การเพาะเลี้ยง Chlorella (*Chlorella* sp.) ภายใต้สภาวะแหล่งกำเนิดและความยาวคลื่นแสงที่ต่างกัน

ปณิธาน แก้วจันทวี[1*], พัชรี ครูขยัน[1], นฤชล ภัทราปัญญาวงศ์[2] และ สุขสรร วันเพ็ญ[3]

[1*, 2, 3]สถานีวิจัยประมงสมุทรสงคราม คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สมุทรสงคราม
[1]ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ
*ffisptk@ku.ac.th

บทคัดย่อ

แพลงก์ตอนเป็นสิ่งมีชีวิทที่มีบทบาทสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆ โดยเฉพาะแพลงก์ตอนพืชที่มีรงควัตถุในเซลล์ทำให้สามารถดูดซับพลังงานแสงและใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงและสร้างสารอินทรีย์ จึงเป็นผู้ผลิตขั้นต้นของห่วงโซ่อาหารและสายใยอาหาร รวมทั้งเป็นอาหารของแพลงก์ตอนสัตว์, สัตว์น้ำวัยอ่อนและสัตว์น้ำนานาชนิด รวมถึงการนำมาใช้ประโยชน์โดยมนุษย์ในด้านการเพาะและอนุบาลพันธุ์สัตว์น้ำ ปัจจัยแสงจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อขบวนการการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืช

การศึกษาความยาวคลื่นแสงต่างกัน 10 ชนิด คือ แสงสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน), หลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน), หลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 15,000 เคลวิน), หลอด LED สีวอร์มไวท์ (อุณหภูมิสี 3,200 เคลวิน), หลอด LED อินฟราเรด (730-740 nm), หลอด LED สีแดง (620-625 nm), หลอด LED สีส้ม (590-595 nm), หลอด LED เขียว (520-525 nm), หลอด LED สีน้ำเงิน (460-465 nm) และหลอด LED ยูวี (390-400 nm) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงคลอเรลล่า (*Chlorella* sp.) ภายในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิห้อง 25เซลเซียส) โดยตรวจนับเซลล์ทุกๆ 24 ชั่วโมงระยะเวลา 10 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าแสงจากหลอด LED สีน้ำเงิน (460-465 nm) สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ได้มากที่สุด โดยมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย $0.69\pm0.12\times10^6$ เซลล์ต่อวัน รองลงมาลำดับที่สองคือแสงจากหลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 15,000 เคลวิน) มีเซลล์เฉลี่ย $0.65\pm0.11\times10^6$ เซลล์ต่อวันและลำดับที่สามคือแสงจากหลอด LED สีแดง (620-625 nm) มีเซลล์เฉลี่ย $0.62\pm0.38\times10^6$ เซลล์ต่อวัน ตามลำดับ

คำสำคัญ : การเพาะเลี้ยง แสง ความยาวคลื่นแสง คลอเรลล่า

The Cultural of Chlorella (*Chlorella* sp.) Under Different Light Sources and Wavelengths Condition.

Panitan Kaewjantawee[1*], Patcharee Khrukhayan[1], Naruechon Pattarapanyawong[2] and Suksan Wanpen[3]

[1*, 2, 3]Samutsongkhram Fisheries Research Station Faculty of Fisheries Kasetsart University

[1]Department of Fishery Biology Faculty of Fisheries Kasetsart University

*ffisptk@ku.ac.th

Abstract

Plankton is an important organism for other living things. Especially, phytoplankton contains pigment in cells, can absorb light energy and use in the process of photosynthesis and provide organic matter. Phytoplankton is the primary producer of the food chain and food web, being food for zooplankton, aquatic larvae and aquatic animal; as well as being utilized by humans in the breeding and nursing of aquatic animal. Therefore, the light factor is very important for phytoplankton photosynthesis.

Study on ten types of different light wave length of white light Fluorescent bulbs (Color Temperature 6,500 K), white LED bulbs (Color Temperature 6,500 K), white LED bulbs (Color Temperature 15,000 K), warm white LED bulbs(Color Temperature 3,200 K), Infrared LED bulbs (730-740 nm), red LED bulbs (620-625 nm), Orange LED bulbs (590-595 nm), Green LED bulbs (520-525 nm), Red LED bulbs (620-625 nm), Blue LED bulbs (460-465 nm) and UV LED bulbs (520-525 nm) in cultured of Chlorella (*Chlorella* sp.) cultured under laboratory conditions (25°C temperature-controlled room). Cell samples were collected every 24 hours for 10 days. At the end of the experiment showed that light from the Blue LED bulbs (460-465 nm) can increase the maximum number of cells with the average of growth rate $0.69\pm0.12x10^6$ cells/day followed by the second White LED bulbs (Color Temperature 15,000 K) cells averaged $0.65\pm0.11x10^6$ cells/day and the third sequence, Red LED bulbs (620-625 nm) cells averaged $0.62 \pm0.38x10^6$ cells/day, respectively.

Keywords: Cultural Light Wavelengths Chlorella

บทนำ

ช่วง ค.ศ. 1902-1907 Henry Joseph Round วิศวกรอิเล็กทรอนิกส์และการสื่อสารได้ค้นพบปรากฏการณ์ “electroluminescence” จากการทดลองสารกึ่งตัวนำชนิดซิลิคอน- คาร์ไบด์ ที่ปล่อยแสงออกมาเมื่อได้รับกระแสไฟฟ้าในห้องปฏิบัติการ นั่นคือการค้นพบปรากฏการณ์ของไดโอดเปล่งแสงเป็นครั้งแรก ต่อมาในปี ค.ศ. 1962 J.R. Nick Holonyack ได้ค้นพบไดโอดเปล่งแสงสีแดงจากสารกึ่งตัวนำชนิด gallium arsenide phosphide (GaAsP) ระหว่างการทำงานให้กับ

ห้องปฏิบัติการของ General Electric ถัดไปในปี ค.ศ. 1972 M.G. Crawford ได้ค้นพบไดโอดเปล่งแสงสีเหลืองที่ทำจากสารกึ่งตัวนำชนิด GaAsP และในปีเดียวกัน Herbert Maruska และ Jacques Pankove ได้ร่วมกันพัฒนาไดโอดเปล่งแสงสีม่วง (violet) ขึ้นเป็นครั้งแรกจากสารกึ่งตัวนำชนิด gallium nitride (GaN) ซึ่งผลการค้นพบนี้นำไปสู่การพัฒนาไดโอดเปล่งแสงสีน้ำเงินโดย Shuji Nakamura ในปี ค.ศ. 1997 จากการพัฒนาจากสารกึ่งตัวนำชนิด indium gallium nitride (InGaN) (นภัทร และ ไชยยันต์, 2017)

ลักษณะและสรีรศาสตร์ในการเจริญเติบโตของพืชขึ้นอยู่กับปัจจัยผันแปรของสภาพแวดล้อมหลายปัจจัย เช่น แสง อุณหภูมิ คาร์บอนไดออกไซด์ (Kozai and smith, 1995) พืชจะดูดซึมแสงเพื่อสร้างคลอโรฟิลด์ชนิด a และ b (chlorophyll molecules type a & b) ได้ดีที่สุดระหว่างความยาวคลื่น 400-480 นาโนเมตร (แสงสีน้ำเงิน) และระหว่าง 630-680 นาโนเมตร (แสงสีแดง) (Gacomelli, 1998) พืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อช่วงความยาวคลื่นแสง และความเข้มแสงแตกต่างกัน เช่น ในต้นถั่วเหลือง และ ต้นแรดดิช มีการศึกษาพบว่าการเพิ่มระดับความเข้มของแสงสีน้ำเงิน ส่งผลให้ลำต้นสั้นลง ในขณะที่ความสูงของล้าต้น ข้าวสาลี ไม่มีการตอบสนองต่อแสงสีน้ำเงิน (Cope and Bugbee, 2013) ช่วงความยาวคลื่นแสงที่แตกต่างกันก็ส่งผลให้พืชมีการตอบสนองแตกต่างกัน เช่น ต้นผักกาดที่ได้รับแสงสีน้ำเงินอย่างเดียว มีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงกว่า ต้นผักกาดที่ได้รับแสงสีแดง หรือแสงสีเขียวเพียงอย่างเดียว (Muneer et al., 2014) และต้นมะเขือเทศที่ได้รับแสงสีส้ม สีแดง หรือสีเขียว จะมีลักษณะต้นยืดยาว และอ่อนแอ ในขณะที่ต้นมะเขือเทศที่ได้รับแสงผสมระหว่างสีน้ำเงินกับสีแดง หรือแสงสีขาว ที่มีส่วนผสมของแสงทุกช่วงความยาวคลื่น มีลักษณะต้นใกล้เคียงกับการปลูกในแสงธรรมชาติและแข็งแรงกว่า (Xiaoying et al., 2012) การใช้หลอดไดโอดเปล่งแสงสีแดง 80% ร่วมกับสีน้ำเงิน 20% ทำให้โปรโตคอร์มกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสพัฒนาไปเป็นต้นกล้าได้ดี (อมรรัตน์, 2549)

แพลงก์ตอนพืช (Phytoplankton) นับว่าเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในระบบนิเวศของแหล่งน้ำ จัดเป็นผู้ผลิตลำดับแรก (Primary producer) ในห่วงโซ่อาหาร เนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ จึงสามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ และเป็นอาหารของผู้บริโภคลำดับต่างๆ เช่น แพลงก์ตอนสัตว์หรือสิ่งมีชีวิตอื่นๆ (Gajaseni, 1996) ซึ่งการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชมีผลดีในด้านการควบคุมคุณภาพและเพิ่มปริมาณมากในระยะเวลาที่สั้น ในด้านการผลิตต้นพันธุ์ที่ปราศจากโรคด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ แต่ปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลโดยตรงต่อการพัฒนาและเจริญเติบโต คือ แสง ในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการไม่นิยมนำแสงจากธรรมชาติหรือแสงจากดวงอาทิตย์มาใช้เนื่องจากความไม่สะดวก, ไม่สามารถควบคุมความเข้มแสงและระยะเวลาการให้แสงได้ จึงนิยมใช้แสงสังเคราะห์ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งหลอดฟลูออเรสเซนต์มีอัตราสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้ามากกว่าหลอด LED, หลอด LED มีอายุการใช้งานที่ยาวนานและสามารถทนต่อสภาพการเปิด-ปิด และที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเพราะนอกจากความประหยัดด้านพลังงานและความคงทนที่สามารถใช้งานได้นานทำให้ปริมาณขยะจากหลอดไฟลดลง (ณิชชา, 2015)

ดังนั้นด้วยข้อดีหลายประการของหลอด LED จึงควรมีการศึกษาคุณสมบัติของหลอด LED ว่ามีผลอย่างไรต่อการเพิ่มผลผลิตของแพลงก์ตอนพืช เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการใช้ทรัพยากร, พลังงานไฟฟ้าและประสิทธิผลต่อการเพิ่มผลผลิต

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของคลอเรลล่าสภาวะแหล่งกำเนิดและความยาวคลื่นแสงที่ต่างกัน

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีการศึกษามากมายเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้แสงจากหลอด LED เพื่อการเพาะปลูกดอกไม้ และผักหลายชนิด โดยช่วงแสงสีแดงมีผลต่อการเพิ่มการสังเคราะห์แป้ง (Saebo et al., 1995) ในขณะที่ช่วงแสงสีน้ำเงินมีผลต่อการพัฒนาคลอโรพลาส, การสร้างคลอโรฟิลล์และการเปิดปากใบ (Senger, 1992) และมีรายงานว่าช่วงแสงสีน้ำเงินมีผลเจริญเติบโตของเมล็ดผักกาดและช่วงแสงสีแดงและน้ำเงินมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของข้าวสาลี (Goins et al., 1997;Tanaka et al., 1998)

หลายงานกล่าวว่าแสงสีแดงมีความสำคัญต่ออัตราการยืดตัวของลำต้น, การตอบสนองของรงควัตถุ, และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะของพืช (Schuerger, 1997) แสงสีน้ำเงินมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์แสงของคลอโรฟิลล์, การสังเคราะห์เอนไซด์, การจับคู่กับของคลอโร พลาสและโฟโตซินเทซิส (Tibbtts, 1983), หลอด LED สีน้ำเงินและสีแดงได้ถูกนำมาใช้ศึกษาเกี่ยวกับการสังเคราะห์แสงอย่างแพร่หลาย (Tennessen, 1994) อย่างไรก็ตามในการศึกษาหลายครั้งให้ผลออกมาว่าผลของหลอด LED มีผลต่อการตอบสนองของสรีรศาสตร์ที่ต่างกัน และผลของการเจริญเติบโตของพืชและการพัฒนารูปร่างลักษณะของพืชที่เลี้ยงในหลอดทดลองระบบปิดที่ต่างกันด้วย (Kong Sik shin, 2008)

การศึกษา *Capsicum annuum* เมื่อได้รับแสงสีแดงจะสามารถสร้างชีวมวลได้มากกว่าการได้รับแสงสีขาว (Brown et al., 1995) ในขณะที่ *Triticum aestivum* ที่เจริญเติบโตภายใต้หลอด LED สีแดงมีน้ำหนักรากแห้งน้อยกว่าที่เจริญเติบโตภายใต้แสงสีขาวอย่างมีนัยสำคัญ (Goins et al., 1997)

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* โดยใช้แสงจากหลอดแอลอีดี (แดง, เหลือง, น้ำเงิน, เขียว และขาว) พบว่าแสงจากหลอดแอลอีดีสีแดงมีผลต่อการเจริญเติบโตมากที่สุดและรองลงมาคือแสงจากหลอดแอลอีดีสีขาว, เหลือง, เขียว และน้ำเงิน ตามลำดับ (Chin et al, 2007)

จากการศึกษาผลกระทบของหลอด LED สีแดง , หลอด LED สีน้ำเงิน, หลอดฟลูออเรสเซนต์ ต่อการเจริญเติบโต และพัฒนารูปร่างของต้นอ่อนที่เลี้ยงในหลอดทดลองระบบปิดพบว่าหลอด LED สีแดง, หลอดฟลูออเรสเซนต์และหลอด LED สีน้ำเงินมีผลต่อความสูงและจำนวนใบต่อต้นอ่อนพันธุ์ Hybrid Franc และพันธุ์ Ryuukyuuganebu ในหลอดทดลองจากมากมาหาน้อยตามลำดับ (Puspa et al., 2008)

วิธีดำเนินการศึกษา

1. การเพาะเลี้ยง

1.1 เตรียมน้ำทะเลความเค็ม 27 ppt ในบ่อซีเมนต์ปริมาตร 10,000 ลิตร ฆ่าเชื้อโดยการใช้คลอรีนผง 65%ในอัตรา 16 กรัม/น้ำทะเล 1,000 ลิตร (ppm) ให้อากาศอย่างแรง 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นปิดอากาศพักให้น้ำตกตะกอนและรอให้คลอรีนหมด

1.2 นำน้ำที่ได้ขั้นต้นมากรองด้วยไส้กรองแล้วกรองด้วยแผ่นกรอง 0.47 ไมครอนใส่ถังขนาด 100 ลิตร แล้วผสมปุ๋ยใช้ตามสูตรของ Conway Medium (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543)

1.3 นำหัวเชื้อคลอเรลล่าจากสถานีวิจัยประมงคลองวาฬ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร ที่ความหนาแน่นเซลล์ประมาณ $2x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร ผสมในน้ำทะเลที่เตรียมไว้และให้อากาศโดยใช้หัวทรายเพื่อให้คลอเรลล่ากระจายทั่วถึง

1.4 บรรจุหัวเชื้อคลอเรลล่าปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรลงในขวดน้ำเกลือปริมาตร 1 ลิตรที่เตรียมไว้ จำนวน 100 ตัวอย่างนำไปเลี้ยงโดยเติมอากาศตลอดเวลาในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิห้องที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แบ่งชุดการทดลองทั้งหมดออกเป็น 10 ชุดการทดลองๆ ละ 10 ซ้ำ โดยใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน), หลอด LED สีวอร์มไวท์ (อุณหภูมิสี 3,200 เคลวิน), หลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน), หลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 15,000 เคลวิน), หลอด

LED อินฟราเรด (730-740 nm), หลอด LED สีแดง (620-625 nm), หลอด LED สีส้ม (590-595 nm), หลอด LED เขียว (520-525 nm), หลอด LED สีน้ำเงิน (460-465 nm) และหลอด LED ยูวี (390-400 nm) จำนวน 10 ตัวอย่างต่อชนิดแสง โดยให้แสงชนิดต่างๆเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน และแหล่งกำเนิดแสงทั้ง 10 ชนิดมีค่าการบริโภคพลังงานไฟฟ้าเท่ากันคือ 18 watts

2. การตรวจนับและวิเคราะห์ผลการเจริญเติบโตของคลอเรลล่า

2.1 สุ่มนับจำนวนเซลล์ระหว่างการเลี้ยงโดยใช้ Haemacytometer นับด้วย Hand counter ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน เพื่อตรวจสอบปริมาณความหนาแน่นเซลล์และคำนวนค่าอัตราการเจริญเติบโต (Growth rate; K) ของคลอเรลล่า ซึ่งอัตราการเจริญเติบโต (K) หาได้ ดังนี้ (Phatarpekar et al., 2000)

$$K = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}$$

เมื่อ N_t = ความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์ตอนพืชเมื่อนำมาวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโต (cells)

N_0 = ความหนาแน่นเซลล์แพลงก์ตอนพืชเริ่มต้น (cells)

t = ระยะเวลา (days)

2.2 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อหาค่าความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตแต่ละการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completed Randomized Design) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตเพื่อหาความแตกต่างข้อมูลในแต่ละชุดการทดลองของคลื่นแสงแต่ละชนิดด้วยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมัน 95% (อนันต์ชัย เขื่อนธรรม, 2542) และประมวลผลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS Statistics for Windows (Version 21.0; IBM Corp., Armonk, NY. USA)

Figure 1 Different light wavelengths of white light Fluorescent bulbs (Color Temperature 6,500 K), warm white LED bulbs (Color Temperature 3,200 K), white LED bulbs (Color Temperature 6,500 K), white LED bulbs (Color Temperature 15,000 K), Infrared LED bulbs (730-740 nm), red LED bulbs (620-625 nm), Orange LED bulbs (590-595 nm), Green LED bulbs (520-525 nm), Red LED bulbs (620-625 nm), Blue LED bulbs (460-465 nm) and UV LED bulbs (390-400 nm).

ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาอิทธิพลของความยาวคลื่นแสงที่ต่างกันต่อการเจริญเติบโตของคลอเรลล่า โดยศึกษาแสงต่างกัน 10 ชนิด คือ แสงสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน),หลอด LED สีวอร์มไวท์ (อุณหภูมิสี 3,200 เคลวิน), หลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน), หลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 15,000 เคลวิน), หลอด LED อินฟราเรด (730-740 nm), หลอด LED สีแดง (625-625 nm), หลอด LED สีส้ม (590-595 nm), หลอด LED สีเขียว (520-525 nm), หลอด LED สีน้ำเงิน (460-465 nm) และหลอด LED ยูวี (390-400 nm)ภายใต้การควบคุมปัจจัยแวดล้อมในห้องปฏิบัติการเดียวกันมีผลการศึกษาดังแสดงในภาพที่ 1-2 และตารางที่ 1-2

เมื่อเริ่มการทดลองเตรียมคลอเรลล่ามีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเฉลี่ย 0.13-0.20x10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ในทุกชุดการทดลอง จากการนับจำนวนเซลล์ของคลอเรลล่าด้วยการให้ความยาวคลื่นแสงที่ต่างกัน 10 ชนิด พบว่าหลอด LED สีน้ำเงิน (460-465 nm) มีจำนวนเซลล์เฉลี่ยมากที่สุด 7.22x10^6 เซลล์/มิลลิลิตร รองลงมาคือแสงจากหลอด LED สีแดง (620-625 nm) มีจำนวนเซลล์เฉลี่ยมากที่สุด 4.84x10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และหลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 15,000 เคลวิน) มีจำนวนเซลล์เพิ่มเฉลี่ยสูงสุด 4.36x10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ทั้งยังพบว่าหลอด LED อินฟราเรด (730-740 nm) สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์คลอเรลล่าได้น้อยที่สุดมีเซลล์เฉลี่ย 0.51x10^6 เซลล์/มิลลิลิตร รองลงมาลำดับที่สองคือแสงจากหลอด LED สีส้ม (590-595 nm) มีจำนวนเซลล์เฉลี่ย 0.66x10^6 เซลล์/มิลลิลิตร

Figure 2 Growth of Chlorella sp. under difference Light sources condition of white light Fluorescent bulbs (Color Temperature 6,500 K), warm white LED bulbs(Color Temperature 3,200 K), white LED bulbs (Color Temperature 6,500 K), white LED bulbs (Color Temperature 15,000 K), Infrared LED bulbs (730-740 nm), red LED bulbs (620-625 nm), Orange LED bulbs (590-595 nm), Green LED bulbs (520-525 nm), Blue LED bulbs (460-465 nm) and UV LED bulbs (520-525 nm) at starting the experiment (A), 5 days (B) and 10 days (C).

Table 1 Analysis of Variance for Growth rate.

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.135	9	.348	15.423	.000
Within Groups	2.033	90	.023		
Total	5.168	99			

Table 2 Growth rate difference analysis (x10^6 cells) of *Chlorella* sp. under difference Light sources condition.

Treatment	Growth rate (Cells/day)	P-value
Florescence 18w Daylight 6500 k	0.54 ± 0.09^{bcd}	
LED Warm White 18w 3200 k	0.41 ± 0.06^{de}	
LED White 18w 6500 k	0.50 ± 0.09^{cd}	
LED White 18w 15000 k	0.65 ± 0.11^{ab}	
LED Infrared 18w 730-740 nm	0.16 ± 0.06^{g}	0.00
LED Red 18w 660-665 nm	0.62 ± 0.38^{abc}	
LED Orange 18w 590-595 nm	0.18 ± 0.05^{fg}	
LED Green 18w 520-530 nm	0.31 ± 0.35^{ef}	
LED Blue 18w 460-470 nm	0.69 ± 0.12^{a}	
LED UV 18w 390-400 nm	0.44 ± 0.12^{de}	

ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตพบว่าคลอเรลล่าที่ใช้หลอด LED สีน้ำเงิน (460-465 nm) มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ $0.69\pm0.12x10^6$ เซลล์ต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่ใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน) ที่มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.54 ± 0.09 x10^6 เซลล์ต่อวัน ($P<0.05$) ลำดับถัดมาคือหลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 15,000 เคลวิน) และหลอด LED สีแดง (620-625 nm) มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยรองลงมาเท่ากับ $0.65\pm0.11x10^6$ และ $0.62\pm0.38x10^6$ เซลล์ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าหลอดฟลูออเรสเซนต์ (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่ใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ ($P<0.05$) ส่วนคลอเรลล่าที่ใช้หลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน), หลอด LED ยูวี (390-400 nm) และหลอด LED สีวอร์มไวท์ (อุณหภูมิสี 3,200 เคลวิน) มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ $0.50\pm0.09x10^6$, $0.44\pm0.12x10^6$ และ $0.41\pm0.06x10^6$ เซลล์ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าหลอดฟลูออเรสเซนต์ (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่ใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ ($P<0.05$) ส่วนคลอเรลล่าที่ใช้หลอด LED อินฟราเรด (730-740 nm), หลอด LED สีส้ม (590-595 nm) และหลอด LED สีเขียว (520-525 nm) มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่ำที่สุดเท่ากับ $0.16\pm0.06x10^6$, $0.18\pm0.05x10^6$ และ $0.31\pm0.35x10^6$ เซลล์ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าหลอดฟลูออเรสเซนต์ (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่ใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ ($P<0.05$)

การนำหลอด LED มาประยุกต์ใช้ในการผลิตแพลงก์ตอนพืชชนิดคลอเรลล่าภายในห้องปฏิบัติการได้ผลเป็นที่น่าพอใจระดับหนึ่ง คือ ระยะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของคลอเรลล่า ที่ใช้หลอด LED สีน้ำเงิน (460-465 nm), หลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 15,000 เคลวิน) และหลอด LED สีแดง (620-625 nm) อยู่ในช่วงระยะเวลาที่ใกล้เคียงกัน คือ ช่วงวันที่ 2-5 ของการทดลอง ซึ่งเป็นช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวแพลงก์ตอนพืชเพื่อนำไปใช้ประโยชน์มากที่สุด (ลัดดา, 2543) ถึงแม้ว่าปริมาณเซลล์เฉลี่ยของคลอเรลล่าที่ได้จากการใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์จะมีค่าไม่แตกต่างกับหลอดที่ได้จากหลอด LED สีขาว (อุณหภูมิสี 15,000 เคลวิน) และหลอด LED สีแดง (620-625 nm) ก็ตาม แต่หากพิจารณาถึงประสิทธิภาพต่อค่าการบริโภคพลังงานไฟฟ้าที่เท่ากันและอายุการใช้งานของหลอด LED ที่ยาวนานกว่า ก็อาจทำให้ต้นทุนการผลิตต่อหน่วยการบริโภคไฟฟ้าต่ำกว่าหลอดฟลูออเรสเซนต์ แต่หากจะนำไปใช้กับแพลงก์ตอนพืชหรือพืชชนิดอื่นอาจจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของชนิดคลื่นแสงของหลอด LED

ที่ใช้ เนื่องจากอาจมีรงควัตถุจำพวก Chlorophyll ที่ต่างกัน อันอาจเป็นเหตุให้มีความสามารถในการเจริญเติบโตภายใต้สภาวะคลื่นแสงที่ต่างกันด้วย

สรุป

จากการศึกษาทดลองครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าการเพาะเลี้ยงคลอเรลล่าภายใต้แสงจากหลอด LED สีน้ำเงิน (460-465 nm) ให้ประสิทธิภาพต่ออัตราการเจริญเติบโตของคลอเรลล่ามากที่สุด คือมีอัตราการเพิ่มขึ้นเฉลี่ยของเซลล์มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับค่าการบริโภคพลังงานไฟฟ้าที่เท่ากัน (18 watts) กับแหล่งกำเนิดชนิดแสงอื่น ซึ่งสามารถนำมาทดแทนหลอดฟลูออเรสเซนต์ (อุณหภูมิสี 6,500 เคลวิน) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในห้องปฏิบัติการ เพียงแต่การลงทุนค่าอุปกรณ์และติดตั้งครั้งแรกจะสูงมากกว่าหลอดฟลูออเรสเซนต์ แต่หากคำนวนต้นทุนระยะยาวอาจมีความคุ้มค่ามากกว่าเพราะหลอด LED มีอายุการใช้งาน ประสิทธิภาพและการประหยัดพลังงานมากกว่าหลอดฟลูออเรสเซนต์

เอกสารอ้างอิง

ณิชชา บูรณสิงห์. (2558). **หลอด LED: นวัตกรรมเพื่อการอนุรักษ์และประหยัดพลังงาน.** สำนักวิชาการ สำนักงานเลขาธิการสภาผู้แทนราษฎร.

นภัทร วัจนเทพินทร์ และ ไชยยันต์ บุญมี. (2560). **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.** ปีที่ 25 ฉบับที่ 1 (ม.ค.-ก.พ. 2560) หน้า 158-176.

ลัดดา วงศ์รัตน์. (2543). **คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน.** คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนันต์ชัย เชื่อนธรรม. (2542). **หลักการวางแผนการทดลอง.** ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อมรรัตน์ วงษ์นอก. 2549. **ผลของไดโอดเปล่งแสงและสูตรอาหารต่อการพัฒนาของกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสในสภาพปลอดเชื้อ.** วิทยานิพนธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Brown, C.S., Schuerger, A.C., Sager, J.C. 1995. Growth and photomorphogenesis of pepper plants under red light-emitting diodes with supplemental blue or far-red lighting. J. **hort. Sci.** 120: 808-813

Chin, Y.W., Chun, C.F., Yung, C.L. 2007. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of Spirulina platensis. **Biochemical Engineering Journal 37**: 21-25.

Cope, K. R. & Bugbee, B. 2013. Spectral Effects of Three Types of White Light- emitting Diodes on Plant Growth and Development: Absolute versus Relative Amounts of Blue Light. **Hortscience, 48**(Suppl. 4), 504–509.

Gacomelli, G.A., **Greenhouse Glazing and Solar Radiation Transmission Workshop,** October 1998 @CCEA, Center for Controlled Environment Agriculture, Rutgers University, Cook College, AZ, 85721, USA.

Gajaseni, N., 1996**, Laboratory instruction in Fresh Water Ecology (2nd ed.,)**, Chulalongkorn University, Bangkok.

Goins, G.D., Yorio, N.C., Sanwoo, M.M., Brown, C.S. 1997. **Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting**. J. exp. Bot 48: 1407- 1413.

Kong Sik shin. 2008. **The effect of light quality on the growth and development of in vitro culture Doritaenopsis plants**. Acta Physiol Plant 30: 339 – 343.

Kozai, T., Smith, M.A.L. 1995. **Environmental control in the plant tissue culture: General introduction and overview. In: Aitken-Christie J, Kozai T, Smith MAL (eds) Automation and environmental control in plant tissue culture.** 301–418.

Muneer, S., Kim J. E., Park, S. J., & Lee, H. J. 2014. "Influence of Green, Red and Blue Light Emitting Diodes on Multiprotein Complex Proteins and Photosynthetic Activity under Different Light Intensities in Lettuce Leaves (*Lactuca sativa* L.)". **International Journal of Molecular Sciences,** 15, 4657-4670.

Phatarpekar, P.V., R.A. Sreepada, C. Pednekar and C.T. Achuthankutty. 2000. A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures. **Aquaculture 181:** 141-155.

Puspa, R.P., Ikuo, K., Ryosuke, M. 2008. Effect of red- and blue-light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes. **Plant Cell Tiss Organ Cult**. 92: 147-153.

Saebo, A., Krekling, T., Appelgren, M., 1995. **Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets in vitro**. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 41: 177–185.

Schuerger, A.C., Brown, C.S., Stryjewski, E.C. 1997. Anatomical features of pepper plants (Capsicum annuum L.) grown under red lightemitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Ann Bot 79**: 273–282.

Senger, H. 1982. The effect of blue light on plants and microorganisms. Phytochem. Photobiol. 35: 911–920.

Tanaka, M., Takamura, T.,Watanabe, H., Endo, M., Yanagi, T., Okamoto, K. 1998. In vitro growth of Cymbidium plantlets cultured under super bright red and blue light-emitting diodes (LEDs). J. **Hort. Sci**. Biotechnol. 73, 39–44.

Tennessen, D.J., Singsaas, E.L., Sharkey, T.D. 1994. Light emitting diodes as a light source for photosynthesis research. **Photosynth Res 39**: 85–92.

Tibbitts, T.W., Morgan. D.C., Warrington. J.J. 1983. Growth of lettuce, spinach, mustard and wheat plants under four combinations of high-pressure sodium, metal halide and tungsten halogen lamps at equal PPFD. J Am **Hortic Sci** 108: 622–630.

Xiaoying, L., Shirong, G., Taotao, C., Zhigang, X. & Tezuka, T. 2012. "Regulation of the growth and photosynthesis of cherry tomato seedlings by different light irradiations of light emitting diodes (LED)". **African journal of biotechnology,** 11 (Suppl. 22), 6169-6177.