

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

Chlorella sp. Cultivation Using Carbon Dioxide Concentration Control System

ปุณยสิริ บุญเป็ง^{1*} ชวโรจน์ ใจสิน² และกฤษดา ยิ่งขยัน¹

Poonyasiri Boonpeng^{1*} Chawaroj Jaisin² and Krisda Yingkayun¹

Received: July 30, 2019; Revised: November 21, 2019; Accepted: November 28, 2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการออกแบบระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อนำไปทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายพันธุ์ *Chlorella* sp. รวมถึงการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตภายใต้ระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งระบบสามารถควบคุมค่า pH ของน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้อยู่ในช่วงระหว่าง 6.7 และ 6.9 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย เนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรดของน้ำ ดังนั้นการปรับค่า pH ของน้ำในระบบเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมเป็นการเติมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือการเติมน้ำที่มีค่าความเป็นกลาง ผลการทดลองพบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในระบบปิดสำหรับการทดลองซึ่งควบคุมและปรับค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงทุก 10 นาทีมีจำนวนความหนาแน่นสาหร่ายในช่วงสุดท้ายของระยะการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นได้ถึง 2.3 เท่า จาก $1,015 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร เพิ่มขึ้นเป็น $2,322.5 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงระบบเปิดแบบธรรมชาติและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยเพิ่มขึ้นได้ถึง 1.7 เท่า จาก 195×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน เพิ่มขึ้นเป็น 333.47×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สามารถขยายขอบเขตการเจริญเติบโตในระยะเอกซ์โพเนนเชียล ซึ่งแสดงถึงการมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.

คำสำคัญ : สาหร่ายพันธุ์คลอเรลล่า; การควบคุมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์; การเพาะเลี้ยงแบบระบบปิด

¹ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

² วิทยาลัยพลังงานทดแทน มหาวิทยาลัยแม่โจ้

¹ Faculty of Engineering, Rajamangala University of Technology Lanna

² School of Renewable Energy, Maejo University

* Corresponding Author E - mail Address: p_boonpeng@hotmail.com

Abstract

The research aims to develop *Chlorella* sp. cultivation using a carbon dioxide concentration control system including to investigate the cultivation system of *Chlorella* sp. effecting on the growth rate. The cultivation system could control a pH range of cultivation between 6.7 and 6.9 leading to be appropriate with *Chlorella* sp.'s growth. In addition, the carbon dioxide concentration in water of cultivation correlates with acidity. Therefore, pH value in the cultivation system is regulated by filling the carbon dioxide concentration or the neutral water. The experimental result shows that the *Chlorella* sp. cultivation for the procedure, using the carbon dioxide concentration control system improving a pH value every 10 minutes, displays the 2.3 times of algal number density at last range of exponential phase. The algal number density under open-system is $1,015 \times 10^3$ cells/mL increasing to $2,322.5 \times 10^3$ cells/mL under the control system. In addition, an average growth rate increases to 1.7 times. The average growth rate under open-system is 195×10^3 cells/mL/day increasing to 333.47×10^3 cells/mL/day under the control system. Moreover, the cultivation with the carbon dioxide concentration control system could expand the range of growth in exponential phase explaining the appropriate environment for the *Chlorella* sp. cultivation.

Keywords: *Chlorella* sp.; Carbon Dioxide Control; Closed-System Bioreactor Plants

บทนำ

วิกฤตการณ์ด้านพลังงานในปัจจุบันมีแนวโน้มที่ทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น ทั้งในด้านการขาดแคลนแหล่งพลังงานธรรมชาติประเภทสร้างทดแทนใหม่ไม่ได้ และผลกระทบจากการใช้พลังงานธรรมชาติที่มีต่อสภาวะสิ่งแวดล้อมโลก หนึ่งในหนทางของการแก้ไขวิกฤตการณ์ดังกล่าวคือ การใช้พลังงานทดแทน เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม พลังงานน้ำขึ้นน้ำลง พลังงานคลื่น พลังงานความร้อนใต้พิภพ และพลังงานชีวมวล เป็นต้น เชื้อเพลิงชีวภาพเป็นเชื้อเพลิงที่ได้จากชีวมวล ซึ่งเป็นผลผลิตจากสิ่งมีชีวิตหรือผลิตผลจากการสร้างและสลายของสิ่งมีชีวิต สาหร่ายน้ำมันถือเป็นพืชวัตถุดิบชีวมวลชนิดหนึ่งที่กำลังได้รับความนิยมในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไบโอดีเซลเพื่อใช้ทดแทนพลังงานจากปิโตรเลียม พันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีความเหมาะสมสำหรับการผลิตน้ำมัน ได้แก่ *Botryococcus braunii* *Dunaliella tertiolecta* และ *Chlorella* เป็นต้น [1]

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำมันเหล่านี้ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยของพื้นที่การปลูกในอัตราที่สูงเมื่อเทียบกับพืชที่ขึ้นบนดิน สาหร่ายขนาดเล็กสามารถเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์โดยใช้ระยะเวลาอันสั้น [2] และพบว่าภายใน 2 - 3 สัปดาห์ สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ น้ำเลี้ยงสาหร่ายยังสามารถนำกลับมาเลี้ยงสาหร่ายรุ่นต่อไปได้อีกหลายครั้ง และที่สำคัญประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อน จึงเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก สาหร่ายอาศัยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเปลี่ยนพลังงานแสงอาทิตย์ให้เป็นพลังงานเคมี

พลังงานเคมีเหล่านี้ถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานในการดำรงชีวิต ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงคือ ไขมันหรือน้ำมัน ซึ่งสามารถสกัดและนำมาผ่านกระบวนการทำให้ได้ผลผลิตเป็นเชื้อเพลิงไฮโดรคาร์บอน [3] การเจริญเติบโตของสาหร่ายจำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ เช่น สารอาหาร อุณหภูมิ ความเข้มแสง เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์จะต้องการปัจจัยแต่ละตัวที่มีค่าแตกต่างกัน คาร์บอนไดออกไซด์เป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย เนื่องจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายขนาดเล็กจะเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดในช่วงความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสม [4] รวมถึงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) เป็นอีกปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เนื่องจากมีอิทธิพลต่อความหลากหลายของสารอนินทรีย์คาร์บอน (Inorganic Carbon) ในรูปต่าง ๆ เช่น เมื่อค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 5 รูปของ DIC (Dissolved Inorganic Carbon) ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ละลายน้ำ เมื่อค่าความเป็นกรดด่าง 6.6 จะมี DIC ในรูปของ CO_2 และไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) ในปริมาณเท่า ๆ กัน และเมื่อค่าความเป็นกรดด่างสูงถึง 8.3 รูปของ DIC เกือบทั้งหมดจะเป็นคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) ดังนั้นการควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง จึงมีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้สาหร่ายขนาดเล็กสามารถดูดซึมและนำ CO_2 มาใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้น [5]

ในปัจจุบันวิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยระบบปิด (Closed-System Bioreactor Plants) ที่ใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอนและแสงเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน [6] เป็นระบบที่ได้รับความนิยมมีการวิจัยและพัฒนาอย่างมาก เนื่องจากการเพาะเลี้ยงในลักษณะนี้สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมและสิ่งปนเปื้อนได้ง่าย ทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพและผลผลิตต่อพื้นที่สูง ด้วยหลักการและเหตุผลดังกล่าว จึงเป็นที่มาของการพัฒนาระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อนำไปทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายพันธุ์ *Chlorella* sp. และศึกษาผลการเลี้ยงสาหร่ายพันธุ์ *Chlorella* sp. ในช่วงระยะการเจริญเติบโต ระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำงานโดยรับค่าอินพุตมาจากชุดวัดค่า pH ประมวลผล และควบคุมค่า pH ของน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่าย ปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรดของน้ำ ดังนั้นการปรับค่า pH ของน้ำในระบบเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมเป็นการเติมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือการเติมน้ำที่มีค่าความเป็นกลาง

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในงานวิจัยนี้ได้มีการประยุกต์นำองค์ความรู้หลากหลายเพื่อนำมาพัฒนาและใช้ในกระบวนการวิจัย ประกอบด้วย การประยุกต์การเพาะเลี้ยงสาหร่ายพันธุ์ *Chlorella* sp. รวมถึงการประยุกต์ใช้ระบบไมโครคอนโทรลเลอร์ซึ่งเชื่อมต่อกับอุปกรณ์อินพุต เอาต์พุต และอุปกรณ์เซนเซอร์ต่าง ๆ เพื่อสร้างระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบปิด ซึ่งได้มีทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องที่สำคัญดังนี้

1. สาหร่ายพันธุ์ *Chlorella* sp.

Chlorella sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวจัดอยู่ในหมวด *Chlorophyta* ชั้น *Chlorophyceae* อันดับ *Chlorellales* วงศ์ *Chlorellaceae* สกุล *Chlorella* ซึ่งมีลักษณะสำคัญ คือ เป็นสาหร่ายเซลล์เดี่ยว มีขนาดเล็กประมาณ 1 - 10 ไมครอน อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือรวมกันเป็นกลุ่มก้อน

ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างหลายแบบ เช่น ทรงกลม รูปไข่ และรูปรี เซลล์มีหลายขนาดในสภาพแวดล้อมเดียวกัน *Chlorella* sp. มีคลอโรพลาสรูปร่างคล้ายถ้วยหรือระฆัง หรือเป็นแบบแถบข้าง (Parietal) อาจมีหรือไม่มีเม็ดแป้ง ไม่มีรยางค์และคอนแทรกไทค์แวคิวโอล (Contractile Vacuole) [7] ผนังเซลล์หนาและแข็งมี 3 ชั้น ผนังเซลล์ชั้นกลางหนาที่สุดประกอบด้วย เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ผนังเซลล์ชั้นนอกเป็นสารประกอบโพลีเมอร์ซึ่งทำหน้าที่จับกับโลหะหนักหรือสารพิษในร่างกายได้อย่างรวดเร็ว และชั้นในสุดเป็นชั้นของเยื่อหุ้มเซลล์ [8] การสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้าง *Autospore* ภายในเซลล์ที่เจริญเต็มวัย เซลล์ของ *Chlorella* sp. เติบโตได้ในแหล่งที่มีความเข้มข้นของสารอาหารในช่วงกว้าง ในธรรมชาติจึงพบ *Chlorella* sp. ทั้งในสภาพน้ำจืด น้ำเค็ม และน้ำเสีย [9] โดยทั่วไป *Chlorella* sp. มีทั้งที่อยู่อย่างอิสระและบางชนิดก็อาศัยอยู่ภายในตัวของสัตว์อื่น เช่น ฟองน้ำ ไฮดรา โปรโตซัว เป็นต้น บางครั้งเรียก *Chlorella* sp. ชนิดนี้ว่า *Zoochlorella* [9] ซึ่งประโยชน์ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. สามารถสรุปได้ดังนี้

- ใช้ผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซล [10] เซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. ในสายพันธุ์ที่มีความเข้มข้นของลิพิดและปริมาณลิพิดในเซลล์ที่มีความเหมาะสม สามารถนำมาผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซลได้
- เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย [11] สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* spp. 5 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. A0505, *Chlorella* sp. B2, *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260, *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทนมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค 6 ชนิด
- เป็นแหล่งอาหารโปรตีน [12] *Chlorella* sp. มีปริมาณโปรตีนในเซลล์สูงปริมาณร้อยละ 55 - 60 ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดในปริมาณค่อนข้างมาก จึงเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ รวมทั้งยังมีธาตุอาหารอื่นที่จำเป็น เมื่อทำให้แห้งจะมีโปรตีนประมาณร้อยละ 45 ไขมันร้อยละ 20 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 20 เส้นใยร้อยละ 5 แร่ธาตุและวิตามินร้อยละ 10 อย่างไรก็ตาม ด้วยเหตุผลที่มันมีขนาดเล็กทำให้เก็บเกี่ยวได้ยาก ส่งผลให้การนำมาเป็นแหล่งอาหารต้องทำการเพาะเลี้ยงในพื้นที่ขนาดใหญ่
- ภายในเซลล์ของ *Chlorella* sp. มีสารเร่งการเจริญที่เรียกว่า *Chlorella Growth Factor* (CGF) ซึ่งประกอบด้วย กรดอะมิโน เปปไทด์ โปรตีน วิตามิน น้ำตาล และ กรดนิวคลีอิก มีคุณสมบัติต่อต้านมะเร็งที่เรียกว่า "*SARCONA180*" โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวในหนู และระงับการเจริญของเนื้องอกในหนูได้ปริมาณร้อยละ 52.9 จึงถูกนำมาใช้ในวงการแพทย์ [13] นอกจากนี้ CGF มีผลต่อระบบย่อยอาหารโดยจะเข้าไปช่วยทำให้เชื้อแลคโตบาซิลลัสในลำไส้เพิ่มจำนวนมากขึ้น และมีบทบาทในการล้างพิษในลำไส้ อีกทั้ง [9] มีรายงานว่า *Chlorella* sp. สามารถผลิตสารปฏิชีวนะชื่อคลอเรลลิน (*Chlorellin*) ซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และ *Mycobacterium* sp.
- ใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ [14] โดยการเลี้ยง *Chlorella* sp. K3 ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตน้ำมันถั่วเหลืองเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมาเป็นอาหารสำหรับการเลี้ยงไรแดง

- ใช้น้ำบาดน้ำเสียและของเหลือทิ้ง [15] สำหรับของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ รวมทั้งน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมผลิตปลาป่น หรือของเสียจากการเลี้ยงสัตว์ต่าง ๆ พบว่า ในของเหลือทิ้งหรือของเสียเหล่านี้ ยังคงมีสารอาหารหรือแร่ธาตุอยู่ ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยง *Chlorella* sp. ได้

2. ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (Algal Cultivation)

สาหร่ายต้องการน้ำ แสงแดด และคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตเหมือนพืชชนิดอื่น ๆ สาหร่ายสามารถโตได้ดีในพื้นที่ที่มีอากาศร้อนและมีแสงแดดมาก การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด และการเพาะเลี้ยงระบบปิด

2.1 การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด [16] สามารถแบ่งได้ออกเป็นสองลักษณะดังนี้ ระบบการเพาะเลี้ยงตามแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น การเพาะเลี้ยงในบ่อน้ำ คลอง เป็นต้น และระบบการเพาะเลี้ยงในบ่อเทียม (Artificial Ponds) หรือภาชนะบรรจุ ซึ่งเป็นระบบที่ใช้เพาะเลี้ยงกันโดยทั่วไป ได้แก่ การเพาะเลี้ยงในบ่อตื้นเขินขนาดใหญ่ ถึง บ่อกลม และบ่อร่องน้ำ เป็นต้น การเพาะเลี้ยงในระบบแบบนี้มีความเสียเปรียบในด้านการควบคุมคุณภาพของผลผลิตและผลผลิตต่อพื้นที่น้อยกว่าที่ควรจะเป็น เนื่องจากความยากของการควบคุมสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงให้มีความเหมาะสมและมีสภาวะที่เหมือนกัน

2.2 การเพาะเลี้ยงในระบบปิด เป็นวิธีการเพาะเลี้ยงที่มีการวิจัยและพัฒนามากในปัจจุบัน เนื่องจากการเพาะเลี้ยงในลักษณะนี้สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมและสิ่งปนเปื้อนได้ง่าย ยกตัวอย่างเช่น การเพาะเลี้ยงในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Photobioreactors) ซึ่งมีลักษณะเป็นถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบท่อ (Tubular Photobioreactors) หรือถังปฏิกรณ์ชีวภาพแผ่นราบ (Flat-Plate Photobioreactors) เป็นต้น การเพาะเลี้ยงในระบบปิดมีข้อเสียเปรียบในด้านต้นทุนในการผลิตซึ่งใช้ค่อนข้างสูง [17] เนื่องจากระบบดังกล่าวอาจใช้แสงเทียมจากเครื่องกำเนิดแสงในรูปแบบต่าง ๆ และอาจมีระบบควบคุมสภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงที่ต้องใช้พลังงานไฟฟ้าเป็นตัวขับเคลื่อน นอกจากนี้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดสามารถแบ่งรูปแบบของการเพาะเลี้ยงออกเป็น 3 แบบ ได้แก่

- แบบออโตโทรฟิก (Autotrophic Cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ใช้แสงและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากธรรมชาติเป็นหลัก
- แบบเฮเทอโรโทรฟิก (Heterotrophic Cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้สารประกอบอินทรีย์ เช่น กลูโคส ซูโครส หรือกากน้ำตาล เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ซึ่งจะเพาะเลี้ยงในที่ที่ไม่มีแสงหรือในที่มืดตลอดเวลา
- แบบมิคโซโทรฟิก (Mixotrophic Cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอนและแสงเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน โดยแสงที่ใช้อาจเป็นแสงจากธรรมชาติหรือจากแหล่งกำเนิดแสงเทียมภายในระยะที่เหมาะสม

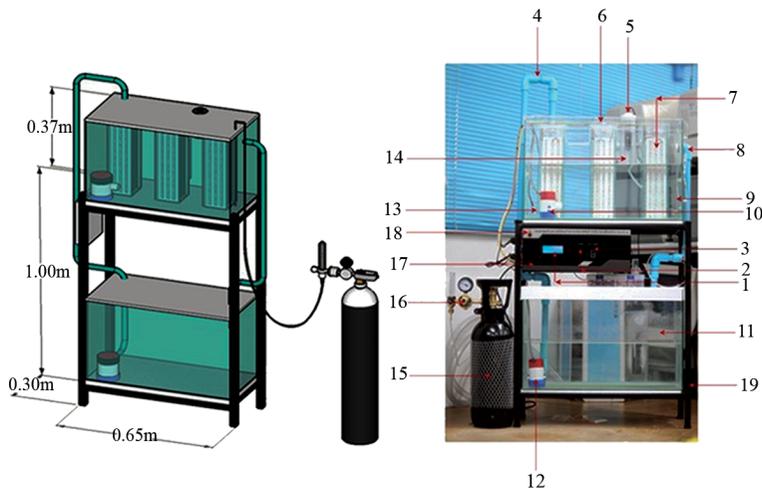
วิธีดำเนินการวิจัย

การสร้างระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อนำไปทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายพันธุ์ *Chlorella* sp. รวมถึงการศึกษาผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายภายใต้ระบบควบคุมปริมาณ

ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยหลักการและทฤษฎีที่ได้กล่าวมาในตอนต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้แบ่งขั้นตอนของการดำเนินการวิจัยเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การออกแบบและสร้างระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ซึ่งแบ่งเป็น

1. โครงสร้างระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังแสดงในรูปที่ 1



(ก) โครงสร้างแบบจำลอง

(ข) โครงสร้างจริง

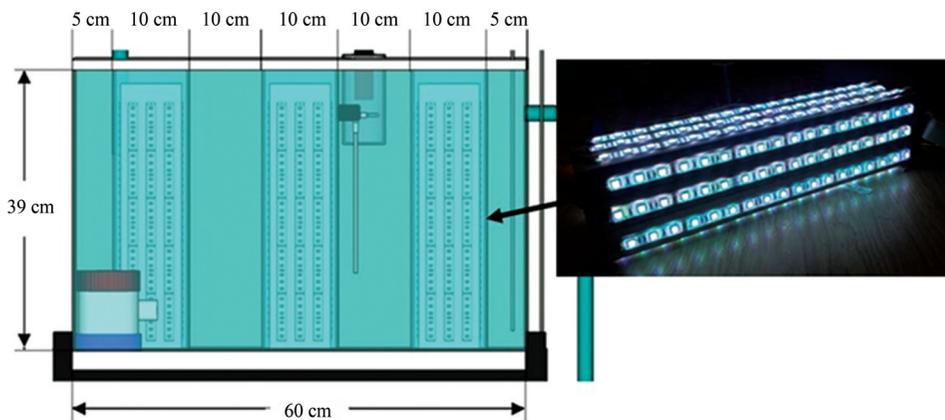
รูปที่ 1 โครงสร้างระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

มีรายละเอียดประกอบด้วย

- 1.1 จอ LCD แสดงผลขนาด 20 ตัวอักษร 4 บรรทัด
- 1.2 สวิตช์ START เป็นสวิตช์ เปิด - ปิด
- 1.3 ช่องใส่ SD CARD
- 1.4 ท่อส่งน้ำจากตู้ด้านล่างไปตู้ด้านบน
- 1.5 ชุดเซนเซอร์วัดค่า pH
- 1.6 พัดลมระบายอากาศสำหรับชุดแสงสว่างไฟ LED
- 1.7 ช่องสำหรับใส่แท่งชุดให้แสงสว่างไฟ ซึ่งใช้ SMDs LED ที่มีจำนวน LED เท่ากับ 216 ตัวต่อแท่ง
- 1.8 ท่อระบายน้ำล้นจากตู้ด้านบน
- 1.9 ตู้กระจกด้านบนขนาด 61 x 39 เซนติเมตร
- 1.10 ป้อนน้ำวน (Pump Loop)
- 1.11 ตู้กระจกด้านล่าง ขนาด 61 x 39 เซนติเมตร
- 1.12 ป้อนน้ำเติม (Pump Up) สำหรับป้อนน้ำขึ้นเติมตู้ด้านบน
- 1.13 เซนเซอร์วัดอุณหภูมิ
- 1.14 ป้อนน้ำสำหรับการวัดค่า pH

- 1.15 ถังก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
- 1.16 เรกูเลเตอร์คาร์บอนไดออกไซด์
- 1.17 โซลินอยด์วาล์ว
- 1.18 Connector pH Sensor
- 1.19 โครงสร้างชิ้นงาน

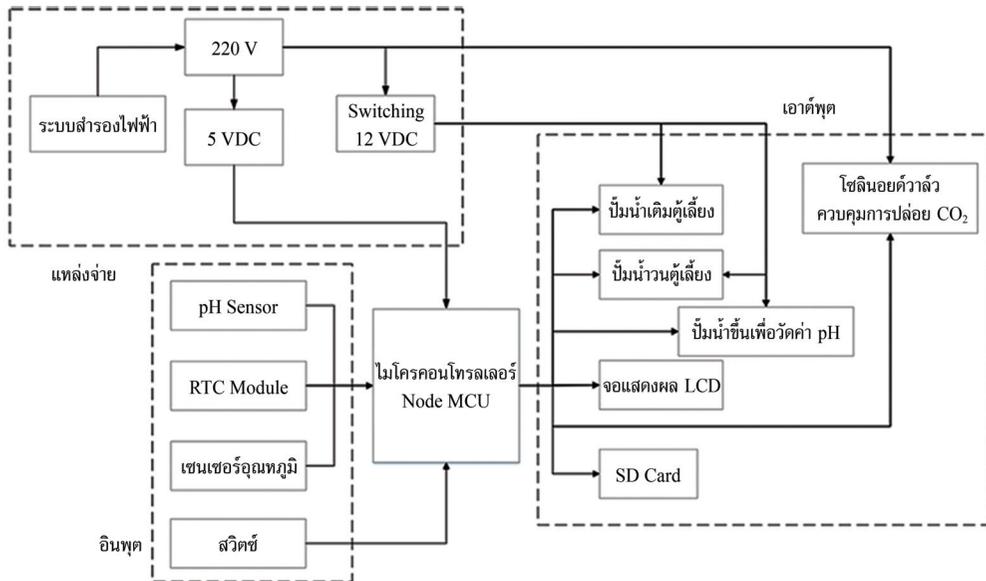
2. โครงสร้างชุดให้แสงสว่างสีขาวจากหลอดไฟ Surface Mounted Devices LED (SMDs LED) (รูปที่ 2) ในงานวิจัยนี้ใช้หลอดไฟ SMDs LED ชนิด Super bright 5050 SMDs ยี่ห้อ Taiwan Epistar มีลักษณะเป็นแถบยาวหุ้มด้วยวัสดุซิลิโคนโปร่งใสสามารถกันน้ำได้ (IP65) ใช้แรงดันไฟฟ้าขนาด 12 โวลต์ ซึ่ง SMDs LED ชนิดนี้สามารถตัดแปลงและนำไปติดตั้งให้เข้ากับระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้ง่าย โดยชุดให้แสงสว่างมีจำนวนหลอดไฟ SMDs LED ทั้งสิ้น จำนวน 648 ตัว ซึ่งได้แยกแถบหลอดไฟ SMDs LED ออกเป็นหลายแถบ แต่ละแถบใช้หลอดไฟ SMDs LED จำนวน 18 ตัว นำไปติดตั้งกับแท่งสี่เหลี่ยมอลูมิเนียมทั้ง 4 ด้าน ด้านละ 3 แถบ เพื่อจัดลักษณะรูปแบบของแสงให้กระจายโดยรอบ ดังนั้นหนึ่งชุดให้แสงสว่างมีหลอดไฟ SMDs LED จำนวน 216 ตัว ทั้งหมด 3 ชุด โดยวางตรงกลางห้องเพาะเลี้ยงให้ห่างกันในแต่ละชุด 10 เซนติเมตร เพื่อให้สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงสามารถไหลวนรับแสงได้อย่างทั่วถึง การติดตั้งชุดให้แสงสว่างดังแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาเรื่องอิทธิพลของแสงแอลอีดีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. [18] พบว่าการใช้แสง SMDs LED สีขาวที่ระดับความเข้มแสง 20 ถึง 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (SMDs LED จำนวน 180 ถึง 420 ตัว) ให้การเจริญเติบโตที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับแสงสีอื่นที่ระดับความเข้มแสงเดียวกัน



รูปที่ 2 โครงสร้างชุดให้แสงสว่างจากหลอด LED

3. บล็อกไดอะแกรมฮาร์ดแวร์และโปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

บล็อกไดอะแกรมส่วนประกอบทางฮาร์ดแวร์ของระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. แสดงดังรูปที่ 3 โดยแบ่งการทำงานออกได้เป็น 4 ส่วน ดังนี้



รูปที่ 3 บล็อกไดอะแกรมของระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

3.1 ส่วนของแหล่งจ่าย เป็นส่วนที่ทำหน้าที่จ่ายแรงดันไฟฟ้ากระแสสลับ 220 โวลต์ ให้กับโซลินอยด์วาล์วเพื่อควบคุมการปล่อยก๊าซ CO₂ และทำการแปลงแรงดันไฟฟ้ากระแสสลับ 220 โวลต์ โดยผ่านวงจรสวิตซ์ซึ่งเป็นแรงดันไฟฟ้ากระแสตรง 12 โวลต์ เพื่อจ่ายไฟเลี้ยงให้กับปั้มน้ำวน ปั้มน้ำเดิม และปั้มน้ำสำหรับการวัดค่า pH และแปลงแรงดันไฟฟ้าให้เป็นแรงดันไฟฟ้ากระแสตรง 5 โวลต์ เพื่อใช้เป็นไฟเลี้ยงให้กับบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์ และอุปกรณ์เซนเซอร์ เป็นต้น

3.2 ส่วนของอินพุต เป็นส่วนที่แสดงถึงอุปกรณ์จำพวกเซนเซอร์ที่ใช้วัดค่าพารามิเตอร์ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ได้แก่ pH เซนเซอร์ เซนเซอร์อุณหภูมิ และไมโครนาฬิกา โดยเมื่อวัดค่าพารามิเตอร์แล้วจะทำการส่งค่าไปยังส่วนของชุดควบคุมเพื่อให้ชุดควบคุมทำการประมวลผล และแสดงค่าต่อไป

3.3 ส่วนของเอาต์พุต เป็นส่วนที่รับคำสั่งจากชุดควบคุมเพื่อสั่งงานให้มีการเปิดหรือปิดวงจร โดยประกอบด้วยวงจร Relay ในการควบคุมการทำงานของโซลินอยด์วาล์วเพื่อควบคุมการปล่อยก๊าซ CO₂ ควบคุมการเปิดหรือปิดปั้มน้ำเดิมเพื่อเติมน้ำในส่วนของผู้เพาะเลี้ยง ควบคุมการเปิดหรือปิดปั้มน้ำวนในส่วนของผู้เพาะเลี้ยง และควบคุมการทำงานของปั้มน้ำสำหรับการวัดค่า pH เพื่อให้ชุดวัดค่า pH สามารถวัดค่าและส่งข้อมูลไปประมวลผลเพื่อควบคุมค่า pH ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย มีส่วนของการแสดงผลผ่านหน้าจอ LCD และมีการบันทึกค่าอุณหภูมิ ค่า pH และค่าเวลาไว้ใน SD Card ซึ่งผู้ใช้งานสามารถนำค่าที่บันทึกไว้ไปพล็อตกราฟเพื่อวิเคราะห์หรือเปรียบเทียบผลสำหรับการศึกษาวิจัยในเรื่องการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อไป

3.4 ส่วนชุดควบคุม โดยชุดควบคุมทำหน้าที่รับค่าจากเซนเซอร์ในส่วนของอินพุต และส่งค่าที่ทำการประมวลผลจากไมโครคอนโทรลเลอร์ไปควบคุมส่วนของเอาต์พุต ซึ่งไมโครคอนโทรลเลอร์ที่ใช้ในส่วนชุดควบคุม คือบอร์ด NodeMCU (ESP8266-12F)

โปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถอธิบายได้จากแผนผังแสดงขั้นตอนการทำงานดังรูปที่ 4 การทำงานของโปรแกรมเริ่มจากการตรวจสอบการกดสวิทช์ หากมีการกดเปิดสวิทช์ โปรแกรมจะสั่งให้ปั้มน้ำภายในตู้เพาะเลี้ยงเริ่มทำงานพร้อมด้วยจอแสดงผล LCD เริ่มแสดงวัน เวลา และค่าอุณหภูมิของน้ำ หลังจากนั้นโปรแกรมจะสั่งให้เริ่มทำการวัดค่า pH และแสดงผลค่า pH ซึ่งวัดค่าทุก 10 วินาที และเวลาบันทึกใน SD Card หลังจากนั้นโปรแกรมจะสั่งให้ทำการคำนวณค่าเฉลี่ยจากจำนวนครั้งของการวัดค่า pH ในเวลา 5 นาที เพื่อนำไปสู่โปรแกรมควบคุมค่า pH ให้อยู่ระหว่าง pH 6.7 และ 6.9 หากค่าเฉลี่ย pH มีค่ามากกว่า 6.9 โปรแกรมจะสั่งให้ระบบทำการเติมก๊าซ CO₂ เพื่อปรับเพิ่มความเป็นกรดให้กับน้ำในตู้เพาะเลี้ยง และหากค่าเฉลี่ย pH มีค่าน้อยกว่า 6.7 โปรแกรมจะสั่งให้ปั้มน้ำจากตู้เก็บน้ำที่มีค่า pH ของน้ำเป็นกลางให้เติมน้ำเพื่อปรับลดความเป็นกรดให้กับน้ำในตู้เพาะเลี้ยง ซึ่งในระหว่างกระบวนการควบคุมค่า pH อยู่นั้น ระบบยังคงวัดค่า pH และบันทึกลงใน SD Card ทุก 10 วินาที

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบและการสอบเทียบ (Calibration) ระบบวัดและควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ประกอบไปด้วย

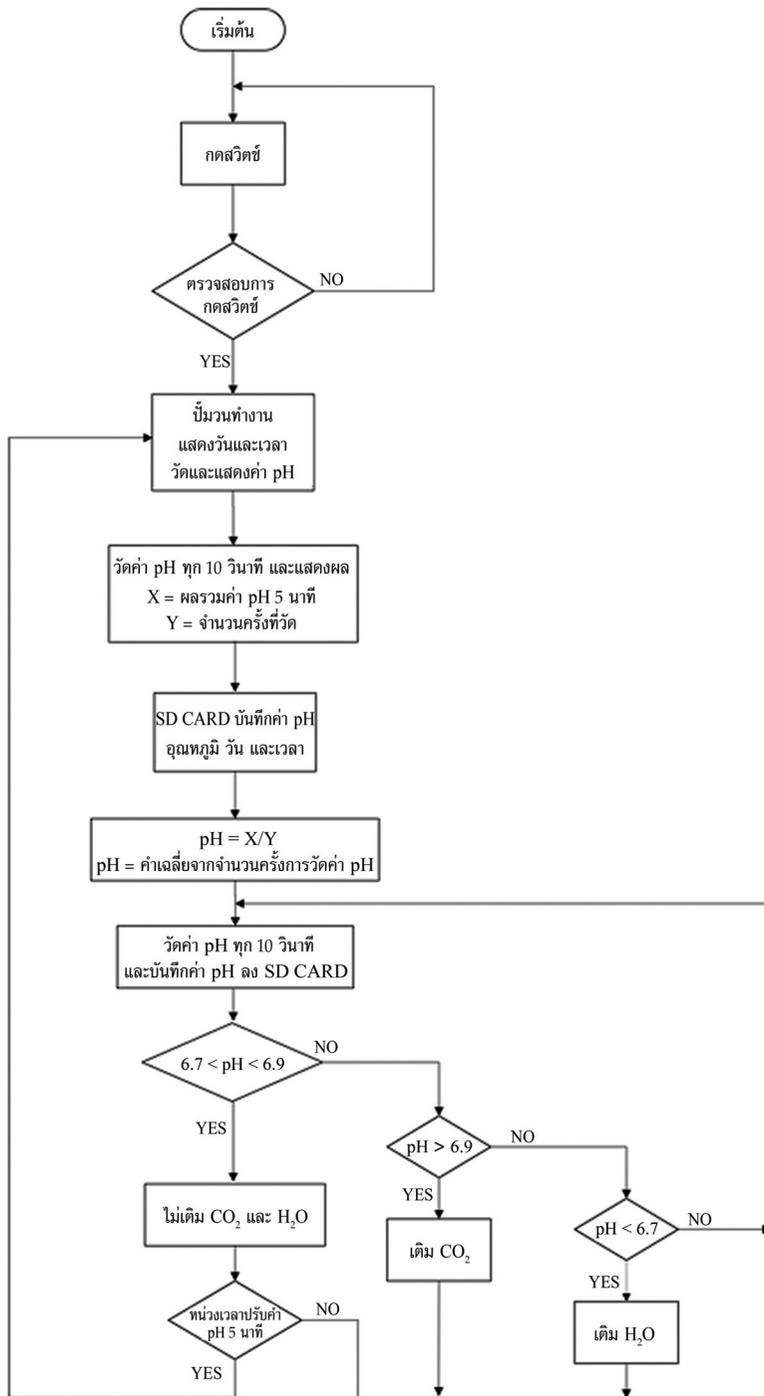
1. การสอบเทียบโพรบเซนเซอร์ตรวจวัดค่า pH

งานวิจัยนี้ใช้โพรบเซนเซอร์ตรวจวัดค่า pH ของ Industrial pH electrode (SKU:FIT0348) ซึ่งมีคุณสมบัติย่านการวัดค่า pH อยู่ในช่วง 0 ถึง 14 pH และมีค่าความเที่ยงตรงสำหรับการวัดน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.02 pH ใช้ร่วมกับวงจรอินเทอร์เฟส (pH probe module BNC connector) สำหรับการเชื่อมต่อกับไมโครคอนโทรลเลอร์เพื่อการส่งข้อมูลค่า pH ให้กับไมโครคอนโทรลเลอร์ จากทฤษฎีและหลักการที่ได้กล่าวมาในตอนต้น ปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงกับค่าความเป็นกรดของน้ำ (สำหรับช่วงค่า pH ที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย) การสอบเทียบชุดตรวจวัดค่า pH เพื่อทำการปรับชดเชยค่า pH ที่ได้จากโพรบเซนเซอร์ให้มีค่าเป็นมาตรฐานนั้น ทำให้สามารถวัดค่าและควบคุมค่า pH ที่ใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ได้อย่างถูกต้อง ดังนั้นจึงทำการสอบเทียบและปรับค่าของโพรบเซนเซอร์ตรวจวัดค่า pH โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่ามาตรฐาน pH 6.86 ซึ่งอยู่ในช่วงค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเป็นตัวทดสอบ

2. การทดลองหาความสัมพันธ์ของอัตราการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงในน้ำกับอัตราการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในน้ำ

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะสามารถละลายน้ำได้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และอุณหภูมิของน้ำ เมื่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ละลายในน้ำปฏิกิริยาเคมีจะทำให้เกิดกรดคาร์บอนิก (H₂CO₃) ดังนั้นจึงได้ออกแบบการทดลองเพื่อหาอัตราการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในน้ำ จากการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำที่ปริมาณ 40 ลิตร อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส โดยมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการจ่ายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ดังนี้ 1 ลิตรต่อนาที 5 ลิตรต่อนาที และ 15 ลิตรต่อนาที

3. ทดสอบโปรแกรมและทดลองเปลี่ยนแปลงสภาพความเป็นกรดหรือเป็นด่างในน้ำเพื่อทดสอบระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นเวลา 5 ชั่วโมง โดยกำหนดสถานการณ์เป็น 5 ช่วงดังนี้



รูปที่ 4 ฟังก์ชันการทำงานของโปรแกรม

ชั่วโมงที่ 1 ทดสอบการทำงานของระบบ โดยเริ่มจากน้ำที่มีค่า pH เป็นกลาง
 ชั่วโมงที่ 2 ทดสอบการทำงานของระบบ โดยให้ระบบทำงานต่อจากชั่วโมงที่ 1

ชั่วโมงที่ 3 ทดสอบการทำงานของระบบ โดยเปลี่ยนสภาพน้ำให้เป็นกรดโดยการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ

ชั่วโมงที่ 4 ทดสอบการทำงานของระบบ โดยให้ระบบทำงานต่อจากชั่วโมงที่ 3

ชั่วโมงที่ 5 ทดสอบการทำงานของระบบ โดยเปลี่ยนสภาพน้ำให้เป็นด่างโดยการเติมน้ำปูนขาว

ในการออกแบบโปรแกรมกำหนดเงื่อนไขให้หยุดการเติมก๊าซ CO₂ เมื่อค่า pH เท่ากับ 6.88 (เลือกใช้อัตราการจ่ายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 1 ลิตรต่อนาที) และกำหนดเงื่อนไขการเติมน้ำที่เป็นกลางให้กับระบบโดยให้หยุดปั้มน้ำเติมเมื่อค่า pH เท่ากับ 6.8 (อัตราการเติมน้ำอยู่ที่ 18.13 ลิตรต่อนาที) โดยระบบใช้เวลา 5 นาที เพื่อการประมวลผลค่าข้อมูล pH ที่ได้จากการวัดค่าทุก 10 วินาที และใช้เวลาอีก 5 นาทีต่อมาเพื่อการปรับสภาพค่า pH ในน้ำให้อยู่ในช่วง 6.7 ถึง 6.9

ขั้นตอนที่ 3 การออกแบบการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. และการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย เพื่อเปรียบเทียบและศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในช่วงระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย ระหว่างการเพาะเลี้ยงแบบเปิดและการเพาะเลี้ยงแบบระบบปิดที่มีการควบคุมเวลาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่แตกต่างกัน การทดลองได้กำหนดและควบคุมปัจจัยเริ่มต้นต่าง ๆ เช่น อัตราส่วนน้ำหัวเชื้อสาหร่ายและอัตราส่วนผสมอาหารของสาหร่าย ฯลฯ ในอัตราส่วนเดียวกันทุกการทดลอง ในขณะที่ปัจจัยสภาพแวดล้อมของระบบเปิดและระบบปิด (เช่น การควบคุมปริมาณความเข้มข้นของ CO₂ ในน้ำเพาะเลี้ยงและการให้แสงสีขาจาก SMDs LED ในระบบปิด) เป็นปัจจัยที่ต้องการศึกษา โดยการทดลองได้แบ่งออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

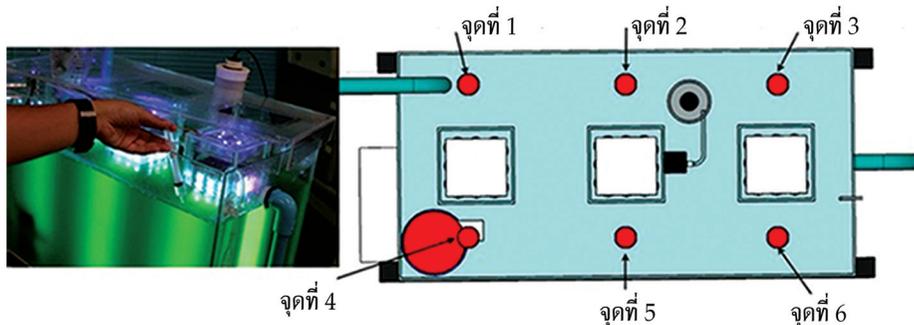
1. ทดลองเพาะเลี้ยงแบบเปิดใช้แสงแดดตามธรรมชาติ ภายใต้สภาพแวดล้อมตามฤดูกาล โดยไม่มีการควบคุมการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ

การทดลองเพาะเลี้ยงระบบเปิดในภาชนะบรรจุซึ่งเป็นถังพลาสติกใส่น้ำเพาะเลี้ยง 30 ลิตร ภายใต้แสงแดดตามธรรมชาติและสภาพแวดล้อมตามฤดูกาล โดยการให้อาหารเป็นปุ๋ยยูเรียอัตราส่วน 2 ช้อนชา และปุ๋ยนาอัตราส่วน 1 ช้อนชา ต่อน้ำ 20 ลิตร และอัตราส่วนน้ำหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp. 1 ลิตรต่อน้ำ 7 ลิตร เก็บตัวอย่างสาหร่าย วัดค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยง และวัดอุณหภูมิในน้ำทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน ไม่มีการควบคุมการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ

2. ทดลองเพาะเลี้ยงแบบระบบปิดด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ควบคุมค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วงระหว่างค่า pH 6.7 และ 6.9 ทุก 1 ชั่วโมง และทดลองปรับลดเวลาการควบคุมค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงให้เป็นการควบคุม ทุก ๆ 10 นาที

การทดลองเพาะเลี้ยงแบบระบบปิดด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ควบคุมค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยง 40 ลิตร ให้อยู่ในช่วงระหว่างค่า pH 6.7 และ 6.9 ทำการวัดค่า pH เพื่อการควบคุมให้ค่า pH อยู่ในช่วงตามเงื่อนไขและเวลาที่ถูกกำหนด โดยการทดลองเริ่มต้นจากการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำเพาะเลี้ยงให้มีค่าเท่ากับ 6.7 ให้อาหารเป็นปุ๋ยยูเรียอัตราส่วน 2 ช้อนชา และปุ๋ยนาอัตราส่วน 1 ช้อนชาต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราส่วนน้ำหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp. 1 ลิตรต่อน้ำ 7 ลิตร ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมงต่อวันที่อุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างสาหร่ายจาก 6 พื้นที่ภายในระบบตู้เพาะเลี้ยง และเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน

การศึกษ้อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นการนับจำนวนประชากรของเซลล์สาหร่ายจากการมองผ่านกล้องจุลทรรศน์ โดยสูมน้ำในตู้เพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 6 พื้นที่มาหยดลงบนแผ่นฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer Counting Chamber) แล้วคำนวณค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์สาหร่ายทั้ง 6 พื้นที่ ดังรูปที่ 5 วิธีการนี้สามารถคำนวณผลออกมาได้เป็นจำนวนเซลล์สาหร่ายต่อปริมาตร (เซลล์/มิลลิลิตร)



(ก) มุมมองด้านบนของตู้เพาะเลี้ยงที่แสดงพื้นที่ที่สุ่มเก็บตัวอย่างสาหร่าย เพื่อคำนวณหาจำนวนเซลล์สาหร่ายต่อปริมาตร



(ข) การใช้กล้องจุลทรรศน์เพื่อนับจำนวนของเซลล์สาหร่ายบนแผ่นฮีมาไซโตมิเตอร์ รูปที่ 5 การนับจำนวนเซลล์สาหร่ายต่อปริมาตรโดยใช้วิธีการนับจำนวนเซลล์สาหร่ายบนแผ่นฮีมาไซโตมิเตอร์

ผลการทดลองและวิจารณ์

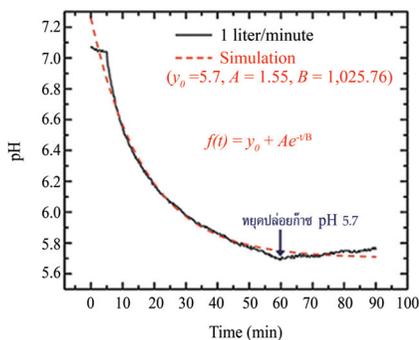
1. ผลการทดสอบระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

1.1 ผลการทดสอบและการสอบเทียบโพรบเซนเซอร์ตรวจวัดค่า pH

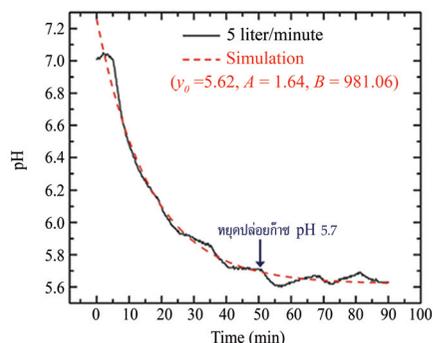
จากผลการสอบเทียบโพรบเซนเซอร์ตรวจวัดค่า pH กับสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่ามาตรฐาน pH 6.86 ซึ่งทำการตรวจวัดค่า pH ต่อเนื่องเป็นเวลา 15 นาที และนำค่า pH ที่ตรวจวัดได้มาหาค่าเฉลี่ย พบว่าค่า pH ที่โพรบเซนเซอร์วัดได้มีค่าน้อยกว่าค่า pH 6.86 อยู่ 0.3 จึงได้ทำการปรับชดเชยในโปรแกรมเพื่อให้ได้ค่า pH ที่ตรงกับค่ามาตรฐาน

1.2 ผลการทดลองหาความสัมพันธ์ของอัตราการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงในน้ำ กับอัตราการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในน้ำ

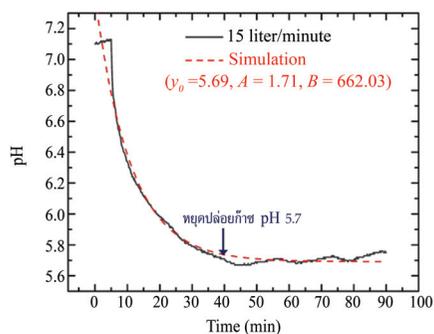
จากผลการทดสอบการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำพบว่า อัตราการจ่ายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 1 ลิตรต่อนาที ใช้เวลา 60 นาที สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่า pH ที่ 7.1 จนถึงค่า 5.7 อัตราการลดลงของค่า pH สามารถอธิบายได้โดยฟังก์ชัน $f(t) = y_0 + Ae^{-t/B}$ ซึ่งในกรณีนี้เมื่อทำการจำลองด้วยฟังก์ชัน *Exponential Decay* จะมีค่า $y_0 = 5.7$, $A = 1.55$, $B = 1,025.76$ ดังแสดงในรูปที่ 6(ก) กรณีอัตราการจ่ายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5 ลิตรต่อนาที ใช้เวลา 50 นาที ในการเปลี่ยนแปลงค่า pH ที่ 7.1 จนถึงค่า 5.7 และมีค่า $y_0 = 5.62$, $A = 1.64$, $B = 981.06$ ดังแสดงในรูปที่ 6(ข) และกรณีอัตราการจ่ายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 15 ลิตรต่อนาที ใช้เวลา 40 นาที ในการเปลี่ยนแปลงค่า pH ที่ 7.1 จนถึงค่า 5.7 และมีค่า $y_0 = 5.69$, $A = 1.71$, $B = 662.03$ ดังแสดงในรูปที่ 6(ค) การจำลองด้วยฟังก์ชัน *Exponential Decay* เทียบกับผลการทดสอบทั้ง 3 กรณี พบความสัมพันธ์แบบแปรผกผันระหว่างพารามิเตอร์ B กับอัตราการจ่ายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ อีกทั้งพิจารณาในช่วงหลังจากการหยุดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์พบว่า ในกรณีที่ใช้อัตราการจ่ายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 1 ลิตรต่อนาที มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงของกราฟที่ให้ค่าความเป็นกรดเกินกว่าค่า 5.7 น้อยที่สุด (Minimum Overshoot)



(ก) 1 ลิตรต่อนาที



(ข) 5 ลิตรต่อนาที

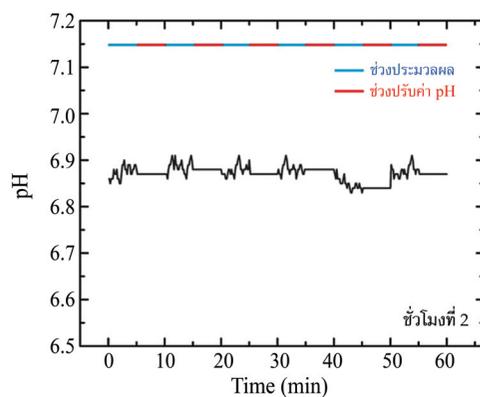
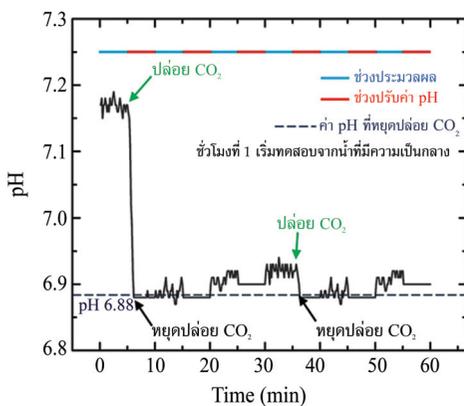


(ค) 15 ลิตรต่อนาที

รูปที่ 6 อัตราการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในน้ำเมื่อทำการเปลี่ยนแปลงค่าอัตราการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

1.3 ผลทดสอบโปรแกรมและทดลองเปลี่ยนแปลงสภาพความเป็นกรดหรือเป็นด่างในน้ำ เพื่อทดสอบระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

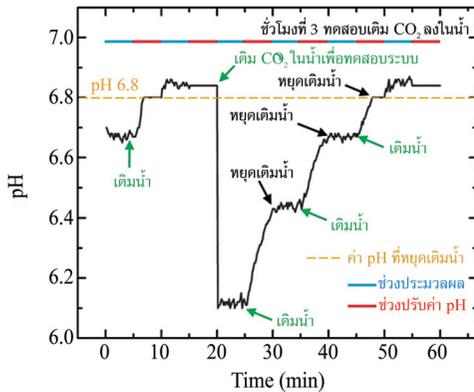
จากการทดสอบระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ สำหรับการเพาะเลี้ยงโดยการเปลี่ยนแปลงสภาพความเป็นกรดหรือเป็นด่างพบว่า ในช่วงชั่วโมงที่ 1 จากน้ำที่มีสภาวะค่า pH เป็นกลาง ระบบสามารถทำการปรับให้ค่า pH ของน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วง 6.7 ถึง 6.9 ภายในเวลาประมาณ 5 นาที โดยการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ดังแสดงในรูปที่ 7(ก) ในชั่วโมงที่ 2 ทดสอบการทำงานภายใต้สภาวะค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงต่อเนื่องจากชั่วโมงที่ 1 ซึ่งพบว่า ระบบสามารถรักษาสภาวะการเปลี่ยนค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ช่วง 6.7 ถึง 6.9 ไว้ได้โดยไม่มีการเติม ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือน้ำที่มีความเป็นกลางให้กับน้ำเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 7(ข) ในชั่วโมงที่ 3 ทดสอบเปลี่ยนสภาพน้ำให้เป็นกรดโดยใช้การเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำทำให้ค่า pH ลดลงเป็น 6.1 ซึ่งระบบสามารถทำการปรับให้ค่า pH ของน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วง 6.7 ถึง 6.9 ภายในเวลาประมาณ 30 นาที โดยการปั๊มเติมน้ำที่มีความเป็นกลางให้กับน้ำเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 7(ค) ชั่วโมงที่ 4 ทดสอบการทำงานภายใต้สภาวะค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงต่อจากชั่วโมงที่ 3 ซึ่งพบว่าระบบสามารถรักษาสภาวะค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ช่วง 6.7 ถึง 6.9 ไว้ได้โดยมีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ให้กับน้ำเพาะเลี้ยงในช่วงนาทีที่ 55 ดังแสดงในรูปที่ 7(ง) และในช่วงเวลาชั่วโมงที่ 5 เปลี่ยนสภาพน้ำเพาะเลี้ยงให้เป็นด่างโดยใช้การเติมน้ำปูนขาวทำให้ค่า pH เพิ่มขึ้นเป็น 7.88 ซึ่งระบบสามารถปรับให้ค่า pH ของน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วง 6.7 ถึง 6.9 ภายในเวลาประมาณ 10 นาที ดังแสดงในรูปที่ 7(จ)



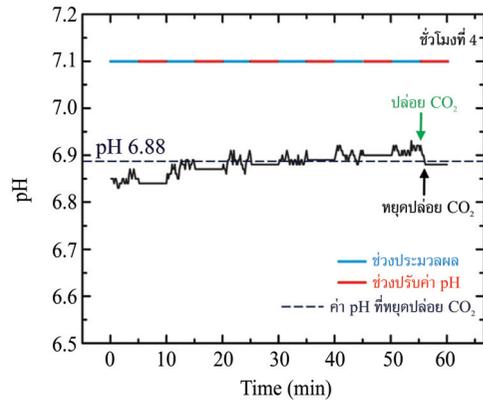
(ก) ชั่วโมงที่ 1 เริ่มจากน้ำที่มีค่า pH เป็นกลาง

(ข) ชั่วโมงที่ 2

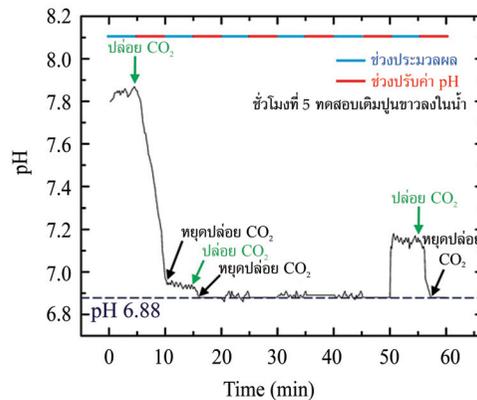
รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ เมื่อทำการทดสอบเปลี่ยนแปลงค่า pH ในน้ำ



(ค) ชั่วโมงที่ 3 ทดสอบทำให้น้ำในระบบมีความเป็นกรด



(ง) ชั่วโมงที่ 4



(จ) ชั่วโมงที่ 5 ทดสอบทำให้น้ำในระบบมีความเป็นด่าง

รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ เมื่อทำการทดสอบเปลี่ยนแปลงค่า pH ในน้ำ (ต่อ)

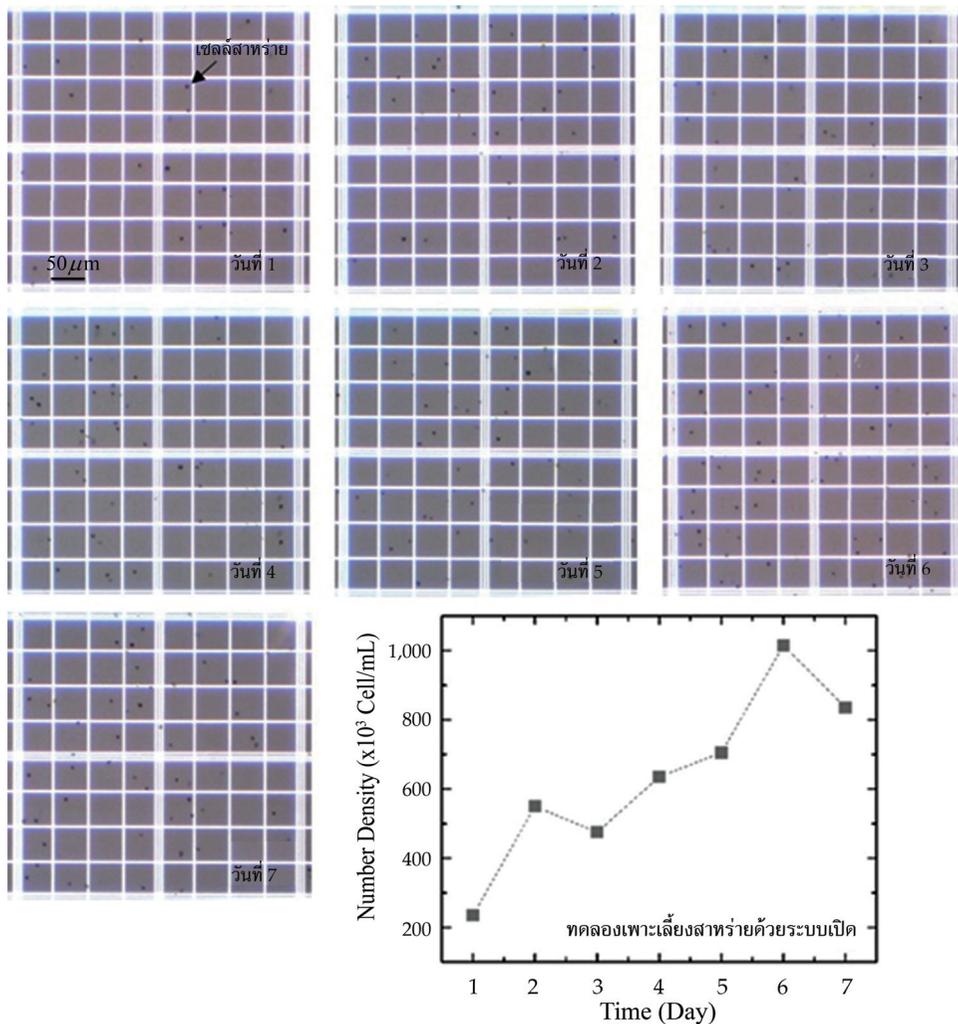
2. ผลการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย

2.1 ผลการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยแบบเปิด

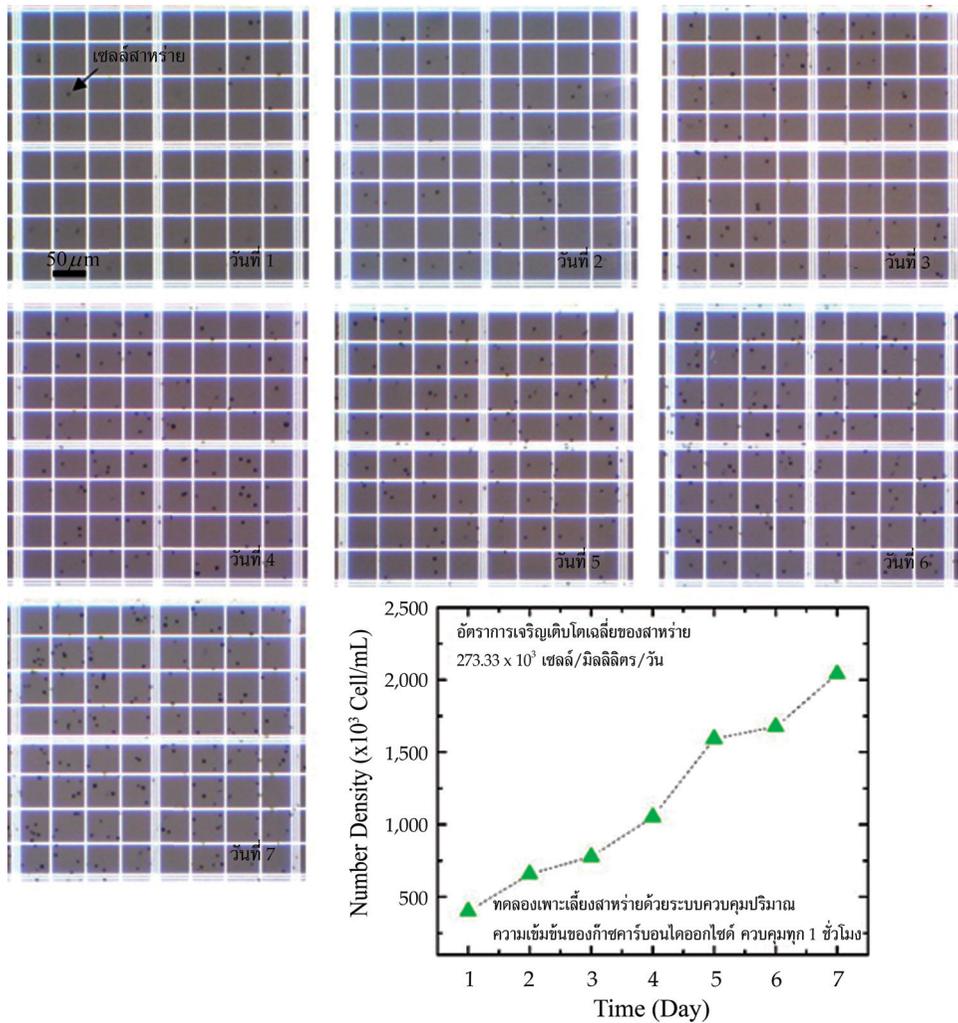
การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยแบบเปิดใช้แสงแดดตามธรรมชาติ ภายใต้สภาพแวดล้อมตามฤดูกาล โดยไม่มีการควบคุมการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ ผลการทดลองพบว่าอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายในช่วงวันที่ 1 ถึง 6 มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นด้วยอัตราเฉลี่ย 195×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน เริ่มจากจำนวนความหนาแน่นสาหร่าย 235×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร จนถึง $1,015 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร และลดลงเป็น 835×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร ในวันที่ 7 ซึ่งเป็นการเริ่มต้นของระยะการตาย (Death Phase) ของสาหร่าย และเป็นระยะที่มีการหยุดการเจริญเติบโตและเริ่มมีอัตราการตายเนื่องจากธาตุอาหารหมด และมีของเสียเกิดขึ้นทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต [19] โดยภาพแสดงจำนวนความหนาแน่นสาหร่ายที่ถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์และกราฟแสดงจำนวนความหนาแน่นสาหร่าย สำหรับการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยระบบเปิดแสดงดังรูปที่ 8

2.2 ผลการทดลองเพาะเลี้ยงแบบระบบปิดด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ควบคุมค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วงระหว่างค่า pH 6.7 และ 6.9 ทุก 1 ชั่วโมง และ 10 นาที

การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ควบคุมค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วงระหว่างค่า pH 6.7 และ 6.9 ทุก 1 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายในช่วงวันที่ 1 ถึง 7 มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นด้วยอัตราเฉลี่ย 277.33×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน เริ่มจากจำนวนความหนาแน่นสาหร่าย 400×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร จนถึง $2,040 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร โดยภาพแสดงจำนวนความหนาแน่นสาหร่ายที่ถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์และกราฟแสดงจำนวนความหนาแน่นสาหร่ายสำหรับการทดลองนี้แสดงดังรูปที่ 9

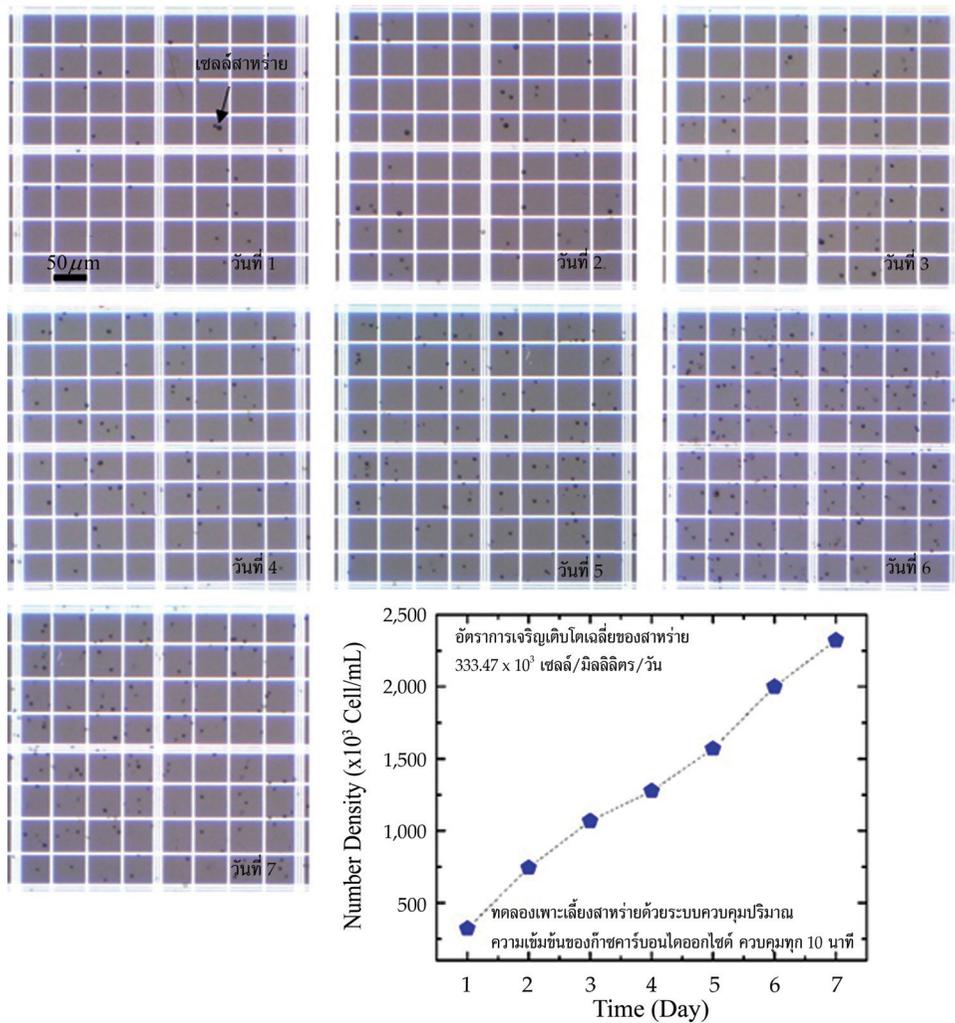


รูปที่ 8 จำนวนความหนาแน่นสาหร่ายบนแผ่นฮีมาไซโตมิเตอร์ที่ถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ สำหรับการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยแบบเปิด



รูปที่ 9 จำนวนความหนาแน่นสาหร่ายบนแผ่นซีมาไฮโดมิเตอร์ที่ถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์สำหรับการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ควบคุมค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงทุก 1 ชั่วโมง

การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ควบคุมค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วงระหว่างค่า pH 6.7 และ 6.9 ทุก 10 นาที ผลการทดลองพบว่าอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายในช่วงวันที่ 1 ถึง 7 มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นด้วยอัตราเฉลี่ย 333.47×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน เริ่มจากจำนวนความหนาแน่นสาหร่าย 321.67×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร จนถึง $2,322.5 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร โดยภาพแสดงจำนวนความหนาแน่นสาหร่ายที่ถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์และกราฟแสดงจำนวนความหนาแน่นสาหร่ายสำหรับการทดลองนี้แสดงดังรูปที่ 10



รูปที่ 10 จำนวนความหนาแน่นสาหร่ายบนแผ่นซีมาไฮโดมิเตอร์ที่ถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์สำหรับการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ควบคุมค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงทุก 10 นาที

จากกราฟแสดงจำนวนความหนาแน่นสาหร่าย *Chlorella* sp. สำหรับการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยแบบเปิดและระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ควบคุมค่า pH ในน้ำเพาะเลี้ยงที่ได้แสดงดังรูปที่ 8 - 10 แสดงให้เห็นช่วงระยะการเจริญเติบโตของสาหร่ายในช่วงระยะเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential Phase) [19] ซึ่งเป็นระยะที่สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนเซลล์และเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เมื่อเปรียบเทียบผลจำนวนความหนาแน่นสาหร่าย ระหว่างการเลี้ยงแบบเปิดและการเลี้ยงด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าจำนวนความหนาแน่นสาหร่ายในช่วงสิ้นสุดระยะการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นได้ถึง 2 เท่า และ 2.3 เท่า จาก $1,015 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร เพิ่มขึ้นเป็น $2,040 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร และ $2,322.5 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร

อีกทั้งอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยเพิ่มขึ้นได้ถึง 1.4 เท่า และ 1.7 เท่า จากอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 195×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน เพิ่มขึ้นเป็น 277.33×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน และ 333.47×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร/วัน จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการควบคุมและการเติมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วงประมาณค่า pH 6.7 ถึง 6.9 ให้ได้มากที่สุดจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย เนื่องจากค่าความเป็นกรดต่างในช่วงดังกล่าวจะมี Dissolved Inorganic Carbon ในรูปของ CO_2 และ HCO_3^- ในปริมาณใกล้เคียงกัน การควบคุมค่าความเป็นกรดต่าง จึงมีความสำคัญในการเพาะเลี้ยง เพื่อให้สาหร่ายขนาดเล็กสามารถดูดซึมและนำ CO_2 มาใช้ประโยชน์ สำหรับกระบวนการสังเคราะห์แสงได้เพิ่มขึ้น [20] จึงส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายนั้นเพิ่มขึ้น อีกทั้งในการพิจารณาจำนวนความหนาแน่นสาหร่ายในช่วงวันที่ 6 และ 7 ของการเลี้ยงแบบเปิดที่แสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายเริ่มเข้าสู่ช่วงระยะการตาย (Death Phase) เปรียบเทียบกับจำนวนความหนาแน่นสาหร่ายในช่วงวันที่ 6 และ 7 ของการเลี้ยงด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ควบคุมค่า pH ที่แสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายยังอยู่ในช่วงระยะเอกซ์โพเนนเชียล ดังนั้นการเลี้ยงด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ยังมีผลทำให้เกิดการขยายช่วงการเจริญเติบโตของสาหร่าย แสดงให้เห็นถึงการมีสภาวะแวดล้อมในการเลี้ยงที่เหมาะสม ในด้านของค่าความเป็นกรดต่าง คาร์บอนไดออกไซด์ แสง และอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง และเมื่อได้ทำการเปรียบเทียบผลการทดลองกับผลการศึกษาอิทธิพลของแสงแอลอีดีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลล่า [18] พบว่าผลการทดลองมีความสอดคล้องกันในกรณีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดภายใต้แสงสีขาวจาก SMDs LED ที่ระดับความเข้มแสง 20 ถึง $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ให้การเจริญเติบโตที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นที่ระดับความเข้มแสงเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามไม่สามารถนำจำนวนความหนาแน่นและอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายจากผลการศึกษาดังกล่าวมาเปรียบเทียบกันได้ เนื่องจากมีความแตกต่างกันในโครงสร้างของระบบเพาะเลี้ยง โครงสร้างชุดให้แสงสว่าง ปัจจัยเริ่มต้นในการทดลอง และค่า pH ที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งเวลาและวิธีการควบคุมปริมาณความเข้มข้นของ CO_2 ในน้ำเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

บทสรุป

ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นปัจจัยที่สำคัญและมีอิทธิพลต่อผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย ในด้านการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและจำนวนความหนาแน่นของสาหร่าย การเพาะเลี้ยงด้วยระบบควบคุมปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ได้จำนวนความหนาแน่นสาหร่ายในช่วงสุดท้ายของระยะการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นได้ถึง 2.3 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงระบบเปิดแบบธรรมชาติ และได้อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยเพิ่มขึ้นได้ถึง 1.7 เท่า รวมทั้งมีผลต่อการช่วยขยายช่วงระยะการเจริญเติบโตให้ยาวขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ขอขอบคุณอาจารย์โชคมงคล นาคี ที่สนับสนุนให้คำปรึกษาด้านเทคนิค นายพิรพงษ์ ทับทิม นางสาวชนิสรา เสมมหาศักดิ์ และนางสาวมัลลิกา ถาคำดีบ สนับสนุนการปฏิบัติการด้านเทคนิค และขอขอบคุณ สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า สาขาวิชาครุศาสตร์อุตสาหกรรม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา และวิทยาลัยพลังงานทดแทน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่เอื้อเพื่อสถานที่ทำงานวิจัยและเก็บข้อมูล และงานวิจัยนี้ขอขอบคุณ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนทุนวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

References

- [1] Sumriddetchkajorn, O. (2010). Fuel from Algae. **Materials Technology Journal (National Metal and Materials Technology Center)**. Vol. 61, pp. 29-35
- [2] Leesing, R. and Nontaso, N. (2013). **Biodiesel Production from High Lipid Green Microalgae Isolated from Treshwater in the Area of Khon Kaen Province**. Research Report, Faculty of Science, Khon Kaen University
- [3] Ruangsomboon, S., Choochote, S., Taveekijakarn, P., and Ganmanee, M. (2012). **Strain Selection and Mass Culture of High Lipid Content Algae for the Feasibility of Biofuel Production**. Research Report, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
- [4] Chamchoi, N. (2014). Microalgae: Cultivation and Utilization. **HCU Journal**. Vol. 34, pp. 169-183
- [5] Fleischer, C., Becker, S., and Eigenberger, G. (1996). Detailed Modeling of the Chemisorption of CO₂ into NaOH in a Bubble Column. **Chemical Engineering Science**. Vol. 51, No. 10, pp. 1715-1724. DOI: 10.1016/0009-2509(96)00030-9
- [6] Singh, R. N. and Sharma, S. (2012). Development of Suitable Photobioreactor for Algae Production - A Review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. Vol. 16, Issue 4, pp. 2347-2353. DOI: 10.1016/j.rser.2012.01.026
- [7] Richmond, A. (2004). **Handbook of Microalgal Mass Culture**. Iowa: Iowa State Press
- [8] Becker, E. W. and Venkatanaman, L. V. (1982). **Biotechnology and Exploitation of Algae: The Indian Approach**. Eschborn: German Agency for Technical Cooperation (GTZ). p. 216
- [9] Kumar, H. D. and Singh, H. N. (1979). **A Textbook on Algae**. London: The Macmillan Press Ltd
- [10] Choi, C. S., Choi, W. Y., Kang, D. H., and Lee, H. Y. (2014). Production of Biodiesel from *Chlorella* sp. Enriched with Oyster Shell Extracts. **BioMed Research International**. Vol. 2014, No. 105728, pp. 1-8. DOI: 10.1155/2014/105728
- [11] Choochote, W. (2013). Antibacterial Activity of *Chlorella* spp. Extract against Pathogenic Bacteria. **Journal of Science Ladkrabang**. Vol. 22, No. 2, pp. 102-114

- [12] Sri-uam, P., Linthong, C., Powtongsook, S., Kungvansaichol, K., and Pavasant, P. (2015). Manipulation of Biochemical Compositions of *Chlorella* sp. **Engineering Journal**. Vol. 19, No. 4, pp. 13-24. DOI: 10.4186/ej.2015.19.4.13
- [13] Steenblock, D. (1987). **Chlorella Natural Medicinal Algal**. California: Aging Research Institute
- [14] Yamali, Y., Phoopat, S., Sutjaritvongsanon, K., Yongmanitchai, W., and Patarakulpong, P. (1984). Utilization of *Chlorella* sp. from Waste Water in Soy-Milk Plant for Feeding on *Moina* Macrocopa. In **Proceedings of the 22nd Conference: Fisheries Section**. Bangkok, Kasetsart University. pp. 396-402
- [15] Shi, J., Podola, B., and Melkonian, M. (2007). Removal of Nitrogen and Phosphorus from Wastewater Using Microalgae Immobilized on Twin Layers: An Experimental Study. **Journal of Applied Phycology**. Vol. 19, pp. 417-423. DOI: 10.1007/s10811-006-9148-1
- [16] Borowitzka, M. A. (1999). Commercial Production of Microalgae: Ponds, Tanks, Tubes and Fermenters. **Journal of Biotechnology**. Vol. 70, pp. 313-321
- [17] Bošnjaković, M. (2013). Biodiesel from Algae. **Journal of Mechanics Engineering and Automation**. Vol. 3, Number 3, pp. 179-188
- [18] Kaikha, S. (2016). **The Effect of LED Lighting on the Growth Rate of *Chlorella* sp.** B.Sc. Dissertation School of Renewable Energy, Maejo University
- [19] Wisansuwannakorn, R. (2005). **Optimal Conditions for Growth of *Chlorella* sp. by Using Carron Dioxide as a Corbon Source in Photobioreactor**. M.Sc. Dissertation, Faculty of Science, Chulalongkorn University
- [20] Raksasak, W., Pichiansoontorn, Y., Panyapinyopol, B., Malakul, P., and Pavasant, P. (2012). Accelerating Microalgal Growth with CO₂ Transformation. **Engineering Journal**. Vol. 4, pp. 15-26