การเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กด้วยวิธีการตกตะกอนทางเคมี

HARVESTING OF MICROALGAE BY CHEMICAL FLOCCULATION

ปิยากร สุวรรณบูรณ์
พิมพ์ลภัส มหาโกลากุล

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

HARVESTING OF MICROALGAE
BY CHEMICAL FLOCCULATION

PIYAKORN SUWANBOON
PIMLAPAT MAHAKOLAKUL

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2023

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กด้วยวิธีการตกตะกอนทางเคมี Harvesting of microalgae by chemical flocculation
ชื่อนักศึกษา	นางสาวปิยากร สุวรรณบูรณ์ รหัสนักศึกษา 63050501 นางสาวพิมพ์ลภัส มหาโกลากุล รหัสนักศึกษา 63050509
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2566

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.กานต์ วงศาริยะ กรรมการ	
รศ.ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ กรรมการ และอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กด้วยวิธีการตกตะกอนทางเคมี
ชื่อนักศึกษา นางสาวปิยากร สุวรรณบูรณ์ รหัสนักศึกษา 63050501
นางสาวพิมพ์ลภัส มหาโกลากุล รหัสนักศึกษา 63050509
ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา ชีววิทยา
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา 2566
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเก็บเกี่ยวชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยวิธีการตกตะกอนทางเคมี โดยทดสอบประสิทธิภาพในการตกตะกอนของสารเร่งตกตะกอน 5 ชนิด (อะลูมิเนียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ เฟอร์ริกคลอไรด์ โพลีไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ และซิงค์ซัลเฟต) ผลการทดลองพบว่า 3 ใน 5 สาร มีประสิทธิภาพในการตกตะกอนสาหร่ายได้ดี เมื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตกตะกอนพบว่าอะลูมิเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3$) ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อใช้เก็บเกี่ยว *Tetraspora* sp. CU2551 โดยมี $t_{0.5}$ เท่ากับ 2.86 นาที ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$) ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc59 และสาหร่ายรหัส G4 โดยมี $t_{0.5}$ เท่ากับ 1.74 และ1.61 นาที ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc61 โดยมี $t_{0.5}$ เท่ากับ 5.02 นาที ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกับการหาปริมาณไอออนที่หลงเหลือในสารแขวนลอยโดยใช้เทคนิค ICP-OES เป็นที่ยืนยันว่าการตกตะกอนของสาหร่ายเกิดจากการจับกันระหว่างประจุบวกของสารเคมี (Al^{3+} Ca^{2+} Zn^{2+}) กับประจุลบบนพื้นผิวของสาหร่ายจริง เมื่อทดสอบการมีชีวิตของเซลล์สาหร่ายหลังตกตะกอน โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างหรือโครงสร้างของเซลล์สาหร่าย และพบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติหลังจากตกตะกอน

คำสำคัญ : สาหร่ายขนาดเล็ก การเก็บเกี่ยวสาหร่าย การตกตะกอนทางเคมี สารเร่งตกตะกอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Harvesting of microalgae by chemical flocculation
Students	Miss Piyakorn Suwanboon Student ID 63050501
	Miss Pimlapat Mahakolakul Student ID 63050509
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2023
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Cherdsak Maneeruttanarungroj

Abstract

This research studied the harvesting of microalgae biomass using chemical flocculation. Five chemical flocculants (Aluminum sulfate, Calcium chloride, Ferric chloride, Poly (diallyldimethylammonium chloride, and Zinc sulfate) were tested for efficiency to flocculate microalgae. The results showed that three of five flocculants tested could flocculate microalgae. The optimum concentration for flocculation of aluminum sulfate ($Al_2(SO_4)_3$) at a concentration of 5 mM was found to have the best efficiency for harvesting *Tetraspora* sp. CU2551 with a $t_{0.5}$ of 2.86 minutes. Zinc sulfate ($ZnSO_4$) at a concentration of 5 mM had the best efficiency when used to harvest *Chlorella* sp. KLSc59 and G4 with $t_{0.5}$ of 1.74 and 1.61 minutes, respectively, and at a concentration of 25 mM, it had the best efficiency for harvesting *Chlorella* sp. KLSc61 with $t_{0.5}$ of 5.02 minutes. The results were consistent to determine trace elements in the suspension of algae using the ICP-OES technique. It was confirmed that flocculation of algae occurs due to charge neutralization and electrostatic bridging between the surface charge of the negatively charged microalgal cells and cationic flocculants (Al^{3+}, Ca^{2+}, and Zn^{2+}), resulting in floc formation and subsequent sedimentation. Furthermore, examination of the viability of the algae cell post-flocculation under a microscope reveals no changes in cell morphology or structure, and the growth curve showed that the algae could still grow normally.

Keywords : Microalgae, Microalgae harvesting, Chemical flocculation, Flocculants

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือ และความกรุณาจากหลาย ๆ ท่าน ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่คอยถ่ายทอดความรู้ เสนอแนะแนวทางในการทำโครงงานพิเศษ และให้ความกรุณาในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์สารเคมี รวมถึงช่วยแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในการทำโครงงานพิเศษนี้ ทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี และ นายศรัณย์ สมบัติจิราภรณ์ ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่อง ICP-OES สารเคมี และ เครื่องแก้ว ตลอดจนเอื้อเฟื้อสถานที่ทำการวิจัย ที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

ขอขอบพระคุณ นางสาวรชณีกร กลิ่นสาลี นักศึกษาปริญญาเอก สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ให้ความช่วยเหลือ และให้คำปรึกษาในหลาย ๆ ด้านทำให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณบุคคลในครอบครัวทุกคน ที่คอยอบรมสั่งสอน และคอยให้กำลังใจเสมอมา รวมถึงขอขอบพระคุณคณาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่มอบความรู้ให้ และที่สำคัญคือเพื่อน ๆ พี่ ๆ ในห้องปฏิบัติการทุกท่านที่คอยให้คำแนะนำ คอยช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจให้กันเสมอ ผู้จัดทำขอขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

สุดท้ายนี้หากโครงงานพิเศษฉบับนี้มีคุณค่าหรือความดีใด ๆ ผู้จัดทำขอยกความดีให้แก่ผู้มีพระคุณดังที่ได้กล่าวมา แต่หากมีความผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำขอกราบขออภัย และพร้อมน้อมรับคำติ และคำแนะนำไว้ ณ ที่นี้

ปิยากร สุวรรณบูรณ์
พิมพ์ลภัส มหาโกลากุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ซ
คำย่อและสัญลักษณ์ ..... ฎ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 3
1.3 ขอบเขต 3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
บทที่ 2 ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) 4
2.1.1 ส่วนประกอบสาหร่าย 4
2.1.2 สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) 6
2.1.3 สาหร่าย *Micractinium* (*Micractinium* sp.) 6
2.1.4 สาหร่าย *Tetraspora* (*Tetraspora* sp.) 7
2.1.5 ความสำคัญของสาหร่าย 8
2.1.6 ลักษณะพื้นผิวของสาหร่ายขนาดเล็ก 9
2.2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย 10
2.2.1 ระยะปรับตัว (Lag Phase) 10
2.2.2 ระยะเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential Phase) 11
2.2.3 ระยะเฉื่อย (Declining Phase) 11
2.2.4 ระยะคงที่ (Stationary Phase) 11
2.2.5 ระยะตาย (Dath Phase) 11
2.3 การเก็บเกี่ยวสาหร่าย 12
2.3.1 การใช้วิธีทางกล (Mechanical) 12
2.3.2 การใช้วิธีทางชีววิทยา (Biological) 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 การใช้วิธีทางไฟฟ้า (Electrical) 13
2.3.4 การใช้วิธีทางเคมี (Chemical) 13
2.4 กระบวนการโคแอกกูเลชั่นหรือฟล๊อคคูเลชั่นโดยการเติมสารเคมี (Coagulation/Flocculation) 14
2.4.1 สารเคมีที่ใช้ในการตกตะกอน 15
2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างตะกอน 16
2.5 LD_{50} (Lethal Dose fifty) 17
2.6 เทคนิค Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) 17
2.6.1 ส่วนประกอบของ ICP-OES 18
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 20
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 25
3.1 สารเคมี 25
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย 26
3.3 รายการสาหร่าย 27
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย 27
3.5 ยาปฏิชีวนะที่ใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย 27
3.6 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย 27
3.7 การเตรียมสารเคมี 28
3.8 ทดสอบการตกตะกอน 28
3.8.1 ศึกษาชนิดของสารเคมีที่ใช้ในการตกตะกอนสาหร่าย 28
3.8.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารเร่งตกตะกอนที่เหมาะสมต่อการตกตะกอนสาหร่าย 28
3.9 ทดสอบการมีชีวิตของเซลล์สาหร่ายหลังตกตะกอน 29
3.9.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์สาหร่าย 29
3.9.2 การวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วยการวัดค่าความขุ่น 30
3.10 วิเคราะห์หาปริมาณไอออนด้วยเทคนิค ICP-OES 30
3.10.1 การเตรียมสารมาตฐาน 30
3.10.2 การเตรียมชุดควบคุม 30
3.10.3 การเตรียมตัวอย่าง 31
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 32
4.1 ผลการศึกษาชนิดของสารเคมีที่ใช้ในการตกตะกอนสาหร่าย 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาชนิดของสารเร่งตกตะกอนและความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการตกตะกอน 35
4.3 ผลการทดสอบการมีชีวิตของเซลล์สาหร่ายหลังตกตะกอน 39
4.3.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์สาหร่าย 39
4.3.2 ผลการวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย 41
4.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไอออนด้วยเทคนิค ICP-OES 42
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 46
5.1 สรุปผลการวิจัย 46
5.2 ข้อเสนอแนะ 47
เอกสารอ้างอิง 48
ภาคผนวก 54
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี 55
ภาคผนวก ข การศึกษาความเข้มข้นและชนิดของสารเร่งตกตะกอน 57
ภาคผนวก ค การตกตะกอนของสาหร่าย 64
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ปริมาณไอออนด้วยเทคนิค ICP-OES 66
ภาคผนวก จ ตาราง LD_{50} (Lethal Dose fifty) 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 2.1 ระดับความรุนแรงจากพิษของสารเคมีแต่ละระดับ 17
ตารางที่ 2.2 การเปรียบเทียบสารตกตะกอนสำหรับการเก็บเกี่ยวสาหร่าย 20
ตารางที่ 3.1 แสดงค่าความเข้มข้นของสารเร่งตกตะกอน ปริมาตรของสารเคมีที่ต้องใช้จากสต็อคเข้มข้น 110 มิลลิโมลาร์ (มิลลิลิตร) และปริมาตรของสารแขวนลอยสาหร่าย (มิลลิลิตร)..... 29
ตารางที่ ก-1 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Tris acetate phosphate medium (TAP) 55
ตารางที่ ง-1 ค่าความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียม 66
ตารางที่ ง-2 ค่าความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานซิงค์..... 67
ตารางที่ จ-1 ระดับความรุนแรงจากพิษของสารเคมี 5 ชนิดที่ใช้เป็นสารเร่งตกตะกอน 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

รูปที่ 2.1 ลักษณะสัณฐานของเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. 6

รูปที่ 2.2 ลักษณะสัณฐานของเซลล์สาหร่าย *Micractinium* sp. 7

รูปที่ 2.3 ลักษณะสัณฐานของเซลล์สาหร่าย *Tetraspora* sp. 7

รูปที่ 2.4 เซลล์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีประจุลบล้อมรอบด้วยไอออนประจุไฟฟ้าสองชั้น 10

รูปที่ 2.5 ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย 11

รูปที่ 2.6 กลไกของการตกตะกอน 14

รูปที่ 2.7 องค์ประกอบของเครื่อง ICP-OES 18

รูปที่ 2.8 การผ่านแก๊สอาร์กอนใน Plasma Torch 19

รูปที่ 3.1 ภาพรวมการดำเนินงานเพื่อหาสารเร่งตกตะกอนที่ดีที่สุดสำหรับการเก็บเกี่ยวชีวมวลของสาหร่าย 25

รูปที่ 4.1 ความสามารถในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc59 ของสารเร่งตกตะกอน 5 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ PDADMAC และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร 33

รูปที่ 4.2 ความสามารถในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc61 ของสารเร่งตกตะกอน 5 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ PDADMAC และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร 34

รูปที่ 4.3 ความสามารถในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยวสาหร่ายรหัส G4 ของสารเร่งตกตะกอน 5 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ PDADMAC และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร 34

รูปที่ 4.4 ความสามารถในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Tetraspora* sp. CU2551 ของสารเร่งตกตะกอน 5 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ PDADMAC และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร 35

รูปที่ 4.5 วงกลมสีแดงแสดงเวลา $t_{0.5}$ ในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc59 ของสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 25 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.6 วงกลมสีแดงแสดงเวลา $t_{0.5}$ ในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc61 ของสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 25 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร 37

รูปที่ 4.7 วงสีแดงแสดงเวลา $t_{0.5}$ ในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยวสาหร่ายรหัส G4 ของสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 25 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร 38

รูปที่ 4.8 วงกลมสีแดงแสดงเวลา $t_{0.5}$ ในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Tetraspora* sp. CU2551 ของสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 25 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร 38

รูปที่ 4.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 สายพันธุ์ 40

รูปที่ 4.10 การเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 สายพันธุ์ 42

รูปที่ 4.11 ปริมาณซิงค์ไอออนที่พบในสารแขวนลอยหลังจากการตกตะกอนสาหร่าย *Chlorella* sp. KLSc59 ที่เวลา 0-10 นาที 43

รูปที่ 4.12 ปริมาณซิงค์ไอออนที่พบในสารแขวนลอยหลังจากการตกตะกอนสาหร่าย *Chlorella* sp. KLSc61 ที่เวลา 0-10 นาที 44

รูปที่ 4.13 ปริมาณซิงค์ไอออนที่พบในสารแขวนลอยหลังจากการตกตะกอนสาหร่ายรหัส G4 ที่เวลา 0-1 นาที 44

รูปที่ 4.14 ปริมาณอะลูมิเนียมที่พบในสารแขวนลอยหลังจากการตกตะกอนสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ที่เวลา 0-10 นาที 45

รูปที่ ข-1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $Al_2(SO_4)_3$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc59 57

รูปที่ ข-2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc59 58

รูปที่ ข-3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc59 58

รูปที่ ข-4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $Al_2(SO_4)_3$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc61 59

รูปที่ ข-5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc61 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข-6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc61 60
รูปที่ ข-7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $Al_2(SO_4)_3$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอนสาหร่ายรหัส G4 60
รูปที่ ข-8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอนสาหร่ายรหัส G4 61
รูปที่ ข-9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอนสาหร่ายรหัส G4 61
รูปที่ ข-10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $Al_2(SO_4)_3$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Tetraspora* sp. CU2551 62
รูปที่ ข-11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Tetraspora* sp. CU2551 62
รูปที่ ข-12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Tetraspora* sp. CU2551 63
รูปที่ ค-1 แสดงการตกตะกอน ของสาหร่าย *Chlorella* sp. KLSc59 โดยใช้ $ZnSO_4$ 5 mM (ฐ) ที่เวลา 0 นาที (ฑ) ที่เวลา 3 นาที และ (ฒ) ที่เวลา 30 นาที 64
รูปที่ ค-2 แสดงการตกตะกอนของสาหร่าย *Chlorella* sp. KLSc61 โดยใช้ $ZnSO_4$ 25 mM (ณ) ที่เวลา 0 นาที (ด) ที่เวลา 5 นาที และ (ต) ที่เวลา 30 นาที 64
รูปที่ ค-3 แสดงการตกตะกอนของสาหร่ายรหัส G4 โดยใช้ $ZnSO_4$ 5 mM (ถ) ที่เวลา 0 นาที (ท) ที่เวลา 3 นาที และ (ธ) ที่เวลา 30 นาที 65
รูปที่ ค-4 แสดงการตกตะกอนของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 โดยใช้ $Al_2(SO_4)_3$ 5 mM (น) ที่เวลา 0 นาที (บ) ที่เวลา 3 นาที และ (ป) ที่เวลา 30 นาที 65
รูปที่ ง-1 กราฟมาตรฐานของสารละลายอะลูมิเนียม (Al) 67
รูปที่ ง-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายซิงค์ (Zn) 68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
$Al_2(SO_4)_3$	อะลูมิเนียมซัลเฟต
$CaCl_2$	แคลเซียมคลอไรด์
$FeCl_3$	เฟอร์ริกคลอไรด์
ICP-OES	เครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุด้วยเทคนิค ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer)
KS03	*Chlorella* sp. KLSc59
mM	มิลลิโมลาร์
mg/L	มิลลิกรัมต่อลิตร
n	จำนวนซ้ำ
PDADMAC	Poly (diallyldimethylammonium chloride) solution
rpm	รอบต่อนาที
SR	*Chlorella* sp. KLSc61
TAP	Tris-Acetate-Phosphate
$t_{0.5}$	ระยะเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเซลล์สาหร่ายเพียงครึ่งหนึ่ง
Tetraspora	*Tetraspora* sp. CU2551
$ZnSO_4$	ซิงค์ซัลเฟต
ζ	Zeta

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว สามารถพบได้ทั่วไป ทั้งบนบกและแหล่งน้ำต่าง ๆ สาหร่ายขนาดเล็กนั้นมีความสำคัญหลายด้าน ได้แก่ ความสำคัญต่อระบบนิเวศ สาหร่ายดำรงชีวิตแบบโฟโตออโตโทรฟิค (Photoautotrophic organism) เป็นสิ่งมีชีวิตที่ผลิตออกซิเจนให้แก่สิ่งแวดล้อม นอกจากนี้สาหร่ายยังเป็นผู้ผลิต และเป็นส่วนหนึ่งของห่วงโซ่อาหารอันดับต้นของสิ่งมีชีวิตที่ดำรงชีวิตในน้ำ (ยุวดี, 2549) และยังใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย (ศิราภรณ์ และ ฐปน, 2552) ความสำคัญด้านอาหาร คุณค่าอาหารของสาหร่ายขนาดเล็ก ประกอบไปด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ใยอาหาร เอนไซม์ วิตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น วิตามินเอ ซี บี1 บี2 ไนอะซีน ไอโอดีน โพแทสเซียม เหล็ก แมงกานีส และแคลเซียม ในประเทศจีน ญี่ปุ่น และเกาหลี นำสาหร่ายมาเป็นแหล่งอาหารหลัก สาหร่ายที่นำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร เช่น สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) สาหร่ายฮีมาโตคอกคัส (*Hematococcus* sp.) สาหร่ายสไปรูลินา (*Spirulina* sp.) เป็นต้น (นารินทร์, 2561) ความสำคัญทางด้านการเกษตร มีการศึกษาการนำไซยาโนแบคทีเรียมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในแปลงข้าว (Sumbali and Mehrotra, 2009) และความสำคัญในด้านเชื้อเพลิงชีวภาพ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถสังเคราะห์สารชีวเคมีต่าง ๆ ที่นำมาผลิตเป็นพลังงานได้ และกำลังอยู่ในความสนใจ เช่น ไบโอดีเซล เอทานอล ไฮโดรเจน การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กผลิตจากไขมันที่ได้จากสาหร่ายซึ่งจะมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นไตรกลีเซอไรด์ เช่นเดียวกับน้ำมันพืช (ประยูร, 2553)

การผลิตชีวมวลจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อนำไปใช้ประโยชน์นั้นประกอบไปด้วยกระบวนการที่สำคัญ ได้แก่ การเพาะเลี้ยงสาหร่าย การเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย การทำให้เซลล์แตก และการสกัดสารต่าง ๆ ออกจากเซลล์สาหร่ายเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป โดยพบว่ากระบวนการเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายนั้นมีค่าใช้จ่ายร้อยละ 20-30 ของกระบวนการผลิตทั้งหมด (Girma *et al*., 2003) วิธีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กในปัจจุบันแบ่งอย่างกว้าง ๆ 4 วิธี ได้แก่ ทางชีววิทยา (Biological) ทางเคมี (Chemical) ทางกล (Mechanical) และทางไฟฟ้า (Electrical) (Christenson and Sim, 2011) โดยทั่วไปยังไม่มีวิธีการเก็บเกี่ยวที่ดีที่สุดเนื่องจากแต่ละชนิดมีข้อดี

เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และข้อเสียที่แตกต่างกัน (Singh and Patidar, 2018) การเลือกใช้วิธีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขึ้นอยู่กับความหนาแน่น และขนาดของเซลล์สาหร่าย มูลค่าและความต้องการทางการตลาด ปัจจุบันนิยมใช้วิธีทางกลในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก เช่น การใช้แรงเหวี่ยง (centrifugation) การกรอง (filtration) การตกตะกอน (sedimentation) การใช้อากาศเพื่อให้สาหร่ายขนาดเล็กลอยแยกออกมา (dissolved air floatation) และการใช้เมมเบรนชนิดอัลตร้าฟิวเตชัน (ultrafiltration membrane) (Liu *et al*., 2013) วิธีการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายเหล่านี้ยังมีค่าใช้จ่ายสูง มีความซับซ้อนในการดำเนินการ และนิยมใช้ร่วมกันมากกว่า 1 เทคนิค ฉะนั้นการหาเทคนิคใหม่ที่ช่วยในการเก็บเกี่ยวเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก มีค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานน้อย และสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายในระดับอุตสาหกรรมได้ จึงเป็นแนวทางในการลดต้นทุนในกระบวนการเก็บเกี่ยว โดยเทคนิคการตกตะกอนสาหร่ายด้วยการตกตะกอนทางเคมีเป็นเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้เก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย

จากการศึกษาเกี่ยวกับการเก็บเกี่ยวสาหร่ายให้เห็นว่าการใช้การตกตะกอนสามารถลดต้นทุนที่เกี่ยวข้องกับการเก็บเกี่ยวได้อย่างมาก (Wan *et al*., 2015) เทคนิคการตะกอน (flocculation) ที่นิยมใช้ เช่น การตกตะกอนทางเคมี (chemical flocculation) และการตกตะกอนทางชีวภาพ (bio-flocculation) โดยอาศัยหลักการของการจับกันของประจุที่พื้นผิวของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กซึ่งเป็นประจุลบกับสารตกตะกอนที่มีประจุบวกซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ทำให้การเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กมีประสิทธิภาพดี (Gultom ang Hu, 2013; Shelef and Sukenik, 1984) ทั้งนี้ประสิทธิภาพการตกตะกอนขึ้นอยู่กับปัจจัยบางประการ เช่น ประเภท ประจุของสารตกตะกอน และสายพันธุ์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาแนวทางในการลดค่าใช้จ่ายของกระบวนการเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายด้วยวิธีการตกตะกอนทางเคมี (Chemical flocculation) โดยใช้สารเร่งตกตะกอน 5 ชนิด คือ อะลูมิเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3$) แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) เฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) โพลีไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (PDADMAC) และซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$) ในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก 4 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 สาหร่ายรหัส G4 และ*Tetraspora* sp. CU2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อใช้สารเคมีในการตกตะกอนสาหร่าย

1.2.2 เพื่อนำชีวมวลของสาหร่ายที่ตกตะกอนได้ไปตรวจสอบการตอบสนองระดับเซลล์โดยการวัดการเจริญเติบโต

1.2.3 เพื่อตรวจสอบปริมาณสารเร่งตกตะกอนที่หลงเหลือในระบบ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาการตกตะกอนทางเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 สาหร่ายรหัส G4 และ*Tetraspora* sp. CU2551 จากคลังสาหร่าย ซึ่งคัดแยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์แล้วโดยสมาชิกในหน่วยวิจัยพลังงานชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.3.2 ศึกษาประสิทธิภาพของสารเร่งตกตะกอน 5 ชนิด คือ อะลูมิเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3$) แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) เฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) โพลีไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (PDADMAC) และซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$) ในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

1.3.3 ติดตามประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายโดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density) ก่อนและหลังการตกตะกอนสาหร่าย โดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

1.3.4 ตรวจวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กก่อน และหลังตกตะกอน

1.3.5 วิเคราะห์ปริมาณไอออนด้วยเทคนิค ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบความเข้มข้นที่เหมาะสมของการใช้สารเคมีในการตกตะกอนสาหร่ายขนาดเล็ก

1.4.2 ชีวมวลของสาหร่ายที่ตกตะกอนได้มีความสามารถในการตอบสนองระดับเซลล์

1.4.3 พบปริมาณไอออนในระบบลดลงตามระยะเวลาการตกตะกอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae)

สาหร่ายขนาดเล็กเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Microscopic algae) ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์จนถึงขนาดใหญ่ที่มองเห็นด้วยตาเปล่า (ยุวดี, 2549) มีความสามารถในการสังเคราะห์แสง และสามารถผลิตสารประกอบอินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าพืชบก (Machado *et al*., 2022) โดยความสามารถในการสังเคราะห์แสงนั้นมีประสิทธิภาพสูงกว่าพืชบกถึง 10-50 เท่า (Li *et al*., 2008) สาหร่ายบางชนิดจัดเป็นแพลงค์ตอนพืชที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ด้วยรงควัตถุชนิดต่าง ๆ ดังนั้นในการแบ่งชนิดของสาหร่ายจึงจะแบ่งตามชนิดของรงควัตถุ เช่น สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีน้ำตาล เป็นต้น ในบรรดาสาหร่ายทุกชนิด สาหร่ายสีเขียว และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นสาหร่ายที่พบมากที่สุดในแหล่งน้ำจืดทั่วไป (จำเนียร, 2528)

ปัจจุบันมีการใช้สาหร่ายขนาดเล็กซึ่งสามารถแยกได้เป็น 2 ส่วนหลัก คือ การผลิตชีวมวลเป็นสารเติมแต่งที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากชีวมวลในภายหลัง สาหร่ายขนาดเล็กอุดมไปด้วยสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น โปรตีน โพลีแซ็กคาไรด์ ลิพิด กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน วิตามิน เม็ดสี ไฟโคบิลิโปรตีน เอนไซม์ เป็นต้น (Gürlek *et al*., 2019) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กมีความสามารถในการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านไวรัส และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เป็นต้น สารประกอบเหล่านี้เป็นที่ต้องการในด้านเภสัชวิทยา การแพทย์ การใช้งานในอุตสาหกรรมเคมี การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอุตสาหกรรมพลังงาน เกษตรกรรมในการผลิตอาหารสัตว์และอาหารเพื่อสุขภาพอีกด้วย (Bhattacharjee, 2016)

2.1.1 ส่วนประกอบของสาหร่าย

เซลล์ของสาหร่ายก็เหมือนเซลล์ของพืชทั่ว ๆ ไป คือ ประกอบไปด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) ภายในเซลล์มีไซโทพลาซึม (Cytoplasm) ซึ่งประกอบไปด้วยออร์แกเนลล์ (Organelle) ชนิดต่าง ๆ นิวเคลียส (Nucleus) และแฟลกเจลลัม (Flagellum) ส่วนประกอบของเซลล์สาหร่ายมีดังต่อไปนี้ (ยุวดี, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1.1 เยื่อหุ้มเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์เป็นเยื่อหุ้มที่ห่อหุ้มเซลล์เอาไว้ มีโครงสร้างประกอบด้วยชั้นไขมันเรียงตัวกัน 2 ชั้น (Lipid bilayer) มีโครงสร้าง 2 ส่วน คือ ส่วนหัวและส่วนหาง โดยชั้นไขมันจะเอาส่วนหัว (Polar head) ซึ่งมีคุณสมบัติชอบน้ำ (Hydrophitic) หันออกด้านนอกเพื่อสัมผัสกับน้ำที่อยู่ภายนอกเซลล์ และเอาส่วนหาง (Tail) ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) หันเข้าด้านในระหว่างชั้นไขมัน 2 ชั้นจะมีโมเลกุลอื่น ๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต แทรกอยู่เป็นระยะ ๆ

2.1.1.2 ไซโทพลาสซึม

เป็นส่วนที่อยู่ในเซลล์ทั้งหมดยกเว้นนิวเคลียส ไซโทพลาสซึมเป็นของเหลวมีความโปร่งแสงประกอบด้วยน้ำประมาณ 75 - 90 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็นสารชนิดอื่น เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน สารอนินทรีย์ที่อยู่ในรูปสารละลาย ส่วนสารอินทรีย์ มักอยู่ในรูปของคอลลอยด์ (Colloid) และออร์แกเนลล์ต่าง ๆ เช่น พลาสติด (Plastid) ซึ่งเป็นแหล่งรวมของรงควัตถุต่าง ๆ ในเซลล์ หากพลาสติดมีคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ถ้าให้สีเขียวจะเรียกคลอโรพลาสต์ (Chloroplast) แต่ถ้ามีแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) จะให้สีเหลือง ส้ม แดง เรียกโครโมพลาสต์ (Chromoplast) ไพรีนอยด์ (Pyrenoid) ทำหน้าที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์แป้ง สติกมา (Stigma) พบในเซลล์ที่เคลื่อนไหวได้ แวคิวโอล (Vacuole) ทำหน้าที่ขับน้ำ และของเสียออกจากเซลล์ ฯลฯ (กาญจนภาชน์, 2527)

2.1.1.3 นิวเคลียส (Nucleus)

นิวเคลียส (Nucleus) ของสาหร่ายแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือพวกที่ยังไม่มีนิวเคลียสอย่างแท้จริง (Prokaryote) โดยนิวเคลียสไม่มีเยื่อหุ้ม ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ส่วนอีกประเภทหนึ่งคือมีนิวเคลียสแท้จริง (Eukaryote) ซึ่งจะพบในสาหร่ายทั่วไป โครงสร้างของนิวเคลียสประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 3 ส่วน คือ เยื่อหุ้มนิวเคลียส (Nuclear membrane) นิวคลีโอลัส (Nucleolus) และโครโมโซม (Chromosome)

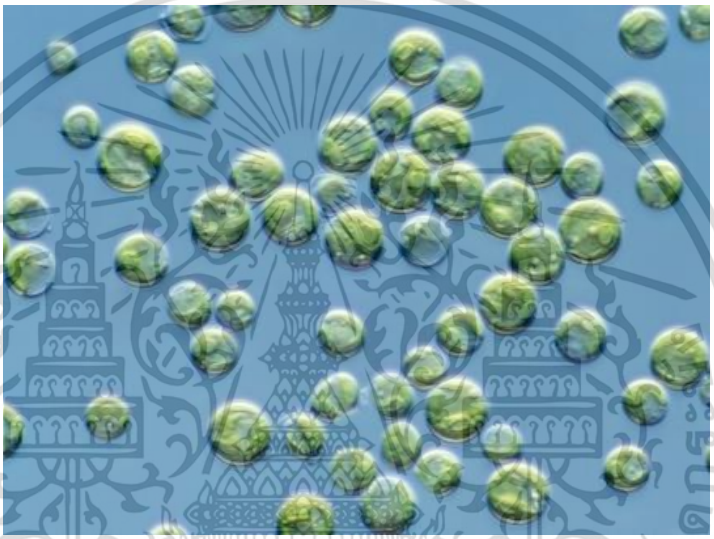
2.1.1.4 แฟลกเจลลัม (Flagellum)

เป็นโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ของเซลล์ และเป็นลักษณะที่ใช้ในการจัดจำแนกสาหร่ายได้ด้วย แฟลกเจลลัมจะพบในเซลล์ปกติ (Vegetable cell) หรือเซลล์สืบพันธุ์ (Reproductive cell) โดยทั่วไปสาหร่ายเกือบทุกชนิดจะมีแฟลกเจลลัม ยกเว้นสาหร่ายสีแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.)

เป็นสาหร่ายสีเขียว สาหร่ายชนิดนี้มีลักษณะเป็นเซลล์เดียวที่มีขนาดเล็ก มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-12 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรืออยู่รวมกันเป็น กลุ่มก้อน ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างทรงกลม และรูปไข่ ไม่มีแฟลกเจลลา มีรงควัตถุที่ช่วยสังเคราะห์แสง คือ คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี โดยจะอยู่ในคลอโรพลาสต์ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปถ้วย และมีไพรีนอยด์ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ สายพันธุ์คลอเรลลามีความสามารถในการสังเคราะห์แสงที่สูง และอัตราการเติบโตที่รวดเร็ว (Jo *et al*., 2022) สาหร่ายชนิดนี้พบทั้งในน้ำจืด และน้ำเค็ม



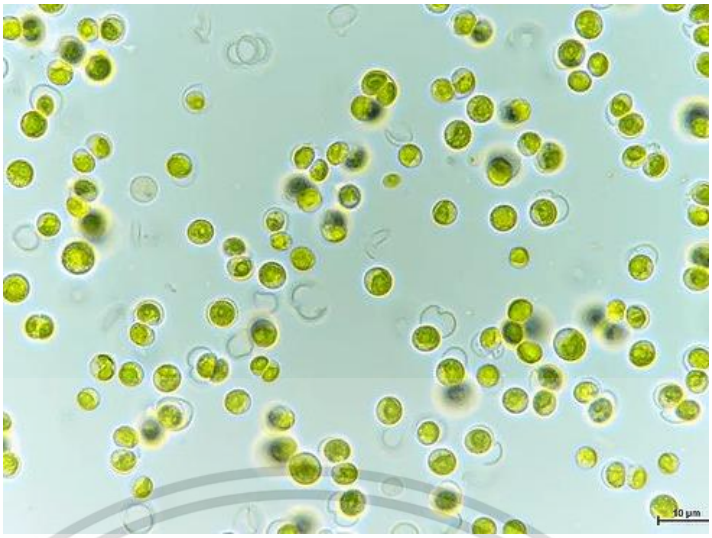
รูปที่ 2.1 ลักษณะสัณฐานของเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp.

ที่มา : https://www.micropia.nl/en/discover/microbiology/chlorella-vulgaris/

2.1.3 สาหร่าย *Micractinium* (*Micractinium* sp.)

เป็นสกุลสาหร่ายสีเขียวในวงศ์ Chlorellaceae ชนิดของสกุล *Micractinium* sp. นั้นพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำจืด (Guiry and Guiry, 2022) เซลล์ของ *Micractinium* sp. มีลักษณะเป็นทรงกลมถึงทรงรี เป็นโคโลนีเดี่ยว หรือติดกันเป็นกลุ่มโคโลนี โดยสามารถมีเซลล์ได้มากถึง 128 เซลล์ บางครั้งอาจมีเซลล์ถึง 256 เซลล์ และมีรูปร่างหลายเหลี่ยม หรือพีรามิด โดยทั่วไปสายพันธุ์ส่วนใหญ่จะมีเส้นขนลักษณะแคบยาวและเรียวจากโคนจรดปลาย เซลล์มีคลอโรพลาสต์รูปถ้วยเดียวและมีไพรีนอยด์ตัวเดียว *Micractinium* sp. มีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดและคล้ายกับสกุล *Chlorella* sp. (Krivina, 2022)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

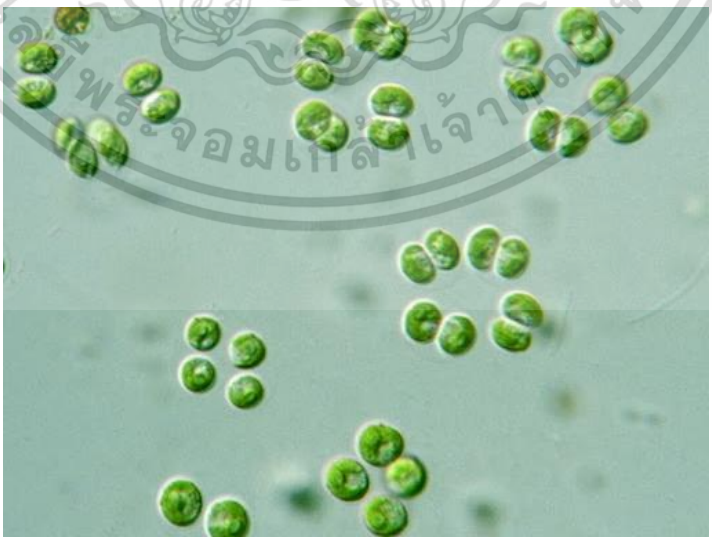


รูปที่ 2.2 ลักษณะสัณฐานของเซลล์สาหร่าย *Micractinium* sp.

ที่มา : https://www.imuasya.org/kopyas%C4%B1-micractinium

2.1.4 สาหร่าย *Tetraspora* (*Tetraspora* sp.)

Tetraspora sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียวชนิดหนึ่งในวงศ์ Tetrasporaceae ในอันดับ Chlamydomonadales ดิวิชัน Chlorophyta ลักษณะทัลลัสเป็นเมือก ลักษณะคล้ายลูกบอลลูน ภายในมีเซลล์ซึ่งฝังอยู่ในเมือกหนา โดยจะอยู่เป็นคู่ หรือ 4 เซลล์ อยู่ใกล้กับผนังของทัลลัส มีการสร้างซีเรียแบบเทียม เซลล์ส่วนใหญ่ค่อนข้างกลม ส่วนใหญ่จะพบสาหร่ายชนิดนี้ในแหล่งน้ำจืด (Guiry and Guiry, 2022)



รูปที่ 2.3 ลักษณะสัณฐานของเซลล์สาหร่าย *Tetraspora* sp.

ที่มา : http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Tetraspora/sp_05.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 ความสำคัญของสาหร่าย

สาหร่ายส่วนใหญ่เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีความสำคัญในหลาย ๆ ด้าน ทั้งด้านระบบนิเวศ ด้านอุตสาหกรรม รวมไปถึงมีการใช้สาหร่ายเพื่อเป็นแหล่งพลังงานอีกด้วย โดยการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายด้านต่าง ๆ มีดังนี้

2.1.5.1 ความสำคัญด้านระบบนิเวศ

สาหร่ายมีความสำคัญด้านระบบนิเวศเป็นอย่างมาก สาหร่ายดำรงชีวิตแบบโฟโตออโตโทรฟิค (Photoautotrophic organism) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเป็นผู้ผลิตออกซิเจน (Producer of O_2) ให้แก่สิ่งแวดล้อม ซึ่งออกซิเจนที่ได้เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย นอกจากนี้สาหร่ายยังเป็นผู้ผลิตขั้นต้นของห่วงโซ่อาหารอีกด้วย (ยุวดี, 2549)

2.1.5.2 ความสำคัญด้านอาหาร

การใช้สาหร่ายขนาดเล็กเป็นอาหารในคนที่เห็นกันบ่อยครั้ง ได้แก่ สาหร่ายสไปรูไลนา (*Spirulina* sp.) คลอเรลลา (*Chlorella* sp.) ดูนาลิเอลลา (*Dunaliella* sp.) ฮีมาโตคอกคัส (*Haematococcus* sp.) เป็นต้น เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นแหล่งโปรตีน เช่น สาหร่ายสไปรูไลนา ประกอบด้วยโปรตีน 50-70 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายคลอเรลลา มีโปรตีนประมาณ 38-58 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้สาหร่ายยังอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีความสำคัญต่อมนุษย์ เช่น แคโรทีน คลอโรฟิลล์ ไฟโคบิลิน อีกด้วย (Safi *et al*., 2014)

นอกจากนี้ยังมีการใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการเลี้ยงสัตว์ มักใช้สาหร่ายในสกุล *Chlorella* sp. *Scenedesmus* sp. *Ankistrodesmus* sp. *Arthrospira* sp. เนื่องจากสาหร่ายข้างต้นเหล่านี้มีโปรตีนสูง มีแร่ธาตุและวิตามินที่จำเป็นต่าง ๆ อย่างครบถ้วน (ยุวดี, 2549) สำหรับการทำเป็นอาหารสัตว์นั้นสามารถนำมาใช้ทั้งเซลล์ (Whole cell) หรือสารสกัดจากเซลล์ (Cell extract) สามารถใช้ทำเป็นอาหารสัตว์น้ำ เช่น ปลากินพืช กุ้ง หอย และปู อาหารสัตว์ปีก โดยนิยมนำสาหร่ายไปผสมกับอาหารหลักเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องการให้แพะ และแกะกินสาหร่ายสไปรูไลนา จะทำให้สัตว์นั้นมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น กินอาหารได้มากขึ้น และมีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์ (Holman, Kashani and MalauAduli, 2014) เป็นต้น

2.1.5.3 ความสำคัญด้านการเกษตร

ไซยาโนแบคทีเรียมีความสำคัญต่อวัฏจักรไนโตรเจน (Nitrogen cycle) โดยการตรึงไนโตรเจนจะเกิดขึ้นภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ภายในเซลล์พิเศษที่เรียกว่า Heterocyst ทำให้มีการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้กับดินบริเวณนั้น จึงนิยมนำไซยาโนแบคทีเรียมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพในการปรับปรุงคุณภาพของดิน (ยุวดี, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5.4 ความสำคัญด้านอุตสาหกรรม

คาร์ราจีนิน เป็นสารที่มีลักษณะคล้ายวุ้น แต่มีเถ้ามากกว่า ใช้เป็นสารทำให้เกิดความข้นหนืด สามารถสกัดได้จากสาหร่ายสีแดง ได้แก่ สาหร่ายในสกุล *Gracilaria* และ *Gelidium* เช่นเดียวกับวุ้น นอกจากนี้ยังมีอัลจิเนต (Alginate) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ใช้ผสมในการผลิตในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เพื่อให้สารเกิดความข้นเหนียว โดยอัลจิเนตสามารถสกัดได้จากสาหร่ายในสกุล *Laminaria* sp. *Macrocystis* sp. และ *Fucus* sp. และพบว่ามีการใช้ในหลากหลายอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมขนม ไอศครีม อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมทำกระดาษ อุตสาหกรรมทำกาว อุตสาหกรรมสีทาบ้าน ไหมเย็บ แผล (ไหมละลาย) และใช้ผลิตถุงไส้กรอก เป็นต้น (ยุวดี, 2549)

2.1.5.5 ความสำคัญด้านพลังงาน

ในปัจจุบันนักวิจัยให้ความสนใจด้านพลังงานทดแทนกันมากขึ้นมีการศึกษาวิธีการใช้สาหร่ายขนาดเล็กมาผลิตเป็นพลังงานทดแทน เช่น ไบโอดีเซล ไฮโดรเจน และเอทานอล โดยไขมันที่ได้จากสาหร่ายจะมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นไตรกลีเซอไรด์ เช่นเดียวกันกับน้ำมันพืช (ประยูร, 2553) สาหร่ายขนาดเล็กหลายสายพันธุ์มีการสะสมไขมันภายในเซลล์ เช่น *Scenedesums* sp. *Chlorella* sp. และ *Nannochloropsis* sp. ซึ่งสามารถนำมาสกัดไขมันอย่างหยาบ และมีศักยภาพในการนำมาผลิตเป็นไบโอดีเซลได้ (Chisti, 2007)

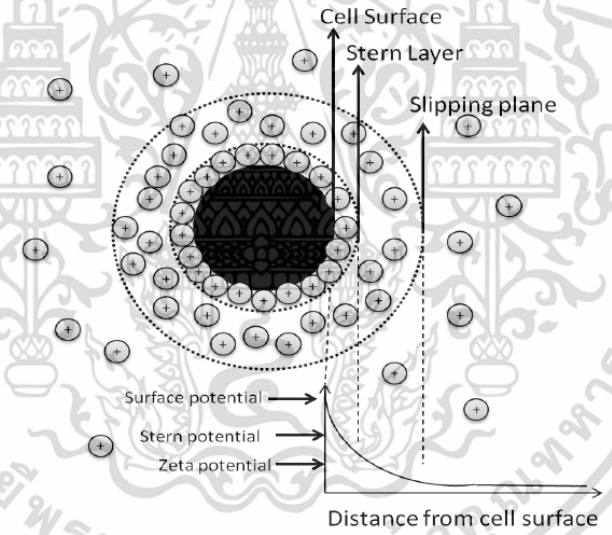
2.1.6 ลักษณะพื้นผิวของสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายเป็นจุลินทรีย์ยูคาริโอตที่มีลักษณะเฉพาะ ซึ่งเปลี่ยนแสง น้ำ และคาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นแหล่งชีวมวลด้วยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ปัจจัยที่กำหนดความเสถียรของเซลล์สาหร่ายคือประจุที่พื้นผิว ขนาด และความหนาแน่น ปัจจัยเหล่านี้มีอิทธิพลต่อการแยกตัวของเซลล์สาหร่ายจากตัวกลางที่เป็นน้ำ อันตรกิริยาระหว่างเซลล์สาหร่ายและอันตรกิริยากับตัวกลางที่อยู่รอบข้างจะควบคุมความเสถียรของเซลล์ (Tenney *et al*., 1969) อัตราการตกตะกอนของชีวมวลจะขึ้นอยู่กับขนาด และความหนาแน่นของเซลล์ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการแยกโดยการตกตะกอน และการใช้แรงเหวี่ยง (Centrifugation)

อนุภาคของสารแขวนลอยมักจะมีประจุที่พื้นผิวเป็นบวกหรือลบในน้ำ อนุภาคจะดึงดูดไอออนที่มีประจุตรงกันข้ามจากสารละลายเพื่อรักษาความเป็นกลางทางไฟฟ้า สิ่งนี้เรียกว่าเอฟเฟกต์เคาน์เตอร์ไอออน (Counter ion effect) เมื่อรวมกันแล้วจะเกิดเป็นชั้นไฟฟ้าสองชั้นซึ่งประกอบด้วยประจุที่พื้นผิวของอนุภาค และไอออน หากมองพื้นผิวอนุภาคให้ใกล้ยิ่งขึ้น ชั้นไอออนที่มีความหนาแน่นจะถูกสร้างขึ้นโดยเคาน์เตอร์ไอออน (Counter ion) ที่เรียกว่าชั้นสเติร์น (Stern layer) ไม่สามารถเข้าถึงเคาน์เตอร์ไอออนอื่นๆ ได้ ความสมดุลจะถูกสร้างขึ้นให้อยู่ห่างจากพื้นผิวอนุภาคระหว่างแรงดึงดูดของไฟฟ้าสถิต และการแพร่กระจายความร้อน สิ่งนี้นำไปสู่การก่อตัวของชั้นกระจาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่อยู่ห่างจากพื้นผิวอนุภาค ซึ่งส่งผลให้ความแตกต่างที่อาจเกิดขึ้นระหว่างพื้นผิวอนุภาคและสารละลายลดลงแบบทวีคูณตามระยะห่างจากพื้นผิวอนุภาค แรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างอนุภาคเป็นผลมาจากกลุ่มของเคาน์เตอร์ไอออนที่อยู่รอบอนุภาค ศักย์ ζ คือความต่างศักย์ระหว่างของเหลวกับชั้นของไอออนที่สัมพันธ์กับอนุภาคที่มีประจุเมื่ออนุภาคเคลื่อนที่ผ่านสารละลาย ศักยภาพ ζ สามารถประมาณได้ง่ายจากการเคลื่อนที่ของอนุภาคมีประจุในสนามไฟฟ้า ดังนั้นจึงเป็นตัวบ่งชี้ที่มีประโยชน์ของระดับแรงผลักระหว่างอนุภาคมีประจุในสารแขวนลอย ศักย์ ζ สูง (>25 mV บวกหรือลบ) ทำให้เกิดแรงผลักทางไฟฟ้าที่รุนแรงระหว่างอนุภาคกับสารแขวนลอย ทำให้เกิดความเสถียร เมื่อศักย์ ζ ใกล้ศูนย์ อนุภาคสามารถเข้าใกล้กันจนถึงจุดที่แรงแวนเดอร์วาลส์ดึงดูด สิ่งนี้นำไปสู่การรวมตัวของอนุภาค สำหรับเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กซึ่งมีความเสถียรในตัวกลาง โดยพื้นผิวเซลล์ส่วนใหญ่มีหมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH) และเอมีน (-NH2) ซึ่งนำไปสู่ประจุที่พื้นผิว หมู่คาร์บอกซิลิกแยกตัวออกและมีประจุลบที่พีเอชสูงกว่า 4–5 ในขณะที่หมู่เอมีนไม่มีประจุที่พีเอชนี้ ซึ่งส่งผลให้ประจุสุทธิที่พื้นผิวของเซลล์สาหร่ายเป็นลบที่พีเอชมีค่าสูงกว่า 4–5 (Ghosh *et al*., 2015)



รูปที่ 2.4 เซลล์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีประจุลบล้อมรอบด้วยไอออนประจุไฟฟ้าสองชั้น

2.2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

การเจริญเติบโตของสาหร่ายสามารถแบ่งออกเป็น 5 ระยะ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543) ดังนี้

2.2.1 ระยะปรับตัว (Lag Phase)

เป็นช่วงที่เซลล์สาหร่ายปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ เช่น แสง อุณหภูมิ และธาตุอาหาร ระยะนี้จะไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ ถ้าเซลล์สาหร่ายไม่สามารถปรับตัวได้เซลล์จะตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 ระยะเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential Phase)

หรือ Log phase เป็นระยะที่สาหร่ายเกิดการแบ่งเซลล์และเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหาร และ สมบัติทางฟิสิกส์ เคมี ของสิ่งแวดล้อม ระยะนี้จะมีอัตราเมตาบอลิซึมสูงสุด ในช่วงแรกมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และจะค่อย ๆ ช้าลงตามลำดับ

2.2.3 ระยะเฉื่อย (Declining Phase)

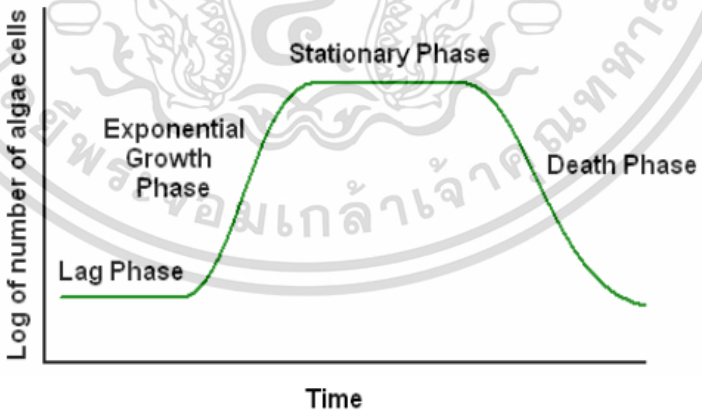
เป็นช่วงที่สาหร่ายลดอัตราการเจริญลง เนื่องจากมีเซลล์สาหร่ายหนาแน่นเพิ่มมากขึ้น ทำให้แสงสว่างลดลง เนื่องจากเกิดการบดบังกันเองของสาหร่าย และขาดแคลนอาหาร เช่น ไนโตรเจน คาร์บอน หรือออกซิเจน

2.2.4 ระยะคงที่ (Stationary Phase)

เป็นระยะที่สารอาหารลดลง และเกิดสารพิษจากกระบวนการเมตาบอลิซึม หรือการสลายตัวของสาหร่ายเพิ่มขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายหยุดนิ่ง ส่งผลให้จำนวนสาหร่ายมีปริมาณคงที่

2.2.5 ระยะตาย (Death Phase)

เป็นระยะสุดท้ายที่สาหร่ายหยุดการเจริญเติบโตมวล หรือปริมาณเซลล์สาหร่ายเริ่มลดลง เนื่องจากสารอาหารหมดลงสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และเกิดของเสียจำนวนมาก สาหร่ายจึงตายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว



รูปที่ 2.5 ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Johanna C., 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การเก็บเกี่ยวสาหร่าย

การเก็บเกี่ยวถือเป็นหนึ่งในขั้นตอนที่สำคัญของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก โดยการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กที่มีขนาดอยู่ในระดับไมโครเมตรนั้นไม่สามารถใช้วิธีการกรองด้วยผ้าขาวบางหรือใช้อุปกรณ์เก็บสาหร่ายทั่วไปได้ กระบวนการเก็บเกี่ยวที่นิยมใช้มักจะมีข้อดี และข้อเสียที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งวิธีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายจะขึ้นอยู่กับลักษณะสายพันธุ์ของสาหร่ายที่ต้องการเก็บเกี่ยว โดยประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวแต่ละวิธีการนั้นจะสามารถประเมินได้จากน้ำที่แยกออกจากกระบวนการ ชีวมวลสาหร่ายที่แยกออกจากน้ำได้ และประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวต่อผลผลิตที่ได้จากกระบวนการ (Uduman *et al*., 2009) เนื่องจากสาหร่ายมีขนาดเล็กทำให้การเก็บเกี่ยวสาหร่ายเพื่อนำมาใช้ประโยชน์มีการใช้ต้นทุนที่สูง จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้อุตสาหกรรมสาหร่ายขนาดเล็กไม่พัฒนาเท่าที่ควร (Vandamme *et al*., 2010) วิธีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กในปัจจุบันแบ่งอย่างกว้าง ๆ เป็น 4 วิธี ได้แก่ ทางชีววิทยา (Biological) ทางเคมี (Chemical) ทางกล (Mechanical) และทางไฟฟ้า (Electrical) (Christenson and Sim, 2011)

2.3.1 การใช้วิธีทางกล (Mechanical)

เป็นการอาศัยแรงกลจากภายนอกเพื่อแยก และเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก เช่น การใช้แรงเหวี่ยง (Centrifugation) สาหร่ายขนาดเล็กสามารถเก็บเกี่ยวได้ด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยง ซึ่งสามารถแยกอนุภาคขนาดเล็กในระบบที่มีขนาดใหญ่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่อย่างไรก็ตามการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยวิธีนี้มีค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูงทั้งในด้านการลงทุน และค่าใช้จ่ายในด้านพลังงานระหว่างกระบวนการเก็บเกี่ยว (Uduman *et al*., 2009) หรืออาจใช้การกรอง ซึ่งเป็นวิธีการเก็บเกี่ยวที่ง่ายที่สุดและมีต้นทุนในการเก็บเกี่ยวต่ำ โดยทั่วไปวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพมากสำหรับสาหร่ายขนาดใหญ่ และสาหร่ายที่มีลักษณะเป็นเส้นสาย แต่สำหรับสาหร่ายขนาดเล็กนั้นจะไม่สามารถแยกได้ด้วยวิธีการนี้ (อาภารัตน์, 2552)

2.3.2 การใช้วิธีทางชีววิทยา (Biological)

การตกตะกอนด้วยตัวเอง (Auto flocculation) และการตกตะกอนทางชีวภาพ (Bioflocculation) การตกตะกอนด้วย 2 วิธีนี้ จะแตกต่างกันโดยการตกตะกอนด้วยตัวเองจะเกิดขึ้นที่ระดับพีเอชสูงซึ่งเกิดจากการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ โดยการเพิ่มพีเอช ทำให้เกิดความอิ่มตัวของแคลเซียม และฟอสเฟตไอออน หากมีแคลเซียมไอออนมากเกินไปทำให้การตกตะกอนของแคลเซียมฟอสเฟตจะมีประจุบวก และเซลล์สาหร่ายมีประจุเป็นลบ ทำให้ประจุเป็นกลาง จึงเกิดการตกตะกอน (Lavoie and de la Noüe, 1987) ซึ่งการตกตะกอนด้วยตัวเองจะใช้เวลานานมากเพื่อที่จะทำให้สาหร่ายเกิดการตกตะกอน และการตกตะกอนทางชีวภาพเป็นการตกตะกอนที่เกิดจากโพลีเมอร์ชีวภาพที่ถูกหลั่งออกมา หรือเกิดจากการตกตะกอนของจุลินทรีย์ในสาหร่าย (Christenson and Sim, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

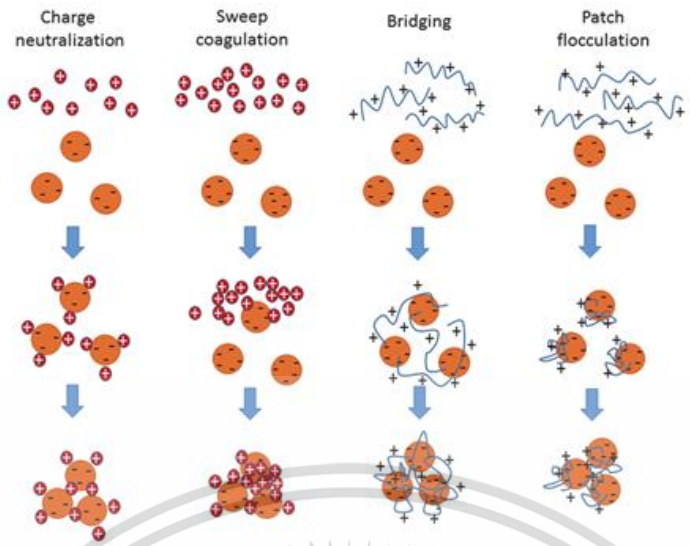
2.3.3 การใช้วิธีทางไฟฟ้า (Electrical)

การเก็บเกี่ยวด้วยวิธีทางไฟฟ้าเคมี ใช้หลักการ 2 ส่วน คือ การตกตะกอนด้วยไฟฟ้า (Electrocoagulation) และการทำให้ลอยขึ้นด้วยไฟฟ้า (Electroflotation) เป็นวิธีที่สามารถนำไปปรับใช้ได้หลากหลาย ต้นทุนต่ำ และมีประสิทธิภาพ สามารถใช้ร่วมกับสารเคมี หรือไม่มีสารเคมีก็ได้ การตกตะกอนด้วยไฟฟ้าเป็นการทำให้ประจุไฟฟ้าของเซลล์สาหร่ายเปลี่ยนจากประจุลบเป็นกลาง และจับตัวเป็นกลุ่มตะกอน ในขณะที่ฟองอากาศที่เกิดจากปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมีทำหน้าที่ให้กลุ่มตะกอนที่เกิดขึ้นลอยขึ้นสู่ผิวหน้า และสามารถเก็บเกี่ยวสาหร่ายจากผิวหน้าได้ หรือกลุ่มตะกอนบางส่วนอาจตกตะกอนลงสู่ด้านล่าง นอกจากนี้การใช้ไฟฟ้ายังอาศัยกระบวนการอิเล็กโทรโฟรีซิสเนื่องจากผิวของสาหร่ายขนาดเล็กมีประจุเป็นลบ จึงวิ่งไปสู่อิเล็กโทรดขั้วบวก ทำให้กระแสไฟฟ้ามีผลต่อการแยกของสาหร่ายขนาดเล็ก (Guldhe *et al*., 2015)

2.3.4 การใช้วิธีทางเคมี (Chemical)

การตกตะกอนทางเคมีเป็นการเติมสารเร่งตกตะกอน (Flocculant) ที่มีคุณสมบัติในการช่วยตกตะกอนลงไปในน้ำเพื่อทำให้สาหร่ายเกาะกลุ่มกัน (ประภาพร, 2555) โดยสามารถใช้ได้ทั้งสารในกลุ่มอินทรีย์ อนินทรีย์ และสารในกลุ่มของโพลิเมอร์ที่มีประจุบวก เนื่องจากสารแขวนลอยสาหร่ายมีประจุเป็นลบจึงไม่สามารถรวมตัวกันเป็นตะกอนขนาดใหญ่ได้ ดังนั้นเมื่อเติมสารเร่งตกตะกอนที่มีการแตกตัวแล้วให้อนุภาคที่มีประจุบวก ทำให้สารแขวนลอยที่มีประจุเป็นลบเกิดแรงผลักระหว่างอนุภาคน้อยลง และสามารถรวมตัวกันเป็นตะกอนขนาดใหญ่เรียกว่า ฟล๊อค (Floc) โดยสารที่นิยมมาใช้ในกระบวนการนี้ ได้แก่ $FeCl_3$ $Al_2(SO_4)_3$ และ $Fe_2(SO_4)$ รูปแบบการตะกอนทางเคมีมีหลายรูปแบบ (Suopajarvi, 2015) เช่น การเชื่อม (Bridging) เกิดขึ้นเมื่อส่วนของสายโซ่โพลีเมอร์ดูดซับอนุภาคมากกว่าหนึ่งอนุภาค และเชื่อมโยงอนุภาคเข้าด้วยกัน (Li *et al*. 2006; Bolto & Gregory 2007) การตกตะกอนแบบแพทช์ (Patch flocculation) โพลีเมอร์หรือสารตกตะกอนจะดูดซับบนพื้นผิวอนุภาคที่มีประจุตรงข้ามเพื่อให้มีการกระจายประจุที่พื้นผิวไม่สม่ำเสมอ (Yukselen *et al*,. 2007) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 กลไกของการตกตะกอน (Suopajarvi ,2015)

2.4 กระบวนการโคแอกกูเลชั่นหรือฟล๊อคคูเลชั่นโดยการเติมสารเคมี (Coagulation/Flocculation)

กระบวนการโคแอกกูเลชั่น หรือกระบวนการตกตะกอน (Flocculation) เป็นการทำให้อนุภาคที่มีขนาดเล็กเคลื่อนที่มาสัมผัสกันและ รวมตัวกันในรูปแบบต่าง ๆ จนมีขนาดใหญ่ขึ้น และตกลงมาสู่ก้นถัง โดยการตกตะกอนมีวิธีในการเกิดได้หลายรูปแบบ เช่น การกวนอย่างช้า ๆ เพื่อให้น้ำมีอัตราการไหลที่แตกต่างกันซึ่งทำให้อนุภาคที่แขวนลอยอยู่มีอัตราการเคลื่อนที่ไม่เท่ากันจึงมีการสัมผัสกันและเกิดการตกตะกอน หรือเกิดจากการที่อนุภาคเคลื่อนที่เข้าหากันเองจนรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนขนาดใหญ่ และมีน้ำหนักมากขึ้นจนสุดท้ายจะตกตะกอนลงสู่ก้นถังเหลือแต่ส่วนของเหลวเหนือตะกอน โดยปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการตกตะกอนทางเคมี ได้แก่ ความเข้มข้นของเซลล์ คุณสมบัติของพื้นผิวเซลล์ เช่น ประจุรวม และความไม่ชอบน้ำ รวมทั้งค่าพีเอช และความแรงของไอออนในอาหารเพาะเลี้ยงหรือสารละลาย นอกจากนั้นอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีผลต่อการตกตะกอน เช่น ค่าพีเอช ค่าออกซิเจนละลาย ค่าศักย์เซต้า (Zeta potential) และขนาดของอนุภาค ซึ่งมีความผันแปรกับระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (Barros *et al*., 2015)

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยวิธีการนี้ มีข้อดีคือ สามารถเก็บเกี่ยวสาหร่ายมีประสิทธิภาพ และสามารถใช้ได้กับสาหร่ายหลากหลายสายพันธุ์โดยไม่สิ้นเปลืองพลังงานในกระบวนการเก็บเกี่ยว (Molina *et al*., 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1 สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการสร้างตะกอน

สารเคมีในการตกตะกอนแต่ละชนิดมีความเหมาะสมสำหรับทำลายอนุภาคคอลลอยด์ในน้ำแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน สารเคมีหลักที่มักใช้ในกระบวนการสร้างตะกอนเรียกว่า ฟล็อคคูแลนท์ (Flocculant) สารเคมีที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่ สารส้ม ($Al_2(SO_4)_3$) เฟอร์ริคคลอไรด์ ($FeCl_3$) และโพลิอิเล็กโตรไลต์ (Polyelectrolyte) หรือโพลีเมอร์ (Polymer) สารชนิดนี้มีราคาต่อหน่วยน้ำหนักแพงกว่าสารส้ม หรือสารฟล็อคคูแลนท์อื่น ๆ แต่มีประสิทธิภาพในการตกตะกอนดีกว่า สารเคมีที่เติมลงไปนั้นจะเป็นทั้งตัวทำลายประจุล้อมรอบอนุภาคทำให้แรงผลักระหว่างอนุภาคหายไป และเป็นทั้งตัวประสานอนุภาคให้มาจับกันเป็นกลุ่มขนาดใหญ่ขึ้น ในการเลือกสารตกตะกอนนั้นจะขึ้นอยู่กับประเภทและขนาดของสิ่งที่ต้องการตกตะกอน ซึ่งในบางกรณีสารตกตะกอนบางชนิดจะสามารถตกตะกอนอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ได้ดีแต่ตกตะกอนอนุภาคที่มีขนาดเล็กระดับไมครอนไม่ได้ (ประภาพร, 2555)

2.4.1.1 สารตกตะกอนทั่วไป

ส่วนใหญ่จะเป็นสารอนินทรีย์ โดยสารตกตะกอนที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายมักจะเป็นเกลือคลอไรด์และเกลือซัลเฟต เช่น $Al_2(SO_4)_3$ $FeCl_3$ $FeSO_4$ และ $AlCl_3$ เป็นต้น เนื่องจากสามารถใช้ได้ดี กับน้ำดิบจากแหล่งต่าง ๆ และหาซื้อง่ายในราคาถูก เมื่อใส่สารสร้างตะกอนเหล่านี้ลงไปในน้ำจะมีการแตกตัวของไอออนบวก และลบเกิดขึ้น ไอออนบวกสามารถทำปฏิกิริยากับ OH^- ทำให้เกิดคอลลอยด์ของสารประกอบโลหะไฮดรอกไซด์ซึ่งมีประจุเป็นบวก สารไฮดรอกไซด์นี้สามารถจับตัวกับอนุภาคความขุ่นที่แขวนลอยอยู่ในน้ำซึ่งมีประจุเป็นลบ ทำให้อนุภาคแขวนลอยเหล่านั้นกลายเป็นกลาง ซึ่งเป็นการทำลายเสถียรภาพของอนุภาค และเมื่อเกิดตะกอนขึ้นทำให้อนุภาคมีน้ำหนักมากขึ้นจนสามารถตกตะกอนลงมาได้ในที่สุด

2.4.1.2 สารโพลิอิเล็กโตรไลต์ (Polyelectrolyte) หรือโพลิเมอร์

เป็นสารที่นิยมใช้มาก มีทั้งประจุบวก ประจุลบ และไม่มีประจุ สามารถนำมาใช้ได้หลายวัตถุประสงค์ แต่วัตถุประสงค์ที่สำคัญคือ ใช้เป็นสารเร่งให้เกิดการตกตะกอน ซึ่งโพลิเมอร์จะมีโครงสร้างเป็นสายยาว (Long chain) เมื่อเติมลงไปในน้ำ จะมีกลไกการสร้างสะพานเชื่อมให้กลุ่มตะกอนเคลื่อนที่มาสัมผัสกัน และรวมตัวกันตกตะกอนลงมาเร็วขึ้น สารที่นิยมใช้ซึ่งเป็นโพลีอิเล็กโตรไลต์แบบประจุบวก ได้แก่ Polydiallyldimethylammonium chloride (PDADMAC) และ Epichlorohydrin dimethylamine (EpiDMA) อย่างไรก็ตามถ้าเติมสารโพลิเมอร์ในปริมาณมากเกินไปจะทำให้เกิดสภาพที่อนุภาคกลับคืนมาอยู่ในสภาวะมีเสถียรภาพอีกครั้งหนึ่งได้ และนอกจากนี้การใช้สารในกลุ่มที่เป็นโพลิอิเล็กโตรไลต์ หรือโพลิเมอร์ลักษณะของตะกอนที่เกิดขึ้นจะหนัก และหนาแน่นมากกว่าการใช้สารสร้างตะกอนที่เป็นสารอนินทรีย์ทั่วไป ดังนั้นจึงทำให้การสร้างตะกอนและรวมตัวของตะกอนเกิดขึ้นได้ดีกว่า อีกทั้งค่าความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิจะไม่มีผลต่อการทำงานของสารสร้างตะกอนกลุ่มนี้ (อารยา, 2549)

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างตะกอน

2.4.2.1 พีเอช (pH)

ระดับพีเอชของน้ำเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อปฏิกิริยาเคมีของสารสร้างตะกอน ดังนั้นในการสร้างตะกอนจึงต้องคำนึงถึงค่าพีเอชของน้ำด้วยจึงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีที่ดีที่สุด ถ้าค่าพีเอชของน้ำมาก หรือน้อยเกินไปจะไม่สามารถทำลายเสถียรภาพของอนุภาคได้ ส่วนใหญ่จะเกิดการตกตะกอนได้ดีที่พีเอชสูง ๆ ในกรณีที่ใช้สารเคมีอนินทรีย์

2.4.2.2 ปริมาณอนุภาคที่แขวนลอยในน้ำ

น้ำที่มีอนุภาคแขวนลอยอยู่มากจะใช้สารสร้างตะกอนในปริมาณที่น้อย อีกทั้งยังตกตะกอนได้ดี เนื่องจากมีโอกาสที่อนุภาคจะมาสัมผัสกันได้มากกว่าน้ำที่มีอนุภาคแขวนลอยน้อย

2.4.2.3 อุณหภูมิ

อุณหภูมิของสารละลายมีผลต่อปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาเคมีจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงได้เร็วกว่าอุณหภูมิต่ำ นอกจากนี้อุณหภูมิยังมีผลต่อความหนืดของน้ำด้วย คือที่อุณหภูมิสูงความหนืดของน้ำจะต่ำลง จึงทำให้กลุ่มตะกอนสามารถตกตะกอนได้ดีขึ้น ในทำนองเดียวกันถ้าอุณหภูมิของน้ำต่ำจะมีผลให้ความหนืดของน้ำสูงขึ้นทำให้การตกตะกอนช้าลง และต้องมีการเพิ่มปริมาณสารตกตะกอน

2.4.2.4 การสร้างตะกอน

สารสร้างตะกอนแต่ละชนิดมีความเหมาะสมสำหรับทำลายเสถียรภาพของอนุภาคคอลลอยด์ในน้ำแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน ซึ่งจะต้องมีการคำนึงถึงปริมาณสารที่มีความเหมาะสมสำหรับการใช้งาน ลักษณะของกลุ่มตะกอนที่เกิดขึ้น ความเร็วของการตกตะกอน และความยากง่ายในการใช้งาน ดังนั้นการใช้สารสร้างตะกอนแต่ละชนิดนั้นต้องจัดสภาวะที่เหมาะสมจึงจะทำให้เกิดการตกตะกอนที่ดี

2.4.2.5 ปริมาณสารสร้างตะกอน

การเลือกปริมาณสารสร้างตะกอนที่ใช้ในการทำลายเสถียรภาพของอนุภาคคอลลอยด์นั้นมีความสำคัญต่อกระบวนการตกตะกอน หากในกระบวนการถ้ามีการเติมสารสร้างตะกอนในปริมาณที่มากจนเกินไปจะมีทำให้สภาพคอลลอยด์กลับคืนมาสู่ภาวะเสถียรอีกครั้งหนึ่ง (Restabilization)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 LD_{50} (Lethal Dose fifty)

ปริมาณ (Dose) ของสารเคมีซึ่งคาดว่าจะทำให้สัตว์ทดลองที่ได้รับสารนั้นเพียงครั้งเดียวตายไปเป็นจำนวนครึ่งหนึ่ง (50%) ของจำนวนเริ่มต้น LD_{50} เป็นค่าที่คำนวณได้จากผลการศึกษาซึ่งให้สัตว์ทดลองหลายกลุ่มได้รับสารเคมีที่ปริมาณต่าง ๆ กัน ระยะเวลาที่เฝ้าสังเกตการตายของสัตว์ประมาณ 2-3 วัน แต่จะไม่เกิน 2 สัปดาห์ เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบความเป็นพิษของสารเคมีในสัตว์ต่างชนิด ซึ่งมีน้ำหนักตัวแตกต่างกันได้ จึงรายงานค่า LD_{50} เป็นน้ำหนักของสารเคมีต่อน้ำหนักของสัตว์ทดลอง เช่น LD_{50} (oral) ของ Benzene ในหนู rat เท่ากับ 4,900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

องค์การอนามัยโลกได้จัดลำดับความรุนแรงของสารเคมีในรูปของการจัดค่า LD_{50} ระดับความรุนแรงจากพิษของสารเคมีในแต่ละระดับ สามารถมองรายละเอียดในรูปของปริมาณของสารเคมีซึ่งมีผลต่อการทดลองในหนู ดังตารางที่ 2.1 (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2567)

ตารางที่ 2.1 ระดับความรุนแรงจากพิษของสารเคมีในแต่ละระดับ

ระดับความรุนแรง	ค่า LD50 (มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักหนูทดลอง)	
	รับสารพิษทางปาก	
	ชนิดผง	ชนิดน้ำ
ระดับอันตรายร้ายแรงยิ่ง	5 มิลลิกรัม หรือน้อยกว่า	20 มิลลิกรัม หรือน้อยกว่า
ระดับอันตรายร้ายแรงมาก	5-50 มิลลิกรัม	20-200 มิลลิกรัม
ระดับอันตรายปานกลาง	50-500 มิลลิกรัม	200-2,000 มิลลิกรัม
ระดับอันตรายน้อย	500-2,000 มิลลิกรัม	2,000-3,000 มิลลิกรัม
ระดับอันตรายน้อยที่สุด	มากกว่า 2,000 มิลลิกรัม	มากกว่า 3,000 มิลลิกรัม

2.6 เทคนิค Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES)

เป็นเทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุ และโลหะในตัวอย่างโดยอาศัยหลักการทำให้อิเล็กตรอนของสารที่จะวิเคราะห์เปลี่ยนสถานะ จากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นด้วยกระบวนการที่เหมาะสม การกระทำเช่นนี้จะทำให้สารที่จะวิเคราะห์นั้นสามารถเปล่งแสง หรือรังสี หรือเส้นสเปกตรัมออกมา ซึ่งเส้นสเปกตรัมเป็นลักษณะเฉพาะของธาตุที่สามารถเลือก และแยกออกจากสเปกตรัมอื่น ๆ ได้ โดยใช้ระบบการกระจายแสง ทำให้บอกได้ว่าเส้นสเปกตรัมนั้นเป็นของธาตุอะไร และใช้หาปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือความเข้มของธาตุนั้นได้ (กรรณณิการ์, 2551) ระบบที่สำคัญของเครื่อง ICP-OES มีอยู่ 3 ส่วน คือ ระบบนำส่งตัวอย่าง (Sample introduction system) ระบบกำเนิดพลาสมา (Plasma generation system) และระบบการวัด (Detection system) (นมนต์, 2563)

2.6.1 ส่วนประกอบของ ICP-OES

2.6.1.1 ระบบทำให้เกิดพลาสมา (Plasma generation system)

ประกอบด้วยส่วนย่อย ๆ คือ Power supply และ Radio frequency generator

2.6.1.2 ระบบควบคุมแก๊ส (Gas control system)

เป็นส่วนที่จะ Supply gasses ให้กับ ICP torch nebulizer และ Optic purse

2.6.1.3 ระบบนำเข้าสารตัวอย่าง (Sample introduction system)

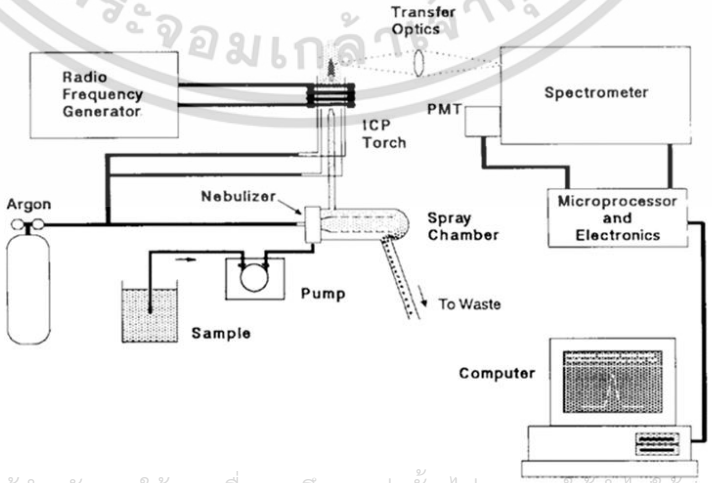
เป็นส่วนที่จะนำสารละลายตัวอย่างที่เป็นเนื้อเดียวกันส่งเข้าไปในพลาสมา ประกอบด้วย Peristaltic pump spray chamber และ Nebulizer

2.6.1.4 ระบบแสง (Optical system)

ประกอบด้วย Monochromator ซึ่งเป็น Grating window slit mirror และ detector

2.6.1.5 ระบบควบคุมและประมวลผล (Data acquisition and communication)

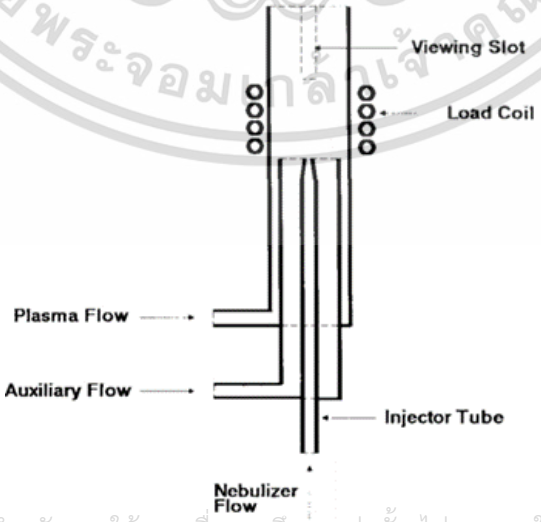
เป็นส่วนของอิเล็กทรอนิกส์ที่ใช้เปลี่ยนค่าของกระแสที่ได้จาก Detector และส่งข้อมูลที่รวบรวมได้เข้า Data processing ของเครื่องคอมพิวเตอร์ และหน่วยนี้เป็นส่วนที่ใช้ควบคุมการทำงานของเครื่อง ICP-OES



รูปที่ 2.7 องค์ประกอบของเครื่อง ICP-OES (Boss and Fredeen, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทำงานของเครื่อง ICP-OES นั้น สารละลายที่ทำการวิเคราะห์จะถูกส่งเข้าเครื่อง โดย Peristalic pump เพื่อไปยัง Nebulizer อัตราการไหลของสารละลายที่ป้อนเข้า Nebulizer จะต้องคงที่ซึ่งทำได้โดยการปรับตั้งค่าที่ Pump การควบคุมอัตราการไหลของสารละลายให้เหมาะสมนั้น ขึ้นอยู่กับความรวดเร็วที่ต้องการให้สารละลายเข้าไปใน Nebulizer และ Spray chamber โดยที่ Nebulizer เป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับเปลี่ยนสารละลายตัวอย่างให้เป็นละอองลอย (Aerosol) เพื่อให้เข้าสู่พลาสมา กระบวนการ Nebulization เป็นส่วนสำคัญมาก เพราะจะต้องให้ได้ผลที่มีความแม่นและคงที่ จึงต้องมีการปรับอัตราการไหลของสารละลายใน Nebulizer ให้เหมาะสม และสารละลายตัวอย่างที่เป็นละอองลอยจะถูกพาเข้าไปในพลาสมาของ ICP Torch ที่คบพลาสมา (Plasma Torch) นี้ จะเป็นคบที่มี 3 ชั้น สำหรับให้แก๊สอาร์กอน และละอองลอยผ่าน ระยะระหว่างหลอดควอตซ์จะแคบ เพื่อให้แก๊สอาร์กอนที่ผ่านเข้าไปมีความเร็วสูง หลอดข้างนอกต้องการผ่านแก๊สอาร์กอนเข้าไปทางด้านข้าง เพื่อให้แก๊สหมุนจากด้านล่างสู่ด้านบน ซึ่งใช้สำหรับทำให้คบเย็น เรียกว่า Coolant low หรือ Plasma low ดังแสดงในรูปที่ 2.6 ส่วนชั้นกลางซึ่งอยู่ระหว่าง Plasma fow และ Sample low เป็นการผ่านแก๊สอาร์กอนเข้าไปช่วยทำให้พลาสมาแยกออกจากส่วนที่ Aerosol จะผ่านเข้าไป ซึ่งช่วยทำให้ละอองของตัวอย่างเข้าในพลาสมาได้ง่ายขึ้น การไหลของแก๊สส่วนนี้เรียกว่า Auxiliary flow ส่วนของสารตัวอย่างที่เป็นละอองลอย จะถูกพาเข้าไปในพลาสมาในท่อกลางที่เรียกว่า Injector ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางเล็ก ๆ ความเร็วของแก๊สที่ผ่านส่วนนี้เป็น Sample low หรือ Nebulizer flow เมื่อสารละลายแห้งกลายเป็นไอ กลายเป็นอะตอม แล้วเกิดการกระตุ้น จะเปล่งแสงซึ่งมีลักษณะเฉพาะออกมา แสงที่เกิดขึ้นจะผ่านเข้าไปในเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ เพื่อแยกเอาเฉพาะแสงที่ต้องการวัดที่ความยาวคลื่นที่ต้องการ แล้วให้แสงดังกล่าวตกลงบนดีเทคเตอร์ เพื่อวัดออกมาเป็นสัญญาณ ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นความเข้มข้นของตัวอย่างได้ ในการควบคุมแต่ละขั้นตอน ตลอดจนข้อมูลที่ได้ จะถูกประมวลผล และบันทึกผลไว้ด้วยคอมพิวเตอร์ (กรรณณิการ์, 2551)



รูปที่ 2.8 การผ่านแก๊สอาร์กอนใน Plasma Torch (Boss and Fredeen, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันมีงานวิจัยหลายงานที่ศึกษาเกี่ยวกับการเก็บเกี่ยวชีวมวลของสาหร่ายด้วยวิธีการตกตะกอนโดยใช้สารเคมี ดังตารางที่ 2.2 ทั้งนี้ประสิทธิภาพของการเก็บเกี่ยวจะแตกต่างขึ้นอยู่กับหลาย ๆ ปัจจัย เช่น ชนิดของสารเคมี สายพันธุ์สาหร่าย ระยะเวลา รวมไปถึงสภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอนสาหร่าย

ตารางที่ 2.2 การเปรียบเทียบสารตกตะกอนสำหรับการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

สารเคมี (ปริมาณ)	สาหร่าย	ประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยว	อ้างอิง
$Al_2(SO_4)_3$ (152 mg/L)	*Chlorella* sp.	100% ที่ 60 นาที	[50]
$Al_2(SO_4)_3$ (20 mg/L)	*Chlamydomonas reinhardtii*	90% ที่ 20 นาที	[51]
$CaCl_2$ (275 mg/L)	*Chlorella pyrenoidosa*	97.58% ที่ 37.5 นาที	[53]
CaO (60 mg/L)	*Chlorella vulgaris*	85% ที่ 5 นาที	[39]
$FeCl_3$ (143 mg/L)	*Chlorella* sp.	98% ที่ 30 นาที	[52]
$FeCl_3$ (0.4 g/L)	*Nannochloropsis oculata*	94% ที่ 180 นาที	[55]
$Fe_2(SO_4)_3$ (1.0 g/L)	*Chlorella* sp. KR-1	100% ที่ 40 นาที	[32]
$ZnSO_4$ (0.6 g/L)	*Chlorella salina*	88.65 % ที่ 210 นาที	[22]
$ZnSO_4$ (0.8 g/L)	*Nannochloropsis oculata*	92.54 % ที่ 240 นาที	[17]
Cationic starches (7.1 mg/L)	*Chlorella vulgaris*	90% ที่ 120 นาที	[58]
Chitosan (120 mg/L)	*Chlorella vulgaris*	99% ที่ 3 นาที	[48]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำเนียร ชินารักษ์ (2528) ศึกษาเปรียบเทียบผลของชนิดและความเข้มข้นของสารเร่งตกตะกอนที่มีผลต่อการเก็บเกี่ยวสาหร่ายและการเจริญหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้สาหร่าย 6 ชนิด คือ *Chlorella* sp.2 *Chlorella* sp.3 *Chaetoceros calcitrans Isochrysis galbana* และ *Thalassiosira pseudonana* ตกตะกอนด้วยสารเคมี 4 ชนิดคือ สารส้ม โซเดียมไฮดรอกไซด์ เฟอร์ริกคลอไรด์ และ แมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ คือ 50 100 150 200 และ 250 ppm พบว่าชนิด และความเข้มข้นของสารตกตะกอนมีผลต่อการเก็บเกี่ยวสาหร่ายแตกต่างกัน ซึ่งสารเคมีที่ตกตะกอนสาหร่ายได้ดีที่สุด คือ เฟอร์ริกคลอไรด์ รองลงมาคือ สารส้ม และเมื่อความเข้มข้นของสารตกตะกอนมากขึ้นส่งผลให้การเก็บเกี่ยวดีขึ้น ส่วนการเจริญของสาหร่ายหลังการเก็บเกี่ยว พบว่าสาหร่ายจะเจริญเติบโตได้ดีที่ความเข้มข้น 50-100 ppm และพบว่าเจริญได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม

ฐิติพงษ์ ยังสุขยิ่ง (2529) ทำการตกตะกอนสาหร่าย 3 ชนิด คือ *Calcitrans* sp. *Chlamydomonas* sp. และ *Tetraselmis hele* เพื่อหาปริมาณโปรตีนในสาหร่าย พบว่าเมื่อใช้สารส้มปริมาณ 2.5 เปอร์เซ็นต์ 8 มิลลิลิตรต่อปริมาตรสาหร่าย 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที สาหร่ายจะตกตะกอนได้ดี จะดูดน้ำส่วนของเหลวเหนือตะกอนออกแล้วนำไปกรองด้วยผ้ากรองแพลงก์ตอนก่อนนำไปหาปริมาณโปรตีน

ธิดา เพชรมณี และมาวิทย์ อัศวอารีย์ (2538) ทำการตกตะกอนคลอเรลลาน้ำเค็มเพื่อลดปริมาตรในการนำไปเพาะเลี้ยงในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยใช้สารตกตะกอน 2 ชนิด คือ อะลูมิเนียมซัลเฟต และสารส้ม ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ คือ คือ 50 100 150 200 และ 250 ppm ใช้ระยะเวลาคือ 15 30 และ 60 นาที พบว่าคลอเรลลาตกตะกอนได้ดีเมื่อใช้ปริมาณอะลูมิเนียมซัลเฟต และสารส้มที่ 50 และ 100 ppm ตามลำดับ โดยระยะเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนอย่างน้อย 1 ชั่วโมง

ยุวดี อินสาราญ (2543) ศึกษาผลของสารตกตะกอนที่มีต่อการเก็บเกี่ยวสาหร่าย 4 ชนิด คือ *Spirulina platensis Chlorella vulgaris Scenedesmus acutus* และ *Closterium acerorum* เพื่อทำให้สาหร่ายมีความหนาแน่นมาก แต่ปริมาตรน้อย และสะดวกในการขนส่ง โดยใช้สารตกตะกอน 4 ชนิด คือ สารส้ม เฟอร์ริกคลอไรด์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และแมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ คือ คือ 50 100 150 200 และ 250 ppm และศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายหลังการเก็บเกี่ยว ผลการทดลองพบว่าเฟอร์ริกคลอไรด์ใช้เก็บเกี่ยวสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารส้ม โซเดียมไฮดรอกไซด์ และแมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นของสารตกตะกอนมากขึ้นจะส่งผลให้เก็บเกี่ยวสาหร่ายได้ดีขึ้น

ประภาพร ไชยภักดิ์ (2555) ศึกษาการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กในการเพาะเลี้ยงแบบน้ำเขียวด้วยกระบวนการรวมตัว และตกตะกอนทางเคมี โดยใช้สารตกตะกอน 6 ชนิด คือ Aluminium sulphate Aluminium chloride Ferrous sulphate Ferric chloride Zinc chloride และ Magnesium chloride และสารสร้างตะกอนประเภทโพลิอิเล็กโทรไลต์ 2 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ Polyferric sulphate และ Polyaluminium chloride พบว่า 7 ใน 8 สารสามารถตกตะกอนสาหร่ายได้ ยกเว้น Magnesium chloride สารที่มีประสิทธิภาพในการตกตะกอนมากที่สุด คือ Polyaluminium chloride ใช้เวลาในการตกตะกอน 60 นาที และปริมาณสารที่เหมาะสม คือ 0.28 กรัมต่อลิตร ในช่วง พีเอช เท่ากับ 4 - 11

นฤตษวรรณ สัญญาโณ (2555) ศึกษาการเก็บเกี่ยวและผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ชนิดน้ำเค็ม โดยใช้สารเคมี 2 ชนิด คือ อะลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกคลอไรด์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยอะลูมิเนียมซัลเฟต คือ ความเข้มข้น 152 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 6 ที่ระยะเวลา 60 นาที และเฟอร์ริกคลอไรด์ คือ ความเข้มข้น 143 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 8.1 เวลาในการตกตะกอน 40 นาที ซึ่งร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวเท่ากับ 100

Golueke และ Oswald (1965) ได้ศึกษาสมบัติทางด้านประจุไฟฟ้าบนผิวของเซลล์สาหร่ายและการแลกเปลี่ยนประจุ โดยทดลองกับสาหร่าย 2 ชนิด คือ *Scenedesmus* sp. และ *Chlorella* sp. ใช้สารเคมี 3 ชนิด คือ โซเดียมคลอไรด์ แคลเซียมคลอไรด์ และแมกนีเซียมคลอไรด์ พบว่าเมื่อใส่สารที่มีประจุบวก สาหร่ายจะเคลื่อนตัวในแนวดิ่ง แต่เมื่อใส่สารที่มีสมบัติเป็นประจุลบ สาหร่ายจะไม่เคลื่อนตัว ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประจุบวกส่งผลให้เซลล์ของสาหร่ายมารวมตัวเป็นอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น และตกตะกอนลงมา

Papazi และคณะ (2009) ได้ศึกษาความสามารถในการตกตะกอนสารเคมีที่เป็นเกลือซัลเฟตและเกลือคลอไรด์ จำนวน 12 ชนิด ในการตกตะกอนสาหร่าย *Chlorella minutissama* เพื่อเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก ผลการทดลองพบว่าอะลูมิเนียม เฟอร์ริก และซิงค์ สามารถตกตะกอนสาหร่ายได้ โดยอะลูมิเนียมมีประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมาคือ เฟอร์ริก และซิงค์ ตามลำดับ พบว่าระหว่างเกลือซัลเฟต และเกลือคลอไรด์นั้น เกลือคลอไรด์จะมีประสิทธิภาพในการตกตะกอนในช่วงกว้างกว่าเกลือซัลเฟต และพบว่าปริมาณที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้สาหร่ายตกตะกอนได้ดีที่สุด คือ 0.75 และ 0.5 กรัมต่อลิตร สำหรับอะลูมิเนียมซัลเฟต และอะลูมิเนียมคลอไรด์ ตามลำดับ สรุปได้ว่าอะลูมิเนียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพในการตกตะกอนมากที่สุดโดยประสิทธิภาพในการตกตะกอนอยู่ในช่วง 80-90%

Machad และคณะ (2024) ทำการศึกษาช่วงพีเอช และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตกตะกอนด้วยสารเคมี 3 ชนิด ได้แก่ ไคโตซาน (Chitosan) อะลูมิเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3$) และ เฟอร์ริกซัลเฟต ($Fe_2(SO_4)_3$) เพื่อเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella vulgaris* ผลการวิจัยพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตกตะกอนด้วยอะลูมิเนียมซัลเฟต เฟอร์ริกซัลเฟต และไคโตซาน คือ 50–200 150–200 และ 10–50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่าพีเอชที่เหมาะสมในการตกตะกอนด้วยอะลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกซัลเฟตที่พีเอช 9 และไคโตซานที่พีเอช 5 โดยการตกตะกอนด้วยสารทั้งอนินทรีย์และอินทรีย์ให้ประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 89.8 ถึง 96.4% (อะลูมิเนียมซัลเฟต) 96.7 ถึง 97.7% (เฟอร์ริกซัลเฟต) และ 91.2 ถึง 99.3% (ไคโตซาน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังพบว่าขั้นตอนการผสมที่รวดเร็ว และช้าจะส่งผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อกระบวนการจับตะกอน จากผลการทดลองแสดงถึงความได้เปรียบทางอุตสาหกรรมที่มีศักยภาพในด้านเวลาและประสิทธิภาพด้านพลังงานสำหรับการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก

Wang และคณะ (2021) ศึกษาประสิทธิภาพการตกตะกอนของอะลูมิเนียมคลอไรด์ ไคโตซาน แอมโฟเทอริก โพลีอะคริลาไมด์ (อะคริลาไมด์เมทาคริลิกแอซิดเอสเทอร์อะคริลิกแอซิดโคพอลิเมอร์ (ACPAM)) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ สำหรับสาหร่ายขนาดเล็ก 8 ชนิด ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตไบโอดีเซล ได้แก่ สาหร่ายขนาดเล็กในน้ำจืด 4 ชนิด *Chlamydomonas reinhardtii Chlorella sorokiniana Coccomyxa* sp. K.J. และ *Tetradesmus obliquus* สาหร่ายขนาดเล็กในน้ำเค็ม 4 *ชนิด Chlorella vulgaris Fistulifera Solaris Mayamaea* sp. และ *Nannochloropsis oculata* พบว่าอะลูมิเนียมคลอไรด์สามารถตกตะกอนสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำจืดและน้ำเค็ม โดยประสิทธิภาพในการตกตะกอนเกิน 90% โซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถตกตะกอนได้เฉพาะสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำเค็มเท่านั้น ไคโตซานมีประสิทธิภาพมากกับสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำจืดโดยใช้ไคโตซานในความเข้มข้นที่ต่ำ และ ACPAM สามารถตกตะกอนสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำจืดได้เพียงแค่ 3 สายพันธุ์ เวลาในการตกตะกอนด้วย ACPAM นั้นสั้นที่สุด โดยใช้เวลา 0.5 – 0.6 นาที ในขณะที่โซเดียมไฮดรอกได์ใช้เวลาการตกตะกอนนานที่สุด คือ 13 – 40 นาที

Ahmad และคณะ (2011) ได้เก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยวิธีการตกตะกอนโดยใช้ไคโตซาน และศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการเก็บเกี่ยวสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่าสามารถแยกสาหร่ายขนาดเล็กได้ประสิทธิภาพสูงสุด 99.00 ± 0.4% ภายใต้เงื่อนไขของปัจจัยที่เหมาะสมที่สุด ได้แก่ ความเข้มข้นของไคโตซานคือ 10 ppm ระยะเวลาในการกวนคือ 20 นาที เวลาในการตกตะกอนคือ 20 นาที และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไคโตซานจะทำให้สาหร่ายกลับมามีเสถียรภาพอีกครั้ง และทำให้ประสิทธิภาพของกระบวนการเก็บเกี่ยวสาหร่ายลดลง

Wu และคณะ (2011) ได้ศึกษาผลของการตกตะกอนที่เกิดจากการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอช สำหรับการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก และการนำน้ำที่ผ่านการตกตะกอนกลับมาใช้ประโยชน์ ในการทดลองค่าพีเอช จะถูกปรับให้เพิ่มสูงขึ้นโดยใช้ 1M NaOH เพื่อตกตะกอนสาหร่ายปริมาตร 20 มิลลิลิตร ทดลองที่อุณหภูมิห้อง ใช้เวลาในการกวนให้สารเคมีเกิดปฏิกิริยาประมาณ 30 วินาที และใช้ระยะเวลา ในการตกตะกอน 10 นาที โดยประสิทธิภาพในการตกตะกอนจะวัดโดยใช้ค่าการดูดกลืนของแสง (OD_{750}) พบว่าการเพิ่มค่าพีเอช ของน้ำเลี้ยงสาหร่ายจะทำให้สาหร่ายเริ่มมีการรวมตัวกันที่ค่าพีเอช เท่ากับ 8.6 จนพีเอช เพิ่มสูงเป็น 10.6 จะทำให้ประสิทธิภาพในการตกตะกอนเพิ่มขึ้นเป็น 90%

Surendhiran และ Vijay (2013) ตรวจสอบประสิทธิภาพการตกตะกอนของสารตกตะกอนที่แตกต่างกันในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella salina* พบว่าการตกตะกอนสูงสุดคือ $ZnCl_2$ 0.4 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลา 180 นาที และ $ZnSO_4$ 0.6 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลา 210 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

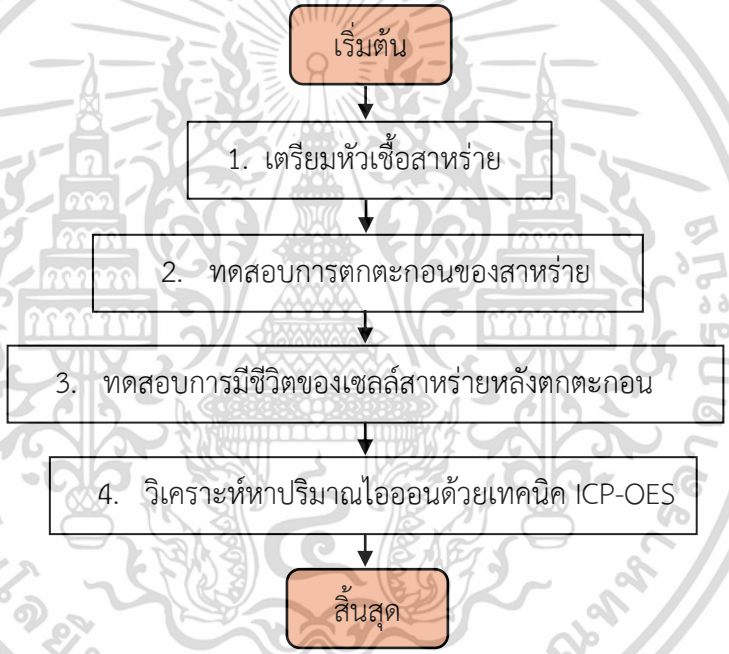
โดยมีประสิทธิภาพสูงสุด 92.71% และ 88.65 % ตามลำดับ เกลืออะลูมิเนียม $AlCl_3$ และ $Al(SO_4)_3$ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นสารตกตะกอนที่มีประสิทธิภาพอันดับสอง โดยมีประสิทธิภาพ 87.43% และ 84.24% แต่การเติมเกลือเหล่านี้ทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงของเซลล์ $FeCl_3$ และ $Fe(SO_4)_3$ อยู่ในอันดับที่สามในด้านประสิทธิภาพการตกตะกอน 80.60% และ 74.36% ตามลำดับ นอกจากนี้ศึกษาผลของอุณหภูมิ แสงสว่าง และความมืดต่อการตกตะกอนด้วย พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพการตกตะกอนจะเพิ่มขึ้น

Granados และคณะ (2012) ได้ศึกษาการใช้สารตกตะกอนในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำจืด สารตกตะกอนที่ใช้ประกอบด้วยเกลือของโลหะ ไคโตซาน และโพลีอิเล็กโตรไลต์ที่ใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าการใช้เกลือของโลหะ หรือไคโตซานไม่ได้มีประสิทธิภาพที่ดีเมื่อเทียบกับการใช้โพลีอิเล็กโตรไลต์ในการเก็บเกี่ยว โดยใช้ 2–25 มิลลิกรัมต่อกรัม ของชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก โดยทั่วไปจะใช้โพลีอิเล็กโตรไลต์ประจุบวก เนื่องจากการใช้โพลีอิเล็กโตรไลต์ไม่ส่งผลเสียต่อการนำน้ำมาใช้ซ้ำในกระบวนการผลิต และการใช้วิธีการตกตะกอนเช่นนี้จะช่วยปรับปรุงความสามารถในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายเพื่อใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

ภาพรวมของการศึกษาการตกตะกอนเพื่อเก็บเกี่ยวชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยหาสารเร่งตกตะกอนที่ดีที่สุด ที่ส่งผลให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวดีที่สุด จากนั้นนำไปทดสอบการมีชีวิตของเซลล์สาหร่ายหลังตกตะกอน โดยการวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วยการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สุดท้ายนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไอออนที่หลงเหลือในระบบด้วยเทคนิค ICP-OES แสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ภาพรวมการดำเนินงานเพื่อหาสารเร่งตกตะกอนที่ดีที่สุดสำหรับการเก็บเกี่ยวชีวมวลของสาหร่าย

3.1 สารเคมี

1.1.1 Acetic acid gacial (LOBALO Chemie, India)

1.1.2 Aluminium sulfate (LOBALO Chemie, India)

1.1.3 Aluminum (Al) Pure Standard, 1,000 µg/mL in 2% HNO_3 (PerkinElmer, USA)

1.1.4 Ammonium chloride (LOBALO Chemie, India)

1.1.5 Ammonium molybdate tetrahydrate (LOBALO Chemie, India)

1.1.6 Boric acid (LOBALO Chemie, India)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.7 Calcium chloride dihydrate (KEMAUS, Australia)

1.1.8 Copper (II) sulfate pentahydrate (LOBALO Chemie, India)

1.1.9 Cobalt (II) chloride hexahydrate (LOBALO Chemie, India)

1.1.10 Dipotassium hydrogen phosphate (KEMAUS, Australia)

1.1.11 Disodium EDTA (LOBALO Chemie, India)

1.1.12 Iron (III) chloride hexahydrate (DAEJUNG, South Korea)

1.1.13 Iron (III) sulfate heptahydrate (LOBALO Chemie, India)

1.1.14 Magnesium sulfate heptahydrate (LOBALO Chemie, India)

1.1.15 Manganese chloride tetrahydrate (LOBALO Chemie, India)

1.1.16 Poly (diallyldimethylammonium chloride) solution (Sigma-Aldrich, USA)

1.1.17 Potassium dihydrogen phosphate

1.1.18 Tris-base (CARLO ERBA, India)

1.1.19 Zinc (Zn) Pure Standard, 1,000 µg/mL in 2% HNO_3 (PerkinElmer, USA)

1.1.20 Zinc sulfate heptahydrate (LOBALO Chemie, India)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

3.2.1 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

3.2.2 กระบอกฉีดยา 3 มิลลิลิตร

3.2.3 ขวดกำหนดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.2.4 เครื่องเขย่าผสมสาร

3.2.5 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.2.6 เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ

3.2.7 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงชนิดคลื่นแสง

3.2.8 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดและเบส

3.2.9 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุด้วยเทคนิค ICP-OES

3.2.10 คิวเวทท์พลาสติก

3.2.11 จานเพาะเชื้อ และเข็มเขี่ยเชื้อแบบกลม

3.2.12 ตัวกรองเข็มฉีดยาไนลอน

3.2.13 ตู้บ่มแบบเขย่าและควบคุมอุณหภูมิ

3.2.14 ตู้ปลอดเชื้อ

3.2.15 ตู้อบลมร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.16 ไมโครปิเปตต์

3.2.17 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

3.2.18 หลอดไมโครเซนตริฟิวก์ขนาด 1.5 และ 2 มิลลิลิตร

3.2.19 หลอดเซนตริฟิวก์พลาสติกและฝาปิด 50 มิลลิลิตร

3.2.20 หลอดใส่ตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ ICP-OES

3.3 รายการสาหร่าย

3.3.1 สาหร่ายรหัส G4

3.3.2 *Chlorella* sp. KLSc 59

3.3.3 *Chlorella* sp. KLSc 61

3.3.4 *Tetraspora* sp. CU2551

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย

3.4.1 อาหารแข็ง TAP (Tris acetate phosphate)

3.4.2 อาหารเหลว TAP (Tris acetate phosphate)

3.5 ยาปฏิชีวนะที่ใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

3.5.1 กานาไมซิน (Kanamycin)

3.6 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

สาหร่ายที่นำมาทำการศึกษามีทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ คือ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 สาหร่ายรหัส G4 และ *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหารแข็งสูตร TAP (Tris acetate phosphate) จากคลังหน่วยวิจัยพลังงานชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง มาขีดเชื้อแบบ Cross streak ในจานเพาะเชื้อลงบนอาหารแข็งสูตร TAP และทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการเลือกโคโลนีเดี่ยวที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร TAP 1-2 โคโลนี เขี่ยลงในอาหารเหลวสูตร TAP ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เลี้ยงแบบเขย่าโดยเขย่าที่ 120 รอบต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากบ่ม 24 ชั่วโมง นำไปปั่นเก็บเซลล์ที่ 4,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนของเหลวเหนือตะกอนทิ้ง และเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 30 มิลลิลิตร เพื่อทำการกระจายเซลล์ จากนั้นนำไปทำการปั่นตกตะกอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ 4,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ทั้งหมด 3 รอบ เพื่อเป็นการล้างเซลล์ ทิ้งส่วนของเหลวเหนือตะกอน และเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 - 5 มิลลิลิตร โดยให้ค่าความขุ่นของเซลล์ (Optical density : OD) สุดท้ายที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร มีค่าเท่ากับ 1

3.7 การเตรียมสารเคมี

สารเคมีที่นำมาเป็นสารเร่งตกตะกอนมีทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ อะลูมิเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3$) แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) เฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) โพลีไดเมทิลไดอิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (PDADMAC) และซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$) จัดเตรียมในรูปแบบของสารละลาย ที่มีความเข้มข้น 110 มิลลิโมลาร์ จำนวนชนิดละ 100 มิลลิลิตร

3.8 ทดสอบการตกตะกอน

3.8.1 ศึกษาชนิดของสารเคมีที่ใช้ในการตกตะกอนสาหร่าย

ในการศึกษาการตกตะกอนของสารหร่ายจะจัดเตรียมตัวอย่างสาหร่ายทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 สาหร่ายรหัส G4 และ *Tetraspora* sp. CU2551 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการตกตะกอนสาหร่ายของสารเคมี 5 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ PDADMAC และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยทำการปิเปตต์สารแขวนลอยสาหร่ายที่มีค่าความขุ่นของเซลล์ (OD_{750}) เริ่มต้นเท่ากับ 1 ลงในคิวเวทท์ปริมาตร 0.90 มิลลิลิตร และปิเปตต์สารเคมีแต่ละชนิดลงในคิวเวทท์ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าความขุ่น (Optical density : OD) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยวัดค่าความขุ่น (OD_{750}) ทุก ๆ 30 วินาที และบันทึกผลจนถึง 30 นาที

3.8.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารเร่งตกตะกอนที่เหมาะสมต่อการตกตะกอนสาหร่าย

ทำการทดลองต่อจากการทดลองที่ 3.8.1 โดยใช้สารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด คือ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ มากำหนดความเข้มข้นของสารเร่งตกตะกอน ได้แก่ 0 5 10 15 20 25 และ 30 มิลลิโมลาร์ โดยทำการผสมสารเร่งตกตะกอนกับสารแขวนลอยสาหร่ายที่มีค่าความขุ่น (OD_{750}) เริ่มต้นเท่ากับ 1 ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 แสดงค่าความเข้มข้นของสารเร่งตกตะกอน ปริมาตรของสารเคมีที่ต้องใช้จากสต็อคเข้มข้น 110 มิลลิโมลาร์ (มิลลิลิตร) และปริมาตรของสารแขวนลอยสาหร่าย (มิลลิลิตร)

องค์ประกอบ	ความเข้มข้นของสารเร่งตกตะกอน (มิลลิโมลาร์)						
	Control	5	10	15	20	25	30
ปริมาตรของสารเคมีที่ต้องใช้จากสต็อค 110 มิลลิโมลาร์ (มิลลิลิตร)	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30
ปริมาตรของสารแขวนลอยสาหร่าย (มิลลิลิตร)	1	0.95	0.90	0.85	0.80	0.85	0.70
ปริมาตรรวมสุทธิ	1 มิลลิลิตร						

ทำการผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าความขุ่นของเซลล์ (Optical density : OD) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยวัดค่าความขุ่น (OD_{750}) ทุก 30 วินาที และบันทึกผลจนครบ 30 นาที

3.9 ทดสอบการมีชีวิตของเซลล์สาหร่ายหลังตกตะกอน

3.9.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์สาหร่าย

นำตะกอนของสาหร่ายที่เก็บเกี่ยวได้จากการตกตะกอนเซลล์ของ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 และสาหร่ายรหัส G4 ใช้สารเร่งตกตะกอน $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 25 และ 5 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ และ *Tetraspora* sp. CU2551 ใช้สารเร่งตกตะกอน $Al_2(SO_4)_3$ 5 มิลลิโมลาร์ มาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก โดยการเตรียมสไลด์ด้วยเทคนิค wet mount ส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า และบันทึกภาพใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9.2 การวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วยการวัดค่าความขุ่น

นำตะกอนของสาหร่ายที่เก็บเกี่ยวจากการตกตะกอนมาทดลองเลี้ยงเพื่อศึกษาการเจริญของสาหร่ายหลังจากการทำให้ตกตะกอน

3.9.2.1 นำตะกอนเซลล์ของ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 และสาหร่ายรหัส G4 ใช้สารเร่งตกตะกอน $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 25 และ 5 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ และ *Tetraspora* sp. CU2551 ใช้สารเร่งตกตะกอน คือ $Al_2(SO_4)_3$ 5 มิลลิโมลาร์ ไปทำให้เจือจางด้วยอาหารเหลวสูตร TAP ให้มีค่าความขุ่น (OD_{750}) เริ่มต้นของเซลล์เท่ากับ 0.1

3.9.2.2 ทำการปิเปตต์สาหร่ายจากข้อ 3.9.2.1 มาใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลวสูตร TAP 30 มิลลิลิตร โดยปิเปตต์ลงขวดละ 1 มิลลิลิตร

3.9.2.3 นำไปเลี้ยงแบบเขย่าโดยเขย่าที่ 120 รอบต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยทำการเก็บตัวอย่างเซลล์แขวนลอยสาหร่ายช่วงแรกที่ 0 3 9 และ 12 จนครบ 48 ชั่วโมง จากนั้นจะเก็บทุก ๆ 24 ชั่วโมง และวัดค่าความขุ่นของเซลล์ (Optical density: OD) ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงชนิดคลื่นแสง (UV-Visspectrophometer) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

3.9.2.4 นำค่าความขุ่นของเซลล์ (OD_{750}) ที่วัดได้มาทำกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความขุ่นของเซลล์ (OD_{750}) และเวลา (ชั่วโมง)

3.10 วิเคราะห์หาปริมาณไอออนด้วยเทคนิค ICP-OES (Avio 550 Max Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy, PerkinElmer, USA)

3.10.1 การเตรียมสารมาตฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานของสังกะสี (Zn) และอะลูมิเนียม (Al) จากสต๊อคความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.25 0.50 1.0 1.5 2.0 2.5 3 และ 3.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วใช้น้ำกลั่นแบบปราศจากไอออนปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร สำหรับทำเป็นกราฟมาตรฐานด้วยเครื่อง ICP-OES และใช้เปรียบเทียบกับตัวอย่าง โดยทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.10.2 การเตรียมชุดควบคุม

นำอาหารเหลวสูตร TAP ทำการผสมกับสารเร่งตกตะกอน $Al_2(SO_4)_3$ และผสมกับสารเร่งตกตะกอน $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ทำการตั้งทิ้งไว้จากนั้นเก็บส่วนของเหลวเหนือตะกอนโดยทำการเก็บที่นาทีที่ 1 และนาทีที่ 10 โดยใช้กระบอกฉีดยา แล้วนำส่วนของเหลวเหนือตะกอนปริมาตร 2 มิลลิลิตรมากรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมโครเมตร และใส่ลงในหลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครเซนตริฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้ตัวอย่างมีความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-OES

3.10.3 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างสาหร่ายทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ คือ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 สาหร่ายรหัส G4 และ *Tetraspora* sp. CU2551 มาทำการตกตะกอนสาหร่ายด้วยสารเร่งตกตะกอนที่ความเข้มข้น ดังนี้ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 และ สาหร่าย G4 ใช้สารเร่งตกตะกอนคือ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 25 และ 5 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ และ*Tetraspora* sp. CU2551 ใช้สารเร่งตกตะกอนคือ $Al_2(SO_4)_3$ 5 มิลลิโมลาร์ ทำการตกตะกอน จากนั้นเก็บส่วนของเหลวเหนือตะกอนโดยทำการเก็บทุก ๆ 1 นาทีจนครบ 10 นาที ทำการเก็บตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร โดยใช้กระบอกฉีดยา และนำส่วนของเหลวเหนือตะกอนมากรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วเก็บใส่หลอดไมโครเซนตริฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ตัวอย่างมีความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-OES ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาชนิดของสารเคมีที่ใช้ในการตกตะกอนสาหร่าย

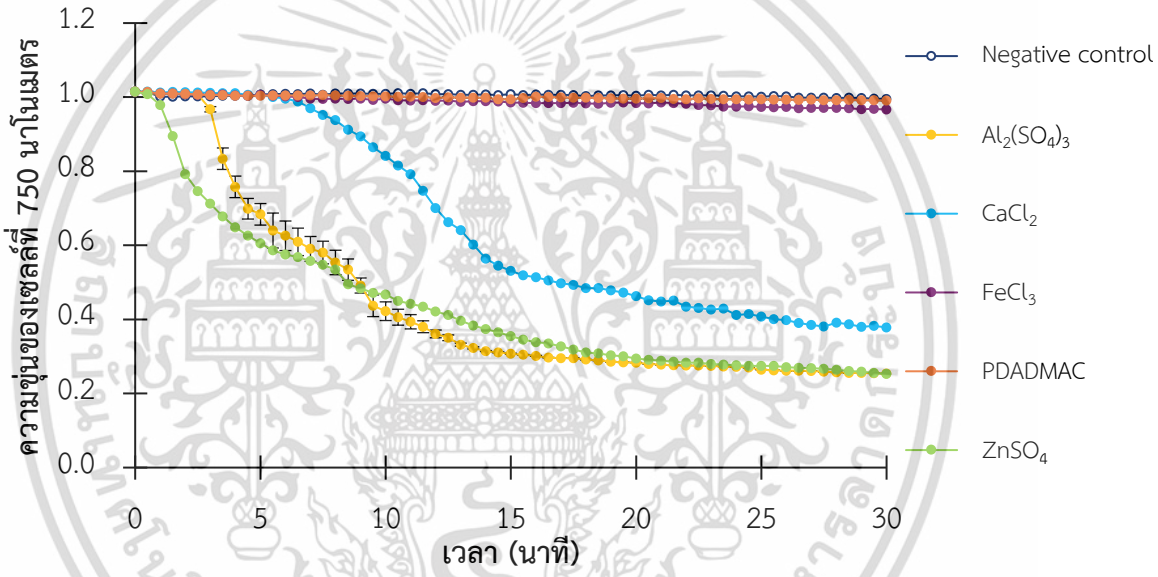
การศึกษาการตกตะกอนสาหร่ายขนาดเล็ก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 สาหร่ายรหัส G4 และ *Tetraspora* sp. CU2551 โดยทำการทดสอบการตกตะกอนด้วยสารเร่งตกตะกอน 5 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ PDADMAC และ $ZnSO_4$ โดยกำหนดความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ใช้สารเร่งตกตะกอน 0.10 มิลลิลิตร และสารแขวนลอยสาหร่ายที่มีค่าความขุ่นของเซลล์ (OD_{750}) เริ่มต้นเท่ากับ 1 ปริมาตร 0.90 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากัน โดยวัดประสิทธิภาพการตกตะกอนเซลล์ จากค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยวัดค่าความขุ่นของเซลล์ (OD_{750}) ทุก ๆ 30 วินาที จนครบ 30 นาที โดยสารเคมีจะมีการแตกตัวในน้ำให้ประจุบวกซึ่งจะไปจับกับประจุลบบนพื้นผิวเซลล์ของสาหร่ายทำให้เกิดการจับตัว และตกตะกอน จากรูปที่ 4.1-4.4 พบว่ามีสารเร่งตกตะกอน 2 ชนิดจาก 5 ชนิดที่มีประสิทธิภาพในการตกตะกอนต่ำ ได้แก่ $FeCl_3$ และ PDADMAC

จากการทดลองพบว่า PDADMAC เป็นโพลีอิเล็กโตรไลต์แบบประจุบวก ส่วน $FeCl_3$จะทำการแตกตัวให้ประจุบวก คือ Fe^{3+} ให้ประสิทธิภาพในการตกตะกอนต่ำ ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang *et al*., 2021 ที่สามารถใช้ PDADMAC ความเข้มข้น 4-10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการตกตะกอนสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่า 90% และไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของยุวดี อินสาราญ (2543) ที่พบว่า $FeCl_3$ มีประสิทธิภาพที่ดีในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย 4 ชนิดคือ *Spirulina platensis Chlorella vulgaris Scenedesmus acutus* และ *Closterium acerorum* ทั้งนี้อาจเกิดจากการใช้ความเข้มข้นที่มากเกินไปของสารเร่งตกตะกอนทั้ง 2 ชนิด เมื่อสารมีความเข้มข้นมากเกินไปจะทำให้ประจุบวกบนผิวเซลล์เพิ่มมากขึ้นทำให้เกิดแรงผลัก (repulsion force) สาหร่ายจะเกิดความคงตัว และไปลดประสิทธิภาพการตกตะกอน (Mu *et al*., 2018) และเมื่อสังเกตจากรูปที่ 4.1-4.4 พบว่าในสาหร่ายทุกสายพันธุ์มีประสิทธิภาพการตกตะกอนของ $Al_2(SO_4)_3$ ดีกว่า $FeCl_3$ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Ma *et al*., 2023 ที่พบว่าประสิทธิภาพการตกตะกอนของเกลืออะลูมิเนียมจะสูงกว่าการตกตะกอนของเกลือเฟอร์ริก ไม่ว่าจะเป็นซัลเฟต หรือคลอไรด์ ซึ่งสามารถอธิบายได้ด้วยสองประเด็นต่อไปนี้ ประเด็นแรกคือเกลืออะลูมิเนียมมีความเข้มข้นของไอออนบวกสูงกว่าเกลือเฟอร์ริกทั้งในซัลเฟต และคลอไรด์เพื่อให้มีความเข้มข้นของมวลเท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

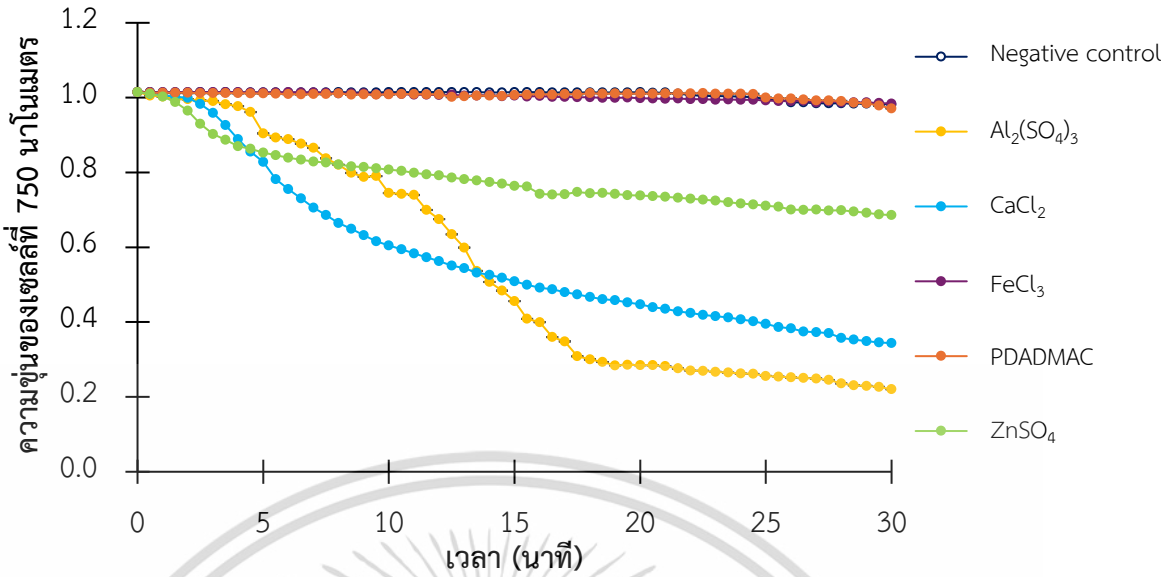
ประเด็นที่สองอาจอธิบายได้จากข้อเท็จจริงที่ว่าความหนาแน่นประจุที่พื้นผิวของ Al^{3+} และ Fe^{3+} อยู่ที่ 95.5 นิวตันต่อตารางเมตร และ 58.0 นิวตันต่อตารางเมตร โดยอิงตามรัศมี 0.050 nm ของ Al^{3+} และรัศมี 0.064 ของ Fe^{3+} ตามลำดับ Al^{3+} มีความหนาแน่นประจุที่พื้นผิวสูงกว่า Fe^{3+} ซึ่งมีแนวโน้มที่จะช่วยให้ความสามารถในการดึงดูดกับประจุลบบนพื้นผิวเซลล์ และทำให้ประจุที่พื้นผิวเป็นกลาง (Chatsungnoen and Chisti, 2016)

จากการทดลองพบว่ามีสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ให้ประสิทธิภาพการตกตะกอนของสาหร่ายที่ดี ดังนั้นจึงเลือกสารเร่งตกตะกอนทั้ง 3 ชนิด เพื่อนำไปหาชนิดของตะกอนและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตกตะกอนสาหร่ายขนาดเล็ก 4 สายพันธุ์

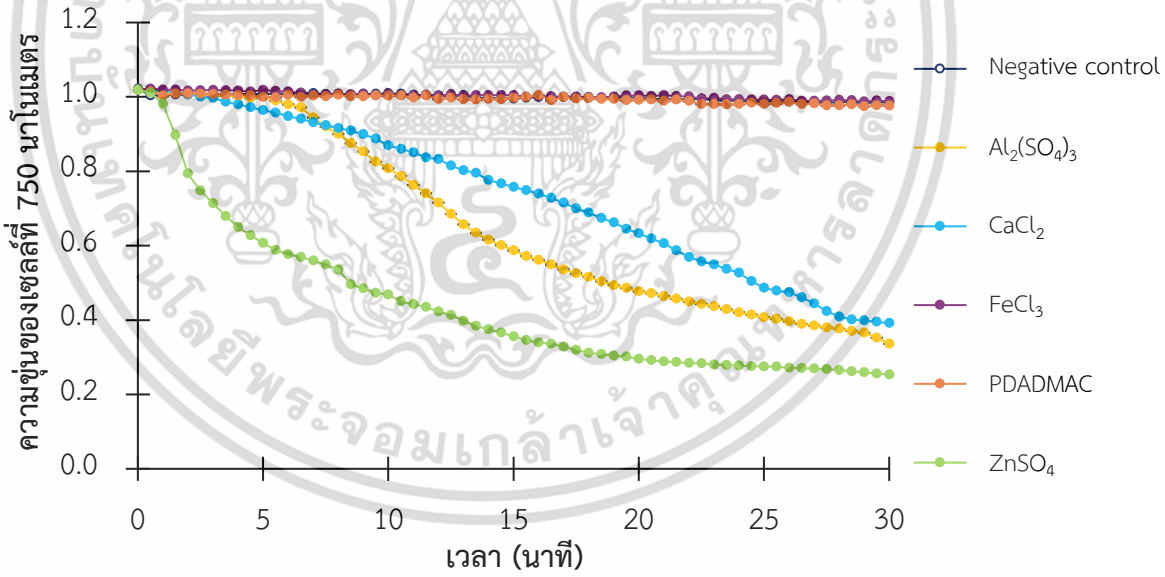


รูปที่ 4.1 ความสามารถในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc59 ของสารเคมี 5 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ PDADMAC และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร (n=3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

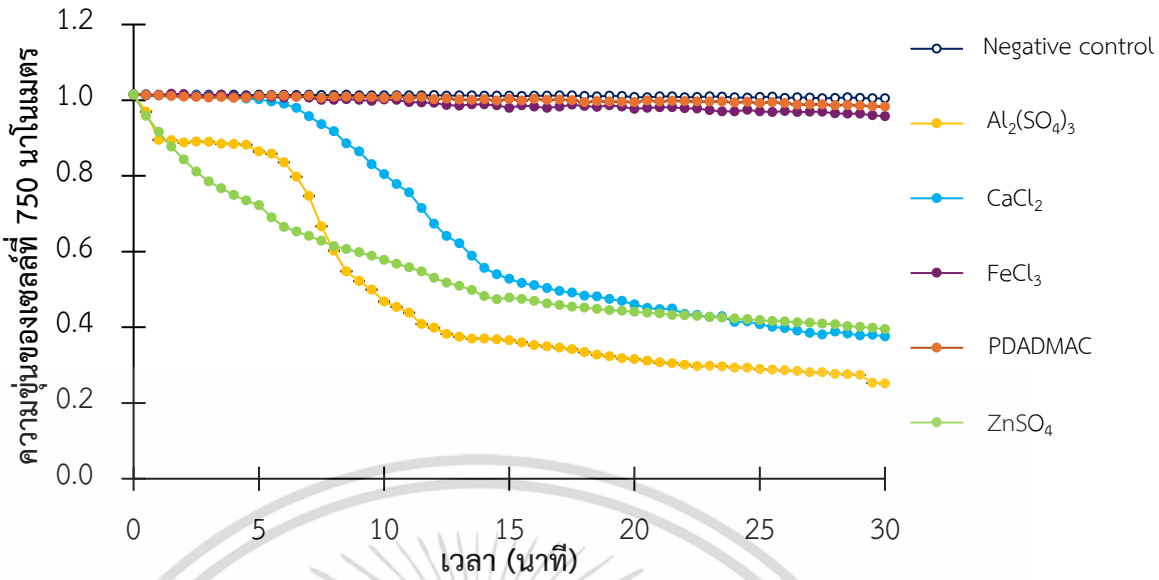


รูปที่ 4.2 ความสามารถในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc61 ของสารเคมี 5 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ PDADMAC และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร (n=3)



รูปที่ 4.3 ความสามารถในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยวสาหร่ายรหัส G4 ของสารเคมี 5 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ PDADMAC และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร (n=3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ความสามารถในการตกตะกอนเพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Tetraspora* sp. CU2551 ของสารเคมี 5 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ PDADMAC และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร (n=3)

4.2 ผลการศึกษาชนิดของสารเร่งตกตะกอน และความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการตกตะกอน

จากการศึกษาชนิดของสารเร่งตกตะกอน และความเข้มข้นที่เหมาะที่สุดในการตกตะกอน โดยใช้สารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด คือ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ มากำหนดความเข้มข้นของสารเร่งตกตะกอน ได้แก่ 0 5 10 15 20 25 และ 30 มิลลิโมลาร์ เพื่อศึกษาว่าภายในระยะเวลา 30 นาที สารเร่งตกตะกอนชนิดใด และความเข้นข้นเท่าใด สามารถตกตะกอนได้รวดเร็วที่สุด โดยสังเกตจากส่วนของเหลวเหนือตะกอน ซึ่งวิเคราะห์ได้จากการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร จากนั้นนำไปหา $t_{0.5}$ (เวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเซลล์เพียงครึ่งหนึ่ง) เพื่อหาเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนได้เร็วที่สุด จากรูปที่ 4.5 ในการตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc59 พบว่าการตกตะกอนสาหร่ายด้วย $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 20 และ 5 มิลลิโมลาร์ตามลำดับ ให้ประสิทธิภาพการตกตะกอนที่ดี โดยใช้ $t_{0.5}$ คือ 7.16 15.89 และ 1.74 นาที ตามลำดับ จากรูปที่ 4.6 การตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc61 ด้วย $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 10 20 และ 20 มิลลิโมลาร์ตามลำดับ ใช้ $t_{0.5}$ คือ 14.03 11.19 และ 5.02 นาที ตามลำดับ ส่วนการตกตะกอนสาหร่ายรหัส G4 จากรูปที่ 4.7 พบว่าการตกตะกอนด้วย $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 15 และ 5 มิลลิโมลาร์ ให้ประสิทธิภาพการตกตะกอนที่ดี โดยใช้ $t_{0.5}$ คือ 6.41 14.83 และ 1.61 นาที ตามลำดับ และการตกตะกอน *Tetraspora* sp. CU2551 จากรูปที่ 4.8 พบว่า $Al_2(SO_4)_3$ ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

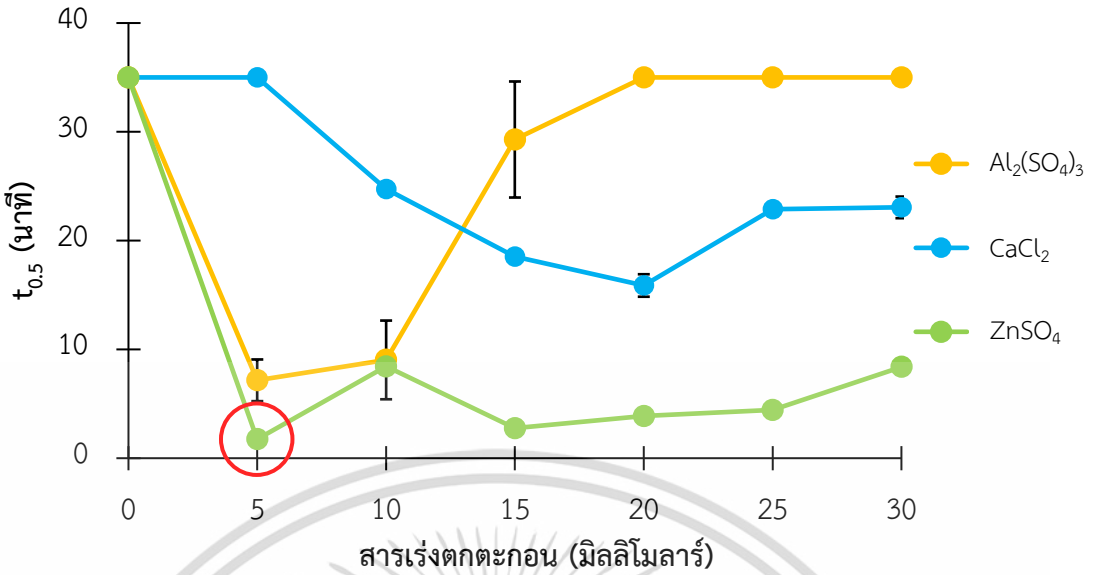
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ $t_{0.5}$ คือ 2.86 นาที ส่วน $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 20 และ 25 มิลลิโมลาร์ ใช้เวลา $t_{0.5}$ คือ 13.63 และ 5.02 นาที ตามลำดับ

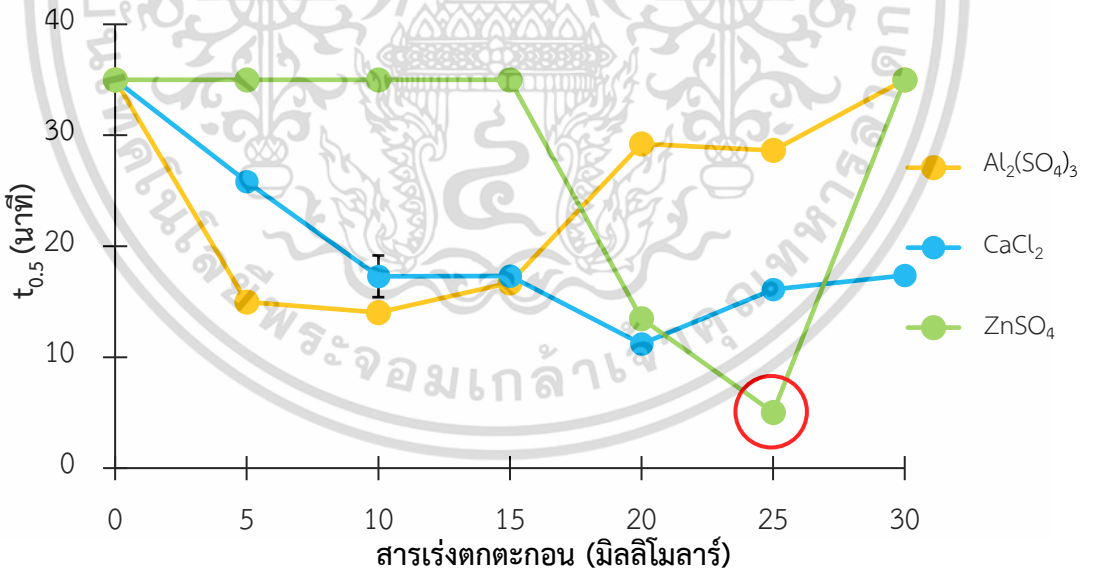
เมื่อนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบค่า $t_{0.5}$ (เวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเซลล์เพียงครึ่งหนึ่ง) เพื่อหาเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนน้อยที่สุด พบว่าการตกตะกอนด้วย $ZnSO_4$ ในการเก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc59 มีความเข้มข้นที่เหมาะสมอยู่ที่ 5 มิลลิโมลาร์ และ *Chlorella* sp. KLSc61 มีความเข้มข้นที่เหมาะสมอยู่ที่ 25 มิลลิโมลาร์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Surendhiran และ Vijay (2013) ที่ทำการตรวจสอบประสิทธิภาพการตกตะกอนของสารตกตะกอนที่แตกต่างกันในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella salina* พบว่าประสิทธิภาพการตกตะกอนสูงสุดคือ $ZnCl_2$ และ $ZnSO_4$ ในสาหร่ายรหัส G4 ชนิดของสารเร่งตกตะกอนที่เหมาะสมคือ $ZnSO_4$ ความเข้มที่เหมาะสมในการตกตะกอน ได้แก่ 5 มิลลิโมลาร์ และการเก็บเกี่ยว *Tetraspora* sp. CU2551 โดยใช้สารเร่งตกตะกอน $Al_2(SO_4)_3$ ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เหมาะสมที่สุด

โดยจากการทดลองจะสังเกตได้ว่าในสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ทั้ง 2 สายพันธุ์เมื่อใช้ $ZnSO_4$ ในการตกตะกอนแต่มีการใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากองค์ประกอบของเซลล์ในส่วนของผนังเซลล์ *Chlorella* sp. KLSc59 อาจมีลักษณะที่บางกว่า *Chlorella* sp. KLSc61 ทำให้ใช้เวลาในการจับตัวกับประจุลบบนเยื่อหุ้มเซลล์สาหร่ายได้เร็วกว่าการจับตัวกันใน *Chlorella* sp. KLSc61 และจากสาหร่าย 4 สายพันธุ์ มีเพียง *Tetraspora* sp. CU2551 ที่ใช้ $Al_2(SO_4)$ อาจเกิดจากประจุบนเยื่อหุ้มเซลล์สามารถจับกับอะลูมิเนียมไอออนได้ดีกว่าซิงค์ไอออน จากที่กล่าวมาปัจจัยในการจับตัวตกตะกอนอาจเกิดจากชนิดของเซลล์สาหร่าย องค์ประกอบทางกายภาพของเซลล์สาหร่าย เช่น ความหนาหรือความบางของผนังเซลล์ คุณสมบัติของพื้นผิวเซลล์ เช่น ประจุรวม และความไม่ชอบน้ำ รวมทั้งค่าพีเอช (Barros *et al*., 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

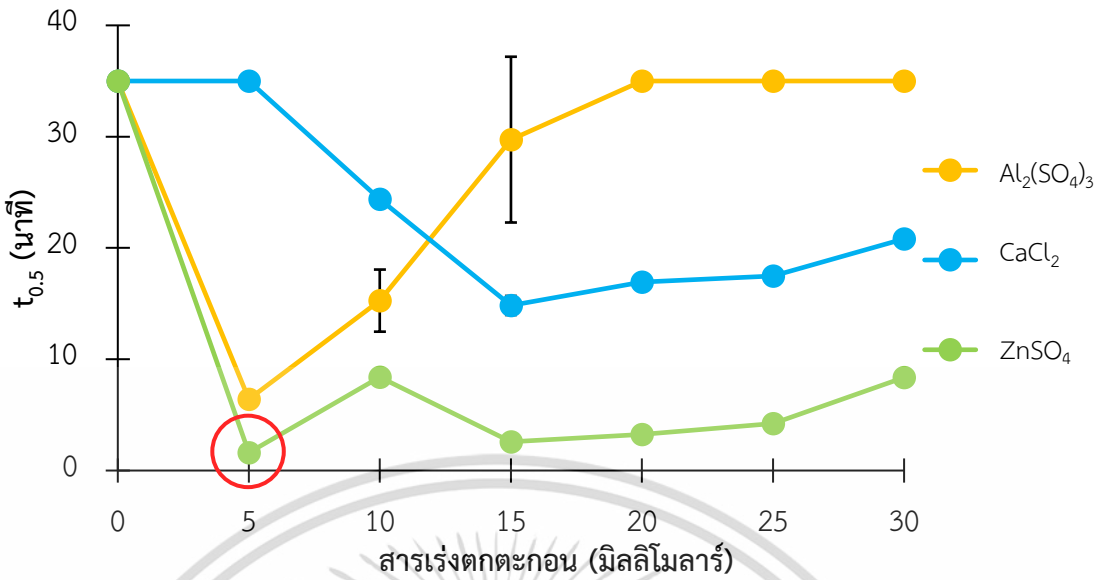


รูปที่ 4.5 วงกลมสีแดงแสดงถึงเวลา $t_{0.5}$ (เวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเซลล์เพียงครึ่งหนึ่ง) เพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc59 ของสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 25 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร (n=3)

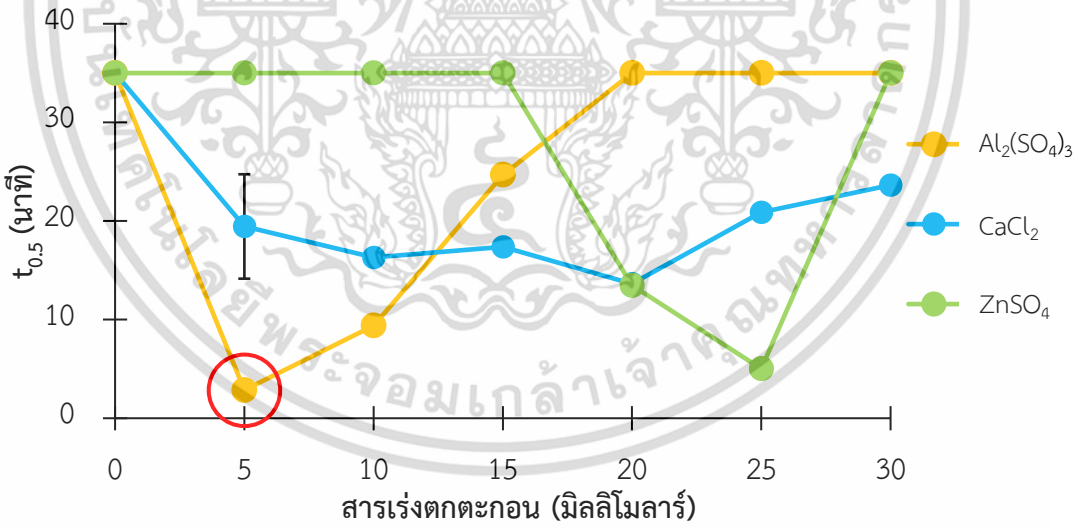


รูปที่ 4.6 วงกลมสีแดงแสดงถึงเวลา $t_{0.5}$ (เวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเซลล์เพียงครึ่งหนึ่ง) เพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc61 ของสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 25 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร (n=3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 วงกลมสีแดงแสดงถึงเวลา $t_{0.5}$ (เวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเซลล์เพียงครึ่งหนึ่ง) เพื่อใช้เก็บเกี่ยวสาหร่ายรหัส G4 ของสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 25 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร (n=3)



รูปที่ 4.8 วงกลมสีแดงแสดงถึงเวลา $t_{0.5}$ (เวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเซลล์เพียงครึ่งหนึ่ง) เพื่อใช้เก็บเกี่ยว *Tetraspora* sp. CU2551 ของสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 25 มิลลิโมลาร์ โดยทำการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร (n=3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

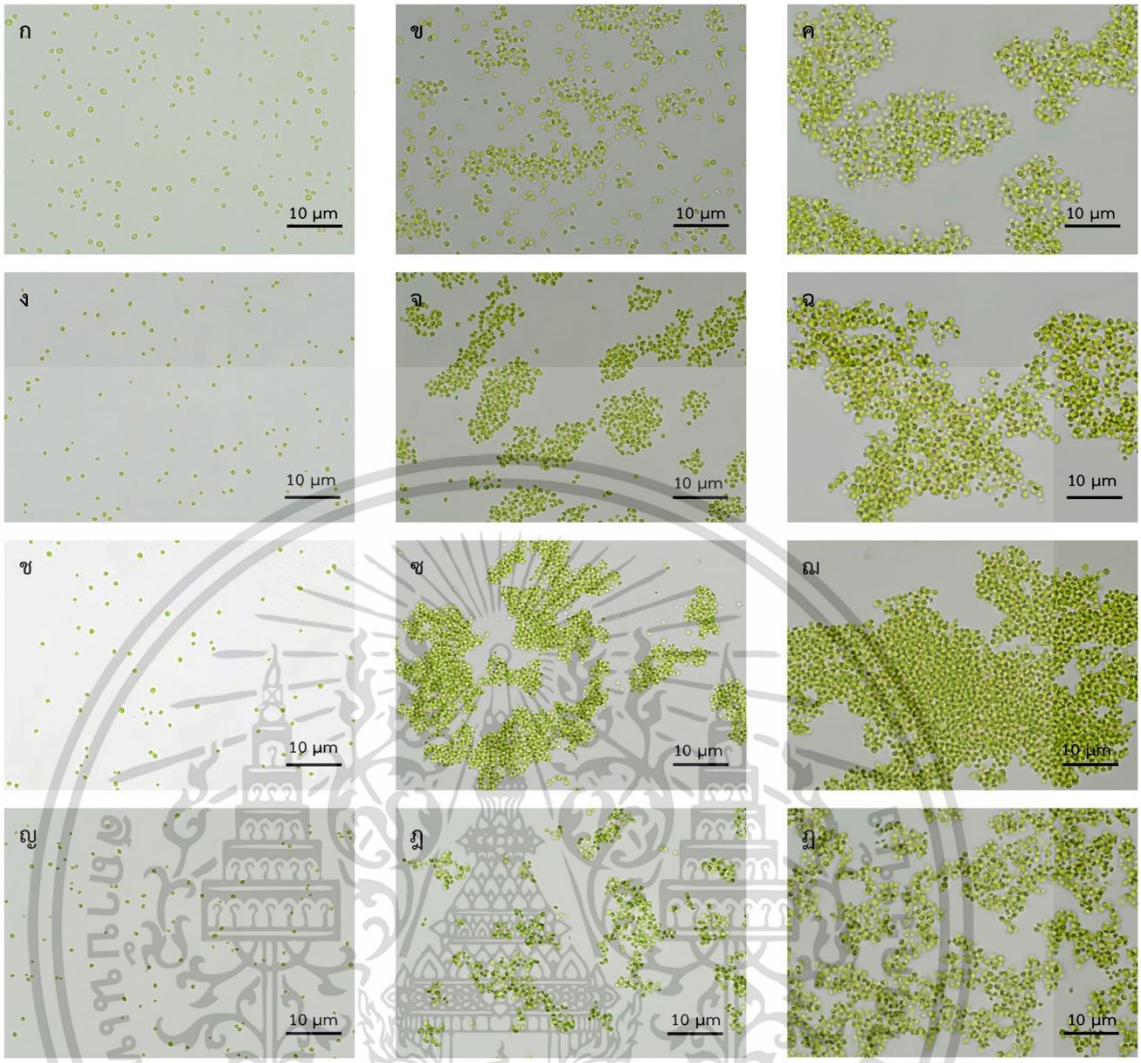
4.3 ผลการทดสอบการมีชีวิตของเซลล์สาหร่ายหลังตกตะกอน

การทดสอบการมีชีวิตของเซลล์สาหร่ายหลังตกตะกอน ทดสอบใน 2 วิธี คือ การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และการวัดอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย

4.3.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์สาหร่าย

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 สาหร่ายรหัส G4 และ*Tetraspora* sp. CU2551 โดยนำเซลล์สาหร่ายหลังตกตะกอน มาศึกษาดูรูปร่าง และลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า และบันทึกภาพผ่านกล้องจุลทรรศน์โดยใช้แอปพลิเคชัน EPview พบว่าเซลล์สาหร่ายมีรูปร่างค่อนข้างกลมหรือเป็นวงรี และมีสีเขียว โดยรูปที่ 4.9 ก ง ช และ ญ จะพบเซลล์สาหร่ายอิสระที่ไม่มีสารเร่งการตกตะกอนเซลล์ เซลล์มีลักษณะการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ และหลังจาการเติมสารเร่งตกตะกอนลงไป พบว่าเมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่ง เซลล์สาหร่ายจะเริ่มรวมตัวกันเป็นจุด ๆ ซึ่งสามารถสังเกตการจับตัวเป็นก้อนที่เกิดขึ้นได้ (รูปที่ 4.9 ข จ ซ และ ฎ) และเมื่อครบ 30 นาที เซลล์สาหร่ายจะจับตัวกันเป็นก้อนขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 4.9 ค ฉ ฌ และ ฏ) สิ่งเหล่านี้ทำให้สาหร่ายสามารถตกตะกอนลงมา และพร้อมสำหรับการเก็บเกี่ยวชีวมวลของสาหร่ายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่ายขนาดเล็ก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 400 เท่า **(ก)** *Chlorella* sp. KLSc59 เซลล์อิสระ **(ข)** *Chlorella* sp. KLSc59 เมื่อตกตะกอนผ่านไป 3 นาที โดยใช้ $ZnSO_4$ 5 มิลลิโมลาร์ **(ค)** *Chlorella* sp. KLSc59 เมื่อตกตะกอนครบ 30 นาที โดยใช้ $ZnSO_4$ 5 มิลลิโมลาร์ **(ง)** *Chlorella* sp. KLSc61 เซลล์อิสระ **(จ)** *Chlorella* sp. KLSc61 เมื่อตกตะกอนผ่านไป 5 นาที โดยใช้ $ZnSO_4$ 25 มิลลิโมลาร์ **(ฉ)** *Chlorella* sp. KLSc61 เมื่อตกตะกอนครบ 30 นาที โดยใช้ $ZnSO_4$ 25 มิลลิโมลาร์ **(ช)** สาหร่ายรหัส G4 เซลล์อิสระ **(ซ)** สาหร่ายรหัส G4 เมื่อตกตะกอนผ่านไป 3 นาที โดยใช้ $ZnSO_4$ 5 มิลลิโมลาร์ **(ฌ)** สาหร่ายรหัส G4 เมื่อตกตะกอนครบ 30 นาที โดยใช้ $ZnSO_4$ 5 มิลลิโมลาร์ และ **(ญ)** *Tetraspora* sp. CU2551 เซลล์อิสระ **(ฎ)** *Tetraspora* sp. CU2551 เมื่อตกตะกอนผ่านไป 3 นาที โดยใช้ $Al_2(SO_4)_3$ 5 มิลลิโมลาร์ **(ฏ)** *Tetraspora* sp. CU2551 เมื่อตกตะกอนครบ 30 นาที โดยใช้ $Al_2(SO_4)_3$ 5 มิลลิโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

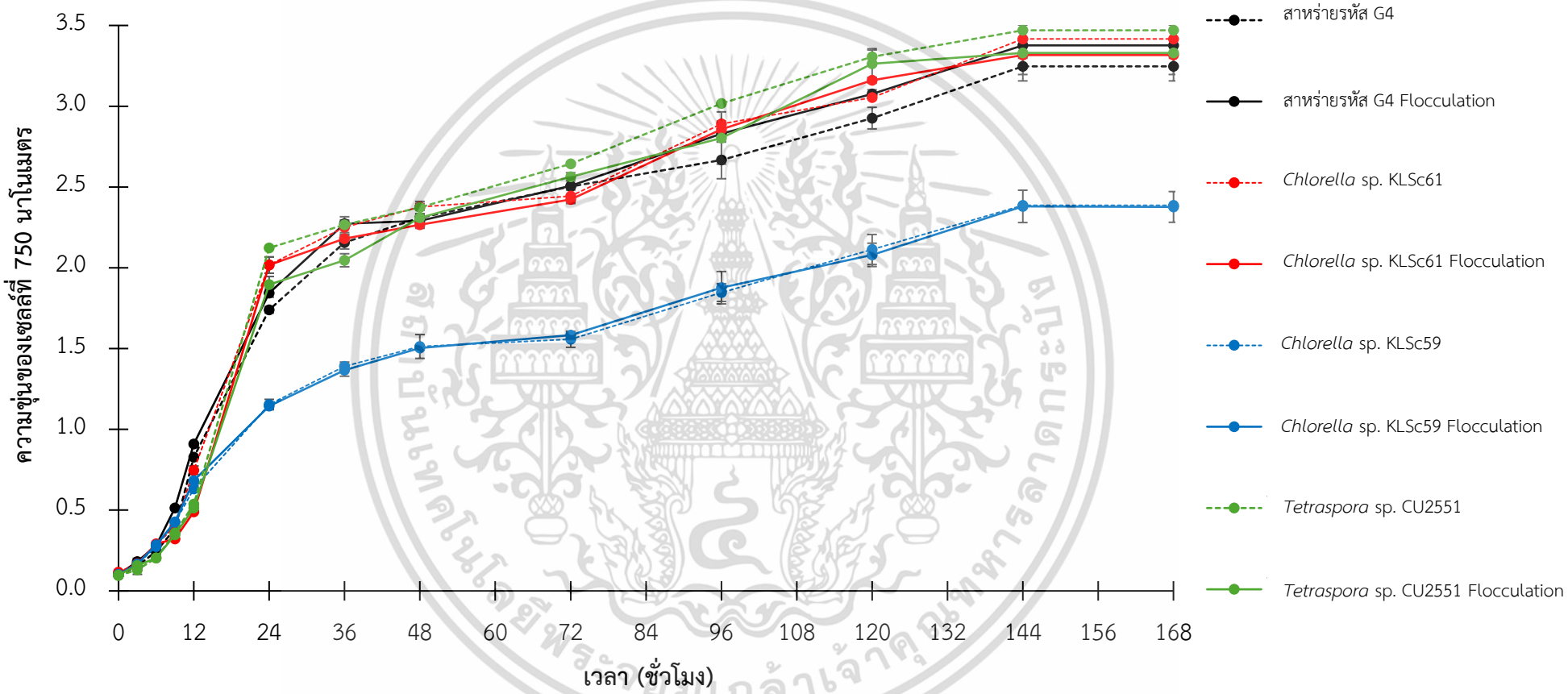
4.3.2 ผลการวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กที่ทำการเก็บเกี่ยวจากการตกตะกอน เมื่อนำ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 และ สาหร่ายรหัส G4 มาทำการตกตะกอนโดยใช้สารเร่งตกตะกอน คือ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 25 และ 5 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ และ *Tetraspora* sp. CU2551 ใช้สารเร่งตกตะกอนคือ $Al_2(SO_4)_3$ 5 มิลลิโมลาร์ มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร TAP 30 มิลลิลิตร โดยมีความขุ่นเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 นำไปเลี้ยงแบบเขย่า โดยเขย่าที่ 120 รอบต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยทำการเก็บตัวอย่างเซลล์แขวนลอยสาหร่ายช่วงแรกที่ 0 3 9 และ 12 จนครบ 48 ชั่วโมง จากนั้นจะเก็บทุก ๆ 24 ชั่วโมง และนำไปวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 750 นาโนเมตร จากรูปที่ 4.10 พบว่าตั้งแต่ระยะการเพาะเลี้ยงจนถึงชั่วโมงที่ 12 หรือ lag phase พบว่าสาหร่าย 4 สายพันธุ์ ทั้งชุดควบคุม และตัวอย่างที่เก็บเกี่ยวจากการตกตะกอน มีการเจริญเติบโตสูง และหลังจากชั่วโมงที่ 36 ของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายอยู่ในระยะการเจริญแบบคงที่ (Stationary phase)

จากรูปที่ 4.10 แสดงให้เห็นว่า *Chlorella* sp. KLSc59 มีแนวโน้มการเจริญเติบโตของสาหร่ายหลังการตกตะกอน ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม *Chlorella* sp. KLSc61 และสาหร่ายรหัส G4 มีแนวโน้มการเจริญหลังการตกตะกอนโดยใช้ $ZnSO_4$ สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และการเจริญของ *Tetraspora* sp. CU2551 หลังการเก็บเกี่ยวด้วย $Al_2(SO_4)_3$ พบว่ามีแนวโน้มการเจริญต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารเคมีที่นำมาใช้เป็นสารเร่งการตกตะกอนไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของสาหร่าย โดยสาหร่ายที่ผ่านการตกตะกอนสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ หรืออาจเจริญเติบโตได้ดีกว่าสภาวะปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 การเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก 4 สายพันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร TAP จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (n=3)

4.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไอออนด้วยเทคนิค ICP-OES

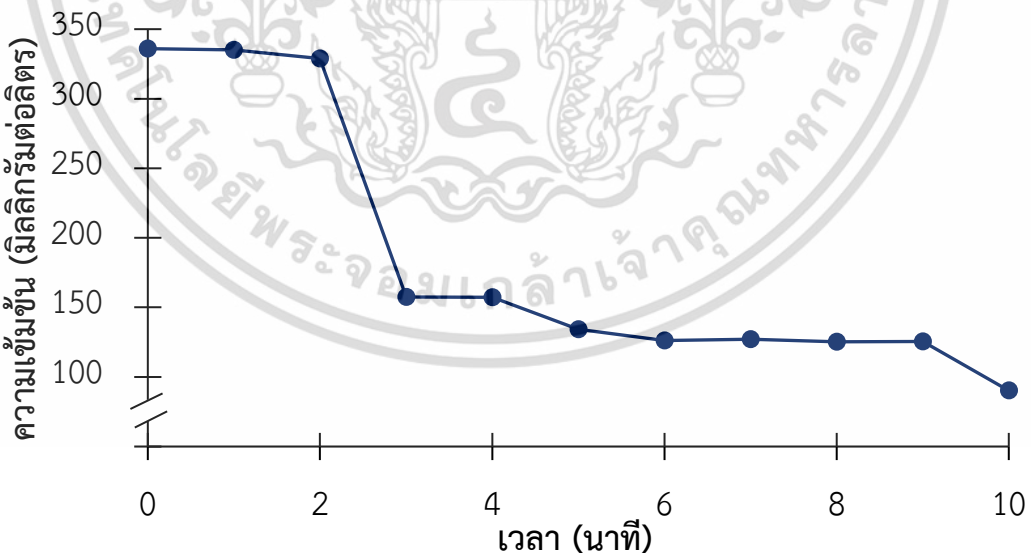
ผลวิเคราะห์หาปริมาณไอออนที่หลงเหลือในสารแขวนลอยหลังจากทำการตกตะกอนด้วยสารเคมี 2 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ใช้ตกตะกอน *Tetraspora* sp. CU2551 และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 25 และ 5 มิลลิโมลาร์ ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 และสาหร่ายรหัส G4 ตามลำดับ สารเร่งตกตะกอน 2 ชนิด จะทำการแตกตัวเป็นประจุบวก โดย $Al_2(SO_4)_3$ จะแตกตัวได้ Al^{3+} และ $ZnSO_4$ จะแตกตัวได้ Zn^{2+} ซึ่งประจุบวกที่ได้จากการแตกตัวจะทำการจับกับประจุลบบนพื้นผิวเซลล์ของสาหร่าย จึงทำการตรวจสอบปริมาณไอออนที่หลงเหลือในสารแขวนลอยด้วยเทคนิค ICP-OES จากรูปที่ 4.11 พบว่าปริมาณของซิงค์ไอออนในช่วงเวลา 2-3 นาที จะลดลงอย่างรวดเร็วและค่อย ๆ ลดลงจนถึงนาทีที่ 10 ซึ่งสอดคล้องกับรูปที่ 4.5 โดยเวลา ($t_{0.5}$) ที่ใช้ในการตกตะกอนจะอยู่ที่ประมาณ 1–2 นาที และเมื่อเปรียบเทียบกับรูปที่ ข-3 ช่วงเวลาที่ค่า OD_{750} ลดลงอย่างรวดเร็วจะอยู่ในช่วง 2-3.5 นาที จากรูปที่ 4.12 จะพบว่าในช่วงเวลา 3-4 นาที มีปริมาณของซิงค์ไอออนลดลง และค่อย ๆ ลดลงจนถึงนาทีที่ 10 เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับรูปที่ 4.6 การจับตัว และตกตะกอนจะใช้เวลา ($t_{0.5}$) ที่ประมาณ 5 นาที และในรูป ข-6 มีช่วงเวลาการจับตัว และตกตะกอนอย่างรวดเร็วในช่วง 3-5 นาที ซึ่งเป็นผลที่ไปในทิศทางเดียวกัน ส่วนจากรูปที่ 4.13 ปริมาณของซิงค์ไอออนลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 2-3 นาที ซึ่งสอดคล้องกับรูปที่ 4.7 และ ข-9 ที่มีการจับตัว และตกตะกอนอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 1.5-2.5 นาที และปริมาณอะลูมิเนียมไอออนในรูปที่ 4.14 มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 8-9 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับรูปที่ 4.8 และ ข-10 ที่มีการจับตัวและตกตะกอนในช่วง 2-5 นาที จะเห็นได้ว่าปริมาณของอะลูมิเนียมไอออนที่ลดลงจากรูปที่ 4.14 ในช่วงเวลา 2-5 นาที ปริมาณของอะลูมิเนียมไอออนจะค่อย ๆ ลดลง และจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 8-9 นาที ซึ่งผลแตกต่างจากรูปที่ 4.8 และ ข-10

จากผลของรูปที่ 4.8 และ ข-10 ที่มีความแตกต่างกันอาจเกิดจากอุณหภูมิของสารเร่งตกตะกอนที่มีอุณหภูมิต่ำ โดยอุณหภูมิมีผลต่อความหนืดของน้ำ คืออุณหภูมิต่ำความหนืดสูง ทำให้อัตราการตกตะกอนช้าลงเพราะการรวมตัวเกิดกลุ่มก้อนช้า จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการรวมตัวกันของตะกอนสาหร่ายในการผลิตน้ำประปา โดยใช้ $Al_2(SO_4)_3$ $Fe_2(SO_4)_3$ และ PACl เป็นสารสร้างตะกอนที่อุณหภูมิระหว่าง 6-29 องศาเซลเซียส พบว่าการตกตะกอนเกิดขึ้นได้ช้าที่อุณหภูมิต่ำ ในทุกอุณหภูมิการใช้ PACl เป็นสารสร้างตะกอนจะทำให้เกิดตะกอนใหญ่สุด รองลงมาคือ $Fe_2(SO_4)_3$ และ $Al_2(SO_4)_3$ (Fitzpatrick *et al*., 2004) และจากการศึกษาอุณหภูมิในช่วง 4-18 องศาเซลเซียสของ Guan และคณะ พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดความขุ่นในน้ำจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Guan *et al.,* 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

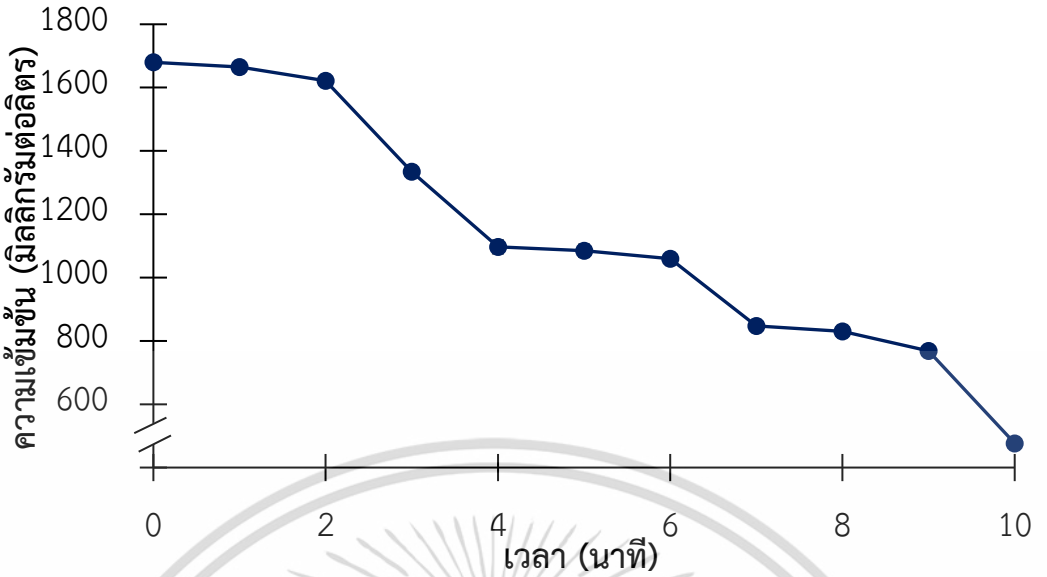
จากการตกตะกอนสาหร่ายด้วยสารเร่งการตกตะกอนเมื่อทำการตรวจสอบปริมาณไอออน พบว่าใน *Tetraspora* sp. CU2551 เมื่อตกตะกอนด้วย $Al_2(SO_4)_3$ ที่เวลา 0 นาที จะมีปริมาณอะลูมิเนียมไอออนเท่ากับ 148.36 mg/L เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที มีปริมาณอะลูมิเนียมไอออนเท่ากับ 91.71 mg/L แสดงว่ามีปริมาณอะลูมิเนียมไอออนที่จับกับประจุลบบนพื้นผิวของเซลล์สาหร่ายเท่ากับ 56.65 mg/L และใน *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 และสาหร่ายรหัส G4 ที่ทำการตกตะกอนด้วย $ZnSO_4$ ที่เวลา 0 นาที มีปริมาณซิงค์ไอออนในระบบเท่ากับ 335.98 1679.90 และ 335.95 mg/L ตามลำดับ และเมื่อเวลาผ่านไปจนครบ 10 นาที มีปริมาณซิงค์ไอออนเท่ากับ 90.17 476.77 และ 107.97 mg/L ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ามีปริมาณซิงค์ไอออนที่จับกับประจุลบบนพื้นผิวเซลล์ของสาหร่ายเท่ากับ 245.81 1203.13 และ 227.98 mg/L เมื่อนำค่าของปริมาณอะลูมิเนียมไอออน และซิงค์ไอออนที่จับอยู่กับประจุลบบนพื้นผิวเซลล์ของสาหร่ายมาเปรียบเทียบกับตารางที่ จ-1 พบว่าปริมาณไอออนที่อยู่ในเซลล์สาหร่ายมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ

จากผลการทดลองสามารถยืนยันได้ว่าประจุบวกของสารเร่งตกตะกอนส่งผลต่อการตกตะกอนของเซลล์สาหร่าย โดยประจุบวกของสารเร่งตกตะกอนจะเข้าไปจับกับประจุลบบนผิวเซลล์ของสาหร่าย ทำให้เกิดการตกตะกอน และทำให้ปริมาณของอะลูมิเนียมไอออน และซิงค์ไอออนที่เหลือในสารแขวนลอยมีปริมาณลดลงเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาที่ทำการตกตะกอน

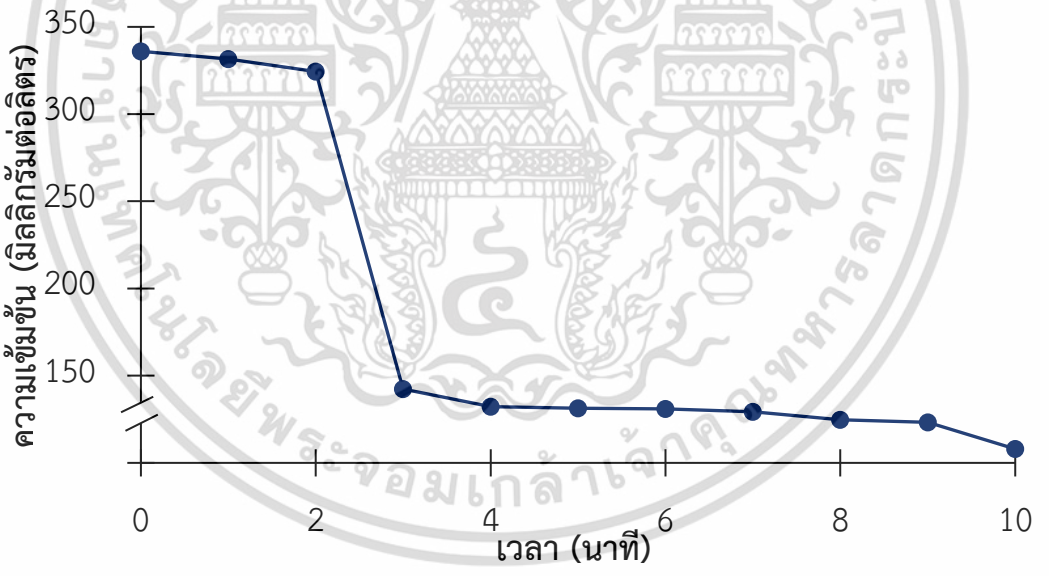


รูปที่ 4.11 ปริมาณซิงค์ไอออนที่หลงเหลืออยู่ในสารแขวนลอยสาหร่าย *Chlorella* sp. KLSc59 ที่เวลา 0-10 นาที (n=3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

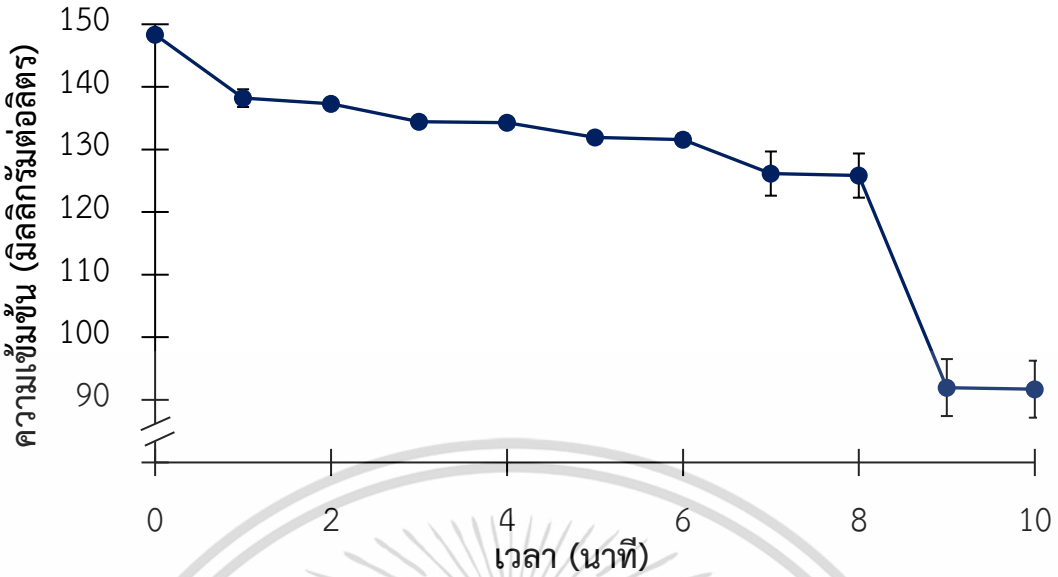


รูปที่ 4.12 ปริมาณซิงค์ไอออนที่หลงเหลืออยู่ในสารแขวนลอยสาหร่าย *Chlorella* sp. KLSc61 ที่เวลา 0-10 นาที (n=3)



รูปที่ 4.13 ปริมาณซิงค์ไอออนที่หลงเหลืออยู่ในสารแขวนลอยสาหร่ายรหัส G4 ที่เวลา 0-10 นาที (n=3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 ปริมาณอะลูมิเนียมไอออนที่หลงเหลืออยู่ในสารแขวนลอยสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ที่เวลา 0-10 นาที (n=3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้มีเป้าหมายเพื่อหาวิธีการเก็บเกี่ยวชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยวิธีการตกตะกอนทางเคมีเพื่อลดต้นทุนในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายลง เมื่อทำการศึกษาหาสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการตกตะกอนเพื่อเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย พบว่ามีสารเคมี 3 ใน 5 สาร คือ $Al_2(SO_4)_3$ $CaCl_2$ และ $ZnSO_4$ ที่มีประสิทธิภาพในการตกตะกอนสาหร่ายขนาดเล็กได้ ซึ่งประสิทธิภาพในการตกตะกอนของแต่ละสารจะมีความแตกต่างกัน โดยการตกตะกอนของสาหร่ายเกิดจากสารเร่งตกตะกอนเมื่อนำไปละลายน้ำจะแตกตัวเป็นประจุบวกและประจุลบ โดยพื้นผิวเซลล์ของสาหร่ายซึ่งมีประจุลบจะจับกับประจุบวกของสารเคมี (Al^{3+} Ca^{2+} Zn^{2+}) ทำให้มีอนุภาคขนาดใหญ่ และน้ำหนักเพิ่มขึ้นจนทำให้เกิดการตกตะกอนลงมาในที่สุด

เมื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตกตะกอนของสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด กับสาหร่าย 4 สายพันธุ์ ในระยะเวลา 30 นาที พบว่า $Al_2(SO_4)_3$ ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อใช้เก็บเกี่ยว *Tetraspora* sp. CU2551 โดย $t_{0.5}$ คือ 2.86 นาที และ $ZnSO_4$ ที่ 5 มิลลิโมลาร์ มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc59 และ สาหร่ายรหัส G4 โดย $t_{0.5}$ คือ 1.74 และ 1.61 นาที ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อใช้เก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. KLSc61 โดย $t_{0.5}$ คือ 5.02 นาที ทั้งนี้ประสิทธิภาพการตกตะกอนจะขึ้นอยู่กับชนิด และความเข้มข้นของสารเร่งตกตะกอนด้วย

หลังจากทดสอบการมีชีวิตของเซลล์สาหร่ายหลังตกตะกอนโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างหรือโครงสร้างของเซลล์สาหร่าย แต่จะพบว่าเมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่ง เซลล์สาหร่ายจะเริ่มรวมตัวกันเป็นจุด ๆ เมื่อครบ 30 นาที เซลล์สาหร่ายจะจับตัวกันเป็นก้อนที่ใหญ่ขึ้น เมื่อเทียบกับเซลล์สาหร่ายอิสระที่มีการกระจายตัวสม่ำเสมอ และจากการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กที่ทำการเก็บเกี่ยวหลังจากการตกตะกอน พบว่าการตกตะกอนสาหร่ายด้วยสารเร่งตกตะกอนทางเคมีไม่ได้มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย เพราะสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ

ผลจากการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนที่หลงเหลือในสารแขวนลอยด้วยเทคนิค ICP-OES หลังจากทำการตกตะกอนด้วยสารเคมี 2 ชนิด ได้แก่ $Al_2(SO_4)_3$ ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ตกตะกอน *Tetraspora* sp. CU2551 และ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 5 25 และ 5 มิลลิโมลาร์ ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 และ สาหร่ายรหัส G4 ตามลำดับ เป็นสิ่งที่ยืนยันได้ว่าการตกตะกอนของเซลล์สาหร่ายเกิดขึ้นจากการจับตัวกันของประจุบวกของสารเคมีกับประจุลบบนพื้นผิวเซลล์ของสาหร่าย โดยเมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณของอะลูมิเนียมไอออน และซิงค์ไอออนที่เหลือในสารแขวนลอยมีปริมาณลดลงเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาที่ตกตะกอน เนื่องจากประจุบวกของสารเคมีที่เป็นสารเร่งตกตะกอนจะเข้าไปจับกับพื้นผิวเซลล์ของสาหร่ายแล้วตกตะกอนลงมา ส่งผลให้บริเวณส่วนของเหลวเหนือตะกอนที่นำไปตรวจพบปริมาณไอออนโลหะน้อย

5.2 ข้อเสนอแนะ

ผลการทดลองการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก 4 สายพันธุ์ ด้วยวิธีการตกตะกอนทางเคมี ให้ผลเป็นที่น่าพึ่งพอใจ ซึ่งสามารถตกตะกอนสาหร่ายได้จริง และสาหร่ายยังมีความสามารถในการเจริญเติบโตได้ปกติ ดังนั้น ในงานวิจัยเพิ่มเติมต่อยอดจากนี้ควรที่จะทำการศึกษาในด้านของปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการตกตะกอนด้วย เช่น แสงสว่าง พีเอช และอุณหภูมิ เป็นต้น อาจศึกษาโดยการเปลี่ยนชนิดของสารตกตะกอน และ เพิ่ม-ลด ความเข้มข้น เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตกตะกอน ในการทดลองหลังจากการตกตะกอนเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าเซลล์สาหร่ายมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป คือ สีของเซลล์ และเซลล์มีลักษณะยุ่ย แต่เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบให้แสงแล้วไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเซลล์ อาจศึกษาเพิ่มเติมโดยศึกษาสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) และ ตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์ควบคู่ไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. กรรณิการ์ เมธนาวิน. 2551. **การประยุกต์ใช้เทคนิค Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy วิเคราะห์ปริมาณโลหะในตัวอย่างน้ำสำหรับกำหนดพื้นที่โอกาสเสี่ยงภัยจากสารพิษตามธรรมชาติ.** กองวิเคราะห์และตรวจสอบทรัพยากรธรณี กรมทรัพยากรธีณี. 23: 3-13.
2. กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. **สาหร่าย (Algae).** กรุงเทพฯ. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
3. จำเนียร ชินารักษ์. 2528. **การศึกษาเปรียบเทียบผลของชนิดและความเข้มข้นของสารตกตะกอนที่มีต่อการเก็บเกี่ยวแพลงค์ตอนพืชบางชนิดในห้องปฏิบัติการ.** วิทยานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒบางแสน.
4. ฐิติพงษ์ ยังสุขยิ่ง. 2529. **การหาปริมาณโปรตีนในสาหร่ายเซลล์เดียวที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยบางชนิด.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒบางแสน.
5. ธิดา เพชรมณี และมาวิทย์ อัศวรักษ์. 2538. **การตกตะกอนคลอเรลลาน้ำเค็มเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงปลาในบ่อกุ้งกุลาดำ.** เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 10/2538 สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. สงขลา.
6. ประภาพร ไชยภักดิ์. 2555. **การเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กในการเพาะเลี้ยงแบบน้ำเขียวด้วยกระบวนการรวมตัวและตกตะกอนทางเคมี**. วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมพลังงาน. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
7. พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2567). **LD50.** [Online]. เข้าถึงได้จาก https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2180/ld50
8. ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. **คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
9. ยุวดี อินสาราญ. 2543. **ผลของสารตกตะกอนที่มีต่อการเก็บเกี่ยวสาหร่ายและการเจริญเติบโตหลังการเก็บเกี่ยว.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยบูรพา.
10. ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. **สาหร่ายวิทยา.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
11. อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2552. **สาหร่ายคำตอบสุดท้ายของพลังงาน.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. อารยา รานอก. 2549. **การกำจัดโลหะหนักในน้ำเสียซีโอดีโดยการตกตะกอนทางเคมีและโคแอกกูเลชั่น.** วิทยานิพนธ์ปริญญาสาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

13. Ahmad A.L., Yasin Mat N.H., Derek C.J.C. and Lim J.K., 2011. **Optimization of microalgae coagulation process using chitosan.** Chemical Engineering Journal, 173: 879-882.

14. Algal Production. **FAO Corporate Document Repository.** Fisheries and Aquaculture Department. [Online]. http://www.fao.org/docrep/003/W3732E/w3732e06.htm

15. Barros, AI. Gonçalves, AL. Simões, M. Pires JCM. 2015. **Harvesting techniques applied to microalgae: A review.** Renewable and Sustainable Energy Reviews. 41: 1489-1500.

16. Bhattacharjee M. 2016. **Pharmaceutically valuable bioactive compounds of algae.** Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 6:43–47.

17. Biji, X, Ritesh, R., Sekar M, Vamsi, B, Jayasree, L, Shubhadeep, G, Shoji, J. and Jayashree, B. 2022. **Harvesting of *Nannochloropsis oculata* by chemical flocculation.** ICAR-CMFRI. 252.

18. Bolto, B, and Gregory, J. 2007. **Organic polyelectrolytes in water treatment.** Water research. 41: 2301–2324.

19. Boss, C.B. and Fredeen, K.J. 2004. **Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry.** USA

20. Chatsungnoen, T. and Chisti, Y. 2016. **Harvesting microalgae by flocculation–sedimentation.** Algal Research. 13: 271-283.

21. Chisti Y. 2007. **Biodiesel from microalgae.** Biotechnol Adv. 25:294–306.

22. Duraiarasan and Surendhiran. 2013. **Effect of different flocculants on harvesting of halotolerant microalgae *Chlorella salina* for biodiesel production.** International Journal of Green Chemistry and Bioprocess. 3.

23. EL-Sabagh, M.R., Eldaim, M.A.A., Mahboub, D.H. and Abdel-Daim, M. 2014. **Effects of**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Spirulina platensis **algae on growth performance, antioxidative status and blood metabolites in fattening lambs.** Journal of Agricultural Science, 3: 92.

24. Fitzpatrick, C.S., Fradin, E., and Gregory, J. 2004. **Temperature effects on flocculation, using different coagulants.** Water Science Technology. 50 (12): 171-175.
25. Golueke C. G. and Osward W. J., 1965. **Harvesting and processing sewage growth planktonic algae.** Journal of Water Pollution Contros Fedevation. 4: 471-478.
26. Guan, D., Zhang, Z., Li, X., and Liu, H. 2011. **Effect of pH and temperature on coagulation efficiency in a North-China water treatment plant.** Advanced Materials Research. 243-249: 4835-4838.
27. Guiry, M.D and Guiry, G.M. 2023. **Genus: *Micractinium* taxonomy browser.** AlgaeBase World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway. [Online] https://www.algaebase.org
28. Guiry, M.D. and Guiry, G.M. 2012. ***Tetraspora.*** AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland. Galway. [Online]. https://www.algaebase.org
29. Guldhe, A, Misra, R, Singh, P, Rawat, I. and Bux, F. 2016. **An innovative electrochemical process to alleviate the challenges for harvesting of small size microalgae by using non-sacrificial carbon electrodes.** Algal Research. 19: 292-298.
30. Gürlek, C, Yarkent, C, Köse, A, Oral, I, Öncel, S.S. and Elibol, M. 2019. **Evaluation of several microalgal extracts as bioactive metabolites as potential pharmaceutical compounds.** IFMBE Proceedings. 73: 267–272.
31. Holman, B.W.B., Kashani, A. and Malau-Aduli, A.E.O., 2014. **Effects of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) supplementation level and basal diet on liveweight, body conformation and growth traits in genetically divergent Australian dual-purpose lambs during simulated drought and typical pasture grazing.** Small Ruminant Research. 1: 6-14.
32. Kim, D.Y, Lee, K, Lee, J, Lee, Y.H, Han, J.I, Park, J.Y. and Oh, Y.K. 2017. **Acidified-flocculation process for harvesting of microalgae: Coagulant reutilization and metal-free-microalgae recovery.** Bioresour. Technol. 239: 190–196.
33. Krivina, E, Temraleeva, A. and Sinetova, M. 2022. **New species *Micractinium kostikovii***

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Chlorellaceae, Trebouxiophyceae) from Russia. Phycological Research. 70: 22–34.

34. Jo, S.W, Do, J.M, Kang, N.S, Park, J.M, Lee, J.H, Kim, H.S, Hong, J.W. and Yoon, H.S. 2020. **Isolation, Identification, and Biochemical Characteristics of a Cold-Tolerant *Chlorella vulgaris* KNUA007 Isolated from King George Island, Antarctica.** Journal of Marine Science and Engineering. 11: 935.
35. Johanna C., 2012. **Extracting Lipid and Carotenoids from Microalgae with Lecithin-Linker Microemulsions.** Master of Applied Science (Chemical Engineering). University of Toronto
36. Lavoie, A and de la Noüe, J. 1987. **Harvesting of *Scenedesmus obliquus* in wastewaters: auto or bioflocculation.** Biotechnol Bioeng. 30: 852–9.
37. Li Y, Horsman, M, Wu, N, Lan, C.Q. and Dubois-Calero, N. 2008. **Biofuels from microalgae.** Biotechnol Progress. 2008. 4: 815-20.
38. Li, T, Zhu, Z. and Wang, D. 2006. **Characterization of floc size, strength and structure under various coagulation mechanisms.** Powder Technology 168: 104–110.
39. Ma, X, Zheng, H, Zhou, W, Liu, Y, Chen, P. and Ruan, R. **Enhanced harvesting of *Chlorella vulgaris* using combined flocculants.** 2016. Biochem Biotechnol., 180: 791–804.
40. Ma, W, Feng, C, Guan, F, Ma, D. and Cai J. 2023. **Effective *Chlorella vulgaris* Biomass Harvesting through Sulfate and Chloride Flocculants.** Journal of Marine Science and Engineering. 1: 47.
41. Machado, C.A, Esteves, A.F. and Pires, J.C.M. 2024. ***Chlorella vulgaris* Harvesting: Chemical Flocculation with Chitosan, Aluminum Sulfate, and Ferric Sulfate.** Applied Sciences. 2: 598.
42. Machado, L, Carvalho, G. and Pereira, R. 2022. **Effects of Innovative Processing Methods on Microalgae Cell Wall: Prospects towards Digestibility of Protein-Rich Biomass**. Biomas. 2: 80-102.
43. Mandik, Y, Cheirsilp, B, Boonsawang, P. and Prasertsan, P. 2015. **Optimization of flocculation efficiency of lipid-rich marine *Chlorella* sp. biomass and evaluation of its composition in different cultivation modes.** Bioresource Technology. 182: 89-97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

44. Molina, E.G, Belarbi, E. H, Acien Fernandez F.G., Medina, A. R. and Chisti, Y. 2003. **Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics.** Biotechnology Advances. 20: 491–515.

45. Gerde, J.A, Yao, L, Lio, J, Wen, Z. and Wang, T. 2014. **Microalgae flocculation: Impact of flocculant type, algae species and cell concentration.** Algal Res. 3: 30–35.

46. Ghosh, Supratim & Das, Debabrata. 2015. **Improvement of Harvesting Technology for Algal Biomass Production.** 10.1007.

47. Granados, M.R, Acién, F.G, Gómez, C, Fernández-Sevilla, J.M. and Molina Grima, E. 2012. **Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae.** Bioresource Technology. 118: 102–110.

48. Mu, R.M, Zhao, Y.L, Bu, Q.W, Wang, M.X. and Liu, D. 2018. **The effects of three different flocculants on the harvest of microalgae *Chlorella vulgaris*.** IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 191: 012042.

49. Papazi, A, Markridis, P. and Divanach, P. 2010. **Harvesting *Chlorella minutissima* using cell coagulants.** Jornal of Applied Phycology. 22: 349-355.

50. Rashid, N, Rehman, S.U. and Han, J.I. 2013. **Rapid harvesting of freshwater microalgae using chitosan**. Process Biochem. 48: 1107–1110.

51. Safi, C., Charton, M, Ursu, A.V, Laroche, C, Zebib, B, Pontalier, P.Y. and Vaca-Garcia, C. 2014. **Release of hydrosoluble microalgal proteins using mechanical and chemical treatments**. Algal Research, 3: 55-60.

52. Sanyano, N, Chetpattananondh, P. and Chongkhong, S. 2013. **Coagulation–flocculation of marine *Chlorella* sp. for biodiesel production.** Bioresource Technology. 147: 471-476.

53. Singh, H, Tyagi, V, Ahmad, S. and Kothari, R. 2022. **Optimization of flocculation efficiency of *Chlorella pyrenoidosa* with $CaCl_2$ using the Box-Behnken design of response surface methodology: A cost effective statistical investigation.** Biomass Conversion and Biorefinery. 14(3): 3261-3273.

54. Suopajarvi, T. 2015. **Functionalized Nanocelluloses in Wastewater Treatment Applications.** Doctor of Philosophy Program in of Technology and Natural Sciences. University of Oulu.

55. Surendhiran, D. and Vijay, M. 2013. **Effect of different flocculants on harvesting of**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

halotolerant microalgae *Chlorella salina* for biodiesel production. International Journal of Green Chemistry and Bioprocess. 3: 6-11.

56. Surendhiran, D. and Vijay, M. 2013. **Study on flocculation efficiency for harvesting *Nannochloropsis oculata* for biodiesel production.** ChemTech. 5: 1761–1769.
57. Tenney, M.W., Echelberger, W.F., Schuessler, R.G., and Pavpni, J.L., 1969. **Algal flocculation with synthetic organic polyelectrolytes.** Applied Bacteriology, 18, 965– 971.
58. Tork, M.B, Khalilzadeh, R. and Kouchakzadeh, H. 2017. **Efficient harvesting of marine *Chlorella vulgaris* microalgae utilizing cationic starch nanoparticles by response surface methodology.** Bioresour Technol. 243: 583–588.
59. Uduman, N, Ying, Q, Danquah, M. K, Forde, G. M, and Hoadley A. 2010. **Dewatering of microalgae cultures: A major bottleneck to algae-based fuel.** Renewable and Sustainable Energy. 2: 1–15.
60. Vandamme, D, Foubert, I, Meesschaert, B. and Muylaert, K. 2010. **Flocculation of microalgae using cationic starch.** Journal of Applied Phycology. 22: 525-530.
61. Wang, Q, Oshita, K. and Takaoka, M. 2021. **Flocculation properties of eight microalgae induced by aluminum chloride, chitosan, amphoteric polyacrylamide, and alkaline: Life-cycle assessment for screening species and harvesting methods.** Algal Research. 54: 102226.
62. Wu, Z, Zhu, Y, Huang, W, Zhang, C, Li, T, Zhang, Y. and Li, A. 2011. **Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium.** Bioresourch Technology, 10: 496–502.
63. Yukselen, M.A. and Gregory, J. (2004) **The reversibility of floc breakage. International Journal of Mineral Processing.** 73: 251–259.
64. Zhang, P, Zhu, S, Xiong, C, Yan, B, Wang, Z, Li, K, Olivier, I. and Wang, H. 2022. **Flocculation of *Chlorella vulgaris*–induced algal blooms: critical conditions and mechanisms.** Environmental Science and Pollution Research. 52: 1-12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1) อาหาร Tris acetate phosphate (TAP)

เตรียม stock solution และผสมสำหรับอาหาร TAP ดังตารางที่ ก-1 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร จากนั้นปรับพีเอช เป็น 7.2 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือกรดไฮโดรคลอริก

ตารางที่ ก-1 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Tris acetate phosphate medium (TAP)

หมายเลข	สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)	Stock (มิลลิลิตร)	TAP 1 ลิตร
1	Tris-base	2.42	100	10 มิลลิลิตร
2	NH_4Cl $CaCl_2.2H_2O$ $MgSO_4.7H_2O$	0.40 0.05 0.10	250	25 มิลลิลิตร
3	KH_2PO_4 K_2HPO_4	0.05 0.10	10	1 มิลลิลิตร
4	Na_2-EDTA $FeSO_4.7\ H_2O$ $ZnSO_4.7\ H_2O$ H_3BO_3 $MnCl_2.4H_2O$ $CuSO_4.5H_2O$ $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ $CoCl_2.6H_2O$	0.05 5.60 22.00 11.40 5.52 0.16 1.10 0.16	10	1 มิลลิลิตร
5	Glacial acetic acid	-	-	1 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) อาหารแข็ง Tris acetate phosphate (TAP)

อาหารเหลว Tris acetate phosphate (TAP)	100 มิลลิลิตร
อะการ์-อะการ์ (Agar-Agar powder)	1.5 กรัม

3) ยาปฏิชีวนะกานาไมซิน

ชั่งยาปฏิชีวนะกานาไมซิน จากนั้นละลายในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กรองด้วยแผ่นกรองปราศจากเชื้อ 0.22 ไมโครเมตร ลงในภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4) สารเคมีสำหรับใช้เป็นสารเร่งตกตะกอน (Flocculant)

สารเคมีที่นำมาเป็นสารเร่งตกตะกอนมีทั้งหมด 5 ชนิด ดังนี้

4.1)	ชั่งอะลูมิเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3$)	6.6642 กรัม
4.2)	ชั่งแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	1.4702 กรัม
4.3)	ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$)	2.7030 กรัม
4.4)	ชั่งโพลีไดเมทิลไดอิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (PDADMAC)	8.0750 กรัม
4.5)	ชั่งซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$)	2.8754 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 110 มิลลิโมลาร์

5) สารมาตรฐานสำหรับเทคนิค ICP-OES

เตรียมสารละลายมาตรฐานของสังกะสี (Zn) และ อะลูมิเนียม (Al) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0.25 0.50 1.0 1.5 2.0 2.5 3 และ 3.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้น้ำกลั่นแบบปราศจากไอออนปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

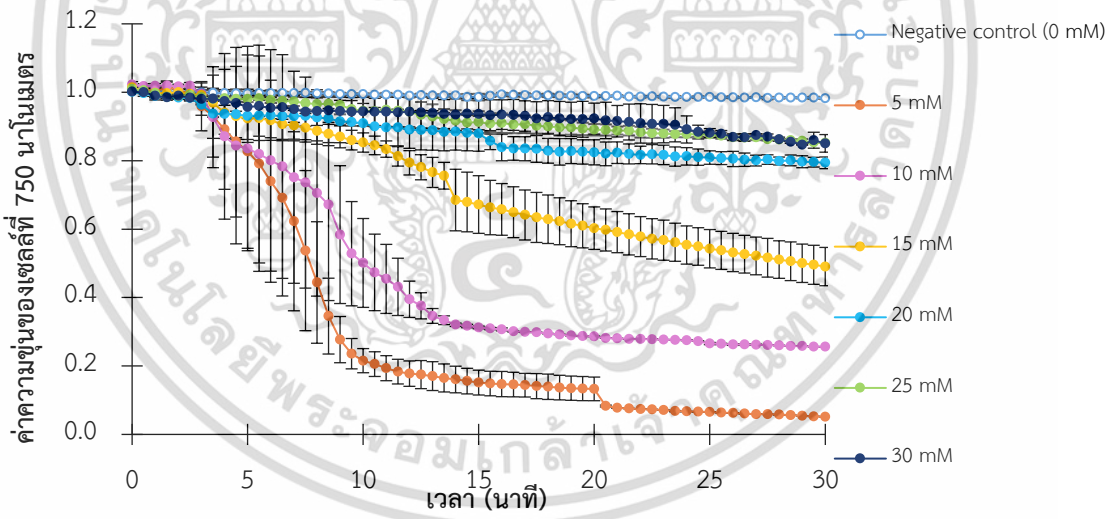
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การศึกษาความเข้มข้นและชนิดของสารเร่งตกตะกอน

การศึกษาความเข้มข้นของสารเร่งตกตะกอน 3 ชนิด ได้แก่ อะลูมิเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3$) แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) และ ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$) กำหนดความเข้มข้นที่ 5 10 15 20 25 และ 30 มิลลิโมลาร์ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม และหาสารเร่งตกตะกอนที่สามารถตกตะกอนสาหร่ายขนาดเล็ก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* sp. KLSc59 *Chlorella* sp. KLSc61 สาหร่ายรหัส G4 และ *Tetraspora* sp. CU2551 ได้ดีที่สุด

1) *Chlorella* sp. KLSc59

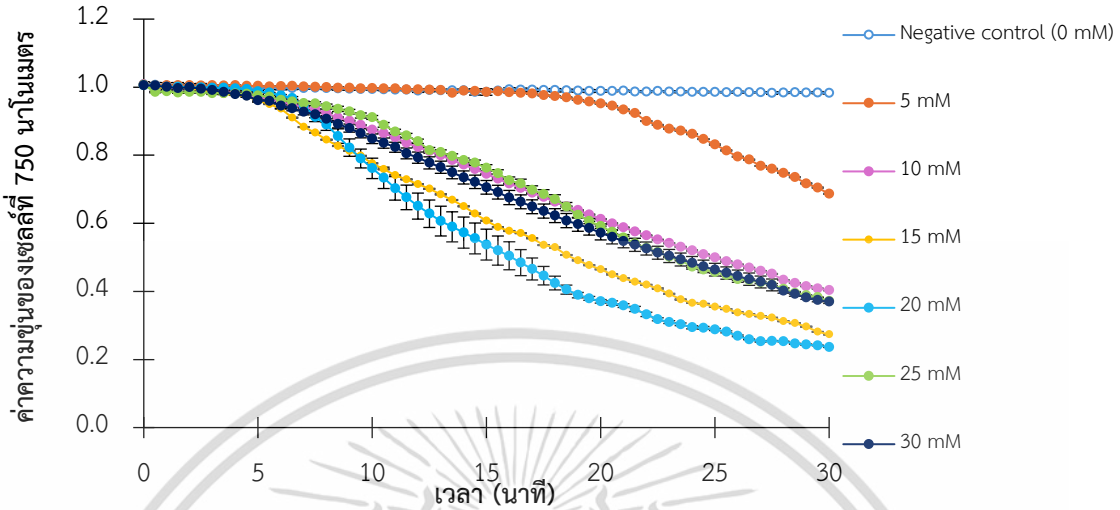
1.1) $Al_2(SO_4)_3$



รูปที่ ข-1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $Al_2(SO_4)_3$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc59

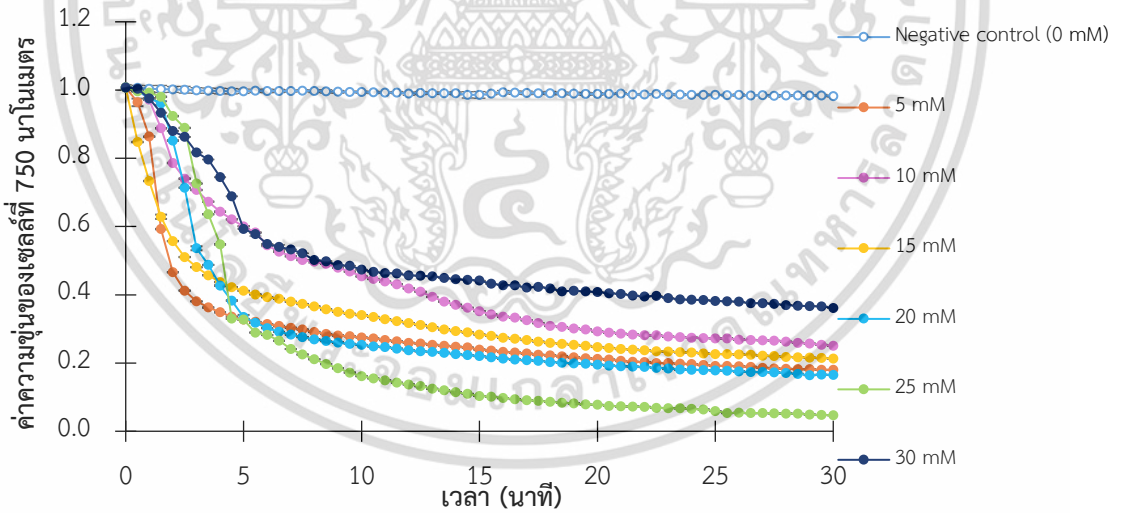
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2) $CaCl_2$



รูปที่ ข-2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc59

1.3) $ZnSO_4$

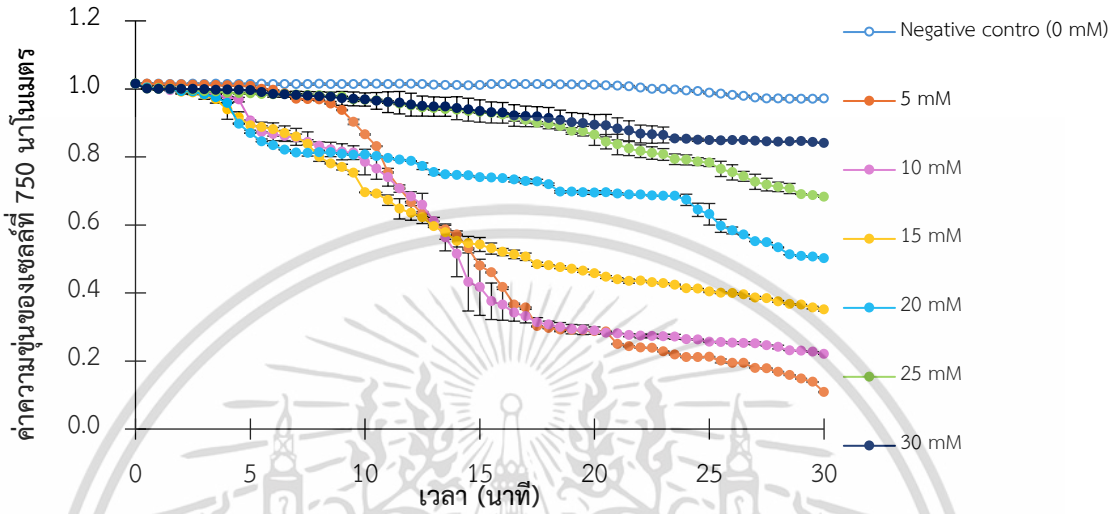


รูปที่ ข-3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

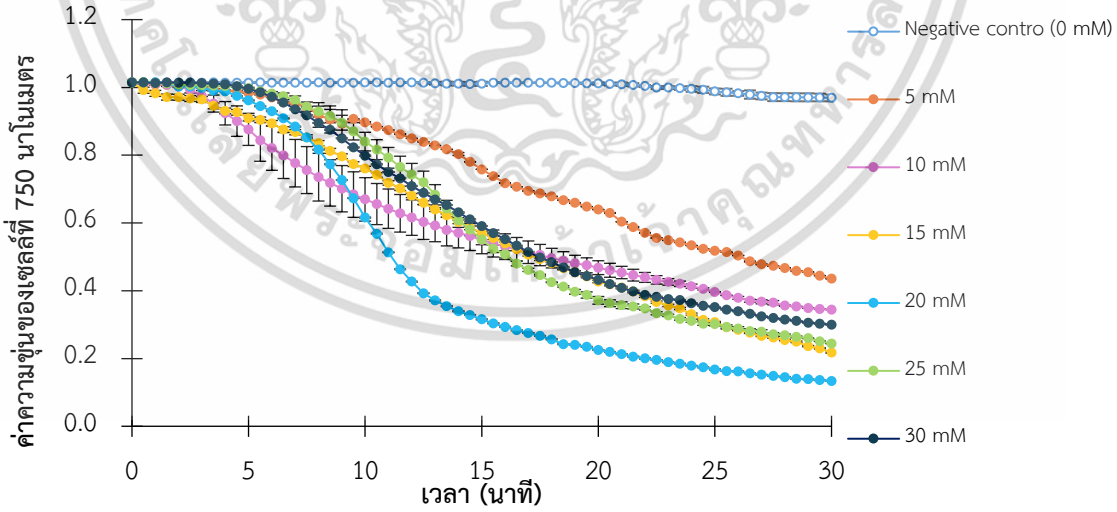
2) *Chlorella* sp. KLSc61

2.1) $Al_2(SO_4)_3$



รูปที่ ข-4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $Al_2(SO_4)_3$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc61

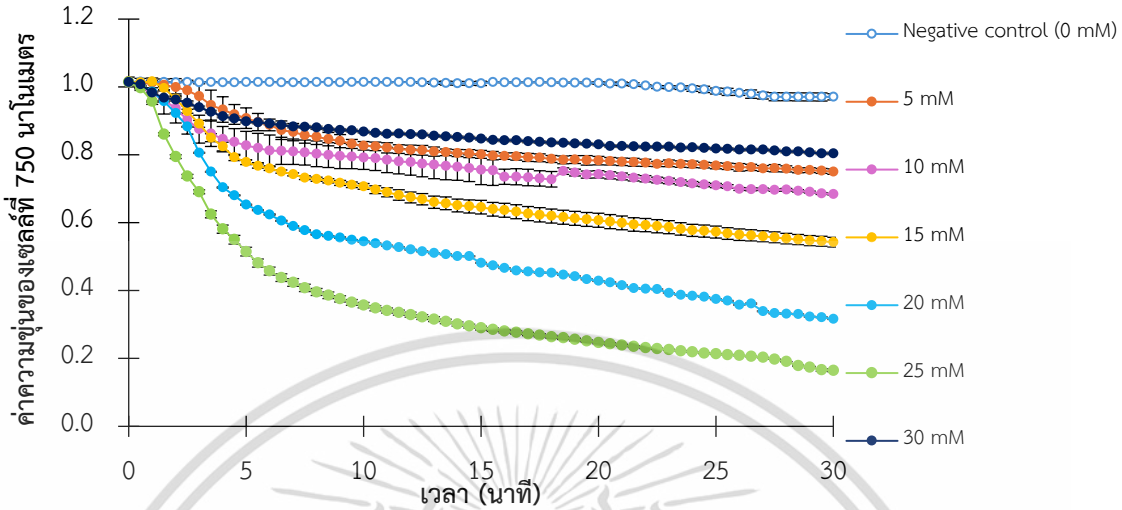
2.2) $CaCl_2$



รูปที่ ข-5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

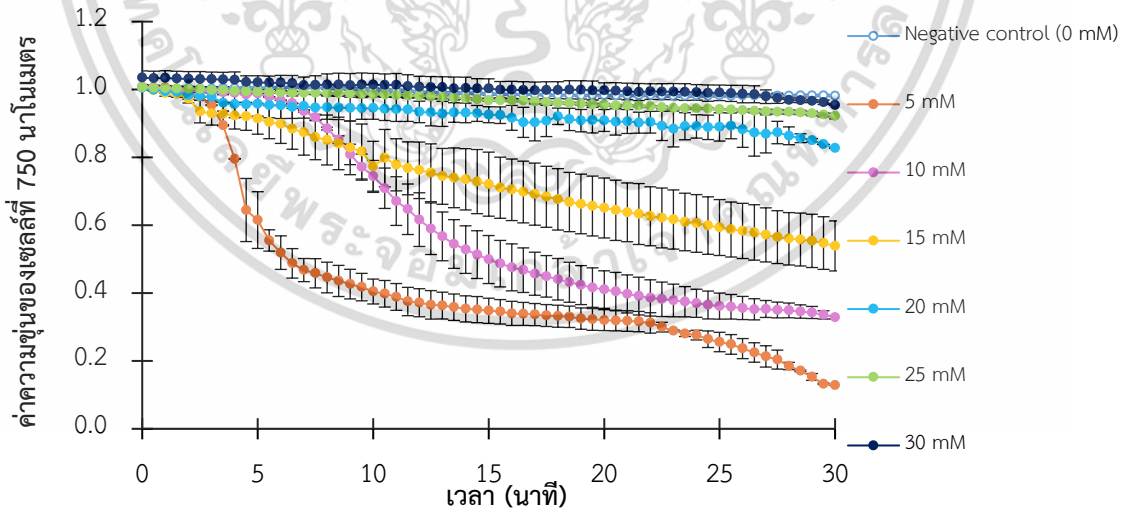
2.3) $ZnSO_4$



รูปที่ ข-6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Chlorella* sp. KLSc61

3) สาหร่ายรหัส G4

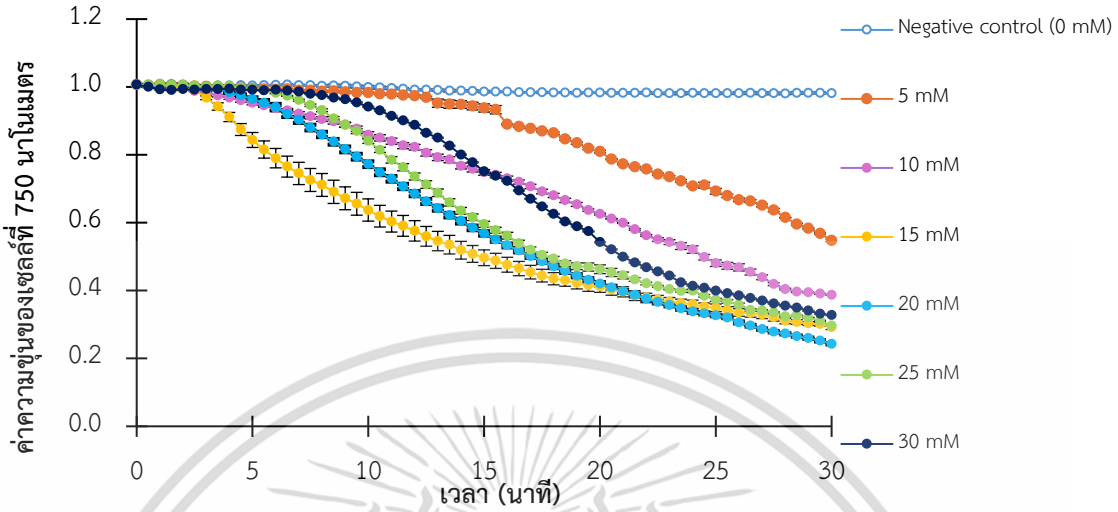
3.1) $Al_2(SO_4)_3$



รูปที่ ข-7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $Al_2(SO_4)_3$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอนสาหร่ายรหัส G4

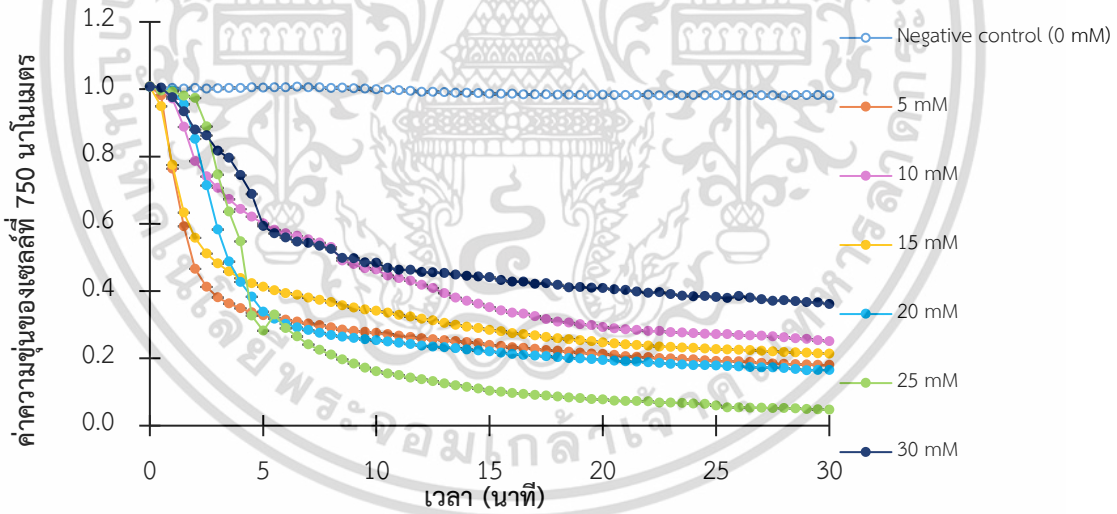
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2) $CaCl_2$



รูปที่ ข-8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอนสาหร่ายรหัส G4

3.3) $ZnSO_4$

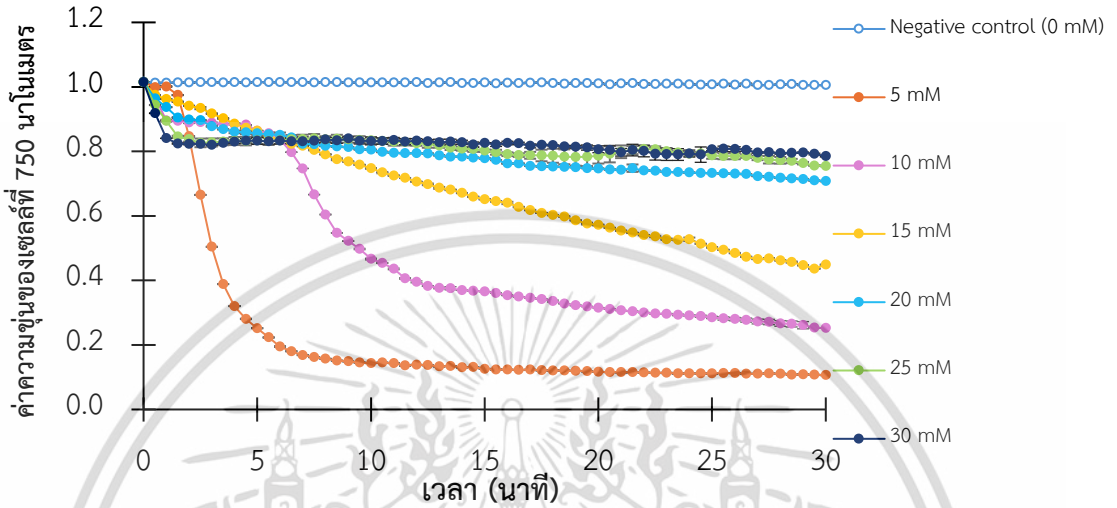


รูปที่ ข-9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอนสาหร่ายรหัส G4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

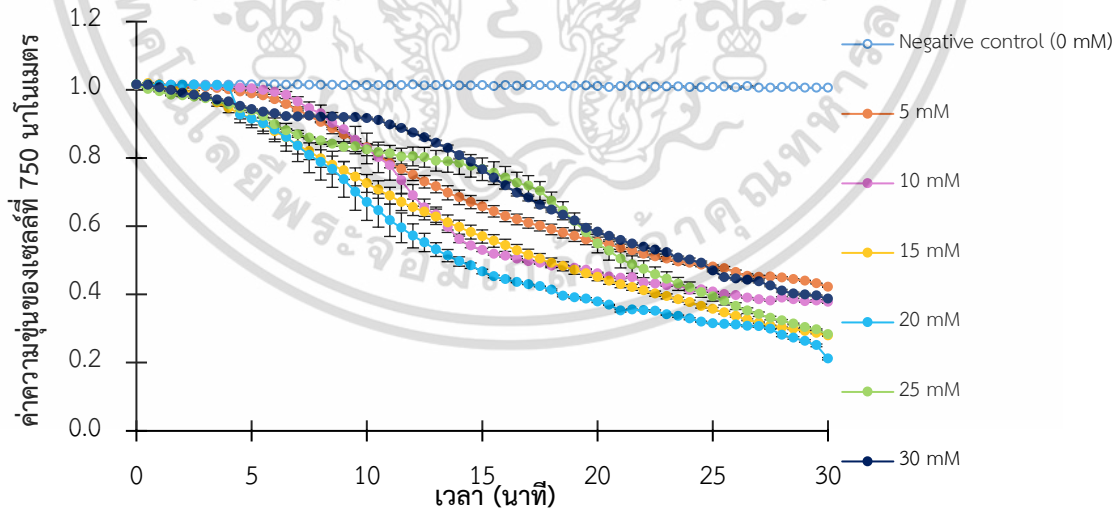
4) *Tetraspora* sp. CU2551

4.1) $Al_2(SO_4)_3$



รูปที่ ข-10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $Al_2(SO_4)_3$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Tetraspora* sp. CU2551

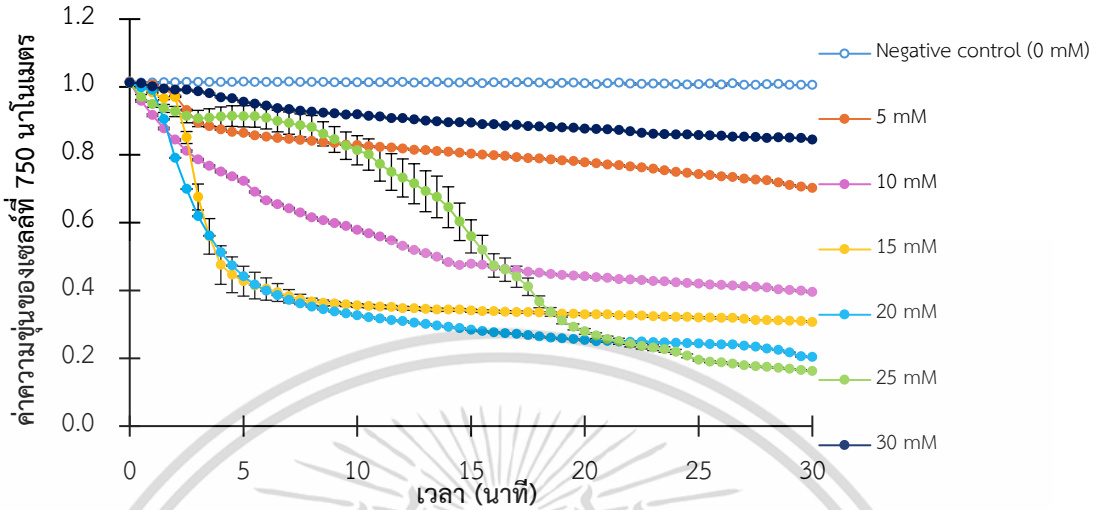
4.2) $CaCl_2$



รูปที่ ข-11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Tetraspora* sp. CU2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

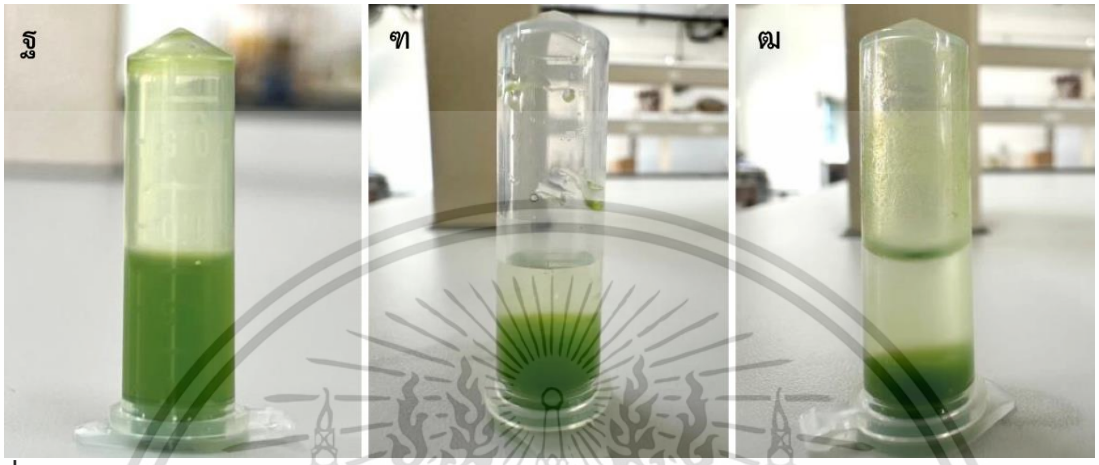
4.3) $ZnSO_4$



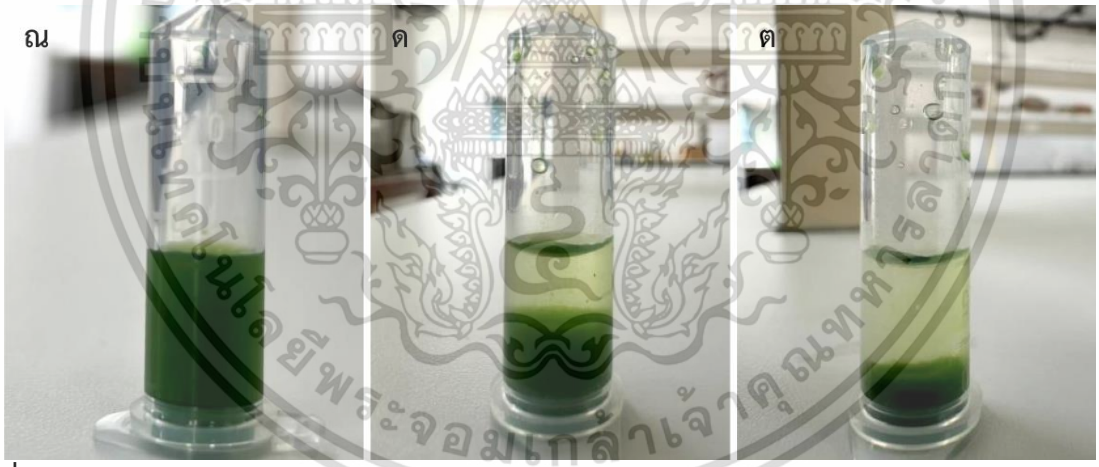
รูปที่ ข-12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ และเวลาที่ใช้ตกตะกอน *Tetraspora* sp. CU2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การตกตะกอนของสาหร่าย

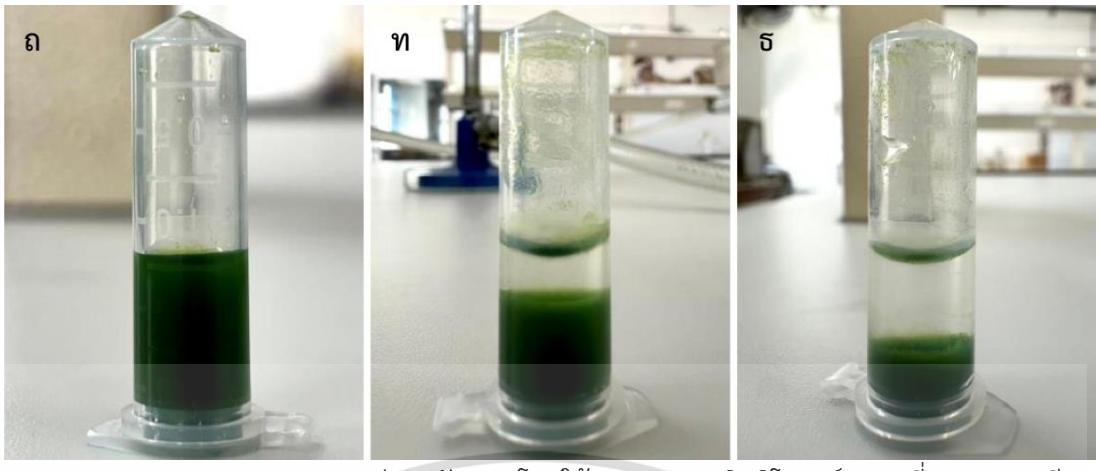


รูปที่ ค-1 แสดงการตกตะกอน ของสาหร่าย *Chlorella* sp. KLSc59 โดยใช้ $ZnSO_4$ 5 มิลลิโมลาร์ **(ฐ)** ที่เวลา 0 นาที **(ฑ)** ที่เวลา 3 นาที และ **(ฒ)** ที่เวลา 30 นาที

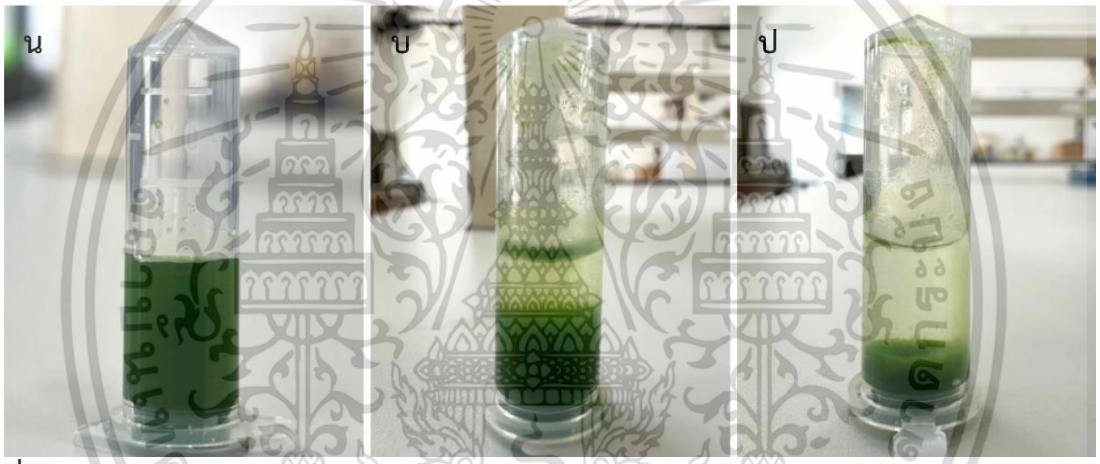


รูปที่ ค-2 แสดงการตกตะกอนของสาหร่าย *Chlorella* sp. KLSc61 โดยใช้ $ZnSO_4$ 25 มิลลิโมลาร์ **(ณ)** ที่เวลา 0 นาที **(ด)** ที่เวลา 5 นาที และ **(ต)** ที่เวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค-3 แสดงการตกตะกอนของสาหร่ายรหัส G4 โดยใช้ $ZnSO_4$ 5 มิลลิโมลาร์ **(ถ)** ที่เวลา 0 นาที **(ท)** ที่เวลา 3 นาที และ **(ธ)** ที่เวลา 30 นาที



รูปที่ ค-4 แสดงการตกตะกอนของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 โดยใช้ $Al_2(SO_4)_2$ 5 มิลลิโมลาร์ **(น)** ที่เวลา 0 นาที **(บ)** ที่เวลา 3 นาที และ **(ป)** ที่เวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ปริมาณไอออนด้วยเทคนิค ICP-OES

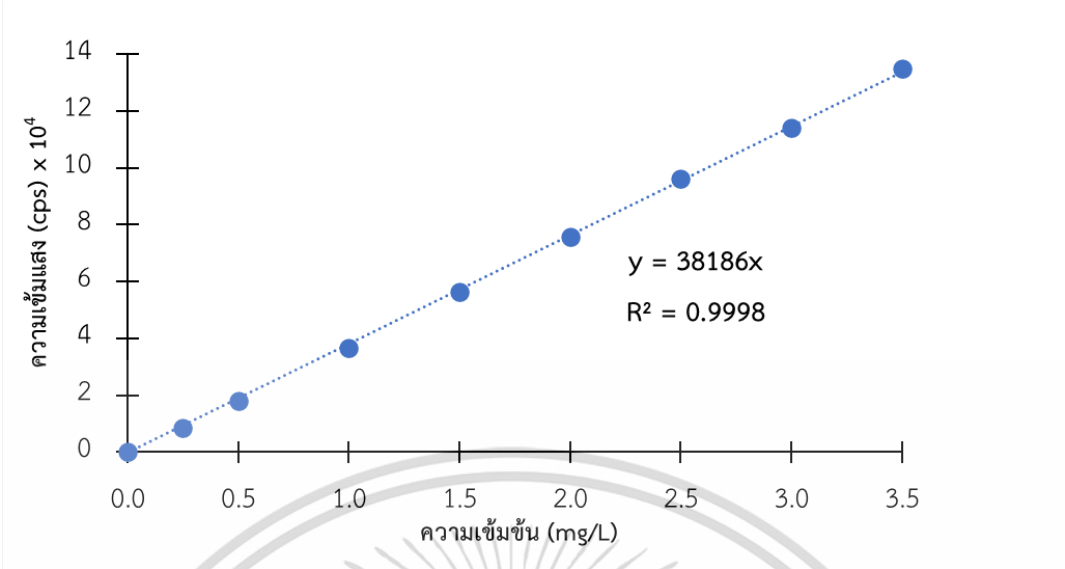
1) อะลูมิเนียม (Al)

ค่าความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียมที่ความยาวคลื่น 396.153 นาโนเมตร แสดงดังตาราง ง-1 และรูปที่ ง-1

ตาราง ง-1 ค่าความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียม

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียม (mg/L)	คามเข้มแสง (cps)
0.00	0.0
0.25	8,442.1
0.50	17,883.5
1.00	36,672.7
1.50	56,541.6
2.00	75,594.6
2.50	96,175.6
3.00	114,038.7
3.50	135,030.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-1 กราฟมาตรฐานของสารละลายอะลูมิเนียม (Al)

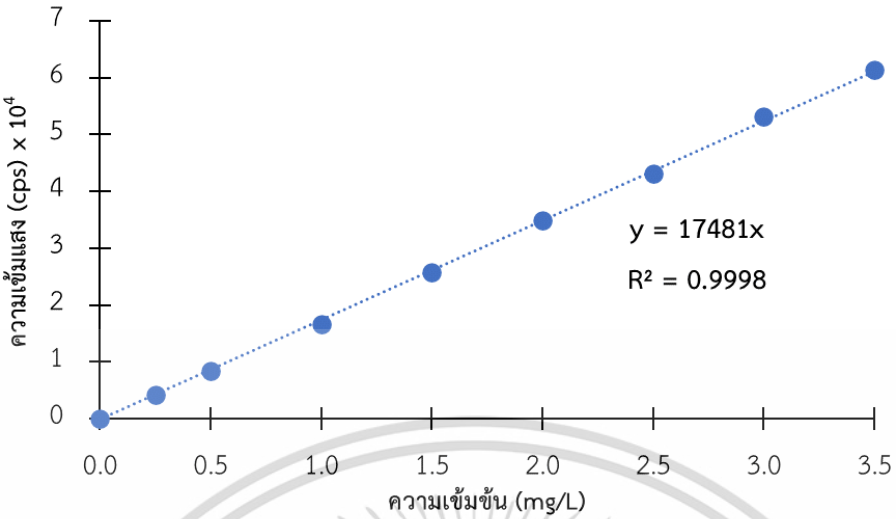
2) ซิงค์ (Zn)

ค่าความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานซิงค์ที่ความยาวคลื่น 206.2 นาโนเมตร แสดงดังตาราง ง-2 และรูปที่ ง-2

ตาราง ง-2 ค่าความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานซิงค์

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานซิงค์ (mg/L)	คามเข้มแสง (cps)
0.00	0.0
0.25	4,200.7
0.50	8,361.7
1.00	16,667.6
1.50	25,830.3
2.00	34,950.5
2.50	43,163.1
3.00	53,144.0
3.50	61,443.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายซิงค์ (Zn)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ตาราง LD_{50} (Lethal Dose fifty)

การศึกษาครั้งคัดเลือกสารเคมีเป็นสารเร่งตกตะกอนโดยอ้างอิงจากตาราง LD_{50} Lethal Dose fifty ซึ่งบ่งบอกระดับความเป็นพิษต่อร่างกายของมนุษย์ของสารเคมี โดยองค์การอนามัยโลกได้จัดลำดับความรุนแรงของสารเคมีในรูปของการจัดค่า LD_{50} ระดับความรุนแรงจากพิษของสารเคมีในแต่ละระดับ สามารถมองรายละเอียดในรูปของปริมาณของสารเคมี ซึ่งมีผลต่อการทดลองในหนู

ตารางที่ จ-1 ระดับความรุนแรงจากพิษของสารเคมี 5 ชนิดที่ใช้เป็นสารเร่งตกตะกอน

Substance	Animal, Route	LD_{50} (mg/kg)
Poly(diallyldimethylammonium chloride) solution ; PDADMAC	Rat, Oral	>2000
Aluminium sulphate; $Al_2(SO_4)_3$	Rat, Oral	>2000
Calcium chloride; $CaCl_2$	Rat, Oral	2,120
Zinc Sulphate; $ZnSO_4$	Rat, Oral	1,710
Ferric chloride; $FeCl_3$	Rat, Oral	1,300

ที่มา: http://www.sigmaaldrich.com/TH/en/search

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้