

ผลของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช ต่อปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์

Effects of Immobilized Plant Chlorophyll Cell Model on Dissolved Oxygen Contents in Synthetic Wastewater

ธีรวัฒน์ สีทองแดง¹ บุรินทร์ มนต์ธีรวิสัย¹ ทรงกลด ไบยา² อาภรณ์ บัวหลวง³ สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ¹ และ บงกช บุญบุรพงค์^{1*}

Teerawat Seethongdaeng¹ Burin Montreiwai¹ Songklod Baiya²

Aporn Bualuang³ Surasak Laloknam¹ and Bongkoj Boonburapong^{1*}

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร 10110

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร 10110

³วิทยาลัยแพทยศาสตร์นานาชาติจุฬาภรณ์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ จังหวัดปทุมธานี 12120

¹Department of General Science, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Bangkok, 10110

²Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Bangkok, 10110

³Chulabhorn International College of Medicine, Thammasat University, Pathum Thani Province, 12120

*Corresponding author E-mail: bongkoj@g.swu.ac.th

Received 29 May 2023, Accepted 20 September 2023, Published 24 September 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชต่อปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยสกัดคลอโรฟิลล์จากใบพืช จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ชะพลู (*Piper sarmentosum*) บัวบก (*Centella asiatica*) และ เตย (*Pandanus amaryllifolius*) ชนิดละ 10 กรัม สกัดด้วยน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชผสมกับสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่า สูตรเซลล์ตรึงที่เหมาะสมในการแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช คือ สารผสมที่มีความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และนำไปศึกษาชนิดแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยใช้เครื่องวัดออกซิเจนละลายน้ำ พบว่า แบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูมีความสามารถเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์สูงสุด มีค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 7.51 มิลลิกรัมต่อลิตร ในเวลา 60 นาที รองลงมา คือ ใบบัวบก และ ใบเตย เท่ากับ 6.82 และ 5.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ในเวลา 60 นาที ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการศึกษาข้อนี้บ่งชี้ได้ว่าแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชสามารถเพิ่มออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ และสามารถนำไปใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียได้

คำสำคัญ: แบบจำลองเซลล์, สารสกัดคลอโรฟิลล์, ออกซิเจนละลายน้ำ, น้ำเสียสังเคราะห์

ABSTRACT

This research aimed to investigate the effects of the immobilized plant chlorophyll cells on dissolved oxygen (DO) contents in synthetic wastewater. Plant chlorophyll crude extracts were prepared using three plant leaves: betel (*Piper sarmentosum*), centella (*Centella asiatica*), and pandan (*Pandanus amaryllifolius*). Ten grams of each plant's leaves were homogenized with 100 ml of water. Each of chlorophyll extract was mixed with various concentrations of sodium alginate ranging from 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 % (w/v). Each of the chlorophyll-alginate mixtures was added dropwise into various concentrations of calcium chloride solution concentration ranging from 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0% (w/v). The optimum concentration for the immobilized plant chlorophyll formation was a combination of 2.0% (w/v) sodium alginate and 1.0% (w/v) calcium chloride. Each of immobilized plant chlorophyll cell model was subjected to determine the DO content in synthetic wastewater using DO meter. The results showed that immobilization with the betel's chlorophyll gave a maximal DO content in synthetic wastewater (7.51 mg/L in 60 minutes) followed by centella and pandan (6.82 and 5.45 mg/L in 60 minutes, respectively) compared with control (4.00 mg/L). This finding suggested that the immobilized plant chlorophyll cell models increased dissolved oxygen contents in synthetic wastewater and could be used for the wastewater treatment process.

Keywords: Cell Model, Chlorophyll Extract, Dissolved Oxygen, Synthetic Wastewater

บทนำ

จากวิถีชีวิตของคนไทยมีการนำน้ำไปใช้ประโยชน์ในหลายๆ ด้าน ได้แก่ อุปโภคบริโภค การเกษตร การประมง อุตสาหกรรม และ การคมนาคม จากจำนวนประชากรที่มากขึ้นส่งผลกระทบต่อการใช้ทรัพยากรน้ำปริมาณมากและปล่อยน้ำเสียที่ไม่ถูกสุขลักษณะลงสู่แหล่งน้ำจากบ้านเรือนที่พักอาศัยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ นอกจากนี้ของเสียที่เกิดจากการทำการเกษตร และ โรงงานอุตสาหกรรมใกล้แหล่งน้ำ ปล่อยน้ำเสียลงแหล่งน้ำส่งผลให้คุณภาพของน้ำเสื่อมโทรมลง มีผลต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ เช่น น้ำเน่าเสียที่เกิดจากกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้ดัชนีคุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงไป เช่น ค่าความเป็นกรดเบส และ ปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำลดลง เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ เมื่อคุณภาพน้ำแย่งการนำไปใช้ประโยชน์ก็น้อยลงไปด้วย โดยวิธีการที่ใช้ในการรายงานผลคุณภาพน้ำแหล่งน้ำผิวดินให้กับประชาชนทั่วไปได้เข้าใจโดยง่าย คือการใช้ดัชนีคุณภาพน้ำ ซึ่งเป็นการบอกระดับคุณภาพน้ำว่าอยู่ในเกณฑ์ดีมาก ดี พอใช้ เสื่อมโทรมหรือเสื่อมโทรมมาก และเป็นการติดตามเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากมลพิษทางน้ำ และเป็นข้อมูลที่บ่งบอกความสามารถในการนำน้ำไปใช้ประโยชน์ และคำแนะนำเบื้องต้น เช่น เมื่อต้องการนำน้ำจากแหล่งน้ำที่จัดอยู่ในแหล่งน้ำผิวดินประเภทที่ 3 ที่เป็นแหล่งน้ำที่รับน้ำทั้งจากกิจกรรมบางประเภท มาใช้ในการอุปโภคบริโภค ควรนำน้ำมาผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำทั่วไป และผ่านการฆ่าเชื้อโรค (Laloknam and Sirisopana, 2011; Suktalord et al., 2016; Danyuttasilp and Laloknam, 2013; Lage, Toffolo and Gentili, 2021; Shen, Gao and Li, 2017)

ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO) เป็น 1 ใน 5 พารามิเตอร์สำคัญในมาตรฐานคุณภาพน้ำแหล่งน้ำผิวดิน เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงปริมาณก๊าซออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ โดยออกซิเจนเป็นก๊าซที่ละลายน้ำได้น้อยมากและไม่ทำปฏิกิริยาทางเคมีกับน้ำ การละลายของออกซิเจนในน้ำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความดัน และสิ่งเจือปนในน้ำ และปริมาณออกซิเจนในน้ำขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพ ทาวเคมี และกระบวนการชีวเคมีของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ น้ำในธรรมชาติทั่วไปปกติจะมีค่าประมาณ 5-7 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) หากปริมาณออกซิเจนในน้ำต่ำกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำนั้นๆ โดยการบำบัดน้ำเสียสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การบำบัดทางกายภาพ เช่น การใช้เครื่องมือในการตีน้ำเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ เช่น การใช้กังหันน้ำชัยพัฒนา การบำบัดทางเคมี เช่น การใช้สารเคมีทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีทำให้เกิดการตกตะกอน เช่น การตกตะกอนน้ำเสียโดยใช้สารส้ม และการบำบัดทางชีวภาพ เช่น การใช้สิ่งมีชีวิต เช่น พืช สาหร่ายสีเขียว และ ไชยาโนแบคทีเรีย เป็นตัวช่วยในการเปลี่ยนสภาพสิ่งสกปรกในน้ำ เนื่องจากมีความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสง มีกลไกที่สำคัญคือใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเป็นสารตั้งต้น ร่วมกับการกระตุ้นด้วยแสง ซึ่งเกิดขึ้นที่บริเวณคลอโรฟิลล์ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลและแก๊สออกซิเจน (Pollution control department, 2020; Taiz et al., 2022; Johnson, 2006; Peerapornpisan, 2015).

งานวิจัยนี้มีแนวคิดในการนำพืช 3 ชนิด คือ ชะพลู (*Piper sarmentosum*) บัวบก (*Centella asiatica*) และ เตย (*Pandanus amaryllifolius*) เนื่องจากเป็นพืชท้องถิ่นที่มีปริมาณมาก เจริญเติบโตได้ดีในแถบสภาพอากาศของประเทศไทย มาทำการสกัดให้อยู่ในรูปสารสกัดคลอโรฟิลล์ ในรูปของเหลว ร่วมกับใช้เทคโนโลยีทำเซลล์ตรึง (immobilized cell) เพื่อทำเป็นแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์ และนำแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์นี้มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำกว่าค่ามาตรฐานในการนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการประมง (ค่าออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่า 6 มิลลิกรัมต่อลิตร) เพื่อเพิ่มความทนทานของเซลล์ในการใช้งาน สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้เหมือนกับเซลล์เดิม และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการทำงานตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการมากกว่าเซลล์อิสระ (Dinesh et al., 2016; Kongsook et al., 2020; Kaewkrajay and Sinthunawa, 2015; Pattanapipitpaisal and Roopngam, 2014; Jangiam, 2018) สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Montrewisai et al., 2021) ที่รายงานว่า เซลล์ตรึงไชยาโนแบคทีเรียมีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำสูงกว่าเซลล์อิสระประมาณ 1.31 เท่า ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลของการใช้แบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ชะพลู บัวบก และ เตย ต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ในแหล่งน้ำเสียที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำต่อไป

วิธีการวิจัย

การเตรียมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชตัวอย่าง

เตรียมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบตัวอย่างพืช จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ชะพลู บัวบก และ เตย โดยซื้อตัวอย่างใบพืชทั้ง 3 ชนิด จากตลาดนัดนานาชาติ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ นำใบพืชทั้ง 3 ชนิด ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา และแช่ให้แห้ง ชั่งตัวอย่างใบพืชแต่ละชนิด ปริมาณ 10 กรัม หั่นให้มีขนาดเล็ก ใส่เครื่องปั่นผลไม้ แล้วเติมน้ำประปาปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปั่นให้ละเอียดประมาณ 1 นาที กรองสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำสารสกัดคลอโรฟิลล์ที่ได้ใช้ในการทดลองต่อไป

การเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์

น้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้ ดัดแปลงจาก (Montrewisai et al., 2021) โดยน้ำเสียสังเคราะห์ที่เลือกใช้เป็นน้ำเสียที่ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการประมงได้ โดยจะต้องมีค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) น้อยกว่า 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นในการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ในการศึกษารั้งนี้จึงใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นภาวะของน้ำเสียสังเคราะห์ โดยเมื่อนำไปตรวจวัดด้วยเครื่องวัดออกซิเจนละลายน้ำ (DO meter) พบว่ามีค่าออกซิเจนละลายน้ำ เท่ากับ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การศึกษาสูตรเซลล์ตรึงที่เหมาะสม

วิธีการทำเซลล์ตรึง ดัดแปลงจาก (Montrewisai et al., 2021) โดยทำการเตรียมน้ำสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ($\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ละลายด้วยสารสกัดคลอโรฟิลล์ของพืชแต่ละชนิด นำไปผสมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นใช้กระบอกฉีดยา ดูดสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ผสมกับสารสกัดคลอโรฟิลล์ของใบชะพลู ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นใช้ตะแกรงกรองเซลล์ตรึงที่เกิดขึ้นแล้วนำมาใส่ในเพลท และทำซ้ำโดยเปลี่ยนเป็นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ จนครบ จากนั้นเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต เป็นที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จนครบ แล้วเปลี่ยนชนิดของสารสกัดคลอโรฟิลล์เป็นใบบัวบก และ ใบเตย ตามลำดับ จากนั้นทำการตรวจนับจำนวนเม็ดปิดวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้ไม้มบรรทัด ทดสอบความยืดหยุ่น และทดสอบความคงทนของเม็ดปิด ตามวิธีของ (Montrewisai et al., 2021) และพิจารณาคัดเลือกสูตรเซลล์ตรึงที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการทดลองขั้นถัดไป

การศึกษานิตของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชชนิดต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์

นำแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชแต่ละชนิด ปริมาณ 1.0 กรัม ศึกษาความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการตรวจวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำโดยใช้เครื่องวัดออกซิเจนละลายน้ำ (DO meter) ทำการวัดทุก 30 นาที เป็นระยะเวลา 180 นาที แล้วคัดเลือกแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชที่เหมาะสมไปทำการศึกษาประสิทธิภาพด้วยการเพิ่มปริมาณแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนต่อไป

การศึกษากปริมาณของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์

เปรียบเทียบความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช ปริมาณ 0, 1, 2 และ 4 กรัม ต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 100 มิลลิลิตร ทำการตรวจวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำโดยใช้เครื่องวัดออกซิเจนละลายน้ำ (DO meter) ทำการวัดทุก 30 นาที เป็นระยะเวลา 180 นาที

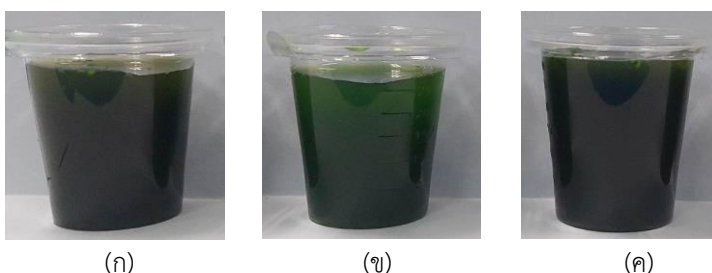
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองจากการวิจัยจัดทำทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์ ($p < 0.05$)

ผลการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย

การเตรียมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบตัวอย่างพืช

เมื่อนำใบชะพลู ใบบัวบก และ ใบเตย ล้างทำความสะอาดและสกัดด้วยการปั่นผสมกับน้ำในอัตราส่วน ใบตัวอย่างพืช ปริมาณ 10 กรัม และ น้ำประปา ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองด้วยผ้าขาวบางได้ลักษณะของสารสกัด ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะของสารสกัดคลอโรฟิลล์จาก (ก) ใบชะพลู (ข) ใบเตย และ (ค) ใบบัวบก

จากภาพที่ 1 พบว่า สารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบพืชทั้ง 3 ชนิด มีสีเขียว และ สารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชแต่ละชนิดมีกลิ่นที่มีลักษณะเฉพาะตัว สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน โดยสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูมีสีเขียวเข้มมากที่สุด รองลงมา สารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบบัวบก และ สารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบเตยมีสีเขียวที่ระดับอ่อนที่สุด และนำสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบพืชทั้ง 3 ชนิดไปใช้ในการทำแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์ในลำดับถัดไป

การศึกษาสูตรเซลล์ที่ตรงที่เหมาะสม

ศึกษาสูตรเซลล์ที่ตรงที่เหมาะสมในการทำแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช โดยนำสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชผสมกับสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ให้สารละลายโซเดียมอัลจิเนตมีความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หลังการทำปฏิกิริยา ทำการนับจำนวนเม็ดของเซลล์ที่ตรงต่อส่วนผสมปริมาตร 1 มิลลิลิตร วัดเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดของเซลล์ที่ตรง ความยืดหยุ่น และ ความคงทน แสดงผลดังตารางที่ 1- 4

ตารางที่ 1 จำนวนเม็ดของเซลล์ที่รีงที่ได้จากสูตรส่วนผสมของสารตั้งต้นสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จาก
ใบชะพลู (A) และ สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (B)

การผสมกันระหว่าง		จำนวนเม็ดของเซลล์ที่รีงต่อส่วนผสม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (เม็ด)			
สารละลายโซเดียมอัลจิเนต (A) และ		ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต			
สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (B)		0.5%(w/v)	1.0%(w/v)	1.5%(w/v)	2.0%(w/v)
ความเข้มข้นของ สารละลาย แคลเซียมคลอไรด์	0.5%(w/v)	41	37	30	26
	1.0%(w/v)	39	35	28	22
	1.5%(w/v)	36	32	25	17
	2.0%(w/v)	33	29	21	15

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดของเซลล์ที่รีงที่ได้จากสูตรส่วนผสมของสารตั้งต้นสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเสริมสารสกัด
คอลโรฟิลล์จากใบชะพลู (A) และ สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (B)

การผสมกันระหว่าง		เส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดของเซลล์ที่รีงต่อส่วนผสม			
สารละลายโซเดียมอัลจิเนต (A) และ		ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (เม็ด)			
สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (B)		ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต			
		0.5%(w/v)	1.0%(w/v)	1.5%(w/v)	2.0%(w/v)
ความเข้มข้นของ สารละลาย แคลเซียมคลอไรด์	0.5%(w/v)	3.6	3.9	4.3	4.7
	1.0%(w/v)	3.3	3.6	4.0	4.1
	1.5%(w/v)	3.1	3.4	3.7	3.9
	2.0%(w/v)	2.9	3.2	3.5	3.7

ตารางที่ 3 ความยืดหยุ่นของเซลล์ที่รีงที่ได้จากสูตรส่วนผสมของสารตั้งต้นสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จาก
ใบชะพลู (A) และ สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (B)

การผสมกันระหว่าง		ความยืดหยุ่นของเซลล์ที่รีงต่อส่วนผสม			
สารละลายโซเดียมอัลจิเนต (A) และ		ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (เม็ด)			
สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (B)		ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต			
		0.5%(w/v)	1.0%(w/v)	1.5%(w/v)	2.0%(w/v)
ความเข้มข้นของ สารละลาย แคลเซียมคลอไรด์	0.5%(w/v)	×	×	×	✓
	1.0%(w/v)	×	×	×	✓
	1.5%(w/v)	×	×	×	✓
	2.0%(w/v)	×	×	×	✓

หมายเหตุ × เม็ดบิตแตก ✓ เม็ดบิตไม่แตก

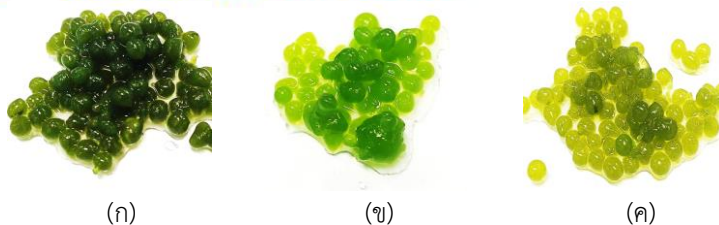
ตารางที่ 4 ความคงทนของเซลล์ตรึงที่ได้จากสูตรส่วนผสมของสารตั้งต้นสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จาก
ใบชะพลู (A) และ สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (B)

การผสมกันระหว่าง		ความคงทนของเซลล์ตรึงต่อส่วนผสม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (เม็ด)			
สารละลายโซเดียมอัลจิเนต (A) และ		ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต			
สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (B)		0.5%(w/v)	1.0%(w/v)	1.5%(w/v)	2.0%(w/v)
ความเข้มข้นของ สารละลาย แคลเซียมคลอไรด์	0.5%(w/v)	×	×	×	×
	1.0%(w/v)	×	×	×	✓
	1.5%(w/v)	×	×	×	✓
	2.0%(w/v)	×	×	×	✓

หมายเหตุ × เม็ดบิตแตก ✓ เม็ดบิตไม่แตก

จากตารางที่ 1 – 4 เป็นกรณีศึกษาจากสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลู พบว่า 1) เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลูและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นแล้วจำนวนเม็ดของเซลล์ตรึงมีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 1 และ 2) เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลูเพิ่มขึ้นแล้วเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดของเซลล์ตรึงมีแนวโน้มใหญ่ขึ้น ในขณะที่ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นแล้วเส้นผ่านศูนย์กลางเม็ดของเซลล์ตรึงมีแนวโน้มเล็กลง (ตารางที่ 2 และ 3) เมื่อใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนตเสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลู ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในการทำปฏิกิริยากับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ทุกความเข้มข้น ทำให้ได้เซลล์ตรึงมีความยืดหยุ่น (ตารางที่ 3 และ 4) เมื่อใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนตเสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลู ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในการทำปฏิกิริยากับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำให้ได้เซลล์ตรึงมีความคงทน (ตารางที่ 4) ในกรณีที่เป็นสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบเตย และ ใบบัวบก พบว่า มีแนวโน้มคล้ายผลการทดลองของสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลู (ไม่แสดงผลการศึกษา)

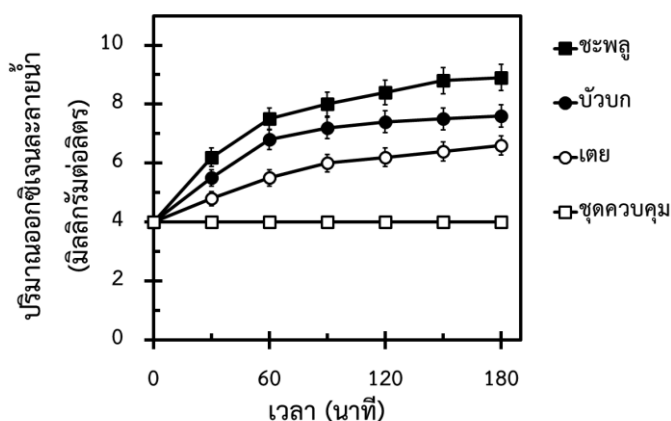
การทำเซลล์ตรึงในสิ่งมีชีวิตส่วนมากใช้ปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งที่มีลักษณะใสมีความหนืดและความยืดหยุ่น โดยการทำปฏิกิริยาต้องใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสม ดังนั้นงานวิจัยนี้เลือกเม็ดบิตที่เตรียมจากการทำปฏิกิริยาของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลูความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่ทำให้ได้เม็ดบิตมีความยืดหยุ่นและคงทน สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Montrewisai et al., 2021) รายงานการว่า สูตรที่เหมาะสมในการทำเซลล์ตรึงผสมไฮยาโนแบคทีเรีย คือสูตรที่ใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยลักษณะของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลู ใบเตย และใบบัวบก แสดงในภาพที่ 2 จากนั้นนำแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากพืชแต่ละชนิดศึกษาความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ 2 ลักษณะของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช (ก) ใบชะพลู (ข) ใบเตย และ (ค) ใบบัวบก

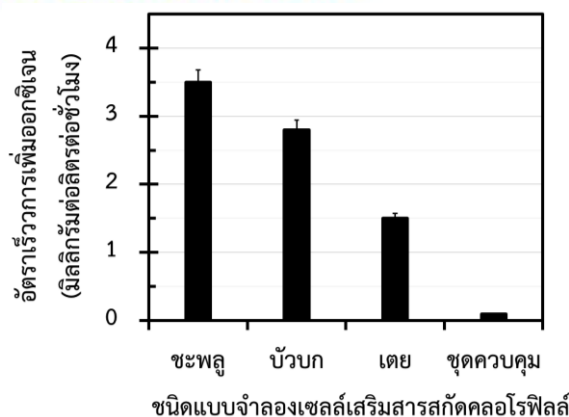
การศึกษาชนิดแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชชนิดต่างๆ ต่อความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์

นำแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบชะพลู ใบเตย และ ใบบัวบก ชนิดละ 1 กรัม ศึกษาความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เป็นแบบจำลองเซลล์ที่ไม่มีสารสกัดคลอโรฟิลล์ และติดตามค่าออกซิเจนละลายน้ำโดยใช้เครื่องวัดออกซิเจนละลายน้ำ (DO meter) ทุก 30 นาที เป็นระยะเวลา 180 นาที ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ชนิดของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชชนิดต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์ในระยะเวลา 180 นาที

จากภาพที่ 3 พบว่า เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น แบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชทุกชนิดมีแนวโน้มในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำมากขึ้น และมีแนวโน้มคงที่เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 60 นาที โดยแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูให้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำสูงที่สุด รองลงมาเป็นใบบัวบก และ ใบเตย โดยในชุดควบคุมแบบจำลองเซลล์ที่ไม่มีสารสกัดคลอโรฟิลล์ พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ไม่มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ จากนั้นวิเคราะห์หาอัตราเร็วในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำ แสดงดังภาพที่ 4



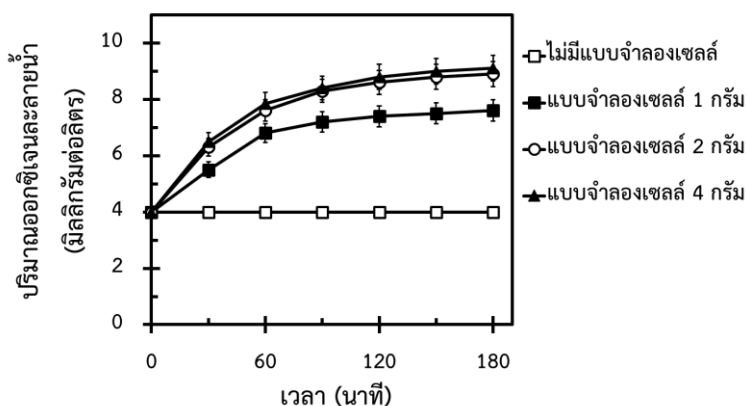
ภาพที่ 4 อัตราเร็วในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์
จากใบชะพลู ใบเตย และ ใบบัวบก

จากภาพที่ 4 พบว่า แบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลู มีอัตราเร็วในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำ สูงที่สุด เท่ากับ 3.51 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง รองลงมา คือ ใบบัวบก (2.82 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) และ ใบเตย (1.45 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) การทำแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากพืชในครั้งนี้สามารถทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์เพิ่มสูงขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับควบคุม จึงมีแนวโน้มในการนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียสภาพจริงต่อไป แบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดจากคอลโรฟิลล์จากใบชะพลูมีความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์มากที่สุด เนื่องจากลักษณะของสารสกัดคอลโรฟิลล์มีสีเขียวเข้มมากที่สุด (ภาพที่ 1 และ 2) มีแนวโน้มมีปริมาณคอลโรฟิลล์สูงเนื่องจากปริมาณคอลโรฟิลล์สูงสารสีเขียวจะมีปริมาณมาก (Peerapornpisan, 2015; Suktalord et al., 2016; Montrewisai et al., 2021) งานวิจัยนี้ใช้เทคโนโลยีเซลล์ตรึงในการสร้างแบบจำลองของเซลล์เพื่อให้มีสมบัติคล้ายเซลล์พืชเพื่อให้มีความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสง เนื่องจากสารสกัดจากพืชมีองค์ประกอบที่จำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ครบถ้วนจึงสามารถใช้ในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ และทำงานได้เป็นปกติเหมือนเซลล์ตรึงจากสาหร่ายสีเขียวและไซยาโนแบคทีเรีย (Danyuttasilp and Laloknam, 2013; Montrewisai et al., 2021) นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำได้ต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ได้แก่ ปริมาณสารตั้งต้น ปริมาณรังควัตถุหรือเซลล์ของสิ่งมีชีวิต อุณหภูมิ และ พีเอชของแหล่งน้ำ และ แสง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jangiam (Jangiam, 2018) เซลล์จุลินทรีย์แบบเซลล์ตรึงมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียได้ดีกว่าเซลล์แบบอิสระ และ (Montrewisai et al., 2021) ศึกษาเซลล์ตรึงไซยาโนแบคทีเรียมีความสามารถบำบัดน้ำเสียได้ดีกว่าเซลล์อิสระร้อยละ 20 จึงนำแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลูมาใช้ในการศึกษาผลของปริมาณแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลูต่อประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อไป

การศึกษาปริมาณของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากพืชต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์

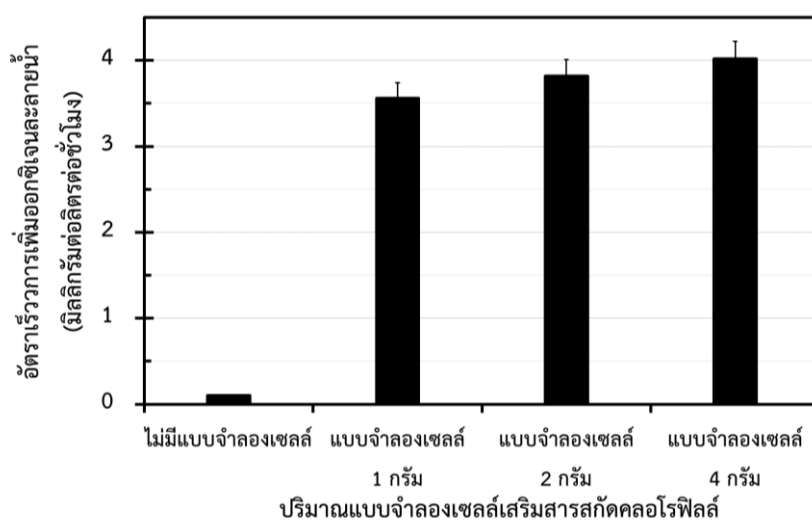
ศึกษาปริมาณของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากพืชต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยแปรปริมาณแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคอลโรฟิลล์จากใบชะพลู ปริมาณ 1 2 และ 4 กรัม ลงในน้ำเสีย

สังเคราะห์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมแบบจำลองเซลล์ และติดตามค่าออกซิเจนละลายน้ำโดยใช้เครื่องวัดออกซิเจนละลายน้ำ (DO meter) ทุก 30 นาที เป็นระยะเวลา 180 นาที ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ผลของปริมาณแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูต่อการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์

จากภาพที่ 5 พบว่า ปริมาณแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูเพิ่มขึ้นเป็นผลทำให้มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียเพิ่มขึ้น โดยการใช้ปริมาณแบบจำลองเซลล์ 2 และ 4 กรัม เป็นผลทำให้มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเพิ่มขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ปริมาณ 1 กรัม แต่เมื่อพิจารณาการใช้แบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูปริมาณ 4 กรัม เป็นผลทำให้มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเพิ่มขึ้น แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ปริมาณ 2 กรัม จากนั้นวิเคราะห์หาอัตราเร็วในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำ แสดงดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 อัตราเร็วในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำของแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูที่ปริมาณแตกต่างกัน

จากภาพที่ 6 พบว่า แบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูปริมาณ 4 กรัม มีอัตราเร็วในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำสูงที่สุด เท่ากับ 4.02 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง รองลงมา คือ ปริมาณ 2 กรัม (3.82 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) และ ปริมาณ 1 กรัม (3.56 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) ผลการศึกษาสอดคล้องกับ (Montrewisai et al., 2021) รายงานว่า เมื่อใช้ปริมาณเซลล์ตรึงจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพิ่มมากขึ้น ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียสังเคราะห์จะเพิ่มขึ้น

สรุปผลการวิจัย

1. สูตรเซลล์ตรึงที่เหมาะสมในการทำแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช คือ สารละลายโซเดียมอัลจินเตความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ผสมกับสารสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช ที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
2. แบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดจากคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูมีความสามารถในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำเสียสังเคราะห์มากที่สุด รองลงมาเป็นแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดจากคลอโรฟิลล์จากใบบัวบก และใบเตย ตามลำดับ
3. การใช้ปริมาณแบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดจากคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูเพิ่มขึ้นเป็นผลทำให้มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสียเพิ่มขึ้น โดยการใช้แบบจำลองเซลล์เสริมสารสกัดจากคลอโรฟิลล์จากใบชะพลูปริมาณ 4 กรัม มีอัตราเร็วในการเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำสูงที่สุด รองลงมาคือ 2 กรัม และ 1 กรัม ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ในงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Danyuttasilp, Y., and Laloknam, S. (2013). Increasing of Oxygen Contents in Waste Water from Sansab Canal under Laboratory Room Using Filamentous Cyanobacteria. **Advanced Science**, 13(2), 24-34. (in Thai)
- Dinesh, K. S., Santhanam, P., Park, M. S., and Kim, M.K. (2016). Development and application of a novel immobilized marine microalgae biofilter system for the treatment of shrimp culture effluent. **Journal of Water Process Engineering**, 13,137–142.
- Jangiam, W. (2018). **Development of paper mill wastewater treatment by using alginate immobilization with microorganism in pack bed Bioreactor to degradation of cellulose**. Research Reports. Chonburi: Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Burapha University. (in Thai)
- Johnson, D. (2006). **The Manganese-calcium oxide cluster of Photosystem II and its assimilation by the Cyanobacteria**. Tallahassee: Department of Chemistry Florida State University.
- Kaewkrajay, C., and Sinthunawa, P. (2015). Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* to Sugarcane Bagasse for Fuel Ethanol Production. **Burapha Science Journal**, 20(2), 96 – 111. (in Thai)

- Kongsook, S., Nasaree, T., Khotsa, S., Rungrot, N., Phonchaiya, S., and Wuttisela, K. (2020). Synthesis and characterization of coloured calcium alginate noodles. **Journal of Science and Science Education**, 3(1), 1-7. (in Thai)
- Lage, S., Toffolo, A., and Gentili, F. G. (2021). Microalgal growth, nitrogen uptake and storage, and dissolved oxygen production in a polyculture based-open pond fed with municipal wastewater in northern Sweden. **Chemosphere**, 276, 130122.
- Laloknam, S., and Sirisopana, S. (2011). Learning Achievement and Learning Retention of Local Lower Secondary Students with an Activity Package of Basic Water Quality Tests. **Journal of Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning**, 2(2), 119–131. (in Thai)
- Montrewisai, B., Seethongdaeng, T., Baiya, S., Boonburapong, B., Bualuang, A., and Laloknam, S. (2021). Production of immobilized cyanobacteria *Oscillatoria* for increasing of oxygen contents in synthetic wastewater. **Prawarun Agricultural Journal**, 18(2), 16 – 23.
- Pattanapitpaisal, P., and Roopngam, D. (2014). Decolorization of Azo Dyes by Immobilized Bacterial Consortium Beads. **Journal of Science Ladkrabang**, 23(2), 17-29. (in Thai)
- Peerapornpisan, Y. (2015). **Freshwater algae in Thailand**. Third Edition. Chaing mai: Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University. (in Thai)
- Pollution control department. (2020). **Water Quality Index : WQI**. Retrieved May 23, 2020, from <https://rwater.mnre.go.th/front/main/WaterQuality/indicator>. (in Thai)
- Shen, Y., Gao, J., and Li, L. (2017) Municipal wastewater treatment via co-immobilized microalgal-bacterial symbiosis: Microorganism growth and nutrients removal. **Bioresource Technology**, 1(243), 905-913.
- Suktalord, P., Pratsaphan, R., Rakchad, S., Petchpool, T., Kerdsoombat, P., and Laloknam, S. (2016). The Use of Alga as Water Quality Indicator in Sansab Canal. **Journal of Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning**, 7(1), 14-27. (in Thai)
- Taiz, L., Møller, I. M., Murphy, A. S., and Zeiger, E. (2022). **Plant Physiology and Development**. 7th Edition. Massachusetts: Sinauer Associates.