



การเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร



โดย
นายพงษ์เทพ กิจรุ่งโรจนานพร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจาก
โรงฆ่าสุกร



โดย
นายพงษ์ไพบูลย์ กิจรุ่งโรจนานพร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

GROWTH AND LIPID PRODUCTION OF *CHLORELLA VULGARIS* CULTURED IN
SWINE SLAUGHTERHOUSE WASTEWATER



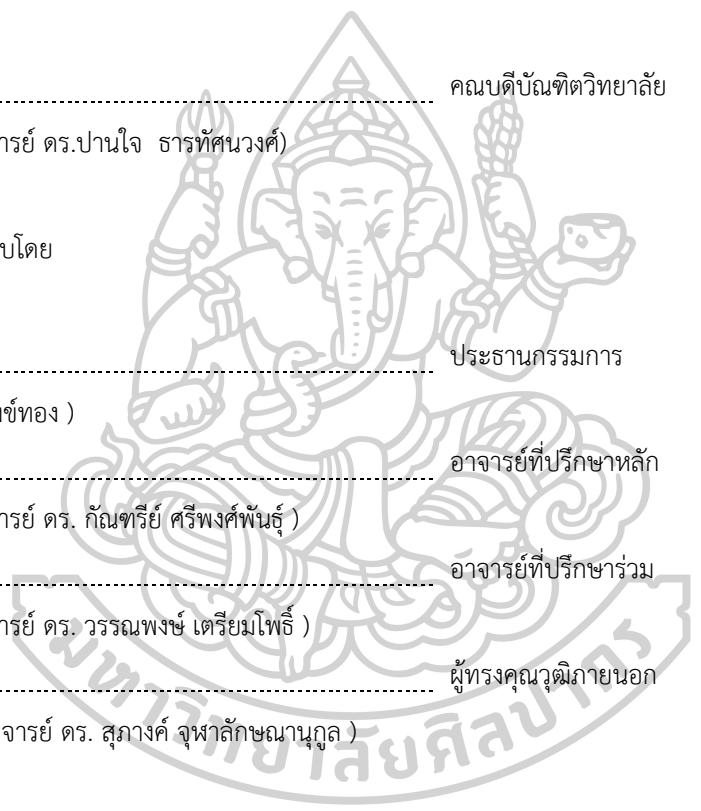
A Thesis Submitted in partial Fulfillment of Requirements
for Master of Science (ENVIRONMENTAL SCIENCE)
Department of ENVIRONMENTAL SCIENCE
Graduate School, Silpakorn University
Academic Year 2017
Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ การเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่
เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร
โดย พงษ์ผไท กิจรุ่งโรจนานพร
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผนก ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโท
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รองศาสตราจารย์ ดร. กัณฐิรีย์ ศรีพงศ์พันธุ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศน์วงศ์)

พิจารณาเห็นชอบโดย
..... ประธานกรรมการ
(ดร. ดาวรุ่ง สังกข์ทอง)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. กัณฐิรีย์ ศรีพงศ์พันธุ์)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณพงษ์ เตรียมโนธิ์)
..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภางค์ จุฬาลักษณ์านุกูล)



56311307 : วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโท

คำสำคัญ : การเจริญเติบโต/ เชื้อเพลิงชีวภาพ/ การกำจัดธาตุอาหาร/ *Chlorella vulgaris*/ น้ำทิ้งจากโรงฆ่าสัตว์

นาย พงษ์มไพ กิจรุ่งโรจนานพร: การเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รองศาสตราจารย์ ดร. กัญชารีย์ ศรีพงศ์พันธุ์

การวิจัยครั้งนี้ศึกษาการเจริญเติบโต การบำบัดธาตุอาหาร และการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรของบริษัทสามพรานสลดเทอร์แฮาส จำกัด จังหวัดนครปฐม ที่เจือจาง 3 ความเข้มข้น (ร้อยละ 75, 50 และ 25) ณ วันที่ 4 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการทดลองภายใต้หลอดไฟแบบ fluorescent ที่ 3,000 ลักซ์ ช่วงสว่าง : ช่วงมืด เท่ากับ 12 ชั่วโมง : 12 ชั่วโมง ที่ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียที่เจือจางที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด โดยมีความหนาแน่นเซลล์เป็น $8.51 \pm 2.77 \times 10^6$ เซลล์/มล. ซึ่งสามารถอธิบายได้อย่างดีด้วยแบบจำลองของ Gompertz ที่ดัดแปลงดังสมการ

$$y = 0.55 \cdot \exp \{ - \exp [(0.92 \cdot e / 0.55)(1.88 - t) + 1] \}$$

อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากประสิทธิภาพการกำจัดธาตุอาหารและการผลิตไขมันสุทธิ พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียที่ความเข้มข้น ร้อยละ 50 ให้ผลการทดลองดีที่สุด โดยสามารถกำจัดไนเตรตได้ร้อยละ 28.69 กำจัดฟอสฟอรัสทั้งหมดได้ร้อยละ 28.75 มีการผลิตไขมันได้ 15.2 มก./ มก.น้ำหนักแห้งของสาหร่าย และมีปริมาณไขมันร้อยละ 20.9 ดังนั้นสาหร่าย *Chlorella vulgaris* เป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถกำจัดธาตุอาหารจากน้ำเสียของโรงฆ่าสัตว์ และนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ

56311307 : Major (ENVIRONMENTAL SCIENCE)

Keyword : GROWTH/ BIOFUEL/ NUTRIENT REMOVAL/ CHLORELLA VULGARIS/ SWINE SLAUGHTERHOUSE WASTEWATER

MR. PONGPATAI KITRUNGLOADJANAPORN : GROWTH AND LIPID PRODUCTION OF *CHLORELLA VULGARIS* CULTURED IN SWINE SLAUGHTERHOUSE WASTEWATER
 THESIS ADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR GUNTAREE SRIPONGPUN

This research aimed to study the growth, nutrient removal and lipid content production of *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 in three dilutions (75%, 50% and 25%) of swine slaughterhouse wastewater from Samphran Slaughterhouse Limited Company in Nakhon Pathom, Thailand. The batch experiments were performed under 3,000 lux daylight fluorescent lamp, 12 hr light : 12 hr dark photoperiod, at 28±2°C. On the 4th day of the algal culture which was the end of the experiment, it was found that the algal cultured in the 25% effluent wastewater exhibited the highest growth production with the cell density of 8.51±2.77×10⁶ cells/ml. This can be well described by Modified Gompertz model as in the following equation.

$$y = 0.55 \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\left(\frac{0.92 \cdot e}{0.55} \right) (1.88 - t) + 1 \right] \right\}$$

However, considering not only the nutrient removal efficiency but also the net lipid production, the algae cultured in the 50% effluent wastewater indicated the best results, i.e. 28.69% nitrate removal, 28.75% total phosphorus removal, lipid production of 15.2 mg/ mg dry weight of algal cells, and 20.9% Lipid Content. Therefore, *Chlorella vulgaris* can potentially be applied as an alternative for nutrient removal from swine slaughterhouse wastewater as well as biofuel production.

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. กัณฐิรีย์ ศรีพงษ์พันธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และรองศาสตราจารย์ ดร.วรรณพงษ์ เตรียมโพธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาช่วยเหลือในการทำวิจัย และการให้คำแนะนำในทุกขั้นตอนของกระบวนการทำวิจัย ตั้งแต่การคิดหัวข้อวิจัย การวางแผนการวิจัย การเก็บข้อมูล ไปจนถึงการวิเคราะห์ผล สรุปผลการวิจัย และการให้คำปรึกษาในการเขียนรูปเล่มวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ปทุมพร เมืองพระ อาจารย์พิเศษประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นรินทร์ ญัฐวุฒิ อาจารย์ประจำภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมคิด อมรสमानกุล อาจารย์ประจำภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และดร. อาทร นกแก้ว อาจารย์ประจำสถาบันนวัตกรรมการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภาวงศ์ จุฬาลักษณ์านุกูล อาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และดร. ดาวรุ่ง สังข์ทอง อาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้คำแนะนำและช่วยชี้แนะเพื่อให้สามารถปรับแก้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านฟิสิกส์ (ThEP) ที่สนับสนุนทุนการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณบริษัท สามพรานสล็อตเทอร์เฮาส์ จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่าง น้ำเสียในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ และทุกคนในครอบครัว ที่คอยเป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้

ผู้วิจัยหวังว่าผลการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงฆ่าสุกรเพื่อผลิตเป็นพลังงานทดแทน คุณความดีที่มีจากผลการวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้แก่ผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	2
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....	3
1.4 ขอบเขตการศึกษา.....	3
1.5 ขั้นตอนของการศึกษา.....	4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2.....	5
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์.....	5
2.2 ที่มาของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตสุกรชำแหละ.....	6
2.3 ปัญหาน้ำทิ้งจากโรงฆ่าสัตว์.....	7
2.4 <i>Chlorella vulgaris</i>	8
2.5 ระบบการเลี้ยงสาหร่าย แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ.....	12
2.5.1 การเลี้ยงระบบเปิด (Open Air System).....	12
2.5.2 การเลี้ยงระบบปิด (Close System).....	13
2.6 การเจริญเติบโตของสาหร่าย.....	15

2.6.1	ระยะปรับตัว (Lag Phase).....	15
2.6.2	ระยะเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential Phase).....	16
2.6.3	ระยะถดถอย (Phase of Declining Relative Growth).....	16
2.6.4	ระยะคงที่ (Stationary Phase).....	16
2.6.5	ระยะตาย (Death Phase).....	16
2.7	การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่าย.....	17
2.7.1	การนับเซลล์ (Cell Counting).....	17
2.7.2	การวิเคราะห์การกระจายของแสงหรือความขุ่น (Optical Density Measurement).....	17
2.7.3	การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง (Dry Weight Measurement).....	17
2.7.4	การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll Determination).....	17
2.8	ประโยชน์ของสาหร่าย.....	18
2.8.1	การลดปริมาณก๊าซ CO ₂	18
2.8.2	การลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส.....	19
2.8.3	การผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ สำหรับมนุษย์.....	20
2.8.4	เป็นอาหารสัตว์และอาหารเสริมสำหรับสัตว์.....	22
2.8.5	การผลิตไบโอดีเซล.....	23
2.9	ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตไขมันของสาหร่าย.....	24
2.9.1	ปัจจัยทางกายภาพ.....	24
2.9.1.1	ความยาวคลื่นแสง.....	27
2.9.1.2	ความเข้มแสง.....	28
2.9.1.3	ช่วงระยะเวลาการได้รับแสง.....	28
2.9.1.4	อุณหภูมิ.....	29
2.9.2	ปัจจัยทางเคมี.....	30
2.9.2.1	แหล่งคาร์บอนจากก๊าซ CO ₂	37

2.9.2.3 แหล่งไนโตรเจน.....	40
2.9.2.4 แหล่งฟอสฟอรัส.....	42
2.9.2.5 ความเป็นกรด-ด่าง (pH).....	43
2.10 แบบจำลอง Modified Gompert	44
2.10.1 เส้นโค้งการเจริญเติบโตเชิงเลขชี้กำลังแบบ exponential (Exponential Growth Curve).....	44
2.10.2 เส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ logistic (Logistic Growth Curve).....	45
2.10.3 เส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ Gompertz (Gompertz Growth Curve หรือ Gompertz Function).....	46
2.11 ความหมายของค่าทางคณิตศาสตร์สำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>C. vulgaris</i> TISTR 8580.....	48
2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	49
2.12.1 การใช้น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ในการเลี้ยงสาหร่ายชนิดต่าง.....	49
2.12.2 การเลี้ยงสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> ในน้ำเสียประเภทอื่น ๆ.....	49
2.12.3 ความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตไขมันของสาหร่าย กับ ระยะเวลาเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i>	56
2.12.4 แบบจำลอง.....	56
บทที่ 3	57
วิธีดำเนินการวิจัย	57
3.1 วัสดุ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	57
3.1.1 วัสดุที่ใช้ในการวิจัย.....	57
3.1.1.1 สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง	57
3.1.1.2 น้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง	57
3.1.1.3 วัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลอง.....	57

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	58
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย.....	58
3.2.1 การเตรียมสาหร่ายให้บริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลอง	58
3.2.2 การเตรียมน้ำเสีย และอาหารที่ใช้ในการทดลอง	61
3.2.2.1 การเตรียมน้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง.....	61
3.2.2.2 การเตรียมอาหาร TAP medium	61
3.2.3 การเตรียมชุดการทดลอง และสภาพการทดลองที่ใช้.....	61
3.2.3.1 ชุดทดสอบ.....	61
3.2.3.2 ชุดควบคุม.....	62
3.2.4 การดำเนินการทดลอง	62
3.3 แบบจำลอง Modified Gomperzt.....	63
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล	63
บทที่ 4	65
ผลการวิจัยและการวิจารณ์ผลการทดลอง.....	65
4.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> TISTR 8580	65
4.2 การเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำเสียในชุดการทดลองต่าง ๆ.....	67
4.3 การเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์บางชนิดสำหรับคุณภาพน้ำเสียของชุดการทดลองต่าง ๆ.....	68
4.4 น้ำหนักแห้งของเซลล์ และปริมาณ Lipid Content ของสาหร่าย <i>C. vulgaris</i> TISTR 8580.....	72
4.5 แบบจำลอง Modified Gompertz.....	72
บทที่ 5	76
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	76
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	76
5.2 ข้อเสนอแนะ	76
5.2.1 ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้.....	76

5.2.2 ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป..... 77

รายการอ้างอิง..... 78

ประวัติผู้เขียน..... 89



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 สมบัติของน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ที่ยังไม่ผ่านกระบวนการบำบัด.....	5
ตารางที่ 2 ปริมาณไขมันที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็กบางชนิด.....	9
ตารางที่ 3 สูตรที่ใช้ในการคำนวณคลอโรฟิลล์ และค่าการดูดกลืนแสงของ acetone, ethanol และ diethyl ether.....	18
ตารางที่ 4 สารเคมีที่สกัดได้จากสาหร่ายเพื่อทางการค้า.....	21
ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบปริมาณไขมันและพื้นที่ในการปลูกหรือเลี้ยง.....	23
ตารางที่ 6 ตัวอย่างปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตไขมันของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i>	25
ตารางที่ 6 ตัวอย่างปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตไขมันของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> (ต่อ).....	26
ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i>	31
ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> (ต่อ).....	32
ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> (ต่อ).....	33
ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> (ต่อ).....	34
ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> (ต่อ).....	35
ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> (ต่อ).....	36
ตารางที่ 8 แบบจำลอง Gompertz และแบบจำลอง Modified Gompertz.....	47

ตารางที่ 9 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	58
ตารางที่ 10 ค่า pH ของน้ำเสียในชุดการทดลองต่าง ๆ ก่อนและหลังการทดลอง.....	67
ตารางที่ 11 การเปลี่ยนแปลงค่า COD ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลอง.....	68
ตารางที่ 12 การเปลี่ยนแปลง TKN ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลอง.....	69
ตารางที่ 13 การเปลี่ยนแปลง NO ₃ ⁻ ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลอง.....	70
ตารางที่ 14 การเปลี่ยนแปลง TP ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลอง.....	71
ตารางที่ 15 น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย และปริมาณ Lipid Content ของสาหร่าย <i>C. vulgaris</i> TISTR 8580 ในอาหาร TAP, wc25, wc50 และ wc 75.....	72
ตารางที่ 16 ค่าพารามิเตอร์ของการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>C. vulgaris</i> TISTR 8580 ที่เลี้ยงในอาหาร TAP.....	73
ตารางที่ 17 ค่าพารามิเตอร์ของการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>C. vulgaris</i> TISTR 8580 ที่เลี้ยงในน้ำเสียที่ความเข้มข้น 25% (wc25).....	75



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แผนผังขั้นตอนการฆ่าและสุก.....	6
ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตสารชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	9
ภาพที่ 3 Organelle ต่าง ๆ ในเซลล์ <i>C. vulgaris</i>	11
ภาพที่ 4 การแบ่งเซลล์ระยะต่าง ๆ ของ <i>C. vulgaris</i>	12
ภาพที่ 5 การเลี้ยงในระบบเปิดเชิงพาณิชย์.....	13
ภาพที่ 6 การเลี้ยงในระบบปิดเชิงพาณิชย์ tubular photobioreactor.....	14
ภาพที่ 7 ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย.....	16
ภาพที่ 8 Transesterification ของ triglycerides.....	24
ภาพที่ 9 กราฟมาตรฐานการเจริญเติบโต.....	47
ภาพที่ 10 การแทนค่าทางคณิตศาสตร์ของแบบจำลอง Modified Gompertz.....	48
ภาพที่ 11 (a) ลักษณะภายนอก สาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> TISTR 8580	
(b) ลักษณะเซลล์สาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> TISTR 8580 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์...	57
ภาพที่ 12 วิธีดำเนินการวิจัยสรุป.....	60
ภาพที่ 13a ปริมาณความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย	
<i>C. vulgaris</i> TISTR 8580 ในอาหาร TAP.....	65
ภาพที่ 13b ปริมาณความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย	
<i>C. vulgaris</i> TISTR 8580 ใน wc25 wc50 และ wc75.....	65
ภาพที่ 14 ขนาดเซลล์ของสาหร่าย <i>C. vulgaris</i> TISTR 8580 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP, wc25	
wc50 และ wc75.....	67
ภาพที่ 15 แบบจำลอง Modified Gompertz เพื่ออธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย	
<i>C. vulgaris</i> TISTR 8580 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP.....	73
ภาพที่ 16 แบบจำลอง Modified Gompertz เพื่ออธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย	
<i>C. vulgaris</i> TISTR 8580 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียที่ความเข้มข้น 25% (wc25).....	74

ข้อจำกัดของระบบ iThesis ที่ผู้เขียนไม่สามารถแก้ไขได้เอง

ข้อจำกัดบางประการของการใช้งานระบบ iThesis ที่ผู้เขียนไม่สามารถแก้ไขได้อย่างอิสระ เหมือนกับการทำด้วยมือ (manual) ซึ่งสรุปไว้ดังแสดงในตารางข้างล่างนี้

หน้า	โดยระบบ	ที่ควรเป็น	เหตุผล
ปกใน ภาษาอังกฤษ	MR.	Mr.	ชื่อแรกของผู้แต่ง พิมพ์ด้วยตัวธรรมดา เฉพาะตัวอักษรตัวแรกเท่านั้นที่พิมพ์ตัวใหญ่ ดังนั้นควรเป็น Mr. จะเหมาะสมกว่า
	Pongpatai KITRUNGLOADJANAPORN	Pongpatai Kitrunloadjanaporn	ควรให้เป็นระบบเดียวกันกับการพิมพ์ชื่อแรกของผู้แต่ง และให้สอดคล้องกับที่ระบบพิมพ์ชื่อและนามสกุลอาจารย์ที่ปรึกษา ซึ่งอยู่ในหน้าเดียวกัน
	A Thesis Submitted in partial	A Thesis Submitted in Partial	เพื่อให้เป็นระบบเดียวกัน
	for Master of Science (ENVIROMENTAL SCIENCE)	for Master of Science (Environmental Science)	ชื่อสาขาและชื่อปริญญาควรพิมพ์ด้วยระบบเดียวกัน อีกทั้งที่ระบบทำ จะเหมือนเป็นการให้ความสำคัญที่สาขามากกว่าชื่อปริญญา ซึ่งไม่น่าจะถูกต้อง
หน้า ง. คำสำคัญ	Chlorella vulgaris	<i>Chlorella vulgaris</i>	ชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องต้องพิมพ์ด้วยตัวเอียง

หน้า	โดยระบบ	ที่ควรเป็น	เหตุผล
หน้า ง. ส่วนบนของ บทความย่อ ภาษาไทย	รองศาสตราจารย์ดร. กัญช ริย์ ศรีพงศ์พันธุ์	รองศาสตราจารย์ ดร. กัญชริย์ ศรีพงศ์พันธุ์	ไม่ควรแยกคำตรงชื่อ อ. ที่ปรึกษา ควรปิดให้อยู่ ด้วยกัน เป็น รองศาสตราจารย์ ดร. กัญชริย์ ศรีพงศ์พันธุ์
หน้า จ. Keyword	CHLORELLA VULGARIS	CHLORELLA VULGARIS	ชื่อวิทยาศาสตร์ต้อง พิมพ์ด้วยตัวเอียง
สารบัญ	Chlorella vulgaris	Chlorella vulgaris	ชื่อวิทยาศาสตร์ใน สารบัญทั้งหมดต้องพิมพ์ ตัวเอียง
หน้าที่ 2 บรรทัดที่ 4	ศิริภรณ์ ชื่นบาล & ฐปน ชื่น บาล	ศิริภรณ์ ชื่นบาล และ ฐปน ชื่นบาล	ชื่อภาษาไทยควรใช้ รูปแบบอ้างอิงที่เป็น ภาษาไทย
หน้าที่ 20 บรรทัดที่ 27	ผกาดี แก้วกันเนตร et al	ผกาดี แก้วกันเนตร และ คณะ	การอ้างอิงภาษาไทยใน เนื้อหา ควรเป็น ภาษาไทยทั้งหมด
หน้าที่ 22 บรรทัดที่ 12	ศิริภรณ์ ชื่นบาล and ฐปน ชื่น บาล	ศิริภรณ์ ชื่นบาล และ ฐปน ชื่นบาล	การอ้างอิงภาษาไทยใน เนื้อหา ควรเป็น ภาษาไทยทั้งหมด
อ้างอิง ภาษาอังกฤษ ในเนื้อหา	Massé and Mass (2000)	Massé & Mass (2000)	อ้างอิงในเนื้อหา and ควรแก้ไขเป็น & เพื่อให้ สอดคล้องกับระบบที่ใช้ ในบรรณานุกรม
อ้างอิง online จาก URL ในเว็บ ไซต์	อ้างอิง online จาก URL ในเว็บไซต์ เว้นที่ว่าง ด้านบนที่ต่อจาก Retrieved from แล้วมาตั้งต้นตรงบรรทัด ใหม่ ทั้ง ๆ ที่ด้านบนมีที่ว่างพอ	หากมีที่ว่างพอ ควรใส่ URL ต่อจาก Retrieved from เลย โดยควรตัดเท่าที่ที่ว่างมี แล้ว นำ URL ที่เหลือมาพิมพ์ต่อใน บรรทัดถัดไป	เพื่อให้มีความต่อเนื่อง และเหมาะสมยิ่งขึ้น

บทที่ 1

บทนำ

ในปี พ.ศ. 2559 มีการผลิตเนื้อสุกร 1.328 ล้านตันในประเทศไทย ซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2558 คิดเป็น 4.40% เนื่องจากราคาสุกรมีชีวิตหน้าฟาร์มมีราคาเพิ่มขึ้น ประกอบกับแรงหนุนจากตลาดการส่งออก (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559) โดยกระบวนการผลิตเนื้อสุกร 1 ตันจะก่อให้เกิดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตถึง 1.6-8.3 m³ (Y. Li, Horsman, Wang, Wu, & Lan, 2008) ซึ่งลักษณะของน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรมีปริมาณของของเสีย สารอินทรีย์ และธาตุอาหาร (เช่น nitrogen และ phosphorus) หลงเหลืออยู่ด้วย (Bustillo-Lecompte, Mehrvar, & Quiñones-Bolaños, 2016; Cassidy & Belia, 2005; Mittal, 2006; Zhan, Healy, & Li, 2009) แต่น้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรที่ผ่านกระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน ยังมีปริมาณสารอินทรีย์และธาตุอาหารหลงเหลืออยู่เกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนด (ค่ามาตรฐานกำหนดให้น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ chemical oxygen demand (COD) ไม่เกิน 120 mg/L TKN ไม่เกิน 100 mg/L) และต้องบำบัดด้วยวิธีอื่นต่อไป (Nardi de, Del Nery, Amorim, dos Santos, & Chimenes, 2011; กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2539) หากวิธีการกำจัดธาตุอาหารเหล่านี้ออกจากน้ำเสียโรงฆ่าสุกรไม่มีประสิทธิภาพ ปริมาณธาตุอาหารที่ตกค้างอยู่ในน้ำเสียอาจก่อให้เกิดปัญหา eutrophication ในแหล่งน้ำ ทำให้ระบบนิเวศเสียสมดุลและอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สุขภาพของมนุษย์ และเศรษฐกิจ เช่น การเกิด algal bloom ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง สัตว์น้ำตาย และการผลิตสารพิษจากสาหร่ายบางชนิด อีกทั้งการบำบัดธาตุอาหารโดยวิธีทางเคมี และทางกายภาพจะมีค่าใช้จ่ายทั้งในด้านพลังงานและสารเคมีที่ใช้ (Cai, Stephen, & Yebo, 2013; Christenson & Sims, 2011; Kundu, Debsarkar, & Mukherjaa, 2013) การบำบัดธาตุอาหารในน้ำเสียด้วยสาหร่าย ถือว่าเป็นตัวเลือกที่มีศักยภาพ ซึ่งนอกจากจะได้ชีวมวล (biomass) ของสาหร่ายแล้ว ยังสามารถลดต้นทุนการบำบัดน้ำเสียและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Norsker, Barbosa, Vermuë, & Wijffels, 2011) พลังงานที่มีศักยภาพและมีความเป็นไปได้สูงที่ส่งเสริมให้นำมาใช้ คือ ไบโอดีเซล ซึ่งมักผลิตมาจากน้ำมันพืช แต่ส่วนใหญ่ น้ำมันพืชมักใช้ปรุงอาหารหรือนำไปเป็นแหล่งพลังงานในส่วนผสมของอาหารสัตว์ ทำให้น้ำมันพืชมีราคาสูง สาหร่ายจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจที่เป็นไปได้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ อีกทั้งสาหร่ายมีประโยชน์ต่าง ๆ เช่น ช่วยลดปริมาณ CO₂ ที่ปนเปื้อนในอากาศ ในไอเสียจากโรงงาน หากใช้อากาศหรือไอเสียที่มี CO₂ มาเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเลี้ยงสาหร่าย เนื่องจากสาหร่ายจะใช้ CO₂ ในการเจริญเติบโต ลดคาร์บอนที่ละลายในน้ำ สามารถลดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสีย นอกจากนี้

ยังใช้เป็นอาหารเสริม เครื่องสำอาง ยา ส่วนผสมในขนม สีสผสมอาหารสำหรับมนุษย์ และใช้เป็นอาหารเสริมของสัตว์ (Aslan & Kapdan, 2006; Chisti, 2007; Mata, Martins, & Caetano, 2010; B. Wang, Li, Wu, & Lan, 2008; ผกาวดี แก้วกั้นเนตร, วราวุฒิ จุฬาลักษณ์านุกูล, & James, 2552; ศิราภรณ์ ชื่นบาล & ฐปน ชื่นบาล, 2553)

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สาหร่ายสามารถดึงสารอาหารจากน้ำเสียมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ จึงสามารถช่วยบำบัดและฟื้นฟูน้ำเสียด้วย อีกทั้งสาหร่ายยังสามารถนำมาผลิตเป็นพลังงานทดแทนได้ เนื่องจากสาหร่ายสามารถสังเคราะห์และสะสมไขมันมาก เช่น Hu et al. (2008) รายงานว่าสาหร่ายมีน้ำมันถึง 20-50% ของน้ำหนักแห้ง ตลอดจนไขมันที่ได้มีความเป็นกลาง อย่างไรก็ตาม พบว่าการนำสาหร่ายมาผลิตพลังงานทดแทนยังมีต้นทุนการผลิตที่มีราคาสูง ต้นทุนการผลิต เช่น แสงสว่างและการบำรุงรักษา ระบบ (คิดเป็น 57.14% ของต้นทุนการผลิต) อาหารสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย (คิดเป็น 33% ของต้นทุนการผลิต) การปรับอุณหภูมิและการปรับความดันให้เหมาะสมเพื่อให้ CO₂ ละลายในน้ำได้ดี (คิดเป็น 9.52% ของต้นทุนการผลิต) (Jaramillo, Naranjo, & Cardona, 2012) ซึ่งต้นทุนอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีถึง 33% อีกทั้งน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรที่ผ่านการบำบัดแล้วยังมีธาตุอาหารหลงเหลืออยู่ หากปล่อยทิ้งออกสู่แหล่งน้ำสาธารณะอาจส่งผลเสียต่าง ๆ

การวิจัยครั้งนี้จึงทดสอบนำน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรมาเพิ่มมูลค่าในการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ซึ่งเป็นสาหร่ายขนาดเล็ก ที่เลี้ยงง่าย มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และมีปริมาณไขมันถึง 14-30% โดยน้ำหนักแห้ง (Illman, Scragg, & Shales, 2000; Spolaore, Joannis-Cassan, Duran, & Isambert, 2006) ตลอดจนศึกษาการกำจัดธาตุอาหารในน้ำเสียภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา

1.2.1 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

C. vulgaris ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการ

1.2.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรต่อปริมาณการผลิตไขมันของสาหร่าย

C. vulgaris ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการ

1.2.3 เปรียบเทียบความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ระหว่างที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร กับที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว Tris-Acetate-Phosphate (TAP)

1.2.4 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรต่อประสิทธิภาพการลดธาตุอาหารเมื่อเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการ

1.2.5 แบบจำลองที่สามารถอธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการได้อย่างเหมาะสม

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้มีสมมติฐานดังนี้

1.3.1 ความเข้มข้นที่ต่างกันของน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรมีผลที่ต่างกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการ

1.3.2 ความเข้มข้นที่ต่างกันของน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรมีผลที่ต่างกันต่อปริมาณการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการ

1.3.3 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันที่ได้จากสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรที่ความเข้มข้นที่ต่างกันมีค่าแตกต่างจากค่าที่ได้จากสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในอาหารเหลว TAP ภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการ

1.3.4 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการสามารถอธิบายได้อย่างเหมาะสมด้วยแบบจำลอง

1.4 ขอบเขตการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้มีขอบเขตการศึกษาดังนี้

1.4.1 ศึกษาการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่เลี้ยงด้วยน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรสามพรานสลดเทอแฮร์สที่ความเข้มข้น 25%, 50%, 75% ภายใต้สภาพการทดลองที่กำหนด คือ ภายใต้แสง fluorescent (aquarium & plant) ขนาด 36 watt ความเข้มแสง 3,000 lux ที่ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ระยะเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด เต็มอากาศโดยผ่านตัวกรองอากาศ อัตราการไหลของอากาศ 0.4 vvm และสิ้นสุดการทดลองเมื่อสาหร่ายเข้าสู่ระยะ stationary ตลอดจนนำผลการทดลองด้านการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว TAP ภายใต้สภาวะการทดลองที่กำหนด

1.4.2 ศึกษาประสิทธิภาพการลดธาตุอาหารในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร เมื่อเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรสามพรานสลดเทอแฮร์สที่ความเข้มข้น 25%, 50%, 75% ภายใต้สภาพการทดลองที่กำหนด

1.4.3 สถานที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ คือ R&D Group of Biological and Environmental Physics มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จังหวัดนครปฐม

1.4.4 ทดสอบแบบจำลองที่สามารถอธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการได้อย่างเหมาะสม

1.4.5 สรุป และอภิปรายผลการวิจัย

1.5 ขั้นตอนของการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้มีขั้นตอนการศึกษา ดังนี้

1.5.1 ค้นคว้า สืบค้นข้อมูล และรวบรวมข้อมูลจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง

1.5.2 วางแผนการดำเนินงาน

1.5.3 ดำเนินการทดลองและทำการเก็บข้อมูล

1.5.4 นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์และเปรียบเทียบความสัมพันธ์

1.5.5 สรุป และวิเคราะห์ผลการศึกษา

1.5.6 เผยแพร่ผลการวิจัย

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยครั้งนี้

1.6.1 ทราบถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการ

1.6.2 ทราบถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรต่อปริมาณการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการ

1.6.3 ทราบถึงการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเทียบกับค่าที่ได้จากการเลี้ยงสาหร่ายดังกล่าวในอาหารเหลว TAP

1.6.4 ทราบถึงประสิทธิภาพการบำบัดธาตุอาหารในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรด้วยสาหร่าย *C. vulgaris* ภายใต้สภาวะที่กำหนด ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรในห้องปฏิบัติการ

1.6.5 ได้แบบจำลองที่สามารถอธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรภายใต้สภาวะที่กำหนดในห้องปฏิบัติการได้อย่างเหมาะสม อันจะเป็นแนวทางในการทำนายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris*

1.6.6 เพื่อเป็นข้อมูลเพิ่มเติมให้กับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์

ลักษณะน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ ส่วนใหญ่น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์มีองค์ประกอบหลัก คือ สารอินทรีย์ เช่น ไขมัน และ โปรตีน ที่เป็นอนุภาค และที่ละลายน้ำได้ แม้น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์จะผ่านกระบวนการบำบัดขั้นต้นแล้ว แต่ยังคงมีความสกปรกหลงเหลืออยู่ ทั้งในรูปของ biochemical oxygen demand (BOD) (จากปัสสาวะและมูลสัตว์) chemical oxygen demand (COD) total suspended solids (TSS) ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ ไขมัน ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สมบัติของน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ที่ยังไม่ผ่านการบำบัด

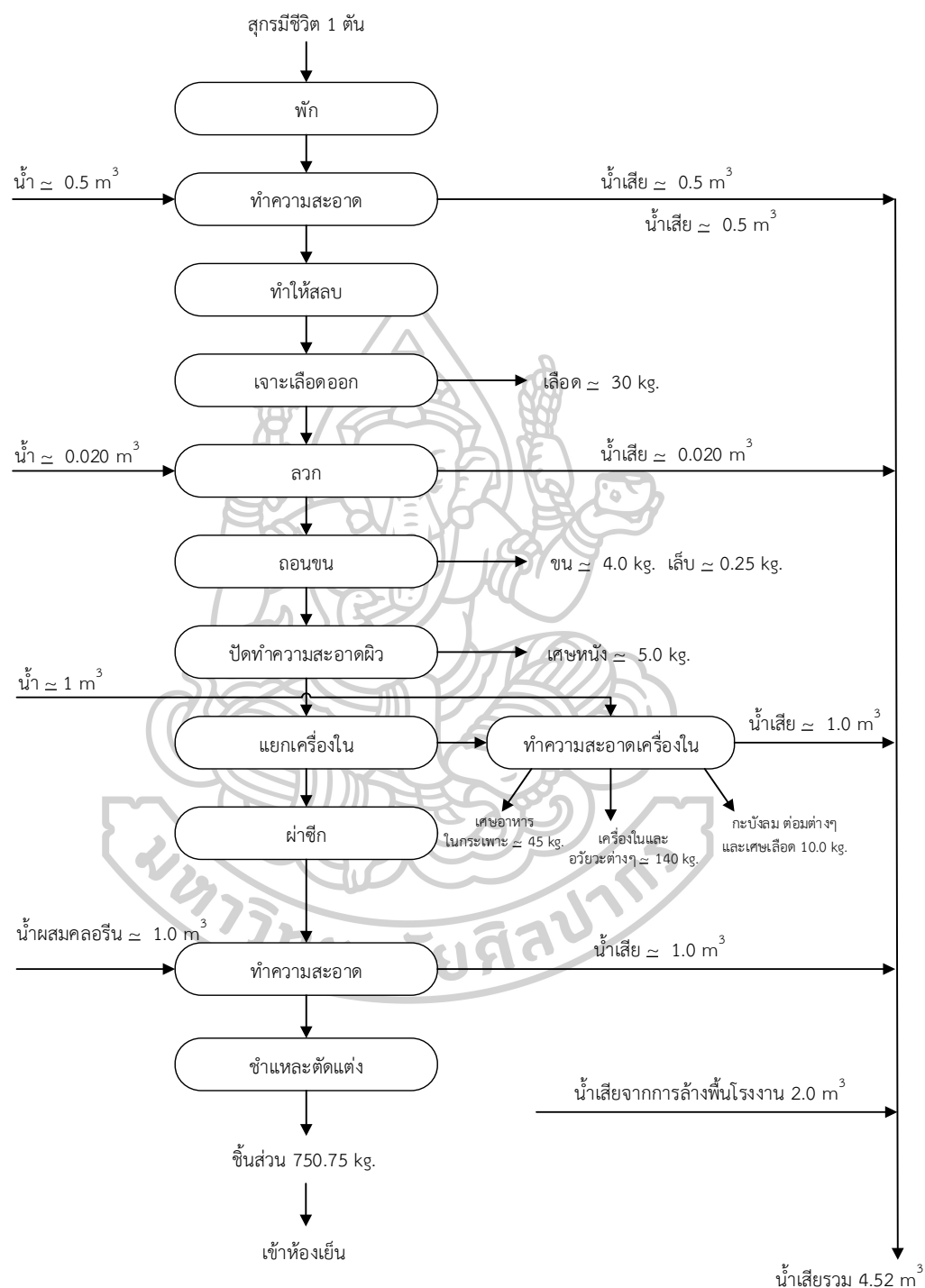
Parameters (mg/L)	Slaughterhouse Wastewater			
	a	b	c	d
Total COD (mg/L)	2,941	3,417	27,800	4,672
Soluble COD (mg/L)	1,510	1,250	N/A	N/A
BOD (mg/L)	N/A	N/A	16,680	N/A
Total solids (mg/L)	2,244	2,481	9,260	N/A
Volatile solids (mg/L)	1,722	1,846	5,575	N/A
Volatile fatty acids (mg/L)	197	175	N/A	N/A
Total Kjeldahl N (mg/L)	174	158	920	356
Ammonia-N (mg/L)	41	20	308	N/A
Total phosphorous (mg/L)	20	80	78	29
pH	6.7	6.5	6.9-7.1	N/A

หมายเหตุ: a,b ตัวอย่างน้ำเสียที่ยังไม่ผ่านการบำบัดจากโรงฆ่าสุกร 2 แห่ง ใน Quebec และ Ontario ประเทศแคนาดา ในช่วงปี ค.ศ. 1995-1996
c ตัวอย่างน้ำเสียที่ยังไม่ผ่านการบำบัดจากโรงฆ่าสัตว์ 1 แห่ง ที่ไหน N/A ในปี ค.ศ. 2013
d ตัวอย่างน้ำเสียที่ยังไม่ผ่านการบำบัดจากโรงฆ่าสัตว์ 1 แห่ง ในภาคตะวันตก ของ ประเทศไอร์แลนด์ ในปี ค.ศ. 2007
N/A หมายถึง ไม่มีข้อมูล

ที่มา: Massé and Mass (2000); J. P. Li, Healy, Zhan, and Rodgers (2008);
Sunder and Satyanarayan (2013)

2.2 ที่มาของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตสุรข้าแหละ

แผนผังขั้นตอนการข้าแหละสุกรแสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการข้าแหละสุกร

ที่มา: สำนักเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมโรงงาน กรมโรงงานอุตสาหกรรม (2541)

เมื่อถึงโรงฆ่าสัตว์ สุกจะถูกนำมาพักที่คอกพักสัตว์เพื่อลดความเครียดและทำการตรวจโรค ต่อมาสูกจะถูกทำให้หมดความรู้สึก แพลงคอปเพื่อนำเลือดออก โดยใช้สายยางนำเลือดออกจากแผลที่คอบรรจุลงภาชนะ หรือทิ้งให้เลือดสุกรไหลลงสู่ภาชนะโดยตรง เลือดที่รวบรวมได้จะนำไปส่งขายต่อไป ส่วนซากสุกรจะถูกแขวนไว้บนราวเพื่อเข้าสู่กระบวนการลวกซากและถอนขน ซากสุกรจะถูกทำความสะอาดอีกครั้งหนึ่ง และเข้าสู่กระบวนการชำแหละต่อไป แต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตจะมีปริมาณน้ำเสียที่แตกต่างกัน ปริมาณน้ำเสียต่อการชำแหละสุกรมีชีวิต 1 ton เท่ากับ 4.52 m³ (สำนักเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมโรงงาน กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2541) การศึกษาครั้งนี้ใช้น้ำเสียที่รวมจากกระบวนการต่าง ๆ ที่ใช้ในการแปรรูปสุกร และผ่านกระบวนการบำบัดแบบบ่อหมักก๊าซมาแล้ว

2.3 ปัญหาน้ำทิ้งจากโรงฆ่าสัตว์

น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์มีปริมาณไนเตรตสูง เมื่อทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติอาจทำให้เกิดปัญหาต่าง ๆ เช่น eutrophication ที่เกิดจากการที่แหล่งน้ำมีปริมาณธาตุอาหารมากเกินไป และส่งผลให้สาหร่ายเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ที่เรียกว่า algal bloom ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำ แหล่งอาหาร ที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำ และลดปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำ สาหร่ายบางชนิดสามารถผลิตสารพิษที่อาจฆ่าปลา หอย และสัตว์น้ำอื่น ๆ ที่เป็นอาหารของมนุษย์ ทำให้เกิดความเสียหายด้านเศรษฐกิจ รวมทั้งสารพิษที่สาหร่ายผลิตสามารถสะสมอยู่ในสัตว์น้ำที่เป็นอาหารของมนุษย์ ทำให้เจ็บป่วยเมื่อมนุษย์รับประทานเข้าไป (Anderson, Glibert, & Burkholder, 2002; Glibert, Anderson, Gentien, Granéli, & Sellner, 2005) สาหร่ายขนาดเล็กสามารถดูดซับไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียม หรือในรูปของไนเตรต เพื่อนำไปผลิตเป็นชีวมวล (Quiroz Arita, Peebles, & Gradley, 2015) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับความเป็นไปได้ในการใช้น้ำเสียจากชุมชนที่ผ่านกระบวนการบำบัดขั้นที่ 1 และขั้นที่ 2 น้ำเสียจากเกษตรกรรม และน้ำเสียจากโรงงาน มาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อผลิตพลังงาน (Pittman, Dean, & Osundeko, 2011) สาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถเจริญเติบโตในน้ำเสียและให้ปริมาณชีวมวลสูง คือ สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella* (Chia, Lombardi, & da Graça Gama Melão, 2013; Y. Li et al., 2011)

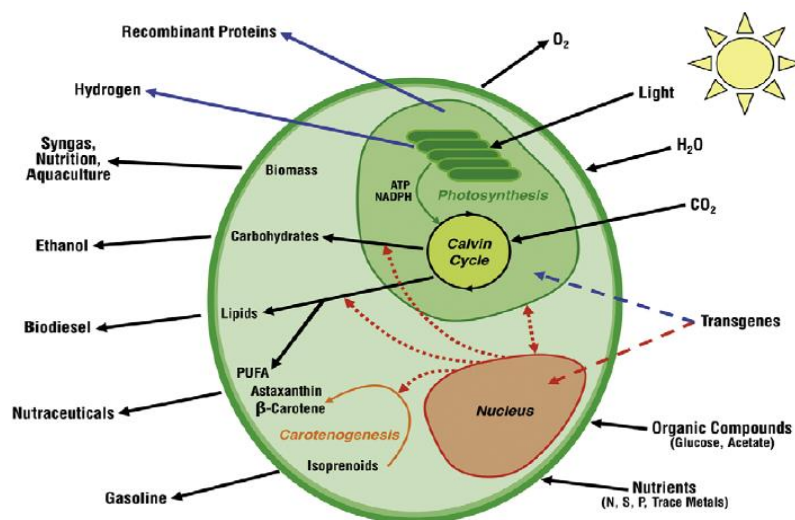
2.4 *Chlorella vulgaris*

ในปี ค.ศ. 1890 นักวิทยาศาสตร์ชาว Dutch ชื่อ Matinus Beijerinck ได้ค้นพบสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ซึ่งเป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่มี nucleus ที่ชัดเจน มีการจำแนกประเภทดังนี้ (Safi, Zebib, Merah, Pontalier, & Vaca-Garcia, 2014)

Domain: Eukaryota
 Kingdom: Protista
 Divison: Chlorophyta
 Class: Trebouxiophyceae
 Order: Chlorellales
 Family: Chlorellaceae
 Genus: *Chlorella*
 Specie: *Chlorella vulgaris*

C. vulgaris เป็นสาหร่ายขนาดเล็ก ที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูง โดยมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าหญ้า switchgrass (*Panicum virgatum*) (ซึ่งเป็นพืชบกที่มีการเจริญเติบโตเร็วที่สุด) ถึง 50 เท่า อีกทั้งการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กมีข้อดีหลายประการ เช่น (Y. Li, Horsman, Wu, Lan, & Dubois-Calero, 2008)

- (1) สาหร่ายขนาดเล็กมีอัตราการเจริญเติบโตสูง จึงสามารถตอบสนองต่อความต้องการใช้เชื้อเพลิงในพื้นที่ที่มีอยู่อย่างจำกัดบนพื้นดิน
- (2) อัตราการใช้น้ำน้อยกว่าการปลูกพืชทั่วไป
- (3) สาหร่ายขนาดเล็กสามารถทนสภาวะที่มี CO₂ ที่ความเข้มข้นสูง (15% CO₂) ได้ จึงสามารถลดก๊าซ CO₂ ในน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ
- (4) การเผาไหม้เชื้อเพลิงชีวภาพประเภทสาหร่ายขนาดเล็ก จะเกิดก๊าซไนตรัสออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่ำ (ปริมาณน้อยกว่า 45-60% เมื่อเทียบกับน้ำมันดีเซลปกติ) (Frank, Han, Palou-Rivera, Elgowainy, & Wang, 2012)
- (5) การเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กอาจจะให้ผลตอบแทนที่มีศักยภาพสูงกว่าการปลูกพืชชนิดอื่น อีกทั้งสาหร่ายขนาดเล็กสามารถผลิตสารชีวเคมีได้หลายชนิด (ภาพที่ 2) เช่น โพรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันที่สามารถนำมาใช้ผลิตเป็นไบโอดีเซล



ภาพที่ 1 กระบวนการผลิตสารชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก

ที่มา: Rosenberg, Oyler, Wilkinson, and Betenbaugh (2008)

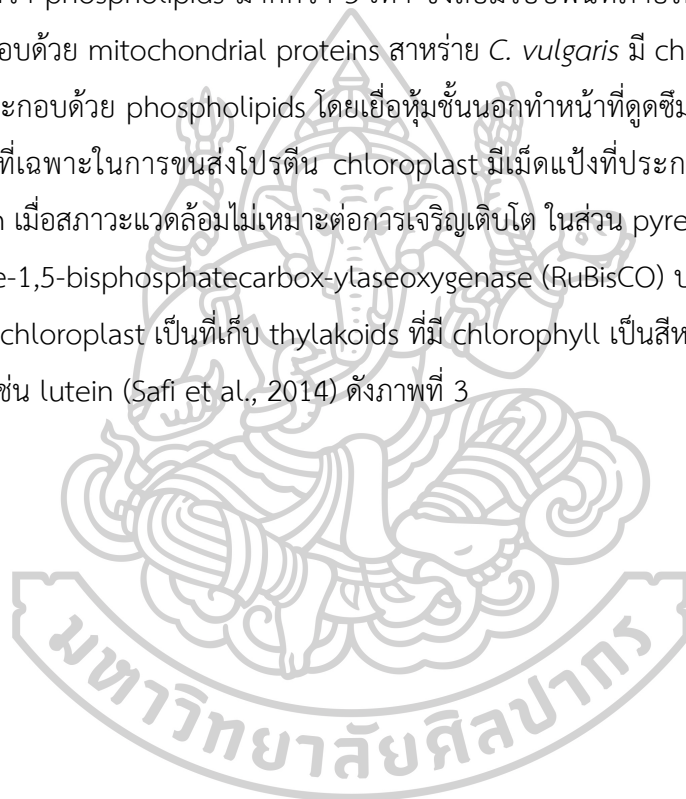
ปริมาณไขมันที่ได้จาก *Chlorella* sp. เมื่อเทียบกับสาหร่ายขนาดเล็กชนิดอื่น ๆ แสดงดังตารางที่ 2

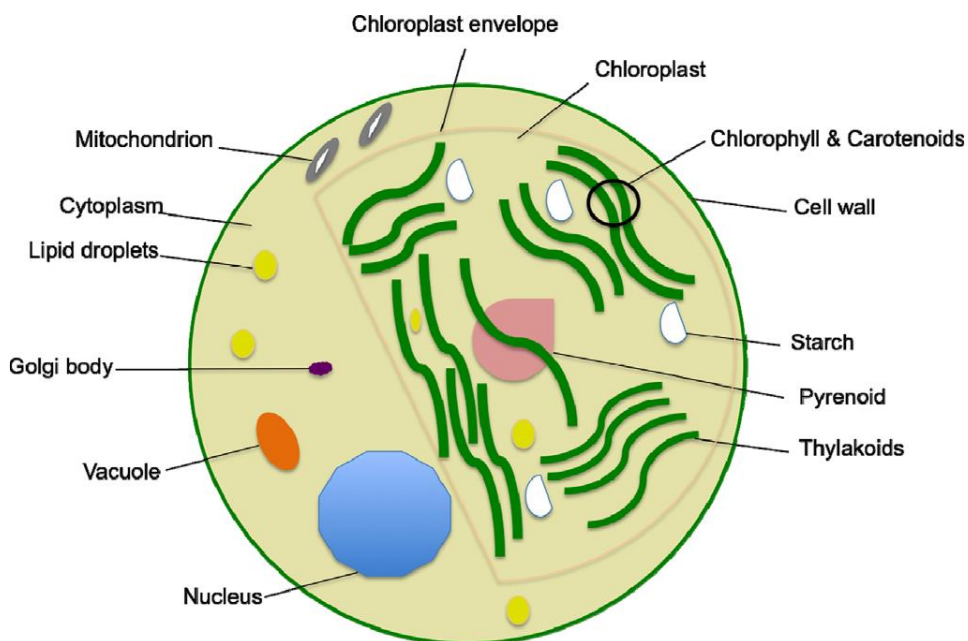
ตารางที่ 2 ปริมาณไขมันที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็กบางชนิด

สาหร่าย	เปอร์เซ็นต์ไขมันต่อน้ำหนักแห้ง
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chlorella</i> sp.	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16-37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25-33
<i>Monallanthus salina</i>	20
<i>Nannochloris</i> sp.	20-35
<i>Nannochloropsis</i> sp.	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia</i> sp.	45-47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Schizochytrium</i> sp.	50-77

ที่มา: Chisti (2007)

C. vulgaris เป็นสาหร่ายเซลล์เดี่ยว ทรงกลมขนาด 5-10 μm (Scragg, Morrison, & Shales, 2003) ที่มีองค์ประกอบหลายอย่างคล้ายกับพืช หลังสาหร่าย *C. vulgaris* แบ่งตัวเสรีจสมบูรณ์มีขนาด 17-21 nm (M. Yamamoto, Fujishita, Hirata, & Kawano, 2004) และที่ผนังเซลล์ชั้น microfibrillar มีลักษณะเหมือน chitosan ซึ่งประกอบไปด้วย glucosamine ความหนาของผนังเซลล์ไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของการเจริญเติบโตและสภาพแวดล้อม *C. vulgaris* มี mitochondria ที่มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น โดยเยื่อหุ้มชั้นนอกหุ้มล้อมรอบ organelle ซึ่งจะประกอบด้วย โปรตีน และ phospholipids ในอัตราส่วนที่เท่ากัน ส่วนเยื่อหุ้มชั้นในจะประกอบด้วยโปรตีนที่มีปริมาณมากกว่า phospholipids มากกว่า 3 เท่า ซึ่งล้อมรอบพื้นที่ภายในที่เรียกว่า matrix โดย matrix ประกอบด้วย mitochondrial proteins สาหร่าย *C. vulgaris* มี chloroplast 1 อัน ที่มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้นที่ประกอบด้วย phospholipids โดยเยื่อหุ้มชั้นนอกทำหน้าที่ดูดซึมสารและไอออน เยื่อหุ้มชั้นในทำหน้าที่เฉพาะในการขนส่งโปรตีน chloroplast มีเม็ดแป้งที่ประกอบด้วย amylose และ amylopectin เมื่อสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโต ในส่วน pyrenoid ของ chloroplast จะมี ribulose-1,5-bisphosphatecarbox-ylaseoxygenase (RuBisCO) ปริมาณมาก ซึ่งทำหน้าที่ตรึงก๊าซ CO_2 chloroplast เป็นที่เก็บ thylakoids ที่มี chlorophyll เป็นสีหลัก และมีการสังเคราะห์สีอื่น ๆ ด้วย เช่น lutein (Safi et al., 2014) ดังภาพที่ 3

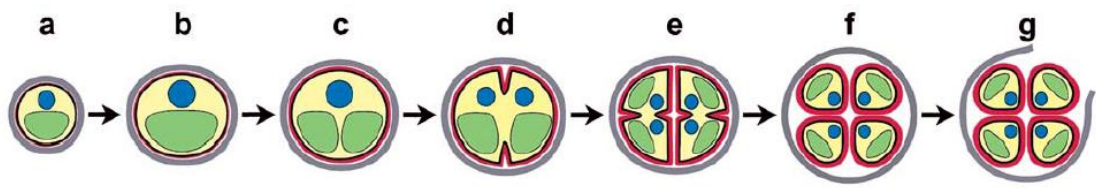




ภาพที่ 2 Organelle ต่าง ๆ ในเซลล์ *Chlorella vulgaris*

ที่มา: Safi et al. (2014)

สำหรับสาย *C. vulgaris* สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้าง autospore ภายใน เซลล์แม่ (mother cell) ใน autospore จะมีเซลล์ลูก (daughter cell) 2 หรือ 4 เซลล์ต่อหนึ่ง autospore แต่สามารถมีเซลล์ลูกได้ถึง 3, 4, 8, 16 หรือ 32 เซลล์ในหนึ่ง autospore (M. Yamamoto, Nozaki, Miyazawa, Koide, & Kawano, 2003) การแบ่งเซลล์แบ่งได้ 7 ระยะ ได้แก่ early cell growth phase, late cell growth phase, chloroplast dividing phase, first protoplast dividing phase, second protoplast dividing phase, autospore maturing phase และ hatching phase (M. Yamamoto et al., 2004) ดังภาพที่ 4 ขนาดของ autospore มีขนาด 5-7 μm (Nmcová & Kalina, 2000)



ภาพที่ 3 การแบ่งเซลล์ระยะต่าง ๆ ของ *C. vulgaris*

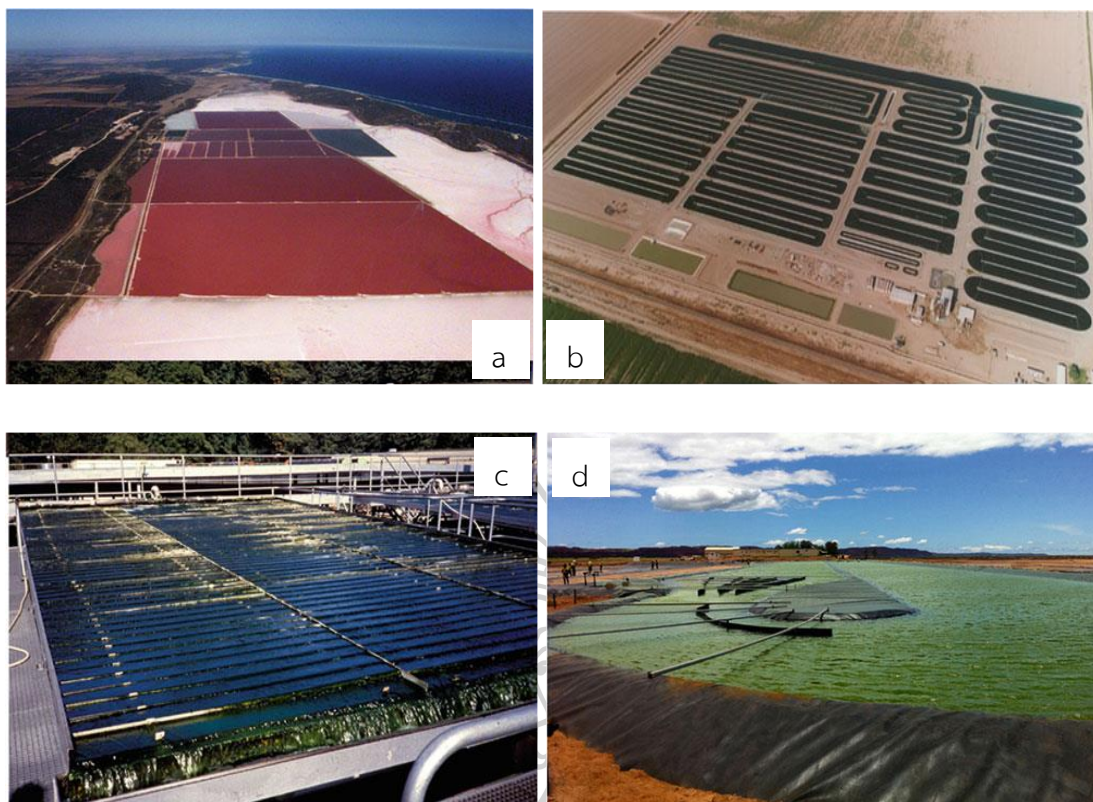
- (a) Early cell growth phase (b) Late cell growth phase
 (c) Chloroplast dividing phase (d) First protoplast dividing phase
 (e) Second protoplast dividing phase (f) Autospore maturing phase และ
 (g) Hatching phase เส้นสีอ่อนเป็นผนังเซลล์ของเซลล์แม่ และเส้นสีเข้มเป็นผนังเซลล์
 ของเซลล์ลูก

ที่มา: M. Yamamoto et al. (2004)

2.5 ระบบการเลี้ยงสาหร่าย แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

2.5.1 การเลี้ยงระบบเปิด (Open Air System)

การเลี้ยงสาหร่ายด้วยระบบเปิดเป็นการเลี้ยงในระดับขนาดใหญ่ โดยสาหร่ายจะสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมโดยตรง ระบบเลี้ยงแบบเปิดใช้ในการผลิตสาหร่ายในเชิงพาณิชย์ และใช้ในการบำบัดน้ำเสีย (M.A Borowitzka & Moheimani, 2013) สรุปการเลี้ยงระบบเปิดมี 4 แบบ ดังแสดงในภาพที่ 5 ได้แก่ shallow lagoons and ponds, sloping shallow cascade system, paddle wheel driven raceway ponds, lined raceway type pond with water jet



ภาพที่ 4 การเลี้ยงในระบบเปิดเชิงพาณิชย์

(a) shallow ponds, (b) sloping shallow cascade system,
(c) paddle wheel driven raceway ponds, (d) lined raceway type pond

ที่มา: M.A Borowitzka and Moheimani (2013)

การเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิดจะมีการหมุนวนของน้ำอยู่ตลอดเวลา หรือใช้ใบพัดในการกวนผสม แต่ระบบมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับ ชนิดสาหร่าย ราคาที่ดิน และ น้ำ ข้อดีของการเลี้ยงสาหร่ายระบบเปิด คือ ราคาถูก สามารถใช้พลังงานจากดวงอาทิตย์แทนการใช้แสงจากหลอดไฟ การเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิดสามารถทำในรูปแบบอุตสาหกรรม และง่ายต่อการขยายเชื้อสาหร่ายในระดับที่ใหญ่ขึ้น แต่ข้อเสียของการเพาะเลี้ยงระบบเปิด คือ การได้ปริมาณสาหร่ายน้อยกว่าทฤษฎี เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่ไม่สามารถควบคุมได้ มีการปนเปื้อนสูง และการเปลี่ยนแปลงอย่างมากของอุณหภูมิเนื่องจากการระเหยของน้ำ (M.A. Borowitzka, 1999)

2.5.2 การเลี้ยงระบบปิด (Close System)

การเลี้ยงสาหร่ายด้วยระบบปิดใน photobioreactor จะเลี้ยงในรูปแบบ tubular photobioreactor ซึ่งเป็นการเลี้ยงเชิงพาณิชย์ ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 5 การเลี้ยงในระบบปิดเชิงพาณิชย์ใน tubular photobioreactor

ที่มา: Pulz and Gross (2004)

ข้อดีของการเลี้ยงระบบปิด คือ เป็นระบบที่มีความสะอาด สาหร่ายได้รับแสงในปริมาณที่สูง ทำให้สาหร่ายที่ได้มีคุณภาพและปริมาณผลผลิตสูง สามารถควบคุมอุณหภูมิ และใช้งานกลางแจ้งในแสงธรรมชาติได้ สามารถเลี้ยงสาหร่ายในช่วงที่สภาพภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงได้ และสามารถควบคุมคุณภาพการเลี้ยง เพื่อให้ได้สาหร่ายที่มีคุณภาพเหมาะสมกับความต้องการ ลดค่าใช้จ่ายในการเก็บเกี่ยว มีความต้องการในการใช้พื้นที่น้อย แต่ข้อเสียของการเลี้ยงด้วยระบบปิดคือ ต้นทุนในการก่อสร้างมีราคาสูง เซลล์ของสาหร่ายบางชนิดอาจถูกทำลายเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบปิด เนื่องจากการไหลเวียนของน้ำในระบบที่เป็นมีการกวนของใบพัดหรือจากแรงดันของน้ำ จึงทำให้เซลล์สาหร่ายบางชนิดถูกทำลายได้อีกทั้งสาหร่ายบางชนิดไม่กระจายตัว จึงทำให้ไม่เหมาะสมกับระบบดังกล่าว (M.A. Borowitzka, 1999)

การเลี้ยงแบบระบบปิด สามารถแบ่งสภาวะในการเลี้ยงสาหร่ายได้เป็นอีก 3 สภาวะ ดังนี้

(1) การเลี้ยงในระบบ Autotrophic

การเลี้ยงสาหร่ายในระบบ autotrophic ใช้แสงและก๊าซ CO₂ ในการเจริญเติบโต (S. Kim, Park, Cho, & Hwang, 2013) 40% ของ ATP (adenosine-5'-triphosphate) จะสร้างมาจากกระบวนการ oxidative phosphorylation ภายใน mitochondria และอีก 77% ของ ATP ทั้งหมดจะได้มาจากการดูดซึมของ CO₂ (Yang, Hua, & Shimizu, 2000)

(2) การเลี้ยงในระบบ Heterotrophic

การเลี้ยงสาหร่ายในระบบ heterotrophic ใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอน เช่น น้ำตาล organic acids, glucose acetate และ กากน้ำตาล เป็นแหล่งพลังงาน และแหล่งคาร์บอน ให้กับสาหร่ายในที่มืด (Bouarab, Dauta, & Loudiki, 2004; Chen, 1996; Liu, Huang, Jiang, & Chen, 2012; Shi, Liu, Zhang, & Chen, 1999; Yang et al., 2000)

(3) การเลี้ยงในระบบ Mixotrophic

การเลี้ยงสาหร่ายในระบบ mixotrophic ใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอน ร่วมกับการใช้แสง (Bouarab et al., 2004) ซึ่งเป็นการรวมระบบ autotrophic และ heterotrophic ไว้ด้วยกัน (Safi et al., 2014) Yeh and Chang (2012) รายงานว่าการเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ESP-31 ด้วยระบบ mixotrophic จะได้ปริมาณไขมันสูงกว่าระบบ phototrophic, photoheterotrophic และ heterotrophic เนื่องจากหากเลี้ยงด้วยระบบ phototrophic, photoheterotrophic และ heterotrophic ในเวลากลางคืนสาหร่ายเกิดกระบวนการหายใจ จึงใช้พลังงาน ทำให้เกิดการสูญเสียชีวมวล แต่ในระบบ mixotrophic สาหร่ายจะได้รับสารประกอบอินทรีย์ในระบบมาใช้ในการผลิตชีวมวลในเวลากลางคืน

2.6 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

การเจริญเติบโตของสาหร่าย แบ่งได้ 5 ระยะ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543) ดังนี้

2.6.1 ระยะปรับตัว (Lag Phase)

ระยะปรับตัวเป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม เช่น แสง อุณหภูมิ ธาตุอาหาร ระยะนี้จะไม่เกิดการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย ถ้าเซลล์สาหร่ายไม่สามารถปรับตัวได้เซลล์จะตาย สาหร่ายจะผ่านระยะนี้ไปได้เร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของเซลล์สาหร่าย และความอุดมสมบูรณ์ของอาหารที่ใช้เลี้ยง ถ้าสภาพทั้ง 2 อย่างนี้มีความเหมาะสมก็จะเข้าสู่ระยะ exponential phase ได้เร็วยิ่งขึ้น

2.6.2 ระยะเวลาเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential Phase)

ระยะเวลาเอกซ์โพเนนเชียลเป็นระยะที่สาหร่ายเจริญเติบโต และขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหาร และ สมบัติทางฟิสิกส์ เคมี ของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง ช่วงแสง การเจริญเติบโตของระยะนี้จะรวดเร็วในระยะแรก และจะค่อย ๆ ช้าลงตามลำดับ

2.6.3 ระยะเวลาเฉื่อย (Phase of Declining Relative Growth)

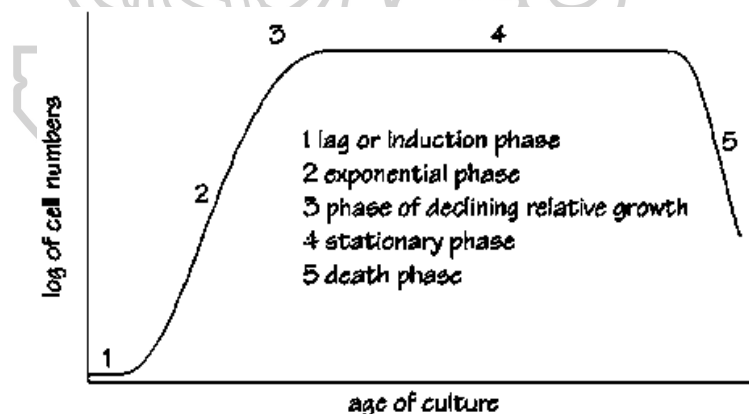
ระยะเฉื่อยเป็นช่วงที่สาหร่ายเจริญเติบโตช้าลงเนื่องจากขาดแคลนอาหาร เช่น ไนโตรเจน คาร์บอน หรือออกซิเจน เพราะมีปริมาณของสาหร่ายหนาแน่นเกินไป pH จะเสียสมดุลเนื่องจากเกิดแอมโมเนียเพิ่มขึ้นอย่างมาก หรือแสงสว่างลดลง เนื่องจากการบังกันเองของสาหร่าย (autoshading)

2.6.4 ระยะคงที่ (Stationary Phase)

ระยะคงที่เป็นระยะที่สารอาหารลดลง และเกิดสารพิษจากกระบวนการเมแทบอลิซึม หรือการสลายตัวของสาหร่ายเพิ่มขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายหยุดนิ่ง

2.6.5 ระยะตาย (Death Phase)

ระยะตายเป็นระยะที่สาหร่ายหยุดการเจริญเติบโต เนื่องจากสารอาหารหมดลง สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และเกิดของเสียจำนวนมาก สาหร่ายจะตายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 6 ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย

ที่มา: Lavens and Sorgeloos (1996)

2.7 การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่าย

การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่ายสามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543)

2.7.1 การนับเซลล์ (Cell Counting)

เป็นการวิเคราะห์โดยตรง โดยการนับเซลล์สาหร่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์โดยใช้ haemocytometer ซึ่งสามารถนับได้ทั้งเซลล์สาหร่ายที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต และสามารถศึกษารูปร่างของเซลล์สาหร่าย แต่ต้องเสียเวลาในการทำการเจือจางก่อนหากเซลล์สาหร่ายมีปริมาณมากเกินไป

2.7.2 การวิเคราะห์การกระจายของแสงหรือความขุ่น (Optical Density Measurement)

เป็นการวิเคราะห์ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายด้วยค่าการดูดกลืนแสงจากเครื่อง spectrophotometer พบว่า สาหร่ายสีเขียวมีความยาวคลื่นในช่วง 500-600 nm ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่สะดวกรวดเร็ว แต่ไม่สามารถบอกถึงการมีชีวิตหรือการไม่มีชีวิตของเซลล์ได้

2.7.3 การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง (Dry Weight Measurement)

เป็นการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่ายจากน้ำหนักแห้งของเซลล์ที่เพิ่มขึ้น โดยการนำสาหร่ายไปอบแห้งจนน้ำหนักคงที่ และนำมาวิเคราะห์น้ำหนักของเซลล์สาหร่ายที่เพิ่มขึ้น นำผลที่ได้มา plot กราฟ รายงานผลเป็นน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

2.7.4 การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll Determination)

สาหร่ายประกอบไปด้วยคลอโรฟิลล์เอและบี การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ทำได้โดยการสกัดคลอโรฟิลล์จากสาหร่าย โดยการใช้ acetone, ethanol หรือ diethyl ether เป็นตัวสกัด บางครั้งอาจมีการใช้ความร้อนมาช่วยในการสกัดให้ได้ผลดีขึ้น และวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยเครื่อง spectrophotometer สารที่ใช้ในการสกัดคลอโรฟิลล์จะมีค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกัน สูตรที่ใช้ในการคำนวณคลอโรฟิลล์ และค่าการดูดกลืนแสงของ acetone, ethanol และ diethyl ether แสดงดังในตารางที่ 3 (Becker, 1994) รายงานว่าการวิเคราะห์ค่าคลอโรฟิลล์เป็นวิธีที่ดีกว่าการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วยน้ำหนักแห้งอาจจะมีน้ำหนักแห้งของ bacteria และ zooplankton รวมอยู่ด้วย

ตารางที่ 3 สูตรที่ใช้ในการคำนวณคลอโรฟิลล์ และค่าการดูดกลืนแสงของ acetone, ethanol และ diethyl ether

สารที่ใช้สกัด	คลอโรฟิลล์	สูตรคำนวณ (mg/L)
acetone	Chlorophyll a	$(12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645})$
	Chlorophyll b	$(22.9 \times A_{645}) - (4.64 \times A_{663})$
	Chlorophyll a+b	$(8.02 \times A_{663}) + (20.2 \times A_{645})$
	Chlorophyll a	$(16.5 \times A_{665}) - (8.3 \times A_{650})$
90% ethanol	Chlorophyll b	$(33.8 \times A_{650}) - (2.69 \times A_{665})$
	Chlorophyll a+b	$(4.0 \times A_{665}) + (25.5 \times A_{650})$
	Chlorophyll a	$(9.92 \times A_{660}) - (0.77 \times A_{642.5})$
diethyl ether	Chlorophyll b	$(17.6 \times A_{642.5}) - (2.18 \times A_{660})$
	Chlorophyll a+b	$(7.12 \times A_{660}) + (16.8 \times A_{642.5})$

หมายเหตุ: A คือ ค่า absorbance ที่ความยาวคลื่นที่กำหนด

ที่มา: Becker (1994)

2.8 ประโยชน์ของสาหร่าย

2.8.1 การลดปริมาณก๊าซ CO₂

การลดปริมาณก๊าซ CO₂ สามารถทำได้ 2 วิธี คือ ใช้กระบวนการทางเคมี และกระบวนการทางชีวภาพ การลดก๊าซ CO₂ ด้วยกระบวนการทางเคมีต้องผ่านขั้นตอน 3 ขั้นตอน ได้แก่

- (1) การแยกก๊าซ CO₂ ออกจากก๊าซชนิดอื่น (separation)
- (2) Transportation
- (3) การกักเก็บก๊าซ CO₂ ไว้ในชั้นดิน ชั้นหิน หรือ มหาสมุทร (sequestration) ซึ่งต้องใช้พลังงานเข้ามาช่วย จึงสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย

กระบวนการทางเคมีสามารถลดปริมาณก๊าซ CO₂ ได้ แต่จะถูกจำกัดด้วยประสิทธิภาพการดูดซับของเสียของชั้นดิน ชั้นหิน หรือ มหาสมุทร (sequestration) ส่วนสาหร่ายสามารถลดก๊าซ CO₂ ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า และสามารถผลิตพลังงานชีวภาพโดยการตรึงก๊าซ CO₂ เมื่อมีแสง B. Wang et al. (2008)

Sydney et al. (2010) พบว่า *Dunaliella tertiolecta* SAD-13.86, *C. vulgaris* LEB-104, *Spirulina platensis* LEB-52 และ *Botryococcus braunii* SAG-30.81 สามารถลดก๊าซ CO₂ ได้ โดย *B. braunii* สามารถลดปริมาณก๊าซ CO₂ ได้มากที่สุด คือ 496.98 mg/L/day และ *S.*

Platensis, *D. tertiolecta* และ *C. vulgaris* สามารถลดปริมาณก๊าซ CO₂ ได้ 318.61, 272.4 และ 251.64 mg/L/day ตามลำดับ

Cheng, Zhang, Chen, and Gao (2006) ศึกษา *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในเครื่อง membrane-photobioreactor ภายใต้สภาพการทดลองที่ความหนาแน่น 2.0×10^7 cells/ml อัตราการไหลของอากาศ 3 L/min ที่ผสมด้วย 1.0% (v/v) CO₂ ภายใต้ความเข้มแสง 157.6 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ และอุณหภูมิ 25–30°C พบว่า *C. vulgaris* สามารถลดก๊าซ CO₂ ได้ 0.3%

2.8.2 การลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส

มีความเป็นไปได้ที่จะนำการเลี้ยงสาหร่ายและการบำบัดน้ำเสียมาใช้ร่วมกัน โดยนำน้ำเสียมาเป็นแหล่งอาหาร และเป็นการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ สำหรับน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (แต่น้ำเสียต้องไม่มีโลหะหนักและไอโซโทปรังสี) เช่น น้ำเสียจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสาหร่ายสามารถลดไนโตรเจน คาร์บอน และช่วยเพิ่มออกซิเจนให้กับน้ำ (Mata et al., 2010)

Sreesai and Pakpain (2007) ศึกษา *C. vulgaris* ที่เลี้ยงใน glass reactor ขนาด 5 L ใช้ น้ำเสียจากบ่อดักตะกอนของโรงบำบัดน้ำเสียหนองแขม 3 L ในการเพาะเลี้ยง โดยใช้แสง fluorescence ที่ความเข้มแสง 3000, 5000 และ 8000 lux ช่วงการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด เปรียบเทียบกับอีกชุดการทดลองที่เลี้ยงในบ่อที่ได้รับแสงธรรมชาติที่ความเข้มแสง 2500–9000 lux ให้อากาศ 1 L ต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สาหร่ายที่เลี้ยงใน glass reactor ที่ความเข้มแสง 8,000 lux นาน 4 วัน สาหร่ายสามารถลดปริมาณ total Kjeldahl nitrogen (TKN), total phosphorus (TP), SS และ COD ได้ 54, 41, 38 และ 79% ตามลำดับ และทำให้น้ำเสียที่ได้มีคุณภาพไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนด (คือ ค่า TKN ไม่เกิน 100 mg/L ค่า SS ไม่เกิน 3,000 mg/L และ ค่า COD ไม่เกิน 120 mg/L) และได้สาหร่าย 356 mg น้ำหนักแห้ง/L ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในบ่อที่ได้รับแสงธรรมชาติ ที่ความเข้มแสง 2,500–9,000 lux สามารถลดปริมาณ TKN, TP, SS และ COD ได้ 62, 55, 47 และ 75% ตามลำดับ แล้วน้ำเสียที่ได้มีคุณภาพได้ตามค่ามาตรฐาน และได้สาหร่าย 390 mg น้ำหนักแห้ง/L

J. Kim, Lingaraju, Rheume, Lee, and Siddiqui (2010) ศึกษาการใช้ *C. vulgaris* ในการลดก๊าซไนโตรเจนที่อยู่ในรูป ammonia (NH₃)/ammonium ion (NH₄⁺) ในน้ำเสียชุมชน จากโรงบำบัดน้ำเสีย Mill Creek Plant ใน Cincinnati, Ohio, U.S.A. ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของไนโตรเจน 7.7 ± 0.19 mg/L สารประกอบอินทรีย์คาร์บอน 58.6 ± 0.28 mg/L และ pH 7 พบว่าปริมาณไนโตรเจนลดลงเพียงเล็กน้อย (1.3%) คือ จาก 7.7 ± 0.19 mg/L เหลือ 7.6 ± 0.24 mg/L เนื่องจากเป็นช่วงแรกของการเจริญเติบโต การเจริญเติบโตยังไม่มากนัก หรือมีการใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอนเพียงเล็กน้อย แต่หลังจาก 24 ชั่วโมงถึง 96 ชั่วโมง มีการลดลงของปริมาณไนโตรเจนอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นระยะ growth phase มีการใช้ไนโตรเจนและสารประกอบอินทรีย์ในการ

เจริญเติบโต ทำให้ปริมาณของไนโตรเจนลดลง 55.3% คือ จาก 7.6 ± 0.24 mg/L เหลือ 3.4 ± 0.17 mg/L

Lim, Chu, and Phang (2010) ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* UMACC 001 ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยใช้น้ำเสียของโรงงานสิ่งทอ (TW) จาก holding tank ที่ผ่านการบำบัดขั้นสุดท้ายก่อนปล่อยออกจากโรงงาน โดยใช้สาหร่ายเริ่มต้น 10 ml ที่ความหนาแน่น OD_{620} เท่ากับ 0.2 เลี้ยงใน flask ขนาด 250 ml ในน้ำเสีย TW 90 ml ที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100% อุณหภูมิ 25°C ความเข้มแสง 40-60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ที่ช่วงแสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ปรับค่าเริ่มต้นให้เป็น pH 7 เขย่าที่ 150 rpm เป็นเวลา 10 วัน พบว่า

(1) สภาพที่เหมาะสมที่สุดคือ ที่ความเข้มข้นของน้ำเสีย TW 40% สาหร่ายเจริญเติบโตได้ $130 \pm 7.04 \times 10^5$ cells/ml และสามารถกำจัดสีใน TW ได้ $36.30 \pm 3.56\%$

(2) ส่วนสาหร่าย *C. vulgaris* UMACC 001 ที่เลี้ยงในบ่อประเภท high rate algae ponds (HRAP) ที่อุณหภูมิ 24-32.8°C ความเข้มแสง 135-1,193 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ โดยใช้น้ำเสีย TW 100% ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อม Supranol Red 3BW เท่ากับ 20 mg/L พบว่า สาหร่าย *C. vulgaris* UMACC 001 สามารถกำจัดสีได้ 41.8-50.0% และลด $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ และ COD ได้เท่ากับ 44.4-45.1%, 33.1-33.3% และ 38.3-62.3 ตามลำดับ รวมทั้งได้สาหร่ายที่มี chlorophyll a เท่ากับ 0.17-2.26 mg น้ำหนักแห้ง/L

(3) แต่เมื่อผสม TW 20 mg/L กับอาหาร Bold's Basal (BBM) ในอัตราส่วน 1:1 และเลี้ยงในบ่อประเภท high rate algae ponds (HRAP) ที่อุณหภูมิ 24-32.8°C ความเข้มแสง 135-1,193 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ได้น้ำหนักแห้งของสาหร่ายเพิ่มขึ้น 90.6% เมื่อเทียบกับเพาะเลี้ยงใน TW เพียงอย่างเดียว (คือ น้ำหนักแห้งของสาหร่ายเพิ่มจาก 106.67 ± 5.77 เป็น 203.33 ± 15.28 mg/L) แต่ไม่ได้เพิ่มความสามารถในการกำจัดสี $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ และ COD

2.8.3 การผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ สำหรับมนุษย์

สารที่ได้จากการสกัดสาหร่าย เช่น เม็ดสี สารต้านอนุมูลอิสระ เบต้าแคโรทีน พอลิแซ็กคาไรด์ ไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมัน วิตามิน และ biomass จะถูกนำมาแปรรูปเป็นสินค้าที่แตกต่างกัน เช่น ยา เครื่องสำอาง อาหารเสริม และ เชื้อเพลิงชีวภาพ สาหร่ายยังสามารถผลิตวุ้น คาร์ราจีนิน และอัลจิเนต ในอุตสาหกรรมที่ต้องการสารที่ทำให้เกิดการเหนียวตัว เช่น ลูกกวาด โลชั่นต่าง ๆ หรือใช้เป็นโหมลละลายในทางการแพทย์ (Mata et al., 2010; ผกาวัตติ แก้วกันเนตร et al., 2552) ตัวอย่างสารเคมีที่สกัดได้จากสาหร่ายเพื่อทางการค้า แสดงดังในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สารเคมีที่สกัดได้จากสาหร่ายเพื่อทางการค้า

ผลิตภัณฑ์	สายพันธุ์สาหร่าย	ผู้ผลิต
β -Carotene	<i>Dunaliella</i>	AquaCarotene (Washington, USA) Cognis Nutrition & Health (Australia) Cyanotech (Hawaii, USA) Nikken Sohonsa Corporation (Japan) Tianjin Lantai Biotechnology (China) Parry Pharmaceuticals (India)
Astaxanthin	<i>Haematococcus</i>	AlgaTechnologies (Israel) Bioreal (Hawaii, USA) Cyanotech (Hawaii, USA) Mera Pharmaceuticals (Hawaii, USA) Parry Pharmaceuticals (India)
อาหารสัตว์น้ำ	<i>Tetraselmis</i> <i>Nannochloropsis</i> <i>Isochrysis</i> <i>Nitzschia</i>	Aquatic Eco-Systems (Florida, USA) BlueBiotech International GmbH (Germany) Coastal BioMarine (Connecticut, USA) Reed Mariculture (California, USA)
กรดไขมันไม่อิ่มตัว เชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acids)	<i>Cryptocodinium</i> <i>Schizochytrium</i>	BlueBiotech International GmbH (Germany) Spectra Stable Isotopes (Maryland, USA) Martek Biosciences (Maryland, USA)
โปรตีน	<i>Chlamydomonas</i>	Rincon Pharmaceuticals (California, USA)

ตารางที่ 4 สารเคมีที่สกัดได้จากสาหร่ายเพื่อทางการค้า (ต่อ)

ผลิตภัณฑ์	สายพันธุ์สาหร่าย	ผู้ผลิต
พลังงานชีวภาพ (Biofuels)	<i>Botryococcus</i>	Cellana (Hawaii, USA)
	<i>Chlamydomonas</i>	GreenFuel Technologies
	<i>Chlorella</i>	(Massachusetts, USA)
	<i>Dunaliella</i>	LiveFuels, Inc. (California, USA)
	<i>Neochloris</i>	PetroAlgae (Florida, USA)
		Sapphire Energy (California, USA)
	Solazyme, Inc. (California, USA)	
	Solix Biofuels (Colorado, USA)	

ที่มา: Rosenberg et al. (2008)

2.8.4 เป็นอาหารสัตว์และอาหารเสริมสำหรับสัตว์

สาหร่ายสามารถนำมาเป็นอาหารสัตว์ และอาหารเสริมสำหรับเลี้ยงสัตว์น้ำในเชิงพาณิชย์ เช่น การนำสาหร่ายไปเลี้ยงตัวอ่อนและวัยเจริญพันธุ์ของหอยที่สำคัญในเชิงพาณิชย์ ตัวอ่อนกุ้งและปลา ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม สาหร่ายยังสามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น rotifer ไรน้ำ copepod ที่ใช้เป็นอาหารสดในการเลี้ยงกุ้งและปลา (Mata et al., 2010)

ธีรยุทธ บุญคง (2552) ศึกษาการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานปลาป่นเพื่อนำมาผลิตไรแดง พบว่า *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานปลาป่นสามารถนำมาใช้ในการผลิตไรแดงได้เฉลี่ยเท่ากับ 0.64 g/L (น้ำหนักเปียก) และให้ตัวอ่อนทุก ๆ 20 ชั่วโมงตลอดช่วงชีวิตได้ประมาณ 7-9 ครอกและเฉลี่ยครอกละ 18 ± 3 ตัว

ศิริภรณ์ ชื่นบาล and ฐปน ชื่นบาล (2553) ศึกษาการใช้สาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผักและผลไม้กระป๋อง มาเป็นส่วนผสมอาหารปลานิลเพื่อทดสอบการเจริญเติบโตของปลานิล โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 คือ เลี้ยงปลานิลโดยให้อาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาหารสำเร็จรูป ผสมกับสาหร่าย *C. vulgaris* 0.1% ของน้ำหนักปลา ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน ในกระชังในบ่อพักน้ำทิ้งของโรงงานผักและผลไม้กระป๋อง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ปลานิลชุดการทดลองที่ 1 มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 124.3 ± 5.19 g ส่วนชุดการทดลองที่ 2 ปลานิลที่ได้มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 150 ± 7.58 g และปลานิลชุดการทดลองที่

2 มีอัตราการรอดตายดีกว่าปลาในชุดการทดลองที่ 1 14.6 % ซึ่งค่าที่ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95%

2.8.5 การผลิตไบโอดีเซล

สาหร่ายขนาดเล็กมีศักยภาพที่จะผลิตเป็นไบโอดีเซล โดยต้องการพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อยเมื่อเทียบกับพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงพืชชนิดอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 5 (Chisti, 2007)

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบปริมาณไขมันและพื้นที่ในการปลูกหรือเลี้ยง

ชนิดพืช	ปริมาณไขมัน (L/ha)	พื้นที่ที่ต้องการ (M ha)	เปอร์เซ็นต์พื้นที่ที่ปลูก หรือเลี้ยง
ข้าวโพด	172	1,540	846
ถั่วเหลือง	446	594	326
คาโนลา	1,190	223	122
สบู่ดำ	1,892	140	77
มะพร้าว	2,689	99	54
น้ำมันปาล์ม	5,950	45	24
น้ำมันจากสาหร่าย ^ก	136,900	2	1.1
น้ำมันจากสาหร่าย ^ข	58,700	4.5	2.5

หมายเหตุ: ^ก น้ำมัน 70% ใน mg/L ของน้ำหนักระเหย

^ข น้ำมัน 30% ใน mg/L ของน้ำหนักระเหย

ที่มา: Chisti (2007)

องค์ประกอบของกรดไขมันจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ โดยทั่วไปไขมันจะแบ่งได้เป็นไขมันที่เป็นกลาง เช่น triglycerides, cholesterol และไขมันชนิดที่มีขั้ว เช่น phospholipids, galactolipids และ triglycerides เป็นตัวหลักในการผลิตไบโอดีเซล

การสังเคราะห์ triglycerides ในสาหร่ายประกอบด้วย 3 ขั้นตอนดังนี้ (Huang, Chen, Wei, Zhang, & Chen, 2010)

- (1) การก่อตัวของ acetyl coenzyme A (acetyl coA) ใน cytoplasm
- (2) การยึดและเกิดพันธะคู่สายคาร์บอนของกรดไขมัน
- (3) การสังเคราะห์ triglycerides ในสาหร่าย

องค์ประกอบของไขมันที่ได้มีผลต่อองค์ประกอบของน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้ โดยไขมันจะประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวที่มีคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 12-22 ตัว ไขมันจากสาหร่ายส่วนใหญ่มีความเป็นกลาง โครงสร้างของไขมันที่ได้จากสาหร่ายมีความคล้ายกับไขมันที่ได้จากพืช ที่เรียกว่า triglycerides ซึ่งเมื่อผ่านกระบวนการ transesterification (ester exchange reaction) จะได้ผลผลิตออกมาเป็นน้ำมันไบโอดีเซล และ glycerol

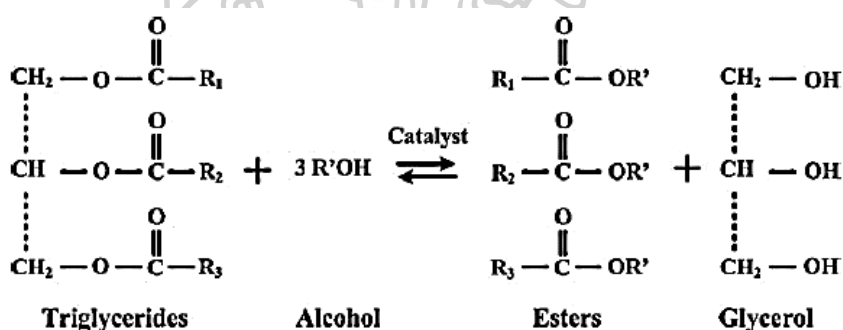
กระบวนการ transesterification มี 3 ขั้นตอน ได้แก่

(1) triglycerides ถูกเปลี่ยนเป็น diglycerides

(2) แล้ว diglycerides จะถูกเปลี่ยนเป็น monoglycerides

(3) monoglycerides จะถูกเปลี่ยนเป็น ester (ไบโอดีเซล) และ glycerol (ผลิตภัณฑ์)

ปฏิกิริยา transesterification แสดงดังในภาพที่ 8 อนุภาค R_1 R_2 และ R_3 เป็นตัวแทน hydrocarbons สายยาว ที่เรียกว่า กรดไขมัน สาหร่ายจึงสามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนน้ำมันจากฟอสซิลได้ (Mata et al., 2010)



ภาพที่ 7 Transesterification ของ triglycerides

ที่มา: Mata et al. (2010)

2.9 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตไขมันของสาหร่าย

2.9.1 ปัจจัยทางกายภาพ

ตัวอย่างปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่ายสรุปดังในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ตัวอย่างปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

สาหร่าย	ระยะเวลา	แหล่งกำเนิดแสง	ความเข้มแสง	สว่างมืด (h:h)	C:N Ratio or C Loading or N Loading	อุณหภูมิ	การเจริญเติบโต	ปริมาณไขมัน	ที่มา
<i>Chlorella sp.</i> ร่วมกับ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3 วัน	LED สีแดง	1,000 lux	24:0	N/A	28 °C	74 %	251 %	Shu, Tsai, Liao, Chen, and Huang (2012)
<i>C. vulgaris</i>	10 วัน	LED สีแดง	2,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	12:12	high C loading (COD 607.83±5.72 mg/L, TN 52.41±3.58 mg/L, TP 5.16±0.84 mg/L) ... high N loadings (COD 204.36±6.34 mg/L, TN 151.72±4.81 mg/L, TP 5.24±0.79 mg/L)	30.0±1.0°C	284.83±18.51 mg/L?	N/A	Yan, Zhang, Luo, and Zheng (2013)
<i>C. vulgaris</i>	10 วัน	LED สีแดง	2,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	12:12	C:N ratio 5:1 (glucose 200 g/ml, carbamide 80 g/ml, NaH_2PO_4 15 g/ml, KH_2PO_4 1.5 g/ml, CaCl_2 4 g/m และ MgSO_4 2 g/ml)	25.0±0.5°C	13537±1032%	N/A	Yan, Zhao, Zheng, and Luo (2013)
<i>C. vulgaris</i>	8 วัน	LED สีฟ้า	200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	12:12	N/A	25°C	3.96 %	23.5 %	(Atta, Idris, Bukhari, & Wahidin, 2013)

ตารางที่ 6 ตัวอย่างปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตไบโอมของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (ต่อ)

สาหร่าย	ระยะเวลา	แหล่งกำเนิดแสง	ความเข้มแสง	สว่างมืด (h:h)	C:N Ratio or C Loading or N Loading	อุณหภูมิ	การเจริญเติบโต	ปริมาณไขมัน	ที่มา
<i>C. vulgaris</i>	8 วัน	fluorescent	4,500 แสงเทียน	N/A	N/A	25°C	2.6 $\mu\text{g/day}$	N/A	Sorokin and Krauss (1958)
<i>C. vulgaris</i>	10 วัน	fluorescent	62.5 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$	16:8	N/A	25.0 \pm 0.5°C	2.05 \pm 0.1 g/L	N/A	Khoeyi, Seyfabadi, and Ramezanpour (2012)
<i>C. vulgaris</i>	14 วัน	fluorescent	70.0 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$	N/A	N=1.5 g/L ในอาหาร Bold's Basal	25°C 30°C	0.14 $\mu\text{g/day}$ 0.14 $\mu\text{g/day}$	14.71% 5.90%	Converti, Casazza, Ortiz, Perego, and Borghi (2009)
<i>C. vulgaris</i>	10 วัน	fluorescent	300 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$	12:12	N/A	30°C	4.24 \pm 0.05 g/L	37 \pm 1.0 %	Ma, Zheng, Huang, Liu, and Ruan (2014)

2.9.1.1 ความยาวคลื่นแสง

สาหร่ายสามารถสร้างอาหารเองได้โดยการดูดซับแสง และเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมี adenosine triphosphate (ATP) และ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) สาหร่ายส่วนใหญ่ดูดซับแสงที่ความยาวคลื่น 400-700 nm สาหร่ายแต่ละชนิดจะมีการดูดซับแสงแตกต่างกัน เช่น สาหร่ายสีเขียวมี chlorophylls ซึ่งเป็นเม็ดสีที่สำคัญในการดูดซับพลังงานแสงในช่วงความยาวคลื่น 450-475 nm และ 630-675 nm และมี carotenoids ซึ่งเป็นสีเสริมดูดซับพลังงานแสงในช่วง 400-550 nm (Masojidek, Koblížek, & Torzillo, 2003) ช่วงความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไขมันและการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* อยู่ในช่วงแสงสีฟ้า (420–450 nm) และแสงสีแดง (660–700 nm) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shu et al. (2012), Yan, Zhang, et al. (2013) และ Yan, Zhao, et al. (2013) โดย Shu et al. (2012) รายงานว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* ใน photobioreactor ขนาด 2 L ที่ 28°C ให้อากาศในอัตรา 0.1 vvm (gas volume flow per unit of liquid volume per minute) ให้แสงจากหลอด LED ที่ความเข้มแสง 1,000 lux ตลอด 24 ชั่วโมง นาน 72 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเลี้ยงภายใต้แสงที่ความยาวคลื่นแสงสีแดง (650-680 nm) สาหร่าย *Chlorella* sp. มีอัตราการเจริญเติบโตเป็น 0.045 μ /h ซึ่งมากกว่าเมื่อเลี้ยงที่แสงสีฟ้า (440-470 nm) และแสงสีเขียว (510-540 nm) ส่วนการผลิตไขมัน พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เลี้ยงภายใต้แสงที่ความยาวคลื่นแสงสีแดงให้ผลผลิตไขมันน้อยกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้แสงสีฟ้า แต่ให้ผลผลิตไขมันมากกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้แสงสีเขียว นอกจากนี้ Yan, Zhang, et al. (2013) รายงานว่าสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงใน flask ขนาด 1 L ที่บรรจุน้ำเสียสังเคราะห์ชุดทดสอบที่ C2NP (glucose 200 g/ml carbamide 80 g/ml NaH_2PO_4 15 g/ml KH_2PO_4 1.5 g/ml CaCl_2 4 g/ml และ MgSO_4 2 g/ml ซึ่งมี C:N = 5:1) ที่มีแหล่งกำเนิดแสง คือ หลอด LED ที่ความยาวคลื่นแสงสีแดง ที่ความเข้มแสง 2,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ช่วงแสงที่ใช้คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ที่ 25.0 \pm 0.5°C พบว่า *C. vulgaris* มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด คือ 135.37 \pm 10.32% เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยง *C. vulgaris* ด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นแสงสีขาว เหลือง ม่วง ฟ้า และ เขียว อีกทั้ง Yan, Zhao, et al. (2013) รายงานว่าเมื่อเลี้ยง *C. vulgaris* ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มี high C loading (COD 607.83 \pm 5.72 mg/L, TN 52.41 \pm 3.58 mg/L, TP 5.16 \pm 0.84 mg/L) และในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มี high N loadings (COD 204.36 \pm 6.34 mg/L, TN 151.72 \pm 4.81 mg/L, TP 5.24 \pm 0.79 mg/L) ภายใต้หลอด LED สีแดง ขาว เหลือง ม่วง ฟ้า และ เขียว ที่ความเข้มแสง 2,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ โดยการเปรียบเทียบกันระหว่างสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้หลอดที่มีความยาวคลื่นแสงสีแดง ขาว เหลือง ม่วง ฟ้า และ เขียว พบว่าได้สาหร่ายคิดเป็นน้ำหนักแห้ง 284.83 \pm 18.51 และ 286.63 \pm 14.76 mg/L, 254.26 \pm 16.59 mg/L และ 256.79 \pm 13.78 mg/L, 216.48 \pm 19.55 และ 212.59 \pm 4.72 mg/L,

164.92±14.53 และ 158.44±10.61 mg/L, 159.03±15.38 และ 154.12±13.18 mg/L, 107.38±12.46 และ 109.49±10.45 mg/L ตามลำดับ ซึ่งการเลี้ยงภายใต้ความยาวคลื่นแสงสีแดงจะให้ผลผลิตสาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด

2.9.1.2 ความเข้มแสง

ปริมาณความเข้มแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยความเข้มแสงที่ไม่เพียงพอจะทำให้สาหร่ายสูญเสีย biomass และอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะช้า เพราะสาหร่ายจะใช้คาร์โบไฮเดรต และออกซิเจนในช่วง photorespiration แต่ถ้าปริมาณแสงมากเกินไปจะส่งผลให้สาหร่ายตายและเกิดการฟอกขาว (Jeong, Lee, & Cha, 2013) เช่น Sorokin and Krauss (1958) ศึกษาความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* โดยเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ให้อากาศที่ผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 4% ที่อุณหภูมิ 25°C ในห้องปฏิบัติการนาน 8 วัน พบว่า ความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย คือ ที่ 4,500 แสงเทียน โดยทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโต 2.6 μ /day แต่ที่ความเข้มแสงต่ำ ๆ (250-300 แสงเทียน) ทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตเพียง 1.9 μ /day นอกจากนี้ Shu et al. (2012) ศึกษาการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ภายใต้สภาพการทดลองที่กล่าวมาแล้ว เปรียบเทียบผลของความเข้มแสงที่ 500; 1,000; และ 2,000 lux ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย พบว่า เมื่อเลี้ยงสาหร่ายภายใต้หลอด LED แสงสีแดง ที่ความเข้มแสง 1,000 lux จะทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุด คือ ที่ 0.045 μ /h อีกทั้ง Yan, Zhao, et al. (2013) ศึกษาอิทธิพลของความเข้มแสงที่ 400, 800, 1200, 1600, 2000 และ 2400 μ mol/m²/s ภายใต้สภาพการเลี้ยงอื่น ๆ ตามที่กล่าวมาแล้วต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* พบว่า ที่เลี้ยงภายใต้หลอด LED แสงสีแดง ที่ความเข้มแสง 2,000 μ mol/m²/s ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีที่สุด คือ ได้น้ำหนักแห้ง 284.83±18.51 mg/L รวมทั้ง Atta et al. (2013) ที่เลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ใน flask ขนาด 500 ml ที่ 25°C นาน 8 วัน ภายใต้หลอด LED สีฟ้าที่ความเข้มแสงต่าง ๆ คือ 100, 200 และ 300 μ mol/m²/s โดยมี 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด พบว่า สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด คือ 1.26 μ /day เมื่อเลี้ยงที่ความเข้มแสง 200 μ mol/m²/s

2.9.1.3 ช่วงระยะเวลาการได้รับแสง

ช่วงระยะเวลาการได้รับแสงในแต่ละวันส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนคาร์โบไฮเดรต และ ไขมันภายในเซลล์ (Khoeyi et al., 2012) การให้แสงช่วงเวลาหนึ่งแล้วหยุดการให้แสง จะให้ผลดีกว่าการให้แสงตลอดเวลา ช่วงแสงที่นิยมใช้ คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด, 14 ชั่วโมงสว่าง : 10 ชั่วโมงมืด และ 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543) จากการศึกษาของ (Khoeyi et al., 2012) ที่ศึกษาการเจริญเติบโต และการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ภายใต้หลอด fluorescent ที่อุณหภูมิ 25.0±0.5°C ที่ความเข้มแสงต่างๆ (37.5, 62.5 และ 100.0 μ mol m²/s) และที่ช่วงระยะเวลาการให้แสงต่าง ๆ (8 ชั่วโมงสว่าง : 16 ชั่วโมงมืด, 12 ชั่วโมงสว่าง :

12 ชั่วโมงมืด และ 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด) นาน 10 วัน พบว่า สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในช่วงระยะเวลาการให้แสง 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด ที่ความเข้มแสง $62.5 \mu\text{mol m}^2/\text{s}$ และ Atta et al. (2013) ศึกษาอิทธิพลของช่วงการให้แสงแต่ละวัน (12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด; 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด; 24 ชั่วโมงสว่าง : 0 ชั่วโมงมืด) ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ภายใต้สภาวะการเลี้ยงดังกล่าวมาแล้ว พบว่าสาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีที่สุด คือ $1.26 \mu/\text{day}$ และได้ปริมาณไขมันสูงสุด ที่ 23.55% เมื่อเลี้ยงภายใต้หลอด LED สีฟ้า ที่ความเข้มแสง $200 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ ที่ช่วงการให้แสงแต่ละวัน คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด เมื่อเลี้ยงนาน 8 วัน

2.9.1.4 อุณหภูมิ

สาหร่ายไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิภายในเซลล์ได้ อุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญทางด้านสิ่งแวดล้อมที่กำหนดกิจกรรมต่าง ๆ เช่น ความต้องการสารอาหาร การเผาผลาญพลังงานโดยธรรมชาติ อัตราการเกิดปฏิกิริยาในการเผาผลาญพลังงาน อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย และปริมาณชีวมวล (Mayo & Noike, 1996) โดยทั่วไปอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงสาหร่ายจะอยู่ระหว่าง $20-24^{\circ}\text{C}$ สาหร่ายส่วนใหญ่จะทนต่ออุณหภูมิในช่วง $16-27^{\circ}\text{C}$ ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 16°C สาหร่ายจะการเจริญเติบโตช้า และจะตายที่อุณหภูมิ 35°C ขึ้นไป (Lavens & Sorgeloos, 1996)

ส่วน Converti et al. (2009) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* โดยใช้ fluorescence ที่ระยะเวลา 14 วันเป็นแหล่งกำเนิดแสง ที่ความเข้มแสง $70.0 \mu\text{E/m}^2/\text{s}$ ในอาหารเลี้ยง Bold's Basal ที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.50 g/L พบว่า สาหร่าย *C. vulgaris* มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด คือ $0.14 \pm 0.00 \mu/\text{day}$ ที่อุณหภูมิ 25°C และ 30°C และมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงเหลือ $0.12 \pm 0.01 \mu/\text{day}$ ที่อุณหภูมิ 35°C และที่ 38°C สาหร่าย *C. vulgaris* หยุดชะงักการเจริญเติบโตและเริ่มตาย โดยสาหร่าย *C. vulgaris* เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล อัตราการเจริญเติบโตอยู่ที่ $-0.01 \pm 0.01 \mu/\text{day}$ ส่วนที่อุณหภูมิ 25°C สาหร่าย *C. vulgaris* ให้ผลผลิตไขมันสูงสุดที่ 14.71% แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 30°C สาหร่าย *C. vulgaris* มีปริมาณไขมันเหลือ 5.90% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ma et al. (2014) ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโต และปริมาณไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงด้วยระบบ mixotrophic ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง $300 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ ในช่วงแสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด นาน 10 วัน พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* คือ ที่ 30°C โดยที่ 25°C สาหร่าย *C. vulgaris* มีปริมาณ ชีวมวล 4.19 g/L และปริมาณไขมัน 35% ส่วนที่ 30°C สาหร่าย *C. vulgaris* มีปริมาณชีวมวล $4.24 \pm 0.05 \text{ g/L}$ และปริมาณไขมัน $37 \pm 1.0\%$ แต่ที่ 20°C สาหร่าย *C. vulgaris* จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโต เนื่องจากประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายลดลงที่อุณหภูมิต่ำ ส่วนที่ 35°C สาหร่ายมีปริมาณชีวมวล $1.25 \pm 0.10 \text{ g/L}$ ในวันที่ 5 และมีปริมาณชีวมวล

ลดลงเหลือ 1.00 g/L ในวันที่ 10 แสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *C. vulgaris* ไม่สามารถทนอุณหภูมิที่ 35°C ได้

2.9.2 ปัจจัยทางเคมี

ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella* แสดงดังในตารางที่ 7



ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

สาหร่าย	ปัจจัยอื่น ๆ		ปัจจัยทางเคมี				การเจริญเติบโต	การผลิตไขมัน	ที่มา
	แหล่งกำเนิดแสง	อุณหภูมิ (°C)	pH	C Source	N Source	P Source			
<i>C. vulgaris</i>	N/A	N/A	N/A	6% CO ₂	N/A	N/A	2.42 g dw/L	0.72 g/L/d	Zheng et al. (2011)
<i>C. vulgaris</i>	fluorescent ความเข้มแสง:1.75.68 μmol/m ² /s 12 ชั่วโมงสว่าง:12 ชั่วโมงมืด	25±1	N/A	3% CO ₂	NH ₄ -N 1,700-2,400 mg/L	PO ₄ ³⁻ 50~60 mg/L	1.80 g dw/L	N/A	Lee, Kim, Sanjay, Kwag, and Ra (2011)
<i>C. vulgaris</i>	fluorescent ความเข้มแสง:300 μmol/m ² /s 12 ชั่วโมงสว่าง:12 ชั่วโมงมืด	25	6.5	5% CO ₂ อัตราการไหลของอากาศ 0.5 vvm.	N/A	N/A	3.83±0.20 g dw/L	1.57±0.12 g/L	Zheng, Gao, Fengwei, Ji, and Huang (2012)
<i>C. vulgaris</i>	fluorescent ความเข้มแสง 60-70 μmol/m ² /s 24 ชั่วโมงสว่าง:0 ชั่วโมงมืด	25-28	N/A	5% CO ₂	N/A	N/A	72.66 mg/L/day	18.87%	Lam and Lee (2013)

ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (ต่อ)

สาหร่าย	ปัจจัยอื่น ๆ		ปัจจัยทางเคมี			การเจริญเติบโต	การผลิตไขมัน	ที่มา		
	ระยะ	แหล่งกำเนิดแสง	อุณหภูมิ (°C)	pH	C Source				N Source	P Source
<i>C. vulgaris</i>	10	N/A	N/A	N/A	6% CO ₂	N/A	N/A	2.42 g/L	0.72	Zheng et al. (2011)
<i>C. vulgaris</i>	7	fluorescent	30	N/A	6% CO ₂	N/A	N/A	น้ำหมักแห้ง	g/L	Anjos, Fernandes, Vicente, Teixeira, and Dragone (2012)
P12		ความเข้มแสง 70 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$			อัตราการไหลของอากาศ 0.4 vvm.			10.0±0.5 g/L	N/A	Rendón, Roldan, and Voroney
<i>C. vulgaris</i>	15	LED สีขาว	22±0.9	N/A	8.5% CO ₂	ammonium-N	Phosphate	1.592±0.021	N/A	
UTEX 26		300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 24 ชั่วโมงสว่าง : 0 ชั่วโมงมืด			อัตราการไหลของอากาศ 864 mL/นาที	114 mg/L nitrate-N	40 mg/L	g/L	น้ำหมักแห้ง	
<i>C. vulgaris</i>	4	fluorescent 2,500 lux 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด	25	N/A	glucose 20 g/L	N/A	N/A	2.24±0.26 g/L	17.74±	W. Kong et al. (2011)

ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (ต่อ)

สาหร่าย	ระยะ	ปัจจัยอื่น ๆ			ปัจจัยทางเคมี			การ	การผลิต	ที่มา
		แหล่งกำเนิดแสง	อุณหภูมิ (°C)	pH	C Source	N Source	P Source			
<i>C. sp</i> น้ำดื่ม	10	fluorescent 3000 lux 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด	30	N/A	glucose 20 g/L	N/A	N/A	8.40±2.76 g/L chlorophyll	651.2±10 .2 mg/L	Cheirsilp and Torpee (2012)
<i>C. vulgaris</i>	4	fluorescent ความเข้มแสง 2,500 lux, 12 ชั่วโมงสว่าง :	30±1	N/A	glycerol+	N/A	N/A	2.62±0.10 g/L น้ำตาลส่วน 10 : 2 g/L	69.68 mg/L	W. B. Kong et al. (2013)
<i>C. vulgaris</i>	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.33 g/L ammonia	N/A	เจริญเติบโต ลดลง 50%	N/A	W. Kong et al. (2011)
<i>C. vulgaris</i> /AA	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	195 g/L ammonia	N/A	เจริญเติบโต ลดลง 50%	N/A	

ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (ต่อ)

สาหร่าย	ระยะ (วัน)	ปัจจัยอื่น ๆ		ปัจจัยทางเคมี			การเจริญเติบโต	การผลิตไขมัน	ที่มา	
		แหล่งกำเนิดแสง	อุณหภูมิ (°C)	pH	C Source	N Source				P Source
<i>C. vulgaris</i>	6	fluorescent	25	N/A	N/A	0.5 g/L	N/A	3.43±0.15 g/L	8.23±	W. Kong et al. (2011)
		ความเข้มแสง 2,500 lux, 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด				potassium nitrate		น้ำหนักแห้ง	0.35 %	
<i>C. vulgaris</i>	6	fluorescent	25	N/A	N/A	0.75 g/L	N/A	3.28±0.30 g/L	5.48±	W. Kong et al. (2011)
		ความเข้มแสง 2,500 lux, 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด				urea		น้ำหนักแห้ง	0.35%	
<i>C. vulgaris</i>	6	fluorescent	25	N/A	N/A	0.5 g/L	N/A	3.18±0.55 g/L	6.10±	W. Kong et al. (2011)
		ความเข้มแสง 2,500 lux, 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด				urea		น้ำหนักแห้ง	0.76%	

ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (ต่อ)

สาหร่าย	ระยะ	ปัจจัยอื่น ๆ		ปัจจัยทางเคมี			การเจริญเติบโต	การผลิตไขมัน	ที่มา	
		แหล่งกำเนิดแสง	อุณหภูมิ	pH	C Source	N Source				P Source
<i>C. vulgaris</i>	4	luminescent lamps,	27	N/A	2% CO ₂	1.125 g/L urea	N/A	1.2 g/L	N/A	Velichkova (2014)
		ความเข้มแสง 10,000 K, 12 ชั่วโมงสว่าง :							น้ำหนักเซลล์แห้ง	
<i>C. vulgaris</i>	14	Fluorescent,	25±2	N/A	4% CO ₂	0	0	41.75 mg/L/day	54.88%	Chu et al. (2013)
		ความเข้มแสง 6,000 lux, 16 ชั่วโมงสว่าง :							น้ำหนักเซลล์แห้ง	
<i>Chlorella</i> sp.	22	ความเข้มแสง 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	25±2	N/A	N/A	1.76 mM	32 μM	N/A	23.60%	Liang, Zhang, Gu, and Cong (2013)

ตารางที่ 7 ตัวอย่างปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (ต่อ)

สาหร่าย	ระยะ	ปัจจัยอื่น ๆ		ปัจจัยทางเคมี			การเจริญเติบโต	การผลิตไขมัน	ที่มา
		แหล่งกำเนิดแสง	อุณหภูมิ (°C)	pH	C Source	N Source			
<i>C. vulgaris</i>	N/A	N/A	N/A	7	N/A	N/A	N/A	N/A	C. Wang Li, Wang, and Wei (2010)
<i>C. vulgaris</i> (UTEX 30)	4	Fluorescent, ความเข้มแสง 5.5 Klux, 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด	19±1	7.5	N/A	N/A	124.9±0.20%	N/A	Rachlin and Grosso (1991)
<i>C. vulgaris</i> (FACHB-1227)	20	fluorescent ความเข้มแสง 3,960 lux	กึ่งกลางวัน 25±1 กลางคืน 20±1	ควบคุมไม่ให้มี pH	N/A	N/A	16.956×10 ⁶ cells/ml	N/A	Gong, Feng, Kang, Luo, and Yang (2014)

หมายเหตุ N/A คือ ไม่มีข้อมูล

2.9.2.1 แหล่งคาร์บอนจากก๊าซ CO₂

สาหร่ายสามารถจับก๊าซ CO₂ จากแหล่งที่แตกต่างกัน เช่น จากอากาศ โรงงาน และที่อยู่ในรูปแบบคาร์บอเนตที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น Na₂CO₃ และ NaHCO₃ (C. Wang et al., 2010) ที่เลี้ยงในระบบปิดและระบบเปิด สาหร่ายจะได้รับ CO₂ จากการเติมอากาศ หรือสัมผัสกับอากาศโดยตรง สาหร่ายจะจับก๊าซ CO₂ ในอากาศ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต แต่มีข้อจำกัดเนื่องจากปริมาณ CO₂ ในอากาศมีเพียง 0.033% (Chelf, Brown, & Wyman, 1993) ส่วนคาร์บอนจากแหล่งอื่น ๆ ที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ เช่น glucose, acetate, ethanol, alanine, aspartame, fructose, galactose, pyruvate และ succinate (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543)

Zheng et al. (2011) ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งอนินทรีย์คาร์บอน 3 ชนิด ได้แก่ Na₂CO₃, NaHCO₃ และ CO₂ ที่มีผลต่อปริมาณไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* หลังจากเลี้ยง 10 วัน พบว่า สาหร่ายเจริญเติบโตได้ที่ความเข้มข้น 40 mmol/L ของ Na₂CO₃ และ NaHCO₃ โดยได้สาหร่าย *C. vulgaris* ที่มีน้ำหนักแห้ง 0.52 g/L และ 0.67 g/L ตามลำดับ และให้ไขมัน 0.19 g/L และ 0.22 g/L ตามลำดับ แต่เมื่อให้ 6% CO₂ สาหร่ายเจริญเติบโตเร็วได้สาหร่าย 2.42 g น้ำหนักแห้ง /L และปริมาณไขมันสูงถึง 0.72 g/L หากปริมาณ CO₂ ต่ำ อนินทรีย์คาร์บอนที่ให้แก่เพียงพอ ปริมาณไขมันจึงลดลง แต่ที่ความเข้มข้น CO₂ สูง (เช่น ที่ 15% CO₂) จะทำให้ pH ต่ำ ซึ่งจะไปยับยั้งการผลิตไขมัน ดังนั้น Na₂CO₃ และ NaHCO₃ จึงมีความเหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* เพื่อการผลิตไขมันมากกว่าที่เลี้ยงโดยให้ CO₂

Lee et al. (2011) ศึกษาปริมาณความเข้มข้น CO₂ ที่ 0.07, 1.4, 3.0 และ 5.0% ที่อัตราการให้อากาศ 0.5 L/นาที่ ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 39.19, 72.97, 105.41, 116.22, 135.14 และ 175.68 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ อุณหภูมิ 25±1°C ช่วงเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ใน photobioreactor ขนาด 2.4 L เป็นเวลา 10 วัน โดยใช้ น้ำเสียจากฟาร์มสุกรที่มี PO₄-P ที่ความเข้มข้น 50-60 mg/L และ NH₄-N ที่ความเข้มข้น 1,700-2,400 mg/L พบว่า เมื่อเลี้ยง *C. vulgaris* ที่ 5% CO₂ ความเข้มแสง 175.68 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ทำให้ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้งสูง คือ ที่ 1.83 g/L แต่เมื่อเลี้ยงสาหร่ายโดยให้ 3% CO₂ ความเข้มแสง 175.68 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ทำให้ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้ง 1.80 g/L ดังนั้นหากพิจารณาในด้านความคุ้มค่าเมื่อต้องซื้อก๊าซ CO₂ เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยงสาหร่าย สรุปได้ว่าที่เลี้ยงโดยให้ 3% CO₂ ให้ผลผลิต น้ำหนักแห้งดีกว่าที่เลี้ยงโดยให้ 5% CO₂

แต่ผลการวิจัยส่วนหนึ่งรายงานว่าการใช้ 5% CO₂ จะทำให้ *C. vulgaris* เจริญเติบโตได้ดีที่สุด เช่น Zheng et al. (2012) และ Lam and Lee (2013) โดย Zheng et al. (2012) ศึกษาปริมาณความเข้มข้น CO₂ ที่ 0.03, 1, 5, 10 และ 15% ที่อัตราการให้อากาศ 0.1, 0.5,

1.0, 1.5 และ 2.0 vvm ที่มีผลต่อสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงใน photobioreactor ที่ 25°C ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ช่วงเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ทำการทดลองเป็นเวลา 10 วัน พบว่า การเติมอากาศที่มี 5% CO_2 ทำให้สาหร่ายมีค่า น้ำหนักแห้ง ผลผลิตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโต มีค่าเป็น $3.76 \pm 0.16 \text{ g/L}$, $1.01 \pm 0.11 \text{ g/L/day}$ และ $1.20 \pm 0.13 \text{ day}$ ตามลำดับ นอกจากนี้สาหร่ายยังมีค่าการผลิตไขมัน ปริมาณไขมันภายในเซลล์ และผลผลิตไขมันมีค่าเป็น $150 \pm 7 \text{ mg/L/day}$, $40 \pm 1\%$ และ $1.50 \pm 0.12 \text{ g/L}$ ตามลำดับ แต่ในสภาพการเลี้ยงที่ให้อากาศปกติ (คือ มี 0.03% CO_2) ที่ 25°C ภายใต้สภาพการทดลองเดียวกัน พบว่าสาหร่ายมีน้ำหนักแห้ง 2.71 g/L ซึ่งมีน้ำหนักแห้งน้อยกว่าในกรณีที่เลี้ยงโดยเติมอากาศที่มี 5% CO_2 แต่การเลี้ยงสาหร่ายโดยเติมอากาศที่มี 15% CO_2 ภายใต้สภาพการทดลองเดียวกัน พบว่า สาหร่ายที่ได้มีปริมาณน้ำหนักแห้ง ผลผลิตต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตมีค่าเป็น 0.65 g/L, $0.15 \pm 0.02 \text{ mg/L/day}$. และ $0.25 \pm 0.03 \text{ day}$ ซึ่งลดลงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงโดยการเติมอากาศที่มี 0.03, 1, 5 และ 10 % CO_2 เนื่องจาก pH ลดลงซึ่งส่งผลให้สร้างเอนไซม์ลดลง ซึ่งทั้ง ribulose 1,5-bisphosphate และ carboxylase-oxygenase เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง จึงไปยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย อีกทั้งพบว่าเมื่อเลี้ยงโดยให้อากาศที่มี 5% CO_2 อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm ที่ 25°C ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ช่วงเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด นาน 10 วัน ทำให้ได้สาหร่ายที่มีค่าน้ำหนักแห้ง ผลผลิตต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตมีค่าเป็น $3.83 \pm 0.20 \text{ g/L}$, $1.07 \pm 0.11 \text{ g/L/day}$ และ $1.22 \pm 0.12 \text{ day}$ ตามลำดับ และสาหร่ายมีค่าการผลิตไขมัน ปริมาณไขมันภายในเซลล์ และผลผลิตไขมัน มีค่าเป็น $157 \pm 9 \text{ mg/L/day}$, $41 \pm 2\%$ และ $1.57 \pm 0.12 \text{ g/L}$ ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าการให้อากาศที่มี 5% CO_2 และอัตราการให้อากาศ 0.5 vvm ทำให้สาหร่ายมี น้ำหนักแห้ง อัตราการเจริญเติบโต ค่าการผลิตไขมัน ปริมาณไขมันภายในเซลล์ และผลผลิตไขมันดีกว่าการให้อากาศที่มี 5% CO_2 เพียงอย่างเดียว

Lam and Lee (2013) ศึกษาผลของความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน 2 ชนิด คือ CO_2 และ NaHCO_3 ต่อการเจริญเติบโต และปริมาณไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงใน column type photobioreactor ขนาด 5 L ที่ 25–28°C ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 60–70 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ให้แสงสว่างตลอด 24 ชั่วโมง เลี้ยงเป็นเวลา 16 วัน โดย CO_2 ศึกษาที่ความเข้มข้น 0.03, 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0% ส่วน NaHCO_3 ศึกษาโดยแบ่งเป็น 2 การทดลองย่อย ดังนี้ การทดลองย่อยที่ 1 ทดสอบโดยให้ NaHCO_3 ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 และ 0.3 g ของ CO_2/L แล้วปรับ pH เริ่มต้นให้เป็น pH 4 เลี้ยงเป็นเวลา 16 วัน ส่วนการทดลองย่อยที่ 2 ทดสอบโดยให้ NaHCO_3 ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.1, 0.2 และ 0.3 g ของ CO_2/L แล้วปรับ pH เริ่มต้นให้เป็น pH 8.5 เลี้ยงเป็นเวลา 16 วัน พบว่า การเลี้ยงสาหร่ายโดยให้ 5% CO_2 ให้ผลดีกว่าการให้ NaHCO_3 โดยชุดการทดลองที่ให้ 5% CO_2 ทำให้สาหร่ายมีไขมันในเซลล์ 18.7% และมีน้ำหนักแห้ง 72.66

mg/L/day ส่วนการทดลองที่ให้ NaHCO_3 ชุดการทดลองย่อยที่ 1 คือ ที่ให้ NaHCO_3 ที่ความเข้มข้น 0.3 g พบว่า สาหร่ายมีไขมันในเซลล์ 13.1% และมีน้ำหนักแห้ง 14.06 mg/L/day และชุดการทดลองย่อยที่ 2 ที่ให้ NaHCO_3 ที่ความเข้มข้น 0.3 g พบว่า สาหร่ายมีน้ำหนักแห้ง 2.75 mg/L/day อีกทั้ง Lam and Lee (2013) กล่าวว่า การให้ CO_2 ในปริมาณที่มากเกินไป เช่น 12-15% จะมีผลต่อการกำจัด CO_2 เนื่องจากสถานะที่มี CO_2 สูงจะทำให้อาหารเกิดสภาพกรด และทำให้สาหร่ายตาย เมื่อปล่อยสู่แหล่งน้ำทำให้ CO_2 ที่เหลืออยู่บนเป็อนในแหล่งน้ำได้

ส่วน Zheng et al. (2011) ศึกษาผลของความเข้มข้นของแหล่งอินทรีย์คาร์บอน 3 ชนิด ได้แก่ Na_2CO_3 , NaHCO_3 และ CO_2 ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เวลา 10 วัน พบว่าเมื่อให้ 6% CO_2 ในการเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ได้น้ำหนักแห้งเป็น 2.42 g/L และปริมาณไขมัน 0.72 g/L ซึ่งทำให้ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้ง และปริมาณไขมันดีกว่าการเลี้ยงที่ให้ Na_2CO_3 และ NaHCO_3 ที่ความเข้มข้น 40 mmol/L ที่ทำให้ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้ง 0.52 g/L และ 0.67 g/L ตามลำดับ และได้ไขมันเท่ากับ 0.19 g/L และ 0.22 g/L ตามลำดับ อีกทั้งเขารายงานว่าการเลี้ยงสาหร่ายโดยให้ CO_2 ที่ความเข้มข้นสูง (อย่างน้อย 6%) จะทำให้ pH ต่ำ ส่งผลให้ยับยั้งการผลิตไขมัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Anjos et al. (2012) ที่ศึกษาความเข้มข้นของ CO_2 ที่ 2, 6, 10% และให้อากาศที่อัตรา 0.1, 0.4 และ 0.10 vvm ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* P12 ที่เลี้ยงใน photobioreactors ที่ 30°C ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 70 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ นาน 7 วัน พบว่า สาหร่าย *C. vulgaris* P12 สามารถเจริญเติบโตได้ทุกอัตราการให้อากาศ และทุกความเข้มข้นของก๊าซ CO_2 ที่ทดสอบ แต่สภาพการทดลองที่ให้ผลการเจริญเติบโตดีที่สุด คือ ทำให้ได้ปริมาณน้ำหนักแห้ง และอัตราการผลิตน้ำหนักแห้งต่อวัน มีค่าเป็น 10.0 ± 0.5 g/L และ 1.3 ± 0.0 g/L/day ตามลำดับ เมื่อให้อากาศ 0.4 vvm ที่มี 6% CO_2

นอกจากนี้ Rendón et al. (2013) ศึกษาความเข้มข้นของ CO_2 ที่ 0.035, 1.1, 3.7 และ 8.5% ให้อากาศที่อัตรา 864 ml/m ภายใต้แสง LED ที่ 4 ความยาวคลื่น ได้แก่ สีขาว แดง ฟ้ำ และ ม่วง ที่ความเข้มแสง 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ช่วงการให้แสง 24 ชั่วโมงสว่าง เลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* UTEX 26 ใน photobioreactor ขนาด 4 L ที่ $22 \pm 0.9^\circ\text{C}$ นาน 15 วัน พบว่า การเลี้ยงด้วย CO_2 ที่ความเข้มข้น 8.5% ภายใต้แสง LED สีขาว ทำให้ได้สาหร่าย *C. vulgaris* UTEX 26 ที่เจริญเติบโตดีที่สุด คือ มีปริมาณน้ำหนักแห้ง 1.592 ± 0.021 g/L

W. Kong et al. (2011) ศึกษาผลของปัจจัยสภาพการเลี้ยง *C. vulgaris* ต่ออัตราการเจริญเติบโต และปริมาณไขมัน ภายใต้สภาพการทดลองทั่วไปแบบ mixotrophic ที่ 25°C ความเข้มแสง 2,500 lux ช่วงแสง คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด เขย่าที่ 120 rpm นาน 4 วัน โดยทดลองใช้แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ได้แก่ glucose, sodium bicarbonate, sodium acetate, sucrose และ glycerin พบว่า แหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุด คือ glucose โดยเมื่อให้ glucose 1 g/L จะได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้ง 1.23 ± 0.02 g/L และให้ปริมาณไขมัน $8.45 \pm 0.81\%$ ซึ่งให้ปริมาณน้ำหนักแห้ง และไขมันมากกว่าที่ใช้แหล่งคาร์บอนอื่น ๆ ที่ทดลองที่ความเข้มข้นที่เท่ากัน (sodium

bicarbonate, sodium acetate, sucrose และ glycerin ที่ความเข้มข้น 1 g/L) ต่อมาศึกษาความเข้มข้นของ glucose ที่เหมาะสมต่อสาหร่าย *C. vulgaris* โดยทดสอบกับ glucose ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 0, 1, 5, 10 และ 20 g/L พบว่า glucose ที่ความเข้มข้น 20 g/L เหมาะสมที่สุด โดยทำให้สาหร่าย *C. vulgaris* มีปริมาณน้ำหนักรวมแห้ง 2.24 ± 0.26 g/L และปริมาณไขมัน $17.74 \pm 0.43\%$ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Cheirsilp and Torpee (2012) ที่ศึกษาความเข้มข้น และปริมาณ glucose ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และปริมาณไขมันของสาหร่าย *Chlorella* sp. น้ำเค็ม ภายใต้สภาพการทดลองแบบ mixotrophic ที่อุณหภูมิ 30°C อัตราการให้อากาศ 0.01 vvm ความเข้มแสง 3,000 lux ช่วงที่ได้รับแสง คือ 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด นาน 10 วัน พบว่า สาหร่ายที่เลี้ยงด้วย glucose ที่ความเข้มข้น 20 g/L ทำให้ได้สาหร่ายที่มีปริมาณไขมัน และปริมาณ chlorophyll มากที่สุด คือ ได้ปริมาณไขมันเท่ากับ 651.2 ± 10.2 mg/L และปริมาณ chlorophyll 8.40 ± 2.76 g/L นอกจากนี้ ยังศึกษาการเจริญเติบโต และการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella* sp. น้ำเค็ม โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้ คือ (1) ใช้ glucose 10 g/L ความเข้มแสง 3,000 lux (2) เติม glucose 2 g/L ทุก ๆ 2 วัน เลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 lux (3) เติม glucose 2 g/L ทุก ๆ 2 วัน และเพิ่มความเข้มแสง 500 lux จากความเข้มแสงเริ่มต้น 3,000 lux ทุก ๆ 2 วัน พบว่า สภาพการทดลองที่ดีที่สุด คือ การเติม glucose 2 g/L ลงในอาหารทุก ๆ 2 วัน และเพิ่มความเข้มแสง 500 lux จากความเข้มแสงเริ่มต้น 3,000 lux ทุก ๆ 2 วัน เมื่อเลี้ยงสาหร่ายนาน 6 วัน ซึ่งทำให้ได้สาหร่ายที่มีปริมาณน้ำหนักรวมแห้ง 4.48 g/L และได้ปริมาณไขมัน 1,123.7 mg/L

W. B. Kong et al. (2013) ศึกษาผลของความเข้มข้นของ glycerol ที่ 1, 5, 10 g/L และ glycerol+glucose ที่อัตรา 1 : 2, 5 : 2 และ 10 : 2 g/L ต่อการเจริญเติบโต และการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ใน flask ขนาด 250 ml ที่อุณหภูมิ $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ให้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 2,500 lux ช่วงที่ได้รับแสง คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ไม่มีการเติมอากาศ แต่ใช้การเขย่าที่ 120 rpm เป็นเวลา 4 วัน และเลี้ยงด้วยระบบ mixotrophic พบว่า เมื่อใช้ glycerol+glucose อัตราส่วน 10 : 2 g/L ทำให้สาหร่ายมีน้ำหนักรวมแห้งและไขมันดีที่สุด คือ ได้น้ำหนักรวมแห้ง 2.62 ± 0.10 g/L และปริมาณการผลิตไขมันมีค่าเป็น 0.06968 g/L/day

2.9.2.3 แหล่งไนโตรเจน

Ammonia, nitrate, nitrite และ urea เป็นแหล่งไนโตรเจนที่สาหร่ายสามารถนำมาใช้ในการเจริญเติบโต หากปริมาณไนโตรเจนมีจำกัดจะทำให้สาหร่ายไม่สามารถสังเคราะห์สารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และคลอโรฟิลล์ได้ ซึ่งสารเหล่านี้มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์ และปริมาณไนโตรเจนภายในเซลล์สาหร่ายและมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย แม้ว่าปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่อย่างจำกัดจะมีผลให้สาหร่ายหยุดการ

เจริญเติบโต แต่สาหร่ายยังคงสังเคราะห์แสงอยู่ตลอดเวลา สาหร่ายได้รับพลังงานจากคาร์บอนร่วมกับการสังเคราะห์แสง และเปลี่ยนจากการสังเคราะห์โปรตีนไปเป็นการสร้างไขมัน และคาร์โบไฮเดรตแทน (Y. Li, M. Horsman, B. Wang, et al., 2008)

Przytocka-Jusiak, Mlynarczyk, Kulesza, and Mycielski (1977) พบว่าสาหร่าย *C. vulgaris* เจริญเติบโตลดลง 50% ในสภาพการเลี้ยงที่มีแอมโมเนีย 0.33 g/L ส่วนสาหร่าย *C. vulgaris* stain AA สามารถทนสภาวะที่มีแอมโมเนียที่ความเข้มข้นสูงได้ดีกว่า *C. vulgaris* โดยสาหร่าย *C. vulgaris* stain AA เจริญเติบโตลดลง 50% ในสภาพการเลี้ยงที่มีแอมโมเนีย 195 g/L

ส่วน W. Kong et al. (2011) รายงานว่าในระบบการเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* แบบ mixotrophic ที่มีปริมาณ glucose 10 g/L ภายใต้ความเข้มแสง 2,500 lux ช่วงเวลาการได้รับแสง คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ที่อุณหภูมิ 25°C เขย่าที่ 120 rpm เลี้ยงนาน 6 วัน ทำการทดสอบเปรียบเทียบเมื่อเลี้ยงในสภาพที่มีแหล่งไนโตรเจนที่ทดสอบ 6 ชนิด คือ potassium nitrate (KNO_3), urea (NH_2)₂CO, ammonium sulfate ((NH_4)₂SO₄), ammonium nitrate (NH_4NO_3), peptone และ beef extract เมื่อแต่ละแหล่งไนโตรเจนใช้ที่ความเข้มข้นเท่ากัน คือ 0.5 g/L พบว่าสาหร่ายสามารถใช้ไนโตรเจนทั้ง 6 ชนิด เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ โดย potassium nitrate จะให้ผลดีที่สุด ทั้งด้านปริมาณน้ำหนักแห้ง (3.43 ± 0.15 g/L) อัตราการเจริญเติบโต (0.87 ± 0.04 $\mu\text{/day}$) และผลผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* (47.10 ± 3.55 mg/L/day) แต่ให้ปริมาณไขมันในสาหร่ายเท่ากับ $8.23 \pm 0.35\%$ ซึ่งน้อยกว่าการใช้ peptone (ที่มีค่าเป็น $11.33 \pm 1.00\%$) อีกทั้งพบว่า การใช้ ammonium sulfate, ammonium nitrate, peptone และ beef extract เป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้ pH ของอาหารที่เลี้ยงลดลงจาก 7.2 ไปเป็น 2.55, 2.51, 3.07 และ 3.11 ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* จึงส่งผลให้การเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ลดลงเหลือ 1.84 ± 0.10 g/L, 1.62 ± 0.18 g/L, 0.72 ± 0.03 g/L และ 1.20 ± 0.26 g/L ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม potassium nitrate มีราคาสูง จึงอาจไม่เหมาะสมสำหรับการผลิตสาหร่ายเชิงพาณิชย์ ในขณะที่ urea มีราคาไม่สูงมาก (ราคาถูกกว่า potassium nitrate 2 เท่า) แต่ผลผลิตที่ได้ยังมีคุณภาพด้อยกว่าที่ได้จากการใช้ potassium nitrate เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านอัตราการเจริญเติบโต เช่น ผลการทดลองเมื่อใช้ urea ที่ 0.75 g/L ทำให้ได้ผลผลิตสาหร่ายคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้ง 3.28 ± 0.30 g/L อัตราการเจริญเติบโต 0.64 ± 0.03 $\mu\text{/day}$ และ ไขมัน $5.48 \pm 0.35\%$ ส่วนที่เลี้ยงโดยให้ urea 0.5 g/L ทำให้ได้ผลผลิตสาหร่ายคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้ง 3.18 ± 0.55 g/L อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย 0.67 ± 0.04 $\mu\text{/day}$ และไขมัน $6.10 \pm 0.76\%$

อีกทั้ง Velichkova (2014) ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* (SKU: 100-CVC00-50) ใน flask ขนาด 500 ml ใช้น้ำเสียจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ 250 ml เป็นแหล่งอาหาร ทำการเติมอากาศที่มี 2% CO₂ (v/v) ภายใต้แหล่งกำเนิดแสง luminescent lamps Sylvania Aqua Star 18 w 3 หลอด อุณหภูมิของแสง 10,000 k (kelvin) ห่างจาก flask 30 mm ช่วงเวลาการให้แสง คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ที่อุณหภูมิ 25-27°C ใช้ urea หรือ ammonium nitrate เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ความเข้มข้น 1.125 g/L เท่ากัน พบว่า สาหร่ายที่เลี้ยงด้วย urea มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 1.2 g/L ซึ่งได้ผลดีกว่าการใช้ ammonium nitrate เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.98 g/L

2.9.2.4 แหล่งฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่สาหร่ายทุกชนิดจำเป็นต้องใช้ในการเจริญเติบโต และมีความสำคัญต่อกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น การสังเคราะห์ nucleic acids และการถ่ายเทพลังงานภายในเซลล์ ฟอสฟอรัสมีปริมาณจำกัดในแหล่งน้ำธรรมชาติ ฟอสฟอรัสในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของ orthophosphate และรวมอยู่ในสารอินทรีย์อื่น ๆ สาหร่ายสามารถใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่ต่างกันได้ เช่น ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์ ฟอสเฟต และฟอสฟอรัสที่เป็นสารประกอบ ซึ่งฟอสฟอรัสจะถูก hydrolyzed โดย extracellular phosphatases นอกจากนี้สาหร่ายยังสามารถใช้ฟอสฟอรัสในรูปของอนินทรีย์ฟอสเฟต คือ H₂PO₄⁻ หรือ HPO₄²⁻ ความเข้มข้นที่ดีที่สุดของฟอสฟอรัสในอาหารเมื่อพิจารณาจากการที่สาหร่ายสามารถทนได้และเจริญเติบโตได้ คือที่ 50 µg/L-20 mg/L (Becker, 1994) ลัดดา วงศ์รัตน์ (2543) กล่าวว่าเมื่อสาหร่ายขาดฟอสฟอรัส (P = 0) จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยทำให้มีปริมาณโปรตีน, chlorophyll a, RNA และ DNA ลดลง แต่ปริมาณแป้งหรือคาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มขึ้น อีกทั้งในสภาวะที่มีไนโตรเจนไม่เพียงพอ (N = 0) ฟอสฟอรัสจะเป็นปัจจัยสำคัญในการสะสมไขมันของสาหร่าย และเมื่อสาหร่ายอยู่ในสภาวะที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโต สาหร่ายจะดึงฟอสฟอรัสในอาหารมาสะสมไว้ในรูป polyphosphate (Poly-P) (Harold, 1966) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Chu et al. (2013) ที่ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ใน flask ขนาด 2,000 ml ภายใต้แสง fluorescent ขนาด 40 W 3 หลอด ที่ความเข้มแสง 6,000 lux ระยะห่างจาก flask กับหลอดไฟ 6 cm ที่ช่วงเวลาการให้แสง คือ 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด ที่อุณหภูมิ 25±2°C ให้อากาศที่ผสมด้วย 4% CO₂ ที่อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm เลี้ยงในอาหาร BG-11 เป็นเวลา 6 วัน นำมาปั่นให้ตกตะกอน และนำมาเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่แบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย 4 ชุดทดสอบ ได้แก่ ไม่มีไนโตรเจน (N=0, P=35 mg/L), ไม่มีฟอสฟอรัส (P=0, N=200 mg/L), ไม่มีไนโตรเจน และไม่มีฟอสฟอรัส (N=0 และP=0), ไม่มีไนโตรเจน ส่วนฟอสฟอรัสมีอยู่อย่างจำกัด (N=0 และ P limited (P

limited คือ จำกัดปริมาณฟอสฟอรัสมีอยู่ในปริมาณที่น้อยกว่าปริมาณที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย และเติมฟอสฟอรัสทุก ๆ 2 วัน) และชุดควบคุม (N=200 mg/L, P=35 mg/L) โดยเติมสาหร่ายที่มีปริมาณชีวมวล 560 mg/L ในอาหารในอัตราส่วน คือ สาหร่ายปริมาตร 1 ส่วน : อาหารปริมาตร 8 ส่วน เลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน พบว่าในกลุ่มที่ขาดไนโตรเจนสาหร่ายมีน้ำหนักแห้ง 95.36 mg/L/day ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (100.40 mg/L/day) แต่มีน้ำหนักแห้งสูงกว่ากลุ่มไม่มีไนโตรเจน และมีฟอสฟอรัสในปริมาณที่จำกัด (67.78 mg/L/day), ไม่มีไนโตรเจนและไม่มีฟอสฟอรัส (41.75 mg/L/day) และกลุ่มไม่มีฟอสฟอรัส (38.25 mg/L/day) อีกทั้งพบว่ากลุ่มที่ขาดไนโตรเจน สาหร่ายมีน้ำหนักไขมัน 58.39 mg/L/day ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักไขมันมากกว่ากลุ่มการทดลองอื่น

Liang et al. (2013) ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหาร BG-11 ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความเข้มแสง $30 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ เลี้ยงในอาหาร BG-11 ปริมาตร 1 L จนสิ้นสุดระยะการเจริญเติบโต และทำการเจือจางด้วย BG-11 ที่ไม่มีฟอสฟอรัส แต่มีปริมาณไนโตรเจน 1.76 mM เลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน และนำไปเลี้ยงต่อในอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ 5 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 16, 32, 80, 160 และ 240 μM และแต่ละความเข้มข้นมีปริมาณไนโตรเจน 1.76 mM พบว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีฟอสฟอรัส 32 μM ทำให้สาหร่ายมีการสะสมไขมัน 23.60% ซึ่งมีค่ามากกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ระดับความเข้มข้นอื่นที่ทดสอบ (16, 80, 160 และ 240 μM)

2.9.2.5 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ธีรยุทธ บุญคง (2552) กล่าวว่าค่า pH สามารถบอกถึงปริมาณการละลายของก๊าซ CO_2 หรือปริมาณไบคาร์บอเนตในอาหารได้ เนื่องจากเมื่อมีปริมาณ CO_2 ละลายในอาหารมาก จะทำให้ pH ลดลง ค่า pH ของอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงมีผลกระทบต่อกระบวนการเผาผลาญอาหาร และการเจริญเติบโตของสาหร่าย รวมถึงการเปลี่ยนแปลงสภาพสมดุลของสารอนินทรีย์ คาร์บอน สาหร่ายส่วนใหญ่จะเจริญเติบโตและสังเคราะห์แสงได้ดีในช่วง pH ที่เป็นกลาง คือ pH 7-9 (Dorling, Mcauley, & Hodge, 1997; Lavens & Sorgeloos, 1996) ซึ่งสอดคล้องกับ C. Wang et al. (2010) ที่พบว่าเมื่อใช้น้ำเสียจากบ่อหมักก๊าซชีวภาพ 50% ผสมกับอาหาร สำหรับเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและปริมาณไขมัน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ

(1) ชุดที่ pH เริ่มต้นมีค่าต่าง ๆ ได้แก่ 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5

(2) ชุดที่ควบคุม pH ตลอดการทดลองไว้ที่ 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5 โดยปรับ pH ตามต้องการด้วย HCl หรือ NaOH พบว่า สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีที่ pH เริ่มต้น 6.5 คือ ได้น้ำหนักแห้งสาหร่าย 2.694 g/L และที่ควบคุม pH ไว้ที่ 8.5 สาหร่ายมีอัตราการสะสมไขมันสูงสุด คือ 49.6% ดังนั้นค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงสาหร่าย คือ ที่ pH เริ่มต้น 7 ซึ่งมีอัตราการกำจัดไนโตรเจน และฟอสฟอรัสถึง 95% และ 97% ตามลำดับ นอกจากนี้ Rachlin and Grosso (1991) เลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* (UTEX 30) ที่ pH เริ่มต้นต่าง ๆ ดังนี้ 3.0, 4., 5.0, 6.2, 6.9, 7.5, 8.0, 8.3, 8.5 และ

9.0 บน Sherer-Gillett RI-24 LTP ที่อุณหภูมิ $19\pm 1^{\circ}\text{C}$ ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 5.5 Klux ช่วงเวลาการได้รับแสง คือ 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด ระยะเวลา 4 วัน ในอาหาร Bristol's พบว่า *C. vulgaris* (UTEX 30) เจริญเติบโต $124.9\pm 0.20\%$ ที่ pH เริ่มต้น 7.5 ซึ่งสาหร่ายมีการเจริญเติบโตมากกว่าที่ pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.2, 6., 8.0, 8.3, 8.5 และ 9.0

Gong et al. (2014) ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* (FACHB-1227) ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 3,960; 7,920 และ 11,920 lux ช่วงเวลาการได้รับแสง คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด และแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง โดย

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่มีการควบคุม pH โดยมี pH เริ่มต้นที่ 7, 8, 9 และ 10

ชุดการทดลองที่ 2 มีการควบคุม pH ตลอดการทดลองที่ 7, 8, 9 และ 10 โดยปรับด้วย HCl หรือ NaOH

ที่อุณหภูมิกลางวัน คือ $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ อุณหภูมิกลางคืน คือ $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ที่ระยะเวลาการทดลอง 20 วัน พบว่า ชุดการทดลองที่ควบคุมไว้ที่ pH 10 ภายใต้ความเข้มแสง 3,960 lux ได้สาหร่ายที่มีความหนาแน่นเซลล์เท่ากับ 16.956×10^6 cells/ml ส่วนชุดการทดลองที่ไม่ได้ควบคุม pH (pH 7) ภายใต้ความเข้มแสง 3,960 lux พบว่า ได้สาหร่ายที่มีความหนาแน่นเซลล์ 14.62263×10^6 cells/ml

2.10 แบบจำลอง Modified Gompert

มีการใช้แบบจำลองศึกษาปรากฏการณ์ทางธรรมชาติอย่างแพร่หลาย ในการอธิบายเส้นโค้งการเจริญเติบโต (growth curve) ด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (mathematical model) โดยวิธีแรกอาศัยแนวคิดทางคณิตศาสตร์เป็นหลักในการสร้างแบบจำลอง (empirical model) ส่วนวิธีที่สองอาศัยทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อธิบายกลไกการเจริญเติบโตในการสร้างแบบจำลอง (mechanistic model) ซึ่งทั้งสองวิธีอาศัยฟังก์ชันของพารามิเตอร์ต่าง ๆ และปรับค่าพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องเพื่อให้ได้เส้นโค้งที่สอดคล้องกับข้อมูลการเจริญเติบโต

การวิจัยครั้งนี้อธิบายโดยใช้เส้นโค้งการเจริญเติบโต ซึ่งข้อดี คือ แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ได้อยู่ในรูปแบบมาตรฐานของฟังก์ชันที่ได้รับการยอมรับในการอธิบายเส้นโค้งการเจริญเติบโตในงานวิจัยต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย ได้แก่ การติดตามการเจริญเติบโตของสัตว์ มนุษย์ พืช และจุลชีววิทยา

2.10.1 เส้นโค้งการเจริญเติบโตเชิงเลขชี้กำลังแบบ exponential (Exponential Growth Curve)

เส้นโค้งการเจริญเติบโตเชิงเลขชี้กำลังแบบ exponential อธิบายได้ดังนี้

$$y = y_0 e^{bt}$$

โดย y_0 คือ ค่าน้ำหนักเริ่มต้นที่อายุเท่ากับศูนย์ (mg, g และ kg ขึ้นอยู่กับการทดลองว่าใช้หน่วยไหน)

e คือ ฟังก์ชันเลขชี้กำลัง

b คือ ค่าคงที่

t คือ เวลา (วินาที, นาที และวัน)

เส้นโค้งชนิดนี้สามารถอธิบายการเจริญเติบโตได้ง่าย แต่ขาดความสมจริง เพราะมีอัตราการเจริญเติบโตเพียงอัตราเดียว และการเจริญเติบโตเป็นไปได้ไม่สิ้นสุด ซึ่งขัดแย้งกับความเป็นจริงในธรรมชาติ อนุกรม นวรัตน์ (2016)

2.10.2 เส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ logistic (Logistic Growth Curve)

เส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ logistic อธิบายได้ดังนี้

$$y = \frac{b}{\alpha + \mu e^{-bt}}$$

โดย t คือ เวลา (วินาที, นาที และวัน)

μ คือ ค่าคงที่

α คือ จำนวนเซลล์ (cell/ml)

b คือ ระยะการเจริญเติบโต (exponential) (วินาที, นาที และวัน)

e คือ ฟังก์ชันเลขชี้กำลัง

เส้นโค้งแบบนี้มีความสมจริงกว่าเส้นโค้งการเจริญเติบโตเชิงเลขชี้กำลังแบบ exponential เนื่องจากสามารถอธิบายลักษณะของการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตที่มีอัตราการเจริญเติบโตแบบไม่คงที่ได้ โดยในช่วงแรกสิ่งมีชีวิตมักมีอัตราการเจริญเติบโตช้า อัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในช่วงเจริญวัย แล้วลดลง จนเข้าสู่ภาวะอัตราการเจริญเติบโตสิ้นสุด อย่างไรก็ตาม ข้อด้อยของเส้นโค้งชนิดนี้ คือ ข้อกำหนดที่กำหนดให้อัตราการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของน้ำหนักสุดท้าย (อนุกรม นวรัตน์, 2016)

2.10.3 เส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ Gompertz (Gompertz Growth Curve หรือ Gompertz Function)

เส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ Gompertz เป็นความสัมพันธ์แบบ sigmoid ที่อธิบายความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาต่าง ๆ โดยที่ในช่วงเริ่มต้น และช่วงท้ายของช่วงเวลา เป็นช่วงที่มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุด

$$y = a \cdot \exp[-\exp(b - ct)]$$

โดย a คือ asymptote ค่าที่ฟังก์ชันลู่เข้าเมื่อ $t \rightarrow \infty$ (เวลา)

b คือ พารามิเตอร์ที่กำหนดตำแหน่งของกราฟตามแนวแกน x เมื่อปรับค่า b กราฟจะเลื่อนไปทางซ้ายหรือขวาตามแนวแกน x

c คือ อัตราการเติบโต (เวลา) (วินาที, นาที และวัน)

เส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ Gompertz จะแตกต่างจากเส้นโค้งการเจริญเติบโต logistic ตรงที่การลู่เข้าของเส้นโค้งด้านขวา จะลู่เข้าแบบช้า ๆ ไม่สมมาตรกับเส้นโค้งฝั่งซ้าย (lower valued asymptote) ซึ่งแตกต่างจากเส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ logistic ที่เส้นโค้งมีความสมมาตร ทำให้สามารถอธิบายปรากฏการณ์ธรรมชาติได้สมจริงกว่า (ณัฐกร นวรัตน, 2016)

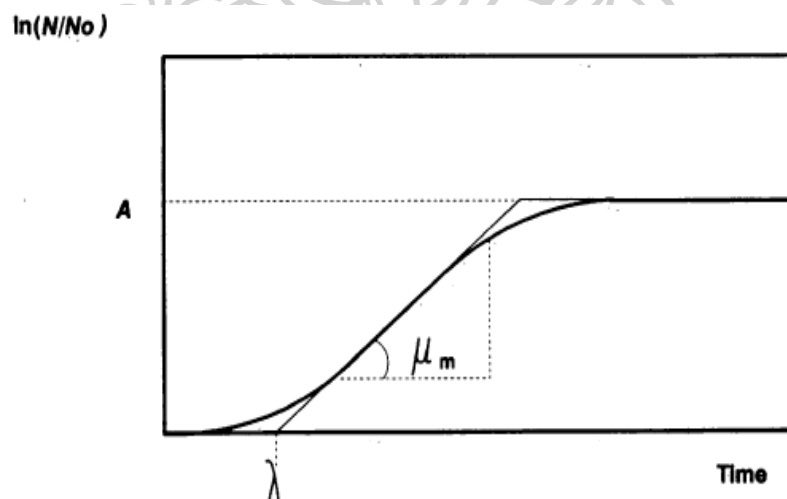
การวิจัยครั้งนี้เลือกแบบจำลองที่ดัดแปลงมาจากแบบจำลอง Gompertz (Modified Gompertz) มาอธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 เนื่องจากการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีการเจริญเติบโตคล้ายกับแบบคที่เรีย ที่มีการเจริญเติบโตจากระยะปรับตัว (λ) ช่วงเร่งการเจริญเติบโตสูงสุด (μ_m) และหยุดการเจริญเติบโต จนถึงระยะที่กลับมาเป็นศูนย์อีกครั้ง (A) (Halimi, Shukor, Johari, & Shukor, 2014) แต่การอธิบายสมการการเจริญเติบโตแบบ sigmoid ของ Gompertz จะประกอบด้วยตัวแปรทางคณิตศาสตร์ (a, b, c) มากกว่าการใช้ตัวแปรที่มีความหมายทางชีวภาพ (A, μ_m และ λ) จึงต้องแทนค่าตัวแปรทางชีวภาพลงในสมการโดยตรง และนำแบบจำลองการเจริญเติบโตมาเขียนใหม่โดยการแทนค่า ตัวแปรทางคณิตศาสตร์ด้วย A, μ_m และ λ จะได้เป็นแบบจำลอง Modified Gompertz เพื่อให้พารามิเตอร์ต่าง ๆ มีความหมายทางชีวภาพ (Zwietering, Jongenburger, Rombouts, & Van 'T riet, 1990) แบบจำลอง Gompertz และ แบบจำลอง Modified Gompertz แสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แบบจำลอง Gompertz และแบบจำลอง Modified Gompertz

แบบจำลอง	สมการ
Gompertz	$y = a \cdot \exp[-\exp(b - ct)]$
Modified Gompertz	$y = A \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m e}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$

ที่มา: ดัดแปลงจาก Zwietering et al. (1990)

แบบจำลอง Modified Gompertz จะอธิบายเป็นขั้นตอน โดยการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะมีอัตราการเจริญเติบโตจากค่าที่เป็นศูนย์ แล้วมีช่วงเวลาในการปรับตัวของแบคทีเรีย (λ) และเจริญเติบโตสูงสุด (μ_m) ณ ช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง ในขั้นตอนสุดท้ายแบคทีเรียจะหยุดการเจริญเติบโต ทำให้เกิดเป็นเส้นโค้งการเจริญเติบโตในขั้นตอนสุดท้าย แบคทีเรียเริ่มตายและลดปริมาณลงจนมีค่าเป็นศูนย์ (A) เมื่อการเจริญเติบโตกำหนดเป็น logarithm ของจำนวนสิ่งมีชีวิตกับเวลา การเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตจะทำให้เกิดเส้นโค้งซิกมอยด์ (sigmoidal curves) ดังภาพที่ 9 ซึ่งช่วง lag phase เกิดขึ้นหลังจากที่ $t=0$ ตามด้วยช่วง exponential phase และช่วง stationary phase

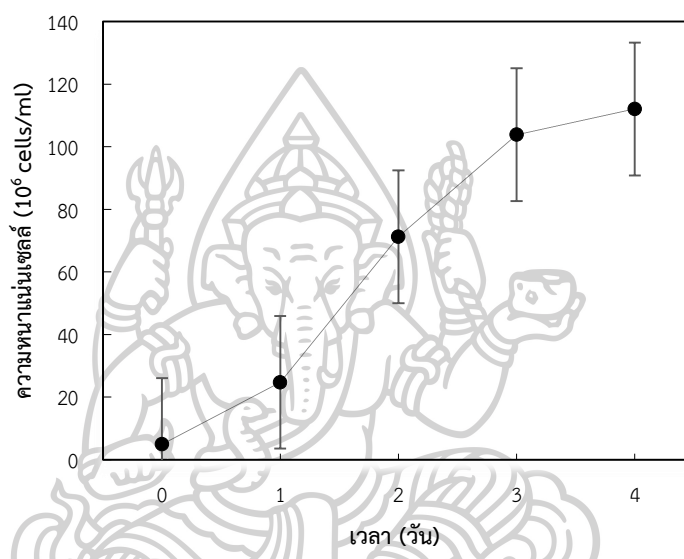


ภาพที่ 9 กราฟมาตรฐานการเจริญเติบโต

ที่มา: Zwietering et al. (1990)

2.11 ความหมายของค่าทางคณิตศาสตร์สำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580

การใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ Modified Gompertz มาทำนายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 โดยแทนค่าทางคณิตศาสตร์มีการแบ่งออกเป็น ช่วงระยะเวลาปรับตัวของสาหร่าย (λ) ช่วงที่สาหร่ายเร่งการเจริญเติบโต (μ_m) และช่วงที่สาหร่ายหยุดการเจริญเติบโต (A) ดังแสดงในภาพที่ 10



ภาพที่ 8 การแทนค่าทางคณิตศาสตร์ของแบบจำลอง modified Gompertz

ที่มา: ดัดแปลงจาก Zwietering et al. (1990)

ภาพที่ 10 การศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 พบว่าค่าตัวแปร λ , μ_m และ A มีความหมายต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายดังนี้

ช่วงที่มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ สาหร่ายมีการปรับตัว เมื่อนำไปใส่ในสภาวะใหม่ เซลล์สาหร่ายจะไม่มี การเจริญเติบโต เป็นระยะ lag phase ดำเนินการโดยแทนค่าช่วงนี้ด้วยค่าพารามิเตอร์ λ ซึ่งช่วงระยะเวลาปรับตัวจะนานหรือสั้น ขึ้นอยู่กับสภาวะก่อนหน้า

ช่วงที่สาหร่ายมีการใช้อาหารเพื่อการเจริญเติบโต (แบ่งเซลล์) ปริมาณการแบ่งเซลล์จะมีค่าสูงหรือต่ำ จะขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของปริมาณอาหารที่มี หากสาหร่ายเจริญเติบโตดีจะได้กราฟที่มีความชันมากขึ้น ดำเนินการโดยแทนค่าช่วงนี้ด้วยค่าพารามิเตอร์ μ_m (ระยะเอกซ์โพเนนเชียล)

ช่วงที่สาหร่ายเริ่มหยุดการเจริญเติบโต เนื่องจากสาหร่ายใช้สารอาหาร และขับถ่ายของเสียออกมา เป็นช่วงที่สาหร่ายหยุดการเจริญเติบโต และเริ่มมีการตายของสาหร่ายเกิดขึ้น ดำเนินการโดยแทนค่าช่วงนี้ด้วยค่าพารามิเตอร์ A (ระยะคงที่)

2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.12.1 การใช้น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ในการเลี้ยงสาหร่ายชนิดต่าง ๆ

Maroneze et al. (2014) ศึกษาการใช้สาหร่าย *Phormidium* sp. บำบัดน้ำเสียจากโรงฆ่าวัว และศึกษาปริมาณไขมันที่ได้จากสาหร่าย ใน bubble column bioreactor ขนาด 3.5 L เลี้ยงในระบบ heterotrophic ที่อุณหภูมิ 20°C อัตราการให้อากาศ 1 vvm ความเข้มแสง 15 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ที่ช่วงแสง คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด พบว่า สาหร่าย *Phormidium* sp. สามารถลดปริมาณ COD, total nitrogen และ total phosphorus ได้ 90%, 57% และ 52% ตามลำดับ ซึ่งปริมาณ COD 1 mg จะให้ปริมาณสาหร่าย 0.43 mg อีกทั้งสาหร่ายยังมีปริมาณ โปรตีน 32%, ไขมัน 15%, คาร์โบไฮเดรต 16%, แร่ธาตุ 22% และความชื้น 15% ของน้ำหนักเปียก (Hernández et al., 2016) ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย 3 ชนิดคือ *Chlamydomonas subcaudata*, *Anabaena* sp. และ *Nitzschia* sp. เพื่อใช้ผลิต biofuel สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์โดยใช้ HRAPs (75 L high rate algal ponds) การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ชุดทดสอบ คือ ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงในเรือนกระจกภายใต้อุณหภูมิ $20 \pm 6^\circ\text{C}$ ที่ความเข้มแสง 4000 ± 7500 lux เป็นระยะเวลา 115 วัน และ ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงในที่ร่มภายใต้สภาวะควบคุม คือ อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ที่ความเข้มแสง 4500 ± 150 lux เป็นระยะเวลา 115 วัน ศึกษา การกำจัดสารอินทรีย์และสารอาหาร การผลิตชีวมวล องค์ประกอบของชีวมวลที่เกิดขึ้น รวมถึงศึกษาการสกัดไขมันโดยใช้ SCCO_2 (supercritical carbon dioxide) การสกัดชีวมวล และการตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะของ monosaccharide ที่เกิดขึ้น พบว่า สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียที่เลี้ยงในเรือนกระจก (ชุดการทดลองที่ 1) มีประสิทธิภาพการลด COD ได้ 86% และฟอสฟอรัส ได้ 91% ในขณะที่สาหร่ายที่เลี้ยงในที่ร่ม (ชุดการทดลองที่ 2) สามารถลด COD ได้ 92% และลดฟอสฟอรัส ได้ 71% อีกทั้งพบว่าการเลี้ยงสาหร่ายเลี้ยงในเรือนกระจกให้ผลผลิตที่ดีกว่าการเลี้ยงในที่ร่ม ทั้งด้านผลผลิตชีวมวลและปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ โดยสาหร่ายที่เลี้ยงในเรือนกระจกสามารถผลิตชีวมวลได้มากที่สุดถึง $10.7 \text{ g VSS}/\text{m}^2/\text{day}$ ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้เท่ากับ $142 \text{ mg FFA}/\text{g}$ ชีวมวล ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในที่ร่มสาหร่ายผลิตชีวมวลได้ $7.1 \text{ g VSS}/\text{m}^2/\text{day}$ ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้เท่ากับ $139 \text{ mg FFA}/\text{g}$

2.12.2 การเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในน้ำเสียประเภทอื่น ๆ

Sreesai and Pakpain (2007) ศึกษาสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากบ่ออากาศก่อนของโรงบำบัดน้ำเสียหนองแขม 3 L ภายใน glass reactor ขนาด 5 L โดยใช้แสง fluorescence ที่ความเข้มแสง 3000, 5000 และ 8000 lux ช่วงเวลาการให้แสง คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด เปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงในบ่อโดยใช้แสงจากธรรมชาติ ที่ความเข้มแสง 2,500-9,000 lux ให้อากาศ 1 L ต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เมื่อเลี้ยงในบ่อภายใต้แสงจากธรรมชาติ

ที่มีความเข้มแสง 2,500-9,000 lux ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักรวมเท่ากับ 390 mg/L แต่ที่ความเข้มแสง 8,000 lux ภายใต้น้ำที่ fluorescence สาหร่ายมีน้ำหนักรวมเท่ากับ 356 mg/L ที่ระยะเวลา 4 วัน ส่วนเมื่อพิจารณาด้านการบำบัดคุณภาพน้ำ พบว่า หลังจากการทดลอง สาหร่ายที่เลี้ยงในบ่อภายใต้สภาวะแสงจากธรรมชาติ สามารถลดปริมาณ total Kjeldahl nitrogen (TKN), total phosphorus (TP), SS และ COD ได้ 62%, 55 %, 47%, 75% ตามลำดับ ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงใน glass reactor ที่ความเข้มแสง 8,000 lux พบว่า ภายใต้น้ำที่เวลา 4 วัน สาหร่ายสามารถลดปริมาณ TKN, TP, SS และ COD ได้ 54%, 41% 38% และ 79% ตามลำดับ และทำให้คุณภาพน้ำจากโรงงานอุตสาหกรรมมีค่าไม่เกินค่ามาตรฐานที่รัฐบาลกำหนด (คือ ค่า TKN ไม่เกิน 100 mg/L)

Iyovo, Du, and Chen (2010) ศึกษาการเจริญเติบโต และปริมาณไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำจากการย่อยสลายมูลไก่ (PM) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง ดังนี้ single-stage คือ เลี้ยงในน้ำ PM ที่ความเข้มข้น 20, 30, 40, 50 และ 60 ml/L เป็นเวลา 5 วัน (120 ชั่วโมง) และ two-stage คือ เลี้ยงในน้ำ PM ที่ความเข้มข้น 20, 30 และ 40 ml/L และเติมน้ำจากการย่อยสลายมูลไก่ทุกวัน ที่ความเข้มข้นเท่าเดิม คือ ที่ 20, 30 และ 40 ml/L เป็นเวลา 5 วัน (120 ชั่วโมง) หลังจาก 5 วัน ลดปริมาณอาหารที่เติมลง 1 ใน 5 และเติม glucose ที่ความเข้มข้น 2 g/L เลี้ยงต่อจนครบ 7.5 วัน (180 ชั่วโมง) เทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหาร Bold's basal ที่อุณหภูมิ $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ความเข้มแสง $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ และ $250 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ใช้ปริมาณสาหร่ายระยะ exponential ที่ปริมาณสาหร่ายเริ่มต้น 10% พบว่า สาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Bold's Basal มีปริมาณน้ำหนักรวมเท่ากับ 8.2 g/L ให้ปริมาณไขมัน 2.1 g/L หลังการเลี้ยง 180 ชั่วโมง ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงแบบ single-stage ที่ความเข้มข้นของ PM ที่ 50 ml/L ทำให้ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักรวมมากที่สุด คือ 13.52 g/L (ซึ่งมากกว่าชุดทดสอบอื่น ๆ โดยชุดทดสอบที่เลี้ยงในน้ำ PM ที่ความเข้มข้น 20, 30, 40 และ 60 ml/L ทำให้ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักรวมเท่ากับ 8.48, 9.39, 10.45 และ 10.5 g/L ตามลำดับ) แต่ที่ความเข้มข้นของ PM ที่ 20 ml/L ให้ปริมาณไขมันมากที่สุด คือ 2.4 g/L (ซึ่งมากกว่าชุดทดสอบอื่น ๆ โดยชุดทดสอบที่เลี้ยงใน PM ที่ความเข้มข้น 30, 40, 50 และ 60 ml/L ทำให้ได้สาหร่ายที่มีไขมันเท่ากับ 2, 1.8, 1.5 และน้อยกว่า 1 g/L ตามลำดับ) ส่วนการทดลองแบบ two-stage พบว่า ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักรวมมากกว่าชุดทดสอบที่เลี้ยงแบบ single-stage โดยที่ 120 ชั่วโมง พบว่า ชุดการทดลองแบบ two-stage ที่เลี้ยงในน้ำ PM ที่ความเข้มข้น 20, 30 และ 40 mg/L ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักรวมเท่ากับ 12.6, 13.14 และ 14 g/L และให้ปริมาณไขมัน 2.9, 3.8 และ 4.9 g/L ตามลำดับ สรุปการทดลองได้ว่า การเลี้ยงสาหร่ายใช้น้ำจาก PM สามารถให้สาหร่ายที่มีน้ำหนักรวมมากที่สุด และการใช้ glucose เป็นแหล่งคาร์บอนในน้ำ PM เมื่อเลี้ยงสาหร่ายที่อยู่ในระยะ

stationary ทำให้สาหร่ายลดปริมาณไนโตรเจนได้ดี และสามารถสังเคราะห์ปริมาณไขมันได้มากขึ้น ทำให้ผลิตไขมันได้เพิ่มขึ้น

Lim et al. (2010) ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* UMACC 001 ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยใช้น้ำเสียของโรงงานสิ่งทอ (TW) จาก holding tank ที่ผ่านการบำบัดขั้นสุดท้ายก่อนปล่อยออกจากโรงงาน โดยใช้สาหร่ายเริ่มต้น 10 ml ที่ความหนาแน่น OD₆₂₀ เท่ากับ 0.2 เลี้ยงใน flask ขนาด 250 ml ที่บรรจุน้ำเสีย TW 90 ml ที่ความเข้มข้น 20%, 40%, 60%, 80% และ 100% ที่อุณหภูมิ 25°C ความเข้มแสง 40-60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ที่ช่วงแสง คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ปรับค่า pH ให้เป็น pH 7 เขย่าที่ 150 rpm เป็นเวลา 10 วัน พบว่า ที่ความเข้มข้นของน้ำเสีย TW 40% สาหร่ายเจริญเติบโตได้ $130 \pm 7.04 \times 10^5$ cells/ml และสามารถกำจัดสีในน้ำ TW ได้ $36.30 \pm 3.56\%$ ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในบ่อสาหร่าย high rate algae ponds (HRAP) ที่อุณหภูมิ 24-32.8°C ความเข้มแสง 135-1,193 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ โดยใช้น้ำ TW ที่มีสีย้อม Supranol Red 3BW ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 mg/L พบว่า สาหร่ายสามารถกำจัดสีได้ 41.8-50.0% นอกจากนี้ยังลด NH₄-N, PO₄-P และ COD ได้ 44.4-45.1%, 33.1-33.3% และ 38.3-62.3 ตามลำดับ อีกทั้งได้สาหร่ายที่มีชีวมวล โดยวัดจาก chlorophyll a มีค่าเป็น 0.17-2.26 mg/L แต่เมื่อผสม TW 20 % กับอาหาร Bold's Basal (BBM) ทำให้ได้น้ำหนักแห้งของสาหร่ายเพิ่มขึ้น 90.6% เมื่อเทียบกับสาหร่ายที่เลี้ยงใน TW 20 % เพียงอย่างเดียว แต่ความสามารถในการกำจัดสีไม่แตกต่างกัน

Feng, Li, and Zhang (2011) ศึกษาปริมาณไขมัน และการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์จากสาหร่าย *C. vulgaris* ใน column aeration photobioreactor (CAP) ที่อุณหภูมิ 30°C ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 3,000 lux อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm ปริมาณสาหร่ายเริ่มต้น 0.5 L (0.28 g/L) : ปริมาณน้ำเสียสังเคราะห์ 1.5 L เลี้ยงสาหร่ายแบบ semi-continuous คือ เมื่อสาหร่ายมีความหนาแน่นเซลล์เท่ากับ 0.8 g น้ำหนักเปียก/L ในวันที่ 4 แบ่งช่วงการทดลองออกเป็น 3 ช่วงการทดลองต่อเนื่องกัน ดังนี้

- (1) เปลี่ยนน้ำเสียสังเคราะห์ 0.5 L ทุกวันจนครบ 3 วัน
- (2) เปลี่ยนน้ำเสียสังเคราะห์ 1 L ทุกวันจนครบ 4 วัน
- (3) เปลี่ยนน้ำเสียสังเคราะห์ 1.5 L ทุกวันจนครบ 3 วัน

ดังนั้นตลอดการทดลองใช้เวลา 14 วัน พบว่า ในวันที่ 2 สาหร่ายมีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้นจาก 15% เป็น 37% เนื่องจากสภาวะการเลี้ยงแบบ heterotrophic หรือ mixotrophic

สาหร่ายสามารถใช้ CO₂ อย่างรวดเร็วเพื่อการเจริญเติบโต ปริมาณ CO₂ จึงจะหมดไป ทำให้สาหร่ายเปลี่ยนการเผาผลาญพลังงานจากระบบ mixotrophic ไปเป็นระบบ autotrophic ปริมาณไขมันจึงลดลง และพบว่าช่วงระยะ log phase (ตั้งแต่วันที่ 2-9) สาหร่ายมีปริมาณไขมันลดลงเหลือ 7.8% แต่เมื่อสาหร่ายเข้าสู่ระยะ stationary ในวันที่ 10 สาหร่ายมีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้นจาก 7.8% ไปเป็น 34.1% และพบว่าหลังจากเลี้ยงสาหร่ายนาน 14 วันสาหร่ายยังสามารถลดปริมาณ COD, NH₄⁺ และ TP ได้ 86, 97 และ 96% ตามลำดับ

Agwa, Ibe, and Abu (2012) ศึกษาการเจริญเติบโต และปริมาณไขมันของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในน้ำที่แตกต่างกัน 5 ชนิด คือ น้ำที่ผสมด้วย มูลแพะ มูลสุกร มูลวัว น้ำหมักจากหญ้า มูลไก่ ในอัตราส่วน 30 g/L อุณหภูมิ 28±2°C โดยใช้สาหร่ายที่เจริญเติบโต (algal bloom) จนเป็นสีเขียวเหมือนใบไม้ที่ระยะเวลาในการเลี้ยง 5 วัน มาปริมาณ 1 ml เลี้ยงใน flask ขนาด 300 ml และแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง คือ

ชุดที่ 1 ให้อากาศ 150 bubble ต่อนาที เลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด fluorescent ที่ความเข้มแสง 15 µE/m²/s

ชุดที่ 2 ไม่ให้อากาศ เลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด fluorescent ที่ความเข้มแสง 15 µE/m²/s และ

ชุดที่ 3 ภายใต้แสงจากธรรมชาติ ให้อากาศโดยการเขย่า 2 ชั่วโมงทุก ๆ 12 ชั่วโมง เลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน

พบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp. เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในน้ำที่ผสมมูลไก่ที่เลี้ยงภายใต้แสงจากธรรมชาติ ให้อากาศโดยการเขย่า 2 ชั่วโมงทุก ๆ 12 ชั่วโมง ซึ่งให้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.5 g/L และให้ปริมาณไขมัน 18.32% ต่อน้ำหนักเซลล์เปียก

Cabanelasa et al. (2013) ศึกษาการเจริญเติบโต และการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* Beijerick 1890 (IBL-C105) ในระบบ mixotrophic ที่เลี้ยงด้วยน้ำเสีย domestic wastewater (WW) และการใช้ glycerol เป็นอาหารเสริมที่เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตไขมันของสาหร่าย ชุดทดสอบใช้น้ำเสีย WW ผสมกับ glycerol โดยใช้ glycerol ที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50 mM และชุดควบคุม ที่มีน้ำเสีย WW ที่ไม่เติม glycerol เลี้ยงสาหร่ายใน flask ขนาด 1 L ที่อุณหภูมิ 25±1°C เขย่า 90 rpm เติมอากาศที่มี 2.5% CO₂ ที่ความเข้มแสง 174 µE/m²/s ช่วงเวลาการให้แสง คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด พบว่า ความเข้มข้นของ glycerol ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย คือ ที่ 25 และ 50 mM ที่ทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตเป็น 107 และ 118 mg/L/day และได้ไขมันเท่ากับ 13.7% และ

15.4% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่มีสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสีย WW มีอัตราการเจริญเติบโต 57.7 mg/L/day และมีไขมัน 27.3%

Ji et al. (2013) ศึกษาการกำจัดธาตุอาหาร และปริมาณไขมันของสาหร่าย

C. vulgaris YSW-04 ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยแบ่งการทดลอง เป็นดังนี้

ชุดที่ 1 เลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียจากสุกร : อาหาร Bold's Basal ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ดังนี้ 80 : 20 (SM 20), 50 : 50 (SM 50), 20 : 80 (SM 80) ตามลำดับ

ชุดที่ 2 เลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร : น้ำกลั่นที่อัตราส่วนต่าง ๆ ดังนี้ 80 : 20 (DW 20), 50 : 50 (DW 50), 20 : 80 (DW 80) ตามลำดับ

ชุดที่ 3 เลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียจากสุกร 100% และ

ชุดที่ 4 เลี้ยงสาหร่ายในอาหาร Bold's Basal 100%

ทุกชุดการทดลอง ทำการทดลองที่ 27°C เขย่า 150 rpm ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 45-50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ใน flask ขนาด 200 ml เป็นเวลา 30 วัน พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียจากสุกร 100%, SM20, DW20, SM50, DW50, SM80, DW80 และอาหาร Bold's Basal 100% มีค่าเท่ากับ 0.08, 0.09, 0.10, 0.13, 0.12, 0.13, 0.13 และ 0.14 g/day และพบว่าเส้นกราฟการเจริญเติบโตเชิงเส้น (linear growth) มีค่าน้อยแสดงว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตต่ำ ส่วนเมื่อเลี้ยงนาน 30 วัน ค่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายเมื่อเลี้ยงใน Bold's Basal, SM80, DW80, SM50, DW50, น้ำเสียจากสุกร 100%, SM20 และ DW20 มีค่าเป็น 3.4, 3.0, 2.4, 2.3, 1.6, 0.4, 0.5 และ 0.6 ตามลำดับ แสดงว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตในน้ำเสียจากสุกร 100% ได้ โดยเมื่อพิจารณาจากอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร Bold's Basal 100% อีกทั้งพบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงใน SM80 ยังสามารถลดปริมาณธาตุอาหารในน้ำเสียจากสุกรได้ โดยสามารถลด $\text{NH}_4\text{-N}$, TP, COD ได้ 41-68%, 11-41% และ 21-42% ตามลำดับ แต่สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร Bold's Basal จะให้ปริมาณไขมันเท่ากับ 0.29 g/L ซึ่งมากกว่าปริมาณไขมันที่ได้จากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสีย 100% ที่มีค่าเพียง 0.07 g/L

Yan, Zhang, et al. (2013) ศึกษาผลของความยาวคลื่นแสง สีแดง สีขาว สีเหลือง สีม่วง สีฟ้า และ สีเขียว ที่ความเข้มแสง 2,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ จากหลอดไฟ LED ช่วงแสง 12 ชั่วโมง สว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ที่อุณหภูมิ 25.0 \pm 0.5°C ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงใน flask ขนาด 1 L ที่บรรจุในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เลียนแบบน้ำเสียชุมชน โดยแบ่งน้ำเสียออกเป็น 2 ประเภท คือ

น้ำเสียประเภทที่ 1 fix ค่า total nitrogen (TN)/total phosphorus (TP) และปรับความเข้มข้นของ COD โดยแบ่งออกเป็นออกเป็น 3 ระดับ ดังนี้

C1NP (glucose 100 g/ml, carbamide 80 g/ml, NaH_2PO_4 15 g/ml, KH_2PO_4 1.5 g/ml, CaCl_2 4 g/m และ MgSO_4 2 g/ml) มีปริมาณ C:N = 2.5:1,

C2NP (glucose 200 g/ml, carbamide 80 g/ml, NaH_2PO_4 15 g/ml, KH_2PO_4 1.5 g/ml, CaCl_2 4 g/m และ MgSO_4 2 g/ml) มีปริมาณ C:N = 5:1,

C4NP (glucose 400 g/ml, carbamide 80 g/ml, NaH_2PO_4 15 g/ml, KH_2PO_4 1.5 g/ml, CaCl_2 4 g/m และ MgSO_4 2 g/ml) มีปริมาณ C : N = 10 : 1

น้ำเสียประเภทที่ 2 fix ค่า COD/TP และปรับค่าความเข้มข้นของ TN โดยแบ่งออกเป็นออกเป็น 3 ระดับ ดังนี้

CN1P (glucose 200 g/ml, carbamide 40 g/ml, NaH_2PO_4 15 g/ml, KH_2PO_4 1.5 g/ml, CaCl_2 4 g/m และ MgSO_4 2 g/ml) มีปริมาณ C : N = 10 : 1,

CN2P (glucose 200 g/ml, carbamide 80 g/ml, NaH_2PO_4 15 g/ml, KH_2PO_4 1.5 g/ml, CaCl_2 4 g/m และ MgSO_4 2 g/ml) มีปริมาณ C : N = 5 : 1 และ

CN4P (glucose 200 g/ml, carbamide 160 g/ml, NaH_2PO_4 15 g/ml, KH_2PO_4 1.5 g/ml, CaCl_2 4 g/m และ MgSO_4 2 g/ml) มีปริมาณ C : N = 2.5 : 1

พบว่าสาหร่าย *C. vulgaris* มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด คือ ที่ $135.37 \pm 10.32\%$ เมื่อเลี้ยงจากแหล่งกำเนิดแสง คือ หลอด LED ที่ความยาวคลื่นสีแดง ในน้ำเสียสังเคราะห์ชุดทดสอบที่ C2NP

Yan, Zhao, et al. (2013) ศึกษาผลของความยาวคลื่นแสงสีแดง สีขาว สีเหลือง สีม่วง สีฟ้า สีเขียว และที่ความเข้มแสง 400, 800, 1200, 1600, 2000 และ 2400 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ของหลอดไฟ LED ในช่วงแสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ที่อุณหภูมิ $30.00 \pm 1.0^\circ\text{C}$ ที่เลี้ยงใน erlenmeyer flask ขนาด 1 L ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ในน้ำเสียสังเคราะห์ high C loading (COD 607.83 ± 5.72 mg/L, TN 52.41 ± 3.58 mg/L, TP 5.16 ± 0.84 mg/L) และน้ำเสียสังเคราะห์ high N loadings (COD 204.36 ± 6.34 mg/L, TN 151.72 ± 4.81 mg/L, TP 5.24 ± 0.79 mg/L) พบว่า ความยาวคลื่นแสงสีแดง ที่ความเข้มแสง 2,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้ง 284.83 ± 18.51 mg/L ซึ่งมากกว่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายที่เลี้ยงที่ความยาวคลื่นแสงสีขาว สีเหลือง สีม่วง สีฟ้า และสีเขียว ที่ทำให้ได้น้ำหนักแห้งเท่ากับ 254.26 ± 16.59

mg/L, 216.48 ± 19.55 , 164.92 ± 4.53 mg/L, 159.03 ± 15.38 mg/L และ 107.38 ± 12.46 mg/L ตามลำดับ ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่มี high C loading (COD 607.83 ± 5.72 mg/L, TN 52.41 ± 3.58 mg/L, TP 5.16 ± 0.84 mg/L) และที่น้ำเสียสังเคราะห์ที่มี high N loadings (COD 204.36 ± 6.34 mg/L, TN 151.72 ± 4.81 mg/L, TP 5.24 ± 0.79 mg/L) ที่ความยาวคลื่นแสงสีแดง ความเข้มแสง $2,000 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ จะได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้ง 284.83 ± 18.51 และ 286.63 ± 14.76 mg/L ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายที่เลี้ยงที่ความยาวคลื่นแสงสีขาว สีเหลือง สีม่วง สีฟ้า และสีเขียว ที่ทำให้ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้ง 254.26 ± 16.59 mg/L และ 256.79 ± 13.78 mg/L; 216.48 ± 19.55 และ 212.59 ± 4.72 mg/L; 164.92 ± 14.53 และ 158.44 ± 10.61 mg/L; 159.03 ± 15.38 และ 154.12 ± 13.18 mg/L; 107.38 ± 12.46 และ 109.49 ± 10.45 mg/L นอกจากนี้ การทดลองเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ที่ความเข้มแสง 400 และ $2,400 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ พบว่า กำจัดธาตุอาหารได้ต่ำกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงที่ความเข้มแสง 800, 1200, 1600 และ $2000 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ เนื่องจากที่ความเข้มแสง $400 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ไม่เพียงพอต่อกระบวนการ metabolic ของสาหร่าย *C. vulgaris* และที่ความเข้มแสง $2,400 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ มีความเข้มแสงสูงเกินไป ทำให้เกิด photoinhibition สาหร่ายจึงสังเคราะห์แสงได้น้อยลง

Lu et al. (2015) ศึกษาการเจริญเติบโต โปรตีน และการบำบัดไนโตรเจนของสาหร่าย *Chlorella* sp. (UM6151) ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตเนื้อ จาก 5 ส่วนของกระบวนการผลิต คือ กระบวนการฆ่า, กระบวนการตัดซาก, MPPG, REFINERY และ DS โดยทำการเลี้ยงสาหร่ายนาน 8 วัน พบว่า น้ำเสียจากกระบวนการฆ่า ทำให้สาหร่ายมีปริมาณชีวมวล 1.800 ± 0.126 g/L ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากกระบวนการอื่น นอกจากนี้สาหร่ายสามารถลดปริมาณของแอมโมเนียไนโตรเจน และ total nitrogen ในน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตเนื้อได้ 68.75–90.38% และ 30.06–50.94% ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบว่าการเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งทำให้สาหร่ายมีปริมาณของโปรตีนเพิ่มขึ้น 60.87–68.65%

2.12.3 ความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตไขมันของสาหร่าย กับ ระยะการเจริญเติบโตของ สาหร่าย *Chlorella vulgaris*

Lv, Cheng, Xu, Zhang, and Chen (2010) ศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เพาะเลี้ยงใน photobioreactor ขนาด 5 L โดยใช้อาหารสังเคราะห์ ภายใต้ความเข้มแสง $60 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ อุณหภูมิ 25°C เติม KNO_3 1.0 mM และให้ก๊าซ CO_2 ความเข้มข้น 1% เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 250 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่า สาหร่าย *C. vulgaris* ให้ปริมาณไขมันสูงที่สุดที่ระยะ stationary เท่ากับ $32 \text{ mg}/\text{L}/\text{day}$ ที่ระยะเวลา 90 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mehdizadeh Allaf (2012) ที่เพาะเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ใน photobioreactor ขนาด 4 L โดยใช้อาหาร Bold's Basal ภายใต้ความเข้มแสง $95 \pm 5 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ที่อุณหภูมิ $25 \pm 1^\circ\text{C}$ เขย่าที่ 120 rpm จากการศึกษาพบว่าสาหร่าย *C. vulgaris* ให้ปริมาณไขมันสูงที่สุดที่ระยะ stationary

2.12.4 แบบจำลอง

Zwietering et al. (1990) ศึกษาแบบจำลอง logistic, Gompertz, Richards, Schnute and Stannard ที่เหมาะสมในการทำแบบจำลองการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* โดยการนำสมการแบบจำลองมาเขียนสมการใหม่ เพื่อให้ง่ายต่อการใช้ จากการศึกษา พบว่าแบบจำลอง Modified Gompertz สามารถใช้ในการอธิบายการเจริญเติบโตของ *L. plantarum* ได้ดีที่สุดที่ระดับความเชื่อมั่น 95% นอกจากนี้ ยังพบว่า แบบจำลอง Gompertz เป็นแบบจำลองที่ดีที่สุดที่ใช้ในการอธิบายการเจริญเติบโต

Halimi et al. (2014) ศึกษาแบบจำลอง logistic, Gompertz, Richards, Schnute, Baranyi-Roberts, von Bertalanffy, Buchanan three-phase และ Huang models ที่เหมาะสมในการจำลองการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในอุปกรณ์ ไมโครฟลูอิดิกส์ (microfluidics) พบว่า การใช้แบบจำลอง Buchanan three-phase มีความเหมาะสมในการใช้จำลองการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* โดยมีค่าพารามิเตอร์เหมาะสมที่สุด คือ ที่อัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (μ_m) ระยะเวลาปรับตัว (λ) และปริมาณเซลล์ต่อ 1 หยด (Y_{max}) มีค่าเท่ากับ 1.301 (ต่อวัน), 1.861 (ต่อวัน) และ 77 (จำนวนเซลล์ต่อ 1 หยด) ตามลำดับ

บทที่ 3

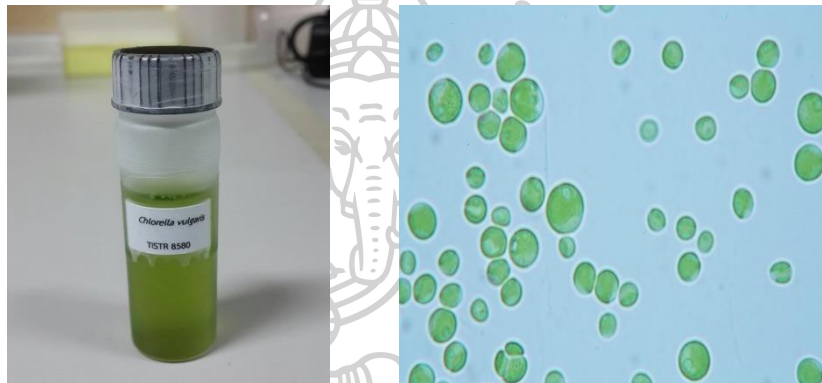
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 วัสดุที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1.1 สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง

สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง คือ *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่อยู่ในอาหาร N-8 ที่ซื้อมาจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 (a) ลักษณะภายนอก สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580

(b) ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.1.1.2 น้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง

น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเก็บมาจากบ่อกักน้ำที่ผ่านกระบวนการบำบัดแบบบ่อหมักก๊าซ ของโรงฆ่าสุกรสามพรานสอเทอเฮ้าส์ จังหวัดนครปฐม โดยใส่ภาชนะที่ทำความสะอาดเรียบร้อยแล้ว เพื่อนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.1.1.3 วัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย เป็นเกรดสำหรับการทดลอง ที่ซื้อจากบริษัท Merck ประเทศไทย ได้แก่ NH_4Cl , MgSO_4 , CaCl_2 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , glacial acetic acid, H_3BO_3 , chloroform และ methanol และสารเคมีเกรดสำหรับการทดลอง ที่ซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศไทย ได้แก่ Tris Base ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$), EDTA disodium salt, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,

นอกจากนี้ก็มีวัสดุอื่น ๆ ได้แก่ ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemocytometer), ปีกเกอร์ ขนาด 250 ml, หลอดทดลองขนาด 25, 50 และ 100 ml, กระจกตวงขนาด 100, 250, 500 และ 1000 ml, ขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 ml, ขวดแก้ว ฝาเกลียวขนาด 1 L, ขวดน้ำเกลือ ขนาด 1 L, แ่งแก้ว, petri dish, เข็มฉีดยา, กระจกฉีดยาขนาด 1 ml, micropipette และ tip, ชั้นเหล็ก, ฟิลเตอร์กรองอากาศ, ท่อ PVC, ถังเก็บน้ำทิ้งจากโรงงานขนาด 20 L, สายออกซิเจน, ตะเกียง, ถังมือ ยาง

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยสรุปดังในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ชื่ออุปกรณ์	รุ่น/ยี่ห้อ/ประเทศ
กล้องจุลทรรศน์	Axioskop 2 Mot/Zeiss/German
เครื่องปั่นตกตะกอน (centrifuge)	J2-21/Beckman/English
เครื่องชั่งทศนิยม 5 ตำแหน่ง	XS205/Mettler/Switzerland
เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง	MS1602S/Mettler/Switzerland
เครื่องเขย่า	ES-20/Biosan/English
Sonicator	575HTAE/Crest Ultrasonics/USA
ปั๊มอากาศ	ACO-318/Hailea/China
เครื่องวัดอัตราการไหลอากาศ (flow meter)	PMR2-010006/Cole-Parmer/USA
hot plate	SP131630/Thermolyne Thermo Scientific/USA

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัยสรุปดังภาพที่ 12

3.2.1 การเตรียมสารห่วยให้บริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลอง

การเตรียมสารห่วยให้บริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลอง ดำเนินการโดย

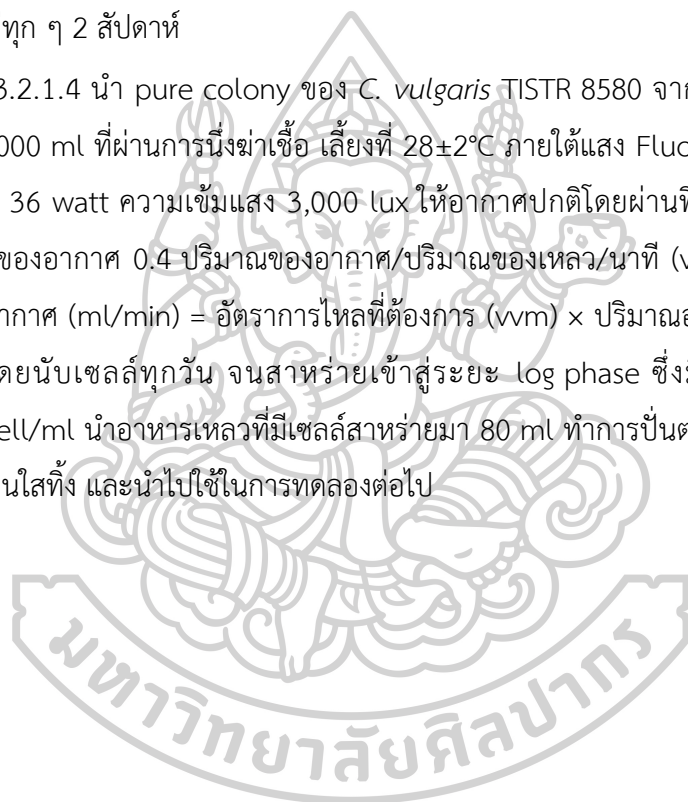
3.2.1.1 นำสารห่วย *C. vulgaris* TISTR 8580 ในอาหาร N-8 ที่ซื้อมาจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) มาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการ spread plate

บนอาหารแข็ง (agar 15%) TAP medium (Tris Acetate Phosphate) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที และทำการบ่มเชื้อ ภายใต้แสง fluorescent ที่ 25°C

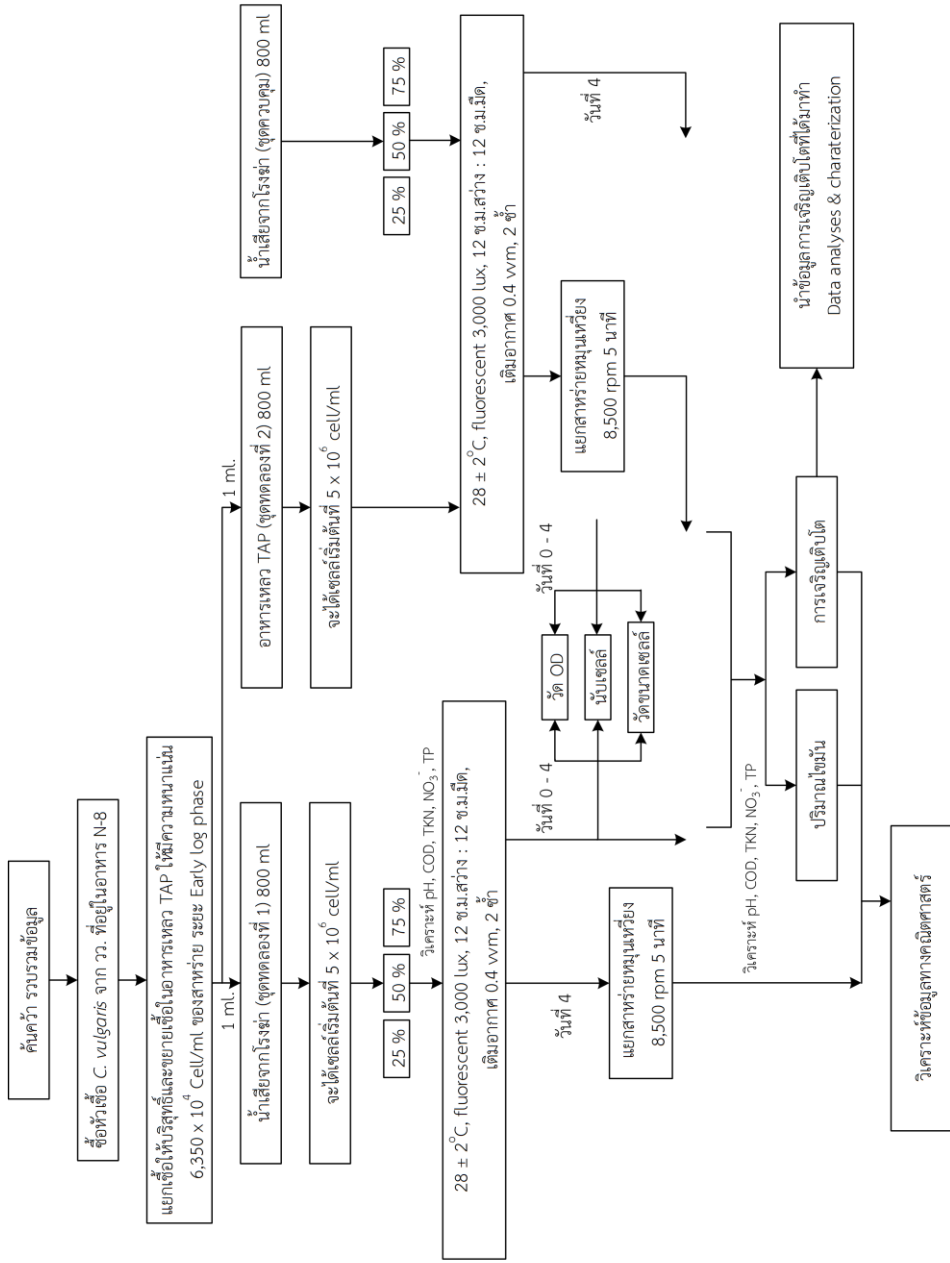
3.2.1.2 เลือก pure colony ของสาหร่ายมา 1 loop และ streak บนอาหารแข็ง TAP (agar 15%) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ บ่มเชื้อภายใต้แสง fluorescent ที่ 25°C ทำซ้ำจนกว่าจะไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย

3.2.1.3 นำ pure colony ของสาหร่ายที่ได้จากการ streak เก็บเป็น stock บนอาหาร TAP agar slant ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ บ่มเชื้อที่ $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ ภายใต้แสง fluorescent และ subculture บนอาหารใหม่ทุก ๆ 2 สัปดาห์

3.2.1.4 นำ pure colony ของ *C. vulgaris* TISTR 8580 จาก stock เลี้ยงในอาหารเหลว TAP 1,000 ml ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ เลี้ยงที่ $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ ภายใต้แสง Fluorescent (aquarium & plant) ขนาด 36 watt ความเข้มแสง 3,000 lux ให้อากาศปกติโดยผ่านฟิลเตอร์ตัวกรองอากาศ อัตราการไหลของอากาศ 0.4 ปริมาณของอากาศ/ปริมาณของเหลว/นาที (vvm) คำนวณจาก อัตราการไหลของอากาศ (ml/min) = อัตราการไหลที่ต้องการ (vvm) \times ปริมาณอาหาร (ml) และทำการตรวจสอบ โดยนับเซลล์ทุกวัน จนสาหร่ายเข้าสู่ระยะ log phase ซึ่งมีปริมาณเซลล์เท่ากับ $6,350 \times 10^4$ cell/ml นำอาหารเหลวที่มีเซลล์สาหร่ายมา 80 ml ทำการปั่นตกตะกอนที่ 3,000 rpm 15 นาที เทส่วนใสทิ้ง และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 12 ขั้นตอนการวิจัย



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการวิจัย

3.2.2 การเตรียมน้ำเสีย และอาหารที่ใช้ในการทดลอง

3.2.2.1 การเตรียมน้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง

(1) เก็บน้ำเสียจากบ่อกักน้ำที่ผ่านกระบวนการบำบัดแบบบ่อหมักก๊าซ ของโรงฆ่าสุกรสามพรานสลอดเทอเฮ้าส์ จังหวัดนครปฐม ใส่ภาชนะที่ทำความสะอาดเรียบร้อยแล้ว

(2) เจือจางน้ำเสียด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านกระบวนการนึ่งฆ่าเชื้อ ให้ได้น้ำเสียที่มีความเข้มข้น 25%, 50% และ 75% วิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย ได้แก่ pH, COD, TKN, NO_3^- และ TP ส่งวิเคราะห์ที่หน่วยงานคลินิกสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยมหิดล ทั้งก่อนและหลังการเจือจาง และนำน้ำเสียที่เตรียมไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.2.2 การเตรียมอาหาร TAP medium

อาหาร TAP medium ประกอบด้วย NH_4Cl 400 mg/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 100 mg/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 50 mg/L, K_2HPO_4 108 mg/L, KH_2PO_4 56 mg/L, Tris (hydroxymethyl) aminomethane 2,420 mg/L, glacial acetic acid 1 mL และเติม trace elements 1 mL โดย trace elements ประกอบด้วย Na_2EDTA 50 g/L, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 22 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L, H_3BO_3 11.4 g/L, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 5.06 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 4.99 g/L, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.61 g/L, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.57 g/L, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.10 g/L และ KOH 16 g/L นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.3 การเตรียมชุดการทดลอง และสภาพการทดลองที่ใช้

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง ดังนี้

3.2.3.1 ชุดทดสอบ

(1) ชุดทดสอบ 1

นำสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่ได้จากหัวข้อ 3.2.1.4 เติมน้ำลงในขวด 1,000 ml ที่มีน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ที่ความเข้มข้น 25% ปริมาณ 800 ml, 50% ปริมาณ 800 ml และ 75% ปริมาณ 800 ml (จำนวนเซลล์เริ่มต้นประมาณ 5×10^6 cell/ml) (Lau, Tam, & Wong, 1995) เลี้ยงที่อุณหภูมิ $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ภายใต้แสง fluorescent (aquarium & plant) ขนาด 36 watt ความเข้มแสง 3,000 lux ระยะเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ให้อากาศปกติ โดยผ่านฟิลเตอร์ตัวกรองอากาศ อัตราการไหลของอากาศ 0.4 vvm ทำการทดลองทั้งหมด 2 ชั่วโมง

(2) ชุดทดสอบ 2

นำเซลล์สาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่ได้จากหัวข้อ 3.2.1.4 เติมน้ำลงในขวด 1,000 ml ที่มีอาหารเหลว TAP ปริมาณ 800 ml ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (จำนวนเซลล์เริ่มต้นประมาณ 5×10^6 cell/ml) (Lau et al., 1995) เลี้ยงที่อุณหภูมิ $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ภายใต้แสง

fluorescent (aquarium & plant) ขนาด 36 watt ความเข้มแสง 3,000 lux ระยะเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ให้อากาศปกติโดยผ่านฟิลเตอร์ตัวกรองอากาศ อัตราการไหลของอากาศ 0.4 vvm ทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ

วัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร TAP กับน้ำเสียความเข้มข้นที่ 25% 50% และ 75% โดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย haemocytometer จนเข้าสู่ระยะ stationary (4 วัน) เมื่อสาหร่ายเข้าสู่ระยะ stationary ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยการหมุนเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่ 8,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที เนื่องจากผลการทดลองของ (Lv et al., 2010) รายงานว่าสาหร่าย *C. vulgaris* ที่ระยะ stationary ของการเจริญเติบโตจะผลิตไขมันมากที่สุด จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 1 ครั้งเพื่อล้างอาหารเลี้ยงเชื้อ ปั่นให้ตกตะกอน 8,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที และทำให้แห้งด้วยวิธีการเยื่อแข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

3.2.3.2 ชุดควบคุม

ชุดควบคุม เตรียมโดยใช้น้ำเสียที่ความเข้มข้น 25% 50% และ 75% แต่ไม่เติมสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ให้อากาศปกติโดยผ่านฟิลเตอร์ตัวกรองอากาศ อัตราการไหลของอากาศ 0.4 vvm อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ภายใต้แสง fluorescent (aquarium & plant) ขนาด 36 watt ความเข้มแสง 3,000 lux ระยะเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ภาชนะที่ใช้ในการทดลอง คือ ขวดแก้วทรงกระบอกขนาด 1 L ที่มีจุกยางปิดฝาด้านบน ทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ

3.2.4 การดำเนินการทดลอง

วัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP กับน้ำเสียที่ความเข้มข้น 25%, 50% และ 75% โดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย haemocytometer จนเข้าสู่ระยะ stationary (4 วัน) เมื่อสาหร่ายเข้าสู่ระยะ stationary แยกส่วนของเหลวออกจากของแข็ง โดยนำชุดควบคุม และชุดทดสอบมาหมุนเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่ 8,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนของเหลวที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ได้แก่ pH, COD, TKN, NO_3^- และ TP และเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ก่อนการทดลอง ส่วนเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการหมุนเหวี่ยงนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น 1 ครั้ง แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงที่ 8,500 rpm อีก 5 นาที และทำให้แห้งด้วยวิธีการเยื่อแข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

นำเซลล์สาหร่ายของชุดทดสอบ (จากการเลี้ยงด้วยอาหาร TAP, น้ำเสียความเข้มข้นที่ 25% 50% และ 75%) ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยื่อแข็ง มาทำการสกัดไขมันแบบหยาบโดยใช้วิธีของ Widjaja, Chine, and Ju (2009) ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีสกัดแบบเปียกของ (Bligh & Dyer, 1959) โดยนำตัวอย่างเซลล์สาหร่ายมาสกัดไขมันด้วยตัวทำละลาย chloroform : methanol = 2 หน่วยปริมาตร : 1 หน่วยปริมาตร ใช้ตัวทำละลายที่สกัดนี้ 50 ml ต่อ สาหร่าย 1 g น้ำหนักแห้ง กวน 5

ชั่วโมง และทำให้เซลล์แตกด้วยวิธีการ sonication (45 kHz) เป็นเวลา 15 นาที ทำการหมุนเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่ 3,000 rpm เก็บชั้นของสารละลายที่ได้ทั้งหมด และนำไประเหยที่ 60°C แล้วเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจนจนตัวทำละลายที่ใช้ คือ chloroform : methanol ระเหยไปหมด จากนั้นชั่งน้ำหนักไขมันที่ได้จากเซลล์สำหรับด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 5 ตำแหน่ง

3.3 แบบจำลอง Modified Gompertz

หลักการ คือ การแทนค่าในแบบจำลองโดยต้องหาค่าพารามิเตอร์ λ , μ_m และ A ที่เป็นไปได้ที่ทำให้ค่า the residual sum of squares (rss) ของชุดการทดลองและแบบจำลองมีค่าน้อยที่สุด

การหาค่าพารามิเตอร์ที่ทำให้ค่า rss มีค่าน้อยที่สุด อาจทำได้โดยวิธีต่าง ๆ เช่น การใช้ software สำเร็จรูปทางคณิตศาสตร์, software reliability growth modeling using the standard, Modified Gompertz models, การใช้ software กึ่งสำเร็จรูป (excel) และการเขียนโปรแกรมโดยกำหนดค่าเอง

การวิจัยครั้งนี้ดำเนินการโดยอาศัย software excel ในการศึกษา ทำการสร้างสมการ Modified Gompertz และกำหนดค่าพารามิเตอร์ด้วยวิธีการ ad hoc จนได้ค่า rss น้อยที่สุด

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.4.1 วิเคราะห์ความแตกต่างการเจริญเติบโตของสาหร่ายระหว่างสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยอาหาร TAP กับน้ำเสียที่ความเข้มข้น 25% 50% และ 75% ด้วยวิธีการเปรียบเทียบจากกราฟความหนาแน่นเซลล์

3.4.2 เปรียบเทียบการลดลงของธาตุอาหารระหว่างชุดควบคุมกับชุดทดสอบด้วยการคำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดธาตุอาหารโดยตัดแปลงจากของ Martinez, Sanchez, JIMENEZ, Yousfi, and Munoz (2000) ดังสมการ

$$\% P = \frac{(P_0 - P) \times 100}{P_0}$$

โดย %P คือ ปริมาณของฟอสฟอรัส

P_0 คือ ปริมาณฟอสฟอรัสเริ่มต้น (mg/L)

P คือ ปริมาณฟอสฟอรัสวันสุดท้าย (mg/L)

3.4.3 วิเคราะห์ความแตกต่างปริมาณไขมันของสาหร่ายระหว่างสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยอาหาร TAP กับที่เลี้ยงด้วยน้ำเสียที่ความเข้มข้น 25%, 50% และ 75% ด้วยการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ lipid content ของ (Hamedi, Mahdavi, & Gheshlaghi, 2012) ดังสมการ

$$\text{Lipid content (\%)} = \frac{\text{Weight of extracted lipid}}{\text{Weight of dry biomass}} \times 100$$

3.4.4 นำข้อมูลการเจริญเติบโตที่ได้ มาทำ data analyses & characterization ด้วยแบบจำลอง modified Gompertz



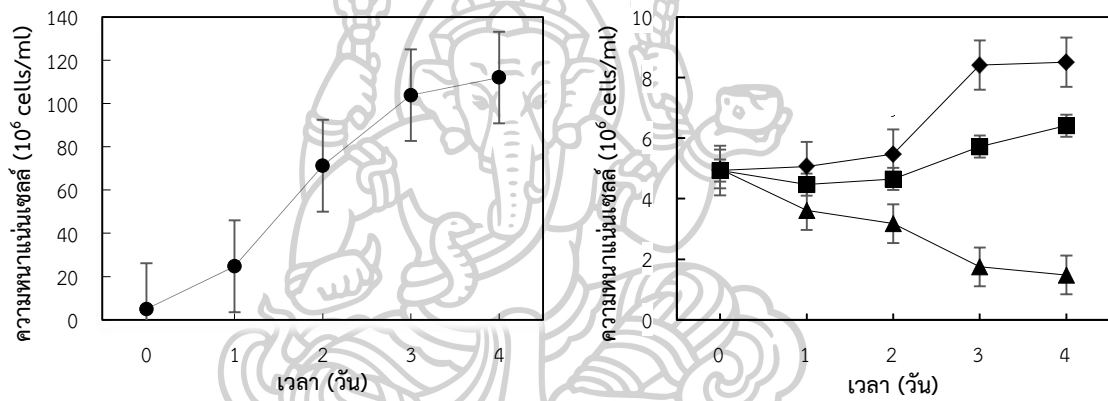
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการวิจัยเรื่อง การเจริญเติบโต และการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร มีรายละเอียดดังนี้

4.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580

ความหนาแน่นเซลล์สาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 จากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่กำหนดในอาหาร TAP, wc25, wc50 และ wc75 แสดงดังภาพที่ 13a และ 13b

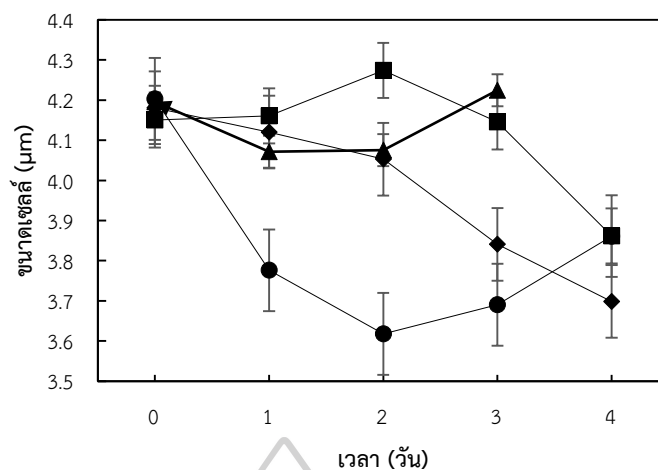


ภาพที่ 13 (a) ความหนาแน่นเซลล์สาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 จากการเลี้ยงสาหร่ายในอาหาร TAP (●)

(b) ความหนาแน่นเซลล์สาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 จากการเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ ที่ความเข้มข้น 25% (wc25, ◆), ที่ความเข้มข้น 50% (wc50, ■) และ ที่ความเข้มข้น 75% (wc75, ▲)

จากภาพที่ 13a และ 13b ความหนาแน่นเซลล์สาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 จากการเลี้ยงสาหร่ายในอาหาร TAP, ในน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ ที่ความเข้มข้น 25% (wc25), ที่ความเข้มข้น 50% (wc50) และ ที่ความเข้มข้น 75% (wc75) โดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย haemocytometer พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP และชุดทดสอบน้ำเสียที่ 25% (wc25) สาหร่ายเข้าสู่ระยะ stationary ในวันที่ 4 ในขณะที่ชุดทดสอบน้ำเสียที่ 50% (wc50) สาหร่ายอยู่ในช่วง log phase ส่วนชุดทดสอบน้ำเสียที่ 75% (wc75) สาหร่ายไม่มีการเจริญเติบโตและมีปริมาณเซลล์ลดลงดังแสดงในภาพที่ 13b และสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสีย 75% มีการเปลี่ยนสีจากสีเขียวไปเป็นสีเหลืองเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wrigley and Toerien (1990) ที่พบว่าน้ำเสียที่มีธาตุอาหารเข้มข้นสูง และมีไนโตรเจน

ในรูป $\text{NH}_4\text{-N}$ สูงมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP เจริญเติบโตได้ดีกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่า ที่เลี้ยงด้วยอาหาร TAP สาหร่ายมีช่วงระยะ lag phase 1 วัน ระยะ log phase จากวันที่ 1 จนถึงวันที่ 3 และระยะ stationary phase ในวันที่ 3 จนถึงวันที่ 4 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการทดลอง สำหรับชุดทดสอบ พบว่า ที่ wc25 สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุด โดยมีความหนาแน่นเซลล์เท่ากับ $8.51 \pm 2.77 \times 10^6$ cells/ml ในวันสุดท้ายของการทดลอง และมีความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายน้อยกว่าปริมาณเซลล์สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ถึง 13 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Rowley (2010) ที่รายงานว่าอัตราส่วน ไนโตรเจน : ฟอสฟอรัส ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* ควรมีค่าอย่างน้อย 3 : 1 แต่ในการทดลองครั้งนี้ อัตราส่วน ไนโตรเจน : ฟอสฟอรัส ของ wc25 และ wc50 มีค่าเป็น 2.69 และ 2.20 ตามลำดับ ซึ่งอัตราส่วนนี้ของ wc25 มีอัตราส่วนที่เหมาะสมกว่าของ wc50 ทำให้ wc25 มีความหนาแน่นเซลล์มากกว่า wc50 ดังแสดงในภาพที่ 13 โดย ทั้ง wc25 และ wc50 มีระยะ log phase อยู่ในช่วง 0-2 วัน แต่สาหร่ายที่เลี้ยงใน wc25 เข้าสู่ระยะ log phase ในวันที่ 2-3 และเข้าสู่ระยะ stationary phase ในวันที่ 3-4 ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงใน wc50 มีการเจริญเติบโตอยู่ในระยะ log phase จนถึงวันที่ 4 และยังไม่พบว่าจะเข้าสู่ระยะ stationary phase หรือมีปริมาณเซลล์ลดลง อีกทั้งพบว่าขนาดของเซลล์สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP มีขนาดเซลล์เล็กกว่าสาหร่ายในชุดทดสอบ wc25, wc50 และ wc75 เนื่องจากอาหาร TAP มีความเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยการแบ่งเซลล์จะทำให้สาหร่ายมีเซลล์ที่มีขนาดเล็กลง (ภาพที่ 14) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ M. Yamamoto et al. (2004) ที่รายงานว่าเมื่อสาหร่ายมีการเจริญเติบโตสาหร่ายจะทำการแบ่งเซลล์ออกจากเซลล์แม่ ซึ่งขนาดเซลล์จะมีขนาดเล็กลง ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงใน wc25 และใน wc50 การเปลี่ยนแปลงขนาดของเซลล์เมื่อเวลาเลี้ยงนานขึ้นมีแนวโน้มคล้ายกัน แต่ใน wc25 สาหร่ายจะมีขนาดเซลล์เล็กกว่าที่เลี้ยงใน wc50 เนื่องจากมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า แต่เมื่อเวลาเลี้ยงนานขึ้น การเปลี่ยนแปลงขนาดของเซลล์สาหร่ายที่เลี้ยงใน wc75 แตกต่างจากขนาดของเซลล์สาหร่ายที่เลี้ยงในชุดทดสอบ wc25, wc50 และใน TAP เนื่องจากที่เลี้ยงใน wc75 เมื่อเวลานานขึ้นสาหร่ายไม่เจริญเติบโตและตาย



ภาพที่ 14 ขนาดเซลล์ของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่เลี้ยงในอาหาร TAP (●), น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ ที่ความเข้มข้น 25% (wc25, ◆), ที่ความเข้มข้น 50% (wc50, ■) และ ที่ความเข้มข้น 75% (wc75, ▲)

4.2 การเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำเสียในชุดการทดลองต่าง ๆ

ค่า pH ของน้ำเสียในชุดการทดลองต่าง ๆ ก่อนและหลังการทดลองแสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ค่า pH ของน้ำเสียในชุดการทดลองต่าง ๆ ก่อนและหลังการทดลอง

ชุดการทดลอง	ค่า pH		
	ก่อนการทดลอง	หลังการทดลอง	การเปลี่ยนแปลง (%)
wc 25	7.7	7.6	-1.30
ww 25	7.7	7.6	-1.30
wc 50	7.6	7.85	3.29
ww 50	7.6	7.8	2.63
wc 75	7.7	8	3.90
ww 75	7.7	8	3.90

หมายเหตุ + หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยเพิ่มขึ้นกว่าก่อนการทดลอง

- หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยลดลงกว่าก่อนการทดลอง

จากตารางที่ 10 พบว่าค่า pH ของชุดการทดลองระหว่างก่อนและหลังการทดลอง มีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพียง 4 วัน และจำนวนสาหร่ายเริ่มต้นที่ใช้มีปริมาณไม่มากนัก จึงทำให้ค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย

4.3 การเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์บางชนิดสำหรับคุณภาพน้ำเสียของชุดการทดลองต่าง ๆ

การเปลี่ยนแปลงค่า COD ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลองแสดงดังในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 การเปลี่ยนแปลงค่า COD ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลอง

ชุดการทดลอง	COD (mg/L)		การเปลี่ยนแปลง (%)
	ก่อนการทดลอง	หลังการทดลอง	
wc25	23±0	42±3	+82.6
ww25	23±0	24±3	+4.3
wc50	48±13	59±0	+22.9
ww50	48±13	29±0	-39.6
wc75	78±0	66±0	-15.4
ww75	78±0	38±2	-50.64

หมายเหตุ + หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยเพิ่มขึ้นกว่าก่อนการทดลอง
- หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยลดลงกว่าก่อนการทดลอง

Y. Wang et al. (2015) เลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* JSC-6 ในน้ำเสียจากฟาร์มสุกรที่ผ่านการหมุนเหวี่ยงตกตะกอนที่ 7,000 rpm นาน 3 นาที และมีการเติม 2.5% CO₂ ในอากาศที่ใช้เลี้ยง ด้วยอัตราเท่าไร 0.2 vvm พบว่า สามารถลดปริมาณ COD ได้ 60-70% หลังจากการเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน และการทดลองของ Salgueiro, Pérez, Maceiras, Sánchez, and Cancela (2016) รายงานว่าสาหร่าย *C. vulgaris* สามารถลดปริมาณ COD ในน้ำเสียได้ 71% หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 9 วัน เพาะเลี้ยงใน flasks ขนาด 1,000 ml ที่อุณหภูมิ 26±2°C ความสว่างหลอดไฟ fluorescent 36 watt 2 หลอด 14 ชั่วโมงสว่าง : 10 ชั่วโมงมืด แต่ไม่สอดคล้องกับผลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ (ตารางที่ 11) ที่พบว่าน้ำเสีย wc25 และ wc50 หลังการทดลองกลับมีปริมาณ COD เพิ่มขึ้น 82.61% และ 22.92% ตามลำดับ แต่ที่ wc75 มีปริมาณ COD ลดลง 15.4% รวมทั้งน้ำเสียที่ไม่มีสาหร่าย (ww) ส่วนใหญ่มีค่า COD ลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ ww50 และ ww75 ทั้งนี้คาดว่าเกิดจากการผิดพลาดที่ไม่สามารถแยกสาหร่ายออกจากน้ำเสียหลังการทดลองได้อย่างสมบูรณ์ด้วยการหมุนเหวี่ยงที่ 8,500 rpm นาน 5 นาที จึงทำให้มีสาหร่าย (ซึ่งเป็นสารอินทรีย์) ยังคงเหลืออยู่ ผลการวิเคราะห์ค่า COD จึงไม่ลดลง แล้วกลับมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการสังเกต ก็พบว่าน้ำเสียที่ผ่านการหมุนเหวี่ยงยังสังเกตเห็นมีเซลล์สาหร่ายที่ยังตกตะกอนไม่สมบูรณ์หลงเหลืออยู่ด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ wc25 และ wc50 ที่สาหร่ายมีการเจริญมากก็มีโอกาสพบผลการผิดพลาดได้มากยิ่งขึ้น ส่วนที่ wc75 สาหร่ายตายแล้ว จึงพบผลที่

ผิดพลาดไปน้อยกว่าที่ wc25 และ wc50 สำหรับน้ำเสียที่ไม่มีสาหร่าย เวลาที่ใช้ในการทดลองก็แค่ 4 วัน จึงทำให้ผลการลดลงของ COD ก็ยังน้อย

การเปลี่ยนแปลง TKN ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลองแสดงดังในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 การเปลี่ยนแปลง TKN ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลอง

ชุดการทดลอง	ปริมาณ TKN (mg/L)		การเปลี่ยนแปลง (%)
	ก่อนบำบัด	หลังบำบัด	
wc25	7.80±0.14	3.35±0.07	-57.05
ww25	7.80±0.14	1.40±0.00	-82.05
wc50	13.25±0.07	2.50±0.00	-81.13
ww50	13.25±0.07	1.25±0.07	-90.57
wc75	22.10±0.00	4.9±0.14	-77.83
ww75	22.10±0.00	1.10±0.00	-95.02

หมายเหตุ + หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยเพิ่มขึ้นกว่าก่อนการทดลอง
- หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยลดลงกว่าก่อนการทดลอง

จากตารางที่ 12 พบว่า ทุกชุดการทดลองสามารถลดค่า TKN ได้ แต่ชุดการทดลองที่ไม่มีสาหร่ายสามารถลด TKN ได้มากกว่าชุดการทดลองที่มีสาหร่าย เนื่องจาก Passos, Felix, Rocha, de. O. Pereira, and de. Aquino (2016) รายงานว่าองค์ประกอบของสาหร่าย *Chlorella* sp. มี TKN 64.74 mg/kg และเนื่องจากการหมุนเหวี่ยงที่ 8,500 rpm นาน 5 นาที ยังไม่สามารถแยกสาหร่ายออกจากน้ำเสียได้อย่างสมบูรณ์ดังกล่าวนั้นแล้ว

การเปลี่ยนแปลง NO_3^- ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลอง ในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแวดล้อมที่กำหนดแสดงดังในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 การเปลี่ยนแปลง NO_3^- ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลอง

ชุดการทดลอง	NO_3^- (mg/L)		การเปลี่ยนแปลง (%)
	ก่อนบำบัด	หลังบำบัด	
wc25	12.25±0.78	5.75±0.07	-53.06
ww25	12.25±0.78	10.75±0.49	-12.24
wc50	17.60±0.28	12.55±0.07	-28.69
ww50	17.60±0.28	20.05±0.21	+15.23
wc75	40.45±0.35	39.95±0.07	-1.24
ww75	40.45±0.35	43.05±0.07	+6.43

หมายเหตุ + หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยเพิ่มขึ้นกว่าก่อนการทดลอง
- หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยลดลงกว่าก่อนการทดลอง

จากตารางที่ 13 พบว่าที่ wc25 สาหร่ายสามารถลดปริมาณ NO_3^- ได้มากที่สุดที่ 53.06% เมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น โดยสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่ wc25 จากภาพที่ 13b โดยในการเจริญเติบโตสาหร่ายจะใช้ไนโตรเจนที่มีอยู่ในสภาวะแวดล้อมในการสังเคราะห์ กรดอะมิโน สีกรดนิวคลีอิก ATP และใช้ทางชีวภาพอื่น ๆ (Jalal et al., 2011) และสอดคล้องกับการศึกษาของ C. Wang, Yu, Lv, and Yang (2013) ที่พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถลดปริมาณของ $\text{NO}_x\text{-N}$ ได้ 88% เมื่อเลี้ยงภายใต้แสง $60 \mu\text{mol}/\text{m}^2/$ ที่ระยะเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด อุณหภูมิ 25°C อย่างไรก็ตาม หากสามารถแยกสาหร่ายออกจากน้ำเสียให้สมบูรณ์ ก็จะทำให้ประสิทธิภาพของสาหร่ายในการกำจัดไนเตรตเพิ่มขึ้น ส่วนชุดการทดลองน้ำเสียที่ไม่มีสาหร่าย (ww) ในน้ำเสียจะมีไนโตรเจนอยู่ ซึ่งในสภาพการเลี้ยงที่มีการเติมอากาศ จะเกิดการ oxidized ไนโตรเจนในรูปแบบอื่น ให้กลายเป็นไนเตรตได้ ชุดการทดลองที่มีน้ำเสียที่ความเข้มข้นน้อย (wc25) ภายในเวลาทดลองที่สั้น (4 วัน) จุลินทรีย์ในน้ำเสียจึงอาจลดไนเตรตได้เล็กน้อย แต่น้ำเสียที่ความเข้มข้นสูง ๆ (wc50, wc75) จะมีไนโตรเจนที่ความเข้มข้นมากกว่า จึงสามารถถูก oxidized เกิดเป็นไนเตรตได้มากกว่า ภายในเวลาทดลองสั้น ๆ จุลินทรีย์จึงอาจลดไนเตรตได้น้อยกว่าไนเตรตที่เกิดขึ้นมามาก จึงทำให้หลังการทดลองพบไนเตรตเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม จากตารางที่ 13 พบว่า ww75 พบไนเตรตเพิ่มขึ้นมากกว่าที่ ww50 ดังนั้น จึงอาจมีเหตุผลอื่นที่มีอิทธิพลมากกว่าจึงทำให้ได้ผลการทดลองดังนั้น ซึ่งหากสามารถดำเนินการเพิ่มเติมได้จำนวนซ้ำมากกว่านี้ อาจจะช่วยทำให้สามารถอธิบายผลได้ดียิ่งขึ้น

การเปลี่ยนแปลง TP ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลองแสดงดังในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 การเปลี่ยนแปลง TP ของน้ำเสียชุดการทดลอง wc25, ww25, wc50, ww50, wc75 และ ww75 ก่อนและหลังการทดลอง

ชุดการทดลอง	TP (mg/L)		การเปลี่ยนแปลง (%)
	ก่อนบำบัด	หลังบำบัด	
wc25	4.55±0.07	3.75±0.07	-17.58
ww25	4.55±0.07	4.30±0.00	-5.49
wc50	8.00±0.00	5.70±0.00	-28.75
ww50	8.00±0.00	7.30±0.01	-8.75
wc75	10.20±0.28	6.80±0.00	-32.35
ww75	10.20±0.28	8.00±0.14	-21.57

หมายเหตุ + หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยเพิ่มขึ้นกว่าก่อนการทดลอง

- หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยลดลงกว่าก่อนการทดลอง

จากตารางที่ 14 พบว่า ทุกชุดการทดลองลดปริมาณ TP ได้หมด โดยชุดการทดลองที่มีสาหร่าย (wc) สามารถลด TP ได้มากกว่าชุดการทดลองที่มีแต่น้ำเสีย (ww) ที่ wc75 สาหร่ายสามารถลดปริมาณ TP ได้มากที่สุด คือ 32.335% สำหรับสาหร่ายใน wc75 ที่สามารถลด TP ได้แม้เซลล์สาหร่ายจะตายแล้ว แต่ยังสามารถเกิดการดูดซับ (adsorption) ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Nora, Chong, and Wong (2002) ที่รายงานว่าเซลล์สาหร่าย *Chlorella* ที่ไม่มีชีวิต มีประสิทธิภาพในการกำจัด tributyltin ในน้ำเสียสังเคราะห์ ได้ถึง 85% ในระยะเวลา 5 นาที โดยสาหร่ายไม่มีชีวิตจะใช้กระบวนการ adsorption ในการกำจัด tributyltin ซึ่งเกิดจากกระบวนการทำงานของผนังเซลล์สาหร่ายที่ตายแล้วหยุดการทำงานลง จึงทำให้สารต่าง ๆ ที่อยู่ในน้ำสามารถเข้ามาภายในเซลล์ได้อย่างอิสระ

4.4 น้ำหนักแห้งของเซลล์ และปริมาณ Lipid Content ของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580

น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ Lipid Content ของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ในอาหาร TAP, wc25, wc50 และ wc75 จากการเลี้ยงภายใต้สภาวะที่กำหนดจากผลการทดลองแสดงดังในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 น้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่าย และปริมาณ Lipid Content ของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ในอาหาร TAP, wc25, wc50 และ wc75

ชุดการทดลอง	น้ำหนักเซลล์แห้งของเซลล์สาหร่าย (mg)	น้ำหนักไขมัน (mg)	Lipid Content (%)
TAP	393±75	65.24±1.67	16.6±0
wc25	53±1	9.34±0.13	17.7±0
wc50	58±5	12.16±2.37	20.9±0
wc75	47±6	10.76±0.07	22.9±0

จากตารางที่ 15 พบว่าที่ชุดการทดลอง wc25, wc50 และ wc75 สาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ปริมาณของ lipid content 17.7% 20.9% และ 22.9% ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณ lipid content สูงกว่าสาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP (16.6%) เป็นผลมาจากการใช้น้ำเสียที่มีธาตุอาหารอยู่อย่างจำกัดในการเลี้ยงสาหร่าย ทำให้สาหร่ายเกิดความเครียด และทำให้สาหร่ายมีการสะสมของปริมาณไขมันไว้ภายในเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mujtaba, Choi, Lee, and Lee (2012) ที่พบว่าสาหร่าย *C. vulgaris* มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นจาก 20% ไปเป็น 40% ของน้ำหนักแห้ง เมื่อสาหร่ายอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ ในอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายที่มีปริมาณของไนโตรเจนอยู่อย่างจำกัด อย่างไรก็ตาม หากพิจารณาจากน้ำหนักไขมันทั้งหมดที่ได้ สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP มีค่าสูงสุดคือ 65.24 mg แต่ในบรรดาชุดทดสอบที่เลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียด้วยกัน พบว่า wc50 ให้น้ำหนักไขมันทั้งหมดสูงที่สุดคือ 12.16 mg

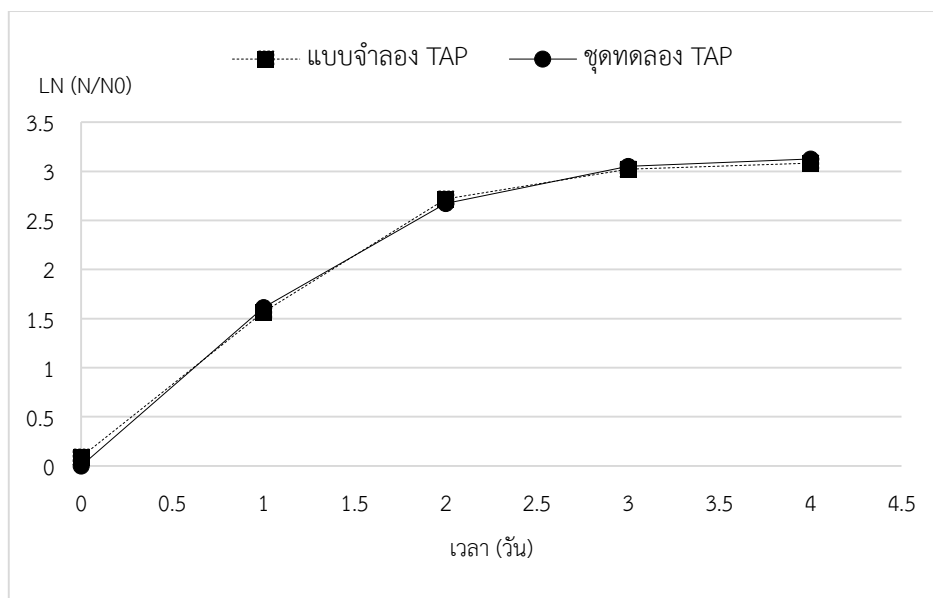
4.5 แบบจำลอง Modified Gompertz

การใช้แบบจำลอง Modified Gompertz เพื่ออธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ในอาหาร TAP แสดงดังในภาพที่ 15 ที่ plot ความสัมพันธ์ระหว่าง ระยะเวลา (แกน X) (วัน) กับ จำนวนเซลล์ (แกน Y) (จำนวน cells/ml) และซึ่งแต่ละตัวแปร มีความหมายดังนี้

λ หมายถึง ระยะเวลาที่สาหร่ายใช้ในการปรับตัว

μ_m หมายถึง ระยะเวลาที่สาหร่ายใช้ในการเจริญเติบโตจนเข้าสู่ระยะ stationary

A หมายถึง ระยะเวลาคงที่ของสาหร่ายภายหลังจากที่สาหร่ายเข้าสู่ระยะ stationary จนถึงระยะตาย ซึ่งแบบจำลองคณิตศาสตร์จะต้องทำการการปรับค่าพารามิเตอร์ด้วยวิธีการ ad hoc เพื่อให้เส้นโค้งเข้ากับข้อมูลการเจริญเติบโตและมีค่า rss น้อยที่สุด ผลที่ได้จากการทดลองและจากแบบจำลอง Modified Gompertz แสดงดังในตารางที่ 16



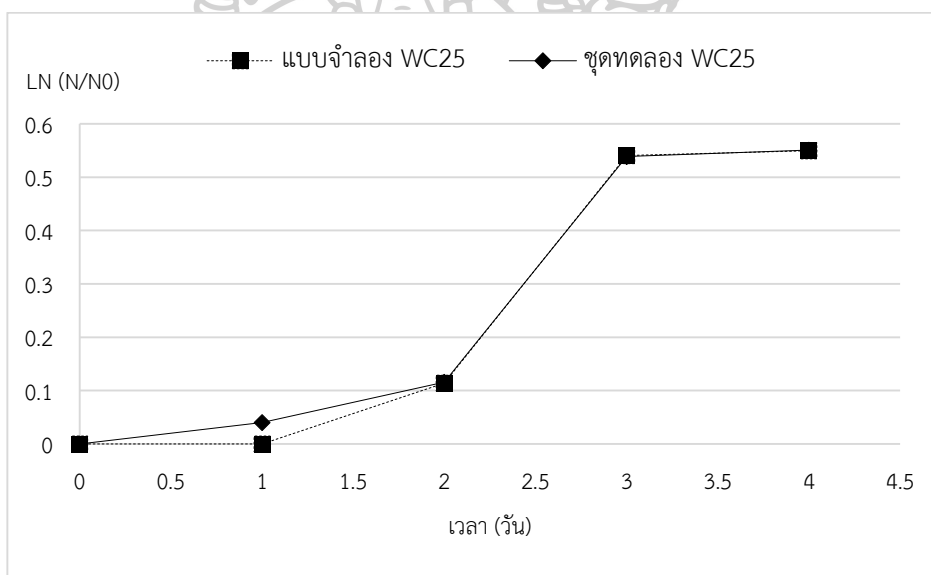
ภาพที่ 15 แบบจำลอง Modified Gompertz เพื่ออธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่เลี้ยงในอาหาร TAP

ตารางที่ 16 ค่าพารามิเตอร์การเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่เลี้ยงในอาหาร TAP

พารามิเตอร์	ค่าที่ได้จากแบบจำลอง Modified Gompertz
λ (day)	0.16
μ_m (day)	5.1
A (day)	3.1
residual sum of squares (rss)	1.4902×10^{-2}

การใช้แบบจำลอง Modified Gompertz เพื่ออธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ในน้ำเสียที่ความเข้มข้น 25% (wc25) แสดงดังภาพที่ 16 ซึ่งแบบจำลองคณิตศาสตร์จะต้องทำการการปรับค่าพารามิเตอร์ด้วยวิธีการจากข้อ ad hoc เพื่อให้เส้นโค้งเข้ากับข้อมูลการเจริญเติบโตและมีค่า rss น้อยที่สุด ผลที่ได้จากการทดลองและจากแบบจำลอง Modified Gompertz ดังแสดงในตารางที่ 17

อย่างไรก็ตาม พบว่าแบบจำลอง Modified Gompertz ไม่สามารถใช้ในการอธิบายสาหร่ายที่เลี้ยงใน wc50 และ wc75 ได้ เนื่องจากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (4 วัน) ผลการทดลองของสาหร่ายที่เลี้ยงใน wc50 ไม่ได้มีครบทุกขั้นตอนการเจริญเติบโต และที่เลี้ยงใน wc75 สาหร่ายไม่มีการเจริญเติบโต แต่มีการตาย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zwietering et al. (1990) ที่พบว่าแบบจำลอง Modified Gompertz เป็นแบบจำลองที่ใช้ในการอธิบายการเจริญเติบโต



ภาพที่ 16 แบบจำลอง Modified Gompertz เพื่ออธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่เลี้ยงในน้ำเสียที่ความเข้มข้น 25% (wc25)

ตารางที่ 17 ค่าพารามิเตอร์ของการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่เลี้ยงในน้ำเสีย ที่ความเข้มข้น 25% (wc25)

พารามิเตอร์	ค่าที่ได้จากแบบจำลอง Modified Gompertz
λ (day)	1.88
μ_m (day)	0.92
A (day)	0.55
residual sum of squares (rss)	1.608×10^{-3}

จากการศึกษาพบว่า ค่าพารามิเตอร์ λ มีค่ามากกว่าค่า λ ของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP แสดงว่าน้ำเสีย 25% เป็นสภาวะที่สาหร่ายต้องใช้เวลาในการปรับตัวมากกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP และจากค่า μ_m ของสาหร่ายที่เลี้ยงใน wc25 มีค่าน้อยกว่าค่า μ_m ของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP แสดงว่าสาหร่ายที่เลี้ยงใน wc25 เจริญเติบโตน้อยกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP (มีระยะเอกซ์โพเนนเชียลน้อยกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP) รวมทั้งสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP มีระยะคงที่ (A) ที่นานกว่าของสาหร่ายที่เลี้ยงใน wc25 และแบบจำลอง Modified Gompertz สามารถอธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำเสีย wc25 ได้ดีกว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายในอาหาร TAP เล็กน้อย (rss ของสาหร่ายที่เลี้ยงใน wc25 มีค่าน้อยกว่าค่า rss ของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร TAP เล็กน้อย)



บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการเจริญเติบโต และการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่กำหนด คือ ที่ $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ ภายใต้แสง fluorescent (aquarium & plant) ขนาด 36 watt ความเข้มแสง 3,000 lux ระยะเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ให้อากาศปกติโดยผ่านฟิลเตอร์ตัวกรองอากาศ อัตราการไหลของอากาศ 0.4 vvm ในน้ำที่จากรองฆ่าสุกรที่ความเข้มข้น 25%, 50% และ 75% เพื่อศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโต การบำบัดน้ำที่จากรองฆ่าสัตว์ และการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580

ผลการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายในการศึกษาครั้งนี้ คือที่ 25% (wc25) และ 50% (wc50) โดยในวันที่สิ้นสุดการทดลอง คือวันที่ 4 ให้ความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายเท่ากับ $8.51\pm 2.77\times 10^6$ cells/ml และ $6.41\pm 1.21\times 10^6$ cells/ml ตามลำดับ แต่สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียที่ความเข้มข้น 75% (wc75) สาหร่ายไม่เจริญเติบโต และตาย โดยเซลล์เปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีเหลืองออกน้ำตาล

ส่วนการบำบัดน้ำเสียของสาหร่าย พบว่า ผลการทดลองเกี่ยวกับ COD และ TKN ไม่สามารถสรุปได้ เนื่องจากการผิดพลาดของการทดลอง ที่การแยกสาหร่ายออกจากน้ำเสียไม่สามารถทำได้ อย่างสมบูรณ์ ส่วนการกำจัด NO_3^- และ TP พบว่าสามารถบำบัดได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียที่ความเข้มข้น 25% และ 75% โดยมีค่าเท่ากับ 53.06% และ 32.35% ตามลำดับ

ชุดการทดลองที่ให้ Lipid Content ดีที่สุดคือ สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสีย 75% (wc75) ที่ทำให้ได้ lipid content 22.9% แต่ในบรรดาสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรทั้งหมด พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียที่ความเข้มข้น 50% (wc50) ให้ทั้งน้ำหนักไขมันทั้งหมด และ Lipid Content มีค่าสูงที่สุด คือ 12.16 mg และ 20.9% ตามลำดับ

อีกทั้งพบว่าแบบจำลอง Modified Gompertz สามารถใช้ในการอธิบายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ในอาหาร TAP และในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรที่ความเข้มข้น 25% (wc25) ได้เป็นอย่างดี

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

เนื่องจากสาหร่ายสามารถนำธาตุอาหารในน้ำเสียมาใช้ในการเจริญเติบโต จึงสามารถลดปริมาณของธาตุอาหารในน้ำเสีย อีกทั้งยังสามารถนำสาหร่ายมาสกัดไขมันเพื่อนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทน จึงควรมีการส่งเสริมและสนับสนุนการศึกษาวิจัยทางด้านนี้

5.2.2 ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

5.2.2.1 ผลการทดลองน่าจะสมบูรณ์ ครบถ้วน ดีขึ้น หากชุดทดสอบที่เลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ในน้ำเสียโรงฆ่าสุกรที่ความเข้มข้น 50% (wc50) ควรรอจนสาหร่ายเข้าสู่ระยะ stationary phase

5.2.2.2 การทดลองน่าจะสมบูรณ์ ครบถ้วน ดีขึ้น หากการทดลองเรื่องการเจริญเติบโตของสาหร่าย และการทดลองเรื่องการผลิตไขมันของสาหร่ายสามารถดำเนินการทดลองแยกออกจากกัน แต่ดำเนินการภายในสภาวะการทดลองเดียวกัน เพราะด้านการเจริญเติบโตของสาหร่ายต้องการผลการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่ครอบคลุมทุกระยะการเจริญเติบโตหากสามารถทำได้ (ยกเว้นที่ wc75) ที่เป็นความเข้มข้นของน้ำเสียที่เข้มข้นเกินไป ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ส่วนเรื่องการผลิตไขมันของสาหร่ายต้องการเลี้ยงสาหร่ายจนถึงระยะ stationary phase ที่มีรายงานว่าสามารถผลิตไขมันได้ดีที่สุดเท่านั้น

5.2.2.3 ไขมันที่ได้จากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร อาจทำการศึกษาต่อถึงความเป็นไปได้ที่จะสังเคราะห์เป็นไบโอดีเซล และการวิเคราะห์คุณภาพของไบโอดีเซลที่ได้

5.2.2.4 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการใช้สาหร่ายบำบัดน้ำเสียในสถานที่จริง เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ และสามารถนำไปใช้ได้จริงในการใช้สาหร่ายในการบำบัดน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์หรือโรงงานชนิดอื่นที่มีการปล่อยน้ำเสียที่มีธาตุอาหารปะปนออกมาสู่ภายนอก และไม่มีสารพิษที่เป็นอันตรายต่อสาหร่ายปนอยู่ด้วย

5.2.2.5 หากดำเนินการในข้อ 5.2.2.2 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของการใช้แบบจำลองการเจริญเติบโตอื่น ๆ มาใช้ในการทำนายการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* TISTR 8580 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรเพื่อเปรียบเทียบกับที่ใช้แบบจำลอง Modified Gompertz

รายการอ้างอิง

- Agwa, O. K., Ibe, S. N., & Abu, G. O. (2012). Economically effective potential of *Chlorella* sp. for biomass and lipid production. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research* 2 (1), 35-45.
- Anderson, D. M., Glibert, P. M., & Burkholder, J. M. (2002). Harmful algal blooms and eutrophication nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries*, 25(4), 704-726.
- Anjos, M., Fernandes, B. D., Vicente, A. A., Teixeira, J. A., & Dragone, G. (2012). Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 139, 149-154.
- Aslan, S., & Kapdan, I. K. (2006). Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*, 28, 64-70.
- Atta, M., Idris, A., Bukhari, A., & Wahidin, S. (2013). Intensity of blue LED light: A potential stimulus for biomass and lipid content in fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 148, 373-378.
- Becker, E. W. (1994). *Microalgae: biotechnology and microbiology*. the Press Syndicate of the University of Cambridge: Great Britain at the University Press, Cambridge.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917.
- Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: Ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70, 313-321.
- Borowitzka, M. A., & Moheimani, N. R. (2013). Open pond culture systems. *Developments in Applied Phycology* 5, 133-152.
- Bouarab, L., Dauta, A., & Loudiki, M. (2004). Heterotrophic and mixotrophic growth of *Micractinium pusillum* fresenius in the presence of acetate and glucose: Effect of light and acetate gradient concentration. *Water Research*, 38, 2706-2712.
- Bustillo-Lecompte, C., Mehrvar, M., & Quiñones-Bolaños, E. (2016). Slaughterhouse wastewater characterization and treatment: an economic and public health

- necessity of the meat processing industry in Ontario, Canada. *Journal of Geoscience and Environment Protection*, 4, 175-186.
- Cabanelasa, I. T. D., Arbiba, Z., Chinaliab, F. A., Souzad, C. O., Peralesa, J. A., Almeida, P. F., . . . Nascimento, I. A. (2013). From waste to energy: Microalgae production in wastewater and glycerol. *Applied Energy*, 109, 283-290.
- Cai, T., Stephen, Y. P., & Yebo, L. (2013). Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19(360-369).
- Cassidy, D. P., & Belia, E. (2005). Nitrogen and phosphorus removal from an abattoir wastewater in a SBR with aerobic granular sludge. *Water Research*, 39, 4817-4823.
- Cheirsilp, B., & Torpee, S. (2012). Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresource Technology*, 110, 510-516.
- Chelf, P., Brown, L. M., & Wyman, C. E. (1993). Aquatic biomass resources and carbon dioxide trapping. *Biomass Bioenergy*, 4(3), 175-183.
- Chen, F. (1996). High cell density culture of microalgae in heterotrophic growth. *Trends in Biotechnology*, 14, 421-426.
- Cheng, L., Zhang, L., Chen, H., & Gao, C. (2006). Carbon dioxide removal from air by microalgae cultured in a membrane-photobioreactor. *Separation and Purification Technology*, 50(3), 324-329.
- Chia, M. A., Lombardi, A. T., & da Graça Gama Melão, M. (2013). Calorific values of *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) as a function of different phosphorus concentrations. *Phycological Research*, 16, 286-291.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25, 294-306.
- Christenson, L., & Sims, R. (2011). Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances*, 29(6), 686-702.
- Chu, F.-F., Chu, P.-N., Cai, P.-J., Li, W.-W., Lam, P. K. S., & Zeng, R. J. (2013). Phosphorus plays an important role in enhancing biodiesel productivity of *Chlorella vulgaris* under nitrogen deficiency. *Bioresource Technology*, 134, 341-346.

- Converti, A., Casazza, A. A., Ortiz, E. Y., Perego, P., & Borghi, M. D. (2009). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing*, 48(6), 1146-1151.
- Dorling, M., Mcauley, P. J., & Hodge, H. (1997). Effect of pH on growth and carbon metabolism of maltosereleasing *Chlorella* (chlorophyta). *European Journal of Phycology*, 32, 19-24.
- Feng, Y., Li, C., & Zhang, D. (2011). Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. *Bioresource Technology*, 102, 101-105.
- Frank, E. D., Han, J., Palou-Rivera, I., Elgowainy, A., & Wang, M. Q. (2012). Methane and nitrous oxide emissions affect the life-cycle analysis of algal biofuels. *Environmental Research Letters*, 7, 1-10.
- Glibert, P. M., Anderson, D. M., Gentien, P., Granéli, E., & Sellner, K. G. (2005). The global, complex phenomena of harmful algal blooms. *Oceanography*, 18(2), 136-147.
- Gong, Q., Feng, Y., Kang, L., Luo, M., & Yang, J. (2014). Effect of light and pH on cell density of *Chlorella vulgaris*. *Energy Procedia*, 61, 2012-2015.
- Halmi, M. I. E., Shukor, M. S., Johari, W. L. W., & Shukor, M. Y. (2014). Modeling the growth kinetics of *Chlorella vulgaris* cultivated in microfluidic devices. *Asian Journal of Plant Biology*, 2(1), 7-10.
- Hamed, S., Mahdavi, M. A., & Gheshlaghi, R. (2012). *Lipid content and biomass production of Chlorella vulgaris is affected by growth conditions*. Paper presented at the Second Iranian Conference on Renewable Energy and Distributed Generation.
- Harold, F. M. (1966). Inorganic polyphosphates in biology: Structure, metabolism, and function. *Bacteriological Reviews*, 30(4), 772-794.
- Hernández, D., Riaño, B., Cocab, M., Solanac, M., Bertuccoc, A., & García-González, M. C. (2016). Microalgae cultivation in high rate algal ponds using slaughterhouse wastewater for biofuel applications. *Chemical Engineering Journal*, 285, 449-458.
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., & Darzins, A. (2008). Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. *Plant Journal* 54(4), 621-639.

- Huang, G., Chen, F., Wei, D., Zhang, X., & Chen, G. (2010). Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied Energy*, 87, 38-46.
- Illman, A. M., Scragg, A. H., & Shales, S. W. (2000). Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme and Microbial Technology* 27, 631-635.
- Ilyovo, G. D., Du, G., & Chen, J. (2010). Poultry manure digestate enhancement of *Chlorella vulgaris* biomass under mixotrophic condition for biofuel production. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 2(2), 51-57.
- Jalal, K. C. A., Alam, M. Z., Matin, W. A., Kamaruzzaman, B. Y., Akbar, J., & Hossain, T. (2011). Removal of nitrate and phosphate from municipal wastewater sludge by *Chlorella vulgaris*, *Spirulina platensis* and *Scenedesmus quadricauda*. *Iium Engineering Journal*, 12, 125-132.
- Jaramillo, J. J., Naranjo, J. M., & Cardona, C. A. (2012). Growth and oil extraction from *chlorella vulgaris*: A techno-economic and environmental assessment. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51, 10503-10508.
- Jeong, H., Lee, J., & Cha, M. (2013). Energy efficient growth control of microalgae using photobiological methods. *Renewable Energy*, 54, 161-165.
- Ji, M.-K., Kim, H.-C., Sapireddy, V. R., Yun, H.-S., Abou-Shanab, R. A. I., Choi, J., . . . Jeon, B.-H. (2013). Simultaneous nutrient removal and lipid production from pretreated piggery wastewater by *Chlorella vulgaris* YSW-04. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 2701-2710.
- Khoeyi, Z. A., Seyfabadi, J., & Ramezanzpour, Z. (2012). Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Aquaculture International* 20(41-49).
- Kim, J., Lingaraju, B. P., Rheume, R., Lee, J. Y., & Siddiqui, K. F. (2010). Removal of ammonia from wastewater effluent by *chlorella vulgaris*. *Tsinghua Science and Technology*, 15, 391-396.
- Kim, S., Park, J. E., Cho, Y. B., & Hwang, S. J. (2013). Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of *chlorella sorokinianain* autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. *Bioresource Technology*, 144, 8-13.

- Kong, W., Song, H., Cao, Y., Yang, H., Hua, S., & Xia, C. (2011). The characteristics of biomass production, lipid accumulation and chlorophyll biosynthesis of *Chlorella vulgaris* under mixotrophic cultivation. *African Journal of Biotechnology*, 10(55), 11620-11630.
- Kong, W. B., Yang, H., Cao, Y. T., Song, H., Hua, S. F., & Xia, C. G. (2013). Effect of glycerol and glucose on the enhancement of biomass, lipid and soluble carbohydrate production by *Chlorella vulgaris* in mixotrophic culture. *Food Technology and Biotechnology*, 51(1), 62-69.
- Kundu, P., Debsarkar, A., & Mukherjia, S. (2013). Treatment of slaughter house wastewater in a sequencing batch reactor: Performance evaluation and biodegradation kinetics. *Biomed Research International* 2013, 1-11.
- Lam, M. K., & Lee, K. T. (2013). Effect of carbon source towards the growth of *Chlorella vulgaris* for CO₂ bio-mitigation and biodiesel production. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 14, 169-176.
- Lau, P. S., Tam, N. F. Y., & Wong, Y. S. (1995). Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. *Environmental Pollution* 89, 59-66.
- Lavens, P., & Sorgeloos, P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture. Retrieved from <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=5501bda3d11b8b2c708b46a4&assetKey=AS%3A273731899854852%401442308727000>
- Lee, C.-M., Kim, M.-J., Sanjay, K., Kwag, J.-H., & Ra, C. S. (2011). Biomass production potential of *Chlorella vulgaris* under different CO₂ concentrations and light intensities. *Journal of Animal Science and Technology*, 53(3), 261-268.
- Li, J. P., Healy, M. G., Zhan, X. M., & Rodgers, M. (2008). Nutrient removal from slaughterhouse wastewater in an intermittently aerated sequencing batch reactor. *Bioresource Technology*, 99 (16), 7644-7650.
- Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N., & Lan, C. Q. (2008). Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 81, 629-636.
- Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C. Q., & Dubois-Calero, N. (2008). Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress* 24, 815-820.

- Li, Y., Zhou, W., Hu, B., Min, M., Chen, P., & Ruan, R. R. (2011). Integration of algae cultivation as biodiesel production feedstock with municipal wastewater treatment: strains screening and significance evaluation of environmental factors. *Bioresource Technology*, 102, 10861-10867.
- Liang, K., Zhang, Q., Gu, M., & Cong, W. (2013). Effect of phosphorus on lipid accumulation in freshwater microalga *Chlorella sp.* *Journal of Applied Physiology*, 25, 311-318.
- Lim, S.-L., Chu, W.-L., & Phang, S.-M. (2010). Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. *Bioresource Technology*, 101, 7314-7322.
- Liu, J., Huang, J., Jiang, Y., & Chen, F. (2012). Molasses-based growth and production of oil and astaxanthin by *Chlorella zofingiensis*. *Bioresource Technology*, 107, 393-398.
- Lu, Q., Zhou, W., Min, M., Ma, X., Chandra, C., Doan, Y. T. T., . . . Ruan, R. (2015). Growing *Chlorella sp.* on meat processing wastewater for nutrient removal and biomass production. *Bioresource Technology*, 198, 189-197.
- Lv, J. M., Cheng, L. H., Xu, X. H., Zhang, L., & Chen, H. L. (2010). Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. *Bioresource Technology*, 101, 6797-6804.
- Ma, X., Zheng, H., Huang, H., Liu, Y., & Ruan, R. (2014). Effects of temperature and substrate concentration on lipid production by *Chlorella vulgaris* from enzymatic hydrolysates of lipid-extracted microalgal biomass residues (lmbrs). *Applied Biochemistry and Biotechnology* 174, 1631-1650.
- Maroneze, M. M., Barin, J. S., Menezes, C. R. D., Queiroz, M. I., Zepka, L. Q., & Jacob-Lopes, E. (2014). Treatment of cattle-slaughterhouse wastewater and the reuse of sludge for biodiesel production by microalgal heterotrophic bioreactors. *Scientia Agricola*, 6(71), 521-524.
- Martinez, M., Sanchez, S., JIMENEZ, J., Yousfi, F. E., & Munoz, L. (2000). Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*, 73, 263-272.

- Masojidek, J., Koblížek, M., & Torzillo, G. (2003). Photosynthesis in microalgae. In A. Richmond (Ed.), *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology* (pp. 20-39).
- Massé, D. I., & Mass, L. (2000). Characterization of wastewater from hog slaughterhouses in eastern Canada and evaluation of their in-plant wastewater treatment systems. *Canadian Agricultural Engineering*, 42(3), 139-146.
- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 217-232.
- Mayo, A. W., & Noike, T. (1996). Effects of temperature and pH on the growth of heterotrophic bacteria in waste. *Water Research*, 30(2), 447-455.
- Mittal, G. S. (2006). Treatment of wastewater from abattoirs before land application: a review. *Bioresource Technology*, 97, 1119-1135.
- Mujtaba, G., Choi, W., Lee, C., & Lee, K. (2012). Lipid production by *Chlorella vulgaris* after a shift from nutrient-rich to nitrogen starvation conditions. *Bioresource Technology*, 123, 279-283.
- Nardi de, I. R., Del Nery, V., Amorim, A. K. B., dos Santos, N. G., & Chimenes, F. (2011). Performances of SBR, chemical-DAF and UV disinfection for poultry slaughterhouse wastewater reclamation. *Desalination*, 269(184-189).
- Nmcoová, Y., & Kalina, T. (2000). Cell wall development, microfibril and pyrenoid structure in type strains of *Chlorella vulgaris*, *C. kessleri*, *C. sorokiniana* compared with *C. luteoviridis* (trebouxiophyceae, chlorophyta). *Algological Studies*, 100, 95-105.
- Nora, F. Y. T., Chong, A. M. Y., & Wong, Y. S. (2002). Removal of tributyltin (TBT) by live and dead microalgal cells. *Marine Pollution Bulletin*, 4, 362-371.
- Norsker, N.-H., Barbosa, M. J., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. (2011). Microalgal production —A close look at the economics. *Biotechnology Advances*, 29(1), 24-27.
- Passos, F., Felix, L., Rocha, H., de O. Pereira, J., & de Aquino, S. (2016). Reuse of microalgae grown in full-scale wastewater treatment ponds: Thermochemical

- pretreatment and biogas production. *production. Bioresource Technology*, 209, 305-312.
- Pittman, J. K., Dean, A. P., & Osundeko, O. (2011). The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology*, 102, 17-25.
- Przytocka-Jusiak, M., Mlynarczyk, A., Kulesza, M., & Mycielski, R. (1977). Properties of *Chlorella vulgaris* strain adapted to high concentration of ammonium nitrogen. *Acta Microbiologica Polonica*, 26(2), 185-197.
- Pulz, O., & Gross, W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65, 635-684.
- Quiroz Arita, C. E., Peebles, C., & Gradley, T. H. (2015). Scalability of combining microalgae-based biofuels with wastewater facilities: A review. *Algal Research*, 9, 160-169.
- Rachlin, J. W., & Grosso, A. (1991). The effects of pH on the growth of *Chlorella vulgaris* and its interactions with cadmium toxicity. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 20, 505-508.
- Rendón, S. M., Roldan, G. J. C., & Voroney, R. P. (2013). Effect of carbon dioxide concentration on the growth response of *Chlorella vulgaris* under four different led illumination. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 2, 125-131.
- Rosenberg, J. N., Oyler, G. A., Wilkinson, L., & Betenbaugh, M. J. (2008). A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(), 430-436.
- Rowley, W. M. (2010). *Nitrogen and phosphorus biomass-kinetic model for Chlorella vulgaris in a biofuel production scheme*. (M.S. thesis), Air University.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265-278.
- Salgueiro, J. L., Pérez, L., Maceiras, R., Sánchez, A., & Cancela, A. (2016). Bioremediation of Wastewater using *Chlorella Vulgaris* Microalgae: Phosphorus and Organic Matter. *International Journal of Environmental Research*, 10(3), 465-470.

- Scragg, A. H., Morrison, J., & Shales, S. W. (2003). The use of a fuel containing *Chlorella vulgaris* in a diesel engine. *Enzyme and Microbial Technology*, 33, 884-889.
- Shi, X. M., Liu, H. J., Zhang, X. W., & Chen, F. (1999). Production of biomass and lutein by *Chlorella protothecoides* at various glucose concentrations in heterotrophic cultures. *Process Biochemistry*, 34, 341-347.
- Shu, C.-H., Tsai, C.-C., Liao, W.-H., Chen, K.-Y., & Huang, H.-C. (2012). Effects of light quality on the accumulation of oil in amixed culture of *Chlorella sp.* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 87, 601-607.
- Sorokin, C., & Krauss, R. W. (1958). The effects of light intensity on the growth rates of green algae. *Plant Physiology*, 33(2), 109-113.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101 (2), 87-96.
- Sreesai, S., & Pakpain, P. (2007). Nutrient recycling by *Chlorella vulgaris* from septage effluent of the Bangkok city, Thailand. *ScienceAsia* 33, 293-299.
- Sunder, C. G., & Satyanarayan, S. (2013). Efficient treatment of slaughter house wastewater by anaerobic hybrid reactor packed with special floating media. *International Journal of Chemical and Physical Sciences*, 2, 73-81.
- Sydney, E. B., Sturm, W., De Carvalho, J. C., Thomaz-Soccol, V., Larroche, C., Pandey, A., & Ricardo Soccol, C. (2010). Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresource Technology*, 101, 5892-5896.
- Velichkova, K. (2014). Effect of different nitrogen sources on the growth of microalgae *Chlorella vulgaris* cultivation in aquaculture wastewater. *Agricultural Science and Technology*, 6(3), 337-340.
- Wang, B., Li, Y., Wu, N., & Lan, C. Q. (2008). CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79, 707-718.
- Wang, C., Li, H., Wang, Q., & Wei, P. (2010). [Effect of pH on growth and lipid content of *Chlorella vulgaris* cultured in biogas slurry]. *chinese journal of biotechnology*, 26(8), 1074-1079.

- Wang, C., Yu, X., Lv, H., & Yang, J. (2013). Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater by the green alga *Chlorella* sp. . *Environmental Biology*, 34, 421-425.
- Wang, Y., Guo, W., Yen, H. W., Ho, S. H., Lo, Y. C., Cheng, C. L., . . . Chang, J. S. (2015). Cultivation of *Chlorella vulgaris* JSC-6 with swine wastewater for simultaneous nutrient/COD removal and carbohydrate production. *Bioresource Technology*, 198, 619-625.
- Widjaja, A., Chine, C.-C., & Ju, Y.-H. (2009). Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 40, 13-20.
- Wrigley, T. J., & Toerien, D. F. (1990). Limnology aspects of small sewage ponds. *Water Resources*, 24(83-90).
- Yamamoto, M., Fujishita, M., Hirata, A., & Kawano, S. (2004). Regeneration and maturation of daughter cell walls in the autospore-forming green alga *Chlorella vulgaris* (chlorophyta, trebouxiophyceae). *Journal of Plant Research*, 117, 257-264.
- Yamamoto, M., Nozaki, H., Miyazawa, Y., Koide, T., & Kawano, S. (2003). Relationships between presence of a mother cell wall and speciation in the unicellular microalga *Nannochloris* (chlorophyta). *Journal of Phycology*, 39, 172-284.
- Yan, C., Zhang, L., Luo, X., & Zheng, Z. (2013). Effect of various LED light wavelengths and intensitie on the performance of purifying synthetic domestic sewage by microalgae at different influent c/n ratios. *Ecological Engineering*, 51, 24-32.
- Yan, C., Zhao, Y., Zheng, Z., & Luo, X. (2013). Effects of various LED light wavelengths and light intensity supply strategies on synthetic high-strength wastewater purification by *Chlorella vulgaris*. *Biodegradation*, 24, 721-732.
- Yang, C., Hua, Q., & Shimizu, K. (2000). Energetics and carbon metabolism during growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cycliclight-autotrophic/dark-heterotrophic conditions. *Biochemical Engineering Journal* 6, 87-102.
- Yeh, K.-L., & Chang, J.-S. (2012). Effects of cultivation conditions and media composition on cell growth and lipid productivity of indigenous microalga *Chlorella vulgaris* esp-31. *Bioresource Technology*, 105, 120-127.

- Zhan, X., Healy, M. G., & Li, J. (2009). Nitrogen removal from slaughterhouse wastewater in a sequencing batch reactor under controlled low do conditions. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 32, 607-614.
- Zheng, H., Gao, Z., Fengwei, Y., Ji, X., & Huang, H. (2012). Effect of co2 supply conditions on lipid production of *Chlorella vulgaris* from enzymatic hydrolysates of lipid-extracted microalgal biomass residues. *Bioresource Technology*, 126, 24-30.
- Zheng, H., Gao, Z., Zhang, Q., Huang, H., Ji, X., Sun, H., & Dou, C. (2011). [Effect of inorganic carbon source on lipid production with autotrophic *Chlorella vulgaris*]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 27(3), 436-444.
- Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., & Van 'T riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Anvironmental Microbiology*, 56(6), 1875-1881.
- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2559). กระทรวงเกษตรฯ เผยสถานการณ์ต้นทุนการผลิตและการตลาดสุกรปี 2559. Retrieved from https://www.moac.go.th/ewt_news.php?nid=18771&filename=
- กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (2539). มาตรฐานคุณภาพน้ำ. Retrieved from http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water04.html#s1
- ณัฐกร นวรัตน. (2016). การศึกษาคณิตศาสตร์สำหรับการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของไก่เนื้อโคราช. Retrieved from <http://math.sut.ac.th/~jessada/cv/UAMC2016.pdf>
- ธีรยุทธ บุญคง. (2552). การใช้ประโยชน์น้ำทิ้งจากโรงงานปลาป่นเพาะเลี้ยงคลอเรลลาเป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงไรแดง. (ปริญญาโท), มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ผกาวดี แก้วกันเนตร, วราวุฒิ จุฬาลักษณ์านุกูล, & James, A. E. (2552). รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการศึกษาภาพการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันที่ได้จากสาหร่าย. Retrieved from
- ลัดดา วงศ์รัตน์. (2543). คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ Ed.). กรุงเทพฯ.
- ศิริภรณ์ ชื่นบาล, & รุปน ชื่นบาล. (2553). รายงานผลการวิจัย การเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีประโยชน์ทางเศรษฐกิจจากน้ำเสียโรงงานฝักและผลไม้กระป๋อง. Retrieved from http://librae.mju.ac.th/goverment/2011119104834_librae/5434.pdf
- สำนักเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมโรงงาน กรมโรงงานอุตสาหกรรม. (2541). คู่มือการจัดการสิ่งแวดล้อมสำหรับโรงงานฆ่าสุกร (สำนักเลขาธิการคณะรัฐมนตรี Ed.). กรุงเทพฯ.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	พงษ์ผไท กิจรุ่งโรจนาวร
วัน เดือน ปี เกิด	12 สิงหาคม 2529
สถานที่เกิด	จังหวัดนครปฐม
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรี
ที่อยู่ปัจจุบัน	15 ถนนซ้ายพระ ตำบลพระปฐมเจดีย์ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000
ผลงานตีพิมพ์	Kitrungleadjanaporn, P., G. Sripongpun and W. Triampo. 2017. Nutrient removal from the effluent of swine slaughterhouse wastewater by <i>Chlorella vulgaris</i> TISTR 8580. International Journal of Advances in Agricultural & Environmental Engineering (IJAAEE), 4 (1): 28-32. (อยู่ใน Scilit database)
รางวัลที่ได้รับ	Session Best paper จาก International Conference on Nanotechnology, Environmental and Civil Engineering (ICNECE-2016) จากผลงานวิจัยเรื่อง Nutrient Removal from the Effluent of Swine Slaughterhouse Wastewater by <i>Chlorella vulgaris</i> TISTR 8580

