การคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถทนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงเพื่อผลิตพลังงานชีวภาพ

Selection of high CO_2 tolerant microalgae for bio-fuel production

จีรนันท์ ศรีพุทธา[1*], ชยากร ภูมาศ[1], จีรพร เพกเกาะ[1] และยุวดี พีรพรพิศาล[1]

Cheeranan Sriphuttha[1*], Chayakorn Pumas[1], Jeeraporn Pekkoh[1] and Yuwadee Peerapornpisal[1]

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[1]Depatment of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

[*]Email: Cheeranan_nick@hotmail.com

บทคัดย่อ

การคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถทนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูง โดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์เดี่ยว 11 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ผสม 3 กลุ่ม ในอาหารสูตร CMU03 ปริมาตร 5 ลิตร ให้คาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 100% (v/v) ด้วยอัตราการไหล 0.4 vvm เพาะเลี้ยงจนถึงระยะ stationary phase วัดผลผลิตที่ได้โดยการวัดชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กในรูปของน้ำหนักแห้ง และคำนวณหาอัตราการผลิตชีวมวลต่อหน่วยเวลา พบว่าสายพันธุ์ผสมทั้ง 3 กลุ่มเจริญเติบโตได้ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) สายพันธุ์ผสมกลุ่มที่มี *Scenedesmus* sp. เป็นชนิดเด่นมีแนวโน้มว่าจะมีการผลิตชีวมวลสูงกว่าสาหร่ายสายพันธุ์ผสมกลุ่มอื่น ๆ และสายพันธุ์เดี่ยวที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคือ *Chlorella* sp. AARL G011 โดยมีอัตราการผลิตชีวมวลต่อหน่วยเวลา เท่ากับ 11.87±6.01 $mg.L^{-1}.d^{-1}$ ซึ่งสูงกว่าสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์เดี่ยวชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

คำค้น: สาหร่ายขนาดเล็ก สูตรอาหาร CMU03 สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ผสม *Chlorella* spp.

Abstract

High carbon dioxide tolerant microalgae were selected by culturing 11 strains of monocultures of microalgae and 3 groups of mixed microalgal culture in 5 liters of CMU03 medium supplied with 100% (v/v) carbon dioxide at the flow rate of 0.4 vvm until stationary phase was attained. The productivity was determined by measuring biomass as dry weight and calculating biomass production rate per unit time. It was found that there was no significant difference in the growth of the three mixed microalgal cultures (P<0.05) Mixed microalgal culture with *Scenedesmus* sp. as dominant species was liable to give higher biomass productivity than other mixed microalgal cultures. The monoculture which grew best was *Chlorella* sp. AARL G011 with biomass productivity of 11.87±6.01 $mg.L^{-1}.d^{-1}$ and was significantly higher than those of other monocultures (P<0.05)

Keywords: Microalgae, CMU03 medium, Mixed microalgal culture, *Chlorella* spp.

คำนำ

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นั้นเป็นที่ทราบกันดีว่าเป็นปัญหาที่สำคัญที่ทำให้เกิดสภาวะโลกร้อน ทำให้มีการพยายามในการลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยวิธีการต่างๆ ทั้งวิธีทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ ซึ่งพบว่าวิธีทางด้านชีวภาพมีค่าใช้จ่ายต่ำกว่าวิธีทางด้านกายภาพและเคมี และมีประสิทธิภาพสูงกว่าโดยเฉพาะการใช้สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากสิ่งแวดล้อม และสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิดสามารถทนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ในเปอร์เซ็นต์ที่สูงกว่าพืช โดยสามารถทนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ที่ความเข้มข้น 15 – 80% (Maeda *et al.*, 1995 cited in Yoshihara *et al.*, 1996) นอกจากนั้นยังมีรายงานถึงความสามารถในการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถตรึงได้สูงถึง 0.66 $g^{-}CO_2.L^{-1}.day^{-1}$ (Akimoto *et al.*, 1998) ในปี 2007 de Morais and Costa ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* sp. พบว่ามีอัตราการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เฉลี่ยเท่ากับ 37.9 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 6% นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ยังช่วยเพิ่มผลผลิตชีวมวลสาหร่ายได้ เช่น มีรายงานว่าเมื่อเติมคาร์บอนไดออกไซด์บริสุทธิ์ 6% ส่งผลให้สาหร่าย *Spirulina* sp. มีผลผลิตชีวมวล 0.22 $g.L^{-1}.d^{-1}$ และเมื่อเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริสุทธิ์ 9 – 10% ส่งผลให้สาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. มีชีวมวลสาหร่ายเท่ากับ 0.15 $g.\ L^{-1}.\ d^{-1}$ และ *C. protothecoides* มีชีวมวลสาหร่ายเท่ากับ 2.4 – 7.3 $g.\ L^{-1}.\ d^{-1}$ และเมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ในอาหารที่มีไนโตรเจนต่ำได้ชีวมวลเท่ากับ 3.7 $g.\ L^{-1}.\ d^{-1}$ (Suali and Sarbatly, 2012) อย่างไรก็ตามก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากโรงงานอุตสาหกรรมส่วนใหญ่มีความเข้มข้นสูงกว่า 20% ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กหลายสายพันธุ์สามารถทนได้ และเนื่องจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กมีค่าความร้อนสูงถึงประมาณ 4,000 $kgcal.kg^{-1}$ ซึ่งใกล้เคียงกับถ่านหินลิกไนต์ (Peerapornpisal *et al.*, 2012) ดังนั้นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถทนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงนอกจากสามารถใช้ลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปลดปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมแล้วชีวมวลสาหร่ายที่ได้ยังมีศักยภาพในการนำมาใช้แปรรูปเป็นพลังงานชีวมวลอีกด้วย โดยงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากบริษัท L.V. Technology Public Company Limited ซึ่งเป็นบริษัทที่ให้บริการด้านวิศวกรรม ให้แก่บริษัทต่างๆ อาทิ อุตสาหกรรมปูนซีเมนต์ อุตสาหกรรมพลังงาน อุตสาหกรรมเหมืองแร่ เป็นต้น ซึ่งบริษัทผลิตปูนซีเมนต์มี CaO เป็นผลิตภัณฑ์ที่เหลือจากกระบวนการผลิตสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยนี้ได้ โดยนำมาใช้ในการปรับค่า pH ให้เป็นด่างเพื่อควบคุม pH ที่ต่ำลงจากการเติม CO_2 และงานวิจัยนี้จึงทำการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถทนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงเพื่อใช้ในการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปลดปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมและผลิตเป็นพลังงานทางเลือกต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาผลของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อค่า pH ในอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 100% (v/v) ด้วยอัตราการไหล 0.4 vvm ลงในอาหาร CMU03 (Peerapornpisal *et al*., 2012) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง วัดค่า pH ทุก ๆ 5 นาที และวัดการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ (Greenberg *et al*., 2005) จนกระทั่งค่า pH และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำเข้าสู่ระยะการอิ่มตัว

2. การศึกษาการปรับ pH ของอาหารด้วย CaO เพื่อให้เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 100% (v/v) ด้วยอัตราการไหล 0.4 vvm ลงในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง เช่นเดียวกันข้อ 1 จนกระทั่งค่า pH คงที่ จากนั้นปรับค่า pH ด้วยสารละลาย CaO 1 N โดยเติมครั้งละ 100 mL แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงของค่า pH จนกระทั่ง ค่า pH มีค่าอยู่ในช่วง 5.6 – 6

3. การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายตั้งต้น

เตรียมหัวเชื้อตั้งต้น โดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์เดี่ยว จากห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 11 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. AARL G011, *Chlorella* sp. AARL G012, *Chlorella* sp. AARL G014, *Chlorella* sp. AARL G049, *Scenedesmus* sp. AARL G022, *Scenedesmus* sp. AARL G023, *Carteria* sp. AARL G045, *Carteria* sp. AARL G046, *Monoraphidium* sp. AARL G044, *Spirulina platensis* AARL C005, *Pediastrum* sp. AARL G050 และสาหร่ายสายพันธุ์ผสมจำนวน 3 กลุ่ม ประกอบด้วย Mixed microalgal culture 1 (MX1) และ Mixed microalgal culture 2 (MX2) เป็นการผสมด้วยสายพันธุ์ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ แต่ Mixed microalgal culture 3 (MX3) เป็นกลุ่มสาหร่ายที่เปิดรับหัวเชื้อจากอากาศในพื้นที่ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ชนิดของสาหร่ายในกลุ่มสายพันธุ์ผสมดังแสดงในตาราง 1

เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กดังกล่าว ใน JM medium (Jaworski's Medium) วัดค่า optical density (OD) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 665 nm จนได้ค่า OD_{665} เท่ากับ 0.075±0.02

Table 1 Shows the proportion of the population of mixed microalgal culture

Group	%Species		
Mixed microalgal culture 1 (MX1)	*Chlorella* sp. AARL G049 62%	*Scenedesmus* sp. AARL G022 32.33%	*Carteria* sp. AARL G045 5.67%
Mixed microalgal culture 2 (MX2)	*Chlorella* sp. AARL G011 57.33%	*Scenedesmus* sp. AARL G023 29.33%	*Carteria* sp. AARL G046 13.33%
Mixed microalgal culture 3 (MX3)	*Scenedesmus* sp. 82%	*Chlorella* sp. 0.67%	*Monoraphidium* sp. 0.67%
	Euglena sp. 9.33%	*Staurastrum* sp. 0.33%	Other Microalgae 7%

4. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

4.1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในสภาวะก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูง

เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์เดี่ยว และสายพันธุ์ผสมในข้อ 3 โดยปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 100% (v/v) ด้วยอัตราการไหล 0.4 vvm ตลอด 24 ชั่วโมง วัดค่า pH ของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงตั้งแต่เริ่มปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 min หรือจนกว่าค่า pH จะคงที่ และปรับค่า pH ด้วยสารละลาย CaO ตามปริมาตรที่ใช้ในข้อ 2 ซึ่งเท่ากับ 800 mL จากนั้นนำสาหร่ายขนาดเล็กที่มีค่า OD_{665} เท่ากับ 0.075±0.02 เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร CMU03 ปรับปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 5 ลิตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และให้แสงตลอดเวลาโดยใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์

4.2 วัดการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก ด้วยพารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังนี้

- ปริมาณของคลอโรฟิลล์ *เอ* (Wintermans and De Mots, 1965 cited in Saijo, 1975)
- น้ำหนักเซลล์แห้ง (Dayananda *et al*., 2005)
- ชนิดและนับจำนวนเซลล์ ด้วย Hemacytometer counting chamber (Peerapornpisal *et al*., 2012)

4.3 เมื่อสาหร่ายขนาดเล็กเข้าสู่ระยะ stationary phase วัดผลผลิตที่ได้โดยการวัดชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กในรูปของน้ำหนักแห้ง (Dayananda *et al*., 2005) และคำนวณหาอัตราการผลิตชีวมวลต่อหน่วยเวลา (Biomass Productivity) ($g.L^{-1}.d^{-1}$) (Tang *et al*., 2011)

5. การวิเคราะห์ข้อมูลการทดลอง

โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบ Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูล โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลและอภิปรายผล

1. ผลของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อค่า pH ในอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

จากการศึกษาผลของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อค่า pH ในอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เมื่อทำการวัดค่า pH ทุก ๆ 5 นาที พบว่าค่า pH และปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมีการอิ่มตัวในช่วงเวลา 15 นาที แรกของการทดลอง เนื่องจากเมื่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์รวมกับน้ำ จะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) (Kaenmanee, 2010: online) ทำให้ค่า pH ลดลง ดังแสดงในภาพ 1 โดยค่า pH ได้เริ่มลดลงตั้งแต่ 5 นาทีแรก จนกระทั่ง pH ใกล้ 4.3 และหลังจากนั้นก็เริ่มคงที่หลังจากเวลาผ่านไป 15 นาที

2. ผลของการปรับ pH ของอาหารด้วย CaO เพื่อให้เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

จากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในอาหารและค่า pH พบว่าเมื่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ละลายลงในอาหารจนอิ่มตัวมีจุดสมดุล pH ประมาณ 4.3 จึงทำการปรับ pH ของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงด้วยแคลเซียมออกไซด์ (CaO) ความเข้มข้น 1 N ซึ่ง CaO เป็นผลิตภัณฑ์ที่เหลือจากกระบวนการผลิตปูนซีเมนต์ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการปรับค่า pH เพื่อให้เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก จนค่า pH ของอาหารอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็กซึ่งมีค่า pH ประมาณ 5 – 6 (Preeparmmoot *et al.*, 2009) และพบว่าเมื่อเติมสารละลาย 1 N CaO สามารถเพิ่ม pH ของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงถึง 5.5 โดยใช้สารละลาย CaO 800 mL ดังแสดงในภาพ 2

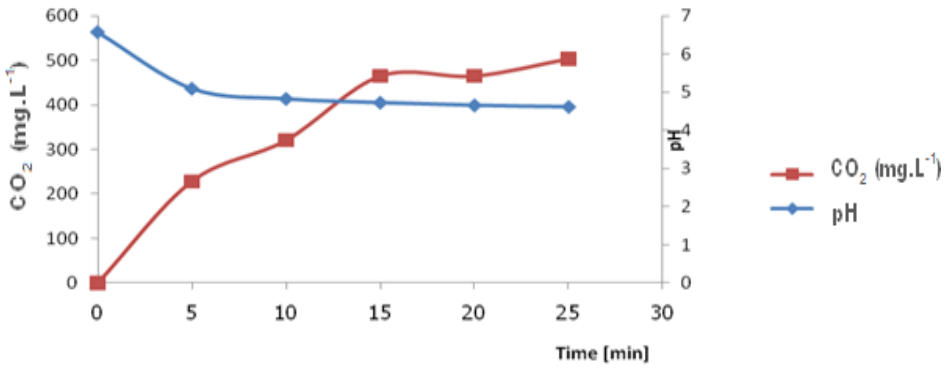

Figure 1 Relationship of CO_2 concentration and pH

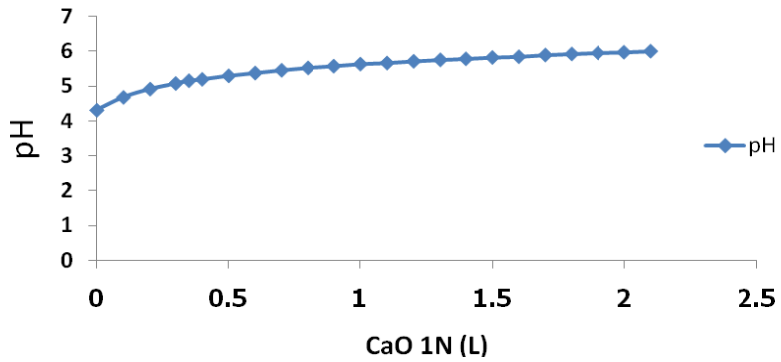

Figure 2 Relationship of pH and volume of CaO solution

3. ผลของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

3.1 สายพันธุ์เดี่ยว

สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์เดี่ยวที่มีการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ *Chlorella* sp. AARL G011 โดยมีอัตราการผลิตชีวมวลต่อหน่วยเวลา (biomass productivity) เท่ากับ 11.87±6.01 $mg.L^{-1}.d^{-1}$ สูงกว่าสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์เดี่ยวชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตาราง 2 และคลอโรฟิลล์ *เอ* เท่ากับ 1.56±0.011 $mg.L^{-1}$ ดังแสดงในภาพ 3 ส่วนสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์เดี่ยวที่ใช้ในการทดลอง สายพันธุ์อื่น ๆ เจริญได้เพียงเล็กน้อย เนื่องจากค่า pH ในการทดลองอยู่ในช่วง 5.5 ซึ่งค่อนข้างเป็นกรด ในสภาวะนี้สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ดังกล่าวสามารถเจริญได้แต่ไม่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลจำนวนมาก ทั้งนี้เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่สุดในสภาวะที่ค่า pH เป็นกลางถึงด่างเล็กน้อย (Preeparmmoot *et al*., 2009) จากการศึกษาของ Ho *et al*. (2011) พบว่าการเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์เดี่ยวสามารถเพิ่มชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กได้ แต่ควรให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสายพันธุ์นั้น ๆ เช่นเมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris* ด้วยอากาศ ให้ผลผลิตชีวมวลเท่ากับ 0.04 $g.L^{-1}.d^{-1}$ แต่เมื่อเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10% ให้ผลผลิตชีวมวลเพิ่มขึ้นเป็น 0.273 $g.L^{-1}.d^{-1}$ เช่นเดียวกันกับการเพาะเลี้ยง *Scenedesmus obliquus* ด้วยอากาศให้ชีวมวลเท่ากับ 0.15 $g.L^{-1}.d^{-1}$ แต่เมื่อเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริสุทธิ์ 5.5% ให้ชีวมวลเท่ากับ 0.203 $g.L^{-1}.d^{-1}$ และเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แบบก๊าซผสมให้ชีวมวลเท่ากับ 0.217 $g.L^{-1}.d^{-1}$ (Suali and Sarbatly, 2012) ซึ่งในการทดลองนี้มีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นสูงมากถึง 100% ซึ่งอาจสูงเกินความต้องการของสาหร่ายสายพันธุ์ที่กล่าวมาข้างต้น จึงส่งผลให้ได้ชีวมวลในปริมาณที่น้อย และสาหร่ายขนาดเล็กหลายสายพันธุ์เจริญได้ไม่ดี มีการศึกษา *Chlorella* sp. ZY-1 โดยทำการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการทดลองตั้งแต่ 10% ถึง 70 % พบว่าเมื่อเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10% (v/v) ให้อัตราการเจริญเติบโตสูงสุด ส่วนการทดลองที่เติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 70% (v/v) มีอัตราการเจริญที่ช้ากว่า โดยมีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.776 $g.L^{-1}$ ในวันที่ 6 (Yue and Chen, 2005) แสดงให้เห็นว่าเมื่อเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณที่เหมาะสมสามารถเพิ่มอัตราการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็กได้

Table 2 Shows Biomass Productivity of mono microalgal culture 11 species and mixed microalgal culture 3 group

Mono		Mixed	
Spices	Biomass Productivity ($mg.L^{-1}.d^{-1}$)	Group	Biomass Productivity ($mg.L^{-1}.d^{-1}$)
Chlorella sp. AARL G011	11.87±6.01[f]	MX1	12.36±6.39[a]
Chlorella sp. AARL G012	0.61±1.20[bc]	MX2	13.76±3.78[a]
Chlorella sp. AARL G014	6.81±0.94[de]	MX3	15.19±2.79[a]
Chlorella sp. AARL G049	9.11±1.51[ef]		
Scenedesmus sp. AARL G022	3.47±1.06[cd]		
Pediastrum sp. AARL G050	-2.53±0.32[ab]		
Carteria sp. AARL G045	-5.44±1.83[a]		
Carteria sp. AARL G046	-3.30±0.68[ab]		
Scenedesmus sp. AARL G023	4.20±2.50[cd]		
Monoraphidium sp. AARL G044	0.44±0.69[bc]		
Spirulina platensis AARL C005	-1.22±0.19[b]		

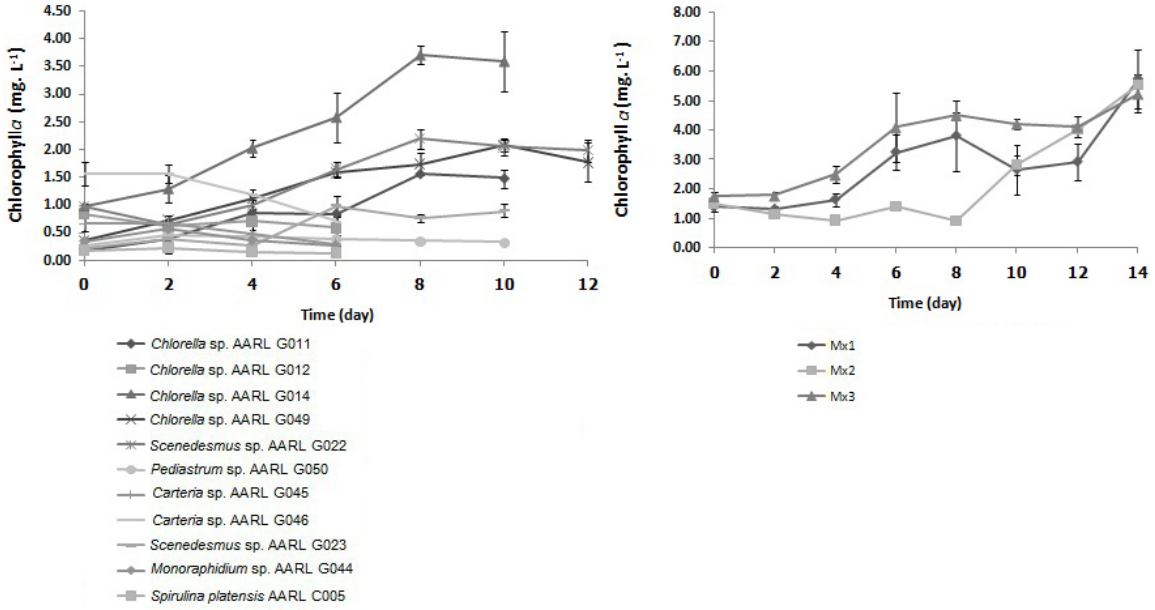

Figure 3 Results Chlorophyll *a* of mono microalgal culture 11 species and mixed microalgal culture 3 group

3.2 สายพันธุ์ผสม

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบสายพันธุ์ผสมทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่ MX1 MX2 และ MX3 สามารถเจริญได้ดี โดยมีอัตราการผลิตชีวมวลต่อหน่วยเวลา (biomass productivity) ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่าเท่ากับ 12.36±6.39 13.76±3.78 และ 15.19±2.79 $mg.L^{-1}.d^{-1}$ ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 2 และคลอโรฟิลล์ *เอ* เท่ากับ 5.74±0.99 5.53±0.37 และ 5.25±0.65 $mg.L^{-1}$ ตามลำดับ ดังแสดงในภาพ 3 และพบว่าสัดส่วนจำนวนประชากรของสาหร่ายสายพันธุ์ผสมทั้งสามกลุ่มในวันสุดท้าย (Dt) มีการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนจากวันแรก (D0) ดังแสดงในภาพ 4 ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าสาหร่ายขนาดเล็กแบบพันธุ์ผสมได้แก่ MX1 และ MX2 ประกอบด้วยสาหร่ายสายพันธุ์เดี่ยวหลายสายพันธุ์ ซึ่งเป็นสายพันธุ์เดียวกันกับที่ใช้ในการทดลองการเพาะเลี้ยงแบบสายพันธุ์เดี่ยวแต่ผลผลิตชีวมวลของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบพันธุ์ผสมสูงกว่าสาหร่ายสายพันธุ์เดี่ยว ทั้งนี้เนื่องจากการเพาะเลี้ยงทั้ง 2 ชุดเป็นการเพาะเลี้ยงในระยะเวลาที่ต่างกัน ซึ่งในช่วงการเพาะเลี้ยงแบบพันธุ์ผสมมีอุณหภูมิสูงกว่าในช่วงที่ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ส่งผลให้เพิ่มความสามารถในการเจริญได้ดีขึ้น ซึ่งมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Chlorella vulgaris* พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 29.6 ˚C ค่า pH เริ่มต้น 7.6 อัตราการไหล 16.18 $mL.min^{-1}$ ให้อัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.389 day^{-1} (Kasipa *et al*., 2012) และมีการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดแบบสายพันธุ์ผสมด้วย flue gas (19% CO_2) ที่ปล่อยจากเครื่องผลิตไฟฟ้าจากก๊าซชีวภาพมูลไก่เปรียบเทียบกับการให้อากาศจากเครื่องปั๊ม ด้วยอัตรการไหล 0.2 vvm พบว่าสาหร่ายเจริญได้ดีที่สุดในสภาวะที่ให้ flue gas โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* และน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1492.55±582.00 $\mu g.mL^{-1}$ และ 0.0258±0.0435 $g.L^{-1}$ ตามลำดับ (Peerapornpisal *et al*., 2012)

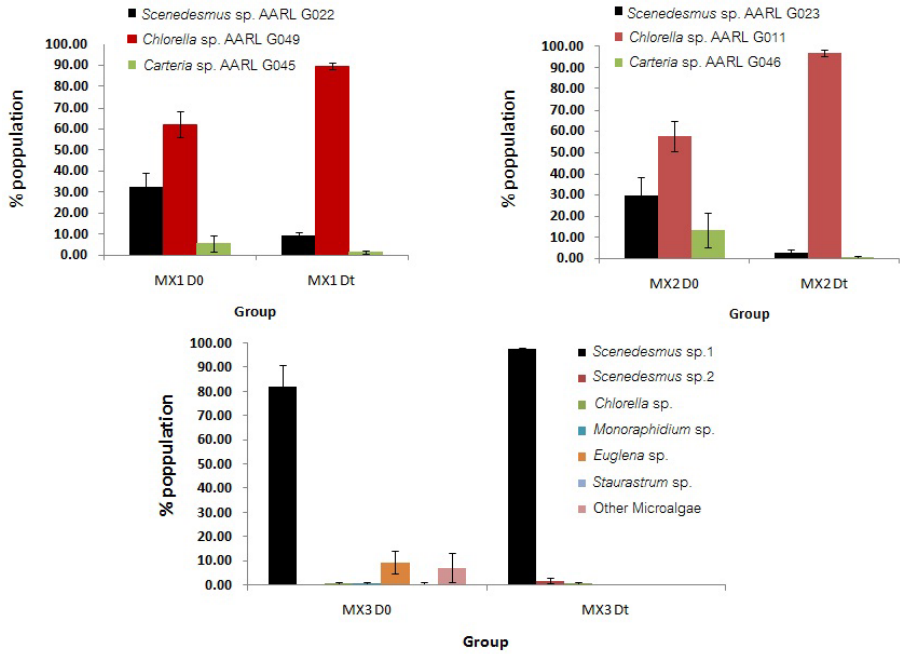

Figure 4 Species and the proportion of the population is found on the first and last day

อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสนใจว่าสาหร่ายขนาดเล็กแบบพันธุ์ผสมกลุ่ม MX3 มีอัตราการผลิตชีวมวลต่อหน่วยเวลา (biomass productivity) เท่ากับ 15.19±2.79 $mg.L^{-1}.d^{-1}$ พบประชากรเด่นที่เจริญได้ดีในสภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 100% (v/v) คือ *Scenedesmus* spp. ทั้งที่การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์เดี่ยว *Scenedesmus* sp. AARL G022 และ *Scenedesmus* sp. AARL G023 กลับมีผลผลิตที่ไม่สูงมาก เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กแบบพันธุ์ผสมกลุ่ม MX3 เป็นกลุ่มหัวเชื้อที่ได้จากการเปิดรับหัวเชื้อจากอากาศที่มีการแข่งขันการเจริญของสายพันธุ์ต่าง ๆ จึงเปรียบเสมือนการคัดกรองเบื้องต้นโดยใช้สภาวะในการเพาะเลี้ยงในการทดลอง จึงได้สาหร่ายขนาดเล็กที่เหมาะสมต่อสภาวะในการทดลองโดยตรง ซึ่งการทดลองขั้นตอนต่อไปจะทำการเพาะเลี้ยงในระยะเวลา และสภาวะเดียวกัน และขยายขนาดการทดลองสู่ระดับภาคสนามขนาด 100 L โดยเลือกสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์เดี่ยวและแบบพันธุ์ผสมทั้ง 3 กลุ่ม เพื่อยืนยันผลการทดลองว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบพันธุ์ผสมสามารถเจริญได้ดีกว่าสายพันธุ์เดี่ยว

สรุป

จากการทดลองพบว่าสายพันธุ์ผสมทั้ง 3 กลุ่มเจริญเติบโตได้ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) สายพันธุ์ผสมกลุ่มที่มี *Scenedesmus* sp. เป็นชนิดเด่นมีแนวโน้มที่จะมีชีวมวลสูงกว่าสาหร่ายสายพันธุ์ผสมกลุ่มอื่น ๆ และสายพันธุ์เดี่ยวที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคือ *Chlorella* sp. AARL G011 โดยมีอัตราการผลิตชีวมวลต่อหน่วยเวลา เท่ากับ 11.87±6.01 $mg.L^{-1}.d^{-1}$ ซึ่งสูงกว่าสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์เดี่ยวชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากบริษัท L.V. Technology Public Company Limited และห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

Akimoto, M., Shirai, A., Ohtaguchi, K. and Koide, K. 1998.Carbon dioxide fixation and polyunsaturated fatty acid production by the red alga *Porphyridiumcruentum*. Applied Biochem. Biotechnol. 73: 269-278.

Dayananda, C., Sarada, R., Bhattacharya, S. and Ravishankar, G.A. 2005. Effect of media and culture condition on growth and hydrocarbon production by *Botryococcus braunii*. Process Biochem. 40: 3125–3131.

de Morais, M. and Costa, J.A.V. 2007. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. J. Biotechnol. 129: 439–445.

Greenberg, A.E., Clesceri, L.S. and Eaton, A.D. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th edition. American public health association (APHA), Washington D.C.

HO, S.H., Chen, C.Y., Lee, D.J. and Chang, J.S. 2011. Perspectives on microalgal CO_2 emission mitigation systems. Biotechnol. Adv. 29: 189–198

Kaenmanee, M. Acid-base balance in the sea. [Online] Available from http://www.agri.kmitl.ac.th /elearning/courseware/aquatic/8___.html. [2013, July 28]

Kasipa, K., Wengkaw, W., Srisorasat, S. and Samat, C., 2012. The study of optimum condition for *Chlorella vulgaris* by the response surface experimental design. 1:188-197. [in Thai]

Maeda, K., Owadai, M., Kimura. N., Omata, K. and Karubd, I. 1995. CO_2 fixation from the flue gas on coal-fired thermal power plant by microalgae. Energy Convers. Manage. 36 (6-9): 717-720.

Peerapornpisal, Y., Pekkoh, J., Chaiklangmuang, S., Whangchai, N., Ungsethaphan, T., Tongsiri, S., Chaichana, C., Wongsa, S., Pumas, C., Boonma, S. and Loomakool, S. 2012. Green House Gas and Waste Water Reduction by Cultivation of Bio-oil Produced Microalgae by Green Water System. Final report in PERDO. Chiang Mai. 1-57. [in Thai]

Preeparmmoot, P., Sangseehlung, J. and Satjapan, K. 2009. Reduce acid of water caused sulfuric acid by algae. 5: 27 – 35. [in Thai]

Saijo, Y. 1975. A method for determination of chlorophyll. Jpn. J. Limnol. 36: 103–109.

Suali, E. and Sarbatly, S. 2012. Conversion of microalgae to biofuel. Renew. Sustain. Energ. Rev. 16: 4316– 4342.

Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X. and Zhong, J. 2011. CO_2 biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO_2 levels. Biores. Techno. 102: 3071-3061.

Wintermans, J.F.G.M. and de Mots, A.1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll *a* and *b* and their pheophytins in ethanol. Biochim. Biophys. Acta. 109: 448–453.

Yoshihara, K., Nagase, H., Eguchi, K., Hirata, K. and Miyamoto, K. 1996. Biological elimination of nitric oxide and carbondioxide from flue gas by marine microalga NOA- 13 cultivated in a long tubular photobioreactor. J. Ferment. Bioeng. 82 (4): 351-354.

Yue, L. and Chen, W. 2005. Isolation and determination of cultural characteristics of a new highly CO_2 tolerant fresh water microalgae. Energy. Conver. and Manage. 46: 1868–1876.