



รายงานการวิจัย

การผลิตชีวมวลและการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมันด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก

Biomass production and wastewater treatment from oil palm industry
by microalgae.

สมรักษ์ รอดเจริญ

ชุตินุช สุจริต

เอนก สาวะอินทร์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2556

การผลิตชีวมวลและการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมันด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก

บทคัดย่อ

โรงงานปาล์มน้ำมันมีการปล่อยน้ำทิ้งออกมาเป็นจำนวนมากโดยในน้ำทิ้งที่เกิดจากโรงงานปาล์มน้ำมันนั้นมักจะมีสารอินทรีย์และแร่ธาตุสะสมอยู่ในปริมาณสูง จึงทำให้น้ำทิ้งที่ไม่สามารถปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดและความหลากหลายของสาหร่ายในน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายของโรงงานปาล์มน้ำมัน หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลของสาหร่าย และสุดท้ายการศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Phormidium* sp. ในการบำบัดสารอินทรีย์จากน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายของโรงงานปาล์มน้ำมัน

การศึกษาชนิดและความหลากหลายของสาหร่ายในน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายของโรงงานปาล์มน้ำมันจำนวน 3 แห่ง ได้แก่ จังหวัดตรัง 2 แห่ง (ตรัง 1 และตรัง 2) และจังหวัดกระบี่ 1 แห่ง (กระบี่ 1) พบสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมันทั้งหมด 5 ดิวิชั่น 6 อันดับ 9 สกุล 10 ชนิด โดย *Phormidium* sp. และ *Euglena* sp.1 เป็นชนิดเด่นของสาหร่ายที่พบในน้ำเสียทั้งสามโรงงาน ค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ (Shannon-Wiener's Index) พบว่าสาหร่ายมีความหลากหลายสูงในน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมัน เมื่อวิเคราะห์ความคล้ายคลึงพบว่าความคล้ายคลึงของชนิดสาหร่าย (35.39-75.11%) มีค่าน้อยกว่าความคล้ายคลึงของคุณภาพน้ำ (86.62-90.63%) ส่วนการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสาหร่ายกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้วยการวิเคราะห์ Canonical correspondences analysis พบว่าค่าความโปร่งแสงของน้ำมีความสัมพันธ์ต่อการแพร่กระจายของสาหร่ายมากที่สุด โดย *Oscillatoria* sp., *Cryptomonas* sp., *Pleurosigma* sp. และ *Microcystis* sp. พบได้เพียงบริเวณที่มีค่าความโปร่งแสงสูงและค่า BOD ในน้ำต่ำเท่านั้น

ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormidium* sp. ผลการศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลของสาหร่ายในอาหาร 4 สูตร ได้แก่ BG-11 medium, BGA medium, Bold's Basal medium และ Chu medium โดยเลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิ 28 ± 1 °C ภายใต้ความเข้มแสง $60 \mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$ ให้แสงสว่าง : มืด เท่ากับ 12 : 12 ชั่วโมง เขย่า 150 rpm เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลได้สูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium (0.36 ± 0.00 g DW/L) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกสูตรอาหาร การศึกษาระดับความเข้มข้นของ NaNO_3 (0.00, 0.75, 1.50, 3.00 and 6.00 g/L) ในสูตรอาหาร BG-11 medium พบว่า สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลได้สูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium ที่เติม NaNO_3 3.00 g/L และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกระดับความเข้มข้น การศึกษาระดับความเข้มข้นของ $\text{K}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.00, 0.02, 0.04, 0.08 and 0.16 g/L) ในสูตรอาหาร BG-11 medium พบว่า สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลได้สูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium ที่เติม $\text{K}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.16 g/L และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกระดับความเข้มข้น และ

เมื่อศึกษาระดับ pH (5, 6, 7, 8 และ 9) พบว่า สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ pH 7, 8 และ 9 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) ในขณะที่การผลิตชีวมวลพบว่าสูงสุดที่ pH 7 และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกระดับ

การศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Phormidium* sp. ในการบำบัดสารอินทรีย์จากน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายของโรงงานปาล์มน้ำมัน 3 แห่ง ได้แก่ ตรัง1 ตรัง2 และกระบี่1 โดยทดลองเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Phormidium* sp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานทั้ง 3 แห่งในปริมาตร 100 ml เติมหัวเชื้อสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 0.03 gDW/L ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายและประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในน้ำทิ้งจากโรงงานตรัง2 (0.79 ± 0.09 gDW/l) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อทดลองเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Phormidium* sp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานตรัง2 ที่มีความระดับความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่แตกต่างกัน คือ ร้อยละ 10, 30, 50, และ 70 ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 28 วัน ผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้นน้ำทิ้งร้อยละ 50 สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (1.28 ± 0.23 gDW/l) และสามารถลดปริมาณของแอมโมเนีย ไนโตรเจน ไนเตรท และฟอสเฟตได้มากที่สุดเท่ากับร้อยละ 97.65, 86.18, 85.27 และ 98.68 ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

คำสำคัญ : ชีวมวล, การบำบัดน้ำเสีย, สาหร่ายขนาดเล็ก

Biomass production and wastewater treatment from oil palm industry by microalgae

Abstract

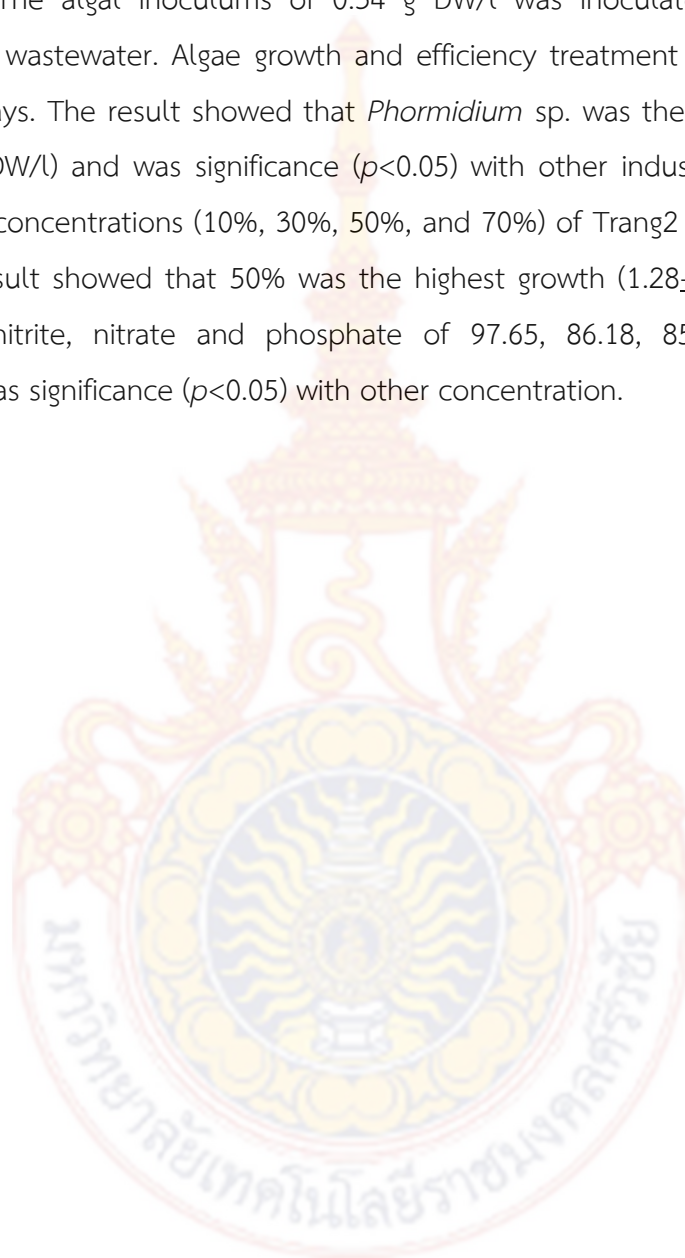
Palm oil industries have been released large amount of wastewater (organic substances and minerals) which could not be release into natural water sources. The objectives of this research were to study the species and diversity of the microalgae from the last wastewater treatment pond of the palm oil factory, optimal conditions for growth and biomass productivity of *Phormedium* sp. and efficiency of *Phormidium* sp. for treatment of organic substance in the final wastewater palm oil industrial pond

To study the species and diversity of the microalgae from the last wastewater treatment pond of the palm oil factory. Three wastewater samples were collected from Trang1 and Trang2, Trang province and Khabi1, Khabi province, respectively. The total of 5 division, 6 orders, 9 genus and 10 species were recorded. *Phormidium* sp. and *Euglena* sp.1 were dominance species on all three oil palm industrial wastewater. Shannon-Wiener's index illustrated high microalgal diversity in oil palm industrial wastewater. However, the cluster analysis among microalgal species showed lower similarity than among water quality. Canonical correspondences analysis showed that the distribution of some microalgal specie was related to the transparency. *Oscillatoria* sp., *Cryptomonas* sp., *Pleurosigma* sp. and *Microcystis* sp. were founded only at high transparency and low BOD.

To examine the suitable environment for growth and biomass productivity of *Phormedium* sp. Algae were cultured in 4 different culture mediums (BG-11 medium, BGA medium, Bold's Basal medium and Chu medium). The cultures incubated under illumination at $60 \mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$ using cool white fluorescence lamps with 12 h dark and 12 h light cycle and shaken at 150 rpm on orbital shaker at $28 \pm 1^\circ\text{C}$ for 20 days. The growth rate and biomass production were the highest in BG-11 medium (0.36 ± 0.00 g DW/l) with statistically significant ($p < 0.05$) by comparing with other mediums. In the different concentrations of NaNO_3 (0.00, 0.75, 1.50, 3.00 and 6.00 g/l) were the highest growth rate and biomass production at 3.00 g/l NaNO_3 and were statistically significant ($p < 0.05$) by comparing with others. In the different concentrations of $\text{K}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.00, 0.02, 0.04, 0.08 and 0.16 g/l), growth rate and biomass production were the highest at 0.16 g/l $\text{K}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and were statistically significant ($p < 0.05$) by comparing with others. The algae were cultivated in different culture pH (5, 6, 7, 8 and 9). The growth rate and biomass production were the highest at pH 7. It was found that BG-11 medium with 6.00 g/l NaNO_3 and 0.16 g/l $\text{K}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

and cultured at pH 7 was the suitable environment for growth and biomass productivity of *Phormidium* sp.

To study efficiency of *Phormidium* sp. for treatment of organic substance in the final wastewater palm oil industrial pond. Algae were cultured in 3 industries, namely, Trang1, Trang2 and Khabi1. The algal inoculum of 0.34 g DW/l was inoculated into the flask containing 100 ml of wastewater. Algal growth and efficiency treatment were investigated every 7 days for 28 days. The result showed that *Phormidium* sp. was the highest growth in Trang2 (0.79 ± 0.09 g DW/l) and was significant ($p < 0.05$) with other industry. However, the different wastewater concentrations (10%, 30%, 50%, and 70%) of Trang2 were investigated. After 28 days, the result showed that 50% was the highest growth (1.28 ± 0.23 g DW/l) and reduced ammonia, nitrite, nitrate and phosphate of 97.65, 86.18, 85.27 and 98.68%, respectively, which was significant ($p < 0.05$) with other concentration.



Keywords: Biomass, wastewater treatment, microalgae

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้โดยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2556 ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ขอขอบคุณนักศึกษาปริญญาตรีสาขาสิ่งแวดล้อมและสาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ช่วยเก็บตัวอย่างและเป็นผู้ช่วยในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

สุดท้ายขอกราบขอบคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่เป็นกำลังใจในการทำวิจัยเสมอมา

สมรักษ์ รอดเจริญและคณะ



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	6
สารบัญ	7
บทนำ	8
ตรวจเอกสาร	10
อุปกรณ์และวิธีการ	24
ผลการทดลองและวิจารณ์	29
สรุป	46
เอกสารอ้างอิง	48
ภาคผนวก	56



บทนำ

ปัจจุบันราคาน้ำมันปาล์มในตลาดโลกขยับตัวสูงขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการนำน้ำมันปาล์มไปผลิตไบโอดีเซล จึงส่งผลทำให้ราคาปาล์มน้ำมันในประเทศปรับตัวสูงขึ้นด้วย ทำให้มีการขยายพื้นที่การปลูกปาล์มน้ำมันรวมทั้งการสร้างโรงงานเกี่ยวกับกระบวนการผลิตปาล์มน้ำมันเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย ในกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มมีการปล่อยน้ำทิ้งลงสู่ธรรมชาติ หากไม่มีการบำบัดน้ำที่ตักก่อนก็จะทำให้เกิดมลภาวะซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม การบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพโดยใช้สาหร่ายก็เป็นอีกวิธีที่จะเข้ามาแก้ไขปัญหาดังกล่าวและยังมีการศึกษาและวิจัยกันอย่างแพร่หลาย โดยเริ่มมีการศึกษาตั้งแต่ก่อนปี ค.ศ 1970 (McGriff and McKenney, 1971; Oswald *et al.*, 1978 และ Shelef *et al.*, 1978) โดยใช้สาหร่ายบำบัดน้ำเสียในบ่อชั้นตอนที่สอง (Secondary treatment) เพื่อป้องกันไม่ให้เกิด Eutrophication (McGriff and McKinney, 1972 และ Tam and Wong, 1989) แต่โดยส่วนใหญ่จะนำสาหร่ายมาใช้ในการบำบัดในขั้นตอนสุดท้าย (Tertiary treatment) (Oswald and Gotaas, 1957) นอกจากนั้นยังใช้สาหร่ายบำบัดน้ำเสียแบบ Algal turf scrubbers (Adey and Hackney 1989; Adey and Loveland, 1998 และ Pizarro *et al.*, 2002) โดยพบว่า สาหร่ายสามารถลดไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ค่า chemical oxygen demand (COD) (Fallowfield and Barret, 1985; Pouliot *et al.*, 1989; Aziz and Ng, 1992 ; Tarlan *et al.*, 2002) รวมทั้งโลหะหนัก (Bender, *et al.*, 1994; Wang *et al.*, 1998; El-Sheekh *et al.*, 2005) สาหร่ายสามารถนำน้ำเสียที่มีสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสใช้เพื่อการเจริญเติบโตและผลิตชีวมวล (Martinez *et al.*, 2000; Pizarro *et al.*, 2002) ซึ่งการบำบัดน้ำเสียวิธีทางชีวภาพด้วยสาหร่ายจะเป็นวิธีที่มีต้นทุนต่ำ ประหยัดพลังงาน ใช้แสงจากดวงอาทิตย์ ซึ่งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและไม่ปล่อยสารตกค้างในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย (Tam and Wong, 1989) โดยชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กที่มีรายงานนำมาใช้บำบัดน้ำเสียจากอาคารบ้านเรือน น้ำทิ้งจากการเกษตร น้ำทิ้งจากปศุสัตว์ และน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรม เช่น *Chlorella sorokiniana* (de-Bashan *et al.*, 2008) *Chlorella minutissima* (Bhatnagar *et al.*, 2010) *Chlorella vulgaris* (Kim *et al.*, 2010) *Chlorella sp.* (Wang *et al.*, 2010) *Ulothrix*, *Oedogonium* และ *Rhizoclonium* (Pizarro *et al.*, 2002) *Dunaliella sp.* (Shirai *et al.*, 1998) *Scenedesmus obliquus* (Hodaifa *et al.*, 2009) *Scenedesmus sp.* (Voltolina *et al.*, 1999) *Spirulina sp.* (Olguin *et al.*, 2003) *Nostoc muscorum* และ *Anabaena subcylindrica* (El-Sheekh *et al.*, 2005) *Spirulina platensis* และ *Scenedesmus quadricauda* (Gantar *et al.*, 1991) และ *Phormidium sp.* (Cañizares-Villanueva *et al.*, 1994) อย่างไรก็ตามสาหร่ายมีการสะสมแป้งในเซลล์ (van Den Hoek *et al.*, 1995) โดยแป้งจากสาหร่ายสามารถสกัดเพื่อไปใช้ผลิตเอทานอล (Shirai *et al.*, 1998) นอกจากนี้การวิจัยที่ผ่านมายังพบว่า ชีวมวลของสาหร่ายสามารถนำไปผลิตไฮโดรเจนเพื่อเป็นพลังงานทดแทนทางเลือกต่อไป (Kim *et al.*, 2006 และ Rodjaroend, 2010)

การวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาคัดเลือกชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กที่ได้จากในน้ำเสียโรงงานปาล์ม น้ำมัน นำมาศึกษาปัจจัยทางด้านกายภาพและด้านเคมีที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลของ

สาหร่ายชนิดนั้น ในขั้นตอนสุดท้ายนำสาหร่ายที่ได้ไปบำบัดสารอินทรีย์จากน้ำเสียโรงงานปาล์มน้ำมัน ผลจากการศึกษาในครั้งนี้นำชีวมวลที่ได้ไปพัฒนาวิจัยการผลิตไฮโดรเจนเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กในน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมัน
2. เพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลสาหร่าย
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดสารอินทรีย์จากโรงงานปาล์มน้ำมัน



ตรวจเอกสาร

1. แหล่งน้ำเสียและการบำบัดน้ำเสีย

1.1 ความหมายของน้ำเสีย

ตามพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อม พ.ศ. 2535 ได้ให้ความหมายของน้ำเสียว่า “น้ำเสีย หมายถึง ของเสียที่อยู่ในสภาพเป็นของเหลว รวมทั้งมวลสารที่ปะปนหรือปนเปื้อนอยู่ในของเหลวนั้น”

หมายถึง น้ำหรือของเหลวที่มีสิ่งเจือปนต่างๆ ที่ผ่านการใช้ในกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ ซึ่งจะทำให้คุณลักษณะของน้ำเปลี่ยนไปจากเดิมเนื่องจากมีสิ่งสกปรกต่างๆ ทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ ถ่ายเทเจือปนลงในน้ำนั้นในปริมาณสูงจนกระทั่งกลายเป็นน้ำที่ไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้อีก และมีลักษณะเป็นที่รังเกียจของคนทั่วไป เป็นมลพิษทางทัศนียภาพและก่อให้เกิดผลเสียหลายต่อสิ่งแวดล้อมหรือถ้าปล่อยลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติก็จะทำให้เกิดการเน่าเสียของแหล่งน้ำได้

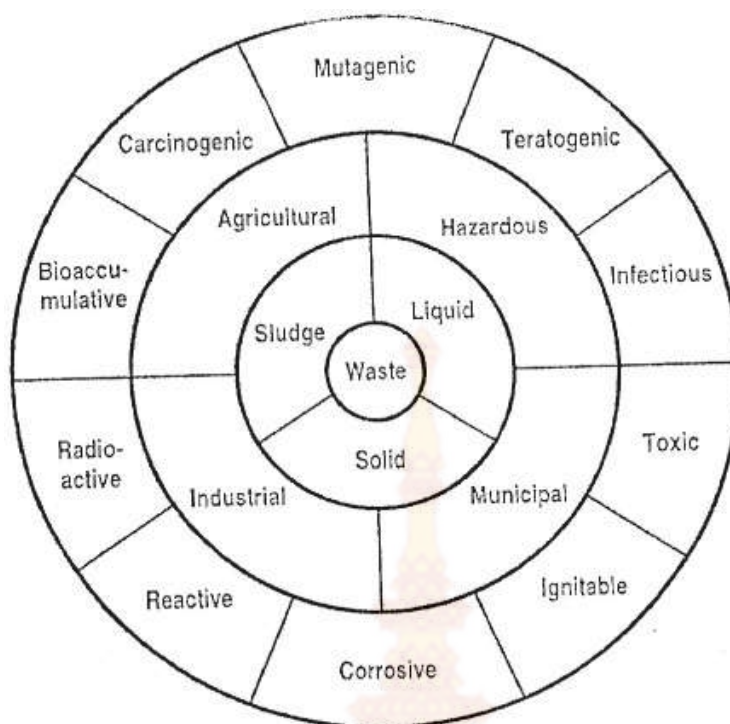
1.2 แหล่งน้ำเสีย

แหล่งน้ำเสียสามารถจัดจำแนกได้หลายแบบ ได้แก่ แบ่งตามชนิดของเสีย เช่น ของแข็ง (Solid) ของเหลว (Liquid) และ Sludge (ภาพที่ 1) นอกจากนั้นแบ่งตามแหล่งที่มาของน้ำเสียดังต่อไปนี้

1.2.1 น้ำเสียจากชุมชน เป็นน้ำเสียที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมต่างๆ ในชีวิตประจำวันของประชาชนในชุมชน โดยมีแหล่งกำเนิดมาจาก อาคารบ้านเรือน ร้านค้าพาณิชยกรรม ตลาดสด ร้านอาหาร สถาบันการศึกษา สถานที่ราชการ โรงแรม โรงเรียน ห้างสรรพสินค้า เป็นต้น

1.2.2 น้ำเสียจากอุตสาหกรรม เป็นน้ำเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรม ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นน้ำล้างในกระบวนการผลิตต่าง ๆ ซึ่งมีสมบัติแตกต่างกันตามประเภทของอุตสาหกรรม

1.2.3 น้ำเสียจากการเกษตร เป็นน้ำเสียที่เกิดจากกิจกรรมทางการเกษตร เช่น น้ำเสียจากการล้างคอกสัตว์เลี้ยง เช่น คอกหมู คอกวัว เล้าไก่ น้ำเสียจากนาข้าว จากฟาร์มเลี้ยงกุ้ง เป็นต้น โดยน้ำเสียจากเกษตรกรรมส่วนใหญ่จะปนเปื้อนสารเคมี ยาฆ่าแมลง หรือปุ๋ย ปริมาณการปล่อยน้ำเสียจากการเกษตรในประเทศไทยแถบเอเชีย พบว่า มีค่าสูงสุดประเทศจีน รองลงมาคือ อินเดีย และอินโดนีเซีย ตามลำดับ ส่วนประเทศไทยก็มีปริมาณสูงเช่นกัน ดังตารางที่ 1



ภาพที่ 1 ชนิดและคุณลักษณะของของเสีย (ESCAP, 2000)

ตารางที่ 1 ค่าปริมาณน้ำเสียจากการเกษตรของประเทศต่างๆ ในเอเชีย

Country	Annual production, million tons		
	Agricultural waste	Crop residues	Total
Bangladesh	15	30	45
China	255	587	842
India	240	320	560
Indonesia	32	90	122
Malaysia	12	30	42
Myanmar	28	4	32
Nepal	4	12	16
Pakistan	16	68	84
Philippines	20	12	32
Sri Lanka	6	3	9
South Korea	15	10	25
Thailand	25	47	72

แหล่งที่มา: (ESCAP, 2000)

1.3 หลักการจัดการน้ำเสีย

หลักการจัดการน้ำเสียที่สำคัญได้แก่การนำน้ำเสียที่เกิดขึ้นเข้าสู่กระบวนการบำบัดให้ได้ตามมาตรฐานน้ำทิ้ง ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม และสุขภาพอนามัย โดยทั่วไปการจัดการน้ำเสียจะประกอบด้วย (ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมฉบับที่ 3 พ.ศ. 2539)

- 1) การรวบรวมน้ำเสีย (Collection system)
- 2) การบำบัดน้ำเสีย (Treatment)
- 3) การกำจัดกากตะกอน (Sludge disposal)
- 4) การนำกลับมาใช้ประโยชน์ (Reuse and reclamation)
- 5) หลักการป้องกันภาวะมลพิษ (Pollution prevention)

1.3.1 การรวบรวมน้ำเสีย (Collection system)

การรวบรวมน้ำเสีย หมายถึง การนำน้ำเสียจากแหล่งกำเนิดต่างๆ อาทิ บ้านเรือน สถานศึกษา โรงงานอุตสาหกรรม โดยอาจจะผสมด้วยน้ำฝน หรือน้ำผิวดินต่างๆ ไปสู่ระบบบำบัดน้ำเสียอย่างเหมาะสมตามหลักวิชาการ วิศวกรรม และเศรษฐศาสตร์ โดยควรออกแบบเพื่อวางระบบท่อให้ลาดเอียงตามลักษณะความสูงต่ำของพื้นดินเพื่อให้ น้ำเสียสามารถไหลไปเองตามธรรมชาติ แต่กรณีที่ไม่สามารถวางท่อให้ลาดเอียงตามความสูงต่ำของพื้นที่ได้ อาจจำเป็นต้องก่อสร้างสถานีสูบน้ำเสียเป็นระยะๆ ตามความเหมาะสมในการวางแผนและออกแบบระบบรวบรวมน้ำเสียจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลด้านต่างๆ อาทิ อัตราการไหลของน้ำเสีย ระบบของไหล(hydraulic) การคัดเลือกขนาดและประเภทของท่อระบายน้ำเสียอย่างเหมาะสม นอกจากนี้ยังจำเป็นต้องวางแผนเกี่ยวกับการซ่อมแซมระบบรวบรวมน้ำเสียรวมทั้งการควบคุมกลิ่น และป้องกันการกัดกร่อนของท่อที่อาจเกิดขึ้นได้ ระบบรวบรวมน้ำเสียสามารถแบ่งออกเป็น 2 ระบบ ดังนี้

1.3.1.1 ระบบรวบรวมน้ำเสียแบบรวม (Combined system) เป็นระบบที่ออกแบบขึ้นเพื่อรวบรวมทั้งน้ำเสีย และน้ำฝนรวมกันไหลในท่อเดียวกันเพื่อนำไปบำบัด ณ โรงบำบัดน้ำเสีย ขนาดและความยาวของท่อขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำเสียที่เกิดขึ้น และพื้นที่ที่ต้องการวางระบบท่อโดยทั่วไปจะใช้ท่อที่มีขนาดใหญ่ เนื่องจากต้องรวบรวมทั้งน้ำเสียและน้ำฝน แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของท่อด้วยการรวบรวมทั้งน้ำเสียและน้ำฝนเข้าสู่โรงบำบัดทำให้ต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการบำบัดมากขึ้น นอกจากนี้ยังต้องมีการออกแบบระบบให้มีความยืดหยุ่นต่อสภาพการณ์ เช่น ในฤดูมรสุมจะมีปริมาณน้ำฝนมากกว่าปกติ บางครั้งอาจเกิดกรณีน้ำท่วมทำให้ไม่สามารถรวบรวมน้ำเสียและน้ำฝนทั้งหมดได้ทำให้น้ำเสียส่วนหนึ่งถูกระบายลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติต่อไป

1.3.1.2 ระบบรวบรวมน้ำเสียแบบแยก (Separate system) เป็นระบบที่มีการรวบรวมน้ำทิ้ง และน้ำฝนแยกออกจากกันคนละท่อ ท่อที่รวบรวมน้ำเสียจะนำน้ำเสียไปบำบัด ณ โรงบำบัดน้ำทิ้ง ส่วนน้ำฝนจะถูกรวบรวมไปกักเก็บเพื่อให้เกิดการปรับสภาพด้วยวิธีทางธรรมชาติแล้วจึงระบายลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติต่อไป ปัจจุบันได้มีการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อจัดการน้ำฝนที่เกิดขึ้นโดยเฉพาะ อาทิ ปริมาณน้ำฝน ทิศทางการไหล และสถานที่สำหรับก่อสร้างบ่อหรือบึงสาธารณะสำหรับกักเก็บน้ำฝนที่เหมาะสม ทำให้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายลงได้มาก การก่อสร้างท่อรวบรวมน้ำเสียแบบแยกนี้จะมีค่าใช้จ่าย และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูง แต่จะประหยัดค่าใช้จ่ายด้านการบำบัดน้ำเสีย เนื่องจากบำบัดเฉพาะน้ำเสียที่เกิดขึ้น

เท่านั้น นอกจากนี้ยังไม่ต้องกังวลเกี่ยวกับสภาวะน้ำท่วม หรือกรณีที่มีปริมาณน้ำฝนมากจนเกินไปอย่างไรก็ตาม การเลือกใช้ระบบรวบรวมน้ำแบบใดนั้น จำเป็นต้องพิจารณาความเหมาะสมหลายๆ ด้านรวมทั้งการแก้ไขปัญหาในระยะยาว บางชุมชนที่มีข้อจำกัดในการเดินระบบท่อ อาจจะใช้ระบบรวบรวมน้ำเสียทั้งสองแบบร่วมกันก็ได้ โดยอาจจะใช้เป็นกรณีศึกษาเปรียบเทียบ เพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจในพื้นที่อื่นๆ ต่อไป

1.3.2 การบำบัดน้ำเสีย การแบ่งประเภทของหน่วยกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำ หรือการบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไปสามารถแบ่งได้ 2 วิธี

1.3.2.1 การแบ่งตามกระบวนการหรือกลไกในการบำบัด

การแบ่งตามกลไกหรือปฏิกิริยาในการปรับปรุงคุณภาพน้ำสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่กระบวนการทางกายภาพ กระบวนการทางเคมี และกระบวนการทางชีวภาพ อย่างไรก็ตามในกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำหนึ่งๆ อาจประกอบด้วยกลไกในการปรับปรุงคุณภาพน้ำมากกว่า 1 ประเภทก็ได้หรือในบางกรณีอาจมีองค์ประกอบครบทั้ง 3 ประเภทขึ้นอยู่กับลักษณะน้ำเสียและคุณภาพของน้ำทิ้งที่ต้องการ

1) กระบวนการทางกายภาพ (Physical process)

เป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่อาศัยหลักการทางฟิสิกส์ ซึ่งเป็นหลักการขั้นพื้นฐานที่เกิดจากการสังเกตปรากฏการณ์ทางธรรมชาติของนักวิทยาศาสตร์ในอดีต และเป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่ไม่มีความยุ่งยากสลับซับซ้อน เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางชีวภาพ ตัวอย่างของการประยุกต์ใช้หลักการทางฟิสิกส์ในขั้นตอนการบำบัดน้ำเสีย

การปรับปรุงคุณภาพน้ำด้วยกระบวนการทางกายภาพมีวัตถุประสงค์ที่ต่างกันเช่น ลดการแปรผันของอัตราการไหลและภาระบีโอดีตกยะตกตะกอนของแข็งแขวนลอยตลอดจนการกำจัดน้ำมันหรือไขมันเป็นต้นซึ่งประกอบด้วยกระบวนการต่างๆ ดังนี้ ถังปรับเสมอ(Equalizing tank)/ตะแกรง (Screen) ถังตกกรวดทราย (Grit chamber) การลอยตัวด้วยอากาศ(dissolved air floatation; DAF) ถังตกตะกอนขั้นต้น (Primary sedimentation tank) และถังตกตะกอนขั้นสอง (Secondary sedimentation tank) ถังกรอง (Filtration tank) เครื่องบดของแข็งขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง (Comminutor)

2) กระบวนการทางชีวภาพ (Biological process)

การปรับปรุงคุณภาพน้ำด้วยกระบวนการทางชีวภาพโดยส่วนใหญ่มุ่งเน้นกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียเป็นหลักโดยใช้จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ และเปลี่ยนรูปเป็นสารอนินทรีย์ต่างๆ (ขึ้นอยู่กับประเภทของกระบวนการ) เช่น น้ำ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซมีเทน เป็นต้น นอกจากนี้บางกระบวนการสามารถกำจัดธาตุอาหารในน้ำเสียได้อีกด้วย หรือเรียกว่าการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสด้วยกระบวนการชีวภาพ เช่น กระบวนการเอเอสแบบแอนแอโรบิก-แอนออกซิก-แอโรบิกเป็นต้น

กระบวนการทางชีวภาพเป็นการบำบัดน้ำเสียที่นิยมใช้กันมากที่สุดในปัจจุบันนอกจากราคาที่ค่อนข้างต่ำแล้ว ยังสามารถบำบัดน้ำเสียได้เกือบทุกชนิดอีกด้วย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำความเข้าใจถึงขบวนการบำบัดทางชีวภาพแต่ละประเภท เพื่อให้สามารถเลือกใช้และออกแบบระบบให้บำบัดน้ำเสียที่เกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด นอกจากนี้ยังต้องมีความรู้ความเชี่ยวชาญด้านปัจจัยอื่นที่

เกี่ยวข้องกับขบวนการบำบัดน้ำเสียแบบชีวภาพอีกด้วยชนิดของจุลินทรีย์ บทบาทของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม อาหารและปัจจัยอื่นๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เป็นต้น

3) กระบวนการทางเคมี (Chemical process)

การปรับปรุงคุณภาพน้ำจะประกอบด้วยกระบวนการทางเคมีเป็นกระบวนการที่ใช้สารเคมีที่เป็นตัวช่วยสำหรับบำบัดน้ำเสีย เช่น การกำจัดของแข็งแขวนลอยด้วยสารโคแอกกูแลนต์ การฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีน เป็นต้น ซึ่งประกอบด้วยหน่วยกระบวนการหลักๆ คือ การเตรียมสารเคมี การกวนผสม (ถึงกวนเร็ว) และส่วนทำปฏิกิริยา (ถึงกวนช้า)

เป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่ค่อนข้างยุ่งยาก และมีค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากต้องใช้สารเคมีในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย สารเคมีที่ใช้ในแต่ละขั้นตอนของแต่ละระบบจะมีความแตกต่างกันไปตามวัตถุประสงค์การใช้งาน สารเคมีที่ใช้ทั้งกระบวนการทางฟิสิกส์ (Physical action) และกระบวนการทางเคมี (chemical action) สามารถแบ่งเป็นหมวดหมู่ใหญ่ๆ ดังนี้

(ก) การตกตะกอน เพื่อลดปริมาณสารแขวนลอย สารอินทรีย์และแร่ธาตุต่างๆ ในน้ำเสีย สารเคมีที่ใช้ได้แก่ สารส้ม (Alum) และปูนขาว (Lime) เป็นต้น

(ข) การดูดซับ เพื่อกำจัดสารต่างๆ ที่ละลายอยู่ในน้ำ เช่น การใช้ผงถ่านเพื่อกำจัดสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำ (Dissolved organic matter) ปัจจุบันได้ใช้การดูดซับกับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดตามขั้นตอนแล้ว ในกรณีที่ต้องการปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งให้ดีขึ้นเป็นพิเศษ

(ค) การปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อให้เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ รวมทั้งการปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งให้ได้ตามที่มาตรฐานกำหนด

(ง) การฆ่าเชื้อโรคก่อนที่จะระบายน้ำทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ จะต้องทำการฆ่าเชื้อโรคก่อนเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีเชื้อโรคที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพปะปนอยู่ สารเคมีที่นิยมใช้ในขั้นตอนนี้ ได้แก่ คลอรีน

1.3.2.2 การแบ่งตามระดับการปรับปรุงคุณภาพน้ำ

การปรับปรุงคุณภาพน้ำสามารถแบ่งตามระดับต่างๆ ซึ่งได้แก่การบำบัดขั้นเตรียมการ (Preliminary treatment) และการบำบัดขั้นต้น (Primary treatment) การบำบัดขั้นสอง (Secondary treatment) และการบำบัดขั้นสูง (Advanced treatment) ในกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำหนึ่งๆ ไม่จำเป็นต้องมีกระบวนการปรับปรุงคุณภาพทุกระดับโดยทั่วไปขึ้นอยู่กับลักษณะน้ำเสียและคุณภาพของน้ำทิ้งที่ต้องการซึ่งในแต่ละระดับมีจุดประสงค์ในการกำจัดสารมลพิษแต่ละชนิดต่างกัน

1) การบำบัดขั้นเตรียมการ (Preliminary treatment)

การบำบัดขั้นเตรียมการเป็นกระบวนการขั้นแรกของการปรับปรุงคุณภาพน้ำที่มีจุดประสงค์เพื่อเตรียมน้ำเสียให้มีความเหมาะสมสำหรับการบำบัดในระดับต่อไปเพื่อป้องกันอุปกรณ์เครื่องจักรเสียหาย หรือเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำในขั้นตอนต่อไปการบำบัดขั้นเตรียมการส่วน

ใหญ่มักเป็นกระบวนการทางกายภาพ เช่น ตะแกรง (Screen) ถังดักกรวดทราย (Grit chamber) ถังปรับเสมอ (Equalizing tank, EQ) มาตรการวัดการไหล (Flow meter)

2) การบำบัดขั้นต้น (Primary treatment)

การบำบัดขั้นต้น หรือ การบำบัดขั้นปฐมภูมิมักเป็นขั้นตอนหลังการบำบัดขั้นเตรียมการมีจุดประสงค์หลักเพื่อกำจัดอนุภาคอินทรีย์ หรือน้ำมันและไขมัน ก่อนน้ำเสียเข้าการบำบัดขั้นสอง (กระบวนการชีวภาพ) ซึ่งเป็นการลดภาระการบำบัด (หรือลดขนาด) และช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดของกระบวนการบำบัดขั้นสองการบำบัดในขั้นตอนนี้ส่วนใหญ่มักเป็นกระบวนการทางกายภาพ เช่น ถังตกตะกอนขั้นต้น ตะแกรงละเอียด (ระยะห่างระหว่างซี่ตะแกรงเท่ากับ 0.2-1.5 มิลลิเมตร) การลอยตัวด้วยอากาศละลาย (Dissolve AirFlotation, DAF) เป็นต้นอย่างไรก็ตามถ้า น้ำเสียมีสารแขวนลอยและบีโอดีต่ำหรือถ้าการบำบัดขั้นสองมีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยได้อย่างเพียงพออยู่แล้ว เช่น บ่อปรับเสถียร สระเติมอากาศเอเอส แบบเติมอากาศยืดเวลา (Extended Aeration Activated Sludge; EAAS) เป็นต้นการบำบัดขั้นต้นอาจไม่มีความจำเป็นต้องใช้ การบำบัดขั้นต้นนี้สามารถลดปริมาณของแข็ง และค่าความสกปรก (BOD) ในน้ำเสียให้ลดน้อยลงได้ประมาณ ร้อยละ 20-30

3) การบำบัดขั้นสอง (Secondary treatment)

การบำบัดขั้นสองหรือการบำบัดขั้นทุติยภูมิส่วนใหญ่มีจุดประสงค์หลักเพื่อกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ซึ่งเป็นกระบวนการทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ และสามารถแบ่งได้หลายประเภทตามปฏิกิริยาชีวเคมี ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

(ก) กระบวนการแอโรบิก (Aerobic process) เป็นกระบวนการที่อาศัยจุลินทรีย์ซึ่งใช้ออกซิเจนอิสระ เป็นหลักในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ดังนั้นกระบวนการเหล่านี้ต้องมีมาตรการในการเติมอากาศลงในน้ำเสียด้วย เช่น เอเอส สระเติมอากาศ อาร์บีซี (Rotating Biological Contractor, RBC) ระบบโปรยกรองเป็นต้นผลจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ ได้แก่งน้ำ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

(ข) กระบวนการแอนแอโรบิก (Anaerobic process) กระบวนการนี้เป็นกระบวนการที่อาศัยจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobes) เป็นหลักในการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยไม่ต้องเติมอากาศลงในน้ำเสีย เช่น บ่อแอนแอโรบิก (Anaerobic pond) ถังกรองไร้อากาศ (Anaerobic filter) เอเอสแบบแอนแอโรบิก ยูเอเอสบี (Upflow Anaerobic Sludge Blanket, UASB) เป็นต้น ผลจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซมีเทนอย่างไรก็ตามกระบวนการแอโรบิกมักนิยมใช้กับน้ำเสียที่มีความเข้มข้นสูงมากกว่าและมักใช้เป็นกระบวนการบำบัดก่อนหน้า (Pretreatment)

(ค) กระบวนการแฟคัลเททีฟ (Facultative process) เป็นกระบวนการที่อาศัยจุลินทรีย์ที่ดำรงอยู่ได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจนอิสระในการย่อยสลายสารอินทรีย์เช่นบ่อแฟคัลเททีฟ (Facultative pond) เอเอสแบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก (การกำจัดธาตุอาหารด้วยกระบวนการทางชีวภาพ) เป็นต้น

(ง) กระบวนการหมัก (Fermentation process) กระบวนการนี้เป็น การที่เปลี่ยนรูปสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง (ซึ่งไม่ใช่กระบวนการการย่อยสลายให้กลายเป็นสารอนินทรีย์) โดยอาศัยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนอิสระเช่นการเปลี่ยนแป้งเป็นแอลกอฮอล์ การเปลี่ยนโปรตีนเป็นกรดอะมิโน (ซึ่งแตกต่างกับกระบวนการแอนแอโรบิกกล่าวคือ กระบวนการแอนแอโรบิกจะย่อยสลายสารอินทรีย์ให้กลายเป็น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และมีเทน) โดยส่วนใหญ่มักใช้เป็นกระบวนการบำบัดก่อนหน้า เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของกระบวนการทางชีวภาพในขั้นตอนต่อไป การบำบัดในขั้นตอนนี้จะมีผลสารและค่าความสกปรกตกลงร้อยละ 50-90 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้

4) การบำบัดขั้นสูง (Advanced treatment)

การบำบัดขั้นสูง หรือ เรียกอีกอย่างว่าการบำบัดขั้นตติยภูมิ (Advanced or tertiary treatment) เป็นการปรับปรุงคุณภาพน้ำทิ้งจากการบำบัดขั้นสอง เพื่อนำน้ำทิ้งดังกล่าวกลับไปใช้ประโยชน์ต่อไปหรือเพื่อลดผลกระทบต่อแหล่งรับน้ำที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดปัญหามลพิษเช่น อัลกัลบลูม หรือยูโทรฟิเคชันเป็นต้นส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการกำจัดได้ประมาณร้อยละ 90-95 สามารถแบ่งตามกรณีได้ ดังนี้

(ก) การกำจัดธาตุอาหารในน้ำเสียมุ่งประสงค์เพื่อป้องกันปัญหาในแหล่งรับน้ำทิ้ง ถึงแม้ว่าน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดขั้นสองจะมีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ต่ำแล้วก็ตามแต่ถ้ามีธาตุอาหารเหลืออยู่ในน้ำทิ้งก็อาจก่อให้เกิดปัญหาพิษน้ำได้อีก โดยการเกิดสภาวะ ดังนั้นการป้องกันปัญหาดังกล่าวจำเป็นต้องกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียด้วย ซึ่งสามารถกระทำได้ทั้งกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางชีวภาพ

(ข) การนำน้ำทิ้งกลับไปใช้ประโยชน์ เช่น รดน้ำสนาม ล้างรถ น้ำชักโครก น้ำล้างพื้น หรือล้างถนนเป็นต้น ในบางกรณีต้องบำบัดน้ำทิ้งดังกล่าวด้วยกระบวนการขั้นสูงก่อน จึงทำให้น้ำทิ้งมีคุณภาพเหมาะสมกับกิจกรรมที่จะนำน้ำทิ้งกลับไปใช้ประโยชน์ ซึ่งในหลายประเทศไทยมีการกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งที่จะนำไปใช้ประโยชน์ตามกิจกรรมต่างๆ ด้วยกระบวนการบำบัดขั้นสูงประกอบด้วยถังกรอง กระบวนการออสโมซิสผันกลับหรืออาร์โอ (Reverse osmosis; RO) การฆ่าเชื้อด้วยสารที่ไม่ตกค้าง (เช่น โอโซน แสงอัลตราไวโอเล็ต หรือยูวี เป็นต้น) การแลกเปลี่ยนไอออน (Ion exchange) การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ (Activated carbon adsorption) เป็นต้น

5) การฆ่าเชื้อ

กระบวนการฆ่าเชื้อที่นิยมใช้อาจเป็นกระบวนการทางชีวภาพ ได้แก่บ่อบ่ม หรืออาจเป็นกระบวนการทางเคมี ได้แก่ ถังสัมผัสคลอรีน มักใช้กับน้ำทิ้งจากการบำบัดขั้นสอง หรือ การกำจัดสารอินทรีย์ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ ถือว่าการฆ่าเชื้อโรคด้วยถังสัมผัสคลอรีนหรือบ่อบ่มเป็นการบำบัดขั้นสองเช่นกัน กรณีที่น้ำเสียเข้ามีความเข้มข้นต่ำ (โดยเฉพาะน้ำเสียชุมชนของประเทศไทย) การฆ่าเชื้ออาจจะไม่จำเป็นมากนัก เนื่องจากกระบวนการบำบัดขั้นสองก็สามารถฆ่าเชื้อด้วยตัวมันเองได้เช่นเดียวกัน

1.4 การกำจัดกากตะกอน (Sludge disposal)

กากตะกอน หรือ สลัดจ์ที่เกิดจากขั้นตอนต่างๆ ของระบบบำบัดน้ำเสียส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของเหลว หรือกึ่งเหลวกึ่งแข็ง โดยมีส่วนประกอบที่เป็นของแข็งตั้งแต่ร้อยละ 0.25-12 โดยน้ำหนักทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขั้นตอนการบำบัดต่างๆ กากตะกอนที่เกิดขึ้นก่อให้เกิดความยุ่งยากต่อการแก้ไขปัญหาเนื่องจาก

1. กากตะกอนที่เกิดขึ้นในแต่ละวันจะมีปริมาณมาก ดังนั้นจึงต้องมีมาตรการรองรับอย่างเพียงพอ
2. กากตะกอนที่เกิดจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบชีวภาพประกอบด้วยสารอินทรีย์ ซึ่งยังสามารถย่อยสลายต่อได้
3. กากตะกอนประกอบด้วยของแข็งในปริมาณน้อย วิธีการกำจัดกากตะกอนมีหลายวิธีขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน วิธีที่นิยมใช้กันทั่วไป ได้แก่ การทำให้กากตะกอนมีความเข้มข้นมากขึ้น (Thickening) การปรับสภาพ (Sludge conditioning) การลดปริมาณน้ำในกากตะกอน (Dewatering) และการทำให้แห้ง (Drying) วิธีการเหล่านี้เป็นการนำน้ำหรือความชื้นออกจากกากตะกอน ส่วนวิธีการบำบัด หรือ ปรับสภาพกากตะกอนให้อยู่ตัว (Stabilization) ก่อนนำไปทิ้งประกอบด้วย การย่อยสลาย (Digestion) การหมัก (Composting) การเผา (Incineration) การทำปฏิกิริยากับอากาศเปียก (Wet air oxidation) และการแยกโลหะออกด้วย Reactors

2. โรงงานปาล์มน้ำมัน

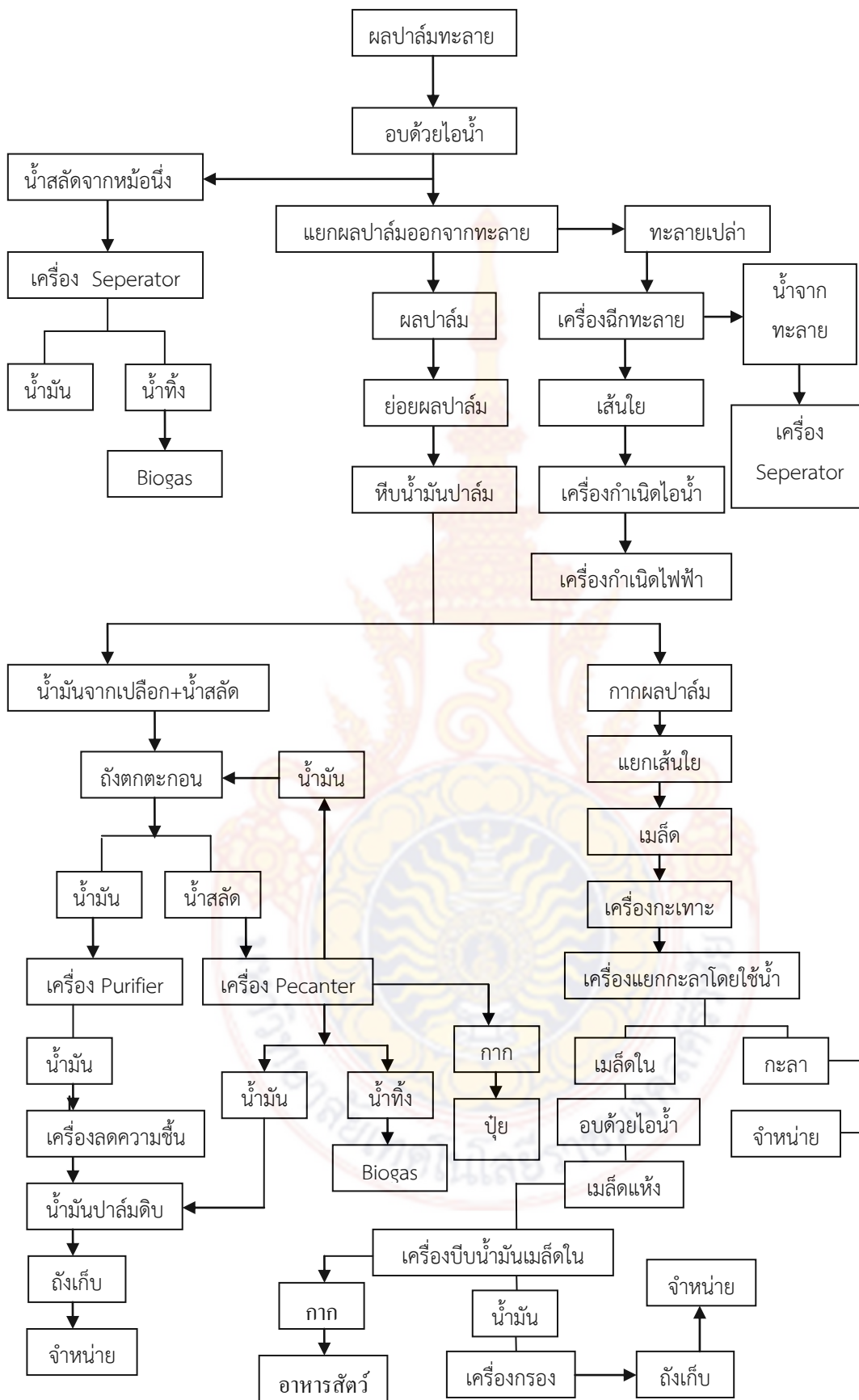
โรงงานปาล์มน้ำมันเป็นโรงงานที่สามารถรับซื้อปาล์มจากลานย่อยต่างๆ และจากเกษตรกรโดยปาล์มทั้งหมดที่เข้ามา ณ โรงงานจะต้องเป็นปาล์มที่ดีและมีคุณภาพ นำปาล์มที่ได้มาผ่านกระบวนการผลิตเพื่อที่จะนำมาสกัดเป็นน้ำมันดิบ และน้ำมันเมล็ดใน แต่น้ำมันที่ผ่านการสกัดนั้นจะต้องมีความสะอาดและไม่เป็นกรดสามารถส่งขายให้กับลูกค้าที่ต้องการน้ำมันได้อย่างถูกต้องตามกระบวนการผลิต ดังนี้ (เอส.พี.โอ.อะโกรอินดัสตรีส์, 2556)

กระบวนการผลิตปาล์มน้ำมัน

- 1) การอบทะลายด้วยไอน้ำ (Sterilization) จะต้องอบที่อุณหภูมิ 130–135 °C ความดัน 2.5 - 3 bars นาน 50 - 75 นาที การอบทะลายจะช่วยหยุดปฏิกิริยาไลโปไลซิส ที่ทำให้เกิดกรดไขมันอิสระในผลปาล์ม และช่วยให้ผลปาล์มอ่อนนุ่มหลุดจากขั้วผลได้ง่าย
- 2) การแยกผล (Stripping) เป็นการส่งทะลายเข้าเครื่องแยกผลปาล์มออกจากทะลาย สำหรับทะลายเปล่าจะถูกแยกออกไป จากนั้นนำผลปาล์มไปย่อยด้วยเครื่องย่อยผลปาล์ม เพื่อให้ส่วนเปลือกแยกออกจากเมล็ด
- 3) การสกัดน้ำมัน (Oil extraction) นำส่วนเปลือกอบที่อุณหภูมิ 90 - 100 °C นาน 20 - 30 นาที จากนั้นผ่านเข้าเครื่องหีบแบบเกลียวอัดคู่ จะได้น้ำมันปาล์มดิบที่มีองค์ประกอบคือน้ำมัน 66% น้ำ 24% และของแข็ง 10%

4) การทำความสะอาดน้ำมันปาล์มดิบ (Clarification) นำน้ำมันปาล์มดิบที่ได้จากการสกัด ส่งเข้าถังกรองเพื่อแยกน้ำและของแข็งออก จากนั้นนำเข้าเครื่องเหวี่ยงเพื่อทำความสะอาดอีกครั้ง และได้ น้ำออกเพื่อให้แห้ง ส่งเข้าถังเก็บน้ำมันสำหรับรอกการกลั่นหรือจำหน่ายต่อไป น้ำมันปาล์มดิบที่ได้แยกเป็นสองส่วนคือ ส่วนบนมีลักษณะเป็นของเหลว สีส้มแดง (Crude palm oil olein) ประมาณ 30 - 50% ส่วนล่างมีลักษณะเป็นไขสีเหลืองส้ม (Crude palm oil stearin) ประมาณ 50 - 70% สำหรับกากผลปาล์ม จะถูกนำมาแยกเส้นใยออกจากเมล็ด นำเมล็ดที่ได้มาอบแห้งและทำความสะอาด จากนั้นนำเข้าเครื่องกะเทาะ เพื่อแยกกะลาออก และนำเมล็ดในมาอบแห้งให้มีความชื้นไม่เกิน 7% จากนั้นบรรจุกระสอบเพื่อรอจำหน่าย หรือหีบน้ำมันต่อไป น้ำมันปาล์มดิบและน้ำมันเมล็ดในปาล์มที่ได้จากกระบวนการการสกัด สามารถส่งเข้าสู่โรงงานเพื่อทำให้บริสุทธิ์ หรือจะนำไปแยกส่วน (Fractionation) ก่อนก็ได้ ซึ่งจะได้ น้ำมันปาล์มที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันไป กระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มดิบ ดังภาพที่ 2





ภาพที่ 2 ขั้นตอนกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มดิบ(เอส.พี.โอ.เอส. พี. โอ. อะโกรอินดัสตรีส์, 2556)

5) น้ำเสียที่ผ่านกระบวนการผลิตซึ่งจะมีสารอินทรีย์ที่เจือจางอยู่ในน้ำเป็นจำนวนมาก ทางโรงงานจึงไม่สามารถปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้ เนื่องจากสีของน้ำไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามที่กฎหมายกำหนด ทำให้โรงงานต้องกักเก็บไว้ยังบ่อบำบัดต่างๆ เพื่อให้จุลินทรีย์ใช้ระยะเวลาในการบำบัดน้ำเสีย ในระยะเวลาที่ยาวนานทำให้สาหร่ายได้เจริญเติบโตเป็นจำนวนมาก (อรัญ, 2536)

3. สาหร่ายกับการบำบัดน้ำเสียโดยชีวภาพ

3.1 ความหมายของสาหร่าย

กาญจนาภรณ์ ลีวมโนมนต์ (2527) ได้ให้ความหมายสาหร่ายว่า เป็นพืชชั้นต่ำ ซึ่งมีคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) แต่ไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้น และใบที่แท้จริง มีตั้งแต่ขนาดเล็กมากประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว ซึ่งไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ไปจนถึงขนาดใหญ่ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมาก อาจเป็นเส้นสาย (Filament) หรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง โดยมีส่วนที่คล้ายราก ลำต้น และใบ รวมกันเรียกว่า ทัลลัส (Thallus)

3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

3.2.1 ปัจจัยทางกายภาพ

1) แสง (Light)

แสงมีความสำคัญมากสำหรับสาหร่ายเพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสง สาหร่ายจะใช้อินทรีย์สาร คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ รังควัตถุ และแสง ในการผลิตอินทรีย์สารโดยการสังเคราะห์แสง (Boyd, 1990) ความเข้มของแสงที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย โดยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น *Oscillatoria laetevirens* เจริญเติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 1,800 ลักซ์ (Mehta and George, 1988) ส่วนสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ เช่น *Ulva conglobata* เจริญเติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (Tadamasa and Yoshikazu, 1996)

ระยะเวลาที่สาหร่ายได้รับแสงก็มีผลต่อการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเช่นกัน รวมทรัพย์ ชำนาญธนา (2540) ได้ทำการทดลองเลี้ยง *Dunaliella salina* ในช่วงรับแสง : มีด 6 ระยะเวลาคือ 3 : 21, 6 : 18, 12 : 12, 16 : 8, 18 : 6 และ 24 : 0 ชั่วโมง พบว่า *D. salina* เจริญเติบโตดีที่ช่วงรับแสง : มีด เท่ากับ 18 : 6 ชั่วโมง

2) อุณหภูมิ (Water temperature)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมการเจริญเติบโต การกระจาย และการสืบพันธุ์ของสาหร่าย ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความเข้มแสง ถ้าปริมาณความเข้มแสงมากก็ทำให้อุณหภูมิที่ผิวน้ำสูงขึ้น สาหร่ายแต่ละชนิดเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิแตกต่างกัน ในสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ เช่น *Ulva conglobata* เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Tadamasa and Yoshikazu, 1996) ที่อุณหภูมิมากกว่า 26 องศาเซลเซียส พวก Picoplankton สามารถเจริญเติบโตได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ แต่เจริญเติบโตได้น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส (Nona et al, 2000)

3.2.2 ปัจจัยทางเคมี

1) ธาตุอาหาร (Nutrient)

ธาตุอาหารที่จะเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตที่สำคัญ คือ ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส (Boyd, 1990) ซึ่งไนโตรเจนในทะเลมีอยู่หลายรูปแบบทั้งสารอินทรีย์ และอนินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน ยูเรีย กรดยูริก ไนไตรท์ แอมโมเนีย และไนเตรท เป็นต้น โดยสาหร่ายแต่ละชนิดใช้แหล่งไนโตรเจนได้แตกต่างกัน (Kaplan *et al*, 1986)

2) pH

สาหร่ายแต่ละชนิดเจริญเติบโตได้ดีที่ pH แตกต่างกัน เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เจริญเติบโตได้ดีที่ pH 6.5-9.5 และ 6.0-9.0 ตามลำดับ (Moreno *et al*, 1994) สาหร่ายสีเขียว เจริญเติบโตได้ดีที่ pH 6.31-6.84 (Aliotta and Pollio, 1982) สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง เจริญเติบโตได้ดีที่ pH 5.5-6.5 แต่หยุดการเจริญเติบโตที่ pH 8.0-8.1 (Rouen *et al*, 1982)

3) ความเค็ม (Salinity)

ความแตกต่างของระดับความเค็มเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโต การแพร่กระจาย และการสืบพันธุ์ของสาหร่าย ซึ่งสาหร่ายบางชนิดสามารถเจริญเติบโตในระดับความเค็มของน้ำในช่วงกว้าง เช่น สาหร่ายที่อยู่บริเวณเอสทูรี แต่บางชนิดเมื่อความเค็มเปลี่ยนก็ไม่สามารถปรับตัวได้ เช่น ไดโนแฟลกเจลเลตไม่สามารถปรับตัวต่อแรงออสโมติกได้เซลล์จะแตกโค้งงอหรือตาย (ลัดดา, 2531 อ้างโดย พรเทพ วิรัชวงศ์, 2538)

3.3 ความสำคัญของสาหร่าย

Round (1973) กล่าวไว้ว่า สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก แต่มีความสำคัญ โดยเฉพาะทางด้านเศรษฐกิจของประเทศต่างๆ ที่รู้จักนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์เป็นเวลานานมาแล้วโดยแยกประโยชน์ในแง่ต่างๆ ดังนี้คือ

3.3.1 ความสำคัญทางระบบนิเวศ

สาหร่ายดำรงชีวิตแบบออโตโทรฟิก เป็นสิ่งมีชีวิตที่ผลิตออกซิเจนให้แก่สิ่งแวดล้อมอย่างสำคัญทีเดียว ประมาณกว่า 50% ของออกซิเจนในน้ำ และเป็นส่วนหนึ่งของห่วงโซ่อาหารขั้นต้นๆของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำ

3.3.2 ความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรม

ผลผลิตจากสาหร่ายที่เป็นสินค้า ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจมี 4 ชนิดใหญ่ๆ คือ วุ้น คาร์ราจีนิน อัลจีล หรืออัลจีเนต และไดอะโตไมท์

3.3.3 ความสำคัญทางด้านใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆ

ในประเทศจีนตอนใต้ใช้สาหร่ายสีแดง *Digenia simplex* เป็นยาถ่ายพยาธิและรักษาโรคตาชโมย ใช้โซเดียมลามินารินซัลเฟตและฟิวคอยดิน ซึ่งสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาลเป็นยาให้เลือดแข็งตัว ใช้สาหร่ายสีน้ำตาลพวก *Sargassum* รักษาโรคคอกพอก และรับประทานแก้ร้อนใน

3.3.4 ความสำคัญทางด้านการศึกษาและการทดลองทางวิทยาศาสตร์

มีการนำเอาสาหร่ายขนาดใหญ่มาใช้ในการศึกษาทางด้านสรีรวิทยาของเซลล์ และงานวิจัยทางชีววิทยา ศึกษาการกลายพันธุ์ หรือศึกษาเรื่องพันธุกรรมนอกนิวเคลียส

3.4 รายงานวิจัยการบำบัดน้ำเสียด้วยสาหร่าย

การใช้สาหร่ายบำบัดน้ำเสียมีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย เพราะนอกจากกำจัดสารอินทรีย์และอนินทรีย์แล้ว ยังช่วยเพิ่มออกซิเจนในน้ำด้วย (Graham and Wilcox, 2000) ซึ่งมีรายงานการใช้สาหร่ายบำบัดน้ำเสียจากแหล่งต่างๆ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายจากน้ำเสียแหล่งต่างๆ

Algae species	Wastewater characteristics	N (%)	P (%)	Carbon	Time	Ref.
<i>Chlorella + Nitzchia</i>	Settled domestic sewage	92	74	97% BOD, 87% COD	10 h	McGriff and McKinney (1972)
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Settled domestic sewage	93.9	80	NA	13 days	Tam and Wong (1989)
Cyanobacteria	Secondarily treated domestic	95	62	NA	1 day	Pouliot <i>et al.</i> (1989)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Diluted pig slurry	54–98	42–89	BOD 98%	4.5 days	Fallowfield and Barret (1985)
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Domestic sewage and industrial wastewaters from a pig farm	60–70	50–60	80–88% of BOD, 70–82% of COD	15 days	Aziz and Ng (1992)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Algae species	Wastewater characteristics	N (%)	P (%)	Carbon	Time	Ref.
<i>Chlorella</i> and diatom species	Mixed culture of Wood-based pulp and paper industry wastewater			58%	42 days	Tarlan <i>et al.</i> (2002)
Algal turf scrubbers	Dairy manure	0.72 gm-2 d-1	0.33gm-2 d-1			Pizarro <i>et al.</i> (2002)
<i>Spirulina</i>	pig wastewater recycling process	84-96	72-87			Olguin <i>et al.</i> (2003)
Benthic algae	dairy manures	33-42	8-100		9 weeks	Mulbry and Wilkie (2001)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้สาหร่ายขนาดใหญ่บำบัดน้ำเสีย เช่น Yarish *et al.* (2001) พบว่าการเลี้ยงสาหร่าย *K. alvarezii* สามารถป้องกันและจัดการคุณภาพน้ำชายฝั่งให้ดีขึ้น รวมทั้งลดไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในน้ำทะเลสูงถึง 53.8 และ 3.7 ตัน ตามลำดับ บริเวณอ่าว Xincun ทางตะวันออกเฉียงใต้ของมณฑล Hainan ประเทศจีน ในช่วงปี 1999-2000 เช่นเดียวกันกับการรายงานของ Nang (2005) พบว่าสาหร่ายชนิดนี้สามารถลด แอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท ฟอสเฟต และฟอสฟอรัส ของน้ำทะเลอยู่ในช่วง 10-80% ในบริเวณชายฝั่งประเทศเวียดนาม

Hayashi *et al.* (2008) ศึกษาการใช้สาหร่าย *K. alvarezii* บำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา *Trachinotus carolinus* พบว่า สามารถลดไนเตรท 18.2% ไนไตรท์ 50.8% แอมโมเนีย 70.5% และฟอสเฟต 26.8% หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 40 วัน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์ (Light compound microscope)
2. เครื่องเขย่าเลี้ยงสาหร่าย (Orbital shaker)
3. ตู้อบ (Oven)
4. เครื่องชั่ง
5. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer)
6. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH meter)
7. เครื่องวัดออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO meter)
8. เครื่องวัดความเข้มแสง (Lux meter)
10. UV-visible spectrophotometer
11. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)
12. ตู้ถ่ายเชื้อ (Vertical laminar air flow)
13. เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)
14. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
15. ฝูงลากแพลงก์ตอน (Plankton net)
16. สารเคมีใช้วิเคราะห์คุณภาพน้ำ
17. เครื่องแก้วใช้วิเคราะห์คุณภาพน้ำ
18. ปั๊มสุญญากาศ (Suction pump)
19. โถดูดความชื้น (Desiccators)

วิธีการ

1. การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายจากน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมัน

1.1 การเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมัน

เก็บตัวอย่างสาหร่ายน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายของโรงงานปาล์มน้ำมันจำนวน 3 แหล่ง ได้แก่ จังหวัดตรัง 2 แหล่ง (ตรัง1 และตรัง2) และจังหวัดกระบี่ 1 แหล่ง (กระบี่1) โดยใช้ฝูงลากแพลงก์ตอนขนาดช่องตาข่าย 120 μm ใส่ในขวดพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร เติมฟอร์มาลินความเข้มข้นสุดท้าย 4% วิเคราะห์ชนิดและความหนาแน่นของสาหร่าย โดยสุ่มนับจำนวนโดยใช้ Sedgewick-Raftet counting slide ความจุ 1 มิลลิลิตร 3 ซ้ำ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ (Compound microscope) คำนวณความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายตามวิธี Shannon-Wiener diversity index (Shanthala et al., 2009) ชนิดของสาหร่ายจัดจำแนกตามลัตดา (2542); ยุกตี (2549) และ Desikachary (1959) นำมาคัดแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยวิธีการดูดออกโดยใช้ไมโครปิเปต หรือ วิธี Streak plate technique เพื่อให้เกิดสภาพ

Monoclonal culture หรือ Axenic culture นำเซลล์สาหร่ายที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารเหลวหรืออาหารแข็งในอาหารสูตร BG-11 medium, BGA medium หรือ N8 คัดเลือกสาหร่ายเพียงหนึ่งชนิดที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว เก็บเกี่ยวเซลล์ได้สะดวกและเป็นชนิดที่มีศักยภาพในการบำบัดน้ำเสีย ซึ่งได้ข้อมูลจากการศึกษาเบื้องต้น นำไปศึกษาหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลในขั้นต่อไป

1.2 คุณภาพน้ำจากน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมัน

เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมันแบบจ้วงจำนวน 3 จุด เพื่อเป็นตัวแทนในน้ำทิ้งในแต่ละโรงงาน โดยทำการเก็บน้ำทิ้งในบ่อสุดท้าย ตรวจวัดปัจจัยทางกายภาพและทางเคมีบางประการของน้ำ ได้แก่ ความโปร่งแสง, อุณหภูมิ, ความเป็นกรดด่าง, ออกซิเจนละลายในน้ำ (dissolved oxygen; DO), ตะกอนแขวนลอย (TSS), chemical oxygen demand (COD), biological oxygen demand (BOD), ไขมันและน้ำมัน, แอมโมเนีย, ไนโตรเจน, ไนเตรทและฟอสเฟต วิเคราะห์ตามวิธีของ APHA (1995)

2. ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตชีวมวล

หลังจากได้สายพันธุ์สาหร่ายที่ต้องการแล้ว นำไปเพิ่มจำนวนเซลล์เพื่อเป็นหัวเชื้อสาหร่ายสำหรับการศึกษาหาปัจจัยทางเคมี ได้แก่ สูตรอาหารและระดับความเข้มข้นของกลุ่มธาตุอาหารหลัก และปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ แสงสว่าง และ pH

2.1 การเตรียมเชื้อสาหร่ายเริ่มต้น

นำหัวเชื้อสาหร่ายจากหลอด Stock นำไปเลี้ยงในอาหารสูตร BG-11, BGA หรือ N8 (ขึ้นอยู่กับชนิดสาหร่ายที่ได้จากการคัดเลือก) ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยเติมอาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปวางบนเครื่องเขย่าเลี้ยงสาหร่าย ความเร็ว 150 รอบต่อนาที โดยให้ความเข้มข้นแสง 1,000 ลักซ์ จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ช่วงรับแสงมีด : สว่าง; 12 : 12 ชั่วโมง (Guan, *et al.*, 2004) ที่อุณหภูมิ $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ดัดแปลงมาจาก Kim *et al.*, 2006 และ Kawaguchi *et al.*, 2001 เมื่อได้ความหนาแน่นของเชื้อเพียงพอ นำเชื้อไปขยายต่อใน ฟลาสก์ 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วนำไปเลี้ยงที่สภาวะเหมือนเดิม จนได้ปริมาตรของเชื้อเพียงพอสำหรับการทดลองขั้นต่อไป

2.2 การเลี้ยงสาหร่าย

นำสาหร่ายมาเลี้ยงในสภาวะต่างๆที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตชีวมวล เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตโดยศึกษาปัจจัยและออกแบบการทดลอง ดังตารางที่ 3 โดยแต่ละระดับมี 3 ซ้ำ เลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยความเข้มข้นเริ่มต้นที่ $\text{OD}_{1000} = 0.5$ ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร จำนวน 3 ใบ ตามสภาวะเหมือนข้อ 14.2.2.1 เลี้ยงเป็นระยะเวลา 20 วัน (ระยะ Stationary phase) และเก็บตัวอย่างทุก 2 วัน

ตารางที่ 3 ปัจจัยที่ศึกษาซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก

ปัจจัยที่ทำการศึกษา	ระดับของปัจจัยที่ทำการศึกษา
สูตรอาหาร	BG-11, BGA, Bold และ Chu medium
ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจน	0, 0.5, 1, 2 และ 4
ระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัส	0, 0.5, 1, 2 และ 4
pH	5, 6, 7, 8 และ 9

2.3 การศึกษาชีวมวลสาหร่าย

2.3.1 การหาน้ำหนักเปียกสาหร่าย (Wet weight)

ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายหลังสิ้นสุดการทดลองในแต่ละชุดการทดลอง มากรองด้วยชุดกรองที่มีบีมอากาศช่วย ใช้กระดาษกรองชนิด Washman GF/C ขนาดรู 45 ไมครอน มาชั่งน้ำหนักสาหร่ายเปียก เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ต่อไป

2.3.2 การหาน้ำหนักสาหร่ายแห้ง (Dry weight)

นำตัวอย่างสาหร่ายจากข้อ 2.3.1 มาหาน้ำหนักสาหร่ายแห้ง โดยนำสาหร่ายมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 105°C (APHA, 1995)

2.2.4 การวิเคราะห์หาค่าการเจริญเติบโตสาหร่าย

2.2.4.1 การวิเคราะห์หา Growth curve

วัดความหนาแน่นเซลล์ด้วยการวัดค่า OD₁₀₀₀ (optimal density) ทุกๆ 2 วันในแต่ละชุดการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ จนค่า OD. ลดลง พร้อมทั้งปรับความเป็นกรดเป็นด่าง ทุกๆ 2 วัน โดยนำค่า OD. สาหร่ายได้ นำมาวิเคราะห์หา Time courses of growth ของสาหร่าย ดัดแปลงตามวิธีของ Huang *et al.*, 2002 ดังสมการ

$$K = \frac{\log W_t - \log W_0}{T}$$

โดย W_t คือ OD. สุดท้ายในวันที่ของการวิเคราะห์ (Final fresh weight at t day)

W_0 คือ OD. เริ่มต้นในวันที่ของการวิเคราะห์ (Initial fresh weight)

t คือ จำนวนวันในการเลี้ยงสาหร่าย (Number of culture days)

บันทึกผลการทดลองและเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์

2.2.4.2 การวิเคราะห์หาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายต่อวัน

สาหร่ายจะถูกเก็บทุก 2 วัน เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Daily growth rate; $DGR = \% \text{ day}^{-1}$) ซึ่งคำนวณโดยใช้สูตรที่นำค่าจากระยะ Exponential growth จากการศึกษาที่ผ่านมา ดัดแปลงตามวิธีของ Dawes *et al.*, 1994

$$DGR (\%) = \ln (W_t/W_0)/t \times 100$$

โดย W_t คือ OD. สุดท้ายในวันของการวิเคราะห์ (Final fresh weight at t day)

W_0 คือ OD. เริ่มต้นในวันของการวิเคราะห์ (Initial fresh weight)

t คือ จำนวนวันในการเลี้ยงสาหร่าย (Number of culture days)

3. การศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมันโดยสาหร่ายขนาดเล็ก

นำสาหร่ายที่ได้มาเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมันเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายชนิดที่ได้จากการคัดเลือกในข้อ 2.1 โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง

3.1 ศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมันจากแหล่งต่างๆ

การทดลองนี้ใช้น้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมันจำนวน 3 แหล่ง แต่ละแหล่งมี 3 ซ้ำ และเลี้ยงสาหร่ายตามสถานะในข้อ 2.2 วัดค่าปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของน้ำเสียทุก 2 วัน

3.2 ศึกษาหาสถานะที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียและการผลิตชีวมวลสาหร่าย

สถานะที่ศึกษาได้แก่ ระดับความเข้มข้นของน้ำเสีย และ pH เป็นต้น แต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ และเลี้ยงสาหร่ายตามสถานะในข้อ 2.2 วัดค่าปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของน้ำเสียทุก 2 วัน วิเคราะห์ข้อมูลดังข้อ 2.3 และ 2.4

4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

4.1 วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงของสาหร่าย (ชนิดและความชุกชุม) และคุณภาพน้ำ (ความโปร่งแสง, อุณหภูมิ, ความเป็นกรดด่าง, DO, TSS, COD, BOD, ไขมันและน้ำมัน, แอมโมเนีย, ไนโตรเจน, ไนเตรตและฟอสเฟต ระหว่างโรงงานที่เก็บตัวอย่าง ด้วยการวิเคราะห์ Cluster Analysis (CA) โดยใช้โปรแกรม MVSP version 3.12d ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (Unweight pair group average method) และดัดแปลงข้อมูล (data transformation) เป็น $\log (x+1)$

4.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสาหร่ายกับคุณภาพน้ำในแต่ละโรงงานที่เก็บตัวอย่าง ด้วยการวิเคราะห์ Canonical Correspondence Analysis (CCA) โดยใช้โปรแกรม MVSP version 3.12d และใช้ข้อมูลเดียวกับการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึง

4.3 ออกแบบการทดลองแบบ CRD โดยวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วย one-way ANOVA และ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของชุดทดลองด้วย Tukey's multiple comparison tests ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (Zar, 1996) ด้วยโปรแกรม SPSS for Windows version 12.0.



ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายจากน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมัน

1.1 องค์ประกอบของสาหร่ายในน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมัน

ชนิดสาหร่ายในน้ำทิ้งของโรงงานปาล์มน้ำมัน 3 โรงงาน พบสาหร่ายทั้งหมด 5 ดิวิชั่น 6 อันดับ 9 สกุล 10 ชนิด ได้แก่ *Lyngbya* sp., *Oscillatoria* sp., *Phormidium* sp., *Microcystis* sp., *Chlorella* sp., *Cryptomonas* sp., *Euglena* sp.1, *Euglena* sp.2, *Pleurosigma* sp. และ *Cymbella* sp. โดยชนิดของสาหร่ายที่พบในแต่ละโรงงานแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การจำแนกชนิดของสาหร่ายในน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมัน

Devison (ดิวิชั่น)	Order (อันดับ)	Genus (สกุล)	Species (ชนิด)	ชนิดสาหร่ายที่พบ		
				ตรัง1	ตรัง2	กระบี่1
Cyanophyta	Nostocales	<i>Lyngbya</i>	<i>Lyngbyasp.</i>		X	
		<i>Oscillatoria</i>	<i>Oscillatoria</i> sp.	X		
		<i>Phormidium</i>	<i>Phormidium</i> sp.	X	X	X
		<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis</i> sp.	X		
Chlorophyta	Chroococcales	<i>Chlorella</i>	<i>Chlorella</i> sp.			X
Cryptophyta	Cryptomonadales	<i>Cryptomonas</i>	<i>Cryptomonas</i> sp.	X		
Euglenophyta	Euglenales	<i>Euglena</i>	<i>Euglena</i> sp.1	X	X	X
			<i>Euglena</i> sp.2		X	X
Bacillariophyta	Naviculales	<i>Pleurosigma</i>	<i>Pleurosigma</i> sp.	X		
	Bacillariales	<i>Cymbella</i>	<i>Cymbella</i> sp.		X	X

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า จำนวนชนิดของสาหร่ายพบมากที่สุดในกลุ่ม Cyanophyta โดย *Phormidium* และ *Euglena* sp.1 สามารถพบในน้ำเสียทั้งสามโรงงาน สอดคล้องกับ Bernal et al. (2008) พบว่าสาหร่ายในกลุ่ม Cyanophyta มีชนิดสาหร่ายมากที่สุดในน้ำเสียจาก Municipal Wastewater Treatment รองลงมาคือ Euglenophyta เช่นเดียวกับ Renuka et al. (2014) ศึกษาชนิดของสาหร่ายในน้ำโสโครก พบ สาหร่าย 5 ไฟลัม คือ Cyanophyta, Chlorophyta, Bacillariophyta, Xanthophyta and Euglenophyta โดย *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Chlorella* และ *Phormidium* เป็นสกุลเด่น (dominant genus) เช่นกัน น้ำเสียที่มีสารอินทรีย์สูงจะพบสาหร่ายในกลุ่ม Cyanophyta เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งสามารถใช้ *Phormidium* เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพน้ำในสภาพมลภาวะ (ยวดี, 2549)

1.2 ดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมัน

ค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ (Shannon-Wiener's Index) พบว่า ตรัง2 มีค่าสูงที่สุด รองลงมาตรัง1 และกระบี่1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.30911, 1.26206 และ0.88061 ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับค่าการกระจาย Evenness พบว่า ตรัง2 มีค่าสูงที่สุด รองลงมาตรัง1 และกระบี่1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.8134, 0.7044 และ0.5472 ตามลำดับ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมัน

โรงงาน	ค่าดัชนีความหลากหลาย (Shannon-Wiener's Index)	ค่าการกระจาย Evenness
ตรัง1	1.26206	0.7044
ตรัง2	1.30911	0.8134
กระบี่1	0.88061	0.5472

1.3 คุณภาพน้ำบางประการของน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมัน

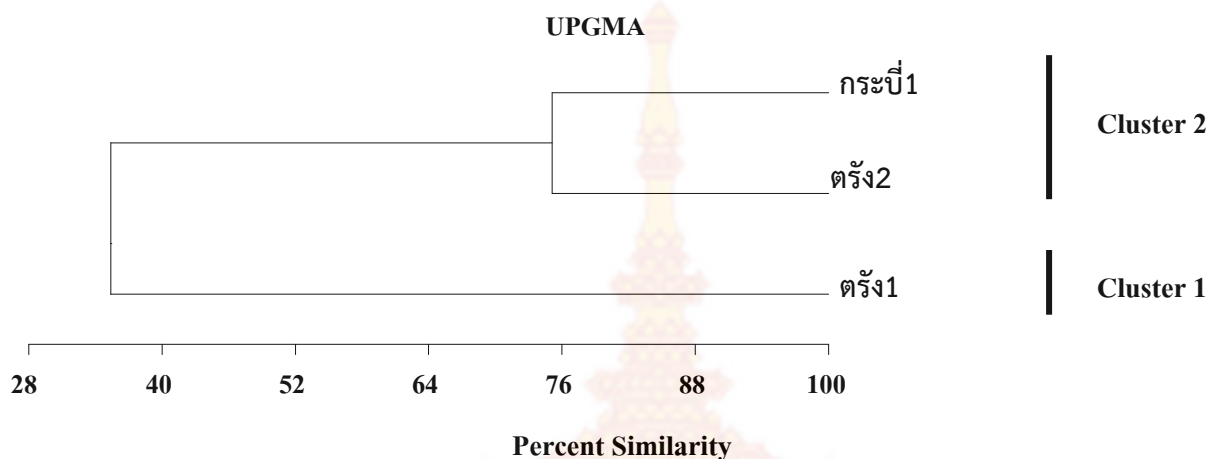
ปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ ได้แก่ ความโปร่งแสง, อุณหภูมิ, ความเป็นกรดต่าง (pH), ออกซิเจนละลายในน้ำ (DO), ตะกอนแขวนลอย (TSS), COD, BOD, ไขมันและน้ำมัน, แอมโมเนีย, ไนโตรเจน, ไนเตรท และฟอสเฟต ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 คุณลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมัน

พารามิเตอร์น้ำ	ตรัง1	ตรัง2	กระบี่1
ความโปร่งแสง (cm)	1.25	0.40	0.45
อุณหภูมิ (°C)	30.9	32.1	35.2
pH	9.1	8.3	7.6
DO (mg/L)	0.89	2.07	0.76
TSS (mg/L)	98.66	193.67	496.67
COD (mg/L)	1,657.4	15,716.8	16,859.8
BOD (mg/L)	34.01	71.01	47.05
ไขมันและน้ำมัน (mg/L)	0.4	0.2	0.8
แอมโมเนีย (mg/L)	27,252.95	163,062.50	255,762.5
ไนโตรเจน (mg/L)	0.224	0.1545	0.2011
ไนเตรท (mg/L)	6.281	3,9957	6.662
ฟอสเฟต (mg/L)	4291.6	11,065.3	15,840.14

1.4 ความคล้ายคลึงของสาหร่าย

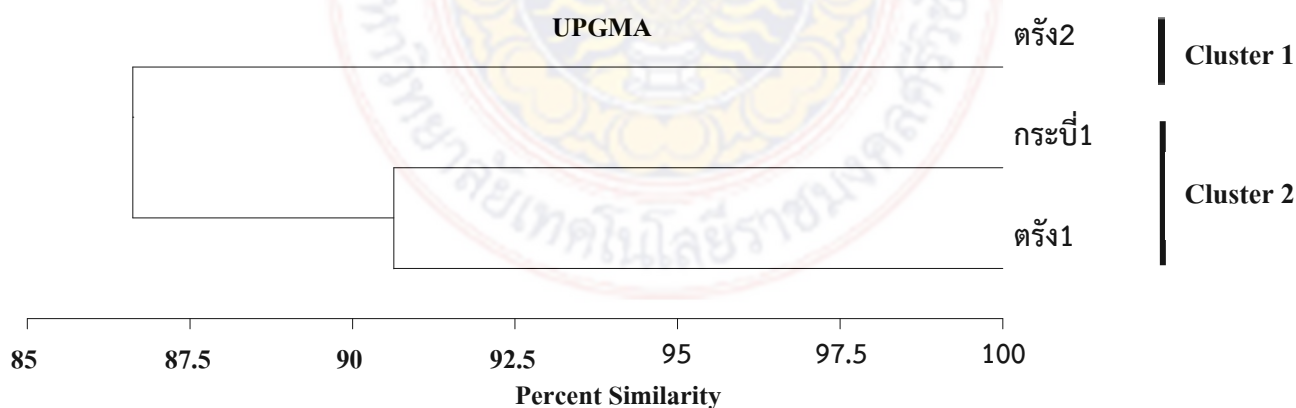
จากการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงของแพลงค์ตอนพืชที่พบทั้ง 3 โรงงาน พบว่า มีความแตกต่างกัน โดยสามารถแบ่งความคล้ายคลึงของสาหร่ายได้เป็น 2 กลุ่มที่ระดับความคล้ายคลึง 35.39% โดยกลุ่มที่ 1 (Cluster 1) คือ โรงงานตรัง1 ส่วนกลุ่มที่ 2 (Cluster 2) ประกอบด้วย โรงงานตรัง2 กับโรงงานกระบี่1 ซึ่งมีความคล้ายคลึงกันที่ระดับ 75.11% (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงของสาหร่ายในน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมันในแต่ละโรงงาน (Cluster 1, ความคล้ายคลึงของสาหร่ายกลุ่มที่ 1; Cluster 2 ความคล้ายคลึงของสาหร่ายกลุ่มที่ 2)

1.5 ความคล้ายคลึงของคุณภาพน้ำ

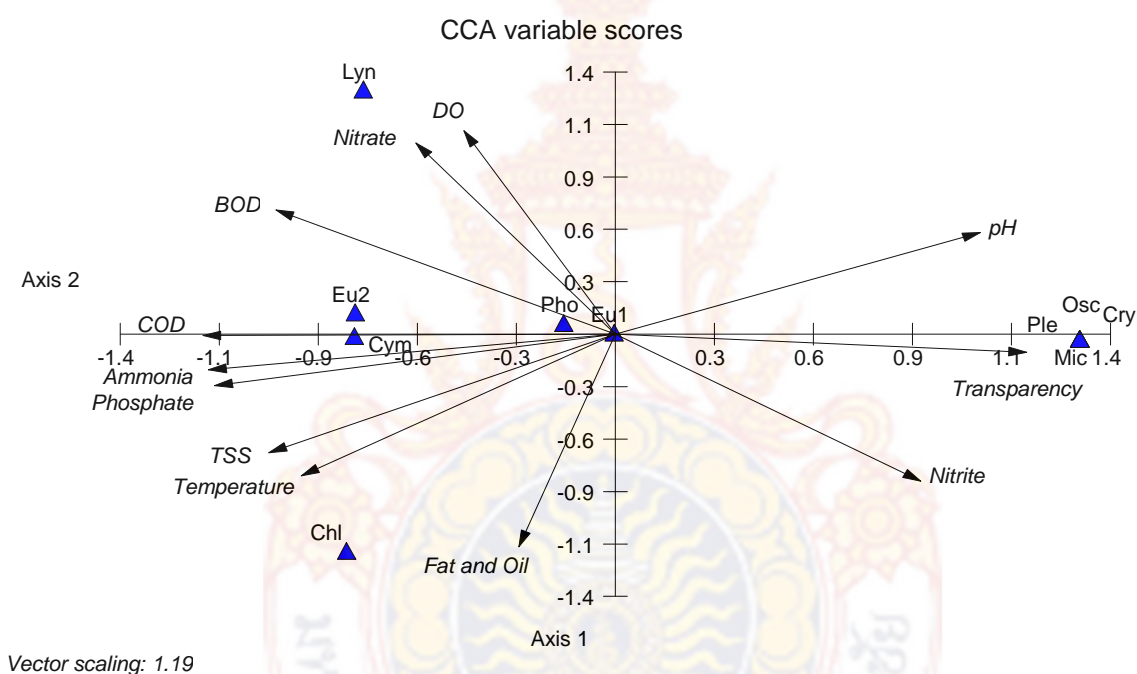
จากการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงของคุณภาพน้ำที่พบทั้ง 3 โรงงาน พบว่า ค่อนข้างมีความคล้ายคลึงกันมาก โดยสามารถแบ่งความคล้ายคลึงของคุณภาพน้ำ ได้เป็น 2 กลุ่ม ที่ระดับความคล้ายคลึง 86.62% โดยกลุ่มที่ 1 (Cluster 1) คือ โรงงานตรัง2 ส่วนกลุ่มที่ 2 (cluster 2) ประกอบด้วยโรงงานตรัง1 กับโรงงานกระบี่1 ซึ่งมีความคล้ายคลึงกันมากที่ระดับ 90.63% (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงของคุณภาพน้ำในน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมันในแต่ละโรงงาน (Cluster 1, ความคล้ายคลึงของสาหร่ายกลุ่มที่ 1; Cluster 2 ความคล้ายคลึงของสาหร่ายกลุ่มที่ 2)

1.6 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับชนิดของสาหร่าย

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสาหร่ายกับคุณภาพน้ำที่มาจากโรงงานปาล์มน้ำมันทั้ง 3 โรงงาน พบว่า ค่าความโปร่งแสงของน้ำ (Transparency) มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับสาหร่ายบางชนิดได้แก่ *Oscillatoria* sp., *Cryptomonas* sp., *Pleurosigma* sp. และ *Microcystis* sp. โดยสาหร่ายชนิดดังกล่าวพบได้เพียงบริเวณที่มีค่าความโปร่งแสงสูงและค่า BOD ในน้ำต่ำเท่านั้น โดยบริเวณดังกล่าวได้แก่ น้ำที่มาจากโรงงานปาล์มน้ำมันที่ 1 ซึ่งพบว่ามีค่าความโปร่งแสงของน้ำมากที่สุด (1.25 cm) และมีค่า BOD (34.01 mg/L) น้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับโรงงานอื่นๆ (ความโปร่งแสง=0.4 cm และ 0.45 cm, BOD = 71.01 mg/L และ 47.05 mg/L) และเป็นน้ำที่มาจากโรงงานเดียวเท่านั้นที่พบแพลงค์ตอนพืชทั้งสี่ชนิดนี้ (ภาพที่ 5)



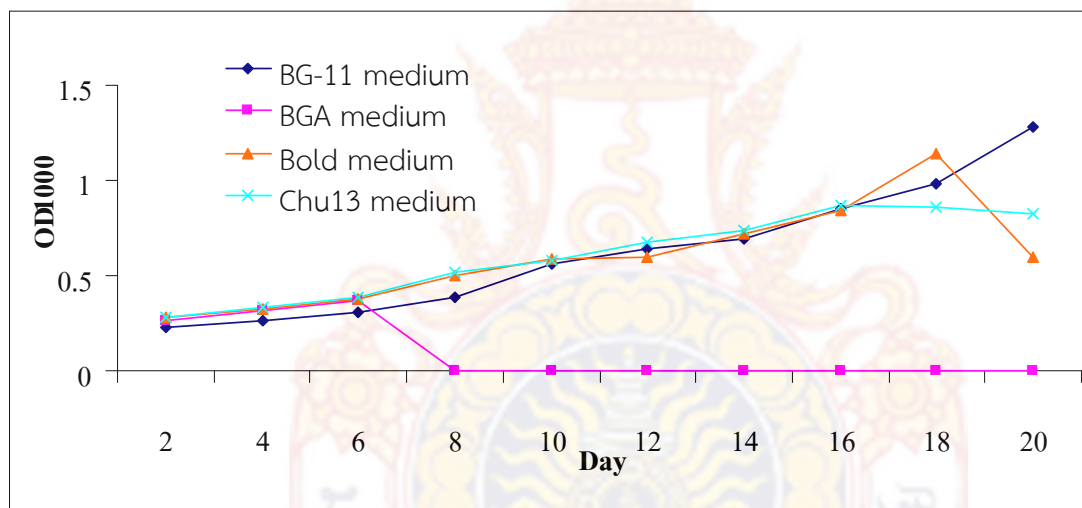
ภาพที่ 5 CCA แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับสาหร่ายจากน้ำที่โรงงานปาล์มน้ำมัน (Lyn=Lyngbya sp., Osc=Oscillatoria sp, Pho=Phormidium sp., Mic=Microcystis sp., Chl=Chlorella sp., Cry=Cryptomonas sp., Eu=Euglena sp.1, Eu2=Euglena sp.2, Ple=Pleurosigma sp. and Cym=Cymbetla sp.)

2. ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium sp.*

2.1 สูตรอาหาร

2.1.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium sp.*

ในการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium sp.* ในอาหาร 4 สูตร คือ BG-11 medium, BGA medium, Bold's Basal medium และ Chu medium ผลการทดลองพบว่า ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนกระทั่งถึงวันที่ 6 สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในอาหารทั้ง 4 สูตร หลังจากนั้นวันที่ 6 จะเห็นได้ว่า สาหร่ายที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร BGA medium จะหยุดการเจริญเติบโตและตายลงวันที่ 8 ส่วนในอาหารอีก 3 สูตร คือ BG-11 medium, Bold's Basal medium และ Chu medium สาหร่ายยังคงเพิ่มการเจริญเติบโต แต่ลดการเจริญเติบโตในวันที่ 18 และ 20 ในอาหารสูตร Chu medium และ Bold's Basal medium ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 medium ยังคงเจริญเติบโตขึ้นได้ดีที่สุด (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 แสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium sp.* ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ต่างกันเป็นระยะเวลา 20 วัน

2.1.2 การผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium sp.*

การผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium sp.* ในอาหาร 4 สูตร คือ BG-11 medium, BGA medium, Bold's Basal medium และ Chu medium เป็นระยะเวลา 20 วัน ผลการทดลองพบว่า สาหร่าย *Phormedium sp.* สามารถผลิตชีวมวลได้สูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium, Bold's Basal medium, Chu medium และ BGA medium ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.36 ± 0.00 g/l, 0.26 ± 0.00 g/l, 0.23 ± 0.02 g/l และ 0.00 ± 0.00 g/l ตามลำดับ เมื่อทดสอบค่าทางสถิติ พบว่า สูตร BG-11 medium มีชีวมวลสูงสุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกสูตรอาหาร อย่างไรก็ตามสาหร่ายที่เลี้ยงใน

อาหารสูตร Bold's Basal medium กับ Chu medium ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ดังตารางที่ 1) เช่นเดียวกับก้นดกนิษฐ และคณะ (2554) พบว่าสาหร่าย *Nostoc* sp. และสาหร่าย *Anabaena* spp. เจริญได้ดีในอาหารสูตร BG-11 โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 6.64×10^{-3} ต่อชั่วโมง มีปริมาตรเซลล์สูงสุดเท่ากับ 0.53 มิลลิลิตร และมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.12 กรัมต่อลิตร ส่วน *Anabaena* spp. มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 9.85×10^{-3} ต่อชั่วโมง มีปริมาตรเซลล์สูงสุดเท่ากับ 5.06 มิลลิลิตร และมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.04 กรัมต่อลิตร สอดคล้องกันกับสมรักษ์ และคณะ (2554) พบว่าสาหร่าย *Nostoc muscorum* TISTR 8871 ที่เลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 สามารถผลิตชีวมวลเท่ากับ 0.38 ± 0.00 g DW/l และสะสมแป้งเท่ากับ 33.49 ± 0.89 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับสุพรรณษา และคณะ (2554) เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในคลังเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่าย วว. ในสูตรอาหาร BG-11 คณิงกานต์ (2547) พบว่า *Synechococcus lividus* strain SKP50 ที่เลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 สามารถผลิตเอโนไซม์ไฟเตสได้สูงสุด ในขณะที่ขวัญใจ (2530) พบว่าสาหร่ายสกุล *Calothrix* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่เลี้ยงในอาหารสูตร Specific culture medium นอกจากนั้นอัญชลี (2546) พบว่า *Synechococcus lividus* Copeland DSK74 และ *Synechococcus bigranulatus* Skuji ที่เลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 สามารถสร้างไฟโคไซยานินได้ดีที่สุด

ตารางที่ 4 แสดงค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Phormedium* sp. ที่เลี้ยงในสูตรอาหารต่างกันเป็นระยะเวลา 20 วัน

สูตรอาหาร	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (Mean \pm SD; g DW/l)
BG-11 medium	0.36 ± 0.00^c
BGA medium	0.00 ± 0.00^a
Bold's Basal medium	0.26 ± 0.00^b
Chu medium	0.23 ± 0.02^b

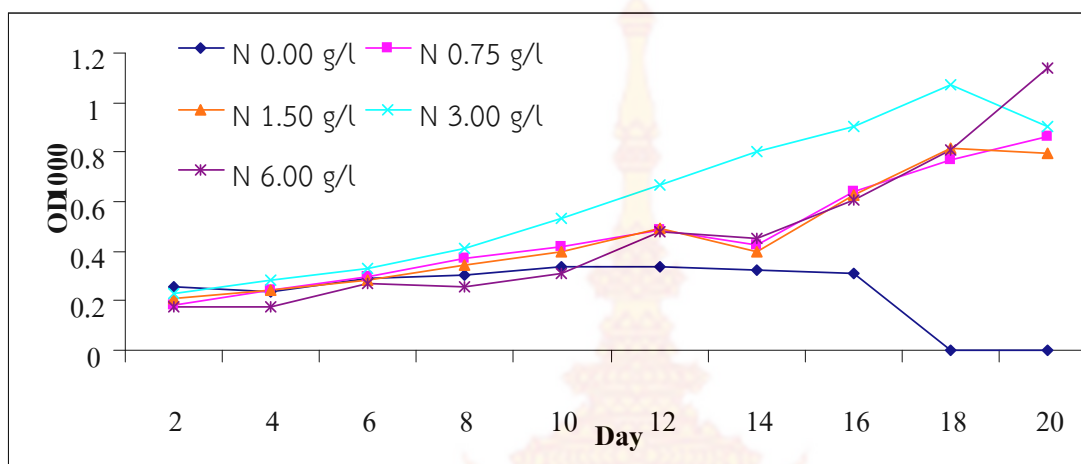
หมายเหตุ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.2 ไนโตรเจน

2.2.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium* sp.

ในการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium* sp. ที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในสูตรอาหาร BG-11 medium โดยมี 5 ระดับ คือ ไม่เติมไนโตรเจน (0.00 เท่า), 0.5 เท่า (0.75 g/l), 1 เท่า (1.50 g/l; สูตรปกติ), 2 เท่า (3.00 g/l) และ 4 เท่า (6.00 g/l) ผลการทดลองพบว่า ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนกระทั่งถึงวันที่ 16 สาหร่ายจะเจริญเติบโตขึ้นอย่าง

ต่อเนื่องในทุกระดับความเข้มข้น แต่ที่ไม่เติมไนโตรเจนจะหยุดการเจริญเติบโตและจะตายลงหลังจากวันที่ 18 ส่วนสูตรอาหารที่เติม 0.75 g/l, 1.50 g/l, 3.00 g/l และ 6.00 g/l สาหร่ายยังคงเพิ่มการเจริญเติบโต หลังจากสิ้นสุดการทดลองเมื่อเข้าวันที่ 18 สูตร BG-11 medium ที่เติมไนโตรเจน 6.00 g/l เจริญเติบโตได้ดีที่สุด (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 แสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium sp.* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 ในระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ต่างกันเป็นระยะเวลา 20 วัน

2.2.2 การผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium sp.*

การผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium sp.* ในอาหาร BG-11 medium ที่เติมไนโตรเจน 5 สูตร คือ BG-11 - 0N (0.00 g/l), BG-11 + 0.5N (0.75 g/l), BG-11 + 1N (1.50 g/l), BG-11 + 2N (3.00 g/l) และ BG-11 + 4N (6.00 g/l) เป็นระยะเวลา 20 วัน ผลการทดลองพบว่า สาหร่าย *Phormedium sp.* สามารถผลิตชีวมวลได้สูงสุดในอาหารสูตร BG-11 + 4N (6.00 g/l), BG-11 + 0.5N (0.75 g/l), BG-11 + 1N (1.50 g/l), BG-11 + 2N (3.00 g/l) และ BG-11 - 0N (0.00 g/l) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.53 ± 0.04 g/l, 0.44 ± 0.04 g/l, 0.35 ± 0.02 g/l, 0.31 ± 0.03 g/l และ 0.00 ± 0.00 g/l ตามลำดับ เมื่อทดสอบค่าทางสถิติ พบว่า สูตร BG-11 + 4N (6.00 g/l) มีชีวมวลสูงสุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกสูตรอาหาร อย่างไรก็ตามสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 + 0.5N (0.75 g/l), BG-11 + 1N (1.50 g/l) และ BG-11 + 2N (3.00 g/l) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ดังตารางที่ 5) ในขณะที่กัณฑ์กนิษฐและคณะ (2554) พบว่าสาหร่าย *Nostoc sp.* และสาหร่าย *Anabaena spp.* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสูตร BG-11 ที่เติมไนโตรเจนในรูป NaNO_3 3 กรัมต่อลิตร โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 6.47×10^{-3} ต่อชั่วโมง มีปริมาตรเซลล์สูงสุดเท่ากับ 0.38 มิลลิลิตร และมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.97 กรัมต่อลิตร ส่วน *Anabaena spp.* โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 1.12×10^{-2} ต่อชั่วโมง มีปริมาตรเซลล์สูงสุดเท่ากับ 3.64 มิลลิลิตร และมีค่า

น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 3.30 กรัมต่อลิตร แต่ในสาหร่าย *Hapalosiphon* sp. พบว่า ในอาหารสูตร BG-11 ที่เติมไนโตรเจน 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สาหร่ายสามารถสร้างปริมาณไขมันสูงสุดคือ 15.78 ± 0.51 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลผลิตไขมันพบสูงสุด 0.063 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีไนโตรเจน 375 มิลลิกรัมต่อลิตร (สุนิรัตน์, 2554) เช่นเดียวกับขวัญใจ (2530) พบว่าสาหร่ายสกุล *Calothrix* ที่เลี้ยงในอาหารผสมที่มี Na_2HPO_4 0.016 กรัมต่อลิตรมีค่าเท่ากับ 1,012.04 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสาหร่ายมีค่าสูงสุด

ตารางที่ 5 แสดงค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Phormedium* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 ในระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ต่างกันเป็นระยะเวลา 20 วัน

ค่าความเข้มข้นของ NaNO_3	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (mean \pm SD; g DW/l)
BG-11 – 0N (0.00 g/l)	0.00 \pm 0.00 ^a
BG-11 + 0.5N (0.75 g/l)	0.44 \pm 0.04 ^b
BG-11 + 1N (1.50 g/l)*	0.35 \pm 0.02 ^b
BG-11 + 2N (3.00 g/l)	0.31 \pm 0.03 ^b
BG-11 + 4N (6.00 g/l)	0.53 \pm 0.04 ^c

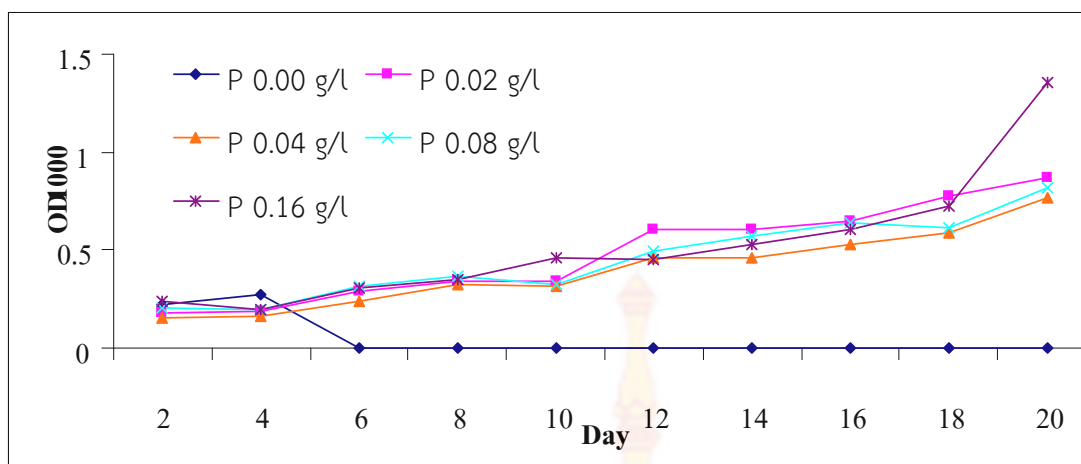
* สูตรปกติ

หมายเหตุ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.3. ฟอสฟอรัส

2.3.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium* sp.

ในการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium* sp. ที่ระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในสูตรอาหาร BG-11 medium โดยมี 5 ระดับ คือ ไม่เติมฟอสฟอรัส (0.00 เท่า), 0.5 เท่า (0.02 g/l), 1 เท่า (0.04 g/l; สูตรปกติ), 2 เท่า (0.08 g/l) และ 4 เท่า (0.16 g/l) ผลการทดลองพบว่า ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนกระทั่งถึงวันที่ 4 สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในอาหารทั้ง 5 สูตร หลังจากวันที่ 4 จะเห็นได้ว่า สาหร่ายที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร 0.00 g/l จะหยุดการเจริญเติบโตและตายลงวันที่ 6 ส่วนสูตรอาหารที่เติม 0.02 g/l, 0.04 g/l, 0.08 g/l และ 0.16 g/l สาหร่ายยังคงเพิ่มการเจริญเติบโต แต่ลดการเจริญเติบโตในวันที่ 18 และ 20 ในอาหารสูตร 0.02 g/l, 0.04 g/l และ 0.08 g/l ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตร 0.16 g/l ยังคงเจริญเติบโตขึ้นได้ดีที่สุด (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 แสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 ในระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ต่างกันเป็นระยะเวลา 20 วัน

2.3.2 การผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium* sp.

การผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium* sp. ในอาหาร BG-11 medium ที่เติมฟอสฟอรัส 5 สูตร คือ BG-11 - 0P (0.00 g/l), BG-11 + 0.5P (0.02 g/l), BG-11 + 1P (0.04 g/l), BG-11 + 2P (0.08 g/l) และ BG-11 + 4P (0.16 g/l) เป็นระยะเวลา 20 วัน ผลการทดลองพบว่า สาหร่าย *Phormedium* sp. สามารถผลิตชีวมวลได้สูงสุดในอาหารสูตร BG-11 + 4P (0.16 g/l), BG-11 + 0.5P (0.02 g/l), BG-11 + 1P (0.04 g/l), BG-11 + 2P (0.08 g/l) และ BG-11 - 0P (0.00 g/l) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.39 ± 0.02 g/l, 0.31 ± 0.00 g/l, 0.33 ± 0.02 g/l, 0.33 ± 0.04 g/l และ 0.00 ± 0.00 g/l ตามลำดับ เมื่อทดสอบค่าทางสถิติ พบว่า สูตร BG-11 + 4P (0.16 g/l) มีชีวมวลสูงสุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกสูตรอาหาร อย่างไรก็ตามสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 + 0.5P (0.02 g/l), BG-11 + 1P (0.04 g/l) และ BG-11 + 2P (0.08 g/l) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ดังตารางที่ 6) ในขณะที่สุนีรัตน์ (2554) พบว่าสาหร่าย *Hapalosiphon* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 ที่มีฟอสฟอรัส 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณไขมันสูงสุดที่ 11.50 ± 0.45 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลผลิตไขมันได้สูงที่สุด 0.044 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีฟอสฟอรัส 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 6 แสดงค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Phormedium* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 ในระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ต่างกันเป็นระยะเวลา 20 วัน

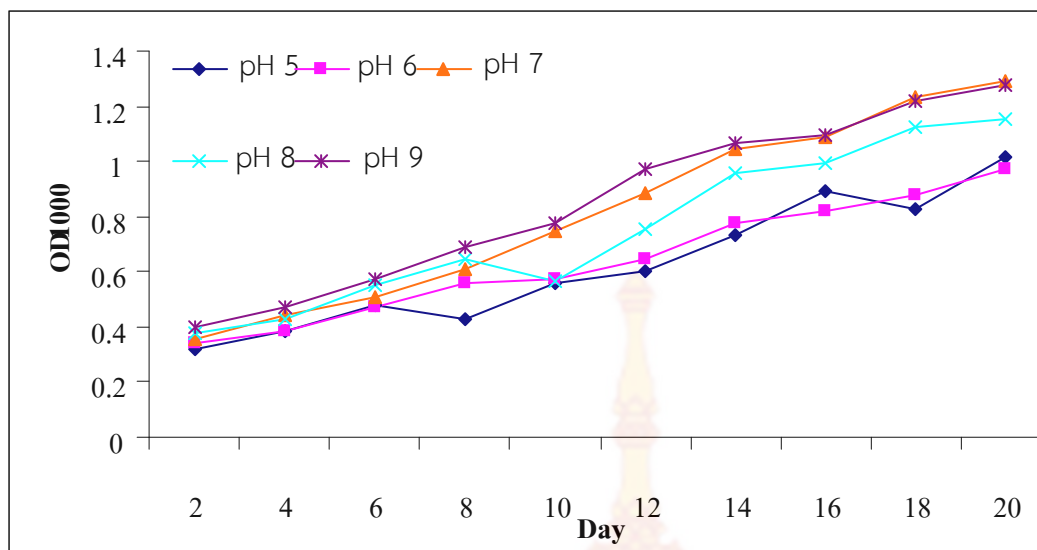
ค่าความเข้มข้นของ $K_2PO_4 \cdot H_2O$	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (mean \pm SD; g DW/l)
BG-11 – 0P (0.00 g/l)	0.00 \pm 0.00 ^a
BG-11 + 0.5P (0.02 g/l)	0.31 \pm 0.00 ^b
BG-11 + 1P (0.04 g/l)*	0.33 \pm 0.02 ^b
BG-11 + 2P (0.08 g/l)	0.33 \pm 0.04 ^b
BG-11 + 4P (0.16 g/l)	0.39 \pm 0.02 ^c

หมายเหตุ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.4 pH

2.4.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium* sp.

ในการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium* sp. ในอาหาร BG-11 medium ที่ระดับ pH 5 ระดับ คือ pH 5, 6, 7, 8 และ 9 ผลการทดลองพบว่า ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนกระทั่งถึงวันที่ 14 สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในทุกระดับ pH 5 สูตร หลังจากวันที่ 14 จะเห็นได้ว่าสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยอาหาร BG-11 medium ที่ pH 5, 6, 8 และ 9 จะลดการเจริญเติบโต ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อครบ 20 วัน สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหาร BG-11 medium ที่ระดับ pH 7, 8 และ 9 สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตขึ้นได้ดีที่สุด (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 แสดงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormedium* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 ในระดับค่า pH ต่างกันเป็นระยะเวลา 20 วัน

2.4.2 การผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium* sp.

การผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium* sp. ในอาหาร BG-11 medium ที่ระดับ pH 5 สูตร คือ pH 5, 6, 7, 8 และ 9 เป็นระยะเวลา 20 วัน ผลการทดลองพบว่า สาหร่าย *Phormedium* sp. สามารถผลิตชีวมวลได้สูงสุดที่ pH 7, 5, 6, 8 และ 9 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.52 ± 0.01 g/l, 0.42 ± 0.02 g/l, 0.40 ± 0.02 g/l, 0.40 ± 0.02 g/l และ 0.41 ± 0.04 g/l ตามลำดับ เมื่อทดสอบค่าทางสถิติ พบว่า ที่ pH 7 มีชีวมวลสูงสุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกระดับ pH อย่างไรก็ตามสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตร pH 5, 6, 8 และ 9 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ดังตารางที่ 7) เช่นเดียวกับมยู่รี และคณะ (2554) พบว่าสาหร่าย *Nostoc muscorum* TISTR 8871 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในสูตรอาหาร N-free BGA ค่าความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นเท่ากับ 7 โดยให้ผลผลิตชีวมวลเฉลี่ยหลังจากการเพาะเลี้ยง 0.58 ± 0.04 กรัม/น้ำหนักรแห้งต่อลิตร คิดเป็น 3.22 เท่าของน้ำหนักรแห้งเริ่มต้น ในขณะที่คณิง กานต์ (2547) พบว่า *Synechococcus lividus* strain SKP50 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ pH 6.0 แต่อัญชลี (2546) พบว่า *Synechococcus lividus* Copeland DSK74 และ *Synechococcus bigranulatus* Skuji เลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่ระดับ pH 11 และ 7 สามารถสร้างไฟโคไซยานินได้ดีที่สุด เช่นเดียวกับสมถวิล (2531) พบว่าสาหร่ายสกุล *Nostoc* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในระดับ pH 7 – 7.9 ในขณะที่วิทยา (2539) พบว่า *Calothrix* มีการเจริญเติบโตได้ดีในระดับ pH 9

ตารางที่ 7 แสดงค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 ในระดับค่า pH ต่างกันเป็นระยะเวลา 20 วัน

ค่า pH	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (mean±SD; g DW/L)
5	0.42±0.02 ^a
6	0.40±0.02 ^a
7	0.52±0.01 ^b
8	0.40±0.02 ^a
9	0.41±0.04 ^a

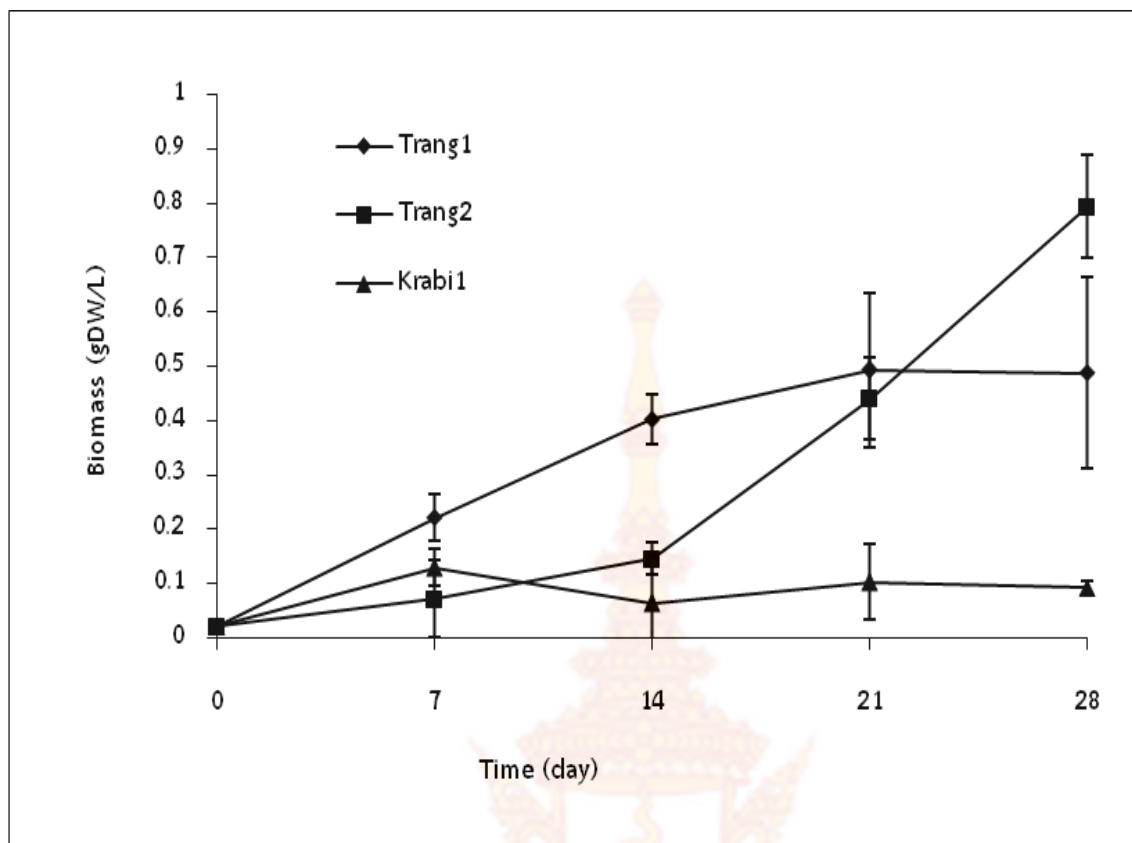
หมายเหตุ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. การศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมันโดยสาหร่ายขนาดเล็ก

3.1 การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพของสาหร่าย *Phormidium* sp. ในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมัน

3.1.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

จากการทดลองในการบำบัดสารอินทรีย์ด้วยสาหร่าย *Phormidium* sp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมัน 3 แหล่ง เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่า ในน้ำทิ้งจากโรงงาน Krabi1 และโรงงาน Trang1 สาหร่ายจะหยุดการเจริญเติบโตหลังจากเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะ 7 วัน และ 21 วัน ตามลำดับ ในขณะที่น้ำทิ้งจากโรงงาน Trang2 สาหร่ายชนิดนี้ยังคงเจริญเติบโตได้อย่างต่อเนื่อง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ชีวมวลของสาหร่ายสูงสุดเมื่อเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงงาน Trang2 โรงงาน Trang1 และ Krabi1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.79 ± 0.09 , 0.49 ± 0.17 และ 0.09 ± 0.01 gDW/L ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงในทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมัน ระยะเวลา 28 วัน

3.1.2 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมัน

ผลจากการศึกษาความสามารถในการกำจัดธาตุอาหาร (nutrient) ในรูปของสารประกอบในโตรเจน คือ แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท และฟอสฟอรัส (ตารางที่ 8) พบว่าปริมาณธาตุอาหารในน้ำทิ้งระหว่างการทดลองในระยะเวลา 4 สัปดาห์มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการทดลอง ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการที่ตะกอนหรือของเสียในน้ำทิ้งเกิดการย่อยสลายและละลายในน้ำ จึงทำให้ปริมาณธาตุอาหารเพิ่มขึ้นในบางช่วงเวลา ซึ่งผลจากการที่น้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมันมีความไม่สม่ำเสมอของคุณลักษณะสมบัติต่างๆ (ตารางที่ 9) จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. คือ การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. ก็จะไม่มีความสม่ำเสมอตามไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจากคุณลักษณะสมบัติของน้ำทิ้ง เช่น ธาตุอาหาร ความโปร่งแสง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ และอื่นๆ ล้วนแล้วแต่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. และประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้ง

อย่างไรก็ตามจากผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. สามารถนำมาพิจารณาถึงแหล่งน้ำทิ้งสำหรับการทดลองผลของความเข้มข้นของน้ำทิ้งต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. โดยเลือกใช้แหล่งน้ำทิ้งจากโรงงาน Trang2 สำหรับการทดลองดังกล่าว เนื่องจากลักษณะการเจริญเติบโต

ของสาหร่าย *Phormidium* sp. ในตัวอย่างน้ำที่จากรองงานนี้มีลักษณะของการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอ แตกต่างจากอีกสองโรงงาน

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจากโรงงานปาล์มน้ำมันของสาหร่าย *Phormidium* sp.

Industry	% removal (Mean±SD)			
	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	TP
ตราง1	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
ตราง2	17.07±0.43 ^b	88.60±0.145 ^b	64.26±0.78 ^b	0.00 ^a
กระป๋ป1	81.87±0.08 ^c	0.00 ^a	59.27±0.48 ^b	13.44±1.06 ^b

หมายเหตุ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 9 คุณลักษณะสมบัติของน้ำที่จากรองงานปาล์มน้ำมันก่อนและหลังการบำบัดด้วยสาหร่าย *Phormidium* sp.

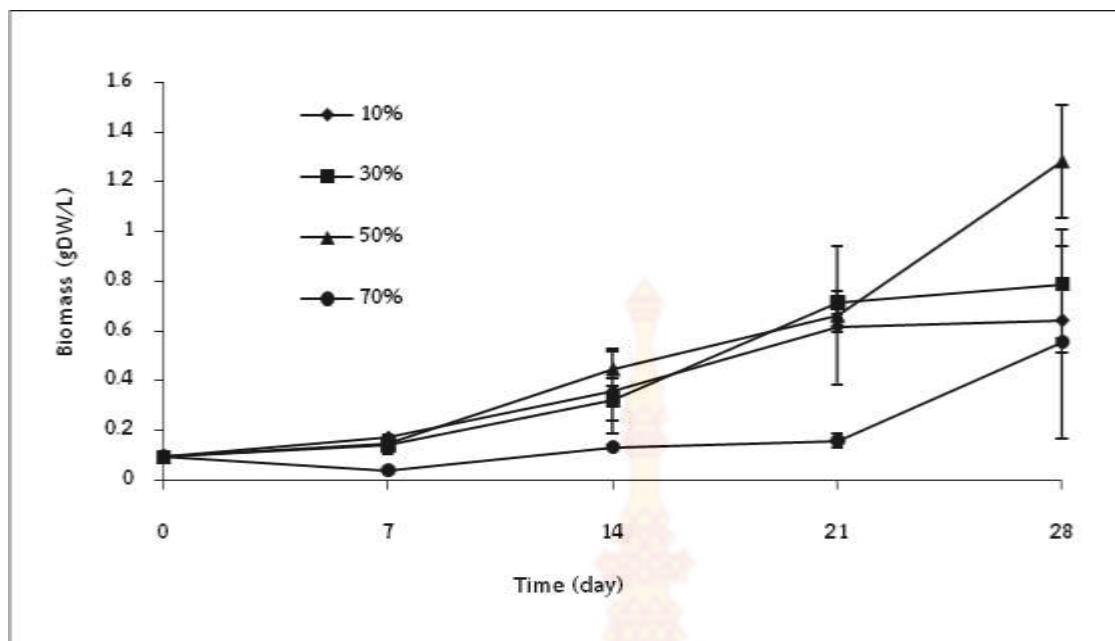
Parameters	ตราง1		ตราง2		กระป๋ป1	
	before	after	before	after	before	after
1. Temperature (°C)	30.93	28.20	32.13	28.40	35.20	28.30
2. pH	9.11	9.30	8.33	9.60	7.60	9.00
3. DO (mg/l)	0.99	3.75	2.07	3.60	0.76	2.82
4. Transparency (cm.)	1.25	-	0.40	-	0.45	-
5. TSS (mg/l)	98.67	-	193.67	-	496.67	-
6. Oil and Grease (mg/l)	0.38	-	0.20	-	0.80	-
7. COD (mg/l)	16,570.41	16,478.90	15,716.80	15,050.05	16,859.80	15,621.57
8. BOD (mg/l)	34.01	69.94	71.01	50.64	47.05	64.92

3.2 ระดับความเข้มข้นของน้ำทิ้งต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมันของสาหร่าย *Phormidium* sp.

ผลจากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายในตัวอย่างน้ำทิ้งของโรงงานปาล์มน้ำมัน พบว่าสาหร่าย *Phormidium* sp. สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำทิ้งจากโรงงาน Trang2 แสดงให้ทราบว่าน้ำทิ้งจากแหล่งดังกล่าวมีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. งานวิจัยนี้จึงมีการศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของน้ำทิ้งต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. เนื่องจากความเข้มข้นของปริมาณธาตุอาหาร ความโปร่งแสง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ และอื่นๆ มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อให้ทราบว่าระดับความเข้มข้นของน้ำเสียปริมาณเท่าใดจึงจะเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. รายละเอียดของผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

3.2.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

ผลจากการเลี้ยงสาหร่าย *Phormidium* sp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมัน Trang2 ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 30 สาหร่ายเริ่มการเจริญเติบโตคงที่หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 21 วัน แต่ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 70 สาหร่ายยังคงเจริญเติบโตสูงขึ้น ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 50 สาหร่ายเจริญเติบโตสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ 30 10 และ 70 ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมันที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 50 สามารถผลิตชีวมวลสูงที่สุด (1.28 ± 0.23 gDW/L) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกระดับความเข้มข้น ($p < 0.05$) (ภาพที่ 11) ผลจากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายที่ระดับความเข้มข้นต่างกันจากการเจือจางน้ำทิ้งของโรงงานนี้มีผลคล้ายกับการเลี้ยงในน้ำทิ้งโดยตรง คือ มีลักษณะการเจริญเติบโตของสาหร่ายเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาทำการทดลอง อาจเป็นการแสดงให้เห็นถึงความสม่ำเสมอของคุณลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. ซึ่งจะส่งผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดธาตุอาหารในน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมันของสาหร่าย *Phormidium* sp.



ภาพที่ 11 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงในทิ้งจากจากโรงงานปาล์มน้ำมันตรง 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเป็นระยะเวลา 28 วัน

3.2.2 ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมันของสาหร่าย *Phormidium* sp.

ผลจากการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดธาตุอาหารไนโตรเจน ในรูปของสารประกอบแอมโมเนีย ไนไตร ไนเตรท และฟอสฟอรัส พบว่ามีแนวโน้มของปริมาณธาตุอาหารดังกล่าวลดลงตลอดระยะเวลาทำการทดลอง โดยประสิทธิภาพการบำบัดธาตุอาหารในระยะเวลา 28 วัน (ตารางที่ 10) แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของ สาหร่าย *Phormidium* sp. ในการกำจัดสารประกอบแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท และฟอสฟอรัส ได้ดีเมื่อมีการเจือจางน้ำทิ้ง ซึ่งสังเกตได้จากการลดลงของธาตุอาหาร ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส อย่างสม่ำเสมอตลอดระยะเวลาทำการทดลอง ผลจากการทดลองพบว่าค่าความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงสาหร่าย *Phormidium* sp. มีความเข้มข้นอยู่ที่ร้อยละ 50 ซึ่งมีประสิทธิภาพการกำจัดแอมโมเนีย ไนไตร และไนเตรท เท่ากับร้อยละ 98.44 ± 0.17 , 86.18 ± 3.97 และ 85.27 ± 1.20 ตามลำดับ อีกทั้งมีประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัสเท่ากับร้อยละ 98.68 ± 0.13 ผลจากการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงสาหร่าย *Phormidium* sp. มีศักยภาพสูงในการกำจัดธาตุอาหารไนโตรเจนในรูปของสารประกอบแอมโมเนีย ไนไตร และไนเตรท

ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของสาหร่าย *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงในถังจากโรงงานปาล์มน้ำมันตรง 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเป็นระยะเวลา 28 วัน

Concentration	% removal (Mean±SD)			
	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	TP
10%	87.10±270 ^a	85.33±1.01 ^a	50.22±9.41 ^a	98.48±0.30 ^b
30%	96.13±0.57 ^b	80.38±6.45 ^a	69.40±2.58 ^b	98.47±0.19 ^b
50%	97.65±0.20 ^b	86.18±3.97 ^{ab}	85.27±1.20 ^c	98.68±0.13 ^b
70%	98.44±0.17 ^b	93.52±2.22 ^b	77.29±2.05 ^{bc}	96.77±0.13 ^a

หมายเหตุ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 11 คุณลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมันตรง 2 ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ก่อนและหลังการบำบัดด้วยสาหร่าย *Phormidium* sp. เป็นระยะเวลา 28 วัน

Parameters	10%		30%		50%		70%	
	Initial	after	Initial	after	Initial	after	Initial	after
1. temperature (°C)	28.27	28.21	28.73	28.33	28.60	28.23	28.80	28.28
2. pH	8.23	8.77	8.20	9.38	8.13	9.70	8.17	9.76
3. DO (mg/l)	3.89	2.34	3.57	2.35	3.34	2.54	3.02	2.81
4. TSS (mg/l)	9	-	43	-	49	-	54	-
5. COD (mg/l)	209.31	243.07	1,823.40	212.69	2,228.28	2,139.68	2,430.72	2,437.12
6. BOD (mg/l)	5.69	4.02	8.85	1.67	9.43	3.44	7.13	2.59

สรุป

1. การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายจากน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมัน

จากการศึกษาชนิดของสาหร่ายและคุณภาพน้ำจากน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายของโรงงานปาล์มน้ำมันจำนวน 3 แห่ง ได้แก่ จังหวัดตรัง 2 แห่ง (ตรัง1 และตรัง2) และจังหวัดกระบี่ 1 แห่ง (กระบี่1) พบชนิดของสาหร่ายทั้งหมด 5 ดิวิชั่น 6 อันดับ 9 สกุล 10 ชนิด ได้แก่ *Lyngbyasp.*, *Oscillatoriasp.*, *Phormidiumsp.*, *Microcystispp.*, *Chlorella sp.*, *Cryptomonassp.*, *Euglena sp.1*, *Euglena sp.2*, *Pleurosigmasp.* และ *Cymbellasp.* โดย *Chlorella sp.* สาหร่ายในแต่ละโรงงานมีความหลากหลายและมีจำนวนเซลล์ของสาหร่ายที่ไม่เท่ากัน สาหร่ายจำพวกนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของน้ำทิ้งในบ่อสุดท้าย จะมีคุณลักษณะน้ำที่ไม่พึงประสงค์ แต่ละโรงงานจะไม่เท่ากันส่งผลทำให้ปริมาณสาหร่ายที่พบก็จะมีอยู่หลากหลายชนิดขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน แหล่งฟอสฟอรัส ความเข้มข้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม ปัจจัยเหล่านี้สามารถทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ตามความเหมาะสมของคุณภาพน้ำทิ้งในแต่ละโรงงาน

ปริมาณความหลากหลายของสาหร่ายในน้ำทิ้งของโรงงานปาล์มน้ำมันตรัง1 และตรัง2 และกระบี่1 พบว่ามีค่าเท่ากับ 1.30911, 1.26206 และ 0.88061 ตามลำดับ และโรงงานที่มีความหลากหลายจำนวนมากที่สุด ได้แก่ ตรัง2 จะเห็นได้ว่าปริมาณสารอินทรีย์มากกว่าโรงงานอื่น จึงทำให้มีความหลากหลายของสาหร่ายมากที่สุด

จากการศึกษาคุณลักษณะน้ำบางประการในน้ำทิ้งจากโรงงานปาล์มน้ำมัน มีค่าพารามิเตอร์ที่แตกต่างกันของแต่ละโรงงาน ซึ่งจะเห็นค่าต่างๆ มีปริมาณที่สูง ได้แก่ ค่าความโปร่งแสง อุณหภูมิ pH DOTSSCOD BOD ไขมันและน้ำมัน แอมโมเนีย ไนโตรเจน ไนเตรท และฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.4-1.25 cm, 0.76-2.07 mg/L, 30-35 °C, 7-10, 98.67-496.67mg/L, 1,657.408-16,859.8 mg/L, 34.01-71.01 mg/L, 0.2-0.8 mg/L, 27,252.95-255,762.5 mg/L, 0.1545-0.224 mg/L, 6.281-3,9957 mg/L และ 4291.6-15,840.14 mg/L ตามลำดับ แสดงให้เห็นได้ว่าคุณภาพน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมันของแต่ละโรงงานมีความหลากหลายของสาหร่ายที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของน้ำทิ้งแต่ละโรงงาน

2. ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตชีวมวล

การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium sp.* ด้วยอาหาร 4 สูตร ได้แก่ BG-11 medium, BGA medium, Bold's Basal medium และ Chu medium พบว่า สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลได้สูงสุดในอาหารสูตร BG-11 medium (0.36 ± 0.00 g DW/L) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกสูตรอาหาร

การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormedium sp.* ในอาหาร BG-11 medium ที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในสูตรอาหาร BG-11 medium โดยมี 5 ระดับ คือ ไม่เติมไนโตรเจน (0.00 เท่า), 0.5 เท่า (0.75 g/L), 1 เท่า (1.50 g/L; สูตรปกติ), 2 เท่า (3.00 g/L) และ 4 เท่า (6.00 g/L) พบว่า สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลได้สูงสุดในอาหารสูตร

BG-11 ที่เติม NaNO_3 6.00 g/l และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกระดับความเข้มข้น

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormidium* sp. ในอาหาร BG-11 medium ที่ระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในสูตรอาหาร BG-11 medium โดยมี 5 ระดับ คือ ไม่เติมฟอสฟอรัส (0.00 เท่า), 0.5 เท่า (0.02 g/l), 1 เท่า (0.04 g/l; สูตรปกติ), 2 เท่า (0.08 g/l) และ 4 เท่า (0.16 g/l) พบว่า สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลได้สูงสุดในอาหารสูตร BG-11 ที่เติม $\text{K}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.16 g/l และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกระดับความเข้มข้น

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Phormidium* sp. ในอาหาร BG-11 medium ที่ระดับ pH ในสูตรอาหาร BG-11 medium มี 5 ระดับ คือ 5, 6, 7, 8 และ 9 พบว่า สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ 7, 8 และ 9 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) ในขณะที่การผลิตชีวมวลพบว่า สูงสุดที่ pH 7 และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับทุกระดับ pH

3. การศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานปาล์มน้ำมันโดยสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่าย *Phormidium* sp. สามารถเจริญเติบโตและผลิตชีวมวลของสาหร่ายสูงสุดเมื่อเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงงานตรง 2 เนื่องจากมีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่จำกัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย ในขณะที่น้ำทิ้งจากโรงงานกระบี่ 1 สาหร่ายไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ซึ่งปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งที่มากเกินไปก็มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย

เอกสารอ้างอิง

- กันต์กนิษฐ เสือเปลี่ยว, ญาวดี แก้วสุกใส, กัญญาลักษณ์ สังข์ประไพ, เทพปัญญา เจริญรัตน์ และ สุ เป ญ ญา จิตตพันธ์. 2554. ผลของไนโตรเจนต่อการเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนซึ่งคัดแยกจากพื้นที่เกษตรอินทรีย์. การประชุมวิชาการ สาหร่ายและแพลงตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 วันที่ 16-18 มีนาคม 2554 โรงแรมบีพี สมิหลาบีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท. สงขลา. หน้า 102.
- กาญจนภาชน ลิ้มโนมนต์. 2527. สาหร่าย. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ขวัญใจ สุขชี. 2530. การศึกษาทางสัณฐานวิทยาของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวกที่มีเฮเทอโรซิสต์ สกุล *Calothrix* ในอาหารผสมที่มีฟอสฟอรัสต่างกัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- คณิงกานต์ กลั่นบุศย์. 2547. เอนไซม์ไฟเตสจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางสายพันธุ์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- บริษัท เอส.พี.โอ.อะโกรอินดัสตรีส์ จำกัด. 2556. กระบวนการผลิตปาล์มน้ำมัน. อำเภอสิชล จังหวัด นครศรีธรรมราช.
- พรเทพ วิรัชวงศ์. 2538. การจัดการแพลงก์ตอนในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- มยุรี ตั้งธนาวัฒน์, นาริสรา วงศ์สิงห์ และอารัตน์ มหาพันธ์. 2554. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Nostoc muscorum* TISTR 8871 ในระดับ ห้องปฏิบัติการ. การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 วันที่ 16-18 มีนาคม 2554 โรงแรมบีพี สมิหลาบีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท. สงขลา. หน้า 116 น.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 545 หน้า.

รวมทรัพย์ ชำนาญธนา. 2540. การเลี้ยง *Dunaliella salina* ในช่วงระยะให้แสงที่แตกต่างกัน. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544. แพลงก์ตอนพืช. ภาควิชาชีววิทยา. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วิทยา น้อยประเทศ. 2539. ความสัมพันธ์ระหว่างระดับปุ๋ยฟอสเฟต และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่ มีต่อการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร บัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุนิรัตน์ เรืองสมบุญ. 2554. ปริมาณไขมันของไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก และความเค็ม ต่าง. การประชุมวิชาการสาหร่าย และแพลงตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 วันที่ 16-18 มีนาคม 2554 โรงแรมบีพี สมิทลาบีช โฮเทล แอนด์รีสอร์ท. สงขลา. หน้า 96.

สุพรรณษา ชันธโสภา, อรรถพล มะตนะ, ศุภชัย ฤกษ์เกษม, กันย์ กังวานสายชน และอารัตน์ มหาพันธ์. 2554. การวิจัยและพัฒนาการผลิตพลังงานที่ยั่งยืนของสาหร่ายขนาดเล็กในคลังเก็บรักษาสาหร่ายพันธุ์สาหร่าย วว. การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 วันที่ 16-18 มีนาคม 2554 โรงแรมบีพี สมิทลาบีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท. สงขลา. หน้า 131.

สมรักษ์ รอดเจริญ, นิรันดร์ จันทวงศ์, อารัตน์ มหาพันธ์ และคาซุฮิสะ มียาโมโตะ. 2554. การผลิตไฮโดรเจนจากชีวมวลสาหร่าย *Nostoc muscorum* TISTR 8871 โดยวิธี three-step microbial. การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 วันที่ 16-18 มีนาคม 2554 โรงแรมบีพี สมิทลาบีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท. สงขลา. หน้า 129.

อัญชลี เชื้อนเพชร. 2546. ผลของปัจจัยในการเพาะเลี้ยงบางประการต่อการผลิตไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนร้อน *Synechococcus* spp. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อรัญ หันพาศ์กิตติกุล, พูนสุข ประเสริฐสรรพ, เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล 2536. การศึกษาวิธีการแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมัน. โครงการย่อยการศึกษาในห้องปฏิบัติการ. กรมโรงงานอุตสาหกรรม. กระทรวงอุตสาหกรรม.

- Adey W.H. and L. Hackney. 1989. The composition and production of tropical marine algal turf in laboratory and field experiments. In: Adey W. (ed.), **The Biology, Ecology and Mariculture of *Mithrax spinosissimus* Utilizing Cultured Algal Turfs**. Mariculture Institute, Washington, D.C. USA.
- Adey W.H. and K. Loveland. 1998. **Dynamic Aquaria: Building Living Ecosystems**. 2nd ed. Academic Press, New York, 498 pp.
- Aliotta, G. and A. Pollio. 1982. Long term effects of copper upon physiological processes and growth of *Chlorella saccharophila* (Krueger) and *Cyanidium caldarium* (Geitler) **G. Bot. Ital.** 116:123-129.
- APHA. 1995. **Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater**. 19th(ed). American Public Health Association Pub., Washington., D.C. 976 p.
- Aziz, M. A. and W.J. Ng. 1992. Feasibility of wastewater treatment using the activated-algae process. **Bioresource Technology**. 40:205-208.
- Bender, J., J.P. Gould, Y. Vatcharapijarn, J.S. Young and P. Phillips. 1994. Removal of zinc and manganese from contaminated water with cyanobacteria mats. **Water Environ. Res.** 66:679-683.
- Bhatnagar, A., M. Bhatnagar, S. Chinnasamy and K.C. Das. 2010. *Chlorella minutissima*-A Promising Fuel Alga for Cultivation in Municipal Wastewaters. **Appl Biochem Biotechnol.** 161:523-536
- Boyd, C.E. 1990. **Water Quality in Pond for Aquaculture**. Alabama: Birmingham Publishing. 482 p.
- Cañizares-Villanueva, R.O., A. Ramos, A.I. Corona, O. Monroy, M. de la Torre, C. Gomez-Lojero and L. Travieso. 1994. *Phormidium* treatment of anaerobically treated swine wastewater. **Water Research.** 28(9):1891-1895.

- Dawes, C.J., A.O. Lluisma and G.C. Trono. 1994. Laboratory and field growth studies of commercial strains of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* in the Philippines. **J. Appl. Phycol.** 6:21-24.
- de-Bashan, L.E., A. Trejo, V.A.R. Huss, J.P. Hernandez and Y. Bashan. 2008. *Chlorella sorokiniana* UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from wastewater. **Bioresource Technol.** 99(11): 4980-4989.
- Desikachary, T.V. **Cyanophyta**. 1959. Botany Department, University of Madras., Published. New Delhi : Indian Council of Agricultural.
- El-Sheekh, M.M., W.A. El-Shouny, M.E.H. Osman and E.W.E. El-Gammal. 2005. Growth and heavy metals removal efficiency of *Nostoc muscorum* and *Anabaena subcylindrica* in sewage and industrial wastewater effluents. **Environ Toxicol Phar.** 19:357-365.
- ESCAP, 2000. **State of the Environment in Asia and Pacific**. United Nations, Chapter 17.
- Fallowfield, H. D. and M. K. Barret. 1985. The photosynthetic treatment of pig slurry in temperate climatic conditions: A pilot plant study. **Agr Wastes.** 12:111-136.
- Gantar, M., Z. Obreht and B. Dalmacija. 1991. Nutrient removal and algal succession during the growth of *Spirulina platensis* and *Scenedesmus quadricauda* on swine wastewater. **Bioresource Technol.** 36(2):167-171.
- Graham, L.E. and L.W. Wilcox. 2000. **Algae**. New Jersey, Prentice Hall. 698 p.
- Guan,Y., M. Deng, X. Yu and W. Zhang. 2004. Two-stage photo-biological production of hydrogen by marine green alga *Platymonas subcordiformis*. **Biochem. Eng. J.** 19:69-73.
- Hayashi, L., N.S. Yokoya, S. Ostini, R.T.L. Pereira, E.S. Braga and E.C. Oliveira. 2008. Nutrients removed by *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in integrated cultivation with fishes in re-circulating water. **Aquaculture.** 277:185-191.

- Hodaifa, G., M.E. Martínez and S. Sánchez. 2009. Influence of pH on the Culture of *Scenedesmus obliquus* in Olive-mill Wastewater. **Biotechnol Bioproc E.** 14:854-860.
- Huang, X.H., C.L. Li, C.W. Liu, Z.D. Wang and J.J. Chen. 2002. Studies on the N and P nutrient demand in *Nannochloris oculata*. **Mar. Sci. (Chinese).** 26:13-17.
- Kaplan, D., A.E. Richmond, Z. Dubinsky. and S. Aaronson. 1987. Algal nutrition. In A. Richmond (ed.), **CRC Handbook of Microalgae Mass Cultur.** Florida: CRC Press. pp. 147-198.
- Kawaguchi, H., K. Hashimoto, K. Hirata and K. Miyamoto. 2001. H₂ production from algal biomass by a mixed culture of *Rhodobium marinum* A-501 and *Lactobacillus amylovorus*. **J. Ferment. Bioeng.** 91(3):277-282.
- Kim, J., B.P. Lingaraju, R. Rheume, J.Y. Lee and K.F. Siddiqui. 2010. Removal of Ammonia from wastewater Effluent by *Chlorella Vulgaris*. Tsinghua **Sci Technol.** 15(4):391-396.
- Kim, M.S., J.S. Baek, Y.S. Yun, S.J. Sim, S. Park and S.C. Kim. 2006. Hydrogen production from *Chlamydomonas reinhardtii* biomass using a two-step conversion process: Anaerobic conversion and photosynthetic fermentation. **Int. J. Hydrogen Energy.** 31:812-816.
- Martinez, M.E. S. Sanchez, J.M. Jimenez, F.E. Yousfi and L. Munoz. 2000. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Biores Tech.** 73:263-272.
- McGriff, E. C. and R. E. McKenney. 1971. Activated algae: A nutrient process. **Water & Sewage Works.** 118:377.
- McGriff, E. C. and R. C. McKinney. 1972. The removal of nutrients and organics by activated algae. **Water Res.** 6(10):1155.
- Mehta, B.J. and V.D. George. 1998. Physiological and nutritional requirements of marine

cyanobacterium *Oscillatoria laetevirens* (Crouan) Gom. **Indian J Mar Sci.** 17:37-39

- Moreno, J., H. Rodriguez., M.A. Varas, J. Rivas and M.G. Guerrero. 1994. Nitrogen fixing cyanobacteria as source of phycobiliprotein pigment: composition and growth performance of ten filamentous heterocystous strains. **Proceedings of the II Asia Pacific Conference on Algal Biotechnology.** Rasa Sentosa Resort, Singapore, 25-27 April 1994. Pp. 17-23.
- Mulbry, W and A.C. Wilkie. 2001. Growth of benthic freshwater algae on dairy manures. **J Appl Phycol.** 13:301-306.
- Nang, H.Q. 2005. Results of study on production of *Euclima*, *Kappaphycus alvarezii* in Vietnam and development orientations. **Fish Rev.** 3:17-21.
- Nona, S.R., A. Carlos, M. Duarte and S. Agusti. 2000. Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. **Limnol Oceanogr.** 45:591-600.
- Olguín, E.J., S. Galicia, G. Mercado and T. Pérez. 2003. Annual productivity of *Spirulina* (Arthrospira) and nutrient removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions. **J Appl Phycol.** 15:249-257.
- Oswald W.J. and H.B. Gotaas. 1957. Photosynthesis in sewage treatment. **Trans Am Soc Civ Engng.** 122:73-105.
- Oswald, W. J., E. W. Lee, B. Adan and K. H. Yao. 1978. New waste water treatment method yields a harvest of saleable algae. **WHO Chronicle.** 32(9):348-350.
- Pizarro, C., E. Kebede-Westhead and W. Mulbry. 2002. Nitrogen and phosphorus removal rates using small algal turfs grown with dairy manure. **J Appl Phycol.** 14:469-473.
- Pouliot, Y., G. Buelna, C. Racine and J. de la Noüe. 1989. Culture of cyanobacteria for tertiary wastewater treatment and biomass production. **Biol Wastes.** 29:81-91.

- Rodjaroen, S. 2010. **Photobiological Hydrogen Production from Native Green Algal Strains and Cyanobacterial Strains of Thailand.** Thesis of Ph D. Kasetsart University. 176 p.
- Rouen, K.J., Leadbeater, B.S.C. and Reynolds, C.S. 1982. The growth response of *Synura petersenii* (Synurophyceae) to photon flux density, temperature and pH. **J. Phycol.** 36: 233-243.
- Round, F.E. 1973. **The biology of the algae.** Edward Arnold (Publishers) Ltd., London
- Shelef, G., R. Moraine and G. Oron. 1978. Photosynthetic biomass production from sewage. **Ergebnisse der Limnologie.** 2:3-14.
- Shirai, F., K. Kunii, C. Sato, Y. Teramoto, E. Mizuki, S. Murao and S. Nakayama. 1998. Cultivation of microalgae in the solution from the desalination process of soy sauce waste treatment and utilization of the algal biomass for ethanol fermentation. **World J Microbio Biotech.** 14: 839-842.
- Tadamasa, H. and S. Yoshikaza. 1996. A screening method for antifouling substances using spores of the fouling macroalgae *Ulva conglobata* Kjellman. **Fish. Sci.** 62:955-958.
- Tam, N. F. Y. and Y. S. Wong. 1989. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. **Environ Pollut.** 58:19-34.
- Tarlan, E., F. B. Dilek and U. Yetis. 2002. Effectiveness of algae in the treatment of a wood-based pulp and paper industry wastewater. **Biores Tech.** 84:1-5.
- van den Hoek C., D.G. Mann and S. Jahns. 1998. **Algae: An introduction to phycology.** Cambridge University Press, Cambridge.
- Voltolina, D., B. Cordero, M. Nieves and L.P. Soto. 1999. Growth of *Scenedesmus* sp. in artificial wastewater. **Biores Tech.** 68(3):265-268.

- Wang, L., M. Min, Y. Li, P. Chen, Y. Chen, Y. Liu, Y. Wang and R. Ruan. 2010. Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. **Appl Biochem Biotechnol.** 162:1174-1186.
- Wang, T.C., J.C. Weissman, G. Ramesh, R. Varadarajan and J.R. Benemann 1998. Heavy metal binding and removal by *Phormidium*. **Bull Environ Contam Toxicol.** 60:739-744.
- Yarish, C., M.V. Rawson, T. Chopin, D.R. Wang, C. Chen, R. Carmona, C. Chen, L. Wang, R. Ji and J. Sullivan. 2001. Ecosystem modeling: a tool to understand the interactions between extractive and feed aquaculture. **J Phycol.** 37(3):56.
- Zar, J.H., 1996. **Biostatistical Analysis**, 3rd ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ. 918 p.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

ภาพแสดงการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งและสาหร่ายจากโรงงานปาล์มน้ำมันจำนวน 3 แห่ง

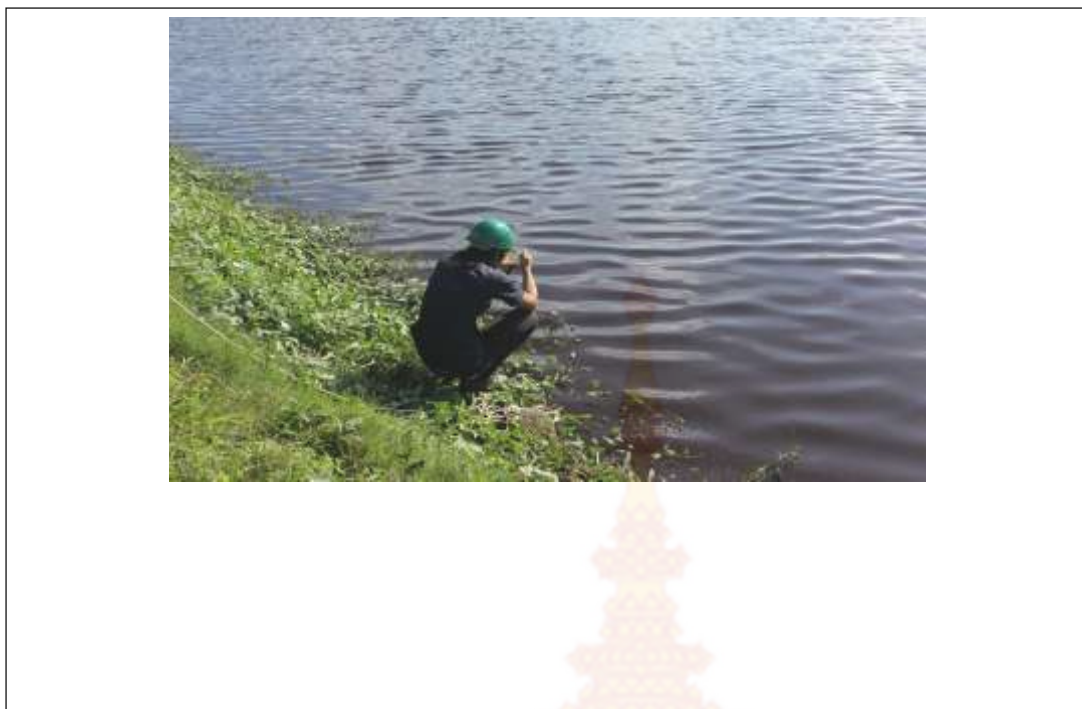




ภาพผนวกที่ ก.1 ลักษณะทั่วไปของน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันตรัง1



ภาพผนวกที่ ก.2 ภาพการเก็บตัวอย่างสาหร่ายน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันตรัง1



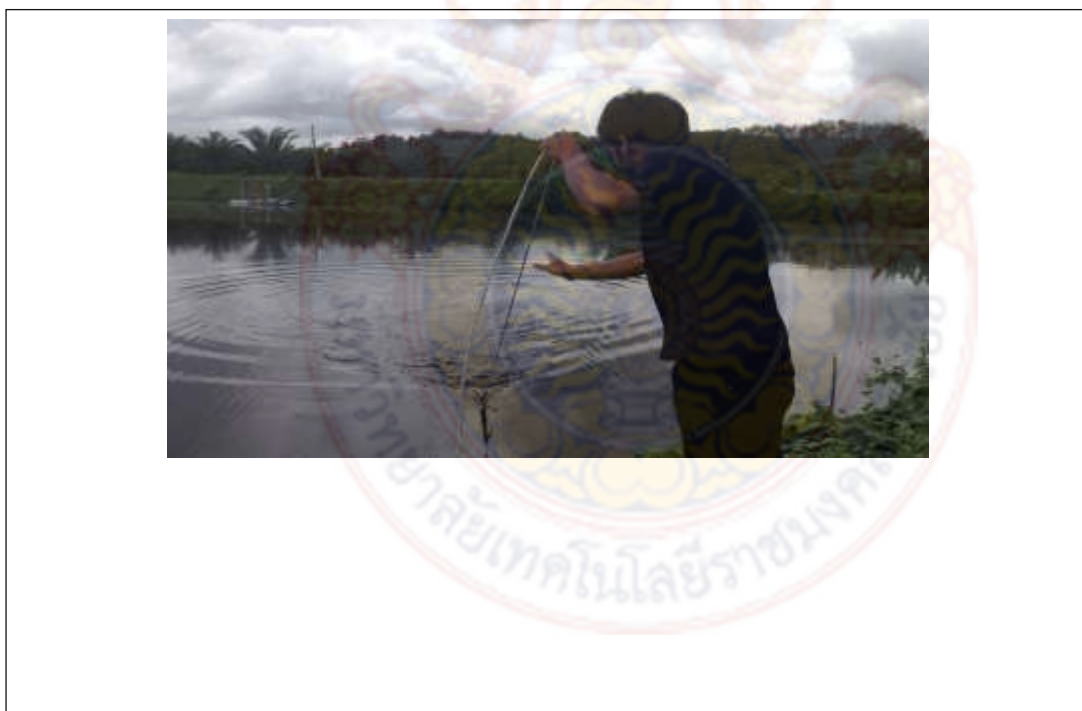
ภาพผนวกที่ ก.3 ภาพการวัดอุณหภูมิของน้ำที่บ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันตราง1



ภาพผนวกที่ ก.4 ภาพการเก็บตัวอย่างสาหร่ายโดยใช้ถุงลากลากแพลงก์ตอน



ภาพผนวกที่ ก.5 ลักษณะทั่วไปของน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันตรัง2



ภาพผนวกที่ ก.6 ภาพการเก็บตัวอย่างสาหร่ายของน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันตรัง2



ภาพผนวกที่ ก.7 ภาพการวัดความโปร่งแสงน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันตรง 2



ภาพผนวกที่ ก.8 ภาพการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันตรง 2



ภาพผนวกที่ ก.9 ลักษณะทั่วไปของน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันกระบี่1



ภาพผนวกที่ ก.10 ภาพการเก็บตัวอย่างสำหรับน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันกระบี่1



ภาพผนวกที่ ก.11 ภาพการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งป่อบุสตัดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันกระบี่1

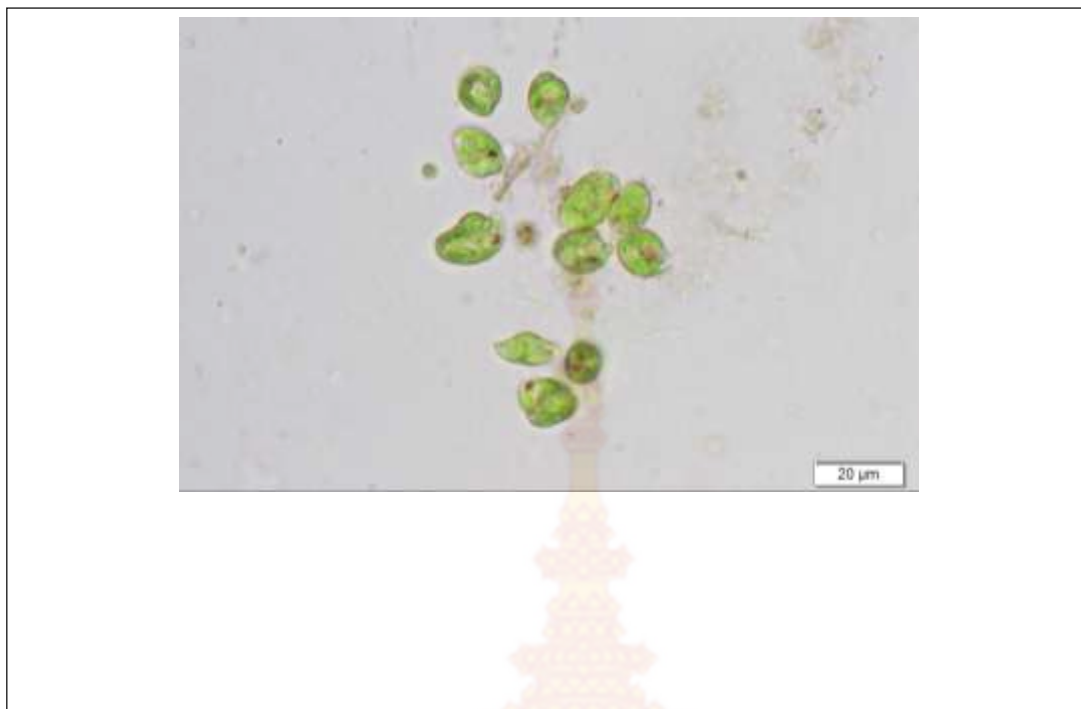


ภาพผนวกที่ ก.12 ภาพตะกอนน้ำทิ้งป่อบุสตัดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันกระบี่1

ภาคผนวก ข

ภาพแสดงชนิดสารละลายที่พบในน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมัน

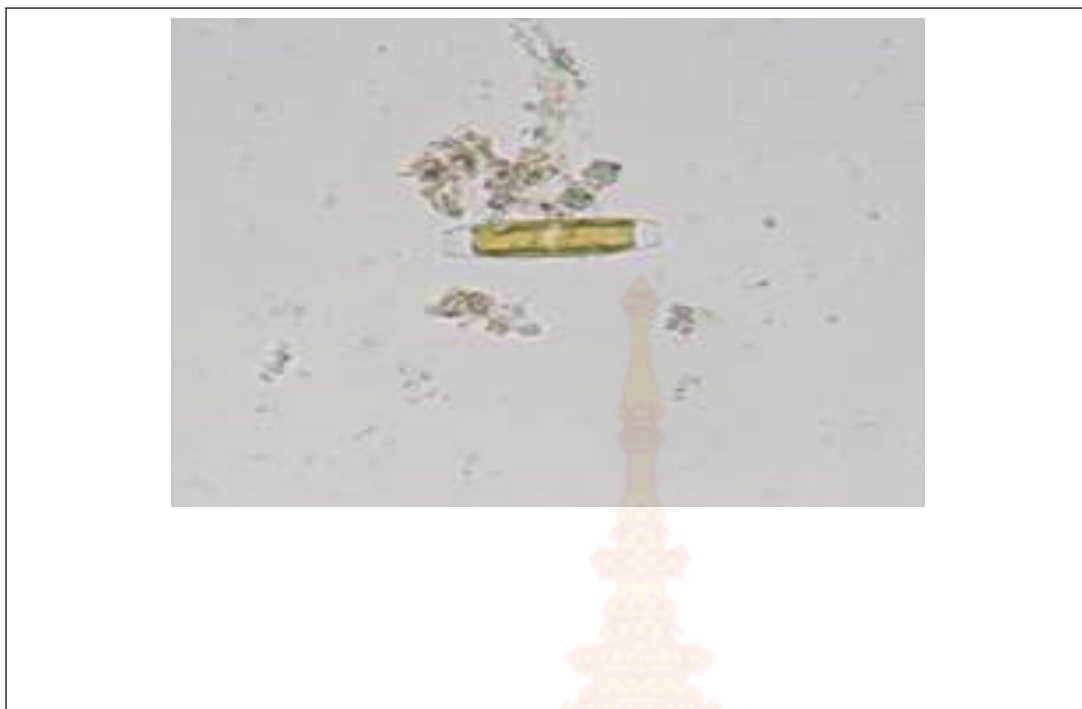




ภาพผนวกที่ ข.1 ภาพสำหรับ *Euglena* sp.1



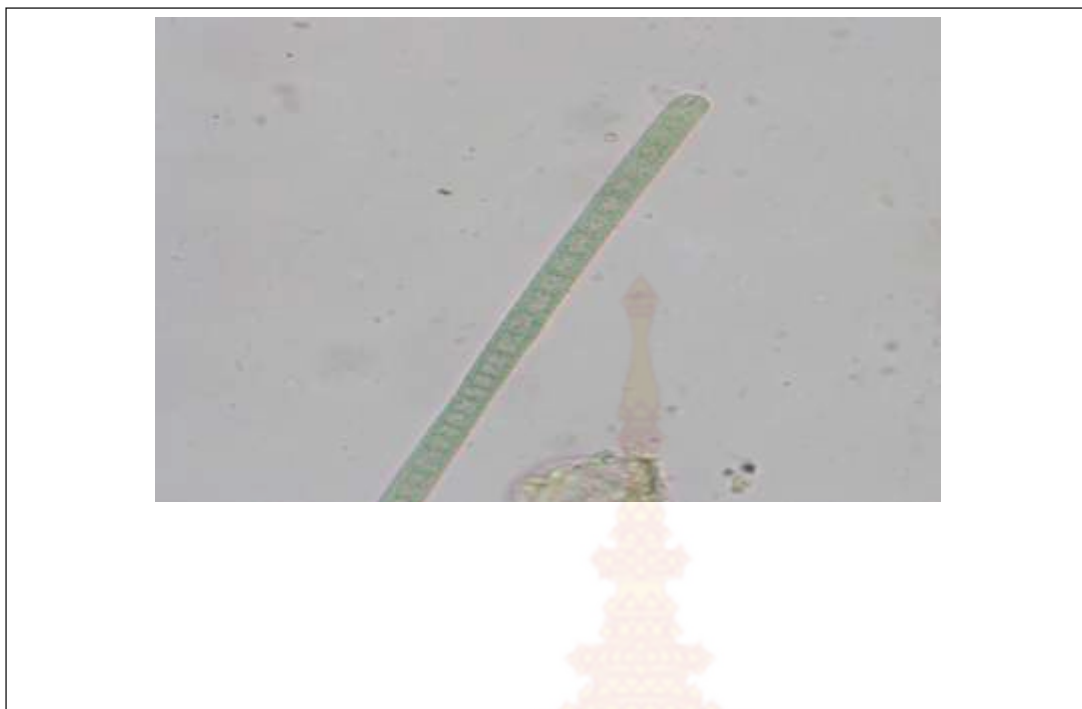
ภาพผนวกที่ ข.2 ภาพสำหรับ *Euglena* sp.2



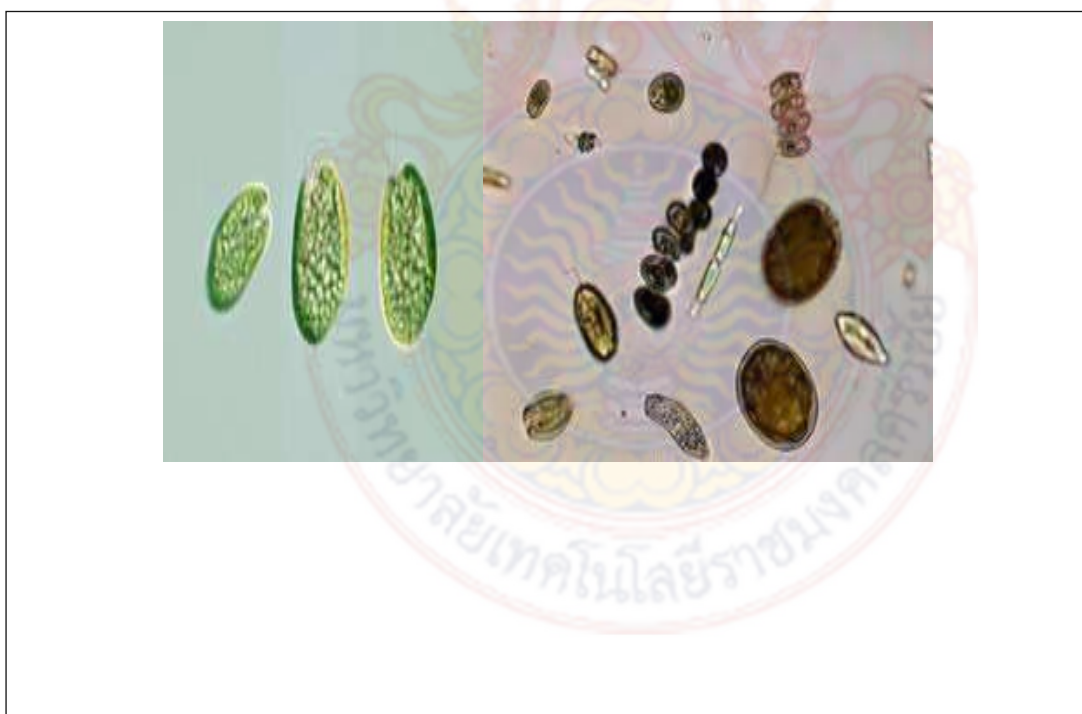
ภาพผนวกที่ ข.3 ภาพสาหร่าย *Cymbetla* sp.



ภาพผนวกที่ ข.4 ภาพสาหร่าย *Phormidium* sp.



ภาพผนวกที่ ข.5 ภาพสาหร่าย *Oscillatoria* sp.



ภาพผนวกที่ ข.6 ภาพสาหร่าย *Cryptomonas* sp.

ภาคผนวก ค

ขั้นตอนการเตรียมสสารร้าย การเพาะเลี้ยง และการหาชีวมวลสสารร้าย *Phormedium* sp.





ภาพผนวกที่ ค.1 การเตรียมหัวเชื้อสำหรับ *Phormedium* sp.



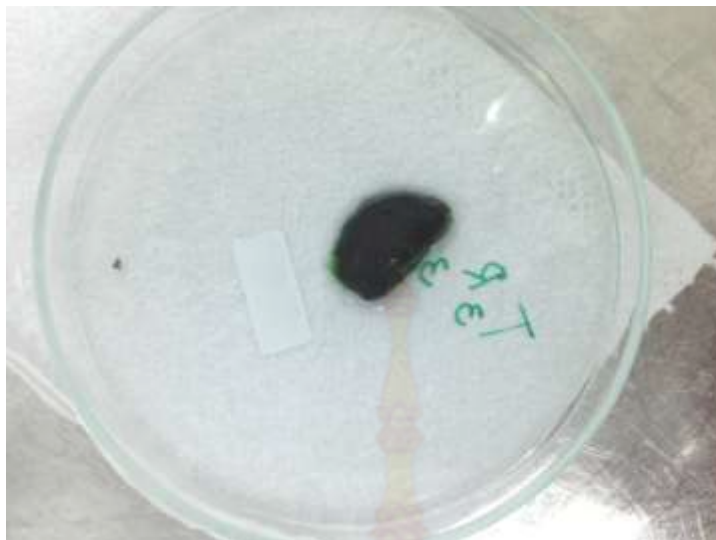
ภาพผนวกที่ ค.2 บดเซลล์สำหรับ *Phormedium* sp.



ภาพผนวกที่ ค.3 หาความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายด้วยการวัดค่า OD



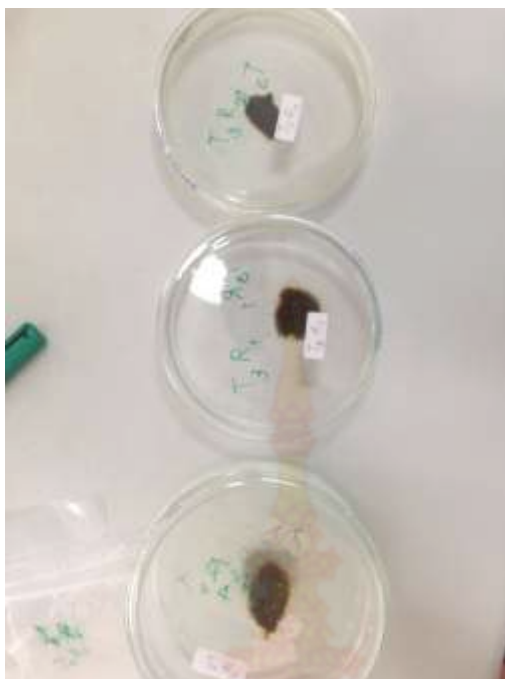
ภาพผนวกที่ ค.4 การเก็บตัวอย่างสาหร่ายหลังสิ้นสุดการทดลอง



ภาพผนวกที่ ค.5 ชีวมวลสาหร่าย *Phormedium* sp. ในแต่ละขวดก่อนนำไปอบแห้ง



ภาพผนวกที่ ค.6 การอบสาหร่าย *Phormedium* sp. ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส



ภาพผนวกที่ ค.7 สาหร่าย *Phormedium* sp. ที่ผ่านการอบแห้งแล้ว






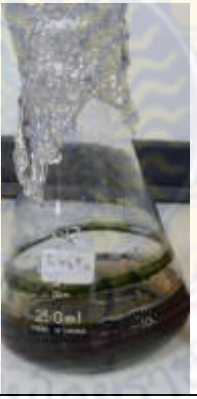

ภาพผนวกที่ ค.8 นำสาหร่าย *Phormedium* sp. ที่อบแห้งแล้วไปชั่งเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

ภาคผนวก ง




การบำบัดน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายโรงงานปาล์มน้ำมันด้วยสาหร่าย *Phormedium* sp.



ตารางผนวกที่ ง.1 การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของน้ำทิ้งของโรงงานปาล์มน้ำมัน 3 แห่ง ก่อนและ
 หลังการบำบัดด้วยสาหร่าย *Phormedium* sp.

โรงงาน ภาพ	ตริง1	ตริง2	กระป๋ป1
	ก่อนการบำบัด		
หลังการบำบัด			

ตารางผนวกที่ ง.1 การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของน้ำทิ้งตรัง2 ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ก่อนและหลังการบำบัดด้วยสาหร่าย *Phormedium* sp.

ความเข้มข้น (%) ภาพ	10	30	50	70
	ก่อนการบำบัด			
หลังการบำบัด	