด รองลงมา สูตรอาหาร D สูตรอาหาร E สูตรอาหาร A และ สูตรอาหาร B ( $P \leq 0.05$ )

### เอกสารอ้างอิง

- Fox, J.M. 1983. Intensive algae culture techniques p. 15-41 In: CRC. Handbook of mariculture. Vol.1 Crustacean Aquaculture. Mcvey J.p. (Ed) CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 422 p.
- Wongrat, L. 2542. Phytoplankton. Kasetsart University. Bureau of Printing Kasetsart University Bangkok Campus. Bangkok. 450 p. [in Thai]
- Wongrat, L. 2543. Manual of plankton culture. 3<sup>th</sup> Edition. Kasetsart University. Bureau of Printing Bangkok 117 p. [in Thai]

- Wongrat, L. 2544. Plangkok. 2<sup>nd</sup> Edition. Kasetsart University. Bureau of Printing Bangkok 851 p. [in Thai]
- Wongrat, L., and Boonyapiwat, S. Manual of sampling and analytical methods of plankton. Kasetsart University. Bureau of Printing Bangkok 270 p. [in Thai]
- Krutkun, T. 2544. Soil introduce department of soil science. Faculty of Agriculture, Kasetsart University. Bangkok. 528 p. [in Thai]
- Petmanee, T. 2542. Manual of plankton culture. Institute of Coastal Aquaculture and Research. Songkhla Province. 49 p. [in Thai]
- Wongsaipin, W., and Chunhawatkikul, B. 2536. Single-cell algae. Nutrients from the sun. 2<sup>nd</sup> Edition. Burapha University. 138 p. [in Thai]
- Peerapornpisal, Y. 2546. Phycology department of Biology. Faculty of science. Chiangmai University. 380 p. [in Thai]