



บทความวิจัย

การผลิตเซลล์ตรึงไซยาโนแบคทีเรียออสซิลลาทอเรีย ในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเลี้ยงสังเคราะห์

บุรินทร์ มนตรีวิสัย¹ อีรวัฒน์ สีทองแดง¹ ทรงกลด ไบยา² บงกช บุญบุรพงค์¹ อภรณ์ บัวหลวง³
 และ สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ^{1*}

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110

³วิทยาลัยแพทยศาสตร์นานาชาติจุฬาภรณ์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ อำเภอกองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

ข้อมูลบทความ

Article history

รับ : 22 กรกฎาคม 2564

แก้ไข : 10 สิงหาคม 2564

ตอบรับการตีพิมพ์ : 31 สิงหาคม 2564

ตีพิมพ์ออนไลน์: 30 กันยายน 2564

คำสำคัญ

เซลล์ตรึง

ไซยาโนแบคทีเรีย

ออกซิเจนละลายน้ำ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเซลล์ตรึงไซยาโนแบคทีเรียออสซิลลาทอเรีย ในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเลี้ยงสังเคราะห์ ศึกษาสูตรเซลล์ตรึงที่เหมาะสมโดยใช้อัตราส่วนสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ((C₆H₈O₆)_n) ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กับ สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แปรผันความเข้มข้นของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียออสซิลลาทอเรีย ร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดแสงสีขาว ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 120 นาที ติดตามปริมาณออกซิเจนละลายน้ำด้วยเครื่องวัดออกซิเจนละลายในน้ำ พบว่า สูตรที่ดีที่สุดในการทำเซลล์ตรึง คือ สารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และไซยาโนแบคทีเรียออสซิลลาทอเรีย ร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เซลล์ตรึงไซยาโนแบคทีเรียมีความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเลี้ยงสังเคราะห์สูงสุด เท่ากับ 7.25 มก./มล. โดยเซลล์ตรึงไซยาโนแบคทีเรียมีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำสูงกว่าเซลล์อิสระประมาณ 1.31 เท่า จากการศึกษาครั้งนี้ยังได้พบว่าเซลล์ตรึงไซยาโนแบคทีเรียออสซิลลาทอเรียสามารถนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียได้

บทนำ

ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) หรือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-Green Algae) เป็นสิ่งมีชีวิตพวกโพรคาริโอตสามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ เนื่องจากมีรงควัตถุคลอโรฟิลล์และไฟโคไซยานิน ได้ผลผลิตเป็นสารประกอบคาร์บอน และ แก๊สออกซิเจน (Bualuang et al. 2013; Johnson. 2006; Laloknam & Boonburapong. 2012) ไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) เป็นสิ่งมีชีวิตชนิดโพรคาริโอต (prokaryote) มีทั้งเซลล์เดี่ยวหลายเซลล์ และ เส้นสาย เช่น แอนาบีนา (Anabaena) นอสตอค (Nostoc) สไปรูลีนา (Spirulina) และ ออสซิลลาทอเรีย (Oscillatoria) มีประโยชน์หลายด้าน เช่น ด้านการเกษตร ด้านอุตสาหกรรมอาหาร ด้านอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอาง (Charoenman et al. 2021; Danyuttasilp & Laloknam. 2013;

Laloknam et al. 2014; Laloknam et al. 2017; Poolsawasdi et al. 2015; Shen. 2017; Sarma et al. 2016; Suktalord et al. 2016; Thajuddin & Subramanian. 2005) นอกจากนี้มีรายงานการใช้ไซยาโนแบคทีเรียอิสระชนิดออสซิลลาทอเรีย (*Oscillatoria* sp.) ที่เป็นไซยาโนแบคทีเรียชนิดเส้นสายที่แยกได้จากแหล่งน้ำคลองแสนแสบบริเวณท่าเรือประสานมิตร มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒมีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ และ น้ำในคลองแสนแสบ รวมถึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำทางชีวภาพ (Danyuttasilp & Laloknam. 2013; Suktalord et al. 2016;)

น้ำเป็นทรัพยากรที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์ในด้าน การเกษตร การประมง อุตสาหกรรม และ การคมนาคม นอกจากนี้มีการปล่อยน้ำเสียที่มีการบำบัดไม่ถูกวิธีลงแหล่งน้ำ ทำให้คุณภาพของน้ำเสื่อมโทรมลง ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ

*Corresponding author

E-mail address: surasak2515@hotmail.com (S. Laloknam)

Online print: 30 September 2021 Copyright © 2021. This is an open access article, production and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2021.16>

เนื่องจากดัชนีคุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงไป เช่น ค่าความเป็นกรดเบส เปลี่ยนไปเป็นกรด และ ปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำลดลง โดยทั่วไป พิจารณาดัชนีคุณภาพน้ำที่บ่งบอกความสามารถในการนำน้ำไปใช้ประโยชน์ คือ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen: DO) เป็นการบอกปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ ในกรณีที่น้ำนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการประมง ค่าออกซิเจนละลายน้ำต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 6 มก./ล. และ การนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตร ค่าออกซิเจนละลายน้ำต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 4 มก./ล. และเมื่อต้องการนำน้ำจากแหล่งน้ำเสียไปใช้ในการอุปโภคบริโภค ควรมีการบำบัดน้ำให้ได้ค่ามาตรฐานของการนำน้ำไปใช้ประโยชน์ การบำบัดน้ำเสียมีหลายวิธี ได้แก่ 1) การบำบัดทางกายภาพใช้เครื่องมือในการตีน้ำเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 2) การบำบัดทางเคมีใช้สารเคมีทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีทำให้เกิดการตกตะกอน และ 3) การบำบัดทางชีวภาพใช้สิ่งมีชีวิตที่มีความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสง เช่น พืช สาหร่าย และ ไชยาโนแบคทีเรีย (Laloknam & Sirisopana, 2011; Pollution control department, 2020; Shen et al., 2017)

การบำบัดน้ำเสียหรืองานด้านอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มผลผลิตโดยใช้การตรึงเซลล์ (immobilization) เป็นการนำเซลล์มายึดติดไว้กับวัสดุใด ๆ ที่สามารถขึ้นรูปได้เพื่อเพิ่มความทนทานของเซลล์ในการใช้งาน และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ซ้ำหลายครั้ง เพราะเซลล์ตรึงสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการทำงานตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการมากกว่าเซลล์อิสระ (Daemi & Barikani, 2012; Kaur et al., 2018; Kongsook et al., 2020; Kumar et al., 2011; Li et al. 2018; Mrudula & Shyam. 2012; Rahman et al. 2006; Ying. 2007; Zhang et al. 2004) นอกจากนี้มีการรายงานนำเซลล์ไชยาโนแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์ตรึงไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก เช่น นอสตอก แอนาบีนา และ ออสซิลลาทอเรีย (Singh et al. 1989; Brouers & Hall. 1986; Lee et al. 1995; Bestawy. 2019; Kosourov et al. 2014) จากข้อมูลมีรายงานที่มีการใช้เซลล์ตรึงไชยาโนแบคทีเรียในการบำบัดน้ำเสียเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียจำนวนน้อย มีเพียงรายงานของ Montrewisai et al. (2021) รายงานว่าเซลล์ตรึงไชยาโนแบคทีเรียนอสตอก แอนาบีนา และ สไปรูลีนา สามารถเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ และ ยังไม่มีรายงานในการนำไชยาโนแบคทีเรียออสซิลลาทอเรียมาทำเซลล์ตรึงเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสีย งานวิจัยนี้จึงมีแนวทางในการนำเซลล์ *Oscillatoria* sp. SWU121 ได้มาจากการคัดแยกจากแหล่งน้ำคลองแสนแสบบริเวณท่าเรือประสานมิตร มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และมีรายงานว่าเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระสามารถเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียจากคลองแสนแสบในห้องปฏิบัติการได้ (Danyuttasilp & Laloknam, 2013) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตเซลล์ตรึงไชยาโนแบคทีเรียออสซิลลาทอเรีย *Oscillatoria* sp. SWU121 ที่มีความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์และเปรียบเทียบความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์กับเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการบำบัดน้ำเสียที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำกว่าค่ามาตรฐานในการ

นำไปใช้ประโยชน์ของแหล่งน้ำผิวดินเพื่อการเกษตรและการประมงต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

การเตรียมไชยาโนแบคทีเรียออสซิลลาทอเรีย

ทำการเพาะเลี้ยงไชยาโนแบคทีเรียออสซิลลาทอเรีย (*Oscillatoria* sp. SWU121) ตามวิธีของ Laloknam et al. (2014) โดยนำเซลล์ออสซิลลาทอเรีย ปริมาตร 1 มล. ใส่ในอาหารเหลวชนิด BG11 พีเอช 7.5 ที่เตรียมใหม่ 100 มล. เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 14 วัน จากนั้นทำการรวบรวมตะกอนเซลล์โดยนำไปปั่นแยกด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที และนำตะกอนเซลล์ไปทำการทดลองต่อไป

การเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์

น้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้านี้มีแนวคิดให้น้ำเสียมีปริมาณของสารเคมีกลุ่มที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ และ จำลองสถานการณ์ให้แหล่งน้ำเมื่อได้รับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เพิ่มขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารประกอบที่มีขั้วประเภตคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และ ไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) โดยน้ำเสียสังเคราะห์ที่เลือกใช้ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการประมงได้ ดังนั้น ค่าออกซิเจนละลายน้ำต้องน้อยกว่า 6.0 มก./ล. เมื่อวัดด้วยเครื่องวัดออกซิเจนละลายน้ำ (DO meter) ดังนั้นเลือกความเข้มข้นโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้น้ำค่าออกซิเจนละลายน้ำ คือ 4.2 มก./ล. เป็นภาวะของน้ำเสียสังเคราะห์ในการศึกษาค้นคว้า

ศึกษาผลของเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์

ชั่งเซลล์ออสซิลลาทอเรีย ปริมาณ 0.2 ก. จากนั้นนำเซลล์ออสซิลลาทอเรียศึกษาความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ให้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 100 มล. ทำการวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำทุก 15 นาที เป็นระยะเวลา 120 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ศึกษาผลความเข้มข้นของเซลล์ออสซิลลาทอเรียในการผลิตเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์

ชั่งเซลล์ออสซิลลาทอเรีย ปริมาณ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 3.0 ก. ผสมกับสูตรเซลล์ตรึงโดยดัดแปลงตามวิธีของ Montrewisai et al (2021) ใช้สารละลายแคลเซียม (CaCl_2) ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และ สารละลายโซเดียมอัลจิเนต ($(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)_n$) ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียที่ได้ทั้งหมดของแต่ละความเข้มข้นศึกษาความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 100 มล. ทำการวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำทุก 15 นาที เป็นระยะเวลา 120 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วคัดเลือกเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียที่เหมาะสมไปทำการศึกษาประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนต่อไป

การศึกษาประสิทธิภาพของเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์

ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ของเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระและเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรีย โดยใช้ปริมาณเซลล์เท่ากัน จำนวน 1 ก. ในรูปแบบเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระและเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรีย ศึกษาความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 100 มล. ทำการวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำทุก 15 นาที เป็นระยะเวลา 120 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณหาประสิทธิภาพของเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระ และเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรีย และคำนวณเป็นร้อยละ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองจากการวิจัยจัดทำทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์ ($p < 0.05$)

ผลการวิจัย

ศึกษาผลของเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์

นำเซลล์ออสซิลลาทอเรีย ปริมาณ 0.2 ก. ทดสอบความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 100 มล. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Control) ที่ไม่มีเซลล์ออสซิลลาทอเรีย ติดตามปริมาณค่าออกซิเจนละลายน้ำ ทุก ๆ 15 นาที เป็นระยะเวลา 120 นาที แสดงผลดัง Figure 1

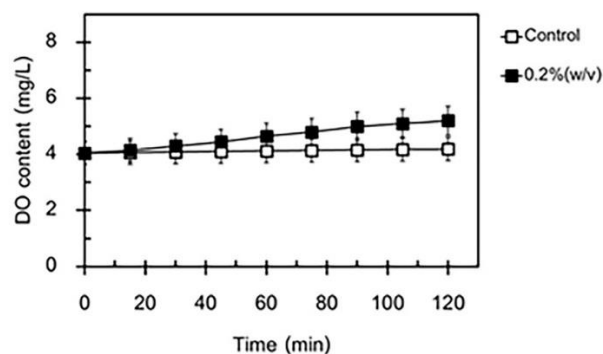


Figure 1 The potential of free *Oscillatoria* sp. cells to increase oxygen contents in synthetic wastewater for 120 min. (n=3)

จาก Figure 1 พบว่า ออสซิลลาทอเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สามารถเพิ่มปริมาณค่าออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์ได้สูงกว่าภาวะควบคุมประมาณ 1 มก./ล. หรืออัตราเร็ว 0.008 ออกซิเจนละลายน้ำต่อนาที แสดงว่าเซลล์อิสระมีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ได้ และเป็นการทดลองนำร่องที่จะนำเซลล์อิสระไปศึกษาผลของการเพิ่มปริมาณเซลล์ในการทำเซลล์ตรึงต่อไป สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Montrewisai et al. (2021) รายงานว่าการเพิ่มปริมาณเซลล์อิสระไฮยาโนแบคทีเรียทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำสูงขึ้น

ผลความเข้มข้นของเซลล์ออสซิลลาทอเรียต่อการทำเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรีย

จากการแปรผันความเข้มข้นของเซลล์ออสซิลลาทอเรียความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 3.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผสมกับสูตรเซลล์ตรึงที่มีสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และโซเดียมอัลจิเนต ($(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)_n$) ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำไปศึกษาความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ แสดงดัง Figure 2

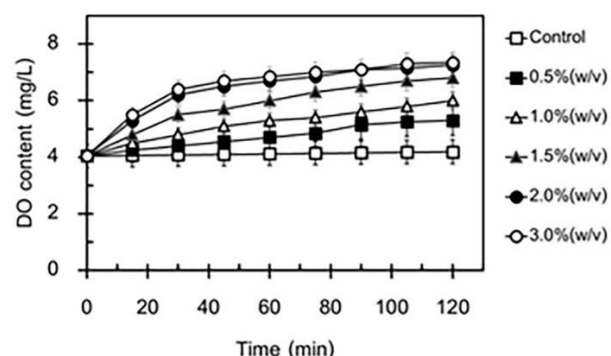


Figure 2 Effects of cyanobacterial cell concentration in immobilized cyanobacterial cells to increase oxygen contents in synthetic wastewater for 120 min. (n=3)

จาก Figure 2 พบว่า เซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียที่มีปริมาณเซลล์ออสซิลลาทอเรีย ปริมาณเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายในน้ำสูงขึ้น โดยเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียที่มีความเข้มข้นร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้ค่าออกซิเจนละลายน้ำสูงที่สุด รองลงมา คือ เซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2.0, 1.5, 1.0 และ 0.5 ตามลำดับโดยเซลล์ตรึงควบคุมที่ไม่มีเซลล์ออสซิลลาทอเรียไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าออกซิเจนละลายน้ำ นอกจากนี้ความสามารถในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำของเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียความเข้มข้นร้อยละ 2.0 และ 3.0 มีความใกล้เคียงกัน ประมาณ 7.0 มก./ล. เป็นระยะเวลา 120 นาที ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์หาอัตราเร็วในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายในน้ำของเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรีย แสดงดัง Figure 3

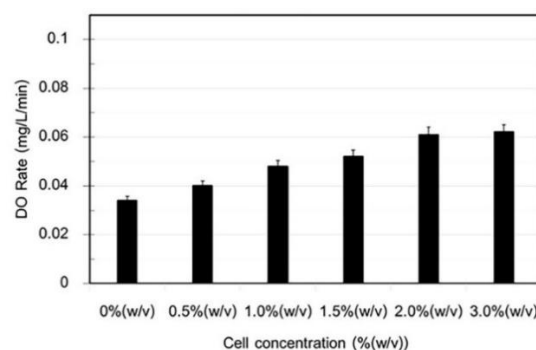


Figure 3 Effects of cyanobacterial cell concentration in immobilized cyanobacterial cells on dissolved oxygen rate in synthetic wastewater for 120 min. (n=3)

จาก Figure 3 พบว่า เซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียที่มีอัตราเร็วในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์ดีที่สุด คือ ความ

เข้มข้นร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร รองลงมา คือ ความเข้มข้นร้อยละ 2.0, 1.5, 1.0 และ 0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ ทั้งนี้เซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียความเข้มข้นร้อยละ 2.0 และ 3.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีอัตราเร็วในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่มีความแตกต่างจากความเข้มข้นอื่น ๆ ที่ใช้ในการวิจัยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ไปทำการศึกษาประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนเปรียบเทียบกับเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระต่อไป

ศึกษาประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้เซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรีย

จากการศึกษาประสิทธิภาพของการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์โดยการเปรียบเทียบระหว่างเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระกับเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรีย ที่มีปริมาณเซลล์ออสซิลลาทอเรียเรียวเท่ากันในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 100 มล. โดยใช้เซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระจำนวน 2 ก. และ เซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียที่มีเซลล์ออสซิลลาทอเรียจำนวน 2 ก. เปรียบเทียบความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำด้วยเครื่องวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำ ทุก ๆ 15 นาที เป็นระยะเวลา 120 นาที แสดงดัง Figure 4

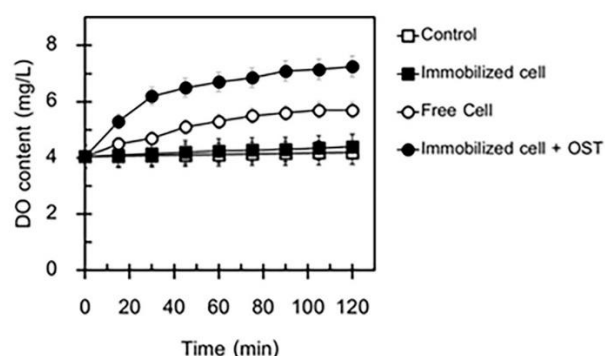


Figure 4 The comparison of free cells, immobilized cells and immobilized cyanobacteria cells to increase oxygen contents in synthetic wastewater for 120 min. (n=3)

จาก Figure 4 พบว่า เซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ได้สูงสุดในระยะเวลา 120 นาที ให้ค่าออกซิเจนละลายน้ำ เท่ากับ 7.25 มก./ล. รองลงมา คือ เซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระ เท่ากับ 5.52 มก./ล. ในขณะที่เซลล์ตรึงที่ไม่มีเซลล์ออสซิลลาทอเรีย และ ภาวะควบคุม ไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าออกซิเจนละลายน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำของเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียและเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระ พบว่าเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียมีประสิทธิภาพในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำได้ดีกว่าเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระประมาณ 1.31 เท่า

วิจารณ์ผลการวิจัย

ไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษา คือ *Oscillatoria* sp. SWU121 แยกได้จากคลองแสนแสบ บริเวณท่าเรือประสานมิตร มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์มีลักษณะเป็นเส้นสายที่มีเซลล์เรียงต่อกันภายในมีรงควัตถุคลอโรฟิลล์สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ มีความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสงคล้ายกับพืช ดังนั้นเมื่อแหล่งน้ำมีไซยาโนแบคทีเรียจึงทำให้เพิ่มปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำให้กับสิ่งมีชีวิตในน้ำได้ (Bualuang et al. 2013; Johnson. 2006; Laloknam & Boonburapong. 2012) และ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Danyuttasilp & Laloknam (2013) ศึกษาการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำคลองแสนแสบในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า ออสซิลลาทอเรีย แอนาปีนา นอสตอก และ สไปรูไลน่า สามารถเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียจากคลองแสนแสบได้ นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำได้ต้องอาศัยปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ได้แก่ ปริมาณสารตั้งต้น ปริมาณ รังควัตถุหรือเซลล์ของสิ่งมีชีวิต อุณหภูมิ และ พีเอชของแหล่งน้ำ และ แสง ดังนั้นการทดลองนี้ใช้น้ำเสียสังเคราะห์จากโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เนื่องจากเมื่อละลายน้ำจะให้ ไอออนของคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และสามารถเปลี่ยนเป็นไอออนของไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) เป็นการจำลองสถานการณ์ที่แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ละลายน้ำ (H_2O) จะมีการเปลี่ยนแปลงไปสู่ไอออนของคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และ ไอออนของไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) ตามวัฏจักรของคาร์บอน (Carbon cycle) และทำให้พืชหรือสิ่งมีชีวิตในน้ำที่มีความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสงดูดซึมเข้าไปเป็นสารตั้งต้นและให้แก๊สออกซิเจนละลายในน้ำ ดังนั้นเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียอิสระที่ใช้ในการศึกษามีความสามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่เป็นไอออนคาร์บอเนตและไอออนไบคาร์บอเนตทุกความเข้มข้นได้จึงสามารถนำไปสู่กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงได้และให้แก๊สออกซิเจนเป็นผลผลิตออกมา และโดยปกติไอออนคาร์บอเนตและไอออนไบคาร์บอเนตเมื่อละลายน้ำจะให้มีความเป็นเบส ซึ่งไซยาโนแบคทีเรียมีความสามารถในการเจริญเติบโตในภาวะที่เป็นเบสได้ดีในช่วงพีเอช 8 – 10 (Bualuang et al. 2013; Montrewisai. 2021; Ying. 2007)

การทำเซลล์ตรึงในสิ่งมีชีวิตส่วนมากใช้ปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ($(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)_n$) และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งที่มีลักษณะใสมีความเหนียวและความยืดหยุ่นโดยการทำปฏิกิริยาต้องใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสม (Mrudula & Shyam. 2012; Daemi & Barikani. 2012; Kaur et al. 2018; Li et al. 2018) มีรายงานที่ทำเซลล์ตรึงไซยาโนแบคทีเรียในการบำบัดน้ำเสียที่มีโลหะหนักใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ($(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)_n$) และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) แตกต่างกัน (Singh et al. 1989; Brouers & Hall. 1986; Lee et al. 1995; Bestawy. 2019; Kosourov. 2014) การศึกษาครั้งนี้ทำการผลิตเซลล์ตรึงโดยดัดแปลงจาก Montrewisai et al. (2021) ที่ศึกษาการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้เซลล์ตรึงจากไซยาโนแบคทีเรียชนิด แอนาปีนา นอสตอก และ สไปรูไลน่า โดยใช้เซลล์ตรึงภาวะที่เหมาะสม คือ สารละลายโซเดียมอัลจิเนต ($(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)_n$) ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลาย

แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งมีความคงทนและความสามารถในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และ เซลล์ตรึงไซยาโนแบคทีเรียมีความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนมากกว่าเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียอิสระ

จากการศึกษาครั้งนี้เซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียมีความสามารถในการเพิ่มออกซิเจนได้มากกว่าเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระ เนื่องจากเซลล์ตรึงเป็นการรวมกลุ่มของเซลล์ไว้ด้วยกันในพื้นที่จำกัดจึงมีการสนับสนุนกันให้เพิ่มกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ด้วยระบบที่ใช้ในการศึกษาเป็นการตั้งไว้ไม่มีการเขย่า ดังนั้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ เซลล์อิสระจะอยู่ที่บริเวณก้นของภาชนะ ในขณะที่เซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียจะมีลักษณะเป็นเม็ดทรงกลมเล็ก ๆ เรียงซ้อนกันเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าฟองอากาศที่เป็นแก๊สออกซิเจนของเซลล์ตรึงจะมีการรวมกันและลอยขึ้นจนสามารถสังเกตได้จากบริเวณเซลล์ตรึง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Montrewisai et al. (2021) เซลล์ตรึงไซยาโนแบคทีเรียมีความสามารถเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์มากกว่าเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียอิสระ ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นแนวทางในการนำเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำต่อไป เนื่องจากเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียมีความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์สูงกว่าเซลล์ออสซิลลาทอเรียแบบอิสระประมาณ 1.31 เท่า

สรุปผลการวิจัย

การผลิตเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียที่มีความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ได้สูงสุด คือ สูตรผสมเซลล์ตรึงที่มีสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ($(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)_n$) ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และมีเซลล์ออสซิลลาทอเรีย ปริมาณ 2.0 ก. ซึ่งเซลล์ตรึงออสซิลลาทอเรียมีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์สูงกว่าเซลล์ออสซิลลาทอเรียอิสระ ประมาณ 1.31 เท่า

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันยุทธศาสตร์ทางปัญญาที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในรูปแบบ R2R (080/2564) ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไปและภาควิชาชีววิทยาที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการทำวิจัย

References

Bestawy, E.E. (2019). Efficiency of immobilized cyanobacteria in heavy metals removal from industrial effluents. *Desalination & Water Treatment*, 159, 66–78.

Brouers, M., & Hall, D.O. (1986). Ammonia & hydrogen production by immobilized cyanobacteria. *Journal of Biotechnology*, 3 (5–6), 307–321.

Bualuang, A., Kongwithaya, S., & Laloknam, S. (2013). Application of Micro-Alga. *Journal of Research Unit on Science, Technology & Environment for Learning*, 4(1), 72–79. (in Thai)

Charoenman, V., Phetprom, N., Boonburapong, B., Bualuang, A., & Laloknam, S. (2021). Optimization of cellulose extraction from filamentous cyanobacteria. In: *Proceedings of 14th University Research Network National Conference*. Bangkok: Srinakharinwirot University, 701–711. (in Thai)

Daemi, H., & Barikani, M. (2012). Synthesis & characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopoly-mannuronate salt & its calcium nanoparticles. *Scientia Iranica*, 19(6), 2023–2028.

Danyuttasilp, Y., & Laloknam, S. (2013). Increasing of oxygen gas in waste water from Saen Sab Canal using filamentous Cyanobacteria. *Advance Science Journal*, 13(2), p. 24– 34. (in Thai)

Johnson, D. (2006). The Manganese–calcium oxide cluster of Photosystem II & its assimilation by the Cyanobacteria. Tallahassee: Department of Chemistry Florida State University.

Kaur, N., Singh, B., & Sharma, S. (2018). Hydrogel for potential food application: Effect of sodium alginate & calcium chloride on physical & morphological properties. *The Pharma Innovation Journal*, 7(7), 142–148.

Kongsook, S., Nasaree, T., Khotso, S., Rungrot, N., Phonchaiya, S., & Wuttisela, K. (2020). Synthesis & characterization of coloured calcium alginate noodles. *Journal of Science & Science Education*, 3(1), 1–7.

Kosourov, S., Leino, H., Murukesan, G., Lynch, F., Sivonen, K., Tsygankov, A.A., Aro, E.M., & Allahverdiyeva, Y. (2014). Hydrogen Photoproduction by Immobilized N_2 -Fixing Cyanobacteria: Understanding the Role of the Uptake Hydrogenase in the Long-Term Process. *Applied & Environmental Microbiology*, 80(18), 5807–5817.

Kumar, M.S., Rajeshwari, A., Johnson, S., Thajuddin, N., & Gunasekaran, M. (2011). Removal of Pb (II) by Immobilized & Free Filaments of Marine Oscillatoria sp. NTMS01 & Phormidium sp. NTMS02. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 87(3), 254–259.

Laloknam, S., & Boonburapong, B. (2012). Potential of Cyanobacteria in Thailand. *Journal of Research Unit on Science, Technology & Environment for Learning*, 3(2), 149–154. (in Thai)

Laloknam, S., & Sirisopana, S. (2011). Learning Achievement & Learning Retention of Local Lower Secondary Students with an Activity Package of Basic Water Quality Tests. *Journal of Research Unit on Science, Technology & Environment for Learning*, 2(2), 119–131. (in Thai)

Laloknam, S., Kanchitanurak, P., Boonburapong, B., Rai, V., & Kongvitthaya, S. (2014). Inorganic & Organic Compounds of Freshwater Filamentous Cyanobacteria under Normal & Salt

- Stress Conditions. *Journal of Chemistry & Chemical Engineering*, 8: 1059–1067.
- Laloknam S., Panjapatanasiri, J., Sookchuay, N., & Klongkian, S. (2017). Cellulose extraction from Macro-Alga. in: *Proceedings of 10th SWU Research National Conference*. Bangkok: Srinakharinwirot University, 701–711. (in Thai)
- Lee, C.M., Lu, C., Lu, W.M., & Chen, P.C. (1995). Removal of Nitrogenous Compounds from Wastewaters using Immobilized Cyanobacteria *Anabaena* CH₃. *Environmental Technology*, 16(8), 701–713.
- Li, J., Ma, J., Chen, S., He, J., & Huang, Y. (2018). Characterization of calcium alginate/deacetylated konjac glucomannan blend films prepared by Ca²⁺ crosslinking & deacetylation. *Food Hydrocolloids*, 82, 363–369.
- Montrewisai, B., Seethongdaeng, T., Baiya, S., Boonburapong, B., Bualuang, A., & Laloknam, S. (2021). Potential of immobilized cyanobacteria on increasing of oxygen contents in synthetic waste water. in: *Proceedings of 14th University Research Network National Conference*. Bangkok: Srinakharinwirot University, 701–711. (in Thai)
- Mrudula, S., & Shyam, N. (2012). Immobilization of *Bacillus megaterium* MTCC 2444 by Ca–alginate entrapment method for enhanced alkaline protease production. *Brazilian Archives of Biology & Technology*. 55(1), 135–144.
- Pollution control department. (2020). *Ground water quality standard*. Retrieved July 15, 2020 from http://pcd.go.th/info_serv/reg_std_water.html
- Poolsawasdi, A., Yadee, S., Boonburapong, B., & Laloknam, S. (2015). Potential of cyanobacterium *Oscillatoria* sp. SWU121 to promote the rice growth under salt stress condition. *Journal of Research Unit on Science, Technology & Environment for Learning*, 6(2), 243–255. (in Thai)
- Rahman, R.N., Ghaza, F.M., Salleh, A.B., & Basri, M. (2006). Biodegradation of hydrocarbon contamination by immobilized bacterial cells. *Journal of Microbiology*, 44(3), 354–359.
- Sarma, M.K., Kaushik, S., & Goswami, P. (2016). Cyanobacteria: A metabolic power house for harvesting solar energy to produce bio–electricity & biofuel. *Biomass & Bioenergy*, 90, 187–201.
- Shen, Y., Gao, J., & Li, L. (2017). Municipal wastewater treatment via co-immobilized microalgal–bacterial symbiosis: Microorganism growth & nutrients removal. *Bioresource Technology*, 1(243), 905–913.
- Singh, S.P., Verma, S.K., Singh, R.K., & Pandey, P.K. (1989). Copper uptake by free & immobilized cyanobacterium. *FEMS Microbiology Letters*, 60(2), 193–196.
- Suktalord, P., Pratsaphan, R., Rakchad, S., Petchpool, T., Kerdsoombat, P., & Laloknam S. (2016). The Use of Alga as Water Quality Indicator in Sansab Canal. *Journal of Research Unit on Science, Technology & Environment for Learning*, 7(1), 14–27. (in Thai)
- Thajuddin, N., & Subramanian, G. (2005). Cyanobacterial biodiversity & potential applications in biotechnology. *Current science*, 89, 47–57.
- Ying, Z. (2007). Immobilized cell fermentation for production of chemicals & fuels. *Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources*, 373–396.
- Zhang, Y.Q., Tao, M.L., Shen, W.D., Zhou, Y.Z., Ding, Y., Ma, Y., & Zhou, W.L. (2004). Immobilization of L–asparaginase on the microparticles of the natural silk sericin protein & its characters. *Biomaterials*, 25(17), 3751–3759

Research article

Production of immobilized cyanobacteria *oscillatoria* for increasing of oxygen contents in synthetic wastewater

Burin Montrewisai¹, Teerawat Seethongdaeng¹, Songklod Baiya²,
Bongkoj Boonburapong¹, Aporn Bualuang³ and Surasak Laloknam^{1*}

¹Department of General Science, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Watthana, Bangkok 10110

²Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Watthana, Bangkok 10110

³Chulabhorn International College of Medicine, Thammasat University, Khlong Luang, Pathumthani 12120

ARTICLE INFO

Article history

Received: 22 July 2021

Revised: 3 August 2021

Accepted: 29 August 2021

Online published: 30 September 2021

Keyword

Immobilized cells Cyanobacteria

Dissolved oxygen

ABSTRACT

This research aimed to investigate the ability of cyanobacteria *Oscillatoria* sp. immobilized cells to increase dissolved oxygen (DO) contents in synthetic wastewater. The optimal immobilized cyanobacteria *Oscillatoria* cell was studied using various concentration of fresh cell at 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 and 3.0 % (w/v) in 2.0% (w/v) sodium alginate solution ((C₆H₈O₆)_n) and 1.0 % (w/v) calcium chloride solution (CaCl₂). The immobilized cyanobacteria cell was incubated in synthetic wastewater under white light and room temperature for 120 minutes. The DO contents were measured using DO meter. The optimal formula of the immobilized cell was 2.0% (w/v) *Oscillatoria* sp. cell in the optimal formula of immobilized cell solution showed the highest DO contents (7.25 mg/L). The *Oscillatoria* sp. immobilized cells have a higher potential of increasing DO contents than free cells for 1.31 folds. This finding suggested that the immobilized cyanobacteria could be used for wastewater treatment.

*Corresponding author

E-mail address: surasak2515@hotmail.com (S. Laloknam)

Online print: 30 September 2021 Copyright © 2021. This is an open access article, production and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2021.16>