

## การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กในน้ำทิ้งฟาร์มสุกร และการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย\*

### The study of optimum conditions for microalgae culture in piggyery wastewater and algae oil production

เจนจิรา แซ่คู (Jenjira Saekoo)\*\*

ธนวรรณ พาณิชพัฒน์ (Thanawan Panich-Pat)\*\*\*

#### บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กในน้ำทิ้งฟาร์มสุกร และการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ศึกษาคุณภาพน้ำทิ้งฟาร์มสุกรหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก และเพื่อศึกษาปริมาณชีวมวลและน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก ผลการศึกษาพบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้สูงสุดคือ  $83 \times 10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ คุณภาพน้ำทิ้งหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) เป็นกลาง อยู่ในช่วง 7.99-8.98 ค่าการนำไฟฟ้า (EC), ค่าของแข็งทั้งหมด (TSS), ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TDS), ค่าไนโตรเจนทั้งหมด (TN), และค่าฟอสฟอรัสทั้งหมด (TP) มีค่าลดลง 31.08-32.56 เปอร์เซ็นต์, 51.61-92.51 เปอร์เซ็นต์, 28.98-34.43 เปอร์เซ็นต์, 35.16-67.25 เปอร์เซ็นต์ และ 15.00-72.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการผลิตชีวมวลสาหร่ายสูงสุดคือ 3.382 กรัมและการผลิตน้ำมันสูงสุดคือ 0.0114 มิลลิลิตรที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และ 80 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ด้วยน้ำทิ้งฟาร์มสุกรมีศักยภาพที่จะนำไปสกัดน้ำมันและใช้เป็นพลังงานทางเลือกต่อไปในอนาคต

**คำสำคัญ :** สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก น้ำทิ้งฟาร์มสุกร น้ำมันสาหร่าย

\* เผยแพร่งานวิจัย

\*\* นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

The Master Degree of Environmental Science and Technology Program, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University,

\*\*\* อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ e-mail: g4237508@yahoo.com

Advisor: ASSOC. PROF. Thanawan Panich-pat, Ph.D. E-mail: g4237508@yahoo.com

## Abstract

This research was to study the optimum conditions for microalgae culture in piggery wastewater and algae oil production. The aims of this study were to determine an optimum conditions of piggery wastewater for algal cultivation, reveal water quality after algal cultivation and quantify the biomass and oil production. The study showed that the highest growth of microalgal *Chlorella vulgaris* was obtained in the 20% concentration culture were the highest, correspondingly up to  $83 \times 10^4$  cells/ml. The pH in the cultivation period was 7.99 to 8.98, while, electrical conductivity (EC), total suspended solids (TSS), total dissolved solids (TDS), total Nitrogen (TN) and total Phosphorus (TP) removal ranged from 31.08% to 32.56%, from 52.60% to 92.51%, from 28.98% to 34.43% and from 35.16% to 67.25%, 15.00-72.14 respectively after 15 days of treatment. The highest biomass productivity was 3.38 g and the highest oil productivity was 0.0114 ml when cultivating *Chlorella vulgaris* in the 100% and 80% concentration culture. This study showed that simultaneous productions of biofuel, bioelectricity and wastewater treatment were possible by *Chlorella vulgaris*.

**Keywords:** microalgae, piggery wastewater, algae oil

## บทนำ

ปัจจุบันประเทศต่างๆ มีความตื่นตัวในเรื่องของพลังงาน มีการศึกษาวิจัยเพื่อหาแหล่งพลังงานเชื้อเพลิงเพื่อมาทดแทนน้ำมันปิโตรเลียม เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานชีวมวลและแก๊สชีวภาพ รวมถึงน้ำมันไบโอดีเซล ซึ่งเป็นเชื้อเพลิงทางเลือกที่มีคุณสมบัติในการเผาไหม้เหมือนกับน้ำมันดีเซล แต่มีการปล่อยมลพิษที่น้อยกว่า ทำให้ภาครัฐมีนโยบายส่งเสริมการปลูกพืชใช้น้ำมันเพื่อลดต้นทุนของการใช้และการนำเข้าน้ำมันดิบ แต่ทั้งนี้การปลูกพืชใช้น้ำมันบางชนิด เช่น ปาล์มน้ำมัน หรือสบู่ดำ ต้องใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกมากและใช้ระยะเวลานานกว่าจะได้มาซึ่งวัตถุดิบที่เหมาะสม

สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเนื่องจากเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีการสะสมกรดไขมันในเซลล์สูง โดยทั่วไปสาหร่ายขนาดเล็กมีน้ำมัน 20-50 % ของน้ำหนักแห้ง (Chisti, 2007) ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านพลังงานทดแทน (ไบโอดีเซล) และจากลักษณะของสาหร่ายมีขนาดเล็กเลี้ยงง่าย มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วและให้ผลผลิตที่สูงเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่น ๆ อีกทั้งยังนำไปแปรรูปใช้ประโยชน์ต่างๆ ได้อีกมากมาย สาหร่ายจึงมีความต้องการมากในปัจจุบันรวมทั้งมีการวิจัยและพัฒนาในการเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง ด้วยลักษณะเฉพาะของสาหร่ายที่เจริญได้ดีในน้ำที่มีปริมาณสารอาหารพวก ไนโตรเจนฟอสฟอรัส ค่าความเป็นกรดเป็นด่างปานกลาง จึงเกิดแนวคิดที่จะนำน้ำเสียซึ่งไม่มีสารพิษที่เป็นอันตรายและอยู่ในสภาพที่มีปริมาณสารอาหาร ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมมาใช้ในการเพาะเลี้ยง โดยปริมาณน้ำมันที่พบจะผันแปรตามปริมาณสารอาหารและสภาวะในการเลี้ยงสาหร่ายด้วย (Mulbry et al., 2008)

ฟาร์มสุกรเป็นแหล่งเกิดน้ำเสียจำนวนมากในแต่ละวัน โดยน้ำเสียดังกล่าวมักมีการปนเปื้อนทั้งสารอินทรีย์และธาตุอาหารที่อาจเหมาะสมในการเจริญเติบโตและสะสมน้ำมันของสาหร่าย ควรนำน้ำเสียเหล่านี้มาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนอกจากจะได้ประโยชน์ต่างๆจากสาหร่ายแล้วยังอาจช่วยบำบัดน้ำเสียได้อีกด้วย เนื่องจากการบำบัดฟื้นฟูทางชีวภาพเป็นกระบวนการทางชีววิทยาที่กระตุ้นการสลายตัวของสารพิษ หรือเป็นกระบวนการทางชีวภาพที่ช่วยให้เกิดการฟื้นฟูของน้ำเสียให้มีคุณภาพดีขึ้น (นิสรภรณ์,2559)

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กในน้ำทิ้งฟาร์มสุกรและการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าน้ำทิ้งโดยการนำมาใช้เป็นแหล่งสารอาหารสำหรับสาหร่ายและเอื้อประโยชน์ในด้านผลผลิตน้ำมันจากสาหร่ายซึ่งเป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลอีกทางหนึ่ง

### วัตถุประสงค์

- 1.) เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก
- 2.) การศึกษาคุณภาพน้ำทิ้งฟาร์มสุกรหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก
- 3.) เพื่อศึกษาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

### วิธีการวิจัย

#### 1. การเตรียมตัวอย่างน้ำทิ้งฟาร์มสุกรและหัวเชื้อสาหร่าย

ตัวอย่างน้ำทิ้งที่นำมาทำการทดลองเป็นน้ำทิ้งที่สู่มเก็บจากบ่อบำบัดที่สองจากประตุน้ำทิ้งฟาร์ม ซึ่งเป็นฟาร์มสุกรขนาดกลาง (จำนวน 500-5,000 ตัว หรือ มีน้ำหนักหน่วยปศุสัตว์ ตั้งแต่ 60-600 หน่วยปศุสัตว์) ของเกษตรกรในพื้นที่ ต.หนองงูเหลือม อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม และหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็ก (*Chlorella vulgaris*) ได้รับจากสถาบันอาหารสัตว์น้ำจืด ชั้น 5 อาคารปลอดประสพ กรมประมง ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เพื่อนำหัวเชื้อมาขยายปริมาณและใช้ในการทดลอง

#### 2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและคุณภาพน้ำหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำทิ้งฟาร์มสุกร

นำตัวอย่างน้ำทิ้งมา autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15-20 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 45 นาที เพื่อกำจัดเชื้อโรคและโปรโตซัวซึ่งจะทำลายเซลล์สาหร่าย จากนั้นกรองน้ำทิ้งด้วยถุงกรองแพลงก์ตอน เพื่อกรองตะกอนขนาดใหญ่และสาหร่ายชนิดอื่นออก จากนั้นทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำก่อนการทดลองดังนี้ (ตารางที่ 4) แล้วจึงทำการเจือจางน้ำทิ้งฟาร์มสุกรที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ นำน้ำทิ้งฟาร์มสุกรที่กำหนดดังกล่าวมาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยปริมาตร 4.5 ลิตร และเชื้อสาหร่ายปริมาตร 500 มิลลิลิตร ใส่ลงถังเพาะเลี้ยงปริมาตร 6 ลิตร และตั้งไว้ในสภาวะแวดล้อมปกติโดยไม่เติมอากาศ เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 20 วัน ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์(Completely Randomized Design : CRD) โดยกำหนดให้มีจำนวน 3 ซ้ำ (3 replications) ต่อหน่วยทดลอง เก็บน้ำตัวอย่างปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทุก 3 วัน เพื่อวัดปริมาณค่าความเป็นกรดต่าง (pH), ค่าการนำกระแสไฟฟ้า (EC), ค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TSS), ค่าของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (TDS), ค่าไนโตรเจนทั้งหมด (TN) และค่าฟอสฟอรัส

ทั้งหมด (TP) เพื่อศึกษาคุณภาพน้ำทิ้งหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (ตารางที่ 1) และ วัดอัตราการเจริญเติบโตโดยใช้สไลด์ hemacytometer ทุก ๆ 3 วัน เป็นเวลา 20 วัน

### ตารางที่ 1 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำทิ้ง

พารามิเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์	วิธีการวิเคราะห์
ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)	เครื่อง pH meter
ค่าการนำกระแสไฟฟ้า (EC)	เครื่อง EC meter
ค่าของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (TDS)	เครื่อง TDS Meter
ค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TSS)	วิเคราะห์ด้วยวิธี Gravimetric Method
ค่าไนโตรเจนทั้งหมด (N)	วิเคราะห์ด้วยวิธี Kjeldahl
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (P)	วิเคราะห์ด้วยวิธี Stannous Chloride และ Persulfate digestion

### 3. การศึกษาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

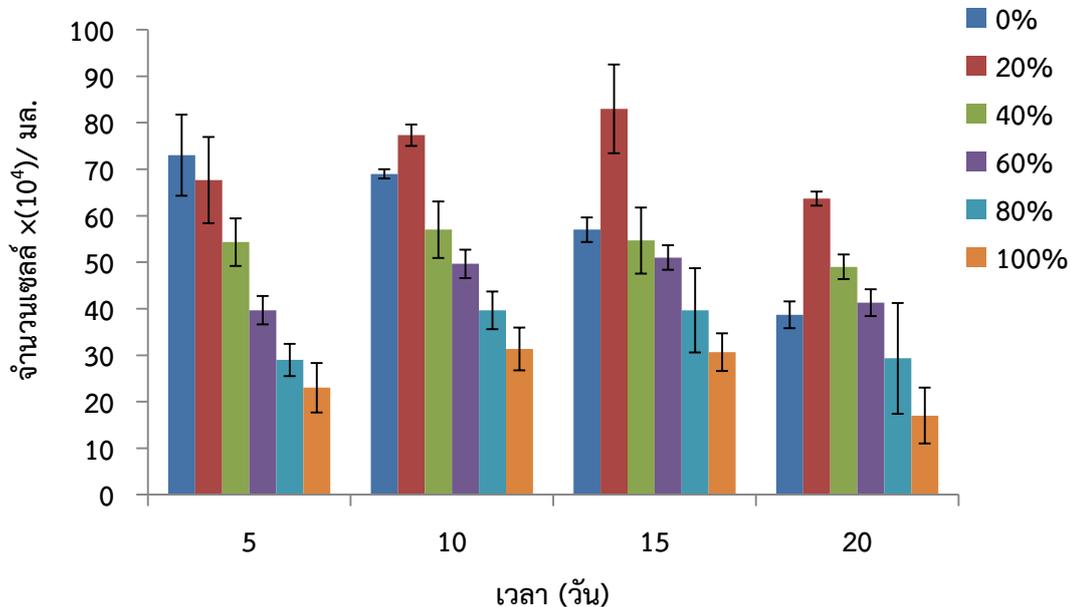
เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 20 วัน สาหร่ายเจริญเติบโตจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต ทำการเก็บเกี่ยวโดยการแยกมวลสาหร่ายออกจากน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงของสาหร่าย โดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 นาที เพื่อให้ได้ชีวมวลสาหร่ายใช้วิธีการอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน โดยนำสาหร่ายอบแห้งที่ได้จากการเก็บเกี่ยวมาทำให้มีขนาดเล็กลงด้วยการบดแล้วจึงนำไปสกัดน้ำมันโดยแช่ทิ้งไว้ในตัวทำละลายเฮกเซนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นแยกมวลสาหร่ายออกจากตัวทำละลายโดยการกรอง และแยกตัวทำละลายออกจากน้ำมันสาหร่ายผ่านการระเหยโดยใช้ความร้อนด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) เพื่อแยกน้ำมันออกจากโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย

### 4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) โดยกำหนดให้มีจำนวน 3 ซ้ำ (3 replications) นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติวิเคราะห์ R-Base Language โดยใช้การทดสอบทางสถิติแบบ ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ นำมาเปรียบเทียบหาความแตกต่างโดยใช้ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

## ผลการทดลอง

### 1. สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำทิ้งฟาร์มสุกร



ภาพที่ 1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 20 วัน

จากภาพที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายในน้ำทิ้งฟาร์มสุกรที่ความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0, 20, 40, 60, 80, และ 100 เปอร์เซ็นต์ วัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายทุก 5 วัน เป็นเวลา 20 วัน ผลการศึกษาพบว่าจำนวนเซลล์ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุมสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นมากที่สุดและมีจำนวนเซลล์มากที่สุดในวันที่ 15 ของการทดลอง คือ  $83 \times 10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ และ ที่ความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโตของสาหร่ายเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 5-10 และการเจริญเติบโตคงที่และลดลงในวันที่ 10-20 ที่ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์สาหร่ายมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุดและลดจำนวนลงเรื่อย ๆ ในขณะที่ชุดควบคุมสาหร่ายค่อย ๆ ลดจำนวนลงเมื่อสิ้นสุดการทดลองจึงมีสาหร่ายอยู่เป็นจำนวนน้อย

### 2. คุณภาพน้ำทิ้งฟาร์มสุกรหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

การศึกษาคุณภาพน้ำทิ้งฟาร์มสุกรหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เป็นระยะเวลา 20 วัน ในน้ำทิ้งที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ในน้ำทิ้งหลังการเพาะเลี้ยง พบว่าในชุดการทดลองที่ความเข้มข้นของน้ำทิ้ง 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7.99, 8.09, 8.14, 8.98, 8.75 และ 8.84 ตามลำดับ

ผลการศึกษาค่าการนำไฟฟ้า (EC) ลดลง 31.08-32.56 เพอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ความเข้มข้นของน้ำเสีย 60 เพอร์เซ็นต์ มีค่าการนำไฟฟ้าลดลงสูงสุด 32.56 เพอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ความเข้มข้นของน้ำเสีย 100 เพอร์เซ็นต์ มีค่าการนำไฟฟ้าลดลงต่ำสุด 31.08 เพอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TSS) ลดลง 51.61-92.52 เพอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ความเข้มข้นของน้ำเสีย 80 เพอร์เซ็นต์ มีค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมดลดลงสูงสุด 92.51 เพอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมดลดลงต่ำสุด 3.94 เพอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาค่าของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (TDS) ลดลง 28.98-34.43 เพอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ความเข้มข้นของน้ำเสีย 60 เพอร์เซ็นต์ มีค่าของแข็งละลายน้ำทั้งหมดลดลงสูงสุด 34.43 เพอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าของแข็งละลายน้ำทั้งหมดลดลงต่ำสุด 28.98 เพอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาค่าไนโตรเจนทั้งหมด (TN) ลดลง 35.16-67.25 เพอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ความเข้มข้นของน้ำเสีย 20 เพอร์เซ็นต์ มีค่าไนโตรเจนทั้งหมดลดลงสูงสุด 67.25 เพอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าไนโตรเจนทั้งหมดลดลงต่ำสุด 35.16 เพอร์เซ็นต์

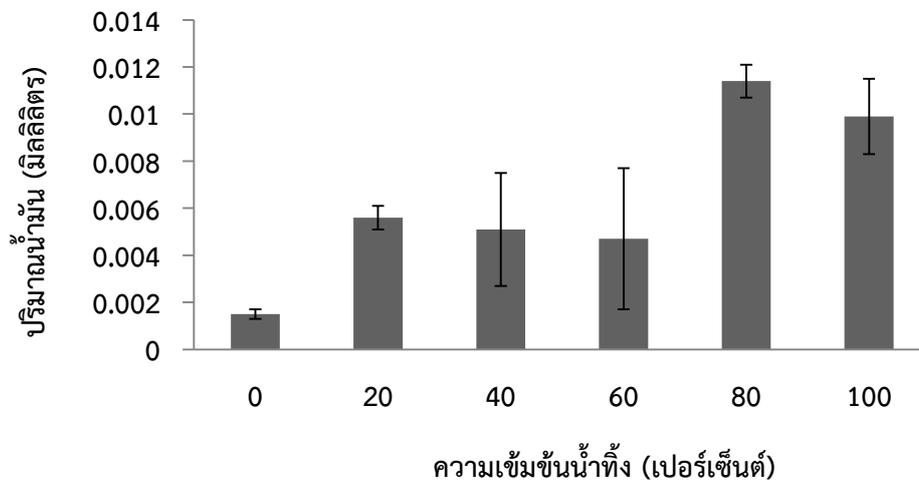
ผลการศึกษาค่าฟอสฟอรัสทั้งหมด (TP) ลดลง 15.00-72.14 เพอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ความเข้มข้นของน้ำเสีย 20 เพอร์เซ็นต์ มีค่าฟอสฟอรัสทั้งหมดลดลงสูงสุด 72.14 เพอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าฟอสฟอรัสทั้งหมดลดลงต่ำสุด 15.00 เพอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 อัตราการลดลงของพารามิเตอร์หลังเพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งฟาร์มสุกร 6 ความเข้มข้น

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการลดลง (เปอร์เซ็นต์)				
	EC	TSS	TDS	TN	TP
0	32.11	3.94	28.98	35.16	15.00
20	32.17	88.81	33.26	67.25	72.14
40	31.55	51.61	29.93	59.20	59.84
60	32.56	86.89	34.43	53.42	54.82
80	32.13	92.51	29.74	56.45	51.34
100	31.08	92.23	29.03	52.60	58.62

### 3. ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

ผลการศึกษาพบว่า ผลผลิตน้ำมันสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในความเข้มข้นทั้ง 6 ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.0015-0.0047 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักแห้ง สามารถเรียงลำดับสาหร่ายที่พบน้ำมันในปริมาณจากมากไปน้อยดังนี้ คือที่ความเข้มข้น 80 เพอร์เซ็นต์ (0.0114 มิลลิลิตร) > 100 เพอร์เซ็นต์ (0.0099 มิลลิลิตร) > 20 เพอร์เซ็นต์ (0.0056 มิลลิลิตร) > 40 เพอร์เซ็นต์ (0.0051 มิลลิลิตร) > 60 เพอร์เซ็นต์ (0.0047 มิลลิลิตร) > 0 เพอร์เซ็นต์ (0.0015 มิลลิลิตร) ซึ่งที่ความเข้มข้นที่ 80% พบว่ามีน้ำมันต่อน้ำหนักแห้งสูงสุด และปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็กในแต่ละความเข้มข้นของน้ำทิ้งฟาร์มสุกรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ภาพที่ 2, ตารางที่ 3)



ภาพที่ 2 ปริมาณน้ำมันที่พบในสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งฟาร์มสุกรทั้ง 6 ความเข้มข้น

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำมันที่พบในสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งฟาร์มสุกรในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 6 ความเข้มข้น

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม)	ผลผลิตน้ำมัน (มิลลิกรัมต่อ น้ำหนักแห้ง)	น้ำมันต่อน้ำหนักแห้ง (เปอร์เซ็นต์)
0	0.694±0.26 <sup>d</sup>	0.0015±0.0002 <sup>c</sup>	0.22
20	2.112±0.14 <sup>c</sup>	0.0056±0.0005 <sup>b</sup>	0.27
40	2.153±0.46 <sup>bc</sup>	0.0051±0.0024 <sup>b</sup>	0.24
60	2.792±0.44 <sup>abc</sup>	0.0047±0.0030 <sup>b</sup>	0.16
80	2.819±0.40 <sup>ab</sup>	0.0114±0.0007 <sup>a</sup>	0.51
100	3.382±0.39 <sup>a</sup>	0.0099±0.0016 <sup>a</sup>	0.29

หมายเหตุ: <sup>a,b,c,d</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

### วิจารณ์ผล

#### 1. สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำทิ้งฟาร์มสุกร

จากผลการศึกษาความเข้มข้นน้ำเสียฟาร์มสุกรเป็นเวลา 20 วัน พบว่าที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยง *Chlorella vulgaris* เนื่องจากสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตสูงกว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในความเข้มข้นสูง ๆ และในชุดควบคุม เมื่อความเข้มข้นของน้ำเสียเพิ่มขึ้นส่งผลให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้น้อยลง เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถเจริญเติบโตในน้ำเสียที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ ได้ช่วงระยะเวลาหนึ่ง เพียงสั้นๆหลังจากนั้นจะลดจำนวนลงเนื่องจากการขาดสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และไม่สามารถ

เจริญเติบโตในน้ำเสียจากฟาร์มที่มีความเข้มข้นมาก มีสีคล้ำและมีความขุ่นมาก ซึ่งจะไปกระทบต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย โดยสาหร่ายจะทำการสังเคราะห์แสงทำให้เซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้น (Le Luo et al., 2016)

## 2. คุณภาพน้ำทิ้งฟาร์มสุกรหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

การศึกษาคุณภาพน้ำทิ้งฟาร์มสุกรหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เป็นระยะเวลา 20 วัน ในน้ำทิ้งที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์

ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) จากผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า ค่าความเป็นกรดต่างของน้ำเสียหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่าย มีผลการเปลี่ยนแปลงช่วงของค่าความเป็นกรดต่างที่แคบมาก เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสถิติ พบว่า ค่าความเป็นกรดต่าง เมื่อความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำเสียไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างมากนักและน้ำทิ้งหลังการเพาะเลี้ยงทั้งหมดความเข้มข้นมีค่าความเป็นกรดต่าง อยู่ในช่วง 7.99-8.98 จัดอยู่ในน้ำที่มีค่าความเป็นกรดต่างเล็กน้อยและเป็นช่วงค่าความเป็นกรดต่างที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดี

ค่าการนำไฟฟ้า (EC) จากผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า ค่าการนำไฟฟ้าของทุกความเข้มข้นของน้ำเสียที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายมีค่าลดลง เนื่องจากค่าการนำไฟฟ้าในของเหลว หรือค่าการนำไฟฟ้าของเกลือ เป็นค่าที่บ่งบอกถึงปริมาณแร่ธาตุที่ละลายอยู่ในของเหลวทั้งหมดที่ละลายอยู่ในน้ำ ปริมาณแร่ธาตุที่ละลายอยู่ในน้ำถูกสาหร่ายนำไปใช้ในการเจริญเติบโตทำให้ค่าการนำไฟฟ้ามีค่าลดลงในทุกการทดลอง (Mostafa et al., 2012)

ค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TSS) จากผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า ค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมดของทุกความเข้มข้นของน้ำเสียที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายมีค่าลดลง เนื่องจากค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมดเป็นปริมาณของสารทุกชนิดที่มีอยู่ในน้ำทิ้งฟาร์มสุกร ดังนั้นของแข็งทั้งหมดจะประกอบด้วยทั้งสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์มากมายหลายชนิด ซึ่งจะเกิดการย่อยทางชีวภาพของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งแบบไร้อากาศ (Kotteswari et al., 2012) สารอินทรีย์ในน้ำทิ้งประมาณร้อยละ 80-90 ถูกย่อยสลายเป็นแก๊สมีเทน และ แก๊ส คาร์บอนไดออกไซด์

ค่าของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (TDS) จากผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า ค่าของแข็งละลายน้ำทั้งหมดของทุกความเข้มข้นของน้ำเสียที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายมีค่า เนื่องจากค่าของแข็งละลายน้ำทั้งหมด จะมีค่าใกล้เคียงกับค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ ที่ละลายอยู่ในน้ำ ดังนั้นน้ำที่มีการนำไฟฟ้าสูง จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายอยู่ในน้ำสูงและน้ำที่มีค่าของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้สูงจะมีธาตุอาหารและสารบางชนิดสูงมากเช่นกัน (เปี่ยมศักดิ์, 2543) ปริมาณแร่ธาตุที่ละลายอยู่ในน้ำถูกสาหร่ายนำไปใช้ในการเจริญเติบโตทำให้ค่าของแข็งละลายน้ำทั้งหมดมีค่าลดลงในทุกการทดลอง

ค่าไนโตรเจนทั้งหมด (TN) จากผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ของทุกความเข้มข้นของน้ำเสียที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายมีค่าลดลง เนื่องจากไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญในการเจริญเติบโตของสาหร่ายและมีผลต่อน้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่าย โดยปกติไนโตรเจน มีหน้าที่หลักในการสังเคราะห์แสง เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสารหลายชนิดภายในเซลล์ เช่น โปรตีน คลอโรฟิลล์ กรดนิวคลีอิก สร้างรงควัตถุ ช่วยในกิจกรรมการทำงานเอนไซม์ (สุนีรัตน์, 2549)

ค่าฟอสฟอรัสทั้งหมด (TP) จากผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ของทุกความเข้มข้นของน้ำเสียที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายมีค่าลดลง เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตสาหร่ายนำฟอสฟอรัสไปใช้ในรูปฟอสฟอรัสละลายน้ำ (Soluble Reactive Phosphorus) ฟอสฟอรัสมีบทบาทต่อกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงาน และกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิกรวมทั้ง ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ช่วยให้ค่ากรด-เบส ค่อนข้างคงที่

### 3. ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

จากการศึกษาพบว่าสาหร่ายสามารถนำมาเป็นแหล่งผลิตน้ำมันได้เนื่องจากสาหร่ายสามารถสะสมน้ำมันไว้ในเซลล์ สาหร่ายที่ให้น้ำมันได้สูงพบทั้งในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย สาหร่ายสีเขียว และไดอะตอม เช่น *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Isochrysis*, *Tetraselmis* การศึกษาถึงปริมาณน้ำมัน (oil) ในไดอะตอม 6 ชนิด โดย Ying et al. (2001) พบปริมาณน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) อยู่ใน *Chaetoceros gracilis* 6.97-10.78 เปอร์เซ็นต์, *Phaeodactylum tricornutum* 3.6-13.8 เปอร์เซ็นต์, *Cylindrotheca fusiformis* 13.0-15.9 เปอร์เซ็นต์, *Nitzschia closterium* 4.1-5.4 เปอร์เซ็นต์ (Xin et al., 2010; Ying et al., 2001) การศึกษาปริมาณน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก พบปริมาณน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) ใน *Chlorella* sp. 28-32 เปอร์เซ็นต์ (Chisti, 2007) เนื่องจากสาหร่ายมีอาหารสะสมเป็นแป้ง ไชมัน และกลีเซอรอล น้ำมันของสาหร่ายมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่มาก เช่น arachidonic acid (AA), eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA), gamma-linolenic acid (GLA) และ linoleic acid (LA) เป็นต้น (Chisti, 2007; Nuutila and Aura, 1997; Khozin-Goldberg and Cohen, 2006; Patil et al., 2005; Solovchenko et al., 2008; Vieler et al., 2007)

จากผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กในน้ำทิ้งฟาร์มสุกรที่ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์, 20 เปอร์เซ็นต์, 40 เปอร์เซ็นต์, 60 เปอร์เซ็นต์, 80 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าผลผลิตน้ำมันที่ได้ (เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง) คือ 0.22 เปอร์เซ็นต์, 0.27 เปอร์เซ็นต์, 0.24 เปอร์เซ็นต์, 0.16 เปอร์เซ็นต์, 0.51 เปอร์เซ็นต์ และ 0.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าที่ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำมันต่อน้ำหนักแห้งสูงสุด คือ 0.51 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่าเฉลี่ยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำทิ้งมีผลต่อการสะสมน้ำมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* เนื่องจากปริมาณน้ำมันและกรดไขมันของสาหร่าย ผันแปรตามปริมาณสารอาหารและสภาวะในการเลี้ยงสาหร่าย (Khotimchenko and Yakovleva, 2004; Merzlyak et al., 2007; Mulbry et al., 2008; สุวีรัตน์ 2549) จากผลการทดลองที่ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำมันต่อน้ำหนักแห้งสูงสุด คือ 0.51 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากความขุ่นของน้ำทิ้งที่มีความเข้มข้นสูงมีผลต่อการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย ทำให้สาหร่ายสังเคราะห์แสงได้ต่ำ สาหร่ายจะเกิดความเครียดทำให้เกิดการยับยั้งการแบ่งเซลล์จึงส่งผลทำให้มีการสะสมน้ำเพิ่มขึ้น (Ying et al., 2001) และปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตน้ำมันอีกปัจจัยหนึ่งก็คือ ปัจจัยทางเคมีเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการ เช่น ไนโตรเจน มีหน้าที่หลักช่วยในการสังเคราะห์แสง สร้างรงควัตถุ ช่วยในกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ สาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะสร้างสารประกอบคาร์บอนขึ้นมาทดแทน เช่น สร้างขึ้นมาในรูปของน้ำมัน หรือแป้ง จากผลการศึกษาปริมาณน้ำมันของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้ง 6 ความเข้มข้นเป็นเวลา 15 วัน สารอาหารทุกความเข้มข้นลดลงไม่ว่ากลุ่มธาตุอาหารหลักเช่นพวกไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เป็นผลให้สาหร่ายได้รับ

สารอาหารน้อยลงการเจริญเติบโตจึงลดลงไปในส่วนของปริมาณน้ำมันและไขมัน การที่สารอาหารน้อยลงจะส่งผลให้สาหร่ายนั้นลดการนำเอาพลังงานไปใช้ในการเจริญเติบโต เกิดการสะสมอาหารมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณไขมันสูงขึ้นด้วยโดยสังเกตได้จากที่ระดับความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ยังคงมีปริมาณน้ำมันที่ดี โดยปริมาณน้ำมันนั้นไม่ได้ลดลงไปตามความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่น้อยลง

### สรุป

จากผลการศึกษาความเข้มข้นของน้ำทิ้งฟาร์มสุกรที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กที่ความเข้มข้น 6 ความเข้มข้นโดยใช้สาหร่าย *Chlorella vulgaris* เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน พบว่า การเจริญเติบโตสูงสุดคือ  $83 \times 10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย คุณภาพน้ำทิ้งหลังการเพาะเลี้ยงมีคุณภาพดีขึ้นและผ่านมาตรฐานน้ำทิ้งฟาร์มสุกรเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่าค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ค่อนข้างเป็นกลาง อยู่ในช่วง 7.75-8.14 เป็นช่วงค่าความเป็นกรดต่างที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดี ค่าการนำไฟฟ้า (EC), ค่าของแข็งทั้งหมด (TSS), ค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TDS), ค่าไนโตรเจนทั้งหมด (TN), และค่าฟอสฟอรัสทั้งหมด (TP) มีค่าลดลง 31.08-32.56 เปอร์เซ็นต์, 51.61-92.52 เปอร์เซ็นต์, 28.98-34.43 เปอร์เซ็นต์, 35.16-67.25 เปอร์เซ็นต์ และ 15.00-72.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการผลิตชีวมวลสาหร่ายสูงสุดคือ 3.38 กรัมและการผลิตน้ำมันสูงสุด คือ 0.0114 มิลลิลิตรที่ความเข้มข้น 100% และ 80% ตามลำดับ

### เอกสารอ้างอิง

#### ภาษาไทย

นิสรารณณ์ เพ็ชรสุทธิ. (2559). การประยุกต์ใช้สาหร่ายสกุล *Gracilaria* ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำและเทคนิค

การเพาะเลี้ยง : บทความปริทัศน์. Veridian E-Journal, 3 (6) : 113 – 129.

เปี่ยมศักดิ์ เมณะเศวต. (2543). แหล่งน้ำกับปัญหามลพิษ. พิมพ์ครั้งที่ 8. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ์. (2549). แพลงก์ตอนวิทยา. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยี

การเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 490 น.

### ภาษาต่างประเทศ

- Chisti, Y. (2007). "Biodiesel from microalgae." **Biotechnology Advances**. 25:294–306.
- Khotimchenko, S.V. and Yakovleva, I.M. "Effect of solar irradiance on lipids of the green alga *Ulva fenestrata* Postels et Ruprecht". **Botanica Marina**. 47:395–401.
- Khozin-Goldberg, I. and Cohen, Z. (2006). "The effect of phosphate starvation on the lipid and fatty acid composition of the fresh water eustigmatophyte *Monodus subterraneus*". **Phytochemistry**. 67:696–701.
- Kotteswari M., Murugesan S., Ranjith, K.R. (2012). "Phytoremediation of dairy effluent by using the microalgae *Nostoc* sp." **International Journal of Engineering Research and Development (IJERD)**. 2, 35-43.
- Luo, L., H. He , C. Yang , S. Wen, G. Zeng , M. Wu, Z. Zhou , W. Lou . (2016). "Nutrient removal and lipid production by *Coelastrella* sp. in anaerobically and aerobically treated swine wastewater." **Bioresource Technology**. 216: 135–141.
- Merzlyak, M.N., Chivkunova, O.B., Gorelova, O.A., Reshetnikova, I.V., Solovchenko, A.E., Khozin-Goldberg, I., and Cohen, Z. (2007). "Effect of nitrogen starvation on optical properties, pigments and arachidonic acid content of the unicellular green alga *Parietochloris incisa* Trebouxiophyceae, Chlorophyta". **Journal of Phycology**. 43:833–843.
- Mostafa S.S.M., shalaby E.A., Mahmoud G.I. (2012). "Cultivating microalgae in domestic wastewater for biodiesel production." **Notulae Scientia Biologicae**. 4(1):56-5.
- Mulbry, W., Kondrad, S., Pizarro, C., Kebede-Westhead, E. 2008. "Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers." **Bioresource Technology**. 99:8137–8142.
- Nuutila, A.M. and Aura, A.M. (1997). "The effect of salinity, nitrate concentration, pH and temperature on eicosapentaenoic acid (EPA) production by the red unicellular alga *Porphyridium purpureum*." **Journal of Biotechnology**. 55: 55-63.
- Patil, V., Reitan, K.I., Knudsen, G., Mortensen, L., Kallqvist, T., Olsen, E., Vogt, G. and Gislerød, H.R. (2005). "Microalgae as Source of Polyunsaturated Fatty Acids for Aquaculture". **Curr. Topics in Plant Biology**. 6:57-65.
- Solovchenko A. E., Khozin-Goldberg I., Didi-Cohen S., Cohen Z., and Merzlyak M.N. (2008). "Effects of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga *Parietochloris incisa*." **Journal of Applied Phycology**. 20:245–251.

- Vieler, A., Wilhelmb, C., Goss, R., Siib, R., and Schiller, J. (2007). "The lipid composition of the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* and the diatom *Cyclotella meneghiniana* investigated by MALDI-TOF MS and TLC". **Chemistry and Physics of Lipids**. 150:143-155.
- Xin, L., Hong-ying, H. and Jia, Y. (2010). "Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent." **New Biotechnology**. 27:59-63.
- Ying, L.M., Kang-Sen, Shi-Chun, S. and Dao-Zhan, Y. (2001). "Effect of light intensity on the total lipid and fatty acid composition of six strains of Marine diatoms". **Chinese Journal of Oceanology and Limnology (CJOL)**. 19: 249-254.