

ผลของช่วงแสงต่อการเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนในสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

พวงพกา ดำรัตน์¹ และ พิมพรรณ ตันสกุล²

Abstract

Dumrattana, P. and Tansakul, P.

Effect of photoperiod on growth and hydrocarbon content of *Botryococcus braunii* cultured in effluent from seafood processing plant.

Songklanakar J. Sci. Technol., 2006, 28(1) : 99-105

The hydrocarbon-rich alga, *Botryococcus braunii* was cultivated in Modified Chu13 medium at pH 6.7. Growth of *B. braunii* was studied by using batch culture in 2L conical flasks with an initial algal density of 0.75 g dry weight/l under air-lift condition (air-1% CO₂, rate of 7 l/min). The alga was incubated at the temperature of 25°C, with light intensity of 120 µE/m²/s and diurnal illumination cycles under 12 hours of light / 12 hours of dark; 16 hours of light / 8 hour of dark and continuous illumination (24 hours). The best growth of this alga was achieved under continuous illumination with a dry weight of 11.97 g/l on day 14 cultivation. The highest specific growth rate was 3.6 per day and significantly higher than that of the culture under diurnal light cycles (P<0.05). Moreover, cultivation of *Botryococcus braunii* in effluent (nitrate 78 mg/l) from seafood processing plant and adjusting effluent to a three-fold reduction in nitrate (nitrate 26 mg/l) compared with synthetic medium (Modified Chu13) under continuous illumination were investigated. The highest algal growth was obtained in effluent with a dry weight of 13.61 g/l. *B. braunii* could reduce nitrate, phosphate and ammonia-nitrogen concentrations in the effluent by 73%, 74% and 79%, respectively. In addition, the hydrocarbon synthesis by the alga *B. braunii* was 34% of its dry weight.

Key words : *Botryococcus braunii*, growth rate, hydrocarbon, effluent

Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112 Thailand.

¹นักศึกษาลูกศร วท.บ. สาขาชีววิทยา ²M.Sc.(Botany) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Corresponding e-mail: pimpan.t@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 16 พฤษภาคม 2548

รับลงพิมพ์ 14 กรกฎาคม 2548

บทคัดย่อ

พวงผกา ดำรัตน และ พิมพรรณ ต้นสกุล

ผลของช่วงแสงต่อการเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนในสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

ว. สงขลานครินทร์ วท. 2549 28(1) : 99-105

เลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูงในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ความเป็นกรด-เบส 6.7 โดยเลี้ยงในขวดแก้วกันแบนปริมาตร 2 ลิตร ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น 0.75 กรัม/น้ำหนักแห้ง/ลิตร ให้อากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 1% อัตรา 7 ลิตร/นาที่ อุณหภูมิ 25°C ความเข้มแสง 10000 ลักซ์ ช่วงสว่างต่อมืดเท่ากับ 12:12 ชั่วโมง 16:8 ชั่วโมง และให้แสงอย่างต่อเนื่อง (24 ชั่วโมง) ทำการเลี้ยงแบบกะ พบว่าสาหร่ายเติบโตดีที่สุดเมื่อรับแสงอย่างต่อเนื่อง มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 11.97 กรัม/ลิตร ในวันที่ 14 อัตราการเติบโตเฉพาะสูงสุดเท่ากับ 3.6 ต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างจากชุดที่ให้แสงเป็นช่วง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล (ปริมาณไนเตรท 78 มก./ลิตร) น้ำทิ้งที่ปรับปริมาณสารอาหาร (ไนเตรท) ให้ลดลง 3 เท่า (ปริมาณไนเตรท 26 มก./ลิตร) เลี้ยงเปรียบเทียบกับในอาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu13 ให้แสงอย่างต่อเนื่อง พบว่าสาหร่ายเติบโตดีที่สุดใต้น้ำทิ้งมีค่าเท่ากับ 13.61 กรัม/ลิตร โดยสาหร่ายสามารถลดปริมาณไนเตรท ฟอสเฟต และแอมโมเนียในน้ำทิ้งได้เท่ากับ 73%, 74% และ 79% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถสกัดไฮโดรคาร์บอนจากสาหร่าย *B. braunii* ได้ 34% ของน้ำหนักแห้ง

ในสถานการณ์ปัจจุบันมีการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงกัน ในปริมาณมาก โดยเฉพาะน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซล (diesel fuel) ทำให้ส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจ อุตสาหกรรม และการคมนาคมขนส่งของไทย อีกทั้งได้มีการนำน้ำมันเชื้อเพลิงมาใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้าและพลังงานความร้อน ตลอดจนการพาณิชย์อื่นๆ อย่างแพร่หลาย (สถาบันปิโตรเลียมแห่งประเทศไทย, 2541) ด้วยเหตุผลทางด้านแนวโน้มของราคาน้ำมันปิโตรเลียมที่เพิ่มสูงขึ้น และการเกิดกระแสความต้องการอนุรักษ์และปกป้องสิ่งแวดล้อมของโลก การค้นคว้าวิจัยในด้านการหาแหล่งพลังงานทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลจึงได้มุ่งเน้นที่จะนำน้ำมันดีเซลชีวภาพมาใช้ทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลปิโตรเลียมมากขึ้น จากการศึกษาพบว่าสามารถใช้ทดแทนได้เป็นอย่างดี (Ma and Hanna, 1999; Srivastava and Prasad, 2000)

ในปัจจุบัน ต้นทุนของกระบวนการผลิต และจัดจำหน่ายน้ำมันดีเซลชีวภาพยังมีมูลค่าค่อนข้างสูง ซึ่งถือได้ว่าเป็นอุปสรรคสำคัญในการนำน้ำมันดีเซลชีวภาพมาใช้ในเชิงปฏิบัติจริงจึงมีการค้นคว้าวิจัยถึงแหล่งสารตั้งต้นราคาถูก เช่น สาหร่ายขนาดเล็กบางชนิดที่สามารถผลิต

น้ำมันเพื่อนำมาใช้เป็นน้ำมันดีเซลชีวภาพได้ (Sheehan *et al.*, 1998) ด้วยคุณสมบัติของสาหร่าย *B. braunii* ที่มีการเติบโตอย่างรวดเร็วในธรรมชาติ และมีน้ำมันประเภท fuel oil ในปริมาณมาก ประมาณ 75% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Sawayama *et al.*, 1995) จึงได้ศึกษาการนำสาหร่ายชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ในการผลิตน้ำมันดีเซลชีวภาพและยังเป็นการนำทรัพยากรมาใช้ให้เป็นประโยชน์ เนื่องจากสาหร่ายสามารถใช้แสงและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเติบโต ทำให้สามารถลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ ซึ่งเป็นปัญหาทำให้โลกร้อน (Kojima and Zhang, 1999) อย่างไรก็ตามปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการผลิตสาหร่ายในระดับอุตสาหกรรมคือปริมาณสารอาหาร (nutrients) ที่จะต้องใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจน ซึ่งต้องใช้ในปริมาณมากและมีผลต่อต้นทุนการผลิต รวมทั้งสาหร่ายชนิดนี้มีการเติบโตช้าขณะที่ทำการเพาะเลี้ยง (Banerjee *et al.*, 2002) ทำให้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรมเพื่อผลิตน้ำมันดีเซลชีวภาพได้ ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของช่วงแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและปริมาณน้ำมันจากสาหร่าย *Botryococcus braunii* โดยการเพาะเลี้ยงในห้องทดลอง

เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตระดับอุตสาหกรรมต่อไป รวมทั้งมีประโยชน์ในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลที่มีปริมาณไนโตรเจนสูง

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

ถ่ายหัวเชื้อสาหร่าย *B. braunii* ลงในพลาสติกขนาด 250 มล. ที่บรรจุอาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu13 ปริมาตร 100 มล. นำไปวางบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบ/นาที ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ ให้สาหร่ายรับแสง 16 ชั่วโมง/วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25°C ระยะเวลาประมาณ 7 วัน ถ่ายสาหร่ายจากแต่ละพลาสติกลงในขวดแก้วกันแบบ เจือจางด้วยอาหาร Modified Chu13 ในสัดส่วนหัวเชื้อต่ออาหารเท่ากับ 1 ต่อ 2 เลี้ยงในสภาวะเดิมแต่ให้อากาศผสม CO₂ 1% อัตรา 7 ลิตร/นาที เป็นเวลา 7-10 วัน เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

การเตรียมน้ำทิ้ง

นำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลของบริษัท ทropicool แคนนิ่ง จำกัด (มหาชน) ที่ผ่านการบำบัดแล้ว ในบ่อดักตะกอน (ก่อนปล่อยออกสู่บึงประดิษฐ์) มากรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อลดปริมาณสารแขวนลอย นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว และปรับค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 6.7

การวิเคราะห์คุณลักษณะของอาหารสังเคราะห์ (Modified Chu13) และน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

นำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล อาหารสังเคราะห์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อและผ่านการเลี้ยงสาหร่ายใน ระยะ early stationary phase ส่งไปวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท ฟอสเฟต และแอมโมเนีย ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การทดลองเพื่อหาช่วงแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย

เลี้ยงสาหร่ายในขวดแก้วกันแบบ ปริมาตรเลี้ยง 2

ลิตร ในอาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu13 ค่าความเป็นกรด-เบส 6.7 ความเข้มแสง 120 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 0.75 กรัม/น้ำหนักแห้ง/ลิตร ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25°C ให้อากาศผสม CO₂ 1% อัตรา 7 ลิตร/นาที ทำการศึกษาช่วงสว่างต่อช่วงมืด 16:8 , 12:12 และ 24:0 ชั่วโมง ทำการเลี้ยงแบบกะ (batch culture) เก็บตัวอย่างโดยวิธีปลอดเชื้อ ทุก 2 วัน ศึกษาการเติบโตของสาหร่ายโดยวัดค่าความขุ่น (OD) ที่ความยาวคลื่น 435 nm และหาน้ำหนักแห้งของสาหร่าย (Vonshak and Borowitzka, 1991) คำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะ (μ) ในช่วง exponential growth phase จากสูตร

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

โดย X_1 = มวลของสาหร่ายเริ่มต้น (กรัม/ลิตร)

X_2 = มวลของสาหร่ายที่เวลา (t) (กรัม/ลิตร)

t_1 = เวลา (วัน) ของสาหร่ายเริ่มต้น, t_2 = เวลา (วัน) ของสาหร่ายที่เวลา t

การเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

เลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลของบริษัท ทropicool แคนนิ่ง จำกัด (มหาชน) มีปริมาณไนเตรท 78 มก./ลิตร ที่ปรับค่ากรด-เบส เท่ากับ 6.7 และน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลที่ปรับปริมาณสารอาหาร (ไนเตรท) ให้ลดลง 3 เท่า มีปริมาณไนเตรท 26 มก./ลิตร โดยเลี้ยงสาหร่ายเทียบกับอาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu13 ค่ากรด-เบส 6.7 เลี้ยงในขวดแก้วกันแบบ ปริมาตรการเลี้ยง 2 ลิตร ที่ความเข้มแสง 120 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 0.75 กรัม/น้ำหนักแห้ง/ลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25°C ให้อากาศผสม CO₂ 1% อัตรา 7 ลิตร/นาที เลี้ยงในช่วงแสงที่เหมาะสมที่สุดจากการศึกษาในขั้นต้น ศึกษาการเติบโตของสาหร่ายโดยหาค่าความขุ่น และน้ำหนักแห้ง ทุก 2 วัน นำน้ำทิ้งและอาหารสังเคราะห์ที่ผ่านการเลี้ยงสาหร่ายในระยะ early stationary phase ไปวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท ฟอสเฟต และแอมโมเนีย

การหาปริมาณไฮโดรคาร์บอน

ในระยะ early stationary phase นำสาหร่ายมาทำแห้งด้วยเครื่องฟรีซดรายเออร์ (Freeze dryer) จากนั้นนำมาสกัดไฮโดรคาร์บอนด้วยสารละลายเฮกเซน ด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์ (Sonicator) (Maxwell *et al.*, 1968) โดยใช้ความถี่เสียง 70 Hz เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองเซลล์สาหร่ายออก แล้วนำไประเหยเฮกเซนด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40°C จนได้น้ำหนักคงที่

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างของช่วงแสงระหว่างช่วงสว่างต่อช่วงมืด และหาปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่สาหร่ายผลิตได้ ด้วยวิธี paired sample T-Test โดยใช้โปรแกรม SPSS version 11.5 for Windows

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ศึกษาผลของช่วงแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในอาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu13 ที่ pH 6.7 ความเข้มแสง 120 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 0.75 กรัม/ลิตร ที่อุณหภูมิ 25°C ให้อากาศผสม CO_2 1% อัตรา 7 ลิตร/นาที ให้สาหร่ายรับแสงเป็นช่วงคือ ช่วงสว่างต่อช่วงมืด 16:8, 12:12 ชั่วโมง และรับแสงอย่างต่อเนื่อง (24:0 ชั่วโมง) ทำการเลี้ยงแบบกะ พบว่าสาหร่ายมีการเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อสาหร่ายได้รับแสงอย่างต่อเนื่อง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 11.97 กรัม/ลิตร ในวันที่ 14 (Figure 1) และมีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 3.6 ต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างจากช่วงแสงอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และให้ค่าสูงกว่าการรับแสงเป็นช่วงคือ 16 ชั่วโมง/วัน (4.65 กรัม/ลิตร) ประมาณ 2.5 เท่า (ยศวดี, 2547) สอดคล้องกับการเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu13 มีระยะเวลาให้แสงเท่ากับ 12 ชั่วโมง/วัน และให้แสงอย่างต่อเนื่องพบว่า ชุดที่ให้แสงอย่างต่อเนื่องสาหร่ายมีอัตราการเติบโตสูงกว่าชุดที่ให้แสงเป็นช่วง (Lupi *et al.*, 1994) ซึ่งการที่สาหร่ายได้รับแสงอย่างต่อเนื่องทำให้ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแสงเป็นพลังงานความร้อนได้ดี ส่งผลให้สาหร่ายสังเคราะห์

แสงได้สูงสุด (Richmond 1986) นอกจากนั้นการรับแสงเพิ่มขึ้นจะเร่งการทำงานของเซลล์ ทำให้สาหร่ายสามารถสังเคราะห์แสงได้ดีขึ้น ผลทำให้สาหร่ายมีการเติบโตสูง (Kosaric *et al.*, 1974)

เมื่อได้ช่วงแสงที่เหมาะสมซึ่งสาหร่ายเติบโตได้ดีที่สุดแล้ว ทำการทดลองต่อโดยทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลที่ไม่ปรับปริมาณสารอาหาร (ไนเตรท) และน้ำทิ้งที่ปรับปริมาณไนเตรท ให้ลดลง 3 เท่าจากความเข้มข้นเดิม (ไนเตรท 26 มก./ลิตร) เปรียบเทียบกับการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu13 โดยให้รับแสงอย่างต่อเนื่อง พบว่าสาหร่ายเติบโตได้ดีที่สุดในน้ำทิ้งที่ไม่มีการปรับปริมาณไนเตรท รองลงมาในน้ำทิ้งที่มีการปรับปริมาณไนเตรท ลดลง 3 เท่า และในอาหารสังเคราะห์โดยมีค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายในวันที่ 14 เท่ากับ 13.61 กรัม/ลิตร, 12.65 กรัม/ลิตร และ 11.93 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าสูงกว่าการทดลองของยศวดี (2547) ที่เลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลด้วยการให้แสงเป็นช่วง รวมทั้งของ Sawayama และคณะ (1992) ที่เลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งจากบ้านเรือน โดยสาหร่ายมีอัตราการเติบโตสูงสุดให้น้ำหนักแห้ง 0.35 กรัม/ลิตร/สัปดาห์ การทดลองครั้งนี้สามารถสกัดไฮโดรคาร์บอนจากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งและน้ำทิ้งที่ปรับปริมาณไนเตรท ให้ลดลง 3 เท่าได้ใกล้เคียงกัน คือประมาณ 34% ของน้ำหนักแห้ง (Figure 2) ซึ่งให้ผลแตกต่างจากการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารสังเคราะห์ ($P < 0.05$) โดยปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่สกัดได้มีค่าสูงกว่าการเลี้ยงสาหร่ายโดยรับแสงเป็นช่วงของ Vongprasert (1986) และยศวดี (2527) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 11.04% และ 23.87% ตามลำดับ การที่สาหร่ายรับแสงอย่างต่อเนื่องจะทำให้ผลผลิตสาหร่ายเพิ่มเป็น 2 เท่า และปริมาณไฮโดรคาร์บอนเพิ่มเป็น 4 เท่า (Lupi *et al.*, 1994) แต่จากการเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนให้รับแสงอย่างต่อเนื่อง โดยเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (continuous culture) สามารถผลิตไฮโดรคาร์บอนได้สูงถึง 49% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Sawayama *et al.*, 1994) ซึ่งให้ผลดีกว่าการทดลองในครั้งนี้น้ำที่เลี้ยงสาหร่ายแบบกะ นอกจากนี้ปริมาณไฮโดรคาร์บอนยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่าย *B. braunii* (Metzger and Largeau, 1999)

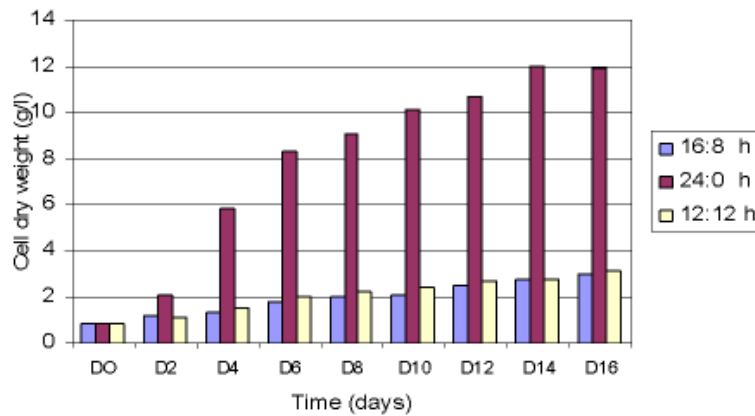


Figure 1. Growth of *Botryococcus braunii* in Modified Chu13 during 3 various photoperiods.

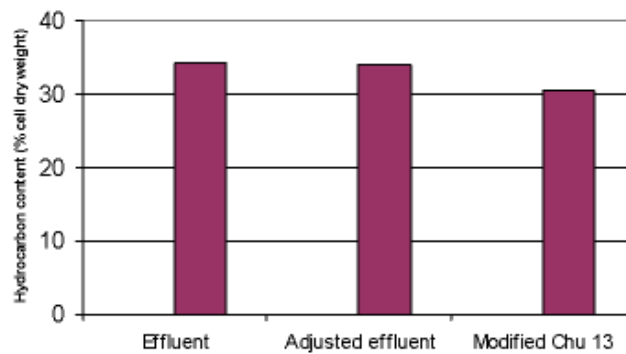


Figure 2. Hydrocarbon contents of *Botryococcus braunii* in effluent, adjusted effluent (1/3 original nitrate concentration) and Modified Chu13 under continuous illumination.

ทดสอบประสิทธิภาพการลดปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งโดยสาหร่าย *B. braunii* โดยวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งและน้ำทิ้งที่ปรับปริมาณไนเตรทในวันที่ 14 (early stationary phase) พบว่า สาหร่ายมีการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียได้สูงสุด รองลงมาคือไนเตรทและฟอสเฟต ตามลำดับ โดยส่วนใหญ่สาหร่ายสามารถใช้สารอาหารได้ดีที่สุดในน้ำทิ้งที่ปรับปริมาณสารอาหารมีค่าเท่ากับ 96.55% 78.5% และ 66.74% ตามลำดับ (Table 1) อาจเนื่องจากในน้ำทิ้งที่ไม่ปรับปริมาณสารอาหารมีปริมาณสารอาหารมากเกินไป โดยเฉพาะไนเตรทมีมากกว่าในน้ำทิ้งที่ปรับปริมาณไนเตรท และในอาหารสังเคราะห์ประมาณ 3 เท่า และ 2.5 เท่า ตามลำดับ ดังนั้นระหว่างการทดลองครั้งนี้ยังคงมีไนเตรทเหลืออยู่ในอาหารเลี้ยง รวมทั้งในระยะ early stationary phase

สาหร่ายบางส่วนอาจตาย ทำให้ปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงเพิ่มขึ้นเช่นกัน ส่วนแอมโมเนียสาหร่ายมีการใช้มากกว่าไนเตรท เนื่องจากโดยทั่วไปสาหร่ายจะใช้แอมโมเนียหมดก่อน จึงจะใช้ไนเตรท (Kaplan *et al.*, 1986) จากการศึกษาของ Sawayama และคณะ (1992) ที่เลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งจากบ้านเรือน (ปริมาณไนเตรท 7.67 มก./ลิตร) สามารถใช้ปริมาณไนเตรทได้อย่างมีประสิทธิภาพเท่ากับ 99.8% ในระยะ exponential phase เนื่องจากในช่วงนี้สาหร่ายมีการเติบโตสูงสุด

สาหร่ายสามารถใช้ธาตุอาหารฟอสฟอรัสในรูปของฟอสเฟตได้ดีที่สุดในน้ำทิ้ง 74.11% รองลงมาในน้ำทิ้งที่ปรับปริมาณไนเตรท 66.74% และในอาหารสังเคราะห์ 55.89% (Table 1) ซึ่งให้ผลแตกต่างจากสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากบ้านเรือน ซึ่งมีปริมาณฟอสเฟต

Table 1. Characteristic of culture media (Modified Chu13, Effluent and Adjusted effluent to reduce nitrate 3 fold concentrations) during cultivation of *Botryococcus braunii*.

Medium	Effluent	Adjusted effluent	Modified Chu13
Nitrate-N (mg/l)			
day 0	78	26	32
day 14	21.27	5.59	5.69
% reduced	72.73	78.50	82.20
Ammonia-N (mg/l)			
day 0	12.18	4.06	-
day 14	2.52	0.14	-
% reduced	79.31	96.55	-
Orthophosphate (mg/l)			
day 0	43.65	14.55	14.6
day 14	11.3	4.84	6.44
% reduced	74.11	66.74	55.89

0.02 มก./ลิตร โดยสาหร่ายสามารถใช้ฟอสเฟตได้เกือบ 100% ในระยะ exponential growth (Sawayama *et al.*, 1992) อาจเนื่องจากในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนมีปริมาณฟอสเฟตน้อย ซึ่งเพียงพอต่อการเติบโตของสาหร่ายเมื่อเทียบกับในน้ำทิ้งและอาหารสังเคราะห์ซึ่งมีปริมาณฟอสเฟตค่อนข้างสูง โดยมีค่า 43.65 มก./ลิตร และ 14.6 มก./ลิตร ตามลำดับ Casadevall และคณะ (1985) รายงานว่าโดยทั่วไปสาหร่ายชนิดนี้จะดูดซับฟอสเฟตอย่างรวดเร็วในปริมาณเกินความต้องการของเซลล์ ในระยะ early exponential growth ปริมาณที่เหลือใช้จะเก็บสะสมอยู่ในเซลล์ในรูป polyphosphate granules และสาหร่ายจะนำฟอสเฟตมาใช้เมื่อปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงถูกใช้หมดไป แต่ในระยะ early stationary phase สาหร่ายบางส่วนอาจจะตาย ดังนั้นปริมาณฟอสเฟตที่สะสมภายในเซลล์จะถูกปล่อยออกมา จึงทำให้การหาปริมาณฟอสเฟตที่แท้จริงเป็นไปได้ยาก

จากผลการศึกษาที่มีความเป็นไปได้ที่จะเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูง ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล ซึ่งมีปริมาณแอมโมเนีย ไนเตรท และฟอสเฟตสูง เป็นการช่วยลดต้นทุนในด้านสารเคมีซึ่งมีราคาแพง เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตไฮโดรคาร์บอน รวมทั้งสาหร่ายจะช่วยบำบัดน้ำทิ้งก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งป้องกันการเกิดมลพิษ (pollution) ในสิ่งแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

- ยศวดี สวัสดิรักษา. 2547. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูง ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ปิโตรเลียมแห่งประเทศไทย, สถาบัน. 2541. รอบรู้เรื่องปิโตรเลียม. กรุงเทพฯ.
- Banerjee, A., Sharma, R., Chisti, Y. and Banerjee, U.C. 2002. *Botryococcus braunii*: A renewable source of hydrocarbons and other chemicals, Crit. Rev. Biotechnol., 22(3): 245-279.
- Casadevall, E., Dif, D. and Largeau, C. 1985. Studies on batch and continuous cultures of *Botryococcus braunii*: hydrocarbon production in relation to physiological state, cell ultrastructure and phosphate nutrition, Biotechnol. Bioeng., 27: 286-295.
- Kaplan, D., Richmond, A.E., Dubinsky, Z. and Aaronson, S. 1986. Algal nutrition. pp. 147-198. In Richmond, A. (Ed.), CRC Handbook of Microalgal Mass Culture. CRC Press, Inc., Florida.
- Kojima, E. and Zhang, K. 1999. Growth and hydrocarbon production of microalga *Botryococcus braunii* in bubble column photobioreactors, J. Biosci. Bioeng., 87: 811-815.

- Kosaric, N., Nguyen, H.T. and Bengognou, M.A. 1974. Growth of *Spirulina maxima* in effluents from secondary waste-water treatment plant, *Biotechnol, Bioeng.*, 16: 881-869.
- Lupi, F.M., Fernandes, H.M.L., Tome, M.M., Sa-Correia, I. and Novais, J.M. 1994. Influence of nitrogen source and photoperiod on exopolysaccharide synthesis by the microalga *Botryococcus braunii* UC 58, *Enzyme Microb. Technol.*, 16: 546-550.
- Ma, F. and Hanna, M.A. 1999. Biodiesel production: a review, *Bioresource Technol.*, 70: 1-15.
- Maxwell, J.R., Douglas, A.G., Eglinton, G. and McCormick, A. 1968. The botryococcones - hydrocarbons of novel structure from the alga *Botryococcus braunii*, *Kutzing, Phytochem.*, 7: 2157-2171.
- Metzger, P. and Largeau, C. 1999. Chemicals of *Botryococcus braunii*. pp. 205-260. In Cohen, Z. (Ed.), *Chemicals from Microalgae*. Taylor and Francis Ltd., London.
- Richmond, A. 1986. *Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC Press, Inc., Florida.
- Sawayama, S., Minowa, T., Dote, Y. and Yokoyama, S. 1992. Growth of the hydrocarbon-rich microalga *Botryococcus braunii* in secondarily treated sewage, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 38: 135-138.
- Sawayama, S., Inoue, S. and Yokoyama, S. 1994. Continuous culture of hydrocarbon-rich microalga *Botryococcus braunii* in secondarily treated sewage, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 41: 729-731.
- Sawayama, S., Inoue, S. and Yokoyama, S. 1995. Phylogenetic position of *Botryococcus braunii* based on small subunit of ribosomal RNA sequence data, *J. Phycol.*, 31: 419-425.
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J. and Roessler, P. 1998. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program - Biodiesel from Algae. National Renewable Energy Laboratory of the U.S. Department of Energy Midwest Research Institute.
- Srivastava, A. and Prasad, R. 2000. Triglycerides-based diesel fuels: Renewable and sustainable, *Energy Reviews*, 4: 111-133.
- Vongprasert, R. 1986. Baseline for the Cultivation of Native Oil Rich Alga (*Botryococcus braunii*), as the Potential Source of the Biocrude Oil Productions in Thailand. Thesis of Master of Science Technology of Environmental Management Mahidol University Bangkok, Thailand.
- Vonshak, A. and Borowitzka, M.A. 1991. *Mass Cultivation of Microalgae Laboratory Manual. Research Seminar and Workshop*. November, 1991. Silpakorn University, Nakorn phathom, Thailand.