

บทนำ

สาหร่าย *Spirulina platensis* เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากประกอบไปด้วยโปรตีนสูงถึง 50 – 70% ของน้ำหนักแห้ง อุดมไปด้วยวิตามินและเกลือแร่ที่สำคัญต่อร่างกายหลายชนิด และยังมีไฟโคไซยานิน (phycocyanin) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงทำให้สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นที่นิยมในการรับประทานเป็นอาหารเสริมสุขภาพ รวมทั้งนำไปใช้เป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น ปลา และหอยชนิดต่างๆ

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ถึงแม้ว่าจะมีวิธีการที่ไม่ซับซ้อนมากนัก แต่ก็มีต้นทุนในการผลิตที่ค่อนข้างสูงเนื่องจากอาหารที่นำมาเพาะเลี้ยงในปัจจุบันต้องใช้สารเคมีหลายชนิด และมีการใช้ในปริมาณมากและมีราคาค่อนข้างแพง ดังนั้นในระยะเวลาที่ผ่านมาจึงมีการพยายามที่จะพัฒนาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* โดยการใช้แหล่งอาหารอื่นๆ ในการเพาะเลี้ยง รวมทั้งการนำน้ำเสียจากแหล่งต่างๆ ซึ่งส่วนใหญ่มีปริมาณสารอาหารจำพวกไนโตรเจนและฟอสเฟตที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพวกสาหร่ายและแพลงก์ตอนพืชทดแทนสารเคมีบางชนิด เพื่อเป็นแนวทางในการลดคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *S. platensis* และสามารถลดต้นทุนในการผลิตสาหร่าย *S. platensis* ได้ ทั้งยังเป็นการช่วยบำบัดน้ำเสียให้ดีขึ้นก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำอีกด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อทราบถึงแนวทางในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง รวมถึงการใช้สาหร่าย *S. platensis* บำบัดน้ำเสียและยังเป็นการลดต้นทุนในการผลิตสาหร่าย *S. platensis* ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

การตรวจเอกสาร

"สาหร่าย" หมายถึง พืชชั้นต่ำที่มีคลอโรฟิลล์ สามารถสังเคราะห์แสงได้ ไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้น ใบ ที่แท้จริง มีขนาดตั้งแต่เล็กมากประกอบด้วยเซลล์เดียว ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จนถึงขนาดใหญ่ยาวเป็นเมตรประกอบด้วยเซลล์จำนวนมาก อาจมีลักษณะเป็นเส้นสายหรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง โดยมีส่วนที่คล้ายราก ลำต้น และใบรวมเรียกว่า Thallus

1. ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายสไปรูลิน่า



ภาพที่ 1 ลักษณะเซลล์รูปร่างสาหร่าย *Spirulina platensis* (กำลังขยาย 40X)

สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่าย *S. platensis* มีอนุกรมวิธาน ดังนี้ (Bold and Wynne, 1978 และ Venkataraman, 1983)

Kingdom Monera

Division Cyanophyta

Class Cyanophyceae

Order Oscillatoriales

Family Oscillatoriaceae

Genus *Spirulina*

Species *Spirulina platensis*

สาหร่ายสไปรูลินาที่ค้นพบแล้วมีประมาณ 35 ชนิด ชนิดที่มีรายงานการทดลองและใช้ประโยชน์มากที่สุด คือ *S. platensis* และ *S. maxima* (Ciferri, 1983)

สาหร่ายสไปรูลินาประกอบด้วยเซลล์รูปทรงกระบอกหลายเซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นสายที่ไม่แตกแขนง เรียกว่า trichome เส้นสายจะบิดเป็นเกลียวตามลักษณะของสกุล (genus) ความกว้างของเกลียว (helix), ระยะห่างระหว่างเกลียว (pitch) และความยาวของ trichome (length) จะแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิด (species) แต่อย่างไรก็ดีสาหร่ายสไปรูลินาชนิดเดียวกัน เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน ขนาดและรูปร่างก็อาจจะแตกต่างกันด้วย เช่น พบว่าสาหร่าย *S. platensis* ที่เจริญในสูตรอาหารที่ต่างกันจะมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่างกันและสาหร่ายที่เจริญในถังน้ำที่มีการหมุนเวียนตลอดเวลา สีจะเข้มกว่า และมีขนาด trichome สั้นกว่าสาหร่ายที่เจริญในถังน้ำที่ไม่มีการหมุนเวียน ทั้งนี้เป็นการปรับตัวให้สามารถเคลื่อนที่ไปตามการหมุนเวียนของน้ำได้สะดวกขึ้น และสาหร่ายที่เจริญอยู่ในถังที่ไม่มีการหมุนเวียนของน้ำจะมีสีซีดกว่า เนื่องจากน้ำจะมีอุณหภูมิสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อได้รับความร้อนจากดวงอาทิตย์และความเข้มของแสงที่สาหร่ายได้รับเป็นเวลานานจะทำให้สี (pigment) อ่อนลง รวมทั้งจะมีการปล่อยสารบางอย่างออกมา (สุชาติ และคณะ, 2531)

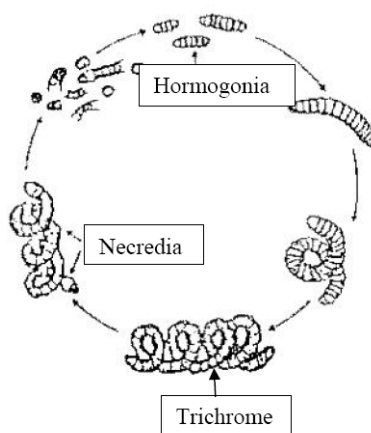
สาหร่ายสไปรูลินา ตัวเซลล์นั้นไม่มีเยื่อเมือก (mucous membrane) ปกคลุมเหมือนกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั่วไป และผิวของเซลล์ไม่มีจุลินทรีย์มาเกาะ รวมทั้งมีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ที่จะทำอันตรายต่อเซลล์ได้สูง และสาหร่าย *Spirulina* sp. พวกสายพันธุ์ที่ทนความร้อนสูงจะสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 35 – 40 องศาเซลเซียส ซึ่งคุณสมบัติในเรื่องนี้สามารถป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ทั้งหลายได้ นอกจากนี้ยังมีความสามารถทนต่อรังสีอัลตราไวโอเลตได้สูงภายในเซลล์มีเม็ดอากาศเล็กๆอยู่ จึงมีความสามารถในการลอยตัวสูง ส่วนองค์ประกอบทางเคมี พบว่ามีปริมาณของไฟโคไซยานิน (phycocyanin) ซึ่งเป็นรงควัตถุชนิดหนึ่งสูงมากและและมีโปรตีนสูง Trainor (1978) กล่าวว่าสาหร่าย *Spirulina* sp. ที่เจริญเพิ่มจำนวนอย่างมากตามธรรมชาติในทะเลสาบที่มีสภาพเป็นด่างค่อนข้างสูงของประเทศเม็กซิโก และประเทศในแถบแอฟริกา โดยปกติถ้ามีมากเกินไปจะทำให้เกิดมลภาวะเป็นพิษได้ แต่เนื่องจากสามารถนำมาบริโภคได้และมีโปรตีนสูงถึง 65 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง จึงเป็นแรงดึงดูดความสนใจให้หลายประเทศหันมาสนใจศึกษาเพาะเลี้ยง เช่น สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก ญี่ปุ่น อิสราเอล และเมื่อนำสาหร่ายชนิดนี้ไปเพาะเลี้ยงในน้ำที่ต่าง ๆ ก็พบว่ายังมีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูงเหมือนเดิม เช่น Saxena (1983) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในสูตรอาหารที่มีน้ำที่จากชุมชนเป็นส่วนประกอบ พบว่าสาหร่ายก็ยังมีปริมาณโปรตีน 50 – 55 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง

การสืบพันธุ์ของสาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยจะมีการแบ่งตัวที่กึ่งกลาง trichome (Humm and Wicks, 1980) ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบ division หรือ binary fission ที่พบในพวกแบคทีเรีย เส้นสายของสาหร่ายอาจยาวบ้าง สั้นบ้าง ขึ้นอยู่กับอายุและความอุดมสมบูรณ์ (ยวดี, 2549)

รงควัตถุที่สำคัญในสาหร่ายสไปรูลิน่า ได้แก่ คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) เบตา - แคโรทีน (β -carotene) ไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) ในการทดลองใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นอาหารของสัตว์ พบว่า รงควัตถุเหล่านี้ได้ช่วยเพิ่มสี คือ สีของไข่แดงในเป็ด ไก่, สีของเนื้อไก่ และสีของเกล็ดปลา (Reed *et al.*, 1985)

2. วงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า

วงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า (Richmond, 1986) เริ่มจากไตรโคม (Trichome) ที่โตเต็มที่เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์พิเศษที่เรียกว่านิครีเดีย (Necredia) หลังจากนั้น นิครีเดียแตกออกเป็นชิ้นส่วนเล็กๆ หลายสายแต่ละสายประกอบด้วย 2-4 เซลล์ เรียกแต่ละสายว่า ฮอร์โมโกเนีย (Hormogonia) จากนั้นปลายทั้งสองด้านของฮอร์โมโกเนียค่อยๆ ม้วนเป็นเกลียว เซลล์ของฮอร์โมโกเนียเพิ่มจำนวนโดยวิธี Cell Fusion และเจริญต่อไปเป็นไตรโคม ลักษณะเซลล์ของฮอร์โมโกเนียมีสีซีดเพราะในไซโตพลาสซึมมีกรานูล (Granule) น้อย แต่เมื่อเจริญไปเป็นไตรโคมที่โตเต็มที่ภายในไซโตพลาสซึมจะมีกรานูลเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์มีสีเขียวเข้มมากขึ้น (ภาพที่ 2)

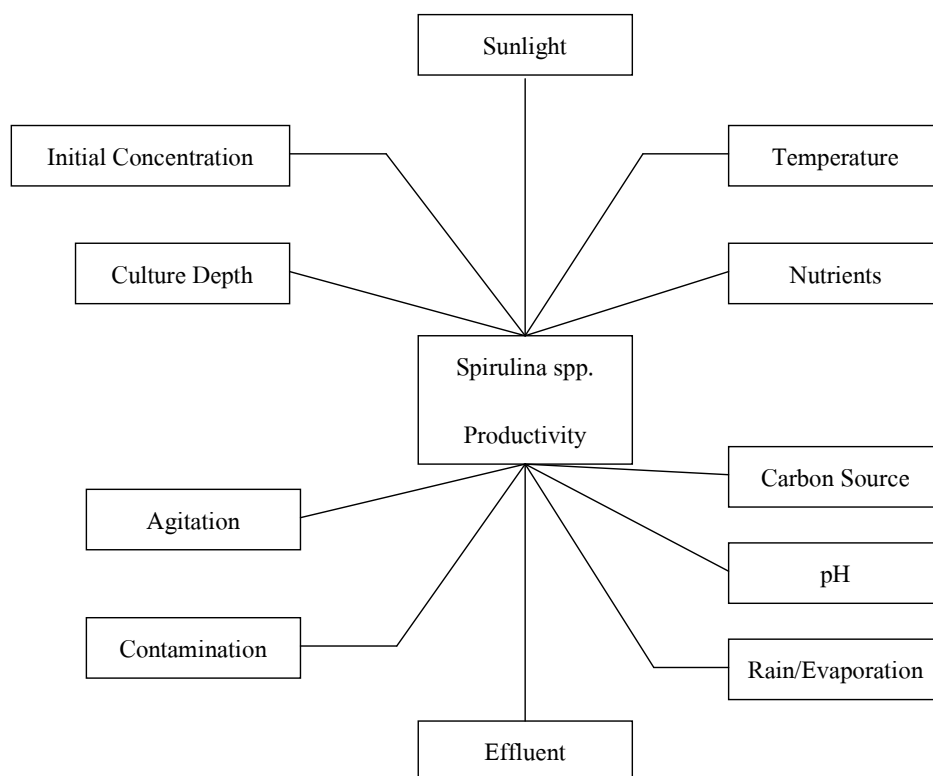


ภาพที่ 2 วงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า

ที่มา: Richmond (1986)

3. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า มีปัจจัยบางประการที่มีอิทธิพลต่อการเพาะเลี้ยง ซึ่งสรุปได้ดังนี้ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาพกลางแจ้ง
ที่มา : Venkataraman (1983)

3.1 แสงสว่าง การเจริญเติบโตของสาหร่ายสไปรูลิน่า ก็คล้ายๆกับพืชสีเขียวทั่วไป ก็คือต้องอาศัยแสงสว่างในการสังเคราะห์แสง ในประเทศอินเดียมีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้ และพบว่าสาหร่ายเจริญดีที่ความเข้มของแสง 30 – 35 กิโลลักซ์ (Venkataraman, 1983) สำหรับการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย ซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงระดับอุตสาหกรรมสามารถเพาะเลี้ยงในถังเพาะเลี้ยงขนาดใหญ่ และให้ได้รับแสงสว่างจากดวงอาทิตย์โดยตรง ปรากฏว่าให้ผลผลิตสูงเป็นที่น่าพอใจ (นฤมล และคณะ, 2529)

3.2 อุณหภูมิ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมจะส่งผลให้สาหร่ายสไปรูลีนา เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ดี จากการทดลองเพาะเลี้ยงที่เมืองไมซอร์ (Mysore) ทางตอนใต้ของประเทศอินเดีย ซึ่งมีอุณหภูมิในฤดูร้อน (มีนาคม – มิถุนายน) สูงถึง 40 องศาเซลเซียส และในฤดูหนาว (ตุลาคม – ธันวาคม) อุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียสในช่วงเวลากลางคืน พบว่าสาหร่ายเจริญได้ดีที่อุณหภูมิช่วง 20 – 35 องศาเซลเซียส และการเจริญจะลดลงถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และสูงกว่า 37 องศาเซลเซียส (Venkataraman, 1983) ส่วนการทดลองเพาะเลี้ยงในประเทศไทย โดย สุชาติ และคณะ (2531) พบว่าอุณหภูมิของน้ำในถังเพาะเลี้ยงขณะน้ำนิ่ง วัดเมื่อเวลา 13.00 น. มีอุณหภูมิเท่า 39 องศาเซลเซียส แต่เมื่อกวนน้ำพบว่าอุณหภูมิลดลงเหลือเพียง 35 องศาเซลเซียส จากอุณหภูมิระดับดังกล่าวสาหร่ายสามารถเจริญได้และการกวนน้ำให้หมุนวนจะทำให้อุณหภูมิที่ผิวน้ำและระดับลึกลงไปมีอุณหภูมิแตกต่างกันด้วย

3.3 ความเป็นกรด – ด่าง สาหร่ายสไปรูลีนาสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่เป็นด่าง คือ มี pH ค่อนข้างสูง ในช่วงระหว่าง 8 – 11 และจากรายละเอียดของสูตรอาหาร Zarrouk ระบุไว้ว่าให้ปรับ pH เท่ากับ 8 – 10 แสดงว่า pH ต่ำถึง 8 สาหร่ายก็สามารถเจริญอยู่ได้ ถ้า pH ต่ำกว่า 8 และสูงกว่า 11 การเจริญของสาหร่ายจะลดลง (Venkataraman, 1983) ความเป็นกรด – ด่างของอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีผลต่อกระบวนการต่างๆ ทางชีววิทยาของเซลล์ (Ciferri and Tiboni, 1985) ค่าความเป็นกรด – ด่าง มีความสัมพันธ์กับการละลายของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (Venkataraman, 1983) หรือปริมาณของไบคาร์บอเนต (สุนทิพย์, 2529) ซึ่งจะส่งผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์สาหร่าย (Becker and Venkataraman, 1982) เนื่องจากค่าความเป็นกรด – ด่างจะมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง รวมทั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่าง 10 – 11 ในอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลีนา อาจทำให้มีการเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียสูงถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้เป็นพิษต่อสาหร่ายได้ (Ogbona *et al.*, 2000)

3.4 ธาตุอาหารและแหล่งคาร์บอน

3.4.1 ไนโตรเจน เป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญและน้ำหนักแห้งของสาหร่าย ไนโตรเจนมีหน้าที่เกี่ยวกับเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ การขาดไนโตรเจนในสาหร่ายสไปรูลีนา ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และอาร์เอ็นเอ (RNA) ลดลง แต่จะมีคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น (Hosakul, 1972; Denesi, 2002) สาหร่ายสไปรูลีนาสามารถใช้ไนโตรเจนได้ทั้งในรูปของอินทรีย์

สารและอนินทรีย์สารในรูปของเกลือแอมโมเนีย (NH_4^+) ไนเตรท (NO_3^-) และไนไตรท์ (NO_2^-) (Chuntapa, 2003) โดยทั่วไปพบว่าสาหร่ายจะใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจนก่อนการใช้ไนเตรท (Ogbona, 2000) แต่การใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้อาหารมีสภาพเป็นกรดก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสาหร่ายได้ หรือไนไตรท์ที่มีปริมาณเข้มข้นสูงเกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตรจะมีผลไปยับยั้งการเจริญของสาหร่าย อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสาหร่ายสไปรูลิน่าเจริญได้ดีเมื่อมีการเติมโซเดียมไนเตรท ลงในอาหาร 2.5 กรัมต่อลิตร (พิมพรรณ และอาร์กย์, 2531; สุมาลี, 2535; Kaplan, 1986) ไนโตรเจนที่ได้จากการเตรียมโซเดียมไนเตรท 20.7 กรัมต่อลิตร สามารถให้ผลผลิตสาหร่ายได้ 1.992 กรัมต่อลิตร (Costa *et al.*, 2001) Denesi *et al.*, (2002) พบว่าการเติมยูเรียลงในอาหาร 5.6 กรัม ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าจะไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสาหร่ายสไปรูลิน่า ไนโตรเจนในรูปสารอินทรีย์ที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้ได้แก่ อามีน (amine) ยูเรีย (urea) กลูตามีน (glutamine) แอสพาราจีน (asparagine) (Baldia *et al.*, 1990; Ogbona., 2000; Denesi, 2002)

3.4.2 ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่มีบทบาทในกระบวนการต่างๆภายในเซลล์ เช่น การเคลื่อนย้ายพลังงานและการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) ในสาหร่ายสไปรูลิน่าจะมีฟอสฟอรัสอยู่ 0.69 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง (เจียมจิตต์, 2531; Richmond, 1986) ในแหล่งน้ำธรรมชาติพบฟอสฟอรัสในรูปอนินทรีย์ฟอสเฟต สาหร่ายสไปรูลิน่าสามารถใช้ฟอสฟอรัสของสารอินทรีย์ฟอสเฟตได้ดีกว่าอนินทรีย์ฟอสเฟต (Baldia *et al.*, 1994) การขาดฟอสฟอรัสของสาหร่ายมีผลใกล้เคียงกับการขาดไนโตรเจนคือ ทำให้ปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์เอ และอาร์เอ็นเอ (RNA) ของสาหร่ายลดลง แต่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น เคยมีรายงานว่าสารจำพวกฟอสฟอรัสบางตัว เช่น โปแตสเซียมไดซัลเฟตและไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตลงไปในอาหารไม่ได้ทำให้การเจริญของสาหร่ายเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีปริมาณฟอสเฟตที่มากเกินไปสาหร่ายก็ไม่สามารถที่จะนำไปใช้ในการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นได้ ทำให้เป็นการสูญเสียโดยเปล่าประโยชน์ (พิมพรรณ และอาร์กย์, 2531; Chaudfari., 1980)

3.4.3 คาร์บอน เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญของสาหร่าย ในสาหร่ายมีปริมาณคาร์บอนประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (เจียมจิตต์, 2531) การเติมสารอาหารอื่นลงไปในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่ามากขึ้นจะไม่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย หากปริมาณคาร์บอนในอาหารมีอยู่อย่างจำกัด (Becker and Venkataraman, 1982) สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในปัจจุบันพบว่าโซเดียมไบคาร์บอเนตมีความจำเป็นต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูลิน่ามากกว่าโซเดียมไนเตรททั้งนี้เพราะโซเดียมไบคาร์บอเนตจะทำหน้าที่เป็นแหล่งให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

และในขณะเดียวกันยังเป็นตัวป้องกันไม่ให้ระดับความเป็นกรด – ด่าง เปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว (Nakamura, 1982; Richmond, 1986)

3.5 การหมุนเวียนของสารอาหารและความลึกของภาชนะที่เพาะเลี้ยง เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลีนา เพราะการหมุนเวียนสารอาหารช่วยให้สาหร่ายที่อยู่ในระดับต่างๆ มีโอกาสได้รับแสงอย่างสม่ำเสมอ ลดการตกตะกอนของสาหร่าย นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มอากาศ ทำให้เซลล์ของสาหร่ายมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ในสภาพที่ไม่มีการหมุนเวียนของสารอาหาร เซลล์สาหร่ายจะจับตัวกันเป็นกลุ่ม และมีอัตราการเจริญลดลง นอกจากนั้นการหมุนเวียนของสารอาหารยังทำให้เซลล์ของสาหร่ายสามารถสังเคราะห์ธาตุอาหารอย่างทั่วถึงและทำให้สามารถดูดซึมธาตุอาหารไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยป้องกันไม่ให้เกิดความแตกต่างของอุณหภูมิที่ผิวน้ำกับที่ระดับลึกลงไป ถ้าหากไม่มีการหมุนเวียนของสารอาหารแล้วจะทำให้อุณหภูมิที่ผิวน้ำสูงและเมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงถึงระดับหนึ่งจะไปยับยั้งการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสไปรูลีนา ถึงที่เพาะเลี้ยงควรมีความลึกประมาณ 20 – 25 เซนติเมตร เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการใช้แสงของสาหร่าย (สุมาลี, 2527; Venkataraman, 1983)

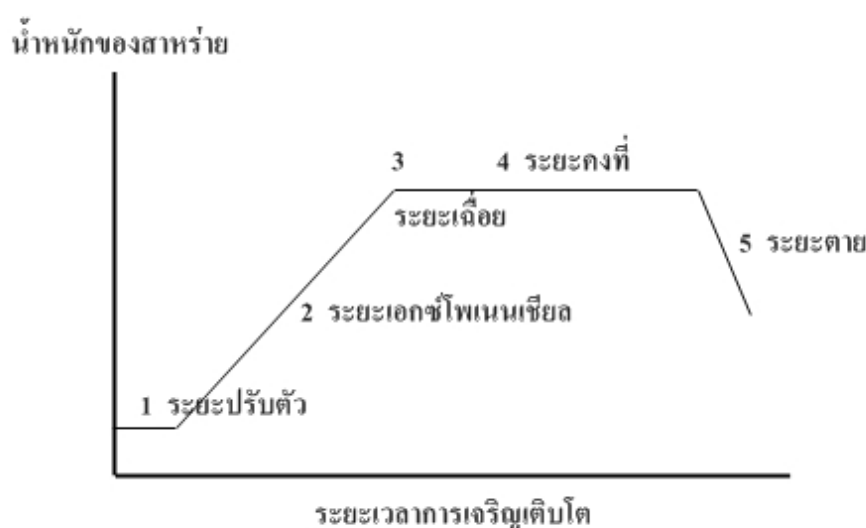
3.6 การระเหยของน้ำ เป็นสิ่งสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลีนา ในสภาพกลางแจ้ง โดยเฉพาะในฤดูร้อนซึ่งมีอุณหภูมิสูง (Venkataraman, 1983)

3.7 ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์สาหร่าย ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์สาหร่ายมีความสัมพันธ์กับความเข้มของแสงที่จะสามารถผ่านลงไปในน้ำได้ ถ้าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายต่ำเกินไป แสงส่องผ่านลงไปในน้ำได้มาก ซึ่งอาจทำให้สาหร่ายตายได้ เนื่องจากกระบวนการโฟโตออกซิเดชัน ในทางกลับกัน หากความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นสูงเกินไปจะทำให้เกิดการบังกันเองของเซลล์สาหร่าย ทำให้การรับพลังงานแสงและประสิทธิภาพในการหายใจลดลง ปริมาณความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายที่เหมาะสมของสาหร่ายสไปรูลีนาในการเพาะเลี้ยงคือ 225 – 250 มิลลิกรัมของน้ำหนักแห้งต่อลิตร (Venkataraman, 1983)

4. การเจริญเติบโตของสาหร่ายสไปรูลีนา

ช่วงการเจริญ (growth phase) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลีนาในระบบปิด (Closed system) ซึ่งเรียกว่า batch culture เป็นการนำเชื้อสาหร่ายมาใส่ในอาหารใหม่ สาหร่ายจะมีการ

เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่อัตราการเจริญจะลดลงจนกลายเป็นศูนย์ในที่สุด เนื่องจากสาหร่ายทนไม่ได้ต่อสารพิษที่ตัวสาหร่ายเองปล่อยออกมาเป็นจำนวนมาก หรือเนื่องจากมีแร่ธาตุอาหาร แสงสว่างไม่เพียงพอ (Richmond, 1986) สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์แบบง่าย ๆ โดยการแบ่งเซลล์ จะมีระยะการเจริญเติบโต แบ่งออกเป็น 5 ระยะ ดังนี้ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

4.1 ระยะปรับตัว (Lag phase or inductional phase) เป็นระยะที่เซลล์ปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ เช่น แสง อุณหภูมิ และธาตุอาหาร ฯลฯ ระยะนี้เซลล์ จะมีการเจริญเติบโตน้อย หากเซลล์ไม่สามารถปรับตัวได้ เซลล์จะตายลง การที่จะผ่านระยะปรับนี้ได้เร็วหรือช้าขึ้น ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของเซลล์ และความอุดมสมบูรณ์ของอาหารที่เลี้ยง ถ้าสภาพทั้งสองเหมาะสมก็จะสามารถเข้าสู่ระยะต่อไปได้เร็วขึ้น

4.2 ระยะเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential phase or Log phase) เป็นระยะที่มีการเจริญเติบโตและแพร่ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว ระยะนี้จะนานเท่าใดขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหาร และคุณสมบัติทางฟิสิกส์ เคมี ของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง ช่วงแสงสว่าง รวมทั้งผลผลิตนอกเซลล์ สภาวะรวมของสิ่งแวดล้อม ลักษณะการเจริญเติบโต ในระยะนี้เป็นแบบที่รวดเร็วในระยะแรก และจะค่อยๆ ช้าลงตามลำดับ (ธิดา, 2542)

4.3 ระยะเวลา (Retardation phase or phase of declining relative growth) เป็นช่วงที่มีการเจริญเติบโตช้าลงเพราะขาดแคลนอาหาร เช่น ไนโตรเจน เหล็ก คาร์บอน หรือออกซิเจน เพราะปริมาณเซลล์เกิดหนาแน่นเกินไป การเสียสมดุลของค่า pH เพราะเกิดแอมโมเนียขึ้นมาก หรือแสงสว่างลดลงเนื่องจากเซลล์เกิดการบังกันเอง (auto-shading) วิธีแก้ไขให้การเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเป็นปกติได้โดยการเติมธาตุอาหารที่ขาดแคลน ถ้ามีตะกอนของเฟอริกฟอสเฟต อาจแก้ไขโดยเติมสารอีเลเตอร์ เช่น Fe-EDTA ลงไปละลายตะกอนเหล็ก ส่วนการป้องกันการขาดแคลนคาร์บอนและออกซิเจนนั้นอาจทำได้โดยการเขย่าภาชนะตลอดเวลา หรือใช้การพ่นอากาศ ซึ่งนอกจากจะเพิ่มคาร์บอนและออกซิเจนแล้ว ยังช่วยให้เกิดการผสมผสานของมวลน้ำในภาชนะเลี้ยงทำให้เซลล์ได้รับแสงสว่างโดยทั่วถึงอีกด้วย

4.4 ระยะเวลาที่ (Stationary phase) เป็นระยะที่เซลล์ที่เจริญเติบโตและเซลล์ที่ตายจะมีเพิ่มใกล้เคียงกัน เนื่องจากธาตุอาหารลดน้อยลงและเกิดสารพิษจากกระบวนการเมแทบอลิซึม หรือการสลายตัวของเซลล์เพิ่มขึ้น

4.5 ระยะตาย (Death phase) เป็นระยะที่เซลล์หยุดการเจริญเติบโตเนื่องจากธาตุอาหารลดน้อยลง เซลล์จะเริ่มตายและการตายจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และรวดเร็วขึ้น ฉะนั้นความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงคือ ควบคุมการเลี้ยงให้มีกราฟการเจริญเติบโตอยู่ในระยะเอกซ์โพเนนเชียลนานที่สุดเท่าที่จะทำได้ (ถัดดา, 2543)

5. การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายสาหร่ายน้ำ

5.1 การนับเซลล์ (Cell counts) เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก ในการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย อุปกรณ์ที่ใช้ คือ กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (inverted microscope) และสไลด์นับเซลล์ (counting slide or counting chamber) สไลด์มีหลายชนิดให้เลือกใช้ตามความหนาแน่นของตัวอย่างและขนาดของเซลล์ในตัวอย่างที่นับ ชนิดที่นิยมใช้ คือ Sedgwick-Rafter counting chamber ความจุ 1 มิลลิลิตร Palmer Maloney chamber ความจุ 0.1 มิลลิลิตร และสไลด์นับเม็ดเลือด (haematometer หรือ haemacytometer) ความจุ 0.004 มิลลิลิตร

5.2 การวัดการกระจายของแสงหรือความขุ่น (Light scattering or turbidity) เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดในการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อสาหร่ายบริสุทธิ์ ข้อดีของวิธีนี้ คือ วัดง่ายและสะดวก

ข้อมูลที่ได้เป็นค่าของมวลชีวภาพ (biomass) ที่เพิ่มขึ้นโดยวัดจากค่าสีน้ำหนักแห้ง อุปกรณ์ที่ใช้เรียกว่า colorimeter หรือ สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density) ถ้าจำนวนเซลล์ไม่หนาแน่นนักจำนวนเซลล์จะมีความสัมพันธ์แบบเรขาคณิตกับความเข้มของแสง กล่าวคือ ความเข้มของแสงจะลดลงเมื่อจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น

5.3 การวัดน้ำหนักแห้ง (Dry weight measurement) เหมาะกับสาหร่ายชนิดที่ไม่ใช่เซลล์เดี่ยวที่นับจำนวนเซลล์ไม่ได้ ฉะนั้นจึงนิยมใช้กับสาหร่ายชนิดที่เป็นเส้น วิธีวัดจะวัดทุกวันแล้วนำมาเขียนกราฟ เริ่มการวัดโดยเก็บตัวอย่างจากภาชนะเลี้ยง ก่อนเก็บควรกวนตัวอย่างให้เข้ากันดีเสียก่อน กรองสาหร่ายให้ออกจากน้ำโดยการปั่นให้ตกตะกอน (centrifugation) รินน้ำใส่ๆ ข้างบนออก นำตัวอย่างไปอบแห้ง ถ้าใช้เครื่องกรอง (membrane filter) ควรล้างสาหร่ายบนแผ่นกรองให้สะอาดปลอดจากเกลือหรือสิ่งปนเปื้อนด้วยสารอาหารอย่างเจือจางหรือน้ำกลั่นที่เป็นกลาง ไม่ควรล้างสาหร่ายน้ำเค็มด้วยน้ำกลั่นเพราะจะทำให้เซลล์แตก อุณหภูมิที่อบแห้งประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส นานประมาณ 10-12 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ นำแผ่นกรองออกจากตู้อบในโถดูดความชื้น (desiccators) นาน 15-30 นาที (ถ้าใส่แผ่นกรองหรือเยื่อกรองในหลอดแก้วควรนำหลอดแก้วเข้าตู้อบพร้อมตัวอย่างด้วย) รายงานผลเป็นน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร หรือพื้นที่ของน้ำที่ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่าย

5.4 การวัดคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll determination) เริ่มแรกให้เก็บตัวอย่างจากภาชนะเลี้ยง กรองเซลล์หรือแยกเซลล์ออกโดยการปั่นให้ตกตะกอน ต่อจากนั้นจึงสกัดสารสี (pigment) โดยเติมสารละลายเคมี ชนิดที่นิยมใช้ ได้แก่ อะซิโตน เมทานอล เมื่อสกัดสารสีออกจากเซลล์แล้วให้กรองอีกครั้งหนึ่งเพื่อกำจัดตะกอนและสิ่งปนเปื้อนออกให้หมด นำสารละลายที่กรองได้ใส่ในหลอดแก้วที่ใช้สำหรับวัดค่าคลอโรฟิลล์ (ลัดดา, 2543)

6. ประโยชน์ของสาหร่ายสไปรูลิน่า

6.1 ทางด้านการแพทย์ เนื่องจากสาหร่ายสไปรูลิน่า มีปริมาณสารอาหารสูงกว่าพืชหรือสาหร่ายชนิดอื่น ทำให้สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นทั้งอาหารและยาที่ให้ผลในทางป้องกันโรคต่างๆ นอกจากนี้สาหร่ายสไปรูลิน่ายังเหมาะสมที่จะใช้รักษาแผลมีหนองได้เป็นอย่างดีเพราะมีปริมาณโปรตีนและซีสทีนอยู่ในปริมาณที่สูง (เจียมจิตต์, 2531)

6.2 ใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับมนุษย์ เนื่องจากสาหร่ายสไปรูลินามีคุณค่าทางอาหารสูงอุดมไปด้วยวิตามินบี 12 และโปรตีนสูง นอกจากนั้นยังมีสารไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระทั้งในหลอดเลือดและในสิ่งมีชีวิต รวมทั้งยังช่วยสร้างระบบภูมิคุ้มกันแก่ร่างกาย ช่วยควบคุมปริมาณและความหนาแน่นของเม็ดเลือดแดง ช่วยคลายความอ่อนเพลีย เร่งประสิทธิภาพการทำงานของเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย ช่วยบำรุงเลือด สร้างเม็ดเลือดใหม่ให้ร่างกาย ช่วยยับยั้งมะเร็งได้ และเนื่องจากเซลล์สาหร่ายไม่มีเซลลูโลส (Cellulose) เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ ทำให้สิ่งมีชีวิตสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ถึง 85 – 95 เปอร์เซ็นต์

6.3 ใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์ นอกจากจะเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ ทำให้สัตว์มีการเจริญเติบโตสูงแล้ว ยังประกอบไปด้วยแคโรทีน ซึ่งจะถูกเปลี่ยนไปเป็นวิตามินเอ เมื่อนำไปทดลองเลี้ยงไก่ทำให้สีของไข่แดงเพิ่มขึ้น และใช้เป็นส่วนผสมของปลาประเภทสวยงาม เนื่องจาก เบตา – แคโรทีนจากสาหร่ายจะช่วยเร่งสีผิวของปลาให้สวยเข้มขึ้น Stanley and Jones (1976) ได้ทดลองนำสาหร่ายสไปรูลินา ไปเป็นส่วนผสมของอาหารเลี้ยงปลา bigmouth buffalo และปลา blue tilapia พบว่าปลาทั้งสองชนิดมีการเจริญเติบโตดีมาก แต่เมื่อลดปริมาณของสาหร่ายลง อัตราการเจริญเติบโตก็ลดลงด้วย

6.4 ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย จากการศึกษาพบว่าสาหร่ายสไปรูลินาสามารถกำจัดน้ำเสียได้ เพราะขณะที่สาหร่ายสังเคราะห์แสงไม่เพียงแต่จะให้ออกซิเจนแก่แหล่งน้ำเท่านั้น แต่สาหร่ายยังต้องการไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจากแหล่งน้ำเพื่อใช้ในการดำรงชีวิตอีกด้วย (Ciferri and Tiboni, 1985)

Soong (1980) ได้ทดลองนำของเสียจากการเน่าสลายของมูลสัตว์มาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ของเสียดังกล่าวยังไม่สมบูรณ์ จึงมีการดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก จะเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับสาหร่ายได้ และพบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดี

นฤมล และคณะ (2529) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* โดยใช้น้ำทิ้งจากบ่อบำบัดที่ 5 ของโรงงานอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญได้ดี

พิมพรรณ และอารักษ์ (2531) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* sp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานยางพารา พบว่าน้ำทิ้งจากโรงงานยางพาราที่ไม่เจือจาง สาหร่าย *Spirulina* sp. สามารถเจริญ

ได้ดีที่สุด จากการเติมธาตุอาหารหลักบางตัวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันลงในน้ำทิ้งจากโรงงาน ยางพารา พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina* sp. สูงสุดเมื่อเพิ่ม NaNO_3 ความเข้มข้น 2.5 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าที่เลี้ยงในอาหาร Zarrouk ส่วนการเพิ่ม K_2HPO_4 และ K_2SO_4 พบว่าไม่ จำเป็นและอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina* sp. จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของ K_2HPO_4 และ K_2SO_4 เพิ่มขึ้น นอกจากนั้นเมื่อเพิ่ม NaNO_3 2.5 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 0.1 กรัมต่อลิตร และ K_2SO_4 0.5 กรัมต่อลิตรในน้ำทิ้ง พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina* sp. ต่ำกว่าที่ เลี้ยงในอาหาร Zarrouk มาก

สุขใจ และนวลพรรณ (2530) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* เพื่อการกำจัดน้ำทิ้ง จากโรงงานฆ่าไก่ พบว่าหลังจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแล้ว ค่า BOD_5 ลดลงอยู่ในช่วง 15-25 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตสูงสุด 197 – 268 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร (น้ำหนักแห้งเมื่อเลี้ยงได้ 7 วัน)

สุชาติ และคณะ (2531) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* โดยใช้ น้ำจากกองพลาสติก จากโรงงานผลิตปลาป่น พบว่าสามารถใช้อาหารในน้ำจากกองพลาสติกทดแทนในโตรเจนได้ ทั้งหมด และทดแทนคาร์บอนได้บางส่วน ช่วยลดค่า COD ของน้ำจากกองพลาสติกที่เติมลงไปในบ่อ ถึง 81.50 เปอร์เซ็นต์ และลดแอมโมเนียลงถึง 92.42 เปอร์เซ็นต์

วิลาสินี (2532) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำกากส่าเหล้าความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 2.0 3.0 4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ เติมสารเคมี NaHCO_3 8.5 กรัมต่อ ลิตร NaNO_3 1.5 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 0.5 กรัมต่อลิตร และปุ๋ย N-P-K (สูตร 16-16-16) 0.6 กรัมต่อ ลิตร ปรับ pH 10 ± 0.1 เป็นเวลา 24 วัน ในห้องปฏิบัติการและสภาพกลางแจ้ง พบว่าทั้ง 2 สภาพ สาหร่าย *S. platensis* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในน้ำกากส่าเหล้า ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบปริมาณโปรตีนจากที่เลี้ยงในสูตรอาหาร Zarrouk กับที่เลี้ยงในน้ำกากส่าเหล้า ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งในห้องปฏิบัติการและสภาพกลางแจ้ง มีปริมาณโปรตีน 49.46, 43.77, 44.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สามารถลดค่า BOD_5 ได้ 44.00 และ 46.43 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของน้ำ กากส่าเหล้าลดลง 51.13 และ 58.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

7. การลดปริมาณแร่ธาตุอาหารในสูตรอาหาร Zarrouk

ในประเทศได้หวั่นการผลิตสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อเป็นอาหารของคนและสัตว์ ได้มีการลดต้นทุนของสารเคมีที่ใช้เป็นอาหารของสาหร่าย โดยในการเลี้ยงสาหร่ายที่กลางแจ้งมีการเจือจางอาหารลง 2 – 3 เท่าจากสูตรอาหาร Zarrouk (คิดเป็นปริมาณสารเคมีเท่ากับ 33 – 50 เปอร์เซ็นต์ ของสูตร Zarrouk) พบว่าสาหร่ายเจริญได้ดีเมื่อเทียบกับการใช้สูตรอาหาร Zarrouk แต่จะต้องเติมธาตุไนโตรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ทุก 2 วัน (Soong, 1980) Becker และ Venkataraman (1982) รายงานว่าสูตรอาหาร Zarrouk มีต้นทุนสูงและประกอบด้วยสารเคมีในปริมาณมาก โดยไม่ได้ถูกใช้ประโยชน์ทันที สถาบันวิจัยหลายแห่งจึงได้มีการดัดแปลงสูตรอาหาร Zarrouk เป็นสูตรอาหารใหม่หลายสูตร ซึ่งมีการใช้สารเคมีในปริมาณที่น้อยลง หรือใช้สารอื่นๆ ที่มีราคาถูกมาทดแทนสารเคมีบางชนิด สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผลิตได้จากสูตรอาหารดัดแปลงนี้ ได้นำมาใช้เป็นอาหารคนและสัตว์ และสาหร่ายที่ผลิตได้นี้มีอัตราการเจริญต่ำกว่าเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เมื่อเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk สูตรอาหารดัดแปลงนี้มีการลดปริมาณโซเดียมไนเตรท (NaNO_3) และไดโปเตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)

สำหรับการลดปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ในสูตรอาหาร Zarrouk Sharenkova และ Semenenko (1982) พบว่าอัตราการเจริญของสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในอาหารโดยมีการใส่ NaHCO_3 5.7 กรัมต่อลิตร (33.93 เปอร์เซ็นต์ ของสูตร Zarrouk) ไม่มีความแตกต่างกับสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารที่มีการใส่ NaHCO_3 16.8 กรัมต่อลิตร (100 เปอร์เซ็นต์ ของสูตร Zarrouk)

แร่ธาตุอาหารบางชนิดเมื่อใช้ในปริมาณสูงจะช่วยป้องกันการปนเปื้อนของสาหร่ายชนิดอื่นในบ่อเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าได้ เช่น ประเทศอิสราเอล พบว่าการใช้ NaHCO_3 ในปริมาณ 4 กรัมต่อลิตร (23.8 เปอร์เซ็นต์ ของสูตร Zarrouk) จะเพียงพอให้สาหร่ายสไปรูลิน่ามีอัตราการเจริญสูงสุด แต่จะมีการปนเปื้อนมากของสาหร่ายสีเขียวสกุล *Chlorella* และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NaHCO_3 มากขึ้น พบว่าปริมาณของ *Chlorella* ได้ลดลง (Richmond, 1986)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สาหร่ายสไปรูลิน่า

เซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina platensis*) จากสาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์ และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และโดยปกติเลี้ยงอยู่ในอาหารเหลวสูตร Zarrouk 100 เปอร์เซ็นต์

2. น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

น้ำเสียจากบ่อพักน้ำในฟาร์มเลี้ยงกุ้ง อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 บ่อเลี้ยงกุ้ง อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 อาหารเหลว Zarrouk (ภาคผนวก ก)

4. เครื่องมือ

4.1 เครื่องปั๊มออกซิเจน (Aquarium air-pump, ACO-9905)

4.2 เครื่องชั่งสาร (Precisa 1620 C)

4.3 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave, Tomy SS-325)

- 4.4 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge, Hettich Zentrifugen-EBA20)
- 4.5 เครื่องวัดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, T80 UV/Vis spectrophotometer)
- 4.6 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter, Consort C861)
- 4.7 เครื่องอบ (Memmert)
- 4.8 กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope, Olympus: CHA-2)
- 4.9 ตู้แช่แข็ง (Whirlpool)
- 4.10 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, EDEL STAHL Rost frei)
- 4.11 เครื่องผสมสาร (Mixer, Vortex genic 2)

5. อุปกรณ์

- 5.1 ขวดรูปชมพู่
- 5.2 สายยางและข้อต่อ
- 5.3 กระดาษฟอยด์
- 5.4 ลูกบิดแก้ว
- 5.5 กระดาษชำระ
- 5.6 น้ำกลั่น
- 5.7 อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- 5.8 ปีกเกอร์
- 5.9 กระบอกตวง
- 5.10 สไลด์
- 5.11 กระจกปิดสไลด์
- 5.12 ปีเปด
- 5.13 ผ้ากรองที่มีความถี่ 40 ไมครอน
- 5.14 สไลด์นับเซลล์ Hemacytometer counting chamber

6. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์

- 6.1 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์หาค่า BOD และวิเคราะห์ธาตุรวมทั้งโลหะหนักต่างๆ

วิธีการวิจัย

1. การทดลองที่ 1 ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

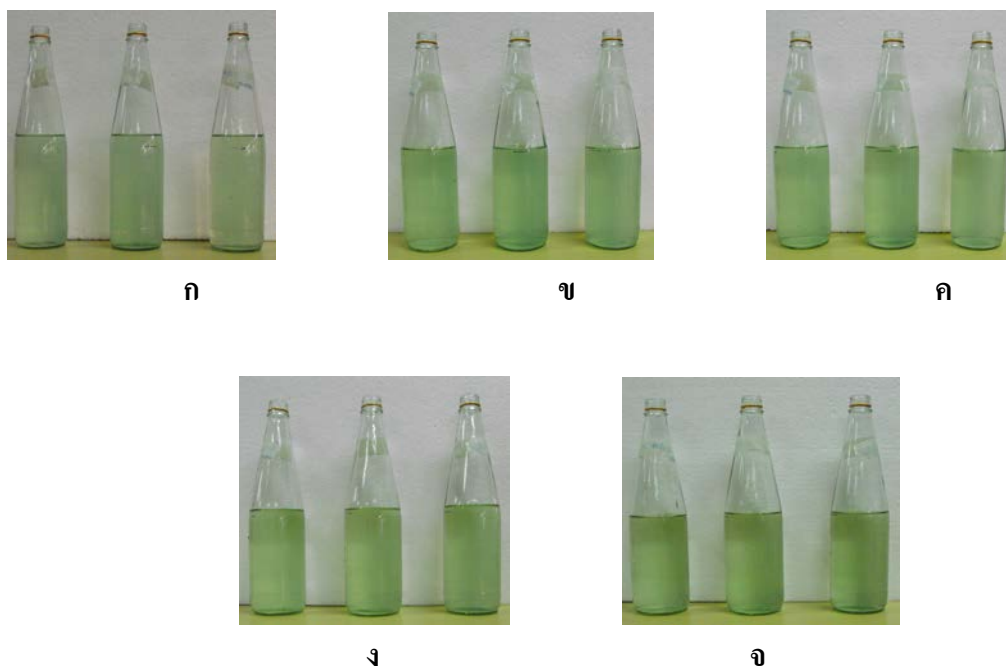
1.1 การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* โดยนำน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งมาพักทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นกรองด้วย กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 แล้วนำไปเตรียมอาหาร โดยแบ่งเป็น 2 การทดลองย่อยดังนี้

1.1.1 การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่เจือจางด้วยระดับความเข้มข้นต่างกัน และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตที่เป็นธาตุอาหารหลักในระดับความเข้มข้นต่างกัน มีอาหาร 19 ชนิดดังนี้ (ภาพที่ 6)

- 1) ไม่ใส่น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง (0 เปอร์เซ็นต์) เติม NaHCO_3 3.36 กรัมต่อลิตร (20 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 2) ไม่ใส่น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง (0 เปอร์เซ็นต์) เติม NaHCO_3 6.72 กรัมต่อลิตร (40 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 3) ไม่ใส่น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง (0 เปอร์เซ็นต์) เติม NaHCO_3 10.08 กรัมต่อลิตร (60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 4) น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 3.36 กรัมต่อลิตร (20 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 5) น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 6.72 กรัมต่อลิตร (40 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 6) น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 10.08 กรัมต่อลิตร (60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 7) น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 3.36 กรัมต่อลิตร (20 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 8) น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 6.72 กรัมต่อลิตร (40 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)

- 9) น้ำเล็จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 10.08 กรัมต่อลิตร (60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 10) น้ำเล็จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 40 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 3.36 กรัมต่อลิตร (20 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 11) น้ำเล็จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 40 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 6.72 กรัมต่อลิตร (40 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 12) น้ำเล็จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 40 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 10.08 กรัมต่อลิตร (60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 13) น้ำเล็จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 80 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 3.36 กรัมต่อลิตร (20 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 14) น้ำเล็จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 80 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 6.72 กรัมต่อลิตร (40 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 15) น้ำเล็จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 80 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 10.08 กรัมต่อลิตร (60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 16) น้ำเล็จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 100 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 3.36 กรัมต่อลิตร (20 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 17) น้ำเล็จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 100 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 6.72 กรัมต่อลิตร (40 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 18) น้ำเล็จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 100 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) เติม NaHCO_3 10.08 กรัมต่อลิตร (60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk)
- 19) อาหาร Zarrouk 100 เปอร์เซ็นต์ (positive control)

จากนั้นทำการปรับค่าความเป็นกรด – ด่าง ของอาหารให้อยู่ระหว่าง 10 ± 1 ด้วย 6 N NaOH ให้มีปริมาตรรวมเป็น 500 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในสภาพธรรมชาติในห้องปฏิบัติการ การวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) 4 ซ้ำและวิเคราะห์ผลโดยใช้ค่าทางสถิติ Duncan' Multiple -Range Test (DMRT)



ภาพที่ 6 สาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

- ก. สาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ไม่ได้ทำการเจือจาง
- ข. สาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
- ค. สาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์
- ง. สาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์
- จ. สาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์

1.1.2 การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาการเจริญของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ที่เติมธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่จำเป็นบางชนิด มีอาหาร 6 ชนิด ดังนี้

- 1) น้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 100 เปอร์เซ็นต์
- 2) อาหาร Zarrouk 100 เปอร์เซ็นต์
- 3) น้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 100 เปอร์เซ็นต์ เติม NaHCO_3 3.36 กรัมต่อลิตร (20 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk) เติม NaNO_3 1.5 กรัมต่อลิตร และ K_2HPO_4 0.5 กรัมต่อลิตร

4) น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 100 เปอร์เซ็นต์ เติม NaHCO_3 6.72 กรัมต่อลิตร (40 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk) เติม NaNO_3 1.5 กรัมต่อลิตร และ K_2HPO_4 0.5 กรัมต่อลิตร

5) น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 100 เปอร์เซ็นต์ เติม NaHCO_3 10.08 กรัมต่อลิตร (60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk) เติม NaNO_3 1.5 กรัมต่อลิตร และ K_2HPO_4 0.5 กรัมต่อลิตร

จากนั้นทำการปรับค่าความเป็นกรด – ด่าง ของอาหารให้อยู่ระหว่าง 10 ± 1 ด้วย 6 N NaOH ให้มีปริมาตรรวมเป็น 500 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงโดยแบ่งเป็น 2 สภาพ คือ ในสภาพธรรมชาติคือเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และให้ได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง $10.8 \mu\text{mole.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (เป็นเวลา 16 ชั่วโมง)การวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) 4 ซ้ำและวิเคราะห์ผลโดยใช้ค่าทางสถิติ Duncan' Multiple -Range Test (DMRT)

1.2 การเตรียมเชื้อสาหร่ายที่จะใช้เป็นเชื้อตั้งต้นสำหรับเพาะเลี้ยง นำสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk เป็นเวลา 14 วัน กรองด้วยผ้ากรองแพลงก์ตอน ล้างด้วยน้ำกลั่น เพื่อให้อาหารที่ติดมาถูกชะล้างออกไป ชั่งสาหร่ายสด 30 กรัม เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร คูดสาหร่าย 20 มิลลิลิตรลงในอาหารที่เตรียมไว้ใน ข้อ 1.1

1.3 ติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศตลอดการทดลอง เพื่อป้องกันไม่ให้สาหร่ายตกตะกอน

1.4 การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

1.4.1 นับจำนวนเซลล์สาหร่าย โดยนำสไลด์ Hemacytometer 1 อัน จะมีตารางสี่เหลี่ยมเล็กๆ 2 ตาราง อยู่พื้นที่ตรงกลางสไลด์ โดยหยดตัวอย่างสาหร่ายที่ต้องการนับจำนวนลงไป 1 หยด ในช่องใส่ตัวอย่างของสไลด์ Hemacytometer ที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ วางสไลด์ Hemacytometer ทิ้งไว้ 1 นาที ให้สาหร่ายจมลงสู่พื้นสไลด์ นำไปส่องดูผ่านกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า โดยนับทุกเซลล์สาหร่ายที่ปรากฏบนตารางนับจำนวนทั้ง 2 ตาราง แล้วหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่นับได้ทำ 3 ซ้ำ

2. การทดลองที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งของสาหร่าย *S. platensis*

2.1 การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาการเจริญของสาหร่าย และ การบำบัดน้ำเสีย โดยที่ไม่ได้ทำการเติมอาหารลงไปเพิ่ม

การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* โดยใช้ น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง นำน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งมาพักทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นทำการกรองด้วย กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 แล้วนำไปเตรียมอาหาร โดยแบ่งเป็น 2 ชนิด ดังนี้

2.1.1 น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 100 เปอร์เซ็นต์

2.1.2 อาหาร Zarrouk 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก ก)

2.1.3 น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 50 เปอร์เซ็นต์ และ อาหาร Zarrouk 50 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)

จากนั้นทำการปรับค่าความเป็นกรด – ด่าง ของอาหารให้อยู่ระหว่าง 10 ± 1 ด้วย 6 N NaOH โดยที่อาหารแต่ละชนิด จะเตรียมปริมาตรรวม 5 ลิตร การวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) 4 ซ้ำและวิเคราะห์ผลโดยใช้ค่าทางสถิติ Duncan' Multiple -Range Test (DMRT)

2.2 การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาการเจริญของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง และ การบำบัดน้ำเสีย โดยเติมอาหารลงไปทุก 3 วันหลังจากที่เซลล์เริ่มเข้าสู่ปลายระยะเอ็กซ์โพเนนเชียล ในช่วงที่เซลล์เข้าสู่ระยะถดถอย ดังนี้

2.2.1 น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยเริ่มเติมน้ำเสียลงไปในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง

2.2.2 อาหาร Zarrouk 100 เปอร์เซ็นต์ โดยเริ่มเติมอาหาร Zarrouk ลงไปในวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยง

2.2.3 น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 50 เปอร์เซ็นต์ และ อาหาร Zarrouk 50 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยเริ่มเติมน้ำเสียแล้วอาหาร Zarrouk ที่ผสมกันแล้วลงไปในวันที่ 22 ของการเพาะเลี้ยง

โดยจะทำการเติมอาหารลงไปทุกๆ 3 วัน และเติมให้มีปริมาตรครบ 5 ลิตร

จากนั้นทำการปรับค่าความเป็นกรด – ด่าง ของอาหารให้อยู่ระหว่าง 10 ± 1 ด้วย 6 N NaOH โดยที่อาหารแต่ละชนิด จะเตรียมปริมาตรรวม 5 ลิตร การวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) 4 ซ้ำและวิเคราะห์ผลโดยใช้ค่าทางสถิติ Duncan' Multiple -Range Test (DMRT)

2.3 การวัดคุณภาพน้ำ นำน้ำเสียที่เตรียมเป็นอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายในข้อ 2.1.1 มาวัดคุณภาพน้ำ โดยมีตัวชี้วัดดังนี้

2.2.1 ค่าบีโอดี (Biochemical Oxygen Demand,BOD) โดยใช้เครื่อง DO meter ของ Hach รุ่น Sension 6

2.2.2 ปริมาณแอมโมเนีย ด้วยเครื่อง DR-2000 ของ HACH

2.2.3 ปริมาณไนเตรท ด้วยเครื่อง DR-2000 ของ HACH

2.2.4 ปริมาณฟอสเฟต ด้วยเครื่อง DR-2000 ของ HACH

2.2.5 ปริมาณโลหะหนัก คือ สังกะสี, ทองแดง และตะกั่ว โดยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรเมทรี (Atomic Absorption Spectrometry, AAS)

ทำการวัดคุณภาพน้ำทั้งก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

2.4 การเตรียมเชื้อสาหร่ายที่จะใช้เป็นเชื้อตั้งต้นสำหรับเพาะเลี้ยง นำสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk เป็นเวลา 14 วัน กรองด้วยผ้ากรองแพลงก์ตอน ล้างด้วยน้ำกลั่น เพื่อให้อาหารที่ติดมาถูกชะล้างออกไป ชั่งสาหร่ายสด 30 กรัม เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ผสมสาหร่าย 200 มิลลิลิตรลงในอาหารที่เตรียมไว้ใน ข้อ 2.1 และ 2.2

2.5 ติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศตลอดการทดลอง เพื่อป้องกันไม่ให้สาหร่ายตกตะกอน และเพาะเลี้ยงในสภาพธรรมชาติในห้องปฏิบัติการ

2.6 การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

2.6.1 ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.4.1

สถานที่และระยะเวลาการศึกษา

สถานที่

ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาพันธุศาสตร์ และสาขาวิชาเคมี สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลป
ศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ระยะเวลาการศึกษา

ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2551 – เดือนมีนาคม 2553

ผลและวิจารณ์

ผลการทดลอง

1. การทดลองที่ 1 ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

1.1 ผลการนับจำนวนเซลล์สาหร่าย *S. platensis*

1.1.1 ในการทดลองย่อยที่ 1 โดยทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่เจือจางด้วยระดับความเข้มข้น 0 10 20 40 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแต่ละความเข้มข้นจะเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตในปริมาณ 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk เป็นเวลา 30 วัน จากการตรวจนับจำนวนเซลล์สาหร่าย *S. platensis* พบว่า ในทุกระดับความเข้มข้นของน้ำเสีย ที่เติมด้วย โซเดียมไบคาร์บอเนต 60 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายจะเจริญได้ดีกว่าที่เติมเพียงแค่ 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ และในน้ำเสียที่ไม่ได้เจือจาง และเติมด้วย โซเดียมไบคาร์บอเนต 60 เปอร์เซ็นต์ เจริญได้ดีที่สุด แต่ก็ยังมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับสูตรอาหาร Zarrouk ในวันที่ 16 ของการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 1, ภาพที่ 7 - 12)

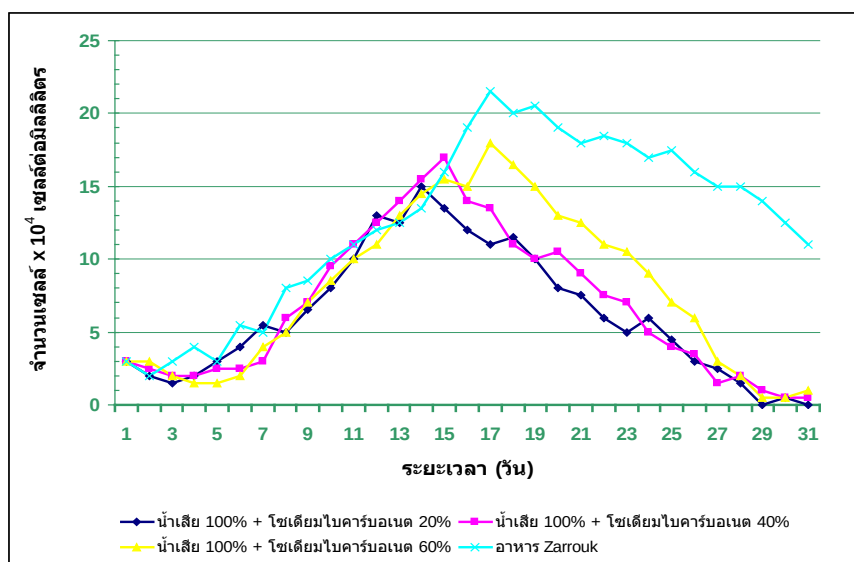
ตารางที่ 1 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *S. platensis* เจริญสูงสุดในแต่ละสูตรอาหาร

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง	จำนวนเซลล์ที่เจริญสูงสุด $\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิตร
อาหาร Zarrouk	21.33 ± 0.16^m
น้ำเสีย 0% + NaHCO_3 20%	3.50 ± 0.28^a
น้ำเสีย 0% + NaHCO_3 40%	5.66 ± 0.33^b
น้ำเสีย 0% + NaHCO_3 60%	7.33 ± 0.16^c
น้ำเสีย 10% + NaHCO_3 20%	8.50 ± 0.00^d
น้ำเสีย 10% + NaHCO_3 40%	10.16 ± 0.16^e
น้ำเสีย 10% + NaHCO_3 60%	10.66 ± 0.16^e
น้ำเสีย 20% + NaHCO_3 20%	10.33 ± 0.33^e
น้ำเสีย 20% + NaHCO_3 40%	12.16 ± 0.16^{fg}
น้ำเสีย 20% + NaHCO_3 60%	12.33 ± 0.16^g

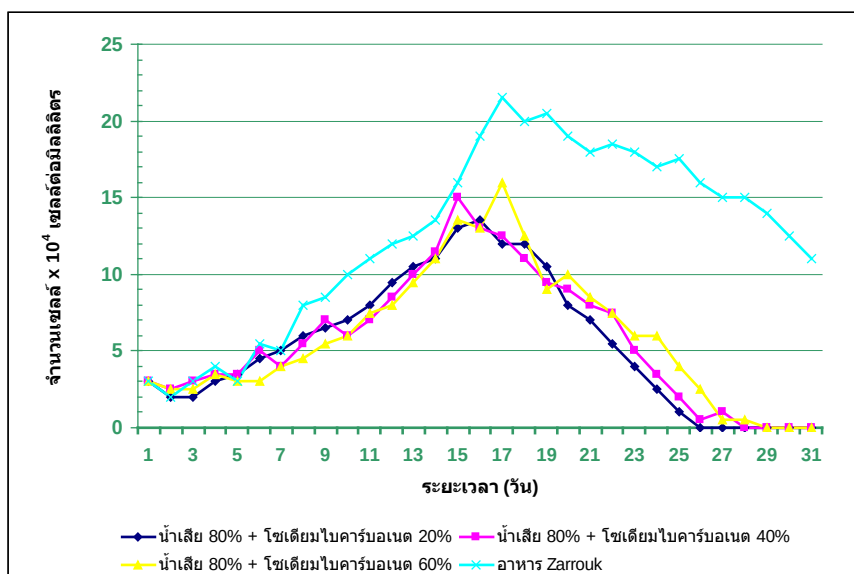
ตารางที่ 1 (ต่อ)

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง	จำนวนเซลล์ที่เจริญสูงสุด $\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร
น้ำเสีย 40% + NaHCO ₃ 20%	11.50 ± 0.28^f
น้ำเสีย 40% + NaHCO ₃ 40%	12.16 ± 0.16^{fg}
น้ำเสีย 40% + NaHCO ₃ 60%	13.16 ± 0.16^h
น้ำเสีย 80% + NaHCO ₃ 20%	13.66 ± 0.16^h
น้ำเสีย 80% + NaHCO ₃ 40%	14.83 ± 0.44^i
น้ำเสีย 80% + NaHCO ₃ 60%	16.33 ± 0.33^j
น้ำเสีย 100% + NaHCO ₃ 20%	15.50 ± 0.28^i
น้ำเสีย 100% + NaHCO ₃ 40%	17.16 ± 0.16^k
น้ำเสีย 100% + NaHCO ₃ 60%	18.16 ± 0.16^l

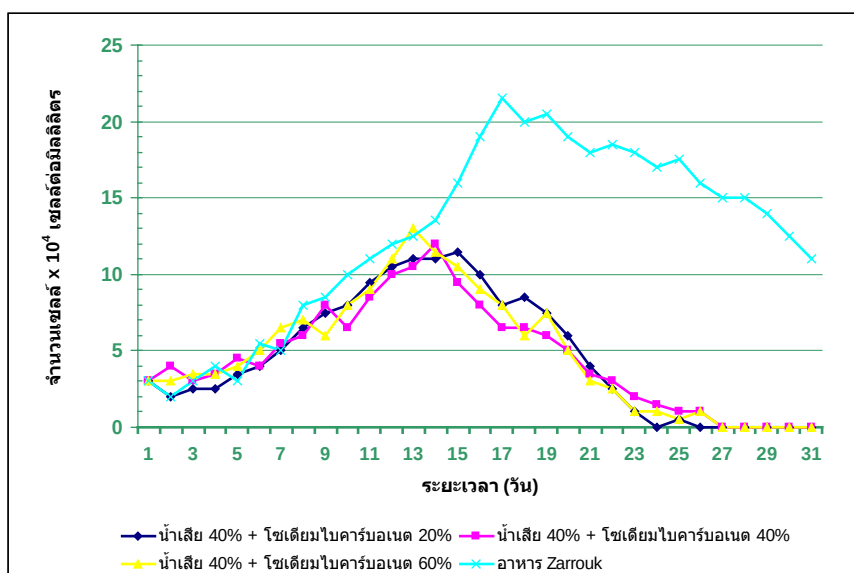
* ตัวอักษรที่กำกับไว้เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Multiple-Range Test

ภาพที่ 7 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ไม่ได้

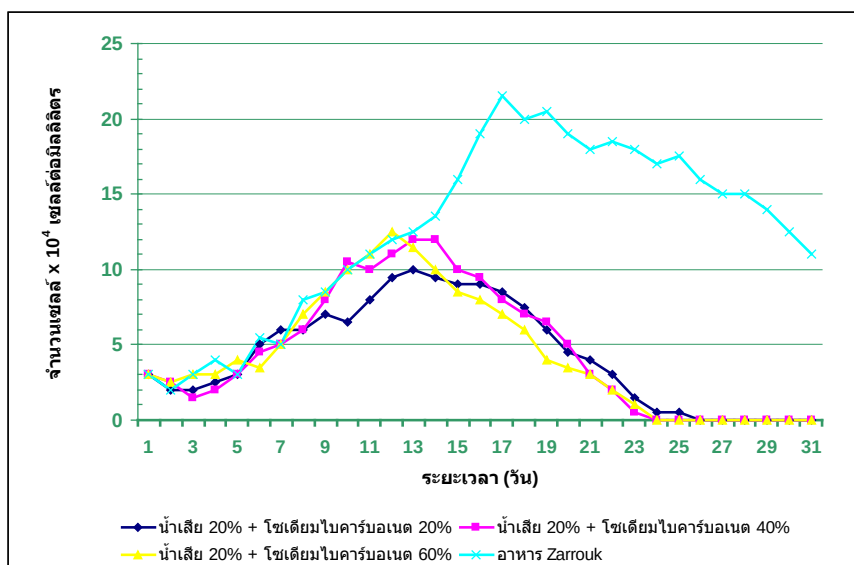
เจือจาง และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk และสูตรอาหาร Zarrouk



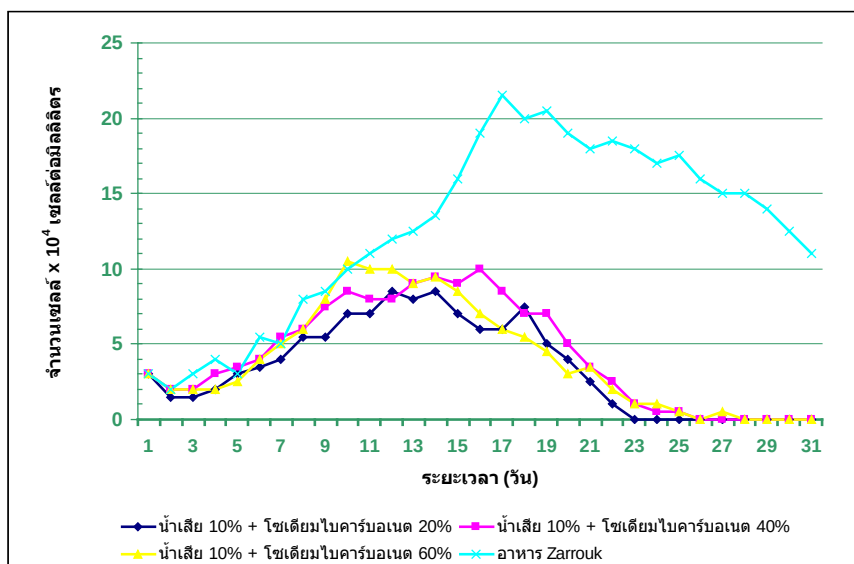
ภาพที่ 8 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้งเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk



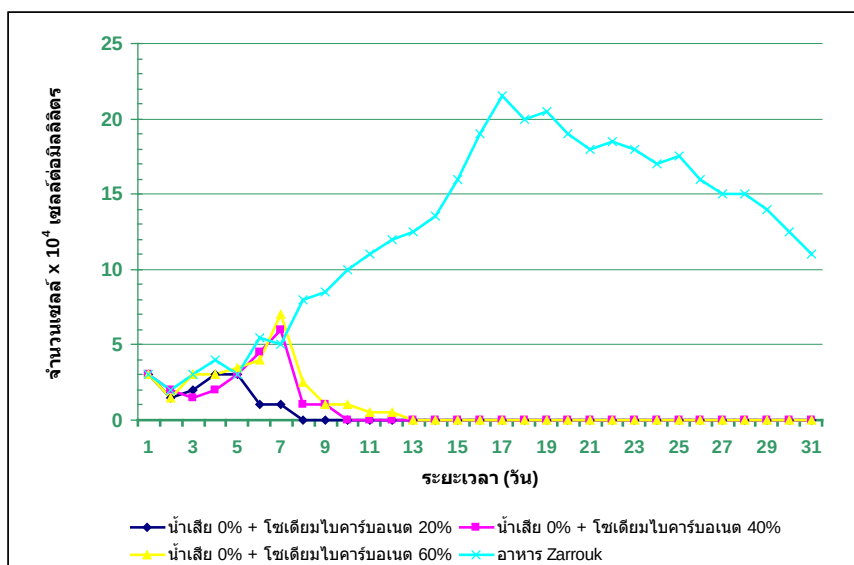
ภาพที่ 9 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเลี้ยงจากบ่อเลี้ยงกุ้งเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk



ภาพที่ 10 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk



ภาพที่ 11 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk



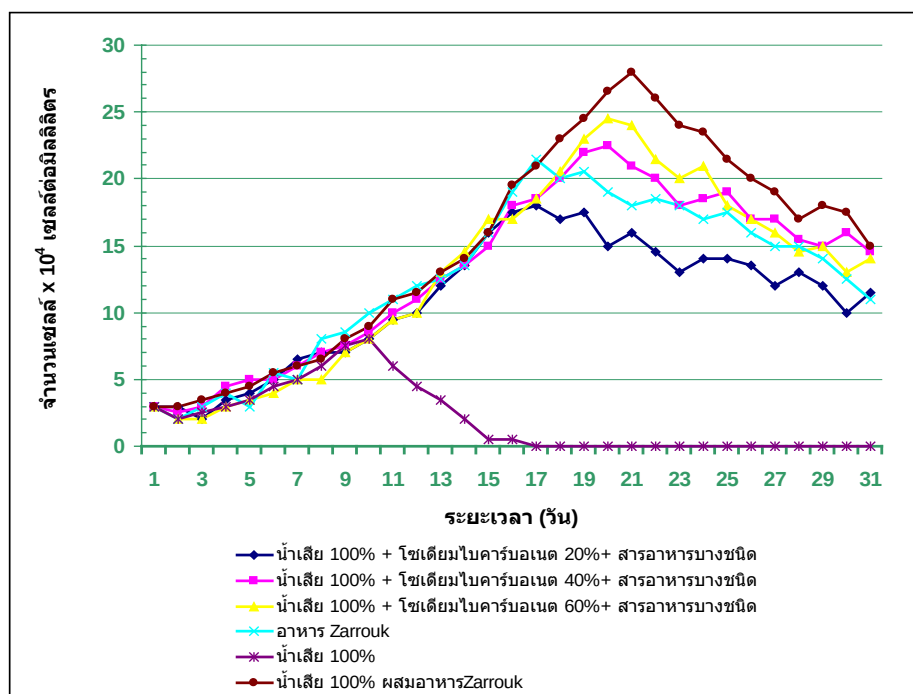
ภาพที่ 12 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk

2.1.2 ในการทดลองย่อยที่ 2 โดยทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ทำการเติมโซเดียมไนเตรท ไดโพลเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ในปริมาณครึ่งหนึ่งของสูตรอาหาร Zarrouk และโซเดียมไบคาร์บอเนต 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk เพาะเลี้ยงในสภาพธรรมชาติ และให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน จากการตรวจนับจำนวนเซลล์ เป็นเวลา 30 วัน พบว่า สาหร่ายสามารถเจริญได้ดีที่สุดในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่เติมด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนต 60 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไนเตรท และไดโพลเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต โดยให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน มีจำนวนเซลล์สูงสุด 29.1×10^4 เซลล์ต่อมิลลิเมตร ในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับสูตรอาหาร Zarrouk (ตารางที่ 2, ภาพที่ 13 14)

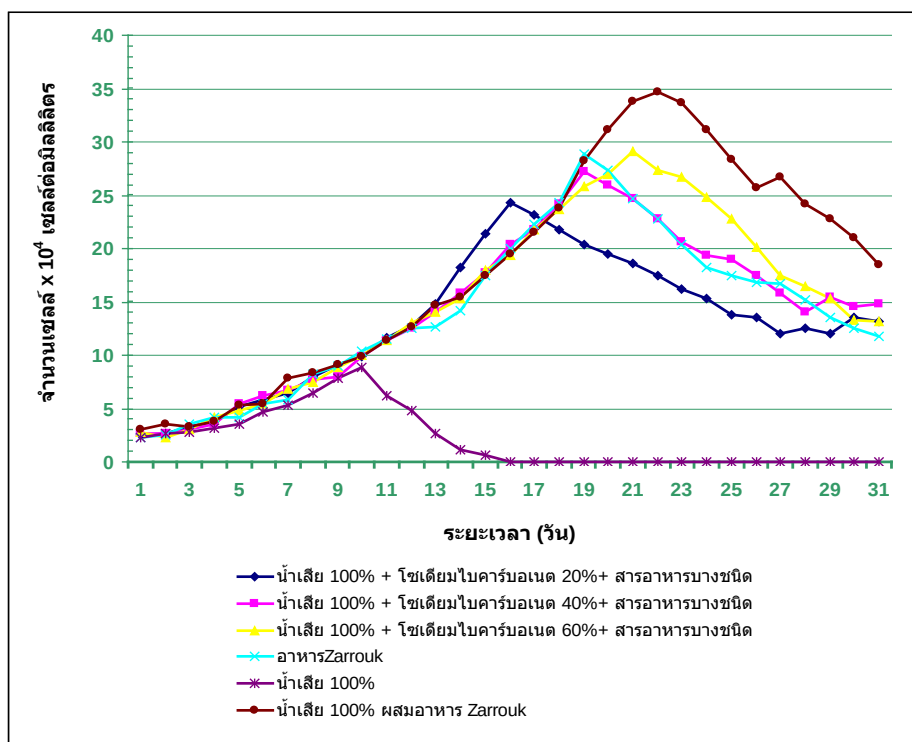
ตารางที่ 2 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *S. platensis* เจริญสูงสุดในแต่ละสูตรอาหาร

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง	จำนวนเซลล์ที่เจริญสูงสุด $\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร	
	ในสภาพธรรมชาติ	ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน
น้ำเสีย + NaHCO_3 20% + NaNO_3 และ K_2HPO_4	18.16 ± 0.16^b	24.33 ± 0.33^c
น้ำเสีย + NaHCO_3 40% + NaNO_3 และ K_2HPO_4	22.50 ± 0.28^d	27.16 ± 0.44^f
น้ำเสีย + NaHCO_3 60% + NaNO_3 และ K_2HPO_4	24.50 ± 0.28^e	29.16 ± 0.44^g
อาหาร Zarrouk	21.33 ± 0.16^c	28.83 ± 0.16^g
น้ำเสีย	8.16 ± 0.16^a	8.83 ± 0.16^a

* ตัวอักษรที่กำกับไว้เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Multiple- Range Test



ภาพที่ 13 การเจริญของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนตต่างกับ NaNO_3 และ K_2HPO_4 เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk ในสภาพธรรมชาติ



ภาพที่ 14 การเจริญของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนตต่างกับ NaNO_3 และ K_2HPO_4 เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk โดยให้แสงฟลูออเรสเซนซ์เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

2. การทดลองที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งของสาหร่าย *S. platensis*

2.1 การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาการเจริญของสาหร่าย *S. platensis* และ การบำบัดน้ำเสีย โดยที่ไม่ได้ทำการเติมอาหารลงไปเพิ่มในอาหารทั้ง 3 ชนิด

2.1.1 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

ผลการตรวจวิเคราะห์ของน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งในการทดลองชุดที่เป็นน้ำเสีย 100 เปอร์เซ็นต์ก่อนและหลังทำการทดลอง พบว่าหลังจากทำการทดลองคุณสมบัติของน้ำมีการเปลี่ยนแปลงไป (ตารางที่ 3) โดยมีค่า BOD_5 และปริมาณโลหะหนักลดลง

ตารางที่ 3 ตารางผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งในการทดลองชุดที่เป็นน้ำเสีย 100 เปอร์เซ็นต์ (ไม่ได้เติมอาหารใหม่) ก่อนและหลังการทดลอง

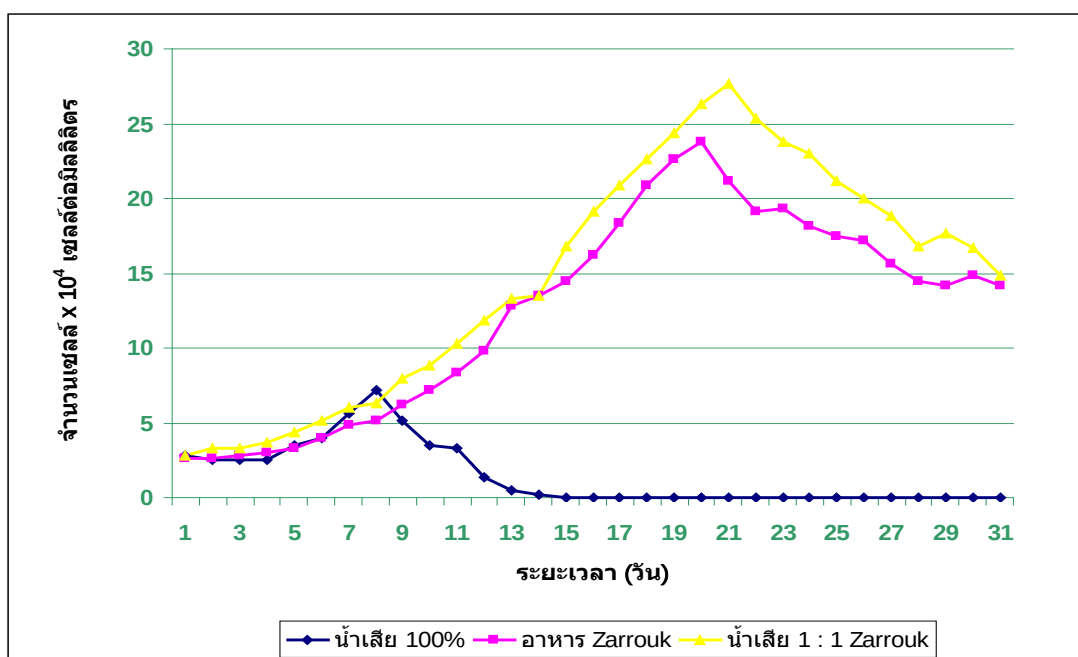
พารามิเตอร์	ความเข้มข้น (mg/l)	
	ก่อนการทดลอง	หลังการทดลอง
BOD ₅	4.48	2.04
PO ₄ -P	0.12	0.43
NH ₃ -N	2.14	3.52
NO ₃ -N	5	8
สังกะสี (Zn)	0.053	0.016
ตะกั่ว (Pb)	0.049	0.021
ทองแดง (Cu)	0.036	0.008

2.1.2 ผลการนับจำนวนเซลล์สาหร่าย *S. platensis*

จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงเปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk เป็นเวลา 30 วัน จากการตรวจนับจำนวนเซลล์ทุกวันพบว่า ในช่วง 6 วันแรกการเจริญของเซลล์สาหร่าย *S. platensis* ในอาหารทั้ง 3 สูตรไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในน้ำเสียที่ผสมกับอาหาร Zarrouk มีการเจริญได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนเซลล์ 27.6×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งมีจำนวนเซลล์เจริญสูงสุด 7.1×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร Zarrouk และเริ่มมีการเจริญที่ลดลงจนตายในที่สุด ส่วนในสูตรอาหาร Zarrouk มีจำนวนเซลล์เจริญสูงสุด 23.8×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง (ตารางที่ 4 และภาพที่ 15)

ตารางที่ 4 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *S. platensis* เจริญสูงสุดในแต่ละสูตรอาหาร

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง	จำนวนเซลล์ที่เจริญสูงสุด $\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร
อาหาร Zarrouk	23.83 ± 0.33^b
น้ำเสีย	7.10 ± 0.16^a
น้ำเสียผสมกับอาหาร Zarrouk 1:1	27.60 ± 0.28^c



ภาพที่ 15 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง และน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งผสมกับอาหาร Zarrouk (1: 1) เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk

2.2 การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาการเจริญของสาหร่าย *S. platensis* และ การบำบัดน้ำเสีย โดยทำการเติมอาหารลงไปเพิ่มในช่วงที่สาหร่ายกำลังเจริญประมาณระยะกลางหรือระยะปลายของระยะเอกซ์โพเนนเชียล

2.2.1 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

ผลการตรวจวิเคราะห์ของน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ก่อนและหลังทำการทดลอง พบว่าหลังจากทำการทดลองคุณสมบัติของน้ำมีการเปลี่ยนแปลงไป (ตารางที่ 4) โดยมีค่า BOD₅ และปริมาณโลหะหนักลดลง

ตารางที่ 5 ตารางผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งในการทดลองชุดที่เป็นน้ำเสีย 100 เปอร์เซ็นต์ (เติมอาหารใหม่) ก่อนและหลังการทดลอง

พารามิเตอร์	ความเข้มข้น (mg/l)	
	ก่อนการทดลอง	หลังการทดลอง
BOD ₅	3.98	1.67
PO ₄ -P	0.13	0.02
NH ₃ -N	2.60	1.38
NO ₃ -N	3.40	2.49
สังกะสี (Zn)	0.075	0.039
ตะกั่ว (Pb)	0.062	0.036
ทองแดง (Cu)	0.041	0.018

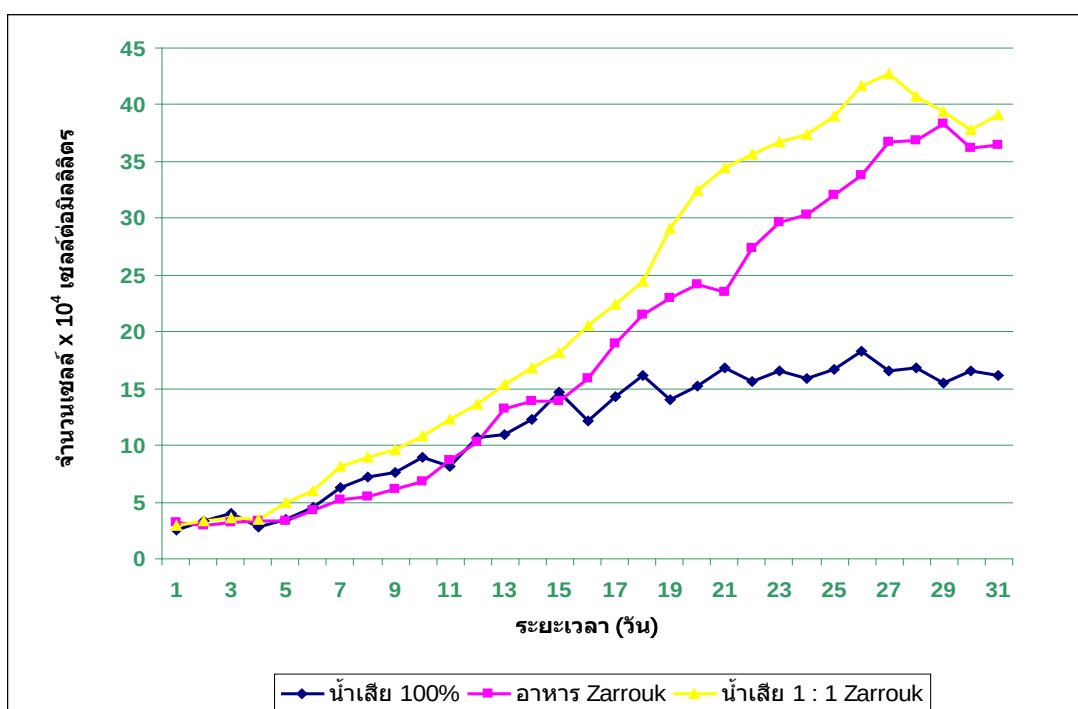
2.2.2 ผลการนับจำนวนเซลล์สาหร่าย *S. platensis*

จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงเปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk เป็นเวลา 30 วัน จากการตรวจนับจำนวนเซลล์ทุกวันพบว่า ในช่วง 5 วันแรกการเจริญของเซลล์สาหร่าย *S. platensis* ในอาหารทั้ง 3 สูตรไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในน้ำเสียที่ผสมกับอาหาร Zarrouk มีการเจริญได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนเซลล์ 42.7×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 26 ของการเพาะเลี้ยง ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งมีจำนวนเซลล์เจริญสูงสุด 18.3×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 26 ของการ

เพาะเลี้ยง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับสูตรอาหาร Zarrouk และเริ่มมีการเจริญ
 คงที่ ส่วนในสูตรอาหาร Zarrouk มีจำนวนเซลล์เจริญสูงสุด 38.3×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่
 28 ของการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 6 และภาพที่ 16)

ตารางที่ 6 จำนวนเซลล์เจริญสูงสุดในแต่ละสูตรอาหาร

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง	จำนวนเซลล์ที่เจริญสูงสุด $\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร
อาหาร Zarrouk	38.35 ± 0.44^b
น้ำเสีย	18.37 ± 0.16^a
น้ำเสียผสมกับอาหาร Zarrouk 1:1	42.74 ± 0.16^c



ภาพที่ 16 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง และน้ำเสียจากบ่อเลี้ยง
 กุ้งผสมกับอาหาร Zarrouk (1: 1) เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk เมื่อเติมอาหารลง
 ไปทุกๆ 3 วัน

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk เจริญได้ไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากในน้ำเสียที่ยังไม่ได้ทำการเจือจางในระดับความเข้มข้นต่างๆ มีปริมาณธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของสาหร่าย *S. platensis* ในสถานะที่สาหร่ายสามารถนำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้นั้น มีปริมาณค่อนข้างต่ำมาก คือ ปริมาณฟอสเฟต 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนเตรท 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนีย 2.14 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งต่ำกว่าปริมาณที่มีในสูตรอาหาร Zarrouk มาก ทำให้การเจริญของสาหร่าย *S. platensis* มีความหนาแน่นต่ำกว่าในอาหาร Zarrouk มากในระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เท่ากัน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในการทดลองได้ทำการเจือจางน้ำเสียลงที่ความเข้มข้น 10 20 40 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณที่มีในระหว่างการเพาะเลี้ยงจึงต่ำมากๆ สาหร่ายจึงสามารถใช้สารอาหารที่มีเจริญได้ในช่วงเวลาสั้นๆ การเจริญของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร Zarrouk กับในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งจึงไม่แตกต่างกันในช่วงแรก แต่เมื่อปริมาณของสารอาหารในน้ำเสียลดลงจนไม่เพียงพอต่อการเจริญ สาหร่ายจึงไม่สามารถเจริญต่อไปได้ และหยุดการเจริญก่อนสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร Zarrouk จึงได้มีการดัดแปลงสูตรอาหารที่ใช้ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งและไม่ได้ทำการเจือจางเลย ทำการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตในปริมาณ 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk และอาหารทั้งสามสูตรนี้ทำการเติมสารอาหารอีก 2 ชนิด คือ โซเดียมไนเตรท และไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตลงไปในปริมาณครึ่งหนึ่งของสูตรอาหาร Zarrouk (สถิติย์, 2533) สาหร่ายสามารถเจริญได้ดีกว่าในสูตรอาหาร Zarrouk ในระยะเวลาประมาณ 15 – 30 วัน ตรงนี้จึงแสดงให้เห็นว่า การเติมเพียงโซเดียมไบคาร์บอเนตเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อการเจริญของสาหร่าย *S. platensis*

ในทั้งสองชุดการทดลอง ช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงนั้น สาหร่าย *S. platensis* สามารถเจริญได้ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงสูตรอาหาร Zarrouk ถึงแม้ว่าในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งจะมีปริมาณธาตุอาหารที่ต่ำกว่าปริมาณในสูตรอาหาร Zarrouk มาก สอดคล้องกับการทดลองของ จารุ (2546) ที่ทำการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำหมักมูลไก่ไข่ ซึ่งมีปริมาณธาตุอาหารต่ำ แสดงให้เห็นว่าปริมาณธาตุอาหารที่มีอยู่ในน้ำเสียในขณะนั้นเพียงพอต่อความต้องการของสาหร่าย *S. platensis* ที่มีในสถานะที่ทำการเพาะเลี้ยง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Chuntapa และคณะ (2003) ได้รายงานว่าสาหร่ายสไปรูลีนา สามารถใช้ในโตรเจนในรูปของไนเตรท แอมโมเนีย และไนไตรท์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงกุ้งได้ดีโดยสามารถลดปริมาณ

ในเตรทในน้ำจาก 16 – 18 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือเพียง 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถลดปริมาณแอมโมเนียและไนโตรที่ได้อีก 0.0 – 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใน 1 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณของกุ้งที่มีอยู่ในบ่อเลี้ยง ในโตรเจนที่ได้จากการเตรียมโซเดียมไนเตรท 20.7 กรัมต่อลิตร สามารถให้ผลผลิตสาหร่ายได้ 1.992 กรัมต่อลิตร (Costa *et al.*, 2001) แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณธาตุอาหารที่มีในน้ำเสียถูกใช้หมดไปอย่างรวดเร็ว สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียจึงหยุดการเจริญเติบโต ในขณะที่สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร Zarrouk เจริญต่อไปได้จนจำนวนเซลล์สูงสุดใน 12 วันต่อมา

ผลการทดลองนี้จึงแสดงให้เห็นว่าในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งมีธาตุอาหารที่สาหร่าย *S. platensis* ต้องการอย่างครบถ้วน เมื่อเทียบกับในอาหาร Zarrouk เพียงแต่มีปริมาณที่ต่ำเกินไป แต่สามารถนำมาใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้ แต่ควรมีการเติมน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งลงไปในช่วงการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* หลังจากเริ่มทำการเพาะเลี้ยงในช่วงที่สาหร่ายกำลังเจริญประมาณระยะกลางหรือระยะปลายของระยะเอกซ์โพเนนเชียล ตามสภาวะที่ทำการเพาะเลี้ยงในขณะนั้น ซึ่งในการทดลองได้ทำการเติมอาหารลงไปทุกๆ 3 วัน พบว่า สาหร่าย *S. platensis* สามารถเจริญต่อไปได้ แต่จากผลการทดลองในช่วงวันที่ 26 จะมีอัตราการเจริญที่ลดลง อาจเป็นผลมาจากสาหร่าย *S. platensis* มีการเจริญค่อนข้างมาก อาจจะทำให้เกิดก้นบดบังการรับแสงกันเอง และเริ่มสัมผัสธาตุอาหารได้น้อยลง ดังนั้นจึงควรทำการเก็บเกี่ยวสาหร่ายในช่วงนี้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปิยสิทธิ์ (2536) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทองโดยให้อาหารเพิ่มเติมทุกๆ 4 วัน พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญได้ดี

จากผลการทดลองพบว่า ค่า BOD_5 ลดลง 45.5 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 9 ของการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ซึ่งค่า BOD ที่ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต ค่า BOD จะแสดงให้เห็นถึงความรุนแรงของการปนเปื้อนด้วยสารอินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจากว่า ถ้าน้ำมีค่า BOD สูง นั้นหมายความว่าน้ำมีสารอินทรีย์อยู่ในปริมาณมาก ดังนั้นจากการลดลงของค่า BOD_5 หลังการเพาะเลี้ยง อธิบายได้ว่า เนื่องจากในระยะแรกน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งมีสารอินทรีย์ต่างๆอยู่มาก ทำให้ต้องการใช้ก๊าซออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆเหล่านั้นมาก ค่า BOD_5 ของน้ำเสียจึงมีค่ามาก แต่หลังจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย สารอินทรีย์ในน้ำเสียผ่านการย่อยสลายจากแบคทีเรีย รวมทั้งสาหร่ายยังใช้สารเหล่านั้นเป็นอาหารในการสังเคราะห์แสงและในกระบวนการเมตาบอลิซึมอื่นๆ จึงช่วยลดสารอินทรีย์และอนินทรีย์ต่างๆในน้ำได้ ทำให้คุณภาพของน้ำนั้นดีขึ้น เป็นผลทำให้ค่า BOD_5 ของน้ำเสียลดลงหลังการเพาะเลี้ยง

สาหร่าย *S. platensis* จากข้อความดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งเพื่อให้ได้ผลผลิตแล้ว ยังมีผลพลอยได้ในด้านการบำบัดน้ำเสียอีกทางหนึ่งด้วย

จากผลการทดลองพบว่าสาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยให้แสงฟลูออเรสเซนต์สามารถเจริญได้ดีกว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาพกึ่งธรรมชาติ เนื่องจากสาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพกึ่งธรรมชาติ อยู่ภายในตัวอาคาร ไม่ได้รับแสงโดยตรง ทำให้อาจได้รับแสงสว่างน้อยไปและเหตุผลอีกประการหนึ่งคือ สาหร่ายที่ได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์จะได้รับแสงเป็นเวลานานกว่าแสงจากดวงอาทิตย์ในสภาพธรรมชาติ จึงทำให้มีการสังเคราะห์แสงที่มากกว่า เป็นผลให้มีอัตราการเจริญที่มากกว่า แต่อย่างไรก็ตามสาหร่ายในทั้งสองสภาพก็สามารถเจริญได้ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีธาตุอาหารเพียงพอ

จากการทดลองศึกษาการเจริญของสาหร่าย *S. platensis* และ การบำบัดน้ำเสีย โดยที่ไม่ได้ทำการเติมอาหารลงไป (การทดลองที่ 2.1) พบว่า ปริมาณของฟอสเฟต ในเตรท และแอมโมเนีย มีปริมาณเพิ่มขึ้น เนื่องจากได้ทำการตรวจคุณภาพน้ำหลังการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายจนครบ 30 วัน ซึ่งสาหร่ายในน้ำเสียได้ตายลงหมดหลังทำการเพาะเลี้ยงไปได้เพียง 15 วัน เมื่อเซลล์สาหร่ายตายจะทำให้เซลล์ปลดปล่อยสารที่สะสมไว้ในเซลล์ออกมา จึงทำให้ปริมาณของสารดังกล่าวเพิ่มขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการทดลองโดยมีการเติมอาหารลงไปในช่วงที่สาหร่ายกำลังเจริญประมาณระยะกลางหรือระยะปลายของระยะเอกซ์โพเนนเชียล เมื่อวัดปริมาณสารเหล่านี้อีกครั้งพบว่า ปริมาณของฟอสเฟต ในเตรท และแอมโมเนีย มีปริมาณลดลง อาจเป็นเพราะเซลล์สาหร่ายมีอัตราการเติบโตเพิ่มขึ้นและลดอัตราการตายอันเนื่องมาจากการขาดสารอาหารทำให้ปริมาณของฟอสเฟต ในเตรท และแอมโมเนียลดลงไปด้วยแตกต่างจากการทดลองที่ไม่ได้เติมอาหารเลี้ยงสาหร่ายเพิ่ม

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน คือ 0 20 40 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และเติมด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน คือ 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร Zarrouk เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 30 วัน ทำการนับจำนวนเซลล์สาหร่าย *S. platensis* ทุกวัน พบว่าสาหร่าย *S. platensis* สามารถเจริญได้ดีที่สุดในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ไม่ได้ทำการเจือจางและเติมด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนต ในปริมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 16 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกสูตรอาหาร Zarrouk ที่ระดับความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์

ส่วนการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง โดยเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต 20 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไนเตรทและโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ปริมาณครึ่งหนึ่งของสูตร Zarrouk เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 30 วัน ทำการนับจำนวนเซลล์ทุกวัน พบว่า สาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยงในน้ำเสียที่เติมด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนต 60 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไนเตรทและโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โดยให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน มีการเจริญได้ดีที่สุด มีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหารทุกสูตรที่ระดับความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์

ในการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง และน้ำเสียผสมกับอาหาร Zarrouk อัตราส่วน 1: 1 เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk ในสภาพธรรมชาติ เป็นเวลา 30 วัน ทำการนับจำนวนเซลล์ทุกวัน และตรวจสอบคุณภาพของน้ำทั้งก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่าย พบว่า จำนวนเซลล์ของสาหร่ายในน้ำเสียที่ผสมกับอาหาร Zarrouk เจริญได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับสูตรอาหาร Zarrouk ที่ระดับความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์

และในการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง และน้ำเสียผสมกับอาหาร Zarrouk อัตราส่วน 1: 1 เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Zarrouk ในสภาพธรรมชาติ เป็นเวลา

30 วัน โดยเติมอาหารลงไปทุกๆ 3 วัน หลังจากทีเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะเอกซ์โพเนนเชียล พบว่าจำนวนเซลล์ของสาหร่ายในน้ำเสียที่ผสมกับอาหาร Zarrouk เจริญได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 26 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับสูตรอาหาร Zarrouk ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าสาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีกว่าการเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง และน้ำเสียผสมกับอาหาร Zarrouk อัตราส่วน 1: 1 โดยไม่ได้มีการเติมอาหารเพิ่มเติมลงไป

หลังการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่าค่า BOD_5 ลดลงจากก่อนการทดลอง 54.5 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งปริมาณสังกะสี ตะกั่ว และทองแดง ก็ลดลง 69.8 57.14 และ 77.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ส่วนในการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง และน้ำเสียผสมกับอาหาร Zarrouk อัตราส่วน 1: 1 เป็นเวลา 30 วัน โดยเติมอาหารลงไปทุกๆ 3 วัน พบว่ายังคงทำให้ค่า BOD_5 ลดลงจากก่อนการทดลอง 58.04 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของฟอสเฟต ไนโตรเจน และแอมโมเนีย ลดลง 84.6, 26.7 และ 46.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับรวมทั้งปริมาณสังกะสี ตะกั่ว และทองแดง ก็ลดลง 48, 41.9 และ 56.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่ามีการค่าความเป็นกรด – ด่าง เปลี่ยนแปลงคือพบว่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจากก่อนการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis*

เอกสารอ้างอิง

- จารุ สัจนุกิจ. 2546. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* sp. ในอาหารจากเศษเหลือการเกษตร. วิทยานิพนธ์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 121 น.
- เจียมจิตต์ บุญสม (ผู้แปล). 2531. ความลับของสาหร่ายเกลียวทอง. สำนักงาน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ กรุงเทพฯ. 237 น.
- ธิดา เพชรมณี. 2542. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงตอน. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ.
- นฤมล ศุภจรรยา บุญบา บุญนาค และพิสมัย ภูริสินสิทธิ์. 2529. การผลิตสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina* spp.) จากโรงงานน้ำทิ้งแป้งมันสำปะหลัง. น. 104 - 155. ในรายงานการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อประโยชน์และเพื่อกำจัดน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังในระดับห้องปฏิบัติการ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- ปิยสิทธิ์ ศาสตรพันธุ์. 2536. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) ในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมผลิตแป้งขนมจีน. วิทยานิพนธ์ สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 131 น.
- พิมพ์รณ ดันสกุล และอาร์ักษ์ จันทศิลป์. 2531. การเพาะเลี้ยง *Spirulina* spp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานยางพารา. วารสารสงขลานครินทร์ 10: 149-155.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 546 น.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 127 น.

วิลาสินี เหล่าพงษ์พิชญ์. 2532. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในน้ำกากส่าเหล่า. การค้นคว้าอิสระเชิงวิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สถิต วงศ์สว่าง. 2533. การเพาะเลี้ยงและปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงในน้ำเวย์เต้าหู้. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สุใจ โสมะฐิติ และนวลพรรณ ณ ระยอง. 2530. การผลิตและการใช้สาหร่าย *Spirulina platensis* เพื่อการกำจัดน้ำทิ้งจากโรงงานฆ่าไก่และนํานํ้าทิ้งโรงงานปลาป่นมาใช้ในการผลิตสาหร่าย *Spirulina platensis*. รายงานการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 (20 – 23 ตุลาคม). 606 -609.

สุชาติ อิงธรรมจิตร. การทดลองเปรียบเทียบอัตราการเจริญของสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina* spp.) ในถังที่มีน้ำหมุนเวียนอยู่ตลอดเวลา กับหมุนเวียนเป็นครั้งคราว. รายงานการประชุมวิชาการประมง 16 - 18 กันยายน 2528. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรุงเทพฯ. น. 1-11.

สุชาติ อิงธรรมจิตร ชัยประดิษฐ์ แก้วปาคำ บรรจง โคกกระเทียม เกลิมวรรณ คงสงวนชัย และเจียมจิตต์ บุญสม. 2531. การทดสอบเบื้องต้นโดยการใช้ น้ำจากกองปลาสดเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina* spp.). รายงานการประชุมวิชาการประมง (16-18 กันยายน). สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ.

สุมาลี ว่องไว. 2527. *Spirulina* sp. แหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการผลิตอาหารมนุษย์. วิทยาศาสตร์การอาหาร 16(1): 1-10.

สุมาลี ดุลยอนุกิจ. 2535. ผลของระดับความเข้มข้นต่างๆของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในสูตรอาหาร Zarrouk ต่อการเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 140 น.

สุนนทิพย์ บุณนาค. 2529. สาหร่ายเกลียวทอง. วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น 14(3): 153-159.

- Baldia, S. F. Nishijima, T. and Y. Hata. 1990. **Effect of physio-chemical factors and nutrients on the growth of *Spirulina platensis* isolated from Lake kojima, Japan.** Nippon suisan gakkaiishi 57(3): 481-490.
- Baldia, S. F., Fukami, K., Nishijima, T. and Y. Hata. 1994. **Growth responses of *Spirulina platensis* to some physio – chemical factors and the kinetics of phosphorus utilization.** Fisheries Science 61(2): 331 – 335.
- Becker, E. W. and L.V. Venkataraman. 1982. **Biotechnology and Exploitation of Algae.** The Indian Approach German Agency for Technical Cooperation (GTZ) , Postfach. 216 p.
- Bold, H.C. and M.J. Wynne. 1978. **Introduction to the Algae:Structure and Reproduction.** Prentice-Hall Engle wood Cliff.
- Chaudfari, P. P., Krishnamoorthi, K. P. and M. Vittalrao. 1980. **Growth potential of *Spirulina* sp. , a blue green algae in sewage.** Proceedings of the Indian Academy of Sciences 89: 203-211.
- Chuntapa. B., Powtongsook, S. and P. Menasveta. 2003. **Water quality contral using *Spirulina platensis* in shrimp culture tank.** Aquaculture 220 (1-4): 355-366.
- Ciferri, O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. **Microbiol.** Rev. 47(4): 40-43.
- Ciferri, O. and O. Tiboni. 1985. **The biochemistry and industrial potential of *Spirulina*.** Annual Review of Microbiology 39: 503-526.
- Costa J.A.V., Cozza K.L., Oliveira L. and G. Magagnin. 2001. **Different nitrogen sources and growth responses of *Spirulina platensis* in microenvironments.** World Journal of Microbiology 17(5): 439-442.

- Denesi, E. D., Rang E. L. Yagui, C. O. Carvalho, C. M. and S. Sato. 2002. **An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis***. Biomass and Bioenergy 23(4): 261-269.
- Hosakul, K. 1972. **The Selection and Growth Characteristics of some Local Microalgae Tolerating High Temperature**. Thesis in Master of Science in Microbiology, Kasetsart University Bangkok. 92 p.
- Humm, H. J. and S. R. Wicks. 1980. **Introduction and Guide to the Marine Blue-green Algae. A Wiley-Interscience Publication**, New York. 194 p.
- Kaplan, D., A.E. Richmond, Z. Dubinsky and S. Auronson. 1986. Algal nutrition, pp. 147-198. In A. Richmond (ed.). **CRC Handbook of Microalgae Mass Culture**. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
- Nakamura, H. 1982. **Spirulina: Food for Hungry World**. University of the Trees Press, Boulder Creek, California: 120 p.
- Ogbonna, J.C., Yoshizawa, H. and H. Tanaka. 2000. **Treatment of high Strength organic wastewater by a mixed culture of photosynthetic microorganisms**. Journal of Applied Phycology 12: 277-284.
- Reed, R. H., S.R.C. Warr, D.L. Richardson and D.J. Moore. 1985. **Blue-green algae (cyanobacteria): prospects and perspectives**. Plant and Soil 89: 97-106.
- Richmond, A. 1986. **Handbook of Microalgal Mass Culture**. CRC Press, Florida.
- Sarada, R., M.G. Pillai. and G.A. Ravishankar. 1999. Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. **Process Biochemistry**. 34:795-801.

- Saxena, P.N. 1983. **Cultivation of *Spirulina* in Sewage for poultry feed.** *Experientia*. 39: 1077-1083.
- Sharenkova, Kh. A. and V.E. Semenenko. 1982. **Characteristics of photosynthetic oxygen evolution by *Spirulina platensis* Geitl.** *Chem. Abstr.* 97: 363 p.
- Soong, P. 1980. Production and Development of *Chlorella* and *Spirulina* in Taiwan, pp. 97-133. In G. Shelef and C.J. Soeder (eds.). **Algae Biomass.** Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- Stanley, J.G. and J.B. Jones. 1976. **Feeding algae to fish.** *Aquaculture* 7(3): 219 – 223.
- Trainor, F.R. 1978. **Introductory Phycology.** University of Connecticut, New York. 525 p.
- Venkataraman, L.V. 1983. **Bluegreen Algae: *Spirulina*.** Central Food Technological Research Institute, Mysore, India.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง

สูตรอาหาร Zarrouk

สารเคมี	กรัม/ลิตร
โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3)	
16.80	
โซเดียมไนเตรต (NaNO_3)	2.50
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) *	0.50
โปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)	1.00
แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) *	0.20
เกลือแกง (NaCl)	1.00
แคลเซียมคลอไรด์ 2-ไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) *	0.04
เฟอร์รัสซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.01
โซเดียมอีดีทีเอ 2-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.08
สารละลาย A5	1 มิลลิลิตร/ลิตร
สารละลาย B6	1 มิลลิลิตร/ลิตร

สำหรับการเพาะเลี้ยงห้วเชื้อในห้องปฏิบัติการควรใช้สารเกรด AR ส่วนการใส่
เฟอร์รัสซัลเฟต ลงในสูตรอาหารจะง่ายขึ้น ถ้าเตรียมเป็นสารละลายก่อนโดยละลายเฟอร์รัสซัลเฟต
0.2 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรและละลายโซเดียมอีดีทีเอ 1.6 กรัมในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้ว
ผสมสารละลายที่เตรียมได้ทั้งสองอย่างเข้ากัน นำไปใช้ในปริมาณ 5 มิลลิลิตร/ลิตร (ชิตา, 2546) นำ
อาหารที่เตรียมแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ * ในการเตรียมและนึ่งฆ่าเชื้อควรแยกสารดังกล่าวในขวดต่างหากเพราะจะทำให้อาหาร
ตกตะกอน เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อเสร็จแล้วค่อยนำมาผสมรวมกัน

สารละลาย A5 ประกอบด้วย	กรัม/ลิตร
กรดบอริก (H_3BO_3)	2.86
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	1.80
ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.22
คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.08
โมลิบดีนัมออกไซด์ (MoO_3)	0.01

น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร
สารละลาย B6 ประกอบด้วย	กรัม/ลิตร
แอมโมเนียมวานาเดต (NH_4VO_3)	22.90
โปแตสเซียมไดโครเมอซัลเฟต 24-ไฮเดรต ($\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$)	96.00
นิกเกิลซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	47.80
โซเดียมทังสเตต 2-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	17.90
ทิตาเนียมซัลเฟต ($\text{Ti}(\text{SO}_4)_3$)	40.00
โคบอลท์ไนเตรต 6-ไฮเดรต ($\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	4.40
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

