

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบตรึงเซลล์เพื่อการบำบัดน้ำทิ้ง
จากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่



ณฐมน แก้วนนท์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการสอนชีววิทยา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
มิถุนายน 2561

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบตรึงเซลล์เพื่อการบำบัดน้ำทิ้ง
จากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่



ณัฐมณ แก้วนนท์

การค้นคว้าแบบอิสระนี้เสนอต่อมหาวิทยาลัยเชียงใหม่เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการสอนชีววิทยา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มิถุนายน 2561

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบตรึงเซลล์เพื่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหาร
องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ณฐมน แก้วนนท์

การค้นคว้าแบบอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาการสอนชีววิทยา

คณะกรรมการสอบ

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ยุวดี พืชรพพิศาล)

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชยากร ภูมาศ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชยากร ภูมาศ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรพร เพกเกาะ)

25 มิถุนายน 2561

© ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าแบบอิสระฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีทั้งนี้เนื่องจากได้รับความเมตตาและความอนุเคราะห์จากหลายท่านด้วยกัน ขอขอบพระคุณท่านผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชยากร ภูมาศที่เมตตา คอยให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทาง ให้ความรู้ ให้กำลังใจ ตรวจทานแก้ไขการค้นคว้าแบบอิสระเล่มนี้ จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ยุติ พิศรพิศาล ที่ให้เกียรติมาเป็นประธานกรรมการ การสอบการค้นคว้าแบบอิสระรวมถึงท่านผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จีรพร เพกเกาะ ให้เกียรติมาเป็น คณะกรรมการสอบในครั้งนี้

ขอขอบคุณคุณพัชริดา อินทมา นักศึกษาปริญญาเอก คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่คอยให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ด้านงานวิจัยบางส่วน เป็นกำลังใจตลอดจน งานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณ ดร. กฤษณา ดวงจันทร์ และ นางสาวสุรีพร โลมากุล ที่ คอยให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ ด้านการเขียนเล่มการค้นคว้าอิสระ

ขอขอบคุณสมาชิกในห้องปฏิบัติการวิจัยสายหทัยประยุกต์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ มีไมตรีจิต จนนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อบุญทรง คุณแม่บานเย็น แก้วนนท์ ที่คอยสนับสนุนทุนการศึกษา คอยให้กำลังใจ ให้ความรัก เป็นแรงผลักดันให้ตั้งใจทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University ณฐมณ แก้วนนท์

All rights reserved

หัวข้อการค้นคว้าแบบอิสระ	การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบตรึงเซลล์เพื่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้เขียน	นางสาวณฐมน แก้วนนท์
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การสอนชีววิทยา)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชยากร ภูมาศ

บทคัดย่อ

เนื่องจากในปัจจุบันปัญหาน้ำเสียเป็นปัญหามลภาวะหลักอย่างหนึ่งที่เกิดขึ้น จึงมีความสนใจในการหาทางบำบัดน้ำทิ้งในทรัพยากรธรรมชาติ หรือจากแหล่งน้ำธรรมชาติพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กเจริญในแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้สามารถใช้สารอาหารกลุ่มไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในน้ำทิ้ง ทำให้ความสกปรกในน้ำทิ้งลดลง นอกจากนี้สาหร่ายขนาดเล็กยังสามารถดูดซับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์โดยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเช่นเดียวกับพืชทั่วไป และได้ผลผลิตคือแก๊สออกซิเจน อันจะช่วยส่งเสริมกิจกรรมของจุลินทรีย์ในน้ำทิ้งให้สามารถลดปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งได้อีกทางหนึ่ง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหารขององค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) โดยใช้วิธีการตรึงเซลล์สาหร่ายเพื่อลดปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งก่อนปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ ในการตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมแอลจินेटเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงสาหร่ายแบบอิสระในน้ำทิ้ง พบว่า การตรึงเซลล์สาหร่ายช่วยลดปริมาณสารอาหารได้ดีกว่า โดยสามารถลดปริมาณได้แก่ NH_4^+-N (mg.L^{-1}) 89.90% , NO_3^--N (mg.L^{-1}) 7-100%, $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ (mg.L^{-1}) 14-15% และ COD (μs) 70-75 % ผลจากการทดลองนี้ช่วยลดต้นทุนในเรื่องของค่าสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง และลดมลภาวะ ในน้ำทิ้งที่จะปล่อยคืนสู่ธรรมชาติได้ดี

All rights reserved

Independent Study Title	Immobilized Microalgal Cultivation for Treatment of Waste Water from Chiang Mai University Student Union Cafeteria
Author	Miss Natamol Kaewnon
Degree	Master of Science (Teaching Biology)
Advisor	Asst. Prof. Dr. Chayakorn Pumas

ABSTRACT

Nowadays, waste water is one of the major environmental problem. It is interesting to treat wastewater using natural resources oxygen from natural sources. It was found that microalgae. Algae could use nitrogen and phosphorus in wastewater and help to clean the waste water. In addition, microalgae can absorb carbon dioxide by photosynthesis as well as common plants, and the output is oxygen which could promote microbial activity to reduce nutrient content in waste water. The purpose of this research is to study waste water from Chiang Mai University Student Union Cafeteria to reduce nutrient contents before being released to nature. Microalgal immobilization by calcium alginate was compared with the free culture in the effluent, the result found that immobilization reduced the amount of nutrients better than that of the free cell culture, as $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg.L^{-1}) $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg.L^{-1}) 89.90%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (mg.L^{-1}) 7-100%, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ (mg.L^{-1}) 14-15% and COD (mg.L^{-1}) 70-75 %. The result from this study could reduce, the cultivation cost and reduce the pollution in the waste water before being discharged to the nature.

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
ABSTRACT	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	3
2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก	3
2.1.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก	3
2.2 การตรวจสอบคุณภาพน้ำ	5
2.2.1 วิธีทางกายภาพ	5
2.2.2 วิธีทางเคมี	5
2.2.3 วิธีทางชีวภาพ	5
2.3 การใช้สาหร่ายขนาดเล็กเป็นตัวบ่งชี้ สภาพมลพิษของน้ำ	6
2.3.1 Oligotrophic status	6
2.3.2 Mesotrophic status	6
2.3.3 Eutrophic status	6
2.4 การตรึงเซลล์สาหร่ายเพื่อการบำบัดน้ำเสีย	6
2.4.1 เทคนิคการตรึงเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก	7
2.4.2 วัสดุที่ใช้ในการตรึงเซลล์	8
2.4.3 ข้อดีของวิธีการตรึงเซลล์	8
2.5 น้ำเสีย	9
2.5.1 องค์ประกอบด้านกายภาพของน้ำเสีย	9

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.2 องค์ประกอบด้านเคมี	10
2.5.3 ลักษณะด้านชีวภาพ	11
2.6 การบำบัดน้ำเสีย	11
2.6.1 การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่าย	11
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	13
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ	13
3.2 สารเคมี	14
3.3 สถานที่ทำการวิจัย	14
3.4 วิธีการทำวิจัย	14
3.4.1 เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็ก	15
3.4.2 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย	17
3.4.3 เก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง	18
3.4.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการบำบัดน้ำเสีย	18
3.4.5 ตรวจวัดการเจริญของสาหร่าย	20
3.4.6 การจัดทำสื่อในรูปแบบอิเล็กทรอนิกส์ (E-book)	22
บทที่ 4 ผลการวิจัย	24
4.1 เปรียบเทียบคุณภาพน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) และน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ครั้งที่ 1	24
4.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการบำบัดน้ำเสีย	27
4.2.1 ผลผลิตชีวมวล	27
4.2.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	28
4.2.3 การวัดปริมาณค่าดูดกลืนแสง	28
4.2.4 ปริมาณธาตุอาหารก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้ง	29
4.2.5 ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์	31

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 เปรียบเทียบคุณภาพน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) และน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ครั้งที่ 2	32
4.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการบำบัดน้ำเสีย	35
4.4.1 ผลผลิตชีวมวล	35
4.4.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ	36
4.4.3 การวัดปริมาณค่าดูดกลืนแสง	36
4.4.4 ปริมาณธาตุอาหารก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้ง	37
4.4.5 ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์	39
4.5 สาหร่ายที่พบก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้ง	40
4.5.1 สาหร่ายที่พบก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งจากการทดลอง 1	40
4.5.2 สาหร่ายที่พบก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งจากการทดลอง 2	42
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย	44
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	49
เอกสารอ้างอิง	50
ภาคผนวก	57
ภาคผนวก ก สูตรอาหาร Jaworski's medium	58
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี	59
ภาคผนวก ค การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย	64
ภาคผนวก ง การประเมินคุณภาพน้ำ	65
ภาคผนวก จ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	72
ภาคผนวก ฉ สื่อการสอนอิเล็กทรอนิกส์ (E-book)	76
ประวัติผู้เขียน	91

สารบัญตาราง

		หน้า
ตาราง 1	คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ และ แหล่งน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) (13 กุมภาพันธ์ 2560)	25
ตาราง 2	คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ และ แหล่งน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) (22 เมษายน 2561)	33
ตาราง 3	ความหลากหลายของสาหร่ายที่พบก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้ง (การทดลอง 1)	41
ตาราง 4	ความหลากหลายของสาหร่ายที่พบก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้ง (การทดลอง 2)	42
ตาราง 5	ผลคะแนนการประเมินแบบสอบถาม ความพึงพอใจสื่อการสอนในรูปแบบ E-book เรื่องการใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย	43

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพ 1 จุดเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) ต. สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ (13 กุมภาพันธ์ 2560)	15
ภาพ 2 จุดเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) ต. สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ (13 กุมภาพันธ์ 2560)	15
ภาพ 3 การเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กโดยใช้ถุงเก็บแพลงก์ตอน (plankton net)	16
ภาพ 4 การตรึงเซลล์สาหร่ายในแอลกอฮอล์	17
ภาพ 5 น้ำทิ้งบริเวณบ่อดักไขมัน โรงอาหารองค์การนักศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.)	18
ภาพ 6 การทดลอง 1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหาร JM และน้ำทิ้งในสภาวะให้อากาศ	19
ภาพ 7 การทดลอง 2 เพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียในสภาวะให้และไม่ให้อากาศ	19
ภาพ 8 แผนภูมิแสดงลำดับการทดลองของชุดการทดลอง 1	21
ภาพ 9 แผนภูมิแสดงลำดับการทดลองของชุดการทดลอง 2	22
ภาพ 10 น้ำหนักแห้งของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่าง ๆ (การทดลอง 1)	27
ภาพ 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ($\mu\text{g.L}^{-1}$) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่าง ๆ (การทดลอง 1)	28
ภาพ 12 ค่าดูดกลืนแสง (OD_{665}) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่าง ๆ (การทดลอง 1)	29
ภาพ 13 ปริมาณธาตุอาหาร NH_4^+-N ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 1)	30
ภาพ 14 ปริมาณธาตุอาหาร $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 1)	30
ภาพ 15 ปริมาณธาตุอาหาร NO_3^--N ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 1)	31

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพ 16 ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 1)	32
ภาพ 17 น้ำหนักแห้งของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่าง ๆ (การทดลอง 2)	35
ภาพ 18 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ($\mu\text{g. L}^{-1}$) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ (การทดลอง 1)	36
ภาพ 19 ค่าดูดกลืนแสง (OD_{665}) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ (การทดลอง 2)	37
ภาพ 20 ปริมาณธาตุอาหาร $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 2)	38
ภาพ 21 ปริมาณธาตุอาหาร $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 2)	38
ภาพ 22 ปริมาณธาตุอาหาร $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 2)	39
ภาพ 23 ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 1)	40
ภาพ 24 สาหร่ายชนิดเด่นหลังการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์กรนักศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.)	41
ภาพ น1 ปกหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ การใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย	76
ภาพ น2 คำนำหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ การใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย	76
ภาพ น3 สารบัญหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ การใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย	77
ภาพ น4 สาหร่ายขนาดเล็ก และ ปัจจัยการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก	77
ภาพ น5 ลักษณะของน้ำเสีย	78
ภาพ น6 ลักษณะของน้ำเสีย	78
ภาพ น7 ลักษณะของน้ำเสีย	79
ภาพ น8 ตัวอย่างน้ำเสียจากบ้านพักอาศัย	79
ภาพ น9 การตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพ	80
ภาพ น10 การตรวจวัดคุณภาพน้ำทางเคมี	80
ภาพ น11 การวัดปริมาณออกซิเจนในน้ำ	81
ภาพ น12 การวัดปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลาย	80
ภาพ น13 การวัดปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลาย	82

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพ น14 ข้อจำกัดและสิ่งรบกวนของการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์	82
ภาพ น15 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการวัดปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์	83
ภาพ น16 วิธีการวัดปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์	83
ภาพ น17 การวัดคุณภาพน้ำทางชีวภาพ	84
ภาพ น18 ข้อดีของการใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย	84
ภาพ น19 วิธีต่าง ๆ ในการใช้สาหร่ายในการบำบัดน้ำเสีย	85
ภาพ น20 เทคนิคการตรึงเซลล์	85
ภาพ น21 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบตรึงเซลล์เพื่อการบำบัดน้ำเสียจากโรงอาหารองค์การนักศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	86
ภาพ น22 สารเคมี และ สถานที่ในการทดลอง	86
ภาพ น23 ขั้นตอนในการทดลอง	87
ภาพ น24 ขั้นตอนในการทดลอง 1	87
ภาพ น25 ขั้นตอนในการทดลอง 2	88
ภาพ น26 ผลการทดลอง	88
ภาพ น27 ผลการทดลอง และสรุปผลการทดลอง	89
ภาพ น28 บรรณานุกรม	89
ภาพ น29 บรรณานุกรม	89

รายการสัญลักษณ์

$\mu\text{g. L}^{-1}$	=	ไมโครกรัมต่อลิตร
$\mu\text{s.cm}^{-1}$	=	ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร
cm	=	เซนติเมตร
g	=	กรัม
g.L^{-1}	=	กรัมต่อลิตร
gDW.L^{-1}	=	กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร
L	=	ลิตร
M	=	โมลาร์
mg. L^{-1}	=	มิลลิกรัมต่อลิตร
mL	=	มิลลิลิตร
mm	=	มิลลิเมตร
N	=	นิวตัน
$^{\circ}\text{C}$	=	องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

บทที่ 1

บทนำและวัตถุประสงค์

ปัจจุบันปัญหาน้ำเสียเป็นมลภาวะทางน้ำที่ต้องการการแก้ไขอย่างเร่งด่วน เนื่องจากส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในหลายพื้นที่ ยกตัวอย่าง เช่นการทิ้งขยะลงแม่น้ำลำคลอง การปล่อยน้ำเสียลงแหล่งน้ำธรรมชาติโดยไม่ผ่านการบำบัดรวมทั้งน้ำเสียที่เกิดจากกิจกรรมต่าง ๆ ในโรงอาหาร รวมถึงโรงอาหารองค์การนักศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ซึ่งของเสียในน้ำทิ้งส่วนมากจะเป็นเศษอาหารและน้ำยาทำความสะอาดต่าง ๆ ทั้งนี้โรงอาหาร อมช. มีกระบวนการบำบัดน้ำทิ้งเบื้องต้นด้วยบ่อดักไขมันและแยกเศษอาหารออกจากน้ำทิ้งอย่างไรก็ตามสารอินทรีย์ยังคงหลงเหลืออยู่ในน้ำทิ้งเป็นจำนวนมากซึ่งยังคงเป็นปัจจัยสำคัญของการเกิดปัญหาน้ำเสียในมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจหาวิธีการบำบัดน้ำทิ้งดังกล่าวด้วยการใช้สาหร่ายขนาดเล็ก เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้เป็นสิ่งมีชีวิตที่ใช้สารอาหารกลุ่มไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในการเจริญ ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำทิ้งดังกล่าวอยู่แล้วนอกจากนี้สาหร่ายขนาดเล็กยังใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเช่นเดียวกับพืชและได้ผลผลิตเป็นก๊าซออกซิเจน สิ่งนี้เองจะช่วยส่งเสริมกิจกรรมของจุลินทรีย์ในน้ำทิ้งเพื่อให้เกิดการย่อยสลายของสารอินทรีย์ได้ดีขึ้น และช่วยลดปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งได้อีกทางหนึ่งนอกจากนี้สาหร่ายขนาดเล็กยังสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและให้ผลผลิตที่สูง อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กมักประสบปัญหาในเรื่องการเก็บเกี่ยวเซลล์ การตรึงเซลล์สาหร่ายจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้เก็บเกี่ยวเซลล์ทำได้ง่ายขึ้นและทำให้สาหร่ายสามารถใช้สารอาหารได้ดีขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้วิธีการตรึงเซลล์เพื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายนอกจากนี้การตรึงเซลล์ยังช่วยปกป้องเซลล์สาหร่ายและช่วยให้สามารถเลี้ยงในน้ำเสียได้ดีขึ้น การศึกษาครั้งนี้เลือกสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติในบริเวณวัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) ต. สุเทพ อ.เมือง จ. เชียงใหม่ ซึ่งเป็นแหล่งน้ำนิ่งที่ใกล้กับมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และพบว่าสาหร่ายเจริญได้ดีเกือบตลอดทั้งปี นอกจากนี้แหล่งน้ำนี้ยังมีลักษณะทางกายภาพบางประการที่ใกล้เคียงกับน้ำทิ้งจากโรงอาหารอมช. สาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำดังกล่าวจึงถูกใช้เพื่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหารอมช. ด้วยวิธีการตรึงเซลล์ และผลจากการศึกษานี้ยังสามารถสร้างเป็นสื่อประกอบการสอนสำหรับเผยแพร่ไปยังนักเรียนหรือผู้ที่สนใจการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่ายขนาดเล็กอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อใช้สำหรับขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสียจากโรงอาหารองค์การนักศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) โดยวิธีการตรึงเซลล์สำหรับ
2. เพื่อนำข้อมูลที่ได้จัดทำสื่อการสอนประเภทหนังสือเรียนอิเล็กทรอนิกส์ (E-book)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทที่ 2

บททวนเอกสาร

2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายขนาดเล็กเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวมีขนาดเล็กจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าต้องใช้กล้องจุลทรรศน์จึงจะเห็น โครงสร้างของเซลล์ส่วนใหญ่จะมีคลอโรพลาสต์ช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสง สามารถเจริญได้เกือบทุกบริเวณที่มีความชื้น พบมากในแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น แหล่งน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม ตลอดจนในบ่อน้ำเสีย เป็นต้น (ยูวดี, 2549) การใช้ประโยชน์ของสาหร่ายขนาดเล็กมีหลายรูปแบบ รวมทั้งเป็นอาหารของคนและสัตว์ใช้ผลิตสารที่มีมูลค่าในเชิงพาณิชย์ โดยสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิดถูกนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อการบริโภคตัวอย่างเช่น สาหร่ายสีเขียวในกลุ่ม *Chlorella*, *Scenedesmus* ไซยาโนแบคทีเรียในกลุ่ม *Spirulina* เป็นต้น (นุชนาถ, 2557) ส่วนความสำคัญในด้านการบำบัดน้ำเสียสาหร่ายสามารถนำธาตุอาหารซึ่งเป็นสารอนินทรีย์กลุ่มฟอสเฟต ไนโตรเจน แอมโมเนียมและสารอนินทรีย์อื่น ๆ มาใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ ซึ่งสารอนินทรีย์เหล่านั้นได้มาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียโดยจุลินทรีย์ จึงทำให้ในน้ำเสียมีปริมาณสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ลดลง พร้อมกันนั้นแหล่งน้ำก็จะได้รับออกซิเจนเพิ่มขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย ซึ่งทำให้คุณภาพน้ำดีขึ้นสาหร่ายจึงเป็นสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติอีกชนิดหนึ่งที่ช่วยในการบำบัดน้ำเสีย ทั้งน้ำเสียจากชุมชน และกระบวนการอุตสาหกรรม (ยูวดี, 2549)

2.1.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก

2.1.1.1 ธาตุอาหาร: สาหร่ายต้องการธาตุอาหารเพื่อใช้ในการเจริญคล้ายกับพืชชั้นสูง แต่ต้องการธาตุอาหารบางตัวที่แตกต่างออกไป ธาตุอาหารที่จำเป็นต้องการในปริมาณมาก (macronutrient elements) เช่น คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และซัลเฟอร์ (ยูวดี, 2549)

1) คาร์บอน คาร์บอนที่สาหร่ายนำไปใช้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ อนินทรีย์คาร์บอนและอินทรีย์คาร์บอน อนินทรีย์คาร์บอนได้มาจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งละลายอยู่ในน้ำในรูปของกรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) โดยแตกตัวให้คาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และไบคาร์บอเนตไอออน (HCO_3^-)

คาร์บอนที่สาหร่ายตรึงไว้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจะมีปริมาณ 50-70% ของน้ำหนักแห้ง ส่วนอนินทรีย์คาร์บอนนั้นสาหร่ายใช้ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ เช่น น้ำตาลชนิดต่าง ๆ (ยศวดี, 2547) เมื่อปริมาณคาร์บอนถูกจำกัดการเพิ่มปริมาณสารอาหารที่จำเป็นต่าง ๆ มากขึ้นจะไม่มีผลทำให้ปริมาณเซลล์ของสาหร่ายเพิ่มขึ้น (ศิริเพ็ญ, 2537)

2) ไนโตรเจน เป็นสารอาหารที่สำคัญต่อสาหร่าย มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ เนื่องจากไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบหลักทั้งในรูปของกรดอะมิโน โปรตีน ส่วนใหญ่สาหร่ายจะใช้ไนโตรเจนในรูปของ แอมโมเนียม ไนเตรท และไนไตรท์ ซึ่งสาหร่ายจะใช้แอมโมเนียมเป็นอันดับแรก ตามด้วย ไนเตรท และไนไตรท์ ตามลำดับ (ศิริเพ็ญ, 2537)

3) ฟอสฟอรัส มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ เป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) และอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) ฟอสฟอรัสในน้ำส่วนใหญ่อยู่ในสภาพที่เพิ่มออกซิเจน (oxidized state) หรือในรูปของอนินทรีย์ฟอสฟอรัส (inorganic Orthophosphate ion, HPO_4^{2-} และ H_2PO_4^+) สาหร่ายสามารถใช้ได้ดีเมื่ออยู่ในรูปของฟอสฟอรัสไอออนที่ละลายในน้ำ ได้แก่ HPO_4^{2-} , H_2PO_4^+ และ PO_4^{3-} (ศิริเพ็ญ, 2537)

นอกจากนี้สาหร่ายยังต้องการธาตุอาหารที่จำเป็นบางตัวในปริมาณน้อย (micronutrient elements) เช่น เหล็ก คลอไรด์ แมงกานีส โบรอน ทองแดง โมลิบดีนัม และสังกะสี อย่างไรก็ตามสาหร่ายบางชนิดต้องการธาตุอาหารที่จำเพาะตามแต่ละกลุ่ม ตัวอย่างเช่น ไดอะตอมต้องการซิลิกาสำหรับสร้างฟรัสตูล (frustule) รวมทั้งสาหร่ายใน Division Chrysophyta ที่มีสเกลเป็นซิลิกาที่ต้องการซิลิกาด้วยเช่นกัน หากบางชนิดเป็นหินปูนก็ต้องการแคลเซียม สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินก็ต้องการโซเดียมในการเจริญ นอกจากนี้ธาตุอาหารที่กล่าวมาข้างต้น สาหร่ายยังต้องการสารอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในการเจริญ เช่น วิตามินบี 12 วิตามินบี 1 และไบโอติน ซึ่งสาหร่ายแต่ละชนิดอาจต้องการวิตามินทั้งหมดหรือแค่บางชนิดก็ได้ (ยศวดี, 2549)

2.1.1.2 แสง เป็นอีกปัจจัยที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่าย ยังมีความเข้มของแสงมาก ยิ่งทำให้เกิดปฏิกิริยากระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามหากมีปริมาณแสงมากเกินไปก็ทำให้เกิดปฏิกิริยาการยับยั้งด้วยแสง (photo inhibition) เกิดขึ้นเช่นกันและอาจส่งผลทำให้การเจริญของสาหร่ายลดลงด้วย (ศิริเพ็ญ, 2537)

2.1.1.3 อุณหภูมิ สาหร่ายสามารถเจริญได้ในช่วงของอุณหภูมิที่หลากหลายสาหร่ายต้องอยู่ในอุณหภูมิที่เหมาะสมแต่ละชนิดเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่แตกต่างกัน นอกจากนี้แก๊สออกซิเจนจะมีความสามารถในการละลายเมื่ออุณหภูมิต่ำมากกว่าอุณหภูมิสูง ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมจะมีผลทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญที่สูงขึ้น (นันทนา, 2542)

2.1.1.4 พีเอช เป็นค่าที่แสดงความเป็นกรดหรือด่างของสารละลายในน้ำมีบทบาททั้งทางตรงและทางอ้อมกับการเจริญและเมตาบอลิซึมของสาหร่ายโดยเป็นตัวบ่งบอกความสามารถในการละลายของไอออนชนิดต่าง ๆ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่สาหร่ายต้องใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงด้วย (Park et al., 2011)

2.1.1.5 การกวนน้ำและการให้อากาศ การกวนมีผลต่อการเจริญของสาหร่าย ทำให้สาหร่ายเจริญได้ดี ช่วยเพิ่มการกระจายตัวของสาหร่ายเพื่อให้ได้รับแสงอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังทำให้เซลล์สาหร่ายดูดซึมสารอาหารต่าง ๆ ไปใช้ได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

2.1.1.6 ปริมาณสาหร่ายเริ่มต้น เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่ออัตราการเจริญของสาหร่าย อย่างไรก็ตามหากความเข้มข้นเริ่มต้นของสาหร่ายต่ำแต่ความเข้มข้นของแสงสูง อัตราการเจริญของสาหร่ายก็ยังคงดี แต่หากปริมาณสาหร่ายเริ่มต้นต่ำมากเกินไประยะเวลา lag phase ก็จะนาน จึงส่งผลทำให้ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงนานขึ้น (ปรียาพร, 2553)

2.2 การตรวจสอบคุณภาพน้ำ (ภณัฐญาและคณะ, 2559)

การตรวจสอบคุณภาพน้ำเป็นกิจกรรมที่สำคัญเพื่อให้ทราบถึงคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำในปัจจุบัน รวมทั้งปัญหาและแนวโน้มที่จะเกิดขึ้นในอนาคต เมื่อได้ข้อมูลแล้ว จะนำไปสู่การสร้างแนวทางในการปฏิบัติ การวางแผนจัดการคุณภาพน้ำ รวมทั้งการแก้ไขและป้องกันผลกระทบจากมลพิษในแหล่งน้ำนั้น ๆ ได้ทันที่ก่อนที่จะเกิดจากแหล่งน้ำจะเปลี่ยนแปลงไป หรือก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้ ซึ่งการตรวจสอบคุณภาพน้ำประกอบด้วย 3 วิธีหลัก ดังนี้

2.2.1 วิธีทางกายภาพ คือ การตรวจวัดคุณภาพน้ำจากปัจจัยทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น ความขุ่น ความโปร่งแสง อุณหภูมิ รวมทั้งสภาพอื่น ๆ ของแหล่งน้ำ

2.2.2 วิธีทางเคมี คือ การตรวจวัดคุณภาพน้ำจากปัจจัยทางเคมี เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำกระแสไฟฟ้า ปริมาณธาตุอาหารกลุ่มไนโตรเจนและออร์โธฟอสเฟตออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen, DO) ความต้องการใช้ออกซิเจนในการสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ (biological oxygen, BOD) ความต้องการใช้ออกซิเจนในการสลายสารอินทรีย์ของเคมี (chemical oxygen demand, COD) เป็นต้น

2.2.3 วิธีทางชีวภาพ คือ การนำสิ่งมีชีวิตที่อาศัยในแหล่งน้ำมาบ่งชี้คุณภาพน้ำ เนื่องจากสิ่งมีชีวิตสามารถเจริญอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ต่างกัน

2.3 การใช้สาหร่ายขนาดเล็กเป็นตัวบ่งชี้สภาพมลพิษของน้ำ (Peerapornpislet *et al.*, 2004)

แหล่งน้ำธรรมชาติมักพบความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กสูง สาหร่ายมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศแหล่งน้ำโดยเป็นผู้ผลิตเบื้องต้นในห่วงโซ่อาหารและผลิตออกซิเจนในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนั้นจึงได้พัฒนาวิธีการวัดคุณภาพน้ำโดยใช้สาหร่ายเป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำซึ่งจะสามารถจัดชั้นน้ำตามระดับความมากน้อยของสารอาหารและแพลงก์ตอนพืชที่เป็นชนิดเด่นในชั้นน้ำระดับต่าง ๆ ดังนี้ (ภาคผนวก ง)

2.3.1 Oligotrophic status มีปริมาณสารอาหารในน้ำน้อย คุณภาพน้ำดีพบสาหร่ายน้อยชนิด และแต่ละชนิดมีจำนวนน้อย สาหร่ายที่พบได้แก่สาหร่ายสีเขียวพวกเคสมีดส์ เช่น *Cosmarium*, *Staurastrum* และ *Staurodesmus* ไดอะตอมชนิด centric diatom เช่น *Cyclotella*, *Tabellaria* สาหร่ายคริสโซไฟท์ เช่น *Dinobryon*, *Mallomonas* สาหร่ายสีเขียว เช่น *Oocystis*, *Botryococcus* สาหร่ายไดโนแฟลกเจลเลต เช่น *Peridinium*, *Ceratium*

2.3.2 Mesotrophic status มีปริมาณสารอาหารในน้ำปานกลาง คุณภาพน้ำปานกลางพบสาหร่ายมากชนิด แต่ละชนิดอาจมีมากหรือน้อย สาหร่ายที่พบได้แก่ สาหร่ายไดโนแฟลกเจลเลต เช่น *Peridinium*, *Ceratium*

2.3.3 Eutrophic status มีปริมาณสารอาหารในน้ำมาก คุณภาพน้ำไม่ดี สาหร่ายที่พบ เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Microcystis*, *Aphanizomenon* สาหร่ายยูกลีนาอยด์ เช่น *Euglena*, *Phacus*, *Trachelomonas* ไดอะตอมพบมากตลอดทั้งปี โดยเฉพาะ *Asterionella*, *Fragilariacrotoneensis*, *Synedra*, *Stephanodiscus*, *Aulacoseiragranulata*

2.4 การตรึงเซลล์สาหร่ายเพื่อการบำบัดน้ำเสีย

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์เป็นการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เซลล์ถูกจำกัดขอบเขตให้อยู่ในบริเวณที่ต้องการ ไม่ต้องลอยไปมาในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง (Karel *et al.*, 1985) ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ถูกนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียอย่างแพร่หลายรวมทั้งงานวิจัยของ Covarrubias *et al.* (2012) ซึ่งศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella sorokiniana* ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting bacteria, PGPB) *Azospirillumbrasilense* เปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงแบบอิสระและแบบตรึงเซลล์พบว่าวิธีเพาะเลี้ยงแบบตรึงเซลล์ร่วมกัน

ระหว่างสาหร่ายและแบคทีเรียสามารถลดสารอาหารจำพวก ฟอสฟอรัส แอมโมเนียม ออกจากรู้น้ำเสีย อย่างต่อเนื่องได้ดีกว่าการเลี้ยงแบบอิสระ

นอกจากนี้ Ruiz-Marinet *et al.* (2010) ได้รายงานการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* โดยการตรึงเซลล์ด้วยโซเดียมแอลจิเนตเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงเซลล์แบบอิสระในน้ำทิ้งจากชุมชนและน้ำทิ้งสังเคราะห์โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพในระบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่าสามารถกำจัด แอมโมเนียมในน้ำทิ้งจากชุมชนได้ $97 \pm 2.5\%$ และน้ำทิ้งสังเคราะห์ $90 \pm 1.9\%$ สามารถกำจัดออร์โท ฟอสเฟตจากน้ำทิ้งชุมชนได้ 82.31% และน้ำทิ้งสังเคราะห์ 63.04% ในระยะเวลาการทดลอง 181 ชั่วโมง นอกจากการบำบัดน้ำทิ้งจากชุมชนและน้ำทิ้งสังเคราะห์แล้ว สาหร่ายแบบตรึงเซลล์ยังถูก นำมาใช้เพื่อการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อหมักแก๊สชีวภาพมูลไก่พัชริดา (2558) ได้นำสาหร่ายขนาดเล็กมา ตรึงเซลล์เพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อหมักแก๊สชีวภาพมูลไก่ โดยเพาะเลี้ยงสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* sp. AARL G012, *Scenedesmus* sp. AARL G022, *Carteria* sp. AARL G045 และ กลุ่ม สาหร่ายขนาดเล็ก ในวัสดูดึงหลายชนิด ได้แก่ วุ้น แอลจิเนต และดินวิทยาศาสตร์ พบว่าแอลจิเนตมี ความเหมาะสมที่สุด โดย *Scenedesmus* sp. AARL G022 สามารถลดปริมาณสารอาหาร ได้แก่ NH_4^+ -N, PO_4^{3-} -P และค่า COD ได้เท่ากับ 99.98%, 96.04% และ 80.79% ตามลำดับที่ความเข้มข้นน้ำทิ้ง 75%

2.4.1 เทคนิคการตรึงเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก (immobilization techniques for microalgal cells)

การตรึงเซลล์สาหร่ายสามารถทำได้หลายวิธี โดยแต่ละวิธีมีความยากง่ายแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับปัจจัยและความเหมาะสม สามารถแบ่งได้ 2 วิธี (Gregorio *et al.*, 2013)

2.4.1.1 แบบไม่เกิดปฏิกิริยา (passive immobilization) เป็นวิธีการตรึงเซลล์แบบง่าย ๆ โดยใช้วัสดุจากธรรมชาติหรือวัสดุสังเคราะห์เพื่อให้สาหร่ายยึดเกาะ (Codd, 1987) ทั้งนี้ระบบ วัสดุทางธรรมชาติอีกชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาใช้กับวิธีนี้ได้มีข้อดี คือ ไม่มีพิษ ไม่เกิดปฏิกิริยา ราคาถูก เสถียร และหาง่าย (Liu *et al.*, 1998) ดังนั้นจึงมีงานวิจัยเกี่ยวกับการตรึงเซลล์สาหร่าย *Chlorella sorokiniana* บนระบบ เพื่อใช้กำจัดโลหะหนักที่ปล่อยออกจากสารละลาย นอกจากนี้ วัสดุสังเคราะห์ polyvinyl และ polyurethane ยังถูกนำมาใช้สำหรับการตรึงเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus obliquus* เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดไนเตรตในโตรเจนจากน้ำ (Moreno-Garrido, 2008; Akhtaret *et al.*, 2004; Urrutia, 1995)

2.4.1.2 แบบเกิดปฏิกิริยา (active immobilization) สามารถแบ่งได้เป็น 4 วิธี ดังนี้

1. การยึดเกาะกันเอง (self-aggregation by flocculation) คือ การตรึงเซลล์ โดยอาศัยการรวมตัวของเซลล์ ซึ่งเชื่อมกันด้วยพันธะอ่อน ในธรรมชาติมักเกิดจากการตกตะกอน (flocculation) หรือเกิดจากการเติมสารตัวกลาง (cross-linking) เพื่อช่วยการรวมกลุ่มเซลล์ อย่างไรก็ตามเซลล์บางส่วนอาจหลุดออกจากพันธะได้ง่ายเนื่องจากไม่มีตัวช่วย

2. การตรึงเซลล์แบบยึด หรือแบบดูดซับ (chemical attachment or adsorption) คือ การตรึงเซลล์ไว้กับตัวกลางโดยอาศัยหลักการดูดซับ ทำให้เซลล์ยึดติดกับผิวที่เป็นวัสดุของแข็ง ทั้งนี้ตัวกลางต้องไม่ละลายน้ำซึ่งจะช่วยให้เซลล์ไม่สูญเสียกิจกรรม การยึดเกาะระหว่างเซลล์และตัวกลางใช้พันธะโควาเลนต์ ซึ่งเป็นการตรึงโดยใช้ประจุร่วมกันระหว่างสารตัวนำ หรือ ไฟฟ้าสถิต อย่างไรก็ตาม เซลล์อาจจะหลุดออกจากพันธะได้เนื่องจากไม่มีตัวช่วยอาศัยเพียงพันธะไฮโดรเจนหรือแรงแวนเดอร์วาลส์

3. การตรึงเซลล์แบบขัง (gel entrapment) คือ การตรึงเซลล์ที่ใช้การเชื่อมระหว่างสารเคมีกับจุลินทรีย์เข้าด้วยกัน เป็นการจับเซลล์ให้อยู่ในเมทริกซ์ที่มีรูพรุน สารพอลิเมอร์สายยาวเป็นวัสดุที่นิยม เช่น ฝุ่น หรือแอลจิเนต

4. การตรึงภายในเยื่อที่กั้น หรือ แบบห่อหุ้ม (mechanical containment behind a barrier) คือ การตรึงเซลล์โดยใช้สารประกอบพอลิเมอร์ ซึ่งมีลักษณะเป็นรูพรุนขนาดเล็ก สารประกอบช่วยป้องกันไม่ให้เซลล์หลุดออกจากพันธะเป็นนิยมนำใช้กันมาก อย่างไรก็ตามการตรึงลักษณะนี้ปฏิกิริยาจะเกิดได้ช้าเพราะมีเจลมา กั้นไว้

2.4.2 วัสดุที่ใช้ในการตรึงเซลล์

คุณสมบัติที่ดีของวัสดุที่จะนำมาใช้ในการตรึงเซลล์ คือ ต้องไม่ละลายน้ำ ไม่ถูกย่อยสลายทางกระบวนการทางชีวภาพได้ง่าย ไม่มีความเป็นพิษ ไม่ก่อให้เกิดมลพิษ มีความยืดหยุ่นที่ดี ทนต่อสภาพทางเคมี มีอัตราการแพร่ของสารเข้าเมทริกซ์สูง สิ่งมีชีวิตอื่นยึดเกาะกับเมทริกซ์ได้ยาก วัสดุที่เหมาะสมสำหรับการตรึงเซลล์ เช่น แอลจิเนต ฝุ่นเพคติน โพลีอะคริลาไมด์ คาร์ราจีแนน ไคโตซาน เป็นต้น

2.4.3 ข้อดีของวิธีการตรึงเซลล์

การตรึงเซลล์ช่วยปกป้องเซลล์จากสารเคมีและสารพิษจากสิ่งแวดล้อมภายนอก อีกทั้งยังช่วยลดการปนเปื้อนอีกด้วย (de-Bashan and Bashan, 2010) นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงแบบตรึง

เซลล์ยังช่วยเพิ่มผลผลิตชีวมวลเมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์อิสระ ช่วยเพิ่มกิจกรรมเมแทบอลิซึมในเซลล์ให้สูงขึ้น มีเสถียรภาพมากขึ้น การแยกผลิตภัณฑ์จากการเพาะเลี้ยงทำได้ง่าย มีความปลอดภัยในการใช้งาน และวิธีนี้ยังช่วยลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงเนื่องจากสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์ได้ง่ายและนำเซลล์ที่ผ่านการตรึงมาใช้ซ้ำได้หลายครั้งโดยไม่มีการสูญเสียกิจกรรม

จากงานวิจัยของ Robinson *et al.* (1985) พบว่าชีวมวลของสาหร่ายมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ซึ่งออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญของเซลล์สาหร่ายในเม็ดยาลเมื่อพิจารณาอัตราการหายใจของเซลล์สาหร่าย *Chlorella* ที่ถูกตรึงพบว่าอัตราการหายใจของสาหร่ายต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์อิสระ นอกจากนี้ขนาดของเม็ดยาลที่ใช้ตรึงสาหร่ายและความหนาแน่นของเซลล์ในเม็ดยาลมีส่วนมีผลต่อการหายใจและการสร้างพลังงานของสาหร่ายในเม็ดยาล (Robinson *et al.*, 1986)

2.5 น้ำเสีย

น้ำเสีย หมายถึง น้ำหรือของเหลวที่มีสิ่งเจือปนต่างๆ ในปริมาณสูงมีคุณภาพน้ำอยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะสมในการใช้ประโยชน์ ก่อเกิดเป็นมลภาวะทางน้ำ และส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในสิ่งแวดล้อมนั้นโดยกรมควบคุมมลพิษ สังกัดกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมให้คำจำกัดความของน้ำเสียชุมชน คือ น้ำเสียที่เกิดจากกิจกรรมประจำวันของประชาชนที่อาศัยอยู่ในชุมชน และกิจกรรมที่เป็นอาชีพ ได้แก่ น้ำเสียที่เกิดจากการประกอบอาหารและชำระล้างสิ่งสกปรกทั้งหลายภายในครัวเรือนและอาคารประเภทต่าง ๆ เป็นต้น

2.5.1 องค์ประกอบด้านกายภาพของน้ำเสีย (สาวิตรี, 2554)

2.5.1.1 สีของน้ำ ลักษณะสีของน้ำขึ้นอยู่กับสิ่งที่เจือปนในน้ำ ได้แก่ สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ รวมถึงสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ที่อยู่ในน้ำ ไม่ว่าจะเป็นฟิชน้ำ สาหร่าย และแพลงก์ตอน รวมทั้งสารละลายที่ละลายปนอยู่ในน้ำซึ่งจะให้สีที่แตกต่างกันและส่งผลต่อสีของน้ำ

2.5.1.2 ปริมาณของแข็งในน้ำ ประกอบด้วยสารที่เป็นทั้งสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์สามารถแบ่งได้หลายประเภท เช่น สารแขวนลอย สารละลาย และสารที่จมลงในน้ำ

2.5.1.3 กลิ่น ส่วนใหญ่เกิดจากแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการย่อยสลายของสารอินทรีย์ในน้ำในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน และกลิ่นต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น กลิ่นอับ กลิ่นสัตว์น้ำเน่า อย่างไรก็ตามความรุนแรงของกลิ่นขึ้นอยู่กับสารที่ทำให้เกิดกลิ่นนั้น ๆ

2.5.1.4 อุณหภูมิ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจะส่งผลทำให้การละลายของออกซิเจนในน้ำลดลง และทำให้เกิดปัญหาน้ำเน่าเสียตามมา

2.5.1.5 ความขุ่นของน้ำ ส่งผลต่อความสามารถของน้ำที่สกัดกั้นหรือดูดซับปริมาณแสงที่ส่องผ่านไว้ได้ สิ่งที่ทำให้ความขุ่นของน้ำเพิ่มขึ้น คือ สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ในน้ำ ตลอดจนสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ และสารแขวนลอย เช่น อนุภาคของดิน ทราซ แพลงก์ตอน แบคทีเรีย เป็นต้น กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ได้กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งสู่ชุมชน สารแขวนลอยต้องมีปริมาณไม่เกิน 30 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.5.2 องค์ประกอบด้านเคมี (สาวิตรี, 2554) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเสียดังต่อไปนี้

2.5.2.1 สารอินทรีย์ คือ สารที่มีส่วนประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนซึ่งกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการย่อยสลาย ดังนั้นแหล่งน้ำที่มีสารอินทรีย์สูงก็จะเกิดการเน่าเสียได้ง่าย

2.5.2.2 สารอนินทรีย์ คือ สารจำพวกโลหะหนักต่าง ๆ โดยสารอนินทรีย์จะมีผลต่อคุณภาพน้ำไม่น้อยไปกว่าสารอินทรีย์ เนื่องจากเป็นสารที่สามารถใช้ออกซิเจนในน้ำได้โดยตรง และสารบางตัวยังเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำและมนุษย์ เช่น ตะกั่ว (Pb) สารแคดเมียม (Cd) โครเมียม (Cr) สารแมงกานีส (Mn) และสารปรอท (Hg) เป็นต้น

2.5.2.3 ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) คือ ค่าที่แสดงถึงปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนในน้ำ หากค่า pH มากกว่า 7 มีค่าเป็น เบส pH น้อยกว่า 7 มีค่าเป็น กรด และ pH เท่ากับ 7 มีค่าเป็นกลาง โดยน้ำทิ้งจากชุมชนมักมีค่าเป็นเบส ส่วนน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมมักมีค่าเป็นกรด ขึ้นอยู่กับสิ่งที่ปนเปื้อนในน้ำทิ้งนั้น

2.5.2.4 ออกซิเจน มีความสำคัญต่อแหล่งน้ำมากเป็นดัชนีที่บ่งบอกคุณภาพน้ำได้เป็นอย่างดี ซึ่งความสามารถในการละลายของออกซิเจนขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ตัวอย่างเช่น ความดันของบรรยากาศ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของเกลือแร่ในน้ำ แม้กระทั่งสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ

2.5.2.5 ไนโตรเจน เป็นดัชนีอีกค่าหนึ่งที่วัดคุณภาพของน้ำในแหล่งน้ำ ไนโตรเจนจะอยู่ในรูปของสารประกอบ 2 รูปแบบได้แก่ สารประกอบอนินทรีย์ใน ไนโตรเจน และสารประกอบอินทรีย์ใน ไนโตรเจน ส่วนใหญ่ได้รับสารกลุ่มนี้จากปุ๋ยหรือสิ่งเน่าเสียต่าง ๆ

2.5.2.6 ฟอสฟอรัส ส่วนมากได้รับมาจากสารชักล้างต่างๆ รวมทั้งปุ๋ยฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำสามารถพบได้หลายรูปแบบ เช่น ออร์โทฟอสเฟต ไพโรฟอสเฟต ฟอสเฟตอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ และฟอสเฟตอินทรีย์ที่เป็นสารแขวนลอย ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอีกชนิดหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชเป็นอย่างมาก หากมีปริมาณมากจะกระตุ้นให้สาหร่ายและพืชน้ำการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ส่งผลทำให้เกิดน้ำเสียขึ้น

2.5.2.7 เหล็ก เป็นส่วนประกอบสำคัญของเม็ดเลือดแดงของสัตว์น้ำหลายชนิด เมื่ออยู่ในน้ำพบในรูปของเฟอร์ริก (Fe^{3+}) และเฟอร์รัส (Fe^{2+})

2.5.2.8 ซัลเฟอร์ น้ำเสียส่วนมากจะมีซัลเฟอร์ ซึ่งได้มาจากปฏิกิริยารีดักชันของซัลเฟตโดยจุลินทรีย์ในน้ำเสีย ในสภาพที่น้ำเสียมีค่า pH เป็นกรดจะเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ขึ้น ซึ่งจะทำให้เกิดกลิ่นเหม็นคล้ายไข่เน่าโดยในน้ำพบซัลเฟอร์ได้ 2 รูป ได้แก่ ซัลเฟตและไฮโดรเจนซัลไฟด์ ปริมาณหรือความเข้มข้นต่ำสุดในน้ำที่เราสามารถได้กลิ่นไฮโดรเจนซัลไฟด์ อยู่ระหว่าง 0.025-0.25 ไมโครกรัมต่อลิตร

2.5.2.9 คลอไรด์ ปริมาณคลอไรด์ที่เหมาะสมไม่ควรเกิน 250 มิลลิกรัมต่อลิตร หากมีปริมาณมากกว่านี้จะทำให้น้ำเค็ม ไม่เหมาะกับการนำมาใช้ประโยชน์ในการบริโภค

2.5.2.10 น้ำมันและไขมัน หากมีปริมาณมากเกินไป จะทำให้เกิดกลิ่นเหม็น ผิวน้ำจับตัวเป็นฝ้าหนา ส่งผลกระทบต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชน้ำและสาหร่ายส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำเป็นอย่างมาก

2.5.2.11 โลหะหนัก ได้แก่ ตะกั่ว ปรอท แคดเมียม ทองแดง เหล็ก แมงกานีส นิเกิล และสังกะสี ถ้ามีปริมาณที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำและส่งผลต่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในน้ำอีกด้วย

2.5.3 ลักษณะด้านชีวภาพ (สาวตรี, 2554)

ลักษณะน้ำเสียทางชีวภาพ หมายถึง มลพิษทางน้ำที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต ชนิดใด ชนิดหนึ่งปะปนในน้ำ และเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์น้ำ ดังนั้นบ่งบอกลักษณะทางชีวภาพ ได้แก่ แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคติดต่อทางน้ำและอาหาร ไวรัส โปรทิสตา เชื้อราต่าง ๆ ซึ่งน้ำเสียที่ได้มาจากชุมชนหรือที่พักอาศัยจะพบกลุ่มสิ่งมีชีวิตเหล่านี้เป็นจำนวนมาก

2.6 การบำบัดน้ำเสียสามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

2.6.1 การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่าย

การบำบัดน้ำเสียโดยสิ่งมีชีวิตนี้สามารถทำได้โดยใช้สิ่งมีชีวิตที่มีศักยภาพกลุ่มสาหร่ายมาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย สาหร่ายจะทำหน้าที่ 2 ประการ ประการแรกสาหร่ายช่วยเพิ่มออกซิเจนในแหล่งน้ำซึ่งได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนในแหล่งน้ำมีออกซิเจนเพียงพอต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ ประการที่สองสาหร่ายมีความสามารถในการดูดซับสารอาหาร เช่น แอมโมเนียม ไนเตรต รวมทั้งออร์โธฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ในน้ำเสีย เกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมให้เป็นชีวมวลสาหร่ายต่อไป ดังนั้นสาหร่ายจึงเป็นสิ่งมีชีวิตที่ถูกใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียอย่างแพร่หลาย (Kaya, 1996)

ทั้งนี้ เอนกและคณะ (2557) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Phormidium* sp. ในการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์ม 3 แหล่งใน จ.ตรัง 2 แหล่ง และ จ.กระบี่ 1 แหล่ง โดยเฉพาะเลี้ยงสาหร่าย *Phormidium* sp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานทั้ง 3 แหล่ง พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (1.28 ± 0.23 gDW/L) ในน้ำทิ้งความเข้มข้น 50% จากโรงงานแหล่งที่ 2 ใน จ.ตรังและสามารถลดปริมาณแอมโมเนียม ไนไตรท์ ไนเตรต และออร์โธฟอสเฟต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.1.1 กระดาษกรอง GF/C (glass fiber filter)
- 3.1.2 ถังจลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ
- 3.1.3 กระบอกตวง (cylinder)
- 3.1.4 ขวดรูปชมพู่ขนาด 500mL
- 3.1.5 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL
- 3.1.6 ขวดแก้ว พร้อมฝาปิดที่เจาะรู
- 3.1.7 คีมคีบ (forceps)
- 3.1.8 เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3.1.9 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
- 3.1.10 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)
- 3.1.11 เครื่อง peristaltic pump
- 3.1.12 ตู้เพาะเลี้ยงขนาด 22x45x28cm
- 3.1.13 ตู้อบอุณหภูมิ 60 °C
- 3.1.14 ชุดเติมอากาศ (air pump)
- 3.1.15 ชุดเครื่องกรอง
- 3.1.16 ฝ้ายขาวบาง
- 3.1.17 สำลี
- 3.1.18 สายยางให้อากาศพร้อมหัวทราย
- 3.1.19 สายยางขนาดผ่าศูนย์กลาง 3 mm
- 3.1.20 หลอด centrifuge ขนาด 15mL และ 50 mL
- 3.1.21 Autopipette
- 3.1.22 Cuvette แก้ว
- 3.1.23 Haemocytometer

- 3.1.24 Water bath
- 3.1.25 Magnetic stirrer
- 3.1.26 ถังเก็บแพลงก์ตอน (plankton net)

3.2 สารเคมี

- 3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว Jaworski's medium (JM) (ภาคผนวก ก)
- 3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวัดอาหาร (ภาคผนวก ข)
- 3.2.3 สารละลายเกลือแคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride)
- 3.2.4 สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate)
- 3.2.5 เมทานอล 90% (methanol)
- 3.2.6 แอลจีเนต (alginate)
- 3.2.7 กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 0.25 N
- 3.2.8 Phenolphthalein indicator
- 3.2.9 Methyl orange indicator

3.3 สถานที่ทำการวิจัย

- 3.3.1 ห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์สาขาวิชาจุลชีววิทยาภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- 3.3.2 ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาจุลชีววิทยาภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- 3.3.3 แหล่งน้ำธรรมชาติวัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) ต.สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่
- 3.3.4 บริเวณน้ำทิ้งโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.)

3.4 วิธีการทำวิจัย

การทดลองการบำบัดน้ำเสียจากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) เป็นการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) ต. สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่

3.4.1 เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็ก

การทดลองนี้เลือกใช้สาหร่ายขนาดเล็กที่จากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) ต.สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ โดยเก็บตัวอย่างสาหร่าย 2 ครั้ง ในช่วงระยะเวลาที่ต่างกัน ดังนี้

- ครั้งที่ 1 เก็บตัวอย่างสาหร่าย เมื่อวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2560 ใช้สำหรับการทดลอง 1 (ภาพ 1)
ครั้งที่ 2 เก็บตัวอย่างสาหร่าย เมื่อวันที่ 22 เมษายน 2561 ใช้สำหรับการทดลอง 2 (ภาพ 2)



ภาพ 1 จุดเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติวัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม)
ต. สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ (13 กุมภาพันธ์ 2560)



ภาพ 2 จุดเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติวัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม)
ต. สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ (12 เมษายน 2561)

เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) ต.สุเทพ อ.เมือง จ. เชียงใหม่ โดยใช้ถุงเก็บแพลงก์ตอน (plankton net) (ภาพ 3) ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง ควรเป็นเวลาประมาณเที่ยงวัน เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่สาหร่ายขึ้นมาที่ผิวน้ำเพื่อสังเคราะห์แสง ก่อนข้างมาก



ภาพ 3 การเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กโดยใช้ถุงเก็บแพลงก์ตอน (plankton net)

เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี ดังต่อไปนี้
คุณภาพน้ำทางกายภาพ

- สี
- กลิ่น
- อุณหภูมิ

คุณภาพน้ำทางเคมี (Greenberg *et al.*, 1992) (ภาคผนวก ข)

- วิเคราะห์ปริมาณสารอาหาร ด้วยเครื่อง spectrophotometer รุ่น DR 2010 บริษัท Hach ได้แก่ แอมโมเนียมไนโตรเจน ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) โดยวิธี Nesslerization
ไนเตรตไนโตรเจน ($\text{NO}_3^- - \text{N}$) โดยวิธี Cadmium reduction method
ออร์โธฟอสเฟต ($\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$) โดยวิธี Ascorbic acid method
- วิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (Chemical Oxygen Demand, COD) แบบ closed reflux
- วิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ (Biochemical Oxygen Demand, BOD)
- วิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved Oxygen, DO)

- การนำกระแสไฟฟ้า โดยใช้ conductivity meter
- กรด-เบส โดยใช้ pH meter

การประเมินคุณภาพน้ำดังกล่าวนี้ได้ใช้การวิเคราะห์พารามิเตอร์ที่เป็นปัจจัยทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพบางประการโดยประยุกต์มาจากมาตรฐานคุณภาพน้ำของ Lorraine and Vollenweider (1981) Wetzel (2001) และมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2537 มาประเมินร่วมกัน โดยใช้ 7 พารามิเตอร์ที่เป็นพื้นฐานทั่วไปของการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (ภาคผนวก ง)

3.4.2 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

แบ่งสาหร่ายออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เป็นเซลล์สาหร่ายแบบอิสระ ส่วนที่ 2 เป็นสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในแคลเซียมแอลจิเนตซึ่งวิธีการตรึงเซลล์สาหร่ายทำได้ ดังนี้

ทำการตรึงเซลล์สาหร่ายโดยใช้สารละลายโซเดียมแอลจิเนต 2% ปริมาตร 300mL ที่ผสมสาหร่ายตั้งต้น 33.33 mL และมีความเข้มข้นสาหร่ายที่ค่า OD₆₆₅ ประมาณ 0.5 ต่อชุดอุปกรณ์เข้ากับเครื่อง peristaltic pump ดังภาพ 4 เปิดเครื่องและปล่อยสารละลายแอลจิเนตที่ผสมสาหร่ายให้หยดลงในสารละลายเกลือแคลเซียมคลอไรด์ 0.2 M ปริมาตร 250 mL เมื่อสารละลายแอลจิเนตที่ผสมสาหร่ายถูกปล่อยลงไปในการละลายเกลือแคลเซียมคลอไรด์จะเกิดเป็นเม็ดเจลทันที ปรับอัตราการปล่อยสารละลายและระยะห่างระหว่างสายยางที่ปล่อยสารละลายแอลจิเนตและสารละลายเกลือแคลเซียมคลอไรด์เพื่อให้ได้เม็ดเจลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 mm เตรียมเม็ดเจลประมาณ 3000 เม็ด หลังจากนั้นแช่เม็ดเจลในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้เม็ดเจลคงรูป (ดัดแปลงจาก de-Bashan and Bashan, 2010)



ภาพ 4 การตรึงเซลล์สาหร่ายในแอลจิเนต (ก) กระบวนการตรึงเซลล์สาหร่ายด้วยเครื่อง peristaltic pump (ข) ลักษณะของเม็ดเจลสาหร่ายก่อนการเพาะเลี้ยง (ค) ลักษณะของเม็ดเจลสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยง

3.4.3 เก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง

เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) จากบ่อดักไขมันด้านหลังโรงอาหาร ซึ่งน้ำทิ้งในบ่อนี้ได้ผ่านการแยกกากอาหารมาแล้ว (ภาพ 5) เก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง 2 ครั้ง ในช่วงเวลากลางวัน โดยเก็บน้ำทิ้งครั้งที่ 1 วันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2560 เพื่อให้สำหรับการทดลอง 1 และเก็บน้ำทิ้งครั้งที่ 2 วันที่ 22 เมษายน 2561 เพื่อใช้สำหรับการทดลอง 2 กรองแยกกากตะกอนใหญ่ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงสาหร่าย จากนั้นตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีเช่นเดียวกับข้อ 3.4.1



ภาพ 5 น้ำทิ้งบริเวณบ่อดักไขมัน โรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.)

3.4.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการบำบัดน้ำเสีย

เพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ได้จากข้อ 3.4.2 ในน้ำทิ้งหรืออาหาร JM ปริมาตร 300 mL ใน flask ขนาด 500 mL ที่อุณหภูมิห้องให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลอง 1 เปรียบเทียบการเจริญและการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายในอาหาร JM และน้ำทิ้ง ในสภาวะให้อากาศ (ภาพ 6) โดยทำการทดลองชุดละ 3 ขั้ว แบ่งชุดการทดลองได้ดังนี้ (ภาพ 8)

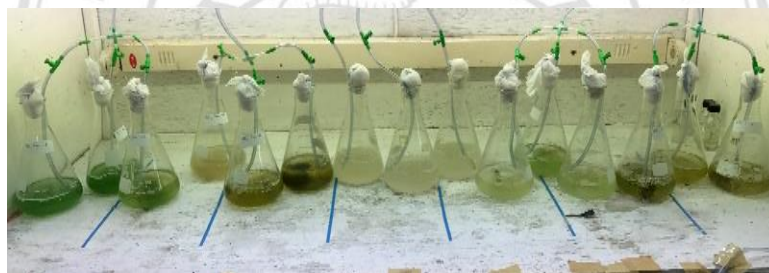
- ชุดควบคุม (น้ำเสีย)
- สาหร่ายแบบเซลล์อิสระในอาหาร JM
- สาหร่ายแบบเซลล์อิสระในน้ำทิ้ง
- สาหร่ายแบบเซลล์ตรึงในอาหาร JM
- สาหร่ายแบบเซลล์ตรึงในน้ำทิ้ง

การทดลอง 2 เปรียบเทียบการเจริญและการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายขนาดเล็กในเม็คตริงในสถานะให้และไม่ให้อากาศ (ภาพ 7) โดยทำการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ แบ่งชุดการทดลองได้ดังนี้ (ภาพ 9)

- น้ำเสียให้อากาศ
- น้ำเสียไม่ให้อากาศ
- น้ำเสียเติมเม็คตริงสาหร่ายและให้อากาศ
- น้ำเสียเติมเม็คตริงสาหร่ายและไม่ให้อากาศ

สำหรับชุดการทดลองที่ใช้สาหร่ายแบบตริงเซลล์นั้น จะใช้เม็คเจลปริมาณ 500 เม็คต่อน้ำทิ้งหรือ อาหาร JM ปริมาตร 250 mL ใน flask ขนาด 500 mL

สำหรับชุดการทดลองที่ใช้สาหร่ายแบบเซลล์อิสระจะใช้สาหร่ายปริมาตร 50mL ต่อน้ำทิ้งหรือ อาหาร JM ปริมาตร 250 mL ใน flask ขนาด 500 mL



ภาพ 6 การทดลอง 1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหาร JM และน้ำทิ้งในสถานะให้อากาศ



ภาพ 7 การทดลอง 2 เพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียในสถานะให้และไม่ให้อากาศ

3.4.5 ตรวจวัดการเจริญของสาหร่าย

เก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 วัน เก็บเม็ดเจล จำนวน 10 เม็ด โดยแช่เม็ดเจลในสารละลาย sodium bicarbonate 1 M ประมาณ 2-3 ชั่วโมง เพื่อให้เม็ดเจลละลาย หลังจากนั้นจึงนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอนเซลล์สาหร่าย ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็ว 6000 รอบ ต่อนาที จากนั้นละลายตะกอนสาหร่ายในสารละลาย sodium bicarbonate 1 M ปริมาตร 5 mL นำไปวัดค่าการเจริญที่ OD₆₆₅ ด้วยเครื่อง spectrophotometer

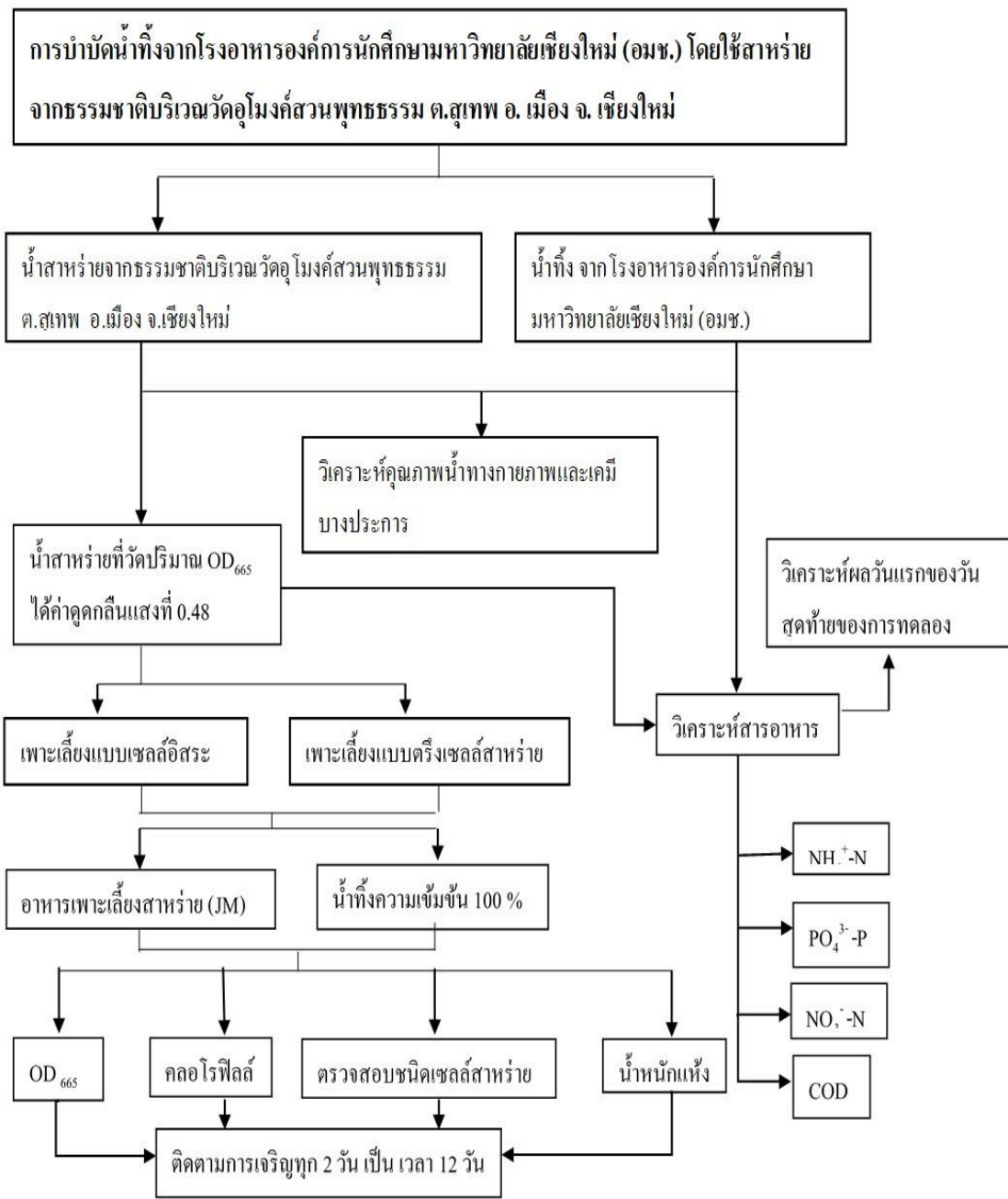
ตรวจนับจำนวนเซลล์สาหร่ายด้วย haemocytometer วินิจฉัยชนิดของกลุ่มประชากรสาหร่าย พร้อมทั้งวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยใช้ methanol 90% เป็นตัวสกัดและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630, 645, 665 และ 750 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer ก่อนนำไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Wintermans and De Mots, 1965; Saijo, 1975) (ภาคผนวก ก)

เก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายเมื่อเข้าสู่สภาวะ stationary phase เพื่อวัดผลผลิตชีวมวลและตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำกายภาพและทางเคมี

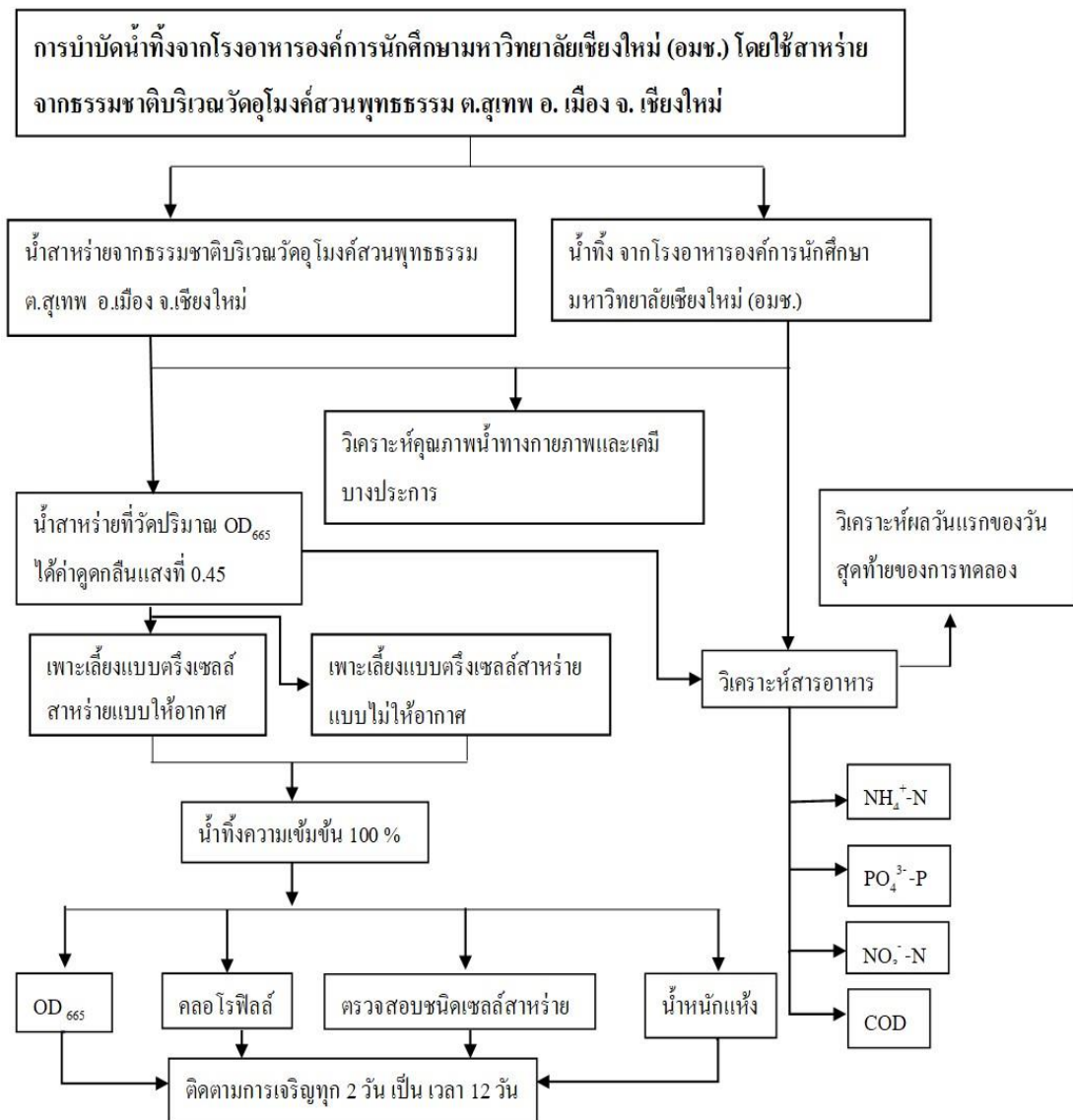
3.4.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการเปรียบเทียบ คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ และแหล่งน้ำทิ้งจากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ด้วยวิธีทางสถิติ paired sample test เปรียบเทียบความแตกต่างของผลการทดลอง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 8 แผนภูมิแสดงลำดับการทดลองของชุดการทดลอง 1



ภาพ 9 แผนภูมิแสดงลำดับการทดลองของชุดการทดลองที่ 2

3.4.6 การจัดทำสื่อในรูปแบบอิเล็กทรอนิกส์ (E-book)

รวบรวมข้อมูลที่ได้จากงานวิจัย ผลิตสื่อในรูปแบบของหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ (E-book) และนำหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ที่ได้ไปนำเสนอให้กับนักเรียน หรือ ประชาชนทั่วไป หลังจากนั้นจึงให้นักเรียน หรือ ประชาชนทั่วไป ทำแบบทดสอบประเมินสื่อการสอน ในรูปแบบแบบ E-book เรื่อง การใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย เพื่อประเมินความพึงพอใจเกี่ยวกับการสอน โดยมีแบบประเมินดังแสดง

แบบประเมินสื่อการสอนในรูปแบบแบบ E-book
เรื่อง การใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย

ชื่อ – สกุล ครูผู้สอน..... รหัสวิชา..... รายวิชา

กลุ่มสาระการเรียนรู้.....แผนการจัดการเรียนรู้ที่.....ภาคเรียนที่...../.....

หน่วยการเรียนรู้ที่..... เรื่อง

ลำดับที่	รายการประเมิน	ใช่	ไม่ใช่
1	เร้าความสนใจ ให้เกิดการใฝ่รู้ ในเรื่องราวที่ต้องศึกษา		
2	มีการบูรณาการ หรือหลีกเลี่ยงการเสนอข้อปลีกย่อยที่ปราศจากบูรณาการ		
3	ทำให้ผู้เรียนเปรียบเทียบสิ่งเก่า/สิ่งใหม่ได้		
4	ส่งเสริมให้เกิดการนำตนเอง สอนตนเอง และทดสอบตนเองได้		
5	เหมาะสมกับวัย และระดับความยากง่ายของเนื้อหา		
6	ทำให้ประหยัดเวลาแก่ครู กำจัดการที่ต้องอธิบาย		
7	เป็นสื่อที่มีการประยุกต์ใช้ได้อย่างเหมาะสม		
8	ส่งเสริมปฏิสัมพันธ์เชิงสร้างสรรค์และเป็นการสื่อสาร 2 ทาง (ครู/ผู้เรียน)		
9	กระตุ้นความคิด ส่งเสริมการเรียนรู้เชิงแก้ปัญหา		
10	ทำให้เกิดการค้นพบความรู้ด้วยตนเอง		
11	ทำให้เกิดการสรุปรวบยอดได้		
12	มีความทันสมัย แปลกใหม่แตกต่างไปจากการเรียนปกติ		
13	เป็นสื่อที่ส่งเสริมคุณธรรม จริยธรรม ให้แก่ผู้เรียน ไม่ขัดต่อคุณธรรม และ จริยธรรมที่พึงมี พึงปฏิบัติ		
14	ส่งเสริมความงอกงามและสร้างบรรยากาศที่ดีทางจิตใจหรืออารมณ์		
15	พัฒนาความเป็นกันเองและแลกเปลี่ยนความคิดเห็น		
16	ไม่เป็นการจำหน่ายสื่อเพื่อการค้ากำไรเชิงธุรกิจจากผู้เรียน		
	รวม		

ระดับคุณภาพ

สรุปผลการประเมิน

ใช่ 15-16 ข้อ = ดีมาก (4)

ระดับคุณภาพ.....

ใช่ 13-14 ข้อ = ดี (3)

ลงชื่อ.....ผู้ประเมิน

ใช่ 11-12 ข้อ = พอใช้ (2)

(.....)

ใช่ 0-10 ข้อ = ต้องปรับปรุง(1)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 เปรียบเทียบคุณภาพน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) และน้ำทิ้งจาก โรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ครั้งที่ 1

จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีในแหล่งน้ำทั้ง 2 แหล่ง ครั้งที่ 1 (13 กุมภาพันธ์ 2560) เพื่อใช้สำหรับการทดลอง 1 เปรียบเทียบการเจริญและการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายในอาหาร JM และน้ำทิ้งในสภาวะให้อากาศ พบว่าแหล่งน้ำทั้ง 2 แหล่ง มีสีและกลิ่นต่างกัน มีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการใกล้เคียงกัน (ตาราง 1) ยกเว้นค่าออกซิเจนละลายน้ำของแหล่งน้ำธรรมชาติมีค่าสูงกว่าแหล่งน้ำทิ้ง อาจเนื่องจากแหล่งน้ำธรรมชาติพบการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็กทั่วชั้นน้ำ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งช่วยเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้กับแหล่งน้ำจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่วนแหล่งน้ำทิ้งพบสาหร่ายเจริญเฉพาะผิวน้ำเท่านั้น อย่างไรก็ตามแหล่งน้ำทิ้งพบปริมาณไนเตรดไนโตรเจนและออร์โธฟอสเฟตสะสมมากกว่าแหล่งน้ำธรรมชาติ ยกเว้นแอมโมเนียมที่มีปริมาณมากในแหล่งน้ำธรรมชาติ เนื่องจากเป็นบ่อเลี้ยงปลา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ และแหล่งน้ำทิ้งจากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) (13 กุมภาพันธ์ 2560)

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี	แหล่งน้ำธรรมชาติวัดอุโมงค์	แหล่งน้ำทิ้ง (อมช.)
สี	เขียว	น้ำตาล
กลิ่น	คาวปลา	เหม็น
Water temperature (°C)	26.23 ± 0.21	27.33 ± 0.12
pH	6.58 ± 0 ^a	7.48 ± 0.29 ^b
Conductivity (μs.cm ⁻¹)	117 ± 0.02 ^a	240 ± 0.01 ^b
DO (mg. L ⁻¹)	14.33 ± 0.16 ^a	0 ^b
BOD (mg. L ⁻¹)	3.0 ± 0.26 ^a	3.9 ± 0.10 ^b
COD (mg. L ⁻¹)	-	139.2
NO ₃ ⁻ - N (mg. L ⁻¹)	0	4.2
NH ₄ ⁺ - N (mg. L ⁻¹)	0.15	0.02
PO ₄ ³⁻ - P (mg.L ⁻¹)	0.04	0.20
Chlorophyll <i>a</i> (mg. L ⁻¹)	173	145

หมายเหตุ ตัวอักษรยก a b หมายถึงตัวอักษรที่มีการเปรียบเทียบทางสถิติภายในชุดทดลอง paired sample test

ประเมินคุณภาพน้ำของแหล่งน้ำทั้ง 2 แหล่งโดยใช้ลำดับคะแนนอย่างง่าย AARL-PC Score โดยใช้ 7 parameter (ภาคผนวก ง) หลังจากการประเมินพบว่า แหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ มีสารอาหารน้อยถึงปานกลาง (oligotrophic-mesotrophic status) และแหล่งน้ำทิ้งจากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) มีสารอาหารปานกลางถึงมาก (mesotrophic-eutrophic status) ดังนี้

แหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์

ค่า DO	14.33 mg.L ⁻¹
ค่า BOD	3 mg.L ⁻¹
ค่าการนำไฟฟ้า	117 μs.cm ⁻¹
ปริมาณไนเตรดไนโตรเจน	0 mg.L ⁻¹
ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน	0.15 mg.L ⁻¹
ปริมาณออร์โธฟอสเฟต	0.04 mg.L ⁻¹
ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	173 mg.L ⁻¹

เมื่อนำค่าจากพารามิเตอร์ต่าง ๆ มาเปรียบเทียบกับคะแนนมาตรฐานที่จัดทำขึ้น จะได้ดังนี้

คะแนนค่า DO	= 0.1
คะแนนค่า BOD	= 0.5
คะแนนค่าการนำไฟฟ้า	= 0.6
คะแนนปริมาณไนเตรตไนโตรเจน	= 0.1
คะแนนปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน	= 0.5
คะแนนปริมาณออร์โธฟอสเฟต	= 0.3
คะแนนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	= 0.8
รวมคะแนนมาตรฐานทั้งหมด	<u>2.9</u>

ดังนั้นคุณภาพน้ำสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ จะอยู่ในช่วง 2.1-2.9 คือ มีสารอาหารน้อยถึงปานกลาง (oligotrophic-mesotrophic status)

แหล่งน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.)

ค่า DO	0 mg.L ⁻¹
ค่า BOD	3.9 mg.L ⁻¹
ค่าการนำไฟฟ้า	240 μ s.cm ⁻¹
ปริมาณไนเตรตไนโตรเจน	4.2 mg.L ⁻¹
ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน	0.02 mg.L ⁻¹
ปริมาณออร์โธฟอสเฟต	0.20 mg.L ⁻¹
ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	145 mg.L ⁻¹

เมื่อนำค่าจากพารามิเตอร์ต่าง ๆ มาเปรียบเทียบกับคะแนนมาตรฐานที่จัดทำขึ้น จะได้ดังนี้

คะแนนค่า DO	= 1.0
คะแนนค่า BOD	= 0.5
คะแนนค่าการนำไฟฟ้า	= 0.8
คะแนนปริมาณไนเตรตไนโตรเจน	= 0.7
คะแนนปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน	= 0.2
คะแนนปริมาณออร์โธฟอสเฟต	= 0.5
คะแนนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	= 0.8
รวมคะแนนมาตรฐานทั้งหมด	<u>4.5</u>

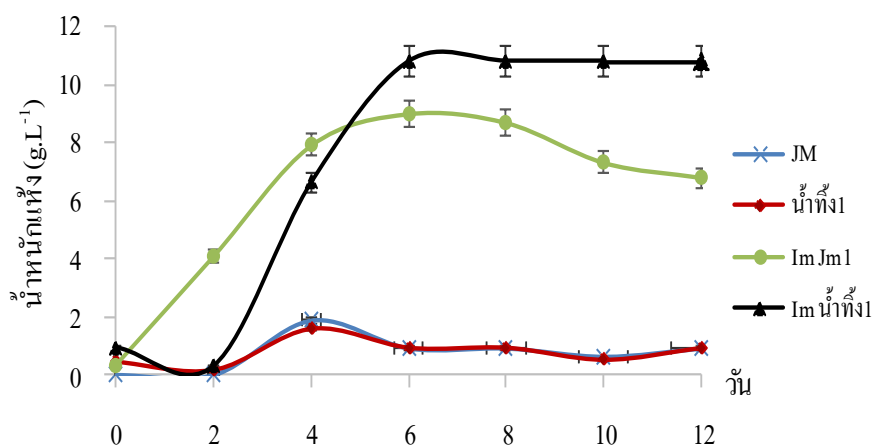
ดังนั้นคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) จะอยู่ในช่วง 3.9-4.7 คือ มีสารอาหารปานกลางถึงมาก (mesotrophic-eutrophic status)

4.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการบำบัดน้ำเสีย

การทดลอง 1 เปรียบเทียบการเจริญและการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติแบบเซลล์อิสระและแบบตรึงเซลล์ด้วยแอลจิเนต โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร JM และน้ำทิ้ง ในสถานะให้อากาศ โดยทำการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ แบ่งชุดการทดลองได้ 5 ชุด - ชุดควบคุม (น้ำเสีย) - สาหร่ายแบบเซลล์อิสระในอาหาร JM - สาหร่ายแบบเซลล์อิสระในน้ำทิ้ง - สาหร่ายแบบเซลล์ตรึงในอาหาร JM- สาหร่ายแบบเซลล์ตรึงในน้ำทิ้ง

4.2.1 ผลผลิตชีวมวล

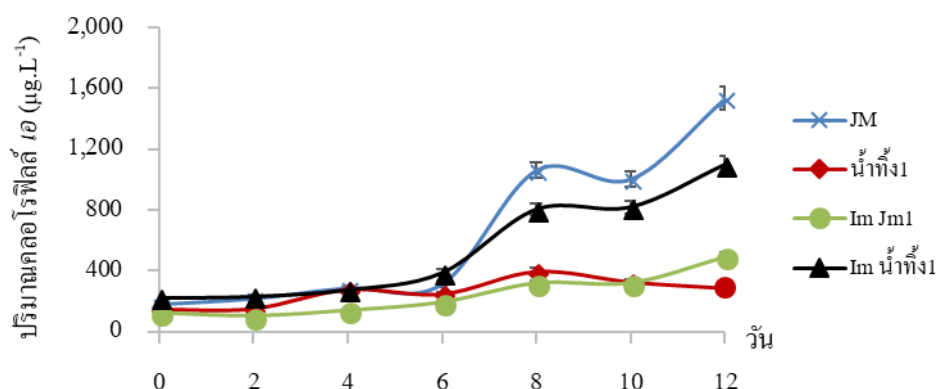
จากการทดลอง พบว่า สาหร่ายสามารถเจริญได้ในทุกการทดลอง เป็นระยะเวลา 12 วัน และเก็บผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายทุก 2 วัน พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์มีอัตราการเจริญดีกว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเซลล์อิสระอย่างชัดเจน โดยสาหร่ายที่ตรึงเซลล์มีการเจริญเติบโตได้ดีอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะสาหร่ายที่เลี้ยงแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้ง หลังจากนั้นการเจริญเติบโตค่อนข้างคงที่เริ่มเข้าระยะ Stationary phase ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง (ภาพ 10) สาหร่ายที่เลี้ยงแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งให้ผลผลิตชีวมวลสูงที่สุด (10.8 g.L^{-1}) รองลงมา คือ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในอาหารเลี้ยงสาหร่าย (JM) (9.02 g.L^{-1}) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบอิสระในอาหารเลี้ยงสาหร่าย (JM) (1.88 g.L^{-1}) และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบอิสระในน้ำทิ้ง (1.60 g.L^{-1}) ตามลำดับ



ภาพ 10 น้ำหนักแห้งของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสถานะต่าง ๆ (การทดลอง 1) JM = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์อิสระใน JM; น้ำทิ้ง 1 = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์อิสระในน้ำทิ้ง; Im Jm 1 = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ใน JM; Im น้ำทิ้ง 1 = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้ง

4.2.2. ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

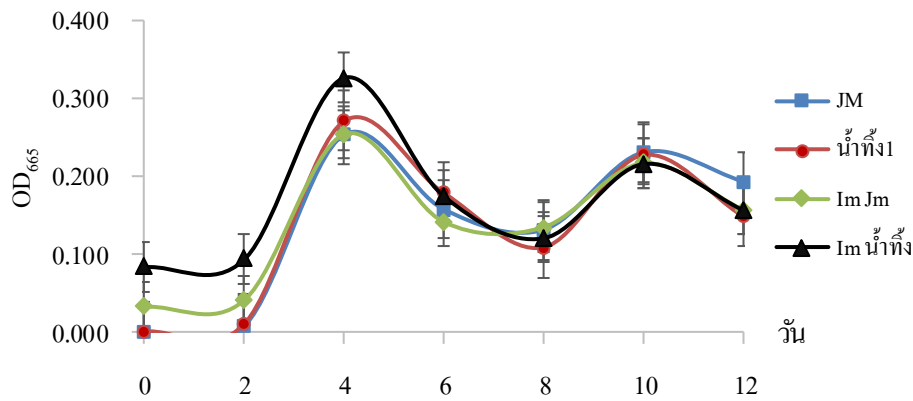
นำชีวมวลสาหร่ายแต่ละการทดลองมาวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเก็บผลทุก 2 วัน ระยะเวลา 12 วัน พบว่าบางการทดลองพบปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ขัดแย้งกับปริมาณชีวมวลของสาหร่ายข้างต้น ซึ่งพบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเซลล์อิสระให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงที่สุด ($1,534.47 \mu\text{g.L}^{-1}$) ในขณะที่เดียวกันการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ยังคงให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่มากรองลงมา ($1,096.12 \mu\text{g.L}^{-1}$) ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงแบบเซลล์อิสระในน้ำทิ้งและสาหร่ายที่เลี้ยงแบบตรึงเซลล์ในอาหาร JM พบคลอโรฟิลล์ เอ ในปริมาณที่น้อย (ภาพ 11)



ภาพ 11 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ($\mu\text{g.L}^{-1}$) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่าง ๆ (การทดลอง 1) JM = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์อิสระใน JM; น้ำทิ้ง 1 = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์อิสระในน้ำทิ้ง; Im Jm 1 = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ใน JM; Im น้ำทิ้ง 1 = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้ง

4.2.3 การวัดปริมาณค่าดูดกลืนแสง

เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงของสาหร่ายแต่ละการทดลองด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ความยาวคลื่น 665 นาโนเมตร (OD_{665}) เพื่อติดตามการเจริญของสาหร่ายในสภาวะการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ พบว่าสาหร่ายจากทุกการทดลองมีแนวโน้มการเจริญคล้ายกัน แต่สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งมีอัตราการการเจริญดีที่สุด $\text{OD}_{665} = 0.327$ ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนอีก 3 การทดลองให้ผลใกล้เคียงกัน (ภาพ 12)

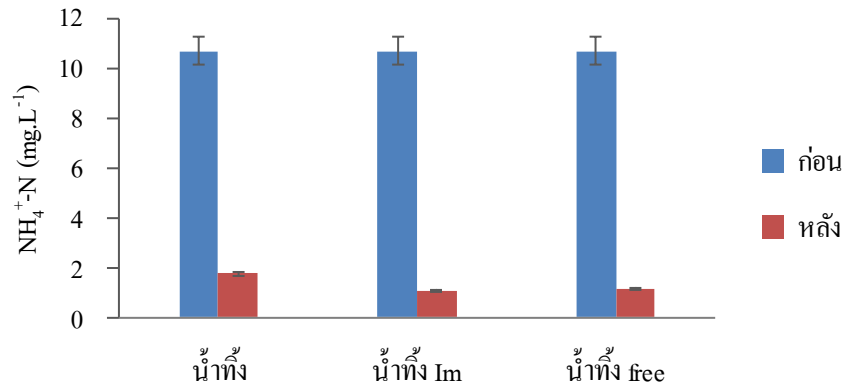


ภาพ 12 ค่าดูดกลืนแสง (OD_{665}) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ (การทดลอง 1) JM = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์อิสระใน JM; น้ำทิ้ง 1 = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์อิสระในน้ำทิ้ง; Im Jm 1 = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ใน JM; Im น้ำทิ้ง 1 = การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้ง

4.2.4 ปริมาณธาตุอาหารก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้ง

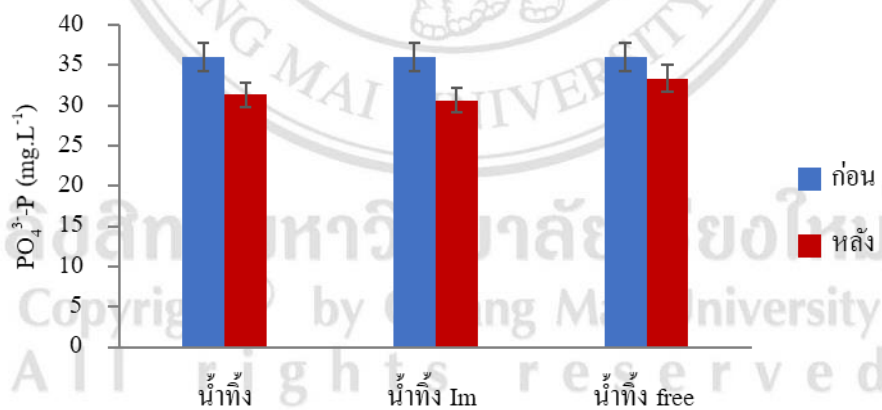
เมื่อสิ้นสุดการทดลอง จึงประเมินประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์กรนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ พบว่าสาหร่ายทุกการทดลองมีความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้ง ซึ่งจะเห็นได้จากปริมาณธาตุอาหารทั้ง 3 ชนิด ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยน้ำทิ้งที่มีปริมาณลดลง ประกอบด้วย ไนเตรตไนโตรเจน แอมโมเนียมไนโตรเจน และออร์โธฟอสเฟต ซึ่งพบว่าปริมาณ NH_4^+-N มีค่าลดลงในทุกการเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ช่วยลดปริมาณ NH_4^+-N ในน้ำทิ้งได้มากที่สุด 89.88% ในขณะที่สาหร่ายแบบเซลล์อิสระช่วยลดปริมาณ NH_4^+-N ในน้ำทิ้งได้ใกล้เคียงกัน คือ 89.22% และน้ำทิ้งให้อากาศปกติมีค่า NH_4^+-N ลดลง 83.46% (ภาพ 13)

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



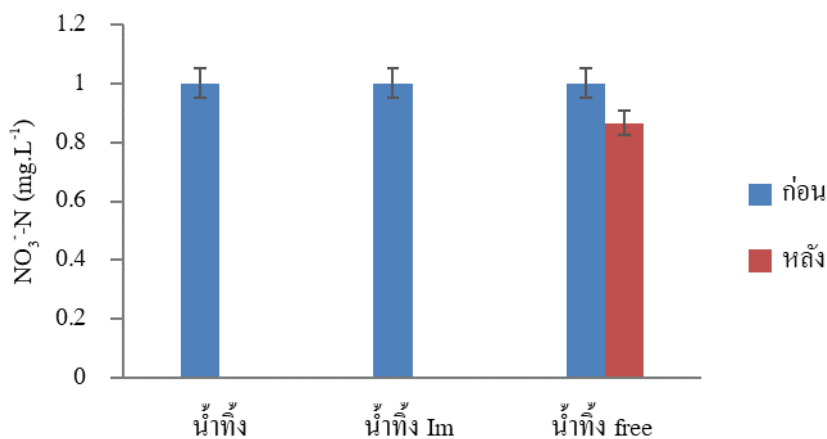
ภาพ 13 ปริมาณธาตุอาหาร $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 1)
 น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งที่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง free = น้ำทิ้งที่มีสาหร่ายเลี้ยงแบบเซลล์อิสระ;
 น้ำทิ้ง Im = น้ำทิ้งที่มีสาหร่ายเลี้ยงแบบเซลล์ตรึง

เมื่อพิจารณาปริมาณธาตุอาหาร $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ก่อนและหลังการบำบัดด้วยสาหร่าย พบว่า ปริมาณ $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ มีค่าลดลงเช่นกันแต่ลดลงน้อยกว่าปริมาณธาตุอาหาร $\text{NH}_4^+\text{-N}$ โดยออร์โทฟอสเฟตมีปริมาณลดลงมากที่สุดในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ (14.81%) รองลงมา คือ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบอิสระ (12.96%) และน้ำทิ้งที่ให้อากาศ (7.41%) ตามลำดับ (ภาพ 14)



ภาพ 14 ปริมาณธาตุอาหาร $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 1)
 น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งที่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง free = น้ำทิ้งที่มีสาหร่ายเลี้ยงแบบเซลล์อิสระ;
 น้ำทิ้ง Im = น้ำทิ้งที่มีสาหร่ายเลี้ยงแบบเซลล์ตรึง

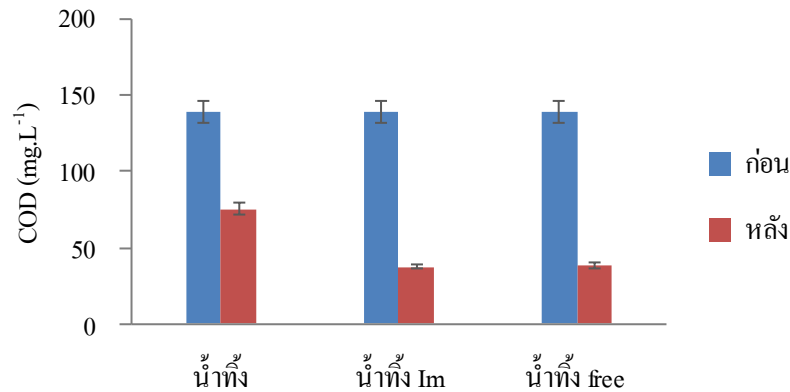
ประสิทธิภาพของสาหร่ายในการบำบัดน้ำทิ้งดีที่สุด คือ การลดปริมาณธาตุอาหาร NO_3^- -N พบว่ามีปริมาณธาตุอาหาร NO_3^- -N ที่สามารถตรวจวัดได้แค่การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเซลล์อิสระซึ่งธาตุอาหาร NO_3^- -N มีปริมาณลดลง 13.33% ในขณะที่ยากกลับไม่สามารถตรวจวัดปริมาณ NO_3^- -N (100%) ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์และน้ำทิ้งที่ให้อากาศ (ภาพ 15)



ภาพ 15 ปริมาณธาตุอาหาร NO_3^- -N ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 1)
 น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งที่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง free = น้ำทิ้งที่มีสาหร่ายเลี้ยงแบบเซลล์อิสระ;
 น้ำทิ้ง Im = น้ำทิ้งที่มีสาหร่ายเลี้ยงแบบเซลล์ตรึง

4.2.5 ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีช่วยลดสลายสารอินทรีย์

จากการวิเคราะห์ข้างต้น จะเห็นได้ว่าสาหร่ายขนาดเล็กมีความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้ง ช่วยลดปริมาณธาตุอาหารต่าง ๆ และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ที่ลดลงโดยวิเคราะห์ค่า COD ในน้ำทิ้งแต่ละการทดลอง พบว่าปริมาณค่า COD ลดลงมากเมื่อเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้ง โดยเฉพาะเมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งสามารถลดค่า COD ได้มากที่สุด 72.82% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการเลี้ยงสาหร่ายแบบเซลล์อิสระ โดยสามารถลดค่า COD ได้ 72.73% สำหรับการทดลองที่นำน้ำทิ้งมาให้อากาศค่า COD ก็มีปริมาณลดลง 45.83% (ภาพ 16) จะเห็นได้ว่าสาหร่ายช่วยลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งได้มากกว่าน้ำทิ้งให้อากาศ



ภาพ 16 ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 1) น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งที่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง free = น้ำทิ้งที่มีสาหร่ายเลี้ยงแบบเซลล์อิสระ; น้ำทิ้ง Im = น้ำทิ้งที่มีสาหร่ายเลี้ยงแบบเซลล์ตรึง

4.3 เปรียบเทียบคุณภาพน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) และน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ครั้งที่ 2

จากการทดลองครั้งที่ 1 พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งแบบให้อากาศ มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งมากที่สุด การทดลองนี้จึงทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งสภาวะให้อากาศและไม่ให้อากาศอีกครั้ง เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) โดยเก็บตัวอย่างน้ำในวันที่ 22 เมษายน 2561 พบว่าแหล่งน้ำทิ้ง 2 แหล่ง ยังคงมีสีและกลิ่นคล้าย ๆ กับการเก็บตัวอย่างน้ำเมื่อครั้งแรก และมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการใกล้เคียงกัน (ตาราง 2) และค่าออกซิเจนละลายน้ำในแหล่งน้ำทิ้งยังคงเป็น 0 mg.L⁻¹ ในขณะเดียวกันค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ *a* เท่ากับ 0 mg.L⁻¹ เช่นกัน แตกต่างจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ ซึ่งมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับปริมาณคลอโรฟิลล์ *a* ที่เพิ่มขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามแหล่งน้ำทิ้งยังคงพบธาตุอาหารไนโตรเจนในโตรเจนที่สูงถึงแม้ปริมาณออร์โธฟอสเฟตจะลดลงไป ทั้งนี้แหล่งน้ำธรรมชาติยังพบปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปริมาณมาก ทั้งนี้อาจเนื่องจากช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างสาหร่ายเป็นช่วงฤดูร้อน แหล่งน้ำมักมีปริมาณน้อยกว่าปกติ ทำให้ธาตุอาหารมีความเข้มข้นสูงขึ้น

ตาราง 2 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ และแหล่งน้ำทิ้งจาก
โรงอาหาร องค์การนักศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) (22 เมษายน 2561)

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี	แหล่งน้ำธรรมชาติวัดอุโมงค์	แหล่งน้ำทิ้ง (อมช.)
สี	เขียว	น้ำตาล
กลิ่น	คาวปลา	เหม็น
Water temperature (°C)	25	25
pH	7.33±0.11 ^a	6.40±0.44 ^b
Conductivity (µs.cm ⁻¹)	260±0.05 ^a	296±0.12 ^b
DO (mg.L ⁻¹)	14.47±0.58 ^a	0 ^b
BOD (mg.L ⁻¹)	2.47±0.13 ^a	13.47±0.58 ^b
COD (mg.L ⁻¹)	-	141.9
NO ₃ ⁻ - N (mg.L ⁻¹)	0.50	5.10
NH ₄ ⁺ - N (mg.L ⁻¹)	1.13	0.38
PO ₄ ³⁻ - P (mg.L ⁻¹)	0.11	0.09
Chlorophyll <i>a</i> (mg.L ⁻¹)	224	0

หมายเหตุ ตัวอักษรยก a b หมายถึงตัวอักษรที่มีการเปรียบเทียบทางสถิติภายในชุดทดลอง paired sample test

ประเมินคุณภาพน้ำของแหล่งน้ำทั้ง 2 แหล่งโดยใช้ลำดับคะแนนอย่างง่าย AARL-PC Score โดยใช้ 7 parameter (ภาคผนวก ง) หลังจากการประเมินพบว่า แหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ คุณภาพน้ำปานกลางถึงมาก (Mesotrophic-eutrophic status) และแหล่งน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) มีสารอาหารปานกลางถึงมาก (mesotrophic-eutrophic status) ดังนี้

แหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์

ค่า DO	14.47 mg.L ⁻¹
ค่า BOD	2.47 mg.L ⁻¹
ค่าการนำไฟฟ้า	260 µs.cm ⁻¹
ปริมาณไนเตรดไนโตรเจน	0.5 mg.L ⁻¹
ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน	1.13 mg.L ⁻¹
ปริมาณออร์โธฟอสเฟต	0.11 mg.L ⁻¹
ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	224 mg.L ⁻¹

เมื่อนำค่าจากพารามิเตอร์ต่าง ๆ มาเปรียบเทียบกับคะแนนมาตรฐานที่จัดทำขึ้นจะได้ดังนี้

คะแนนค่า DO	= 0.1
คะแนนค่า BOD	= 0.4
คะแนนค่าการนำไฟฟ้า	= 0.9
คะแนนปริมาณไนเตรตไนโตรเจน	= 0.4
คะแนนปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน	= 0.9
คะแนนปริมาณออร์โทฟอสเฟต	= 0.4
คะแนนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	= 0.8
รวมคะแนนมาตรฐานทั้งหมด	<u>3.9</u>

ดังนั้นคุณภาพน้ำสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติวัดคูมอ้งค์ เชียงใหม่ จะอยู่ในช่วง 3.9-4.7 นั้น
คือ มีสารอาหารปานกลางถึงมาก (mesotrophic-eutrophic status)

แหล่งน้ำที่จากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.)

ค่า DO	0 mg.L ⁻¹
ค่า BOD	13.47 mg.L ⁻¹
ค่าการนำไฟฟ้า	296 μ s.cm ⁻¹
ปริมาณไนเตรตไนโตรเจน	5.1 mg.L ⁻¹
ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน	0.38 mg.L ⁻¹
ปริมาณออร์โทฟอสเฟต	0.09 mg.L ⁻¹
ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	0 mg.L ⁻¹

เมื่อนำค่าจากพารามิเตอร์ต่าง ๆ มาเปรียบเทียบกับคะแนนมาตรฐานที่จัดทำขึ้น จะได้ดังนี้

คะแนนค่า DO	= 1.0
คะแนนค่า BOD	= 0.8
คะแนนค่าการนำไฟฟ้า	= 0.9
คะแนนปริมาณไนเตรตไนโตรเจน	= 0.7
คะแนนปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน	= 0.6
คะแนนปริมาณออร์โทฟอสเฟต	= 0.4
คะแนนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	= 0.1
รวมคะแนนมาตรฐานทั้งหมด	<u>4.5</u>

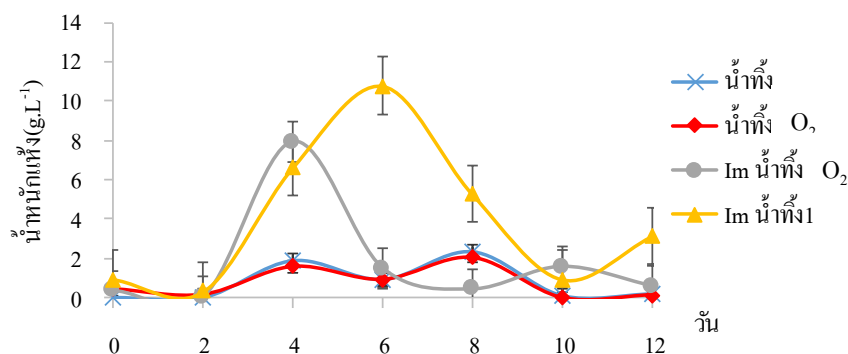
ดังนั้นคุณภาพน้ำที่จากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) จะอยู่ในช่วง 3.9-4.7 นั่น คือ มีสารอาหารปานกลางถึงมาก (mesotrophic-eutrophic status)

4.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการบำบัดน้ำเสีย

การทดลอง 2 เปรียบเทียบการเจริญและการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายขนาดเล็กในเมื่อดตรึงในสถานะให้และไม่ให้อากาศ โดยทำการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ แบ่งชุดการทดลองได้ 4 ชุด ดังนี้- น้ำทิ้งให้อากาศทางสายยาง -น้ำทิ้งไม่ให้อากาศทางสายยาง-น้ำทิ้งที่มีเมื่อดตรึงสาหร่ายให้อากาศทางสายยาง - น้ำทิ้งที่มีเมื่อดตรึงสาหร่ายไม่ให้อากาศทางสายยาง

4.4.1 ผลผลิตชีวมวล

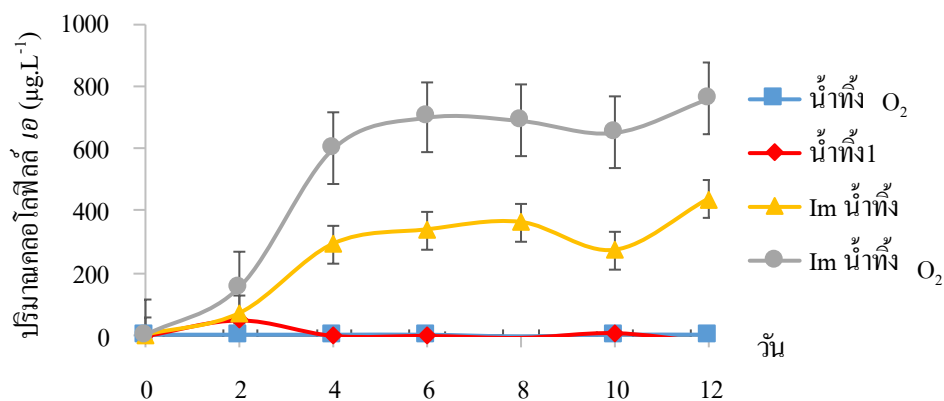
เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งสถานะต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 วัน เก็บผลผลิตชีวมวลทุก 2 วัน พบว่า วันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง สาหร่ายแบบตรึงเซลล์ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งแบบให้อากาศ มีผลผลิตชีวมวลสูงที่สุด (7.93 g.L^{-1}) แต่เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งแบบไม่ให้อากาศกลับมีชีวมวลที่สูงกว่า เท่ากับ (10.80 g.L^{-1}) หลังจากนั้นปริมาณชีวมวลก็มีปริมาณลดลงทั้ง 2 การทดลอง อย่างไรก็ตามในน้ำทิ้งปกติที่ให้อากาศแล้วไม่ให้อากาศอาจจะมีผลกระทบของสาหร่าย ซึ่งสามารถเจริญได้ในน้ำทิ้งโดยธรรมชาติ แต่พบการเจริญในอัตราที่ไม่แน่นอน โดยจะเห็นได้จากกราฟที่แสดง (ภาพ 17)



ภาพ 17 น้ำหนักแห้ง (g.L^{-1}) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสถานะต่างๆ (การทดลอง 2) น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งไม่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งที่มีเมื่อดตรึงสาหร่ายให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง 1 = น้ำทิ้งที่มีเมื่อดตรึงสาหร่ายไม่ให้อากาศทางสายยาง

4.4.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

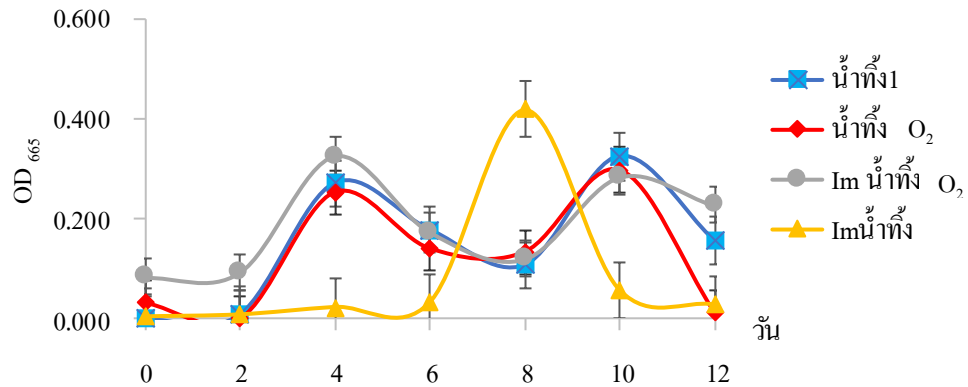
นำผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายแต่ละการทดลอง มาวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเก็บผลทุก 2 วัน เป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่วิเคราะห์ได้ มีค่าไปในทิศทางเดียวกับผลผลิตชีวมวลในช่วงแรก ๆ โดยปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เริ่มคงที่ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งที่ให้อากาศมีค่าคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุด (701.25 mg.L^{-1}) และเพิ่มขึ้นมาที่สูงสุดในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง (760.75 mg.L^{-1}) ในขณะที่สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งที่ไม่ให้อากาศยังคงมีปริมาณของคลอโรฟิลล์ เอ ร่องลงมา (435.95 mg.L^{-1}) ส่วนในน้ำทิ้งแบบให้อากาศและไม่ให้อากาศแทบจะไม่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (ภาพ 18)



ภาพ 18 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ($\mu\text{g.L}^{-1}$) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่าง ๆ (การทดลอง 2) น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งไม่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งที่มีเม็ดตรึงสาหร่ายให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง 1 = น้ำทิ้งที่มีเม็ดตรึงสาหร่ายไม่ให้อากาศทางสายยาง

4.4.3 การวัดปริมาณค่าดูดกลืนแสง

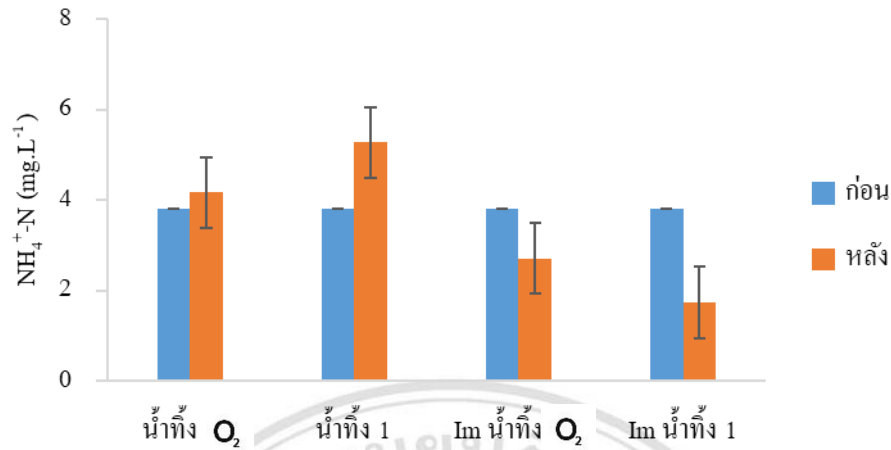
เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงของสาหร่ายแต่ละการทดลองด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ความยาวคลื่น 665 นาโนเมตร (OD_{665}) เพื่อติดตามการเจริญของสาหร่ายในสภาวะการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ พบว่า สาหร่ายแบบตรึงเซลล์ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งแบบให้อากาศอ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 665 nm มากที่สุดในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง (0.327) หลังจากนั้นอัตราการเจริญก็ลดลงและกลับมาเพิ่มขึ้นในวันที่ 12 อย่างไรก็ตามสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ที่ไม่ให้อากาศมีอัตราการเจริญที่ช้ากว่าโดยมีค่า OD_{665} การดูดกลืนแสงสูงสุดในวันที่ 8 (0.420) และหลังจากนั้นอัตราการเจริญก็ลดลง (ภาพ 19)



ภาพ 19 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (mg.L^{-1}) ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสถานะต่างๆ (การทดลอง 2)
 น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งไม่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง
 O₂ = น้ำทิ้งที่มีเม็ดครึ่งสาหร่ายให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง 1 = น้ำทิ้งที่มีเม็ดครึ่ง
 สาหร่ายไม่ให้อากาศทางสายยาง

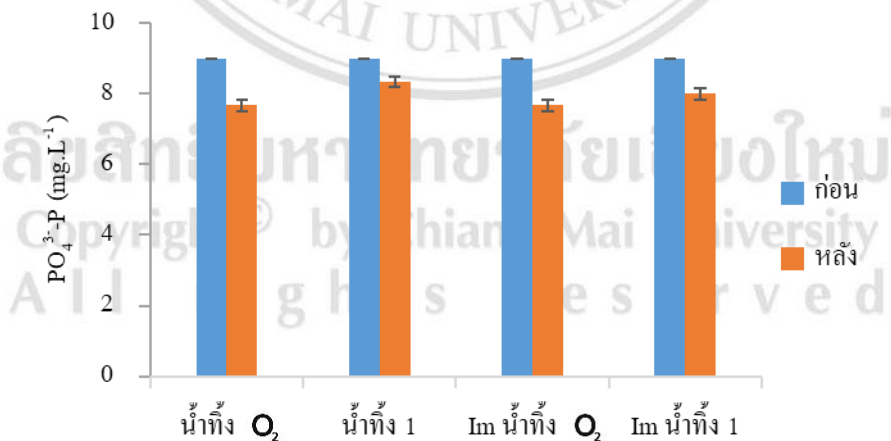
4.4.4 ปริมาณธาตุอาหารก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้ง

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง จึงประเมินประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์กรนักศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ โดยพิจารณาอิทธิพลของการให้และไม่ให้อากาศ พบว่าสาหร่ายแบบครึ่งเซลล์ที่เพาะเลี้ยงมีความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้งทั้งที่ให้อากาศและไม่ให้อากาศ ซึ่งจะเห็นได้จากปริมาณธาตุอาหารทั้ง 3 ชนิดลดลง ประกอบด้วย ไนโตรเจนในไตรเจน แอมโมเนียมไนโตรเจน และออร์โธฟอสเฟต ซึ่งพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบครึ่งเซลล์ในน้ำทิ้งแบบไม่ให้อากาศมีปริมาณ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ลดลงมากที่สุด (54.39%) และเมื่อให้ออกซิเจนพบว่าสาหร่ายสามารถลดปริมาณ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ได้ (28.95%) แต่อย่างไรก็ตามในน้ำทิ้งที่ให้อากาศและไม่ให้อากาศกลับพบปริมาณ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ เพิ่มขึ้น (ภาพ 20)



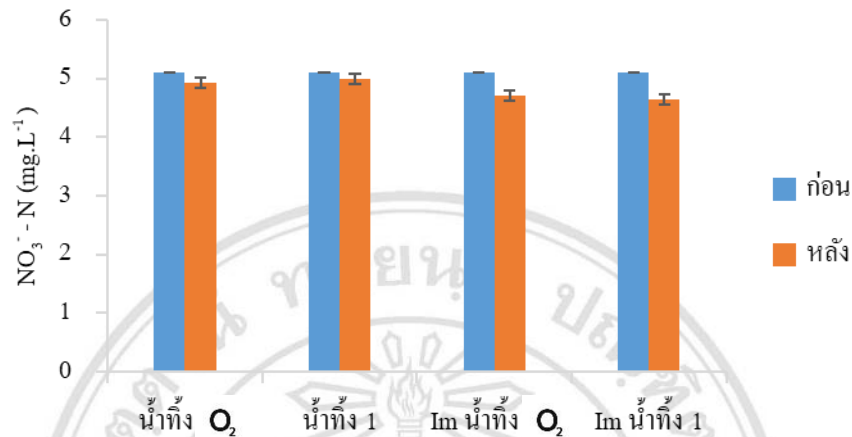
ภาพ 20 ปริมาณธาตุอาหาร $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 2)
 น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งไม่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง
 O₂ = น้ำทิ้งที่มีเม็ดครึ่งสาหร่ายให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง 1 = น้ำทิ้งที่มีเม็ดครึ่ง
 สาหร่ายไม่ให้อากาศทางสายยาง

เมื่อพิจารณาปริมาณธาตุอาหาร $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ พบว่าปริมาณลดลงไม่มาก ซึ่งสาหร่ายช่วยลดปริมาณ
 ออร์โธฟอสเฟตได้ถึงแม้จะไม่มากเท่ากับการให้อากาศกับน้ำทิ้งเฉย ๆ อย่างไรก็ตามเมื่อให้อากาศกับ
 การเพาะเลี้ยงจะทำให้สาหร่ายมีประสิทธิภาพในการกำจัด $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ เพิ่มขึ้น โดยสามารถลดได้ถึง
 14.81% และเมื่อไม่ให้อากาศสาหร่ายช่วยลดปริมาณ $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ เท่ากับ 11.11% (ภาพ 21)



ภาพ 21 ปริมาณธาตุอาหาร $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 2)
 น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งไม่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง
 O₂ = น้ำทิ้งที่มีเม็ดครึ่งสาหร่ายให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง 1 = น้ำทิ้งที่มีเม็ดครึ่ง
 สาหร่ายไม่ให้อากาศทางสายยาง

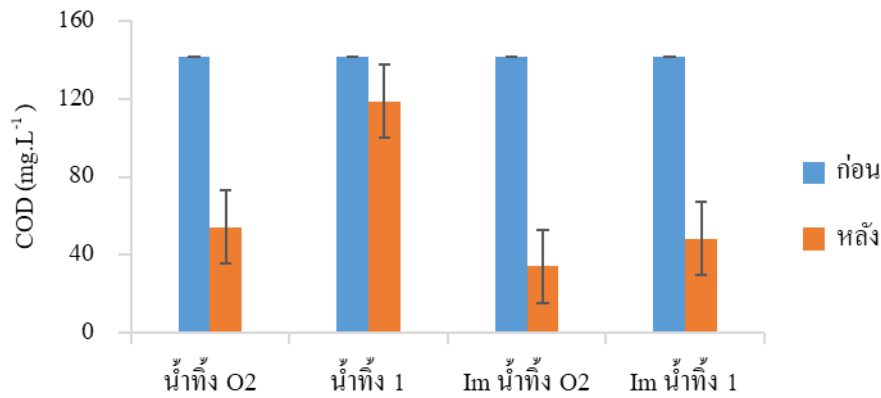
ปริมาณธาตุอาหาร NO_3^- -N ก่อนและหลังการบำบัดด้วยสาหร่าย มีค่าไม่ต่างกันมากนัก โดยสาหร่ายช่วยลดปริมาณไนเตรตในโตรเจนมากกว่าเมื่อไม่ให้อากาศ คือ 9.15% และเมื่อให้อากาศสาหร่ายช่วยลดปริมาณไนเตรตในโตรเจนได้ 7.84% (ภาพ 22)



ภาพ 22 ปริมาณธาตุอาหาร NO_3^- -N ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วยสาหร่าย (การทดลอง 2)
 น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งไม่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งที่มีเม็ดตรึงสาหร่ายให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง 1 = น้ำทิ้งที่มีเม็ดตรึงสาหร่ายไม่ให้อากาศทางสายยาง

4.4.5 ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งแบบให้อากาศและไม่ให้อากาศนั้นสามารถกำจัดธาตุอาหารได้ไม่มากนัก แต่จะช่วยลดปริมาณ NH_4^+ -N ได้มากกว่าธาตุอาหารอื่น ดังนั้นค่า COD ซึ่งบ่งบอกปริมาณสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำซึ่งถูกย่อยด้วยสารเคมี ผลการวิเคราะห์ปริมาณ COD พบว่าสาหร่ายมีความสามารถในการลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำเป็นอย่างดี เมื่อให้อากาศกับสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งค่า COD ลดลงจากค่าเริ่มต้นได้ 75.95% ซึ่งผลไม่ต่างกันมากเมื่อไม่ให้อากาศกับสาหร่ายปริมาณ COD ยังมีค่าลดลง 66.06% อย่างไรก็ตามการให้อากาศกับน้ำเสียก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำลดลง อาจด้วยการทำงานของแบคทีเรียในน้ำเสียเองก็ได้ (ภาพ 23)



ภาพ 23 ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งด้วย
สาหร่าย (การทดลอง 2) น้ำทิ้ง = น้ำทิ้งไม่ให้อากาศทางสายยาง; น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งให้อากาศ
ทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง O₂ = น้ำทิ้งที่มีเม็ดตรึงสาหร่ายให้อากาศทางสายยาง; Im น้ำทิ้ง 1 =
น้ำทิ้งที่มีเม็ดตรึงสาหร่ายไม่ให้อากาศทางสายยาง

4.5 สาหร่ายที่พบก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้ง

4.5.1 สาหร่ายที่พบก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งจากการทดลอง 1

นำหัวเชื้อสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ มาเพาะเลี้ยงแบบตรึงเซลล์และแบบอิสระ โดยเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) และอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะให้และไม่ให้อากาศ นำตัวอย่างสาหร่ายมาตรวจนับและจัดจำแนกชนิด ก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งเพื่อศึกษาชนิดของสาหร่ายที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้ง พบว่า หัวเชื้อสาหร่ายก่อนการบำบัดมีความหลากหลายมากกว่าหลังการบำบัดน้ำทิ้ง (ตาราง 3) หัวเชื้อสาหร่ายก่อนการเพาะเลี้ยง สามารถจัดจำแนกได้ทั้งหมด 16 สายพันธุ์ ส่วนใหญ่อยู่ใน Division Chlorophyta (7 สายพันธุ์) และ Division Cyanophyta (6 สายพันธุ์) นอกจากนี้ยังพบสาหร่ายใน Division Euglenophyta (2 สายพันธุ์) และ Division Bacillariophyta (1 สายพันธุ์) หลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยน้ำทิ้ง ทำการตรวจนับและจัดจำแนกสาหร่ายอีกครั้งพบว่า มีสาหร่ายแค่บางสายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ในน้ำทิ้ง ได้แก่ สาหร่ายใน Division Cyanophyta (6 สายพันธุ์) และ Division Chlorophyta (4 สายพันธุ์) ซึ่งสาหร่ายชนิดเด่นในการทดลอง 1 ที่สามารถเจริญได้ดีที่สุดในน้ำทิ้ง คือ สาหร่าย *Chlorella* sp. (ภาพ 24ก) และเจริญได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบแบบตรึงเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่าย *Cylindrospermopsis* sp. (ภาพ 24ข) และ *Microcystis* sp. (ภาพ 24ค) มีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงแบบเซลล์อิสระในน้ำทิ้งอีกด้วย

ตาราง 3 ความหลากหลายของสาหร่ายที่พบก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้ง (การทดลอง 1)

ก่อนการเพาะเลี้ยง		หลังการเพาะเลี้ยง	
ชนิดของสาหร่าย	ความมากน้อย	ชนิดของสาหร่าย	ความมากน้อย
<u>Division Bacillariophyta</u>		<u>Division Chlorophyta</u>	
<i>Aulacoseira</i> sp.	+	<i>Chlorella</i> sp.	+++++
<u>Division Chlorophyta</u>		<i>Coelastrum astroideum</i>	++
<i>Acutodesmus obliquus</i>	++	<i>Micractinium</i> sp.	+
<i>Actinastrum</i> sp.	+	<i>Staurastrum</i> sp.	+
<i>Chlorella</i> sp.	+++++	<u>Division Cyanophyta</u>	
<i>Closterium</i> sp.	+	<i>Aphanocapsa</i> sp.	+
<i>Coelastrum astroideum</i>	++	<i>Arthrospira</i> sp.	+
<i>Micractinium</i> sp.	++	<i>Cylindrospermopsis</i> sp.	++++
<i>Pediastrum duplex</i>	+	<i>Merismopedia</i> sp.	+
<u>Division Cyanophyta</u>		<i>Microcystis</i> sp.	+++
<i>Arthrospira</i> sp.	++	<i>Planktolyngbya</i> sp.	++
<i>Aphanocapsa</i> sp.	+		
<i>Cylindrospermopsis</i> sp.	++		
<i>Microcystis</i> sp.	++		
<i>Planktolyngbya</i> sp.	++		
<i>Planktothrix</i> sp.	++		
<u>Division Euglenophyta</u>			
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	++		
<i>Euglena agilis</i>	++		



ภาพ 24 สาหร่ายชนิดเด่นหลังการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์กรนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) (ก) *Chlorella* sp. (ข) *Cylindrospermopsis* sp. (ค) *Microcystis* sp. (scale bare = 10 μ m)

4.5.2 สาหร่ายที่พบก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งจากการทดลอง 2

นำหัวเชื้อสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ มาเพาะเลี้ยงแบบตรงเซลล์ในน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ในสถานะให้และไม่ให้ออกซิเจนอีกครั้ง หลังจากนั้นนำตัวอย่างสาหร่ายมาตรวจนับและจัดจำแนกชนิดก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้ง เพื่อศึกษาชนิดของสาหร่ายที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้ง พบว่าหัวเชื้อสาหร่ายที่เก็บมามีความหลากหลายน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงจากการทดลอง 1 ข้างต้น ซึ่งหัวเชื้อสาหร่ายก่อนการเพาะเลี้ยงในการทดลอง 2 ประกอบด้วยสาหร่ายในทั้ง 7 สายพันธุ์ ได้แก่สาหร่ายใน Division Chlorophyta (3 สายพันธุ์) Division Cyanophyta (3 สายพันธุ์) และ Division Euglenophyta (1 สายพันธุ์) (ตาราง 4) เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยน้ำทิ้งพบว่าสาหร่ายมีความหลากหลายลดลงเหลือแค่ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สาหร่ายใน Division Chlorophyta (3 สายพันธุ์) และ Division Cyanophyta (2 สายพันธุ์) อย่างไรก็ตามการทดลองนี้สาหร่าย *Chlorella* sp. (ภาพ 24ก) ยังเป็นสาหร่ายชนิดเด่นซึ่งสามารถเจริญได้ดีที่สุดในน้ำทิ้ง

ตาราง 4 ความหลากหลายของสาหร่ายที่พบก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้ง (การทดลอง 2)

ก่อนการเพาะเลี้ยง		หลังการเพาะเลี้ยง	
ชนิดของสาหร่าย	ความมากน้อย	ชนิดของสาหร่าย	ความมากน้อย
Division Chlorophyta		Division Chlorophyta	
<i>Chlorella</i> sp.	+++	<i>Chlorella</i> sp.	+++
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	+	<i>Dictyosphaerium</i> sp.	+
<i>Micractinium</i> sp.	+	<i>Micractinium</i> sp.	+
Division Cyanophyta		Division Cyanophyta	
<i>Cylindrospermopsis</i> sp.	+++	<i>Cylindrospermopsis</i> sp.	+
<i>Dolichospermum</i> sp.	+	<i>Microcystis</i> sp.	+
<i>Microcystis</i> sp.	+		
Division Euglenophyta			
<i>Euglena</i> sp.	+		

นำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้จัดทำหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ (E-book) เรื่อง การใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย และนำไปเผยแพร่ให้ความรู้แก่นักเรียนมัธยมศึกษาตอนปลายแล้วพบว่า นักเรียนประเมินสื่อการสอนดังกล่าวอยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ ดังตาราง 5

ตาราง 5 ผลคะแนนการประเมินแบบสอบถาม ความพึงพอใจ สื่อการสอนในรูปแบบแบบ E-book เรื่อง การใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย

ลำดับที่	รายการประเมิน	จำนวนผู้ตอบ	ร้อยละ
1	เร้าความสนใจ ให้เกิดการใฝ่รู้ ในเรื่องราวที่ต้องศึกษา	28	93.33
2	มีการบูรณาการ หรือหลีกเลี่ยงการเสนอข้อปลีกย่อยที่ปราศจากบูรณาการ	16	53.33
3	ทำให้ผู้เรียนเปรียบเทียบสิ่งเก่า/ สิ่งใหม่ได้	26	86.67
4	ส่งเสริมให้เกิดการนำตนเอง สอนตนเอง และทดสอบตนเองได้	23	76.67
5	เหมาะสมกับวัย และระดับความยากง่ายของเนื้อหา	27	90
6	ทำให้ประหยัดเวลาแก่ครู กำจัดภาระที่ต้องอธิบาย	21	70
7	เป็นสื่อที่มีการประยุกต์ใช้ได้อย่างเหมาะสม	29	96.67
8	ส่งเสริมปฏิสัมพันธ์เชิงสร้างสรรค์และเป็นการสื่อสาร 2 ทาง (ครู/ผู้เรียน)	28	93.33
9	กระตุ้นความคิด ส่งเสริมการเรียนรู้เชิงแก้ปัญหา	27	90
10	ทำให้เกิดการค้นพบความรู้ด้วยตนเอง	20	66.67
11	ทำให้เกิดการสรุปรวบยอดได้	25	83.33
12	มีความทันสมัย แปลกใหม่แตกต่างไปจากการเรียนปกติ	20	66.67
13	เป็นสื่อที่ส่งเสริมคุณธรรม จริยธรรม ให้แก่ผู้เรียน ไม่ขัดต่อ คุณธรรม และจริยธรรมที่พึงมี พึงปฏิบัติ	26	86.67
14	ส่งเสริมความงอกงามและสร้างบรรยากาศที่ดีทางจิตใจ หรืออารมณ์	24	80
15	พัฒนาความเป็นกันเองและแลกเปลี่ยนความคิดเห็น	29	96.67
16	ไม่เป็นการจำหน่ายสื่อเพื่อค้ากำไรเชิงธุรกิจจากผู้เรียน	30	100
	ระดับคุณภาพ เฉลี่ย ระดับ 3		

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสียจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กที่ถูกเลือกมาใช้สำหรับการทดลองนี้ ควรเป็นสาหร่ายที่สามารถพบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำธรรมชาติ มีความหลากหลายสูง มีอัตราการเจริญสูงในแหล่งน้ำ และสามารถเจริญได้ในแหล่งน้ำที่มีธาตุอาหารหรือมีสารอินทรีย์สูง ดังนั้นแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งเป็นบ่อเลี้ยงปลาภายในบริเวณ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) ต.สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ถึงถูกเลือกเพื่อใช้สำหรับเก็บตัวอย่างสาหร่ายสำหรับเป็นหัวเชื้อสาหร่ายบำบัดน้ำทิ้ง ทั้งนี้บ่อน้ำดังกล่าวพบปลาปริมาณมาก ซึ่งแหล่งน้ำจะได้รับสิ่งปฏิกูลจากปลาเหล่านี้แม้กระทั่งกิจกรรมการให้อาหารปลาโดยนักท่องเที่ยวตลอดทั้งปี ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อน้ำที่มีสีเขียวตลอดทั้งปี

5.1 การเก็บหัวเชื้อสาหร่ายตั้งต้นและคุณภาพน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) และน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.)

เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กพร้อมทั้งตรวจวัดคุณภาพน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ในบริเวณวัดอุโมงค์ และเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) จำนวน 2 ครั้ง เพื่อใช้สำหรับทดลองการบำบัดน้ำทิ้ง 2 ครั้ง ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ครั้งที่ 1 เก็บตัวอย่างน้ำและสาหร่ายเมื่อวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2560 เพื่อใช้สำหรับการทดลอง 1 และเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 วันที่ 22 เมษายน 2561 เพื่อใช้สำหรับการทดลอง 2 ซึ่งหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายขนาดเล็กถูกเก็บจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ พร้อมกันนั้นก็ตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีไปด้วย อันดับแรก คือ ดูลักษณะทั่วไปของน้ำ รวมทั้งสี กลิ่น อุณหภูมิของน้ำ พีเอชค่าการนำกระแสไฟฟ้า ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ บีโอดี ซีโอดี และปริมาณธาตุอาหาร การเก็บตัวอย่างสาหร่ายทำได้โดยการกรองผ่านถุงผ้ากรองแพลงก์ตอน ผู้วิจัยกรองสาหร่ายจนกระทั่งได้ตัวอย่างสาหร่ายที่มีความเข้มข้นเพียงพอต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งการทดลองครั้งนี้กรองน้ำตัวอย่างประมาณ 900 ลิตร

จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำของแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ และแหล่งน้ำทิ้งจากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) พบว่าแหล่งน้ำทั้งสองมีลักษณะทางกายภาพและเคมี

คล้ายคลึงกัน อย่างไรก็ตามแหล่งน้ำธรรมชาติและแหล่งน้ำทิ้งยังมีข้อแตกต่างที่เห็นได้ชัดเจน คือ สี กลิ่น รวมทั้งปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยแหล่งน้ำธรรมชาตินั้นมีปริมาณออกซิเจนที่สูงกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเจริญของสาหร่ายในแหล่งน้ำที่จะช่วยเพิ่มปริมาณออกซิเจนซึ่งได้รับจาก กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง แต่เมื่อพิจารณาถึงบ่อน้ำทิ้งที่เราไม่สามารถตรวจพบปริมาณออกซิเจน ได้ทั้งที่มีการเจริญของสาหร่ายบริเวณผิวน้ำ อาจเนื่องจากระดับความลึกของการเก็บตัวอย่างน้ำซึ่ง ต้องเก็บให้ลึกกว่าระดับผิวน้ำประมาณ 30 เซนติเมตร อีกทั้งในบ่อน้ำทิ้งมีสภาพแวดล้อมที่ไม่ เหมาะสมกับการเจริญของสาหร่ายอีกด้วยหากพิจารณาองค์ประกอบของธาตุอาหารที่ละลายในน้ำ พบความแตกต่างอย่างชัดเจนในทั้งสองแหล่งน้ำ โดยแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งเป็นบ่อเลี้ยงปลาสามารถ ตรวจพบปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนสูงเนื่องมาจากกิจกรรมการให้อาหารปลาและสิ่งปฏิกูลของ สัตว์น้ำ หรือซากของสัตว์น้ำที่ตาย ในขณะที่บ่อน้ำทิ้งซึ่งรับน้ำเสียและสารชำระล้างต่างๆ มา จากโรงอาหาร จึงทำให้พบปริมาณออร์โธฟอสเฟตสูง แม้ว่าปริมาณออร์โธฟอสเฟตจะขึ้นอยู่กับ กิจกรรมการชำระล้าง แต่หากเก็บตัวอย่างน้ำในช่วงฤดูฝนมักจะพบสารอาหารดังกล่าวน้อยเนื่องจาก การเจือจางด้วยน้ำฝน นอกจากนี้ยังพบปริมาณไนเตรตไนโตรเจนค่อนข้างสูง เนื่องจากบ่อน้ำทิ้งได้รับ น้ำเสียในช่วงระยะเวลาานาน จึงทำให้เกิดการสะสมธาตุอาหารไนโตรเจนรูปนี้มาก

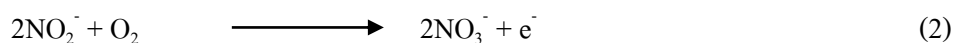
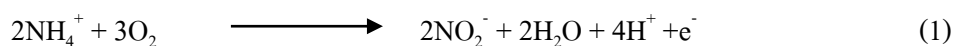
ประเมินคุณภาพน้ำของแหล่งน้ำทั้งสองแหล่งโดยใช้แบบประเมินของ AARL-PC score พบว่า แหล่งน้ำธรรมชาติมีสารอาหารน้อยถึงปานกลาง จัดอยู่ในระดับ oligotrophic-mesotrophic status ซึ่งมีคุณภาพน้ำดีกว่าเมื่อเทียบกับแหล่งน้ำทิ้งที่มีสารอาหารปานกลางถึงมาก จัดอยู่ในระดับ mesotrophic-eutrophic status เพราะบ่อน้ำทิ้งได้รับของเสียจากการทิ้งเศษอาหารและสารเคมีจากการ ล้างภาชนะ จึงทำให้มีปริมาณสารอินทรีย์ รวมทั้งสารอินทรีย์สูงกว่าแหล่งน้ำธรรมชาติ (Lee and Lee, 2001; Voltolina *et al.*, 2005) อย่างไรก็ตามน้ำทิ้งที่ใช้สำหรับการศึกษารังนี้ไม่ได้เน่าเสียมาก เนื่องจากเป็นบ่อที่ใช้ดักไขมัน ซึ่งในช่วงเย็นของทุกๆวันจะมีเจ้าหน้าที่มาคอยเก็บเศษอาหารและสิ่ง เน่าเสียอื่นๆ ออกจากบ่อน้ำทิ้ง

5.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.)

ในชุดการทดลอง 1 เปรียบเทียบการเจริญและการบำบัดน้ำเสียของสาหร่ายที่ได้จากแหล่งน้ำ ธรรมชาติแบบเซลล์อิสระและแบบตรึงเซลล์ด้วยแอลจินต โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร JM และน้ำทิ้ง ใน สภาพะให้อากาศ ซึ่งแบ่งชุดการทดลองได้ 5 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม (น้ำเสีย) - สาหร่ายแบบ เซลล์อิสระในอาหาร JM- สาหร่ายแบบเซลล์อิสระในน้ำทิ้ง - สาหร่ายแบบเซลล์ตรึงในอาหาร JM- สาหร่ายแบบเซลล์ตรึงในน้ำทิ้งพบว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบตรึงเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยง JM

และน้ำทิ้ง มีปริมาณชีวมวลและค่าการเจริญสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์อิสระ ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่ได้จากการวิเคราะห์ให้ผลค่อนข้างขัดแย้งกับชีวมวลที่ได้ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากตะกอนขนาดเล็กของน้ำทิ้ง จึงทำให้ปริมาณชีวมวลที่ได้มีความคลาดเคลื่อน อย่างไรก็ตามการวัดการเจริญโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงอาจจะไม่เหมาะสมกับการทดลองครั้งนี้ เนื่องจากน้ำทิ้งมีความขุ่นจากตะกอนสารอินทรีย์มาก ซึ่งเป็นตัวรบกวนการวัดค่าดูดกลืนแสง

เมื่อเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์และเซลล์อิสระ พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้งสองแบบสามารถลดปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งได้ แต่การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์มีประสิทธิภาพในการลดสารอาหารได้ดี ทั้งนี้ อาจเนื่องจากการตรึงเซลล์ มีส่วนเพิ่มพื้นที่ในการยึดสาหร่ายไม่ให้เคลื่อนที่ และ สารอาหารยังสามารถซึมผ่านแอลจินเตได้เป็นอย่างดี (de-Bushan and Bashan, 2010) จากการวิจัยของ (Nargeset *al.*, 2012) ทำการทดลองตรึงแอลจินเตแบบเดี่ยวไม่ตรึงกับสาหร่าย พบว่าแอลจินเตไม่มีส่วนช่วยในการดูดซับสารอาหารซึ่งสาหร่ายในน้ำทิ้งนั้นจะให้ออกซิเจนในการลดสารอาหาร แต่การเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีการตรึงเซลล์ มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารอาหารได้สูงกว่า โดยสามารถลดปริมาณแอมโมเนียและออร์โทฟอสเฟตได้ในระดับหนึ่ง จากการที่ค่าแอมโมเนียลดลงเนื่องมาจากผลในกระบวนการไนตริฟิเคชัน (nitrification) เกิดขึ้นใน 2 ขั้นตอน คือ จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ออกซิไดซ์แอมโมเนียไปเป็นไนไตรท์ (ammonia oxidation) จากการทำงานของแอมโมเนียออกซิไดซิงแบคทีเรีย (ammonia oxidizing bacteria, AOB) ดังสมการ (1) และ จุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่ทำหน้าที่ออกซิไดซ์ไนไตรท์ไปเป็นไนเตรท (nitrite oxidation) โดยการทำงานของไนไตรท์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย (nitrite oxidizing bacteria, NOB) ดังแสดงในสมการ (2) สถานะนี้ไม่ต้องใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนแต่ต้องมีการเติมอากาศให้แก่ระบบบำบัดน้ำเสีย (Cham, 2003)



อีกทั้งในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ยังสามารถลดปริมาณสารอาหารประเภทไนเตรตไนโตรเจนได้ 100% ในขณะที่เซลล์อิสระลดปริมาณไนเตรตไนโตรเจนเพียง 13.33% อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำด้วยค่า COD พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 2 แบบ ทำให้ค่า COD ลดลงได้มากกว่า 72% อีกทั้งยังมีงานวิจัยศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่ายกำจัดสีและซีโอดีในน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสีย แบบตะกอนเร่งของโรงงานผลิตสุราที่ใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ โดยใช้สาหร่าย *Chlorella saccharophila* และ *Chlorella vulgaris* ประสิทธิภาพ การกำจัดสีของ

สาหร่าย *Chlorella saccharophila* และ *Chlorella vulgaris* เท่ากับ 21.2 และ 17.2% ตามลำดับ ส่วนการกำจัด COD นั้นเท่ากับ 9 และ 17.37% ตามลำดับ (จีนจิตร, 2542) จากผลการทดลองครั้งที่ 1 พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งแบบให้อากาศ มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งมากที่สุด

การทดลอง 2 จึงทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งในสภาวะให้อากาศและไม่ให้อากาศอีกครั้งเพื่อเปรียบเทียบผลของการให้อากาศต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหาร องค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ด้วยหัวเชื้อสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ พบว่า ปริมาณชีวมวลของสาหร่ายและค่าการเจริญที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงให้ผลไม่ชัดเจน อาจเนื่องมาจากความขุ่นของน้ำทิ้งที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง เช่นเดียวกับการทดลอง 1 แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สามารถบ่งชี้การเจริญของสาหร่ายได้ โดยพบปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ มากที่สุดจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศ ซึ่งการให้อากาศจะช่วยเพิ่มออกซิเจนและการกระจายตัวเพื่อรับแสงของสาหร่าย อีกทั้งยังช่วยให้สารอาหารละลายได้ดีขึ้น (ยูวดี, 2546) หากพิจารณาผลของปริมาณสารอาหารต่างๆ พบว่าการทดลองนี้สาหร่ายสามารถลดปริมาณสารอาหารได้ในปริมาณน้อย ทั้งนี้ อาจเนื่องจากปริมาณหัวเชื้อสาหร่ายตั้งต้นมีหนาแน่นน้อย ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจึงลดลงด้วย ผู้วิจัยจึงใช้ค่า COD ในการพิจารณาประสิทธิภาพของสาหร่ายในการบำบัดน้ำทิ้ง พบว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงทั้งสองแบบสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งได้ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทั้งการเพาะเลี้ยงแบบให้และไม่ให้อากาศ จะเห็นได้ว่าการทดลองนี้การให้อากาศกับน้ำทิ้งโดยที่ไม่มีสาหร่ายก็สามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ได้ อาจจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการบำบัดน้ำทิ้งโดยไม่ใช้สาหร่าย

5.3 การจัดจำแนกชนิดและการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก

นำหัวเชื้อสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ วัดอุโมงค์ มาตรวจนับและจัดจำแนกชนิดก่อนและหลังการบำบัดน้ำทิ้งเพื่อศึกษาชนิดของสาหร่ายที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งพบว่าหัวเชื้อสาหร่ายก่อนการบำบัดทั้ง 2 ครั้งที่เก็บมา สาหร่ายที่พบส่วนใหญ่ถูกจัดจำแนกอยู่ใน Division Chlorophyta ซึ่งสามารถเจริญได้ทั่วไปแทบทุกหนทุกแห่ง เจริญได้ทั้งน้ำตื้น ๆ หรือน้ำลึกที่แสงส่องถึง และมีอากาศถ่ายเทได้สะดวก (ยูวดี, 2549) และ Division Cyanophyta ซึ่งสามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมหลากหลาย เช่น สภาวะแห้งแล้ง ที่พืชอื่นไม่สามารถเจริญได้ หรือในสภาพที่เป็นน้ำทั่วไป สาหร่ายชนิดนี้ก็เจริญได้ในน้ำที่มีสภาพที่เป็นกลาง หรือด่างเล็กน้อย (กาญจนภาชน์, 2527) โดยมีสาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นสายพันธุ์ที่พบในปริมาณมากที่สุด รองลงมา คือสาหร่าย *Microcystis* sp. และ *Cylindrospermopsis* sp. อย่างไรก็ตามยังพบสาหร่ายสายพันธุ์อื่น ๆ ด้วย ยกตัวอย่างเช่น สาหร่าย

ใน Division Bacillariophyta (ไดอะตอม) สาหร่ายใน Division Euglenophyta (ยูกลีโนยด์) และ สาหร่ายใน Division Chrysophyta (สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง) ซึ่งพบในปริมาณน้อย ซึ่งสาหร่ายประเภทนี้จะพบตามแหล่งน้ำทั่วไปที่อุดมสมบูรณ์ (ยวดี, 2549) แต่ในน้ำ แหล่งน้ำธรรมชาติ วัด อุโมงค์ ก่อนข้ามมีสารอาหารมาก จึงทำให้พบสาหร่ายประเภทนี้ในปริมาณน้อย

หลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยน้ำทิ้งทำการตรวจนับและจัดจำแนกสาหร่ายอีกครั้งพบว่า มีสาหร่ายแค่บางสายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ในน้ำทิ้ง ซึ่งสาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายชนิดเดียวที่สามารถเจริญได้ดีที่สุดทั้งสองการทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่าย *Cylindrospermopsis* sp. และ *Microcystis* sp. มีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงแบบเซลล์อิสระในน้ำทิ้ง



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กได้มาจากแหล่งน้ำธรรมชาติวัดอุโมงค์ (สวนพุทธธรรม) ต.สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบเซลล์อิสระและแบบตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมแอลจิเนตในน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) ในสภาวะให้อากาศ พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมแอลจิเนตในน้ำทิ้งมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งดีกว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบอิสระ อย่างไรก็ตามความสามารถในการบำบัดน้ำทิ้งของสาหร่ายจะเพิ่มมากขึ้น หากเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งแบบให้อากาศ โดยสามารถลดปริมาณสารอาหารในน้ำได้ โดยลดปริมาณ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg.L^{-1}) 89.90% $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (mg.L^{-1}) 7-100% $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ (mg.L^{-1}) 14-15% และ COD (mg.L^{-1}) 70-75 % การใช้น้ำทิ้งเพาะเลี้ยงสาหร่ายช่วยลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงได้อีกทั้งยังช่วยลดมลภาวะทางน้ำก่อนจะปล่อยคืนสู่ธรรมชาติอีกด้วย

ข้อเสนอแนะและข้อจำกัด

1. ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงเซลล์สาหร่ายจากธรรมชาติ เช่น ช่วงอุณหภูมิ ปริมาณแสง และความเข้มข้นของเม็ดเจล
2. ควรเพิ่มปริมาตรการเพาะเลี้ยงเพื่อลดอิทธิพลจากปัจจัยภายนอกที่อาจมีผลต่อการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก
3. ควรกรองน้ำทิ้งก่อนนำมาเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อลดความขุ่นและลดความผิดพลาดเมื่อตรวจวัดการเจริญของสาหร่ายด้วยของน้ำหนัก

เอกสารอ้างอิง

- กาญจนภานันท์ ถ้วมโนมนต์. 2527. **สาหร่าย**. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2553. **นโยบายและพื้นที่เป้าหมายการจัดการน้ำเสียชุมชน**. กระทรวง
ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม: กรุงเทพมหานคร.
- คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2537. **ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8
(พ.ศ. 2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพ
สิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิว
ดิน**. สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.
กรุงเทพมหานคร.
- ชื่นจิต ชาญชิตปรีชา. 2542. **การใช้สาหร่ายกำจัดสีและซีโอทีในน้ำทิ้งจากโรงงานสุราที่ใช้กากน้ำตาล
เป็นวัตถุดิบ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ดวงรัตน์ อินทร. 2548. **การประมวลองค์ความรู้การนำสาหร่ายมาใช้ในการทางเทคโนโลยีชีวภาพ
สิ่งแวดล้อม**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์อนามัยสิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพมหานคร.
- นันทนา คชเสนี. 2542. **คู่มือปฏิบัติการนิเวศวิทยาน้ำจืด**. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
กรุงเทพมหานคร.
- นุชนาถ เข้มซ้อย. 2557. “สาหร่ายขนาดเล็กการเพาะเลี้ยงและการนำมาใช้ประโยชน์”. วารสาร.
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ วิชาการ, 17(34): 169 -189.
- ปรียาพร บุตรบุญชู. 2553. **ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งของระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเดิม
อากาศ**. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- พัชรดา บุญโคตร. 2558. **การตรึงเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อหมักแก๊สชีวภาพ
มูลไก่**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

- ภณัฐญา สุขตลอด รัชกวิษฐ์ ปรัชพันธุ์สุดา รักษาติธัญญามาศ เพชรพูล ปิยนุช เกิดสมบัติและ สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. 2559. “การใช้สาหร่ายเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพน้ำในคลองแสนแสบ”. วารสาร. หน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้, 7(1): 14-27.
- ยศวดี สวัสดิรักษา. 2547. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Bortyococcusbraunii* ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูงในน้ำ ทั้งโรงงานแปรรูปอาหารทะเล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. 2546. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่
- ยุวดี พิรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- ศิริพร ชื่นบาน. 2553. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีประโยชน์ทางเศรษฐกิจจากน้ำเสียโรงงานฝักและผลไม้กระป๋อง. รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.
- ศิริเพ็ญ ตรีชัยยาพร. 2537. สาหร่ายวิทยายุคคล์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- ศิริเพ็ญ ตรีชัยยาพร และ ศรีสุลักษณ์ ธีรานุพัฒนา. 2549. การพัฒนาศักยภาพของสาหร่ายในการบำบัดน้ำเสีย. หน่วยวิจัยสาหร่ายคุณภาพน้ำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- สาวิตตรี ไทรทับทิม. 2554. การนำสาหร่ายที่ผลิตน้ำมันไบโอดีเซลมาบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมรีไซเคิล. การค้นคว้าแบบอิสระ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะพัฒนาสังคมและสิ่งแวดล้อม สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- เอนก สวาวะอินทร์ วรรณวิภา ไกรพิทยากร และ สมรภัฏ รอดเจริญ. 2557. ประสิทธิภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Phormidium* sp. ในการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานปาล์มน้ำมัน. การประชุมวิชาการ การพัฒนาชนบทที่ยั่งยืน ครั้งที่ 4 . โรงแรมเซ็นทารา แอนด์ คอนเวนชัน เซ็นเตอร์ อ.เมือง จ.ขอนแก่น.

- Akhtar, N., Iqbal, J. and Iqbal, M. 2004. **Removal and recovery of nickel (II) from aqueous solution by loofa sponge immobilized biomass of *Chlorella sorokiniana*: characterization studies.** Journal of Hazardous Materials, 108(1-2): 85–94.
- Aksu, Z. and Açikel, Ü. 2000. **Modelling of a single-staged bio separation process for simultaneous removal of iron (III) and chromium (VI) by using *Chlorella vulgaris*.** Biochemical Engineering Journal, 4(3): 229-238.
- Aziz, M.A. and Ng, W.J. 1992. **Feasibility of wastewater treatment using the activated-algae process.** Bioresource Technology, 40(3): 205-208.
- Baugman, G.L. and Weber, E.J. 1994. **Transformation of dyes and related compounds in anoxic sediment: kinetics and products.** Environmental Science and Technology 28(2): 267-276.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. **A rapid method of total lipid extraction and purification.** Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37(8): 911–917.
- Brady, D., Letebele, B., Duncan, J.R. and Rose, P.D. 1994. **Bioaccumulation of metals by *Scenedesmus*, *Selenastrum* and *Chlorella* algae.** Water SA, 20(3): 213–218.
- Burdin, K.S. and Bird, K.T. 1994. **Heavy metal accumulation by carrageenan and agar producing algae.** Botanica Marina, 37(5): 467–470.
- Cham, K. 2003. Characterization of the nitrobacter-specific NIT3 and NB1000 probes and their use in the detection of Nitrobacter species in a lab scale completely stirred tank reactor system. Journal of Experimental Microbiology and Immunology, 4: 7-14.
- Codd, G.A., 1987. **Immobilized micro-algae and cyanobacteria.** The British Phycological Society Newsletter, 24: 1-5.
- Covarrubias, S.A., de-Bashan, L.E., Moreno, M. and Bashan, Y. 2012. **Alginate beads provide a beneficial physical barrier against native microorganisms in wastewater treated with immobilized bacteria and microalgae.** Applied Microbiology and Biotechnology, 93(6): 2669-2680.

- de-Bashan, L.E. and Bashan, Y. 2010. **Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects.** Bioresource Technology, 101(6): 1611–1627.
- Greenberg, A.E., Clesceri, L.S., and Eaton, A.D. 1992. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 18th edition.** American Public Health Association (APHA), Washington, DC.
- Gregorio, D.M., Brockhaus, M., Cronin, T., Muharrom, E., Santoso, L., Mardiah, S. and Büdenbender, M. 2013. **Equity and REDD+ in the media: a comparative analysis of policy discourses.** Ecology and Society, 18(2): 39.
- Hammouda, O., Gaber, A. and Abdel-Raouf, N. 1995. **Microalgae and wastewater treatment.** Ecotoxicology and Environmental Safety, 31(3): 205-210.
- Hertzberg, S. and Jensen, A. 1989. **Studies of alginate-immobilized marine microalgae.** Botanica Marina, 32(4): 267–273.
- John, D.M., Whitton, B.A. and Brook, A.J. 2002. **The freshwater algal flora of the British Isles: An identification guide to freshwater and terrestrial algae.** Cambridge University Press, Cambridge. 702pp.
- Karel, S.F., Libicki, S.B. and Robertson, C.R. 1985. **Immobilization of whole cells: engineering principles.** Chemical Engineering Science, 40(8): 1321–1354.
- Kaya, V.M., Goulet, J., de la Noüe, J. and Picard, G. 1996. **Effect of intermittent CO₂ enrichment during nutrient starvation on tertiary treatment of wastewater by alginate-immobilized *Scenedesmus bicellularis*.** Enzyme and Microbial Technology, 18(8):550–554.
- Kim, J., Lingaraju, B.P., Rheume, R., Lee, J.Y. and Siddiqui, K .F. 2010. **Removal of ammonia from wastewater effluent by *Chlorella Vulgaris*.** Tsinghua Science and Technology, 15(4): 391-396.
- Lee, K. and Lee, G.C. 2001. **Effect of light/dark cycles on wastewater treatments by microalgae.** Biotechnology and Bioprocess Engineering, 6(3): 194-199.

- Liu, Y.K., Seki, M., Tanaka, H., Furusaki, S., 1998. **Characteristics of loofa (*Luffa cylindrica*) Sponge as a carrier for plant cell immobilization.** Journal of Fermentation and Bioengineering, 85(4): 416-421.
- Lorrine, L.J and Vollenweider, R.A. 1981. **Summary report, the ODCD cooperative programmer on eutrophication**, National Water Research Institute, Burlington.
- McGriff Jr, E.C. and McKinney, R.C. 1972. **The removal of nutrients and organics by activated algae.** Water Research, 6(10): 1155-1162.
- Moreno-Garrido, I. 2008. **Microalgae immobilization: Current techniques and uses.** Bioresource Technology, 99(10): 3949-3964.
- Moreno-Garrido, I., Campana, O., Lubián, L.M. and Blasco, J. 2005. **Calcium alginate immobilized marine microalgae: Experimentson growth and short-term heavy metal accumulation.** Marine Pollution Bulletin, 51(8-12): 823-829.
- Park, J.B.K., Craggs, R.J. and Shilton, A.N. 2011. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. Bioresource Technology, 102(1): 35-42.
- Peerapornpisal, Y., Chaibol, C., Pekkoh, J., Kraibut, H., Chorum, M., Wannathong, P., Ngearnpat, N., Jusakul, K., Thammathiwat, A., Chuanunta, J. and Inthasotti, T. 2004. **The monitoring of water quality in Ang Kaewreservior of Chaing Mai University by using phytoplankton asbioindicator from 1995-2002.** Chiang Mai Journal of Science, 31(1): 85-94.
- Pizarro, C., Kebede-Westhead, E. and Mulbry, W. 2002. **Nitrogen and phosphorus removal rates using small algal turfs grown with dairy manure.** Journal of Applied Phycology, 14(6): 469-473.
- Robinson, P.K., Dainty, A.L., Goulding, K.H., Simpkins, I. and Tervan, M.D. 1985. **Physiology of alginate immobilized *Chlorella*.** Enzyme and Microbial Technology, 7(5): 212-216.

- Robinson, P.K., Goulding, K.H., Mak, A.L. and Trevan, M.D. 1986. **Factors affecting the growth characteristics of alginate entrapped *Chlorella*.** Enzyme and Microbial Technology, 8(12): 729–733.
- Ruiz-Marin, A., Mendoza-Espinosa, L.G. and Stephenson, T. 2010. **Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater.** Bioresource Technology, 101(1): 58–64.
- Saijo, Y. 1975. **A method for determination of chlorophyll.** Japanese Journal of Limnology, 36(3): 20-43.
- Sialve, B., Bernet, N. and Bernard, O. 2009. **Anaerobic digestion of microalgae as anecessary step to make microalgal biodiesel sustainable.** Biotechnology Advances, 27(4): 409-416.
- Tam, N.F.Y. and Wong, Y.S. 1989. **Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp.** Environmental Pollution, 58(1): 19-34.
- Thomson, A.S., Rhodes, J.C., and Pettman, I. 1988. **Culture Collection of Algae and Protozoa: catalogue of strains.** Fifth edition. Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP) Freshwater Biological Association, Ambleside, Cumbria, UK
- Urrutia, I., Serra, J.L. and Llama, M.J. 1995. **Nitrate removal from water by *Scenedesmus obliquus* immobilizes in polymeric foams.** Enzyme and Microbial Technology, 17(3): 200–205.
- Voltolina, D., Cordero, B., Nieves, M. and Soto, L.P. 1999. **Growth of *Scenedesmus* sp. In artificial wastewater.** Bioresource Technology, 68(3): 265-268.
- Voltolina, D., Gómez-Villa, H. and Correa, G. 2005. **Nitrogen removal and recycling by *Scenedesmus obliquus* in semicontinuos cultures using artificial wastewater and a similated light and temperature cycle.** Bioresource Technology, 96(3): 359-362.

- Walker, G.M. and Weatherley, L.R. 2000. **Prediction of bisolute dye adsorption isotherms on activated carbon.** Process Safety and Environmental Protection 78(3): 219-223.
- Wang, L., Min, M., Li, Y., Chen, P., Chen, Y., Liu, Y., Wang, Y. and Ruan, R. 2010. **Cultivation of green algae *Chlorella* sp.** in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. Applied Biochemistry and Biotechnology, 162(4): 1174-1186.
- Wetzel, R.G. 1983. **Limnology, 2nd edition, Saunders College Publishing,** Philadelphia.
- Wetzel, R.G. 2001. **Limnology: Lake and river ecosystems, 3rd edition.** Academic Press, New York.
- Winterman, J.F.G.M. and De Mots, A. 1965. **Spectrophotometric characteristics of chlorophyll *a* and *b* and their phaeophytins in ethanol.** Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biophysics including Photosynthesis, 109(2): 448-453.
- Zhou, Z.D., Li, G.Y. and Li, Y.J. 2010. **Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* alcohol dehydrogenase on hybrid alginate-chitosan beads.** International Journal of Biological Macromolecules, 47(1): 21-26.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร Jaworski's medium

วิธีการเตรียมอาหาร Stock solution ของอาหาร Jaworski's medium (JM) (Thompson *et al.*, 1988) โดยใช้สารเคมีทั้งหมด 9 ชนิดดังนี้

1.	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2.000 g
2.	KH_2PO_4	1.240 g
3.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5.000 g
4.	NaHCO_3	0.225 g
5.	EDTA FeNa	0.225 g
	EDTA Na ₂	0.225 g
6.	H_3BO_3	0.248 g
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.139 g
	$(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.100 g
7.	Cyanocobalamin (Vitamin B ₁₂)	0.004 g
	Thiamine HCL (Vitamin B ₁)	0.004 g
	Biotin	0.004 g
8.	NaNO_3	8.000 g
9.	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	3.600 g

ละลายสารเคมีแต่ละชนิดในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL เพื่อเตรียม JM stock solution หลังจากนั้นดูดสารละลายแต่ละขวดมาอย่างละ 1 mL ใส่ลงใน Volumetric flask (ที่มีน้ำกลั่นอยู่เล็กน้อย) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1L และปรับค่า pH ให้ได้ 7 – 8

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี (Greenberg *et al.*, 1992)

การวิเคราะห์ออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen: DO)โดยวิธีเฮิรตซ์เฟลด์

หลักการออกซิเจนไม่สามารถตรวจวัดโดยตรงด้วยวิธีทางเคมีจึงมีวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้ (Winkler) ซึ่งเป็นวิธีการตรวจวัดทางอ้อมเนื่องจากออกซิเจนละลายน้ำออกซิไดซ์ไอออนแมงกานีส (Mn^{2+}) เป็น Mn^{4+} ภายใต้สภาวะที่เป็นด่างซึ่ง Mn^{4+} นี้ในสภาวะที่เป็นกรดจะแยกที่ฟและจะสามารถออกซิไดซ์ไอโอไดโอออนเป็นไอโอดีน ดังนั้นปริมาตรไอโอดีนที่เกิดขึ้นจะสมมูลกับปริมาณของออกซิเจนละลายในน้ำเริ่มต้น ไอโอดีนสามารถตรวจวัดโดยทำปฏิกิริยากับโซเดียมไธโอซัลเฟตที่เตรียมให้มีความเข้มข้นเท่ากับ $1\text{ mL} = \text{ออกซิเจน } 1\text{ mg.L}^{-1}$

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดบีโอดี ขนาด 300 mL
2. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250mL
3. กระบอกตวง ขนาด 100 mL
4. บิวเรต

สารเคมี

1. สารละลายแมงกานีสซัลเฟตเตรียมโดยละลาย $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 480 g ในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 L
2. สารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เฮซเตรียมโดยละลาย NaN_3 10 g ในน้ำกลั่น 40 mL จากนั้นละลาย $NaOH$ 500 g และ NaI 135 g ในน้ำกลั่น คนจนละลาย จากนั้นผสมสารละลายทั้ง 2 เข้าด้วยกันเติมน้ำกลั่นจนครบ 1 L
3. กรดซัลฟูริกเข้มข้น : $1\text{ mL} = \text{สารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เฮซ } 3\text{ mL}$
4. น้ำเบ้งเตรียมโดยละลายน้ำเบ้ง 2 g ในน้ำกลั่น 100 mL ต้มจนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริก 0.2 g เพื่อกันบูด
5. สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.0250 N เตรียมได้โดยละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) 6.205 g ในน้ำกลั่น หลังจากนั้นเติม โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$) 0.4 g แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 1 L นำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนกับสารละลายไบโอไอเดต

6. สารละลายมาตรฐานโพตัสเซียมไบโอไอเดค เตรียมได้โดยละลาย KH (O₃)₂ 812.4 mg ในน้ำกลั่นเจือจาง 1 L

การหาความเข้มข้นของสารละลายโซโอซัลเฟต

ละลาย KI 2 g ในขวดรูปชมพู่ ที่มีน้ำกลั่น 100 ถึง 150 mL เติม 6N H₂SO₄ 1 mL และ 20.00 mL สารละลายมาตรฐานไบโอไอเดค เจือจางเป็น 200 mL แล้วไตเตรทหาปริมาณไอโอดีนด้วยสารละลายมาตรฐานโซโอซัลเฟต เติมน้ำแข็ง เมื่อถึงจุดยุติจะได้สารละลายสีฟางอ่อน ซึ่งต้องใช้ 0.025 N สารละลายมาตรฐานโซโอซัลเฟตจำนวน 20.0 mL ถ้าไม่ได้ต้องคำนวณนอร์มอลิตีของสารละลายใหม่

การวิเคราะห์ค่า Biochemical Oxygen Demand (BOD)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดอินคิวเบต (incubation bottles) หรือขวดบีโอดี (BOD) ขนาด 300 mL ซึ่งมีจุกเป็นจุกแก้วปิดสนิท พร้อมฝาครอบพลาสติก (BOD cap) เพื่อป้องกันไม่ให้อากาศผ่านเข้าไปในขวดบีโอดีในระหว่างการเพาะเชื้อ สามารถทำได้โดยใช้น้ำหล่อปากขวดไว้โดยกลับขวดบีโอดีคว่ำลงในอ่างน้ำอุ่น (water bath) หรือหล่อน้ำไว้รอบ ๆ ปากขวดบีโอดี และใช้ถ้วยกระดาษหรือถ้วยพลาสติกครอบปากขวดไว้เพื่อลดการระเหยของน้ำหล่อ ก่อนที่จะนำขวดบีโอดีมาใช้ จะต้องนำขวดมาล้างให้สะอาดปราศจากอินทรีย์สารต่าง ๆ การล้างควรล้างด้วยสารละลายของกรดโครมิก (chromic acid solution) หลังจากนั้นนำขวดมาล้างด้วยน้ำให้สะอาด ครั้งสุดท้ายล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งหนึ่งแล้วทำให้แห้ง

2. ตู้อินคิวเบต (incubator) ชนิดใช้อากาศน้ำ ซึ่งสามารถควบคุมและปรับอุณหภูมิได้เองโดยอัตโนมัติและต้องเป็นตู้ซึ่งสามารถป้องกันไม่ให้แสงผ่านเข้าไปได้ เพื่อป้องกันการเกิดดีโอโดยการสังเคราะห์แสง (photosynthesis)

3. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ เช่น บิวเรตต์ขนาด 25 mL ขวดเออร์เมเยอร์ขนาด 500 mL กระบอกตวงขนาด 1,000 mL

สารเคมี

1. น้ำกลั่นจะต้องมีคุณภาพดี กลั่นจากเครื่องกลั่นที่ทำด้วยแก้วและต้องเป็นน้ำกลั่นซึ่งมีปริมาณของทองแดงน้อยกว่า 0.01 mL และต้องปราศจากคลอรีน คลอรามิน ความเป็นด่าง เนื่องจากไฮดรอกไซด์ อินทรีย์สาร และกรด

2. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH₂PO₄) 8.5 g ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K₂HPO₄) 21.75 g ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตาไฮเดรต (Na₂HPO₄·7H₂O) 33.4 g และแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH₄Cl) 1.7 g ในน้ำกลั่น

500 mL แล้วเจือจางเป็น 1,000 mL สารละลายนี้จะมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.2 ข้อควรระวัง ให้เททิ้งทันทีถ้าพบเห็นการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในขวดเก็บสารละลาย (stock bottle)

3. สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟตเตรียมโดยละลายแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 22.5 g ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 mL

4. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เตรียมโดยละลายแอนไฮดรัสแคลเซียมคลอไรด์ (anhydrous CaCl_2) 27.5 g ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 mL

5. สารละลายไอร์ออน (III) คลอไรด์ เตรียมโดยละลายไอร์ออน (III) คลอไรด์เฮกซาไฮเดรต ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0.25 g ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 mL

6. สารละลายกรดและด่างเข้มข้น 1 mol/L ใช้สำหรับปรับตัวอย่างน้ำที่เป็นกรดและด่างให้เป็นกลางก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์

7. สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.0125 mol/L เตรียมโดยละลายแอนไฮดรัสโซเดียมซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 1.575 g ในน้ำกลั่น 1,000 mL (สารละลายนี้ไม่อยู่ตัว ต้องเตรียมในวันที่จะใช้นั้น)

8. ไนตริฟิเคชัน อินฮิบิเตอร์ (nitrification inhibitor) ได้แก่ คลอโร-2,2,6,6-เตตระคลอโร-6-ไทรคลอโรเมทิลไพร์ดีน (2-chloro-6-(trichloromethyl) pyridine) หรือ TCMP

9. สารละลายกลูโคสและกรดกลูตามิก (Glucose –glutamic acid solution) เตรียมโดยนำกลูโคสและกรดกลูตามิก ซึ่งอบแห้งที่ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง อย่างละ 150 mg ละลายในน้ำกลั่น และเจือจางเป็นปริมาตร 1,000 mL (สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้)

วิธีการวิเคราะห์

การเตรียมตัวอย่าง

1. ตวงน้ำตัวอย่างปริมาตร 1 L ในกระบอกตวง เทลงในถังเดิมอากาศอย่างน้อย 20 นาที เพื่อให้น้ำอิ่มตัวด้วยปริมาณออกซิเจน

2. ตวงน้ำตัวอย่างใส่ขวดบีโอดีด้วยวิธีกลักน้ำ โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ หากเกิดให้ใช้แท่งแก้วเคาะเบาๆ ที่ข้างขวด

3. เติมแมกนีเซียมซัลเฟตลงไป 1 mL โดยใช้ปิเปตขนาด 1 mL ค่อยๆ เติมน้ำ วิธีเติมให้ปลายปิเปตแตะข้างขวดและค่อยๆ ปล่อยสารลงไป

4. เติม Alkaline Iodide Azide ลงไป 1 mL โดยใช้ปิเปตขนาด 1 mL ค่อยๆ เติมน้ำ วิธีเติมให้ปลายปิเปตแตะข้างขวดและค่อยๆ ปล่อยสารลงไป

5. ปิดฝาและเขย่าขวดบีโอดี การเขย่าขวดบีโอดี ให้จับขวดโดยใช้นิ้วชี้กดฝาขวดไว้ แล้วพลิกไปมาประมาณ 15 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที จะมีตะกอนเกิดขึ้น

6. เติมกรดซัลฟริกลงไป 1mL โดยใช้ปิเปตขนาด 1mL คูดขึ้นมา วิธีเดิมให้ปลายปิเปตแตะข้างขวดและค่อย ๆ ปล่อยสารลงไป ปิดฝาและเขย่าขวดบีโอดี การเขย่าขวดบีโอดี ให้จับขวดโดยให้นิ้วชี้กดฝาขวดไว้แล้วพลิกไปมาจนตะกอนหายไป

7. ตวงน้ำตัวอย่างในกระบอกตวงขนาด 100 mL ออก 99 mL เพราะฉะนั้นจะเหลือน้ำในขวดบีโอดี 201mL

8. นำน้ำตัวอย่างที่เหลือในขวดบีโอดี ไปไตเตรทด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.0250 N จนน้ำตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีน้ำฟางข้าว

9. หยดน้ำเบ้ง 5 หยด (อินดิเคเตอร์) น้ำตัวอย่างจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ไตเตรทต่อจนสีน้ำเงินหายไป บันทึกผล

การวิเคราะห์ Chemical Oxygen Demand (COD) แบบ close reflux

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ภาชนะที่ใช้ในการย่อยสลาย (digestion vessel) ควรใช้หลอดทดลองที่เป็นบอโรซิลิเกตซึ่งมีขนาด 16 x 100 mm หรือ 20 x 150 mm หรือ 25 x 150 mm พร้อมทั้งฝาจากที่บุด้วย TFE หรือใช้บอโรซิลิเกตแอมพูล (borosilicate ampules) ขนาดความจุ 10 mL เส้นผ่าศูนย์กลาง 19 -20 mm ซึ่งมีความลึก 45 ถึง 50 mm เป็นช่องที่จะให้หลอดหรือแอมพูลตั้งอยู่ได้พอดี

2. ฮีตดิงบล็อก (heating block) เป็นอลูมิเนียมหล่อ (cast aluminum) มีช่องหลายๆ ช่องซึ่งมีความลึก 45 ถึง 50 mm เป็นช่องที่จะให้หลอดหรือแอมพูลตั้งอยู่ได้พอดี

3. เครื่องให้ความร้อนหรือเตาอบ (block heater or oven) ให้ความร้อนอยู่ในช่วงระหว่าง $150 \pm 2^{\circ}\text{C}$

4. เครื่องเชื่อมแอมพูล (ampule sealer) ใช้แมคคานิคัลซีลเลอร์ (mechanical sealer) ที่แน่ใจว่าจะมีการเชื่อมที่แข็งแรงพอ

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ความเข้มข้น 0.0617 M เตรียมโดยชั่งสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ (primary standard) โพแทสเซียมไดโครเมต 4.913 g ซึ่งถูกทำให้แห้งในเตาอบอุณหภูมิ 103°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง ใส่ไปในน้ำกลั่นประมาณ 500 mL ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 167 mL เติมเมอร์คิวริกซัลเฟต 33.3 g คนให้ละลายตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเจือจางให้มีปริมาตรเป็น 1,000 mL ด้วยน้ำกลั่น

2. กรดซัลฟิวริกเจือจาง เช่นเดียวกับวิธีฟลักซ์แบบเปิด

3. เฟอโรอินดิเคเตอร์ เช่นเดียวกับวิธีฟลักซ์แบบเปิด

4. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์เตรียมโดยละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 39.2 g ในน้ำกลั่นประมาณ 500 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 mL คนให้ละลาย ทิ้งให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 1,000 mL สารละลายนี้ต้องเทียบมาตรฐานกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตที่ใช้ในการย่อยสลายทุกครั้งที่น่ามาใช้ เติมสารเคมีในภาชนะย่อยสลายแต่ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างน้ำ ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วไทเทรตด้วยเอพเอเอสไอโซเฟอโรอินดิเคเตอร์ 0.05 – 0.1 mL ทำประมาณ 1-2 หลอด ไทเทรตจนถึงจุดยุติจะเปลี่ยนจากฟ้ามืดเป็นสีน้ำตาลแดง

วิธีการวิเคราะห์ ซีโอดี โดยวิธีฟลักซ์แบบปิด

1. นำหลอดทดลองที่ล้างสะอาดแล้ว อบด้วยอุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
2. นำออกจากตู้อบแล้วทิ้งให้เย็นในอุณหภูมิห้อง
3. ใส่น้ำตัวอย่าง 2.5 mL ใส่หลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นเพื่อเจือจาง อัตราส่วน 1:2 คือเติมน้ำกลั่น 5 mL
4. ทำแบลนด์โดยใส่น้ำกลั่นลงในหลอดทดลอง 7.5 mL
5. เติมโพแทสเซียมไดโครเมต 1.5 mL ในน้ำตัวอย่างและแบลนด์ โดยใช้ปิเปตขนาด 1 mL ดูดสารดังกล่าว โดยปล่อยให้สารสัมผัสโดยตรงกับน้ำตัวอย่างเลย แต่ไม่ให้ปลายปิเปตแตะน้ำตัวอย่าง
6. เติมกรดซัลฟิวริก 3.5 mL ในน้ำตัวอย่างและแบลนด์โดยใช้ปิเปตขนาด 5 mL ดูดสารดังกล่าว โดยปล่อยให้สารสัมผัสโดยตรงกับน้ำตัวอย่างเลย แต่ไม่ให้ปลายปิเปตแตะน้ำตัวอย่าง
7. นำหลอดทดลองใส่ไว้ในตะแกรงและนำเข้าตู้อบที่มีอุณหภูมิ 150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
8. หลังจากอบครบ 2 ชั่วโมงแล้ว นำออกมาตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
9. เทลงน้ำตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL
10. หยดเฟอโรอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมน้ำเงิน
11. ไทเทรตด้วยเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.025 N ในการไทเทรตจะต้องค่อยๆ หยดทีละหยด เนื่องจากการถึงจุดยุติจะเร็วมาก ก็จะเปลี่ยนเป็นสีแดงอิฐ บันทึกผล

การคำนวณ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโรน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต (FAS)

$$\text{โมลาริตีของเอพเอเอส} = \frac{\text{ปริมาณของ } \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \times 0.0167}{\text{ปริมาณเอพเอเอสที่ใช้ไทเทรต}}$$

ภาคผนวก ค

การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

1. การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Wintermans and De Mots, 1965; Saijo, 1975)

- 1.1 กรองตัวอย่างสาหร่าย 50 mL โดยใช้ชุดเครื่องกรอง ผ่านกระดาษกรอง GF/C
- 1.2 ใช้คีบ (forceps) พับกระดาษกรองที่มีสาหร่ายอยู่ ใส่ลงไปในหลอด centrifuge ขนาด 15 mL เติม 90% methanol 10 mL
- 1.3 นำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 20 นาที
- 1.4 หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 3,000 rpm เวลา 10 นาที
- 1.5 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 630, 645, 665 และ 750 nm

- 1.6 การคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

$$\text{คลอโรฟิลล์ เอ } (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) = \frac{[11.6(A_{665}-A_{750}) - 1.31(A_{645}-A_{750}) - 0.14(A_{630}-A_{750})] \times \text{Methanol (mL)}}{\text{ปริมาณน้ำตัวอย่างที่กรอง (L)} \times 1/\text{ความกว้างของ cuvette}}$$

2. การหาน้ำหนักแห้งของสาหร่าย (Dry weight measurement)

- 2.1 ออบกระดาษกรอง GF/C ที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 48 ชั่วโมง ด้วยตู้อบแห้งด้วยอากาศร้อน แล้วนำออกจากตู้อบ ทิ้งไว้ให้เย็น นำมาชั่งหาน้ำหนักคงที่ของกระดาษกรอง โดยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 2.2 นำกระดาษกรอง GF/C ไปกรองตัวอย่างสาหร่ายที่เตรียมไว้
- 2.3 นำกระดาษกรองที่มีตัวอย่างสาหร่ายไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 48 ชั่วโมง
- 2.4 เมื่อครบกำหนดเวลา นำกระดาษกรองออกจากตู้อบ แล้วนำมาใส่ไว้ในโหลสุญญากาศความชื้น
- 2.5 ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองที่มีตัวอย่างสาหร่าย

- 2.6 การคำนวณ น้ำหนักของเซลล์สาหร่ายแห้ง (mg/L) = $((B-A)/V) \times 1000$

A = น้ำหนักของกระดาษกรอง

B = น้ำหนักของกระดาษกรองและสาหร่าย

V = ปริมาตรของสาหร่ายที่กรอง (mL)

ภาคผนวก ง

การประเมินคุณภาพน้ำ

การประเมินคุณภาพน้ำในระบบนิเวศน้ำนิ่งโดยใช้ลำดับคะแนนอย่างง่าย AARL-PC score (AARL = Applied Algal Research Laboratory, PC = Physical and Chemical)

โดย ห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยูคต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การประเมินคุณภาพน้ำดังกล่าวนี้ ได้ใช้พารามิเตอร์ที่เป็นปัจจัยทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพบางประการโดยประยุกต์มาจากมาตรฐานคุณภาพน้ำของ Lorraine and Vollenweider (1981) Wetzel (2001) และมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2537 มาประเมินร่วมกัน โดยพารามิเตอร์ที่เป็นพื้นฐานทั่วไปของการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ได้แก่

1. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO)
2. ปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เป็นสารอนินทรีย์ (BOD)
3. ค่าการนำไฟฟ้า (conductivity)
4. ปริมาณสารอาหาร ได้แก่
 - 4.1 ไนโตรเจน ในไตรเจน
 - 4.2 แอมโมเนียมไนโตรเจน
 - 4.3 ออร์โธฟอสเฟต หรือ soluble reactive phosphorus
5. ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ว่ามีมากน้อยเพียงใด แต่อย่างไรก็ตามในแหล่งน้ำแหล่งหนึ่ง ๆ ตลอดการวิจัยควรจะให้ค่ามาตรฐานจากการคำนวณนี้ให้เหมือนกันทุกครั้ง วิธีการมีดังนี้ จากค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำของ Lorraine and Vollenweider (1981) Wetzel (2001) และมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2537 จะทำให้ทราบว่าในแหล่งน้ำที่ทำการศึกษา แต่ละพารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ควรมีค่าสูงสุด และต่ำสุดเท่าใด ในที่นี้อาจใช้ตำราที่เขียนเกี่ยวกับคุณภาพของแหล่งน้ำในประเทศไทย ประเภทต่าง ๆ จะมีความเหมาะสมมาก

เมื่อได้ค่าสูงสุดและต่ำสุดของแต่ละพารามิเตอร์แล้วนำมาจัดเป็นลำดับตัวเลขซึ่งจะใช้เป็นคะแนนมาตรฐาน โดยค่าที่แสดงคุณภาพน้ำด้านที่ดีสูงสุด จะมีคะแนนเป็น 0.1 และค่าที่แสดงคุณภาพน้ำด้านที่เลวต่ำสุดเป็น 1 หรืออาจจะใช้คะแนนมากกว่าคะแนนด้านที่ดีสูงสุดเป็น 0.1 และคะแนนน้อยกว่าคะแนนด้านที่เลวต่ำสุดเป็น 1 ก็ได้ ในกรณีที่มีตัวเลขในแต่ละพารามิเตอร์มาก แต่คะแนน

มาตรฐานมีเพียง 10 ชั้น คือ 0.1 – 1.0 ให้จัดกลุ่มตัวเลขในพารามิเตอร์นั้น ๆ ให้เป็นอันตรภาคชั้นแต่ละชั้น ให้มีความเหมาะสมแล้วจึงจัดคะแนนมาตรฐานของแต่ละอันตรภาคชั้น

ตาราง ง.1 ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพน้ำ และ คะแนนมาตรฐาน

ตาราง ง.1.1 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (mg.L^{-1})

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (mg.L^{-1})	คะแนนมาตรฐาน
มากกว่า 9	0.1
8-9	0.2
7-8	0.3
6-7	0.4
5-6	0.5
4-5	0.6
3-4	0.7
2-3	0.8
1-2	0.9
น้อยกว่า และมากกว่า 9 ในการเก็บตัวอย่างช่วงบ่าย	1.0

ตาราง ง.1.2 ปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (mg.L^{-1})

ปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (mg.L^{-1})	คะแนนมาตรฐาน
น้อยกว่า 0.3	0.1
0.3-0.8	0.2
0.8-1.5	0.3
1.5-3	0.4
3-5	0.5
5-8	0.6
8-15	0.7
15-30	0.8
30-50	0.9
มากกว่า 50	1.0

ตาราง ง.1.3 ค่าการนำไฟฟ้า ($\mu\text{s.cm}^{-1}$)

ค่าการนำไฟฟ้า ($\mu\text{s.cm}^{-1}$)	คะแนนมาตรฐาน
น้อยกว่า 10	0.1
10-30	0.2
30-50	0.3
50-70	0.4
70-90	0.5
90-120	0.6
120-180	0.7
180-250	0.8
250-500	0.9
มากกว่า 500	1.0

ตาราง ง.1.4 ปริมาณไนเตรท ไนโตรเจน (mg.L^{-1})

ปริมาณไนเตรท และไนโตรเจน	คะแนนมาตรฐาน
น้อยกว่า 0.05	0.1
0.05-0.1	0.2
0.1-0.3	0.3
0.3-0.8	0.4
0.8-1.5	0.5
1.5-3.0	0.6
3.0-10.0	0.7
10.0-20.0	0.8
20.0-40.0	0.9
มากกว่า 40.0	1.0

ตาราง ง.1.5 ปริมาณแอมโมเนียม ไนโตรเจน (mg.L^{-1})

ปริมาณแอมโมเนียม ไนโตรเจน (mg.L^{-1})	คะแนนมาตรฐาน
น้อยกว่า 0.01	0.1
0.01-0.03	0.2
0.03-0.06	0.3
0.06-0.10	0.4
0.10-0.20	0.5
0.20-0.40	0.6
0.40-0.60	0.7
0.60-1.0	0.8
1.0-5.0	0.9
มากกว่า 5.0	1.0

ตาราง ง.1.6 ปริมาณ Soluble Reactive Phosphorus (mg.L^{-1})

ปริมาณ Soluble Reactive Phosphorus (mg.L^{-1})	คะแนนมาตรฐาน
น้อยกว่า 0.01	0.1
0.01-0.04	0.2
0.04-0.08	0.3
0.08-0.15	0.4
0.15-0.25	0.5
0.25-0.35	0.6
0.35-0.50	0.7
0.50-1.25	0.8
1.25-2.5	0.9
มากกว่า 2.5	1.0

ตาราง ง.1.7 ปริมาณ Soluble Reactive Phosphorus (mg.L^{-1})

ปริมาณ Soluble Reactive Phosphorus (mg.L^{-1})	คะแนนมาตรฐาน
น้อยกว่า 0.5	0.1
0.5-1.0	0.2
1.0-2.0	0.3
2.0-5.0	0.4
5.0-25.0	0.5
25.0-50.0	0.6
50.0-100.0	0.7
100.0-250.0	0.8
250.0-500.0	0.9
มากกว่า 500.0	1.0

จากนั้นจะทำการแบ่งชั้นคุณภาพน้ำโดยใช้ตัวเลขต่ำสุดที่ควรจะเป็นได้ คือ 0 และสูงสุดที่ควรจะเป็นซึ่งขึ้นอยู่กับจำนวนพารามิเตอร์ที่ใช้วัด เช่น ถ้าใช้ 6 พารามิเตอร์ ตัวเลขสูงสุดอาจจะเป็น 6.0 ถ้าใช้ 5 พารามิเตอร์ ตัวเลขสูงสุดอาจจะเป็น 5.0 เป็นต้น แล้วนำมาจัดอันดับจากชั้นออกเป็น 7 ลำดับ โดยมีความถี่เท่ากัน แล้วจัดคุณภาพน้ำแต่ละลำดับ ดังตาราง 2

ตาราง ง.2 คะแนนคุณภาพน้ำตามระดับสารอาหารและคุณภาพน้ำทั่วไป

ตาราง ง.2.1 ใช้กับ 7 พารามิเตอร์

คะแนน	คุณภาพน้ำตามระดับสารอาหาร	คุณภาพน้ำทั่วไป
น้อยกว่า 1.2	สารอาหารน้อยมาก (Ultraoligotrophic status)	คุณภาพน้ำดีมาก
1.2-2.0	สารอาหารน้อย (Oligotrophic status)	คุณภาพน้ำดี
2.1-2.9	สารอาหารน้อยถึงปานกลาง (Oligotrophic-mesotrophic status)	คุณภาพน้ำดีถึงปานกลาง
3.0-3.8	สารอาหารปานกลาง (Mesotrophic status)	คุณภาพน้ำปานกลาง
3.9-4.7	สารอาหารปานกลางถึงมาก (Mesotrophic-eutrophic status)	คุณภาพน้ำปานกลางถึงไม่ดี
4.8-5.6	สารอาหารมาก (Eutrophic status)	คุณภาพน้ำไม่ดี
มากกว่า 5.6	สารอาหารสูงมาก (Hypereutrophic status)	คุณภาพน้ำไม่ดีมาก

ตาราง ง.2.2 ใช้กับ 6 พารามิเตอร์

คะแนน	คุณภาพน้ำตามระดับสารอาหาร	คุณภาพน้ำทั่วไป
น้อยกว่า 0.1	สารอาหารน้อยมาก (Ultraoligotrophic status)	คุณภาพน้ำดีมาก
0.1-1.2	สารอาหารน้อย (Oligotrophic status)	คุณภาพน้ำดี
1.3-2.4	สารอาหารน้อยถึงปานกลาง (Oligotrophic-mesotrophic status)	คุณภาพน้ำดีถึงปานกลาง
2.5-3.6	สารอาหารปานกลาง (Mesotrophic status)	คุณภาพน้ำปานกลาง
3.7-4.8	สารอาหารปานกลางถึงมาก (Mesotrophic-eutrophic status)	คุณภาพน้ำปานกลางถึงไม่ดี
4.9-6.0	สารอาหารมาก (Eutrophic status)	คุณภาพน้ำไม่ดี
มากกว่า 6.0	สารอาหารสูงมาก (Hypereutrophic status)	คุณภาพน้ำไม่ดีมาก

ตาราง ง.2.3 ใช้กับ 5 พารามิเตอร์

คะแนน	คุณภาพน้ำตามระดับสารอาหาร	คุณภาพน้ำทั่วไป
น้อยกว่า 0.1	สารอาหารน้อยมาก (Ultraoligotrophic status)	คุณภาพน้ำดีมาก
0.1-1.0	สารอาหารน้อย (Oligotrophic status)	คุณภาพน้ำดี
1.1-2.0	สารอาหารน้อยถึงปานกลาง (Oligotrophic-mesotrophic status)	คุณภาพน้ำดีถึงปานกลาง
2.1-3.0	สารอาหารปานกลาง (Mesotrophic status)	คุณภาพน้ำปานกลาง
3.1-4.0	สารอาหารปานกลางถึงมาก (Mesotrophic-eutrophic status)	คุณภาพน้ำปานกลางถึงไม่ดี
4.1-5.0	สารอาหารมาก (Eutrophic status)	คุณภาพน้ำไม่ดี
มากกว่า 5.0	สารอาหารสูงมาก (Hypereutrophic status)	คุณภาพน้ำไม่ดีมาก

วิธีการใช้ AARL-PC Score

ตัวอย่าง ในการศึกษาคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว ม.เชียงใหม่ ในเดือนพฤษภาคม 2550 ได้ผลดังนี้

ค่า DO	6.8 mg.L ⁻¹
ค่า BOD	0.4 mg.L ⁻¹
ค่าการนำไฟฟ้า	91 μ s.cm ⁻¹
ปริมาณไนเตรทไนโตรเจน	0.25 mg.L ⁻¹
ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน	0.48 mg.L ⁻¹
ปริมาณออร์โธฟอสเฟต หรือ Soluble reactive phosphorus	0.19 mg.L ⁻¹
ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	7.8 mg.L ⁻¹

เมื่อนำค่าจากพารามิเตอร์ต่าง ๆ มาเปรียบเทียบกับคะแนนมาตรฐานที่จัดทำขึ้น จะได้ดังนี้

คะแนนค่า DO = 0.4

คะแนนค่า BOD = 0.2

คะแนนค่าการนำไฟฟ้า = 0.6

คะแนนปริมาณไนเตรทไนโตรเจน = 0.3

คะแนนปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน = 0.7

คะแนนปริมาณออร์โทฟอสเฟต หรือ Soluble reactive phosphorus = 0.5

คะแนนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ = 0.5

เอาคะแนนมาตรฐานทั้งหมดมารวมกัน จะได้ = 3.2

ดังนั้นคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จะอยู่ในช่วง 3.0-3.8 นั่นคือ
คุณภาพน้ำปานกลางสารอาหารปานกลาง (Mesotrophic status)

*คัดแปลงโดย ห้องปฏิบัติการสาหร่ายประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตาราง จ.1 ค่าความเป็นกรด เบส ของน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) กับ น้ำสาหร่ายจากสวนพุทธธรรมวัดคูโมงค์ ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ จากการทดลองชุดที่ 1

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 wastewater - algal	.90333	.02887	.01667	.83162	.97504	54.200	2	.000

ตาราง จ. 2 ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen: DO) ของน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) กับ น้ำสาหร่ายจากสวนพุทธธรรม วัดคูโมงค์ ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ จากการทดลองชุดที่ 1

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 wastewater - algal	-1.43333E1	.11547	.06667	-14.62018	-14.04649	-215.000	2	.000

ตาราง จ. 3 ปริมาณออกซิเจนที่จุลชีพใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (biochemical oxygen demand: BOD) ของน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) กับน้ำสาหร่ายจากสวนพุทธธรรม วัดคูโม่จ้ก ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ จากการทดลองชุดที่ 1

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 wastewater - algal	1.10000	.36056	.20817	.20433	1.99567	5.284	2	.034

ตาราง จ. 4 ปริมาณค่า Conductivity ของน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) กับ น้ำสาหร่ายจากสวนพุทธธรรมวัดคูโม่จ้ก ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ จากการทดลองชุดที่ 1

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	wastewater - algal	-.93000	.01732	.01000	-.97303	-.88697	-93.000	2	.000

ตาราง จ.5 ค่าความเป็นกรด เบส ของน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) กับ น้ำสาหร่ายจากสวนพุทธธรรมวัดอุโมงค์ ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ จากการทดลองชุดที่ 2

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 wastewater - algae	-.93667	.33486	.19333	-1.76851	-.10482	-4.845	2	.040

ตาราง จ.6 ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen: DO) ของน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) กับ น้ำสาหร่ายจากสวนพุทธธรรม วัดอุโมงค์ ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ จากการทดลองชุดที่2

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 wastewater - algae	- 1.44667E1	.05774	.03333	- 14.61009	- 14.32324	- 434.000	2	.000

ตาราง จ.7 ปริมาณออกซิเจนที่จุลชีพใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (biochemical oxygen demand: BOD) ของน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) กับ น้ำสาหร่ายจากสวนพุทธธรรม วัดคูโม่จ.ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ จากการทดลองชุดที่ 2

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 wastewater - algae	1.10000E1	.10000	.05774	10.75159	11.24841	190.526	2	.000

ตาราง จ.8 ปริมาณค่า Conductivity ของน้ำทิ้งจากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (อมช.) กับ น้ำสาหร่ายจากสวนพุทธธรรมวัดคูโม่จ.ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ จากการทดลองชุดที่2

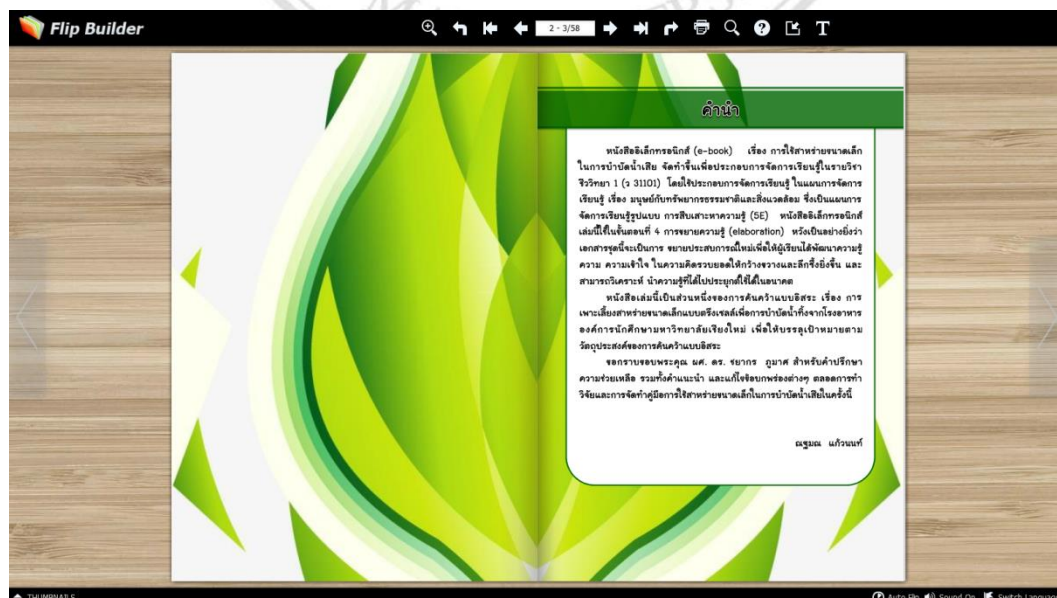
	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 wastewater - algae	.36667	.00577	.00333	.35232	.38101	110.000	2	.000

ภาคผนวก จ

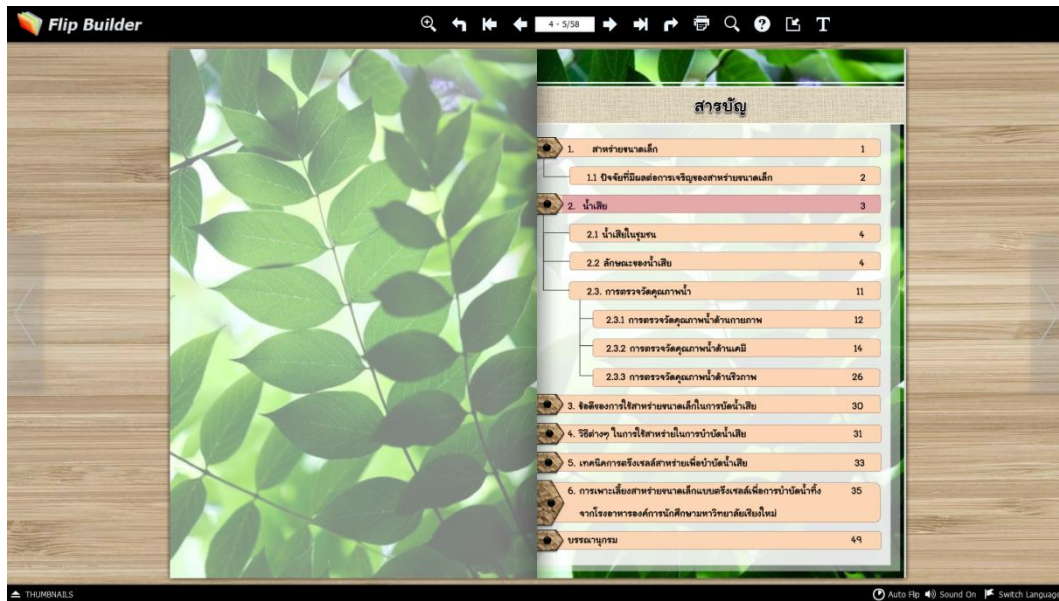
สื่อการสอนอิเล็กทรอนิกส์ (E-book)



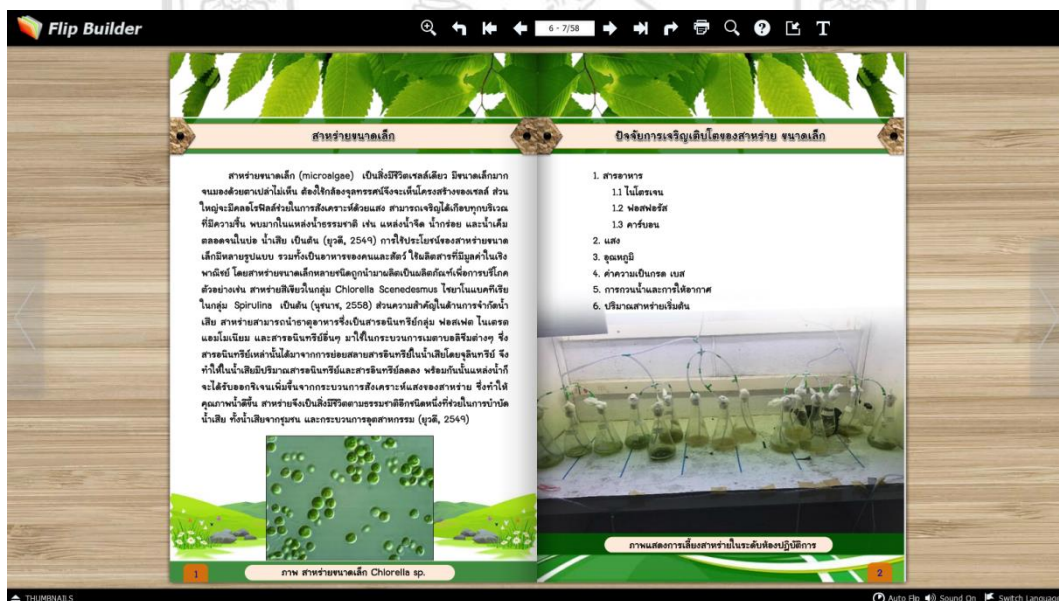
ภาพ จ1 ปกหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ การใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย



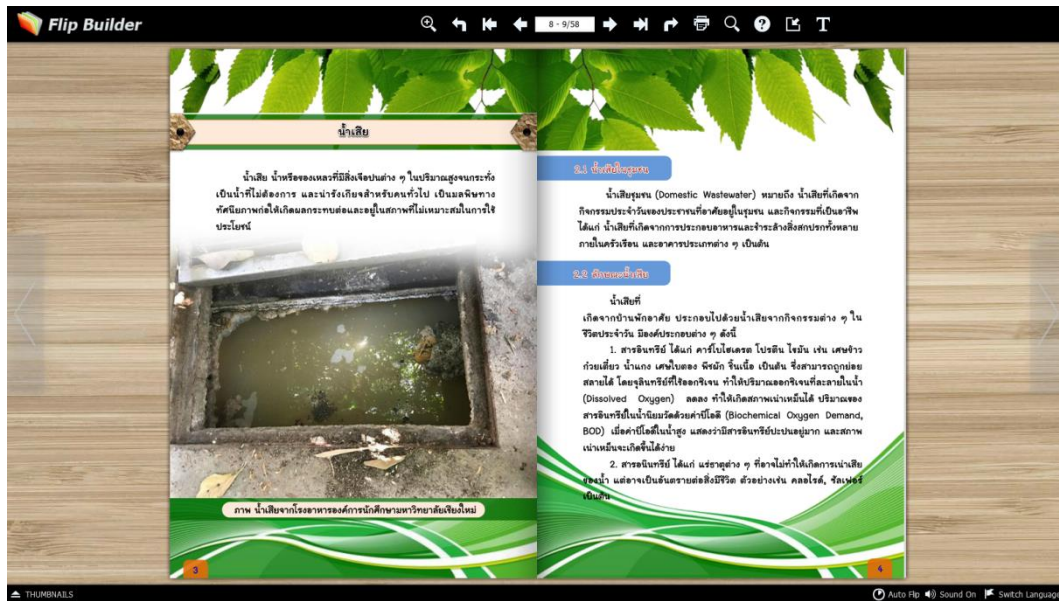
ภาพ จ2 คำนำนหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ การใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย



ภาพ จ3 สารบัญหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ การใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย



ภาพ จ4 สาหร่ายขนาดเล็ก และ ปัจจัยการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก



ภาพ น5 ลักษณะของน้ำเสีย



ภาพ น6 ลักษณะของน้ำเสีย



ภาพ น7 ลักษณะของน้ำเสีย

ตัวอย่างลักษณะน้ำเสียจากบ้านพักอาศัย

พารามิเตอร์	หน่วย	ความเข้มข้น		
		น้อย	ปานกลาง	มาก
6. พอสฟอรัสทั้งหมด (Total as P)	มก./ล.	4	8	15
สารอินทรีย์ (Organic)	มก./ล.	1	3	5
สารอนินทรีย์ (Inorganic)	มก./ล.	3	5	10
7. คลอไรด์ (Chloride) ⁽¹⁾	มก./ล.	30	50	100
8. ซัลเฟต (Sulfate) ⁽¹⁾	มก./ล.	20	30	50
9. สภาพด่าง (Alkalinity as CaCO ₃)	มก./ล.	50	100	200
10. ไขมัน (Grease)	มก./ล.	50	100	150
11. Total Coliform	MPN/100 ml	10 ⁴ -10 ⁷	10 ⁵ -10 ⁸	10 ⁶ -10 ⁹

หมายเหตุ (1) เป็นค่าที่แนะนำสำหรับน้ำดื่ม

ที่มา : Wastewater Engineering, Metcalf & Eddy 1991

พารามิเตอร์	น้ำดิบจากลำคลอง	จากคลองบ้าน	จากคลองบ้าน	จากคลองบ้าน	จากคลองบ้าน	จากคลองบ้าน	จากคลองบ้าน
pH	7.7	7.1	7.0	7.2	7.7	7.2	6.3
CO ₂ (mg/l)	1,500	230	400	200	560	960	2,900
BOD (mg/l)	700	120	260	70	150	540	1,800
TKN (mg/l)	300	8	38	14	12	18	120
PO ₄ (mg/l)	24	6	1	10	24	13	90
SS (mg/l)	560	45	80	60	55	210	1,200
FOG (mg/l)	540	400	480	500	520	500	2,700

ที่มา : น้ำดิบชุมชนและปัญหาการทางน้ำในเขต กทม. และบริเวณภาค, ธงชัย พรหมสวัสดิ์ และคณะสำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2530

ภาพ แสดงน้ำเสียจากบ้านพักอาศัย

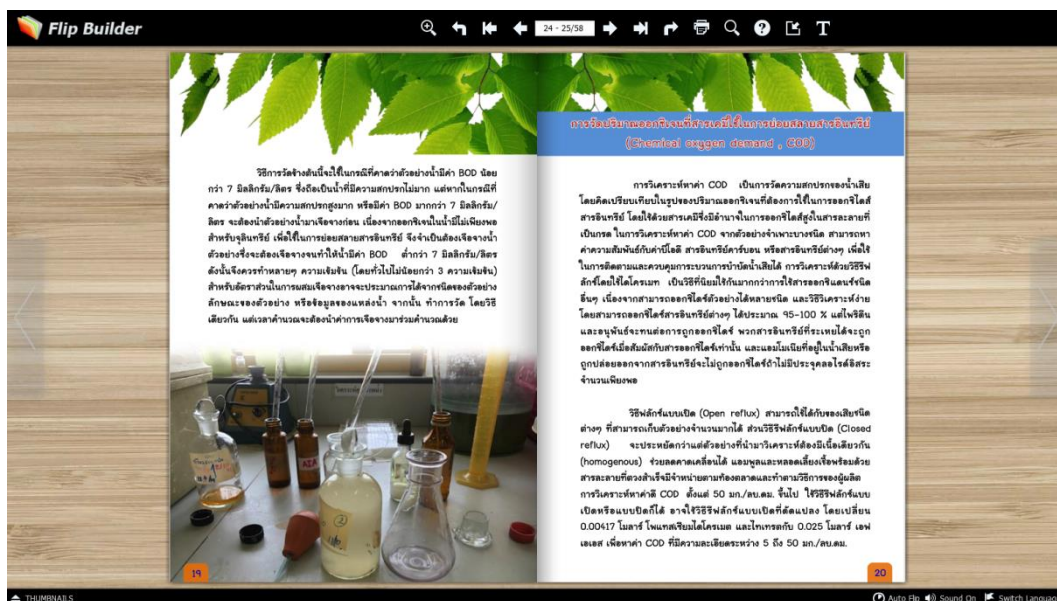
ภาพ น8 ตัวอย่างน้ำเสียจากบ้านพักอาศัย



ภาพ น9 การตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพ



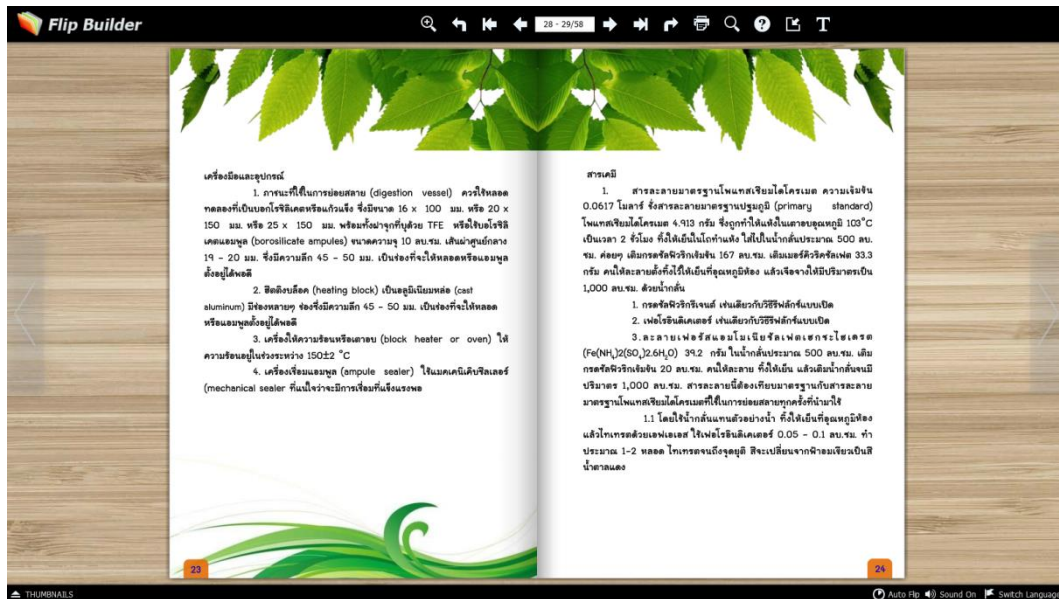
ภาพ น10 การตรวจวัดคุณภาพน้ำทางเคมี



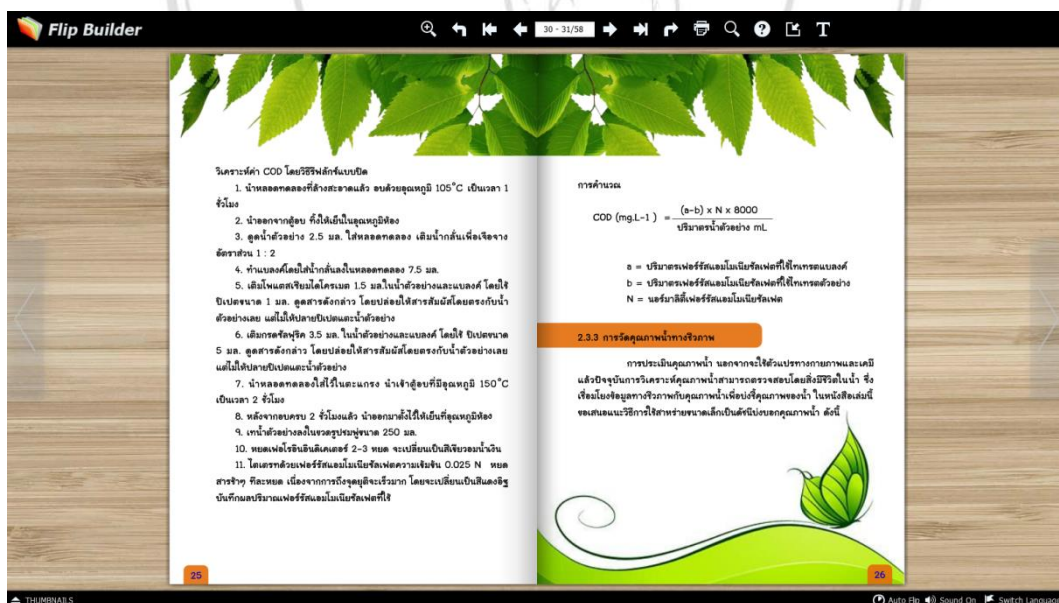
ภาพ น13 การวัดปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์



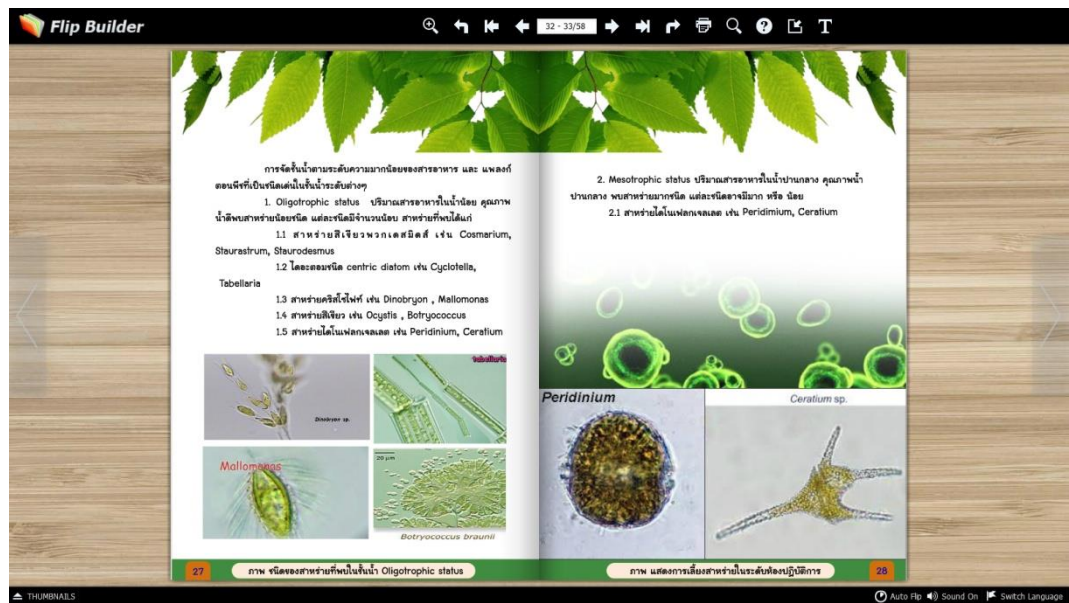
ภาพ น 14 ข้อจำกัดและสิ่งรบกวนของการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์



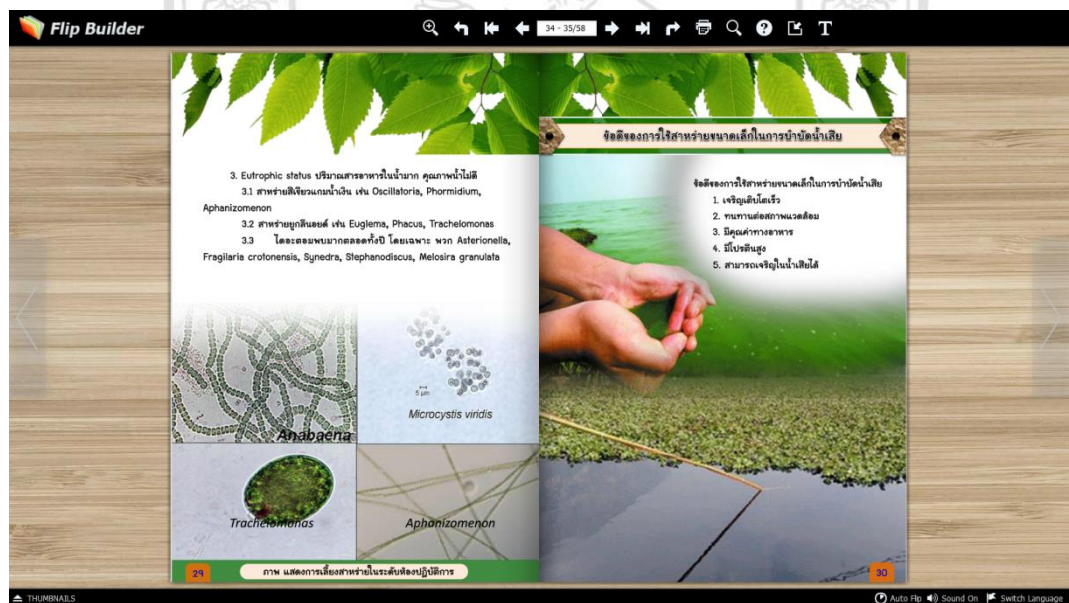
ภาพ น15 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการวัดปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์



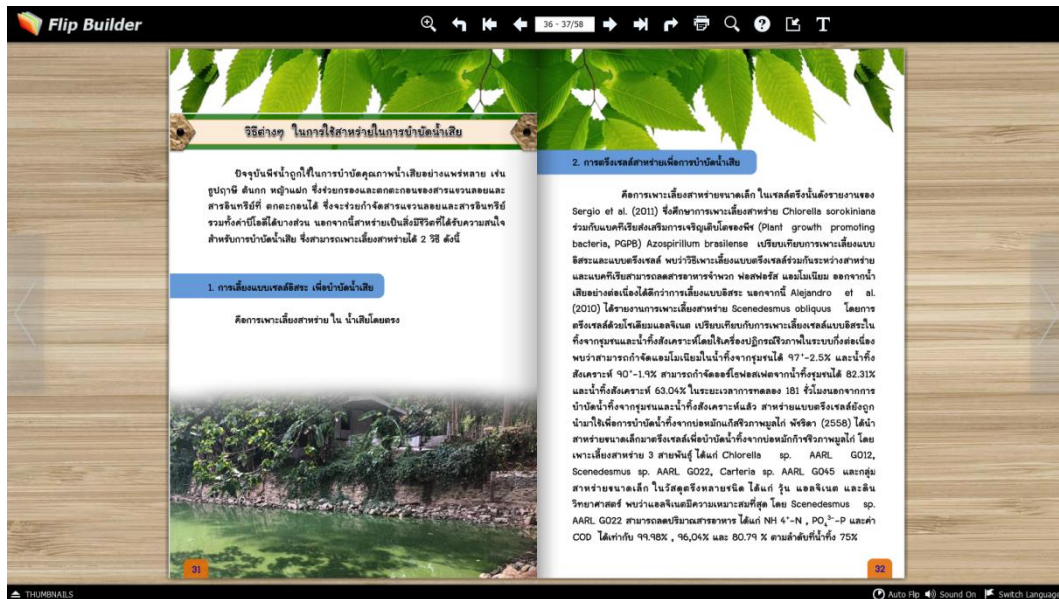
ภาพ น16 วิธีการวัดปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์



ภาพ น17 การวัดคุณภาพน้ำทางชีวภาพ



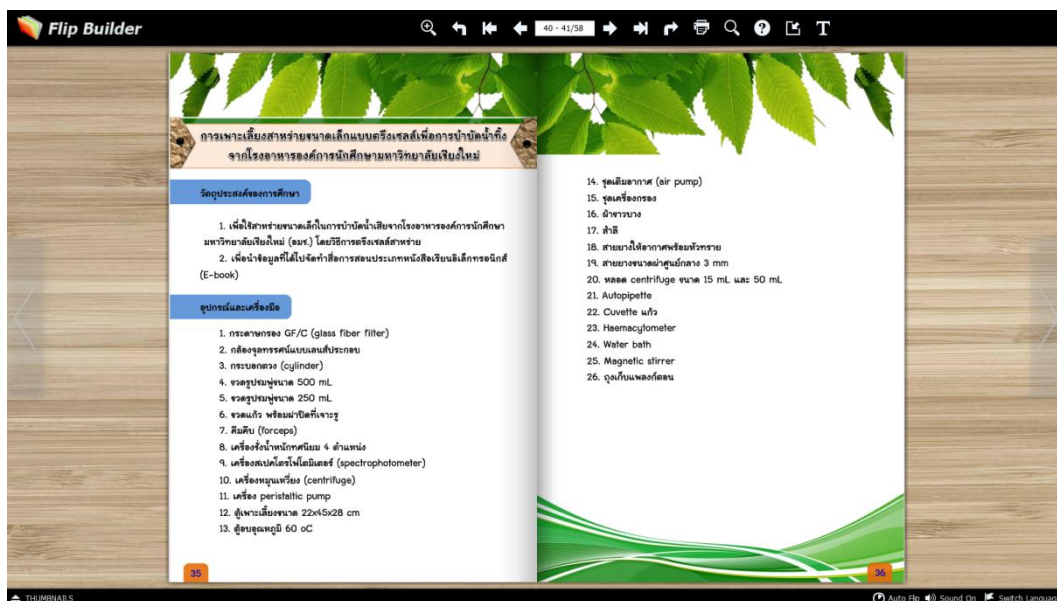
ภาพ น18 ข้อดีของการใช้สาหร่ายขนาดเล็กในการบำบัดน้ำเสีย



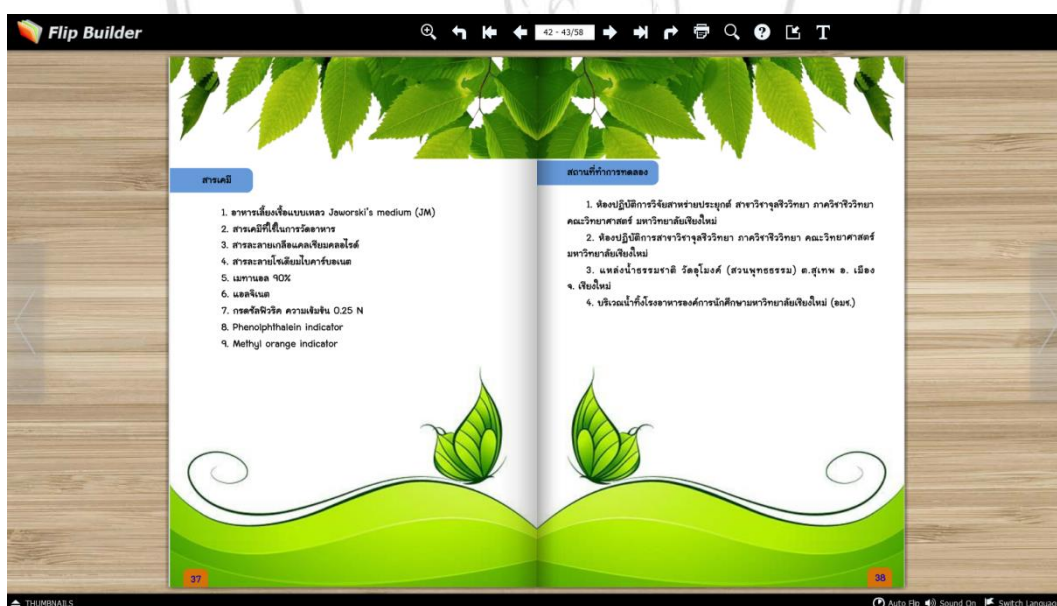
ภาพ น19 วิธีต่าง ๆ ในการใช้สาหร่ายในการบำบัดน้ำเสีย



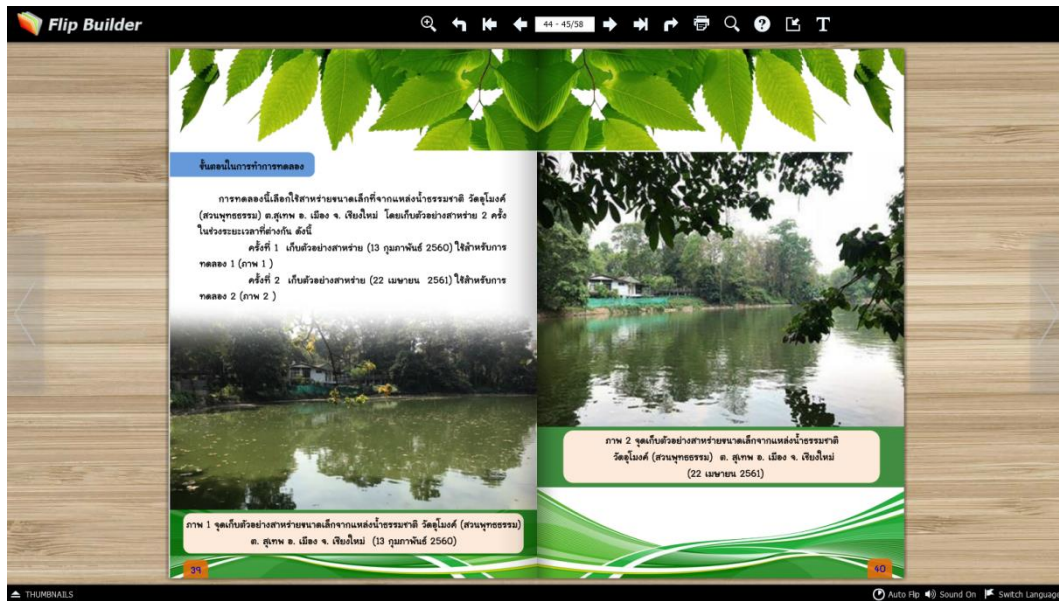
ภาพ น20 เทคนิคการตรึงเซลล์



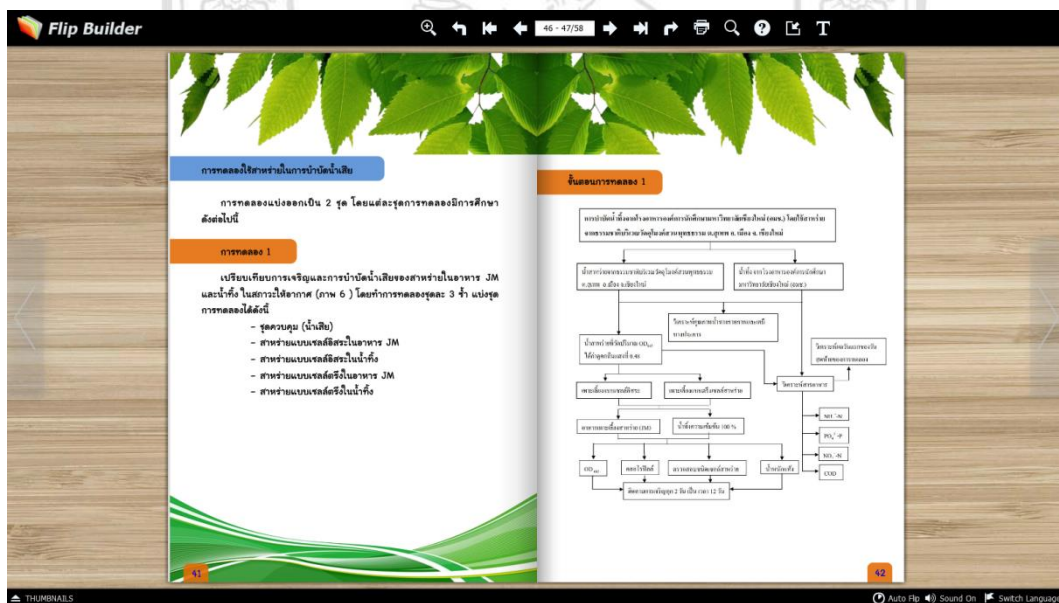
ภาพ น21 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบตรึงเซลล์ เพื่อการบำบัดน้ำเสีย
จากโรงอาหารองค์การนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่



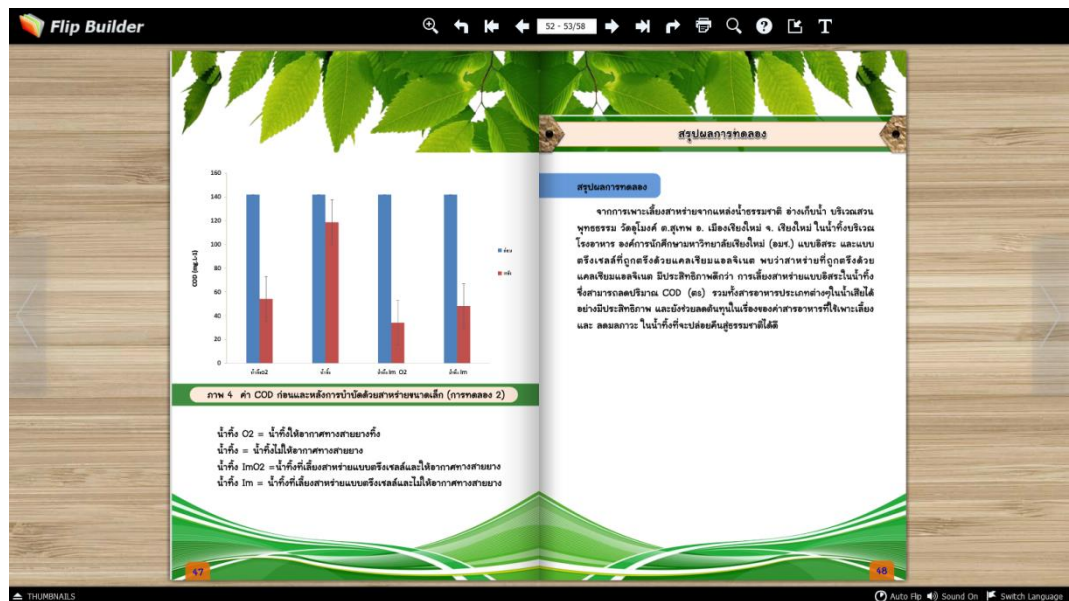
ภาพ น22 สารเคมี และ สถานที่ในการทดลอง



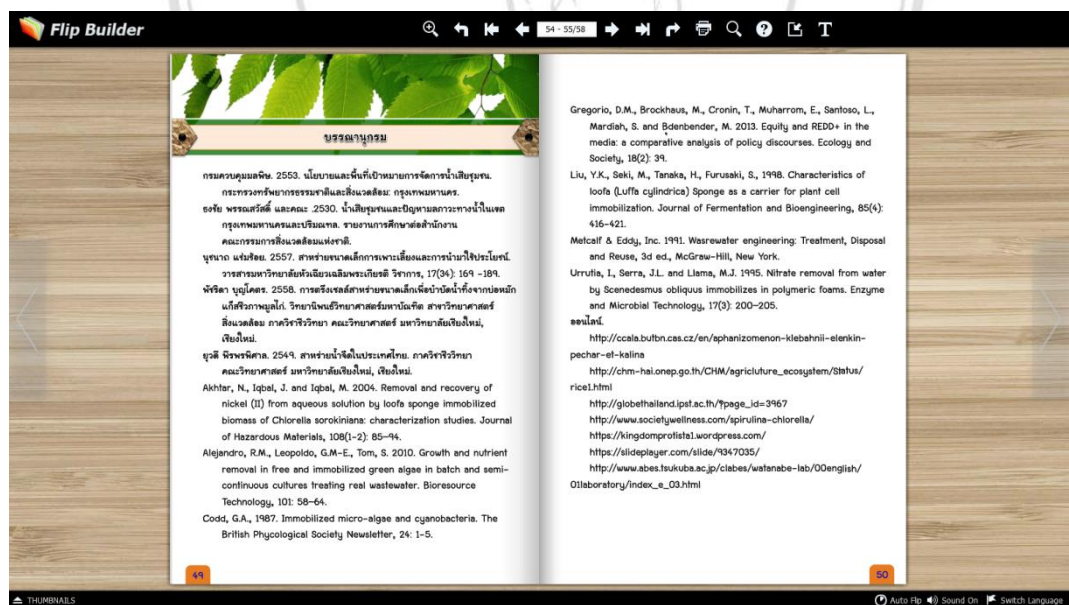
ภาพ จ23 ขั้นตอนในการทดลอง



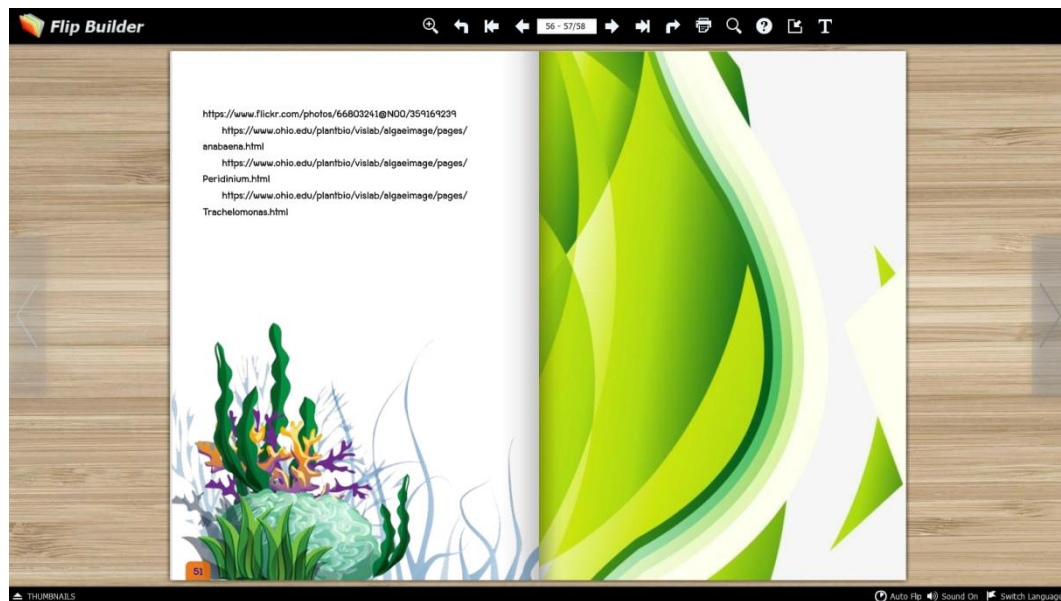
ภาพ จ24 ขั้นตอนในการทดลอง 1



ภาพ น27 ผลการทดลอง และสรุปผลการทดลอง



ภาพ น28 บรรณานุกรม



ภาพ จ29 บรรณานุกรม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – นามสกุล	นางสาวณฐมน แก้วนนท์
วัน เดือน ปี เกิด	2 มิถุนายน 2529
สถานที่เกิด	เชียงใหม่
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2546 ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนยุพราชวิทยาลัย จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2550 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
การนำเสนอผลงาน	ณฐมน แก้วนนท์, กฤษณา ดวงจันทร์ และ ชูวดี พิรพรพิศาล. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง. การนำเสนอแบบนิทรรศการ. งานแสดงผลงานพัฒนาเทคโนโลยีทุนปริญญาตรี สกว. ครั้งที่ 6 ณ สยาม พารากอน ฮอลล์ กรุงเทพมหานคร 28-30 มีนาคม 2551
ประสบการณ์ทำงาน	2551-2553 ครูสอนคณิตศาสตร์ สถาบันคุ่มองสาขาสีแยกสนามบิน 2553 ครูกลุ่มสาระวิทยาศาสตร์ โรงเรียนโกวิทจาง เชียงใหม่ 2554-2558 ครูกลุ่มสาระวิทยาศาสตร์ โรงเรียนสารสาสน์วิเทศล้านนา เชียงใหม่

