

การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก



นางสาว ทักษพร รัตนมุขย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

TREATMENT OF WASTEWATER DISCHARGED FROM BIODIESEL PRODUCTION
PLANT BY MICROALGAE



Miss Tuksaporn Rattanamuk

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Environmental Science
(Interdisciplinary program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2009

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก
โดย	นางสาวทักษพร รัตนมุขย์
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. วรุณี จุฬาลักษณ์านุกูล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพจน์ เปี่ยมสมบูรณ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรุณี จุฬาลักษณ์านุกูล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. อรทัย ขวาลภาฤทธิ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร. อภารัตน์ มหาจันทร์)

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทักษพร รัตนमुखย์: การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก.

(TREATMENT OF WASTEWATER DISCHARGED FROM BIODIESEL

PRODUCTION PLANT BY MICROALGAE) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.ดร. วรวิมล

จุฬาลักษณ์านุกูล, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ.ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบุญณ์, 91 หน้า.

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด คือ *Chlamydomonas* sp., *Pandorina* sp., *Scenedesmus quadricauda* และ *Scenedesmus dimorphus* เพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล พบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.62 ± 0.12 ต่อวัน และมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ ไนเตรท ฟอสเฟต บีโอดี และ ซีโอดี ได้สูงกว่าสาหร่ายชนิดอื่น ๆ คือ 95.78 เปอร์เซ็นต์ 16.02 เปอร์เซ็นต์ 50.58 เปอร์เซ็นต์ และ 45.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ในการลดปริมาณแอมโมเนียพบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* และ *S. quadricauda* มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ความเข้มข้นของไนเตรทเป็นเพียงปัจจัยเดียวที่มีผลต่อการเติบโตและประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำของสาหร่าย โดย *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ปรับความเข้มข้นของไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.81 ± 0.08 ต่อวัน และมีความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้งได้ดีกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ไม่มีการปรับไนเตรท โดยสามารถลดปริมาณฟอสเฟตได้ถึง 42.25 เปอร์เซ็นต์ บีโอดี 67.54 เปอร์เซ็นต์ และ ซีโอดี 60.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับและพบว่า *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ปรับความเข้มข้นของไนเตรทเป็น 80 มิลลิกรัม/ลิตร แม้มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารอาหารได้ดีแต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองยังคงมีไนเตรทเหลืออยู่ในน้ำทิ้งสูงถึง 51.43 มิลลิกรัม/ลิตร . เมื่อทำการเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ ($312 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) พบว่ามีอัตราการเติบโตจำเพาะเพิ่มสูงขึ้นเป็น 1.07 ± 0.32 ต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะควบคุมแสง ($60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) โดยสาหร่ายสามารถลดแอมโมเนียได้ 99.81 เปอร์เซ็นต์ ไนเตรท 96.11 เปอร์เซ็นต์ ฟอสเฟต 56.72 เปอร์เซ็นต์ บีโอดี 76.50 เปอร์เซ็นต์ และ ซีโอดี 67.48 เปอร์เซ็นต์ องค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์สาหร่าย *S. dimorphus* มีการสะสมโปรตีนในปริมาณสูงถึง 27.44 ± 1.83 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ปริมาณน้ำมัน 13.89 ± 1.12 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และปริมาณคาร์โบไฮเดรต 11.02 ± 1.98 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง องค์ประกอบของกรดไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* พบกรดไขมันชนิด Palmitic acid (C16:0) และ Linoleic acid (C18:2) ค่อนข้างสูง

ศูนย์วิทยุโทรพักร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อนิติ ทักษพร รัตนमुखย์

ปีการศึกษา 2552.....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก..... อ.จุฬาลักษณ์านุกูล

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม..... อ.อ.อ.อ.

5087139420 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEYWORDS : MICROALGAE / BIODIESEL / WASTEWATER TREATMENT

TUKSAPORN RATTANAMUK: TREATMENT OF WASTEWATER DISCHARGED FROM BIODIESEL PRODUCTION PLANT BY MICROALGAE. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. WARAWUT CHULALAKSANANUKUL, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. AJCHARAPORN PIUMSOMBOON, Ph.D., 91 pp.

Four species of green algae, *Chlamydomonas* sp., *Pandorina* sp., *Scenedesmus quadricauda* and *Scenedesmus dimorphus* were tested for wastewater treatment from biodiesel production plant. *S. dimorphus* with the highest specific growth rates of $0.62 \pm 0.12 \text{ day}^{-1}$, was the most effective algae for reducing nitrate, phosphate, BOD and COD in wastewater with the removal rate of 95.78 %, 16.02 %, 50.58 % and 45.08 %, respectively. However, the efficiency of ammonia removal between *S. dimorphus* and *S. quadricauda* were not significantly different ($p \text{ value} > 0.05$). The result indicated that only nitrate concentration could affect growth and the efficiency of water treatment. *S. dimorphus* grown in nitrate-adjusted wastewater (40 mg/l nitrate) had the highest specific growth rates of $0.81 \pm 0.08 \text{ day}^{-1}$ and was more effective in wastewater treatment than microalgae grown in non-adjusted nitrate concentration wastewater. The remove rates were on follow: phosphate 42.25 %, BOD 67.54 % and COD 60.65 %. Moreover, culture of *S. dimorphus* in 80 mg/l nitrate-adjusted wastewater had high efficiency of wastewater treatment but the concentration of nitrate left at the end of the experiment was still high (51.43 mg/l). The culture conducted under natural sunlight ($312 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) gave high growth rate of $1.07 \pm 0.32 \text{ day}^{-1}$ which was higher than culture under control light ($60 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) and the reduction of ammonia 99.81 %, nitrate 96.11 %, phosphate 56.72 %, BOD 76.50 % and COD 67.48 %. The biochemical compositions of this *S. dimorphus* contained high protein content, $27.44 \pm 1.83 \text{ \%DW}$, lipid content $13.89 \pm 1.12 \text{ \%DW}$ and carbohydrate $11.02 \pm 1.98\text{ \%DW}$. The pattern of fatty acid in *S. dimorphus* is very rich Palmitic acid (C16:0) and Linoleic acid (C18:2)

Field of Study : Environmental Science

Academic Year : 2009

Student's Signature *Tuksaporn Rattanamak*

Advisor's Signature *Warawut Chulalaksanankul*

Co-Advisor's Signature *Ajcharaporn Piumsomboon*

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร. วรวิมล จุฬาลักษณ์นากุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และรองศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบุญ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้แนะนำข้อคิดเห็นต่างๆ และช่วยแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ ประธานกรรมการ รองศาสตราจารย์ ดร. อรทัย ชวาลภาฤทธิ์ และ ดร. อภาภรณ์ มหาพันธ์ ที่กรุณาเป็นกรรมการ ในการสอบวิทยานิพนธ์และให้คำปรึกษาอย่างดียิ่ง

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเลและภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย ขอขอบคุณ บริษัทน้ำมัน พีชปทุมจำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ทุนสนับสนุนและน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลมาใช้ในการทดลอง

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และ พี่ชายที่คอยให้กำลังใจที่ดีและให้การ สนับสนุนจนสำเร็จการศึกษารวมทั้งขอขอบคุณพี่ เพื่อน และน้องทุกคนที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือ ให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ

บทที่

1	บทนำ.....	1
	1.1 วัตถุประสงค์.....	2
	1.2 ขอบเขตการศึกษา.....	2
	1.3 ขั้นตอนการวิจัย.....	2
	1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะรับ.....	3
2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
	2.1 ความรู้เกี่ยวกับไบโอดีเซล.....	4
	2.2 การจัดการและกระบวนการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	6
	2.3 ความรู้เกี่ยวกับสาหร่ายขนาดเล็ก.....	10
	2.4 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	11
	2.5 ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก.....	15
	2.6 การบำบัดน้ำด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก.....	17

บทที่	หน้า
3	วิธีดำเนินการวิจัย..... 20
	3.1 ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการวิจัย..... 20
	3.2 ระบบเพาะเลี้ยงสาหร่าย..... 20
	3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์อื่น ๆ..... 22
	3.4 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย..... 23
4	ผลการวิจัยและอภิปรายผล
	4.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ..... 32
	4.2 การคัดแยกพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก..... 33
	4.3 การเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อ บำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล..... 33
	4.4 ผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้ง จากโรงงานผลิตไบโอดีเซลของสาหร่ายขนาดเล็ก..... 43
	4.5 ผลของปริมาณไนเตรตต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้ง จากโรงงานผลิตไบโอดีเซลของสาหร่ายขนาดเล็ก..... 52
	4.6 การเติบโตและความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้ง จากโรงงานผลิตไบโอดีเซลภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ..... 60
	4.7 องค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก..... 66
5	สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ
	5.1 สรุปผลงานวิจัย..... 70
	5.2 ข้อเสนอแนะ..... 71
	รายการอ้างอิง..... 72

	หน้า
ภาคผนวก.....	80
ภาคผนวก ก.....	81
ภาคผนวก ข.....	82
ภาคผนวก ค.....	87
ภาคผนวก ง.....	90
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	91



ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ค่าพารามิเตอร์ที่ศึกษาและวิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้ง.....	24
3.2	แผนการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็ก เพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	25
3.3	แผนการทดลองผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้ง จากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	27
3.4	แผนการทดลองผลของปริมาณไนเตรทต่อประสิทธิภาพในการบำบัด น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	29
4.1	ค่าพารามิเตอร์ของค่าพารามิเตอร์ของน้ำทิ้งจากบ่อดักตะกอนก่อน และหลังการกรองฝักระดาศกรอง GF/C ของโรงงานผลิตไบโอดีเซล บริษัท น้ำมันพืชปทุม จำกัด จังหวัดปทุมธานี	32
4.2	ความหนาแน่นเซลล์ อัตราการเติบโตจำเพาะและเวลาของการ เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าของสาหร่ายขนาดเล็ก	34
4.3	เปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งจากโรงงาน ผลิตไบโอดีเซลของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด	43
4.4	เปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> จากการศึกษาผลของปริมาณไนเตรทต่อประสิทธิภาพ ในการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานผลิตไบโอดีเซล	59
4.5	คุณภาพน้ำทิ้งหลังการทดลองปรับปริมาณไนเตรท.....	59
4.6	เปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งจากโรงงาน ผลิตไบโอดีเซลของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	65
4.7	คุณภาพน้ำทิ้งหลังการทดลองใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อบำบัดน้ำทิ้ง จากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	65
4.8	ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่พบ (ร้อยละของน้ำหนักกรดไขมันรวม) ในสาหร่ายขนาดเล็ก <i>S. dimorphus</i>	68
4.9	สมบัติของไบโอดีเซลจากกรดไขมันประเภทต่างๆ.....	69
ค-1	มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม.....	87

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	ปฏิกิริยา transesterification.....	4
2.2	แผนผังกระบวนการผลิตไบโอดีเซล.....	5
2.3	ส่วนประกอบและการทำงานของระบบแอ็คติเวตเต็ดสลัดจ์.....	7
2.4	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสง.....	11
3.1	ระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ.....	20
3.2	แผนผังระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ.....	21
3.3	ระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายกลางแจ้ง.....	21
3.4	ตู้ควบคุมอุณหภูมิ.....	22
3.5	ขั้นตอนการเตรียมพันธุ์สาหร่าย.....	23
3.6	แผนผังระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานน้ำมันพืชปทุม.....	24
4.1	เซลล์ของสาหร่ายที่ใช้ในการศึกษา.....	33
4.2	การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	34
4.3	อัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายขนาดเล็กที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	35
4.4	ประสิทธิภาพในการลดปริมาณแอมโมเนียของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิดที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	36
4.5	การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียในการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิดเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล	36
4.6	ประสิทธิภาพการลดปริมาณไนเตรทของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	37
4.7	ปริมาณไนเตรทในน้ำทิ้งของการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	38
4.8	ประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตของสาหร่ายขนาดเล็กที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	39

รูปที่	หน้า	
4.9	การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสเฟตในการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิดเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	39
4.10	ประสิทธิภาพในการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดีของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด ที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง จากโรงงานผลิตไบโอดีเซล	40
4.11	การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสระหว่างการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิดเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	41
4.12	ปริมาณ CO_2 , HCO_3^- และ CO_3^{2-} ที่สัมพันธ์กับระดับค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำ.....	42
4.13	การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก <i>S. dimorphus</i> ในการศึกษาผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	44
4.14	อัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายขนาดเล็กในการศึกษาผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	44
4.15	ประสิทธิภาพการลดปริมาณแอมโมเนียของสาหร่ายขนาดเล็กในการศึกษาผลของสารอาหารต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	46
4.16	ประสิทธิภาพการลดปริมาณไนเตรทของสาหร่ายขนาดเล็กในการศึกษาผลของสารอาหารต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	48
4.17	ประสิทธิภาพการลดปริมาณไนเตรทของสาหร่ายขนาดเล็กในการศึกษาผลของสารอาหารต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	49
4.18	ประสิทธิภาพการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดีของสาหร่ายขนาดเล็กในการศึกษาผลของสารอาหารต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	51
4.19	การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กชนิด <i>S. dimorphus</i> ในการศึกษาผลของปริมาณ ไนเตรทต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	53

รูปที่	หน้า	
4.20	อัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายขนาดเล็กชนิด <i>S. dimorphus</i> ในการศึกษาผลของปริมาณไนเตรตต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	53
4.21	ประสิทธิภาพการลดแอมโมเนียของสาหร่ายขนาดเล็ก <i>S. dimorphus</i> ในการศึกษาผลของไนเตรตต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	54
4.22	การเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียในชุดการทดลองเลี้ยงสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่มีการปรับปริมาณไนเตรตในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	54
4.23	ประสิทธิภาพการลดปริมาณไนเตรตของสาหร่ายขนาดเล็ก <i>S. dimorphus</i> ในการศึกษาผลของปริมาณไนเตรตต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	55
4.24	การเปลี่ยนแปลงไนเตรตในชุดการทดลองเลี้ยงสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่มีการปรับปริมาณไนเตรตในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	55
4.25	ประสิทธิภาพการลดปริมาณฟอสเฟตของสาหร่ายขนาดเล็ก <i>S. dimorphus</i> ในการศึกษาผลของปริมาณไนเตรตต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	57
4.26	การเปลี่ยนแปลงฟอสเฟตในชุดการทดลองเลี้ยงสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่มีการปรับปริมาณไนเตรตในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	57
4.27	ประสิทธิภาพการลดบีโอดีและซีโอดีของสาหร่ายขนาดเล็ก <i>S. dimorphus</i> ในการศึกษาผลของปริมาณไนเตรตต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล.....	58
4.28	การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก <i>S. dimorphus</i> ที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงกลางแจ้งเปรียบเทียบกับระบบเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	61
4.29	ความเข้มแสงและอุณหภูมิเฉลี่ยในระบบเลี้ยงกลางแจ้ง.....	62

รูปที่	หน้า
4.30	ประสิทธิภาพการลดปริมาณสารปนเปื้อนในน้ำทิ้งของสหราชอาณาจักร ชนิด <i>S. dimorphus</i> ในระบบเลี้ยงกลางแจ้งและระบบเลี้ยงในห้อง ปฏิบัติการ..... 63
4.31	การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนีย ไนเตรทและฟอสเฟตของสหราชอาณาจักร ชนิดเล็ก <i>S. dimorphus</i> เลี้ยงภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ 64
4.32	ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่พบ (ร้อยละของน้ำหนักกรดไขมันรวม) ในสหราชอาณาจักร <i>S. dimorphus</i> 68
ง-1	โครมาโตแกรมกรดไขมันของสหราชอาณาจักร <i>S. dimorphus</i> ที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง จากโรงงานผลิตไบโอดีเซลที่มีการปรับไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ..... 90



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีความตื่นตัวเรื่องการใช้พลังงานทดแทนอันเนื่องมาจากความไม่แน่นอนของราคาและปริมาณน้ำมันปิโตรเลียมโดยไบโอดีเซลได้กลายเป็นแหล่งพลังงานสำคัญในอันดับต้นๆ ซึ่งให้พลังงานที่มีศักยภาพสูงไม่แตกต่างจากน้ำมันปิโตรเลียมมากนัก รัฐบาลจึงเร่งรณรงค์และออกมาตรการผลักดันให้ประชาชนหันมาใช้และผลิตไบโอดีเซลเพื่อทดแทนน้ำมันปิโตรเลียม โดยที่กรมธุรกิจพลังงาน กระทรวงพลังงานได้ตั้งเป้าหมายให้เกิดการใช้ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันภายในปี พ.ศ. 2554 และตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2555 จะมีการจำหน่ายไบโอดีเซล 10 เปอร์เซ็นต์ หรือ ปี 10 ทั่วประเทศ ซึ่งจะทำให้มีความต้องการไบโอดีเซลเพิ่มเป็นประมาณ 8.5 ล้านลิตร/วัน (ประเสริฐ สุตใหม่, 2550) จากความต้องการน้ำมันไบโอดีเซลที่เพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้มีการขยายตัวของธุรกิจและโรงงานผลิตไบโอดีเซลอย่างรวดเร็วโดยปัจจุบันประเทศไทยมีโรงงานผลิตไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (บี 100) ที่ได้รับความเห็นชอบการจำหน่ายจากกรมธุรกิจพลังงานจำนวน 13 โรง เป็นกำลังการผลิตรวมถึง 4,455,800 ลิตร/วัน (กระทรวงพลังงาน, 2552) แต่ในการผลิตไบโอดีเซล 100 ลิตร จะก่อให้เกิดน้ำเสียถึง 20 ลิตร (ภัทรลักษณ์ จารุวัตร, 2551) ซึ่งน้ำเสียดังกล่าวต้องอาศัยกระบวนการบำบัดหลายขั้นตอนเนื่องจากการปนเปื้อนของกลีเซอรอล เมทานอล กรดไขมัน สารเร่งปฏิกิริยา สบู่ สารอินทรีย์ต่างๆ นอกจากนี้ในกระบวนการกำจัดสบู่ให้อยู่ในรูปกรดไขมันด้วยการเติมกรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) (พนิดา สามพรานไพบูลย์, 2550) ทำให้มีฟอสฟอรัสปนเปื้อนมากับน้ำทิ้งเป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วมักจะหลงเหลือปริมาณสารอินทรีย์รวมทั้งแอมโมเนีย ไนเตรท ฟอสเฟต อยู่ในปริมาณสูงหากน้ำทิ้งดังกล่าวถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะย่อมก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมจึงจำเป็นต้องมีการบำบัดก่อนปล่อยออกสู่แหล่งน้ำ

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจนำสาหร่ายขนาดเล็กมาใช้ในการบำบัดน้ำในขั้นที่สาม (tertiary treatment) เพื่อกำจัดสารอินทรีย์และสารเจือปนต่างๆ เช่นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ที่หลงเหลืออยู่ในน้ำทิ้งอันเนื่องมาจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม เนื่องจากความสามารถในการสังเคราะห์แสงทำให้สาหร่ายสามารถดึงเอาสารอินทรีย์ เช่น แอมโมเนีย

ไนเตรทและฟอสเฟตรวมทั้งสารอินทรีย์มาใช้ในการเติบโต นอกจากนี้ผลผลิตที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็กนับว่ามีองค์ประกอบที่หลากหลายอันได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต สารสี และไฮโดรคาร์บอนซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อีกทางหนึ่ง

1.1 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล
2. ศึกษาผลผลิตมวลชีวภาพและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็กที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

1.2 ขอบเขตการศึกษา

1. สาหร่ายขนาดเล็กที่ใช้ในการทดลองเป็นตัวอย่างสาหร่ายจากบ่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล บริษัท น้ำมันพืชปทุม จำกัด
2. เก็บตัวอย่างจากน้ำทิ้งจากบ่อดักตะกอนของโรงงานผลิตไบโอดีเซล บริษัท น้ำมันพืชปทุม จำกัด
3. ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้ง โดยวัดค่าความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ ของแข็งแขวนลอย ซีไอดี บีไอดี แอมโมเนีย ไนเตรทและออร์โธฟอสเฟต
4. ศึกษาผลผลิตมวลชีวภาพและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ น้ำหนักแห้ง ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ปริมาณและชนิดกรดไขมัน

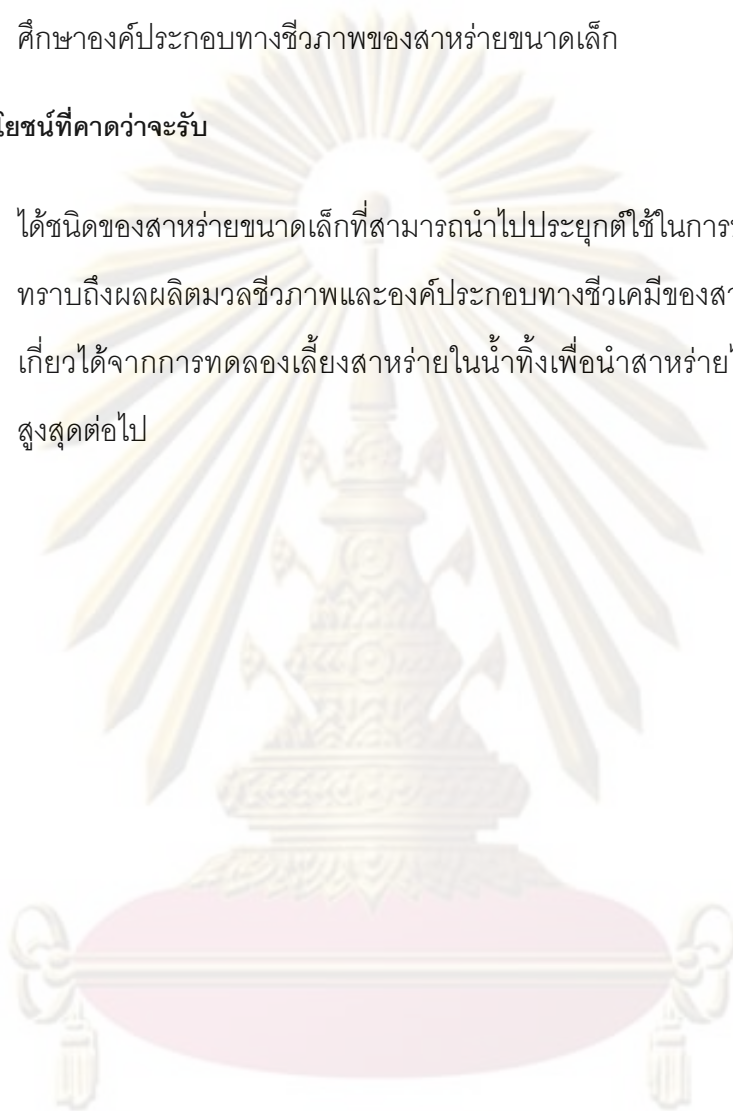
1.3 ขั้นตอนการวิจัย

1. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล
2. เปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

3. ศึกษาผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพของสาหร่ายในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล
4. ศึกษาการเติบโตและความสามารถในการบำบัดน้ำเสียภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ
5. ศึกษาองค์ประกอบทางชีวภาพของสาหร่ายขนาดเล็ก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะรับ

1. ได้ชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย
2. ทราบถึงผลผลิตมวลชีวภาพและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็กที่เก็บเกี่ยวได้จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งเพื่อนำสาหร่ายไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไป



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

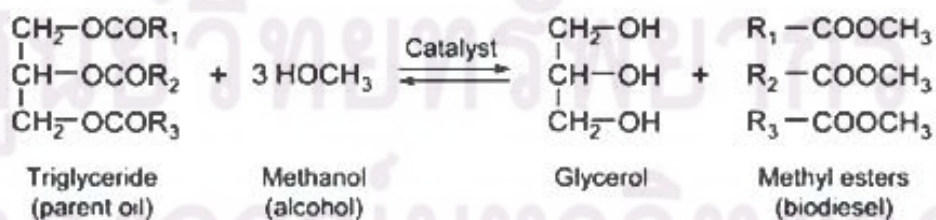
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้เกี่ยวกับไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลเป็นชื่อเรียกเชื้อเพลิงที่เป็นสารเอสเทอร์ (ester) ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาทางเคมีของน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์กับเมทานอลหรือเอทานอล ปฏิกิริยาเคมีดังกล่าวเรียกว่าทรานเอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) และได้กรีเซอร์ลินเป็นผลพลอยได้ ซึ่งมีสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลที่กลั่นจากปิโตรเลียมสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ดีเซลได้ดีโดยไม่ต้องทำการดัดแปลงเครื่องยนต์

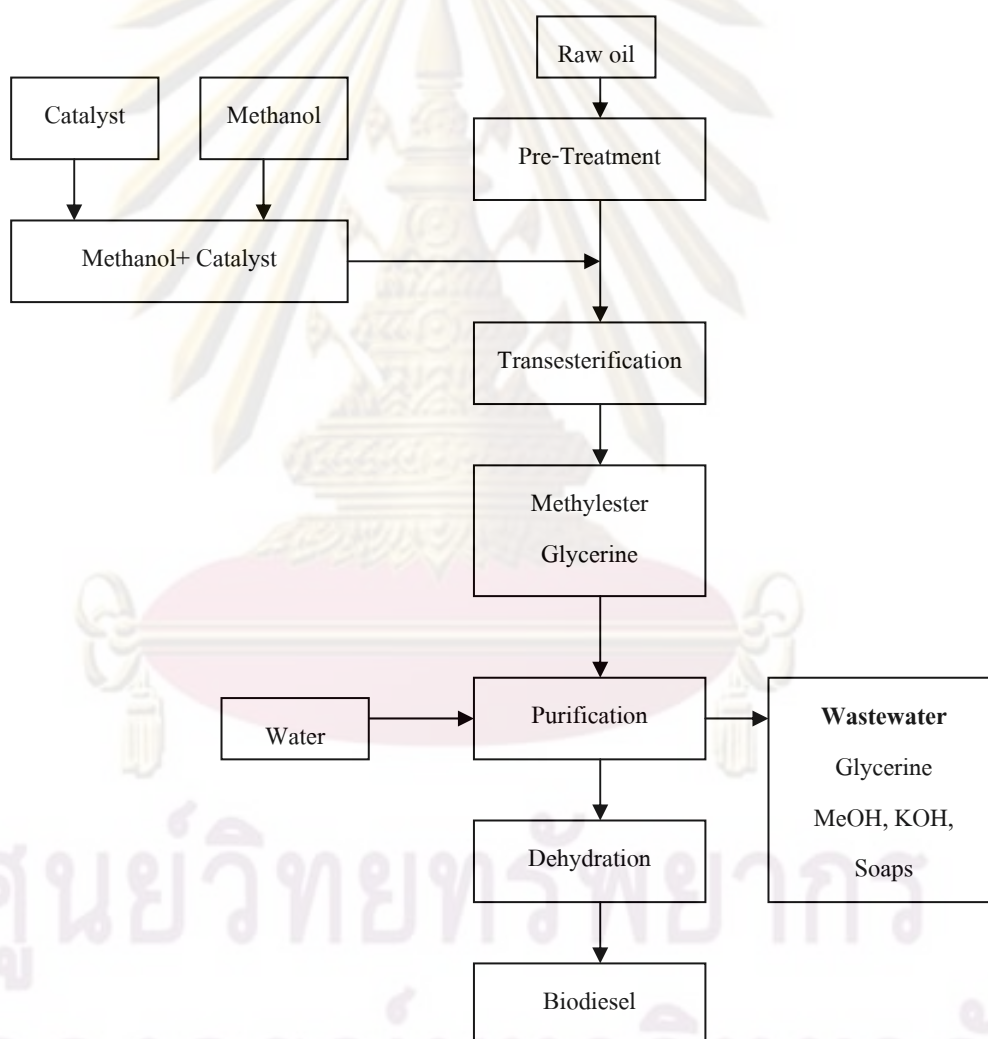
ไบโอดีเซลแบ่งเป็น 3 ประเภทได้แก่

1. น้ำมันพืชหรือน้ำมันจากไขมันสัตว์ ไบโอดีเซลประเภทนี้คือ น้ำมันพืชแท้ ๆ เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วลิสง หรือน้ำมันถั่วเหลือง หรือน้ำมันจากไขมันสัตว์ เช่น น้ำมันหมู ซึ่งสามารถนำมาใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้เลยโดยไม่ต้องผสมหรือเติมสารเคมีอื่น ๆ ไม่ต้องนำมาแปลงสมบัติของน้ำมันอีก
2. ไบโอดีเซลแบบลูกผสม ไบโอดีเซลประเภทนี้เป็นลูกผสมระหว่างน้ำมันพืชหรือน้ำมันจากไขมันสัตว์กับน้ำมันก๊าด เพื่อให้ไบโอดีเซลที่ได้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลมากที่สุด
3. ไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์ ไบโอดีเซลประเภทนี้ต้องผ่านกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า transesterification คือ การนำน้ำมันจากพืชหรือสัตว์ไปทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ โดยใช้กรดหรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้ได้เอสเทอร์ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548)



รูปที่ 2.1 ปฏิกิริยา transesterification (Chisti, 2007)

กระบวนการผลิตไบโอดีเซลเริ่มจากการนำน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์มาผ่านกระบวนการปรับสภาพจากนั้นจะนำไปผ่านเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อนเพื่อปรับอุณหภูมิให้เหมาะสมกับการทำปฏิกิริยากับเมทานอลและสารเร่งปฏิกิริยาซึ่งจะถูกนำมาผสมกันในสัดส่วนที่เหมาะสม ผลผลิตที่ได้จะถูกนำไปเข้าสู่กระบวนการตัดแยกสารต่างๆออกจากสารเมทิลเอสเทอร์โดยการผ่านกระบวนการล้างด้วยน้ำ เมทิลเอสเทอร์ที่ได้จะถูกนำไปผ่านขั้นตอนของการทำความสะอาดและกำจัดน้ำออกกลายเป็นน้ำมันไบโอดีเซลซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลมาก (พนัสงามกนกวรรณ, 2549)



รูปที่ 2.2 แผนผังกระบวนการผลิตไบโอดีเซล

2.2 การจัดการและกระบวนการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

ในขั้นตอนการล้างไบโอดีเซลเป็นการนำไบโอดีเซลที่ได้จากการทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ฟิเคชันไปล้างน้ำเพื่อกำจัดกลีเซอรินและสารปนเปื้อนอื่น ๆ ที่สามารถละลายน้ำได้ โดยต้องเป็นน้ำที่มีการเติมกรดอ่อนเพื่อปรับสภาพน้ำมันไบโอดีเซล ที่ได้ให้มีค่าความเป็นกลาง (pH7) น้ำเสียที่เกิดจากการผลิตไบโอดีเซลจะมีสีขาวขุ่นและองค์ประกอบส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของเกลือของกรดไขมัน (เกลือโซเดียมหรือโพแทสเซียม) ซึ่งมาจากตัวเร่งปฏิกิริยาในการผลิตไบโอดีเซล นอกจากนี้ในกระบวนการกำจัดสบู่ให้อยู่ในรูปกรดไขมันด้วยการเติมกรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) (พินดา สามพรานไพบูลย์, 2550) ทำให้มีฟอสฟอรัสปนเปื้อนมากับน้ำทิ้งเป็นจำนวนมาก ดังนั้นเมื่อน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลถูกปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำอาจก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการบำบัดก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ

วิธีการบำบัดนั้นขึ้นกับสิ่งที่เจือปนอยู่ในน้ำโดยปกติของแข็งหรือตะกอนแขวนลอยมักบำบัดออกด้วยวิธีกายภาพ ตะกอนขนาดเล็กหรือสารละลายในน้ำเสียต้องบำบัดออกโดยใช้วิธีทางเคมีหรือชีวภาพซึ่งสามารถทำให้ตะกอนขนาดเล็กหรือสารละลายกลายเป็นตะกอนแขวนลอยที่รวมกันเป็นก้อนใหญ่จนสามารถบำบัดออกจากน้ำเสียได้โดยวิธีกายภาพ

2.2.1 วิธีบำบัดน้ำเสียแบบกายภาพ

กระบวนการทางกายภาพส่วนใหญ่มีหน้าที่กำจัดของแข็งแขวนลอยขนาดใหญ่ (มันซิน ตันซุลเวสม์, 2542) เช่นการใช้ถังตกไขมันและน้ำมันเนื่องจากไขมันและน้ำมันเบาหรือน้ำจึงลอยตัวอยู่เหนือน้ำทำให้สามารถใช้ถังตกไขมันและน้ำมันวิธีนี้จะมีข้อจำกัด เนื่องจากจะไม่สามารถแยกไขมันและน้ำมันที่ละลายอยู่ในน้ำได้จำเป็นต้องมีการเติมสารเคมีเพื่อทำการแยกชั้นก่อน (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2545)

2.2.2 วิธีบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางเคมี

การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางเคมีเป็นกระบวนการบำบัดที่ต้องการแยกหรือกำจัดสารเคมีหรือสิ่งปนเปื้อนในน้ำเสียที่บำบัดทางกายภาพหรือชีวภาพได้ยากหรือไม่ได้เลย เช่น โลหะหนัก สารพิษ สภาพความเป็นกรด-เบสสูงๆ การฆ่าเชื้อโรค เป็นต้น ในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย

อาจมีขั้นตอนการบำบัดโดยเคมีในขั้นตอนสุดท้ายเพื่อให้น้ำใสสะอาดและปราศจากเชื้อโรคสามารถนำน้ำที่ผ่านการบำบัดโดยวิธีนี้ไปใช้สำหรับบริโภคได้

กระบวนการทางเคมีที่ใช้ในการบำบัดมีหลายประเภท ได้แก่

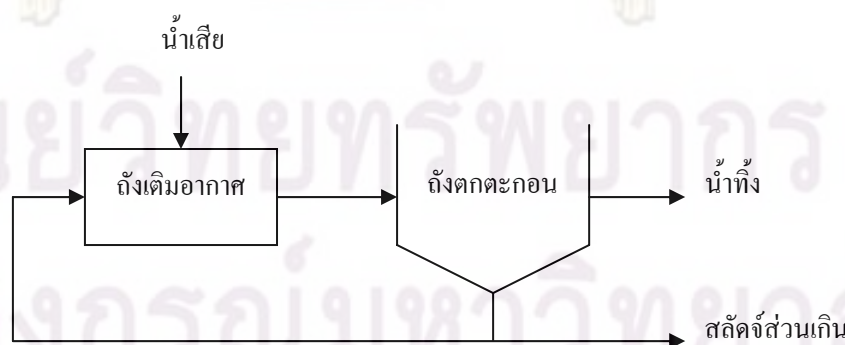
1. กระบวนการตกตะกอน (coagulation) เป็นกระบวนการทางเคมีในการกำจัดของแข็งแขวนลอยซึ่งตกตะกอนได้ยากด้วยการเติมสารบางอย่างเช่น สารส้ม เพอริคคโลไรด์ เป็นต้น

2. การแลกเปลี่ยนไอออน (ion-exchange) ใช้ในกรณีที่ไม่ต้องการใช้วิธีสร้างตะกอนแข็งกำจัดโลหะหนักต่างๆอาจใช้กระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนแทน โดยใช้เรซินแลกเปลี่ยนไอออนบรรจุในถังและปล่อยให้น้ำเสียไหลผ่าน โลหะต่างๆในน้ำเสียจะอยู่ในรูปไอออนที่มีประจุบวก ซึ่งจะถูกแลกเปลี่ยนกับ H^+ ของเรซิน ดังนั้นน้ำจึงปราศจากโลหะหนัก (มันสิน ตัณฑุลเวศม์, 2542)

2.2.3 การบำบัดน้ำเสียโดยวิธีทางชีวภาพ

1. ระบบแอ็คติเวตเต็ดสลัดจ์ (activated sludge process)

ระบบอาศัยหลักการสิ่งมีชีวิตพวกจุลินทรีย์ช่วยในการย่อย ดูดซับ หรือเปลี่ยนรูปของมวลสารต่างๆที่มีอยู่ในน้ำเสียให้มีค่าความสกปรกน้อยลง หลักการทำงานของระบบแอ็คติเวตเต็ดสลัดจ์เป็นวิธีที่เลียนแบบธรรมชาติ ซึ่งระบบนี้ใช้กันมากในประเทศไทยอาจกล่าวได้ว่าประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของระบบบำบัดทั้งหมด ส่วนประกอบหลักประกอบด้วยถังเติมอากาศที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์และถังตกตะกอนซึ่งแยกน้ำทิ้งออกจากจุลินทรีย์ (มันสิน ตัณฑุลเวศม์, 2542)



รูปที่ 2.3 ส่วนประกอบและการทำงานของระบบแอ็คติเวตเต็ดสลัดจ์

(กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2545)

น้ำเสียจะถูกส่งเข้าถังเติมอากาศซึ่งมีสลัดจ์อยู่เป็นจำนวนมากภายในถังจะมีสภาวะที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน จุลินทรีย์จะทำการลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำด้วยการย่อยสลายให้อยู่ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ น้ำเสียที่บำบัดแล้วจะไหลผ่านไปยังถังตกตะกอนเพื่อแยกจุลินทรีย์ออกจากน้ำใส สลัดจ์ที่แยกออกส่วนหนึ่งจะถูกสูบกลับไปถังเติมอากาศสลัดจ์ส่วนเกินจะต้องนำไปทิ้งซึ่งต้องทำอย่างสม่ำเสมอเพื่อรักษาจุลินทรีย์ในระบบให้มีค่าเหมาะสม (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2545)

ประเภทของกระบวนการแอ็คติเวตเต็ดสลัดจ์

กระบวนการแอ็คติเวตเต็ดสลัดจ์แบบธรรมดา (conventional activated sludge) หมายถึงระบบที่มีถังตกตะกอนและถังเติมอากาศ การเติมอากาศจะใช้เครื่องเติมอากาศแบบใบพัดหรือแบบฟองอากาศ โดยปกติจะมีเวลากักเก็บ 5-10 วัน

กระบวนการแอ็คติเวตเต็ดสลัดจ์แบบปรับเสถียรสัมผัส (contact stabilization activated sludge) จะแบ่งถังเติมอากาศออกเป็น 2 ถังอิสระจากกันโดยที่สลัดจ์จะถูกสูบมาจากถังตกตะกอนชั้นที่สองจะถูกส่งไปเติมอากาศใหม่ในถังปรับเสถียร โดยปกติใช้เวลาประมาณ 4-8 ชั่วโมง จากนั้นสลัดจ์ที่ย่อยสลายสารอินทรีย์หมดแล้วจะถูกส่งไปสัมผัสกับน้ำเสียในถังสัมผัสเป็นเวลา 30-60 นาที เพื่อลดสารอินทรีย์ น้ำเสียที่บำบัดแล้วและสลัดจ์จะไหลไปยังถังตกตะกอนชั้นที่สอง น้ำส่วนบนจะถูกปล่อยออกจากระบบ สลัดจ์ส่วนหนึ่งจะสูบกลับไปใช้ในถังย่อยและอีกส่วนจะถูกทิ้งไป

บ่อหรือสระเติมอากาศ (aerated lagoon) บ่อหรือสระเติมอากาศอาจถือว่าเป็นกระบวนการแอ็คติเวตเต็ดสลัดจ์แบบไม่มีการหมุนเวียนสลัดจ์ระบบบำบัดน้ำเสียแบบนี้มักเป็นบ่อขนาดใหญ่มีเวลากักเก็บหลายวันมีการเติมอากาศแบบลอยน้ำแต่ไม่มีถังตกตะกอน ด้วยเหตุนี้ น้ำทิ้งจะมีจุลินทรีย์ติดมาด้วย

2. การบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการไร้ออกซิเจน (anaerobic treatment)

นิยมใช้กับน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูง นิยมใช้บ่อหมักหรือถังกรองไร้ออกซิเจนเพื่อลดบีโอดีและซีโอดีก่อน จากนั้นจึงใช้ระบบอื่นๆในการบำบัดบีโอดีที่เหลืออยู่ ระบบนี้จะทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแบบไร้ออกซิเจนซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้จะกำจัดบีโอดีโดยไม่ต้องใช้ออกซิเจน (มันลิน ตันจุลเวศม์, 2542) มลสารที่อยู่ในน้ำเสียจะถูกเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ของจุลินทรีย์เซลล์ใหม่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซมีเทน (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2545)

3. ระบบบ่อปรับเสถียร (stabilization pond)

บ่อบำบัดน้ำเสียมักเป็นบ่อดินขนาดใหญ่ซึ่งสามารถขังน้ำเสียได้เป็นเวลาหลายวันการบำบัดน้ำเสียจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติโดยอาศัยแบคทีเรียและสาหร่ายสีเขียวเป็นส่วนสำคัญ บ่อปรับเสถียรเป็นบ่อกักน้ำทิ้งที่มีความลึกของบ่อไม่มากนักอาจเรียกบ่อปรับเสถียรนี้ว่าบ่อผึ่ง (oxidation pond) ระบบนี้นิยมใช้เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายน้อยในการดำเนินการก่อสร้าง การต้องการพลังงานน้อยและไม่ต้องการดูแลที่พิถีพิถัน

ประเภทของบ่อปรับเสถียรมีหลายประเภท ได้แก่

บ่อบำบัดน้ำเสียแบบกึ่งไร้อากาศ (facultative pond) ระบบนี้มีการแบ่งส่วนบนของบ่อเป็นแอโรบิก จากการเติมอากาศผิวน้ำและจากปฏิกิริยาของสาหร่ายซึ่งให้ออกซิเจน ส่วนล่างบ่ออยู่ในสภาพแอนแอโรบิก บ่อจะมีความลึกประมาณ 1-2 เมตร น้ำทิ้งจะถูกกักเก็บเป็นเวลาหลายวันเพื่อให้คงตัวและไม่เป็นที่น่ารังเกียจเมื่อปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ

บ่อบ่ม (maturation pond) บ่อบ่มจะใช้เป็นบ่อที่รับน้ำจากบ่อบำบัดน้ำเสียแบบกึ่งไร้อากาศ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดเชื้อโรคก่อนปล่อยน้ำทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ การกำจัดบีโอดีในบ่อบ่มจะเกิดขึ้นน้อยโดยสภาพบ่อจะเป็นแอโรบิกทั้งหมด ปกติความลึกของบ่อบ่มจะมีค่าเท่ากับบ่อบำบัดน้ำเสียแบบกึ่งไร้อากาศ

บ่อแอโรบิก (aerobic pond) เป็นบ่อที่มีแบคทีเรียและสาหร่ายแขวนลอยอยู่มีออกซิเจนทั่วทั้งบ่อและมีสภาพเป็นแอโรบิกตลอดความลึก บ่อแอโรบิกได้รับออกซิเจนจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายและการเติมอากาศที่ผิวหน้า บ่อแอโรบิกนี้แบ่งเป็น 2 แบบตามวัตถุประสงค์การทำงานคือบ่อแอโรบิกแบบผลิตออกซิเจนให้มากที่สุด บ่อแบบนี้มีความลึกประมาณ 1-1.5 เมตร อาจมีการกวนเป็นระยะๆ เพื่อให้มีประสิทธิภาพดีที่สุดโดยใช้เครื่องเติมอากาศแบบผิวหน้า และ บ่อแอโรบิกแบบผลิตสาหร่ายให้มากที่สุดหรือบ่อที่มีอัตราการทำงานสูงสุด (High Rate Ponds) โดยการเปลี่ยนน้ำทิ้งให้เป็นสาหร่ายมากที่สุดแล้วเก็บเกี่ยวสาหร่ายเพื่อนำไปรื้อดินมาใช้ โดยมีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ต่อปริมาตรสูงความลึก 0.2-0.6 เมตร สิ่งที่อยู่ในบ่อต้องได้รับการกวนหนึ่งถึงสองครั้งต่อวัน เพื่อให้ตะกอนที่ตกอยู่ลอยขึ้นมาและจำเป็นต้องมีการแยกสาหร่ายออกจากน้ำทิ้งขั้นสุดท้าย (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2545)

4. ระบบบึงประดิษฐ์

ระบบพื้นที่ชุ่มน้ำที่สร้างขึ้นให้คล้ายพื้นที่ชุ่มน้ำในธรรมชาติ เพื่อใช้ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำเสียให้เป็นน้ำทิ้งที่ได้มาตรฐานตามที่กฎหมายทางสิ่งแวดล้อมกำหนด โดยอาศัยกระบวนการทำงานทางธรรมชาติประกอบด้วย พืช วัสดุตัวกลางจำพวกดิน หิน หรือ กรวด และจุลินทรีย์ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมมาช่วยในการบำบัดน้ำเสียและช่วยปรับสภาพน้ำเสียให้มีคุณภาพดีขึ้น โดยไม่ต้องใช้สารเคมีและเทคโนโลยีเครื่องจักรกลต่างๆ เช่น เครื่องเติมอากาศ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2552)

2.3 ความรู้เกี่ยวกับสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่าย (algae) หมายถึงสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำที่มีคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) แต่ไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้น และ ใบที่แท้จริง ลักษณะอาจเป็นเซลล์เดี่ยว (unicellular) เส้นสาย (filament) เป็นกลุ่ม (colony) หรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง สาหร่ายส่วนใหญ่สามารถสร้างอาหารเองได้ เรียกว่า autotroph (ศิริเพ็ญ ตรีชัยอาพร, 2549) ซึ่งกระบวนการสังเคราะห์แสงเป็นการใช้พลังงานจากแสงเพื่อเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนให้เป็นสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรตโดยเซลล์ของสาหร่ายที่มีรงควัตถุที่สามารถดูดพลังงานแสงได้ ในกรณีของสาหร่ายขนาดเล็กส่วนใหญ่

รงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง คือ คลอโรฟิลล์ เอ บี และแคโรทีนอยด์ ดังสมการสังเคราะห์แสงต่อไปนี้



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสง (ชาญชัย อมรรัตนาหุเคราะห์, 2543)

2.4 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก

2.4.1 แสง

แสงเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญมากในการสังเคราะห์แสง เนื่องจากเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง จึงมีผลต่อการเติบโต การสร้างรงควัตถุ การหายใจ และรูปร่างลักษณะของเซลล์ (Brown และ Richardson, 1963) ตามปกติการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจะเพิ่มขึ้นเมื่อสาหร่ายได้รับแสงที่มีความเข้มแสงสูงขึ้นจนกระทั่งถึงความเข้มแสงที่ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงไม่เพิ่มสูงขึ้นอีกเรียกว่าความเข้มแสงอิ่มตัว (Light saturation intensity) ความเข้มแสงอิ่มตัวนี้มีผลทำให้สาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงสูงสุด (P_{max}) (Devlin และ Barker, 1971) และถ้าความเข้มแสงที่สาหร่ายได้รับสูงกว่าความเข้มแสงอิ่มตัวมาก ๆ อาจเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง หรือ photoinhibition การยับยั้งการสังเคราะห์แสงนี้สามารถคืนสภาพได้หลังจากการพักตัวสักระยะหนึ่ง ทั้งนี้ระดับความอิ่มตัวของกาารสังเคราะห์แสงจะแปรผันขึ้นกับชนิดของสาหร่ายด้วย

2.4.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อการสังเคราะห์แสงและการหายใจของสาหร่าย เมื่ออุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมสูงขึ้นอัตราการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มขึ้นจนถึงระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายและเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นกว่าระดับที่เหมาะสมอัตราการเติบโตจะลดลง (Darley, 1982) อุณหภูมิจะไม่มีผลต่อการสังเคราะห์แสงถ้าถูกจำกัดด้วยแสงหรือคาร์บอนไดออกไซด์

นอกจากนี้อุณหภูมิยังมีผลต่ออัตราการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์โดยเมื่ออุณหภูมิลดลงจะทำให้อัตราการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นซึ่งเป็นผลให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดลงด้วย (Devlin และ Barker, 1971)

2.4.3 ค่า pH

ค่า pH มีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของสาหร่าย และยังมีบทบาทต่อการละลายของเกลือและสารประกอบเชิงซ้อนชนิดต่างๆในสารละลาย ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษหรือยับยั้งการเติบโตของสาหร่าย ขณะเดียวกันค่า pH ยังส่งผลต่อการละลายของสารประกอบโลหะ โดยการเพิ่ม pH จะเป็นสาเหตุให้สารประกอบโลหะที่เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นบางชนิดตกตะกอนดังนั้นสาหร่ายจึงอาจขาดธาตุอาหารที่จำเป็นบางตัวได้ นอกจากนี้ pH ยังมีผลต่อการละลายของธาตุอาหารจำพวกฟอสฟอรัส คือ ที่ pH สูงกว่า 7 ฟอสเฟตจะเปลี่ยนเป็นฟอสเฟตไอออน แต่ถ้าสภาพสารละลายมีความเป็นกรดมาก ฟอสเฟตจะรวมตัวกับเหล็กหรืออะลูมิเนียมและตกตะกอนได้

2.4.4 ธาตุอาหาร

การเติบโตของสาหร่ายซึ่งเป็นผลมาจากการสังเคราะห์แสงนั้นขึ้นอยู่กับอาหาร ดังนั้นถ้าในน้ำที่เลี้ยงสาหร่ายมีความเข้มข้นของอาหารไม่เพียงพอกับความต้องการของสาหร่ายจะทำให้อัตราการเติบโตลดลง (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2541) ธาตุอาหารเป็นปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวทั้งในด้านปริมาณและด้านชนิดของธาตุอาหาร โดยทั่วไปธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวจะแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) และธาตุอาหารรอง (Micronutrients)

2.4.4.1 ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) ประกอบด้วยธาตุต่อไปนี้

คาร์บอน คาร์บอนที่สาหร่ายนำไปใช้ได้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ คาร์บอนอินทรีย์และคาร์บอนอนินทรีย์ สารคาร์บอนอินทรีย์จะทำหน้าที่เป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานแทนพลังงานที่สาหร่ายจะได้รับจากแสง (Ogbonna, Masui และ Tanaka, 1997)

ดังนั้นสาหร่ายบางชนิดสามารถเติบโตได้แม้จะเลี้ยงในที่มืด (Heterotrophic culture) ส่วนคาร์บอนอนินทรีย์นั้นในแหล่งน้ำธรรมชาติพบได้ 3 รูปแบบ คือ คาร์บอนไดออกไซด์ ไบคาร์บอเนต และคาร์บอเนตไอออน ซึ่งจะอยู่ในรูปใดนั้นขึ้นอยู่กับค่า pH ของแหล่งน้ำ โดยที่ค่า pH อยู่ในช่วง 7-9 จะอยู่ในรูปของเกลือไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) เมื่อ pH มากกว่า 9.5 จะอยู่ในรูปเกลือคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และเมื่อ pH มีค่าประมาณ 5 คาร์บอนไดออกไซด์จะอยู่ในรูปก๊าซที่ละลายน้ำ ทั้งนี้คาร์บอนอนินทรีย์จะมีการเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่สาหร่ายเองสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง ซึ่งจะอยู่ในรูปแบบใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายด้วย (Kaplan และ คณะ, 1986)

ไนโตรเจน สาหร่ายส่วนใหญ่สามารถใช้ในเตรท ไนโตรท์ และแอมโมเนียไม่ได้ นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนได้จากอากาศ ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Darley, 1982) โดยสาหร่ายส่วนใหญ่จะเลือกใช้แอมโมเนียก่อน เนื่องจากสาหร่ายสามารถใช้แอมโมเนียในกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยเฉพาะการสร้างกรดอะมิโนได้โดยตรง ในขณะที่ถ้าใช้ในเตรทต้องเปลี่ยนไนโตรท์ให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียก่อนเซลล์จึงจะสามารถนำไปใช้ได้ (Lobban และ Harrison, 1994)

ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเติบโตของสาหร่าย เนื่องจากฟอสฟอรัสมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายพลังงานและกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก ออกซิฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัสอนินทรีย์ที่สำคัญต่อการเติบโตของสาหร่าย โดยสาหร่ายส่วนใหญ่จะเก็บฟอสฟอรัสส่วนเกินไว้ในรูปพอลิฟอสเฟตในไซโทพลาสติกเกรนูล (Darley, 1982)

แคลเซียม แคลเซียมเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเติบโตสำหรับสาหร่ายสีเขียวและมีบทบาทในการสร้างผนังเซลล์ของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2541) ซึ่งปริมาณแคลเซียมที่สาหร่ายต้องการขึ้นอยู่กับปริมาณของธาตุอาหารชนิดอื่นด้วย เช่น แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี โคบอลท์ ทองแดง โมลิบดีนัม นิกเกิล อะลูมิเนียม โซเดียม ปोटัสเซียม และตะกั่ว เป็นต้น

โพแทสเซียมและแมกนีเซียม โพแทสเซียมเป็นธาตุอาหารที่เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์หลายชนิดในสาหร่ายและมีผลในการยับยั้งการเติบโตของสาหร่ายบางชนิด (Wiessner, 1962) ส่วนแมกนีเซียมมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2541)

ซัลเฟอร์ เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อสาหร่ายทุกชนิด ซัลเฟอร์ในสาหร่ายมีหลายรูปแบบเช่น กรดอะมิโน วิตามิน บี กรดแพนโทเทนิก ซัลเฟอร์ที่สาหร่ายใช้อยู่ในรูปสารอนินทรีย์ ได้แก่ ซัลเฟต (SO_4^{2-}) (Schiff, 1962)

2.4.4.2 ธาตุอาหารรอง (Micronutrients)

เป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการใช้ในปริมาณที่น้อยแต่สามารถช่วยให้สาหร่ายเติบโตได้ดีขึ้น ซึ่งธาตุอาหารรองนี้ถูกนำไปใช้เป็นสารประกอบของโมเลกุลที่จำเป็นต่อเซลล์ เช่นเอนไซม์ และวิตามินต่าง ๆ เป็นต้น แบ่งได้เป็นธาตุอาหารรองอนินทรีย์ และธาตุอาหารรองอินทรีย์

เหล็ก เป็นธาตุอาหารที่ช่วยดูดซึมไนโตรเจนและเหล็กเป็นองค์ประกอบของรงควัตถุ ถ้าสาหร่ายขาดเหล็กจะมีผลต่อสรีระและการเติบโตของสาหร่าย (Brock และคณะ, 1984) นอกจากนี้เหล็กยังเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์หลายชนิด เช่นเฟอร์ริดอกซิน (ferredoxin) อีกทั้งยังเป็นองค์ประกอบของไซโตโครม (cytochrome) และพอร์ไฟริน (porphyrin) เหล็กเป็นธาตุที่มักตกตะกอนในสารละลาย ฉะนั้นจึงต้องใส่สารที่ป้องกันการตกตะกอนที่เรียกว่า คีเลเตอร์ หรือ Chelating agent ในอัตราส่วนคีเลเตอร์กับเหล็กเท่ากับ 1:1 โมลาร์เสมอ

แมงกานีส เป็นธาตุที่จำเป็นต่อสาหร่ายเซลล์เดียวหลายชนิด ซึ่งแมงกานีสเป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย โดย Wiessner (1962) ได้ทดลองเติมแมงกานีสลงในอาหารเลี้ยงสาหร่าย พบว่ามีผลในการเพิ่มอัตราการเติบโตของสาหร่าย

สังกะสี เป็นธาตุอาหารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งมีผลต่อการเติบโตของ *Stichococcus bacillaris* (Wiessner, 1962) ในอาหารเลี้ยงสาหร่ายหลายชนิดจะมีสังกะสีอยู่ในความเข้มข้นประมาณ 0.01-0.1 มิลลิกรัม/ลิตร โดยมี EDTA เป็นคีเลเตอร์ นอกจากนี้ Stagman (1940) พบว่าเมื่อปริมาณสังกะสีลดลงจะทำให้การสร้างคลอโรฟิลล์ลดลง

ทองแดง พบในเอนไซม์สำหรับกระบวนการออกซิเดชัน และนอกจากนี้ทองแดงยังมีความสำคัญต่อกระบวนการหายใจ โดยพบว่าการหายใจลดลงเมื่อปริมาณ

ทองแดงลดลง (Wiessner, 1962) สำหรับ *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการจะมีอาการผิดปกติ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงสาหร่ายที่มีทองแดงต่ำกว่า 10^{-7} โมลาร์ (Walker, 1953)

2.5 ประโยชน์จากสาหร่าย

สาหร่ายมีประโยชน์ต่อมนุษย์ทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยในระบบนิเวศสาหร่ายถือเป็นผู้ผลิตขั้นต้นช่วยในการรักษาสมดุลให้กับระบบนิเวศโดยเฉพาะแพลงก์ตอนพืช (phytoplankton) นอกจากนี้สาหร่ายยังเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าโดย จินตนา สและน้อย (2543) ได้ทำการศึกษาสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 21 พบว่าสาหร่าย *Chlorococcum* sp. มีกรดไขมันจำเป็นมากถึงร้อยละ 67 ของกรดไขมันทั้งหมด และสาหร่าย *Isochrysis galbana* มีการสะสม DHA สูงสุดร้อยละ 5.10 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งสามารถนำมาใช้ผลิตเป็นอาหารสัตว์น้ำและอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน

ปัจจุบันการผลิตสาหร่ายขนาดเล็กสามารถทำได้ในเชิงการค้าขนาดใหญ่ โดยสาหร่ายที่นิยมเลี้ยงได้แก่ *Chlorella* sp. *Spirulina* sp. และ *Dunaliella* sp. เช่นในประเทศไต้หวันมีบริษัทผลิตสาหร่าย *Chlorella* sp. ถึง 30 บริษัท ส่วนราคาของ *Chlorella* sp. จะอยู่ในช่วง 10-15 ดอลลาร์สหรัฐต่อกิโลกรัม ซึ่งจะนำไปใช้ผลิตเป็นอาหารเสริมสุขภาพเช่นเดียวกับสาหร่าย *Spirulina* sp. ที่มีปริมาณโปรตีนสูง ในสาหร่าย *Dunaliella* sp. ได้รับความสนใจเนื่องจากมีเบตาแคโรทีนสูง ซึ่งความเข้มข้นของเบตาแคโรทีนในเซลล์ อาจสูงถึง 8-12 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (ดวงรัตน์ อินทร, 2548) เบตาแคโรทีนนี้มีประโยชน์ในการช่วยเพิ่มการเติบโตของสัตว์เลี้ยง เช่น เป็ด ไก่ โดยผลิตภัณฑ์ที่ผลิตมีทั้งในรูปแบบผงและเซลล์สกัด (Antarikanonda และ, 1992)

นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์อื่นๆที่กำลังพัฒนาการผลิต ได้แก่ กรดไขมันบางชนิดมีปริมาณการใช้เล็กน้อยแต่มีศักยภาพที่น่าสนใจ ตัวอย่างเช่น Docosahexanoic acid (DHA) Gamma-linolenic acid (GLA) และ Eicosapentaenoic acid (EPA) ตลาดในปัจจุบันมีความต้องการในรูปแบบบริสุทธิ์มาก ซึ่ง EPA เป็นกรดไขมันอิ่มตัวที่หายาก ในมนุษย์และสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ โดยทั่วไปพบมากในปลาทะเล ส่วน DHA เป็น primary structure fatty acid พบมากในเนื้อเยื่อประสาท ที่ active สูง และมีมากถึง 61 เปอร์เซ็นต์ ของไขมันที่เป็นโครงสร้างในเนื้อเยื่อของสมองและพบเป็นจำนวนมากในส่วนนอกของเรตินาของตา (ดวงรัตน์ อินทร, 2548)

ในทางการเกษตรสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดที่มีความสามารถในการตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศได้ถูกนำมาใช้เป็นปุ๋ยไนโตรเจนซึ่งช่วยในการเพิ่มธาตุอาหารแก่ดิน เช่น *Anabaena* และ *Nostoc* ในการศึกษาของวิทยา น้อยประเทศ (2539) พบว่าการใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Anabaena*, *Calothrix*, *Nostoc* และสาหร่ายผสม (*Anabaena*, *Calothrix* และ *Nostoc*) เพื่อเป็นปุ๋ยชีวภาพโดยใช้ร่วมกับการปลูกข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90 ผลปรากฏว่าข้าวมีการเติบโตและผลผลิตเพิ่มขึ้น

ในด้านพลังงานสาหร่ายขนาดเล็กได้รับความสนใจมากเพื่อใช้ในการผลิตพลังงานทดแทน เช่น นำมาผลิตไบโอดีเซล และ ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล เนื่องจากการปลูกพืชน้ำมันอื่นๆ ต้องใช้พื้นที่ขนาดใหญ่ทำให้เกิดภาวะแก่งแย่งพื้นที่เพาะปลูกพืชน้ำมันกับพืชที่ใช้เป็นอาหารซึ่งการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กต้องการพื้นที่เพียง 1 ถึง 3 เฮกตาร์ของพื้นที่ปลูกพืชน้ำมันเท่านั้น (Metting, 1996; Spolaore และคณะ, 2006) สาหร่ายขนาดเล็กที่มีรายงานการศึกษาวิจัยเพื่อผลิตน้ำมัน เช่น *Neochloris oleoabundans*, *Scenedesmus dimorphus*, *Euglena gracilis*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Isochrysis galbana*, *Botryococcus braunii*, *Dunaliella protothecoides* และสาหร่ายกลุ่มไดอะตอม (Oilgae , 2009)

อย่างไรก็ตามต้นทุนของการผลิตสาหร่ายยังคงมีราคาสูงโดยการผลิตสาหร่าย 10,000 ตันต่อปี นั้นจะมีราคาต้นทุนอยู่ที่ประมาณ 0.47-0.60 ดอลลาร์ต่อกิโลกรัมสำหรับการเลี้ยงระบบเปิดและในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแสง กรณีที่สาหร่ายมีน้ำมันสะสมในเซลล์ 30 เฮกตาร์ของน้ำหนักเซลล์ ราคาต้นทุนการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กจะอยู่ที่ 1.40-1.81 ดอลลาร์ต่อลิตร จากข้อมูลในปี พ.ศ. 2549 ต้นทุนรวมจากการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายโดยใช้เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแสงมีค่าประมาณ 2.80 ดอลลาร์ต่อลิตร ซึ่งถือว่ามีความสูงเมื่อเทียบกับต้นทุนการผลิตน้ำมันจากปาล์มดิบ (รัตนภรณ์ ลีสิงห์, 2550)

ดังนั้นจึงมีความสนใจที่จะผลิตสาหร่ายขนาดเล็กด้วยการเลี้ยงในน้ำเสียเพราะนอกจากจะประหยัดค่าใช้จ่ายแล้วสาหร่ายยังช่วยในการบำบัดน้ำเสียอีกด้วย เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถนำสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาใช้ในการเติบโต (Mata และคณะ, 2010)

โดยสาหร่ายมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส บีโอดี (biochemical oxygen demand: BOD) และ ซีโอดี (chemical oxygen demand: COD) รวมทั้งเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen: DO) (ศิริเพ็ญ ตริยไชยาพร, 2549) ซึ่งมีประโยชน์ในการป้องกันปัญหา eutrophication ในแหล่งน้ำ

2.6 การบำบัดน้ำด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายขนาดเล็กมีความสามารถในการปรับคุณภาพน้ำให้ดีขึ้นก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กสามารถช่วยลดค่า บีโอดี ซีโอดี แอมโมเนีย ไนโตรเจน ไนเตรท ออร์โธฟอสเฟต ดังนั้นจึงได้มีผู้สนใจทำการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการนำสาหร่ายขนาดเล็กมาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย เพราะนอกจากจะช่วยในเรื่องสิ่งแวดล้อมแล้วผลผลิตจากสาหร่ายยังเป็นที่ต้องการเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ด้วยคุณสมบัติการใช้สารอาหารของสาหร่ายดังกล่าวทำให้มีความพยายามที่จะใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสียหลากหลายประเภท เช่นในการศึกษาของ Kawai และคณะ (1984) ได้รายงานถึงการใช้ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ photosynthetic pond ในการกำจัดน้ำทิ้งจากชุมชนรวมทั้งสามารถนำสาหร่ายกลับมาใช้ประโยชน์ได้

Martinez และ คณะ (1999) ทำการศึกษาความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus obliquus* ในการบำบัดน้ำทิ้งจากชุมชนพบว่าสาหร่ายที่ทำการเลี้ยงในน้ำเสียที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อมีความสามารถในการลดปริมาณฟอสเฟตได้สูงสุดที่ 98 เปอร์เซ็นต์และมีความสามารถในการลดแอมโมเนียได้ 100 เปอร์เซ็นต์

Sreesai และ Pakpain (2007) ศึกษาการใช้สาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris* เพื่อลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งของกรุงเทพมหานครจากโรงบำบัดหนองแขม พบว่าสาหร่ายสามารถลดปริมาณไนโตรเจนรวม 62 เปอร์เซ็นต์และลดปริมาณฟอสฟอรัสได้ 55 เปอร์เซ็นต์ ทั้งยังสามารถเปลี่ยนปริมาณไนโตรเจนรวมเป็นปริมาณโปรตีนคิดเป็น 24 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ได้มีการศึกษาการใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ยศวดี สวัสดิรักษา (2547) ทำการเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Botryococcus braunii* ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลที่มีการปนเปื้อนไนเตรทและฟอสเฟตสูงและ

รายงานว่าสหรัยสามารถลดปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตในน้ำทิ้งได้ 87.8 เปอร์เซ็นต์และ 57.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ศิริรณกา พงษ์พีระ และ สุมนทิพย์ บุนนาค (2552) ศึกษาการใช้สาหร่ายสไปรูลินาบำบัดน้ำเสียจากโรงงานขนมจีน พบว่าสาหร่ายสามารถลดค่าไนเตรท-ไนโตรเจนได้ ในน้ำทิ้งความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ได้ดีที่สุดคือ โดยสามารถลดค่าไนเตรท-ไนโตรเจนจาก 19.20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็น 11.75 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อระยะเวลาเพาะเลี้ยงนาน 15 วัน สำหรับปริมาณฟอสฟอรัสรวมพบว่าสาหร่ายสไปรูลินาสามารถลดค่าฟอสฟอรัสรวมได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นน้ำทิ้ง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยสาหร่ายสไปรูลินาสามารถลดค่าฟอสฟอรัสจาก 79.10 มิลลิกรัม/ลิตร เป็น 21.50 มิลลิกรัม/ลิตรเมื่อระยะเวลาเพาะเลี้ยงนาน 15 วัน

สาหร่ายขนาดเล็กยังได้รับความสนใจในการศึกษาความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการปนเปื้อนของสารอินทรีย์สูง เช่นในการศึกษาของ Tarlan และคณะ (2002) ที่ใช้สาหร่ายสีเขียว (*Chlorella*) ร่วมกับสาหร่ายในกลุ่มไดอะตอม ในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานเยื่อกระดาษพบว่าสาหร่ายมีความสามารถในการลดปริมาณซีโอดีได้ถึง 58 เปอร์เซ็นต์ และสามารถดูดซับซีโอดีได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันมะกอกที่ปล่อยน้ำทิ้งที่มีค่าซีโอดีและบีโอดีสูง ในการศึกษาของ Hodaifa และคณะ (2008) ที่ใช้สาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus obliquus* ในการบำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำมันมะกอกที่มีการปนเปื้อนของสารอินทรีย์และเกลือโปแตสเซียมพบว่าสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการลดค่าบีโอดีได้สูงสุด 67 เปอร์เซ็นต์

Travieso และคณะ (2008) ได้ทดลองใช้สาหร่าย *Chlorella zofingiensis* ในการบำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำมันมะกอกเช่นกัน โดยสาหร่ายสามารถลด TCOD (total chemical oxygen demand) และ SCOD (soluble chemical oxygen demand) ได้ 37 เปอร์เซ็นต์ และ 45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Bestawy (2008) ได้ทำการทดลองใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 3 ชนิดได้แก่ *Anabaena oryzae* *Anabaena variabilis* และ *Tolypothrix ceytonica* ในการบำบัดน้ำเสียจาก

โรงงานอุตสาหกรรมในประเทศอียิปต์ พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองสาหร่าย *Anabaena variabilis* มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดีได้ 89.29 และ 73.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนสาหร่าย *Anabaena oryzae* มีประสิทธิภาพในการลด TSS (total suspended solids) ได้สูงสุด 64.37 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้สาหร่าย *Tolypothrix ceytonica* ยังสามารถดูดซับโลหะหนักที่ปนเปื้อนในน้ำทิ้งได้แก่ สังกะสี (Zn) และ ทองแดง (Cu) ได้ถึง 86.12 และ 94.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สาหร่ายขนาดเล็กยังสามารถนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มาจากภาคการเกษตร เช่น การศึกษาของ สุรวดี นาคธน (2539) ที่ใช้สาหร่าย *Chlorella* spp. ในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรโดยนำน้ำทิ้งมาทำการเจือจางความเข้มข้นของน้ำทิ้งลง 5 และ 10 เท่า พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งเจือจาง 5 เท่ามีประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ดีที่สุดซึ่งสัมพันธ์กับอัตราการเติบโตของสาหร่าย ฉะนั้นเมื่อสาหร่ายมีการเติบโตสูงก็จะทำให้การดึงสารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูงเช่นกัน สาหร่ายขนาดเล็กยังช่วยลดค่าซีโอดีโดยการที่สาหร่ายสามารถใช้สารอินทรีย์คาร์บอนในกระบวนการเมแทบอลิซึมได้ มีรายงานการใช้สาหร่าย *Spirulina* sp. ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งจากบ่อหมักก๊าซชีวภาพมูลสุกร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยพบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่มีการกักเก็บไว้ 2 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองสามารถลดไนเตรทได้ 88 เปอร์เซ็นต์ ลดแอมโมเนียได้ 98 เปอร์เซ็นต์ ลดฟอสเฟตได้ 35 เปอร์เซ็นต์ และลดซีโอดีได้ 97 เปอร์เซ็นต์ (จกมล พรหมยะ และ ศิริเพ็ญ ตริย์ไชยาพร, 2543)

น้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีมลสารปะปนอยู่ในปริมาณมากโดยเฉพาะไนโตรเจนและฟอสฟอรัสนั้นได้มีการศึกษาใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเช่นกันโดย Ha (2005) ทดลองใช้ *Chlorella kessleri* ในการกำจัดปริมาณสารอาหารจากการเพาะเลี้ยง African catfish พบว่า สาหร่ายสามารถกำจัดแอมโมเนียทั้งหมดได้ 23 เปอร์เซ็นต์ ไนเตรท 22.2 เปอร์เซ็นต์ ไนเตรท 2.2 เปอร์เซ็นต์ และ ฟอสเฟต 7.8 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลด้วยสาหร่ายขนาดเล็กโดยมีรายละเอียดดังนี้

3.1 ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการวิจัย

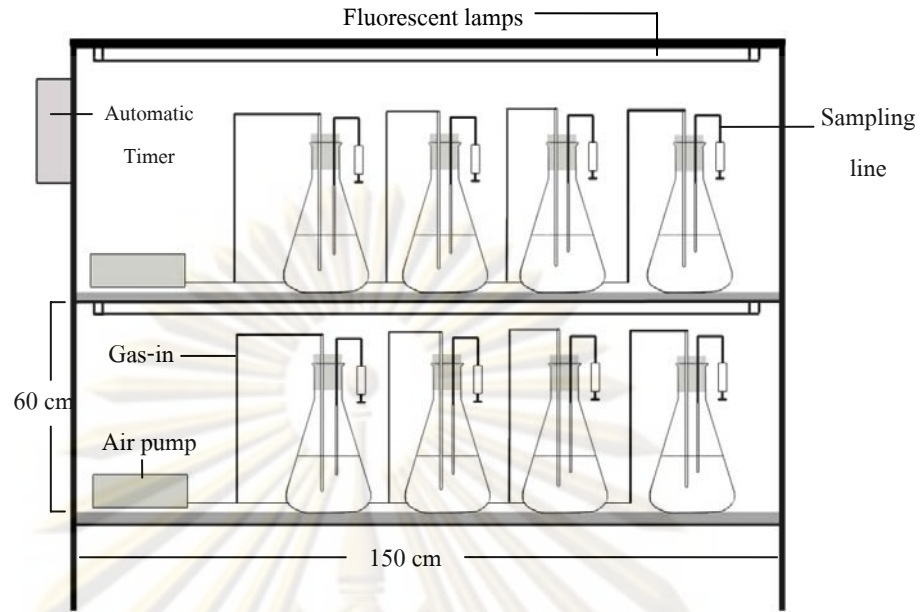
ตัวอย่างน้ำทิ้งที่ใช้ในการศึกษานี้ได้ทำการเก็บใน เดือนพฤศจิกายน 2552 โดยเป็นตัวอย่างน้ำทิ้งจากบ่อกักตะกอนซึ่งผ่านกระบวนการบำบัดแบบไร้อากาศและการบำบัดแบบให้อากาศมาแล้ว ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทน้ำมันพีชปทุม จำกัด

3.2 ระบบเพาะเลี้ยงสาหร่าย

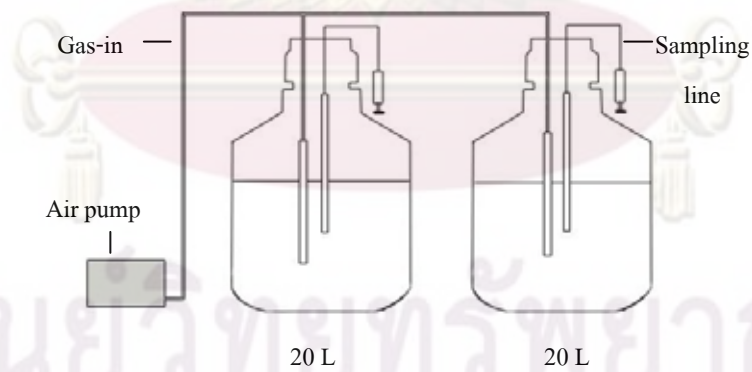
ระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในงานวิจัยนี้เป็นการเพาะเลี้ยงแบบกะ (batch cultivation) โดยการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กและการศึกษาผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 2 ลิตร วางบนชั้นเลี้ยงที่มีการติดหลอดไฟ (Philip lifemax TLD 36w/865 cold daylight) ใว้ที่ด้านบนจำนวน 4 หลอด เมื่อเปิดไฟทุกหลอดจะมีความเข้มแสงสูงสุดที่ 60 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) เพื่อเป็นแหล่งกำเนิดแสงโดยให้ช่วงแสงสว่าง:มืด 12:12 ชั่วโมง ให้อากาศต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง



รูปที่ 3.1 ระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ



ในการศึกษาการเติบโตและความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติและการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็กทำการเลี้ยงสาหร่ายในถังเลี้ยงปริมาตร 20 ลิตร โดยมีการให้อากาศต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง



รูปที่ 3.3 ระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายกลางแจ้ง

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์อื่นๆ

3.3.1 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ใช้เก็บหัวเชื้อและเพาะเลี้ยงสาหร่ายตั้งต้น โดยทำการติดหลอดไฟจำนวน 4 หลอด (Philip lifemax TLD 36w/865 cold daylight) เพื่อเป็นแหล่งกำเนิดแสง และควบคุมการเปิด-ปิดไฟด้วยเครื่องควบคุมการเปิด-ปิดไฟ (National TB179)



รูปที่ 3.4 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ

3.3.2 เครื่องวัด pH และอุณหภูมิ (Accumet 1003) สำหรับวัดค่าความเป็นกรด-เบส และอุณหภูมิของระบบเลี้ยง

3.3.3 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ใช้สำหรับฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับอาหารเลี้ยงสาหร่ายในขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายตั้งต้น โดยใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3.3.4 ถังเลี้ยง มีลักษณะเป็นถังทรงกระบอกทำจากพอลิคาร์บอเนต (polycarbonate) ขนาดความจุ 20 ลิตร โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 28.9 เซนติเมตรและสูง 42.9 เซนติเมตร

3.3.5 เครื่องวัดความเข้มแสง (LI-COR Model LI-250 light meter) สำหรับวัดความเข้มแสงที่ใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย

3.3.6 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centromix Model S-549) ใช้สำหรับแยกสาหร่ายจากอาหารเลี้ยง

3.3.7 เครื่อง gas chromatography (Shimadzu GC-2010) ใช้สำหรับวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก

3.4 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.4.1 การเตรียมพันธุ์สาหร่าย

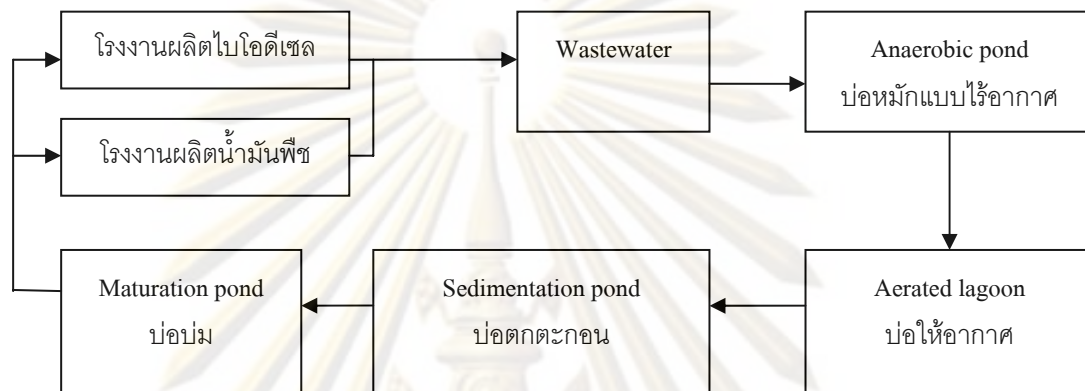
สาหร่ายที่ใช้ในการทดลองนี้แยกได้จากน้ำทิ้งในบ่อตกตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานน้ำมันพืชปทุม จังหวัดปทุมธานี โดยทำการกรองสาหร่ายผ่านถุงกรองแพลงก์ตอนขนาดตาผ้า 20 ไมครอน จากนั้นนำสาหร่ายมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคล้างเซลล์ด้วยไมโครปิเปต ภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการเพาะบนอาหารวุ้น (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2541) เมื่อได้สาหร่ายสายพันธุ์เดี่ยว (unialgal culture) แล้วจึงทำการขยายพันธุ์ในอาหารเหลวสูตร Bold's basal medium (Bold, 1949) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยทำการเลี้ยงแบบปลอดเชื้อ (aseptic technique) ในหลอดทดลองใช้ปริมาตรอาหาร 3-5 มิลลิลิตรเพื่อเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น ภายใต้สภาวะความเข้มแสง 50 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ช่วงแสงสว่าง: มีด 12:12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เมื่อสาหร่ายมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นซึ่งใช้เวลาประมาณ 7-14 วัน จึงขยายปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการศึกษาต่อไป



รูปที่ 3.5 ขั้นตอนการเตรียมพันธุ์สาหร่าย

3.4.2 การเก็บและวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากบ่อดักตะกอนของโรงงานน้ำมันพืชปทุม (รูปที่ 3.6) ตรวจวัดค่าความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ ของแข็งแขวนลอย บีโอดี ซีโอดี แอมโมเนีย และ ออร์โธฟอสเฟต ตามวิธีมาตรฐานในตารางที่ 3.1



รูปที่ 3.6 แผนผังระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานน้ำมันพืชปทุม

ตารางที่ 3.1 ค่าพารามิเตอร์ที่ศึกษาและวิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้ง

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
ความเป็นกรด-เบส	pH meter (Accumet รุ่น 1003, Fisher Scientific)
อุณหภูมิ	thermometer (Accumet รุ่น 1003, Fisher Scientific)
ของแข็งแขวนลอย	gravimetric method (APHA, AWWA and WPCF, 1992)
แอมโมเนีย	phenate method (APHA, AWWA and WPCF, 1992)
ไนเตรท	cadmium reduction (APHA, AWWA and WPCF, 1992)
ฟอสเฟต	ascorbic method (APHA, AWWA and WPCF, 1992)
บีโอดี	5 days Incubation (APHA, AWWA and WPCF, 1992)
ซีโอดี	closed reflux (APHA, AWWA and WPCF, 1992)

3.4.3 การศึกษาเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

เตรียมหัวเชื้อสาหร่ายโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวปริมาตร 100 มล. เลี้ยงในอุณหภูมิตามธรรมชาติของห้องทดลองให้แสงสว่างความเข้มแสง 60 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ช่วง แสงสว่าง:มืด 12:12 ชั่วโมง ทำการเขย่าขวดวันละหนึ่งครั้ง เมื่อได้หัวเชื้อในระยะเอกซ์โพเนนเชียล นำไปปั่นเหวี่ยง 2 ครั้ง ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลาครั้งละ 5 นาที ในน้ำกลั่น พักเซลล์ไว้ 2 วัน ทำการเขย่าขวดวันละหนึ่งครั้ง นำหัวเชื้อมาทำการศึกษาความสามารถของสาหร่ายในการบำบัดน้ำทิ้งโดยนำสาหร่ายมาเลี้ยงในน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตไบโอดีเซลที่กรองผ่านกระดาษกรอง GF/C ปริมาตร 1 ลิตร วิเคราะห์คุณภาพน้ำก่อนเริ่มทำการทดลองเพื่อหาค่าความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ ของแข็งแขวนลอย บีโอดี ซีโอดี แอมโมเนีย ไนเตรท และ ออร์โธฟอสเฟต แบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลองโดยใช้สาหร่ายชนิดเด่น 4 ชนิดและชุดควบคุมที่ไม่ใส่สาหร่าย (ตารางที่ 3.2) ชุดการทดลองละ 3 ข้ำ ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 12 วัน

ตารางที่ 3.2 แผนการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

ชุดการทดลอง	การทดลอง
ชุดการทดลองที่ 1	ชุดควบคุม (น้ำทิ้งไม่เติมสาหร่าย)
ชุดการทดลองที่ 2	น้ำทิ้ง + สาหร่าย A
ชุดการทดลองที่ 3	น้ำทิ้ง + สาหร่าย B
ชุดการทดลองที่ 4	น้ำทิ้ง + สาหร่าย C
ชุดการทดลองที่ 5	น้ำทิ้ง + สาหร่าย D

จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างเซลล์ใส่ใน haemocytometer เพื่อตรวจนับคำนวณความหนาแน่นของเซลล์คำนวณหาอัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate; μ) ในระยะการเติบโตที่คูณ (exponential phase) และเวลาการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าของสาหร่าย ดังสมการ (Guillard, 1975)

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

และ

$$G = \frac{\ln 2}{\mu}$$

โดย N_0 = จำนวนเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

N_t = จำนวนเซลล์สุดท้าย (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

μ = อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)

t = เวลาระหว่าง N_0 กับ N_t (วัน)

G = เวลาการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (วัน)

เก็บน้ำสำหรับวิเคราะห์ ค่ากรด-เบส อุณหภูมิ แอมโมเนีย ไนเตรท และ ออร์โทฟอสเฟต ทุกสามวันและวิเคราะห์ค่าของแข็งแขวนลอย บีโอดี ซีโอดี เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

3.4.4 การศึกษาผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

คัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลจากการศึกษาที่ 3.4.3 นำมาเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ปริมาตร 100 มล. เลี้ยงภายใต้อุณหภูมิตามธรรมชาติของห้องทดลองให้แสงสว่างความเข้มแสง 60 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ช่วง แสงสว่าง:มืด 12:12 ชั่วโมง ทำการขยายขวดวันละหนึ่งครั้ง เมื่อได้หัวเชื้อในระยะเอกซ์โพเนนเชียล นำไปปั่นเหวี่ยง 2 ครั้งด้วยความเร็วรอบ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลาครั้งละ 5 นาที ในน้ำกลั่นที่ไม่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ พักเซลล์ไว้ 2 วัน นำสาหร่ายมาศึกษาผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลเลี้ยงในน้ำทิ้งที่กรองผ่านกระดาษกรอง GF/C โดยชุดการทดลองที่ 1 เป็นชุดไม่มีการเติมสาหร่ายและไม่มีการปรับปริมาณธาตุอาหาร การทดลองชุดที่ 2 เป็นชุดที่ไม่มีการเติมสาหร่ายแต่มีการเติมธาตุอาหารรอง (ตามสูตรอาหาร Bold's basal medium) ลงในน้ำทิ้ง ชุดการทดลองที่ 3 เป็นชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมสาหร่ายแต่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 4 เป็นชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมสาหร่ายแต่มีการเติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 5 เป็นชุดเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งไม่มีการปรับสารอาหาร ชุดการทดลองที่ 6 เป็นชุดการทดลองที่มีการปรับสารอาหารโดยการเติมธาตุ

อาหารรอง ชุดการทดลองที่ 7 เป็นชุดการทดลองที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร ชุดการทดลองที่ 8 เป็นชุดการทดลองที่มีการเติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร (ตารางที่ 3.3) ชุดการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ โดยมีปริมาตรในการเลี้ยง 1 ลิตร วิเคราะห์คุณภาพน้ำก่อนเริ่มทำการทดลองเพื่อหาค่าความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ ของแข็งแขวนลอย บีโอดี ซีโอดี แอมโมเนีย ไนเตรท และออร์โธฟอสเฟต ใช้เวลาในการทดลอง 12 วัน จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างทุกวัน หาความหนาแน่นของเซลล์สำหรับย โดยนำตัวอย่างสำหรับยที่เก็บมาหยดลงบนสไลด์นับเซลล์ (haemocytometer) นำไปนับจำนวนเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของเซลล์สำหรับย (เซลล์/มิลลิลิตร) และคำนวณหาค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate; μ) เวลาการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าของสำหรับยระยะเวลาที่เลี้ยง (วัน) เก็บน้ำสำหรับวิเคราะห์ค่ากรด-เบส อุณหภูมิ แอมโมเนีย ไนเตรท และออร์โธฟอสเฟต ทุกสามวัน วิเคราะห์ค่าของแข็งแขวนลอย บีโอดี และ ซีโอดี เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ตารางที่ 3.3 แผนการทดลองผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

ชุดการทดลอง	เติมสำหรับย	ธาตุอาหารรอง	ปรับไนเตรทเป็น 40 มก./ล.
ชุดการทดลองที่ 1	0	0	0
ชุดการทดลองที่ 2	0	+	0
ชุดการทดลองที่ 3	0	0	+
ชุดการทดลองที่ 4	0	+	+
ชุดการทดลองที่ 5	+	0	0
ชุดการทดลองที่ 6	+	+	0
ชุดการทดลองที่ 7	+	0	+
ชุดการทดลองที่ 8	+	+	+

หมายเหตุ + มีการเพิ่มลงในระบบเลี้ยง

0 ไม่มีการเพิ่มลงในระบบเลี้ยง

3.4.5 การศึกษาผลของปริมาณไนเตรตต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

เตรียมหัวเชื้อสาหร่ายโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเหลวปริมาตร 100 มล. เลี้ยงภายใต้อุณหภูมิตามธรรมชาติของห้องทดลองให้แสงสว่างความเข้มแสง 60 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ช่วง แสงสว่าง:มืด 12:12 ชั่วโมง ทำการเขย่าขวดวันละหนึ่งครั้ง เมื่อได้หัวเชื้อในระยะเวลาเอ็กซ์โพเนนเชียล นำไปปั่นเหวี่ยง 2 ครั้งด้วยความเร็วรอบ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลาครั้งละ 5 นาที ในน้ำกลั่นที่ไม่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ พักเซลล์ไว้ 2 วัน นำสาหร่ายมาศึกษาผลของปริมาณไนเตรตต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลเลี้ยงในน้ำทิ้งที่กรองผ่านกระดาษกรอง GF/C โดยชุดการทดลองที่ 1 เป็นชุดเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งไม่ปรับปริมาณไนเตรต ชุดการทดลองที่ 2 เป็นชุดการทดลองที่มีการปรับความเข้มข้นไนเตรตเป็น 20 มิลลิกรัม/ลิตร ชุดการทดลองที่ 3 เป็นชุดการทดลองที่มีการปรับความเข้มข้นไนเตรตเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร และ ชุดการทดลองที่ 4 เป็นชุดการทดลองที่มีการปรับความเข้มข้นไนเตรตเป็น 80 มิลลิกรัม/ลิตร (ตารางที่ 3.4) ชุดการทดลองชุดละ 3 ขั้ว โดยมีปริมาตรในการเลี้ยง 1 ลิตร วิเคราะห์คุณภาพน้ำก่อนเริ่มทำการทดลองเพื่อหาค่าความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ ของแข็งแขวนลอย บีโอดี ซีโอดี แอมโมเนีย ไนเตรต ออร์โธฟอสเฟต ใช้เวลาในการทดลอง 12 วัน จากนั้นสู่มเก็บตัวอย่างทุกวัน หาความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย โดยนำตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บมาหยดลงบนสไลด์นับเซลล์ (haemocytometer) นำไปนับจำนวนเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย(เซลล์/มิลลิลิตร)และระยะเวลาที่เลี้ยง (วัน) แล้วคำนวณหาอัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate; μ) เวลาการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าของสาหร่ายระยะเวลาที่เลี้ยง (วัน) เก็บน้ำสำหรับวิเคราะห์ค่ากรด-เบส อุณหภูมิ แอมโมเนีย ไนเตรต และออร์โธฟอสเฟต ทุกสามวัน วิเคราะห์ค่าของแข็งแขวนลอย บีโอดี และ ซีโอดี เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.4 แผนการทดลองผลของปริมาณไนเตรทต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

ชุดการทดลอง	การทดลอง
ชุดการทดลองที่ 1	ไม่มีการปรับปริมาณไนเตรท
ชุดการทดลองที่ 2	ปรับไนเตรทเป็น 20 มก./ล
ชุดการทดลองที่ 3	ปรับไนเตรทเป็น 40 มก./ล
ชุดการทดลองที่ 4	ปรับไนเตรทเป็น 80 มก./ล

3.4.6 การศึกษาการเติบโตและความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ

ขยายขนาดการเลี้ยงจากปริมาตรการเลี้ยง 100 มิลลิลิตร เป็น 1 ลิตร และ 10 ลิตร ตามลำดับโดยเตรียมหัวเชื้อสำหรับโดยการเพาะเลี้ยงสำหรับในอาหารเหลวปริมาตร 1 ลิตร เลี้ยงภายใต้อุณหภูมิตามธรรมชาติของห้องทดลองให้แสงสว่างความเข้มแสง 60 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ช่วง แสงสว่าง:มืด 12:12 ชั่วโมง ให้อากาศตลอด 24 ชั่วโมง เมื่อได้หัวเชื้อในระยาะเอกซีโพเนเซียล นำไปปั่นเหวี่ยง 2 ครั้งด้วยความเร็วรอบ 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลาครั้งละ 5 นาที ในน้ำกลั่นที่ไม่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ พักเซลล์ไว้ 2 วัน แล้วจึงนำมาเลี้ยงในถังเลี้ยงพอล리카ร์บอนเนต (Nalgene® Culture Vessels with ports; EW-50301-50) ขนาดความจุ 20 ลิตร เลี้ยงสำหรับในน้ำทิ้งที่มีการปรับสภาพให้เหมาะสมตามการทดลอง เบื้องต้นโดยใช้แสงธรรมชาติ จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างทุกวัน หาความหนาแน่นของเซลล์สำหรับโดยนำตัวอย่างสำหรับที่เก็บมาหยดลงบนสไลด์นับเซลล์ (haemocytometer) นำไปนับจำนวนเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของเซลล์สำหรับ (เซลล์/มิลลิลิตร) และระยะเวลาที่เลี้ยง (วัน) แล้วคำนวณหาค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate; μ) เวลาการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าของสำหรับระยะเวลาที่เลี้ยง(วัน) เก็บเกี่ยวสำหรับเมื่อสิ้นสุดการทดลองเพื่อศึกษามวลชีวภาพในรูปของน้ำหนักแห้งด้วยการสูบน้ำที่มีเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดละ 100 มิลลิลิตร จำนวน 3 ซ้ำ มากรองผ่านกระดาษกรอง GF/C ที่ทราบน้ำหนักให้แห้งแล้วชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง) เมื่อกรองแล้วนำกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง คำนวณหาน้ำหนักแห้งและหาน้ำหนักต่อเซลล์ เก็บน้ำสำหรับวิเคราะห์ค่ากรด-เบส อุณหภูมิ แอมโมเนีย ไนเตรท และออร์โธฟอสเฟต ทุกสามวัน วิเคราะห์ค่าของแข็งแขวนลอย บีโอดีและซีโอดี เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

3.4.7 การศึกษาองค์ประกอบทางชีวภาพของสาหร่ายขนาดเล็ก

ศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีและปริมาณที่พบในสาหร่ายขนาดเล็กโดยเก็บเกี่ยวเซลล์ด้วยถุงกรองขนาดตา 5 ไมครอน นำไปทำให้แห้งด้วยการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส 18 ชม. เมื่อเซลล์แห้งนำมาบดและเก็บเซลล์ใส่ในภาชนะที่ปิดสนิทเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางชีวเคมี ดังนี้

สกัดและวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเซลล์สาหร่ายที่ทำการเลี้ยงในน้ำที่โรงงานผลิตไบโอดีเซลภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติโดยใช้วิธีวิเคราะห์ของ Lowry (1951)

สกัดและวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ด้วยวิธี phenol-sulfuric acid และหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 485 นาโนเมตร (Kochert, 1978)

สกัดและวิเคราะห์ปริมาณไขมันรวม ด้วยวิธีของ Blight และ Dyer (1959)

สกัดและวิเคราะห์รงควัตถุ ด้วยวิธีของ Strickland and Parson (1968)

วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมัน โดยเปลี่ยนรูปเป็นกรดไขมันชนิดทรานส์ (trans fatty acid) ด้วยการเติม 0.01M NaOH ใน methanol จากนั้นนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบโดยใช้เครื่อง gas chromatography (Shimadzu รุ่น GC-2010) Column Omegawax เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร และตัวตรวจวัด (detector) แบบ FID (flame ionization detector)

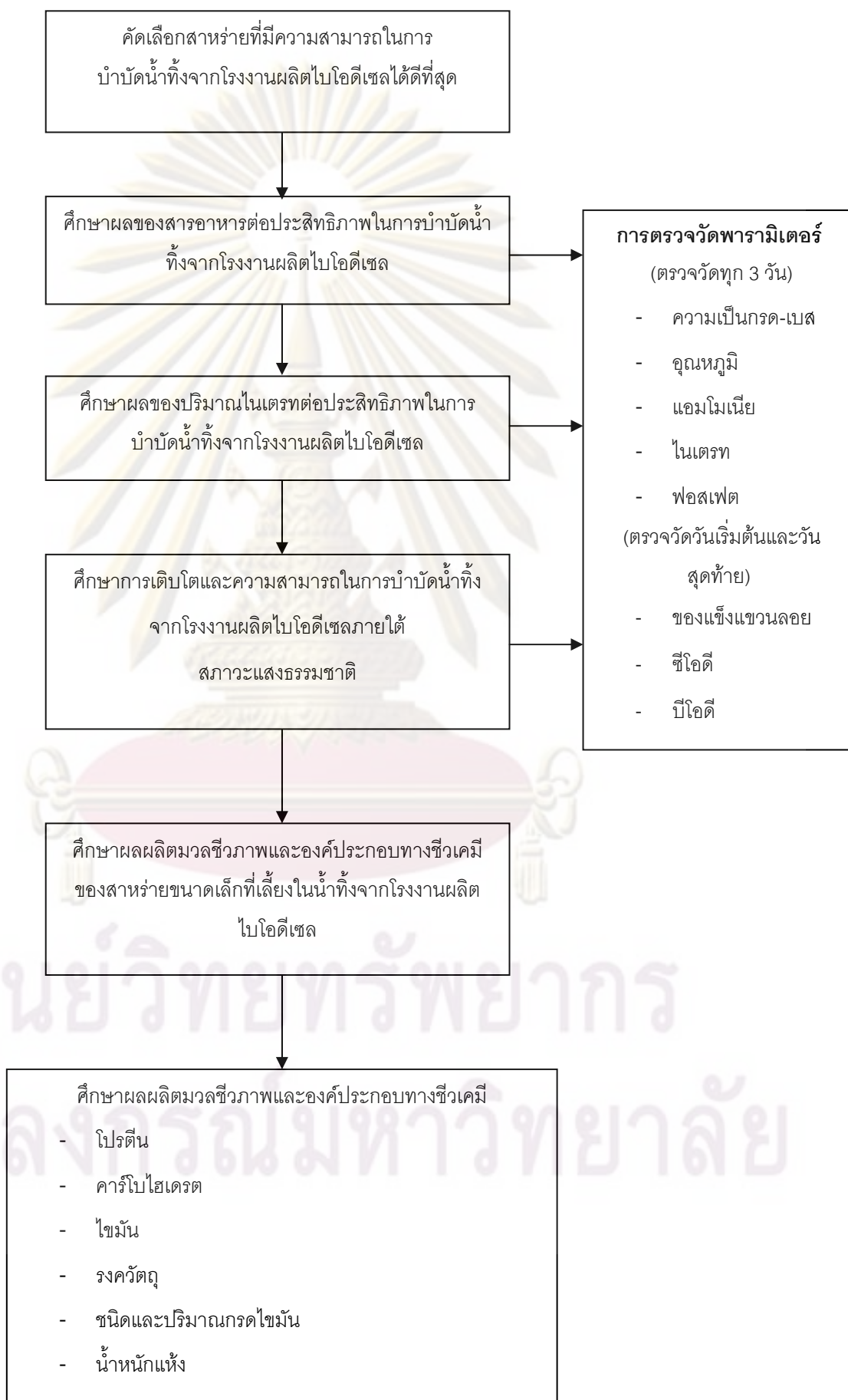
3.4.8 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ผลการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็ก ผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งและผลของปริมาณไนโตรเจนต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance)

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขั้นตอนการศึกษาความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำทิ้งจาก
โรงงานผลิตไบโอดีเซล



บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

การตรวจสอบลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งจากบ่อดักตะกอนของโรงงานผลิตไบโอดีเซล บริษัท น้ำมันพืชปทุม จำกัด จังหวัดปทุมธานี พบว่าน้ำทิ้งมีค่าความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม แต่พบว่าค่าของแข็งแขวนลอย ซีโอดี และ บีโอดี มีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนค่าแอมโมเนียและไนเตรทแม้ไม่มีเกณฑ์กำหนดในมาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรมแตเมื่อนำไปเทียบกับมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินพบว่ามีค่าเกินมาตรฐานโดยเฉพาะค่าแอมโมเนียและเมื่อทำการกรองน้ำทิ้งผ่านกระดาษกรอง GF/C พบว่าค่าของแข็งแขวนลอย ซีโอดี และ บีโอดี ลดลง ส่วนค่าของแอมโมเนีย ไนเตรท ฟอสเฟต มีค่าผันแปรเล็กน้อยอาจเนื่องมาจากความคลาดเคลื่อนในขั้นตอนการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

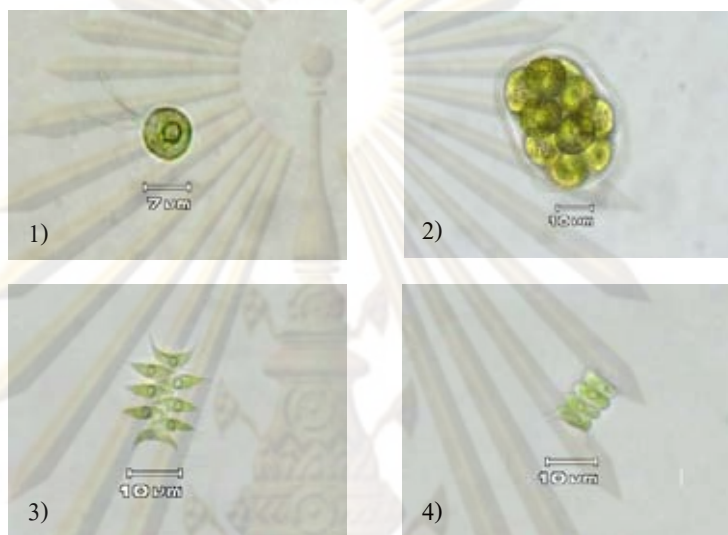
ตารางที่ 4.1 ค่าพารามิเตอร์ของน้ำทิ้งจากบ่อดักตะกอนก่อนและหลังการกรองผ่านกระดาษกรอง GF/C ของโรงงานผลิตไบโอดีเซล บริษัท น้ำมันพืชปทุม จำกัด จังหวัดปทุมธานี

พารามิเตอร์	น้ำทิ้งไม่ผ่านการกรอง	น้ำทิ้งผ่านการกรอง	มาตรฐานคุณภาพน้ำ*
ความเป็นกรด-เบส	7.5	7.5	5.5 – 9.0
อุณหภูมิ (°ซ)	30 ± 2	30 ± 2	< 40
ซีโอดี (มก./ล.)	314.16 ± 10.72	204.16 ± 9.72	100 – 200
บีโอดี (มก./ล.)	101.20 ± 8.77	95.40 ± 2.11	20 – 60
แอมโมเนีย (มก./ล.)	5.12 ± 0.86	4.42 ± 0.59	-
ไนเตรท (มก./ล.)	5.74 ± 1.55	5.45 ± 0.71	-
ฟอสเฟต (มก./ล.)	46.76 ± 7.62	45.25 ± 8.91	-

หมายเหตุ * มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม

4.2 การคัดแยกพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก

การคัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กจากน้ำทิ้งในบ่อตกตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานน้ำมันพืชปทุม จังหวัดปทุมธานี ได้สาหร่ายชนิดเด่น 4 ชนิดได้แก่ *Chlamydomonas* sp., *Pandorina* sp., *Scenedesmus quadricauda* และ *Scenedesmus dimorphus*



รูปที่ 4.1 เซลล์ของสาหร่ายที่ใช้ในการศึกษา 1) *Chlamydomonas* sp. 2) *Pandorina* sp.
3) *S. dimorphus* และ 4) *S. quadricauda*

4.3 การเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

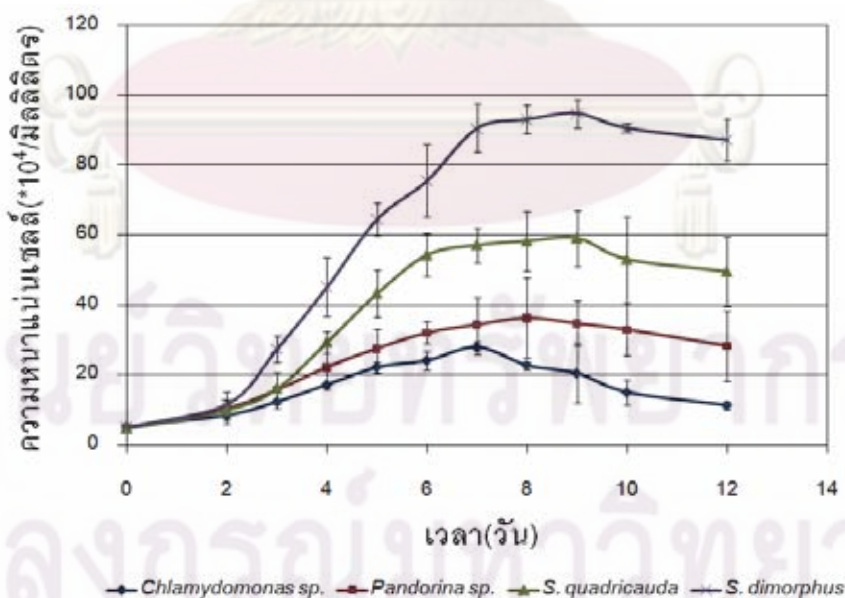
4.3.1 การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

การศึกษาเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด ได้แก่ *Chlamydomonas* sp., *Pandorina* sp., *Scenedesmus quadricauda* และ *Scenedesmus dimorphus* พบว่าสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด มีการเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการทดลอง แต่ในวันที่ 8 ของการทดลองพบว่าสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. เริ่มมีการตกตะกอนและมีสีจางลง จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองพบว่าสาหร่ายชนิดนี้มีการตกตะกอนอยู่ก้นภาชนะและมีสาหร่ายเกาะข้างภาชนะเป็นจำนวนมากซึ่งแสดงว่าสาหร่ายตายเกือบหมดแล้ว (ธิดา เพชรมณี, 2543)

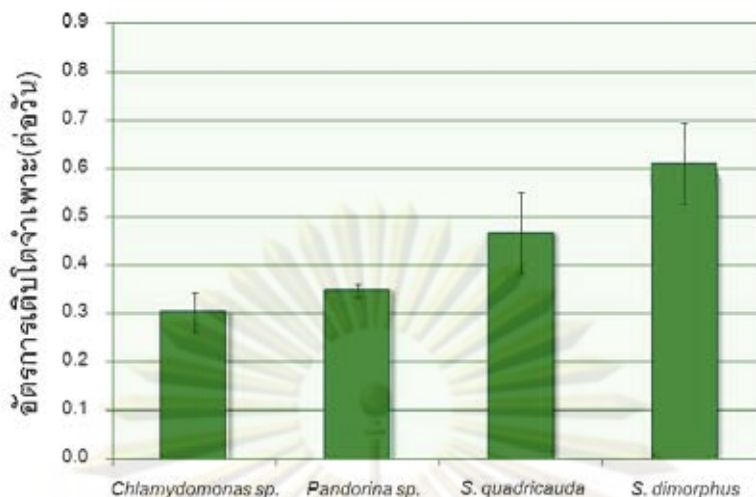
ในจำนวนสาหร่าย 4 ชนิดที่ทำการศึกษาพบว่า *S. dimorphus* มีอัตราการเติบโตจำเพาะและความหนาแน่นเซลล์สูงสุด โดยมีความหนาแน่นเซลล์ 9.48×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร และมีอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.62 ± 0.12 ต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับสาหร่ายชนิดอื่นรองลงมาคือ *S. quadricauda* มีอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.46 ± 0.08 ต่อวัน *Pandorina* sp. มีอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.34 ± 0.01 ต่อวัน และ *Chlamydomonas* sp. มีอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.30 ± 0.03 ต่อวัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ความหนาแน่นเซลล์ อัตราการเติบโตจำเพาะและเวลาของการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าของสาหร่ายขนาดเล็ก (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

ชนิดสาหร่าย	ความหนาแน่นเซลล์ สูงสุด ($\times 10^4$ /มล.)	อัตราการเติบโต จำเพาะ(ต่อวัน)	ระยะเวลาในการเพิ่ม จำนวนเป็นสองเท่า
<i>Chlamydomonas</i> sp	27.83 ± 1.92	0.30 ± 0.03	2.21 ± 0.25
<i>Pandorina</i> sp.	36.37 ± 1.37	0.34 ± 0.01	1.72 ± 0.19
<i>S. quadricauda</i>	59.04 ± 7.90	0.46 ± 0.08	1.33 ± 0.14
<i>S. dimorphus</i>	94.48 ± 4.12	0.62 ± 0.12	0.87 ± 0.03



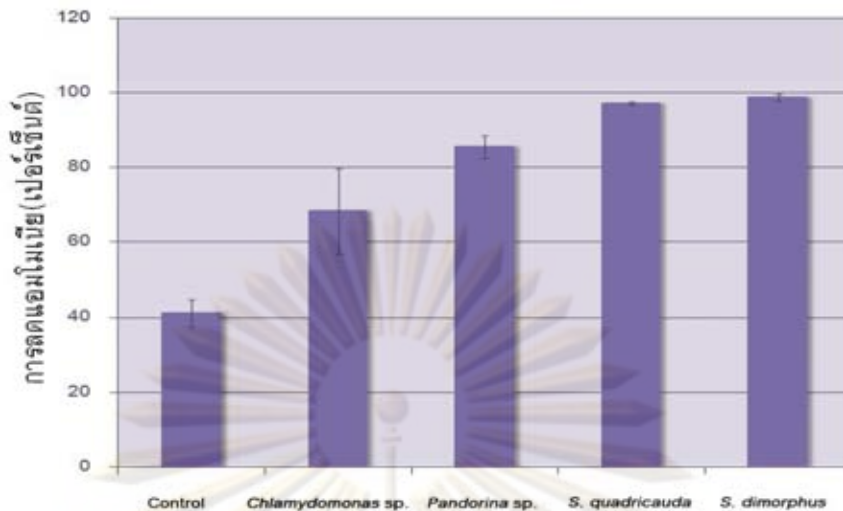
รูปที่ 4.2 การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิดที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน $n = 3$)



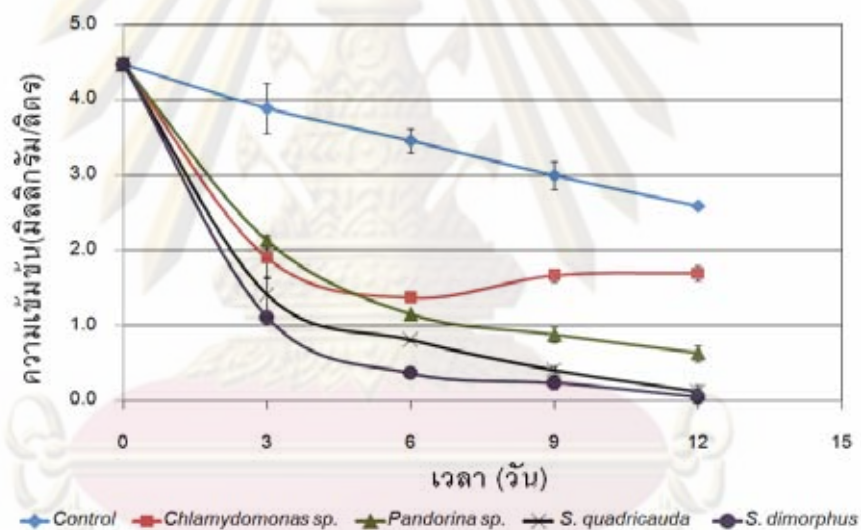
รูปที่ 4.3 อัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

4.3.2 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนโตรเจนอินทรีย์

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณแอมโมเนียพบว่าสาหร่ายชนิด *S. dimorphus* มีความสามารถในการลดปริมาณแอมโมเนียได้ดีที่สุดเท่ากับ 98.79 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) กับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสาหร่าย รองลงมาคือสาหร่ายชนิด *S. quadricauda* และสาหร่าย *Pandorina sp.* ซึ่งมีความสามารถในการลดปริมาณแอมโมเนียได้ 97.92 และ 85.61 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ(รูปที่ 4.4) เมื่อนำค่ามาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าประสิทธิภาพในการลดปริมาณแอมโมเนียของสาหร่าย *S. dimorphus* และ *S. quadricauda* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ซึ่งการทดลองนี้พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กสามารถลดปริมาณแอมโมเนียได้อย่างรวดเร็วในช่วง 3 วันแรก (รูปที่ 4.5) เนื่องจากในช่วงนี้สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าจึงมีการนำแอมโมเนียไปใช้ในการเติบโต สอดคล้องกับการศึกษาของ Kassim (2002) ที่ทำการเลี้ยงสาหร่าย *S. abundancse* *S. quadricauda* และ *Chlorella vulgaris* และพบว่าสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดมีการใช้แอมโมเนียได้ดีในช่วงสัปดาห์แรกของการทดลอง นอกจากนี้ McCarthy และคณะ (1977) ได้รายงานว่าสาหร่ายขนาดเล็กเลือกใช้ไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียก่อนรูปแบบอื่น ตามมาด้วย ยูเรีย ไนเตรทและไนไตรท์ ตามลำดับ กล่าวคือ เมื่อมีทั้งแอมโมเนียและไนเตรทอยู่ในอาหารสาหร่ายจะเลือกใช้แอมโมเนียก่อนแต่หากใช้ไนเตรทจะต้องเปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนียก่อน เนื่องจากแอมโมเนียเป็นธาตุอาหารสำคัญต่อสาหร่ายในการสร้างโปรตีนและสาหร่ายสามารถดูดซึมผ่านทางผนังเซลล์เพื่อนำไปสร้างกรดอะมิโนได้โดยตรง (Graham และ Wilcox, 2000)



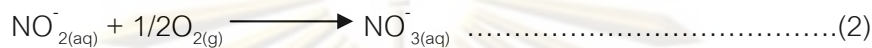
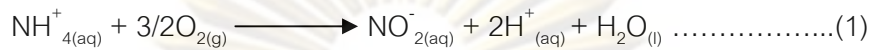
รูปที่ 4.4 ประสิทธิภาพการลดปริมาณแอมโมเนียของสาหร่ายขนาดเล็กรายชนิด 4 ชนิด ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)



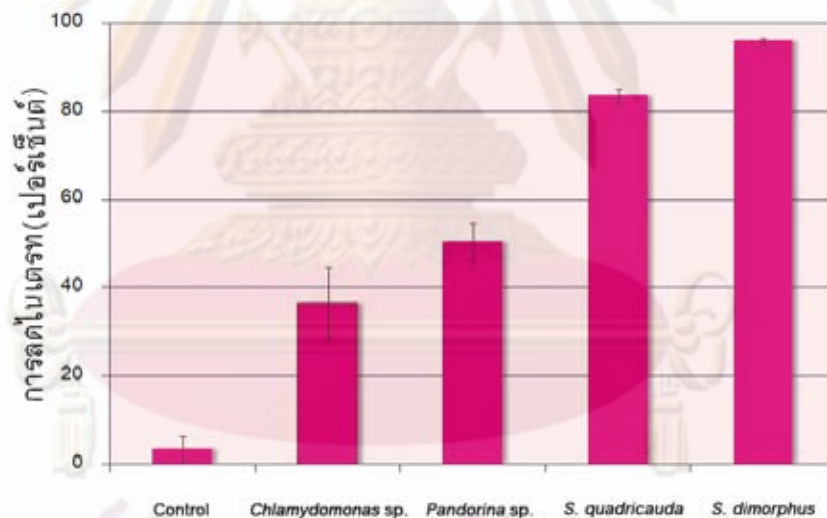
รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียในการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กรายชนิด 4 ชนิด เพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

ในชุดที่ทำการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กรายชนิด *Chlamydomonas* sp. พบว่าในวันที่ 9 มีปริมาณแอมโมเนียเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย อาจเนื่องมาจากในช่วงเวลาดังกล่าวสาหร่ายเริ่มตาย เมื่อสาหร่ายตายโปรตีนภายในเซลล์จะถูกปลดปล่อยออกมาและจะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียด้วยแบคทีเรียบางชนิดซึ่งจะทำให้แอมโมเนียในน้ำเพิ่มมากขึ้น (กรรณิกา ดิษยวงศ์, 2538) ในชุดการ

ทดลองที่ไม่มีการเติมสาหร่ายสามารถลดแอมโมเนียได้ถึง 41เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแอมโมเนียที่ลดลงนี้อาจเนื่องมาจากในระบบการทดลองมีการเติมอากาศต่อเนื่องตลอด 24 ชั่วโมงทำให้แอมโมเนียบางส่วนสูญเสียออกนอกระบบในรูปของก๊าซรวมทั้งมีบางส่วนถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรท์และสะสมอยู่ในรูปของไนเตรทด้วยกระบวนการไนตริฟิเคชัน (Hammer ,2005)



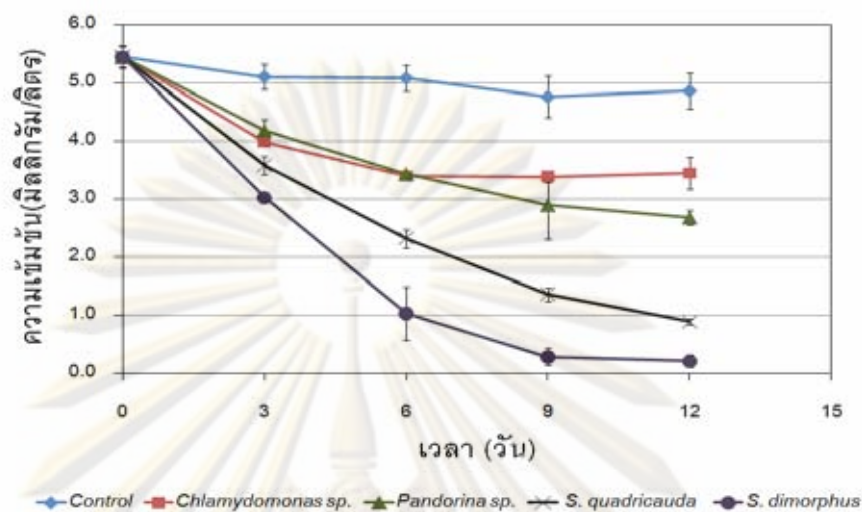
การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนเตรทพบว่า *S. dimorphus* มีความสามารถลดปริมาณไนเตรทได้ดีที่สุดเท่ากับ 95.78 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) กับสาหร่ายชนิดอื่น รองลงมาคือสาหร่าย *S. quadricauda* *Pandorina* sp. และ *Chlamydomonas* sp. โดยมีความสามารถในการลดปริมาณไนเตรทได้เท่ากับ 83.92 50.32 และ 36.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (รูปที่ 4.6)



รูปที่ 4.6 ประสิทธิภาพการลดปริมาณไนเตรทของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

จากการทดลองพบว่าสาหร่ายจะเริ่มดึงไนเตรทไปใช้อย่างรวดเร็วในช่วง 9 วันแรก (รูปที่ 4.7) เนื่องจากสาหร่ายจะใช้แอมโมเนียก่อนในช่วงแรกของการเติบโตเมื่อปริมาณแอมโมเนียในน้ำทิ้งลดลงจนไม่เพียงพอที่สาหร่ายจะนำมาใช้ในการเติบโตสาหร่ายก็จะเริ่มดึงไนเตรทมาใช้ (Kaplan และคณะ,1986) ดังนั้นจะเห็นว่าสาหร่าย *S. dimorphus* มีความสามารถในการลด

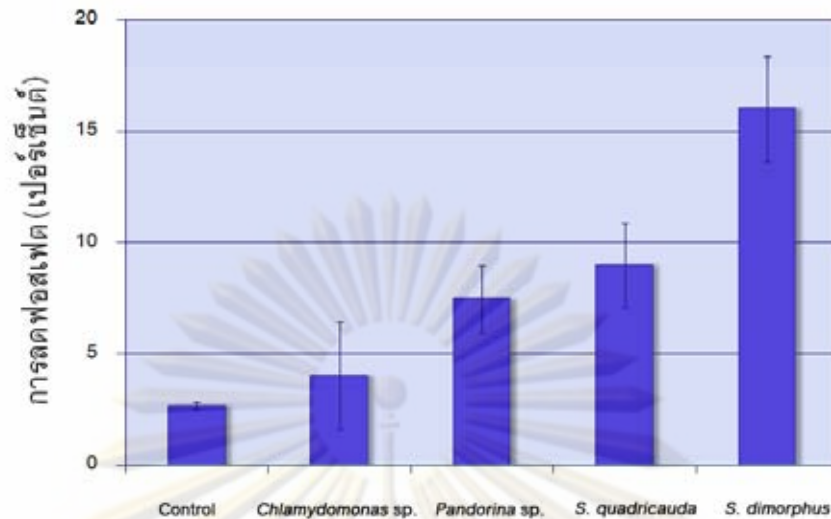
ปริมาณไนโตรเจนได้ดี โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบแอมโมเนียคงเหลือในน้ำทิ้งเพียง 0.05 มิลลิกรัม/ลิตรและไนเตรทคงเหลือในน้ำทิ้งเพียง 0.23 มิลลิกรัม/ลิตร



รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทในการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิดเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

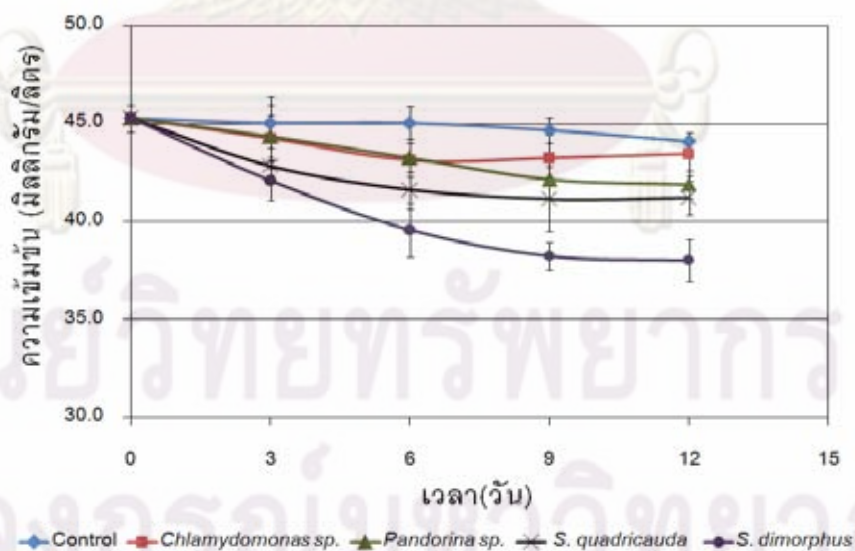
4.3.3 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟต

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตพบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* มีความสามารถในการลดปริมาณฟอสเฟตได้สูงสุด 16.02 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ กับสาหร่ายชนิดอื่น รองลงมาคือสาหร่ายชนิด *S. quadricauda* *Pandorina* sp. และ *Chlamydomonas* sp. ที่มีความสามารถในการลดปริมาณฟอสเฟตได้เท่ากับ 8.99 7.46 และ 4.03 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (รูปที่ 4.8) ผลการศึกษานี้พบว่า ประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตค่อนข้างต่ำอาจเนื่องมาจากปริมาณฟอสเฟตในน้ำทิ้งมีค่าสูงมาก (45.25 มิลลิกรัม/ลิตร) และไนโตรเจนในน้ำมีไม่เพียงพอต่อการเติบโตของสาหร่ายดังนั้นไนโตรเจนจะถูกใช้จนหมดก่อน (Kaplanและคณะ, 1986)



รูปที่ 4.8 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตของสาหร่ายขนาดเล็กรายชนิด 4 ชนิด ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

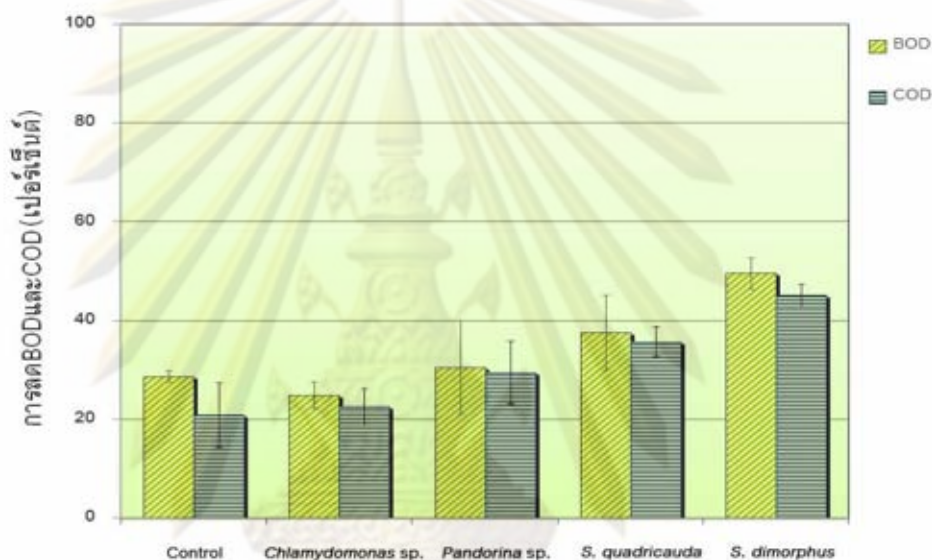
เมื่อพิจารณาความสามารถในการลดปริมาณฟอสเฟตของชุดที่ไม่มีการเติมสาหร่ายพบว่าปริมาณฟอสเฟตมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อย (2.67 เปอร์เซ็นต์) (รูปที่ 4.9) โดยปริมาณฟอสเฟตที่ลดลงนั้นอาจมาจากการเติมออกซิเจนให้กับน้ำทิ้งซึ่งจะทำให้ฟอสเฟตถูก oxidized ไปอยู่ในรูปของ Ferric Phosphate ที่ไม่ละลายน้ำและจะตกตะกอนเป็นผลให้ปริมาณฟอสเฟตลดลงได้เช่นกัน (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต, 2543)



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสเฟตในการทดลองเปรียบเทียบความสามารถของสาหร่ายขนาดเล็กรายชนิด 4 ชนิด เพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

4.3.4 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดี

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณซีโอดีและบีโอดี พบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* มีความสามารถในการลดปริมาณซีโอดีและค่าบีโอดีได้สูงสุดเท่ากับ 45.08 และ 50.58 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมและชุดที่เติมสาหร่ายชนิดอื่น ($P < 0.05$) รองลงมาได้แก่สาหร่าย *S. quadricauda* *Pandorina* sp. และ *Chlamydomonas* sp. ตามลำดับ (รูปที่ 4.10)



รูปที่ 4.10 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดีของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิดที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง จากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

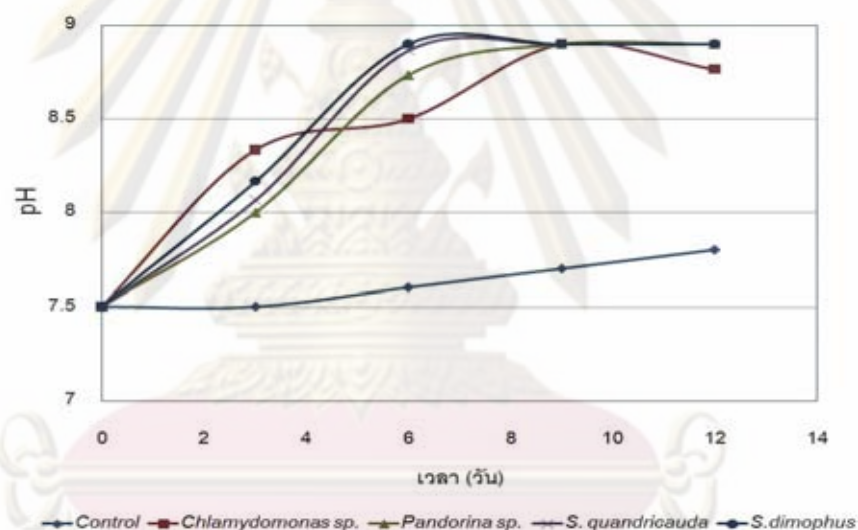
ค่าบีโอดีและซีโอดีที่ลดลงอาจเนื่องจากสาหร่ายสามารถนำสารอินทรีย์บางชนิดมาใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม (สุรวดี นาคธน, 2539) สอดคล้องกับการทดลองของ Hodaifa และคณะ (2008) ที่ทำการทดลองโดยใช้สาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ในการบำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำมันมะกอกที่มีการปนเปื้อนของสารอินทรีย์พบว่าสาหร่ายมีความสามารถในการลดค่าบีโอดีได้สูงสุด 67 เปอร์เซ็นต์ Pyle และคณะ (2008) รายงานว่าสาหร่าย *Schizochytrium limacinum* มีอัตราการเติบโตสูงขึ้นในอาหารที่มีการเติมกลีเซอรอลซึ่งได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและกลีเซอรอลที่เติมมีการปนเปื้อนของเมทานอลและสบู่ แสดงว่าสาหร่ายมีการดึงเอาสารอินทรีย์ไปใช้ในการเติบโตได้ นอกจากนี้สาหร่ายยังสามารถดึงเอาคาร์บอน ฟอสฟอรัสและไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของสารอินทรีย์มาใช้ได้เช่นเดียวกัน โดยมีรายงานว่า

สาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถเติบโตได้ดีในน้ำทิ้งจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์ที่มีการปนเปื้อนสารอินทรีย์ไนโตรเจนสูง (Jiri และคณะ, 2009)

ส่วนชุดที่ไม่มีการเติมสาหร่ายพบว่าประสิทธิภาพในการลดปริมาณ ซีโอดีและ บีโอดีได้ 24.96 และ 28.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อันเป็นผลมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์โดยใช้ออกซิเจนในการหายใจ (มันสิน ตัณฑุลเวศม์, 2545)

4.3.5 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสและปริมาณของแข็งแขวนลอย

จากการศึกษาค่าความเป็นกรด-เบสพบว่าในชุดที่มีการเติมสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าค่า pH เพิ่มขึ้นจาก 7.5 เป็น 8.9 (รูปที่ 4.11)

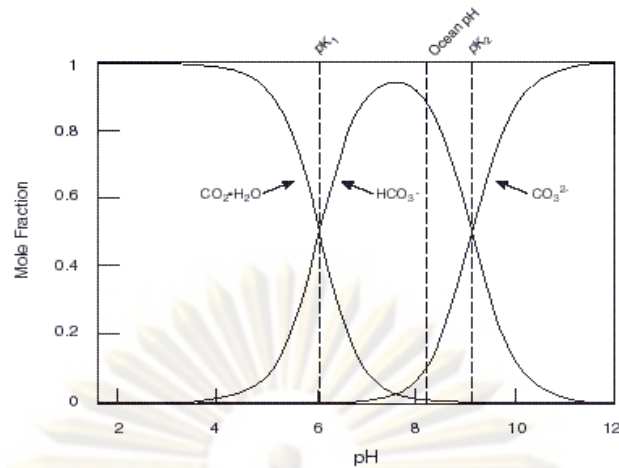


รูปที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสระหว่างการทดลองเปรียบเทียบความสามารถ

ของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิดเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

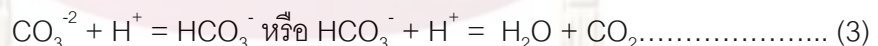
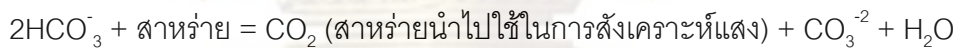
การเพิ่มของค่าความเป็นกรด-เบส นี้มีความสัมพันธ์กับการเติบโตของสาหร่าย ซึ่งโดยปกติคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำจะอยู่สามรูปแบบ ได้แก่ CO_2 , H_2CO_3 และ HCO_3^- โดย CO_2 (aq) แตกตัวดังสมการที่ 1 ซึ่งอัตราส่วนของ CO_2 , HCO_3^- และ CO_3^{2-} เป็นปัจจัยกำหนดปริมาณของ H^+ ซึ่งมีผลต่อค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำ (รูปที่ 4.12)





รูปที่ 4.12 ปริมาณ CO_2 , HCO_3^- และ CO_3^{2-} ที่สัมพันธ์กับระดับค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำ (มันสิน ตัณฑุลเวศม์, 2545)

ค่าความเป็นกรด-เบสที่เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากการที่สาหร่ายดึง CO_2 (aq) ไปใช้ในการสังเคราะห์แสงส่งผลให้ปริมาณของ CO_2 (aq) ลดลงจึงทำให้คาร์บอนในรูปอื่น ๆ ในสมการที่ 1 เปลี่ยนรูปไปทางซ้ายของสมการเพื่อให้เข้าสู่สมดุลใหม่ กรดคาร์บอนิกและ H^+ ในน้ำจึงลดลงทำให้ค่า pH เพิ่มขึ้น นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดสามารถใช้คาร์บอนในรูปของไบคาร์บอเนตได้ดี ดังนั้นในน้ำจึงเหลือ CO_2 ในรูปคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) (สมการที่ 2) และค่าความเป็นกรด-เบสที่เพิ่มขึ้นเกิดจากการลดลงของไฮโดรเจนไอออน (H^+) ดังที่แสดงในสมการที่ 3



ปริมาณของแข็งแขวนลอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสาหร่ายมีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 0.71 มิลลิกรัม/ลิตร เป็น 10.89 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งอาจเป็นผลจากการเติมอากาศในระบบเลี้ยงตลอดเวลา ทำให้สารละลายบางชนิดถูกออกซิไดซ์และตกตะกอน เช่น ฟอสเฟตที่ละลายน้ำถูกออกซิไดซ์ไปอยู่ในรูปของ ferric phosphate ที่ไม่ละลายน้ำและตกตะกอน (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, 2543) นอกจากนี้อาจเกิดจากการที่จุลินทรีย์ในน้ำทิ้งถูกกวนผสมกันอยู่ในระบบที่มีการเติมอากาศเมื่อมาชนกันก็จะจับรวมตัวกันเป็นตะกอนเรียกว่า ฟลอค (floc) และเมื่อกลุ่มจุลินทรีย์เหล่านี้ไปสัมผัสกับน้ำเสียซึ่งมีสารแขวนลอย (suspended materials) หรือ คอลลอยด์ (colloidal materials) ก็จะจับมวลสารเหล่านั้นเอาไว้ทำให้ตะกอนมีขนาดใหญ่ขึ้น

(Hammer ,2005) ส่วนชุดการทดลองที่มีการเติมสาหร่ายค่าของแข็งแขวนลอยจะอยู่ในช่วง 20.14 - 35.61 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าที่เพิ่มขึ้นนั้นเนื่องมาจากมีสาหร่ายบางส่วนหลุดผ่านผ้ากรอง (ขนาดตา 5 ไมครอน) ไปกับน้ำในขณะเก็บเกี่ยวร่วมกับในน้ำมีปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นจึงส่งผลต่อค่าของแข็งแขวนลอย

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

	Control	<i>Chlamydomonas</i> sp.	<i>Pandorina</i> sp.	<i>S. quadricauda</i>	<i>S. dimorphus</i>
แอมโมเนีย	41.37 \pm 3.74	61.33 \pm 9.63	85.61 \pm 2.99	97.29 \pm 0.45	98.79 \pm 0.91
ไนเตรท	3.68 \pm 2.42	36.25 \pm 8.27	50.32 \pm 4.20	83.36 \pm 1.67	95.78 \pm 0.64
ฟอสเฟต	2.67 \pm 0.17	4.03 \pm 2.42	7.46 \pm 1.52	8.99 \pm 1.89	16.02 \pm 2.35
บีโอดี	28.69 \pm 7.52	24.91 \pm 2.72	30.57 \pm 4.67	37.56 \pm 7.63	50.58 \pm 3.17
ซีโอดี	24.96 \pm 6.55	22.57 \pm 3.68	29.47 \pm 6.41	35.72 \pm 3.03	45.08 \pm 2.29

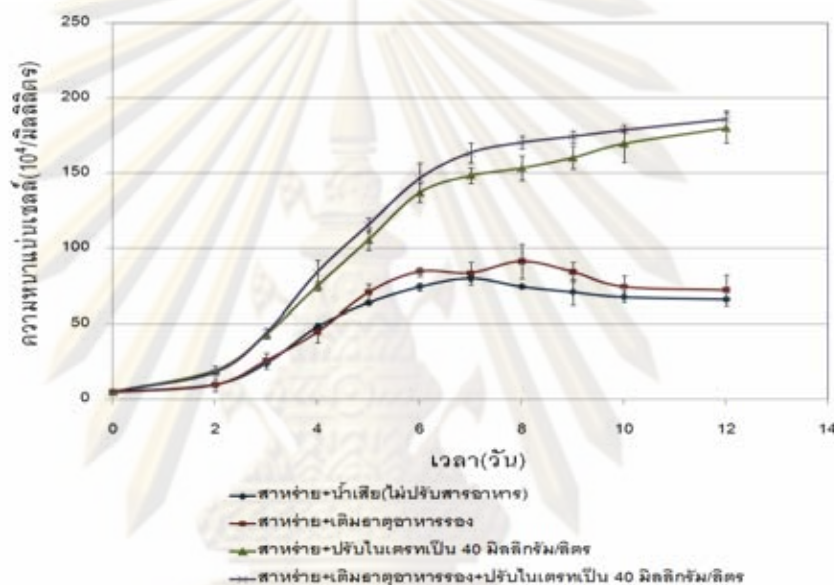
4.4 ผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลของสาหร่ายขนาดเล็ก

การศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 ชนิด (หัวข้อ 4.3) พบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งได้สูงที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้สาหร่ายชนิดนี้ในการศึกษาผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

4.4.1 การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

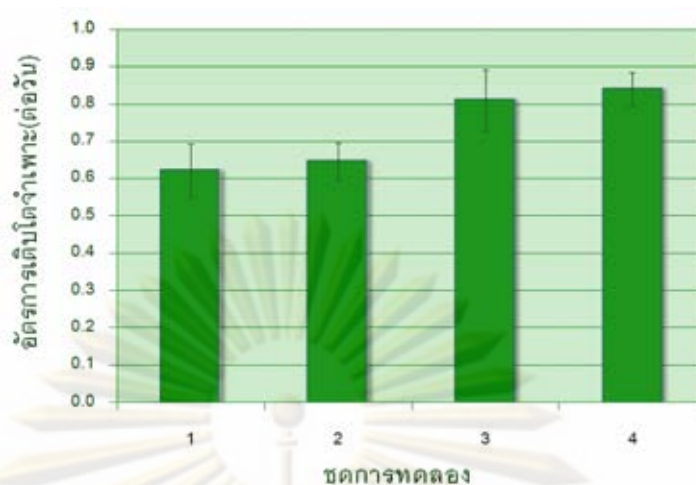
เลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งที่มีการปรับปริมาณสารอาหารโดยการเติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณให้มีค่าใกล้เคียงกับสูตร Bold's basal medium โดยปรับไนเตรทในน้ำทิ้งเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร ผลการศึกษาพบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* ในชุดที่มีการเติมธาตุอาหารรองร่วมกับ

การปรับไนเตรท และ ชุดการทดลองที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเพียงอย่างเดียวมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยในสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่มีไนเตรท 40 มิลลิกรัม/ลิตร และได้รับสารอาหารรองมีอัตราการเติบโตเท่ากับ 0.84 ± 0.03 ต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับอัตราการเติบโต 0.81 ± 0.08 ต่อวัน ของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเพียงอย่างเดียว (รูปที่ 4.13 และ 4.14)



รูปที่ 4.13 การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ในการศึกษาผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการเติมธาตุอาหารรองลงในน้ำทิ้งไม่ส่งผลให้สาหร่ายมีอัตราการเติบโตเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในน้ำทิ้งจากการผลิตไบโอดีเซลอาจมีธาตุอาหารรองที่เพียงพอต่อความต้องการของสาหร่ายชนิดนี้อยู่แล้ว แต่การเพิ่มขึ้นของปริมาณไนเตรทส่งผลให้อัตราการเติบโตเพิ่มขึ้น เนื่องจากในน้ำทิ้งโรงงานผลิตไบโอดีเซลมีปริมาณไนโตรเจนค่อนข้างต่ำ ซึ่งถือว่าเป็นปัจจัยจำกัดในการเติบโตและเพิ่มจำนวนของสาหร่ายขนาดเล็ก



รูปที่ 4.14 อัตราการใช้เท้าของสาหร่ายขนาดเล็กในการศึกษาผลของสารอาหารต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

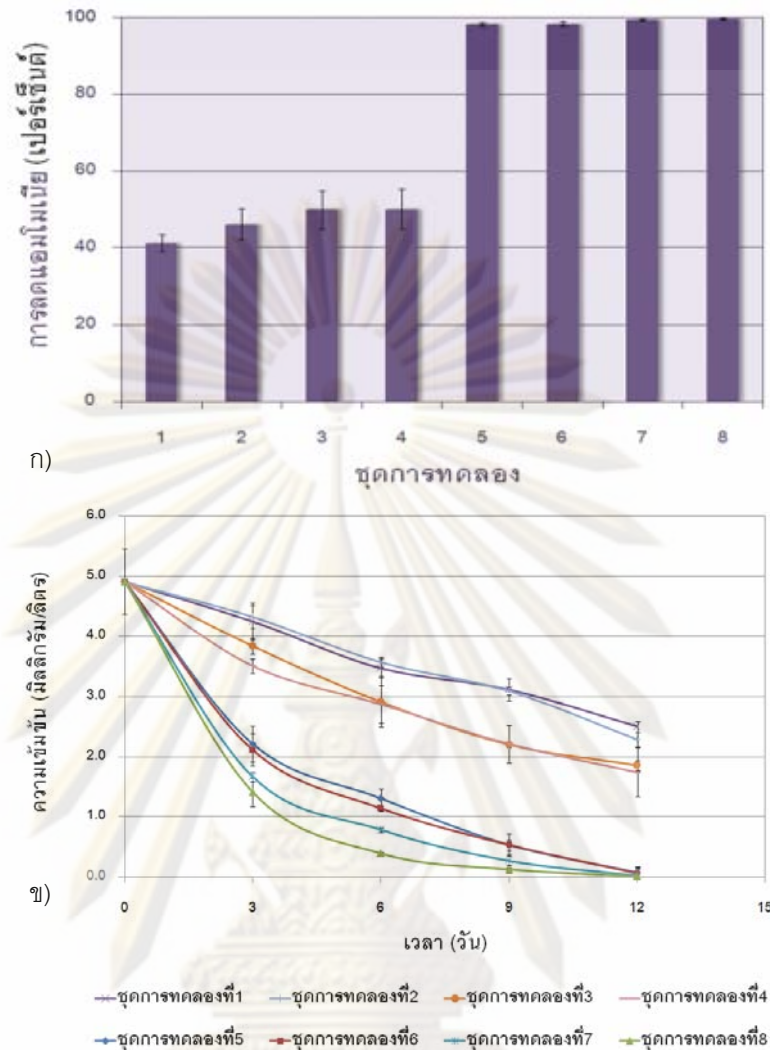
ชุดการทดลองที่ 1 *S. dimorphus* ในน้ำทิ้งแต่ไม่มีการปรับสารอาหาร

ชุดการทดลองที่ 2 *S. dimorphus* และเติมธาตุอาหารรอง (ตามสูตรอาหาร Bold's basal medium)

ชุดการทดลองที่ 3 *S. dimorphus* และปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

4.4.2 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณแอมโมเนียของสาหร่าย *S. dimorphus* พบว่าในทุกชุดการทดลองที่มีการเติมสาหร่าย *S. dimorphus* มีความสามารถในการลดปริมาณแอมโมเนียได้ดีและอัตราการลดลงของแอมโมเนียไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยสาหร่าย *S. dimorphus* มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณแอมโมเนียอยู่ในช่วง 98.36 - 99.72 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในชุดการทดลองน้ำทิ้งที่ไม่มีการเติมสาหร่ายแต่มีการเติมธาตุอาหารรองรวมทั้งการปรับปริมาณไนโตรเจนนั้นมีการลดปริมาณแอมโมเนียลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งการลดลงของแอมโมเนียดังกล่าวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) กับค่าจากชุดควบคุม (รูปที่ 4.15)



รูปที่ 4.15 ประสิทธิภาพการลดปริมาณแอมโมเนียของสาหร่ายขนาดเล็กในการศึกษาผลของสารอาหารต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

ก.) เปอร์เซ็นต์การลดปริมาณแอมโมเนีย ข.) การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนีย

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่เติมสาหร่ายและไม่มีการปรับปริมาณธาตุอาหาร

ชุดการทดลองที่ 2 ไม่เติมสาหร่ายแต่เติมธาตุอาหารรอง (ตามสูตร Bold's basal medium)

ชุดการทดลองที่ 3 ไม่เติมสาหร่ายแต่ปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 ไม่มีการเติมสาหร่ายแต่เติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 5 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* ในน้ำทิ้งแต่ไม่มีการปรับสารอาหาร

ชุดการทดลองที่ 6 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* และเติมธาตุอาหารรอง

ชุดการทดลองที่ 7 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* และปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 8 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* เติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

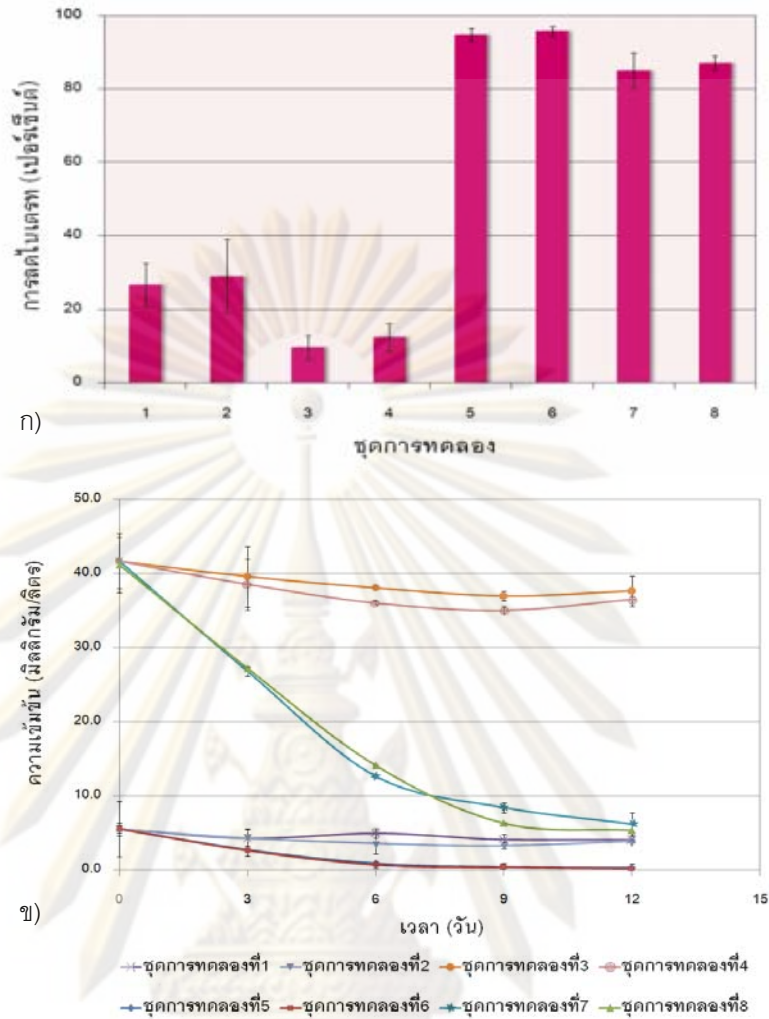
การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนเตรทพบว่าในชุดที่ไม่มีการปรับปริมาณธาตุอาหารสำหรับมีความสามารถในการลดปริมาณไนเตรทได้ 94.80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเติมธาตุอาหารรองไม่ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนเตรทของสำหรับ *S. dimorphus* เพิ่มขึ้น เมื่อทำการปรับปริมาณไนเตรทในน้ำทิ้งเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าสำหรับสามารถดึงเอาไนเตรทในน้ำทิ้งไปใช้ได้ดีโดยมีประสิทธิภาพในการลดไนเตรทได้ 85.05 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในชุดที่มีการเติมธาตุอาหารรองร่วมกับการปรับปริมาณไนเตรท สำหรับสามารถใช้ไนเตรทได้ 87.07 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับชุดการทดลองที่มีการปรับไนเตรทเพียงอย่างเดียว (รูปที่ 4.16)

4.4.3 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟต

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตพบว่าการเติมธาตุอาหารรองไม่ส่งผลให้ *S. dimorphus* มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตเพิ่มขึ้น แต่พบว่าในชุดที่มีการปรับปริมาณไนเตรทมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตที่ดีที่สุดคือ 35.31 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.17) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสมีผลต่อการเติบโตของสำหรับที่เพาะเลี้ยง เมื่อในน้ำทิ้งมีไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้นสำหรับจะสามารถใช้ฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในการเติบโตได้ดีขึ้นเช่นกัน (Kaplan และคณะ, 2000) สอดคล้องกับการศึกษาของ พิกุล วณิชชาติ และคณะ (2543) ที่พบว่าถ้าในน้ำมีปริมาณไนโตรเจนจำกัดจะเป็นสาเหตุให้เกิดการปิดกั้นกระบวนการดูดดึงฟอสเฟตของเซลล์สำหรับแต่ถ้ามีการเพิ่มไนโตรเจนจะช่วยกระตุ้นให้เซลล์สำหรับดึงฟอสเฟตไปใช้ได้มากขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.16 ประสิทธิภาพการลดปริมาณไนเตรทของสายร่ายขนาดเล็กในการศึกษาผลของสารอาหารต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)
 ก.) เปอร์เซ็นต์การลดปริมาณไนเตรท ข.) การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรท

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่เติมสายร่ายและไม่มีการปรับปริมาณธาตุอาหาร

ชุดการทดลองที่ 2 ไม่เติมสายร่ายแต่เติมธาตุอาหารรอง (ตามสูตร Bold's basal medium)

ชุดการทดลองที่ 3 ไม่เติมสายร่ายแต่ปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

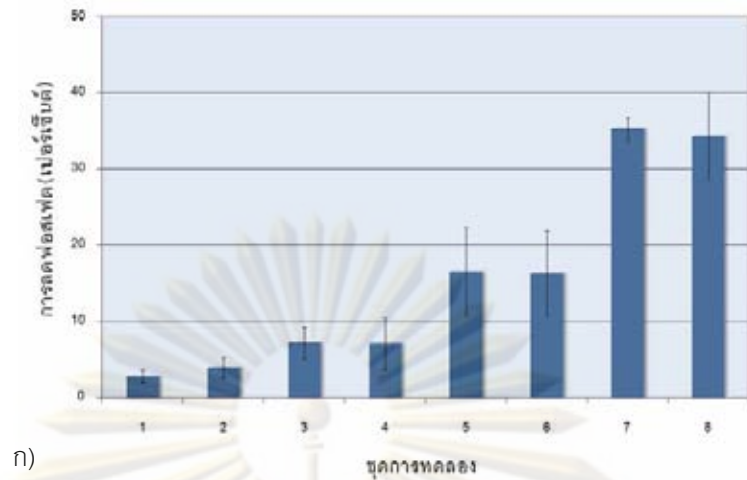
ชุดการทดลองที่ 4 ไม่มีการเติมสายร่ายแต่เติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 5 เติมสายร่าย *S. dimorphus* ในน้ำทิ้งแต่ไม่มีการปรับสารอาหาร

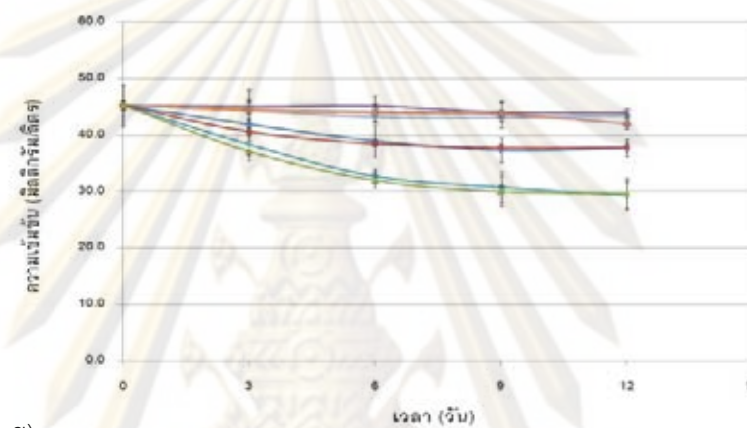
ชุดการทดลองที่ 6 เติมสายร่าย *S. dimorphus* และเติมธาตุอาหารรอง

ชุดการทดลองที่ 7 เติมสายร่าย *S. dimorphus* และปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 8 เติมสายร่าย *S. dimorphus* เติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร



ก)



ข)

รูปที่ 4.17 ประสิทธิภาพการลดปริมาณไนเตรทของสาหร่ายขนาดเล็กในการศึกษาผลของสารอาหารต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

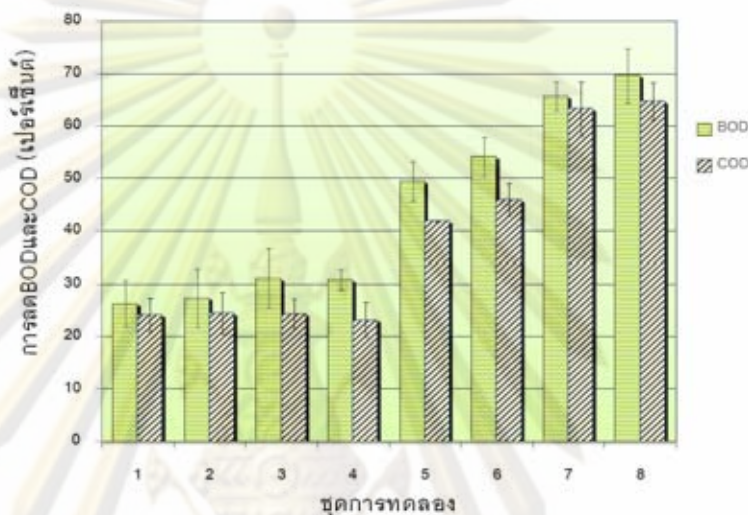
- ก.) เปอร์เซ็นต์การลดปริมาณฟอสเฟต ข.) การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสเฟต
- ชุดการทดลองที่ 1 ไม่เติมสาหร่ายและไม่มีการปรับปริมาณธาตุอาหาร
- ชุดการทดลองที่ 2 ไม่เติมสาหร่ายแต่เติมธาตุอาหารรอง (ตามสูตร Bold's basal medium)
- ชุดการทดลองที่ 3 ไม่เติมสาหร่ายแต่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร
- ชุดการทดลองที่ 4 ไม่มีการเติมสาหร่ายแต่เติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร
- ชุดการทดลองที่ 5 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* ในน้ำทิ้งแต่ไม่มีการปรับสารอาหาร
- ชุดการทดลองที่ 6 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* และเติมธาตุอาหารรอง
- ชุดการทดลองที่ 7 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* และปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร
- ชุดการทดลองที่ 8 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* เติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

4.4.4 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดี

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดบีโอดีและซีโอดีพบว่าการเติมธาตุอาหารรองเพียงอย่างเดียวไม่ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณซีโอดีและบีโอดีของสาหร่าย *S. dimorphus* เพิ่มขึ้น แต่พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำที่มีการปรับปริมาณไนเตรทรวมกับการเติมธาตุอาหารรองสามารถลดปริมาณบีโอดีและซีโอดีได้ดีที่สุด โดยมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณบีโอดีได้ 69.64 เปอร์เซ็นต์และมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณซีโอดีได้ 64.72 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือชุดที่เลี้ยงในน้ำที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเพียงอย่างเดียว โดยมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ บีโอดีได้ 65.67 เปอร์เซ็นต์และมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณซีโอดีได้ 63.28 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้ง 2 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (รูปที่ 4.18) ประสิทธิภาพที่เพิ่มขึ้นนี้อาจเนื่องมาจากในชุดการทดลองที่มีการปรับไนเตรทมีการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายขนาดเล็ก จึงส่งผลให้สาหร่ายดิงเอาสารอินทรีย์บางส่วนไปใช้ในการเติบโตเพราะสาหร่ายขนาดเล็กสามารถใช้สารอาหารได้ทั้งในรูปของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ (Abeliovich, 1980; Richmond, 1986) และจากการศึกษาของ Berman และ Chava (1999) ทำการเลี้ยงสาหร่าย *Pediastrum duplex*, *Synechococcus* sp., *Microcystis aeruginosa*, *Aphanizomenon ovalisporum* และ *Cyclotella* sp. โดยใช้อาหารเลี้ยงที่มีแหล่งไนโตรเจนแตกต่างกันได้แก่ แอมโมเนีย ไนเตรท ไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) ยูเรีย กัวนีน (guanine) ออร์นิทีน (ornithine) กลูโคซามีน (glucosamine) และไลซีน (lysine) พบว่า *Pediastrum duplex*, *Cyclotella* sp. และ *Aphanizomenon ovalisporum* สามารถเติบโตได้ดีในทุกชุดการทดลองนั้น แสดงว่าสาหร่ายทั้งสามชนิดสามารถใช้แหล่งไนโตรเจนได้ทั้งรูปสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ส่วนไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* เติบโตได้ดีที่สุดในชุดที่มีการเติมยูเรีย สอดคล้องกับ วีรัตน์ พลศรี (2533) ที่รายงานว่าไซยาโนแบคทีเรียชนิด *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงในน้ำผสมมูลสัตว์มีการเติบโตและใช้ในไนโตรเจนที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์ได้ดี จากการทดลองนี้พบว่าชุดการทดลองที่ไม่การเติมสาหร่าย *S. dimorphus* การเติมธาตุอาหารรองรวมทั้งการปรับปริมาณไนเตรทไม่ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณซีโอดีและบีโอดีเพิ่มขึ้น ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพในการลดบีโอดีและซีโอดีเกิดจากการที่สาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ดึงเอาสารอินทรีย์ในน้ำบางส่วนไปใช้ในการเติบโต

4.4.5 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสและปริมาณของแข็งแขวนลอย

ค่าความเป็นกรด-เบส ในชุดที่มีการเติมสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าค่าเพิ่มขึ้นจาก 7.5 เป็น 8.9 ส่วนปริมาณของแข็งแขวนลอยพบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลองโดยมีค่าปริมาณของแข็งแขวนลอยอยู่ในช่วง 10.61-38.77 มิลลิกรัม/ลิตร อาจเนื่องมาจากมีสาหร่ายบางส่วนหลุดผ่านผ้ากรองไปกับน้ำในขณะเก็บเกี่ยว



รูปที่ 4.18 ประสิทธิภาพการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดีของสาหร่ายขนาดเล็กในการศึกษาลงของสารอาหารต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่เติมสาหร่ายและไม่มีการปรับปริมาณธาตุอาหาร

ชุดการทดลองที่ 2 ไม่เติมสาหร่ายแต่มีการเติมธาตุอาหารรอง (ตามสูตรอาหาร Bold's basal medium)

ชุดการทดลองที่ 3 ไม่เติมสาหร่ายแต่มีการปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 ไม่มีการเติมสาหร่ายแต่มีการเติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 5 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* ในน้ำทิ้งแต่ไม่มีการปรับสารอาหาร

ชุดการทดลองที่ 6 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* และเติมธาตุอาหารรอง

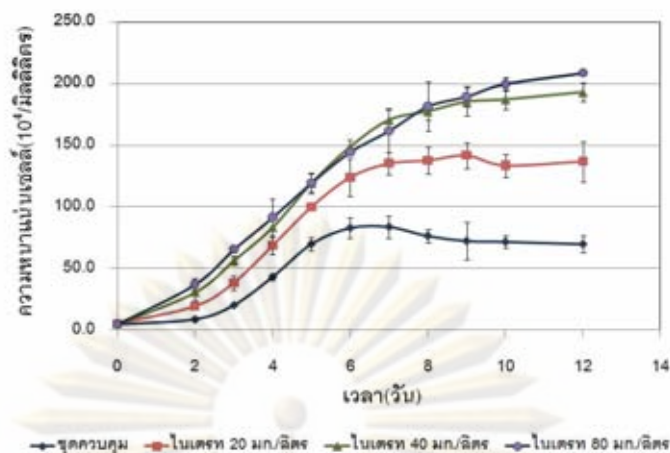
ชุดการทดลองที่ 7 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* และปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 8 เติมสาหร่าย *S. dimorphus* เติมธาตุอาหารรองและปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร

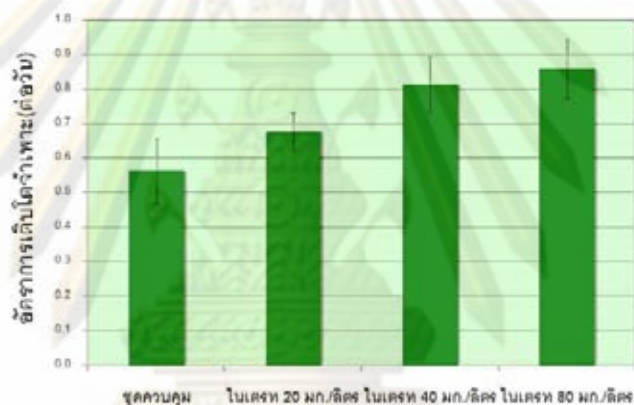
4.5 ผลของปริมาณไนเตรทต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลของสาหร่ายขนาดเล็ก

4.5.1 การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล

การปรับปริมาณไนเตรทในน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นส่งผลให้สาหร่าย *S. dimorphus* มีอัตราการเติบโตสูงขึ้น โดยในชุดการทดลองที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตรและชุดการทดลองที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 80 มิลลิกรัม/ลิตร มีอัตราการเติบโตจำเพาะและความหนาแน่นเซลล์สูงสุดใกล้เคียงกัน โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดที่ 1.92×10^6 และ 2.08×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.19) มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.81 ± 0.08 และ 0.86 ± 0.09 ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งอัตราการเติบโตของทั้ง 2 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$ และรูปที่ 4.20) จะเห็นได้ว่าในชุดที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 80 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่ได้ส่งผลให้สาหร่ายมีการเติบโตสูงขึ้นกว่าชุดที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตรมากนัก สอดคล้องกับการศึกษาของ Hu และ Sommerfeld (2004) ที่พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กชนิด *Scenedesmus* sp. ที่ทำการเลี้ยงในน้ำที่มีปริมาณไนเตรท 30 มิลลิกรัม/ลิตรมีอัตราการเติบโตจำเพาะใกล้เคียงกับในชุดที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 50 มิลลิกรัม/ลิตร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขณะที่สาหร่ายเติบโตที่จำนวนมากขึ้นเซลล์แต่ละเซลล์ของสาหร่ายจะได้รับแสงลดลง อันเป็นผลมาจากการบังแสงซึ่งกันและกันของเซลล์สาหร่าย (ฤทัยรัตน์ วิชาลสุวรรณกร, 2548) รวมทั้งความเป็นเบสของน้ำที่มีค่าเพิ่มขึ้นในระหว่างการเพาะเลี้ยงจนเกินกว่าช่วงที่สาหร่ายเติบโตได้ดี ซึ่ง Carlos และคณะ (2010) ได้รายงานว่าสาหร่าย *S. dimorphus* เติบโตได้ดีที่สุดในช่วงความเป็นกรด-เบสที่ 8.2 - 8.7 นอกจากนี้เมื่อสาหร่ายเพิ่มปริมาณมากขึ้นอาจมีการสะสมของสารบางชนิดที่สาหร่ายปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ขณะมีการเพิ่มจำนวนจนส่งผลให้ไปยับยั้งการเติบโต (Trainor, 1978) จากปัจจัยจำกัดดังกล่าวส่งผลต่อสาหร่ายทำให้ไม่สามารถเพิ่มจำนวนมากขึ้นแม้ในน้ำทิ้งจะยังคงมีอาหารเหลืออยู่เพียงพอต่อความต้องการของสาหร่ายก็ตาม



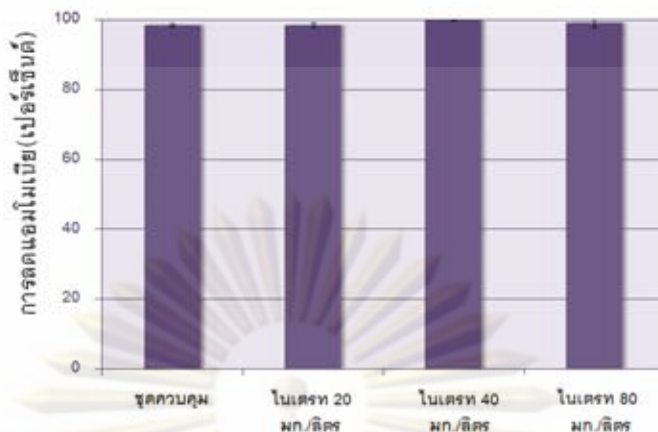
รูปที่ 4.19 การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กชนิด *S. dimorphus* ในการศึกษาผลของปริมาณไนโตรเจนต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)



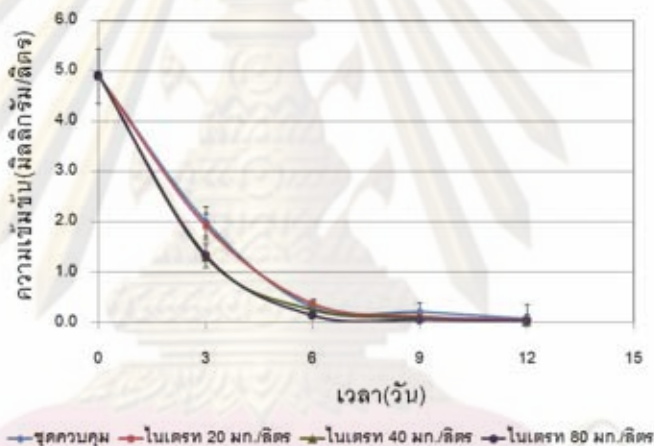
รูปที่ 4.20 อัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายขนาดเล็กชนิด *S. dimorphus* ในการศึกษาผลของปริมาณไนโตรเจนต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

4.5.2 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนโตรเจนอินทรีย์

สาหร่าย *S. dimorphus* ในทุกชุดการทดลองมีความสามารถในการลดปริมาณแอมโมเนียได้ดีและเมื่อนำค่ามาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการลดปริมาณแอมโมเนียของสาหร่ายในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) โดยมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณแอมโมเนียของสาหร่ายผันแปรอยู่ในช่วง 98.20 - 99.01 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.21) แสดงว่าการปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลต่อการดึงแอมโมเนียไปใช้ในการเติบโตของสาหร่ายและสาหร่าย *S. dimorphus* มีความสามารถใช้น้ำแอมโมเนียและไนโตรเจนควบคู่กันในการเพิ่มจำนวนเซลล์



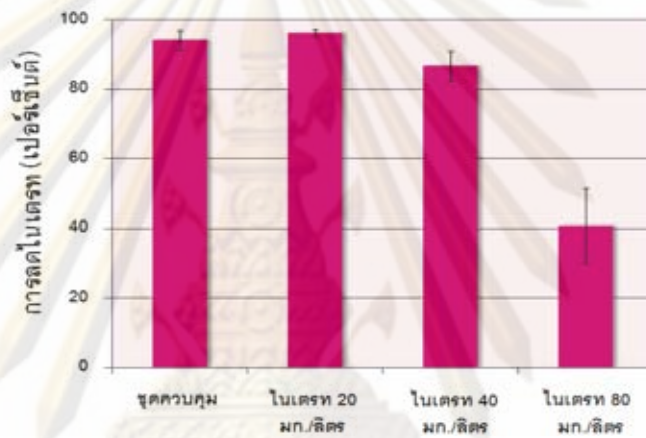
รูปที่ 4.21 ประสิทธิภาพการลดแอมโมเนียของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ในการศึกษาผลของไนเตรทต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)



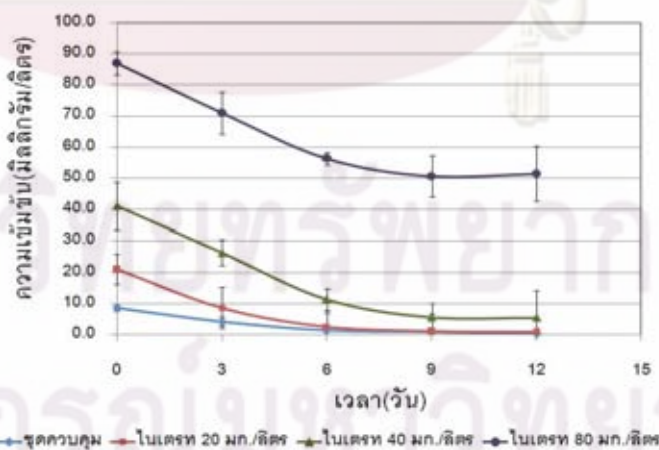
รูปที่ 4.22 การเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียในชุดการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ที่มีการปรับปริมาณไนเตรทในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

การทดลองประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนเตรทพบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในชุดควบคุมที่ไม่มีการปรับปริมาณไนเตรทมีความสามารถลดได้ 96.88 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) กับชุดการทดลองที่มีการปรับไนเตรทเป็น 20 และ 40 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งชุดการทดลองที่มีการปรับไนเตรทเพิ่มขึ้นเป็น 20 และ 40 มิลลิกรัม/ลิตร นั้นสาหร่ายสามารถดึงไนเตรทไปใช้ได้เกือบหมดเมื่อสิ้นสุดการทดลองคือ 96.18 และ 86.71 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (รูปที่ 4.23) ในการศึกษาของ Hu และ Sommerfeld (2004) พบว่าสาหร่ายชนิด *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในน้ำที่มีการปรับไนเตรทเป็น 30 มิลลิกรัม/ลิตร มีความสามารถ

ในการดึงเอาไนเตรทไปใช้ในการเติบโตอย่างรวดเร็วและสามารถใช้ไนเตรทในน้ำได้หมดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยทั่วไปแล้วสาหร่ายสามารถดึงเอาไนเตรทไปเก็บไว้ในเซลล์ได้ในปริมาณสูง ดังนั้นสาหร่ายที่อยู่ในอาหารความเข้มข้นไนเตรทสูงจะสามารถสะสมเอาไนเตรทไปเก็บไว้ในเซลล์ได้มากกว่าสาหร่ายที่อยู่ในอาหารที่มีปริมาณไนเตรทต่ำ (Van, 1980) Gerloff and Skoog (1954) รายงานว่า เมื่อทำการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงสาหร่าย *Microcystis aeruginosa* ส่งผลให้เซลล์มีการสะสมไนโตรเจนเพิ่มขึ้นจาก 4 เปอร์เซ็นต์ เป็น 7.7 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามการทดลองนี้พบว่าชุดที่มีการปรับไนเตรทเป็น 80 มิลลิกรัม/ลิตร ยังคงมีไนเตรทเหลืออยู่ในน้ำที่ค่อนข้างสูงถึง 51.43 มิลลิกรัม/ลิตร อาจเนื่องจากปริมาณไนเตรทมีมากเกินไปเกินความต้องการของสาหร่าย (รูปที่ 4.24)



รูปที่ 4.23 ประสิทธิภาพการลดปริมาณไนเตรทของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ในการศึกษาผลของปริมาณไนเตรทต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

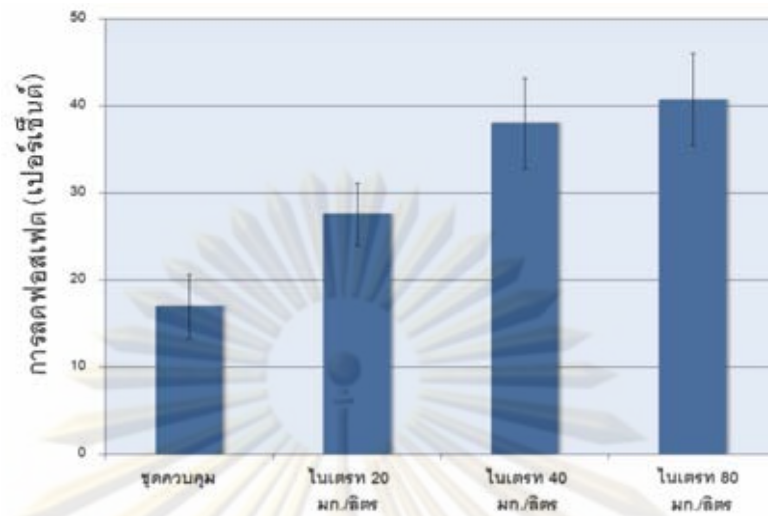


รูปที่ 4.24 การเปลี่ยนแปลงไนเตรทในชุดการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ที่มีการปรับปริมาณไนเตรทในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

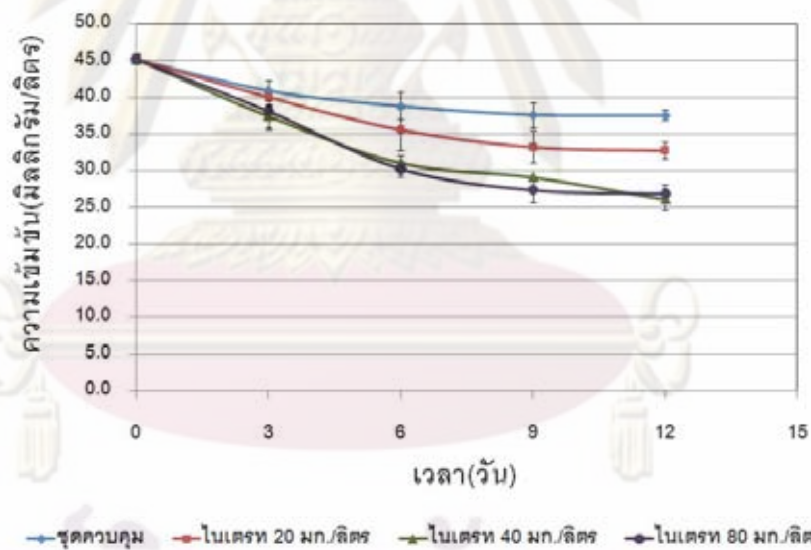
4.5.3 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟต

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตพบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* ในชุดควบคุมที่ไม่มีการปรับปริมาณไนโตรเจนมีความสามารถลดฟอสเฟต 16.97 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.25) ซึ่งค่อนข้างต่ำ เนื่องจากปริมาณฟอสเฟตในน้ำที่มีค่าสูงมาก (45.15 มิลลิกรัม/ลิตร) และไนโตรเจนอนินทรีย์ในน้ำ (แอมโมเนีย 4.17 มิลลิกรัม/ลิตรและไนเตรท 5.97 มิลลิกรัม/ลิตร) ไม่เพียงพอต่อการเติบโตของสาหร่าย ดังนั้นไนโตรเจนที่มีจะถูกใช้จนหมดก่อนที่ฟอสเฟตจะหมด (Kaplan และคณะ, 1986) และพบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในชุดที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 และ 80 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถลดฟอสเฟตเพิ่มขึ้นเป็น 38.01 และ 40.75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (รูปที่ 4.26) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) กับชุดที่ไม่มีการปรับไนเตรทและชุดที่มีการปรับไนเตรทเป็น 20 มิลลิกรัม/ลิตร สอดคล้องกับ Pang and Ong (1988) ที่ได้รายงานว่าสาหร่ายจะสามารถใช้ฟอสฟอรัสได้ดีขึ้นเมื่อมีการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในอาหาร และ จักรพงษ์ ศรีพนมยม (2543) พบว่าไนเตรทในอาหารเลี้ยงเป็นปัจจัยจำกัดความสามารถในการใช้ฟอสเฟตของสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella* sp.

จากการทดลองพบว่าในชุดที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 80 มิลลิกรัม/ลิตร สาหร่ายไม่สามารถดึงเอาทั้งไนเตรทและฟอสเฟตที่เหลืออยู่ในน้ำทิ้งไปใช้ได้หมด แม้ว่าการศึกษาของ Suttle และ Harison (1988) จะพบว่าสัดส่วนของ N:P ที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* คือ 5:1 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับชุดที่มีการปรับปริมาณไนเตรทในน้ำทิ้งเป็น 80 มิลลิกรัม/ลิตรก็ตาม ซึ่งการศึกษานี้พบว่าอัตราการเติบโตและความสามารถในการดึงเอาฟอสเฟตและไนเตรทของสาหร่ายในชุดที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 80 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดที่มีการปรับไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร แสดงว่าอาจจะมีปัจจัยอื่นเป็นปัจจัยจำกัด เช่น ปัจจัยแสงโดยในการศึกษานี้ใช้ความเข้มแสงที่ 60 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ซึ่งค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Hu และ Sommerfeld (2004) ที่พบว่าสาหร่ายชนิดนี้จะเติบโตได้ดีที่สุดที่ความเข้มแสง 350 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที นอกจากนี้เมื่อสาหร่ายมีการเติบโตเพิ่มขึ้นจะเกิดการบดบังแสงกันเองระหว่างเซลล์ทำให้ได้รับความเข้มแสงที่น้อยลง (ฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร, 2548)



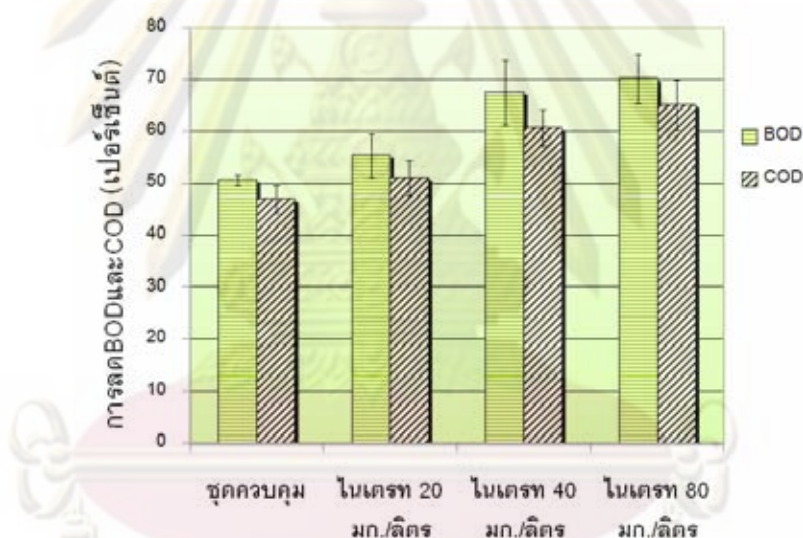
รูปที่ 4.25 ประสิทธิภาพการลดปริมาณฟอสเฟตของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ในการศึกษาผลของปริมาณไนเตรทต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)



รูปที่ 4.26 การเปลี่ยนแปลงฟอสเฟตในชุดการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ที่มีการปรับปริมาณไนเตรทในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

4.5.4 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดี

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดีพบว่า *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในชุดที่ไม่ปรับไนเตรท มีประสิทธิภาพในการลดบีโอดีและซีโอดีได้ 54.42 และ 47.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทำการปรับปริมาณไนเตรทในน้ำทิ้งเป็น 40 และ 80 มิลลิกรัม/ลิตร สาหร่ายมีประสิทธิภาพในการลดบีโอดีและซีโอดีเพิ่มขึ้นและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) กับชุดควบคุมที่ไม่มีการปรับปริมาณไนเตรท โดยในชุดการทดลองปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถลดบีโอดีและซีโอดีได้ 67.54 และ 60.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในชุดการทดลองที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 80 มิลลิกรัม/ลิตร มีความสามารถลดบีโอดีและซีโอดีได้ 70.13 และ 65.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 4.27) ซึ่งเมื่อนำมาคำนวณทางสถิติพบว่าทั้ง 2 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)



รูปที่ 4.27 ประสิทธิภาพการลดบีโอดีและซีโอดีของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ในการศึกษาผลของปริมาณไนเตรทต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

4.5.5 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสและปริมาณของแข็งแขวนลอย

ค่าความเป็นกรด-เบสในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องและเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าค่า pH เพิ่มขึ้นจาก 7.5 เป็น 8.9 ส่วนปริมาณของแข็งแขวนลอยพบว่ามี

ปริมาณเพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลองเช่นเดียวกัน โดยมีค่าปริมาณของแข็งแขวนลอยอยู่ในช่วง 27.11-45.48 มิลลิกรัม/ลิตร (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งของสาหร่าย *S. dimorphus* จากการศึกษาผลของปริมาณไนเตรทต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานผลิตไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

	ชุดควบคุม	NO ₃ ⁻ 20 (มก./ล.)	NO ₃ ⁻ 40 (มก./ล.)	NO ₃ ⁻ 80 (มก./ล.)
แอมโมเนีย	98.36 \pm 0.42	98.43 \pm 0.60	99.76 \pm 0.24	99.13 \pm 0.29
ไนเตรท	95.72 \pm 1.45	96.18 \pm 1.05	86.96 \pm 4.33	40.82 \pm 10.70
ฟอสเฟต	16.97 \pm 3.67	27.58 \pm 3.57	42.25 \pm 3.07	40.75 \pm 5.31
บีโอดี	57.28 \pm 9.19	69.33 \pm 4.16	67.54 \pm 6.27	70.13 \pm 4.77
ซีโอดี	47.75 \pm 2.70	55.62 \pm 3.39	60.65 \pm 3.56	65.04 \pm 4.81

ตารางที่ 4.5 คุณภาพน้ำหลังการทดลองปรับปริมาณไนเตรท (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)

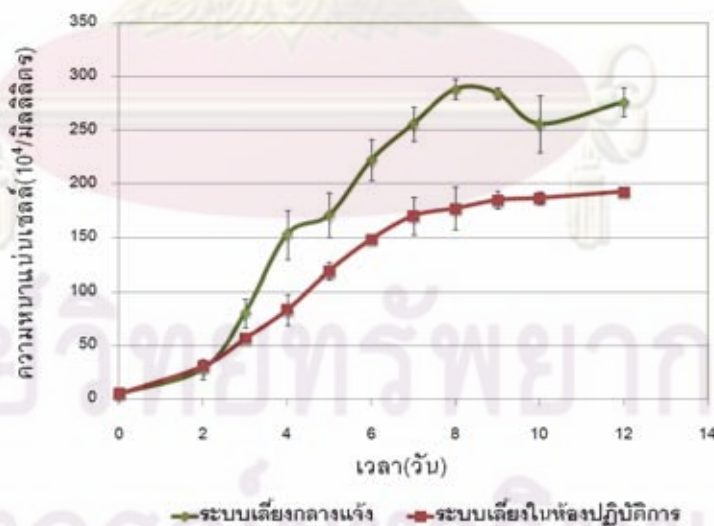
	ชุดควบคุม	NO ₃ ⁻ 20 มก./ล.	NO ₃ ⁻ 40 มก./ล.	NO ₃ ⁻ 80 มก./ล.
ความเป็นกรด-เบส	7.7	8.9	8.9	8.9
อุณหภูมิ (° ซ)	30 \pm 1	30 \pm 1	30 \pm 1	30 \pm 1
ของแข็งแขวนลอย (มก./ล.)	27.11 \pm 1.45	34.11 \pm 2.11	45.48 \pm 2.47	41.18 \pm 3.11
แอมโมเนีย (มก./ล.)	0.07 \pm 0.02	0.07 \pm 0.03	0.01 \pm 0.001	0.03 \pm 0.01
ไนเตรท (มก./ล.)	0.25 \pm 0.08	0.80 \pm 0.22	5.46 \pm 1.78	51.43 \pm 9.29
ฟอสเฟต (มก./ล.)	37.57 \pm 1.66	32.77 \pm 1.67	26.13 \pm 1.39	26.81 \pm 2.40
บีโอดี (มก./ล.)	38.72 \pm 9.19	27.80 \pm 3.77	29.16 \pm 5.69	26.92 \pm 4.32
ซีโอดี (มก./ล.)	106.68 \pm 5.52	90.60 \pm 6.93	79.60 \pm 4.27	71.12 \pm 4.81

4.6 การเติบโตและความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ

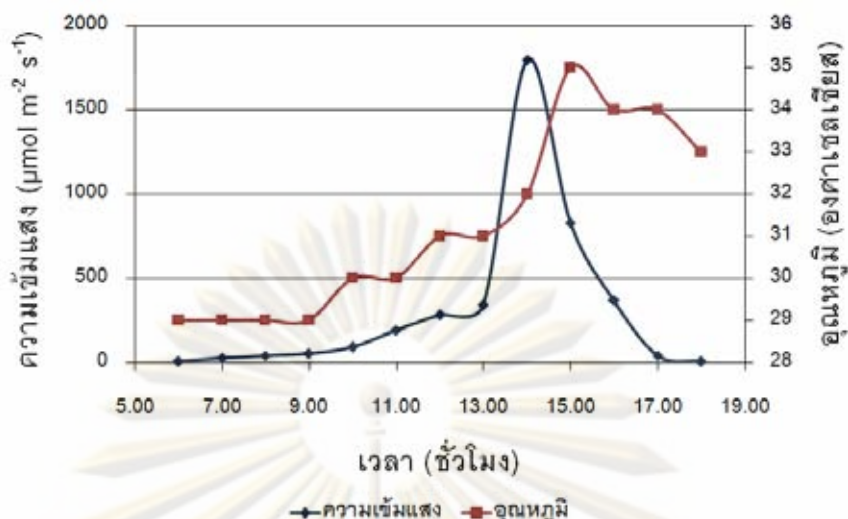
4.6.1 การเติบโตของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เลี้ยงภายในน้ำทิ้งใต้สภาวะแสงธรรมชาติ

จากการทดลองในหัวข้อ 4.4 และ 4.5 พบว่าการเพิ่มปริมาณของไนเตรทเป็นเพียงปัจจัยเดียวที่ส่งผลต่อการเพิ่มอัตราการเติบโตและประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งของสาหร่าย *S. dimorphus* โดยการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมเนื่องจากช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งของสาหร่ายและเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีปริมาณไนเตรทหลงเหลือในน้ำทิ้งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดิน ดังนั้นในการศึกษาการเติบโตและความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติจึงเลือกวิธีการปรับคุณภาพน้ำทิ้งให้เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายด้วยการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร และพบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เติบโตด้วยแสงธรรมชาติที่มีความเข้มแสงเฉลี่ย 312 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 1.07 ± 0.32 ต่อวัน และความหนาแน่นเซลล์สูงที่สุดที่ 2.88×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งเพิ่มขึ้นจากการทดลองในห้องปฏิบัติการที่มีการให้แสง 60 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (รูปที่ 4.28) ทั้งนี้อาจเนื่องจากความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นมีส่วนช่วยกระตุ้นการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กและเพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสง (Nakamura, 1982) สอดคล้องกับการศึกษาของ Hu และ Sommerfeld (2004) ที่พบว่าเมื่อปรับความเข้มแสงเพิ่มขึ้นจาก 15 เป็น 350 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที มีผลให้อัตราการเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. สูงขึ้นจาก 0.035 เป็น 0.12 ต่อชั่วโมงและ Sreesai และ Pakpain (2007) ทำการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในน้ำเสียจากโรงบำบัดหนองแขมพบว่าปัจจัยแสงเป็นปัจจัยจำกัดในการเติบโตและส่งผลต่อความสามารถในการบำบัดน้ำด้วยเช่นกันและพบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในแสงธรรมชาติที่มีความเข้มแสงสูง (2,500 – 9,000 lux) ทำให้สาหร่ายเติบโตได้สูงสุด อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของฤทัยรัตน์ วิชาลสุวรรณกร (2548) พบว่าเมื่อปรับความเข้มแสงจาก 260 เป็น 540 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที สาหร่าย *Chlorella* sp. มีอัตราการเติบโตที่อันเป็นผลมาจากความเข้มแสงอิมิตัว ซึ่งระดับความเข้มแสงอิมิตัวนี้จะมีค่าแตกต่างกันตามชนิดของสาหร่าย ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของความ

เข้มแสงในการทดลองครั้งนี้ยังถือว่าอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายชนิด *S. dimorphus* เนื่องจากสาหร่ายยังคงมีการเพิ่มจำนวนและมีการเติบโตเพิ่มสูงขึ้น นอกจากความเข้มแสงจะเป็นปัจจัยสำคัญแล้ว อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญซึ่งปกติแล้วจะสัมพันธ์กับการรับแสง การทดลองครั้งนี้พบว่าระบบเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจะได้รับความร้อนจากหลอดไฟที่ใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสง โดยระบบจะมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 30-32 องศาเซลเซียส แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงกลางแจ้งที่มีสภาพอากาศแปรปรวนมากกว่าและการได้รับความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงเวลา 12:00-16:00 น. ทำให้อุณหภูมิในระบบเลี้ยงเพิ่มสูงขึ้นด้วยเช่นกัน โดยในช่วงเวลา 14:00-15:00 น. จะมีอุณหภูมิสูงสุดถึง 35 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.29) ซึ่งถ้าพิจารณาในส่วนของอุณหภูมิได้มีผู้รายงานว่าเมื่ออุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมสูงขึ้น อัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจะเพิ่มขึ้นด้วยแต่อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นนี้จะต้องไม่เกินช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมของสาหร่าย (Goldman, 1979) ดังนั้นอัตราการเติบโตของสาหร่ายที่เพิ่มขึ้นในการทดลองนี้อาจเนื่องมาจากในระบบเลี้ยงกลางแจ้งมีสภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* สอดคล้องกับการศึกษาของ Hu และ Sommerfeld (2004) ที่พบว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus* sp. จะอยู่ในช่วง 30-38 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.28 การเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงกลางแจ้งเปรียบเทียบกับระบบเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n = 3)



รูปที่ 4.29 ความเข้มแสงและอุณหภูมิเฉลี่ยในระบบเลี้ยงกลางแจ้ง

4.6.2 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณแอมโมเนียพบว่าสาหร่ายในระบบเลี้ยงภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติมีความสามารถในการลดปริมาณแอมโมเนียได้ 99.81 เปอร์เซ็นต์และเมื่อนำค่ามาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการลดปริมาณแอมโมเนียในระบบเลี้ยงภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติและระบบเลี้ยงในห้องปฏิบัติการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) การทดลองประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนเตรทพบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* ในระบบเลี้ยงภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติมีความสามารถในการลดปริมาณไนเตรทได้ถึง 96.11 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.30) ซึ่งมีประสิทธิภาพเพิ่มสูงกว่าสาหร่ายในระบบเลี้ยงในห้องปฏิบัติการอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เนื่องจากการที่สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนและอัตราการเติบโตที่สูงขึ้น ทำให้มีการดึงเอาไนเตรทไปใช้ในการเติบโตสูงขึ้นไปด้วย เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปริมาณไนเตรทเหลืออยู่ในน้ำทิ้งเพียง 1.12 มิลลิกรัม/ลิตร (รูปที่ 4.31)

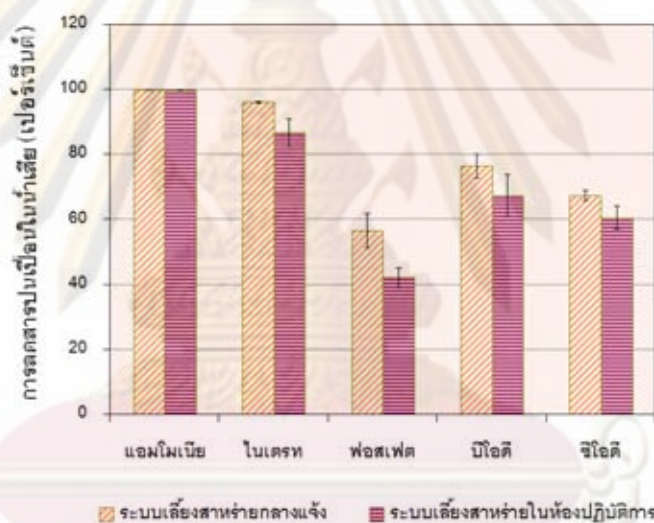
4.6.3 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟต

การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตพบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* ในระบบเลี้ยงภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติมีความสามารถในการลดปริมาณฟอสเฟตได้ 56.72 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.30) ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสาหร่ายที่เลี้ยงใน

ห้องปฏิบัติการ ($P < 0.05$) การทดลองนี้ยังพบว่าปริมาณฟอสเฟตจะลดลงเฉพาะในช่วงแรกของการทดลองเท่านั้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาหร่ายจะมีการดึงเอาฟอสเฟตไปเก็บไว้ในเซลล์อย่างรวดเร็วในช่วง early exponential phase ซึ่งจะเก็บไว้ในรูปของ polyphosphate granules เพื่อใช้ในการเติบโต (Casadevall และคณะ, 1985)

4.6.4 ประสิทธิภาพในการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดี

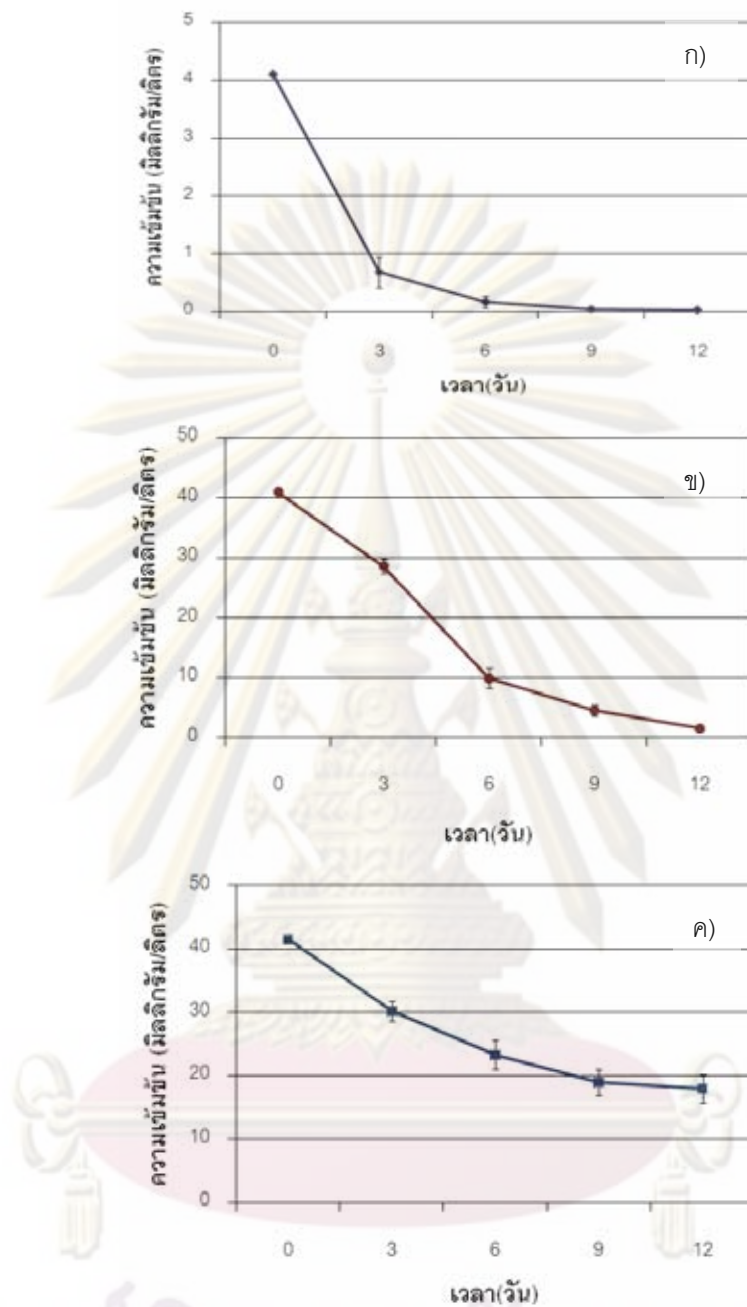
การศึกษาประสิทธิภาพในการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดีพบว่า *S. dimorphus* ในระบบเลี้ยงภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติมีความสามารถในการลดปริมาณบีโอดีและซีโอดีเท่ากับ 76.69 และ 67.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (รูปที่ 4.30)



รูปที่ 4.30 ประสิทธิภาพการลดปริมาณสารปนเปื้อนในน้ำทิ้งของสาหร่ายขนาดเล็กชนิด *S. dimorphus* ในระบบเลี้ยงกลางแจ้งและระบบเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; $n = 3$)

4.6.5 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสและปริมาณของแข็งแขวนลอย

ค่าความเป็นกรด-เบสมีแนวโน้มสูงขึ้นและเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าค่า pH เพิ่มขึ้นเป็น 8.9 ส่วนปริมาณของแข็งแขวนลอยพบว่าปริมาณเพิ่มขึ้นโดยมีค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย 47.99 มิลลิกรัม/ลิตร (ตารางที่ 4.7)



รูปที่ 4.31 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนีย ไนเตรทและฟอสเฟตของสาหร่ายขนาดเล็ก

S. dimorphus เลี้ยงภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน;

$n = 3$)

- ก) การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนีย
- ข) การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรท
- ค) การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสเฟต

ตารางที่ 4.6 เปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลของ
สาหร่ายขนาดเล็ก (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n= 3)

	ไม่เติมสาหร่าย	เติม <i>S. dimorphus</i> (ไม่ปรับไนโตรเจน) ระบบเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ	เติม <i>S. dimorphus</i> และ NO_3^- 40 มก./ล. ระบบเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ	เติม <i>S. dimorphus</i> และ NO_3^- 40 มก./ล. ระบบเลี้ยงในสภาวะ แสงธรรมชาติ
แอมโมเนีย	41.20 \pm 2.21	98.36 \pm 0.42	99.76 \pm 0.24	99.81 \pm 0.04
ไนเตรท	26.85 \pm 5.87	95.73 \pm 1.45	86.71 \pm 4.33	96.11 \pm 0.20
ฟอสเฟต	2.82 \pm 0.82	16.97 \pm 3.67	42.25 \pm 3.07	56.72 \pm 5.39
บีโอดี	34.02 \pm 4.86	57.28 \pm 5.00	67.54 \pm 6.27	76.69 \pm 3.72
ซีโอดี	38.91 \pm 4.43	47.75 \pm 3.68	60.65 \pm 3.56	67.50 \pm 1.61

ตารางที่ 4.7 คุณภาพน้ำหลังการทดลองใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจาโรงงานผลิต
ไบโอดีเซล (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; n= 3)

ตัวแปร	คุณภาพน้ำเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (12 วัน)			
	ไม่เติมสาหร่าย	<i>S. dimorphus</i> (ไม่ปรับไนโตรเจน) ระบบเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ	<i>S. dimorphus</i> และ NO_3^- 40 มก./ล. ระบบเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ	<i>S. dimorphus</i> และ NO_3^- 40 มก./ล. ระบบเลี้ยงในสภาวะ แสงธรรมชาติ
ความเป็นกรด-เบส	7.7	8.9	8.9	8.9
อุณหภูมิ (°ซ)	30 \pm 1	30 \pm 1	30 \pm 1	31 \pm 2
ของแข็งแขวนลอย (มก./ล.)	10.89 \pm 6.81	35.79 \pm 1.53	45.48 \pm 1.53	47.99 \pm 1.53
ซีโอดี (มก./ล.)	138.68 \pm 12.07	106.68 \pm 5.52	79.60 \pm 7.27	64.30 \pm 3.20
บีโอดี (มก./ล.)	58.28 \pm 4.23	38.72 \pm 9.06	29.16 \pm 5.69	21.35 \pm 3.35
แอมโมเนีย (มก./ล.)	2.50 \pm 0.18	0.07 \pm 0.02	0.04 \pm 0.01	0.01 \pm 0.005
ไนเตรท (มก./ล.)	4.06 \pm 0.09	0.25 \pm 0.08	5.46 \pm 1.78	1.12 \pm 0.08
ฟอสเฟต (มก./ล.)	43.97 \pm 0.68	37.57 \pm 1.66	26.13 \pm 1.39	17.97 \pm 2.24

4.7 องค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก

การผลิตมวลชีวภาพของสาหร่าย *S. dimorphus* ปริมาตร 10 ลิตรภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด 1.07 ± 0.32 ต่อวัน ความหนาแน่นเซลล์ขณะเก็บเกี่ยวเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ $2.76 \times 10^6 \pm 16.50$ เซลล์/มิลลิลิตร มวลชีวภาพในรูปของน้ำหนักแห้งเท่ากับ 182.19 ± 16.66 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ 65.86 ± 6.45 พิโคกรัม/เซลล์

องค์ประกอบทางชีวภาพของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ที่ทำการเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลที่มีการปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 11.02 ± 1.98 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ปริมาณโปรตีน 27.44 ± 1.83 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งและปริมาณน้ำมัน 13.89 ± 1.12 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง สอดคล้องกับ สุวราภรณ์ กันทรวิชัยวัฒน์ (2542) ที่รายงานว่าสาหร่ายชนิดเดียวกันนี้มีการสะสมโปรตีนไว้ในเซลล์ในปริมาณสูงและจากการทดลองของ Holdaifa (2007) ที่พบว่าสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกสามารถให้ผลผลิตโปรตีนได้สูงสุดถึง 30.8 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสาหร่าย *Scenedesmus* จะมีการสะสมอาหารในรูปแบบอื่นๆ เช่น น้ำมันและคาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นกับปัจจัยของอาหารและสภาพแวดล้อมในการเลี้ยง Mandal (2009) พบว่าสาหร่าย *S. obliquus* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจำกัดจะมีการสะสมน้ำมันเพิ่มขึ้น นอกจากนี้มีรายงานว่า การเติมกลูโคสเพื่อเป็นแหล่งอินทรีย์คาร์บอนส่งผลให้สาหร่ายมีการสะสมโปรตีนน้อยลงและเปลี่ยนไปสะสมน้ำมันและคาร์โบไฮเดรตเพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน (Xu, 2006)

นอกจากองค์ประกอบทางชีวเคมีที่มีอยู่ภายในเซลล์ของสาหร่าย *S. dimorphus* แล้วสาหร่ายยังมีการสะสมรงควัตถุที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกัน โดยรงควัตถุที่สำคัญภายในเซลล์ของสาหร่าย *S. dimorphus* ได้แก่ คลอโรฟิลล์_เอ และ รงควัตถุในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ ทั้งนี้เลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เติบโตในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลที่มีการปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ พบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์_เอ 5.21 ± 0.86 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณแคโรทีนอยด์ 3.04 ± 0.35 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณปริมาณคลอโรฟิลล์_เอ สูงกว่าการทดลองของ Kim และคณะ (2007) ที่ทำการเลี้ยง *Scenedesmus* spp. ในน้ำเสียจากฟาร์มสุกรที่มีผลผลิตคลอโรฟิลล์_เอ 3.9 ± 0.60 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ใกล้เคียงกันกับการทดลองนี้คือ

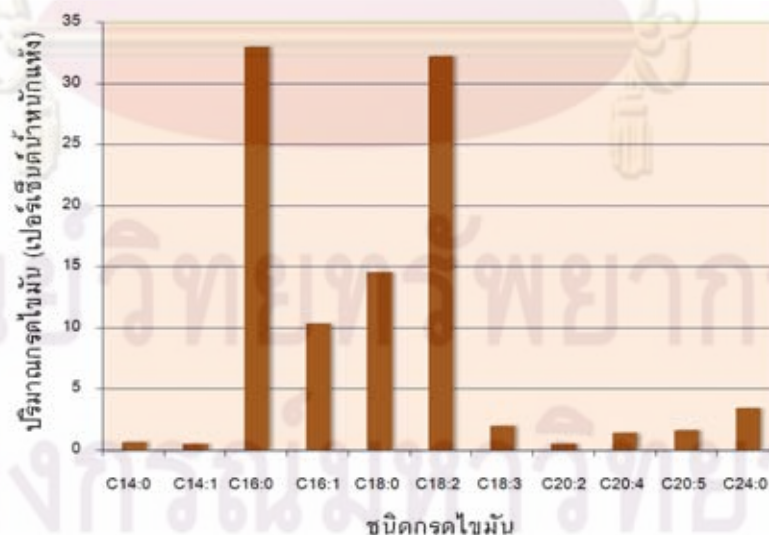
3.4±0.20 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งสารสีที่สาหร่ายผลิตได้นั้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เช่นในการศึกษาของ สุภฎา ศิริรัฐนิคม และคณะ(2550) ได้ทำการผสม *Spirulina* sp. *Haematococcus pluvialis* *Chlorella* sp. *Scenedesmus* sp. *Phaffia rhodozyma* และอาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ พบว่าการเพิ่มแคโรทีนอยด์มีผลให้สีตัวของปลาทองโดยเฉพาะสีแดงและสีเหลืองมีค่าเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้สไปรูลิनाและแอสตาแซนทีนมีผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวปลาทองเพิ่มสูงขึ้น ส่วนผลการทดลองในปลาหมอสีพบว่าอาหารเสริมแคโรทีนอยด์ทุกชนิดมีผลให้สีตัวปลาโดยเฉพาะสีเหลืองและปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวปลาเพิ่มขึ้นกว่าอาหารชุดควบคุม

องค์ประกอบของกรดไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่ถูกเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลที่มีการปรับปริมาณไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร พบกลุ่มของกรดไขมันอิ่มตัว (SFAs) 4 ชนิด ได้แก่ C14:0 (Myristic acid) C16:0 (Palmitic acid) C18:0 (Stearic acid) และ C24:0 (Lignoceric acid) กลุ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) 2 ชนิด ได้แก่ C14:1 (Myristoleic acid) และ C16:1 (Palmioleic acid) กลุ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) 5 ชนิด ได้แก่ C18:2 (Linoleic acid) C18:3 (Linolenic acid) C20:2 (Eicosadienoic acid) C20:4 (Arachidonic acid) และ C20:5 (Eicosapentaenoic acid) อัตราส่วนกรดไขมันอิ่มตัวคิดเป็น 51.56 เปอร์เซ็นต์ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว 10.77 เปอร์เซ็นต์และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน 37.66 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 4.8)

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* มีองค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัวชนิด Palmitic acid (C16:1) และ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน Linoleic acid (C18:2) ค่อนข้างสูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (รูปที่ 4.32) สอดคล้องกับการศึกษาของ Kim และคณะ (2007) ซึ่งพบว่าสาหร่าย *Scenedesmus* spp. ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร มีการสะสมกรดไขมันชนิด Linoleic acid มากที่สุด รองลงมาคือกรดไขมันชนิด Palmitic acid และในการศึกษาของ Makulla (2000) ที่ทำการเลี้ยงสาหร่าย *S. obliquus* ในอาหารสูตร WC medium พบว่าสาหร่ายมีการสะสมกรดไขมันชนิด Palmitic acid มากที่สุด

ตารางที่ 4.8 ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่พบ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักกรดไขมันรวม) ในสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus*

ชนิดกรดไขมัน	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักกรดไขมัน
C14:0 Myristic acid	0.649
C14:1 Myristoleic acid	0.472
C16:0 Palmitic acid	32.981
C16:1 Palmioleic acid	10.307
C18:0 Stearic acid	14.529
C18:2 Linoleic acid	32.223
C18:3 Linolenic acid	1.964
C20:2 Eicosadienoic acid	0.490
C20:4 Arachidonic acid	1.369
C20:5 Eicosapentaenoic acid	1.614
C24:0 Lignoceric acid	3.404
เปอร์เซ็นต์กรดไขมันอิ่มตัว (SFAs)	51.56
เปอร์เซ็นต์กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA)	10.77
เปอร์เซ็นต์กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA)	37.65



รูปที่ 4.32 ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่พบ (ร้อยละของน้ำหนักกรดไขมันรวม) ในสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus*

การที่สาหร่าย *S. dimorphus* มีการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงจึงเหมาะกับการนำไปผลิตไบโอดีเซลได้ดีเนื่องจากน้ำมันไบโอดีเซลที่มีคุณภาพดีจะผลิตจากกรดไขมันไม่อิ่มตัว ดังตารางที่ 4.9 กรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีจำนวนซีเทนสูง ทำให้ได้ไบโอดีเซลที่มีเสถียรภาพสูงกว่าไบโอดีเซลจากกรดไขมันไม่อิ่มตัว และให้ปริมาณ NO_x ที่ลดลง (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.9 สมบัติของไบโอดีเซลจากกรดไขมันประเภทต่างๆ

คุณสมบัติ	กรดไขมันอิ่มตัว	กรดไขมันไม่อิ่มตัว	กรดไขมันไม่อิ่มตัว
	12:0,14:0,16:0, 18:0,20:0,22:0	เชิงเดี่ยว 16:1,18:1,20:1,22:1	เชิงซ้อน 18:2,18:3
จำนวนซีเทน	สูง	กลาง	ต่ำ
เสถียรภาพ	สูง	กลาง	ต่ำ
NO_x	ลดลง	เพิ่มขึ้นเล็กน้อย	เพิ่มขึ้นมาก

นอกจากนี้สาหร่ายยังมีการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) ถึง 37 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือเป็นไขมันในที่ดีเนื่องจากช่วยลดคอเลสเตอรอลโดยเฉพาะ LDL-cholesterol และได้มีรายงานของการนำเอา PUFA ไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมยา อาหารเสริม บำรุงสุขภาพ เครื่องสำอาง และอาหารสัตว์ ซึ่งแหล่งที่ใช้ในการผลิต PUFA จากการศึกษาของ มายมูเนาะ มิดคาดี และคณะ (2544) พบว่าปลากรดเหลือง (*Mystus nemurus*) ที่ได้รับอาหารเสริมกรดไขมัน Linoleic acid มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น (weight gain) สูงกว่าปลาในชุดการทดลองที่ไม่เสริมกรดไขมันในอาหารเลี้ยง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* ที่คัดแยกได้จากบ่อตกตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานน้ำมันพืชปทุม จังหวัดปทุมธานี มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำได้ดีที่สุด แต่จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลมีปริมาณฟอสเฟตสูง (45.25 มก./ล.) และปริมาณไนโตรเจนอินทรีย์ต่ำ (9.87 มก./ล.) เมื่อทำปรับคุณภาพด้วยการเติมธาตุอาหารรองและมีการปรับปริมาณไนเตรทพบว่าการเติมธาตุอาหารรองไม่ส่งผลให้สาหร่าย *S. dimorphus* มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเพิ่มขึ้น แต่การปรับปริมาณไนเตรททำให้สาหร่ายมีอัตราการเติบโตสูงขึ้นรวมทั้งเพิ่มประสิทธิภาพการลดปริมาณสารอาหารโดยเฉพาะฟอสเฟตให้เพิ่มขึ้น จากการศึกษาพบว่าปรับไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อเพิ่มความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้งของสาหร่ายนั้นเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมเพราะนอกจากประสิทธิภาพในการบำบัดเพิ่มขึ้นแล้วยังพบว่าปริมาณสารอาหารที่หลงเหลือในน้ำทิ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าค่อนข้างต่ำ ส่วนค่าความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ ของแข็งแขวนลอย ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม พบว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ เมื่อทำการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ในสภาวะธรรมชาติพบว่าสาหร่ายมีความสามารถในการทนต่อสภาพอุณหภูมิและสภาวะแสงที่แปรปรวนได้ดีและได้ว่าสาหร่ายที่ทำการเลี้ยงในสภาวะธรรมชาติมีอัตราการเติบโตได้ดีกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลที่มีการปรับปริมาณไนเตรทเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ พบว่าสาหร่ายมีการสะสมโปรตีนสูงที่สุด 27.44 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง รองลงมาคือปริมาณน้ำมัน 13.89 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และปริมาณคาร์โบไฮเดรต 11.02 ± 1.98 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์ 10.45 ± 0.86 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งและมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 3.04 ± 0.35 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จากการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในสาหร่าย *S. dimorphus* พบว่ามีสัดส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวคิดเป็น 51.56 เปอร์เซ็นต์ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว 10.77 เปอร์เซ็นต์และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน 37.66 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายมีองค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัวชนิด Palmitic acid (C16:0) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน Linoleic acid (C18:2) ค่อนข้างสูง

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาทดลองเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิดขนาดใหญ่หรือทำการเลี้ยงในแบบต่อเนื่องเพื่อใช้ในระบบบำบัดจริงในโรงงานผลิตไบโอดีเซล
2. ควรมีการทดลองเติมไนโตรเจนประเภทอื่นที่มีราคาถูกเพื่อประหยัดค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสีย
3. ศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมให้สาหร่ายผลิตสารชีวเคมีที่ต้องการและบำบัดน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงขึ้น
4. ศึกษาเพื่อหาวิธีการเก็บเกี่ยวชีวมวลที่เหมาะสม



ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กรรณิการ์ ดิษยวงศ์. 2538. การบำบัดน้ำเสียในลำรางสาธารณะในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลไลนา. รายงานการวิจัยทุน
งบประมาณแผ่นดิน สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.
- จกมล พรหมยะ และ ศิริเพ็ญ ตรีไชยาพร. 2543. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ใน
น้ำทิ้งจากบ่อหมักก๊าซชีวภาพมูลสุกร. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชา
ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- จักรพงษ์ ศรีพนมยม. 2543. อิทธิพลของปริมาณไนเตรตและฟอสเฟตในอาหารเพาะเลี้ยงสำหรับการเจริญของคลอโรเคลล่าที่ใช้ในการเลี้ยงไรติเฟอร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- จินตนา สและน้อย สุจินต์ ดีแท้ เฉลิมวิไล ชื่นศรี รวีวรรณ สุวณิชย์ และ สมเกียรติ ปิยะธีรธิดารกุล.
2543. องค์ประกอบของกรดไขมันที่สะสมในแพลงก์ตอนพืชบางชนิด. การประชุมทาง
วิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 สาขาประมง และสาขาวิทยาศาสตร์,
หน้า 1-8. กรุงเทพมหานคร.
- ชาญชัย อมรัตน์นาคเคราะห์. 2543. ผลของตัวแปรต่อการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์โดยสาหร่าย
ขนาดเล็กในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
เทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ดวงรัตน์ อินทร. 2548. การนำสาหร่ายมาใช้ในทางเทคโนโลยีชีวภาพ. วารสารการส่งเสริมสุขภาพ
และอนามัยสิ่งแวดล้อม [ออนไลน์]. แหล่งที่มา : [http://advisor.anamai.moph.go.th/
223/22310.html](http://advisor.anamai.moph.go.th/223/22310.html) [25 กุมภาพันธ์ 2553]
- ธิดา เพชรมณี. 2543. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง
จังหวัดสงขลา.
- ประเสริฐ สุดใหม่. 2550. ไบโอดีเซล พลังงานแห่งอนาคต: อุตสาหกรรมสำคัญเพื่อทดแทนน้ำมัน
อย่างยั่งยืน. เคหะเกษตร 9: 69
- เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต. 2543. แหล่งน้ำกับปัญหามลพิษ. พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพมหานคร:
สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พนัส งามกนกวรรณ. 2549. เทคโนโลยีการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม. [ออนไลน์] แหล่งที่มา:
http://www.diw.go.th/diw_web/html/versionthai/news/ไบโอดีเซล.pdf [27 ตุลาคม
2552].

พินิดา สามพรานไพบูลย์. 2550. การเปรียบเทียบตัวเร่งปฏิกิริยากรด-ด่าง ในการผลิตไบโอดีเซล จากน้ำมันพืชที่ใช้แล้วที่อุณหภูมิต่างกัน. วารสารวิศวกรรมและเทคโนโลยีมหาวิทยาลัย รังสิต 2: 50-56.

พลังงาน, กระทรวง. 2552. ยุทธศาสตร์พลังงาน. สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักงาน ปลัดกระทรวงพลังงาน.

พิกุล วณิชากิชาติ อนันต์ สันตอมรทัต และ ธิดา เพชรมณี. 2543. ผลกระทบจากการผันแปร อัตราส่วนไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการดูดซึมฟอสฟอรัส-32 และต่อการเจริญเติบโต ของไดอะตอม *Chaetoceros gracillis* และ *Skeletonema costatum*. วารสารสงขลา นครินทร์ 22: 321-327.

ภัทรลักษณ์ จารุวัตร. 2551. การจัดการน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลด้วยกระบวนการ ร่วมระหว่างการทำบำบัดทางเคมีและกระบวนการทางเคมีไฟฟ้า. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย.

มายมูเนาะ มิดคาดี. 2544. ผลของกรดลิโนลีอิกและกรดลิโนลีนิกต่อการเจริญเติบโต ของประกอบของกรดไขมันและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาแคดเหลือง. วารสาร สงขลา นครินทร์. 23: 37-54.

มันสิน ตัณฑุลเวศม์. 2542. เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม เล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มันสิน ตัณฑุลเวศม์. 2545. เคมีวิทยาของน้ำและน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ยศวดี สวัสดิรักษา. 2547. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูง ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

รัตนภรณ์ ลีสิงห์. 2550. ไบโอดีเซลจากน้ำมันสำหรับขนาดเล็ก. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 35: 135-143.

ฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร. 2548. ภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนเมื่อเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2541. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- วิทยา น้อยประเทศ. 2539. ความสัมพันธ์ระหว่างระดับปุ๋ยฟอสเฟตและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วีรัตน์ พลศรี. 2533. การศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสไปรูไลนา (*Spirulina platensis*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารจากมูลสัตว์ต่างชนิดกัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒมหาสารคาม.
- ศิริณา พงษ์พีระ และ สุมนทิพย์ บุนนาค. 2552. การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นขนมจีนโดยใช้สาหร่าย *Spirulina platensis*. การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 4 [ออนไลน์] แหล่งที่มา: <http://gsmis.gs.kku.ac.th/publish/details/6095> [25 กุมภาพันธ์ 2553]
- ศิริเพ็ญ ตรีไชยาพร. 2549. การพัฒนาศักยภาพของสาหร่ายในการบำบัดน้ำเสีย. หน่วยวิจัยสาหร่ายและคุณภาพน้ำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. ส่งเสริมการเกษตร, กรม. 2548. ไบโอดีเซลหนึ่งในพลังงานทางเลือกที่ดีของไทย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://agritech.doae.go.th/actech>. [29 มกราคม 2553]
- สุภฎา ศิริรัฐนิคม นพดล ศุภระกาญจน์ สมภพ อินทสุวรรณ และวุฒิพร พรหมขุนทอง. 2550. ผลของแคโรทีนอยด์จากแหล่งต่างๆ ต่อการเร่งสีปลาสวยงาม. การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 17. 1-10.
- สุรวดี นาคชน. 2539. การลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรด้วยสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* spp. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล.
- สุวราภรณ์ กันทรวิชัยวัฒน์. 2542. การศึกษาคุณค่าทางอาหารของ *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการในงานนิทรรศการ 30 ปี เกษตรเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, หน้า 467-472. กรุงเทพมหานคร.
- อุตสาหกรรม, กระทรวง. 2545. ตำราระบบบำบัดมลพิษน้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย.

ภาษาอังกฤษ

- Abeliovich, A. 1980. Factor limiting algal growth in high-rate oxidation pond. In Shelef, G. and Soeder, C.J. (eds.), Algae Biomass, pp. 205-215. North-Holland: Biomedical Press.
- Antarikanonda, P. and Amarit, P. 1992. Research and development of algal biofertilizer in Thailand. Microbial Utilization of Renewable Resources 8: 434-444.
- APHA, AWWA and WEF. 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th edition. Washington DC: United Book Press.
- Berman, T. and Chava, S. 1999. Algal growth on organic compounds as nitrogen sources. Journal of Plankton Research 21: 1423 - 1437.
- Bestawy, E. 2008. Treatment of mixed domestic–industrial wastewater using cyanobacteria. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 35: 1503 –1516.
- Blight, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37: 911-917.
- Bold, H.C. 1949. The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama*. Bulletin of The Torrey Botanical Club 76: 101-8.
- Brock, T.D., Smith, D.W. and Madigan, M.T. 1984. Biology of Microorganisms. USA: Prentice Hall.
- Brown, T.E. and Richardson, F.L. 1963. The effect of growth environment on the physiology of algae: Light intensity. Journal of Phycology 4: 38-54.
- Carlos, A., Encarnacion, R., Salazar, G., Gustavo, M.S. and Medina, S.C. 2010. Maximization of *Scenedesmus dimorphus* lipid yield for the production of biodiesel. Bachelor of Science in Chemical Engineering, Polytechnic University
- Casadevall, E., Dif, D. and Largeau, C. 1985. Studies on batch and continuous cultures of *Botryococcus braunii* : Hydrocarbon production in relation to physiological state, cell ultrastructure, and phosphate nutrition. Biotechnology and Bioengineering 27: 286-295.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances 25: 294–306.

- Darley, W.M. 1982. Algal biology a physiological approach. In Wikinson, J. F. (ed), Basic Microbiology, pp. 21-53. London: Blackwell scientific publication.
- Devlin, R.M. and Barker, A.V. 1971. Photosynthesis. London: Litton Educational Publication.
- Gerloff, G.C. and Shog, F. 1954. Cell content of nitrogen and phosphorus as a measure of their availability for growth of *Microcystis aeruginosa*, In Mackenthun, K.M. (ed), pp. 30-31. Nitrogen and Phosphorus in Water. USA: Education and Welfare.
- Graham, L. E., Graham, J. M. L. and Wilcox, W. 2002. Plant Biology. New Jersey, USA: Prentice Hall.
- Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates in Culture of Marine Invertebrate Animal. USA: Plenum Press.
- Ha, V.M. 2005. Nutrient removal from African catfish culture through microalgae production. Master of Science in Aquaculture, Faculty Bioscience Engineering, Ghent University.
- Hammer, M.J., and Hammer JR., M.J. 2005. Water And Wastewater Techology. Singapore: Prentice Hall.
- Hodaifa, G., Eugenia, M.M. and Sanchez, S. 2008. Use of industrial wastewater from olive-oil extraction for biomass production of *Scenedesmus obliquus*. Bioresouce Technology 99: 1111-1117.
- Hu, Q. and Sommerfeld, M. 2004. A search for high performance microalgae to remediate nitrate-contaminated groundwater. Proceeding of 48th Annual Meeting of The Arizona-Nevada Academy of Sinces. 1-8.
- Jirí, D., Karel, L., Václav, K. and Vilém, Z. 2009. Production of *Chlorella* biomass enriched by selenium and its use in animal nutrition: A review. Applied Microbiology and Biotechnology 83: 1001–1008.
- Kaplan, D.S., Richmond, A.E., Dubinsky, Z. and Aaronson, S. 1986. Algal Nutrition. In Richmond, A. (ed.), Handbook of Microalgal Mass Culture, pp. 147-198. Boca Raton. CRC Press.

- Kassim, T.I. 2002. Possible use of microalgae to remove phosphate and nitrate from wastewater. Proceeding of International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management. 628-632.
- Kawai, H., Grieco, V. M. and Juleidini, P. 1984. A study of the treat ability of pollution in high rate photosynthetic ponds and the utilization of protein potential of algae which proliferate in the pond. Environmental Technology Letters 5: 505-516.
- Kim, M.K., Park, J.W., Park, C.S., Kim, C.S., Jeune, K.H., Chang, M.U. and Acreman, J. 2007. Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. Bioresource Technology 98: 2220-2228.
- Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method in: Hellebust. In Craigie, J.S. (ed.), Handbook of Phycological Methods. Physiological and Biochemical Methods, pp.95-97. USA: Cambridge University Press.
- Lobban, C.S., and Harrison, P.J. 1994. Seaweed Ecology and Physiology. USA: Cambridge University Press.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A.L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. Journal of Biological Chemistry. 193: 265-275.
- Makulla, A. 2000. Fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus*: Correlation to dilution rate. Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters 30: 162-168.
- Mandal, S. and Mallick, N .2009. Microalga *Scenedesmus Obliquus* as a potential source for biodiesel production. Applied Microbiology and Biotechnology 84: 281-291.
- Martinez, M.E., Sanchez, S., Jimenez, J.M., El Yous, F. and Munoz, L. 1999. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. Bioresource Technology 73: 263-272.
- Mata, T.M., Martin, A.A. and Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 14: 217-232.

- McCarthy, J. J., Taylor, W. R. and Taft, J.L. 1977. Nitrogenous nutrition of the plankton in Chesapeake Bay. Nutrient availability and phytoplankton preferences. Limnology and Oceanography 22: 996-101.
- Metting, F.B. 1996. Biodiversity and application of microalgae. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 17: 447-489.
- Michael, A. and Lesley, J. 1988. Micro-algal Biotechnology. USA: Cambridge University Press.
- Nakamura, H. 1982. Spirulina : Food for Hungry World. California: University of Trees Press.
- Ogbonna, J.C., Masui, H. and Tanaka, H. 1997. Sequential heterotrophic autotrophic cultivation an efficient method of producing *Chlorella* biomass for health food and animal feed. Journal of Applied Phycology 9: 359-366.
- Oilgae. 2009. Algal Oil Yield [online]. Available from: www.oilgae.com [2009, October 27]
- Pang, S. M. and Ong, K. C. 1988. Algal biomass production in digested palm oil mill effluent. Biology Wastes 25: 177-191.
- Pyle, D.J., Garcia, R.A. and Wen, Z. 2008. Producing docosahexaenoic acid (DHA)-rich algae from biodiesel-derived crude glycerol: effects of impurities on DHA production and algal biomass composition. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56: 3933-3939.
- Richmond, A. 1986. Handbook of Microalgal Mass Culture. Florida: CRC press.
- Round, F.E. 1977. The Biology of Algae. 2nd edition. London: Edward Arnold.
- Spolaore, P., Joannis, C.C., Duran, E. and Isambert, A. 2006. Commercial application of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering 101: 87-96.
- Sreesai, S. and Pakpain, P. 2007. Nutrient recycling by *Chlorella vulgaris* from septage effluent of the Bangkok City, Thailand. Science Asia 33: 293-299.
- Strickland, J.D.H. and Parson, T.R. 1972. A Practical Handbook of Water Analysis. Ottawa: Fisher Research Board of Canada.
- Suttle, C.A. and Harrison, P.J. 1988. Ammonium and phosphate uptake rates, N:P supply ratio, and evidence for N and P limitation in some oligotrophic lakes. Limnology and Oceanography 33: 186-202.

- Tarlan, E., Dilek, F.B., and Yetis, U. 2002. Effectiveness of algae in the treatment of a wood-based pulp and paper industry wastewater. Bioresource Technology 84: 1-5.
- Trainor, F.R. 1978. Introductory Phycology. New York :University of Connecticut.
- Travieso, L. 2008. Batch culture growth of *Chlorella zofingiensis* on effluent derived from two-stage anaerobic digestion of two-phase olive mill solid waste. Journal of Biotechnology 11: 12-19.
- Van, E.C. 1980. Ecophysiological studies on *Spirulina platensis* : Effect of temperature, light intensity and nitrate concentration on growth and ultrastructure. Antonie van Leeuwenhoek 46: 113-127.
- Walker, J.B. 1953. Inorganic micronutrient requirement of *Chlorella* requirements for calcium (or strontium), copper and molybdenum. Archives of Biochemistry and Biophysic 46: 1-11.
- Wiessner, W. 1962. Inorganic micronutrients. In Lewin, R. A. (ed). Physiology and Biochemistry Of Algae, pp. 239-244. London: Academic Press.
- Xu, H., Miao, X. and Wu, Q. 2006. High quality biodiesel production from a microalgae *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. Journal of Biotechnology 126: 499-507.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารและการเตรียมสูตรอาหาร Bold's Basal (BB) Medium

1. ธาตุอาหารหลัก 6 ชนิดได้แก่

NaNO ₃	(5.0 กรัม/200 มิลลิลิตร)	10.0 มิลลิลิตร
MgSO ₄ ·7H ₂ O	(1.5 กรัม/200 มิลลิลิตร)	10.0 มิลลิลิตร
NaCl	(0.5 กรัม/200 มิลลิลิตร)	10.0 มิลลิลิตร
K ₂ HPO ₄	(1.5 กรัม/200 มิลลิลิตร)	10.0 มิลลิลิตร
KH ₂ PO ₄	(3.5 กรัม/200 มิลลิลิตร)	10.0 มิลลิลิตร
CaCl ₂ ·2H ₂ O	(0.5 กรัม/200 มิลลิลิตร)	10.0 มิลลิลิตร

2. ธาตุอาหารที่จำเป็น 5 ชนิดได้แก่

H ₃ BO ₃	(1.14 กรัม/100 มิลลิลิตร)	1.0 มิลลิลิตร
Trace elements solution		1.0 มิลลิลิตร
ZnSO ₄ ·7H ₂ O		8.82 กรัม
MnCl ₂ ·4H ₂ O		1.44 กรัม
MoO ₃		0.71 กรัม
CuSO ₄ ·5H ₂ O		1.57 กรัม
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O		0.49 กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร (ต้อง Autoclave ถึงจะละลาย)

EDTA stock	1.0 มิลลิลิตร
EDTANa ₂	5.0 กรัม
KOH	3.1 กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

Fe solution	1.0 มิลลิลิตร
FeSO ₄ ·7H ₂ O	4.98 กรัม
conc H ₂ SO ₄	1.0 มิลลิลิตร

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์ของสาหร่าย

วิธีวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต (Kochert, 1978)

เตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์

สารละลายที่ 1

H ₂ SO ₄	56	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1	ลิตร

สารละลายที่ 2

phenol	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างสาหร่ายประมาณ 0.001 กรัม (จดน้ำหนักที่แน่นอน)
2. เติม 1M H₂SO₄ 0.5 มิลลิลิตร ทำให้เซลล์แตกโดยคลื่นเสียงความถี่สูงเป็นเวลา 5 นาที
3. จากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง
4. วางทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปปั่นแยกตะกอน
5. เติมสารละลายฟีนอล 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นจึงเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2.5 มิลลิลิตรทันที และผสมให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของคาร์โบไฮเดรต

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Lowry, 1951)

เตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์

สารละลายที่ 1

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

สารละลายที่ 2

$\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

สารละลายที่ 3

Na_2CO_3	5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

สารละลายที่ 4 (เตรียมใหม่ทุกครั้งเมื่อจะทำการทดลอง)

สารละลายที่ 1	1	มิลลิลิตร
สารละลายที่ 2	1	มิลลิลิตร
สารละลายที่ 3	50	มิลลิลิตร

สารละลายที่ 6

NaOH	4	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

สารละลายที่ 7

Folin-Ciocalteu phenol reagent	10	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	10	มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

- นำตัวอย่างแห้ง 0.001 กรัม เติม 1 N NaOH 0.5 มิลลิลิตรนำไปต้ม 90 นาที
- เติมสารละลายที่ 4 2.5 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาทีในที่มืด
- เติมสารละลายที่ 7 0.5 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20-30 นาทีในที่มืด
- นำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร นำค่าเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรตีน เตรียมจาก Bovin Serum Albumin กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

1. ชั่งสำหรับ่าย 50-100 มิลลิกรัม
2. เติม chloroform : methanol (1:2) v/v 3.75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและทิ้งไว้ 20 นาที
3. เติม chloroform 1.25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและทิ้งไว้ 1 นาที
4. เติม methanol 1.25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและทิ้งไว้ 1 นาที
5. บั่นแยกตะกอน (4000 rpm, 5 นาที)
6. ดูดส่วนล่างชั้น Chloroform (สีเขียว)
7. เติม methanol: water (10:9) 2.5 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วบั่นแยกตะกอน (4000 rpm, 5 นาที)
8. สารละลายส่วนบน นำมาเติม methanol: water (10:9) 2.5 ml และ chloroform : methanol (1:2) v/v 2.5 มิลลิลิตรเขย่าแรงๆ
9. บั่นแยกตะกอน (4000 rpm, 5 นาที)
10. ดูดส่วนล่างชั้น Chloroform (สีเขียว)
11. ทำให้แห้ง เมื่อตัวอย่างใกล้แห้งเติม chloroform : methanol (1:2) 0.5 มิลลิลิตร
12. ดูดลง Micro centrifuge Tubes ทำให้แห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก

วิธีวิเคราะห์ปริมาณชนิดและปริมาณไขมัน (Bugde, S. M. และคณะ, 2001)

1. นำตัวอย่างที่ใกล้แห้ง เติม Hexane 0.5 มิลลิลิตร
2. เติม 0.01 M NaOH/methanol reagent 1 ml มิลลิลิตร
3. ผสมให้เข้ากันที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 1 ชม. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. เติมน้ำ 0.5 มิลลิลิตร เขย่า 10 นาที
5. เติม hexane 2 มิลลิลิตร เขย่า 10 นาที
6. บั่นแยกตะกอน (4000 rpm, 5 นาที) ดูดชั้น hexane (ชั้นบน) จากนั้นฉีดตัวอย่างลงในเครื่อง Gas Chromatography

การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง (APHA, AWWA and WEF, 1998)

1. อบกระดาษกรอง GF/C ปล่อยให้เย็นในตู้ดูดความชื้น นำไปชั่งน้ำหนัก
2. นำกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักไปกรองสารห่วยปริมาตร 10 มิลลิลิตร
3. นำกระดาษกรองไปอบที่ 103-105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในตู้ดูดความชื้น
4. นำกระดาษกรองที่อบแล้วไปชั่งน้ำหนัก น้ำหนักกระดาษกรองที่เพิ่มขึ้นคือน้ำหนักแห้งสารห่วย

การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Strickland and parsons, 1968)

1. ชั่งตัวอย่างสารห่วย 0.02 มิลลิกรัม
2. บีบตะกอน 90 เปอร์เซ็นต์ มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีตัวอย่างสารห่วยแล้วทำการเขย่า
3. ใส่ตู้เย็นในที่มืดอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 20 ชั่วโมง
4. บั่นแยกตะกอนด้วยความเร็วรอบ 1,500 รอบ/วินาที เป็นเวลา 5 นาที
5. เทสารละลายใสมาวัด เปอร์เซ็นต์ค่าความดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ wavelength 630, 645, และ 665 นาโนเมตร

6. การคำนวณ

$$C (\text{คลอโรฟิลล์เอ}) = 11.6E_{665} - 1.31E_{645} - 0.14E_{630}$$

เมื่อ E_{665} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ 665 นาโนเมตร

E_{645} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ 645 นาโนเมตร

E_{630} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ 630 นาโนเมตร

การวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ (Strickland and parsons, 1968)

1. ชั่งตัวอย่างสารห่วย 0.02 มิลลิกรัม
2. บีบตะกอน 90 เปอร์เซ็นต์ มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีตัวอย่างสารห่วยแล้วทำการเขย่า
3. ใส่ตู้เย็นในที่มืดอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 20 ชั่วโมง
4. บั่นแยกตะกอนด้วยความเร็วรอบ 1,500 รอบ/วินาที เป็นเวลา 5 นาที

5. เทสารละลายสีม่วงเปอร์เซ็นต์ค่าความดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ wavelength 480, และ 510 นาโนเมตร

6. การคำนวณ

$$C \text{ (แคโรทีนอยด์)} = 7.6 (E_{480} - 1.49 E_{510})$$

เมื่อ E_{480} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ 480 นาโนเมตร

E_{510} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ 510 นาโนเมตร



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

มาตรฐานคุณภาพน้ำ

ตารางที่ ค-1 มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม

ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
ค่าความเป็นกรด-เบส (pH value)	5.5-9.0	pH Meter
ค่าที่ติเอส (TDS หรือ Total Dissolved Solids)	<ul style="list-style-type: none"> ● ไม่เกิน 3,000 มก./ล. หรืออาจแตกต่างกันได้แต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควรแต่ไม่เกิน 5,000 มก./ล. ● น้ำทิ้งที่จะระบายลงแหล่งน้ำกร่อยที่มีค่าความเค็ม (Salinity) เกิน 2,000 มก./ล. หรือลงสู่ทะเล ค่าที่ติเอสในน้ำทิ้งจะมีค่ามากกว่าค่าที่ติเอสที่มีอยู่ในแหล่งน้ำกร่อยหรือน้ำทะเลได้ไม่เกิน 5,000 มก.ล. 	ระเหยแห้งที่อุณหภูมิ 103 -105° C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
สารแขวนลอย (Suspended Solids)	ไม่เกิน 50 มก./ล. หรืออาจแตกต่างกันได้แต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม หรือประเภทของระบบบำบัดน้ำเสียตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควรแต่ไม่เกิน 150 มก./ล.	กรองผ่านกระดาษกรองใยแก้ว (Glass Fiber Filter Disc)
อุณหภูมิ (Temperature)	ไม่เกิน 40°C	เครื่องวัดอุณหภูมิ วัดขณะทำการเก็บตัวอย่างน้ำ
สีหรือกลิ่น	ไม่เป็นที่พึงรังเกียจ	ไม่ได้กำหนด
ซัลไฟด์ (Sulfide as H ₂ S)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.	Titrate
ไซยาไนด์ (Cyanide as HCN)	ไม่เกิน 0.2 มก./ล.	กลั่นและตามด้วยวิธี Pyridine Barbituric Acid
น้ำมันและไขมัน (Fat, Oil and Grease)	ไม่เกิน 5.0 มก./ล. หรืออาจแตกต่างกันได้แต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือ ประเภทของโรงงานอุตสาหกรรมตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควรแต่ไม่เกิน 15 มก./ล.	สกัดด้วยตัวทำละลาย แล้วแยกหาน้ำหนักของน้ำมันและไขมัน

ตารางที่ ค-1 มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม(ต่อ)

ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
ฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.	Spectrophotometry
สารประกอบฟีนอล (Phenols)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.	กลั่นและตามด้วยวิธี 4-Aminoantipyrine
คลอรีนอิสระ (Free Chlorine)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.	Iodometric Method
สารที่ใช้ป้องกันหรือกำจัด ศัตรูพืชหรือสัตว์ (Pesticide)	ต้องตรวจไม่พบตามวิธีตรวจสอบที่กำหนด	Gas-Chromatography
ค่าบีโอดี (5 วัน ที่อุณหภูมิ 20°C (Biochemical Oxygen Demand : BOD)	ไม่เกิน 20 มก./ล. หรือแตกต่างกันแล้วแต่ประเภทของ แหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงาน อุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษ เห็นสมควร แต่ไม่เกิน 60 มก./ล.	Azide Modification ที่อุณหภูมิ 20°C เป็นเวลา 5 วัน
ค่าที่เคเอ็น (TKN หรือ Total Kjeldahl Nitrogen)	ไม่เกิน 100 มก./ล. หรืออาจแตกต่างกันแล้วแต่ละ ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของ โรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุม มลพิษเห็นสมควร แต่ไม่เกิน 200 มก./ล.	Kjeldahl
ค่าซีโอดี (Chemical Oxygen Demand : COD)	ไม่เกิน 120 มก./ล. หรืออาจแตกต่างกันแล้วแต่ละ ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของ โรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุม มลพิษเห็นสมควร แต่ไม่เกิน 400 มก./ล.	Potassium Dichromate Digestion
โลหะหนัก (HeavyMetal) สังกะสี (Zn)	ไม่เกิน 5.0 มก./ล.	Atomic Absorption Spectro Photometry ชนิด Direct Aspiration หรือวิธี Plasma Emission Spectroscopy ชนิด Inductively Coupled Plasma : ICP

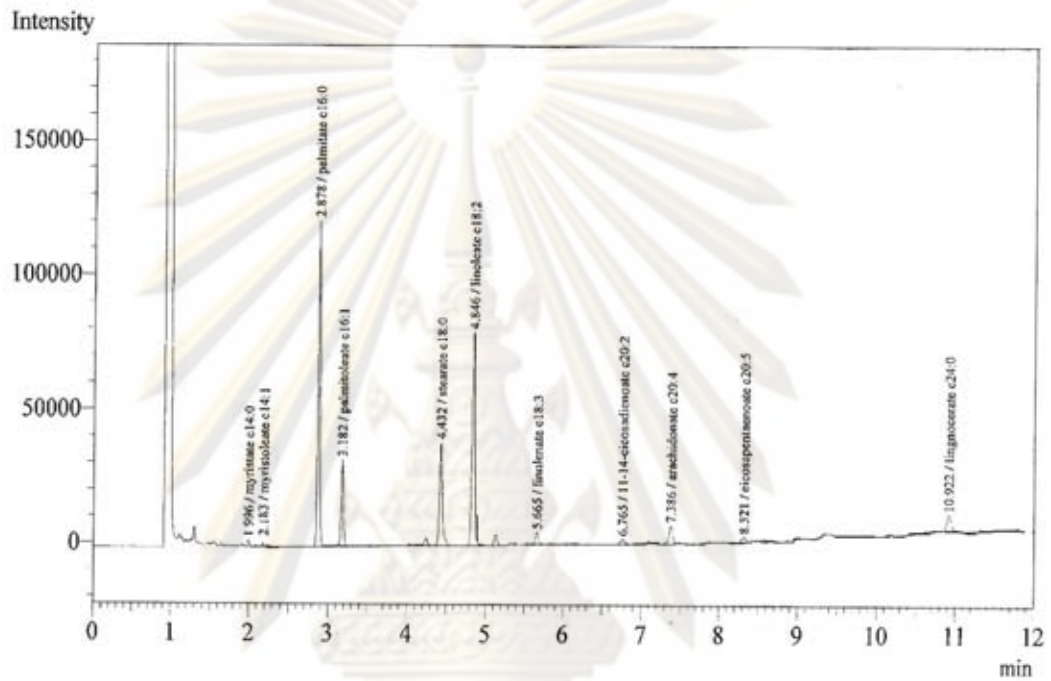
ตารางที่ ค-1 มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม (ต่อ)

ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
โครเมียมชนิดเฮกซะวาเลนต์ (Hexavalent Chromium)	ไม่เกิน 0.25 มก./ล.	
โครเมียมชนิดไตรวาเลนต์ (Trivalent Chromium)	ไม่เกิน 0.75 มก./ล.	
ทองแดง (Cu)	ไม่เกิน 2.0 มก./ล.	
แคดเมียม (Cd)	ไม่เกิน 0.03 มก./ล.	
แบเรียม (Ba)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.	
ตะกั่ว (Pb)	ไม่เกิน 0.2 มก./ล.	
นิกเกิล (Ni)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.	
แมงกานีส (Mn)	ไม่เกิน 5.0 มก./ล.	
อาร์เซนิก (As)	ไม่เกิน 0.25 มก./ล.	- Atomic Absorption Spectrophotometry ชนิด Hydride Generation หรือวิธี Plasma Emission Spectroscopy ชนิด Inductively Coupled Plasma : ICP
ซีเลเนียม (Se)	ไม่เกิน 0.02 มก./ล.	- Atomic Absorption Spectrophotometry ชนิด Hydride Generation หรือวิธี Plasma Emission Spectroscopy ชนิด Inductively Coupled Plasma : ICP
ปรอท (Hg)	ไม่เกิน 0.005 มก./ล.	- Atomic Absorption Cold Vapour Technique

แหล่งที่มา : ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2539) ลงวันที่ 3 มกราคม 2539 เรื่องกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภท โรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 113 ตอนที่ 13 ลงวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2539

ภาคผนวก ง

โครมาโตแกรมของกรดไขมัน



รูปที่ ง-1 โครมาโตแกรมกรดไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล ที่มีการปรับไนโตรเจนเป็น 40 มิลลิกรัม/ลิตร ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ

ศูนย์วิจัยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวทักษพร รัตนมุขย์ เกิดวันที่ 7 กันยายน 2525 ณ จังหวัดมหาสารคาม สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต(ประมง) จากภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร ในปีการศึกษา 2548 และเข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท หลักสูตรสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2550



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย