

การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยว  
*Scenedesmus obliquus* TISTR 8546  
ในน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหาร

GROWTH OF UNICELLULAR GREEN ALGA  
*Scenedesmus obliquus* TISTR 8546  
IN FOOD INDUSTRIAL WASTEWATER



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GROWTH OF UNICELLULAR GREEN ALGA  
*Scenedesmus obliquus* TISTR 8546  
IN FOOD INDUSTRIAL WASTEWATER



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)  
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ACADEMIC YEAR 2017  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



หัวข้อโครงการพิเศษ	การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว <i>Scenedesmus obliquus</i> TISTR 8546 ในน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหาร Growth of unicellular green alga <i>Scenedesmus obliquus</i> TISTR 8546 in food industrial wastewater
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกานดา รอดเมฆ รหัสนักศึกษา 57050802 นางสาวศุภรดา ดิลกธรรมวุธ รหัสนักศึกษา 57050800
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พุกษ์

### บทคัดย่อ

โดยปกติ น้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมอาหารประกอบด้วยแหล่งอาหารหลายชนิด เช่น ฟอสฟอรัสและ ไนโตรเจน ซึ่งสามารถกระตุ้นการเจริญของพืชและสาหร่าย เพื่อที่จะลดต้นทุนของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษการเจริญของสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus obliquus* TISTR 8546 และ *Chlamydomonas reinhardtii* CC-124 ในน้ำเสียอุตสาหกรรม 3 แหล่ง คือ น้ำเสียอุตสาหกรรมเครื่องปรุงรส (AJ) น้ำเสียอุตสาหกรรมครีมเทียมและนมข้น (FN) และน้ำเสียอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อสัตว์ (NP) จากการทดลองพบว่า สาหร่ายสีเขียวทั้ง 2 ชนิด ไม่สามารถเจริญในน้ำเสียอุตสาหกรรมทั้ง 3 แหล่งได้ เฉพาะสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 สามารถเจริญในน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติกเป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 17.4 มิลลิโมลาร์ ถึงแม้ว่าการเจริญยังคงต่ำกว่าการเจริญของสาหร่ายในอาหาร TAP ปกติ การปรับเซลล์ให้เคยชินในน้ำเสียทำให้สาหร่าย *S. obliquus* TISTR 8546 เจริญเร็วขึ้น การผลิตไฮโดรเจนของ *S. obliquus* TISTR 8546 ที่ป่มในอาหาร TAP TAP-K น้ำเสีย AJ และน้ำเสีย AJ เติมแหล่งคาร์บอนพบว่า *S. obliquus* TISTR 8546 สูงสุดเท่ากับ 49.077 และ 47.439 มิลลิลิตรต่อลิตร เมื่อป่มเซลล์ในอาหาร TAP ที่ปราศจากโพแทสเซียม (TAP-K) และน้ำเสีย AJ ที่มีกรดอะซีติกความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

**คำสำคัญ :** สาหร่ายสีเขียว น้ำเสียอุตสาหกรรมอาหาร การผลิตไฮโดรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Growth of unicellular green alga <i>Scenedesmus obliquus</i> TISTR 8546 in food industrial wastewater	
Students	Miss Kanda Rodmek	Student ID 57050802
	Miss Suparada Delokthammawut	Student ID 57050800
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)	
Department	Biology	
Faculty	Science	
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
Academic Year	2017	
Advisor	Assist.Prof.Dr.Saranya Phunpruch	

### Abstract

Wastewater from food industrial manufacturers normally contains many kinds of nutrients such as phosphorus and nitrogen which can promote the plant and algal growth. To reduce cost of algal cultivation, wastewater obtained from three different sources of food industrial manufacturers, seasoning industry (AJ), creamer and condensed milk industry (FN) and meat processing industry (NP) were used as culture media for growth of green algae *Scenedesmus obliquus* TISTR 8546 and *Chlamydomonas reinhardtii* CC-124. The result showed that both green algae could not grow in all investigated food industrial wastewater. Only the green algal *S. obliquus* TISTR 8546 was able to grow in AJ wastewater containing acetic acid as a carbon source with the final concentration of 17.4 mM although its growth was still lower than that in TAP normal medium. The cell acclimatization in wastewater showed the faster growth of *S. obliquus* TISTR 8546. H<sub>2</sub> production of *S. obliquus* TISTR 8546 was highest with 49.077 and 47.439 mL L<sup>-1</sup> when incubated in potassium-free TAP medium (TAP-K) and AJ wastewater containing 17.4 mM acetic acid, respectively, for 24 h.

**Keywords :** Green algae, Food industrial wastewater, H<sub>2</sub> production

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับความอนุเคราะห์ การให้ความช่วยเหลือ และคำแนะนำจากอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ผศ.ดร.สร้อยญา พันธุ์ฤกษ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ช่วยเหลือทุกปัญหาการวิจัย พร้อมทั้งให้กำลังใจ ตลอดจนตรวจสอบแก้ไข โครงการพิเศษให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ ที่กรุณาให้เกียรติเป็นประธานกรรมการสอบ และ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี เป็นกรรมการในการสอบโครงการพิเศษนี้ รวมถึงขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการในภาคเคมีและชีววิทยาทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการทดลองวิเคราะห์ต่างๆ และให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี ตลอดจนให้ข้อมูลจนทำให้โครงการพิเศษของผู้วิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจ และสนับสนุนด้านปัจจัยทุนทรัพย์ ต่างๆ ในการศึกษาของข้าพเจ้าเสมอมา รวมทั้งคณาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา และเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้ข้อคิดเห็นต่างๆ โครงการพิเศษฉบับนี้คงไม่สามารถสำเร็จไปได้ด้วยดี ถ้าไม่มีบุคคลเหล่านี้ คุณค่าและประโยชน์ของการทำโครงการพิเศษฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบเป็นกตัญญูทเวทิตา แต่ บุพการี บุรพจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษา และประสบความสำเร็จมาจนตราบนานเท่านานนี้

กานดา รอดเมฆ

ศุภรดา ดิลกธรรมมวธ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ.....</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	<b>4</b>
2.1 โรงงานอุตสาหกรรม.....	4
2.2 การบำบัดน้ำเสีย.....	4
2.2.1 การบำบัดน้ำเสียทางกายภาพ.....	5
2.2.2 การบำบัดน้ำเสียทางเคมี.....	5
2.2.3 การบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ.....	5
2.3 สาหร่ายสีเขียว.....	6
2.3.1 สาหร่ายสีเขียว <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	7
2.3.2 สาหร่ายสีเขียว <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> .....	7
2.4 ไฮโดรเจน.....	8
2.5 การผลิตไฮโดรเจนทางชีวภาพ.....	8
2.5.1 การผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมัก.....	9
2.5.2 การผลิตไฮโดรเจนจากการสังเคราะห์ด้วยแสง.....	9
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	10
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....</b>	<b>12</b>
3.1 เชื้อจุลินทรีย์.....	12
3.2 สารเคมี.....	12
3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย.....	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในวงเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.2 สารเคมีสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	12
3.2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์.....	13
3.2.4 ก๊าซมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ไฮโดรเจน.....	13
3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	13
3.4 วิธีการทดลอง.....	14
3.4.1 วิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสาหร่ายสีเขียว.....	14
3.4.2 วิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร.....	15
3.4.3 วิธีการวัดการเจริญของสาหร่ายสีเขียว.....	15
3.4.4 วิธีศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียว.....	17
3.4.5 วิธีศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียวในน้ำเสียที่เติมแหล่งคาร์บอน.....	17
3.4.6 วิธีการปรับหัวเชื้อในน้ำเสียก่อนเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวในน้ำเสีย.....	17
3.4.7 วิธีการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว.....	18
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....</b>	<b>19</b>
4.1 ผลการวิเคราะห์น้ำเสียและประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายสีเขียว <i>S. obliquus</i> TISTR 8546 และ <i>C. reinhardtii</i> CC-124.....	19
4.2 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว <i>S. obliquus</i> TISTR 8546 ..... และ <i>C. reinhardtii</i> CC-124 เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม อาหาร.....	21
4.3 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว <i>S. obliquus</i> TISTR 8546 ..... และ <i>C. reinhardtii</i> CC-124 เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม อาหารที่มีการเติมแหล่งคาร์บอน.....	24
4.4 ผลการปรับหัวเชื้อในน้ำเสียก่อนเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว <i>S. obliquus</i> ..... TISTR 8546.....	28
4.5 ผลการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนของ <i>S. obliquus</i> TISTR 8546.....	30
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....</b>	<b>32</b>
เอกสารอ้างอิง.....	33
ภาคผนวก.....	36
ภาคผนวก ก.....	36
ภาคผนวก ข.....	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ค.....	38
ภาคผนวก ง.....	41
ภาคผนวก จ.....	44



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบของก๊าซไฮโดรเจนด้วย.....	18
เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟเทอร์มอลคอนดัลติวิตี [Gas Chromatograph-Thermal Conductivity Detector (GC-TCD)]	
4.1 ค่า BOD และ COD ก่อนและหลังเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว <i>S. Obliquus</i> TISTR.....	20
8546 และ <i>C. reinhardtii</i> CC-124	



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
3.1 ช่องว่างของ Hemacytometer ที่ปรากฏใต้กล้องจุลทรรศน์.....	16
4.1 การเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ก)..... จำนวนเซลล์ (ข) ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (ค) ของสาหร่ายสีเขียว <i>S. obliquus</i> TISTR 8546 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP และน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม 3 แห่ง	22
4.2 การเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ก)..... จำนวนเซลล์ (ข) ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (ค) ของสาหร่ายสีเขียว <i>C. reihardtii</i> CC-124 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP และน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม 3 แห่ง	23
4.3 การเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ก)..... จำนวนเซลล์ (ข) ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (ค) ของสาหร่ายสีเขียว <i>S. obliquus</i> TISTR 8546 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP และน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม 3 แห่ง ที่มีการเติม กรดอะซีติกเป็นแหล่งคาร์บอน	26
4.4 การเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ก)..... จำนวนเซลล์ (ข) ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (ค) ของสาหร่ายสีเขียว <i>C. reihardtii</i> CC-124 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP และน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม 3 แห่ง ที่มีการเติม กรดอะซีติกเป็นแหล่งคาร์บอน	27
4.5 การเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ก)..... จำนวนเซลล์ (ข) ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (ค) ของสาหร่ายสีเขียว <i>S. obliquus</i> TISTR ใน อาหาร TAP และน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมเครื่องปรงรส (AJ) ที่มีการเติมกรดอะซีติก ความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ โดยใช้หัวเชื้อที่มีการเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP และ น้ำเสียที่มีการเติมกรดอะซีติกมาก่อน	29
4.6 อัตราการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว <i>S. obliquus</i> TISTR 8546..... ที่บ่มในอาหาร TAP อาหาร TAP-K น้ำเสีย AJ และน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติก ความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ ที่ชั่วโมงที่ 2 และ 24	31
4.7 ปริมาณไฮโดรเจนสะสมของสาหร่ายสีเขียว <i>S. obliquus</i> TISTR 8546..... ที่บ่มในอาหาร TAP อาหาร TAP-K น้ำเสีย AJ และน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติก ความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

น้ำเสียซึ่งเกิดจากแหล่งอุตสาหกรรม ถือว่าเป็นสาเหตุที่สำคัญต่อระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากน้ำเสียเหล่านี้มีสารอินทรีย์จำพวกไนโตรเจนและฟอสฟอรัสค่อนข้างสูง เมื่อปล่อยออกสู่แหล่งน้ำจึงทำให้มีการเจริญเติบโตของพืชน้ำและสาหร่ายเพิ่มขึ้นมาก และออกซิเจนในแหล่งน้ำจะลดจนถึงระดับที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของน้ำ ดังนั้น เพื่อเป็นการลดปัญหาดังกล่าวจึงจำเป็นต้องมีการปรับปรุงคุณภาพน้ำเสียโดยวิธีการที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูง การเลือกระบบบำบัดน้ำเสียขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ลักษณะของน้ำเสีย ระดับการบำบัดน้ำเสียที่ต้องการ สภาพทั่วไปของท้องถิ่น ค่าลงทุนก่อสร้างและค่าดำเนินการดูแลและบำรุงรักษา และขนาดของที่ดินที่ใช้ในการก่อสร้าง เป็นต้น การบำบัดน้ำเสียสามารถแบ่งได้ตามกลไกที่ใช้ในการกำจัดสิ่งเจือปนในน้ำเสีย ได้ดังนี้ การบำบัดทางกายภาพเป็นวิธีการแยกเอาสิ่งเจือปนออกจากน้ำเสีย โดยใช้อุปกรณ์ในการบำบัดทางกายภาพ เช่น ตะแกรงดักขยะ ถังดักไขมัน ถังตกตะกอน เป็นต้น การบำบัดทางเคมี เป็นวิธีการบำบัดน้ำเสียโดยใช้กระบวนการทางเคมีเพื่อทำปฏิกิริยากับสิ่งเจือปนในน้ำเสีย และการบำบัดทางชีวภาพเป็นวิธีการบำบัดน้ำเสียโดยใช้จุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรีย หรือสาหร่าย ฯลฯ สารคาร์บอนอินทรีย์ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ในน้ำเสียจะถูกใช้เป็นอาหารและเป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์ในถังเลี้ยงเชื้อเพื่อการเจริญเติบโต

การพัฒนากระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพเป็นทางเลือกหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจ เนื่องจากเป็นระบบที่มีต้นทุนราคาถูก ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะสารอินทรีย์สามารถถูกกำจัดได้โดยการใช้กลุ่มจุลินทรีย์และสาหร่าย และสามารถก่อให้เกิดประโยชน์ได้หลายอย่าง ชีวมวลที่ผลิตได้จากการบำบัดน้ำเสียเป็นแหล่งพลังงานที่สมบูรณ์และสามารถเข้าสู่กระบวนการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพหรือผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่า เช่น ปุ๋ยชีวภาพ ไบโอฟอสฟอรัส ไบโอฟอสฟอริก เป็นต้น (บุรณะศักดิ์, 2552) มีรายงานการนำสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยว *Scenedesmus obliquus* มาบำบัดน้ำเสียในน้ำทิ้งชุมชนพบว่า *S. obliquus* มีประสิทธิภาพในการกำจัดแอมโมเนียและฟอสเฟตสูงกว่า 97 เปอร์เซ็นต์ ช่วยให้การบำบัดน้ำมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น อีกทั้งยังสามารถนำสาหร่ายกลับมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ อีก เช่น การเพิ่มผลผลิตชีวมวล การผลิตไขมัน และการผลิตพลังงานทางเลือกใหม่ในอนาคต (Batista และคณะ, 2015)

พลังงานไฮโดรเจน (Hydrogen) สามารถถูกนำไปใช้งานควบคู่กับเซลล์เชื้อเพลิง (Fuel cell) สำหรับผลิตกระแสไฟฟ้าและใช้แทนน้ำมันเชื้อเพลิงในรถยนต์ โดยไฮโดรเจนสามารถผลิตได้จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์หรือการเป็นเจ้าของเพื่อการค้าของสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ่านหิน ฯลฯ ข้อดีของเชื้อเพลิงไฮโดรเจน คือ เป็นเชื้อเพลิงที่สะอาด ไม่ก่อให้เกิดมลพิษใดๆ รวมทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นต้นเหตุสำคัญของภาวะโลกร้อน

ผู้วิจัยได้สังเกตเห็นประโยชน์จากการใช้น้ำทิ้งหลังการบำบัดของโรงงานเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ ดังนั้น งานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นในการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวในน้ำเสียหลังบำบัดจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารเพื่อ เพิ่มผลผลิตชีวมวลสำหรับผลิตไฮโดรเจน และเพื่อเป็นแนวทางในการนำน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมไปใช้ประโยชน์

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในน้ำเสียหลังบำบัดจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร
- 2) เพื่อศึกษาการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียวที่เจริญเติบโตในน้ำเสียหลังบำบัดจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus obliquus* TISTR 8546 และ *Chlamydomonas reinhardtii* CC 124 ในน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหาร โดยเริ่มจากการวิเคราะห์ Biochemical Oxygen Demand (BOD), Chemical Oxygen Demand (COD) และพีเอชของน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมอาหารทั้ง 3 แห่ง คือ น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผงชูรส (AJ) น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปนม (FN) และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อสัตว์ (NP) จากนั้น เตรียมน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยนำน้ำเสียมากรองเพื่อแยกตะกอนเจือปน นำไปผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ นำน้ำเสียมาทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว 2 ชนิด โดยปรับความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรเท่ากับ 0.1 นำพลาสก์ที่มีสาหร่ายไปบ่มภายใต้สภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่ 30 องศาเซลเซียส ภายได้ความเข้มข้นแสงต่อเนื่อง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเซลล์แขวนลอย เพื่อนำไปวัดการเจริญเติบโต โดยการวัดความขุ่นเซลล์จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ และ วัดปริมาณเซลล์ จากนั้น ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียวในน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหารโดยการเติมกรดอะซีติกซึ่งใช้เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อได้น้ำเสียที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตแล้ว ปรับหัวเชื้อโดยนำมาเพาะเลี้ยงในน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหารที่มีการเติมกรดอะซีติกก่อน และสุดท้ายนำไปศึกษาการผลิตไฮโดรเจนในอาหาร TAP, TAP-K, น้ำเสีย AJ และน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) สามารถเพิ่มผลผลิตชีวมวลสาหร่ายจากการเพาะเลี้ยงในน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร
- 2) สามารถลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้น้ำเสียแทนอาหารสังเคราะห์ได้
- 3) สามารถใช้เป็นแนวทางในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีประโยชน์ทางเศรษฐกิจในการผลิตไฮโดรเจนได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 โรงงานอุตสาหกรรม

โรงงาน หมายถึง อาคาร สถานที่ หรือยานพาหนะที่ใช้เครื่องจักรที่มีกำลังรวมตั้งแต่ห้าแรงม้า หรือกำลังเทียบเท่าตั้งแต่ห้าแรงม้าขึ้นไป หรือใช้คนงานตั้งแต่เจ็ดคนขึ้นไปโดยใช้เครื่องจักรหรือไม่ก็ตาม สำหรับทำ ผลิต ประกอบ บรรจุ ซ่อม ซ่อมบำรุง ทดสอบ ปรับปรุง แปรสภาพ ลำเลียง เก็บรักษา หรือทำลายสิ่งใดๆ ตามประเภทหรือชนิดของโรงงานที่กำหนดในกฎกระทรวง (พระราชบัญญัติโรงงาน, 2535) อุตสาหกรรม คือ กระบวนการแปรรูป หรือ การผลิตสิ่งของจากวัตถุดิบให้เป็นวัสดุใหม่เพื่อให้ใช้ประโยชน์ได้ตามวัตถุประสงค์ โดยการใช้เครื่องจักรหรือแรงคนเพื่อให้ผลิตได้ครั้งละมากๆ จนสามารถนำไปขายเป็นสินค้าได้

ในปัจจุบัน ประเทศไทยมีการพัฒนาเศรษฐกิจด้านอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง ทั้งอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร อุตสาหกรรมแปรรูปสินค้าทางการเกษตร อุตสาหกรรมทางด้านยานยนต์ เครื่องใช้ไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ ฯลฯ เมื่อได้ผลผลิตออกมาจากระบวนการแล้ว มนุษย์เราได้ใช้ประโยชน์ และทำให้ประเทศมีรายได้จากการจำหน่ายผลผลิตเหล่านั้น แต่จากระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมบางแห่งก็ก่อให้เกิดมลพิษตามมามากมาย ไม่ว่าจะเป็นควันพิษ เขม่าควัน ฝุ่น สารเคมี ฯลฯ น้ำเสียเป็นปัญหาหลักหนึ่งที่ต้องให้ความสำคัญ ถ้ากลุ่มอุตสาหกรรมไม่มีการจัดการที่ดี จะทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม โรงงานอุตสาหกรรมหลายแห่งจึงได้ให้ความสำคัญกับการจัดการสิ่งแวดล้อมในโรงงานอุตสาหกรรมมากขึ้น จึงต้องมีการจัดการน้ำเสียก่อนที่จะปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะหรือแหล่งชุมชน

น้ำเสีย หมายถึง น้ำที่มีสารใดๆ หรือสิ่งปนเปื้อนที่ไม่พึงปรารถนาปนอยู่ การปนเปื้อนของสิ่งสกปรกเหล่านี้ จะทำให้น้ำอยู่ในสภาพที่ไม่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ สิ่งปนเปื้อนที่อยู่ในน้ำเสีย ได้แก่ น้ำมัน ไขมัน ผงซักฟอก สบู่ สารฆ่าแมลง สารอินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเหม็นและเชื้อโรคต่างๆ ซึ่งมีผลต่อสุขภาพและอนามัยของมนุษย์ สัตว์และพืช (ชัยศรี, 2553)

### 2.2 การบำบัดน้ำเสีย

การบำบัดน้ำเสียเป็นการอนุรักษ์ทรัพยากรน้ำวิธีหนึ่ง โดยนำน้ำทิ้งจากระบบบำบัดมาบำบัดให้กลายเป็นน้ำดีที่สามารถปล่อยออกสู่สาธารณะได้ น้ำหลังการบำบัดจะมีแร่ธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช การใช้น้ำหลังการบำบัดแล้วนั้น จะช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีและปุ๋ยให้กับพืชได้ นอกจากนี้ยังจะช่วยลดการขาดน้ำในชุมชน บ้านเรือน และโรงงานขนาดเล็กและขนาดใหญ่ได้อีกด้วย การเลือกระบบบำบัดน้ำเสียขึ้นกับปัจจัยราคาไม่ต่างๆ ได้แก่ ลักษณะของน้ำเสีย ระดับการบำบัดน้ำเสียที่ต้องการ สภาพทั่วไปของท้องถิ่น ค่าลงทุนใช้

ก่อสร้างและค่าดำเนินการดูแลและบำรุงรักษา และขนาดของที่ดินที่ใช้ในการก่อสร้าง เป็นต้น ทั้งนี้ เพื่อให้ระบบบำบัดน้ำเสียที่เลือกมีความเหมาะสมกับแต่ละท้องถิ่น ซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน การบำบัดน้ำเสียสามารถแบ่งได้ตามกลไกที่ใช้ในการกำจัดสิ่งเจือปนในน้ำเสียได้ดังนี้

### 2.2.1 การบำบัดทางกายภาพ

การบำบัดทางกายภาพ (Physical treatment) เป็นวิธีการแยกเอาสิ่งเจือปนออกจากน้ำเสีย เช่น ของแข็งขนาดใหญ่ กระดาษ พลาสติก เศษอาหาร กรวด ทราย, ไขมันและน้ำมัน ฯลฯ โดยใช้อุปกรณ์ในการบำบัดทางกายภาพ เช่น ตะแกรงดักขยะ ถังดักกรวดทราย ถังดักไขมันและน้ำมัน และถังตกตะกอน เป็นต้น ซึ่งจะเป็นการลดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่มีในน้ำเสีย

### 2.2.2 การบำบัดทางเคมี

การบำบัดทางเคมี (Chemical treatment) เป็นวิธีการบำบัดน้ำเสียโดยใช้กระบวนการทางเคมี เพื่อให้สารเคมีทำปฏิกิริยากับสิ่งเจือปนในน้ำเสีย วิธีการนี้จะใช้สำหรับน้ำเสียที่มีองค์ประกอบของน้ำอย่างใดอย่างหนึ่งต่อไปนี้ มีค่าพีเอชสูงหรือต่ำเกินไป มีสารพิษ มีโลหะหนัก มีของแข็งแขวนลอยที่ตกตะกอนยาก มีไขมันและน้ำมันที่ละลายน้ำ มีไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัสที่สูงเกินไป และมีเชื้อโรค อุปกรณ์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางเคมี ได้แก่ ถังกวนเร็ว ถังกวนช้า ถังตกตะกอน ถังกรอง และถังฆ่าเชื้อโรค เป็นต้น

### 2.2.3 การบำบัดทางชีวภาพ

การบำบัดทางชีวภาพ (Biological treatment) เป็นวิธีการบำบัดน้ำเสียโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพหรือใช้จุลินทรีย์ ไม่ว่าจะเป็นกลุ่มแบคทีเรีย หรือสาหร่าย (Shen และคณะ, 2015) ในการกำจัดสิ่งเจือปนในแหล่งน้ำเสีย โดยเฉพาะสารอินทรีย์คาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส สารเหล่านี้จะถูกใช้เป็นแหล่งอาหารและเป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์เพื่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทำให้น้ำเสียมีค่าความสกปรกลดลง จุลินทรีย์เหล่านี้อาจเป็นจุลินทรีย์ใช้ออกซิเจน (Aerobic organisms) หรือไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic organisms) ก็ได้ ระบบบำบัดน้ำเสียที่อาศัยหลักการทางชีวภาพ ได้แก่ ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ (Activated sludge, AS) ระบบแผ่นจานหมุนชีวภาพ (Rotating biological contactor, RBC) ระบบคลองวนเวียน (Oxidation ditch, OD) ระบบบ่อเติมอากาศ (Aerated lagoon, AL) ระบบโปรยกรอง (Trickling filter) ระบบบ่อบำบัดน้ำเสีย (Stabilization pond) ระบบยูเอเอสบี (Upflow anaerobic sludge blanket, UASB) และระบบกรองไร้อากาศ (Anaerobic filter, AF) เป็นต้น (กองจัดการคุณภาพน้ำ, 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 สาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายสีเขียวจัดอยู่ในดิวิชันคลอโรไฟตา (Division Chlorophyta) กลุ่มที่ใหญ่ที่สุด พบทั้งในน้ำจืด น้ำเค็มและน้ำกร่อย สาหร่ายสีเขียวบางชนิดบางชนิดลอยตามผิวน้ำ บางชนิดเกาะกับพืชอื่นหรือก้อนหิน อาศัยอยู่ในเซลล์สิ่งมีชีวิตอื่น เช่น โปรโตซัว ไฮดรา หรือฟองน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติ บางครั้งจะพบว่าน้ำมีสีเขียวเข้มเกิดขึ้น สีเขียวดังกล่าวมาจากสีของสาหร่ายในกลุ่มนี้เป็นส่วนใหญ่

ลีดดา (2544) กล่าวถึงลักษณะของสาหร่ายสีเขียวว่าเป็นสาหร่ายที่มีผนังเซลล์ 2 ชั้น ชั้นนอกบางชนิดมีเพกติน (Pectin) เคลือบอยู่ภายนอกบางๆ บางชนิดจะสร้างสารเมือกห่อหุ้มผนังเซลล์ชั้นในประกอบด้วยเซลลูโลส (Cellulose) บางชนิดมีแคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate) หรือซิลิกา (Silica) หรือไคติน (Chitin) แทรกอยู่ มีหนวด (Flagella) จำนวน 1, 2, 4, 8, 16 เส้น ลักษณะของหนวดมีหลายแบบ เช่น แบบเรียบ (Acronematic) แบบมีขนอยู่บนแกนหนวด (Pantonomic) หรือแบบมีเกล็ดอยู่บนหนวด จุดตั้งต้นของหนวดอยู่ที่เซลล์ยอด (Apical cell) อาจมีความยาวเท่ากันหรือไม่เท่ากัน อาหารสะสม (Starch) ได้แก่ พาราเมลลอน (Paramylon) เป็นแป้งที่พบในพืชชั้นสูง อยู่ในไซโตพลาสซึมหรือคลอโรพลาสต์ รูปร่าง (Form) ของเซลล์มีหลายแบบ เช่น กลม รี กระสวย อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆหรือโคโคเน็บบางชนิดเป็นเส้นสาย (Filament) บางกลุ่มมีกัลเลท (Gullet) อยู่ที่ด้านบนสุดของเซลล์ เช่น ยูกลีโนอยด์ (Euglenoid) รังควัตถุของสาหร่ายสีเขียวแบบเดียวกับที่พบในพืชชั้นสูงคือ คลอโรฟิลล์ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ เอ และ บี แคโรทีนอยด์ ได้แก่ แอลฟา-แคโรทีน เบต้า-แคโรทีน และ แกมมา-แคโรทีน ส่วนแซนโทฟิลล์ ได้แก่ ลูทีน แอสตาแซนทิน และ นีโอแซนทิน สารสีจะอยู่ในคลอโรพลาสต์ คลอโรพลาสต์ของสาหร่ายสีเขียวที่มีรูปร่างหลากหลาย ได้แก่ รูปถ้วย (Cup-shape) รูปเกือกม้า (Girdle-shape) รูปตาข่าย (Reticulate) ขดเป็นเกลียว (Spiral) แฉกรูปดาว (Stellate) และ แบบแถบ (Band-shape) นอกจากนี้แป้งยังมีไพเรโนอยด์ (Pyrenoid) ซึ่งเป็นอาหารสะสมที่อยู่ในภายในคลอโรพลาสต์ มีโครงสร้างโปรตีนเป็นแกนกลาง และมีแผ่นแป้งหุ้มล้อมรอบอยู่ ส่งผลให้เซลล์ที่มีอายุน้อยหรือมีคลอโรพลาสต์เล็กจะมีไพเรโนอยด์เพียง 1 อัน ส่วนเซลล์ที่มีอายุมากหรือคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่จะมีไพเรโนอยด์จำนวนมากหรือมีไพเรโนอยด์ขนาดใหญ่ (ยุวดี, 2549) การสืบพันธุ์ของสาหร่ายสีเขียวมีทั้งอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จะมีการรวมกันของแกมีตซึ่งมีทั้งแบบไอโซแกมี (Isogamy) แอนไอโซแกมี (Anisogamy) และ โอโอแกมี (Oogamy) ส่วนการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีทั้งการแบ่งเซลล์ สร้างสปอร์ และสร้างอะคิเน็ต (Akinete)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายสีเขียวที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีทั้งหมด 2 ชนิด ดังนี้

### 2.3.1 สาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus obliquus*

สาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* จัดจำแนกตามหลักของอนุฐานวิกรมอยู่ใน

Kingdom Plantae

Division Chlorophyta

Class Chlorophyceae

Order Sphaeropleales

Family Scenedesmaceae

Genus *Scenedesmus*

*S. obliquus* เป็นสาหร่ายสีเขียวที่พบในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหลเอื่อย ล่องลอยเป็นอิสระหรือดำรงชีวิตแบบยึดเกาะ กลุ่มเซลล์แบนอาจพบมีลักษณะบิดเบี้ยวบ้าง เซลล์อยู่รวมกันเป็น 2, 4, 8 เซลล์ อาจพบ 16 หรือ 32 เซลล์ ส่วนมากมักพบเป็นทวีคูณของ 2 เซลล์มีลักษณะโค้งรูปไข่ หรือทรงกระบอก การเรียงตัวอาจเป็น 1 หรือ 2 แถว โดยใช้ด้านข้างเซลล์เชื่อมกัน ผนังเซลล์เรียบหรือมีลักษณะคล้ายเม็ดเล็กๆ ติดอยู่ ด้านข้างอาจพบหรือไม่พบลักษณะที่เป็นสัน เป็นฟัน หรือหนามเล็กๆ คลอโรพลาสต์มีรูปร่างเป็นแผ่น สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการสร้างอโอโตสปอร์ และสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศแบบไอโซแกมีท (Afify และคณะ, 2018)

### 2.3.2 สาหร่ายสีเขียว *Chlamydomonas reinhardtii*

สาหร่ายสีเขียว *C. reinhardtii* จัดจำแนกตามหลักของอนุฐานวิกรมอยู่ใน

Kingdom Plantae

Division Chlorophyta

Class Chlorophyceae

Order Chlamydomonadales

Family Chlamydomonadaceae

Genus *Chlamydomonas*

*C. reinhardtii* เป็นสาหร่ายสีเขียวซึ่งเป็นสาหร่ายเซลล์เดียวที่มีความยาวประมาณ 10 ไมครอน และความกว้างประมาณ 3 ไมครอน มีแฟลกเจลลา 2 สายทางด้านหน้าใช้ในการเคลื่อนที่มีคลอโรพลาสต์รูปถ้วยขนาดใหญ่และมีอายสปอต อยู่ที่ขอบด้านหนึ่งของคลอโรพลาสต์ ทำหน้าที่รับแสง และส่งสัญญาณไปยังแฟลกเจลลา ทำให้รู้ว่าควรเคลื่อนที่ไปทิศทางใด สาหร่ายชนิดนี้สามารถสืบพันธุ์ได้ 2 แบบคือ การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้าง Zoospore และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้าง Zygospor (Rochaix, 1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 ไฮโดรเจน

ไฮโดรเจนเป็นธาตุที่มีโครงสร้างทางเคมีไม่ซับซ้อน ไฮโดรเจนอะตอมประกอบด้วยโปรตอนและอิเล็กตรอนอย่างละ 1 ตัว จัดเป็นธาตุที่เบาที่สุด สสารเกือบทั้งหมดมีส่วนประกอบของไฮโดรเจน ไม่ว่าจะเป็นน้ำ ( $H_2O$ ) หรือ สารประกอบอื่นๆ เช่น สารประกอบจำพวกไฮโดรคาร์บอน (HC) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของปิโตรเลียม ก๊าซไฮโดรเจนประกอบด้วยไฮโดรเจน 2 อะตอม เชื่อมติดกันโดยมีคุณสมบัติคือ เป็นก๊าซที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ผลผลิตที่ได้จากการเผาไหม้ไฮโดรเจน คือ ความร้อน และน้ำ และไม่เกิดอนุภาคขนาดเล็กจากการเผาไหม้ที่เป็นสาเหตุของปัญหาระบบทางเดินหายใจ และ ไม่เกิดคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของก๊าซเรือนกระจก อันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศหรือภาวะโลกร้อน การเผาไหม้ไฮโดรเจน 1 กิโลกรัม ให้พลังงานเท่ากับการเผาไหม้ก๊าซธรรมชาติ 2.1 กิโลกรัม หรือเท่ากับการเผาไหม้แก๊สโซลีน 2.8 กิโลกรัม ด้วยเหตุนี้ ทำให้ไฮโดรเจนเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของพลังงานทดแทนที่น่าจับตามองในปัจจุบัน นอกจากนี้ สามารถใช้ไฮโดรเจนเป็นเชื้อเพลิงในการเผาไหม้และให้ความร้อน หรือใช้กับเซลล์เชื้อเพลิงเพื่อผลิตกระแสไฟฟ้าที่ใช้ได้ทั้งในการขับเคลื่อนยานยนต์ อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ขนาดเล็กและอื่นๆ ไฮโดรเจนยังสามารถผลิตได้จากแหล่งทรัพยากรที่หลากหลาย การผลิตในระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้วิธีทางกายภาพ เช่น การผลิตไฮโดรเจนจากก๊าซธรรมชาติโดยผ่านกระบวนการรีฟอร์มมิง (Steam reforming) หรือวิธีการทางเคมี เช่น การแยกสลายน้ำด้วยกระแสไฟฟ้า (Electrolysis) ซึ่งวิธีการนี้ใช้ต้นทุนและพลังงานในกระบวนการผลิตไฮโดรเจนสูง จึงเป็นอุปสรรคในการพัฒนาและนำไฮโดรเจนมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน ดังนั้น นักวิทยาศาสตร์จึงหันมาพัฒนาการผลิตไฮโดรเจนโดยกระบวนการทางชีวภาพหรือ ไบโอบีไฮโดรเจน (Biohydrogen) มากยิ่งขึ้น (ชนิษฐา, 2553)

## 2.5 การผลิตไฮโดรเจนทางชีวภาพ

การผลิตไฮโดรเจนทางชีวภาพเป็นการผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยกระบวนการทางชีวภาพจากสิ่งมีชีวิตจำพวกจุลินทรีย์ ไฮโดรเจนที่ผลิตได้จะถูกเรียกว่า “ไบโอบีไฮโดรเจน” สารตั้งต้นหลักของกระบวนการผลิตไฮโดรเจนทางชีวภาพ ได้แก่ น้ำ ของเสียอินทรีย์ (Organic waste) หรือชีวมวล ฯลฯ จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตไฮโดรเจน ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว (Green algae) แบคทีเรีย (Bacteria) หรือ อาร์เคีย (Archaea) โดยใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา กระบวนการผลิตไบโอบีไฮโดรเจนโดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 กระบวนการหลัก คือ การผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมัก (Fermentative  $H_2$  production) และ การผลิตไฮโดรเจนจากการสังเคราะห์แสง (Photosynthetic  $H_2$  production) (พลกฤษณ์, 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.5.1 การผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมัก

กระบวนการทางชีวเคมีที่สิ่งมีชีวิตย่อยสลายสารอินทรีย์และการนำผลผลิตไปใช้ในการสร้างไฮโดรเจนโดยอาศัยเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ สามารถจำแนกเป็น 2 กระบวนการ ดังนี้

#### 1) การผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักแบบไม่ใช้แสง

การหมักแบบไม่ใช้แสงสามารถพบได้ในแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศร่วมกับการทำงานของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส (Hydrogenase) ในการเปลี่ยนสารตั้งต้นจำพวกคาร์โบไฮเดรต เช่น ของเสียอินทรีย์ (Organic waste) หรือ ชีวมวล ให้เป็นก๊าซไฮโดรเจนและผลผลิตสารอินทรีย์ข้างเคียงอื่น เช่น กรดอะซิติก (Acetic Acid,  $C_2H_4O_2$ ) กรดบิวทีริก (Butyric Acid,  $C_4H_8O_2$ ) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon dioxide,  $CO_2$ ) เป็นต้น

#### 2) การผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักการหมักแบบใช้แสง

การหมักแบบใช้แสงสามารถพบได้ในแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศ เช่น แบคทีเรียสีม่วง (Purple bacteria) แบคทีเรียเหล่านี้ผลิตไฮโดรเจนโดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส (Nitrogenase) กระบวนการนี้สามารถใช้สารตั้งต้นได้หลากหลายชนิด เช่น สารอินทรีย์หลายประเภทของเสียที่เป็นชีวมวล รวมไปถึงของเสียจากอุตสาหกรรมและของทางการเกษตร แบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่สามารถผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมัก ได้แก่ *Rhodobacter capsulatus* (Ooshima และคณะ, 1998)

### 2.5.2 การผลิตไฮโดรเจนจากการสังเคราะห์ด้วยแสง

กระบวนการผลิตไฮโดรเจนจากการสังเคราะห์แสงนี้เป็นกระบวนการทางชีวเคมีของสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ โดยเปลี่ยนรูปพลังงานแสงไปเป็นพลังงานเคมี กระบวนการผลิตไฮโดรเจนแบบใช้แสงสามารถจำแนกได้เป็น 2 กระบวนการ ดังนี้

#### 1) การผลิตไฮโดรเจนการแยกสลายด้วยแสงแบบทางตรง

การผลิตไฮโดรเจนด้วยวิธีการแยกสลายด้วยแสงแบบทางตรงเป็นกระบวนการที่ใช้ระบบแสงของสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เช่น สาหร่ายสีเขียว (Green algae) หรือ ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) ในระบบแสงสอง (Photosystem II, PSII) พลังงานแสงจะกระตุ้นโมเลกุลของน้ำให้แยกออกเป็นออกซิเจน โปรตอน ( $H^+$ ) และอิเล็กตรอน ( $e^-$ ) จากนั้น อิเล็กตรอนจะถูกส่งไปยังเฟอร์รีดอกซิน (Ferredoxin, Fd) โดยผ่านระบบแสงหนึ่ง (Photosystem I, PSI) เฟอร์รีดอกซินที่ถูกรีดิวซ์จะส่งอิเล็กตรอนให้แก่เอนไซม์ไฮโดรจีเนสเพื่อสร้างไฮโดรเจน การทำงานของเอนไซม์ไฮโดรจีเนสจะถูกยับยั้งด้วยออกซิเจน จึงจำเป็นต้องรักษาระดับออกซิเจนให้มีค่าต่ำกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้สามารถผลิตไฮโดรเจนได้อย่างยั่งยืน (Hallenbeck และ Benemann, 2002) สาหร่ายสีเขียวที่สามารถผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการแยกสลายด้วยแสงแบบทางตรงได้ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปยังประชาชนโดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Chlamydomonas reinhardtii* (Melis และคณะ, 2000) และ *Scenedesmus obliquus* (Papazi และคณะ, 2014)

## 2) การผลิตไฮโดรเจนจากการแยกสลายด้วยแสงแบบทางอ้อม

การผลิตไฮโดรเจนจากการแยกสลายด้วยแสงแบบทางอ้อมสามารถพบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae) หรือ ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) กระบวนการผลิตไฮโดรเจนจะแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นแรก จะเกิดกระบวนการสังเคราะห์แสงในระบบแสงหนึ่งและระบบแสงสอง ร่วมกับการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อสร้างสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเก็บสะสมในชีวมวลสาหร่าย ขั้นตอนที่สอง จะมีการนำชีวมวลของสาหร่ายไปใช้ในการผลิตไฮโดรเจน (Levin และคณะ, 2004) การผลิตไฮโดรเจนแบบนี้จะสามารถแก้ปัญหาเรื่องของการออกซิเจนยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ผลิตไฮโดรเจน เพราะกระบวนการสร้างออกซิเจนและไฮโดรเจนเกิดแยกกัน

## 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สาวิตรี (2554) ศึกษาประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมมิโซเคิล โดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium* sp. และ *Spirulina platensis* พบว่า มีความเป็นไปได้ในการบำบัดน้ำในบ่อสุดท้าย โดยปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved oxygen, DO) มีค่าลดลงในช่วงแรกแล้วจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วง 3-6 วัน

Voltolina และคณะ (1998) ศึกษาการเพาะเลี้ยง *Scenedesmus* sp. ในน้ำเสียที่มีปริมาณการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวอยู่ที่ 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้สภาวะการให้แสงสว่างอย่างต่อเนื่อง พบว่าเมื่อใช้ปริมาณสาหร่ายเริ่มต้น 30 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 24 ชั่วโมงและมีการกำจัดฟอสเฟตมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ในการใช้ปริมาณสาหร่ายเริ่มต้นที่ 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ถูกใช้มีค่าประมาณ 50 และ 66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus* sp. สามารถใช้ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่ปะปนอยู่ในน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Shen และคณะ (2015) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียและการผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (Total organic carbon) ที่ความเข้มข้นระหว่าง 20-120 มิลลิกรัมต่อลิตรในน้ำเสีย และการให้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นในช่วง 0.03-15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสาหร่าย *S. obliquus* มีการเพิ่มชีวมวลสูงสุดที่ 577.6 มิลลิกรัมต่อลิตรและผลผลิตไขมันเฉลี่ยอยู่ที่ 16.7 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ การเติมอากาศช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและค่าอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดเท่ากับ 97.8, 95.6 และ 59.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายในเวลา 6 วัน เมื่อเลี้ยงด้วยน้ำเสียชุมชน งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *S. obliquus* สามารถใช้ในการลดมลพิษสารอินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า รวมทั้งการกำจัดไนโตรเจน ฟอสฟอรัสในน้ำเสีย และมีการสะสมของไขมันของสาหร่าย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oliveira และคณะ (2018) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ปีก โดยใช้สาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดแอมโมเนียและฟอสเฟตสูงกว่า 97 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 13 วัน ปริมาณน้ำตาลที่สูงขึ้นมาจากมวลชีวภาพของสาหร่ายที่โตในน้ำเสีย เฉลี่ย 34 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าปริมาณชีวมวลที่ได้จากน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ (จากปริมาณน้ำตาลที่สูงขึ้น) มีความเหมาะสมเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลหรือ ไบโอดีเซล



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 เชื้อจุลินทรีย์

สาหร่ายที่นำมาใช้ในโครงการพิเศษมีทั้งหมด 2 ชนิด ดังนี้

- 1) *Scenedesmus obliquus* TISTR 8546 ซื้อมาจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
- 2) *Chlamydomonas reinhartii* CC-124 ซื้อมาจาก Chlamydomonas Resource Center ประเทศสหรัฐอเมริกา

### 3.2 สารเคมี

#### 3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย

- 1) อาหาร TAP (Tris Acetate phosphate medium) (ภาคผนวก ก)

#### 3.2.2 สารเคมีสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ

- 1) กรดบอริก ( $H_3BO_3$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 2) แกลซีลอะซิติกแอซิด (Glacial acetic acid,  $C_2H_4O_2$ ) (EDM Millipore, Germany)
- 3) โคบอลต์ (II) คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ( $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ) (Fluka Chemical Corp., USA)
- 4) แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ( $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 5) คอปเปอร์ (II) คลอไรด์ไดไฮเดรต ( $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ ) (J.T. Baker, USA)
- 6) คอปเปอร์ (II) ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 7) ซิงค์คลอไรด์ ( $ZnCl_2$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 8) ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) (Fluka Chemical Corp., USA)
- 9) โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ( $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 10) โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ( $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 11) โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $NaH_2PO_4$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 12) ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $Na_2HPO_4$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 13) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (Ajax Finechem, New Zealand)
- 14) ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 15) ทริสเบส (Tris-base) (Vivantis Ltd., UK)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 16) โฟแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 17) โฟแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 18) แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 19) แมงกานีส (II) คลอไรด์เตตระไฮเดรต ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 20) อะการ์ (Agar) (BD Difco™ Agar, USA)
- 21) เอทิลีนไดอะมีนเตตระอะซีติกแอซิด (Ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) (BDH Prolabo Chemicals, UK)
- 22) แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 23) แอมโมเนียมคลอไรด์ ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 24) ไอออน (II) ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) (Carlo Erba Reagents, UK)
- 25) ไอออน (II) ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) (Carlo Erba Reagents, Italy)
- 26) ไฮโดรคลอริก (HCl) (Ajax Finechem, New Zealand)

### 3.2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

- 1) เมทานอล ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (Analytical grade, Scharlau, Spain)
- 2) อะซีโตน ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ) (Analytical grade, Fisher Scientific, UK)

### 3.2.4 ก๊าซมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ไฮโดรเจน

- 1) ก๊าซมาตรฐานไฮโดรเจน 4 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ในอาร์กอน (Praxair, Thailand)
- 2) ก๊าซอาร์กอนความบริสุทธิ์ 99.999 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) (Thonburiwattana Ltd., Thailand)

## 3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) กระดาษกรอง เบอร์ 3 (Filter paper grade 3) (Merck, Singapore)
- 2) กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) (Olympus CH30, Japan)
- 3) ขวดแก้วขนาด 10 มิลลิลิตร (Vial)
- 4) เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟเทอร์มอลคอนดักติวิตีดีเทคเตอร์ (Gas Chromatograph-Thermal Conductivity Detector (GC-TCD)) (Shimadzu 15-A, Japan)
- 5) เครื่องแก้วชนิดต่างๆ (Glasswares)
- 6) เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) (Gallenkamp T490811, UK)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 7) เครื่องชั่งละเอียด 3 และ 4 ตำแหน่ง (Balance) (Scientific Promotion, Sartorius BP2215, Thailand)
- 8) เครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็ก (Microcentrifuge) (Labnet, Spectrafuge 16M, USA)
- 9) เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge) (Hermle Labortechnik Z38K, Germany)
- 10) เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge) (Hettich, Universal 320R, Germany)
- 11) เครื่องผสมสาร (Vortex mixer) (Scientific Industries Inc Genies2, USA)
- 12) เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter) (Denver Instrument 215, USA)
- 13) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) (Shimadzu, UV-1601, Japan)
- 14) เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave) (Hirayama Manufacturing Corporation HV-50, Japan)
- 15) คิวเวตต์ควอตซ์ (Quartz cuvette) (Starna Scientific, UK)
- 16) ชุดไมโครปิเปต (Micropipettes) (Labnet, USA)
- 17) ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol lamp)
- 18) ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar flow) (International Scientific Supply HS123, Thailand)
- 19) ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Delta Laboratory, 1375FX; Thailand)
- 20) ฟลาสก์ (Erlenmeyer Flask) (Pyrex, USA)
- 21) พาราฟิล์มขนาด M (Parafilm M) (Bemis company, USA)
- 22) ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemocytometer) (Precicolor HBG, Germany)

### 3.4 วิธีการทดลอง

#### 3.4.1 วิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhartii* CC-124 เริ่มจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวบนอาหารแข็ง TAP นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความเข้มแสง 1000 ลักซ์ เป็นเวลา 4 วัน จากนั้น เชื้อโคลนนี้เดี่ยวจากอาหารแข็ง TAP มากระจายและเพาะเลี้ยงลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำฟลาสก์ไปบ่มภายใต้สภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และให้แสงต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ เป็นเวลา 3 วัน ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4.2 วิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร

น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองนี้มาจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร 3 แห่ง คือ น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผงชูรส (AJ) น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปนม (FN) และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อสัตว์ (NP) นำน้ำเสียทั้ง 3 แห่ง มาแยกตะกอนโดยกรองด้วย Bruncher Funnel โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 3 นำน้ำเสียไปวิเคราะห์ปริมาณ Biochemical Oxygen Demand (BOD) ด้วยวิธีการดังแสดงในภาคผนวก ข และวิเคราะห์ Chemical Oxygen Demand (COD) ด้วยวิธีการในดังแสดงในภาคผนวก ค นำน้ำเสียไปนึ่งฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว

### 3.4.3 วิธีการวัดการเจริญของสาหร่ายสีเขียว

#### 3.4.3.1 วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่ายสีเขียว

นำเซลล์แขวนลอยสาหร่ายสีเขียว ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยใช้อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเป็นแบลนค์ (Blank)

#### 3.4.3.2 วิธีการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ของ *S. obliquus* TISTR 8546

เก็บตัวอย่างเซลล์แขวนลอยของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ทุกๆ 6 ชั่วโมง มาศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์โดยปั่นแยกสาหร่ายสีเขียวปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้น ดูดส่วนใส่ออกและเติมเมทานอล ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง จากนั้น นำหลอดเซ็นทริฟิวจ์ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที และนำสารละลายสีเขียวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 และ 665 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธี Lee และ Shen (2004) ดังสมการที่ 3.1

ปริมาณคลอโรฟิลล์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) =  $(4 \times A_{665}) + (25.5 \times A_{650})$  สมการที่ 3.1

#### 3.4.3.3 วิธีการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ของ *C. reinhardtii* CC-124

นำเซลล์แขวนลอยสาหร่ายสีเขียว *C. reinhardtii* CC-124 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้น ดูดส่วนใส่ออกและเติมอะซีโตน ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง จากนั้น นำหลอดเซ็นทริฟิวจ์ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที นำสารละลายสีเขียวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665 และ 680 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธี Lee และ Shen (2004) ดังสมการที่ 3.2

ไม่ทราบว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

664 และ 647 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธีของ Jeffrey และ Humphrey (1975) ดังสมการที่ 3.2 และ 3.3

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) =  $(11.93 \times A_{664}) - (1.93 \times A_{647})$  สมการที่ 3.2

ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) =  $(20.36 \times A_{647}) - (5.50 \times A_{664})$  สมการที่ 3.3

ปริมาณคลอโรฟิลล์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) = ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ + ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี

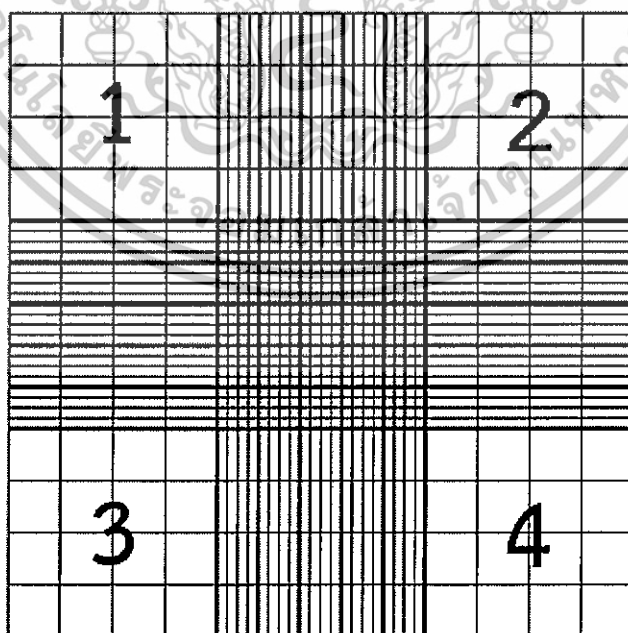
#### 3.4.3.4 วิธีการนับจำนวนเซลล์

เปิดตัวอย่างสารแขวนลอยเซลล์ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า นับเซลล์สาหร่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ในช่องหมายเลข 1, 2, 3 และ 4 (รูปที่ 3.1) ปริมาตรสารแขวนสารแขวนลอยเซลล์แต่ละช่องมีค่าเท่ากับ กว้าง × ยาว × สูง (ความกว้างเท่ากับ 1 มิลลิเมตร, ความสูงเท่ากับ 1 มิลลิเมตร และความลึกหรือความสูงเท่ากับ 1 มิลลิเมตร)

ดังนั้น ปริมาตรสารแขวนลอยเซลล์ทั้ง 4 ช่อง มีค่าเท่ากับ

	$1 \times 1 \times 1$	มิลลิเมตร
เท่ากับ	$0.1 \times 0.1 \times 0.1$	เซนติเมตร
เท่ากับ	0.0001	ลูกบาศก์เซนติเมตร
เท่ากับ	$10^4$	ลูกบาศก์เซนติเมตร

เพราะฉะนั้น ปริมาตรเซลล์ = จำนวนเซลล์การนับ  $\times 10^4$  ลูกบาศก์เซนติเมตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
รูปที่ 3.1 ช่องของ Hemacytometer ที่ปรากฏภายใต้กล้องจุลทรรศน์  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4.4 วิธีศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียว

นำหัวเชื้อสาหร่ายจากข้อ 3.4.1 มาเก็บเกี่ยวเซลล์และกระจายเซลล์ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว TAP และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารจำนวน 3 แหล่ง ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยปรับความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1 นำไปบ่มภายใต้สภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และให้แสงต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จำนวน 2 ซ้ำ ทุกๆ 6 ชั่วโมง นำไปวัดการเจริญโดยการวัดความขุ่นเซลล์จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ และวัดปริมาณเซลล์ ตามวิธีในหัวข้อ 3.4.1, 3.4.2 และ 3.4.3 ตามลำดับ

### 3.4.5 วิธีศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียวในน้ำเสียที่เติมแหล่งคาร์บอน

นำน้ำเสียจากข้อ 3.4.2 ที่ผ่านการกรองมาเติมแหล่งคาร์บอนคือกรดอะซิติก โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 17.4 มิลลิโมลาร์ (กรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหาร TAP) ปรับพีเอชของน้ำเสียให้ได้เป็น 7.2 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ นำน้ำเสียที่ได้มานิ่งฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้น นำไปศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียวโดยการนำสาหร่ายจากข้อ 3.4.1 มาเก็บเกี่ยวเซลล์และกระจายเซลล์ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว TAP และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม 3 แหล่ง ที่เติมกรดอะซิติกให้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 17.4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยปรับความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรเท่ากับ 0.1 นำฟลาสก์ไปบ่มภายใต้สภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสงต่อเนื่อง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บสารแขวนลอยเซลล์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จำนวน 2 ซ้ำ ทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อนำไปวัดการเจริญโดยการวัดความขุ่นเซลล์จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ และวัดปริมาณเซลล์ ตามวิธีในหัวข้อ 3.4.1, 3.4.2 และ 3.4.3 ตามลำดับ

### 3.4.6 วิธีการปรับหัวเชื้อของสาหร่ายในน้ำเสียก่อนเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวในน้ำเสีย

เชื้อโคโลนีเดี่ยวของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 จากอาหารแข็ง TAP มาใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเสีย AU ที่มีการเติมกรดอะซิติกความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มภายใต้สภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และให้แสงต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นทำ การเก็บเกี่ยวเซลล์และกระจายเซลล์ในน้ำเสีย AU ที่กรดอะซิติกปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยปรับความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรเท่ากับ 0.1

นำพลาสติกไปบ่มภายใต้สภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และให้แสงต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเซลล์แขวนลอยปริมาตร 1 มิลลิลิตร จำนวน 2 ข้ำ ทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อนำไปวัดการเจริญโดยการวัดความขุ่นเซลล์จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ และวัดปริมาณเซลล์ ตามวิธีในหัวข้อ 3.4.1, 3.4.2 และ 3.4.3 ตามลำดับ

### 3.4.7 วิธีการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว

นำโคลนเดี่ยวของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 จากอาหารแข็ง TAP มาใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเสีย AJ มีการเติมกรดอะซีติกความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ และ อาหาร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำพลาสติกไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความเข้มแสงต่อเนื่องที่ 1,000 ลักซ์ เก็บเกี่ยวเซลล์ที่เลี้ยงในอาหาร TAP เป็นเวลา 36 ชั่วโมง และ น้ำเสีย AJ เป็นเวลา 42 ชั่วโมง นำเซลล์สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ไปล้างเซลล์และกระจายเซลล์ในอาหาร TAP และอาหาร TAP ที่ขาดโพแทสเซียม (TAP-K) ส่วนเซลล์สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสีย AJ ที่เติมกรดอะซีติก นำมาล้างเซลล์และกระจายเซลล์ในน้ำเสีย AJ และน้ำเสีย AJ ที่เติมกรดอะซีติก บีบเซลล์แขวนลอยปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในขวด Vial ปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร นำไปใส่อากาศโดยพ่นก๊าซอาร์กอนเป็นเวลา 10 นาที จากนั้น บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ วัดก๊าซบริเวณส่วนบนของขวด (Headspace) ที่ชั่วโมงที่ 2, 6, 12, 24, 48, 72, 96 และ 120 ไบวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี โดยใช้สภาวะดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซไฮโดรเจนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีเทอร์มอลคอนดักติวิตี [Gas Chromatograph-Thermal Conductivity Detector (GC-TCD)]

พารามิเตอร์	สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์
Column	Pack column 2 m; Molecular sieve 5° A mesh 60/80
Detector	Thermal conductivity detector (TCD)
Temperature program	Injector temperature : 100°C
Carrier gas	Column temperature : 50°C Detector temperature : 100°C Argon flow rate 20 mL/min (99.999% purity)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

จากการนำสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus obliquus* TISTR 8546 และ *Chlamydomonas reinhardtii* CC 124 มาเพาะเลี้ยงในน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม 3 แหล่งคือ อุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อ (NP), อุตสาหกรรมเครื่องปรุงรส (AJ) และอุตสาหกรรมครีมเทียมและนมข้น (FN) วิเคราะห์น้ำเสียจากการวิเคราะห์ปริมาณ BOD (Biochemical Oxygen Demand) และ COD (Chemical Oxygen Demand) ของน้ำเสียก่อนและหลังการเพาะเลี้ยง จากนั้น ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว ทั้ง 2 ชนิด ในน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหารทั้ง 3 แหล่งที่ไม่มีคาร์บอนและมีการเติมแหล่งคาร์บอน โดยวัดการเจริญด้วยวิธีการวัดความขุ่นเซลล์จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ และวัดปริมาณเซลล์ นำชนิดของน้ำเสียที่สาหร่ายสีเขียวสามารถเจริญเติบโตได้สูงที่สุดมาเพาะเลี้ยงสาหร่ายและศึกษาความสามารถในการผลิตไฮโดรเจน โดยเปรียบเทียบระหว่างเซลล์ที่บ่มในน้ำเสียที่ไม่มีคาร์บอน น้ำเสียที่มีการเติมแหล่งคาร์บอน อาหาร TAP และอาหาร TAP-K

#### 4.1 ผลการวิเคราะห์น้ำเสียก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC-124

จากการวิเคราะห์น้ำเสียก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC 124 โดยการนำสาหร่ายไปเพาะเลี้ยงในฟลาस्कขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร 3 แหล่ง คือ NP, AJ และ FN ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 3 วัน จากนั้น นำเซลล์แขวนลอยไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากการวิเคราะห์ปริมาณ BOD และ COD ในน้ำเสียก่อนและหลังเพาะเลี้ยงพบว่า น้ำเสียหลังการเพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 มีปริมาณ BOD ของ NP, AJ และ FN ลดลง 87.78, 48.28 และ 54.55 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ COD ลดลง 1.37, 69.96 และ 23.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับน้ำเสียหลังการเพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายสีเขียว *C. reinhardtii* CC-124 มีปริมาณ BOD ของ NP, AJ และ FN ลดลง 27.78, 74.13 และ 22.72 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ COD ลดลง 6.62, 33.21 และ 31.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) แสดงให้เห็นว่า น้ำเสีย NP ภายหลังจากเพาะเลี้ยง *S. obliquus* TISTR 8546 มีปริมาณ BOD ลดลงมากที่สุด ในขณะที่น้ำเสีย AJ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *S. obliquus* TISTR 8546 มีปริมาณ COD ลดลงมากที่สุด ส่วนน้ำเสีย AJ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใน *C. reinhardtii* CC 124 มีปริมาณ BOD และ COD ลดลงมากที่สุด ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hamouda และคณะ (2016) ที่ใช้สาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* และ

Zayadan และคณะ (2014) ที่ใช้สาหร่ายสีเขียว *C. reinhardtii* ในการบำบัดน้ำเสียซึ่งสามารถลดปริมาณ BOD และ COD โดยสาหร่ายสีเขียวสามารถใช้สารอินทรีย์ในน้ำเสียซึ่งเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเจริญเติบโต ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำเสียลดลง

ตารางที่ 4.1 ค่า BOD และ COD ก่อนและหลังเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC-124

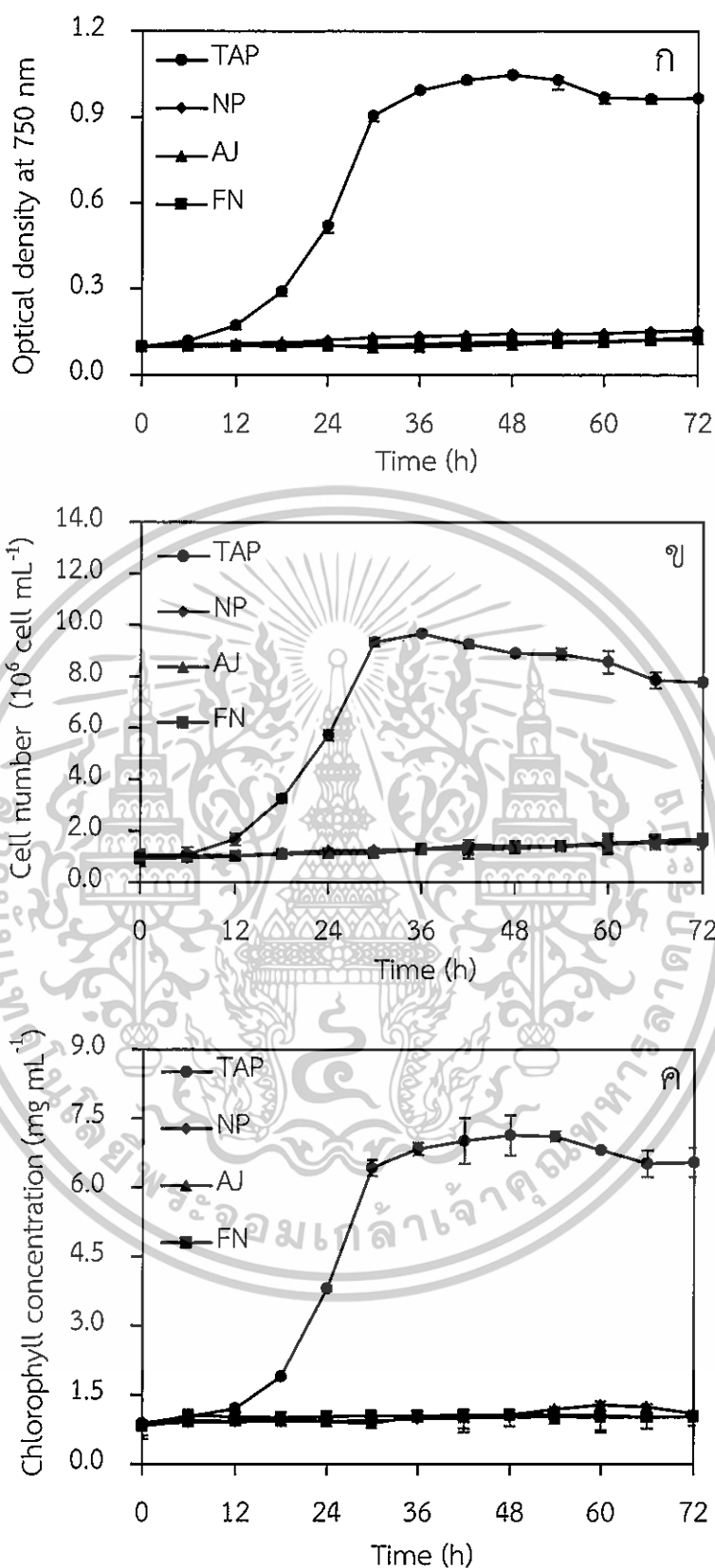
สาหร่าย	น้ำเสีย	BOD (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )		COD (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	
		ก่อนเลี้ยง	หลังเลี้ยง	ก่อนเลี้ยง	หลังเลี้ยง
<i>Scenedesmus obliquus</i> TISTR 8546	NP	90	11	69.786	68.832
	AJ	290	150	369.715	111.049
	FN	44	20	84.632	65.161
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-124	NP	90	65	69.786	65.786
	AJ	290	75	369.715	114.72
	FN	44	34	84.634	57.819

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

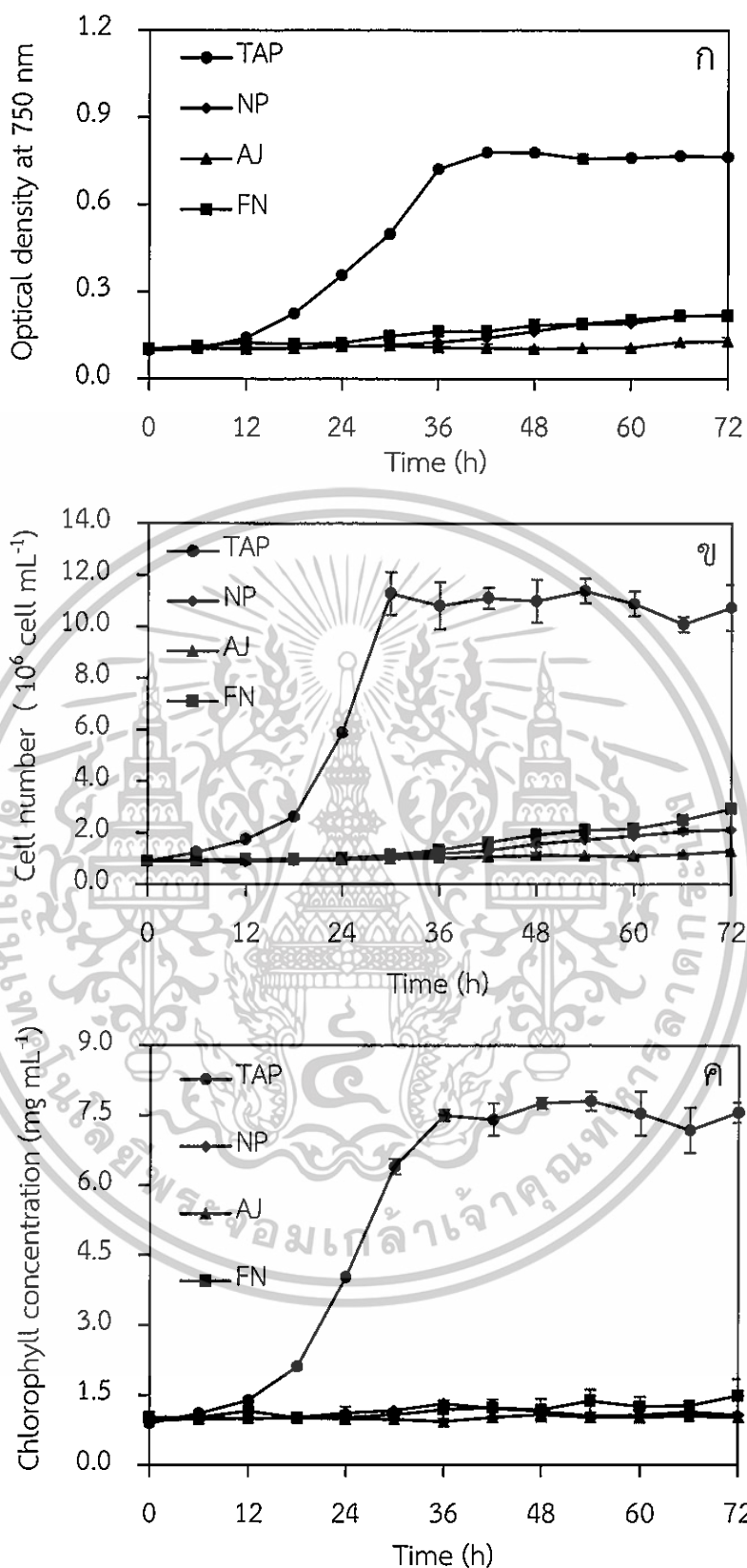
#### 4.2 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC-124 เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC-124 เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร โดยการนำสาหร่าย ทั้ง 2 ชนิด ไปเพาะเลี้ยงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร 3 แหล่ง คือ NP, AJ และ FN ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยมีอาหาร TAP เป็นอาหารควบคุม ปรับค่าตุ้ดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรให้เท่ากับ 0.1 นำไปบ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะเขย่า ที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ และเก็บตัวอย่างเซลล์ทุกๆ 6 ชั่วโมง พบว่าสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในอาหาร TAP โดยมีระยะเวลาการปรับตัว (Lag phase) ในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง ระยะการเจริญแบบทวีคูณ (Log phase) ในช่วง 12 ถึง 30 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง จากนั้น จะเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) หลังชั่วโมงที่ 30 (รูปที่ 4.1) ส่วนสาหร่ายสีเขียว *C. reinhardtii* CC-124 มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในอาหาร TAP เช่นกัน โดยมีระยะเวลาการปรับตัว (Lag phase) ในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง มีระยะการเจริญ (Lag phase) อยู่ ในช่วง 12 ถึง 36 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง และเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) หลังชั่วโมงที่ 36 (รูปที่ 4.2) นอกจากนี้ ยังพบว่าสาหร่ายสีเขียวทั้ง 2 ชนิด ไม่สามารถเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียอุตสาหกรรมทั้ง 3 แหล่ง ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Batista และคณะ (2015) ที่ใช้ *S. obliquus* และ Zayadan และคณะ (2014) ที่ใช้ *C. reinhardtii* ซึ่งพบว่าสาหร่ายสีเขียวทั้ง 2 ชนิด สามารถเจริญได้ในน้ำเสีย การที่สาหร่ายสีเขียวทั้ง 2 ชนิดไม่สามารถเจริญได้ในน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหารทั้ง 3 แหล่ง เป็นไปได้ว่าธาตุอาหารหลักในน้ำเสีย ได้แก่ คาร์บอนที่เป็นแหล่งพลังงานและเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างออร์แกนิกส์ต่างๆ ภายในเซลล์ ไนโตรเจนที่องค์ประกอบสำคัญของโปรตีนที่หน้าที่ในการสังเคราะห์แสงและการแบ่งเซลล์ (Msanne และคณะ, 2012) ฟอสฟอรัสที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ (Kaplan และคณะ, 1986) มีปริมาณต่ำและไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวทั้ง 2 ชนิด ในขณะเดียวกัน สาหร่ายสีเขียวทั้ง 2 ชนิด สามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP เนื่องจากอาหาร TAP มีธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่สำคัญและเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของชีวโมเลกุลอื่น จึงทำให้สาหร่ายสีเขียวทั้ง 2 ชนิดมีการเจริญเติบโตในอาหาร TAP สูงกว่าในน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมทั้ง 3 แหล่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 การเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ก) จำนวนเซลล์ (ข) ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (ค) ของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ที่เพาะเลี้ยงในเอกสารนเป็นเอกสารที่สมบูรณ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าอาหาร TAP และน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม 3 แห่ง  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 การเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ก) จำนวนเซลล์ (ข) ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (ค) ของสาหร่ายสีเขียว *C. reihardtii* CC-124 ที่เพาะเลี้ยงในเอกสารนเป็นเอกสารทงส่วนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปขายหรือเผยแพร่ในเชิงพาณิชย์ การค้าอาหาร TAP และน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม 3 แหล่ง  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

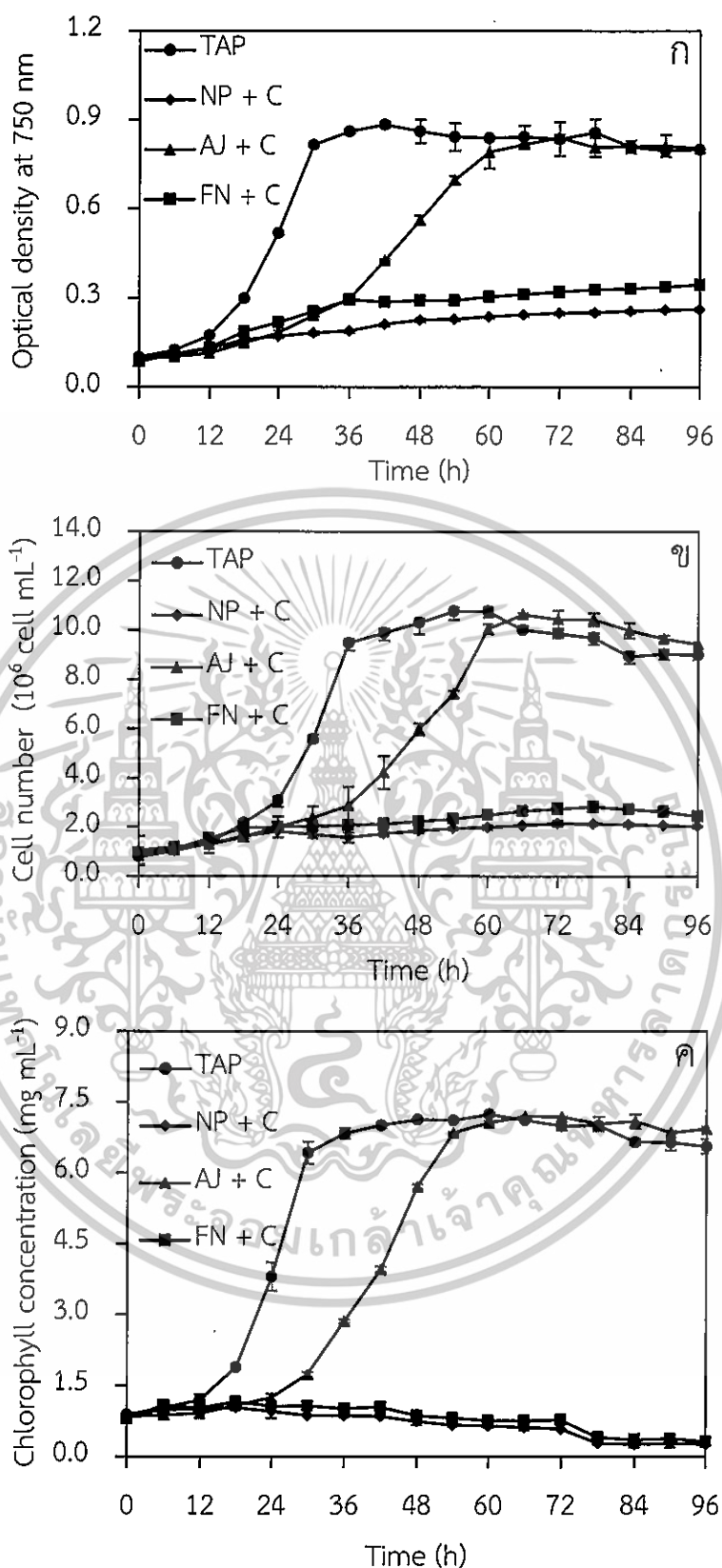
### 4.3 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC-124 เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารที่มีการเติมแหล่งคาร์บอน

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC-124 เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการเติมกรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอน โดยนำสาหร่ายไปเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเสียแต่ละแหล่ง ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และมีอาหาร TAP เป็นอาหารควบคุม ปรับให้มีค่าดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรเท่ากับ 0.1 นำไปบ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ทำการเก็บตัวอย่างเซลล์ ทุกๆ 6 ชั่วโมง มาวัดการเจริญเติบโต จากการทดลองพบว่าสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC-124 มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร จำนวนเซลล์และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ สอดคล้องกัน (รูปที่ 4.3 และ 4.4) ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวทั้ง 2 ชนิดในน้ำเสียที่มีการเติมกรดอะซิติกพบว่า *S. obliquus* TISTR 8546 สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซิติกความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ โดยมีการเจริญเข้าสู่ระยะเวลากการปรับตัว (Lag phase) ในช่วง 24 ชั่วโมง การเจริญแบบทวีคูณ (Log phase) ในช่วง 24 ถึง 60 ชั่วโมง การเจริญเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) หลังชั่วโมงที่ 60 และไม่สามารถเจริญได้ดีในน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหารอีก 2 แหล่ง (รูปที่ 4.3) ส่วนสาหร่ายสีเขียว *C. reinhardtii* CC-124 ไม่สามารถเจริญได้ในน้ำเสียอุตสาหกรรมทั้ง 3 แหล่ง ที่เติมแหล่งคาร์บอน (รูปที่ 4.4) แสดงให้เห็นว่าน้ำเสีย AJ มีสารอาหารที่เหมาะสมกับการเจริญของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 เมื่อมีการเติมกรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอน ผลการทดลองนี้สนับสนุนผลการศึกษาของ Shen และคณะ (2015) ที่พบว่าสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำเสียได้ดีขึ้นเมื่อมีการเติมแหล่งคาร์บอน การใช้กรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอนมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย เนื่องจากคาร์บอนมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น สร้างผนังเซลล์ การสร้างสารสีที่ทำหน้าที่ในกระบวนการสังเคราะห์แสง อีกทั้งยังเป็นแหล่งพลังงานเมื่อเกิดการสลายกรดอะซิติกที่สามารถนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ได้ จากการทดลองสาหร่ายสีเขียว *C. reinhardtii* CC-124 ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเสียอุตสาหกรรมทั้ง 3 แหล่ง ที่มีการเติมกรดอะซิติก และสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเสีย NP และน้ำเสีย FN ที่มีการเติมกรดอะซิติก ถึงแม้ว่าจะมีการเติมแหล่งคาร์บอนที่เป็นหนึ่งในธาตุอาหารหลักลงในน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหาร แต่ในน้ำเสียยังขาดธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองชนิดอื่นๆ ที่สำคัญต่อการเจริญเติบโต เช่น ไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนซึ่งทำหน้าที่ในกระบวนการสังเคราะห์แสงและการแบ่งเซลล์ (Msanne และคณะ, 2012) และฟอสฟอรัสที่ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นองค์ประกอบสำคัญในการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก และยังเป็นองค์ประกอบของอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Kaplan และคณะ, 1986) และ เหล็กและไอออนโลหะอื่นๆ ซึ่งกระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์แสง กระบวนการหายใจ และการทำงานของของเอนไซม์ (Moseley และคณะ, 2002) จึงส่งผลสาหร่ายสีเขียวทั้ง 2 ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ด้วยเหตุนี้ น้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติกอาจมีธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองมากกว่าในน้ำเสียอุตสาหกรรมอีก 2 แหล่ง จึงสามารถนำมาเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. obliquus* TISTR 8546 เพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวลได้ แต่ในน้ำเสีย AJ ยังมีปริมาณธาตุอาหารต่ำกว่าในอาหาร TAP หรือการเปลี่ยนอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวทำให้เซลล์ใช้ระยะในการปรับนานขึ้น (Madigan และคณะ, 2000) เป็นผลให้มีการเจริญเติบโตช้ากว่า *S. obliquus* TISTR 8546 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอาหาร TAP มีธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่เหมาะสมและเพียงพอสำหรับสาหร่ายสีเขียว



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

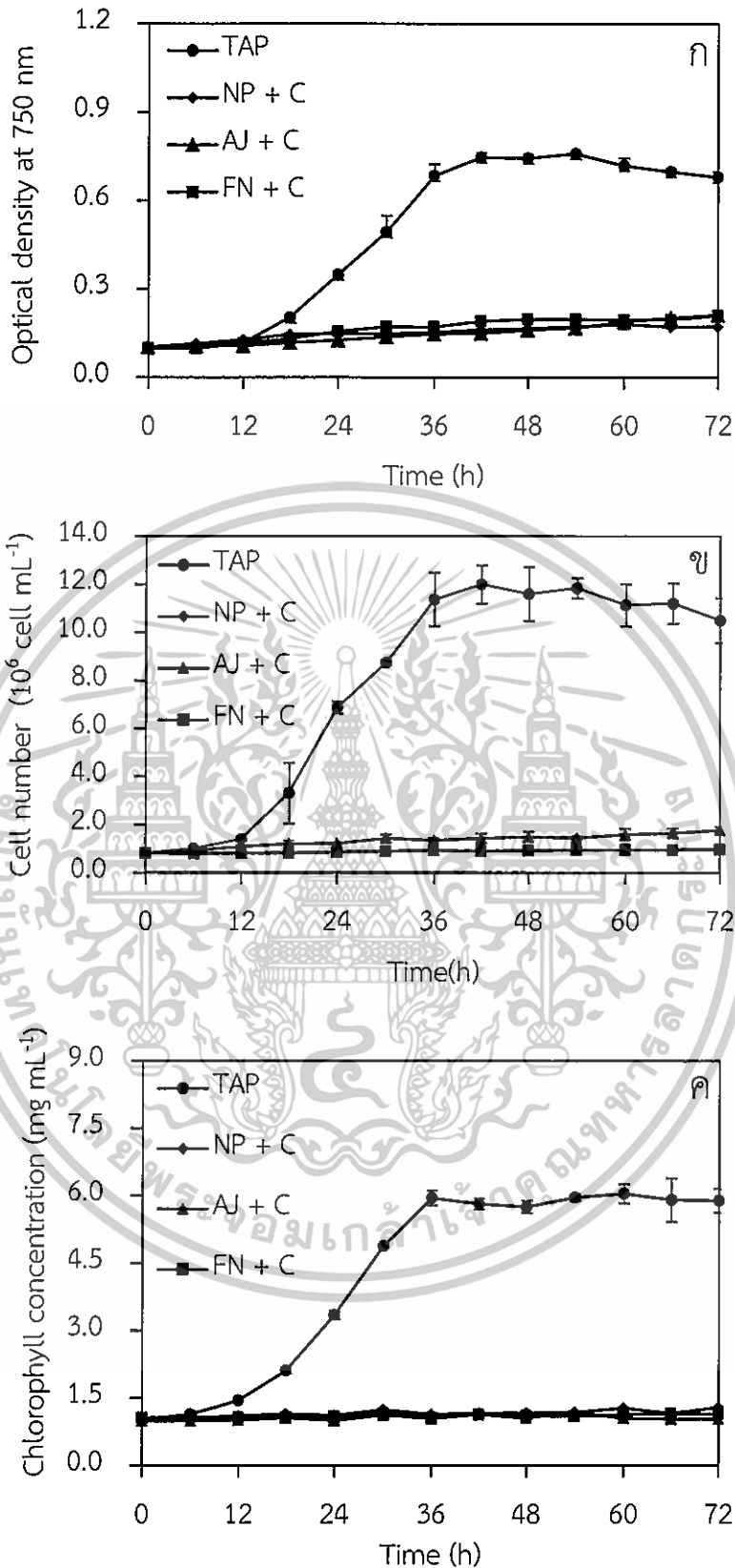


รูปที่ 4.3 การเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ก) จำนวน

เซลล์ (ข) ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (ค) ของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ที่เพาะเลี้ยงใน

อาหาร TAP และน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม 3 แหล่ง ที่มีการเติมกรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอน

ไม่มีการเติม... ทั้งสิ้น ยกเว้นหมักแบบสังเคราะห์แสงและตั้งยั้งยั้งของเอกสารที่ผู้ทรงคุณวุฒิมีการนำไปใช้

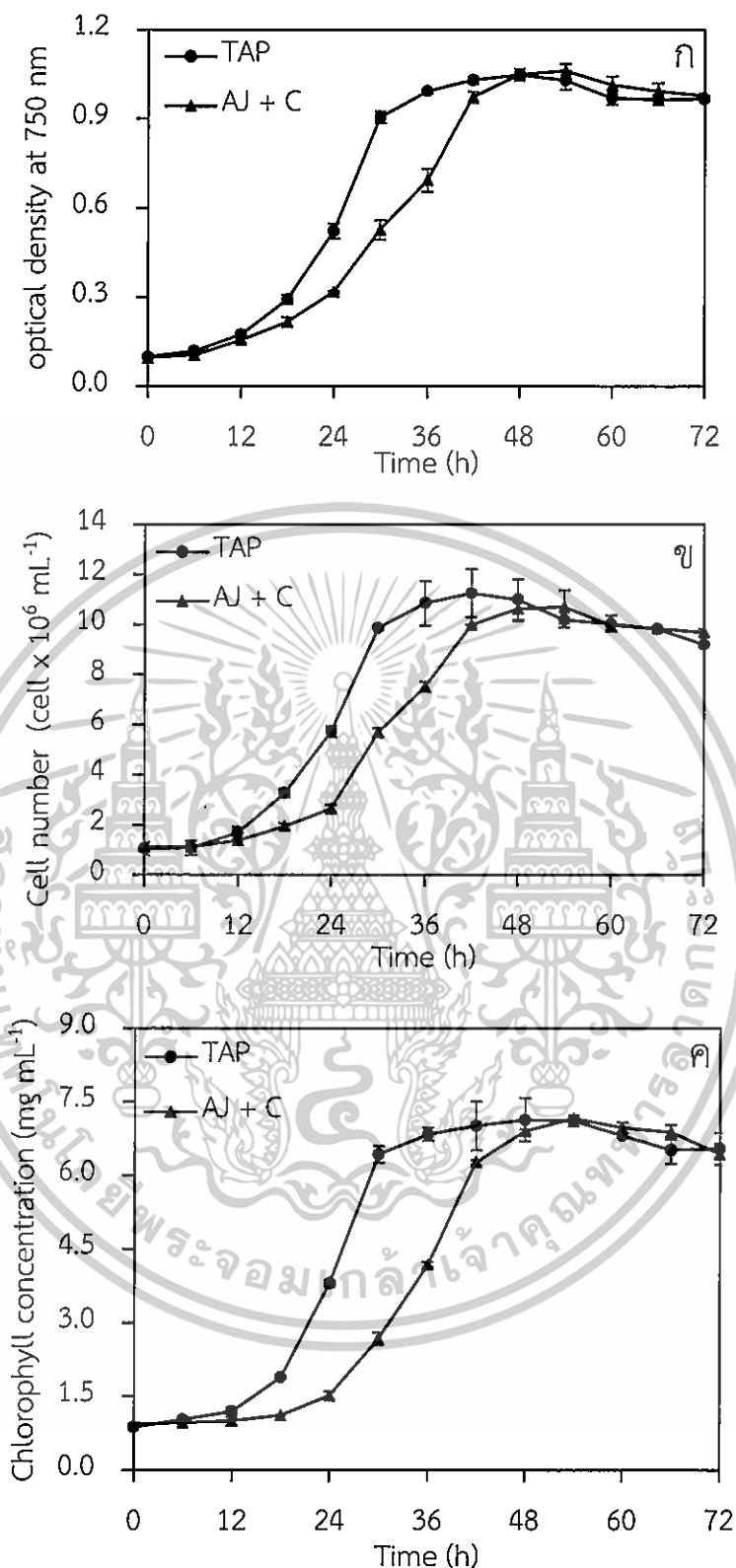


รูปที่ 4.4 การเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ก) จำนวนเซลล์ (ข) ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (ค) ของสาหร่ายสีเขียว *C. reihardtii* CC-124 ที่เพาะเลี้ยงในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สมส่วนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าอาหาร TAP และน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม 3 แห่ง ที่มีการเติมกรดอะซิติคเป็นแหล่งคาร์บอนไม่วากรณใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4 ผลการปรับตัวเชื้อในน้ำเสียก่อนการเพาะเลี้ยงของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546

จากการปรับตัวเชื้อในน้ำเสียก่อนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 โดยนำสาหร่ายสีเขียวไปเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตรที่มีน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติกความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 2 วัน จากนั้น เก็บเกี่ยวเซลล์และนำไปใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติกความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์เป็นแหล่งคาร์บอน ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยมีอาหาร TAP เป็นอาหารควบคุม โดยปรับให้ค่าดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1 นำไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ บ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเซลล์ทุกๆ 6 ชั่วโมง นำไปวัดการเจริญเติบโต ผลการทดลองพบว่าสาหร่ายที่ใช้หัวเชื้อเจริญในน้ำเสีย AJ ที่เติมกรดอะซีติกมาก่อนสามารถลดระยะเวลาการปรับตัว (Lag phase) จาก 24 ชั่วโมง เหลือ 12 ชั่วโมง ทำให้เซลล์เจริญเข้าสู่ระยะการเจริญแบบทวีคูณ (Log phase) เร็วขึ้น โดยปกติในน้ำเสียสาหร่ายเจริญในช่วงทวีคูณจากช่วง 24 ชั่วโมง ถึง 60 ชั่วโมง แต่เมื่อปรับตัวเชื้อในน้ำเสียก่อนสาหร่ายจะเจริญในระยะทวีคูณในช่วง 12 ชั่วโมง ถึง 42 ชั่วโมง สาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 จะมีการเจริญเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) เร็วขึ้นเช่นกัน (รูปที่ 4.5) จากผลการทดลองที่ 4.3 พบว่า *S. obliquus* TISTR 8546 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสีย AJ ที่เติมกรดอะซีติกมีระยะเวลาปรับตัวที่นานถึง 24 ชั่วโมงเป็นเพราะการเปลี่ยนอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงซึ่งมีแร่ธาตุปริมาณและชนิดที่แตกต่างกัน จึงทำให้เกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ เช่น การกระตุ้นทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เพื่อใช้แร่ธาตุในอาหารใหม่ในการเจริญ (Roche-Mayzud และคณะ, 1991) จึงส่งผลให้ระยะเวลาการปรับตัวนานขึ้น เมื่อมีการเปลี่ยนอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การปรับตัวเชื้อด้วยการเพาะเลี้ยงในน้ำเสียมาก่อนสามารถลดระยะเวลาเจริญเติบโต เนื่องจากเซลล์สามารถปรับตัวและใช้อาหารที่มีอยู่ในน้ำเสียสำหรับการเจริญเติบโตและผลิตชีวมวล รวมทั้งสารอื่นๆ ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิต (Madigan และคณะ, 2000) แต่อย่างไรก็ตาม สาหร่ายสีเขียวที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสีย AJ ที่เติมกรดอะซีติกก็ยังมีระยะเวลาการเจริญแบบทวีคูณช้ากว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP เนื่องจากอาหาร TAP มีธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่สำคัญและเพียงพอในการเจริญของสาหร่ายสีเขียว ซึ่งในน้ำเสีย AJ แม้ว่าจะมีการเพิ่มธาตุอาหารหลัก คือ อะซีติกที่เป็นแหล่งคาร์บอน แต่ยังมีแร่ธาตุอื่นในปริมาณต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

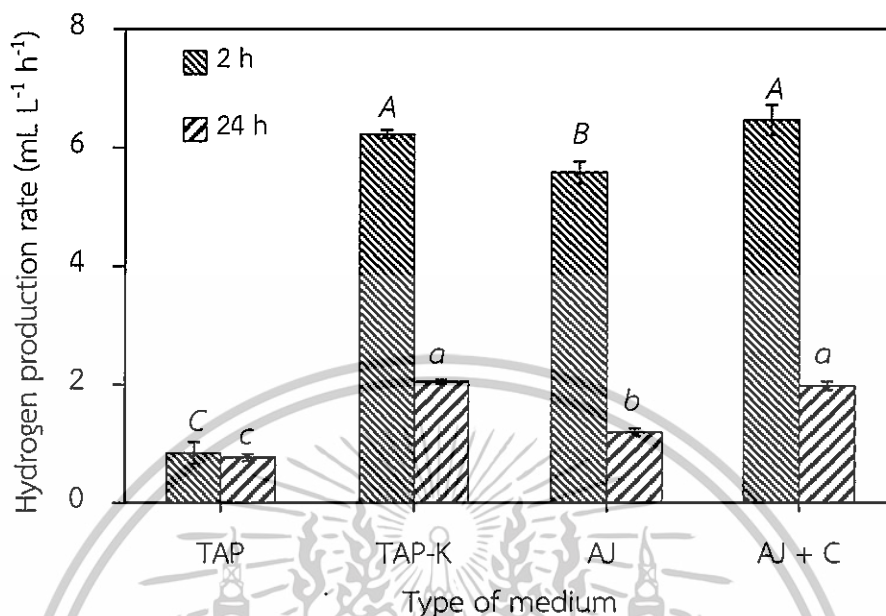


รูปที่ 4.5 การเจริญเติบโตจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ก) จำนวนเซลล์ (ข) ความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (ค) ของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR ในอาหาร TAP และน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมเครื่องปรงรส (AJ) ที่มีการเติมกรดอะซิติกความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ โดยใช้หัวเชื้อที่มีการเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP และน้ำเสียที่มีการเติมกรดอะซิติกมาก่อนไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

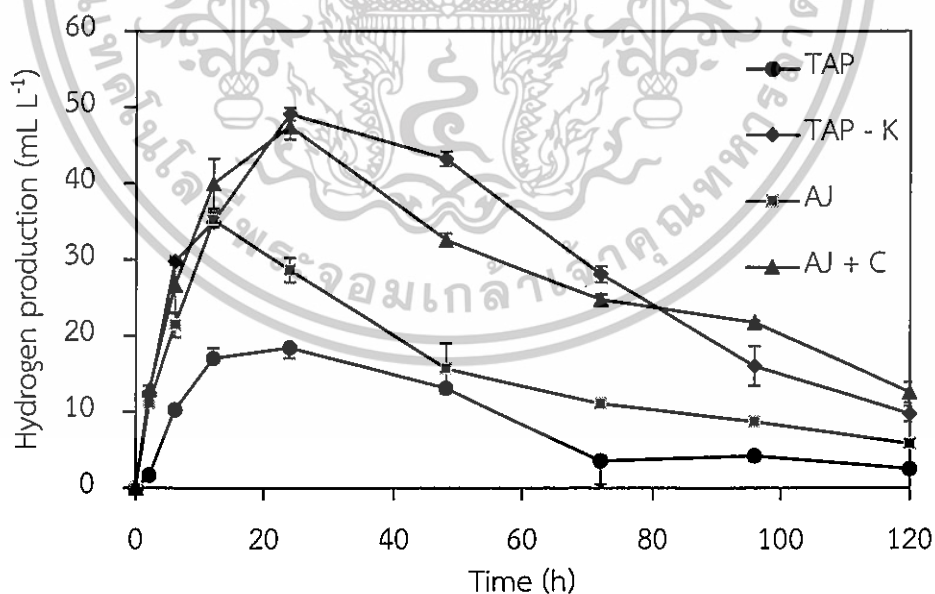
#### 4.5 ผลการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนของ *S. obliquus* TISTR 8546

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR ในอาหาร TAP และน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติกความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์เป็นแหล่งคาร์บอน จากนั้น ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP เป็นเวลา 36 ชั่วโมง ทำการล้างเซลล์และกระจายเซลล์ในอาหาร TAP และ TAP-K ส่วนสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสีย AJ เก็บเกี่ยวเซลล์เมื่อสาหร่ายเจริญเป็นเวลา 42 ชั่วโมง ล้างเซลล์และกระจายเซลล์ในน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติก และไม่มีการเติมกรดอะซีติก ปิเปตเซลล์แขวนลอยที่กระจายในอาหาร 4 ชนิด ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในขวด Vial ปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร แล้วทำการพ่นก๊าซอาร์กอนเป็นเวลา 10 นาที เพื่อไล่อากาศ นำไปบ่มสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ และเก็บแก๊สส่วนบน (Headspace) ในขวด Vial ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ไปวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ จากการทดลองพบว่าสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 มีอัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 2 เมื่อบ่มในอาหาร TAP-K และ ในน้ำเสีย AJ ที่เติมกรดอะซีติก โดยมีอัตราการผลิตไฮโดรเจนเท่ากับ  $6.2 \pm 0.07$  และ  $6.5 \pm 0.25$  มิลลิลิตรต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ สาหร่ายที่บ่มในน้ำเสีย AJ ที่ไม่เติมแหล่งคาร์บอนมีอัตราการผลิตไฮโดรเจนรองลงคือ  $5.58 \pm 0.19$  มิลลิลิตรต่อลิตรต่อชั่วโมง และสาหร่ายที่บ่มในอาหาร TAP มีอัตราการผลิตไฮโดรเจนต่ำที่สุด (รูปที่ 4.6) ในการศึกษาปริมาณไฮโดรเจนสะสมพบว่า *S. obliquus* TISTR 8546 ผลิตไฮโดรเจนสูงสุดได้เท่ากับ  $49.07 \pm 0.81$  มิลลิลิตรต่อลิตร และ  $47.44$  มิลลิลิตรต่อลิตร เมื่อบ่มเซลล์ในอาหาร TAP-K และ น้ำเสีย AJ ที่เติมกรดอะซีติกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตามลำดับ (รูปที่ 4.7) ผลการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ในปริมาณสูงเมื่อบ่มในอาหาร TAP-K สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Papazi และคณะ (2014) ที่พบว่าการผลิตไฮโดรเจนสูงขึ้นในสภาวะการขาดโพแทสเซียมในสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* โดยการขาดโพแทสเซียมส่งผลให้การทำงานของระบบแสงสองลดลง ได้ผลิตภัณฑ์จากการแตกตัวของน้ำคือ โปรตอน ( $H^+$ ) อิเล็กตรอน ( $e^-$ ) และออกซิเจนลดลง เมื่อออกซิเจนในระบบลดลงทำให้ไม่ส่งผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส เอนไซม์ไฮโดรจีเนสจึงทำงานได้มีประสิทธิภาพและผลิตไฮโดรเจนได้สูงขึ้น นอกจากนี้ น้ำเสียที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีสารอาหารไม่เพียงพอ ทำให้สาหร่ายมีการเจริญที่ช้ากว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP (รูปที่ 4.4) ทำให้สาหร่ายอยู่ในสภาวะเครียด โดยในการศึกษาของ Batista และคณะ (2015) พบว่าสาหร่ายที่ถูกเพาะเลี้ยงในสภาวะเครียดจะมีการสะสมแป้งในปริมาณมาก เมื่อมีการสลายแป้งในกระบวนการผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมัก แป้งจึงเป็นแหล่งอิเล็กตรอนสำหรับเอนไซม์ไฮโดรจีเนสในการผลิตไฮโดรเจน ส่งผลให้มีการผลิตไฮโดรเจนในปริมาณที่สูงขึ้น ผลการผลิตไฮโดรเจนในปริมาณสูงของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 เมื่อบ่มในน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติกสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Benoit และคณะ (2010) ที่พบว่าเมื่อกรดอะซีติกที่เป็นแหล่งคาร์บอนถูกย่อยสลายจะให้อิเล็กตรอนจำนวนมาก และส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ไฮโดรจีเนสในการผลิตไฮโดรเจน ด้วยเหตุนี้ สาหร่ายสีเขียวที่บ่มในน้ำเสีย AJ ที่มีการเติม

กรดอะซิติกจึงมีแหล่งอิเล็กตรอนมากกว่า ทำให้ผลิตไฮโดรเจนได้สูงกว่าสายร่ายสีเขียวที่บ่มในน้ำเสี้ยว AJ ที่ไม่มีการเติมกรดอะซิติก



รูปที่ 4.6 อัตราการผลิตไฮโดรเจนของสายร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ที่บ่มในอาหาร TAP อาหาร TAP-K น้ำเสี้ยว AJ และน้ำเสี้ยว AJ ที่มีการเติมกรดอะซิติกความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ ที่ชั่วโมงที่ 2 และ 24



รูปที่ 4.7 ปริมาณไฮโดรเจนสะสมของสายร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ที่บ่มในอาหาร TAP อาหาร TAP-K น้ำเสี้ยว AJ และน้ำเสี้ยว AJ ที่มีการเติมกรดอะซิติกความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC-124 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร 3 แหล่งคือ น้ำเสียอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อ (NP) น้ำเสียอุตสาหกรรมเครื่องปรุงรส (AJ) และน้ำเสียอุตสาหกรรมครีมเทียมและนมข้น (FN) สรุปได้ดังนี้

1) น้ำเสียภายหลังการเพาะเลี้ยง *S. obliquus* TISTR 8546 มีปริมาณ BOD ลดลงสูงสุด 87.78 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อ (NP) และมีปริมาณ COD ลดลงสูงสุด 69.96 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียอุตสาหกรรมเครื่องปรุงรส (AJ) ส่วนน้ำเสียภายหลังการเพาะเลี้ยง *C. reinhardtii* CC-124 มีปริมาณ BOD และ COD ลดลงสูงสุด 74.13 และ 33.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียอุตสาหกรรมเครื่องปรุงรส (AJ)

2) จากการศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC-124 ในน้ำเสียอุตสาหกรรมทั้ง 3 แหล่ง สรุปว่าสาหร่ายสีเขียวทั้ง 2 ชนิดไม่สามารถเจริญได้ในน้ำเสียอุตสาหกรรมทั้ง 3 แหล่ง

3) จากการศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 และ *C. reinhardtii* CC-124 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียอุตสาหกรรมอาหารทั้ง 3 แหล่งที่มีเติมกรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอน สรุปว่าสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 สามารถเจริญได้ในน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซิติก ความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์ แต่ยังคงมีการเจริญที่ช้ากว่าการเจริญในอาหาร TAP

4) สาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 มีอัตราการผลิตไฮโดรเจนที่สูงที่สุด เมื่อบ่มในอาหาร TAP ที่ขาดโพแทสเซียม และน้ำเสีย AJ ที่เติมกรดอะซิติกความเข้มข้น 17.4 มิลลิโมลาร์ โดยมีการผลิตไฮโดรเจนเท่ากับ 49.07 และ 47.44 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อบ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

กองจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ. 2538. มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้ง. [Online]. Available : [http://www.pcd.go.th/info\\_serv/water.html](http://www.pcd.go.th/info_serv/water.html)

ชนิษฐา หมูโสภัญ. 2553. ไบโอดีโตรเจน พลังงานทางเลือกใหม่. วารสารศูนย์วิชาการบริการ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ปีที่18. ฉบับที่ 3. หน้า 15-20.

ชัยศรี ธาราสวัสดิ์พิพัฒน์. 2553. พลังงานทดแทนกับการจัดการสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพมหานคร. มหาวิทยาลัยราชภัฏ สวนสุนันทา.

บูรณะศักดิ์ มาตหมาย. 2552. “การใช้เทคโนโลยีพลังงานชีวภาพเพื่อการจัดการพลังงานอย่างมีประสิทธิภาพ.” ส่งเสริมเทคโนโลยี. 36(9):60-67.

พระราชบัญญัติโรงงาน. 2535. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 109 ตอนที่ 44. หน้า 62.

พลกฤษณ์ คุ่มกล้า. 2559. ไบโอดีโตรเจน [online]. Available:<https://ienergyguru.com/2015/02/ไบโอดีโตรเจน>.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สหรัยวิทยา. เชียงใหม่: โชตนาพรินท์.

ลัดดา วงศ์รัตน์ 2544. แพลงก์ตอนพืช. ภาควิชาชีววิทยา คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาวตรี ไทรทับทิม. 2554. “การนำสาหร่ายที่ผลิตน้ำมันไบโอดีเซลมาบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมรีไซเคิล.” รายงานการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม. คณะพัฒนาสังคมและสิ่งแวดล้อม. สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.

ไพฑูรย์ หมายมั่นสมสุข. 2556. การวิเคราะห์น้ำเสียเบื้องต้น. กรุงเทพฯ. กรมโรงงานอุตสาหกรรม.

Afify, E.A.M.R., Elsayed, I., Gad, M.K., Mohamed, M.I. and Afify, A.E.-M.M.R.. 2018. “*Scenedesmus obliquus*: Antioxidant and antiviral activity of proteins hydrolyzed by three enzymes.” *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.01.002.

Batista, A.P., Ambrosano, L., Graça, S., Sousa, C., Marques, P., Ribeiro, B., Botrel, B.P., Neto, P.C. and Gouveia, L. 2015. “Combining urban wastewater treatment with biohydrogen production—An integrated microalgae-based approach.” *Bioresource Technology*. 184:230–235.

Benoit D., Jeremy P., Gwendoline C., Jean F.C., Guillaume, C. and Jack, L. 2010. “Investigation of the combined effects of acetate and photobioreactor

illuminated fraction in the induction of anoxia for hydrogen production by

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ การค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Chlamydomonas reinhardtii.* *International Journal of Hydrogen Energy.* 35:10741-10749.

Hamouda, R.A.,Yeheia, D.S.,Hamzah, H.A. and Hussein M.H. 2016. "Removal of heavy metals and production of bioethanol by green alga *Scenedesmus obliquus* grown in different concentrations of wastewater." *Sains Malaysiana.* 45(3):467-476.

Hallenbeck, P.C. and Benemann, J.R. 2002. "Biological hydrogen production fundamentals and limiting Processes." *International Journal of Hydrogen Energy.* 27:1185-1193.

Jeffrey, S.W. and Humphrey, G.F. 1975. "New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c*<sub>1</sub> and *c*<sub>2</sub> in higher plants, algae and natural phytoplankton." *Biochemie und physiologie der pflanzen.* 167(2):191-194.

Lee, YK and Shen, H. 2004. **Basic Culturing Techniques.** In A. Richmond (Ed.). Handbook of microalgal culture. Oxford. UK : Blackwell Science. 40-56.

Lekshmi, B., Joseph, R.S., Jose, A., Abinandan, S. and Shanthakumar, S. 2015. "Studies on reduction of inorganic pollutants from wastewater by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus abundans*." *Alexandria Engineering Journal.* 54:1291-1296.

Levin, D.B., Pitt, L. and Love, M. 2004. "Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application." *International Journal of Hydrogen Energy.* 29:173-185.

Kaplan, D., Richmond, A.E., Dubinsky, Z. and Aaronson, S. 1986. Algal nutrition. In: A Richmond. (Ed.) Handbook of Microalgal Mass Culture. CRC Press :Boca Raton. 147-198.

Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J. 2000. **Brock biology of microorganisms.** Upper Saddle River. NJ : Pearson Prentice Hall.

Melis, A., Zhang, L., Forestier, M., Ghirardi, M. and Seibert, M.C. 2000. "Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*." *Plant Physiology.* 122:127-135.

Msanne, J., Xu, D., Konda, A.R., Casas-Mollano, J.A., Awada, T., Cahoon, E.B. and Cerutti, H., 2012. "Metabolic and gene expression changes triggered by nitrogen

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
 ไม่ว่าการณีใดๆ พงษ์ณ ยกทั้งนี้ ไม่มเห็นชอบสงวนเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงชื่อเอกสารที่สงวนไว้ที่มีการนำไปใช้

- Moseley, J.L., Allinger, T., Herzog, S., Hoerth, P., Wehinger, E., Merchant, S. and Hippler, M. 2002. "Adaptation to Fe-deficiency requires remodeling of the photosynthetic apparatus." *The Embo journal*. 21:6709–6720.
- Oliveira, A.C., Barata, A., Batista, A.P. and Gouveia, L. 2018. "Scenedesmus obliquus in poultry wastewater bioremediation." *Journal of Environ Technol*. doi:10.1080/09593330.2018.1488003.
- Ooshima, H., Takakuwa, S., Katsuda, T., Okuda, M., Shirasawa, T., Azuma, A., Kato, J. 1998. "Production of hydrogen by a hydrogenase-deficient mutant of *Rhodobacter capsulatus*." *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 85:470-475.
- Papazi, A., Gjindali, A.I., Kastanaki, E., Assimakopoulos, K., Stamatakis, K. and Kotzabasis, K. 2014. "Potassium deficiency, a "smart" cellular switch for sustained high yield hydrogen production by the green alga *Scenedesmus obliquus*." *international journal of hydrogen energy*. 39:19452-19464.
- Rochaix, J.-D. 1995. "*Chlamydomonas reinhardtii* as the photosynthetic yeast." *Annual Review of Genetics*. 29:209-30.
- Roche-Mayzaud, O., Mayzaud, P. and Biggs, D.C. 1991. "Medium-term acclimation of feeding and of digestive and metabolic enzyme activity in the neritic copepod *Acartia clausi*.I. Evidence from laboratory experiments." *Marine ecology progress series*. 69:25-40
- Shen, Q.-H., Gong, Y.-P., Fang, W.-Z., Bi, Z.-C., Cheng, L.-H., Xu, X.-H. and Chen, H.-L. 2015. "Effect of carbon source on biomass growth and nutrients removal of *Scenedesmus obliquus* for wastewater advanced treatment and lipid production." *Journal of Bioresource Technol*. 190:257-263.
- Sawyer, C.N., McCarty, P.L. and Parkin, G.F. 2003. *Chemistry for Environmental and Engineering Science*. Suzanne Jeans. McGraw-Hill Education.
- Voltolina, D., Cordero, B., Nieves, M.y. and Soto, PL. 1999. "Growth of *Scenedesmus* sp. in artificial wastewater." *Journal of Bioresource Technology*. 68(3):265-268.
- Zayadan, B.K., Gaballah, M.M. and Saleh, MM. 2014. "Bioremediation of al-sayadin lagoon polluted water using wild and mutant stain of microalgae." *African Journal of Microbiology Research*. 8(26):2522-2533.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก

### ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Tris acetate phosphate medium (TAP)

อาหาร TAP 1 ลิตร ประกอบด้วย

2X Filner's Beijernicks Solution	5	มิลลิลิตร
1M Potassium Phosphate	1	มิลลิลิตร
Trace mineral solution	5	มิลลิลิตร
Tris Base	2.42	กรัม
Glacial Acetic Acid (17.4 mM Acetic)	1	มิลลิลิตร

(ปรับพีเอชเป็น 7.2)

ส่วนประกอบ 2X Filner's Beijernick Solution (500 มิลลิลิตร)

แอมโมเนียมคลอไรด์ ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )	8	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ไฮเดรต ( $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )	1	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	2	กรัม

เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตรแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

ส่วนประกอบ Trace mineral solution (500 มิลลิลิตร)

ประกอบด้วยสารละลาย  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  5 กรัม ในน้ำ 400 มิลลิลิตร ให้ความร้อนและคน ปรับพีเอช 6.5 ด้วย 5 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์ เติมสารด้านล่างเพิ่มตามลำดับ

เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.5	กรัม
ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	2.2	กรัม
กรดบอริก ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	1.14	กรัม
แมงกานีสคลอไรด์เตตระไฮเดรต ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	0.51	กรัม
คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	0.016	กรัม
โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ( $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.073	กรัม
โคบอลต์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	0.016	กรัม

ปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สารละลายจะมีสีเหลืองเขียวเปลี่ยนเป็นสีม่วง หลังจากนั้นเติมสารตามด้านล่าง ตามลำดับ

20 ml 1M Stock โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (1M stock 6.8 กรัม/50 มิลลิลิตร)

30 ml 1M Stock ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) (1M stock 8.7 กรัม/50 มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับควรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า (ปรับพีเอช 7.2) สำหรับอาหารแข็งให้เติมวุ้น 1.5 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหาร

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### วิธีคำนวณการผลิตไฮโดรเจน

1. นำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการทดลองมาหาค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนในหน่วยของไฮโดรเจนในหน่วยร้อยละ จากกราฟมาตรฐาน
2. นำค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนในหน่วยร้อยละมาเปรียบเทียบเป็นปริมาณไฮโดรเจนในหน่วยมิลลิลิตร
3. นำปริมาณไฮโดรเจนที่ได้มาหารจำนวนชั่วโมงจะได้ ปริมาณไฮโดรเจนต่อชั่วโมง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ Chemical oxygen demand (COD)

1.) สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ความเข้มข้น 0.0167 โมลาร์

ซึ่งสารมาตรฐานปฐมภูมิ (Primary standard) โพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate) หนัก 4.913 กรัม ที่อบในเตาอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator) ใส่ลงไปในน้ำกลั่นประมาณ 500 มิลลิลิตร ค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 167 มิลลิลิตร คนให้ละลายและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.) กรดซัลฟิวริกเอเจนท์ (Sulfuric acid reagent)

3.) สารละลายเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์

4.) สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Standard ferrous ammonium sulfate solution) เข้มข้น 0.25 โมลาร์

ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต  $[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$  39.2 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 500 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร คนให้ละลาย ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร สารละลายนี้ต้องหาความเข้มข้นทุกครั้งก่อนนำมาใช้

วิธีการหาความเข้มข้นของเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ferrous ammonium sulfate) เติมสารเคมีดัง ตารางที่ ค-1 ตามขนาดของภาชนะย่อยสลาย แต่ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างน้ำ ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วไทเทรตด้วยเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ใช้เฟอร์โรอินเป็นอินดิเคเตอร์ ประมาณ 1-2 หยด ไทเทรตจนถึงจุดยุติสีจะเปลี่ยนจากฟ้าอมเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) คำนวณได้จากสมการ

$$M_f = (6V_p M_p) / V_f$$

เมื่อ  $M_f$  = ความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต มีหน่วยเป็นโมลาร์

$V_f$  = ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

$V_p$  = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตที่ใช้ มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

$M_p$  = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต มีหน่วยเป็นโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การวิเคราะห์ Chemical oxygen demand (COD)

1.) ล้างหลอดย่อยสลาย (Digestion tube) และฝาจุกด้วยกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 20 ก่อนนำไปใช้ เพื่อป้องกัน การปนเปื้อนด้วยสารอินทรีย์

2.) เลือกใช้ปริมาตรของตัวอย่างน้ำและสารเคมีที่เหมาะสม ตามตารางที่ ค-1 ในกรณีที่ใช้น้ำย่าย่อยสลายสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate digestion solution) ความเข้มข้น 0.0167 โมลาร์ ค่าซีโอดีของตัวอย่างน้ำควรอยู่ระหว่าง 50-400 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร ถ้าตัวอย่างน้ำมีค่าซีโอดีมากกว่านี้จะต้องทำการเจือจางตัวอย่างน้ำนั้นก่อน เพื่อให้ตัวอย่างน้ำที่เจือจางแล้วมีซีโอดีอยู่ในช่วงของการวิเคราะห์

3.) นำตัวอย่างน้ำมาใส่หลอดย่อยสลายที่เตรียมไว้ และเติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต

4.) เติมกรดซัลฟิวริกที่เจือจางลงไปให้หมดโดยให้กรดซัลฟิวริกที่เจือจางไหลลงก้นหลอดแก้ว เพื่อให้ชั้นของกรดอยู่ใต้ชั้นตัวอย่างน้ำและน้ำย่าย่อยสลาย

5.) ปิดจุกหลอดแก้วให้แน่น ผสมให้เข้ากัน

6.) นำหลอดทดลองใส่เตาอบ (Hot Air Oven) ที่มีอุณหภูมิ  $150 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็น

7.) เปิดฝาจุก เติมเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์ 1 หรือ 2 หยด นำไปไทเทรตด้วย 0.1 โมลาร์ เพอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต จนถึงจุดยุติคือสารละลายจะเปลี่ยนสีจากฟ้าอมเขียว เป็นน้ำตาลแดง

8.) ทำแบลนด์ด้วยวิธีทำเช่นเดียวกันแต่ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างน้ำ

9.) นำค่าที่ได้จากการไทเทรตมาคำนวณในสมการที่ ค

ตารางที่ ค-1 ปริมาณตัวอย่างและรีเอเจนต์ที่ใช้สำหรับขนาดต่างๆของภาชนะที่ใช้ในการย่อยสลาย

ขนาดภาชนะย่อยสลาย	ตัวอย่างน้ำ (มิลลิลิตร)	$K_2Cr_2O_7$ (มิลลิลิตร)	$H_2SO_4$ (มิลลิลิตร)	ปริมาตรทั้งหมด (มิลลิลิตร)
ขนาดหลอดย่อยสลาย				
16 x 100 มิลลิเมตร	2.5	1.5	3.5	7.5
20 x 150 มิลลิเมตร	5.0	3.0	7.0	15.0
25 x 150 มิลลิเมตร	10.0	6.0	14.0	30.0
แอมพลูมาตรฐาน				
10 มิลลิเมตร	2.5	1.5	3.5	7.5

ที่มา : ไพฑูรย์ หมายถึง สมสุข, กรมโรงงานอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณหาซีโอดี

$$\text{COD} = (A-B)(8000M)/C$$

สมการที่ ค

เมื่อกำหนดให้

COD = ค่าซีโอดี มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร

A = ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรทแบลงค์ มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

B = ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

M = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต มีหน่วยเป็นโมลาร์

C = ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง

### สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ Biochemical oxygen demand (BOD)

- 1.) น้ำกลั่น (Distilled water : DW)
- 2.) สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulfate solution)

ละลายแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (Magnesium sulfate heptahydrate;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) หนัก 22.5 กรัมในน้ำกลั่น จากนั้น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

- 3.) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer)

ละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate;  $KH_2PO_4$ ) หนัก 8.5 กรัม ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Dipotassium hydrogen phosphate;  $K_2HPO_4$ ) หนัก 21.75 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรต (Disodium hydrogen phosphate heptahydrate;  $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ ) หนัก 33.4 กรัม และแอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride;  $NH_4Cl$ ) หนัก 1.7 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จากนั้น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะมีค่าพีเอช เท่ากับ 7.2

- 4.) สารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ละลายแอนไฮดรัสแคลเซียมคลอไรด์ (Anhydrous calcium chloride;  $CaCl_2$ ) หนัก 27.5 กรัมในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

- 5.) สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride solution)

ละลายไอร์รอน (III) คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต (Ferric chloride hexahydrate;  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ) 0.25 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 มิลลิลิตร

- 6.) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล

- 7.) กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

### การวิเคราะห์ Biochemical oxygen demand (BOD)

- 1.) การเตรียมน้ำที่ใช้ในการเจือจาง

1.1.) นำน้ำกลั่นที่ปราศจากสารมีพิษ มาปรับอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง  $20 \pm 1$  องศาเซลเซียส

1.2.) ปรับคุณภาพให้เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์โดยเติมสารละลายฟอสเฟต

บัฟเฟอร์ แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์และไอร์รอน (III) คลอไรด์ ชนิดละ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร

1.3.) เติมอากาศให้มีออกซิเจนละลายอิ่มตัว

- 2.) การเตรียมตัวอย่างน้ำที่จะวิเคราะห์

2.1.) ปรับพีเอชตัวอย่างน้ำให้อยู่ระหว่าง 6.5-8.5 ด้วยกรดซัลฟิวริก หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.) ถ้าตัวอย่างที่มีออกซิเจนละลายอิ่มตัวด้วยด่าง หรือตัวอย่างจากแหล่งน้ำที่มีแพลงก์ตอนพืช ชุกชุมอาจมีออกซิเจนละลายสูงกว่าจุดอิ่มตัว ควรทำการเจือจางก่อนนำไปทดลอง

### 3.) วิธีการเจือจาง

3.1.) เลือกสัดส่วนในการทำเจือจางที่คาดว่าจะให้ค่าบีโอดีอยู่ในช่วงที่กำหนดแล้ว จึงเลือก เเปอร์เซ็นต์ที่สูงกว่าและต่ำกว่าที่อยู่ติดกันตามตารางที่ ง-1

3.2.) เตรียมขวดบีโอดีตัวอย่างละ 2 ชุด ชุดที่ 1 สำหรับการวิเคราะห์หาบีโอดีเริ่มต้น ( $DO_0$ ) และ ชุดที่ 2 สำหรับตัวอย่างที่ใช้บ่มในตู้บีโอดีที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ( $DO_5$ )

3.3.) รินน้ำสำหรับเจือจางประมาณ 300-500 มิลลิลิตร ลงในกระบอกตวงขนาด 1 ลิตร

3.4.) เติมตัวอย่างน้ำตามจำนวนที่ต้องการ (ตัวอย่างน้ำควรมีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง และผสมกันดีก่อนนำมาเจือจาง แล้วเติมน้ำเจือจางจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

3.5.) ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน อย่าให้มีฟองอากาศ

3.6.) ถ่ายน้ำจากกระบอกตวงลงสู่ขวดบีโอดีด้วยวิธีกลักน้ำ (ปล่อยน้ำในช่วงแรกทิ้งอย่างน้อย 50 มิลลิลิตร) ปิดจุกและนำฝาครอบจุกเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำแห้ง นำไปบ่มในตู้บีโอดีที่ 20 องศาเซลเซียส ส่วนขวดอีกชุดหนึ่งนำไปวิเคราะห์หาออกซิเจนละลายทันที เป็นค่าออกซิเจนละลายที่จุดเริ่มต้น ( $DO_0$ )

3.7.) นำค่าที่ได้มาคำนวณสมการที่ ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-1 การเลือกเจือจางตัวอย่างน้ำให้เหมาะสมในการหาค่าบีโอดี

Using percent mixtures	
% Dilution	Range of BOD mgO <sub>2</sub> L-1
0.01	50,000 – 70,000
0.02	10,000 – 35,000
0.05	4,000 – 14,000
0.1	2,000 – 7,000
0.2	1,000 – 3,500
0.5	400 – 1,400
1.0	200 – 700
2.0	100 - 350
5.0	40 – 140
10.0	20 – 70
20.0	10 - 35
50.0	4 - 14
100.	0 – 7

ที่มา : Sawyer และคณะ (2003)

การคำนวณหาค่าบีโอดี

$$BOD = (DO_0 - DO_5) / \text{อัตราเจือจางการเจือจาง สมการที่ ง}$$

เมื่อ BOD = ค่าบีโอดี หน่วยเป็นมิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร

DO<sub>0</sub> = ปริมาณออกซิเจนละลายที่ไตเตรทได้ในวันแรก มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร

DO<sub>5</sub> = ปริมาณออกซิเจนละลายที่ไตเตรทได้ในวันที่ 5 มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ

ตารางที่ จ-1 ค่าข้อมูลทางสถิติของอัตราการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ที่ชั่วโมงที่ 2 เมื่อป้อนในอาหาร TAP, TAP-K, น้ำเสีย AJ และน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติก ความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์

Medium	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min.	Max.
					Lower Bound	Upper Bound		
TAP	3	0.844	0.184	0.106	0.386	1.302	0.64	1.00
TAP -K	3	6.213	0.056	0.032	6.074	6.352	6.18	6.28
AJ	3	5.580	0.187	0.108	5.114	6.046	5.36	5.70
AJ + C	3	6.464	0.254	0.146	5.834	7.095	6.29	6.76
Total	12	4.775	2.399	0.692	3.251	6.300	0.64	6.76

ตารางที่ จ-2 ค่าข้อมูลทางสถิติของอัตราการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ที่ชั่วโมงที่ 24 เมื่อป้อนในอาหาร TAP, TAP-K, น้ำเสีย AJ และน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติก ความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์

Medium	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min.	Max.
					Lower Bound	Upper Bound		
TAP	3	0.766	0.056	0.032	0.627	0.904	0.70	0.80
TAP -K	3	2.045	0.034	0.019	1.959	2.129	2.02	2.08
AJ	3	1.191	0.066	0.038	1.026	1.356	1.12	1.25
AJ + C	3	1.960	0.057	0.033	1.818	2.102	1.93	2.03
Total	12	1.490	0.560	0.161	1.134	1.846	0.70	2.08

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-3 ค่าข้อมูลทางสถิติของอัตราการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ที่ชั่วโมงที่ 2 เมื่อป้อนในอาหาร TAP, TAP -K, น้ำเสีย AJ และน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติก ความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์

medium	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
TAP	3	.844		
AJ	3		5.580	
AJ + C	3			6.213
TAP -K	3			6.464
Sig.		1.000	1.000	0.134

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-4 ค่าข้อมูลทางสถิติ ของอัตราการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว *S. obliquus* TISTR 8546 ที่ชั่วโมงที่ 24 เมื่อป้อนในอาหาร TAP, TAP-K, น้ำเสีย AJ และน้ำเสีย AJ ที่มีการเติมกรดอะซีติก ความเข้มข้นสุดท้าย 17.4 มิลลิโมลาร์

medium	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
TAP	3	0.766		
AJ	3		1.191	
AJ + C	3			1.960
TAP -K	3			2.045
Sig.		1.000	1.000	0.094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้