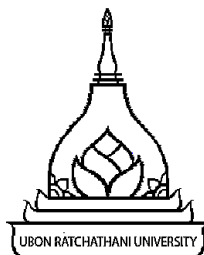




การจัดน้ำเสียชุมชนด้วยจุลสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์
คลอโรคอคคัม ฮิวมิโคลา

ณกรณ์ เทียงภักดี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี



TREATMENT OF DOMESTIC WASTEWATER USING GREEN MICROALGAE
CHLOROCOCCUM HUMICOLA

NAKON THIANGPAKDEE

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF ENGINEERING
MAJOR IN ENVIRONMENTAL ENGINEERING
FACULTY OF ENGINEERING
UBON RATCHATHANI UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2019
COPYRIGHT OF UBON RATCHATHANI UNIVERSITY



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์

เรื่อง การกำจัดน้ำเสียชุมชนด้วยจุลสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์คลอโรคอกคัม ฮิวมิโคลาส

ผู้วิจัย นายณกรณ์ เทียงภักดี

คณะกรรมการสอบ

รองศาสตราจารย์ ดร.สุมนา ราชภูมิภักดี

ประธานกรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฉัตรชัย กันยาวิธ

กรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร.จักรกฤษณ์ อัมพูข

กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฉัตรชัย กันยาวิธ)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มงคล ปุษยตานนท์)

คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปีการศึกษา 2562

กิตติกรรมประกาศ

การกำจัดน้ำเสียชุมชนด้วยจุลสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์โคลโรคอกคัม ฮิวมิโคลาส ประสพผลสำเร็จ ลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฉัตรชัย กันยาธุ อาจารย์ที่ปรึกษา และ ดร.อิทธิศักดิ์ เกาโพธิ์ ที่ได้ให้คำปรึกษา แนะนำ รวมทั้งแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ทำให้วิทยานิพนธ์ ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณท่านด้วยความเคารพเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำและคำปรึกษาเกี่ยวกับ ขอบเขตของวิทยานิพนธ์และข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย ที่ทำให้สามารถทำงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ ด้วยดี รวมถึงเจ้าหน้าที่ธุรการบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่กรุณาช่วยเหลือในระหว่างการทำเนงานวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัย อุบลราชธานี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการทดลองเป็นอย่างดี ขอขอบคุณเพื่อน ๆ นักศึกษาปริญญาโท-เอก ที่ได้คำปรึกษา คำแนะนำ และช่วยเหลือมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การอบรมเลี้ยงดูและส่งเสริมด้านการศึกษา ตลอดจนเป็นแรงผลักดัน และกำลังใจเพื่อที่จะส่งเสริมด้านการเรียนเป็นอย่างดี ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้ง ในความกรุณาและกำลังใจจากทุกท่านที่มีให้ตลอดมา จึงขอกราบขอบพระคุณ ณ โอกาสนี้

ณกรณ์ เทียงภักดี
ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

เรื่อง : การกำจัดน้ำเสียชุมชนด้วยจุลสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์คลอโรคอคคัม ฮิวมิโคลา
 ผู้วิจัย : ณกรณ์ เทียงภักดี
 ชื่อปริญญา : วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
 สาขาวิชา : วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
 อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฉัตรชัย กันยาวิธ
 คำสำคัญ : น้ำเสียชุมชนสังเคราะห์, จุลสาหร่าย, จลนศาสตร์, เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเป็นแนวทางที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในการบำบัดน้ำเสียชุมชน โดยจุลสาหร่ายจะใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนรวม (TN) และฟอสฟอรัสรวม (TP) ในน้ำเสียและคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศโดยจุลสาหร่ายในการสังเคราะห์แสง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เหมาะสม จลนศาสตร์การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายและประสิทธิภาพในการกำจัด TN และ TP ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ที่เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบ BCPBR น้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่ศึกษา มีองค์ประกอบหลักเช่นเดียวกับน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนทุติยภูมิ ผลการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในขวดรูปชมพู่ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน พบว่าความหนาแน่นเริ่มต้นซึ่งมีค่า OD เท่ากับ 0.3 ($5.88 \times 10^6 \pm 0.29 \times 10^6$ cel/VmL) มีความเหมาะสมมากที่สุดสามารถกำจัด TN และ TP ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ให้ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้ง โดยใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดเท่ากับ 6 วัน โดย μ เท่ากับ 0.237 day^{-1} การประเมินค่าพารามิเตอร์ $\mu_{\max}$ ของแบบจำลองจลนศาสตร์การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายสำหรับกรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1, 0.3 และ 0.5 พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.263, 0.655 และ 0.625 day^{-1} ตามลำดับ โดยแบบจำลองจลนศาสตร์ให้ผลการทำนายการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับผลการทดลองเฉพาะกรณีที่ OD มีค่าเท่ากับ 0.3 และ 0.5 การทำนายปริมาณของ TN และ TP ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์โดยใช้สมการของ Luedeking-Piret-Like ให้ผลลัพธ์ที่ค่อนข้างแตกต่างจากผลการทดลองการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบกะใน BCPBR เพื่อบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ โดยใช้ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 สามารถกำจัด TN และ TP ได้มากถึงร้อยละ 63.60 และ 85.60 ณ วันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่องนั้นสามารถกำจัด TN และ TP เฉลี่ยร้อยละ 56.0 ± 0.14 และ 83.20 ± 0.51 ตามลำดับ นอกจากนี้แล้วยังพบว่าการเพาะเลี้ยงใน BCPBR ภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่องนั้นมีค่าเฉลี่ยของ μ , P_{overall} และ P_B ใกล้เคียงกับกรณีที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกะ แสดงให้เห็นว่าการขยายความสามารถในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์สามารถทำได้โดยการเพาะเลี้ยงสภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง

ABSTRACT

TITLE : TREATMENT OF DOMESTIC WASTEWATER USING GREEN MICROALGAE
CHLOROCOCCUM HUMICOLA
 AUTHOR : NAKON THIANGPAKDEE
 DEGREE : MASTER OF ENGINEERING
 MAJOR : ENVIRONMENTAL ENGINEERING
 ADVISOR : ASST. PROF. CHATCHAI KUNYAWUT, Ph.D.
 KEYWORDS : SYNTHESIS WASTEWATER, MICROALGAE, KINETICS,
 PHOTOBIOREACTOR

Culture of microalgae is an environmentally friendly way to treat community wastewater. The total nitrogen (TN) and phosphorus (TP) compounds in the wastewater and CO₂ in the air will be assimilated by microalgae in photosynthesis. The objectives of this research were to determine the optimum initial cell density, growth kinetic parameters, and removal efficiency of TN and TP of synthetic domestic wastewater with *Chlorococcum humicola*. The synthetic wastewater used had the same compounds as the secondary treatment domestic wastewater. The results obtained from batch cultivation in a 500 ml conical flask revealed that the optimum OD was 0.3 ($5.88 \times 10^6 \pm 0.29 \times 10^6$ cell/mL). TN and TP remaining in the synthetic wastewater were complied with the disposal wastewater standard within 6 days with the highest μ of 0.237 day⁻¹. The estimated parameters of the logistic growth model ($\mu_{\max}$) were 0.263, 0.655 and 0.625 day⁻¹ for the OD of 0.1, 0.3 and 0.5, respectively. The predicted results for the growth of the microalgae were close to the experimental results only for the case with the higher initial OD of 0.3 and 0.5. However, the TN and TP consumption results predicted by the Luedeking-Piret-Like equation were unsatisfactory compared to those obtained from the experiments. Under BCPBR batch cultivation, the removal efficiencies of TN and TP on the 6th day were 63.60 and 85.60 %, respectively. While the average removal efficiencies of TN and TP for the semi-continuous condition were 56.00 ± 0.14 and 83.20 ± 0.51 %, respectively. Moreover, the average parameters of μ , P_{overall} and P_B obtained from both culture conditions were slightly different. Thus, the increase of wastewater treatment capacity could be performed by the semi-continuous conditions.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ	ณ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	3
1.3 สมมุติฐาน	3
1.4 ขอบเขตของการศึกษา	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 น้ำเสียที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย	5
2.2 จุลสาหร่ายสายพันธุ์ <i>Chlorococcum humicola</i>	6
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย	10
2.4 ระบบเพาะเลี้ยง	12
2.5 หลักการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง	15
2.6 จลนศาสตร์ของการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย	19
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	22
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	
3.1 เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง	27
3.2 การเตรียมน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์	28
3.3 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะแบบกะในขวดรูปชมพู่	29
3.4 การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยจุลสาหร่ายในขวดรูปชมพู่	30
3.5 การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย ในเครื่องปฏิกรณ์	31
3.6 การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายและพารามิเตอร์ต่าง ๆ	33
3.7 การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายและพารามิเตอร์ต่าง ๆ	42
3.8 การประเมินหาประสิทธิภาพในการกำจัดไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวม	43

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 4 สรุปผลการศึกษา	
4.1 ลักษณะการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย <i>Chlorococcum humicola</i>	44
4.2 การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย ในขวดรูปชมพู่	46
4.3 จลนศาสตร์การเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย	53
4.4 การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายใน BCPBR	60
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปสรุปผลการศึกษา	76
5.2 ข้อเสนอแนะ	77
เอกสารอ้างอิง	78
ภาคผนวก	
ก กราฟมาตรฐาน	85
ข สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลสาหร่าย และ ธาตุอาหารเสริม	88
ค ผลงานการนำเสนอในงานวิชาการ	90
ประวัติผู้วิจัย	99

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียชนิดต่าง ๆ	8
2.2	ข้อดีและข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่างๆ	14
3.1	แปรควบคุมและตัวแปรตามที่ศึกษาในการทดลองส่วนที่ 3.3.2	30
3.2	ตัวแปรควบคุมและตัวแปรตามที่ศึกษาในการทดลองส่วนที่ 3.4	31
3.3	ตัวแปรควบคุมและตัวแปรตามที่ศึกษาในการทดลองส่วนที่ 3.5.1	32
3.4	ตัวแปรควบคุมและตัวแปรตามที่ศึกษาในการทดลองส่วนที่ 3.5.2	33
4.1	ร้อยละของการกำจัด TN, TP และซีโอดี ณ วันที่กึ่งกลางระยะคงตัวของจุลสาหร่าย	50
4.2	แบบจำลองอัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย	53
4.3	แบบจำลองปริมาณของ TN และ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์	56
4.4	ประสิทธิภาพการกำจัด TN, TP และซีโอดีของการเพาะเลี้ยงในขบวนการ BCPBR และ BCPBR	64
4.5	อัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในขบวนการ BCPBR ที่ OD=0.3	67
4.6	แบบจำลองปริมาณของ TN และ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์	67
4.7	ประสิทธิภาพการกำจัด TN TP และซีโอดีของการเพาะเลี้ยงแบบกะ และแบบกึ่งต่อเนื่อง	71
4.8	$P_{overall}$ และ P_B ของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายใน BCPBR	71

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะของคลอโรพลาสต์และเยื่อหุ้มชั้นนอกและชั้นใน	10
2.2	รูปแบบการไหลแบบผสมภายในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง	15
2.3	พฤติกรรมทางจลนศาสตร์ของการไหลแบบสองเฟส	16
2.4	รูปแบบการไหลแบบสองเฟสของก๊าซ-ของเหลวในคอลัมน์	17
2.5	สัดส่วนของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบคอลัมน์ฟอง	19
2.6	รูปแบบการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายในการเพาะเลี้ยงแบบกะ	20
3.1	มิติและอุปกรณ์เชื่อมต่อเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง	28
4.1	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงใน BG-11 แบบกะ 14 วัน	45
4.2	ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตที่คงเหลือใน BG-11 แบบกะ 14 วัน	45
4.3	เซลล์จุลสาหร่ายในสารอาหารเหลว BG-11 ที่วันเริ่มต้นและวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง	46
4.4	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน	47
4.5	ความเข้มข้นของแอมโมเนียม ไนเตรท และ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์	48
4.6	ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์	49
4.7	ค่าซีไอดีของน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์	50
4.8	สีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่วันเริ่มต้นและวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง	51
4.9	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่ได้จากผลการทำนายและการทดลอง	54
4.10	ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ได้จากผลการทำนายและการทดลอง	57
4.11	ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ได้จากผลการทำนายและการทดลอง	59
4.12	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในขบวนการหมักและ BCPBR	62
4.13	ความเข้มข้นของแอมโมเนียม ไนเตรท และ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ในขบวนการหมักและเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ BCPBR	62
4.14	ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ในขบวนการหมักและ BCPBR	65
4.15	ค่าซีไอดีในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ในขบวนการหมักและเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ BCPBR	65
4.16	สีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงแบบกะ	66

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.17	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายใน BCPBR ที่ได้จากผลการทำนายและการทดลอง	68
4.18	ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ใน BCPBR ที่ได้จากผลการทำนายและการทดลอง	68
4.19	ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ใน BCPBR ที่ได้จากผลการทำนายและการทดลอง	69
4.20	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง	71
4.21	ความเข้มข้นของไนเตรท แอมโมเนียม และ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง	72
4.22	ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง	73
4.23	ค่าซีไอดีในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง	74
4.24	ปริมาณกรดไขมันสะสมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่องใน BCPBR ภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง	75
ก.1	กราฟมาตรฐานสารละลายแอมโมเนีย	86
ก.2	กราฟมาตรฐานสารละลายไนเตรท	86
ก.3	กราฟมาตรฐานสารละลายฟอสเฟต	87

คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ

สัญลักษณ์และอักษรย่อ	ความหมาย
u_L	ความเร็วเชิงเส้นของของเหลว(m/s)
t_m	เวลาที่ใช้ในการผสม (s)
H	ความสูงของคอลัมน์ฟองอากาศ (m)
D	เส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ (m)
G	ความเร่งเนื่องจากแรงโน้มถ่วงของโลก (m/s ²)
u_G	ความเร็วพื้นผิวของก๊าซที่ความดันบรรยากาศ (m/s)
$k_L a$	สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวล (1/s)
u_G	ความเร็วพื้นผิวของก๊าซที่ความดันบรรยากาศ (m/s)
μ_{max}	อัตราการเกิดจำเพาะสูงสุด (day ⁻¹)
X_{max}	ความเข้มข้นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เวลาอนันต์ (Infinity) (g/L)
X_o	ความเข้มข้นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เวลาเริ่มต้น (g/L)
$X_{(t)}$	ความเข้มข้นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เวลา t ใด ๆ (g/L)
$P_{overall}$	ผลผลิตโดยรวม (mg/L·day)
X_{max}	ความเข้มข้นที่มากที่สุดของเซลล์จุลสาหร่าย (mg/L)
X_o	ความเข้มข้นที่เวลาเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่าย (mg/L)
t_m	เวลาที่เป็นสำหรับการได้ X_{max} (day ⁻¹)
t_o	เวลาเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง (เท่ากับศูนย์)
t	เวลา (day)
S	ความเข้มข้นของสารอาหารในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เวลาใด ๆ (mg/L)
S_o	ความเข้มข้นของสารอาหารในน้ำเสียสังเคราะห์เวลาเริ่มต้น (mg/L)
Y	แฟกเตอร์ผลได้ (Yield factor) ของจุลสาหร่ายที่มีต่อสารอาหาร (cell/mg Substrate)
m_s	สัมประสิทธิ์การซ่อมแซมเซลล์จุลสาหร่าย (Maintenance coefficient) mg/cell/day)
$\% T_{N,P}$	ร้อยละของการบำบัด TN และ TP (%)
C_{in}	ปริมาณของ TN และ TP ที่เวลาเริ่มต้น (mg/L)
C_f	ปริมาณของ TN และ TP ที่เวลาสุดท้าย (mg/L)
W_1	น้ำหนักกระดาดากรองหลังจากอบแห้ง (g)
W_2	น้ำหนักกระดาดากรองและเซลล์หลังจากอบแห้ง (g)

คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ (ต่อ)

สัญลักษณ์และอักษรย่อ	ความหมาย
V	ปริมาตรตัวอย่างของของเหลวที่เก็บจากเครื่องปฏิกรณ์ (mL)
C	จำนวนสาหร่ายที่นับได้ (cell/mL)
A	พื้นที่ของ grids: (mm ²)
D	ความลึกของพื้นที่ที่นับ (mm)
F	จำนวนช่องหรือตารางที่นับ
μ	อัตราการเจริญจำเพาะของเซลล์ (day ⁻¹)
X_1	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เวลา t_1 (cell/mL)
X_2	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เวลา t_2 (cell/mL)
t_i	ระยะเวลาที่เพาะเลี้ยง (day)
W_L	ความเข้มข้นของกรดไขมัน (g/mL)
W_1	น้ำหนักภาชนะหลังจากอบแห้ง (g)
W_2	น้ำหนักภาชนะและไขมันหลังจากอบแห้ง (g)
V	ปริมาตรตัวอย่างสารละลายแขวนลอย (mL)
COD	ซีโอดี (mg/L)
a	ปริมาตรของ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ ที่ใช้ไทเทรต Blank (mL)
b	ปริมาตรของ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ ที่ใช้ไทเทรตน้ำตัวอย่าง (mL)
N	ความเข้มข้นของ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ ที่ใช้ (N)
S_0	ความเค็มของสารละลายมาตรฐาน (mg/L)
S_s	ความเค็มของน้ำตัวอย่าง (mg/L)
T	อุณหภูมิห้องเซลล์เซียส (°C)
TN	ความเข้มข้นไนโตรเจนรวม (mg/L)
TP	ความเข้มข้นฟอสฟอรัส (mg/L)

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ปัจจุบันประเทศไทยมีอัตราการเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องส่งผลให้มีความต้องการทรัพยากรมากขึ้นตามไปด้วย หนึ่งในนั้นคือทรัพยากรทางน้ำ ซึ่งน้ำจะถูกนำไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม ใช้ในชุมชน ทั้งการอุปโภค บริโภค เป็นต้น โดยสาเหตุของน้ำเสียชุมชนเกิดจากกิจกรรมการดำรงชีวิตของคนในชุมชน ไม่ว่าจะเป็นการใช้ในการชำระร่างกาย น้ำทิ้งจากห้องน้ำ และน้ำจากการล้างเครื่องมือเครื่องใช้ ซึ่งน้ำหลังจากการใช้ประโยชน์แล้วน้ำจะเปลี่ยนสภาพเป็นน้ำเสีย (Wastewater) ดังนั้นน้ำเสียเหล่านี้จะต้องผ่านการบำบัดก่อนที่จะปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ โดยน้ำเสียจะต้องผ่านการบำบัดในขั้นปฐมภูมิ (Primary treatment) และขั้นทุติยภูมิ (Secondary treatment) ก่อน หลังจากผ่านขั้นตอนบำบัดข้างต้นแล้วยังคงมีสารประกอบอินทรีย์หลงเหลืออยู่ เช่น สารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (Monfet, E. and Unc, A., 2017) หากไม่มีการดำเนินการบำบัดน้ำเสียเพิ่มเติมในขั้นตอนที่สาม (Tertiary treatment) และปลดปล่อยลงในแหล่งน้ำธรรมชาติจะก่อให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของวัชพืชน้ำ เช่น จุลสาหร่าย ผักตบชวา ตะไคร้น้ำ ฯลฯ เนื่องจากสารประกอบทั้งสองชนิดนี้เป็นธาตุอาหารสำหรับการเจริญเติบโต ซึ่งการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายและพืชน้ำในแหล่งน้ำ นำไปสู่ปัญหาการเสื่อมสภาพของคุณภาพน้ำตามมา โดยมาตรฐานน้ำเสียทวีปยุโรปกำหนดให้ปริมาณไนโตรเจนรวม (Total Nitrogen: TN) และปริมาณฟอสฟอรัสรวม (Total Phosphorus: TP) ในน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดก่อนที่จะปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติต้องมีปริมาณไม่เกิน 10 และ 1 mg/L ตามลำดับ (ตามมาตรฐานการระบายน้ำเสียชุมชนจากการบำบัด กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม)

ในระยะ 10 ปี ที่ผ่านมามีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในน้ำเสียชุมชนเพื่อลดปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ซึ่งพบว่าภายใต้สภาวะที่เหมาะสม จุลสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้โดยการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำที่อยู่ในรูปไบคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) เป็นแหล่งคาร์บอนรวมกับการใช้สารประกอบไนโตรเจนอยู่ในรูปแอมโมเนียม (NH_4^+) ไนเตรต (NO_3^-) ไนไตรท์ (NO_2^-) และสารประกอบฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปออร์โธฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ทั้งนี้ น้ำเสียที่จะสามารถนำมาเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายได้นั้นจะต้องมีคุณสมบัติที่เหมาะสม โดยมีอัตราส่วนระหว่างธาตุอาหาร N:P เท่ากับ 16:1 โดยโมล ทั้งนี้ น้ำเสียชุมชนที่ผ่านกระบวนการบำบัดขั้นทุติยภูมินั้น โดยทั่วไปแล้วจะมีอัตราส่วนของสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสอยู่ในช่วง 9 – 44 ซึ่งสามารถเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายได้ (Monfet, E. and Unc, A., 2017)

จุลสาหร่ายสีเขียว (Green microalgae) เป็นพืชชั้นต่ำเซลล์เดียวที่มีคลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุ (Pigment) ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสงในการเจริญเติบโต ซึ่งในการสังเคราะห์แสงนั้น จุลสาหร่ายเหล่านี้สามารถใช้แสงจากแหล่งธรรมชาติ เช่น ดวงอาทิตย์ และแสงสังเคราะห์ โดยที่หลอด

ฟลูออเรสเซนซ์นั้นเป็นแหล่งพลังงานใช้คาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นอนินทรีย์คาร์บอน เป็นแหล่งคาร์บอน และสามารถใส่สารประกอบไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในน้ำเสีย เป็นธาตุอาหารในน้ำเสียได้ จุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* นั้นเป็นจุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวที่พบได้ทั่วไปสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว คงทนต่อสภาวะความเป็นกรด-ด่างได้ในช่วง pH 6.0-8.5 และอุณหภูมิระหว่าง 28-34 °C (ศุทธิณี วรรณสุทธิวัฒน์, 2557) ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์ นำมาสกัดน้ำมันซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมเป็นไบโอดีเซลได้ เนื่องจากมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันที่สกัดได้จากพืชชั้นสูง (Wang, H. et al., 2013) อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของ *Chlorococcum humicola* คือ มีน้ำหนักเซลล์มากทำให้จมตัวลงไปยังส่วนล่างของระบบการเพาะเลี้ยง ทำให้ประสิทธิภาพการรับแสงของเซลล์ลดลง ส่งผลให้การสังเคราะห์แสงมีประสิทธิภาพลดลง ทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงตามไปด้วย (Zhang, D.H. and Lee, Y.K., 1997) ดังนั้นจึงต้องมีอุปกรณ์ช่วยให้เกิดการกวนผสมเพื่อให้มีการแขวนลอยของเซลล์ จุลสาหร่ายในระบบการเพาะเลี้ยง ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสามารถทำได้ 2 ระบบ คือ การเพาะเลี้ยงแบบระบบเปิด (Opened system) และการเพาะเลี้ยงแบบระบบปิด (Closed system) (Grima, E. Molina et al, 1999) การเพาะเลี้ยงในระบบเปิดมีข้อเสียที่สำคัญ คือ การปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียสามารถเกิดขึ้นได้ง่าย และคาร์บอนไดออกไซด์เกิดการระเหยออกจากระบบสู่บรรยากาศได้มาก ส่งผลให้การถ่ายเทมวลคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่เซลล์ของจุลสาหร่ายมีประสิทธิภาพต่ำ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในระบบปิดนั้นสามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าวและสามารถควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสมได้ ทำให้สามารถกำหนดสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายได้ง่ายกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบเปิด ปัจจุบันเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสง (Photobioreactor: PBR) ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบระบบปิด เนื่องจากมีโครงสร้างไม่ซับซ้อนสามารถซ่อมบำรุงได้ง่าย ราคาถูกและสามารถขยายกำลังการผลิตได้ง่าย เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง (Bubble column photobioreactor: BCPBR) เป็นเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีการกวนภายใน โดยอาศัยการอัดอากาศผ่านทางหัวพ่นฟองอากาศ (Sparger) ที่ติดตั้งที่ส่วนล่างของคอลัมน์ทำให้เกิดฟองอากาศไหลขึ้นไปยังด้านบนของคอลัมน์ เพื่อคาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ในอากาศสามารถละลายน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพและไปพร้อมกระบวนการเติมอากาศในระบบบำบัดน้ำเสีย ซึ่งการกวนผสมในลักษณะเช่นนี้ยังช่วยให้สารประกอบไนโตรเจนและฟอสเฟตในน้ำเสีย สามารถถ่ายเทไปยังเซลล์จุลสาหร่ายได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นกัน (Ugwu, C.U., Aoyagi, H. and Uchiyama, H., 2008)

จากความจำเป็นในการบำบัดน้ำเสียชุมชนก่อนที่จะปล่อยสู่แหล่งน้ำในธรรมชาติและความเป็นไปได้ในการนำจุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวมาใช้ในการเพื่อลดปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัส จึงเป็นที่มาของการโครงการวิจัยนี้ โดยจะศึกษาการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ BCPBR เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับจุลสาหร่ายในการเจริญเติบโตได้ และบำบัดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียชุมชนอย่างมีประสิทธิภาพ

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาความหนาแน่นเริ่มต้นที่เหมาะสมของเซลล์จุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* ในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

1.2.2 เพื่อประเมินค่าพารามิเตอร์ของจลนศาสตร์การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* ที่เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง

1.3 สมมุติฐาน

จุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์โดยกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งใช้สารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์เป็นธาตุอาหาร

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

1.4.1 จุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวที่ใช้เป็นสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* (TISTR 8551) จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

1.4.2 น้ำเสียที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเป็นน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบหลักใกล้เคียงกับน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนทุติยภูมิของเมือง Arcos de la Frontera ประเทศสเปน

1.4.3 อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายอยู่ในช่วง 25 - 34 °C และรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ให้มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.5 - 8.5

1.4.4 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบกะ 14 วัน ดำเนินการในขวดรูปชมพู่และในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ BCPBR ที่มีปริมาตรน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ 500 mL และ 10 L ตามลำดับ

1.4.5 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบกึ่งต่อเนื่อง 24 วัน ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ BCPBR ที่บรรจุน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ปริมาตร 10 L มีระยะเวลาเพาะเลี้ยงแบบกะใน 6 วันแรก จากนั้นเพาะเลี้ยงโดยมีการเปลี่ยนน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ 3 รอบ ระยะเวลาเพาะเลี้ยงรอบละ 6 วัน

1.4.6 แสงที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายได้จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ชนิดแสงสีขาว (Cool white fluorescent) มีความเข้มของแสง 3,500 Lux โดยประมาณ ช่วงระยะเวลาในการให้แสงต่อมิตเท่ากับ 12/12 hr

1.4.7 ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายมีความหนาแน่นเชิงแสง (Optical density: OD) ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 nm เท่ากับ 0.1, 0.3 และ 0.5

1.4.8 อากาศถูกป้อนเข้าสู่ด้านล่างของเครื่องปฏิกรณ์ด้วยความเร็วผิวเท่ากับ 0.1-0.3 cm/s

1.4.9 พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ ได้แก่ ปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของแอมโมเนียม (APHA, 1995) ไนเตรท และสารประกอบฟอสฟอรัส (APHA, 1998) ค่าซีโอดี (COD)

(AOAC, 2000) ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ น้ำหนักเซลล์แห้งและความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่าย (OD และสไลด์นับเซลล์) และปริมาณกรดไขมันในเซลล์จุลสาหร่าย (Isik, O. et al., 1999)

1.4.10 การประเมินประสิทธิภาพในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและสารประกอบฟอสฟอรัสในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ ใช้เกณฑ์มาตรฐานของสหภาพยุโรป (European Union Directive 98/15/CE) โดยมีปริมาณ TN และ (PO_4^{3-}) น้อยกว่า 10 และ 1 mg/L ตามลำดับ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบสถานะที่เหมาะสมในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจน และสารประกอบฟอสฟอรัสในน้ำเสียชุมชน ด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวด้วยเครื่องปฏิกรณ์ใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง ซึ่งชุมชนทั่วไปอาจสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการบำบัดสารประกอบไนโตรเจน และสารประกอบฟอสเฟตก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ เพื่อลดปัจจัยที่ทำวัชพืชเจริญเติบโตได้ดี ในแหล่งน้ำสาธารณะของชุมชน

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

น้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด โดยปกติแล้วร่างกายของคนเรามีน้ำเป็นส่วนประกอบประมาณร้อยละ 50-60 ของน้ำหนักตัว ขึ้นอยู่กับเพศและอายุ ดังนั้นการขาดน้ำจึงถือเป็นเรื่องที่อันตรายอย่างมาก นอกจากการใช้น้ำในการอุปโภคและบริโภคแล้วนั้น น้ำยังจำเป็นต่อการใช้เพื่อทำกิจกรรมอื่น ๆ ด้วย เช่น การทำความสะอาดในชีวิตประจำวัน การผลิตในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เมื่อน้ำผ่านการใช้แล้วจะมีสิ่งปนเปื้อนลงไปในน้ำ ซึ่งน้ำที่ผ่านการใช้จนสกปรกแล้วนั้นจะเรียกว่า น้ำเสีย เมื่อก่อนขณะที่ประชากรยังไม่หนาแน่นมาก โรงงานอุตสาหกรรมยังมีน้อย น้ำเสียจะถูกปล่อยทิ้งลงแม่น้ำลำคลองที่มีน้ำไหลผ่านตลอดเวลา เพื่อให้ความสกปรกเจือจางลงและนอกจากนั้นยังมีพืชในน้ำและจุลินทรีย์ที่สามารถดูดซับเอาสารเคมีบางชนิดในน้ำเสียไปใช้ในการดำรงชีวิตได้ ทำให้ความสกปรกในน้ำเจือจางและลดลงได้ในระดับหนึ่ง ด้วยเหตุนี้ในสมัยก่อนจึงไม่ต้องจำเป็นที่จะต้องมีการบำบัดน้ำเสียเพราะมีธรรมชาติช่วยในการบำบัดอยู่แล้ว แต่เนื่องจากในปัจจุบันมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากรอย่างรวดเร็ว การเกิดโรงงานอุตสาหกรรมก็มากขึ้นทำให้เกิดปริมาณน้ำเสียเพิ่มขึ้นตามไปด้วย เมื่อสิ่งสกปรกภายในน้ำเพิ่มขึ้น ทำให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วเพราะมีอาหารมากเกินไป เมื่อจุลินทรีย์ในน้ำชนิดที่อาศัยโดยการใช้ออกซิเจนหายใจเพิ่มจำนวนขึ้นก็จะทำให้ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำมากขึ้นตามไปด้วย

จะเห็นได้ว่าในปัจจุบันการหาวิธีการต่าง ๆ มาเพื่อบำบัดน้ำเสียถือเป็นเรื่องที่สำคัญเป็นอย่างมาก ซึ่งโดยทั่วไปแล้วน้ำเสียชุมชนที่ผ่านขั้นตอนการบำบัดทางปฐมภูมิและทุติยภูมิ ยังคงมีสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเหลืออยู่ เมื่อปลดปล่อยน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทิ้งลงในแหล่งน้ำสาธารณะจะทำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การเจริญเติบโตของวัชพืชน้ำและสาหร่าย ซึ่งใช้สารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารในการเจริญเติบโต โดยกระบวนการสังเคราะห์แสง ปัจจุบันได้มีการศึกษาการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสโดยใช้วิธีการทางชีวภาพ โดยนำน้ำเสียชุมชนมาใช้ในการเลี้ยงจุลสาหร่ายที่มีศักยภาพในเชิงเศรษฐกิจ เช่น จุลสาหร่ายที่สามารถผลิตน้ำมันสะสมไว้ในเซลล์ ซึ่งน้ำมันที่สกัดได้นี้มีความเหมาะสมที่จะไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเป็นเชื้อเพลิงหรือพลังงานชีวภาพ เช่น ไบโอดีเซล หรือภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมสามารถกระตุ้นให้จุลสาหร่ายผลิตสะสมสารประกอบภายในเซลล์ที่สามารถนำมาสกัดเป็นอาหารสัตว์ สารอาหารเสริม สุขภาพ ฯลฯ

2.1 น้ำเสียที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย

น้ำเสียในแต่ละแหล่งมีคุณสมบัติและคุณลักษณะที่แตกต่างกันขึ้นกับลักษณะการใช้งาน โดยทั่วไปแล้วมีสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสปริมาณมากเพียงพอที่จะก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องดำเนินการการลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสก่อนที่จะปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ปัจจุบันการลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัส

สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การดูดซับโดยใช้ตัวกลางสังเคราะห์หรือการดูดซับด้วยพืช การทำให้ระเหยเป็นไอ การทำให้เกิดปฏิกิริยาไนติฟิเคชัน และดีไนตริฟิเคชัน ฯลฯ วิธีเหล่านี้มีค่าใช้จ่ายสูงและความซับซ้อนและไม่สามารถลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้ในขั้นตอนหรือกระบวนการเดียว ในขณะที่การบำบัดโดยวิธีทางชีวภาพด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายนั้นสามารถลดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้ในขั้นตอนเดียวถ้าจุลสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเสียที่นำมาใช้เป็นสารอาหารเหลว และสาหร่ายถือได้ว่าเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายพบแพร่กระจายอยู่ทั่วไปตามแหล่งธรรมชาติ สามารถใช้ชีวิตได้ทั้งแหล่งน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ซึ่งสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในทะเล มหาสมุทร นอกจากนี้ยังสามารถพบสาหร่ายได้ทุกหนแห่งที่มีความชื้น เช่น ในดิน หิมะ หรือในน้ำพุร้อน เป็นต้น

จุลสาหร่ายมีหลากหลายสายพันธุ์ในปัจจุบัน โดยทั่วไปแล้วการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายต้องใช้กระบวนการสังเคราะห์แสง และใช้อินทรีย์คาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งได้จาก CO_2 ที่ละลายในน้ำ ในรูปไบคาร์บอเนต และใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจากที่มีอยู่ในน้ำเสีย (Tam and Wong, 1990; Arbib et al., 2013) ซึ่งอัตราส่วนของธาตุอาหารไนโตรเจนรวมต่อฟอสฟอรัสรวม (TN:TP) ในสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายนั้นควรมีเท่ากับ 16:1 โดยโมล (Monfet and Unc, 2017) ตารางที่ 2.1 แสดงให้เห็นถึงอัตราส่วนของ TN:TP ในน้ำเสียหลายชนิด ซึ่งจะพบว่าในน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดในขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ ซึ่งจะพบว่ามีอัตราส่วนของ TN:TP โดยรวมเท่ากับ 12.6 - 25 และ 6.8 - 132.2 โดยโมล ตามลำดับ โดยไนโตรเจนนั้นอยู่ในรูปแอมโมเนีย (NH_4^+) ไนเตรท (NO_3^-) และไนไตรท์ (NO_2^-) ซึ่งใน 3 รูปนี้ (NH_4^+) มีปริมาณที่มากกว่า 2 รูปที่เหลือ ในขณะที่ฟอสฟอรัสจะอยู่ในรูปออร์โธฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย ทั้งนี้จุลสาหร่ายสามารถนำไนโตรเจนที่อยู่ในรูป (NH_4^+) ไปใช้ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ (NO_3^-) และ (NO_2^-) อย่างไรก็ตามการที่มีปริมาณแอมโมเนียมากเกินไปจะทำให้เกิดการยับยั้งหรือขัดขวางการสังเคราะห์แสง (Ammonia inhibit photosynthesis) ซึ่งเป็นพิษต่อจุลสาหร่าย โดยทั่วไปแล้วถ้าแอมโมเนียอิสระ (Free ammonia) มีปริมาณหรือความเข้มข้นที่มากกว่า 1.2 - 2.0 M และน้ำเสียมี pH มากกว่า 8 นั้นจะเป็นพิษต่อจุลสาหร่าย (Azov, Y. and Goldman, Joel C, 1982) ดังนั้นน้ำเสียที่มีปริมาณแอมโมเนียค่อนข้างสูง เช่น ในน้ำเสียชุมชนที่ไม่ผ่านการบำบัดปฐมภูมิและทุติยภูมิ น้ำเสียจากฟาร์มปศุสัตว์ และน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหารนั้น พบว่ามีแนวโน้มที่จะเป็นพิษต่อจุลสาหร่ายถ้าไม่มีการควบคุม pH ให้มีค่าต่ำกว่า 8 ดังนั้นน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดหรือผ่านการเจือจางจึงไม่เหมาะสมในการนำมาเพาะเลี้ยงสาหร่าย หรือกล่าวได้อีกอย่างคือการบำบัดน้ำเสียโดยการนำมาเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายนั้นควรดำเนินการในขั้นตอนสุดท้าย และต้องมีการเก็บเกี่ยวจุลสาหร่ายออกก่อนที่จะปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งธรรมชาติ

2.2 จุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola*

จุลสาหร่ายเป็นสิ่งที่มีชีวิตชั้นต่ำเซลล์เดียว มีขนาดเล็กมากตั้งแต่ 0.5 μm จนถึงขนาดใหญ่สามารถมองเห็นโครงสร้างของเซลล์ได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้น และใบ

อย่างแท้จริง จุลสาหร่ายที่อยู่ในดิวิชันคลอโรไฟตา (Division Chlorophyta) มีคลอโรพลาสต์ ซึ่งประกอบไปด้วยด้วยรงควัตถุชนิดคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์ บี (Chlorophyll b) มากกว่าคลอโรฟิลล์ชนิดอื่น ๆ ทำให้จุลสาหร่ายมีลักษณะมีสีเขียว จุลสาหร่ายแต่ละชนิดมีรูปแบบการเจริญเติบโตที่ต่างกันขึ้นกับสภาวะแวดล้อม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของแหล่งน้ำ ความเข้มของแสง และปริมาณของสารอาหารที่ได้รับ ปัจจุบันมีการนำจุลสาหร่ายสีเขียวหลายสายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงในน้ำเสีย เพื่อลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัส โดยพบว่า จุลสาหร่าย สายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* นั้นเป็นหนึ่งในสายพันธุ์ที่มีคุณลักษณะเหมาะสม เนื่องจาก เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมได้ดี โดยเฉพาะความเป็นกรด-ด่าง (pH 6.5 - 8.5) และอุณหภูมิในช่วงกว้าง 28 - 32 °C นอกจากนี้แล้วการเก็บเซลล์ทำได้ง่าย เนื่องจากเซลล์มีน้ำหนักรวมทำให้จมตัว อย่างไรก็ตามในระหว่างการเพาะเลี้ยงนั้น จำเป็นต้องติดตั้งอุปกรณ์ เพิ่มเติมเพื่อช่วยให้เซลล์มีการฟุ้งกระจายตัวแขวนลอยอยู่ในระบบ (ศุทธิณี วรรณสุทธิวัฒน์, 2557)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียชนิดต่าง ๆ

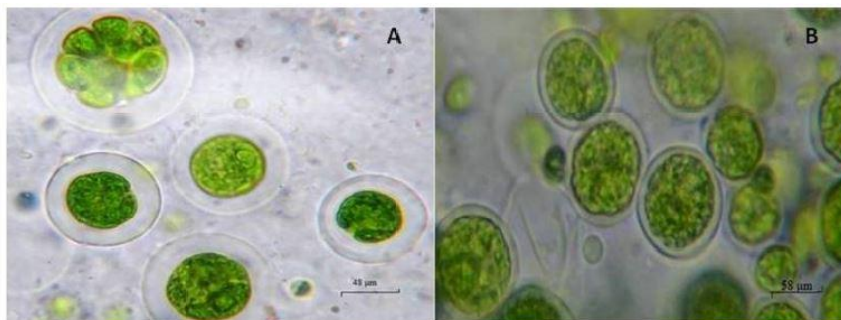
Source	Nutrient forms (mmol/L)						N:P ratios (mol/mol)	
	NH ₄ —N	NO ₃ —N	NO ₂ —N	Organic —N	Total—N	PO ₄ —P	Total—P	Available
Municipal wastewaters								
Sewage	1.51–6.57	0.00036–0.28	0.0036–0.013	0.69	2.90–7.87	0.065–0.46	0.077–0.29	13.1–46
Primary effluent	2.19–2.79	0.0057–0.029	0.0014	0.86–0.92	1.82–3.64	0.055–0.13	0.090–0.22	12.6–25
Secondary effluent	0.52–1.80	0.0025–1.21	0.00014–0.037		0.57–2.86	0.025–0.13	0.010–0.11	6.8–132.2
Centrate	3.94–8.94	0.025			3.79–19.64	1.14–6.94	0.30–12.65	1.4–12.5
Agricultural wastewaters								
Dairy	0.034–0.30	0.12–2.91	0.0093–0.012		0.49–2.95	0.0069	0.014–0.16	18.4–35.9
Piggery								24.8
Dairy	3.43–127.29				6.93–236.07	1.56	0.66–9.77	8.8–84.3
Piggery	85.5–370.71	0.49	0.12		11.57–491.43	0.14–4.42	0.14–11.84	1.7–659.1
Industrial wastewaters								
Biotechnology and pharmaceutical effluent					9.71–63.24		0.37–10.52	6.0–36.6
Brewery					0.77–5.19	1.56	0.53–1.75	1.5–7.9
Carpet manufacture	0.15–1.55	0.19–1.01			0.34–2.80	0.21–0.29	0.18–0.31	1.9–9.0
Desalination	0.075				2.14		0.023	94.9
Landfill leachate	10.83					0.26		41.1

ที่มา: Monfret, E. and Unc, A. (2017)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียชนิดต่าง ๆ (ต่อ)

Source	Nutrient forms (mmol/L)						N:P ratios (mol/mol)	
	NH ₄ —N	NO ₃ —N	NO ₂ —N	Organic —N	Total—N	PO ₄ —P	Total—P	Total Available
Industrial wastewaters								
Olive-oil mill	0.16	2.54			0.081–0.21	0.0021–0.0039	0.0074–0.011	8.3–18.3 42.4–1211.7
Paper mill	11.14							
Soybean processing	3.72				19.08		1.82	10.5
Steel	4.25	0.43						
Tannery	54.43	0.79				0.16	0.13	337.5
Textile	0.064–15.71	0.24–5.57				0.0016–0.066		31.6–123.4
Anaerobic digestion effluent								
Dairy	6–159.43	0			13.21–246.86	0.32	0.79–7.74	13.7–93.9 30.1
Piggery	46–235.29	7.93			9.92–236	8.94	2.61–19.48	1.7–37.1 27.2

ที่มา: Monfret, E. and Unc, A. (2017)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะของคลอโรพลาสต์และเยื่อหุ้มชั้นนอกและชั้นใน

ที่มา: Chris, D. Thomas et al. (2004); Klochkova, T.A. et al. (2006)

จุลสาหร่ายคลอโรคอคคัมเป็นจุลสาหร่ายน้ำจืดไม่สามารถเคลื่อนที่ได้เอง เจริญเติบโตอยู่ในน้ำตื้นหรือน้ำลึกที่แสงส่องถึง บางชนิดสามารถขึ้นบนก้อนหิน ทราย และพืช บางชนิดพบอยู่ในหิมะหรือน้ำแข็ง จุลสาหร่ายคลอโรคอคคัมมีขนาดเซลล์ประมาณ 7.8-15.2 nm (Klochkova, T.A. et al., 2006) ในสภาวะปกติจะพบเป็นเซลล์เดี่ยวแต่อาจพบว่าอยู่รวมกันหลายเซลล์เป็นกลุ่มโคโลนีเล็ก ๆ ประกอบไปด้วย 2 - 4 เซลล์ เซลล์ของจุลสาหร่ายคลอโรคอคคัมมีรูปร่างเป็นทรงกลมคล้ายไข่ ภายในเซลล์มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคลอโรพลาสต์ซึ่งมีเยื่อหุ้มสองชั้น ประกอบด้วยเยื่อหุ้มชั้นนอกและชั้นในดังแสดงในภาพที่ 2.1 ซึ่งมีการม้วนตัวภายในเยื่อหุ้มชั้นในทำให้ระบบเยื่อมีความซับซ้อนโดยเยื่อหุ้มมีไทลาคอยด์ (Thylakoid) ซึ่งมีลักษณะเป็นทรงกลมแบนวางทับกันในแนวตั้ง โดยแต่ละตั้งเรียกว่า กรานัม (Granum) ซึ่งในระหว่างกรานัมเชื่อมกันด้วยเยื่อเรียกว่าสโตรมาลามลลา (Stroma-lamella) บริเวณที่ไม่มีเยื่อภายในคลอโรพลาสต์เรียกว่าสโตรมา (Stroma) ประกอบด้วยโปรตีนและเอนไซม์ทำหน้าที่ยึดจับคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนเยื่อภายในไทลาคอยด์นั้นประกอบด้วยโปรตีนและแคโรทีนอยด์ ภายในเซลล์ของจุลสาหร่ายคลอโรคอคคัมยังมีส่วนที่เป็นไขมันจำนวนหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งอัน ทำหน้าที่สะสมอาหาร (ยูติ พืชรพพิศาล, 2546; ศุทธิณี วรรณสุทธิวัฒน์, 2557)

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย

2.3.1 ไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย โดยเฉพาะในการใช้สังเคราะห์กรดอะมิโน (Amino acid) และโปรตีน (Protein) ซึ่งจะมีปริมาณถึง 1 ใน 8 หรือ 1 ใน 6 ของน้ำหนักจุลสาหร่าย ถ้าขาดไนโตรเจน จุลสาหร่ายจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้โดยจุลสาหร่ายใช้นิโตรเจนได้หลายรูป เช่น NH_4^+ , NO_3^- และ NO_2^- และยังพบว่าจุลสาหร่ายหลายสายพันธุ์ที่สามารถใช้สารประกอบไนโตรเจนที่ละลายน้ำ เช่น ยูเรีย (Urea) กรดอะมิโนอิสระ (Free amino acid) และเปปไทด์ (Peptides) ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารสำคัญซึ่งจุลสาหร่ายขาดไม่ได้โดยปริมาณต่ำสุดในเซลล์จุลสาหร่าย คือ ร้อยละ 3-4 ของน้ำหนักแห้ง จุลสาหร่ายจะดูดซึมแอมโมเนียมไปใช้ก่อน เมื่อปริมาณของแอมโมเนียมลดลงจึงใช้ในเตรทและไนไตรท์ โดยการลด

ออกซิเจนเพื่อเปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนียม โดยใช้เอนไซม์ไนเตรท-ไนไตรท์รีดักเตส (Nitrate-nitrite reductase) จึงจะสามารถนำไปใช้ได้

2.3.2 ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) และอะดีโนซีน ไตรฟอสเฟต (Adenosinetriphosphate: ATP) ในน้ำนั้นฟอสฟอรัสมักอยู่ในรูปที่ออกซิไดซ์ (oxidized state) หรือในรูปอนินทรีย์ฟอสฟอรัส (Inorganic orthophosphate ion, HPO_4^{2-} และ H_2PO_4^- หรืออินทรีย์สารซึ่งเป็นแหล่งให้ฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำ ฟอสเฟตที่ละลายน้ำ (Dissolved phosphate) นั้นได้จากการบวนการทางเคมีที่มีการปลดปล่อยฟอสฟอรัสที่ยึดติดกับดินมาสู่แหล่งน้ำ ซึ่งมีค่าระหว่าง 0.1-1,000 $\mu\text{g/L}$ ฟอสฟอรัสมีอยู่ในรูปของไอออนที่ละลายน้ำ คือ HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- และ PO_4^{3-} ซึ่งค่าฟอสฟอรัสโดยรวม (Total phosphorus: TP) หมายถึงปริมาณฟอสฟอรัสที่มีในน้ำ ทั้งหมด โดยจุลสาหร่ายหลายชนิดสามารถใช้สารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัสได้โดยการผลิตเอนไซม์ Alkaline phosphatase ช่วยในการดึงฟอสเฟตที่ละลายน้ำ (Soluble reactive phosphorus: SRP) ออกมาใช้ ซึ่งการสร้างเอนไซม์ชนิดนี้จะเกิดขึ้นภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีความเข้มข้นของออร์โธ ฟอสเฟตน้อย ในขณะที่เดียวกันถ้ามีค่า pH สูง (สภาวะที่เป็นด่าง) จะทำให้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปของ เกลือ ซึ่งจุลสาหร่ายไม่สามารถนำไปใช้ได้ การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายนั้นมีความจำเป็นต้องใช้ฟอสฟอรัส ในปริมาณที่ต่างกันตามชนิดและสภาพแวดล้อม

2.3.3 คาร์บอน

จุลสาหร่ายใช้คาร์บอนซึ่งได้จากคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศที่ละลายอยู่ในน้ำในรูปของ กรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) และแตกตัวเป็นคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และไบคาร์บอเนตไอออน (HCO_3^-) คาร์บอนที่สาหร่ายตรึงไว้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจะมีปริมาณร้อยละ 50-70 ของน้ำหนักแห้ง

2.3.4 แสง

แสงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายในการสังเคราะห์แสง เพื่อเปลี่ยน คาร์บอนไดออกไซด์เป็นไปสารประกอบอินทรีย์ การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสามารถใช้แสงได้จาก 2 แหล่ง คือ แสงจากแหล่งธรรมชาติ เช่น ดวงอาทิตย์ และแสงจากแหล่งสังเคราะห์ เช่น หลอดไฟ กรณีหลังนี้ควรใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เนื่องจากแสงที่ปลดปล่อยออกมามีอุณหภูมิ ไม่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับแสงจากหลอดไฟชนิดอื่น ๆ โดยความเข้มของแสงมีผลต่อการเจริญเติบโต ของจุลสาหร่าย นอกจากนี้แล้วการควบคุมช่วงเวลาในการให้แสงสลับกับการหยุดให้แสงจะส่งผลให้ จุลสาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีกว่าการให้แสงตลอดเวลา โดยช่วงแสงสว่างที่นิยมใช้คือ 16 ชั่วโมง และ ช่วงมืด 8 ชั่วโมง (ยุวดี พิรพรพิศาล และคณะ, 2554)

2.3.5 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายในเซลล์ จุลสาหร่ายและการทำงานของเอนไซม์ในโครงสร้างและองค์ประกอบต่าง ๆ ของเซลล์จุลสาหร่าย ซึ่งส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและปริมาณน้ำมันในเซลล์จุลสาหร่าย อุณหภูมิที่เหมาะสมในการ เพาะเลี้ยงนั้นขึ้นอยู่กับจุลสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ โดยทั่วไปแล้วอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อ

การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายสีเขียว (ผกาดี แก้วกันเนตร, วรวุฒิ จุฬาลักษณ์นกุล และ Alec E. James, 2552)

2.3.6 การกวน

การกวนเป็นปัจจัยสำคัญและจำเป็นอย่างมากในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเนื่องจากช่วยให้สาหร่ายที่ถูกบดบังอยู่ในบริเวณด้านในและด้านล่างของระบบมีโอกาสได้รับแสง และช่วยเพิ่มการละลายของ CO_2 ซึ่งอยู่ในอากาศเข้าสู่เฟสของเหลวตัวกลางในระบบ นอกจากนี้ยังช่วยให้เกิดการไหลหมุนเวียนของจุลสาหร่าย ทำให้มีโอกาสดูดซับสารอาหารได้อย่างทั่วถึง ลดการตกตะกอนของสาหร่าย ลดการสะสมของออกซิเจนในระบบ และป้องกันไม่ให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง

2.3.7 ความเป็นกรด-ด่าง

ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีผลต่อระดับของ CO_2 ที่ละลายในสารอาหารโดยจาก CO_2 ไปอยู่ในรูป HCO_3^- และ H_2CO_3 การมีปริมาณของ CO_2 ละลายเพิ่มขึ้นในสารอาหารนั้นจะส่งผลให้จุลสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้น นอกจากนี้แล้วยังส่งผลต่อค่าไนโตรเจน เมื่อมีค่าความเป็นกรดต่างมากกว่า 8 จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อจุลสาหร่ายได้ รวมถึงส่งผลต่อค่าฟอสฟอรัส เมื่อมีค่า pH สูงจะทำให้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปของเกลือซึ่งจุลสาหร่ายไม่สามารถนำไปใช้ได้

2.4 ระบบเพาะเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายจำเป็นต้องมีน้ำ แสงแดด สารอาหารและคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตเหมือน พืชชนิดอื่น ๆ จุลสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ที่มีอากาศร้อนและมีแสงแดดมากดังนั้นประเทศไทยจึงเหมาะต่อการเลี้ยงจุลสาหร่าย การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ การเพาะเลี้ยงในระบบเปิดและระบบปิด

การเพาะเลี้ยงในระบบเปิดเป็นวิธีการเลี้ยงสาหร่ายแบบธรรมชาติหรือกลางแจ้ง เช่น เลี้ยงในบ่อน้ำ คลอง และในราง เป็นต้น การเลี้ยงจุลสาหร่ายโดยวิธีนี้ยากต่อการดูแล โดยเฉพาะการปนเปื้อนของบ่อน้ำ (เช่น แบคทีเรีย ที่มีผลกระทบต่อการเติบโตของสาหร่าย) และการควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย

การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในระบบปิดเป็นการเพาะเลี้ยงที่สามารถควบคุม อุณหภูมิ และสิ่งปนเปื้อนได้ง่าย อีกทั้งยังสามารถพัฒนาและออกแบบให้อยู่ในช่วงที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงระบบปิดสามารถตั้งใกล้กับโรงงานที่ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย

ปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในระบบเปิดแบบรางคู่และระบบปิดโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสง (Grima, E. Molina et al., 1999) ซึ่งทั้ง 2 ระบบ ก็มีข้อดีและข้อจำกัดที่แตกต่างกัน โดยระบบเปิดแบบรางคู่มิข้อจำกัดคือใช้พื้นที่ในการก่อสร้างมาก มีการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมได้ง่าย ทำให้มีจุลสาหร่ายบางสายพันธุ์เท่านั้นที่เจริญเติบโตได้ นอกจากนี้แล้วการกวนผสม การรับแสงและการดูดซึม CO_2 นั้นประสิทธิภาพต่ำ ในขณะที่ CO_2 มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย ทำให้ควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมได้ยาก อย่างไรก็ตามข้อดีของระบบนี้ คือ มีต้นทุนต่ำ ง่ายต่อการทำความสะอาด ใช้พลังงานต่ำ ข้อดีของการเพาะเลี้ยงในระบบปิดโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์

ชีวภาพใช้แสง คือ ต้องการพื้นที่ในการก่อสร้างน้อยเพราะเป็นลักษณะเป็นคอลัมน์ มีการปนเปื้อนน้อย สามารถควบคุมสภาวะได้ง่าย มีการควบคุมอย่างสมบูรณ์ตลอดทั้งเครื่องปฏิกรณ์ มีแรงเหวี่ยงน้อย ช่วยลดความเสียหายแก่เซลล์จุลสาหร่าย มีการถ่ายเทมวลสารสูงและใช้พลังงานต่ำ ข้อจำกัด คือ ราคาสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับระบบเปิด การขยายขนาดเพาะเลี้ยงจะทำให้พื้นที่ รับแสงลดลง ต้องใช้วัสดุที่มีความพิเศษในการสร้าง

2.4.1 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายโดยแบ่งตามสภาวะการเพาะเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสามารถแบ่งตามสภาวะการเพาะเลี้ยงเป็น 3 แบบ ได้แก่

2.4.1.1 การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบออโตโทรฟิก (Autotrophic cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายที่ใช้แสงและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากธรรมชาติเป็นหลักในการเจริญเติบโตและสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลต่าง ๆ หรือ คือการใช้อนินทรีย์คาร์บอนเป็นแหล่งพลังงาน

2.4.1.2 การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบเฮเทอโรโทรฟิก (Heterotrophic cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้สารประกอบอินทรีย์ เช่น กลูโคส ซูโครส หรือน้ำตาล เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ซึ่งจะเพาะเลี้ยงในที่ที่ไม่มีแสงหรือในที่มืดตลอดเวลา

2.4.1.3 การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบมิกโซโทรฟิก (Mixotrophic cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้ สารประกอบอินทรีย์คาร์บอนและแสงเป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งพลังงาน โดยแสงที่ใช้อาจเป็นแสงจาก ธรรมชาติหรือจากหลอดไฟ ภายในระยะที่เหมาะสม

2.4.2 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายโดยแบ่งตามรูปแบบการให้สารอาหาร

การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายยังสามารถแบ่งตามรูปแบบการให้สารอาหารมี 4 แบบ คือ

2.4.2.1 การเพาะเลี้ยงแบบกะ (Batch cultivation) มีการเติมสารอาหารที่เวลาเริ่มต้นการเพาะเลี้ยงเพียงครั้งเดียวและไม่มีการเติมสารอาหารเพิ่มเติมเข้าไปในระบบในระหว่างการเพาะเลี้ยง

2.4.2.2 การเพาะเลี้ยงแบบป้อนกะ (Fed-batch cultivation) มีการเติมสารอาหารลงไปในช่วงการเพาะเลี้ยง เพื่อรักษาระดับสารอาหารให้มีความเข้มข้นคงที่

2.4.2.3 การเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงแบบกะในระยะแรกจนกระทั่งจุลสาหร่ายอยู่ในช่วงการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ จากนั้นจึงทำการเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่าย โดยเติมสารอาหารเหลวที่มีเซลล์จุลสาหร่ายอยู่ด้วยออกจากระบบร้อยละ 50 ของปริมาตรเริ่มต้น จากนั้นเติมอาหารใหม่ลงไปให้มีปริมาตรเท่าเดิม ทำการเพาะเลี้ยงต่อไป

2.4.2.4 การเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (Continuous cultivation) มีการป้อนสารเข้าและดึงสารออกจากเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพตลอดระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยง

จากรูปแบบเพาะเลี้ยงที่ได้กล่าวถึงในข้างต้นพบว่าการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบระบบปิดโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเชิงแสงภายใต้สภาวะแบบกะนั้น ในเบื้องต้นพบว่ามีเหมาะสมกับงานวิจัยนี้มากที่สุดเนื่องจากการปนเปื้อน และสามารถควบคุมสภาวะต่าง ๆ ได้ง่าย การให้สารอาหาร (น้ำเสียสังเคราะห์) ที่เวลาเริ่มต้นเพียงครั้งเดียวโดยไม่มีการเติมสารอาหารลงไปเพิ่มทำให้ทราบว่าจุลสาหร่ายที่ทำเพาะเลี้ยงสามารถลดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้เล็กน้อยเท่าไร อย่างไรก็ตามการที่จะสามารถลดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้ดียิ่งขึ้นเพียงใด

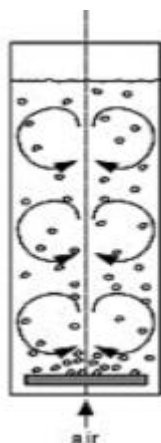
ยังขึ้นกับชนิดของเครื่องปฏิกรณ์ที่เลือกใช้ที่จะทำให้จุลสาหร่ายแขวนลอยในระบบด้วย ตารางที่ 2.2 แสดงให้เห็นถึงข้อดีและข้อจำกัดของเครื่องปฏิกรณ์ทั้ง 3 แบบ ที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย

เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์นั้นเป็นเครื่องปฏิกรณ์ที่ไม่ใช้การกวนผสมเชิงกล ซึ่งการกวนผสมจะเกิดขึ้นจากการป้อนอากาศเข้าสู่ของเหลวที่เป็นตัวกลางโดยใช้หัวพ่นฟองอากาศเป็นตัวกระจายซึ่งจะอยู่ที่ก้นของเครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งการไหลของของเหลวในตัวกลางภายในเครื่องปฏิกรณ์จะเป็นแบบไร้อากาศดังแสดงในภาพที่ 2.2 แต่เมื่อมีจำนวนเซลล์จุลสาหร่ายมากขึ้นทำให้จำเป็นต้องเพิ่มอัตราการไหลของอากาศเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ หรือทำการเก็บเกี่ยวสาหร่ายออกจากกระบอก เพื่อทำให้เซลล์จุลสาหร่ายสามารถแขวนลอยในของเหลวตัวกลางได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งการกวนผสมที่ดียังช่วยให้สารอาหารกระจายตัวอย่างทั่วถึงทุกบริเวณในเครื่องปฏิกรณ์ ลดการเกิดชั้นความร้อน เพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายเทมวลของคาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ในฟองอากาศเข้าสู่ของเหลวตัวกลางได้ดี และลดสภาวะการยับยั้งการสังเคราะห์แสงซึ่งเกิดจากการเพิ่มขึ้นของเซลล์สาหร่ายทำให้เกิดการบดบังแสง และทำให้สาหร่ายบางส่วนได้รับแสงที่มีความเข้มมากเกินไปเกินความต้องการ ทำให้สาหร่ายตายได้ (Javanmardian, Minoo and Palsson, Bernhard O., 1991) ซึ่งปัญหาที่พบในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบคอลัมน์ฟองที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดใหญ่คือมักจะเกิดการบดบังของแสงทำให้เกิดส่วนที่แสงส่องถึง และส่วนที่แสงส่องไม่ถึง (Ugwu, C.U., Ogbonna, J.C. and Tanaka, H., 2005)

ตารางที่ 2.2 ข้อดีและข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่าง ๆ

ระบบการเพาะเลี้ยง	ข้อดี	ข้อจำกัด
เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ใช้แสงแบบท่อ	- มีพื้นที่รับแสงมาก - ราคาก่อสร้างไม่แพง - เหมาะกับการเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง - ให้ผลผลิตมวลเซลล์สูง	- มีสาหร่ายเกาะติดผนังท่อ - ต้องการพื้นที่มากในการติดตั้ง - มีความแตกต่างของ pH ปริมาณ DO และ CO₂ ตามความยาวของท่อ
เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ใช้แสงแบบแผ่นแบน	- ให้ผลผลิตมวลเซลล์สูง - มีการสะสมออกซิเจนต่ำ - พื้นที่รับแสงสูงและแสงผ่านได้ดี - เหมาะกับการเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง	- ต้องการอุปกรณ์จำนวนมากเพื่อขยายขนาดเพาะเลี้ยงให้ใหญ่ขึ้น - ยากต่อการควบคุมอุณหภูมิ - มีสาหร่ายเกาะติดผนังแผ่นเรียบ
เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ใช้แสงแบบคอลัมน์แนวตั้ง	- ขนาดกะทัดรัดมีการถ่ายเทมวลสูง - ใช้พลังงานต่ำ - มีประสิทธิภาพในการการผสมสูง - ในขณะที่มีแรงเฉือนที่กระทำต่อเซลล์สาหร่ายต่ำ - สามารถขยายเพาะเลี้ยงได้ง่าย	- ราคาสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแบบบ่อเปิด - เมื่อขยายขนาดเพาะเลี้ยงจะทำให้พื้นที่รับแสงลดลง - ใช้วัสดุที่มีสมบัติพิเศษในการสร้าง

ที่มา: Ugwu, C.U., Aoyagi, H. and Uchiyama, H. (2008); Brennan, L. and Owende, P. (2010)



ภาพที่ 2.2 รูปแบบการไหลแบบผสมภายในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง
ที่มา: Doran, Pauline M. (1995)

โดยทั่วไปแล้วการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองนั้น พิจารณาจากสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลเชิงปริมาตรโดยรวม (Overall volumetric gas-liquid mass transfer coefficient: $k_L a$) ซึ่งเทอม $k_L a$ นั้นเป็นสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลโดยรวมเชิงปริมาตรระหว่างเฟสก๊าซ-ของเหลว โดยปัจจัยค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลเชิงปริมาตรระหว่างเฟสก๊าซ-ของเหลว มีหลายประการ ได้แก่ อัตราการกวนผสม ชนิดของหัวปั่นฟองอากาศในการป้อนอากาศ สารลดแรงตึงผิว ลดการเกิดโฟม และอุณหภูมิของตัวกลางในการเพาะเลี้ยง (Ugwu, C.U., Aoyagi, H. and Uchiyama, H., 2008) การเพิ่มอัตราการป้อนอากาศเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ช่วยเพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลระหว่างเฟสก๊าซ-ของเหลว อย่างไรก็ตามที่อัตราการไหลอากาศที่สูงจะไปส่งผลประทบทำให้เซลล์จุลสาหร่ายเกิดความเสียหายได้เนื่องจากสถานะที่ได้รับแรงเฉือนมาก นอกจากนี้เมื่อฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากเกิดการรวมตัวเป็นฟองขนาดใหญ่ในขณะที่ลอยตัวขึ้นไปยังส่วนบนของเครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพในการถ่ายเทมวลระหว่างเฟสก๊าซและของเหลว ลดลง เนื่องจากฟองอากาศขนาดใหญ่จะเคลื่อนที่เร็วกว่าฟองขนาดเล็ก และมีขนาดใหญ่ทำให้มีความจำเป็นจะต้องมีการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพให้มีมิติที่เหมาะสมกับการใช้งาน

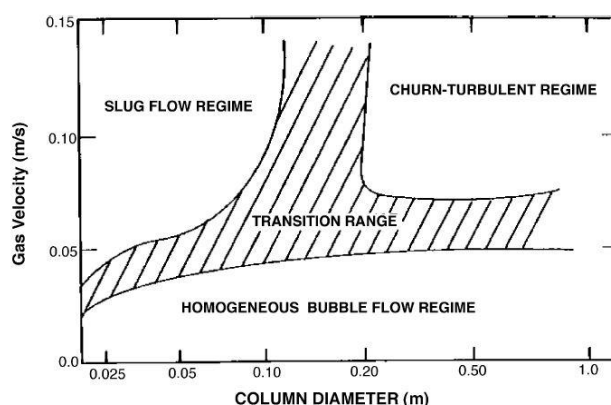
2.5 หลักการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง

เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองเป็นหนึ่งในวิธีการที่ได้รับความนิยมที่นำมาเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย เนื่องจากเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพมีคุณสมบัติในการกวนผสมภายในอย่างสมบูรณ์ตลอดทั้งถัง โดยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองจะเป็นการกวนผสม โดยการใช้อากาศที่เป่าผ่านหัวปั่นเป็นตัวกระจายอากาศในเครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งการกวนผสมจะเป็นแบบไร้ทิศทาง ซึ่งข้อดีของเครื่องปฏิกรณ์ใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง คือ ไม่ใช้การกวนเชิงกลหรือแบบใบพัดทำให้ใช้พลังงานน้อยกว่า และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายเทความร้อนภายในเครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งเครื่องปฏิกรณ์ชนิดนี้มีอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง ส่งผลให้แสงส่องผ่านเข้าไปในเครื่องปฏิกรณ์ได้ดี และสามารถดูแลรักษาได้ง่าย เนื่องจากมีโครงสร้างที่ไม่ซับซ้อน ดังนั้นเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงจึงถูกนำมาใช้ในงานอุตสาหกรรมหลายประเภทที่ต้องการเพิ่มปริมาณการผลิต เช่น การผลิตขนมปัง

จากยีสต์ เปียร์ น้ำส้มสายชู รวมถึงใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย โดยทั่วไปในการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบคอลัมน์ฟองต้องคำนึงถึงปัจจัยหลัก 2 ประการ (ซึ่งมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบคอลัมน์ฟอง) คือ พฤติกรรมทางพลศาสตร์ของของเหลวในคอลัมน์ และมิติหรือสัดส่วนของคอลัมน์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

2.5.1 พฤติกรรมทางพลศาสตร์ของของเหลวในคอลัมน์

โดยพฤติกรรมการไหลของของเหลวและคุณลักษณะการถ่ายเทมวลระหว่างเฟสของของเหลวและก๊าซซึ่งอยู่ในรูปของฟองอากาศภายในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองนั้น ขึ้นอยู่กับลักษณะหรือรูปแบบของฟองก๊าซที่ออกจากหัวฟั่น โดยรูปแบบการไหลมีความแตกต่างกันกับอัตราการไหลของอากาศที่ป้อนเข้าไปในภายในคอลัมน์นั้น ๆ การเลือกใช้เส้นผ่านศูนย์กลางคอลัมน์ การออกแบบหัวฟั่นฟองอากาศขึ้นกับของเหลวที่ใช้ และพฤติกรรมทางพลศาสตร์ของของไหลภายในคอลัมน์ สามารถสังเกตได้จากรูปแบบของการไหลของฟองก๊าซซึ่งอยู่กับขนาดฟองอากาศและความเร็วในการลอยตัวของฟองอากาศ สำหรับของเหลวและก๊าซที่มีความหนืดน้อย ๆ จะเป็นการไหลแบบสองเฟสของของไหลภายในคอลัมน์ คือ ก๊าซ-ของเหลว (นลินี ตันติกุล, 2547)



ภาพที่ 2.3 พฤติกรรมทางพลศาสตร์ของการไหลแบบสองเฟส

ที่มา: Deckwer, Wolf-Dieter et al. (1980)

2.5.1.1 พฤติกรรมทางพลศาสตร์ของการไหลแบบ 2 เฟส

สามารถแสดงได้โดยแผนภูมิ ดังในภาพที่ 2.3 ซึ่งแบ่งได้เป็น 4 แบบ กล่าวคือ

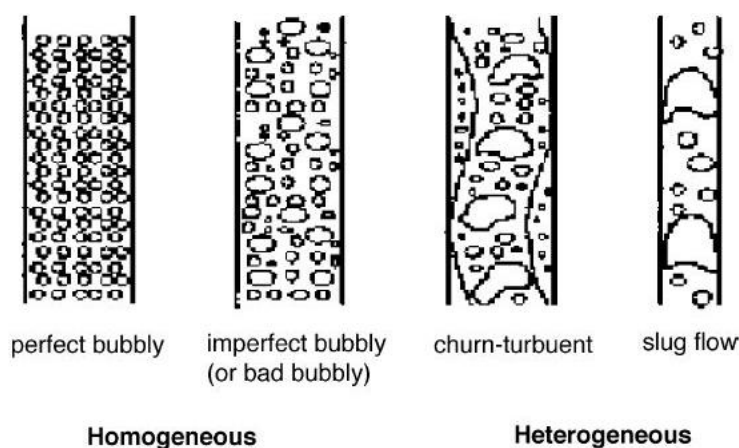
1) การไหลแบบฟองก๊าซขนาดเล็ก (Homogeneous bubble flow regime)

เป็นการไหลของก๊าซขนาดเล็กจำนวนมากแบบอย่างต่อเนื่องภายในคอลัมน์ จะเกิดในช่วงที่ความเร็วพื้นผิว ของฟองก๊าซมีค่าต่ำ ๆ แต่ไม่เกิน 2 เซนติเมตรต่อวินาที โดยทั่วไปแล้วฟองก๊าซที่เกิดขึ้นนั้น จะมีขนาดเล็ก ๆ และมีขนาดใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็นการไหลที่มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย เนื่องจากฟองก๊าซขนาดเล็กจะช่วยถ่ายเทมวลระหว่างจากเฟสก๊าซกับผนังเซลล์ของจุลสาหร่าย และในสภาวะที่มีอัตราการไหลต่ำทำให้รูปแบบของการไหลมีแรงเฉือนต่ำทำให้เซลล์จุลสาหร่ายในระบบเกิดการเคลื่อนที่ตามอากาศเพื่อป้อนเข้าไปในเครื่องปฏิกรณ์ และยังป้องกันการเสียหายของเซลล์จุลสาหร่ายที่เกิดจากอัตราการไหลสูง ๆ

2) การไหลแบบฟองก๊าซรวมตัว (Slug flow regime) เป็นการไหลของฟองก๊าซที่มีทั้งฟองขนาดใหญ่และฟองขนาดเล็กผสมกัน โดยฟองก๊าซขนาดใหญ่ที่เกิดขึ้นเกิดจากการรวมตัวของฟองก๊าซขนาดเล็กหลาย ๆ ฟอง ในขณะที่เคลื่อนที่ภายในคอลัมน์ ทำให้เกิดความไม่ต่อเนื่องของการไหลของฟองก๊าซขนาดเล็ก การไหลแบบสองเฟสนี้จะเกิดขึ้นเมื่อความเร็วของก๊าซที่ป้อนเข้าไปมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งฟองก๊าซขนาดใหญ่จะเคลื่อนที่ขึ้นสู่ด้านบนของคอลัมน์ได้เร็วกว่าฟองก๊าซขนาดเล็ก ทำให้เกิดลักษณะการไหลแบบไม่คงตัว ทำให้เกิดการถ่ายเทมวลได้น้อยกว่าแบบแรก

3) การไหลแบบฟองก๊าซหัวกระสุน (Churn turbulent regime) เป็นการไหลของฟองก๊าซที่มีอัตราการไหลสูง จะเกิดขึ้นภายในคอลัมน์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อย ๆ ไม่เกิน 15 เซนติเมตร ส่งผลให้เกิดฟองก๊าซขนาดใหญ่ที่มีเสถียรภาพสูงจนเกิดเป็นฟองก๊าซขนาดใหญ่ที่มีรูปทรงแบบหัวกระสุน ทำให้เซลล์จุลสาหร่ายเกิดความเสียหายได้

4) การไหลแบบฟองก๊าซผสม (Transition regime) เป็นการไหลของฟองก๊าซที่มีทั้งฟองขนาดเล็กและขนาดใหญ่ จะเกิดขึ้นเมื่ออัตราการไหลของก๊าซมีค่ามากเพียงพอ ทำให้ฟองก๊าซขนาดเล็กสามารถรวมตัวกันเป็นฟองขนาดใหญ่ได้ และส่งผลมีรูปแบบการไหลแบบฟองก๊าซผสมระหว่างฟองก๊าซขนาดเล็ก และฟองก๊าซขนาดใหญ่ที่สามารถเปลี่ยนรูปแบบการไหลเป็นแบบการไหลแบบฟองก๊าซรวมตัวหรือการไหลแบบฟองก๊าซหัวกระสุน ทำให้การไหลแบบก๊าซผสมมีค่าไม่คงตัวและอาจเกิดความเสียหายต่อเซลล์จุลสาหร่ายได้



ภาพที่ 2.4 รูปแบบการไหลแบบสองเฟสของก๊าซ-ของเหลวในคอลัมน์
ที่มา: Bouaifi, M. et al. (2001)

รูปแบบการไหลแบบสองเฟสของก๊าซ-ของเหลวในคอลัมน์ สามารถแสดงได้ดังภาพที่ 2.4 เมื่อพิจารณาจากแผนภูมิรูปแบบการไหลที่แสดงในภาพที่ 2.3 สำหรับการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 0.10 - 0.75 m และมีอัตราการป้อนก๊าซที่มีความดันบรรยากาศเข้าสู่ด้านล่างของคอลัมน์ โดยต้องรักษาความเร็วของก๊าซให้มีค่าไม่เกิน 0.4 m/s นั้นจะทำให้สามารถประเมินการไหลภายในคอลัมน์ได้เป็นแบบฟองก๊าซขนาดเล็ก (Perfect Bubbly) ทั้งนี้ความเร็วของเหลวที่อยู่ในคอลัมน์สามารถ

ประเมินได้จากสมการที่ 2.1 และเวลาที่ก๊าซผสมกับของเหลวในคอลัมน์สามารถประเมินหาได้จากสมการที่ 2.2 สำหรับสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลเชิงปริมาตรระหว่างเฟสก๊าซและของเหลว $k_L a$ ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบคอลัมน์ฟอง จะขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 ประการ คือ (1) ขนาดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของฟองก๊าซ และ (2) ปริมาณของก๊าซที่อยู่ในคอลัมน์ (Gas hold-up) อย่างไรก็ตามการประเมินหาเส้นผ่านศูนย์กลางของฟองก๊าซในคอลัมน์นั้นทำได้ยาก ต้องใช้เครื่องมือเฉพาะในการวัด ดังนั้นภายใต้สภาวะการไหลแบบสองเฟสซึ่งมีของเหลวที่มีความหนืดต่ำนั้นค่าของ $k_L a$ สามารถประเมินหาได้จากสมการที่ 2.3

$$U_L = 0.9(gDU_G)^{0.33} \quad (2.1)$$

$$t_m = 11 \frac{H}{D} (gU_G D^{-2})^{-0.33} \quad (2.2)$$

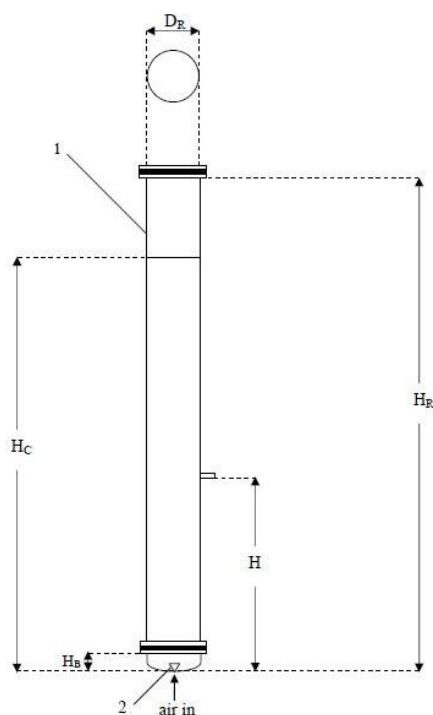
$$k_L a = 0.32U_G^{0.7} \quad (2.3)$$

โดยที่	U_L	คือ	ความเร็วเชิงเส้นของของเหลว (m/s)
	t_m	คือ	เวลาที่ใช้ในการผสม (s)
	H	คือ	ความสูงของคอลัมน์ฟองอากาศ (m)
	D	คือ	เส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ (m)
	g	คือ	ความเร่งเนื่องจากแรงโน้มถ่วงของโลก (m/s ²)
	U_G	คือ	ความเร็วพื้นผิวของก๊าซที่ความดันบรรยากาศ (m/s)
	$k_L a$	คือ	สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวล (m/s)

2.5.2 มิติและสัดส่วนของคอลัมน์

ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองนั้น มีจุดประสงค์เพื่อให้เกิดการกวนผสมและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ในอากาศสามารถละลายในของเหลวและทำให้เซลล์จุลสาหร่ายสามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์แสงได้อย่างประสิทธิภาพดังนั้นเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองที่ใช้จะต้องมีมิติหรือรูปทรงที่เหมาะสมเพื่อให้พฤติกรรมการไหลภายในคอลัมน์เป็นแบบฟองอากาศที่มีขนาดเล็กเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการไหลแบบฟองก๊าซรวมตัวและฟองก๊าซหวักระสุน และมีรายงานการวิจัยพบว่าอัตราส่วนระหว่างความสูงต่อเส้นผ่านศูนย์กลาง (H/D) ที่เหมาะสมของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์

ฟองอากาศที่ใช้สำหรับกระบวนการผลิตทางชีวภาพนั้นควรมีค่าอยู่ในช่วง 2 - 5 ในกรณีที่ใช้ท่ออะคริลิกใสทรงกระบอกขนาดมาตรฐานที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางระบุ (Nominal diameter) 15 cm นำมาสร้างเป็นเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองสำหรับการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 10 L เมื่อเติมน้ำเสียสังเคราะห์ลงในคอลัมน์จะทำให้ความสูงของอาหารเหลวในคอลัมน์เท่ากับ 61.43 cm ทำให้อัตราส่วนระหว่างความสูงของของเหลวต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์มีค่าเท่ากับ 4 โดยประมาณ ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ระหว่าง 2 - 5 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมอย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติแล้วเมื่อมีการป้อนอากาศหรือก๊าซเข้าสู่ด้านล่างของคอลัมน์จะทำให้เกิดการขยายตัวของความสูงของของเหลวในคอลัมน์ประมาณร้อยละ 5-10 ของความสูงของของเหลวในคอลัมน์ก่อนป้อนก๊าซ ซึ่งจะทำให้อัตราส่วนระหว่างความสูงของของเหลวต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์เพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยระหว่างการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้ในแง่ของการออกแบบทางวิศวกรรมแล้วความสูงสุทธิของคอลัมน์ควรกำหนดให้มีความมากกว่าความสูงของเหลวในคอลัมน์อย่างน้อยร้อยละ 20 เพื่อป้องกันการพัดพาของเหลวออกจากคอลัมน์ (Entrainment) ดังนั้นในงานวิจัยนี้เครื่องปฏิกรณ์จะมีสัดส่วนดังแสดงในภาพที่ 2.5 โดยค่า H_R คือ ความสูงของคอลัมน์ (100 cm) D_R คือ เส้นผ่าศูนย์กลางของคอลัมน์ (15 cm) H_C คือ ความสูงของระดับน้ำ (61.43 cm) H_B คือ ความสูงของหัวพ่นอากาศ (3 cm)



ภาพที่ 2.5 สัดส่วนของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบคอลัมน์ฟอง

2.6 จลนศาสตร์ของการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย

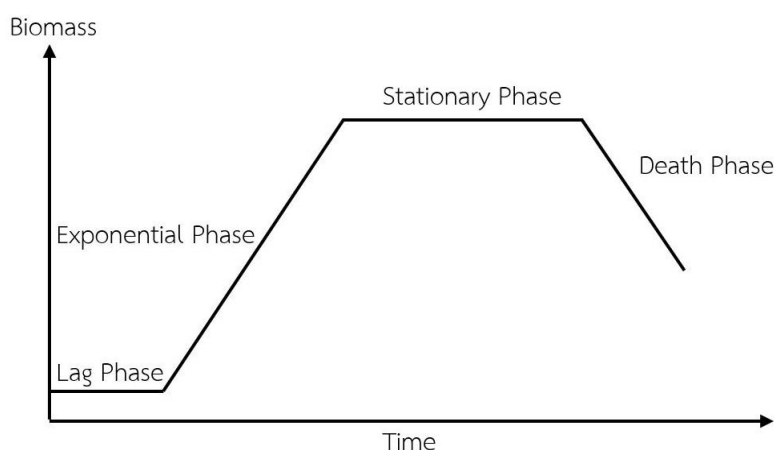
2.6.1 การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายถูกแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ดังแสดงในภาพที่ 2.6 คือ

2.6.1.1 ระยะการปรับตัว (Lag phase) เป็นระยะที่จุลสาหร่ายทำการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมก่อนการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์โดยช่วงนี้จะมีการเจริญเติบโตช้า

2.6.1.2 ระยะการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Exponential phase) เป็นระยะที่จุลสาหร่ายเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในอัตราคงที่

2.6.1.3 ระยะการเจริญเติบโตแบบคงที่ (Stationary phase) เป็นระยะที่จุลสาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงหรือเท่ากับอัตราการตาย โดยมีสาเหตุมาจากสารอาหารไม่เพียงพอและมีการตายของเซลล์มากขึ้น

2.6.1.4 ระยะตายหรือลดลง (Death Phase) เป็นช่วงระยะที่จำนวนเซลล์จุลสาหร่ายในระบบมีการลดลงเนื่องจากการตาย (อัตราการตายมากกว่าอัตราการแบ่งเซลล์ของจุลสาหร่าย)



ภาพที่ 2.6 รูปแบบการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายในการเพาะเลี้ยงแบบกะ
ที่มา: Vonshak, A. (1986)

2.6.2 แบบจำลองการเจริญเติบโต (Growth model)

ในปัจจุบันแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่นิยมใช้ในการทำนายการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย คือ สมการโลจิสติกเวอร์ฮอลส์ (Verhulst logistic model) ซึ่งเป็นแบบจำลองที่ไม่ขึ้นกับซับสเตรท (Substrate-independent equation) มีรูปแบบสมการทางคณิตศาสตร์ที่ไม่ซับซ้อน สามารถใช้ทำนายการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบกะที่แตกต่างกันในขวดรูปชมพู่และเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (Arbib, Z. et al., 2013; Liu, Jian-Zhong et al., 2003) ซึ่งจะให้ผลการทำนายการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายเป็นแบบเส้นโค้งไซน์ (Sinusoidal curve) โดยมีรูปแบบสมการดังแสดงในสมการที่ 2.4 เมื่อหาปริพันธ์จะได้ผลลัพธ์ดังแสดงในสมการที่ 2.5

$$\frac{dX(t)}{dt} = \mu_{\max} \left(1 - \frac{X(t)}{X_{\max}} \right) X(t) \quad (2.4)$$

$$X(t) = \frac{X_{\max} X_0 e^{\mu_{\max} t}}{X_{\max} - X_0 + X_0 e^{\mu_{\max} t}} \quad (2.5)$$

โดยที่	$\mu_{\max}$	คือ	อัตราการเกิดจำเพาะสูงสุด (day^{-1})
	$X_{\max}$	คือ	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่มากที่สุดในระบบ (10^6 cell/mL)
	X_0	คือ	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เวลาเริ่มต้น (cell/mL)
	$X(t)$	คือ	ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เวลา t ใด ๆ (cell/mL)

ผลผลิต (Productivity) เป็นพารามิเตอร์ที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายที่ถูกนำมาใช้ระบุความสามารถของเครื่องปฏิกรณ์ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย การประเมินค่าผลผลิตโดยรวม (Overall productivity: P_{overall}) นั้นสามารถประเมินได้จากสมการที่ 2.6 อย่างไรก็ตาม เพื่อลดผลกระทบจากสภาวะปรับตัวของจุลสาหร่ายในระยะเวลาเริ่มเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นปัจจัยที่ขึ้นอยู่กับสภาวะและรูปแบบเพาะเลี้ยงรวมทั้งวิธีเก็บเกี่ยวผลผลิต อาจประเมินได้ในรูปของผลผลิตแบบกะ (Batch productivity: P_B) ดังแสดงในสมการที่ 2.7

$$P_{\text{overall}} = \frac{X_{\max} - X_0}{t_m - t_0} \quad (2.6)$$

$$P_B = \frac{\mu_{\max} (0.9X_{\max} - 1.1X_0)}{\ln \left[\frac{9(X_{\max} - 1.1X_0)}{1.1X_0} \right]} \quad (2.7)$$

โดยที่	P_{overall}	คือ	ผลผลิตโดยรวม (cell/mL/day)
	$X_{\max}$	คือ	จำนวนที่มากที่สุดของเซลล์จุลสาหร่าย (cell/L)
	X_0	คือ	จำนวนเซลล์ที่เวลาเริ่มต้นของจุลสาหร่าย (cell/L)
	t_m	คือ	เวลาที่ได้อาณาเซลล์จุลสาหร่ายเท่ากับ $X_{\max}$ (day)
	t_0	คือ	เวลาเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย (day)

การประเมินการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย (หรือการกำจัดการประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมในน้ำเสีย) นั้นสามารถทำได้โดยใช้สมการ Luedeking-Piret-like (Luedeking, R. and Piret, Edgar L., 1959) โดยพิจารณาจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์จุลสาหร่าย โดยการแบ่งเซลล์จากกระบวนการสังเคราะห์แสงนั้นเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้สารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมถูกใช้หรือมีปริมาณลดลง ซึ่งสามารถแสดงได้ดังสมการที่ 2.8 เมื่อแทนค่า x จากสมการที่ 2.5 และหาผลลัพท์โดยวิธีทางปริพันธ์ จะได้สมการที่ 2.9

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y} \frac{dX}{dt} + msX \quad (2.8)$$

$$S = S_0 - \frac{1}{Y} \left(\frac{X_{\max} X_0 e^{\mu_{\max} t}}{X_{\max} - X_0 + X_0 e^{\mu_{\max} t}} \right) + \frac{X_0}{Y} - \left(\frac{X_{\max} ms}{\mu_{\max}} \right) \left[\ln \left(\frac{X_{\max} - X_0 + X_0 \exp(\mu_{\max} t)}{X_{\max}} \right) \right] \quad (2.9)$$

$$Y = \frac{X_{\max} - X_0}{S_0} \quad (2.10)$$

โดยที่	S	คือ	ความเข้มข้นของสารอาหารในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เวลาใด ๆ (mg/L)
	S_0	คือ	ความเข้มข้นของสารอาหารในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เวลาเริ่มต้น (mg/L)
	Y	คือ	แฟกเตอร์ผลได้ (Yield factor) ของจุลสาหร่ายที่มีต่อสารอาหาร (cell/mg สารอาหาร)
	ms	คือ	สัมประสิทธิ์การซ่อมแซมเซลล์จุลสาหร่าย (Maintenance coefficient) (mg/cell/day)

โดยทั่วไปแล้วเทอม ms นั้นพบว่ามีค่าค่อนข้างน้อยมาก ($\leq 8.33 \times 10^{-6}$ mg substrate/cell/day) เนื่องจากไนโตรเจนและฟอสฟอรัสไม่ใช่ธาตุอาหารที่มีความจำเป็นสูงในการซ่อมแซมเซลล์จุลสาหร่ายเมื่อเปรียบเทียบกับธาตุคาร์บอน (Ruiz, J. et al., 2011) ดังนั้นสมการที่ 2.9 สามารถลดรูปลงดังแสดงในสมการที่ 2.11

$$S = S_0 - \frac{1}{Y} \left(\frac{X_{\max} X_0 e^{\mu_{\max} t}}{X_{\max} - X_0 + X_0 e^{\mu_{\max} t}} \right) + \frac{X_0}{Y} \quad (2.11)$$

โดยสมการที่ 2.11 สามารถใช้ในการประเมินหาความเข้มข้นของสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ ในแต่ละวันที่ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเพื่อการบำบัดน้ำเสียได้

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Arbib, Z. et al. (2014) ศึกษาการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella kessleri* และสาหร่ายที่ก่อให้เกิดสภาวะบูม (Natural Bloom)

โดยใช้น้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัด (WW) และน้ำเสียสังเคราะห์ (SW) โดยพ่นอากาศที่มี CO₂ ผสมอยู่ร้อยละ 5 โดยปริมาตร เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัส และคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าจุลสาหร่าย Bloom (BL) และ *Scenedesmus* (Sc) มีความเข้มข้นสุดท้าย (น้ำหนักแห้ง) มากกว่าจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* (Cv) และ *Chlorella kessleri* โดย BL มีผลได้สูงสุดที่ 1950 ± 243 mg/L และในขณะที่ Cv มีผลได้ต่ำที่สุดที่ 821 ± 88 mg/L สำหรับกรณีที่สารอาหารเป็นน้ำเสียจริง และน้ำเสียสังเคราะห์ของจุลสาหร่ายพบว่ามีความแตกต่างกันทั้ง 4 สายพันธุ์ ประสิทธิภาพการลดปริมาณไนโตรเจนในเครื่องปฏิกรณ์พบว่าสูงกว่าร้อยละ 90 ยกเว้น BL ที่เพาะเลี้ยงใน SW มีประสิทธิภาพเพียงร้อยละ 79 สำหรับฟอสฟอรัสนั้นสามารถกำจัดได้มากกว่าร้อยละ 98 ในการทดลองทั้งหมด ในขณะที่ Sc เพาะเลี้ยงในน้ำเสียทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถในการลด CO₂ ได้มากที่สุดเท่ากับ 424.4 mL/day และ 436.7 mL/day สำหรับ Sc (SW) และ Sc (WW) ตามลำดับ งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าจุลสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นและในน้ำเสียสังเคราะห์

Tam, N.F.Y. and Wong, Y.S. (1990) การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella pyrenoidosa* โดยใช้น้ำเสียแบบ Settled sewage และแบบ Activated sewage ภายใต้การเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน 2 สภาวะ คือ แบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่อง ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าจุลสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำเสียทั้ง 2 แบบ โดยผลผลิตของจุลสาหร่ายในน้ำเสียทั้ง 2 ชนิด มีค่ามากกว่าการเพาะเลี้ยงโดยใช้สารอาหารเหลวสูตรมาตรฐาน Bristol medium (BM) ทั้งนี้ในการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องมีอัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบกะ โดยการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีความสัมพันธ์กับปริมาณของสารอาหารที่ถูกกำจัดออกจาก Settled sewage และ Activated sewage โดยแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ใน Settled sewage (SS) มีปริมาณลดลงเร็วกว่าใน Activated sewage (AS) ทั้งนี้แอมโมเนียม-ไนโตรเจนของ Settled sewage ลดลงจาก 27 mg/L เหลือ 5 mg/L ในการเพาะเลี้ยงทั้ง 2 สภาวะ อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณไนเตรทของ Activated sewage นั้นเริ่มลดลงตั้งแต่วันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยงและความเข้มข้นสุดท้ายของไนเตรทมีค่าต่ำกว่า 1 mg/L (ชี้ให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดมากกว่าร้อยละ 90) เมื่อพิจารณาปริมาณของอนินทรีย์-ไนโตรเจนโดยรวมที่ลดลงจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย พบว่ามีความคล้ายคลึงกันในน้ำเสียทั้ง 2 ชนิด ซึ่งการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบปริมาณของฟอสเฟตมีแนวโน้มเช่นเดียวกันในน้ำเสียทั้ง 2 ชนิด โดยมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วง 2 วันแรก หลังจากนั้นมีการลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะในการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง สำหรับปริมาณของออร์โธฟอสเฟตสุดท้ายในน้ำเสียที่บำบัดโดยจุลสาหร่ายในการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่ามีค่าต่ำกว่า 5 mg/L (ลดลงร้อยละ 62 โดยประมาณ) งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบกึ่งต่อเนื่องโดยทั่วไปแล้วมีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียมากกว่าแบบกะ ถึงแม้ว่าการลดลงของปริมาณอนินทรีย์-ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียโดยใช้จุลสาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* จะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างน้ำเสียชนิด Settled sewage และ Activated sewage

จกมล พรหมยะ (2544) เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Spirulina platensis* เพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำจากบ่อบำบัดน้ำเสียหอพักนักศึกษามหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่มีความเข้มข้นของน้ำเสียแตกต่างกัน โดยใช้น้ำเสียที่ไม่ผ่านการเจือจางและน้ำเสียที่ผ่านการเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลง

เหลือร้อยละ 40 และร้อยละ 70 เทียบกับความเข้มข้นเริ่มต้น ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ในการวัดเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำและคุณค่าทางโภชนาการของ *Spirulina* ทุก 3 วัน พบว่า ปริมาณของ $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ และ $\text{PO}_4\text{-P}$ ในน้ำเสียที่มีความเข้มข้นร้อยละ 70 มีค่าร้อยละ ของการลดลงมากกว่าในน้ำเสียที่มีความเข้มข้นร้อยละ 40 และ 100 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่า คุณค่าทางโภชนาการของ *Spirulina* โดยเฉพาะโปรตีนมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสีย ที่มีความเข้มข้นที่ไม่ผ่านการเจือจาง

Krichnavaruket, S. et al. (2005) เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chaetoceros roscalicitrans* ในเครื่อง ปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบอากาศยก (Airlift photo bioreactor: ALPBR) ปริมาตร 2.5 L ปัจจัย ที่ศึกษา คือ ความเข้มข้นของแสงซึ่งถูกควบคุมให้มีค่าระหว่าง 40 - 600 $\mu\text{mol proton/m}^2/\text{s}$ โดยการปรับระยะห่างระหว่างหลอดไฟและเครื่องปฏิกรณ์ และปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของธาตุ อาหารในสารอาหารเหลวสูตรมาตรฐาน F/2 พบว่าจุลสาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงสูงที่สุดเมื่อ ความเข้มข้นของแสงที่ป้อนให้กับ ALPBR เท่ากับ 400 $\mu\text{mol proton/m}^2/\text{s}$ ซึ่งจุลสาหร่ายมี ความเข้มข้น 3×10^6 cell/mL เมื่อความเข้มข้นของเซลล์จุลสาหร่ายเพิ่มมากขึ้น ทำให้กิจกรรม การสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง ทั้งนี้เป็นผลมาจากการบดบังแสงจากเซลล์สาหร่ายด้วยกัน การเพิ่ม ความเข้มของแสงให้มากขึ้นไม่ช่วยให้จุลสาหร่ายมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น แต่ทำให้เซลล์สาหร่าย ที่ได้รับแสงมากเกินไปเกิดความเสียหาย ที่ความหนาแน่นเริ่มต้นของจุลสาหร่ายเท่ากับ 5×10^5 cell/mL การเพิ่มปริมาณของซิลิกาและฟอสฟอรัสในสารอาหารสูตรมาตรฐาน F/2 นั้นไม่ได้ผลผลิต เซลล์จุลสาหร่ายมากเพิ่มขึ้นในขณะที่การเพิ่มไนโตรเจนและวิตามิน B12 นั้นไม่ส่งผลใด ๆ ต่อผลผลิต เซลล์จุลสาหร่าย เมื่อเพิ่มกำลังการผลิตจุลสาหร่ายโดยการเพาะเลี้ยงใน ALPBR และเครื่องปฏิกรณ์ แบบ BCPBR ปริมาตร 17 L เท่ากันและที่ความเข้มข้นของแสง 200 $\mu\text{mol proton/m}^2/\text{s}$ นั้นพบว่า ความหนาแน่นและอัตราการเกิดของจุลสาหร่ายใน ALPBR สูงกว่า BCPBR ทั้งนี้เป็นผลมาจาก ความแตกต่างของรูปแบบการไหลของของไหลในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพทั้งสองชนิด โดยใน BCPBR ของเหลวตัวกลางมีการเคลื่อนไหวแบบสุ่มและกระจายตัวน้อยมากถึงแม้ว่าจะมีการไหลวน ของฟองอากาศส่งผลให้มีเฉพาะเซลล์จุลสาหร่ายที่อยู่บริเวณใกล้กับผนังของ BCPBR ที่มีโอกาสได้รับ แสงที่มีความเข้มข้นมากกว่า ในขณะที่เซลล์จุลสาหร่ายที่อยู่บริเวณด้านในและแกนกลางของ BCPBR ได้รับแสงที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า สำหรับ ALPBR นั้นโครงสร้างที่มีท่ออากาศยกนั้นเหนี่ยวนำให้เกิด ความแตกต่างของความหนาแน่นของของเหลวตัวกลางในระบบ ทำให้ของเหลวตัวกลางและ ฟองอากาศในท่ออากาศยกไหลขึ้นไปยังส่วนบนของเครื่องปฏิกรณ์ และลงกลับลงมายังส่วนล่าง ของเครื่องปฏิกรณ์ในบริเวณที่อยู่นอกท่ออากาศยก การเคลื่อนที่ของของเหลวตัวกลางและฟองอากาศ ในลักษณะเช่นนี้ทำให้เซลล์จุลสาหร่ายส่วนใหญ่มีโอกาสดำรงรับแสงที่มีความเข้มข้นเท่ากัน การถ่ายเท มวลระหว่างสารอาหารและเซลล์จุลสาหร่ายเพิ่มขึ้น และช่วยให้เซลล์จุลสาหร่ายไม่ตกตะกอนที่ก้น ของเครื่องปฏิกรณ์ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ALPBR ที่มีปริมาตร 17 L นั้นมีอัตราการเจริญเติบโต เท่ากับ 7.41×10^{-2} hr และมีความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายเท่ากับ 8.88×10^6 cell/mL ซึ่งมากกว่า ALPBR ที่มีปริมาตร 2.5 L ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.8×10^{-2} hr และมีความ หนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายเท่ากับ 5.8×10^6 cell/mL เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะเดียวกัน ที่ความเข้มของแสง 40-600 $\mu\text{mol proton/m}^2/\text{s}$ และอากาศป้อนเข้าสู่ด้านล่างของเท่ากับ

3-4 cm/s ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในเครื่องปฏิกรณ์ใช้แสงแบบคอลัมน์นั้นสามารถออกแบบให้ขยายกำลังการผลิตได้

Krichnavaruk, S., Powtongsook, S. and Pavasant, P. (2007) เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chaetoceros roscalicitrans* ในระบบปิดขนาดใหญ่โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ALPBR และ BCPBR ที่มีปริมาตร 170 L สารอาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นสูตร F/2 แหล่งของแสงได้จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ กำลัง 36 watt จำนวน 10 ชุด ติดตั้งรอบเครื่องปฏิกรณ์ โดยเครื่องปฏิกรณ์ ALPBR นั้นออกแบบให้มีท่อยกฟองอากาศแบบท่อใหญ่เดี่ยว (1-ALPBR) และให้มีท่อยกฟองอากาศขนาดเล็กสี่ท่อ (4-ALPBR) เพื่อลดการเกิดการกวนภายในท่อยกฟองอากาศแบบท่อใหญ่ ผลการศึกษาพบว่าภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบกะ เครื่องปฏิกรณ์ ALPBR ทั้ง 2 แบบ มีความเข้มข้นมากที่สุดของเซลล์จุลสาหร่ายมากกว่ากรณีที่เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ BCPBR เพียงเล็กน้อย ในขณะที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์สาหร่ายในเครื่องปฏิกรณ์ทั้ง 3 แบบ นั้นไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากข้อจำกัดของอัตราการป้อนอากาศที่ 250 mL/s ไม่เพียงพอที่จะให้เกิดผลกระทบในแง่ของความแตกต่างของรูปแบบการกวนผสมภายในระบบ ทั้งนี้ผลผลิตเซลล์จุลสาหร่ายที่ได้มากกว่ากรณีที่เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบเดียวกันที่มีขนาดเล็กกว่านั้นเป็นผลมากจากการที่เครื่องปฏิกรณ์ที่มีขนาดใหญ่กว่านั้นให้ปริมาณในการเก็บเกี่ยวมากกว่า หนึ่งในปัญหาสำคัญที่พบในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงที่มีขนาดใหญ่ คือ ข้อจำกัดในการใช้แสงของเซลล์จุลสาหร่ายในการสังเคราะห์แสง โดยความเข้มของแสงจะมีค่ามากที่บริเวณใกล้ผนังเครื่องปฏิกรณ์ และมีค่าลดลงตามระยะห่างจากผิวของเครื่องปฏิกรณ์ ในขณะที่เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงที่มีขนาดเล็กนั้นไม่พบปัญหาเช่นนี้ ซึ่งจากผลการศึกษาโดยเปรียบเทียบกับเครื่องปฏิกรณ์ ALPBR ปริมาตร 2.8 L ใช้แหล่งแสงที่ให้ความเข้มเท่ากับ 64 $\mu\text{mol proton/m}^2/\text{s}$ และเครื่องปฏิกรณ์ 1-ALPBR ปริมาตร 170 L ใช้แหล่งแสงที่ให้ความเข้มเท่ากับ 75 $\mu\text{mol proton/m}^2/\text{s}$ พบว่าเครื่องปฏิกรณ์ ALPBR ที่มีปริมาตร 2.8 L ให้ผลผลิตที่มีความเข้มข้นของเซลล์จุลสาหร่ายสูงกว่า ผลกระทบเช่นนี้ยังพบในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Skeletonema macostatum* (Monkongsit, S., Powtongsook, S. and Pavasant, P., 2011) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความเข้มของแสงเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญที่จะต้องพิจารณาในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในระบบปิดขนาดใหญ่ ซึ่งอาจเหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่เซลล์จุลสาหร่ายมีความหนาแน่นต่ำ ๆ เพื่อลดปัญหาเรื่องความเข้มของแสงที่ไม่เพียงพอ

Kaewpintong, K. et al. (2007) ศึกษาการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Heamatococcus pluvialis* ในเครื่องปฏิกรณ์แบบ ALPBR และแบบ BCPBR ภายใต้สภาวะที่เซลล์จุลสาหร่ายมีความหนาแน่นสูง สารอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเป็นสูตรมาตรฐาน F/1 ที่มีการเติมวิตามิน B complex โดยใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์กำลัง 18 watt เป็นแหล่งให้แสงแก่ระบบ เครื่องปฏิกรณ์ทั้งสองแบบมีปริมาตร 3.6 L ที่อัตราการการป้อนอากาศด้วยความเร็ว 0.4 cm/s พบว่า ALPBR มีสมรรถนะสูงกว่า BCPBR โดยจุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงใน ALPBR มีความหนาแน่นของเซลล์ 7.95×10^5 cell/mL และอัตราการเจริญเติบโต 0.45 day^{-1} ในขณะที่ใน BCPBR มีความหนาแน่นของเซลล์ 4.2×10^5 cell/mL และอัตราการเจริญเติบโต 0.36 day^{-1} เนื่องจากเซลล์ของจุลสาหร่าย *Heamatococcus pluvialis* มีความไวต่อแรงเฉือน ที่ความเร็วของอากาศป้อนเท่ากันแรงเฉือนที่เกิดจากการกวนภายใน ALPBR

มีขนาดต่ำกว่าใน BCPBR และการไหลวนขึ้นของเซลล์จุลสาหร่ายในท่อยกอากาศและไหลกลับลงมายังส่วนล่างของ ALPBR ช่วยให้เซลล์จุลสาหร่ายเกือบทั้งหมดในระบบได้รับแสงอย่างทั่วถึง ในขณะที่สภาวะเช่นนี้ไม่เกิดขึ้นกับ BCPBR ซึ่งการเคลื่อนที่ของของเหลวตัวกลางเป็นแบบการไหลวนแบบสุ่ม

Khoo C.G., Lam, M.K. and Lee, K.T. (2016) ศึกษาการไฮโดรไดนามิกส์และการถ่ายเทมวลในเฟสก๊าซ-ของเหลวในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ (BCPBR) ขนาด 56 L ที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์เป็นสารอาหาร (Lam and Lee, 2012) และใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์กำลัง 36 watt ซึ่งมีความเข้มของแสง $60\text{--}70 \mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$ เมื่อวางห่างจากผนังด้านนอกของเครื่องปฏิกรณ์ที่ระยะ 12 mm ให้แสงต่อเนื่อง 24 hr/day อากาศถูกป้อนเข้าสู่ด้านล่างของเครื่องปฏิกรณ์ด้วยอัตราการไหล $0.12\text{--}0.19 \text{ VVM}$ ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 30 วัน โดย 15 วัน แรกเป็นการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกะและเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่องในระยะเวลา 15 วันถัดไป ซึ่งพบว่าอัตราไหลของอากาศที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง คือ 0.16 VVM (ความเร็วผิว $U_g = 0.185 \text{ m/s}$) เมื่ออัตราการการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการไหลของอากาศเพิ่มขึ้นจาก $0.12\text{--}0.16 \text{ VVM}$ (มีความหนาแน่นของจุลสาหร่าย $0.855\text{--}0.962 \text{ g/L}$) และอัตราการเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงเมื่ออัตราการไหลของอากาศเพิ่มขึ้นเป็น 0.19 VVM (มีความหนาแน่นของจุลสาหร่าย 0.962 g/L) ซึ่งให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของเซลล์จุลสาหร่ายนั้นไม่เพียงแต่ขึ้นอยู่กับอัตราการกวนผสมภายใน แต่ยังขึ้นอยู่กับไฮโดรไดนามิกส์และการถ่ายเทมวลในของเหลวตัวกลางที่อัตราการไหลของอากาศสูง ๆ นั้น แรงเฉือนที่มากเกินไปและเหนียวทำให้เกิดการลดของแรงตึงผิวของเซลล์จุลสาหร่าย ทำให้ผนังของเซลล์สาหร่ายเกิดการฉีกขาดเสียหายและตายในที่สุด นอกจากนี้แล้วผลการทดลองยังให้เห็นว่าอัตราการถ่ายเทมวลเชิงปริมาตรของ CO_2 ($k_L a$) ใน BCPBR นั้นไม่ได้ขึ้นกับ U_g แต่ขึ้นอยู่กับไฮโดรไดนามิกส์ของของเหลวตัวกลางที่อัตราการไหลของอากาศ 0.16 VVM นั้นประเมินได้ $k_L a$ (CO_2) ได้เท่ากับ $4.5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$

จากงานวิจัยที่ได้กล่าวถึงในข้างต้นจะเห็นได้ว่าในหลายปีที่ผ่านมาความพยายามที่จะนำน้ำเสียมาใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย เนื่องจากในน้ำเสียมีสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในปริมาณที่เพียงพอสำหรับใช้เป็นสารอาหารในการเจริญเติบโต โดยทั่วไปแล้วน้ำเสียชุมชนที่มีอัตราส่วนของปริมาณไนโตรเจนโดยรวมและฟอสฟอรัสโดยรวมที่มีค่าใกล้เคียงอัตราส่วนของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในอาหารเหลวมาตรฐาน BG-11 สำหรับการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* คือ น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดขั้นทุติยภูมิ จุลสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว แต่มีข้อจำกัดคือ มีการจมตัวทำให้จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงแบบระบบปิดด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงที่มีการกวนผสมภายในโดยใช้การพ่นอากาศเข้าสู่ส่วนล่างของเครื่องปฏิกรณ์ การกวนผสมนี้ยังช่วยให้จุลสาหร่ายสามารถรับแสงได้อย่างทั่วถึง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม นอกจากจะสามารถลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียได้แล้ว ยังได้จุลสาหร่ายที่มีปริมาณมากเพียงพอที่นำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น สกัดน้ำมันสำหรับเป็นวัตถุดิบในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ เช่น ไบโอดีเซล และสามารถผลิตเป็นอาหารสัตว์ ฯลฯ

บทที่ 3

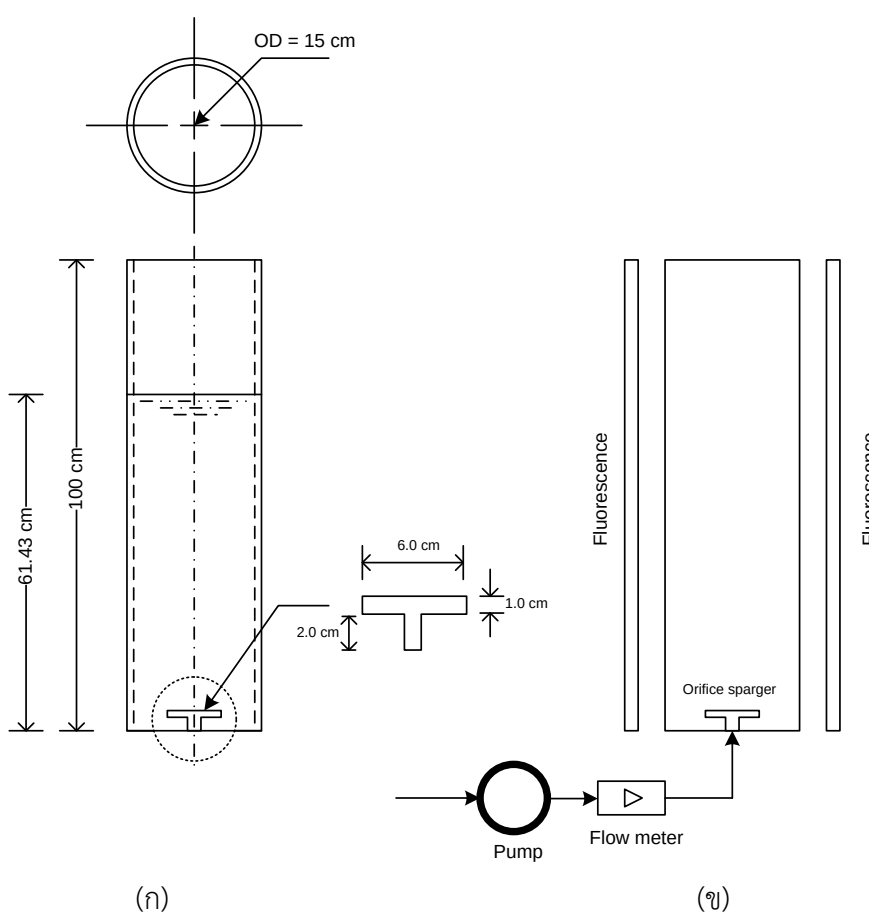
วิธีการทดลอง

งานวิจัยนี้ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โดยงานทดลองเพื่อกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนหลัก คือ (1) การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะแบบกะในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุน้ำเสียปริมาตร 500 mL และ (2) การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง ที่บรรจุน้ำเสียปริมาตร 10 L และข้อมูลที่ได้จากการทดลองในส่วนที่ 1 และ 2 ถูกนำไปใช้ในการศึกษาจลนศาสตร์ของการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola*

3.1 เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง

การออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองจะต้องพิจารณาพฤติกรรมทางจลศาสตร์ของของไหล 2 เฟส ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายที่ได้กล่าวถึงในหัวข้อที่ 2.5 โดยการไหลของกระแสน้ำในเครื่องปฏิกรณ์เป็นแบบฟองก๊าซขนาดเล็กเพื่อป้องกันไม่ให้เซลล์ของจุลสาหร่ายเกิดความเสียหาย โดยเกิดจากแรงเฉือนที่เกิดจากการไหลของกระแสน้ำมากเกินไปและเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการถ่ายเทมวลระหว่างก๊าซกับเซลล์ เมื่อพิจารณาภาพที่ 2.3 แสดงให้เห็นว่าหากต้องการให้เกิดการไหลแบบฟองก๊าซขนาดเล็กที่ค่าความเร็วพื้นผิวของอากาศไม่เกิน 2 cm/s นั้นเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ควรอยู่ในช่วง 10-20 cm คอลัมน์ทำจากท่ออะคริลิกใส เพื่อให้สามารถสังเกตพฤติกรรมการลอยตัวของฟองอากาศได้ตาเปล่าและการถ่ายรูป และแสงสามารถส่องเข้าไปยังคอลัมน์ได้ โดยอัตราส่วนระหว่างความสูงของคอลัมน์ต่อเส้นผ่านศูนย์กลาง (H/D) ของคอลัมน์ที่ใช้มีอัตราส่วนอยู่ในช่วง 2-5 เนื่องจากเป็นสัดส่วนเพียงพอสำหรับป้องกันไม่ให้ฟองอากาศเกิดการรวมตัวกันที่ด้านบนของคอลัมน์ ในงานวิจัยนี้น้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้เป็นอาหารเหลวในคอลัมน์มีปริมาตรขนาด 10 L จึงเลือกใช้ท่อที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 15 cm เมื่อทำการเติมน้ำเสียสังเคราะห์ลงในคอลัมน์จะทำให้มีความสูงเท่ากับ 61.43 cm ทำให้อัตราส่วนระหว่างความสูงของของเหลวในคอลัมน์ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางจะได้เท่ากับ 4 โดยประมาณ ซึ่งอยู่ช่วงของอัตราส่วน ที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามความสูงสุทธิของคอลัมน์เท่ากับ 100 cm เพื่อป้องกันการสูญเสียที่เกิดจากการระเหยของน้ำเสียสังเคราะห์ในเครื่องปฏิกรณ์ ขณะที่ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีการพ่นอากาศที่ด้านล่างของเครื่องปฏิกรณ์ ติดตั้งหัวพ่นอากาศแบบ Rigid Orifice ชนิดแผ่นเรียบความหนา 1 cm เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 cm ระดับของหัวพ่นฟองอากาศสูงจากพื้นล่างของคอลัมน์ 3 cm มิติของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง แสดงในภาพที่ 3.1 (ก) และการเชื่อมต่ออุปกรณ์ต่าง ๆ กับเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองแสดงในภาพที่ 3.1 (ข) โดยทางเข้าปัมป์จะมีอุปกรณ์กรองอากาศ (Syringe filter) ขนาดรูพรุน 0.45 μm เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากอนุภาคฝุ่นละอองเชื้อรา และจุลินทรีย์ที่จะเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ เนื่องจากน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีมีความหนืด

ใกล้เคียงกับความหนืดของน้ำที่อุณหภูมิห้อง ดังนั้นในการทดสอบพฤติกรรมทางพลศาสตร์ของของไหลแบบ 2 เฟสภายในคอลัมน์ที่ความเร็วผิวของอากาศที่ป้อนเข้าสู่ BCPBR ในช่วง $0.1 - 0.3 \text{ cm/s}$ จึงดำเนินการโดยใช้น้ำ การวัดขนาดของฟองอากาศทำการบันทึกภาพนิ่งด้วยกล้องถ่ายภาพเคลื่อนไหวดิจิทัลความเร็วสูงที่ความสูง 10, 30 และ 50 cm จากหัวฟ่นฟองอากาศ โดยติดแถบวัดขนาดภายในคอลัมน์เพื่อแก้ไขความผิดพลาดของมิติของฟองอากาศ การวัดขนาดที่ระดับความสูงต่าง ๆ วัดจากฟองอากาศจำนวน 200 ฟองโดยประมาณ



ภาพที่ 3.1 มิติและอุปกรณ์เชื่อมต่อเครื่องปฏิบัติการชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟอง

3.2 การเตรียมน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

การใช้น้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้เตรียมขึ้นโดยมีองค์ประกอบหลักเช่นเดียว น้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนทุติยภูมิของเมือง Arcos de la Frontera ประเทศสเปน (Arbib, Z. et al., 2014) โดยน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์เตรียมขึ้นจากน้ำกลั่นปริมาตร 1 L ที่มีปริมาณของสารประกอบฟอสฟอรัสและไนโตรเจน ดังนี้ K_2HPO_4 5.6 mg, NH_4Cl 21.0 mg และ NaNO_3 1.6 mg และผสมด้วยสารละลายธาตุอาหารเสริม (Trace metal solution: TMS) ด้วยปริมาณ 1.0 mL/L ของน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ ปรับสภาพกรด-ด่างให้มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.5 – 8.5

ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1.0 M จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 °C เป็นระยะเวลา 15 s ทิ้งให้เย็นก่อนนำไปใช้เลี้ยงจุลสาหร่าย

3.3 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะแบบกะในขวดรูปชมพู่

3.3.1 การเพาะเลี้ยงเพื่อขยายจำนวนเซลล์จุลสาหร่าย

หัวเชื้อจุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* TISTR 8551 ที่ใช้ในการทดลองได้จากสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ซึ่งเป็นหัวเชื้อที่ผ่านการแยกเชื้อและทำให้บริสุทธิ์มาแล้วขยายต่อในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการเลี้ยงแบบบริสุทธิ์ชนิดเดียว (Pure culture) โดยใช้อาหารเลี้ยงสาหร่ายชนิดเหลวสูตรมาตรฐาน Blue-Green Medium (BG-11) (แสดงไว้ในภาคผนวก ข.1) ซึ่งผสมด้วยสารละลายธาตุอาหารที่จำเป็น (Trace metal solution) 1 mL/L (แสดงไว้ในภาคผนวก ข.) รักษาความเป็นกรด-ด่างไว้ที่ pH 6.5-8.5 อุณหภูมิเพาะเลี้ยง 28-32 °C ให้แสงโดยใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ชนิดแสงสีขาว ที่ให้ความสว่าง 3,500 Lux โดยประมาณ ป้อนอากาศตลอด 24 hr เติมหาอาหารเหลวทุก 7 วัน หัวเชื้อจุลสาหร่ายที่ได้จะถูกแบ่งไปใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่อง

3.3.2 เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน BG-11

นำขวดรูปชมพู่ปริมาตร 1,000 mL มาล้างด้วยสารละลายคลอรีนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการล้างเป็นระยะเวลา 10 s โดยประมาณ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนเริ่มการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเพื่อลดการปนเปื้อนจากเชื้อราและจุลินทรีย์ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ของจุลสาหร่าย เมื่อขวดรูปชมพู่แห้งแล้วทำการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 500 mL ในขวดรูปชมพู่ จากนั้นเติมหัวเชื้อจุลสาหร่ายที่มีความหนาแน่นของเซลล์เชิงแสง (OD) ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 nm เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 ลงในขวดรูปชมพู่ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะการเจริญเติบโตแบบกะเป็นเวลา 14 วัน ทำการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 28-32 °C จากนั้นเติมอากาศเข้าสู่ขวดรูปชมพู่โดยผ่านหัวฟ่นพองอากาศ โดยใช้อัตราการไหล 0.1-0.3 cm/s รักษาความเป็นกรด-ด่างของสารอาหารเหลวไว้ที่ pH 6.5-8.5 ให้แสงสว่างด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มข้นของแสง 3,500 Lux โดยประมาณ ทั้ง 2 ด้าน ของรางเพาะเลี้ยง โดยควบคุมเวลาในการให้แสงต่อมืเท่ากับ 12/12 hr ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวด้วยปริมาตร 65 mL ทุกวัน (ทำการวัดค่า pH ของเหลวก่อนทำการเก็บตัวอย่าง) เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณเซลล์แห้ง ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่าย ปริมาณไขมัน ความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสเฟต พารามิเตอร์ทุกเทอมทำการวิเคราะห์ 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย หลังจากเก็บตัวอย่างจะเติมน้ำกลั่นเพื่อทำให้ปริมาตรของเหลวในขวดรูปชมพู่เท่ากับ 750 mL โดยตัวแปรที่ใช้ในการศึกษาได้ถูกรูปและแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ตัวแปรควบคุมและตัวแปรตามที่ศึกษาในการทดลองส่วนที่ 3.3.2

ตัวแปร	ค่าที่ใช้ในการทดลองหรือวิเคราะห์
ตัวแปรควบคุม 1. สารอาหารเหลวมาตรฐาน BG-11 2. ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์ (OD) 3. ความเข้มของแสง 4. ความเร็วผิวของอากาศที่ป้อน 5. อุณหภูมิ 6. ความเป็นกรด-ด่างของสารอาหาร	ผลการเตรียมในหัวข้อที่ 3.3.1 0.1 3,500 Lux 0.1-0.3 cm/s 28-32 °C pH 6.5-8.5
ตัวแปรที่วิเคราะห์ 1. ความหนาแน่นของเซลล์ 2. อัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย 3. ความเข้มข้นของสารอาหาร 4. ความเข้มข้นของกรดไขมัน	cell/mL น้ำหนักแห้ง (g/L) $\text{NO}_3^- - \text{N}$, $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ (mg/L) mg/L

3.4 การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยจุลสาหร่ายในขบวนการหมัก

ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ โดยมีความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์ (OD) ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 nm เท่ากับ 0.1 ภายใต้สภาวะเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงในสารอาหารเหลวสูตร BG-11 (ในหัวข้อที่ 3.3.2) ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวปริมาตร 65 mL ทุกวัน (ยกเว้นการวิเคราะห์หาค่าซีโอดีและปริมาณกรดไขมันที่เก็บตัวอย่างทุก 3 วัน) เพื่อนำมาชั่งน้ำหนักหาเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่าย ความเข้มข้นของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ความเข้มข้นของไนเตรท-ไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ค่าซีโอดี และปริมาณกรดไขมัน พารามิเตอร์ทุกเทอมทำการวิเคราะห์ 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย หลังจากเก็บตัวอย่างจะเติมน้ำกลั่น เพื่อให้ปริมาตรของเหลวในขวดหมักเท่ากับ 500 mL ทำการทดลองในข้างต้นโดยเปลี่ยนค่า OD เริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายเป็น 0.3 และ 0.5 โดยตัวแปรที่ใช้ในการศึกษาได้สรุปและแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ตัวแปรควบคุมและตัวแปรตามที่ศึกษาในการทดลองส่วนที่ 3.4

ตัวแปร	ค่าที่ใช้ในการทดลองหรือวิเคราะห์
ตัวแปรควบคุม 1. น้ำเสียสังเคราะห์ 2. ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์ (OD) 3. ความเข้มของแสง 4. ความเร็วผิวของอากาศที่ป้อน 5. อุณหภูมิ 6. ความเป็นกรด-ด่างของสารอาหาร	ผลการเตรียมในหัวข้อที่ 3.2 0.1, 0.3, 0.5 3,500 Lux 0.1-0.3 cm/s 28-32 °C pH 6.5-8.5
ตัวแปรที่วิเคราะห์ 1. ความหนาแน่นของเซลล์ 2. อัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย 3. ความเข้มข้นของสารอาหาร 4. ความเข้มข้นของกรดไขมัน 5. ค่าซีไอดี	cell/mL น้ำหนักแห้ง (g/L) $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, NO_3^- , PO_4^{3-} (mg/L) mg/L mg/L

3.5 การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในเครื่องปฏิกรณ์

3.5.1 การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ภายใต้สภาวะแบบกะ

นำเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองมาล้างด้วยสารละลายคลอรีนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการล้างเป็นระยะเวลา 10 s โดยประมาณ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น เพื่อลดการปนเปื้อนจากเชื้อราและจุลินทรีย์ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายตามขั้นตอนในหัวข้อที่ 3.3.2 เมื่อเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองแห้งแล้วทำการเติมน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 10 L ลงในเครื่องปฏิกรณ์ จากนั้นเติมหัวเชื้อจุลสาหร่ายที่มีค่า OD เริ่มต้นที่เหมาะสม (จากผลการทดลองในหัวข้อที่ 3.4) ลงในเครื่องปฏิกรณ์ ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน เช่นเดียวกันกับการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ และเก็บตัวอย่างของเหลวปริมาตร 65 mL ทุกวัน (ยกเว้นการวิเคราะห์หาค่าซีไอดีและปริมาณกรดไขมันที่เก็บตัวอย่างทุก 3 วัน) เพื่อนำมาวัดน้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่าย ความเข้มข้นของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ความเข้มข้นของไนเตรท-ไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ค่าซีไอดี และปริมาณกรดไขมัน พารามิเตอร์ทุกเทอมทำการวิเคราะห์ 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย หลังจากเก็บตัวอย่างจะเติมน้ำกลั่นเพื่อให้ปริมาตรของเหลวในเครื่องปฏิกรณ์เท่ากับ 10 L โดยตัวแปรที่ใช้ในการศึกษาได้สรุปและแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ตัวแปรควบคุมและตัวแปรตามที่ศึกษาในการทดลองส่วนที่ 3.5.1

ตัวแปร	ค่าที่ใช้ในการทดลองหรือวิเคราะห์
ตัวแปรควบคุม 1. น้ำเสียสังเคราะห์ 2. ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์ (OD) 3. ความเข้มของแสง 4. ความเร็วผิวของอากาศที่ป้อน 5. อุณหภูมิ 6. ความเป็นกรด-ด่างของสารอาหาร	ผลการเตรียมในหัวข้อที่ 3.2 ค่าที่ดีที่สุดของการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ 3,500 Lux 0.1-0.3 cm/s 28-32 °C pH 6.5-8.5
ตัวแปรที่วิเคราะห์ 1. ความหนาแน่นของเซลล์ 2. อัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย 3. ความเข้มข้นของสารอาหาร 4. ความเข้มข้นของกรดไขมัน 5. ค่าซีไอดี	cell/mL น้ำหนักแห้ง (mg/L) $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, NO_3^- , PO_4^{3-} (mg/L) mg/L mg/L

3.5.2 การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง

นำเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบคอลัมน์ฟองมาล้างด้วยสารละลายคลอรีนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการล้างเป็นระยะเวลา 10 s โดยประมาณ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น เพื่อลดการปนเปื้อนจากเชื้อราและจุลินทรีย์ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายตามขั้นตอนในหัวข้อที่ 3.3.2 เมื่อเครื่องปฏิกรณ์แห้งแล้วทำการเติมน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 10 L ลงในเครื่องปฏิกรณ์ จากนั้นเติมหัวเชื้อสาหร่ายที่มีค่า OD เริ่มต้นที่ให้ประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทั้งหมดได้ดีที่สุด (จากผลการทดลองหัวข้อที่ 3.4) ลงในเครื่องปฏิกรณ์ แบ่งการเพาะเลี้ยงเป็น 2 ช่วง โดยช่วงแรกเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกะโดยเติมน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 10 L จนถึงวันที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสรวมในน้ำเสียสังเคราะห์ลดลงจนมีค่าน้อยกว่า 10 และ 1 mg/L ตามลำดับ จึงทำการเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่าย โดยเทของเหลวซึ่งมีเซลล์จุลสาหร่ายอยู่ด้วยออกจากเครื่องปฏิกรณ์ด้วย ปริมาตร 5 L จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยเติมน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมไว้ในเครื่องปฏิกรณ์จนมีปริมาตรโดยรวมเท่ากับ 10 L ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะเช่นเดียวกับ 6 วันแรก ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่ายและเปลี่ยนน้ำเสียสังเคราะห์ทุก 6 วันจำนวน 3 รอบ ทำการเก็บของเหลวตัวอย่างด้วยปริมาตร 65 mL ทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าของพารามิเตอร์เช่นเดียวกันกับการเพาะเลี้ยงแบบกะในหัวข้อที่ 3.3.2 โดยตัวแปรที่ใช้ในการศึกษาได้สรุปและแสดงดังในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ตัวแปรควบคุมและตัวแปรตามที่ศึกษาในการทดลองส่วนที่ 3.5.2

ตัวแปร	ค่าที่ใช้ในการทดลองหรือวิเคราะห์
ตัวแปรควบคุม 1. น้ำเสียสังเคราะห์ 2. ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์ (OD) 3. ความเข้มของแสง 4. ความเร็วผิวของอากาศที่ป้อน 5. อุณหภูมิ 6. ความเป็นกรด-ด่างของสารอาหาร	ผลการเตรียมในหัวข้อที่ 3.2 ผลการทดลองในหัวข้อที่ 3.4 3,500 Lux 0.1-0.3 cm/s 28-32 °C pH 6.5-8.5
ตัวแปรที่วิเคราะห์ 1. ความหนาแน่นของเซลล์ 2. อัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย 3. ความเข้มข้นของสารอาหาร 4. ความเข้มข้นของกรดไขมัน 5. ค่าซีไอดี	cell/mL น้ำหนักแห้ง (g/L) $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, NO_3^- , PO_4^{3-} (mg/L) mg/L mg/L

3.6 การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายและพารามิเตอร์ต่าง ๆ

3.6.1 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย

น้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่ายวิเคราะห์โดยใช้วิธี Total solid dried (1999) โดยมีขั้นตอนดังนี้

3.6.1.1 อบกระดาศกรองที่อุณหภูมิ 95 °C จนน้ำหนักคงที่จึงนำมาชั่งเพื่อหาน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นเก็บไว้ในโถดูดความชื้นก่อนนำมาใช้

3.6.1.2 เก็บของเหลวตัวอย่างปริมาตร 5 mL กรองผ่านกระดาศกรองที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

3.6.1.3 ล้างเซลล์จุลสาหร่ายบนกระดาศกรองด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 10 mL 2 ครั้ง

3.6.1.4 นำกระดาศกรองที่ผ่านการกรองตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 95 °C จนน้ำหนักของตัวอย่างคงที่ ใช้เวลา 8 hr โดยประมาณ

3.6.1.5 นำกระดาศกรองที่มีจุลสาหร่ายซึ่งผ่านการอบไปชั่งบนเครื่องชั่งละเอียดและบันทึกน้ำหนักที่ได้ จากนั้นคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งของจุลสาหร่าย (W_D) โดยใช้สมการที่ 3.1

$$W_D = \frac{(W_2 - W_1) \times 1000}{V} \quad (3.1)$$

โดยที่ W_1 คือ น้ำหนักกระดาษกรองหลังจากอบแห้ง (g)
 W_2 คือ น้ำหนักกระดาษกรองและเซลล์หลังจากอบแห้ง (g)
 V คือ ปริมาตรตัวอย่างของของเหลวที่เก็บจากเครื่องปฏิกรณ์ (mL)

3.6.2 การวัดความหนาแน่นของจุลสาหร่าย

การวัดความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายในงานวิจัยนี้ใช้วิธีโดยตรงซึ่งใช้การนับจำนวนเซลล์โดยใช้สไลด์นับเซลล์แบบเฮมาไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer counting chamber) และวิธีโดยอ้อมด้วยการหาความหนาแน่นเชิงแสง

3.6.2.1 การวัดความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายด้วยสไลด์เฮมาไซโตมิเตอร์ มีขั้นตอนดังนี้

- 1) หยดตัวอย่างจุลสาหร่ายที่ต้องการนับจำนวนลงไป 1 หยด ในช่องใส่ตัวอย่างของสไลด์นับเซลล์ที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ตัวอย่างจุลสาหร่ายจะแผ่กระจายไปทั่วตารางสี่เหลี่ยม
- 2) วางสไลด์ทิ้งไว้ประมาณ 1 min เพื่อรอให้เซลล์จุลสาหร่ายจมลงสู่พื้นสไลด์ จากนั้นนำสไลด์ไปวางบนแท่นกล้องจุลทรรศน์ จากนั้นปรับกล้องโดยเริ่มกำลังขยายจากต่ำไปสูง
- 3) ทำการนับเซลล์จุลสาหร่ายที่อยู่ในช่องสี่เหลี่ยมตรงกึ่งกลาง (ซึ่งมี 25 ช่องใหญ่ โดยภายในมีตารางขนาดเล็กจำนวน 16 ช่อง)

หมายเหตุ: ในกรณีที่มีจำนวนเซลล์จุลสาหร่ายมีความหนาแน่นมาก อาจพิจารณาสุ่มนับเพียง 5 ช่อง จากนั้นนำผลการนับที่ได้คูณด้วย 5 หรือ อาจสุ่มนับเพียง 10 ช่อง จากนั้นนำผลการนับที่ได้คูณด้วย 2.5 และถ้าพบว่ามีเซลล์จุลสาหร่ายทับเส้นตารางให้เลือกนับแบบใดแบบหนึ่งต่อไปนี้

- 3.1) กรณีที่มีการทับเส้นแนวนอนและเส้นแนวขวาของตารางให้นับ (โดยไม่ต้องนับเซลล์ที่ทับเส้นแนวซ้ายและแนวเส้นล่าง) หรือ
- 3.2) กรณีที่มีการทับทับเส้นแนวล่างและเส้นแนวซ้ายของตารางให้นับ (โดยไม่ต้องนับเซลล์ที่ทับเส้นแนวขวาและแนวเส้นบน)

- 4) ทำการนับจำนวนเซลล์สาหร่าย 2 ตาราง สมมุติได้ n และ m เซลล์

การรายงาน คือ $\frac{n+m}{2} \times 10^6 \text{ cell/mL}$

หรือคำนวณปริมาณจุลสาหร่ายจากสมการที่ 3.2

$$\text{ความหนาแน่นของเซลล์} = \frac{Cx1000mm}{AxDxF} \quad (3.2)$$

โดยที่ C = จำนวนสาหร่ายที่นับได้ (cell/mL)
 A = พื้นที่ของ grids: 0.04 mm^2
 D = ความลึกของพื้นที่ที่นับ: 0.1 mm
 F = จำนวนช่องหรือตารางที่นับ

3.6.2.2 การวัดมวลชีวภาพของสาหร่ายโดยอ้อมโดยการวัดความขุ่นของเซลล์ จุลสาหร่ายเชิงแสง มีขั้นตอนดังนี้

- 1) นำตัวอย่างของเหลวที่มีเซลล์จุลสาหร่ายใส่ในหลอดทดลองไปวัดค่า OD ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 550 nm โดยสารละลายอ้างอิง (Blank solution) ใช้สารละลายอาหารเหลวที่เตรียมไว้ก่อนการนำไปเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย บันทึกค่า OD ที่วัดได้
- 2) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของจุลสาหร่ายประเมินได้จากสมการที่ 3.3

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1} \quad (3.3)$$

โดยที่ μ คือ อัตราการเจริญจำเพาะของเซลล์ (day^{-1})
 X_1 คือ ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เวลา t_1 (cell/mL)
 X_2 คือ ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เวลา t_2 (cell/mL)
 t_1 คือ ระยะเวลาที่เพาะเลี้ยง (day)

3.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันใช้วิธีของ Isik, O. et al. (1999) มีขั้นตอนดังนี้

3.6.3.1 นำของเหลวตัวอย่างปริมาณ 20 mL ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว $3,500 \text{ rpm}$ เป็นเวลา 10 min เติสารละลายส่วนใสทิ้ง จากนั้นทำการล้างตะกอนเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 20 mL

3.6.3.2 นำสารละลายแขวนลอยที่ได้แยกด้วยเครื่องเหวี่ยงแยกที่ความเร็ว $3,500 \text{ rpm}$ เป็นเวลา 10 min ทำซ้ำขั้นตอนแรกอีก 1 ครั้ง เติสารละลายส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.8 mL เติเมทานอลปริมาตร 2 mL และเติมสารละลายคลอโรฟอร์มปริมาตร 1 mL ผสมให้เข้ากัน ด้วยเครื่องผสม สารละลายเป็นเวลา 30 s และนำมาใส่ในเครื่องเหวี่ยงแยกเป็นเวลา 15 s เพื่อให้เซลล์จุลสาหร่ายแตก

3.6.3.3 เติมสารละลายคลอโรฟอร์มปริมาตร 1 mL และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 mL ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 10 min จากนั้นดูดสารละลายส่วนบนทิ้งเก็บเฉพาะของเหลวชั้นล่าง ซึ่งประกอบด้วยคลอโรฟอร์มและไขมันในหลอดทดลองด้วยปิเปตต์

3.6.3.4 นำสารละลายส่วนที่เก็บทิ้งแต่ยังมีเศษเซลล์ปะปนอยู่ไปสกัดซ้ำจนกระทั่งของเหลวที่สกัดได้มีสี (2-3 ครั้ง)

3.6.3.5 กรองของเหลวที่สกัดได้ผ่านกระดาษกรองที่ชุ่มคลอโรฟอร์มลงในภาชนะที่ทราบน้ำหนัก จากนั้นอบภาชนะดังกล่าวที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 12 hr ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก จากนั้นคำนวณความเข้มข้นของกรดไขมันโดยใช้สมการที่ 3.4

$$W_L = \frac{(W_2 - W_1) \times 1000}{V} \quad (3.4)$$

โดยที่ W_L คือ ความเข้มข้นของกรดไขมัน (g/mL)
 W_1 คือ น้ำหนักภาชนะหลังจากอบแห้ง (g)
 W_2 คือ น้ำหนักภาชนะและไขมันหลังจากอบแห้ง (g)
 V คือ ปริมาตรตัวอย่างสารละลายแขวนลอย (mL)

3.6.4 การวิเคราะห์ค่าซีโอดี

ค่าซีโอดีของน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่ใช้เลี้ยงจุลสาหร่ายในงานวิจัยนี้ทำการวิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐานแบบ Close reflux titrimetric method (AOAC Official Method No. 973.46, 2000) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.6.4.1 วิธีเตรียมสารรีเอเจนต์

1) สารละลาย Digestion reagent

ละลาย $K_2Cr_2O_7$ 4.913 g ที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 103 °C เป็นเวลา 2 hr ในน้ำกลั่น 500 mL ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 167 mL และเติมสารละลาย $HgSO_4$ ปริมาณ 33.3 g คนให้ละลายตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น

2) กรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่ผสม $AgSO_4$ (Sulfuric acid reagent)

ละลาย $AgSO_4$ 22 g ในกรดซัลฟิวริกเข้มข้นซึ่งมีน้ำหนัก 4.1 kg (2.5 L) แล้วตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน เพื่อให้ละลาย

3) สารละลายมาตรฐาน (Ferrous ammonium sulfate: FAS) 0.1 N

ละลาย $(NH_4)_2SO_4 \cdot FeSO_4 \cdot 6H_2O$ 39 g ในน้ำกลั่นแล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไป 2 mL ทำให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปจนปริมาตรครบ 1 L สารละลายนี้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลาย Digestion reagent โดยเติมน้ำกลั่น 10 mL สารละลาย Digestion reagent 14 mL จากนั้นใช้ปิเปตค่อย ๆ เติม Sulfuric acid reagent ลงไป 14 mL ทิ้งไว้

ให้เย็นแล้วนำมาไทเทรตกับสารละลาย Ferrous ammonium sulfate (FAS) โดยใช้ Ferroin จำนวน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ สารละลายที่ทดสอบจะค่อย ๆ เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียว และเป็นสีน้ำตาลแดงเมื่อถึงจุดยุติ

$$\text{Normality of FAS solution} = \frac{[\text{mL of K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7] \times 0.1}{[\text{mL of Fe(NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2]} \quad (3.5)$$

4) สารละลาย Ferroin อินดิเคเตอร์

ละลาย 1-10 Phenantroline monohydrate 1.485 g และ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 695 mg ในน้ำกลั่นจากนั้นทำการเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 100 mL

3.6.4.2 วิธีวิเคราะห์

1) ล้างหลอดทดลองและฝาจากด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น ร้อยละ 20 เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากสารอินทรีย์ จากนั้นปิเปตตัวอย่างน้ำเสีย 10 mL ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติม Digestion reagent ลงไป 6 mL

2) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่ผสมซิลเวอร์ซัลเฟตลงไป 14 mL ให้ไหลลง ก้นหลอดแก้วอย่างช้า ๆ เพื่อให้ชั้นของกรดอยู่ใต้ชั้นของน้ำตัวอย่างและ Digestion reagent

หมายเหตุ: หลังจากเติมกรดซัลฟิวริกให้สังเกตสีของตัวอย่างดังต่อไปนี้

2.1) ถ้าได้สีเขียว แสดงว่าปริมาณ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ เหลืออยู่มากใช้ปริมาณ น้ำตัวอย่างน้อยเกินไปต้องเพิ่มปริมาณน้ำตัวอย่างอีก

2.2) ถ้าได้สีเขียวอมเหลือง แสดงว่าปริมาณน้ำตัวอย่างเหมาะสม สามารถนำตัวอย่างไปทำการรีฟลักซ์ได้

2.3) ถ้าได้สีเขียวอมฟ้า แสดงว่าปริมาณน้ำตัวอย่างมากเกินไปต้องทำการ เจือจางน้ำตัวอย่างให้มีความเข้มข้นน้อยลง โดยจะใช้อัตราส่วนระหว่าง น้ำตัวอย่าง : น้ำกลั่น เท่าไหร่ก็ได้ แต่ผลรวมของปริมาตรน้ำตัวอย่างต้องเท่ากับ 10 mL

3) ปิดจุกหลอดแก้วให้แน่นแล้วคว่ำหลอดแก้วไปมาหลาย ๆ ครั้งอย่างทั่วถึง ก่อนจะนำตัวอย่างไปรีฟลักซ์ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความร้อนสะสมอยู่ที่ก้นหลอด ซึ่งอาจแตกได้ ในขณะที่ทำการรีฟลักซ์

4) ให้ทำแบลนด์โดยใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่างด้วยวิธีการทดลองเช่นเดียวกับการวิเคราะห์น้ำตัวอย่างประมาณ 1-2 หลอด

5) นำหลอดแก้วทั้งหมดที่ใส่น้ำตัวอย่างและแบลนด์วางบนที่ตั้งหลอดทดลอง แล้วนำเข้าเตาอบที่ทำให้อุณหภูมิสูงถึง $150 \pm 2^\circ\text{C}$ เมื่อครบเวลา 2 hr ให้นำตัวอย่างออกมาทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้อง

6) เทตัวอย่างจากหลอดใส่ลงในขวดรูปชมพู่ไทเทรตกับสารละลาย FAS จนกระทั่งถึงจุดยุติจะเห็นการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียว และเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ อ่านปริมาตรที่ไทเทรตตอนเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแดง ค่าซีไอดีสามารถคำนวณได้ ดังสมการที่ 3.6

$$\text{COD (mg/L)} = \frac{(a - b) \times N \times 8000}{[\text{ml Sample}]} \quad (3.6)$$

โดยที่ a คือ ปริมาตรของ $\text{Fe (NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ ที่ใช้ไทเทรตBlank (mL)
 b คือ ปริมาตรของ $\text{Fe (NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ ที่ใช้ไทเทรตน้ำตัวอย่าง (mL)
 N คือ ความเข้มข้นของ $(\text{N}) (\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ ที่ใช้ (N)

3.6.5 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของ $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ ใช้วิธีการกลั่น (Distillation Method) ตามมาตรฐาน APHA, AWWA & WEF (1995)

3.6.5.1 การเตรียมสารเคมี

- 1) น้ำกลั่นปราศจากไอออน (De-ionized water) ใช้สำหรับเตรียมสารละลายต่าง ๆ แบลงค์ และสารมาตรฐานควรเป็นน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่เตรียมใหม่
- 2) สารละลายฟีนอล
ละลายฟีนอล ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) 5g ในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 (v/v) 50 mL
- 3) สารละลายโซเดียมไนโตรปริสไซด์
ละลาย AgSO_4 ปริมาณ 0.5 g ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน 100 mL เก็บรักษาสารละลายนี้ในขวดแก้วสีน้ำตาลสารละลายนี้มีอายุ 1 เดือน
- 4) สารละลายออกซิไดซิง
ละลายโซเดียมไดคลอโรโรไฮยานูเรท ($\text{C}_3\text{Cl}_2\text{N}_3\text{NaO}_3$) หรือโปแทสเซียมไดคลอโรโรไฮยานูรีค ($\text{C}_3\text{Cl}_2\text{N}_3\text{KO}_3$) ชนิดใดชนิดหนึ่งจำนวน 1 g โซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 g และไตรโซเดียมซิเตรทไดไฮเดรต ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 50 g ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 250 mL สารละลายนี้มีอายุ 2-3 สัปดาห์
- 5) น้ำทะเลเทียม
ละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เป็นกรัมตามความเค็มที่ต้องการในน้ำกลั่นปราศจากไอออน 1 L
- 6) สารละลายมาตรฐานของแอมโมเนีย
ละลายแอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)$) ซึ่งผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ $105-110^\circ\text{C}$ เป็นระยะเวลา 1-24 hr ปริมาณ 0.165 g ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1 L ด้วยขวดวัดปริมาตรสารละลายนี้มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย 35 mg/L สารละลายเป็นสารละลายมาตรฐานเข้มข้น เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดสีชา สารละลายนี้มีอายุการใช้งาน 6 เดือน ถึง 1 ปี

7) การเก็บตัวอย่างและการรักษาตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำสำหรับนำไปวิเคราะห์หาแอมโมเนียสามารถเก็บในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก (Polyethylene หรือ Polypropylene) ทำการวิเคราะห์ภายใน 2-3 hr หลังจากเก็บตัวอย่างหรือกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C แล้วแช่เย็นไว้ ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นาน 24 hr

3.6.5.2 วิธีสร้างกราฟมาตรฐาน

1) ดูดสารละลายจากสารละลายมาตรฐานเข้มข้นมา 5 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ได้ 500 mL สารละลายนี้มีความเข้มข้น 0.35 mg/L

2) ดูดสารละลายจากข้อ 6) ปริมาตร 5 10 20 และ 40 mL ด้วย volumetric pipette ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 50 mL ด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำทะเลเทียม สารละลายนี้มีความเข้มข้น 0.035 0.070 0.140 และ 0.280 mg/L ตามลำดับ สำหรับแบลนด์ ใช้น้ำกลั่นหรือน้ำทะเลเทียมให้สอดคล้องกับสารละลายมาตรฐาน

3) เติมสารละลายฟีนอล 2.5 mL สารละลายออกซิไดซิง 5 mL และสารละลายโซเดียมไนโตรปริสไซด์ 2.5 mL ตามลำดับ หลังจากเติมน้ำยาเคมีแต่ละชนิดเข้าให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานอย่างน้อย 1 hr แต่ไม่เกิน 24 hr นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 nm บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับความเข้มข้นด้วยวิธี Linear regression (หาความสัมพันธ์จากเครื่องวัดการดูดกลืนแสงโดยตรงก็ได้)

3.6.5.3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1) ใช้ไปเปิดแบบกระเปาะดูดน้ำตัวอย่าง 10 mL ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีฝาปิดเป็นเกลียวเพื่อป้องกันการระเหยของแอมโมเนีย

2) เติมสารละลายฟีนอล 0.5 mL สารละลายออกซิไดซิง 1 mL และสารละลายโซเดียมไนโตรปริสไซด์ 0.5 mL ตามลำดับ หลังจากเติมน้ำยาเคมีแต่ละชนิดเข้าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 1 hr แต่ไม่เกิน 24 hr

3) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 nm บันทึกค่าความเข้มข้นที่วัดได้หรือนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของแอมโมเนียในตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานที่ได้เตรียมไว้ (ภาพที่ ก.1 ในภาคผนวก) ในกรณีความเค็มของน้ำตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐานมีความแตกต่างกันมากกว่า 2 psu หรือส่วนในพันให้ทำการปรับแก้ค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่วัดได้ด้วยสมการที่ 3.7

$$NH_{3(corr)} = [1 + 0.0073(S_s - S_0)] \times NH_{3(unc)} \quad (3.7)$$

โดยที่ $NH_{3(corr)}$ และ $NH_{3(unc)}$ คือ ความเข้มข้นของแอมโมเนียของตัวอย่างที่ได้ทำการปรับแก้ผลอันเนื่องมาจากความเค็มและค่าที่ยังไม่ได้ปรับแก้ผลเนื่องจากความเค็ม ตามลำดับ S_0 และ S_s = ความเค็มของสารละลายมาตรฐานและน้ำตัวอย่าง ตามลำดับ

3.6.6 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจน

การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของ NO_3^- -N ใช้วิธี Brucine Method ตามมาตรฐาน APHA, AWWA & WEF No. 4500- NO_3 -E (1998)

3.6.6.1 การเตรียมสารเคมี

1) สารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น

ละลายแอนไฮดรัสโปตัสเซียมไนเตรท (KNO_3) 0.7218 g ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 mL (สารละลายมาตรฐานนี้มีความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจน 100 mg/L NO_3^- -N)

2) สารละลายมาตรฐานไนเตรท

ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 10 mL ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 mL เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 mL (สารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้น 2.0 mg/L)

3) การเตรียมกราฟมาตรฐานไนเตรท

เตรียมอนุกรมของสารละลายไนเตรทมาตรฐานโดยการปิเปตสารละลายมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น 2.0 mg/L 0 - 6 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดที่กำหนดตามลำดับ เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายไนเตรทที่มีความเข้มข้น 0 - 1.2 mg/L แล้วนำไปทำการทดลองเช่นเดียวกับตัวอย่างน้ำและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของไนเตรท-ไนโตรเจน (mg/L) กับค่าการดูดกลืนแสง

4) สารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิก (Brucine-Sulfanilic Acid Solution)

ละลายบรูซีนซัลเฟต (Brucine Sulfate) 1 g และกรดซัลฟานิลิก 0.1 g ในน้ำร้อน 70 mL เติมกรดเกลือเข้มข้น (Conc.HCl) 3 mL ทำให้เย็นลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร

5) สารละลายกรดซัลฟูริก

เตรียมโดยเทกรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4) 500 mL ลงในน้ำกลั่น 125 mL ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

6) สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl Solution)

ละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 75 G ในน้ำกลั่นแล้วทำการปรับปริมาตรเป็น 250 mL

3.6.6.2 วิธีวิเคราะห์

1) ปิเปตตัวอย่างน้ำ 10 mL ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 mL

2) เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2 mL เขย่าขวด

3) เติมสารละลายกรดซัลฟูริกจำนวน 10 mL เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำขวดรูปชมพู่แช่ในภาคน้ำเพื่อให้คายร้อน

4) เมื่อเย็นแล้วให้นำมาเติมสารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิก จำนวน 0.5 mL เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ในเครื่องอ่างน้ำซึ่งมีอุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 20 min (ควรเปิดเครื่องอ่างน้ำไว้ล่วงหน้าและตั้งอุณหภูมิ 95 °C เมื่อได้อุณหภูมิที่ต้องการแล้วจึงทดลองได้)

5) เมื่อครบเวลา 20 min นำขวดรูปชมพู่ไปแช่ในถาดน้ำเย็นตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงมาเท่ากับอุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 nm บันทึกค่าที่วัดได้เพื่อนำไปประเมินหาปริมาณไนเตรทโดยใช้กราฟมาตรฐาน (ภาพที่ ก2 ในภาคผนวก)

3.6.7 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของฟอสเฟต

ความเข้มข้นของฟอสเฟตวิเคราะห์โดยใช้วิธี Spectrophotometer Ascorbic Acid Method

3.6.7.1 วิธีเตรียมสารเคมี

- 1) สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์
ละลายฟีนอล์ฟทาลีน 0.5 g ในเอทานอล ร้อยละ 95 ปริมาตร 50 mL เติมน้ำกลั่นอีก 50 mL
- 2) สารละลายกรดซัลฟิวริก 5 N โดยเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 70 mL ลงในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 mL
- 3) สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต
ละลาย $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 10 g ในน้ำกลั่น 250 mL เก็บในขวดพลาสติกที่ 4 °C
- 4) สารละลายแอนติโมนีโปตัสเซียมทาเทรท
ละลาย $\text{K}(\text{SbO})\text{-C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 1.3715 g ในน้ำกลั่น 200 mL เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 mL เก็บในขวดแก้ว
- 5) แอสคอร์บิกแอซิด 0.1 N: ละลาย Ascorbic Acid ปริมาณ 1.76 g ในน้ำกลั่นจากนั้น ปรับปริมาตรเป็น 100 mL
- 6) น้ำยารวม (Combined reagent) ปริมาตร 100 mL ผสมกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 5N ปริมาตร 50 mL กับสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต ปริมาตร 15 mL และสารละลายแอนติโมนีโปตัสเซียมทาเทรท ผสมให้เข้ากัน 5 mL เติมแอสคอร์บิกแอซิด ความเข้มข้น 0.1 N ปริมาตร 30 mL น้ำยารวมที่ได้จะต้องมีสีเหลืองอ่อน (สารนี้จะต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง ที่วิเคราะห์)
- 7) สารละลายฟอสเฟตเข้มข้น
ละลายโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.2197 g โดยอบที่อุณหภูมิ 105 °C นาน 1 hr เติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 1 mL แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 L เก็บสารละลายนี้ไว้ในที่มืดในตู้เย็น และเก็บได้นาน 1 เดือน (สารละลายฟอสเฟตเข้มข้นมีความเข้มข้น 50 mg/L)
- 8) สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต
ปิเปตสารละลายฟอสเฟตเข้มข้น ปริมาตร 25 mL ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 500 mL เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 mL สารละลายนี้จะเก็บไว้ใช้ได้ไม่เกิน 1-2 วัน (สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตมีความเข้มข้น 2.5 mg/L)

9) การเตรียมกราฟมาตรฐานฟอสเฟต

เตรียมอนุกรมของสารละลายฟอสเฟตมาตรฐาน โดยการปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต ความเข้มข้น 2.5 mg/L 0, 2, 6, 10, 12, 16, 20 และ 24 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดที่กำหนด ตามลำดับเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายฟอสเฟตจะมีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2 mg/L ตามลำดับ เติมน้ำยารวม 8 mL แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 880 nm เช่นเดียวกับตัวอย่าง พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของฟอสเฟต (mg/L) กับค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ดังแสดงในภาพที่ ก.3 ภาคผนวก

3.6.7.2 วิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นฟอสเฟต

- 1) ตวงตัวอย่างน้ำ 50 mL ใส่ลงในปิเปตขนาด 150 mL
- 2) หยดฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 1 หยด ถ้าได้สีชมพูให้หยดกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 5 N ลงที่ละหยดจนกระทั่งสีชมพูหายไป
- 3) เติมน้ำยารวมใส่ลงในแต่ละปิเปต ปิเปตละ 8 mL
- 4) เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 min แต่ไม่เกิน 30 min
- 5) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 880 nm
- 6) จดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อนำไปตัดกับกราฟมาตรฐาน

3.6.7.3 ข้อควรระวังและปฏิบัติในการวิเคราะห์ฟอสเฟต

- 1) เครื่องแก้วทุกชิ้นที่ใช้ในการทดลองให้ล้างด้วยกรดเกลือเจือจางจนระร้อน แล้วนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง หรือใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วที่ปราศจากฟอสเฟต
- 2) สำหรับตัวอย่างน้ำที่มีสีหรือขุ่นมาก ให้ทำแบล็กโดยเติมสารละลายทุกอย่าง ยกเว้นสารละลายกรดแอสคอร์บิก และโพแทสเซียมแอนติโมนีตาร์เตรท แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

3.7 การประเมินค่าพารามิเตอร์จลนศาสตร์ของการเจริญเติบโตจุลสาหร่าย

การประเมินค่า $\mu_{\max}$ ซึ่งเป็นพารามิเตอร์จลนศาสตร์ที่สำคัญของแบบจำลองการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายสามารถทำได้โดยจัดรูปสมการที่ 2.5 ให้อยู่ในรูปสมการเชิงเส้น ดังในสมการที่ 3.8 โดย $\mu_{\max}$ คือ ความชันของสมการเส้นตรงที่ได้นี้ ซึ่งสามารถประเมินได้โดยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) ของข้อมูลการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายที่ได้จากการทดลองในหัวข้อที่ 3.3 และ 3.4

$$\ln \left(\frac{X(t)[X_m - X_0]}{X_0[X_m - X(t)]} \right) = \mu_{\max} t \quad (3.8)$$

ค่าพารามิเตอร์ $\mu_{\max}$ ที่ได้นี้สามารถนำมาใช้ประเมินปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยใช้สมการที่ 2.11 นอกจากนี้แล้วการประเมินหา

ผลผลิตโดยรวม และผลผลิตแบบกะของเครื่องปฏิกรณ์แบบ BCPBR ที่ใช้ในงานวิจัยนี้สามารถประเมินได้โดยใช้ข้อมูลจากการทดลองในขั้นตอนที่ 3.5.1 โดยใช้สมการที่ 2.6 และสมการที่ 2.7

3.8 การประเมินประสิทธิภาพในการกำจัดไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวม

การประเมินประสิทธิภาพในการกำจัดไนโตรเจนรวม (Total nitrogen: TN) และฟอสฟอรัสรวม (Total phosphorus: TP) ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์สามารถประเมินได้จากสมการที่ (3.9)

$$\% T_{N,P} = \left(\frac{C_{in} - C_f}{C_{in}} \right) \times 100 \quad (3.9)$$

โดยที่	$\% T_{N,P}$	คือ	ร้อยละของการบำบัด TN หรือ TP ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์
	C_{in}	คือ	ปริมาณของ TN และ TP ที่เวลาเริ่มต้นของการบำบัด
	C_f	คือ	ปริมาณของ TN และ TP ที่เวลาสุดท้ายของการบำบัด

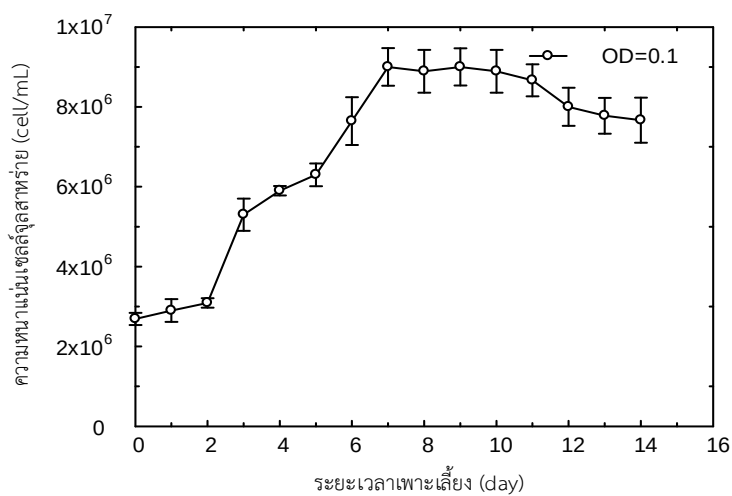
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

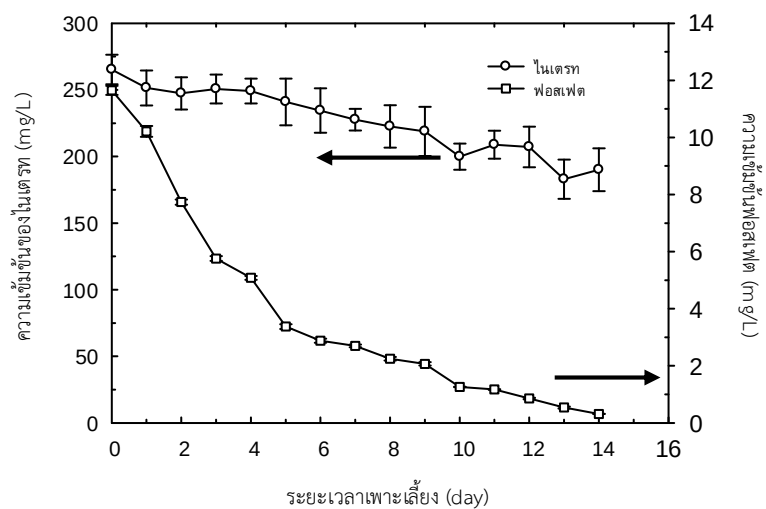
ในบทนี้จะกล่าวถึงผลการวิจัยเพื่อกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* โดยแบ่งออกเป็น 4 หัวข้อ ได้แก่ (1) การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายโดยเพาะเลี้ยงในสารอาหารเหลวสูตรมาตรฐาน BG-11 ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบกะ 14 วัน (2) การศึกษาความหนาแน่นเริ่มต้นที่เหมาะสมของเซลล์จุลสาหร่ายในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนทุติยภูมิ (3) การประเมินค่า μ_{max} ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญของแบบจำลองจลนศาสตร์การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์และ (4) การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายด้วยน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบ BCPBR ขนาด 10 L ภายใต้สภาวะแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่อง

4.1 ลักษณะการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola*

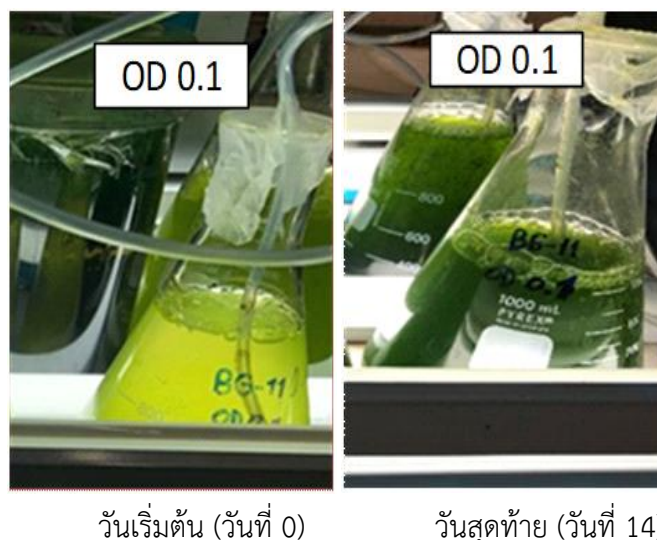
การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ด้วยสารอาหารเหลวสูตรมาตรฐาน BG-11 ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน ในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารอาหารเหลวปริมาตร 500 mL โดยมีค่า OD เริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายเท่ากับ 0.1 เพื่อศึกษาพฤติกรรมของการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายสายพันธุ์นี้ โดยข้อมูลที่ได้จะนำมาใช้ประเมินหาศักยภาพของจุลสาหร่ายในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัส ภาพที่ 4.1 แสดงการเจริญเติบโตโดยการแบ่งเซลล์ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ที่เพาะเลี้ยงในสารอาหารเหลว BG-11 โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นของเซลล์ (OD) เท่ากับ 0.1 ($2.68 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^6$ cell/mL) พบว่าจุลสาหร่ายมีการเจริญเติบโต 4 ระยะ คือ ระยะปรับตัวใน 2 วันแรกของการเพาะเลี้ยง จากนั้นมีการเจริญเติบโตระยะทวีคูณในวันที่ 3-7 โดยมีความหนาแน่นของเซลล์มากที่สุดในวันที่ 7 เท่ากับ $9.00 \times 10^6 \pm 2.90 \times 10^6$ cell/mL เข้าสู่ระยะคงตัวในวันที่ 8-10 และระยะตายในวันที่ 11-14 เมื่อประเมินหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) ของจุลสาหร่ายในระยะทวีคูณพบว่าเท่ากับ 0.242 day^{-1} ซึ่งเป็นค่าที่มากกว่า μ ของกรณีที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์โดยมี OD เริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายเท่ากับ 0.1 ถึง 2 เท่า ($\mu = 0.113 \text{ day}^{-1}$ อภิปรายในหัวข้อที่ 4.2) ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตในสารอาหารเหลวในช่วงวันที่ 3-7 ดังแสดงในภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.1 ความหนาแน่นของเซลล์จุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงใน BG-11 แบบกะ 14 วัน



ภาพที่ 4.2 ความเข้มข้นของไนเตรทและฟอสเฟตที่คงเหลือใน BG-11 แบบกะ 14 วัน



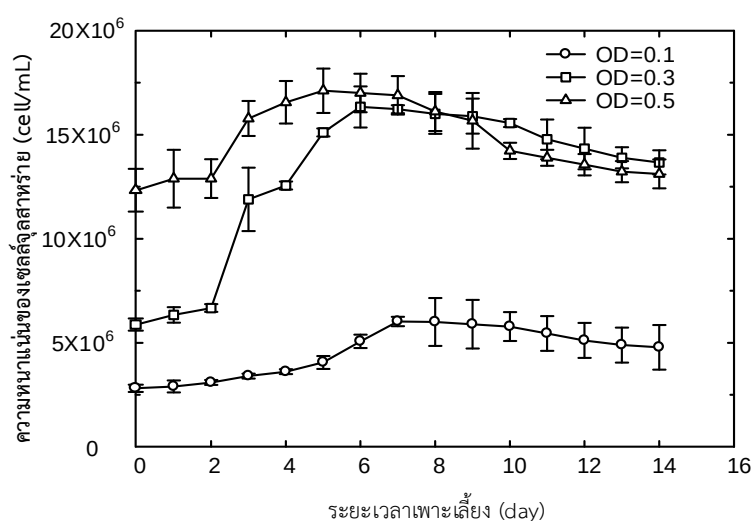
ภาพที่ 4.3 สีของเซลล์จุลสาหร่ายในสารอาหารเหลว BG-11 ที่วันเริ่มต้นและวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง

ภาพที่ 4.2 แสดงปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนรวม (TN) ที่อยู่ในรูปไนเตรทและธาตุอาหารฟอสฟอรัสรวม (TP) ที่อยู่ในรูปฟอสเฟตที่คงเหลือในสารอาหารเหลว BG-11 จากการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ที่มีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น OD เท่ากับ 0.1 จะพบว่าเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน มีไนเตรทคงเหลือ 190.00 ± 26.11 mg/L คิดเป็นการใช้ไนเตรทร้อยละ 28.38 ในขณะที่มีฟอสเฟตคงเหลือ 0.32 ± 0.01 mg/L คิดเป็นการใช้ฟอสเฟตร้อยละ 97.30 โดยจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่ามีการลดลงของฟอสเฟตในสารอาหารเหลวอย่างรวดเร็ว ในช่วงวันที่ 3 – 7 ซึ่งเป็นการเจริญเติบโตในระยะทวีคูณ การที่ไนเตรทถูกใช้ไปในการเจริญเติบโตในปริมาณน้อยกว่าร้อยละ 30 นั้นเนื่องมาจากในสารอาหารเหลว BG-11 มีปริมาณไนเตรทที่มากเกินไป (250 mg/L โดยประมาณ) อย่างไรก็ตามในช่วงวันที่ 3 – 7 นั้นมีการใช้ไนเตรท 23.10 mg/L ในขณะที่มีการใช้ฟอสเฟต 5.03 mg/L จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่ามีการใช้ไนเตรทมากกว่าฟอสเฟตเกือบ 5 เท่า ในเวลาเดียวกัน การที่จุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* มีระยะเวลาในการปรับตัวที่สูง (1 – 2 วัน) และมีระยะทวีคูณที่ค่อนข้างมาก (5 วัน) ถึงแม้ว่าในระยะคงที่และระยะตาย (วันที่ 8 – 14 ของการเพาะเลี้ยง) นั้นค่า pH ในระบบการเพาะเลี้ยงจะเพิ่มขึ้นมากกว่า 8.5 และเมื่อพิจารณาพร้อมกับสีของเซลล์จุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสารอาหารเหลว BG-11 ในดังแสดงในภาพที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าในวันแรกของการเพาะเลี้ยง สีของจุลสาหร่ายจะมีสีเขียวอ่อนเมื่อทำการเพาะเลี้ยงผ่านไป 14 วัน สีของเซลล์จุลสาหร่ายมีสีเขียวเข้มแกมเหลือง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเซลล์จุลสาหร่ายที่ยังไม่ตายมีปริมาณมากกว่าเซลล์จุลสาหร่ายที่ตาย จะเห็นได้ว่าจุลสาหร่ายสายพันธุ์นี้มีศักยภาพในการนำมาใช้กำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสในน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนทุติยภูมิ

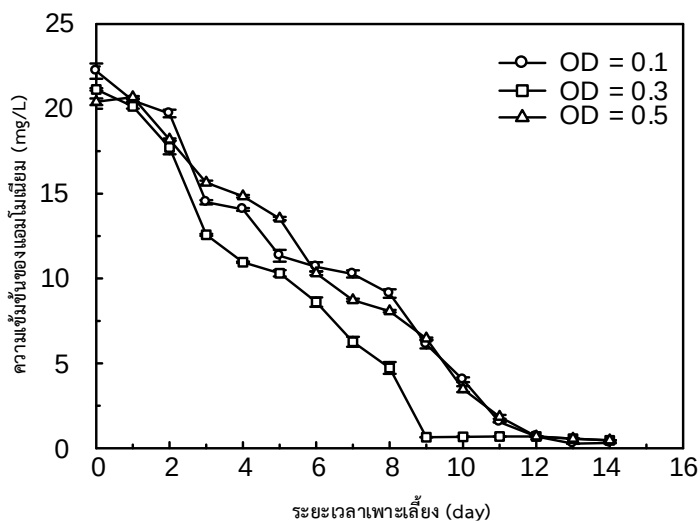
4.2 การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในขวดรูปชมพู่

การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ในขวดรูปชมพู่ที่ด้วยน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ ปริมาตร 500 mL ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินหา

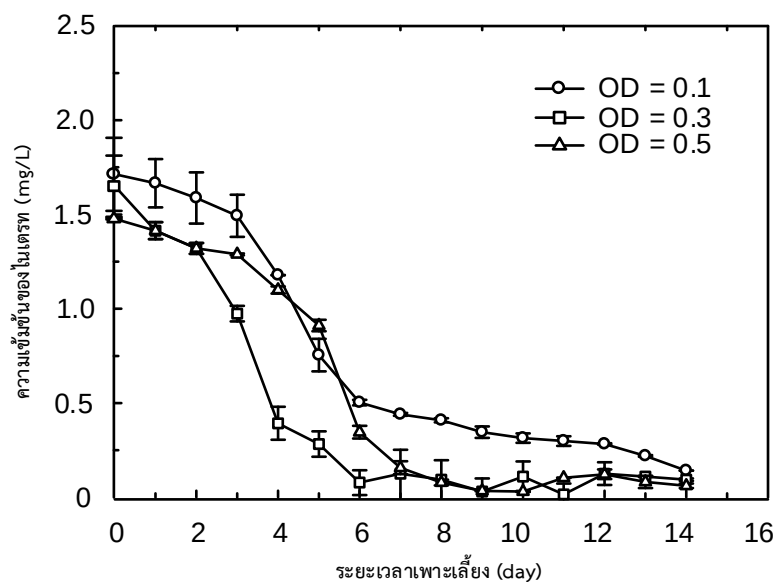
ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายเริ่มต้นที่เหมาะสมในการกำจัด TN และ TP โดยความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายที่ศึกษามีค่าความขุ่นของเซลล์ (OD) เท่ากับ 0.1, 0.3 และ 0.5 ภาพที่ 4.4 แสดงการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* พบว่าจุลสาหร่ายมีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น ซึ่งมี OD เท่ากับ 0.1 ($2.81 \times 10^6 \pm 0.17 \times 10^6$ cell/mL) OD เท่ากับ 0.3 ($5.88 \times 10^6 \pm 0.29 \times 10^6$ cell/mL) และ OD เท่ากับ 0.5 ($12.33 \times 10^6 \pm 2.03 \times 10^6$ cell/mL) นั้นมีการเจริญเติบโตเหมือนกัน ในระยะการปรับตัวในช่วง 2 วันแรก (เช่นเดียวกับกรณีที่เพาะเลี้ยงด้วย BG-11) ในขณะที่การเจริญเติบโตในระยะทวีคูณนั้นมีช่วงเวลาที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยกรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 พบว่ามีระยะเวลาที่นานที่สุด 5 วัน (วันที่ 3-7) OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 มีระยะเวลา 4 วัน (วันที่ 3-6) และ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.5 มีระยะเวลาที่สั้นที่สุดเท่ากับ 3 วัน (วันที่ 3-5) จากนั้นจึงเข้าสู่การเจริญเติบโตในระยะคงที่และระยะตาย เมื่อพิจารณาภาพที่ 4.4 พบว่าการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายที่มีค่า OD เริ่มต้นแตกต่างกัน มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ที่เหมือนกันในระยะทวีคูณ โดยที่ค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 มีความหนาแน่นของเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 7 เท่ากับ $6.02 \times 10^6 \pm 0.23 \times 10^6$ cell/mL ในขณะที่ค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 และ 0.5 มีความหนาแน่นของเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 6 และวันที่ 5 เท่ากับ $16.33 \times 10^6 \pm 3.79 \times 10^6$ และ $17.11 \times 10^6 \pm 1.07 \times 10^6$ cell/mL ตามลำดับ โดยการเพาะเลี้ยงที่มี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) มากที่สุดเท่ากับ 0.237 day^{-1} ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับกรณีที่เพาะเลี้ยงด้วย BG-11 ที่มี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 ที่มีค่าเท่ากับ 0.242 day^{-1} ในขณะที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ค่า μ เท่ากับ 0.133 และ 0.094 day^{-1} ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (ดังแสดงในภาพที่ 4.5 (ค) และ 4.6 ของจุลสาหร่ายในการเจริญเติบโตในช่วงวันที่ 3-7 โดยการเลี้ยงที่มีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 มีปริมาณของ TN และ TP คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์น้อยกว่ากรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 เมื่อสิ้นสุดการเจริญเติบโตในระยะทวีคูณ พบว่าการเลี้ยงที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.5 มีการลดลงของจำนวนเซลล์จุลสาหร่ายมากกว่ากรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 และ 0.1



ภาพที่ 4.4 ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน

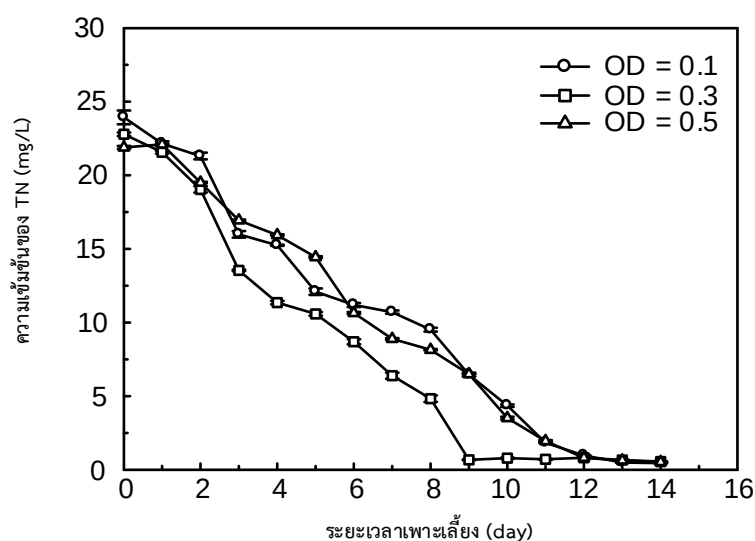


(ก) ความเข้มข้นของแอมโมเนียม ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์



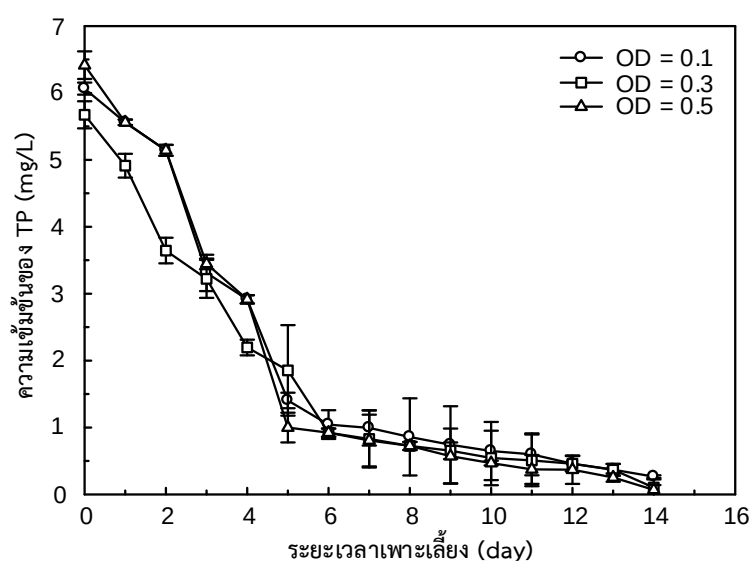
(ข) ความเข้มข้นของ ไนเตรท ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

ภาพที่ 4.5 ความเข้มข้นของแอมโมเนียม ไนเตรท และ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์



(ค) ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

ภาพที่ 4.5 ความเข้มข้นของแอมโมเนียม ไนเตรท และ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์(ต่อ)



ภาพที่ 4.6 ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

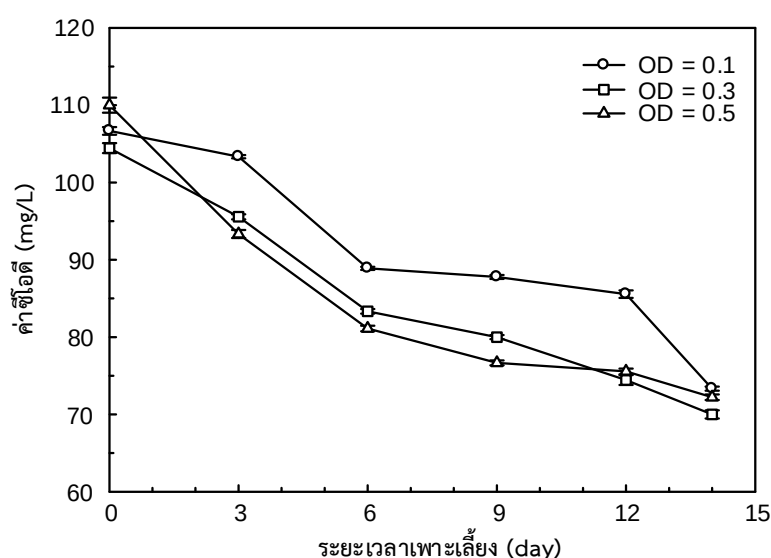
ภาพที่ 4.5 (ก) – 4.5 (ค) และภาพที่ 4.6 แสดงปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของแอมโมเนียม ไนเตรท ไนโตรเจนรวม และธาตุอาหารฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปฟอสเฟตที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ จากการเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ที่มีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นต่างกัน ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า การเพาะเลี้ยงที่มี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 นั้น มีการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนทั้งที่อยู่ในรูปของแอมโมเนียมและไนเตรทมากกว่ากรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 และเมื่อพิจารณา ร่วมกับการลดลงของปริมาณฟอสเฟตในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่มากกว่า (ดังแสดงในภาพที่ 4.6) ในระหว่างวันที่ 2 – 5 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายที่มีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 นั้น

สามารถบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ได้ดีกว่ากรณีที่ OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวม (TN) ซึ่งอยู่ในรูปของแอมโมเนียมและไนเตรทและสารประกอบฟอสฟอรัสรวม (TP) ซึ่งอยู่ในรูปฟอสเฟต โดยพิจารณาเมื่อจุลสาหร่ายอยู่ที่จุดกึ่งกลางของการเจริญเติบโตระยะคงตัว จะพบว่าในกรณีที่ OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.3 นั้นมีประสิทธิภาพในการกำจัด TN มากที่สุด เท่ากับร้อยละ 78.84 (มีปริมาณ TN คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ เท่ากับ 4.82 mg/L) ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมากกว่ากรณีที่ OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.1 และ 0.5 สำหรับประสิทธิภาพในการกำจัด TP พบว่ามีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย กรณีที่ OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.5 มีประสิทธิภาพในการกำจัด TN ต่ำที่สุด เป็นผลมาจากที่มีการเจริญเติบโตในระยะทวีคูณที่ค่อนข้างสั้น ดังนั้นจึงเข้าสู่ระยะคงที่เร็วกว่า ในขณะที่ TN ถูกใช้ไปในการสังเคราะห์แสงน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.3

ตารางที่ 4.1 ร้อยละของการกำจัด TN, TP และซีโอดี ณ วันกึ่งกลางระยะคงตัวของจุลสาหร่าย

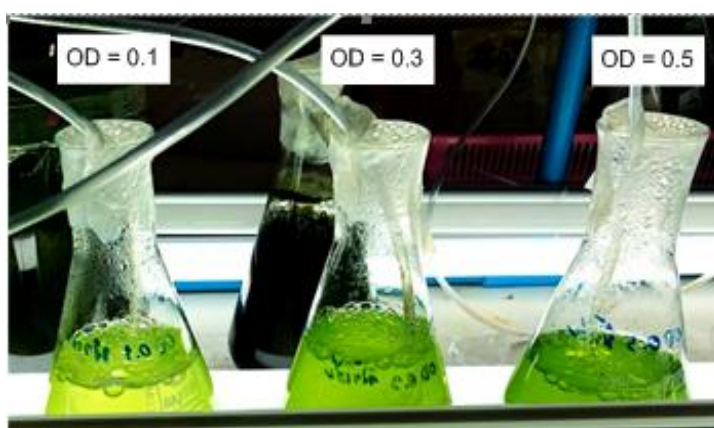
OD	วันกึ่งกลางของระยะคงตัว (day)	ร้อยละของการกำจัด (%)		
		TN	TP	ซีโอดี
0.1	9	73.01	87.75	17.70
0.3	8	78.84	87.23	24.44 ^a
0.5	6	51.35	85.62	26.26

หมายเหตุ: ^a หมายถึง ประเมินค่าซีโอดีในวันที่ 9 เนื่องจากทำการวิเคราะห์หาค่าพารามิเตอร์เทอมนี้ทุก 3 วัน



ภาพที่ 4.7 ค่าซีโอดีของน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

เมื่อพิจารณาค่าซีโอดีในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่แสดงในภาพที่ 4.7 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่ามีค่าลดลงเมื่อวันในการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการกำจัด TN และ TP เมื่อพิจารณา ณ วันที่จุลสาหร่ายกำลังอยู่ที่จุดกึ่งกลางของการเติบโตในระยะคงตัว พบว่ากรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 และ 0.5 มีการลดลงของค่าซีโอดีแตกต่างกันเล็กน้อย แต่มากกว่ากรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 เมื่อพิจารณาในภาพรวมจะพบว่าซีโอดีของน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์มีการลดลงเฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 21.18 ± 4.25 ซึ่งค่อนข้างน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการบำบัดน้ำเสียทั่วไป การลดลงของค่าซีโอดีในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในงานวิจัยนี้อาจเกิดจากการบำบัดร่วมระหว่างจุลสาหร่ายและแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่ในอากาศ โดยที่มีการสัมผัสระหว่างอากาศกับผิวน้ำของน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ในช่วงการเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ (ธีระพงษ์ บ้างบุญเรือง, ประวิทย์ คงจันทร์ และนุชนาถ แซ่มชัย, 2558; Kabir et al., 2018) ภาพที่ 4.8 (ก) แสดงให้เห็นถึงสีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่มีค่า OD เริ่มต้น 0.1 – 0.5 โดยวันแรกของการเพาะเลี้ยงพบว่าสีเขียวของน้ำเสียสังเคราะห์มีความเข้มมากขึ้นเมื่อค่า OD เริ่มต้นมีค่ามากขึ้น เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในวันที่ 14 สีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.5 เปลี่ยนจากสีเขียวเข้มไปเป็นสีเขียวแกมเหลือง ดังแสดงในภาพที่ 4.8 (ข) ซึ่งให้เห็นว่ามีการตายของเซลล์จุลสาหร่ายในปริมาณที่ค่อนข้างมาก ในขณะที่สีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.3 ยังคงเป็นสีเขียวแต่มีความเข้มมากขึ้น ซึ่งให้เห็นว่ามีเซลล์ตายในสัดส่วนที่ค่อนข้างน้อย



(ก) การบำบัดน้ำเสียด้วยจุลสาหร่ายวันเริ่มต้น (วันที่ 0)

ภาพที่ 4.8 สีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่วันเริ่มต้นและวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง



(ข) การบำบัดน้ำเสียด้วยจุลสาหร่ายวันสุดท้าย (วันที่ 14)

ภาพที่ 4.8 สีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่วันเริ่มต้นและวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง (ต่อ)

ผลการเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4.4 – 4.8 แสดงให้เห็นว่าจุลสาหร่ายสายพันธุ์นี้ สามารถลดปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยเซลล์จุลสาหร่ายสามารถใช้เป็นธาตุอาหารในกระบวนการสังเคราะห์แสงได้ โดยธาตุอาหารไนโตรเจนนั้นใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนในกระบวนการแบ่งเซลล์ ในขณะที่ธาตุอาหารฟอสฟอรัสจุลสาหร่ายใช้เพื่อการสะสมพลังงานภายในเซลล์ในระหว่างที่มีการสังเคราะห์แสง โดยอยู่ในรูปของอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate: ATP) นิโคตินเอไมด์อะดีโนซีนไดนิวคลีโอไทด์ไตรฟอสเฟต (Nicotinamide adenosine dinucleotide phosphate: NADPH) ฯลฯ (Krichnavaruk, S. et al., 2005) ซึ่งจุลสาหร่ายจำเป็นต้องใช้ธาตุสารอาหารทั้ง 2 ชนิด ควบคู่กันไปอย่างสมดุลจึงจะสามารถเจริญเติบโต (หรือบำบัดน้ำเสียชุมชน) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ หากมีปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการใช้ธาตุอาหารทั้ง 2 ชนิดนี้ จะส่งผลให้กระบวนการบำบัดน้ำเสียผ่านเกณฑ์คุณภาพน้ำทิ้งช้ากว่าที่ควรจะเป็น เมื่อพิจารณาการคงเหลือของธาตุอาหารไนโตรเจนรวมและฟอสเฟตในน้ำเสียสังเคราะห์ (ดังแสดงในภาพที่ 4.5 (ค) และ 4.6 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการใช้ธาตุอาหารทั้ง 2 ชนิด ในกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยการเลี้ยงจุลสาหร่ายที่มีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 สามารถลดปริมาณไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสในช่วงวันที่ 3 – 9 ได้มากกว่ากรณีที่ OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ทั้งนี้เป็นอาจเป็นผลมาจากการที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 มีจำนวนเซลล์จุลสาหร่ายค่อนข้างน้อยไม่สอดคล้องกับปริมาณของไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสในน้ำเสีย ในขณะที่การเลี้ยงจุลสาหร่ายซึ่ง OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.5 มีจำนวนเซลล์จุลสาหร่ายมากเกินไป ส่งผลให้เกิดสภาวะการบดบังแสงของเซลล์จุลสาหร่าย (Self-shading) ซึ่งทำให้เซลล์จุลสาหร่ายส่วนใหญ่ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Chen, F., 1996; Krichnavaruk, S. et al., 2005) เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.3 ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า μ ของกรณีนี้มีค่ามากกว่ากรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ถึง 1.68 เท่า และ 2.38 เท่า ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ โดยพิจารณาจากจำนวนวันในการเลี้ยงจุลสาหร่ายที่สามารถลดไนโตรเจนรวมและฟอสเฟต

ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ให้มีปริมาณน้อยกว่า 10 และ 1 mg/L ตามลำดับ (ตามเกณฑ์มาตรฐาน European Union Directive 98/15/CE, Arbid, Z. et al., 2014) จะพบว่าที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 ใช้เวลา 6 วัน ในขณะที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ต้องใช้เวลาเพาะเลี้ยงถึง 9 และ 7 วัน ตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลินทรีย์เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย

4.3 จลนศาสตร์การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

การเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์จุลินทรีย์โดยการแบ่งเซลล์ (ไม่ได้เพิ่มขนาดของเซลล์) ในช่วงระยะเวลาการเพาะเลี้ยงช่วงระยะหนึ่ง โดยกระบวนการสังเคราะห์แสงของเซลล์จุลินทรีย์นั้น สามารถนำมาหาจลนศาสตร์หรืออัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ จากที่ได้กล่าวไปแล้ว ในหัวข้อที่ 2.6 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ถูกนำมาใช้ในงานวิจัยนี้ คือ สมการโลจิสติกเวอร์ฮอลส์ ซึ่งเป็นแบบจำลองการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ขึ้นกับชนิดของซับสเตรท (หรือสารอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยง) และมีรูปแบบสมการทางคณิตศาสตร์ที่ไม่ซับซ้อนโดยมีพารามิเตอร์ที่สำคัญที่ต้องประเมินหาค่าเพียง 1 เทอม คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่มากที่สุด ($\mu_{\max}$) ซึ่งสามารถได้ค่าได้โดยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นของข้อมูลการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Chlorococcum humicola* ที่สอดคล้องกับสมการที่ 3.8 ผลการประเมินหาค่าของ $\mu_{\max}$ แสดงในตารางที่ 4.2 โดยใช้ข้อมูลการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ได้กล่าวถึงในหัวข้อที่ 4.2 (ผลการทดลองในหัวข้อที่ 3.4)

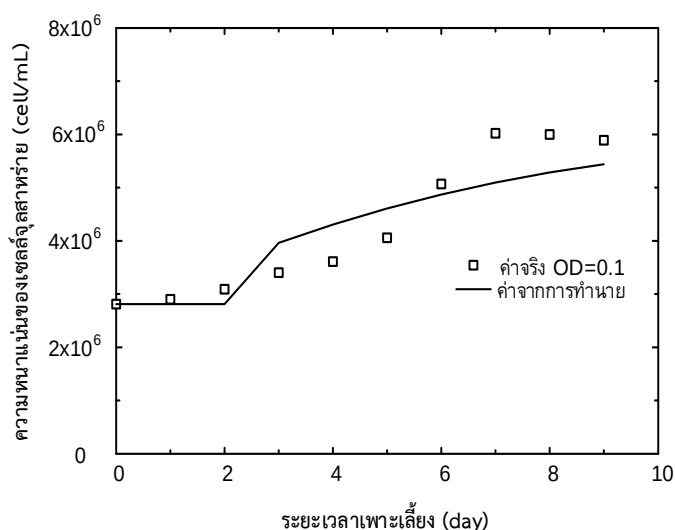
ตารางที่ 4.2 แบบจำลองอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

OD	μ^a (day ⁻¹)	$\mu_{\max}^b$ (day ⁻¹)	R ²	สมการโลจิสติกเวอร์ฮอลส์ (10 ⁶ cell/mL)
0.1	0.133	0.263	0.817	$X(t) = \frac{16.92e^{0.263t}}{3.21 + 2.81e^{0.263t}}$
0.3	0.237	0.655	0.913	$X(t) = \frac{96.02e^{0.655t}}{10.46 + 5.88e^{0.655t}}$
0.5	0.094	0.625	0.962	$X(t) = \frac{210.97e^{0.625t}}{4.87 + 12.33e^{0.625t}}$

หมายเหตุ: ^a ประเมินหาค่าโดยใช้สมการที่ (3.3) ^b $p \leq 0.05$

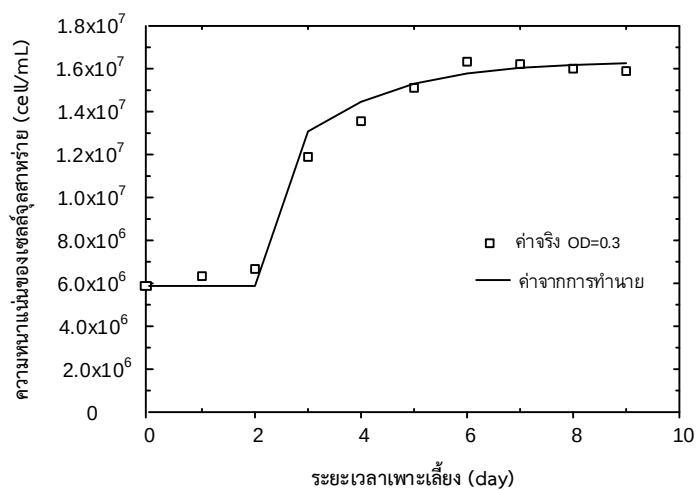
โดยทั่วไปแล้วอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของจุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนแปลงได้โดยการปรับเปลี่ยนสภาวะแวดล้อมในการเจริญเติบโตหรือการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้แล้วการเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ในระบบยังส่งผลให้ μ มีค่าลดลง (Griffith, M.J. and Harrison, S.T.L., 2009) (หมายเหตุ: μ เป็นอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่แท้จริง (Intrinsic growth rate) ของจุลินทรีย์ที่ประเมินได้ในช่วงการเจริญเติบโตระยะทวีคูณ ซึ่งจะพบว่าสอดคล้องกับค่าของ μ ที่แสดงใน

ตารางที่ 4.1 เมื่อ OD เริ่มต้นเพิ่มขึ้นจาก 0.3 เป็น 0.5 ซึ่งมีปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายในระบบค่อนข้างมากส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงลดลง อย่างไรก็ตามการที่ μ ของการเพาะเลี้ยงที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 มีค่าน้อยกว่ากรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 เป็นผลมาจากการที่มีปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายในระบบค่อนข้างน้อย ส่งผลให้มีการแบ่งเซลล์ของจุลสาหร่ายโดยกระบวนการสังเคราะห์แสงน้อยกว่า (Chen, F., 1996) จากตารางที่ 4.1 พบว่า μ_{max} มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับกรณีของ μ ภาพที่ 4.9 (ก) – 4.9 (ค) แสดงการเปรียบเทียบความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่ทำนายได้จากการจำลองเชิงคณิตศาสตร์กับค่าที่ได้จากการทดลอง สำหรับกรณีที่ OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.1, 0.3 และ 0.5 ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าผลการจำลองเชิงคณิตศาสตร์ให้ผลการทำนายที่ค่อนข้างแม่นยำ ในช่วงการเจริญเติบโตระยะทวีคูณ สำหรับกรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 และ 0.5 เมื่อเปรียบเทียบกรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 ซึ่งมีค่า μ_{max} ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับกรณีที่ OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.3 และ 0.5 ถึง 2.5 เท่าโดยประมาณ

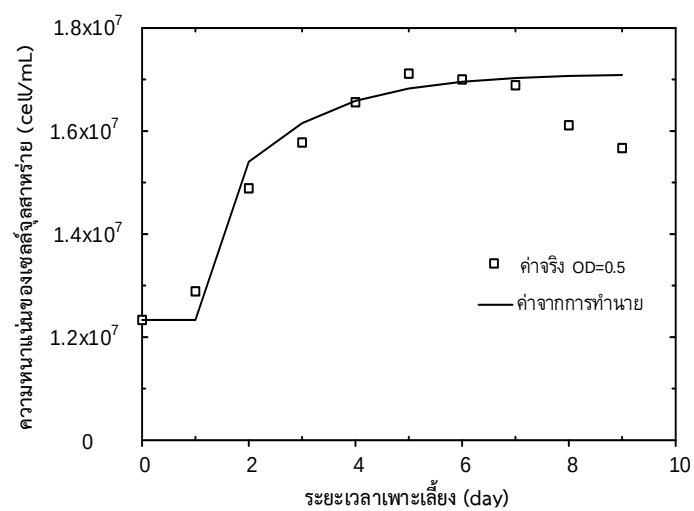


(ก) ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่ OD 0.1 ได้จากการทำนายและการทดลอง

ภาพที่ 4.9 ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่ได้จากการทำนายและการทดลอง



(ข) ความหนาแน่นของเซลล์จุลินทรีย์ที่ OD 0.3 ได้จากการทำนายและการทดลอง



(ค) ความหนาแน่นของเซลล์จุลินทรีย์ที่ OD 0.5 ได้จากการทำนายและการทดลอง

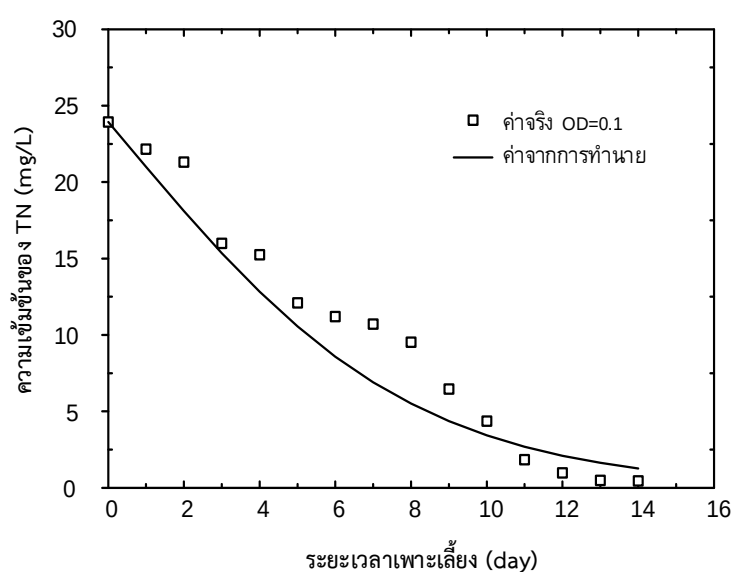
ภาพที่ 4.9 ความหนาแน่นของเซลล์จุลินทรีย์ที่ได้จากการทำนายและการทดลอง (ต่อ)

ตารางที่ 4.3 แบบจำลองปริมาณของ TN และ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

ธาตุอาหาร	OD	R ²	สมการ Luedeking-Piret-Like (mg/L)
TN	0.1	0.907	$S_{TN} = 44.89 - 7.462 \left(\frac{16.92e^{0.263t}}{3.21 + 2.81e^{0.263t}} \right)$
	0.3	0.825	$S_{TN} = 35.62 - 2.18 \left(\frac{96.02e^{0.655t}}{10.46 + 5.88e^{0.655t}} \right)$
	0.5	0.743	$S_{TN} = 78.40 - 4.59 \left(\frac{210.97e^{0.625t}}{4.87 + 12.33e^{0.625t}} \right)$
TP	0.1	0.912	$S_{TP} = 11.39 - 1.69 \left(\frac{16.92e^{0.263t}}{3.21 + 2.81e^{0.263t}} \right)$
	0.3	0.884	$S_{TP} = 9.00 - 0.55 \left(\frac{96.02e^{0.655t}}{10.46 + 5.88e^{0.655t}} \right)$
	0.5	0.813	$S_{TP} = 22.98 - 1.34 \left(\frac{210.97e^{0.625t}}{4.87 + 12.33e^{0.625t}} \right)$

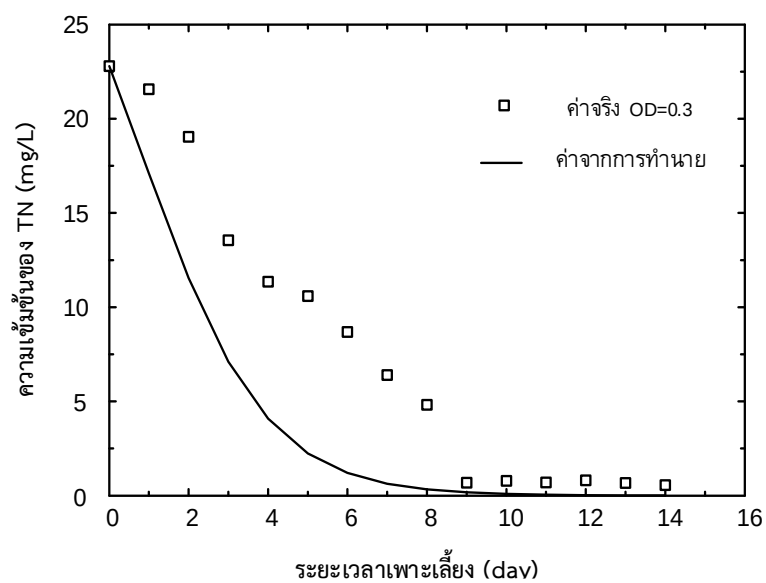
เมื่อพิจารณาการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนรวม (TN) และฟอสฟอรัสรวม (TP) ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ เปรียบเทียบกับค่าที่ทำนายได้จากสมการ Luedeking-Piret-Like ที่แสดงในตารางที่ 4.3 จะพบว่าปริมาณของ TN ที่ได้จากการทำนายมีค่าน้อยกว่าข้อมูลจากการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 4.10 (ก) - 4.10 (ค) โดยพบว่ากรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 นั้นมีผลการทำนายที่ค่อนข้างใกล้เคียงกับผลการทดลอง ในขณะที่ผลการทำนายมีค่าแตกต่างค่อนข้างมากกับผลการทดลองสำหรับกรณีที่ OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.3 และ 0.5 ซึ่งตรงข้ามกับผลการทำนายความหนาแน่นของเซลล์โดยใช้สมการโลจิสติกส์เวอร์ฮอลส์ เมื่อพิจารณาการใช้ TP ในการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายดังแสดงในภาพที่ 4.11 (ก) - 4.11 (ค) พบว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกับการใช้ TN โดยมีกรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 เท่านั้นที่ผลการทำนายมีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลอง (ภาพที่ 4.11 (ก)) อย่างไรก็ตามจากรายงานวิจัย ของ Ruiz, J. et al. (2011) พบว่าสมการ Luedeking-Piret-Like ให้ผลการทำนายการใช้ TN และ TP ที่สอดคล้องกับผลการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่มีอัตราส่วน TN:TP (โดยโมล) อยู่ในช่วง 9 – 753 ภายใต้สภาวะแบบกะ (มีค่า R² มากกว่า 0.975) โดยทั่วไปแล้วอัตราส่วน TN:TP เท่ากับ 16 เป็นเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย (Redfield, A.C., 1958) โดยในกรณีที่ TN:TP มากกว่า 16 จะเกิดสภาวะการขาดแคลนฟอสฟอรัส (Phosphorus limited) และในกรณีที่ TN:TP น้อยกว่า 16 นั้นจะเกิดสภาวะการขาดแคลนไนโตรเจน (Nitrogen limited) ซึ่งจะส่งผล

กระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย แสดงให้เห็นว่าอัตราส่วน TN:TP ไม่ส่งผลกระทบต่อความแม่นยำของสมการ Luedeking-Piret-Like อย่างมีนัยสำคัญในการทำนาย การใช้ TN และ TP ในน้ำเสียสังเคราะห์ เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของ TN:TP ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ซึ่งมีค่าเท่ากับ 13 โดยประมาณ พบว่าผลการทำนายการใช้ TN และ TP ของจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* โดยสมการ Luedeking-Piret-Like แตกต่างจากผลการทดลองค่อนข้างมาก โดยเฉพาะกรณี OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.3 และ 0.5 ความไม่แม่นยำนี้อาจเป็นผลมาจากชนิดของจุลสาหร่าย และเงื่อนไขในการเพาะเลี้ยงที่แตกต่าง เช่น ความเข้มข้นของแสง อัตราการป้อนอากาศ และประสิทธิภาพในการกวนผสมภายในระบบการเพาะเลี้ยง (Liu, Jian-Zhong et al., 2003)

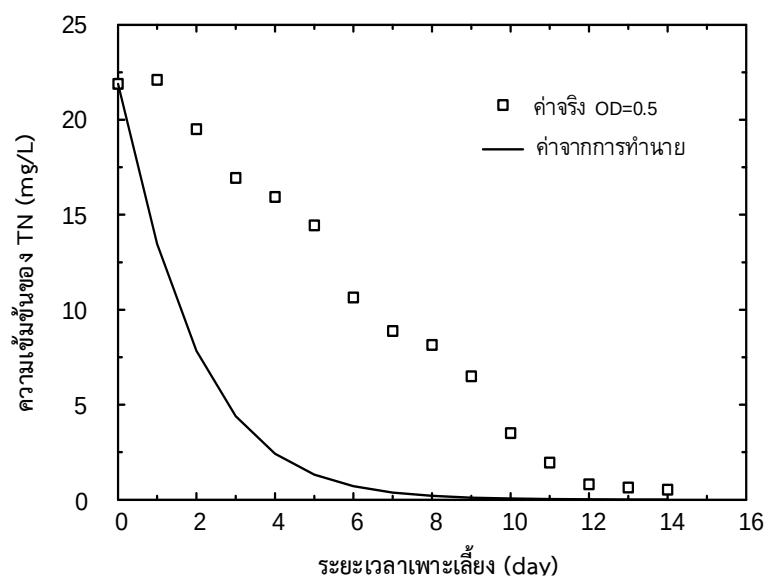


(ก) ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ OD 0.1

ภาพที่ 4.10 ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ได้จากการทำนายและการทดลอง

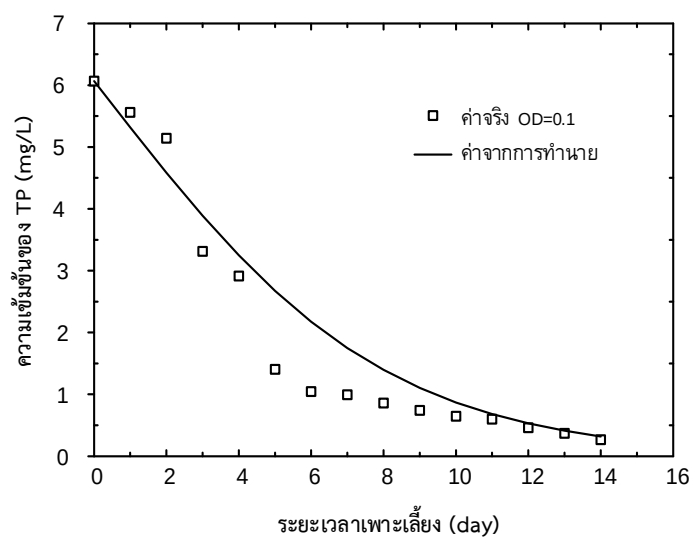


(ข) ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ OD 0.3

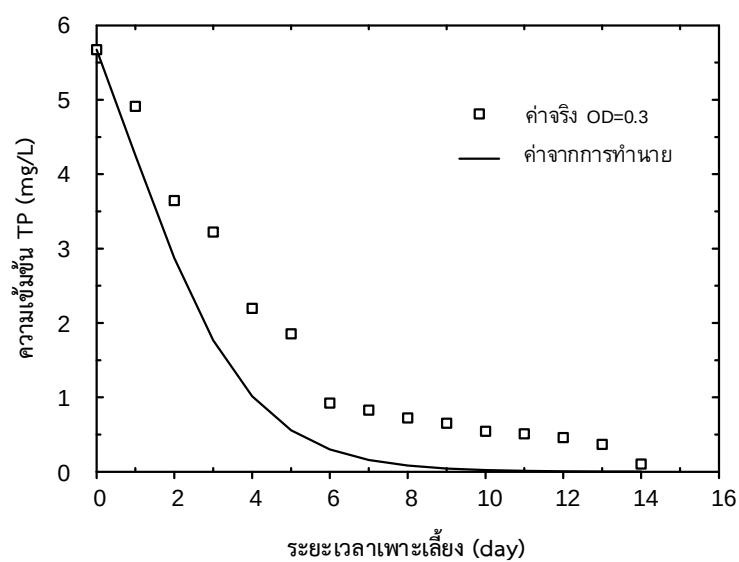


(ค) ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ OD 0.5

ภาพที่ 4.10 ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ได้จากผลการทำนายและการทดลอง (ต่อ)

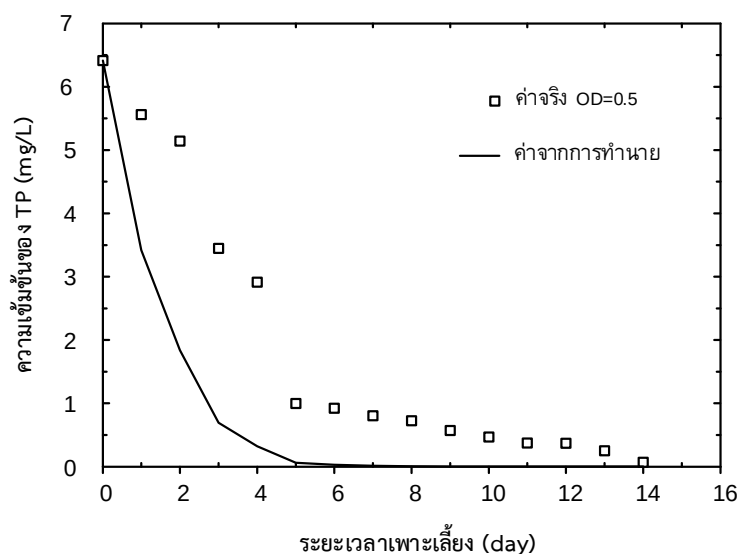


(ก) ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ OD 0.1



(ข) ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ OD 0.3

ภาพที่ 4.11 ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ได้จากการทำนายและการทดลอง



(ค) ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ OD 0.5

ภาพที่ 4.11 ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่ได้จากการทำนายและการทดลอง (ต่อ)

4.4 การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายใน BCPBR

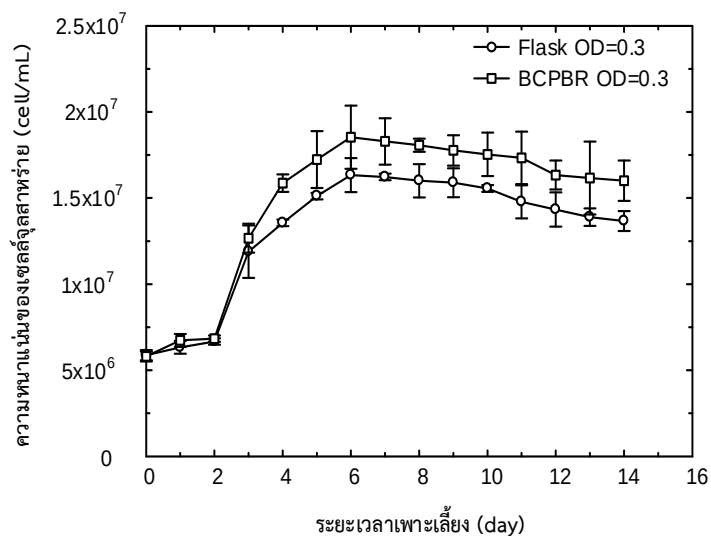
พฤติกรรมทางศาสตร์แบบสองเฟสของของไหลภายในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสงแบบ BCPBR ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ถูกศึกษาโดยใช้น้ำซึ่งมีความหนืดใกล้เคียงกับน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่อุณหภูมิห้อง โดยที่ความเร็วผิวของอากาศ 0.1 – 0.3 cm/s พบว่าฟองอากาศมีขนาดเฉลี่ย 3.0 mm ซึ่งอยู่ในช่วง 1.5 – 3.5 mm ขนาดของฟองอากาศที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย (Yang, Z. et al., 2018) โดยใช้สมการที่ 2.1 – 2.3 ประเมินหาค่าความเร็วเชิงเส้นของของเหลว (U_L) ซึ่งถูกเหนี่ยวนำโดยฟองอากาศให้ไหลขึ้นไปยังส่วนบนของคอลัมน์ พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 10.0 – 16.0 cm/s เวลาในการ กวนผสม (t_m) อยู่ในช่วง 134 – 277 s และสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลเชิงปริมาตรโดยรวมระหว่างเฟสก๊าซและของเหลว ($k_L a$) มีค่าระหว่าง 2.54×10^{-3} ถึง $5.48 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Merchuk J.C., Gluz, M. and Mukmenev, I. (2000) และ Khoo, C.G., Lam, M.K. and Lee, K.T. (2016) โดยทั่วไปแล้ว $k_L a$ สามารถทำให้มีค่าเพิ่มขึ้นได้โดยเพิ่มอัตราการไหลของอากาศที่ป้อนเข้าสู่ BCPBR อย่างไรก็ตามฟองอากาศที่ได้จะมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อให้มีพื้นผิวสัมผัสในการถ่ายเทมวลเชิงปริมาตรโดยระหว่างเฟส ก๊าซ-ของเหลว (ส่งผลให้ $k_L a$ มีค่าลดลง) ดังนั้นการป้อนอากาศด้วย U_G ในช่วง 0.1 – 0.3 cm/s ต่อเนื่องตลอดระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเพื่อให้มีการไหลแบบฟองก๊าซแขวนลอยขนาดเล็กภายในคอลัมน์ จึงเป็นสถานะที่มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย (Kunyawut, C., Paopo, I. and Krommuang, A., 2019)

จากผลการศึกษาผลกระทบของความหนาแน่นเริ่มต้นของจุลสาหร่ายที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมของน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ ในหัวข้อที่ 4.2

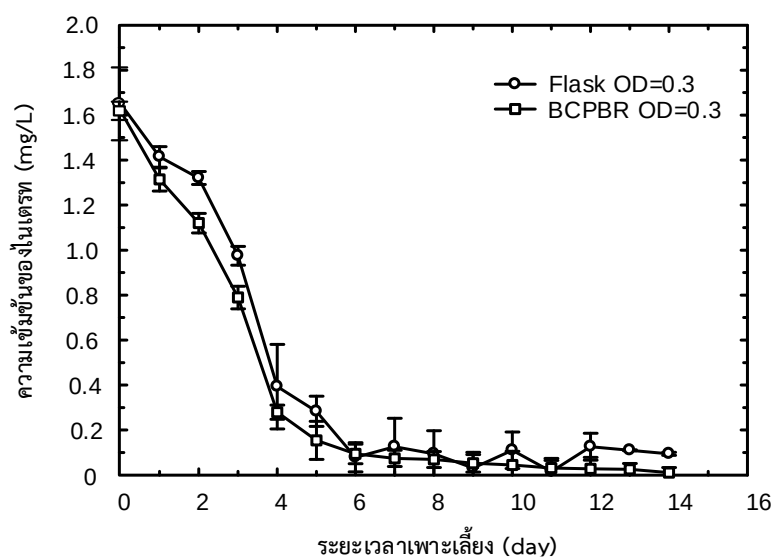
พบว่าความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายซึ่งมีค่า OD เท่ากับ 0.3 นั้นเป็นค่าที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีระยะเวลาในการลดปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ให้ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งขั้นที่สุด ดังนั้นในการศึกษาการกำจัดสารประกอบทั้ง 2 ชนิด โดยการเพาะเลี้ยงใน BCPBR ภายใต้สภาวะแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่องจะใช้ OD เริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายเท่ากับ 0.3

4.4.1 การกำจัด TN และ TP ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบกะ

ภาพที่ 4.12 แสดงความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบกะ 14 วันในรูปขมพูและ BCPBR โดยมีความหนาแน่นเริ่มต้น เท่ากับ 0.3 (มีจำนวนเซลล์จุลสาหร่ายเท่ากับ $5.87 \times 10^6 \pm 2.91 \times 10^5$ และ $5.80 \times 10^6 \pm 2.80 \times 10^5$ cell/mL ในขบวนการขมพูและใน BCPBR ตามลำดับ) โดยมีระยะการปรับตัว 2 วันแรกเหมือนกัน และเข้าสู่ระยะทวีคูณในวันที่ 3 โดยเซลล์จุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงใน BCPBR มีจำนวนมากกว่าในขบวนการขมพูเพียงเล็กน้อย ตั้งแต่วันที่ 4 – 6 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าเซลล์จุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงใน BCPBR มีจำนวนมากกว่าในขบวนการขมพู เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในวันที่ 6 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของระยะทวีคูณ พบว่ามีปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายเท่ากับ $16.33 \times 10^6 \pm 1.83 \times 10^6$ และ $18.54 \times 10^6 \pm 1.84 \times 10^6$ cell/mL ในขบวนการขมพูและ BCPBR ตามลำดับ เมื่อประเมินค่า μ ในระยะทวีคูณพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.237 และ 0.250 day⁻¹ สำหรับกรณีในขบวนการขมพูและ BCPBR ตามลำดับ ถึงแม้ว่าจะค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้เป็นผลมาจากการที่น้ำเสียชุมชนสังเคราะห์มีปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนรวมเท่ากับ 20 mg/L (โดยประมาณ) ซึ่งค่อนข้างน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสารอาหารเหลว BG-11 ซึ่งมีสารประกอบไนโตรเจนรวมมากกว่าถึง 12.5 เท่า BCPBR อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ใน BCPBR ซึ่งมีปริมาณน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ 10 L ซึ่งมากกว่าในขบวนการขมพูถึง 20 เท่า แต่ยังคงมีค่า μ มากกว่าแสดงให้เห็นว่า BCPBR มีศักยภาพในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ BCPBR การกวนผสมและการถ่ายเทมวลระหว่างเฟสของเหลวที่มีประสิทธิภาพดีกว่าขบวนการขมพู ซึ่งสอดคล้องกับการใช้หรือกำจัดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่แสดงในภาพที่ 4.13 (ก) – 4.13 (ค) และภาพที่ 4.14 โดยพบว่าสารประกอบไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของแอมโมเนียมและไนเตรท และสารประกอบฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปของฟอสเฟตที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ใน BCPBR มีปริมาณน้อยกว่าในขบวนการขมพูตลอดระยะเวลา 14 วัน

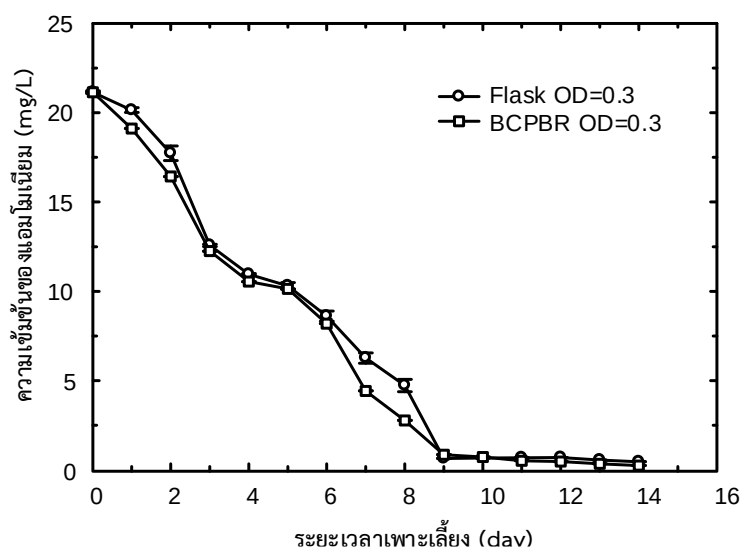


ภาพที่ 4.12 ความหนาแน่นของเซลล์จุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่และ BCPBR

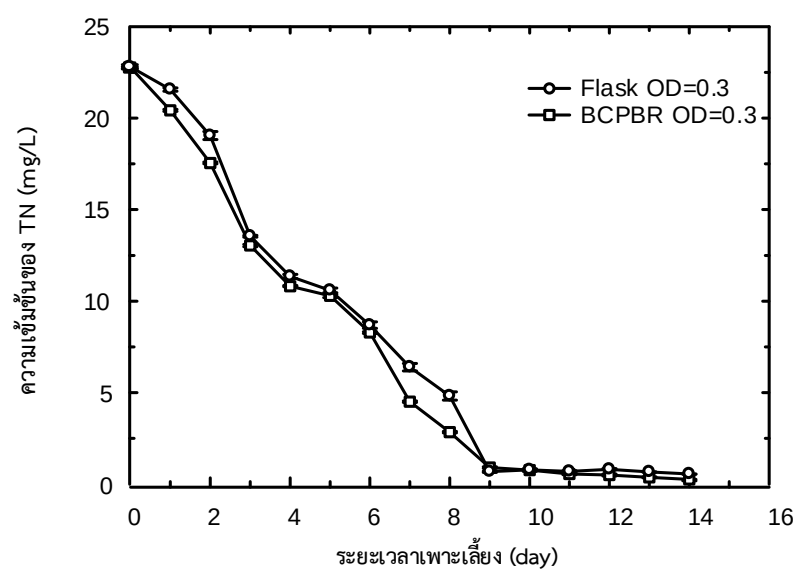


(ก) ความเข้มข้นของไนเตรทที่คงเหลือ

ภาพที่ 4.13 ความเข้มข้นของแอมโมเนียม ไนเตรท และ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชน
สังเคราะห์ในขวดรูปชมพู่ และเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ BCPBR



(ข) ความเข้มข้นของแอมโมเนียมที่คงเหลือ



(ค) ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือ

ภาพที่ 4.13 ความเข้มข้นของแอมโมเนียม ไนเตรท และ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชน
สังเคราะห์ในขวดรูปชมพู่ และเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ BCPBR (ต่อ)

ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพการกำจัด TN, TP และซีโอดีของการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่และ BCPBR

ระบบเพาะเลี้ยง	ปริมาตรน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ (L)	ประสิทธิภาพการกำจัด (ร้อยละ)		
		TN ^a	TP ^a	ซีโอดี ^b
ขวดรูปชมพู่	0.50	78.84	87.23	24.44
BCPBR	10.00	87.52	88.94	28.12

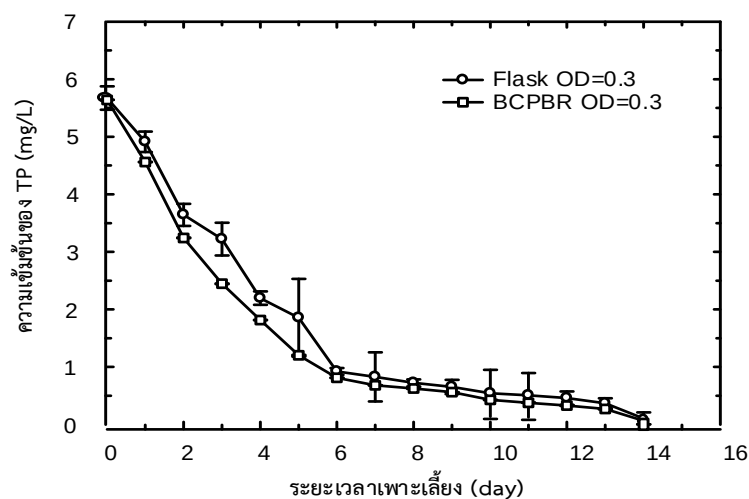
หมายเหตุ: OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3

^a วันที่จุลสาหร่ายกำลังอยู่ ณ จุดกึ่งกลางของระยะคงตัว คือ วันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง;

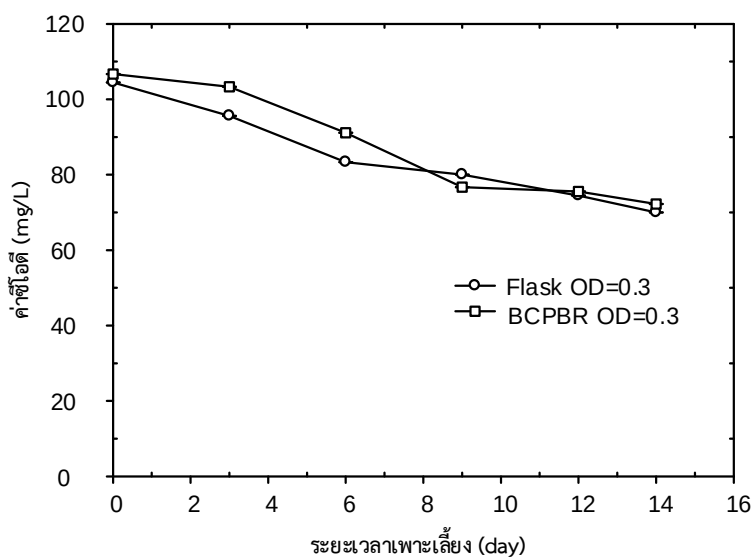
^b ประเมินค่าซีโอดีในวันที่ 9 เนื่องจากการวัดค่าพารามิเตอร์เทอมนี้ทุก 3 วัน

เมื่อพิจารณาปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนที่อยู่ในเตรทและแอมโมเนียมในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่แสดงในภาพที่ 4.13 (ก) และ 4.13 (ข) จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าในสองวันแรกของการเพาะเลี้ยงซึ่งเป็นระยะปรับตัวของจุลสาหร่าย ไนเตรทและแอมโมเนียมมีปริมาณลดลงเล็กน้อย และลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่วันที่ 3 – 6 ซึ่งเป็นการเจริญเติบโตในเป็นระยะทวีคูณของจุลสาหร่าย เมื่อเปรียบเทียบการใช้หรือกำจัดไนเตรทและแอมโมเนียมของจุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่และ BCPBR พบว่าจุลสาหร่ายใช้แอมโมเนียมในกระบวนการสังเคราะห์แสงแตกต่างกันเล็กน้อย อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณของไนเตรทที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ดังแสดงในภาพที่ 4.13 (ก) จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ใน BCPBR มีปริมาณไนเตรทคงเหลือน้อยกว่าในขวดรูปชมพู่ ตั้งแต่วันที่ 2 – 6 แสดงให้เห็นว่าจุลสาหร่ายมีการกำจัดไนเตรทได้ดีกว่า โดยทั่วไปแล้วการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนในกระบวนการสังเคราะห์แสงนั้นจุลสาหร่ายจะใช้แอมโมเนียมก่อน เมื่อปริมาณของแอมโมเนียมในสารอาหารเหลือไม่มากจุลสาหร่ายจะเริ่มใช้ไนเตรท โดยเซลล์จุลสาหร่ายจะเปลี่ยนไนเตรทให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียมก่อนจึงนำไปใช้ได้ (Monfet, E. and Unc, A, 2017) การที่มีปริมาณไนเตรทคงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ใน BCPBR น้อยกว่าในขวดรูปชมพู่ชี้ให้เห็นว่า BCPBR มีประสิทธิภาพดีกว่าในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ (เมื่อเปรียบเทียบในแง่ของปริมาณน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ใน BCPBR ที่มากกว่าในขวดรูปชมพู่ 20 เท่า ถึงแม้ว่าระยะเวลาที่ลดปริมาณ TN ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ให้ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน (น้อยกว่า 10 mg/L) จะเท่ากันคือ 6 วัน เมื่อพิจารณาการใช้ธาตุอาหารฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปฟอสเฟต ดังแสดงในภาพที่ 4.14 จะพบว่ามีการใช้หรือกำจัดฟอสเฟต โดยจุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงใน BCPBR มากกว่าในกรณีที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ ตั้งแต่วันแรกจนถึงวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง (ระยะปรับตัวและระยะทวีคูณ) ซึ่งสอดคล้องกับการใช้ TN และเมื่อพิจารณาค่าซีโอดีในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ ดังแสดงในภาพที่ 4.15 จะพบว่าตั้งแต่วันที่ 3 – 6 น้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ใน BCPBR มีค่าซีโอดี มากกว่าในขวดรูปชมพู่ อย่างไรก็ตามในวันที่ 9 พบว่าซีโอดีมีค่าใกล้เคียงกับกรณีที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ชี้ให้เห็นว่า BCPBR มีประสิทธิภาพโดยรวมดีกว่าในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพในการกำจัด TN TP และซีโอดีที่มีค่าแตกต่างกันเล็กน้อยเมื่อจุลสาหร่ายเข้าสู่จุดกึ่งกลางของระยะการเจริญเติบโตแบบคงตัวในวันที่ 8 ดังแสดงในตารางที่ 4.4 ทั้งนี้การลดลงของค่าซีโอดีนั้นอาจเกิดขึ้นจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรียที่ปนเปื้อนเข้าสู่ระบบ โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายใน BCPBR นั้นมีโอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรียในอากาศได้ค่อนข้างมาก เนื่องจากจำเป็นต้องเจาะรูฝาปิดด้านบนของ BCPBR เพื่อระบายออกซิเจนที่เกิดขึ้น

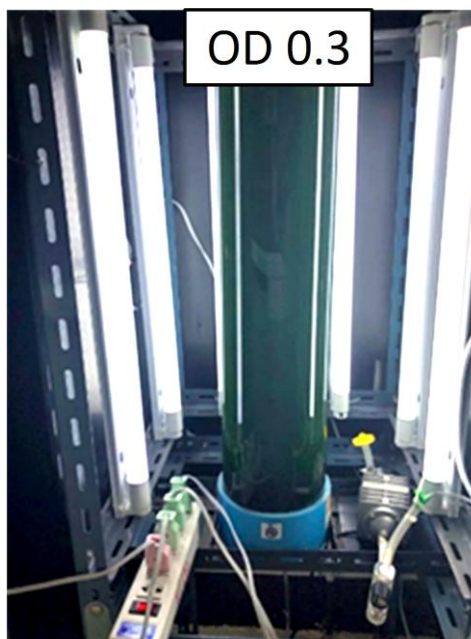
จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่าย ภาพที่ 4.16 แสดงสีของเซลล์จุลสาหร่ายน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ใน BCPBR เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในวันที่ 14 จะเห็นว่ายังคงมีสีเขียวเข้ม ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีเซลล์จุลสาหร่ายที่ไม่ตายในสัดส่วนที่มากกว่าเซลล์ที่ตาย ดังนั้นการเพิ่มกำลังการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ โดยการแบ่งเซลล์จุลสาหร่ายใน BCPBR นำมาเพาะเลี้ยงต่อภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่องจึงเป็นแนวทางที่เป็นไปได้



ภาพที่ 4.14 ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ในขวดรูปชมพู่และ BCPBR



ภาพที่ 4.15 ค่าซีโอดีในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ในขวดรูปชมพู่และเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ BCPBR



ภาพที่ 4.16 สีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงแบบกะ

4.4.2 จลนศาสตร์ของการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบกะในเครื่องปฏิกรณ์

ชีวภาพ

ตารางที่ 4.5 แสดงค่า $\mu_{\max}$ ของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ใน BCPBR ที่ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน จะพบว่ามีความมากกว่า $\mu_{\max}$ ในกรณีที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ร้อยละ 9.8 (ซึ่งสอดคล้องกับค่า μ ที่ประเมินในระยะทวีคูณ) แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ที่ได้จากข้อมูลการเพาะเลี้ยงขวดรูปชมพู่ สามารถนำมาใช้ทำนายการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายสายพันธุ์นี้ในการเพาะเลี้ยงด้วย BCPBR ที่มีปริมาณน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์มากกว่าถึง 20 เท่า และสมการโลจิสติกส์เวอร์ฮอลต์ที่ประเมินได้จากค่าพารามิเตอร์จากการเพาะเลี้ยงใน BCPBR ดังแสดงในตารางที่ 4.5 นั้นมีรูปแบบการที่ใกล้เคียงกับกรณีที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ (โดยมีค่า R^2 แตกต่างเล็กน้อย) ภาพที่ 4.17 แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองการเจริญเติบโตที่ได้นั้น สามารถทำนายการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายได้ค่อนข้างดีในระยะปรับตัวจนถึงระยะทวีคูณ เมื่อพิจารณาการทำนายการใช้ TN และ TP ของจุลสาหร่ายใน BCPBR โดยใช้สมการ Luedeking-Piret-Like ดังแสดงในตารางที่ 4.6 พบว่าการลดลงมากกว่าการเพาะเลี้ยงจริงดังแสดงในภาพที่ 4.18 และ 4.19 (ซึ่งมีผลการทำนายเช่นเดียวกับกรณีที่เพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในขวดรูปชมพู่) โดยกรณีของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์นั้น สมการ Luedeking-Piret-Like ให้ผลการทำนายที่ใกล้เคียงกว่ากรณีของ TN การที่ Luedeking-Piret-Like ให้ผลการทำนายการใช้ TN และ TP ที่ไม่สอดคล้องกับผลการทดลอง ได้อธิบายไปแล้วในหัวข้อที่ 4.3 ความสามารถของ BCPBR ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเพื่อกำจัด TN และ TP ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ สามารถพิจารณาได้จากผลผลิตโดยรวม (P_{overall}) และผลผลิตแบบกะ (P_B)

(ดังแสดงในสมการที่ 2.6 และสมการที่ 2.7) ได้เท่ากับ 2.12×10^6 และ 2.61×10^6 cell/mL/day ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างสูงมาก

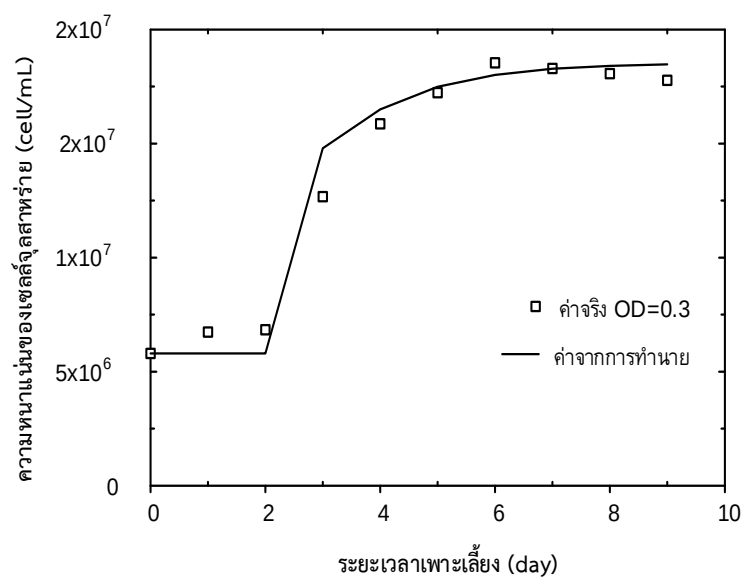
ตารางที่ 4.5 อัตราการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่และ BCPBR ที่ OD =0.3

ระบบเพาะเลี้ยง	μ^a (day ⁻¹)	$\mu_{\max}^b$ (day ⁻¹)	R ²	สมการโลจิสติกเวอร์ฮอลส์ (10 ⁶ cell/mL)
ขวดรูปชมพู่	0.237	0.655	0.913	$X(t) = \frac{96.02e^{0.655t}}{10.46 + 5.88e^{0.655t}}$
BCPBR	0.250	0.719	0.915	$X(t) = \frac{107.50e^{0.719t}}{12.74 + 5.80e^{0.719t}}$

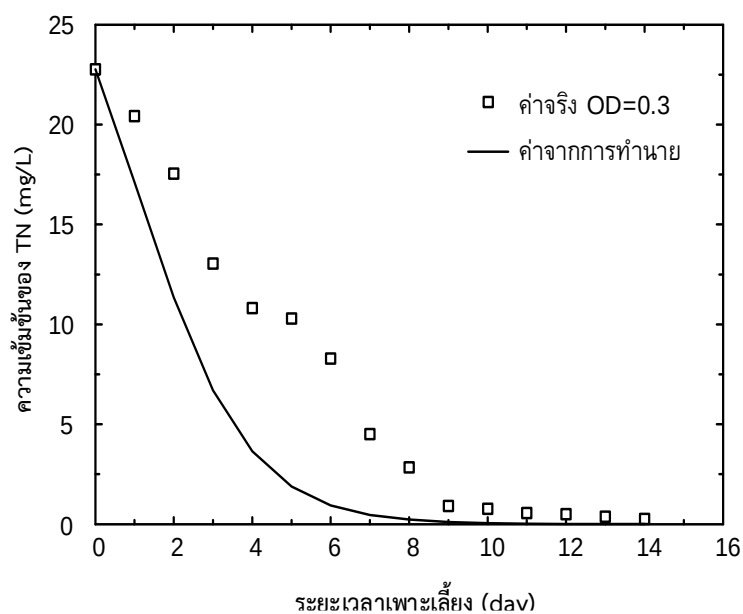
หมายเหตุ: ^a ประเมินหาค่าโดยใช้สมการที่ (3.3) ^b $p \leq 0.05$

ตารางที่ 4.6 แบบจำลองปริมาณของ TN และ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

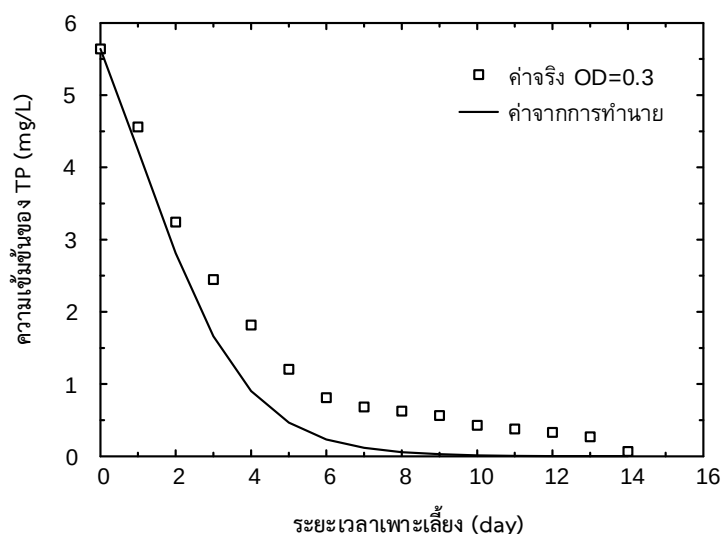
ระบบเพาะเลี้ยง	ธาตุอาหาร	R ²	สมการ Luedeking-Piret-Like (mg/L)
ขวดรูปชมพู่	TN	0.825	$S_{TN} = 35.62 - 2.18 \left(\frac{96.02e^{0.655t}}{10.46 + 5.88e^{0.655t}} \right)$
	TP	0.884	$S_{TP} = 9.00 - 0.55 \left(\frac{96.02e^{0.655t}}{10.46 + 5.88e^{0.655t}} \right)$
BCPBR	TN	0.875	$S_{TN} = 33.13 - 1.79 \left(\frac{107.50e^{0.719t}}{12.74 + 5.80e^{0.719t}} \right)$
	TP	0.897	$S_{TP} = 8.21 - 0.44 \left(\frac{107.50e^{0.719t}}{12.74 + 5.80e^{0.719t}} \right)$



ภาพที่ 4.17 ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายใน BCPBR ที่ได้จากการทำนาย และการทดลอง



ภาพที่ 4.18 ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ใน BCPBR ที่ได้จากการทำนายและการทดลอง



ภาพที่ 4.19 ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ใน BCPBR ที่ได้จากผลการทำนายและและการทดลอง

4.4.3 การกำจัด TN และ TP ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

โดยทั่วไปแล้วการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่องนั้นมิวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มกำลังการผลิตชีวมวล (Biomass) ซึ่งจะมีการเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่ายออกจากระบบการเพาะเลี้ยงเมื่อจุลสาหร่ายเจริญเติบโตในระยะทวีคูณ และมีปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นร้อยละ 80 ของปริมาณเซลล์ที่มากที่สุด (เมื่อสิ้นสุดการเจริญเติบโตในระยะทวีคูณ) ออกไปจากระบบร้อยละ 30-50 จากนั้นเติมสารอาหารเหลวใหม่ และทำการเพาะเลี้ยงต่อไป โดยมีการกำหนดรอบเก็บเกี่ยวให้มีระยะเวลาเพียงพอที่มีเซลล์จุลสาหร่ายเพิ่มขึ้นไปถึงปริมาณเซลล์เท่ากับหรือใกล้เคียงกับปริมาณเซลล์ที่คงเหลือในระบบหลังจากการเก็บเกี่ยวครั้งแรก ในงานวิจัยนี้จะประยุกต์การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบกึ่งต่อเนื่องเพื่อเพิ่มความสามารถในการกำจัด (Removal capacity) ของสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ โดยจะกำหนดระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่าย หลังจากที่มีปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมลดลงเหลือน้อยกว่า 10 และ 1 mg/L ตามลำดับ จากผลการทดลองการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะแบบกะใน BCPBR ที่ได้กล่าวไปแล้วในหัวข้อที่ 4.4.1 พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงไป 6 วัน พบว่ามีปริมาณของไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมคงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ตามเกณฑ์มาตรฐาน ดังนั้นจึงกำหนดให้มีเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่าย โดยเทน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ออกจากระบบด้วยปริมาณ 5 L และเติมน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่เตรียมไว้ใหม่ใน BCPBR อีก 5 L เพื่อให้มีปริมาตรของเหลวในระบบเท่ากับ 10 L ทำเพาะเลี้ยงต่อไปและเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่ายรวมทั้งเติมน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ทุก 6 วัน อีกจำนวน 3 รอบ รวมระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเท่ากับ 24 วัน (คิดเป็น 4 รอบการเพาะเลี้ยง) ภาพที่ 4.20 แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์จุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่องใน BCPBR โดยในวันแรกของการเพาะเลี้ยงมีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 ($6.63 \times 10^6 \pm 0.15 \times 10^6$ cell/mL) และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในวันที่ 6 มีปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น $19.67 \times 10^6 \pm 0.19 \times 10^6$ cell/mL (มีปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวม

คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์น้อยกว่า 10 และ 1 mg/L ดังในภาพที่ 4.21 (ค) และภาพที่ 4.22) หลังจากเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่ายโดยถ่ายน้ำเสียชุมชนหลังเคราะห์ออกไป 5 L และเติมน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่เตรียมไว้เข้าไปใหม่ 5 L พบว่ามีปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงรอบที่ 2 เท่ากับ $4.13 \times 10^6 \pm 8.68 \times 10^5$ cell/mL ทำการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องต่ออีก 2 รอบ ๆ ละ 6 วัน พบว่ามีปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงรอบที่ 3 และ 4 เท่ากับ $2.13 \times 10^6 \pm 3.56 \times 10^5$ และ $1.13 \times 10^6 \pm 0.58 \times 10^5$ cell/mL ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าทุกรอบที่มีการเปลี่ยนน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์จะมีปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายที่เวลาเริ่มต้นลดลง ดังนั้นภายใต้ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 6 วัน เท่ากัน ๆ ในแต่ละรอบจึงทำให้มีปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงแต่ละรอบลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยมีปริมาณเท่ากับ $16.67 \times 10^6 \pm 0.33 \times 10^6$, $13.33 \times 10^6 \pm 0.19 \times 10^6$ และ $12.00 \times 10^6 \pm 0.33 \times 10^6$ cell/mL สำหรับการเพาะเลี้ยงในรอบที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ และมีค่า μ เท่ากับ 0.259, 0.285, 0.218 และ 0.271 day⁻¹ สำหรับการเพาะเลี้ยงในรอบที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ (โดยมีค่าเฉลี่ยของ μ ทั้ง 4 รอบการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 0.245 ± 0.028 day⁻¹ ซึ่งใกล้เคียงกับ μ ของการเพาะเลี้ยงแบบกะใน BCPBR) โดยก่อนการเปลี่ยนน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์แต่ละรอบ มีปริมาณของ TN และ TP คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้ง ดังแสดงในภาพที่ 4.21 (ก) — ภาพที่ 4.21 (ค) และภาพที่ 4.22 (ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพในการกำจัด TN จะมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 56.00 ± 0.14 และ TP มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 83.13 ± 0.51 เมื่อพิจารณาค่าซีโอดีของน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ พบว่าเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในแต่ละรอบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้ง (น้อยกว่า 100 mg/L) ดังแสดงในภาพที่ 4.23 และตารางที่ 4.7 ดังนั้นเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายแบบกึ่งต่อเนื่อง 24 วัน (4 รอบ) จะสามารถเพิ่มความสามารถในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ได้ 20 L (รอบละ 5 L) ซึ่งมากกว่ากรณีการบำบัดด้วยการเพาะเลี้ยงแบบกะถึง 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบ P_{overall} และ P_B ของการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่องดังแสดงในตารางที่ 4.8 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า P_{overall} ของการเพาะเลี้ยงทั้งสองสภาวะมีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย ในขณะที่ P_B ของการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่องมีน้อยกว่ากรณีที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ทั้งนี้เป็นผลมาจากการที่เซลล์ของจุลสาหร่ายที่เวลาเริ่มต้นการเพาะเลี้ยงแต่ละรอบมีปริมาณลดลง หลังจากที่ทำกรเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่ายออกไปร้อยละ 50 เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงแต่ละรอบ (ดังแสดงในภาพที่ 4.20) ดังนั้นถ้าเพิ่มรอบการเพาะเลี้ยงขึ้นไปเป็นรอบที่ 5 อาจทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัด TN และ TP ลดลง ถ้าไม่เพิ่มระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงให้นานกว่า 6 วัน ดังนั้นการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะกึ่งกะเพื่อกำจัด TN และ TP ควรกำหนดรอบการเพาะเลี้ยงประมาณ 4 รอบ จากนั้นให้เริ่มการเพาะเลี้ยงใหม่ โดยใช้ปริมาณจุลสาหร่ายที่มีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 หรือมีความเข้มข้นของเซลล์จุลสาหร่ายเท่ากับ 6.0×10^6 cell/mL โดยประมาณ

ตารางที่ 4.7 ประสิทธิภาพการกำจัด TN TP และซีโอดีของการเพาะเลี้ยงแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่อง

สภาวะการเพาะเลี้ยง	ประสิทธิภาพการกำจัด (ร้อยละ)		
	TN	TP	ซีโอดี
แบบกะ ^a	63.60	85.60	14.59
แบบกึ่งต่อเนื่อง ^b	56.00 ± 0.14	83.20 ± 0.51	28.23 ± 5.52

หมายเหตุ: ^a ประเมินวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง

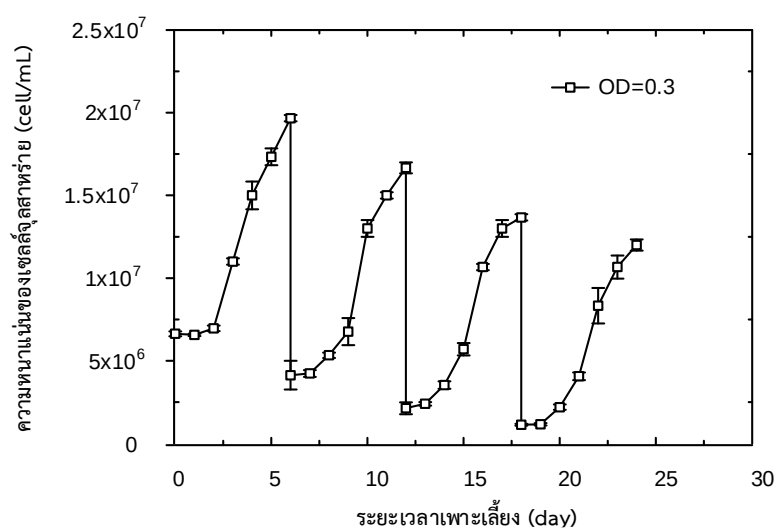
^b ประเมินจากค่าเฉลี่ยของการเพาะเลี้ยง 4 รอบ (รอบละ 6 วัน)

ตารางที่ 4.8 P_{overall} และ P_B ของการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายใน BCPBR

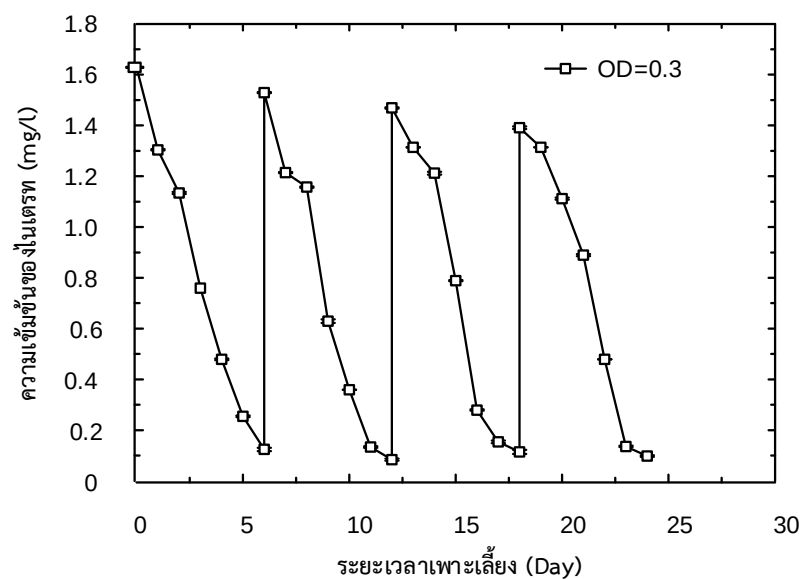
สภาวะการเพาะเลี้ยง	P_{overall} (cell/mL/day)	P_B (cell/mL/day)
แบบกะ ^a	2.12×10^6	2.61×10^6
แบบกึ่งต่อเนื่อง ^b	$2.00 \times 10^6 \pm 0.14 \times 10^6$	$2.15 \times 10^6 \pm 0.44 \times 10^6$

หมายเหตุ: ^a ประเมินวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง

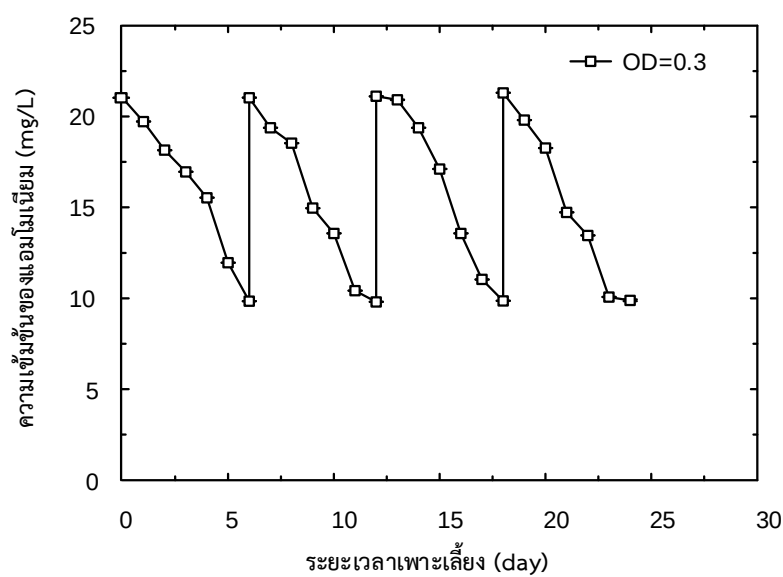
^b ประเมินจากค่าเฉลี่ยของการเพาะเลี้ยง 4 รอบ (รอบละ 6 วัน)



ภาพที่ 4.20 ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง

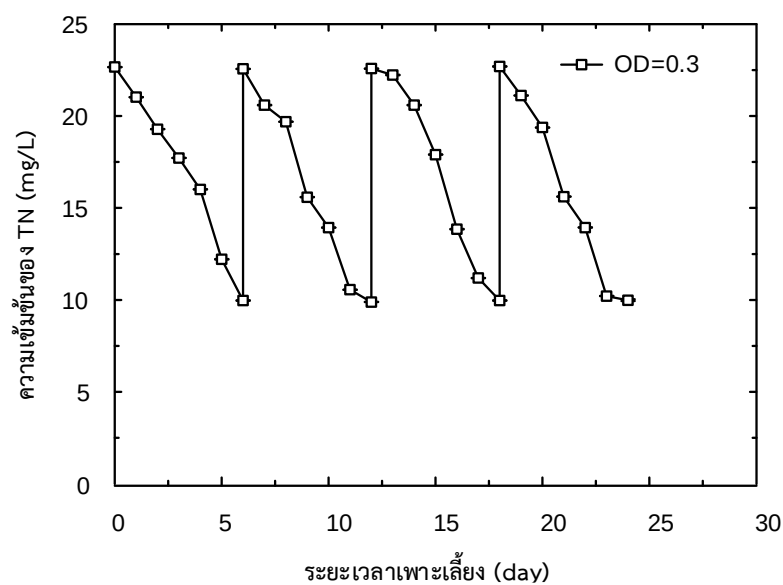


(ก) ความเข้มข้นของไนเตรทที่คงเหลือ



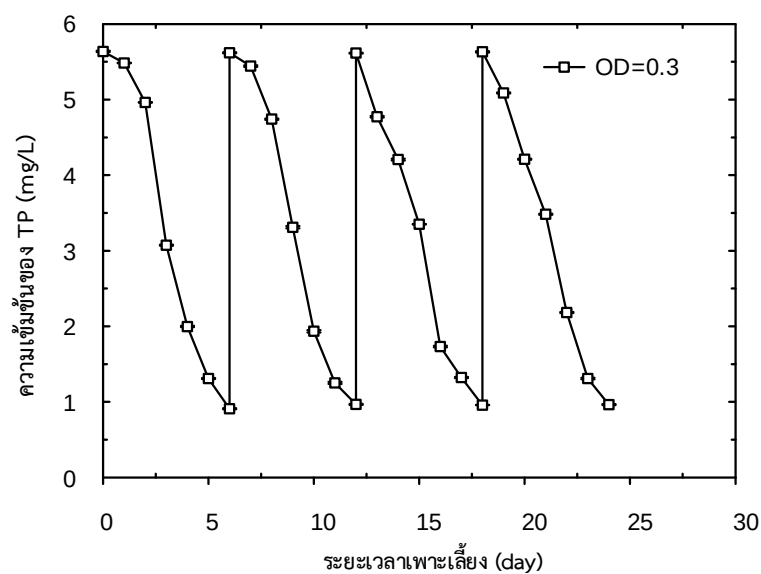
(ข) ความเข้มข้นของแอมโมเนียมที่คงเหลือ

ภาพที่ 4.21 ความเข้มข้นของไนเตรท แอมโมเนียม และ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง

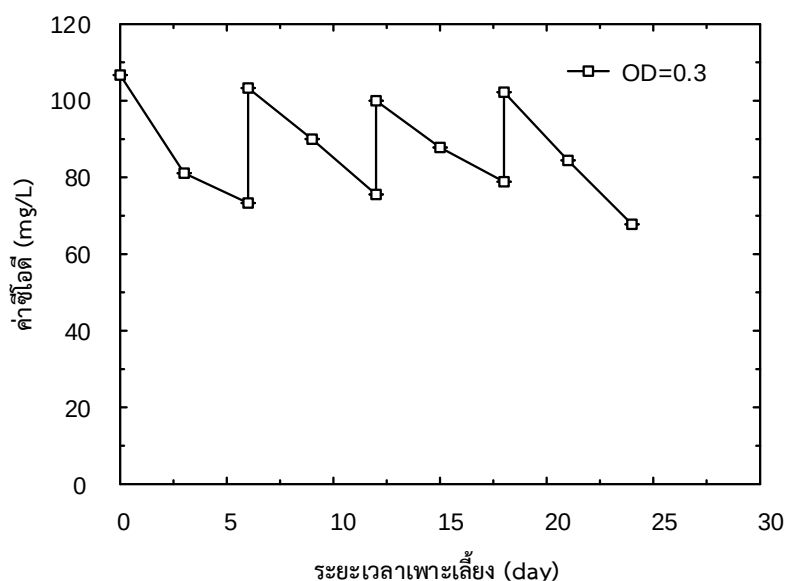


(ค) ความเข้มข้นของ TN ที่คงเหลือ

ภาพที่ 4.21 ความเข้มข้นของไนเตรท แอมโมเนียม และ TN ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง (ต่อ)

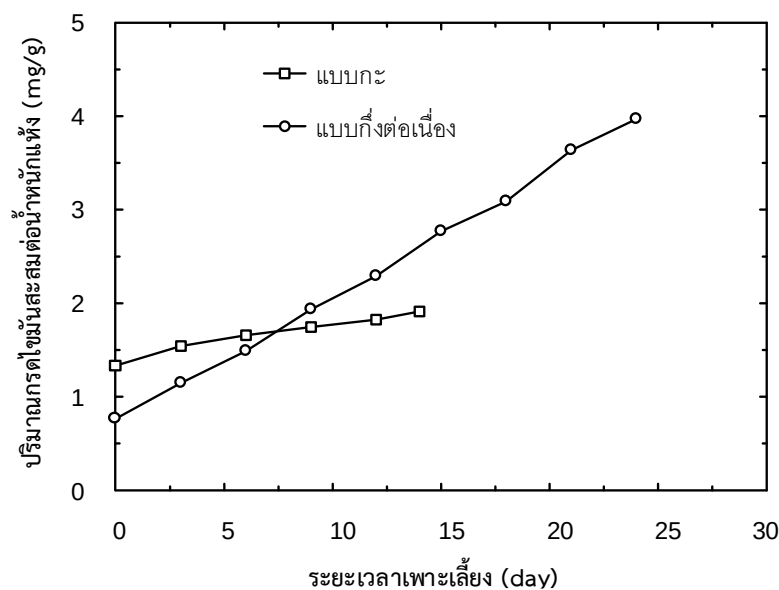


ภาพที่ 4.22 ความเข้มข้นของ TP ที่คงเหลือในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง



ภาพที่ 4.23 ค่าซีโอไซด์ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่อง

จากผลการทดลองที่ได้กล่าวถึงในหัวข้อที่ 4.2 – 4.4 จะพบว่าการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์นั้น แสดงให้เห็นว่าจุลสาหร่ายสายพันธุ์นี้มีศักยภาพที่จะนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียชุมชนในขั้นตอนสุดท้าย เพื่อกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมที่อยู่ในรูปแอมโมเนียมและไนเตรทและสารประกอบฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปฟอสเฟต โดยความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายพบว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่ออัตราการกำจัด TN และ TP ซึ่งการใช้ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายน้อยจะทำให้มีระยะที่ค่อนข้างเวลานานในการลดปริมาณ TN และ TP ในน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนฟิสิกส์ ทำให้มีประสิทธิภาพต่ำในการบำบัด ในขณะที่การใช้ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายมากเกินไปก็จะเป็นการไม่สามารถกำจัด TN และ TP ในน้ำเสียชุมชนได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากเกิดการบดบังแสงจากเซลล์จุลสาหร่าย ทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงไม่สามารถเกิดขึ้นได้อย่างทั่วถึงในระบบ ดังนั้นการประเมินหาความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เหมาะสมจึงมีความเป็นผลการทดลองที่กล่าวถึงในหัวข้อที่ 4.4.1 ซึ่งให้พบว่า BCPBR สามารถนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียชุมชนได้อย่างมีประสิทธิภาพถ้าหากจุลสาหร่ายถูกเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการศึกษาจลนศาสตร์การเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายในหัวข้อที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าสมการโลจิสติกเวอร์ฮอสต์ให้ผลการทำนายการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ได้ใกล้เคียงกับผลการเพาะเลี้ยงจริงในระยะทวีคูณ โดยเฉพาะกรณีที่ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายมีค่าไม่น้อยเกินไป อย่างไรก็ตามสมการ Luedeking-Piret-Like ที่ได้นั้นให้ผลทำนายผลการลดลงของ TN และ TP ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่ค่อนข้างแตกต่างจากผลการทดลอง ซึ่งแตกต่างจากรายงานวิจัยของ Ruiz et al. (2011) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของสายพันธุ์จุลสาหร่ายและสภาวะการเพาะเลี้ยง



ภาพที่ 4.24 ปริมาณกรดไขมันสะสมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะแบบกะ และแบบกึ่งต่อเนื่องใน BCPBR

โดยทั่วไปแล้วการบำบัดน้ำเสียชุมชนด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย จะได้ชีวมวลซึ่งเป็นเซลล์จุลสาหร่ายซึ่งมักจะนำไปทำเป็นปุ๋ย อย่างไรก็ตามประโยชน์ที่สำคัญอีกประการ คือ จุลสาหร่ายที่ได้ยังสามารถนำไปสกัดเอาน้ำมันที่อยู่ในเซลล์ โดยน้ำมันที่ได้นี้มีสมบัติเช่นเดียวกับน้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดพืชชั้นสูงซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเป็นไบโอดีเซล ภาพที่ 4.24 แสดงปริมาณกรดไขมันสะสมที่สกัดได้จากเซลล์จุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงใน BCPBR ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน และแบบกึ่งต่อเนื่อง 24 วัน ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่ามีปริมาณที่ค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมที่จะใช้จุลสาหร่ายเป็นแหล่งวัตถุดิบเพื่อเปลี่ยนให้เป็นการแหล่งพลังงานสำรองที่สำคัญ

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* ที่เพาะเลี้ยงในสารอาหารเหลวมาตรฐาน สูตร BG-11 มีลักษณะการเจริญเติบโตด้วยการแบ่งเซลล์จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของเซลล์จุลสาหร่ายซึ่งแบ่งได้เป็น 4 ระยะ โดยการเจริญเติบโตในระยะปรับตัวที่ค่อนข้างสั้นเพียง 1 – 2 วันแรกของการเพาะเลี้ยง จากนั้นเป็นการเจริญเติบโตในระยะที่วัฏศรมีช่วงเวลาประมาณ 6 – 8 วัน จึงเข้าสู่ระยะคงตัว 3 – 4 วัน และเข้าสู่ระยะตาย ซึ่งเป็นระยะที่จุลสาหร่ายมีอัตราการแบ่งเซลล์น้อยกว่าอัตราการตายของเซลล์ การที่จุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* มีช่วงเวลาการเจริญเติบโตในระยะที่วัฏศรมีค่อนข้างมาก ทำให้มีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้เพาะเลี้ยงเพื่อกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมที่คงเหลืออยู่ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่ส่วนประกอบหลักใกล้เคียงกับน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนทุติยภูมิ โดยการเจริญเติบโตในระยะที่วัฏศรมีนั้นจุลสาหร่ายจะใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในการแบ่งเซลล์ในปริมาณที่ค่อนข้างสูงมาก ดังนั้นเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์จึงสามารถลดปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสให้มีค่าที่เป็นไปตามมาตรฐานน้ำทิ้งได้ในระยะเวลาสั้น โดยที่ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์มีปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนรวม (แอมโมเนียมและไนเตรท) และฟอสเฟตรวมที่ค่อนข้างน้อยกว่าในสารอาหารเหลว BG-11 ทำให้ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายมีผลกระทบอย่างมากต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวม เมื่อความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายมีค่าน้อยจะทำให้มีปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายไม่เพียงพอทำให้ใช้ระยะเวลาที่ค่อนข้างมากในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมให้มีลดลงเหลือตามเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้ง ในขณะที่ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์ที่มากเกินไปจะทำให้มีเซลล์จุลสาหร่ายบางส่วนไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพเพราะเกิดสภาวะการบดบังแสงจากเซลล์จุลสาหร่าย และทำให้การลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมให้มีลดลงเหลือตามเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งต้องใช้ระยะเวลามาก การทดลองเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ภายใต้สภาวะแบบกะในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุด้วยน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ 500 ml พบว่าความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์ที่มี OD เท่ากับ 0.3 ($5.88 \times 10^6 \pm 0.29 \times 10^6$ cell/mL) นั้นมีความเหมาะสมมากที่สุดในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่มี OD เท่ากับ 0.1 ($2.81 \times 10^6 \pm 0.17 \times 10^6$ cell/mL) และ OD เท่ากับ 0.5 ($12.33 \times 10^6 \pm 2.03 \times 10^6$ cell/mL) โดยที่ OD เท่ากับ 0.3 จุลสาหร่ายสามารถกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ให้ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้ง โดยใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดเท่ากับ 6 วัน โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) เท่ากับ 0.237 day^{-1} ซึ่งเป็นค่าที่มากกว่ากรณี OD เท่ากับ 0.1 และ 0.5 ในการประเมินหาค่าพารามิเตอร์ μ_{max} ของแบบจำลองจลนศาสตร์การเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย

สำหรับกรณีที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1, 0.3 และ 0.5 พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.263, 0.655 และ 0.625 day⁻¹ ตามลำดับ โดยแบบจำลองจลนศาสตร์ให้ผลการทำนายการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับผลการทดลอง (ระยะทวีคูณ) เฉพาะกรณีที่ OD มีค่ามาก (0.3 และ 0.5) อย่างไรก็ตามแบบจำลองจลนศาสตร์ที่ได้นั้น ไม่สามารถทำนายการลดลงของเซลล์จุลสาหร่ายในระยะตายได้ นอกจากนี้แล้วการทำนายปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์โดยใช้ปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายที่ได้จากผลการทำนายโดยแบบจำลองจลนศาสตร์ในสมการ Luedeking-Piret-Like ให้ผลลัพธ์ที่ค่อนข้างแตกต่างจากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่าจุลสาหร่ายอาจมีการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในการเจริญเติบโตแตกต่างจากข้อสมมุติฐานของ Luedeking และ Piret นอกจากนี้แล้วอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของสายพันธุ์จุลสาหร่ายรวมทั้งสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในเครื่องปฏิกรณ์แบบ BCPBR ภายใต้สภาวะแบบกะเพื่อบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์โดยใช้ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 สามารถกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมได้มากถึงร้อยละ 98.8 และฟอสฟอรัสรวมร้อยละ 95.3 เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในวันที่ 14 ในขณะที่การเพาะเลี้ยงใน BCPBR ภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่องสามารถกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมเฉลี่ยร้อยละ 56.0 และฟอสฟอรัสรวมเฉลี่ยร้อยละ 83.2 (ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวมจะต่ำกว่ากรณีที่เพาะเลี้ยงแบบกะ แต่เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในแต่ละรอบการนั้นสามารถลดสารประกอบทั้ง 2 ชนิดให้มีปริมาณตามเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้ง) โดยการเพาะเลี้ยงใน BCPBR ภายใต้สภาวะแบบกึ่งต่อเนื่องมีค่าเฉลี่ยของ μ ที่ใกล้เคียงกับค่า μ ของจุลสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบกะเพียงเล็กน้อย และผลผลิตโดยรวมและผลผลิตแบบกะของการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะทั้ง 2 แบบ มีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าการขยายความสามารถในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์สามารถทำได้โดยเปลี่ยนสภาวะการเพาะเลี้ยงจากแบบกะเป็นแบบกึ่งต่อเนื่อง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 โดยผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* เพื่อจำกัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์นั้นมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสรวม ดังนั้นจึงควรทดลองใช้น้ำเสียชุมชนจริง (ที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนทุติยภูมิ)

5.2.2 ทำการทดลองเพิ่มเติมเพื่อหาสาเหตุที่เป็นข้อจำกัดในการทำนายจลนศาสตร์ของแบบจำลองการเจริญเติบโตตามสมการโลจิสติกเวอร์ฮอสต์ และแบบจำลองการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ตามสมการของ Luedeking-Piret

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

- จกมล พรหมยะ. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* เพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำจากบ่อบำบัดน้ำเสียหอพักนักศึกษา. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยแม่โจ้, 2544.
- ธีระพงษ์ บ้างบุญเรือง, ประวิทย์ คงจันทร์ และนุชนาถ แซ่มซ้อย. “ผลผลิตชีวมวลและประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายสไปรูลินา TISTR 8222”, วารสาร มฉก. วิชาการ. 19(37): 55-68; กรกฎาคม – ธันวาคม, 2558.
- นลินี ตัณทีกุล. พฤติกรรมทางด้านอุทกพลศาสตร์และการถ่ายเทมวลสารภายในถังสัมผัสแบบอากาศยกขนาดใหญ่ที่มีท่อภายในหลายท่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2547.
- ผกาวดี แก้วกันเนตร, วรุณี จุฬาลักษณ์นากุล และ Alec E. James. รายงานวิจัยเรื่องศักยภาพการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันที่ได้จากสาหร่าย. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, 2552.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. สาหร่ายวิทยา (Phycology). เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2546.
- ยุวดี พิรพรพิศาล และคณะ. รายงานวิจัยเรื่องการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบมิโซโทรฟิกเพื่อผลิตน้ำมันชีวภาพจากสาหร่าย. เชียงใหม่: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2554.
- ศุทธิณี วรรณสุทธิวัฒน์. การเจริญเติบโตและการเพิ่มผลผลิตแคนโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2557.
- A.O.A.C. **Official Methods of Analysis**. 17th ed. Washington, D.C.: The Association of Official Analytical Chemists., 2000.
- APHA (American Public Health Association). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 1998.
- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) and WEF (Water Environment Federation). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19thed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 1995.
- Arbib, Z. and et al. “Photobiotreatment: influence of nitrogen and phosphorus Ratio in wastewater on growth kinetics of *Scenedesmus obliquus*”, **International journal of phytoremediation**. 15(8): 774-788; September, 2013.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Arbib, Z. and et al. "Capability of different microalgae species for Phytoremediation processes Wastewater tertiary treatment, CO₂ bio-fixation and low cost biofuels production", **Water research**. 49: 465-474; February, 2014.
- Azov, Y. and Goldman, Joel C. "Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures", **Applied and environmental microbiology**. 43(4): 735-739; April, 1982.
- Bouaifi, M. and et al. "A comparative study of gas hold-up, bubble size, interfacial area and mass transfer coefficients in stirred gas-liquid reactors and bubble columns", **Chemical engineering and processing: Process intensification**. 40.(2): 97-111; February, 2001.
- Brennan, L. and Owende, P. "Biofuels from microalgae - a review of technologies for production, processing and extractions of biofuels and co-products", **Renewable and sustainable energy reviews**. 14(2): 557-577; February, 2010.
- Chen, F. "High cells density culture of microalgae in heterotrophic growth", **Trends In Biotechnology**. 14: 421-426, 1996.
- Chris, D. Thomas and et al. "Extinction risk from climate change", **Nature**. 427: 145-148; January, 2004.
- Deckwer, Wolf-Dieter and et al. "Hydrodynamic properties of the Fischer-Tropsch slurry process", **Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development**. 19(4): 699-708; October, 1980.
- Doran, Pauline M. **Bioprocess engineering principles**. 2nd ed. Cambridge: Academic Press, 1995.
- Grima, E. Molina and et al. "Photobioreactors: light regime, mass transfer and Scaleup", **Journal of biotechnology**. 70: 231-247; December, 1999.
- Griffith, M.J. and Harrison, S.T.L. "Lipid productivity as a key characteristic of Choosing algal species for biodiesel production", **Journal of Applied Phycology**. 21: 493-507; January, 2009.
- Isik, O. and et al. "Comparison of the fatty acid composition of the freshwater fish larvae Tilapia zillii, the rotifer Brachionus calyciflorus, and the microalgae Scenedesmus abundans, Monoraphidium minitum and Chlorella vulgaris in the algae-rotifer-fish larvae food chains", **Aquaculture**. 174(3-4): 299-311; April, 1999.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Javanmardian, Minoo and Palsson, Bernhard O. “High-density photoautotrophic algal cultures: Design, construction, and operation of a novel photobioreactor system”, **Biotechnology and bioengineering**. 38(10): 1182-1189; December, 1991.
- Kabir, F. and et al. “Nutrients utilization and biomass production by micrpalgae culture development in wastewater”, **International Journal of Biosciences**. 12(6): 460-469; June, 2018.
- Kaewpintong, K. and et al. “Photoautotrophic high-density cultivation of vegetative cells of *Haematococcus pluvialis* in airlift bioreactor”, **Bioresource Technology**. 98.(2): 288-295; January, 2007.
- Khoo, C.G., Lam, M.K. and Lee, K.T. “Pilot-scale semi-continuous cultivation of microalgae *Chlorella vulgaris* in bubble column photobioreactor (BC-PBR): Hydrodynamics and gas-liquid mass transfer study”, **Algal research**. 15: 65-76; April, 2016.
- Klochkova, T.A and et al. “Biology of a terrestrial green alga, *Chlorococcum sp.* (Chlorococcales, Chlorophyta), collected from the Miruksazi stupa in Korea”, **Phycologia**. 45(3): 349-358; April, 2006.
- Krichnavaruk, S. and et al. “Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor”, **Chemical Engineering Journal**. 105(3): 91-98; January, 2005.
- Krichnavaruk, S., Powtongsook, S. and Pavasant, P. “Enhanced productivity of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactors”, **Bioresource technology**. 98(11): 2123-2130; September, 2007.
- Kunyawut, C., Paopo, I. and Krommuang, A. “Development of a bubble column photobioreactor for microalgal culture”, **Burapha Science Journal**. 24(2): 471-488; April, 2019.
- Lam, M.K. and Lee, K.T. “Potential of using organic fertilizer to cultivate *Chlorella vulgaris* for biodiesel production”, **Applied energy**. 94:303-308; June, 2012.
- Liu, Jian-Zhong and et al. “A mathematical model for gluconic fermentation by *Aspergillus niger*”, **Biochemical engineering journal**. 14(2):137-141; May, 2003.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

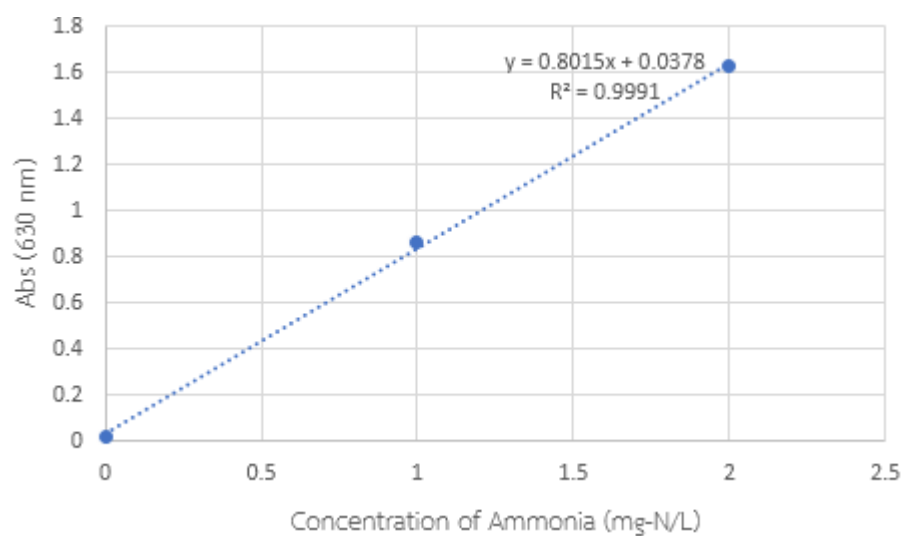
- Luedeking, R. and Piret, Edgar L. “Knetic study of the lactic acid fermentation: batch process controlled pH”, **Journal of Biochemical Microbiological Technology and Engineering**. 4: 231-241; December, 1959.
- Merchuk, J.C., Gluz, M. and Mukmenev, I. “Comparison of photobioreactor for cultivation of microalga *Porphyridium sp.*”, **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. 75(12): 1119-1126; November, 2000.
- Monkonsit, S., Powtongsook, S. and Pavasant, P. “Comparison between airlift photobioreactor and bubble column for *Skeletonema costatum* cultivation”, **Engineering Journal**. 15(4): 53-64; October, 2011.
- Monfet, E. and Unc, A. “Defining wastewaters used for cultivation of algae”, **Algal Research**. 24: 520-526; June, 2017.
- Redfield, A.C. “The biological control of chemical factors in the environment”, **American Scientist**. 46(3): 205-211; September, 1958.
- Rippka, R. and et al. “Generic assignment, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria”, **Journal of General Microbiology**. 111(1): 1-61; March, 1979.
- Ruiz, J. and et al. “Effect of nitrogen and phosphorus concentration on their removal kinetic in treated urban wastewater by *Chlorella Vulgaris*”, **International Journal of Phytoremediation**. 13(9): 884-896; June, 2011.
- Tam, N.F.Y. and Wong, Y.S. “The comparison of growth and nutrient removal efficiency of *Chlorella pyrenoidosa* in settled and activated sewages”, **Environmental Pollution**. 65(2): 93-108, 1990.
- Ugwu, C.U., Ogbonna, J.C. and Tanaka, H. “Light/dark cyclic movement of algal cells in inclined tubular photobioreactors with internal static mixers for efficient production of biomass”, **Biotechnology Letter**. 27: 75-78; January, 2005.
- Ugwu, C.U., Aoyagi, H. and Uchiyama, H. “Photobioreactors for mass cultivation of algae”, **Bioresource technology**. 99(10): 4021-4028, July, 2008.
- Vonshak, A. “Laboratory Techniques for the Culturing of Microalgae”, In **Handbook for Microalgal Mass Culture**. Richmond, A. Editor. Florida: CRC Press, 1986.
- Wang, H. and et al. “Ammonium nitrogen removal in batch cultures treating digested piggery wastewater with microalgae *Oedogonium sp.*”, **Water Science and Technology**. 68(2): 269–275, 2013.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

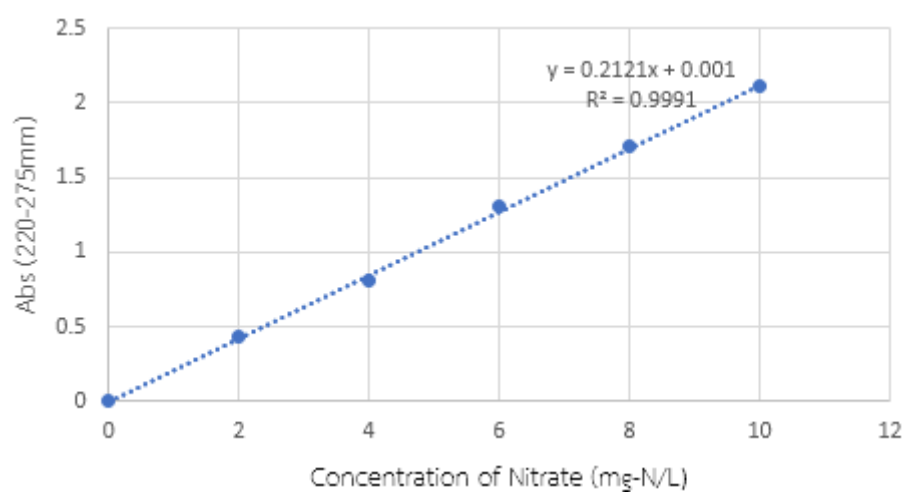
- Yang, Z. et al. “Effects of air bubble size on algal growth rate and lipid accumulation using fine-pore diffuser photobioreactors”, **Algal Research**. 32: 293-299; June, 2018.
- Zhang, D.H. and Lee, Y.K. “Enhanced accumulation of secondary carotenoids in a mutant of the green alga *Chlorococum sp.*”, **Journal of Applied Phycology**. 9: 459-463; October, 1997.
- Zhang, D.H. and et al. “Composition and accumulation of Secondary carotenoids in *Chlorococum sp.*”, **Journal of Applied Phycology**. 9(2): 147-155, 1997.

ภาคผนวก

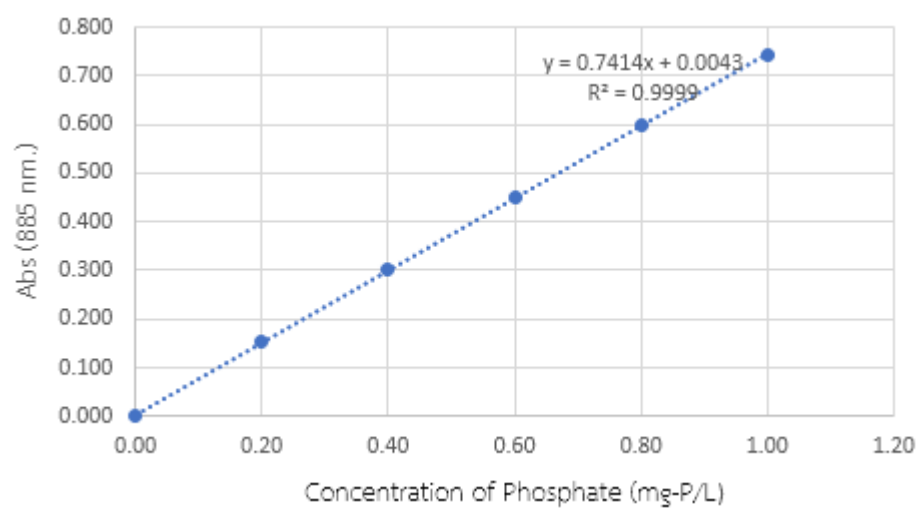
ภาคผนวก ก
กราฟมาตรฐาน



ภาพที่ ก.1 กราฟมาตรฐานสารละลายแอมโมเนีย



ภาพที่ ก.2 กราฟมาตรฐานสารละลายไนเตรท



ภาพที่ ก.3 กราฟมาตรฐานสารละลายฟอสเฟต

ภาคผนวก ข

สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลสาหร่าย และธาตุอาหารเสริม

สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลสาหร่าย และธาตุอาหารเสริม

1. BG-11 (Rippka et al., 1979)

สารประกอบ	ปริมาตร (g/L)
NaNO ₃	1.500
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0.040
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.075
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.036
Na ₂ CO ₃	0.020
Citric acid	0.006
Ferric ammonium citrate	0.006
EDTA (disodium salt)	0.001
Trace metal mix A ₅	1 มิลลิลิตร

2. Trace metal solution mix A₅ (Rippka et al., 1979)

ส่วนประกอบ	ปริมาตร (g/L)
H ₃ BO ₃	2.860
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.810
Na ₂ MoO ₄ ·4H ₂ O	0.390
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.079
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.050

ภาคผนวก ค
ผลงานการนำเสนอในงานวิชาการ

ผลกระทบของความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola*
ต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียชุมชน

An Effect of Initial Cell Density of Microalgae *Chlorococcum humicola* on
Treatment Efficiency of Domestic Wastewater

ณกรณ์ เทียงภักดี^๑ ฉัตรชัย กันยาวิธ และอิทธิศักดิ์ เกาโพธิ์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
nakonudon@gmail.com

บทคัดย่อ

การเลี้ยงจุลสาหร่ายเป็นแนวทางที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในการบำบัดน้ำเสียชุมชน โดยธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในน้ำเสียและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศโดยจุลสาหร่ายในการสังเคราะห์แสง โดยวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ ศึกษาผลกระทบของความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์น้ำจืดสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* เพื่อบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบหลักเช่นเดียวกับน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนทุติยภูมิ จุลสาหร่ายถูกเพาะเลี้ยงในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน รักษาอุณหภูมิของน้ำเสียสังเคราะห์ให้อยู่ในช่วง 28–32 °C และ pH ในช่วง 6.5–8.5 โดยปัจจัยที่ศึกษา คือ ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายที่มีค่าความขุ่นของเซลล์ (OD) ในช่วง 0.1–0.5 (จำนวนเซลล์ในช่วง $2.81 \times 10^6 \pm 0.17 \times 10^6$ – $12.33 \times 10^6 \pm 2.03 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ทำการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ที่มีปริมาตรน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ 500 มิลลิลิตร ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายมีอิทธิพลค่อนข้างมากต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์และที่ค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 ซึ่งมีปริมาณเซลล์ $5.88 \times 10^6 \pm 0.29 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร นั้นเป็นมีความเหมาะสมมากที่สุดในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์เนื่องจากสามารถลดปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสให้มีค่าตามเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งโดยใช้เวลาน้อยที่สุดเพียง 6 วัน

คำสำคัญ: น้ำเสียชุมชน จุลสาหร่าย ความหนาแน่นเริ่มต้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

Abstract

Cultivation of microalgae has been recognized as an environmentally friendly approach for domestic wastewater treatment. Nitrogen and phosphorus nutrient elements of the wastewater and carbon dioxide in the air can be treated by the microalgae via photosynthesis pathways. The aim of this work was to examine the effect of initial cell density of microalgae *Chlorococcum humicola* on the treatment efficiency of synthetic wastewater. The synthetic wastewater was prepared to match nutrient compositions of domestic wastewater obtained from the secondary treatment. The microalgae were checked single or plural cultivated under the batch condition for a period of 14 days while pH of the synthetic wastewater was maintained within a range of 6.5 – 8.5 at 28 – 32 °C. A factor studied was an initial density of cell (OD) varied from 0.1 to 0.5 ($2.81 \times 10^6 \pm 0.17 \times 10^6$ – $12.33 \times 10^6 \pm 2.03 \times 10^6$ cell ml⁻¹) which the microalgae cultivation was performed in a conical flask with the synthetic wastewater of 500 ml. The results revealed that the efficiency of synthetic wastewater treatment was highly influenced by the initial cell density. The initial cell density with an OD of 0.3 was the most suitable condition for reducing the amount of total nitrogen and phosphorus compounds to achieve the standard requirement of releasing wastewater for the shortest culture period of 6 days.

Keywords: Domestic wastewater, microalgae, Initial cell density, specific growth rate

บทนำ

การขยายตัวอย่างรวดเร็วของจำนวนประชากรที่อาศัยในชุมชนเมืองก่อให้เกิดน้ำเสียชุมชน (Domestic wastewater) ในปริมาณที่มากขึ้นในแต่ละปีและจำเป็นต้องทำการบำบัดก่อนปล่อยทิ้งสู่แหล่งธรรมชาติ โดยน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนทุติยภูมิ (Secondary treatment) นั้นมีสารประกอบของธาตุไนโตรเจน (N) ที่อยู่ในรูปของแอมโมเนียม (NH_4^+) ไนเตรต (NO_3^-) และไนไตรท์ (NO_2^-) และธาตุฟอสฟอรัส (P) ที่อยู่ในรูปออร์โธฟอสเฟต (PO_4^{3-}) คงเหลืออยู่โดยมีค่าของอัตราส่วนของ N:P ระหว่าง 12.1 - 56.4 มีความเหมาะสมที่จะนำมาบำบัดด้วยการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย (Monfret and Unc, 2017) จุลสาหร่ายสีเขียว (Green microalgae) เป็นพืชชั้นต่ำเซลล์เดียวมีคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นรงควัตถุ (Pigment) ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสงในการเจริญเติบโต การสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่ายเหล่านี้สามารถใช้แสงจากแหล่งธรรมชาติ (เช่น ดวงอาทิตย์) และแสงสังเคราะห์ (เช่น หลอดฟลูออเรสเซนต์) เป็นแหล่งพลังงาน ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งมีอยู่ในชั้นบรรยากาศเป็นแหล่งคาร์บอนและสามารถใช้สารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในน้ำเสียเป็นธาตุอาหารได้ จุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* เป็นจุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวที่พบได้ทั่วไปสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว คงทนต่อสภาวะความเป็นกรด-ด่างได้ในช่วง pH 6.0 - 8.4 และอุณหภูมิระหว่าง 28 - 34°C (ศุทธิณี วรรณสุทธิวัฒน์, 2554) การเลี้ยงที่ภายใต้สภาวะเหมาะสมนั้นสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่ายสายพันธุ์นี้เพื่อนำมาสกัดน้ำมันสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นไบโอดีเซลได้เนื่องจากมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันที่สกัดได้จากพืชชั้นสูง (Xu et al., 2006) นอกจากนี้แล้ว การใช้ CO_2 ในการสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่ายนั้นยังช่วยลดปริมาณก๊าซเรือนกระจก (Greenhouse gases) ที่สำคัญในชั้นบรรยากาศ และมีการปล่อยก๊าซออกซิเจนที่ได้จากการสังเคราะห์แสงเข้าสู่ชั้นบรรยากาศในเวลาเดียวกัน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลกระทบของความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* ต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบกะ (Batch cultivation)

วิธีดำเนินการวิจัย

จุลสาหร่าย

หัวเชื้อจุลสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* TISTR 8551 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) โดยนำมาเพาะขยายจำนวนเซลล์ในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเลี้ยงจุลสาหร่ายชนิดเหลวสูตรมาตรฐาน BG-11 (Boussiba and Vonshak, 1991) ผสมด้วยสารละลายธาตุอาหารเสริม (Trace metal solution, TMS) ปริมาณ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรของสารอาหารเหลว ปรับสภาวะความเป็นกรด-ด่างของสารอาหารเหลวให้มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.5 - 8.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ให้แสงสังเคราะห์สีขาวที่มีความเข้มของแสง 3,500 ลักซ์ รักษาอุณหภูมิการเลี้ยงไว้ที่ 28 - 32 °C ป้อนอากาศตลอด 24 ชั่วโมง และมีการเปลี่ยนถ่ายหัวเชื้อจุลสาหร่ายทุก 7 วันเพื่อขยายหัวเชื้อให้มีปริมาณที่เพียงพอ (ศุทธิณี วรรณสุทธิวัฒน์, 2557)

น้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

น้ำเสียชุมชนที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งมีองค์ประกอบหลักและความเข้มข้นใกล้เคียงกับน้ำเสียชุมชนที่ผ่านกระบวนการบำบัดในขั้นตอนทุติยภูมิ (Zouhayr et al., 2014) โดยมีความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของสารประกอบไนเตรต (NaNO_3) 1.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารประกอบแอมโมเนีย (NH_4Cl) 21.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ธาตุอาหารฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปของสารประกอบฟอสเฟต (K_2HPO_4) 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และผสมด้วย TMS ด้วยปริมาณ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรของของน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ ปรับสภาวะความเป็นกรด-ด่างของน้ำเสียสังเคราะห์ให้มีค่า pH ในช่วง 6.5 - 8.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยการนึ่งที่อุณหภูมิ 120 °C เป็นระยะเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นลงมาที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปเลี้ยงจุลสาหร่าย

การบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

นำหัวเชื้อจุลสาหร่ายที่ได้มาทำการเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ภายใต้สภาวะแบบกะเป็นเวลา 14 วัน ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ 500 มิลลิลิตร โดยเติมหัวเชื้อสาหร่ายที่มีค่าความขุ่นของเซลล์เริ่มต้น (Cell optical density, OD) เท่ากับ 0.1, 0.3 และ 0.5 เพื่อศึกษา OD ที่เหมาะสมสำหรับลดปริมาณสารประกอบของธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ ทำการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะเช่นเดียวกับการเพาะขยายจำนวนเซลล์จุลสาหร่าย โดยมีช่วงเวลาในการให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ที่ศึกษาทุก 24 ชั่วโมง โดยการวิเคราะห์หาความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายใช้วิธีการนับเซลล์โดยสไลด์นับเซลล์ (Haemocytometer) (ซจรเกียรติ ศรีนวลสม, 2561) และ OD ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry) ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเข้มข้นของสารประกอบไนโตรเจนในน้ำเสียสังเคราะห์วิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐาน 4500-NO₃⁻ B. Nitrogen (Nitrate) Ultraviolet Spectrophotometric Screening Method (APHA, 1999) ความเข้มข้นของสารประกอบแอมโมเนียและฟอสเฟตในน้ำเสียสังเคราะห์วิเคราะห์โดยใช้วิธีของ Strickland & Parson (1972) และค่าซีโอดี (Chemical Oxygen Demand, COD) วิเคราะห์โดยวิธีตามมาตรฐาน APHA (2005) พารามิเตอร์ทุกเทอมในช่วงต้นถูกนำมาวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นหาค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนด้วยวิธีมาตรฐานทางสถิติ โดยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของจุลสาหร่ายสามารถประเมินได้จากสมการที่ (1)

$$\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

โดยที่ μ คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของจุลสาหร่าย (วัน⁻¹) N_2 และ N_1 คือ ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่าย (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ที่เวลาเพาะเลี้ยง t_2 และ t_1 (วัน) ตามลำดับ การประเมินหา μ นั้นใช้ข้อมูลการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายในระยะทวีคูณ (Vaiçiulyte, 2014) และประสิทธิภาพในการกำจัดไนโตรเจนรวม (Total nitrogen, TN) และฟอสฟอรัสรวม (Total phosphorus, TP) ในน้ำเสียสังเคราะห์สามารถประเมินได้จากสมการที่ (2)

$$\% T_{NP} = \left(\frac{C_m - C_f}{C_m} \right) \times 100 \quad (2)$$

โดยที่ $\% T_{NP}$ คือ ร้อยละของการบำบัด TN หรือ TP ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ C_m และ C_f คือ ปริมาณของ TN และ TP ที่เวลาเริ่มต้นและเวลาสุดท้ายของการบำบัด

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

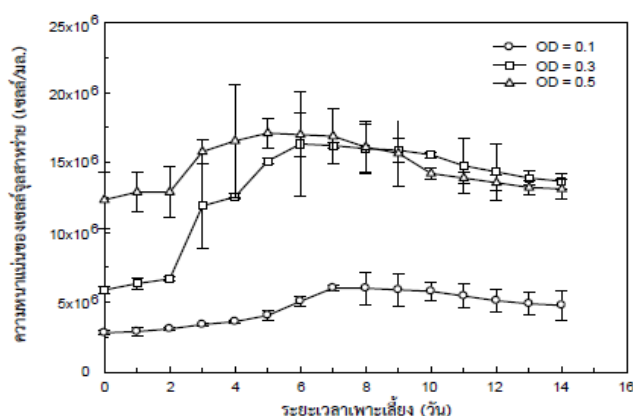
ผลกระทบของความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่าย

ภาพที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตโดยการแบ่งเซลล์ของจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* ที่เลี้ยงในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน พบว่าจุลสาหร่ายมีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นซึ่งมี OD เท่ากับ 0.1 ($2.81 \times 10^6 \pm 0.17 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) OD เท่ากับ 0.3 ($5.88 \times 10^6 \pm 0.29 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และ OD เท่ากับ 0.5 ($12.33 \times 10^6 \pm 0.03 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) นั้นมีการเจริญเติบโตเหมือนกันในระยะการปรับตัวในช่วง 2 วันแรก ในขณะที่การเจริญเติบโตในระยะทวีคูณนั้นมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยการเลี้ยงจุลสาหร่ายซึ่งมี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 มีระยะเวลาที่นานที่สุด 5 วัน (วันที่ 3-7) OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 มีระยะเวลา 4 วัน (วันที่ 3-6) และ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.5 มีระยะเวลาที่สั้นที่สุดเท่ากับ 3 วัน (วันที่ 3-5) จากนั้นจึงเข้าสู่การเจริญเติบโตในระยะคงตัว (Stationary phase) และระยะตาย (Death phase) เมื่อพิจารณาภาพที่ 1 พบว่าการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายที่มีค่า OD เริ่มต้นแตกต่างกันนั้นมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ที่เหมือนกันในช่วงการเจริญเติบโตในระยะทวีคูณ โดยที่ค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 นั้นมีความหนาแน่นของเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 7 เท่ากับ $6.02 \times 10^6 \pm 0.23 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 และ 0.5 นั้นมีความหนาแน่นของเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 6 และวันที่ 5 เท่ากับ $16.33 \times 10^6 \pm 3.79 \times 10^6$ และ $17.11 \times 10^6 \pm 1.07 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

การประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัย (Symposium) ระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 12

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

ตามลำดับ โดยการเลี้ยงที่มี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 นั้นมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) มากที่สุดเท่ากับ 0.224 วัน^{-1} ในขณะที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 นั้น μ มีค่าเท่ากับ 0.133 และ 0.094 วัน^{-1} ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (ดังแสดงในภาพที่ 2(ค) และ 3) ของจุลสาหร่ายในการเจริญเติบโตในช่วงวันที่ 3-7 โดยการเลี้ยงที่มีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 มีปริมาณของ TN และ TP คงเหลือในน้ำเสียน้อยกว่ากรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 เมื่อสิ้นสุดการเจริญเติบโตในระยะที่ควบคุมพบว่าการเลี้ยง OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.5 นั้นมีการลดลงของจำนวนเซลล์จุลสาหร่ายมากกว่ากรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 และ 0.1

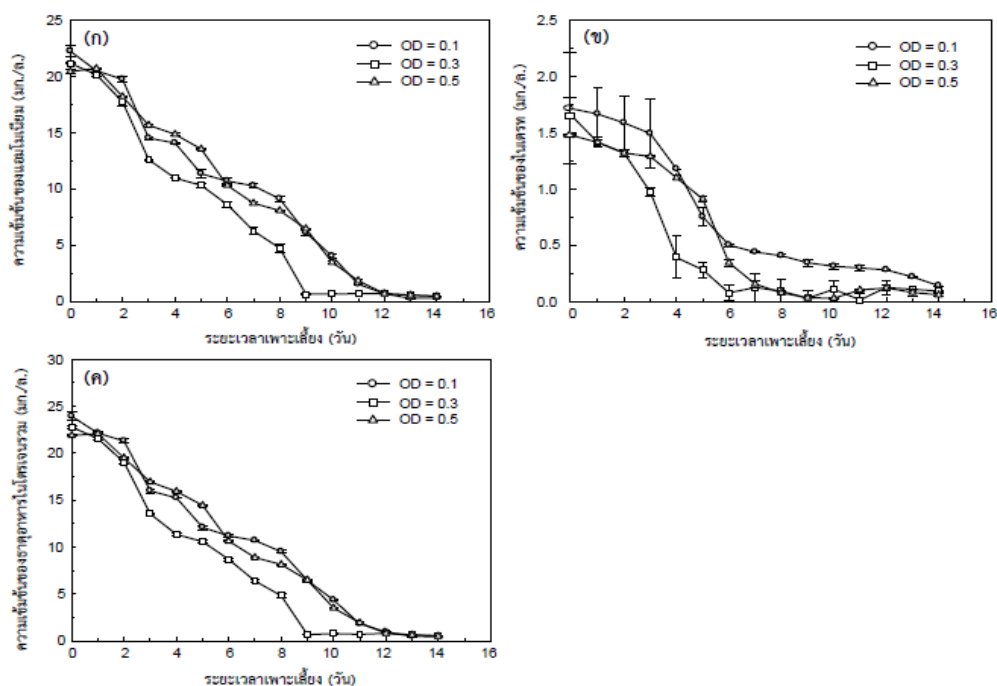


ภาพที่ 1 ความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียน้ำชุมชนสังเคราะห์ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน

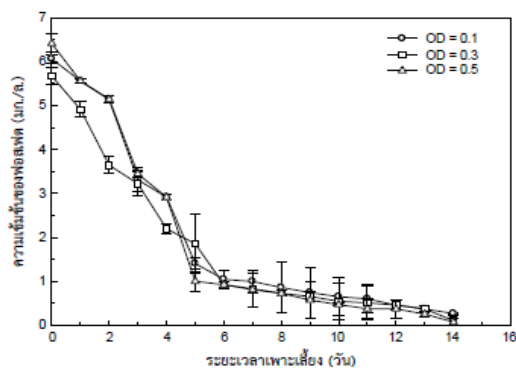
ประสิทธิภาพในการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัส

ภาพที่ 2(ก) – 2(ค) และภาพที่ 3 แสดงปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของแอมโมเนียม ไนเตรต ไนโตรเจนรวม และธาตุอาหารฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปฟอสเฟตที่คงเหลือในน้ำเสียน้ำชุมชนสังเคราะห์จากการเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ที่มีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นต่างกัน ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าการเลี้ยงที่มี OD เท่ากับ 0.3 นั้นมีการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนทั้งที่อยู่ในรูปแอมโมเนียมและไนเตรตมากกว่ากรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 เมื่อพิจารณาพร้อมกับการลดลงของปริมาณฟอสเฟตในน้ำเสียน้ำชุมชนสังเคราะห์ที่มากกว่าดังแสดงในภาพที่ 3 ในระหว่างวันที่ 2 – 5 นั้นชี้ให้เห็นว่าการเลี้ยงจุลสาหร่ายที่มีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 สามารถบำบัดน้ำเสียน้ำชุมชนสังเคราะห์ได้ดีกว่ากรณี OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.1 และ 0.5 เมื่อจุลสาหร่ายมีการเจริญเติบโตเข้าสู่ช่วงปลายของระยะคงตัวเมื่อสิ้นสุดวันที่ 9 นั้นมีปริมาณของธาตุอาหารไนโตรเจนรวม (แอมโมเนียมและไนเตรต) คงเหลือในน้ำเสียน้ำชุมชนสังเคราะห์เท่ากับ 0.678 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละของการบำบัด TN เท่ากับ 97.10) สำหรับกรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 และ 6.458 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละของการบำบัด TN เท่ากับ 72.64) และ 6.494 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละของการบำบัด TN เท่ากับ 70.34) สำหรับกรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ตามลำดับ สำหรับการบำบัดฟอสเฟตเมื่อสิ้นสุดวันที่ 9 พบว่ามีปริมาณของธาตุอาหารฟอสฟอรัส (ฟอสเฟต) ในน้ำเสียน้ำชุมชนสังเคราะห์เท่ากับ 0.652 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละของการบำบัด TP เท่ากับ 88.51) สำหรับกรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 และ 0.742 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละของการบำบัด TP เท่ากับ 87.46) และ 0.571 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละของการบำบัด TP เท่ากับ 91.10) สำหรับกรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าประสิทธิภาพในการบำบัดฟอสเฟตแตกต่างกันเล็กน้อย เมื่อพิจารณาค่าซีไอทีในน้ำเสียน้ำชุมชนสังเคราะห์พบว่ามีความลดลงเมื่อวันในการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับผลการบำบัดธาตุอาหารไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสโดยกรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 และ 0.5 มีการลดลงของค่าซีไอทีแตกต่างกันเล็กน้อย แต่มากกว่ากรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 ภาพที่ 5(ก) แสดงให้เห็นถึงสีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียน้ำชุมชนสังเคราะห์ที่มีค่า OD เริ่มต้น 0.1 – 0.5 ที่วันแรกของการเลี้ยง พบว่าสีเขียวของน้ำเสียน้ำชุมชนสังเคราะห์มีความเข้มมากขึ้นเมื่อค่า OD เริ่มต้นมีค่ามากขึ้น เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงในวันที่ 14 นั้นสีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียน้ำชุมชนสังเคราะห์ที่มีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.5 นั้นเปลี่ยนจากสีเขียวเข้มไปเป็นสีเขียวแกมเหลืองดังแสดงในภาพที่ 5(ข) ชี้ให้เห็นว่ามีการตายของเซลล์จุลสาหร่ายในปริมาณที่ค่อนข้างมาก ในขณะที่สีของเซลล์จุล

สำหรับในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ยังคงเป็นสีเขียวแต่มีความเข้มมากขึ้นชี้ให้เห็นว่ามีเซลล์ตายในสัดส่วนที่ค่อนข้างน้อย

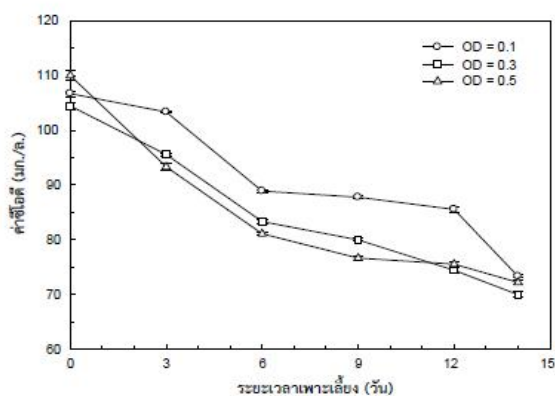


ภาพที่ 2 ความเข้มข้นของแอมโมเนียม ไนเตรท และธาตุอาหารไนโตรเจนรวม ที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

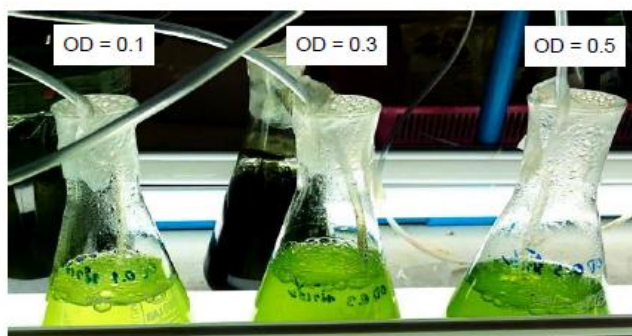


ภาพที่ 3 ความเข้มข้นของฟอสเฟตที่คงเหลือในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์

986



ภาพที่ 4 ค่าซีไอทีในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์



(ก) การบำบัดน้ำเสียด้วยจุลสาหร่ายวันเริ่มต้น (วันที่ 0)



(ข) การบำบัดน้ำเสียด้วยจุลสาหร่ายวันสุดท้าย (วันที่ 14)

ภาพที่ 5 สีของเซลล์จุลสาหร่ายในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่วันเริ่มต้นและวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง

ผลการเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน ดังแสดงในภาพที่ 1 – 5 แสดงให้เห็นว่าจุลสาหร่ายสายพันธุ์นี้สามารถลดปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียสังเคราะห์โดยเซลล์จุลสาหร่ายสามารถใช้เป็นธาตุอาหารในกระบวนการสังเคราะห์แสงได้ โดยธาตุอาหารไนโตรเจนนั้นใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนในกระบวนการแบ่งเซลล์ ในขณะที่ธาตุอาหารฟอสฟอรัสนั้นจุลสาหร่ายใช้เพื่อการสะสมพลังงานภายในเซลล์ในระหว่างที่มีการสังเคราะห์แสงโดยอยู่ในรูปของอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate, ATP) นิโคตินเอมไอดอะดีโนซีนไดนิวคลีโอไทด์ไตรฟอสเฟต (Nicotinamide adenosine dinucleotide phosphate, NADPH) ฯลฯ (Krichnavaruk et al., 2005) ซึ่งจุลสาหร่ายจำเป็นต้องใช้ธาตุอาหารทั้งสองชนิดควบคู่กันไปอย่างสมดุลจึงจะสามารถเจริญเติบโต (หรือบำบัดน้ำเสียชุมชน) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ หากมีปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการใช้ธาตุอาหารทั้งสองชนิดนี้ก็จะส่งผลกระทบต่อกระบวนการบำบัดน้ำเสียผ่านเกณฑ์คุณภาพน้ำทิ้งซ้ำกว่าที่ควรจะเป็น เมื่อพิจารณาการคงเหลือของธาตุอาหารไนโตรเจนรวมและฟอสเฟตในน้ำเสียสังเคราะห์ (ภาพที่ 2(ค) และภาพที่ 3) จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการใช้ธาตุอาหารทั้งสองชนิดในกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยการเลี้ยงจุลสาหร่ายที่มีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 นั้นสามารถลดลงของปริมาณไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสในช่วงวันที่ 3 – 9 ได้มากกว่ากรณี OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ทั้งนี้เป็นผลมาจากการที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 นั้นมีจำนวนเซลล์จุลสาหร่ายค่อนข้างน้อยไม่สอดคล้องกับปริมาณของไนโตรเจนรวมและฟอสฟอรัสในน้ำเสีย ในขณะที่การเลี้ยงจุลสาหร่ายซึ่ง OD เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.5 นั้นมีจำนวนเซลล์จุลสาหร่ายมากเกินไปส่งผลให้เกิดสภาวะการบดบังแสงของเซลล์จุลสาหร่าย (Self-shading) ทำให้เซลล์จุลสาหร่ายส่วนใหญ่ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับกรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า μ ของกรณีนี้มีค่ามากกว่ากรณี OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ถึง 1.68 เท่า และ 2.38 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์โดยพิจารณาจากจำนวนวันในการเลี้ยงจุลสาหร่ายที่สามารถลดไนโตรเจนรวมและฟอสเฟตในน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ให้มีปริมาณน้อยกว่า 10 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (เกณฑ์มาตรฐาน European Union Directive 98/15/CE, Zouhary, 2014) จะพบว่าที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.3 นั้นใช้เวลา 6 วัน ในขณะที่ OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 ต้องใช้เวลาเลี้ยงถึง 9 และ 7 วัน ตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย

สรุปผลการวิจัย

ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียชุมชนโดยมีผลต่อการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในการสังเคราะห์แสง การใช้ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์ที่มีค่าน้อยทำให้มีปริมาณของเซลล์ไม่เพียงพอทำให้ใช้ระยะเวลานานในการบำบัดน้ำเสีย ในขณะที่การใช้ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายมากเกินไปส่งผลให้มีแนวโน้มที่จะเกิดการบดบังแสงของเซลล์จุลสาหร่ายในระบบ ทำให้การสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่ายไม่สามารถดำเนินไปได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีเซลล์จุลสาหร่ายตายในเป็นจำนวนมากในระบบ ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียลดลงรวมทั้งใช้เวลานานในการบำบัดน้ำเสียชุมชน ในบำบัดน้ำเสียชุมชนสังเคราะห์ที่มีส่วนประกอบหลักและความเข้มข้นใกล้เคียงน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดในขั้นตอนสุดท้ายด้วยจุลสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum humicola* ภายใต้สภาวะแบบกะ 14 วัน ในขวดรูปชมพู่ที่มีปริมาตรน้ำเสียเท่ากับ 500 มิลลิลิตร นั้นความหนาแน่นของเซลล์จุลสาหร่ายที่เหมาะสม คือ OD เท่ากับ 0.3 ซึ่งมีปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายเท่ากับ $5.88 \times 10^6 \pm 0.29 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ข้อเสนอแนะ

ความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ที่เหมาะสมที่ได้จากงานวิจัยนี้อาจจะพิจารณานำไปใช้เป็นค่าความหนาแน่นเริ่มต้นของเซลล์จุลสาหร่ายในการขยายกำลังการบำบัดน้ำเสีย (Scale-up) ในระบบขนาดใหญ่ เช่น ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพใช้แสง (Photobioreactor)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนงบประมาณ บุคลากร เครื่องมือ และพื้นที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ขจรเกียรติ ศรีนวลสม. บทปฏิบัติการที่ 3 การวัดมวลชีวภาพและการเจริญเติบโตของสาหร่าย. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย. เชียงใหม่: คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้, 2561.
- ศุทธิณี วรรณสุทธิวัฒน์. การเจริญเติบโตและการเพิ่มผลผลิตแคนโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chlorococcum humicola* ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2557.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington, DC: American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, 1999.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington, DC: American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, 2005.
- Boussiba, S. and Vonshak, A. Astaxanthin Accumulation in the Green Alga *Haematococcus pluvialis*. **Plant and Cell Physiology**. 32, 7(1991): 1077-1082.
- Krichnavaruk, S., Loataweesup, W., Powtongsook, S. and Pavasant, P. Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor. **Chemical Engineering Journal**. 105, 3(2005): 91-98.
- Monfet, E. and Unc, A. Defining wastewaters used for cultivation of algae. **Algal Research**. 24, (2016): 520-526.
- Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R. **A practical handbook of seawater analysis**. Fisheries Research Board of Canada. Canada: Alger Press Ltd., 1972.
- Vaičiulyte, S., Padovani, G., Kostkeviciene, J. and Carozzi, P. Batch growth of *Chlorella vulgaris* CCA 896 versus semi-continuous regimen for enhancing oil-rich biomass productivity. **Energies**. 7, (2014): 3840-3857.
- Xu, H., Miao, X., and Wu, Q. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. **Journal of Biotechnology**. 126, 4(2006): 499-507.
- Zouhayr, A., Ruiz, J., Alvarez-Diaz, P., Garrido-Perez, C. and Perales, J.A. Capability of different microalgae species for phytoremediation processes: Wastewater tertiary treatment, CO₂ bio-fixation and low cost biofuels production. **Water Research**. 49, (2014): 465-474.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นายณกรณ์ เทียงภักดี
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2557 วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ที่อยู่ปัจจุบัน	639/203 ม.4 หมู่บ้านหรรษา ถนนอุดรบ้านเลื่อม ตำบลบ้านเลื่อม อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี 41000
Email	nakonudon@gmail.com