

สาหร่าย

พืชอันุมณีล้ำค่า

กับการศึกษาเชิงชีวฟิสิกส์และวิธีการเชิงคำนวณ



พงษ์พไท กิจรุ่งโรจนพร

รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณพงษ์ เตรียมโพธิ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมคิด อมรสมานกุล

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	II
สารบัญรูปภาพ	III
สารบัญตาราง	IV
บทนำ	1
บทที่ 1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก	2
บทที่ 2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายบำบัดน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์	34
บทที่ 3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย	48
เอกสารอ้างอิง	58

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 การแบ่งชนิดของสาหร่ายตาม ribosomal RNA	5
ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตสารชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก	4
ภาพที่ 3 แผนผังโครงสร้างพื้นฐานของ <i>C. vulgaris</i> แสดงถึงอวัยวะต่าง ๆ	7
ภาพที่ 4 การแบ่งเซลล์ระยะต่าง ๆ ของ <i>C. vulgaris</i>	7
ภาพที่ 5 การทำการเจือจางแบบอนุกรม (Serial Dilution)	9
ภาพที่ 6 ระบบทั่วไปที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย	10
ภาพที่ 7 การเลี้ยงในระบบเปิดเชิงพาณิชย์	11
ภาพที่ 8 การเลี้ยงในระบบปิดเชิงพาณิชย์ใน tubular photobioreactor	12
ภาพที่ 9 การเจริญเติบโตของสาหร่าย	14
ภาพที่ 10 haemocytometer สำหรับนับเซลล์	16
ภาพที่ 11 เครื่อง Spectrophotometer ที่ใช้สำหรับวัดการกระจายของแสงหรือความขุ่น	17
ภาพที่ 12 กลไกการตกตะกอนขั้นพื้นฐาน	19
ภาพที่ 13 การตกตะกอนทางเคมีของสาหร่ายโดยใช้ประจุบวก	20
ภาพที่ 14 การตกตะกอนแบบ Electrocoagulation ของสาหร่าย	21
ภาพที่ 15 การตกตะกอนแบบ Bioflocculation ของสาหร่าย	22
ภาพที่ 16 บ่อตกตะกอนทั่วไป	23
ภาพที่ 17 บ่อตกตะกอนแบบ lamella separator	23
ภาพที่ 18 การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยกระบวนการลอยตัว (Flotation)	24
ภาพที่ 19 Transesterification ของ triglycerides	28
ภาพที่ 20 แสดงการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ <i>Chlorella vulgaris</i> TISTR8580 ภายใต้แสงและ สปีชีส์ต่าง ๆ	29
ภาพที่ 21 กราฟมาตรฐานการเจริญเติบโต	29
ภาพที่ 22 กระบวนการฆ่าสุกร และปริมาณการผลิตน้ำเสียจากการฆ่าสุกร	33
ภาพที่ 23 ตัวอย่างการวางบ่อแบบบ่อปรับเสถียร (Stabilization Pond)	35
ภาพที่ 24 ตัวอย่างบ่อแบบบ่อเติมอากาศ (Aerated Lagoon หรือ AL)	36
ภาพที่ 25 ตัวอย่างบ่อแบบระบบบึงประดิษฐ์แบบ Free Water Surface Wetland (FWS)	37
ภาพที่ 26 ตัวอย่างบ่อแบบระบบบึงประดิษฐ์แบบ Vegetated Submerged Bed System (VSB)	38
ภาพที่ 27 ตัวอย่างระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์แบบกวนสมบูรณ์ (CMAS)	39
ภาพที่ 28 ตัวอย่างระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์แบบปรับเสถียรสัมผัส (CSAS)	40
ภาพที่ 29 ตัวอย่างระบบคลองเวียนวน (Oxidation Ditch; OD)	41
ภาพที่ 30 ตัวอย่างระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ (Sequencing Batch Reactor)	42
ภาพที่ 31 ตัวอย่างระบบบำบัดน้ำเสียแบบคลองวนเวียน (Oxidation Ditch ; OD)	43
ภาพที่ 32 ตัวอย่างระบบระบบบำบัดน้ำเสียแบบแผ่นจานหมุนชีวภาพ	45

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ปริมาณไขมันที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็กบางชนิด	5
ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการผลิตสาหร่ายในระบบปิดกับระบบเปิด	13
ตารางที่ 3 สูตรที่ใช้ในการคำนวณคลอโรฟิลล์ และค่าการดูดกลืนแสงของ acetone, ethanol และ diethylether	17
ตารางที่ 4 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสาหร่าย	26
ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบปริมาณไขมันและพื้นที่ในการปลูกหรือเลี้ยง	27
ตารางที่ 6 แบบจำลอง Gompertz และแบบจำลอง Modified Gompertz	31
ตารางที่ 7 สมบัติของน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์	32

บทนำ

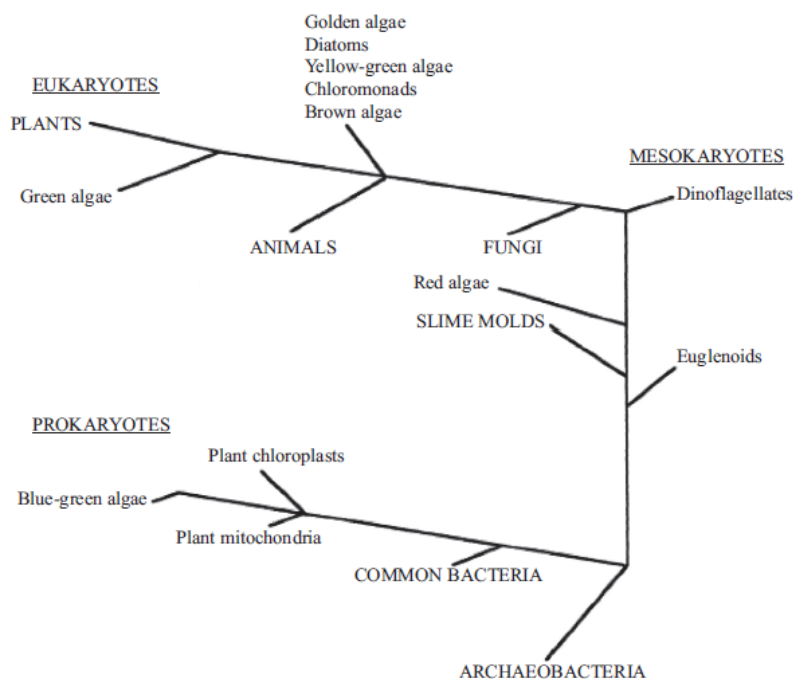
สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่ซับซ้อน สาหร่ายมีอยู่ทุกที่ในโลก มนุษย์สามารถพบสาหร่ายได้ตาม แหล่งน้ำต่าง ๆ ทั้งน้ำเค็มและน้ำจืด สาหร่ายสามารถเติบโตได้อย่างรวดเร็วซึ่งทำให้สาหร่ายมีข้อได้เปรียบในเรื่องของการนำมาขยายพันธุ์ และนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์ เช่น การเพาะเลี้ยงเพื่อนำไปใช้เป็นอาหารและอาหารเสริมสำหรับมนุษย์ อาหารสัตว์ สัตว์เลี้ยง เครื่องสำอาง อื่น ๆ อีกมากมาย นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดยังสามารถนำไปสกัดเป็นน้ำมันเพื่อใช้ในการผลิตไบโอดีเซลได้ สาหร่ายยังมีความสามารถด้านสิ่งแวดล้อมอีกด้วย เช่น การบำบัดน้ำเสียโดยการให้สาหร่ายใช้ธาตุอาหารที่อยู่ในน้ำเสียเพื่อการเจริญเติบโต การลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งสาหร่ายสามารถใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับการสังเคราะห์แสงในการเจริญเติบโต เป็นการบำบัดของเสียที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม แต่สาหร่ายก็มีผลกระทบกับสิ่งแวดล้อมเช่นกันซึ่งเป็นการเกิดจากการที่มีธาตุอาหารอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติมากเกินไปจึงทำให้เกิดการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของสาหร่าย หรือที่เราเรียกว่า eutrophication

เอกสารฉบับนี้ จะให้ความรู้เกี่ยวกับ สาหร่าย ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและการเจริญเติบโต ประโยชน์ของสาหร่าย และการใช้วิทยาการเชิงคำนวณเพื่อเป็นแบบจำลองทำนายการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยบทที่หนึ่งของเอกสารนี้จะอธิบายข้อมูลทั่วไปของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและตัวอย่างสาหร่ายสายพันธุ์ที่พบในธรรมชาติที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง บทที่สองจะกล่าวถึงการเพาะเลี้ยงสาหร่ายบำบัดน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์และลักษณะการเจริญเติบโตของสาหร่าย บทที่สาม กล่าวถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

บทที่ 1

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

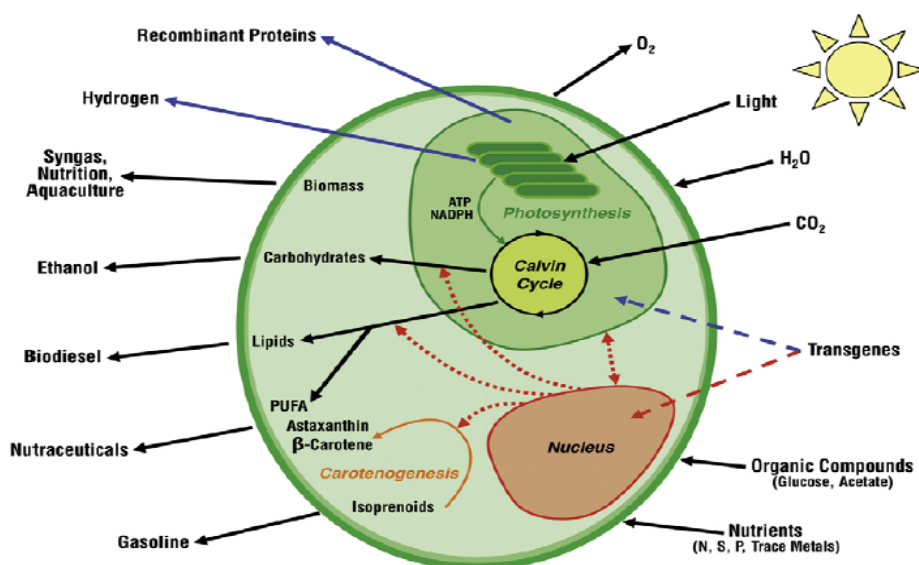
สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่เรียบง่ายไม่ซับซ้อน สาหร่ายมีตั้งแต่เซลล์เดี่ยวขนาด 1 μm ที่มองด้วยตาเปล่า ไม่เห็นต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ในการมอง (microalgae) จนถึงสาหร่ายขนาดใหญ่ 50 m (macroalgae) เช่น สาหร่ายทะเล สาหร่ายสามารถพบได้ที่พื้นผิวต่างๆ หรือลอยอิสระอยู่ในมหาสมุทร ทะเลสาบ หนองน้ำ ลำธาร และแม่น้ำ สาหร่ายบางสายพันธุ์อาศัยอยู่บนดิน หิมะ บนหลังของเต่า และในเซลล์ของปะการัง สาหร่ายใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์เช่นเดียวกับพืช ความแตกต่างระหว่างพืชกับสาหร่ายคือ สาหร่ายไม่มีในส่วนของใบ ลำต้น และราก สาหร่ายมีรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง และใช้พลังงานที่ได้จากการสังเคราะห์แสงร่วมกับ คาร์บอน น้ำ อาหารในการผลิต biomass และปล่อยออกซิเจนออกมา สาหร่ายมีมากกว่า 40,000 ชนิด อยู่ในอาศัยในระบบนิเวศที่มีความหลากหลาย เช่น ในน้ำจืด น้ำกร่อย ทะเล และทะเลที่มีความเค็มสูง ในช่วง อุณหภูมิ pH และปริมาณอาหารที่แตกต่างกัน สาหร่ายได้ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มต่างๆ ดังนี้ ไชยาโนแบคทีเรีย (Cyanophyceae) สาหร่ายสีเขียว (Chlorophyceae) ไดอะตอม (Bacillariophyceae) สาหร่ายสีเหลืองเขียว (Xanthophyceae) สาหร่ายสีทอง (Chrysophyceae) สาหร่ายสีแดง (Rhodophyceae) สาหร่ายสีน้ำตาล (Phaeophyceae) ไดโนแฟลกเจลเลต (Dinophyceae) และพีโคแพลงก์ตอน (Prasinophyceae and Eustigmatophyceae) สาหร่ายแบ่งออกได้ 12 กลุ่มใหญ่ ส่วนใหญ่แบ่งตามองค์ประกอบของเม็ดสี ตามผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสาหร่าย และความหลากหลายของโครงสร้างพื้นฐาน นอกจากนี้ยังมีการแบ่งตามอนุกรมวิธานอื่น ๆ มีการกำหนดโดยใช้เทคนิคต่าง ๆ ทางชีวโมเลกุล จากการศึกษาสามารถแบ่งออกได้ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การแบ่งชนิดของสาหร่ายตาม ribosomal RNA

สาหร่ายเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เป็นวัตถุดิบทางชีวภาพที่มีมูลค่าสูงและสามารถนำมาผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพได้ ปริมาณชีวมวลของสาหร่ายอยู่ในห่วงโซ่อาหารถึง 70% จากทั่วโลก แม้ว่าสาหร่ายขนาดเล็ก และขนาดใหญ่จะสามารถนำมาผลิตไบโอดีเซลได้ แต่สาหร่ายขนาดใหญ่ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการผลิตน้ำมัน เพราะสาหร่ายขนาดใหญ่มีปริมาณของน้ำมันในเซลล์น้อยกว่าสาหร่ายขนาดเล็กเมื่อเทียบกับปริมาณของน้ำหนักแห้ง อีกทั้งสาหร่ายขนาดใหญ่ใช้ปริมาณพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมากกว่าสาหร่ายขนาดเล็ก และโตช้ากว่าสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) คือ จุลินทรีย์ prokaryotic หรือ eukaryotic ที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และสามารถอาศัยอยู่ในสภาวะที่ไม่เอื้ออำนวย เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กมีเซลล์เดียวหรือมีหลายเซลล์ก็เป็นเซลล์ที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน สาหร่ายขนาดเล็กเป็นสปิชีส์เดียวที่สามารถพบได้ทั่วไปทั้งในน้ำทะเล และน้ำจืด ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ ไมโครเมตรถึงหลายร้อยไมโครเมตร ซึ่งมีการประเมินขนาดของสาหร่ายขนาดเล็กไว้ที่ 2×10^{-5} ถึง 8×10^{-5} สาหร่ายขนาดเล็กเป็นแหล่งของสารประกอบทางชีวภาพหลายอย่าง เช่น โพลีเมอร์ เปปไทด์ กรดไขมัน แคโรทีนอยด์ สารพิษและสเตอรอลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความสำคัญทางชีวภาพที่ผลิตโดยสาหร่ายขนาดเล็ก สาหร่ายขนาดเล็กไม่มีลำต้นและรากเหมือนพืชชั้นสูง สาหร่ายขนาดเล็กที่สำคัญในแง่ของความอุดมสมบูรณ์ คือ ไดอะตอม (*Bacillariophyceae*) สาหร่ายสีเขียว (*Chlorophyceae*) และสาหร่ายสีทอง (*Chrysophyceae*) นอกจากนี้ยังมีไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (*Cyanophyceae*) สาหร่ายเกลียวทอง (*Arthrospira platensis* และ *Arthrospira maxima*) ที่เป็นสาหร่ายขนาดเล็ก ทั้งนี้ สาหร่ายขนาดเล็กเป็นสาหร่ายมีความสามารถในการผลิตน้ำมันสำหรับเชื้อเพลิงชีวภาพ กระบวนการผลิตสารชีวเคมีของสาหร่ายแสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตสารชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก

ข้อดีของการใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพมีข้อดี ดังนี้

- (1) สาหร่ายขนาดเล็กที่อัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว จึงมีความสามารถในการตอบสนองต่อความต้องการเชื้อเพลิงในพื้นที่ที่มีที่ดินอยู่อย่างจำกัด
- (2) สาหร่ายขนาดเล็กมีอัตราการใช้น้ำน้อยกว่าการปลูกพืชทั่วไป
- (3) สาหร่ายขนาดเล็กสามารถทนปริมาณก๊าซ CO_2 ในปริมาณที่สูงได้ จึงสามารถลดก๊าซ CO_2 ในน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสาหร่ายจะใช้ CO_2 เพื่อใช้ในการผลิต Biomass
- (4) สาหร่ายขนาดเล็กเมื่อนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงทางชีวภาพ เมื่อเกิดการเผาไหม้จะมีปริมาณก๊าซไนโตรสออกไซด์ต่ำ
- (5) สาหร่ายขนาดเล็กมีประสิทธิภาพในการให้ผลตอบแทนที่สูงเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่น ๆ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถนำไปผลิตเป็นสารชีวเคมีได้หลายชนิด เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันที่สามารถนำมาใช้ผลิตเป็นไบโอดีเซล อื่น ๆ อีกมากมาย

ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละชนิดมีความสามารถในการผลิตไขมันได้แตกต่างกันซึ่งปริมาณไขมันที่ได้จะขึ้นอยู่กับชนิด และสายพันธุ์ของสาหร่ายด้วย ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 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)

สำหรับสาหร่ายขนาดเล็กที่มีความโดดเด่นและนิยมนำมาศึกษา คือสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*) เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายมากกว่า 50 เท่าเมื่อเทียบกับ หนู้าสวิตซ์ที่เป็นพืชบกที่มีการเจริญเติบโตเร็วที่สุด สาหร่าย *C. vulgaris* มีปริมาณโปรตีนต่อน้ำหนักแห้งถึง 55% มีคุณสมบัติเป็นสารอาหารสำหรับสร้างภูมิคุ้มกัน และป้องกันมะเร็ง สามารถช่วยป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับอายุ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด ความดันเลือดสูง และโรคต่อกระจุก ช่วยลดความเสี่ยงโรคหลอดเลือด และยังกระตุ้นการสังเคราะห์คอลลาเจนสำหรับผิวในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้สาหร่าย *C. vulgaris* ยังมีความสามารถในการสะสมไขมันที่สำคัญเมื่ออยู่ในสภาวะที่ปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอซึ่งไขมันที่ได้เหมาะสำหรับนำไปผลิตเป็นเชื้อเพลิงไบโอดีเซล สาหร่าย *C. vulgaris* ถูกค้นพบโดยนักวิทยาศาสตร์ชาว Dutch ชื่อ Matinus Beijerinck ได้ค้นพบสาหร่าย *C. vulgaris* ในปี ค.ศ. 1890 ซึ่งเป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่มี nucleus ที่ชัดเจน มีการจำแนกประเภทดังนี้

Domain: Eukaryota

Kingdom: Protista

Divison: Chlorophyta

Class: Trebouxiophyceae

Order: Chlorellales

Family: Chlorellaceae

Genus: *Chlorella*

Specie: *Chlorella vulgaris*

ลักษณะของสาหร่าย *C. vulgaris*

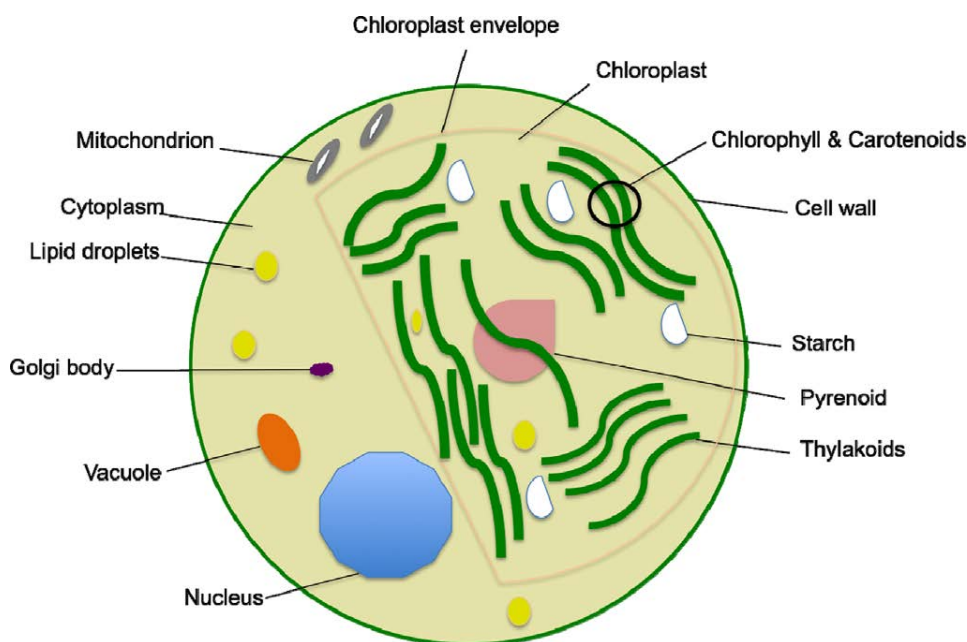
สาหร่าย *C. vulgaris* มีขนาด 2-10 ไมโครเมตร มีองค์ประกอบโครงสร้างคล้ายพืช ผนังเซลล์ของสาหร่ายจะแตกต่างกันออกไปตามช่วงการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งในช่วงที่สาหร่ายอยู่ใน autospore ผนังเซลล์ที่สร้างขึ้นใหม่มีความบอบบางเป็นชั้น unilaminar จะมีความหนาเพียง 2 นาโนเมตร ผนังเซลล์จะค่อย ๆ เพิ่มความหนาของผนังเซลล์จนถึง 17-21 นาโนเมตรเมื่อแบ่งตัวเสร็จสมบูรณ์ ที่ชั้น microfibrillar เกิดขึ้นแทนชั้นโคโตซานที่ประกอบด้วยกลูโคซามีน ความหนาของผนังเซลล์ไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของการเจริญเติบโตและสภาพแวดล้อม *C. vulgaris* มี mitochondria ที่มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น โดยเยื่อหุ้มชั้นนอกหุ้มล้อมรอบ organelle ซึ่งจะประกอบด้วยโปรตีน และ phospholipids ในอัตราส่วนที่เท่ากัน ส่วนเยื่อหุ้มชั้นในจะประกอบด้วยโปรตีนที่มีปริมาณมากกว่า phospholipids มากกว่า 3 เท่า ซึ่งล้อมรอบพื้นที่ภายในที่เรียกว่า matrix โดย matrix ประกอบด้วย mitochondrial proteins

สาหร่าย *C. vulgaris* มี chloroplast 1 อัน มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้นประกอบด้วย phospholipids โดยเยื่อหุ้มชั้นนอกทำหน้าที่ดูดซึมสารและไอออน เยื่อหุ้มชั้นในทำหน้าที่เฉพาะในการขนส่งโปรตีน chloroplast มีเม็ดแป้งที่ประกอบด้วย amylose และ amylopectin เมื่อสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโต ในส่วน pyrenoid ของ chloroplast จะมี ribulose-1,5-bisphosphatecarbox-ylaseoxygenase (RuBisCO) ปริมาณมาก ซึ่งทำหน้าที่ตรึงก๊าซ CO₂ chloroplast เป็นที่เก็บ thylakoids ที่มี chlorophyll เป็นสีหลัก และมีการสังเคราะห์สีอื่น ๆ ด้วย เช่น lutein

cytoplasm เป็นสารที่มีลักษณะคล้ายเจลซึ่งถูกจำกัดอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งประกอบไปด้วยโปรตีนที่ละลายน้ำได้ และแร่ธาตุ ใน cytoplasm เป็นที่อยู่ของ organelles ที่อยู่ภายในสาหร่าย *C. vulgaris* เช่น mitochondria นิวเคลียสขนาดเล็ก vacuoles single chloroplast และ Golgi body

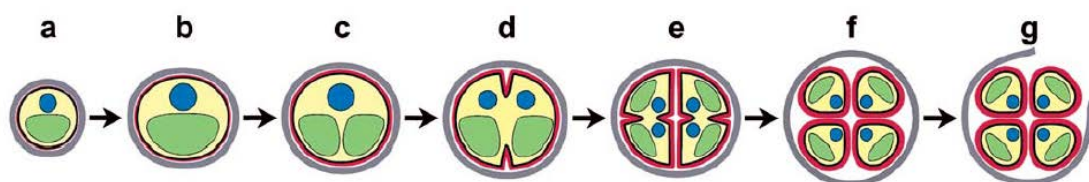
mitochondria ทุกตัวจะมีสารพันธุกรรมบางชนิด ที่ช่วยหายใจ และมีเยื่อหุ้มด้านนอก 2 ชั้น เยื่อหุ้มด้านนอกจะล้อมรอบ organelle และประกอบด้วย โปรตีน และ phospholipids ในอัตราส่วนที่เท่ากัน แต่เยื่อหุ้มชั้นในประกอบด้วยโปรตีนมากกว่า phospholipids ถึงสามเท่า เยื่อหุ้มชั้นในล้อมรอบพื้นที่ภายในที่เรียกว่า เมทริกซ์ ซึ่งมีโปรตีนส่วนใหญ่ของไมโทคอนเดรีย

สาหร่าย *C. vulgaris* มี chloroplast เพียงหนึ่งอัน chloroplast ของ *C. vulgaris* มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้นที่ประกอบด้วย phospholipids เยื่อหุ้มชั้นนอกสารและไอออนสามารถซึมผ่านเข้าไปได้ แต่เยื่อหุ้มชั้นในมีฟังก์ชันที่เฉพาะเจาะจงในการขนส่งโปรตีน เม็ดแป้งประกอบด้วย amylose และ amylopectin ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้ในคลอโรพลาสต์เมื่อสาหร่ายอยู่ในที่ที่ไม่เหมาะสมหรือเอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโต ในส่วน pyrenoid ของ chloroplast จะมี ribulose-1,5-bisphosphatecarbox-ylaseoxygenase (RuBisCO) ปริมาณมาก ซึ่งทำหน้าที่ตรึงก๊าซ CO₂ นอกจากนี้ chloroplast ยังทำหน้าที่เป็นที่เก็บ thylakoids ที่มีการสังเคราะห์ chlorophyll เป็นสีหลัก และเพื่อลดการสังเคราะห์สีอื่น ๆ เช่น lutein ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แผนผังโครงสร้างพื้นฐานของ *C. vulgaris* แสดงถึงอวัยวะต่าง ๆ

การสืบพันธุ์ของสาหร่าย *C. vulgaris* สาหร่าย *C. vulgaris* สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้าง autospore ภายในเซลล์แม่ (mother cell) ใน autospore จะมีเซลล์ลูก (daughter cell) 2 หรือ 4 เซลล์ต่อหนึ่ง autospore แต่สามารถมีเซลล์ลูกได้ถึง 3, 4, 8, 16 หรือ 32 เซลล์ในหนึ่ง autospore การแบ่งเซลล์มีทั้งหมด 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 ดังภาพที่ 4 ขนาดของ autospore จะมีขนาด 5-7 ไมโครเมตร



ภาพที่ 4 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 และเส้นสีเข้มเป็นผนังเซลล์ของเซลล์ลูก

การแยก การผลิต และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

การแยกเชื้อสาหร่าย การผลิต และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญในการผลิตในเชิงพาณิชย์ การเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กขึ้นอยู่กับแสง อุณหภูมิของน้ำ ความเข้มข้นของธาตุอาหาร ความเค็ม และ pH ซึ่งในการแยกเชื้อมีวิธีการดังนี้

1. การเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างของสาหร่ายขนาดเล็กเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญในการแยกสาหร่ายออกจากสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถพบได้ในที่อยู่ที่แตกต่างกัน เช่น น้ำแข็ง น้ำพุร้อน น้ำจืด น้ำกร่อย แม่น้ำ มหาสมุทร เชื้อน น้ำเสีย หิน salinebodies พื้นที่ชายฝั่งทะเล หรือดินและที่อื่น ๆ อีกมากมาย เทคนิคการเก็บตัวอย่างจะต้องดูสถานที่เก็บตัวอย่าง สถานที่ที่เก็บตัวอย่าง และการเก็บรักษาตัวอย่างซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการรวบรวมเชื้อสาหร่าย เทคนิคในการเก็บตัวอย่างสามารถใช้ เข็มฉีดยา การดูด การแปร่ง petri dish method หรือวิธีการอื่น ๆ ในการเก็บตัวอย่าง จะต้องทำการบันทึกปัจจัยทางชีวภาพต่าง ๆ เช่น แสง อุณหภูมิของน้ำ การละลาย O_2 และ CO_2 ความเข้มข้นของสารอาหาร pH และความเค็ม นอกจากนี้ยังจะต้องบันทึกปัจจัยทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น เชื้อโรคและคู่แข่งในพื้นที่ที่สุ่มตัวอย่างด้วยซึ่งสามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการ ระบบพิกัดตำแหน่งทั่วโลกจะต้องถูกบันทึกไว้สำหรับการอ้างอิงและการสุ่มตัวอย่างใหม่ สาหร่ายขนาดเล็กเป็นกลุ่มที่มีการเปลี่ยนแปลงของประชากรที่ซับซ้อนในแหล่งที่อยู่อาศัยในธรรมชาติ จึงต้องมีการแยกสายพันธุ์ของสาหร่ายที่สนใจจากตัวอย่างที่เก็บ

2. การ streak plate

การ streak plate เป็นเทคนิคทั่วไปสำหรับการแยกเชื้อสาหร่ายจากส่วนผสมของจุลินทรีย์ชนิดอื่น เพื่อให้ได้สาหร่ายที่บริสุทธิ์เพื่อใช้สำหรับการทดสอบหรือการระบุชนิดของเชื้อสาหร่าย วิธีนี้ต้องเตรียมอาหารวุ้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และใช้ loop ที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มลงไปที่ยางหลอดตัวอย่าง หรือเขียนบน colony ของตัวอย่างบนพื้นผิว ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่มีความประสบความสำเร็จในการแยกเชื้อสาหร่ายส่วนใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับ coccoids, diatoms, soil microalgae, filamentous algae และ cyanobacteria ขนาดเล็ก ซึ่งเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ปลอดจากเชื้อแบคทีเรีย (axenic cultures) ปริมาณความเข้มข้นของวุ้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ปริมาณสาหร่ายที่ใช้ประมาณ 0.8 ถึง 2% ก็เพียงพอสำหรับการเพาะเลี้ยงบนพื้นผิวของอาหาร ซึ่งยังเป็นวิธีการเดียวกับการแยกเชื้อแบคทีเรีย ใช้ loop ที่มีตัวอย่างวุ้นบนอาหารที่เตรียมในการวุ้นอาหารที่เตรียมมีหลายเทคนิคและหลายรูปแบบ หลังจาก streak ตัวอย่างลงบนอาหารวิธีการบ่มเชื้อต้องปรับให้เหมาะสมกับสภาพสายพันธุ์ของสาหร่าย สาหร่ายแต่ละชนิดจะมีระยะพักตัวของสาหร่ายที่แตกต่างกัน ระยะพักตัว 2-3 วัน สำหรับสาหร่ายที่ได้จากดินและน้ำจืด และที่ระยะพักตัวเดือนขึ้นไปสำหรับสาหร่ายจากมหาสมุทร เมื่อได้สาหร่ายบริสุทธิ์เพียงเซลล์เดียวสามารถนำไป streak อาหารวุ้นใหม่หรืออาหารที่เป็นของเหลว

3. การทำการเจือจางแบบอนุกรม (Serial Dilution)

การเจือจางแบบอนุกรม เป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไปมากที่สุด และเป็นที่ยอมรับในการแยกสาหร่ายขนาดเล็กออกจากตัวอย่างที่เก็บรวบรวม การเจือจางแบบอนุกรมคือการเจือจางอย่างเป็นขั้นตอนของสารใน

สารละลาย ปักจ้ยในการเจือจางคงที่ในแต่ละขั้นตอนส่งผลให้เกิดความก้าวหน้าทางเรขาคณิตของความเข้มข้นของสาหร่ายในรูปแบบลอการิทึม หลอดทดลอง ขวดรูปชมพู่ หรือ wells ที่มีอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วสามารถนำมาใช้ในการเจือจางได้ ในการเจือจางจะต้องทราบจำนวนเชื้อที่จะทำการเจือจาง ซึ่งการเจือจางจะต้องขึ้นอยู่กับที่อยู่อาศัย และความจำเพาะของสาหร่ายที่สนใจ นอกจากนี้อาหารที่ใช้ในการเจือจางมีผลต่อสาหร่ายด้วยเช่นกัน ความสำเร็จของเทคนิคนี้ขึ้นอยู่กับความถูกต้องของจำนวนเซลล์ที่ถ่ายโอนไปยังอาหาร วิธีนี้มีประโยชน์สำหรับการผลิตสาหร่ายเดี่ยวแต่วิธีนี้ไม่ใช้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ปลอดจากเชื้อแบคทีเรีย ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การทำการเจือจางแบบอนุกรม (Serial Dilution)

4. การแยกเซลล์เดี่ยว (Single-cell isolation)

การแยกเซลล์เดี่ยวเป็นเทคนิคที่เลือกตัวอย่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ ไมโครปิเปตหรือหลอดแคพิลลารี ทำการถ่ายเชื้อไปยังหยดน้ำหรืออาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เทคนิคนี้ต้องใช้ความชำนาญและความแม่นยำ แรงเฉือนของไมโครปิเปตหรือหลอดแคพิลลารีทำให้เซลล์สาหร่ายเกิดการเสียหายได้ เช่น Flagellate หยุดการเคลื่อนไหว การหักเหแสงของไดอะตอมเนื่องจากเกิดความเสียหายของ frustules และการรั่วไหลของโปรโตพลาสซึม ความสำเร็จของเทคนิคนี้จำเป็นต้องมีหยดน้ำที่มีความสะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ โดยเฉพาะตัวอย่างทางทะเลเพื่อแยกสาหร่ายขนาดเล็กออกจากอนุภาคอื่น ๆ

5. การแยกด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงตกตะกอน

การปั่นเหวี่ยงเพื่อใช้แรงโน้มถ่วงเพื่อสิ่งมีชีวิตตามขนาดของเซลล์ เทคนิคนี้ใช้การแยกเซลล์สิ่งมีชีวิตที่ใหญ่กว่าเซลล์สาหร่าย ซึ่งการใช้เทคนิค density gradient centrifugal จะแยกสาหร่ายออกเป็นแถบสีที่ต่างกัน เทคนิคนี้ใช้เพื่อเน้นจำนวนเซลล์ของสาหร่ายที่ต้องการ เมื่อได้เซลล์สาหร่ายที่เข้มข้น ก็สามารถนำไปแยกเซลล์ด้วยเทคนิคอื่น ๆ ความเร็ว และระยะเวลาในการปั่นเหวี่ยงจะขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย แต่ในการ

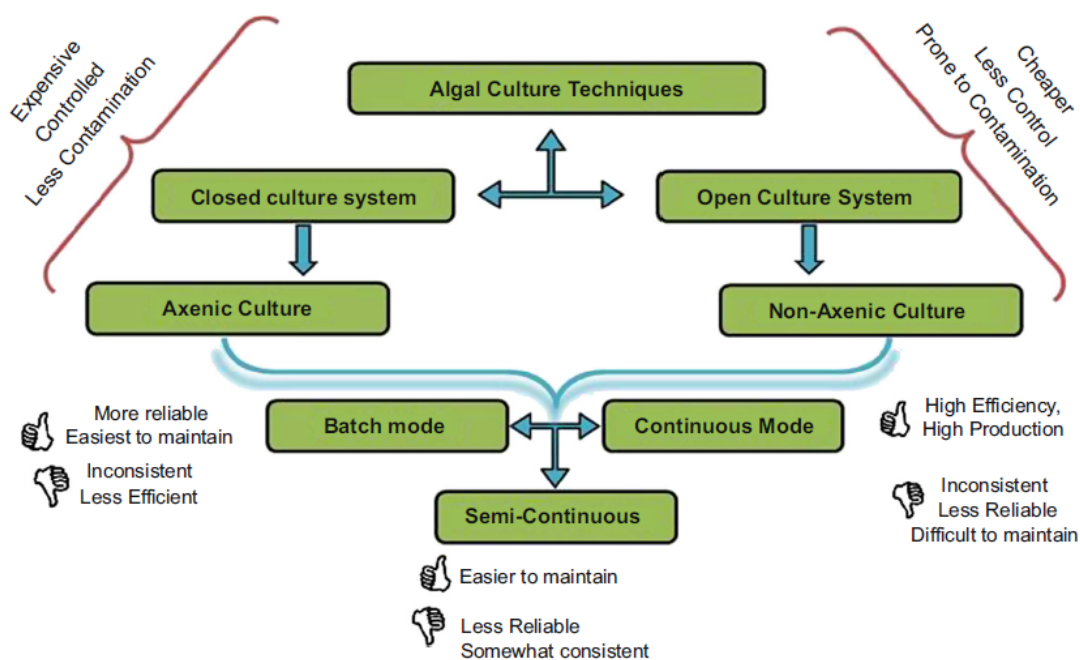
ป็นเหยียงสามารถทำลายเซลล์สาหร่ายที่บอบบางได้โดยเกิดจากการความเครียดของสาหร่ายที่เกิดจากการเฉือนในระหว่างปั่นตกตะกอน

6. การใช้อาหารเสริม

สาหร่ายขนาดเล็กมีความต้องการอาหารที่แตกต่างกันตามธรรมชาติของถิ่นที่อยู่อาศัยและตามสายพันธุ์ของสาหร่าย ซึ่งสารอาหารที่มีความจำเพาะถูกนำมาใช้เพื่อแยกสายพันธุ์ของสาหร่ายเพื่อให้ได้สาหร่ายที่ต้องการ นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มสารที่เฉพาะเจาะจงสำหรับสาหร่ายเช่น สารที่สกัดจากดิน การเติมสารอาหารเช่น ไนโตรเจน ฟอสเฟต และธาตุโลหะเพิ่มเติม การปรับ pH เป็นอีกวิธีการหนึ่งสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อให้ปลอดจากเชื้อแบคทีเรีย การเติมสารอินทรีย์ลงในอาหารเช่น สารสกัดจากยีสต์ สารสกัด casein จากน้ำผลไม้ และน้ำผัก เพราะในธรรมชาติที่อยู่อาศัยของสาหร่ายขนาดเล็กมักขาดธาตุอาหารหนึ่งอย่างหรือมากกว่านั้นซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย สารอาหารที่อยู่ในธรรมชาติจะถูกใช้โดยสิ่งมีชีวิตอื่น การเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กส่งผลให้สาหร่ายขนาดเล็กอาจเกิดการตายเนื่องจากการใช้สารอาหาร จึงต้องมีการเติมสารอาหารเป็นลำดับ ซึ่งเป็นวิธีการแยกเชื้อสาหร่ายแบบเก่าจึงต้องมีการพัฒนาเทคนิคในการแยกเชื้อใหม่

ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสามารถแบ่งออกได้ 2 วิธี คือระบบเปิดและระบบปิดดังภาพที่ 6

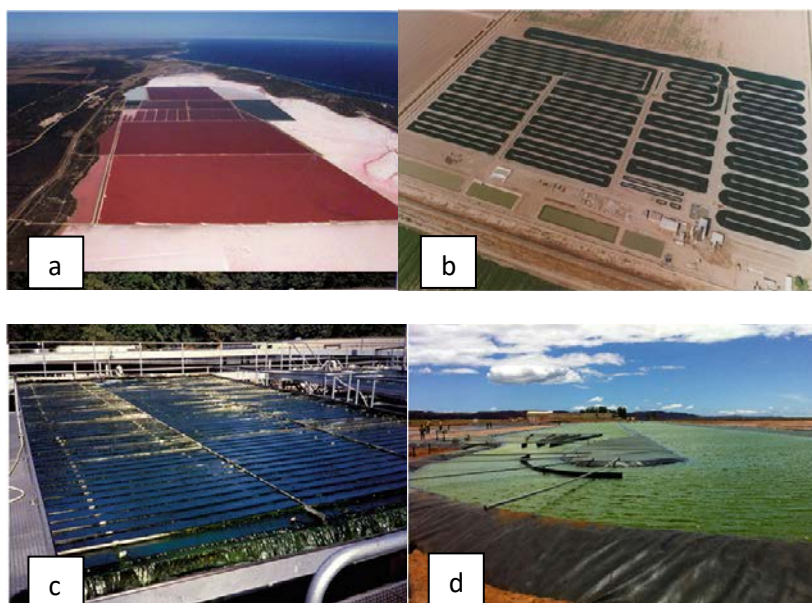


ภาพที่ 6 ระบบทั่วไปที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

เพาะเลี้ยงแบบระบบเปิด (Open-air system)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิดเป็นเทคนิคที่ใช้มาตั้งแต่ปี 1950 การเลี้ยงระบบเปิดอาจจะแบ่งได้เป็นบ่อตามธรรมชาติ เช่น ทะเลสาบ บึง หรือบ่อ หรือบ่อที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง เช่น Raceway ponds ระบบการ

เลี้ยงแบบเปิดยังแบ่งออกเป็น 5 แบบ คือ Shallow lagoons and ponds, Inclined (Cascade) systems, Circular central-pivot ponds, Mixed ponds และ Raceway ponds ดังภาพที่ 7 แต่ระบบที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายและเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย คือ ระบบ Raceway ponds ซึ่งสามารถทำเป็นระบบแบบเปิดหรือระบบแบบปิดได้ ในระบบ Raceway ponds จะมีใบพายไว้สำหรับกววนเพื่อให้เกิดระบบการไหลเวียนของสาหร่ายในการเลี้ยงและเป็นการกระจายอาหารรวมถึงสาหร่ายจะได้รับแสงแดดได้อย่างทั่วถึง บ่อเปิดหรือ Raceway ponds มีความยืดหยุ่น การออกแบบง่าย มีกำลังการผลิตสูง ไม่ต้องดูแลมาก และมีค่าบำรุงรักษาที่ต่ำ ในการเลี้ยงแบบระบบเปิดสาหร่ายจะสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมโดยตรงเป็นระบบที่ใช้เลี้ยงเพื่อใช้ในเชิงพาณิชย์ และใช้ในการบำบัดน้ำเสีย ซึ่งข้อดีของการเพาะเลี้ยงแบบระบบเปิด คือ ราคาถูก สาหร่ายสามารถใช้แสงอาทิตย์ในการสังเคราะห์แสงแทนหลอดไฟ สามารถทำได้ในระดับอุตสาหกรรม และง่ายในการขยายเชื้อ ข้อเสียของระบบ คือ สาหร่ายจะมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในระบบ เช่น แบคทีเรีย phycophages ปรสิต แพลงก์ตอนสัตว์และการเติบโตของสาหร่ายชนิดที่ไม่ต้องการ การระเหยของน้ำ การแพร่กระจาย CO₂ ในระบบต่ำ ใช้พื้นที่เยอะ ผลผลิตได้ปริมาณน้อยกว่าทฤษฎี สามารถเลี้ยงสาหร่ายได้ไม่กี่สายพันธุ์ สภาพอากาศมีผลกระทบกับระบบ เช่น ฝนตก อุณหภูมิและความชื้นแสง ซึ่งเป็นข้อเสียที่สำคัญสำหรับระบบเปิด นอกจากนี้ยังเกิดการแบ่งชั้นของความร้อนภายในบ่อ กระกระจายสารอาหารไม่ทั่วถึง รวมถึงการเกิดความเสียหายจากใบพัดที่ใช้กววนเกิดการแตก หรือทำงานได้ไม่เต็มที่เมื่อไฟฟ้าไม่เพียงพอ



ภาพที่ 7 การเลี้ยงในระบบเปิดเชิงพาณิชย์

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

เพาะเลี้ยงแบบระบบปิด (close system)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยระบบปิดใน Photobioreactor (PBR) ดังภาพที่ 8 PBR ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อเอาชนะปัญหาต่าง ๆ ของระบบเปิด โดย PBR สร้างขึ้นจากแก้ว Plexiglas หรือ PVC โปร่งใสเพื่อให้แสงส่องผ่านจากข้างนอกเข้ามาข้างในได้ และมีการควบคุมการแลกเปลี่ยนก๊าซตลอดจนการหมุนเวียนของอาหาร ขนาดและประเภทของ PRB จะแตกต่างกันไปตามประเภทของสายพันธุ์สาหร่าย ปริมาณชีวมวลที่ต้องการและการขยายขีดความสามารถในการเพาะเลี้ยง ข้อดีของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบปิด คือ สามารถเลือกใช้ประเภทของแสง สามารถควบคุมความเข้มแสง ระยะเวลาที่ให้แสง อุณหภูมิ การผสมและการแลกเปลี่ยนก๊าซ CO_2 การสูญเสียการระเหยของน้ำได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มในการปนเปื้อนแบคทีเรีย และการปนเปื้อนอื่น ๆ น้อยจึงเหมาะที่จะเพาะสาหร่ายเพียงชนิดเดียว ได้สาหร่ายที่ได้มีคุณภาพสูง ทำให้ได้สาหร่ายมีคุณภาพ และองค์ประกอบตามที่ต้องการ ลดการใช้พื้นที่ และสามารถเก็บเกี่ยว Biomass ได้ง่าย สามารถปรับแต่งให้เพาะเลี้ยงในร่มหรือกลางแจ้งได้หรือปรับแต่งให้เหมาะสมกับสายพันธุ์ได้ ข้อเสียของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบปิด มีต้นทุนสูงด้านการติดตั้ง ค่าบำรุงรักษา ค่าวัสดุเช่น ท่อเอียง ท่อแนวตั้ง อุปกรณ์ให้อากาศต่าง ๆ และเมมเบรน นอกจากนี้ระบบ PBR ยังไม่เหมาะสมกับสาหร่ายบางชนิดเพราะ สาหร่ายบางชนิดมีความเปราะบางหรือบางชนิดมีความเหนียวจึงทำให้ไม่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบปิด



ภาพที่ 8 การเลี้ยงในระบบปิดเชิงพาณิชย์ใน tubular photobioreactor

การเพาะเลี้ยงแบบระบบปิด (close system) สามารถแบ่งสภาวะในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (Cultivating conditions) ออกเป็น 3 สภาวะ คือ

การเพาะเลี้ยงในสภาวะ Autotrophic เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการให้แสง และใช้ก๊าซ CO_2 โดยสาหร่ายจะใช้ก๊าซ CO_2 ในการสร้าง ATP 77% (Adenosine-5-triphosphate) ที่เหลือเป็นการสร้างจากกระบวนการ oxidative phosphorylation ภายใน mitochondrial

การเพาะเลี้ยงในระบบ Heterotrophic เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในที่มืดโดยใช้ สารประกอบอินทรีย์คาร์บอน เช่น น้ำตาล organic acids glucose acetate และกากน้ำตาล เป็นแหล่งพลังงาน และเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับสาหร่าย

การเพาะเลี้ยงในระบบ Mixotrophic เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้ สารประกอบอินทรีย์ และคาร์บอน ร่วมกับการใช้แสง เป็นการรวมระบบ Autotrophic กับ Heterotrophic ไว้ด้วยกัน ซึ่งทำให้ได้ปริมาณ biomass และปริมาณไขมันสูง เนื่องจากสาหร่ายจะสูญเสียการผลิต biomass ในเวลากลางคืนโดยเกิดจากการหายใจ แต่ในระบบ Mixotrophic สาหร่ายจะได้รับสารประกอบอินทรีย์ที่อยู่ในระบบมาใช้ในการผลิต biomass ในเวลากลางคืนแทน

สาหร่ายขนาดเล็กสามารถเพาะเลี้ยงได้ทั้งในร่ม และกลางแจ้ง ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในร่มสามารถควบคุมพารามิเตอร์ที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ เช่น แสง อุณหภูมิ pH ระดับสารอาหารและการปนเปื้อน ซึ่งในขณะที่ยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กกลางแจ้งมีความแปรปรวนสูง และยากต่อการผลิตชีวมวลสาหร่าย และยังมีกรปนเปื้อนของสัตว์ที่กินสาหร่าย ซึ่งปัญหาเหล่านี้สามารถที่จะหลีกเลี่ยงได้เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิด ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการผลิตสาหร่ายในระบบปิดกับระบบเปิด

	Parameter	Open system	Close system
Environmental impact	Land footprint	Hight	Low
	Water footprint	Hight	Low
	CO2 losses	Hight	Low
Biological issues	Algal species	Restricted	Flexible
	Contamination	High risk	Low risk
	Biomass productivity	Low	High
	Biomass composition	Variable	Reproducible
Process issues	Temperature control	No	Yes
	Weather dependence	Hight	Low
	Energy requirement	Low	High
	Process control	Difficult	Easy
	Use of wastewater	Yes	Yes
	Reactor cleaning	Not required	Required
Costs	Investment costs	Low	High
	Operational costs	Low	High
	Harvesting costs	Low	High

ที่มา: ดัดแปลงจาก Pires (2015)

การเจริญเติบโตของสาหร่าย

การเจริญเติบโตของสาหร่ายแบ่งออกเป็น 5 ขั้นตอนดังภาพที่ 9

ระยะที่ 1 ระยะปรับตัว (Lag Phase)

เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม เช่น แสง อุณหภูมิ ธาตุอาหาร ระยะนี้จะไม่เกิดการแบ่งเซลล์ ถ้าเซลล์สาหร่ายไม่สามารถปรับตัวได้จะเกิดการตาย การปรับตัวของสาหร่ายได้ขึ้นอยู่กับความแข็งแรง และความสมบูรณ์ของอาหารที่ใช้เลี้ยง ถ้ามีความเหมาะสมก็จะเข้าสู่ระยะ exponential phase ได้เร็วยิ่งขึ้น

ระยะที่ 2 ระยะเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential Phase)

ระยะเอกซ์โพเนนเชียลเป็นระยะที่สาหร่ายเจริญเติบโต และขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว และขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และสารอาหาร การเจริญเติบโตของระยะนี้จะรวดเร็วในระยะแรกและจะค่อย ๆ ช้าลงตามลำดับ

ระยะที่ 3 ระยะเฉื่อย (Phase of Declining Relative Growth)

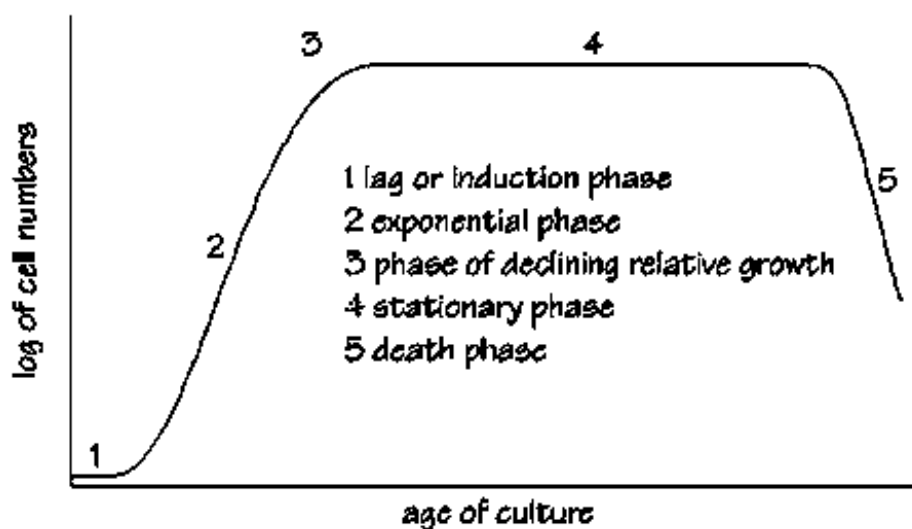
ระยะเฉื่อยเป็นช่วงที่สาหร่ายเจริญเติบโตที่ช้าลงเนื่องจากขาดแคลนอาหาร เพราะมีปริมาณของสาหร่ายหนาแน่นเกินไป ค่า pH เปลี่ยนแปลง เพราะเกิดการเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียอย่างมาก หรือแสงสว่างลดลงเนื่องจากการบังกันเองของสาหร่าย (autoshading)

ระยะที่ 4 ระยะคงที่ (Stationary Phase)

ระยะคงที่เป็นระยะที่สารอาหารลดน้อยลง และเกิดสารพิษจากกระบวนการเมแทบอลิซึม หรือการสลายตัวของสาหร่ายเพิ่มมากขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายหยุดนิ่ง

ระยะที่ 5 ระยะตาย (Death Phase)

ระยะตายเป็นระยะที่สาหร่ายหยุดการเจริญเติบโต เนื่องจากสารอาหารหมดลง สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และเกิดของเสียจำนวนมาก สาหร่ายก็จะเกิดการตายซึ่งการตายจะเพิ่มขึ้นและรวดเร็วขึ้น



ภาพที่ 9 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อให้ได้อัตราการผลิตสาหร่ายที่สูงจะต้องรักษาการเจริญเติบโตในช่วงระยะเอกซ์โพเนนเชียล การเพาะเลี้ยงที่ต่อเนื่องจะต้องมีการเติมอาหารลงใหม่ให้กับสาหร่ายอย่างต่อเนื่องซึ่งจะช่วยการเจริญเติบโตของสาหร่ายในช่วง ระยะเอกซ์โพเนนเชียล ซึ่งการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของสาหร่ายแสดงในสมการสมดุลมวล ได้ดังนี้

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \frac{F}{V} X \quad (1)$$

โดยที่ μ คืออัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ X คือ ความเข้มข้นของเซลล์ (หรือชีวมวล) F คือ อัตราการไหลของอาหาร และ V คือปริมาตรของเครื่องปฏิกรณ์ ที่สภาวะคงตัวอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะเท่ากับอัตราการเจือจาง (D)

$$\mu = \frac{F}{V} = D \quad (2)$$

การเพาะเลี้ยงแบบแบทช์ ในช่วงระยะเอกซ์โพเนนเชียล อัตราการเพิ่มขึ้นของเซลล์ต่อหน่วยเวลาเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของเซลล์ในเวลาที่กำหนด

$$\frac{dX}{dt} = rX \quad (3)$$

ซึ่งเทียบเท่ากับ

$$X_t = X_0 \cdot e^{r \cdot t} \quad (4)$$

โดยที่ X_t และ X_0 คือความเข้มข้นของเซลล์ ณ เวลา t ที่จุดเริ่มต้น และ r คือ อัตราการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่กำหนดโดยความแตกต่างระหว่างอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการตายพารามิเตอร์อื่นที่จะประเมินการเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก คือ เวลาสองเท่า (T_2) ซึ่งถูกกำหนดโดย

$$T_2 = \ln(2)/r \quad (5)$$

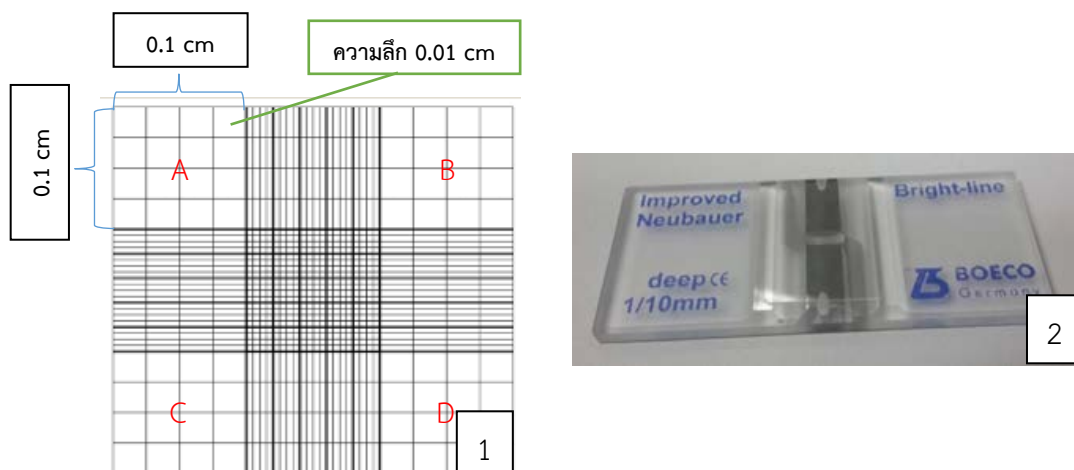
ผลที่ได้ คือ จำนวนชีวมวลต่อปริมาตร ซึ่งจะแสดงเป็นหน่วย กรัมต่อลิตร (g/L^{-1}) ผลผลิตชีวมวล คือ ผลผลิตต่อหน่วยของเวลาแสดงเป็น กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ($g/L^{-1}/h^{-1}$) หรือ กรัมต่อลิตรต่อวัน ($g/L^{-1}/d^{-1}$)

การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กเป็นเรื่องที่ยากเพราะสาหร่ายมีขนาดเล็ก ซึ่งการวัดจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งการเจริญเติบโตของสาหร่ายสามารถดูได้จาก จำนวนเซลล์ของสาหร่าย สี และปริมาณโปรตีนในช่วงเวลาที่กำหนด วิธีในการวัดมีความยากง่ายแตกต่างกัน บางวิธีก็เป็นวิธีวัดที่ง่าย บางวิธีก็ต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อน ดังนั้นขั้นตอนการเลือกวิธีวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กจะขึ้นอยู่กับขนาดและสิ่งอำนวยความสะดวกที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ เทคนิคที่ใช้วัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยทั่วไป ได้แก่ การนับเซลล์โดยใช้อุปกรณ์สำหรับนับเซลล์ การวัดการกระจายของแสงหรือความขุ่น การวัดน้ำหนักแห้ง การวัดคลอโรฟิลล์ และการวัดด้วยเครื่อง flowcytometer

1 การนับเซลล์ (Cell Counting) เป็นวิธีการวัดโดยตรง โดยการนับเซลล์สาหร่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์โดยใช้ haemocytometer ดังภาพที่ 10 ซึ่งสามารถนับได้ทั้งเซลล์สาหร่ายที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต

และสามารถศึกษารูปร่างของเซลล์สาหร่ายได้ แต่หากเซลล์สาหร่ายมีปริมาณมากเกินไปจะต้องทำการเจือจางก่อน จึงทำให้เสียเวลา



ภาพที่ 10 haemacytometer สำหรับนับเซลล์

เมื่อทำการนับเซลล์เสร็จแล้วนำข้อมูลที่ได้มาทำการคำนวณเพื่อหาค่าจำนวนเซลล์เฉลี่ยจากที่นับได้เนื่องจากจำนวนสาหร่ายแต่ละช่องมีปริมาณไม่เท่ากันมีวิธีการคำนวณดังนี้

$$\begin{aligned} 1 \text{ ช่องใหญ่แต่ละช่องจะมีขนาด} &= 0.1 \times 0.1 \times 0.01 \text{ cm} \\ &= 0.0001 \text{ cm}^3 \quad (1 \text{ cm}^3 = 1 \text{ ml}) \end{aligned}$$

$$\text{หนึ่งช่องใหญ่จะมีปริมาตร} = 1 \times 10^{-4} \text{ cm}^3 \text{ หรือ } 1 \times 10^{-4} \text{ ml}$$

วิธีการคำนวณ

$$\begin{aligned} 1 \text{ ช่องใหญ่เท่ากับ } 1 \times 10^{-4} \text{ ml} \text{ นับได้ } &Y \text{ cell} \\ \text{ดังนั้นในปริมาตร } 1 \text{ ml} \text{ จะมี cell} &\frac{Y \times 1}{1 \times 10^{-4}} \text{ cell/ml} \\ \text{เท่ากับ } &Y \times 10^4 \text{ cell/ml} \end{aligned}$$

$$\text{นำจำนวนเซลล์สาหร่ายช่อง A B C และ D ค่าที่ได้เท่ากับ } \frac{(A+B+C+D)}{4} = \text{ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์สาหร่าย}$$

2 การวัดการกระจายของแสงหรือความขุ่น (Optical Density Measurement) เป็นวิธีการวิเคราะห์ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายด้วยค่าการดูดกลืนแสงจากเครื่อง spectrophotometer ดังภาพที่ 9 พบว่า สาหร่ายสีเขียวมีความยาวคลื่นในช่วง 400-700 nm ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วในการวิเคราะห์ แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าเซลล์ไหนมีชีวิตหรือไม่มีชีวิต



ภาพที่ 11 เครื่อง Spectrophotometer ที่ใช้สำหรับวัดการกระจายของแสงหรือความขุ่น

3 การวัดน้ำหนักแห้ง (Dry Weight Measurement) เป็นวิธีการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายจากน้ำหนักเซลล์ที่เพิ่มขึ้น โดยการนำสาหร่ายไปอบให้แห้งจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ และนำมาวิเคราะห์น้ำหนักของเซลล์สาหร่ายที่เพิ่มขึ้น นำผลที่ได้มา plot กราฟ รายงานผลเป็นน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร

4 การวัดคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll Determination) สาหร่ายประกอบไปด้วยคลอโรฟิลล์เอและบี การวัดคลอโรฟิลล์ทำได้โดยการสกัดคลอโรฟิลล์จากสาหร่าย โดยใช้ acetone, ethanol หรือ diethylether เป็นตัวสกัด บางครั้งอาจมีการใช้ความร้อนเข้ามาเป็นตัวช่วยในการสกัดให้ได้ผลดีขึ้น และวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยเครื่อง spectrophotometer ดังภาพที่ 11 สารที่ใช้ในการสกัดคลอโรฟิลล์จะมีค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกัน สูตรที่ใช้ในการคำนวณคลอโรฟิลล์ และค่าการดูดกลืนแสงของ acetone, ethanol และ diethylether แสดงดังในตารางที่ 3 Becker (1994) รายงานว่าการวิเคราะห์ค่าคลอโรฟิลล์เป็นวิธีที่ดีกว่าการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วยน้ำหนักแห้ง เพราะการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วยน้ำหนักแห้งอาจจะมีน้ำหนักแห้งของ bacteria และ zooplankton รวมอยู่ด้วย

ตารางที่ 3 สูตรที่ใช้ในการคำนวณคลอโรฟิลล์ และค่าการดูดกลืนแสงของ acetone, ethanol และ diethylether

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	$(8.02 \times A_{663}) + (20.2 \times A_{645})$
90% ethanol	Chlorophyll a	$(16.5 \times A_{665}) - (8.3 \times A_{650})$
	Chlorophyll b	$(33.8 \times A_{650}) - (2.69 \times A_{665})$
	Chlorophyll a+b	$(4.0 \times A_{665}) + (25.5 \times A_{650})$
diethylether	Chlorophyll a	$(9.92 \times A_{660}) - (0.77 \times A_{642.5})$
	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)

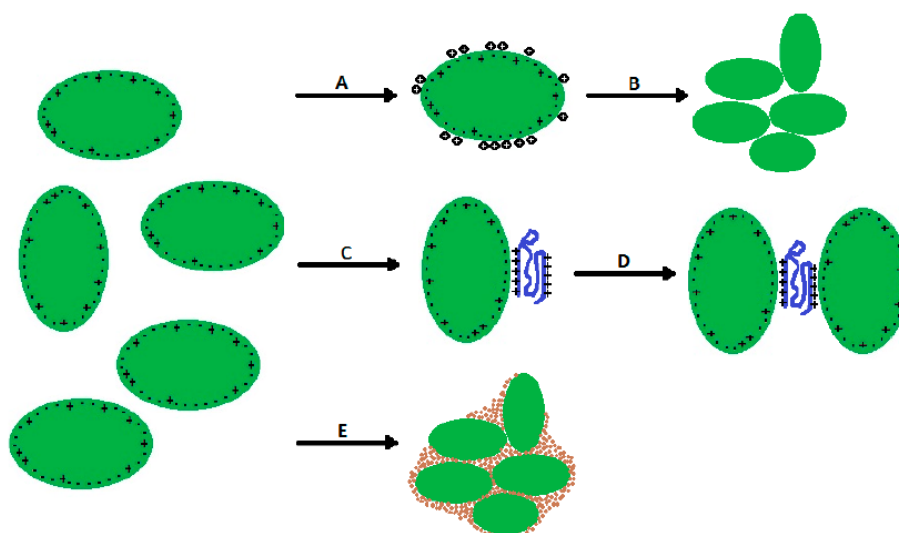
5. การวัดด้วยเครื่อง flowcytometer เป็นวิธีการวัดที่ใช้วัดการเรืองแสงและการกระเจิงของแสงที่เกิดจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก ซึ่งเป็นเทคนิคขั้นสูงและยังช่วยลดข้อผิดพลาดในการนับเซลล์ที่ผ่านอุปกรณ์นับเซลล์ แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือเป็นวิธีที่มีราคาแพงและเครื่องมือมีความซับซ้อน

การเก็บเกี่ยวสาหร่าย

การเก็บเกี่ยวสาหร่าย คือ การกำจัดสาหร่ายออกจากอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ในการแยกสาหร่ายสามารถใช้วิธีเดียวหรือหลายวิธีร่วมกันได้ เช่น การใช้สารเคมีในการแยก การแยกด้วยวิธีทางกายภาพ หรือการแยกด้วยวิธีทางชีวภาพ ซึ่งการแยกสาหร่ายออกจากอาหารจะแบ่งออกกว้าง ๆ เป็น 2 ประเภท คือ วิธีการแยกสาหร่ายออกจากอาหารด้วยวิธีตกตะกอนหรือการลอยตัว (การลอยตัว การตกตะกอน และการปั่นเหวี่ยง) กับวิธีการใช้การกรอง ในปริมาณของเหลว 1 ลิตรจะมีสาหร่ายอยู่ประมาณ 0.5 กรัม หรือประมาณ 0.005% อีกทั้งสาหร่ายเจริญเติบโตในน้ำปริมาณมาก และมีความถ่วงจำเพาะใกล้เคียงกับน้ำ นอกจากนั้นพื้นผิวเมมเบรนของสาหร่ายเป็นประจุลบ จึงทำให้เกิดการกระจายตัวของสาหร่ายในน้ำ ซึ่งในกระบวนการเก็บเกี่ยวสาหร่ายในเชิงพาณิชย์จึงมีความสำคัญมากเนื่องจาก เนื่องจากการแยกสาหร่ายมีต้นทุนสูงถึง 20-30% ของกระบวนการผลิตสาหร่ายทั้งหมด การเลือกวิธีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายจึงขึ้นอยู่กับลักษณะของสาหร่าย และมูลค่าของผลิตภัณฑ์ชีวมวลที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ ในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายมีวิธีการ ดังนี้

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยกระบวนการ Flocculation

เป็นการทำให้เซลล์สาหร่ายเกิดการจับตัวเป็นก้อน ซึ่งเซลล์ที่จับตัวเป็นก้อนจะเรียกว่า floc floc ที่เกิดขึ้นจะสามารถแยกได้ง่ายด้วยวิธีการตกตะกอนหรือการกรองได้ง่ายกว่าการแยกเซลล์สาหร่ายโดยตรง ซึ่งการรวมตัวของเซลล์เกิดขึ้นจากประจุลบที่อยู่บนพื้นผิวเซลล์สาหร่าย เนื่องจากพื้นผิวเซลล์สาหร่ายมีองค์ประกอบในกลุ่มของกรดคาร์บอกซิลิกเพราะ pK_a ของกรดคาร์บอกซิลิกอยู่ที่ประมาณ 4-5 พื้นผิวของเซลล์สาหร่ายจึงมีประจุลบเมื่อค่า pH ลดลงถึงประมาณ 4-5 ประจุลบที่ผิวสัมผัสจะดึงดูดประจุบวกของสารละลายที่เติมลงไปในการอาหารและเกิดการก่อตัวของเมฆประจุไอออนรอบ ๆ เซลล์ การก่อตัวของเมฆประจุไอออนรอบ ๆ เซลล์เหล่านี้ทำให้แรงผลักไฟฟ้าสถิตระหว่างเซลล์หายไปจึงเกิดการตกตะกอนเกิดขึ้น ซึ่งเกิดจากการลบหรือการเอาชนะแรงผลักดันระหว่างเซลล์สาหร่าย เมื่อเติมสารเคมีที่ทำให้เกิดประจุลบบนผิวเซลล์จะช่วยเป็นการสร้างสะพานในการเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ เมื่อแรงขับไฟฟ้าสถิตระหว่างอนุภาคได้รับการชดเชยและเซลล์สามารถเข้าหากันพวกมันจะถูกดึงดูดและรวมกันโดยแรง Van der Waals ดังภาพที่ 10 การตกตะกอนเป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการแยกสาหร่าย ข้อเสียของการตกตะกอนคือ จะต้องมีการเติมสารเคมี ในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กด้วยวิธีนี้ สารเคมีจะปนเปื้อนอยู่ในชีวมวลที่ถูกเก็บเกี่ยว ดังนั้นความเป็นพิษที่อาจเกิดขึ้นของสารเคมีที่ใช้ในการจับตะกอนจึงมีความสำคัญในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายมากกว่าในอุตสาหกรรมอื่น ๆ ค่าใช้จ่ายในการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีนี้จะขึ้นอยู่กับปริมาณสาหร่าย ไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ในการตกตะกอนสาหร่ายสามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้



ภาพที่ 12 กลไกการตกตะกอนขั้นพื้นฐาน

การใช้เกลือของโลหะ (Metal salts) ในการตกตะกอน

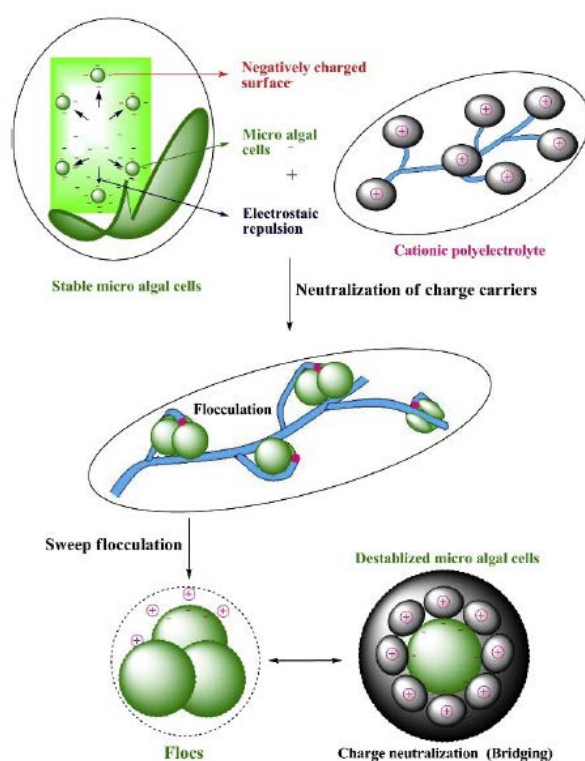
การตกตะกอนด้วยเกลือของโลหะ เช่น อลูมิเนียมซัลเฟตหรือเฟอร์ริกคลอไรด์ มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการตกตะกอนในอุตสาหกรรมที่แตกต่างกัน เมื่อละลายน้ำเหล็กหรืออลูมิเนียมไอออน จะไฮโดรไลซ์ก่อให้เกิดไฮดรอกไซด์ที่มีประจุบวกจะทำให้เกิดการตกตะกอน เมื่อใช้ไฮดรอกไซด์โลหะปริมาณสูงไฮดรอกไซด์โลหะจะก่อตัวเป็นตะกอนและจับกับอนุภาคในของเหลวซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการตกตะกอน แต่การใช้เกลือโลหะมีข้อเสียคือ ชีวมวลที่ได้มาจะมีการปนเปื้อนสูงของโลหะที่ใช้ในการตกตะกอน และยังมีสารตกค้างของโลหะในอาหารซึ่งจะรบกวนการนำอาหารกลับมาใช้ซ้ำ นอกจากนี้ในการตกตะกอนด้วยวิธีนี้จะต้องใช้ปริมาณของโลหะสูง และยังต้องมีการปรับ pH เพื่อให้กระบวนการตกตะกอนสามารถทำงานได้อย่างเต็มที่ซึ่งทำให้เกิดค่าใช้จ่าย ซึ่งเกลือของโลหะมีประโยชน์ในด้านการใช้ศึกษาเพื่อให้เข้าใจกระบวนการตกตะกอนในสาหร่าย ในการตกตะกอนยังมีอีก 2 วิธีที่ทำหน้าที่คล้ายกับการตกตะกอนด้วยเกลือของโลหะ และมีข้อเสียน้อยกว่าคือ การตกตะกอนแบบ Autoflocculation และ Electroflocculation ดังภาพที่ 12

การตกตะกอนแบบ Autoflocculation

การตกตะกอนแบบ Autoflocculation เป็นการตกตะกอนโดยธรรมชาติของสาหร่ายเมื่อ pH ของอาหารเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการตกตะกอนแบบ Autoflocculation มักจะเข้าใจผิดว่าเกิดขึ้นจากสาหร่ายที่ pH เพิ่มขึ้น แต่การตกตะกอน แบบ Autoflocculation เกิดจากการตกตะกอนของสารเคมีที่ขึ้นกับ pH ในระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายค่า pH มักจะเพิ่มขึ้นมากกว่า 8-9 เป็นผลมาจากการสังเคราะห์แสงและการขาดก๊าซ CO_2 ที่ระดับอัลคาไลน์ pH ดังกล่าว Ca สามารถตกตะกอนเป็นแคลเซียมฟอสเฟตหรือแคลเซียมคาร์บอเนต และ Mg สามารถตกตะกอนเป็นแมกนีเซียมไฮดรอกไซด์หรือ brucite กลไกนี้ไม่เพียงแต่ขึ้นอยู่กับการเพิ่ม pH แต่ยังขึ้นอยู่กับการเข้มข้นของแคลเซียมแมกนีเซียมและไอออนอื่น ๆ ในสารละลาย ในบางกรณีการตกตะกอนสามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติเนื่องจากการการสังเคราะห์แสงที่ชักนำให้ค่า pH เพิ่มขึ้น หรือมีการเพิ่มค่า pH เพื่อให้เกิดการตกตะกอน การตกตะกอนเหล่านี้สามารถพาประจุบวกและทำให้เกิดตะกอนโดยการทำให้พื้นผิวเซลล์มีประจุที่เป็นกลาง การตกตะกอนของแคลเซียมหรือแมกนีเซียมเหล่านี้ไม่เป็นพิษเหมือนโลหะและทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของชีวมวลน้อยลง นอกจากนี้ยังสามารถนำออกจากชีวมวลด้วยการใช้กรดอ่อน ดังภาพที่ 13

การตกตะกอนแบบ Biopolymer flocculants

การตกตะกอนแบบ Biopolymer flocculants ต้องใช้พอลิเมอร์ที่เป็นกลุ่มที่มีประจุ พอลิเมอร์ที่ใช้สามารถทำให้เกิดการตกตะกอนโดยการทำให้ประจุของพื้นผิวเป็นกลางหรือทำให้เกิดสะพานระหว่างอนุภาคแต่ละอัน กลุ่มพอลิเมอร์นี้ควรเป็นกลุ่มที่เป็นประจุบวกเพื่อจับกับสาหร่ายที่เป็นประจุลบ ตัวทำตกตะกอนทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสำหรับการเก็บเกี่ยวสาหร่ายคือ ไคโตซานที่เตรียมด้วยวิธี deacetylation ของไคติน แต่ไคโตซานมีราคาค่อนข้างสูงเนื่องจากมีการใช้งานในทางการแพทย์ จึงมีการใช้แป้งที่เป็นประจุบวก หรือ tanfloc ซึ่งแป้งและแทนนินจะทำหน้าที่กับแอมโมเนียมกลุ่ม Quaternary Ammonium ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพของพอลิเมอร์ที่ใช้ในการตกตะกอนคือ น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ จำนวนกลุ่มการทำงาน (ความหนาแน่นประจุ) และกลุ่มของฟังก์ชันของประจุ ข้อเสียของการใช้สารตกตะกอนพอลิเมอร์คือ สารมักจะทำงานได้ไม่ดีเมื่อใช้สำหรับการเก็บเกี่ยวสาหร่ายทะเล เพราะอาหารที่ทำจากน้ำทะเลมีความแข็งแรงของออสโมสจึงทำให้การม้วนตัวของพอลิเมอร์ทำให้ขนาดที่มีประสิทธิภาพลดลงดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13 การตกตะกอนทางเคมีของสาหร่ายโดยใช้ประจุบวก

การตกตะกอนแบบ Electrocoagulation

การตกตะกอนแบบ Electrocoagulation (EC) เป็นวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดที่ช่วยลดต้นทุนในการเก็บเกี่ยวเนื่องจากเป็นการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีที่ทำให้เกิดตะกอน ซึ่งการตกตะกอนแบบ EC ใช้ปริมาณไฟฟ้าเพียงเล็กน้อย รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพมาก กระบวนการตกตะกอนแบบ EC จะใช้กระแสไฟฟ้าผ่านอิเล็กโทรดแบบรีแอคทีฟสองตัว (เช่นอลูมิเนียมหรืออิเล็กโทรดเหล็ก) หรือผ่านอิเล็กโทรดแบบไม่เกิดการเผาไหม้ในอาหารที่เพาะเลี้ยงสาหร่าย ขั้วบวกอิเล็กโทรดต้องมีความทนต่อการเกิดออกซิเดชันของอิเล็กโทรไลต์ซึ่งทำให้เกิดไอออนของโลหะที่ทำหน้าที่เป็นสารตกตะกอนสำหรับการก่อตัวของ flocs ของสาหร่าย และจะเกิดการสร้าง microbubbles ของออกซิเจนและไฮโดรเจนเนื่องจากการเกิด

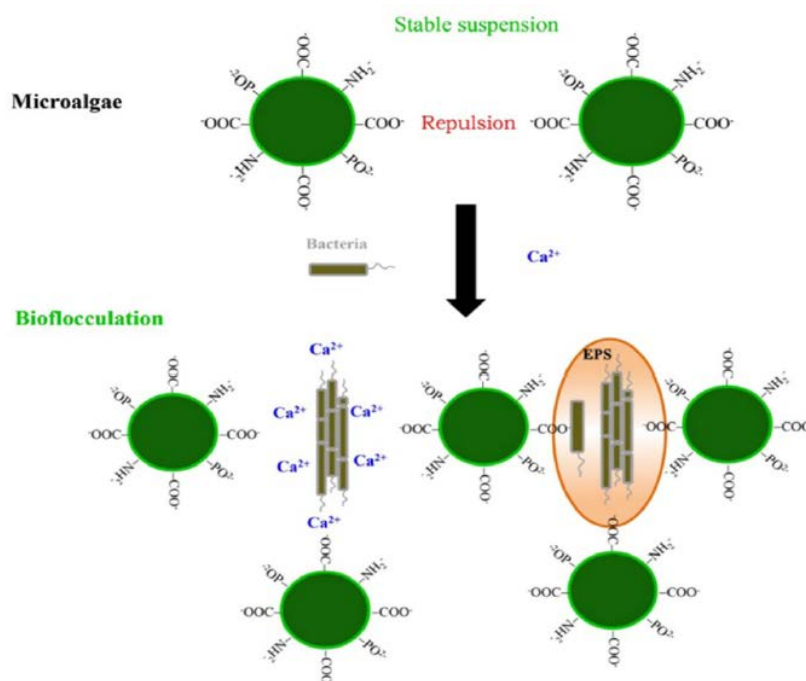
ออกซิเดชันและรีดักชัน กระบวนการทั้งสองจะช่วยให้เกิดการรวมตัวของเซลล์และสามารถแยกสาหร่ายได้ง่ายขึ้นเนื่องจากเกิดการลอยตัวไปด้านบนของอาหาร หลังจากระยะเวลาหนึ่ง สาหร่ายก็จะตกลงไปด้านล่างเนื่องจากน้ำหนักของสาหร่ายที่รวมตัวกัน อย่างไรก็ตามตามอูมิเนียมและเหล็กสามารถสร้างผลกระทบบที่เป็นพิษต่อชีวมวลได้จึงขึ้นอยู่กับความหนาแน่นในและเวลาในการใช้งาน ข้อเสียของกระบวนการตกตะกอนแบบ EC คือ การลดลงของอิเล็กโทรดทำให้เกิดค่าใช้จ่ายในการเก็บเกี่ยว และยังส่งผลต่อคุณภาพของชีวมวลที่นำกลับมาใช้ใหม่ ดังภาพที่ 14



ภาพที่ 14 การตกตะกอนแบบ Electrocoagulation ของสาหร่าย

การตกตะกอนแบบ Bioflocculation

การตกตะกอนแบบ Bioflocculation เป็นปรากฏการณ์ที่สาหร่ายจับตัวเป็นก้อนเองตามธรรมชาติหรือเกิดจากการตกตะกอนของจุลินทรีย์อื่น ๆ สาหร่ายบางชนิดมีแนวโน้มที่จะตกตะกอนตามธรรมชาติเช่น *Ettlia texensis* หรือ *Pediastrum* ขยายพันธุ์ ซึ่งปรากฏการณ์นี้ยังไม่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจน การผสมสาหร่าย bioflocculating กับสาหร่าย nonflocculating สามารถใช้ในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายได้ bioflocculating สามารถเกิดขึ้นได้โดยการผสมจุลินทรีย์ชนิดอื่น แบคทีเรียบางชนิดผลิตโพลีเมอร์เซลล์พิเศษที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการตกตะกอนของสาหร่ายขนาดเล็ก ซึ่งเชื่อว่าที่เป็นเส้นใยเหมือนจะมีประสิทธิภาพให้เกิดการชักนำให้สาหร่ายตกตะกอนมักเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในบ่อ high-rate algal บ่อ high-rate algal มีความซับซ้อนของสาหร่ายและแบคทีเรียและการมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างสปีชีส์ของสาหร่ายหรือระหว่างสาหร่ายและแบคทีเรียจึงทำให้เกิดการสะสมทางชีวภาพถึงแม้ว่ากลไกจะไม่เข้าใจอย่างชัดเจน การตกตะกอนแบบ bioflocculation จึงเป็นวิธีการที่มีแนวโน้มการตกตะกอนที่เรียบง่ายในระบบบำบัดน้ำเสียโดยใช้แบคทีเรียร่วมกับสาหร่าย ดังภาพที่ 15

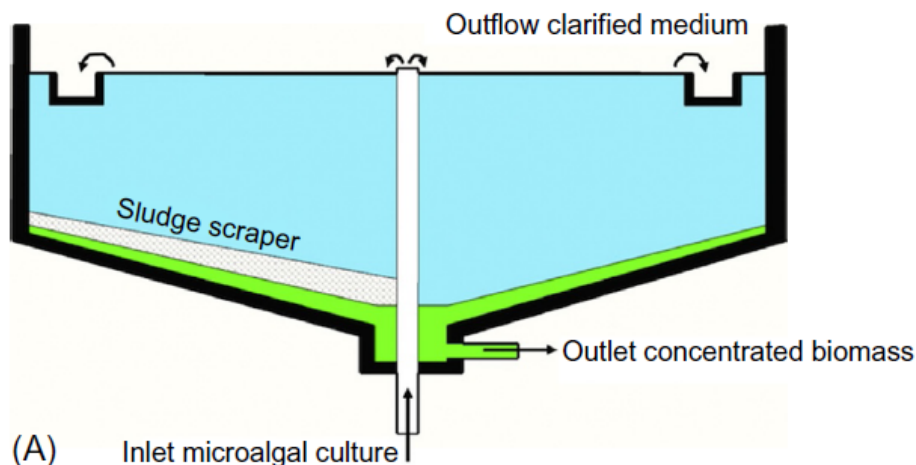


ภาพที่ 15 การตกตะกอนแบบ Biofloculation ของสาหร่าย

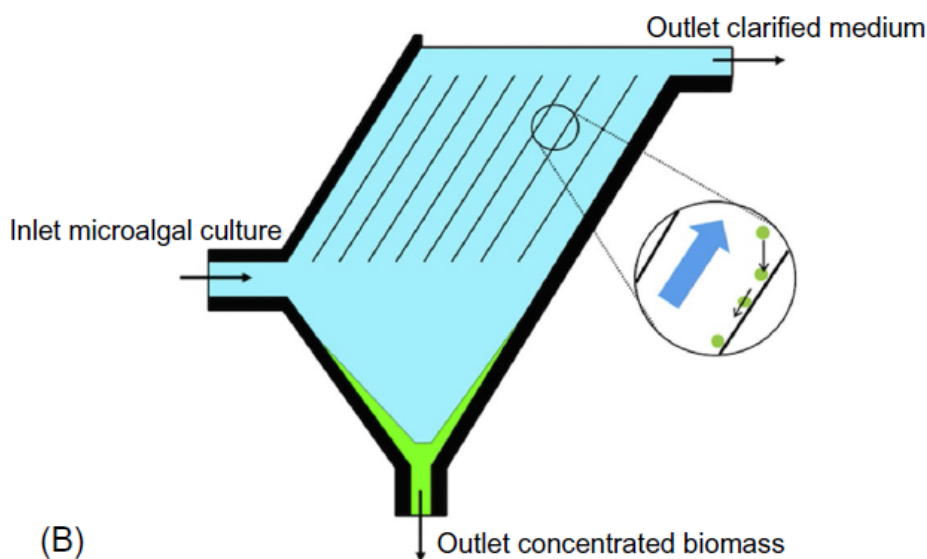
การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยแรงโน้มถ่วง (Gravity-based)

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยกระบวนการ Gravity settling

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยกระบวนการ gravity settling ถือเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจ เพราะมีการใช้พลังงานเพียงเล็กน้อย การตกตะกอนสามารถทำได้ในถังตกตะกอนแบบง่าย ๆ แต่สิ่งเหล่านี้นักจะมีพื้นที่ค่อนข้างใหญ่ ดังภาพที่ 16 การสร้างพื้นที่ที่มีความเอียงหรือมีตัวคั่นที่เป็นระบบ lamella ที่ประกอบด้วยชุดของแผ่นซ้อนกันจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพสำหรับการตกตะกอนและเป็นการลดการใช้พื้นที่ ดังภาพที่ 17 การตกตะกอนด้วยแรงโน้มถ่วงเป็นกระบวนการที่ค่อนข้างช้าและอาจส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของคุณภาพชีวมวลในระหว่างการเก็บเกี่ยว การตกตะกอนด้วยแรงโน้มถ่วงต้องใช้ปริมาณสารที่มากช่วยละลายในปริมาณมากจึงควรใช้ในขั้นตอนการเริ่มต้นในการรวมของชีวมวลก่อนทำการแยกน้ำโดยใช้เทคโนโลยีอื่น ๆ เช่น การปั่นแยกหรือการกรอง การตกตะกอนด้วยแรงโน้มถ่วงอัตราตกตะกอนเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ตามกฎของ Stokes ได้บอกไว้ว่าอัตราการตกตะกอนจะเพิ่มขึ้นตามกำลังสองต่อขนาดเซลล์สาหร่าย และความหนาแน่น ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กจะมีอัตราการตกตะกอนอยู่ที่ประมาณ 1 เซนติเมตรต่อ 1 ชั่วโมง การทำให้สาหร่ายเกิดการตกตะกอนแบบ flocculation จะช่วยให้การตกตะกอนด้วยแรงโน้มถ่วงเร็วขึ้น อัตราการตกตะกอนที่สูงเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องมีการเก็บเกี่ยวที่รวดเร็วเพื่อหลีกเลี่ยงการเสื่อมสภาพของชีวมวล



ภาพที่ 16 บ่อดกตะกอนทั่วไป



ภาพที่ 17 บ่อดกตะกอนแบบ lamella separator

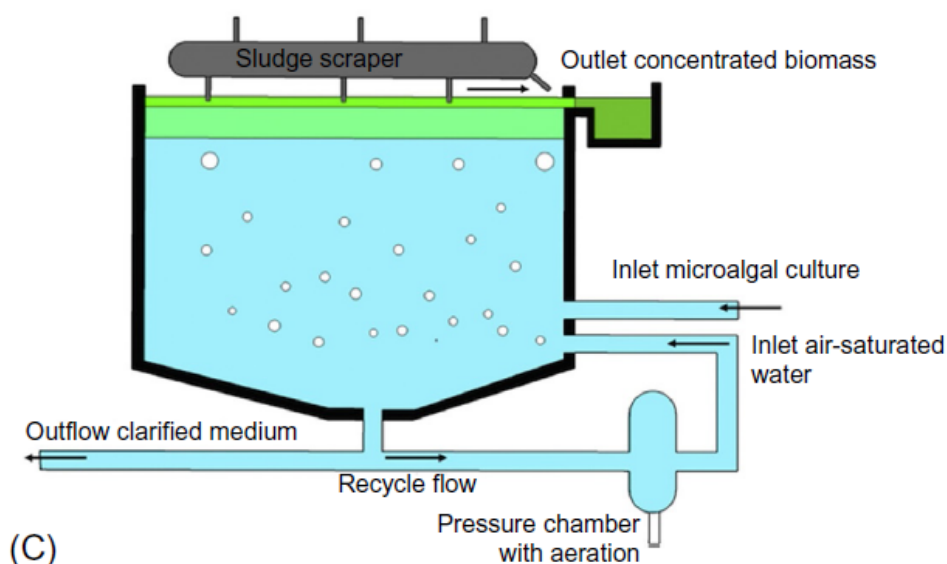
การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยกระบวนการปั่นเหวี่ยง (Centrifugation)

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยกระบวนการปั่นเหวี่ยง เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในโรงงานผลิตสาหร่ายที่มีมูลค่าสูง การเก็บเกี่ยวโดยการปั่นเหวี่ยงมีข้อดีหลายประการ เช่น ไม่จำเป็นต้องเติมสารเคมีในระหว่างกระบวนการ ได้ปริมาณชีวมวลที่แห้งภายในขั้นตอนเดียวเป็นการประหยัดขั้นตอน เพื่อลดการเสื่อมคุณภาพของสารในชีวมวล แต่ข้อเสียของการปั่นเหวี่ยงคือ มีต้นทุนสูง เครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดใหญ่มีราคาสูงและเครื่องปั่นเหวี่ยงนั้นใช้พลังงานสูง

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยกระบวนการลอยตัว (Flotation)

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยกระบวนการลอยตัว จะใช้การลอยตัวของฟองอากาศขนาดเล็กเป็นตัวช่วยให้สาหร่ายลอยอยู่บนพื้นผิวของน้ำ ในการลอยตัวของอากาศในสารละลาย ฟองอากาศจะเกิดขึ้นจากการผสมน้ำที่มีอากาศอิ่มตัวเข้ากับอาหารดังภาพที่ 18 จะใช้กระบวนการไหลกลับของน้ำที่ไม่มีอากาศไปผสมกับอากาศ

ภายใต้แรงดันสูง ในการลอยตัวของอากาศฟองอากาศเกิดขึ้นจากการปล่อยอากาศแรงดันผ่านหัวฉีดหรือผ่านตัวกลางที่มีรูพรุน การลอยของอากาศที่ละลายในน้ำมีแนวโน้มที่จะทำงานได้ดีกว่าการลอยของอากาศที่กระจัดไม่ผ่านการละลายเพราะฟองอากาศที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กกว่า แต่ต้องใช้พลังงานสูงขึ้นด้วย การลอยตัวมักใช้คู่กับการตกตะกอนแบบ flocculation การใช้การลอยเพื่อจับกลุ่มตะกอนที่ลอยอยู่มีข้อดีว่าการตกตะกอนด้วยแรงโน้มถ่วง ยิ่งกว่านั้นการลอยอยู่ในน้ำเป็นวิธีการแยกที่เร็วกว่าการตกตะกอนด้วยแรงโน้มถ่วง ดังนั้นจึงสามารถช่วยลดความเสี่ยงของการเสื่อมคุณภาพของชีวมวลสาหร่ายในระหว่างเก็บเกี่ยว



ภาพที่ 18 การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยกระบวนการลอยตัว (Flotation)

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการกรอง Filtration-based

การกรอง หมายถึง กระบวนการทางกลหรือทางกายภาพในการยกของแข็งออกจากน้ำหรือก๊าซ โดยผ่านตัวกรองที่สามารถซึมผ่านได้ เช่น like screens ผ้ากรอง และ permeable membranes ในขั้นตอนการกรองจะใช้แรงดันจากการสร้างสุญญากาศ ความดันหรือแรงโน้มถ่วง อุปกรณ์สำหรับการกรองมีหลายชนิด เช่น ใช้แรงดัน ใช้สุญญากาศ ตัวกรองที่เป็นตลับ และตัวกรองที่ให้น้ำไหลผ่าน นอกจากนี้ยังมีการกรองวิธีอื่นๆ เช่น การกรองเมมเบรนที่จมอยู่ใต้น้ำ การกรองแบบจานหมุน การกรองแบบการสั่นสะเทือน หรือการหมุน membranes และการกรองแบบออสโมซิส ซึ่งตัวกรองสามารถเปลี่ยนได้ตามลักษณะของแข็งที่กรอง ซึ่งของเหลวจะไหลผ่านแผ่นกรอง โดยที่ของแข็งจะถูกเก็บไว้บนแผ่นกรอง ขนาดรูของแผ่นกรองขึ้นกับขนาดอนุภาคหรือน้ำหนักโมเลกุล ขนาดรูของตัวกรองจะแบ่งออกเป็น แผ่นกรองสำหรับขนาดใหญ่ (ขนาดรูมากกว่า 10 ไมโครเมตร) แผ่นกรองสำหรับขนาดเล็ก (ขนาดรู 0.1 ถึง 10 ไมโครเมตร) และกรองแบบพิเศษ (ขนาดรู 0.001 ถึง 0.1 ไมโครเมตร) การกรองเป็นการเก็บเกี่ยวสาหร่ายที่มีประสิทธิภาพในการฟื้นฟูสาหร่าย การกรองสามารถแยกสาหร่ายสายพันธุ์ที่มีความไวต่อแรงเฉือน นอกจากนี้การกรองยังช่วยการหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของชีวมวล และยังสามารถนำแผ่นกรองกลับมาใช้ใหม่ได้ ในขั้นตอนการกรองพบปัญหาคือ แผ่นที่ใช้กรองสามารถอุดตันได้ จึงทำให้เกิดต้นทุนในกระบวนการทำความสะอาดสำหรับเมมเบรน และยังมีต้นทุน

สำหรับเมมเบรนและปั๊ม สำหรับการเก็บเกี่ยวสาหร่ายการกรองสามารถนำไปใช้เพื่อวัตถุประสงค์ต่าง ๆ รวมถึงการเก็บเกี่ยวสาหร่าย การ dewatering และการ recirculation น้ำ

การแปรรูปสาหร่าย

การอบแห้งเป็นการเก็บเกี่ยวในขั้นตอนสุดท้าย และเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อลดความชื้นให้ลดลงกว่า 12% เพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนของของเหลวสำหรับกระบวนการดาวน์สตรีมเพื่อช่วยลดต้นทุนในการผลิต การแปรรูปสามารถทำได้โดยใช้เครื่องเป่า (การอบแห้งแบบสเปรย์ การทำแห้งแบบเยือกแข็งแบบแห้ง และการทำแห้งแบบฟลูอิดไชเบต) หรือการตากแห้ง ในการตากด้วยแสงแดดจะช่วยลดต้นทุนและพลังงานในการผลิต วิธีนี้อาจไม่มีประสิทธิภาพเนื่องจากปริมาณน้ำในชีวมวลที่สูง การอบแห้งแบบสเปรย์เป็นวิธีที่ใช้กันมากที่สุด การอบแห้งแบบสเปรย์มีความรวดเร็วและรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามการอบแห้งแบบสเปรย์เป็นไปได้ทางเศรษฐกิจสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าต่ำเช่น นำไปทำเชื้อเพลิงชีวภาพ

การประยุกต์ใช้สาหร่าย

สาหร่ายสามารถสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายสามารถนำไปใช้สำหรับเป็นอาหารมนุษย์ สำหรับเป็นอาหารสัตว์ ผลิตภัณฑ์เคมีอินทรีย์สำหรับยา ทำสี ใช้ในการบำบัดสิ่งแวดล้อม ใช้งานด้านอุตสาหกรรมและพลังงานอื่น ๆ เช่น biobutanol อะซิโตน ไบโอดีเซล เอทานอลและไบโอมิเทน สาหร่ายชนิดต่าง ๆ มีปริมาณโปรตีนและปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงถึง 50% และมีปริมาณไขมันถึง 40% ของน้ำหนักแห้ง ปัจจัยทั้งหมดเหล่านี้ทำให้สาหร่ายขนาดเล็กเป็นแหล่งที่มีศักยภาพสำหรับการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล ประโยชน์ของสาหร่ายมีดังต่อไปนี้

ประโยชน์ของสาหร่ายสำหรับอาหารสัตว์

อาหารสัตว์เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์ที่ได้ประโยชน์จากสาหร่าย สาหร่ายใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สาหร่ายสามารถนำมาเป็นอาหาร และอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงพาณิชย์ได้ เช่น การนำสาหร่ายไปเลี้ยงตัวอ่อน และตัววัยเจริญพันธุ์ของหอย ตัวอ่อนกุ้ง และปลา ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม ที่เพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ สาหร่ายยังสามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น rotifer ไรน้ำ copepod ที่ใช้เป็นอาหารสดในการเลี้ยงกุ้ง และปลา นอกจากนี้ยังมีการใช้สาหร่ายในการเพาะเลี้ยงสัตว์ปีกตารางที่ 4

ประโยชน์สำหรับมนุษย์

สาหร่ายมีปริมาณโปรตีนมากกว่าผักแต่มีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ นอกจากนี้สารที่ได้จากการสกัดสาหร่าย เช่น เม็ดสี สารต้านอนุมูลอิสระ เบต้าแคโรทีน โพลีแซ็กคาไรด์ ไตรกลีเซอไรด์ กรดไขมัน วิตามิน และ biomass สามารถแปรรูปเป็นสินค้าต่าง ๆ เช่น เครื่องสำอาง อาหารเสริม และยา สาหร่ายยังสามารถผลิตวุ้น คาร์ราจีนิ และอัลจิเนต ในอุตสาหกรรมที่ต้องการสารที่ทำให้เกิดการเหนียวตัว เช่น ลูกกวาด โลชั่นต่าง ๆ หรือ ใช้ทำเป็นไหมละลายในทางการแพทย์สารที่สกัดได้จากสาหร่ายเพื่อทางการค้ามีหลายชนิดดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสาหร่าย

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) โปรตีน	<i>Cryptocodinium</i> <i>Schizochytrium</i>	BlueBiotech International GmbH (Germany) Spectra Stable Isotopes (Maryland, USA) Martek Biosciences (Maryland, USA)
พลังงานชีวภาพ (Biofuels)	<i>Chlamydomonas</i> <i>Botryococcus</i> <i>Chlamydomonas</i> <i>Chlorella</i> <i>Dunaliella</i> <i>Neochloris</i>	Rincon Pharmaceuticals (California, USA) Cellana (Hawaii, USA) GreenFuel Technologies (Massachusetts, USA) LiveFuels, Inc. (California, USA) PetroAlgae (Florida, USA) Sapphire Energy (California, USA) Solazyme, Inc. (California, USA) Solix Biofuels (Colorado, USA)

ที่มา: Rosenberg et al. (2008)

การใช้สาหร่ายขนาดเล็กมีประสิทธิภาพที่จะนำมาผลิตไบโอดีเซลเนื่องจากมีความต้องการใช้พื้นที่น้อย เมื่อเทียบกับการปลูกพืชชนิดอื่น ๆ ปริมาณพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายกับพืชบกแสดงดังตารางที่ 5

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 ของน้ำหนักเปียก

^ข น้ำมัน 30% ใน mg/L ของน้ำหนักเปียก

ที่มา: Chisti (2007)

องค์ประกอบของกรดไขมันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่าย ทัวไปไขมันที่ได้จากสาหร่ายจะแบ่งได้เป็นไขมันที่เป็นกลาง เช่น triglycerides, cholesterol และไขมันชนิดที่มีขั้ว เช่น phospholipids, galactolipids และ triglycerides เป็นตัวหลักในการผลิตไบโอดีเซล

การสังเคราะห์ triglycerides ในสาหร่ายประกอบด้วย 3 ขั้นตอนดังนี้

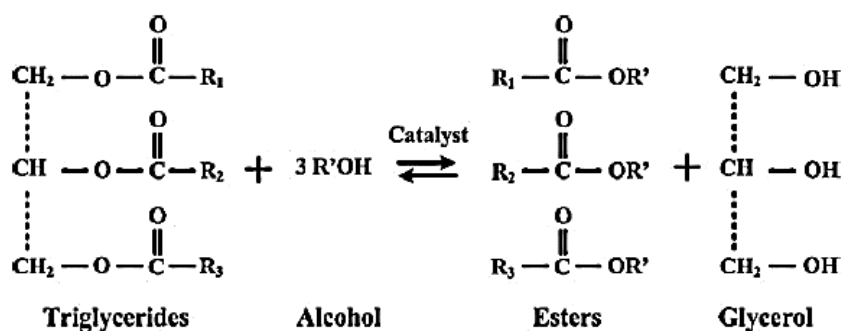
- (1) การก่อตัวของ acetyl coenzyme A (acetyl coA) ใน cytoplasm
- (2) การยืดและเกิดพันธะคู่สายคาร์บอนของกรดไขมัน
- (3) การสังเคราะห์ triglycerides ในสาหร่าย

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) ปฏิกริยา transesterification แสดงดังในภาพที่ 19 อนุภาค R₁ R₂ และ R₃ เป็นตัวแทน hydrocarbons สายยาว ที่

เรียกว่า กรดไขมัน สำหรับจึงสามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนน้ำมันจากฟอสซิลได้



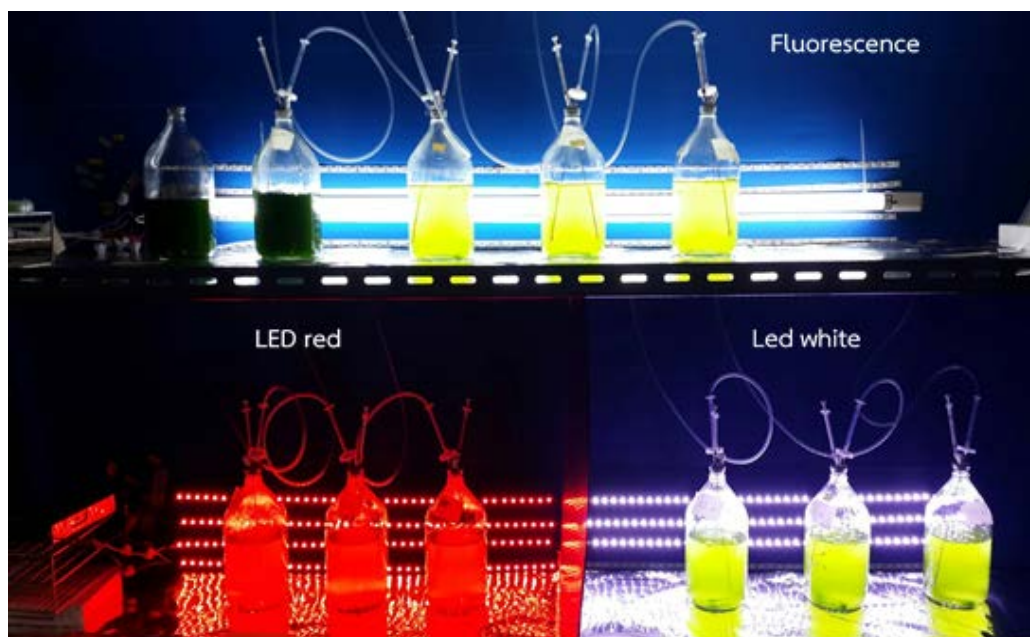
ภาพที่ 19 Transesterification ของ triglycerides

ประโยชน์ของสาหร่ายด้านสิ่งแวดล้อม

สาหร่ายสามารถจับก๊าซ CO_2 จากแหล่งที่มาที่แตกต่างกัน เช่น จากอากาศ โรงงาน และ ที่อยู่ในรูปคาร์บอนที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น Na_2CO_3 และ NaHCO_3 ซึ่งสาหร่ายสามารถลดปริมาณก๊าซ CO_2 โดยผ่านกระบวนการตรึงก๊าซ CO_2 ซึ่งใช้กระบวนการผลิต biomass ร่วมกับการสังเคราะห์แสง สาหร่ายขนาดเล็กมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณก๊าซ CO_2 ได้ดีกว่าพืชบก 10 ถึง 50 เท่า เนื่องจากการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว Cheng *et al.* (2006) พบว่าสาหร่าย *C. vulgaris* สามารถลดปริมาณของก๊าซ CO_2 ได้ 30% จากปริมาณอากาศที่ให้ Sydney *et al.* (2010) ศึกษาสาหร่าย *Dunaliella tertiolecta* SAD-13.86, *Chlorella vulgaris* LEB-104, *Spirulina platensis* LEB-52 และ *Botryococcus braunii* SAG-30.81 พบว่าแต่ละชนิดสามารถ ลดปริมาณก๊าซ CO_2 ได้โดย *B. braunii* สามารถลดปริมาณก๊าซ CO_2 ได้มากที่สุด คือ 496.98 mg/L/day และ *S. platensis*, *D. tertiolecta* และ *C. vulgaris* สามารถลดปริมาณก๊าซ CO_2 ได้ 318.61, 272.4 และ 251.64 mg/L/day ตามลำดับ สำหรับการบำบัดน้ำเสียจะกล่าวต่อไปในบทที่ 2

สาหร่ายเชิงชีวฟิสิกส์ และคณิตศาสตร์ประยุกต์

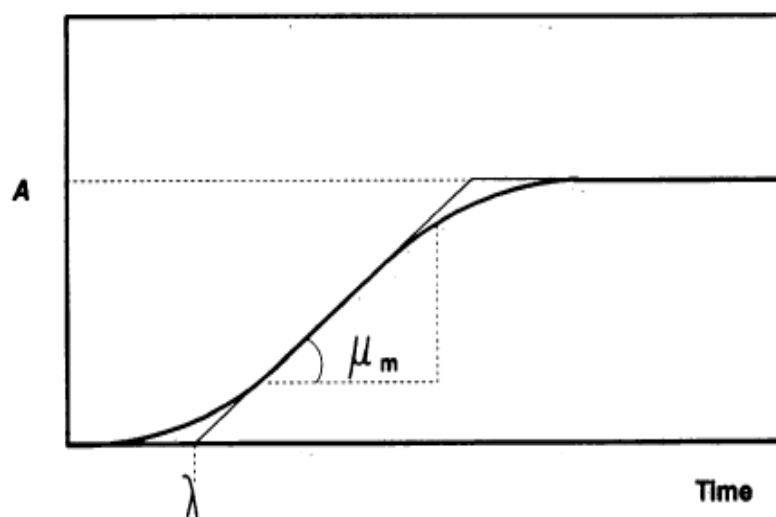
สำหรับสาหร่ายซึ่งเป็นระบบเชิงชีวภาพได้มีการใช้หลักการ และวิธีการทางฟิสิกส์เพื่อบูรณาการกับศาสตร์อื่น ๆ ในลักษณะสหสาขา เพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่ที่เกี่ยวข้องกับสาหร่ายในขณะเดียวกันเพื่อหาแนวทางในการประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเรียกว่าวิธีทางชีวฟิสิกส์ (Biophysics) และใช้วิธีเชิงคำนวณ (Computational approach) ในการศึกษาเพื่อการอธิบาย ทำนาย และออกแบบการศึกษาทดลอง นั่นคือ การทำแบบจำลอง (Modeling) หรือจำลองสถานการณ์ (Simulation) ตัวอย่างเช่น ได้มีการศึกษาถึงผลกระทบของความยาวคลื่นแสง และชนิดของแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยศึกษาเปรียบเทียบการใช้แสงจากหลอดไฟ Fluorescence และจากหลอดไฟ LED ดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 แสดงการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* TISTR8580 ภายใต้แสงและชนิดสีต่าง ๆ

ผลการศึกษาจะทำให้เราสามารถกำหนดสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของสาหร่ายเพื่อการผลิตสำหรับวิธีเชิงคำนวณ (Computational approach) ได้มีการใช้แบบจำลองเพื่อศึกษาปรากฏการณ์ทางธรรมชาติต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย ซึ่งรวมไปถึงการศึกษาการเจริญของสิ่งมีชีวิตหรือประชากร ที่รู้จักกันดีเช่น แบบจำลองประชากร (Population modeling) สำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั่วไปซึ่งมีธรรมชาติการโตเป็นดังภาพที่ 21

$\ln(N/N_0)$



ภาพที่ 21 กราฟมาตรฐานการเจริญเติบโต

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำเสียที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์โดยการใช้แบบจำลองในการอธิบายเส้นโค้งการเจริญเติบโต (growth curve) ซึ่งการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 2 การทดลองได้มีการนำมาทำการศึกษาเชิงวิทยาการคำนวณเพื่อสร้างแบบจำลองแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (mathematical model) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อหาข้อสรุปเชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณอาจจะทำได้โดยการอธิบายโดยใช้เส้นโค้งการเจริญเติบโต (growth curve) และการทำตัวแบบทางคณิตศาสตร์ (mathematical model) โดยวิธีแรกเป็นการใช้แนวคิดทางคณิตศาสตร์เป็นหลักในการทำแบบจำลอง (empirical model) ในขณะที่วิธีที่สองจะอาศัยทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อธิบายกลไกการเจริญเติบโตในการสร้างแบบจำลอง (mechanistic model) ตัวอย่างแบบจำลองที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ คือ การใช้เส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ Gompertz (Gompertz growth curve) หรือ Gompertz function เป็นความสัมพันธ์แบบ sigmoid ที่อธิบายความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาต่าง ๆ โดยที่ในช่วงเริ่มต้นและช่วงท้ายของช่วงเวลาคือช่วงที่มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุด โดยสมการของเส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ Gompertz สามารถอธิบายได้ดังนี้

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

a คือ อะซิมโทต ค่าที่ฟังก์ชันลู่เข้าเมื่อ $t \rightarrow \infty$

b คือ พารามิเตอร์ที่กำหนดตำแหน่งของกราฟตามแนวแกน x เมื่อปรับค่า b กราฟจะเลื่อนไปทางซ้ายหรือขวาตามแนวแกน x

c คือ อัตราการเจริญเติบโต

เส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ Gompertz จะแตกต่างจากเส้นโค้งการเจริญเติบโต logistic ตรงที่การลู่เข้าของเส้นโค้งด้านขวา (future value asymptote) จะลู่เข้าแบบช้า ๆ ไม่สมมาตรกับเส้นโค้งฝั่งขวา (lower valued asymptote) ซึ่งแตกต่างจากเส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบโลจิสติกที่เส้นโค้งมีความสมมาตร ทำให้สามารถอธิบายปรากฏการณ์ธรรมชาติได้สมจริงกว่า แต่เส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ Gompertz ยังไม่สามารถเป็นตัวแทนที่ดีของงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นได้เนื่องจากสาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่คล้ายคลึงกับแบคทีเรียจึงต้องมีการนำเส้นโค้งการเจริญเติบโตแบบ Gompertz มาปรับโดยใช้สมการแบบ Modified Gompertz ซึ่งสาหร่ายมีการเจริญเติบโตจากระยะปรับตัว (λ) ช่วงเร่งการเจริญเติบโตสูงสุด (μ_m) และหยุดการเจริญเติบโต จนถึงระยะที่กลับมาเป็นศูนย์อีกครั้ง (A) 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 แบบจำลอง Gompertz และแบบจำลอง Modified Gompertz แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แบบจำลอง Gompertz และแบบจำลอง Modified Gompertz

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

ที่มา: ดัดแปลงจาก Zwietering et al. (1990)

บทที่ 2

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายบำบัดน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์

น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์

ลักษณะน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ ส่วนใหญ่น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์มีองค์ประกอบหลัก คือ สารอินทรีย์ เช่น ไขมัน โปรตีนที่เป็นอนุภาค และที่ละลายน้ำได้ แม้น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์จะผ่านกระบวนการบำบัดขั้นต้นแล้ว แต่ยังคงมีความสกปรกหลงเหลืออยู่ ทั้งในรูปของ biochemical oxygen demand (BOD) (จากปัสสาวะและมูลสัตว์) chemical oxygen demand (COD) total suspended solids (TSS) ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และไขมัน ดังแสดงในตารางที่ 7 คุณภาพน้ำเสียขึ้นอยู่กับปัจจัยดังนี้

1. การเก็บเลือด การเก็บเลือดระหว่างการฆ่าสัตว์เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการลด BOD
2. การใช้น้ำ ในการใช้น้ำระหว่างการฆ่าสัตว์จะทำให้ปริมาณ BOD เพิ่มขึ้น
3. ประเภทสัตว์ที่ฆ่า การฆ่าวัวมีปริมาณของเสียมากกว่าการฆ่าสุกร
4. การแปรรูปซากสัตว์หลังการชำแหละหรือการแปรรูปเนื้อสัตว์ การแปรรูปซากสัตว์หลังการชำแหละหรือการแปรรูปเนื้อสัตว์ มีคุณภาพของน้ำเสียน้อยกว่าการฆ่าสัตว์

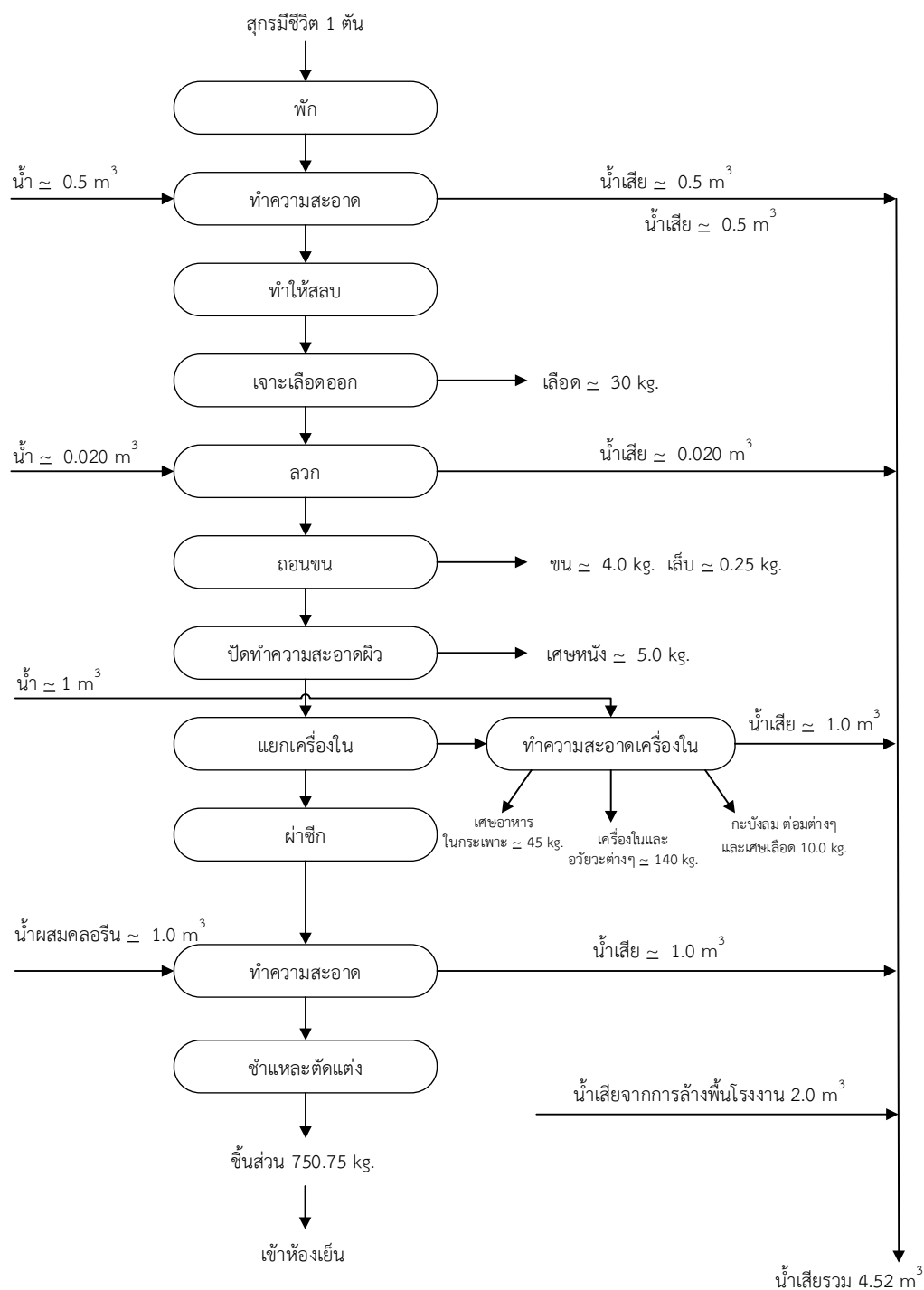
ตารางที่ 7 สมบัติของน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์

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: น้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร มณฑล Ontario ประเทศแคนาดา
 b: น้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร มณฑล Quebec ประเทศแคนาดา
 c: N/A
 d: น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ ภาคตะวันตก ประเทศไอร์แลนด์
 N/A คือ ไม่มีข้อมูล

ในกระบวนการฆ่าสัตว์มีการผลิตน้ำเสียตลอดทั้งกระบวนการซึ่งกระบวนการฆ่าสุกรเป็นตัวอย่างหนึ่งที่เห็นได้ชัดตั้งแต่ กระบวนการพักสัตว์จนถึงกระบวนการสุดท้ายซึ่งในขั้นตอนจะต้องมีการล้างเลือด และล้างซากสุกร แต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตจะมีปริมาณน้ำเสียที่แตกต่างกัน ปริมาณน้ำเสียต่อการชำแหละ

สุกรมีชีวิต 1 ตัน เท่ากับ 4.52 m^3 กระบวนการฆ่าสุกร และปริมาณการผลิตน้ำเสียจากการฆ่าสุกร ดังภาพที่ 22



ภาพที่ 22 กระบวนการฆ่าสุกร และปริมาณการผลิตน้ำเสียจากการฆ่าสุกร

นอกจากน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร ยังมีปริมาณของน้ำเสียจากการฆ่าสัตว์ปีกที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ซึ่งในปี 2017 มีการผลิตน้ำเสียจากสัตว์ปีก 107 ล้านตันซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากปี 2009 ถึง 14.8 ล้านตัน และคาดการณ์ว่าจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากปี 2017 อีก 10% การปล่อยน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ลงสู่แหล่งน้ำโดยตรง

จะทำให้เกิดผลกระทบกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์มีปริมาณธาตุอาหารสูง เมื่อผ่านกระบวนการบำบัดอาจจะมีธาตุอาหารหลงเหลืออยู่เมื่อทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติอาจจะทำให้เกิดปัญหาต่าง ๆ เช่น eutrophication คือ ปรากฏการณ์ที่แหล่งน้ำมีปริมาณธาตุอาหารมากเกินไป ส่งผลให้สาหร่ายในธรรมชาติมีเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว หรือที่เรียกว่า algal bloom ทำให้เกิดผลกระทบต่อคุณภาพน้ำ แหล่งอาหาร ที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำ และลดปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำ สาหร่ายบางชนิดสามารถผลิตสารพิษที่อาจฆ่าปลา หอย และสัตว์น้ำอื่น ๆ ที่เป็นอาหารของมนุษย์ ทำให้เกิดความเสียหายด้านเศรษฐกิจ รวมทั้งสารพิษที่สาหร่ายผลิตสามารถสะสมอยู่ในสัตว์น้ำที่เป็นอาหารของมนุษย์ ทำให้เจ็บป่วยเมื่อมนุษย์รับประทานเข้าไป ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ มีระบบหลายระบบ ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของสถานที่ และงบประมาณ ระบบบำบัดน้ำเสียแบ่งออกได้ดังนี้

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบ่อปรับเสถียร (Stabilization Pond)

เป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่อาศัยธรรมชาติในการบำบัดสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ซึ่งแบ่งตามลักษณะการทำงานได้ 3 รูปแบบ คือ

บ่อแอนแอโรบิก (Anaerobic Pond)

บ่อแอนแอโรบิกเป็นระบบที่ใช้กำจัดสารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูงโดยไม่ต้องใช้ออกซิเจน บ่อนี้จะถูกออกแบบให้มีอัตราการรับสารอินทรีย์สูงมาก จนสาหร่ายและการเติมออกซิเจนที่ผิวหน้าไม่สามารถผลิตและป้อนออกซิเจนได้ทัน ทำให้เกิดสภาพไร้ออกซิเจนละลายน้ำภายในบ่อ จึงเหมาะกับน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์และปริมาณของแข็งสูง เนื่องจากของแข็งจะตกลงสู่ก้นบ่อและถูกย่อยสลายแบบแอนแอโรบิก น้ำเสียส่วนที่ผ่านการบำบัดจากบ่อนี้จะระบายต่อไปยังบ่อแฟคคัลเททีฟ (Facultative Pond) เพื่อบำบัดต่อไป

บ่อแฟคคัลเททีฟ (Facultative Pond)

บ่อแฟคคัลเททีฟเป็นบ่อที่นิยมใช้กันมากที่สุด ภายในบ่อมีลักษณะการทำงานแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนบนของบ่อเป็นแบบแอโรบิก ได้รับออกซิเจนจากการถ่ายเทอากาศที่บริเวณผิวน้ำและจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย และส่วนล่างของบ่ออยู่ในสภาพแอนแอโรบิก บ่อแฟคคัลเททีฟนี้โดยปกติแล้วจะรับน้ำเสียจากที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นมาก่อน กระบวนการบำบัดที่เกิดขึ้นในบ่อแฟคคัลเททีฟ เรียกว่า การทำความสะอาดตัวเอง (Self-Purification) สารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ประเภทที่ใช้ ออกซิเจน (Aerobic Bacteria) เพื่อเป็นอาหารและสำหรับการสร้างเซลล์ใหม่และเป็นพลังงาน โดยใช้ออกซิเจนที่ได้จากการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายที่อยู่ในบ่อส่วนบน สำหรับบ่อส่วนล่างจนถึงก้นบ่อซึ่งแสงแดดส่องไม่ถึง จะมีปริมาณออกซิเจนต่ำ จนเกิดสภาวะไร้ออกซิเจน (Anaerobic Condition) และมีจุลินทรีย์ประเภทไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Bacteria) ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์และแปรสภาพเป็นก๊าซเช่นเดียวกับบ่อแอนแอโรบิก แต่ก๊าซที่ลอยขึ้นมาจะถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนที่อยู่ช่วงบนของบ่อทำให้ไม่เกิดกลิ่นเหม็น

บ่อแอโรบิก (Aerobic Pond)

บ่อแอโรบิกเป็นบ่อที่มีแบคทีเรียและสาหร่ายแขวนลอยอยู่ เป็นบ่อที่มีความลึกไม่มากนักเพื่อให้ ออกซิเจนกระจายทั่วทั้งบ่อและมีสภาพเป็นแอโรบิกตลอดความลึก โดยอาศัยออกซิเจนจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย และการเติมอากาศที่ผิวน้ำ และยังสามารถฆ่าเชื้อโรคได้ส่วนหนึ่งโดยอาศัยแสงแดดอีกด้วย

ซึ่งเมื่อมีหลายบ่อต่อเนื่องกัน บ่อสุดท้ายจะทำหน้าที่เป็นบ่อบ่ม (Maturation Pond) โดยบ่อบ่มมีสภาพเป็นแอโรบิกตลอดทั้งบ่อ จึงมีความลึกไม่มากและแสงแดดส่องถึงก้นบ่อใช้รองรับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัด

แล้ว เพื่อพอกน้ำทิ้งให้มีคุณภาพน้ำดีขึ้น และอาศัยแสงแดดทำลายเชื้อโรคหรือจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับน้ำทิ้ง ก่อนระบายออกสู่สิ่งแวดล้อม

เพื่อเป็นการปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งก่อนระบายออกสู่สิ่งแวดล้อม บ่อปรับเสถียรสามารถบำบัดน้ำเสียจากชุมชน หรือโรงงานบางประเภท เช่น โรงงานผลิตอาหาร และโรงฆ่าสัตว์ เป็นระบบที่มีค่าก่อสร้าง และค่าดูแลรักษาต่ำ วิธีการเดินระบบไม่ยุ่งยากซับซ้อน ผู้ควบคุมระบบไม่ต้องมีความรู้มาก แต่เป็นระบบที่ต้องใช้ปริมาณพื้นที่มากจึงเหมาะกับชุมชนที่มีพื้นที่มาก และราคาที่ไม่สูง โดยปกติระบบบ่อปรับเสถียรจะมีการต่อกันแบบอนุกรมอย่างน้อย 3 บ่อ ดังภาพที่ 23



ภาพที่ 23 ตัวอย่างการวางบ่อแบบบ่อปรับเสถียร (Stabilization Pond)

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบ่อเติมอากาศ (Aerated Lagoon หรือ AL)

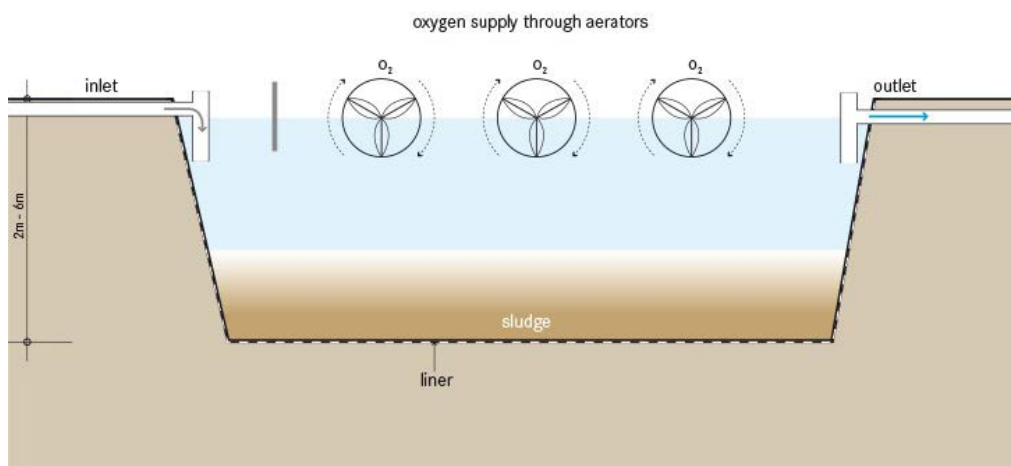
เป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่อาศัยการเติมออกซิเจนจากเครื่องเติมอากาศ (Aerator) ที่ติดตั้งแบบทุ่นลอยหรือยึดติดกับแท่นก็ได้ เพื่อเพิ่มออกซิเจนในน้ำให้มีปริมาณเพียงพอ สำหรับจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้เร็วขึ้นกว่าการปล่อยให้ย่อยสลายตามธรรมชาติ ทำให้ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบ่อเติมอากาศสามารถบำบัดน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถลดปริมาณความสกปรกของน้ำเสียในรูปของค่าบีโอดี (Biochemical Oxygen Demand; BOD) ได้ร้อยละ 80-95 โดยอาศัยหลักการทำงานของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน (Aerobic) โดยมีเครื่องเติมอากาศซึ่งนอกจากจะทำหน้าที่เพิ่มออกซิเจนในน้ำแล้วยังทำให้เกิดการกวนผสมของน้ำในบ่อด้วยทำให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้อย่างทั่วถึงภายในบ่อ ดังภาพที่ 24

หลักการทำงานของระบบ ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบ่อเติมอากาศ สามารถบำบัดน้ำเสียได้ทั้งน้ำเสียจากแหล่งชุมชนที่มีความสกปรกค่อนข้างมาก และน้ำเสียจากอุตสาหกรรม โดยปกติจะออกแบบให้บ่อมีความลึกประมาณ 2-6 เมตร ระยะเวลาเก็บกักน้ำ (Detention Time) ภายในบ่อเติมอากาศประมาณ 3-10 วัน และเครื่องเติมอากาศจะต้องออกแบบให้มีประสิทธิภาพสามารถทำให้เกิดการผสมกันของตะกอนจุลินทรีย์ออกซิเจนละลายในน้ำ และน้ำเสีย นอกจากนี้จะต้องมีบ่อบ่ม (Polishing Pond หรือ Maturation Pond) รับน้ำเสียจากบ่อเติมอากาศเพื่อตกตะกอนและปรับสภาพน้ำทิ้งก่อนระบายออกสู่สิ่งแวดล้อม ทั้งนี้จะต้องควบคุมอัตราการไหลของน้ำภายในบ่อบ่มและระยะเวลาเก็บกักให้เหมาะสมไม่นานเกินไป เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาการเจริญเติบโตเพิ่มปริมาณของสาหร่าย (Algae) ในบ่อบ่มมากเกินไป

ส่วนประกอบของระบบ ระบบบ่อเติมอากาศส่วนใหญ่จะประกอบด้วยหน่วยบำบัด ดังนี้

1. บ่อเติมอากาศ (จำนวนบ่อขึ้นอยู่กับการออกแบบ)
2. บ่อบ่มเพื่อปรับสภาพน้ำทิ้ง (จำนวนบ่อขึ้นอยู่กับการออกแบบ) และ
3. บ่อเติมคลอรีนสำหรับฆ่าเชื้อโรค จำนวน 1 บ่อ

อุปกรณ์ที่สำคัญสำหรับระบบบ่อเติมอากาศ ได้แก่ เครื่องเติมอากาศ ซึ่งมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อให้ ออกซิเจนแก่น้ำเสีย เครื่องเติมอากาศแบ่งออกได้ 4 แบบใหญ่ ๆ คือ เครื่องเติมอากาศที่ผิวหน้า (Surface Aerator) เครื่องเติมอากาศเทอร์ไบน์ (Turbine Aerator) เครื่องเติมอากาศใต้น้ำ (Submersible Aerator) และเครื่องเติมอากาศแบบหัวฉีด (Jet Aerator)



ภาพที่ 24 ตัวอย่างบ่อแบบบ่อเติมอากาศ (Aerated Lagoon หรือ AL)

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบึงประดิษฐ์ (Constructed Wetland)

บึงประดิษฐ์ เป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่อาศัยกระบวนการทางธรรมชาติกำลังเป็นที่นิยมมากขึ้นในปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการใช้ปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้ว แต่ต้องการลดปริมาณไนโตรเจน และปริมาณฟอสฟอรัสก่อนระบายออกสู่แหล่งรองรับน้ำทิ้ง นอกจากนี้ระบบบึงประดิษฐ์ก็ยังสามารถใช้เป็นระบบบำบัดน้ำเสียในขั้นที่ 2 (Secondary Treatment) สำหรับบำบัดน้ำเสียจากชุมชนได้อีกด้วย ซึ่งข้อดีของระบบนี้ คือ ไม่ซับซ้อนและไม่ต้องใช้เทคโนโลยีในการบำบัดสูง ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบึงประดิษฐ์ แบ่งออกเป็น 2 ประเภทได้แก่ แบบ Free Water Surface Wetland (FWS) ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับบึงธรรมชาติ และแบบ Vegetated Submerged Bed System (VSB) ซึ่งจะมีชั้นดินปนทรายสำหรับปลูกพืชน้ำและชั้นหินรองก้นบ่อเพื่อเป็นตัวกรองน้ำเสีย

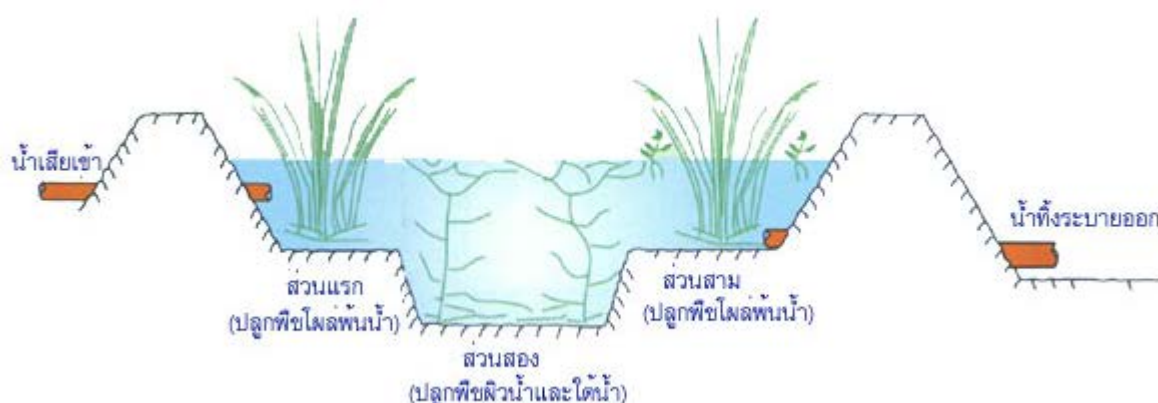
ระบบบึงประดิษฐ์แบบ Free Water Surface Wetland (FWS)

ระบบบึงประดิษฐ์แบบ Free Water Surface Wetland (FWS) เป็นแบบที่นิยมใช้ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งหลังจากผ่านการบำบัดจากบ่อปรับเสถียร (Stabilization Pond) แล้ว ลักษณะของระบบแบบนี้จะเป็นบ่อดินที่มีการบดอัดดินให้แน่นหรือปูพื้นด้วยแผ่น HDPE ให้ได้ระดับเพื่อให้ น้ำเสียไหลตามแนวนอนขนานกับพื้นดิน บ่อดินจะมีความลึกแตกต่างกันเพื่อให้เกิดกระบวนการบำบัดตามธรรมชาติอย่างสมบูรณ์ โครงสร้างของระบบแบ่งเป็น 3 ส่วน (อาจเป็นบ่อเดียวกันหรือหลายบ่อขึ้นกับการออกแบบ) คือ

ส่วนที่ 1 เป็นส่วนที่มีการปลูกพืชที่มีลักษณะสูงโผล่พ้นน้ำและรากเกาะดินปลูกไว้ เช่น กก แผลก ธูปฤาษี เพื่อช่วยในการกรองและตกตะกอนของสารแขวนลอยและสารอินทรีย์ที่ตกตะกอนได้ ทำให้กำจัดสารแขวนลอยและสารอินทรีย์ได้บางส่วน เป็นการลดสารแขวนลอยและค่าบีโอดีได้ส่วนหนึ่ง

ส่วนที่สอง เป็นส่วนที่มีพืชชนิดลอยอยู่บนผิวน้ำ เช่น จอก แหน บัว รวมทั้งพืชขนาดเล็กที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ เช่น สาหร่าย จอก แหน เป็นต้น พื้นที่ส่วนที่สองนี้จะไม่มีการปลูกพืชที่มีลักษณะสูงโผล่พ้นน้ำเหมือนในส่วนแรกและส่วนที่สาม น้ำในส่วนนี้จึงมีการสัมผัสอากาศและแสงแดดทำให้มีการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งเป็นการเพิ่มออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ทำให้จุลินทรีย์ชนิดที่ใช้ออกซิเจนย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้เป็นการลดค่าบีโอดีในน้ำเสีย และยังเกิดสภาพไนตริฟิเคชัน (Nitrification) ด้วย

ส่วนที่สาม มีการปลูกพืชในลักษณะเดียวกับส่วนแรก เพื่อช่วยกรองสารแขวนลอยที่ยังเหลืออยู่ และทำให้เกิดสภาพดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification) เนื่องจากออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ลดลง ซึ่งสามารถลดสารอาหารจำพวกสารประกอบไนโตรเจนได้ ดังภาพที่ 25



ภาพที่ 25 ตัวอย่างบ่อแบบระบบบึงประดิษฐ์แบบ Free Water Surface Wetland (FWS)

หลักการทำงานของระบบ เมื่อน้ำเสียไหลเข้ามาในบึงประดิษฐ์ส่วนต้น สารอินทรีย์ส่วนหนึ่งจะตกตะกอนจมตัวลงสู่ก้นบึง และถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ ส่วนสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำจะถูกกำจัดโดยจุลินทรีย์ที่เกาะติดอยู่กับพืชน้ำหรือชั้นหินและจุลินทรีย์ที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ ระบบนี้จะได้รับออกซิเจนจากการแพร่ซึมของอากาศผ่านผิวน้ำหรือชั้นหินลงมา ออกซิเจนบางส่วนจะได้จากการสังเคราะห์แสงแต่มีปริมาณไม่มากนัก สำหรับสารแขวนลอยจะถูกกรองและจมตัวอยู่ในช่วงต้น ๆ ของระบบ การลดปริมาณไนโตรเจนจะเป็นไปตามกระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification) และดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification) ส่วนการลดปริมาณฟอสฟอรัสส่วนใหญ่จะเกิดที่ชั้นดินส่วนพื้นบ่อ และพืชน้ำจะช่วยดูดซับฟอสฟอรัสผ่านทางรากและนำไปใช้ในการสร้างเซลล์ นอกจากนี้ระบบบึงประดิษฐ์ยังสามารถกำจัดโลหะหนัก (Heavy Metal) ได้บางส่วนอีกด้วย

ระบบบึงประดิษฐ์แบบ Vegetated Submerged Bed System (VSB)

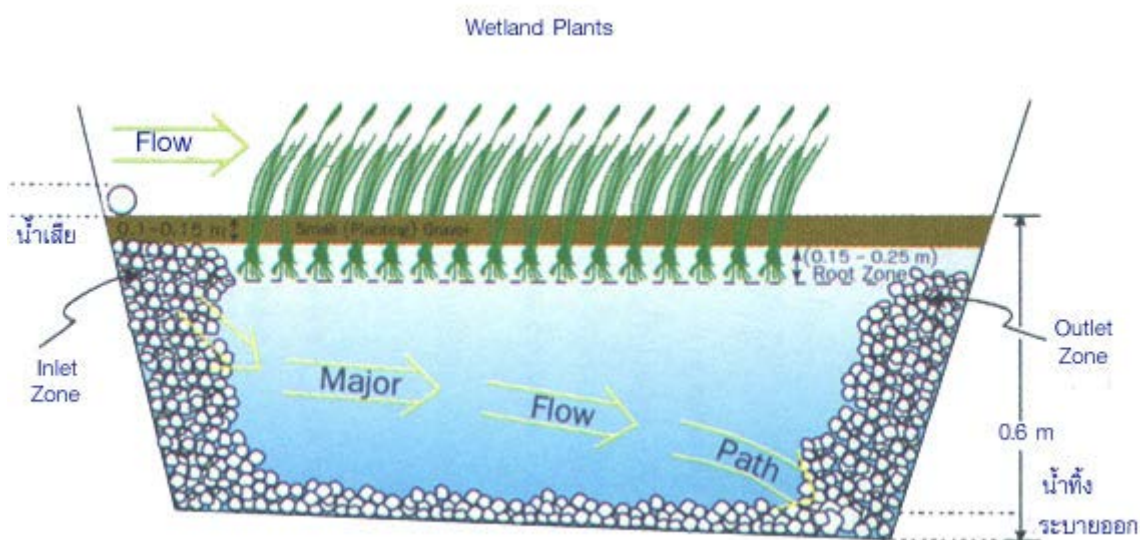
ระบบบึงประดิษฐ์แบบ Vegetated Submerged Bed System (VSB) จะมีข้อดีกว่าแบบ Free Water Surface Wetland คือ เป็นระบบที่แยกน้ำเสียไม่ให้ถูกรบกวนจากแมลงหรือสัตว์ และป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดโรคมานับเบื้อนกับคนได้ ในบางประเทศใช้ระบบบึงประดิษฐ์แบบนี้ในการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเกรอะ (Septic Tank) และปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งจากระบบบ่อปรับเสถียร (Stabilization Pond) หรือใช้ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งจากระบบแอกติเวเตดจ์สลัดจ์ (Activated Sludge) และระบบอาร์บีซี (RBC) หรือใช้ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำที่ระบายออกจากอาคารดักน้ำเสีย (CSO) เป็นต้น ดังภาพที่ 26

ส่วนประกอบที่สำคัญในการบำบัดน้ำเสียของระบบบึงประดิษฐ์แบบนี้ คือ

พืชที่ปลูกในระบบ จะมีหน้าที่สนับสนุนให้เกิดการถ่ายเทก๊าซออกซิเจนจากอากาศเพื่อเพิ่มออกซิเจนให้น้ำเสีย และยังทำหน้าที่สนับสนุนให้ก๊าซที่เกิดขึ้นในระบบ เช่น ก๊าซมีเทน (Methane) จากการย่อยสลายแบบแอนแอโรบิก (Anaerobic) สามารถระบายออกจากระบบได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังสามารถกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้โดยการนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของพืช

ตัวกลาง (Media) จะมีหน้าที่สำคัญคือ

1. เป็นที่สำหรับให้รากของพืชที่ปลูกในระบบยึดเกาะ
2. ช่วยให้เกิดการกระจายของน้ำเสียที่เข้าระบบและช่วยรวบรวมน้ำทิ้งก่อนระบายออก
3. เป็นที่สำหรับให้จุลินทรีย์ยึดเกาะ และ
4. สำหรับใช้กรองสารแขวนลอยต่าง ๆ



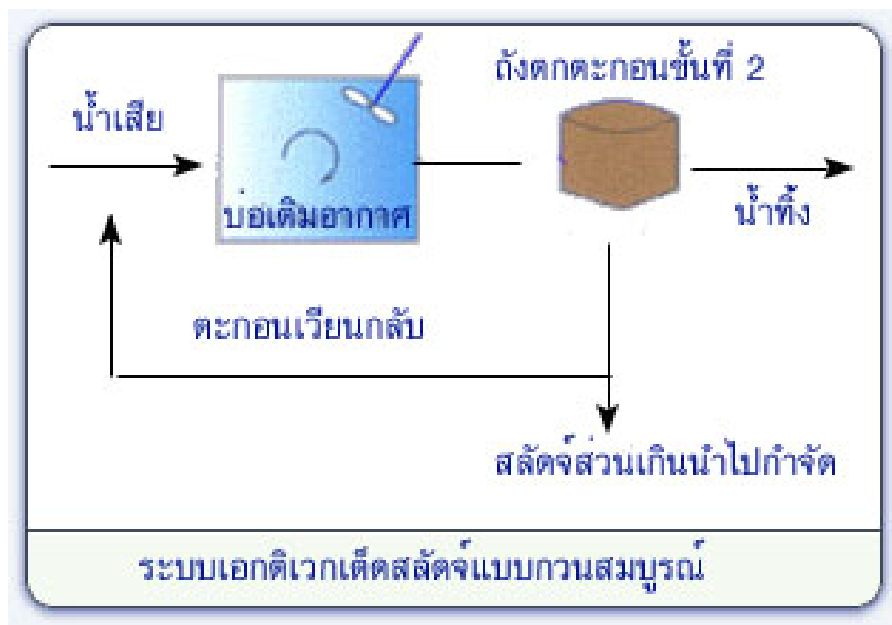
ภาพที่ 26 ตัวอย่างบ่อแบบระบบบึงประดิษฐ์แบบ Vegetated Submerged Bed System (VSB)

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ (Activated Sludge Process)

เป็นวิธีบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีการทางชีววิทยา โดยใช้แบคทีเรียพวกที่ใช้ออกซิเจน (Aerobic Bacteria) เป็นตัวหลักในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์เป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย สามารถบำบัดได้ทั้งน้ำเสียชุมชน และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม แต่การเดินระบบประเภทนี้จะมีความยุ่งยากซับซ้อน เนื่องจากจำเป็นจะต้องมีการควบคุมสภาวะแวดล้อมและลักษณะทางกายภาพต่าง ๆ ให้เหมาะสมแก่การทำงานและการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ เพื่อให้ระบบมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงสุด ซึ่งในปัจจุบัน ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์มีการพัฒนาใช้งานหลายรูปแบบ เช่น ระบบแบบกวนสมบูรณ์ (Completely Mix) กระบวนการปรับเสถียรสัมผัส (Contact Stabilization Process) ระบบคลองวนเวียน (Oxidation Ditch) หรือ ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์ (Sequencing Batch Reactor) เป็นต้น

ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบกวนสมบูรณ์ (Completely Mixed Activated Sludge: CMAS)

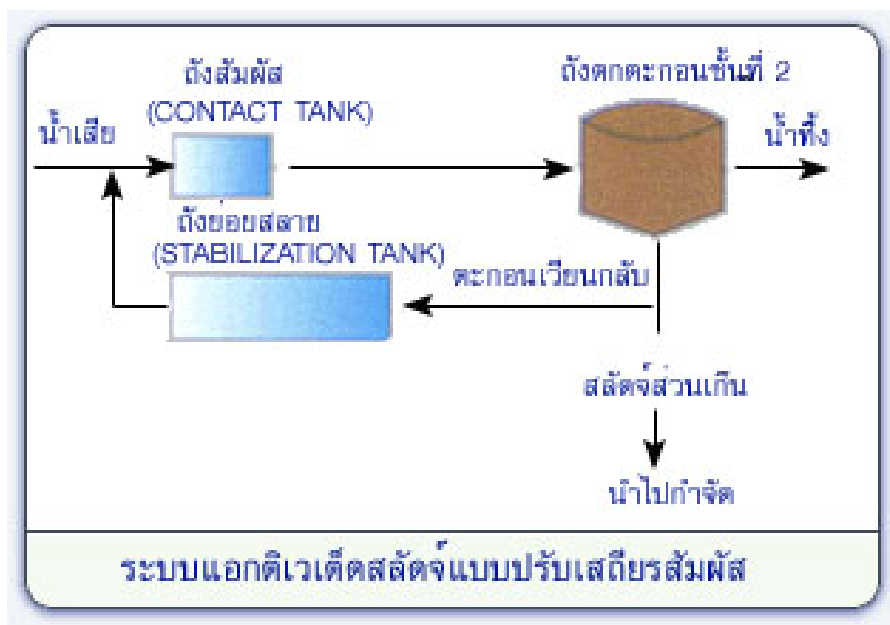
ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบกวนสมบูรณ์ (Completely Mixed Activated Sludge: CMAS) ลักษณะสำคัญของระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบนี้ คือ จะต้องมีการเติมอากาศที่สามารถกวนให้น้ำและสลัดจ์ที่อยู่ในถังผสมเป็นเนื้อเดียวกันตลอดทั่วทั้งถัง ระบบแบบนี้สามารถรับภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Shock Load) ได้ดี เนื่องจากน้ำเสียจะกระจายไปทั่วถึง และสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ในถังเติมอากาศก็มีค่าสม่ำเสมอทำให้จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่มีอยู่มีลักษณะเดียวกันตลอดทั้งถัง (Uniform Population) ดังภาพที่ 27



ภาพที่ 27 ตัวอย่างระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบกวนสมบูรณ์
(Completely Mixed Activated Sludge: CMAS)

ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบปรับเสถียรสัมผัส (Contact Stabilization Activated Sludge; CSAS)

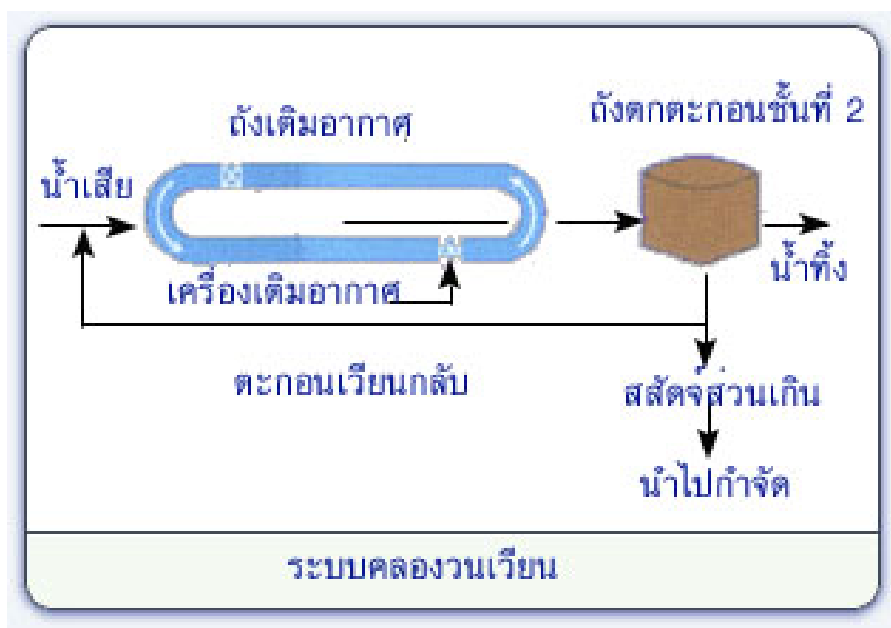
ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบปรับเสถียรสัมผัส (Contact Stabilization Activated Sludge; CSAS) ลักษณะสำคัญของระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบนี้ คือ จะแบ่งถังเติมอากาศออกเป็น 2 ถังอิสระจากกัน ได้แก่ ถังสัมผัส (Contact Tank) และถังย่อยสลาย (Stabilization Tank) โดยตะกอนที่สูบมาจากถังตกตะกอนชั้นสองจะถูกส่งมาเติมอากาศใหม่ในถังย่อยสลาย จากนั้นตะกอนจะถูกส่งมาสัมผัสกับน้ำเสียในถังสัมผัส (Contact Tank) เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ในถังสัมผัสนี้ความเข้มข้นของสลัดจ์จะลดลงตามปริมาณน้ำเสียที่ผสมเข้ามาใหม่ น้ำเสียที่ถูกบำบัดแล้วจะไหลไปยังถังตกตะกอนชั้นที่สองเพื่อแยกตะกอนกับส่วนน้ำใส โดยน้ำใสส่วนบนจะถูกระบายออกจากระบบ และตะกอนที่ก้นถังส่วนหนึ่งจะถูกสูบกลับไปเข้าถังย่อยสลาย และอีกส่วนหนึ่งจะนำไปทิ้ง ทำให้บ่อเติมอากาศมีขนาดเล็กกว่าบ่อเติมอากาศของระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ทั่วไป ดังภาพที่ 28



ภาพที่ 28 ตัวอย่างระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์แบบปรับเสถียรสัมผัส
(Contact Stabilization Activated Sludge; CSAS)

ระบบคลองเวียนวน (Oxidation Ditch; OD)

ระบบคลองเวียนวน (Oxidation Ditch; OD) ลักษณะสำคัญของระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์แบบนี้ คือ รูปแบบของถังเติมอากาศจะมีลักษณะเป็นวงรีหรือวงกลม ทำให้น้ำไหลวนเวียนตามแนวยาว (Plug Flow) ของถังเติมอากาศ และรูปแบบการกวนที่ใช้เครื่องกลเติมอากาศตีน้ำในแนวนอน (Horizontal Surface Aerator) รูปแบบของถังเติมอากาศลักษณะนี้จะทำให้เกิดสถานะที่เรียกว่า แอน็อกซิก (Anoxic Zone) ซึ่งเป็นสถานะที่ไม่มีออกซิเจนละลายในน้ำทำให้นิโตรเจน (N_3O_2) ถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซไนโตรเจน (N_2) โดยแบคทีเรียจำพวกไนโตรฟายอิงแบคทีเรีย (Nitrosomonas Spp. และ Nitrobactor Spp.) ทำให้ระบบสามารถบำบัดไนโตรเจนได้ ดังภาพที่ 29



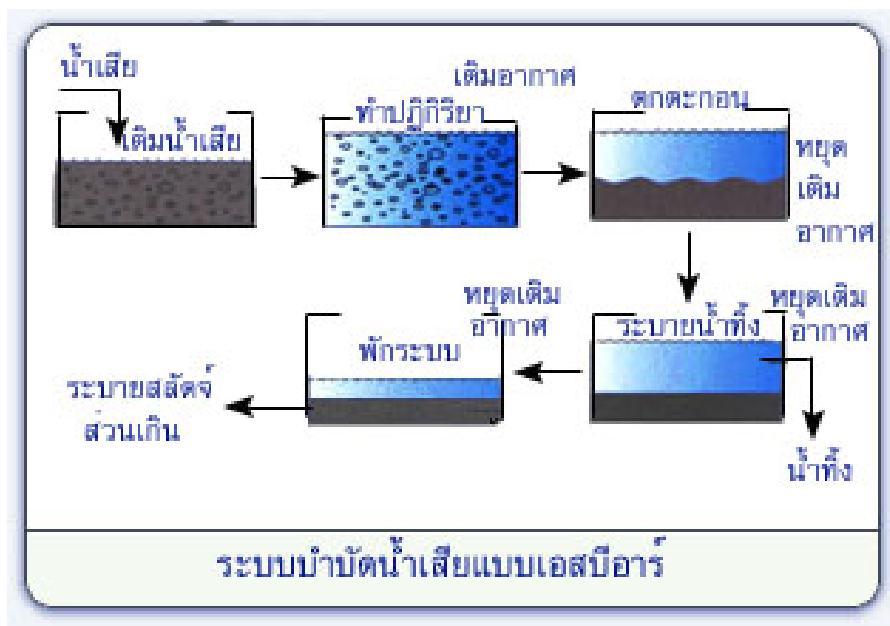
ภาพที่ 29 ตัวอย่างระบบคลองเวียนวน (Oxidation Ditch; OD)

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ (Sequencing Batch Reactor)

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ (Sequencing Batch Reactor) ลักษณะสำคัญของระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์แบบนี้ คือ เป็นระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ประเภทเติมเข้า-ถ่ายออก (Fill-and-Draw Activated Sludge) โดยมีขั้นตอนในการบำบัดน้ำเสียแตกต่างจากระบบตะกอนเร่งแบบอื่น ๆ คือ การเติมอากาศ (Aeration) และการตกตะกอน (Sedimentation) จะดำเนินการเป็นไปตามลำดับภายในถังปฏิกริยาเดียวกัน โดยการเดินระบบระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ 1 รอบการทำงาน (Cycle) จะมี 5 ช่วงตามลำดับดังภาพที่ 30

1. ช่วงเติมน้ำเสีย (Fill) นำน้ำเสียเข้าระบบ
2. ช่วงทำปฏิกิริยา (React) เป็นการลดสารอินทรีย์ในน้ำเสีย (BOD)
3. ช่วงตกตะกอน (Settle) ทำให้ตะกอนจุลินทรีย์ตกลงกันถึงปฏิกิริยา
4. ช่วงระบายน้ำทิ้ง (Draw) ระบายน้ำที่ผ่านการบำบัด
5. ช่วงพักระบบ (Idle) เพื่อซ่อมแซมหรือรอรับน้ำเสียใหม่

โดยการเดินระบบสามารถเปลี่ยนแปลงระยะเวลาในแต่ละช่วงได้ง่ายขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการบำบัด ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความยืดหยุ่นของระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์



ภาพที่ 30 ตัวอย่างระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์ (Sequencing Batch Reactor)

หลักการทำงานของระบบ ระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกติเวเตดสลัดจ์โดยทั่วไปจะประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ ถังเติมอากาศ (Aeration Tank) และถังตกตะกอน (Sedimentation Tank) โดยน้ำเสียจะถูกส่งเข้าถังเติมอากาศ ซึ่งมีสลัดจ์อยู่เป็นจำนวนมากตามที่ยกแบบไว้ สภาพภายในถังเติมอากาศจะมีสภาพที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แบบแอโรบิก จุลินทรีย์เหล่านี้จะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียให้อยู่ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำในที่สุด น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วจะไหลต่อไปยังถังตกตะกอนเพื่อแยกสลัดจ์ออกจากน้ำใส สลัดจ์ที่แยกตัวอยู่ที่ก้นถังตกตะกอนส่วนหนึ่งจะถูกสูบกลับเข้าไปในถังเติมอากาศใหม่เพื่อรักษาความเข้มข้นของสลัดจ์ในถังเติมอากาศให้ได้ตามที่กำหนด และอีกส่วนหนึ่งจะเป็นสลัดจ์ส่วนเกิน (Excess Sludge) ที่ต้องนำไปกำจัดต่อไป สำหรับน้ำใสส่วนบนจะเป็นน้ำทิ้งที่สามารถระบายออกสู่สิ่งแวดล้อมได้

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบคลองวนเวียน (Oxidation Ditch ; OD)

เป็นระบบแอกติเวเตดสลัดจ์ (Activated Sludge) ประเภทหนึ่ง ที่ใช้แบคทีเรียพวกที่ใช้ออกซิเจน (Aerobic Bacteria) เป็นตัวหลักในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย และเจริญเติบโตเพิ่มจำนวน ก่อนที่จะถูกแยกออกจากน้ำทิ้งโดยวิธีการตกตะกอน การเดินระบบบำบัดประเภทนี้จะมีความยุ่งยากซับซ้อน เนื่องจากจำเป็นต้องมีการควบคุมสภาวะแวดล้อมและลักษณะทางกายภาพต่าง ๆ ให้เหมาะสมต่อการทำงานและการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ เพื่อให้ระบบมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงสุด

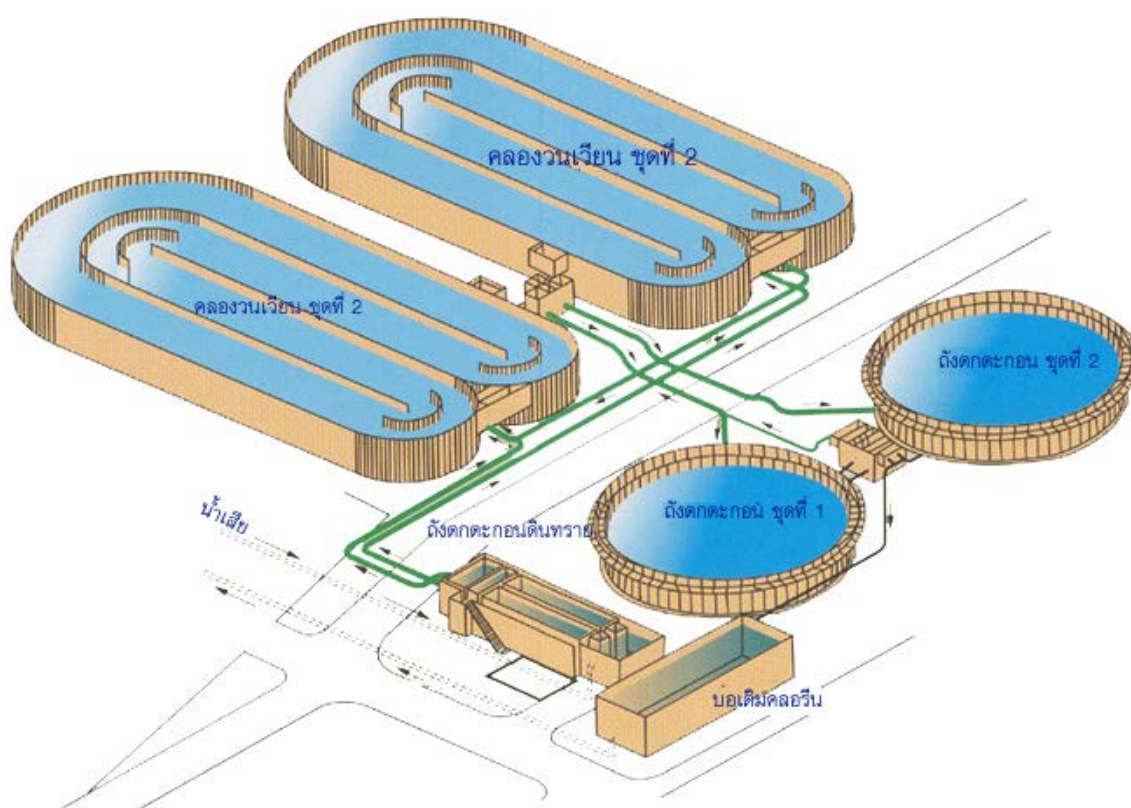
ส่วนประกอบของระบบ

ระบบคลองวนเวียนจะมีลักษณะแตกต่างจากระบบแอกติเวเตดสลัดจ์แบบอื่น คือ ถังเติมอากาศจะมีลักษณะเป็นวงกลมหรือวงรี ทำให้ระบบคลองวนเวียนจึงใช้พื้นที่มากกว่าระบบแอกติเวเตดสลัดจ์แบบอื่น โดยรูปแบบของถังเติมอากาศแบบวงกลมหรือวงรี ทำให้น้ำไหลวนเวียนตามแนวยาว (Plug Flow) ของถังเติมอากาศ และการกวนจะใช้เครื่องกลเติมอากาศ ซึ่งตีน้ำในแนวนอน (Horizontal Surface Aerator) จาก

ลักษณะการไหลแบบตามแนวยาวทำให้สภาวะในถังเติมอากาศแตกต่างกันไปจากระบบแอคติเวเต็ดจ์สลัดจ์แบบ กวนสมบูรณ์ (Completely Mixed Activated Sludge) โดยค่าความเข้มข้นของออกซิเจนละลายน้ำ ในถัง เติมอากาศจะลดลงเรื่อย ๆ ตามความยาวของถัง จนกระทั่งมีค่าเป็นศูนย์ เรียกว่าเขตแอน็อกซิก (Anoxic Zone) ซึ่งจะมีระยะเวลาไม่ช่วงนี้ไม่เกิน 10 นาที การที่ถังเติมอากาศมีสภาวะเช่นนี้ทำให้เกิดไนตริฟิเคชัน (Nitrification) และดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification) ขึ้นในถังเดียวกัน ทำให้ระบบสามารถบำบัดไนโตรเจนได้ ดีขึ้นด้วย ดังภาพที่ 31

ระบบคลองวนเวียนส่วนใหญ่จะประกอบด้วยหน่วยบำบัด ดังนี้

1. รางดักกรวดทราย (Grit Chamber)
2. บ่อปรับสภาพการไหล (Equalizing Tank)
3. บ่อเติมอากาศแบบคลองวนเวียน
4. ถังตกตะกอน (Sedimentation Tank)
5. บ่อสูบตะกอนหมุน



ภาพที่ 31 ตัวอย่างระบบบำบัดน้ำเสียแบบคลองวนเวียน (Oxidation Ditch ; OD)

หลักการทำงานของระบบ การทำงานของระบบคลองวนเวียนจะเหมือนกับระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ โดยทั่วไป คือ อาศัยจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด โดยจุลินทรีย์ที่สำคัญได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา และโปรโตซัว เป็นต้น ซึ่งสภาวะที่ใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จะเป็นสภาวะแอโรบิก โดยจุลินทรีย์จะใช้สารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียเป็นแหล่งอาหารและพลังงาน เพื่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ในระบบ จากนั้นจึงแยกจุลินทรีย์ออกจากน้ำเสียที่ผ่านบำบัดแล้ว โดยวิธีการตกตะกอนในถังตกตะกอน (Sedimentation Tank) เพื่อให้ได้น้ำใส (Supernatant) อยู่ส่วนบนของถังตกตะกอน ซึ่งมีคุณภาพน้ำดีขึ้น และสามารถระบายออกสู่สิ่งแวดล้อมได้

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบแผ่นจานหมุนชีวภาพ (Rotating Biological Contactor; RBC)

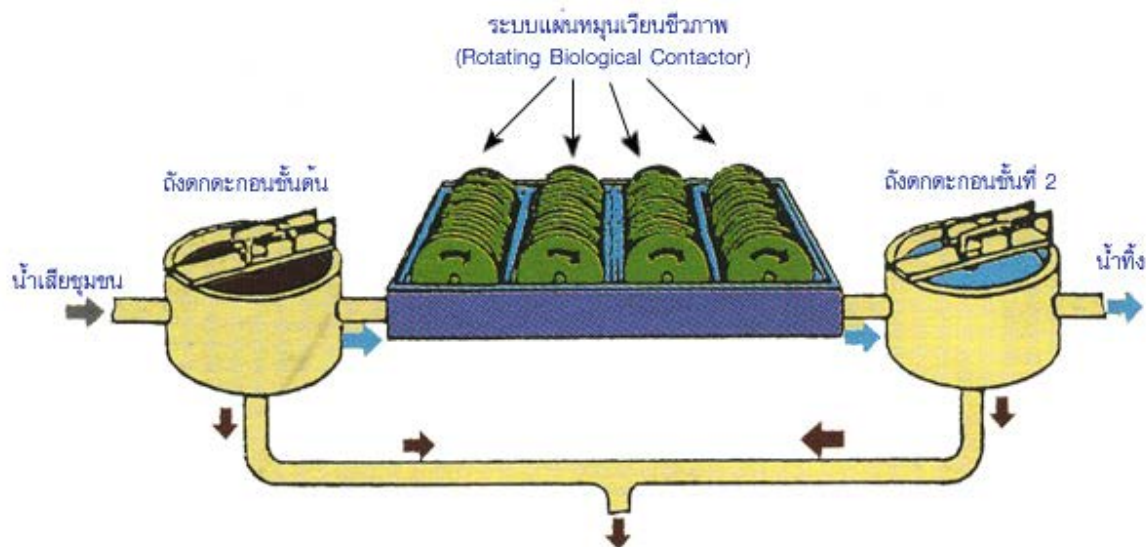
ระบบแผ่นจานหมุนชีวภาพเป็นระบบบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยาให้น้ำเสียไหลผ่านตัวกลางลักษณะทรงกระบอกซึ่งวางจุ่มอยู่ในถังบำบัด ตัวกลางทรงกระบอกนี้จะหมุนอย่างช้า ๆ เมื่อหมุนขึ้นพื้นน้ำและสัมผัสอากาศ จุลินทรีย์ที่อาศัยติดอยู่กับตัวกลางจะใช้ออกซิเจนจากอากาศย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่สัมผัสตัวกลางขึ้นมา และเมื่อหมุนจุ่มลงก็จะนำน้ำเสียขึ้นมาบำบัดใหม่สลับกันเช่นนี้ตลอดเวลา

ส่วนประกอบของระบบ

ระบบแผ่นจานหมุนชีวภาพเป็นระบบบำบัดน้ำเสียอีกรูปแบบหนึ่งของระบบบำบัดขั้นที่สอง (Secondary Treatment) ซึ่งองค์ประกอบหลักของระบบประกอบด้วย 1) ถังตกตะกอนขั้นต้น (Primary Sedimentation Tank) ทำหน้าที่ในการแยกของแข็งที่มากับน้ำเสีย 2) ถังปฏิกรณ์ ทำหน้าที่ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย และ 3) ถังตกตะกอนขั้นที่สอง (Secondary Sedimentation Tank) ทำหน้าที่ในการแยกตะกอนจุลินทรีย์และน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้ว โดยในส่วนของถังปฏิกรณ์ประกอบด้วย แผ่นจานพลาสติกจำนวนมากที่ทำจาก polyethylene (PE) หรือ high density polyethylene (HDPE) วางเรียงขนานซ้อนกัน โดยติดตั้งฉากกับเพลานวนตรงจุดศูนย์กลางแผ่น ซึ่งจุลินทรีย์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจะยึดเกาะติดบนแผ่นจานนี้เป็นแผ่นฟิล์มบางๆ หนาประมาณ 1-4 มิลลิเมตร หรือที่เรียกกระบวนนี้อีกอย่างว่าเป็นระบบ fixed film ทั้งนี้ชุดแผ่นจานหมุนทั้งหมดวางติดตั้งในถังคอนกรีตเสริมเหล็ก ระดับของเพลาคืออยู่เหนือผิวน้ำเล็กน้อย ทำให้พื้นที่ผิวของแผ่นจานจมอยู่ในน้ำประมาณร้อยละ 35-40 ของพื้นที่แผ่นทั้งหมด และในการหมุนของแผ่นจานหมุนชีวภาพอาศัยชุดมอเตอร์ขับเคลื่อนเพลาล้อและเฟืองทดรอบ เพื่อหมุนแผ่นจานในอัตราประมาณ 1-3 รอบต่อนาที ดังภาพที่ 32

ระบบแผ่นหมุนชีวภาพ จะประกอบด้วยหน่วยบำบัด ดังนี้

1. บ่อปรับสภาพการไหล (Equalizing Tank)
2. ถังตกตะกอนขั้นต้น (Primary Sedimentation Tank)
3. ระบบแผ่นหมุนชีวภาพ
4. ถังตกตะกอนขั้นที่ 2 (Secondary Sedimentation Tank) และ
5. บ่อเติมคลอรีน



ภาพที่ 32 ตัวอย่างระบบระบบบำบัดน้ำเสียแบบแผ่นจานหมุนชีวภาพ
(Rotating Biological Contactor; RBC)

หลักการทำงานของระบบ กลไกการทำงานของระบบในการบำบัดน้ำเสียอาศัยจุลินทรีย์แบบใช้ออกซิเจนจำนวนมากที่ยึดเกาะติดบนแผ่นจานหมุนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย โดยการหมุนแผ่นจานผ่านน้ำเสีย ซึ่งเมื่อแผ่นจานหมุนขึ้นมาสัมผัสกับอากาศก็จะพาเอาฟิล์มน้ำเสียขึ้นสู่อากาศด้วย ทำให้จุลินทรีย์ได้รับออกซิเจนจากอากาศ เพื่อใช้ในการย่อยสลายหรือเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์เหล่านั้นให้เป็น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และเซลล์จุลินทรีย์ ต่อจากนั้นแผ่นจานจะหมุนลงไปสัมผัสกับน้ำเสียในถังปฏิกรณ์อีกครั้ง ทำให้ออกซิเจนส่วนที่เหลือผสมกับน้ำเสีย ซึ่งเป็นการเติมออกซิเจนให้กับน้ำเสียอีกส่วนหนึ่ง สลับกันเช่นนี้ตลอดไปเป็นวัฏจักร แต่เมื่อมีจำนวนจุลินทรีย์ยึดเกาะแผ่นจานหมุนหนาเกินไป จะทำให้มีตะกอนจุลินทรีย์บางส่วน หลุดออกจากแผ่นจานเนื่องจากแรงเฉื่อยของการหมุน ซึ่งจะรักษาความหนาของแผ่นฟิล์มให้ค่อนข้างคงที่โดยอัตโนมัติ ทั้งนี้ตะกอนจุลินทรีย์แขวนลอยที่ไหลออกจากถังปฏิกรณ์นี้ จะไหลเข้าสู่ถังตกตะกอนเพื่อแยกตะกอนจุลินทรีย์และน้ำทิ้ง ทำให้น้ำทิ้งที่ออกจากระบบนี้มีคุณภาพดีขึ้น

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียประเภทอื่น ๆ จึงเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยในการบำบัดน้ำเสียได้อีกวิธีหนึ่ง และยังสามารถนำชีวมวลของสาหร่ายที่ได้ไปใช้ประโยชน์ได้

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์

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 และพบว่าปริมาณ 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 SC CO_2 (supercritical carbon dioxide) การสกัดชีวมวล และ การตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะของ monosaccharide ที่เกิดขึ้น พบว่า สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสียที่เลี้ยงในเรือนกระจก (ชุดการทดลองที่ 1) มีประสิทธิภาพการลด COD ได้ 86% และ ฟอสฟอรัส ได้ 91% ในขณะที่สาหร่ายที่เลี้ยงในที่ร่ม (ชุดการทดลองที่ 2) สามารถลด COD ได้ 92% และลด ฟอสฟอรัส ได้ 71% อีกทั้งพบว่าการเลี้ยงสาหร่ายเลี้ยงในเรือนกระจกให้ผลผลิตที่ดีกว่าการเลี้ยงในที่ร่ม ทั้ง ด้านผลผลิตชีวมวล และปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ โดยสาหร่ายที่เลี้ยงในเรือนกระจกสามารถผลิตชีวมวลได้มากที่สุดถึง $10.7 \text{ g VSS/m}^2/\text{day}$ ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้เท่ากับ 142 mg FFA/g ชีวมวล ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในที่ร่มสาหร่ายผลิตชีวมวลได้ $7.1 \text{ g VSS/m}^2/\text{day}$ ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้เท่ากับ 139 mg FFA/g

Kitrungload et al. (2016) ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรที่ผ่านกระบวนการบำบัดแล้วที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 75% ทำการเพาะเลี้ยง ภายใต้แสงไฟฟลูออเรสเซนต์สีขาว ที่อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง มีด 12 ชั่วโมง พบว่า น้ำเสียที่ความเข้มข้น 25% สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดี กว่าที่ 50 และ 75% นอกจากนี้ สาหร่ายยังสามารถลดปริมาณไนเตรทที่หลงเหลือในน้ำเสียที่ความเข้มข้น 25% ได้ดีที่สุดในที่ 53.06% ซึ่งที่น้ำเสียที่ 50 และ 75% สาหร่ายมีการเจริญเติบโตน้อย อาจจะเนื่องมาจากตะกอนจึงทำให้แสงส่องผ่านไปได้ไม่ดี และพบว่า ที่น้ำเสียความเข้มข้น 75% มีการสะสมปริมาณไขมันที่ 22.91% แต่ Sornnery et al. (2018) ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรที่ผ่านกระบวนการบำบัดแล้วและผ่านการกรองที่ความเข้มข้น 25 และ 50% พบว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียความเข้มข้น 50% เจริญเติบโตได้ดีกว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสียที่ความเข้มข้น 25%

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียประเภทอื่น ๆ

Sreesai and Pakpain (2007) ศึกษาสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากบ่ออากาศตะกอนของโรงบำบัดน้ำเสียหนองแขม 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 ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 390 mg/L แต่ที่ความเข้มแสง 8,000 lux ภายใต้หลอด fluorescence สาหร่ายมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 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 ภายในเวลา 4 วัน สาหร่ายสามารถลดปริมาณ TKN, TP,

SS และ COD ได้ 54%, 41% 38% และ 79% ตามลำดับ และทำให้คุณภาพน้ำจากโรงงานอุตสาหกรรมมีค่าไม่เกินค่ามาตรฐานที่รัฐบาลกำหนด (คือ ค่า TKN ไม่เกิน 100 mg/L)

Agwa *et al.* (2012) ศึกษาการเจริญเติบโต และปริมาณไขมันของสาหร่าย *Chlorella sp.* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำที่แตกต่างกัน 5 ชนิด คือ น้ำที่ผสมด้วย มูลแพะ มูลสุกร มูลวัว น้ำหมักจากหญ้า มูลไก่ ในอัตราส่วน 30 g/L อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 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 $15 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ชุดที่ 2 ไม่ให้อากาศ เลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด fluorescent ที่ความเข้มแสง $15 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ และ ชุดที่ 3 ภายใต้แสงจากธรรมชาติให้อากาศโดยการเขย่า 2 ชั่วโมงทุก ๆ 12 ชั่วโมง เลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน พบว่า สาหร่าย *Chlorella sp.* เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในน้ำที่ผสมมูลไก่ที่เลี้ยงภายใต้แสงจากธรรมชาติให้อากาศโดยการเขย่า 2 ชั่วโมงทุก ๆ 12 ชั่วโมง ซึ่งให้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.5 g/L และให้ปริมาณไขมัน 18.32% ต่อน้ำหนักเซลล์เปียก

บทที่ 3

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

แสงมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย การสังเคราะห์ด้วยแสงนั้นส่วนใหญ่ถูกควบคุมโดยกระบวนการที่เรียกว่า photoacclimation หรือ photoadaptation ซึ่งในกระบวนการนี้ทำให้เกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงแบบไดนามิกภายในองค์ประกอบของเซลล์ ร่วมกับการปรับเปลี่ยนคุณสมบัติทางกายภาพ และคุณสมบัติทางสรีรวิทยาเพื่อเพิ่มการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของสาหร่าย สาหร่ายจะมีการสร้างเม็ดสี เช่น chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll c, phycobiliproteins และ carotenoids เพิ่มขึ้น เมื่อลดความเข้มแสงลง ในทางกลับกันที่ความเข้มแสงสูงเม็ดสีที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสง และ chlorophyll a จะลดลงแต่ carotenoids (zeaxanthin, b-carotene และ astaxanthin) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวแทน photoprotective เพิ่มขึ้น แคโรทีนอยด์เหล่านี้จะสะสมอยู่ในโครงสร้างพิเศษ เช่น plastoglobuli ของ plastids หรือ cytoplasmic lipid ซึ่งมีบทบาทในการป้องกันพลังงานแสงส่วนเกินจากการเข้าถึงกลไกการสังเคราะห์ด้วยแสง การสะสม carotenoids อาจเป็นผลมาจากการหมุนเวียนของคาร์บอนและไนโตรเจนภายในเซลล์ภายใต้สภาวะเครียด การให้แสงแบ่งออกเป็น ความยาวคลื่นแสง ความเข้มแสง และช่วงเวลาการได้รับแสง

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 ช่วงความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไขมันและการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* อยู่ในช่วงแสงสีฟ้า (420-450 nm) และแสงสีแดง (660-700 nm) 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 พบว่าที่ความยาวคลื่นแสงสีแดง (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 *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 ชั่วโมง สว่าง : 12 ชั่วโมงมืด ที่ $25.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ พบว่า *C. vulgaris* มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด คือ $135.37 \pm 10.32\%$ เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยง *C. vulgaris* ด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นแสงสีขาว เหลือง ม่วง ฟ้า และ เขียว อีกทั้ง Yan *et al.* (2013) รายงานว่าเมื่อเลี้ยง *C. vulgaris* ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มี high C loading (COD 607.83 ± 5.72 mg/L, TN 52.41 ± 3.58 mg/L, TP 5.16 ± 0.84 mg/L) และในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มี high N

loadings (COD 204.36 ± 6.34 mg/L, TN 151.72 ± 4.81 mg/L, TP 5.24 ± 0.79 mg/L) ภายใต้หลอด LED สีแดง ขาว เหลือง ม่วง ฟ้ำ และ เขียว ที่ความเข้มแสง $2,000 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ โดยการเปรียบเทียบกันระหว่างสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้หลอดที่มีความยาวคลื่นแสงสีแดง ขาว เหลือง ม่วง ฟ้ำ และ เขียว พบว่าได้สาหร่ายคิดเป็นน้ำหนักแห้ง 284.83 ± 18.51 และ 286.63 ± 14.76 mg/L, 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 ตามลำดับ ซึ่งการเลี้ยงภายใต้ความยาวคลื่นแสงสีแดงจะให้ผลผลิตสาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด

ความเข้มแสง

ปริมาณความเข้มแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยความเข้มแสงที่ไม่เพียงพอจะทำให้สาหร่ายสูญเสีย biomass และอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะช้า เพราะสาหร่ายจะใช้คาร์โบไฮเดรตและออกซิเจนในช่วง photorespiration แต่ถ้าปริมาณแสงมากเกินไปจะส่งผลให้สาหร่ายตายและเกิดการฟอกขาว 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 $2.6 \mu\text{g}/\text{day}$ แต่ที่ความเข้มแสงต่ำ ๆ (250-300 แสงเทียน) ทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตเพียง $1.9 \mu\text{g}/\text{day}$ 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 $0.045 \mu\text{g}/\text{h}$ อีกทั้ง Yan *et al.* (2013) ศึกษาอิทธิพลของความเข้มแสงที่ 400, 800, 1200, 1600, 2000 และ $2400 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ภายใต้สภาพการเลี้ยงอื่น ๆ ตามที่กล่าวมาแล้วต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. vulgaris* พบว่า ที่เลี้ยงภายใต้หลอด LED แสงสีแดง ที่ความเข้มแสง $2,000 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีที่สุด 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 $300 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ โดยมี 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด พบว่า สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด คือ $1.26 \mu\text{g}/\text{day}$ เมื่อเลี้ยงที่ความเข้มแสง $200 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$

ช่วงระยะเวลาการได้รับแสง

ช่วงระยะเวลาการได้รับแสงในแต่ละวันส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และ ไขมัน ภายในเซลล์ การให้แสงช่วงเวลาหนึ่งแล้วหยุดการให้แสงจะให้ผลดีกว่าการให้แสงตลอดเวลา ช่วงแสงที่นิยมใช้คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด, 14 ชั่วโมงสว่าง : 10 ชั่วโมงมืด และ 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด จากการศึกษาของ (Khoeyi *et al.*, 2012) ที่ศึกษาการเจริญเติบโต และการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ภายใต้หลอด fluorescent ที่อุณหภูมิ $25.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ที่ความเข้มแสงต่างๆ (37.5, 62.5 และ $100.0 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) และที่ช่วงระยะเวลาการให้แสงต่าง ๆ (8 ชั่วโมงสว่าง : 16 ชั่วโมงมืด, 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด และ 16 ชั่วโมงสว่าง : 8 ชั่วโมงมืด) นาน 10 วัน พบว่า สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่ช่วงระยะเวลาการ

ให้แสง 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 $200 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ที่ช่วงการให้แสงแต่ละวัน คือ 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด เมื่อเลี้ยงนาน 8 วัน

อุณหภูมิ

สาหร่ายไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิภายในเซลล์ได้ อุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญทางด้านสิ่งแวดล้อมที่กำหนดกิจกรรมต่าง ๆ เช่น ความต้องการสารอาหาร การเผาผลาญพลังงานโดยธรรมชาติ อัตราการเกิดปฏิกิริยาในการเผาผลาญพลังงาน อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย และปริมาณชีวมวล โดยทั่วไปอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจะอยู่ระหว่าง $20-24^{\circ}\text{C}$ สาหร่ายส่วนใหญ่จะทนต่ออุณหภูมิในช่วง $16-27^{\circ}\text{C}$ ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 16°C สาหร่ายจะการเจริญเติบโตช้า ซึ่งการลดลงของอุณหภูมิจะทำให้การเจริญเติบโตต่ำกว่าระดับที่เหมาะสม แต่ที่อุณหภูมิต่ำสาหร่ายจะเกิดการสะสมไขมันเพิ่มขึ้นในระบบเมมเบรนสาหร่ายจะเกิดการปรับปรุงเสถียรภาพและของเหลวของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเยื่อหุ้ม thylakoid ซึ่งจะช่วยป้องกันกระบวนการ photosynthetic จาก photoinhibition ที่อุณหภูมิต่ำ และที่อุณหภูมิ 35°C ขึ้นไปสาหร่ายจะเกิดการตาย

Converti *et al.* (2009) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* โดยใช้ fluorescence ที่ระยะเวลา 14 วันเป็นแหล่งกำเนิดแสง ที่ความเข้มแสง $70.0 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 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 และ 30°C และมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงเหลือ $0.12 \pm 0.01 \mu/\text{day}$ ที่อุณหภูมิ 35°C และที่ 38°C สาหร่าย *C. vulgaris* หยุดชะงักการเจริญเติบโตและเริ่มตายโดยสาหร่าย *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 $300 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 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 และมีปริมาณชีวมวลลดลงเหลือ 1.00 g/L ในวันที่ 10 แสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *C. vulgaris* ไม่สามารถทนอุณหภูมิที่ 35°C ได้

แหล่งคาร์บอนจากก๊าซ CO₂

สาหร่ายสามารถจับก๊าซ CO₂ จากแหล่งที่แตกต่างกัน เช่น จากอากาศ โรงงาน และที่อยู่ในรูปคาร์บอนเนตที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น Na₂CO₃ และ NaHCO₃ (Wang *et al.*, 2010) สาหร่ายที่เลี้ยงในระบบปิดและระบบเปิด สาหร่ายจะได้รับ CO₂ จากการเติมอากาศ หรือสัมผัสกับอากาศโดยตรง สาหร่ายจะจับก๊าซ CO₂ ในอากาศ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต แต่มีข้อจำกัดเนื่องจากปริมาณ CO₂ ในอากาศมีเพียง 0.033% (Chelf *et al.*, 1993) ส่วนคาร์บอนจากแหล่งอื่น ๆ ที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ เช่น glucose, acetate, ethanol, alanine aspartame, fructose, galactose, pyruvate และ succinate

Zheng *et al.* (2011) ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งอนินทรีย์คาร์บอน 3 ชนิด ได้แก่ Na₂CO₃, NaHCO₃ และ CO₂ ที่มีผลต่อปริมาณไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* หลังจากเลี้ยง 10 วัน พบว่าสาหร่ายเจริญเติบโตได้ที่มีความเข้มข้น 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 อนินทรีย์คาร์บอนที่ให้จะไม่เพียงพอ ปริมาณไขมันจึงลดลง แต่ที่ความเข้มข้น CO₂ สูง (เช่น ที่ 15% CO₂) จะทำให้ pH ต่ำ ซึ่งจะยับยั้งการผลิตไขมัน 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 โดยใช้น้ำเสียจากฟาร์มสุกรที่มี 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% CO₂ ทำให้สาหร่ายมีค่า น้ำหนักแห้ง ผลผลิตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโต มีค่าเป็น 3.76±0.16 g/L, 1.01±0.11 g/L/day และ 1.20±0.13 day ตามลำดับ นอกจากนี้สาหร่ายยังมีค่าการผลิตไขมัน ปริมาณไขมันภายในเซลล์ และผลผลิตไขมันมีค่าเป็น 150±7 mg/L/day, 40±1% และ 1.50±0.12 g/L ตามลำดับ แต่ใน

สภาพการเลี้ยงที่ให้อากาศปกติ (คือ มี 0.03% CO₂) ที่ 25°C ภายใต้สภาพการทดลองเดียวกัน พบว่าสาหร่ายมีน้ำหนักแห้ง 2.71 g/L ซึ่งมีน้ำหนักแห้งน้อยกว่าในกรณีที่เลี้ยงโดยเติมอากาศที่มี 5% CO₂

แต่การเลี้ยงสาหร่ายโดยเติมอากาศที่มี 15% CO₂ ภายใต้สภาพการทดลองเดียวกัน พบว่า สาหร่ายที่ได้มีปริมาณน้ำหนักแห้ง ผลผลิตต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตมีค่าเป็น 0.65 g/L, 0.15±0.02 mg/L/day และ 0.25±0.03 day ซึ่งลดลงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงโดยการเติมอากาศที่มี 0.03, 1, 5 และ 10 % CO₂ เนื่องจาก pH ลดลงซึ่งส่งผลให้สร้างเอนไซม์ลดลง ซึ่งทั้ง ribulose 1,5-bisphosphate และ carboxylase-oxygenase เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง จึงไปยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย อีกทั้งพบว่าเมื่อเลี้ยงโดยให้อากาศที่มี 5% CO₂ อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm ที่ 25°C ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 300 µmol/m²/s ช่วงเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงสว่าง : 12 ชั่วโมงมืด นาน 10 วัน ทำให้ได้สาหร่ายที่มีค่าน้ำหนักแห้ง ผลผลิตต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตมีค่าเป็น 3.83±0.20 g/L, 1.07±0.11 g/L/day และ 1.22±0.12 day ตามลำดับ และสาหร่ายมีค่าการผลิตไขมัน ปริมาณไขมันภายในเซลล์ และผลผลิตไขมัน มีค่าเป็น 157±9 mg/L/day, 41±2% และ 1.57±0.12 g/L ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าการให้อากาศที่มี 5% CO₂ และอัตราการให้อากาศ 0.5 vvm ทำให้สาหร่ายมี น้ำหนักแห้ง อัตราการเจริญเติบโต ค่าการผลิตไขมัน ปริมาณไขมันภายในเซลล์ และ ผลผลิตไขมันดีกว่าการให้อากาศที่มี 5% CO₂ เพียงอย่างเดียว

Lam and Lee (2013) ศึกษาผลของความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน 2 ชนิด คือ CO₂ และ NaHCO₃ ต่อการเจริญเติบโต และปริมาณไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เลี้ยงใน column type photobioreactor ขนาด 5 L ที่ 25–28°C ภายใต้แสง fluorescent ที่ความเข้มแสง 60–70 µmol/m²/s ให้แสงสว่างตลอด 24 ชั่วโมง เลี้ยงเป็นเวลา 16 วัน โดย CO₂ ศึกษาที่ความเข้มข้น 0.03, 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0% ส่วน NaHCO₃ ศึกษาโดยแบ่งเป็น 2 การทดลองย่อย ดังนี้ การทดลองย่อยที่ 1 ทดสอบโดยให้ NaHCO₃ ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 และ 0.3 g ของ CO₂/L แล้วปรับ pH เริ่มต้นให้เป็น pH 4 เลี้ยงเป็นเวลา 16 วัน ส่วนการทดลองย่อยที่ 2 ทดสอบโดยให้ NaHCO₃ ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.1, 0.2 และ 0.3 g ของ CO₂/L แล้วปรับ pH เริ่มต้นให้เป็น pH 8.5 เลี้ยงเป็นเวลา 16 วัน พบว่า การเลี้ยงสาหร่ายโดยให้ 5% CO₂ ให้ผลดีกว่าการให้ NaHCO₃ โดยชุดการทดลองที่ให้ 5% CO₂ ทำให้สาหร่ายมีไขมันในเซลล์ 18.7% และมีน้ำหนักแห้ง 72.66 mg/L/day ส่วนการทดลองที่ให้ NaHCO₃ ชุดการทดลองย่อยที่ 1 คือ ที่ให้ NaHCO₃ ที่ความเข้มข้น 0.3 g พบว่า สาหร่ายมีไขมันในเซลล์ 13.1% และมีน้ำหนักแห้ง 14.06 mg/L/day และชุดการทดลองย่อยที่ 2 ที่ให้ NaHCO₃ ที่ความเข้มข้น 0.3 g พบว่า สาหร่ายมีน้ำหนักแห้ง 2.75 mg/L/day อีกทั้ง Lam and Lee (2013) กล่าวว่า การให้ CO₂ ในปริมาณที่มากเกินไป เช่น 12-15% จะมีผลต่อการกำจัด CO₂ เนื่องจากสถานะที่มี CO₂ สูงจะทำให้อาหารเกิดสภาพกรด และทำให้สาหร่ายตาย เมื่อปล่อยสู่แหล่งน้ำทำให้ CO₂ ที่เหลืออยู่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำได้

ส่วน Zheng et al. (2011) ศึกษาผลของความเข้มข้นของแหล่งอนินทรีย์คาร์บอน 3 ชนิด ได้แก่ Na₂CO₃, NaHCO₃ และ CO₂ ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ที่เวลา 10 วัน พบว่าเมื่อให้ 6% CO₂ ในการเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* ได้น้ำหนักแห้งเป็น 2.42 g/L และปริมาณไขมัน 0.72 g/L ซึ่งทำให้ได้สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้ง และปริมาณไขมันดีกว่าการเลี้ยงที่ให้ Na₂CO₃ และ NaHCO₃ 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 CO₂ ที่ความเข้มข้นสูง (อย่างน้อย 6%) จะทำให้ pH ต่ำ ส่งผลให้ยับยั้งการผลิตไขมัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Anjos et al. (2012) ที่ศึกษาความเข้มข้นของ CO₂ 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 CO₂ ที่ทดสอบ แต่สภาพการทดลองที่ให้ผลการเจริญเติบโตดีที่สุดที่สุด 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% CO₂

นอกจากนี้ Rendón et al. (2013) ศึกษาความเข้มข้นของ CO₂ 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 CO₂ ที่ความเข้มข้น 8.5% ภายใต้แสง LED สีขาว ทำให้ได้สาหร่าย *C. vulgaris* UTEX 26 ที่เจริญเติบโตดีที่สุดที่สุด คือ มีปริมาณน้ำหนักแห้ง 1.592 ± 0.021 g/L

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* มีปริมาณน้ำหนักแห้ง 2.24 ± 0.26 g/L และปริมาณไขมัน $17.74 \pm 0.43\%$ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Cheirsilp and Torpee (2012) ที่ศึกษาความเข้มแสง 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

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 $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 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

แหล่งไนโตรเจน

ไนโตรเจนคิดเป็นน้ำหนักรวม 7-10% ของน้ำหนักรวมเซลล์แห้ง Ammonia, nitrate, nitrite และ urea เป็นแหล่งไนโตรเจนที่สาหร่ายสามารถนำมาใช้ในการเจริญเติบโต หากปริมาณไนโตรเจนมีจำกัดจะทำให้สาหร่ายไม่สามารถสังเคราะห์สารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และคลอโรฟิลล์ได้ ซึ่งสารเหล่านี้มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์ และปริมาณไนโตรเจนภายในเซลล์สาหร่ายและมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย แม้ว่าปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่อย่างจำกัดจะมีผลให้สาหร่ายหยุดการเจริญเติบโต แต่สาหร่ายยังคงสังเคราะห์แสงอยู่ตลอดเวลา สาหร่ายได้รับพลังงานจากคาร์บอนร่วมกับการสังเคราะห์แสง และเปลี่ยนจากการสังเคราะห์โปรตีนไปเป็นการสร้างไขมัน และคาร์โบไฮเดรตแทน (Wang *et al.*, 2008)

Przytocka-Jusiak *et al.* (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 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 ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$), ammonium sulfate ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), ammonium nitrate (NH_4NO_3), peptone และ beef extract เมื่อแต่ละแหล่งไนโตรเจนใช้ที่ความเข้มข้นเท่ากัน คือ 0.5 g/L พบว่า สาหร่ายสามารถใช้ไนโตรเจนทั้ง 6 ชนิด เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ โดย potassium nitrate จะให้ผลดีที่สุด ทั้งด้านปริมาณน้ำหนักรวมแห้ง (3.43 ± 0.15 g/L) อัตราการเจริญเติบโต (0.87 ± 0.04 $\mu\text{g/day}$) และผลผลิตไขมันของสาหร่าย *C. vulgaris* (47.10 ± 3.55 mg/L/day) แต่ให้ปริมาณไขมันในสาหร่ายเท่ากับ $8.23\pm0.35\%$ ซึ่งน้อยกว่าการใช้ peptone (ที่มีค่าเป็น $11.33\pm1.00\%$) อีกทั้งพบว่า

การใช้ ammonium sulfate, ammonium nitrate, peptone และ beef extract เป็นแหล่งไนโตรเจน ทำให้ 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 μ /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 μ /day และไขมัน $6.10 \pm 0.76\%$

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 เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.98 g/L

แหล่งฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่สาหร่ายทุกชนิดจำเป็นต้องใช้ในการเจริญเติบโต และมีความสำคัญต่อกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น การสังเคราะห์ nucleic acids และการถ่ายเทพลังงานภายในเซลล์ ฟอสฟอรัสมีปริมาณจำกัดในแหล่งน้ำธรรมชาติ ฟอสฟอรัสในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของ orthophosphate และรวมอยู่ในสารอินทรีย์อื่น ๆ สาหร่ายสามารถใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่แตกต่างกัน เช่น ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์ ฟอสเฟต และฟอสฟอรัสที่เป็นสารประกอบ ซึ่งฟอสฟอรัสจะถูก hydrolyzed โดย extracellular phosphatases นอกจากนี้สาหร่ายยังสามารถใช้ฟอสฟอรัสในรูปของอนินทรีย์ฟอสเฟต คือ H₂PO₄⁻ หรือ HPO₄²⁻ ความเข้มข้นที่ดีที่สุดของฟอสฟอรัสในอาหารเมื่อพิจารณาจากการที่สาหร่ายสามารถทนได้และเจริญเติบโตได้ คือที่ 50 μ g/L-20 mg/L 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 $\pm$ 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 ($N=0$ และ $P=0$), 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) แต่มีน้ำหนักแห้งสูงกว่ากลุ่มไม่มีไนโตรเจนและมีฟอสฟอรัสในปริมาณที่จำกัด (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% ซึ่งมีความมากกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ระดับความเข้มข้นอื่นที่ทดสอบ (16, 80, 160 และ 240 μM)

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 Wang *et al.* (2010) พบว่าเมื่อใช้น้ำเสียจากบ่อหมักก๊าซชีวภาพ 50% ผสมกับอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่าย *C. vulgaris* เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและปริมาณไขมัน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดสอบ 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

เอกสารอ้างอิง

- ณัฐกร นวรัตน์. (2016). การศึกษาคณิตศาสตร์สำหรับการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของไก่เนื้อโคราช, น. 1-6. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยศิลปากร ครั้งที่ 5 (สาขาคณิตศาสตร์). มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. (2543). **คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน**. พิมพ์ครั้งที่3 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พงษ์พิไท กิจรุ่งโรจน์พร. 2560. การเจริญเติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกร. Retrived May 5, 2020, from <http://ithesis-ir.su.ac.th/dspace/bitstream/123456789/1539/1/56311307.pdf>.
- บริษัท เอ็นแคร์ อินโนเวชั่น จำกัด. (2563). **ระบบบำบัดน้ำเสีย**. สืบค้น 11 พฤษภาคม 2563, จาก <https://www.xn--l3ckbaaa2db3etcpke7b7kwfqcg.net/>.
- สุรีย์ บุญยวนพงค์ และ ณิชฐพงศ์ วรณวิจิตร. (2551). **คู่มือการกำจัดน้ำเสีย**. สืบค้น 11 พฤษภาคม 2563, จาก <http://www.sri.cmu.ac.th/~srilocal/water/mainpage.htm>.
- สำนักเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมโรงงาน กรมโรงงานอุตสาหกรรม. (2541). **คู่มือการจัดการสิ่งแวดล้อมสำหรับโรงงานฆ่าสุกร** (สำนักเลขาธิการคณะรัฐมนตรี Ed.). กรุงเทพฯ.
- 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.
- 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.
- Baker, B. R., Mohamed, R., Al-Gheethi A., & Aziz Hamidi A. (2020). Advanced technologies for poultry slaughterhouse wastewater treatment: A systematic review. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 1-20. doi: 10.1080/01932691.2020.1721007.
- Becker, E. W. (1994). *Microalgae: biotechnology and microbiology*. the Press Syndicate of the University of Cambridge: Great Britain at the University Press, Cambridge.
- Belcher, H., & Swale, E. (1976). *A Beginner' s Guide to Freshwater Algae*. Her Majesty's Stationery office, London.
- 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 *Microactinium Pusillum* Fresenius in The Presence of Acetate and Glucose: Effect of Light and Acetate Gradient Concentration. *Water Research*, 38, 2706-2712.
- Branyikova, I., Prochazkova, G., Potocar, T., Jezkova, Z., & Branyik, T. (2018). Harvesting of Microalgae by Flocculation. *Fermentation*, 4(93), 1-12.
- Blair, M.F., Kokabian, B., & Gude, V.G. (2014). Light and Growth Medium Effect on *Chlorella Vulgaris* Biomass Production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2, 665-674.
- Chelf, P., Brown, L. M., & Wyman, C. E. (1993). Aquatic biomass resources and carbon dioxide trapping. *Biomass Bioenergy*, 4(3), 175-183.
- 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.
- 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.
- 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.
- Frost, P., Schindler, D., Porter-Goff, E., & Middleton, C. (2012). The Algae of The Kawartha Lakes. Kawartha Lake Stewards Association, Canada.
- 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.
- 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.
- Hossain, S., Salleh, A., Boyce, A. N., Chowdhury, P., & Naqiuddin, M. (2008). Biodiesel fuel production from algae as renewable energy. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4(3), 250-254.
- Hu, Q. (2004). Environmental Effects on Cell Composition. In A. Richmond (Ed.), *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology* (pp. 83-115).
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., and 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.
- Iyovo, 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.
- Jeong, H., Lee, J., & Cha, M. (2013). Energy efficient growth control of microalgae using photobiological methods. *Renewable Energy*, 54, 161-165.
- Khoeyi, Z. A., Seyfabadi, J., & Ramezanpour, 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, 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.
- Kitrungloadjanaporn, P., Sripongpun, G., & Triampo, W. (2017). Nutrient removal from the effluent of swine slaughterhouse wastewater by *Chlorella vulgaris* TISTR 8580. *Int'l Journal of Advances in Agricultural & Environmental Engineering*, 4, 28-32.
- 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.

- 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.
- Lavens, P., & Sorgeloos, P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture. Food and Agriculture Organization (FAO), Italy.
- 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, 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.
- 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.
- 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.
- 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 (Imbrs). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 174, 1631-1650.
- Maroneze, M.M., Barin, J.S., Menezes, C.R.D., Queiroz, M.I., Zepka, L.Q., & Lopes, E.J. (2014). Treatment of cattle-slaughterhouse wastewater and the reuse of sludge for biodiesel production by microalgal heterotrophic bioreactors. *Scientia Agricola*, 71, 521-524.
- 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.
- 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).
- 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.
- Matter, I.A., Bui, V.K.H., Jung, M., Yoon Seo, J., Kim, Y.E., Lee, Y.C., & Oh, Y.K. (2019). Flocculation Harvesting Techniques for Microalgae: A Review. *Applied sciences*, 9, 1-27.

- 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.
- Muylaert, K., Bastiaens, L., Vandamme, D., & Gouveia, L. (2017). Harvesting of microalgae: Overview of process options and their strengths and drawbacks. In L.K. Mariana (Ed.), *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*. (pp. 113-132).
- Patil, V., Tran, K.Q., & Giselrød, H.R. (2008). Towards Sustainable Production of Biofuels from Microalgae. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 1188-1195.
- Pires, J.C.M. (2015). Mass Production of Microalgae. In Se-Kwon (Ed.), *Handbook of Marine Microalgae* (pp. 55-68).
- 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.
- 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.
- 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.
- Sreesai, S., & Pakpain, P. (2007). Nutrient recycling by *Chlorella vulgaris* from septage effluent of the Bangkok city, Thailand. *ScienceAsia*, 33, 293-299.
- 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 mixed culture of *Chlorella sp.* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 87, 601-607.
- Singh, P., Gupta, S.K., Guldhe, A., Rawat, I., & Bux, F. (2015). Microalgae Isolation and Basic Culturing Techniques. In Se-Kwon (Ed.), *Handbook of Marine Microalgae* (pp. 43-54).
- Sorokin, C., & Krauss, R. W. (1958). The effects of light intensity on the growth rates of green algae. *Plant Physiology*, 33(2), 109-113.

- Sornnery, A., Pimpunchat, B., Tuntiwaraikul, D., Kitrunloadjanaporn, P., Amornsamankul, S., & Triampo, W. (2018). Using ANOVA to evaluate the effects of swine slaughterhouse wastewater conditions on algae growth. *International Journal of Simulation: Systems, Science and Technology*, 19, 14.1-14.8.
- 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.
- Tilley, E., Ulrich, L., Luethi, C., Raymond, P., & Zurbrugg, C. (2014). Compendium of Sanitation Systems and Technologies. 2nd Revised Edition. Duebendorf, Switzerland: Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology (Eawag). Retrieved from http://archive.sswm.info/sites/default/files/reference_attachments/TILLEY%20et%20al%202014%20Compendium%20of%20Sanitation%20Systems%20and%20Technologies%20-%202nd%20Revised%20Edition.pdf
- 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.
- Venkatesan, J., Manivasagan, P., & Kim, S.K. (2015). Marine Microalgae Biotechnology: Present Trends and Future Advances. In Se-Kwon (Ed.), *Handbook of Marine Microalgae* (pp. 1-9).
- 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.
- 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 intensities 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 Cyclicalight-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.
- 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.