การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดไนเตรตและฟอสฟอรัสของสาหร่ายขนาดเล็กที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์

STUDY OF NITRATE AND PHOSPHORUS REMOVAL EFFICIENCY BY MICROALGAE IN SYNTHETIC WASTEWATER

กุลธิดา พูนพอกสิน

เขมิกา แสงโนราช

ชลธิชา อาจคงหาญ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

STUDY OF NITRATE AND PHOSPHORUS REMOVAL EFFICIENCY BY MICROALGAE IN SYNTHETIC WASTEWATER

KULTHIDA POONPOKSIN

KHEMIKA SANGNORAT

CHONTICHA AADKONGHAN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIRMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2018

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดไนเตรตและฟอสฟอรัสของสาหร่ายขนาดเล็กที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์

STUDY OF NITRATE AND PHOSPHORUS REMOVAL EFFICIENCY OF MICROALGAE BY SYNTHETIC WASTEWATER

ชื่อนักศึกษา นางสาวกุลธิดา พูนพอกสิน **รหัสนักศึกษา 58050865**

นางสาวเขมิกา แสงโนราช **รหัสนักศึกษา 58050867**

นางสาวชลธิชา อาจคงหาญ **รหัสนักศึกษา 58050873**

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ. วีนา ชูโชติ ประธานกรรมการ	
รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง กรรมการ	
ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้ง [illegible] ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดไนเตรตและฟอสฟอรัสของสาหร่ายขนาดเล็กที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกุลธิดา พูนพอกสิน	รหัสนักศึกษา 58050865
	นางสาวเขมิกา แสงโนราช	รหัสนักศึกษา 58050867
	นางสาวชลธิชา อาจคงหาญ	รหัสนักศึกษา 58050873
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
คณะ	วิทยาศาสตร์	
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	
ปีการศึกษา	2561	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ	

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้สาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่สาหร่าย *Chlorella* sp.(A1), *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3) และ *Monoraphidium circinale* (A4) มาเพาะเลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ เพื่อทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพการลดปริมาณธาตุอาหารไนเตรตและฟอสฟอรัสที่มีการเติมลงไปในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด การทดลองละ 3 ซ้ำในสาหร่ายแต่ละชนิด คือ การทดลองชุดที่ 1 ได้มีการเติมไนเตรตกับฟอสฟอรัสลงไป 2 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการทดลองชุดที่ 2 ได้มีการเติมไนเตรตกับฟอสฟอรัสลงไป 3 และ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทำการใส่หัวเชื้อสาหร่ายที่มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.5-0.6 ลงไป 10% ในน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แล้วทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลาทั้งหมด 6 วัน ซึ่งมีการเก็บตัวอย่างในทุกๆวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรต ฟอสฟอรัส และค่าซีโอดีที่ลดลง โดยในวันสุดท้ายของการทดลอง ได้ทำการหาน้ำหนักชีวมวลแห้งและไขมันทั้งหมดที่สาหร่ายสามารถผลิตได้หลังจากสิ้นสุดระยะเวลาเพาะการเลี้ยง จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. (A1)

เป็นสาหร่ายที่มีความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มขึ้นมากที่สุดจากการทดลองในชุดที่ 2 โดยมีค่าความหนาแน่นเท่ากับ 1.01 ± 0.07 ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดไนเตรต พบว่า สาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4) มีประสิทธิภาพในการกำจัดไนเตรตได้มากที่สุดเท่ากับ 63.25% จากการทดลองในชุดที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัส พบว่า สาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4) มีประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสมากที่สุด เท่ากับ 79.01% ในการทดลองชุดที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดี พบว่า สาหร่าย*Chlorella* sp. (A1) มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการลดค่าซีโอดี โดยมีค่า เท่ากับ 68.00% จากการทดลองในชุดที่ 2 นอกจากนี้การจากการศึกษาน้ำหนักชีวมวลแห้งและไขมัน พบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp. (A2) มีน้ำหนักชีวมวลแห้งมากที่สุดเท่ากับ 0.05 ± 0.02 กรัมต่อลิตร จากการทดลองในชุดที่ 2 ส่วนสาหร่าย *Chlorella* sp. (A1) พบว่า มีผลผลิตของไขมันมากที่สุดเท่ากับ 0.53 ± 0.03 กรัมต่อลิตร จากการทดลองในชุดที่2

คำสำคัญ : การบำบัดน้ำเสีย น้ำเสีย ไนเตรต ฟอสฟอรัส สาหร่าย

Title STUDY OF NITRATE AND PHOSPHORUS REMOVAL EFFICIENCY BY MICROALGAE IN SYNTHETIC WASTEWATER

Student Miss Kunthida Poonpoksin Student ID 58050865
Miss Khemika Sangnorat Student ID 58050867
Miss Chonticha Aadkonghan Student ID 58050873

Degree Bachelor of Science (Industrial Microbiology)

Department Biology

Faculty Science

University King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)

Academic Year 2018

Advisor Asst. Mongkol Phensaijai

Abstract

The propose of this study was cultivated microalgae ; *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3) and *Monoraphidium cricinale* (A4) with synthetic wastewater for studying the efficiency of reducing the amount of nutrients, nitrates and phosphorus. By dividing into 2 sets of experiments and 3 trials per experiment in each type of algae. First set of experiment added 2 and 6 milligrams per liter of nitrate and phosphorus, respectively. For the second of experiment, nitrate and phosphorus were added 3 and 12 milligrams per liter, respectively. Then added inoculum of algae which in the range of 0.5 to 0.6 at absorbance 560 nm, inoculated 10 mL to 1000 mL of synthetic wastewater, cultivation for 6 days and collecting samples every day for nitrate, phosphorus and COD quantitative analysis. On last day of the experiments have determined the dry cell weight and lipid content. From the results of the experiments, *Chlorella* sp. (A1) was the highest cell density of algae in the second experiment with a density 1.01 ± 0.07. For nitrate removal found that

Monoraphidium circinale (A4) had the highest nitrate removal efficiency with 63.25% in the second experiment. For phosphorus removal, it was found that *Monoraphidium circinale* (A4) has the highest phosphorus efficiency with 79.01% from the second experiment. *Chlorella* sp. (A1) was found that the highest COD removal efficiency in the second experiment with 68%. In addition, the study of dry cell weight cell was found the *Chlorella* sp. (A2) in the second experiment has the highest dry cell weight with 0.05 ± 0.02 grams per liter. Lastly, *Chlorella* sp. (A1) showed the highest lipid content with 0.53 ± 0.03 grams per liter from the second experiment.

Keywords : Algae , Nitrate , Phosphorus , Wastewater , Wastewater treatment

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเรื่อง สาหร่ายบำบัดน้ำเสีย นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความช่วยเหลือและให้ความกรุณาอย่างสูง ขอขอบพระคุณ ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาและตรวจสอบปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างยิ่ง ตลอกจนให้ความรู้ ประสบการณ์ที่ดีและให้คำชี้แนะ ช่วยแก้ปัญหาจนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ. วีนา ชูโชติ ประธานกรรมการ และ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง กรรมการ ที่ได้ให้ความกรุณาสละเวลาเพื่อตรวจทาน และให้คำปรึกษาและพิจารณาโครงงานพิเศษนี้

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ได้อบรมสั่งสอนและให้กำลังใจและสนับสนุนการทำโครงงานพิเศษนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนที่ร่วมทำโครงงานพิเศษนี้ และเพื่อน ๆ ทุกคนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับโครงงานพิเศษนี้ ที่คอยให้กำลังใจและช่วยเหลือซึ่งกันและกัน จนโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำหวังว่า โครงงานพิเศษฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่น้อย จึงขอมอบคุณงามความดีทั้งหมดนี้ให้แก่เหล่าคณาจารย์ผู้ประสิทธิประสาทวิชาความรู้ทุกท่านตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน และขอมอบความกตัญญูกตเวทิตาคุณแก่บิดา มารดา และผู้มีพระคุณทุกท่าน สำหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยขอน้อมรับไว้ทั้งหมดและขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

กุลธิดา พูนพอกสิน

เขมิกา แสงโนราช

ชลธิชา อาจคงหาญ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .... ค

กิตติกรรมประกาศ .... จ

สารบัญ .... ฉ

สารบัญตาราง .... ฎ

สารบัญรูปภาพ .... ฏ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขต 3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 ความหมายของสาหร่าย (Algae) 4

2.2 สาหร่ายสีเขียว (Chlorophyta) 4

2.3 สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) 5

2.3.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของคลอเรลลา 6

2.4 *Monoraphidium circinale* 8

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย 9

2.5.1 ปัจจัยทางกายภาพ 9

2.5.2 ปัจจัยทางเคมี 10

2.6 น้ำเสีย 10

2.6.1 น้ำเสียจากแหล่งชุมชน 10

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6.2 น้ำเสียจากกิจกรรมอุตสาหกรรม 11
2.7 ประเภทของน้ำเสียและกรรมวิธีที่ใช้ในการบำบัดโดยทั่วไป 11
2.7.1 ประเภทของน้ำเสีย 11
2.7.2 ลักษณะสมบัติที่วิเคราะห์ 12
2.7.3 กรรมวิธีที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย 12
2.8 ธาตุอาหารสำคัญในน้ำเสีย 14
2.8.1 ไนโตรเจน (Nitrogen) 14
2.8.2 ฟอสฟอรัส (Phosphorus) 15
2.9 การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่าย 16
2.10 ปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชั่น (Eutrophication) 18
2.10.1 ธาตุอาหารพืชที่ส่งผลต่อการเกิดยูโทรฟิเคชัน 18
2.10.2 ผลกระทบจากการเกิดยูโทรฟิเคชัน 19
2.10.3 การกำจัดธาตุอาหารประเภทไนโตรเจนและฟอสฟอรัส 19
2.11 ซีโอดี (COD) 19
2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 20
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 21
3.1 สาหร่าย 21
3.2 สารเคมี 21
3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ 21
3.2.2 สารเคมีสำหรับเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ 22
3.2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไนเตรต 22

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.4 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส 22
3.2.5 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ค่าซีโอดี (COD) 22
3.2.6 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไขมัน 23
3.3 เครื่องมือ 23
3.4 การคัดแยกสาหร่าย 24
3.5 การเก็บหัวเชื้อสาหร่าย 24
3.6 การเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ 24
3.7 การกำจัดธาตุอาหารในน้ำเสียสังเคราะห์ 24
3.8 การวัดการเพิ่มปริมาณของสาหร่าย 25
3.9 การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรตในน้ำเสีย 25
3.10 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำเสีย 25
3.11 ซีโอดี (COD) 26
3.12 การวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นชีวมวลแห้งของสาหร่าย 26
3.13 การวิเคราะห์หาปริมาณการผลิตไขมันของสาหร่าย 27
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 28
4.1 สาหร่าย 28
4.2 ค่าความหนาแน่นของเซลล์ 29
4.3 ความสามารถในการกำจัดธาตุอาหาร 32
4.3.1 ความสามารถในการกำจัดธาตุอาหารไนเตรต 32
4.3.2 ความสามารถในการกำจัดธาตุอาหารฟอสฟอรัส 36
4.4 ประสิทธิภาพในการลดลงของความต้องการออกซิเจนทางเคมี 41
4.5 น้ำหนักชีวมวลแห้งและปริมาณไขมัน 44

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.5.1 น้ำหนักชีวมวลแห้ง (DCW) 44

4.5.2 ผลผลิตไขมัน 46

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 49

5.1 สรุปผล 49

5.2 ข้อเสนอแนะ 50

เอกสารอ้างอิง 51

ภาคผนวก 57

ภาคผนวก ก 58

ภาคผนวก ข 64

ภาคผนวก ค 72

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 สายพันธุ์สาหร่ายจำนวน 4 ชนิด ที่ผ่านการแยกมาจากน้ำเสีย 21

4.1 ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้นของเซลล์สาหร่าย ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร 30

4.2 ปริมาณไนเตรตที่ลดลงโดยเฉลี่ยหลังจากการทดลอง 6 วัน
เมื่อวัดค่าที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร 33

4.3 ปริมาณฟอสฟอรัสที่ลดลงโดยเฉลี่ยหลังจากการทดลอง 6 วัน
เมื่อวัดค่าที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร 37

4.4 ปริมาณซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ลดลงโดยเฉลี่ยหลังจากการทดลอง 6 วัน 41

4.5 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักชีวมวลแห้ง 45

4.6 แสดงค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมัน 47

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ **หน้า**

2.1 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ *Chlorella* sp. 5

2.2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ *Monoraphidium circinale* 8

2.3 น้ำเสียชุมชน 11

2.4 วัฏจักรไนโตรเจน (Nitrogen cycle) 14

2.5 วัฏจักรฟอสฟอรัส (Phosphorus cycle) 16

4.1 ลักษณะรูปร่างของ *Chlorella* sp. (A1) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า 28

4.2 ลักษณะรูปร่างของ *Chlorella* sp. (A2) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า 28

4.3 ลักษณะรูปร่างของ *Chlorella* sp. (A3) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า 29

4.4 ลักษณะรูปร่างของ *Monoraphidium circinale* (A4) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า 29

4.5 กราฟแสดงค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่ายในชุดการทดลองที่ 1 31

4.6 กราฟแสดงค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่ายในชุดการทดลองที่ 2 31

4.7 กราฟแสดงปริมาณไนเตรตของการทดลองชุดที่ 1 34

4.8 กราฟแสดงแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดไนเตรตของการทดลองชุดที่ 1 34

4.9 กราฟแสดงปริมาณไนเตรตในชุดการทดลองที่ 2 35

4.10 กราฟแสดงแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดไนเตรตของการทดลองชุดที่ 2 35

4.11 กราฟแสดงปริมาณฟอสฟอรัสในชุดการทดลองที่ 1 38

4.12 กราฟแสดงแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสของการทดลองชุดที่ 1 39

4.13 กราฟแสดงปริมาณฟอสฟอรัสในชุดการทดลองที่ 2 39

4.14 กราฟแสดงแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสของการทดลองชุดที่ 2 40

4.15 กราฟแสดงปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมีในชุดการทดลองที่ 1 42

4.16 กราฟแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดความต้องการอ้อกซิเจนทางเคมีในการทดลองชุดที่ 1 43

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ **หน้า**

4.17 กราฟแสดงปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมีในชุดการทดลองที่ 1 43

4.18 กราฟแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดความต้องการออกซิเจนทางเคมีในการทดลองชุดที่ 1 44

4.19 กราฟแสดงแสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักชีวมวลแห้ง 46

4.20 กราฟแสดงแสดงค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมัน 47

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ในปัจจุบันภาคอุตสาหกรรมและภาคการเกษตรของประเทศไทยได้มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นจากเดิมเป็นอย่างมาก แต่สิ่งที่มีการเพิ่มขึ้นตามไปด้วยนอกจากผลผลิตและผลิตภัณฑ์ต่างๆนั้นก็คืออัตราน้ำเสียที่ถูกปล่อยออกมา โดยในน้ำเสียมักจะอุดมไปด้วยธาตุอาหารต่าง ๆ มากมาย อาทิเช่น ธาตุอาหารจำพวกไนเตรตและฟอสฟอรัส ซึ่งธาตุอาหารทั้งสองนี้หากมีมากเกินไปในแหล่งน้ำย่อมส่งผลให้เกิดการเน่าเสียของน้ำ เนื่องจากธาตุอาหารทั้งสองนั้นถือว่าเป็นปุ๋ยชนิดหนึ่งที่จุลชีพต่าง ๆ ในน้ำและพืชน้ำ ตัวอย่างเช่น จอก แหน ผักตบชวา เป็นต้น สามารถที่จะดูดซึมนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ และถึงแม้ว่าพืชนั้นจะมีการปล่อยออกซิเจนออกมาหลังจากระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง แต่เนื่องจากการเจริญที่เพิ่มจำนวนมากขึ้นของจุลชีพอีกทั้งสัตว์ชนิดต่าง ๆ ที่อาศัยอยู่ในน้ำย่อมทำให้มีการใช้ออกซิเจนมากขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้การเจริญของพืชน้ำอาจจะมีการเพิ่มจำนวนจนปกคลุมไปทั่วผิวน้ำ ทำให้ขัดขวางการละลายของออกซิเจนจากอากาศลงสู่แหล่งน้ำ ซึ่งเมื่อออกซิเจนในน้ำลดลงประกอบกับความต้องการใช้ออกซิเจนที่มากขึ้นย่อมทำให้ออกซิเจนที่มีอยู่ในน้ำถูกใช้จนหมดไป ก่อให้เกิดปัญหาสภาพไร้อากาศ (Anaerobic condition) ทำให้ในแหล่งน้ำธรรมชาติไม่มีปริมาณของออกซิเจนละลายในน้ำ ส่งผลให้เกิดสภาพน้ำที่มีสีดำ มีกลิ่นเหม็น และเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ (ฐิติชญา, 2555) นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมและเกิดค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากจำเป็นที่จะต้องมีการทำการบำบัดน้ำเสียต่อไป

การบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไปสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งได้แก่ การบำบัดทางเคมี การบำบัดทางกายภาพ และการบำบัดทางชีวภาพ แต่โดยทั่วไปมักจะนิยมใช้การบำบัดทางกายภาพหรือการบำบัดทางชีวภาพร่วมกับการบำบัดทางเคมี เนื่องจากการเติมสารเคมีลงไปในน้ำเสียทำให้เกิดการแยกสารต่างๆออกจากกันได้ง่ายและสะดวกต่อการนำไปแยกกำจัดหรือบำบัด แต่การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีการทางเคมีนั้นมักจะมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง และสารที่เติมลงไปบางอย่างอาจก่อให้เกิดเป็นมลพิษตามมาในภายหลังได้ นอกจากนี้ในการบำบัดน้ำเสียบางครั้งอาจจะต้องมีขั้นตอนที่ซับซ้อนมากขึ้นหรืออาจต้องใช้หลายกระบวนการเพื่อเปลี่ยนน้ำเสียให้กลายสภาพเป็นน้ำดี เนื่องจากในน้ำเสียมักจะประกอบไปด้วยสารที่หลากหลายทั้งสารที่เป็นสารอินทรีย์และอนินทรีย์ ยกตัวอย่างเช่นในการบำบัดน้ำเสียที่มีไนเตรตและฟอสฟอรัส ในการบำบัดสารทั้งสองออกจากน้ำเสียโดยทั่วไปมักจะต้องผ่านกระบวนการบำบัดสองขั้นตอนซึ่งเป็นกระบวนการที่แยกกันเพื่อกำจัดสาร คือ การไนเตรตจะถูกเปลี่ยนไปเป็นก๊าซไนโตรเจน โดยผ่านการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชั่นและดีไนตริฟิเคชั่น ขณะที่ฟอสฟอรัสจะถูกตกตะกอนด้วยเกลือของโลหะ แต่ในทางกลับกันสาหร่ายขนาดเล็กสามารถที่จะกำจัดทั้งไนเตรตและ

ฟอสฟอรัสออกจากน้ำเสียไปพร้อม ๆ กันได้โดยเกิดผ่านเพียงแค่กระบวนการเดียวเท่านั้น คือสาหร่ายขนาดเล็กจะดูดซับไนเตรตและฟอสฟอรัสจากในน้ำเสียมาไว้ภายในเซลล์ และใช้สารอาหารเหล่านี้ในการผลิตชีวมวล ดั้งนั้นการนำสาหร่ายขนาดเล็กมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียจึงถือว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความน่าสนใจ เพราะการใช้สาหร่ายขนาดเล็กถือว่าเป็นการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีการทางชีวภาพอย่างหนึ่ง ซึ่งนอกจากจะลดค่าใช้จ่ายที่เกี่ยวเนื่องในการบำบัดน้ำเสียลงแล้ว สาหร่ายขนาดเล็กยังมีประสิทธิภาพที่สูงในการกำจัดธาตุอาหารไนเตรตและฟอสฟอรัส เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถสร้างอาหารเองได้โดยการสังเคราะห์แสงและเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว อีกทั้งยังมีความสามารถในการนำไนเตรตกับฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในน้ำเสียมาใช้ในการผลิตชีวมวลได้มากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ในน้ำเสีย เนื่องจากสารอาหารหรือธาตุอาหารต่างๆที่พบในน้ำเสีย เช่น แอมโมเนีย ไนเตรต ฟอสฟอรัส และอื่น ๆ ถือว่าเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญและจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก นอกจากนี้การบำบัดน้ำเสียด้วยสาหร่ายขนาดเล็กนอกจากจะช่วยลดค่าใช้จ่ายในเรื่องการบำบัดน้ำเสียแล้วยังเป็นการช่วยประหยัดพื้นที่ในการบำบัดน้ำเสียแบบปกติ เนื่องจากผลผลิตที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็กที่ถูกเลี้ยงในน้ำเสียนั้นมีมูลค่าสูงและใช้ต้นทุนที่ต่ำกว่าการบำบัดน้ำเสียแบบทั่วไป เมื่อคำนวณจากพื้นที่และอาหารที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ดังนั้นการบำบัดน้ำเสียด้วยสาหร่ายขนาดเล็กจึงเป็นวิธีการที่มีความคุ้มค่า ยั่งยืน ประหยัดพลังงาน และช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับน้ำเสีย เพราะหากต้องการผลผลิตที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็กในอัตราที่สูงก็จำเป็นที่จะต้องเลี้ยงสาหร่ายให้มีปริมาณที่มากขึ้น ด้วยเหตุนี้น้ำเสียจึงต้องถูกนำมาใช้ในการเพาะลี้ยงสาหร่ายมากขึ้นเพื่อให้ได้ผลผลิตที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผลผลิตที่ได้นั้น อาทิเช่น ชีวมวลและไขมัน เป็นต้น สามารถที่จะนำไปพัฒนาเป็นพลังงานทางเลือกได้ โดยชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็กนั้นนำไปใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไบโอเอทานอลสำหรับใช้เป็นเชื้อเพลิงหรืออาจนำไปหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือนำไปสกัดหาสารต่างๆที่มีอยู่ในชีวมวล และอาจเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ ส่วนไขมันของสาหร่ายสามารถพัฒนาเพื่อผลิตเป็นไบโอดีเซลสำหรับนำไปใช้แทนน้ำมันเชื้อเพลิงในรถยนต์ได้เนื่องจากการผลิตไบโอดีเซลจากไขมันของสาหร่ายถือเป็นแหล่งพลังงานทดแทนที่มีศักยภาพสูง (Abdelaziz *et al.*, 2014) และเป็นแหล่งพลังงานหมุนเวียนที่ใช้แล้วไม่หมดไปเหมือนอย่างกับเชื้อเพลิงหรือน้ำมันที่ผลิตได้จากซากฟอสซิล

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาผลของสายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้กำจัดธาตุอาหารไนเตรต ฟอสฟอรัส และซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์
2. เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่แตกต่างกันของธาตุอาหารไนเตรต ฟอสฟอรัส และซีโอดีว่ามีผลอย่างไรต่อการกำจัดธาตุอาหารดังกล่าวของสาหร่ายขนาดเล็ก
3. เพื่อศึกษาน้ำหนักชีวมวลแห้งและไขมันที่เป็นผลผลิตของสาหร่ายจากการกำจัดธาตุอาหารไนเตรต ฟอสฟอรัส และซีโอดี สำหรับนำไปใช้พัฒนาเป็นพลังงานทางเลือก

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

โครงงานพิเศษนี้เป็นการทดลองภายในห้องปฏิบัติงาน เพื่อศึกษาผลของสาหร่าย 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3), และ *Monoraphidium circinale* (A4) ต่อการกำจัดธาตุอาหารไนเตรต ฟอสฟอรัส และซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีปริมาณของไนเตรต ฟอสฟอรัส และซีโอดี ที่แตกต่างกัน 2 ความเข้มข้น เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ และเป็นการเปรียบเทียบปริมาณของธาตุอาหารทั้งสองที่ลดลงจากในแต่ละสภาวะการทดลอง โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 6 วัน ในระบบเปิดที่มีการเติมอากาศ และให้แสงไฟตลอดเวลา หลังจากนั้นนำสาหร่ายแต่ละชนิดมาหาน้ำหนักชีวมวลแห้งและไขมันที่สาหร่ายสามารถผลิตได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงเทคนิคการคัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กให้บริสุทธิ์และสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก
2. ทราบถึงความสามารถในการกำจัดธาตุอาหารไนเตรต ฟอสฟอรัส และซีโอดีของสาหร่ายขนาดเล็กที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์
3. ทราบถึงปริมาณของน้ำหนักชีวมวลแห้ง และไขมัน ที่สาหร่ายผลิตได้หลังจากสิ้นสุดการทดลอง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความหมายของสาหร่าย (Algae)

สาหร่ายเป็นพืชชั้นต่ำที่มีลักษณะคล้ายพืชแต่ไม่มีส่วนที่เป็นราก ใบ และลำต้นที่แท้จริง มีคลอโรฟิลล์เป็นสารสีที่สามารถใช้ในการสังเคราะห์แสงได้ มีขนาดเล็กทั้งที่อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวอยู่อย่างอิสระและเกาะติดกับพืชชนิดอื่นหรืออยู่เป็นกลุ่มก้อน เป็นสายจนถึงมีโครงสร้างที่ซับซ้อน ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าต้องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ มีหลายรูปร่างเช่น กลม วงรี เส้นสาย พระจันทร์เสี้ยว เกลียว เป็นต้น การแบ่งชนิดของสาหร่ายสามารถแบ่งได้ตามลักษณะภายนอกหรือสีของสาหร่าย ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีน้ำตาล สาหร่ายโดยทั่วไปจะสามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ แหล่งที่อยู่ของสาหร่ายจะแตกต่างกันออกไปโดยส่วนใหญ่จะอาศัยอยู่ในน้ำทั้งน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม

2.2 สาหร่ายสีเขียว (Green algae)

สาหร่ายสีเขียวจัดอยู่ใน Division Chlorophyta กลุ่ม Chlorophyceae มีทั้งที่อาศัยอยู่ในน้ำจืดและน้ำทะเล สามารถสังเคราะห์แสงได้เนื่องจากมีคลอโรฟิลล์จึงช่วยเพิ่มออกซิเจนให้กับแหล่งน้ำ ลักษณะของสาหร่ายสีเขียว ดังนี้

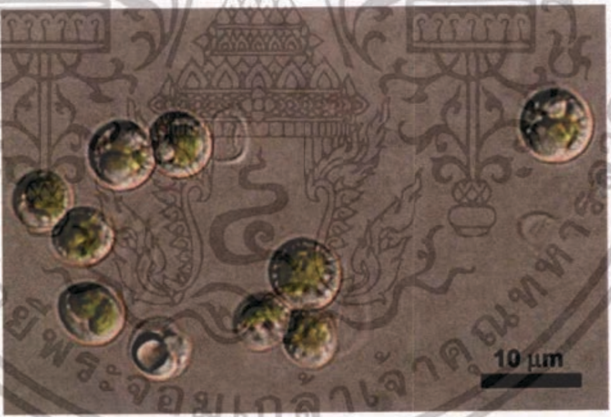
- มีทั้งพวกเซลล์เดี่ยว หลายเซลล์ต่อกันเป็นสายยาวหรือรวมกันเป็นกลุ่ม
- สามารถเคลื่อนที่ได้และไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ พวกเซลล์เดียวที่เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาโบกพัด จำนวน 2-4 เส้น เช่น *Chlamydomonas* เป็นต้น และพวกเซลล์เดียวที่เคลื่อนที่ไม่ได้โดยไม่มีแฟลกเจลลา เช่น *Chlorella, Chlorococcoum* เป็นต้น พวกเซลล์ต่อกันเป็นสายยาว เช่น *Ulothrix, Oedogonium* เป็นต้น และพวกเซลล์ที่เกาะกันเป็นกลุ่ม เช่น *Volvox, Pediastrum, Scenedesmus* เป็นต้น
- สารสีที่พบ ได้แก่ คลอโรฟิลล์เอ, คลอโรฟิลล์ บี, แคโรทีนและแซนโทฟิลล์ สารเหล่านี้รวมกันอยู่ในพลาสมิดที่เรียกว่า คลอโรพลาสต์ (Chloroplast) ซึ่งจะมี 1 อันหรือมากกว่า 1 อันก็ได้ ซึ่งคลอโรพลาสต์ก็จะมีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปร่างเป็นเม็ด, รูปร่างเป็นเกลียว, รูปร่างเป็นร่างแห, รูปร่างเป็นแผ่น, รูปร่างดาว เป็นต้น
- โครงสร้างของผนังเซลล์ ประกอบด้วย เซลลูโลส (Cellulose) บางชนิดมีพวกเพคติน (Pectin) เคลือบอยู่ภายนอกบางๆ
- มีการสะสมไพรีนอยด์ (Pyrenoid) อยู่ในคลอโรพลาสต์
- มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศ โดยมีการแบ่งตัวเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน, การแตกกิ่ง, การสร้างสปอร์ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการคอนจูเกชั่นหรือการปฏิสนธิ

- แหล่งที่พบ สาหร่ายสีเขียวพบในน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่ ในน้ำเค็มก็มีบ้างตามที่ชื้นแฉะทั่วไป เปลือกไม้ ใบไม้ ก้อนหินเปียก ๆ และบนหิมะ บางชนิดอยู่ในภาวะพึ่งพากับราเกิดเป็นไลเคน บางชนิดก็เป็นปรสิตของพืชชั้นสูง (นันทวันและศศิวิมล., 2014)

2.3 สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.)

การจัดจำแนกสาหร่าย *Chlorella* sp. ตามหลักอนุกรมวิธาน (Beijerinck, 1890)

Division: Chlorophyta
Class: Trebouxiophyceae
Order: Chlorellales
Family: Chlorellaceae
Genus: *Chlorella*
Species: *Chlorella* sp.



รูปที่ 2.1 ภาพถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ *Chlorella* sp.

ที่มา : http://www.aquasymbio.fr/en/chlorella-sp-heleopera-sphagni

Chlorella sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวที่จัดอยู่ในดิวิชัน Chlorophyta คลาส Trebouxiophyceae อันดับ Chlorellales วงศ์ Chlorellaceae สกุล *Chlorella* ซึ่งมีลักษณะสำคัญ คือ เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว มีขนาดเล็ก ลักษณะเป็นทรงกลมมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-10 ไมครอน อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือรวมกันเป็นกลุ่มก้อน ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างหลายแบบ เช่น ทรงกลม ทรงรีและรูปไข่ คลอโรพลาสต์ของ *Chlorella* sp. มีรูปร่างคล้ายถ้วยหรือเป็นแบบแถบข้าง

(parietal) อาจมีหรือไม่มีเม็ดแป้ง ผนังเซลล์หนาและแข็ง มี 3 ชั้น ผนังเซลล์ชั้นกลางหนาที่สุด ประกอบด้วย เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ผนังเซลล์ชั้นนอกเป็นสารประกอบโพลีเมอร์ ซึ่งจะทำหน้าที่จับกับโลหะหนักหรือสารพิษในร่างกาย ได้อย่างรวดเร็วและชั้นในสุดเป็นชั้นของเยื่อหุ้มเซลล์ (Becker *et al.*, 1982) มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้าง autospore เซลล์ของ *Chlorella* sp. เติบโตได้ในแหล่งที่มีความเข้มข้นของสารอาหารในช่วงกว้าง จึงสามารถพบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำเค็มและน้ำเสีย

2.3.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของคลอเรลลา

1. แหล่งอาหาร

1.1 แหล่งคาร์บอน

คาร์บอนเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย การเติมสารอาหารที่จำเป็นต่าง ๆ จะไม่มีผลทำให้ปริมาณเซลล์เพิ่มมากขึ้นเมื่อปริมาณคาร์บอนถูกจำกัด สาหร่ายสามารถใช้คาร์บอนได้ในรูปของสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ แหล่งคาร์บอนในรูปอินทรีย์สารที่สำคัญ คือ Glucose, Acetate, Ethanol, Alanine, Fructose, Galactose, Pyruvate และ Succinate (Becker *et al.*, 1982)

1.2 แหล่งไนโตรเจน

ไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย มีหน้าที่เกี่ยวกับเมแทบอลิซึมภายในเซลล์สาหร่าย สาหร่ายสามารถใช้ไนโตรเจนได้ทั้งในรูปอินทรีย์สารและอนินทรีย์สาร ได้แก่ แอมโมเนีย ไนเตรต และไนไตรท์ โดยทั่วไปแล้วสาหร่ายจะใช้แอมโมเนียให้หมดก่อนแล้วจึงไปใช้ไนเตรต การใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจน จะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารลดลง อาจก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสาหร่ายได้ สาหร่ายบางชนิดมีความไวสูงต่อแอมโมเนียซึ่งจะเกิดการยับยั้งการเติบโตที่ความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.017 กรัมต่อลิตร แต่สาหร่ายบางชนิดก็สามารถใช้ไนไตรท์ได้แต่จะใช้ได้ในความเข้มข้นต่ำ (ประมาณ 0.046 กรัมต่อลิตร) ที่ความเข้มข้นสูงไนไตรท์มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย

สารไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp. คือ โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3) ที่ปริมาณความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร (ธิดาและนิเวศน์, 2517) และโซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) ก็เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้ปริมาณผลผลิตของสาหร่ายสูงสุด (Saxena *et al.*,1983)

1.3 แหล่งฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสมีบทบาทต่อกระบวนการต่างๆภายในเซลล์ โดยปกติเซลล์จะสามารถใช้ฟอสฟอรัสได้ดีในรูปออโธฟอสเฟต (Orthophosphate) ในแหล่งน้ำธรรมชาติพบฟอสฟอรัสในรูปอนินทรีย์สารมากกว่าอินทรีย์สาร ปริมาณฟอสฟอรัสขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย การขาดฟอสฟอรัสมีผลใกล้เคียงกับการขาดไนโตรเจนคือ ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ โปรตีน RNA และ DNA ลดลงแต่ทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น

2. แสง

แสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการเลี้ยงสาหร่ายคือกระบวนการสังเคราะห์แสง ความเข้มของแสงเพิ่มขึ้นการเจริญเติบโตของสาหร่ายก็จะสูงขึ้นด้วย แต่ความเข้มแสงที่มากเกินไปก็จะไปยับยั้งกระบวนการหายใจของเซลล์ โดย *Chlorella* sp. สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีแสงและไม่มีแสงแต่จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีแสงต่อเนื่อง

การให้แสงที่มากเกินไปจะทำให้เซลล์มีสีซีดหรือมีสีเหลืองอมน้ำตาล เนื่องจากเม็ดสีถูกทำลาย (Lorenzen, 1963) ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว *Chlorella* sp. ต้องการแสงที่ความเข้มข้น 45 กิโลลักซ์

3. อุณหภูมิ

สาหร่ายแต่ละชนิดจะเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิที่แตกต่างกันและทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้ต่างกัน ซึ่งถ้ามีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิอย่างรวดเร็วจะทำให้สาหร่ายชะงักการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ได้ โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 35-36 องศาเซลเซียสและการเจริญเติบโตจะลดลงที่อุณหภูมิสูงกว่า 41 องศาเซลเซียส และเซลล์จะตายภายใน 2-3 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Hosakul, 1972)

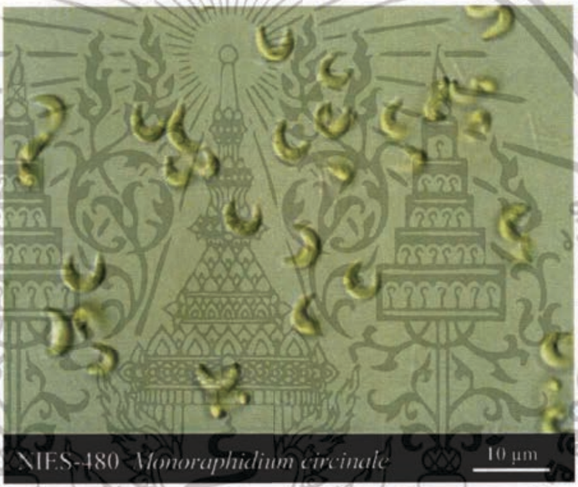
4. ความเป็นกรด-ด่าง

ความเป็นกรด-ด่างมีผลต่อกระบวนการทางชีววิทยาของเซลล์ ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือปริมาณไบคาร์บอเนตในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมของกระบวนการเมแทบอลิซึมของสาหร่าย สำหรับสาหร่าย *Chlorella* sp. เติบโตได้ดีในค่าความเป็นกรดด่างช่วงกว้าง แต่โดยทั่วไปสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงความเป็นกรดด่างที่มีค่าความเป็นกรดเล็กน้อยจนถึงปานกลาง

2.4 *Monoraphidium circinale*

การจัดจำแนกสาหร่าย *Monoraphidium circinale* ตามหลักอนุกรมวิธาน (NCBI, 2007)

Class: Chlorophyceae
Order: Sphaeropleales
Family: Selenastraceae
Genus: *Monoraphidium*
Species: *Monoraphidium circinale*



รูปที่ 2.2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ *Monoraphidium circinale*

ที่มา : https://www.pinterest.com.au/pin/662029213943448546/?lp=true

Monoraphidium circinale มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว รูปพระจันทร์เสี้ยวหรือรูปกระสวย ลักษณะกลมโค้งเว้าเหมือนพระจันทร์และบริเวณปลายมีลักษณะเรียวเล็ก มีคลอโรพลาสต์แต่ไม่มีไพรีนอยด์ ขนาดของเซลล์มีความยาว 4.5-10.5 ไมครอน และกว้าง 1.5-2 ไมครอน ในทางสัณฐานวิทยา *Monoraphidium circinale* มีลักษณะคล้ายกับ *M. minutum* แต่สายพันธุ์นี้แตกต่างตรงที่เซลล์เป็นรูปทรงกระบอกและมีขนาดกว้างขึ้น

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

2.5.1 ปัจจัยทางกายภาพ

1) แสง (Light)

เนื่องจากสาหร่ายส่วนใหญ่ได้พลังงานมาจากการสังเคราะห์แสง โดยมีแสงเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการ เพราะเมื่อสาหร่ายได้รับแสงที่มีระดับความเข้มข้นแสงที่เหมาะสมก็จะทำให้สาหร่ายสามารถนำสารอาหารเข้าไปใช้ในเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีระดับความเข้มข้นแสงซึ่งเป็นปัจจัยจำกัดที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์แสงแตกต่างกัน ดังนั้นถ้าสาหร่ายได้รับความแสงที่มีเข้มข้นต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมจะทำให้สาหร่ายเจริญช้า ในขณะที่ความเข้มข้นแสงสูงมากเกินไป ก็อาจจะทำให้เกิดภาวการณ์ยับยั้งการสังเคราะห์แสง (สุมาลี, 2561)

2) อุณหภูมิ (temperature)

สาหร่ายน้ำจืดและสาหร่ายทะเลส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 15-25 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปอุณหภูมิที่เป็นอันตรายสำหรับสาหร่ายส่วนใหญ่มักจะเป็นอุณหภูมิที่สูงกว่า 30 องศาเซลเซียส ซึ่งสาหร่ายจะไม่สามารถเจริญอยู่ได้เว้นแต่บางชนิดเท่านั้น (จงจินต์, 2527)

3) ค่าพีเอช (pH)

เป็นตัวควบคุมสภาวะเคมีของสารอาหาร การเปลี่ยนแปลงพีเอชในแหล่งน้ำจะทำให้ธาตุอาหารที่สำคัญเปลี่ยนแปลง ได้แก่ ฟอสเฟต แอมโมเนีย เหล็ก และค่าพีเอชจะมีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของสาหร่าย โดยสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีความต้องการค่าพีเอชในระดับที่แตกต่างกันออกไป (ลัดดา, 2543)

4) ค่าความเค็ม (Salinity)

สาหร่ายจะตอบสนองต่อความเค็มที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถแบ่งสาหร่ายออกเป็นสองพวกใหญ่ๆคือสาหร่ายที่ทนต่อความเค็ม และสาหร่ายที่ชอบความเค็ม สาหร่ายที่ทนความเค็มจะมีกลไกตอบสนองซึ่งทำให้มีการปรับตัวจนสามารถเจริญเติบโตในแหล่งน้ำที่มีความเค็มสูงได้ ในขณะที่สาหร่ายที่ชอบความเค็มต้องการเกลือในปริมาณพอเหมาะเท่านั้นจึงจะสามารถเจริญเติบโตได้ และสาหร่ายที่ทนความเค็มสูงนั้นจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อเซลล์มากกว่าสาหร่ายที่ทนความเค็มต่ำ ดังนั้นสาหร่ายพวกแรกจึงมีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงกว่า เนื่องจากสาหร่ายต้องการพลังงานในการปรับปรุงอิออนมากขึ้นจึงมีการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ เพื่อเพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสงมากขึ้น

2.5.2 ปัจจัยทางเคมี

การเจริญเติบโตของสาหร่ายขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เลี้ยงซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่าย อาหารคือธาตุอาหารซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย แบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ 2 ได้แก่ ธาตุอาหารหลัก คือธาตุอาหารที่ประกอบเป็นโครงสร้างของสาหร่ายดังนั้นจึงต้องใช้ปริมาณค่อนข้างมาก และธาตุอาหารรอง ซึ่งสาหร่ายต้องการเป็นจำนวนน้อยส่วนใหญ่จะเป็นองค์ประกอบของโมเลกุลที่จำเป็นหรือ เอนไซม์ และเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตหรือเป็นส่วนประกอบโมเลกุลเอนไซม์ที่สำคัญบางชนิด ซึ่งตัวอย่างของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ได้แก่

- คาร์บอน (C) จะช่วยในการเจริญเติบโตของเซลล์

- ไนโตรเจน (N) มีส่วนสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน

- ฟอสฟอรัส (P) เกี่ยวกับกระบวนการสร้างพลังงาน และสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก

- แคลเซียม (Ca) เกี่ยวข้องกับการสร้างเกล็ด และโครงสร้างของเซลล์

- ซัลเฟอร์ (S) เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน

- แมกนีเซียม (Mg) มีบทบาทสำคัญเพราะเกี่ยวข้องกับการสร้าง คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน และกรดนิวคลีอิก เป็นต้น และมีส่วนสำคัญต่อการเมทาบอลิซึมของเซลล์

- โซเดียมและโพแทสเซียม (Na, K) มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายแป้งและน้ำตาลของเซลล์ โดยควบคุมแรงดันออสโมติกของเซลล์

- คลอไรด์ (Cl) มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสง แต่ถ้ามีมากเกินไปจะเป็นพิษต่อเซลล์สาหร่าย ยกเว้นสาหร่ายบางชนิดที่ทนได้ (ลัดดา, 2543)

2.6 น้ำเสีย

น้ำเสีย หมายถึง น้ำที่มีสารใด ๆ หรือสิ่งปฏิกูลที่ไม่พึงปรารถนาปนอยู่ การปนเปื้อนของสิ่งสกปรกเหล่านี้ จะทำให้ คุณสมบัติของน้ำเปลี่ยนแปลงไปจนอยู่ในสภาพที่ไม่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ สิ่งปนเปื้อนที่อยู่ในน้ำเสีย ได้แก่ น้ำมัน ไขมัน ผงซักฟอก สบู่ ยาฆ่าแมลง สารอินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเหม็นและเชื้อโรคต่าง ๆ สำหรับแหล่งที่มาของ น้ำเสียพอจะแบ่งได้เป็น 2 แหล่งใหญ่ ๆ ดังนี้

2.6.1 น้ำเสียจากแหล่งชุมชน มาจากกิจกรรมสำหรับการดำรงชีวิตของคนเรา เช่น อาคารบ้านเรือน หมู่บ้านจัดสรร คอนโดมิเนียม โรงแรม ตลาดสด โรงพยาบาล เป็นต้น จากการศึกษาพบว่าความเน่าเสียของคูคลองเกิดจากน้ำเสียประเภทนี้ ถึงประมาณ 75%

2.6.2 น้ำเสียจากกิจกรรมอุตสาหกรรม ได้แก่น้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมรวมทั้งน้ำหล่อเย็นที่มีความร้อนสูง และน้ำเสียจากห้องน้ำห้องส้วมของคนงานด้วย ความเน่าเสียของคูคลองเกิดจากน้ำเสียประเภทนี้ประมาณ 25% แม้จะมีปริมาณไม่มากนัก แต่สิ่งสกปรกในน้ำเสียจะเป็นพวกสารเคมีที่เป็นพิษและพวกโลหะหนักต่างๆ รวมทั้งพวก สารอินทรีย์ต่างๆ ที่มีความเข้มข้นสูงด้วย

รูปที่ 2.3 น้ำเสียชุมชน

ที่มา : http://www.global-treat.com/น้ำเสียชุมชน-domestic-wastewater

2.7 ประเภทของน้ำเสียและกรรมวิธีที่ใช้ในการบำบัดโดยทั่วไป

2.7.1 ประเภทของน้ำเสีย

น้ำเสียที่มาจากแหล่งต่าง ๆ นั้น มีสารที่อยู่ในน้ำเสียไม่เหมือนกัน สารเหล่านั้นจะเป็นสารประเภทใด ขึ้นอยู่กับแหล่งและกรรมวิธีการผลิตในอุตสาหกรรมนั้น ๆ จึงได้มีการรวบรวมและแบ่งประเภทตามสารหลัก ที่ให้ลักษณะเด่นของน้ำเสียนั้น ซึ่งพอสรุปเป็นประเภทใหญ่ ๆ ได้ ดังนี้

1) น้ำเสียประเภทที่มีสารอินทรีย์

2) น้ำเสียประเภทที่มีสารอนินทรีย์

3) น้ำเสียประเภทที่แพร่กระจายเชื้อโรค

4) น้ำเสียที่มีความเป็นกรด-เบสสูง

5) น้ำเสียที่มีโลหะหนักที่เป็นพิษ

6) น้ำเสียที่มีสารกัมมันตภาพรังสี

7) น้ำเสียที่มีอิฐ หิน ดิน ทรายปนอยู่

การแบ่งประเภทน้ำเสียดังกล่าวข้างต้น ทำให้การเลือกระบบบำบัดน้ำเสียง่ายขึ้น แต่ก่อนที่จะเลือกระบบบำบัด จำเป็นที่จะต้องหาลักษณะสมบัติต่าง ๆ ของน้ำเสียเสียก่อน ลักษณะสมบัติของน้ำเสียนั้น หาได้โดยการวิเคราะห์ในห้องทดลอง

2.7.2 ลักษณะสมบัติที่วิเคราะห์ แบ่งออกเป็น

1) ลักษณะสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น อุณหภูมิ การนำไฟฟ้า และความขุ่น

2) ลักษณะสมบัติทางเคมี ได้แก่ สภาพด่าง (alkalinity) สภาพกรด (acidity) ความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี หรือบีโอดี ความต้องการออกซิเจนทางเคมี หรือซีโอดี (chemical oxygen demand; COD) ปริมาณโลหะหนัก สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และสารต่างๆ ที่อาจมาจากแหล่งตะกอนที่มีอยู่ในน้ำ ซึ่งอาจเป็นตะกอนหนัก ตะกอนแขวนลอย ตะกอนคอลลอยด์ และอื่นๆ

3) ลักษณะสมบัติทางชีวภาพ ส่วนใหญ่มักไม่ได้วิเคราะห์ นอกจากกรณีพิเศษเมื่อได้ลักษณะสมบัติต่างๆ ของน้ำเสียแล้ว จึงมาพิจารณาวิเคราะห์ข้อมูล ก็จะทำให้สามารถแยกประเภทน้ำเสียออกได้ ทำให้สามารถเลือกใช้ระบบบำบัดน้ำเสียได้อย่างเหมาะสม

2.7.3 กรรมวิธีที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย

ระบบบำบัดน้ำเสีย ประกอบด้วยกรรมวิธีต่างๆ ซึ่งมีวัตถุประสงค์ และการทำงานเพื่อขจัดมลพิษออกจากน้ำเสีย ก่อนที่จะปล่อยออกสู่ลำน้ำสาธารณะ ระบบบำบัดระบบใดระบบหนึ่งจะประกอบด้วยกรรมวิธีใดบ้าง ขึ้นอยู่กับสารมลพิษ ที่มีอยู่ในน้ำเสียนั้น ผู้เลือกและออกแบบคำนวณระบบบำบัดน้ำเสีย จะต้องเป็นผู้ที่มีความรู้ ความชำนาญ และประสบการณ์ จึงจะเลือกใช้ระบบบำบัดที่ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ประหยัด และสามารถควบคุมให้ระบบบำบัดนั้น ทำงานได้ตามวัตถุประสงค์ กรรมวิธีที่ใช้โดยทั่วไปได้แก่

1) การทำสะเทิน (neutralization) กรรมวิธีนี้ใช้บำบัดน้ำเสียที่มีลักษณะสมบัติเป็นกรดเบสอย่างแรง โดยใช้สารเคมี เช่น ใช้สารแคลเซียมไฮดรอกไซด์มาสะเทินน้ำเสีย ที่มีกรดกำมะถัน

2) การปรับสภาพ (equalization) กรรมวิธีนี้ เป็นการเก็บกักน้ำเสีย ที่มาจากแหล่งในเวลาและสถานที่ต่างกัน ไว้ในที่หนึ่ง ในระยะเวลาหนึ่ง การเก็บกักน้ำเสียรวมกันไว้นี้ จะทำให้น้ำเสียมีลักษณะสมบัติเดียวทำให้ง่ายต่อการบำบัด

3) การตกตะกอน (sedimentation) กรรมวิธีนี้ใช้ในการขจัดพวกตะกอนหนักของสารต่างๆ ให้ออกจากน้ำเสีย โดยลดความเร็วของการไหลของน้ำเสียลงจนถึงค่าหนึ่ง ที่ตะกอนหนักทั้งหลายสามารถแยกตัวออกจากน้ำเสีย จมลงสู่ก้นถังแยกตะกอน

4) การรวมตัวและการสมานตะกอน (coagulation and flocculation) เป็นกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีบางชนิดใส่ลงไปในน้ำเสีย แล้วเกิดสารที่มีลักษณะเหนียวอยู่ เรียกว่า "ฟล็อก" (floc) ฟล็อกนี้มีคุณสมบัติพิเศษคือ เมื่อถูกพัดพาไปสัมผัสกับตะกอนแขวนลอยทั้งหลาย จะดูดตะกอนเหล่านั้นติดผิวไว้ เมื่อตะกอนเข้ามารวมตัวกับฟล็อกมากๆ ก็จะมีน้ำหนัก สามารถแยกตัวออกจากน้ำจมลงสู่ก้นถังแยกตะกอนได้

5) การทำให้เป็นตะกอน (precipitation) กรรมวิธีนี้ใช้ในการขจัดสารละลายที่มีอยู่ในน้ำ เช่น สารอนินทรีย์ โลหะหนัก โดยใส่สารเคมีบางชนิดลงไปในน้ำเสีย สารเคมีจะทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการขจัดออก กลายเป็นตะกอน ถ้าตะกอนนั้นหนักพอ ก็จะแยกออกจากน้ำได้ด้วยน้ำหนักของตะกอนเอง แต่ถ้าตะกอนที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็ก ก็จะต้องผ่านการรวม และการสมานตะกอนก่อน

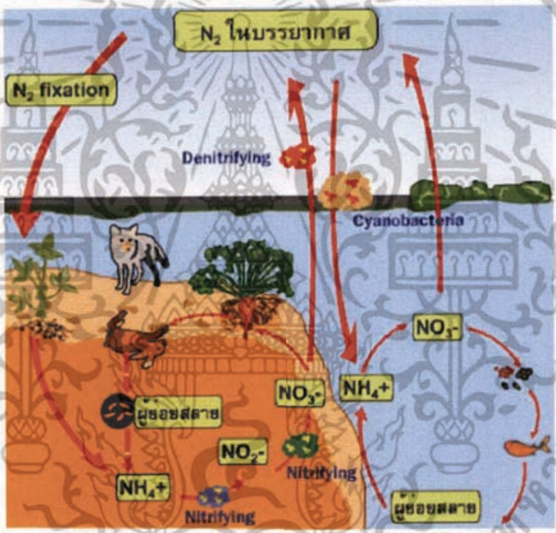
6) กรรมวิธีทางชีววิทยา (biological treatment) เมื่อปล่อยน้ำเสีย ซึ่งมีความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูงลงในลำน้ำธรรมชาติ จะทำให้ปริมาณของออกซิเจนที่ละลายน้ำของลำน้ำนั้นลดต่ำลง และถ้ามีปริมาณสารอินทรีย์มาก อาจทำให้เกิดสภาวะขาดออกซิเจน จนเกิดการเน่าขึ้นได้ หากไม่มีการทิ้งน้ำเสียลงไปเพิ่มขึ้น จะพบว่าทางน้ำนั้น สามารถปรับสภาพตัวเอง โดยจะมีการทำความสะอาดมวลสาร (pollutants) ต่างๆ ให้มีความเข้มข้นน้อยลง และกลับมีออกซิเจนละลายน้ำเพิ่มมากขึ้น ลักษณะที่เกิดขึ้นนี้ เป็นการทำความสะอาดตัวเองของลำน้ำธรรมชาติ (self-purification of natural waters) ตัวการหลักที่ช่วยในการทำความสะอาดของเสียเหล่านี้ได้แก่ สิ่งมีชีวิตทั้งหลายที่อาศัยอยู่ในน้ำ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ซึ่งจะนำของเสียที่มีอยู่ในน้ำเสียมาใช้เป็นอาหาร ถ้าลำน้ำยังมีออกซิเจนละลายอยู่ ก็จะเป็นจุลินทรีย์ ที่ใช้ออกซิเจนอิสระ เพราะเจริญเติบโตได้รวดเร็ว แต่ถ้าไม่มีออกซิเจนละลายน้ำ ก็จะมีจุลินทรีย์ ชนิดที่ไม่ต้องใช้ออกซิเจนอิสระเจริญเติบโตต่อไป กระบวนการย่อยสลายทางชีววิทยานี้ จะดำเนินต่อไป จนอาหารหรือของเสียที่ทิ้งลงมานั้นหมดลง จุลินทรีย์ก็จะขาดอาหารและตาย ส่วนลำน้ำนั้นก็จะสะอาดขึ้นมาอีกครั้งหนึ่ง

กระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยาแบบต่างๆ ได้อาศัยหลักการทำงานคล้ายกับปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ เพียงแต่นำมาออกแบบ และสร้างขึ้นให้เป็นกระบวนการทางเทคนิคที่เข้าใจ และควบคุมได้ง่าย รวมทั้งเพื่อลดระยะเวลาในการบำบัดน้ำเสียให้สั้นลง และใช้พื้นที่น้อยกว่าที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ กระบวนการเหล่านี้สามารถแยกออกได้เป็นสองแบบใหญ่ๆ คือ กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจนอิสระ ได้แก่ กระบวนการที่จุลินทรีย์นำเอาออกซิเจนอิสระมาใช้ในการดำรงชีพ กับอีกแบบหนึ่งคือ กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนอิสระ ได้แก่ กระบวนการที่จุลินทรีย์เจริญเติบโต และย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนอิสระ

2.8 ธาตุอาหารสำคัญในน้ำเสีย

2.8.1 ไนโตรเจน (Nitrogen)

ไนโตรเจนที่พบในน้ำเสียมีอยู่ 4 ชนิด คือ แอมโมเนีย (NH$_3$), สารอินทรีย์ไนโตรเจน (Organic nitrogen), ไนไตรท์ (Nitrite) และไนเตรต (Nitrate) โดยประมาณ 60% ของไนโตรเจนในน้ำเสียใหม่จะอยู่ในรูปของอินทรีย์ไนโตรเจนและอีกประมาณ 40% จะอยู่ในรูปของแอมโมเนีย การย่อยโปรตีนของพวกจุลินทรีย์และการไฮโดรไลซีส (Hydrolysis) ยูเรียจะเปลี่ยนสารอินทรีย์ไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย แต่โดยทั่วไปในน้ำเสียจะมีไนโรเจนที่อยู่ในรูปไนเตรตและไนไตรท์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (พรสวัสดิ์, 2540) ในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีไนเตรตละลายอยู่โดยเฉลี่ยประมาณ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 2.4 วัฏจักรไนโตรเจน (Nitrogen cycle)

ที่มา : https://sites.google.com/site/rabbniwesecosytem/rabb-niwes-ecosytem/5-watcakr-nitorcen-nitrogen-cycle

ไนโตรเจนในรูปไนเตรต มักพบในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนละลายอยู่ในน้ำค่อนข้างต่ำ ไนเตรตเป็นสารอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายและพืชน้ำทั้งหลายและสามารถตรวจพบในน้ำได้ในปริมาณที่สูงหรือต่ำขึ้นอยู่กับปริมาณการรับไนเตรตจากแหล่งต่างๆ สู่แหล่งน้ำ โดยปกติ ระดับของไนโตรเจนที่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติจะค่อนข้างต่ำ (น้อยกว่า 1 พีพีเอ็ม ของไนโตรเจนในรูปของไนเตรต) เกิดจากกระบวนการย่อยสลายของเสียจากสัตว์และซากพืชซากสัตว์ที่ตายแล้ว ซึ่งพืชจะนำไปใช้ได้อย่างรวดเร็ว ในแหล่งน้ำที่มีระดับไนโตรเจนค่อนข้างสูง อาจจะทำให้เกิดกระบวนการ

ยูโทฟิเคชั่นได้ ระดับไนโตรเจนอาจจะสูงขึ้นเนื่องจากผลตามธรรมชาติหรือเกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ หรือเป็ดและห่านทำให้ปริมาณไนโตรเจนในแหล่งน้ำที่พวกมันอาศัยอยู่มีปริมาณสูงขึ้นได้จากการถ่ายมูลลงน้ำ ไนโตรเจนที่เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ ได้แก่ การทิ้งขยะหรือของเสียลงแม่น้ำ ปุ๋ยเคมีที่ถูกชะล้างลงสู่ลำน้ำต่างๆ ซึ่งอาจปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำใต้ดินได้ ตลอดจนน้ำไหลชะจากการเลี้ยงสัตว์บางชนิด และคอกสัตว์ เป็นต้น (มินตรา, 2561)

ผลของการมีไนโตรเจนในแหล่งน้ำ

1) เมื่อมีแอมโมเนียอยู่ในแหล่งน้ำมากจะเป็นอันตรายโดยตรงกับปลา
2) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงรูปจากแอมโมเนียเป็นไนไตรท์และเปลี่ยนไปเป็นไนเตรท จะมีการใช้ออกซิเจนปริมาณมาก
3) การเกิดปรากฏการณ์ที่แหล่งน้ำมีสารอาหารมากเกินไป (Eutrophication) ซึ่งเกิดจากมีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่มากเกินไป ทำให้พืชน้ำโดยเฉพาะสาหร่ายเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นทำให้มีการใช้ออกซิเจนเพิ่มมากขึ้น จนทำให้แหล่งน้ำเกิดการเน่าเสียได้และเมื่อมีการเกิดของสาหร่ายมากก็จะมีการตายของสาหร่ายด้วย ซึ่งสาหร่ายที่ตายลงจะตกสู่ใต้น้ำ จนเกิดการทับถมกันจนทำให้แหล่งน้ำตื้นเขิน
4) การเกิดคลอรามีน (Chloramine) เกิดจากการรวมตัวของคลอรีนและแอมโมเนียหรือสารอินทรีย์ไนโตรเจน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง

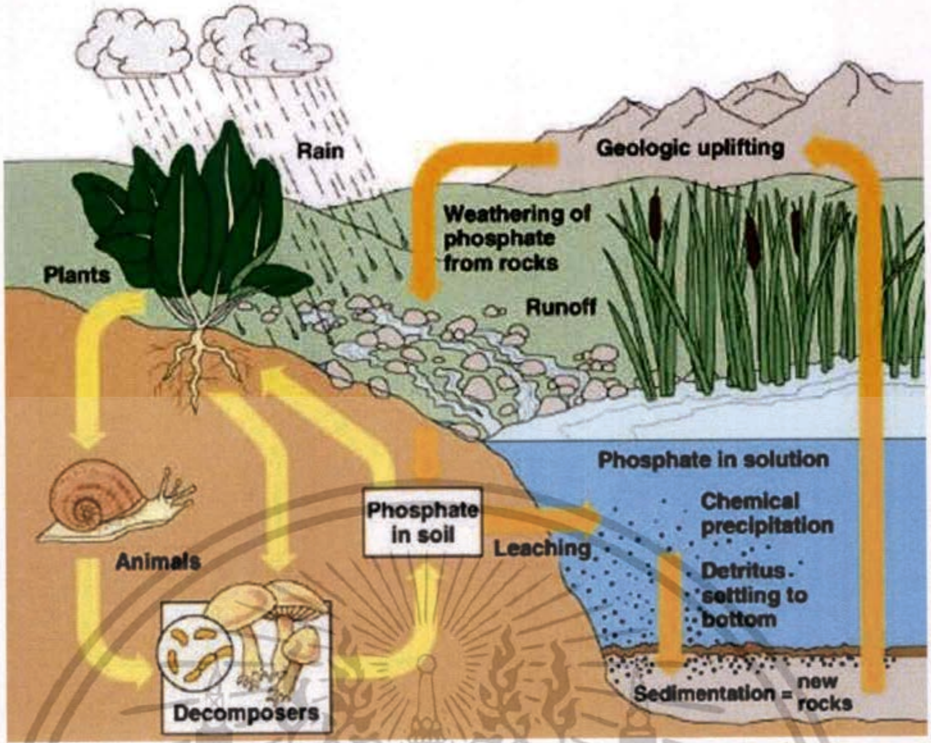
2.8.2 ฟอสฟอรัส (Phosphorus)

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่สำคัญในระบบนิเวศของแหล่งน้ำ เพราะเป็นธาตุที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการแปรรูปของพลังงาน ซึ่งปกติแล้วจะมีปริมาณฟอสฟอรัสอยู่เป็นจำนวนน้อยในแหล่งน้ำ ฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำธรรมชาติอาจได้มาจากการสลายตัวของหินฟอสเฟตหรือการเน่าเปื่อยของซากพืชซากสัตว์ ฟอสฟอรัสที่พบในแหล่งน้ำนั้นมีหลายรูปแบบ แต่ที่พบมากและเกี่ยวข้องกับระบบนิเวศของน้ำ ได้แก่ phosphate (PO_4^{3-}), soluble organic phosphorus และ particulate organic phosphorus นอกจากนี้ยังจำแนกสารประกอบฟอสฟอรัสตามความสำคัญต่อคุณภาพน้ำ ได้แก่

- กลุ่มออโธฟอสเฟต เช่น ไตรโซเดียมฟอสเฟต (Na_3PO_4), ไดโซเดียมฟอสเฟต (Na_2HPO_2), โมโนโซเดียมฟอสเฟต (NaH_2PO_4) และไดแอมโมเนียฟอสเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$)

- กลุ่มโพลีฟอสเฟต เช่น โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ($(NaPO_3)_6$), โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ($Na_5P_3O_{10}$), เตตระโซเดียมโพลีฟอสเฟต ($Na_4P_2O_7$) และฟอสฟอรัสอินทรีย์

ซึ่งปริมาณความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำจะมีมากหรือน้อยจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ประเภทแหล่งน้ำ ลักษณะทางธรณีวิทยาของแหล่งน้ำ เป็นต้น


Rain
Geologic uplifting
Weathering of phosphate from rocks
Plants
Runoff
Phosphate in solution
Chemical precipitation
Phosphate in soil
Leaching
Animals
Detritus settling to bottom
Sedimentation = new rocks
Decomposers

รูปที่ 2.5 วัฏจักรฟอสฟอรัส (Phosphorus cycle)

ที่มา : https://quizlet.com/319252194/phosphorus-cycle-presentation-diagram/

2.9 การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่าย

ปัญหาน้ำเสียเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่มีความสำคัญมาก เนื่องจากน้ำเสียไม่ได้เกิดจากน้ำเสียชุมชนเพียงอย่างเดียวแต่ยังเกิดจากอุตสาหกรรมที่เพิ่มมากขึ้นอีกด้วย โดยคุณสมบัติของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมจะมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของอุตสาหกรรมนั้นๆ และแหล่งที่มาของปัญหาน้ำเสียที่สำคัญเลยคือ น้ำเสียจากการเกษตรกรรม เนื่องจากน้ำเสียเหล่านี้มีส่วนประกอบของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ นอกจากจะมีสารอินทรีย์เป็นส่วนประกอบหลักแล้วยังมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นสารอาหารที่สำคัญในน้ำเสียด้วย ซึ่งสารประกอบเหล่านี้อาจถูกใช้เป็นตัวชี้วัดความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำได้ ปัญหาที่เกิดต่อแหล่งน้ำเนื่องจากไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสีย คือ ยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดจากสภาพของแหล่งน้ำมีปริมาณสารอาหาร (ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส) มากเกินไป ซึ่งการเจริญเติบโตของพืชถูกควบคุมโดยความเข้มข้นของสารอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัส การเพิ่มความเข้มข้นของไนโรเจนและฟอสฟอรัสเป็นสาเหตุใหญ่ของการเพิ่มจำนวนของพืชน้ำอย่างรวดเร็วและในปริมาณสูง เมื่อพืชน้ำเหล่านี้ตายก็จะตกตะกอนสะสมในแหล่งน้ำ อาจทำให้แหล่งน้ำเกิดการตื้นเขินและกลายเป็นสารอินทรีย์ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำสูงมากขึ้นเป็นผลให้จุลินทรีย์ในแหล่งน้ำเพิ่มจำนวนมากขึ้นตามไปด้วย จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำขาดออกซิเจน ก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางน้ำและส่งผลถึงสิ่งมีชีวิตและระบบนิเวศ (วสันต์, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารจากห้องสมุดใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ มีขนาดตั้งแต่เล็กกว่าแบคทีเรียจนถึงขนาดยาวหลายเมตร โดยสาหร่ายเซลล์เดียวจะถูกเรียกว่า Phytoplankton จัดเป็น Single cell protein เช่น สาหร่ายสีเขียวและสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งถึงแม้ว่าแนวคิดเกี่ยวกับการใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสียจะไม่ใช่สิ่งใหม่ และมีการศึกษาย้อนหลังไปเกือบครึ่งศตวรรษ (Oswald *et al.*, 1957) แต่แนวคิดนี้ได้กระตุ้นความสนใจมากขึ้นในหลายปีที่ผ่านมา เนื่องจากการขาดแคลนน้ำและพลังงานเป็นปัญหาที่ก่อให้เกิดความท้าทายระดับโลก ซึ่งวิธีหนึ่งที่เป็นไปได้ในการแก้ไขปัญหาทั้งสองเรื่องคือ การกู้คืนพลังงานจากการบำบัดน้ำเสียในขณะที่น้ำสะอาดที่ถูกบำบัดแล้วได้มีการเก็บเกี่ยวไว้เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ จึงทำให้เมื่อเร็ว ๆ นี้น้ำเสียได้รับการยกย่องว่าเป็นทั้งทรัพยากรน้ำและพลังงานมากกว่าของเสีย (Otondo *et al.*, 2018) นอกจากนี้การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กมีข้อดีหลายอย่างในการนำมาบำบัดน้ำเสียแบบทั่วไปที่ใช้ระบบ activated sludge ซึ่งข้อดีอย่างแรก คือ การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กจะมีความต้องการพลังงานต่ำเนื่องจากมีการเติมออกซิเจนผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย แทนการใช้วิธี electromechanical blowers (Green *et al.*, 1995) นอกจากนี้การปล่อยออกซิเจน จากการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายในระบบบำบัดน้ำเสียยังช่วยในการเติมอากาศภายในบ่อบำบัดและลดต้นทุนในการดำเนินงาน ซึ่งการมีออกซิเจนในบ่อบำบัดจะช่วยในการบำบัดทางชีวภาพของแบคทีเรียแอโรบิค ในการกำจัดสารประกอบประเภทอินทรีย์ และ อนินทรีย์ (Ramachandra *et al.*, 2013) อย่างที่สอง สาหร่ายขนาดเล็กไม่ได้กำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ออกจากน้ำเสียเพียงอย่างเดียว แต่ยังสามารถนำสารอาหารในชีวมวลมาเปลี่ยนเป็นพลังงาน สารเคมีใหม่ หรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้อีก (Martins *et al.*, 2010) ซึ่งข้อดีเหล่านี้มีความน่าสนใจมากในบางครั้งเมื่อมีความจำเป็นที่จะต้องเพิ่มประสิทธิภาพการใช้พลังงานจากการรีไซเคิลธาตุต่างๆ ในแหล่งน้ำเสีย ในแง่นี้การรวมกันของการบำบัดน้ำเสียจากสาหร่ายขนาดเล็กกับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็ก จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา (Pittman *et al.*, 2011) แต่เนื่องจากแหล่งที่มาของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียมีความแตกต่างกัน ทำให้ในบางครั้งความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจะเป็นอิสระต่อกัน โดยพบว่าอุจจาระของมนุษย์จะเป็นแหล่งของทั้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ขณะที่ผงซักฟอก สบู่ และ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการอุปโภคต่างๆ จะมีไนโตรเจนน้อยกว่าฟอสฟอรัส (Tjandraatmadja *et al.*, 2010) และเนื่องจากในสาหร่ายขนาดเล็กจะมีการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสออกพร้อมกันทั้งคู่ ดังนั้น ความจริงที่ว่าความเข้มข้นไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกัน จึงก่อให้เกิดความท้าทายทางวิศวกรรมการกำจัดสารอาหารออกจากน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็ก ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสจะมีความแตกต่างกันไปในช่วงกว้าง เมื่อความเข้มข้นไนโตรเจนในชีวมวลสูงขึ้น แต่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสจะจำกัดอยู่ในช่วงแคบ เมื่อความเข้มข้นไนโตรเจนในชีวมวลต่ำ (Beuckels *et al.*, 2015) นอกจากนี้การเลี้ยงสาหร่ายยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและยั่งยืน เนื่องจากไม่ก่อให้เกิดสารก่อมลพิษเพิ่ม เช่น ตะกอนจากผลิตภัณฑ์ และยังสามารถนำสารอาหารในน้ำเสียมาใช้ใหม่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

(Ramachandra *et al.*, 2012) เนื่องจากทั้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส จะถูกใช้โดยสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อผลิตสารประกอบทางชีวเคมีต่างๆ ทำให้การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในชีวมวล ส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีของชีวมวล (Lolaze *et al.*, 2011) โดยพบว่าไนโตรเจนส่วนใหญ่จะถูกใช้สำหรับสังเคราะห์โปรตีน ในขณะที่ฟอสฟอรัสส่วนใหญ่จะถูกรวมอยู่ใน ribosomal RNA ดังนั้นเมื่อทั้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสมีอยู่อย่างจำกัดจะส่งผลให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์ลดลง และทำให้การแบ่งเซลช้าลงไปด้วย แต่การได้รับคาร์บอนผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสงยังคงดำเนินต่อไป ทำให้เซลล์มีแนวโน้มที่จะสะสมสารจำพวก metabolite ที่อุดมไปด้วยคาร์บอน เช่น คาร์โบไฮเดรต และไขมัน เมื่อมีการเติมไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในระดับที่ต่ำ (Smith *et al.*, 2010) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้การพิสูจน์ขีดจำกัดของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นที่นิยมใช้ในสาหร่ายขนาดเล็ก ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ เพื่อเพิ่มผลผลิตคาร์โบไฮเดรต หรือไขมัน (Craggs *et al.*, 2013)

2.10 ปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication)

ยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) หรือมลภาวะจากธาตุอาหารพืช (nutrient pollution) เกิดจากการ บลูมของแพลงก์ตอนพืชในแหล่งน้ำจืด เช่น คูคลอง หนอง บึง ทะเลสาบ หรืออ่างเก็บน้ำ ซึ่งถือเป็นหนึ่งในปัญหามลพิษทางน้ำที่สำคัญที่เกิดขึ้นในทุกทวีปทั่วโลก สาเหตุหลักของปัญหามาจากแหล่งน้ำได้รับสาร ประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในปริมาณมากจากกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ เช่นการเกษตร อุตสาหกรรม หรือน้ำทิ้งจากบ้านเรือนสารอาหารเหล่านี้จะไปกระตุ้นให้แพลงก์ตอนพืชเกิดการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนส่งผลให้แหล่งน้ำไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านต่างๆได้

2.10.1 ธาตุอาหารพืชที่ส่งผลต่อการเกิดยูโทรฟิเคชัน

ธาตุอาหารทั้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสมีความสำคัญอย่างมากในระบบนิเวศแหล่งน้ำจืดเพราะสิ่งมีชีวิตกลุ่มออโตโทรป (autotrophs) เช่น แพลงก์ตอนพืช ซึ่งเป็นผู้ผลิตเบื้องต้นในแหล่งน้ำต้องนำมาใช้ในการเจริญเติบโต แต่ในธรรมชาติธาตุเหล่านี้มีปริมาณน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่สิ่งมีชีวิตต้องการ ดังนั้นจึงถือเป็นปัจจัยจำกัดต่อการเจริญเติบโต (limiting factors) ธาตุไนโตรเจนมีส่วนสำคัญในการนำมาใช้สร้างโปรตีนและกรดนิวคลีอิกซึ่งเป็นองค์ประกอบของยีน ในขณะที่ฟอสฟอรัสเป็นผลกระทบของการเกิดยูโทรฟิเคชัน องค์ประกอบของกรดนิวคลีอิกและสารประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ ถึงแม้ในบรรยากาศจะมีแก๊สไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ แต่มีสิ่งมีชีวิตเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้ได้โดยตรง เช่น แบคทีเรียหรือสาหร่ายบางชนิด ดังนั้น สิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ จะได้รับไนโตรเจนจากการบริโภคสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นเป็นอาหารแหล่งที่มาของไนโตรเจนยังมาจากปุ๋ย ซึ่งไนโตรเจนมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีทำให้เกิดการชะล้างสู่แหล่งน้ำธรรมชาติสูง ในส่วนของฟอสฟอรัสพบว่าเป็นธาตุที่มีปริมาณน้อยในธรรมชาติ โดยมีต้นกำเนิดมาจากหินและแร่ธรรมชาติ ฟอสฟอรัสยังได้จากปุ๋ย แต่ละลายน้ำได้ไม่ดีเท่าไนโตรเจน อีกทั้งยัง

ถูกยึดติดกับอนุภาคดินเหนียว ทำให้ในแหล่งน้ำธรรมชาติปริมาณฟอสฟอรัสจึงมีเพียงไม่กี่ไมโครกรัมต่อลิตร ในขณะที่ไนโตรเจนมีปริมาณสูงกว่าฟอสฟอรัสประมาณ 10-20 เท่า

2.10.2 ผลกระทบจากการเกิดยูโทรฟิเคชัน

การบลูมของแพลงก์ตอนพืชก่อให้เกิดปัญหาทางลบต่างๆ มากมาย ในด้านสิ่งแวดล้อมปัญหาที่เกิดขึ้น ได้แก่ การขาดแคลนปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำโดยเฉพาะในช่วงเวลากลางคืนที่พืชและแพลงก์ตอนพืชที่บลูมมีการหายใจโดยใช้ออกซิเจนในน้ำ ทำให้สัตว์น้ำขาดอากาศหายใจ และเมื่อเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชที่บลูมตายลงพร้อมๆ กัน ทำให้เกิดการย่อยสลายและทำให้แหล่งน้ำเน่าเสียจนไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ และยังอาจเกิดเชื้อโรคขึ้นตามมาอีกด้วย การที่แหล่งน้ำมีคุณภาพน้ำเสื่อมโทรมลงยังส่งผลต่อการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพของทั้งพืชและสัตว์ในแหล่งน้ำ แพลงก์ตอนพืชที่บลูมหนาแน่นเป็นแผ่นๆ บริเวณผิวหน้าน้ำจะไปบดบังแสง ทำให้น้ำขุ่น และกั้นไม่ให้แสงส่องผ่านมายังใต้พื้นท้องน้ำ ทำให้ไปจำกัดการเจริญเติบโตของพืชใต้น้ำ

2.10.3 การกำจัดธาตุอาหารประเภทไนโตรเจนและฟอสฟอรัส

วิธีการกำจัดธาตุอาหารที่เหมาะสมมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะเลือกใช้กับการบำบัดน้ำเสียจากชุมชนและอุตสาหกรรม วิธีการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสามารถทำได้หลายวิธี อาทิเช่น การกำจัดไนโตรเจนโดยใช้กระบวนการทางกายภาพ/เคมี (physical/chemical processes) ได้แก่ การเติมคลอรีน (chlorination) การแลกเปลี่ยนประจุ (ion exchange) และการเป่าอากาศ (air stripping) ซึ่งกระบวนการดังกล่าวเป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพสูงแต่มีราคาแพงถ้าเปรียบเทียบกับการบำบัดทางชีวภาพ ส่วนการกำจัดฟอสฟอรัสก็เช่นเดียวกันกระบวนการบำบัดทางเคมีเป็นกระบวนการบำบัดที่มีประสิทธิภาพสูงแต่มีราคาแพงมาก สารเคมีที่มีการใช้โดยทั่วไป ได้แก่ ปูนขาว สารประกอบเหล็ก คลอไรด์ และสารส้ม แต่ในบทความนี้ขอกล่าวเฉพาะการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสด้วยวิธีการทางชีวภาพเท่านั้น

2.11 ซีโอดี (COD)

ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand) เป็นการวัดปริมาณออกซิเจนเทียบเท่า (Oxygen Equivalent) ที่ใช้ในการออกซิไดซ์สารประกอบอินทรีย์ในตัวอย่างอย่างสมบูรณ์ด้วยตัวออกซิไดซ์อย่างแรง (Strong Chemical Oxidant) ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือ น้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้หลักการที่ใช้ในการออกซิไดซ์คือสารประกอบอินทรีย์เกือบทุกชนิด (ยกเว้นสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Aromatic Hydrocarbons)บางชนิด) จะถูกออกซิไดซ์โดยตัวออกซิไดซ์อย่างแรง (Strong Oxidizing Agents) เช่น โพแทสเซียมไดโครเมต เป็นต้น ภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและอะมิโนไนโตรเจนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียดังสมการ

$$C_nH_aO_bN_c + (n+a/4-b/2-3c/4)O_2 \longrightarrow nCO_2 + (a/2-3c/2)H_2O + cNH_3$$

การหาค่าซีโอดีจะมีประโยชน์อย่างมากในการเฝ้าระวังและควบคุมคุณภาพน้ำเมื่อได้หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าซีโอดีและค่าบีโอดีในตัวอย่างที่ต้องการศึกษา เฝ้าระวังและควบคุมแล้ว ทั้งนี้เนื่องจากระยะเวลาในการวิเคราะห์หาค่าซีโอดีสั้นกว่าระยะเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์หาค่าบีโอดีมากซึ่งเป็นข้อดีของการวิเคราะห์ค่าซีโอดี การวิเคราะห์ค่าซีโอดีนั้นในปฏิกิริยาการออกซิเดชั่นสารอินทรีย์จะต้องใช้ตัวออกซิไดซ์ที่แรงพอในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในตัวอย่าง ซึ่งมีสารหลายชนิดที่ใช้เป็นตัวออกซิไดซ์ได้ เช่น Potassium Dichromate, Potassium Permanganate เป็นต้น แต่ตัวออกซิไดซ์ที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางคือ Potassium Dichromate ทั้งนี้เนื่องจาก Potassium Dichromate เป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงมากและสามารถใช้กับตัวอย่างได้หลายชนิดรวมทั้งง่ายต่อการใช้และการดำเนินการวิเคราะห์ด้วยโดยทั่วไปการออกซิไดซ์สารประกอบอินทรีย์ส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 95 ถึง 100 เปอร์เซ็นเมื่อเทียบกับค่าที่ได้จากการคำนวณในทางทฤษฎีสารไพริดีน (Pyridine) และสารประกอบของไพริดีนจะต่อต้านการออกซิไดซ์สารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยได้ง่าย (Volatile Organic Compounds) จะถูกออกซิไดซ์ไม่หมดโดยจะถูกออกซิไดซ์จนถึงระดับหนึ่งเท่านั้น เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยได้ง่ายจะลอยตัวอยู่ในบริเวณช่องว่างเหนือชั้นของสารละลายที่เกิดปฏิกิริยาทำให้ไม่ถูกออกซิไดซ์ได้ทั้งหมด แอมโมเนียที่อยู่ในน้ำตัวอย่างหรือเกิดจากปฏิกิริยาของสารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบก็ตามจะไม่ถูกออกซิไดซ์ถ้าไม่มีคลอไรด์อิออนในปริมาณที่เพียงพอ

2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Richmond (1986) รายงานว่าอัตราการเติบโตของ *Chlorella* sp. ในอาหารที่เติมและไม่เติมคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 0.56-4.43 มีค่าไม่แตกต่างกัน แต่ควรให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของสาหร่ายแต่อาจหยุดให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้ในช่วงมืดซึ่งจะไม่มีผลกระทบต่อการเติบโตของสาหร่าย ส่วน Bhumiratana *et al*., (1972) พบว่าการให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 2 ผสมกับอากาศเพียงพอต่อการเติบโตของสาหร่ายสีเขียว

ธิดาและนิเวศน์ (2517) ทดลองสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงแพลงตอนพืชในแง่ที่มีต้นทุนต่ำ พบว่าสารไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *Chlorella* sp. คือ โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3) ที่ปริมาณความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับ Saxena *et al*. (1983) รายงานว่าโซเดียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้ปริมาณผลผลิตของสาหร่ายสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ยูเรียและแอมโมเนียไนเตรต

Hosakul (1972) พบว่า *Chlorella* sp. และ *Scenedesmus* sp. เติบโตได้ดีที่ความเข้มข้นของฟอสเฟต 1 มิลลิโมลต่อลิตร และที่ความเข้มข้นของฟอสเฟตต่ำกว่า 0.1 มิลลิโมลต่อลิตร สาหร่ายจะชะงักการเติบโต รวมทั้งเป็นผลให้ความเป็บัฟเฟอร์ของฟอสเฟตสูญเสียไปด้วยและพบว่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 6-45 มิลลิโมลต่อลิตร ไม่มีผลยับยั้งการเติบโตของสาหร่าย

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สาหร่าย

ตารางที่ 3.1 สายพันธุ์สาหร่ายจำนวน 4 ชนิด ที่ผ่านการแยกมาจากน้ำเสีย

สาหร่าย	แหล่งที่พบ
Chlorella sp. (A1)	ได้มาจากบ่อน้ำคณะเกษตร ลาดกระบัง
Chlorella sp. (A2)	ได้มาจากสวนพระนคร ลาดกระบัง
Chlorella sp. (A3)	ได้มาจากคลองประเวศ หัวตะเข้ ลาดกระบัง
Monoraphidium circinale (A4)	ได้มาจากบ่อบำบัดน้ำเสีย นิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง

3.2 สารเคมี

3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ N-8

- ไดโซเดียมฟอสเฟต ($Na_2HPO_4 .2H_2O$)
- แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)
- โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4)
- เฟอร์ริกอีดีทีเอ (FeEDTA)
- แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต ($MgSO_4 .7H_2O$)
- โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3)

3.2.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11

- โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$)
- ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4)
- แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต ($MgSO_4 .7H_2O$)
- แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2 .2H_2O$)

- กรดซิตริก ($C_6H_8O_7$)

- แอมโมเนียมเฟอร์ริกซิเตรต ($((NH_4)_5.FeC_6H_4O_7)_2$)

3.2.2 สารเคมีสำหรับเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์

3.2.2.1 แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2 .2H_2O$)

3.2.2.2 แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 .7H_2O$)

3.2.2.3 โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$)

3.2.2.4 ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4)

3.2.2.5 โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$)

3.2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไนเตรต

3.2.3.1 โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3)

3.2.3.2 บลูซีนซัลเฟต ($(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2 .H_2SO_4 .7H_2O$)

3.2.3.3 กรดซัลฟานิลิค ($C_6H_7NO_3S$)

3.2.3.4 กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

3.2.3.5 กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)

3.2.3.6 โซเดียมคลอไรด์ ($NaCl$)

3.2.4 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส

3.2.4.1 แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} .4H_2O$)

3.2.4.2 แอมโมเนียมเมตาวานาเดต (NH_4VO_3)

3.2.4.3 กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

3.2.4.4 โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4)

3.2.5 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ค่าซีโอดี (COD)

3.2.5.1 โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$)

3.2.5.2 เมอร์คิวรี (II) ออกไซด์ ($HgSO_4$)

3.2.5.3 กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.5.4 แอมโมเนียมเฟอรัสซัลเฟต ($(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 .6H_2O$)

3.2.5.5 เฟอโรอีนอินดิเคเตอร์

3.2.6 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

3.2.6.1 เมทานอล (CH_3OH)

3.2.6.2 คลอโรฟอร์ม ($CHCl_3$)

3.3 เครื่องมือ

3.3.1 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

3.3.2 ตู้ดูดควัน (Fume Hood: ASTEC)

3.3.3 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer: SHIMADZU UV-1280)

3.3.4 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge: Hettich รุ่น ROTINA 380)

3.3.5 เครื่องเขย่า (Shaker)

3.3.6 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven: BINDER)

3.3.7 เครื่องอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic Bath: Elma S70H Elmasonic)

3.3.8 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (Autoclave: HIRAYAMA HVE-50)

3.3.9 เครื่องกวนสารให้ความร้อน (hotplate: Stuart UC152 Magnetic Stirrer)

3.3.10 เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer: Vortex Genie 2)

3.3.10 ชุดกรองสารระบบสุญญากาศ (Glass Vacuum Filter)

3.3.11 เครื่องวัดแสง (Lux Meter)

3.3.12 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

3.3.13 ปั๊มลม (Air pump: MAGIC 6600 , Jeneca ap 12000)

3.3.14 หลอดไฟ (Light)

3.3.15 โถดูดความชื้น (Desiccator)

3.3.16 คอนเดนเซอร์ (Condenser)

3.3.17 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.3.18 เครื่องแก้วประเภทต่างๆ

3.3.19 ปิเปต (Pipette)

3.3.20 บิวเรต (buret)

3.3.21 หลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge Tubes)

3.3.22 กระดาษกรอง Whatman No.5, GF/C

3.3.23 หัวทราย

3.3.24 สายยาง

3.4 การคัดแยกสาหร่าย

คัดแยกสาหร่ายจากน้ำเสียธรรมชาติ โดยการนำตัวอย่างน้ำที่เก็บได้มาทำการเพาะเชื้อ (pour plate) จากนั้นทำการเขี่ยโคโลนีของสาหร่ายมาทำการแยกเชื้อ (cross streak) ลงบนเพลทอาหารเพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว (single colony) เมื่อได้โคโลนีเดี่ยวแล้วจึงนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อดูลักษณะของสาหร่าย

3.5 การเก็บหัวเชื้อสาหร่าย

เมื่อได้สาหร่ายที่มีความบริสุทธิ์แล้ว จะนำไปเลี้ยงไว้ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยแยกเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวในอาหารเลี้ยงเชื้อ N8 และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 โดยเลี้ยงไว้ในสภาวะเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที

3.6 การเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์

เตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ที่ดัดแปลงจากสูตรอาหาร WC medium (Guillard and Lorezen., 1972) ปริมาตร 1 ลิตร โดยเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ 2 สูตร คือ

1. สูตรที่ 1 มีความเข้มข้นของไนเตรต 2 มิลลิกรัมต่อลิตร , ฟอสฟอรัส 6 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. สูตรที่ 2 มีความเข้มข้นของไนเตรต 3 มิลลิกรัมต่อลิตร , ฟอสฟอรัส 12 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.7 การกำจัดธาตุอาหารในน้ำเสียสังเคราะห์

เติมหัวเชื้อสาหร่ายที่มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ที่ 0.5-0.6 นาโนเมตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นจึงทำการให้อากาศด้วยหัวทรายที่ต่อกับปั๊มลมและทำการเลี้ยงตัวอย่างทั้งหมด 3 ซ้ำต่อสาหร่ายแต่ละชนิด โดยจะเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 6 วัน

3.8 การวัดการเพิ่มปริมาณของสาหร่าย

เก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาทำการวัดปริมาณของเซลล์สาหร่ายด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ค่าการดูดกลืนแสง 560 นาโนเมตร

3.9 การวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรตในน้ำเสีย (APHA, 1998)

เก็บตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร มาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาทีเพื่อแยกเซลล์สาหร่ายออกจากน้ำเสียสังเคราะห์ จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติมกรดซัลฟิวริค (4+1) 10 มิลลิลิตร ทำให้เย็น แล้วเติมสารละลายบรูซีน-ซัลฟานิลิค 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วจึงนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำให้เย็น แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเทียบกับ Calibration curve และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารไนเตรต (Liandong *et al.*, 2013)

สูตรคำนวณคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารไนเตรต

$$W\% = 100\% \times (C_o - C_i) / C_o$$

โดยที่ C_o คือ ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารอาหารที่เวลาเริ่มต้นคือ T_o

C_i คือค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารอาหารที่เวลา T_i

3.10 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำเสีย (APHA, 1998)

เก็บตัวอย่างปริมาตร 35 มิลลิลิตร มาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาทีเพื่อแยกเซลล์สาหร่ายออกจากน้ำเสียสังเคราะห์ จากนั้นเติมสารละลายแวนาเดตโมลิบเดต (Vanadate-molybdate Reagent) 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 470 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเทียบกับ Calibration curve และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารฟอสฟอรัส (Liandong *et al.*, 2013)

สูตรคำนวณคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารฟอสฟอรัส

$$W\% = 100\% \times (C_o - C_i) / C_o$$

โดยที่ C_o คือ ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารอาหารที่เวลาเริ่มต้นคือ T_o

C_i คือค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารอาหารที่เวลา T_i

3.11 ซีโอดี (COD)

เก็บตัวอย่างปริมาตร 20 มิลลิลิตร มาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาทีเพื่อแยกเซลล์สาหร่ายออกจากน้ำเสียสังเคราะห์ ใส่ลงในขวดก้นกลม จากนั้นเติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 0.0417 M ($K_2Cr_2O_7$) 10 มิลลิลิตร เมอร์คิวรีซัลเฟต ($HgSO_4$) 0.4 กรัม และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.H_2SO_4) 30 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลม แล้วนำขวดก้นกลมไปต่อเข้ากลับเครื่องควบแน่นและให้ความร้อนด้วย hotplate ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส กลั่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วนำมาเติมน้ำกลั่นให้ได้ 150 มิลลิลิตร แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาไทเทรตกับสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.25 M ($(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 .6H_2O$) โดยใช้เฟอโรอีนเป็นอินดิเคเตอร์ (2-3 หยด) ไทเทรตจนถึงจุดยุติสีจะเปลี่ยนจากฟ้าอมเขียวไปเป็นสีน้ำตาลแดง จากนั้นจึงนำมาคำนวณหาค่าซีโอดี (ไพฑูรย์, 2558) และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารฟอสฟอรัส (Liandong *et al.*, 2013)

การคำนวณหาค่าซีโอดี

$$COD = (A-B) \times 8000M / C$$

เมื่อ COD = ค่าซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)

A = ปริมาตรของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตแบลงค์

B = ปริมาตรของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง

M = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต

C = ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้

สูตรคำนวณคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารไนเตรต

$$W\% = 100\% \times (C_o - C_i) / C_o$$

โดยที่ C_o คือ ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารอาหารที่เวลาเริ่มต้นคือ T_o

C_i คือค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารอาหารที่เวลา T_i

3.12 การวัดปริมาณความเข้มข้นชีวมวลแห้งของสาหร่าย

เก็บตัวอย่างปริมาตร 20 มิลลิลิตร มากรองด้วยปั๊มแบบสุญญากาศ ใช้กระดาษกรอง Whatman No.5 และใช้น้ำกลั่นล้างชีวมวลสาหร่าย นำแผ่นกระดาษกรองที่มีเซลล์สาหร่ายไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น 15-30 นาที ชั่งหาน้ำหนักชีวมวลแห้งสุดท้ายและนำค่าไปคำนวณหาความเข้มข้นของชีวมวลแห้ง

3.13 การวิเคราะห์หาปริมาณการผลิตไขมันของสาหร่าย

เก็บตัวอย่างปริมาตร 20 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ แล้วจึงเติมน้ำกลั่น 0.8 มิลลิลิตร เมทานอล 2 มิลลิลิตร และคลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิค (70 Hz) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้วเติมคลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายส่วนบนทิ้ง เก็บส่วนของเหลวชั้นล่าง (คลอโรฟอร์มและไขมัน) ไปสกัดต่อจนกระทั่งของเหลวที่สกัดได้ไม่มีสี นำสารละลายที่สกัดได้ไปกรองผ่านกระดาษกรอง (Whatman GF/C) ที่ชุ่มด้วยคลอโรฟอร์ม จากนั้นนำกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาชั่งหาน้ำหนักสุดท้ายเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณของไขมัน (โยธกา, 2555)

สูตรคำนวณปริมาณไขมัน

$$CP = (W_1 - W_0) / V \times 1000$$

โดย CP = ปริมาณไขมัน

W_1 = น้ำหนักก่อน

W_2 = น้ำหนักหลัง

V = ปริมาตรของตัวอย่าง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

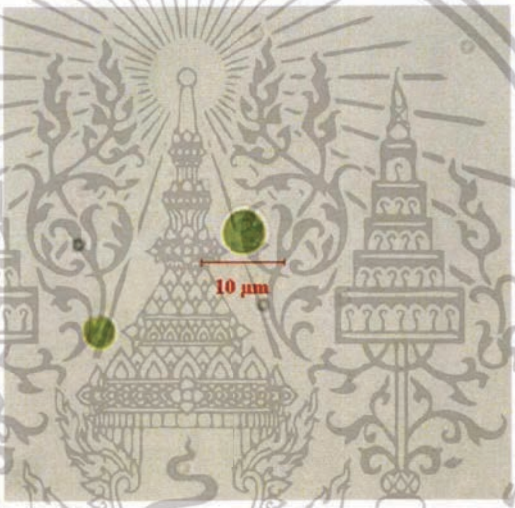
บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

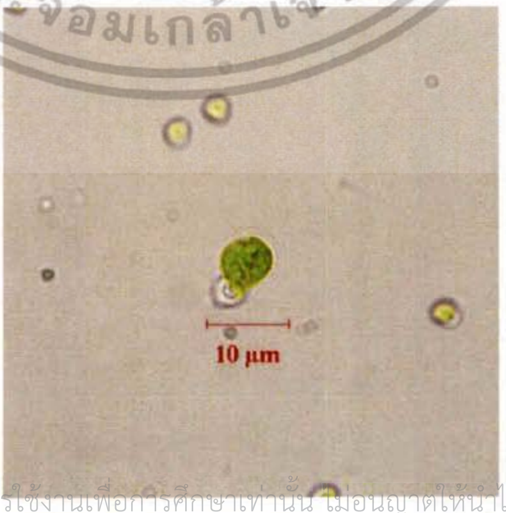
4.1 สาหร่าย

หลังการคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งน้ำทั้ง 4 แห่ง เมื่อนำตัวอย่างน้ำมา pour plate และ cross streak จนได้โคโลนีเดี่ยว จากนั้นนำโคโลนีเดี่ยวที่ได้มาสังเกตลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายต่างๆ พบลักษณะของสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด ดังแสดงในรูปที่ 4.1, 4.2, 4.3 และ 4.4

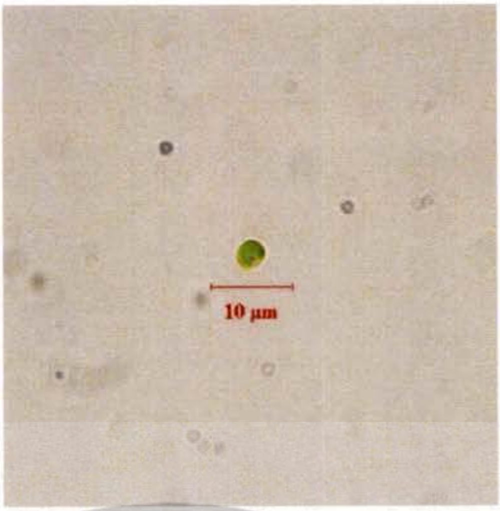
ภาพของสาหร่ายที่ผ่านการส่องใต้กล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 4.1 ลักษณะรูปร่างของ *Chlorella* sp. (A1) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า



รูปที่ 4.2 ลักษณะรูปร่างของ *Chlorella* sp. (A2) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า



รูปที่ 4.3 ลักษณะรูปร่างของ *Chlorella* sp. (A3) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

รูปที่ 4.4 ลักษณะรูปร่างของ *Monoraphidium cricinale* (A4) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

4.2 ค่าความหนาแน่นของเซลล์

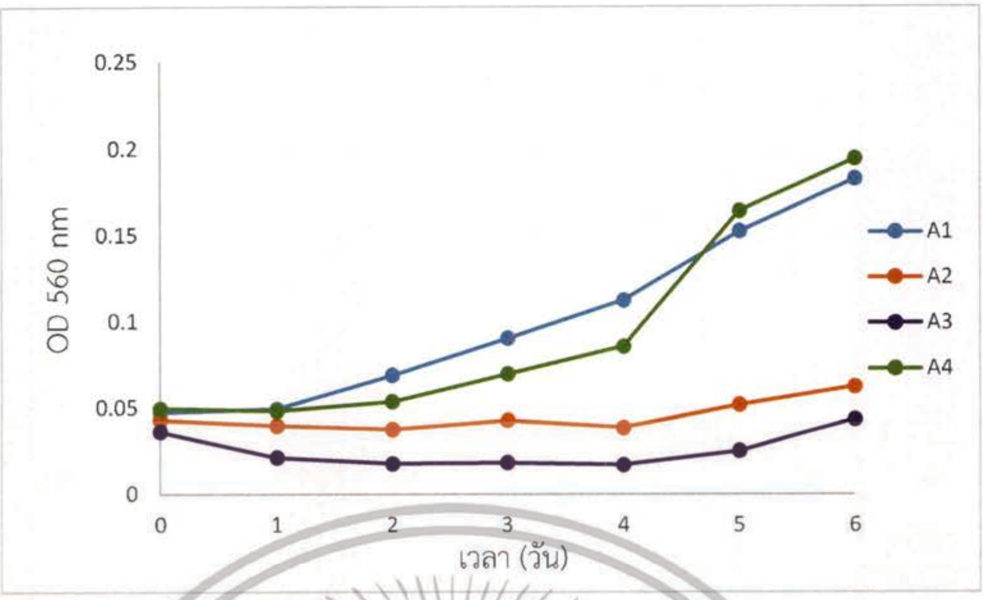
เมื่อเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารเริ่มต้นต่างกัน 2 ชุดการทดลอง (ชุดการทดลองที่ 1 : 2 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 6 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 2 : 3 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 12 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร) หลังจากครบ 6 วันการทดลอง เก็บตัวอย่างทั้ง 3 ซ้ำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้นของเซลล์สาหร่าย ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร เมื่อวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

สาหร่าย	ค่า OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร	
	ชุดการทดลองที่ 1 (2 mg N/L, 6 mg P/L)	ชุดการทดลองที่ 2 (3 mg N/L, 12 mg P/L)
A1	0.14 ± 0.02^{d}	1.01 ± 0.07^{a}
A2	0.02 ± 0.01^{d}	0.48 ± 0.10^{c}
A3	0.01 ± 0.005^{d}	0.68 ± 0.24^{bc}
A4	0.15 ± 0.04^{d}	0.90 ± 0.05^{ab}

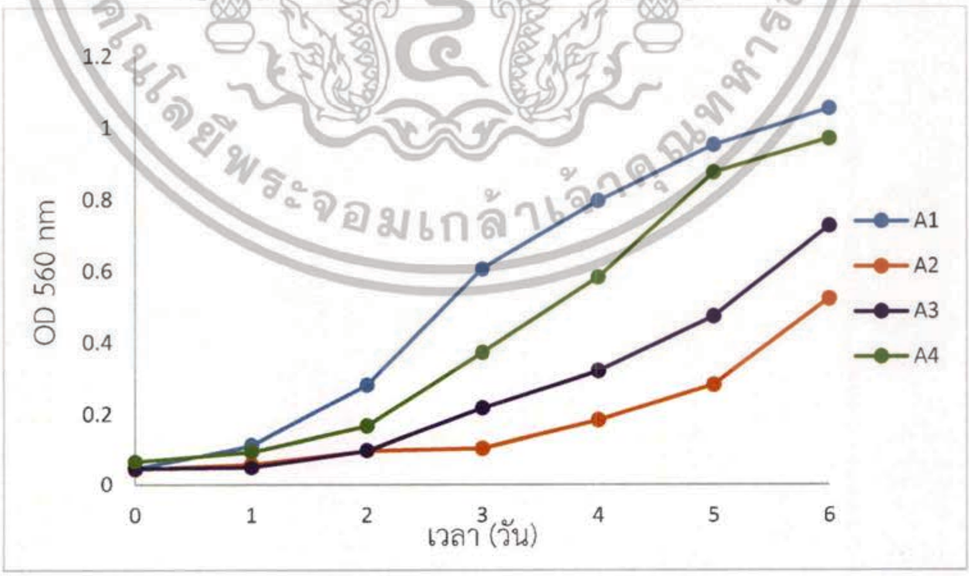
หมายเหตุ : ± = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน A1 = *Chlorella* sp. A2 = *Chlorella* sp. A3= *Chlorella* sp. A4 = *Monoraphidium circinale* (N=4) a,b,c,d แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบโดย ANOVA และ Tukey’s test

จากตารางที่ 4.1 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้นของเซลล์สาหร่าย ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3) และ *Monoraphidium circinale* (A4) ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบเปิดที่มีการเติมอากาศและให้แสงอยู่ตลอดเวลา มีความเข้มแสง 500 ลักซ์ โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลองคือชุดที่ 1 มีความเข้มข้นเริ่มต้นของธาตุอาหารเป็น 2 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 6 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 2 มีความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 3 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 12 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร โดยวัดความหนาแน่นของเซลล์ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร จากการทดลองชุดที่ 1 พบว่า *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3) และ *Monoraphidium circinale* (A4) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ *Monoraphidium circinale* (A4) มีค่าความหนาแน่นของเซลล์ (OD) เฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 0.15 ± 0.04 รองลงมาคือสาหร่าย *Chlorella* sp. (A1) มีค่าความหนาแน่นเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 0.14 ± 0.02, *Chlorella* sp. (A2) มีค่าความหนาแน่นเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 0.02 ± 0.01 และ *Chlorella* sp. (A3) มีค่าความหนาแน่นเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 0.01 ± 0.005 ตามลำดับ ในการทดลองชุดที่ 2 พบว่า *Chlorella* sp. (A1) มีความหนาแน่นของเซลล์ (OD) เฉลี่ยเพิ่มขึ้นสูงที่สุด 1.01 ± 0.07 รองลงมาคือสาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4), *Chlorella* sp. (A3) และ *Chlorella* sp. (A2) โดยเซลล์สาหร่ายมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 0.90 ± 0.05, 0.68 ± 0.24 และ 0.48 ± 0.10 ตามลำดับ



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่ายในชุดการทดลองที่ 1

สาหร่ายที่มีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มมากขึ้นมากที่สุดเมื่อครบกำหนด 6 วัน (164 ชั่วโมง) สำหรับชุดการทดลองที่ 1 คือ *Monoraphidium circinale* (A4) โดยค่าความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นที่วัดได้คือ 0.05 และเพิ่มขึ้นจนถึงค่าความหนาแน่นที่วัดได้ในวันสุดท้ายคือ 0.19 (รูปที่ 4.5)



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่ายในชุดการทดลองที่ 2

จากรูปที่ 4.6 สาหร่ายที่มีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มมากขึ้นมากที่สุดเมื่อครบกำหนด 6 วัน (164 ชั่วโมง) สำหรับชุดการทดลองที่ 2 คือ *Chlorella* sp. (A1) โดยค่าความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นที่วัดได้คือ 0.05 และเพิ่มขึ้นจนถึงค่าความหนาแน่นที่วัดได้ในวันสุดท้ายคือ 1.05 และจากผลการทดลองกล่าวได้ว่า ในความเข้มข้นของธาตุอาหารเริ่มต้นในชุดการทดลองที่ 2 สาหร่ายทั้ง 4 ชนิดมีระยะ lag phase ที่ใกล้เคียงกันโดยประมาณ 1 วัน และเริ่มเข้าสู่ระยะ exponential phase ในวันที่ 2 ของการทดลอง เมื่อทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการเกิด exponential phase ของทั้งสองชุดการทดลอง แสดงให้เห็นถึงระยะเวลาในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพของน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งต่างจากแหล่งอาหารเดิมนั้นคือ BG11 สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียที่ความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น 2 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 6 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ปรากฏระยะ lag phase นานกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นของสารอาหาร 3 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร , 12 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร แม้ว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในความเข้มข้นของสารอาหารเดียวกัน ความแตกต่างของลักษณะการเจริญของสาหร่ายอาจขึ้นอยู่กับชนิดและองค์ประกอบของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ด้วย โดยทั่วไปการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กจำเป็นต้องมีแหล่งคาร์บอนและปริมาณแสงที่เพียงพอในการสังเคราะห์แสงด้วย (Moheimani, 2005) นอกจากนั้นการเจริญเติบโตของสาหร่ายต้องอาศัยความสมดุลระหว่างปัจจัยอื่นเช่น ไนโตรเจน, ฟอสฟอรัส, คาร์บอนไดออกไซด์, อุณหภูมิ, ความเข้มแสง, การกำจัดและผลผลิตที่จะได้ (Richmond, 2004) และพบว่าหากมีความเข้มข้นของสารอาหารต่ำลงจะทำให้การเจริญของสาหร่ายลดลง เนื่องจากการสังเคราะห์แสงเป็นไปอย่างจำกัด (Dhup *et al.*, 2017)

4.3 ความสามารถในการกำจัดธาตุอาหาร

4.3.1 ความสามารถในการกำจัดธาตุอาหารไนเตรต

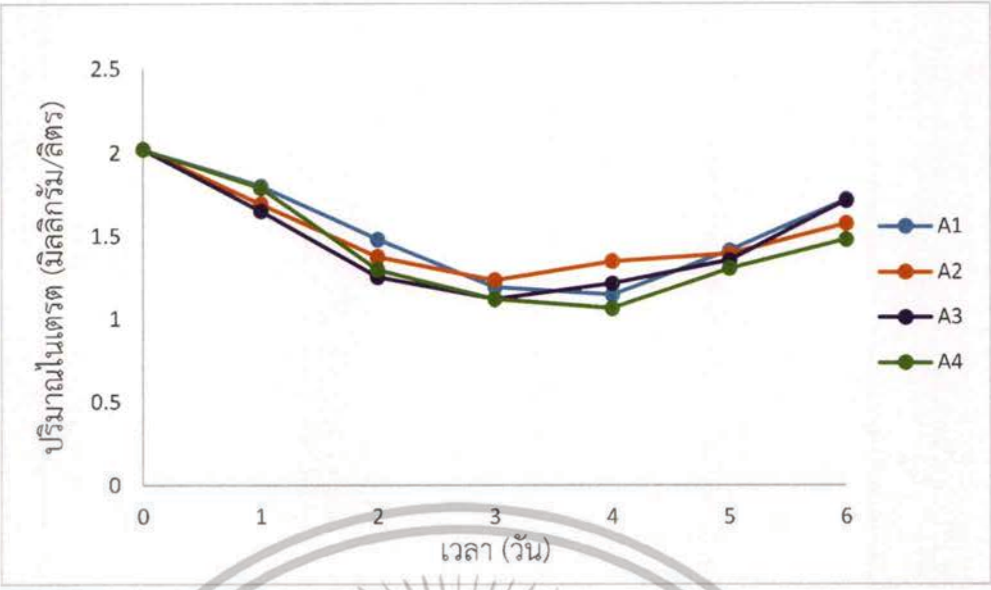
เก็บตัวอย่างสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ทุกวัน จนครบกำหนดระยะเวลา 6 วัน โดยจะเก็บตัวอย่างจากขวดเลี้ยงทั้ง 3 ซ้ำ อย่างละ 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อนำเฉพาะส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรตคงเหลือด้วยวิธีบรูซีน (Brucine Method) และวัดปริมาณไนโตรเจนด้วยการนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ปริมาณไนเตรตที่ลดลง ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณไนเตรตที่ลดลงโดยเฉลี่ยหลังจากการทดลอง 6 วัน เมื่อวัดค่าที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร

สาหร่าย	ปริมาณไนเตรต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ชุดการทดลองที่ 1 (2 mg N/L, 6 mg P/L)	ชุดการทดลองที่ 2 (3 mg N/L, 12 mg P/L)
A1	0.30 ± 0.70^{c}	0.67 ± 0.17^{bc}
A2	0.45 ± 0.24^{bc}	1.35 ± 0.61^{ab}
A3	0.31 ± 0.09^{c}	0.65 ± 0.71^{bc}
A4	0.54 ± 0.03^{bc}	2.08 ± 0.01^{a}

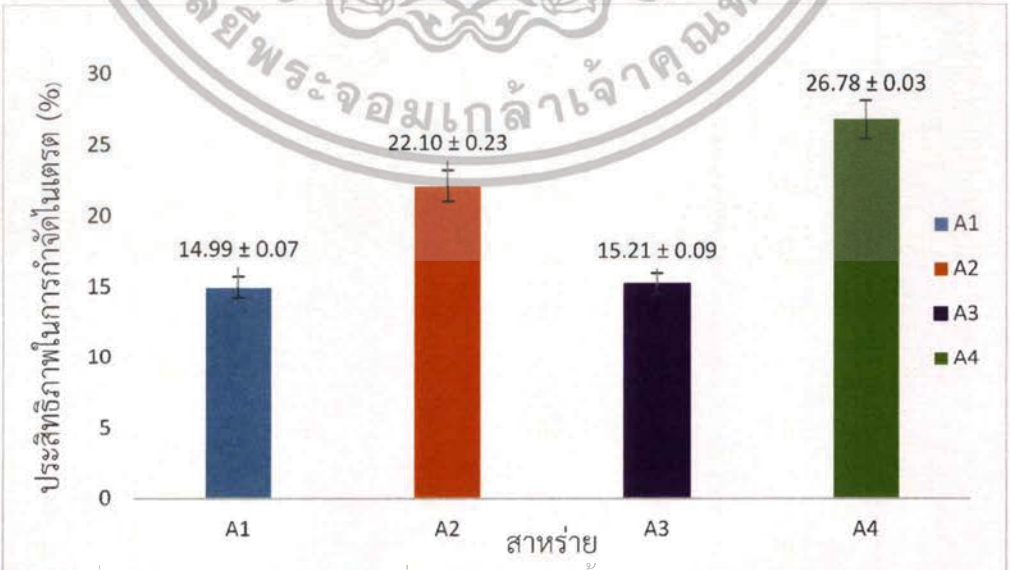
หมายเหตุ : ± = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน A1 = *Chlorella* sp. A2 = *Chlorella* sp. A3= *Chlorella* sp. A4 = *Monoraphidium circinale* (N=4) a,b,c,d แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบโดย ANOVA และ Tukey's test

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณไนเตรตที่ลดลงเมื่อเลี้ยงสาหร่าย ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3) และ *Monoraphidium circinale* (A4) ในน้ำเสียสังเคราะห์ จากการทดลองชุดที่ 1 ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารประเภทไนเตรทเท่ากับ 2 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร พบว่า *Monoraphidium circinale* (A4) สามารถลดปริมาณไนเตรตได้มากที่สุดคือ 0.54 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือสาหร่าย *Chlorella* sp. (A2) สามารถลดปริมาณไนเตรตได้ 0.45 ± 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับสาหร่าย *Chlorella* sp. (A3) 0.31 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อลิตร และสาหร่าย *Chlorella* sp. (A1) 0.30 ± 0.70 มิลลิกรัมต่อลิตร ในชุดการทดลองที่ 2 ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาการประเภทไนเตรตเท่ากับ 3 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร พบว่า *Monoraphidium circinale* (A4) สามารถลดปริมาณไนเตรตได้มากที่สุดคือ 2.08 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือสาหร่าย *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A1) และ *Chlorella* sp. (A3) โดยสามารถลดปริมาณไนเตรตได้ 1.35 ± 0.61, 0.67 ± 0.17 และ 0.65 ± 0.71 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

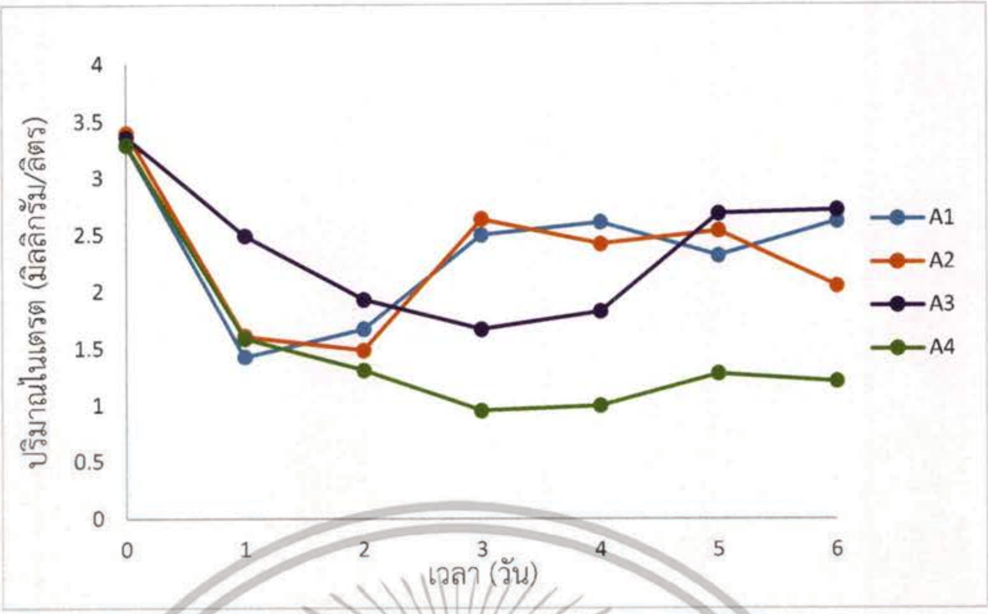


รูปที่ 4.7 กราฟแสดงปริมาณไนเตรตของการทดลองชุดที่ 1

จากการทดลองชุดที่ 1 ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารประเภทไนเตรตเท่ากับ 2 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร พบว่า *Monoraphidium circinale* (A4) สามารถลดปริมาณไนเตรตได้มากที่สุดในความเข้มข้นเริ่มต้นของไนเตรตเท่ากับ 2.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ลดลงจนถึง 1.48 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.7) และสามารถคิดเป็นเปอร์เซ็นการกำจัดได้ 26.78% ตามด้วย *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3) และ *Chlorella* sp. (A1) โดยเปอร์เซ็นการกำจัดคิดเป็น 22.10%, 15.21% และ 14.99% ตามลำดับ (รูปที่ 4.8)

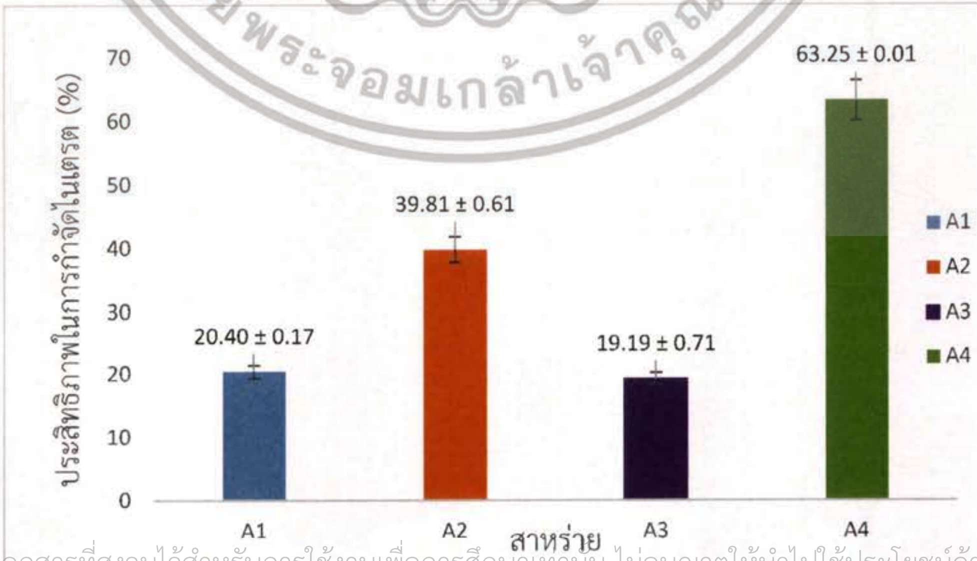


รูปที่ 4.8 กราฟแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดไนเตรตของการทดลองชุดที่ 1



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงปริมาณไนเตรตในชุดการทดลองที่ 2

จากการทดลองชุดที่ 2 ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารประเภทไนเตรตเท่ากับ 3 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร พบว่า *Monoraphidium circinale* (A4) สามารถลดปริมาณไนเตรตได้มากที่สุดในความเข้มข้นเริ่มต้นของไนเตรตเท่ากับ 3.29 มิลลิกรัมต่อลิตร ลดลงจนถึง 1.21 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.9) คิดเป็นเปอร์เซ็นการกำจัดได้ 63.25% ตามด้วย *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A1) และ *Chlorella* sp. (A3) โดยเปอร์เซ็นการกำจัดคิดเป็น 39.81%, 20.40% และ 19.19% ตามลำดับ (รูปที่ 4.10)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.10 กราฟแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดไนเตรตของการทดลองชุดที่ 2

จากงานวิจัยของ Dhup *et al* (2017) ที่ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่จะส่งผลกระทบต่อกันในสาหร่าย *Monoraphidium* sp. จากงานวิจัยนี้พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดไนโตรเจนจะลงลดเมื่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสลดลง กล่าวคือฟอสฟอรัสเป็นสารอาหารที่เหนี่ยวนำให้เกิดการดูดซับไนโตรเจน หากฟอสฟอรัสมีความเข้มข้นต่ำอัตราการดูดซับไนโตรเจนก็จะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้น โดยในการทดลองชุดที่ 2 ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารไนเตรต 3 มิลลิกรัมต่อลิตรและฟอสฟอรัส 8 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถลดปริมาณไนเตรตได้มากถึง 63.25% แต่เมื่อความเข้มข้นลดลงเหลือ 2 มิลลิกรัมไนเตรตและ 6 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสในชุดการทดลองที่ 1 พบว่าสามารถลดปริมาณไนเตรตได้เพียง 26.78%

Benítez *et al*. (2018) ได้ทำการศึกษาจากการเลี้ยง *Chlorella* sp. ในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยแบ่งการทดลองออกเป็นสองชุด : ชุดที่ 1 เป็นการเลี้ยงโดยมีการกวน มีค่าเริ่มต้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัส เท่ากับ 79.9 และ 13.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ชุดที่ 2 เป็นการเลี้ยงแบบเติมอากาศที่มีค่าเริ่มต้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัส เท่ากับ 83.7 และ 11.7 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าระหว่างการบำบัดนั้นมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณไนเตรต แสดงให้เห็นถึงการมีอยู่ของแบคทีเรียสร้างไนไตรต์หรือแบคทีเรียที่ดำรงชีวิตโดยการออกซิไดซ์อนุมูลแอมโมเนียมให้เป็นสารประกอบไนไตรต์หรือไนเตรต งานวิจัยดังกล่าวมีผลของประสิทธิภาพในการลดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสำหรับชุดที่ 1 เท่ากับ 52.6% และ 67.0% สำหรับชุดที่ 2 มีประสิทธิภาพในการลดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเท่ากับ 55.6% และ 20.4%

4.3.2 ความสามารถในการกำจัดธาตุอาหารฟอสฟอรัส

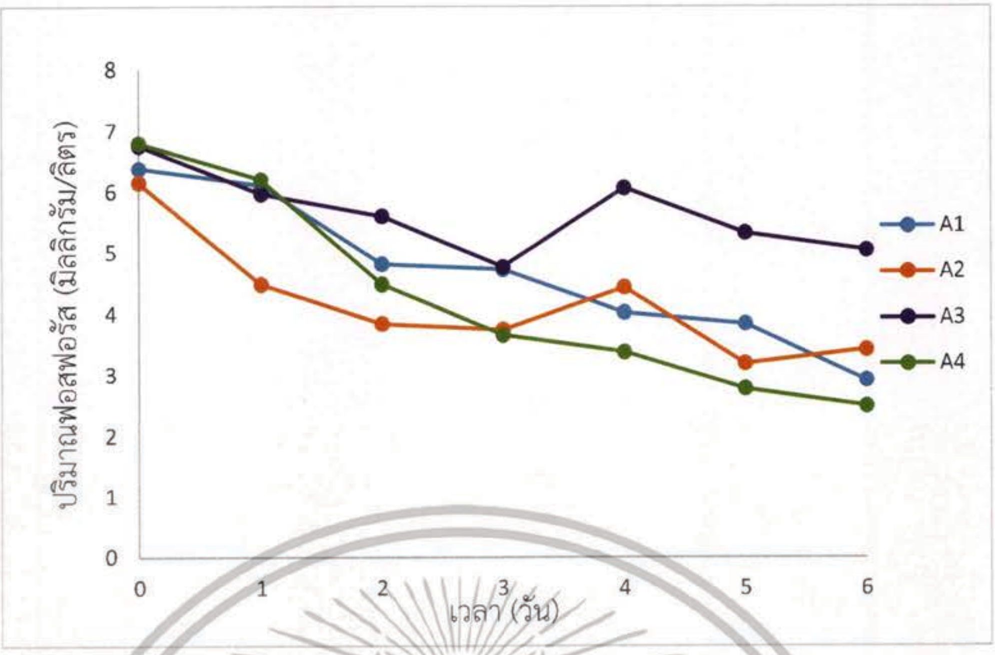
เก็บตัวอย่างสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ทุกวัน จนครบกำหนดระยะเวลา 6 วัน โดยจะเก็บตัวอย่างจากขวดเลี้ยงทั้ง 3 ซ้ำ อย่างละ 35 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อนำเฉพาะส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสคงเหลือด้วยวิธีแวนนาโดโมลิบโดฟอสฟอริก แอซิด โดยวัดปริมาณฟอสฟอรัสด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ปริมาณฟอสฟอรัสที่ลดลง ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณฟอสฟอรัสที่ลดลงโดยเฉลี่ยหลังจากการทดลอง 6 วัน เมื่อวัดค่าที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

สาหร่าย	ปริมาณฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ชุดการทดลองที่ 1 (2 mg N/L, 6 mg P/L)	ชุดการทดลองที่ 2 (3 mg N/L, 12 mg P/L)
1	3.47 ± 0.37^{cd}	4.95 ± 0.42^{b}
2	2.73 ± 0.58^{de}	8.66 ± 0.21^{a}
3	1.71 ± 0.77^{e}	3.56 ± 0.42^{cd}
4	4.31 ± 0.14^{bc}	9.58 ± 0.00^{a}

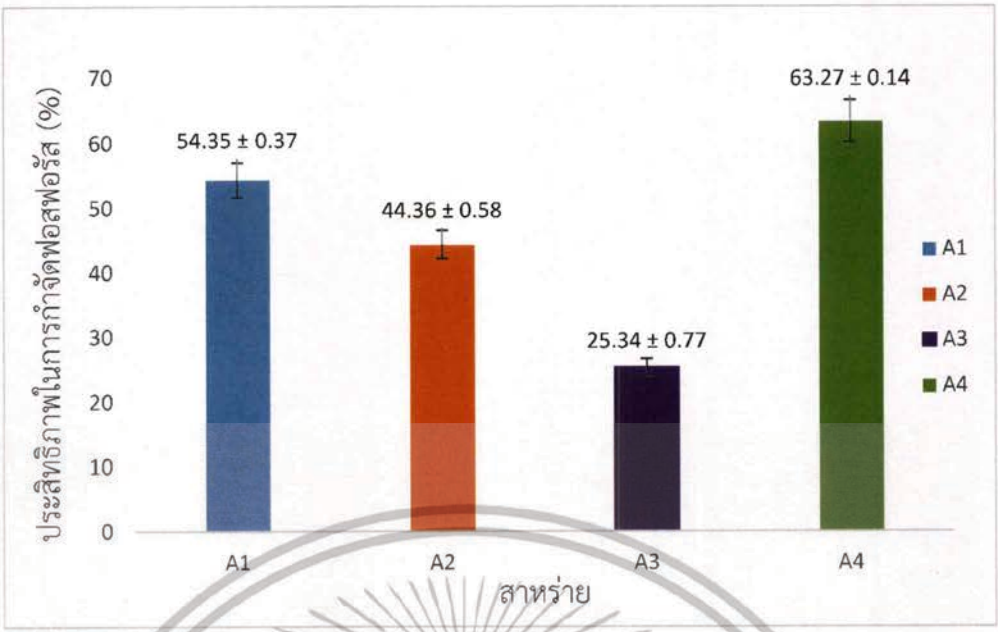
หมายเหตุ : ± = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน A1 = *Chlorella* sp. A2 = *Chlorella* sp. A3= *Chlorella* sp. A4 = *Monoraphidium circinale* (N=4) a,b,c,d,e แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบโดย ANOVA และ Tukey's test

ในการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3) และ *Monoraphidium circinale* (A4) ตัวในน้ำเสียสังเคราะห์ ทั้ง 2 ชุดการทดลอง โดยมีค่าเริ่มต้นฟอสฟอรัสสำหรับการทดลองชุดที่ 1 เท่ากับ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4) สามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสได้มากที่สุดโดยเฉลี่ยแล้ว คือ 4.31 ± 0.14 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือสาหร่าย *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2) และ *Chlorella* sp. (A3) โดยปริมาณฟอสฟอรัสที่กำจัดได้คือ 3.47 ± 0.37, 2.73 ± 0.58 และ 1.71 ± 0.77 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชุดการทดลองที่ 2 พบว่า สาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4) สามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสได้มากที่สุดโดยเฉลี่ยแล้ว คือ 9.58 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับสาหร่าย *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A1) และ *Chlorella* sp. (A3) สามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสได้รองลงมา คือ 8.66 ± 0.21, 4.95 ± 0.42 และ 3.56 ± 0.42 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

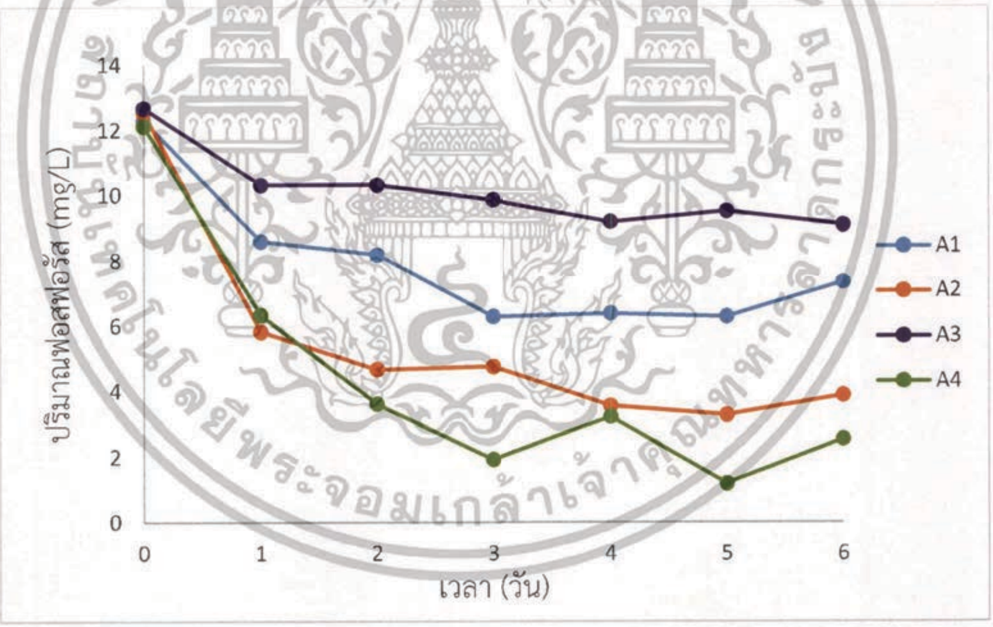


รูปที่ 4.11 กราฟแสดงปริมาณฟอสฟอรัสในชุดการทดลองที่ 1

จากการทดลองชุดที่ 1 ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารประเภทฟอสฟอรัสเท่ากับ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4) สามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสได้ดีที่สุดในความเข้มข้นเริ่มต้นของฟอสฟอรัสเท่ากับ 6.81 มิลลิกรัมต่อลิตร ลดลงจนถึง 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.11) สามารถคิดเป็นเปอร์เซ็นการกำจัดได้ 63.27% ตามด้วย *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2) และ *Chlorella* sp. (A3) โดยเปอร์เซ็นการกำจัดคิดเป็น 54.35%, 44.36% และ 25.34% ตามลำดับ (รูปที่ 4.12)

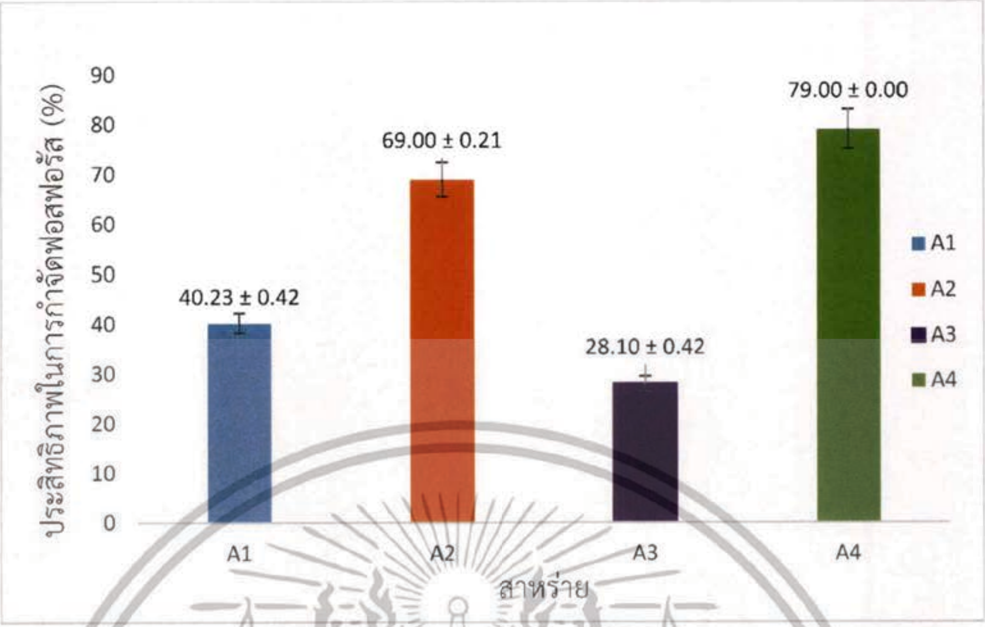


รูปที่ 4.12 กราฟแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสของการทดลองชุดที่ 1



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงปริมาณฟอสฟอรัสในชุดการทดลองที่ 2

จากการทดลองชุดที่ 2 ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารประเภทฟอสฟอรัสเท่ากับ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4) สามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสได้ดีที่สุด ในความเข้มข้นเริ่มต้นของฟอสฟอรัสเท่ากับ 12.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ลดลงจนถึง 2.55 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.13) และคิดเป็นเปอร์เซ็นการกำจัดได้ 79.01% ตามด้วย *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A1) และ *Chlorella* sp. (A3) โดยเปอร์เซ็นการกำจัดคิดเป็นร้อยละได้ 69.00%, 40.23% และ 28.10% ตามลำดับ (รูปที่ 4.14)



รูปที่ 4.14 กราฟแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสของการทดลองชุดที่ 2

จากผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Beuckels *et al*. (2015) ที่ศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบระหว่างปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่ส่งผลต่อกันละกัน จากงานวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเมื่อมีปริมาณไนโตรเจนในน้ำเสียสูงขึ้นจะทำให้การดูดซึมฟอสฟอรัสของสาหร่ายเป็นไปได้ดีขึ้น นอกจากนั้นยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dhup and Dhawan (2014) พบว่าหากมีความเข้มข้นไนโตรเจนต่ำกว่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัส จะนำไปสู่การกำจัดฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้น อีกทั้งงานวิจัยของ Anil *et al*. (2012) ยังพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟอรัสทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสลดลง ยกเว้นสาหร่าย *Monoraphidium* sp. และ *Scenedesmus* sp. แต่มีการรายงานว่าหากความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในการเจริญของสาหร่ายสูงขึ้นจนเกิดความเป็นพิษ จะมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารของสาหร่าย เนื่องจากเซลล์จะหลีกเลี่ยงการดูดซึมอาหารเมื่อไม่จำเป็น (Dhup *et al*., 2017)

4.4 ประสิทธิภาพในการลดลงของความต้องการออกซิเจนทางเคมี

เก็บตัวอย่างสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ทุกวัน จนครบกำหนดระยะเวลา 6 วัน โดยจะเก็บตัวอย่างจากขวดเลี้ยงทั้ง 3 ซ้ำ อย่างละ 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อนำเฉพาะส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณซีโอดีคงเหลือด้วยวิธี open reflux ปริมาณซีโอดีที่ลดลง ดังแสดงในตารางที่ 4.4

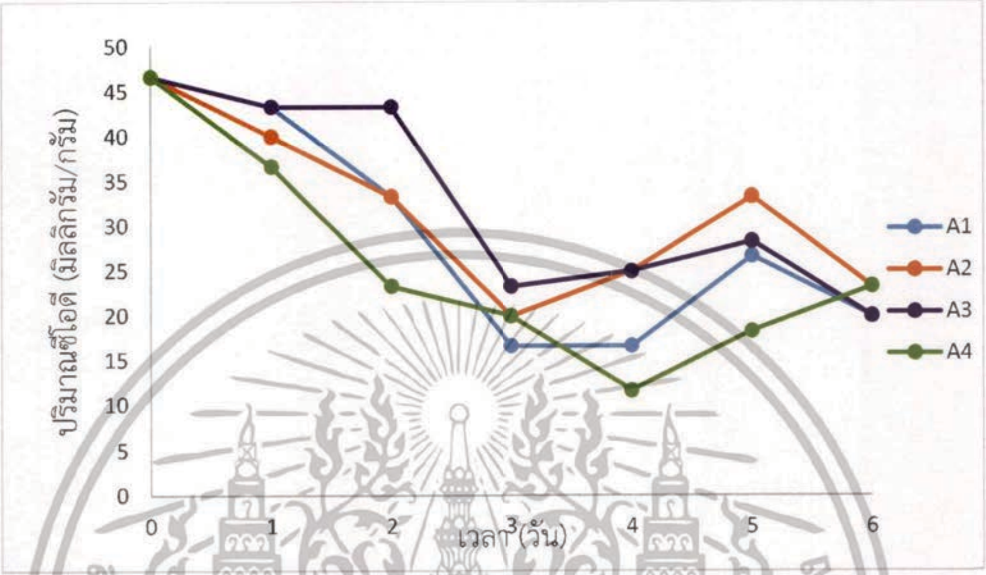
ตารางที่ 4.4 ปริมาณซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ลดลงโดยเฉลี่ยหลังจากการทดลอง 6 วัน

สาหร่าย	ปริมาณซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ชุดการทดลองที่ 1 (2 mg N/L, 6 mg P/L)	ชุดการทดลองที่ 2 (3 mg N/L, 12 mg P/L)
A1	26.67 ± 5.77^{b}	56.67 ± 5.77^{a}
A2	23.33 ± 5.77^{b}	50.00 ± 10.00^{a}
A3	26.67 ± 5.77^{b}	50.00 ± 10.00^{a}
A4	23.33 ± 5.77^{b}	43.33 ± 5.77^{ab}

หมายเหตุ : ± = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน A1 = *Chlorella* sp. A2 = *Chlorella* sp. A3= *Chlorella* sp. A4 = *Monoraphidium circinale* (N=4) a,b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบโดย ANOVA และ Tukey's test

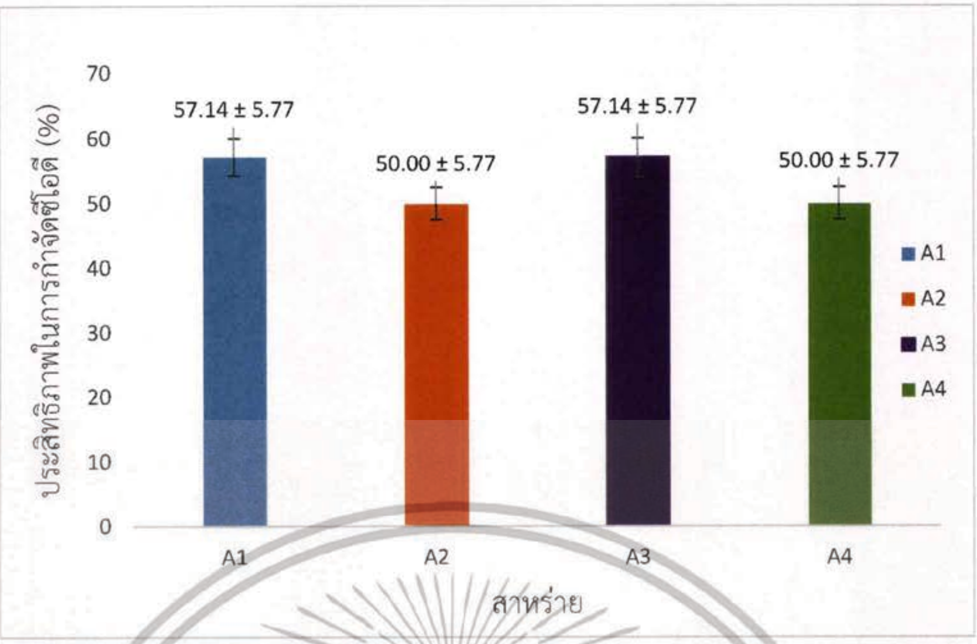
จากตารางที่ 4.4 ในการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3) และ *Monoraphidium circinale* (A4) ตัวในน้ำเสียสังเคราะห์ ทั้ง 2 ชุดการทดลอง โดยมีค่าเริ่มต้นซีโอดีสำหรับการทดลองชุดที่ 1 เท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร สาหร่ายที่สามารถลดปริมาณซีโอดีมากที่สุดโดยเฉลี่ยแล้ว คือ *Chlorella* sp. (A1) และ *Chlorella* sp. (A3) โดยสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดให้ค่าเฉลี่ยเท่ากัน คือ 26.67 ± 5.77 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ *Chlorella* sp. (A2) และ *Monoraphidium circinale* (A4) ปริมาณซีโอดีที่ลดลงโดยเฉลี่ยแล้ว 23.33 ± 5.77 มิลลิกรัมต่อลิตรทั้ง 2 ชนิด ในการทดลองชุดที่ 2 ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของซีโอดีเท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร สาหร่ายที่สามารถลดปริมาณซีโอดีมากที่สุดโดยเฉลี่ยแล้ว คือ *Chlorella* sp. (A1) โดยปริมาณซีโอดีลดลงโดยเฉลี่ย 56.67 ± 5.77 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับ

สาหร่าย *Chlorella* sp. (A2) และ *Chlorella* sp. (A3) สามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสได้เท่ากันเท่ากับ 50.00 ± 10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และ *Monoraphidium circinale* (A4) ลดปริมาณฟอสฟอรัสได้เฉลี่ย 43.33 ± 5.77 มิลลิกรัมต่อลิตร

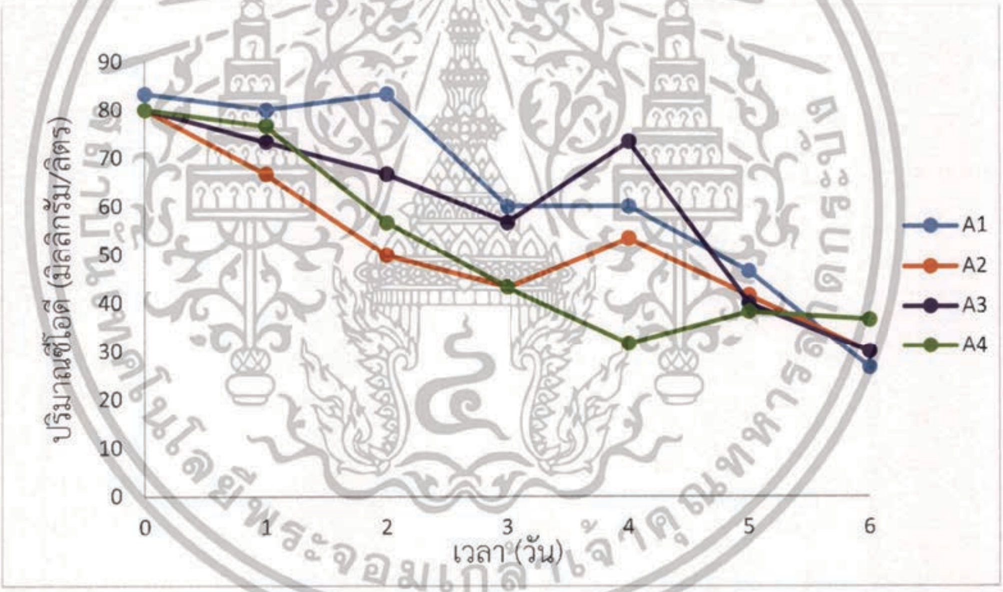


รูปที่ 4.15 กราฟแสดงปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมีในชุดการทดลองที่ 1

จากการทดลองชุดที่ 1 สาหร่ายที่สามารถลดปริมาณซีโอดีมากที่สุดโดยเฉลี่ยแล้ว คือ *Chlorella* sp. (A1) และ *Chlorella* sp. (A3) ในความเข้มข้นเริ่มต้นของซีโอดีเท่ากับ 46.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ลดลงจนถึง 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.15) คิดเป็นเปอร์เซ็นการกำจัดได้ 57.14% ตามด้วย *Chlorella* sp. (A2) และ *Monoraphidium circinale* (A4) โดยเปอร์เซ็นการกำจัดคิดเป็น 50% ในสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดเช่นกัน (รูปที่ 4.16)

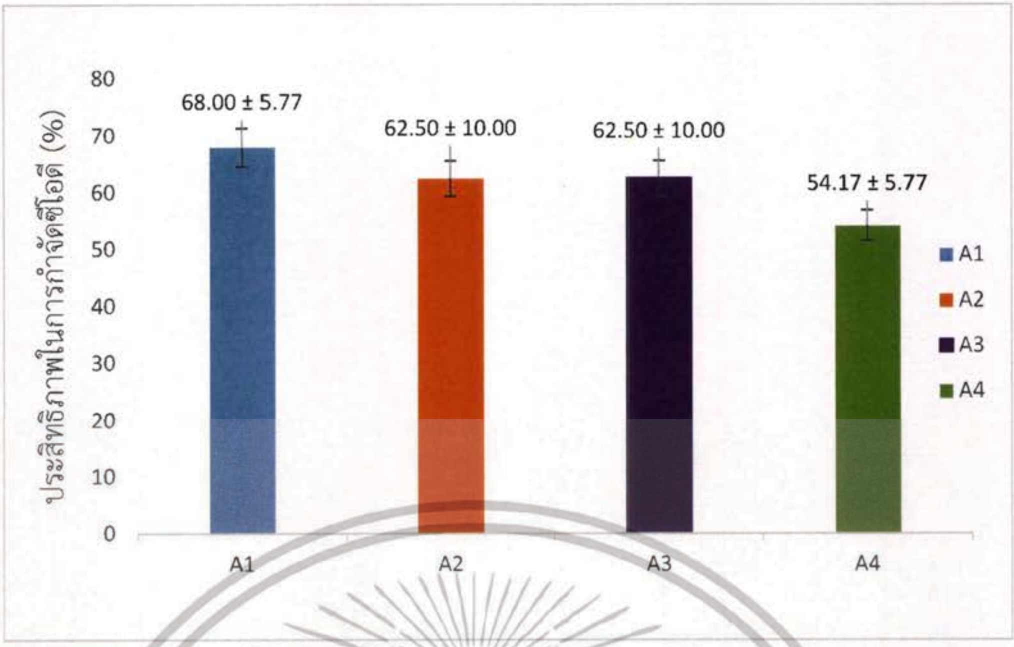


รูปที่ 4.16 กราฟแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดความต้องการออกซิเจนทางเคมีในการทดลองชุดที่ 1



รูปที่ 4.17 กราฟแสดงปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมีในชุดการทดลองที่ 2

จากการทดลองชุดที่ 2 สาหร่ายที่สามารถลดปริมาณซีโอดีมากที่สุดโดยเฉลี่ยแล้วคือ *Chlorella* sp. (A1) ในความเข้มข้นเริ่มต้นของซีโอดีเท่ากับ 83.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ลดลงจนถึง 26.67 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.17) และคิดเป็นเปอร์เซ็นการกำจัดได้ 68.00% ตามด้วย *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3) และ *Monoraphidium circinale* (A4) โดยเปอร์เซ็นการกำจัดคิดเป็น 62.50% , 62.50% และ 54.17% ตามลำดับ (รูปที่ 4.18)



รูปที่ 4.18 ประสิทธิภาพในการลดลงของความต้องการออกซิเจนทางเคมีของการทดลองชุดที่ 2

จากค่าทางสถิติที่ $P < 0.05$ แสดงให้เห็นว่า ชนิดของสาหร่ายไม่มีผลต่อการลดปริมาณ COD แต่ความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้นมีผลต่อการลดปริมาณ COD จากงานวิจัยของ Otondo *et al.* (2018) ที่ทำการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในน้ำเสียที่มีปริมาณ COD ที่ความเข้มข้นต่างๆ (125, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยความเข้มข้นของ COD ลดลงในอัตราประมาณ 37.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, 87.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 118.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลการวิจัยดังกล่าวให้ผลสอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้น เมื่อทดลองเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของ COD เท่ากับ 83.33 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถลดปริมาณ COD ได้ถึง 56.66 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้ประสิทธิภาพการลด COD สูงกว่าการเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของ COD เท่ากับ 46.67 ที่ลดปริมาณ COD ได้เพียง 26.67 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.5 น้ำหนักชีวมวลแห้งและปริมาณไขมันสุดท้าย

4.5.1 น้ำหนักชีวมวลแห้ง (DCW)

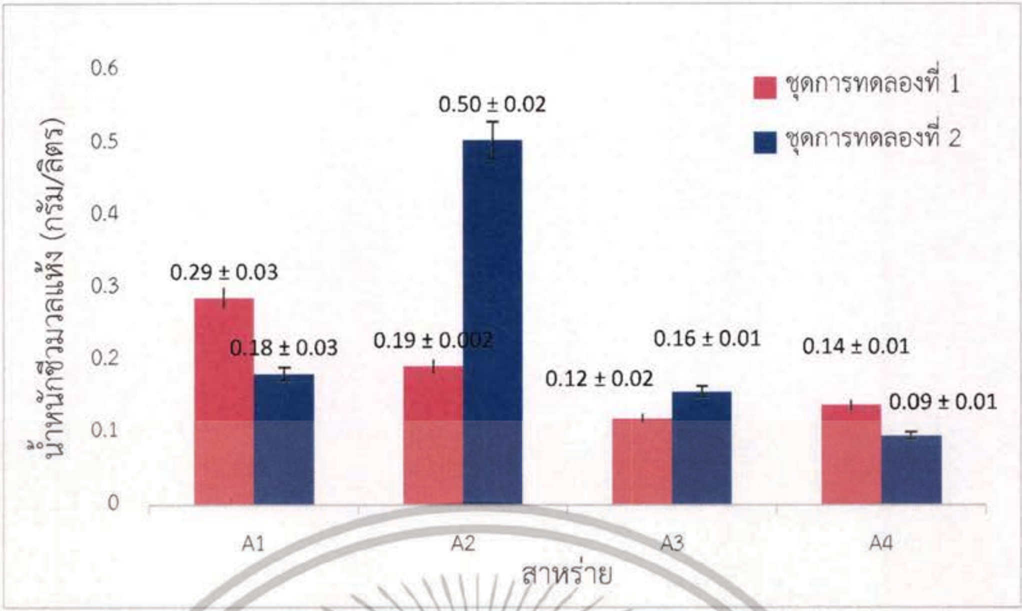
เมื่อครบระยะเวลาการทดลอง 6 วัน ทำการนำตัวอย่างปริมาตร 20 มิลลิลิตรมาปั่นเหวี่ยงและกรองเอาเฉพาะเซลล์สาหร่าย จากนั้นอบแห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจนน้ำหนักคงที่ ปริมาณชีวมวลสุดท้ายที่ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าน้ำหนักชีวมวลแห้ง

สาหร่าย	ปริมาณน้ำหนักชีวมวลแห้ง (กรัมต่อลิตร)	
	ชุดการทดลองที่ 1 (2 mg N/L, 6 mg P/L)	ชุดการทดลองที่ 2 (3 mg N/L, 12 mg P/L)
A1	0.29 ± 0.03^{b}	0.18 ± 0.03^{cd}
A2	0.19 ± 0.002^{c}	0.50 ± 0.02^{a}
A3	0.12 ± 0.02^{de}	0.16 ± 0.01^{cd}
A4	0.14 ± 0.01^{cd}	0.09 ± 0.01^{e}

หมายเหตุ : ± = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน A1 = *Chlorella* sp. A2 = *Chlorella* sp. A3= *Chlorella* sp. A4 = *Monoraphidium circinale* (N=4) a,b,c,d,e แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบโดย ANOVA และ Tukey's test

จากตารางที่ 4.5 เป็นการแสดงค่าน้ำหนักชีวมวลแห้งที่สาหร่าย 4 ชนิดใน 2 ความเข้มข้นสามารถผลิตได้เมื่อทำการเลี้ยงในน้ำเสียงสังเคราะห์เป็นระยะเวลา 6 วัน ดังที่แสดงในรูปของค่าทางสถิติ ในชุดการทดลองที่ 1 ทดลองเลี้ยงสาหร่ายที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารอาหารเป็น 2 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 6 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร สาหร่าย 4 ชนิดให้น้ำหนักชีวมวลแห้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ พบว่า *Chlorella* sp. (A1) สามารถให้น้ำหนักชีวมวลแห้งสูงที่สุดที่ความเข้มข้นนี้ คือ 0.29 ± 0.03 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือสาหร่าย *Chlorella* sp. (A2), *Monoraphidium circinale* (A4) และ *Chlorella* sp. (A3) มีน้ำหนักชีวมวลแห้งคือ 0.19 ± 0.002, 0.14 ± 0.01 และ 0.12 ± 0.02 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยที่สาหร่าย *Chlorella* sp. (A2) ในการเลี้ยงที่ความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น 3 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 12 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ให้น้ำหนักชีวมวลแห้งสูงที่สุด คือ 0.50 ± 0.02 กรัมต่อลิตร สำหรับสาหร่าย *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A3) และ *Monoraphidium circinale* (A4) ได้น้ำหนักชีวมวลแห้งเท่ากับ 0.18 ± 0.03, 0.16 ± 0.01 และ 0.09 ± 0.01 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยในการทดลองเดียวกันก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญสำหรับสาหร่ายทุกตัว



รูปที่ 4.19 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักชีวมวลแห้ง

ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Feng *et al.* (2012) จากการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella zofingiensis* ในสภาวะที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ให้ผลน้ำหนักเซลล์แห้งสุดท้าย เท่ากับ 5.99 ± 0.14 กรัมต่อลิตร ในสภาวะที่ไนโตรเจนต่ำและฟอสฟอรัสสูง เท่ากับ 3.87 ± 0.11 กรัมต่อลิตร และในสภาวะที่ไนโตรเจนสูงและฟอสฟอรัสต่ำ เท่ากับ 3.07 ± 0.09 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นของฟอสฟอรัสพบว่าเมื่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น น้ำหนัก ชีวมวลแห้งสุดท้ายของสาหร่ายจะเพิ่มตามไปด้วย นอกจากนั้นปริมาณของชีวมวลอาจต่ำลงเมื่อสาหร่ายถูกเลี้ยงในสภาวะกดดันหรืออยู่ในสภาพที่มีสารอาหารจำกัด และปริมาณของผลผลิตชีวมวลที่ได้ส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายด้าน ทั้งสายพันธุ์สาหร่าย, สารอาหาร, แสง, อุณหภูมิ, pH, ความเข้มข้นของสารตั้งต้น และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากการปนเปื้อน หากต้องการผลผลิตชีวมวลสูงสุดควรจะมีการควบคุมปัจจัยต่างเหล่านี้ (Moheimani, 2005) และคุณภาพของชีวมวลที่ได้เป็นผลมาจากการเลือกวิธีการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม คือการนำไปปั่นเหวี่ยง โดยจะให้ปริมาณชีวมวลมากกว่าการนำไปทำให้ตกตะกอนตามแรงโน้มถ่วง (Richmond, 2004)

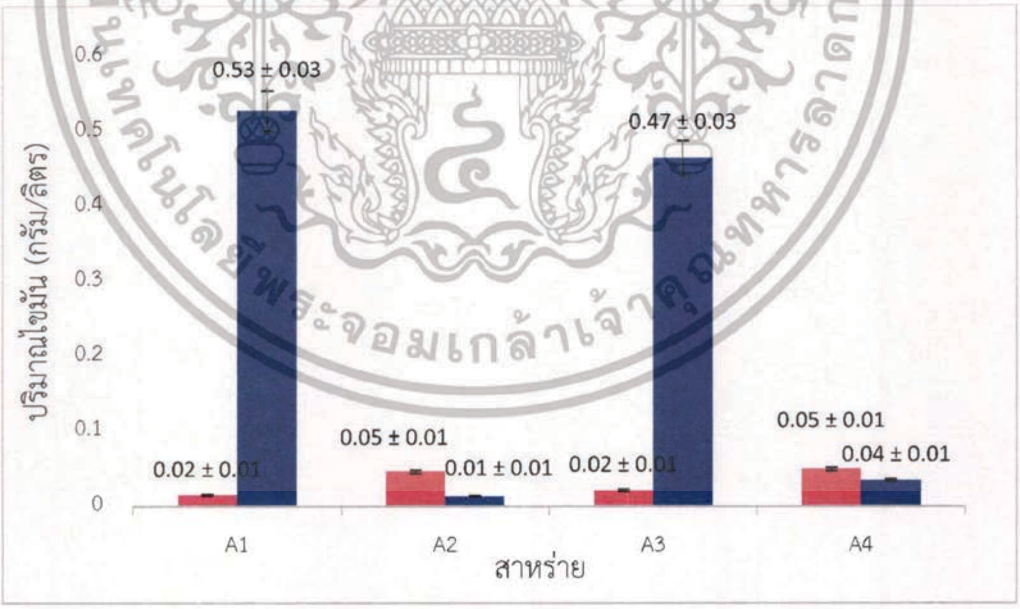
4.5.2 ผลผลิตไขมัน

เมื่อครบระยะเวลาการทดลอง 6 วัน ทำการนำตัวอย่างปริมาตร 20 มิลลิลิตรมาทำการสกัดไขมันจากเซลล์สาหร่ายทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3) และ *Monoraphidium circinale* (A4) ปริมาณไขมันที่ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมัน

สาหร่าย	ปริมาณไขมัน (กรัมต่อลิตร)	
	ชุดการทดลองที่ 1 (2 mg N/L, 6 mg P/L)	ชุดการทดลองที่ 2 (3 mg N/L, 12 mg P/L)
A1	0.02 ± 0.01^{c}	0.53 ± 0.03^{a}
A2	0.05 ± 0.01^{c}	0.01 ± 0.01^{c}
A3	0.02 ± 0.01^{c}	0.47 ± 0.03^{b}
A4	0.05 ± 0.01^{c}	0.04 ± 0.01^{c}

หมายเหตุ : ± = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน A1 = *Chlorella* sp. A2 = *Chlorella* sp. A3= *Chlorella* sp. A4 = *Monoraphidium circinale* (N=4) a,b,c,d แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบโดย ANOVA และ Tukey's test



รูปที่ 4.20 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมัน

จากรูปที่ 4.20 เปรียบเทียบในชุดการทดลองที่ 1 มีความเข้มข้นเริ่มต้นของสารอาหาร 2 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 6 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ผลผลิตไขมันสุดท้ายที่ได้เฉลี่ยคือ 0.02 กรัมต่อลิตร, 0.05 กรัมต่อลิตร, 0.02 กรัมต่อลิตร และ 0.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชุดการทดลองที่ 2 มีความเข้มข้นเริ่มต้นของสารอาหาร 3 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 12 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ผลผลิตไขมันสุดท้ายที่ได้เฉลี่ยคือ 0.53 กรัมต่อลิตร, 0.01 กรัมต่อลิตร, 0.47 กรัมต่อลิตร และ 0.04 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ถึงแม้ว่า *Chlorella* sp. (A1) จะให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุดที่ความเข้มข้นสารอาหารเริ่มต้น 2 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 6 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร แต่กลับมีปริมาณไขมันมากที่สุดในความเข้มข้นเริ่มสารอาหาร 3 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 12 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร แสดงถึงปริมาณไขมันที่ได้จากสาหร่ายไม่จำเป็นต้องแปรผันกับน้ำหนักเซลล์แห้ง

แต่สภาวะที่สาหร่ายขนาดเล็กขาดแคลนธาตุอาหารประเภทไนโตรเจนทำให้ปริมาณเอนไซม์ acetyl-CoA carboxylase (ACCase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสะสมไขมันนั้นลดลง ส่งผลให้เกิดการสะสมไขมันต่ำลง Jian-Ming *et al.* (2015) แต่ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Illman *et al.* (2000) จากการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในสภาวะปกติให้ปริมาณไขมันเพียง 14% โดยน้ำหนักของมวลแห้ง แต่เมื่อเลี้ยงในสภาวะขาดแคลนอาหาร พบว่ามีปริมาณไขมันถึง 40% พบว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่ายครบ 14 วัน ได้ผลผลิตไขมันเพียง 14.9 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน แสดงถึงการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายเป็นการเพิ่มการสะสมของไขมัน ซึ่งจะช่วยเพิ่มผลผลิตไขมัน และเมื่อสาหร่ายเจริญในสภาวะที่ความเข้มข้นของสารอาหารต่ำ สาหร่ายจะมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมตาบอลิซึมจากการเจริญเติบโตเป็นการผลิตไขมันแทน กล่าวคือหากสาหร่ายอยู่ในสภาวะขาดแคลนอาหารจะทำให้ประสิทธิภาพในการผลิตไขมันเพิ่มขึ้น (Dhup *et al.*, 2017)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดธาตุอาหารไนเตรต ฟอสฟอรัส และซีโอดี ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน 2 ความเข้มข้น ในการศึกษาครั้งนี้สามารถแยกสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติและบ่อบำบัดน้ำเสียได้ 4 ชนิด ได้แก่ สาหร่าย *Chlorella* sp. (A1), *Chlorella* sp. (A2), *Chlorella* sp. (A3), และ *Monoraphidium circinale* (A4) ซึ่งจากผลการศึกษาที่ได้ในทั้งสองชุดการทดลอง พบว่า สาหร่ายที่มีความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ สาหร่าย *Chlorella* sp. (A1) จากการทดลองในชุดที่ 2 โดยมีความหนาแน่นของเซลล์ เท่ากับ 1.01 ± 0.07 และพบว่า ความเข้มข้นของเซลล์ที่น้อยที่สุด คือ สาหร่าย *Chlorella* sp. (A3) โดยมีความหนาแน่นของเซลล์ เท่ากับ 0.01 ± 0.005 จากการทดลองชุดที่ 1 ส่วนการวัดปริมาณธาตุอาหารไนเตรตโดยใช้วิธีบรูซีนซัลเฟต พบว่า สาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4) มีประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารไนเตรตมากที่สุด เท่ากับ 2.08 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 63.25% จากการทดลองในชุดที่ 2 และพบว่า สาหร่ายที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารไนเตรตได้น้อยที่สุด คือ สาหร่าย *Chlorella* sp. (A1) โดยมีค่าการกำจัดธาตุอาหารไนเตรตได้เท่ากับ 0.30 ± 0.70 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 14.99% จากการทดลองในชุดที่ 1 ส่วนการวัดปริมาณธาตุอาหารฟอสฟอรัสโดยใช้วิธีแวนนาโดโมลิบโดฟอสฟอริก แอซิด พบว่าสาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4) มีประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารฟอสฟอรัสได้มากที่สุด เท่ากับ 9.58 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 79.01% จากการทดลองในชุดที่ 2 และพบว่า สาหร่ายที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารฟอสฟอรัสได้น้อยที่สุด คือ สาหร่าย *Chlorella* sp. (A3) โดยมีค่าการกำจัดฟอสฟอรัสเท่ากับ 1.71 ± 0.77 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 25.34% จากการทดลองในชุดที่ 1 ส่วนการวัดค่าซีโอดี พบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp. (A1) มีประสิทธิภาพในการลดค่าซีโอดีมากที่สุดเท่ากับ 56.67 ± 5.77 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 68% จากการทดลองในชุดที่ 2 และพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. (A2), และสาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4) มีประสิทธิภาพในการลดค่าซีโอดีได้น้อยกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. (A1) จากการทดลองในชุดที่ 2 โดยมีค่าการลดปริมาณซีโอดีกัน เท่ากับ 23.33 ± 5.77 และ 23.33 ± 5.77 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 50% จากการทดลองในชุดที่ 1 และเมื่อครบระยะเวลา 6 วันได้มีการเก็บตัวอย่างมาหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและไขมันเพื่อดูผลผลิตสุดท้ายที่ได้ ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp.(A2) มีปริมาณชีวมวลแห้งมากที่สุดเท่ากับ 0.50 ± 0.02 กรัมต่อลิตรต่อลิตร จากปริมาณเริ่มต้น ในชุดการทดลองที่ 2 และพบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp. (A3) มีปริมาณน้ำหนักชีวมวลแห้งน้อยที่สุดซึ่งวัดได้ เท่ากับ 0.12 ± 0.02 กรัมต่อลิตร จากปริมาณเริ่มต้นในชุดการทดลองที่

1 ส่วนปริมาณของไขมันทั้งหมดที่วัดได้ พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. (A1) มีปริมาณของไขมันมากที่สุดเท่ากับ 0.53 ± 0.03 กรัมต่อลิตร จากปริมาณเริ่มต้นในชุดการทดลองที่ 2 และพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. (A2) มีปริมาณของไขมันน้อยที่สุดเท่ากับ 0.01 ± 0.01 กรัมต่อลิตร จากปริมาณเริ่มต้นในชุดการทดลองที่ 2

จากผลการศึกษาที่ได้แสดงถึงปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารเริ่มต้นส่งผลต่อการกำจัดธาตุอาหารไนเตรต ฟอสฟอรัส และซีโอดี โดยพบว่าเมื่อมีเพิ่มความเข้มข้นของธาตุอาหารจาก 2 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 6 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร เป็น 3 มิลลิกรัมไนเตรตต่อลิตร, 12 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายเพิ่มสูงขึ้น การกำจัดไนเตรต ฟอสฟอรัส และซีโอดีมีประสิทธิภาพดีขึ้น แต่การศึกษาในครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นของธาตุอาหารไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักชีวมวลแห้ง และปริมาณไขมัน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการทดลองที่ได้พบว่าสาหร่าย *Monoraphidium circinale* (A4) มีประสิทธิภาพในการกำจัดไนเตรต-ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้ดีที่สุด ดังนั้นควรทำการศึกษาลักษณะของสาหร่ายชนิดนี้ และสาหร่ายชนิดอื่นเพิ่มเติม เพื่อใช้เป็นตัวเลือกใหม่ในการบำบัดน้ำเสียที่มีสารอื่นนอกจากไนเตรต-ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสปนอยู่

2. การทดลองในครั้งนี้เป็นการเปรียบความเข้มข้นที่แตกต่างกันเพียง 2 ความเข้มข้น ดังนั้นผู้ที่มีความสนใจในเรื่องการลดปริมาณธาตุอาหารจำพวกไนเตรต-ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และซีโอดี ควรมีการเพิ่มความเข้มข้นในน้ำเสียสังเคราะห์ให้มีหลายความเข้มข้น หรือควรมีการนำน้ำเสียตามธรรมชาติมาใช้ในการทดลอง เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการกำจัดธาตุอาหารทั้งสองและการลดปริมาณซีโอดี

3. การทดลองนี้เป็นเพียงการศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากสาหร่ายขนาดเล็กเพียงอย่างเดียว ดังนั้นควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการนำสาหร่ายขนาดเล็กมาทำการบำบัดน้ำเสียร่วมกับแบคทีเรีย หรือจุลชีพอื่นๆ ที่มีอยู่ในน้ำเสียเพิ่มเติม เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการบำบัดน้ำเสีย และเพื่อเพิ่มประโยชน์ในทางด้านสิ่งแวดล้อม

4. ควรมีการศึกษาชีวมวลแห้ง ไขมัน และผลผลิตอื่นที่สาหร่ายผลิตได้จากการนำน้ำเสียมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเพื่อพัฒนาผลผลิตที่ได้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดและสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับน้ำเสีย

เอกสารอ้างอิง

จงจินต์ ศิวะศิลป. 2527. **ปฏิบัติการสาหร่ายวิทยา.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ธิดา วีระสกุล และนิเวศน์ เรืองพานิช. 2517. **การทดลองเลือกใช้สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับแพลงตอนพืช.** สถานีประมงทะเลสงขลา. หน้า 145-152.

ฐิติชญา บุรีรัตน์ , วีระศักดิ์ สืบเสาะ และชาญชัยณรงค์ ทรงคาศรี. 2555. **การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจากน้ำปฏิกูลด้วยเถ้าเปลือกหอยเชอรี่.** วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ฉบับที่ 1, 119 – 128.

โยธกา ปัชชา. 2555. **การหาสภาวะที่เหมาะสมของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบเฮเทอโรทรอฟเพื่อผลิตไบโอดีเซล.** ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. **แพลงก์ตอนพืช (Phytoplankton).** ภาควิชาชีววิทยา คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abdelaziz Ahmed E.M., Gustavo B. Leite, Mohamed A. Belhaj and Patrick C. Hallenbeck. 2014. **Screening microalgae native to Quebec for wastewater treatment and biodiesel production.** Bioresource Technology. 157:140-148.

Anil Patel, Suzelle Barrington and Mark Lefsrud. 2012. **Microalgae for phosphorus removal and biomass production: a six species screen for dual-purpose organisms.** Global Change Biology Bioenergy. 4(5):485-495.

APHA, AWWA and WPCF. 1998. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** American Public Health Association, Washington D.C.

Becker EW and Venkataraman LV. 1982. **Biotechnology and Exploitation of Algae – the Indian Approach.** Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit GmbH, Eschborn, F.D.R. 216 pp.

Benítez F, Travieso L, Borja R and Rosa Olivia Cañizares-Villanueva. 2018. **Heavy Metal Removal by Microalgae.** Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 62(2):144-51

Beijerinck M.W. 1890. **Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen.** Bot. Zeitung. 48:781–785.

Beuckels Annelies, Eric Smolders and Koenraad Muylaert. 2015. **Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment.** Water research. 77:98–106.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น หรือทั้งนี้ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bhumiratana, A., payer, G.D., Feldheim w., Phithakpol, B., Polsiri, A., Prabharalesa, C., Kongpanichkul, C., Thananunkul, D., Duerr, C,M., Hosakul, K., Kugler, F. Kugler, M., Kraidej, L, and Chiemichak, Y. 1972. **Algal Project Institute of Food Research and Product Development.** Kasetsart University, Bangkok. 41 pp.

Craggs, R., Lundquist, T. and Benemann, J. 2013. **Wastewater treatment and algal biofuel production.** Algae for Biofuels and Energy. Springer, Dordrecht, pp. 153-163.

Dhup Saumya and Dhawan Vibha. 2014. **Effect of nitrogen concentration on lipid productivity and fatty acid composition of *Monoraphidium* sp.** Bioresource Technology. 152:572-575.

Dhup Saumya, Dheeban Chakravarthi Kannan and Vibha Dhawan. 2017. **Growth, lipid productivity and cellular mechanism of lipid accumulation in microalgae *Monoraphidium* sp. following different phosphorous concentrations for biofuel production.** Current Science, 112(3):539-548.

Feng Yan, Feiran Chen, Zhenggao Xiao, Le Yue, Jing Wang, Xiaoshan Zhu, Zhenyu Wang and Baoshan Xing. 2019. **Algae response to engineered nanoparticles: current understanding, mechanisms and implications.** Environmental Science: Nano. Issue 4.

Green, F., Lundquist, T. and Oswald, W. 1995. **Energetics of advanced integrated wastewater pond systems.** Water Science and Technology. 31:9-20.

Guillard R. and Lorenzen C. 1972. **Yellow-green algae with chlorophyllide c.** Journal Phycology. 8:10-14.

Hosakul, K. 1972. **The Selecction and Growth Characteristics of some Local Microalgae Tolerating High Temperature.** Thesis in Master of Science in Microbiology, Kasetsart University Bangkok. 92 pp.

Illman, A.M., Scragg, A.H. and Shales, S.W. 2000. **Increase in Chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium**. Enzyme and Microbial Technology. 27:631–635.

Jian-Ming Lv, Li-Hua Cheng, Xin-Hua Xu, Lin Zhang and Huan-Lin Chen. 2010. **Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions.** Bioresource Technology. 101:6797–6804.

Liandong Zhu, Zhongming Wanga, Qing Shu, Josu Takala, Erkki Hiltunen, Pingzhong Feng and Zhenhong Yuan. 2013. **Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment.** Water Research. 47:4294–4302.

Loladze, I. and Elser, J.J. 2011. **The origins of the Redfield nitrogen-tophosphorus ratio are in a homoeostatic protein-to-rRNA ratio.** Ecology Letters. 14: 244-250.

Lorenzen Carl. 1963. **Diurnal variation in photosynthetic activity of natural phytoplankton populations.** Limnology and Oceanography. 8(1):56-62

Martins, A. a., Caetano, N.S., Mata, T.M., Martins, A. a. and Caetano, N.S. 2010. **Microalgae for biodiesel production andv other applications: a review. Renew.** Sustainable Energy Reviews. 14:217-232.

Moheimani NR. 2005. **The culture of coccolithophorid algae for carbon dioxide bioremediation**: Murdoch University

NCBI. 2007. **NCBI taxonomy resources.** National Center for Biotechnology Information. Retrieved 2007-03-19.

Oswald, W., Gotaas, H., Golueke, C., Kellen, W., 1957. **Algae in wastewater treatment.** Industrial Wastes. 29:437-457.

Otondo Alessandra, Bahareh Kokabian, Savannah Stuart-Dahl and Veera Gnaneswar Gude. 2018. **Energetic evaluation of wastewater treatment using microalgae, *Chlorella vulgaris*.** Journal of Environmental Chemical Engineering. 6:3213-3222.

Pingzhong Feng, Zhongyang Deng, Lu Fan and Zhengyu Hu. 2012. **Lipid accumulation and growth characteristics of *Chlorella zofingiensis* under different nitrate and phosphate concentrations.** Journal of Bioscience and Bioengineering. 114(4):405-410.

Pittman, J.K., Dean, A.P. and Osundeko, O. 2011. **The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources.** Bioresour. Technol. 102: 17-25.

Ramachandra T.V., Mahapatra Durga Madhab, Samantray Shilpi and N.V. Joshi. 2013. **Algal biofuel from urban wastewater in India: Scope and challenges.** Renewable and Sustainable Energy Reviews. 21:767-777

Richmond Amos., 1986. **Handbook of Microalgal Mass Culture (1986).** Boca Raton, 1st Edition, 536 p.

Richmond A. 2004. **Biological principles of mass cultivation**. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. 125–77.

Saxena P.N., Ahmad M.R., Ram Shyam and Amla D.V. 1983. **Cultivation of *Spirulina* in sewage for poultry feed.** Cellular and Molecular Life Sciences. 39(10): 1077-1083.

Smith M., Ghannam M., Al Najar H. and Nassar A. 2010. **Gaza wastewater treatment plant as a model for low cost wastewater treatment technology in semi-arid environment**. Research Journal of Environmental Scinece, 4:149-157.

Tjandraatmadja, G., Pollard, C., Sheedy, C. and Gozukara, Y. 2010. **Sources of Contaminants in Domestic Wastewater: Nutrients and Additional Elements from Household Products.** The Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIROC). The Water for a Healthy Country National Research Flagship.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารอ้างอิงจากเว็บไซต์

คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย. [Online]. Available : https://www.mahidol.ac.th/sustainable/pdf/Waste-water-analysis-manual.pdf เข้าถึงเมื่อ : 10 พฤษภาคม 2562

ชลธิสา จันทร์ดำ. (2561). **สาหร่าย.** [Online]. Available : https://www.nectec.or.th/schoolnet/library/create-web/10000/science/10000-2763.html เข้าถึงเมื่อ : 10 พฤษภาคม 2562

นันทวัน นันทวนิช , ดร.ศศิวิมล แสวงผล. (2557). **วิวัฒนาการของพืช.** [Online]. Available : https://il.mahidol.ac.th/e-media/150charles-darwin/Less7_2.html เข้าถึงเมื่อ : 10 พฤษภาคม 2562

ไพฑูรย์ หมายมั่นสมสุข. (2558). **การวิเคราะห์ค่าซีโอดี.** [Online]. Available : http://www2.diw.go.th/Research/เอกสารเผยแพร่/A15-COD-w.pdf เข้าถึงเมื่อ 3 มกราคม 2562

วสันต์ ธีระพิทยานนท์. (2556). **ผลกระทบของฟอสฟอรัสต่อสิ่งแวดล้อม.** [Online]. Available : http://www.dss.go.th/images/st-article/pep-12-2556-impact-envi.pdf เข้าถึงเมื่อ : 10 พฤษภาคม 2562

วิกิพีเดีย. (2561). **Cyanophyta**. [Online]. Available : https://th.wikipedia.org/wiki/cyanophyta เข้าถึงเมื่อ : 10 พฤษภาคม 2562

สัตวแพทย์หญิง ดร.มินตรา ลักขณา. (2561). **สารประกอบไนโตรเจน.** [Online]. Available : http://www.pcffarm.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=540048833&Ntype=17 เข้าถึงเมื่อ : 25 มิถุนายน 2562

สุมาลี ดุลยอนุกิจ. (2561). **ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย.** [Online]. Available : https://web.ku.ac.th/nk40/nk/data/11/fact3.htm เข้าถึงเมื่อ : 25 มิถุนายน 2562

แหล่งที่มาของรูปภาพ

AQUASYMBIO. (2557). ***Chlorella* sp.** [Online]. Available : http://www.aquasymbio.fr/en/chlorella-sp-heleopera-sphagni เข้าถึงเมื่อ : 18 มิถุนายน 2562

Pinterest. (2560). ***Monoraphidium circinale*.** [Online]. Available : https://www.pinterest.com.au/pin/662029213943448546/?lp=true เข้าถึงเมื่อ : 18 มิถุนายน 2562

Global Treat. (2561). **น้ำเสียชุมชน.** [Online]. Available : http://www.global-treat.com/น้ำเสียชุมชน-domestic-wastewater/ เข้าถึงเมื่อ : 18 มิถุนายน 2562

ระบบนิเวศ. (2556). **วัฏจักรไนโตรเจน (nitrogen cycle).** [Online]. Available : https://sites.google.com/site/rabbniwesecosytem/rabb-niwes-ecosytem/5-watcakr-nitorcen-nitrogen-cycle เข้าถึงเมื่อ : 18 มิถุนายน 2562

Quizlet. (2562). **Phosphorus Cycle.** [Online]. Available : https://quizlet.com/319252194/phosphorus-cycle-presentation-diagram/ เข้าถึงเมื่อ : 18 มิถุนายน 2562

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11

สาร	ปริมาตร (g/L)
$NaNO_3$	1.500
K_2HPO_4	0.040
$MgSO_4 .7H_2O$	0.075
$CaCl_2 .2H_2O$	0.036
Citric acid	0.006
Ferric ammonium citrate	0.006
EDTA (disodium salt)	0.001
$NaCO_3$	0.020
Trace metal solution	1 mL

วิธีการ ชั่งส่วนผสมและค่อยๆ ละลายสารละลายทีละตัวผสมให้เข้ากันทั้งหมดแล้วปรับ pH ให้ได้ 7.2 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.1 สูตรการเตรียม Trace metal solution

มีส่วนประกอบดังนี้

สาร	ปริมาตร (g/L)
H_3BO_3	2.8600
$MnCl_2 .4H_2O$	1.8100
$ZnSO_4 .7H_2O$	0.2220
$NaMoO_4 .5H_2O$	0.0390
$CuSo_4 .5H_2O$	0.0790
$Co(NO_3)_2 .6H_2O$	0.0494

ปรับปริมาตรน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ก (ต่อ)

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ N-8

สาร	ปริมาตร (g/L)
$Na_2HPO_4 .2H_2O$	0.260
$CaCl_2$	0.010
KH_2PO_4	0.740
FeEDTA	0.010
$MgSO_4 .7H_2O$	0.050
KNO_3	1.000
Trace dement mixture	1 mL

วิธีการ ชั่งส่วนผสมและค่อยๆ ละลายสารละลายทีละตัวผสมให้เข้ากันทั้ง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ก (ต่อ)

3. น้ำเสียสังเคราะห์

สาร	ปริมาตร (g/L)
$CaCl_2 .2H_2O$	0.0367
$MgSO_4 .7H_2O$	0.0369
$NaHCO_3$	0.0125
K_2HPO_4	0.0087
$NaNO_3$	0.0850
Trace element solution	1 mL

วิธีการ ชั่งส่วนผสมและค่อยๆ ละลายสารละลายทีละตัวผสมให้เข้ากันทั้ง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.1 สูตรการเตรียม Trace element solution

สาร	ปริมาตร (mg/L)
Na_2EDTA	4.360
$FeCl_3 .6H_2O$	3.150
$CuSO_4 .5H_2O$	0.010
$ZnSO_4 .7H_2O$	0.022
$CoCl_2 .6H_2O$	0.010
$MnCl_2 .4H_2O$	0.180
$Na_2MoO_4 .2H_2O$	0.0006
H_3BO_3	1.000

ปรับปริมาตรน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาคผนวก ก (ต่อ)

วิธีการเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน โดยวิธี Brucine Method (APHA, 1998)

1.1 สารละลายมาตรฐานไนเตรท (Stock Nitrate solution)

1.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้นโดยการละลาย KNO_3 0.7218 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ในขวดปรับปริมาตร (สารละลายมาตรฐานเข้มข้นนี้มีความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร)

1.1.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเตรทเข้มข้นมา 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (สารละลายมาตรฐานไนเตรทมีความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) แล้วนำไปทำการทดลอง โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง

1.2 สารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิค (Brucine-Sulfanilic Acid Solution)

ละลายบรูซีนซัลเฟต ($(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2 .H_2SO_4 .7H_2O$) 1 กรัม และกรดซัลฟานิลิค ($C_6H_7NO_3S$) 0.1 กรัม ในน้ำร้อน 70 มิลลิลิตร เติมกรดเกลือเข้มข้น (conc.HCl) 3 มิลลิลิตร ทำให้เย็น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นโดยการเทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะคงตัวอยู่ได้หลายเดือน ถ้ามีสีชมพูเกิดขึ้นจะไม่มีผลต่อการวิเคราะห์*

1.3 สารละลายกรดซัลฟิวริก (4+1)

ค่อยๆ เทกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.H_2SO_4) 500 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 125 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

1.4 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl solution)

ละลาย NaCl 75 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำการปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ก (ต่อ)

2. **วิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส โดยวิธี Vannadomolybdophosphoric Acid Method (APHA, 1998)**

2.1 สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต (Stock Phosphate Solution)

2.1.1 ละลาย KH_2PO_4 0.4394 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตนี้มีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร)

2.1.2 ปิเปตสารละลายจากข้อ 2.1.1 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนครบ (สารละลายนี้จะมีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร)

2.1.3 ปิเปตสารละลายจากข้อ 2.1.2 มา 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร (สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตนี้มีความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) แล้วนำไปทำการทดลอง โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง

2.2 สารละลายแวนาโดโมลิบเดต (Vanadomolybdate Reagent)

2.2.1 สารละลาย A ละลาย 25 กรัม Ammonium Molybdate ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$) ในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร

2.2.2 สารละลาย B ละลาย 1.25 กรัม Ammonium Metavanadate (NH_4VO_3) โดยการต้มให้เดือดในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ทำให้เย็น แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) 330 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นจนเท่าอุณหภูมิห้อง

2.2.3 เทสารละลาย A ลงในสารละลาย B

3. **วิธีวิเคราะห์ค่าซีโอดี (COD)**

3.1 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 0.0417 M

ละลาย $K_2Cr_2O_7$ 12.259 กรัม ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3.2 สารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.25 M

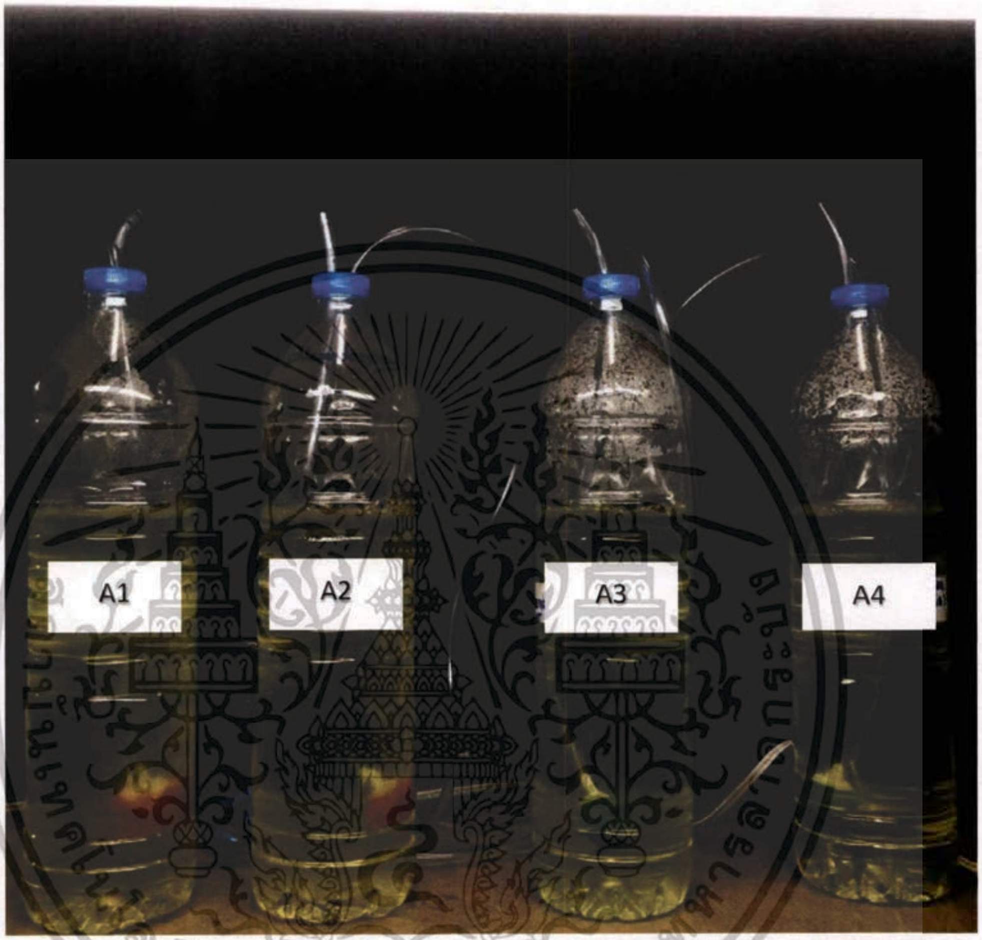
ละลาย ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$) 98 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.H_2SO_4) 20 มิลลิลิตร ลงไป ทำให้เย็นแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

ภาคผนวก ข

วิธีการทดลอง

ภาคผนวก ข

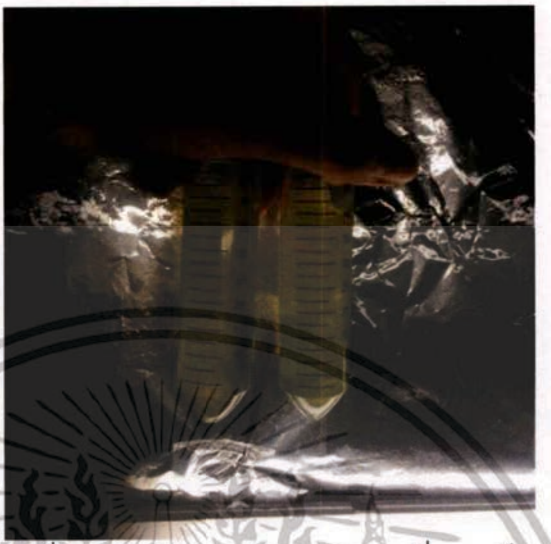
1. สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์



ภาคผนวก ข (ต่อ)

2. การเก็บตัวอย่าง

2.1 เก็บตัวอย่างของน้ำเสียสังเคราะห์

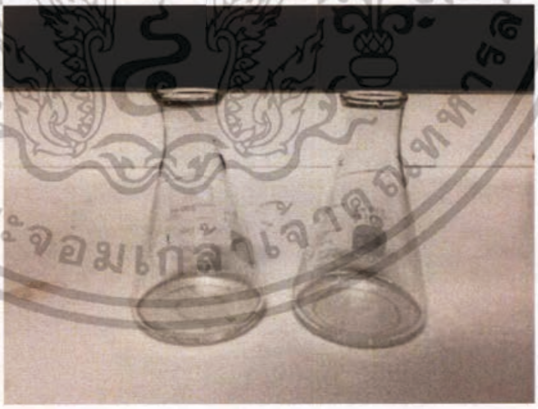


2.2 นำไปทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนเซลล์สาหร่ายออก ที่ความเร็ว 7000 รอบต่อนาที

2.3 นำไปกรองสุญญากาศด้วยกระดาษกรอง Whatman no.5

3. การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน

3.1 ตัวอย่างของน้ำเสียที่แยกตะกอนเซลล์สาหร่ายออกแล้ว 10 มิลลิลิตร

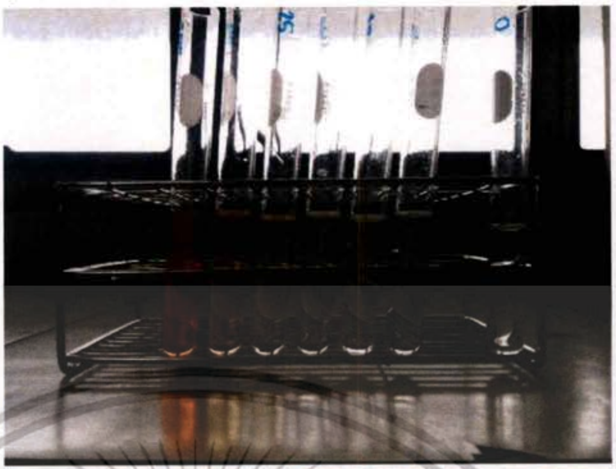


3.2 เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2 มิลลิลิตร

3.3 เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (4+1) 10 มิลลิลิตร ทำให้เย็น

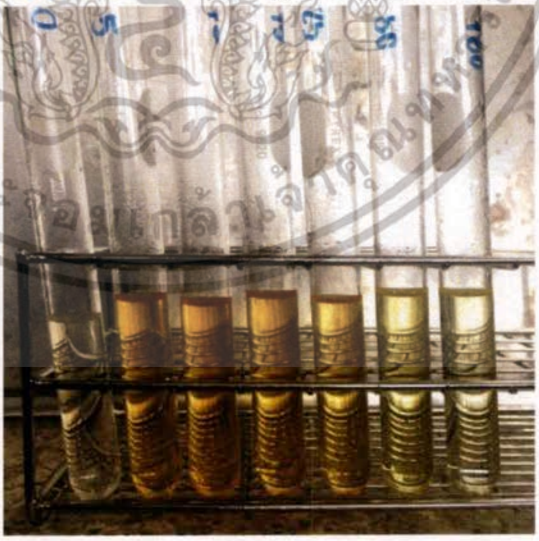
ภาคผนวก ข (ต่อ)

3.4 เติมสารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิค 0.5 มิลลิลิตร



3.5 นำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

3.6 ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร



ภาคผนวก ข (ต่อ)

4. การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส

4.1 ตัวอย่างของน้ำเสียที่แยกตะกอนเซลล์สาหร่ายออกแล้ว 35 มิลลิลิตร

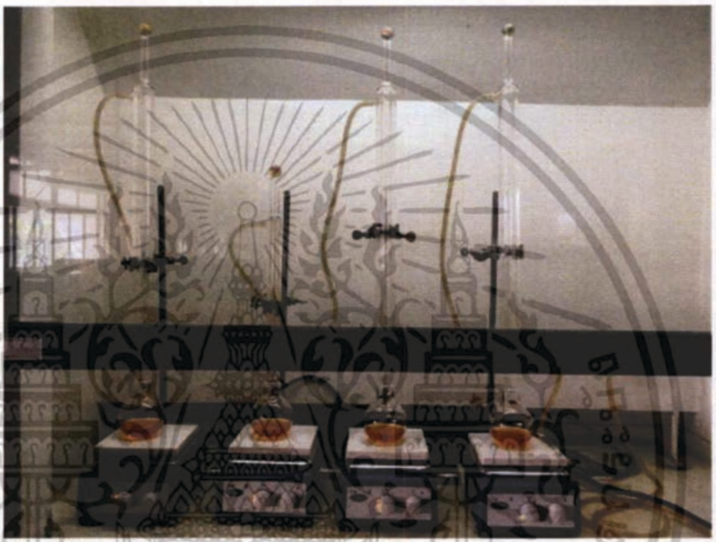
4.2 เติมสารละลายแวนาโดโมลิบเดต 10 มิลลิลิตร

4.3 ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

4.4 ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 470 นาโนเมตร

ภาคผนวก ข (ต่อ)

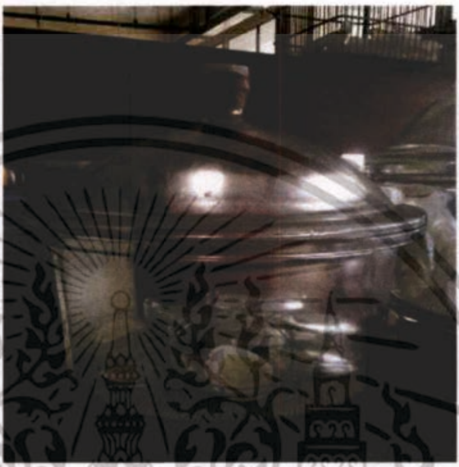
5. การวิเคราะห์ซีโอดี (COD)
   5.1 ตัวอย่างของน้ำเสียที่แยกตะกอนเซลล์สาหร่ายออกแล้ว 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลม
   5.2 เติมเมอร์คิวรีซัลเฟต 0.4 กรัม
   5.3 เติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร
   5.4 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 30 มิลลิลิตร
   5.5 นำไปต่อเข้ากับชุดกลั่น โดยให้ความร้อนด้วย Hotplate ที่ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง



   5.6 นำมาทำให้เย็น แล้วปรับปริมาตรเป็น 150 มิลลิลิตร
   5.7 หยดเฟอโรอีนอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด
   5.8 ไทเทรตด้วยสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ

ภาคผนวก ข (ต่อ)

6. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักแห้ง
   - 6.1 นำตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์มา 20 มิลลิลิตร
   - 6.2 นำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ โดยใช้กระดาษกรอง Whatman no.5
   - 6.3 นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
   - 6.4 นำไปใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 15-20 นาที



   - 6.5 ชั่งน้ำหนักของกระดาษกรอง

ภาคผนวก ข (ต่อ)

7. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

7.1 นำตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์มา 20 มิลลิลิตร

7.2 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนเซลล์ด้วยน้ำกลั่นซ้ำ 2 รอบ

7.3 นำไปเติมน้ำกลั่น 0.8 มิลลิลิตร เมทานอล 2 มิลลิลิตร และคลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

7.4 นำไปทำให้เซลล์แตกในเครื่องอัลตร้าโซนิค ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที

7.5 นำไปเติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร คลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

7.6 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

7.7 จะเกิดการแยกชั้น ดูดเอาสารละลายส่วนบนทิ้ง เก็บส่วนของเหลวชั้นล่างที่เหลือไว้ จากนั้นนำไปสกัดต่อจนสารละลายใสไม่มีสี

7.8 จากนั้นนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรอง Whatman GF/C

7.9 นำกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7.10 นำไปใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 15-20 นาที

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาคผนวก ค

ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ

ภาคผนวก ค

1.การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial Experiments in Completely Randomized Design (CRD) และ ANOVA วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Tukey’s Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรม Minitab ในการวิเคราะห์

1.1. การวิเคราะห์ปริมาณความหนาแน่นของเซลล์ 2 ชุดการทดลอง คือ 2 mgN/L, 6 mgP/L, 40 mgCOD/L และ 3 mgN/L, 12 mgP/L, 80 mgCOD/L เป็นเวลา 6 วัน

Comparisons for C3

Tukey Pairwise Comparisons: C1*C2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

C1*C2	N	Mean	Grouping			
2 1	3	1.00733	A			
2 4	3	0.90333	A	B		
2 3	3	0.68067		B	C	
2 2	3	0.47900			C	
1 4	3	0.14467				D
1 1	3	0.13500				D
1 2	3	0.01933				D
1 3	3	0.00700				D

Means that do not share a letter are significantly different.

Descriptive Statistics: C3

Results for C1 = 1

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	0.1350	0.0227
	2	3	0	0.01933	0.00651
	3	3	0	0.00700	0.00458
	4	3	0	0.1447	0.0424

ภาคผนวก ค (ต่อ)

Results for C1 = 2

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	1.0073	0.0732
	2	3	0	0.4790	0.1015
	3	3	0	0.681	0.242
	4	3	0	0.9033	0.0506

1.2. การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน 2 ชุดการทดลอง คือ 2 mgN/L, 6 mgP/L, 40 mgCOD/L และ 3 mgN/L, 12 mgP/L, 80 mgCOD/L เป็นเวลา 6 วัน

Comparisons for C3

Tukey Pairwise Comparisons: C1*C2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

C1*C2	N	Mean	Grouping		
2 4	3	2.08344	A		
2 2	3	1.35507	A	B	
2 1	3	0.67140		B	C
2 3	3	0.64510		B	C
1 4	3	0.54168		B	C
1 2	3	0.44702		B	C
1 3	3	0.30765			C
1 1	3	0.30327			C

Means that do not share a letter are significantly different.

Descriptive Statistics: C3

Results for C1 = 1

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	0.3033	0.0691
	2	3	0	0.447	0.235
	3	3	0	0.3077	0.0853
	4	3	0	0.5417	0.0293

ภาคผนวก ค (ต่อ)

Results for C1 = 2

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	0.671	0.174
	2	3	0	1.355	0.609
	3	3	0	0.645	0.709
	4	3	0	2.0834	0.0121

1.3. การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส 2 ชุดการทดลอง คือ 2 mgN/L, 6 mgP/L, 40 mgCOD/L และ 3 mgN/L, 12 mgP/L, 80 mgCOD/L เป็นเวลา 6 วัน

Comparisons for C3

Tukey Pairwise Comparisons: C1*C2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

C1*C2	N	Mean	Grouping
2 4	3	9.58333	A
2 2	3	8.65741	A
2 1	3	4.95370	B
1 4	3	4.30556	B C
2 3	3	3.56481	C D
1 1	3	3.47222	C D
1 2	3	2.73148	D E
1 3	3	1.71296	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Descriptive Statistics: C3

Results for C1 = 1

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	3.472	0.367
	2	3	0	2.731	0.578
	3	3	0	1.713	0.765
	4	3	0	4.3056	0.1389

ภาคผนวก ค (ต่อ)

Results for C1 = 2

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	4.954	0.424
	2	3	0	8.657	0.212
	3	3	0	3.565	0.424
	4	3	0	9.5833	0.000000

1.4. การวิเคราะห์ปริมาณประสิทธิภาพในการลดลงของความต้องการออกซิเจนทางเคมี(COD) 2 ชุดการทดลอง คือ 2 mgN/L, 6 mgP/L, 40 mgCOD/L และ 3 mgN/L, 12 mgP/L, 80 mgCOD/L เป็นเวลา 6 วัน

Comparisons for C3

Tukey Pairwise Comparisons: C1

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

C1	N	Mean	Grouping	
2	12	50	A	
1	12	25		B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: C1*C2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

C1*C2	N	Mean	Grouping	
2 1	3	56.6667	A	
2 2	3	50.0000	A	
2 3	3	50.0000	A	
2 4	3	43.3333	A	B
1 1	3	26.6667		B
1 3	3	26.6667		B
1 2	3	23.3333		B
1 4	3	23.3333		B

Means that do not share a letter are significantly different.

ภาคผนวก ค (ต่อ)

Descriptive Statistics: C3

Results for C1 = 1

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	26.67	5.77
	2	3	0	23.33	5.77
	3	3	0	26.67	5.77
	4	3	0	23.33	5.77

Results for C1 = 2

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	56.67	5.77
	2	3	0	50.00	10.00
	3	3	0	50.00	10.00
	4	3	0	43.33	5.77

1.5. การวิเคราะห์ปริมาณเซลล์แห้ง (DCW) 2 ชุดการทดลอง คือ 2 mgN/L, 6 mgP/L, 40 mgCOD/L และ 3 mgN/L, 12 mgP/L, 80 mgCOD/L เป็นเวลา 6 วัน

Comparisons for C3

Tukey Pairwise Comparisons: C1*C2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

C1*C2	N	Mean	Grouping				
2 2	3	0.505000	A				
1 1	3	0.286667		B			
2 1	3	0.191667			C		
1 2	3	0.181667			C	D	
3 2	3	0.156667			C	D	
4 1	3	0.138333			C	D	E
3 1	3	0.120000				D	E
4 2	3	0.090000					E

Means that do not share a letter are significantly different.

ภาคผนวก ค (ต่อ)

Descriptive Statistics: C3

Results for C1 = 1

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	0.2867	0.0333
	2	3	0	0.1817	0.0340

Results for C1 = 2

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	0.19167	0.00289
	2	3	0	0.5050	0.0265

Results for C1 = 3

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	0.1200	0.0229
	2	3	0	0.15667	0.01528

Results for C1 = 4

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	0.13833	0.01258
	2	3	0	0.0900	0.0180

ภาคผนวก ค (ต่อ)

1.6. การวิเคราะห์ปริมาณไขมันสุดท้าย 2 ชุดการทดลอง คือ 2 mgN/L, 6 mgP/L, 40 mgCOD/L และ 3 mgN/L, 8 mgP/L, 80 mgCOD/L เป็นเวลา 6 วัน

Comparisons for C3

Tukey Pairwise Comparisons: C1*C2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

C1*C2	N	Mean	Grouping		
1 2	3	0.528333	A		
3 2	3	0.465000		B	
4 1	3	0.050000			C
2 1	3	0.046667			C
4 2	3	0.035000			C
3 1	3	0.021667			C
1 1	3	0.015000			C
2 2	3	0.013333			C

Means that do not share a letter are significantly different.

Descriptive Statistics: C3

Results for C1 = 1

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	0.01500	0.00500
	2	3	0	0.5283	0.0321

Results for C1 = 2

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	0.04667	0.00764
	2	3	0	0.01333	0.00577

Results for C1 = 3

Statistics

Variable	C2	N	N*	Mean	StDev
C3	1	3	0	0.02167	0.00764
	2	3	0	0.4650	0.0265

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ทำการดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค (ต่อ)

Results for C1 = 4

Statistics

```
Variable  C2  N  N*     Mean    StDev
C3         1  3   0  0.05000  0.01000
           2  3   0  0.03500  0.01000
```