19 เม.ย. 2545



การใช้สาหร่าย *Spirulina* บำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร

สุธิดา ชื่นเจริญ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2544

ISBN 974-04-1171-1

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยมหิดล

วพ
ส785ก
2544
ฉ.1

Copyright by Mahidol University

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การใช้สาหร่าย *Spirulina* บำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร

.....

นางสาวสุธิดา ชื่นเจริญ

ผู้วิจัย

.....

ผศ. อุษณีย์ อุยะเสถียร

วศ.ม.

ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....

อ. ณัฐภาส ผู้พัฒน์

วท.ม.

กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....

ศาสตราจารย์เลียงชัย ลิ้มล้อมวงศ์

Ph.D.

คณบดี

บัณฑิตวิทยาลัย

.....

ผศ. เรวดี โรจนกนันท์

วท.ม.

ประธานคณะกรรมการประจำหลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม

คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์

Copyright by Mahidol University

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การใช้สาหร่าย *Spirulina* บำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม

วันที่ 24 มกราคม พ.ศ. 2545

.....

นางสาวสุธิดา ชื่นเจริญ

ผู้วิจัย

.....

ผศ. อุษณีย์ อุยะเสถียร วศ.ม.

ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....

อ. ณัฐภาส ผู้พัฒน์ วท.ม.

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....

รศ. เปรมจิตต์ แทนสถิตย์ M.Sc.

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....

ศาสตราจารย์เลียงชัย ลิ้มล้อมวงศ์ Ph.D.

คณบดี

บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยมหิดล

.....

รองศาสตราจารย์อนุชาติ พวงสำลี Ph.D.

คณบดี

คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล

Copyright by Mahidol University

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของผศ.อุษณีย์ อุยะเสถียร ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา เสนอข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดการศึกษาวิจัย ทั้งยังวางรากฐานแนวคิดการทำวิทยานิพนธ์ และดูแลเอาใจใส่ชี้จุดบกพร่องในรายละเอียดต่างๆ ของวิทยานิพนธ์อย่างดียิ่ง ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ณัฐภาส ผู้พัฒน์ กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ที่กรุณาแนะนำให้ความรู้เรื่องการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ทั้งภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติ และเสนอแนะแนวทางแก้ไขปัญหาที่เกิดระหว่างการทดลองโดยตลอด ทั้งนี้ขอขอบพระคุณสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์เป็นอย่างยิ่งที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสาหร่าย รวมทั้งหัวเชื้อสาหร่าย *Spirulina* ตลอดจนอุปกรณ์ น้ำ ไฟ และสารเคมีที่ใช้ตลอดการทดลอง ขอกราบขอบพระคุณ รศ. เปรมจิตต์ แทนสถิตย์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณผู้จัดการและเจ้าหน้าที่ฟาร์มบุญมี อ. ปากท่อ จ. ราชบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อนำมาทดลอง ตลอดจนเจ้าหน้าที่ของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือติดตั้งอุปกรณ์การเพาะเลี้ยงสาหร่าย การเตรียมน้ำเลี้ยงสาหร่าย และช่วยเหลือผู้วิจัยตลอดการทดลองอย่างดียิ่ง

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อทองอยู่และคุณแม่วิมล ที่คอยดูแล ให้กำลังใจและสนับสนุนทุนการศึกษาจนผู้วิจัยสำเร็จการศึกษา ขอบคุณคุณพงศ์ธร น้องชายที่คอยห่วงใยถามไถ่ความก้าวหน้าและเร่งรัดประเมินผลงาน รวมทั้งคุณพรสวัสดิ์ ศรีสวัสดิ์, คุณสมรศรี กันภัย และเพื่อน ๆ ET. 24 ที่ให้กำลังใจ แนะนำในหลายๆ เรื่อง และขอขอบคุณคุณสาคร ศรีรัตนศักดิ์ ผู้เป็นกำลังใจ ดูแลเอาใจใส่ รับฟังปัญหา ช่วยเหลือทุกๆ เรื่องและอยู่เคียงข้างเสมอมา รวมทั้งสนับสนุนทุนในการซื้ออุปกรณ์ที่ใช้ทดลอง และที่สำคัญ คือ คอมพิวเตอร์ที่ใช้พิมพ์วิทยานิพนธ์เล่มนี้จนจบได้ด้วยดี

สุธิดา ชื่นเจริญ

Copyright by Mahidol University

4036833 ENTM/M : สาขาวิชา : เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม ;
วท.ม. (เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม)
คำสำคัญ : การบำบัดน้ำเสีย / น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร / สาหร่าย *Spirulina*

สุธิดา ชื่นเจริญ : การใช้สาหร่าย *Spirulina* บำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร (UTILIZATION OF *Spirulina* IN TREATMENT OF EFFLUENT FROM SWINE MANURE FERMENTATION) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : อุษณีย์ อุยะเสถียร, วศ.ม. , ณัฐภาส ผู้พัฒน์, วท.ม. 144 หน้า. ISBN 974-04-1171-1

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการบำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร โดยใช้สาหร่าย *Spirulina* และดำเนินการทดลองในห้องปฏิบัติการ แบ่งการศึกษาเป็น 2 ตอน คือ ตอนที่1ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่มีความแตกต่างของปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย ได้แก่ ความเข้มข้นของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ส่วนผสมของอากาศที่ให้ และปริมาณสารเคมีที่เติมในน้ำเสีย ได้แก่ $NaHCO_3$ NaCl และ K_2SO_4 โดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายในหลอดทดลองขนาด 200 มิลลิลิตร ในตู้เลี้ยงสาหร่ายแบบควบคุมอุณหภูมิและความเข้มแสง วัดการเจริญของสาหร่ายทุก 2 วัน และคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ และตอนที่ 2 ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย และประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของสาหร่าย โดยทดลองเลี้ยงสาหร่ายในโหลแก้ว ความจุ 2,500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ความเข้มแสงประมาณ 5,000 - 6,000 ลักซ์ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วัดการเจริญของสาหร่ายและศึกษาคุณภาพน้ำทุก 2 วัน ระยะเวลา 14 วัน

ผลการศึกษาพบว่าการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) ในน้ำเสีย สาหร่ายสามารถเจริญได้ดีกว่าสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) (*Spirulina* (Sp6) ตายหมดในวันที่ 8 ของการทดลอง) โดยสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) มีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 208.4 -214.5 มก./ล. เป็น 867.3 -1,105.3 มก./ล.ในวันที่ 14 และมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดระหว่าง 0.71 -0.82 ต่อวัน แต่เจริญได้ต่ำกว่าที่เลี้ยงในอาหาร Zarrouk 25% สำหรับประสิทธิภาพของสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) ในการลดค่าแอมโมเนีย -ไนโตรเจน ในวันที่ 8 มีค่าเฉลี่ยสูงสุด 99.16 % ประสิทธิภาพในการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมด ในวันที่ 14 มีค่าเฉลี่ยสูงสุด 88.65% สำหรับค่าไนเตรท-ไนโตรเจนลดลงช่วง 2 วันแรก โดยมีประสิทธิภาพเฉลี่ย 44.18% จากนั้นประสิทธิภาพการลดค่าไนเตรท-ไนโตรเจนลดลงตั้งแต่วันที่ 4 ถึงวันที่ 10 และประสิทธิภาพการลดค่าไนเตรท-ไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้นช่วงวันที่ 12 ถึงวันที่ 14 มีค่าเฉลี่ย 88.06% ส่วนค่าซีโอดี พบว่าการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) ไม่ได้ช่วยลดค่าซีโอดี และยังเพิ่มค่าซีโอดีประมาณ 10-20% โดยโหลควบคุมมีประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดี 44.79% จากการทดลองในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* สามารถลดปริมาณธาตุอาหารในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร โดยเฉพาะแอมโมเนีย-ไนโตรเจน, ไนเตรท -ไนโตรเจนและฟอสเฟตได้

Copyright by Mahidol University

4036833 ENTM/M : MAJOR : TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT;
M.Sc. (TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT)
KEY WORDS : WASTEWATER TREATMENT / EFFLUENT FROM SWINE MANURE FERMENTATION / *Spirulina.*

SUTHIDA CHUENCHAROEN : UTILIZATION OF *Spirulina* IN TREATMENT OF EFFLUENT FROM SWINE MANURE FERMENTATION. THESIS ADVISORS : USANEE UYASATIAN, M.Eng. , NATAPAS PHOOPAT, M.Sc. 144 p. ISBN 974-04-1171-1

The objective of this study is to investigate the treatment of the effluent from swine manure fermentation by *Spirulina*. This laboratory scale experiment was divided into two parts. The first part of the experiment was conducted to determine the suitable conditions for cultivating *Spirulina* (Sp5 and Sp6) in fermented swine manure (FSM), especially algal growth factors such as concentration of FSM, proportion of air bubbling, and amounts of minerals to add for promoting growth ($NaHCO_3$, NaCl and K_2SO_4). Algae were cultivated in 200 ml. tubes, which were set in a chamber to control temperature and light intensity. Algal growth was measured every 2 days and appropriate conditions were selected for each strain of *Spirulina*. The second part of the experiment was set in 2,500 ml. glass bottles, with the conditions of room temperature and light intensity of 5,000-6,000 luxes. The experiment was duplicated for each strain in order to determine the growth rate of *Spirulina* and study the changes of wastewater qualities every 2 days for 14 days.

The results showed that *Spirulina*(Sp5) could grow better than *Spirulina*(Sp6), which almost died in 8 days. During 14 days of cultivation in 25% FSM, the dry weight of *Spirulina*(Sp5) increased from the initial weight of 208.4 mg/l – 214.5 mg/l to 867.3 – 1,105.3 mg/l on the last day and the highest specific growth rate was between 0.71 – 0.82 per day which was lower than cultivation in 25%Zarrouk. Furthermore, *Spirulina*(Sp5) gave the highest NH_3 –N reduction efficiency on the 8^{th} day at 99.16% and the highest PO_4^{3-} reduction efficiency on the 14^{th} day at 88.65%. For NO_3^--N, reduction efficiency on the 2^{nd} day was 44.18%, then the efficiency decreased from the 4^{th} to the 10^{th} day. From the 12^{th} day to the 14^{th} day the efficiency increased to 88.06%. *Spirulina*(Sp5) did not remove COD but increased COD by 10-20%, while the control had 44.79% COD removal. It is suggested that *Spirulina*(Sp5) could reduce the nutrients in FSM, especially ammonia-nitrogen, nitrate-nitrogen, and phosphate.

Copyright by Mahidol University

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญรูป ..... ฐ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 กรอบแนวคิดการวิจัย 3

1.3 วัตถุประสงค์ 5

1.4 สมมติฐานการวิจัย 5

1.5 ขอบเขตการวิจัย 5

1.6 ตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย 7

1.7 คำจำกัดความ 7

1.8 ผลที่คาดว่าจะได้รับ 8

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปัญหาที่เกิดขึ้นจากฟาร์มสุกร 9

2.2 ของเสียจากฟาร์มสุกร 10

2.2.1 การจัดการของเสียและน้ำเสียจากฟาร์มสุกร 10

2.3 ระบบก๊าซชีวภาพ 18

2.3.1 ความหมายของก๊าซชีวภาพ 18

2.3.2 การส่งเสริมการผลิตก๊าซชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ 18

Copyright by Mahidol University

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3.3 หลักการทำงานของระบบก๊าซชีวภาพ 20
2.3.4 กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศ และการเกิดก๊าซชีวภาพ 21
2.3.5 ประโยชน์ทางด้านการปรับปรุงสภาพแวดล้อม 23
2.4 สาหร่าย *Spirulina* 24
2.4.1 การจัดจำแนก 24
2.4.2 ลักษณะจำเพาะ 25
2.4.3 คุณสมบัติและโครงสร้างพิเศษของสาหร่าย *Spirulina* 26
2.4.4 การเจริญเติบโตของสาหร่าย 27
2.4.5 แหล่งอาศัย 30
2.4.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย 31
2.4.7 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Spirulina* 38
2.5 การศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 42
2.5.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* 42
2.5.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดอื่นๆ 46

บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย 48
3.2 สถานที่ทำการทดลอง 50
3.3 ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย 50
3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา 50

Copyright by Mahidol University

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 52
3.6 พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งและวิธีวิเคราะห์ 52
3.7 การเตรียมการทดลองเบื้องต้น 52
3.8 วิธีการทดลอง 54
3.9 วิธีการเก็บข้อมูล 56
3.10 การวิเคราะห์ผลการทดลอง 58
3.11 สถิติที่ใช้ 59

บทที่ 4. ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ข้อมูลเบื้องต้น 60
4.2 ตอนที่ 1 : ศึกษาปัจจัยเบื้องต้นที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina* 65
4.2.1 การทดลองหาความเข้มข้นของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เหมาะสม 65
4.2.2 การทดลองหาปริมาณ $NaHCO_3$ ที่เหมาะสม 70
4.2.3 การทดลองหาปริมาณ NaCl ที่เหมาะสม 73
4.2.4 ทดลองหาปริมาณ K_2SO_4 ที่เหมาะสม 77
4.3 ตอนที่ 2 : ศึกษาการเจริญเติบโตและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการลดปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสของสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร 83
4.3.1 ลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในโหลทดลองก่อนและหลังบำบัดโดยการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ระยะเวลา 14 วัน 84

Copyright by Mahidol University

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.3.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะสมบัติทั่วไปของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในโหลที่เลี้ยงและ ไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* 87
4.3.2.1 อุณหภูมิ (Temperature) 87
4.3.2.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 88
4.3.3 การเจริญของสาหร่าย 91
4.3.3.1 ค่า OD_{560} 91
4.3.3.2 น้ำหนักแห้ง (Dry weight) 92
4.3.3.3 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย 95
4.3.4 การเปลี่ยนแปลงและประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรของสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และ *Spirulina maxima* (Sp 6) เมื่อระยะเวลาต่างกัน 99
4.3.4.1 การเปลี่ยนแปลงและประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจน 99
4.3.4.2 การเปลี่ยนแปลงและประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) 104
4.3.4.3 การเปลี่ยนแปลงและประสิทธิภาพในการลดปริมาณซีโอดี (COD) 106

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง 110
5.2 ข้อเสนอแนะจากการวิจัย 114
5.3 ข้อเสนอแนะในการศึกษาวิจัยต่อไป 116

รายการอ้างอิง 118

Copyright by Mahidol University

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก 126

ภาคผนวก ก. : ข้อมูลทั่วไปของฟาร์ม 127

ภาคผนวก ข. : สูตรอาหารมาตรฐาน Zarrouk ที่ใช้ในการเลี้ยง
สาหร่าย *Spirulina* 131

ภาคผนวก ค. : การวัดการเจริญเติบโต 132

ภาคผนวก ง. : ความสัมพันธ์ระหว่าง Optical Density (OD_{560}) กับน้ำหนักแห้ง
ของสาหร่าย *Spirulina platensis* (sp5) และสาหร่าย
Spirulina maxima (sp6) 134

ภาคผนวก จ. : รูปภาพประกอบการทดลอง 136

ประวัติผู้วิจัย 140

EXECUTIVE SUMMARY 141

Copyright by Mahidol University

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1-1 การผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas) จากมูลสัตว์ชนิดต่างๆ 2

2-1 ส่วนประกอบทางเคมีของมูลและปัสสาวะของสุกรที่ขุนด้วยธัญพืช (% น้ำหนัก) 11

2-2 เปรียบเทียบลักษณะสมบัติน้ำเสียก่อนและหลังการหมักมูลสุกร 13

2-3 องค์ประกอบของธาตุต่างๆ ที่มีในสาหร่าย *Spirulina platensis* สารอาหารสังเคราะห์ และน้ำมูลสุกรหมัก 13

2-4 ผลการศึกษาการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร..... 14

2-5 เปรียบเทียบขนาดสาหร่าย *Spirulina* ชนิด *S. platensis* และชนิด *S. maxima* 25

2-6 การเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่าย *Spirulina platensis* เมื่อเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ความเข้มข้นต่างกัน 37

3-1 สภาวะที่ใช้ในการศึกษา 56

4-1 ลักษณะสมบัติน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรสภาวะต่างๆ ก่อนใช้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย 64

4-2 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ ร้อยละ25, 50, 75 และ 100 ทดลอง 4 วัน..... 67

4-3 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ ร้อยละ25, 50, 75 และ 100 และเติม $NaHCO_3$4 กรัม/ลิตร ทดลอง 4 วัน 68

4-4 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่ความเข้มข้น ร้อยละ25 ที่เติม $NaHCO_3$ อัตราต่างๆ กัน คือ 4, 8 และ12 กรัม/ลิตร ทดลอง 4 วัน..... 72

4-5 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่ความเข้มข้น ร้อยละ25 ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตรและปรับระดับของ NaCl เป็น 0, 1, 3, 5 และ 7 กรัม/ลิตร ทดลอง 10 วัน..... 73

4-6 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่ความเข้มข้น ร้อยละ25 ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และปรับระดับของ K_2SO_4 เป็น 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 กรัม/ลิตร ทดลอง 14 วัน 79

4-7 ลักษณะสมบัติน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในโหลทดลองก่อนและหลังบำบัดโดยการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) ในระยะเวลา 14 วัน 85

4-8 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ในช่วง 14 วัน (°C) 87

4-9 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร เมื่อใช้เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับโหลที่ไม่เลี้ยงสาหร่าย 89

Copyright by Mahidol University

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4-10 ผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย (OD_{560}) ในระยะเวลา 14 วัน..... 91
4-11 การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ในระยะเวลา 14 วัน..... 92
4-12 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในสภาวะที่เหมาะสม ในระยะเวลา 14 วัน 96
4-13 การเปลี่ยนแปลงค่า NH_3-N ของสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร(มก./ล.), (ร้อยละการลด NH_3-N) ในระยะเวลา 14 วัน 99
4-14 การเปลี่ยนแปลงค่า NO^-_3-N ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (มก./ล.), (ร้อยละการลด NO^-_3-N) ในระยะเวลา 14 วัน 102
4-15 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (มก./ล.), (ร้อยละการลด PO_4^{3-}) ในระยะเวลา 14 วัน 104
4-16 การเปลี่ยนแปลงค่า COD ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (มก./ล.), (ร้อยละการลด COD) ในระยะเวลา 14 วัน 107

Copyright by Mahidol University

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1-1 กรอบแนวความคิดการวิจัย 4

2-1 แผนผังขององค์ประกอบต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในระบบก๊าซชีวภาพและ ระบบบำบัดน้ำเสียในฟาร์มเลี้ยงสุกรขนาดกลางและขนาดใหญ่ 19

2-2 ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศ (Anaerobic decomposition of organic matter) 23

2-3 รูปร่างและการวัดส่วนต่างๆ ของสาหร่าย *Spirulina*. 25

2-4 ช่วงการเจริญ 6 ช่วงในพวกสาหร่ายขนาดเล็ก. 28

2-5 วงจรชีวิตของสาหร่าย *Spirulina* 29

2-6 วัฏจักรการเกิดออกซิเจนจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย. 40

3-1 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการทดลอง 49

3-2 ผังขั้นตอนการทดลอง 57

4-1 ลักษณะสีน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร (น้ำเสีย 100%, น้ำเสียผ่าน centrifuge 10,000 รอบ/นาที และน้ำเสียเจือจาง 25%) 61

4-2 การปนเปื้อนของสาหร่ายไม่ทราบชนิด ขณะขยายหัวเชื้อสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) ในสูตร Zarrouk มาตรฐาน 63

4-3 รูปA. แสดงตู้ควบคุมอุณหภูมิ (30°C) และรูป B. แสดงการเลี้ยงสาหร่ายใน หลอดเลี้ยงสาหร่ายขนาด 200 มิลลิลิตร ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 66

4-4 เซลสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) ในสภาวะต่างๆ. 75

4-5 เซลสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร 25% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตรและ K_2SO_4 0.5 กรัม/ลิตร 78

4-6 การทดลองเลี้ยงสาหร่ายในโหลแก้วที่มีความจุ 2,500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง 84

4-7 สภาวะของโหลทดลองในวันที่ 14 (วันสุดท้ายของการทดลอง) 85

4-8 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงในโหลทดลอง เมื่อทดลองครบ 14 วัน. 86

4-9 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยง สาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลา 14 วัน. 88

4-10 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (วัดช่วงเวลา 9.00-11.00 น.) ในระยะเวลา 14 วัน 89

Copyright by Mahidol University

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4-11 แนวโน้มการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ในระยะเวลา 14 วัน 93
4-12 การทดลองตอน 2 เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในโหลทดลอง พบสาหร่ายอื่นปนเปื้อนในสภาวะ T6-1 95
4-13 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ในระยะเวลา 14 วัน 96
4-14 ลักษณะเซลสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) ในการทดลองตอน 2เลี้ยงในโหลทดลองเพื่อหาประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสีย..... 98
4-15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ NH_3-N ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลา 14 วัน 101
4-16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ NO^-_3-N ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลา 14 วัน..... 103
4-17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ PO_4^{3-} ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลา 14 วัน 105
4-18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ COD ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลา 14 วัน 108

Copyright by Mahidol University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ในปี พ.ศ. 2540 ประเทศไทยใช้พลังงานเทียบเท่าน้ำมันดิบ 9 หมื่นล้านลิตร หรือเทียบได้ประมาณ 1% ของพลังงานที่ใช้กันทั่วโลกในปีนั้น แบ่งเป็นน้ำมันเชื้อเพลิง 42% พลังงานหมุนเวียนจำพวกไม้ ฟืน แกลบ ชานอ้อย ก๊าซชีวภาพ พลังงานน้ำจากเขื่อน ลม และแสงแดด 26% ก๊าซธรรมชาติ 17% ถ่านหินลิกไนต์ในประเทศ 9% จากต่างประเทศ 3% และต้องซื้อไฟฟ้าจากประเทศลาวมาใช้อีก 3% และเมื่อประเมินภาวะการใช้พลังงานในอนาคตพบว่า มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น เพื่อแก้ปัญหาพลังงานสำรองไม่เพียงพอ รัฐบาลไทยจึงมีนโยบายการกระจายแหล่งพึ่งพาและชนิดของพลังงานให้หลากหลายทั้งในและนอกประเทศ เช่น การทำสัญญาซื้อกระแสไฟฟ้าจากประเทศลาวและทำสัญญาซื้อก๊าซธรรมชาติจากประเทศพม่า เป็นต้น นอกจากนี้ยังรณรงค์ให้ประชาชนทั่วไปและโรงงานใช้พลังงานอย่างมีประสิทธิภาพและประหยัด และการส่งเสริมให้เอกชนร่วมกันผลิตพลังงานเพื่อลดภาระของรัฐ ซึ่งจะนำไปสู่การปรับปรุงประสิทธิภาพกิจการด้านพลังงาน แต่ทั้งนี้ต้องอยู่ภายใต้การดูแลจัดการให้มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด (1)

กิจการเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทยในปัจจุบันกำลังเติบโต เนื่องจากมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์ ทำให้คุณภาพและผลผลิตที่ได้สูง สามารถแข่งขันกับผู้ผลิตต่างประเทศได้ ดังนั้นจึงมีการเพิ่มจำนวนและขยายฟาร์มเลี้ยงสัตว์ให้มีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่นอกเหนือจากเนื้อสัตว์หรือน้ำนมที่ได้จากการเลี้ยงสัตว์ในฟาร์มแล้ว ปัญหาอย่างหนึ่งที่เกิดตามมา คือ ปัญหาด้านสภาวะแวดล้อมอันเนื่องมาจากมูลสัตว์และของเสียต่างๆ ซึ่งมีปริมาณมาก และหากไม่สามารถหาวิธีกำจัดของเสียปริมาณมากได้อย่างถูกต้องเหมาะสม จะเกิดปัญหามลภาวะภายในฟาร์มสภาพแวดล้อมใกล้เคียง และชุมชนเป็นอย่างมาก ในเรื่องกลิ่น แมลงวัน และน้ำเสีย (2)

ระบบก๊าซชีวภาพเป็นระบบกำจัดของเสียที่เหมาะสมสำหรับใช้แก้ปัญหามลภาวะดังกล่าว โดยใช้หลักการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือมูลสัตว์ ได้แก่ สุกร โค กระบือ (ตารางที่ 1-1) หรือน้ำเสียที่ปนเปื้อนมูลสัตว์ ด้วยวิธีชีวภาพแบบไม่ใช้อากาศ (Anaerobic Digestion) โดยสร้าง

Copyright© by Mahidol University

สภาวะให้แบคทีเรียที่มีอยู่ในธรรมชาติย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสียในสภาพไร้ออกซิเจน ผลที่ได้จากการหมักย่อย คือ ส่วนผสมของก๊าซชีวภาพที่ติดไฟได้ มีก๊าซมีเทนเป็นองค์ประกอบหลักประมาณ 70% ซึ่งสามารถใช้เป็นพลังงานทดแทนภายในฟาร์มได้ เช่น ใช้ในการหุงต้ม กกลูกสุกร นำไปใช้เดินเครื่องยนต์เพื่อสูบน้ำ หรือผลิตไฟฟ้า นอกจากนี้ของเสียที่เป็นของเหลวและของแข็งเมื่อผ่านการหมักในระบบบำบัดนี้แล้วจะเป็นปุ๋ยอินทรีย์อย่างดีเพราะธาตุหลักสำคัญต่างๆ ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ยังคงมีอยู่ และพบว่ามูลสัตว์ที่ผ่านการหมักแล้วจะเป็นปุ๋ยอินทรีย์ที่มีคุณภาพเหมาะสมกับพืชและไม่มีกลิ่นเหม็น จึงสามารถนำไปใช้ในการเพาะปลูกพืชและ/หรือปรับปรุงบำรุงดิน ซึ่งเป็นการหมุนเวียนเอามวลชีวภาพกลับมาใช้ได้อย่างคุ้มค่า (2, 3, 4)

ตารางที่ 1- 1 การผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas) จากมูลสัตว์ชนิดต่างๆ

ชนิดสัตว์	มูลสด		ผลผลิตก๊าซ/สารอินทรีย์ในมูลสัตว์ (ลิตร/กก.)	ผลผลิตก๊าซ/มูลสด (ลิตร/กก.)
	%TS	%VS		
โค	16	13	250	32
สุกร	16	12	450	54
แพะ,แกะ	30	20	200	40
ไก่	25	17	460	78

ที่มา : สมชัย (3)

ส่วนน้ำที่ผ่านการหมักก๊าซชีวภาพแล้ว หากยังมีปริมาณสารอาหารมากเกินไปและปล่อยให้ไหลลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ จะมีผลทำให้เกิด Eutrophication ในแหล่งน้ำ ได้แก่ เกิดภาวะที่เจริญอย่างรวดเร็วของสาหร่ายหลายชนิด เช่น *Anabaena sp., Microcystis sp.* เป็นต้น ทำให้แหล่งน้ำขาดออกซิเจน สาหร่ายขนาดเล็กๆ ที่มีปริมาณมากสามารถเข้าไปอุดตันเหงือกและทางเดินระบบหายใจของปลาและสัตว์น้ำอื่นๆ ทำให้มีอันตรายถึงตายได้ นอกจากนี้อาจทำให้น้ำมีสีเปลี่ยนไป จากเดิมและไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ประโยชน์อีกต่อไป (5) นอกจากนี้ยังมีความเป็นด่างในรูปไบคาร์บอเนตที่มากเกินความต้องการของพืช จึงต้องบำบัดให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมก่อนนำไปใช้ และที่สำคัญในฟาร์มเลี้ยงสัตว์จะผลิตน้ำหมักก๊าซชีวภาพอย่างต่อเนื่องในขณะที่พืชไม่สามารถรับสารอาหาร ปุ๋ย และน้ำได้ตลอดเวลา

สาหร่าย *Spirulina* เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายเซล ซึ่งรู้จักกันแพร่หลายในประเทศไทยว่า "สาหร่ายเกลียวทอง" สาหร่ายชนิดนี้มีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 60-65 ของน้ำหนักแห้ง ทำการเก็บเกี่ยวได้ง่าย เนื่องจากมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับสาหร่ายชนิดอื่นๆ ที่มีปริมาณ

Copyright by Mahidol University

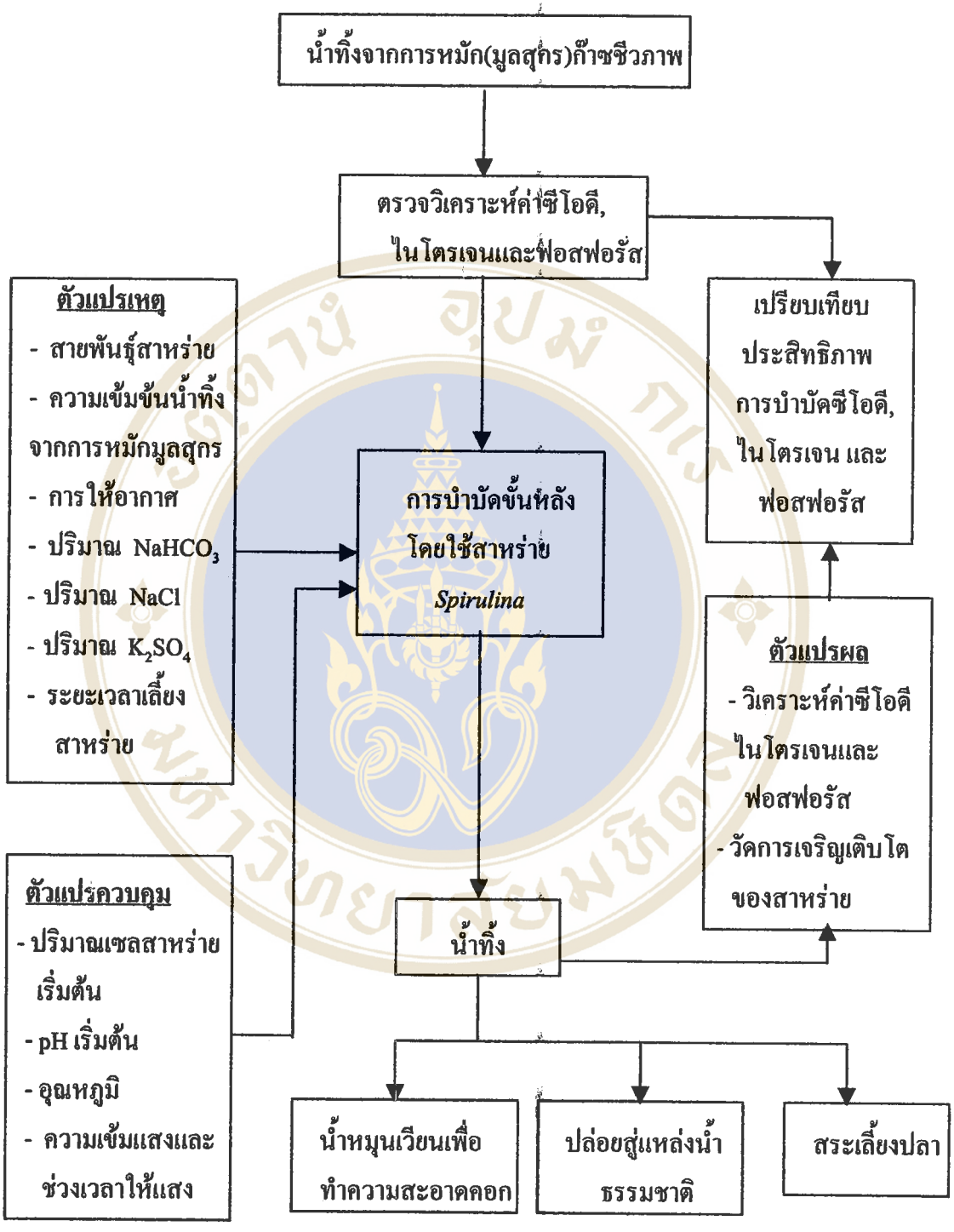
โปรตีนสูง เช่น *Chlorella sp., Scenedesmus sp.* มีอัตราการเจริญเติบโตสูงแม้แต่เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีโซเดียมสูง และในสภาพความเป็นด่างที่พืชชนิดอื่นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ รวมทั้งสาหร่ายยังสามารถดูดซึมสารอาหารได้ต่อเนื่องตลอดปี (6) จากคุณสมบัติของสาหร่ายเกลียวทอง ทำให้เกิดการตื่นตัวในหลายประเทศที่จะพัฒนาการเพาะเลี้ยงในระบบอุตสาหกรรม แต่ต้นทุนในการผลิตค่อนข้างสูง เนื่องจากต้องให้ธาตุอาหารในรูปของสารเคมีแก่สาหร่าย จึงมีงานวิจัยและการศึกษาค้นคว้ามากมายที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์จากน้ำเสียให้เป็นแหล่งผลิตสาหร่ายชนิดนี้ และได้ประโยชน์ในการบำบัดน้ำเสียอีกด้วย โดยสามารถลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้ ซึ่งอาศัยการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียและสาหร่าย กล่าวคือ สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะได้รับมาจากการย่อยสลายของแบคทีเรีย เช่น แอมโมเนียม ฟอสเฟต ฯลฯ ส่วนสาหร่ายจะผลิตก๊าซออกซิเจนที่ได้จากการสังเคราะห์แสงเพื่อให้แบคทีเรียใช้ในกระบวนการหายใจต่อไป

การวิจัยครั้งนี้มุ่งสนใจที่จะศึกษาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ตลอดจนทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้เจริญได้ดี รวมทั้งศึกษาการลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งดังกล่าว ซึ่งนอกจากจะช่วยลดมลภาวะเป็นพิษในน้ำแล้วยังเป็นการนำสิ่งเหลือใช้กลับมาใช้ให้เป็นประโยชน์ โดยสามารถช่วยลดต้นทุนการผลิตสาหร่ายให้ถูกลงเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ ได้แก่ ปลา เป็ด ไก่ สุกร แพะฯลฯ ทดแทนการขาดแคลนโปรตีนคุณภาพสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น ลูกกุ้ง ลูกปลา จะทำให้ได้ลูกสัตว์น้ำที่มีสุขภาพดี แข็งแรง ต้านทานโรคได้ดีและมีอัตรารอดสูง

1.2 กรอบแนวคิดการวิจัย

การจัดการน้ำเสียของฟาร์มสุกรที่ทำการศึกษานี้ ได้ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีก๊าซชีวภาพมาใช้ และปล่อยน้ำทิ้งให้บำบัดด้วยระบบบึงประดิษฐ์ซึ่งใช้ธูปฤาษี ก่อนจะนำน้ำหมุนเวียนกลับมาใช้ล้างคอกหรือเป็นน้ำหล่อใต้พื้นคอกเพื่อรองรับมูลสุกร และพบว่าไม่ได้ใช้ประโยชน์จากธูปฤาษีแต่อย่างใด ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาความเป็นไปได้ในการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งดังกล่าว โดยพยายามใช้สารอาหารที่มีในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรมาเลี้ยงสาหร่ายและเติมสารอาหารสังเคราะห์ให้น้อยที่สุด เพื่อประโยชน์ในการบำบัดขั้นหลัง (Post treatment) และสามารถใช้ประโยชน์จากสาหร่าย พร้อมกับศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการเจริญและประสิทธิภาพการลดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของสาหร่าย *Spirulina* ทั้งสองสายพันธุ์ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาและประยุกต์ใช้ในพื้นที่ได้อย่างเหมาะสม โดยแสดงไว้ ดังรูปที่ 1-1

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 1-1 กรอบแนวความคิดการวิจัย

Copyright by Mahidol University

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* และหาสภาวะในการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเกลียวทอง

1.3.2 ศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการลดปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสของสาหร่าย *Spirulina* ทั้งสองสายพันธุ์ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร เมื่อเลี้ยงที่สภาวะเหมาะสมในห้องปฏิบัติการ เมื่อระยะเวลาการเลี้ยงต่างกัน

1.4 สมมติฐานการวิจัย

1.4.1 เมื่อลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรแตกต่างกัน สาหร่าย *Spirulina* จะแสดงการเจริญเติบโตได้ดีแตกต่างกัน

1.4.2 เมื่อปริมาณความเข้มข้นของสารเคมีที่เติมเพิ่ม ได้แก่ $NaHCO_3$ NaCl และ K_2SO_4 แตกต่างกัน สาหร่ายจะมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรต่างกัน

1.4.3 เมื่อสาหร่าย *Spirulina* ต่างสายพันธุ์กัน ประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรของสาหร่ายจะต่างกัน

1.4.4 ระยะเวลาในการเลี้ยงสาหร่ายต่างกัน ประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรของสาหร่ายจะต่างกัน

1.5 ขอบเขตการวิจัย

1.5.1 การวิจัยเป็นแบบการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental Research) ที่ดำเนินการในห้องปฏิบัติการตลอดการวิจัย

1.5.2 น้ำเสียตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำทิ้งจากการหมัก(มูลสุกร)ก๊าซชีวภาพในระยะที่เข้าสู่ระบบบำบัดขั้นหลัง อยู่ในขั้นสระปรับเสถียร (Stabilization pond) (มีพื้นที่เปิด 2,200 ตร.ม. ลึก 1.5 ม. มีความจุ 3,300 ลบ.ม. โดยมีระยะพักตัวเพื่อการบำบัดน้ำ 14 วัน) ของบริษัทบุญมีปศุสัตว์ จำกัด อ. ปากท่อ จ. ราชบุรี (แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ก.)

1.5.3 สาหร่ายที่ใช้ คือ สาหร่าย *Spirulina* ในการทดลองนี้ศึกษา 2 สายพันธุ์ คือ *Spirulina platensis* (Sp5) และ *Spirulina maxima* (Sp6) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งโดยปกติเลี้ยงอยู่ในอาหารเหลว

Copyright by Mahidol University

สูตร Zarrouk (ภาคผนวก ข.) อาหารที่ใช้ในการขยายเชื้อสาหร่ายและในการทดลองได้ใช้สารเคมีเกรดวิเคราะห์ และน้ำประปา (น้ำกรอง) ของสถาบันฯ ในการเตรียม

1.5.4 ชุดอุปกรณ์และตู้เพาะเลี้ยงสาหร่าย ติดตั้งในห้องปฏิบัติการสาหร่าย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.5.4.1 <u>ตู้เลี้ยงสาหร่ายแบบควบคุมอุณหภูมิ</u> : ขนาด 30 x 60 x 40 ลบ.ซม. มี circulating pump ช่วยกระจายอุณหภูมิให้สม่ำเสมอทั่วตู้ ควบคุมอุณหภูมิ 30 °C และใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 40 วัตต์ 6 หลอดเป็นแหล่งให้แสง ความเข้มแสง 10,000 ลักซ์ มีเครื่องตั้งเวลาให้แสง 16 ชั่วโมง และมืด 8 ชั่วโมง พร้อมด้วยหลอดทดลองเลี้ยงสาหร่ายขนาด 200 มล. ซึ่งเป็นหลอดแก้วเพาะเลี้ยงปลายแหลม ปิดด้วยจุกซิลิโคน เจาะรู 2 รู สวมท่อแก้วสำหรับให้ CO_2 ที่ผสมกับอากาศจากเครื่องปั๊มอากาศผ่านเข้าไป เพื่อศึกษาปัจจัยเบื้องต้นที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย ได้แก่ ความเข้มข้นของน้ำมูลสุกรหมักระดับต่างๆ, การให้อากาศธรรมดาหรืออากาศผสม CO_2 1-2% , ปริมาณของ $NaHCO_3$, ปริมาณของ NaCl และปริมาณของ K_2SO_4 โดยเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ผลที่ได้นำไปขยายเลี้ยงในโหลแก้วต่อไป

1.5.4.2 <u>การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในโหลแก้ว</u> : โหลแก้วมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว สูง 20 นิ้ว ความจุขนาด 2.5 ล. วางบนชั้นวางโหลแก้วในห้องปฏิบัติการ (ที่อุณหภูมิห้อง) พร้อมติดตั้งหลอดฟลูออเรสเซนต์ ที่มีความเข้มแสง 5,000 – 6,000 ลักซ์ และเครื่องติดตั้งเวลาเปิด-ปิดไฟ (16:8 ชั่วโมง) เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมูลสุกรหมักของสาหร่าย *Spirulina* 2 สายพันธุ์ ในระยะเวลาเลี้ยงสาหร่าย 8 ช่วงเวลา คือ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 วัน

1.5.5 ศึกษาลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร โดยมีพารามิเตอร์ดังนี้

1.5.5.1 อุณหภูมิของน้ำ (Temperature)

1.5.5.2 ความเป็นกรด - ด่างของน้ำ (pH)

1.5.5.3 ซีโอดี (COD)

1.5.5.4 แอมโมเนีย - ไนโตรเจน (NH_3-N)

1.5.5.5 ไนเทรต - ไนโตรเจน (NO_3^--N)

1.5.5.6 ฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-})

Copyright by Mahidol University

1.6 ตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย

1.6.1 ตัวแปรเหตุ

1.6.1.1 สาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6)

1.6.1.2 ความเข้มข้นของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร

1.6.1.3 การให้อากาศธรรมดา หรือให้อากาศผสม CO_2 1-2%

1.6.1.4 ปริมาณความเข้มข้นของ $NaHCO_3$ (ก./ล.)

1.6.1.5 ปริมาณความเข้มข้นของ NaCl (ก./ล.)

1.6.1.6 ปริมาณความเข้มข้นของ K_2SO_4(ก./ล.)

1.6.1.7 ระยะเวลาเลี้ยงสาหร่าย (วัน)

1.6.2 ตัวแปรควบคุม

1.6.2.1 อุณหภูมิ

1.6.2.2 ความเข้มแสงและช่วงเวลาให้แสง

1.6.2.3 pH เริ่มต้น

1.6.2.4 ปริมาณเซลสาหร่ายเริ่มต้น (OD_{560} เริ่มต้น)

1.6.3 ตัวแปรผล

1.6.3.1 ค่าซีโอดี (COD)

1.6.3.2 ค่าไนโตรเจน (ในรูป NH_3-N และ NO_3^--N)

1.6.3.3 ค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-})

1.6.3.4 การเจริญเติบโตของสาหร่าย (น้ำหนักแห้งของสาหร่าย และOD_{560})

1.7 คำจำกัดความ

1.7.1 น้ำทิ้งจากฟาร์มเลี้ยงสุกร หมายถึง น้ำทิ้งจากโรงเรือนเลี้ยงสุกร ซึ่งประกอบด้วยน้ำล้างตัวสุกร น้ำล้างคอกสุกร (หลังจากรวบรวมและขนย้ายมูลสุกรออกไปแล้ว) และปัสสาวะของสุกร

1.7.2 น้ำทิ้งจากการหมักก๊าซชีวภาพ (Biogas effluent) หมายถึง ของเหลวที่ได้จากบ่อมูลล้นของบ่อหมักก๊าซชีวภาพ (มูลสัตว์ที่ได้ผ่านการย่อยสลายของจุลินทรีย์ ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนแล้ว)

Copyright by Mahidol University

1.7.3 ระยะเวลาเลี้ยงสาหร่าย หมายถึง ระยะเวลาที่สาหร่าย *Spirulina* ใช้ในการเจริญเติบโตในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเพื่อลดปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้ง

1.7.4 ความเข้มแสง หมายถึง ปริมาณของแสงที่ตกลงบนพื้นที่ 1 หน่วย มีหน่วยเป็นลักซ์ วัดโดยเครื่องวัดแสงอัตโนมัติ (Lux meter)

1.7.5 การให้อากาศ หมายถึง การให้อากาศโดยปั๊มอากาศผ่านหัวทราย ในการเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเป็นการกวนผสม ป้องกันการเกิดตะกอน ในการทดลองได้ให้ส่วนผสมของอากาศ คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 1-2% (จะเป็นแหล่งคาร์บอนได้อีกทางหนึ่ง และช่วยปรับค่า pH ให้คงที่)

1.7.6 ค่าที่ใช้แสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina* (แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ค.) คือ

1.7.6.1 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย (Dry weight) หมายถึง ค่าน้ำหนักแห้งของเซลสาหร่าย ได้จากการกรองตัวอย่างน้ำผ่านกระดาษกรอง อบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (หรือจนกว่าจะแห้ง) (แสดงขั้นตอนโดยละเอียดในรูปที่ 1 ภาคผนวก จ.)

1.7.6.2 OD (Optical density) หมายถึง ค่าแสดงความหนาแน่นของเซลสาหร่าย วัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 560 nm

1.7.7 อาหารเลี้ยงเชื้อ หมายถึง สารละลายประกอบด้วยธาตุอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายตามสูตรของ Zarrouk

1.8 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.8.1 ทราบถึงประสิทธิภาพการลดปริมาณไนโตรเจน (ในรูป NH_3-N และ NO_3^--N) และฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ของสาหร่าย *Spirulina* ทั้ง 2 สายพันธุ์ เมื่อระยะเวลาการเลี้ยงต่างกัน

1.8.2 ใช้เป็นแนวทางในการลดมลภาวะเป็นพิษในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร และได้ข้อมูลพื้นฐานในการนำน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรซึ่งมีธาตุอาหารสำหรับการเจริญเติบโต มาใช้เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนการผลิต สามารถใช้ประโยชน์จากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสีย และสร้างรายได้เสริมแก่เกษตรกรอีกด้วย

Copyright by Mahidol University

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเรียบเรียงเนื้อหาของบทนี้ มีการลำดับดังหัวข้อต่อไปนี้

2.1 ปัญหาที่เกิดขึ้นจากฟาร์มสุกร

2.2 ของเสียจากฟาร์มสุกร

2.3 ระบบการผลิตก๊าซชีวภาพ

2.4 สาหร่าย *Spirulina*

2.5 การศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

2.1 ปัญหาที่เกิดขึ้นจากฟาร์มสุกร (7,8, 9)

2.1.1 <u>มลพิษทางอากาศ</u> กลิ่นและก๊าซเกิดจากการย่อยสลายมูลสุกรโดยจุลินทรีย์ ความชื้นและอุณหภูมิเป็นตัวส่งเสริมให้เกิดการเร่งในการหมัก ทำให้เกิดการสลายตัวของมูลเร็วขึ้น (กลิ่นและก๊าซต่างๆ เกิดเพิ่มขึ้น) ก๊าซที่เกิดขึ้นในโรงเรือนสุกร ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย ไฮโดรเจนซัลไฟด์ มีเทน และก๊าซหลายชนิดที่เกิดจากสารอินทรีย์ต่างๆ เช่น เมอร์แคบเทน เป็นต้น ส่วนก๊าซที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นจากมูลสุกร ได้แก่ พวกเอมีน(amines) เมอร์แคบเทนซัลไฟด์ (mercaptan sulfide) และกรดอินทรีย์ที่ระเหยง่ายอื่นๆ (10) รวมทั้งกลิ่นจากบ่อบำบัดน้ำเสียด้วย

2.1.2 <u>มลพิษทางน้ำและดิน</u> (สารอินทรีย์) น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรทั่วไปมีค่า BOD โดยเฉลี่ยประมาณ 3,000 มก./ล. ซึ่งเป็นค่าที่สูงมากเมื่อเทียบกับมาตรฐานน้ำทิ้งอุตสาหกรรม (กระทรวงอุตสาหกรรมกำหนดให้มีค่า BOD สูงสุดเพียง 60 มก./ล.) และสูงกว่ามาตรฐานคุณภาพแหล่งน้ำจืดของประเทศไทย (กรมควบคุมมลพิษ กำหนดให้แหล่งน้ำที่สามารถใช้ประโยชน์อื่นๆ

Copyright by Mahidol University

ได้มีค่า BOD ไม่เกิน 4 มก./ล.) ถึงแม้ปริมาณการใช้น้ำของฟาร์มสุกรจะต่ำกว่าอุตสาหกรรม แต่ปริมาณ BOD ที่เกิดขึ้นทั้งหมดจะถูกระบายลงแหล่งน้ำธรรมชาติโดยตรงโดยไม่ผ่านการบำบัด (7) นอกจากนี้ของเสียจากฟาร์มเลี้ยงสุกรที่ปล่อยลงในแหล่งน้ำธรรมชาติหรือตามผิวดินยังก่อให้เกิดอันตรายต่อคน สัตว์และพืชได้ เนื่องจากมีไนเตรทสะสมในดินและในน้ำใต้ดิน ทำให้เกิดปัญหาดินเป็นพิษและเกิดมลภาวะในน้ำใต้ดิน (11)

2.1.3 <u>ปัญหาแหล่งเพาะพันธุ์เชื้อโรค</u> มูลสุกรเป็นแหล่งเพาะเชื้อโรคและพยาธิ พบว่า เชื้อ Salmonella ในมูลสุกรสามารถติดต่อถึงคน ทำให้ท้องร่วง โดยเฉพาะในเด็ก นอกจากนี้ยุงและแมลงวันยังช่วยแพร่กระจายบางโรคไปสู่คนและสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ได้ เช่น ยุงที่เพาะพันธุ์อยู่ตามบ่อเก็บของเสียในฟาร์มสุกรจะเป็นพาหะนำโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบมาสู่คน ดังนั้นจึงควรที่จะมีการจัดการกำจัดของเสียในฟาร์มสุกรอย่างถูกหลักสุขาภิบาลและทำอย่างสม่ำเสมอ (7)

2.1.4 <u>ปัญหาทางสังคม</u> ผลกระทบจากการทำฟาร์มสุกรบางแห่งหากอยู่ใกล้ชุมชน ทำให้เกิดมลภาวะแวดล้อมเป็นที่น่ารังเกียจ ได้แก่ บริเวณรอบๆ มีกลิ่นเหม็น มีแมลงวันชุกชุม เป็นต้น จึงอาจทำให้ชุมชนต่อต้าน หรือส่งผลให้ที่ดินในบริเวณรอบๆ ราคาตกต่ำ เป็นต้น

2.2 ของเสียจากฟาร์มสุกร

2.2.1 การจัดการของเสียและน้ำเสียจากฟาร์มสุกร

2.2.1.1 ลักษณะสิ่งขับถ่ายของสุกร

ของเสียในคอกสุกร คือ มูลสุกรเป็นส่วนใหญ่ รองลงมา ได้แก่ น้ำปัสสาวะสุกร และเศษอาหารที่ตกหล่นบนพื้น สำหรับสิ่งขับถ่ายของสุกรจะมีปริมาณและลักษณะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับคุณภาพปริมาณและองค์ประกอบของอาหาร ลักษณะเฉพาะตัวของสัตว์ เช่น พันธุ์สุกร, ระยะการเจริญเติบโต, อายุ, ขนาด, ช่วงอุ้มท้อง, การเคลื่อนไหว และความเคยชินต่ออาหารชนิดนั้นๆ รวมทั้งอิทธิพลทางจิตใจ เช่น การตื่นตกใจ, ความกลัว และความเครียดต่างๆ ส่วนใหญ่เกิดจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ซึ่งมีผลต่อการควบคุมฮอร์โมนต่างๆ ของระบบย่อยอาหารและการใช้ประโยชน์ของอาหาร การขับถ่ายมูลและปัสสาวะด้วย (7,10) สุกรจะขับถ่ายมูลต่อวันเฉลี่ยประมาณ 2% ของน้ำหนักตัว

Copyright by Mahidol University

มูลสุกรประกอบด้วยกากอาหารที่ย่อยไม่ได้ เช่น ส่วนที่เป็นของแข็ง พวกเยื่อใย หรือส่วนที่ย่อยได้แต่ดูดซึมไม่ได้ และสิ่งที่ปล่อยออกมาจากร่างกายสัตว์โดยเฉพาะจากระบบทางเดินอาหาร เช่น เยื่อบุผนังลำไส้ เยื่อเมือก น้ำย่อย แร่ธาตุ แบคทีเรียและผลิตผลของแบคทีเรีย อัตราส่วนของมูลกับปัสสาวะของสุกรประมาณ 2:3 โดยในมูลทั้งหมดประกอบด้วยน้ำประมาณ 65-85% อินทรีย์วัตถุ 10-20% และอนินทรีย์วัตถุ 5-15% ส่วนประกอบทางเคมีของมูลและปัสสาวะประกอบด้วยธาตุไนโตรเจนมากที่สุด แต่พบโปแตสเซียมน้อยมาก (7, 10, 13) (ตารางที่ 2-1) สำหรับสิ่งขับถ่ายที่เป็นของเหลวหรือปัสสาวะประกอบไปด้วยน้ำและอาหารที่ถูกดูดซึมเข้าไปแล้ว แต่ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์หรือเป็นส่วนที่เกินความต้องการของร่างกาย รวมทั้งสารพิษต่างๆ ที่ร่างกายขับออกเพื่อกำจัดทิ้งโดยไต และอาจจะมีเนื้อเยื่อบุภายในของระบบขับถ่ายปัสสาวะ

ตารางที่ 2-1 ส่วนประกอบทางเคมีของมูลและปัสสาวะของสุกรที่ขุนด้วยธัญพืช (%น้ำหนัก)

องค์ประกอบ	มูล	ปัสสาวะ	รวมทั้งหมด
ไนโตรเจน	0.54	1.16	1.70
ฟอสฟอรัส	0.59	0.08	0.67
โปแตสเซียม	พบน้อยมาก	พบน้อยมาก	พบน้อยมาก
แคลเซียม	0.82	0.01	0.83
แมงกานีส	0.13	0.01	0.14

ที่มา: บัณฑิต(10)

2.2.1.2 ลักษณะสมบัติของของเสียและน้ำเสียจากฟาร์มสุกร

น้ำเสียจากฟาร์มสุกรเกิดจากน้ำปัสสาวะ น้ำระบายความร้อน น้ำกิน และน้ำฉีดล้างคอกสุกร ซึ่งน้ำเสียส่วนใหญ่ได้จากน้ำฉีดล้างสุกรและคอกสุกร ซึ่งจะชะล้างของเสียในคอกสุกร ปริมาณและลักษณะน้ำเสียจากฟาร์มเลี้ยงสุกร ขึ้นอยู่กับลักษณะการเลี้ยง สภาพท้องถิ่น(ปริมาณน้ำและความสะดวก) และคุณภาพน้ำที่ใช้ฉีดล้างทำความสะอาดคอกสุกร ลักษณะการเลี้ยง เช่น การเลี้ยงสุกรระบบเปียก (Wet handling systems) โดยใช้น้ำฉีดล้างมูลสุกรจากพื้นคอกให้ไหลลงสู่ระบบบำบัดน้ำเสียทั้งหมด วิธีนี้ต้องใช้น้ำปริมาณมากมีผลให้เกิดน้ำเสียมากและน้ำเสียมีความ

Copyright by Mahidol University

สกปรกสูงมาก เหมาะสำหรับฟาร์มสุกรที่อยู่ใกล้แหล่งน้ำและไม่ประสบปัญหาการขาดแคลนน้ำที่จะนำมาทำความสะอาดคอก ส่วนการเลี้ยงสุกรระบบแห้ง (Dry handling systems) วิธีนี้จะมีการแยกมูลสุกร เก็บกวาดมูลสุกรออกก่อนที่จะใช้น้ำฉีดล้างทำความสะอาดคอกสุกร น้ำเสียมีความสกปรกน้อยกว่าระบบเปียก เหมาะสำหรับฟาร์มสุกรที่ขาดแคลนน้ำ สำหรับคุณภาพน้ำที่ใช้ในการฉีดล้างคอกสุกร ถ้าใช้น้ำที่มีคุณภาพต่ำ จะทำให้น้ำเสียจากฟาร์มเลี้ยงสุกรมีคุณภาพต่ำตามไปด้วย

สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ เชียงใหม่ (14) ได้วิเคราะห์น้ำเสียของฟาร์มสุกรพบว่า ในมูลสุกรของแข็งซึ่งวัดเป็นค่า total solids (TS) ประมาณ 33% และสารอินทรีย์ซึ่งวัดเป็นค่า COD ประมาณ 23% ส่วนในปัสสาวะมีของแข็งประมาณ 0.7% และสารอินทรีย์ประมาณ 0.4% เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของแข็งและสารอินทรีย์ในปัสสาวะกับมูล จะเห็นว่าในปัสสาวะมีของแข็งประมาณ 2% และสารอินทรีย์ประมาณ 1.7% ของมูลสุกร สำหรับปริมาณน้ำที่ใช้ล้างคอกแตกต่างกันไปในแต่ละวัน การล้างคอกจะทำทุกวันในช่วงเช้า การวิเคราะห์ของเสียในน้ำล้างคอกพบว่ามีของแข็งและ COD เฉลี่ยประมาณ 0.33 และ 0.20% ของน้ำหนักตัวสุกรหรือประมาณ 0.40% น้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักสุกร และเมื่อปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมพร้อมกับน้ำล้างคอกแล้ว จะมีความเข้มข้นของ COD ประมาณ 3,000-6,000 มก./ล. ดังนั้นสุกรที่มีน้ำหนัก 100 กิโลกรัม จะให้มูลวันละ 1.2 กิโลกรัม คิดเป็นของเสียในรูป TS และ COD ประมาณ 33 และ 200 กรัม ตามลำดับ โดยทฤษฎีแล้วเมื่อนำมาหมักในสภาวะไร้ออกซิเจนจะได้ก๊าซชีวภาพประมาณ 100 ลิตร

Chiu และคณะ (15) ศึกษาสภาวะการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis* เมื่อเลี้ยงในมูลสุกรที่ผ่านการหมักแล้ว ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติน้ำเสีย ดังตารางที่ 2-2 พบว่า NH_3-N ที่ระดับความเข้มข้นสูงจะเป็นพิษต่อสาหร่าย จึงต้องเจือจางน้ำเสียก่อนนำมาใช้เลี้ยงสาหร่าย (โดยใช้ค่า NH_3-N เป็นเกณฑ์) นั่นคือ สารต่างๆ ในน้ำเสียจะต้องถูกเจือจางลงด้วยซึ่งมีผลกระทบกับธาตุ C (ในรูป Volatile acid) ที่มีค่าต่ำกว่าค่า NH_3-N อยู่มาก และองค์ประกอบของธาตุอาหารอื่นๆ ด้วย(ตารางที่ 2-3) ซึ่ง K^+ มีค่าต่ำ ส่วน P , Ca^{2+} และ Mg^{2+} มีปริมาณพอเพียง แต่ Na^+ มีเพียง 22-170 มก./ล. ซึ่งน้อยมาก จากผลการทดลองพบว่า สาหร่ายจะเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อ NH_3-N 25 มก./ล. การเจริญของสาหร่ายจะลดลงที่ NH_3-N 50 มก./ล. และเมื่อ NH_3-N มากกว่า 100 มก./ล. สาหร่ายจะเริ่มตาย นอกจากนี้จำเป็นต้องเติมสารอื่นๆ อีก เพื่อช่วยให้สาหร่ายเจริญได้ดี ได้แก่ NaCl (3 กรัม/ลิตร) จะช่วยลดความเป็นพิษของ NH_3-N ต่อสาหร่าย, $NaHCO_3$ (1 กรัม/ลิตร) เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนสำรอง และ K_2SO_4 (0.1 กรัม/ลิตร)

Copyright by Mahidol University

ตารางที่ 2-2 เปรียบเทียบลักษณะสมบัติน้ำเสียก่อนและหลังการหมักมูลสุกร

พารามิเตอร์	หน่วย	ก่อนหมัก	หลังหมัก
pH	-	7.4-8.2	6.9-8.0
Ammonia nitrogen	mg/l	270-790	200-480
Total Kjeldahl nitrogen	mg/l	350-960	250-590
BOD	mg/l	890-1,700	40-130
COD	mg/l	2,580-3,270	250-850
Volatile acid(asHAC)	mg/l	850-2,170	40-190
Total solid	mg/l	6,700-10,200	2,000-2,200
Volatile solid	mg/l	1,900-2,760	620-800
VS/TS	-	0.20-0.40	0.3-0.4
Suspended solid	mg/l	5,200-7,080	180-420

ที่มา : Chiu และคณะ (15)

ตารางที่ 2-3 องค์ประกอบต่างๆ ใน *Spirulina platensis* อาหารสังเคราะห์และน้ำมูลสุกรหมัก

ธาตุ	*Spirulina platensis*	สารอาหารสังเคราะห์ (mg/l)	น้ำมูลสุกรหมัก (mg/l)
C	44.51%	1,200	14.8-65.2 *
H	6.46%	-	-
N	10.84%	206	200-484 **
P	820.0 mg/100 g	44.5	20-90
Cl	3.0 mg/100 g	310.0	-
K	1,160 mg/100 g	337.0	88-152
Na	260.0 mg/100 g	2,835.0	22-170
Ca	50.0 mg/100 g	5.4	55-72
Mg	270.0 mg/100 g	9.9	27-60
Fe	33.0 mg/100 g	2.0	-
Mn	5.0 mg/100 g	0.25	-

ที่มา : Chiu และคณะ (15) หมายเหตุ : (*) หมายถึง อยู่ในรูปของ Volatile acid (as acetic acid), (**) หมายถึง อยู่ในรูปของ Ammonia nitrogen และ (-) หมายถึง ไม่ได้วิเคราะห์

Copyright by Mahidol University

เมื่อนำสภาวะที่คัดเลือกแล้วว่าเหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย (เจือจางน้ำเสียจากมูลสุกรหมักเป็น 100 มก./ล. โดยใช้ค่า NH_3-N เป็นเกณฑ์ และเติมสารเคมี คือ NaCl 3 กรัม/ลิตร, $NaHCO_3$ 1 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.1 กรัม/ลิตร) ไปเลี้ยงกลางแจ้งในบ่อซีเมนต์ขนาด 7.5 ตร.ม. ความลึกของน้ำที่ใช้เลี้ยง 10 ซม. และความเร็วในการกวนน้ำ 20 ซม./วินาที ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียแสดงในตารางที่ 2-4 พบว่า NH_3-N บางส่วนสาหร่ายนำไปใช้และบางส่วนระเหยไปในรูปก๊าซแอมโมเนีย เมื่อนำสาหร่าย *Spirulina* ที่ได้มาวิเคราะห์ค่าโปรตีนได้ร้อยละ 75.4 ของน้ำหนักแห้ง และอัตราการผลิต 9.8 ก./ตร.ม./วัน ในขณะที่กลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี พบว่า มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 70.8 และอัตราการผลิต 10.5 ก./ตร.ม./วัน

ตารางที่ 2-4 ผลการศึกษาการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร

พารามิเตอร์ที่วัด	วันที่ 0 (วันเริ่มต้น)	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4 (วันสุดท้าย)
pH	7.9	9.19	9.29	9.61	10.24
Algal growth (OD_{560})	0.463	0.580	0.609	0.802	0.903
NH_3-N (mg/l)	95	43	11	4	5
TKN (mg/l)	120	67	25	18	16
COD (mg/l)	220	160	160	150	145
กรดโวลาไทล์ (mg/l)	144	36	36	36	18

ที่มา : Chiu และคณะ(15)

2.2.1.3 แนวทางการจัดการน้ำเสียจากฟาร์มสุกร (16)

1) ลดความเข้มข้นของปริมาณมลสารในน้ำทิ้ง โดยเก็บกวาดมูลสุกรภายในคอกสุกรออกให้มากที่สุดก่อนทำความสะอาดคอก ซึ่งมูลสุกรสามารถนำไปทำเป็นปุ๋ย หรือนำไปหมัก

2) น้ำทิ้งจากฟาร์มเลี้ยงสุกรแต่ละฟาร์มควรมีแหล่งระบายน้ำทิ้งที่แน่นอน และดำเนินการบำบัดน้ำทิ้งด้วยวิธีที่เหมาะสม โดยเฉพาะระบบบำบัดแบบชีววิทยา แต่การบำบัดแบบนี้จำเป็นต้องใช้พื้นที่และเงินทุน อาจจะไม่เหมาะสมเมื่อคำนึงถึงสภาพเศรษฐกิจและความคุ้มทุนของ

Copyright by Mahidol University

เกษตรกร ดังนั้นจึงจำเป็นต้องพิจารณาเลือกใช้ระบบบำบัดที่ง่าย ประหยัด และเหมาะสมกับสภาพพื้นที่ด้วย ระบบบำบัดน้ำเสียของฟาร์มเลี้ยงสุกรซึ่งใช้กันอยู่ในปัจจุบัน (17) ประกอบด้วย

ก. ระบบบ่อหมัก/บ่อผึ่ง กักเก็บน้ำเสียไว้โดยขุดเป็นบ่อดิน ยกคันบ่อ 2-3 บ่อเป็นอย่างน้อย ขนาดและจำนวนของบ่อขึ้นกับปริมาณน้ำเสียและค่าความสกปรก น้ำเสียจะตกตะกอน และเกิดการหมักย่อยสลายสิ่งสกปรกแบบไร้ออกซิเจนใน 2 บ่อแรก ซึ่งสิ่งสกปรกจะถูกกำจัดเป็นส่วนใหญ่ ส่วนในบ่อที่ 3 จะมีสภาพเป็นบ่อผึ่ง มีสาหร่ายเจริญเติบโต มีสภาพการบำบัดแบบใช้ออกซิเจน ซึ่งจะทำให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้นก่อนระบายลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ระบบนี้มีข้อจำกัดคือ ต้องการพื้นที่มากและมีกลิ่น เหมาะสมในกรณีที่มีที่ดินอยู่เดิม ไม่ต้องจัดซื้อ และอยู่ห่างไกลชุมชน

ข. ระบบถังหมัก/บ่อผึ่ง ใช้ถังหมักแทนบ่อหมักในกรณีแรก โดยก่อเป็นคอนกรีตหรือใช้ถังคอนกรีตสำเร็จรูป เพื่อลดเนื้อที่ให้น้อยลง ข้อดีของระบบนี้คือ สามารถนำก๊าซชีวภาพกลับมาใช้ประโยชน์ได้ โดยน้ำเสียจากสุกร 1 ตัวจะให้ก๊าซมีเทนประมาณ 100-200 ลิตร/วัน และจะลดปัญหาเรื่องกลิ่นลงได้มาก เหมาะสำหรับฟาร์มที่มีที่ดินน้อยและต้องการนำก๊าซชีวภาพกลับมาใช้ประโยชน์

ค. ระบบถังหมักไร้ออกซิเจนแบบเร็ว นำเอาระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนซึ่งได้รับการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นมาประยุกต์ใช้ เช่น Anaerobic filter (AF) หรือ Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) เป็นต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการบำบัดและลดเนื้อที่ใช้งานของระบบบำบัด แต่น้ำเสียที่จะบำบัดในระบบนี้จำเป็นต้องผ่านการแยกตะกอนออกเสียก่อน

ง. ระบบก๊าซชีวภาพ เป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบครบวงจร ซึ่งพัฒนาขึ้นมาใช้กับฟาร์มสุกรขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ระบบก๊าซชีวภาพที่ใช้สำหรับบำบัดน้ำเสียและผลิตพลังงานในฟาร์ม ประกอบด้วยส่วนต่างๆ หลายส่วน ซึ่งแต่ละส่วนจะมีหน้าที่การทำงานแตกต่างกันดังนี้ (2)

- บ่อรวมน้ำเสีย (Wastewater collector) ในกรณีที่ระดับรางส่งของเสียจากคอกและโรงเรือนต่างๆ อยู่ต่ำมาก จนไม่สามารถวางระบบให้การไหลของน้ำเสียเข้าสู่ระบบก๊าซชีวภาพได้โดยวิธีการไหลตามธรรมชาติ จึงจำเป็นต้องมีบ่อรวมน้ำเสียสำหรับสูบน้ำเสียเข้าระบบ โดยปกติจะพยายามออกแบบให้มีพื้นที่หน้าตัดของบ่อน้อยที่สุด ปริมาตรบรรจุไม่เกินน้ำเสียที่จะไหลลงภายใน 1 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถของเครื่องสูบที่จะทำงานได้ ทั้งในปริมาณและความต่างระดับ

Copyright by Mahidol University

- บ่อตกตะกอน (Settling tank) เพื่อแยกน้ำที่มีตะกอน หรือน้ำส่วนข้นออกจากน้ำส่วนใส และจะใช้ในกรณีที่น้ำเสียที่มาจากคอกมีปริมาณของแข็งปนกับน้ำเสียนั้นน้อยกว่าร้อยละ 3 ของแข็งโดยส่วนใหญ่จะตกตะกอนอยู่ด้านล่างของบ่อตกตะกอน และน้ำเสียส่วนใสจะอยู่ด้านบน น้ำเสียส่วนข้นที่มีของแข็งปนอยู่โดยส่วนใหญ่จะถูกปล่อยไปสู่บ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบช้า และ น้ำเสียส่วนใหญ่จะถูกปล่อยลงสู่บ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบเร็ว

- บ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบช้า (Low rate anaerobic digester) ใช้สำหรับเป็นบ่อหมักที่ให้แบคทีเรียหลายชนิดที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์อาศัยอยู่ และย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียที่ปล่อยลงไป ผลที่ได้จากการย่อย คือ ก๊าซชีวภาพ อัตราการปล่อยสารอินทรีย์ที่ปนอยู่ในน้ำเสีย (organic loading rate) ลงสู่บ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบช้านี้ควรอยู่ในช่วงประมาณ 2-4 กก./ลบ.ม. ของบ่อหมัก/วัน และระยะเวลาของการหมักโดยเฉลี่ยประมาณ 30-40 วัน ซึ่งปริมาณก๊าซชีวภาพที่ได้จะอยู่ในช่วงประมาณ 0.4-0.7 ลบ.ม. ของบ่อหมัก/วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอัตราการปล่อยสารอินทรีย์ลงในบ่อหมัก ระยะเวลาของการหมักและประสิทธิภาพในการหมัก บ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบช้ามีหลายรูปแบบแต่ในปัจจุบันนิยมใช้ 2 แบบ คือ บ่อหมักแบบโดมคงที่ (Fixed dome digester) และบ่อหมักแบบราง (Channel digester)

เนื่องจากฟาร์มสุกรที่ศึกษา (บุญมีฟาร์ม จ.ราชบุรี)ใช้บ่อหมักแบบราง จึงขออธิบายรายละเอียดเฉพาะบ่อหมักแบบราง ดังนี้ ลักษณะของบ่อหมักจะเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า หรือหัวท้ายอาจโค้งมน การออกแบบจะให้มีขนาดความยาวของบ่อมากกว่าความกว้างของบ่ออย่างน้อย 4-5 เท่า ทั้งนี้เพื่อให้รูปร่างของบ่อมีความยาวมาก เมื่อของเสียเข้าทางด้านหนึ่งของบ่อหมัก ของเสียส่วนที่เข้ามาก่อนจะค่อยๆ ทะยอยล้นออกสู่อีกด้านหนึ่งของบ่อหมัก ซึ่งจะใช้เวลาเท่าไรนั้นขึ้นอยู่กับปริมาตรของเสียที่เติมลงไป และปริมาณบรรจุของบ่อหมัก ความดันของก๊าซที่เกิดขึ้นในบ่อหมักจะทำให้เกิดการผสมของก๊าซภายในบ่อ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการผสมของของเหลวในส่วนล่างกับส่วนบนของบ่อ ซึ่งเป็นผลดีต่อการหมัก ส่วนที่ใช้เก็บก๊าซจะใช้พลาสติกปิดด้านบนของบ่อหมัก เพื่อเก็บก๊าซโดยปลายพลาสติกจะจมอยู่ในน้ำเพื่อกันก๊าซรั่ว และปริมาตรการเก็บก๊าซนี้จะสามารถขยายได้ตามความต้องการ ก๊าซที่เก็บใต้พลาสติกจะมีความดันค่อนข้างต่ำประมาณ 5-7 ซม. ของน้ำ ความดันของก๊าซดังกล่าวสามารถใช้ได้โดยตรงกับเครื่องยนต์ แต่ถ้าต้องการใช้กับอุปกรณ์อื่นๆ เช่น เครื่องกกลูกสุกร ตะเกียง หรืออุปกรณ์ที่ต้องการก๊าซที่มีแรงดันสูง จำเป็นต้องมีเครื่องสูบก๊าซเพื่อเพิ่มแรงดันในการส่งก๊าซด้วย อย่างไรก็ตามบ่อหมักแบบราง ที่นิยมใช้มักเป็นบ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบช้า สำหรับฟาร์มเลี้ยงสัตว์ขนาดกลางและขนาดใหญ่ เนื่องจากค่าลงทุนต่ำ สร้างง่าย และใช้พื้นที่น้อยกว่าบ่อหมักแบบโดมคงที่

Copyright by Mahidol University

- ลานกรองของแข็ง (Sand bed filter) เนื่องจากน้ำเสียที่ผ่านการหมักจากบ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบช้า จะมีของแข็งตกค้างอยู่ในของเหลวที่ออกจากบ่อหมักพอสมควร ลานกรองของแข็งสามารถแยกของแข็งออกจากน้ำได้ พบว่าสามารถแยกค่า COD ออกจากน้ำได้ถึงร้อยละ 95-99 และใช้เป็นสถานที่ตาก เพื่อทำให้ความชื้นของของแข็งที่ค้างอยู่บนลานกรองของแข็งนั้นแห้งเหลือความชื้นประมาณร้อยละ 60

- บ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบเร็ว (High rate anaerobic digester) เหมาะสำหรับใช้บำบัดน้ำเสียประเภทที่มีปริมาณสารอินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารละลายปนเปื้อนอยู่ในน้ำ บ่อหมักแบบนี้จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ละลายอยู่ในน้ำได้ค่อนข้างเร็ว ระยะเวลาการหมักของน้ำเสีย (Hydraulic Retention Time, HRT) ประมาณ 0.5-3 วัน โดยที่ประสิทธิภาพของการย่อยสลายสารอินทรีย์สูงถึงร้อยละ 80-90 บ่อหมักแบบ UASB เป็นบ่อหมักไร้ออกซิเจนรูปแบบหนึ่งที่นำมาใช้ร่วมในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์ โดยใช้บำบัดน้ำเสียในส่วนที่เจือจาง ซึ่งอาจจะมาจากส่วนล้นของบ่อตกตะกอน หรือน้ำล้นจากบ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบช้า บ่อหมักแบบ UASB มีระบบไม่ซับซ้อน ในระบบมีทางให้น้ำเสียที่จะเข้าไปหมักเข้าทางส่วนล่างสุดของบ่อ โดยมีทางเข้าหลายๆ จุดกระจายไปตามพื้นที่หน้าตัดของบ่อ บริเวณส่วนล่างสุดของบ่อหมัก UASB จะมีแบคทีเรียจับกลุ่มกันอยู่อย่างหนาแน่น เมื่อของเสียเข้ามาและสัมผัสกับแบคทีเรีย จะเกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรีย ผลการย่อยสลายจะได้ก๊าซชีวภาพ และทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของกลุ่มแบคทีเรียไปพร้อมๆ ก๊าซลอยขึ้นไปยังส่วนบนของบ่อ เมื่อชนกับโครงสร้างที่ปิดปากบ่อหรือตัวแยกของแข็ง-น้ำ-ก๊าซ ก็จะเกิดการแยกตัว กลุ่มแบคทีเรียที่มีน้ำหนักมากจะตกลงคืนสู่ส่วนล่างของบ่อเพื่อทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียต่อไป ก๊าซก็จะถูกปล่อยออกไปยังท่อนำก๊าซ ส่วนที่เป็นน้ำซึ่งผ่านการบำบัดแล้ว จะล้นออกทางส่วนบนของบ่อ น้ำที่ผ่านการหมักแบบ UASB จะทำให้ค่า COD ลดลงไปจนเกือบถึงระดับที่สามารถปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้ แต่อย่างไรก็ตามควรที่จะปล่อยลงในสระน้ำเปิด หรือบ่อเลี้ยงปลาก่อน เพื่อให้ระบบธรรมชาติย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีอยู่อีกเล็กน้อยนั้น ให้สะอาดมากยิ่งขึ้นพอที่จะหมุนเวียนกลับมาใช้ทำความสะอาดคอกสัตว์ได้อีกหรือปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้

Copyright by Mahidol University

2.3 ระบบก๊าซชีวภาพ

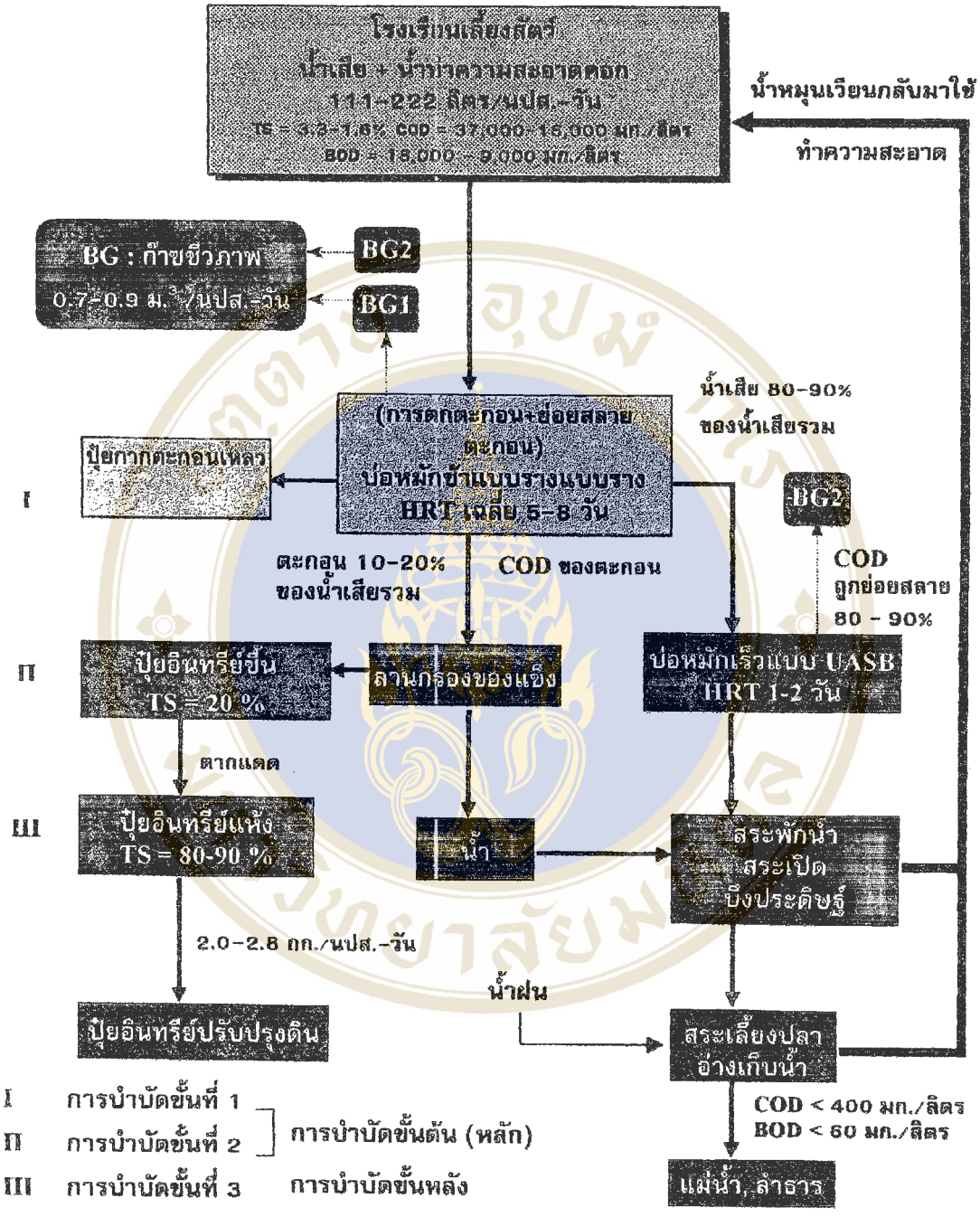
2.3.1 ความหมายของก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพ คือ ก๊าซที่มีเกิดขึ้นตามธรรมชาติจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติภายใต้สภาวะที่ปราศจากออกซิเจน ก๊าซชีวภาพประกอบด้วยก๊าซหลายชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย ส่วนใหญ่จะเป็นก๊าซมีเทน(CH_4) 50-70% และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์(CO_2) 30-50% ส่วนที่เหลือเป็นก๊าซอื่นๆ คือ ไฮโดรเจนซัลไฟด์(H_2S) และไอน้ำ (2) สารอินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ผลิตก๊าซชีวภาพได้นั้น ส่วนใหญ่จะเป็นสารเคมีที่ได้มาจากมูลสัตว์ เช่น มูลโค กระบือ สุกร เป็ด ไก่ หรือจากวัชพืชบก วัชพืชน้ำ เช่น หญ้า ผักตบชวา สาหร่ายทะเล ตลอดจนวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรม เช่น เปลือกผลไม้จากโรงงานผลิตผลไม้กระป๋อง เศษเนื้อและเลือดจากโรงงานทำปลากระป๋อง น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารพวกน้ำมันปาล์ม แป้ง น้ำกากส่าจากโรงงานผลิตสุรา เป็นต้น(18) สารอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบของชีวมวล ได้แก่ เซลลูโลส คาร์โบไฮเดรท โปรตีน และสารอินทรีย์เหล่านี้จะผ่านการย่อยของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มมีเทนแบคทีเรีย (Methanogenic bacteria) ในกรณีของมูลสัตว์ซึ่งเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ มีโครงสร้างซับซ้อน ต้องอาศัยแบคทีเรียกลุ่มอื่นๆ ย่อยสลายก่อนแล้วจึงจะย่อยสลายโดยมีเทนแบคทีเรียและได้มาเป็นก๊าซชีวภาพ การใช้ก๊าซชีวภาพเน้นให้ใช้ประโยชน์ทางด้านการผลิตความร้อนโดยตรงมากที่สุด เช่น การหุงต้ม การกกลูกสุกร การอบแห้ง เป็นต้น เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพเชิงความร้อนของระบบการใช้ประโยชน์ (4)

2.3.2 การส่งเสริมการผลิตก๊าซชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์

ในปี พ.ศ. 2540 มีฟาร์มสุกรขนาดกลางและขนาดใหญ่ประมาณ 15 แห่ง ส่วนใหญ่อยู่ในภาคเหนือและบางแห่งอยู่ในภาคกลาง ได้ใช้เทคโนโลยีการหมักย่อยแบบไร้ออกซิเจนหรือระบบก๊าซชีวภาพ ซึ่งได้พัฒนาขึ้นโดยโครงการก๊าซชีวภาพไทย-เยอรมัน ณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่ พ.ศ.2533 เป็นต้นมา โดยจะผลิตพลังงานได้มากพอใช้ ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ ช่วยลดกลิ่นเหม็นแมลงวัน และบำบัดน้ำเสียจากมูลสุกร (รูปที่ 2-1) ต่อมาปลายปี 2538 กองทุนเพื่อส่งเสริมการอนุรักษ์พลังงาน สำนักงานคณะกรรมการนโยบายพลังงานแห่งชาติ(สพช.) สนับสนุนหน่วยบริการก๊าซชีวภาพ สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อส่งเสริมการผลิตก๊าซชีวภาพจากมูลสัตว์ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ขนาดกลางและขนาดใหญ่

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 2-1 แผนผังขององค์ประกอบต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในระบบก๊าซชีวภาพและระบบบำบัดน้ำเสียในฟาร์มเลี้ยงสุกรขนาดกลางและขนาดใหญ่

ที่มา : วีระพันธ์ และคณะ(4)

Copyright by Mahidol University

หน่วยบริการก๊าซชีวภาพให้บริการด้านเทคโนโลยีการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยสำรวจฟาร์มเพื่อวางผังระบบก๊าซชีวภาพและส่วนประกอบต่างๆ ให้เหมาะกับสภาพของพื้นที่ภายในฟาร์ม และจัดสร้างระบบบำบัดน้ำเสียที่เหมาะสมควบคู่ไปกับการผลิตก๊าซชีวภาพ เพื่อนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนภายในฟาร์ม และยังช่วยจัดการของเสียที่เกิดขึ้นภายในฟาร์มอย่างเป็นระบบและก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด เมื่อการก่อสร้างแล้วเสร็จและเริ่มเดินระบบแล้วแต่ละฟาร์มจะต้องรับไปดำเนินการและจัดการเอง สำหรับค่าก่อสร้างของระบบฯ จะขึ้นอยู่กับขนาดฟาร์มและองค์ประกอบของระบบก๊าซชีวภาพ ได้แก่ จำนวนสัตว์ยืนคอก, อุปกรณ์และเครื่องใช้ในด้านพลังงานของฟาร์ม ฯลฯ ซึ่งจะสามารถลดการใช้กระแสไฟฟ้าจากค่าใช้จ่ายเดิมลง 50-80% (19)

2.3.3 หลักการทำงานของระบบก๊าซชีวภาพ

โครงการผลิตก๊าซชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ สามารถแยกขั้นตอนการทำงานของระบบเป็นหลักใหญ่ๆ ได้ 3 ขั้นตอน (ดูแผนผังประกอบในรูปที่ 2-1) (4) คือ

2.3.3.1 <u>ขั้นตอนที่1</u> บ่อหมักช้าแบบรางแยกของเสียส่วนข้นและส่วนใสออกจากกัน ของเสียส่วนข้นจะถูกหมักย่อยในบ่อหมักช้าแบบร่างประมาณ 20-30 วัน จนอยู่ในสภาวะที่เสถียรและผ่านเข้าสู่ลานกรองของแข็ง โดยที่ลานกรองจะต่อเชื่อมกับบ่อหมักช้าแบบรางและรับกากของเสียส่วนข้นที่ผ่านการหมักย่อยแล้วจากบ่อหมักช้าแบบราง กากของเสียที่ได้จากลานกรองของแข็งนี้สามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์สำหรับพื้นที่เพาะปลูก ใช้ปลูกหญ้าในสนามกอล์ฟ สำหรับของเสียส่วนใสซึ่งมีปริมาณ 80-90% ของของเสียทั้งหมด จะไหลผ่านไปยังบ่อหมักเร็วแบบ UASB เพื่อบำบัดในขั้นตอนที่ 2 ต่อไป

2.3.3.2 <u>ขั้นตอนที่2</u> สารอินทรีย์ส่วนใหญ่ในน้ำเสียซึ่งอยู่ในรูปของสารละลายจะถูกย่อยสลายในบ่อหมัก UASB และกลายเป็นก๊าซชีวภาพในที่สุด อัตราส่วนของปริมาตรของบ่อหมักช้าแบบรางต่อปริมาตรของบ่อหมักเร็วแบบ UASB ประมาณ 2-3:1 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะคุณสมบัติของน้ำเสียจากฟาร์มที่เข้าสู่ระบบบำบัด น้ำที่ผ่านการบำบัดจากบ่อหมักเร็วแบบ UASB แล้วนี้จะมีค่า COD ประมาณ 800-1,000 มก./ล. ซึ่งในขั้นตอนของการบำบัดแบบไร้ออกซิเจนจะสามารถลดค่าความสกปรกของสารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียได้ประมาณร้อยละ 95 ของค่าความสกปรกเริ่มต้น

Copyright by Mahidol University

2.3.3.3 <u>ขั้นตอนที่3</u> ขั้นตอนการบำบัดขั้นหลัง (Post Treatment) ออกแบบระบบให้มีการทำงานเลียนแบบธรรมชาติโดยอาศัยการทำงานของพืช สาหร่าย สัตว์น้ำเล็กๆ และแบคทีเรียซึ่งเกิดตามธรรมชาติทำงานสัมพันธ์กันเพื่อบำบัดน้ำที่ได้ผ่านการบำบัดแบบไร้ออกซิเจนมาแล้วในขั้นต้นให้สะอาดมากยิ่งขึ้น จนสามารถหมุนเวียนนำกลับมาใช้ทำความสะอาดคอกหรือปล่อยออกสู่ภายนอกได้ ประกอบด้วยสระพักแบบเปิดที่รับน้ำเสียจากการบำบัดขั้นที่ 2 แล้วปล่อยเข้าสู่ชุดบึงพืชน้ำซึ่งปลูกพืชบางชนิดไว้ให้ช่วยในการบำบัดน้ำเสียทั้งโดยทางตรงและทางอ้อมซึ่งจะทำงานสัมพันธ์กันกับกลุ่มของแบคทีเรีย และในส่วนสุดท้ายของชุดบึงพืชน้ำจะเป็นสระเลี้ยงปลา เพื่อใช้ประกอบในการสังเกตคุณภาพน้ำที่ได้ต่อสิ่งมีชีวิต น้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วนี้จะมีค่า COD สุดท้ายที่คาดไว้ไม่เกิน 200-400 มก./ล. และมีค่า BOD น้อยกว่า 60 มก./ล. ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กรมควบคุมมลพิษยอมรับได้

2.3.4 กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศ และการเกิดก๊าซชีวภาพ

การบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ อาศัยกลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียของจุลินทรีย์หลายจำพวก จะได้ผลผลิตที่เป็นส่วนผสมของก๊าซต่างๆ ดังสมการที่ 1 (อธิบายละเอียดดังรูปที่ 2-2) ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน การย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียของจุลินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศ สามารถแบ่งได้ 3 ขั้นตอนใหญ่ๆ ดังนี้ (20)

$$\text{organic matter} \longrightarrow CH_4 + CO_2 + H_2 + NH_3 + H_2S \qquad *1*$$

<u>ขั้นตอนที่1</u>: **Hydrolysis** เป็นขั้นตอนแรกที่มีความสำคัญในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน ทั้งนี้เพราะมีการย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ที่มีโครงสร้างซับซ้อน (polymers) (มีการเปลี่ยนขนาดและรูปร่างโมเลกุลของสารทำให้แบคทีเรียสามารถนำสารอาหารผ่านผนังเซลเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานได้ โดยที่ยังไม่มีการลดค่า COD) ทั้งที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ เช่น คาร์โบไฮเดรท โปรตีน และไขมัน โดย fermentative bacteria จะขับเอนไซม์ออกมาย่อยภายนอกเซล (extracellular enzyme) ผลของการย่อยสลายจะได้สารประกอบอินทรีย์โมเลกุลเล็กลงที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อนและละลายน้ำได้ง่าย เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดอะมิโน และกรดไขมัน

Copyright by Mahidol University

ขั้นตอนที่ 2: Acetogenesis/Acidification หรือ Acid Formation สารอินทรีย์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลงพวกกรดอินทรีย์ระเหยง่าย และแอลกอฮอล์ (ที่เกิดขึ้นในขั้น 1) จะถูกย่อยต่อโดย acetogenic bacteria จะได้กรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน (เป็นสารประกอบสำคัญในการสร้างมีเทน), กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก (acetogenic bacteria เปลี่ยนกรดอินทรีย์ทั้งสองให้เป็นกรดอะซิติก) นอกจากนี้ขั้นตอนการย่อยสลายโปรตีนและกรดอะมิโน ทำให้มีแอมโมเนียถูกปลดปล่อยออกมาด้วย โดยปกติจะมีค่าไม่สูงจนเป็นพิษต่อปฏิกิริยาระหว่างการหมัก

ขั้นตอนที่ 3: Methanogenesis การสร้างก๊าซมีเทนซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายของการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน เกิดได้ 2 แนวทาง ทางแรก คือ การหมักกรดอะซิติกจนได้เป็นมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ แบคทีเรียที่ใช้กรดอะซิติก คือ acetoclastic (หรือ acetophilic) methanogens ปฏิกิริยาที่เกิดแสดงได้ดังสมการที่ 2

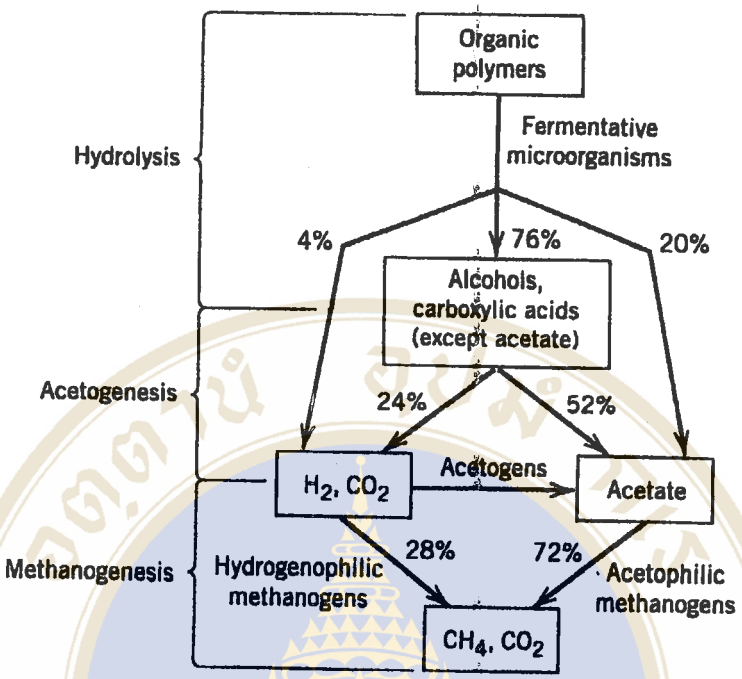
$$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2 \qquad *2*$$

อีกทางหนึ่งเกิดจาก methanogens บางชนิดสามารถใช้ไฮโดรเจนไปรีดิวซ์คาร์บอนไดออกไซด์กลายเป็นมีเทน แบคทีเรียนี้คือ hydrogenophilic methanogens ดังแสดงในสมการที่ 3

$$4H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O \qquad *3*$$

ของเสียถูกทำให้คงตัวในขั้นตอนนี้โดยการเปลี่ยนให้เป็นก๊าซมีเทน ซึ่งจะไม่ละลายน้ำและแพร่ออกไปจากระบบ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นก็เช่นกันอาจจะแพร่ออกจากระบบ หรืออาจเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของด่างไบคาร์บอเนต การเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้จะเกิดได้ช้า เนื่องจากกลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตก๊าซมีเทน(methanogenic bacteria) เจริญเติบโตช้า สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเท่านั้น มีความไวต่อค่า pH (pH ที่เหมาะสมประมาณ 7.0 และปฏิกิริยาจะช้าลงมากเมื่อ pH อยู่นอกช่วง 6.0-8.0) และมีจำนวนประชากรต่ำ (24) ดังนั้นขั้นตอนนี้จึงเป็นขั้นตอนจำกัดการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่สำคัญ และบอกถึงความสามารถในการบำบัดสารอินทรีย์ของระบบได้

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 2 -2 ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศ (Anaerobic decomposition of organic matter.)

ที่มา : Zehnder และคณะ(20)

2.3.5 ประโยชน์ทางด้านการปรับปรุงสภาพแวดล้อม

การนำมูลสัตว์มาหมักในบ่อก๊าซชีวภาพเป็นการช่วยกำจัดมูลในบริเวณที่เลี้ยงสัตว์ โดยลดปริมาณอินทรีย์วัตถุที่เป็นสาเหตุของน้ำเสียและกลิ่นเหม็น เนื่องจากประมาณ 30-50% ของอินทรีย์วัตถุในมูลสัตว์จะถูกย่อยสลายในระบบก๊าซชีวภาพ ซึ่งจะทำให้กากมูลหมักไม่มีกลิ่นเหม็น และไม่ดึงดูดแมลงวันให้ไปวางไข่ ทำให้แมลงวันในบริเวณนั้นลดลง เป็นการช่วยรักษาสภาพแวดล้อมให้ดีขึ้น นอกจากนั้นผลจากการนำมูลสัตว์ไปหมักในบ่อก๊าซชีวภาพซึ่งมีสภาพปราศจากอากาศหรือไม่มีก๊าซออกซิเจน เป็นเวลานาน (ประมาณ 30 วัน) ยังทำให้ไข่พยาธิและจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคต่างๆ ส่วนใหญ่ที่มีอยู่ในมูลสัตว์ตายไปด้วย ดังนั้นการนำมูลสัตว์มาหมักด้วยวิธีนี้จึงช่วยให้ผู้ที่อยู่อาศัยในบริเวณนั้นมีสุขภาพอนามัยดีขึ้น และป้องกันมูลสัตว์ไม่ให้ถูกชะล้างลงไปในแหล่งน้ำสาธารณะตามธรรมชาติ ซึ่งจะทำให้น้ำเน่าเสียได้ ถือได้ว่าเป็นการลดปัญหามลภาวะทางน้ำได้อีกทางหนึ่ง

Copyright by Mahidol University

2.4 สาหร่าย *Spirulina*

สาหร่าย *Spirulina* จัดเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งอยู่ในดิวิชัน Cyanophyta อาจเรียกว่า "Cyanobacteria" จัดเป็นจุลินทรีย์พวก prokaryote ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ซึ่งรวมอยู่ในพวกเดียวกับแบคทีเรีย แต่มีเซลขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย คุณสมบัติที่สำคัญที่ไม่พบในพวกแบคทีเรีย คือ มีคลอโรฟิลล์เอ และรงควัตถุสีอื่นๆ เช่น phycoerythrin, phycocyanin สาหร่าย *Spirulina* ที่ค้นพบแล้วมีประมาณ 30 ชนิด(Species) ชนิดที่มีรายงานการทดลองและใช้ประโยชน์มากที่สุด คือ *Spirulina platensis* และ*Spirulina maxima* (21, 22, 23) และประเด็นสำคัญที่ทำให้สาหร่าย *Spirulina* ได้รับความสนใจ ศึกษาวิจัยมากเป็นพิเศษ และได้รับการพัฒนาผลิตเป็นอุตสาหกรรมอาหารสัตว์และอาหารเสริมในมนุษย์ คือ (24, 25, 26, 27)

- เป็นสาหร่ายที่มีอัตราการสังเคราะห์แสงค่อนข้างสูง และสามารถเจริญได้ทั้งในน้ำสะอาด น้ำทิ้ง หรือน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม จึงมีส่วนนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสีย

- มีศักยภาพที่เหมาะสมในการใช้เป็นวัตถุดิบทางการเกษตรและทางอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหารเสริมสุขภาพสำหรับคน อุตสาหกรรมอาหารสัตว์ และอุตสาหกรรมผลิตเคมีภัณฑ์ เป็นต้น เนื่องจากประกอบด้วยโปรตีน 50-70% ของน้ำหนักแห้ง มีวิตามินและเกลือแร่ที่สำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะวิตามินบีและอี และมีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวในปริมาณสูง (28)

- ต้นทุนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายต่ำกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ทั้งนี้เพราะสาหร่ายเจริญเติบโตในสภาพ photoautotroph ซึ่งใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน ใช้ CO_2 จากอากาศเป็นแหล่งของคาร์บอน และใช้สารอาหารอื่นๆ ในรูปของสารประกอบอนินทรีย์ซึ่งมีราคาถูก

2.4.1 การจัดจำแนก

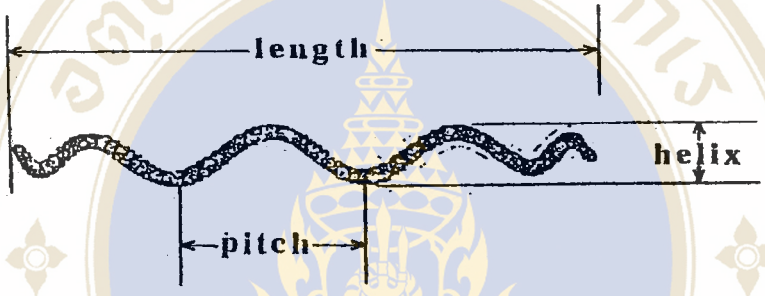
Venkataraman (28) จัดอนุกรมสาหร่าย *Spirulina* ได้ดังนี้

Phylum Cyanophyta (Cyanochloronta)
Class Cyanophyceae (Cyanobacteria)
Order Oscillatoriales
Family Oscillatoriaceae
Genus Spirulina
Species *Spirulina platensis*, *Spirulina maxima*

Copyright by Mahidol University

2.4.2 ลักษณะจำเพาะ

2.4.2.1 <u>รูปร่าง</u> สาหร่าย *Spirulina* ประกอบด้วยเซลรูปทรงกระบอกหลายเซลเรียงต่อกันเป็นเส้นสายที่ไม่แตกแขนง เรียกว่า "trichome" เส้นสายจะบิดเป็นเกลียวคล้ายลวดสปริง เรียกว่า "helicoidal trichomes" ไม่มีชีทหุ้ม รูปร่างที่เป็นเกลียวเป็นลักษณะของสกุล(genus) ความกว้างของเกลียว(helix) ระยะห่างระหว่างเกลียว(pitch) และความยาวของ trichome (length) เกลียวอาจแน่นหรือห่างจะแตกต่างกันไปตาม แต่ชนิด(species) (รูปที่ 2-3) หรือแม้แต่สาหร่าย *Spirulina* ชนิดเดียวกันเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมต่างกัน ขนาดและรูปร่างอาจจะต่างกันด้วย (22, 23)



รูปที่ 2- 3 รูปร่างและการวัดส่วนต่างๆ ของสาหร่าย *Spirulina*

ที่มา : สุชาติ (22)

2.4.2.2 <u>ขนาด</u> ศึกษาสาหร่าย *Spirulina* ชนิด *S. platensis* (ชาด)และชนิด *S. maxima* (เม็กซิโก) เมื่อเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่สภาวะแวดล้อมเหมือนกัน แสดงในตารางที่ 2-5

ตารางที่ 2-5 เปรียบเทียบขนาดสาหร่าย *Spirulina* ชนิด *S. platensis* และชนิด *S. maxima*

พารามิเตอร์ที่วัด (หน่วยเป็นไมโครเมตร)	*S. platensis*	*S. maxima*
ความกว้างหรือเส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียว(helix)	35-50	50-60
ระยะห่างระหว่างเกลียว(pitch)	60	80
เส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียว	6-8	4-6
ความยาวของ trichome(length)	300-500	ไม่ได้ระบุ

ที่มา :ลัดดา (21), สุชาติ (22), Ciferri (23) และ Venkataraman (28)

Copyright by Mahidol University

2.4.2.3 <u>การสืบพันธุ์</u> สาหร่าย *Spirulina* จะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ คือ การแบ่งตัวที่กึ่งกลาง trichome ซึ่งเป็นแบบ cell division หรือ binary fission ที่พบมากในแบคทีเรีย

2.4.2.4 <u>การเคลื่อนที่</u> สาหร่าย *Spirulina* สามารถเคลื่อนที่ได้แบบ creeping หรือ gliding ซึ่งจะเป็นการหมุนตัวบิดเป็นเกลียวรอบแกนตามยาวของ trichome ทำให้ trichome สามารถเคลื่อนที่ไปข้างหน้าหรือถอยหลังได้ (28)

2.4.2.5 <u>รงควัตถุ</u> ได้แก่ คลอโรฟิล-เอ, เบตา-คาโรทีน, ไฟโคไซยานิน และอัลโล-ไฟโคไซยานิน (ซึ่งอยู่ในไฟโคบิลิโซมทำหน้าที่เป็นโปรตีนสำรองในเซล) ไฟโคบิลิโซมเป็นโครงสร้างที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทุกชนิด พบอยู่บริเวณรอบนอกของเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ (30) คลอโรฟิลล์ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นคลอโรฟิลล์ชนิดเอเท่านั้น ซึ่งจัดเป็นรงควัตถุสังเคราะห์แสงขั้นต้น คลอโรฟิลล์เอ (จากการคำนวณสูตรโมเลกุล) มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ 8.22 % ของน้ำหนักโมเลกุล และคลอโรฟิลล์เอยังสามารถใช้เป็นดัชนีอย่างหนึ่งในการแสดงมวลสาหร่าย โดยมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณมวลสาหร่าย ปริมาณคลอโรฟิลล์เอจะผันแปรได้ ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ความเข้มแสง ปริมาณไนโตรเจนในอาหาร อายุเซลสาหร่าย และปัจจัยทางฟิสิกส์อื่นๆ

2.4.3 คุณสมบัติและโครงสร้างพิเศษของสาหร่าย *Spirulina* (21, 29)

1) ต้องการสภาพที่เป็นด่างมาก มีปริมาณ CO_2 ละลายในน้ำสูง ซึ่งจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆ จึงไม่เกิดปัญหาแบคทีเรียปนเปื้อน

2) มีรูปร่างเป็นเกลียว ขนาดค่อนข้างใหญ่(300-500 ไมโครเมตร) และมี gas vacuole จำนวนมาก (สามารถมองเห็นผนังกั้นเซลได้ชัดเจน และทำให้มีน้ำหนักเบา) อยู่ภายใน trichome จึงทำให้สาหร่ายสามารถลอยตัวได้ดี เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ง่ายโดยการกรอง

3) มีผนังเซลบาง ประกอบด้วยโปรตีนที่ย่อยง่าย (สารมิวโคโพลิเมอร์ เพคติน และโพลีแซคคาไรด์) ไม่มีเซลลูโลส ทำให้ย่อยง่ายกว่าพวกยีสต์และสาหร่ายเซลเดียวอื่นๆ และจากการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า ปริมาณสุทธิของโปรตีนที่ใช้ประโยชน์ได้ (Net Protein Utilization, NPU) ประมาณ 53-61%, ประสิทธิภาพการย่อยได้ (digestibility coefficience)สูงถึง 83-84% ปริมาณกรดนิวคลีอิคน้อย(กรดไรโบนิวคลีอิคและกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิค) คือ 3.75-4.50%(28, 30)

Copyright by Mahidol University

4) ไม่มีเมือก (mucous) หุ้มเมมเบรน ซึ่งเป็นข้อดีทำให้ไม่มีจุลินทรีย์ชนิดอื่นเกาะ

5) ไม่มี nucleus และไม่มี nuclear membrane สารพันธุกรรมกระจายอยู่ทั่วไปในเซล

6) ไม่มี chloroplast มีแต่ thylacoid (ซึ่งเป็นที่ยึดเกาะของ Chlorophyll-a) และรงควัตถุอื่นๆ เช่น C-phycocyanin, C-allophycocyanin, C- phycoerythrin และเบตา-คาโรทีน กระจายอยู่ทั่วไปในไซโตพลาสซึม สาหร่าย *Spirulina* จึงมีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงมาก

7) เม็ดสี (pigment) มีแต่คลอโรฟิล-เอ, ไฟโคไซยานิน(phycocyanin) มีสีน้ำเงินในปริมาณมาก (สกัดสีมาใช้เป็นสีผสมอาหารได้) และไฟโคเออริทริน (phycoerythrin) มีสีแดง

8) จุดเด่นสำคัญ คือ มีโปรตีนสูงถึง 65-70% ของน้ำหนักแห้ง เป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพสูง ส่วนหลักของโปรตีน คือ สารประกอบระหว่าง chlorophyll-protein กับ phycobilin protein และสารประกอบ phycocyanobilin-protein ที่เรียกว่า "biliprotein" เป็นสารสีน้ำเงิน ไม่มีในพืชสีเขียวหรือสาหร่ายสีเขียวชนิดอื่น biliprotein ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นจำนวนมาก และยังเป็นแหล่งของวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินบีรวม โคบาลามีนหรือวิตามินบี 12 รวมทั้งสารเบตาคาโรทีนซึ่งเป็น pro-vitamin A พบว่ามีปริมาณมาก

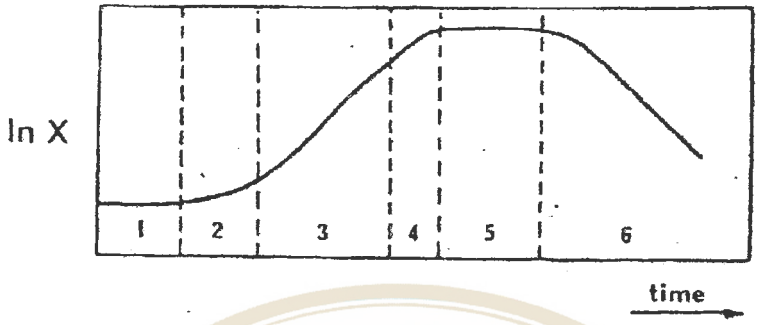
2.4.4 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

2.4.4.1 <u>ช่วงการเจริญ (growth phase)</u> การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิด (closed system) ซึ่งเรียกว่า batch culture เป็นการนำเชื้อสาหร่ายมาใส่ในอาหารใหม่ สาหร่ายจะมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซล แต่อัตราการเจริญจะลดลงจนกลายเป็นศูนย์ในที่สุด เนื่องจากสาหร่ายทนไม่ได้ต่อสารที่ตัวสาหร่ายปล่อยออกมาเป็นจำนวนมาก หรือเนื่องจากการที่แร่ธาตุอาหาร แสงสว่างไม่พอเพียง(31) สาหร่ายที่มีการเพิ่มจำนวนเซลโดยการแบ่งเซล จะมีช่วงการเจริญในการเลี้ยงแบบ batch culture 6 ช่วงเหมือนพวกแบคทีเรีย(รูปที่ 2-4) ดังนี้ (32)

1) Lag phase สาหร่ายปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ระยะนี้ไม่มีการเพิ่มจำนวนเซล

2) Acceleration phase RNA มีปริมาณเพิ่มขึ้น ต่อมาโปรตีนมีปริมาณเพิ่มขึ้น แล้วน้ำหนักแห้งมีการเพิ่มขึ้น จากนั้นจำนวนเซลจึงเพิ่มขึ้น

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 2-4 ช่วงการเจริญ 6 ช่วงในพวกสาหร่ายขนาดเล็ก

ที่มา : Vonshak และ Maske(32)

3) Logarithmic phase (Log phase, Exponential phase) สาหร่ายแบ่งเซลและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว มีเมตาโบลิซึมสูงสุด จึงมีอัตราการเจริญสูงสุด และเป็นอัตราการเจริญที่คงที่

4) Deceleration phase การเจริญของสาหร่ายเริ่มมีการเพิ่มขึ้นน้อยลง เนื่องจากมวลสาหร่ายมีความหนาแน่นมากขึ้น ทำให้บังแสงกันเอง แต่ละเซลจะได้รับแสงน้อยลง อัตราการสังเคราะห์แสงจึงลดลง ทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง (31)

5) Stationary phase มวลหรือจำนวนสาหร่ายมีปริมาณคงที่ แต่องค์ประกอบต่างๆ ภายในเซลบางอย่างอาจมีปริมาณเพิ่มขึ้น บางอย่างอาจมีปริมาณลดลง ช่วงการเจริญนี้เกิดจากการขาดแคลนแร่ธาตุอาหารที่สำคัญ การขาดแคลนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การยับยั้งการเจริญโดยสารที่สาหร่ายปล่อยออกมา การเปลี่ยนแปลง pH ในอาหาร การได้รับแสงไม่พอเพียงเนื่องจากความหนาแน่นของเซลสาหร่าย

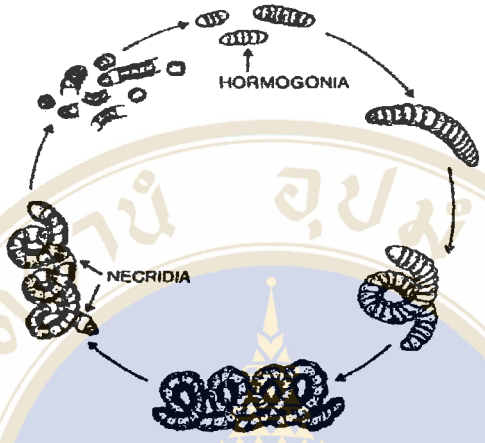
6) Death phase มวลสาหร่ายเริ่มลดลงเนื่องจากอัตราส่วนของการหายใจต่อการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น จนมีค่ามากกว่า 1 หรือเนื่องจากมีการตายของเซลสาหร่าย

2.4.4.2 <u>วงจรชีวิตของสาหร่าย *Spirulina*</u>

สายของสาหร่ายสร้างเซลพิเศษที่เรียกว่า " necridia" ซึ่งจะสลายตัวไปทำให้สาหร่ายหักออกเป็นท่อน แต่ละท่อนประกอบด้วยเซล 2-4 เซล เรียกว่า " hormogonia" หลังจากนั้นเซลที่ติดกันกับ necridia จะกลมขึ้น โดยผนังเซลอาจหนาขึ้นเพียงเล็กน้อย ไซโตพลาสซึมภายในเซลจะมี granule ลดลงและสีของเซลจะซีดลง แล้วแบ่งตัวแบบ fission จนได้สายใหม่ สาหร่าย *Spirulina* มี

Copyright by Mahidol University

วงจรชีวิตที่สั้น คือ ประมาณ 1 วัน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ และประมาณ 3-5 วัน ภายใต้สภาวะธรรมชาติ ซึ่งขึ้นอยู่กับฤดูกาลและสภาวะอุตุนิยมวิทยา (33) ดังรูปที่ 2-5



รูปที่ 2-5 วงจรชีวิตของสาหร่าย *Spirulina*

ที่มา: Ciferri (23)

2.4.3.3 <u>วิธีวัดการเจริญเติบโตและชีวมวล</u> (Growth and biomass measurements) (28,34) มีหลายวิธีดังนี้

1) การนับเซล (Cell counts) นิยมใช้กันมากในการวัดการเติบโตของสาหร่าย อุปกรณ์ที่ใช้ คือ กล้องจุลทรรศน์หกกลับ (inverted microscope) และสไลด์นับเซล (เลือกใช้ตามความหนาแน่นของตัวอย่างและขนาดของเซลในตัวอย่าง)

2) การวัดการกระจายของแสงหรือความขุ่น (Light scattering or turbidity) เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุดในการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อสาหร่ายบริสุทธิ์ ข้อดี คือ วัดง่ายและสะดวก ข้อมูลที่ได้เป็นค่าของชีวมวล (biomass) ที่เพิ่มขึ้น โดยวัดจากค่าน้ำหนักแห้ง อุปกรณ์ที่ใช้เรียกว่า colorimeter หรือ spectrophotometer ถ้าจำนวนเซลไม่หนาแน่นนักจำนวนเซลจะมีความสัมพันธ์แบบเรขาคณิตกับความเข้มของแสง คือ ความเข้มของแสงจะลดลงเมื่อจำนวนเซลเพิ่มขึ้น

3) การวัดน้ำหนักแห้ง (Dry weight measurement) เหมาะกับสาหร่ายชนิดที่ไม่ใช่เซลเดี่ยวที่นับจำนวนเซลไม่ได้ ฉะนั้นจึงนิยมใช้กับสาหร่ายชนิดที่เป็นเส้น โดยเริ่มเก็บตัวอย่างจากภาชนะเลี้ยง ก่อนเก็บควรกวนตัวอย่างให้เข้ากันดีเสียก่อน กรองสาหร่ายออกจากน้ำโดยการปั่นให้ตกตะกอน(centrifugation) รินน้ำใสๆ ข้างบนออก นำตัวอย่างไปอบให้แห้ง ถ้าใช้เครื่องกรอง

Copyright by Mahidol University

(membrane filter) ควรล้างสาหร่ายบนแผ่นกรองให้สะอาดปลอดจากเกลือหรือสิ่งปนเปื้อนด้วยสารอาหารอย่างเจือจางหรือน้ำกลั่น อุณหภูมิที่ใช้อบแห้ง 70-110°C นาน 10-12 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ นำแผ่นกรองออกจากตู้อบแล้วให้นำไปใส่โถดูดความชื้น(desiccator) นาน 15-30 นาที รายงานผลเป็นน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร หรือพื้นที่ของน้ำที่ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่าย

4) การวัดคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll determination) เป็นวิธีวัดชีวมวลที่รวดเร็ว โดยเก็บตัวอย่างจากภาชนะเลี้ยง แยกเซลออกโดยการปั่นให้ตกตะกอน ต่อจากนั้นจึงสกัดสารสี (pigment) โดยเติมสารเคมี ได้แก่ อะซิโตน, เมธานอล, อีเธอร์ เมื่อสกัดสารสีออกจากเซลแล้วให้กรองอีกครั้งเพื่อกำจัดตะกอนหรือสิ่งปนเปื้อนออกให้หมด นำสารละลายที่กรองได้ใส่ในหลอดแก้วสำหรับวัดค่าคลอโรฟิลล์ ทั้งนี้ต้องเลือกใช้ความยาวคลื่นแสงให้เหมาะสมกับชนิดสาหร่ายที่จะวัด

2.4.5 แหล่งอาศัย

สาหร่าย *Spirulina* สามารถเจริญอยู่ได้ในสิ่งแวดล้อมต่างๆ ซึ่งมีความแตกต่างกันมาก ได้แก่ ในดิน ทราย หนอง บึง แหล่งน้ำกร่อย ทะเล น้ำจืด บ่อน้ำพุร้อน แอ่งเกลือ บ่อปลา เป็นต้น นอกจากนี้สาหร่าย *Spirulina* ยังสามารถเลี้ยงได้ในอาหารที่เตรียมด้วยน้ำสะอาด(น้ำจืด) และน้ำเสีย (28) Ciferri (23) พบว่าสาหร่าย *Spirulina* ชนิดต้นแบบ คือ ชนิดที่ชอบความเป็นด่าง ได้แก่ *S. platensis* พบมากในทะเลสาบแชด(Chad)ในบริเวณตะวันออกของทวีปแอฟริกา และชนิด *S. maxima* ซึ่งพบในทะเลสาบ Texcoco ประเทศเม็กซิโก

สำหรับประเทศไทยเจียมจิตต์ (35) ได้สำรวจและเก็บรวบรวมสาหร่าย *Spirulina* จากธรรมชาติทั่วทุกภาคของประเทศ ในปี พ.ศ. 2529 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ(11-16 มีนาคม), ภาคใต้ (14-22 เมษายน), ภาคเหนือ(22-26 กันยายน) และในปีพ.ศ. 2530 สำรวจในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (14-18 มกราคม) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนใต้(1-7 เมษายน) พบตัวอย่างน้ำเขียว 44, 14, 15, 38 และ 40 ตัวอย่างตามลำดับ พบสาหร่าย *Spirulina* จำนวน 6, 2, 1, 13 และ 11 ตัวอย่างตามลำดับ จำนวนชนิดที่พบทั้งหมดในขณะนี้มีอย่างน้อยที่สุด 4 ชนิด ชนิดที่พบมากที่สุด คือ *Spirulina platensis* พบสาหร่าย *Spirulina* แพร่กระจายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมากกว่าภาคอื่นๆ คุณสมบัติทางเคมีของแหล่งน้ำที่พบสาหร่าย *Spirulina* คือ Alkalinity 55-1,488 ppm.as $CaCO_3$, Total Hardness 102-680 ppm.as $CaCO_3$, Chlorinity 0.11-19.89 ppm. และ pH 6.8-9.0

Copyright by Mahidol University

2.4.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ (26, 36)

2.4.6.1 ปัจจัยทางฟิสิกส์

1) แสงสว่าง (Illumination) ความเข้มแสงมีผลต่อการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย การเจริญเติบโต การสร้างเม็ดสี การหายใจ และสัณฐานวิทยา การเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ ความเข้มแสงที่เหมาะสมอยู่ที่ 8,000-10,000 ลักซ์ สำหรับการเพาะเลี้ยงแบบกลางแจ้งความเข้มของแสงจะเปลี่ยนแปลงตลอดวัน และเป็นปัจจัยจำกัดปริมาณสาหร่ายที่ผลิตได้ ความเข้มแสงที่เหมาะสมจะอยู่ที่ 20,000-30,000 ลักซ์ (38) เมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้น ทำให้อุณหภูมิของอาหารเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้น จึงจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณน้ำด้วย (25) การได้รับแสงในปริมาณมากเกินไปจะทำให้รงควัตถุถูกทำลายไป สาหร่ายจะมีสีซีดและตายในที่สุด อันเป็นผลจากปฏิกิริยา Photooxidation หรือ Photolysis ซึ่งจะเกิดหลังจากช่วง lag phase ในการให้แสงสว่าง ควรใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ (36) นอกจากนี้ช่วงเวลาที่เซลได้รับแสงมีผลต่อ ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงและอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วย โดยการให้แสงช่วงเวลาหนึ่ง และหยุดการให้แสงช่วงเวลาหลัง จะทำให้การเลี้ยงได้ผลดีกว่าการให้แสงติดต่อกันตลอดเวลา การตั้งเวลาโดยใช้นาฬิกาช่วย ช่วงแสงสว่างที่นิยมใช้ คือ 12 ชั่วโมงสว่าง/12 ชั่วโมงมืด หรือ 16 ชั่วโมงสว่าง/8 ชั่วโมงมืด (36)

2) อุณหภูมิ (Temperature) อุณหภูมิมีผลต่อส่วนประกอบของเซลโดยเฉพาะส่วนของโปรตีนและไขมัน จะส่งผลโดยตรงต่อกลไกการควบคุมกระบวนการเมตาบอลิซึม ความจำเพาะของปฏิกิริยาของเอนไซม์(การควบคุมสารผ่านเข้าออกเซล) และอัตราการทำปฏิกิริยาของเซล อีกทั้งสาหร่ายยังตอบสนองต่ออุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมตลอดเวลา อุณหภูมิภายในเซลสาหร่ายจะเท่ากับอุณหภูมิของน้ำหรือสารอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย สาหร่าย *Spirulina* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศแบบกึ่งร้อน และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 30-35 °C ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 20 °C หรือสูงกว่า 37 °C ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย พบว่าสาหร่าย *Spirulina* ไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่มากกว่า 40 °C ได้เป็นเวลานาน (จะเกิดการแตกหักของสาหร่าย) และหากนำมาเลี้ยงในที่อุณหภูมิสูงถึง 50 °C จะตายในเวลาเพียง 10 นาที อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมมีความสัมพันธ์กับความเข้มแสงด้วย หากความเข้มแสงประมาณ 23,000 ลักซ์ อุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 30-35 °C แต่ถ้าความเข้มแสงลดลงเหลือ 8,000 ลักซ์ อุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 25-30 °C (38)

Copyright by Mahidol University

3) ความเป็นกรด-ด่างในอาหารเพาะเลี้ยง (pH) ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเป็นตัวกำหนดความสามารถในการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ และแร่ธาตุอื่นๆ ทั้งยังมีอิทธิพลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของสาหร่ายด้วย (39) สาหร่าย *Spirulina* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วง pH 8.0-11.0 (ถ้า pH ต่ำกว่า 8.0 หรือสูงกว่า 11.0 การเจริญเติบโตจะลดลง) สำหรับ pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงสาหร่ายโดยทั่วไปควรอยู่ในช่วง 7.8-8.5 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร (38) การเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* โดยให้อากาศหรือก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จะรักษาระดับ pH ให้คงที่ (pH 9.5) การจะปรับเพิ่มหรือลดค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำได้โดยการเพิ่มหรือลดคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ หรือเติม NaOH (40)

4) ความเค็ม(Salinity) สาหร่ายที่ทนความเค็มสูงนั้นมีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อเซลมากกว่าสาหร่ายที่ทนความเค็มต่ำ เนื่องจากสาหร่ายต้องการพลังงานในการปรับสมดุลอิออนมากขึ้นจึงมีการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์เพื่อเพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสงมากขึ้น(36) สำหรับสาหร่าย *Spirulina* เจริญได้ในแหล่งน้ำที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 20-30 กรัม/ลิตร ช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด คือ 0-0.5 กรัม/ลิตร (39)

5) การกวน(Agitation) การกวนทำให้สาหร่าย *Spirulina* เจริญเติบโตได้ดี เนื่องจากช่วยเพิ่มการกระจายตัวของสาหร่ายให้ได้รับแสงอย่างสม่ำเสมอ ช่วยลดอัตราการตกตะกอนของสาหร่าย ทำให้สารอาหารกระจายตัวอย่างทั่วถึงเพื่อให้เซลสาหร่ายสามารถดูดซึมสารอาหารต่างๆ ไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ป้องกันไม่ให้เกิดความแตกต่างของอุณหภูมิที่ผิวน้ำและระดับลึกลงไป สำหรับเครื่องมือที่ใช้กวนอาจเป็นใบพัด หรือ thermoziphon อัตราการกวนขึ้นกับปริมาณความเข้มแสงและความหนาแน่นของเซลสาหร่าย การที่เซลสาหร่ายได้รับแสงที่มีความเข้มสูง โดยไม่มีการกวนให้น้ำหมุนเวียน ที่อุณหภูมิสูงถึงระดับหนึ่งจะเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (photoinhibition)ได้ (40) การกวนควรให้มีความเร็วพอเหมาะ โดยให้น้ำเคลื่อนที่ด้วยความเร็วประมาณ 20-25 เซนติเมตรต่อวินาที ซึ่งเป็นอัตราที่ไม่รบกวนสาหร่าย หากเร็วเกินไปจะทำให้เซลสาหร่ายแตกได้ง่าย (41)

6) ความเข้มข้นเริ่มต้น(Inoculum size) เป็นสิ่งสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย และมีความสัมพันธ์กับความเข้มแสง ถ้าความเข้มข้นเริ่มต้นของสาหร่ายน้อยเกินไป แต่ความเข้มแสงสูง เซลสาหร่ายจะซีดจาง(bleaching) ลดการสังเคราะห์แสงลง(อัตราการเจริญเติบโตจะต่ำ)

Copyright by Mahidol University

สำนักหอสมุด

และอาจทำให้สาหร่ายตายเนื่องจากได้รับแสงมากเกินไป จนเกิด photooxidation ในทางกลับกัน หากความเข้มข้นเริ่มต้นของสาหร่ายมากเกินไป จะมีอัตราการหายใจที่เพิ่มขึ้น และประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงลดลง เนื่องจากเซลสาหร่ายบดบังแสงกันเอง ความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะต่อการเพาะเลี้ยงอยู่ระหว่าง 225-250 มก.น้ำหนักแห้ง/ลิตร ซึ่งจะช่วยลดระยะเวลาในการเลี้ยงให้น้อยลงด้วย (28, 36)

2.4.6.2 ปัจจัยทางเคมี

ก. สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายโดยทั่วไป แบ่งออกเป็น 2 ประเภท (34) ได้แก่ ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients)เป็นแร่ธาตุที่ประกอบเป็นโครงสร้างของสาหร่ายและเพื่อการเจริญเติบโต สาหร่ายทุกชนิดต้องการใช้ปริมาณมาก (หน่วยเป็นกรัม) ได้แก่ คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ โปแตสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม (24, 39, 34) และ ธาตุอาหารรอง (Micronutrients) ประกอบด้วยธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้ปริมาณน้อย(หน่วยเป็นมิลลิกรัม) ซึ่งเมื่อเติมลงในอาหารจะช่วยให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีขึ้น ถ้าไม่ใช้การเจริญเติบโตจะช้าลงกว่าเล็กน้อย แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ ธาตุอาหารรองอนินทรีย์(Inorganic micronutrients) ได้แก่ เหล็ก, แมงกานีส, แคลเซียม, สังกะสี, ทองแดง, โคบอลท์ และโบรอน (เฉพาะสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเท่านั้นที่ต้องการโซเดียม) และธาตุอาหารรองอินทรีย์ (Organic micronutrients) ได้แก่ คาร์โบไฮเดรท, เกลืออินทรีย์หรือสารประกอบที่มีเกลืออินทรีย์อยู่ด้วย, วิตามิน (วิตามินบี1, บี12 และบีรวม) และปัจจัยที่ควบคุมการเจริญเติบโต (Growth factor) อธิบายธาตุอาหารหลักที่สำคัญ ดังนี้

1) ธาตุคาร์บอน คาร์บอนที่พืชนำไปใช้แบ่งได้ 2 ประเภท คือ อนินทรีย์คาร์บอนและอินทรีย์คาร์บอน สาหร่ายใช้คาร์บอนประเภทอนินทรีย์ในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งละลายได้ในน้ำ (ความสามารถในการละลายน้ำแปรผันเป็นสัดส่วนตรงข้ามกับอุณหภูมิ และพบว่า CO_2 มีความสามารถในการละลายน้ำมากกว่าO_2) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีความสำคัญมากต่อระบบนิเวศน์ เพราะเป็นสารประกอบที่พืชใช้ในการสังเคราะห์แสง โดยที่ธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบสำคัญในการสังเคราะห์สารอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น แป้ง และน้ำตาลในพืช

โดยทั่วไปแหล่งน้ำจืดจะมีระบบบัฟเฟอร์ในรูปคาร์บอนไดออกไซด์-กรดคาร์บอนิก-ไบคาร์บอเนต-คาร์บอเนต (CO_2-H_2CO_3-HCO_3^--CO_3^{2-}System) มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย คือ ช่วยปรับสมดุลย์ของ pH (เนื่องจากในตอนกลางวันพืชมีการสังเคราะห์แสง CO_2 จะถูกใช้ไปและปริมาณ CO_2 จะลดลงอย่างมาก ในตอนบ่าย pH ของน้ำจะสูงขึ้นมาเรื่อยๆ และในตอน

Copyright by Mahidol University

i 13334463

กลางคืน ซึ่งไม่มีการสังเคราะห์แสง CO_2 จะเพิ่มปริมาณมากขึ้นเนื่องจากการหายใจของพืช ทำให้ pH ของน้ำมีค่าต่ำลง) ซึ่งการที่คาร์บอนจะอยู่ในรูปก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งละลายได้ในน้ำ หรือในรูปของเกลือคาร์บอเนต (CO_3^{2-})และไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) นั้นขึ้นอยู่กับระดับของ pH ซึ่งจะพบคาร์บอนในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อน้ำมีสภาพเป็นกรด (pH ประมาณ 5) สำหรับสาหร่ายจะใช้คาร์บอนในรูปของHCO_3^-มากที่สุด (พบเมื่อ pH มีค่าระหว่าง 7-9) แต่หาก pH สูงขึ้น (pH สูงกว่า 9.5 ขึ้นไป)จะพบในรูปเกลือคาร์บอเนต (34)

2) <u>ธาตุไนโตรเจน</u> ไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของคลอโรฟิลล์ ส่วนสารประกอบพวกอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ โปรตีน, กรดอะมิโน, โคเอนไซม์, กรดนิวคลีอิค ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลพืชและสัตว์ แบคทีเรียสามารถเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์ไปเป็นสารอนินทรีย์ได้ด้วยขบวนการ"Mineralization" สารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้ได้ ได้แก่ ไนเตรต(NO_3^-) ,ไนไตรท์ (NO_2^-) และแอมโมเนียม(NH_4^+) ทั้งนี้พบว่าสาหร่าย *Spirulina* ไม่สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศได้ จึงต้องมีการเติมแหล่งไนโตรเจนลงในอาหาร

ปริมาณธาตุไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญส่วนหนึ่งของน้ำหนักแห้งของเซลสาหร่ายมีปริมาณร้อยละ1-10 ของน้ำหนักแห้งของเซลสาหร่าย ยกเว้นไดอะตอมและในสาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะสร้างสารประกอบคาร์บอนปริมาณมากมาทดแทน เช่น น้ำมัน หรือแป้งโพลีแซคคาไรด์ (41) โดยทั่วไปช่วงสาหร่ายมีการเจริญอย่างรวดเร็ว (exponential phase) สาหร่ายจะมีปริมาณไนโตรเจนภายในเซลประมาณ 7-10% ของน้ำหนักแห้งและมีคาร์บอนประมาณ 50% ยกเว้นพวกไดอะตอม โดยที่สาหร่ายสามารถใช้ไนโตรเจนได้ทั้งในรูปแอมโมเนียและไนเตรท ซึ่งขบวนการย่อยสลายแอมโมเนียโดยแบคทีเรีย เรียกว่า ขบวนการ" Nitrification" ส่วนไนไตรท์ไม่สามารถอยู่ในสภาพคงที่ เพราะถูกแบคทีเรียย่อยสลายต่อกลายเป็นไนเตรท ดังนั้นจึงมักพบไนไตรท์ในปริมาณต่ำ เมื่อสาหร่ายใช้ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมเป็นอาหาร pH ของน้ำเลี้ยงจะลดลงอย่างรวดเร็วซึ่งเป็นอันตรายต่อสาหร่าย ธาตุไนโตรเจนที่สาหร่ายดูดซึมเข้าไปในเซลในรูปของออกซิไดซ์ เช่น ไนเตรท, ไนไตรท์ จะต้องถูกรีดิวซ์ให้เป็นแอมโมเนียมเสียก่อน แล้วจึงนำไปสร้างเป็นสารอินทรีย์ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลสาหร่าย เมื่อในอาหารมีทั้งแอมโมเนียมและไนเตรท สาหร่ายจะใช้แอมโมเนียมก่อนจนหมดจึงจะใช้ไนเตรท เพราะแพลงก์ตอนพืชสามารถใช้แอมโมเนียสร้างกรดอะมิโนได้โดยตรง นอกจากนี้ยังเกิดการสูญเสียไนโตรเจนโดยการระเหยในรูปของก๊าซแอมโมเนียอีกทางหนึ่ง(30) อธิบายดังสมการต่อไปนี้

Copyright by Mahidol University

$$NH_3 + H_2O \underset{\text{pH สูง}}{\overset{\text{pH ต่ำ}}{\rightleftharpoons}} 2NH_4^+ + OH^-$$

สามารถพบแอมโมเนียได้ 2 รูปแบบ คือ แอมโมเนียมอิออน (NH_4^+) ซึ่งแตกตัวได้ง่าย (Ionized ammonia) ส่วนใหญ่จะอยู่ในสภาพกรด และไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ นอกจากจะมีความเข้มข้นสูงมากๆ และก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งไม่แตกตัว (Unionized ammonia) มักจะพบมากในสภาพน้ำเป็นด่างและเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ เนื่องจากสามารถแพร่กระจายผ่านผนังเซลได้ดี (42) ส่วนธาตุไนเตรทนั้นมีความสำคัญต่อการเจริญของแพลงก์ตอนพืชและพืชน้ำ (ใช้ในการสร้างโปรตีน) ภายในเซลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีสารประกอบที่สะสมไนโตรเจนอยู่ 2 แห่ง ได้แก่ Cyanophycin และPhycocyanin ซึ่ง Phycocyaninทำหน้าที่เป็นรงควัตถุประกอบอีกด้วย(30) ในสาหร่าย *Spirulina* จะมี Phycocyanin ปริมาณมากที่สุด เมื่อเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนมากเกินพอ(Phycocyaninเป็นแหล่งของโปรตีนสะสมด้วย)(43) โดยให้โปรตีนและไนโตรเจนแก่เซลในยามขาดแคลนธาตุอาหารไนโตรเจน และปล่อยสารประกอบไนโตรเจนออกจากเซล โดยส่วนมากอยู่ในรูปของโพลีเปปไทด์และส่วนน้อยเป็นพวกกรดอะมิโนอิสระ (29)

3) <u>ธาตุฟอสฟอรัส</u> สำคัญและจำเป็นอย่างมากต่อการเจริญเติบโตและกระบวนการเมตาบอลิซึมของพืช โดยเฉพาะกระบวนการสร้างพลังงานและการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค (28) สำหรับฟอสเฟตในน้ำมี 3 ชนิด คือ ออร์โธฟอสเฟต, โพลีฟอสเฟต และฟอสเฟตอินทรีย์ (พบทั้งที่ละลายน้ำและที่เป็นอนุภาคตะกอน) ออร์โธฟอสเฟตเป็นรูปเดียวที่สามารถวิเคราะห์ได้โดยตรง สำหรับรูปอื่นจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงกลับมาเป็นออร์โธฟอสเฟตก่อน จึงจะทำการวิเคราะห์ได้ แม้ว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีธาตุฟอสฟอรัสปริมาณน้อยมาก มีสารอินทรีย์ฟอสเฟตมากกว่าสารอนินทรีย์ฟอสเฟต แต่เซลสาหร่ายจะใช้ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปอนินทรีย์สาร ได้แก่ ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต($H_2PO_4^-$), ไฮโดรเจนฟอสเฟต(HPO_4^{2-}) และฟอสเฟต(PO_4^{3-}) สำหรับสารอินทรีย์ฟอสเฟตเมื่อใช้เป็นแหล่งของฟอสฟอรัส สาหร่ายจะต้องย่อยสลายสารอินทรีย์ฟอสเฟตที่ภายนอกเซลก่อนด้วยเอนไซม์ที่สาหร่ายปล่อยออกมาจนได้ฟอสเฟตจึงจะนำไปใช้ได้ นอกจากนี้อัตราการใช้ฟอสฟอรัสได้รับอิทธิพลจากความเข้มข้นของฟอสเฟตในอาหาร, pH และการมี Na^+, K^+ หรือ Mg^{2+} ที่สำคัญคือ การได้รับการกระตุ้นจากแสง(30) สาหร่ายจะเปลี่ยนฟอสเฟตจากอาหารซึ่งอยู่ในรูปออร์โธฟอสเฟตไปเป็นสารประกอบ ATP และจะสะสมไว้ภายในเซล หากความเข้มข้นของฟอสฟอรัสต่ำกว่า 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้สาหร่ายมีการเจริญไม่ดี และที่ความเข้มข้น 0.09-0.18 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้สาหร่ายมีการเจริญดีที่สุด (29)

Copyright by Mahidol University

สาหร่ายขาดแคลนธาตุฟอสฟอรัสในอาหาร พบว่ามีลักษณะบางอย่างเหมือนกับที่ขาดแคลนธาตุไนโตรเจน กล่าวคือ ปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์เอ RNA และ DNA ลดลง ในขณะที่องค์ประกอบคาร์โบไฮเดรทมีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่วนสารประกอบ ATP, องค์ประกอบฟอสเฟตทั้งหมดภายในเซลมีปริมาณลดลงโดยเฉพาะโพลีฟอสเฟตจะลดลงก่อน โดยพบว่าขนาดและรูปร่างของเซลหรือ trichome สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวเปลี่ยนแปลงไป (30) นอกจากนี้สารโพลีฟอสเฟตภายในเซลสาหร่าย จะช่วยให้สาหร่ายสามารถเจริญได้เป็นระยะเวลาหนึ่งในขณะขาดแคลนฟอสฟอรัส ลัดดา(34) สรุปลักษณะเซลสาหร่ายที่ขาดธาตุอาหารต่างๆ กล่าวคือ ปริมาณรงควัตถุสำหรับใช้ในการสังเคราะห์แสงลดลงและจะทำให้สีของเซลซีดลง, เซลมีการสะสมอาหารเพิ่มขึ้นกว่าปกติ(สะสมแป้ง, ไขมัน และโปรตีน) และเซลมีการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิคและโปรตีนลดลง ทั้งนี้เป็นผลต่อเนื่องจากการที่เซลสะสมแป้งหรือไขมันเพิ่มขึ้น ส่วนการที่น้ำหนักแห้งของสาหร่ายยังคงมีการเพิ่มขึ้นอัตราปกติในระยะแรกที่มีการขาดแคลนธาตุอาหารไนโตรเจน หรือฟอสฟอรัสเนื่องจากสาหร่ายมีการใช้ไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัส จากแหล่งสะสมไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัสภายในเซล Kaplan และคณะ (30) กล่าวว่าสารอนินทรีย์โพลีฟอสเฟตซึ่งสาหร่ายทั่วไปสะสมไว้ภายในเซล จะช่วยให้สาหร่ายสามารถเจริญได้เป็นระยะเวลาหนึ่งในสภาวะขาดแคลนธาตุอาหารฟอสฟอรัส นอกจากนี้สารประกอบคาร์บอน(คาร์โบไฮเดรท)ยังจะช่วยการเจริญของสาหร่ายอีกด้วย

ข. สูตรอาหารสำหรับสาหร่าย *Spirulina*

สาหร่าย *Spirulina* เจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร Zarrouk แต่ปัญหาที่พบคือ สารอาหารนี้ประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิดในปริมาณมาก โดยที่สาหร่ายไม่ได้ใช้หมดทันทีในระยะเวลาอันสั้น และมีราคาแพง จึงได้มีการทดลองลดปริมาณแร่ธาตุอาหารในสูตร Zarrouk เช่น ประเทศอิสราเอลใช้ $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร (23.8% ของสูตร Zarrouk) ซึ่งเพียงพอให้สาหร่าย *Spirulina* มีอัตราการเจริญสูงสุด แต่พบการปนเปื้อนของสาหร่าย *Chlorella* เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $NaHCO_3$ มากขึ้น จะทำให้ปริมาณของ *Chlorella* ลดลงได้ (44) นอกจากนี้พรพรรณ (45) ได้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในอาหาร Zarrouk ระดับความเข้มข้น 100% , 50%, 25% และ 12.5% ในขวดน้ำเกลือขนาด 500 มล. ปรับค่า pH ด้วย NaOH ให้อยู่ในช่วง 10+/- 0.1 สำหรับเชื้อสาหร่ายตั้งต้นเตรียมโดยชั่งสาหร่าย 6 กรัม ใส่บีกเกอร์ใหญ่ เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มล. พ่นอากาศให้สาหร่ายกระจายสม่ำเสมอ ใช้ปิเปตดูดใส่ขวดทดลองขวดละ 50 มล. ทำการเพาะเลี้ยงบนโต๊ะซึ่งติดหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ขนาด 40 วัตต์ 4 หลอด วัดการเจริญโดยการนับเซลสาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ 2 ตา (ใช้ปริมาตร 1 หยดๆ ละ 0.02 มล.) วัดทุก 2 วัน เป็นเวลา 1 เดือน แสดงรายละเอียดผลการศึกษาในตารางที่ 2-6

Copyright by Mahidol University

ตารางที่ 2-6 การเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่าย *Spirulina platensis* เมื่อเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ความเข้มข้นต่างกัน

สูตรมาตรฐาน (100% Zarrouk)	สูตรครึ่งมาตรฐาน (50% Zarrouk)	สูตรเสี้ยวมาตรฐาน (25% Zarrouk)	สูตรควบคุม (12.5% Zarrouk)
สาหร่ายเจริญเติบโตสมบูรณ์ดี เส้นสายมีลักษณะยาวและขด เป็นเกลียว มีสีเขียวเข้ม ขนาดของเส้นสายหนาตลอดการเลี้ยง 30 วัน มีอัตราการเพิ่มจำนวนเส้นสายจากปริมาณเริ่มต้น 30 เส้นสาย **<u>สัปดาห์ที่ 1</u> :** มีจำนวน 388 เส้นสาย (เพิ่ม 10.3 เท่าจากเริ่มต้น) **<u>สัปดาห์ที่ 2</u> :** มีจำนวน 1,133 เส้นสาย (เพิ่ม 3 เท่าจากสัปดาห์ที่ 1) **<u>สัปดาห์ที่ 3</u> :** มีจำนวน 2,021 เส้นสาย (เพิ่ม 2 เท่าจากสัปดาห์ที่ 2)	ลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นสายปกติดี มีการเพิ่มจำนวนในวันที่ 6 และ 8 ค่อนข้างสูงกว่าสูตรมาตรฐาน แต่เป็นขณะเดียวกับที่ขนาดของเส้นสายเริ่มสั้นกว่าเดิม แต่หลังจากวันที่ 12 เป็นต้นไป สาหร่ายกลับมีลักษณะเส้นสายที่สมบูรณ์ขึ้นและมีจำนวนไล่เลี่ยกันกับที่เลี้ยงด้วยสูตรมาตรฐาน แต่การสมบูรณ์ของเส้นสายยังคงด้อยกว่า โดยเฉพาะในช่วงระยะท้ายของการเลี้ยง	สาหร่ายเริ่มมีการขาดท่อน คือ จะมีขนาดของเส้นสายที่สั้น ตั้งแต่วันที่ 2 ของการเลี้ยงเป็นต้นไป แม้จะมีปริมาณของเส้นสายมาก และในระยะกึ่งกลางของการเลี้ยง เส้นสายจะมีลักษณะผอมบาง และพบจุดอ่อนในเส้นสายมากมายอย่างเห็นได้ชัด และจำนวนของเส้นสายสูงกว่าการเลี้ยงด้วยสูตรมาตรฐานถึง 2.5 เท่า	วันที่ 2 ของการเลี้ยงสาหร่ายได้ตายหมดเหลือแต่น้ำใสๆ (ไม่สามารถทำให้สาหร่าย *Spirulina* เจริญได้)

ที่มา : พรพรรณ (45)

Copyright by Mahidol University

เช่นเดียวกันสมบูรณ์และคณะ (46) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) ในอาหาร Zarrouk ความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 เลี้ยงในหลอดทดลองขนาด 200 มล. อุณหภูมิ 31°C ความเข้มแสง 10,000 ลักซ์ ช่วงเวลาให้แสง 16 ชั่วโมง ให้อากาศผสม CO_2 1-2% 24 ชั่วโมง วัดผลทุกวัน (pH, น้ำหนักแห้ง และปริมาณโปรตีน) พบว่า สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร Zarrouk 25% สาหร่ายจะเจริญได้ปริมาณเซลสูงสุดภายในเวลา 3 วัน ให้น้ำหนักแห้ง1,300 มก./ล. โปรตีนร้อยละ 50 และ pH 8.8 จากนั้นสาหร่ายจะเริ่มตายลงทันที ส่วนการทดลองในอาหาร Zarrouk ร้อยละ 50, 75 และ 100 พบว่าสาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีมากในทุกการทดลอง และสาหร่ายใช้เวลา 4, 5 และ 7 วัน ตามลำดับ ในการใช้ธาตุ N (รูป $NaNO_3$ ใน Zarrouk) หมดพอดี สาหร่ายจะมีปริมาณโปรตีนประมาณร้อยละ 60 และน้ำหนักแห้ง 2,200, 3,200 และ 4,100 มก./ล. ตามลำดับ หลังจากไนโตรเจนถูกใช้หมดแล้วสาหร่ายจะยังคงเจริญเพิ่มปริมาณน้ำหนักแห้งมากขึ้น ทำให้ค่าโปรตีนต่อหน่วยน้ำหนักแห้งลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 25-30 ถึงจะพบว่าเซลสาหร่ายเริ่มมีสีเหลืองเขียว และมีกลิ่นเหม็น ขณะที่ไนโตรเจนในน้ำเพาะเลี้ยงยังมีเหลืออยู่ สาหร่ายจะมีโปรตีนสูง (จุดที่ไนโตรเจนในน้ำเพาะเลี้ยงหมดพอดี สาหร่ายจะมีโปรตีนประมาณร้อยละ 60)

2.4.7 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Spirulina*

2.4.7.1 ใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนของมนุษย์

เมื่อวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร (47, 48) พบว่า สาหร่าย *Spirulina* มีโปรตีนปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารอื่นๆ เช่น ข้าวเจ้า, ข้าวโพด, ข้าวสาลี ซึ่งมีโปรตีนอยู่เพียง 7-10 กรัมในเมล็ด 100 กรัมเท่านั้น แม้แต่อาหารที่มีโปรตีนสูง เช่น ถั่วเหลือง, เนื้อวัว และไข่ มีโปรตีนเพียง 35, 20 และ 18% ตามลำดับ ส่วนสาหร่ายเกลียวทองมีโปรตีนสูงถึง 61.5% จึงเหมาะสมกับการนำมาใช้ทำอาหารเสริมโปรตีนมาก อีกทั้งเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง มีปริมาณกรดนิวคลีอิคน้อย และเป็นแหล่งวิตามินเกลือแร่ที่สำคัญหลายชนิด ผนังเซลบาง ไม่มีเซลลูโลส ทำให้ย่อยง่ายและประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์สูง จึงนิยมรับประทานเป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ และเหมาะสำหรับผู้ป่วยที่เพิ่งฟื้นไข้และคนชรา สิ่งสำคัญ คือ การผลิตสาหร่าย *Spirulina* เป็นอาหารเสริมโปรตีนของมนุษย์ต้องมีความระมัดระวังเป็นพิเศษเรื่องความสะอาด รวมทั้งกลิ่นและรส ดังนั้นจึงต้องใช้สารอาหาร Zarrouk ในการเพาะเลี้ยง ซึ่งประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิด ทำให้มีราคาแพงมาก

Copyright by Mahidol University

2.4.7.2 ใช้ในด้านการแพทย์

สาหร่าย *Spirulina* ประกอบด้วยคอเลสเตอรอลเล็กน้อย ส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว อาจใช้เป็นยาระงับอาการอยากอาหาร ลดการดูดซึมอาหารสำหรับผู้ที่ต้องการลดความอ้วน นอกจากนี้สามารถรักษาโรคเกี่ยวกับตา เบาหวาน โรคโลหิตจาง โรคตับ โรคกระเพาะอาหาร อักเสบได้ และทำให้ผมดกดำอีกด้วย (25, 30)

2.4.7.3 อาหารเลี้ยงสัตว์

สุรีย์วรรณ (25) ได้ทดลองนำสาหร่าย *Spirulina* มาใช้เป็นอาหารเลี้ยงแกะ โดยผสมสาหร่าย *Spirulina* ในอาหารข้นปริมาณ 6%และ 12 % แกะที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทั้งสองกลุ่มมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม แสดงว่าสาหร่าย *Spirulina* สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์(ทั้งที่ใช้ทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารทั้งหมด หรือใช้ร่วมกันทดแทนบางส่วนของกากถั่วเหลือง) ได้ดีเช่นเดียวกันกับกากถั่วเหลือง นอกจากนี้ในสัตว์ปีกพวกเป็ดไก่จะช่วยทำให้ไข่ดกและไข่แดงจะมีสีเข้มน่ารับประทาน เพราะเบตาคาโรทีนจะถูกเปลี่ยนเป็นวิตามินเอ ซึ่งทำให้ไข่แดงมีสีเข้มขึ้น (22) และพบว่าสาหร่าย *Spirulina* เป็นแหล่งของรงควัตถุที่ดีในการใช้เป็นสารเร่งสีปลา

2.4.7.4 สาหร่ายกับการบำบัดน้ำเสีย

1. รูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายในระบบบำบัด : ระบบบำบัดน้ำเสียที่มีการเลี้ยงสาหร่ายส่วนมากจะเป็นการบำบัดระบบ Ponds สามารถแบ่งรูปแบบได้ดังนี้ (49)

- บ่อที่มีออกซิเจนจำกัด (Facultative Pond) จะมีความลึกของบ่อมากกว่า 1 เมตร สาหร่ายจะเจริญเติบโตเฉพาะผิวน้ำ และมีสภาวะ anoxic ที่บริเวณก้นบ่อ

- บ่อที่มีการเติมออกซิเจนอย่างรวดเร็ว (High Rate Oxidation Pond) เป็นบ่อตื้น มีความลึกน้อยกว่า 1 เมตร กวนน้ำอย่างต่อเนื่องโดยใบพัด และเป็นระบบ aerobic ซึ่งเป็นบ่อที่นิยมมากกว่า สาหร่ายที่ขึ้นในบ่อระบบนี้นอกจากจะช่วยเติมออกซิเจนให้กับน้ำซึ่งเป็นการส่งเสริมการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย (Oxidative Bacteria) แล้วยังส่งเสริมให้แบคทีเรียในกลุ่ม Facultative Heterothrophs ให้มีการใช้คาร์บอนมากถึงร้อยละ 50 ในการใช้ระบบ HROP ในระบบบำบัดน้ำเสียสามารถให้ผลผลิตสาหร่ายได้ 1-2 กรัม/ลิตร จึงนำไปสู่โรงงานต้นแบบบำบัดน้ำเสียที่ผนวกเข้ากับการผลิตสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารสัตว์

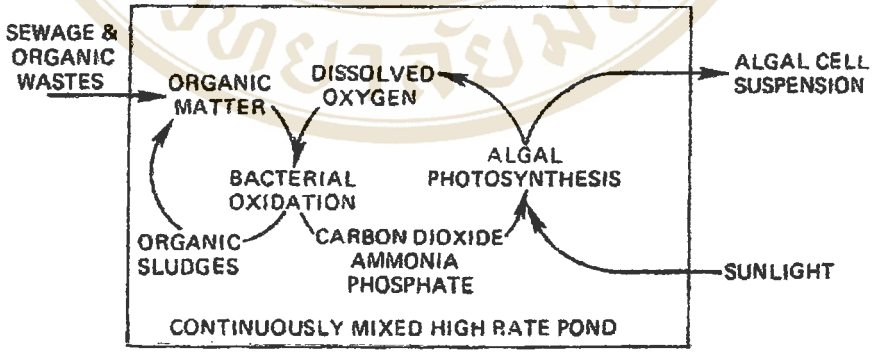
Copyright by Mahidol University

2. หลักการทำงาน ในขบวนการสังเคราะห์แสง สาหร่ายส่วนใหญ่จะใช้สารอาหารในรูปสารอนินทรีย์ ได้แก่ ฟอสเฟต แอมโมเนีย ไนเตรท และคาร์บอนไดออกไซด์ แล้วเปลี่ยนรูปสารเหล่านี้ให้กลายเป็นสารอินทรีย์สะสมภายในเซลและปล่อยออกซิเจนออกมาแก่แหล่งน้ำ ดังสมการที่ 9

$$CO_2 + NO_3^- + PO_4^{-3} + H_2O \xrightarrow{\text{solar energy}} [CH_2ONP] + O_2 \qquad * 9 *$$

Algal Biomass

สาหร่าย และจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศหรือแบบไม่ใช้ออกซิเจนอิสระ (Anaerobic digestion) ทำงานร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis) โดยแบคทีเรียจะเผาผลาญสารอินทรีย์โดยใช้ออกซิเจนในรูปของสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์ เช่น ไนเตรท หรือซัลเฟท เป็นต้น ได้เซลใหม่และปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ในขณะที่สาหร่ายจะนำคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากจุลินทรีย์มาใช้ในการสังเคราะห์แสงและปล่อยออกซิเจนกลับไป (รูปที่ 2-6) (49) เนื่องจากของเสีย(สิ่งปฏิกูล)จากมนุษย์และสัตว์เป็นสารอินทรีย์ เมื่อระบายลงสู่แหล่งน้ำหรือทะเลสาบจะเป็นอาหารของ heterotrophic bacteria ปฏิกิริยาของแบคทีเรีย คือ การย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ให้เป็นสารประกอบอนินทรีย์ อีกทั้งผลิตพลังงานสำหรับสร้างเซลดังสมการ 10-13 (50, 51, 52)



รูปที่ 2- 6 วัฏจักรการเกิดออกซิเจนจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย

ที่มา: Oswald and Gotaas (49)

Oxidation or dissimilatory process

$$(COHNS) + O_2 + \text{aerobic bacteria} \longrightarrow CO_2 + NH_3 + \text{other end-products} + \text{energy} \qquad * 10 *$$

Copyright by Mahidol University

Synthesis or assimilatory process

$(COHNS) + O_2 + \text{aerobic bacteria} + \text{energy} \longrightarrow C_5H_7O_2N$ *** 11 ***

ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน anaerobic bacteria จะย่อยสลายสารอินทรีย์ ปฏิกิริยานี้จะได้ biogas ดังนี้

$(COHNS) + \text{anaerobic bacteria} \longrightarrow CO_2+H_2S+NH_3+CH_4+\text{other end-products}+\text{energy}$ ***12 ***

$(COHNS) + \text{anaerobic bacteria} + \text{energy} \longrightarrow C_5H_7O_2N$ ***13 ***

ข้อสังเกต : (COHNS) เป็นสูตรเคมีทั่วไปใช้แสดงสารประกอบอินทรีย์

$C_5H_7O_2N$ เป็นสูตรเคมีทั่วไปใช้แสดงเซลแบคทีเรีย

สารประกอบ CO_2และ NH_3 เป็นธาตุอาหารของสาหร่าย ถ้ามีปริมาณแสงเพียงพอ สาหร่ายจะสังเคราะห์แสงได้ ดังสมการที่ 14 (49)

$$NH_3+7.62CO_2+2.53H_2O \longrightarrow C_{7.62}H_{8.06}O_{2.53}N + 7.62O_2 \quad \text{*14 *}$$

(new algal cells)

ในน้ำธรรมชาติที่ได้รับสารอินทรีย์ปริมาณน้อย ปริมาณออกซิเจนที่ผลิตได้ (ในสมการที่ 14) แบคทีเรีย(ในสมการที่ 10 และ 11) จะนำไปใช้ และวัฏจักรดังกล่าวนี้จะเกิดซ้ำ เรียกว่า **"algal-bacterial symbiosis"** ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ตามธรรมชาติที่เกิดในน้ำที่ได้รับสารอินทรีย์ปริมาณน้อยและปฏิกิริยาของ algal-bacterial อยู่ใน dynamic equilibrium บางส่วนของสาหร่ายและเซลแบคทีเรียเป็นอาหารของโปรโตซัวและปลาเล็กบางชนิด ซึ่งจะเป็นอาหารของปลาใหญ่และของคนตามลำดับ สรุปได้ว่าการเลี้ยงสาหร่ายเพื่อกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นวิธีการที่เหมาะกับสภาพภูมิประเทศของประเทศในเขตร้อน เพราะการเจริญเติบโตของสาหร่ายขึ้นอยู่กับแสงแดด อุณหภูมิ และสารอาหารต่างๆ ในน้ำทิ้ง และในฤดูร้อนสาหร่ายจะสามารถกำจัดไนโตรเจนได้ถึงร้อยละ 40-60 (51) ดังนั้นการนำพืชน้ำ เช่น สาหร่าย มาเลี้ยงในน้ำเสียเพื่อลดปริมาณสารอาหารที่ยังเหลืออยู่ในน้ำเสีย ควบคู่ไปกับการเก็บเซลสาหร่ายเป็นผลผลิตจึงเป็นทางเลือกที่ดีทางหนึ่ง เนื่องจากช่วยลดต้นทุนด้านค่าใช้จ่ายเรื่องการเตรียมสารอาหาร นอกจากนี้สามารถช่วยลดตะกอนแขวนลอยในน้ำเสียได้เป็นอย่างดี อีกทั้งเป็นวิธีธรรมชาติไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และที่สำคัญ คือ สาหร่ายสังเคราะห์แสงให้ก๊าซออกซิเจน จึงเป็นการเติมออกซิเจนในน้ำเสีย และเป็นวัตถุดิบให้แบคทีเรียประเภทใช้ออกซิเจนในน้ำ (Aerobic bacteria) สามารถนำไปใช้ในกระบวนการย่อยสลายสารอาหารที่เป็นสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้อีกทางหนึ่ง (24)

Copyright by Mahidol University

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาและทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* 2 สายพันธุ์ คือ *S. platensis*(Sp5) และ *S.maxima*(Sp6)ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร เนื่องจากสาหร่าย *Spirulina* สามารถเจริญได้ในน้ำเสียจึงมีความเป็นไปได้ที่จะเจริญในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ประกอบกับสาหร่าย *Spirulina* มีคุณค่าทางโภชนาการสูง, สามารถย่อยสลายได้ง่าย, ง่ายในการเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยว ประกอบกับสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์นี้มีการนำไปค้นคว้าทดลองและใช้ประโยชน์มากที่สุด ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาทดลองเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพในการลดปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรของสาหร่าย *Spirulina* ทั้งสองสายพันธุ์ ทั้งนี้เพราะสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์แม้จะมีรูปร่างเป็นเกลียวเหมือนกัน แต่ขนาดความกว้างและความยาวของเกลียวแตกต่างกันไปตามแต่ชนิด รวมทั้งสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของแต่ละสายพันธุ์อาจแตกต่างกัน เช่น pH, ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่มีผลยับยั้งการเจริญของสาหร่าย เป็นต้น

2.5 การศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

2.5.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina*

2.5.1.1 <u>การเพาะเลี้ยงโดยใช้สารเคมี</u>

ไปรมา และคณะ (53) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* คือ SpT (สาหร่ายของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ม.เกษตรศาสตร์) และ SpJ (จากบริษัทสยามอัลจี) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ(อาหารสูตรสถาบันฯ)ที่มีความเข้มข้นของ $NaHCO_3$ ระดับต่างๆ ดังนี้ 0, 5,10,15 และ 20 กรัมต่อลิตร พบว่าความเข้มข้นของ $NaHCO_3$ มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย *Spirulina* และการปรับสภาพ pHในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในห้องปฏิบัติการพบว่าสายพันธุ์ SpT เจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มี $NaHCO_3$ 15 กรัมต่อลิตร (89.3% ของสูตร Zarrouk) เมื่อเลี้ยงได้ 7 วัน มีน้ำหนักแห้ง 2 ,586 มก./ล. และโปรตีน 67% ในขณะที่สายพันธุ์ SpJ เจริญได้ดีในอาหารที่มี $NaHCO_3$ 10 กรัมต่อลิตร(59.5% ของสูตร Zarrouk) มีน้ำหนักแห้ง 2,651.5 มก./ล. และโปรตีน 60% สำหรับการเลี้ยงในสภาพกลางแจ้ง พบว่าสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์เจริญได้ดีในทุกระดับความเข้มข้นของ $NaHCO_3$ และพบว่า $NaHCO_3$ 5 กรัมต่อลิตรก็เพียงพอต่อการเจริญของสาหร่ายเพราะได้ปริมาณเซลสูงสุดใกล้เคียงกันทุกระดับ คือ SpT ได้ 4,725 มก./ล. โปรตีน 65-69% และ SpJ ได้ 3,125 มก./ล. โปรตีน 57-60% ในระยะเวลา 7 วัน

Copyright by Mahidol University

ใจทิพย์ (54) ใช้น้ำเค็มจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina sp.* สายพันธุ์น้ำจืด TH-S-02 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของ NaCl 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร และเพิ่มระดับ NaCl ขึ้น 10 กรัมต่อลิตร ทุกๆ 4 วัน พบว่า สาหร่าย *Spirulina sp.* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี NaCl จะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดต่อวันไม่แตกต่างกับสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตรควบคุมซึ่งมีความเข้มข้นของ NaCl เพียง 1 กรัมต่อลิตรอย่างมีนัยสำคัญ แต่หากเลี้ยงในระยะเวลาที่นานยิ่งขึ้น พบว่า ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดต่อวันของสาหร่ายที่เลี้ยงใน NaCl 20 และ 30 มก./ล. มีค่าต่ำกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และเซลของสาหร่ายจะมีขนาดใหญ่และมีความยาวเพิ่มขึ้นตามระดับ NaCl ที่เพิ่มขึ้น

2.5.1.2 <u>การเพาะเลี้ยงโดยใช้มูลสัตว์</u>

ก. น้ำเสียจากมูลสัตว์สด

Oron, G., Shelf, G. และ Levi, A. (55) ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina maxima* ในมูลโคสด(ส่วนที่เป็นของเหลว) ภายใต้สภาวะบ่อกลางแจ้ง พบว่าสาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีค่าพีเอช 9.2 (ปรับสภาพความเป็นด่างด้วยการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต) อุณหภูมิประมาณ 32°Cและความเข้มแสง 400 แคลอรีต่อตารางเซนติเมตรต่อวัน ทั้งนี้ไม่มีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือไนโตรเจนแต่อย่างใด ปริมาณความหนาแน่นของสาหร่ายที่ได้คิดในรูปของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (total suspended matter) มีค่าเท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร

ข. น้ำเสียจากมูลสัตว์ที่ผ่านการหมักก๊าซชีวภาพ

เจียมจิตต์ และคณะ (56) ทดลองใช้น้ำมูลหมักที่ได้จากบ่อล้นของบ่อหมักก๊าซชีวภาพของมูลสัตว์หลายชนิดปนกัน นำมาเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* โดยเติมสารต่างๆ ดังนี้ $NaHCO_3$ 16.80, 8.40 และ 4.20 กรัมต่อลิตรตามลำดับ และ $NaNO_3$ 2.50, 1.25 และ 0.62 กรัมต่อลิตรตามลำดับ พบว่าการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina* ในอาหารที่ผสมน้ำกากมูลหมักร้อยละ 10 และเติม $NaHCO_3$ 16.80 และ 8.40 กรัมต่อลิตร จะเจริญได้ดี ถ้ามี $NaNO_3$ ในปริมาณ 2.50 และ 1.25 กรัมต่อลิตรผสมอยู่ด้วย นอกจากนี้สาหร่าย *Spirulina* จะเจริญได้ช้าและลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อใช้ $NaHCO_3$ 4.20 กรัมต่อลิตร ไม่ว่าจะใช้ $NaNO_3$ ในปริมาณเท่าใดก็ตาม จะเห็นได้ว่า $NaHCO_3$ มีความจำเป็นต่อการเจริญของสาหร่าย *Spirulina* มากกว่า $NaNO_3$ ทั้งนี้เพราะ $NaHCO_3$ จะทำหน้าที่เป็น

Copyright by Mahidol University

แหล่งให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และขณะเดียวกันเป็นตัวป้องกันไม่ให้ระดับความเป็นกรดด่างเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว

Tsai (57) ใช้น้ำเสียจากมูลสุกรที่ผ่านการหมักก๊าซชีวภาพมาเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในสภาพบ่อกลางแจ้งขนาด 250 ลูกบาศก์เมตร พบว่าน้ำเสียที่มีแอมโมเนียไนโตรเจน 3-6 มก./ล. จะช่วยให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดี และมีอัตราการผลิตสาหร่าย 9.5+/- 0.72 กรัม/ตร.ม./วัน เมื่อนำสาหร่ายที่ได้มาใช้เป็นอาหารเลี้ยงกุ้ง พบว่าสามารถใช้แทนแหล่งโปรตีนจากเนื้อปลาได้ทั้งหมด และเมื่อนำไปเลี้ยงปลา พบว่าสามารถเร่งสีในเนื้อปลาได้

2.5.1.3 <u>การเพาะเลี้ยงในอาหารที่เตรียมจากดิน</u>

อำนาจ และคณะ (58) ทดลองเลี้ยง *Spirulina sp.* ในอาหารเตรียมจากดิน พบว่าอาหารเตรียมจากดินความเข้มข้นร้อยละ 80 *Spirulina sp.* มีการเติบโตดีที่สุด ส่วน $NaHCO_3$ ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนนั้นต้องเติมลงไป 0.0168 กรัมต่อลิตร จากการเติมธาตุอาหารแต่ละตัวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันลงในอาหารเตรียมจากดินที่มี $NaHCO_3$ พบว่าอัตราการเติบโตของ *Spirulina sp.* สูงสุด เมื่อเติม $NaNO_3$ 3.5 กรัมต่อลิตร K_2SO_4 0.2 กรัมต่อลิตร $MgSO_4.7H_2O$ 0.2 กรัมต่อลิตร $CaCl_2.2H_2O$ 0.04 กรัมต่อลิตร และ NaCl 1.0 กรัมต่อลิตร และจากการเปรียบเทียบอัตราการเติบโตของ *Spirulina sp.* ที่เลี้ยงในอาหาร Zarrouk กับอาหารเตรียมจากดินเติมธาตุอาหารต่างๆ ในปริมาณดังกล่าวข้างต้น พบว่าอัตราการเติบโต (OD_{560}) เฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 1.092 (505 มก./ล.) และ 0.894 (450 มก./ล.) ตามลำดับ

2.5.1.4 <u>การเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งที่มีสารอาหารเหลืออยู่ (วัสดุเหลือใช้)</u>

นฤมล และคณะ (59) ได้สำรวจบ่อพักน้ำทิ้งสุดท้ายของโรงงานแป้งมันสำปะหลังในเขตจังหวัดชลบุรี จำนวน 3 โรงงาน พบว่ามีสาหร่าย *Spirulina* เจริญอยู่ในปริมาณมากพอสมควร จึงได้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย พบว่าปริมาณของสาหร่ายตั้งต้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนอยู่ในช่วง 2-5% ทดลองเลี้ยงในสภาพกลางแจ้ง โดยใช้น้ำทิ้งจากบ่อบำบัด ซึ่งเติม $NaHCO_3$ 8.5 กรัมต่อลิตร และปุ๋ย NPK(16:16:16) 0.6 กรัมต่อลิตร พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดี ได้ผลผลิตสาหร่ายประมาณ 12.25 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้ร้อยละ 57 ของน้ำหนักแห้ง และประกอบด้วยวิตามินต่างๆ ไนอาซิมายด์ และกรดโฟลิคในปริมาณใกล้เคียงกับสาหร่าย *Spirulina maxima*

Copyright by Mahidol University

หยกแก้ว และคณะ (60) ได้ทดลองนำสาหร่าย *Spirulina* 6 สายพันธุ์มาเลี้ยงในน้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดขั้นที่หนึ่ง (Primary effluent) และขั้นที่สอง (Secondary effluent) จากโรงงานกำจัดน้ำทิ้งจากแหล่งชุมชนห้วยขวาง พบว่าสาหร่ายทั้ง 6 สายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดขั้นที่สอง แต่สามารถดำรงชีวิตได้เพียง 2-3 วันเท่านั้น และจะลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากสารอาหารไม่เพียงพอ จึงต้องเติมสารเคมีเพื่อเพิ่มธาตุอาหารให้สาหร่าย สำหรับ น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดขั้นที่หนึ่ง ในระยะแรกสาหร่ายจะเจริญเติบโตได้ไม่ดี เนื่องจากน้ำสกปรกและมีความขุ่นมากเกินไป ต้องรอให้แบคทีเรียทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียก่อน

จรูญ (61) ใช้น้ำกากส่าเหล้าที่เตรียมขึ้น ด้วยความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.5, 8.0 และ 10.0 เป็นเวลา 10 วัน พบว่าทุกความเข้มข้นของน้ำกากส่าเหล้าเหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยว คือ 6 วัน เมื่อนำ *S. platensis* ที่เลี้ยงในน้ำกากส่าเหล้าและที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์มาวิเคราะห์หาโปรตีน พบว่ามีปริมาณ โปรตีนร้อยละ 51.63 และ 45.39 ตามลำดับและ *S. platensis* ยังสามารถฟอกสีของน้ำกากส่าเหล้า โดยลดความเข้มของสีลงได้ร้อยละ 65.91-79.27 ต่อมาวิลาสินี (62) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในน้ำกากส่าเหล้าเพิ่มเติม โดยเปรียบเทียบสภาพภายในห้องปฏิบัติการและกลางแจ้ง ที่ความเข้มข้นของน้ำกากส่าเหล้าเช่นเดียวกับจรูญ และเติมปุ๋ย NPK สูตร 16:16:16 ความเข้มข้น 0.6 กรัมต่อลิตร, $NaHCO_3$ 8.5 กรัมต่อลิตร, $NaNO_3$ 1.5 กรัมต่อลิตร และ K_2HPO_4 0.5 กรัมต่อลิตร ปรับค่า pH อยู่ในช่วง 10 +/- 1 พบว่าทั้งสองสภาพสาหร่าย *S. platensis* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในน้ำกากส่าเหล้าความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ซึ่งสามารถลดค่า บีโอดีได้ร้อยละ 44.00 และ 46.43 ตามลำดับ และลดความเข้มของสีน้ำกากส่าเหล้าลงร้อยละ 51.13 และ 58.69 ตามลำดับ

พิมพรรณ และอารักษ์ (63) ทดลองเลี้ยง *Spirulina sp.* ในน้ำทิ้งจากโรงงานยาง พบว่าน้ำทิ้งจากโรงงานยางที่ไม่เจือจาง *Spirulina sp.* มีการเติบโตดีที่สุด และอัตราการเติบโตของ *Spirulina sp.* สูงสุดเมื่อเติม $NaNO_3$ 2.5 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าที่เลี้ยงในอาหาร Zarrouk ส่วนการเพิ่ม K_2HPO_4 และ K_2SO_4 พบว่าไม่จำเป็นและอัตราการเติบโตของ *Spirulina sp.* จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของ K_2HPO_4 และ K_2SO_4 เพิ่มขึ้น นอกจากนั้นเมื่อเพิ่ม $NaNO_3$ 2.5 กรัมต่อลิตร และ K_2HPO_4 0.1 กรัมต่อลิตรกับ $NaNO_3$ 2.5 กรัมต่อลิตร และ K_2SO_4 0.5 กรัมต่อลิตรในน้ำทิ้ง พบว่าอัตราการเติบโตของ *Spirulina sp.* ต่ำกว่าที่เลี้ยงในอาหาร Zarrouk มาก

Copyright by Mahidol University

วิไลรัตน์ (24) ศึกษาประสิทธิภาพการลดค่าบีโอดี ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียจากโรงงานผักดองของสาหร่าย *Spirulina* เมื่อความหนาแน่นเริ่มต้นของสาหร่ายมีค่าเท่ากับ 10, 20 และ 30 มก./ล. เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมสาหร่าย โดยมีระยะเวลาเก็บกักเป็น 0, 3, 6 และ 9 วัน พบว่า *Spirulina* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำเสียจากโรงงานผักดองที่มีความเค็มสูงและพีเอชต่ำ โดยความหนาแน่นเริ่มต้นของสาหร่ายที่เหมาะสม คือ 20 มก./ล. ซึ่งมีประสิทธิภาพในการลดค่าบีโอดี ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 92.16, 76.18 และ 53.79 ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาเก็บกักที่เหมาะสม คือ 6 วัน สามารถลดค่าบีโอดี ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เท่ากับร้อยละ 96.52, 81.56 และ 52.88 ตามลำดับ ทั้งยังเหมาะสมที่สุดสำหรับเก็บเกี่ยวสาหร่ายอีกด้วย นอกจากนี้พบว่าระยะเวลาเก็บกัก มีผลต่อประสิทธิภาพในการลดค่าบีโอดี ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส สูงกว่าความหนาแน่นเริ่มต้นของสาหร่าย

2.5.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดอื่นๆ

2.5.2.1 <u>น้ำเสียจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์</u>

ก. น้ำเสียจากมูลสัตว์สด

Fallowfield และ Garrett (64) ขยายการศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรไปสู่บ่อกลางแจ้ง(High rate algal pond) พบว่า *Chlorella vulgaris* ไม่สามารถเจริญเติบโตในลักษณะเป็นชนิดเด่นได้ โดยพบสาหร่ายหลายๆ ชนิดเจริญผสมอยู่ด้วย ที่พบมากได้แก่ *C. vulgaris*, *Chlamydomonas sp.* และ *Ankistrodesmus sp.* ประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัสอยู่ระหว่าง 42-89% ไนโตรเจน 54-98% และค่าบีโอดีบำบัดได้มากกว่า 98% ปัญหาที่พบ คือ แสงสว่างในธรรมชาติเพิ่มมากนำไปสู่การมีของแข็งแขวนลอยในน้ำทิ้งมากด้วย

สุรวดี (65) ได้ทำการศึกษาการลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร โดยใช้สาหร่าย *Chlorella* พบว่าปริมาณความหนาแน่นสาหร่ายเริ่มต้นประมาณ $6x10^7$ เซลต่อมิลลิลิตร จะสามารถลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสลงได้ร้อยละ 85.07 และ 75.39 ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณความหนาแน่นเริ่มต้น $3x10^7$ เซลต่อมิลลิลิตร จะสามารถลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสลงได้เพียงร้อยละ 77.37 และ 56.74 ตามลำดับ

Copyright by Mahidol University

ข. น้ำเสียจากมูลสัตว์ที่ผ่านการหมักก๊าซชีวภาพ

J. de la Noue และ Basseres, A. (66) ทดลองบำบัดน้ำทิ้งจากมูลสุกรที่ผ่านการหมักแบบไร้อากาศ โดยใช้เลี้ยงสาหร่าย 3 ชนิด ได้แก่ *Chlorella sp., Scenedesmus obliquus* และ *Phormidium bohneri* เจือจางน้ำทิ้ง (COD 7.7 กรัมต่อลิตร, $N\text{-}NH_4^+$ 3.3 กรัมต่อลิตร, $P\text{-}PO_4^{3-}$ 0.3 กรัมต่อลิตร, pH 8.0) ด้วยน้ำประปาให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 0.6-3.0% เป็นการทดลองแบบ batch ใช้หลอดแก้วขนาด 1 ลิตร เลี้ยงเป็นเวลา 12 วัน ควบคุมความเข้มแสงที่ 228 $\mu E/m^2s$ ช่วงเวลาให้แสง (L:D = 12:12) อุณหภูมิ 10 และ 20°C ปริมาณสาหร่ายเริ่มต้นที่ใช้เลี้ยง 80 มก./ล. (น้ำหนักแห้ง) ส่วนการทดลองแบบ Semicontinuous ทดลองกับ *Phormidium bohneri* ซึ่งวิธีการทำเหมือนกับแบบ batch ใช้น้ำหมักมูลสุกร 2 % เป็นเวลา 8 วัน หลังจากนั้นเพิ่มน้ำหมักมูลสุกร 1 % (อัตราเจือจาง 50 %) ทุก 4 วัน ทดลองที่ 20°C ใช้เวลาทดลอง 14 วัน พบว่าชีวมวลของสาหร่ายทั้งสามชนิดเพิ่มขึ้นดีมาก มีค่า 500-750 มก./ล.(น้ำหนักแห้ง) ในเวลา 12 วัน ที่ 20°C มีอัตราการผลิตเฉลี่ยของ *P. bohneri, Chlorella sp.* และ *S. obliquus* เท่ากับ 31, 37 และ 53 มก./ล. (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ และสาหร่ายทั้งสามชนิดดูดซึม NH_4^+-N ได้หมด ที่ 20°C ความเข้มข้น 2.0% ภายใน 12 วัน ส่วน $P\text{-}PO_4^{3-}$ ลดลงมากกว่า 90% และ COD ลดลงประมาณ 60-90% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย และในสภาพธรรมชาติการเลี้ยงแบบ Batch สาหร่าย *Chlorella sp.* จะเลี้ยงได้ดีที่สุด ส่วนในสภาพ Semicontinuous พบว่า P. bohneri เหมาะสมกว่า เนื่องจากเก็บเกี่ยวง่าย และมีประสิทธิภาพการกำจัดสาร $N\text{-}NH_4^+$ 10.4 มก./ก. (น้ำหนักแห้ง)/วัน และ $P\text{-}PO_4^{3-}$ 0.6 มก./ก. (น้ำหนักแห้ง)/วัน ซึ่งใกล้เคียงกับ *Chlorella* ในระบบ batch ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน

เปรมจิตต์ (67) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Chlorella T.* ในห้องปฏิบัติการด้วยวัสดุจากท่อระบายมูลล้นจากการหมักมูลโคนม เจือจางกากให้มีความเข้มข้นต่างๆ กัน 10 ค่า ตั้งแต่ 3-12 กรัมของกากต่อน้ำทะเลกรอง 1 ลิตร โดยใส่ปริมาณเริ่มต้น 4×10^5 เซล/ลบ.ซม. ผลการทดลองปรากฏว่าการเจริญเติบโตของ *Chlorella T.* ที่ความเข้มข้นของกาก 6 กรัม/ลิตร จะให้ค่าอัตราการเพิ่มจำนวนเซลต่อวัน(K) สูงสุดเป็น 0.192 และเวลาของการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า(D) ต่ำสุดเป็น 2.34 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงโดยใช้สูตรอาหารของ Miquel ซึ่งให้(K) เป็น 0.170 และ(D) เป็น 2.47 วัน สำหรับการศึกษาเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดเดียวกันด้วยกากตัวอย่างส่วนที่เป็นของแข็งจากการหมักมูลโคและมูลสุกรในช่วงความเข้มข้นต่างๆ กัน 5 ค่า ตั้งแต่ 3-7 กรัม/ลิตร และ 1-5 กรัม/ลิตร ตามลำดับนั้น ได้ผลดังนี้ การใช้กากจากการหมักมูลโคและมูลสุกรที่ความเข้มข้นกาก 3 และ 2 กรัม/ลิตร จะให้ค่า(K) สูงสุดเป็น 0.377 และ 0.409 และ(D) ต่ำสุดเป็น 1.68 และ 1.61 วัน ตามลำดับ

Copyright by Mahidol University

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

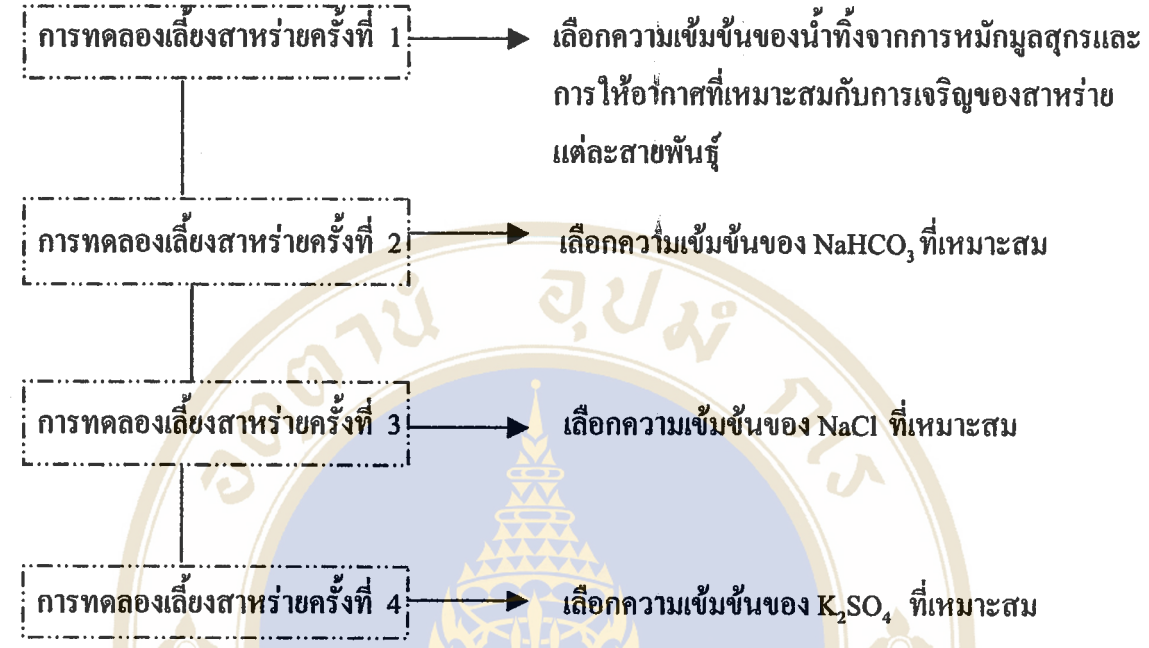
การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental Research) ในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ การทดลองเป็นแบบ Batch Study สามารถแบ่งการวิจัยออกเป็น 2 ตอน คือ

<u>ตอนที่ 1</u> ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่มีความแตกต่างของปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย ได้แก่ ความเข้มข้นของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ส่วนผสมของอากาศที่ให้ และปริมาณสารเคมีที่เติมในน้ำเสีย ได้แก่ $NaHCO_3$ NaCl และ K_2SO_4 โดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายในหลอดทดลองขนาด 200 มิลลิลิตร ในตู้เลี้ยงสาหร่ายแบบควบคุมอุณหภูมิและความเข้มแสง วัดการเจริญของสาหร่ายทุก 2 วัน และคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ผลที่ได้นำไปทดลองในตอนที่ 2

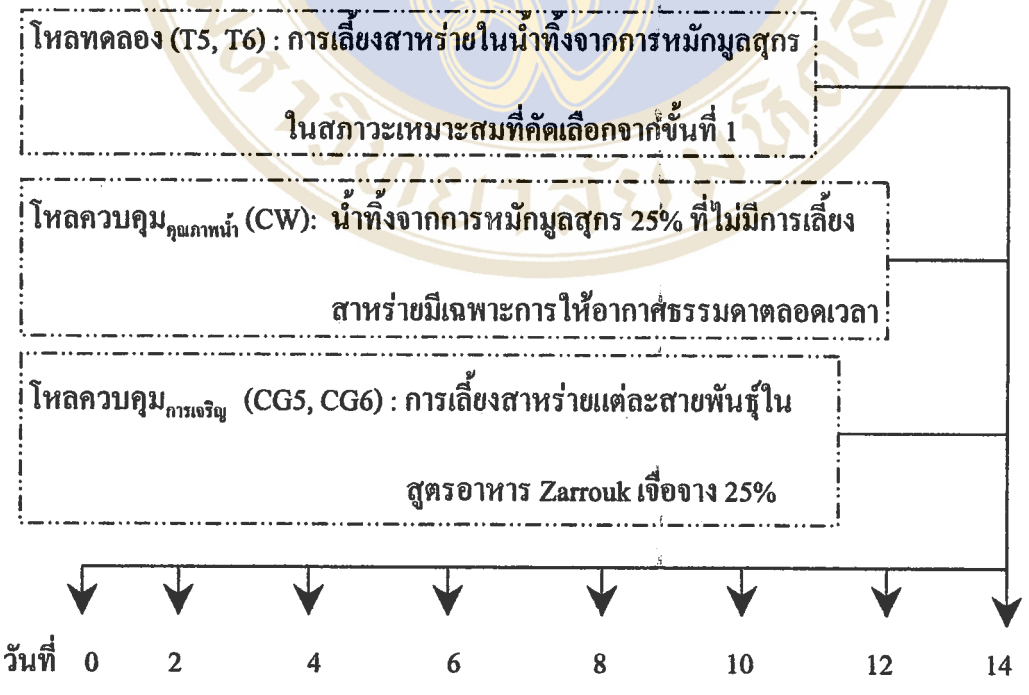
<u>ตอนที่ 2</u> ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย และประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายในระยะเวลาต่างๆ โดยทดลองเลี้ยงสาหร่ายในโหลแก้ว ความจุ 2,500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ความเข้มแสงประมาณ 5,000 - 6,000 ลักซ์ ทำการทดลอง 2 ครั้ง ศึกษาเปรียบเทียบกับโหลควบคุม วัดการเจริญของสาหร่ายและศึกษาคุณภาพน้ำทุก 2 วัน ดังแผนภูมิขั้นตอนการทดลองในรูปที่ 3-1

Copyright by Mahidol University

ตอนที่ 1 ทดลองในหลอดเลี้ยงสาหร่าย วัดค่า OD_{560} ทุก 2 วัน ระยะเวลาทดลอง 10 วัน



ตอนที่ 2 ทดลองในโหลแก้ว วัดการเจริญของสาหร่าย (ทั้งวัดค่า OD_{560} และหาน้ำหนักแห้ง) และศึกษาคุณภาพน้ำทุก 2 วัน ระยะเวลาทดลอง 14 วัน



รูปที่ 3-1 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการทดลอง

Copyright by Mahidol University

3.2 สถานที่ทำการทดลอง

3.2.1 เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ซึ่งถูกกักเก็บไว้ในสระปรับเสถียรจากฟาร์มบุญมี อ. ปากท่อ จ. ราชบุรี

3.2.2 การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติน้ำทิ้ง ดำเนินการในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

3.2.3 การเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ทดลองในห้องปฏิบัติการสาหร่าย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3 ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

ทำการวิจัยตั้งแต่เดือนธันวาคม พ.ศ. 2543 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2544 โดยมีการเตรียมการทดลองและทำการศึกษาขั้นต้น ในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2543 ทำการทดลองขั้นตอนที่ 1 ในเดือนมกราคมและกุมภาพันธุ์ พ.ศ. 2544 และทำการทดลองขั้นตอนที่ 2 ในเดือนมีนาคมถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2544

3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

3.4.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

- ตู้เลี้ยงสาหร่ายแบบควบคุมอุณหภูมิ (30°C) ขนาด 30 x 60 x 40 ลบ.ซม. มี circulating pump ช่วยกระจายอุณหภูมิให้สม่ำเสมอทั่วตู้ และใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 40 วัตต์ 6 หลอดเป็นแหล่งให้แสง ความเข้มแสง 10,000 ลักซ์ (สามารถปรับความเข้มแสงด้วยการกำหนดระยะระหว่างหลอดไฟกับพื้นที่ผิวที่ตั้งของหลอดทดลองที่แสงส่องมาถึง และวัดปริมาณความเข้มแสงโดยใช้ Lux meter) และเครื่องตั้งเวลาเปิด-ปิดไฟ(Timer) (16:8 ชั่วโมง)

- หลอดทดลองเลี้ยงสาหร่ายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 เซนติเมตร ยาว 35 เซนติเมตร ความจุ 200 มิลลิลิตร เป็นหลอดแก้วปลายแหลม ปิดด้วยจุกซิลิโคน เจาะรู 2 รู สวมท่อแก้วสำหรับให้ CO_2 ที่ผสมกับอากาศจากเครื่องปั๊มอากาศผ่านเข้าไป

- โหลแก้ว เส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว สูง 20 นิ้ว ขนาดความจุ 2.5 ลิตร

Copyright by Mahidol University

- เครื่องปั๊มอากาศ พร้อมสายอากาศและหัวทราย

- ถังก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

- ชั้นวางโหลแก้ว พร้อมติดตั้งหลอดฟลูออเรสเซนต์ ที่มีความเข้มแสง 5,000-6,000 ลักซ์ และเครื่องตั้งเวลาเปิด-ปิดไฟ(Timer) (16:8 ชั่วโมง)

- เครื่องวัดความเข้มแสง (Lux meter)

3.4.2 อุปกรณ์การเตรียมหัวเชื้อ การเก็บเกี่ยวและการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

- อุปกรณ์ในการแยกเชื้อบริสุทธิ์และการต่อเชื้อสาหร่าย

- ผ้ากรองสาหร่ายที่มีความถี่ 50 ไมครอน

- ชุดกรองเมมเบรน (Millipore) กรองผ่านกระดาษกรอง Sartorius - membranefilter GMBH ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร ขนาดช่องผ่าน 0.6 ไมโครเมตร ต่อชุดกรองกับเครื่อง vacuum pump

- ขวดชั่ง (weighing bottle)

- Colorimeter ยี่ห้อ Orbeco-Hellige รุ่น I006 ความยาวคลื่น 560 nm.

3.4.3 อุปกรณ์สำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำ

- ขวดพลาสติกขนาดความจุ 5,000 มิลลิลิตร 10 ใบ

- ขวดพลาสติกขนาดความจุ 1,000 มิลลิลิตร 5 ใบ

- ขวดพลาสติกขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร 10 ใบ

3.4.4 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งในห้องปฏิบัติการ

- เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (ทศนิยม 5 ตำแหน่ง)

- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Schott-Gerate รุ่น CG 822

Copyright by Mahidol University

- ตู้อบ (Hot air oven)
- กระดาษกรอง (Whatman Filter Paper) เบอร์ 42
- เครื่องกลั่นแอมโมเนีย สำหรับวิเคราะห์ NH_3-N
- ชุด Reflux สำหรับวิเคราะห์ COD

3.5 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.5.1 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Zarrouk มาตรฐาน (ภาคผนวก ข.)

3.5.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ค่า COD, NH_3-N, NO_3^--N และ PO_4^{3-}

3.6 พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งและวิธีวิเคราะห์

3.6.1 pH (pH meter)

3.6.2 Temperature (Mercury thermometer)

3.6.3 COD (Dichromate Reflux Method)

3.6.4 NH_3-N (วิธีการกลั่น-ไทเทรต)

3.6.5 NO_3^--N (Brucine method)

3.6.6 PO_4^{3-} (Ascorbic acid method)

3.7 การเตรียมการทดลองเบื้องต้น

3.7.1 <u>การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย</u>

ในการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายในขณะทำการทดลองใช้วิธีการวัดค่า Optical density (OD) ของสาหร่ายในอาหารที่เพาะเลี้ยงโดยใช้เครื่อง Colorimeter ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (เป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว) แต่ในการรายงานผลจะรายงานในรูปของค่าน้ำหนักแห้ง

Copyright by Mahidol University

หน่วยเป็นมก./ล. (แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ค. และรูปที่ 1 ในภาคผนวก จ.) ด้วยเหตุนี้จึงต้องทำการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6)ในอาหาร Zarrouk 100% ปรับความหนาแน่นระดับต่างๆ แล้วนำสาหร่ายไปหาน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD_{560} กับค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ (แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ง.)

3.7.2 <u>การเตรียมน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรก่อนนำไปเลี้ยงสาหร่าย</u>

นำน้ำมูลสุกรหมักจากระบบก๊าซชีวภาพ ในสระปรับเสถียร (Stabilization pond) ของบุญมีฟาร์ม อ. ปากท่อ จ. ราชบุรี เริ่มด้วยการกรองตะกอนออกจากน้ำโดยการปั่นให้ตกตะกอน (Centrifugation) ที่ความเร็วในการเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที (แสดงในรูปที่ 2 ภาคผนวก จ.) จากนั้นนำน้ำส่วนใสที่กรองได้ไปวิเคราะห์ลักษณะสมบัติน้ำทิ้ง ได้แก่ COD, NH_3-N, NO_3^--N และ PO_4^{3-} และปรับความเข้มข้นตามที่กำหนดโดยใช้น้ำประปา (น้ำกรอง) ตลอดการทดลอง

3.7.3 <u>การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อใช้เป็นเชื้อตั้งต้น</u> (การเตรียมกล้าเชื้อ)

ขยายการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6) เพื่อเตรียมเป็นกล้าเชื้อในหลอดทดลองเลี้ยงสาหร่าย (culture tube) 200 มิลลิลิตร ที่มีอาหาร Zarrouk บรรจุอยู่ 160 มิลลิลิตร เติมกล้าเชื้อเริ่มต้นของเซลสาหร่าย 10% โดยปริมาตร หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในตู้เพาะเลี้ยงที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 30 $^{\circ}C$ ความเข้มแสง 10,000 ลักซ์ ให้แสง 16 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 8 ชั่วโมง มี CO_2 1-2% โดยปริมาตรของอากาศเป็นแหล่งคาร์บอน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำกล้าเชื้อของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ไปทดลองต่อไป

สำหรับการกรองเอาเนื้อสาหร่ายมาใส่ในอาหารทดลอง ใช้สูตร $N_1V_1 = N_2V_2$ ในการคำนวณปริมาณเชื้อสาหร่ายเข้มข้นที่ต้องการโดยให้ OD_{560} ของสาหร่ายเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าประมาณ 0.2 ทั้งนี้การกรองใช้ผ้ากรองที่มีความถี่ 50 ไมครอน (ทำเป็นกระชอน) และล้างเนื้อสาหร่ายบนผ้ากรองก่อนใส่เนื้อสาหร่ายลงในอาหารทดลอง โดยใช้อาหารของชุดการทดลองที่จะใส่เนื้อสาหร่ายลงไป(เพื่อล้างอาหารเดิมที่ติดกับสาหร่ายให้หมดไป) ในการล้างปริมาณของอาหารที่ใช้ล้างมีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณของเชื้อสาหร่ายเข้มข้นที่นำมากรอง (แสดงในรูปที่ 3 ภาคผนวก จ.) การวิจัยนี้แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนที่ 1 เลี้ยงในหลอดทดลองขนาด 200 มิลลิลิตร ปริมาณน้ำเลี้ยงสาหร่าย (อาหารทดลอง + สาหร่าย) เมื่อเริ่มทดลองให้มีปริมาตร 160

Copyright by Mahidol University

มิลลิลิตรต่อหลอด และขั้นตอนที่ 2 เลี้ยงในโหลแก้วที่มีความจุ 2,500 มิลลิลิตร ปริมาณน้ำเลี้ยงสาหร่าย (อาหารทดลอง + สาหร่าย) เมื่อเริ่มทดลองให้มีปริมาตร 2,000 มิลลิลิตรต่อโหล

3.8 วิธีการทดลอง

<u>ตอนที่ 1</u> ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่มีความแตกต่างของปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย

นำกล้าเชื้อสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ได้จากข้อ 3.7.3 ปรับปริมาณความหนาแน่นเริ่มต้นของสาหร่ายให้มีค่า OD_{560} เท่ากับ 0.2 เพาะเลี้ยงสาหร่ายในหลอดทดลองขนาด 200 มิลลิลิตร ปริมาตรที่ใช้ 160 มิลลิลิตร ความเข้มแสงประมาณ 8,000-10,000 ลักซ์ ให้แสง 16 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 8 ชั่วโมง ระยะเวลาทดลอง 10วัน วัดการเจริญ (วัดค่า OD_{560} ทุก 2 วัน) และมีหลอดควบคุม คือ เพาะเลี้ยงสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ในอาหารสูตร Zarrouk เจือจาง 25%

1.1 <u>การทดลองหาปริมาณความเข้มข้นน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรและส่วนผสมของอากาศที่ให้ที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย</u>

นำสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6) ที่เตรียมไว้ มาเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ ร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 ใส่ในแต่ละหลอด และแบ่งการให้อากาศตลอดเวลา เป็น 2 แบบ คือ ให้อากาศธรรมดา และให้อากาศผสม CO_2 1-2% จำนวน 16 หลอด และ เตรียมเช่นเดียวกันอีกชุดหนึ่ง โดยเติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตรในทุกสภาวะ จากนั้นนำผลที่ได้จาก 2 ชุดทดลองมาศึกษาและเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์ เลือกความเข้มข้นของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ รวมทั้งเลือกการให้อากาศที่เหมาะสม นำผลที่ได้ไปทดลองขั้นต่อไป (ดูผังขั้นตอนการทดลองในรูปที่ 3-2)

1.2 <u>การทดลองหาปริมาณ $NaHCO_3$ ที่เหมาะสมในการเจริญของสาหร่าย</u>

นำสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6) ที่เตรียมไว้มาเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร โดยปรับความเข้มข้นให้เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ และให้อากาศตลอดเวลาตามผลที่ได้ในข้อ 1.1 ปรับปริมาณ $NaHCO_3$ ให้มี

Copyright by Mahidol University

อัตราต่างๆ กัน คือ 4, 8, และ 12 กรัม/ลิตร เลือกปริมาณ $NaHCO_3$ ที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ผลที่ได้นำไปทดลองขั้นต่อไป

1.3 การทดลองหาปริมาณ NaCl ที่เหมาะสมในการเจริญของสาหร่าย

นำสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6) ที่เตรียมไว้ มาเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรโดยปรับสภาวะที่เหมาะสมตามผลที่ได้ในข้อ 1.2 ปรับปริมาณ NaCl ให้มีอัตราต่างๆ กัน คือ 0, 1, 3, 5 และ 7 กรัม/ลิตร เลือกปริมาณ NaCl ที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ผลที่ได้นำไปทดลองขั้นต่อไป

1.4 การทดลองหาปริมาณ K_2SO_4 ที่เหมาะสมในการเจริญของสาหร่าย

นำสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6) ที่เตรียมไว้ มาเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรโดยปรับสภาวะที่เหมาะสมตามผลที่ได้ในข้อ 1.3 ปรับปริมาณ K_2SO_4 ให้มีอัตราต่างๆ กัน คือ 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 กรัม/ลิตร เลือกปริมาณ K_2SO_4 ที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ผลที่ได้นำไปทดลองขั้นต่อไป

ตอนที่ 2 ศึกษาการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพของสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) ในการบำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเมื่อระยะเวลาต่างกัน

นำกล้าเชื้อสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ได้จากข้อ 3.7.3 ปรับปริมาณความหนาแน่นเริ่มต้นของสาหร่ายให้มีค่า OD_{560} เท่ากับ 0.2 เพาะเลี้ยงสาหร่ายในการทดลองเลี้ยงสาหร่ายในโหลแก้วที่มีความจุ 2,500 มิลลิลิตร ปริมาตรที่ใช้ 2,000 มิลลิลิตร ความเข้มแสงประมาณ 5,000 - 6,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาทดลอง 14 วัน วัดการเจริญของสาหร่าย (วัดค่า OD_{560} และหาน้ำหนักแห้ง) และศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ (วิเคราะห์หาค่า COD, NH_3-N, NO_3^--N และ PO_4^{3-}) ทุก 2 วัน สภาวะที่ใช้ทดลองแสดงในตารางที่ 3-1 และแสดงผังขั้นตอนการทดลองในรูปที่ 3-2

Copyright by Mahidol University

ตารางที่ 3-1 สภาวะที่ใช้ในการศึกษา

สภาวะที่	สายพันธุ์สาหร่าย	การให้อากาศ	สารเคมีที่เติมเพิ่มในน้ำเสีย (น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25%)
T5-1	Sp.5	อากาศผสม CO_2 1-2%	$NaHCO_3$ 4 g/l + NaCl 5 g/l + K_2SO_4 0.25 g/l
T5-2	Sp.5	อากาศผสม CO_2 1-2%	$NaHCO_3$ 4 g/l + NaCl 5 g/l + K_2SO_4 0.25 g/l
CG5	Sp.5	อากาศผสม CO_2 1-2%	Zarrouk 25%
T6-1	Sp.6	อากาศผสม CO_2 1-2%	$NaHCO_3$ 4 g/l + NaCl 5 g/l + K_2SO_4 0.25 g/l
T6-2	Sp.6	อากาศผสม CO_2 1-2%	$NaHCO_3$ 4 g/l + NaCl 5 g/l + K_2SO_4 0.25 g/l
CG6	Sp.6	อากาศผสม CO_2 1-2%	Zarrouk 25%
CW	-	อากาศ	-

หมายเหตุ : **T (Treatment)** หมายถึง สภาวะทดลอง เขียนกำกับด้วยเลข 5 และ 6 (แทนสายพันธุ์ Sp5 และ Sp6 ตามลำดับ) ได้แก่ T5 และ T6 ประกอบกับทำการทดลอง 2 ซ้ำ จึงใช้เลข 1 และ 2 กำกับไว้ ได้แก่ T5-1, T5-2, T6-1 และ T6-2 รวมทั้งหมด 4 โหล

C (Control) หมายถึง สภาวะควบคุม มี 2 ประเภท คือ

CG หมายถึง สภาวะที่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) ในอาหารสูตร Zarrouk 25% เพื่อใช้เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ ทำการทดลองครั้งเดียว ได้แก่ CG5 และCG6 รวม 2 โหล

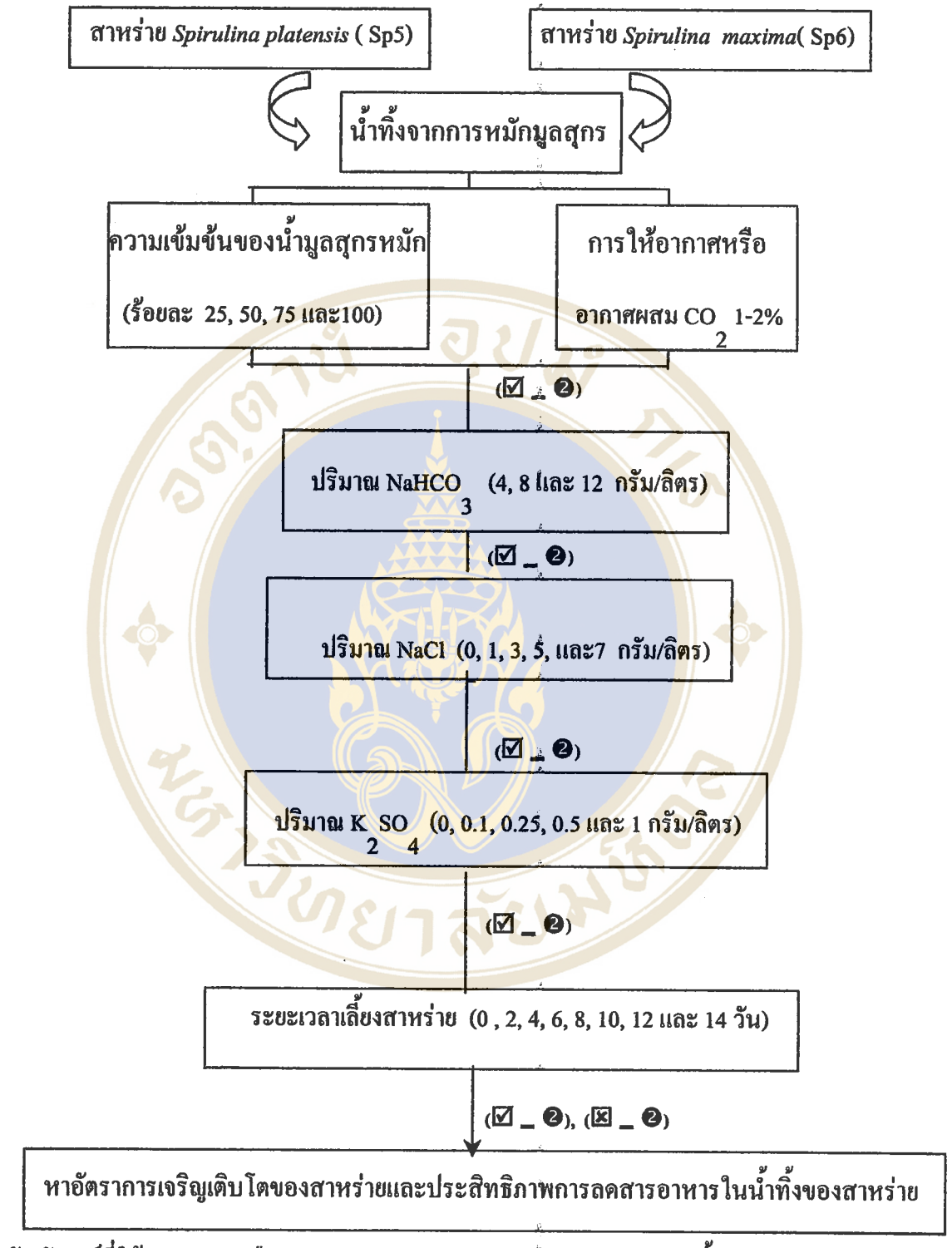
CW หมายถึง สภาวะที่ไม่เลี้ยงสาหร่ายและไม่เติมสารเคมีใดๆ มีเพียงการให้แสงและอากาศ เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ ทดลองครั้งเดียว รวม 1 โหล

3.9 วิธีการเก็บข้อมูล

3.9.1 หาสภาวะที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยวัด OD_{560} และค่าน้ำหนักเซลแห้ง

3.9.2 หาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียในระยะเวลาต่างๆ โดยวัดค่า COD, NH_3-N, NO_3^--N และ PO_4^{3-}

Copyright by Mahidol University



<u>สัญลักษณ์ที่ใช้</u> : (☑ _ ❷) คือ วัดการเจริญของสาหร่ายทุก 2 วัน (OD_{560} , น้ำหนักแห้ง, pH)

(☒ _ ❷) คือ ตรวจวิเคราะห์ลักษณะสมบัติน้ำ คือ COD, NH_3-N, NO_3^--N และ PO_4^{3-} ทุก 2 วัน (ในกรณีหาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย)

รูปที่ 3-2 ผังขั้นตอนการทดลอง

Copyright by Mahidol University

3.10 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.10.1 วิเคราะห์เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายในสภาวะต่างๆ จากการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งและการคำนวณค่าอัตราการเจริญจำเพาะ

1) Dry weight (ชั่งน้ำหนักสุทธิบนกระดาษกรอง) คำนวณจาก

$$\text{ปริมาณการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งต่อวัน} = \frac{D.W._t - D.W._{t-1}}{t - (t-1)} \quad \text{(มก./ล./วัน)}$$

เมื่อ $D.W._t$, $D.W._{t-1}$ = ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ระยะเวลา t , t-1 ตามลำดับ

2) OD (Colorimeter ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร) นำมาใช้คำนวณค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate) (38) ซึ่งมีสูตร ดังนี้

$$U = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1}$$

เมื่อ U = อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อวัน)

ln = natural logarithms หรือ log ฐานอี

X_1, X_2 = ความเข้มข้นของมวลสาหร่าย อาจใช้ค่าน้ำหนักแห้ง, คลอโรฟิลล์หรือความหนาแน่นของเซล (OD) เป็นต้น

t_1 , t_2 = เวลาที่วัดค่า X_1, X_2 ตามลำดับ

Copyright by Mahidol University

3.10.2 คำนวณประสิทธิภาพในการลดปริมาณ COD, NH_3-N, NO_3^--N และ PO_4^{3-} ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร โดยใช้สูตรอ้างอิงในสุรวดี(65)

$$E\,(\%) = \frac{Ci - Cf}{Ci} \times 100$$

เมื่อ E = ประสิทธิภาพ (Efficiency)

Ci = ความเข้มข้นของสารมลพิษในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (มิลลิกรัม/ลิตร)

Cf = ความเข้มข้นของสารมลพิษในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัม/ลิตร)

3.11 สถิติที่ใช้

สถิติเชิงพรรณนาที่ใช้ ได้แก่ พิสัย (Range) และค่าเฉลี่ย (Mean) ในการพรรณนาข้อมูลที่ได้จากการทดลองและนำเสนอโดยตารางและกราฟ

Copyright by Mahidol University

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

จากการศึกษาการใช้สาหร่าย *Spirulina* บำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ตามแผนภูมิและขั้นตอนต่างๆ ที่กำหนดไว้ ซึ่งสามารถสรุปผลการทดลองตามหัวข้อ ได้ดังนี้

1.ข้อมูลเบื้องต้น: ศึกษาลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร

2. ตอนที่ 1 : ศึกษาปัจจัยเบื้องต้นที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina*

3. ตอนที่2 : ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร

4.1 ข้อมูลเบื้องต้น : ศึกษาลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร

4.1.1 ลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรก่อนใช้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina*

ฟาร์มเลี้ยงสุกรที่ศึกษาเป็นฟาร์มขนาดใหญ่ จำนวนสุกรทั้งหมด 13,000 ตัว มีปริมาณน้ำทำความสะอาดคอก 288,600 ลิตร/วัน คิดเป็นปริมาณน้ำเสียรวม 350,000 ลิตร/วัน เมื่อน้ำเสียผ่านระบบก๊าซชีวภาพแล้ว จะถูกปล่อยเข้าสู่ระบบบำบัดขั้นหลัง ซึ่งจุดที่ผู้วิจัยเก็บตัวอย่างน้ำมาทดลอง คือ สระปรับเสถียร มีพื้นที่เปิด 2,200 ตร.ม. ลึก 1.5 เมตร มีความจุ 3,300 ลบ.ม. และระยะพักตัวเพื่อการบำบัด 14 วัน (ปกติปล่อยให้บำบัดเองตามธรรมชาติ แต่ในช่วงที่เก็บตัวอย่างนี้มีการให้อากาศตลอดเวลาโดยใช้ไฟฟ้าจากก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้ภายในฟาร์ม) วัดค่า pH ขณะเก็บตัวอย่างน้ำเสียได้ 7.2 อุณหภูมิประมาณ 30°C และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) มีค่า 0.44 จากนั้นขนย้ายตัวอย่างน้ำเสียเพื่อไปวิเคราะห์ลักษณะสมบัติน้ำเพิ่มเติม และดำเนินการทดลองเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากการเก็บน้ำเสียจากฟาร์มสุกร จังหวัดราชบุรีเพื่อนำมาใช้เตรียมน้ำเลี้ยงสาหร่ายในการทดลอง ต้องการให้เป็นน้ำเสียจากการเก็บตัวอย่างในครั้งเดียวกัน ทั้งนี้เพื่อให้คุณภาพน้ำไม่แตกต่างกันมากนัก และพยายามลดปัจจัยแทรกซ้อนอื่นๆ ที่อาจมีผลต่อคุณภาพน้ำได้ เช่น ปัจจัยจากสภาพอากาศ (ปริมาณน้ำฝน, อุณหภูมิ) การเปลี่ยนแปลงระบบของฟาร์ม (การเติมอากาศ) ลักษณะ

Copyright by Mahidol University

สมบัติของน้ำเสียจากมูลสุกร (จำนวนสุกร, คุณภาพน้ำล้างคอกสุกร) ฯลฯ จึงจำเป็นต้องเก็บตัวอย่างปริมาณมากในคราวเดียว (ประมาณ 40 ลิตร) เพื่อเก็บไว้ใช้ตลอดการทดลอง เนื่องจากตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บมามีสีค่อนข้างดำเข้มและขุ่นมาก ไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย จึงจำเป็นต้องบำบัดขั้นต้นด้วยการนำตัวอย่างน้ำทั้งหมดที่ได้มา centrifuge ที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที เพื่อให้ตกตะกอน น้ำที่ได้จะมีสีน้ำตาลอ่อนและใสขึ้น (แสดงในรูปที่ 4-1) สำหรับตัวอย่างน้ำเสียส่วนที่เหลือจากการเตรียมน้ำเลี้ยงสาหร่ายที่ใช้ทดลองในแต่ละครั้ง ทำการเก็บรักษาไว้ในห้องเย็นของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (อุณหภูมิต่ำกว่า 4 °C)



รูปที่ 4-1 แสดงลักษณะสีน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร (จากซ้ายไปขวาตามลำดับ) คือ น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เก็บตัวอย่างจากสระปรับเสถียร, น้ำเสียผ่าน centrifuge ที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที และเจือจางน้ำเสียด้วยน้ำกรองของสถาบันฯ ให้ได้น้ำเสียเข้มข้น 25% เพื่อใช้เตรียมน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง

การทดลองตอนที่ 1 ใช้น้ำเสียจากการเก็บตัวอย่างน้ำ เมื่อ 21 มกราคม พ.ศ. 2544 เพื่อทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของสาหร่ายแต่ละชนิด ผลการวิเคราะห์น้ำเสียที่ผ่านการ centrifuge แล้ว มีดังนี้ ค่าบีโอดี (BOD) 540.0 มก./ล., ค่าซีโอดี (COD) 990.0 มก./ล., ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) 840.0 มก./ล., ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน(NO_3^--N) 5.6 มก./ล. และค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) 9.5 มก./ล. แต่เนื่องจากขั้นที่ 1 ใช้เวลาศึกษานาน (ประมาณ 2 เดือน จึงจะคัดเลือกได้สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของสาหร่าย) ทำให้ต้องเก็บน้ำไว้นานเกินไปเป็นผลให้ลักษณะสมบัติของน้ำเสียเปลี่ยนแปลงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ทดลองต่อไปในตอนที่ 2 จึงได้ทำ

Copyright by Mahidol University

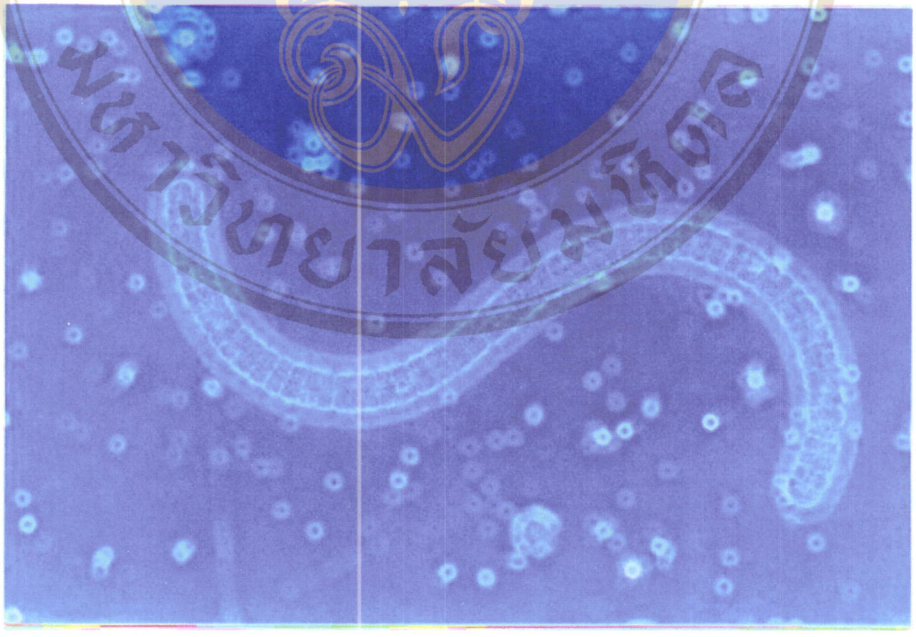
การเก็บตัวอย่างน้ำเสียใหม่ (22 เมษายน พ.ศ. 2544) สำหรับใช้ทดลองตอนที่ 2 เมื่อวิเคราะห์น้ำเสียที่ยังไม่ได้ centrifuge พบว่ามีของแข็งทั้งหมด (TS) 2,619.0 มก./ล. ค่าบีโอดี (BOD) 1,440.0 มก./ล., ค่าซีโอดี (COD) 1,880.0 มก./ล. , ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) 660.8 มก./ล., ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน(NO_3^--N) 0.8 มก./ล. และค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) 37.5 มก./ล. เมื่อนำน้ำเสียมา centrifuge ที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที ผลการวิเคราะห์พบว่า มีค่าซีโอดี (COD) 1,220.0 มก./ล., ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) 478.8 มก./ล., ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน(NO_3^--N) 0.4 มก./ล. และค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) 25.5 มก./ล. จากนั้นเจือจางน้ำเสียด้วยน้ำกรองให้มีความเข้มข้น 25% พบว่ามีค่าซีโอดี (COD) 205.0 มก./ล. , ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) 156.8 มก./ล., ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน(NO_3^--N) 0.7 มก./ล. และค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) 8.5 มก./ล. ส่วนการเตรียมน้ำเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการทดลองตอนที่ 2 ได้ใช้น้ำเสียเข้มข้น 25% และเติมสารเคมีเพื่อปรับให้มีสภาวะเหมาะสมในการเจริญของสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ตามผลที่ได้จากตอนที่ 1 คือ $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร เมื่อวิเคราะห์พบว่ามีค่าซีโอดี (COD) เฉลี่ย 249.0 มก./ล., ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3-N) เฉลี่ย 152.5 มก./ล., ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน(NO_3^--N)เฉลี่ย 0.5 มก./ล. และค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) เฉลี่ย 8.5 มก./ล.

สำหรับน้ำเสียที่ใช้ทดลองตอนที่ 2 และนำเสนอผลในรายงานนี้ ได้เก็บไว้ในห้องเย็นนานประมาณ 3 สัปดาห์ เนื่องจากพบว่ามีสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวไม่ทราบชนิด (ลักษณะเซลกลมๆ มีสีเขียวเต็มเซล และสามารถเจริญได้ในสูตรอาหาร Zarrouk เช่นเดียวกับสาหร่าย *Spirulina* ซึ่งพบกระจายทั่วไปในน้ำเลี้ยงสาหร่ายที่ใช้ขยายเชื้อ) (ดังแสดงในรูปที่ 4-2) ปนเปื้อนในกล้าเชื้อสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) จึงต้องทำการขยายกล้าเชื้อใหม่ที่มีปริมาณมากพอเพื่อใช้เป็นเชื้อตั้งต้นสำหรับการทดลอง จึงได้นำน้ำออกจากห้องเย็น(14 พฤษภาคม พ.ศ. 2544) เพื่อเริ่มทำการทดลองต่อไปได้ ทั้งนี้ได้วิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียอีกครั้งก่อนใช้เตรียมน้ำเลี้ยงสาหร่าย ผลดังนี้ น้ำเสียเข้มข้น 100% มีค่าซีโอดี (COD) 1,120.0 มก./ล. , ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) 616.0 มก./ล., ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (NO_3^--N) 5.0 มก./ล. และค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) 14.0 มก./ล. เมื่อเจือจางจนมีความเข้มข้น 25% พบว่ามีค่าซีโอดี (COD) 192.0 มก./ล. , ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) 132.0 มก./ล., ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน(NO_3^--N) 2.2 มก./ล. และค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) 7.0 มก./ล. ส่วนการเตรียมน้ำเลี้ยงสาหร่ายโดยเติมสารเคมีในสภาวะที่เหมาะสม พบว่ามีค่าซีโอดี (COD) 195.3 มก./ล. , ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) 133.5 มก./ล., ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน(NO_3^--N) 2.0 มก./ล. และค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) 7.8 มก./ล. ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 4-1 สรุปได้ว่าน้ำเสียในสระปรับเสถียรที่มีการเติมอากาศมีค่าบีโอดี(BOD),

Copyright by Mahidol University

สำนักหอสมุด

ค่าซีโอดี (COD), ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3-N) และค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) สูงกว่าน้ำเสียที่ผ่านการ centrifuge 10,000 รอบ/นาที (ทั้งระดับความเข้มข้น 100% และ 25%) ยกเว้นค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (NO_3^--N) ของน้ำเสียหลัง cântrifuge ที่แช่เย็นไว้ 3 สัปดาห์พบว่ามีค่าสูงขึ้น เนื่องจากในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรประกอบด้วยโปรตีนซึ่งมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ แบคทีเรียในน้ำเสียสามารถย่อยสลายโปรตีนเป็นโพลีเปปไทด์ และกรดอะมิโน จากนั้นจึงถูกย่อยสลายต่อเป็น NH_3-N และพลังงาน สำหรับ NH_3-N ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีน ส่วนหนึ่งถูกแพลงก์ตอนพืชนำไปใช้สร้างกรดอะมิโนและโปรตีน อีกส่วนหนึ่งแบคทีเรียย่อยสลายต่อไปเป็นอนินทรีย์สารไนโตรเจน ถึงแม้ปฏิกิริยาการย่อยสลายจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ แต่ก็เกิดอย่างต่อเนื่อง (*Nitrosomonas* สามารถเปลี่ยน NH_3-N ให้เป็น NO_2^--N และ *Nitrobacter* สามารถเปลี่ยน NO_2^--N ให้เป็น NO_3^--N) ทำให้เกิดกระบวนการ Nitrification ซึ่งมีความสัมพันธ์กับวัฏจักรเคมีของน้ำ เพราะทำให้มีสารอาหารที่สิ่งมีชีวิตในน้ำสามารถนำไปใช้ได้ (42) ดังนั้นการที่เก็บรักษาน้ำเสียเป็นเวลานานๆ จะทำให้แบคทีเรียสามารถย่อยสลายอินทรีย์ไนโตรเจนได้เพิ่มขึ้นตามขั้นตอนที่กล่าวข้างต้น จึงส่งผลให้น้ำเสียมีค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (NO_3^--N) สูงกว่าค่าที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำเสียทันที



รูปที่ 4-2 แสดงการปนเปื้อนของสาหร่ายเซลกลมๆ สีเขียว (ไม่ทราบชนิด) ขณะขยายหัวเชื้อสาหร่าย *Spirulina*(Sp6) ในอาหาร Zarrouk 100%

Copyright by Mahidol University

ตารางที่ 4-1 ลักษณะสมบัติน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรสภาวะต่างๆ ก่อนใช้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย

พารามิเตอร์	น้ำทิ้งเข้มข้น	น้ำทิ้งที่ผ่าน centrifuge 10,000 รอบ/นาที					
		วิเคราะห์ทันที (22 เม.ย. 44)			เก็บในห้องเย็น 3 wk. (14 พ.ค. 44)		
	100%	100%	25%	25%*	100%	25%	25%*
COD	1,880.0	1,220.0	205.0	249.0	1,120.0	192.0	195.3
NH_3-N	660.8	478.8	156.8	152.5	616.0	132.0	133.5
NO_3^--N	0.8	0.4	0.7	0.5	5.0	2.2	2.0
PO_4^{3-}	37.5	25.5	8.5	8.5	14.0	7.0	7.8

หมายเหตุ : **25%*** หมายถึง น้ำเสียเข้มข้น 25 % ที่มีการเติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร

จากตารางที่ 4-1 น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 100% มีค่า COD 1,880.0 มก./ล. และค่า NH_3-N 660.8 มก./ล. สำหรับลักษณะสมบัติที่วัดขณะเก็บตัวอย่างน้ำเสียที่ฟาร์มบุญมี จ. ราชบุรี คือ ค่า pH เท่ากับ 7.2 , อุณหภูมิประมาณ 30°C และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) มีค่า 0.44 เมื่อเปรียบเทียบค่าคุณภาพน้ำทิ้งที่กำหนดในมาตรฐานน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรของกรมควบคุมมลพิษ (8) ที่กำหนดให้ฟาร์มสุกรขนาดใหญ่ ควบคุมให้น้ำทิ้งมีค่า pH 5.5-9.0, ค่าบีโอดี (BOD) 60 มก./ล., ค่าซีโอดี (COD) 300 มก./ล. และค่าไนโตรเจนทั้งหมด (TKN) 120 มก./ล. และจากผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติน้ำเสียหลังการหมักมูลสุกรในประเทศไต้หวันของ Chiu (15) พบว่ามีค่า pH อยู่ในช่วง 6.9-8.0, ค่าบีโอดี (BOD) 40-130 มก./ล., ค่าซีโอดี (COD) 250-850 มก./ล., ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3-N) 200-480 มก./ล.และค่าไนโตรเจนทั้งหมด (TKN) 250-590 มก./ล. จะเห็นได้ว่าน้ำเสียหลังการหมักมูลสุกรที่ปล่อยไว้ในสระปรับเสถียรของฟาร์มบุญมีมีค่า COD และค่า NH_3-N สูงกว่าผลการวิเคราะห์น้ำเสียหลังการหมักมูลสุกรของประเทศไต้หวันค่อนข้างมาก และยังมีค่าสูงกว่าเกณฑ์กำหนดของกรมควบคุมมลพิษอีกด้วย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องบำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรก่อนปล่อยออกจากฟาร์มลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ โดยพยายามลดสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่มากเกินไปเพื่อให้อยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย (ลดการเป็นแหล่งก่อปัญหามลพิษทางน้ำ) หรือหากนำกลับมาใช้หมุนเวียนในฟาร์ม (ปัจจุบันฟาร์มบุญมีได้ใช้น้ำเสียดังกล่าวกลับมาล้างทำความสะอาดคอก) ซึ่งควรจะมีการบำบัดให้ได้น้ำที่มีคุณภาพดีขึ้น เพื่อให้น้ำเสียจากฟาร์มสุกรมีความสกปรกน้อยลงตามไปด้วย

Copyright by Mahidol University

4.2 ตอนที่ 1 : ศึกษาปัจจัยเบื้องต้นที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina*

4.2.1 การทดลองหาความเข้มข้นของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เหมาะสม

ทำการเพาะเลี้ยงและศึกษาการเจริญของสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในตัวอย่างน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 เลี้ยงสาหร่ายภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (30°C) ความเข้มแสงประมาณ 8,000 ลักซ์ โดยปรับส่วนผสมของอากาศที่ให้เป็นแบบอากาศธรรมดาและอากาศผสม CO_2 1-2% การทดลองขั้นนี้ไม่สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักแห้งของเซลสาหร่ายทุก 2 วันได้ เนื่องจากเลี้ยงสาหร่ายในหลอดปริมาตร 200 มิลลิลิตร (แสดงในรูปที่ 4-3) ซึ่งปริมาตรน้ำเลี้ยงสาหร่ายไม่เพียงพอที่จะหาน้ำหนักแห้งทุก 2 วันประกอบกับสาหร่ายเจริญได้ไม่ดี จึงศึกษาการเจริญของสาหร่ายด้วยการสังเกตสีน้ำเลี้ยงสาหร่ายร่วมกับการวัดค่า OD_{560} และส่องดูเซลสาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์เจริญอยู่ในน้ำเสียทั้ง 4 ระดับความเข้มข้นที่มีการให้อากาศธรรมดาได้เพียง 1 วันเท่านั้น สีน้ำเลี้ยงสาหร่ายจากสีเขียวเมื่อวันเริ่มต้นเปลี่ยนเป็นสีของน้ำเสีย (สีน้ำตาลอ่อน) เซลสาหร่ายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและตายลงในที่สุด สำหรับการเลี้ยงโดยให้อากาศผสม CO_2 1-2% สาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์เจริญอยู่ได้นานประมาณ 2-4 วัน พบว่าน้ำเสียเข้มข้น 25% สาหร่ายเจริญได้ดีที่สุด ลักษณะที่สังเกตได้ คือ ในวันแรกน้ำเลี้ยงสาหร่ายมีสีเขียวเข้ม วันต่อมามีสีเขียวของเซลสาหร่ายกระจายประปราย น้ำเลี้ยงสาหร่ายมีสีเขียวแต่เข้มน้อยกว่าในแรกและวันต่อๆ มา สาหร่ายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและค่อยๆ ตายลง พบเซลสาหร่ายสีเขียวกระจายอยู่บ้างแต่น้อยมาก สีน้ำเลี้ยงสาหร่ายเป็นสีของน้ำเสีย (สีน้ำตาลอ่อน) ผลการวัดค่า OD_{560} และการเปลี่ยนแปลงค่า pH แสดงในตารางที่ 4-2 เมื่อทดลองซ้ำกับสภาวะเดิมโดยเติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตรลงไปทุกสภาวะ เพื่อช่วยปรับค่า pH ให้มีสภาพเป็นด่าง(เหมาะสมแก่การเจริญของสาหร่าย *Spirulina*) ทำให้สาหร่าย *Spirulina* เจริญได้ดีขึ้น พบว่า สภาวะที่ให้อากาศธรรมดาสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์เจริญได้ไม่ดี เช่นเดียวกับผลการทดลองข้างต้น ส่วนสภาวะที่ให้อากาศผสม CO_2 1-2% พบว่า สาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียเข้มข้น 25% สามารถเจริญเติบโตได้นานกว่าเมื่อให้อากาศธรรมดา สำหรับที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ สาหร่ายจะเจริญเติบโตได้น้อยมาก และเซลค่อยๆ ตายจนหมด สีน้ำเลี้ยงสาหร่ายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเสีย ผลการวัดค่า OD_{560} และการเปลี่ยนแปลงค่า pH แสดงใน ตารางที่ 4-3

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 4-3 **รูป A.** แสดงตู้ควบคุมอุณหภูมิ (30°C) ใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 40 วัตต์ 6 หลอด ความเข้มแสงประมาณ 8,000-10,000 ลักซ์ และมีเครื่องตั้งเวลาเปิด-ปิดไฟ (Timer) (16:8 ชั่วโมง) และ**รูป B.** แสดงการเลี้ยงสาหร่ายในหลอดเลี้ยงสาหร่ายขนาด 200 มิลลิลิตรในตู้ควบคุมอุณหภูมิ โดยมีท่ออากาศ และท่อก๊าซ CO_2 ที่สามารถปรับอัตราการให้อากาศผสม CO_2 1-2% ได้ตามความเหมาะสม

Copyright by Mahidol University

ตารางที่ 4-2 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ ร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 ทดลองนาน 4 วัน

1) ผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย (OD_{560})

ก. ให้อากาศธรรมดาตลอดเวลา

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)				*Spirulina maxima* (Sp6)			
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
0	0.128	0.175	0.237	0.307	0.170	0.235	0.326	0.354
2	0.059	0.135	0.190	0.280	0.055	0.120	0.194	0.260
4	*	*	*	*	*	*	*	*

ข. ให้อากาศผสม CO_2 1-2% ตลอดเวลา

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)				*Spirulina maxima* (Sp6)			
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
0	0.119	0.182	0.238	0.304	0.191	0.231	0.290	0.349
2	0.061	0.131	0.191	0.248	0.113	0.099	0.149	0.278
4	*	*	*	*	*	*	*	*

หมายเหตุ : * หมายถึง สาหร่ายไม่สามารถเจริญเติบโตได้ น้ำเลี้ยงสาหร่ายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีของน้ำเสีย (สีน้ำตาลอ่อน)

2) ผลการเปลี่ยนแปลงค่า pH

ก. ให้อากาศธรรมดาตลอดเวลา

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)				*Spirulina maxima* (Sp6)			
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
0	8.55	8.65	8.59	8.56	8.72	8.64	8.72	8.75
2	9.26	9.28	9.46	9.58	9.27	9.30	9.44	9.34
4	9.18	9.34	9.48	9.55	9.21	9.39	9.52	9.46

Copyright by Mahidol University

ข. ให้อากาศผสม CO_2 1-2% ตลอดเวลา

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)				*Spirulina maxima* (Sp6)			
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
0	8.18	8.31	8.35	8.45	7.91	8.22	8.32	8.46
2	9.14	9.27	9.32	9.04	8.58	8.81	8.91	8.94
4	9.14	8.95	8.98	9.16	8.74	8.89	8.98	9.12

ตารางที่ 4-3 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ ร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 และเติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร ช่วงเวลา 4 วัน

1) ผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย (OD_{560})

ก. ให้อากาศธรรมดาตลอดเวลา

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)				*Spirulina maxima* (Sp6)			
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
0	0.199	0.286	0.321	0.340	0.112	0.202	0.202	0.270
2	0.057	0.115	0.198	0.187	0.044	0.099	0.165	0.227
4	0.038	0.089	0.136	0.171	0.039	0.078	0.123	0.205

ข. ให้อากาศผสม CO_2 1-2% ตลอดเวลา

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)				*Spirulina maxima* (Sp6)			
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
0	0.154	0.210	0.278	0.322	0.090	0.161	0.266	0.310
2	0.081	0.154	0.134	0.192	0.067	0.089	0.156	0.186
4	0.050	0.089	0.109	0.152	0.045	0.056	0.121	0.149

หมายเหตุ: ตัวอย่างน้ำเสียมีสีน้ำตาลอ่อน โดยเมื่อเริ่มต้นทดลอง (วันที่ 0) ตัวอย่างน้ำเสียที่ระดับความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร พบว่าสามารถวัดค่า OD_{560} ได้ดังนี้ 0.052, 0.131, 0.205 และ 0.256 ตามลำดับ

Copyright by Mahidol University

2) ผลการเปลี่ยนแปลงค่า pH

ก. ให้อากาศธรรมดาตลอดเวลา

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)				*Spirulina maxima* (Sp6)			
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
0	9.03	8.89	8.90	8.91	9.02	9.14	8.82	8.91
2	9.31	9.50	9.18	9.52	9.49	9.52	9.36	9.66
4	9.54	9.63	9.48	9.65	9.60	9.64	9.50	9.81

ข. ให้อากาศผสม CO_2 1-2% ตลอดเวลา

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)				*Spirulina maxima* (Sp6)			
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
0	8.62	8.71	8.74	8.80	8.66	8.71	8.73	8.75
2	8.52	8.52	8.90	9.06	8.78	8.89	8.68	8.72
4	8.79	8.44	8.56	8.90	8.50	8.61	8.72	8.82

สรุปจากผลการทดลองได้ว่าสาหร่าย *Spirulina platensis*(Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ซึ่งเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 มีการเจริญเติบโตดีกว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 100 แต่การเจริญยังต่ำกว่าที่เลี้ยงในอาหาร Zarrouk และสาหร่ายเจริญอยู่ได้ไม่นาน เนื่องจากลักษณะตามธรรมชาติของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรมีสีเข้มและขุ่นมากซึ่งไม่เหมาะสมในการใช้เลี้ยงสาหร่าย ทั้งนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Chiu และคณะ(15) พบว่าน้ำมูลสุกรหมักมีค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3-N) ค่อนข้างสูง(200-484 มก./ล.) ซึ่งจะเป็นพิษต่อสาหร่ายได้ จึงจำเป็นต้องเจือจางน้ำมูลสุกรหมักก่อนนำไปเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบของธาตุอื่นๆ ในน้ำเสียด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุคาร์บอน(ในรูป acetic acid มีค่าประมาณ14.8-65.2 มก./ล.) ที่มีปริมาณน้อยกว่าค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนมาก ในที่นี้ Chiu และคณะได้เจือจางน้ำเสียโดยใช้ NH_3-N เป็นเกณฑ์ทำให้ธาตุคาร์บอนยิ่งมีปริมาณน้อยลงไปอีก ดังนั้นต้องเติมแหล่งคาร์บอนเพิ่มเข้าไปขณะเลี้ยงสาหร่าย และพบว่าธาตุโซเดียมในน้ำมูลสุกรหมักมีปริมาณน้อยมาก (22-170 มก./ล.) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณโซเดียมในอาหาร Zarrouk ซึ่งมีสูงถึง 2,835 มก./ล. จึงจำเป็นต้องเติม NaCl เพิ่มเข้าไปในน้ำเพาะเลี้ยงด้วย เพื่อช่วยให้สาหร่ายเจริญได้ดีขึ้นในสภาวะที่มี NH_3-N ค่อนข้างสูง

Copyright by Mahidol University

สำหรับการให้อากาศพบว่า การให้อากาศผสม CO_2 1-2% 24 ชั่วโมง/วัน สาหร่ายจะเจริญได้ดีกว่าให้อากาศธรรมดาเท่านั้น เนื่องจากพบว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* โดยให้อากาศหรือก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จะช่วยรักษาระดับ pH ให้คงที่ (pH 9.5) การจะปรับเพิ่มหรือลดค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำได้โดยการเพิ่มหรือลดคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ หรือเติม NaOH นอกจากนี้สาหร่าย *Spirulina* สามารถเจริญเป็นสาหร่ายชนิดเดียว (monoculture) เนื่องจากเจริญได้ดีในน้ำเลี้ยงที่มี pH และปริมาณเกลือแร่สูง (pH มีค่ามากกว่า 10 และปริมาณเกลือแร่มากกว่า 3%) ซึ่งสาหร่ายชนิดอื่นเจริญอยู่ได้ยาก (38) เช่นเดียวกับสมบูรณ์และคณะ (46) ได้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในอาหาร Zarrouk โดยให้ CO_2 1-2% เป็นเวลา 0, 6 และ 24 ชั่วโมง/วัน ผลการทดลองพบว่า เมื่อปริมาณเซลเข้มข้นขึ้น สาหร่ายต้องการ CO_2 เพิ่มมากขึ้น เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงและเจริญเติบโต ประมาณวันที่ 6 ของการทดลอง พบว่าการทดลองที่ไม่ให้ CO_2 สาหร่ายจะเริ่มเหลืองและตาย ทั้งนี้เนื่องจากสาหร่ายจะใช้ $NaHCO_3$ (ในอาหาร Zarrouk) เป็นแหล่งคาร์บอน ทำให้เกิด NaOH เพิ่มขึ้นในน้ำเพาะเลี้ยงจนทำให้ pH สูงเกินกว่าสาหร่ายจะเจริญได้ ส่วนการให้ CO_2 6 ชั่วโมง/วัน เป็นปริมาณที่เพียงพอจะควบคุม pH ไม่ให้สูงจนเป็นอันตรายต่อสาหร่าย แต่อัตราการเจริญของสาหร่ายจะช้ากว่าการให้ CO_2 24 ชั่วโมง/วัน สามารถกล่าวได้ว่าการให้ CO_2 เพิ่มขึ้นเป็น 24 ชั่วโมง/วัน จะช่วยให้สาหร่ายมีการเจริญรวดเร็วยิ่งขึ้น ทั้งนี้ตลอดเวลาที่ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายจะเกิดการระเหยของน้ำ จึงต้องเติมน้ำเพื่อปรับระดับน้ำเพาะเลี้ยงทุกครั้งก่อนเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์ นอกจากนี้การให้อากาศผสม CO_2 1-2% 24 ชั่วโมง/วัน ยังเป็นการกวน (stirring) ให้เกิดการผสมในลักษณะ turbulent flow ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญต่อผลผลิตสาหร่าย เนื่องจากป้องกันไม่ให้สาหร่ายจมตัวในบริเวณที่มี turbulent ต่ำมาก และการกวนที่เหมาะสมช่วยให้สาหร่ายดูดซึมธาตุอาหารและก๊าซ เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมดีขึ้น และทำให้แต่ละเซลได้รับแสงทั่วถึง

4.2.2 การทดลองหาปริมาณ $NaHCO_3$ ที่เหมาะสม

ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25 % ที่เติม $NaHCO_3$ อัตราต่างๆ กัน คือ 4, 8 และ 12 กรัม/ลิตร ศึกษาการเจริญของสาหร่ายเปรียบเทียบกับหลอดควบคุมที่เลี้ยงสาหร่ายใน Zarrouk 25% ผลการทดลองพบว่าทั้ง 3 อัตราให้ผลการเจริญใกล้เคียงกัน (ผลการวัดค่า OD_{560} และการเปลี่ยนแปลงค่า pH แสดงในตารางที่ 4-4) ในที่นี้ได้เลือกใช้ปริมาณ $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร เนื่องจากสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายด้านสารเคมีน้อยกว่า แม้จะช่วยให้สาหร่ายเจริญได้ดีขึ้นแต่พบว่าสาหร่ายยัง

Copyright by Mahidol University

เจริญได้ต่ำกว่าที่เลี้ยงในอาหาร Zarrouk เช่นเดียวกับ Vonshak และคณะ (68) ที่พบว่า $NaHCO_3$ ในอัตรา 4 กรัม/ลิตร หรือ 1 ใน 4 ส่วนของ $NaHCO_3$ ในสูตรอาหาร Zarrouk เป็นปริมาณต่ำสุดสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ประกอบกับสมบูรณ์และคณะ (46) ได้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) ในอาหาร Zarrouk โดยปรับปริมาณ $NaHCO_3$ ให้มีอัตราต่างๆ กัน คือ 4, 8, 12 และ 16 กรัม/ลิตร พบว่าทั้ง 4 อัตราให้ผลการเจริญเติบโตและปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ไปรมาและคณะ (53) ศึกษาพบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร SpXIII (สูตรสถาบันอาหาร) ที่ไม่มีการเติม $NaHCO_3$ (ให้แต่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพียงอย่างเดียว) การเจริญของสาหร่าย *Spirulina sp.* ทั้ง 2 สายพันธุ์ (SpT และ SpJ) อยู่ในระดับต่ำมาก และเริ่มตายเมื่อเลี้ยงไปได้ 4 วัน สรุปได้ว่าการเจริญของสาหร่าย *Spirulina* ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง แต่ที่สำคัญ ได้แก่ ความเข้มข้นของ $NaHCO_3$ ซึ่งเป็นแหล่งของคาร์บอนนอกเหนือไปจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และช่วยในการรักษาระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำเลี้ยง กล่าวคืออาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติม $NaHCO_3$ pH จะมีการเปลี่ยนแปลงมากและ pH จะสูงขึ้นในช่วงท้ายของการทดลอง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุสำคัญอีกประการของการเจริญที่ลดลง แต่เนื่องจาก $NaHCO_3$ มีราคาค่อนข้างแพง จึงทำให้ใช้ได้ปริมาณไม่มากนัก

นอกจากนี้ Chiu และคณะ(15) ได้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากฟาร์มเลี้ยงสุกร พบว่าต้องเติม $NaHCO_3$ 1 กรัม/ลิตร เช่นเดียวกับการเลี้ยง *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนที่ต้องการ $NaHCO_3$ 2-4 กรัม/ลิตร(69) และ Nakamura (70) กล่าวว่า $NaHCO_3$ จำเป็นต้องเติมลงไปในอาหารเลี้ยง *Spirulina* เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน ทั้งนี้เนื่องจากในอาหารสังเคราะห์สูตร Zarrouk มีปริมาณ $NaHCO_3$ ถึง 16.8 กรัม/ลิตร ซึ่งมากกว่าอาหารที่เตรียมจากธรรมชาติมาก ทั้งนี้ Chung และคณะ(71) ศึกษาพบว่า การเติม $NaHCO_3$ ระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในมูลสุกรหมักจะช่วยให้สาหร่ายเจริญได้รวดเร็วขึ้น โดยอัตราการเจริญแปรผันตรงตามปริมาณ $NaHCO_3$ ที่เติม (ถ้าเติมในปริมาณมากจะประสบปัญหาด้านค่าใช้จ่ายของสารเคมี) ทั้งนี้หากมีการให้ CO_2 ในช่วงทำการเพาะเลี้ยงร่วมด้วย ยิ่งจะทำให้ผลผลิตสาหร่ายเพิ่มขึ้นชัดเจน กล่าวโดยสรุปคือ การเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากฟาร์มเลี้ยงสุกร จำเป็นต้องเติม $NaHCO_3$ ปริมาณที่เหมาะสม เพื่อเป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและรักษาระดับค่า pH ให้มากกว่า 8.4 เพื่อปรับสภาพความเป็นด่างให้เหมาะสมกับการเจริญของสาหร่าย

Copyright by Mahidol University

ตารางที่ 4-4 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% ที่เติม $NaHCO_3$ อัตราต่างๆ กัน คือ 4 , 8 และ 12 กรัม/ลิตร (สภาวะที่ใช้ในการศึกษา คือ สภาวะ $NaHCO_3$-4, $NaHCO_3$-8 และ $NaHCO_3$-12 ตามลำดับ) ใช้เวลาทดลอง 4 วัน

1) ผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย (OD_{560})

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)			
	$NaHCO_3$-4	$NaHCO_3$-8	$NaHCO_3$-12	Zarrouk 25%
0	0.190	0.182	0.188	0.194
2	0.038	0.029	0.038	0.723
4	-	-	-	*

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina maxima* (Sp6)			
	$NaHCO_3$-4	$NaHCO_3$-8	$NaHCO_3$-12	Zarrouk 25%
0	0.353	0.373	0.363	0.379
2	0.032	0.047	0.052	1.230
4	-	-	-	*

หมายเหตุ : (-) หมายถึง ไม่ได้วัดค่าเนื่องจากสาหร่ายไม่เจริญเติบโต

(*) หมายถึง ไม่ได้วัดค่าเนื่องจากได้ยุติการศึกษาแล้ว

2) ผลการเปลี่ยนแปลงค่า pH

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)			
	$NaHCO_3$-4	$NaHCO_3$-8	$NaHCO_3$-12	Zarrouk 25%
0	9.45	9.39	9.47	9.57
2	9.56	9.75	9.71	10.62
4	-	-	-	*

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina maxima* (Sp6)			
	$NaHCO_3$-4	$NaHCO_3$-8	$NaHCO_3$-12	Zarrouk 25%
0	9.45	9.46	9.55	9.73
2	9.71	9.75	9.80	10.85
4	-	-	-	*

Copyright by Mahidol University

4.2.3 การทดลองหาปริมาณ NaCl ที่เหมาะสม

ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25 % ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร ปรับปริมาณ NaCl ให้มีอัตราต่างๆ กัน คือ 0, 1, 3, 5 และ 7 กรัม/ลิตร ศึกษาการเจริญของสาหร่ายเปรียบเทียบกับหลอดควบคุมที่เลี้ยงสาหร่ายใน Zarrouk 25% (ผลการวัดค่า OD_{560} และการเปลี่ยนแปลงค่า pH แสดงในตาราง 4-5) พบว่า การเติม NaCl 5 กรัม/ลิตร ทำให้สาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์เจริญเติบโตได้ดีกว่าที่อัตราอื่นๆ แม้ว่าจะเจริญได้ไม่ดีเท่าในหลอดควบคุม สำหรับการเติม NaCl ที่ระดับอื่นๆ พบว่า เมื่อเลี้ยงสาหร่ายได้ 3-4 วัน น้ำเลี้ยงสาหร่ายเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเข้ม (เมื่อเริ่มต้นการทดลองในวันที่ 0) เป็นสีเขียวขี้ม้า นำตัวอย่างน้ำเลี้ยงสาหร่ายมาส่องดูเซลสาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเซลมีลักษณะการเจริญผิดปกติ มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดย trichome มีความยาวมากขึ้น ระยะห่างระหว่างเกลียว (pitch) มีค่ามากขึ้น (เพราะเกลียวยืดออก) และเส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียว (helix) เล็กลง ต่อมาเซลสาหร่ายเริ่มตายลงมากขึ้น น้ำเลี้ยงสาหร่ายเปลี่ยนเป็นสีของน้ำเสีย (สีน้ำตาลอ่อน) มีสีเขียวจางๆ กระจายอยู่บ้าง เก็บตัวอย่างมาส่องดูเซลสาหร่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลสาหร่ายมีการเจริญที่ไม่สมบูรณ์ สีของรงควัตถุผิดปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลสาหร่ายในหลอดควบคุม (แสดงในรูปที่ 4-4)

ตารางที่ 4-5 การเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร และปรับระดับของ NaCl เป็น 0, 1, 3, 5 และ 7 กรัม/ลิตร (สภาวะที่ใช้ในการศึกษา คือ สภาวะ NaCl-0, NaCl-1, NaCl-3, NaCl-5 และ NaCl-7 ตามลำดับ) ทดลอง 10 วัน

1) ผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย (OD_{560})

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)					
	NaCl-0	NaCl-1	NaCl-3	NaCl-5	NaCl-7	Zarrouk 25%
0	0.190	0.196	0.238	0.236	0.227	0.166
2	0.038	0.033	0.480	0.389	0.535	0.298
4	-	-	0.480	0.361	0.662	0.450
6	-	-	0.542	0.434	0.750	0.948
8	-	-	0.505	0.448	0.589	1.500
10	-	-	0.270	0.816	0.360	1.536

Copyright by Mahidol University

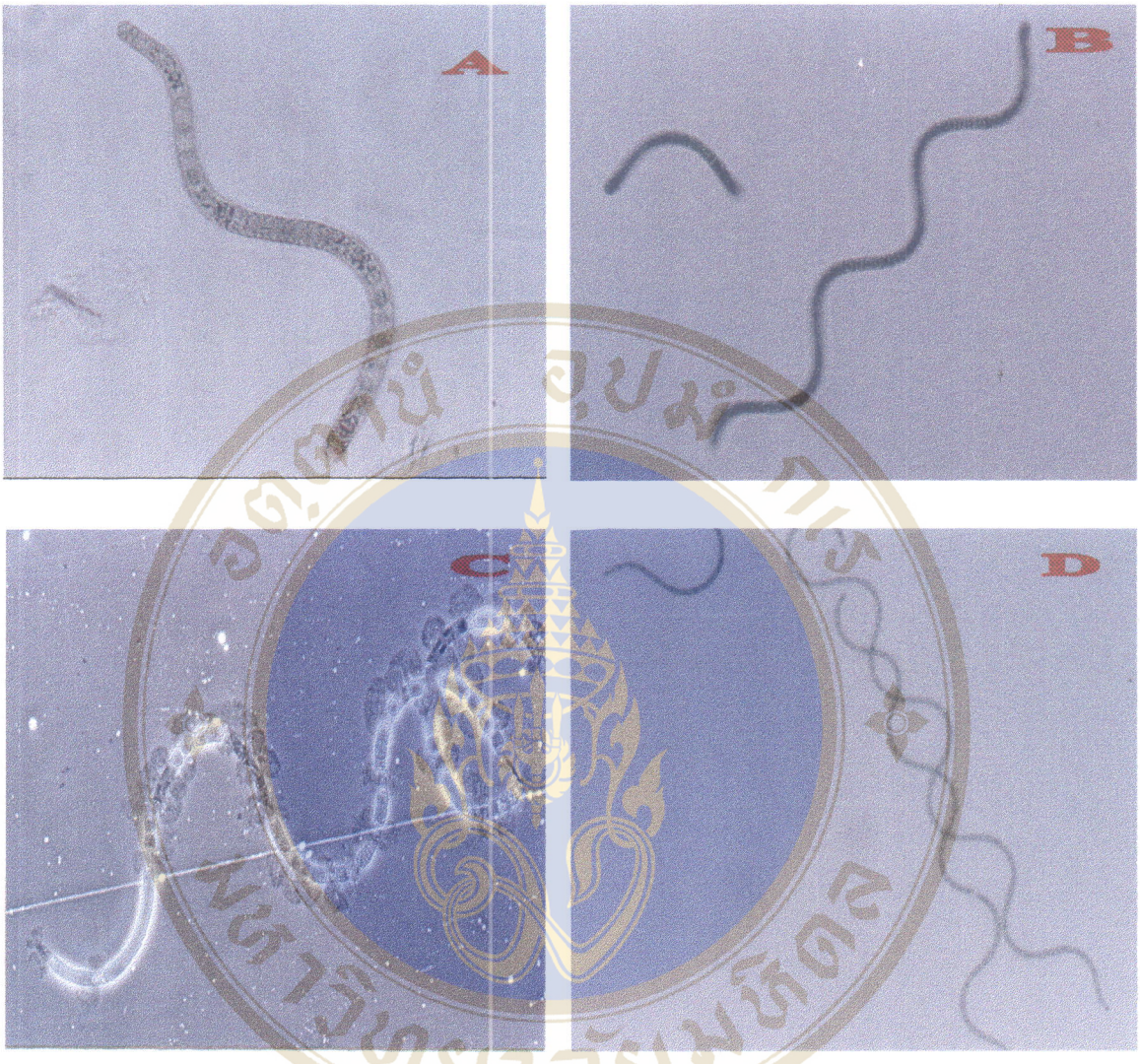
ระยะเวลา	*Spirulina maxima* (Sp6)					
(วัน)	NaCl-0	NaCl-1	NaCl-3	NaCl-5	NaCl-7	Zarrouk 25%
0	0.353	0.360	0.259	0.268	0.252	0.193
2	0.032	0.045	0.519	0.627	0.154	0.219
4	-	-	0.544	1.890	0.147	0.292
6	-	-	0.595	0.602	-	0.804
8	-	-	0.536	0.743	-	1.375
10	-	-	0.338	0.862	-	1.776

2) ผลการเปลี่ยนแปลงค่า pH

ระยะเวลา	*Spirulina platensis* (Sp5)					
(วัน)	NaCl-0	NaCl-1	NaCl-3	NaCl-5	NaCl-7	Zarrouk 25%
0	9.45	9.26	8.97	8.96	8.71	8.50
2	9.56	9.56	9.04	9.06	9.11	9.18
4	-	-	9.14	9.15	9.31	9.56
6	-	-	8.60	8.52	8.59	9.55
8	-	-	8.62	8.56	8.59	8.68
10	-	-	8.54	8.48	8.49	8.51

ระยะเวลา	*Spirulina maxima* (Sp6)					
(วัน)	NaCl-0	NaCl-1	NaCl-3	NaCl-5	NaCl-7	Zarrouk 25%
0	9.45	9.31	8.59	8.54	8.61	8.52
2	9.71	9.68	9.14	8.85	8.96	8.76
4	-	-	9.36	9.20	9.21	8.91
6	-	-	8.66	8.63	-	9.12
8	-	-	8.71	8.68	-	8.73
10	-	-	8.50	8.54	-	8.54

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 4-4 แสดงเซลสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) ในสภาวะต่างๆ

รูป A เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร 25% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 1 กรัม/ลิตร (40x) (วันที่ 3 ของการทดลอง),

รูป B เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร 25% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร,NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร (สภาวะ T5-1) (40x) (วันที่ 12 ของการทดลอง),

รูป C เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร 25% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 7 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 1 กรัม/ลิตร เลี้ยงได้ 6 วัน พบเซลสาหร่ายแตก และขาดเป็นท่อนๆ (20x) ทั้งนี้สังเกตเห็นสารพุ่งออกนอกเซลสาหร่าย (วันที่ 3 ของการทดลอง)

รูป D เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร 25% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 10 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 1 กรัม/ลิตร (10x) (วันที่ 6 ของการเลี้ยงในโหลทดลอง)

Copyright by Mahidol University

จากผลการศึกษาของผู้วิจัยในครั้งนี้ สอดคล้องกับผลการศึกษาการเจริญของสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำเสียหลังการหมักมูลสุกรของ Chiu และคณะ(15) กล่าวคือ สาหร่ายเจริญได้ดีที่สุดเมื่อเจือจางน้ำมูลสุกรหมักให้ได้ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3 -N) 25 มก./ล. โดยสาหร่ายเริ่มเจริญได้ลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3 -N) สูงกว่า 50 มก./ล. และสาหร่ายเริ่มตายลงเมื่อมีความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3 -N) สูงกว่า 100 มก./ล. พบว่าการเติม NaCl จะช่วยลดความเป็นพิษของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3-N) ที่มีต่อการเจริญของสาหร่าย จากการทดลองเมื่อเจือจางน้ำเสียให้มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3 -N) 50 มก./ล. พบว่าปริมาณการเติม NaCl ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 3-7 กรัม/ลิตร ผลที่สังเกตได้เมื่อเติม NaCl ในน้ำเพาะเลี้ยง คือ อัตราการเจริญของสาหร่ายเพิ่มขึ้น ลดอัตราการระเหยของแอมโมเนีย และรักษาระดับค่า pH ระหว่างการเลี้ยงสาหร่ายให้เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ นอกจากนี้ได้ทดลองเติม NaCl ในอัตราต่างๆ กันในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3-N) ค่าต่างๆ ได้ผลดังต่อไปนี้ น้ำเสียที่มีแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3-N) 100 มก./ล. สาหร่ายจะเจริญได้ดีเมื่อเติม NaCl > 2 กรัม/ลิตร (การทดลองของ Chiu เติม NaCl 3 กรัม/ลิตร) แต่สาหร่ายจะไม่สามารถเจริญได้หากเติม NaCl < 1กรัม/ลิตร, น้ำเสียที่มีแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3 -N) 150 มก./ล. ต้องเติม NaCl > 2 กรัม/ลิตร สาหร่ายจึงจะเจริญได้แต่อัตราการเจริญไม่น่าพอใจนัก สำหรับน้ำเสียที่มีแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3 –N) > 200 มก./ล. แม้จะเติม NaCl 3 กรัม/ลิตร สาหร่ายก็ไม่สามารถเจริญได้ ทั้งนี้มีรายงานการศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิที่มีต่อสมดุลย์ของแอมโมเนียที่ละลายน้ำ พบว่า NH_3 (un-ionized form) จะเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ เช่น marine diatoms, พืชน้ำ และปลา (72, 73) ส่วน NH_4^+ (ionized form) จะไม่เป็นพิษ สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$NH_3\,(g) + nH_2O\,(l) \underset{\text{pH สูง}}{\overset{\text{pH ต่ำ}}{\rightleftharpoons}} NH_4^+ + OH^-$$

Golueke และคณะ (74) ศึกษาผลของ NH_3 ต่อการเจริญและการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ซึ่งเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ พบว่าเกิดการยับยั้งการเจริญของสาหร่ายเมื่อมี NH_3 2.0-2.5 mM และสาหร่ายจะไม่เจริญเลยที่ความเข้มข้นของ NH_3 > 3.0 mM แสดงให้เห็นว่า NH_3 มีผลยับยั้ง photoassimilation ของ CO_2 ในสภาพด่าง นอกจากนี้การที่เซลสาหร่ายสัมผัส NH_3 ที่ pH 9.0 นาน 5 ชั่วโมง ทำให้ลดอัตราการสังเคราะห์แสงประมาณ 30% เมื่อศึกษาผลของ NH_3 ที่pH สูงต่อความสามารถในการสังเคราะห์แสงกับสาหร่ายชนิดอื่น เช่น *Chlorella pyrenoidosa* และสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (*A. nidulans* และ*Phormidium boryanum*) พบว่าให้ผลยับยั้งเช่นเดียวกับสาหร่าย *S. obliquus*

Copyright by Mahidol University

ทั้งนี้มีรายงานการศึกษาผลของ Na^+ ต่อการเจริญและเมตาบอลิซึมของ *Synechococccus leopoliensis* ซึ่งเป็น cyanobacteria ชนิดหนึ่ง (เช่นเดียวกับสาหร่าย *Spirulina*) พบว่าที่ pH 6.8 ภายใต้สภาวะที่ไม่มี Na^+ เซลสาหร่าย *S. leopoliensis* สามารถสังเคราะห์แสงได้ปกติ แต่ไม่สามารถแบ่งเซลได้และน้ำหนักสาหร่าย (biomass) ที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากการขยายเซล โดยที่เมื่อเพาะเลี้ยงนานเกิน 48 ชั่วโมง เซลจะขยายใหญ่เป็น 2 เท่าของขนาดเซลปกติ หากเติม Na^+ ให้เซลสาหร่ายที่ขยายขนาดนั้น จะเกิดการสร้าง septum ทำให้ได้เซลที่มีความยาวปกติ เมื่อ pH ของน้ำเพาะเลี้ยงสูงกว่า 8.5 และไม่มี Na^+ ในน้ำเพาะเลี้ยงจะทำให้การสังเคราะห์แสงลดลง และเมื่อ pH ของน้ำเพาะเลี้ยงเพิ่มเป็น 9.3 พบว่า Na^+ มีความจำเป็นต่อการเจริญของสาหร่ายมาก โดยเฉพาะสิ่งมีชีวิตพวก alkalophilic นั้นต้องการ Na^+ เพื่อรักษาระดับ pH ภายในเซลให้ต่ำกว่าสภาพนอกเซลที่เป็นด่าง (พบการแลกเปลี่ยนระหว่าง Na^+ และ H^+ เพื่อรักษาสภาพกรดภายในเซลและยังเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลด้วย)ทั้งนี้เพื่อรักษาอัตราเมตาบอลิซึมของเซลให้ปกติ(75) เช่นเดียวกับเยาวลักษณ์และคณะ(76) ได้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* สายพันธุ์ที่ได้จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา พบว่า *S. platensis* เป็นสาหร่ายชนิด halotolerant สามารถเจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของ NaCl ในช่วง 0-35 กรัม/ลิตร และความเข้มข้นของ $NaHCO_3$ ในช่วง 4.2–33.6 กรัม/ลิตร ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 5-35 กรัม/ลิตร ความยาว trichome และ pitch ของสาหร่ายจะเพิ่มขึ้น(เพิ่มขึ้นตามความเค็มที่เพิ่มขึ้น)

4.2.4 ทดลองหาปริมาณ K_2SO_4 ที่เหมาะสม

ในขั้นนี้ทดลองเลี้ยงสาหร่ายในโหลแก้ว โดยใช้ปริมาตรน้ำเลี้ยงสาหร่าย 2,000 มล. (สามารถหาน้ำหนักแห้งทุก 2 วันได้) สภาวะที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) คือ น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25 % ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และปรับปริมาณ K_2SO_4 ให้มีอัตราต่างๆ กัน คือ 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 กรัม/ลิตร พบว่าสภาวะที่ไม่เติม K_2SO_4 ในน้ำเสีย จะทำให้สาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถเจริญได้เพียง 6 วันและเซลสาหร่ายตายหมดก่อนสภาวะอื่นๆ รองลงมา คือ เมื่อเติม K_2SO_4 0.1 และ 1 กรัม/ลิตร สาหร่ายสามารถเจริญได้ประมาณ 10 วัน ส่วนอัตราการเติม K_2SO_4 ที่ช่วยให้สาหร่ายเจริญได้ดี คือ K_2SO_4 0.25 และ 0.5 กรัม/ลิตร เมื่อพิจารณาค่า OD_{560} และค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าให้ผลใกล้เคียงกัน (แสดงผลในตารางที่ 4-6) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบสีน้ำเลี้ยงสาหร่ายของสภาวะที่มีการเติม K_2SO_4 0.25 และ 0.5 กรัม/ลิตร พบว่าที่อัตรา K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร จะมีสีเขียวเข้มตลอดช่วงเวลาทดลอง 14 วัน และมีสีเขียวเข้มกว่าสภาวะ

Copyright by Mahidol University

ที่เติม K_2SO_4 0.5 กรัม/ลิตรซึ่งน้ำเลี้ยงสาหร่ายมีสีเขียวขี้ม้า (พบว่าสาหร่ายเจริญได้แต่ลักษณะเซลสาหร่ายไม่ปกติดังแสดงในรูปที่ 4-5) ถึงแม้ว่าในสภาวะที่เติม K_2SO_4 0.5 กรัม/ลิตร จะให้น้ำหนักเซลแห้งมากกว่าสภาวะที่เติม K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตรก็ตาม แต่พบว่าสาหร่ายมีการจับตัวเป็นลิ่มหรือเป็นแผ่น อยู่เป็นกระจุกหนาแน่นมากกว่าสภาวะที่เติม K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร ซึ่งจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสง และการเก็บตัวอย่างเพื่อวัดการเจริญเติบโต (อาจทำให้การวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งเซลสาหร่ายคลาดเคลื่อนได้) และเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะควบคุม (สูตร Zarrouk 25%) พบว่าน้ำในโหลควบคุมมีสีเขียวเข้มที่สุด พบสาหร่ายจับตัวเป็นลิ่มในน้ำและที่หัวฟู่ให้อากาศอยู่บ้าง ดังนั้นจึงเลือกการเติม K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย



รูปที่ 4-5 แสดงเซลสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร 25% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.5 กรัม/ลิตร (20x, ph1) (วันที่ 5 ของการเลี้ยงในโหลทดลอง)

Copyright by Mahidol University

ตารางที่ 4-6 ผลการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และปรับระดับของ K_2SO_4 เป็น 0, 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 กรัม/ลิตร (สภาวะที่ใช้ในการศึกษา คือ สภาวะ K_2SO_4-0, K_2SO_4-0.1, K_2SO_4-0.25, K_2SO_4-0.5 และ K_2SO_4-1 ตามลำดับ) ทดลอง 14 วัน (ทดลองในโหลทรงกลมสูง ปริมาตร 2,000 มล.)

1) ผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย (น้ำหนักแห้ง, มก./ล.)

ระยะเวลา	*Spirulina platensis* (Sp5)					
(วัน)	K_2SO_4-0	K_2SO_4-0.1	K_2SO_4-0.25	K_2SO_4-0.5	K_2SO_4-1	Zarrouk 25%
2	245.3	353.8	198.2	139.6	349.5	671.0
4	193.0	386.0	111.1	58.1	253.5	926.3
6	42.5	365.6	147.5	101.2	344.0	1,156.2
8	-	265.3	207.0	91.7	233.3	1,687.7
10	-	183.6	219.3	176.0	179.0	2,410.3
12	-	-	262.7	171.7	-	2,102.5
14	-	-	357.7	136.8	-	4,590.5

ระยะเวลา	*Spirulina maxima* (Sp6)					
(วัน)	K_2SO_4-0	K_2SO_4-0.1	K_2SO_4-0.25	K_2SO_4-0.5	K_2SO_4-1	Zarrouk 25%
2	200.8	266.0	164.0	281.0	157.0	475.8
4	133.3	114.8	131.1	438.6	156.4	641.7
6	26.0	54.3	316.7	337.6	197.5	823.6
8	-	52.4	472.6	758.3	184.3	1,051.7
10	-	38.3	596.3	791.0	138.0	1,293.7
12	-	-	781.6	1,088.1	-	1,745.6
14	-	-	868.0	1,495.6	-	2,981.5

Copyright by Mahidol University

2) ผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย (OD_{560})

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)					
	K_2SO_4-0	K_2SO_4-0.1	K_2SO_4-0.25	K_2SO_4-0.5	K_2SO_4-1	Zarrouk 25%
0	0.255	0.330	0.167	0.067	0.215	0.487
2	0.189	0.266	0.186	0.084	0.273	0.980
4	0.164	0.260	0.102	0.069	0.137	1.129
6	0.130	0.256	0.087	0.058	0.111	1.450
8	-	0.169	0.154	0.049	0.089	2.070
10	-	0.082	0.245	0.072	0.061	1.250
12	-	-	0.215	0.118	-	1.330
14	-	-	0.275	0.080	-	2.040

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina maxima* (Sp6)					
	K_2SO_4-0	K_2SO_4-0.1	K_2SO_4-0.25	K_2SO_4-0.5	K_2SO_4-1	Zarrouk 25%
0	0.238	0.229	0.131	0.370	0.160	0.376
2	0.218	0.198	0.170	0.300	0.176	0.810
4	0.180	0.050	0.178	0.300	0.074	0.990
6	0.159	0.034	0.298	0.418	0.072	1.350
8	-	0.020	0.440	0.670	0.042	1.720
10	-	0.025	0.768	0.433	0.026	2.060
12	-	-	0.990	0.610	-	2.040
14	-	-	0.950	1.820	-	1.330

Copyright by Mahidol University

3) ผลการเปลี่ยนแปลงค่า pH

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina platensis* (Sp5)					
	K_2SO_4-0	K_2SO_4-0.1	K_2SO_4-0.25	K_2SO_4-0.5	K_2SO_4-1	Zarrouk 25%
0	8.53	8.92	9.01	8.77	9.06	9.22
2	8.56	9.07	9.09	9.06	9.05	9.26
4	8.71	9.37	9.34	9.29	9.34	9.22
6	8.91	8.98	8.96	9.01	9.05	8.98
8	-	8.87	8.97	8.95	8.99	8.90
10	-	8.66	8.69	8.62	8.70	8.64
12	-	-	9.17	9.17	-	9.30
14	-	-	9.11	9.10	-	9.26

ระยะเวลา (วัน)	*Spirulina maxima* (Sp6)					
	K_2SO_4-0	K_2SO_4-0.1	K_2SO_4-0.25	K_2SO_4-0.5	K_2SO_4-1	Zarrouk 25%
0	8.58	9.03	8.92	9.05	8.96	9.17
2	8.62	9.16	9.16	9.14	9.11	9.22
4	9.07	9.37	9.24	9.41	9.33	9.20
6	9.11	9.01	9.05	9.04	9.03	9.00
8	-	8.90	9.00	8.99	8.99	8.89
10	-	8.73	8.75	8.73	8.77	8.64
12	-	-	9.15	9.22	-	9.26
14	-	-	9.06	9.08	-	9.11

Copyright by Mahidol University

จากการวิเคราะห์น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรของ Chiu และคณะ(15) พบว่า มีธาตุ K^+ ค่อนข้างน้อย (88-152 มก./ล.) เมื่อเปรียบเทียบกับในอาหาร Zarrouk ซึ่งมี K^+ 337 มก./ล. จึงจำเป็นต้องเพิ่มธาตุ K ในน้ำเสีย ซึ่งได้ทดลองเจือจางน้ำเสียให้มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3 –N) 100 มก./ล. เติม NaCl 3 กรัม/ลิตร และ$NaHCO_3$ 1 กรัม/ลิตร พบว่าอัตราการเจริญของสาหร่ายสูงสุด เมื่อเติม K_2SO_4 0.1-0.5 กรัม/ลิตร (การทดลองของ Chiu ใช้ K_2SO_4 0.1 กรัม/ลิตร) โดยถ้าเติม K_2SO_4 > 0.5 กรัม/ลิตร จะทำให้การเจริญลดต่ำลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากอัตราการระเหยของ NH_3 เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Chaudhari และคณะ (69) และอำนาจ(58) ซึ่งพบว่าการเติม K_2SO_4 ทำให้อัตราการเจริญของสาหร่าย *Spirulina* ลดลงหากเติมในปริมาณมาก จากการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนและในอาหารที่เตรียมจากดิน พบว่าต้องเติม K_2SO_4 เพียงเล็กน้อยเท่านั้น คือ 0.1 และ 0.2 กรัม/ลิตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากโรงงานยางพาราที่ไม่เจือจาง และเติม $NaNO_3$ 2.5 กรัม/ลิตร พบว่า อัตราการเจริญของสาหร่าย *Spirulina* เฉลี่ยต่อวันสูงกว่าที่เลี้ยงในอาหาร Zarrouk และเมื่อเติม K_2SO_4 ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 กรัม/ลิตร พบว่ามีอัตราการเจริญต่ำกว่าที่เลี้ยงโดยไม่เติม K_2SO_4 มาก (ต่ำมากจนไม่สามารถปรับค่าความหนาแน่นได้จึงหยุดการทดลอง) อาจเป็นเพราะว่าในน้ำเสียมีปริมาณ K_2SO_4 เพียงพออยู่แล้ว เมื่อเติม K_2SO_4 ลงไปอาจจะเป็นพิษต่อสาหร่าย (63)

Copyright by Mahidol University

4.3 ตอนที่ 2 : ศึกษาการเจริญเติบโตและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการลดปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสของสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร

จากการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ ตามวิธีทดลองในข้อ 4.2 พบว่า น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร เป็นสภาวะที่เหมาะสม จึงนำสภาวะที่ได้มาศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียในช่วงเวลาต่างๆ คือ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 วัน เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายในการบำบัดสารอินทรีย์ในน้ำเสีย รวมทั้งหมด 7 โหล (รูปที่ 4-6) ได้แก่

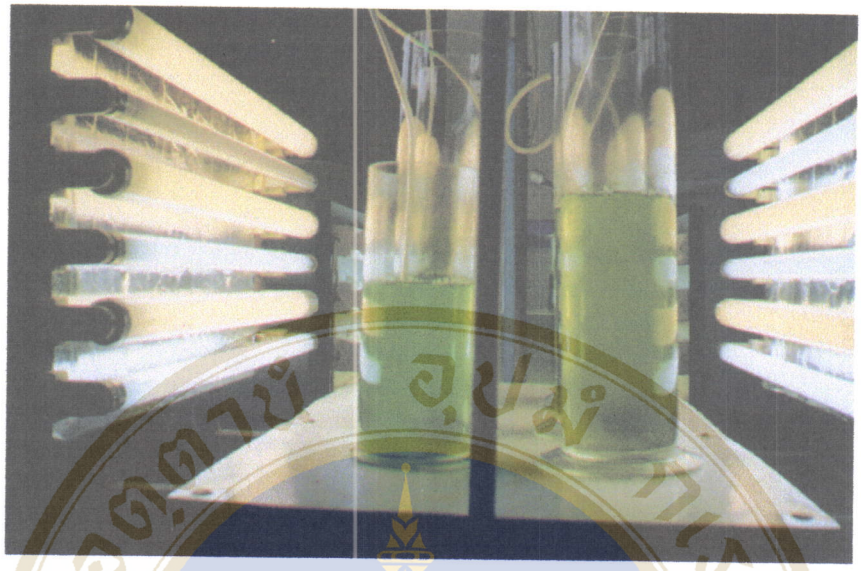
1. ชุดการทดลอง T5 คือ ระบบการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% ซึ่งเติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร ให้อากาศผสม CO_2 1-2% ทำการทดลอง 2 ซ้ำ (จำนวน 2 โหล) ในที่นี้แทนด้วยสัญลักษณ์ T5-1 และ T5-2

2. ชุดการทดลอง T6 คือ ระบบการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% ซึ่งเติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร ให้อากาศผสม CO_2 1-2% ทำการทดลอง 2 ซ้ำ (จำนวน 2 โหล) ในที่นี้แทนด้วยสัญลักษณ์ T6-1 และ T6-2

3. ชุดควบคุม CG คือ ระบบการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในอาหารสูตร Zarrouk 25% (เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่าย) ให้อากาศผสม CO_2 1-2% ทดลองซ้ำเดียว (จำนวน 2 โหล) ในที่นี้แทนด้วยสัญลักษณ์ CG5 และ CG6

4. ชุดควบคุม CW คือ ระบบที่ไม่เลี้ยงสาหร่าย บำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% ด้วยการเติมอากาศธรรมดาเท่านั้น (เพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ) ทดลองซ้ำเดียว (จำนวน 1 โหล) ในที่นี้แทนด้วยสัญลักษณ์ CW

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 4-6 การทดลองเลี้ยงสาหร่ายในโหลแก้วที่มีความจุ 2,500 มิลลิลิตร ปริมาตรที่ใช้ 2,000มิลลิลิตร ความเข้มแสงประมาณ 5,000 – 6,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง มีลักษณะการตั้งโหลทดลองเพื่อให้ได้รับแสงจากหลอดไฟด้านข้าง โดยสับหว่างตำแหน่งแต่ละโหลเพื่อไม่ให้บังแสงกัน

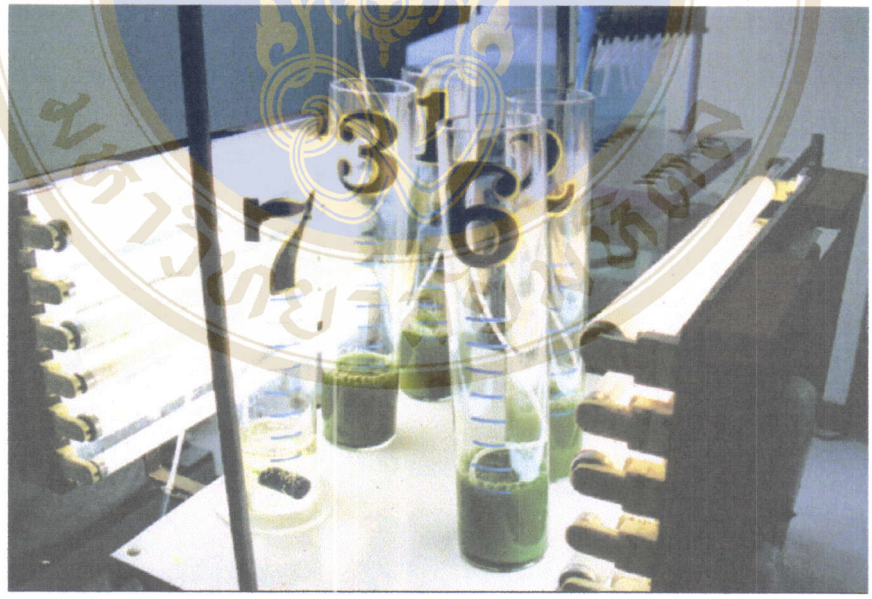
4.3.1 ลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในโหลทดลองก่อน และหลังบำบัดโดยการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ระยะเวลา 14 วัน

การทดลองเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทองในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในโหลแก้ว ปริมาตรน้ำเลี้ยงสาหร่าย 2 ลิตร เป็นการศึกษาแบบ batch culture (ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ หรือเพิ่มน้ำเสียตลอดเวลาทดลอง) ในที่นี้เติมน้ำกรองทุก 2 วัน ก่อนเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์ (เพื่อชดเชยส่วนที่ระเหยไปและปรับปริมาตรให้คงที่)สำหรับชุดการทดลองที่สามารถทำการศึกษาได้จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง (ครบ 14 วัน) คือ ชุดทดลองที่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) สามารถสรุปผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 4-7 และแสดงรูปการทดลองดังรูปที่ 4-7 และรูปที่ 4-8

Copyright by Mahidol University

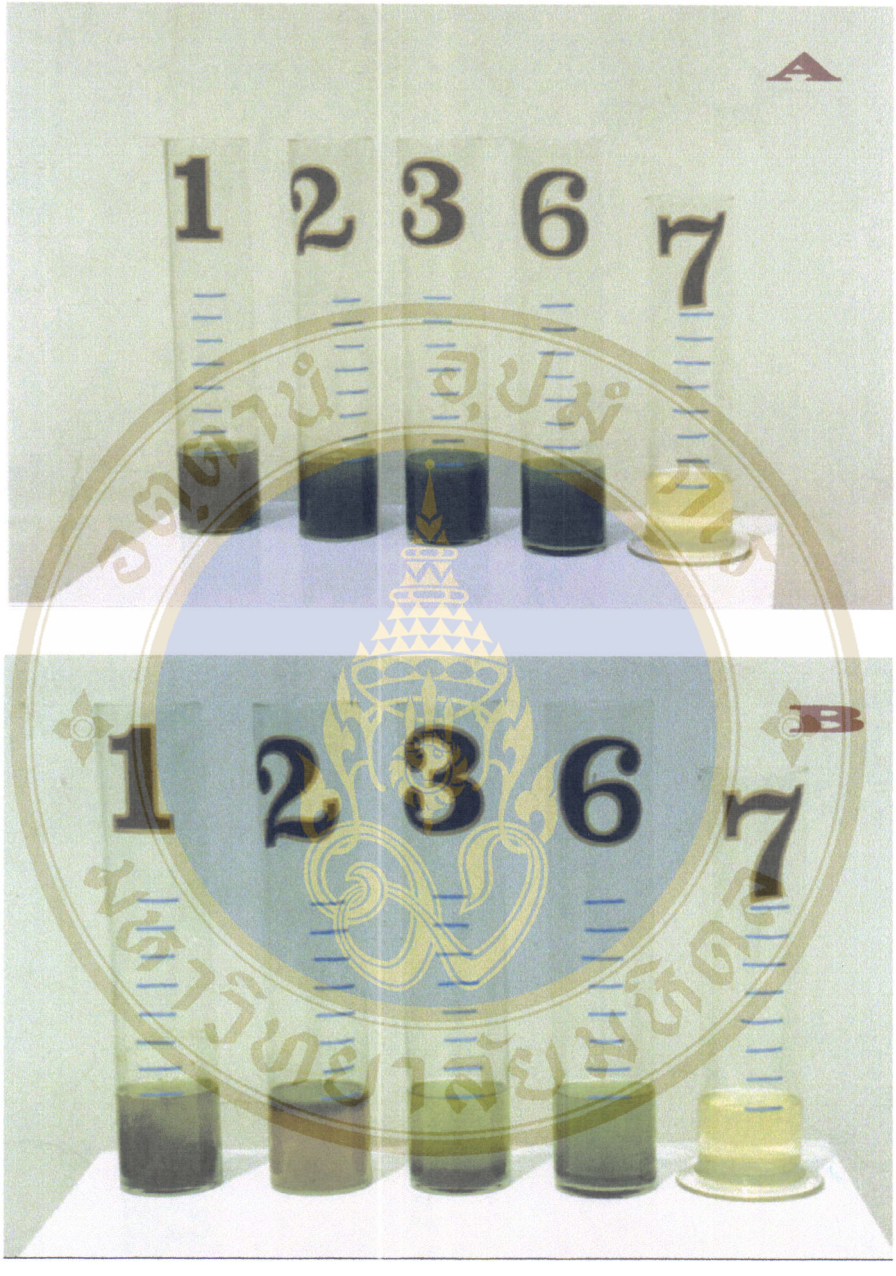
ตารางที่ 4-7 ลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในโหลทดลองก่อนและหลังบำบัดโดยการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) ในระยะเวลา 14 วัน

พารามิเตอร์ที่ศึกษา	วันที่ 0 (เริ่มต้นการทดลอง)		วันที่ 14 (สิ้นสุดการทดลอง)	
	ช่วงข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	ช่วงข้อมูล	ค่าเฉลี่ย
อุณหภูมิ (°C)	31.0-31.8	31.5	29.5-30.4	30.0
pH	8.50-8.63	8.56	9.35-9.49	9.42
NH_3-N (mg/l)	131.6-155.1	143.4	2.0-2.2	2.1
NO_3^--N (mg/l)	0.5-2.2	1.3	0.2-0.3	0.25
PO_4^{3-} (mg/l)	7.6-8.5	8.2	0.8-1.0	0.9
COD (mg/l)	192.0-250.0	227.5	226.0-232.0	229.0



รูปที่ 4-7 แสดงสภาวะของโหลทดลองในวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 14) หากสังเกตสีน้ำในโหลทดลองด้วยตาเปล่าพบว่า ไม่มีความแตกต่างมากนัก โดยโหลที่ 1 และ 2 คือ สภาวะ T5-1 และ T5-2 (Sp 5 ในน้ำเสีย), โหลที่ 3 คือ สภาวะ CG5 (Sp 5 ในอาหาร Zarrouk 25%), โหลที่ 6 คือ สภาวะ CG6 (Sp 6 ในอาหาร Zarrouk 25%) และโหลที่ 7 คือ สภาวะ CW (โหลควบคุมที่ไม่ได้เลี้ยงสาหร่าย) สำหรับโหลที่ 4 และ 5 คือ สภาวะ T6-1 และ T6-2 ถูกนำออกจากระบบ ตั้งแต่วันที่ 8 ของการทดลอง เนื่องจากสาหร่ายตายหมด

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 4-8 **รูป A** เมื่อทดลองครบ 14 วัน นำโหลทั้งหมดออกจากระบบ หลังจากนั้นเมื่อตั้งทิ้งไว้สักครู่ สังเกตเปรียบเทียบกับในรูป **B** พบว่าเซลสาหร่ายตกตะกอนนอนก้น ไม่รวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน และในโหลที่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ทั้ง 2 ซ้ำ (โหลที่ 1 และ 2) มีสีแตกต่างกัน และมีการแยกชั้นระหว่างน้ำเลี้ยงกับเซลสาหร่าย ส่วนสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) ในอาหาร Zarrouk 25% (โหลที่ 3 และ 6 ตามลำดับ) พบว่าแม้จะเป็นสาหร่ายต่างสายพันธุ์กัน แต่ให้สีเขียวและมีลักษณะใกล้เคียงกัน

Copyright by Mahidol University

4.3.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะสมบัติทั่วไปของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในโหลที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina*

4.3.2.1 อุณหภูมิ (Temperature)

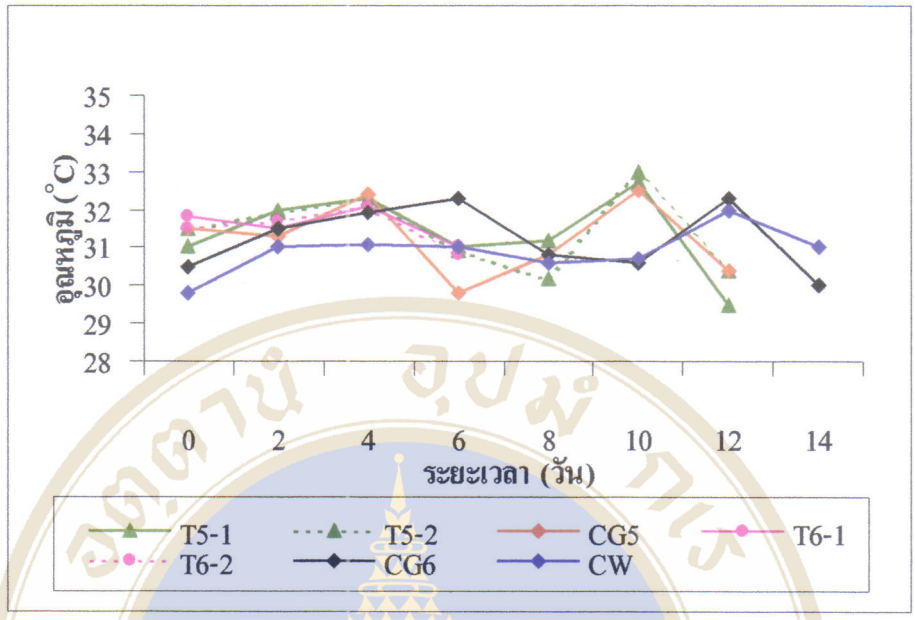
จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่อุณหภูมิห้อง ความเข้มแสง 5,000-6,000 ลักซ์ พบว่าอุณหภูมิในระยะเวลาทดลอง 14 วัน (วัดขณะเก็บตัวอย่าง)ทั้งชุดทดลองและชุดควบคุมมีค่าอยู่ในช่วง 29.0-33.0°C (ค่าเฉลี่ยประมาณ 29.5°C) ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของสาหร่าย *Spirulina* (ผลแสดงดังตารางที่ 4-8 และรูปที่ 4-9) ทั้งนี้อุณหภูมิของน้ำเลี้ยงสาหร่ายจะแปรผันตามอุณหภูมิอากาศในแต่ละช่วงเวลาของวันที่วัดค่า เมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้นจะทำให้อุณหภูมิของอาหารเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้น จึงจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณน้ำด้วยในระหว่างการเลี้ยง เพื่อให้มีปริมาตรน้ำคงเดิม(23) จากการศึกษาของ Venkataraman(28) พบว่าสาหร่าย *Spirulina* จะเจริญได้ดีในที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยตลอดปีประมาณ 28-34 °C ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 20 หรือสูงกว่า 37 °C จะไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina* และช่วงอุณหภูมิ 30-35°C จะเป็นช่วงที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญของสาหร่าย นอกจากนี้ Ciferri (23) ได้รายงานว่าสาหร่าย *Spirulina* สามารถเจริญเติบโตได้ในระหว่างช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 15-50°C แต่จะเจริญได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 32-42°C การเจริญจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 44°C และจะตายถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 50°C

ตารางที่ 4-8 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ในช่วง 14 วัน (°C)

ระยะเวลา (วัน)	สภาวะที่						
	T5-1	T5-2	CG5	T6-1	T6-2	CG6	CW
0	31.0	30.0	31.0	29.5	30.0	30.5	29.8
2	31.0	31.5	31.5	31.8	31.5	31.5	31.0
4	32.0	31.9	31.3	31.5	31.7	31.9	31.1
6	32.3	32.3	32.4	32.1	32.1	32.3	31.0
8	31.0	30.9	29.8	31.0	30.8	30.8	30.6
10	31.2	30.2	30.8	-	-	30.6	30.7
12	32.7	33.0	32.5	-	-	32.3	32.0
14	29.5	30.4	30.4	-	-	30.0	31.0

หมายเหตุ: (-) หมายถึง ไม่ได้วัดค่า เนื่องจากสาหร่ายไม่เจริญและยุติการทดลอง

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 4-9 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลา 14 วัน

4.3.2.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

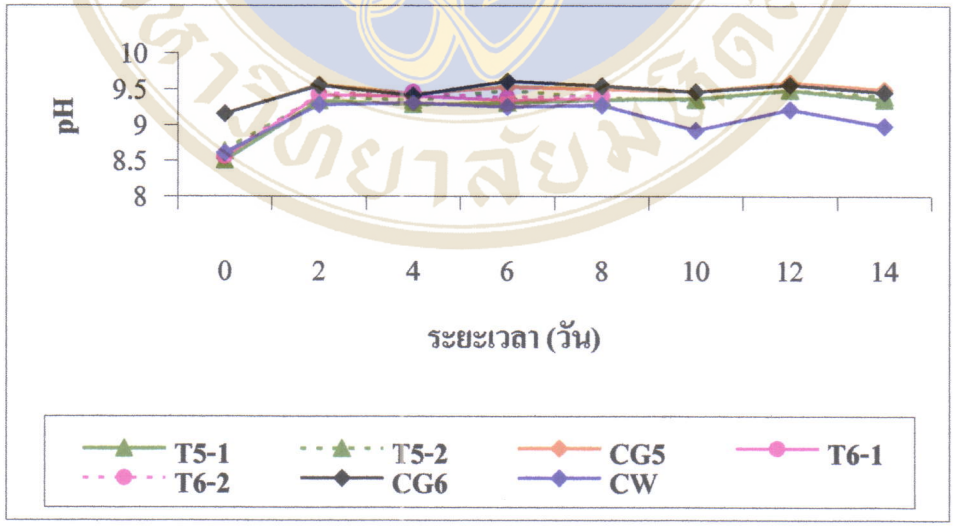
ในการเก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงสาหร่าย เพื่อตรวจวัดค่า pH ทุก 2 วัน ในช่วงเวลา 9.00 - 11.00 น. เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่า ค่า pH ของน้ำเสียที่มีการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีการเปลี่ยนแปลงค่าทุกครั้งที่ทำการวัด โดยค่า pH จะมีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 8.50-9.61 และในโหลควบคุม(ไม่เลี้ยงสาหร่าย) จะมีค่า pH เท่ากับ 8.61-9.30 ดังรายละเอียดในตารางที่ 4-9 และรูปที่ 4-10

ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเพาะเลี้ยงนี้เป็นตัวกำหนดความสามารถในการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และแร่ธาตุอื่นๆ ได้ ทั้งยังมีอิทธิพลโดยทางตรงและทางอ้อมต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของสาหร่ายอีกด้วย โดยทั่วไปค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 8.50-10.0 (37) สอดคล้องกับ Venkataraman (28) ซึ่งศึกษาพบว่าสาหร่าย *Spirulina* เจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่เป็นด่าง คือ มี pH ค่อนข้างสูง (อยู่ในช่วง 9.0-11.0) และจากรายละเอียดสูตรอาหาร Zarrouk ระบุไว้ว่าให้ปรับ pH เป็น 8.0-10.0 นั่นคือ ที่ pH ต่ำถึง 8.0 สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ ถ้า pH ต่ำกว่า 8.0 และสูงกว่า 11.0 การเจริญของสาหร่ายจะลดลง

Copyright by Mahidol University

ตารางที่ 4-9 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร เมื่อใช้เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับโหลที่ไม่เลี้ยงสาหร่าย

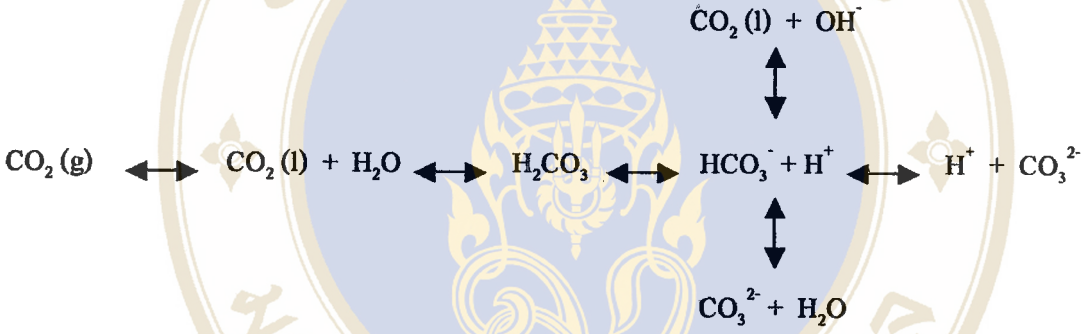
วันที่	pH						
	สภาวะที่						
	T5-1	T5-2	CG5	T6-1	T6-2	CG6	CW
0	8.50	8.63	9.15	8.55	8.57	9.15	8.61
2	9.33	9.39	9.56	9.41	9.43	9.55	9.28
4	9.28	9.34	9.43	9.40	9.45	9.41	9.30
6	9.30	9.48	9.53	9.34	9.38	9.61	9.25
8	9.35	9.38	9.50	9.36	9.41	9.54	9.27
10	9.36	9.35	9.46	-	-	9.46	8.92
12	9.48	9.49	9.59	-	-	9.56	9.21
14	9.35	9.39	9.49	-	-	9.45	8.98



รูปที่ 4-10 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (วัดช่วงเวลา 9.00-11.00 น.) ในระยะเวลา 14 วัน

Copyright by Mahidol University

การเปลี่ยนแปลงค่า pH เป็นผลจากการสังเคราะห์แสงและการหายใจของสาหร่าย การสะสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่สาหร่ายคายออกมาในกระบวนการหายใจเวลากลางคืน ทำให้ pH มีค่าต่ำในช่วงเช้า และค่อยๆ สูงขึ้นในช่วงบ่าย ค่า pH อยู่ในช่วง 8.5-10 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของสาหร่าย *Spirulina* การเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในห้องปฏิบัติการมี pH ที่เหมาะสมในช่วงกว้างโดยอยู่ในช่วง 8-11 (23) ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่าการที่สาหร่ายได้นำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และไบคาร์บอเนตที่สะสมไว้มาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงจะทำให้ค่า pH สูงขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นผลสืบเนื่องจากระบบบัฟเฟอร์ของแหล่งคาร์บอนในน้ำ ซึ่งอยู่ในรูปคาร์บอนไดออกไซด์-กรดคาร์บอนิก-ไบคาร์บอเนต-คาร์บอเนต (CO_2 - H_2CO_3 - HCO_3^- - CO_3^{2-} System) ในภาวะสมดุลย์พบว่าคาร์บอนส่วนใหญ่อยู่ในรูปไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) แต่หาก pH สูงขึ้น จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของคาร์บอเนตอิออนมากขึ้น ดังสมการต่อไปนี้



จากสมการพบว่า ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศ หรือ CO_2 (g) (ในโหลทดลองได้ให้อากาศผสม CO_2 1-2% ตลอดเวลา) สามารถละลายน้ำได้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ในรูปของเหลวหรือ CO_2 (l) โดยแรงดึงดูดระหว่างไฮโดรเจนอะตอมของน้ำ และคาร์บอนอะตอมของคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ในรูปของเหลวบางส่วนถูกสาหร่ายนำไปใช้ทันทีบางส่วนทำปฏิกิริยากับน้ำได้กรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) เมื่อค่า pH ของน้ำเหมาะสม กรดคาร์บอนิกเปลี่ยนไปเป็นไบคาร์บอเนตอิออน(HCO_3^-) และไฮโดรเจนอิออน (H^+) สำหรับไบคาร์บอเนตอิออนสามารถเปลี่ยนไปเป็น CO_2 (l) และคาร์บอเนตอิออน (CO_3^{2-}) ได้เช่นกัน อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นนี้เป็นปฏิกิริยาที่สามารถผันกลับได้ ดังนั้นเมื่อสาหร่ายนำคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ ทำให้ปริมาณไฮดรอกไซด์อิออน (OH^-) เพิ่มมากขึ้น มีผลให้ค่า pH สูงขึ้น

Copyright by Mahidol University

4.3.3 การเจริญของสาหร่าย พิจารณาจาก

4.3.3.1 ค่า OD_{560}

การวัดค่าการเจริญเติบโตของสาหร่าย (OD_{560}) เมื่อความหนาแน่นของเซลเมื่อเริ่มต้นการเลี้ยงสาหร่ายมีค่า OD_{560} ประมาณ 0.2 ทดลองเป็นเวลา 14 วัน และเก็บตัวอย่างทุก 2 วัน พบว่า สาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) เพียงสายพันธุ์เดียวที่เจริญเติบโตได้ดีใกล้เคียงกับที่เลี้ยงใน Zarrouk 25% ทั้งนี้พิจารณาควบคู่กับการสังเกตสีน้ำเลี้ยงสาหร่าย เนื่องจากตัวอย่างน้ำเสียที่ใช้ทดลองมีสี (พบว่าน้ำเสียที่ได้จากการกรองสาหร่ายด้วยชุดกรองเมมเบรนเพื่อวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของสาหร่ายแล้ว เมื่อนำมาวัดค่า OD_{560} ของน้ำเสียส่วนใสดังกล่าวมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 0.007- 0.101) แสดงรายละเอียดในตารางที่ 4-10 สำหรับ *Spirulina maxima* (Sp 6) เจริญได้ไม่ดี เนื่องจากมีการปนเปื้อนของสาหร่ายอื่น (ในกล้าเชื้อ) ทำให้มีสภาพไม่เหมาะสมในการเจริญของ Sp 6 จึงสามารถเจริญอยู่ได้เพียง 8 วัน

ตารางที่ 4-10 ผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย (OD_{560}) ในระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลา (วัน)	T5-1		T5-2		CG5	CG6	T6-1		T6-2		CW
	A	B	A	B	Zarrouk 25%		A	B	A	B	น้ำทิ้ง 25 %
0	0.235	0.032	0.232	0.030	0.226	0.230	0.228	0.009	0.230	0.007	0.006
2	0.286	0.021	0.335	0.048	0.392	0.410	0.128	0.020	0.164	0.019	0.031
4	0.218	0.055	0.300	0.044	1.160	1.190	0.063	0.040	0.049	0.037	0.041
6	0.225	0.013	0.354	0.072	1.300	1.400	0.025	0.046	0.023	0.022	0.010
8	0.305	0.036	0.409	0.051	2.470	1.630	0.021	0.008	0.022	0.007	0.024
10	0.441	0.055	0.439	0.066	1.840	2.250	-	-	-	-	0.021
12	0.600	0.058	0.690	0.101	2.340	1.570	-	-	-	-	0.017
14	0.522	0.072	0.588	0.072	2.290	1.840	-	-	-	-	0.008

หมายเหตุ: A หมายถึง น้ำเลี้ยงสาหร่าย (น้ำทิ้ง 25% สภาวะที่ใช้ทดลอง + สาหร่าย)

B หมายถึง น้ำทิ้ง 25% ส่วนใสที่ได้ภายหลังการกรองเซลสาหร่ายเพื่อวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งแล้ว

Copyright by Mahidol University

4.3.3.2 น้ำหนักแห้ง (Dry weight)

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) ด้วยความเข้มข้นของมวลสาหร่ายเมื่อเริ่มต้นการเลี้ยงประมาณ 200 มก. (น้ำหนักแห้ง) /ล. จำนวน 6โหล ทดลอง 14 วัน สุ่มตัวอย่างทุก 2 วัน และนำตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บได้มาทำให้แห้งด้วยความร้อนจนมีน้ำหนักแห้งคงที่ (แสดงผลในตารางที่ 4-11 และรูปที่ 4-11) สุมาลี(29) พบว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายและความหนาแน่นของเซล (OD_{560}) จะแสดงการเจริญได้ใกล้เคียงความจริง แต่จากการทดลองของผู้วิจัยพบว่าค่า OD_{560} ที่อ่านได้จาก Colorimeter ให้ค่าไม่แน่นอน เนื่องจากเซลสาหร่ายในตัวอย่างน้ำเสียที่นำไปวัดมีการเคลื่อนที่ตลอดเวลา หรืออาจตกตะกอนทำให้ค่าที่อ่านได้ไม่ใช่ค่าความหนาแน่นของเซลสาหร่ายอย่างแท้จริง และตัวน้ำเสียเองมีสีซึ่งจะทำให้ค่าOD_{560} มีค่าสูงกว่าความเป็นจริง และทำให้ค่าผิดพลาดได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการวัดทั้งค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายและความหนาแน่นของเซล (OD_{560}) ตลอดจนคำนวณผลการเจริญในรูปค่าอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย (คำนวณจากผลการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเป็นหลัก) นำมาใช้พิจารณาประกอบกันเพื่อให้ได้ค่าที่แปรผลการเจริญของสาหร่ายที่มีความถูกต้องมากที่สุด

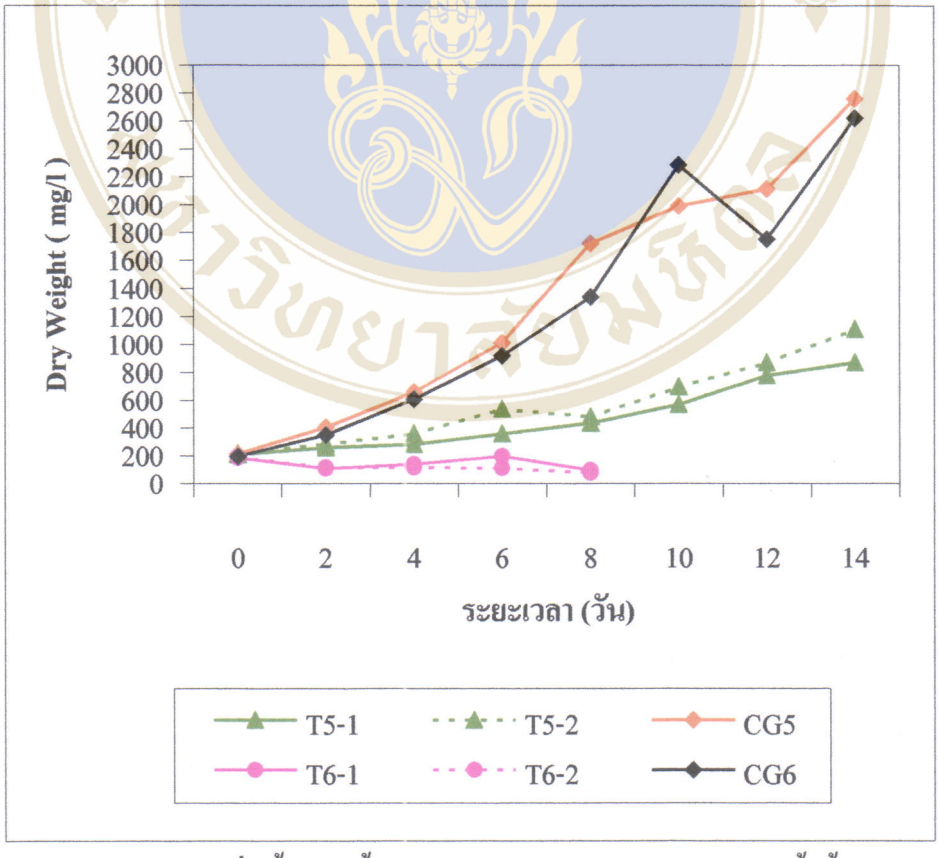
ตารางที่ 4-11 การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลา (วัน)	Dry weight (mg/l) สภาวะที่					
	T5-1	T5-2	CG5	T6-1	T6-2	CG6
0	208.4	214.5	211.3	186.2	193.0	197.5
2	255.5	284.2	404.5	106.2	114.5	349.6
4	281.6	356.0	656.7	137.5	113.7	605.0
6	356.0	538.6	1,008.8	194.2	110.2	917.6
8	433.2	480.0	1,720.0	96.4	78.6	1,336.6
10	567.6	694.0	1,988.2	-	-	2,284.6
12	776.6	869.0	2,113.0	-	-	1,753.3
14	867.3	1,105.3	2,756.3	-	-	2,621.3

Copyright by Mahidol University

จากผลการทดลองพบว่า สาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) มีค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเพิ่มขึ้นทุกวัน จากในวันเริ่มต้นเลี้ยงมีค่าอยู่ในช่วง 208.4-214.5 มก./ล. เพิ่มเป็น 867.3-1,105.3 มก./ล. ในวันที่ 14 (วันสุดท้ายของการเลี้ยง) เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) ในชุดทดลอง (น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร 25%) กับการเจริญของสาหร่ายในชุดควบคุม (Zarrouk 25%) พบว่า ชุดควบคุม CG5 สาหร่าย *Spirulina* (Sp5) มีค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วกว่าในชุดทดลอง จากในวันเริ่มต้นเลี้ยงมีค่า 211.3 มก./ล. เพิ่มเป็น 2,756.3 มก./ล. ในวันที่ 14

สำหรับสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) เจริญได้ไม่ดี เซลสาหร่ายค่อยๆ ตายลง มีค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายลดลงโดยตลอด และสามารถเจริญอยู่ได้เพียง 8 วันเท่านั้น ซึ่งให้ผลแตกต่างอย่างมากจากผลการเจริญของสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในชุดควบคุม (Zarrouk 25%) กล่าวคือ ชุดควบคุม CG6 สาหร่าย *Spirulina* (Sp6) มีค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วกว่าในชุดทดลอง จากในวันเริ่มต้นเลี้ยงมีค่า 197.5 มก./ล. เพิ่มเป็น 2,621.3 มก./ล. ในวันที่ 14



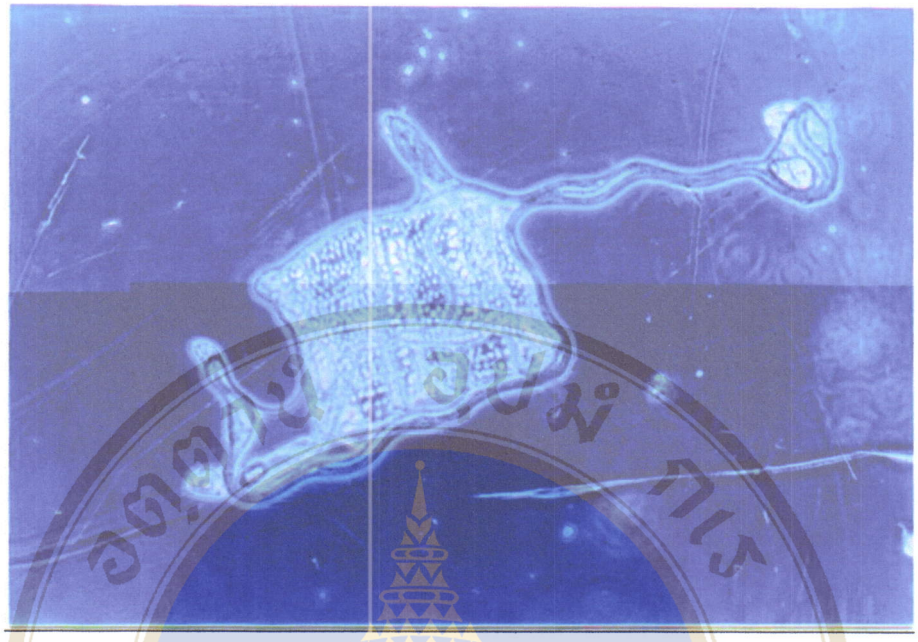
รูปที่ 4-11 แนวโน้มการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ในระยะเวลา 14 วัน

Copyright by Mahidol University

จากตารางที่ 4-11 เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Spirulina* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร 25% ที่เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร และให้อากาศผสม CO_2 1-2% พบว่าสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) สามารถเจริญได้ในน้ำเสียดังกล่าว แม้ว่ายังเจริญได้ไม่ดีเท่าที่เลี้ยงในอาหารสูตรZarrouk 25% ก็ตาม แสดงให้เห็นว่าในมูลสัตว์ (มูลสุกร) มีสารอินทรีย์มากมาย เมื่อนำมูลสัตว์ (มูลสุกร) มาหมักแบบไร้ออกซิเจน จะได้กรดอินทรีย์และเกลืออนินทรีย์ ซึ่งจะเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับสาหร่าย แต่จากผลการวิเคราะห์น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร พบว่ามีค่า COD และ NH_3-N ค่อนข้างสูง แต่ค่า NO_3^--N และ PO_4^{3-} มีค่าน้อย อาจไม่เพียงพอต่อการเจริญของสาหร่าย(จำกัดการเจริญของสาหร่าย) หรืออาจกล่าวได้ว่าเราสามารถใช้น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรมาเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* โดยสาหร่ายสามารถใช้ธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่มีในน้ำเสียได้ระดับหนึ่ง (แม้จะไม่ได้เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย) จึงทำให้ได้ผลผลิตและคุณภาพต่ำกว่าที่เลี้ยงในสูตรZarrouk อย่างไรก็ตามจะได้ผลผลิตมวลสาหร่ายเพื่อนำไปใช้ประโยชน์เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ได้ และยังช่วยบำบัดน้ำเสียให้สะอาดขึ้น(ลดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่ยังมีอยู่มากในน้ำเสีย) จนสามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้

สำหรับสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในชุดทดลองทั้ง 2 ซ้ำ มีแนวโน้มการลดลงของน้ำหนักแห้งทุกวัน ผลปรากฏว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่ายได้ 8 วัน ทั้งชุดการทดลอง T6-1 และ T6-2 ไม่สามารถทำการศึกษาต่อไปได้ เนื่องจากสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ตายเกือบทั้งหมด สรุปผลการทดลองดังนี้ ชุดทดลอง T6-1 (ซ้ำที่ 1) น้ำหนักแห้งของสาหร่ายมีค่าลดลงสลับเพิ่มขึ้นในช่วงแรกจนกระทั่งมีการลดลงชัดเจนในวันที่ 8 สำหรับชุดทดลอง T6-2 (ซ้ำที่ 2) สาหร่าย *Spirulina* (Sp6) มีค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายลดลงทุกวัน เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) ในชุดทดลอง (น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร 25%) กับการเจริญของสาหร่ายในชุดควบคุม (Zarrouk 25%) พบว่าชุดควบคุม CG6 สาหร่าย *Spirulina* (Sp6) สาหร่ายเจริญปกติ มีค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเพิ่มขึ้นทุกวัน ยกเว้นในวันที่ 12 มีค่าลดลงเล็กน้อย ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่นการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ทำให้สาหร่ายไม่สามารถเจริญได้ ประกอบกับมีการปนเปื้อนของเซลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไม่ทราบชนิด (ลักษณะเซลกลมๆ มีสีเขียวเต็มเซล) อยู่กระจายปะปนทั่วไปในน้ำเลี้ยงสาหร่ายของชุดการทดลองด้วย (รูปที่ 4-12) ซึ่งอาจส่งผลให้การทดลองล้มเหลวได้

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 4-12 การทดลองตอน 2 เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina*ในโหลทดลอง (เพื่อหาประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร) พบว่าสภาวะ T6-1 เซลสาหร่าย *Spirulina*(Sp6) (20x) เมื่อทดลองได้ 4 วัน สาหร่ายเจริญได้ไม่ดี และพบเซลกลมๆ สีเขียว (ไม่ทราบชนิด) ปะปนเกาะกลุ่มเป็นร่างแหแทรกระหว่างเซลสาหร่าย *Spirulina*(Sp6) ในน้ำเลี้ยงสาหร่าย

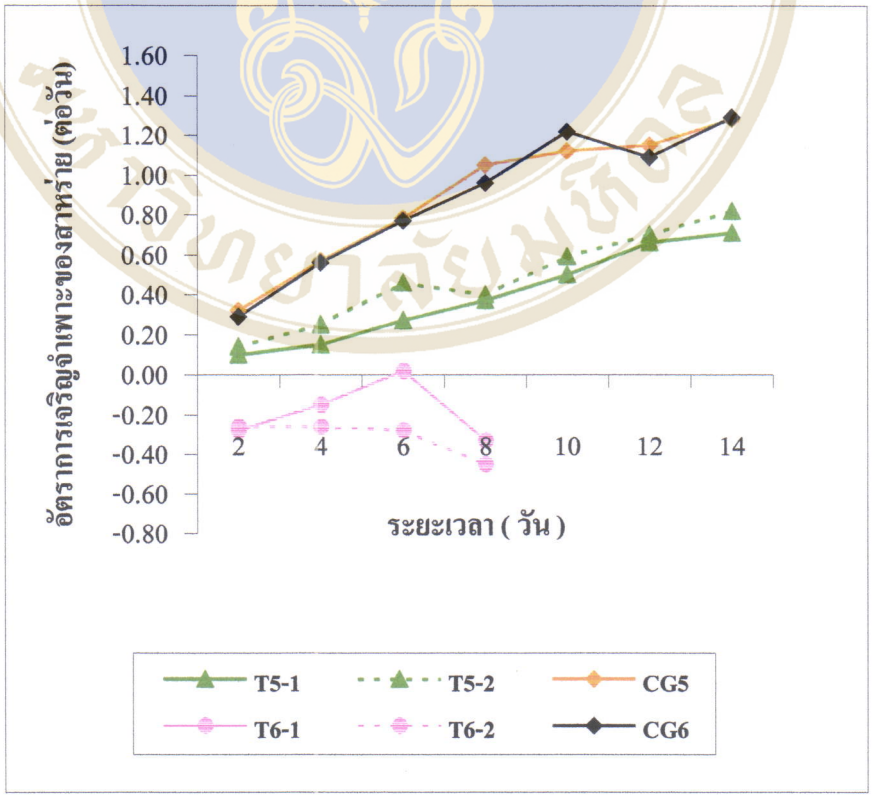
4.3.3.3 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย

การทดลองนี้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นแบบ batch culture ค่าที่ใช้ในการวัดอัตราการเพิ่มขึ้นของมวลสาหร่าย คือ ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายเป็นค่าที่ใช้บ่งชี้อัตราการเจริญเติบโตในช่วงระยะเวลาหนึ่งของสาหร่าย) ในการศึกษานี้ได้ใช้วิธีการวัดปริมาณความหนาแน่นของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในรูปน้ำหนักแห้ง แล้วนำไปคำนวณเพื่อหาอัตราการเจริญจำเพาะ (ภาคผนวก ค.) จากตารางที่ 4-12 และรูปที่ 4-13 สรุปได้ว่าอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) และ *Spirulina* (Sp6) ในชุดควบคุม (Zarrouk 25%) มีค่าสูงสุดในวันที่ 14 ของการทดลอง มีค่าเท่ากับ 1.28 และ 1.29 ต่อวัน ตามลำดับ สำหรับชุดทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) มีอัตราการเจริญจำเพาะตลอดการทดลองอยู่ในช่วง 0.10-0.82 ต่อวัน โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 14 อยู่ในช่วง 0.71-0.82 ต่อวัน และเมื่อพิจารณาอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) พบว่ามีค่าน้อยมาก (ส่วนมากติดลบ) แสดงว่าสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) เจริญได้ไม่ดี และค่อยๆ ตายลงในที่สุด

Copyright by Mahidol University

ตารางที่ 4-12 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในสภาวะที่เหมาะสม ในระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลา (วัน)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายที่ระยะเวลาต่างๆ (ต่อวัน)					
	สภาวะที่					
	T5-1	T5-2	CG5	T6-1	T6-2	CG6
2	0.10	0.14	0.32	-0.28	-40.67	0.29
4	0.15	0.25	0.57	-0.15	-0.65	0.56
6	0.27	0.46	0.78	0.02	-3.07	0.77
8	0.37	0.40	1.05	-0.33	-28.71	0.96
10	0.50	0.59	1.12	-	-	1.22
12	0.66	0.70	1.15	-	-	1.09
14	0.71	0.82	1.28	-	-	1.29



รูปที่ 4-13 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ในระยะเวลา 14 วัน

Copyright by Mahidol University

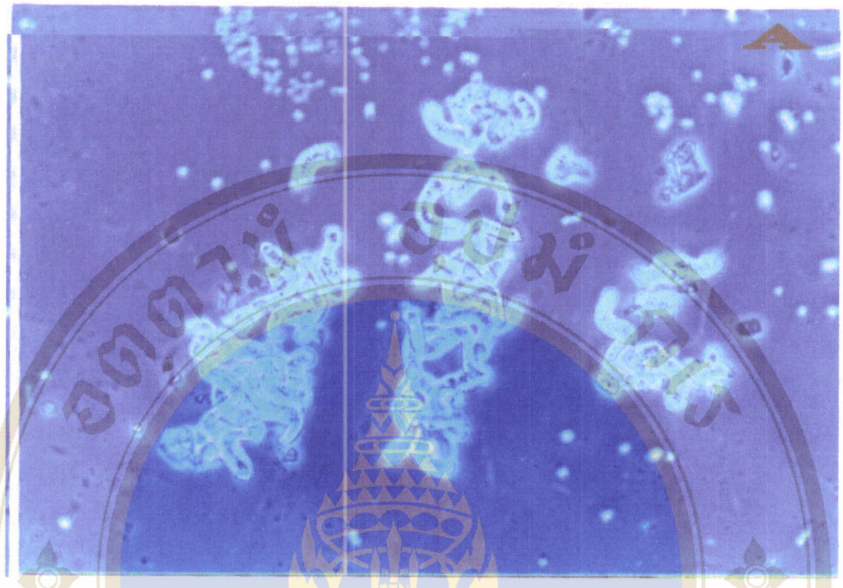
จากรูปที่ 4-13 เส้นกราฟชุดควบคุม CG5 และ CG6 ที่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) ใน Zarrouk 25% มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงกว่าชุดทดลองอย่างเห็นได้ชัด ตลอดระยะเวลาทดลอง 14 วัน และชุดทดลองที่เลี้ยง *Spirulina* (Sp6) เส้นโน้มเส้นกราฟติดลบ (ตลอดระยะเวลาทดลอง 8 วัน) ซึ่งบอกได้ว่าสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) มีแนวโน้มที่จะมีจำนวนเซลลดลง และค่อยๆ ตายลงจนหมด สำหรับชุดควบคุม (CG5 และ CG6) และชุดทดลอง (T5-1 และ T5-2) มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเมื่อทดลองได้ 14 วัน (เท่ากับ 1.28, 1.29, 0.71 และ 0.82 ต่อวัน ตามลำดับ)

เมื่อวิเคราะห์น้ำเสียที่ใช้เป็นน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายทดลองในวันเริ่มต้น (น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% ซึ่งเติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร ทั้งนี้ไม่ได้เพิ่มธาตุฟอสฟอรัส โดยใช้ธาตุฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในน้ำเสียเท่านั้น) พบว่าปริมาณของ inorganic nitrogenที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้ได้ (รวมในรูป NH_3-Nและ NO_3^--N) มีค่าเฉลี่ยไนโตรเจนเท่ากับ 136.3 มก./ล. และปริมาณของฟอสฟอรัส (คิดเทียบจากผลวิเคราะห์ในรูปฟอสเฟตทั้งหมด ; PO_4^{3-}) มีค่าเฉลี่ยฟอสฟอรัสเท่ากับ 2.61 มก./ล. คิดเป็นอัตราส่วน N:P มีค่าเท่ากับ 52.22 :1 โดยที่ในสูตร Zarrouk มีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 411.76 มก./ล. และปริมาณฟอสฟอรัสเท่ากับ 88.978 มก./ล. คิดเป็นอัตราส่วน N:P มีค่าเท่ากับ 4.62 :1 ซึ่งจะเห็นว่าน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรมีองค์ประกอบธาตุฟอสฟอรัสปริมาณน้อยมากเพียง 2.61 มก./ล. เมื่อเปรียบเทียบกับที่มีในสูตร Zarrouk ถึง 88.978 มก./ล. หรือคิดเป็นประมาณ 3% ของสูตร Zarrouk

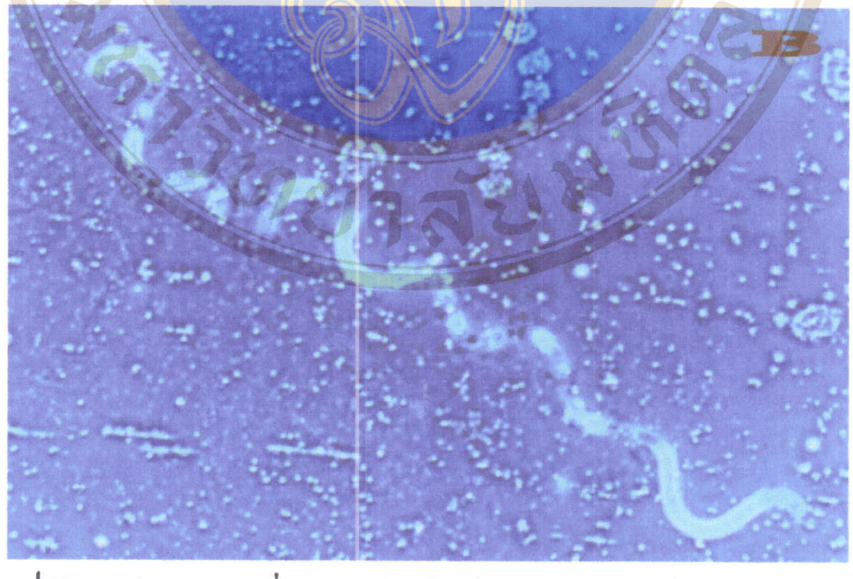
สำหรับธาตุไนโตรเจน หากพิจารณาในแง่ปริมาณพบว่ายังน้อยกว่าในสูตร Zarrouk แต่ถ้าพิจารณาอัตราส่วน N:P พบว่าน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร(52.22:1)ซึ่งมีค่าสูงกว่าในสูตร Zarrouk (4.6 :1) แต่ในน้ำเสียนี้ขาดแคลนธาตุฟอสฟอรัส ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการเจริญของสาหร่าย ทำให้ปริมาณโปรตีน, คลอโรฟิลล์เอ, RNA และ DNA ลดลง ในขณะที่องค์ประกอบฟอสเฟตทั้งหมด ภายในเซลมีปริมาณลดลง และสารโพลีฟอสเฟตภายในเซลสาหร่าย จะช่วยให้สาหร่ายสามารถเจริญได้เป็นระยะเวลาหนึ่งในสภาวะขาดแคลนฟอสฟอรัส (27,29,30) และเนื่องจากการที่สาหร่ายมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอลดลงทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอต่อเซลไม่พอเพียงสำหรับการสังเคราะห์แสง ในขณะที่มีความหนาแน่นของเซลสาหร่ายมาก จึงทำให้มีการตายของบาง trichome เกิดขึ้น โดยเกิดการขาดท่อนของ trichome (แสดงในรูปที่ 4-14) สอดคล้องกับ Kaplan และคณะ(30) ที่กล่าวว่าสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่ขาดแคลนธาตุอาหารฟอสฟอรัส ขนาดและรูปร่างของเซลหรือ trichome จะมีการเปลี่ยนแปลงไปอีก ทั้งเซลสาหร่ายจะมีการจมตัว กล่าวคือ เซลสาหร่ายไม่ได้ลอยอยู่ที่ผิวหน้าน้ำทั้งหมด คาดว่าเนื่องจาก

Copyright by Mahidol University

ปริมาณโปรตีนภายในเซลลดลง ทำให้ถุงก๊าซ (gas vacuoles) ที่มีจำนวนมากภายในเซล (ซึ่งประกอบด้วยเยื่อจำพวกโปรตีนมีจำนวนลดลงหรือหมดไป)เป็นเหตุให้เซลสาหร่ายจมตัวลงได้



รูป A แสดงเซลสาหร่าย *Spirulina*(Sp5) สภาวะ T5-1 (20x) ทดลองได้ 14 วัน ลักษณะเซล สาหร่ายมีรงควัตถุผิดปกติ และขาดเป็นท่อนสั้นๆ



รูป B แสดงเซลสาหร่าย *Spirulina*(Sp5) สภาวะ T5-2 (10x, ph1) ทดลองได้ 14 วัน พบว่าลักษณะเซลสาหร่ายขาดเป็นท่อนสั้นๆ ตลอดแนวยาวของเซล

รูปที่ 4-14 ลักษณะเซลสาหร่าย *Spirulina*(Sp5) การทดลองตอน 2 เลี้ยงในโหลทดลอง เพื่อหาประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร

Copyright by Mahidol University

4.3.4 การเปลี่ยนแปลงและประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรของสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) เมื่อระยะเวลาต่างกัน

4.3.4.1 การเปลี่ยนแปลงและประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจน

ก. แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N)

จากการศึกษาค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% ที่ปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายดังที่กล่าวแล้วในข้อ 4.3 โดยใช้สาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ระยะเวลา 14 วัน ทดลอง 2 ซ้ำ (วิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ 1 และซ้ำ 2 แยกกันเพื่อให้ได้ค่าเฉพาะของโหลนั้นๆ ในการรายงานผลตลอดการทดลอง) พบว่าปริมาณ NH_3-N เริ่มต้น(ก่อนใส่สาหร่าย) มีค่าแตกต่างกันอยู่บ้าง คือ สภาวะ T5-1 (137.2 มก./ล.), สภาวะT5-2 (131.6 มก./ล.) สำหรับสภาวะ T6-1 (131.2 มก./ล.), สภาวะ T6-2 (134 .0 มก./ล.) และสภาวะควบคุม(ไม่เลี้ยงสาหร่าย) มีค่า NH_3-N 132.0 มก./ล. ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 4-13 และรูปที่ 4-15

ตารางที่ 4-13 การเปลี่ยนแปลงค่า NH_3-N ของสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร (มก./ล.), (ร้อยละการลด NH_3-N) ในระยะเวลา 14 วัน

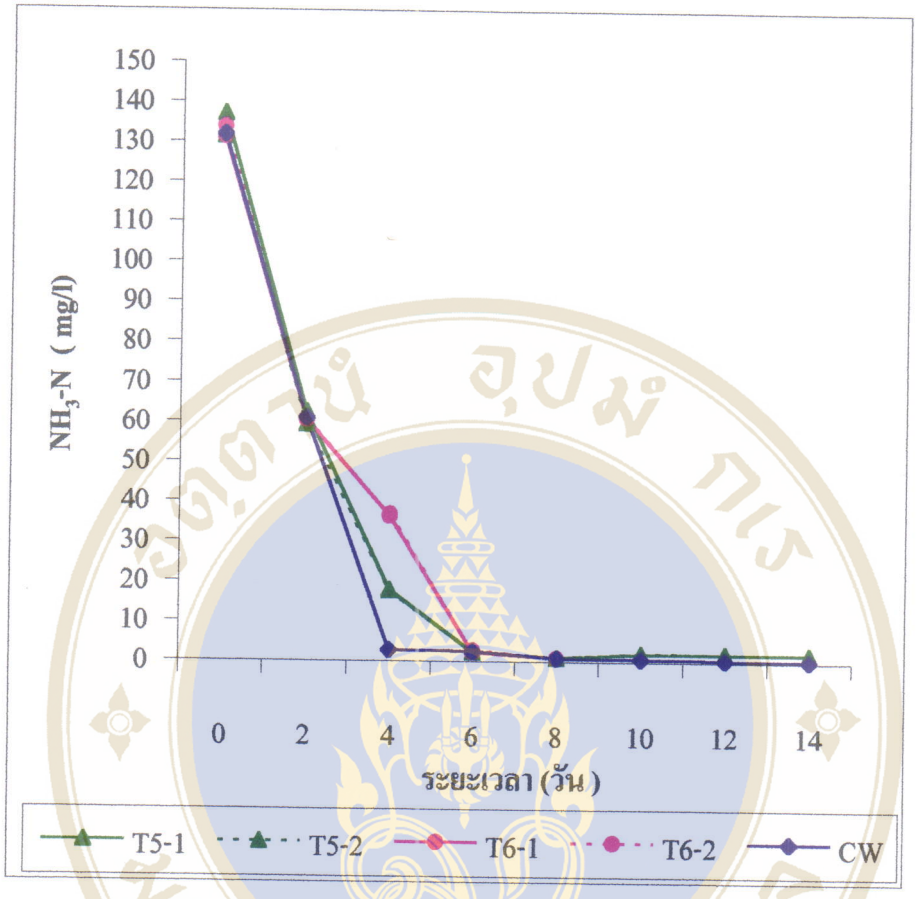
ระยะเวลา (วัน)	การเปลี่ยนแปลงค่า NH_3-N (mg/l), (ร้อยละการลด NH_3-N) สภาวะที่				
	T5-1	T5-2	T6-1	T6-2	CW
0	137.2 , (0)	131.6 , (0)	131.2 , (0)	134.0 , (0)	132.0 , (0)
2	62.6 , (54.37)	59.4 , (54.86)	60.5 , (53.89)	60.7 , (54.70)	61.0 , (53.79)
4	17.9 , (86.95)	17.8 , (86.47)	36.4 , (72.25)	36.9 , (72.46)	2.8 , (97.87)
6	2.4 ,(98.25)	2.4 , (98.17)	2.3 , (98.24)	2.8 , (97.91)	2.5 , (98.10)
8	1.1 , (99.18)	1.1 , (99.14)	1.0 , (99.23)	1.0 , (99.25)	0.9 , (99.31)
10	2 .0, (98.54)	2.2 , (98.32)	-	-	0.8 , (99.39)
12	2.2 ,(98.39)	2 .0, (98.48)	-	-	0.6 , (99.54)
14	2 .0, (9,.54)	2 .0, (98.48)	-	-	0.4 , (99.69)

Copyright by Mahidol University

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า NH_3-N ในโหลทดลองทั้ง 5 โหล พบว่า ชุดทดลอง T5-1 และ T5-2 มีประสิทธิภาพในการลดค่า NH_3-N สูงสุดเมื่อทดลองได้ 8 วัน มีค่าอยู่ในช่วง 99.14-99.18% ประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ 99.16% และประสิทธิภาพเฉลี่ยในการลดค่า NH_3-N เมื่อทดลองได้ 2 วัน, 4 วัน, 6 วัน, 8 วัน, 10 วัน, 12 วัน และ 14 วัน มีค่าเท่ากับ 54.61%, 86.71%, 98.21%, 99.16%, 98.43 %, 98.44% และ 98.51 % ตามลำดับ สำหรับชุดทดลอง T6-1 และ T6-2 สาหร่ายสามารถเจริญได้เพียง 8 วัน (เป็นวันสุดท้ายที่สาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) สามารถเจริญได้ พบว่ามีปริมาณ NH_3-N เหลือน้อยมากเพียง 1.0 มก./ล. เท่านั้น) ประสิทธิภาพเฉลี่ยในการลด NH_3-N เมื่อทดลองได้ 2 วัน, 4วัน, 6 วันและ 8 วัน มีค่าเท่ากับ 54.29%, 72.35%, 98.07% และ 99.24% ตามลำดับ สำหรับชุดควบคุม CW มีประสิทธิภาพในการลด NH_3-N เมื่อทดลองได้ 2 วัน, 4 วัน, 6 วัน, 8 วัน, 10 วัน, 12 วัน และ14 วัน เท่ากับ 53.79%, 97.87%, 98.10%, 99.31%, 99.39%, 99.54% และ 99.69% ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลด NH_3-N ในโหลทดลอง 5 โหลพบว่า โหลควบคุม CW (น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% ที่ไม่เลี้ยงสาหร่าย ไม่ได้เติมสารเคมีใดๆ และให้อากาศธรรมดาตลอด 24 ชั่วโมง) สามารถลด NH_3-N ได้ดีกว่าโหลทดลอง (น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเข้มข้น 25% เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ซึ่งเติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร ทั้งนี้ให้อากาศผสม CO_2 1-2% ตลอด 24 ชั่วโมง) ซึ่งอาจเป็นเพราะในโหลควบคุม NH_3-N ถูกปลดปล่อยออกมาในรูปของก๊าซแอมโมเนีย ที่ pH สูงกว่า 8.5 จึงทำให้ค่า NH_3-N ลดลงได้มากกว่าชุดทดลอง T5-1, T5-2, T6-1 และ T6-2 ประกอบกับในชุดทดลองทั้ง 4 โหลพบว่ามีเซลสาหร่ายที่ตายลงและสะสมอยู่ภายในโหล ซึ่งแบคทีเรียในน้ำเสียสามารถย่อยสลายซากเซลสาหร่ายที่ประกอบด้วย N ในรูปของโปรตีน ได้เป็นโพลีเปปไทด์และกรดอะมิโน จากนั้นจะย่อยสลายต่อได้แอมโมเนียและพลังงาน จึงทำให้มีค่า NH_3-N เพิ่มขึ้นได้

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 4- 15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ NH_3-N ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลา 14 วัน

ข. ไนเตรท-ไนโตรเจน (NO_3^--N)

จากการศึกษาค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (NO_3^--N) ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) ในระยะเวลา 14 วัน รวมทั้งโหลควบคุม พบว่าปริมาณ NO_3^--N เริ่มต้นของทุกสภาวะมีค่าใกล้เคียงกัน คือ อยู่ในช่วง 1.8-2.2 มก./ล. ดังแสดงในตารางที่ 4-14 และรูปที่ 4-16

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า NO_3^--N ในโหลทดลองทั้ง 5 โหล พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก เมื่อคำนวณประสิทธิภาพการลดค่า NO_3^--N ในชุดทดลอง T5-1 และ T5-2 พบว่าในวันที่ 2 ของการทดลอง ประสิทธิภาพการลดค่า NO_3^--N มีค่าสูงสุดอยู่ในช่วง 36.36-52.00% ประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ 44.18% หลังจากนั้นทดลองต่อไปจนครบ 10 วัน พบว่าค่า NO_3^--N เพิ่มขึ้น โดยประสิทธิภาพการลด NO_3^--N มีค่าติดลบอยู่ในช่วง (-151.00)% - (-111.36)% ประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ

Copyright by Mahidol University

-103.07% แต่หลังจากวันที่ 10 จนสิ้นสุดการทดลอง พบว่าค่า NO_3^--N เปลี่ยนแปลงในทิศทางตรงกันข้าม คือ ปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว โดยในวันที่ 12 ของการทดลองมีประสิทธิภาพการลดค่า NO_3^--N อยู่ในช่วง 85.00-86.36% ประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ 85.68% และ ในวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 14) มีประสิทธิภาพการลดค่า NO_3^--N สูงสุด มีค่าอยู่ในช่วง 87.50-88.63% ประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ 88.06%

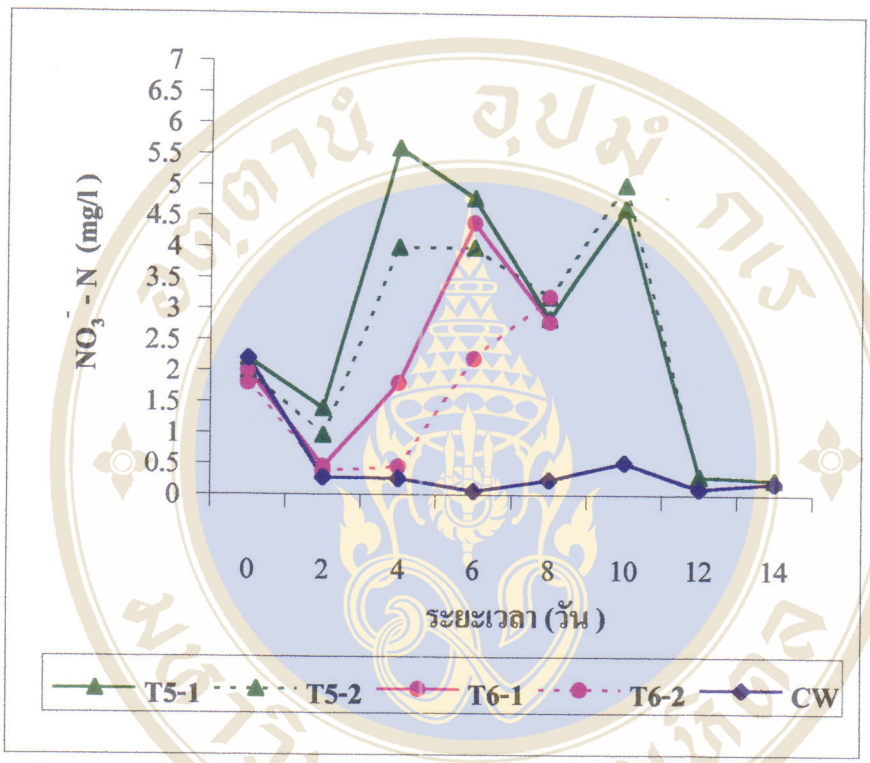
ตารางที่ 4-14 การเปลี่ยนแปลงค่า NO_3^--N ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (มก./ล.) , (ร้อยละการลด NO_3^--N) ในระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลา (วัน)	การเปลี่ยนแปลงค่า NO_3^--N (mg/l), (ร้อยละการลด NO_3^--N)				
	สภาวะที่				
	T5-1	T5-2	T6-1	T6-2	CW
0	2.2 , (0)	2.0 , (0)	2.0 , (0)	1.8 , (0)	2.2 , (0)
2	1.4 , (36.36)	0.9 , (52.00)	0.4 , (77.50)	0.3 , (78.89)	0.3 , (87.27)
4	5.6 , (-154.54)	4.0 , (-100.00)	1.8 , (10.00)	0.4 , (75.00)	0.2 , (88.18)
6	4.8 , (-118.18)	4.0 , (-100.00)	4.4 , (-120.00)	2.2 , (-22.22)	0.1 , (97.27)
8	2.8 , (-29.54)	3.2 , (-60.00)	2.8 , (-40.00)	3.2 , (-77.77)	0.2 , (89.09)
10	4.6 , (-111.36)	5.0 , (-151.00)	-	-	0.5 , (75.90)
12	0.3 , (86.36)	0.3 , (85.00)	-	-	0.1 , (95.45)
14	0.2 , (88.63)	0.2 , (87.50)	-	-	0.2 , (90.90)

ส่วนชุดทดลอง T6-1 และ T6-2 ในวันที่ 2 ของการทดลองมีประสิทธิภาพการลดค่า NO_3^--N สูงกว่าชุดทดลอง T5-1 และ T5-2 คือ มีค่าอยู่ในช่วง 77.50 - 78.89% ประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ 78.19 % แต่ในวันที่ 4 ของการเลี้ยงมีประสิทธิภาพการลดค่า NO_3^--N ลดลง อยู่ในช่วง 10.00-75.00% ประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ 42.50 % จากนั้นจนสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 8 ของการเลี้ยง พบว่าสาหร่ายไม่สามารถเจริญได้ และตายลงเป็นจำนวนมาก โดยที่ชุดควบคุม CW มีประสิทธิภาพในการลดค่า NO_3^--N ในน้ำเสียได้ดีกว่าชุดทดลองที่เลี้ยงสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ ประสิทธิภาพการลดค่า NO_3^--N เมื่อทดลองได้ 2 วัน, 4 วัน, 6 วัน, 8 วัน, 10 วัน, 12 วัน และ 14 วัน เท่ากับ 87.27%, 88.18 %, 97.27%, 89.09%, 75.90%, 95.45% และ 90.90% ตามลำดับ ทั้งนี้เป็นเพราะในชุดควบคุมไม่มีเซลสาหร่ายที่ตายสะสมในโหลทดลอง ซึ่งไม่เป็นการเพิ่มปริมาณธาตุไนโตรเจน และธาตุไนโตรเจนสามารถเปลี่ยนรูปได้

Copyright by Mahidol University

ซึ่งแตกต่างจากชุดทดลองที่เลี้ยงสาหร่าย พบเซลสาหร่ายตายลงจำนวนมากตามระยะเวลาทดลองที่เพิ่มขึ้น จากรายงานของสุมาลี (31) กล่าวว่าสาหร่ายมีการปล่อยสารประกอบไนโตรเจนออกจากเซล สารประกอบไนโตรเจนที่สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวปล่อยออกมา ส่วนมากจะอยู่ในรูปของโพลีเปปไทด์และส่วนน้อยเป็นกรดอะมิโนอิสระ ทำให้ชุดทดลองมีประสิทธิภาพการลดค่า NO_3^--N ต่ำกว่าชุดควบคุม



รูปที่ 4- 16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ NO_3^--N ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลา 14 วัน

จากผลการวิเคราะห์น้ำเลี้ยงสาหร่ายในโหลทดลองเมื่อริ่มต้นทดลองมีค่า NO_3^--N อยู่ในช่วง 1.8-2.2 มก./ล. ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Spirulina* สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Chu (77) พบว่าความเข้มข้นของ NO_3^--N ที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย (planktonic algae) มีดังนี้ ช่วงความเข้มข้นที่เป็นระดับต่ำของช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม (lower limit) คือ 0.3-0.9 มก./ล. ต่ำกว่าระดับนี้อัตราการเจริญจะลดลง อาจทำให้สาหร่าย *Spirulina* มีสีจาง (chlorosis) ช่วงความเข้มข้นที่เป็นระดับสูงของช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม (upper limit) คือ 3.5-17 มก./ล. สูงกว่าระดับนี้จะมีผลยับยั้งการเจริญของสาหร่าย แต่ไม่มีผลต่อรูปร่างเกลียว, ระยะห่างระหว่างเกลียว และเส้นผ่าศูนย์กลางของสาหร่าย *Spirulina* และช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด คือ 0.9-3.5 มก./ล.ทั้งนี้สาหร่าย *Spirulina* สามารถใช้ไนโตรเจนได้ทั้ง 2 รูป คือ NH_3-N และ NO_3^--N

Copyright by Mahidol University

4.3.4.2 การเปลี่ยนแปลงและประสิทธิภาพในการลดปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-})

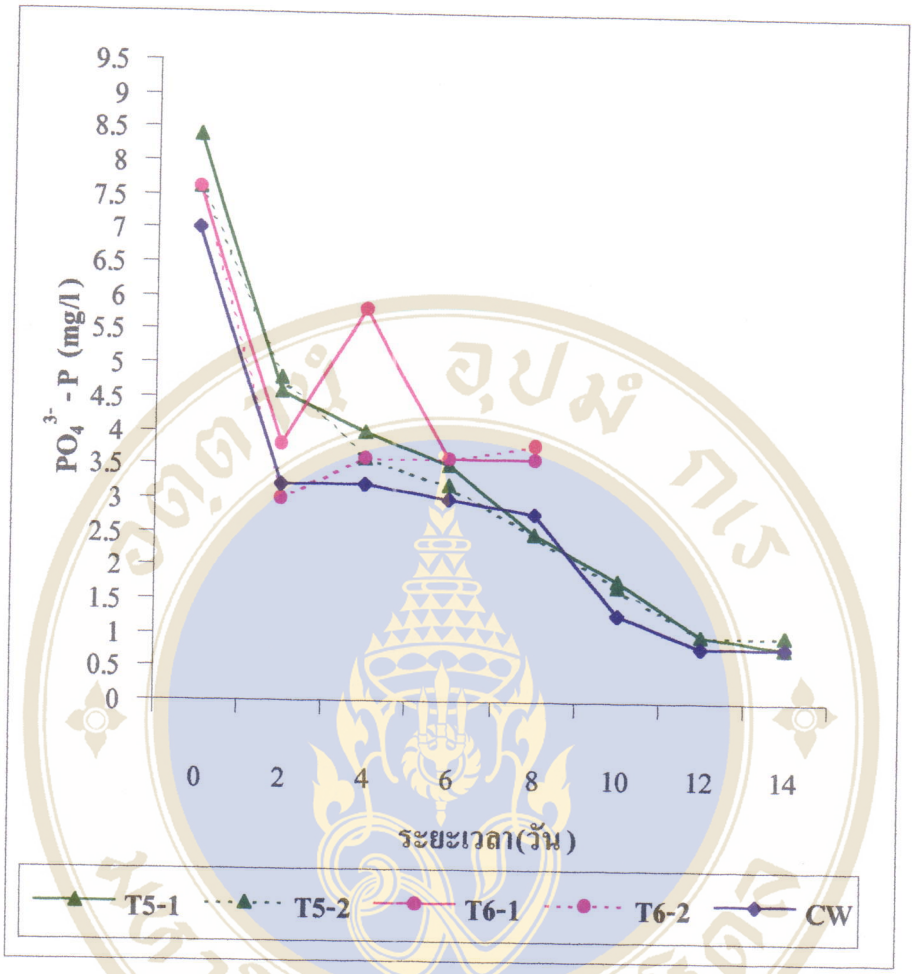
เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในชุดทดลอง (T5 และ T6) และชุดควบคุม (CW) พบว่ามีแนวโน้มของประสิทธิภาพการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) ใกล้เคียงกันแต่ชุดทดลอง T6 (T6- 1 และ T6-2) มีประสิทธิภาพการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) ได้น้อยกว่าและมีค่าค่อนข้างคงที่จนกระทั่งยุติการทดลองเมื่อครบ 8วัน แสดงในตารางที่ 4-15 และรูปที่ 4-17

ตารางที่ 4-15 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (มก./ล.) , (ร้อยละการลด PO_4^{3-}) ในระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลา (วัน)	การเปลี่ยนแปลงค่า PO_4^{3-} (mg/l), (ร้อยละการลด PO_4^{3-}) สภาวะที่				
	T5-1	T5-2	T6-1	T6-2	CW
0	8.4 ,(0)	7.6 ,(0)	7.6 ,(0)	7.6 ,(0)	7.0 ,(0)
2	4.6 ,(45.24)	4.8 ,(36.84)	3.8 ,(50)	3.0 ,(60.53)	3.2 ,(54.28)
4	4.0 ,(52.38)	3.6 ,(52.63)	5.8 ,(23.68)	3.6 ,(52.63)	3.2 ,(54.28)
6	3.5 ,(58.33)	3.2 ,(57.89)	3.6 ,(52.63)	3.6 ,(52.63)	3.0 ,(57.14)
8	2.5 ,(70.23)	2.5 ,(67.10)	3.6 ,(52.63)	3.8 ,(50.00)	2.8 ,(60.00)
10	1.8 ,(78.57)	1.7 ,(77.63)	-	-	1.3 ,(81.42)
12	1.0 ,(88.09)	1.0 ,(86.84)	-	-	0.8 ,(88.57)
14	0.8 ,(90.47)	1.0 ,(86.84)	-	-	0.8 ,(88.57)

สรุปได้ดังนี้ชุดทดลอง T5-1 และ T5-2 มีค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) เริ่มต้นอยู่ในช่วง 7.6-8.4 มก./ล. หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.0 มก./ล. สาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp 5) สามารถลดค่าฟอสเฟตทั้งหมด(PO_4^{3-})ได้มากขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง เมื่อคำนวณประสิทธิภาพการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมด(PO_4^{3-}) พบว่า มีประสิทธิภาพสูงสุดในวันที่ 14 (วันสุดท้ายของการทดลอง) มีค่าอยู่ในช่วง 86.84-90.47% ประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ 88.65% และสรุปประสิทธิภาพเฉลี่ยการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) เมื่อทดลองได้ 2 วัน, 4 วัน, 6 วัน, 8 วัน, 10 วัน, 12 วัน และ 14 วัน เท่ากับ 41.04%, 52.50%, 58.11%, 68.66%, 78.10%, 87.46% และ 88.65% ตามลำดับ

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 4-17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ PO_4^{3-} ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร เมื่อทดลองเลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลาการทดลอง 14 วัน

สำหรับค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) ในชุดทดลอง T6-1 และ T6-2 ค่าเริ่มต้นเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 7.6 มก./ล. สาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp 6) มีประสิทธิภาพการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) (ในช่วงเวลาการเลี้ยง 8 วัน) ได้ดีพอสมควรและมีค่าใกล้เคียงกัน คือ มีค่าอยู่ในช่วง 50.00-60.00% ประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ 53.00% สำหรับชุดควบคุม CW ค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 มก./ล. มีประสิทธิภาพในการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) เมื่อทดลองได้ 2 วัน, 4 วัน, 6 วัน, 8 วัน, 10 วัน,12 วัน และ 14 วัน เท่ากับ 54.28%, 54.28%, 57.14%, 60.00%, 81.42%, 88.57% และ 88.57% ตามลำดับ ทั้งนี้จากการคำนวณจากผลการวิเคราะห์น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรพบว่ามีอัตราส่วนของธาตุไนโตรเจน : ธาตุฟอสฟอรัส เท่ากับ 52.22:1 ซึ่งเป็นค่าที่แตกต่างกันมากกับอัตราส่วนของธาตุทั้งสองในสูตร Zarrouk ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.62:1

Copyright by Mahidol University

จากรายงานของ Kaplan และคณะ(30) พบว่าธาตุ P มีความจำเป็นสำหรับการเจริญเป็นปกติของสาหร่ายโดยทั่วไป เกี่ยวข้องกับการสร้างพลังงาน(สารประกอบ ATP) ซึ่งมีบทบาทในกระบวนการเมตาบอลิซึมของสาหร่าย และจำเป็นต้องใช้ในปฏิกิริยาหลายอย่างในเซล เช่น การสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค, การตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์, การใช้และการขนส่งแร่ธาตุอาหาร เป็นต้น และสารอนินทรีย์โพลีฟอสเฟตซึ่งสาหร่ายโดยทั่วไปสะสมไว้ภายในเซล จะช่วยให้สาหร่ายสามารถเจริญได้เป็นระยะเวลาหนึ่งในสภาวะขาดแคลนธาตุ P นอกจากนี้ยังมีสารประกอบ C เช่น คาร์โบไฮเดรต ช่วยในการเจริญของสาหร่ายได้ด้วย ซึ่งสารประกอบนี้สาหร่ายสะสมไว้ภายในเซล ในขณะที่มีการขาดแคลนธาตุ N หรือ P เช่นเดียวกับที่ Boussiba และ Richmond (43) ได้ศึกษาการใช้สารอาหารภายในเซลพบว่าในระยะแรกที่มีการขาดแคลนธาตุ N หรือ P ในอาหาร แต่น้ำหนักแห้งของสาหร่ายยังคงมีการเพิ่มขึ้นในอัตราปกติ เนื่องจากสาหร่ายมีการใช้ N หรือ P จากแหล่งสะสม N หรือ P ภายในเซล สำหรับสาหร่าย *Spirulina* มีการใช้ธาตุ N จากส่วนของไฟโคไซยานิน จนกว่าไฟโคไซยานินจะมีปริมาณต่ำกว่า 50% ของไฟโคไซยานินทั้งหมด อัตราการเพิ่มขึ้นของ น้ำหนักแห้งจึงจะลดลง ทั้งนี้ยังได้ศึกษาเพิ่มเติมและพบว่าเมื่อในน้ำเพาะเลี้ยงมีธาตุอาหาร N หรือ P ปริมาณน้อย สาหร่ายจะใช้ธาตุอาหารดังกล่าวในปริมาณน้อย หากมีปริมาณมากสาหร่ายจะใช้ในปริมาณมาก โดยธาตุอาหารดังกล่าวที่ถูกดูดซึมเข้าไปในเซลจนมากเกินพอนั้นจะถูกสะสมไว้ภายในเซลสาหร่าย สำหรับสาหร่าย *Spirulina* ที่มีการสะสมธาตุ N ไว้เป็นปริมาณมากๆ ย่อมทำให้โปรตีนสะสมที่ส่วนของไฟโคไซยานินมีปริมาณมากขึ้นด้วย ดังนั้นในการทดลองลักษณะนี้จึงควรมีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน(โปรตีนรวมทั้งหมดของเซล) ของสาหร่ายในทุกชุดการทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (เพื่อดูปริมาณและคุณภาพของโปรตีนของสาหร่ายจะลดต่ำลงหรือไม่) ควบคู่ไปกับการวิเคราะห์ค่าการเจริญอื่นๆ คือ OD_{560} และน้ำหนักแห้ง ถ้าไม่มีข้อจำกัดในการวิเคราะห์โปรตีน

4.3.4.3 การเปลี่ยนแปลงและประสิทธิภาพในการลดปริมาณซีโอดี (COD)

การวิเคราะห์น้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่ใช้เป็นน้ำเพาะเลี้ยงในชุดทดลอง T5-1 และ T5-2 มีค่า COD เฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นเท่ากับ 200 มก./ล. ส่วนชุดทดลอง T6-1 และ T6-2 มีค่า COD เฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นเท่ากับ 191 มก./ล. และชุดควบคุม CW มีค่า COD เมื่อเริ่มต้น เท่ากับ 192 มก./ล. ใน 2 วันแรก โหลทดลองทั้ง 4 โหล (ที่เลี้ยงสาหร่าย) มีประสิทธิภาพการลดค่า COD ดีที่สุด พบว่าชุดทดลอง T5-1 และ T5-2 มีประสิทธิภาพการลดค่า COD เฉลี่ยเท่ากับ 10.00% ชุดทดลอง T6-1 และ T6-2 มีประสิทธิภาพการลด COD เฉลี่ยเท่ากับ 8.65% สำหรับโหลที่ 5 (ชุดควบคุม CW) มีประสิทธิภาพการลด COD ดีที่สุด ในวันที่ 14 ของการทดลอง มีค่าเท่ากับ 44.79% ดังแสดงในตารางที่ 4-16 และรูปที่ 4-18 หลังจาก 2 วันแรกของการเลี้ยงจนสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ชุดทดลอง T5-1, T5-2, T6-1 และ T6-2

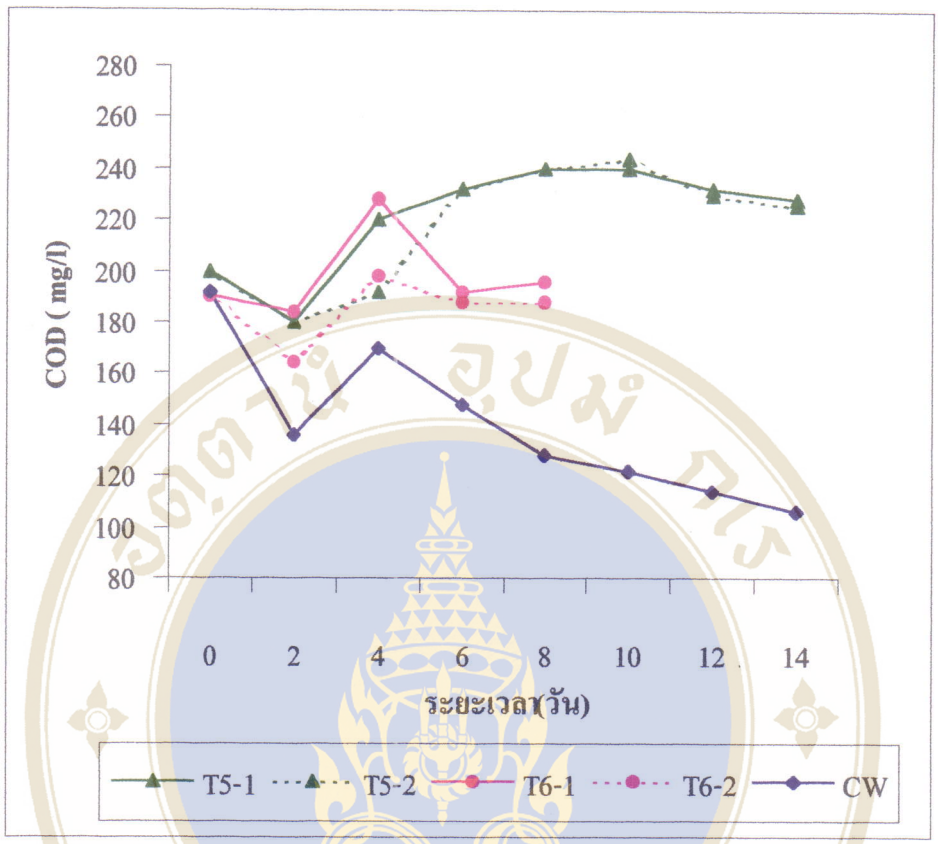
Copyright by Mahidol University

ค่า COD มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (พบว่ามีประสิทธิภาพการลดค่า COD น้อยกว่าศูนย์) ซึ่งให้ผลแตกต่างไปจากชุดควบคุม CW ที่มีประสิทธิภาพการลดค่า COD สูงขึ้นตามระยะเวลาการทดลอง กล่าวคือ เมื่อทดลองได้ 2 วัน, 4 วัน, 6 วัน, 8 วัน, 10 วัน, 12 วัน และ14 วัน มีค่าประสิทธิภาพเท่ากับ 29.16%, 11.46%, 22.91%, 33.33%, 36.46%, 40.62% และ 44.79% ตามลำดับ แต่กำจัด COD ได้ไม่สูงมากนัก เนื่องจากสารอินทรีย์ในน้ำหมักมูลสุกรเป็นสารอินทรีย์ที่เหลือจากการย่อยสลายในขั้นตอนต้นๆ ทำให้ย่อยสลายยาก

ตารางที่4-16 การเปลี่ยนแปลงค่า COD ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่เลี้ยงและไม่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (มก./ล.) , (ร้อยละการลด COD) ในระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลา (วัน)	การเปลี่ยนแปลงค่า COD (mg/l), (ร้อยละการลด COD) สภาวะที่				
	T5-1	T5-2	T6-1	T6-2	CW
0	200 , (0)	200 , (0)	190 , (0)	192 , (0)	192 , (0)
2	180 , (10.00)	180 , (10.00)	184 , (3.16)	164 , (14.14)	136 , (29.16)
4	220 , (-10.00)	192 , (4.00)	228 , (-20.00)	198 , (-3.66)	170 , (11.46)
6	232 , (-16.00)	232 , (-16.00)	192 , (-1.05)	188 , (1.57)	148 , (22.91)
8	240 , (-20.00)	240 , (-20.00)	196 , (-3.16)	188 , (1.57)	128 , (33.33)
10	240 , (-20.00)	244 , (-22.00)	-	-	122 , (36.46)
12	232 , (-16.00)	230 , (-15.00)	-	-	114 , (40.62)
14	228 , (-14.00)	226 , (-13.00)	-	-	106 , (44.79)

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 4-18 การเปลี่ยนแปลงค่า COD ของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร เมื่อทดลองเลี้ยงและไม่เลี้ยง สาหร่าย *Spirulina* ในระยะเวลาการทดลอง 14 วัน

จากผลการทดลองพบว่าในช่วง 2 วันแรกสาหร่าย *Spirulina* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพการลดค่า COD ดีที่สุดแต่ยังคงมีค่าต่ำ หลังจากนั้นจนครบ 14 วัน ประสิทธิภาพการลดค่า COD ต่ำมากและต่ำกว่าสภาวะควบคุม (มีค่าติดลบ) คาดว่าเป็นเพราะในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรได้ผ่านการบำบัดด้วยการหมักก๊าซชีวภาพโดยในกระบวนการหมักแบบไร้อากาศนั้นยังคงมีสารที่เหลือจากการย่อยสลายซึ่งจัดเป็นสารอินทรีย์พวกที่ย่อยสลายได้ยาก เช่น lignin จึงทำให้บำบัดค่า COD ได้ยาก ประกอบกับสาหร่าย *Spirulina* มีวงจรชีวิตสั้น คือ ประมาณ 1 วัน (ในกรณีเลี้ยงสาหร่ายภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ) ซึ่งในขณะที่สาหร่ายมีการเจริญอย่างรวดเร็ว (exponential phase) สาหร่ายมีปริมาณไนโตรเจนภายในเซลประมาณ 7-10% ของน้ำหนักแห้ง และมีคาร์บอนประมาณ 50 % ของน้ำหนักแห้ง (23) จึงมีความเป็นไปได้ที่ค่า COD ไม่ลดลงแต่กลับให้ค่า COD เพิ่มขึ้น เนื่องจากสาหร่ายกำจัดสารอินทรีย์คาร์บอนภายในเซลสู่น้ำเพาะเลี้ยงภายนอกเซล สอดคล้องกับ Panovi และคณะ (78) ที่ได้ศึกษาการลดค่า COD ภายหลังจากการเก็บเกี่ยวสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำเสีย พบว่าในสภาวะควบคุม (0% manure) มีค่า COD เพิ่มขึ้น ซึ่งคาดว่าน่าจะมาจากเซลสาหร่ายปล่อยสารที่ละลายน้ำได้ (เช่น

Copyright by Mahidol University

polysaccharides หรือสารอินทรีย์อื่นๆ) ออกมาสู่น้ำเพาะเลี้ยงภายนอกเซล เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Edward (79) ที่รายงานว่าเซลสาหร่ายไม่สามารถใช้ธาตุคาร์บอนทั้งหมดที่ดูดซึมมาเพื่อการเจริญเติบโตและกระบวนการเมตาบอลิซึม สาหร่ายจะกำจัดอินทรีย์คาร์บอนสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกเซล ได้แก่ organic acids, amino acids, peptides, growth substances, autoinhibitors, antibiotics, toxins เป็นต้น

Copyright by Mahidol University

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการวิจัยในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาการใช้สาหร่าย *Spirulina* บำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร โดยน้ำเสียถูกนำมาผ่านการ centriguge ที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาทีก่อนใช้เตรียมน้ำเสียที่ใช้ทดลอง สำหรับสาหร่ายที่ใช้ คือ *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6) โดยปริมาณเชื้อสาหร่ายเข้มข้นเมื่อเริ่มการทดลองที่ใช้ (inoculum size) มีค่าOD_{560} ของสาหร่ายประมาณ 0.2 การทดลองนี้ได้ศึกษาการเจริญเติบโต ผลผลิตที่ได้ ตลอดจนอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร และได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในโหลทดลองที่มีการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ต่างสายพันธุ์ และโหลที่ไม่เลี้ยงสาหร่าย โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ตอน คือ การทดลองตอนที่ 1 ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่มีความแตกต่างของปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้นของน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร, ส่วนผสมของอากาศที่ให้ และปริมาณสารเคมีที่เติมในน้ำเสีย ได้แก่ $NaHCO_3$, NaCl และ K_2SO_4 ทั้งนี้เพื่อช่วยปรับสภาพน้ำเสียให้เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย โดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายในหลอดทดลองขนาด 200 มล. ในตู้เลี้ยงสาหร่ายแบบควบคุมอุณหภูมิและความเข้มแสง เป็นเวลา 10 วัน วัดการเจริญของสาหร่ายทุก 2 วัน(สังเกตสีน้ำเลี้ยงสาหร่าย และการวัดค่า OD_{560}) เพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ จากนั้นนำสภาวะที่คัดเลือกได้ไปทดลองต่อในการทดลองตอนที่ 2 ซึ่งศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย และประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของสาหร่าย ในระยะเวลา 14 วัน โดยทดลองเลี้ยงสาหร่ายในโหลแก้ว ความจุ 2,500 มล. ที่อุณหภูมิห้อง ความเข้มแสงประมาณ 5,000 - 6,000 ลักซ์ ทดลอง 2 ซ้ำ วัดการเจริญของสาหร่ายและศึกษาคุณภาพน้ำทุก 2 วัน ทั้งนี้ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของสาหร่ายในโหลทดลองกับโหลควบคุมที่เลี้ยงสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ในอาหาร Zarrouk 25% และศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำของโหลทดลองกับโหลควบคุมที่ไม่เลี้ยงสาหร่าย เพียงแต่ให้อากาศเท่านั้น

Copyright by Mahidol University

การทดลองในแต่ละครั้งมีการเตรียมกล้าเชื้อสาหร่าย *Spirulina* ทั้ง 2 สายพันธุ์ชุดใหม่ตลอดโดยสาหร่ายที่ผ่านการทดลองแล้วจะไม่นำมาใช้ในการทดลองซ้ำอีก ส่วนน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรใช้น้ำทิ้งในสระปรับเสถียรสระเดิมตลอดการทดลอง แต่ทำการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง คือ การทดลองตอนที่ 1 ใช้ตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บเมื่อ 21 มกราคม พ.ศ. 2544 และการทดลองตอนที่ 2 ใช้ตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บเมื่อ 22 เมษายน พ.ศ. 2544 ลักษณะสมบัติน้ำเสียที่ทำการศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ, pH, ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3-N), ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน(NO_3^--N), ค่าฟอสเฟตทั้งหมด (PO_4^{3-}) และค่าซีโอดี(COD) จากนั้นนำผลทดลองที่ได้มาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำต่างๆ และคำนวณหาประสิทธิภาพการลดค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน(NH_3-N), ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน (NO_3^--N), ค่าฟอสเฟตทั้งหมด(PO_4^{3-}) และค่าซีโอดี(COD) เปรียบเทียบความแตกต่างของคุณภาพน้ำระหว่างโหลที่มีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายต่างสายพันธุ์กัน กับโหลควบคุมที่ไม่มีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยให้อากาศธรรมดาเท่านั้น เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้มาประกอบการพิจารณาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (Sp6) เพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในโอกาสต่อไป จากผลการศึกษาการใช้สาหร่าย *Spirulina* บำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร สามารถสรุปได้ดังนี้

5.1.1 ลักษณะสมบัติน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรมีค่า pH 7.2 อุณหภูมิประมาณ 30.0 °C ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน 660.8 มก./ล., ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน 0.8 มก./ล., ค่าฟอสเฟตทั้งหมด 37.5 มก./ล. และค่าซีโอดี 1,880.0 มก./ล. ในขั้นต้นนำน้ำเสียมา centriguge ที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้น 25% จากนั้นเติมชนิดและปริมาณสารเคมีตามที่ได้จากผลการทดลองตอนที่ 1 กล่าวคือ เติม $NaHCO_3$ 4 กรัม/ลิตร, NaCl 5 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัม/ลิตร เพื่อให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย ศึกษาลักษณะสมบัติน้ำเสียก่อนและหลังเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) เมื่อมีระยะเวลากักเก็บน้ำเสียในโหลทดลองเมื่อเริ่มต้นทดลอง(วันที่ 0) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง(วันที่ 14) มีค่าตามลำดับดังนี้ ค่า pH 8.50-8.63 และ 9.35-9.49, อุณหภูมิ 31.0-31.8°C และ 29.5-30.4°C, ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน 131.6-155.1 มก./ล.และ 2.0-2.2 มก./ล., ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน 0.5-2.2 มก./ล. และ 0.2-0.3 มก./ล., ค่าฟอสเฟตทั้งหมด 7.6-8.5 มก./ล.และ 0.8-1.0 มก./ล. ,ค่าซีโอดี 192-250 มก./ล. และ 226-232 มก./ล. ส่วนสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) เจริญได้ไม่ดีและยุติการทดลองในวันที่ 8 จึงไม่ได้นำมาเปรียบเทียบผล

Copyright by Mahidol University

5.1.2 การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโต ระหว่างสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) และสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ในขั้นต้นได้สังเกตสีน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายประกอบกับสุ่มดูดตัวอย่างน้ำเพาะเลี้ยงในโหลทดลองแต่ละโหล นำมาส่องดูลักษณะเซลสาหร่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทั้งนี้สาหร่าย *Spirulina* ที่มีการเจริญปกติสามารถพบได้ 2 รูปแบบ คือ เส้นสายที่ค่อนข้างสั้น และเกลียวมีลักษณะกว้าง ขนาดใหญ่ กับเส้นสายยาวกว่า เกลียวมีลักษณะผอมกว่า และเล็กกว่าแบบแรก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของสภาวะที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย สำหรับน้ำหนักแห้ง พบว่าสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรมีน้ำหนักแห้งมากกว่าสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) โดยสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) มีน้ำหนักแห้งเมื่อเริ่มต้นทดลอง (วันที่ 0) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง(วันที่ 14) ตามลำดับดังนี้ 208.4-214.5 มก./ล. และ867.3-1,105.3 มก./ล. ส่วนสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรมีน้ำหนักแห้งเมื่อเริ่มต้นทดลอง(วันที่ 0) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง(วันที่ 8) ตามลำดับดังนี้ 186.2-193.0 มก./ล. และ 78.6-96.4 มก./ล. สำหรับโหลควบคุมซึ่งเลี้ยงสาหร่ายใน Zarrouk 25% พบว่าสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) และสาหร่าย*Spirulina* (Sp6) มีน้ำหนักแห้งเมื่อเริ่มต้นทดลอง(วันที่ 0) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง(วันที่ 14) ตามลำดับดังนี้ 211.3 มก./ล. และ 197.5 มก./ล., 2,756.3 มก./ล. และ 2,621.3 มก./ล ทั้งนี้พบว่าในโหลควบคุมสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งอย่างรวดเร็วและมีค่าใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาทดลอง 14 วัน

ส่วนอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรและใน Zarrouk 25% เมื่อมีระยะเวลากักเก็บน้ำเสียในโหลทดลองเป็น 2 วัน, 4 วัน, 6 วัน, 8 วัน, 10 วัน, 12 วัน และ 14 วัน มีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้ 0.12 ต่อวันและ 0.32 ต่อวัน, 0.20 ต่อวันและ 0.57 ต่อวัน, 0.37 ต่อวันและ 0.78 ต่อวัน, 0.39 ต่อวันและ 1.05 ต่อวัน, 0.54 ต่อวันและ 1.12 ต่อวัน, 0.68 ต่อวันและ 1.15 ต่อวัน, 0.77 ต่อวันและ 1.28 ต่อวัน ส่วนอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร เป็นเวลา 8 วัน มีค่าติดลบทั้งหมด (ยกเว้นซ้ำที่ 1 พบว่าวันที่ 6 ของการทดลองมีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.02 ต่อวัน) ซึ่งแตกต่างไปจากอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) ที่เพาะเลี้ยงใน Zarrouk 25% เมื่อมีระยะเวลากักเก็บน้ำเสียในโหลทดลองเป็น 2 วัน, 4 วัน, 6 วัน, 8 วัน, 10 วัน, 12 วัน และ 14 วัน มีค่าตามลำดับดังนี้ 0.29 ต่อวัน, 0.56 ต่อวัน, 0.77 ต่อวัน, 0.96 ต่อวัน, 1.22 ต่อวัน, 1.09 ต่อวัน, 1.29 ต่อวัน ซึ่งให้ค่าที่ใกล้เคียงกับ *Spirulina* (Sp5) ที่เพาะเลี้ยงใน Zarrouk 25%

Copyright by Mahidol University

5.1.3 การทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) โดยเติมอากาศผสม $CO_2$1-2% ตลอดเวลา มีประสิทธิภาพการลดค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สูงสุดเมื่อทดลองได้ 8 วัน มีค่าเฉลี่ย 99.16% และ 99.24% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับโหลดควบคุม (ไม่เลี้ยงสาหร่าย และบำบัดโดยการเติมอากาศตลอดเวลาเท่านั้น) ที่มีประสิทธิภาพการลดแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในวันที่ 8 เท่ากับ 99.31% แต่ประสิทธิภาพการลดแอมโมเนีย-ไนโตรเจนของสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) เมื่อทดลองได้ 10 วัน, 12 วัน และ 14 วัน มีค่าเฉลี่ย 98.43%, 98.44% และ 98.51% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลต่ำกว่าโหลดควบคุมที่มีประสิทธิภาพการลดแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเท่ากับ 99.35%, 99.54% และ 99.69% ตามลำดับ คาดว่าเนื่องจากในโหลทดลองมีการตายของสาหร่าย ซึ่งจะเพิ่มธาตุไนโตรเจนในน้ำ (โหลดควบคุมไม่ได้เลี้ยงสาหร่ายทำให้ไม่มีเซลสาหร่ายที่ตายแล้ว)

5.1.4 การทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) มีประสิทธิภาพการลดค่าไนเตรท-ไนโตรเจนต่ำกว่าโหลดควบคุม โดยชุดทดลองที่เลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) มีประสิทธิภาพการลดค่าไนเตรท-ไนโตรเจนสูงใน วันที่ 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 44.18% และ 78.19% ตามลำดับ หลังจากนั้นในวันที่ 4, 6, 8 และ 10 พบว่าชุดทดลอง *Spirulina* (Sp5) มีค่าไนเตรท-ไนโตรเจนเพิ่มขึ้น(ประสิทธิภาพการลดค่าไนเตรท-ไนโตรเจนมีค่าติดลบ) แต่ในวันที่ 12 และ 14 สาหร่าย *Spirulina* (Sp5) มีประสิทธิภาพการลดค่าไนเตรท-ไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 85.70% และ 88.06% ตามลำดับ แต่ค่าประสิทธิภาพการลดไนเตรท-ไนโตรเจนยังต่ำกว่าโหลดควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 95.45% และ 90.90% ตามลำดับ

5.1.5 การทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) มีประสิทธิภาพการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมดระหว่างชุดทดลอง *Spirulina* (Sp5) และโหลดควบคุม ในวันที่ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 มีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกันดังต่อไปนี้ 41.04% และ 54.28%, 52.50% และ54.28%, 58.11% และ57.14%, 68.66% และ 60.00%, 78.10% และ81.42%, 87.46% และ88.57%, 88.65% และ88.57% ตามลำดับ ส่วนชุดทดลอง *Spirulina* (Sp6) พบว่าในช่วง 6 วันแรกของการทดลองมีประสิทธิภาพการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมดใกล้เคียงกับชุดทดลอง *Spirulina* (Sp5) และโหลดควบคุม แต่ในวันที่ 8 ประสิทธิภาพการลดค่าฟอสเฟตทั้งหมดของ *Spirulina* (Sp6) เริ่มลดลง

Copyright by Mahidol University

5.1.6 การทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) มีประสิทธิภาพการลดซีโอดีในช่วงวันที่ 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10.00% และ 8.65% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลต่ำกว่าโหลควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 29.16% หลังจากนั้นตั้งแต่วันที่ 4 จนครบระยะเวลาทดลอง 14 วัน สาหร่าย *Spirulina* (Sp5 และ Sp6) มีประสิทธิภาพการลดซีโอดีต่ำมาก กล่าวคือ สาหร่าย *Spirulina* (Sp5) ไม่ได้ช่วยลดค่าซีโอดี แต่กลับทำให้ค่าซีโอดีเพิ่มขึ้นอีก 10-20% เช่นเดียวกับสาหร่าย *Spirulina* (Sp6) ทั้งนี้ในการทดลองซ้ำที่ 2 ของ *Spirulina* (Sp6) พบว่าในวันที่ 6 และ 8 มีค่าซีโอดีลดลงเล็กน้อย โดยมีประสิทธิภาพการลดซีโอดีเฉลี่ยเท่ากับ 1.57% ในขณะที่โหลควบคุมมีประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีสูงสุดเท่ากับ 44.79% เมื่อทดลองครบ 14 วัน

5.2 ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

5.2.1 ลักษณะสมบัติน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรที่ใช้ในการทดลองทั้ง 2 ตอนแตกต่างกัน ทำให้มีผลต่อความคลาดเคลื่อนของสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากการทดลองตอนที่ 1 (ใช้น้ำเสียที่เก็บในครั้งที่ 1) อาจจะไม่ใช่สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายเมื่อนำมาทดลองตอนที่ 2 (ใช้น้ำเสียที่เก็บในครั้งที่ 2) ส่งผลให้ผลการทดลองไม่สอดคล้องกัน ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลที่สอดคล้องกัน จึงควรใช้ตัวอย่างน้ำที่เก็บในครั้งเดียวกัน หรือน้ำเสียที่ใช้ทดลองควรปรับให้มีลักษณะสมบัติใกล้เคียงกัน (ซึ่งน้ำในสภาวะธรรมชาติไม่สามารถควบคุมให้มีลักษณะคงที่ได้)

5.2.2 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายเพื่อเป็นเชื้อเริ่มต้นในการทดลองแต่ละครั้ง ผู้วิจัยพบว่าสาหร่ายที่ศึกษาควรจะใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ (Pure culture) และเพาะเชื้อให้มีปริมาณมากเพียงพอสำหรับการทดลองที่มีการศึกษาเป็นขั้นตอนต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่ถูกต้อง

5.2.3 ในการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* ทั้ง 2 สายพันธุ์ในโหลทดลอง ความจุ 2 ลิตร (ทรงกระบอก ก้นกลม และสูงประมาณ 30 ซม.) เมื่อใส่สาหร่ายในโหลทดลองและมีการให้อากาศผสม CO_2 1-2% เพื่อกวนให้สาหร่ายกระจายตัวสม่ำเสมอและไม่ตกตะกอน ทำให้ได้รับแสงและสารอาหารในน้ำเสียอย่างทั่วถึง ในช่วงที่สาหร่ายเจริญเติบโตหนาแน่นมากจะเกิดปัญหาการให้อากาศไม่เพียงพอ พบว่ามีสาหร่ายจับตัวเป็นกระจุกและตกตะกอนนอนก้นโหล เนื่องจากการให้อากาศใช้หัวฟู่ ทรงกระบอกสูงประมาณ 3 นิ้ว ใช้ 1 หัว/1โหล จึงทำให้ต้องปรับการให้อากาศให้มีความแรงมากขึ้นเพื่อสาหร่ายจะได้กระจายทั่วทั้งโหล (การเคลื่อนที่มีทั้งในแนวราบและแนวดิ่ง) ทั้งนี้ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้วัดอัตราการให้อากาศผสมCO_2 1-2% ตลอด 24 ชั่วโมงว่ามีค่าเท่าใด (รวมทั้งอัตรา

Copyright by Mahidol University

การให้อากาศธรรมดาในโหลควบคุมที่ไม่เลี้ยงสาหร่าย) อาศัยดุลยพินิจของผู้วิจัยเองจึงอาจส่งผลกระทบต่อผลการทดลองได้ กล่าวคือ ในโหลทดลองบางช่วงเวลาอาจมี CO_2 ละลายในน้ำมากเกินไป (เกินกว่าที่สาหร่ายต้องการใช้) บางครั้งพอดี หรือบางครั้งอาจน้อยเกินไปทำให้มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย ส่วนในโหลควบคุมที่ให้แต่อากาศและไม่เลี้ยงสาหร่าย หากอัตราการให้อากาศในโหลควบคุมแตกต่างจากโหลทดลองมากๆ จะมีผลต่อการระเหยของก๊าซแอมโมเนียเป็นอย่างมาก รวมถึงมีอิทธิพลต่อปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ในโหลที่ศึกษา ดังนั้นจึงควรมีเกณฑ์ในการปรับอัตราการให้อากาศผสม CO_2 1-2% ในโหลทดลอง รวมทั้งปรับอัตราการให้อากาศในโหลควบคุม เพื่อให้มีความถูกต้องในการเปรียบเทียบผล และสามารถอภิปรายผลเพื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของนักวิจัยท่านอื่นได้ นอกจากนี้การกระจายตัวของสาหร่ายในโหลทดลองยังมีผลต่อการเก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงสาหร่าย เพื่อวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งทุก 2 วัน บางช่วงเวลาที่สาหร่ายเจริญเติบโตอย่างหนาแน่นมีการจับตัวเป็นกระจุก หรือบางจุดในโหลมีสาหร่ายบางเบา เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมากรองเนื้อสาหร่ายเพื่อหาน้ำหนักแห้ง (การศึกษานี้ทำทั้งหมด 8 ครั้ง) หากสาหร่ายมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ อาจทำให้ตัวอย่างน้ำเพาะเลี้ยงที่สุ่มมาไม่ใช่ตัวแทนที่ดีของแต่ละโหลทดลอง อันจะมีผลทำให้น้ำหนักแห้งของสาหร่ายคลาดเคลื่อนจากความจริงได้

5.2.4 จากข้อสรุปจากการศึกษาในครั้งนี้ จะเห็นได้ว่าการใช้สาหร่าย *Spirulina platensis* (Sp5) บำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรนั้นมีความเป็นไปได้ โดยเฉพาะการบำบัดค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนและค่าฟอสเฟตทั้งหมด แต่สำหรับค่าไนเตรท-ไนโตรเจนและค่าซีโอดีพบว่าบำบัดได้ต่ำกว่าโหลควบคุม(ไม่เลี้ยงสาหร่ายและบำบัดโดยการเติมอากาศเท่านั้น) เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตและผลผลิตที่ได้ พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญได้ดีระดับหนึ่งจนถึงสภาวะที่ธาตุอาหารในน้ำเสียเริ่มหมด แม้จะเจริญได้ไม่ดีเท่าที่เลี้ยงใน Zarrouk 25% ทั้งนี้อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรและใน Zarrouk 25% เมื่อเริ่มต้นทดลอง(วันที่ 0) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง(วันที่ 14) มีค่าเท่ากับ 0.14 ต่อวัน และ 0.32 ต่อวัน, 0.82 ต่อวัน และ 1.28 ต่อวัน ซึ่งให้ค่าแตกต่างไม่มากนัก แม้ว่าสาหร่าย *Spirulina* (Sp5) จะบำบัดน้ำเสียได้ไม่ดีนัก และบางพารามิเตอร์ยังบำบัดได้ต่ำกว่าการเติมอากาศเพียงอย่างเดียว ซึ่งอาจสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายด้านสารเคมีในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายรวมทั้งการให้ CO_2 แต่สามารถใช้ประโยชน์จากผลผลิตสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรเพื่อเป็นอาหารสัตว์ เช่น ปลา , ไก่, สุกร เป็นต้น เนื่องจากสาหร่าย *Spirulina* เป็นแหล่งโปรตีน และมีรงควัตถุสีแดงของ carotenoids ที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์เลี้ยง และพบว่าสาหร่าย *Spirulina*(Sp5) จะช่วยลดธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียได้ จึงช่วยลดการเกิดปัญหา Eutrophication ในแหล่งน้ำได้ และเกษตรกรผู้เลี้ยงสุกร

Copyright by Mahidol University

สามารถหมุนเวียนน้ำกลับมาใช้ในการล้างคอกสุกร หรืออาจนำน้ำเสียภายหลังการเลี้ยงสาหร่ายไปใช้เลี้ยงปลา หรือเป็นปุ๋ยน้ำเพื่อรดพืชผักได้ต่อไป

5.3 ข้อเสนอแนะในการศึกษาวิจัยต่อไป

5.3.1 ในการทดลองครั้งนี้ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำของสาหร่าย *Spirulina* 2 สายพันธุ์เท่านั้น จึงควรทำการทดลองคัดเลือกสาหร่าย *Spirulina* สายพันธุ์อื่นๆ ที่มีอีกมาก เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมที่สุดในการเจริญในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร เช่น สามารถทนต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ซึ่งพบว่ามีค่าสูงมาก เป็นต้น จะทำให้ได้สายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมที่จะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร เช่น สามารถเจริญได้ในน้ำเสียที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น, ใช้สารเคมีที่เติมเพื่อช่วยให้สาหร่ายเจริญน้อยลง และสามารถบำบัดน้ำเสียได้ดีกว่านี้

5.3.2 ควรทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina* และประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจน สารประกอบฟอสฟอรัส ปริมาณบีโอดีในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรให้ละเอียดยิ่งขึ้น เพื่อจะได้เข้าใจกระบวนการเปลี่ยนแปลงในระบบนิเวศน์ดังกล่าว ทำให้สามารถควบคุมการใช้สาหร่าย *Spirulina* บำบัดน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.3.3 ศึกษาการเจริญและประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของสาหร่าย *Spirulina* กับสาหร่ายชนิดอื่น เช่น *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Phormidium* เป็นต้น โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการลดค่าบีโอดี, ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส และเปรียบเทียบอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายแต่ละชนิด เพื่อดูความเป็นไปได้ว่าสาหร่ายชนิดใดเหมาะสมที่จะใช้เลี้ยงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร ทั้งนี้พิจารณาประกอบกับค่าใช้จ่ายด้านสารเคมี, สัดส่วนการให้อากาศ รวมทั้งอัตราการให้อากาศและค่าใช้จ่ายในการให้อากาศ, ความทนทานของสาหร่ายต่อการปนเปื้อนจากเชื้อต่างๆ ทั้งในการทดลองระดับห้องปฏิบัติการและในพื้นที่จริง, ความยากง่ายในการเก็บเกี่ยวผลผลิตสาหร่ายที่ได้ และประโยชน์ที่ได้จากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำเสีย เป็นต้น

5.3.4 ควรพัฒนาการศึกษาโดยทดลองใช้สาหร่าย *Spirulina* สายพันธุ์ที่เหมาะสมกับคุณภาพน้ำเสียไปทำการทดลองในพื้นที่จริง เพื่อศึกษาการเจริญของสาหร่ายและประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียภายใต้สภาพการณ์ธรรมชาติที่ไม่อาจควบคุมปัจจัยต่างๆ ดังกล่าวได้เหมือนกับการควบคุมในห้องปฏิบัติการ เพื่อจะได้ทราบถึงปัจจัยในพื้นที่ที่อาจส่งผลกระทบต่อการเจริญและ

Copyright by Mahidol University

ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของสาหร่าย ทั้งยังสามารถประเมินความเป็นไปได้ที่จะใช้สาหร่าย *Spirulina* เพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรในทางปฏิบัติอีกด้วย นอกจากนี้อาจพัฒนาและประยุกต์การเก็บเกี่ยวสาหร่ายโดยเลี้ยงสัตว์น้ำควบคู่กันไปในสระทดลอง เช่น ไรแดง, ตะพาบน้ำ เป็นต้น

5.3.5 ศึกษาประสิทธิภาพการการลดค่า บีโอดี, ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส และอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Spirulina* ในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร โดยเปรียบเทียบกับน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรจากฟาร์มสุกรอื่นๆ ที่มีระบบก๊าซชีวภาพแบบเดียวกัน (ฟาร์มอื่นที่อยู่ในโครงการส่งเสริมการผลิตก๊าซชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ โดยหน่วยบริการก๊าซชีวภาพ สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับฟาร์มที่ศึกษา) หรือเปรียบเทียบกับน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกรจากฟาร์มที่มีรูปแบบระบบหมักมูลสุกรที่แตกต่างออกไป

Copyright by Mahidol University

รายการอ้างอิง

1. บุษยา วุฒิชาญ. นโยบายและมาตรการด้านพลังงานของประเทศไทย. วารสารส่งเสริมการลงทุน 2539; 7(3): 23-6.
2. กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. คู่มือการจัดการน้ำเสียจากฟาร์มสุกรโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : บริษัทอินทิเกรเต็ด โปรโมชัน เทคโนโลยี จำกัด ; 2538.
3. สมชัย จันทร์สว่าง. ระบบไบโอแก๊ส: การใช้ประโยชน์ของผลผลิตและศักยภาพ. สุกรสาส์น 2543; 25(103): 51-62.
4. วีระพันธ์ เกียรติภักดี, นิรันดร โพธิกานนท์ และ Kendrick Logsdon, Jr. โครงการส่งเสริมการผลิตก๊าซชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ ส่วนที่1:ฟาร์มขนาดกลางและขนาดใหญ่. หน่วยบริการก๊าซชีวภาพ สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2542.
5. Sawer, C.N. Basic Concepts of Eutrophication. JWPCF 1966; 38(4):737-44.
6. William J. Oswald.Integrated Systems for Community Waste Management. In:Chung P.(ed.) Animal waste treatment and utilization. Tai Pei: Council for Agricultural Planning and Planning; 1980. p. 43-51.
7. สุทัศน์ ศิริ. การจัดการฟาร์มสุกร. พิมพ์ครั้งที่ 1. ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้; 2540.
8. กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม. โครงการศึกษาความเหมาะสมในการจัดตั้งนิคมเลี้ยงสุกร ภาคผนวก; 2540a.
9. สุริยะ สะวานนท์ และวนิดา จูลเมตต์. ของเสียจากฟาร์มสุกร ปัญหาและแนวทางการแก้ไขในประเทศไทย. วารสารนิเวศวิทยา 2541; 25(3): 36-48.
10. บัณฑิต ธานินทร์ธราธร. เอกสารประกอบการสอนวิชาเฉพาะสัตวบาล : การจัดการของเสียจากสัตว์ คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ; 2536. 150 หน้า
11. Harada, Y. Animal manure recycle system and its utilization in Japan. The 8-AAAP Anim Sci Congress 1996; 1: 99-108.

Copyright by Mahidol University

รายการอ้างอิง (ต่อ)

12. สุริยะ สะวานนท์.คุณสมบัติของน้ำล้างคอกและมูลจากการเลี้ยงสุกร.สุกรสาส์น 2540; 23(91): 61-3.

13. สมชัย จันทร์สว่าง. การขับถ่ายของสุกร. สุกรสาส์น 2530; 13(49): 59-66.

14. นิรนาม. ก๊าซชีวภาพในประเทศไทย: สถานภาพปัจจุบันและศักยภาพในอนาคต. โครงการก๊าซชีวภาพ ไทย-เยอรมัน. 154 หน้า.

15. Chiu RJ., Liu HI., Chen CC., Chi YC., Shao H., Soong P. and Paul L.C. Hao. The cultivation of *Spirulina platensis* on fermented swine manure In: Chung P.,editor. Animal waste treatment and utilization. Tai Pei: Council for Agricultural Planning and Planning; 1980. p. 435-46.

16. กรมปศุสัตว์. โครงการศึกษาเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มเลี้ยงสุกรบริเวณลุ่มแม่น้ำท่าจีน. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์; 2531.

17. กรมควบคุมมลพิษ. โครงการศึกษาความเหมาะสมในการจัดตั้งนิคมการเลี้ยงสุกร รายงานหลัก. กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม; 2540b.

18. Zhanghon, J. Utilization of Biogas . Training Center for Asia and Pacific. China; 1990.

19. กองทุนอนุรักษ์พลังงาน สำนักงานคณะกรรมการนโยบายพลังงานแห่งชาติ. โครงการส่งเสริมการผลิตก๊าซชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์. สุกรสาส์น 2540; 23(95): 65-7.

20. Zehnder, A.J., Ingvorsen, K. and Marti, T. "Microbiology of Methanogen Bacteria" In. Huges, D.E., Stafford, D.A, Wheatley,B.I., Baader,W., Lettinga, G., Nyns, E.J. and Verstraeten,W.,editors. Anaerobic Digestion, Amsterdam: Elsevier; 1982. p. 45-68.

21. ลัดดา วงศ์รัตน์. แพลงก์ตอนพืช.พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2542.

22. สุชาติ อิงธรรมจิตร์. สาหร่ายเกลียวทอง(สไปรูลินา). วารสารการประมง 2529; 39(6): 615-22.

23. Ciferri,O.,*Spirulina*, the edible microorganism. Microbio Rev 1983; 47(4):551-78.

24. วิไลรัตน์ เจริญใหม่รุ่งเรือง.ประสิทธิภาพการลดค่าบีโอดี ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสจากน้ำเสียโรงงานผักดองของสาหร่ายสไปรูไลนา (*Spirulina sp.*) [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อม].กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล; 2541.

Copyright by Mahidol University

รายการอ้างอิง (ต่อ)

25. สุรีย์วรรณ เบญจรงค์. การใช้สาหร่ายเกลียวทองเป็นอาหารแกะ [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต(เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาสัตวบาล].กรุงเทพฯ:บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2536.

26. อาภารัตน์ มหาขันธ์ และณัฐพร พันธุมนาวิน. คลังเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่าย:ความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2539; 11(2): 3-18.

27. ดวงรัตน์ อินทร. การนำสาหร่ายมาใช้ในทางเทคโนโลยีชีวภาพ. วารสารการส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม 2542; 22(3): 100-4.

28. Venkataraman, L.V. A Monograph on *Spirulina platensis*. New Delhi: Technological Research Institute Mysore India; 1983.

29. สุมาลี ดุลยอนุกิจ. ผลของระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในสูตรอาหาร Zarrouk ต่อการเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina sp.*) [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต(เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง]. กรุงเทพฯ:บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2535.

30. Kaplan,D., A.E. Richmond, Z. Dubinsky and S. Aaronson. Algal nutrition In: A. Richmond (ed.). CRC Handbook of Microalgal Mass Culture. Boca Raton, Florida: CRC Press,Inc; 1986. p. 147-98.

31. Richmond, A. Phototrophic microalgae. Biotechnology 1983; 3: 109-43.

32. Vonshak, A. and Maske, H. Algae: Growth techniques and biomass production In: Coombs,J. and Hall, D.O.(eds.). Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis. Oxford: Pergamon Press; 1982. p. 66-77.

33. Santillan, C. Mass production of *Spirulina*. Experientia 1982; 38: 40-3.

34. ลัดดา วงศ์รัตน์. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. พิมพ์ครั้งที่1.กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2540.

35. เจียมจิตต์ บุญสม. การสำรวจสาหร่ายเกลียวทอง(*Spirulina*). ใน: สถาบันวิจัยประมงน้ำจืดแห่งชาติ. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2530; 15-17 กันยายน 2530.กรุงเทพฯ. หน้า 329.

Copyright by Mahidol University

รายการอ้างอิง (ต่อ)

36. พรทิภา ตั้งใจตรง. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูไลนา [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสภาวะแวดล้อม] กรุงเทพมหานคร:บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2533.

37. Richmond, A. and K. Preiss. The Biotechnology of Algal Culture. Interdisciplinary Sci Rev 1980; 5 : 60-70.

38. Reed, R.H., S.R.C. Warr, D.L. Richardson and D.J. Moore. Blue-green algae (cyanobacteria): prospects and perspectives. Plant and Soil 1985; 89: 97-106.

39. Chiu, R.J., H.I. Liu, C.C. Chen, Y.C. Chi, H. Shao, P. Soong and P.L.C. Hao. The Autotrophic Growth of *Spirulina platensis* in Mass Treatment and Utilization. Council for Agricultural Planning and Development, Taiwan; 1980, 43 p.

40. สุชาติ อิงธรรมจิตร์, สุมาลี ดุลยอนุกิจ และวราวุธ จอกเงิน. การทดสอบเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina*) ในถังที่มีน้ำหมุนเวียนตลอดเวลากับหมุนเวียนเป็นครั้งคราว.ใน: สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. การประชุมวิชาการประมง 2528; กรุงเทพฯ. 10 หน้า.

41. Fogg, G.E. and B. Thake. Algal Cultures and Phytoplankton Ecology. 3rd ed., England: The University of Wisconsin Press; 1987. 425p.

42. Piorreck, M., K.H. Baaasch and P. Pohl. Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. Phytochemistry 1984; 23(2): 207-16.

43. Boussiba, S. and Richmond, A.E. C-Phycocyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis*. Chem Abstr. 1980;101:561.

44. Richmond,A. Outdoor mass culture of microalgae. In : A. Richmond (ed.) CRC Handbook of Microalgae Mass Culture. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 1986 b, p.285-329.

45. พรพรรณ ยังเหลือ.การทดลองเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทองด้วยอาหาร 3 ชนิด.ใน: สถาบันวิจัยประมงน้ำจืดแห่งชาติ. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2528; 18-20 กันยายน 2528. กรุงเทพฯ. หน้า 193-9.

Copyright by Mahidol University

รายการอ้างอิง (ต่อ)

46. สมบูรณ์ ผู้พัฒน์, ไปรมา ยงมานิตชัย, หยกแก้ว ยามาลี, กัญญา สุจริตวงศานนท์ และไพลิน ผู้พัฒน์. การคัดเลือกและหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว *Spirulina* เพื่อใช้เป็นอาหารมนุษย์. รายงานผลการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ประจำปี 2530-2532.

47. Bourges, H., Sotomator, A., Mendoza, E., and Chavez, A. Utilization of the alga *Spirulina* as a protein source , Nutr Rep Int 1971; 4: 31.

48. Switzer, L., Spirulina, The whole food revolution, Toronto: Bantam Books; 1982.

49. Oswald, W.J. and Gotaas, H.B. Photosynthesis in sewage treatment. Trans Amer Soc Civ Eng 1955; 122: 73-97.

50. Metcalf and Eddy, Inc. Wastewater Engineering, Treatment Disposal, Reuse. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 1979.

51. Oswald, W.J. The role of microalgae in liquid waste treatment and reclamation .In: Lembi, C.A. and Waaland, J.R.(eds.) Algae and Human Affairs. 1st ed, U.S.A.: Cambridge University Press; 1988. p. 255-81.

52. Polprasert , C. Organic Waste Recycling. UK.: John Wiley and sons, Ltd.; 1989. 357p.

53. ไปรมา ยงมานิตชัย, สมบูรณ์ ผู้พัฒน์ และหยกแก้ว ยามาลี. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina sp.* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโซเดียมไบคาร์บอเนตระดับต่างๆ กัน. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์ 2531; 22(4): 303-10.

54. ใจทิพย์ พินิจค้า. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina sp.*) โดยใช้น้ำเค็มจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสภาวะแวดล้อม].กรุงเทพฯ:บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2532.

55. Oron, G., Shelf, G. and Levi, A. Growth of *Spirulina maxima* on Cow-Manure Wastes. Biotechnol and Bioeng 1979; 21(12): 2169-73.

56. เจียมจิตต์ บุญสม, สุชาติ อิงธรรมจิตร์ และสุมาลี ดุลยอนุกิจ. การใช้ Biogas Effluent เลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง(*Spirulina*).ใน: สถาบันวิจัยประมงน้ำจืดแห่งชาติ. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2528; 16-18 กันยายน 2528. กรุงเทพฯ. หน้า 1-16.

Copyright by Mahidol University

รายการอ้างอิง (ต่อ)

57. Tsai, PH. Mass Culture and utilization of *Spirulina platensis* grown on fermented hog manure. In: Chung P.,editor. Animal waste treatment and utilization. Tai Pei: Council for Agricultural Planning and Planning; 1980. p. 399-413.

58. อำนาจ ศิริเพชร, พิมพรรณ ตันสกุล และดวงรัตน์ เทศประสิทธิ์. การเพาะเลี้ยง *Spirulina sp.* ในอาหารที่เตรียมจากดิน. วารสารสงขลานครินทร์ 2531; 10(2): 157-68.

59. นฤมล ศุภจรรยา, บุษยา บุนนาค และพิศมัย ภูรินสินสิทธิ์. รายงานการวิจัย เรื่อง สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina sp.*) จากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี; 2529.

60. หยกแก้ว ยามาลี, สมบูรณ์ ผู้พัฒน์, ไพลิน ผู้พัฒน์ และอรุณวรรณ บุญก่อสร้าง. รายงานการวิจัย เรื่อง การเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* จากน้ำทิ้งแหล่งชุมชนเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์. กรุงเทพฯ : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ; 2533.

61. จรูญ ลีไตรรงค์. การนำน้ำกากส่าเหล้ามาเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา].เชียงใหม่: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2531.

62. วิลาสินี เหล่าพงษ์พิชญ์.การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในน้ำกากส่าเหล้า. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการสอนชีววิทยา].เชียงใหม่: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2532.

63. พิมพรรณ ตันสกุล และอารักษ์ จันทศิลป์. การเพาะเลี้ยง *Spirulina sp.* ในน้ำทิ้งจากโรงงานยางพารา. วารสารสงขลานครินทร์ 2531; 10(2): 149-55.

64. Fallowfield, H.J. and Garrett, M.K. The photosynthetic treatment of pig slurry in temperate climatic conditions: a pilot plant study. Agricultural wastes 1985c; 12: 111-36.

65. สุรวดี นาคธน. การลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรด้วยสาหร่ายสีเขียว *Chlorella sp.* [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม]. กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล; 2529.

66. J. de la Noue and Basseres, A. Biotreatment of Anaerobically Digested Swine Manure with Microalgae. Biological Wastes 1989; 29(1): 17-31.

67. เปรมจิตต์ แทนสถิตย์. การศึกษานำผลพลอยได้ที่เกิดจากการผลิตก๊าซชีวภาพมาใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียว. วารสารวิทยาศาสตร์ 2525; 36(5) : 325-30.

Copyright by Mahidol University

รายการอ้างอิง (ต่อ)

68. Vonshak, A., S. Boussiba, A. Abeliovich and A. Richmond. Production of *Spirulina* biomass : Maintenance of monoalgal culture outdoors. Biotechnol Bioeng 1983; 25: 341-9.

69. Chaudhari, P.R. , Krinshnamoorthi, K.P. and Vittal Rao, M. Growth potential of *Spirulina* , a blue green algae in sewage. Plant Science 1980; 89: 203-11.

70. Nakamura, H. *Spirulina*: Food for hungry world. University of the Tress Press, Boulder Creek, California; 1982.

71. Chung, P. , W.G. Pond, J. M. Kingsbury, E.F. Walker, Jr. and L. Krook. Production and Nutritive value of *Arthrospira platensis* a spiral blue green algae grown on swine waste. J Anim Sci 1978; 47(2) : 319-30.

72. Emerson, K., R.C. Russo, R.E. Lund and R.V. Thurston. Aqueus ammonia equilibrium calaulations : effect of pH and temperature. J Fish Res Board Can 1975; 32(9): 2379-83.

73. Warren, K.S. Ammonia toxicity and pH. Nature (London) 1962; 195: 47-9.

74. Golueke, C.P., W.J. Oswald and H.K. Gee. Effect of nitrogen additives on algal yield. J Water Pollut Control Fed 1967; 39: 823-34.

75. Anthony G. Miller, David H. Turpin and David T. Canvin. Na^+ Requirement for Growth, Photosynthesis and pH Regulation in the Alkalotolerant Cyanobacterium *Synechococccus leopoliensis* . J Bacteriol 1984; 159(1): 100-6.

76. เยาวลักษณ์ อัมพรรัตน์, ประกิตติ์สิน สีหนนทน์, พรทิพา ตั้งใจตรง, ฉิฏฐารัตน์ ปภางสิทธิ์, อรัญ อินเจริญศักดิ์ และเปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต. สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเจริญของ *Spirulina platensis* สายพันธุ์ที่ได้จากโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา. ใน เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวตและคณะ. ประมวลประชุมวิชาการเรื่อง ทรัพยากรสิ่งมีชีวิตทางน้ำ ครั้งที่ 3 , 17-18 มกราคม 2534, โรงพิมพ์จุฬาฯ; กรุงเทพฯ.

77. Chu, S.P.The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae: Part II The influence of the concentration of inorganic nitrogen and phosphate phosphorus. In: Mackenthun, K.M.(ed.) Nitrogen and Phosphorus in water. U.S. Department of health, education and welfare; 1943.

Copyright by Mahidol University

รายการอ้างอิง (ต่อ)

78. Panovi, J.L., Heiber, S.W. and Boblitt, G.T. The harvesting of algae as a food source from wastewater using natural and induced flocculation techniques. Paper presented at the conference on the use of wastewater in the production of food and fiber, Oklahoma; 6-8 March 1974.

79. Edward J. Kuenzler. Dissolved organic phosphorus excretion by marine phytoplankton . J Phycol 1970; 6(1): 7-13.

Copyright by Mahidol University



ภาคผนวก

Copyright by Mahidol University

ภาคผนวก ก.

ข้อมูลทั่วไปของฟาร์ม

ที่ตั้ง บุญมีฟาร์ม หมู่ 7 ตำบลทุ่งหลวง อำเภอปากท่อ จังหวัดราชบุรี

สภาพฟาร์ม

ฟาร์มสร้างใหม่ขนาดใหญ่ พื้นที่ประมาณ 150 ไร่ อยู่ห่างชุมชนพอสมควร, เลี้ยงสุกรจำนวนทั้งหมด 13,000 ตัว, ขนาดโรงเรือน 20 x 110 เมตร จำนวน 10 หลัง ,สระพักขนาด 36,000 ลบ.ม. และใช้น้ำจากแหล่งน้ำใต้ดิน ลึก 50 เมตร, ต้องการพลังงานไฟฟ้า 40 กิโลวัตต์ โดยมีการใช้เทคโนโลยีก๊าซชีวภาพเพื่อลดมลภาวะ บำบัดน้ำเสีย ผลิตพลังงานและปุ๋ยอินทรีย์ รวมทั้งนำน้ำที่ผ่านการบำบัดกลับมาใช้ทำความสะอาดคอก แสดงภาพรวมของฟาร์มในรูปที่ 1

ปริมาณของเสีย

สุกรขุน (น้ำหนักเฉลี่ย 60 กิโลกรัม) จำนวน 13,000 ตัว คิดเป็นน้ำหนักสัตว์ยืนคอกโดยรวม 780,000 กิโลกรัม คิดเป็นหน่วยปศุสัตว์ 1,560 กิโลกรัม (1 นปส. = น้ำหนักสุกรยืนคอกรวมกัน 500 กิโลกรัม)

มูลสด (Mc 65%)	16,490	กิโลกรัม/วัน
ปัสสาวะ	41,230	ลิตร/วัน
น้ำทำความสะอาดคอก	288,600	ลิตร/วัน
รวมน้ำเสียที่เกิดขึ้น	346,320	ลิตร/วัน
ปริมาณน้ำเสีย	350,000	ลิตร/วัน

สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียตามพารามิเตอร์โดยประมาณได้ดังนี้

TS		VS		COD		BOD	
กก./วัน	มก./ล.	กก./วัน	มก./ล.	กก./วัน	มก./ล.	กก./วัน	มก./ล.
5,772	16,491	4,502	12,863	6,302	18,008	3,150	9,000

ระบบรางและท่อส่งน้ำเสีย

ระยะทางรวมประมาณ 500 เมตร จาก 10 โรงเรือน

Copyright by Mahidol University

ระบบก๊าซชีวภาพ

1. บ่อรวมน้ำเสีย จำนวน 2 ชุด ขนาด (เส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เมตรและลึก 4 เมตร) และความจุ 30 ลบ.ม.

2. บ่อหมักช้าแบบราง จำนวน 2 ชุด ขนาด 7x42x4 เมตร ความจุ 1,000 ลบ.ม. , ระยะพักตัวของน้ำเสียโดยเฉลี่ย 7 วัน, ระยะพักตัวของน้ำเสียส่วนใส 12 ชั่วโมง, ระยะพักตัวของน้ำเสียส่วนข้น 20 วัน และความจุในการเก็บก๊าซ ประมาณ 450 ลบ.ม.

3. บ่อหมักเร็วแบบ UASB จำนวน 4 ชุด ขนาด (เส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เมตรและลึก 6.8 เมตร) ความจุ 200 ลบ.ม. และระยะเวลาบำบัดประมาณ 25 ชั่วโมง

4. ลานกรองของแข็ง จำนวน 1 ชุด ขนาด 22x 48 เมตร พื้นที่ 1,056 ตร.ม. และระยะพักตัวของตะกอนเพื่อแห้ง 4 วัน

ระบบบำบัดขั้นหลัง

1. สระปรับเสถียร จำนวน 1 ชุด พื้นที่เปิด 2,200 ตร.ม. ลึก 1.5 เมตร ความจุ 3,300 ลบ.ม. และระยะพักตัวเพื่อการบำบัด 14 วัน

2. บึงประดิษฐ์ จำนวน 1 ชุด ลึก 1.5 เมตร, พื้นที่รวม (9.3 ไร่) 15,000 ตร.ม. และระยะการบำบัดน้ำประมาณ5.6วัน

3. สระพักเก็บน้ำ จำนวน 2 ชุด ชุดที่ 1 มีพื้นที่เปิด 1,650 ตร.ม. และความจุประมาณ 1,650 ลบ.ม. และชุดที่ 2 มีพื้นที่เปิด 6,000 ตร.ม. และความจุประมาณ 60,000 ลบ.ม.

ด้านการผลิตพลังงาน

ระบบก๊าซชีวภาพ (บ่อหมักช้าแบบราง 2 ชุด + บ่อหมักเร็วแบบ UASB 4 ชุด) ผลิตก๊าซชีวภาพ 1,000 ลบ.ม./วัน มีส่วนประกอบของ CH_4 60-65% และสามารถใช้เทียบเท่า (ทดแทน) แหล่งพลังงานชนิดอื่น ได้แก่ ก๊าซหุงต้ม 470 กิโลกรัม/วัน, น้ำมันดีเซล 600 ลิตร/วัน, น้ำมันเบนซิน 670 ลิตร/วัน, ฟืนไม้ 1,500 กิโลกรัม/วัน และสามารถผลิตไฟฟ้าได้สูงสุด 1,000 กิโลวัตต์-ชั่วโมง/วัน กำลังการผลิตกระแสไฟฟ้า 40-60 กิโลวัตต์ ,ระยะเวลาที่ใช้ 10-16 ชั่วโมง/วัน, ปริมาณก๊าซ ชีวภาพที่ต้องการใช้ 400-960 ลบ.ม./วัน และคิดเป็นมูลค่า(2,400 บาท/วัน) 864,000 บาท/ปี

ด้านสิ่งแวดล้อม

ลดมลภาวะกลิ่นและแมลงวันได้ สำหรับการบำบัดน้ำเสีย สามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้ น้ำเสียจากคอกสัตว์ ปริมาณ 350 ลบ.ม./วัน มีค่า COD ประมาณ 18,000 มก./ล. และ ค่าBOD ประมาณ 9,000 มก./ล. เมื่อผ่านการบำบัดด้วยระบบก๊าซชีวภาพ ประสิทธิภาพการลดค่า COD ประมาณ 95% และประสิทธิภาพการลดค่า BOD ประมาณ 95% หรือคิดเป็นเชิงปริมาณ พบว่า COD ที่ออกจากระบบมีค่าประมาณ 1,000 มก./ล. และ BOD ที่ออกจากระบบมีค่าประมาณ 400

Copyright by Mahidol University

มก./ล. ในส่วนระบบบำบัดขั้นหลังประสิทธิภาพการลดค่า COD ประมาณ 85% และประสิทธิภาพการลดค่า BOD ประมาณ 85% หรือคิดเป็นเชิงปริมาณ พบว่า COD ณ สระพักน้ำมีค่าน้อยกว่า 200 มก./ล. และ BOD ณ สระพักน้ำมีค่าน้อยกว่า 60 มก./ล. และสามารถลดการแพร่กระจายของก๊าซมีเทน ประมาณ 90%

ผลิตปุ๋ยอินทรีย์

ปุ๋ยอินทรีย์ที่ได้จากลานกรองของแข็ง มีความชื้น 15% ผลิตได้ประมาณ 3,000- 4,000 กก./วัน หรือ 1,000-1,500 ตัน/ปี

ผลิตน้ำที่สามารถนำกลับมาใช้งานได้

สามารถนำน้ำจากสระพักเก็บน้ำประมาณ 150 ลบ.ม./วัน กลับมาใช้งาน โดยไม่กระทบกระเทือนต่อสภาพการเก็บน้ำในสระตลอดปี

การก่อสร้าง

การก่อสร้างระบบทั้งหมดประกอบด้วย 1.ระบบรางและท่อส่งน้ำเสีย 2. ระบบก๊าซชีวภาพ 3. ระบบท่อส่งก๊าซชีวภาพและอุปกรณ์ 4. ระบบสายส่งไฟฟ้า และ 5. ระบบบำบัดน้ำเสียขั้นหลัง ใช้เงินลงทุนทั้งสิ้น ประมาณ 8 ล้านบาท ระยะเวลาในการก่อสร้าง (มกราคม – สิงหาคม พ.ศ. 2540) รวม 7 เดือน

การสนับสนุน

*ได้รับการสนับสนุนด้านการสำรวจ/ ออกแบบ/ ควบคุมงานก่อสร้าง/ ติดตั้งและทดสอบระบบ/ เริ่มต้นเดินระบบ/ แนะนำการใช้พลังงาน และติดตามการทำงานของระบบฯ จากโครงการส่งเสริมการผลิตก๊าซชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ โดยหน่วยบริการก๊าซชีวภาพ สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณค่าก่อสร้างระบบก๊าซชีวภาพ เป็นเงิน 2,256,000 บาท จากกองทุนเพื่อส่งเสริมการอนุรักษ์พลังงาน สำนักงานคณะกรรมการนโยบายพลังงานแห่งชาติ สำนักนายกรัฐมนตรี

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 1 สภาพทั่วไปของฟาร์มบุญมี อำเภอปากท่อ จังหวัดราชบุรี (ระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2543 – เดือนเมษายน พ.ศ. 2544 (**1-A** แสดง บ่อรวมน้ำเสีย, **1-B** แสดง บ่อหมักช้าแบบราง, **1-C** แสดง สระปรับเสถียร ซึ่งระหว่างเก็บตัวอย่างน้ำเสีย ฟาร์มจัดให้มีการเติมอากาศตลอดเวลา และ **1-D** แสดง บึงประดิษฐ์ ที่ปลูกต้นธูปฤาษี)

Copyright by Mahidol University

ภาคผนวก ข.

สูตรอาหารมาตรฐาน Zarrouk ที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina*

	$NaHCO_3$	16.80	g/l
	K_2HPO_4	0.50	g/l
	$NaNO_3$	2.50	g/l
	K_2SO_4	1.00	g/l
	NaCl	1.00	g/l
	$MgSO_4.7H_2O$	0.20	g/l
	$CaCl_2$	0.04	g/l
	$FeSO_4.7H_2O$	0.01	g/l
	EDTA	0.08	g/l
	Solution A5	1.00	ml/l
	Solution B6	1.00	ml/l
Solution A5 :	H_3BO_3	2.85	g/l
	$MnCl_2.4H_2O$	1.81	g/l
	$ZnSO_4.7H_2O$	0.222	g/l
	$CuSO_4.5H_2O$	0.079	g/l
	MoO_3	0.015	g/l
Solution B6 :	NH_4VO_3	22.96	mg/l
	$KCr(SO_4)_2.12H_2O$	192.00	mg/l
	$NiSO_4.6H_2O$	44.80	mg/l
	$Na_2WO_4.2H_2O$	17.94	mg/l
	$Co(NO_3)_2.6H_2O$	43.98	mg/l
	$TiOSO_4.H_2SO_4.8H_2O$	61.10	mg/l

ที่มา : สมบูรณ์ (46)

Copyright by Mahidol University

ภาคผนวก ค.

การวัดการเจริญเติบโต

ในการศึกษานี้วัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยใช้

1.) ความขุ่นหรือความหนาแน่นของเซลสาหร่าย (turbidity, optical density หรือ OD.) ค่าความหนาแน่นของเซลเป็นข้อมูลที่เชื่อถือได้ และสามารถทำได้อย่างรวดเร็ว ใช้ในการกำหนดการเจริญเติบโตของสาหร่าย น้ำสาหร่ายจะต้องถูกทำให้กระจายเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenous) ก่อนทำการวัด และทำการวัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 450 – 650 นาโนเมตร (nm) (44)

2.) น้ำหนักแห้งของสาหร่าย การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของสาหร่ายเป็นการวัดปริมาณมวลสาหร่ายโดยตรง นำเซลสาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยงอยู่ในอาหารเหลวปริมาตร 20 มิลลิลิตร มาใส่ลงในชุดกรองเมมเบรน (Millipore) กรองผ่านกระดาษกรอง Sartorius-membranefilter GMBH ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร ขนาดช่องผ่าน 0.6 ไมโครเมตร ต่อชุดกรองเข้ากับเครื่อง vacuum pump เพื่อดึงน้ำเลี้ยงออก เหลือแต่เซลสาหร่ายติดอยู่บนเยื่อกรอง จากนั้นล้างเซลด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร 2 ครั้ง เพื่อล้างสารอาหารที่ติดอยู่กับเซลออก หลังจากนั้นจึงนำเซลออกจากเยื่อกรองโดยใช้หลอดฉีดยา(syringe) ฉีดล้างเซลที่ติดอยู่กับเยื่อกรองด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 15 มิลลิลิตรให้ลงในขวดชั่ง(weighing bottle) แล้วนำขวดชั่งที่มีเซลสาหร่ายอยู่ไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น เพื่อให้น้ำหนักคงที่ ปราศจากความชื้นก่อนนำไปชั่งหาน้ำหนักสุดท้าย (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) โดยจะมีขวดชั่งที่มีแต่น้ำกลั่นปริมาตร 15 มิลลิลิตร เป็น blank และนำค่าที่ได้ไปคำนวณตามสูตร (ค่าที่ได้จะเท่ากับกรัมของน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรอาหาร 1 ลิตร)

$$DW = \frac{(W_f - W_i) \times 1000}{V}$$

DW = น้ำหนักเซลแห้ง หน่วยเป็นกรัม/ลิตร

W_f = น้ำหนักสุดท้ายของเซลสาหร่ายและขวดชั่ง

W_i = น้ำหนักเริ่มต้นของขวดชั่ง

V = ปริมาตรของตัวอย่าง หน่วยเป็นมิลลิลิตร

Copyright by Mahidol University

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยมหิดล

ข้อควรระวังในการวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของสาหร่าย (29)

1. การสุ่มตัวอย่าง ควรแกว่งสาหร่ายให้กระจายเป็นเนื้อเดียวกันก่อนเก็บตัวอย่าง
2. การล้างเนื้อสาหร่าย เพื่อกำจัดพวกเกลือแร่หรืออนุภาคอื่นๆ ควรระวังไม่ให้สาหร่ายเกิดการช็อคเนื่องจากแรงดันออสโมติกของ media นั้นเปลี่ยนแปลงมากเกินไป โดยทั่วไปใช้สารอาหารที่เจือจางหรือสารบัฟเฟอร์ล้าง
3. การทำแห้ง ช่วงอุณหภูมิที่ใช้ คือ 70 – 110 °C ตัวอย่างสาหร่ายควรได้รับความร้อนในระดับที่เหมาะสม คือ หลีกเลี่ยงความร้อนน้อยเกินไป จะทำให้ตัวอย่างไม่แห้งพอ, ไม่ให้ความร้อนนานเกินไป และตัวอย่างควรมีน้ำหนักแห้งที่คงที่ เมื่อได้รับความร้อนนานประมาณ 1 ชั่วโมง
4. การชั่งน้ำหนัก หลังจากทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น จนอุณหภูมิลดลงเท่าอุณหภูมิห้อง รีบชั่งน้ำหนักทันที เพื่อป้องกันการดูดความชื้นในอากาศ ผลที่วัดได้ คือ น้ำหนักแห้งต่อปริมาตรอาหารที่ใช้

ปัจจัยที่ทำให้การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของสาหร่ายเกิดความผิดพลาดขึ้น(29) ได้แก่ ปริมาณของน้ำตัวอย่างที่เก็บมาวิเคราะห์ไม่เป็นตัวแทนที่ดีของตัวอย่าง,การสูญเสียเซลสาหร่ายระหว่างการแยกน้ำออกจากเนื้อสาหร่ายเนื่องจากเซลที่มีถุงก๊าซจะลอยตัวเมื่อใช้วิธีการcentrifugation หรือเนื่องจากการแตกของเซลเมื่อทำการล้างเซลด้วยน้ำกลั่น และการใช้วิธีการที่ไม่เหมาะสม ได้แก่ การให้ความร้อนน้อยเกินไปหรือมากเกินไป การทิ้งไว้ให้เย็นอย่างไม่พอเพียงก่อนการชั่งน้ำหนัก

3) อัตราการเจริญจำเพาะ ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบ batch culture ค่าที่ใช้ในการวัดอัตราการเพิ่มขึ้นของมวลสาหร่าย คือ ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (ดังนั้นค่าอัตราการเจริญจำเพาะจึงเป็นการแสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย) ในช่วงที่สาหร่ายมีการเจริญอย่างรวดเร็ว (exponential phase) ค่าอัตราการเจริญจำเพาะจะมีค่าคงที่ ค่าอัตราการเจริญจำเพาะคำนวณจากสูตรต่อไปนี้ (51)

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1}$$

โดย μ = อัตราการเจริญจำเพาะ

Ln = natural logarithms หรือ log ฐาน e

X_1 , X_2 = ความเข้มข้นของมวลสาหร่าย อาจใช้ค่าน้ำหนักแห้ง คลอโรฟิลล์ หรือความหนาแน่นของเซล (OD) เป็นต้น

t_1 , t_2 = เวลาที่วัดค่า X_1 , X_2 ตามลำดับ

Copyright by Mahidol University

ภาคผนวก ง.

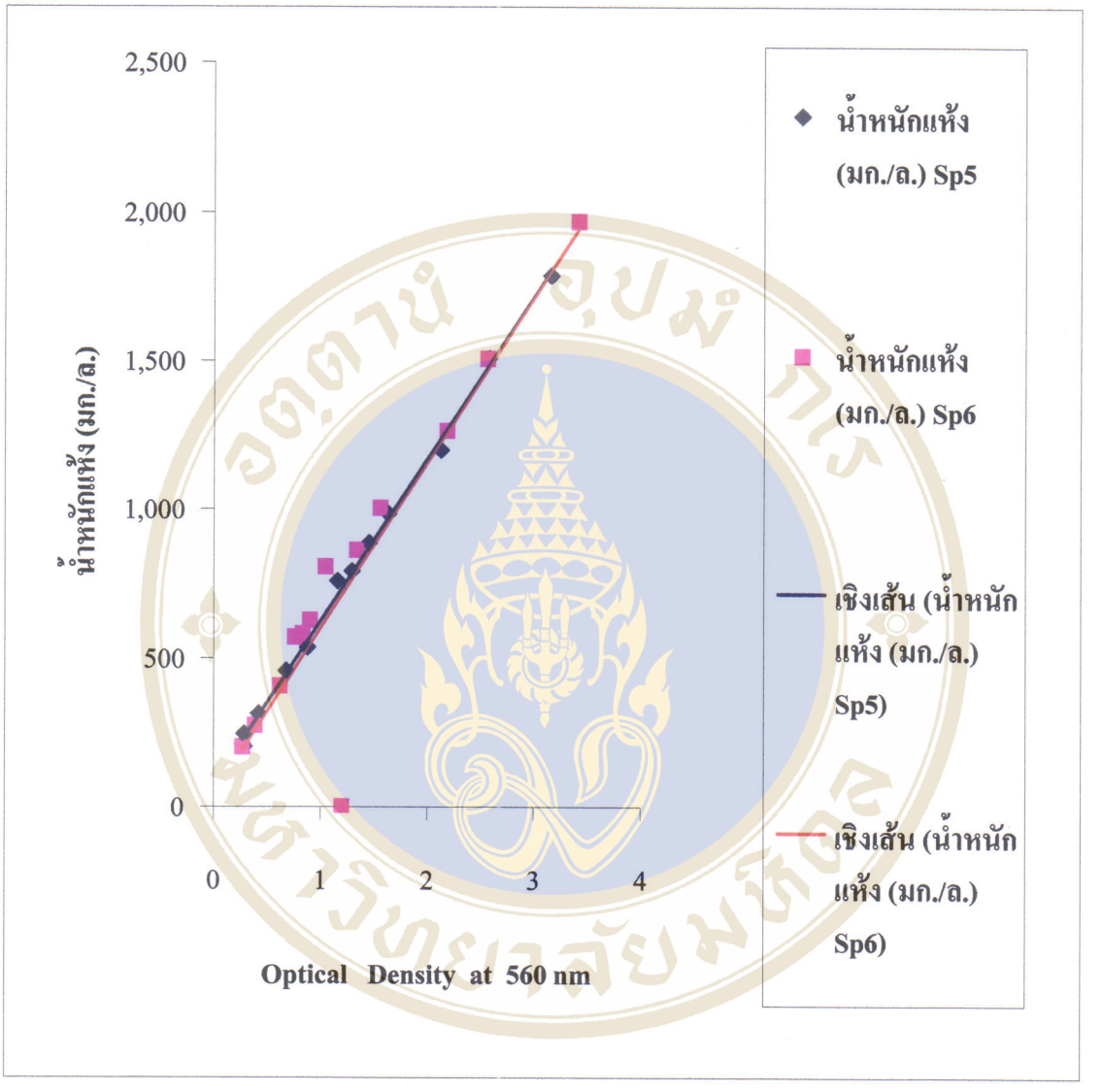
ความสัมพันธ์ระหว่าง OD_{560} กับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Spirulina*

ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (sp6) ในหลอดเลี้ยงสาหร่ายขนาด 200 มล. เลี้ยงในอาหารสูตร Zarrouk ทดลองในตู้เลี้ยงสาหร่ายแบบควบคุมอุณหภูมิ (30°C) ความเข้มแสง 10,000 ลักซ์ ช่วงเวลาให้แสง 16 ชั่วโมง และให้อากาศผสม CO_2 1-2% ตลอดเวลา พบว่า สาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ มีค่า OD_{560} แปรผันตามน้ำหนักแห้งดังตารางที่ 1 ทั้งนี้เนื่องจากสาหร่ายเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนมากขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยง ทำให้สามารถดูดกลืนแสงได้มากขึ้น จากรูปที่ 2 พบว่าสาหร่าย *Spirulina platensis* (sp5) มีน้ำหนักแห้งประมาณ 220.8 มก./ล. จะมีค่า OD_{560} ประมาณ 0.282 และสาหร่าย *Spirulina maxima* (sp6) มีน้ำหนักแห้งประมาณ 238 มก./ล. จะมีค่า OD_{560} ประมาณ 0.325

ตารางที่ 1 ค่า Optical Density (OD_{560}) กับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Spirulina platensis* (sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (sp6) เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Zarrouk

สาหร่าย *Spirulina platensis* (sp5)		สาหร่าย *Spirulina maxima* (sp6)	
OD_{560}	น้ำหนักแห้ง (มก./ล.)	OD_{560}	น้ำหนักแห้ง (มก./ล.)
0.273	211.33	0.265	200.86
0.285	203.5	0.385	275.33
0.289	247.5	0.618	408
0.424	314.5	0.76	570.33
0.68	458	0.83	581.66
0.88	536.5	0.9	625.5
1.16	759.75	1.044	806.5
1.3	792.33	1.2	818..4
1.46	886.33	1.34	863.33
1.64	985.6	1.56	1,004
2.13	1,199.5	2.18	1,264.5
2.58	1,508	2.56	1,506
3.16	1,786.5	3.41	1,968.66

Copyright by Mahidol University



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Optical Density (OD_{560}) กับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Spirulina platensis* (sp5) และสาหร่าย *Spirulina maxima* (sp6) เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Zarrouk 100%

Copyright by Mahidol University

ภาคผนวก จ.

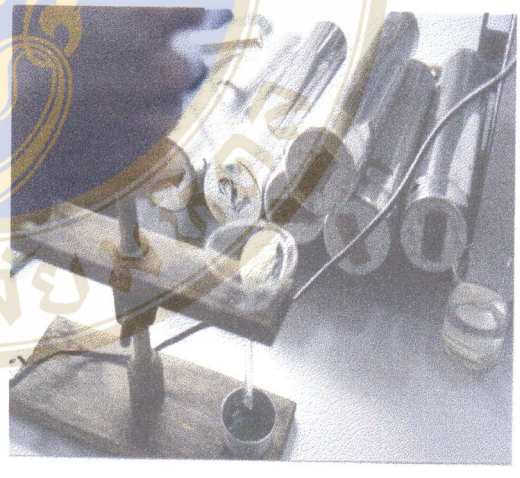
รูปภาพประกอบการทดลอง

รูปที่ 1 แสดงขั้นตอนต่างๆ เพื่อเตรียมวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของสาหร่าย



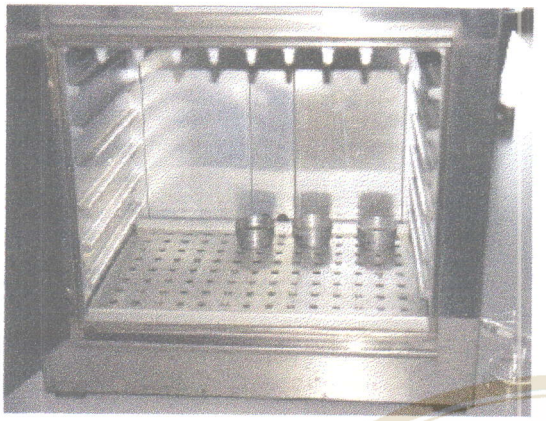
1) กรองเนื้อสาหร่ายด้วย millipore membrane





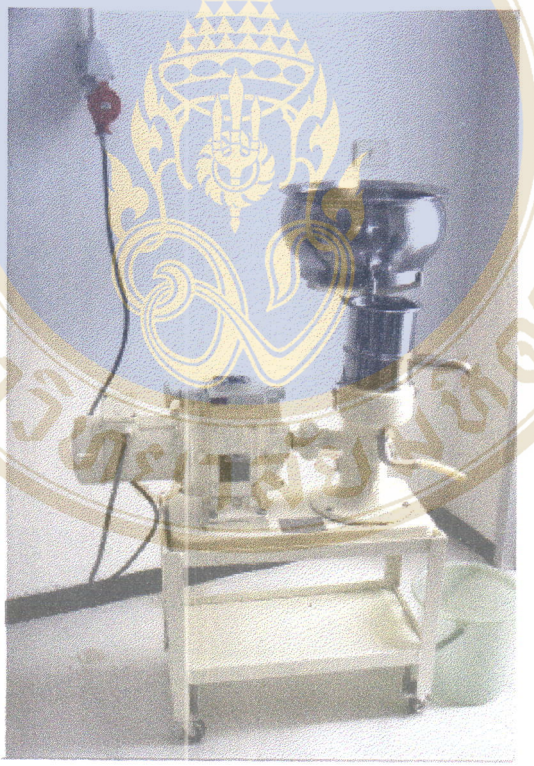
2) นำกระดาษกรองที่ใช้กรองเนื้อสาหร่าย มาฉีดล้างด้วยน้ำกรองใส่ในขวดชั่ง(weighing bottle)

Copyright by Mahidol University





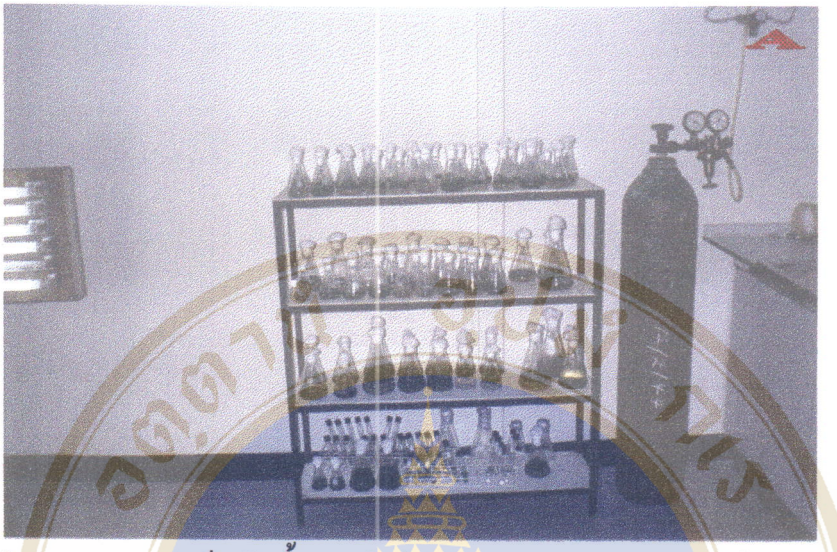
3) นำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103-105 °C ประมาณ 2 ชม. หรือจนกว่าจะแห้งแล้วนำขวดชั่งออกมาใส่ในโถดูดความชื้น(desiccator) ปล่อยทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วชั่งขวดชั่งเพื่อวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของสาหร่าย



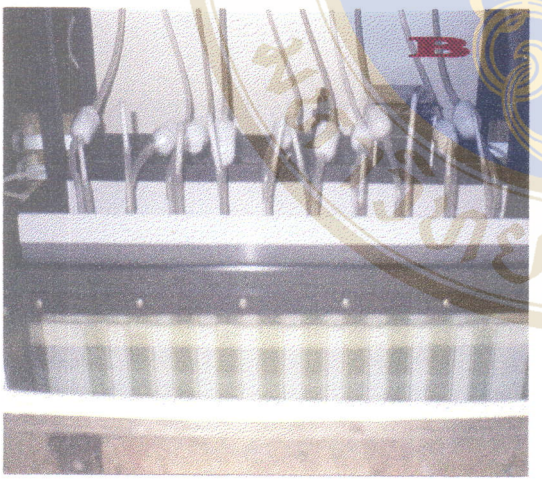
รูปที่ 2 เครื่อง centrifuge ใช้ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที

Copyright by Mahidol University

รูปที่ 3 การเตรียมหัวเชื้อตั้งต้นเพื่อใส่ในอาหารทดลอง และขยายเพื่อการเพาะเลี้ยงในโหลทดลอง



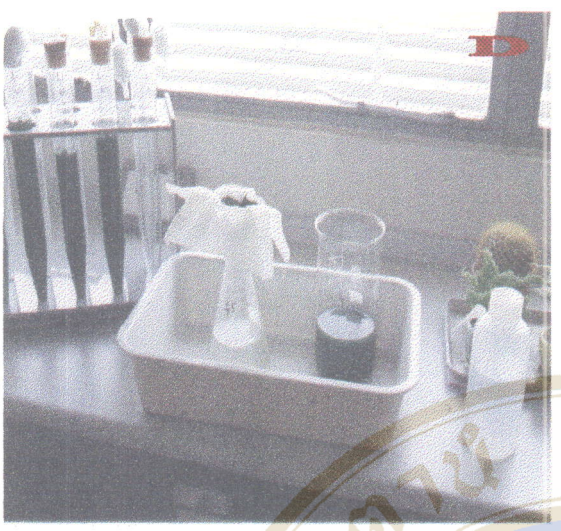
รูป A แสดงการเก็บหัวเชื้อสาหร่ายในอาหารสูตร Zarrouk บรรจุใน Flask หรือ หลอดขนาดเล็กที่มีฝาเกลียว โดยตั้งทิ้งไว้ในห้องปรับอากาศ และมีแสงเล็กน้อย เพื่อให้สาหร่ายเจริญอย่างช้าๆ





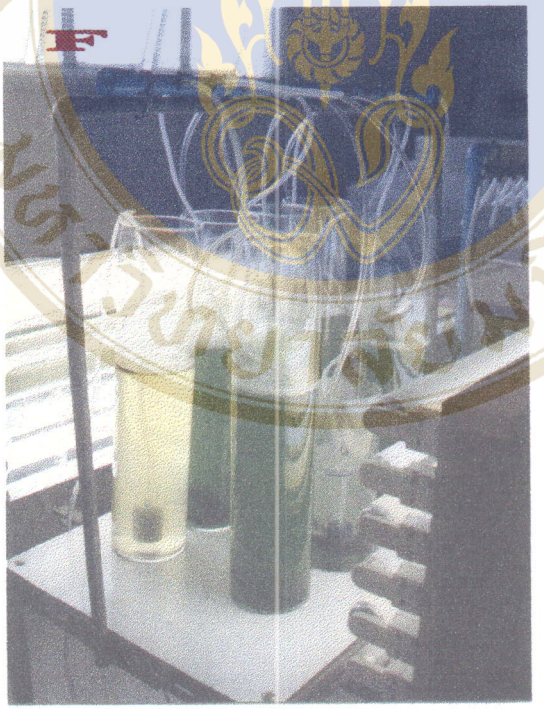
รูป B นำกล้าเชื้อมาขยายเพิ่มจำนวนในอาหารสูตร Zarrouk บรรจุในหลอดเลี้ยงสาหร่ายขนาด 200 มิลลิลิตร เลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (30°C) เป็นระยะเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ และ**รูป C** แสดงหัวเชื้อสาหร่ายเข้มข้นที่ได้จากการขยายเชื้อ พร้อมใช้เป็นกล้าเชื้อตั้งต้นในการเพาะเลี้ยงต่อไป

Copyright by Mahidol University





รูป D การกรองเนื้อสาหร่ายด้วยผ้ากรองที่มีตาถี่ 50 ไมครอน และ**รูป E** แสดงการล้างเนื้อสาหร่ายที่ติดบนผ้ากรองด้วยน้ำกรองเพื่อล้างสารเคมีในสูตรอาหาร Zarrouk ที่อาจติดเซลสาหร่ายออกให้สะอาด ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองใหม่



รูป F นำกล้าเชื้อสาหร่ายใส่ลงในน้ำทิ้งจากการหมักมูลสุกร และปรับอัตราการให้อากาศ เพื่อช่วยกวนให้สาหร่ายกระจายตัวในน้ำเพาะเลี้ยง (ทำให้สาหร่ายไม่จมตัวที่ก้นโหล) ทั้งยังทำให้สาหร่ายได้รับแสงและอาหารอย่างทั่วถึง

Copyright by Mahidol University

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นางสาวสุธิดา ชื่นเจริญ
วัน เดือน ปีเกิด	25 สิงหาคม 2515
สถานที่เกิด	จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	มหาวิทยาลัยมหิดล, พ.ศ. 2533 – 2538 วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาธารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขาภิบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, พ.ศ. 2540 – 2544 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม
ทุนวิจัย	-
ที่บ้าน	473/1 ซ. เพชรเกษม 100 ถ. เพชรเกษม แขวงบางแคเหนือ เขตบางแค กรุงเทพฯ 10160

Copyright by Mahidol University

Executive Summary

" Utilization of *Spirulina* in Treatment of Effluent from Swine Manure Fermentation "

Suthida Chuencharoen
M.Sc.(Technology of Environmental Management),
Faculty of Graguate Studies, Mahidol University.

Introduction

Wastewater from swine farms has the residual biodegradable organic wastes, which pollute natural water (eutrophication), have bad smell (such as ammonia, hydrogensulfide, methane, mercaptan, volatile organic acids, etc.), and should be the breeding place of microorganisms and animals, which are carrier of epidemic diseases.

In the present, many swine farms use biogas system to ferment swine manure for treating swine wastewater. The biogas system is useful to protect and solve the water pollution as well as to produce biogas (by product energy) used in farm. Effluent quality from swine manure fermentation is usually over Swine Farm Effluent Quality Standards, therefore the effluent from swine manure fermentation should be post treated by biological methods. Waste-grown algal treatment system is one of the methods that should be able to treat this effluent well and also gives algae biomass for feed swine, fish, bird, etc.

Objectives

1. To study the possibility to cultivate *Spirulina* in effluent from swine manure fermentation.

2. To study and compare the wastewater treatment efficiency between 2 strains of *Spirulina* (Sp5 and Sp6) with the appropriate conditions for algal growth in lab scale for 14 days.

Methodology

This study used effluent from swine manure fermentation(FSM) at Boonmee Farm, Ratchaburi Province.The biogas system of this farm was installed by Biogas Advisory Unit (BAU), Science and Technology Research and Development Institute, Chiangmai University.This study was the experimental research, which aimed to search the appropriate environment conditions for growth of *Spirulina*(Sp5 and Sp6) and analysed the wastewater treatment efficiency. The experiment was divided into two parts:

Copyright by Mahidol University

1. Part I :

To find appropriate environment conditions for growth of *Spirulina* (Sp5 and Sp6).

1.1 Experimental set

Algae were cultivated in 200 ml algae-cultivated tubes, which were set in a chamber (30x60x40 cm^3) with control temperature (30°C), light intensity of 8,000-10,000 luxes and light:dark setting time of 16:8 hours.

1.2 Variable factors were:

1) Algal strains (Sp5 and Sp6)

2) Concentration of effluent from swine manure fermentation (25%, 50%, 75%, and 100%)

3) Proportion of air bubbling in algal culture for 24 hours per day (air or air + CO_2 1-2%)

4) Amounts of minerals to add for promoting algal growth were:

a. $NaHCO_3$ (4, 8, and 12 g/l)

b. NaCl (0, 1, 3, 5, and 7 g/l)

c. K_2SO_4 (0, 0.1, 0.25, 0.5, and 1 g/l)

5) Detention times (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 14 days)

1.3 Collection of algal growth data

1) Algal growth (OD_{560}) was measured every 2 days.

2) Algal sample was collected to study with a microscope and take photographs just for studying and comparing the growth between Sp5 and Sp6 in FSM at the different conditions, which was conducted to determine the appropriate condition for growth of *Spirulina* (Sp5 and Sp6).

3) The appropriate conditions for cultivation *Spirulina*(Sp5 and Sp6) were 25%FSM, bubbling air + CO_2 1-2% in algal culture for 24 hours per day and addition of some minerals ($NaHCO_3$ 4 g/l, NaCl 5 g/l, and K_2SO_4 0.25 g/l) for promoting growth. These selected conditions were used for further study in Part II.

Copyright by Mahidol University

2. Part II :

To study and compare the wastewater treatment efficiency between *Spirulina* (Sp5 and Sp6) (capability to remove nitrogen, phosphorus and COD in FSM during 14 days).

2.1 Experiment set

Algae were cultivated in 2,500 ml. glass cylinder bottles (diameters 4 inches and height 20 inches), which were stayed on the desk with the conditions of room temperature, light intensity of 5,000-6,000 luxes and light:dark setting time of 16:8 hours.

2.2 Control set

1) Control set for comparing algal growth (CG-5, CG-6)

Each stain of *Spirulina*(Sp5 and Sp6) were cultivated in Zarrouk 25% with the same conditions of experimental set and algal growth (OD_{560} , algal dry weight) was measured every 2 days.

2) Control set for comparing wastewater treatment efficiency (CW)

There was no algal cultivation and no mineral addition in this set.Only 25%FSM was aerated by air bubbling all the time in the condition of room temperature. Wastewater treatment efficiency was studied every 2 days.

2.3 Data collection and analysis

1) Algal growth was measured every 2 days.

2) Wastewater treatment efficiency was studied every 2 days. The wastewater parameters analysed were NH_3-N, NO_3^--N, PO_4^{3-}, and COD.

Results

The results of the experiment were as following:

1. The appropriated conditions selected to cultivate *Spirulina* were 25% FSM with the addition of $NaHCO_3$ 4 g/l, NaCl 5 g/l and K_2SO_4 (0.25 g/l), and aeration with air and CO_2 1-2% all the time.

2. In comparison the growth of *Spirulina*(Sp5) and *Spirulina*(Sp6), it was appeared that *Spirulina* (Sp5) could grow better than *Spirulina*(Sp6) which was contaminated with unwanted species and almost died in 8 days.

Copyright© by Mahidol University

3. During 14 days of cultivation in 25% FSM, the dry weight of *Spirulina* (Sp5) increased from the initial weight of 208.4-214.5 mg/l to 867.3-1,105.3 mg/l in the last day and the highest specific growth rate was between 0.71-0.82 day^{-1}.

4. During 14 days of cultivation in zarrouk 25%, the dry weight of *Spirulina* (Sp5) increased from the initial weight of 211.3 mg/l to 2,756.3 mg/l in the last day and the highest specific growth rate was 1.28 day^{-1}. *Spirulina* (Sp5) growth in 25% FSM was lower than cultivation in 25%Zarrouk.

5. *Spirulina*(Sp5) gave the highest NH_3-N reduction efficiency on the 8th day at 99.16%, while the control (no algae cultivation but only aeration with air all the time) gave the NH_3-N reduction efficiency on the 8th day at 99.31%.

6. *Spirulina*(Sp5) gave the highest PO_4^{3-} reduction efficiency on the 14th day at 88.65%, while the control gave the highest PO_4^{3-} reduction efficiency on the 14th day at 88.57%.

7. *Spirulina*(Sp5) gave the NO_3^--N reduction efficiency on the 2nd day at 44.18% then the efficiency decrease on the 4th to 10th day after that the efficiency increased to 88.06% on the 14th day.

8. *Spirulina*(Sp5) did not remove COD but increased COD by 10-20% .

9. It is suggested that *Spirulina*(Sp5) could reduce the nutrients in FSM especially ammonia- nitrogen, nitrate- nitrogen, and phosphate.

Recommendations

1. The experiment on cultivation of other strains of *Spirulina* in FSM should be conducted to select suitable strain that grow well in FSM.

2. Comparison of wastewater treatment efficiency by using *Spirulina*, *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Phormidium* or other water plants in removing BOD, NH_3-N, NO_3^--N, and PO_4^{3-} should be studied. For small algae which are difficult to be harvested, daphnia or fish culture may be applied in further step to feed on algae.

Copyright by Mahidol University