รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

การเพิ่มศักยภาพการผลิตสาหร่ายเตาด้วยระบบปิดหมุนเวียนน้ำแบบถาดยกที่ใช้เทคโนโลยี Precision farming ผ่าน smart phone

Increasing production potential of Spirogyra (*Spirogyra neglecta*) culture using closed lifting tray system coupling with precision technology farming via smart phone

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ: นวัตกรรมการผลิตสัตว์น้ำเศรษฐกิจคุณภาพสูงยุค 4.0 รองรับการขยายตัวด้านอุตสาหกรรมอาหารในเขตภาคเหนือ

โดย

ประเสริฐ ประสงค์ผล และคณะ

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2564

รหัสโครงการวิจัย มจ.1-63-01-008

รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การเพิ่มศักยภาพการผลิตสาหร่ายเตาด้วยระบบปิดหมุนเวียนน้ำแบบถาดยกที่ใช้เทคโนโลยี Precision farming ผ่าน smart phone

Increasing production potential of Spirogyra (*Spirogyra neglecta*) culture using closed lifting tray system coupling with precision technology farming via smart phone

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ: นวัตกรรมการผลิตสัตว์น้ำเศรษฐกิจคุณภาพสูงยุค 4.0 รองรับการขยายตัวด้านอุตสาหกรรมอาหารในเขตภาคเหนือ

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2563
จำนวน 600,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นาย ประเสริฐ ประสงค์ผล
ผู้ร่วมโครงการ นิวุฒิ หวังชัย
ผู้ร่วมโครงการ ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล
ผู้ร่วมโครงการ บัญชา ทองมี

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

4/ก.พ./2564

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีด้วยการสนับสนุนของหลายหน่วยงานและบุคคลากรหลายท่าน อาทิคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนทรัพยากรต่างๆ ในการทำวิจัยทั้งบุคลากร เครื่องมือและอุปกรณ์ งบประมาณ และระยะเวลา สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และบุคลากรที่เกี่ยวข้อง ที่ช่วยประสานงานและดูแลโครงการทำให้การดำเนินการวิจัยเป็นไปด้วยความเรียบร้อยและราบรื่น

คณะผู้ดำเนินการวิจัย

มกราคม 2564

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
สารบัญ	ข
สารบัญตาราง	ค
สารบัญภาพ	ง
สารบัญภาคผนวก	จ
บทคัดย่อ	ฉ
Abstract	ซ
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
การตรวจเอกสาร	4
วิธีการดำเนินงานวิจัย	8
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล	18
สรุปผลการวิจัย	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	29

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	การเจริญเติบโตของสาหร่ายเตา ในแต่ละชุดการทดลอง	18
ตารางที่ 2	คุณภาพน้ำของสาหร่ายเตา ในแต่ละชุดการทดลอง	18
ตารางที่ 3	การเจริญเติบโตของสาหร่ายเตา ในแต่ละชุดการทดลอง	20
ตารางที่ 4	คุณภาพน้ำของสาหร่ายเตา ในแต่ละชุดการทดลอง	20
ตารางที่ 5	คุณภาพน้ำ ในบ่อพักสาหร่ายเตา บ้านปางยาง ต สบเปิง อ แม่แตง จ เชียงใหม่	21

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	สาหร่ายเตา หรือเทา	4
ภาพที่ 2	รูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายเตา	8
ภาพที่ 3	สาหร่ายเตาที่ใช้ในการทดลอง จากบ้านปางยาง ต สบเปิง อ แม่แตง จ เชียงใหม่	9
ภาพที่ 4	ชั่งสาหร่ายเตาตามค่าที่จะทดลอง	10
ภาพที่ 5	เตรียมบ่อพลาสติกและกระชังมาใส่ในบ่อพลาสติก	10
ภาพที่ 6	ชั่งสาหร่ายเตาไปลงบ่อพลาสติก	11
ภาพที่ 7	แหล่งที่มาของสาหร่ายเตาที่ใช้ในการทดลอง จากบ้านปางยาง ต สบเปิง อ แม่แตง จ เชียงใหม่	12
ภาพที่ 8	ฟาร์มเกษตรกร อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่	12
ภาพที่ 9	วิธีการตรวจสอบกลิ่นโคลน	15
ภาพที่ 10	รูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายไมโครบับเบิล	16
ภาพที่ 11	สาหร่ายเตา ที่ใช้ในการทดลอง *Spirogyra neglecta*	19
ภาพที่ 12	ผลของไมโครบับเบิลโอโซนต่อการลดแบคทีเรียที่อยู่บนผิงสาหร่ายเตาผ่านการแช่น้ำที่ มีไมโครบับเบิลโอโซน 0 (control), 10, 20 และ 30 นาที ตัวหนังสือที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)	22
ภาพที่ 13	ค่าคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total chlorophyll) ของสาหร่ายเตาที่ผ่านการแช่น้ำที่มีไมโครบับเบิลโอโซน 0 (control), 10, 20 และ 30 นาทีตัวหนังสือที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)	22
ภาพที่ 14	ค่าแอนตีออกซิแดนท์ **(Antioxidant)** ของสาหร่ายเตาที่ผ่านการแช่น้ำที่มีไมโครบับเบิลโอโซน	23
ภาพที่ 15	ค่าสารโพลีฟีนอล (Polyphenol compound) ของสาหร่ายเตาที่ผ่านการแช่น้ำที่มีไมโครบับเบิลโอโซน	24

สารบัญภาพภาคผนวก

		หน้า
ภาพผนวกที่ 1	เตรียมบ่อกลมพลาสติกขนาด 2 ลบ. เมตร พร้อมเติมน้ำเพื่อใช้ในการทดลองและติดตั้งเครื่อง UV	30
ภาพผนวกที่ 2	กระชังสำหรับเลี้ยงสาหร่ายเตา	30
ภาพผนวกที่ 3	ชั่งสาหร่ายแล้วนำไปใส่บ่อทดลอง	30
ภาพผนวกที่ 4	นำสาหร่ายเตาที่ชั่งมาเลี้ยงในบ่อทดลอง	31
ภาพผนวกที่ 5	ติดตามผลการทดลอง	31

การเพิ่มศักยภาพการผลิตสาหร่ายเตาด้วยระบบปิดหมุนเวียนน้ำแบบถาดยกทีใช้เทคโนโลยี Precision farming ผ่าน smart phone

Increasing production potential of Spirogyra (*Spirogyra neglecta*) culture using closed lifting tray system coupling with precision technology farming via smart phone

ประเสริฐ ประสงค์ผล นิวุฒิ หวังชัย ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล พรพิมล และ บัญชา ทองมี

Prasert Prasongphol, Niwooti Whangchai, Tipsukhon Pimpimol, and Buncha Tongmee.

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

ปัจจุบันความต้องการการบริโภคสาหร่ายเตาที่มีคุณภาพสูงและปลอดภัยเพิ่มสูงขึ้นในภาคเหนือ การเพิ่มศักยภาพการผลิตสาหร่ายเตาคุณภาพสูงด้วยระบบปิดหมุนเวียนน้ำแบบถาดยกทีใช้เทคโนโลยีการเลี้ยงแบบแม่นยำเป็นโครงการต่อเนื่อง 3 ปีซึ่งในปีที่ 1 นั้น ได้มีวัตถุประสงค์ คือ 1) เพื่อหาปริมาณสารอาหารจากน้ำเลี้ยงปลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่ายแบบบ่อลอย 2) การศึกษาเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ชีวภาพของการเลี้ยงในสภาวะบ่อลอยกับฟาร์มเอกชน และ 3) การเพิ่มคุณภาพสาหร่าย การเพิ่มสารโพลีฟีนอล และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในการผลผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการใช้ไมโครบับเบิลโอโซน ผลการทดลองพบว่า ปริมาณสารอาหารจากบ่อเลี้ยงปลาที่ให้ผลผลิตสาหร่ายเตาให้ผลดีที่สุดคือที่ค่านำไฟฟ้า 20 ไมโครซีเมนต์/เซนติเมตร ($p<0.05$) ระดับสารต้านอนุมูลอิสระ สารโพลีฟีนอล จากการผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการผลิตสาหร่ายเตาด้วยระบบหมุนเวียนน้ำบ่อลอยให้ค่า สารต้านอนุมูลอิสะ สารโพลีฟีนอล สูงกว่าสาหร่ายเตาที่เลี้ยงโดยฟาร์มเอกชน และการแช่สาหร่ายในน้ำที่มีฟองอากาศขนาดเล็ก (ไมโครบับเบิลโอโซน) สามารถเพิ่มคุณภาพของสาหร่าย และเพิ่มสารแอนตีออกซิแดนท์ได้ ($p<0.05$)

Abstract

The high quality of freshwater macroalgae; *Spirogyra neglecta* is a high demand for local consumption found in Northern Thailand. Productivity increasing capacity of high-quality Spirogyra algae with a lift tray in closed water recirculation system using precision farming technology is a 3-year project. The objectives of the first year were 1) to find the optimum level of nutrient which discharge from fish pond for Spirogyra growth in movable-plastic ponds, 2) to compare the contents of bioactive compounds between 2 culture types; movable-plastic ponds and earthen ponds in a private farm, and 3) to improve quality of Spirogyra algae using ozone micro-bubble technique. The results showed that the most effective nutrient content for Spirogyra algae production was at 20 μs/ cm ($p < 0.05$) of water conductivity. For comparative farm study, the higher levels of antioxidant levels, polyphenols contents were found in Spirogyra algae which from movable-plastic ponds production system. In addition, soaking Spirogyra algae in water with small air-ozone bubbles (Ozone micro-bubble) could improve the quality of algae and could increase both the antioxidants and polyphenols content ($p < 0.05$).

บทนำ

สาหร่ายเตาเป็นสาหร่ายที่นิยมรับประทานและพบได้ในเขตภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ชาวบ้านในบ้านนาคูหา ตำบลสวนเขื่อน อำเภอเมือง จังหวัดแพร่ มีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเตาในพื้นที่ของตนเอง โดยเพาะเลี้ยงแบบธรรมชาติ โดยอาศัยน้ำที่ไหลซึมมาจากยอดเขา เป็นน้ำไหลผ่านตลอดทั้งปี แต่เตาเจริญเติบโตได้ดีในเวลาที่มีแดดอ่อน ได้แก่ ช่วงเช้าและช่วงเย็น ซึ่งจะสามารถเก็บสาหร่ายเตาได้มากกว่าช่วงเวลาอื่น ๆ

จากการศึกษาของยุวดี (2551) พบว่าสาหร่ายเตา มีคุณค่าทางโภชนาการที่ดีมาก มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกับปลาน้ำจืด อีกทั้งมีวิตามินหลายชนิด โดยเฉพาะวิตามินบี มีเกลือแร่หลายชนิด ดวงพรและคณะ (2556) ได้ศึกษาทางพฤกษเคมีพบว่า สาหร่ายเตามีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสารสกัดน้ำที่ได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ซึ่งหากนำมาใช้กับผิวแล้วจะให้ความชุ่มชื้นและลดเลือนริ้วรอย ที่สำคัญคือยังพบว่ามีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ “ไทโรสิเนส” ที่เป็นสาเหตุให้เกิดฝ้า กระและจุดด่างดำ อันเป็นคุณสมบัติที่โดดเด่นกว่าสารสกัดที่ต้านอนุมูลอิสระ สาหร่ายเตาเป็นสาหร่ายที่นิยมรับประทานและพบได้ในเขตภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ชาวบ้านในบ้านนาคูหา ตำบลสวนเขื่อน อำเภอเมือง จังหวัดแพร่ มีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเตาในพื้นที่ของตนเอง โดยเพาะเลี้ยงแบบธรรมชาติ โดยอาศัยน้ำที่ไหลซึมมาจากยอดเขา เป็นน้ำไหลผ่านตลอดทั้งปี แต่เตาเจริญเติบโตได้ดีในเวลาที่มีแดดอ่อน ได้แก่ ช่วงเช้าและ ช่วงเย็น ซึ่งจะสามารถเก็บสาหร่ายเตาได้มากกว่าช่วงเวลาอื่น ๆ

จากการศึกษาของยุวดี (2551) พบว่าสาหร่ายเตา มีคุณค่าทางโภชนาการที่ดีมาก มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกับปลาน้ำจืด อีกทั้งมีวิตามินหลายชนิด โดยเฉพาะวิตามินบี มีเกลือแร่หลายชนิด ธีระวัฒน์ และคณะ (2556) ได้ศึกษาทางพฤกษเคมีพบว่า สาหร่ายเตามีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสารสกัดน้ำที่ได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ซึ่งหากนำมาใช้กับผิวแล้วจะให้ความชุ่มชื้นและลดเลือนริ้วรอย ที่สำคัญคือยังพบว่ามีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ “ไทโรสิเนส” ที่เป็นสาเหตุให้เกิดฝ้า กระและจุดด่างดำ อันเป็นคุณสมบัติที่โดดเด่นกว่าสารสกัดที่ต้านอนุมูลอิสระทั่วไป จึงทำให้เกิดแนวคิดว่าควรนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ด้านความงาม นอกจากเป็นแผ่นเจลพอกหน้าแล้ว ยังพบว่า สาหร่ายมีคุณสมบัติช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดจากการทดลองในหนู จึงได้พัฒนาเป็นเครื่องดื่มสุขภาพ และอาหารเสริมในอนาคต

จากเดิมการเลี้ยงส่วนใหญ่เลี้ยงในบ่อดิน ซึ่งพบว่ามีความปนปื้อนจากตะกอนและซากสาหร่ายเตาที่ตาย ทำให้คุณภาพลดลง และเพื่อตอบสนองความต้องการในด้านต่างๆ ทำให้ผลผลิตสาหร่ายเตาไม่เพียงพอต่อความต้องการ ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้จึงได้คิดค้นกระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเตาแบบระบบใหม่ที่ยกรางเลี้ยงให้สูงขึ้นจากพื้นควบคุม ซึ่งเป็นนวัตกรรมกระบวนการเพาะเลี้ยง เก็บเกี่ยวผลผลิต และวิธีเก็บรักษาที่แตกต่างจากวิธีการเพาะเลี้ยงในบ่อดินแบบเดิม

โดยการทดลองนี้จะศึกษาปัจจัยการเพิ่มศักยภาพ การผลิตสาหร่ายเตาผ่านการเลี้ยงในระบบปิดหมุนเวียนน้ำแบบถาดยก เพื่อให้ได้รูปแบบการผลิตที่มีปริมาณและคุณภาพที่ดีที่สุด เพื่อนำไปต่อยอดการผลิตในเชิงพาณิชย์ได้โดยนำนวัตกรรมเทคโนโลยีการเกษตรแม่นยำ (precision farming) มาเป็นเครื่องมือในการดำเนินการทดลองด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.เปรียบเทียบผลผลิตสาหร่ายเตาที่มีคุณภาพไม่ปนเปื้อนจากตะกอนและได้ผลผลิตสูงจากการเลี้ยงแบบบ่อลอยร่วมกับระบบหมุนเวียนน้ำ

2.ศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สารโพลีฟีนอล ในการผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการผลิตสาหร่ายเตาด้วยระบบหมุนเวียนน้ำและที่เลี้ยงโดยฟาร์มเกษตรกร

3.เพื่อเพิ่มคุณภาพสาหร่าย เพิ่มสารโพลีฟีนอล และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในการผลผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการใช้ไมโครบับเบิลโอโซน

ขอบเขตของการทำวิจัย

เป็นการศึกษาสาหร่ายเตาด้วยระบบปิดหมุนเวียนน้ำแบบถาดยกทีใช้ เทคโนโลยี Precision farming ผ่าน smart phone ในพื้นที่ภาคเหนือ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.สามรถนำความรู้ไปเผยแพร่ให้กับบุคคลอื่น ๆ ที่สนใจ

2.สามารถนำไปเพิ่มผลผลิตสาหร่ายเตาและนำไปขายให้ผู้ที่สนใจ

แนวคิด ทฤษฎี และสมมติฐานงานวิจัย

- การนำสาหร่ายน้ำจืด (Spirogyra sp.) มาใช้ประโยชน์ในทางเกษตร
- หาได้ในท้องถิ่นภาคเหนือ
- มีคุณสมบัติสาร antioxidant
- มีรายงานว่าสามารถควบคุมเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราได้
- เป็นสารเคลือบผิวที่ย่อยสลายตามธรรมชาติ ปลอดภัยต่อผู้บริโภค

การตรวจเอกสาร

1.สาหร่ายเตา

สาหร่ายเตา หรือเทา (Spirogyra sp.) จัดอยู่ใน Division Chlorophyta เป็นสาหร่ายน้ำจืดที่พบได้ทั่วไป สามารถบริโภคสดและแห้งได้ สาหร่ายชนิดนี้ เมื่อจับจะลื่น เนื่องจากมีเมือกมาคลุม ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญ สารเมือกนี้มีความสำคัญทางโภชนาการและคุณสมบัติทางยา คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายนี้คือ มีโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย และเถ้า 18.63-23.76%, 2.86-5.21%, 53.98-56.31%, 6.24-7.66% และ 11.78% ตามลำดับ มักพบอยู่ในแหล่งน้ำนิ่งหรือน้ำไหลเอื่อย ๆ และพบมากในฤดูฝน

ภาพที่ 1 สาหร่ายเตา หรือเทา

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

มีการรายงานการวิจัยความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายน้ำจืด ธนิษฐา (2550) ทำการศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสาหร่ายน้ำจืด 3 ชนิด คือสาหร่ายไก (Cladophora glomerata KÜtzing) สาหร่ายลอน (Nostochopsis lobatus Wood em Guitler) และสาหร่าย Spirogyra นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล แล้วนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS+• radical พบว่า สาหร่ายที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันมากที่สุดคือ สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย Spirogyra sp. โดยมีความเข้มข้นที่ยับยั้งได้ 50% (IC50) เท่ากับ 0.52 mg/ml รองลงมาคือ สารสกัดด้วยเอทานอลของสาหร่าย Spirogyra sp. สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายไก สารสกัดด้วยเอทานอลของสาหร่ายลอน สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายลอน และสารสกัดด้วยเอทานอลของสาหร่ายไก ซึ่งมีค่า IC50 เท่ากับ 1.06, 2.93, 5.36, 25.79 และ 31.62 mg/ml และปาวลี (2550) ทำการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายสีเขียว Caulerpa recemosa var. corynephora (Montagne) Weber-van Bosse ด้วยตัวทำละลายต่างๆ 5 ชนิด พบว่าปริมาณ % yield ใน

สาหร่ายที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือเอทานอลไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซีเตท และอะซีโตน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.673, 1.839, 1.273, 0.440 และ 0.126 ตามลำดับ มีรายงานพบว่า ฟิล์มที่ได้จากสาหร่ายมีคุณภาพที่ไม่เหมาะสมทางกายภาพ สารสกัดจาก Spirogyra sp. มีผลต่อการยับยั้ง bacteria และ Fungi Ansari et al.อ้างโดย เสาวนิตย์ 2550 ได้รายงานว่า สารสกัดสาหร่าย Spirogyra sp. สามารถยับยั้ง E.coli, Pseudomonas solanacecrum และเชื้อรากลุ่ม Aspergilm niger และ Fusarium oxysporum

การเลี้ยงสาหร่ายเตาได้ทำการเลี้ยงที่ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ผลผลิตที่ได้ยังไม่แน่นอน เนื่องจากการขาดข้อมูลสารอาหารและความเข้มแสง การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Spirogyra sp. เป็นสาหร่ายที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงในเชิงอุตสาหกรรมเนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงและสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสาหร่ายมีดังนี้

1.แสง

ความเข้มแสงที่ต่างกันมีประสิทธิภาพต่อการในกระบวนการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของสาหร่าย แสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย เท่ากับ 30-35 กิโลลักซ์ (Venkataraman, 1983) อย่างไรก็ตามเมื่อสาหร่ายเจริญและมีการเจริญเพิ่มจำนวนมากขึ้นทำให้สาหร่ายที่อยู่ด้านล่างได้รับปริมาณแสงไม่ทั่วถึง จึงส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง ดังนั้นการออกระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายต้องคำนึงถึงการกระจายของแสงและอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ดังนั้นระดับความลึกของอาหารที่ใช้เลี้ยงในบ่อจึงมีความสำคัญมาก Belay (1997) กล่าวว่าระดับความลึกของอาหารควรอยู่ระหว่าง 15-30 เซนติเมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มของเซลล์ด้วย

2.อุณหภูมิ

เปลี่ยนแปลงไปตามความแรงของแสงแดด ซึ่งส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยตรง รวมไปถึงการสังเคราะห์แสงและการหายใจของสาหร่ายอีกด้วย อุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย Spirogyra sp. อยู่ระหว่าง 15 - 27 องศาเซลเซียส แต่ในบางฤดูของประเทศไทย เช่นฤดูร้อนจะมีอุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย Spirogyra sp. สามารถแก้ปัญหาโดยการติดวัตถุโปร่งแสง หรือไซแลนเพื่อช่วยลดปริมาณแสงแดดในระหว่างวัน (ยุวดี, 2551)

3.ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

สาหร่าย Spirogyra sp. เจริญได้ดีในสภาวะค่อนข้างเป็นกลาง ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 6-7.8 หากค่าความเป็นกรด-ด่างมากกว่านั้นจะไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและอาจส่งผลกระทบทำให้สาหร่ายตายได้

4.ความขุ่น

สาหร่าย Spirogyra sp. พบในฤดูหนาวและฤดูร้อนตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน ถึงเมษายน ส่วนในฤดูฝนการไหลของแรงและมีความขุ่นสูง สาหร่ายไม่สามารถเจริญได้ โดยทั่วไปเจริญในน้ำไหลมีความเร็วของน้ำ 2-3 เมตรต่อวินาที น้ำใสมีค่าความขุ่นไม่เกิน 10 NTU

5.สารอาหาร

สารอาหารที่สาหร่ายต้องการเพื่อใช้ในการเจริญและสร้างองค์ประกอบสำคัญในโครงสร้างของเซลล์คือ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส รวมทั้งแคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโปตัสเซียม สารอาหารหลักและสารอาหารรองเหล่านี้ได้มาจากสารประกอบในรูปต่าง ๆ เช่น องค์ประกอบของสารอาหารในสูตร Zarroul's medium ซึ่งมีสารอาหารครบและในปริมาณที่เหมาะสม (เจียมจิตต์, 2544) แหล่งคาร์บอนสำหรับสาหร่ายจะใช้คาร์บอนในรูปของคาร์บอเนต และไบคาร์บอเนตในอาหารภายใต้สภาวะที่ความเป็นกรดเป็นด่างสูง เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง สำหรับไนโตรเจนจะใช้ในรูปไนเตรทเป็นหลัก (อัญชลี, 2546)

โดยสาหร่ายจะใช้เอนไซม์มาย่อยสลายไนเตรทดังปฏิกิริยา

$$NO_3\text{-}+NAD(P)+H+\ NO_2\text{-}+NAD(P)+H_2$$

$$NO_2\text{-}+NAD(P)+H_2\ NH_4+$$

โดยสาหร่ายจะนำแอมโมเนีย(NH4+) ไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโนเพื่อผลิตโปรตีน (Tanticharoen and Bunnag, 2001) ถ้าปริมาณไนเตรท์มากเกินไปจะส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญ แต่ถ้าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญในสภาวะที่ขาดไนโตรเจนจะส่งผลต่อสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบลดลง เช่น cyanophycin arannules polypeptide (CGP) และไฟโคไซยานิน (Tanticharoen and Bunnag, 2001) เนื่องจากเซลล์จะดึงไนโตรเจนจากองประกอบดังกล่าวมาใช้ในกิจกรรมของเซลล์ สำหรับฟอสฟอรัสเป็นสารอาหารที่จำเป็นในกระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์สาหร่าย ไม่ว่าจะเป็นการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก หรือการถ่ายทอดพลังงาน ซึ่งจะใช้ในรูปของ

ออร์โธฟอสเฟตที่ละลายน้ำ หรือส่วนประกอบสารในสารอินทรีย์เช่น H_2PO_4 หรือ HPO_4^{2-} (Kaushik et al., 2005) นอกจากนี้โปตัสเซียมยังมีบทบาทสำคัญในการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดและกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนอีกด้วย (Kaushik et al., 2005)

วิธีการดำเนินการวิจัย

การวางแผนการทดลอง

งานวิจัยส่วนที่ 1 เปรียบเทียบผลผลิตสาหร่ายเตาที่มีคุณภาพไม่ปนเปื้อนจากตะกอนและได้ผลผลิตสูงจากการเลี้ยงแบบบ่อลอยร่วมกับระบบหมุนเวียนน้ำ

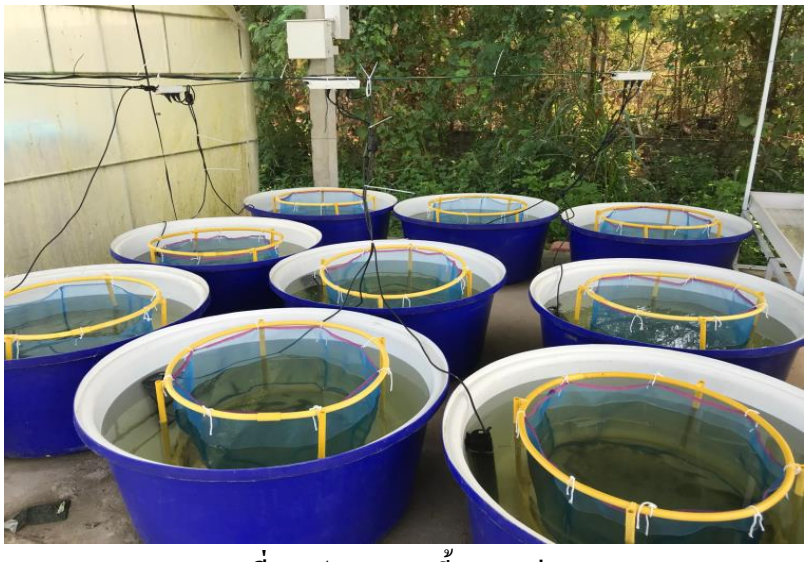
1.1 ระบบเลี้ยงสาหร่ายเตาในบ่อปูนสภาพวะควบคุม หาสภาวะที่เหมาะสมโดยมีระบบตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำและสารอาหาร และคุณภาพน้ำในบ่อทดลอง โดยทำการออกแบบดังนี้

Treatment 1 น้ำจากบ่อเลี้ยงปลา ที่ค่า EC 10 µs/cm

Treatment 2 น้ำจากบ่อเลี้ยงปลา ที่ค่า EC 20 µs/cm

Treatment 3 น้ำจากบ่อเลี้ยงปลา ที่ค่า EC 30 µs/cm

โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 3 ซ้ำ



ภาพที่ 2 รูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายเตา

1.2 แหล่งของสาหร่ายเตา

สาหร่ายเตาที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มาจากฟาร์มเอกชนใน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ การเตรียมโดยเก็บเกี่ยวมาจากบ่อแล้วทำความสะอาดด้วนน้ำ ประปาที่ไม่มีคลอรีนแล้วพักไว้

ภาพที่ 3 สาหร่ายเตาที่ใช้ในการทดลอง จากบ้านปางยาง ต สบเปิง อ แม่แตง จ เชียงใหม่

1.3 ปัจจัยที่ตรวจสอบ

การตรวจวัดคุณภาพน้ำ ตามวิธีการของ ISO 10260 (1992) ในบ่อเลี้ยงสาหร่าย ทุกๆ เดือน โดยมีการตรวจวัดดังนี้

1.ค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH meter (Schott-Gerate CG 840)

2.ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ โดยวิธี Azide modification

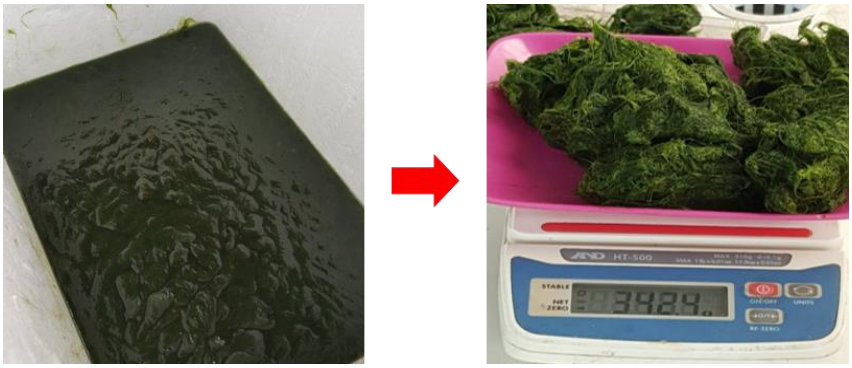
3.ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน โดยวิธี Direct Nesslerization

4.ปริมาณไนเตรทไนโตรเจน โดยวิธี Phenoldisulfonic acide

5. ตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Arnon, 1949) ปริมาณพอลิแซคคาร์ไรด์ วัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมต้านเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจสอบผลผลิตสาหร่ายเตาสูตรอาหารที่ใช้ทดลอง วัดการเจริญของสาหร่ายทุก 7 วัน เป็นเวลา 30 วัน

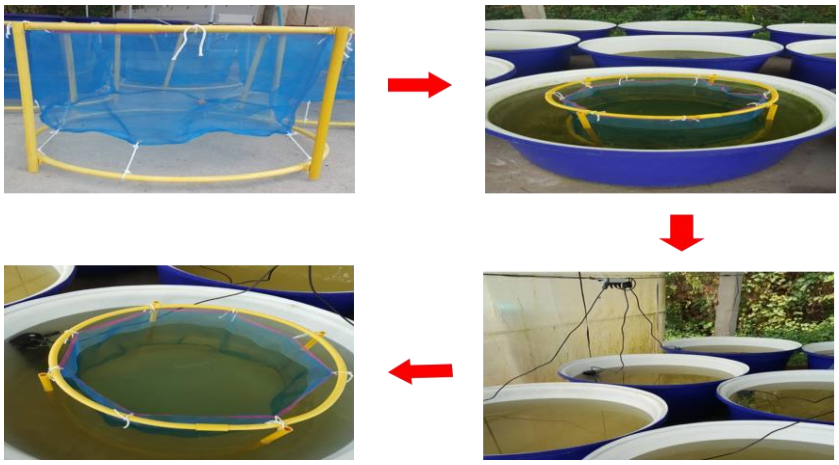
1.4 วิธีการทดลอง

1.4.1 นำสาหร่ายเตามาล้างเพื่อนำเศษใบไม้หรือขยะต่าง ๆโดยใช้น้ำที่ปราศจากคลอรีนให้ความสะอาดทำการล้างสาร่ายทั้งหมด 3 ครั้ง ก่อนจะนำไปทำการทดลองจากนั้นนำสาหร่ายเตามาชั่งน้ำหนักโดยจะใช้น้ำหนักแห้งก่อนจะนำไปใส่ในบ่อทดลอง



ภาพที่ 4 ชั่งสาหร่ายเตาตามค่าที่จะทดลอง

1.4.2 จากนั้นทำการเตรียมบ่อสำหรับการทดลองโดยใช้บ่อพลาสติกขนาด 2 ตัน จำนวน 9 บ่อ พร้อมกับนำกระชังมาใส่ในบ่อพลาสติก ทำการเติมน้ำเข้าบ่อพลาสติกซึ่งประกอบ น้ำที่ใช้ปุ๋ยวิทยาศาสตร์ยูเรีย ใช้น้ำหมักจากอาหารปลากินเนื้อและใช้น้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลากะพงขาวระบบปิด และติดเครื่องเพิ่มออกซิเจนเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับเลี้ยงสาหร่ายเตา



ภาพที่ 5 เตรียมบ่อพลาสติกและกระชังมาใส่ในบ่อพลาสติก

1.4.3ทำการนำสาหร่ายเตาไปชั่งน้ำหนักก่อนจะนำลงบ่อลดทดลองบ่อโดยจะปล่อยลงบ่อทดลองบ่อละ 500 กรัม (การเลี้ยงในระบบปิด)

ภาพที่ 6 ชั่งสาหร่ายเตาไปลงบ่อพลาสติก

การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษา เปรียบเทียบปริมาณสาร โพลีฟีนอล และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในการผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการผลิตสาหร่ายเตาด้วยระบบบ่อลอยหมุนเวียนน้ำและที่เลี้ยงโดยฟาร์มเกษตรกร

2.1 ศึกษา สาร โพลีฟีนอล และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในการผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการผลิตสาหร่ายเตาด้วยระบบหมุนเวียนน้ำและที่เลี้ยงโดยฟาร์มเกษตรกร และคุณภาพน้ำในบ่อทดลอง โดยทำการออกแบบดังนี้

Treatment 1 เลี้ยงในน้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว ที่ค่า EC 10 µs/cm

Treatment 2 เลี้ยงในน้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว + อาหารปลา ที่ค่า EC 20 µs/cm

Treatment 3 เลี้ยงในน้ำฟาร์มเกษตรกร อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายเตา

นำสาหร่ายเตา 5 กรัมบดด้วย 100 % อะซิโตน 20 มิลลิตรและทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีแล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 หลังจากนั้นนำส่วนน้ำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 645 และ 663 นาโนเมตรและคำนวณค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณคอลโรฟิลล์ เอ, คลอโรฟิลล์ บี และ คลอโรฟิลล์ทั้งหมดด้วยสูตรดังนี้

$$\text{คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/100 g fresh weight)} = \frac{[(20.2 \times A645) + (8.02 \times A663)] \times 20}{1000 \times 5}$$

การเตรียมสาหร่ายเพื่อการทดลอง

ภาพที่ 7 แหล่งที่มาของสาหร่ายเตาที่ใช้ในการทดลอง จากบ้านปางยาง ต.สบเปิง อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่

การออกแบบการทดลอง

การทดลองย่อยที่ 2 ได้ ออกแบบเป็น 3 Treatments

Treatment 1 เลี้ยงในน้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว ที่ค่า EC 10 µs/cm (T1)

Treatment 2 เลี้ยงในน้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว + อาหารปลา ที่ค่า EC 20 µs/cm (T2)

Treatment 3 เลี้ยงในน้ำฟาร์มเกษตรกร อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (T3)

ภาพที่ 8 ฟาร์มเกษตรกร อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่

2.2 แหล่งของสาหร่ายเตา

สาหร่ายเตาที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มาจากฟาร์มเอกชนใน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ การเตรียมโดยเก็บเกี่ยวมาจากบ่อแล้วทำความสะอาดด้วนน้ำ ประปาที่ไม่มีคลอรีนแล้วพักไว้

2.3 ปัจจัยที่ตรวจสอบ

ตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Arnon, 1949) ปริมาณพอลิแซคคาร์ไรด์ วัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมต้านเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจสอบผลผลิตสาหร่ายเตาสูตรอาหารที่ใช้ทดลอง

2.4 ตรวจสอบคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยง

การตรวจวัดคุณภาพน้ำ ตามวิธีการของ ISO 10260 (1992) ในบ่อเลี้ยงสาหร่าย ทุกๆ เดือน โดยมีการตรวจวัดดังนี้

1.ค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH meter (Schott-Gerate CG 840)

2.ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ โดยวิธี Azide modification

3.ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน โดยวิธี Direct Nesslerization

4.ปริมาณไนเตรทไนโตรเจน โดยวิธี Phenoldisulfonic acide

2.5ปัจจัยที่ตรวจสอบ

2.51.วัดการเจริญของสาหร่าย โดยดำเนินการดังนี้

- หาน้ำหนักเซลล์แห้ง

-การเปลี่ยนแปลงของเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ

2.5.2ตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Arnon, 1949)

2.6การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในสาหร่ายเตา

นำสาหร่ายเตา 5 กรัมบดด้วย 100 % อะซิโตน 20 มิลลิตรและทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีแล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 หลังจากนั้นนำส่วนน้ำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 645 และ 663 นาโนเมตรและคำนวณค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณคอลโรฟิลล์ เอ, คลอโรฟิลล์ บี และ คลอโรฟิลล์ทั้งหมดด้วยสูตรดังนี้

$$\text{คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/100 g fresh weight)} = \frac{[(20.2 \times A645) + (8.02 \times A663)] \times 20}{1000 \times 5}$$

2.8 การวัด Total phenolic compounds ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method

นำสาหร่ายแห้ง 5 กรัม บดด้วยเมทานอล 70% จากนั้นนำของเหลวส่วนที่สกัดได้มาผสมกับน้ำยา Folin-Ciocalteu phenol 5 มล. นำสารผสมบ่มในสภาพมืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมงและนำไปวัดได้ที่ 765 นาโนเมตร นำกรดแกลลิกมาใช้เป็นมาตรฐานในการประมาณค่าฟีนอลิก ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดได้รับการรายงานเป็น mg ของกรดแกลลิกเทียบเท่า GAE / g

2.9 การวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการทดสอบ DPPH

การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำลายสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ และทำให้เกิดโรคต่างๆตามมา อนุมูลที่สำคัญ ได้แก่ superoxide radical, hydroxyl radical, สารอัลดีไฮด์ต่างๆที่เกิดจากกระบวนการ lipid peroxidation ฯลฯ จึงมีการคิดวิธีสังเคราะห์อนุมูลอิสระเหล่านี้ในหลอดทดลอง และทดสอบความสามารถของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระเหล่านี้ จึงมีหลายวิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบ เช่น วิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical (Hou et al., 2001) อนุมูล DPPH• เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูล การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (scavenging activity) สารละลายของ DPPH• มีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ตามสมการดังนี้ (Blois, 1958)

DPPH• + RH → DPPH-H + R•

สีม่วง ตัวอย่างทดสอบ สีเหลือง

การตรวจสอบมีขั้นตอนคือ นำสาหร่ายแห้ง 5 g มาบดด้วยเมทานอล 70% จากนั้นนำส่วนของเหลว 0.1 มล. ผสมกับ 2.9 มล. ของ 0.1 mM DPPH ในเมทานอล ส่วนผสมของปฏิกิริยาถูกเขย่าอย่างดีและบ่มในสภาพมืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นวัดค่าการดูดซับที่ 517 นาโนเมตร และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแสดงเป็น% การยับยั้งตามสูตรต่อไปนี้

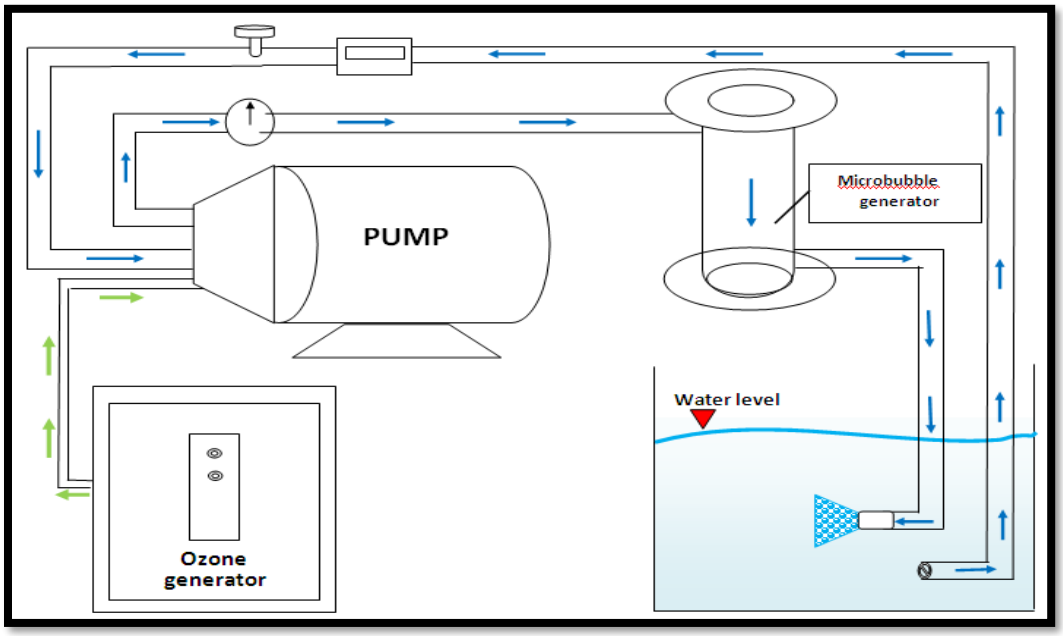
% การยับยั้ง = (การควบคุม Ab517 - ตัวอย่างการทดสอบ Ab517) / การควบคุม Ab517] x 100

การทดลองที่ 3 การเพิ่มคุณภาพสาหร่าย เพิ่มสารโพลีฟีนอล และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในการผลผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการใช้ไมโครบับเบิล

3.1 แหล่งของสาหร่ายเตา

สาหร่ายเตาที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มาจากฟาร์มเอกชนใน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ การเตรียมโดยเก็บเกี่ยวมาจากบ่อแล้วทำความสะอาดด้วนน้ำ ประปาที่ไม่มีคลอรีนแล้วพักไว้

ภาพที่ 9 สาหร่ายเตานำมาล้างทำความสะอาด



ภาพที่ 10 รูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายไมโครบับเบิล

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1นำสาหร่ายเตามาล้างด้วยน้ำไมโครบับเบิลโอโซนที่เวลา 0, 3, 6 และ9 นาที ทำการสุ่ม 3 ตัวอย่างของสาหร่ายเตาที่ผ่านการล้าง

3.3.2การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายเตา

นำสาหร่ายเตา 5 กรัมบดด้วย 100 % อะซิโตน 20 มิลลิตรและทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีแล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 หลังจากนั้นนำส่วนน้ำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 645 และ 663 นาโนเมตรและคำนวณค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณคอลโรฟิลล์ เอ, คลอโรฟิลล์ บี และ คลอโรฟิลล์ทั้งหมดด้วยสูตรดังนี้

$$\text{คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/100 g fresh weight)} = \frac{[(20.2 \times A645) + (8.02 \times A663)] \times 20}{1000 \times 5}$$

3.4 การวัด Total phenolic compounds ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method

นำสาหร่ายแห้ง 5 กรัม บดด้วยเมทานอล 70% จากนั้นนำของเหลวส่วนที่สกัดได้มาผสมกับน้ำยา Folin-Ciocalteu phenol 5 มล. นำสารผสมบ่มในสภาพมืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมงและนำไปวัดได้ที่ 765 นาโนเมตร นำกรดแกลลิกมาใช้เป็นมาตรฐานในการประมาณค่าฟีนอลิก ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดได้รับการรายงานเป็น mg ของกรดแกลลิกเทียบเท่า GAE / g

3.5 การวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการทดสอบ DPPH

นำสาหร่ายแห้ง 5 g มาบดด้วยเมทานอล 70% จากนั้นนำส่วนของเหลว 0.1 มล. ผสมกับ 2.9 มล. ของ 0.1 mM DPPH ในเมทานอล ส่วนผสมของปฏิกิริยาถูกเขย่าอย่างดีและบ่มในสภาพมืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นวัดค่าการดูดซับที่ 517 นาโนเมตรและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแสดงเป็น% การยับยั้งตามสูตรต่อไปนี้

% การยับยั้ง = (การควบคุม Ab517 - ตัวอย่างการทดสอบ Ab517) / การควบคุม Ab517] x 100

ผลการวิจัย

ผลการทดลองที่ 1 เปรียบเทียบผลผลิตสาหร่ายเตาที่มีคุณภาพไม่ปนเปื้อนจากตะกอนและได้ผลผลิตสูงจากการเลี้ยงแบบบ่อลอยร่วมกับระบบหมุนเวียนน้ำ

ผลของการเลี้ยงสาหร่ายโดย Treatment 1 ใช้น้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว ที่ค่า EC 10 µs/cm, Treatment 2 ใช้น้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว + อาหารปลา ที่ค่า EC 20 µs/cm และ Treatment 3 ใช้น้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว + อาหารปลา ที่ค่า EC 30 µs/cm พบว่า สาหร่ายจาก Treatment 1 โตดีที่สุด ($p<0.05$)

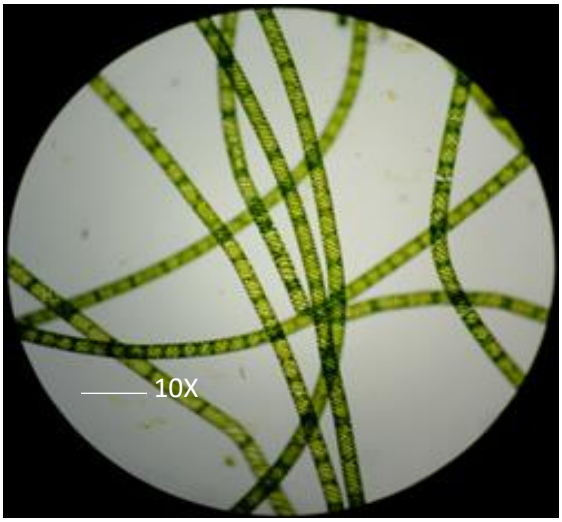
ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของสาหร่ายเตา ในแต่ละชุดการทดลอง

Parameter	Treatment1	Treatment2	Treatment3
น้ำหนักเซลล์สด (กรัม)	121±3.50	120±1.55	120±2.32
น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	225±5.60	181±10.21	110±4.32
อายุการเลี้ยง (วัน)	30	30	30
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/วัน)	3.5±	2.03±	-0.3±

เจริญเติบโตของสาหร่ายเตาต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร ต่อรอบการเพาะเลี้ยง 10 วัน จะสามารถคำนวณได้เป็น 450 กรัม x 4 = 1,800 กรัม หรือมีค่าเท่ากับ 1.8 กิโลกรัมต่อตารางเมตรต่อ10วัน

ตารางที่ 2 คุณภาพน้ำของสาหร่ายเตา ในแต่ละชุดการทดลอง

Parameter	**Treatment 1**	**Treatment 2**	**Treatment 3**
Water temperature, ºC	25.0	25.0	25.0
pH	7.8	7.8	7.8
Conductivity, µs/cm	10	20	30
DO, mg/l	6.3	6.3	6.3
Turbidity, NTU	4.5	4.5	4.5
$NO_{2,}$ mg/L	0.18	0.18	0.18
NO_3, mg/L	3.44	3.44	3.44
NH_4, mg/L	0.13	0.13	0.13
$PO_{4,}$ mg/L	0.06	0.06	0.06



ภาพที่ 11 สาหร่ายเตา ที่ใช้ในการทดลอง *Spirogyra neglecta*

ผลการทดลองที่ 2 ศึกษา สารโพลีฟีนอล และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในการผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการผลิตสาหร่ายเตาด้วยระบบหมุนเวียนน้ำและที่เลี้ยงโดยฟาร์มเกษตรกร

โดยทำการออกแบบดังนี้

Treatment 1 เลี้ยงในน้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว ที่ค่า EC 10 µs/cm (T1)

Treatment 2 เลี้ยงในน้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว + อาหารปลา ที่ค่า EC 20 µs/cm (T2)

Treatment 3 เลี้ยงในน้ำฟาร์มเกษตรกร อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (T3)

โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของสาหร่ายเตา ในแต่ละชุดการทดลอง

Parameter	Treatment1	Treatment2	Treatment3
น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	50.2±1.1	50.1±1.6	51.0±0.8
น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	456.3±14.1	551.5±16.8	480.6±22.4
ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน)	60	60	60
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/วัน)	±	±	±
Total Chlorophyll a (mg/100 g fresh weight)	0.25±0.55	0.33±0.62	0.32±74
Phenolic compound (GEA/g)	5.9±1.1	5.5±0.5	5.6±0.5
Antioxidants (% inhibition)	17.5±0.8	18.2±0.4	18.0±1.0

2.ตรวจสอบคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยง

คุณภาพน้ำใน Treatment 1 น้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว ที่ค่า EC 10 µs/cm, Treatment 2 น้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว + อาหารปลา ที่ค่า EC 20 µs/cm และ Treatment 3 น้ำจากบ่อเลี้ยงปลากะพงขาว + อาหารปลา ที่ค่า EC 30 µs/cm

ตารางที่ 4 คุณภาพน้ำของสาหร่ายเตา ในแต่ละชุดการทดลอง

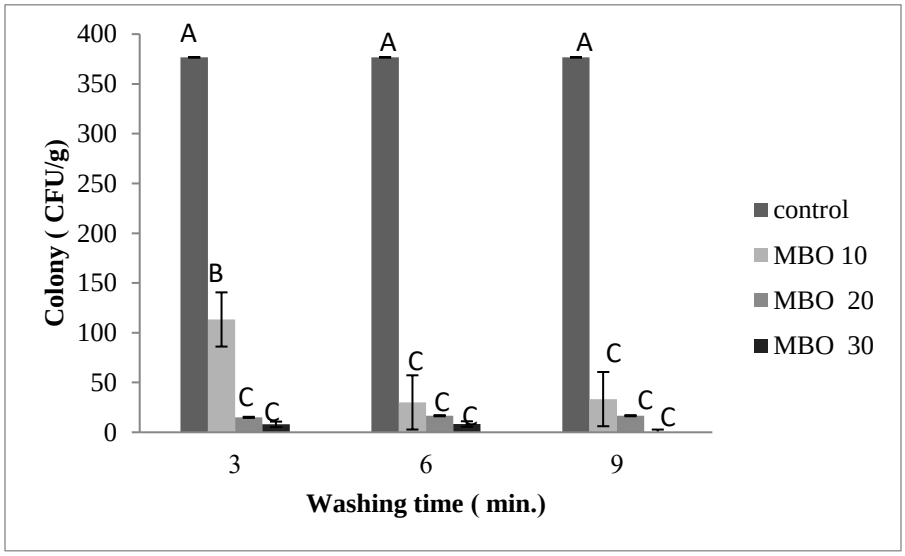
Parameter	Treatment1	Treatment2	Treatment3
Water temperature, ºC	25.0	25.0	25.0
pH	7.8	7.8	7.8
Conductivity, µs/cm	10	20	30
DO, mg/l	6.3	6.3	6.3
Turbidity, NTU	4.5	4.5	4.5
$NO_{2,}$ mg/L	0.18	0.18	0.18
NO_3, mg/L	3.44	3.44	3.44
NH_4, mg/L	0.13	0.13	0.13
$PO_{4,}$ mg/L	0.06	0.06	0.06

ตารางที่ 5 คุณภาพน้ำ ในบ่อพักสาหร่ายเตา บ้านปางยาง ต สบเปิง อ แม่แตง จ เชียงใหม่

Parameter	บ่อพัก สาหร่ายเตา
Water temperature, ºC	28.4
pH	9.97
Conductivity, µs/cm	8.8
DO, mg/l	12.83
Turbidity, NTU	2.9
$NO_{2,}$ mg/L	0.082
NO_3, mg/L	0.176
NH_4, mg/L	2.530
$PO_{4,}$ mg/L	1.067

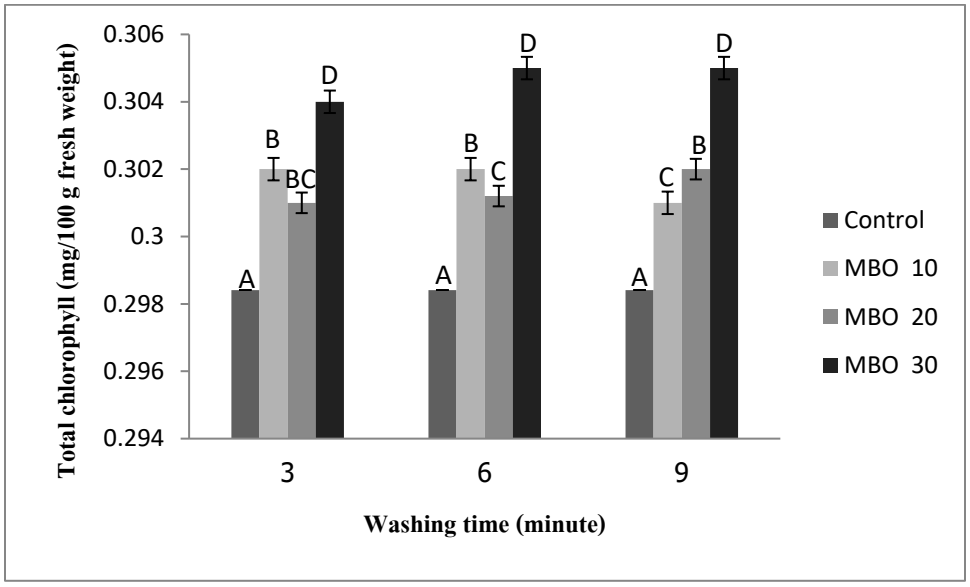
ผลการทดลองที่ 3 ศึกษาการเพิ่มคุณภาพสาหร่าย การเพิ่ม สารโพลีฟีนอล และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในการผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการใช้โอโซน

การศึกษาผลของโอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงค่าคลอโรฟิลล์ การเพิ่มสารโพลีฟีนอล สารต้านอนุมูลอิสระ และ การลดแบคทีเรียที่อยู่บนผิวสาหร่ายเตาผ่านการแช่น้ำที่มีโอโซน 0 (control), 10, 20 และ 30 นาทีได้แสดงใน (ภาพที่ 12) ซึ่งโดยทั่วไป คลอโรฟิลล์ และปริมาณสารโพลีฟีนอล ในพืชจะแปรผันทิศทางเดียวกับ และสารแอนทีออกซิแดนท์เนื่องจากทั้ง คลอโรฟิลล์ และสารโพลีฟีนอลมีคุณสมบัติเป็นสารแอนทีออกซิแดนท์ (Tomas-Barberan and Robins, 1997).



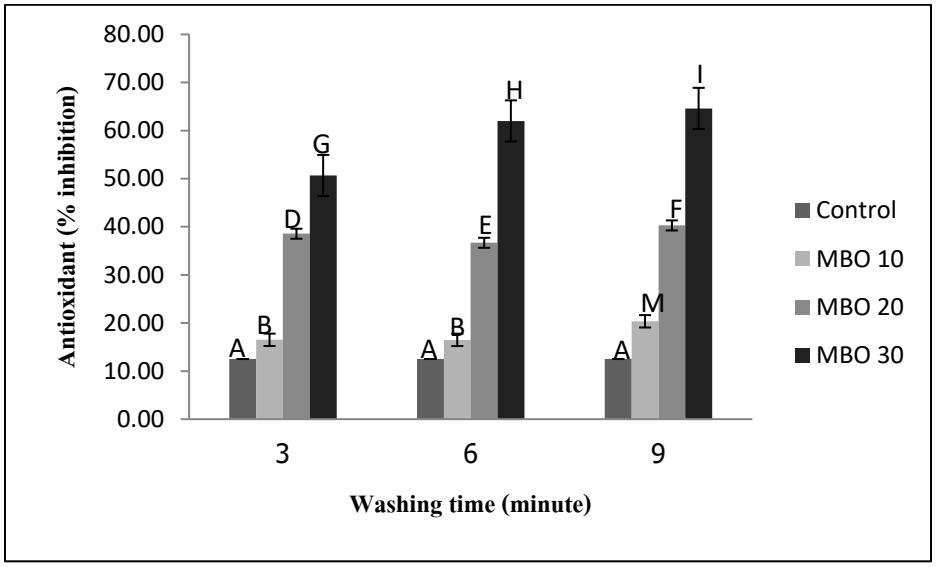
ภาพที่ 12 ผลของไมโครบับเบิลโอโซนต่อการลดแบคทีเรียที่อยู่บนผิงสาหร่ายเตา ผ่านการแช่น้ำที่มีไมโครบับเบิลโอโซน 0 (control), 10, 20 และ 30 นาที ตัวหนังสือที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ของแต่ละชุดการทดลองที่ผ่านการล้างด้วยน้ำไมโครบับเบิลโอโซน พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดสอดคล้องกับความสามารถในการต้านออกซิเดชั่นของสาหร่ายเตา ตามรายงานวิจัยของ ยุวดี (2549) พบว่าสาหร่าย Spirogyra spp. มีรงควัตถุหลายชนิด เช่นคลอโรฟิลล์ เอ และบี, เบต้า-แคโรทีน(β-carotene), อัลฟ่า-แคโรทีน(α-carotene), แกมม่า-แคโรทีน(γ-carotene), แซนโทฟิล หลายชนิด ซึ่งรงควัตถุนี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Tomas-Barberan and Robins, 1997) มีการศึกษาความสามารถของคลอโรฟิลล์ เอ และ porphyrin ring ในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยพบว่าคลอโรฟิลล์ เอ จะจับกับอนุมูล peroxyl radical และยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของวิตามินอี ในการกำจัดอนุมูลอิสระ (Endo *et al*., 1985; cited by Shanab, 2007)



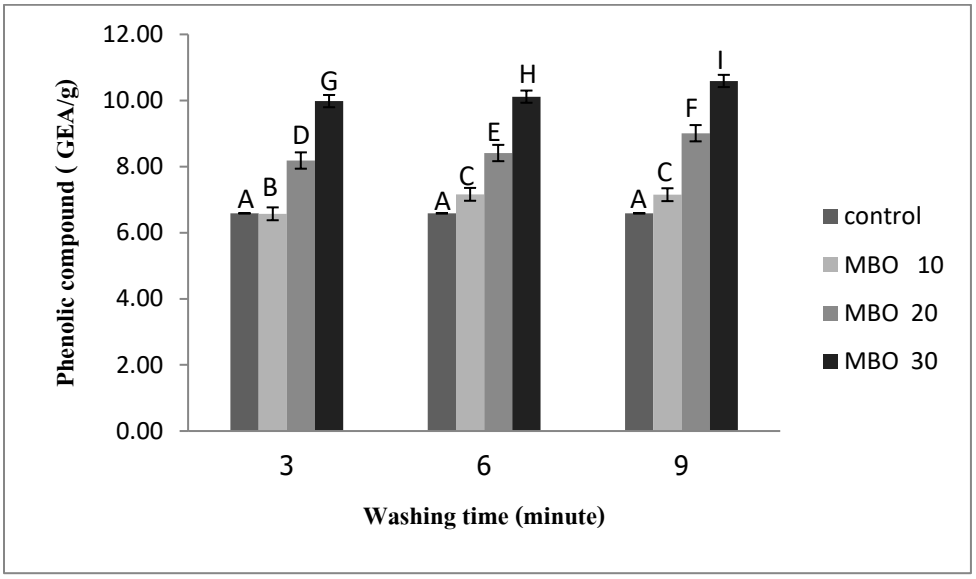
ภาพที่ 13 ค่าคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total chlorophyll) ของสาหร่ายเตาที่ผ่านการแช่น้ำที่มีไมโครบับเบิลโอโซน 0 (control), 10, 20 และ 30 นาทีตัวหนังสือที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารแอนตี้ออกซิแดนซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาผลิตน้ำไมโครบับเบิลโอโซนและระยะเวลาในการล้างสาหร่าย พบว่าสารละลายสีม่วงของ DPPH• radical เปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองมากขึ้น หรือมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ต่ำลงเรื่อยๆ เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันมีบทบาทสำคัญในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ โดยจะเป็นตัวให้ H แก่สารอนุมูลอิสระ แล้วเปลี่ยนไปเป็นสารที่คงตัวได้ (Jadhav et al., 1995; Yamaguchi et al., 1998) จากการที่ทุกชุดการทดลองที่ผ่านการล้างด้วยน้ำไมโครบับเบิลโอโซนมีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารแอนตี้ออกซิแดนซ์สูงขึ้นเพราะว่า โอโซนทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่อาจทำให้เกิดสารต้านอนูมูลอิสระชนิดอื่นๆ มากขึ้น ดังรายงานการวิจัยของ Forney (2003) พบว่าโอโซนทำให้เซลล์พืชเกิด oxidative stress พืชจึงมีกลไกในการป้องกันตัวเองโดยการสร้างสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ ได้แก่ โพลีเอมิน, เอทิลีน และสารฟีนอลิกสูงขึ้นเพื่อยับยั้งสารอนุมูลอิสระดังกล่าว นอกจากนี้พบว่ากลุ่มเอนไซม์ที่เป็นสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ เช่น superoxide dismutases (SOD), catalases (CAT), ascorbate peroxidases(APX) and glutathione peroxidases (GPX) เพิ่มขึ้นได้จากการได้รับโอโซนซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Boonkorn et al., (2012)



ภาพที่ 14 ค่าแอนตีออกซิแดนท์ (Antioxidant) ของสาหร่ายเตาที่ผ่านการแช่น้ำที่มีไมโครบับเบิลโอโซน 0 (control), 10, 20 และ 30 นาทีตัวหนังสือที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

ปริมาณสารโพลีฟีนอลในสาหร่ายเตาที่ผ่านการแช่ในน้ำไมโครบับเบิลโอโซนได้แสดงใน (ภาพที่ 15) จะเห็นได้ว่า ค่าปริมาณสารโพลีฟีนอลในสาหร่ายเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาการแช่ ซึ่งสอดคล้องกับ Alothman *et al*. (2010) ที่พบว่าสารโพลีฟีนอลในกล้วยและฝรั่งมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อผ่านน้ำไมโครบับเบิลโอโซน



ภาพที่ 15 ค่าสารโพลีฟีนอล (Polyphenol compound) ของสาหร่ายเตาที่ผ่านการแช่น้ำที่มีไมโครบับเบิลโอโซน 0 (control), 10, 20 และ 30 นาทีตัวหนังสือที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

สรุปผลการวิจัย

การเพิ่มศักยภาพการผลิตสาหร่ายเตาคุณภาพสูงด้วยระบบปิดหมุนเวียนน้ำแบบถาดยกทีใช้เทคโนโลยีการเลี้ยงแบบแม่นยำเป็นโครงการต่อเนื่อง 3 ปีซึ่งในปีที่ 1 นั้น ได้มีวัตถุประสงค์ คือ 1) เพื่อหาปริมาณสารอาหารจากน้ำเลี้ยงปลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่ายแบบบ่อลอย 2) การศึกษาเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ชีวภาพของการเลี้ยงในสภาวะบ่อลอยกับฟาร์มเอกชน และ 3) การเพิ่มคุณภาพสาหร่าย การเพิ่มสาร โพลีฟีนอล และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในการผลผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการใช้ไมโครบับเบิลโอโซน ผลการทดลองพบว่า ปริมาณสารอาหารจากบ่อเลี้ยงปลาที่ให้ผลผลิตสาหร่ายเตาให้ผลดีที่สุดคือที่ค่านำไฟฟ้า 20 ไมโครซีเมนต์/เซนติเมตร ($p<0.05$) ระดับสารต้านอนุมูลอิสระ สาร โพลีฟีนอล จากการผลิตสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคการผลิตสาหร่ายเตาด้วยระบบหมุนเวียนน้ำบ่อลอยให้ค่า สารต้านอนุมูลอิสะ สาร โพลีฟีนอล สูงกว่าสาหร่ายเตาที่เลี้ยงโดยฟาร์มเอกชน และการแช่สาหร่ายในน้ำที่มีฟองอากาศขนาดเล็ก (ไมโครบับเบิลโอโซน) สามารถเพิ่มคุณภาพของสาหร่าย เพิ่มสาร โพลีฟีนอล และเพิ่มสารแอนตีออกซิแดนท์ได้ ($p<0.05$)

เอกสารอ้างอิง

เจียมจิตต์ บุญสม. 2544.ความลับของสาหร่ายเกลียวทอง. พิมพ์ครั้งที่4. กรุงเทพฯ. สำนักงานคณะกรรมการวิจัย แห่งชาติ.

ธีระวัฒน์ รัตนพจน์,เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, ชุติมา ศรีมะเริง, รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์ และดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2555. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและผลการเสริมสาหร่ายเตาต่อการเจริญเติบโตของปลานิลในกระชัง. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 6(2): 23-34 น.

วสันต์ สุมินทิลี่, ปนิดา บรรจงสินศิริ, จันทนา ไพรบูรณ์ และวรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์.2557 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่น (Caulerpa lintillifera) สาหร่ายทุ่น (Sargassum oligocystum) และสาหร่ายเขากวาง (Gracilaria changii) วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม ปีที่ 9 ฉบับที่ 1

เสาวนิตย์ ชอบบุญ.2550. การจำแนกราเส้นสายที่พบในอาหารและอากาศ. พิมพ์ครั้งที่ 1. สงขลา : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ สงขลา. หน้า 1-132 น.

ยุวดี พีรพรพิศาล . 2546. สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 497 น.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2551. สาหร่ายไกความรู้ทั่วไปและการแปรรูปอาหาร. เชียงใหม่ : โชตนาพริ้นจำกัด. 50 น.

อัญชลี เขื่อนเพชร.2546. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Spirulina platensis ในระดับนำร่องด้วยน้ำเสียในบ่อปรับเสถียรภาพจากระบบก๊าซชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสุกร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol., 24: 1-15.

Alothman, M., Kaur, B., Fazilah, A., Bhat, R. and Karim, A. A. 2010.Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. Innov. Food Sci. Emerg. 11:666-671.

Belay 1997. Microalgae: Biotechnology and Microbiology. Cambridge University Press, Cambridge.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 181: 1199-1200.

Boonkorn, P., Gemma, H., Sugaya, S., Setha, S., Uthaibutra, J and Whangchai, K. 2012. Impact of high-dose, short peroids of ozone exposure on green mold and antioxidant enzyme activity of tangerine fruit. Postharvest Biology and Technology. 67:25–28.

Endo, Y., R. Usuki and T. Kaneda, 1985a. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. I. Comparison of the inhibitory effects. J. American Oil Chem. Soc., 62: 1375–8.

Forney, C.F. 2003 Postharvest Response of Horticultural Products to Ozone. In: Hodges, D.M., Ed., Postharvest Oxidative Stress in Horticultural Crops, Food Products Press, New York, 13-54.

Jadhav SJ, Nimbalkar SS, Kulkarni AD & Madhavi DL. (1995). Lipid Oxidation In Biological and Food Systems. In: Food Antioxidants. Madhavi DL, Deshpande SS & Salunkhe DK (eds). New York.

Kaushik, P., V.K. Garg, and B. Singh. 2005. Effect of textile effluents on growth performance of wheat cultivars. Biores.Technol., 96, 1189-1193.

Tomas-Barberan, F. A. and Robins, R. J. 1997. Phytochemistry of Fruits and Vegetables. Oxford University Press Inc. New York. U.S.A.

Tanticharoen, M.Bunnag,B, Vonshak,A and Laorawat,S.2014. The effect of light availability on the Photosynthetic activity and productivity of outdoor cultures of Arthrospira platensis (Spirulina). Journal of Applied Phycology. 26: 1309-1315.

Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., Terao, J., 1998. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1, -diphenyl-2-picrylhydrazyl. Biosci. Biotechnol. Biochem. 62, 1201– 1204.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 เตรียมบ่อกลมพลาสติกขนาด 2 ลบ. เมตร พร้อมเติมน้ำ เพื่อใช้ในการทดลองและติดตั้งเครื่อง UV

ภาคผนวกที่ 2 กระชังสำหรับเลี้ยงสาหร่ายเตา

ภาคผนวกที่ 3 ชั่งสาหร่ายแล้วนำไปใส่บ่อทดลอง

ภาคผนวกที่ 4 นำสาหร่ายเตาที่ชั่งมาเลี้ยงในบ่อทดลอง

ภาคผนวกที่ 5 ติดตามผลการทดลอง