



การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากบ่อบำบัดแบบไร้อากาศของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตร
เพื่อการบำบัดและการผลิตน้ำมัน
Cultivation of Microalgae in Anaerobic Digester Effluent from Agro-Industry
for Wastewater Treatment and Oil Production

ธารินี ศศิบุญยรัตน์
Tarinee Sasibunyarat

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Engineering in Environmental Engineering
Prince of Songkla University

2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากบ่อบำบัดแบบไร้อากาศของโรงงาน
อุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการบำบัดและการผลิตน้ำมัน

ผู้เขียน นางสาวธารินี ศศิบุญรัตน์

สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก**คณะกรรมการสอบ**

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ไชยประพัทธ์)

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรีรัตน์ สุกุลรัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณภา ชูฤทธิ์)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาศ เขียรศิลป์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยศรี สุขสาโรจน์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ไชยประพัทธ์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาศ เขียรศิลป์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรม
สิ่งแวดล้อม

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มี
ส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ไชยประพัทธ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นางสาวธารินี ศศิบุญรัตน์)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวธารินี ศศิบุญรัตน์)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากบ่อบำบัดแบบไร้อากาศของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการบำบัดและการผลิตน้ำมัน
ผู้เขียน	นางสาวธารินี ศศิบุญรัตน์
สาขาวิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา	2557

บทคัดย่อ

น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจาก 4 โรงงานอุตสาหกรรม ที่คัดเลือกนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) แบบกะ และจากการประเมินผลของความเข้มแสงและการเจือจางน้ำทิ้ง พบว่าน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรมีความเหมาะสมใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้ 0.96 กรัมต่อลิตรของน้ำเสีย ตามมาด้วยน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปอาหารทะเล โรงงานน้ำยางข้น และโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่มีการเจริญเติบโตของสาหร่ายเท่ากับ 0.82, 0.76 และ 0.31 กรัมต่อลิตรของน้ำเสีย ตามลำดับ โดยสาหร่ายคลอเรลลา สามารถบำบัดไนโตรเจนทั้งหมดได้ร้อยละ 76.6-94.5 และกำจัดฟอสฟอรัสทั้งหมดร้อยละ 43.8-62.5 ความเข้มแสงเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการใช้ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในน้ำทิ้งจนถึง 6,000 lux ในขณะที่การเจือจางน้ำทิ้งมากกว่า 2 เท่า ส่งผลให้การเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่ายลดลง เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของสาหร่ายและประสิทธิภาพในการกำจัดสารอาหารในน้ำทิ้งที่ความเข้มแสง 9,000 ลักซ์ อัตราการเจือจางของน้ำทิ้งเป็น 2 เท่า ที่ระยะเวลา 32 วัน สาหร่ายคลอเรลลามีการเจริญเติบโตได้สูงที่สุดในสภาวะที่ศึกษาเท่ากับ 1.1 กรัมต่อลิตรของน้ำเสีย มีการกำจัดไนโตรเจนทั้งหมด แอมโมเนีย ไนเตรท ฟอสฟอรัสทั้งหมด และซีโอดี เท่ากับร้อยละ 92.8, 98.3, 47.0, 10.8 และ 44.7 ตามลำดับ แบบจำลองสมการถดถอยมีนัยสำคัญทางสถิติได้ถูกสร้างขึ้น และสามารถอธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัยความเข้มแสง ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้น และระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายต่อการผลิตไขมัน สามารถทำนายการผลิตไขมันจากสาหร่ายได้สูงสุดถึง 201.5 มิลลิกรัมต่อลิตรของน้ำที่เพาะเลี้ยง ในช่วงค่าตัวแปรที่ใช้ในการศึกษา องค์ประกอบของกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ขึ้นอยู่กับความเข้มแสง โดยกรดปาล์มติกเป็นกรดไขมันหลักที่พบได้มากถึงร้อยละ 47.1

Thesis Title	Cultivation of microalgae in Anaerobic Digester Effluent from Agro-industry for wastewater treatment and oil production
Author	Miss Tarinee Sasibunyarat
Major Program	Environmental Engineering
Academic Year	2014

ABSTRACT

Anaerobic digester effluents from four major industries were screened with batch cultivation of *Chlorella* sp. and effects of light intensity and digestate dilution were evaluated. Pig farm digestate was most suitable as growth medium generating $0.96 \text{ g}_{\text{dry}}/\text{L}_{\text{medium}}$ followed by seafood, rubber latex, and palm oil mill digestate at 0.82, 0.76, and $0.31 \text{ g}_{\text{dry}}/\text{L}_{\text{medium}}$, in order. *Chlorella* sp. could remove total nitrogen 76.6-94.5 percent and total phosphorus 43.8-62.5 percent. Light intensity had strong influence on growth and heterotrophic metabolism up to 6000 lux while the dilution of digestate beyond a factor of two diminished growth potential and lipid content. Light intensity 9,000 lux, digestate dilution of D2 and time of cultivation at 32 days gave the highest growth of *Chlorella* sp. at $1.1 \text{ g}_{\text{dry}}/\text{L}_{\text{medium}}$ while the removal of nitrogen, ammonia, nitrate, total phosphorus and COD were 92.8, 98.3, 47.0, 10.8 and 44.7 percent, respectively. A significant quadratic regression model was constructed to describe interaction of light intensity (LI), initial phosphorus concentration (T_{Pi}) and time of cultivation (TC) to lipid production. The highest lipid production predicted was $201.5 \text{ mg}/\text{L}_{\text{medium}}$ within the studied variables range. Fatty acid composition was dependent on LI of which palmitic acid was most predominant at 47.1 percent.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาอย่างสูงในการให้คำปรึกษา คำแนะนำ จากรองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ไชยประพัทธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และรองศาสตราจารย์ ดร. เบญจมาศ เขียรศิลป์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาต่างๆ ถ่ายทอดความรู้ ตลอดจนช่วยตรวจสอบข้อบกพร่องต่างๆ แก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่ และให้กำลังใจเป็นอย่างดี จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี นอกจากนี้ขอขอบคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมอันเป็นประโยชน์ การทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ ทูนางบประมาณแผ่นดิน ภายใต้สัญญาเลขที่ ENG570183S และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ บริษัท เหลียงเฮงหลีฟาร์ม จำกัด จ.สงขลา บริษัท แปซิฟิกแปรรูปสัตว์น้ำ จำกัด บริษัท ทักษิณปาล์ม (2521) จำกัด และบริษัท ฉลองอุตสาหกรรมน้ำยางชั้น จำกัด ที่กรุณาอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างน้ำเสียเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้คำแนะนำการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ สมาชิกในห้องปฏิบัติการวิจัยก๊าซชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์ ทุกท่านที่คอยให้คำปรึกษา ให้กำลังใจ และให้คำช่วยเหลือในงานวิจัยด้วยดีตลอด

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณสมาชิกในครอบครัว ศศิบุญรัตน์ ที่ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจในการต่อสู้กับปัญหาและอุปสรรคต่างๆ จนสามารถทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ธารินี ศศิบุญรัตน์

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(13)
รายการตารางภาคผนวก	(14)
รายการรูปประกอบ	(16)
รายการรูปประกอบภาคผนวก	(18)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(19)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 บทตรวจเอกสาร	4
2.1 สาหร่าย	4
2.2 ลักษณะทางชีววิทยา	4
2.3 การเจริญเติบโตของสาหร่าย	5
2.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย	6
2.4.1 การเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวครั้งเดียว (Batch culture)	6
2.4.2 การเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวแบบต่อเนื่อง (Continuous culture)	6
2.4.3 การเพาะเลี้ยงและการเก็บเกี่ยวแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-Continuous culture)	6
2.5 สภาวะการเลี้ยงสาหร่าย	7
2.5.1 ออโตโทรฟิก (Autotrophic)	7
2.5.2 เฮเทอโรโทรฟิก (Heterotrophic)	7
2.5.3 มิกโซโทรฟิก (Mixotrophic)	7
2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย	7
2.6.1 แสง	7
2.6.2 พีเอช	8

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6.3 อุณหภูมิ	9
2.6.4 การกวนผสมผสาน	9
2.6.5 ความเค็ม	10
2.6.6 คาร์บอน	10
2.6.7 ไนโตรเจน	11
2.6.8 ฟอสฟอรัส	11
2.7 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย	12
2.7.1 ประโยชน์ต่อระบบนิเวศน์	12
2.7.2 ประโยชน์ด้านการเกษตร	12
2.7.3 ประโยชน์ต่อต้านแก๊สซักรรรม	12
2.7.4 ใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหาร	12
2.7.5 เชื้อเพลิงชีวภาพ	12
2.8 ไบโอดีเซล (Biodiesel)	13
2.9 น้ำมันสาหร่ายขนาดเล็ก	14
2.9.1 กระบวนการสังเคราะห์ไขมันในสาหร่ายขนาดเล็ก	14
2.10 น้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม	17
2.10.1 ฟาร์มสุกร	17
2.10.2 โรงงานแปรรูปอาหารทะเล	18
2.10.3 โรงงานน้ำยางชั้น	18
2.10.4 โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	18
2.11 การบำบัดน้ำเสีย	19
2.12 การบำบัดน้ำเสียจากสาหร่าย	20
2.13 การออกแบบการทดลอง (Design of Experiment, DOE)	22
2.14 สมการการเจริญเติบโตของสาหร่าย	23
2.14.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate)	23
2.14.2 สมการ Monod's equation	24
2.14.3 สมการ Gompertz	24

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า	
3	วิธีดำเนินงานวิจัย	26
3.1	การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ	27
3.2	การเตรียมน้ำทิ้ง	28
3.3	การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย	28
3.4	การทดลองที่ 1 ศึกษาการเจริญเติบโตและการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงาน 4 ประเภท	30
3.5	การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ เพื่อประเมินผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียและการผลิตน้ำมันของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร	31
3.6	การวิเคราะห์การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพในการกำจัดสารอาหารในน้ำทิ้งจากสาหร่าย	34
	3.6.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย	34
	3.6.2 ประสิทธิภาพในการกำจัดสารอาหาร	34
3.7	การสกัดน้ำมัน	35
3.8	การวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันจากสาหร่าย	36
4	ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	37
4.1	ลักษณะน้ำทิ้งจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศจากโรงงานอุตสาหกรรม 4 ประเภท	37
4.2	การทดลองที่ 1 ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงาน 4 ประเภท	38
	4.2.1 การเจริญเติบโตของสาหร่ายจากน้ำทิ้งของโรงงาน 4 ประเภทและอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux	39
	4.2.2 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของสาหร่าย	43
	4.2.2.1 การกำจัดไนโตรเจน	43
	4.2.2.2 การกำจัดฟอสฟอรัส	44

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 การทดลองที่ 2 ผลของความเข้มข้น และความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ จากฟาร์มสุกรที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย	46
4.3.1 การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13	47
4.3.2 การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งฟาร์มสุกรที่ความเข้มข้น และความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ	49
4.3.3 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 โดยสาหร่าย ที่ความเข้มข้นและความเข้มข้น ของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ	52
4.3.3.1 การกำจัดซีโอดี	52
4.3.3.2 การกำจัดไนโตรเจน	56
4.3.3.3 การกำจัดฟอสฟอรัส	61
4.4 การผลิตน้ำมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร	64
4.4.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสะสมไขมันจากสาหร่าย โดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์	67
4.5 การวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันจากสาหร่าย	71
5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	74
5.1 บทสรุป	74
5.2 ข้อเสนอแนะ	75
บรรณานุกรม	76
ภาคผนวก	86
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ	87
ภาคผนวก ข ผลการเจริญเติบโต และการลดลงของสารอาหารของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร เลี้ยงเชื้อ และน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ	92
ภาคผนวก ค ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	109
ภาคผนวก ง โค้ดคำสั่งการคำนวณเชิงเลขโดยใช้โปรแกรม Matlab	115
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์กรดไขมันของสาหร่ายโดยเครื่อง GC-FID	117

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ฉ การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน	119
ประวัติผู้เขียน	128

รายการตาราง

ตาราง	หน้า
2-1 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและไขมันของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> โดยการเลี้ยงแบบสภาวะต่างๆ	7
2-2 ปริมาณน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก	16
2-3 ชนิดของกรดไขมันที่พบในสาหร่ายสายพันธุ์ต่างๆ	17
2-4 สรุปลักษณะน้ำเสียที่ออกจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศจากโรงงานอุตสาหกรรม 4 ประเภท	19
3-1 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์ลักษณะน้ำทิ้งจากระบบบำบัดผลิตก๊าซชีวภาพ	27
3-2 อาหารเลี้ยงเชื้อ สูตร Modified Chu 13	29
3-3 องค์ประกอบของ Micro element ปริมาตร 1 ลิตร	29
3-4 ความเข้มข้นและระดับความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย	32
3-5 พารามิเตอร์ และความถี่ในการวิเคราะห์น้ำทิ้งหลังจากการเลี้ยงสาหร่าย	35
4-1 ลักษณะน้ำทิ้งจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศของโรงงาน 4 ประเภท	37
4-2 ลักษณะน้ำทิ้งที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ผ่านปรับสภาพและการเจือจางของโรงงาน อุตสาหกรรม 4 ประเภท	38
4-3 ลักษณะน้ำทิ้งจากฟาร์มหมูที่ความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ เพื่อใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย	47
4-4 ศักยภาพการเจริญเติบโตของสาหร่าย อัตราการเจริญเติบโตสาหร่าย และเวลาที่สาหร่ายใช้ในการปรับตัวก่อนเพิ่มจำนวนที่ได้จาก Gompertz equation ที่ความเข้มข้นและความเข้มข้นของน้ำทิ้งของฟาร์มสุกรที่ระดับต่างๆ	51
4-5 ความเข้มข้นของซีโอทีในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร ที่สภาวะความเข้มข้นและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ	55
4-6 Lipid content และ Lipid production จากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งฟาร์มสุกร ที่สภาวะความเข้มข้นและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ	66
4-7 ค่า Coefficient estimate และ p-values ของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อ Lipid production ของสาหร่าย	67
4-8 เปรียบเทียบองค์ประกอบของไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงจาก PIG ที่ความเข้มข้นต่างๆ วันที่ 32 กับกรดไขมันของงานวิจัยอื่นๆ	72

รายการตารางภาคผนวก

ตาราง		หน้า
ข-1	การเจริญเติบโตของสาหร่าย ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่สภาวะความเข้มแสงต่างๆ	92
ข-2	การเจริญเติบโตของสาหร่าย ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสีย แบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux	93
ข-3	ความเข้มข้นของไนโตรเจนรวม (TN) ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux	95
ข-4	ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสรวม (TP) ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux	97
ข-5	การเจริญเติบโตของสาหร่าย ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux	99
ข-6	ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux	101
ข-7	ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux	103
ข-8	ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 6,000 lux	105
ข-9	ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 9,000 lux	107

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตาราง		หน้า
ค-1	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของซีโอดี ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 10 โดยเฉลี่ยที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux ที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3	109
ค-2	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของซีโอดี ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 22 โดยเฉลี่ยที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux	110
ค-3	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของซีโอดี ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 32 โดยเฉลี่ยที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux	111
ค-4	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid content จากเซลล์สาหร่าย ในวันที่ 12 โดยเฉลี่ยที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux	112
ค-5	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid content จากเซลล์สาหร่าย ในวันที่ 22 โดยเฉลี่ยที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux	112
ค-6	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid content จากเซลล์สาหร่าย ในวันที่ 32 โดยเฉลี่ยที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux	113
ค-7	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid productivity ในวันที่ 12 โดยเฉลี่ยที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux	113
ค-8	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid productivity ในวันที่ 22 โดยเฉลี่ยที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux	114
ค-9	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid productivity ในวันที่ 32 โดยเฉลี่ยที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux	114

รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
2-1	สาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i>	5
2-2	กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย	6
2-3	กระบวนการเปลี่ยนแปลงพลังงานจากสาหร่าย	13
2-4	ปฏิกิริยาเคมีทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชันในการผลิตไบโอดีเซล	14
2-5	กระบวนการสังเคราะห์ไขมันภายในเซลล์ <i>Chlorella vulgaris</i>	15
2-6	ภาพสามมิติที่ได้จากโปรแกรม RSM	22
3-1	แผนผังสรุปขั้นตอนการดำเนินงานทดลอง	26
3-2	ตัวอย่างน้ำทิ้งที่ผ่านการกรอง	28
3-3	สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก สายพันธุ์ <i>Chlorella</i> sp. (a) ภาพถ่ายสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000X และ (b) การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp	29
3-4	อุปกรณ์สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย	31
4-1	การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง 3,000 lux	39
4-2	การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ จากโรงงานอุตสาหกรรมทั้ง 4 ประเภท	40
4-3	ประสิทธิภาพในการบำบัดไนโตรเจนรวมในน้ำทิ้งของโรงงานทั้ง 4 ประเภท โดยสาหร่าย เลี้ยงที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux	44
4-4	ประสิทธิภาพในการบำบัดฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งของโรงงานทั้ง 4 ประเภท โดยสาหร่าย เลี้ยงที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux	45
4-5	การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux โดยสัญลักษณ์ คือค่าที่ได้จากการทดลอง และเส้นตรงคือ ค่าที่ได้จากการใช้สมการ Gompertz equation	48
4-6	การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากระบบน้ำเสียบำบัดแบบไร้อากาศของฟาร์มสุกร (PIG) ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (c) 9,000 lux โดยสัญลักษณ์ คือค่าที่ได้จากการทดลอง และเส้นตรงคือ ค่าที่ได้จากการใช้สมการ Gompertz equation	50

รายการรูปประกอบ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4-7	ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของสาหร่ายที่เลี้ยงในถัง PIG และ อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (C) 9,000 lux	54
4-8	ประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนทั้งหมดของสาหร่ายที่เลี้ยงในถัง PIG และ อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (C) 9,000 lux	58
4-9	ประสิทธิภาพการกำจัดแอมโมเนียของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (C) 9,000 lux	59
4-10	ประสิทธิภาพการกำจัดไนเตรทของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (C) 9,000 lux	60
4-11	ประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัสของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (C) 9,000 lux	63
4-12	ความสัมพันธ์ระหว่าง Lipid production ที่ได้จากการทดลองและการทำนายด้วยแบบจำลอง	68
4-13	กราฟพื้นผิวแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มแสง ระยะเวลา และความเข้มข้นฟอสฟอรัสเริ่มต้น ที่มีผลต่อปริมาณ Lipid productivity (a) ที่ TP=20.9 mg/L (b) ที่ความเข้มแสง 9,000 lux และ (c) เวลาการเลี้ยงสาหร่ายวันที่ 22	70

รายการรูปประกอบภาคผนวก

รูปที่		หน้า
จ-1	โครมาโทแกรมของชนิดกรดไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ในวันที่ 32 ที่สภาวะความเข้มแสง 9,000 lux	117
จ-2	โครมาโทแกรมของชนิดกรดไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 32 โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น D2 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux	117
จ-3	โครมาโทแกรมของชนิดกรดไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 32 โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น D2 ที่สภาวะความเข้มแสง 6,000 lux	118
จ-4	โครมาโทแกรมของชนิดกรดไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 32 โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น D2 ที่สภาวะความเข้มแสง 9,000 lux	118

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

D1	= ไม่มีการเจือจางน้ำเสีย
D2	= เจือจางน้ำเสีย 2 เท่า
D3	= เจือจางน้ำเสีย 3 เท่า
g/L	= กรัมต่อลิตร
LAT	= น้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศของโรงงานนี้ย่างชั้น
LI	= ความเข้มแสง
Lux	= หน่วยการวัดค่าความสว่างของแสง
mg/L	= มิลลิกรัมต่อลิตร
mg/Lmedium	= มิลลิกรัมต่อลิตรสารอาหาร
mL	= มิลลิลิตร
NH ₄	= แอมโมเนียไนโตรเจน
PAL	= น้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม
PIG	= น้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศของฟาร์มสุกร
RSM	= Response Surface Methodology
SD	= Standard Derivation คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
SEA	= น้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศของโรงงานแปรรูปอาหารทะเล
SS	= Suspended Solid คือ ส่วนของของแข็งที่ไม่ละลายน้ำและแขวนลอยอยู่ในน้ำได้
TC	= เวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย
TN	= Total nitrogen คือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ประกอบด้วยอินทรีย์ไนโตรเจน และแอมโมเนียไนโตรเจน
TP	= ปริมาณฟอสฟอรัส
%	= เปอร์เซ็นต์

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

เชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น ถ่านหิน น้ำมันปิโตรเลียม และก๊าซธรรมชาติ ใช้แล้วหมดไป ไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ และก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อม เช่น ปัญหาโลกร้อน (Global warming) จากการเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิล ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปสะสมในชั้นบรรยากาศ เกิดเป็นปรากฏการณ์เรือนกระจก (Green house effect) ทำให้โลกมีอุณหภูมิสูงขึ้น ส่งผลให้สภาพภูมิอากาศของโลกเกิดการเปลี่ยนแปลง (Climatic changes) นอกจากนี้ปัญหาหาค่าของเชื้อเพลิงสูงขึ้น ทำให้ค่าครองชีพของประชาชนสูงขึ้นตามไปด้วย (Amin, 2009) ดังนั้นการหาแหล่งพลังงานที่สะอาดอื่นมาทดแทนปิโตรเลียม เช่น พลังงานไฮโดรเจน (Hydrogen Energy) พลังงานน้ำ (Hydro Energy) พลังงานแสงอาทิตย์ (Cellular Energy) และไบโอดีเซล (Biodiesel) พลังงานเหล่านี้ จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจทางหนึ่งสำหรับใช้เป็นพลังงานทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิล

น้ำมันไบโอดีเซล (biodiesel) เป็นพลังงานสะอาด (ไม่ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกสู่ชั้นบรรยากาศ) นำกลับมาใช้ใหม่ได้ สามารถทดแทนพลังงานและมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าการใช้เชื้อเพลิงปิโตรเลียมได้ (Li *et al.*, 2011) อีกทั้งสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ ในการผลิตไบโอดีเซลเป็นวิธีการใช้ปฏิกิริยาทางเคมีเรียกว่า ทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน ซึ่งเป็นการทำปฏิกิริยาเคมีระหว่างไตรกลีเซอไรด์ที่ได้จากไขมันของสิ่งมีชีวิต เช่น น้ำมันจากพืชและไขมันจากสัตว์ เดิมการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลสกัดจากพืชน้ำมัน เช่น ปาล์มน้ำมัน ถั่วเหลือง เป็นต้น ซึ่งต้องใช้พื้นที่ในการปลูกมากเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันตามต้องการ (Gao *et al.*, 2009) จึงมีการวิจัยเพื่อหาพืชชนิดอื่นที่นำมาแทนน้ำมันไบโอดีเซล จากการศึกษาของ Gouveia and Oliveira (2009) พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กบางชนิด เช่น *Scenedesmus sp.* *Chlorella sp.* *Dunaliella sp.* *Neochloris oleoabundans* และ *Spirulina maxima* สามารถสร้างไขมันปริมาณมากภายในเซลล์เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม และสาหร่ายขนาดเล็กมีอัตราการสังเคราะห์แสงที่มีประสิทธิภาพสูง ให้มวลชีวภาพมากและเร็ว อีกทั้งยังให้ปริมาณไขมันด้วย (Miao *et al.*, 2006) นอกจากนี้องค์ประกอบไขมันระหว่างของพืชน้ำมันกับของสาหร่ายไม่มีความแตกต่างกันมากนัก นั่นแสดงว่าไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถนำมาใช้ผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้ และจากผลการศึกษาของ Liu *et al.* (2007), Widjaja *et al.* (2009), Converti *et al.* (2009) และ Alyabyev *et al.* (2007) พบว่าสาหร่ายคลอเรลลา ที่เลี้ยงในสภาวะที่แตกต่าง เช่น อุณหภูมิ ความ

เป็นกรด-ต่าง ความเข้มข้น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และแหล่งคาร์บอน จะทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตและสะสมไขมันปริมาณต่างกัน ซึ่งจากงานวิจัยของ Xu *et al.* (2006) พบว่าเมื่อสาหร่ายถูกเลี้ยงที่สภาวะ Autotrophic ซึ่งหมายถึงสาหร่ายที่ใช้อนินทรีย์คาร์บอนที่อยู่ในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งพลังงาน พบว่าสาหร่ายมีการสะสมไขมันได้ถึง 33.0-38.0% เมื่อเทียบกับสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะ Heterotrophic ซึ่งเป็นสภาวะการเลี้ยงสาหร่าย โดยใช้สารอินทรีย์คาร์บอนเพียงอย่างเดียว เช่น กลูโคส กาแลคโตส และซูโคส พบว่าสาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่า และสาหร่ายสามารถสะสมไขมันในเซลล์ได้เพียง 21.0%

ในกระบวนการผลิตและการใช้น้ำในกิจกรรมต่างๆ ของโรงงานอุตสาหกรรมและฟาร์มปศุสัตว์ อาทิเช่น ฟาร์มสุกร โรงงานแปรรูปอาหารทะเล โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และโรงงานน้ำยางข้น ได้ก่อให้เกิดน้ำเสียที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ปริมาณสูงซึ่งเมื่อผ่านการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศแล้ว พบว่าน้ำทิ้งยังประกอบไปด้วยของแข็งแขวนลอย และสารละลายในน้ำ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และคาร์บอน เป็นต้น (Wu *et al.*, 2012) ซึ่งสารอาหารเหล่านี้สามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย อีกทั้งยังเป็นการช่วยในการบำบัดน้ำเสียของโรงงานได้อีกทางหนึ่ง

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทำการศึกษาการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายโดยการเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ออกจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้งทางกายภาพและทางเคมี รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งและหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำมันของสาหร่ายเพื่อให้ได้ผลผลิตและมีประสิทธิภาพสูงสุด

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

(1) เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) โดยการเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศของโรงงานอุตสาหกรรมทั้ง 4 ประเภท ได้แก่ ฟาร์มสุกร, โรงงานแปรรูปอาหารทะเล, โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และโรงงานน้ำยางข้น

(2) เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp.

(3) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งและการผลิตน้ำมันของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp.

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ประเภทน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรม ความเข้มแสง และความเข้มข้นน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ที่ทำให้เกิดประสิทธิภาพในบำบัดน้ำเสียและการผลิตไขมันสูงสุด อีกทั้งผลจากงานวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาการผลิตไขมันจากสาหร่ายให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

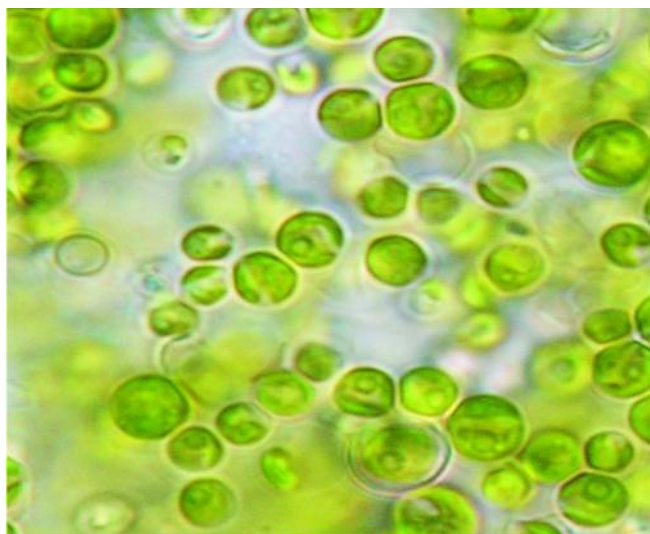
2.1 สาหร่าย

สาหร่ายสีเขียวจัดเป็นสิ่งมีชีวิตแบบยูคาริโอต เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว มีรงควัตถุที่เรียกว่า คลอโรฟิลล์ สามารถสังเคราะห์แสงได้ (Photosynthesis) อีกทั้งทนต่อสภาวะแวดล้อมได้ดี เช่น สามารถทนต่ออุณหภูมิ ความขุ่น และพีเอช เป็นต้น เนื่องจากสาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน (Mata *et al.*, 2010) เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น น้ำจืด น้ำเค็ม และในดิน สามารถดำรงชีวิตได้หลายรูปแบบ เช่น ดำรงชีวิตแบบยึดติดอยู่บนก้อนหิน (Epilithic) อยู่ในโคลนหรือทราย (Epipellic) และดำรงชีวิตอย่างอิสระ หรืออยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นแบบ symbiosis เช่น พารามีเซียม ไฮดรา โปรโตซัว และฟองน้ำ เป็นต้น การจำแนกสายพันธุ์อาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมี สามารถจัดอยู่ในลำดับอนุกรมวิธาน ดังนี้

อาณาจักร (Kingdom)	Plantae
หมวด (Division)	Chlorophyta
ชั้น (Class)	Chlorophyceae
อันดับ (Order)	Chlorococcales
วงศ์ (Family)	Chlorococcoaceae
สกุล (Genus)	<i>Chlorella</i>

2.2 ลักษณะทางชีววิทยา

Chlorella sp. มีลักษณะเด่นคือ เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว มีขนาดเล็กมาก (เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-10 ไมโครเมตร) เซลล์กลมหรือรูปไข่ ผนังเซลล์ค่อนข้างบาง แสดงดังรูปที่ 2-1 ภายในเซลล์ประกอบด้วยคลอโรพลาสต์รูปถ้วยขนาดใหญ่ มีนิวเคลียสขนาดเล็ก ไมโทคอนเดรียอยู่ข้างในคลอโรพลาสต์ การสืบพันธุ์ส่วนใหญ่เป็นแบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างออโตสปอร์ใน mather cell ขนาดเล็กจำนวน 2-16 เซลล์ ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่มีการเคลื่อนที่ และในแต่ละออโตสปอร์จะพัฒนาเหมือนเซลล์แม่ แต่ต่างกันที่ออโตสปอร์จะมีขนาดเล็กกว่า อีกทั้งมีการแบ่งเซลล์รวดเร็วจึงไม่ค่อยพบเซลล์คลอเรลลาในระยะไมโทซิส



รูปที่ 2-1 *Chlorella vulgaris*

ที่มา: Kingdom Protista, (2558)

2.3 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

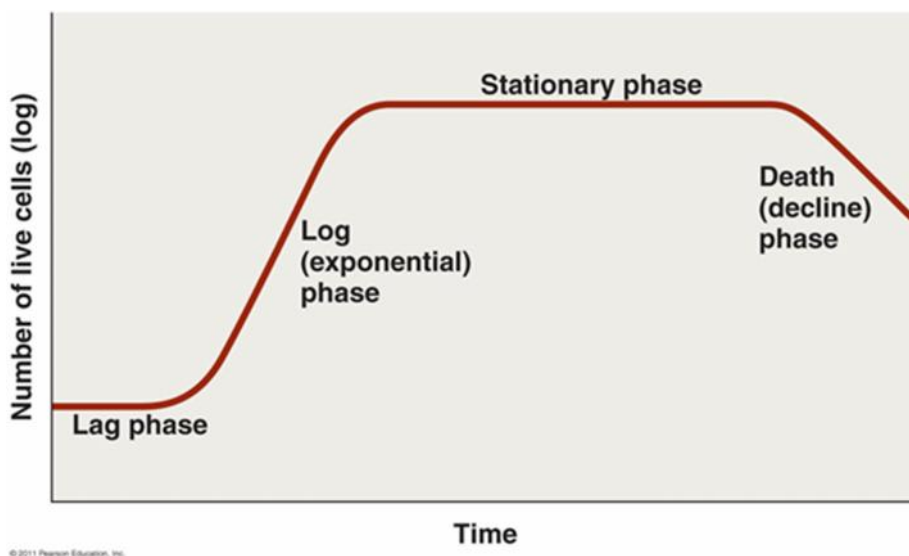
การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดซึ่ง (Batch Culture) เป็นการนำสาหร่ายมาเลี้ยงในสารอาหารใหม่ เพื่อให้มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่ในที่สุดการเจริญเติบโตนี้จะลดลงเนื่องจากสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มหมดลง (Richmond.,1983) ซึ่งจากรูปที่ 2-2 สามารถแบ่งกราฟแสดงช่วงการเจริญเติบโต ซึ่งแบ่งออกเป็น 6 ระยะดังนี้

(1) ระยะปรับตัว (Lag Phase) เป็นช่วงที่สาหร่ายมีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ในระยะนี้ยังไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ สาหร่ายจะผ่านระยะนี้เร็วหรือช้า ขึ้นกับความเหมาะสมของสภาพแวดล้อม เช่น สารอาหาร ความเข้มแสง อุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยง เป็นต้น

(2) ระยะเติบโตทวีคูณ (Exponential Phase) เป็นช่วงที่มีการแบ่งเซลล์และเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว มีเมตาบอลิซึมสูงสุด จึงมีอัตราการเจริญสูงสุด

(3) ระยะคงที่ (Stationary Phase) เป็นช่วงที่จำนวนของสาหร่ายมีปริมาณคงที่ เซลล์สาหร่ายไม่มีการเพิ่มจำนวน หรือมีอัตราการเกิดเท่ากับอัตราการตาย อีกทั้งในช่วงนี้เกิดการขาดแคลนสารอาหารที่สำคัญ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น ทำให้การยับยั้งการเจริญเติบโต ทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตช้าลง

(4) ระยะตาย (Death Phase) เป็นระยะที่เซลล์หยุดการเจริญเติบโต หรือมวลสาหร่ายเริ่มลดลง เนื่องจากสารอาหารหมดลงและสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม เซลล์สาหร่ายเริ่มตายเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ



รูปที่ 2-2 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย

ที่มา: Prince geogre's community college (2558)

2.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยพื้นฐานแล้วแบ่งเป็น 3 วิธี คือ การเพาะเลี้ยงแบบการเก็บเกี่ยวแบบครั้งเดียว (Batch culture) การเพาะเลี้ยงแบบการเก็บเกี่ยวแบบต่อเนื่อง (Continuous culture) และการเพาะเลี้ยงแบบการเก็บเกี่ยวแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-Continuous culture)

2.4.1 การเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวครั้งเดียว (Batch culture)

การเพาะเลี้ยงโดยการเติมสารอาหารลงไปครั้งเดียวแล้วให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตไปเรื่อยๆ เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตเต็มที่จึงทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตออกหมด

2.4.2 การเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวแบบต่อเนื่อง (Continuous culture)

การเพาะเลี้ยงโดยการเติมสารอาหารเข้าไป และเอาเซลล์สาหร่ายออกตลอดเวลา ซึ่งการเติมสารอาหารเข้าและเก็บผลผลิตออกต้องมีปริมาณคงที่

2.4.3 การเพาะเลี้ยงและการเก็บเกี่ยวแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-Continuous culture)

การเพาะเลี้ยงโดยการเติมสารอาหารเป็นประจำ หรือวันเว้นวัน ขึ้นอยู่กับสารอาหารที่มีอยู่ในระบบ เมื่อทำการเก็บผลผลิตออกจะตามด้วยการเติมสารอาหารเข้าสู่ระบบอีกครั้ง เท่ากับปริมาณผลผลิตที่เก็บออก เพื่อเริ่มเป็นแบบกึ่งต่อเนื่อง ซึ่งผลที่ได้ประสิทธิภาพสูงกว่าแบบเก็บเกี่ยวเพียงครั้งเดียว

2.5 สถานะการเลี้ยงสาหร่าย

โดยทั่วไปสามารถแบ่งออกเป็น 3 สถานะ ดังนี้

2.5.1 ออโตโทรฟิก (Autotrophic) หมายถึง สถานะที่เลี้ยงสาหร่ายโดยใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว (Chen *et al.*, 2011) คือคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) และแสงเป็นแหล่งพลังงาน ทำให้เกิดกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาทางเคมีโดยอาศัยพลังงานแสงเพื่อสังเคราะห์สารชีวเคมีต่างๆ ทำให้เกิดกลูโคสและก๊าซออกซิเจน

2.5.2 เฮเทอโรโทรฟิก (Heterotrophic) หมายถึง สถานะที่เลี้ยงสาหร่ายใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน เช่น กลูโคส ซูโครส ฟรุกโตส แอซีเตท หรือกากน้ำตาล เป็นแหล่งพลังงานเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตในช่วงเวลาที่ไม่ได้มีแสง

2.5.3 มิกโซโทรฟิก (Mixotrophic) หมายถึง สถานะการเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้ทั้งสารประกอบอินทรีย์คาร์บอน และคาร์บอนไดออกไซด์ (อนินทรีย์คาร์บอน) ซึ่งการเลี้ยงแบบมิกโซโทรฟิกเป็นการรวมกันระหว่างการเลี้ยงแบบออโตโทรฟิกที่มีกระบวนการสังเคราะห์แสง และแบบเฮเทอโรโทรฟิกที่มีสารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน ทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตมากขึ้น

ตารางที่ 2-1 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยการเลี้ยงแบบสถานะต่างๆ

Cultivation condition	Biomass productivity (g/L/d)	Lipid content (%)	Lipid productivity (mg/L/d)
Autotrophic	0.01	33.0-38.0	4.0
Heterotrophic	0.08-0.15	23.0-36	27.0-35.0
Mixotrophic	0.09-0.25	21.0-34.0	22.0-54.0

ที่มา: Liang *et al.* (2009)

2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

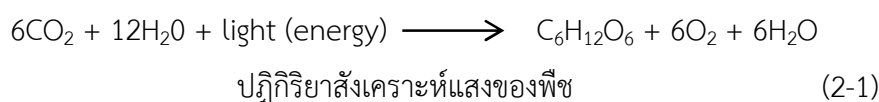
ปัจจัยหลายประการที่ส่งผลต่อการเจริญและปริมาณไขมันในสาหร่าย มีดังนี้

2.6.1 แสง

ความเข้มแสงมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยใช้กระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) ซึ่งสารประกอบอินทรีย์และแสง ถูกเปลี่ยนแปลงเป็นอินทรีย์วัตถุในเซลล์สาหร่าย พลังงานแสงจะแยกโปรตอนและอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุล เพื่อรีดิวซ์

คาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นโมเลกุลอินทรีย์ กระบวนการสังเคราะห์แสงมีวัตถุประสงค์และสิ่งจำเป็นต้องใช้ คือ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และแสง ดังสมการที่ 2-1 อีกทั้งช่วงความยาวคลื่นแสง มีเกี่ยวข้องกับอัตราการสังเคราะห์แสง โดยการสังเคราะห์ด้วยแสงจะเกิดขึ้นได้สูงสุด ในระดับที่ความเข้มแสงเหมาะสม จากการศึกษาของ Bhole *et al.* (2011) พบว่าความเข้มแสงที่เหมาะสมต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของ *Chlorella vulgaris* อยู่ในช่วง 150-350 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ โดยความเข้มแสงในช่วงดังกล่าวช่วยเพิ่มมวลของสาหร่าย แต่เมื่อความเข้มแสงสูงขึ้นมากกว่า 369.3 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ ปริมาณเซลล์สาหร่ายจะลดลง เนื่องจากความเข้มแสงสูงๆ มีผลกระทบต่อระบบการสังเคราะห์แสงในเซลล์สาหร่าย ทำให้การเจริญเติบโตที่ลดลง และการศึกษาของ Cheirsilp and Torpee (2012) พบว่าการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp. มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้น 2,000-10,000 lux และมีปริมาณไขมันสูงสุดเท่ากับ 397.8 mg/L ที่ความเข้มแสง 8,000 lux แต่เมื่อเลี้ยงสาหร่ายที่ความเข้มแสง 10,000 lux พบว่าการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่ายมีปริมาณน้อยกว่าที่เลี้ยงในความเข้มแสง 8,000 lux แสดงให้เห็นว่าถ้ามีปริมาณแสงมากเกินไปทำให้มีการเจริญของสาหร่ายลดลง การสังเคราะห์แสงเป็นกระบวนการที่พืชสังเคราะห์สารอินทรีย์ร่วมกับแสง โดยแสงจะถูกดูดกลืนโดยรงควัตถุ และถูกเปลี่ยนเป็นพลังงานเคมีในรูปของ ATP และ NADPH เพื่อสร้างสารประกอบอินทรีย์จากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้วัฏจักรเคลวิน (Calvin cycle) (Li *et al.*, 2014) ซึ่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ถูกใช้ในการสังเคราะห์น้ำตาลกลูโครส นอกจากนี้ช่วงของแสงสว่างเป็นสิ่งสำคัญในการเลี้ยงสาหร่าย โดยการให้แสงช่วงเวลาหนึ่งและหยุดการให้แสง ทำให้การเลี้ยงสาหร่ายได้ผลดีกว่าการให้แสงตลอดเวลา

Liang *et al.* (2009) ได้ศึกษาพบว่าอัตราการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่ได้รับแสงอย่างต่อเนื่อง (Autotrophic condition) ต่ำกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่ไม่ได้รับแสง (Heterotrophic condition) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Heredia-Arroyo *et al.* (2010) ซึ่งศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella protothecoides* พบว่า *C. protothecoides* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่ไม่ได้รับแสง และสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่ได้รับแสงและไม่ได้รับแสงในหนึ่งวัน (Mixotrophic condition) จะมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่ได้รับแสงอย่างต่อเนื่อง



2.6.2 ฟีเอช

การเปลี่ยนแปลงของค่าฟีเอชภายในสารอาหารที่ใช้ในเลี้ยงคลอเรลลา เกิดจากปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายอยู่ในสารละลายถูกใช้ไปในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ทำ

ให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ลดลงขณะที่ปริมาณไฮดรอกไซด์ในสารละลายเพิ่มขึ้น เป็นผลให้พีเอชเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งค่าพีเอชมีผลโดยตรงต่อกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ (Dorling *et al.*, 2010) อีกทั้งสาหร่ายแต่ละชนิดสามารถเจริญได้ในพีเอชที่แตกต่างกัน ทัวไปแล้วสาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งน้ำที่มีสภาพเป็นกลาง (ยวดี พิรพรพิศาล, 2543) นอกจากนี้ Bholá *et al.* (2011) ได้เลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* พบว่าค่าพีเอชที่เป็นกรดอยู่ในช่วง 3.0-6.2 และค่าพีเอชที่เป็นด่างอยู่ในช่วง 8.3-9.0 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโต ทำให้เจริญเติบโตช้ากว่าสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 6-8

2.6.3 อุณหภูมิ

สาหร่ายมีการตอบสนองต่ออุณหภูมิ เนื่องจากอุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อการรักษาสมดุลของกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์สาหร่าย อีกทั้งยังส่งผลต่อความต้องการอาหารและส่วนประกอบของสาหร่ายโดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน โดยส่วนใหญ่สาหร่ายสามารถทนต่ออุณหภูมิในช่วงกว้าง โดยสาหร่ายน้ำจืดจะเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 15-25 องศาเซลเซียส ส่วนสาหร่ายน้ำเค็มจะเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 5-15 องศาเซลเซียส ซึ่งหากอุณหภูมิสูงเกินกว่าสาหร่ายจะทนอยู่ได้ สาหร่ายก็จะตาย

Converti *et al.* (2009) รายงานว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ที่อุณหภูมิต่างกัน คือ 25, 30, 35 และ 38 องศาเซลเซียส ผลที่ได้คือ การเจริญเติบโตของสาหร่ายลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นมาก โดยที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส การเจริญเติบโตของ *C. vulgaris* น้อยกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 38 องศาเซลเซียส การเจริญเติบโตของสาหร่ายจะหยุดชะงัก และมีเซลล์ตายเกิดขึ้น และสีของเซลล์เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลหรือขาว (chlorosis) แต่เมื่อลดอุณหภูมิจาก 30 เป็น 25 องศาเซลเซียส พบว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ปริมาณไขมัน (lipid content) จะเพิ่มขึ้นจาก 5.9% เป็น 14.7% และ Lipid productivity ที่ได้จะเพิ่มขึ้นจาก 8.0 เป็น 20.0 mg/L/d แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นแต่ปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิต่ำลงเป็นเพราะอุณหภูมินั้น มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของสาหร่าย

2.6.4 การกวนผสมผสาน

การกวนทำให้เกิดการผสมผสานอย่างทั่วถึงระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อและเซลล์สาหร่าย อีกทั้งสามารถป้องกันการตกตะกอน และทำให้เซลล์สาหร่ายได้รับแสงในปริมาณเท่ากันทุกส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อ อีกทั้งยังสามารถป้องกันการสะสมความร้อนในระบบโดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง และเป็นการเพิ่มการแลกเปลี่ยนอากาศในระหว่างการเพาะเลี้ยงด้วย

2.6.5 ความเค็ม

ความเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยส่งผลต่อความสามารถของเยื่อหุ้มเซลล์ในการยอมให้ไอออนผ่าน เพื่อรักษาสมดุลของไอออนต่างๆ ในเซลล์ (Alyabyev *et al.*, 2007) สาหร่ายแต่ละชนิดสามารถทนอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มแตกต่างกัน เช่น *Dunaliella* ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียวที่สามารถปรับตัวให้อยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มสูงได้ (Rao *et al.*, 2007) โดยสาหร่ายชนิดนี้จะมีอัตราการสังเคราะห์แสงที่เพิ่มขึ้น เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเค็มสูง (1-1.5 โมลาร์)

2.6.6 คาร์บอน

คาร์บอนมีผลโดยตรงต่อการเจริญของสาหร่าย ซึ่งคาร์บอนที่สาหร่ายนำไปใช้มี 2 ประเภท คือ อนินทรีย์คาร์บอน ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศและน้ำ โดยคาร์บอน (CO₂) จะอยู่ในรูปใดนั้นขึ้นอยู่กับระดับค่าพีเอชในอาหารเลี้ยงสาหร่าย เช่น อยู่ในรูปเกลือไบคาร์บอเนตเมื่อน้ำมีค่าพีเอชระหว่าง 7-9 และในรูปของเกลือคาร์บอเนตเมื่อพีเอชในน้ำมีค่าสูงกว่า 9.5 ขึ้นไป ซึ่งโดยทั่วไปก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยอยู่ในรูปของสารละลายโดยมีน้ำเป็นตัวทำละลาย และอนินทรีย์คาร์บอน ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และซูโครส ซึ่งคาร์บอนดังกล่าวถูกนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและการสะสมไขมันของสาหร่าย (ยวดี พิรพรพิศาล, 2543) อีกทั้งสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีความต้องการปริมาณและชนิดของคาร์บอนแตกต่างกันออกไปตามชนิดของสาหร่าย โดยทั่วไปสาหร่ายต้องการอินทรีย์คาร์บอนในสภาพไร้อากาศหรือในสภาวะที่ไม่มีแสงสว่างเรียกว่าการเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรทรอป (heterotrophic cultivation) แต่ถ้าสาหร่ายมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนมากเกินไปเซลล์ต้องการเป็นแหล่งพลังงาน กลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็น Acetyl-CoA และนำมาสังเคราะห์เป็นไขมัน

Liang *et al.* (2009) พบว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะไม่ได้รับแสงและมีการเติมกลูโคสหรืออะซีเตต (1% w/v) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะเพิ่มขึ้น 9-12 เท่า ภายในระยะเวลา 12 วัน แต่เมื่อเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะที่ได้รับแสงและเติมกลูโคส (1% w/v) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าสาหร่ายจะเพิ่มเป็น 2 g/L และไขมันที่ผลิตได้จะมีปริมาณเพิ่มเป็น 54 mg/L/d

Travieso *et al.* (2006) ได้ศึกษาผลของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยทำการเลี้ยงแบบ Batch โดยมีการเจือจางปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่อยู่ในรูปของค่าซีไอดี มีปริมาณเท่ากับ 250, 400, 520, 650, 800 และ 1,100 mg/L โดยควบคุมอุณหภูมิ 21-25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 190 ชั่วโมง พบว่า *Chlorella vulgaris* มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในน้ำเสียที่มีซีไอดีเริ่มต้นเท่ากับ 520 mg/L และมีประสิทธิภาพในการบำบัดปริมาณซีไอดีในน้ำเสียเท่ากับ 88.0, 57.5, 55.6, 56.5, 60.6 และ 20.6 % ตามลำดับ

2.6.7 ไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญสำหรับใช้ในการเจริญเติบโต โดยส่วนใหญ่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับเมทาบอลิซึมภายในเซลล์ แหล่งไนโตรเจนได้แก่ เกลือแอมโมเนีย ไนเตรท และยูเรีย โดยสาหร่ายจะรีดิวซ์ไนเตรทเป็นแอมโมเนียก่อนจะนำเข้าสู่เซลล์ สาหร่ายแต่ละชนิดต้องการปริมาณของไนโตรเจนในปริมาณที่แตกต่างกัน การขาดไนโตรเจนจะส่งผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง ปริมาณรงควัตถุ และการทำงานของเอนไซม์บางชนิดในเซลล์ลดลง (Azov & Goldman, 1982) ปริมาณของไนโตรเจนจะมีผลต่อน้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่ายซึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย ในสถานะที่มีการขาดไนโตรเจนจะเกิดการสะสมของสารประกอบคาร์บอนเป็นจำนวนมาก เช่นพวกแป้งและไขมัน (Feng *et al.*, 2011) สารประกอบอินทรีย์และสารอนินทรีย์ไนโตรเจนสาหร่ายขนาดเล็กบางชนิดสามารถนำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ โดยส่วนใหญ่ใช้เป็นไนเตรท (NO_3^-) ไนไตรท์ (NO_2^-) หรือแอมโมเนีย (NH_4^+) เป็นแหล่งของไนโตรเจนได้ ซึ่งจากการศึกษาของ กิตติพงษ์ หลงสะ (2553) กล่าวว่าปริมาณของแอมโมเนียที่สาหร่ายต้องการมีปริมาณ 20-250 mg/L แต่เมื่อแอมโมเนียถูกใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน พิเอชของสารอาหารอาจจะลดลงอย่างรวดเร็วทำให้มีผลข้างเคียงเกิดขึ้น สาหร่ายบางชนิดไวต่อแอมโมเนียที่มีความเข้มข้นสูง โดยการเจริญเติบโตจะถูกยับยั้งเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียเท่ากับ 1 มิลลิโมล

2.6.8 ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เพราะมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงาน และกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก แม้ว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีปริมาณสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงกว่าอนินทรีย์ฟอสฟอรัส แต่พืชต้องการใช้ฟอสฟอรัสในรูปสารอนินทรีย์มากกว่า ฉะนั้นสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสจึงจัดว่าเป็นแหล่งเบื้องต้นของฟอสฟอรัสจะแตกตัวเป็นสารอนินทรีย์ ได้แก่ ฟอสฟอรัส และออร์โธฟอสเฟส หรือฟอสเฟต โดยอาศัยเอนไซม์ที่เรียกว่า ฟอสฟาเทสหรือฟอสโฟเอสทาเรสในปริมาณ 20 ไมโครกรัมต่อลิตร ทั้งนี้ปริมาณอาจสูงหรือต่ำกว่านี้ก็ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำ ระดับพีเอช และปริมาณของธาตุอาหารอื่นๆ แต่ถ้าสาหร่ายขาดฟอสฟอรัสจะส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโต คือปริมาณโปรตีน รงควัตถุ ชนิดคลอโรฟิลล์-เอ RNA และ DNA จะลดลง แต่แป้งหรือคาร์โบไฮเดรตกลับมีปริมาณเพิ่มขึ้นซึ่งมีผลให้รูปร่างเซลล์เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543) จากการศึกษาของ Xin *et al.* (2010) ได้ทำการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 ซึ่งมีระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่แตกต่างกันที่ 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/L เป็นระยะเวลา 14 วัน ที่ความเข้มแสง 55-60 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ พบว่าที่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 2.0 mg/L มีปริมาณชีวมวลของสาหร่ายสูงถึง $0.98 \pm 0.12 \times 10^6$ cell/mL/d แต่ที่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัส

เริ่มต้น 1.0 mg/L ถึงจะให้ปริมาณไขมันสูงถึง 53% แต่ปริมาณเซลล์สาหร่ายที่ได้ค่อนข้างต่ำ ซึ่งมีเพียง $0.26 \pm 0.01 \times 10^6$ cell/mL/d

2.7 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย

สาหร่ายขนาดเล็กสามารถนำมาประยุกต์ใช้และมีประโยชน์ในด้านต่างๆ ดังต่อไปนี้

2.7.1 ประโยชน์ต่อระบบนิเวศน์

สาหร่ายดำรงชีวิตแบบออโตโทรฟิก (Autotrophic organism) เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถผลิตออกซิเจนให้แก่สิ่งแวดล้อมประมาณ 50% ของออกซิเจนในน้ำเกิดจากกระบวนการสังเคราะห์แสงจากสาหร่าย นอกจากนี้สาหร่ายยังเป็นผู้ผลิต (Producer) และเป็นส่วนหนึ่งของห่วงโซ่อาหารของสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยเป็นอาหารของตัวอ่อนแมลง กุ้ง หรือปลา เป็นต้น

2.7.2 ประโยชน์ต่อด้านการเกษตร

สาหร่ายสามารถนำมาใช้ด้านการเกษตรได้หลายด้าน ซึ่งที่เห็นได้อย่างชัดเจนก็คือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายชนิดสามารถนำมาทำเป็นปุ๋ยชีวภาพ ทำให้ช่วยเพิ่มไนโตรเจนให้กับนาข้าว

2.7.3 ประโยชน์ต่อด้านเภสัชกรรม

ปัจจุบันการนำสาหร่ายมาใช้เป็นยาหลายประเภท เช่น สาหร่ายสีแดง *Digenia simplex* นำมาใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ และโรคตาขโมย และสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาลที่เรียกว่า *Macrocystis*, *Laminaria*, *Fucus*, *Assophyllum* และ *Cytoseira* นำมาใช้เป็นยาช่วยให้เม็ดเลือดแข็งตัว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินถูกนำมาแปรรูปอาหารเสริมและยารักษาเบาหวาน และสารสกัดที่เรียกว่า คลอเรลลิน (Chlorellin) จากสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียได้

2.7.4 ใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหาร

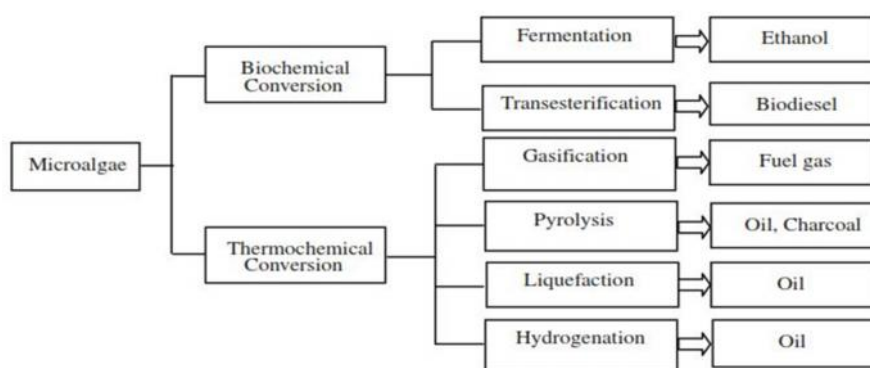
สาหร่ายที่นำมาใช้เพื่อการบริโภคนั้น ส่วนใหญ่พบว่าภายในเซลล์จะมีการสะสมหรือผลิตสารต่างๆ อาทิเช่น เหล็ก โพแทสเซียม แคลเซียม และวิตามินบางชนิดสูง เช่นวิตามินบี 6 และ บี12 ซึ่งสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* สามารถสังเคราะห์ เบต้า-แคโรทีน และแอสตาแซนทิน ได้ปริมาณที่สูงมาก โดยสารดังกล่าวเป็นสารในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

2.7.5 เชื้อเพลิงชีวภาพ

สาหร่ายขนาดเล็กสามารถนำมาใช้ผลิตเป็นพลังงานได้หลายทาง เช่นการผลิตไฮโดรเจน และที่กำลังได้รับความสนใจในปัจจุบันคือ การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และกรรมวิธีในการเพาะเลี้ยง น้ำมันที่ได้จากสาหร่ายมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นไตรกลีเซอ

ไรต์ อีกทั้งสาหร่ายสามารถสังเคราะห์สารชีวเคมีต่างๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต เซลลูโลส ลิกนิน และน้ำมัน เป็นต้น (Posten & Schaub, 2009)

นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงพลังงานชีวมวลจากสาหร่ายซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี สามารถแบ่งออกได้ ดังนี้ กระบวนการหมักและกระบวนการทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชัน จะได้ผลผลิตเป็นเอทานอล และไบโอดีเซล ตามลำดับ ในการศึกษาของ Cho *et al.* (2013) ได้ทำการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella sp. 227* สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (fatty acid methyl esters, FAMES) สูงถึง 41.5% และ Feng *et al.* (2011) ศึกษาการผลิตน้ำมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เพาะเลี้ยงจากน้ำเสียสังเคราะห์ โดยการเพาะเลี้ยงใน Column aeration photobioreactor (CAP) มี Lipid content สูงถึง 42% และ Lipid productivity มีปริมาณเท่ากับ 147 mg/L/d ส่วนกระบวนการเปลี่ยนแปลงความร้อน พบว่าสาหร่ายสามารถผลิตน้ำมันโดยใช้วิธีการต่างๆ แสดงดังรูปที่ 2-3



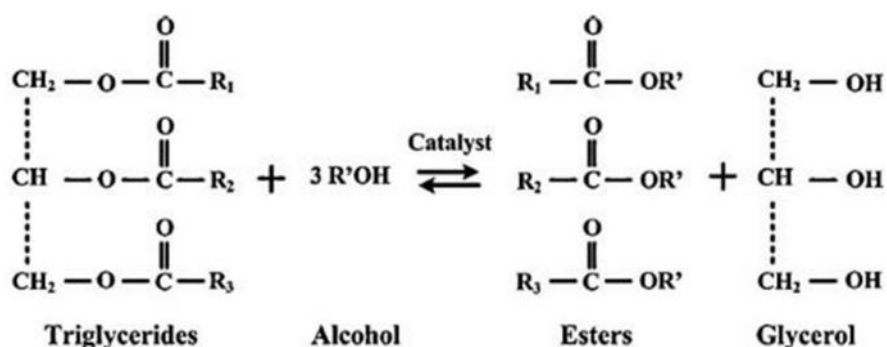
รูปที่ 2-3 กระบวนการเปลี่ยนแปลงพลังงานจากสาหร่าย

ที่มา: Amin (2009)

2.8 ไบโอดีเซล (Biodiesel)

ไบโอดีเซล หมายถึงน้ำมันเชื้อเพลิงทดแทนประเภทดีเซลจากพืชหรือสัตว์ ซึ่งเป็นสารประกอบเอสเทอร์ โดยผ่านกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า ทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชัน (transesterification) ซึ่งจะมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล และสามารถใช้ทดแทนน้ำมันดีเซลได้

ทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชัน เป็นปฏิกิริยาเคมีหลายขั้นตอน โดยที่ไตรกลีเซอไรด์ ที่ได้จากน้ำมันพืช เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันจากสาหร่ายทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ โดยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้ผลผลิตเป็น เอสเทอร์ของกรดไขมัน เรียกว่า Fatty acid methyl ester (FAME) และผลิตผลพลอยได้ คือ กลีเซอรอล (glycerol) ดังรูปที่ 2-4



รูปที่ 2-4 ปฏิกิริยาเคมีทรานส์เอสเทอริฟิเคชันในการผลิตไบโอดีเซล

ที่มา: Mata *et al* (2010)

2.9 น้ำมันสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายขนาดเล็กมีไขมันและกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของเยื่อเมมเบรน สาหร่ายบางชนิด เช่น สาหร่ายไดอะตอม (Diatom) และ Cyanobacteria มีการสะสมไขมันสูงถึง 30% โดยสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีการสะสมไขมันแตกต่างกัน (Mata *et al.*, 2010) สาหร่ายขนาดเล็กมีการสะสมพลังงานภายในเซลล์ในรูปของสารอินทรีย์ โดยใช้พลังงานแสงอาทิตย์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ได้เป็นวัตถุดิบในการหายใจในกระบวนการไกลโคไลซิส จากนั้นมีเอนไซม์ acetyl-CoA carboxylase เป็นเอนไซม์ที่มีไบโอดีตินเป็นส่วนประกอบ (biotin-containing enzyme) ทำหน้าที่ในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในระยะเริ่มต้นของการสร้างกรดไขมัน ซึ่งส่วนใหญ่จะสะสมอยู่บริเวณเซลล์หรือแควิวโอลของสาหร่าย (รัตนภรณ์ และงามนิจ, 2551)

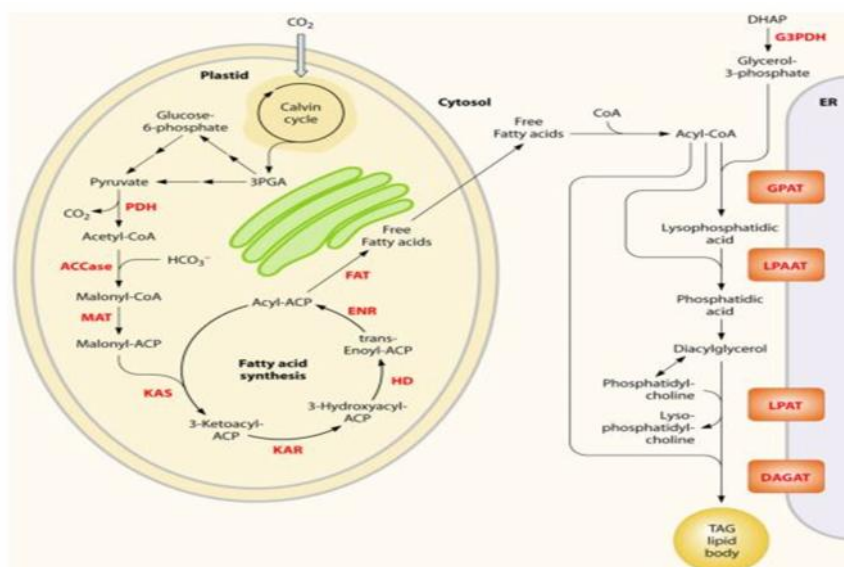
2.9.1 กระบวนการสังเคราะห์ไขมันในสาหร่ายขนาดเล็ก (Radakovits *et al.*, 2010) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้ (รูปที่ 2-5)

(1) ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthesis) เมื่อคลอโรฟิลล์ในคลอโรพลาส ได้รับพลังงานแสง จะเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมีในปฏิกิริยาที่ใช้แสง (light reaction) ได้ ATP และ NADPH เป็นผลผลิต

(2) ATP และ NADPH จะเข้าสู่วัฏจักรเคลวิน (Calvin cycle) ในปฏิกิริยาที่ไม่ใช้แสง (dark reaction) เพื่อตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ในบรรยากาศ ซึ่งในขั้นตอนนี้คาร์บอนไดออกไซด์จะถูกเปลี่ยนเป็น glyceraldehydes-3-phosphate (G3P)

(3) G3P ที่ได้จะใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต เช่น แป้งและน้ำตาลต่อไป โดย G3P ส่วนหนึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นไพรูเวต (pyruvate) จากนั้นไพรูเวตก็จะถูกเปลี่ยนเป็น acetyl-CoA เพื่อนำไปสังเคราะห์กรดไขมันต่อไป

(4) เมื่อเข้าสู่กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน (fatty acid synthesis) acetyl-CoA จะถูกเปลี่ยนเป็น malonyl-CoA โดยเอนไซม์ acetyl-CoA carboxylase (ACCCase) จากนั้นเอนไซม์ชนิดต่างๆ ในกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันก็จะเปลี่ยน malonyl-CoA จนได้เป็นกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ที่อยู่ในพลาสติด (plastid) ซึ่งจะถูกส่งออกไปยังไซโทซอล (cytosol) กลายเป็นหยดไขมันในไซโทซอลต่อไป



รูปที่ 2-5 กระบวนการสังเคราะห์ไขมันภายในเซลล์ *Chlorella vulgaris*

ที่มา: Radakovits *et al.* (2010)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันที่ผลิตได้ในสาหร่ายขนาดเล็ก ดังตารางที่ 2-2 พบว่า *Botryococcus braunii* มีปริมาณน้ำมันมากที่สุด แต่เจริญเติบโตช้าและมีมวลชีวภาพน้อย (Lv *et al.*, 2010) ส่วน *Chlorella vulgaris* ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณน้ำมันที่ต่ำกว่า *Botryococcus braunii* แต่มีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่า เนื่องจากมีวงจรชีวิตที่สั้นเพียง 19 ชั่วโมง ก็สามารถแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ทำให้ต้นทุนในการเพาะเลี้ยงต่ำกว่า *B. braunii* ดังนั้น *C. vulgaris* จึงเหมาะสำหรับการนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล

ตารางที่ 2-2 ปริมาณน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก

Microalga	Oil content (% dry wt)
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chlorella</i> sp.	28-32
<i>Cryothecodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16-37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25-33
<i>Monallanthus salina</i>	> 20
<i>Nannochloris</i> sp.	20-35
<i>Nannochloropsis</i> sp.	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23

ที่มา: Chisti (2007)

น้ำมันจากสาหร่ายจะประกอบด้วยกรดไขมัน 2 ชนิด ได้แก่ กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) และ กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ในปริมาณที่ไม่เท่ากัน ทำให้น้ำมันจากสาหร่ายแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกัน นอกจากนี้ปริมาณน้ำมันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่าย สภาวะการเพาะเลี้ยงและการสกัด ซึ่งพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กผลิตกรดไขมันซึ่งมีความยาวคาร์บอนอยู่ระหว่างช่วง C12-C22 โดยกรดไขมันพบทั้งชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว กรดไขมันที่พบมากคือชนิดไม่อิ่มตัวซึ่งมีจำนวนคาร์บอนคือ C16 และ C18 ดังตารางที่ 2-3 ซึ่งจำนวนกรดไขมันทั้งหมดจะแปรผันตามระยะเวลาของการเจริญและสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง โดยพบว่าสภาวะที่มีไนโตรเจนมีปริมาณจำกัดหรือขาดไนโตรเจน สาหร่ายจะสร้างสารประกอบคาร์บอน เช่น น้ำมันหรือ แป้งมาทดแทนทำให้สาหร่ายมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น (Yeesang & Cheirsilp, 2011)

ตารางที่ 2-3 ชนิดของกรดไขมันที่พบในสาหร่ายสายพันธุ์ต่างๆ

สายพันธุ์	กรดไขมัน (%)									
	16:0	16:1	16:2	16:3	16:4	18:1	18:2	18:3	18:4	20:4
<i>Scenedesmus obliquus</i>	35	2	-	1	15	9	6	30	2	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	26	8	7	2	-	8	34	20	-	-
<i>Botryococcus braunii</i>	18	2	-	-	-	27	12	18	1	-
<i>Volvox carteri</i>	21	-	1	-	13	13	11	33	-	-
<i>Ankistrodesmus spp.</i>	13	3	1	1	14	25	2	29	2	-
<i>Isochrysis spp.</i>	12	6	-	-	15	4	6	17	-	2
<i>Nannochloris spp.</i>	9	20	7	9	-	4	1	1	-	27
<i>Dunaliella parva</i>	19	2	-	-	11	6	11	44	1	-

ที่มา: Harwood *et al.* (1998)

2.10 น้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม

น้ำทิ้ง (Effluent) หมายถึง น้ำเสียที่ผ่านกระบวนการบำบัดน้ำเสีย และถูกปล่อยทิ้งลงในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยคุณภาพน้ำที่ปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาตินั้นต้องไปตามมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ โดยส่วนใหญ่ น้ำทิ้งเกิดจากกิจกรรมต่างๆ ของโรงงานอุตสาหกรรมทุกประเภท น้ำเสียส่วนใหญ่มักเป็นน้ำล้างจากกระบวนการผลิตต่างๆ เช่นการล้างภาชนะที่ใช้ในกระบวนการผลิตทำให้น้ำเสียมีสิ่งเจือปนจากวัตถุดิบเสมอ จึงกล่าวได้ว่า น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมจะมีลักษณะที่ดูได้จากวัตถุดิบของโรงงาน ซึ่งจะมีลักษณะแตกต่างกันไปในแต่ละโรงงาน

2.10.1 ฟาร์มสุกร

ฟาร์มสุกรเป็นแหล่งกำเนิดปัญหามลพิษทางน้ำที่สำคัญแหล่งหนึ่ง และเป็นปัญหาต่อคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติมากที่สุด เนื่องจากในประเทศไทยมีฟาร์มหมูเป็นจำนวนมาก และกระจายอยู่ทั่วประเทศ มีทั้งฟาร์มขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ ซึ่งโดยทั่วไปของเสียที่ได้จากฟาร์มหมู มีทั้งน้ำล้างและทำความสะอาดตัวสุกร เครื่องจักรโรงเรือน มูลสุกรหรือน้ำเสียที่มาจากมูลผสมปัสสาวะ และน้ำล้างคอก ซึ่งของเสียที่เกิดขึ้นในฟาร์มหมู ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ขนาดของฟาร์มและจำนวนสุกร ลักษณะอาหาร ขนาดและชนิดของสุกร ลักษณะโรงเรือนและระบบการจัดการของเสีย ซึ่งของเสียจากมูลสุกรประกอบด้วย น้ำ 65-85% และอินทรีย์วัตถุ 10% ซึ่งอายุและน้ำหนักมีผลต่อปริมาณมูลสุกรด้วย

2.10.2 โรงงานแปรรูปอาหารทะเล

กระบวนการแปรรูปอาหารทะเลน้ำทิ้งที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะและปริมาณที่ต่างกักัน ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้กระบวนการผลิต ขนาดของโรงงานและกรรมวิธีการผลิต อีกทั้งวัตถุดิบที่เข้าสู่กระบวนการผลิตมีทั้งโปรตีนประเภทเนื้อปลา กุ้ง อีกทั้งในกระบวนการต้มสัตว์ทะเล จะมีกลิ่นของเอมีนระเหยออกมาพร้อมไอน้ำ อีกทั้งน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการล้างแล้วทิ้งไว้โดยไม่มีการบำบัดโดยเร็ว ทำให้เกิดการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย ในการย่อยโปรตีนในปลา ทำให้ไนโตรเจนและกำมะถันในโปรตีนเปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนียและก๊าซไข่เน่า (กรมควบคุมมลพิษ, 2558) จึงทำให้มีสารอินทรีย์อยู่ในปริมาณสูง น้ำทิ้งที่เกิดขึ้นประกอบด้วยเกลือที่ผสมกับน้ำแข็งในการแช่วัตถุดิบและใช้ในการปรุงรส ของแข็งแขวนลอยซึ่งได้แก่ เลือด ไขมัน และโปรตีน จึงทำให้ต้องมีการบำบัดน้ำเสียก่อนลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งแต่ละโรงงานจะมีลักษณะระบบแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับน้ำเสียของแต่ละโรงงาน

2.10.3 โรงงานน้ำยางข้น

อุตสาหกรรมยางพาราเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ของประเทศไทย และเป็นอุตสาหกรรมใหญ่เป็นอันดับหนึ่งของภาคใต้ ปัจจุบันมีโรงงานอุตสาหกรรมยาง ตั้งแต่โรงงานผลิตยางแผ่นรมควัน ยางแท่งและน้ำยางข้นกว่า 200 โรง กระจายอยู่ในพื้นที่ปลูกยางของภาคใต้ ซึ่งโรงงานเหล่านี้มีของเสียจากกระบวนการผลิต เช่น การผลิตน้ำยางข้นจะมีส่วนของหางน้ำยาง เมื่อนำไปแยกเนื้อยางที่ตกค้างโดยดักจับด้วยกรดความเข้มข้น ทำให้น้ำซีรัมที่ได้มีความสกปรก ซึ่งปัญหาเหล่านี้เป็นปัญหาที่สำคัญที่เกิดขึ้นกับโรงงานน้ำยางข้นโดยทั่วไปคือ ปัญหากลิ่นเหม็นที่เกิดจากบ่อที่เกิดจากการหมักเศษยางที่ยังคงเหลือในน้ำที่มาจากขั้นตอนต่างๆ ของกระบวนการผลิต

2.10.4 โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

อุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของภาคใต้ รองมาจากอุตสาหกรรมยางพารา ซึ่งจะเห็นได้จากการขยายพื้นที่ในการปลูกปาล์มน้ำมันอย่างต่อเนื่อง น้ำทิ้งจากโรงงานการสกัดน้ำมันปาล์มมาจากสองขั้นตอนคือ น้ำนึ่งปาล์ม หรือน้ำนึ่งจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (sterilizer condensate) และน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter หรือเครื่อง separator เป็นน้ำเสียที่มีสิ่งสกปรกอยู่ในรูปของไขมัน และสารอินทรีย์ปนเปื้อนอยู่มาก จึงต้องมีระบบบำบัดน้ำเสีย ซึ่งค่าบีโอดีก่อนเข้าในระบบบำบัดบ่อแรกประมาณ 30,000 mg/L และเมื่อผ่านการบำบัดจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศและการเติมอากาศในบ่อสุดท้าย จะมีค่าบีโอดีประมาณ 100-150 mg/L (ศรีสุรัตน์ เหลืองอักษร, 2553) อย่างไรก็ตามพารามิเตอร์ต่างๆ ในน้ำเสียนี้อาจมีปริมาณสารแขวนลอยสูง จึงทำให้น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มอาจก่อให้เกิดมลพิษทางน้ำได้

ตารางที่ 2-4 สรุปลักษณะน้ำเสียที่ออกจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศจากโรงงานอุตสาหกรรม 4 ประเภท

พารามิเตอร์	ฟาร์มหมู ^a	โรงงานแปรรูปอาหารทะเล ^b	โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ^c	โรงงานน้ำยางชั้น ^d
pH	7.5-8.5	6.9	7.48-7.8	7.3
COD (mg/L)	175-1395	184.2	3,663-11,174	800-14,718
TN (mg/L)	99-395	127.4	412.0	327-532
TP (mg/L)	10-75	-	24.7	-
SS (mg/L)	13-424	212.8	8,250-16,450	108-109

ที่มา a: ชาลี นาวานุเคราะห์ (2553)

b: นุกูล อินทรสังขา และคณะ (2543)

c: สุชาติ สุวรรณสะอาด (2555)

d: ยศวริศ เขตอนันต์ (2551)

2.11 การบำบัดน้ำเสีย

การเลือกระบบบำบัดน้ำเสียขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ลักษณะน้ำเสีย ระดับการบำบัดน้ำเสียที่ต้องการ สภาพทั่วไปของท้องถิ่น ต้นทุนในก่อสร้างและค่าดำเนินการดูแล ค่าบำรุงรักษา และขนาดของพื้นที่ในการก่อสร้าง เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อให้ระบบบำบัดน้ำเสียที่เลือกมีความเหมาะสมกับแต่ละท้องถิ่น ซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน โดยการบำบัดน้ำเสียสามารถแบ่งได้ตามกลไกที่ใช้ในการกำจัดสิ่งเจือปนในน้ำเสีย ได้ดังนี้

1. การบำบัดโดยทางกายภาพ (Physical treatment) เป็นวิธีการแยกเอาสิ่งเจือปนออกจากน้ำเสีย เช่น ของแข็งขนาดใหญ่ กระจาด เศษอาหาร พลาสติก ทราบ กรวด ไขมันและน้ำมัน โดยใช้อุปกรณ์ในการบำบัดน้ำเสียทางกายภาพ คือ ถังดักกรวดทราบ ตะแกรงดักขยะ ถังดักไขมันและน้ำมัน และถังดักตะกอน ซึ่งจะเป็นการลดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่มีทั้งหมดในน้ำเสียเป็นหลัก

2. การบำบัดทางเคมี (Chemical treatment) เป็นวิธีบำบัดน้ำเสียโดยใช้กระบวนการทางเคมี เพื่อทำปฏิกิริยากับสิ่งเจือปนในน้ำเสีย วิธีการนี้จะใช้สำหรับน้ำเสียที่มีส่วนประกอบอย่างใดอย่างหนึ่งดังต่อไปนี้คือ ค่าพีเอชสูงหรือต่ำเกินไป มีสารพิษ มีโลหะหนักของแข็งแขวนลอยที่ตกตะกอนยาก มีไขมันและน้ำมันละลายน้ำ มีไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัสที่สูงเกินไป และมีเชื้อโรค ทั้งนี้อุปกรณ์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีการทางเคมี ได้แก่ ถังกวนเร็ว ถังกวนช้า ถังตกตะกอน ถังกรอง และถังฆ่าเชื้อโรค

3. การบำบัดทางชีวภาพ (Biological treatment) เป็นวิธีการบำบัดน้ำเสียโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพหรือใช้จุลินทรีย์ ในการกำจัดสิ่งเจือปนในน้ำเสียโดยเฉพาะอินทรีย์คาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส โดยความสกปรกเหล่านี้จะถูกใช้เป็นอาหารและเป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ทำให้น้ำเสียมีค่าความสกปรกตกลง โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจเป็นแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic organisms) หรือแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic organisms) ระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้หลักการทางชีวภาพ ได้แก่ระบบ แอกทิเวเตดสลัดจ์(Activate Sludge, AS) ระบบแผ่นจานหมุนชีวภาพ (Rotating Biological Contactor, RBC) ระบบคลองวนเวียน (Oxidation Ditch, OD) ระบบบ่อเติมอากาศ (Aerated Lagoon, AL) ระบบโปรยกรอง (Trickling Filter) ระบบบ่อบำบัดน้ำเสีย (Stabilization Pond) ระบบยูเอเอสบี (Upflow Anaerobic Sludge Blanket, UASB)และระบบกรองไร้อากาศ (Anaerobic Filter, AF) เป็นต้น

2.12 การบำบัดน้ำเสียจากสาหร่าย

การบำบัดน้ำเสียโดยสาหร่ายเป็นการอาศัยกระบวนการทางธรรมชาติเป็นตัวช่วยร่วมในการบำบัด โดยปริมาณของเสียในน้ำเสียจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์หรือสาหร่าย ซึ่งสาหร่ายจะอาศัยแสงอาทิตย์เป็นพลังงานในกระบวนการสังเคราะห์แสง ปล่อยออกซิเจนเพื่อใช้ในการหายใจ และสาหร่ายใช้สารที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายในการเจริญเติบโตอันเป็นกระบวนการพึ่งพาอาศัยกัน (Symbiotic relationship process) ระหว่างแบคทีเรียและสาหร่ายในระบบบำบัด ส่งผลให้สาหร่ายช่วยลดระดับของแร่ธาตุต่างๆ ในน้ำเสียได้ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และคาร์บอน เป็นต้น นอกจากนี้การบำบัดน้ำทิ้งโดยใช้สาหร่ายได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ซึ่งถ้าพิจารณาถึงข้อดีของระบบบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายแล้วพอจะกล่าวได้ดังนี้

1. ระบบบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายไม่ต้องการใช้พลังงานใดๆ นอกจากพลังงานแสงอาทิตย์
2. การควบคุมการทำงานของระบบไม่ยุ่งยากไม่ต้องใช้ผู้ดูแลที่มีความรู้มาก
3. การบำบัดน้ำเสียด้วยสาหร่ายในน้ำนี้ สามารถลดค่าบีโอดี ซีโอดี ของแข็งแขวนลอยรวม ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โลหะหนัก สารอินทรีย์ได้ดี และสามารถกำจัดแบคทีเรียที่เป็นอันตรายได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สาวิตรี ไทรทับทิ้ม (2554) ศึกษาสาหร่ายที่ผลิตน้ำมันมาบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมรีไซเคิล เพื่อหาความเป็นไปได้ในการบำบัดน้ำในบ่อสุดท้ายของระบบบำบัดน้ำเสีย โดยนำน้ำเสียบ่อสุดท้ายมาปรับความเข้มข้นของน้ำออกเป็น 7 ชุดการทดลอง มีระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0, 20, 40, 50, 60, 80 และ 100% โดยทำการเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะแวดล้อมปกติไม่เติมอากาศ และมีแสงแดด เป็นระยะเวลา 15 วัน จากการศึกษาพบว่าน้ำเสียที่มีอัตราส่วนเท่ากับ 60% มีค่า

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) สูงถึง 9.7 mg/L ส่วนค่าซีโอดีเมื่อผ่านการเลี้ยงสาหร่ายไปแล้ว 15 วัน ค่าซีโอดีเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากสาหร่ายเริ่มตาย ทำให้มีการปล่อยคาร์บอนออกมา เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของสาหร่าย พบว่าน้ำเสียที่มีค่าซีโอดีในปริมาณที่พอเหมาะสำหรับการเลี้ยงสาหร่ายได้ดี ในปริมาณน้ำเสียต่อน้ำประปาที่ 80:20 และ 100:0 ซึ่งมีค่าซีโอดีเริ่มต้นอยู่ในช่วง 60.3-60.5 mg/L

Lim *et al.* (2010) ศึกษาศักยภาพของ *Chlorella vulgaris* ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานสิ่งทอ ซึ่งน้ำเสียที่ทำการศึกษาคือเป็นน้ำเสียที่ออกมาจากระบบตกตะกอน โดยทำการเลี้ยงสภาวะแบบกะ จากการศึกษพบว่าสาหร่ายสามารถกำจัดสีน้ำในน้ำเสียได้ 41.8-50.0% นอกจากนี้ยังสามารถกำจัดแอมโมเนียได้ถึง 44.4-45.1%, ฟอสฟอรัส 31.1-33.3% และซีโอดีได้ 38.3-62.3 %

Hongyang *et al.* (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* ในน้ำเสียจากโรงบำบัดรูปถั่วเหลือง โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากบ่อปรับสภาพ (SW1) และ น้ำเสียจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศ (SW2) ได้ทำการเพาะเลี้ยงแบบกะ และแบบกึ่งต่อเนื่องโดยไม่มีการใส่สารอาหารเพิ่มในน้ำเสียที่ทำการเพาะเลี้ยง เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าในการเลี้ยงในน้ำเสีย SW2 สาหร่าย *C. pyrenoidosa* สามารถกำจัดสารอาหารในรูปของซีโอดี ไนโตรเจน, แอมโมเนีย, ฟอสฟอรัส มีประสิทธิภาพกำจัดได้ถึง 77.8, 88.8, 89.1 และ 70.3% ตามลำดับ

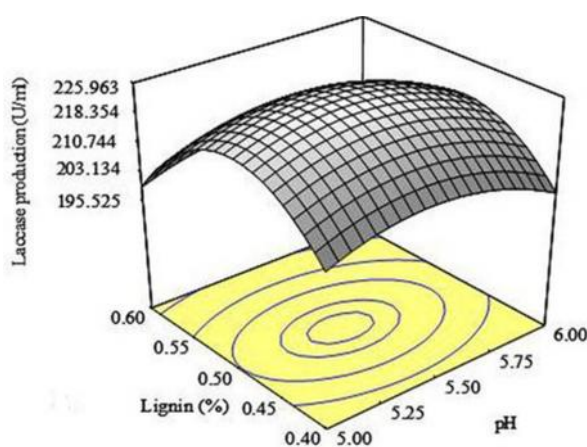
Wang *et al.* (2010) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella sp.* ในน้ำเสียจากแหล่งชุมชน โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากระบบบำบัดทั้งหมด 4 จุด คือ 1. น้ำเสียก่อนเข้าในบ่อตกตะกอนขั้นต้น, น้ำเสียที่ออกจากบ่อตกตะกอนขั้นต้น, น้ำเสียที่ออกจากระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ และ น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดโดยมีการแยกตะกอนออกจากน้ำแล้ว ซึ่งลักษณะน้ำเสียแต่ละจุด มีค่า N/P แตกต่างกัน สามารถกำจัดปริมาณไนโตรเจนในน้ำได้ถึง 68.4, 68.5, 50.8 และ 82.8% ตามลำดับ อีกทั้งยังสามารถกำจัดค่าฟอสฟอรัสได้ถึง 83.2, 90.6, 4.7 และ 85.6% ตามลำดับ

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับระบบน้ำเสียแบบอื่นๆ ที่ต้องใช้เครื่องจักรและพลังงานเชื้อเพลิงในการบำบัด เช่น ระบบโปรยกรอง ระบบตะกรงเร่ง ระบบคลองวนเวียน เป็นต้น แม้แต่ละระบบจะมีประสิทธิภาพต่างกัน แต่ข้อดีกว่าระบบโดยใช้สาหร่ายคือ ไม่ต้องการพลังงานหรือใช้น้อยมาก ดูแลรักษาง่าย แต่ในขณะเดียวกันข้อเสียคือ ต้องใช้เวลานาน ใช้น้ำที่มากในการบำบัด

2.13 การออกแบบการทดลอง (Design of Experiment, DOE)

Design of Experiment เป็นเครื่องมือคุณภาพตัวหนึ่งซึ่งจะมีการทดลองตามรูปแบบที่ได้ถูกออกแบบไว้เพื่อหาความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ แล้วสร้างเป็นสมการทางสถิติซึ่งเป็นการหาความสัมพันธ์แบบประมาณการระหว่างค่าตัวแปรอิสระ (ซึ่งเป็น Quality Characteristics) กับตัวแปรตาม (ซึ่งเป็น Process Product Variable) เพื่อให้ผลลัพธ์ตามที่ต้องการ วิธีการพื้นผิวผลตอบ (Response Surface Methodology, RSM) เป็นการรวมเทคนิคทั้งทางคณิตศาสตร์และทางสถิติที่มีประโยชน์ต่อการสร้างแบบจำลองและวิเคราะห์ปัญหา โดยที่ผลตอบที่สนใจขึ้นอยู่กับหลายตัวแปร และมีวัตถุประสงค์ที่จะหาค่าที่ดีที่สุดของผลตอบสนอง ซึ่งนำเสนอในรูปแบบกราฟสามมิติ เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ 2 ตัว ซึ่งอยู่ในแนวระนาบ หรือแกน X และแกน Y กับตัวแปรตาม ซึ่งอยู่ในแนวตั้งแกน Z โดยระดับการวัดของตัวแปรต้องอยู่ในระดับ Interval หรือ Ratio scale และความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระสองตัวกับตัวแปรตาม 1 ตัว สามารถอธิบายได้โดยการสร้างสมการทางคณิตศาสตร์ ที่เรียกว่าตัวแบบ (Model)

ปัญหาเกี่ยวกับ RSM ส่วนมากจะใช้แบบจำลองกำลังหนึ่งหรือแบบจำลองกำลังสองในการหาผล โดยหลักการทำ RSM ต้องทำการกำหนดตัวแปรอิสระอย่างน้อย 2 ตัวขึ้นไป และกำหนดตัวแปรตามอย่างน้อย 1 ตัว จากนั้นนำข้อมูลของตัวแปรอิสระ (x) มาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์อาจเป็นความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรง ความสัมพันธ์เชิงเส้น Interaction หรือความสัมพันธ์เชิง Quadratic แล้วนำแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ไปสร้างเป็นภาพสามมิติดังแสดงรูปที่ 2-6 จากนั้นทำการตรวจสอบจุดหรือช่วงที่เหมาะสม (Optimization) และทำการพิสูจน์สมการตัวแบบที่สร้างได้ โดยทำการใช้จุดที่อยู่ในบริเวณช่วงที่เหมาะสมของตัวแปรอิสระเพื่อนำไปทำการทดลองอีกครั้ง แล้ววัดค่าตัวแปรตามเพื่อตรวจสอบกับตัวแปรตามที่ได้จากสมการ ว่ามีความใกล้เคียงกันหรือไม่



รูปที่ 2-6 ภาพสามมิติที่ได้จากโปรแกรม RSM

ที่มี: Sharma *et al.* (2013)

การทดลอง Design of Experiment พัฒนาการแบบการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Experiment of Factorial Design) คือ การทดลองที่พิจารณาถึงผลที่เกิดการรวมตัวกันของระดับปัจจัยทั้งหมดที่เป็นไปได้ในการทดลอง ซึ่งการออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียลมีประโยชน์ เช่น ทำให้สามารถหลีกเลี่ยงปัจจัยที่ก่อให้เกิดการผิดพลาดมาได้ เพราะการออกแบบการทดลองที่มีประสิทธิภาพเหนือกว่าการทดลองที่ละปัจจัย และทำให้เราสามารถประเมินผลของปัจจัยหนึ่งที่ระดับต่างๆ ได้ ซึ่งการออกแบบเชิงแฟกทอเรียลมีหลายแบบ ได้แก่

1. การออกแบบเชิงแฟกทอเรียล 2 ปัจจัย เป็นการออกแบบที่ง่ายที่สุด จะเกี่ยวข้องกับปัจจัย 2 ปัจจัย เช่น ปัจจัย A และปัจจัย B ซึ่งปัจจัย A ประกอบด้วย a ระดับ ส่วนปัจจัย B จะประกอบด้วย b ระดับ ซึ่งในแต่ละเรพลิเคตของการทดลองจะมีปัจจัยทั้งหมดเท่ากับ axb และจะมีจำนวนเรพลิเคต n ครั้ง

2. ออกแบบเชิงแฟกทอเรียล 3 ปัจจัย จะมีระดับปัจจัย 3 ระดับ ได้แก่ ระดับต่ำ กลาง และสูง ซึ่งสัญลักษณ์ที่ใช้แทนระดับทั้ง 3 จะใช้เป็นตัวเลข -1, 0 และ 1 ตามลำดับ เป็นที่น่าสังเกตว่าการทดลองแบบนี้จะมีระดับที่ 3 ของปัจจัยเข้ามาเพิ่มในการทดลอง ทำให้สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลตอบสนองและปัจจัยที่สนใจในลักษณะที่เป็นสมการแบบควอดราติกได้

2.14 สมการการเจริญเติบโตของสาหร่าย

การคำนวณหาแบบจำลอง และสมการทางคณิตศาสตร์ เพื่อใช้หาอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เริ่มต้นตั้งแต่ปี 1920 โดยมีการพัฒนาจากวิธีการคำนวณหา thermal death time (เวลาในการใช้ความร้อนฆ่าเชื้อจุลินทรีย์) ต่อมาในปี 1980 แบบจำลองและสมการทางคณิตศาสตร์ถูกฟื้นฟูอีกครั้ง โดยมีแรงผลักดันมาจากการแพร่พันธุ์ของจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในตู้เย็นโดยใช้หลักการคณิตศาสตร์และสถิติเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ จนกระทั่งมีการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในรูปแบบต่างๆ และนำไปใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน (Whiting and Bechanan., 2001) แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ถูกนำมาใช้เพื่อประมาณพารามิเตอร์ (Specific growth rate และ Lag time) ที่ต้องการ เพื่อศึกษาการเจริญภายใต้สภาวะทางกายภาพและเคมีที่แตกต่างกัน เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมของการเลี้ยงจุลินทรีย์ หรือสร้างแบบจำลองเพื่อใช้ในการทำนายการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งในปัจจุบันแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ในการหาการเจริญเติบโตของเซลล์ได้แก่

2.14.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่าย คือค่าอัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์สาหร่ายเมื่อเทียบกับเวลา ค่าที่ได้จากสมการแสดงให้เห็นถึงปริมาณการเจริญเติบโตของสาหร่ายต่อเวลา หากค่าอัตราการเจริญเติบโตที่ได้มีค่ามาก แสดงว่าอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายในช่วง

นั้นมีมาก โดยเทียบกับช่วงเวลาที่ใช้ในการการเจริญเติบโตเท่ากัน อัตราการการเจริญจำเพาะหาได้จากสมการที่ 2-2

$$\text{Specific growth rate} = \frac{\log N_i - \log N_{i-1}}{t_i - t_{i-1}} ; i = 1, 2, 3, \dots, n \quad (2-2)$$

โดย N_i = จำนวนเซลล์ของสาหร่ายที่ช่วงเวลา i

N_{i-1} = จำนวนเซลล์ของสาหร่ายที่ช่วงเวลา $i-1$

t_i = ช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญให้ได้จำนวนเซลล์ของสาหร่ายเท่ากับ N_i

t_{i-1} = ช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญให้ได้จำนวนเซลล์ของสาหร่ายเท่ากับ N_{i-1}

2.14.2 สมการ Monod's equation

การเจริญเติบโตของสาหร่ายสำหรับการเพาะเลี้ยงแบบเก็บเกี่ยวเพียงครั้งเดียวที่มีสารอาหารเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโต สามารถอธิบายโดยใช้สมการของโมนอด (Monod's equation) ขณะสาหร่ายมีการเจริญเติบโต อัตราการเพิ่มขึ้นของสาหร่ายต่อหน่วยเวลาเป็นสัดส่วนกับปริมาณสาหร่าย ณ เวลาเริ่มต้น ดังสมการที่ 2-3

$$X_t = X_0 e^{\mu t} \quad (2-3)$$

โดยที่ X_t = จำนวนเซลล์สาหร่ายที่เวลา t

X_0 = จำนวนเซลล์สาหร่ายที่เวลา $t=0$

μt = จำนวนครั้งในการแบ่งเซลล์

2.14.3 สมการ Gompertz

ปี 1988 Gibson *et al.* (1988) ได้นำสมการ Gompertz มาใช้ศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่อยู่ในอาหาร โดยมีการประเมินชุดฟังก์ชันรูป Sigmoid และสมการ Gompertz ที่มีเส้นโค้งในการเจริญเติบโตช่วง lag phase และ exponential phase จากการศึกษาพบว่าสมการ Gompertz มีความเหมาะสมกับข้อมูลของจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตมากกว่าฟังก์ชัน sigmoid ทำให้แบบจำลองสมการ Gompertz ถูกศึกษาอย่างแพร่หลาย และนำไปประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในการสร้างแบบจำลองการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จนเป็นที่รู้จักในระดับสากล (Fujikawa *et al.*, 2004)

Kayombo *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษามลของความเข้มข้นสารอาหาร โดยทำการเลี้ยงที่สภาวะ heterotrophic เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายและจุลินทรีย์ โดยใช้ Modified Gompertz model เพื่อหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ดังสมการที่ 2-4

$$y = \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m e}{A} (\lambda - t) \right] + 1 \right\} \quad (2-4)$$

μ_m = อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย (day^{-1}),

A = อัตราการผลิตสาหร่ายสูงสุด (g/d),
= ระยะเวลาที่สาหร่ายใช้ในการปรับตัว (day),

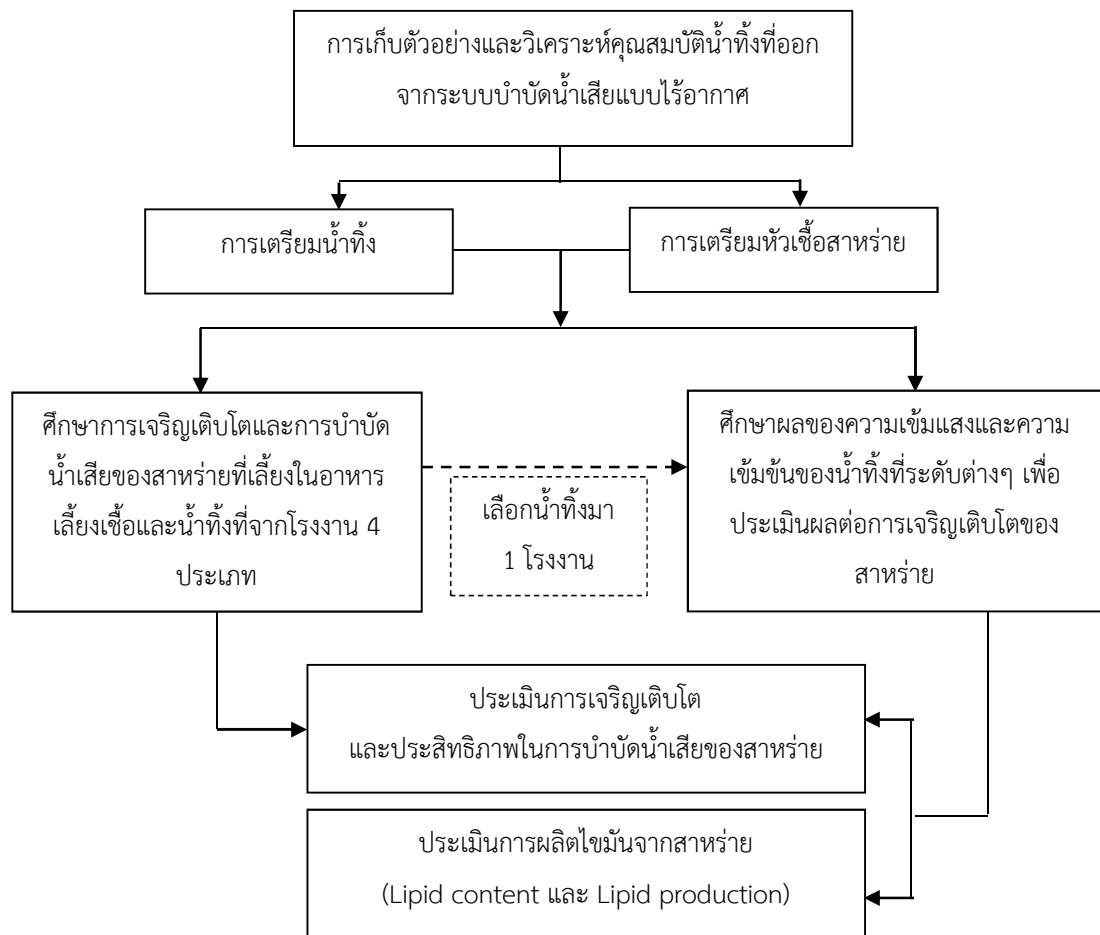
t = เวลา (day),

e = ค่าคงตัวทางคณิตศาสตร์ เท่ากับ 2.71828

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาการนำสาหร่ายมาเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากระบบน้ำเสียแบบไร้อากาศ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย และการผลิตไขมันจากสาหร่าย ดำเนินงานวิจัย ณ ห้องปฏิบัติการวิจัยก๊าซชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ รายละเอียดวิธีการดำเนินการวิจัยแสดงดังรูปที่ 3-1



รูปที่ 3-1 แผนผังสรุปขั้นตอนการดำเนินงานทดลอง

3.1 การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ

เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศของ 4 โรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ (1) ฟาร์มสุกร (PIG) ของบริษัท เหลียงเฮงหลีฟาร์ม จำกัด จ.สงขลา โดยเก็บน้ำทิ้งที่ออกจากระบบยูเอเอสบี (UASB : Upflow anaerobic sludge blanket) (2) โรงงานแปรรูปอาหารทะเล (SEA) ของบริษัท แปซิฟิคแปรรูปสัตว์น้ำ จำกัด เก็บน้ำทิ้งที่ออกจากระบบยูเอเอสบี (UASB : Upflow anaerobic sludge blanket) (3) โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (PAL) ของบริษัท ทักษิณปาล์ม (2521) จำกัด เก็บน้ำทิ้งที่ออกจากระบบคัฟเวอร์ลาagoon (Covered lagoon) และ (4) โรงงานน้ำยางข้น (LAT) ของบริษัท ฉลองอุตสาหกรรมน้ำยางข้น จำกัด เก็บน้ำทิ้งที่ออกจากระบบยูเอเอสบี (UASB : Upflow anaerobic sludge blanket) และนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำทิ้งดังตารางที่ 3-1

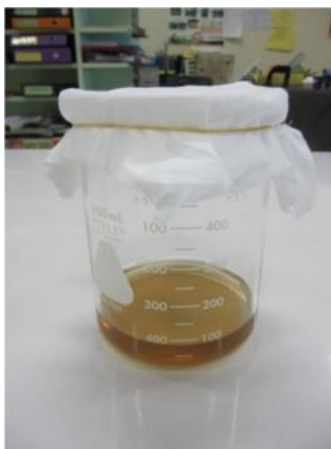
ตารางที่ 3-1 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์ลักษณะน้ำทิ้งจากระบบบำบัดผลิตก๊าซชีวภาพ

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
pH	pH meter
Suspended solid (SS)	Gravimetric Method APHA, AWWA and WEF (2005)
COD	COD Test (Merck Pharo 100 spectrophotometer manual)
Total nitrogen (TN)	Nitrate Test (Merck Pharo 100 spectrophotometer manual)
Total ammonia (NH ₃)	Ammonium Test (Merck Pharo 100 spectrophotometer manual)
Nitrate (NO ₃)	Nitrate Test (Merck Pharo 100 spectrophotometer manual)
Total phosphorus (TP)	Phosphate Test (Merck Pharo 100 spectrophotometer manual)
Turbidity	Nephelometric method APHA, AWWA and WEF (2005)

3.2 การเตรียมน้ำทิ้ง

3.2.1 นำตัวอย่างน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ มากรองด้วยผ้ามัสลิน (ขนาดรูพรุน 300 ไมครอน) เพื่อกรองเอาตะกอนที่อยู่ในน้ำเสียออก แสดงดังรูปที่ 3-2 จากนั้นนำน้ำที่ผ่านการกรองไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

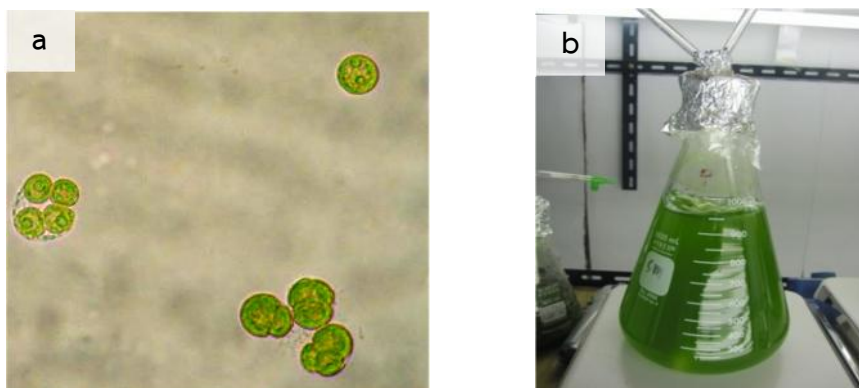
3.2.2 ตั้งตัวอย่างน้ำทิ้งให้ตกตะกอน เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพของน้ำตัวอย่าง จากนั้นนำน้ำทิ้งส่วนใสไปวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีแสดงดังตารางที่ 3-1



รูปที่ 3-2 ตัวอย่างน้ำทิ้งที่ผ่านการกรอง

3.3 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

สาหร่ายที่ใช้ในการศึกษา เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp. ตัวอย่างสาหร่ายที่ได้มาจากสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จ. สงขลา แสดงดังรูปที่ 3-3 โดยเลี้ยงในสารอาหาร Modified Chu 13 (ตารางที่ 3-2 และ 3-3) ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 mL ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที มีการให้อากาศตลอดเวลาซึ่งอากาศที่เข้าไปจะผ่านตัวกรองสำลี โดยให้อัตราการให้อากาศ 0.4 vvm อีกทั้งกวนสาหร่ายด้วยเครื่องกวนชนิดใช้แม่เหล็ก (magnetic stirrer) เพื่อป้องกันไม่ให้สาหร่ายตกตะกอน และเลี้ยงสาหร่ายในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 1 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 3,000 lux โดยใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (Cool white fluorescent) เป็นตัวควบคุมความเข้มแสง (สภาวะรับแสง 16 ชั่วโมง และ 8 ชั่วโมง ไม่ได้รับแสง) เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับทำการทดลองต่อไป



รูปที่ 3-3 สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp. (a) ภาพถ่ายสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000X และ (b) การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp.

ตารางที่ 3-2 อาหารเลี้ยงเชื้อ สูตร Modified Chu 13

ส่วนประกอบ	ความเข้มข้น (g/L)
KNO_2	0.200
K_2HPO_4	0.040
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.100
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.054
Fe citrate	0.010
Citric acid	0.100

เมื่อละลายองค์ประกอบหลักแล้ว เติม Micro element 1 mL ดังแสดงในตารางที่ 3-3 ปรับ pH ให้ได้ 6.7 โดยใช้ 1N KOH, HCl

ตารางที่ 3-3 องค์ประกอบของ Micro element ปริมาตร 1 ลิตร

ส่วนประกอบ	ความเข้มข้น (g/L)
H_3BO_3	2.85
MnCl_2	1.80
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.08
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.08
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.05

3.4. การทดลองที่ 1 ศึกษาการเจริญเติบโตและการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงาน 4 ประเภท

การทดลองนี้เป็นการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม 4 ประเภท และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 โดยควบคุมความเข้มแสงที่ 3,000 lux เนื่องจากสาหร่ายคลอเรลลามีการสังเคราะห์แสงอยู่ในช่วง 3,000 – 30,000 lux (Borowitzka *et al.*, 1988) การศึกษาในครั้งนี้จึงเลือกความเข้มแสงที่ 3,000 lux ซึ่งเป็นความเข้มแสงต่ำสุดที่สาหร่ายคลอเรลลามีการเจริญเติบโตได้ เพื่อนำมาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยมีขั้นตอนการศึกษาดังต่อไปนี้

3.4.1 ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบกะ (Batch culture) เป็นระยะเวลา 32 วัน โดยนำหัวเชื้อสาหร่ายมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 และน้ำทิ้งจากโรงงาน 4 โรงงานที่มีการเตรียมน้ำเสียดังข้อที่ 3.2 โดยการศึกษาครั้งนี้ ทำการเจือจางค่าไนโตรเจนให้เท่ากันทุกโรงงาน โดยใช้ค่าไนโตรเจนของน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร (PIG) ซึ่งมีความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงสุดคือ 500.0 mg/L ดังนั้น ในการทดลองนี้จึงใช้ค่าไนโตรเจนของน้ำทิ้ง PIG เป็นค่าอ้างอิงสำหรับการเจือจางความเข้มข้นไนโตรเจนเป็น 2 เท่า โดยใช้น้ำกลั่นเจือจางความเข้มข้นของน้ำทิ้งแต่ละโรงงานให้มีค่าไนโตรเจนอยู่ในช่วง 250 mg/L ให้เท่ากันทุกโรงงาน โดยทำการเลี้ยงสาหร่ายที่ความเข้มแสง 3,000 lux

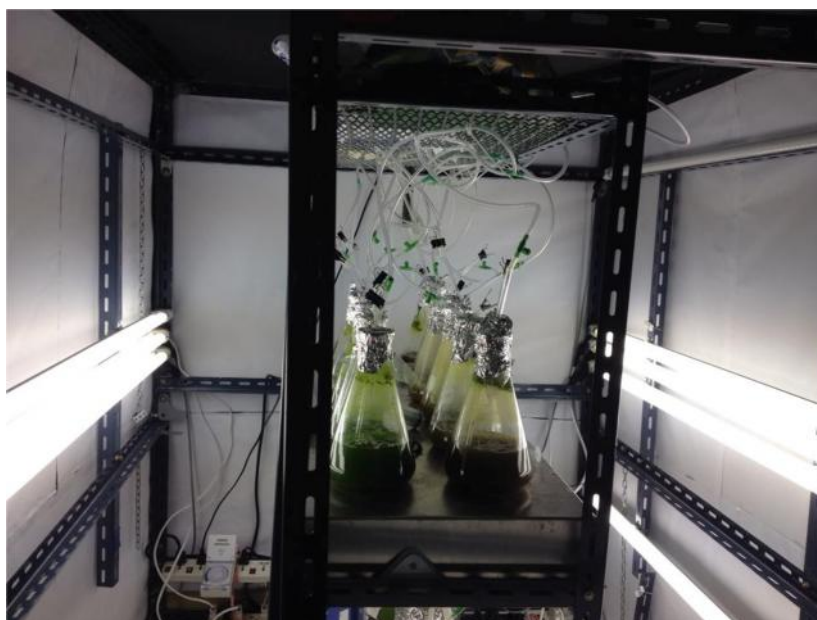
3.4.2 นำหัวเชื้อสาหร่ายที่เลี้ยงไว้ ในขั้นตอนที่ 3.3 มาหาค่า Optical Density ที่ความยาวคลื่น 600 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ให้ค่า OD₆₀₀ เริ่มต้นเท่ากับ 0.9 จากนั้นนำสาหร่ายปริมาณ 100 mL ซึ่งมีความเข้มข้นประมาณ 0.1 g ใสลงไปในชุดการทดลองละ 100 mL โดยเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 1 L

3.4.3 ให้อากาศตลอดเวลาโดยอากาศที่เข้าไปผ่านตัวกรองในสาลีเพื่อกรองอากาศให้บริสุทธิ์ก่อนเข้าสู่การเพาะเลี้ยง โดยให้อัตราการให้อากาศ 0.4 vvm และกวนสาหร่ายด้วยเครื่องกวนชนิดใช้แม่เหล็ก เพื่อป้องกันไม่ให้อาหารตกตะกอนและเพิ่มการกระจายออกซิเจนในน้ำ ทำให้สาหร่ายสามารถสังเคราะห์แสงได้ดีขึ้น เลี้ยงสาหร่ายในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25±1 องศาเซลเซียส และติดตั้งหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (Cool white fluorescent) และวัดความเข้มแสงโดยใช้ลักซ์มิเตอร์ (Lux Meter) โดยนำลักซ์มิเตอร์วางแนบกับขวดที่ใช้ในการทดลองและหันตัวรับแสงไปยังหลอดไฟ แล้วทำการปรับหลอดไฟเพื่อให้ได้ความเข้มแสงที่ต้องการ ที่อัตราการรับแสง 16 ชั่วโมง และ 8 ชั่วโมง ไม่ได้รับแสง แสดงดังรูปที่ 3-4

3.4.4 เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วัน ครั้งละ 30 mL จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง เพื่อประเมินการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Dry mass) แสดงดังสมการที่ 3-2 เมื่อได้ค่าความเข้มข้นของ

ของแข็งรวมในระบบ (ตะกอน+เซลล์สาหร่ายเริ่มต้น+เซลล์สาหร่ายที่เกิดขึ้น) แล้ว ทำการหักลบค่าความเข้มข้นของระบบจากการทดลองในวันที่ 0 (ตะกอน+เซลล์สาหร่ายเริ่มต้น) จากนั้นทำการบวกเพิ่มปริมาณเซลล์สาหร่ายเริ่มต้นที่ใส่ในการทดลอง ลงในค่าที่ได้จากการคำนวณ เพื่อเป็นการลดผลกระทบของตะกอนในน้ำทิ้งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายและได้ความเข้มข้นของสาหร่ายสำหรับประเมินในขั้นถัดไป

3.4.5 หาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย โดยทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งตามพารามิเตอร์ในตารางที่ 3-1 และความถี่การวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3-5.



รูปที่ 3-4 อุปกรณ์สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

3.5 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ เพื่อประเมินผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย และการผลิตน้ำมันของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร

การทดลองนี้เป็นการศึกษาการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย และการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย โดยนำน้ำทิ้งจากการทดลองที่ 1 (ข้อ 3.4.1) ทำการเลือกน้ำทิ้งมา 1 โรงงาน ซึ่งพิจารณาจากสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ซึ่งก็คือน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร (PIG) มาทำการศึกษาเพื่อหาสภาวะความเข้มแสงและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่เหมาะสมในการทดลองที่ 2 และในการทดลองในขั้นตอนนี้ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสงระดับต่างๆ เพื่อนำมาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง โดยมีขั้นตอนการศึกษาดังต่อไปนี้

3.5.1 ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบกะ (Batch culture) เป็นระยะเวลา 32 วัน โดยนำสาหร่ายมาเพาะเลี้ยงในเลี้ยงอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Modified Chu 13 และน้ำทิ้งที่ถูกคัดเลือกจากการทดลองที่ 1 คือน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร เพื่อศึกษาความเข้มข้นของน้ำทิ้ง และทำการเจือจางน้ำทิ้งด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นของน้ำทิ้งลดลงเป็น 2 และ 3 เท่า เพื่อศึกษาสภาวะน้ำทิ้งที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่ายและการผลิตไขมัน ดังนั้นความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ใช้ในการศึกษาแบ่งออกเป็น 3 ระดับได้แก่ (1) น้ำทิ้งที่ไม่เจือจางไนโตรเจน (D1), (2) น้ำทิ้งเจือจางความเข้มข้นลดลง 2 เท่า (D2) และน้ำทิ้งเจือจางความเข้มข้นลดลง 3 เท่า (D3) และเลี้ยงที่ความเข้มแสง 3 ระดับ คือ 3,000 6,000 และ 9,000 lux แสดงดังตารางที่ 3-4

ตารางที่ 3-4 ความเข้มแสงและระดับความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย

ความเข้มแสง (lux)	ระดับความเข้มข้นของน้ำทิ้ง
3,000 lux	ไม่เจือจางน้ำทิ้ง (D1)
	ทิ้งเจือจางความเข้มข้นของน้ำทิ้งลดลง 2 เท่า (D2)
	น้ำทิ้งเจือจางความเข้มข้นของน้ำทิ้งลดลง 3 เท่า (D3)
6,000 lux	ไม่เจือจางน้ำทิ้ง (D1)
	ทิ้งเจือจางความเข้มข้นของน้ำทิ้งลดลง 2 เท่า (D2)
	น้ำทิ้งเจือจางความเข้มข้นของน้ำทิ้งลดลง 3 เท่า (D3)
9,000 lux	ไม่เจือจางน้ำทิ้ง (D1)
	ทิ้งเจือจางความเข้มข้นของน้ำทิ้งลดลง 2 เท่า (D2)
	น้ำทิ้งเจือจางความเข้มข้นของน้ำทิ้งลดลง 3 เท่า (D3)

3.5.2 ทำการเตรียมตัวอย่างน้ำทิ้งที่ถูกคัดเลือกจากการทดลองที่ 1 มาทำการกรองและฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ดังข้อ 3.2

3.5.3 นำหัวเชื้อสาหร่าย จากข้อ 3.3 ใส่ลงไปในทุกชุดการทดลอง และติดตั้งอุปกรณ์การเลี้ยงสาหร่าย ดังขั้นตอนที่ 3.4.2 ถึง 3.4.3

3.5.4 การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ข้อมูล ทุกๆ 2 วัน ครั้งละ 30 mL จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต (ข้อที่ 3.6) ซึ่งสามารถวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่าย (Dry mass) ดังแสดงสมการที่ 3-2 และหาค่าศักยภาพการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยแทน

ค่าปริมาณเซลล์สาหร่ายที่ได้จากสมการที่ 3-2 ที่มีการหักลบค่าความเข้มข้นของระบบจากการทดลองในวันที่ 0 (ตะกอน+เซลล์สาหร่ายเริ่มต้น) ลงในสมการ Modified Gompertz equation แสดงดังสมการที่ 3-3 เพื่อลดผลกระทบของตะกอนในน้ำทิ้งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย จากนั้นเมื่อได้ค่าศักยภาพการเจริญเติบโตของสาหร่ายแล้ว ทำการบวกเพิ่มปริมาณเซลล์สาหร่ายเริ่มต้นที่ใส่ในการทดลอง ลงในค่าที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการ Modified Gompertz equation และศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียโดยวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งตามพารามิเตอร์ในตารางที่ 3-1 และความถี่ในการวิเคราะห์ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 3-5

3.5.5 ศึกษาการผลิตไขมันจากสาหร่ายในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร ทำการสกัดน้ำมันดังข้อ 3.7 และวิเคราะห์หา Lipid content และ Lipid production ดังสมการที่ 3-5 และ 3-6 และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อปริมาณไขมันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย โดยใช้โปรแกรม Design-Expert แบบ Central Composite Design (CCD) มาใช้ในการออกแบบการทดลอง โดยศึกษา 3 ปัจจัย เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อ Lipid production ได้แก่ เวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (TC) ความเข้มข้นแสง (LI) และความเข้มข้นฟอสฟอรัสเริ่มต้น (TPI) เมื่อทำการทดลองตามทีออกแบบแล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าผลการตอบสนอง โดยสามารถแสดงความสัมพันธ์ได้ดังสมการ 3-1

$$Y = s_0 + \sum_{i=1}^k s_i X_i + \sum_{i=1}^k s_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1, < j=2}^{k-1} \sum_{j=2}^k s_{ij} X_i X_j \quad (3-1)$$

โดยที่ Y = predicted response;

β_0 = the constant of the model

β_i = the linear coefficient

β_{ii} = the quadratic coefficient

β_{ij} = the coefficient for the ij interaction effect when $i < j$

k = the number of studied variables

X_i and X_j = the independent variable (natural values)

ซึ่งจากการทดลองค่า Y ที่ใช้ในการศึกษาคือ Lipid production (mg/Lmedium) โดยปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วย 3 ปัจจัยได้แก่ ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (TC), ความเข้มข้นแสง (LI) และความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้น (TPI)

3.5.6 นำไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายไปวิเคราะห์กรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

3.6 การวิเคราะห์การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพในการกำจัดสารอาหารในน้ำทิ้งจากสาหร่าย

3.6.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

การวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยการเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วัน และนำสาหร่ายที่เก็บได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกเซลล์สาหร่ายและน้ำทิ้งออกจากกัน นำสาหร่ายที่ตกตะกอนมาหาปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย ซึ่งใช้วิธีการวิเคราะห์ Total Suspended Solid (Lam *et al.*, 2010) โดยการนำสาหร่ายไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 2-3 วัน จนน้ำหนักคงที่ เพื่อหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย ดังสมการที่ 3-2

$$\text{Dry mass (mg/L)} = \frac{(A-B)}{v} \quad (3-2)$$

A = Weight of filter with algal cell (mg)

B = Weight of blank filter (g)

v = Sample volume (mL)

การวิเคราะห์หาค่าศักยภาพในการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยใช้ Modified Gompertz equation สมการที่ 3-3

$$DM(t) = DM_0 + DM_{max} \cdot \exp\left\{-\exp\left[\frac{Rm \cdot e}{H}(\lambda + 1) + 1\right]\right\} \quad (3-3)$$

DM(t) = cumulative algal dry mass concentration (g/L) at time t;

e = exp(1) = 2.71828,

Rm = maximum specific algal growth rate (g/L/day),

DM₀ = the initial algal dry mass concentration,

Dm_{max} = algal dry mass production potential (g/L)

= lag phase time (days)

3.6.2 ประสิทธิภาพในการกำจัดสารอาหาร

การหาประสิทธิภาพในการกำจัดสารอาหารในสาหร่ายโดยนำน้ำตัวอย่างส่วนใส่ที่ได้จากการหมุนเหวี่ยงในข้อ 3.6.1 ไปวิเคราะห์ธาตุและสารอาหาร (TN, TP, COD, NH₃, NO₃, ความขุ่น และความเป็นกรดเป็นด่าง) ดังตารางที่ 3-1 นำข้อมูลที่ได้มาหาประสิทธิภาพในการกำจัดสารอาหารในน้ำทิ้ง ดังสมการที่ 3-4 และวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS version 16 for windows ด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (p<0.05)

$$\% \text{ Remove} = \left(\frac{C_0 - C_i}{C_0} \right) \times 100 \quad (3-4)$$

C_0 = defined as the mean values of nutrient concentration at initial time t_0

C_i = defined as the mean values of nutrient concentration at time t_i ,

ตารางที่ 3-5 พารามิเตอร์ และความถี่ในการวิเคราะห์น้ำทิ้งหลังจากการเลี้ยงสาหร่าย

Parameters	ความถี่ในการวิเคราะห์	
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2
pH	ก่อนและหลังการทดลอง	ก่อนและหลังการทดลอง
Suspended solid (SS)	ก่อนและหลังการทดลอง	ก่อนและหลังการทดลอง
COD (mg/L)	ก่อนและหลังการทดลอง	ทุก 2 วัน
Total nitrogen (TN)	ทุก 2 วัน	ทุก 2 วัน
Total ammonia (NH ₃)	ก่อนและหลังการทดลอง	ทุก 2 วัน
Nitrate (NO ₃)	ก่อนและหลังการทดลอง	ทุก 2 วัน
Total phosphorus (TP)	ทุก 2 วัน	ทุก 2 วัน
Turbidity	ก่อนและหลังการทดลอง	ก่อนและหลังการทดลอง
Lipid content	-	วันที่ 0, 10, 12 และ 32
Lipid production	-	วันที่ 0, 10, 12 และ 32

3.7 การสกัดน้ำมัน

การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายมีวิธีการดังนี้

3.7.1 นำเซลล์แห้งจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานมาทำการสกัดน้ำมันโดยใช้วิธีของ Folch *et al.* (1957) นำเซลล์สาหร่ายแห้งผสมกับ โครโรฟอร์ม : เมทานอล (อัตราส่วน 2:1 v/v) ในหลอดทดลองขนาดเล็ก และนำมาสกัดโดยใช้เครื่อง Sonicator Transsonic model E 30H, Elma, Singen, Germany เป็นเวลา 30 นาที

3.7.2 แยกส่วนใส (Supernatant) และตะกอน (Sediment) โดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที

3.7.3 ดูดสารละลายที่เป็นส่วนใสซึ่งมีไขมันผสมอยู่ในหลอดทดลองขนาดเล็กที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปไว้ที่ตู้ดูดควันเพื่อระเหยสารละลายโครโรฟอร์มและเมทานอล เพื่อให้เหลือเฉพาะส่วนของไขมัน

3.7.4 นำตะกอนที่ได้จากการทดลอง 3.7.2 มาทำซ้ำในขั้นตอน 3.7.1 - 3.7.4 จนส่วน Supernatant เป็นสีใส ซึ่งการทำซ้ำในขั้นตอนนี้เป็นการสกัดไขมันจากสาหร่ายให้ได้มากที่สุด

3.7.5 นำส่วนใส (Supernatant) ที่ได้จากการทดลองที่ 3.7.3 ที่ระเหยจนเหลือแต่ไขมัน มาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ และนำมาคำนวณหาปริมาณไขมันที่ (Lipid content) และผลผลิตไขมันจากสาหร่าย (Lipid production) ดังสมการ (3-5) และ (3-6) ตามลำดับ

$$\text{Lipid content (\%)} = \text{WL} / \text{DM} \times 100 \quad (3-5)$$

WL = the weight of the extracted lipids (g)

DM = the algal dry cell mass (g)

$$\text{Lipid production (mg/L}_{\text{medium}}) = \text{DM} \times \text{LC} / \text{V} \quad (3-6)$$

V = the volume of medium sample (L)

LC = the lipid content of sample (%)

DM = the algal dry cell mass (g)

3.8 การวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันจากสาหร่าย

การวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันที่ได้จากการสกัดนำไขมันจากเซลล์สาหร่ายในวันสุดท้ายของการทดลอง โดยใช้เทคนิค Gas Chromatograph – Flame Ionization Detector (FID) สภาวะการทดสอบด้วยเครื่อง GC

คอลัมน์ = ยาว : 30 เมตร, เส้นผ่านศูนย์กลาง : 0.32 มิลลิเมตร, ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร

อุณหภูมิดีเทคเตอร์ : 300 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิทางเข้า : 290 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเตาอบเริ่มต้น : 210 องศาเซลเซียส รักษาเวลาไว้ 12 นาที

อุณหภูมิสุดท้าย : 250 องศาเซลเซียส รักษาเวลาไว้ 8 นาที

อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียม : 1 มิลลิตรต่อนาที

อัตราการไหลของแก๊สไฮโดรเจน : 30 มิลลิตรต่อนาที

อัตราการไหลของอากาศ : 300 มิลลิตรต่อนาที

อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน : 25 มิลลิตรต่อนาที

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1. ลักษณะน้ำทิ้งจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศจากโรงงานอุตสาหกรรม 4 ประเภท

งานวิจัยนี้ทำการเก็บตัวอย่างลักษณะน้ำทิ้งจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศของ 4 โรงงาน ได้แก่ 1. ฟาร์มหมู (PIG) 2. โรงงานแปรรูปอาหารทะเล (SEA) 3. โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (PAL) และ 4. โรงงานผลิตน้ำยางข้น (LAT) โดยนำตัวอย่างน้ำทิ้งของโรงงานต่างๆที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ มาวิเคราะห์ลักษณะทางเคมี (Raw effluent) ผลวิเคราะห์ลักษณะน้ำทิ้งดังแสดงตารางที่ 4-1 โดยน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศแต่ละโรงงานจะมีลักษณะน้ำเสียแตกต่างกันออกไป เนื่องจากกระบวนการผลิตและวัตถุดิบของแต่ละโรงงานที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาจากลักษณะของน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศของ 4 โรงงาน พบว่ามีค่าพีเอชเป็นกลาง ค่าของแข็งแขวนลอย ค่าซีโอดี และค่าไนโตรเจนสูงกว่ามาตรฐาน ทำให้ไม่สามารถปล่อยทิ้งสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้ เพราะน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศมีประสิทธิภาพในการบำบัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำ ดังนั้นน้ำทิ้งที่ออกจากระบบจึงมีค่าไนโตรเจนสูง

ตารางที่ 4-1 ลักษณะน้ำทิ้งจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศของโรงงาน 4 ประเภท

Parameters	Raw effluent			
	PIG	SEA	PAL	LAT
pH	7.62	7.10	7.5	7.55
SS (mg/L)	1066.0	112.3	1483.0	185.0
COD (mg/L)	1728.3	1689.0	3158.2	2563.6
TN (mg/L)	689.2	432.5	315.0	415.1
Total ammonia (mg-N/L)	486.7	352.2	257.0	378
NO ₃ (mg-N/L)	4.3	5.6	33.2	11.2
Organic nitrogen (mg-N/L)	198.2	74.7	24.8	25.9
TP (mg/L)	50.2	54.3	15.9	61.2
Turbidity (NTU)	613	21	-*	57

หมายเหตุ * โรงงานปาล์มมีสีเข้มทำให้มีผลต่อการวัดค่าความขุ่น จึงไม่สามารถวิเคราะห์ได้

4.2 การทดลองที่ 1 ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศจากโรงงาน 4 ประเภท

การศึกษาในขั้นตอนนี้ เป็นการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม 4 ประเภท โดยทำการเจือจางค่าไนโตรเจนในน้ำทิ้งให้เท่ากันทุกโรงงาน โดยใช้ค่าไนโตรเจนของ PIG หลังจากการปรับสภาพโดยมีการกำจัดตะกอนและผ่านการฆ่าเชื้อ (Autoclave) พบว่ามีความเข้มข้นไนโตรเจนเริ่มต้นของโรงงานฟาร์มสุกรก่อนการเจือจางน้ำทิ้งมีค่าไนโตรเจนสูงสุดเท่ากับ 500.0 mg/L จึงใช้ค่าไนโตรเจนของน้ำทิ้ง PIG เป็นค่าอ้างอิงสำหรับการเจือจางความเข้มข้นเป็น 2 เท่า ซึ่งจะได้ค่าไนโตรเจนอยู่ในช่วง 250-260 mg/L ผลวิเคราะห์ลักษณะน้ำทิ้งแสดงดังตารางที่ 4-2 เพื่อใช้ศึกษาผลของไนโตรเจนที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเปรียบเทียบกับสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 เลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 lux

ตารางที่ 4-2 ลักษณะน้ำทิ้งที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ผ่านปรับสภาพและการเจือจางของโรงงานอุตสาหกรรม 4 ประเภท

Parameters	Autoclave			
	PIG	SEA	PAL	LAT
pH	7.84	7.89	7.81	7.82
SS (mg/L)	24.0	30.2	47.7	9.4
COD (mg/L)	385.5	1126.0	2081.8	1032.0
TN (mg/L)	266.0	257.3	251.2	236.3
Total ammonia (mg-N/L)	130.3	141.3	163.3	214.5
NO ₃ (mg-N/L)	2.9	2.1	14.0	3.9
Organic nitrogen (mg-N/L)	132.8	113.9	102.2	17.9
TP (mg/L)	17.9	23.3	7.3	17.5
Turbidity (NTU)	189	10	-*	19
C:N:P	21:15:1	26:11:1	285:34:1	57:13:1

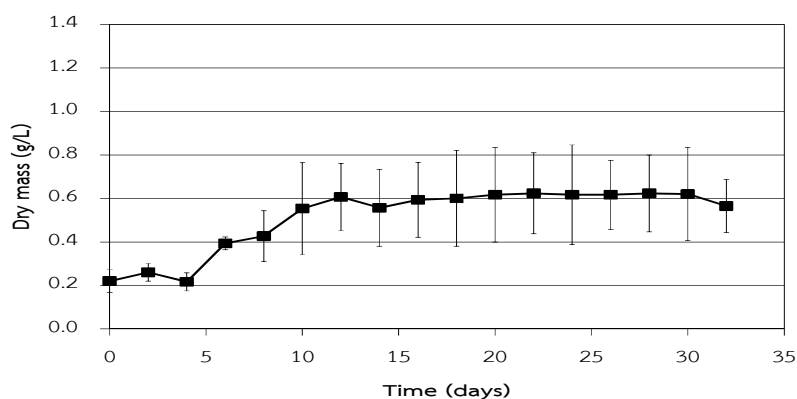
หมายเหตุ: ค่าทุกค่าก่อนนำมาวิเคราะห์ตั้งให้ตกตะกอน เอาแต่ส่วนใสมาวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

* โรงงานปาล์มมีสีเข้มทำให้มีผลต่อการวัดค่าความขุ่น จึงไม่สามารถวิเคราะห์ได้

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4-2 พบว่าลักษณะทางเคมีแต่ละโรงงาน ได้แก่ พีเอช ซีโอดี ไนโตรเจนทั้งหมด แอมโมเนีย ไนเตรท ฟอสฟอรัส ความขุ่น และ อัตราส่วน C:N:P มีค่าแตกต่างกัน โดยเฉพาะอัตราส่วน C:N:P ของ PAL มีค่ามากที่สุด (พิจารณาจากค่าซีโอดี) เมื่อเทียบกับโรงงานอื่นๆ และน้ำทิ้งที่วิเคราะห์ได้แต่ละโรงงานมีความเข้มข้นของสารอาหารในน้ำลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตารางที่ 4-1 เนื่องจากมีการกำจัดตะกอนออกและเจือจางน้ำทิ้ง แต่ค่าพีเอชที่วัดได้มีค่าเป็นกลางซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าพีเอชที่ออกจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศ ส่วนค่าความขุ่นของแต่ละโรงงานจะเห็นได้ว่าเป็นความแตกต่างกันอย่างมาก ซึ่งน้ำทิ้ง PAL ไม่สามารถวัดค่าได้ เพราะสีของน้ำค่อนข้างออกเป็นสีน้ำตาลเข้ม ถึงแม้จะมีการกำจัดตะกอนในน้ำทิ้งแล้วก็ตาม สาเหตุเนื่องจากน้ำทิ้ง PAL มีสารแทนนินที่ละลายอยู่ในน้ำ ทำให้เกิดสีน้ำตาลในน้ำ

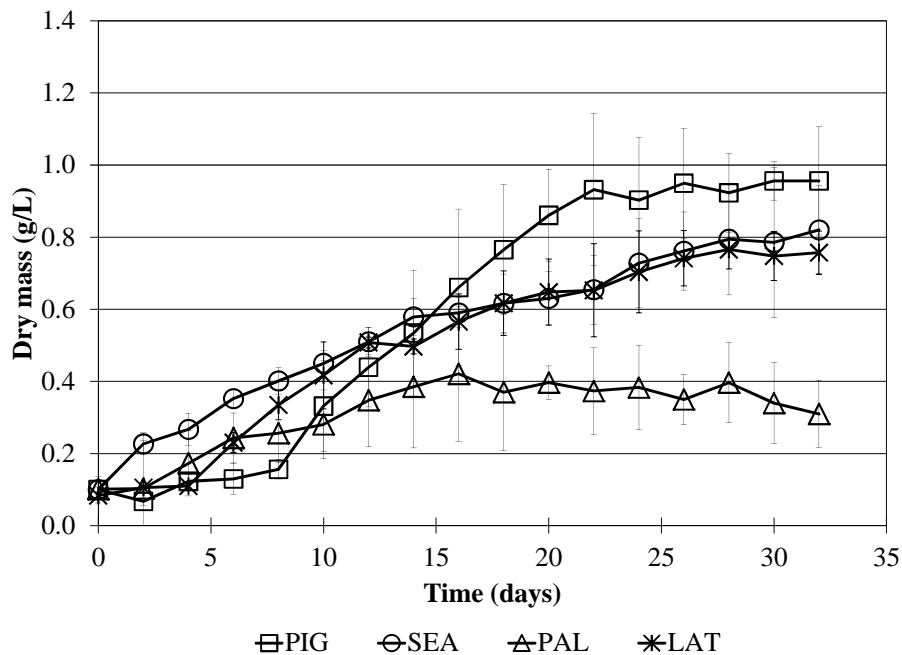
4.2.1 การเจริญเติบโตของสาหร่ายจากน้ำทิ้งของโรงงาน 4 ประเภท และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

ในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาเพื่อหาลักษณะน้ำทิ้งที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงสาหร่าย โดยทำการเปรียบเทียบน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศของโรงงาน 4 ประเภท คือ PIG, SEA, PAL และ LAT เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน ที่ความเข้มแสง 3,000 lux ซึ่งในการทดลองขั้นตอนนี้ ได้วิเคราะห์เซลล์สาหร่ายที่ได้มีการหักลบตะกอนของน้ำทิ้งในวันที่ 0 ของการทดลอง เพื่อไม่ให้ตะกอนในน้ำทิ้งส่งผลต่อการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย อีกทั้งในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 แสดงดังรูปที่ 4-1 เลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 lux เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการเปรียบเทียบอัตราการการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานอื่นๆ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเข้าสู่ระยะ Stationary phase ในวันที่ 10 และมีการเจริญเติบโตได้สูงสุดถึง 0.62 ± 0.18 g/L



รูปที่ 4-1 การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง 3,000 lux

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมทั้ง 4 ประเภทแสดงดังรูปที่ 4-2 พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำทิ้งแต่ละประเภทที่มีการกำหนดความเข้มข้นของไนโตรเจนเริ่มต้นให้มีระดับเท่ากัน ซึ่งในน้ำทิ้งของแต่ละโรงงานสาหร่ายจะมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันออกไป เนื่องจากน้ำทิ้งแต่ละแหล่งมีลักษณะแตกต่างกัน เช่น สีของน้ำ ความเข้มข้นของฟอสฟอรัส และซีโอติ เป็นต้น ซึ่งลักษณะที่กล่าวนี้เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย อีกทั้งเมื่อพิจารณาที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนที่เท่ากัน พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งทั้ง 4 โรงงาน เริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ในวันที่ 22-26 สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงใน PIG เจริญเติบโตได้ดีที่สุดเท่ากับ 0.96 ± 0.15 g/L เมื่อเปรียบเทียบกับ SEA และ LAT ซึ่งมีการเจริญเติบโตของสาหร่ายเท่ากับ 0.82 ± 0.12 และ 0.76 ± 0.06 g/L ตามลำดับ ในขณะที่ PAL มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด ปริมาณมวลสาหร่ายที่วิเคราะห์ได้มีค่าเท่ากับ 0.31 ± 0.09 g/L แต่เมื่อพิจารณาในช่วงระยะแรกของการเจริญเติบโตของสาหร่าย พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG มีช่วง lag phase นานกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งอื่นๆ เนื่องจากในน้ำทิ้ง PIG มีความเข้มข้นของแอมโมเนียในน้ำทิ้งน้อย แต่มีความเข้มข้นของอินทรีย์ไนโตรเจนมากเมื่อเทียบกับโรงงานอื่นๆ (ตารางที่ 4-2) จึงทำให้สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG ต้องมีการออกซิไดซ์อินทรีย์ไนโตรเจนให้เป็นแอมโมเนีย เพราะสาหร่ายคลอเรลลาจะมีการดูดซึมไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียเป็นลำดับแรก ซึ่งถ้าสาหร่ายต้องเปลี่ยนอินทรีย์ไนโตรเจนให้เป็นแอมโมเนียจะทำให้เสียพลังงาน สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG ในช่วง 10 วันแรกของการเลี้ยงสาหร่ายจึงมีการเจริญเติบโตช้าเมื่อเทียบกับโรงงานอื่นๆ



รูปที่ 4-2 การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศ จากโรงงานอุตสาหกรรมทั้ง 4 ประเภท

เป็นที่น่าสังเกตน้ำทิ้งทั้ง 4 โรงงาน มีการเจือจางไนโตรเจนให้มีความเข้มข้นใกล้เคียงกันทุกโรงงาน แต่การเจริญเติบโตของสาหร่ายมีปริมาณแตกต่างกันออกไป ซึ่งเมื่อพิจารณา ลักษณะทางเคมีของน้ำทิ้งของแต่ละโรงงาน พบว่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งแตกต่างกัน เมื่อคิดเป็นอัตราส่วน N:P จะเห็นได้ชัดว่ามีอัตราส่วนที่แตกต่างกัน ซึ่งโดยทั่วไปอัตราส่วน N:P ที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงสาหร่ายจะมีค่าเท่ากับ 5:1-8:1 (Xin *et al.*, 2010) แต่จากผลการวิเคราะห์ คุณลักษณะน้ำทิ้ง พบว่า น้ำทิ้งจาก PIG, SEA, PAL และ LAT มีอัตราส่วน N:P เท่ากับ 15:1, 11:1, 34:1 และ 13:1 ตามลำดับ เพราะความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่วัดได้แต่ละโรงงานมีค่าแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4-2 และตารางที่ 4-2 พบว่าการเปลี่ยนแปลงของมวลสาหร่ายสอดคล้องกับปริมาณฟอสฟอรัสเริ่มต้น ซึ่ง จะเห็นว่าฟอสฟอรัสเริ่มต้นที่มีความเข้มข้นมากส่งผลให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดี สังเกตได้จาก ความเข้มข้นฟอสฟอรัสใน PIG, LAT และ PAL มีค่าฟอสฟอรัสเริ่มต้นเท่ากับ 17.77, 17.50 และ 7.30 mg/L เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโต พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงจาก PIG มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด รองลงมา คือสาหร่ายที่เลี้ยงใน LAT และ PAL ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าฟอสฟอรัสเป็น Limiting Factor ของ การเจริญเติบโตของสาหร่าย เพราะฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่สำคัญอีกอย่างหนึ่ง สำหรับการ เพิ่มขึ้นของมวลสาหร่าย (Li *et al.*, 2014) อีกทั้งมีความสำคัญต่อการสร้างพลังงาน (Adenosines Triphosphates; ATP) ในเซลล์สาหร่าย (Chu *et al.*, 2013) ซึ่งในผลการทดลองนี้ได้สอดคล้องกับ การศึกษาของ Xin *et al.* (2010) ที่เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของ ฟอสฟอรัสเริ่มต้นแตกต่างกัน จากการศึกษาพบว่าฟอสฟอรัสเริ่มต้นที่มีความเข้มข้นมาก ส่งผลให้ สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้นใน การเลี้ยงน้อย แต่เมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้นในน้ำทิ้ง SEA พบว่ามีค่ามากที่สุด (ฟอสฟอรัสเท่ากับ 23.3 mg/L) แต่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตน้อยกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงใน PIG แสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายต้องมีปัจจัยอื่นมาเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์ จากการศึกษาของ Kayombo *et al.* (2003) กล่าวว่าสาหร่ายคลอเรลลาสามารถเจริญเติบโตได้ใน ระดับความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นเท่ากับ 200-800 mg/L ซึ่งเมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4-1 พบว่าค่าซีโอ ดีเริ่มต้นของ SEA มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 1,126.0 mg/L ซึ่งมีค่าสูงเกินความต้องการของสาหร่าย จึง ส่งผลกระทบในทางลบ ทำให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายมีปริมาณน้อยกว่า PIG ซึ่งสอดคล้องศึกษาของ Lin *et al.* (2007) ทำการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* ในน้ำชะขยะจากหลุมฝังกลบ จากการศึกษาพบว่าเมื่อทำการเจือจางน้ำชะขยะให้มีค่าซีโอดีเริ่มต้นเท่ากับ 384.0 mg/L สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าในน้ำชะขยะที่มีค่าซีโอดีเท่ากับ 1,280.0 mg/L (ไม่มีการเจือจาง) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของซีโอดีที่สูงเกินไปส่งผลในทางลบต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย เนื่องจากค่าซีโอดีที่สูง ส่งผลทำให้เกิดการลดลงของความเข้มข้นออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved

oxygen) (Travieso *et al.*, 2006) แสดงว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตแบบ Mixotrophic ซึ่งมีการใช้อินทรีย์คาร์บอนมาที่อยู่ในรูปของซีโอติและแสงเข้ามาเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต

เมื่อพิจารณาสาหร่ายที่เลี้ยงใน PAL พบว่ามีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด นอกจากมีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้นน้อยที่สุด (ฟอสฟอรัสเท่ากับ 7.30 mg/L) และมีความเข้มข้นของซีโอติที่สูงถึง 2,081.8 mg/L เมื่อเทียบกับอีก 3 โรงงาน สีและความขุ่นของน้ำทิ้งเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งที่ส่งผลเชิงลบในการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งน้ำทิ้งมีความขุ่นค่อนข้างสูง และมีสีน้ำตาลเข้มถึงแม้จะมีการกำจัดตะกอนออกแล้ว แต่ค่าความขุ่นก็ยังไม่สามารถวัดได้ ซึ่งสีของน้ำเป็นปัจจัยที่ทำให้ทำให้แสงส่องผ่านไปยังเซลล์สาหร่ายได้น้อย เนื่องจากสาหร่ายมีการใช้แสงในการสังเคราะห์อาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต แต่เมื่อแสงส่องไม่ถึงสาหร่ายจึงทำให้ต้องใช้พลังงานเคมีเป็นสารตรึงคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ในปฏิกิริยา Dark reaction หรือ Heterotrophic (Jacob-Lopes *et al.*, 2009) แสดงให้เห็นว่าความขุ่นสูงมีผลกระทบต่อเจริญเติบโตของสาหร่าย เนื่องจากทำให้สาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงลดลง จึงทำให้การเจริญเติบโตจึงน้อยมากเมื่อเทียบกับโรงงานอื่นๆ นี่จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สาหร่ายที่เลี้ยงใน PAL มีการเจริญเติบโตได้น้อย จากการศึกษาของ Liang *et al.* (2009) ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อศึกษาสภาวะการเจริญเติบโตของสาหร่าย จากการศึกษาพบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงที่สภาวะ Mixotrophic มีมวลของเซลล์สาหร่ายเท่ากับ 0.2-0.23 g/L/d ซึ่งมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าที่เลี้ยงในสภาวะ Heterotrophic ซึ่งมีการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.1-0.2 g/L/d ดังนั้นการส่องผ่านของแสงและสภาวะการเพาะเลี้ยงจึงเป็นปัจจัยสำคัญควบคุมการเจริญเติบโตของสาหร่าย

จากการทดลองที่กล่าวมาจึงสามารถสรุปได้ว่า สาหร่ายที่เลี้ยงใน PIG มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับโรงงานอื่นๆ เนื่องจากน้ำทิ้ง PIG มีความเข้มข้นของสารอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และอินทรีย์คาร์บอนอยู่ในช่วงที่เหมาะสม จึงทำให้น้ำที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศของฟาร์มสุกร (PIG) ได้นำไปใช้ในการศึกษาความเข้มแสง และความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายในการทดลองที่ 2

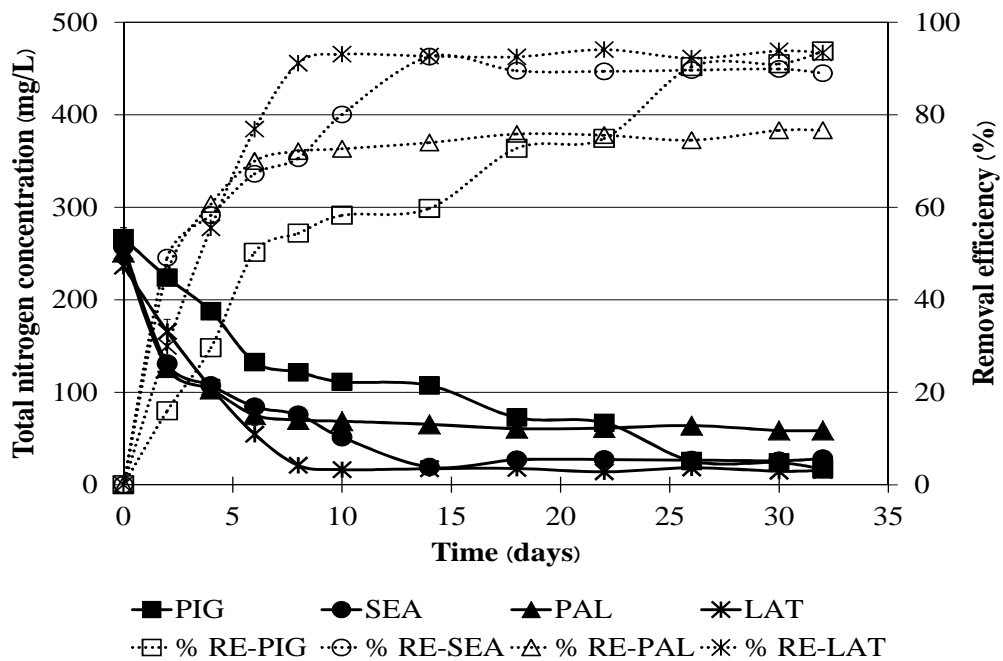
4.2.2 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของสาหร่าย

การเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ นอกจากจะได้สาหร่ายเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อนำไปใช้ผลิตไบโอดีเซล ยังทำให้เกิดการกำจัดสารอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย การระบายน้ำทิ้งที่มีปริมาณสารอาหารเหล่านี้ลงสู่แหล่งรองรับสาธารณะเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดปรากฏการณ์ Eutrophication

4.2.2.1 การกำจัดไนโตรเจน

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนในรูปของไนโตรเจนทั้งหมด (TN) ที่ความเข้มแสงในการเลี้ยงสาหร่าย 3,000 lux แสดงดังรูปที่ 4-3 ประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนของแต่ละวันคำนวณจากค่าความเข้มข้นไนโตรเจนในวันนั้นๆ เทียบกับค่าความเข้มข้นเริ่มต้น จากการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนทั้งหมด (TN) สอดคล้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย สังเกตได้จากน้ำทิ้ง PIG, SEA, PAL และ LAT ในช่วง 10 วันแรกสาหร่ายสามารถลดไนโตรเจนในน้ำทิ้งได้เพียง 58.25, 80.05, 72.64 และ 93.08% ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของสาหร่ายจากรูป 4-2 พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.35, 0.48, 0.33 และ 0.43 g/L ตามลำดับ ซึ่งการเจริญเติบโตและการลดลงของไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กัน เนื่องจากไนโตรเจนมีผลต่อน้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่าย ซึ่งโดยปกติไนโตรเจนมีหน้าที่หลักในการสังเคราะห์แสงจึงทำให้การลดลงของไนโตรเจนสอดคล้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Azov & Goldman, 1982) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG, SEA และ LAT มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งเท่ากับ 93.8, 89.0 และ 93.4% ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์น้ำทิ้งที่ผ่านการเลี้ยงด้วยสาหร่าย พบว่ามีค่าไนโตรเจนอยู่ในช่วง 14-58.7 mg/L ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรม โดยค่าไนโตรเจนต้องไม่มากกว่า 100 mg/L (กรมควบคุมมลพิษ, 2558) ซึ่งจะสังเกตได้ว่าเมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่ายนานขึ้น ทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนลดลงมากขึ้นตามระยะเวลา เนื่องจากสาหร่ายคลอเรลลาไม่สามารถตรึงไนโตรเจนในบรรยากาศมาใช้ได้ จึงนำไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของสารอินทรีย์ และอนินทรีย์ในน้ำทิ้งมาใช้ในการเจริญเติบโต (Haque *et al.*, 1969) สอดคล้องการศึกษาของ Feng *et al.* (2011) เลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียสังเคราะห์ ใน Column aeration photobioreactor (CAP) ในสภาวะแบบกะ ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux สามารถลดปริมาณไนโตรเจนในน้ำได้ถึง 96.0% และ Wang *et al.* (2009) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. จากน้ำเสียในแหล่งชุมชน สามารถลดปริมาณไนโตรเจนได้ถึง 50.0-82.8%

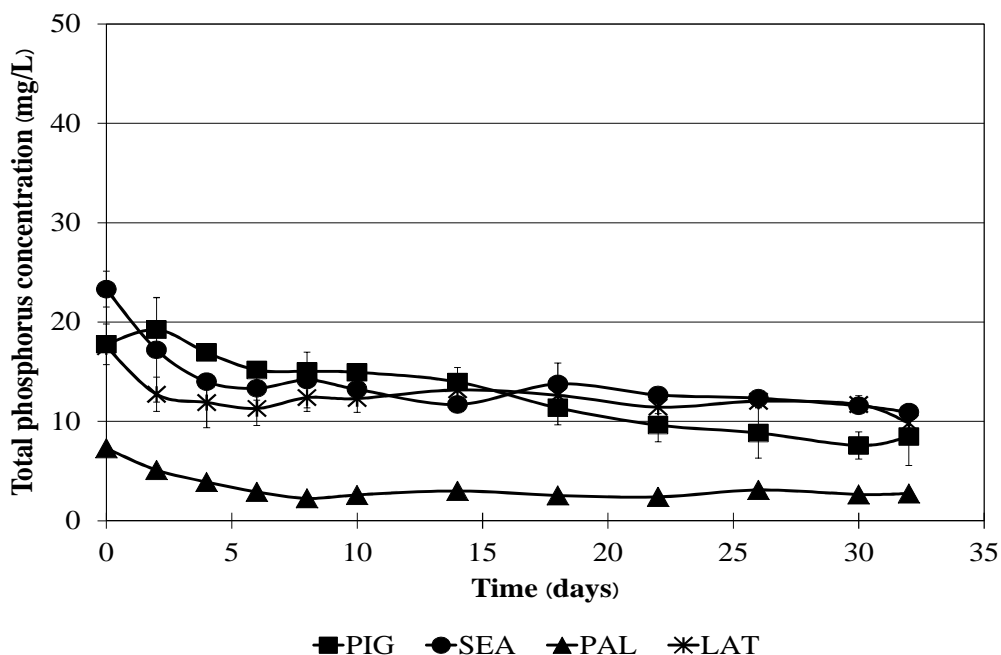
อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าสังเกตว่าใน PAL ซึ่งสาหร่ายมีการเจริญเติบโตน้อยมาก (รูปที่ 4-2) แต่มีประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนค่อนข้างสูงด้วยเช่นกัน โดยพบว่า PAL มีประสิทธิภาพกำจัดไนโตรเจนเท่ากับ 76.6% เป็นที่น่าสนใจว่าการลดลงของไนโตรเจนในน้ำทิ้ง นอกจากเกิดจากการดูดซึมของสาหร่ายแล้ว ยังอาจเกิดจากการเติมอากาศด้วย เนื่องจากการพ่นอากาศเข้าไปในชั้นของเหลวที่อยู่ภายในระบบเลี้ยงสาหร่ายก่อให้เกิดการไล่แอมโมเนียออกไปจากชั้นของเหลว ทำให้เกิดกระบวนการไนตริฟิเคชัน อีกทั้งเมื่อเลี้ยงระยะ 32 วัน พบว่าค่าพีเอชในน้ำทิ้งแต่ละโรงงานมีค่าเพิ่มสูงขึ้น จึงทำให้แอมโมเนีย (NH_3) เกิดการระเหย ทำให้เกิดค่าไนโตรเจนในน้ำทิ้งลดลงมากยิ่งขึ้น (Lin *et al.*, 2007)



รูปที่ 4-3 ประสิทธิภาพในการบำบัดไนโตรเจนรวมในน้ำทิ้งของโรงงานทั้ง 4 ประเภท โดยสาหร่ายเลี้ยงที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

4.2.2.2 การกำจัดฟอสฟอรัส

จากการศึกษาการลดลงของความเข้มข้นฟอสฟอรัสเริ่มต้นในน้ำทิ้งของโรงงาน 4 ประเภท ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 8-10 วันแรกของการเลี้ยงสาหร่าย แสดงดังรูปที่ 4-4 ซึ่งเมื่อคิดเป็นประสิทธิภาพในการบำบัดฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งลดลงถึง 12.8-50.0% ซึ่งเป็นช่วงเวลาเดียวกับที่สาหร่ายเติบโตอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 4-2) แสดงว่าสาหร่ายได้ใช้ฟอสฟอรัสในช่วงต้นของการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับการใช้ไนโตรเจน



รูปที่ 4-4 ประสิทธิภาพในการบำบัดฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งของโรงงานทั้ง 4 ประเภท โดยสาหร่าย
เลี้ยงที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

เมื่อพิจารณารูปที่ 4-4 หลังจากในช่วง 2 สัปดาห์แรกของการเลี้ยงสาหร่าย พบว่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยน้ำทิ้ง PIG มีค่าฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นจาก 17.77 ± 2.06 เป็น 19.23 ± 0.12 mg/L เช่นเดียวกับ SEA ค่าฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นจาก 11.70 ± 0.43 เป็น 13.76 ± 2.12 mg/L, LAT มีค่าฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นจาก 12.30 ± 1.38 เป็น 13.17 ± 1.38 mg/L และ PAL มีค่าฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นจาก 2.60 ± 0.14 เป็น 3.00 ± 0.14 mg/L แต่หลังจากวันที่ 14 ความเข้มข้นฟอสฟอรัสจะค่อยลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นในน้ำทิ้งแต่ละโรงงาน เป็นเพราะสาหร่ายมีการเจริญเติบโตลดลง หรือมีการตายในช่วง 2 สัปดาห์แรกของการเลี้ยงสาหร่ายทำให้ในเซลล์มีการปล่อยฟอสฟอรัสออกมาในน้ำ เช่นเดียวกับการศึกษาของ วรภรณ์ หมู่ศิลป์ (2547) ที่เลี้ยงสาหร่ายเกลียวทองจากกากตะกอนของโรงงานผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวและผลิตภัณฑ์กึ่งสำเร็จรูป พบว่าฟอสฟอรัสในน้ำหลังจากการเลี้ยงสาหร่ายมีค่าลดลงจากวันที่ 0 ถึงวันที่ 3.5 และหลังจากวันที่ 3.5 ฟอสฟอรัสมีค่าเพิ่มสูงขึ้น และจากการทดลองเมื่อนำมาเปรียบเทียบการลดลงของฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งแต่ละโรงงาน พบว่าฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ได้ในวันที่ 32 สาหร่ายมีประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัสไม่ค่อยแตกต่างกันมากนัก โดยน้ำทิ้งจาก PIG, SEA, PAL และ LAT มีประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งได้ 61.2, 53.0, 62.3 และ 43.0% ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกนำไปใช้ในการเจริญเติบโตจากสาหร่าย โดยวัดจากปริมาณฟอสฟอรัสที่หายไปในวันที่ 0-32 เทียบกับอัตราการเจริญของสาหร่าย (วันที่ 32) พบว่าในน้ำทิ้งจาก

PIG, SEA, LAT และ PAL สาหร่ายมีการดูดซึมฟอสฟอรัสมีค่าเท่ากับ 10.6, 12.4, 7.7 และ 4.6 mg/L ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่หายไปสอดคล้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย แสดงให้เห็นว่าฟอสฟอรัสมีส่วนสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย สังเกตได้จากเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนในการดูดซึมฟอสฟอรัสจากเซลล์สาหร่าย พบว่า PAL สาหร่ายมีการดูดซึมฟอสฟอรัสต่ำสุด จึงทำให้มีการเจริญเติบโตต่ำที่สุดเช่นเดียวกัน จากการศึกษาของ ปริญช อานเป็ร็อง (2547) ได้ศึกษาการอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำเสียจากฟาร์มสุกรในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง สาหร่ายที่มีเจริญเติบโตที่ดีที่สุด มีการดูดซึมปริมาณฟอสฟอรัสได้ถึง 28.8 mg/L เมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นที่มีการเจริญเติบโตน้อยกว่า สาหร่ายสามารถดูดซึมปริมาณฟอสฟอรัสได้เพียง 3.3 mg/L แสดงให้เห็นว่าฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่สาหร่ายใช้ในการเจริญเติบโต เพราะมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ โดยเฉพาะการถ่ายเทพลังงานและการสร้างกรดนิวคลีอิก (Chu *et al.*, 2013)

4.3 การทดลองที่ 2 ผลของความเข้มแสง และความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ จากฟาร์มสุกรที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

การทดลองในขั้นตอนนี้ได้คัดเลือกน้ำทิ้งจากการทดลองที่ 1 ที่มีการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่ดีที่สุดมา 1 โรงงาน นั่นคือน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร (PIG) มาศึกษาผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่มีต่อการเติบโต การบำบัดน้ำเสีย และการผลิตน้ำมันของสาหร่าย เพื่อต้องการพัฒนาให้น้ำทิ้ง PIG มีศักยภาพผลิตปริมาณเซลล์แห้งและไขมันได้สูงสุด ซึ่งความเข้มแสงที่ทำการศึกษามี 3 ระดับคือ 3,000 6,000 และ 9,000 lux และความเข้มข้นของน้ำทิ้งซึ่งจะทำการเจือจางออกเป็น 3 ระดับ คือ ไม่มีการเจือจาง (D1), เจือจาง 2 เท่า (D2) และเจือจาง 3 เท่า (D3) ทำการเลี้ยงสาหร่ายเป็นเวลา 32 วัน

ลักษณะน้ำทิ้ง PIG ที่ใช้ในการศึกษาก่อนนำมาเพาะเลี้ยงต้องผ่านการปรับสภาพน้ำทิ้งโดยการผ่านการกรองเพื่อเอาตะกอนออกและฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) จะได้ลักษณะน้ำทิ้งแสดงดังตารางที่ 4-3

ตารางที่ 4-3 ลักษณะน้ำทิ้งจากฟาร์มหมูที่ความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ เพื่อใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย

Parameters	Pig farm		
	D1	D2	D3
pH	8.04	8.14	7.79
SS (mg/L)	55.0	40	28
COD (mg/L)	632.0	332	215
TN (mg/L)	472.0	233.4	157.5
Total ammonia (mg-N/L)	365.6	187.2	118.6
NO ₃ (mg-N/L)	4.2	2.9	2.1
Organic nitrogen (mg-N/L)	102.2	43.3	33.2
TP (mg/L)	34.5	20.9	15.8
Turbidity (NTU)	453	353	273

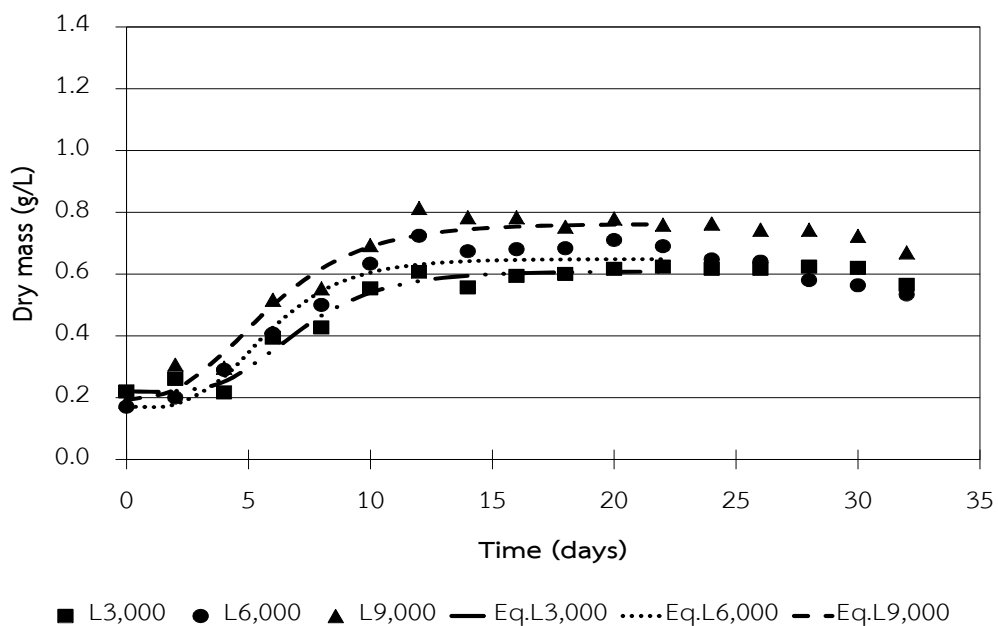
หมายเหตุ: ค่าทุกค่าก่อนนำมาวิเคราะห์ตั้งให้ตกตะกอน เอาแต่ส่วนใสมาวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

4.3.1 การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13

จากการศึกษาพบว่า การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 แสดงดังรูปที่ 4-5 เลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานอื่นๆ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันออกไป เมื่อสิ้นสุดการทดลองความเข้มแสงที่ 9,000 lux สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า 1-1.2 เท่า เมื่อเทียบกับสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะความเข้มแสงอื่นๆ ซึ่งการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีปริมาณสูงสุดถึง 0.76 ± 0.21 g/L เมื่อเปรียบเทียบสาหร่ายที่เลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 และ 6,000 lux พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 0.62 ± 0.18 และ 0.71 ± 0.18 g/L ตามลำดับ

เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยสมการ Gompertz model (สมการที่ 3-3) มาวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่าย เพราะสมการ Gompertz model สามารถวิเคราะห์หาค่ากึ่งภาพในการเจริญเติบโตของสาหร่าย และระยะเวลาที่สาหร่ายใช้ในการปรับตัวก่อนเพิ่มจำนวน (lag phase) ได้อีกด้วย ซึ่งในการศึกษาขั้นตอนนี้ใช้ข้อมูลการเจริญเติบโตของสาหร่าย 22 วันแรกของการทดลองนำมาวิเคราะห์ ซึ่งจากรูปที่ 4-5 เห็นได้ว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 เริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ในวันที่ 12 และหลังจากนั้นการเจริญเติบโตของเซลล์

สาหร่ายเริ่มคงที่ อีกทั้งเมื่อพิจารณาจากค่า ซึ่งเป็นช่วงระยะเวลาที่สาหร่ายปรับตัว พบว่ามีค่าเท่ากับ 3.8, 2.9 และ 2.0 วัน โดยเลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Alami *et al.* (2012) ได้ทำการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กที่สภาวะความเข้มแสงที่แตกต่างกัน จากการศึกษาพบว่า ที่ความเข้มแสง 20 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ (1,480 lux) สาหร่ายใช้เวลา 5 วัน ในการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ (Lag phase) แต่เมื่อเพิ่มความเข้มแสงเป็น 90 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ (6,660 lux) พบว่าสาหร่ายใช้เวลาเพียง 3 วัน ในการปรับตัวนั้น แสดงให้เห็นว่า ความเข้มแสงที่มากขึ้น ส่งผลให้มีการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย และสามารถปรับตัวในสภาพแวดล้อมใหม่ได้เร็วขึ้น และค่าอัตราการผลิตสาหร่ายสูงสุด (R_m) ที่ได้จากการพบว่าที่ความเข้มแสง 3,000 lux จะมีค่าเท่ากับ 0.06 g/L/d แต่เมื่อเพิ่มความเข้มแสงเป็น 6,000 และ 9,000 lux พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.08 และ 0.08 ตามลำดับ



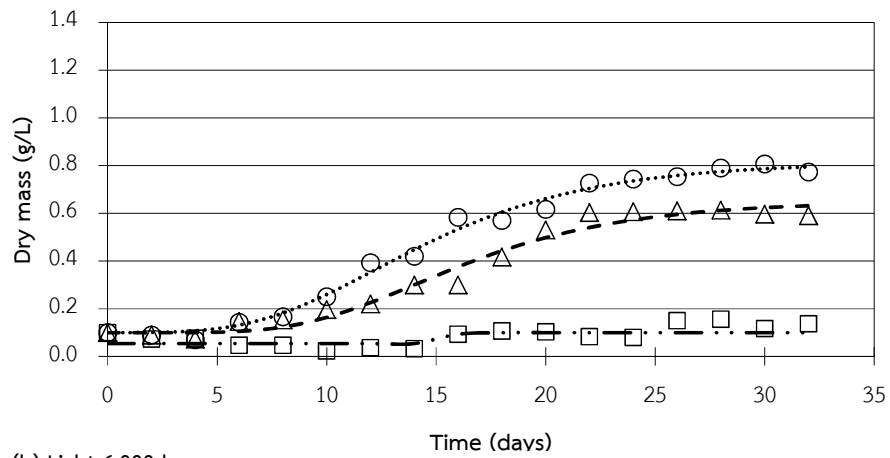
รูปที่ 4-5 การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux โดยสัญลักษณ์ คือค่าที่ได้จากการทดลอง และเส้นตรงคือ ค่าที่ได้จากการใช้สมการ Gompertz equation

4.3.2 การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งฟาร์มสุกรที่ความเข้มแสงและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ

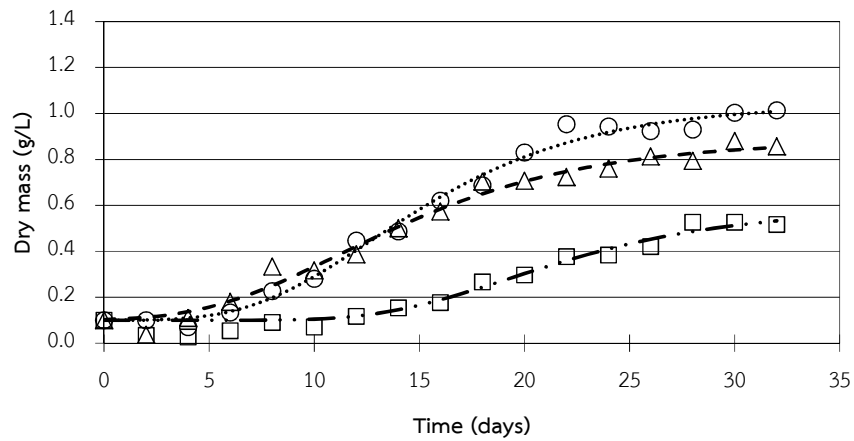
การทดลองในขั้นตอนนี้ ทำการเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร (PIG) (น้ำทิ้งที่ถูกคัดเลือกจากการทดลองที่ 1) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย แสดงดังรูปที่ 4-6 โดยใช้สมการ Gompertz equation มาคำนวณโดยใช้ฟังก์ชัน solver ในโปรแกรม Microsoft Excel มาช่วยประเมินเพื่อหาศักยภาพในการเจริญเติบโตของสาหร่าย ดังแสดงในสมการที่ 3-3

การศึกษาระดับความเข้มแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย พบว่าที่สภาวะความเข้มแสง 9,000 lux มีปริมาณเซลล์สาหร่ายแห้งสูงสุด รองลงมาที่ 6,000 lux และ 3,000 lux ตามลำดับ ในทุกระดับความเข้มข้นของน้ำเสีย เมื่อพิจารณาจากศักยภาพในการผลิตเซลล์สาหร่าย (H) ที่ได้จากสมการ Gompertz model ดังแสดงในตารางที่ 4-4 พบว่าความเข้มแสง 9,000 lux ที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 มีศักยภาพในการผลิตเซลล์สาหร่ายสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.73, 1.20 และ 1.14 g/L ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสาหร่ายที่เลี้ยงที่ความแสงอื่นๆ และเมื่อพิจารณาสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 กับสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG ที่สภาวะความเข้มแสงต่างๆ พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงใน PIG มีการเจริญเติบโตดีกว่าที่เลี้ยงใน Modified Chu13 (ตารางที่ 4-4) ซึ่งมีปริมาณมากถึง 1.6 เท่า อีกทั้งเมื่อความเข้มแสงที่มากขึ้น ส่งผลให้สาหร่ายสามารถปรับตัวในสภาพแวดล้อมใหม่ได้เร็ว เห็นได้จากค่า ที่คำนวณได้จากสมการ พบว่าที่ความเข้มแสง 9,000 lux สาหร่ายมีระยะเวลาในการปรับตัว (Lag phase) ได้เร็วกว่าเมื่อเทียบกับความเข้มแสง 3,000 และ 6,000 lux ในทุกระดับการเจือจางของน้ำเสีย เนื่องจากแสงเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย (Venkata Mohan *et al.*, 2015) ซึ่งเมื่อความเข้มแสงเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้สาหร่ายเพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสง และเร่งการทำงานของเซลล์ (Kosaric *et al.*, 1974) แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการปรับตัวของสาหร่าย (lag phase) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 กับสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อมีระยะเวลาปรับตัวได้เร็วกว่าในน้ำทิ้ง PIG เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อมีความชุ่มชื้นและสีน้อยกว่าน้ำทิ้ง PIG จึงทำให้แสงสามารถส่องผ่านไปยังเซลล์สาหร่ายได้ดีกว่า ทำให้สาหร่ายมีช่วงระยะเวลาปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ได้เร็วขึ้น การศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่าการเพิ่มขึ้นของสาหร่ายแปรผันตรงกับความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้น แต่ถ้าหากมีความเข้มแสงมากเกินไป จะเกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ จากการศึกษาของ Cheirsilp and Torpee (2012) ได้รายงานว่าอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มแสงที่ใช้ในการเลี้ยงเพิ่มสูงขึ้น (2,000 ถึง 8,000 lux) แต่ถ้าความเข้มแสงมีค่าสูงเกินไป (10,000 lux) ส่งผลในทางลบทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตลดลง

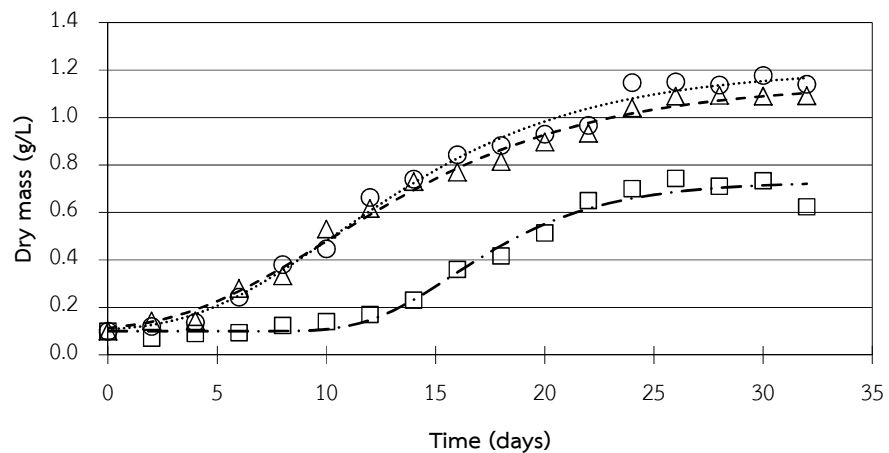
(a) Light 3,000 lux



(b) Light 6,000 lux



(c) Light 9,000 lux



□ D1 ○ D2 △ D3 —·— Eq. D1 Eq. D2 - - - Eq. D3

รูปที่ 4-6 การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากระบบน้ำเสียบำบัดแบบไร้อากาศของฟาร์มสุกร (PIG) ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (c) 9,000 lux โดยสัญลักษณ์ คือค่าที่ได้จากการทดลอง และเส้นตรงคือ ค่าที่ได้จากการใช้สมการ Gompertz equation

ตารางที่ 4-4 ศักยภาพการเจริญเติบโตของสาหร่าย อัตราการเจริญเติบโตสาหร่าย และเวลาที่สาหร่ายใช้ในการปรับตัวก่อนเพิ่มจำนวนที่ได้จาก Gompertz equation ที่ความเข้มแสงและความเข้มข้นของน้ำทิ้งของฟาร์มสุกรที่ระดับต่างๆ

ตัวอย่างน้ำ ที่ใช้ในการศึกษา	ความเข้มแสง (lux)	การเจือจาง	H (g/L)	R_m (g/d)	(d)
Modified Chu 13	3,000	-	0.61	0.06	3.8
	6,000	-	0.65	0.08	2.9
	9,000	-	0.76	0.08	2.0
ฟาร์มสุกร (PIG)	3,000	D1	0.05	0.06	16.1
		D2	0.81	0.05	6.7
		D3	0.65	0.04	8.8
	6,000	D1	0.59	0.03	13.2
		D2	1.04	0.06	7.0
		D3	0.88	0.04	4.7
	9,000	D1	0.73	0.06	11.8
		D2	1.20	0.06	4.0
		D3	1.14	0.06	3.3

ประเด็นที่น่าสนใจคือ ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำเสีย D1 สาหร่ายมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด เนื่องจากสีของน้ำทิ้งเป็นสีน้ำตาล ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการส่องผ่านของแสงเข้าสู่เซลล์สาหร่ายที่ความเข้มแสง 3,000 lux มีผลทำให้การเติบโตของสาหร่ายมีปริมาณน้อยมาก (0.26 ± 0.12 g/L) ในขณะที่การเพิ่มความเข้มแสงเป็น 6,000 และ 9,000 lux ทำให้การเติบโตของสาหร่ายเพิ่มขึ้น 3 และ 4 เท่า ตามลำดับ ดังนั้นการเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งที่มีสีเข้มจึงจำเป็นต้องเลี้ยงในสภาวะที่ความเข้มแสงสูงกว่า 3,000 lux

อย่างไรก็ตาม นอกจากความเข้มแสงแล้ว ความเข้มข้นของน้ำเสียนั้นมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเติบโตของสาหร่าย เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4-5 พบว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่ความเข้มข้น D2 มีการเจริญเติบโตดีกว่า D3 ซึ่งที่ความเข้มข้น D2 (ไนโตรเจนเริ่มต้นเท่ากับ 233.4mg/L) เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของทุกความเข้มแสง ซึ่งเห็นได้จากการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่มีปริมาณมากที่สุดเมื่อเทียบกับระดับความเข้มข้นอื่นๆ ในการศึกษาของ กิตติพงศ์ หลงสะ (2553) ได้ทำการเลี้ยงสาหร่ายที่มีความเข้มข้นใกล้เคียงกันกับงานวิจัย โดยเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำ

ยางชั้น ในอัตราส่วนของน้ำทิ้งในระดับต่างๆ ซึ่งสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียที่มีค่าไนโตรเจนเริ่มต้นเท่ากับ 261.0 mg/L สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงถึง 3.4 g/L แต่ถ้าลดสัดส่วนไนโตรเจนเหลือ 174.0 mg/L สาหร่ายมีการเจริญเติบโตเพียง 3.1 g/L และ Cho *et al* (2013) ได้ทำการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.227 จากน้ำเสียเทศบาลโดยทำการเก็บน้ำเสียที่ออกจากบ่อดักตะกอนชั้นต้น (PS), น้ำเสียที่ออกจากระบบหมักแบบไร้อากาศ (AD), น้ำเสียจากบ่อรวม (CR) และนำน้ำเสียจากทั้ง 3 ระบบมารวมกัน ซึ่งจากการศึกษาพบว่า น้ำทิ้ง AD+CR มีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 246.4 mg/L มีการเจริญเติบโตของสาหร่ายเท่ากับ 3.0 g/L ในขณะที่สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสีย AD+PS ที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนเท่ากับ 166.4 mg/L มีการเจริญเติบโตของสาหร่ายเพียง 1.3 g/L ในขณะที่ Becker (1994) พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีในระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้นเท่ากับ 0.05-20 mg/L ซึ่งจากตารางที่ 4.2 ที่ระดับการเจือจางที่ D2 มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้นเท่ากับ 20.9 mg/L จึงทำให้ความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ D2 เป็นสภาวะที่เหมาะสม สาหร่ายจึงมีเจริญเติบโตได้ดีที่สุด แสดงให้เห็นว่าการลดสัดส่วนของความเข้มข้นของสารอาหารเป็นสิ่งสำคัญมาก เพราะเมื่อความเข้มข้นถูกเจือจางลงส่งผลการเจริญเติบโตมีผลทางบวก แต่ถ้ามีการเจือจางมากเกินไปส่งผลให้การเจริญเติบโตน้อยลงด้วยเช่นกัน ซึ่งปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ถ้ามีปริมาณไนโตรเจนในน้ำทิ้งอยู่ในระดับที่สูงเกินไป สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ (Lin *et al.*, 2007)

4.3.3 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 โดยสาหร่าย ที่ความเข้มข้นแสงและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ

การศึกษาในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย ได้แก่ ซีโอดี ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ของสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะความเข้มข้นแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux และการเจือจางความเข้มข้นของน้ำเสีย D1, D2 และ D3 จากน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร และอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Modified Chu 13

4.3.3.1 การกำจัดซีโอดี

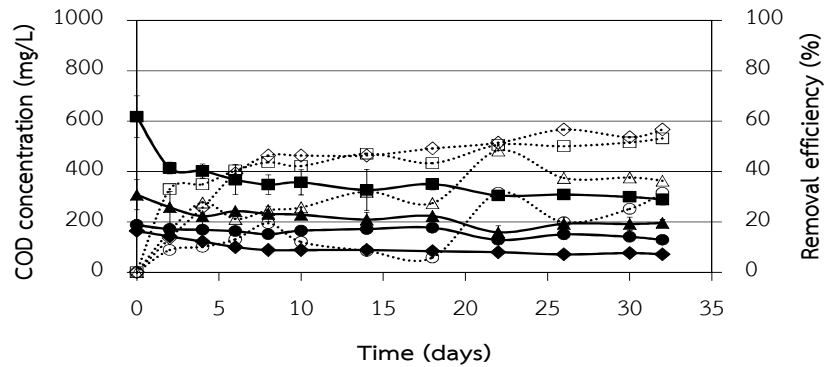
การศึกษาความเข้มข้นของซีโอดีในน้ำทิ้ง PIG หลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นเวลา 32 วัน พบว่าความเข้มข้นของซีโอดีลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้นโดยลดลงมากถึง 60.7% แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายมีความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสีย เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4-7 พบว่าประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในน้ำทิ้ง PIG ที่สภาวะความเข้มข้นแสงและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ มีแนวโน้มคล้ายคลึงกันกับไนโตรเจนและฟอสฟอรัส นั่นคือความเข้มข้นของซีโอดีในน้ำทิ้งค่อยๆ ลดลงในช่วง 22 วันแรกของการเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งเป็นช่วงที่สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนอย่าง

รวดเร็ว จึงจำเป็นต้องใช้คาร์บอนในปริมาณมาก แต่เมื่อเลี้ยงสาหร่ายหลังจากวันที่ 22 ซึ่งเป็นช่วงสาหร่ายเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase สาหร่ายมีปริมาณคงที่ จึงไม่มีความต้องการใช้คาร์บอนมากนัก ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีจึงชะลอตัวลง และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการบำบัดค่าซีโอดีในน้ำทิ้ง PIG และ อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ในวันสุดท้ายของการทดลอง พบว่าสาหร่ายมีประสิทธิภาพในการกำจัดค่าซีโอดีใกล้เคียงกัน ซึ่งลดลงได้ถึง 65.41% แต่เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของซีโอดีที่ความเข้มแสง 3,000 lux ที่ความเข้มข้น D2 จะสังเกตว่าความเข้มข้นของซีโอดีในน้ำเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากวันที่ 22-32 โดยเพิ่มขึ้นจาก 170.0 ± 25.2 mg/L เป็น 196.00 ± 13.1 mg/L ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณสาหร่ายบางส่วนจะเริ่มมีการตายจึงมีผลให้ค่าซีโอดีเพิ่มขึ้น (สาวิตรี ไทรทัตทิมา, 2554)

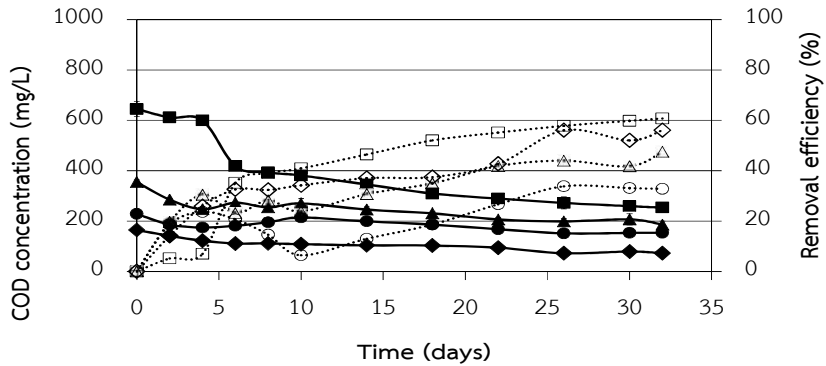
เมื่อพิจารณาดารางที่ 4-5 ซึ่งทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดความเข้มข้นของซีโอดีในน้ำทิ้งในช่วงระยะเวลาต่างๆ ในการเจริญเติบโตของสาหร่าย เป็นที่น่าสังเกตว่าความเข้มข้นของซีโอดีแต่ละการเจือจางในน้ำทิ้งมีค่าลดลงแตกต่างกันออกไป สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจาก PIG ที่ความเข้มข้น D1 ในช่วงระยะเวลา 22 วันแรก ที่ความเข้มแสง 3,000 lux ความเข้มข้นของซีโอดีลดลงถึง 50.6% ซึ่งประสิทธิภาพในการดูดซึมความเข้มข้นของซีโอดีมากที่สุด ทั้งที่สาหร่ายการเจริญเติบโตน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ การเจือจาง D2 และ D3 สอดคล้องการศึกษาก่อนของ Zhu *et al.* (2013a) ได้ทำการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella zofingiensis* ในน้ำเสียจากฟาร์มสุกรซึ่งค่าซีโอดีเท่ากับ 2,500 mg/L สาหร่ายมีประสิทธิผลการบำบัดค่าซีโอดีเท่ากับ 78.2% แต่เมื่อเจือจางน้ำเสียทำให้มีค่าซีโอดีเท่ากับ 400 mg/L พบว่ามีประสิทธิภาพในการบำบัดได้เพียง 67.3% แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในความเข้มข้น D1 มีการเจริญเติบโตแบบ heterotrophic เนื่องจากน้ำทิ้งจากฟาร์มหมู D1 มีความขุ่นค่อนข้างมาก (ตารางที่ 4-2) ส่งผลให้สาหร่ายมีการใช้อินทรีย์คาร์บอนในรูปของซีโอดีที่อยู่ในน้ำมาใช้ในการเจริญเติบโต (Kim *et al.*, 2013) อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มแสงสูงขึ้น (6,000 และ 9,000 lux) ที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 พบว่าความเข้มข้นของซีโอดีลดลงอย่างต่อเนื่องจนสิ้นสุดการทดลอง เพราะช่วงนี้เป็นช่วงที่สาหร่ายเข้าสู่ระยะ Stationary phase (รูปที่ 4-6) สาหร่ายยังมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จึงทำสาหร่ายมีประสิทธิภาพในการบำบัดความเข้มข้นของซีโอดีเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาการเจริญเติบโตของเซลล์ แสดงให้เห็นว่าแสงเป็นตัวกระตุ้นการเจริญเติบโตของสาหร่าย ทำให้อาหารยังมีการดูดซึมซีโอดีอยู่เรื่อยๆ อีกทั้งเมื่อพิจารณาอัตราการดูดซึมอินทรีย์คาร์บอนของสาหร่ายที่ความเข้มข้นของน้ำทิ้ง D1, D2 และ D3 พบว่าที่ความเข้มแสง 3,000 lux สาหร่ายดูดซึมซีโอดีได้ 0.1, 6.1 และ 8.3 gCOD/gcellmass และเมื่อพิจารณาที่ความเข้มแสง 6,000 lux สาหร่ายดูดซึมซีโอดีได้ถึง 1.1, 5.7 และ 9.8 gCOD/gcellmass เช่นเดียวที่ความเข้มแสง 9,000 lux สาหร่ายดูดซึมซีโอดีได้ 1.9, 6.7 และ 14.7 gCOD/gcellmass ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่เจริญเติบโตทั้งแบบ Heterotrophic และ Autotrophic หรือ

Mixotrophic ซึ่งเป็นการใช้แหล่งคาร์บอนทั้ง จากอินทรีย์คาร์บอน (เช่น คาร์บอนไดออกไซด์) และอินทรีย์คาร์บอน จึงทำให้ความเข้มข้นของซีโอดีซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งลดลง เนื่องจากปริมาณสารอินทรีย์ที่อยู่ในรูปของซีโอดี เป็นสิ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยสาหร่ายสามารถดูดซึมสารอินทรีย์คาร์บอนเป็นแหล่งพลังงาน (Li *et al.*, 2011) ดังนั้น การเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ

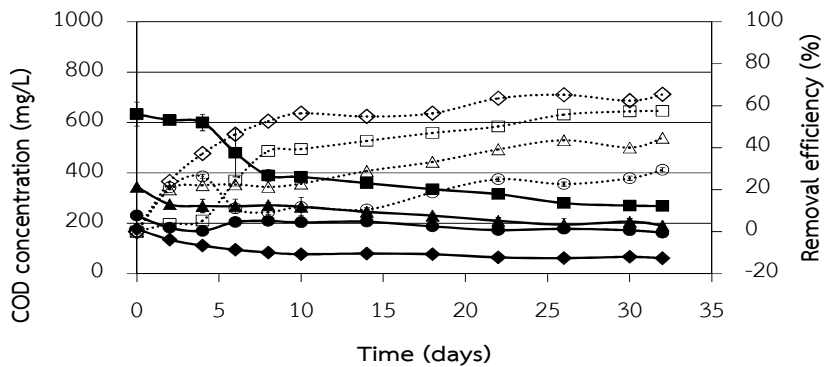
(a) LI 3,000 lux



(b) LI 6,000 lux



(c) LI 9,000 lux



รูปที่ 4-7 ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของสาหร่ายที่เลี้ยงในถัง PIG และ อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (c) 9,000 lux

ตารางที่ 4-5 ความเข้มข้นของซีโอดีในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร ที่สภาวะความเข้มแสงและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ

Light intensity (lux)	Dilution	COD (mg/L)			
		0-d	10-d	22-d	32-d
3,000	D1	618.0	357.0 (42.3%) ^c	305.3 (50.6%) ^{de}	289.3 (51.6%) ^{bcd}
	D2	308.0	228.6 (25.7%) ^b	170.5 (44.6%) ^{cde}	188.5 (37.6%) ^{ab}
	D3	188.0	165.3 (12.1%) ^a	128.7 (31.5%) ^{ab}	128.7 (25.2%) ^a
6,000	D1	645.0	381.0 (40.9%) ^c	289.3 (55.1%) ^e	253.3 (60.7%) ^d
	D2	354.7	270.0 (23.8%) ^b	206.3 (41.8%) ^{cd}	186.0 (47.5%) ^{cd}
	D3	228.7	214.0 (6.4%) ^a	167.7 (26.7%) ^a	153.7 (32.8%) ^{ab}
9,000	D1	633.3	384.0 (39.4%) ^c	315.7 (50.2%) ^{cde}	269.0 (57.5%) ^{cd}
	D2	345.0	266.0 (22.9%) ^b	209.7 (39.2%) ^{bc}	190.7 (44.7%) ^{bc}
	D3	230.7	203.7 (11.7%) ^a	173.0 (25.0%) ^a	162.7 (29.4%) ^a

หมายเหตุ: - ตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้ Duncan's multiple-range test ($p < 0.05$)

- ค่าในวงเล็บเป็นค่าแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี เมื่อเทียบกับความเข้มข้นเริ่มต้น

- 0-d คือ ระยะเวลาเริ่มต้นในการเลี้ยงสาหร่าย

10-d คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย 10 วัน (เริ่มเข้าสู่ระยะ Log phase)

22-d คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย 22 วัน (เริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase)

32-d คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย 32 วัน (วันสุดท้ายการทดลอง)

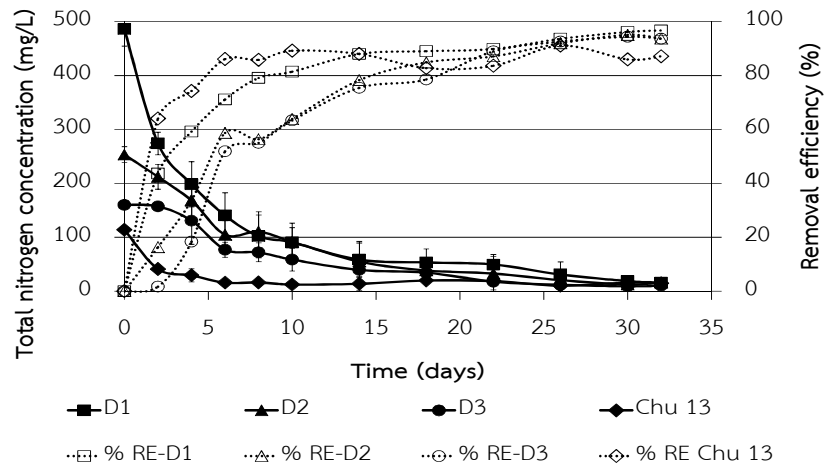
4.3.3.2 การกำจัดไนโตรเจน

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนของสาหร่ายที่เลี้ยงใน PIG และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 เป็นระยะเวลา 32 วัน แสดงดังรูปที่ 4-5 และ 4-6 การดูดซึมไนโตรเจนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของสาหร่าย ทำให้ค่าไนโตรเจนรวม (TN) ตลอดจนไนโตรเจนในรูปแบบต่างๆ ได้แก่ แอมโมเนีย (NH_3) และไนเตรท (NO_3) ในน้ำทิ้งมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับวันที่ 0 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วง 4 วันแรกของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งเป็นช่วงที่สาหร่ายปรับสภาพเข้าสู่สภาพแวดล้อมใหม่ (lag phase) ไนโตรเจนถูกดูดซึมเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนในช่วงแรกเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกัน ซึ่งประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจน ที่ระดับความเข้มข้น D1, D2 และ D3 มีค่าใกล้เคียง ยกเว้นที่ความเข้มข้น 3,000 lux ประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนแตกต่างกัน โดยพบว่าประสิทธิภาพสูงสุดเกิดที่ D1 (59.2%) รองลงมาเป็น D2 (33.7%) และ D3 (18.3%) ตามลำดับ เนื่องจากการลดลงของไนโตรเจนมิใช่กลไกการดูดซึมโดยสาหร่ายเพียงอย่างเดียว แต่ยังเกิดการ stripping ก๊าซแอมโมเนีย ($\text{NH}_3\text{-N}$) ด้วย แม้ว่าที่ทุกระดับความเข้มข้น ไนโตรเจน เริ่มต้นในน้ำทิ้งจะมีสัดส่วน TN : NH_3 ใกล้เคียงกัน อยู่ในช่วง 1.2-1.5 แต่ที่ D1 ความเข้มข้นแอมโมเนียสูงสุด ทำให้ง่ายต่อการถูก stripping เพราะระหว่างการทดลองมีการเติมอากาศให้แก่สาหร่ายตลอดเวลา ทำให้เกิดกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) ทำให้เปลี่ยนสารอินทรีย์ไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย อีกทั้งการลดลงของแอมโมเนียเกิดจากกระบวนการ ไนตริฟิเคชัน (Nitrification) ซึ่งเกิดได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7-8 ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส (วรภรณ์ หมู่ศิลป์, 2547) และหลังจากสิ้นสุดการทดลองพบว่าพีเอชที่วัดได้มีค่าสูงขึ้นถึง 9.8 อีกทั้งเมื่อพิจารณาค่าไนโตรเจนรวมในน้ำทิ้งหลังจากสิ้นสุดการทดลองพบว่าสาหร่ายสามารถบำบัดไนโตรเจนในน้ำทิ้งได้สูงถึง 89.4-92.8% ที่ทุกความเข้มข้น เมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร Modified Chu 13 ในทุกความเข้มข้น ซึ่งสามารถลดค่าไนโตรเจนได้ 87.13-91.41% แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายมีประสิทธิภาพในการกำจัดไนโตรเจนในน้ำทิ้ง PIG และ อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องการกับศึกษาของ Feng *et al.* (2011) ได้ทำการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลล่าในน้ำเสียสังเคราะห์ พบว่าสาหร่ายสามารถกำจัดไนโตรเจนในน้ำเสียได้ถึง 90.0% และการศึกษาของ Li *et al.* (2011) ศึกษาลักษณะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากเขตเทศบาล ได้ทำการเพาะเลี้ยงแบบกะ เป็นระยะเวลา 14 วัน จากการศึกษาพบว่าสาหร่ายเลี้ยงในน้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการ Autoclave สามารถกำจัดแอมโมเนีย และไนโตรเจน ได้ถึง 93.9% และ 89.1% ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4-8 ถึง 4-10 พบว่าสาหร่ายมีประสิทธิภาพในการบำบัดไนโตรเจนได้ดีกว่าสารอาหารอื่นๆ เช่น ฟอสฟอรัสและอินทรีย์คาร์บอน อีกทั้งถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจน จะมีผลต่อรงควัตถุและการสังเคราะห์แสงของเซลล์ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543) ทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตช้า แสดงให้เห็นว่าไนโตรเจนเป็นสารอาหารที่

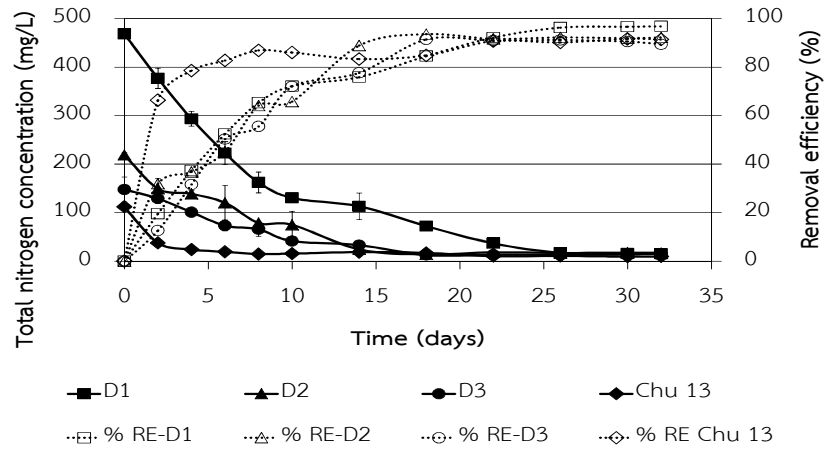
มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Hongyang *et al.*, 2011) เมื่อพิจารณาผลของความเข้มแสงในช่วง 10 วันแรกของการเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งเป็นช่วงที่สาหร่ายอยู่ในระยะ Log phase พบว่าความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux สาหร่ายสามารถบำบัดไนโตรเจนในน้ำทิ้งได้ถึง 69.54, 69.99 และ 83.09% ตามลำดับ ซึ่งเมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของสาหร่าย (รูปที่ 4-6) พบว่าที่ความเข้มแสง 9,000 lux เป็นสภาวะที่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุด แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มแสงทำให้ปริมาณการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างเซลล์เพิ่มขึ้น ทำให้ความต้องการใช้ในโตรเจนเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Yan *et al.* (2013) พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มแสงในการเลี้ยง *Chlorella vulgaris* จาก $400 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ สาหร่ายสามารถลดความเข้มข้นไนโตรเจนในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบผลิตก๊าซชีวภาพได้ถึง 65% แต่เมื่อเพิ่มความเข้มแสงเป็น $2,000 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ พบว่าสาหร่ายสามารถลดความเข้มข้นไนโตรเจนได้สูงถึง 83%

โดยส่วนใหญ่ น้ำทิ้งที่นำมาใช้เลี้ยงสาหร่ายจะมีความเข้มข้นของแอมโมเนียค่อนข้างสูง ประมาณ 80-75% ของปริมาณไนโตรเจนรวม ในขณะที่มีไนเตรทเพียง 0.8-1.3% ซึ่งเมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4-9 และ 4-10 พบว่าประสิทธิภาพการกำจัดแอมโมเนียสูงกว่าไนเตรท โดยสาหร่ายสามารถลดค่าแอมโมเนียในน้ำทิ้ง PIG ได้ถึง 99.47-99.76% ส่วนไนเตรทในน้ำทิ้ง PIG สาหร่ายสามารถบำบัดได้เพียง 38.33-71.89% ซึ่งโดยทั่วไปกลไกการเจริญเติบโตของสาหร่ายนั้น แอมโมเนียถูกสาหร่ายนำไปใช้เป็นลำดับแรก เนื่องจากสาหร่ายมีความต้องการไนเตรทในปริมาณที่น้อย แต่ถ้าสาหร่ายนำไนเตรทไปใช้ เมื่อดูดซึมเข้าสู่เซลล์แล้วต้องเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียก่อนจึงจะนำไปใช้ได้ จึงทำให้สาหร่ายมีการดูดซึมแอมโมเนียก่อน เพราะจะไม่ได้ต้องสูญเสียพลังงานในการเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นแอมโมเนีย (Li *et al.*, 2014) สอดคล้องกับการศึกษาของ Matusiak *et al.* (1976) พบว่าสาหร่ายสามารถดูดซึมแอมโมเนีย ไนเตรท และไนโตรเจนอินทรีย์ เช่น ยูเรีย และ กรดอะมิโน เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต จึงทำให้สารอาหารที่อยู่ในน้ำมีค่าลดลง และการศึกษาของ Hongyang *et al.* (2011) ได้รายงานว่าสาหร่ายส่วนใหญ่กำจัดไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของแอมโมเนีย

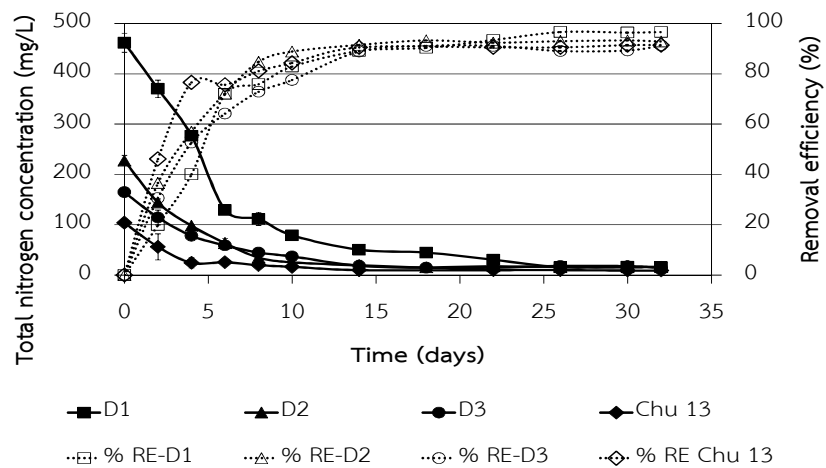
(a) LI 3,000 lux



(b) LI 6,000 lux

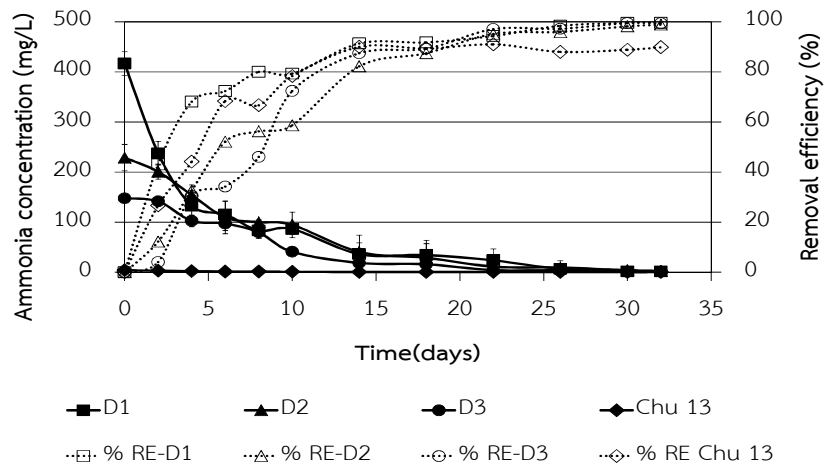


(c) LI 9,000 lux

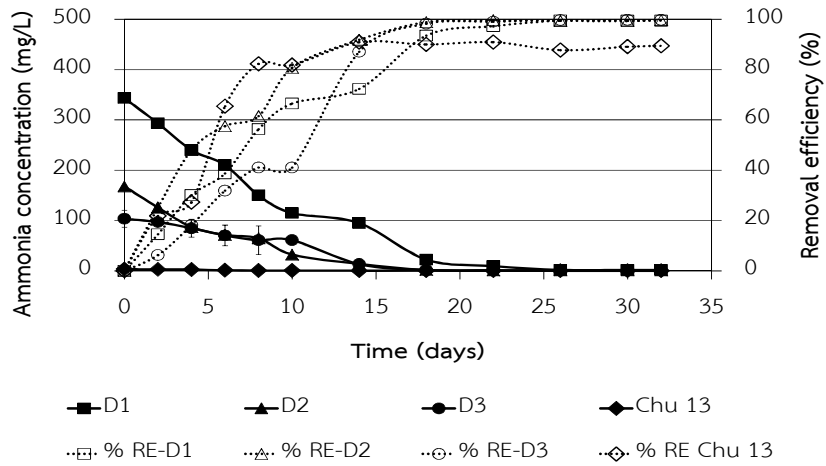


รูปที่ 4-8 ประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนทั้งหมดของสาหร่ายที่เลี้ยงในถัง PIG และ อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (c) 9,000 lux

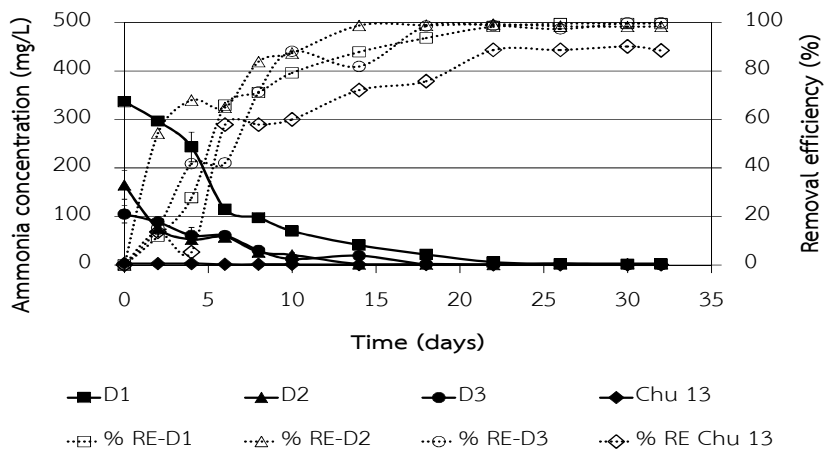
(a) LI 3,000 lux



(b) LI 6,000 lux

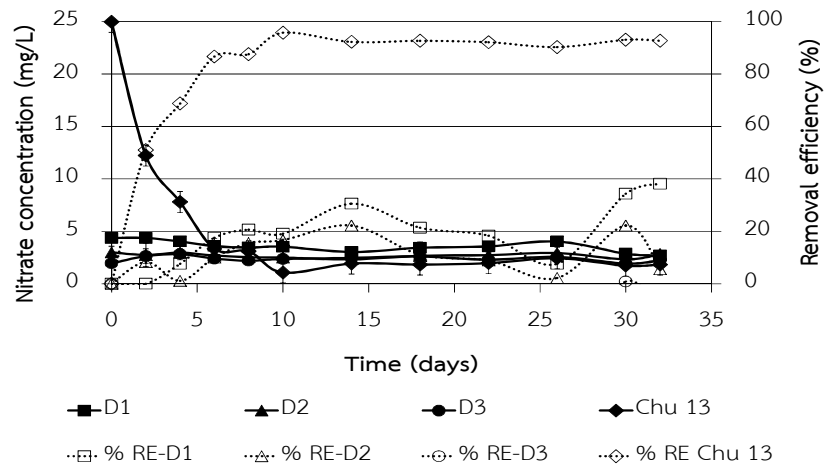


(c) LI 9,000 lux

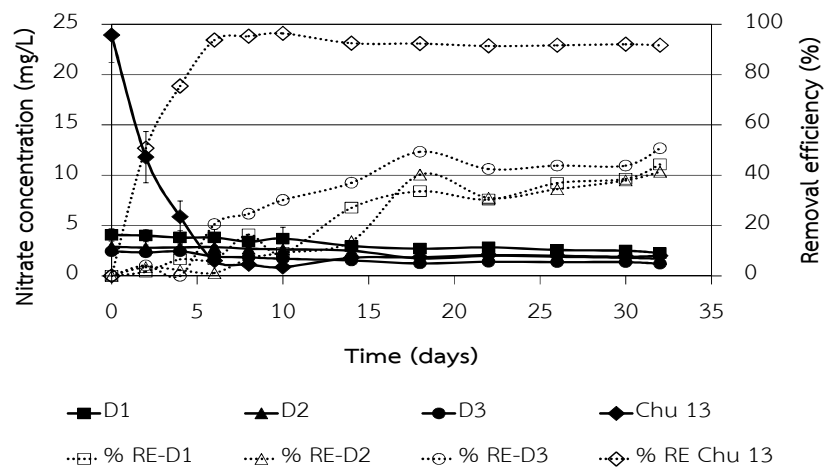


รูปที่ 4-9 ประสิทธิภาพการกำจัดแอมโมเนียของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำที่ PIG และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (c) 9,000 lux

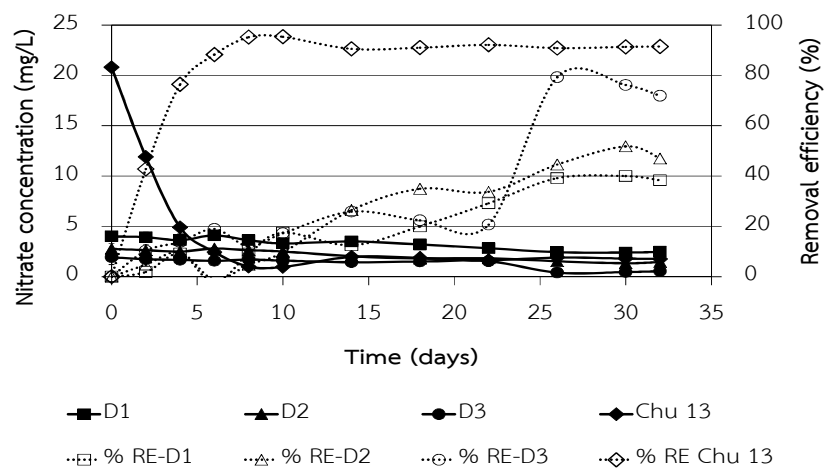
(a) LI 3,000 lux



(b) LI 6,000 lux



(c) LI 9,000 lux



รูปที่ 4-10 ประสิทธิภาพการกำจัดไนเตรทของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำที่ทั้ง PIG และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (c) 9,000 lux

4.3.3.3 การกำจัดฟอสฟอรัส

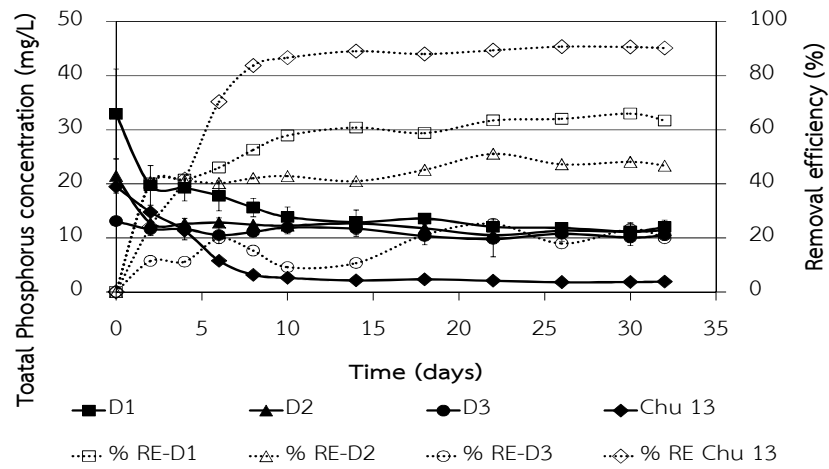
จากการศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดฟอสฟอรัสพบว่า ความเข้มข้นฟอสฟอรัสในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 และน้ำทิ้ง PIG ในระหว่างการทดลอง มีค่าฟอสฟอรัสลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเติบโตของสาหร่าย แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสมีลักษณะเช่นเดียวกับไนโตรเจน นั่นคือ ประสิทธิภาพการบำบัดค่อนข้างสูงในช่วงเริ่มต้นการเลี้ยง ซึ่งเป็นช่วงเวลาเดียวกับการเติบโตของสาหร่ายที่ค่อนข้างสูง แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายมีการใช้ฟอสฟอรัสในการเจริญเติบโต เพราะมีการสังเคราะห์ ATP เป็นแหล่งพลังงาน (Li *et al.*, 2014) ซึ่งถ้าเกิดสาหร่ายมีการขาดฟอสฟอรัสจะทำให้โปรตีน RNA และ DNA ลดลง แต่ปริมาณแบ่งหรือคาร์โบไฮเดรตเพิ่มสูงขึ้น (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543)

เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4-11 พบว่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในน้ำทิ้ง PIG ที่ความเข้มแสง 6,000 และ 9,000 lux ในช่วง Lag phase ในวันที่ 0-4 ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในน้ำเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ปริญช อานเป็ร็อง (2547) ได้เลี้ยงสาหร่าย *Chlorella sp.* ในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร ได้ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในน้ำทิ้ง พบว่าในช่วง 2-4 วันแรกมีค่าฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นจาก 8.1 เป็น 11.0 mg/L เนื่องจากในระยะนี้สาหร่ายมีการปรับสภาพเพื่อเข้าสู่สภาพแวดล้อมใหม่ ทำให้สาหร่ายมีการตายเกิดขึ้นในระยะเริ่มแรก จึงทำให้เซลล์สาหร่ายมีการปล่อยฟอสฟอรัสออกมาในน้ำ ซึ่งสาหร่ายในช่วงระยะก่อนเข้า Exponential phase จะมีการดูดซึมฟอสฟอรัสในรูปของออร์โธฟอสเฟต (PO_4^{3-}) เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน โดยฟอสฟอรัสจะถูกเก็บสะสมอยู่ในเซลล์ในรูปของ polyphosphate granules (Rasoul-Amini *et al.*, 2014) เมื่อสาหร่ายตายจึงทำให้ปล่อยฟอสฟอรัสออกมา ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในน้ำเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในวันที่ 18-30 มีความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน อาจเป็นเพราะช่วงเวลานี้สาหร่ายเริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase ทำให้สาหร่ายอยู่ในสภาวะกำลังจะตายหรือไม่แข็งแรง เมื่อเซลล์สาหร่ายถูกย่อยสลายจึงทำให้ฟอสฟอรัสถูกปล่อยออกมาในน้ำ จึงทำให้ฟอสฟอรัสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

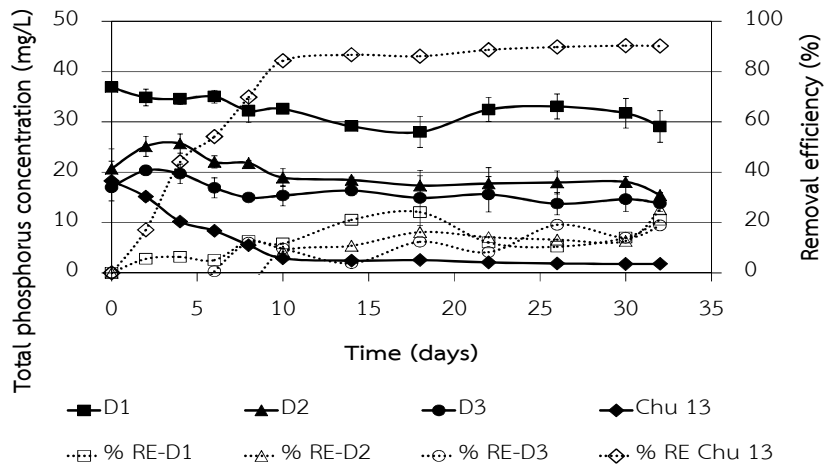
เมื่อพิจารณาจากสาหร่ายที่เลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux มีประสิทธิภาพในการบำบัดฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งอยู่ในช่วง 10.8-30.8% สอดคล้องกับการศึกษาของ Lim *et al.* (2010) ศึกษาศักยภาพของ *Chlorella vulgaris* ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานสิ่งทอ โดยทำการเพาะเลี้ยงแบบกะ จากการศึกษพบว่าสามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้ 31.1-33.3% แต่ที่ความเข้มแสง 3,000 lux ที่ความเข้มข้น D1 สาหร่ายสามารถบำบัดฟอสฟอรัสได้ถึง 66.0% ทั้งที่สาหร่ายการเจริญเติบโตน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มแสง 6,000 และ 9,000 lux เนื่องจากสาหร่ายสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสเพื่อใช้เป็นพลังงาน (ATP) เมื่อสาหร่ายอยู่ในสภาวะ autotrophic, heterotrophs และ mixotrophs สาหร่ายดูดซึมฟอสฟอรัสได้ถึง 10, 18 และ 12% (Kim *et al.*,

2013) แสดงว่าการเลี้ยงที่สภาวะ heterotrophs สาหร่ายสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสได้ดีกว่าการเลี้ยงที่สภาวะอื่นๆ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าสาหร่ายมีประสิทธิภาพในการบำบัดปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งได้เพียง 10.8-65.5% ซึ่งถือว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดปริมาณฟอสฟอรัสได้น้อยเมื่อเทียบปริมาณไนโตรเจนที่ลดลงถึง 98% เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 พบว่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งมีค่าลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในอาหาร Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux ระยะเวลา 32 วัน ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งลดลงได้ถึง 90.24, 90.14 และ 90.55% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 สามารถกำจัดค่าฟอสฟอรัสในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีกว่าน้ำทิ้ง PIG อาจเนื่องจากในอาหารเลี้ยงเชื้อมีองค์ประกอบของสารเคมีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจึงทำให้สาหร่ายมีการใช้ฟอสฟอรัสได้มากถึง 90%

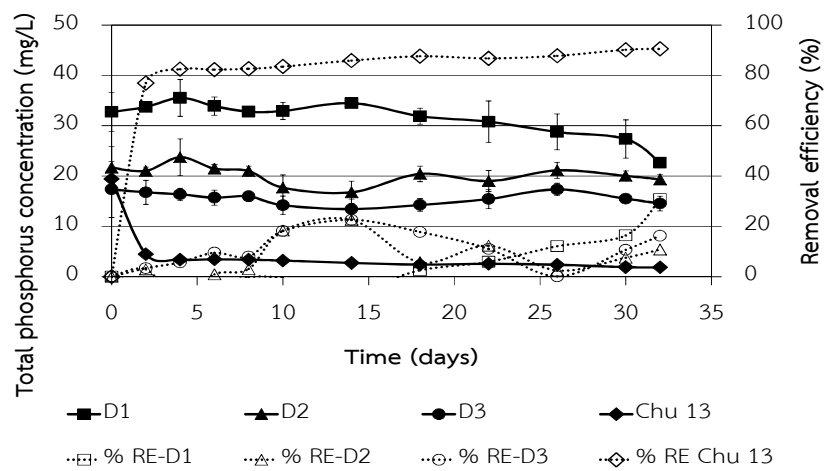
(a) LI 3,000 lux



(b) LI 6,000 lux



(c) LI 9,000 lux



รูปที่ 4-11 ประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัสของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่ความเข้มแสง (a) 3,000 lux (b) 6,000 lux และ (c) 9,000 lux

4.4 การผลิตไขมันน้ำมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร

ผลการศึกษาปริมาณไขมันจากเซลล์สาหร่ายแห้งที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG ดังแสดงในตารางที่ 4-6 จากการศึกษาพบว่าไขมันที่ได้จากเซลล์สาหร่าย วันที่ 22-32 ที่ความเข้มแสง 9,000 lux ที่สภาวะการเจือจางน้ำทิ้ง D2 มี Lipid content เฉลี่ยสูงสุดถึง $32.69 \pm 0.03\%$ ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับการศึกษาของ Zhu *et al.* (2013b) พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร มี Lipid content มากถึง 33.3-37.3% ในขณะที่ Wang *et al.* (2010) ศึกษา Lipid content ที่ได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์พบว่า มี Lipid content สูงถึง 20.0-42.0% และ Feng *et al.* (2011) ได้รายงานว่า Lipid content จากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์เป็นเวลา 14 วัน มี Lipid content เพิ่มขึ้นจาก 15.0% (วันที่ 2) เป็น 37.0% (วันที่ 14) ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าปริมาณไขมันมีปริมาณค่อยๆ เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงสาหร่าย จึงทำให้วันที่ 32 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการเลี้ยง มีปริมาณ lipid content สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวันอื่นๆ

เมื่อพิจารณา Lipid content ที่ความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ พบว่า Lipid content ในวันที่ 22 และ 32 ของแต่ละความเข้มแสง พบว่ามีปริมาณไขมันใกล้เคียงกัน เช่นเดียวกับ Lipid productivity ในวันที่ 22 และ 32 ที่ความเข้มแสง 3,000 และ 6,000 lux พบว่าที่ความเข้มข้น D2 และ D3 ของแต่ละความเข้มแสง ก็ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องจากในวันที่ 22-32 สาหร่ายเข้าสู่ระยะ Stationary phase ทำให้เริ่มเกิดการขาดแคลนแร่ธาตุอาหาร เห็นได้จากความเข้มข้นของไนโตรเจนในน้ำทิ้งลดลงถึง 88.8-99.6 % (รูปที่ 4-8) จึงเกิดสภาวะการขาดไนโตรเจนของสาหร่าย ซึ่งสังเกตได้จากเซลล์สาหร่ายที่พบจะมีสีจางและไม่มี การเจริญเติบโตของเซลล์ (Yeesang & Cheirsilp, 2011) จึงทำให้มีการสะสมไขมันเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในสภาวะการขาดไนโตรเจนเป็นส่วนสำคัญต่อปริมาณไขมันในเซลล์สาหร่าย เนื่องจากสาหร่ายหยุดการสังเคราะห์โครงสร้างเซลล์ ทำให้ส่วนประกอบของคาร์บอนถูกเปลี่ยนเป็นคาร์โบไฮเดรตหรือไขมัน (Feng *et al.*, 2011) ส่งผลให้มีไขมันเพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาของ Li *et al.* (2014) พบว่าการขาดไนโตรเจนทำให้มีการสะสมไขมันเพิ่มมากขึ้นกว่าการขาดฟอสฟอรัส นอกจากนี้การศึกษาของ Illman *et al.* (2000) และ Widjaja *et al.* (2009) พบว่าปริมาณไขมันสูงอาจเป็นเพราะสาหร่ายอยู่ในสภาวะขาดไนโตรเจน

ผลของความเข้มแสงที่มีต่อ Lipid content และ Lipid production แสดงดังตารางที่ 4-4 พบว่าที่ความเข้ม D1 ในแต่ละวันของการเลี้ยงนั้น Lipid content เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเพิ่มความเข้มแสงจาก 3,000 เป็น 6,000 และ 9,000 lux แต่เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้น D2 และ D3 ในแต่ละวันของการเลี้ยง Lipid content ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อความเข้มแสงเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากในวันที่ 12, 22 และ 32 ความเข้มข้น

ไนโตรเจนที่ความเข้มแสงต่างๆ มีประสิทธิภาพการลดคล้อยคลึงกัน (รูปที่ 4-8) ทำให้ Lipid content ที่สกัดได้จากเซลล์สาหร่ายมีปริมาณใกล้เคียงกัน และเมื่อพิจารณา Lipid production พบว่าปริมาณไขมันมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มแสง เนื่องจาก Lipid production ที่วิเคราะห์ได้ มีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเซลล์สาหร่ายกับ Lipid content ซึ่งจากรูปที่ 4-6 สังเกตว่าเมื่อความเข้มแสงเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้เซลล์สาหร่ายมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน (Feng *et al.*, 2012) จึงทำให้ Lipid production มีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ที่ความเข้มแสง 9,000 lux และความเข้มชั้น D2 มี Lipid production สูงสุดถึง 212.50 ± 17.68 mg/Lmedium เนื่องจากน้ำทิ้งที่ความเข้ม D2 และที่ความเข้มแสง 9,000 lux เป็นสภาวะที่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีที่สุด แสดงให้เห็นว่าความเข้มแสงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปริมาณน้ำมันในสาหร่ายอย่างเด่นชัด ซึ่ง Lipid production เพิ่มขึ้นจาก 60.00 ± 7.07 mg/L เป็น 212.50 ± 17.68 mg/L คิดเป็นประมาณ 3.5 เท่า เมื่อเพิ่มความเข้มแสง 3 เท่า (จาก 3000 lux เป็น 9000 lux) แสดงให้เห็นว่าไขมันจากเซลล์สาหร่ายมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มแสงที่เลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้น (Sun *et al.*, 2013) สอดคล้องกับการศึกษาของ Lv *et al.* (2010) พบว่าปริมาณไขมันในเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มแสงในการเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้น โดยพบปริมาณน้ำมันสูงสุดเท่ากับ 40 mg/L/d ที่ความเข้มแสง $120 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ (8,800 lux) มีค่าเป็น 2 เท่าของปริมาณน้ำมันที่เลี้ยงสาหร่ายที่ความเข้มแสงเท่ากับ $60 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ (4,400 lux) ซึ่งความเข้มแสงที่เหมาะสมส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ และปริมาณไขมัน (Cheirsilp & Torpee, 2012) เนื่องจากเซลล์สาหร่ายจะใช้กลูโคสที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง เพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและผลิตไขมันภายในเซลล์ แสดงให้เห็นว่าความเข้มแสงนอกจากจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายแล้ว ยังมีผลต่อปริมาณไขมันในเซลล์สาหร่ายอีกด้วย

ตารางที่ 4-6 Lipid content และ Lipid production จากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งฟาร์มสุกร ที่สภาวะความเข้มแสงและความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ระดับต่างๆ

Light intensity (lux)	Dilution	Lipid content (%)			Lipid production (mg/L _{medium})		
		12-d	22-d	32-d	12-d	22-d	32-d
3,000	D1	6.3 ^a	7.9 ^a	12.8 ^a	27.5 ^a	30.0 ^a	36.7 ^a
	D2	15.9 ^b	24.7 ^{cd}	29.7 ^{cd}	52.5 ^b	60.0 ^a	82.5 ^b
	D3	23.0 ^c	25.4 ^{cd}	25.3 ^{bc}	72.5 ^{bc}	76.7 ^{ab}	75.0 ^b
6,000	D1	13.4 ^b	17.4 ^b	23.0 ^b	86.7 ^{cd}	122.5 ^{bc}	125.0 ^c
	D2	15.0 ^b	23.0 ^{bc}	28.4 ^{bcd}	115.0 ^e	143.3 ^c	165.0 ^{de}
	D3	8.2 ^a	26.9 ^{cd}	26.2 ^{bcd}	60.0 ^b	150.0 ^c	160.0 ^{cde}
9,000	D1	16.7 ^b	27.6 ^{cd}	28.0 ^{bcd}	100.0 ^{de}	136.7 ^c	133.3 ^{cd}
	D2	21.9 ^c	32.7 ^d	31.5 ^d	123.3 ^e	212.5 ^d	210.0 ^f
	D3	27.5 ^c	27.7 ^{cd}	29.6 ^{bcd}	112.5 ^e	160.0 ^c	171.7 ^e

หมายเหตุ: - ตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้ Duncan's multiple-range test ($p < 0.05$)

- 12-d คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย 12 วัน (เริ่มเข้าสู่ระยะ Log phase)
- 22-d คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย 22 วัน (เริ่มเข้าสู่ระยะ Stationary phase)
- 32-d คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย 32 วัน (วันสุดท้ายการทดลอง)

4.4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสะสมไขมันในสาหร่ายโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์

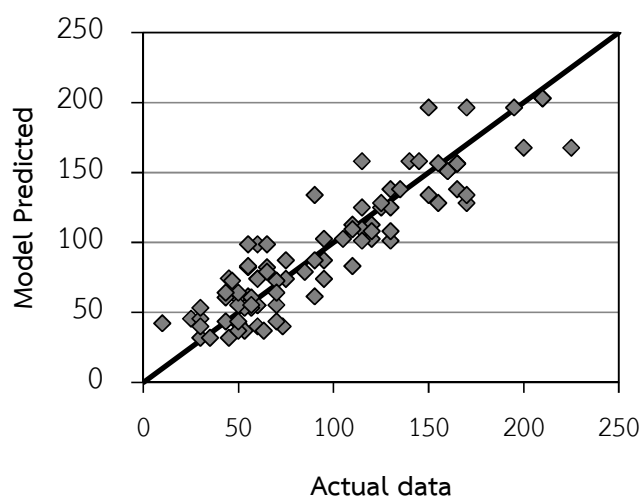
ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสะสมไขมันในสาหร่ายโดยประเมินจากค่า Lipid production ใช้แบบจำลองทางสถิติ Response Surface Methodology (RSM) แบบ Central Composite Design โดยมีตัวแปรต้นที่จะทำการศึกษาคือ ปริมาณฟอสฟอรัสเริ่มต้น (Total phosphorus, TPi) , ความเข้มแสง (Light intensity, LI) และเวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (Time of cultivation, TC) ในขณะที่ตัวแปรตามคือ Lipid production การทดลองทั้งหมด 9 ชุดการทดลอง นำผล Lipid production ในวันที่ 0, 12, 22 และ 32 ที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์การถดถอยของพื้นที่ผลตอบสนอง และวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA เพื่อทำนาย Lipid production ซึ่งจะได้ค่าประมาณของสัมประสิทธิ์ (Coefficient estimate) ของแต่ละปัจจัย และอันตรกิริยาระหว่างปัจจัย (Interaction) ทั้งหมด แสดงดังตารางที่ 4-7

ตารางที่ 4-7 ค่า Coefficient estimate และ *p*-values ของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อ Lipid production ของสาหร่าย

Source	Cumulative lipid production (mg/L _{medium})	
	Coefficient estimate	Probability
b ₀	-143.79	<0.0001*
b ₁ × TC	2.10	<0.0001*
b ₂ × LI	0.02	<0.0001*
b ₃ × TP	12.85	0.0024*
b ₄ × TC × TC	-0.04	0.0670
b ₅ × LI × LI	-1.45×10 ⁻⁶	0.0069*
b ₆ × TP × TP	-0.26	0.0007*
b ₇ × TC × LI	5.78×10 ⁻⁴	<0.0001*
b ₈ × TC × TP	-0.0864	0.0005*
b ₉ × LI × TP	8.26×10 ⁻⁵	0.4814
R ²	0.82	
F-significant	<0.0001	
Coefficient of variance (CV)	22.46	
Lack of Fit		0.0001

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p* < 0.05)

จากตารางที่ 4-7 พบว่า F-significant มีค่าเท่ากับ <0.0001 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 0.05 แสดงว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ทำการศึกษามีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อผลิตรการผลิตไขมันจากสาหร่าย และสามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่าง Lipid production ที่ได้จากการทดลองและจากการทำนายแบบจำลองแสดงดังรูปที่ 4-12 โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.82 ซึ่งค่า R^2 ที่ได้จากการสมการมีค่าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากการทำนายที่ได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์มีค่าใกล้เคียงกับการทดลองจริง อีกทั้งเมื่อพิจารณาค่า p -value ของตัวแปรแต่ละตัวที่มีค่าน้อยกว่า 0.05 แสดงว่าตัวแปรนั้นมีผลต่อการผลิตไขมันจากเซลล์สาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 4-12 ความสัมพันธ์ระหว่าง Lipid production ที่ได้จากการทดลองและการทำนายด้วยแบบจำลอง

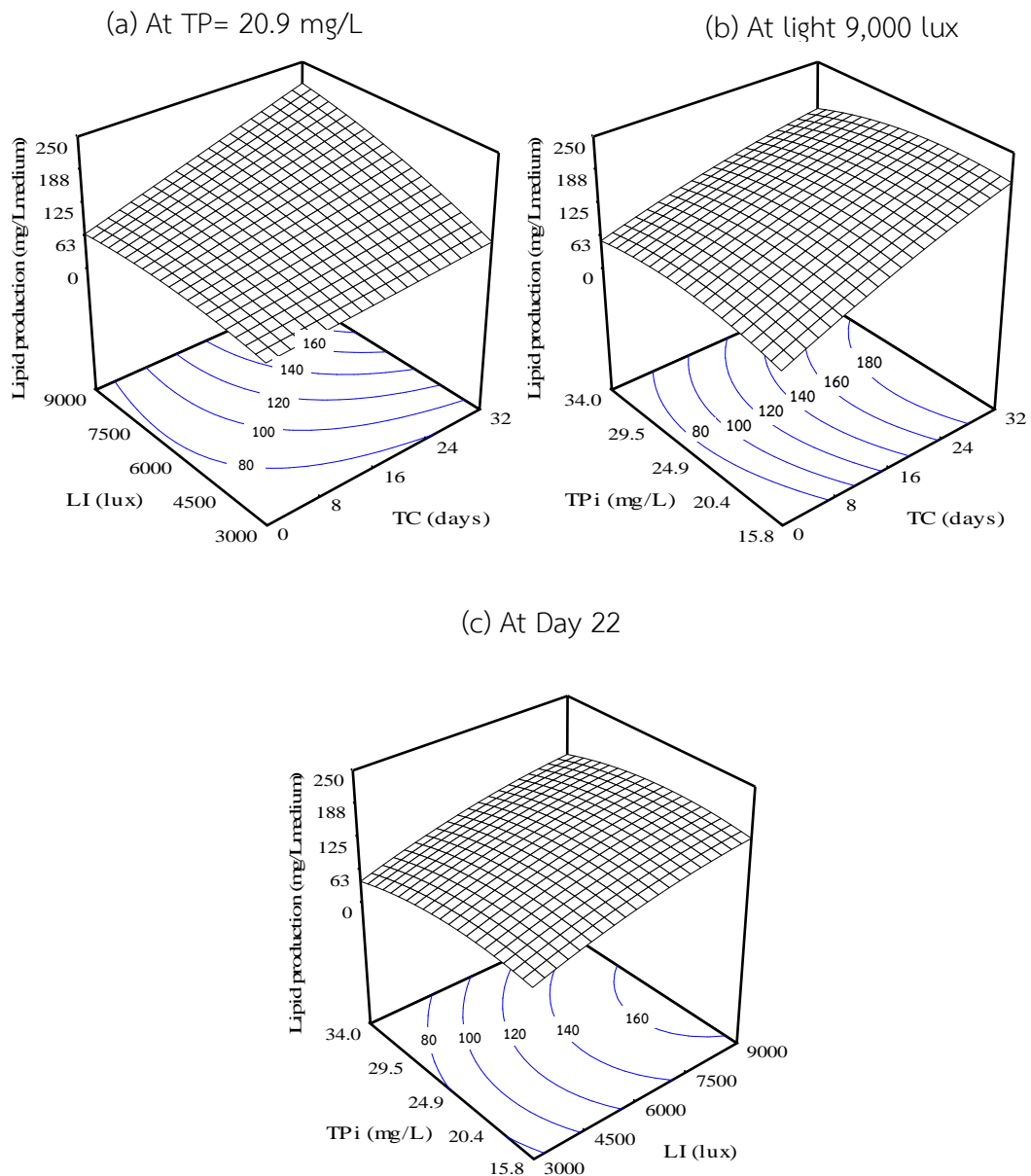
จากข้อมูลทางสถิติที่แสดงดังตารางที่ 4-7 สามารถสร้างสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ดังแสดงในสมการที่ 4-1

$$\begin{aligned}
 Y1 = & -143.7868 + 2.1040*TC + 0.0172*LI + 12.8538*TPi - 0.0362*TC^2 \quad (4-1) \\
 & -1.45 \times 10^{-6} * LI^2 - 0.2599 * TPi^2 + 5.78 \times 10^{-4} * TC * LI - 0.0864 * TC * TPi \\
 & + 8.26 \times 10^{-5} * LI * TPi
 \end{aligned}$$

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของ Lipid production โดยทำการพล็อตกราฟสามมิติเพื่อหาสถานะที่เหมาะสมของตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อ Lipid production โดยใช้โปรแกรม Design Expert แสดงดังรูปที่ 4-13 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของ LI และ TC ที่มีผลต่อ Lipid production ที่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้นเท่ากับ 20.9 mg/L แสดงดังรูปที่ 4-13a พบว่าเมื่อ LI และ TC เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ Lipid production มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกัน และเมื่อพิจารณารูปที่ 4-13b

แสดงความสัมพันธ์ของ TPi และ TC ที่มีผลต่อ Lipid production ที่ความเข้มแสงเท่ากับ 9,000 lux พบว่าระยะเวลาที่มีผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Lipid production อย่างชัดเจน ซึ่งเห็นได้ ว่าเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ Lipid production เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน แต่เมื่อ พิจารณาความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้น พบว่าฟอสฟอรัสที่มีความเข้มข้นในช่วง 20.4-24.9 mg/L จะมี Lipid production สูงถึง 203 mg/L_{medium} เช่นเดียวกับรูปที่ 4-13c แสดงความสัมพันธ์ของ TPi และ LI ที่ระยะเวลาเลี้ยงสาหร่ายวันที่ 22 พบว่า Lipid production มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อ ความเข้มแสงเพิ่มขึ้น ซึ่งมี Lipid production เพิ่มสูงถึง 167.6 mg/L_{medium} สำหรับความเข้มข้น ของฟอสฟอรัส พบว่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในช่วง 20.4-24.9 mg/L มี Lipid production สูงสุด อีกทั้งเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาทำนายหาสภาวะเหมาะสมโดยใช้โปรแกรม Matlab (Matrix laboratory) พบว่าค่าที่เหมาะสมจากการทำนายคือ ความเข้มแสงที่ 9,000 lux ระยะเวลา ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นเวลา 32 วัน และความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเริ่มต้นเท่ากับ 20.8 mg/L จะมี Lipid production ที่ได้จากการทำนายเท่ากับ 201.55 mg/L_{medium} เป็นที่น่าสังเกตว่าการ ค้นหาจุดสูงสุดด้วยโปรแกรม Matlab เพื่อหาระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เหมาะสมต่อ Lipid production พบว่าในวันที่ 32 จะให้ Lipid production ได้สูงสุด ซึ่งไม่สอดคล้องกับข้อมูล จากการทดลองจริง ที่ความเข้มแสง 9,000 lux ระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่าย 22 วัน ให้ค่า Lipid production สูงกว่าที่ 32 วัน เล็กน้อย (ตารางที่ 4-6) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ทั้งนี้ เนื่องจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ถูกสร้างจากข้อมูลในการทดลองจริงหลายสภาวะเป็นการ ทำนายแนวโน้มของชุดข้อมูล ซึ่งอาจมีข้อมูลบางจุดแตกต่างจากข้อมูลจากการทดลองได้ดังแสดงใน รูปที่ 4-12 อย่างไรก็ตามแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถอธิบายข้อมูลได้สูงถึงร้อยละ 82 จากการศึกษาจึงสรุปได้ว่าความเข้มข้นฟอสฟอรัสเริ่มต้นเท่ากับ 20.4-24.9 mg/L เป็นช่วงที่ เหมาะสมต่อการผลิตไขมันจากสาหร่าย และเมื่อพิจารณาระยะเวลาการเลี้ยงสาหร่าย พบว่าการเพิ่ม ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทำให้สารอาหารในน้ำลดลง ส่งผลให้เซลล์สาหร่ายดูดซึม สารอาหารได้น้อย จึงเกิดการขาดสารอาหาร เห็นได้จากปริมาณสีของสาหร่ายมีสีจาง ซึ่งจากเกิดการ ขาดไนโตรเจน (Yeesang & Cheirsilp, 2011) จึงทำให้สาหร่ายมีการสังเคราะห์ไขมันเพิ่มขึ้น เนื่องจากเซลล์สาหร่ายได้หยุดการสังเคราะห์โครงสร้างเซลล์ รวมทั้งโปรตีนและกรดนิวคลีอิก ทำให้ ปริมาณคาร์บอนคงที่ถูกเปลี่ยนเป็นคาร์โบไฮเดรตหรือไขมัน (Feng *et al.*, 2011) และเมื่อพิจารณา ความเข้มแสงที่มีผลต่อ Lipid production พบว่าการเพิ่มขึ้นของแสงมีผลต่อการสะสมไขมันในเซลล์ สาหร่ายเป็นอย่างมาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lv *et al.* (2010) ที่พบว่าปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มแสงในการเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้น โดยพบว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่ายที่ความเข้มแสง 120 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ (8,880 lux) สาหร่ายมีอัตราการผลิตไขมันสูงถึง 40 mg/L/d ซึ่งมีปริมาณเป็น 2

เท่าของไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงที่ความเข้มแสงเท่ากับ $60 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ (4,400 lux) และ การศึกษาของ Cheirsilp and Torpee (2012) พบว่าปริมาณไขมันจากเซลล์สาหร่ายเพิ่มขึ้น เมื่อ เพิ่มความเข้มแสงที่เลี้ยงสาหร่าย ดังนั้น แสงจึงมีส่วนสำคัญในการสังเคราะห์เซลล์ และการสะสม ไขมันในเซลล์สาหร่าย (Roopnarain *et al.*, 2014)



รูปที่ 4-13 กราฟพื้นผิวแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มแสง ระยะเวลา และความเข้มข้น ฟอสฟอรัสเริ่มต้น ที่มีผลต่อปริมาณ Lipid production (a) ที่ TP=20.9 mg/L (b) ที่ความเข้มแสง 9,000 lux และ (c) เวลาการเลี้ยงสาหร่ายวันที่ 22

4.5 การวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันจากสาหร่าย

ผลการศึกษาขององค์ประกอบไขมันที่สกัดได้จากเซลล์สาหร่าย ที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG และอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่สภาวะความเข้มแสงที่แตกต่างกัน ณ วันที่ 32 ดังตารางที่ 4-8 จากการศึกษาพบว่าองค์ประกอบของกรดไขมันในสาหร่าย ส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมันหลัก 3 ชนิดคือ Palmitic acid (C16:0), Stearic acid (C18:0) และ Oleic acid (C18:1) ซึ่งสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 และน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรที่ความเข้มแสงระดับต่างๆ ที่ความเข้มของน้ำทิ้ง D2 พบว่ามี Palmitic acid (C16:0) มากถึง 40.6-47.1% และรองลงมาคือ Stearic acid (C18:0) มีกรดไขมันอยู่ในช่วง 9.3-10.9 % สอดคล้องกับการศึกษาของ Huo *et al.* (2012) ทำการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella zofingiensis* ในน้ำเสียจากโรงงานนม พบกรดไขมัน C16 ประมาณ 21.9-25.7 % และมี C18 สูงถึง 32-35% และ Li *et al.* (2011) ได้เลี้ยงสาหร่าย *Chlorella sp.* ในน้ำเสียจากเขตเทศบาลเมือง พบว่ากรดไขมันที่มีมากที่สุดที่ได้จากสาหร่ายคือ C18:2 (14.4-24.4%) และ C16:0 (15.2-19.1%) ซึ่งโดยส่วนใหญ่กรดไขมันที่มีคาร์บอน 16-18 อะตอม เป็นกรดไขมันที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากคุณสมบัติต่างๆ เช่น ความหนาแน่น ความหนืด ค่าความร้อน สามารถเพิ่มคุณภาพของน้ำมันไบโอดีเซลได้ดี และมีองค์ประกอบไขมันมากที่สุดที่พบในเซลล์สาหร่าย (Wu *et al.*, 2012 และ Xu *et al.*, 2006) แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันในเซลล์สาหร่าย จึงเป็นข้อบ่งชี้ปริมาณของไขมันที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไบโอดีเซล เป็นที่น่าสังเกตว่ากรดไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PIG ที่ความเข้มแสง 3,000 lux พบว่ามีกรดไขมัน Oleic acid (C18:1) และ Linolenic acid (C18:2) ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีปริมาณมากกว่าความเข้มแสงอื่นๆ สอดคล้องกับการศึกษาของ Heredia-Arroyo *et al.* (2011) ได้ศึกษาสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะ Autotrophic, Heterotrophic และ Mixotrophic จากการศึกษาพบว่าสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตแบบ Heterotrophic พบกรดไขมัน Octadecadienoic acid (C18:2) ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะ Autotrophic และ Mixotrophic และ Lam and Lee (2012) ได้พบว่าสาหร่าย *Chlorella vulgaris* มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว (C18:2) ประมาณ 44% ของกรดไขมันทั้งหมด เมื่อใช้ปุ๋ยอินทรีย์นำมาเพาะเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งในการทดลองนี้ สาหร่ายที่เลี้ยงความเข้มแสง 3,000 lux มีการใช้อินทรีย์คาร์บอนในน้ำทิ้งมาก อาจส่งผลทำให้เอนไซม์ desaturation ของสาหร่าย จึงทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวเพิ่มสูงขึ้นซึ่งสอดคล้องกับ Tang *et al.* (2011) เมื่อนำกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ มาทำการเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ที่มีการศึกษาชนิดของกรดไขมันที่พบในน้ำมันไบโอดีเซล จาก *Chlorella sp.* ที่ทำการเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานต่างๆ หรือกรดไขมันที่ได้จากวัตถุดิบของพืชชนิดอื่นๆ เช่น น้ำมันปาล์ม พบว่าชนิดของกรดไขมันที่พบส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายกันคือ C16-C18 แต่จะแตกต่างกันที่เปอร์เซ็นต์ที่พบเท่านั้น

ตารางที่ 4-8 เปรียบเทียบองค์ประกอบของไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงจาก PIG ที่ความเข้มแสงต่างๆ วันที่ 32 กับกรดไขมันของงานวิจัยอื่นๆ

Distribution of fatty acid (%)	Pig farm digester effluent (D2)			Chu 13	Municipal wastewater ^a	Brewery wastewater ^b	Starch wastewater ^c	Palm ^d oil
	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux	9,000 lux	3,750 lux	7,400 lux	9,398 lux	
Capric acid (C10:0)	0.27	0.09	0.09	ND	-	-	-	-
Lauric acid (C12:0)	0.33	0.12	0.10	0.23	2.48	-	-	0.1
Tridecylic acid (C13:0)	ND	ND	ND	1.30	2.23	-	-	-
Myristic acid (C14:0)	1.27	0.86	0.75	1.18	0.00	-	-	0.7
Pentadecylic acid (C15:0)	ND	ND	ND	0.61	4.19	-	-	-
Palmitic acid (C16:0)	40.59	46.78	47.10	49.52	15.15	20	29.16	36.7
Palmitoleic acid (C16:1)	ND	0.64	0.56	0.35	11.47	-	1.12	0.1
Hexadecadienoic acid (C16:2)	ND	ND	ND	ND	10.90	-	12.15	-
Margaric acid (C17:0)	ND	0.58	0.57	0.68	6.91	-	-	-

“-” = Below detection limit, a =Li *et al.* (2011), b =Farooq *et al.* (2013), c = Yang *et al.* (2015) และ d = Ramos *et al.* (2009)

ตารางที่ 4-8 (ต่อ) เปรียบเทียบองค์ประกอบของไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงจาก PIG ที่ความเข้มแสงต่างๆ วันที่ 32 กับกรดไขมันของงานวิจัยอื่นๆ

Distribution of fatty acid (%)	Pig farm digester effluent (D2)			Chu 13	Municipal wastewater ^a	Brewery wastewater ^b	Starch wastewater ^c	Palm ^d oil
	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux	9,000 lux	3,750 lux	7,400 lux	9,398 lux	
Stearic acid (C18:0)	9.32	10.00	10.93	15.37	3.34	-	-	6.6
Oleic acid (C18:1)	20.92	3.88	2.92	0.46	13.89	44	2.24	46.1
Linoleic acid (C18:2)	5.03	1.33	1.07	0.46	16.15	14	17.94	8.6
Linolenic acid (C18:3)	ND	0.44	0.40	ND	10.69	15	37.39	0.3
Arachidic acid (C20:0)	ND	0.30	0.48	0.77	0.00	-	-	0.4
Palmitic acid (C18:1)	ND	2.80	2.94	ND	-	-	-	0.2
Behenic acid (C22:0)	ND	ND	0.29	0.23	2.61	-	-	0.1
Erucic acid (C22:1)	ND	0.32	0.16	ND	-	-	-	0.0
Erucic acid (C24:0)	ND	ND	ND	0.49	-	-	-	0.1
Nervonic acid (C24:1)	ND	ND	0.32	ND	-	-	-	0.0

“-” = Below detection limit, a =Li *et al.* (2011), b =Farooq *et al.* (2013), c = Yang *et al.* (2015) และ d = Ramos *et al.* (2009)

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 บทสรุป

การศึกษาการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

5.1.1 การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงาน 4 ประเภท

ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงาน 4 ประเภท คือน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร (PIG) โรงงานแปรรูปอาหารทะเล (SEA) โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (PAL) และโรงงานน้ำยางข้น (LAT) โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้นแสง 3,000 lux พบว่าสาหร่ายในน้ำทิ้ง PIG มีการเจริญเติบโตสูงถึง 0.96 ± 0.15 g/L เมื่อเปรียบเทียบกับ SEA และ LAT ซึ่งมีการเจริญเติบโตของสาหร่ายเท่ากับ 0.82 ± 0.12 และ 0.76 ± 0.06 g/L ตามลำดับ เนื่องจากน้ำทิ้ง PIG มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเท่ากับ 17.9 mg/L และความเข้มข้นของซีโอดีอยู่ในช่วง 200-800 mg/L ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายมากที่สุดใน 4 โรงงาน จึงทำให้สาหร่ายที่เลี้ยงน้ำทิ้ง PIG มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง PAL มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด เนื่องจากน้ำทิ้ง PAL มีสีน้ำตาลเข้ม ส่งผลให้แสงส่องผ่านไปยังเซลล์สาหร่ายได้น้อย ทำให้สาหร่ายลดการสังเคราะห์แสง และมีการเจริญเติบโตเพียง 0.36 ± 0.09 g/L เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียทั้ง 4 โรงงาน พบว่าสาหร่ายสามารถบำบัดไนโตรเจนได้ 93.75, 88.98, 76.63 และ 93.37% ตามลำดับ และสามารถบำบัดฟอสฟอรัสได้ 61.17, 53.07, 62.33 และ 43.81% ตามลำดับ

5.1.2 ผลของความเข้มแสงและการเจือจางความเข้มในน้ำทิ้งของฟาร์มสุกร ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของสาหร่าย

ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยเลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux โดยทำการเจือจางความเข้มข้นของน้ำทิ้งออกเป็น 3 ระดับ คือ ไม่มีการเจือจาง (D1), เจือจาง 2 เท่า (D2) และเจือจาง 3 เท่า (D3) ทำการเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 32 วัน พบว่าที่ความเข้มแสงเป็น 9,000 lux สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เพราะแสงเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย ซึ่งเมื่อความเข้มแสงเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้สาหร่ายเพิ่ม

อัตราการสังเคราะห์แสง และเร่งการทำงานของเซลล์ จึงทำให้ที่ความเข้มแสง 9,000 lux มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มแสงอื่นๆ และเมื่อทำการลดสัดส่วนน้ำทิ้งของฟาร์มสุกร เป็น 2 เท่า สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ซึ่งมีการเจริญเติบโตสูงถึง $1.22 \pm 0.10 \text{ g/L}$ อีกทั้งเมื่อพิจารณาการบำบัดสารอาหารในน้ำทิ้ง พบว่าค่าไนโตรเจนในน้ำทิ้งลดลงได้มากถึง 96.79% เช่นเดียวกับฟอสฟอรัสและ ซีโอดีสาหร่ายสามารถกำจัดได้สูงถึง 65.52 และ 60.72% ตามลำดับ

5.1.3 การผลิตไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร

ผลการผลิตไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร พบว่าการสกัดไขมันจากเซลล์สาหร่ายแห้ง ในวันที่ 22 ที่ความเข้มแสง 9,000 lux ที่สภาวะการเจือจางน้ำทิ้ง 2 เท่า มี Lipid content สูงสุดถึง $32.69 \pm 0.03\%$ และ Lipid productivity ที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณมากถึง $212.50 \pm 17.70 \text{ mg/Lmedium}$ เมื่อเทียบกับสภาวะอื่นๆ สำหรับชนิดของกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ส่วนใหญ่พบกรดไขมันหลัก 3 ชนิด คือ Palmitic acid (C16:0), Stearic acid (C18:0) และ Oleic acid (C18:1) ซึ่งมีปริมาณสูงถึง 49.52, 15.37 และ 20.92% ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาขยายผลโดยการนำมวลของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ได้ภายหลังจากการสกัดไขมัน นำไปศึกษาการใช้ประโยชน์ในรูปแบบอื่นๆ เช่นการนำไปผสมเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำ หรือสามารถนำไปใช้เป็นพลังงานทางเลือกใหม่ เช่นการผลิตไฮโดรเจน

5.2.2 ควรมีการทดสอบสาหร่ายคลอเรลลาชนิดอื่นๆ โดยมีการระบุชนิดสายพันธุ์ให้ชัดเจน และทำการเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบผลิตก๊าซชีวภาพ เพื่อนำมาศึกษาการเจริญเติบโต และการผลิตน้ำมันของสาหร่าย

บรรณานุกรม

- กรมควบคุมมลพิษ. 2558. มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม. (ออนไลน์) สืบค้นจาก: http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water04.html (29 พฤษภาคม 2558)
- กิตติพงษ์ หลงสะ. 2553. สมบัติของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำยางข้นเพื่อการเพาะเลี้ยงคลอเรลลาในระบบกึ่งต่อเนื่อง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเคมีประยุกต์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- จิโนรส ศรีศิริ. 2552. “การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไขมันของสาหร่ายคลอเรลลา” วิทยานิพนธ์ วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- นฤชวรรณ สัญญาโณ. 2556. การเก็บเกี่ยวและการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก. วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- นุกูล อินทรสังข. 2546. ปัญหาน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมชีวภาพในจังหวัดสงขลาและจังหวัดพัทลุง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- ปริญ อานเป็รื่อง. 2547. อัตราส่วนที่เหมาะสมของแร่ธาตุในปุ๋ยอินทรีย์จากกากตะกอนฟาร์มสุกรในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลลาและไรแดง. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- ยศวริศ เขตอนันต์. 2551. การพัฒนาวิธีการบำบัดน้ำเสียโรงงานน้ำยางข้นโดยระบบยูเอเอสบีและระบบไบโอฟิล์มที่ควบคุมพารามิเตอร์โออาร์พี. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขา การจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- รัตนภรณ์ ลีสิงห์ และงามนิจ นนทโส. 2551. การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กลิปิดสูง ที่คัดเลือกได้จากแหล่งน้ำจืดในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น. โครงการสนับสนุนทุนวิจัย, ประเภท อุดหนุนทั่วไป, มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วรรณณ์ หมูศิลป์. 2547. การผลิตกากตะกอนน้ำเสียอุตสาหกรรมผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวเพื่อการเพาะเลี้ยง สาหร่ายเกลียวทอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะ พลังงานและวัสดุ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- ศิริินภา พงษ์พิระ. 2553. การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นขนมจีนโดยใช้สไปรูไลน่าและคลอ เรลลา. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สาวิตรี ไทรทับทิม. 2554. การนำสาหร่ายที่ผลิตน้ำมันไบโอดีเซลมาบำบัดน้ำเสียของโรงงาน อุตสาหกรรมรีไซเคิล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม. สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.
- สุชาดา สุวรรณสะอาด. 2555. การผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมของกากตะกอนดีแคเตอร์และ น้ำทิ้งหลังการผลิตก๊าซชีวภาพของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- อุดม เหลืองศิริธัญญา. 2543 “ผลของความเข้มแสงและความเป็นกรด-เบสต่อการเจริญของ *Spirulina platensis* และ *Chlorella vulgaris*” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยบูรพา.
- Alami, M., Lazar, D., Green, B.R. 2012. The harmful alga *Aureococcus anophagefferens* utilizes 19'-butanoyloxyfucoxanthin as well as xanthophyll cycle carotenoids in acclimating to higher light intensities. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1817(9), 1557-1564.

- Alyabyev, A.J., Loseva, N.L., Gordon, L.K., Andreyeva, I.N., Rachimova, G.G., Tribunskih, V.I., Ponomareva, A.A., Kemp, R.B. 2007. The effect of changes in salinity on the energy yielding processes of *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella maritima* cells. *Thermochimica Acta*, 458(1–2), 65-70.
- Amin, S. 2009. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. *Energy Conversion and Management*, 50(7), 1834-1840.
- Azov, Y., Goldman, J.C. 1982. Free Ammonia Inhibition of Algal Photosynthesis in Intensive Cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 43(4), 735-739.
- Bhola, V., Desikan, R., Santosh, S.K., Subburamu, K., Sanniyasi, E., Bux, F. 2011. Effects of parameters affecting biomass yield and thermal behaviour of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111(3), 377-382.
- Becker, E.W.1994. Micro algae -Biotechnology and Microbiology, Cambridge University Press, Cambridge
- Cheirsilp, B., Torpee, S. 2012. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresource Technology*, 110(0), 510-516.
- Chen, C.-Y., Yeh, K.-L., Aisyah, R., Lee, D.-J., Chang, J.-S. 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresource Technology*, 102(1), 71-81.
- Chiu, S., Kao, C., Chen, T., Chang, Y., Kuo, C. and Lin, C. 2015. Cultivation of microalgal *Chlorella* for biomass and lipid production using wastewater as nutrient resource. *Bioresource Technology*. 1849(0): 179-189.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294-306.

- Cho, S., Lee, N., Park, S., Yu, J., Luong, T.T., Oh, Y.-K., Lee, T. 2013. Microalgae cultivation for bioenergy production using wastewaters from a municipal WWTP as nutritional sources. *Bioresource Technology*, 131(0), 515-520.
- Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P., Del Borghi, M. 2009. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(6), 1146-1151.
- Chu, F.-F., Chu, P.-N., Cai, P.-J., Li, W.-W., Lam, P.K.S., Zeng, R.J. 2013. Phosphorus plays an important role in enhancing biodiesel productivity of *Chlorella vulgaris* under nitrogen deficiency. *Bioresource Technology*, 134(0), 341-346
- Farooq, W., Lee, Y.-C., Ryu, B.-G., Kim, B.-H., Kim, H.-S., Choi, Y.-E., Yang, J.-W. 2013. Two-stage cultivation of two *Chlorella* sp. strains by simultaneous treatment of brewery wastewater and maximizing lipid productivity. *Bioresource Technology*, 132(0), 230-238.
- Feng, P., Deng, Z., Fan, L., Hu, Z. 2012. Lipid accumulation and growth characteristics of *Chlorella zofingiensis* under different nitrate and phosphate concentrations. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 114(4), 405-410.
- Feng, Y., Li, C., Zhang, D. 2011. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. *Bioresource Technology*, 102(1), 101-105.
- Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Biology Chemistry*. 266 (0): 497-509.
- Gao, C., Zhai, Y., Ding, Y., and Wu, Q. 2009. Application of sweet sorghum for biodiesel production by heterotrophic microalga *Chlorella protothecoides*. *Applied Energy*, 87: 756-761.

- Gibson, A., Bratchell, N., Roberts, T. 1988. Predicting microbial growth: growth responses of salmonellae in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 6(2), 155-178.
- .Gouveia, L., Oliveira, A. 2009. Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36(2), 269-274.
- Haque, M.Z., Kobayashi, M., Fujii, K., Takahashi, E. 1969. Seasonal changes of photosynthetic bacteria and their products. *Soil Science and Plant Nutrition*, 15(2), 51-55.
- Heredia-Arroyo, T., Wei, W., Ruan, R., Hu, B. 2011. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* and its potential application for the oil accumulation from non-sugar materials. *Biomass and Bioenergy*, 35(5), 2245-2253.
- Hongyang, S., Yalei, Z., Chunmin, Z., Xuefei, Z., Jinpeng, L. 2011. Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in soybean processing wastewater. *Bioresource Technology*, 102(21), 9884-9890.
- Huo, S., Wang, Z., Zhu, S., Zhou, W., Dong, R., Yuan, Z. 2012. Cultivation of *Chlorella zofingiensis* in bench-scale outdoor ponds by regulation of pH using dairy wastewater in winter, South China. *Bioresource Technology*, 121(0), 76-82.
- Illman, A.M., Scragg, A.H. and Shales, S.W. 2000. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme and Microbial Technology*. 27:631-635
- Jacob-Lopes, E., Scoparo, C.H.G., Lacerda, L.M.C.F., Franco, T.T. 2009. Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(1), 306-310.

- Kaplan, D., Richmond, A.E., Dubinsky, Z. and Aaronson, S. 1986. Algal nutrition. pp. 147-198. In Richmond, A. (Ed.), CRC Handbook of Microalgal Mass Culture. CRC Press, Inc., Florida
- Kayombo, S., Mbwette, T.S.A., Katima, J.H.Y., Jorgensen, S.E. 2003. Effects of substrate concentrations on the growth of heterotrophic bacteria and algae in secondary facultative ponds. *Water Research*, 37(12), 2937-2943.
- Kingdom Protista. 2558. Chlorella. (ออนไลน์) สืบค้นจาก: <https://kingdomprotista2014.wordpress.com/chlorophyta> (8 August 2015)
- Kim, S., Park, J.-e., Cho, Y.-B., Hwang, S.-J. 2013. Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of *Chlorella sorokiniana* in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. *Bioresource Technology*, 144(0), 8-13.
- Kosaric, N., Nguyen, H.T. and Bengougnou, M.A. 1974. Growth of *Spirulina maxima* algae in effluents from secondary wastewater treatment plant. *Biotechnol.* 16 : 881-896.
- Lam, M.K., Lee, K.T. 2012. Potential of using organic fertilizer to cultivate *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Applied Energy*, 94, 303-308.
- Lau, P.S., Tam, N.F.Y., Wong, Y.S. 1995. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. *Environmental Pollution*, 89(1), 59-66.
- Li, Y., Chen, Y.-F., Chen, P., Min, M., Zhou, W., Martinez, B., Zhu, J., Ruan, R. 2011. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource Technology*, 102(8), 5138-5144.
- Li, Y., Han, F., Xu, H., Mu, J., Chen, D., Feng, B., Zeng, H. 2014. Potential lipid accumulation and growth characteristic of the green alga *Chlorella* with combination cultivation mode of nitrogen (N) and phosphorus (P). *Bioresource Technology*, 174(0), 24-32.

- Liang, Y., Sarkany, N., Cui, Y. 2009. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. *Biotechnology Letters*, 31(7), 1043-1049.
- Lim, S.-L., Chu, W.-L., Phang, S.-M. 2010. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. *Bioresource Technology*, 101(19), 7314-7322.
- Lin, L., Chan, G.Y.S., Jiang, B.L., Lan, C.Y. 2007. Use of ammoniacal nitrogen tolerant microalgae in landfill leachate treatment. *Waste Management*, 27(10), 1376-1382.
- Liu, J. and Vyverman, W. 2015. Differences in nutrient uptake capacity of the benthic filamentous algae *Cladophora* sp., *Klebsormidium* sp. and *Pseudanabaena* sp. under varying N/P conditions. *Bioresource Technology*. 179:234-242.
- Liu, Z., Y., Wang, G.C. and Zhou, B.C. 2007. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 99:4717-4722
- Lv, J., Cheng, L., Xu, X., Zhang, L. and Chen, H. 2010. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. *Bioresource Technology*, 101: 6797–6804.
- Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217-232.
- Matusiak, K., Pryztocka, M.; Jusiak, K., and Horoch, M. 1976. Studies on the purification of wastewater from the nitrogen fertilizer industry by intensive algal cultures. II: Removal of nitrogen from wastewater. *Acta Microbiol. Pol.*, 25:361-374.
- Merck millipore. 2015. Spectroquant Pharo 100. (ออนไลน์) สืบค้นจาก: <http://www.analytical-test-kits.com> (13/08/15)

- Prince geogre's community college. 2015. Online learning for teacher. (ออนไลน์) สืบค้นจาก : <http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%206/growth.html> (7 สิงหาคม 2015)
- Posten, C., Schaub, G. 2009. Microalgae and terrestrial biomass as source for fuels-A process view. *Journal of Biotechnology*, 142(1), 64-69.
- Radakovits, R., Jinkerson, R.E., Darzins, A., Posewitz, M.C. 2010. Genetic Engineering of Algae for Enhanced Biofuel Production. *Eukaryotic Cell*, 9(4), 486-501.
- Ramos, M.J., Fernández, C.M., Casas, A., Rodríguez, L., Pérez, Á. 2009. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresource Technology*, 100(1), 261-268.
- Rao, A.R., Dayananda, C., Sarada, R., Shamala, T.R., Ravishankar, G.A. 2007. Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. *Bioresource Technology*, 98(3), 560-564.
- Rasoul-Amini, S., Montazeri-Najafabady, N., Shaker, S., Safari, A., Kazemi, A., Mousavi, P., Mobasher, M.A., Ghasemi, Y. 2014. Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae free cells in bath culture system. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(2), 126-131.
- Roopnarain, A., Gray, V.M., Sym, S.D. 2014. Phosphorus limitation and starvation effects on cell growth and lipid accumulation in *Isochrysis galbana* U4 for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 156(0), 408-411.
- Sharma, K.K., Shrivastava, B., Sastry, V.R.B., Sehgal, N., Kuhad, R.C. 2013. Middle-redox potential laccase from *Ganoderma* sp.: its application in improvement of feed for monogastric animals. *Sci. Rep.*, 3.
- Sun, X., Wang, C., Li, Z., Wang, W., Tong, Y., Wei, J. 2013. Microalgal cultivation in wastewater from the fermentation effluent in Riboflavin (B2) manufacturing for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 143(0), 499-504.

- Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X., Zhong, J. 2011. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. *Bioresource Technology*, 102(3), 3071-3076.
- Travieso, L., Benítez, F., Sánchez, E., Borja, R., Martín, A., Colmenarejo, M.F. 2006. Batch mixed culture of *Chlorella vulgaris* using settled and diluted piggery waste. *Ecological Engineering*, 28(2), 158-165.
- Venkata Mohan, S., Rohit, M.V., Chiranjeevi, P., Chandra, R., Navaneeth, B. 2015. Heterotrophic microalgae cultivation to synergize biodiesel production with waste remediation: Progress and perspectives. *Bioresource Technology*, 184(0), 169-178.
- Wang, L., Min, M., Li, Y., Chen, P., Chen, Y., Liu, Y., Wang, Y., Ruan, R. 2010. Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162(4), 1174-1186.
- Widjaja, A., Chien, C.-C., Ju, Y.-H. 2009. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 40(1), 13-20.
- Wu, L.F., Chen, P.C., Huang, A.P., Lee, C.M. 2012. The feasibility of biodiesel production by microalgae using industrial wastewater. *Bioresource Technology*, 113(0), 14-18.
- Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G., Ying-xue, S. 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, 101(14), 5494-5500.
- Xu, H., Miao, X. and Wu, Q. 2006. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *Biotechnology*, 126(0) :499–507

- Yan, C., Luo, X., Zheng, Z. 2013. Effects of various LED light qualities and light intensity supply strategies on purification of slurry from anaerobic digestion process by *Chlorella vulgaris*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 79(0), 81-87.
- Yang, L., Tan, X., Li, D., Chu, H., Zhou, X., Zhang, Y., Yu, H. 2015. Nutrients removal and lipids production by *Chlorella pyrenoidosa* cultivation using anaerobic digested starch wastewater and alcohol wastewater. *Bioresource Technology*, 181(0), 54-61.
- Yeesang, C., Cheirsilp, B. 2011. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. *Bioresource Technology*, 102(3), 3034-3040.
- Zhu, L., Wang, Z., Shu, Q., Takala, J., Hiltunen, E., Feng, P., Yuan, Z. 2013a. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water Research*, 47(13), 4294-4302.
- Zhu, L., Wang, Z., Takala, J., Hiltunen, E., Qin, L., Xu, Z., Qin, X., Yuan, Z. 2013b. Scale-up potential of cultivating *Chlorella zofingiensis* in piggery wastewater for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 137(0), 318-325.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

1. การวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่าง

โดยวิธี **Electrometric Method** (APHA, AWWA and WEF, 2005)

วิธีการวิเคราะห์

1. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างแท่งอิเล็กโทรดให้สะอาด ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำให้แห้ง
2. ใส่อิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายมาตรฐาน (โดยทั่วไปสารละลายมาตรฐานมี

ค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ที่ 4, 7 และ 9)

3. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างแท่งอิเล็กโทรดอีกครั้ง ซับน้ำให้แห้ง
4. จุ่มอิเล็กโทรดในน้ำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์
5. อ่านค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากเครื่องมือ

2. ของแข็งแขวนลอย

โดยวิธี **Gravimetric Method** (APHA, AWWA and WEF, 2005)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Glass Filler Disks (whatman GF/C) ซึ่งไม่มีสารอินทรีย์ติดอยู่
2. เครื่องมือสำหรับการกรอง
3. ขวดดูด (Suction flask)
4. เครื่องดูดสุญญากาศ

วิธีการวิเคราะห์

1. อบกระดาษกรองวางในอะลูมิเนียมฟรอย อบที่อุณหภูมิ 103-105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ ประมาณ 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนัก

2. เลือกปริมาณน้ำตัวอย่างที่ได้ปริมาณของแข็งแขวนลอยไม่น้อยกว่า 1.5 mg/L ใส่ในกระดาษกรองบนกรวยที่ติดกับเครื่องดูดสุญญากาศ

3. ใช้น้ำกลั่นฉีดกระดาษกรองให้เปียก แล้วเปิดเครื่องสุญญากาศเพื่อให้กระดาษกรองติดกับกรวยกรอง

4. กรองตัวอย่างที่ผสมเข้ากันดีแล้วโดยอาศัยแรงดึงจากเครื่องดูดอากาศ

5. ปิดเครื่องดูดสุญญากาศ ใช้คีมคีบกระดาษกรองแล้วใส่อะลูมิเนียมฟรอยอันเดิม จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 103-105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

6. ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ประมาณ 30 นาที แล้วชั่งหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

การคำนวณ

$$\text{Suspended Solid (mg/L)} = [(A-B) \times 1,000] / \text{mL sample}$$

โดยที่

A = น้ำหนักกระดาศกรงก่อนการวิเคราะห์ (mg)

B = น้ำหนักกระดาศกรงหลังการวิเคราะห์ (mg)

3. การวิเคราะห์หาค่าซีโอดี

โดยใช้ COD Test (Merck Pharo 100 spectrophotometer manual)

สารเคมี

ดังแสดงตารางที่ ก-1

วิธีการวิเคราะห์

- 1 เติมน้ำ A และ B ในหลอดทดลอง ดูปริมาตรที่เติมตามช่วงค่าซีโอดี แสดงดังตารางที่ ก-1
- 2 เขย่าสารให้เข้ากัน
- 3 ปิเปิดตัวอย่างน้ำตามช่วงค่าที่ต้องการ
 - ปิเปิดตัวอย่างน้ำ 3 mL เมื่อค่าซีโอดีที่ใช้ในการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 100-1,500 mg/L
 - ปิเปิดตัวอย่างน้ำ 1 mL เมื่อค่าซีโอดีที่ใช้ในการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 500-10,000 mg/L
- 4 ปิดฝาให้แน่นและเขย่าหลอดทดลองเพื่อให้เกิดการกวนผสม
- 5 นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 148°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- 6 เมื่อครบ 2 ชั่วโมง นำตัวอย่างออกจากเตาย่อย ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งเย็น
- 7 นำไปวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer

หมายเหตุ หลังจากเติมน้ำ A และ B อย่างจับที่หลอดทดลองเพราะสารเคมีที่ผสมกันจะเกิดความร้อน

ตารางที่ ก-1 ช่วงค่าความเข้มข้นของซีโอดีและปริมาตรสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

Measuring rang (mg/LCOD)		100-1,500	500-10,000
Solution A	Cat No.	114538	114679
	Volume	0.3 mL	2.2 mL
Solution B	Cat No.	114539	114680
	Volume	2.3 mL	1.8 mL

4. การวิเคราะห์หาค่าไนโตรเจน

โดยใช้ Crack Set 20 และ Nitrate test (Merck Pharo 100 spectrophotometer manual) ค่าไนโตรเจนที่ใช้ในการวิเคราะห์ที่อยู่ในช่วง 10-150 mg/L (หมายเลขแคตตาล็อก Crack Set 20 1.14963.0001 และ หมายเลขแคตตาล็อก Nitrate test 1.09713.0002)

สารเคมี

1. Crack Set 20
 - 1.1 Reagenz R-1
 - 1.2 Reagenz R-2
2. Nitrate test
 - 2.1 Reagent NO₃-1
 - 2.2. Reagent NO₃-2

วิธีการวิเคราะห์

- 1 ขั้นตอนการ Pretreated sample โดยใช้สาร Crack Set 20
 - 1.1 ปิเปตตัวอย่างน้ำ 1 mL ลงในหลอดทดลอง
 - 1.2 ปิเปตน้ำกลั่น 9 mL ลงในหลอดทดลอง
 - 1.3 เติมสาร R-1 จำนวน 1 ซ้อน
 - 1.4 เติมสาร R-2 จำนวน 6 หยด ปิดฝาและเขย่าให้เข้ากัน
 - 1.5 นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 120 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
 - 1.6 เมื่อครบ 1 ชั่วโมง นำตัวอย่างออกจากเตาย่อย ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเย็น
- 2 ขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนโดยใช้สาร Nitrate Test
 - 2.1 ปิเปตสาร NO₃-1 ปริมาตร 4 mL ใส่ในหลอดทดลอง
 - 2.2 ปิเปต Pretreated sample (ข้อ 2.1) ปริมาณ 0.5 mL
 - 2.3 ปิเปตสาร NO₃-2 ปริมาตร 0.5 mL
 - 2.4 ปิดฝาให้แน่นและเขย่าหลอดทดลองเพื่อให้เกิดการกวนผสม
 - 2.5 ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที เพื่อรอให้สารเคมีทำปฏิกิริยา
 - 2.6 นำไปวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer

5. การวิเคราะห์หาค่าแอมโมเนีย

โดยใช้ Ammonium Test (Merck Pharo 100 spectrophotometer manual) ค่าแอมโมเนียที่ใช้ในการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0.05-3.00 mg/L (หมายเลขแคตตาล็อก 1.14752.0001)

สารเคมี

1. Reagent NH_4 -1
2. Reagent NH_4 -2
3. Reagent NH_4 -3

วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำ 5 mL ลงในหลอดทดลอง
2. เติมสาร R- NH_4 -1 0.6 mL
3. เติมสาร R- NH_4 -2 จำนวน 1 ซ้อน
4. ปิดฝาให้แน่นและเขย่าหลอดทดลองเพื่อให้เกิดการกวนผสม
5. ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เพื่อรอให้สารเคมีทำปฏิกิริยา
6. เติมสาร R- NH_4 -3 จำนวน 4 หยด
7. เขย่าหลอดทดลองและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที
8. นำไปวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer

6. การวิเคราะห์หาค่าไนเตรท

โดยใช้ Nitrate Test (Merck Pharo 100 spectrophotometer manual) ค่าไนโตรเจนที่ใช้ในการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 1.0-25.0 mg/L (หมายเลขแคตตาล็อก 1.09713.0002)

สารเคมี

1. Reagent NO_3 -1
2. Reagent NO_3 -2

วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตสาร NO_3 -1 ปริมาตร 4 mL ใส่ในหลอดทดลอง
2. ปิเปต Pretreated sample (ข้อ 2.1) ปริมาณ 0.5 mL
3. ปิเปตสาร NO_3 -2 ปริมาตร 0.5 mL
4. ปิดฝาให้แน่นและเขย่าหลอดทดลองเพื่อให้เกิดการกวนผสม
5. ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที เพื่อรอให้สารเคมีทำปฏิกิริยา
6. นำไปวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer

7. การวิเคราะห์หาค่าฟอสฟอรัส

โดยใช้ Phosphate Test (Merck Pharo 100 spectrophotometer manual) ค่าฟอสฟอรัส

ใช้ในการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 1.0-100.0 mg/L (หมายเลขแคตตาล็อก 1.00798.0001)

สารเคมี

1. Reagent PO₄-1
2. Reagent PO₄-2

วิธีการวิเคราะห์

- 1 ปิเปตตัวอย่างน้ำ 0.5 mL ลงในหลอดทดลอง
- 2 เติมน้ำกลั่น 8 mL ลงในหลอดทดลอง
- 3 เติมสาร R-PO₄-1 ปริมาตร 0.5 mL
- 4 เติมสาร R-PO₄-2 จำนวน 1 ซ้อน
- 5 ปิดฝาให้แน่นและเขย่าหลอดทดลองเพื่อให้เกิดการกวนผสม
- 6 ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที
- 7 นำไปวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer

ภาคผนวก ข

ผลการเจริญเติบโต และการลดลงของสารอาหารของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และน้ำทิ้ง
ที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ

ตารางที่ ข-1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ที่สภาวะ
ความเข้มแสงต่างๆ

Day	Modified Chu 13 (g/L)		
	3000 lux	L6000 lux	L9000 lux
0	0.22	0.17	0.19
2	0.26	0.20	0.31
4	0.22	0.29	0.30
6	0.39	0.41	0.52
8	0.43	0.50	0.55
10	0.55	0.63	0.69
12	0.61	0.72	0.81
14	0.56	0.67	0.78
16	0.59	0.68	0.78
18	0.60	0.68	0.75
20	0.62	0.71	0.78
22	0.62	0.69	0.76
24	0.62	0.65	0.76
26	0.62	0.64	0.74
28	0.62	0.58	0.74
30	0.62	0.56	0.72
32	0.57	0.53	0.67

ตารางที่ ข-2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

Day	ฟาร์มสุกร			โรงงานแปรรูปอาหารทะเล			โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม			โรงงานน้ำยางข้น			โรงงานผลิต แป้งมัน*
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	
0	0.20	0.12	0.08	0.18	0.13	0.19	0.15	0.14	0.08	0.10	0.09	0.10	0.11
2	0.16	0.09	0.08	0.24	0.26	0.24	0.19	0.15	0.12	0.11	0.12	0.11	0.31
4	0.18	0.15	0.10	0.35	0.30	0.29	0.11	0.22	0.21	0.14	0.12	0.14	0.30
6	0.16	0.15	0.15	0.44	0.38	0.35	0.19	0.29	0.26	0.24	0.24	0.24	0.38
8	0.14	0.18	0.16	0.44	0.43	0.39	0.22	0.30	0.32	0.36	0.34	0.36	0.42
10	0.15	0.36	0.21	0.59	0.48	0.42	0.19	0.33	0.36	0.42	0.43	0.42	0.47
12	0.17	0.46	0.29	0.59	0.54	0.47	0.21	0.39	0.47	0.44	0.52	0.44	0.57
14	0.15	0.56	0.38	0.75	0.61	0.52	0.20	0.43	0.49	0.42	0.51	0.47	0.59
16	0.15	0.68	0.46	0.73	0.62	0.58	0.16	0.47	0.53	0.52	0.58	0.52	0.59

หมายเหตุ * น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันมีค่าไนโตรเจนเริ่มต้นเพียง 119 mg/L ซึ่งทำให้ไม่สามารถเจือจางระดับความเข้มข้นไนโตรเจนออกเป็นระดับต่างๆได้ จึงทำให้ไม่มีผลวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งที่ D2 และ D3

ตารางที่ ข-2 (ต่อ) การเจริญเติบโตของสาหร่าย ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

Day	ฟาร์มสุกร			โรงงานแปรรูปอาหารทะเล			โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม			โรงงานน้ำยางข้น			โรงงานผลิต แป้งมัน*
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	
18	0.14	0.79	0.45	0.81	0.65	0.62	0.22	0.42	0.49	0.57	0.63	0.57	0.67
20	0.13	0.88	0.54	0.86	0.66	0.65	0.20	0.44	0.59	0.60	0.66	0.60	0.74
22	0.15	0.96	0.64	0.87	0.68	0.69	0.24	0.42	0.57	0.64	0.66	0.64	0.75
24	0.16	0.93	0.64	0.91	0.76	0.74	0.24	0.43	0.61	0.72	0.71	0.69	0.82
26	0.22	0.97	0.64	0.93	0.79	0.73	0.24	0.40	0.59	0.73	0.75	0.69	0.86
28	0.20	0.95	0.65	0.97	0.82	0.76	0.22	0.44	0.60	0.75	0.78	0.68	0.86
30	0.21	0.98	0.67	0.96	0.82	0.74	0.24	0.39	0.57	0.76	0.76	0.69	0.86
32	0.22	0.98	0.69	1.00	0.85	0.72	0.26	0.36	0.58	0.73	0.77	0.71	0.86

หมายเหตุ * น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันมีค่าไนโตรเจนเริ่มต้นเพียง 119 mg/L ซึ่งทำให้ไม่สามารถเจือจางระดับความเข้มข้นไนโตรเจนออกเป็นระดับต่างๆได้ จึงทำให้ไม่มีผลวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งที่ D2 และ D3

ตารางที่ ข-3 ความเข้มข้นของไนโตรเจนรวม (TN) ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

Day	ฟาร์มสุกร			โรงงานแปรรูปอาหารทะเล			โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม			โรงงานน้ำยางข้น			โรงงานผลิต แป้งมัน*
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	
0	500.00	266.67	147.33	299.33	257.33	128.17	285.00	251.00	126.00	279.00	236.33	119.33	119.67
2	263.00	224.00	135.33	182.67	131.00	88.67	125.67	126.00	78.67	113.50	165.67	82.67	66.33
4	201.33	187.67	113.33	128.67	107.33	62.33	70.00	103.00	59.33	51.00	105.03	58.33	45.67
6	182.33	132.67	83.67	104.00	84.33	59.00	44.67	75.33	58.67	49.00	54.67	24.67	38.33
8	168.33	121.67	63.00	73.33	75.67	55.00	44.00	70.00	53.33	52.50	21.00	16.67	23.33
10	148.00	111.33	31.67	48.67	51.33	46.67	41.33	68.67	51.33	27.00	16.33	14.67	20.67
12	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.00	N/A
14	126.17	107.33	47.00	16.67	19.17	33.67	36.00	65.33	59.33	15.50	17.33	14.00	17.67
16	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

หมายเหตุ * น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันมีค่าไนโตรเจนเริ่มต้นเพียง 119 mg/L ซึ่งทำให้ไม่สามารถเจือจางระดับความเข้มข้นไนโตรเจนออกเป็นระดับต่างๆได้ จึงทำให้ไม่มีผลวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งที่ D2 และ D3

ตารางที่ ข-3 (ต่อ) ความเข้มข้นของไนโตรเจนรวม (TN) ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

Day	ฟาร์มสุกร			โรงงานแปรรูปอาหารทะเล			โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม			โรงงานน้ำยางข้น			โรงงานผลิต แป้งมัน*
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	
18	56.33	72.67	21.33	16.00	27.00	34.67	34.00	60.67	54.00	25.50	17.67	18.67	17.00
20	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
22	45.33	67.00	22.00	17.00	27.33	22.00	33.33	61.33	51.33	22.50	14.00	12.67	13.67
24	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
26	41.00	25.67	31.33	18.67	26.67	16.67	32.00	64.00	54.00	17.00	18.33	16.67	13.67
28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
30	59.33	24.00	33.33	23.33	26.00	19.33	36.00	58.67	48.00	15.00	14.67	13.00	17.33
32	41.00	16.67	27.67	16.00	28.33	19.67	32.67	58.67	48.67	18.50	15.67	14.00	15.67

หมายเหตุ * น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันมีค่าไนโตรเจนเริ่มต้นเพียง 119 mg/L ซึ่งทำให้ไม่สามารถเจือจางระดับความเข้มข้นไนโตรเจนออกเป็นระดับต่างๆได้ จึงทำให้ไม่มีผลวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งที่ D2 และ D3

ตารางที่ ข-4 ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสรวม (TP) ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

Day	ฟาร์มสุกร			โรงงานแปรรูปอาหารทะเล			โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม			โรงงานน้ำยางข้น			โรงงานผลิต แป้งมัน*
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	
0	23.23	17.77	13.17	43.30	23.30	17.40	9.30	7.30	4.95	21.10	17.50	11.80	9.55
2	22.43	19.23	10.90	24.27	17.20	14.83	6.70	5.10	5.00	19.30	12.73	10.93	6.80
4	20.43	16.93	13.47	21.65	14.00	13.33	3.25	3.90	5.45	17.75	11.90	11.87	6.25
6	25.57	15.17	13.30	15.80	13.33	16.27	3.10	2.90	4.65	13.85	11.30	11.50	5.50
8	23.88	15.03	11.47	15.17	14.17	16.37	3.10	2.25	5.50	15.20	12.40	11.30	5.15
10	25.99	14.93	10.50	13.23	13.23	12.80	3.80	2.60	5.05	14.05	12.30	9.40	4.90
12	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
14	24.40	13.97	11.73	13.77	11.70	10.27	3.25	3.00	4.10	11.65	13.17	13.00	4.20
16	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

หมายเหตุ * น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันมีค่าไนโตรเจนเริ่มต้นเพียง 119 mg/L ซึ่งทำให้ไม่สามารถเจือจางระดับความเข้มข้นไนโตรเจนออกเป็นระดับต่างๆได้ จึงทำให้ไม่มีผลวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งที่ D2 และ D3

ตารางที่ ข-4 (ต่อ) ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสรวม (TP) ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากโรงงานต่างๆ ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

Day	ฟาร์มสุกร			โรงงานแปรรูปอาหารทะเล			โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม			โรงงานน้ำยางข้น			โรงงานผลิต แป้งมัน*
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	
18	22.47	11.37	9.07	12.67	13.77	9.23	3.75	2.55	4.20	17.70	12.63	10.70	4.35
20	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
22	25.23	9.63	7.43	12.33	12.67	8.77	4.20	2.40	3.80	17.85	11.43	9.93	4.35
24	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
26	21.83	8.83	7.37	10.93	12.33	8.20	3.95	3.10	2.40	18.40	12.03	9.77	5.00
28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
30	19.53	7.57	8.77	12.40	11.57	8.53	3.75	2.65	2.60	17.15	11.70	9.00	4.45
32	20.53	8.47	8.47	9.80	10.93	7.77	3.50	2.75	2.55	16.95	9.83	8.73	4.60

หมายเหตุ * น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันมีค่าไนโตรเจนเริ่มต้นเพียง 119 mg/L ซึ่งทำให้ไม่สามารถเจือจางระดับความเข้มข้นไนโตรเจนออกเป็นระดับต่างๆได้ จึงทำให้ไม่มีผลวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งที่ D2 และ D3

ตารางที่ ข-5 การเจริญเติบโตของสาหร่าย ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

Day	3,000 lux			6,000 lux			9,000 lux		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
0	0.22	0.16	0.15	0.23	0.18	0.22	0.20	0.17	0.16
2	0.20	0.15	0.14	0.17	0.18	0.15	0.17	0.19	0.21
4	0.20	0.13	0.12	0.16	0.15	0.23	0.19	0.21	0.21
6	0.17	0.21	0.19	0.19	0.21	0.30	0.19	0.32	0.34
8	0.17	0.23	0.20	0.22	0.31	0.45	0.22	0.45	0.40
10	0.15	0.31	0.24	0.20	0.36	0.43	0.24	0.52	0.59
12	0.16	0.46	0.27	0.25	0.53	0.50	0.27	0.74	0.68
14	0.16	0.48	0.35	0.29	0.57	0.62	0.33	0.81	0.79
16	0.17	0.65	0.35	0.31	0.70	0.69	0.46	0.92	0.83

ตารางที่ ข-5 (ต่อ) การเจริญเติบโตของสาหร่าย ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

Day	3,000 lux			6,000 lux			9,000 lux		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
20	0.19	0.68	0.58	0.43	0.91	0.82	0.61	1.00	0.96
22	0.21	0.79	0.65	0.51	1.03	0.84	0.75	1.04	1.00
24	0.20	0.81	0.65	0.52	1.02	0.88	0.80	1.22	1.10
26	0.20	0.82	0.66	0.55	1.00	0.93	0.84	1.22	1.15
28	0.21	0.85	0.66	0.66	1.01	0.91	0.81	1.21	1.16
30	0.19	0.87	0.64	0.66	1.08	1.00	0.83	1.25	1.15
32	0.19	0.84	0.64	0.65	1.09	0.97	0.72	1.21	1.15

ตารางที่ ข-6 ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

Day	ไนโตรเจนรวม (TN)			ฟอสฟอรัสรวม (TP)			ซีโอดี (COD)			แอมโมเนีย (NH ₃)			ไนเตรท (NO ₃)		
	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux
0	114.00	112.00	104.00	19.47	18.25	19.40	164.67	164.67	177.33	4.00	3.67	3.17	24.97	23.93	20.80
2	41.00	37.67	56.00	14.77	15.13	4.47	142.33	141.33	135.00	2.93	2.87	2.73	12.23	11.80	11.90
4	29.33	24.00	24.33	11.33	10.20	3.40	122.33	122.00	111.33	2.23	2.67	3.00	7.80	5.87	4.90
6	15.83	19.33	25.33	5.77	8.37	3.43	100.00	111.00	95.00	1.27	1.27	1.33	3.33	1.50	2.43
8	16.17	14.67	19.67	3.17	5.50	3.37	88.33	111.33	84.00	1.33	0.65	1.33	3.10	1.13	1.00
10	12.33	15.67	16.33	2.60	2.87	3.20	88.33	108.33	77.33	0.87	0.67	1.27	1.07	0.87	0.97
12	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
14	13.67	18.67	9.87	2.13	2.43	2.73	88.33	103.67	80.00	0.40	0.33	0.88	1.93	1.80	1.97
16	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

ตารางที่ ข-6 (ต่อ) ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

Day	ไนโตรเจนรวม (TN)			ฟอสฟอรัสรวม (TP)			ซีโอดี (COD)			แอมโมเนีย (NH ₃)			ไนเตรท (NO ₃ ⁻)		
	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux	3,000 lux	6,000 lux	9,000 lux
18	19.67	17.00	N/A	2.33	2.53	2.40	83.67	103.00	77.33	0.43	0.37	0.77	1.83	1.83	1.87
20	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
22	18.67	10.33	9.87	2.07	2.07	2.57	80.00	94.33	64.67	0.36	0.33	0.36	1.97	2.07	1.63
24	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
26	10.17	11.00	9.87	1.80	1.87	2.37	71.33	72.33	61.67	0.48	0.45	0.36	2.43	2.00	1.90
28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
30	16.00	9.33	8.93	1.83	1.77	1.90	76.33	79.00	66.67	0.45	0.40	0.31	1.73	1.90	1.80
32	14.67	9.67	8.93	1.90	1.80	1.83	71.33	72.33	61.33	0.41	0.39	0.37	1.83	2.00	1.77

ตารางที่ ข-7 ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

Day	ไนโตรเจนรวม (TN)			ฟอสฟอรัสรวม (TP)			ซีโอดี (COD)			แอมโมเนีย (NH ₃)			ไนเตรท (NO ₃)		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
0	486.00	253.33	160.00	31.90	16.13	13.10	618.00	308.00	188.00	416.67	228.67	147.50	4.37	3.00	1.95
2	274.00	212.00	157.33	19.70	12.73	11.60	414.00	258.00	171.33	237.50	200.67	141.50	4.37	2.75	2.63
4	198.33	168.00	130.67	19.23	12.63	11.63	402.00	222.67	169.00	133.00	154.00	102.50	4.03	2.97	2.83
6	140.33	104.67	77.00	17.77	12.83	10.50	368.00	242.67	163.33	115.33	109.50	97.08	3.60	2.70	2.40
8	101.67	110.50	72.00	15.60	12.43	11.10	348.00	232.00	151.33	83.33	100.00	79.58	3.47	2.53	2.20
10	90.33	91.50	58.67	13.87	12.27	12.43	357.00	228.67	165.33	86.33	94.50	40.75	3.53	2.50	2.37
12	0.00	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
14	58.33	55.00	39.33	12.90	12.67	12.40	327.00	209.33	172.00	36.08	40.67	18.50	3.03	2.33	2.47
16	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

ตารางที่ ข-7 (ต่อ) ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux

Day	ไนโตรเจนรวม (TN)			ฟอสฟอรัสรวม (TP)			ซีโอดี (COD)			แอมโมเนีย (NH ₃)			ไนเตรท (NO ₃)		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
18	53.33	38.33	34.33	13.57	11.77	10.33	350.00	223.33	177.00	34.33	28.67	15.83	3.43	2.67	2.60
20	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
22	49.33	32.67	22.67	12.03	10.50	11.03	305.33	170.50	128.67	23.60	11.07	4.30	3.57	2.73	2.30
24	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
26	31.00	20.33	11.83	11.83	11.33	11.50	308.67	192.67	150.67	6.67	9.23	4.10	4.03	2.93	2.57
28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
30	18.67	12.50	9.00	11.20	11.13	10.07	299.33	192.00	140.67	1.80	4.17	0.73	2.87	2.33	1.93
32	16.00	16.00	10.17	11.00	11.43	10.50	289.33	188.50	128.67	1.77	2.60	0.87	2.70	2.83	2.23

ตารางที่ ข-8 ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 6,000 lux

Day	ไนโตรเจนรวม (TN)			ฟอสฟอรัสรวม (TP)			ซีโอดี (COD)			แอมโมเนีย (NH ₃)			ไนเตรท (NO ₃)		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
0	468.33	219.33	147.67	39.57	25.10	17.00	645.00	354.67	228.67	343.33	168.00	103.50	4.07	2.90	2.43
2	376.67	149.33	129.00	35.80	26.30	20.37	611.67	285.00	186.00	293.33	125.67	97.00	4.00	2.80	2.33
4	293.33	138.67	101.00	34.57	25.70	19.70	600.00	246.67	174.67	240.00	87.33	84.67	3.80	2.83	2.43
6	222.67	120.33	73.33	35.03	22.07	16.90	418.00	272.67	181.33	210.33	71.33	70.50	3.80	2.87	1.93
8	162.33	78.67	65.67	32.23	21.80	14.97	393.33	254.67	195.33	150.00	64.67	61.00	3.40	2.70	1.83
10	130.33	75.00	41.33	32.60	18.93	15.37	381.00	270.00	214.00	115.00	32.33	61.00	3.70	2.63	1.70
12	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
14	113.00	24.33	33.00	29.13	18.47	16.87	345.33	245.67	199.00	95.00	13.67	13.37	2.97	2.50	1.53
16	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

ตารางที่ ข-8 (ต่อ) ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 6,000 lux

Day	ไนโตรเจนรวม (TN)			ฟอสฟอรัสรวม (TP)			ซีโอดี (COD)			แอมโมเนีย (NH ₃)			ไนเตรท (NO ₃)		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
18	72.33	14.00	12.67	28.00	18.33	16.70	309.33	230.67	186.00	22.33	1.83	1.80	2.70	1.73	1.23
20	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
22	36.67	18.33	13.33	33.37	17.77	16.97	289.33	206.33	167.67	9.33	0.60	0.97	2.83	2.00	1.40
24	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
26	17.33	17.00	13.00	33.07	17.97	14.70	272.00	198.67	151.33	1.77	1.07	0.29	2.57	1.90	1.37
28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
30	15.67	17.67	14.00	31.73	18.07	14.63	259.33	206.67	153.00	1.87	1.13	0.26	2.50	1.80	1.37
32	15.00	17.00	15.67	29.10	15.47	13.80	253.33	186.00	153.67	1.80	0.67	0.24	2.27	1.70	1.20

ตารางที่ ข-9 ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 9,000 lux

Day	ไนโตรเจนรวม (TN)			ฟอสฟอรัสรวม (TP)			ซีโอดี (COD)			แอมโมเนีย (NH ₃)			ไนเตรท (NO ₃)		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
0	461.67	227.67	164.67	32.73	21.67	17.35	633.33	345.00	230.67	336.67	165.00	104.67	4.00	2.77	1.93
2	370.00	144.33	114.33	33.73	21.03	16.77	610.00	275.33	182.00	296.67	75.33	88.67	3.93	2.63	1.73
4	276.67	98.00	78.00	35.53	23.75	16.37	600.00	268.67	170.00	243.33	52.83	61.00	3.63	2.50	1.67
6	129.33	63.33	59.00	33.90	21.47	15.70	479.33	267.33	205.00	115.00	57.83	60.67	4.10	2.80	1.57
8	111.33	34.67	44.67	32.80	21.00	15.97	390.00	271.33	209.33	97.33	26.67	30.00	3.63	2.63	1.70
10	79.00	25.33	37.00	32.93	17.70	14.20	384.00	266.00	203.67	70.00	20.83	12.50	3.30	2.50	1.60
12	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
14	50.33	19.33	18.33	34.50	16.77	13.43	359.33	245.33	206.33	41.00	2.10	22.33	3.50	2.03	1.43
16	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

ตารางที่ ข-9 (ต่อ) ความเข้มข้นของสารอาหารที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย เป็นระยะเวลา 32 วัน เลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 9,000 lux

Day	ไนโตรเจนรวม (TN)			ฟอสฟอรัสรวม (TP)			ซีโอดี (COD)			แอมโมเนีย (NH ₃)			ไนเตรท (NO ₃)		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
18	44.67	15.33	14.67	31.90	20.43	14.27	335.33	230.33	187.67	21.67	1.90	1.57	3.20	1.80	1.50
20	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
22	30.33	17.33	14.67	30.80	19.00	15.43	315.67	209.67	173.00	5.83	1.17	1.37	2.83	1.83	1.53
24	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
26	15.67	16.00	18.00	28.77	21.13	17.33	280.00	194.67	178.33	1.87	2.60	2.83	2.43	1.53	0.40
28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
30	16.67	15.33	17.67	27.37	20.03	15.50	270.33	206.67	172.00	1.57	2.80	0.18	2.40	1.33	0.46
32	15.67	16.33	14.33	22.63	19.33	14.53	269.00	190.67	162.67	1.77	2.77	0.19	2.47	1.47	0.54

ภาคผนวก ค
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ค-1 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของซีโอติ ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 10 โดยเลี้ยงที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux ที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3

ความเข้มแสงและความเข้มข้นของไนโตรเจน	Subset for alpha = .05		
	a	b	c
6,000lux, D3	6.4000		
9,000lux, D3	11.7000		
3,000lux, D3	12.0000		
9,000lux, D2		22.9667	
3,000lux, D2		23.6000	
6,000lux, D2		23.9333	
9,000lux, D1			39.2000
6,000lux, D1			40.9000
3,000lux, D1			43.5000
Sig.	.296	.855	.419

ตารางที่ ค-2 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของซีโอดี ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 22 โดยเรียงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

ความเข้มแสงและความเข้มข้น ของไนโตรเจน	Subset for alpha = .05				
	a	b	c	d	e
9,000 lux, D3	24.9567				
6,000 lux, D3	26.6167				
3,000 lux, D3	30.9600	30.9600			
9,000 lux, D2		39.1967	39.1967		
6,000 lux, D2			41.7833	41.7833	
3,000 lux, D2			47.9400	47.9400	47.9400
9,000 lux, D1			49.9433	49.9433	49.9433
3,000 lux, D1				51.4750	51.4750
6,000 lux, D1					55.0133
Sig.	.254	.105	.054	.080	.194

ตารางที่ ค-3 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของซีโอดี ที่ตรวจวัดได้ในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 32 โดยเรียงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

ความเข้มแสงและความเข้มข้นของไนโตรเจน	Subset for alpha = .05			
	a	b	c	d
3,000 lux, D3	26.5100			
9,000 lux, D3	29.4633			
3,000 lux, D2	32.2550	32.2550		
6,000 lux, D3	32.7333	32.7333		
9,000 lux, D2		44.7400	44.7400	
3,000 lux, D1		46.3333	46.3333	46.3333
6,000 lux, D2			47.4867	47.4867
9,000 lux, D1			57.4367	57.4367
6,000 lux, D1				60.6167
Sig.	.381	.057	.083	.054

ตารางที่ ค-4 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid content จากเซลล์สาหร่าย ในวันที่ 12 โดยเลี้ยงที่ความเข้มชั้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

ความเข้มแสงและความเข้มชั้นของไนโตรเจน	Subset for alpha = .05		
	a	b	c
3,000 lux, D1	6.2950		
6,000 lux, D3	8.2133		
6,000 lux, D1		13.3633	
6,000 lux, D2		14.6450	
3,000 lux, D2		15.9700	
9,000 lux, D1		17.4833	
3,000 lux, D3			23.0650
9,000 lux, D2			24.4567
9,000 lux, D3			27.6050
Sig.	.408	.112	.075

ตารางที่ ค-5 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid content จากเซลล์สาหร่าย ในวันที่ 22 โดยเลี้ยงที่ความเข้มชั้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

ความเข้มแสงและความเข้มชั้นของไนโตรเจน	Subset for alpha = .05			
	a	b	c	d
3,000 lux, D1	7.9550			
6,000 lux, D1		17.3600		
6,000 lux, D2		23.0433	23.0433	
3,000 lux, D3			25.4500	25.4500
3,000 lux, D2			26.2500	26.2500
6,000 lux, D3			26.9467	26.9467
9,000 lux, D3			27.5467	27.5467
9,000 lux, D1			27.6267	27.6267
9,000 lux, D2				31.2333
Sig.	1.000	.096	.219	.126

ตารางที่ ค-6 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid content จากเซลล์สาหร่าย ในวันที่ 32 โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

ความเข้มแสงและความเข้มข้นของไนโตรเจน	Subset for alpha = .05			
	a	b	c	d
3,000 lux, D1	12.7967			
6,000 lux, D1		23.0150		
3,000 lux, D3		24.4800	24.4800	
6,000 lux, D3		26.2250	26.2250	26.2250
9,000 lux, D1		28.0333	28.0333	28.0333
6,000 lux, D2		28.8350	28.8350	28.8350
9,000 lux, D3		29.5633	29.5633	29.5633
3,000 lux, D2			29.6900	29.6900
9,000 lux, D2				31.4700
Sig.	1.000	.052	.111	.109

ตารางที่ ค-7 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid productivity ในวันที่ 12 โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

ความเข้มแสงและความเข้มข้นของไนโตรเจน	Subset for alpha = .05				
	a	b	c	d	e
3,000 lux, D1	27.5000				
3,000 lux, D2		52.5000			
6,000 lux, D3		60.0000			
3,000 lux, D3		72.5000	72.5000		
6,000 lux, D1			86.6667	86.6667	
9,000 lux, D1				106.6667	106.6667
9,000 lux, D3					112.5000
6,000 lux, D2					115.0000
9,000 lux, D2					123.3333
Sig.	1.000	.077	.177	.065	.143

ตารางที่ ค-8 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid productivity ในวันที่ 22 โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

ความเข้มแสงและความเข้มข้นของไนโตรเจน	Subset for alpha = .05			
	a	b	c	d
3,000 lux, D1	30.0000			
3,000 lux, D2	60.0000			
3,000 lux, D3	76.6667	76.6667		
6,000 lux, D1		122.5000	122.5000	
9,000 lux, D1			136.6667	
6,000 lux, D2			143.3333	
6,000 lux, D3			150.0000	
9,000 lux, D3			160.0000	
9,000 lux, D2				212.5000
Sig.	.061	.054	.139	1.000

ตารางที่ ค-9 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Lipid productivity ในวันที่ 32 โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น D1, D2 และ D3 ที่ความเข้มแสง 3,000 6,000 และ 9,000 lux

ความเข้มแสงและความเข้มข้นของไนโตรเจน	Subset for alpha = .05					
	a	b	c	d	e	f
3,000 lux, D1	36.6667					
3,000 lux, D3		75.0000				
3,000 lux, D2		82.5000				
6,000 lux, D1			125.0000			
9,000 lux, D1			133.3333	133.3333		
6,000 lux, D3			160.0000	160.0000	160.0000	
6,000 lux, D2				165.0000	165.0000	
9,000 lux, D3					171.6667	
9,000 lux, D2						210.0000
Sig.	1.000	.646	.057	.082	.499	1.000

ภาคผนวก ง

โค้ดคำสั่งการคำนวณเชิงเลขโดยใช้โปรแกรม Matlab

```
clear all
```

```
LBX1= input('Enter the lower bound of the first variable (X1) ');
```

```
HBX1= input('Enter the higher bound of the first variable (X1) ');
```

```
IX1 = input('Enter an increment in the search for the first variable (X1) ');
```

```
LBX2= input('Enter the lower bound of the second variable (X2) ');
```

```
HBX2= input('Enter the higher bound of the second variable (X2) ');
```

```
IX2 = input('Enter an increment in the search for the second variable (X2) ');
```

```
LBX3= input('Enter the lower bound of the third variable (X3) ');
```

```
HBX3= input('Enter the higher bound of the third variable (X3) ');
```

```
IX3 = input('Enter an increment in the search for the third variable (X3) ');
```

```
%disp('Y =aX1^2 + bX2^2 + cX3^2 + dX1X2 + eX1X3 + fX2X3 + gX1 + hX2 + mX3 +  
n')
```

```
disp('Y =b0 + b1X1 + b2X2 + b3X3 + b4X1^2 + b5X2^2 + b6X3^2 + b7X1X2 +  
b8X1X3 + b9X2X3')
```

```
b0 = input('Enter b0 ');
```

```
b1 = input('Enter b1 ');
```

```
b2 = input('Enter b2 ');
```

```
b3 = input('Enter b3 ');
```

```
b4 = input('Enter b4 ');
```

```
b5 = input('Enter b5 ');
```

```
b6 = input('Enter b6 ');
```

```
b7 = input('Enter b7 ');
```

```
b8 = input('Enter b8 ');
```

```
b9 = input('Enter b9 ');
```

```
Ymax = -inf

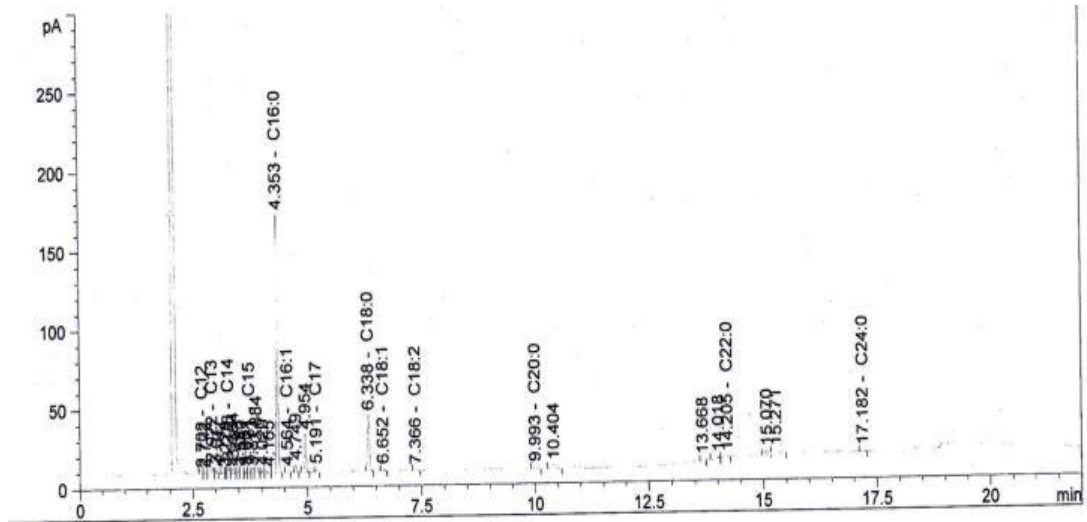
for X1=LBX1:IX1:HBX1
    for X2 = LBX2:IX2:HBX2
        for X3 = LBX3:IX3:HBX3
            Yq =b0 + b1*X1 + b2*X2 + b3*X3 + b4*X1^2 + b5*X2^2 + b6*X3^2 + ...
                b7*X1*X2 + b8*X1*X3 + b9*X2*X3

            if Yq>Ymax
                Ymax = Yq;
                X1m = X1;
                X2m = X2;
                X3m = X3;
            end
        end
    end
end

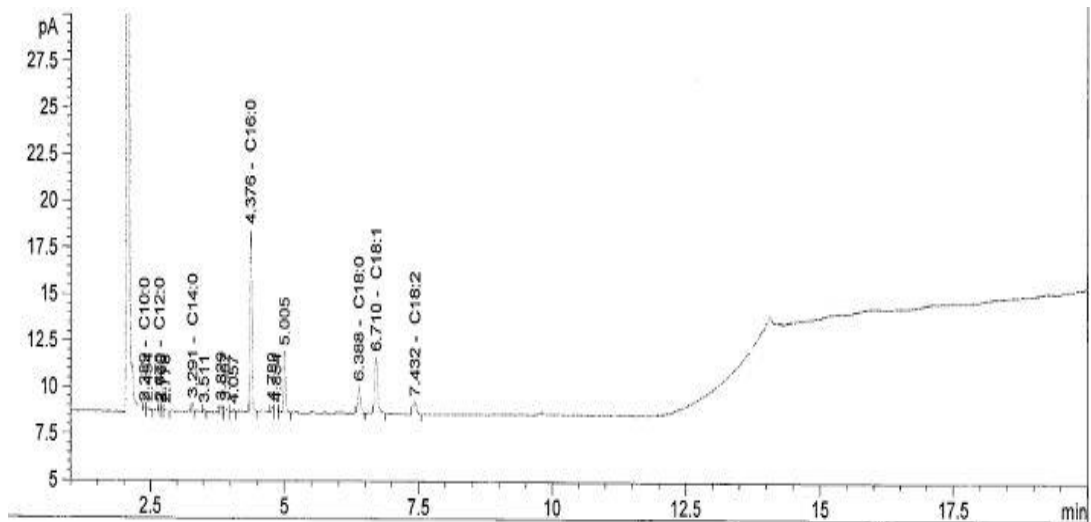
Ymax
disp('Values of the variables at the maximum point are ')
X1m
X2m
X3m
```

ภาคผนวก จ

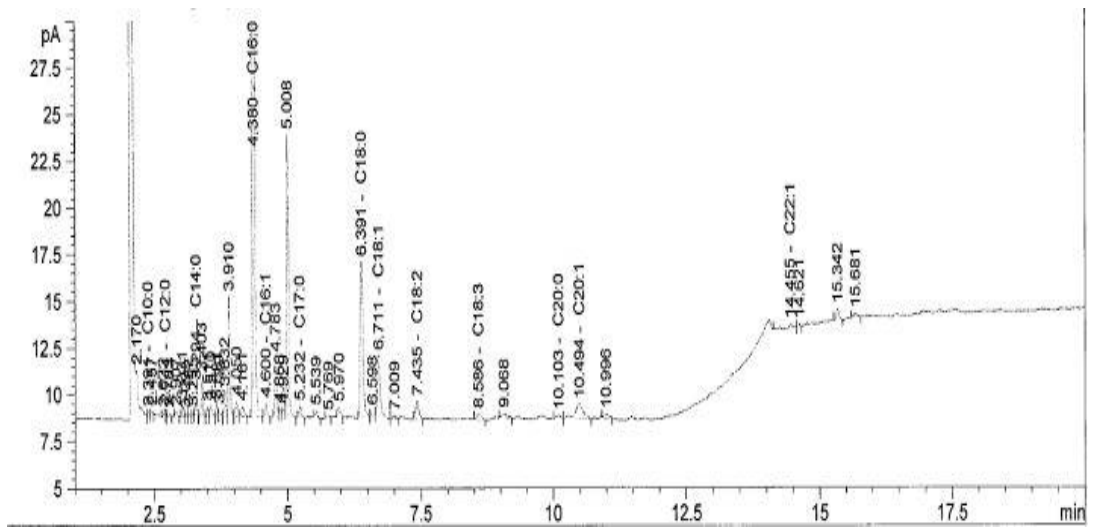
การวิเคราะห์กรดไขมันของสาหร่ายโดยเครื่อง GC-FID



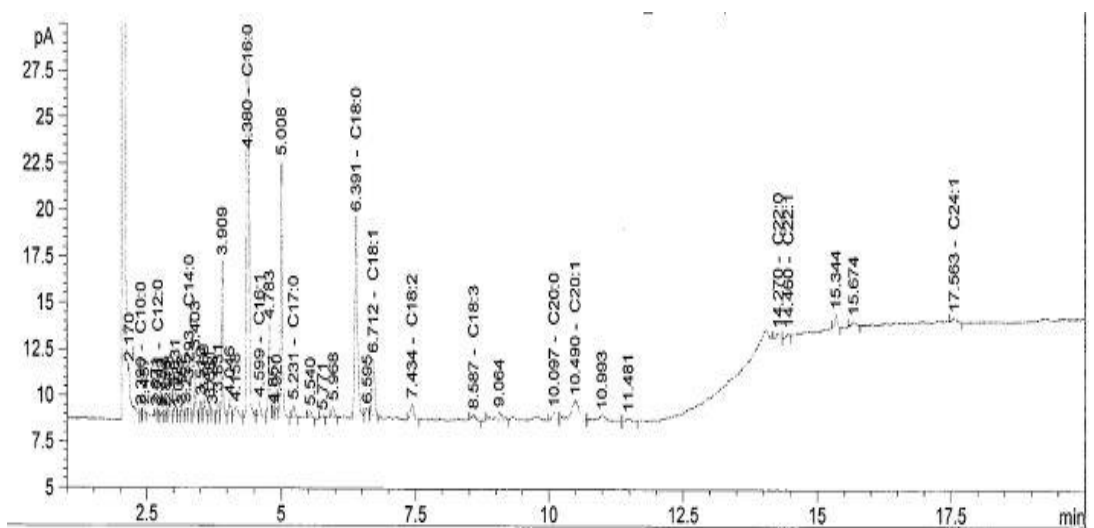
รูปที่ จ-1 โครมาโทแกรมของชนิดกรดไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Chu 13 ในวันที่ 32 ที่สภาวะความเข้มแสง 9,000 lux



รูปที่ จ-2 โครมาโทแกรมของชนิดกรดไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 32 โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น D2 ที่สภาวะความเข้มแสง 3,000 lux



รูปที่ จ-3 โครมาโทแกรมของชนิดกรดไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 32 โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น D2 ที่สภาวะความเข้มแสง 6,000 lux



รูปที่ จ-4 โครมาโทแกรมของชนิดกรดไขมันจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศจากฟาร์มสุกร ในวันที่ 32 โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น D2 ที่สภาวะความเข้มแสง 9,000 lux

ภาคผนวก ฉ
การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

เรื่อง Cultivation of *Chlorella* sp. using industrial effluents for lipid production



Cultivation of *Chlorella* sp. using industrial effluents for lipid production

Tarinee Sasibunyarat^{1, a}, Benjamas Cheirsilp^{2, b}, Boonya Charnnok^{1, c}
 and Sumate Chaiprapat^{1, d*}

¹Energy Technology Research Center, Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering,
 Prince of Songkla University, Hat Yai Campus, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand

²Department of Industrial Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkla University, Hat
 Yai Campus, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand

*tarinee4931@yahoo.com, ^bbenjamas.che@psu.ac.th, ^cboonya_ch@yahoo.com,
^dsumate.ch@psu.ac.th

Keywords: Microalgae; *Chlorella* sp.; Lipid; Industrial effluent; Nutrient

Abstract. This work aims to investigate microalgal growth and lipid production from *Chlorella* sp. on different digester effluents from seafood factory, starch factory and palm oil mill. Results under 32 cultivation days showed that the effluent from seafood factory gave the highest microalgal growth (0.9956 ± 0.2121 g/L) followed by starch factory and palm oil mill (0.8622 ± 0.0391 and 0.2611 ± 0.0444 g/L, respectively). Although higher nitrogen and phosphorus in medium stimulated growth, turbidity of the palm oil mill effluent showed a negative impact. In addition, phosphorus concentration in the medium positively affected the lipid content in cells. The seafood effluent with total phosphorus of 45.24 ± 3.80 mg/L yielded highest lipid content at $26.96 \pm 1.58\%$ compared to starch factory (22.10 ± 2.61). The digester effluent from seafood factory was found more suitable for *Chlorella* sp. cultivation due to the high mass production, oil content and lipid productivity.

Introduction

Due to the limited reserve of conventional energy as fossil fuel and environmental concern, a cleaner energy with high security is of great interest. Biodiesel is a renewable energy derived from a wide variety of raw materials which contain triglycerides as a major component such as plant oil [1,2], animal fat [3] and microalgae [4,5]. The feedstocks for biodiesel production could be classified to edible oil and non-edible oil. The negative impacts of the edible plant oil and animal fat on global food market and on food security have raised questions on their use as fuel. Although non-edible plant oils such as jatropha, karanja, mahua, palanga and others are cheaper than edible oil, their production in mass scale and specific difficulties in their conversion to biodiesel are still the big hurdle for commercial scale production [6,7]. In addition, limitation of available land for oil plants is an issue of their sustainable production and their market price. The major issue of biodiesel production is high raw material cost, which accounted for around 88% of total production costs [8].

Microalgae are alternative feedstock with a capability of growing in various kinds of waters; fresh, brackish, and saline, without competing with crop plants for land. Microalgae have faster growth rate than land plants which potentially allows continuous supply to biodiesel production [7]. The biomass productivity of the microalgae has been reported in a range from 12.1 to 100.4 mg/L/d [9,10] which depending on species and growth conditions. Many species of microalgae isolated from natural source and cultivating in synthesis medium are able to produce higher lipid under nutrients stress reportedly between 45.0–56.8% [11,9]. Researches are focusing on increasing lipid productivity thru the microalgal cell production and their lipid content. Microalgae are able to grow autotrophically using CO₂ as carbon source as well as mixotrophically using both organic and inorganic carbon sources [12] in the medium. Use of wastewaters as cultivation medium is economically feasible because they contain various nutrients and organic carbon [13,14,15]. Dairy wastewater was reported to grow microalgae producing lipid content of 17.9% [14] whereas higher lipid content of $37.0 \pm 9.3\%$ was obtained from cultivating in soybean wastewater [13].

Although wastewaters have potential as cultivating medium, their complex compositions particularly nitrogen and phosphorus can affect lipid productivity [10,16]. The rich nitrogen and phosphorus wastewaters could improve the microalgal growth while high lipid content is achieved at the nitrogen limitation or deficiency [10,4].

The objective of this work is to investigate the possibility of growing microalgae with three types of industrial effluent wastewaters, namely seafood processing, starch production and palm oil mill. Their lipid productivities were determined.

Materials and methods

Preparation and characteristics of wastewaters. The effluents from digester of seafood factory (SFE), starch factory (SE) and palm oil mill (PE) were collected for use in the experiments. Suspended solids in the wastewaters were removed using filter clothes, then sterilized using autoclave at 121°C for 15 min. They were then stored at 4°C for 5 days to settle out particulate. The supernatants were used for algal cultivation in batch experiments and their characteristics are shown in Table 1.

Table 1 Characteristics of cultivating wastewaters

Parameter	Seafood factory	Starch factory	Palm oil mill
pH	7.83±0.07	7.92±0.05	7.79±0.14
COD (mg/L)	1141±29	167±6	2119±36
TN (mg/L)	299.3±4.2	119.7±7.0	285.0±8.0
TP (mg/L)	45.2±3.8	9.3±0.5	5.5±0.5
COD:N:P	25.2: 6.6: 1.0	17.9: 12.8: 1.0	383.2: 51.5: 1.0

Cultivating condition. Stock culture of *Chlorella* sp. was prepared by successive batch cultivations with modified Chu 13 medium [17] to obtain sufficient algal cell mass. Microalgae of 0.1 g_{drymass} was seeded in 1 L of the prepared wastewaters in Erlenmeyer flasks. The flasks were continuously aerated and mixed by magnetic stirrer. Light intensity of 3000 lux was supplied with 16:8 light-dark cycle for 32 cultivation days. Three replicate cultivations for each wastewater were performed to obtain reliable data.

Sampling and analysis. A volume of 30 mL microalgae suspension was collected every 2 days from each flask. The samples were centrifuged at 4000 rpm for 15 min, then the supernatants were analyzed for total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP) following MERCK Pharo100 Spectrophotometer Manual. The microalgae harvested were washed twice with distilled water and dried at 60 °C in hot air oven until a constant weight was obtained for microalgal growth analysis.

Lipid extraction. The total lipid was extracted from microalgal dry mass at the end of 32 cultivation days according to the modified method of Folch et al. [18]. The mixture of chloroform : methanol 2: 1 v/v was added in to the extracted tube containing dry mass. The extraction was performed in sonicator Transsonic model E 30H, Elma, Singen, Germany for 30 min. The extraction solution was centrifuged at 4000 rpm for 15 min to obtain a clear supernatant. The supernatant was removed and this extraction was repeated until the extraction solution was colorless. The collected supernatant was put in the oven at 60 °C to remove the solvent until constant weight. The lipid content based on dry mass was calculated.

Results and Discussion

Microalgal growth. Fig. 1 shows the growth curves of microalgae. The growth was lowest in the cultivation in PE because of its dark brown color preventing light penetration into the medium. This situation would lower the rate of photosynthesis in which the light energy must be converted into chemical energy for use in the dark reaction that fixes CO₂ [19]. Low TP in PE (Table 1) could also contribute to the low microalgal growth compared to the other wastewaters. Chu et al. [10] reported that the concentration of NO₃-N and PO₄-P of 200 and 35 mg/L, respectively, could satisfy *Chorella vulgaris* growth. Insufficient phosphorus would lead to the lack of microalgal cell polyphosphate which is the phosphorus reservoir for energy storage [20]. This energy is needed for cell function, especially when undergoing division and growth under nitrogen starvation [21].

The microalgae were favorable for growing in SFE and SE. They rapidly grew for the first 26 days, followed by a stationary phase in the last 6 days (Fig. 1). The microalgal growths were related to the fast decrease of TN and TP concentration in the cultivation mediums. SFE had the

highest potential for microalgae production with an average dry mass concentration of 0.9956 ± 0.2121 g/L at the end of experiment, compared to the others (0.8622 ± 0.0391 and 0.2611 ± 0.0444 g/L for SE and PE, respectively). This is due to the adequate nitrogen and phosphorus in SFE to support the mixotrophic growth. Our algal dry mass concentration at stationary phase in SFE is comparable to approximately 0.98 g/L in Tris-Acetate-Phosphorus (TAP) media (TN 104 g/L, TP 19.7 g/L) of *Chorella* sp. Li et al. [22] under the similar growing condition. This demonstrated a potential of industrial digester effluent as algal growing media.

Furthermore, the assimilation of nitrogen and phosphorus by microalgae is beneficial in regards to wastewater treatment. In the growing process, the concentration of TN and TP decreased (Fig. 1). *Chorella* sp. was able to remove nitrogen at 94.7, 86.9 and 88.5% as well as phosphorus at 77.4, 47.5 and 25.6% for SFE, SE and PE, respectively. Only with an exemption of P removal in PE where low growth was obtained, N and P removals achieved in this study were rather high. Huo et al. [14] attained N removal of 79.6% and P removal of 42.0% in dairy wastewater treatment by *Chlorella zofingiensis* in 6 cultivation days. Results clearly showed that N and P removals were higher in mediums with higher dry mass production. These N and P uptake were always associated with cell growth that requires the assimilation of nutrients for cell synthesis. It should be noted that COD or rather the organic carbon in the medium was not the limiting substrate in this mixotrophic growth since ambient air, containing some CO₂, was continuously supplied throughout the growing period.

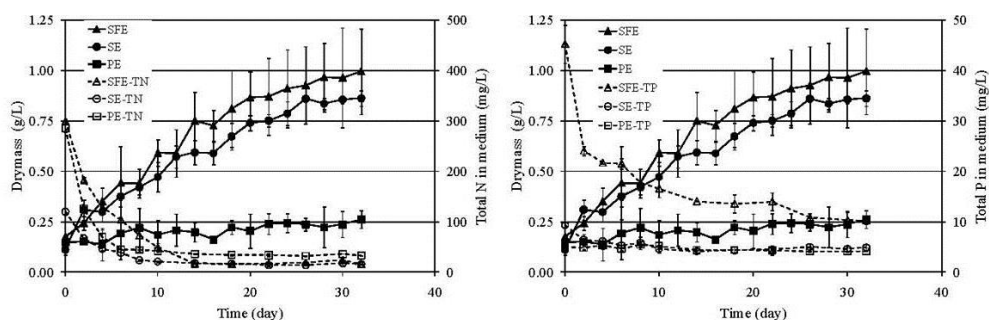


Fig. 1 Microalgal growth, total nitrogen and total phosphorous over time in different wastewaters

Lipid content. The lipid content obtained obviously correlated with the concentration of phosphorus (Fig. 2) in a saturation type relationship. Increasing medium TP only improves slight lipid content beyond approximately 10 mg/L. According to our study, the lowest lipid content ($13.6 \pm 3.7\%$) was found in PE because of the rich nitrogen in it. High lipid content could be obtained under nitrogen deficiency [16,5] because nitrogen containing macromolecules are degraded to release nitrogen while the accumulated carbon compounds are converted to polysaccharides and fat [23]. However, the microalgae obtained from SFE could achieve the highest lipid content ($27.0 \pm 1.6\%$) even under adequate nitrogen. It was observed that cell mass of microalgae from higher P medium both SFE and SE accumulated higher lipid. This positive relationship between TP concentration and lipid content was consistent with Chu et al. [10] which cultivated *Chlorella vulgaris* in synthetic mediums. In comparison to other studies, the lipid content found in SFE at $27.0 \pm 1.6\%$ is higher than those in Arbib et al. [24] at 21.7% for *Chlorella vulgaris* cultivated in urban wastewater and Huo et al. [14] at 17.9% for *Chlorella zofingiensis* in diluted dairy wastewater. However, the lipid contents in *Chlorella pyrenoidosa* at 37% cultivated in soybean processing wastewater is substantially higher than our study and this could be related to lower TN 189.9 mg/L and higher TP 45.6 mg/L [13]. Phosphorus positively affects lipid accumulation in microalgae whereas it is reversed for nitrogen. Chu et al. [10] reported oil content of 37.6% was found in *Chlorella vulgaris* under rich nitrogen and phosphorus whereas it was improved to 50.3% at the condition of nitrogen deficiency.

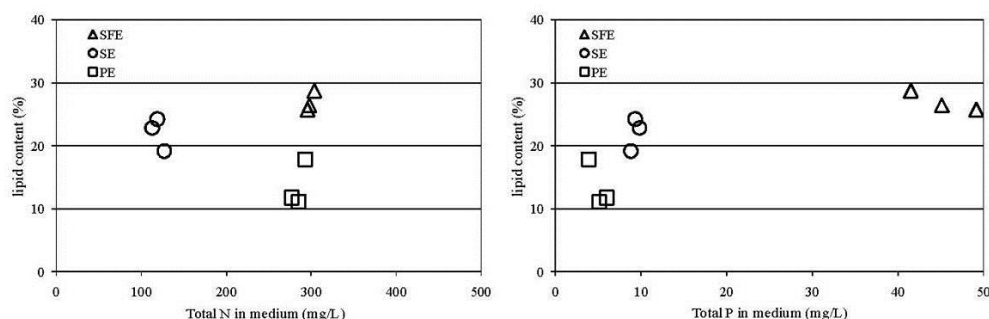


Fig. 2 Lipid content in microalgae mass versus (a) TN and (b) TP in different wastewaters

Lipid productivity. Initial TN and TP concentrations in all wastewaters were regressed to determine their effect on the microalgal growth and the lipid content using The Essential Regression 97 software. The regression model obtained (Eq. 1 and 2) carried R^2 values of 0.955 and 0.795, respectively, indicating a reasonable predictability and comparison between the experimental data to the model prediction is shown in Table 2. It is also interesting to find that the higher value of coefficient in TP term compared to TN term indicated that TP is more sensitive to microalgal growth and lipid content.

$$\text{Dry mass (g/L)} = 5.321 - (0.01771 * TN) - (0.433 * TP) + (0.00152 * TN * TP) \quad (1)$$

$$\text{Lipid content (\%)} = 23.63 + (0.332 * TP) - (0.03980 * TN) \quad (2)$$

where TN and TP are the concentration of nitrogen and phosphorus in the cultivation liquid (mg/L)

Lipid productivity (Table 2) indicated a capacity of oil production. It was determined from the product of dry mass multiplied by lipid content, which equals to (Eq. 1) × (Eq. 2). The highest lipid productivity at 32 cultivating days was found at 262.2 ± 61.9 mg/L under SFE as medium that produced highest biomass production and lipid content. SFE was the most favorable microalgal cultivation medium for lipid accumulation under the investigated conditions.

Table 2 Lipid content and lipid productivity based on dry mass in different wastewaters^a

Factory	Lipid content (%)		Lipid productivity (mg/L _{wastewater})	
	Experimental data	Model Prediction	Experimental data	Model Prediction
Seafood	27.0±1.6	26.7±1.4	271±74	263±36
Starch	22.1±2.6	22.0±0.4	191±30	188±10
Palm oil mill	13.6±3.7	14.0±0.7	35±6	40±8

^a Lipid productivity at the end of the cultivation period

Conclusion

Comparison among three wastewaters showed that the seafood processing effluent had the highest potential for growing *Chlorella* sp. and lipid productivity compared to those from starch factory and palm oil mill. Although the transparency of the wastewaters played an important role, nitrogen and phosphorus availability still had a significant impact on the growth and lipid content of *Chlorella* sp. Industrial effluents could potentially be used as cultivation medium for *Chlorella* sp.

Acknowledgements

This research was financially supported by annual research budget of the Prince of Songkla University (PSU) contract no. ENG570183S and Graduate School of PSU, Thailand. This research is also supported by the Postdoctoral Fellowship Program of the Prince of Songkla University.

References

- [1] B. Singh, A. Guldhe, I. Rawat, F. Bux, Towards a sustainable approach for development of biodiesel from plant and microalgae, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 29 (2014) 216-245.
- [2] L. Brennan, P. Owende, Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14 (2010) 557-577.
- [3] A.L. Moreira, J.M. Dias, M.F. Almeida, M.C.M. Alvim-Ferraz, Biodiesel production through transesterification of poultry fat at 30°C, *Energy Fuels.* 24 (2010) 5717-5721.
- [4] L.F. Wu, P.C. Chen, A.P. Huang, C.M. Lee, The feasibility of biodiesel production by microalgae using industrial wastewater, *Bioresour. Technol.* 113 (2012) 14-18.
- [5] A.M. Illman, A.H. Scragg, S.W. Shales, Increase in chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium, *Enzyme Microb. Technol.* 27 (2000) 631- 635.
- [6] S. Hama, A. Kondo, Enzymatic biodiesel production: An overview of potential feedstocks and process development, *Bioresour. Technol.* 135 (2013) 386-395.
- [7] I. Rawat, R.R. Kumar, T. Mutanda, F. Bux, Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production, *Appl Energy.* 103 (2013) 444-467.
- [8] M.J. Haas, A.J. Mcaloon, W.C. Yee, T.A. Foglia, A process model to estimate biodiesel production costs, *Bioresour. Technol.* 97 (2006) 671-678.
- [9] X. Yu, P. Zhao, C. He, J. Li, X. Tang, J. Zhou, Z. Huang, Isolation of a novel strain of *Monoraphidium* sp. and characterization of its potential application as biodiesel feedstock, *Bioresour. Technol.* 121 (2012) 256-262.
- [10] Fei-Fei. Chu, Pei-Na Chu, Pei-Jie Cal, Wen-Wei Li, P.K.S. Lam, R.J. Zeng, Phosphorus plays an important role in enhancing biodiesel productivity Of *Chlorella vulgaris* under nitrogen deficiency, *Bioresour. Technol.* 134 (2013) 341-346.
- [11] K. Vijayaraghavan, K. Hemanathan, Biodiesel production from freshwater algae, *Energy Fuels.* 23 (2009) 5448-5453.
- [12] L.E. Graham, *Algal*, Prentice-Hall Inc, New Jersey, 2000.
- [13] S. Hongyang, Z. Yalei, Z. Chunmin, Z. Xuefei, L. Jinpeng, Cultivation of *Chlorella pyrenoidosain* soybean processing wastewater, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 9884-9890.
- [14] S. Huo, Z. Wang, S. Zhu, W.Zhou, R. Dong, Z. Yuan, Cultivation of *Chlorella zofingiensis* in bench-scale outdoor ponds by regulation of pH using dairy wastewater in winter, South China, *Bioresour. Technol.* 121 (2012) 76-82.
- [15] S. Rasoul-Amini, N. Montazeri-Najafabady, S. Shaker, A. Safari, A. Kazemi, P. Mousavi, M.A. Mobasher, Y. Ghasemi, Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae free cells in bath culture system, *Biocatal. Agric. Biotechnol.* (in press) <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.003i>
- [16] C. Yeesang, B. Cheirsilp, Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 3034-3040.
- [17] P. Dumrattana, P. Tansakul, Effect of photoperiod on growth and hydrocarbon content of *Botryococcus braunii* cultured in effluent from seafood processing plant, *Songklanakarin. J. Sci. Technol.* 28 (2006) 99-105.
- [18] J. Folch, M. Lees, G.H.S. Stanley, A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues, *J. Biol. Chem.* 226 (1957) 497-509.

-
- [19] E. Jacob-Lopes, C.H.G. Scoparo, L.M.C.F. Lacerda, T.T. Franco, Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors, *Chem. Eng. Process.* 48 (2009) 306–310.
- [20] W.M. Darley, *Algal Biology: A Physiological Approach*, Blacwell Scientific Publications, London, 1982.
- [21] A.C. Kuesel, J. Sianoudis, D. Leibfritz, L.H. Grimme, A. Mayer, P-31 in-vivo NMR investigation on the function of polyphosphates as phosphate and energy source during the regreening of the green alga *Chlorella fusca*, *Arch. Microbiol.* 152 (1989) 167-171.
- [22] Y. Li, Yi-Feng. Chen, P. Chen, M. Min, W. Zhou, B. Martinez, J. Zhu, R. Ruan, Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 5138-5144.
- [23] A. Benerjee, R. Sharma, Y. Chisti, U.C. Benerjee, *Botryococcus braunii* : A renewable source of hydrocarbons and other chemicals, *Crit. Rev. Biotechnol.* 22 (2002) 245-279.
- [24] Z. Arbib, J. Ruiz, P. Alvarez-Diaz, C. Garrido-Perez, J.A. Perales, Capability of different microalgae species for phyto remediation processes: Wastewater tertiary treatment, CO₂ bio-fixation and low cost biofuels production, *Water Res.* (in press) <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2013.10.036>

KKU International Engineering

10.4028/www.scientific.net/AMR.931-932

Cultivation of *Chlorella* sp. Using Industrial Effluents for Lipid Production

10.4028/www.scientific.net/AMR.931-932.1111

DOI References

- [1] B. Singh, A. Guldhe, I. Rawat, F. Bux, Towards a sustainable approach for development of biodiesel from plant and microalgae, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 29 (2014) 216-245.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2013.08.067>
- [2] L. Brennan, P. Owende, Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14 (2010) 557-577.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.009>
- [3] A.L. Moreira, J.M. Dias, M.F. Almeida, M.C.M. Alvim-Ferraz, Biodiesel production through transesterification of poultry fat at 30 °C, *Energy Fuels.* 24 (2010) 5717-5721.
<http://dx.doi.org/10.1021/ef100705s>
- [4] L.F. Wu, P.C. Chen, A.P. Huang, C.M. Lee, The feasibility of biodiesel production by microalgae using industrial wastewater, *Bioresour. Technol.* 113 (2012) 14-18.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.128>
- [5] A.M. Illman, A.H. Scragg, S.W. Shales, Increase in chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium, *Enzyme Microb. Technol.* 27 (2000) 631- 635.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00266-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00266-0)
- [8] M.J. Haas, A.J. Mcaloon, W.C. Yee, T.A. Foglia, A process model to estimate biodiesel production costs, *Bioresour. Technol.* 97 (2006) 671-678.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.039>
- [9] X. Yu, P. Zhao, C. He, J. Li, X. Tang, J. Zhou, Z. Huang, Isolation of a novel strain of *Monoraphidium* sp. and characterization of its potential application as biodiesel feedstock, *Bioresour. Technol.* 121 (2012) 256-262.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.07.002>
- [10] Fei-Fei. Chu, Pei-Na Chu, Pei-Jie Cal, Wen-Wei Li, P.K.S. Lam, R.J. Zeng, Phosphorus plays an important role in enhancing biodiesel productivity Of *Chlorella vulgaris* under nitrogen deficiency, *Bioresour. Technol.* 134 (2013) 341-346.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.131>
- [11] K. Vijayaraghavan, K. Hemanathan, Biodiesel production from freshwater algae, *Energy Fuels.* 23 (2009) 5448-5453.
<http://dx.doi.org/10.1021/ef9006033>
- [13] S. Hongyang, Z. Yalei, Z. Chunmin, Z. Xuefei, L. Jinpeng, Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in soybean processing wastewater, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 9884-9890.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.016>
- [14] S. Huo, Z. Wang, S. Zhu, W. Zhou, R. Dong, Z. Yuan, Cultivation of *Chlorella zofingiensis* in bench-scale outdoor ponds by regulation of pH using dairy wastewater in winter, South China, *Bioresour. Technol.* 121 (2012) 76-82.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.07.012>

[16] C. Yeesang, B. Cheirsilp, Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 3034-3040.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.013>

[19] E. Jacob-Lopes, C.H.G. Scoparo, L.M.C.F. Lacerda, T.T. Franco, Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors, *Chem. Eng. Process.* 48 (2009) 306-310.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2008.04.007>

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวธารินี ศศิบุญยรัตน์		
รหัสประจำตัวนักศึกษา	5410120033		
วุฒิการศึกษา			
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา	
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2554	

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2555

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Sasibunyarat, T., Cheirsilp, B., Charnnok, B. and Chaiprapat, S. 2014. Cultivation of *Chlorella* sp. using industrial effluents for lipid production. *Advanced Materials Research*. 931-932: 1111-1116

Sasibunyarat, T., Cheirsilp, B., Charnnok, B. and Chaiprapat, S. 2015. Cultivating microalgae for oil production and pollutant removal from different biogas digester effluents. (Submitted)

การเผยแพร่ในการประชุมวิชาการ

Sasibunyarat, T., Cheirsilp, B., Charnnok, B. and Chaiprapat, S. 2014. Cultivation of *Chlorella* sp. using industrial effluents for lipid production. The 5th KKU International Engineering Conference 2014. 27-29 March 2014, Pullman Khon Kaen Raja Orchid Hotel, Khon Kaen, Thailand.