นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของช่วงแสงต่อการเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนในสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

พวงผกา ดำรัตนา[1] และ พิมพรรณ ตันสกุล[2]

Abstract

Dumrattana, P. and Tansakul, P.
Effect of photoperiod on growth and hydrocarbon content of *Botryococcus braunii* cultured in effluent from seafood processing plant.
Songklanakarin 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% CO_2, rate of 7 l/min). The alga was incubated at the temperature of 25ºC, 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.

[1]นักศึกษาหลักสูตร วท.บ. สาขาชีววิทยา [2]M.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 ดำรัตนา และ พิมพรรณ ตันสกุล

ผลของช่วงแสงต่อการเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนในสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

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

เลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูงในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ความเป็นกรด-เบส 6.7 โดยเลี้ยงในขวดแก้วก้นแบนปริมาตร 2 ลิตร ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น 0.75 กรัมน้ำหนักแห้ง/ลิตร ให้อากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 1% อัตรา 7 ลิตร/นาที 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 อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 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 พบว่าสาหร่ายเติบโตดีที่สุดในน้ำทิ้งมีค่าเท่ากับ 13.61 กรัม/ลิตร โดยสาหร่ายสามารถลดปริมาณไนเตรท ฟอสเฟต และแอมโมเนียในน้ำทิ้งได้เท่ากับ 73%, 74% และ 79% ตามลำดับ นอกจากนั้นสามารถสกัดไฮโดรคาร์บอนจากสาหร่าย *B. braunii* ได้ 34% ของน้ำหนักแห้ง

ในสถานการณ์ปัจจุบันมีการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงกันในปริมาณมาก 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 สาหร่ายขนาดเล็กบางชนิดที่สามารถผลิตน้ำมันเพื่อนำมาใช้เป็นน้ำมันดีเซลชีวภาพได้ (Sheehan *et al*., 1998) ด้วยคุณสมบัติของสาหร่าย *B. braunii* ที่มีการเติบโตอย่างรวดเร็วในธรรมชาติ และมีน้ำมันประเภท fuel oil ในปริมาณมาก ประมาณ 75% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Sawayama *et al*., 1995) จึงได้ศึกษาการนำสาหร่ายชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ในการผลิตน้ำมันดีเซลชีวภาพและยังเป็นการนำทรัพยากรมาใช้ให้เป็นประโยชน์ เนื่องจากสาหร่ายสามารถใช้แสงและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเติบโต ทำให้สามารถลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศซึ่งเป็นปัญหาทำให้โลกร้อน (Kojima and Zhang, 1999) อย่างไรก็ตามปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการผลิตสาหร่ายในระดับอุตสาหกรรมคือปริมาณสารอาหาร (nutrients) ที่จะต้องใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจนซึ่งต้องใช้ในปริมาณมากและมีผลต่อต้นทุนการผลิต รวมทั้งสาหร่ายชนิดนี้มีการเติบโตช้าขณะที่ทำการเพาะเลี้ยง (Banerjee *et al*., 2002) ทำให้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรมเพื่อผลิตน้ำมันดีเซลชีวภาพได้ ดังนั้นโครงงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของช่วงแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและปริมาณน้ำมันจากสาหร่าย *Botryococcus braunii* โดยการเพาะเลี้ยงในห้องทดลอง

เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตระดับอุตสาหกรรมต่อไป รวมทั้งมีประโยชน์ในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลที่มีปริมาณไนโตรเจนสูง

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

ถ่ายหัวเชื้อสาหร่าย *B. braunii* ลงในฟลาสต์ขนาด 250 มล. ที่บรรจุอาหารสังเคราะห์สูตร Modifiled Chu13 ปริมาตร 100 มล. นำไปวางบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบ/นาที ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ ให้สาหร่ายรับแสง 16 ชั่วโมง/วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25ºC ระยะเวลาประมาณ 7 วัน ถ่ายสาหร่ายจากแต่ละฟลาสต์ลงในขวดแก้วก้นแบนเจือจางด้วยอาหาร Modifiled Chu13 ในสัดส่วนหัวเชื้อต่ออาหารเท่ากับ 1 ต่อ 2 เลี้ยงในสภาวะเดิมแต่ให้อากาศผสม CO_2 1% อัตรา 7 ลิตร/นาที เป็นเวลา 7-10 วัน เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

การเตรียมน้ำทิ้ง

นำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลของบริษัททรอปิคอลแคนนิ่ง จำกัด (มหาชน) ที่ผ่านการบำบัดแล้วในบ่อตกตะกอน (ก่อนปล่อยออกสู่บึงประดิษฐ์) มากรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อลดปริมาณสารแขวนลอย นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121ºC เวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว และปรับค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 6.7

การวิเคราะห์คุณลักษณะของอาหารสังเคราะห์ (Modified Chu13) และน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

นำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล อาหารสังเคราะห์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อและผ่านการเลี้ยงสาหร่ายในระยะ early stationary phase ส่งไปวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท ฟอสเฟต และแอมโมเนีย ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การทดลองเพื่อหาช่วงแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย

เลี้ยงสาหร่ายในขวดแก้วก้นแบน ปริมาตรเลี้ยง 2 ลิตร ในอาหารสังเคราะห์สูตร Modifiled Chu13 ค่าความเป็นกรด-เบส 6.7 ความเข้มแสง 120 $\mu E/m^2/s$ ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 0.75 กรัมน้ำหนักแห้ง/ลิตร ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25ºC ให้อากาศผสม CO_2 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

เลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลของบริษัททรอปิคอลแคนนิ่ง จำกัด (มหาชน) มีปริมาณไนเตรท 78 มก./ลิตร ที่ปรับค่ากรด-เบส เท่ากับ 6.7 และน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลที่ปรับปริมาณสารอาหาร (ไนเตรท) ให้ลดลง 3 เท่า มีปริมาณไนเตรท 26 มก./ลิตร โดยเลี้ยงสาหร่ายเทียบกับอาหารสังเคราะห์สูตร Modifiled Chu13 ค่ากรด-เบส 6.7 เลี้ยงในขวดแก้วก้นแบน ปริมาตรการเลี้ยง 2 ลิตร ที่ความเข้มแสง 120 $\mu E/m^2/s$ ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 0.75 กรัมน้ำหนักแห้ง/ลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25ºC ให้อากาศผสม CO_2 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 40ºC 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 $\mu E/m^2/s$ ความหนาแน่นของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 0.75 กรัมน้ำหนักแห้ง/ลิตร ที่อุณหภูมิ 25ºC ให้อากาศผสม CO_2 1% อัตรา 7 ลิตร/นาที ให้สาหร่ายรับแสงเป็นช่วงคือช่วงสว่างต่อช่วงมืด 16:8, 12:12 ชั่วโมง และรับแสงอย่างต่อเนื่อง (24:0 ชั่วโมง) ทำการเลี้ยงแบบกะ พบว่าสาหร่ายมีการเติบโตดีที่สุดเมื่อสาหร่ายได้รับแสงอย่างต่อเนื่อง 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 และให้แสงอย่างต่อเนื่องพบว่าชุดที่ให้แสงอย่างต่อเนื่องสาหร่ายมีอัตราการเติบโตสูงกว่าชุดที่ให้แสงเป็นช่วง (Lupi *et al*., 1994) ซึ่งการที่สาหร่ายได้รับแสงอย่างต่อเนื่องทำให้ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแสงเป็นพลังงานความร้อนได้ดี ส่งผลให้สาหร่ายสังเคราะห์แสงได้สูงสุด (Richmond 1986) นอกจากนั้นการรับแสงเพิ่มขึ้นจะเร่งการทำงานของเซลล์ ทำให้สาหร่ายสามารถสังเคราะห์แสงได้ดีขึ้น ผลทำให้สาหร่ายมีการเติบโตสูง (Kosaric *et al*., 1974)

เมื่อได้ช่วงแสงที่เหมาะสมซึ่งสาหร่ายเติบโตดีที่สุดแล้ว ทำการทดลองต่อโดยทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลที่ไม่ปรับปริมาณสารอาหาร (ไนเตรท) และน้ำทิ้งที่ปรับปริมาณไนเตรท ให้ลดลง 3 เท่าจากความเข้มข้นเดิม (ไนเตรท 26 มก./ลิตร) เปรียบเทียบกับการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu13 โดยให้รับแสงอย่างต่อเนื่อง พบว่าสาหร่ายเติบโตได้ดีที่สุดในน้ำทิ้งที่ไม่มีการปรับปริมาณไนเตรท รองลงมาในน้ำทิ้งที่มีการปรับปริมาณไนเตรทลดลง 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) ซึ่งให้ผลดีกว่าการทดลองในครั้งนี้ที่เลี้ยงสาหร่ายแบบกะ นอกจากนี้ปริมาณไฮโดรคาร์บอนยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่าย *B. braunii* (Metzger and Largeau, 1999)

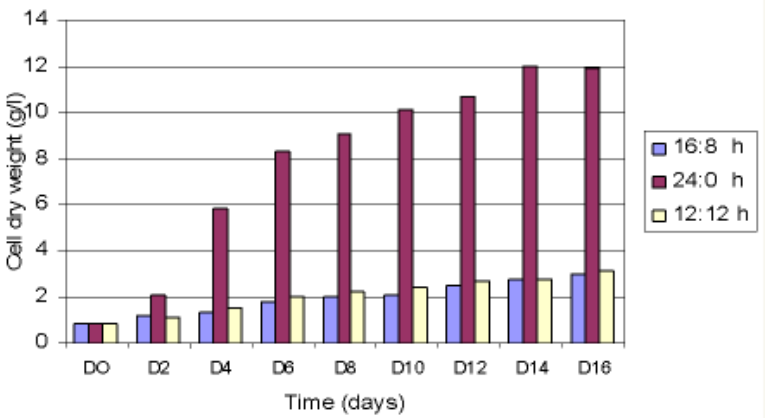

Figure 1. Growth of *Botryococcus braunii* in Modified Chu13 during 3 various photoperiods.

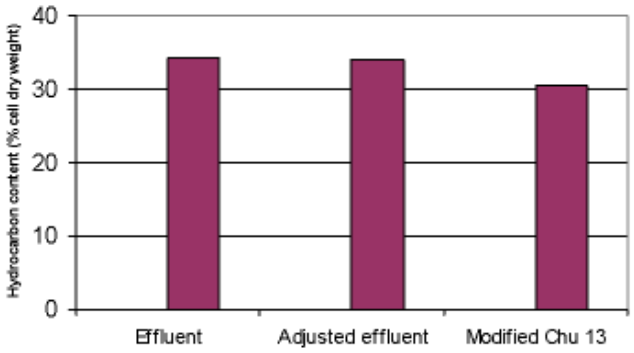

Figure 2. Hydrocarbon contents of *Botryococcus braunii* in effluent, adjusted effluent (1/3 original nitrate concentration) and Modified Chu13 under continuous illumination.

ทดสอบประสิทธิภาพการลดปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งโดยสาหร่าย *B. braunii* โดยวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งและน้ำทิ้งที่ปรับปริมาณไนเตรทในวันที่ 14 (early stationary phase) พบว่า สาหร่ายมีการใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียได้สูงสุด รองลงมาคือไนเตรทและฟอสเฟต ตามลำดับ โดยส่วนใหญ่สาหร่ายสามารถใช้สารอาหารได้ดีที่สุดในน้ำทิ้งที่ปรับปริมาณสารอาหารมีค่าเท่ากับ 96.55% 78.5% และ 66.74% ตามลำดับ (Table 1) อาจเนื่องจากในน้ำทิ้งที่ไม่ปรับปริมาณสารอาหารมีปริมาณสารอาหารมากเกินพอ โดยเฉพาะไนเตรทมีมากกว่าในน้ำทิ้งที่ปรับปริมาณไนเตรท และในอาหารสังเคราะห์ประมาณ 3 เท่า และ 2.5 เท่า ตามลำดับ ดังนั้นระหว่างการทดลองครั้งนี้ยังคงมีไนเตรทเหลืออยู่ในอาหารเลี้ยง รวมทั้งในระยะ early stationary phase สาหร่ายบางส่วนอาจตาย ทำให้ปริมาณไนเตรทในอาหารเลี้ยงเพิ่มเช่นกัน 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 ปริมาณที่เหลือใช้จะเก็บสะสมอยู่ภายในเซลล์ในรูป polyphosphate granules และสาหร่ายจะนำฟอสเฟตมาใช้เมื่อปริมาณฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงถูกใช้หมดไป แต่ในระยะ early stationary phase สาหร่ายบางส่วนอาจจะตาย ดังนั้นปริมาณฟอสเฟตที่สะสมภายในเซลล์จะถูกปล่อยออกมา จึงทำให้การหาปริมาณฟอสเฟตที่แท้จริงเป็นไปได้ยาก

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

เอกสารอ้างอิง

ยศวดี สวัสดิรักษา. 2547. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococus 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 ultrastruture 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 exo-polysaccharide 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 botryococcenes - 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* insecondarily treated sewage, Appl. Microbial. 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.