

การใช้ข้อตราชาติในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสไปรูลินาร่วมกับตัวทำละลาย

นางสาวภคจิรา ลิ้มภัทรชัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2559

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Application of ultrasound for lipid extraction from *Spirulina platensis* with
solvent extraction

Miss Pakjira Limphattharachai



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Environmental Engineering

Department of Environmental Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย

สไปรูลินาร่วมกับตัวทำละลาย

โดย

นางสาวภัคจิรา ลิ้มภัทรชัย

สาขาวิชา

วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรอนงค์ ลาภปริสุทธิ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณะ พิ้งรัมย์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรอนงค์ ลาภปริสุทธิ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชวลิต รัตนธรรมสกุล)

.....กรรมการ

(ดร.ดาว สุวรรณแสง จันเจริญ)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.จารุวรรณ วงศ์พะเนตร)

ภักจิรา ล้อมภัทรชัย : การใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสไปรูลินาร่วมกับตัวทำละลาย (Application of ultrasound for lipid extraction from *Spirulina platensis* with solvent extraction) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. อรอนงค์ ลาภปริสุทธิ, 175 หน้า.

งานวิจัยนี้ใช้วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย *Spirulina platensis* โดยใช้อัลตราซาวด์โพรบที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ต ในระดับกำลังงานและระยะเวลาที่ต่างกัน เมื่อสกัดน้ำมันด้วยเอทานอล พบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ของสาหร่ายแห้งต่อตัวทำละลาย มีปริมาณน้ำมันมากที่สุด และในการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมัน คือ ระดับกำลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 5 นาที ซึ่งมีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.120 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อระดับกำลังงานและระยะเวลาเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาปริมาณกรดไขมันรวม (C14-C24) พบสภาวะที่เหมาะสม คือ ระดับกำลังงาน 60 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 5 นาที โดยมีปริมาณกรดไขมันรวมเท่ากับ 1.64 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง และสำหรับการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมัน คือ ระดับกำลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 5 นาที มีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.184 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง สำหรับปริมาณกรดไขมันรวม (C14-C24) ที่สภาวะเหมาะสม คือ 2.76 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ที่ระดับกำลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 5 นาที และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer พบว่ากากสาหร่ายหลังจากการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล มีปริมาณน้ำมันที่เหลือในเซลล์สาหร่าย อยู่ในช่วง 0.103-0.157 และ 0.049-0.103 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ เมื่อศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์ของกากสาหร่ายโดยการวิเคราะห์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ากากสาหร่ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลมีความต้านสารอนุมูลอิสระมากกว่ากากสาหร่ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ และจากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่ากากสาหร่ายหลังการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่ากากสาหร่ายหลังการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ นอกจากนี้ยังพบว่ากากสาหร่ายหลังจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์มีความเป็นพิษน้อยกว่ากากสาหร่ายหลังจากการสกัดด้วยเอทานอล

ภาควิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ปีการศึกษา 2559

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรอนงค์ ลาภปริสุทธิ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้คำปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ทุกขั้นตอน อบรมสั่งสอน และให้ความรู้ คำแนะนำ ที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ตลอดจนแนะแนวทางหลักการทำงานและทุนทรัพย์ในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา

ขอขอบพระคุณประธานการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ลักษณะ พึ่งรัศมี คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ขวลิต รัตนธรรมสกุล อาจารย์ ดร. ดาว สุวรรณแสง จันเจริญ และกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกมหาวิทยาลัย รองศาสตราจารย์ ดร. จารุวรรณ วงศ์ทะเล ที่ให้เกียรติและสละเวลาในการสอบวิทยานิพนธ์ ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ทำให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ บุคลากรภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ที่ให้ความรู้ และคำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์

ขอขอบพระคุณภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และเครื่องมือในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และเครื่องมือในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการจัดการสารและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ ฟาร์มบุญสม ที่ให้ความอนุเคราะห์หัวเชื้อสาหร่าย และ สาหร่ายแห้ง

ขอขอบพระคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ และ น้องๆ ที่คอยช่วยเหลือ แนะนำทางการแก้ปัญหาในการทำงานวิจัย

และสุดท้ายนี้ขอขอบคุณ บิดาและมารดา ที่สนับสนุนในทุกๆเรื่อง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญรูป	ค
สารบัญตาราง.....	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 สาหร่าย	4
2.1.1 ความเป็นมาของสาหร่าย.....	4
2.1.2 เกณฑ์ในการจัดสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่.....	5
2.1.3 ความสำคัญของสาหร่ายต่อระบบนิเวศ.....	7
2.1.4 การเจริญเติบโตของสาหร่าย.....	8
2.1.5 วิธีวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายและชีวมวล (Growth and biomass measurements)	9
2.1.6 สภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่าย	11
2.1.7 ข้อดีของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย.....	11
2.1.8 ข้อจำกัดการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการผลิตน้ำมัน.....	12
2.1.9 ลักษณะของสาหร่ายที่ขาดธาตุอาหาร	12

2.1.10 ประโยชน์ของสาหร่าย	15
2.2 สาหร่ายสไปรูลิน่า (<i>Spirulina</i> sp.)	16
2.2.1 ลักษณะทั่วไปและอนุกรมวิธานของ <i>Spirulina</i> sp.	16
2.2.2 องค์ประกอบของ <i>Spirulina</i> sp.	17
2.2.3 ช่วงวงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า (<i>Spirulina</i> sp.)	17
2.2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ <i>Spirulina</i> sp.	18
2.3 ขั้นตอนการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย	20
2.3.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย (algal cultivation)	20
2.3.2 การเก็บเกี่ยว (algal harvesting)	21
2.3.3 การสกัดน้ำมันจากสาหร่าย (algal oil extraction)	21
2.3.3.1 วิธีทางกายภาพ	21
2.3.3.2 วิธีทางเคมี	22
2.3.4 ปัจจัยที่ส่งผลต่อผลผลิต (Productivity) ของสาหร่ายในการสกัดน้ำมัน	23
2.4 คลื่นอัลตราซาวด์หรือคลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic waves)	23
2.5 ปรากฏการณ์คาวิเทชัน (Cavitation)	27
2.6 ผลของคลื่นอัลตราซาวด์ต่อจุลินทรีย์	29
2.7 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย	30
2.8 วิธีการผลิตไบโอดีเซล	31
2.8.1 วิธีมาตรฐาน	31
2.8.1.1 การเจือจาง (Dilution)	31
2.8.1.2 การทำให้เป็นสารอิมัลชันขนาดเล็ก	32
2.8.1.3 วิธีไพโรไลซิส	32
2.8.1.4 วิธีทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชัน	32

2.9 การเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย.....	33
2.9.1 วิธีอัลตราโซนิก (Ultrasonic-assisted Extraction) ร่วมกับตัวทำละลาย.....	33
2.9.2 วิธีไมโครเวฟ (Microwave-assisted Extraction) ร่วมกับตัวทำละลาย.....	34
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาองค์ประกอบของกากสาหร่ายสไปรูลิน่าหลังจากการสกัดน้ำมันเพื่อนำไปใช้ประโยชน์	36
2.10.1 การนำกากสาหร่ายหลังจากการสกัดน้ำมันไปผลิตอาหารสัตว์	36
2.10.2 การนำกากสาหร่ายหลังจากการสกัดไขมันไปผลิตก๊าซชีวภาพ	37
2.10.3 การนำกากสาหร่ายหลังจากการสกัดไขมันไปผลิตปุ๋ยชีวภาพ เอทานอล และสารต้านอนุมูลอิสระ	38
บทที่ 3 แผนการทดลองและการดำเนินงานวิจัย.....	41
3.1 แผนการวิจัย	41
3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย.....	42
3.2.1 น้ำตัวอย่างสาหร่ายที่ใช้เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	42
3.2.2 ตัวอย่างสาหร่ายแห้งจากบุญสมฟาร์ม.....	42
3.2.3 สูตรอาหาร (BG 11) สำหรับเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า.....	43
3.2.4 อุปกรณ์และสารเคมี	43
3.2.4.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย.....	43
3.2.4.2 อุปกรณ์ในการวัดการเจริญเติบโตสาหร่าย.....	44
3.2.4.3 อุปกรณ์ในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย.....	45
3.2.4.4 อุปกรณ์สกัดน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลาย	45
3.2.4.5 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของคาร์บอน.....	45
3.2.4.6 อุปกรณ์ในการตรวจสอบปริมาณของโปรตีนในสาหร่ายโดยวิธี Bicinchoninic acid assay.....	46
3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	47

การทดลองส่วนที่ 1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย	48
3.3.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อหาวันที่เหมาะสม	48
3.3.1.1 การวัดน้ำหนักแห้งของสาหร่าย	48
3.3.1.2 การวัดค่าการดูดกลืนแสง หรือ OD ₅₆₀	49
3.3.1.3 วิธีการสกัดน้ำมัน Bligh and Dyer (Bligh และ Dyer, 1959)	49
3.3.1.4 การสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งและความดูดกลืนแสงของ สาหร่าย	49
3.3.2 การเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวสาหร่ายเพื่อมาสกัดน้ำมัน	50
การทดลองส่วนที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์ที่ช่วยในการสกัดน้ำมัน.....	50
3.3.3 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยเอทานอล อัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอ ทานอล.....	50
3.3.3.1 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยเอทานอล	50
3.3.3.2 การสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์.....	51
3.3.3.3 การสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล	52
3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายหลังวิธีอัลตราซาวด์ และวิธีอัล ตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล.....	52
3.3.5 การตรวจสอบองค์ประกอบคาร์บอนในน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธีทาง Gas chromatography.....	52
3.3.6 ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit Of Detection; LOD).....	54
การทดลองส่วนที่ 3 การศึกษาองค์ประกอบของกากสาหร่ายเพื่อนำมาใช้ประโยชน์.....	55
3.3.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบของ C H และ N.....	56
3.3.8 การตรวจสอบปริมาณของโปรตีนในกากสาหร่ายโดยวิธี Bicinchoninic acid assay (BCA).....	56

3.3.9	วิธีการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	58
3.3.10	การวิเคราะห์ความเป็นพิษ (Toxicity) ของกากสาหร่ายต่อจุลินทรีย์ระบบย่อยสลายแบบไร้อากาศ โดยวิธี Disc Diffusion	60
3.4	การวิเคราะห์ข้อมูลและการแปรผล	61
บทที่ 4	ผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล	62
4.1	การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย	62
4.1.1	การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ	62
4.1.2	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งและค่าความดูดกลืนแสงของตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ	64
4.2	ปริมาณน้ำมันสะสมในสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer	64
4.3	การสกัดน้ำมันจากตัวอย่างสาหร่ายด้วยเอทานอล อัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล	65
4.3.1	การสกัดน้ำมันด้วยเอทานอล	65
4.3.2	การใช้อัลตราซาวด์	66
4.3.3	เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล	69
4.3.4	การใช้อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล	70
4.3.5	เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล	72
4.3.6	ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังอัลตราซาวด์	74
4.3.7	ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ..	75
4.4	การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน	80
4.4.1	ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราซาวด์	80

4.4.2 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล.....	81
4.4.3 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสถานะของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม เปรียบเทียบกับตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีอัลตราซาวด์	82
4.4.4 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล	82
4.4.5 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อ พลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล.....	83
4.4.6 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสถานะเหมาะสมของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม ด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล.....	84
4.5 แนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดไปใช้ประโยชน์	85
4.5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบ C H และ N ของกากสาหร่าย.....	85
4.5.2 ปริมาณโปรตีน (Protein).....	87
4.5.3 ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant).....	93
4.5.4 ความเป็นพิษ (Toxicity) ของกากสาหร่ายต่อจุลินทรีย์ระบบย่อยสลายแบบไร้อากาศ โดยวิธี Disc Diffusion.....	96
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	100
5.1 สรุปผลวิจัย	100
5.2 ข้อเสนอแนะ	103
รายการอ้างอิง	104
ภาคผนวก.....	112
ภาคผนวก ก ผลการทดลอง	113
ก-1 ปริมาณน้ำมันสะสมสูงสุดที่สกัดได้จากวิธี Bligh and Dyer จากสาหร่ายที่เลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ	114
ก-2 ปริมาณน้ำมันที่สกัดจากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มที่อัตราส่วนสาหร่ายแห้งและเอ ทานอลต่างๆของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม.....	114

ก-3 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อัตราส่วน สาหร่ายแห้งและเอทานอลต่างๆ	114
ก-4 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ	115
ก-5 พลังงานไฟฟ้าที่ใช้	117
ก-6 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับกำลัง งานและเวลาต่างๆ	118
ก-7 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลา ต่างๆ.....	119
ก-8 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ.....	121
ก-9 ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายหลังจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลัง งานและเวลาต่างๆ	122
ก-10 ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายหลังจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอธา นอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ	124
ก-11 ปริมาณน้ำมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์และ จากกากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ.....	126
ก-12 ปริมาณน้ำมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างบุญสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอธา นอล และ กากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ...	127
ก-13 ปริมาณกรดไขมันรวม (C14-C24) จากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงาน และเวลาต่างๆ.....	127
ก-14 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับ กำลังงานและเวลาต่างๆ	128
ก-15 ปริมาณกรดไขมันรวม (C14-C24) จากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ	128
ก-16 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานที่ใช้ 1 กิโล จูลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ.....	129

ก-17 สัดส่วนกรดไขมันจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ สภาวะต่างๆของสารหยาบฟาร์มบูญสมและสารหยาบจากห้องปฏิบัติการที่ระดับกำลัง งานและเวลาต่างๆ	129
ก-18 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบ C H และ N ของกากสารหยาบก่อนการสกัด วิธีสกัด ด้วยเอทานอล อัลตราซาวด์ อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและ เวลาต่างๆ	130
ก-19 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกากสารหยาบบูญสมฟาร์มหลังการสกัดด้วยอัลตรา ซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ.....	133
ก-20 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกากสารหยาบบูญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ.....	133
ก-21 ปริมาณโปรตีนที่ต้องการของปลาน้ำจืดกินเนื้อในแต่ละช่วงวัย	134
ก-22 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากกากสารหยาบบูญสมฟาร์มหลังการส กัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ	135
ก-23 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากกากสารหยาบบูญสมฟาร์มหลังการ สกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ.....	135
ก-24 การวิเคราะห์ความเป็นพิษ (Toxicity) ของสารหยาบและกากสารหยาบหลังการสกัด น้ำมัน.....	136
ภาคผนวก ข กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C8-C24 และโครมาโทแกรมของกรดไขมัน	141
ข-1 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C8:0	142
ข-2 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C10:0	142
ข-3 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C12:0	143
ข-4 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C14:0	143
ข-5 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C16:0	144
ข-6 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C16:1n-7	144
ข-7 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C18:0	145

ข-8 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C18:1n-9	145
ข-9 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C18:2n-6	146
ข-10 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C18:3n-3	146
ข-11 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C20:0	147
ข-12 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C22:0	147
ข-13 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C22:1n-9	148
ข-14 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C24:0	148
ข-15 ตัวอย่างโครมาโทแกรมกรดไขมัน (Fatty Acid Methyl Esters) C8-C24	149
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Two-way ANOVA จากโปรแกรม IBM SPSS	
Statistics Data Editor	150
ค-1 อัตราส่วนสายรัยแห้งต่อเอทานอลของตัวอย่างสายรัยบุญสมพาร์มและตัวอย่าง สายรัยที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ	151
ค-2 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาอัลตราซาวด์ส่งผลต่อปริมาณน้ำมันด้วย วิธีอัลตราซาวด์	152
ค-3 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆส่งผลต่อปริมาณน้ำมันด้วย วิธีอัลตราซาวด์	153
ค-4 ผลของระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อปริมาณน้ำมันด้วยวิธีอัลตรา ซาวด์	155
ค-5 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่ส่งผลต่อปริมาณน้ำมันด้วย วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล	156
ค-6 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆส่งผลต่อปริมาณน้ำมันด้วย วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล	157
ค-7 ผลของระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อปริมาณน้ำมันด้วยวิธีอัลตรา ซาวด์ร่วมกับเอทานอล	159

ค-8 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อปริมาณกรดไขมันด้วยวิธีอัลตรา ซาวด์.....	160
ค-9 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณกรดไขมัน ด้วยวิธีอัลตราซาวด์.....	161
ค-10 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อปริมาณกรดไขมันด้วยวิธีอัลตรา ซาวด์ร่วมกับเอทานอล.....	163
ค-11 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณกรดไขมัน ด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล.....	164
ค-12 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อปริมาณโปรตีนด้วยวิธีอัลตรา ซาวด์.....	166
ค-13 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีน ด้วยวิธีอัลตราซาวด์.....	167
ค-14 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อปริมาณโปรตีนด้วยวิธีอัลตรา ซาวด์ร่วมกับเอทานอล.....	168
ค-15 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีน ด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล.....	169
ค-16 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อความต้านสารอนุมูลอิสระด้วย วิธีอัลตราซาวด์.....	170
ค-17 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อความเป็นสารต้าน อนุมูลอิสระด้วยวิธีอัลตราซาวด์.....	171
ค-18 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อความต้านสารอนุมูลอิสระด้วย วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล.....	172
ค-19 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อความเป็นสารต้าน อนุมูลอิสระด้วยวิธีอัลตราซาวด์.....	173
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	175

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 รูปสาหร่ายที่เจริญเติบโตในน้ำสะอาด.....	6
รูปที่ 2.2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย.....	9
รูปที่ 2.3 วงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า.....	18
รูปที่ 2.4 ขั้นตอนการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย.....	20
รูปที่ 2.5 การใช้ประโยชน์จากคลื่นความถี่อัลตราซาวด์	24
รูปที่ 2.6 อ่างอัลตราโซนิก (ultrasonic bath)	25
รูปที่ 2.7 อ่างอัลตราโซนิกแบบคัพซอร์น.....	26
รูปที่ 2.8 ระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบ.....	27
รูปที่ 2.9 ลักษณะของซอร์น.....	27
รูปที่ 2.10 หลักการเกิดฟองอากาศในตัวกลางเนื่องจากคลื่นอัลตราซาวด์.....	28
รูปที่ 2.11 ปฏิกิริยา Transesterification ในการผลิตไบโอดีเซล	33
รูปที่ 3.1 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	47
รูปที่ 3.2 การทำกราฟมาตรฐานปริมาณโปรตีนในกากสาหร่ายโดยวิธี Bicinchoninic acid assay.....	57
รูปที่ 3.3 กราฟมาตรฐานวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกากสาหร่ายโดยวิธี Bicinchoninic acid assay.....	57
รูปที่ 3.4 การวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีนในกากสาหร่ายโดยวิธี Bicinchoninic acid assay.....	58
รูปที่ 3.5 กราฟมาตรฐานระหว่าง % ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของ BHT	59
รูปที่ 4.1 น้ำหนักแห้งของตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ระยะต่างๆ.....	63
รูปที่ 4.2 ความดูดกลืนแสงของตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ระยะต่างๆ.....	63
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งและค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ	64

รูปที่ 4.4 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มที่อัตราส่วนสาหร่ายแห้งต่อเอทานอลต่างๆ..... 66

รูปที่ 4.5 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อัตราส่วนสาหร่ายแห้งต่อเอทานอลต่างๆ..... 66

รูปที่ 4.6 สาหร่ายสไปรูลิน่าก่อนและหลังอัลตราซาวด์..... 67

รูปที่ 4.7 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ..... 68

รูปที่ 4.8 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ..... 70

รูปที่ 4.9 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ 71

รูปที่ 4.10 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ..... 74

รูปที่ 4.11 ปริมาณน้ำมันในกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ 75

รูปที่ 4.12 ปริมาณน้ำมันในกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ..... 76

รูปที่ 4.13 ปริมาณน้ำมันรวมที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยอัลตราซาวด์และกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับวิธี Bligh and Dyer..... 77

รูปที่ 4.14 ปริมาณน้ำมันรวมที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลและกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับวิธี Bligh and Dyer 78

รูปที่ 4.15 อัตราส่วนปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยวิธีอัลตราซาวด์และปริมาณน้ำมันจากกากสาหร่ายที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆต่อปริมาณน้ำมันรวม 79

รูปที่ 4.16 อัตราส่วนปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลและปริมาณน้ำมันจากกากสาหร่ายที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆต่อปริมาณน้ำมันรวม..... 80

รูปที่ 4.17 ปริมาณกรดไขมันรวมจากตัวอย่างสำหรับยาบุญสมพาร์มที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ	81
รูปที่ 4.18 ปริมาณกรดไขมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างสำหรับยาบุญสมพาร์มด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ	82
รูปที่ 4.19 ปริมาณกรดไขมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างสำหรับยาบุญสมพาร์มด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ	83
รูปที่ 4.20 ปริมาณกรดไขมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างสำหรับยาบุญสมพาร์มด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ.....	84
รูปที่ 4.21 ปริมาณโปรตีนของกากสำหรับยาบุญสมพาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับตัวอย่างสำหรับก่อนการสกัดและสำหรับหลังจากสกัดด้วยเอทานอล	89
รูปที่ 4.22 ปริมาณโปรตีนของกากสำหรับยาบุญสมพาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับตัวอย่างสำหรับก่อนการสกัดและสำหรับหลังจากสกัดด้วยเอทานอล	89
รูปที่ 4.23 ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของกากสำหรับยาบุญสมพาร์มหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับสำหรับก่อนการสกัดและหลังสกัดด้วยเอทานอล	94
รูปที่ 4.24 ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของกากสำหรับยาบุญสมพาร์มหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับสำหรับก่อนการสกัดและหลังสกัดด้วยเอทานอล	94
รูปที่ 4.25 ตัวอย่างวงใสของวิธี Disc Diffusion	98

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1	องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก.....	13
ตารางที่ 2.2	ปริมาณน้ำมันที่สะสมไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก.....	14
ตารางที่ 2.3	ปริมาณน้ำมันสะสมและพลังงานเชื้อเพลิงระหว่างพืชน้ำมันชนิดต่างและสาหร่ายขนาดเล็ก.....	14
ตารางที่ 2.4	คุณสมบัติของน้ำมันดีเซลชีวภาพที่ผลิตได้จากสาหร่าย.....	31
ตารางที่ 2.5	สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดน้ำมัน.....	35
ตารางที่ 2.6	ตารางแสดงมาตรฐานโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำชนิดเม็ด.....	37
ตารางที่ 3.1	วิธีการดำเนินการทดลอง.....	41
ตารางที่ 3.2	สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า (BG 11).....	43
ตารางที่ 3.3	สภาวะเครื่อง Gas Chromatography ในการวิเคราะห์กรดไขมัน.....	53
ตารางที่ 3.4	ตารางแสดงค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD).....	55
ตารางที่ 4.1	องค์ประกอบ C H และ N และ C/N ratio ของสาหร่ายแต่ละชนิด.....	85
ตารางที่ 4.2	องค์ประกอบ C N และ C/N ratio ของกากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบูสมฟาร์มหลังสกัดด้วยวิธีอัลตราซาวด์.....	86
ตารางที่ 4.3	องค์ประกอบ C N และ C/N ratio ของกากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบูสมฟาร์มหลังสกัดด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล.....	87
ตารางที่ 4.4	ปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้และโปรตีนที่วัดได้ของกากสาหร่ายบิโอบูสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์.....	91
ตารางที่ 4.5	ปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้และโปรตีนที่วัดได้ของกากสาหร่ายบิโอบูสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล.....	91
ตารางที่ 4.6	ปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้และปริมาณโปรตีนที่วัดได้ของสาหร่ายแต่ละชนิด.....	92
ตารางที่ 4.7	ปริมาณความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายแต่ละชนิด.....	95

ตารางที่ 4.8 การวิเคราะห์การยับยั้ง *Clostridium sporogenes* ด้วยสารสกัดสาหร่ายชนิด
ต่างๆ 97



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันปัญหาการขาดแคลนพลังงาน เช่น น้ำมันธรรมชาติ ทำให้มีการค้นหาแหล่งพลังงานทางเลือก โดยแหล่งพลังงานทางเลือกที่ได้รับความสนใจ คือ พลังงานจากชีวมวล (biomass) ซึ่งเป็นเชื้อเพลิงที่ได้จากชีวมวล (biomass) หรือของเสียชีวภาพ (bio waste) วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพรุ่นแรก ได้แก่ ข้าวโพด อ้อย ข้าวสาลี มันสำปะหลัง ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นอาหารของทั้งคนและสัตว์ ดังนั้นหากต้องการเพิ่มปริมาณการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพให้เพียงพอต่อปริมาณความต้องการ ปริมาณวัตถุดิบที่ต้องใช้ก็จะสูงขึ้นด้วย ซึ่งจะส่งผลให้อาหารและเนื้อสัตว์มีราคาแพงตามมา ดังนั้นเชื้อเพลิงชีวภาพรุ่นที่สองจึงเป็นการแก้ข้อด้อยของรุ่นแรก โดยการเปลี่ยนมาใช้พืชชนิดที่ไม่ได้นำมาบริโภคเป็นวัตถุดิบแทน เช่น ฟางข้าว เศษไม้ ชี้เลื่อย และซังข้าวโพด สำหรับเชื้อเพลิงชีวภาพรุ่นที่ 3 จะใช้สาหร่ายเป็นวัตถุดิบ เนื่องจากไม่กระทบต่อห่วงโซ่อาหาร เจริญเติบโตได้รวดเร็ว และขยายพันธุ์ได้ง่าย อีกทั้งยังพบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำต่างๆ ทั้งแหล่งน้ำจืด น้ำเค็ม และแม้กระทั่งน้ำเสีย (อรรวรรณ สัมฤทธิ์เดชขจร, 2553)

งานวิจัยนี้จึงให้ความสนใจกับสาหร่ายขนาดเล็ก คือ *Spirulina platensis* เนื่องจากมีขนาดเล็ก มีอัตราการเจริญเติบโตสูง มีผลผลิตโดยมวลของสาหร่ายมากกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังมีสารอาหารที่มีประโยชน์ และสามารถเพาะเลี้ยงในพื้นที่จำกัด ขั้นตอนในการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายจะแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่ 1.การเพาะเลี้ยงสาหร่าย 2.การเก็บเกี่ยวและการสกัดน้ำมัน และ 3.การปรับปรุงคุณภาพของน้ำมัน ทำให้ต้องมีการหาขั้นตอนที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวและการสกัดน้ำมัน (สำนักคุณภาพน้ำมันเชื้อเพลิง, 2557) ในระดับห้องปฏิบัติการมีการศึกษากระบวนการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายหลากหลายวิธีด้วยกัน เช่น การใช้ตัวทำละลาย การใช้ความร้อน ขึ้นฆ่าเชื้อ การใช้ความดันออสโมติก การใช้เอนไซม์ การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤตยิ่งยวด คลื่นไมโครเวฟ และ คลื่นอัลตราซาวด์ เป็นต้น (อรรวรรณ สัมฤทธิ์เดชขจร, 2553)

งานวิจัยนี้ศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายโดยใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดน้ำมันร่วมกับตัวทำละลาย เพื่อเป็นการลดเวลา และเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย โดยหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมของอัลตราซาวด์ในการสกัดน้ำมัน อาทิเช่น ความเข้มของพลังงานและระยะเวลาในการสกัดน้ำมัน นอกจากนี้จะศึกษาองค์ประกอบของกากสาหร่ายสายพันธุ์ *Spirulina platensis* หลังจากการสกัดน้ำมันเพื่อเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาระดับกำลังงานและระยะเวลาที่เหมาะสมของอัลตราซาวด์รวมถึงอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสายพันธุ์ *Spirulina platensis*
2. เพื่อศึกษาองค์ประกอบของกากสาหร่ายสายพันธุ์ *Spirulina platensis* หลังจากสกัดน้ำมันเพื่อนำมาใช้ประโยชน์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการดำเนินการระดับห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม และห้องปฏิบัติการรวม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อศึกษาการสกัดน้ำมันจาก *Spirulina platensis* โดยใช้อัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลาย และแนวทางการนำสาหร่ายหลังจากการสกัดน้ำมันไปใช้ประโยชน์ โดยมีขอบเขตดังนี้

1. ชนิดของสาหร่ายที่ใช้ในงานวิจัย คือ *Spirulina platensis* โดยได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสาหร่ายแห่งที่ได้รับ ความอนุเคราะห์จากบริษัท กรีนไดมอนด์ จำกัด
2. เพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดมีการเติมสารอาหารและให้แสงอย่างเพียงพอ แล้ว ทำการศึกษาวันที่สาหร่ายสะสมปริมาณน้ำมันมากที่สุด
3. ใช้สาหร่ายบุญสมฟาร์มจากบริษัทกรีนไดมอนด์ จำกัด เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการ สกัดน้ำมันจากอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล
4. ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันโดยการเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันโดยการชั่งน้ำหนัก และองค์ประกอบของน้ำมันโดยเทคนิค GC ที่สภาวะการสกัดต่างๆ ได้แก่
 - 4.1 อัตราส่วนของตัวทำละลาย (เอทานอล) โดยทำการศึกษาที่อัตราส่วนระหว่าง สาหร่ายและตัวทำละลายที่ 1:4 1:5 1:6 และ 1:7
 - 4.2 การใช้อัลตราซาวด์เพียงอย่างเดียว โดยศึกษาที่เวลาและระดับกำลังงานต่างๆ
 - 4.3 การใช้อัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลาย โดยทำการศึกษาที่อัตราส่วนระหว่าง สาหร่ายและตัวทำละลายที่ได้จากข้อ 3.1
5. ศึกษาองค์ประกอบของกากสาหร่ายเพื่อเป็นแนวทางในการนำกากสาหร่ายที่ผ่านการ สกัดน้ำมันแล้วมาใช้ประโยชน์ ดังนี้

- 5.1 วิเคราะห์องค์ประกอบ C H และ N ของกากสาหร่าย โดยส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี อาคารสถาบัน 2 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 5.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bicinchoninic acid assay เพื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานอาหารสัตว์ของกรมประมง
- 5.3 วิเคราะห์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- 5.4 ทดสอบความเป็นพิษ (Toxicity) ของกากสาหร่ายหลังจากการสกัดน้ำมันโดยวิธี Minimal Inhibitory Concentration (MIC) โดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในขั้นตอนการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายได้อย่างเหมาะสม
2. เป็นแนวทางในการนำกากสาหร่าย *Spirulina platensis* หลังการสกัดน้ำมันไปใช้ประโยชน์

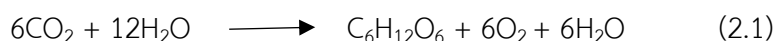
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในบทเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย จะกล่าวถึงเรื่องต่อไปนี้เป็น การจัดทำแผนกสำหรับราย ลักษณะทั่วไปของสาหร่าย *Spirulina platensis* อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อสาหร่าย *Spirulina platensis* วิธีการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย อัลตราซาวด์ (Ultrasound) ปรากฏการณ์คาวิเทชัน (Cavitation) ประโยชน์ของสาหร่าย และรวมถึงงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่าย

หมายถึง สิ่งมีชีวิตชั้นต่ำตรงกับภาษาอังกฤษว่า algae เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ จนถึงขนาดใหญ่ที่มองดูเหมือนมีรากลำต้นและใบซึ่งรวมเรียกว่า ทัลลัส (thallus) ส่วนใหญ่มีคลอโรฟิลล์รวมถึงรงควัตถุต่างๆ ช่วยในการสังเคราะห์แสง ไม่มีราก ลำต้น และใบที่แท้จริง สรวิศ ผ่องทงสุข (2543) ได้อธิบายเพิ่มเติมว่า สาหร่ายเป็นกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งน้ำ ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย และ น้ำเค็ม สาหร่ายดำรงชีวิตอยู่ได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นแพลงก์ตอนลอยอยู่ในน้ำ หรือดำรงชีวิตแบบยึดติดกับพื้นทะเลหรือบนวัสดุอื่นๆ สาหร่ายเป็นส่วนหนึ่งของต้นทางห่วงโซ่อาหารในระบบนิเวศ เป็นตัวรักษาสมดุลทางธรรมชาติ และเป็นแหล่งของสารอาหารมากมายโดยเฉพาะโปรตีน สาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับพืช โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ แล้วเปลี่ยนพลังงานแสงนั้นให้อยู่ในรูปของสารอินทรีย์ คือ คาร์โบไฮเดรตอย่างง่ายและได้ออกซิเจนและน้ำออกมาเป็นผลพลอยได้ ดังแสดงในสมการที่ 2.1 (Holme-Hansen, 1965)



2.1.1 ความเป็นมาของสาหร่าย

ยูวดี พีรพรพิศาล (2538) กล่าวว่า ชาวจีนเป็นชนชาติแรกที่รู้จักใช้ประโยชน์จากสาหร่าย โดยได้เขียนไว้ในหนังสือชื่อ Material Medica ซึ่งเป็นตำรายาโบราณกล่าวถึง การนำเอาสาหร่ายบางชนิดมาเป็นอาหาร เช่น Nostoc, Hydrodictyon และ Laminaria งานทางด้านวิชาการของสาหร่ายเริ่มจากประเทศในทวีปยุโรปก่อนปี ค.ศ. 1800 จุดเริ่มต้นที่สำคัญมาก คือ การตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ของสาหร่ายกลุ่มหนึ่งโดย Carl Linnaeus ส่วน Samvel Gottlieb Gmelin ได้คิดวิธีเก็บตัวอย่างสาหร่าย

โดยการอัดแห้งและได้เขียนหนังสือเกี่ยวกับพืชทะเล ซึ่งรวมทั้งสาหร่ายทะเลด้วยชื่อว่า Historia Forum

ช่วงกลางศตวรรษที่ 20 จนถึงปัจจุบัน มีนักวิทยาศาสตร์ศึกษาสาหร่ายกันมากขึ้นเกือบทั่วโลก ระยะเวลาหลังนี้มีได้มีการศึกษาแต่เพียงทางด้านอนุกรมวิธานเท่านั้น แต่ยังคงครอบคลุมทั้งโครงสร้างภายในเซลล์สาหร่าย การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอน นิเวศวิทยา โภชนาการ สรีรวิทยา ชีววิทยา ชีวเคมี การเพาะเลี้ยงทั้งสาหร่ายน้ำจืดและสาหร่ายทะเล ซึ่งต้องศึกษาผลผลิตจากสาหร่ายที่จะนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์และมนุษย์ ซึ่งเป็นที่คาดกันว่าพืชเล็ก ๆ ซึ่งคือ สาหร่ายชนิดพันธุ์ต่างๆ นั้นจะมีคุณค่าต่อมนุษยชาติอย่างกว้างขวาง

โดยทั่วไปสาหร่ายสามารถสร้างอาหารเองได้โดยการสังเคราะห์แสงหรือเรียกว่าเป็นสิ่งมีชีวิตแบบออโตโทรฟิก (autotrophic) แต่สาหร่ายบางชนิดไม่สามารถสร้างอาหารเองจากสารอนินทรีย์ได้ หรือที่เรียกว่า เฮเทอโรโทรฟิก (heterotrophic) จึงต้องมีการบริโภคสารอินทรีย์เข้าสู่เซลล์และบางชนิดสามารถเจริญได้ทั้งแบบออโตโทรฟิก และเฮเทอโรโทรฟิก

การที่สาหร่ายแต่ละชนิดมีขนาดและการดำรงชีวิตที่แตกต่างกันตั้งแต่สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเพียง 3 μm จนถึงสาหร่าย *Macrocystis pyrifera* ที่มีความยาวมากกว่า 50 เมตร ทำให้ผู้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสาหร่ายมักจะแยกความสนใจออกเป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มของจุลสาหร่าย (microalgae) และมหสาหร่าย (macroalgae) โดยจุลสาหร่ายนั้น มีความหมายครอบคลุมสาหร่ายขนาดเล็กที่มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น (microscopic algae) ในขณะที่มหสาหร่ายจะหมายถึง สาหร่ายที่มีขนาดใหญ่ โดยเฉพาะกลุ่มของสาหร่ายทะเล (seaweeds) รวมถึงสาหร่ายน้ำจืดที่มีขนาดใหญ่ด้วย (สรวิศ เผ่าทองสุข, 2543)

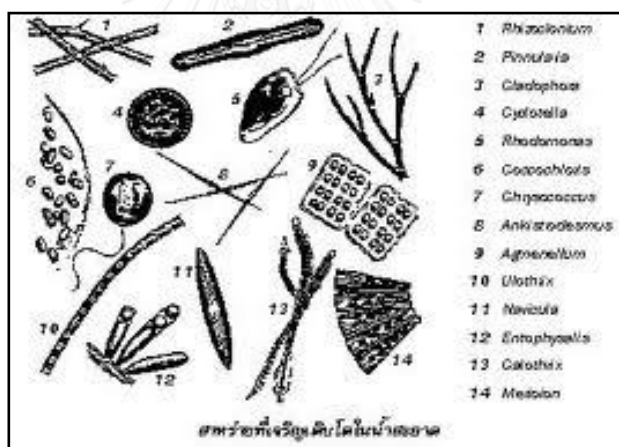
2.1.2 เกณฑ์ในการจัดสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่

1. รงควัตถุในสาหร่ายซึ่งมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น คลอโรฟิลล์ มี 4 ชนิด Chlorophyll – a b c d แคโรทีนอยด์ (carotenoids) เป็นสารสีประกอบ (accessory pigments) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด แคโรทีน (carotenes) มีสีส้ม และแซนโทฟิลล์ (xanthophylls) หรือ ออกซีแคโรทีน (oxycarotene) มีสีเหลือง ไฟโคบิลโพรตีน (phycobiloproteins) เป็นสารสีประกอบเช่นเดียวกัน แคโรทีนอยด์

2. ประเภทของอาหารสะสม (type of reserved product) อาหารสะสมของสาหร่าย เป็นสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเก็บสะสมไว้ในรูปของแป้ง (starch) เลียวโคซิน (leucosin) ลามินาริน (laminarin) แมนนิทอล (mannitol) ไขมัน (fat) น้ำมัน (oil) คอเลสเทอรอล (cholesterol) พารามายรอน (paramyron)

3. ประเภทขององค์ประกอบของผนังเซลล์ (type of cell wall components) สาหร่ายหลายชนิดไม่มีผนังเซลล์ บางชนิดผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไปโดยมีสารอื่นมาต่อหุ้ม แต่ส่วนใหญ่ประกอบด้วย สารจำพวกคาร์โบไฮเดรตบางชนิดประกอบด้วยซิลิเกต (Silicate) เช่น ผนังเซลล์ของไดอะตอมบางชนิด ประกอบด้วยโปรตีน ลิพิด มิวโคเพปไทด์ (Mucopolysaccharide) และเซลลูโลส ฯลฯ ผนังเซลล์ของสาหร่ายนั้น ส่วนใหญ่มี 2 ชั้น ชั้นนอกมีลักษณะอ่อนนุ่มหรือเป็นเมือกละลายได้ในน้ำเดือด เป็นสารประเภทเพกติน (pectin) ส่วนของผนังชั้นในประกอบด้วยเซลลูโลส

4. จำนวนและตำแหน่งของแฟลกเจลลัม (Flagellum) สาหร่ายหลายชนิดมีโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ ซึ่งอาจพบทั้งในเซลล์ปกติ (Vegetative cell) หรือ ผนังเซลล์สืบพันธุ์ (Reproduction cell) เซลล์ของสาหร่ายทุกดิวิชันยกเว้น Cyanophyta จะมีหนด จำนวนหนดในแต่ละเซลล์มี 1, 2, 4, 8 หรือเป็นวง แต่ส่วนใหญ่มักมีหนด 2 เส้นในเซลล์ปกติ ส่วนเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มักมีหนด 2 หรือ 4 เส้น ส่วนเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือแกมีต (Gamete) มักมีหนด 2 เส้น สาหร่ายแต่ละชนิดจะมีจำนวนลักษณะและตำแหน่งที่แฟลกเจลลัมฝังตัวอยู่นั้นแตกต่างกัน ซึ่งสามารถใช้ความแตกต่างดังกล่าวนี้แยกหมวดหมู่ของสาหร่ายได้ โดยชนิดของสาหร่ายจำแนกดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 รูปสาหร่ายที่เจริญเติบโตในน้ำสะอาด (วิภาดา พลที, 2555)

การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย

Smith (1951) ได้จำแนกหมวดหมู่สาหร่ายโดยใช้รูปร่างและลักษณะภายนอกที่เหมือนกัน และคล้ายคลึงจัดรวมไว้ในกลุ่มเดียวกัน และดูจากสิ่งที่ปรากฏออกมาให้เห็นจึงแยกออกเป็น 7 กลุ่ม ดังนี้

1. Division Cyanophyta (blue-green algae)
2. Division Chlorophyta (green algae)
3. Division Rhodophyta (red algae)

4. Division Phaeophyta (brown algae)
5. Division Chrysophyta (Golden, yellow green, Diatom)
6. Division Pyrrophyta (dinoflagellate)
7. Division Euglenophyta (euglenoids)

สำหรับการจัดหมวดหมู่ยึดตาม (Bold และ Wynne, 1978) มีทั้งหมด 9 Division ได้แก่

1. Division Cyanophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae)
2. Division Chlorophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีเขียว (Green algae)
3. Division Charophyta ได้แก่ สาหร่ายไฟ (Stoneworts)
4. Division Euglenophyta ได้แก่ Euglenoids
5. Division Phaeophyta ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาล (Brown algae)
6. Division Chrysophyta ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง (Golden algae) สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง (Yellow green algae และ diatom)
7. Division Pyrrophyta ได้แก่ Dinoflagellates
8. Division Cryptophyta ได้แก่ Cryptomonads
9. Division Rhodophyta ได้แก่ สาหร่ายสีแดง (Red algae)

2.1.3 ความสำคัญของสาหร่ายต่อระบบนิเวศ

สาหร่ายเป็นผู้ผลิต (producer) ของระบบนิเวศในน้ำ โดยความสามารถในการเจริญทวีจำนวนของสาหร่ายแต่ละชนิด มีความแตกต่างกันและเกี่ยวข้องกับปัจจัยทางกายภาพหลายประการ คือ แสง รูปแบบและปริมาณสารประกอบของคาร์บอนและสารอาหารอื่นๆ ในน้ำ ในธรรมชาติ สภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา จะพบการเจริญแบบแข่งขันของสาหร่ายชนิดต่าง ๆ เนื่องจากสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีสถานะที่เหมาะสมต่อการเจริญแตกต่างกัน และยังมีปัจจัยที่ควบคุมปริมาณของสาหร่าย คือ แพลงก์ตอนสัตว์ที่กินจุลสาหร่ายเป็นอาหาร จึงมักพบการลดจำนวนของจุลสาหร่ายเมื่อแพลงก์ตอนสัตว์มีปริมาณมากขึ้น แต่ความสำคัญของสาหร่ายต่อระบบนิเวศ ไม่ได้มีแต่เพียงการเป็นผู้ผลิตที่จะถ่ายทอดพลังงานต่อไปในห่วงโซ่อาหาร แต่เมื่อสาหร่ายนั้นตายลง มวลชีวภาพของสาหร่ายก็จะเข้าสู่วัฏจักรการย่อยสลายโดยแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว เมื่อสาหร่ายตายลงก็จะเกิดผลกระทบต่อแหล่งน้ำนั้นๆ

แหล่งน้ำที่มีความอุดมสมบูรณ์ด้วยธาตุอาหารจะทำให้เกิดภาวะเร่งการเจริญของสาหร่ายส่วนมากพบสาหร่ายสีเขียวกามน้ำเงินบริเวณก้นแหล่งน้ำแต่จะลอยขึ้นสู่ผิวน้ำเป็นครั้งคราว ถ้ามีมากจะทำให้สภาพแวดล้อมในแหล่งน้ำเกิดปรากฏการณ์ ที่เรียกว่า แอลจีบลูม (algae bloom) คือ การ

เพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็วของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดในแหล่งน้ำจืด อาจทำให้น้ำเปลี่ยนสีมีการสร้างสารประกอบทางเคมีทำให้เกิดมีกลิ่นโคลน มีการสร้างสารพิษ (toxin) ที่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ ได้แก่ *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena* spp. และ *Oscillatoria* spp. เป็นต้น (ณภัทร น้อยนำใส และคณะ, 2544)

2.1.4 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

ในช่วงที่มีการเจริญเติบโตของสาหร่าย สาหร่ายจะมีการเจริญเติบโต และ เพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว และเมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่งอัตราการเจริญเติบโตจะลดลงจนกลายเป็นศูนย์ในที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากสาหร่ายไม่สามารถทนต่อสารที่สาหร่ายเองปล่อยออกมาเป็นจำนวนมาก หรือเนื่องจากมีธาตุอาหารและแสงสว่างไม่เพียงพอ ช่วงการเจริญเติบโตในการเลี้ยงแบบ Batch culture อยู่ 4 ช่วง เช่นเดียวกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั่วไปดังนี้ ดังรูปที่ 2.2

1 . Lag or Inductional phase

ระยะปรับตัว เป็นระยะที่เซลล์ปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ เช่น แสง อุณหภูมิ และธาตุอาหาร ฯลฯ ระยะนี้สาหร่ายไม่มีการแบ่งเซลล์ ดังนั้น เซลล์ที่ไม่สามารถปรับตัวได้จะตายลง การที่สาหร่ายจะผ่านระยะปรับตัวนี้ เร็วหรือช้าขึ้น ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของเซลล์สาหร่ายและความอุดมสมบูรณ์ของอาหารที่เลี้ยง ถ้าสภาพทั้งสองอย่างเหมาะสมจะเข้าสู่ระยะที่ 2 เร็วขึ้น

2. Log or Exponential phase

เป็นระยะที่สาหร่ายเจริญเติบโตและแพร่ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว ระยะนี้จะนานเท่าใดขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหารและสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง รวมทั้งผลผลิตนอกเซลล์ของสาหร่าย สภาพแวดล้อมของสิ่งแวดล้อม ยดลักษณะการเจริญเติบโตในระยะนี้เป็นแบบที่รวดเร็วในระยะแรกและจะค่อยๆช้าลง ตามลำดับ และจะเริ่มมีการสะสมของน้ำมันในเซลล์โดย Takagi และคณะ (2006) รายงานว่า เมื่อเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 0.05 M ลงไปหลังจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Dunaliella* spp. จนเข้าสู่ช่วงสุดท้ายของ Log phase ทำให้การสะสมไขมันเพิ่มขึ้นจาก 63 เป็น 70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง

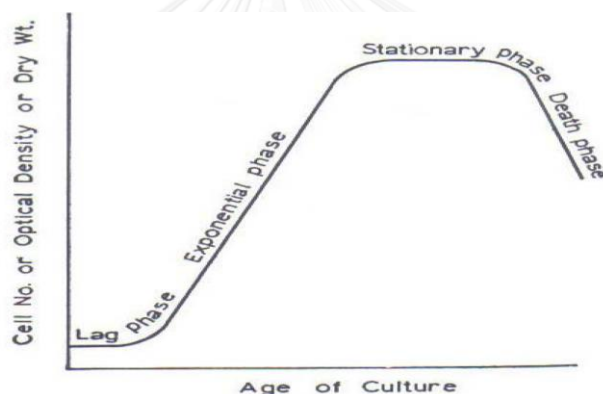
3. Stationary phase

ระยะนี้เป็นระยะที่มีมวลหรือจำนวนสาหร่ายมีปริมาณคงที่ แต่องค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์บางอย่างอาจมีการเพิ่มปริมาณขึ้น หรืออาจมีปริมาณลดลง ช่วงการเจริญเติบโตนี้เกิดจากการขาดแคลนแร่ธาตุอาหารที่สำคัญ เช่น การขาดแคลนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) หรือการยับยั้งการเจริญเติบโตโดยสารที่สาหร่ายปล่อยออกมาเกิดสารพิษ (Toxic) จากกระบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolism) หรือการสลายตัวของเซลล์เพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช (pH) ในอาหาร การ

ได้รับแสงไม่เพียงพอเนื่องจากความหนาแน่นของสาหร่ายเพิ่มขึ้น โดย Patarra และคณะ (2013) ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *C.minutissima*, *T.fluvitilis* และ *T.pseudonana* เพื่อสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลาย n-hexane ร่วมกับวิธีอัลตราซาวด์ โดยได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย และเก็บตัวอย่างสาหร่ายในระยะการเจริญเติบโตของสาหร่ายช่วง Stationary phase มาทำการกรองแบบสุญญากาศ ซึ่งในช่วงนี้พบว่า มีอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายคงที่และมีปริมาณน้ำมันสะสมมากที่สุด จึงเหมาะที่จะนำมาสกัดน้ำมัน

4. Death phase

เป็นระยะที่เซลล์หยุดการเจริญเติบโตโดยสิ้นเชิง เนื่องจากขาดอาหารหมดลง โดยเซลล์จะเริ่มตาย และการตายจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และ รวดเร็วขึ้น มวลของสาหร่ายจะลดลงเนื่องจากอัตราส่วนของการหายใจต่อการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น จนมีค่ามากกว่า 1 เนื่องจากมีการตายของเซลล์สาหร่ายเพิ่มมากขึ้น



รูปที่ 2.2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย (ผกาหวดี แก้วกันเนตร, 2552)

2.1.5 วิธีวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายและชีวมวล (Growth and biomass measurements)

1. การนับเซลล์ (cell count)

เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย อุปกรณ์ที่ใช้คือ กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (Inverted microscope) และ สไลด์นับเซลล์ (Counting slide or Counting chamber) สไลด์มีหลายชนิด ให้เลือกใช้ตามความหนาแน่นของตัวอย่างและขนาดของเซลล์ในตัวอย่างที่นับ ชนิดที่นิยมใช้ คือ เซดวิก์-ราฟเตอร์ เคาน์ทิง แชมเบอร์ (sedgwick-rafer counting chamber) ความจุ 1 มิลลิลิตร พัลเมอร์ มาโลนี แชมเบอร์ (Palmer maloney chamber) ความจุ

0.1 มิลลิลิตร และสไลด์นับเม็ดเลือด (Haematometer หรือ Haemacytomer) ความจุ 0.004 มิลลิลิตร

อุปกรณ์นับเซลล์อีกชนิดหนึ่งเรียกว่า เครื่องนับโคลเตอร์ (Coulter counter) เป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่นิยมใช้นับเซลล์ของสาหร่ายชนิดที่ไม่เป็นเส้น เซลล์ที่นับควรมีรูปร่างกลม เพราะเครื่องมือชนิดนี้ไม่สามารถตรวจสอบเซลล์รูปร่างอื่นได้ แม้ว่าอุปกรณ์ชนิดนี้ทำงานได้รวดเร็วแต่ราคาสูงมาก ผู้ใช้ต้องระมัดระวังในการใช้ รวมทั้งต้องหมั่นทำความสะอาดเครื่องมืออยู่เสมอเพื่อให้เครื่องทำงานได้อย่างถูกต้อง (ผกาวดี แก้วกันเนตร, 2552)

2. การวัดการกระจายของแสงหรือความขุ่น (Light scattering or turbidity)

เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุดในการวัดการเจริญเติบโตของตัวอย่างสาหร่ายบริสุทธิ์ ข้อดีของวิธีนี้คือวัดได้ง่าย และสะดวก ข้อมูลที่ได้เป็นค่าของชีวมวล ที่เพิ่มขึ้นโดยวัดจากค่าน้ำหนักแห้ง อุปกรณ์ที่ใช้เรียกว่า คัลเลอร์มิเตอร์ (Colorimeter) หรือ สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ถ้าจำนวนเซลล์ไม่หนาแน่น จำนวนเซลล์จะมีความสัมพันธ์แบบเรขาคณิตกับความเข้มแสง กล่าวคือ ความเข้มแสงจะลดลงเมื่อจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น (ผกาวดี แก้วกันเนตร, 2552)

3. การวัดน้ำหนักแห้ง (Dry weight measurement)

เหมาะกับสาหร่ายชนิดที่นับเซลล์ไม่ได้ จึงนิยมใช้กับสาหร่ายชนิดที่เป็นเส้น โดยวิธีนี้จะวัดค่าทุกวันแล้วนำผลที่ได้มาเขียนกราฟ เริ่มการวัดโดยเก็บตัวอย่างจากภาชนะเลี้ยง ก่อนเก็บตัวอย่างควรผสมตัวอย่างให้เข้ากันดีเสียก่อน กรองสาหร่ายออกจากน้ำโดยการปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รินน้ำใสออก นำตัวอย่างไปอบแห้ง ถ้าใช้เครื่องกรองควรล้างสาหร่ายให้สะอาดปลอดจากเกลือหรือสิ่งปนเปื้อน ด้วยสารอาหารอย่างเจือจางหรือน้ำกลั่นที่เป็นกลาง ไม่ควรล้างสาหร่ายน้ำเค็มด้วยน้ำกลั่น เพราะจะทำให้เซลล์แตก อุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งประมาณ 70-110 องศาเซลเซียส นานประมาณ 10-12 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ นำแผ่นกรองออกจากตู้อบแล้วนำไปใส่ ตู้ดูดความชื้น (Desicator) 15-30 นาที (ถ้าใส่แผ่นกรองหรือเยื่อกรองในหลอดแก้วควรนำหลอดแก้วเข้าตู้อบพร้อมตัวอย่างด้วย) รายงานผลเป็นน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร หรือพื้นที่ของน้ำที่ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่าย (ผกาวดี แก้วกันเนตร, 2552)

4. การวัดคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll determination)

เป็นวิธีวัดชีวมวลที่รวดเร็ว มีวิธีวัดโดย เก็บตัวอย่างจากภาชนะเลี้ยง กรองเซลล์หรือแยกเซลล์ออกโดยการปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ต่อจากนั้นจึงสกัดสารสี โดยการเติมสารละลาย ที่นิยมใช้กันมีหลายชนิด ได้แก่ อะซิโตน เมทานอล อีเทอร์ เมื่อสกัดสารสีออกจากเซลล์แล้วให้กรองอีกครั้งเพื่อ

กำจัดตะกอนหรือสิ่งปนเปื้อนออกให้หมด นำสารละลายที่กรองได้ใส่ในหลอดแก้วสะอาดสำหรับวัดค่าคลอโรฟิลล์ เซลล์แต่ละชนิดมีคลอโรฟิลล์แตกต่างกันไป ซึ่งแบ่งออกได้ 3 ชนิด คลอโรฟิลล์เอ บี และ ซี ทั้งนี้ผู้วัดต้องเลือกใช้ความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมกับชนิดของสาหร่ายที่จะวัด (ผกาดี แก้วกันเนตร, 2552)

2.1.6 สภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

โดยทั่วไปแบ่งออกได้เป็น 3 สภาวะ คือ

1. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบออโตโทรฟิก (autotrophic)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบออโตโทรฟิก (autotrophic) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยสาหร่ายต้องการแสง และคาร์บอนไดออกไซด์ในการเจริญเติบโต ซึ่งสาหร่ายเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสง เพื่อสังเคราะห์สารชีวเคมีต่างๆขึ้น

2. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเฮเทอโรโทรฟิก (heterotrophic)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเฮเทอโรโทรฟิก (heterotrophic) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้สารประกอบอินทรีย์ เช่น กลูโคส ซูโครส ฟรุคโตส อะซิเตอริท หรือ กากน้ำตาล เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนสำหรับใช้ในที่ไม่มีแสง Sansaw และ Endo (2004) กล่าวว่า สาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลล่า สามารถเจริญเติบโตแบบเฮเทอโรโทรฟิกในที่มืดโดยใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนเหมือนกับการใช้แสงแบบออโตโทรฟิก

3. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบมิคโซโทรฟิก (Mixotrophic)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบมิคโซโทรฟิก เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอน และทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้แสง Andrade และ Costa (2007) กล่าวว่า การเพาะเลี้ยงแบบมิคโซโทรฟิก เป็นการรวมกันระหว่างการเพาะเลี้ยงแบบออโตโทรฟิก ที่มีกระบวนการสังเคราะห์แสง และการเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟิกที่มีการใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน ทำให้สาหร่ายมีชีวมวลที่หนาแน่นขึ้น

2.1.7 ข้อดีของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

1. เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก มีองค์ประกอบของเซลล์ไม่สลับซับซ้อน เมื่อเพาะเลี้ยงสามารถควบคุมองค์ประกอบของเซลล์ได้ โดยผลผลิตเซลล์ (productivity) ไม่ลดลง
2. สาหร่ายมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงสูง ประมาณ 3-8% ของพลังงานแสงอาทิตย์ถูกเปลี่ยนเป็นชีวมวล เมื่อเทียบกับพืชที่เพียง 0.5% จะเปลี่ยนเป็นชีวมวล

3. ในการเลี้ยงสาหร่ายอาจใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ออกมาจากโรงงานอุตสาหกรรม รวมทั้งใช้สารอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสที่อยู่ในน้ำ จึงเป็นการบำบัดน้ำและผลิตพลังงานไปพร้อมกัน
4. สาหร่ายใช้เวลาในการแบ่งตัว 1-10 วัน เจริญเติบโตได้เร็วและสะสมลิปิดได้สูง 40-80% ของน้ำหนักแห้งให้ปริมาณน้ำมันต่อพื้นที่เพาะเลี้ยงมากกว่าพืช 10-20 เท่า
5. สาหร่ายเลี้ยงได้ในน้ำเค็มหรือที่ที่ไม่เหมาะในการปลูกพืช ไม่เป็นการแก่งแย่งระหว่างอาหารและพลังงาน
6. สาหร่ายเลี้ยงได้ในระบบ Bioreactor แบบปิดที่ควบคุมสภาวะการเลี้ยงทำให้เลี้ยงได้ตลอดปี

2.1.8 ข้อจำกัดการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการผลิตน้ำมัน

(ขวัญกมล พรพมา และคณะ, 2556)

1. ประสบการณ์ในการออกแบบและทดสอบ Photo bioreactor ขนาดใหญ่ยังมีไม่มาก
2. ประสิทธิภาพการเลี้ยงยังไม่สูงทำให้ต้นทุนการผลิตน้ำมันสูง
3. การเลี้ยงสาหร่ายโดยเฉพาะในระบบเปิด (Open pond) ให้ความเข้มข้นสาหร่ายต่ำ ต้นทุนของการเก็บเกี่ยวสูง

2.1.9 ลักษณะของสาหร่ายที่ขาดธาตุอาหาร

ลักษณะการขาดธาตุอาหารของสาหร่ายสรุปได้ 3 ประการ ดังนี้

1. ปริมาณสารสี (pigments) สำหรับใช้ในการสังเคราะห์แสงลดลง เช่น ถ้าขาดธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ ซิลิกา แมกนีเซียม เหล็ก โพแทสเซียม และ โมลิบดีนัม สีของเซลล์จะจางลง
2. เซลล์มีการสะสมอาหารเพิ่มขึ้นกว่าปกติ เช่น การสะสมแป้งหรือไขมันจะเกิดขึ้นเมื่อสาหร่ายขาดธาตุอาหารบางชนิดหรือหลายชนิด
3. เซลล์มีการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกและโปรตีนลดลง ซึ่งเป็นผลต่อเนื่องจากการที่เซลล์มีการสะสมแป้งหรือไขมันที่เพิ่มขึ้นต่ำ

โดยสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณสารอาหารที่เป็นองค์ประกอบแตกต่างกันดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก (Becker, 2007)

สาหร่าย	โปรตีน (%)	คาร์โบไฮเดรต (%)	ไขมัน (%)
<i>Anabaena cylindrical</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	62	23	8
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1.9
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Scenedesmus sobliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Spirogyra</i> sp.	6-20	33-64	11-21
<i>Arthrospira maxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11

สาเหตุที่สาหร่ายขนาดเล็กได้รับความสนใจในการนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพโดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากภายในเซลล์สาหร่ายบางสายพันธุ์มีการสะสมน้ำมันไว้สูงเกือบร้อยละ 80 ของน้ำหนักแห้ง โดยสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีองค์ประกอบน้ำมันแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณน้ำมันที่สะสมไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก (Chisti, 2007)

สาหร่าย	ปริมาณน้ำมัน (%ของน้ำหนักแห้ง)
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chlorella</i> sp.	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16-37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25-33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris</i> sp.	20-35
<i>Nannochloropsis</i> sp.	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzchia</i> sp.	45-47
<i>Phaeodactylum tricomutum</i>	20-30
<i>Schizochytrium</i> sp.	50-77
<i>Spirulina</i> sp.	5-7
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23

สาหร่ายขนาดเล็กมีศักยภาพในการให้น้ำมันได้ในปริมาณสูง เนื่องจากมีระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสั้นกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ หากสามารถนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงทดแทนได้ย่อมสามารถลดการเกิดปัญหาในการแย่งส่วนแบ่งทางอาหารหรือเกษตรกรรมจากพืชน้ำมันทั่วไปได้ โดยสาหร่ายมีศักยภาพในการผลิตชีวมวล ปริมาณน้ำมันสะสมและพลังงานเชื้อเพลิงเมื่อเทียบกับพืชน้ำมันทั่วไปดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ปริมาณน้ำมันสะสมและพลังงานเชื้อเพลิงระหว่างพืชน้ำมันชนิดต่างและสาหร่ายขนาดเล็ก (ประยูร เอ็นมาก, 2553)

ชนิดของพืชน้ำมัน	ชีวมวล (เมตริกตัน/เฮกตาร์/ปี)	ปริมาณน้ำมัน (%น้ำหนักแห้ง)	ไบโอดีเซล (เมตริกตัน/เฮกตาร์/ปี)
ถั่วเหลือง	1-2.5	20%	0.2-0.5
เมล็ดเรพ	3	40%	1.2
ปาล์มน้ำมัน	19	20%	3.7
สบู่ดำ	7.5-10	30-50%	2.2-5.3
สาหร่ายขนาดเล็ก	140-255	35-65%	50-100

2.1.10 ประโยชน์ของสาหร่าย

1. ด้านพลังงาน โดยใช้เป็นพืชพลังงานเพื่อการสกัดน้ำมัน (Demirbas, 2011)
2. เป็นอาหารของสัตว์ทะเล ทั้งที่กินสาหร่ายโดยตรงหรือที่กินสัตว์อื่นที่กินสาหร่ายอีกต่อหนึ่ง (ไปรมา ยงมานิตชัย, 2546)
3. เป็นอาหารของมนุษย์ คนไทยในแถบภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงเหนือในอดีตและปัจจุบัน เช่น จังหวัด สุราษฎร์ธานี สงขลา ปัตตานี ตรัง จันทบุรี เป็นต้น ใช้สาหร่ายเป็นกับข้าวแทนผัก ชาวเกาะที่อาศัย อยู่ตามเกาะต่างๆ ในมหาสมุทรแปซิฟิกใช้สาหร่ายดิบเสริมเป็นกับข้าว และในประเทศที่คนใช้ สาหร่ายเป็นอาหารมากที่สุดคือ ญี่ปุ่น ซึ่งทำให้สาหร่ายทะเลเป็นอาหารที่แพร่หลายไปทั่วโลก (ไปรมา ยงมานิตชัย, 2546)
4. ใช้เป็นอาหารสัตว์ สาหร่ายสามารถนำไปเลี้ยงสัตว์กระเพาะเดี่ยว เช่น หมู และสัตว์ปีก นอกจากนี้ สาหร่ายยังเป็นอาหารที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนที่กินพืชเป็นอาหาร เช่น ปลา กุ้ง และแพลงตอนสัตว์ เช่น ไรแดง ไรน้ำเค็ม ประเทศญี่ปุ่นใช้สาหร่ายเกลียวทองเลี้ยงปลาไหล ปลาเทร่า กุ้ง ปลาคาร์พัส เป็นต้น ทำให้เศรษฐกิจของอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาสวยงามได้พัฒนาก้าวไกล ออกไปมาก ผลงานวิจัย เช่น การเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* Sp. จากน้ำทิ้งแหล่งชุมชนเพื่อใช้เป็น อาหารสัตว์ การศึกษาปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาหร่าย *Chlorella* Sp. (K3) สำหรับนำไป เลี้ยงพวกไดอะตอม แพลงตอนสัตว์ (*Lapadella benjamini*) ที่ระดับความหนาแน่นแตกต่างกัน การนำ *Chlorella* Sp. ที่ได้จากการเลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานผลิตน้ำมันถั่วเหลืองมาเลี้ยงไรแดง ความ เป็นไปได้ในการเลี้ยงหอยมุกน้ำจืด *Chamberlai hainesiana* ด้วยสาหร่ายชนิดต่าง ๆ ใน ห้องปฏิบัติการ เป็นต้น (ไปรมา ยงมานิตชัย, 2546)
5. ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย เช่น การใช้สาหร่ายในการบำบัดน้ำเสียร่วมกับแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียจะ ทำการย่อยสารอินทรีย์ต่าง ๆ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ให้เป็นสารประกอบอนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียม ไนเตรต คาร์บอนไดออกไซด์ และเกลือแร่ต่าง ๆ ในสภาพที่มีอากาศ (aerobic) หรือไม่มี อากาศ (anaerobic) จากนั้นสาหร่ายจะใช้สารประกอบเหล่านี้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ สำหรับสาหร่ายที่ได้จากระบบบำบัดน้ำเสียนี้ อาจนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ ปุ๋ยพืชสด หรือใช้ในการทำ แก๊สชีวภาพได้ เช่น ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis* ที่เพาะเลี้ยงในมูลหมู ผสมมูลไก่ที่มีการหมักเวียนของสารอาหารแตกต่างกัน (ขจรเกียรติ ศรีนวลสม และคณะ, 2552)
6. ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae) รู้จักกันแพร่หลายในแง่ของการ ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ จากการวิจัยของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย พบว่า

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในนาข้าวบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศให้เป็นสารประกอบไนโตรเจน ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ *Anabaena* sp. และ *Nostoc* sp. พันธุ์ที่พบในประเทศและให้ผลผลิตดี มีชื่อว่า *Anabaena siamensis* (พงศ์เทพ อันตะริกานนท์ และคณะ, 2531)

7. ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง สาหร่ายประกอบด้วยสารเคมีบางชนิดที่ช่วยในการรักษาผิวหน้า การศึกษาในประเทศญี่ปุ่นพบว่า เครื่องสำอางที่ผสมสาหร่ายและสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองช่วยให้ผิวพรรณดีขึ้นและลดริ้วรอย ส่วนในประเทศไทยก็ได้มีบริษัทหลายแห่งที่ใช้สาหร่ายเกลียวทองเป็นเครื่องสำอางในรูปครีมบำรุงผิว (ไปรมา ยงมานิตชัย, 2546)

8. ใช้ในอุตสาหกรรมยา นักวิทยาศาสตร์และนายแพทย์หลายท่านได้ทดลองใช้สาหร่ายเกลียวทองในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคเบาหวาน โรคกระเพาะ อีกทั้งยังช่วยลดความเครียดและความไม่สมดุลในร่างกาย ในประเทศฝรั่งเศส ได้ทดลองใช้ยาที่ผสมสาหร่ายเกลียวทองทาแผล ทำให้แผลแห้งเร็วขึ้น ธาตุแมกนีเซียมในคลอโรฟิลล์ยังมีบทบาทอย่างสำคัญในการรักษาบาดแผล มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อป้องกันการเกิดของแบคทีเรียและช่วยสร้างเซลล์ขึ้นมาใหม่ด้วย คลอโรฟิลล์ในสาหร่ายมีโครงสร้างเหมือนสารสีแดงในเลือด (Hemoglobin) นักวิทยาศาสตร์จึงแนะนำให้ใช้คลอโรฟิลล์รักษาโรคโลหิตจาง นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดมีสารปฏิชีวนะซึ่งเป็นประโยชน์ต่อวงการแพทย์ ได้แก่ cyanophycin หรือ marinamycin ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ ได้ สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว scytonema No.11 เป็นสาหร่ายที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย แยกได้จากดินนาจังหวัดพิษณุโลก พบว่าสามารถผลิตสารปฏิชีวนะ Cyanobacterin ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นทั้ง algicide และ bactericide ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายและแบคทีเรียบางชนิดได้ (ไปรมา ยงมานิตชัย, 2546)

2.2 สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina* sp.)

2.2.1 ลักษณะทั่วไปและอนุกรมวิธานของ *Spirulina* sp.

สาหร่ายสไปรูลิน่า เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เซลล์เดี่ยว ขนาดเล็ก ที่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า เป็นสิ่งมีชีวิตจำพวก โปรคาริโอท (prokaryotes) ซึ่งไม่มีนิวเคลียสที่แท้จริง เป็นเซลล์ที่ยังไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ประกอบด้วยเซลล์รูปทรงกระบอกหลายเซลล์ มาเรียงต่อกันเป็นเส้นสาย และ บิดเป็นเกลียว ขนาดความกว้างของสาหร่ายสไปรูลิน่า หรือ เส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียว (helix) 35-50 ไมครอน ระยะห่างระหว่างเกลียว (pitch) 60 ไมครอน เซลล์ที่เรียงต่อกันมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6-8 ไมครอน โดยมีความยาวของ trichome (length) ประมาณ 300-500

ไมครอน (สุมาลี ดุลยอนุกิจ, 2535) มีการสืบพันธุ์แบบเดี่ยว คือ การแบ่งตัวที่กึ่งกลาง trichome ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบ cell division หรือ binary fission (สุมาลี ดุลยอนุกิจ, 2535)

สาหร่ายสไปรูลิน่าอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้แก่ ในดิน ทราบาย หนอง บึง แหล่งน้ำกร่อย ทะเล และแหล่งน้ำจืด และถูกแยกสายเชื้อ (isolated) ได้จากแหล่งต่างๆ ได้แก่ จากแหล่งน้ำในเขตร้อนจนถึงทะเลเหนือ บ่อน้ำพุร้อน (thermal springs) แอ่งเกลือ (salt pans) โรงไฟฟ้าในเขตอบอุ่น บ่อปลา เป็นต้น ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า สาหร่ายสามารถเจริญอยู่ได้ในสิ่งแวดล้อมต่างๆ ซึ่งมีความแตกต่างกันมาก สาหร่ายเกลียวทองชนิดต้นแบบ คือ ชนิดที่ชอบความเป็นด่าง ได้แก่ *S. platensis* พบมากในทะเลสาบที่มีความเป็นด่างในทวีปแอฟริกา และชนิด *S. maxima* ซึ่งพบในทะเลสาบเทกซัส โคโคในประเทศเม็กซิโก นอกจากนี้สาหร่ายเกลียวทองยังสามารถเลี้ยงได้ในอาหารที่เตรียมด้วยน้ำสะอาด

ลักษณะทางอนุกรมวิธานของ *Spirulina* sp. จำแนกตามหมวดหมู่ได้ดังนี้ (สุมาลี ดุลยอนุกิจ , 2535)

Phylum Cyanophyta

Class Cyanophyceae

Order Oscillatoriales

Family Oscillatoriaceae

Genus *Spirulina* sp.

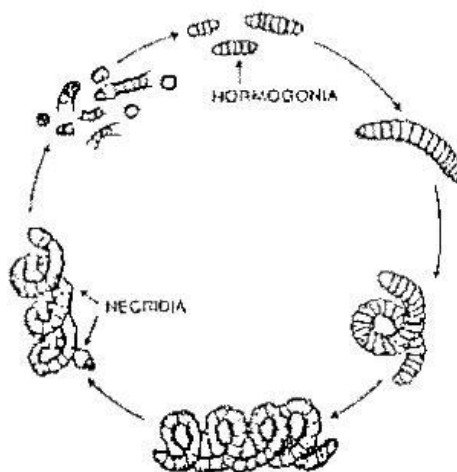
2.2.2 องค์ประกอบของ *Spirulina* sp.

สาหร่ายสไปรูลิน่า จัดเป็นแหล่งอาหารที่อุดมด้วยโปรตีนซึ่งมีปริมาณสูงถึง 50-70% ของน้ำหนักแห้ง มีคาร์โบไฮเดรตอยู่ประมาณ 12-20% นอกจากนี้สาหร่ายสไปรูลิน่ายังเป็นแหล่งที่มีศักยภาพในการผลิตสารเคมีสำคัญซึ่งไม่ค่อยพบในสิ่งมีชีวิตอื่น โดยประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายพันธะ (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) โดยเฉพาะ GLA (γ-linolenic acid, 18:3 w 6), รงควัตถุธรรมชาติ เช่น ไฟโคไซยานิน (phycocyanin) และคาโรทีนอยด์ชนิด myxoxanthophyll, zeaxanthin และสารโพลีแซคคาไรด์ (สุมาลี ดุลยอนุกิจ, 2535)

2.2.3 ช่วงวงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina* sp.)

ในวงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า ไตรโคมาที่เจริญเติบโตเต็มที่ มีการสร้างเซลล์ที่มีลักษณะเฉพาะที่เรียกว่า เนคริเดีย (necridia) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่จะถูกย่อยทำให้ไตรโคมาแตกหักออกเป็นท่อนสั้น ๆ ขนาดประมาณ 2-4 เซลล์ที่มีลักษณะเหมือนกันเป็นส่วนใหญ่ เรียกว่า โฮโมโกเนีย จากนั้นจึงมี

การแบ่งตัวเพิ่มความยาวหรือจำนวนเซลล์ของแต่ละไฮโมโกเนียจนเป็นไตรโคมที่สมบูรณ์ แสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 วงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า (Richmond, 1986)

2.2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *Spirulina* sp.

การเจริญเติบโต (สแกนต์ พูลทวิ, 2535) ของเซลล์สาหร่ายต้องอาศัยปัจจัยดังต่อไปนี้

1. อุณหภูมิ

เป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาต่างๆภายในเซลล์สาหร่าย การทำงานของเอนไซม์ โครงสร้างและองค์ประกอบต่างๆในเซลล์สาหร่าย ซึ่งส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตและการสะสมปริมาณน้ำมันในเซลล์สาหร่าย อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูลิน่า คือ 25-35 องศาเซลเซียส

2. แสง

แสง (Light) มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายในการสังเคราะห์แสง การเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีการให้แสงมีหลายแบบ คือ แบบใช้แสงอาทิตย์ แบบให้แสงด้วยหลอดไฟ ควรให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ เพราะแสงที่ได้จะมีอุณหภูมิไม่สูงเหมือนแสงจากหลอดไฟชนิดอื่น นอกจากนี้ การควบคุมช่วงเวลาในการให้แสงสลับกับการหยุดให้แสงจะส่งผลให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีกว่าการให้แสงตลอดเวลา โดยช่วงแสงสว่างที่นิยมใช้คือ 16 ชั่วโมงสว่าง/8 ชั่วโมงมืด (ยุวดี พิรพรพิศาล, 2538) ถ้าความเข้มของแสงสูง ความสามารถในการใช้พลังงานแสงของสาหร่ายจะลดลง ความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูลิน่าเมื่อเพาะเลี้ยงสภาพกลางแจ้งคือ 30-35 กิโลลักซ์

3. แร่ธาตุอาหาร

แร่ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายสไปรูลิน่า แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามปริมาณของแร่ธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการ

3.1 แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณมาก (macronutrients หรือ major elements) ได้แก่ ธาตุคาร์บอน ไนโตรเจน ออกซิเจน ไฮโดรเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโปแตสเซียม โดยจะกล่าวถึงธาตุอาหารหลักๆดังนี้

-แหล่งคาร์บอน (Carbon source) เป็นธาตุอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งสาหร่ายสามารถใช้ได้ทั้งในรูปของอินทรีย์และอนินทรีย์ โดยคาร์บอนจะอยู่ในรูปใดนั้นขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของอาหาร ซึ่งโดยทั่วไปสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Spirulina sp.* ค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 8.5-10.0

-แหล่งไนโตรเจน (Nitrogen source) เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย โดยไนโตรเจนมีบทบาทที่สำคัญต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมในเซลล์สาหร่าย อีกทั้งยังเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในกรดอะมิโน โปรตีน และเอนไซม์ภายในเซลล์ โดยความสามารถในการใช้แหล่งไนโตรเจนแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย ในสาหร่ายที่ขาดแคลนไนโตรเจน หรือมีปริมาณไนโตรเจนที่จำกัด จะทำให้อัตราการสังเคราะห์น้ำมันเพิ่มสูงขึ้น มีผลทำให้เกิดการสะสมน้ำมันภายในเซลล์เพิ่มขึ้น และถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสง และปริมาณรงควัตถุของเซลล์ทำให้สาหร่ายมีสีที่เปลี่ยนไปด้วย (ผกาดี แก้วกันเนตร, 2552)

3.2 แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณน้อย (micronutrients หรือ minor elements) แร่ธาตุเหล่านี้เป็นส่วนประกอบของโมเลกุลที่สำคัญ เช่น สารเร่งการเจริญเติบโต (growth factors) หรือเอนไซม์ หรือเป็นตัวกระตุ้นเอนไซม์ แร่ธาตุเหล่านี้มีอยู่ 7 ชนิด ได้แก่ คลอรีน เหล็ก แมงกานีส โบรอน สังกะสี ทองแดง และโมลิบดีนัม

4. การกวนผสม

การกวนผสมมีผลต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูลิน่าโดยทำให้เจริญเติบโตดี เป็นการเพิ่มการกระจายตัวของสาหร่ายให้ได้รับแสงอย่างสม่ำเสมอ ช่วยลดอัตราการตกตะกอนของสาหร่าย สารอาหารกระจายตัวอย่างทั่วถึง ทำให้สาหร่ายสไปรูลิน่าดูดซึมสารอาหารต่าง ๆ ไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ป้องกันไม่ให้เกิดความแตกต่างของอุณหภูมิที่ผิวน้ำ และระดับลึกลงไป เครื่องมือที่สามารถติดตั้งเพื่อทำการกวนอาจเป็นใบพัด การกวนโดยให้น้ำเคลื่อนที่ควรอยู่ที่ความเร็วประมาณ 21 - 25 เซนติเมตรต่อวินาที ซึ่งเป็นอัตราที่ไม่รบกวนสาหร่าย (สุริยวรรณ เบญจรงค์, 2548)

5. คุณภาพน้ำ

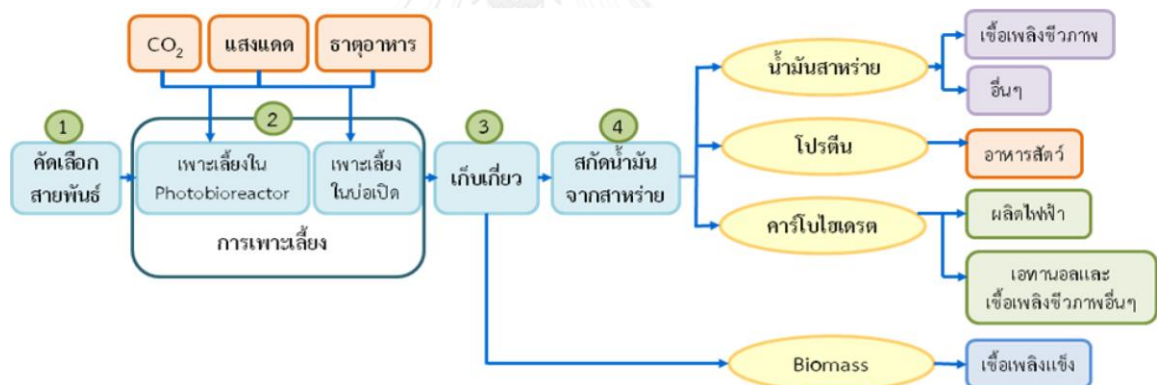
น้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าเพื่อเป็นหัวเชื้อในห้องปฏิบัติการ คือ น้ำกลั่น เพื่อให้บริสุทธิ์สะอาด แต่น้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าปริมาณมากจะเป็นน้ำประปาที่ไม่มีคลอรีน น้ำบ่อหรือน้ำบาดาลที่ใสสะอาดไม่มีโลหะหนัก น้ำบ่อหรือน้ำบาดาลมักจะใช้ได้ผลดีกว่าน้ำประปา ถ้าเป็นน้ำในแหล่งที่มีหินปูนมากอาจจะช่วยให้ลดปริมาณการให้ปุ๋ยได้มาก (สุรียัวรรณ เบญจรงค์, 2548)

6. ความเค็ม

การเพิ่มความเค็มในสูตรอาหารทำให้สาหร่ายสไปรูลิน่า มีการสะสมกรดไขมันเพิ่มขึ้นในเซลล์ แต่การสร้างสภาวะให้สาหร่ายสะสมไขมันในเซลล์ด้วยการลดธาตุอาหารหรือใช้ความเค็ม มักส่งผลให้สาหร่ายมีการเจริญได้น้อยลง ถึงแม้ว่าจะได้รับอัตราส่วนไขมันต่อน้ำหนักเพิ่มขึ้น

2.3 ขั้นตอนการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย

การผลิตน้ำมันเชื้อเพลิงจากสาหร่ายต้องมีการผ่านขั้นตอนหลัก 4 ขั้นตอน ได้แก่ การคัดเลือกสายพันธุ์ การเพาะเลี้ยง การเก็บเกี่ยว และการสกัดน้ำมัน ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 ขั้นตอนการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย (สำนักคุณภาพน้ำมันเชื้อเพลิง, 2557)

2.3.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย (algal cultivation)

สาหร่ายต้องการน้ำ แสงแดด และคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตเหมือนพืชชนิดอื่นๆ สาหร่ายสามารถโตได้ดีในพื้นที่ที่มีอากาศร้อนและมีแสงแดดมาก ดังนั้นประเทศไทยจึงเหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด (open-system) เป็นวิธีการเลี้ยงสาหร่ายแบบธรรมชาติ เช่น เลี้ยงในบ่อน้ำ คลอง และชายทะเล เป็นต้น แต่การเลี้ยงสาหร่ายโดยวิธีนี้ยากต่อการดูแลทั้งในเรื่องการปนเปื้อนของบ่อน้ำ เช่น แบคทีเรีย ที่มีผลกระทบต่อการเติบโตของสาหร่าย และ การควบคุมปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย
2. การเพาะเลี้ยงในระบบปิด (closed-system bioreactor plants) เป็นการเพาะเลี้ยงที่มีการวิจัยและพัฒนามาก เพราะการเพาะเลี้ยงวิธีนี้สามารถควบคุม อุณหภูมิ และสิ่งปนเปื้อนได้ง่าย อีกทั้งยังสามารถพัฒนาและออกแบบให้อยู่ในช่วงที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงระบบปิดสามารถตั้งใกล้กับโรงงานที่ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย

2.3.2 การเก็บเกี่ยว (algal harvesting)

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายทำได้หลายวิธีโดยใช้เครื่องมือและวิธีการต่างๆ ตามแต่ชนิดของสาหร่าย อาทิเช่น เครื่องเหวี่ยง การตกตะกอน การกรอง ซึ่งวิธีการปั่นเหวี่ยงไม่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงในระดับขยายขนาดเนื่องจากมีต้นทุนในการผลิตสูง ดังนั้นจึงมีการศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นและใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำ โดยการนำเทคนิคต่างๆ มาประยุกต์ใช้ร่วมกัน อาทิเช่น การตกตะกอน (flocculation) การชะน้ำออก (dewatering) และการทำแห้ง (drying)

2.3.3 การสกัดน้ำมันจากสาหร่าย (algal oil extraction)

2.3.3.1 วิธีทางกายภาพ

- การบีบอัดเพื่อให้คายน้ำมัน (Expeller/ Press) ซึ่งวิธีการบีบอัดมี 2 วิธี คือ การบีบอัดแบบเย็น (cold pressing) และการบีบอัดแบบร้อน (hot pressing) ซึ่งวิธีการบีบอัดแบบเย็นเป็นการใช้แรงกดเซลล์สาหร่ายให้แตกออกและบีบน้ำมันออกมา โดยน้ำมันที่ได้จากการบีบอัดแบบเย็นจะนำมาใช้ได้เลย แต่ข้อจำกัดของวิธีนี้ คือ จะได้น้ำมันในปริมาณน้อยและมีน้ำมันตกค้างในเซลล์สาหร่าย ส่วนวิธีการบีบอัดแบบร้อนเป็นการใช้แรงเชิงกลบีบอัดสาหร่ายร่วมกับการใช้ความร้อน (อรรวรรณ สัมฤทธิ์เดชขจร, 2553)
- การใช้คลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic-assisted Extraction) เป็นวิธีการเร่งกระบวนการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก ซึ่งคลื่นอัลตราโซนิกจะทำให้เกิดฟองอากาศขนาดเล็กในตัวทำละลาย เมื่อฟองอากาศแตกใกล้กับบริเวณผนังเซลล์จะทำให้เกิดคลื่นกระแทก (Shock wave) และลำของเหลว

(Liquid jet) ซึ่งสามารถทำให้ผนังเซลล์แตก และปลดปล่อยสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ออกมาในตัวทำละลาย

Keris-Sen และคณะ (2014) ศึกษาปริมาณน้ำมันที่ได้จากสาหร่ายผสม (mixed culture) โดยวิธีอัลตราโซนิกร่วมกับตัวทำละลาย คลอโรฟอร์มกับเมทานอล (1:1) ที่ความถี่ 30 กิโลเฮิร์ตต์ พลังงาน 50 วัตต์ ระยะเวลา 60 นาที พบว่า ได้ปริมาณน้ำมัน 0.268 กรัมไขมันต่อกรัมสาหร่ายแห้ง วนากานต์ เร่งเพียร (2557) ศึกษาปริมาณน้ำมันที่ได้จากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยวิธีอัลตราโซนิก ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตต์ พลังงาน 120 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที พบว่าได้ปริมาณน้ำมัน 7.9 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง และรุ่งโรจน์ ศรีภูมิ (2558) ศึกษาปริมาณน้ำมันที่ได้จากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตต์ ระดับกำลังงาน 104 วัตต์ ระยะเวลา 3 นาที และ *Scenedesmus obliquus* โดยวิธีอัลตราโซนิก ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตต์ ระดับกำลังงาน 52 วัตต์ ระยะเวลา 1 นาที พบว่าได้ปริมาณน้ำมัน 0.166 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ

- การใช้เอนไซม์ย่อยร่วมกับคลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic enzymatic Extraction) วิธีนี้ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และใส่เอนไซม์เพื่อทำลายผนังเซลล์ โดยคลื่นอัลตราโซนิกทำให้เกิดฟองอากาศซึ่งฟองอากาศจะช่วยทำให้เอนไซม์แทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อและทำลายผนังเซลล์ได้เร็วขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้น (อรวรรณ สัมฤทธิ์เดชขจร, 2553)
- การใช้เทคนิคออสโมซิสโดยอาศัยความต่างของความดัน (Osmotic Shock) เป็นวิธีที่ทำให้เซลล์แตกโดยการลดความดันออสโมซิสอย่างฉับพลัน (อรวรรณ สัมฤทธิ์เดชขจร, 2553)

2.3.3.2 วิธีทางเคมี

- การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นวิธีที่นิยมนำมาสกัดน้ำมัน แต่่ววิธีนี้มีข้อดีจากการใช้ตัวทำละลายที่เป็นสารเคมีอันตราย ตัวทำละลายที่ใช้ส่วนใหญ่ คือ เฮกเซน (Hexane) เนื่องจากมีราคาถูก ส่วนเบนซีน (benzene) และอีเทอร์ (ether) ก็สามารถใช้สกัดน้ำมันได้ แต่ตัวทำละลายเบนซีนจัดเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (Carcinogen)

Nautiyal และคณะ (2014) ศึกษาปริมาณไขมันที่ได้จาก *Spirulina platensis* โดยวิธีการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยเมทานอล โดยมีอัตราส่วนสาหร่ายต่อเมทานอลเป็น 1:4 พบว่า ได้ปริมาณไขมัน เท่ากับ 0.086 กรัมไขมันต่อกรัมสาหร่ายแห้ง Araujo และคณะ (2011) ศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย *Chaetoceros gracilis* โดยเพาะเลี้ยงภายใต้ความเค็มที่ 25 กรัมต่อลิตร และ *Chlorella vulgaris* เพาะเลี้ยงภายใต้ความเค็มที่ 35 กรัมต่อลิตร แล้วนำมาสกัดโดยตัวทำละลาย

คลอโรฟอร์มและเมทานอล โดยมีอัตราส่วนระหว่างสาหร่าย คลอโรฟอร์ม เมทานอล และน้ำกลั่น DI เท่ากับ 1:1:1:0.9 โดยพบว่า ได้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.603 และ 0.525 กรัมไขมันต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ ต่อมา El-shimi และคณะ (2013) ศึกษาปริมาณไขมันที่ได้จากการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสไปรูลิน่า โดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล อัตราส่วนระหว่างสาหร่ายต่อตัวทำละลายเอทานอล คือ 1:5 พบว่าได้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.1095 กรัมไขมันต่อกรัมสาหร่ายแห้ง

-การใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายน้ำมัน (Hexane Solvent Method) เป็นวิธีการสกัดสาหร่ายด้วยตัวทำละลายเฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ภายใต้ความร้อน ข้อเด่นของวิธีนี้ คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดจะใช้ซ้ำอย่างต่อเนื่อง เป็นการประหยัดตัวทำละลาย (Long และคณะ, 2011)

-การสกัดวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical fluids method) วิธีนี้ใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย โดยจะทำให้คาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในรูปของเหลวภายใต้ความดันและความร้อน

2.3.4 ปัจจัยที่ส่งผลต่อผลผลิต (Productivity) ของสาหร่ายในการสกัดน้ำมัน

1. ชนิดของสาหร่าย
2. ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย
3. วิธีในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย เช่น บ่อเปิด (raceway) หรือ ระบบปิด (photobioreactor)

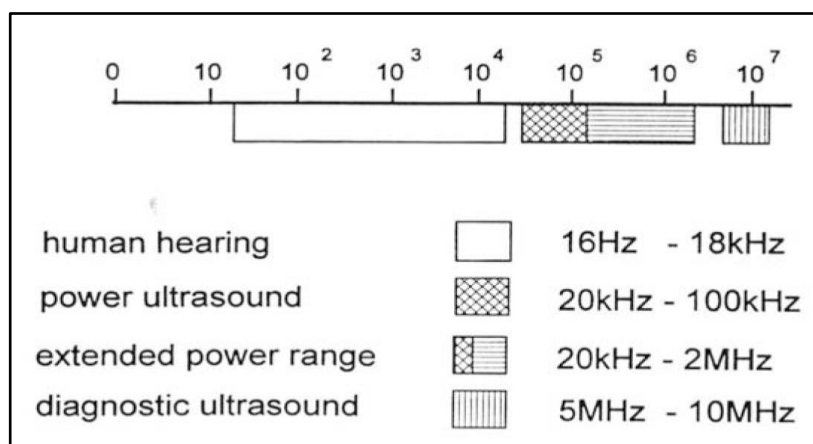
สาหร่ายที่มีความเหมาะสมในการนำมาผลิตน้ำมันควรมียุทธการเจริญเติบโตสูง ให้ปริมาณน้ำมันสูง ทนต่อสภาวะแวดล้อมได้มาก และมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงสูงด้วย ดังนั้นเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีปริมาณของน้ำมันสูงจึงควรศึกษาและเข้าใจในชีววิทยาของสาหร่าย เช่น การคัดแยกสายพันธุ์จากธรรมชาติ เพื่อค้นหาว่าสาหร่ายสายพันธุ์ใดที่มีปริมาณน้ำมันสูง และมีการเก็บรวบรวมสาหร่าย นอกจากนี้ต้องศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย การศึกษาระดับยีน และการควบคุมผลของสภาวะแวดล้อมที่มีต่อการสร้างและสะสมน้ำมันภายในเซลล์สาหร่าย และศึกษาความสามารถในการสังเคราะห์แสงและจับคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น (มรกต ตันติเจริญ, 2555)

2.4 คลื่นอัลตราซาวด์หรือคลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic waves)

คลื่นอัลตราซาวด์หรือคลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic waves) หมายถึง คลื่นเสียงที่มีการสั่นของคลื่นประมาณ 20,000 เฮิร์ตหรือสูงกว่า (Hoover, 2000) ส่วนคำว่าอัลตราโซนิก หรือโซนิเคชัน หมายถึง การศึกษาเกี่ยวกับคลื่นเสียงหรืออัลตราซาวด์ในช่วงความถี่ดังกล่าวซึ่งมนุษย์ไม่สามารถได้ยิน การใช้ประโยชน์จากอัลตราซาวด์ตั้งแต่ต้นจนถึงปัจจุบัน พบว่ามีการนำอัลตราซาวด์มาประยุกต์ใช้

ในอุตสาหกรรมโดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่ (ดังรูปที่ 2.5) (ธีรพร กงบังเกิด, 2547)

1. การใช้อัลตราซาวด์กำลังต่ำและความถี่สูง (low power and high frequencies) ซึ่งใช้ในด้านการวิเคราะห์ (diagnostic ultrasound) เป็นส่วนใหญ่
2. การใช้อัลตราซาวด์กำลังสูงและความถี่ต่ำ (high power and low frequencies) ใช้ในกระบวนการต่างๆ (Mason, 1998)



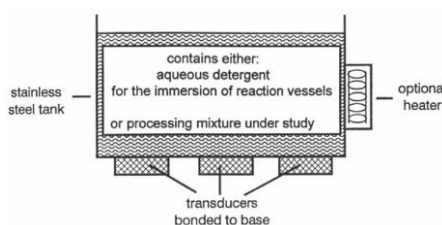
รูปที่ 2.5 การใช้ประโยชน์จากคลื่นความถี่อัลตราซาวด์ (Mason, 1998)

ระบบอัลตราซาวด์ มีอุปกรณ์ที่สำคัญและจำเป็นอยู่ 3 ส่วน ได้แก่

- เครื่องกำเนิดกระแสไฟฟ้า (generator) โดยการเปลี่ยนไฟฟ้ากระแสตรงไปเป็นไฟฟ้ากระแสสลับที่ความถี่ที่ต้องการและผ่านเข้าสู่ทรานสดิวเซอร์
- ทรานสดิวเซอร์ ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนไฟฟ้ากระแสสลับความถี่สูงไปเป็นการสั่นเนื่องจากพลังงานกล ทรานสดิวเซอร์ที่นิยมในปัจจุบัน คือชนิดที่ใช้เทคโนโลยีพีโซอิเล็กทริก ตัวทรานสดิวเซอร์จะอยู่ติดกับบูสเตอร์ (booster) หรือฮอร์น (horn) ด้านบนและเชื่อมต่อกับระบบส่งถ่ายพลังงาน
- ระบบส่งถ่ายพลังงาน (delivery systems) ซึ่งจะทำหน้าที่ส่งถ่ายพลังงานการสั่นสะเทือนไปยังของเหลว ในกรณีที่เป็นอ่างอัลตราโซนิก (ultrasonic bath) ตัวทรานสดิวเซอร์จะอยู่บริเวณฐานตรงด้านล่างของตัวอ่างหรือถังและส่งถ่ายพลังงานโดยตรงไปยังของเหลวที่อยู่ภายในอ่าง ส่วนระบบที่ต้องการพลังงานที่สูงกว่านี้จะใช้วิธีขยายสัญญาณหรือพลังงานและส่งถ่ายพลังงานไปยังของเหลว โดยใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า ฮอร์น ซึ่งเป็นแท่งโลหะที่มีรูปร่างแตกต่างกันติดกับทรานสดิวเซอร์ นิยมใช้ส่วนปลายฮอร์นชนิดที่ถอดเข้าออกได้และเป็นเกลียวซึ่งสามารถเปลี่ยนได้ง่าย

เครื่องอัลตราโซนิกที่ใช้อยู่ทั่วไปในปัจจุบันมีความแตกต่างกันตรงที่การออกแบบแหล่งกำเนิดไฟฟ้า แหล่งกำเนิดคลื่นและตัวเครื่องหรือเซลล์ที่ใช้ร่วมกับแหล่งกำเนิดคลื่น โดยสามารถแบ่งเป็นชนิดต่างๆ ดังนี้

1. อ่างอัลตราโซนิก (ultrasonic bath) อ่างอัลตราโซนิกเป็นอุปกรณ์ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในห้องปฏิบัติการเนื่องจากมีราคาไม่แพงเมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องที่ใช้ระบบโพรบ โดยทั่วไปทรานส์ดีวเซอร์จะติดอยู่กับบริเวณฐานด้านล่างของอ่างและความถี่ที่ใช้งานส่วนใหญ่ ประมาณ 40 kHz อ่างอัลตราโซนิกมีลักษณะดังรูปที่ 2.6

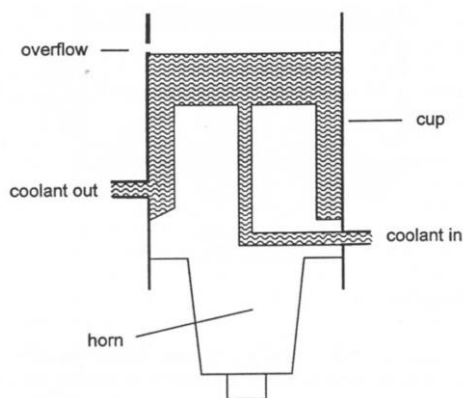


รูปที่ 2.6 อ่างอัลตราโซนิก (ultrasonic bath) (Mason, 1998)

สำหรับอ่างอัลตราโซนิกนั้นพลังงานสูงสุดที่สร้างได้จะอยู่ตรงบริเวณระดับความสูงค่าหนึ่งตลอดความลึกของอ่าง ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดคลื่นจากการสะท้อน (reflection) ของคลื่นอัลตราซาวด์ที่ถูกสร้างขึ้นตรงบริเวณรอยต่อระหว่างอากาศและของเหลว ดังนั้นถ้าระดับน้ำในอ่างลดลงต่ำกว่าความยาวคลื่น (λ) จะทำให้ไม่สามารถทำให้เกิดคลื่นเสียงที่มีพลังงานสูงได้ อ่างอัลตราโซนิกนั้นมีอุปกรณ์เสริมประเภทต่างๆ ที่นำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานให้ดีขึ้น เช่น อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ อุปกรณ์กระจายคลื่น ที่ทำให้ควิเทชันเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอ อุปกรณ์ปรับระดับพลังงาน สวิตช์เปิดปิดแบบจังหวะหรือนาฬิกาจับเวลา เป็นต้น

อ่างอัลตราโซนิกทั่วไปมักจะให้พลังงานต่ำ เพื่อหลีกเลี่ยงความเสียหายจากควิเทชันที่เกิดขึ้นบริเวณผนังด้านในของอ่าง นอกจากนั้นของเหลวที่เติมในอ่างมักมีปริมาณมากทำให้ปริมาณพลังงานมีค่าลดลง

รูปแบบของอ่างอัลตราโซนิกอีกประเภทหนึ่งเรียกว่าคัพฮอร์น (cup horn) แสดงดังรูปที่ 2.7 โดยเป็นอ่างอัลตราโซนิกที่สร้างพลังงานได้สูงมาก ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณผิวหน้าที่เกิดคลื่นอัลตราซาวด์ซึ่งติดอยู่กับทรานส์ดีวเซอร์จะสัมผัสโดยตรงกับของเหลวและลักษณะการทำให้เกิดพลังงานหรือคลื่นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องและระดับของของเหลวซึ่งมีความสำคัญมาก

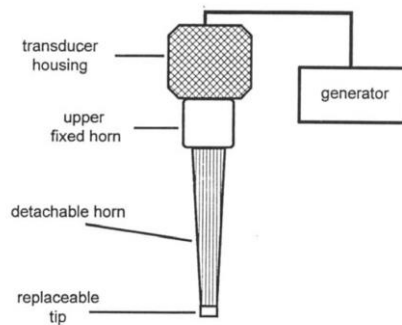


รูปที่ 2.7 อ่างอัลตราโซนิกแบบคัพฮอร์น (Mason, 1998)

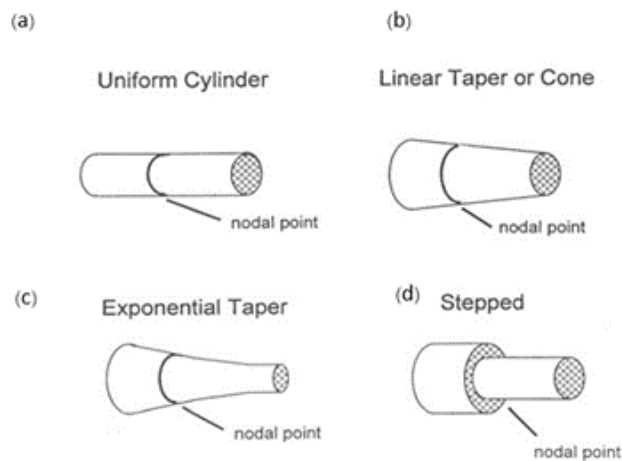
2. ระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบ (ultrasonic probe systems)

ในการขยายพลังงานหรือคลื่นเสียงที่เกิดขึ้นจากทรานส์ดิวเซอร์นั้น โดยทั่วไปจะนำทรานส์ดิวเซอร์มาต่อเข้ากับอุปกรณ์ที่เรียกว่าฮอร์น (horn) ดังรูปที่ 2.8 ลักษณะของฮอร์นจะมีความแตกต่างกันออกไปดังรูปที่ 2.9

แอมพลิจูดที่สร้างขึ้นจากระบบนี้จะขึ้นกับรูปร่างลักษณะของฮอร์น สำหรับฮอร์นที่มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอก (uniform cylinder) จะทำหน้าที่ขยายหรือเพิ่มการส่งถ่ายพลังงานเสียง ขนาดความยาวคลื่นที่ได้จากตัวขยาย (amplifier) สามารถคำนวณได้จากอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นผิวหน้าตัดในฮอร์นระหว่างสองพื้นที่คือ driven face (D) และ emitting face (d) ตัวอย่างเช่นในฮอร์นที่มีรูปร่างเป็น exponential หรือ linear tapered (cone) (รูปที่ 2.9 b และ c) จะมีอัตราส่วนเท่ากับ D/d ในขณะที่ฮอร์นที่มีลักษณะเป็น stepped (รูปที่ 2.9 d) จะมีอัตราส่วนเท่ากับ (D/d) ซึ่งจะเห็นว่าฮอร์นแบบ stepped จะมีความสามารถในการขยายสัญญาณได้สูงกว่าเสมอ แต่เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงความเสียหายจากความเค้นภายในตัววัตถุ (internal stress) อัตราส่วนระหว่าง D/d จะต้องไม่สูงจนเกินไป ในทางปฏิบัติขนาดของพลังงานสูงสุดที่ได้จากแหล่งกำเนิดพลังงานนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญสองส่วน ได้แก่ คุณสมบัติของวัสดุที่ใช้ในการผลิตทรานส์ดิวเซอร์และพื้นผิวที่ปลดปล่อยคลื่น (emitting surface) ในส่วนของวัสดุที่นำมาใช้ผลิตทรานส์ดิวเซอร์นั้น นิยมใช้วัสดุที่สามารถยึดและคืนตัวกลับได้ดี เช่น ไทเทเนียม (titanium) หรือ อะลูมิเนียมอัลลอย (aluminium alloy) ซึ่งวัสดุทั้งสองชนิดมีความทนต่อการล้าเนื่องจากแรงกล แต่อะลูมิเนียมอัลลอยนั้นไม่เหมาะสมที่จะสัมผัสกับของเหลวที่เกิดปฏิกิริยาเคมีขึ้น เนื่องจากจะถูกกัดกร่อนได้ง่าย จึงควรใช้วัสดุพวกไทเทเนียมอัลลอยแทน สำหรับพื้นผิวที่ปลดปล่อยคลื่นนั้น พบว่าพื้นที่ขนาดเล็กจะให้ประสิทธิภาพที่สูงกว่า แต่ที่แอมพลิจูดสูงจะมีข้อจำกัดเนื่องจากพองอากาศที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวหน้าจากปฏิกิริยาเคมีจะรบกวนการส่งถ่ายของพลังงานไปยังของเหลว



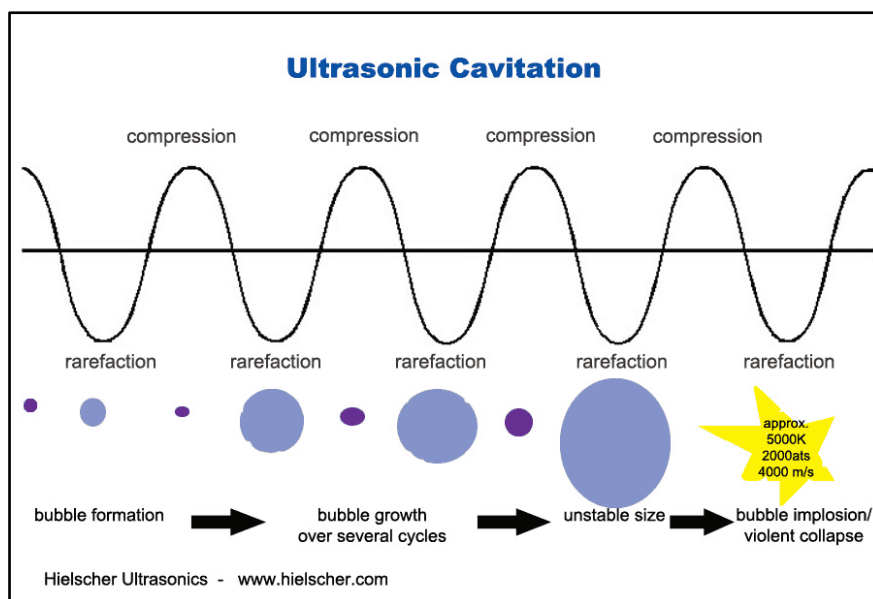
รูปที่ 2.8 ระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบ (Mason, 1998)



รูปที่ 2.9 ลักษณะของฮอร์น (Mason, 1998)

2.5 ปรากฏการณ์คาวิเทชัน (Cavitation)

ปรากฏการณ์คาวิเทชัน เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นได้ในตัวกลาง หรือสารละลายที่รับคลื่นเสียงอัลตราซาวด์ โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและทางกายภาพ (จากแรงกล) เนื่องจากฟองอากาศ (bubbles) ที่เกิดขึ้น ซึ่งการที่ฟองอากาศเกิดขึ้นได้นั้นเนื่องจากโครงสร้างของของเหลวที่รับคลื่นอัลตราซาวด์จะถูกบีบอัด และคลายตัว ซ้ำไปมาเป็นจำนวนหลายพันรอบ ทำให้เกิดโพรงช่องว่างขึ้นแสดงดังรูปที่ 2.10 โดยจะสัมพันธ์กับแรงสั่นที่เกิดจากคลื่นอัลตราซาวด์เป็นระยะและเกิดการแลกเปลี่ยนแก๊สระหว่างกัน เป็นผลให้เกิดฟองอากาศมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งไม่เสถียรและแตกในที่สุดแสดงดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 หลักการเกิดฟองอากาศในตัวกลางเนื่องจากคลื่นอัลตราซาวด์ (Suslick, 1988)

Frizzell และคณะ (1988) รายงานว่า คาวิเทชัน สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ คาวิเทชันแบบถาวร (stable cavitation) และคาวิเทชันแบบชั่วคราว (transient cavitation) ซึ่งแต่ละแบบจะมีผลทำให้ลักษณะของฟองแก๊สที่ได้รับคลื่นอัลตราซาวด์แตกต่างกันออกไป โดยคาวิเทชันแบบถาวรจะเกิดขึ้นเมื่อฟองอากาศหรือฟองแก๊สเกิดการสั่นแกว่ง (oscillate) เมื่อได้รับคลื่นอัลตราซาวด์เป็นจำนวนหลายรอบของการสั่นแต่ไม่เกิดการแตกของฟองอากาศหรือฟองแก๊ส ซึ่งฟองอากาศหรือฟองแก๊สนี้อาจจะเพิ่มขนาดขึ้นจนถึงขนาดเรโซแนนซ์ หรือเป็นขนาดของฟองแก๊สที่มีความถี่ธรรมชาติเท่ากับความถี่ในการสั่น ส่วนคาวิเทชันแบบชั่วคราวนั้น เกิดขึ้นในระยะการบีบอัดของฟองแก๊ส (compression phase) ในของเหลวที่ได้รับความเครียด (tension stress) ที่เกิดขึ้นขณะเริ่มเกิดการขยายตัวของฟองแก๊ส ทำให้การแตกของฟองแก๊สเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว หรืออาจเกิดจากฟองแก๊สเกิดการสั่นแกว่งและขยายขนาดเพิ่มขึ้นในลักษณะคงที่ในระยะเวลาหนึ่ง ก่อนที่จะแตกออกอย่างรวดเร็วเมื่อฟองแก๊สนั้นขยายขนาดขึ้นเมื่อถึงขนาดที่จำเพาะ

Sala และคณะ (1995) รายงานว่า สภาวะที่ฟองอากาศแตกนั้นพบว่าอุณหภูมิสูงขึ้นไปถึง 5,000 เคลวิน และความดันสูงถึง 2,000 บรรยากาศ ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่างเกิดการขยายและหดตัวของฟองแก๊สนั้น จะเกิดสมดุลขึ้นระหว่างความดันไภายในและภายนอกฟองแก๊ส และพื้นที่ผิวของฟองแก๊สขณะขยายตัวจะมีมากกว่าพื้นที่ผิวของฟองแก๊สขณะหดตัว จึงเป็นผลให้การซึมผ่านของแก๊สในขณะที่ขยายตัวเกิดขึ้นได้มากกว่าและฟองแก๊สนี้จะขยายตัวเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบความถี่เพิ่มขึ้น โดยอัตราส่วนของอัตราการซึมผ่านของแก๊สในขณะที่ขยายตัวต่ออัตราการซึมผ่านของแก๊สในขณะที่ถูก

อัดจะเพิ่มมากขึ้นในแต่ละรอบจนกระทั่งฟองแก๊สมีขนาดเรโซแนนซ์ ทำให้ช่องว่างภายในฟองแก๊สมีขนาดโตขึ้นอย่างรวดเร็วภายในหนึ่งรอบของการสั่น และเนื่องจากพลังงานที่ได้รับจากคลื่นอัลตราซาวด์ไม่เพียงพอในการคงสถานะของแก๊สหรือไอ จึงทำให้เกิดการควบแน่น (condensation) ขึ้น โดยโมเลกุลที่ควบแน่นนั้นจะชนซึ่งกันและกันอย่างรุนแรง ทำให้เกิดคลื่นกระแทกขึ้นและเกิดจุดหรือบริเวณเล็กๆ ที่มีอุณหภูมิและความดันที่สูงมาก (Suslick, 1988) และเป็นที่ยืนยันว่าปรากฏการณ์นี้เป็นปรากฏการณ์ที่สำคัญที่เกิดในระหว่างที่ของเหลวได้รับคลื่นอัลตราซาวด์ ซึ่งทันทีที่ฟองแก๊สแตก จะเกิดการปลดปล่อยพลังงานที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาเคมี (reaction pathway) หรือทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ที่แตกต่างไปจากปฏิกิริยาเดิมจากสภาวะปกติ

Williams และคณะ (1994) พบว่ากำลังของเสียง (sound power levels) มีค่าประมาณ 10^{-7} Wm^{-2} และเครื่องขุดเจาะถนน (pneumatic drill) ให้ค่ากำลังของเสียงที่ประมาณ 10^{-1} Wm^{-2} แต่ในส่วนของคลื่นอัลตราซาวด์กำลังสูง (high power ultrasound) พบว่าค่าระดับกำลังของเสียงอยู่ในช่วง 103 to 10^6 Wm^{-2} (ที่ 10^6 Wm^{-2} พบว่าอัลตราซาวด์จะสามารถเจาะทะลุแผ่นอะลูมิเนียมพอยล์ได้ภายใน 30 วินาที) และความดันที่เกิดขึ้นจะสูงถึง 104 บรรยากาศ และมีอุณหภูมิสูงประมาณ 1,000 ถึง 1,500 เคลวิน

2.6 ผลของคลื่นอัลตราซาวด์ต่อจุลินทรีย์

การศึกษาเกี่ยวกับผลของคลื่นอัลตราซาวด์ต่อเซลล์นั้น อาจกล่าวได้ว่ามีจุดเริ่มต้นจากการศึกษาผลของคลื่นเสียงที่มีความถี่สูงต่อเซลล์และพาราไซต์ ประกอบกับการพัฒนาอุปกรณ์ในการสร้างคลื่นอัลตราซาวด์ทำให้มีการศึกษาผลของอัลตราซาวด์ต่อจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น Williams และคณะ (1970) ใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการทำให้กลุ่มของเซลล์จุลินทรีย์ (clump) ที่อยู่ในของเหลวเกิดการแยกออกจากกัน Dewhurst และคณะ (1986) ใช้คลื่นอัลตราซาวด์เพื่อทำให้สปอร์ของ *Bacillus cereus* ที่ติดอยู่บนพื้นผิวของโพลีเมอร์หลุดออก ซึ่งทำให้การวิเคราะห์ปริมาณของจุลินทรีย์มีความแม่นยำเพิ่มขึ้น และ Mett และคณะ (1988) ได้ใช้คลื่นอัลตราซาวด์เพื่อทำลายผนังเซลล์ในการศึกษาองค์ประกอบภายในของเซลล์

การทำลายจุลินทรีย์เนื่องด้วยคลื่นอัลตราซาวด์นั้น เกิดขึ้นเนื่องจากปรากฏการณ์คาวิเทชัน ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษาพบว่าในระหว่างการเกิดคาวิเทชัน จะทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่ว่องไวต่อการทำปฏิกิริยา (highly reactive chemical radicals) และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่เกิดขึ้นภายในตัวกลางของเหลวด้วย เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) แต่พบว่าแท้จริงแล้วจุลินทรีย์ถูกทำลายเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของความดันจากการแตกตัวของฟองอากาศ ซึ่งการแตกตัวของฟองอากาศนั้นจะทำให้มีอุณหภูมิสูงขึ้นและเป็นจุดร้อนขนาดเล็ก (hot spots) แต่เนื่องจากตัวกลางที่ได้รับอุณหภูมิที่สูงขึ้นนี้มีปริมาตรหรือขนาดเล็กมาก ดังนั้นอุณหภูมิสูงที่เกิดขึ้นจะสามารถทำลาย

จุลินทรีย์ได้เพียงส่วนน้อยเท่านั้น แม้จะมีรายงานว่าจุลินทรีย์บางชนิดสามารถทนต่อความดันสูงได้ แต่พบว่าไม่สามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของความดันที่สลับเพิ่มขึ้นและลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเกิดในช่วงปรากฏการณ์ควาเวชันและมีผลทำให้โครงสร้างของเซลล์ถูกทำลาย และ Williams และคณะ (1970) รายงานว่า ผลในการทำลายจุลินทรีย์ของอัลตราซาวด์นั้นไม่ได้เกิดจากแรงกดดันที่ได้กล่าวมาแล้ว ในส่วนของการทนต่อคลื่นอัลตราซาวด์ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ นั้น พบว่าแตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์ โดยเซลล์ที่มีขนาดใหญ่จะทนต่อคลื่นอัลตราซาวด์ได้น้อยกว่าเซลล์ขนาดเล็ก ยกเว้นเชื้อในตระกูล *Mycobacteriaceae* นอกจากนี้ Mett และคณะ (1988) รายงานว่า ส่วนเซลล์ที่มีรูปร่างกลม (coccal forms) จะทนต่ออัลตราซาวด์มากกว่าเซลล์รูปร่างแท่ง (rod shape) จุลินทรีย์แอกโรบิกทนต่อคลื่นอัลตราซาวด์มากกว่าแอกโรบิกและจุลินทรีย์พวกที่ต้องการอากาศ (aerobic species) ทนต่ออัลตราซาวด์มากกว่าพวกที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic species) นอกจากนี้พวกเซลล์ที่มีอายุน้อยกว่า (young cells) จะทนต่อคลื่นอัลตราซาวด์ได้ต่ำกว่าเซลล์ที่มีอายุแก่กว่า และพวกที่สร้างสปอร์ (sporulated microorganisms) ทนต่อคลื่นอัลตราซาวด์มากกว่าเซลล์ปกติ (vegetative cells) มาก (Dewhurst และคณะ, 1986) Joyce และคณะ (2010) ศึกษา *Microcystis aeruginosa* โดยใช้ความถี่อัลตราซาวด์ที่ 20 40 580 864 และ 1145 กิโลเฮิร์ต โดยตรวจวัดที่ระยะเวลา 0 5 10 20 และ 30 นาที พบว่าช่วงความถี่ 20 และ 40 กิโลเฮิร์ต ให้ผลลัพธ์คล้ายกัน คือ ความเข้มข้นของสาหร่ายค่อยๆลดลงตั้งแต่ 5 นาทีแรก จนถึง 20 นาที หลังจากนั้นเซลล์จะแตก และ Hao และคณะ (2004) ศึกษาการใช้อัลตราซาวด์ที่ความถี่ 20 200 กิโลเฮิร์ต และ 1.7 เมกะเฮิร์ต และใช้ระดับกำลังงาน เท่ากับ 40 วัตต์ เป็นเวลา 5 นาที พบว่า ที่ความถี่ 200 กิโลเฮิร์ต สามารถทำลายเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina platensis*) ได้ถึง 69%

2.7 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย

น้ำมันดิบที่สกัดได้จากสาหร่าย สามารถนำไปผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพได้เช่นเดียวกับน้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันจากพืชชนิดอื่นๆ โดยหลังจากผ่านกระบวนการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย น้ำมันดิบที่ได้ เมื่อนำไปผ่านกระบวนการทางเคมี สามารถผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซล น้ำมันดีเซลชีวภาพสังเคราะห์ (BHD) หรือน้ำมันเครื่องบินชีวภาพ (Bio-jet) ได้ โดยกรดไขมันในน้ำมันที่นำมาผลิตไบโอดีเซลควรอยู่ในช่วง C14-C24 (อัจฉรา อิมคำ, 2557) จากงานวิจัยของ Nautiyal และคณะ (2014) ที่ศึกษาสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสไปรูลิน่าโดยใช้เมทานอล พบว่า กรดไขมันที่พบส่วนใหญ่ คือ C16:0 C18:2n-6 C18:3n-3 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 41.21% 12.64% และ 17.79% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ นอกจากนี้ Parimi และคณะ (2015) ศึกษาปริมาณกรดไขมันที่ได้หลังจากกระบวนการอัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลาย พบว่า กรดไขมันที่พบส่วนใหญ่ คือ C16:0 มีค่าเท่ากับ 81.43% โดยน้ำหนัก

และพบ C18:2n-6 และ C18:3n-3 เท่ากับ 9 และ 3% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ซึ่งมีความเหมาะสมในการนำไปผลิตไบโอดีเซล นอกจากนี้กากสาหร่ายซึ่งเป็นผลพลอยได้จากขั้นตอนการสกัดน้ำมัน ก็สามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบของผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ อาทิ อาหารสัตว์ ปุ๋ย ยา เป็นต้น หน่วยงานเอกชนในชื่อ UOP A Honeywell Company ได้ทำการศึกษาวิจัยน้ำมันที่ผลิตได้จากสาหร่าย โดยได้นำน้ำมันดิบที่ผลิตได้จากสาหร่าย (Crude Algal Oil) มาผ่านกระบวนการ Hydrogenation เพื่อให้ได้น้ำมันดีเซลชีวภาพสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างเหมือนกับน้ำมันดีเซล ซึ่งจะเห็นว่าน้ำมันดีเซลชีวภาพที่ผลิตได้จากสาหร่ายที่ได้มีจำนวนซีเทนสูง ส่งผลให้จุดติดไฟได้ง่าย เครื่องยนต์สตาร์ทติดง่าย ในช่วงอากาศเย็นเครื่องร้อนขึ้นได้เร็ว โดยไม่เกิดควันขาว เติ้นเรียบ และค่าจุดไหลเทที่ดีทำให้น้ำมันไม่ก่อตัวเป็นเกล็ดขี้ผึ้งติดที่กรองน้ำมันดีเซล ซึ่งขัดขวางการไหลของน้ำมันไปป้อนปั๊ม (สำนักงานคุณภาพน้ำมันเชื้อเพลิง, 2557) โดยคุณภาพของน้ำมันดีเซล แสดงดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 คุณสมบัติของน้ำมันดีเซลชีวภาพที่ผลิตได้จากสาหร่าย (สำนักงานคุณภาพน้ำมันเชื้อเพลิง, 2557)

คุณสมบัติ	EN 590	DOEB	BHD ที่ได้จากน้ำมันสาหร่าย
Density at 15 °C g/L (max)	820-845	-	770.0-778.2
Flash Point, °C (min)	55	52	62.7-91.2
Cetane number (min)	51	50	85-92
Sulfur (max %)	0.0001	0.005	0.0001-0.0003
Distillation 90% Recovered, °C (max)	360 (95% Recovered)	357	288.4-305
Distillation End point, °C (max)	-	-	317.8-324.8
Cloud Point, °C	(-34)-(-10)*	-	(-16.2)-(-20.5)
Pour Point °C	-	10	(-21)-(-24)

หมายเหตุ * ขึ้นกับพื้นที่ใช้งาน

2.8 วิธีการผลิตไบโอดีเซล (ผกาวดี แก้วกันเนตร, 2552)

วิธีการผลิตไบโอดีเซลในระดับอุตสาหกรรมสามารถผลิตได้หลายวิธี มีหลายวิธี ดังต่อไปนี้

2.8.1 วิธีมาตรฐาน

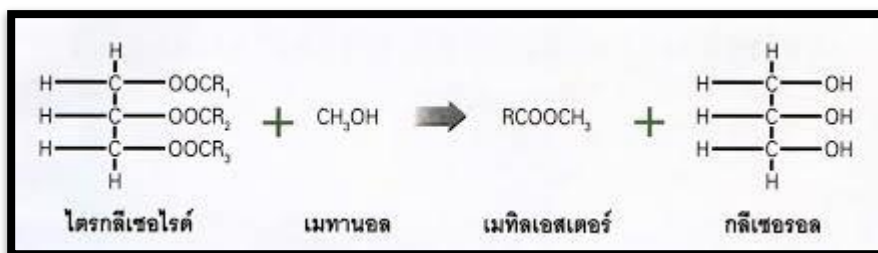
2.8.1.1 การเจือจาง (Dilution) เป็นการทำให้น้ำมันพืชเจือจางลงโดยผสมกับน้ำมันดีเซลหรือตัวทำละลายต่างๆ ที่จะทำให้ไบโอดีเซลมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลมากที่สุด การผลิตด้วยวิธีนี้ได้รับ

การพิจารณาว่าไม่เหมาะสมที่จะใช้กับเครื่องยนต์ เพราะอาจเกิดผลเสียในระยะยาวกับเครื่องยนต์ ดีเซลแบบระบบหัวฉีดโดยตรง (Direct-injection)

2.8.1.2 การทำให้เป็นสารอิมัลชันขนาดเล็ก (Microemulsion) เป็นวิธีการผลิตไบโอดีเซลโดยการผสมน้ำมันพืชกับแอลกอฮอล์สายสั้นๆ เช่น เมทานอล เอทานอลหรือ บิวทานอล โดยมีการเติมสารชนิดมีขั้ว (Ionic) หรือไม่มีขั้ว (Non-ionic) ที่จะทำหน้าที่เชื่อมประสานให้น้ำมันและแอลกอฮอล์ผสมทำปฏิกิริยากันได้เช่น สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) และสารอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) เป็นต้น เพื่อให้เกิดลักษณะเป็นสารอิมัลชัน หรือคอลลอยด์ (Colloid) ที่อนุภาคมีขนาดเล็กประมาณ 1-150 นาโนเมตร ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ช่วยลดความหนืดของน้ำมันลงได้ แต่ข้อเสีย คือ เกิดการสะสมของคราบเขม่าคาร์บอนรอบๆ หัวฉีดและวาล์ว

2.8.1.3 วิธีไพโรไลซิส หรือ การทำลายโครงสร้างโดยใช้ความร้อน (Pyrolysis / Thermal cracking) เป็นวิธีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของน้ำมันโดยใช้ความร้อนสูงโดยการจำกัดปริมาณของอากาศ หรือ ออกซิเจนที่จะส่งเข้าไปทำปฏิกิริยา น้ำมันที่ผ่านความร้อนจะมีโมเลกุลเล็กลงและมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล ซึ่ง Hu.,Z และคณะ (2013) ศึกษาการสกัดน้ำมันโดยวิธี pyrolysis ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส จาก Blue-green algae bloom ซึ่งมีขนาดอนุภาคต่ำกว่า 0.25 มิลลิเมตร โดยมีอัตราการไหลของก๊าซไนโตรเจน 100 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่ามีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.5497 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง

2.8.1.4 วิธีทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน (Transesterification) เป็นปฏิกิริยาเคมีระหว่างไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) ที่ได้มาจากน้ำมันพืชต่างๆ (Vegetable oils) เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันจากสาหร่าย รวมไปถึงไตรกลีเซอไรด์อื่นๆ เช่น ไขมันสัตว์ หรือน้ำมันที่เหลือจากการทอดกับแอลกอฮอล์ (ส่วนมากนิยมใช้เมทานอลหรือเอทานอล) ภายใต้สภาวะที่มีตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ชนิดต่างๆ ได้แก่ ตัวเร่งชนิดด่าง (Alkaline) เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ตัวเร่งกรดชนิด (Acid) เช่น กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) หรือตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ เช่น เอนไซม์ไลเปส (Lipase) เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ เอสเทอร์ (Esters) ของแอลกอฮอล์หรือไบโอดีเซล และผลิตภัณฑ์พลอยได้จากปฏิกิริยา คือ กลีเซอริน (Glycerine) แสดงดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 ปฏิกิริยา Transesterification ในการผลิตไบโอดีเซล (ผกาวิ และคณะ, 2552)

วิชณีย์ ออมทรัพย์สิน (2550) ทำการศึกษาโดยวิธี tranesterification โดยใช้ NaOH และ KOH เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่า ได้ปริมาณน้ำมัน 89.47% และ 90.67% ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันไบโอดีเซลกับน้ำมันดีเซลจากฟอสซิลแล้ว ไบโอดีเซลนับว่ามีข้อดีอยู่หลายประการ กล่าวคือ สามารถลดการปล่อยก๊าซพิษจากท่อไอเสีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเขม่าควันดำ และก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ แต่อย่างไรก็ตามไบโอดีเซลยังมีข้อด้อยในด้านคุณสมบัติการไหลที่อุณหภูมิต่ำ และค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่อุณหภูมิต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันดีเซลปกติ เพื่อที่จะยกระดับคุณภาพของน้ำมันไบโอดีเซลโดยการแก้ไขคุณสมบัติข้อด้อยดังกล่าวนี้ สามารถทำได้หลายวิธี ทั้งการปรับปรุงการผลิตไบโอดีเซล หรือการเติมสารเติมแต่ง (Additives) เพื่อช่วยปรับปรุงการไหลที่อุณหภูมิต่ำให้ดีขึ้น และเพื่อช่วยเพิ่มเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไบโอดีเซล ตัวอย่างของสารเติมแต่งเช่น ไพโรแกลลอล (Pyrogallol, PY) โพรพิลแกลเลท (Propylgallate, PG) ซึ่งสารดังกล่าวสามารถเพิ่มเสถียรภาพในการเกิดออกซิเดชันได้เป็นอย่างดี

2.9 การเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย

2.9.1 วิธีอัลตราโซนิค (Ultrasonic-assisted Extraction) ร่วมกับตัวทำละลาย

การเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำมันโดยการอัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลายในการสกัดน้ำมัน เนื่องจากสาหร่ายมีผนังเซลล์อยู่ชั้นนอกสุดซึ่งจะเป็นตัวต้านทานการสกัด จึงใช้อัลตราซาวด์เพื่อทำให้เกิดปรากฏการณ์ควิวเทชั่น เนื่องจากคลื่นนั้นจะประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟอง (Bubble) ของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก จากนั้นเมื่อฟองได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัดทำให้ฟองแตกออกและเกิด microjet ที่มีความสามารถทำลายผนังเซลล์สาหร่ายได้ เมื่อผนังเซลล์แตกออกจะทำให้เกิดการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น (วนากานต์ เร่งเพียร, 2557)

Keris-Sen และคณะ (2014) ศึกษาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสายพันธุ์ผสม โดยวิธีอัลตราโซนิกร่วมกับตัวทำละลาย คลอโรฟอร์มกับเมทานอล (1:1) ที่ความถี่ 30 กิโลเฮิร์ต ระดับกำลังงาน 50 วัตต์ ระยะเวลา 60 นาที พบว่า ได้ปริมาณน้ำมัน 0.268 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ต่อมา Guldhe และคณะ (2014) ศึกษาปริมาณน้ำมันที่ได้จาก *Scenedesmus* sp. โดยวิธีอบแห้งสาหร่ายต่างกัน คือ freeze drying oven drying และ sun drying แล้วจึงนำมาสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิกร่วมกับตัวทำละลายคลอโรฟอร์มกับเมทานอล (1:1) พบว่า ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้สูงสุด คือ 0.199 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง โดยการอบด้วยวิธี freeze drying นอกจากนี้ Parimi และคณะ (2015) ศึกษาปริมาณน้ำมันหลังการสกัดโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่า โดยใช้โพรบอัลตราซาวด์ ที่ระดับกำลังงาน 20% เป็นเวลา 60 นาที แล้วสกัดน้ำมันด้วยวิธีของ Folch โดยใช้คลอโรฟอร์มต่อเมทานอลในอัตราส่วน 2:1 พบว่า มีปริมาณน้ำมัน 8.03% โดยน้ำหนัก

2.9.2 วิธีไมโครเวฟ (Microwave-assisted Extraction) ร่วมกับตัวทำละลาย

เป็นวิธีการสกัดน้ำมันโดยอาศัยพลังงานจากคลื่นไมโครเวฟมีผลทำให้โมเลกุลภายในเซลล์ของสาหร่ายเกิดการเคลื่อนไหว ทำให้เกิดความร้อนขึ้นอย่างฉับพลัน เนื่องจากวิธีนี้ทำให้สารละลายเกิดความร้อนโดยตรงจากโมเลกุล ซึ่งประหยัดเวลาในการสกัด ส่งผลให้เซลล์เนื้อเยื่อของสาหร่ายแตกและปล่อยไขมันออกมา ความถี่ของไมโครเวฟ จะอยู่ในช่วง 300-300000 เมกกะเฮิร์ต แต่วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ ไม่เหมาะสำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณความเข้มข้นสารที่ต้องการวิเคราะห์ต่ำ และอุปกรณ์มีราคาค่อนข้างสูง

Guldhe และคณะ (2014) ศึกษาปริมาณน้ำมันที่ได้จาก *Scenedesmus* sp. โดยวิธีอบแห้งสาหร่ายต่างกัน คือ freeze drying, oven drying และ sun drying แล้วจึงนำมาสกัดด้วยวิธีไมโครเวฟร่วมกับตัวทำละลายคลอโรฟอร์มกับเมทานอล (1:1) พบว่า ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้สูงสุด คือ 0.2833 กรัมไขมันต่อกรัมสาหร่ายแห้งซึ่งทำการอบแห้งด้วยวิธี freeze drying

โดยตารางที่ 2.5 คือ ตารางสรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดน้ำมันทั้งหมด

ตารางที่ 2.5 สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดน้ำมัน

Author	Algae type	Method	Dried algae : Solvent	Lipid content
Ataajo และคณะ (2011)	<i>Chaetoceros gracilis</i> cultivated beside at salinity 25 g/L	Ultrasonic & Solvent extraction	dried algae : chloroform : methanol :D water (1:1:1:0.9)	0.603 g lipid/g dried algae
	<i>Chlorella vulgaris</i> cultivated beside at salinity 35 g/L	f = 40 kHz, Power= 80 W At 25 °C t = 20 min		0.525 g lipid/g dried algae
El-Shimi และคณะ (2013)	<i>Spirulina platensis</i>	Solvent extraction At 8 hr	dried algae:ethanol (1:5)	0.1095 g lipid /g dried algae
Guldhe และคณะ (2014)	<i>Scenedesmus</i> sp.	ultrasonic & solvent extraction f=15 kHz t=2 min	dried algae:chloroform:ethanol(1:1:1)	0.188 g /g dried algae
Hu, Z และคณะ (2013)	Blue-green algae bloom (BGAB)	Pyrolysis T = 500 °C particle size < 0.25 mm Nitrogen flowrate = 100 ml min ⁻¹	-	0.5497g lipid/g dried algae
Keis-Sen และคณะ (2014)	mixed culture	ultrasonic & solvent extraction f=30 kHz Power=50 W t=60 min	dried algae:chloroform:methanol (1:2:1)	0.268 g lipid/g dried algae
Nautilal และคณะ (2014)	<i>Spirulina platensis</i>	Solvent extraction	dried algae:methanol (1:4)	0.086 g lipid/g dried algae
Parimi และคณะ (2015)	<i>Spirulina platensis</i>	ultrasonic & solvent extraction f=20 kHz t=60 min	dried algae:chloroform:methanol (1:1)	8.03% w/w after protein extraction
รุ่งโรจน์ ศรีภูมิ (2558)	<i>Chlorella vulgaris</i>	f = 20 kHz power=104 W และ t = 3 min	-	0.166 g lipid /g dried algae
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	f = 20 kHz power=52 W และ t = 1 min		0.04 g lipid /g dried algae
วนากานต์ เร่งพีช (2557)	<i>Chlorella vulgaris</i>	f = 40 kHz power=120 W และ t = 30 min	-	64.9 mg lipid /g dried algae

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาองค์ประกอบของกากสาหร่ายสไปรูulina หลังจากการสกัดน้ำมันเพื่อนำไปใช้ประโยชน์

2.10.1 การนำกากสาหร่ายหลังจากการสกัดน้ำมันไปผลิตอาหารสัตว์

จกมล พรหมยะ และคณะ (2555) ศึกษาการใช้สาหร่ายเป็นอาหารปลาโดยให้อาหารปลาคราฟตามสูตรดังนี้ T1 อาหารปลาทั่วไป โปรตีน 30% (Basal diets; BD) T2 อาหารปลาทั่วไปโปรตีน 30% ผสมสไปรูลิน่าสด (BD+21%FS) T3 อาหารปลาทั่วไปโปรตีน 30% ผสมสไปรูลิน่าผง (BD+3%PS) และให้อาหาร 5-10%/น้ำหนักตัวปลา/วันให้ออกซิเจนในเวลากลางวัน เก็บข้อมูลทุกๆ 30 วัน ระยะเวลา 12 เดือนพบว่า ปลาแพนซีคราฟที่เลี้ยงด้วย BD+21%FS และ BD+3%PS มีอัตราการเจริญเติบโต น้ำหนัก อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ดัชนีความสมบูรณ์เพศ สารสีแคโรทีนอยด์ และภูมิคุ้มกันสูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วย BD

สุภฎา ศิริรัฐนิคม และคณะ (2548) ศึกษาโดยเลี้ยงปลาทองด้วยอาหาร 4 สูตร ได้แก่ อาหารที่ไม่เสริมสไปรูลิน่า และอาหารที่เสริมสไปรูลิน่าแห้งที่ระดับ 1 3 และ 5% เป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยจากการทดลองการเสริมสไปรูลิน่าในอาหารในระดับความเข้มข้น 5% พบว่า การเจริญเติบโตของปลาทองลดต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลิน่า 1-3% โดยที่มีค่าระดับสีเหลืองและแดงไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลิน่า 3% และ 5% ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระดับความเข้มข้นของ สไปรูลิน่าในอาหารที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อสมดุลของกรดอะมิโนรวมในอาหาร การได้รับอาหารที่มีกรดอะมิโนไม่สมดุลมีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาทองลดลงได้ (Halver และคณะ, 2002) ดังนั้นการเสริมสไปรูลิน่าในอาหารปลาทอง 3% จึงเป็นระดับที่มีความเหมาะสมในการเร่งสี โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา

Liao และคณะ (1993) ศึกษาโดยใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าเลี้ยงกุ้งกุลาดำ พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลิน่า 5% มีการเจริญเติบโตต่ำกว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมสไปรูลิน่า นอกจากนี้ในการทดลองใช้โปรตีนเซลล์เดี่ยว (single cells protein, SCP) เสริมในอาหารในปริมาณมากเกินไปจะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ซึ่งอาจเกิดจากทั้งจากสมดุลของกรดอะมิโนรวมในอาหาร ตลอดจนอาจมีสารยับยั้งการเผาผลาญอาหาร (antimetabolites) อยู่ในเซลล์ที่นำมาใช้เป็นแหล่งของโปรตีนเซลล์เดี่ยว (Askbrandt, 1993)

Parimi และคณะ (2015) ศึกษาปริมาณโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่า โดยวิธี pre-treatment แบบอัลตราโซนิกแบบโพรบที่ระดับกำลังงาน 20% เป็นเวลา 60 นาที พบว่าเมื่อ

วิเคราะห์โปรตีนโดยวิธีลาวรี่ (Lawry's method) ได้ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 69.9 กรัมต่อ 100 กรัม สหรัยแห้ง

กรมประมง (2548) กำหนดมาตรฐานโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ตารางแสดงมาตรฐานโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำชนิดเม็ด (กรมประมง, 2548)

ชนิดของสัตว์น้ำ	โปรตีนที่ต้องการไม่ต่ำกว่า (%)
ปลาทะเลกินเนื้อ	35-42%
ปลาน้ำจืดกินเนื้อ	30-40%
ปลากินพืช	20-28%
ปลาตุก	24-35%
กุ้งขาว	32-40%
กุ้งกุลาดำ	35-40%
กุ้งก้ามกราม	25-37%
กุ้งทะเล	35-40%

2.10.2 การนำกากสหรัยหลังจากการสกัดไขมันไปผลิตก๊าซชีวภาพ

ในการผลิตก๊าซชีวภาพ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N Ratio) เป็นตัวแปรที่มีความสำคัญ โดยอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของขยะอินทรีย์ที่สามารถใช้ผลิตก๊าซชีวภาพคือ ตั้งแต่ 8 – 30 แต่อัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตก๊าซชีวภาพคือประมาณ 23 (จิตรลดา สีเสน และคณะ, 2554) ถ้าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงเกินไป ไนโตรเจนจะถูก Methanogen นำไปใช้เพื่อเสริมโปรตีน จึงส่งผลให้ได้ก๊าซน้อย แต่ถ้าหาก C/N Ratio ต่ำเกินไป ก็จะทำให้ไนโตรเจนมีมากและไปเกิดเป็นแอมโมเนีย ซึ่งแอมโมเนียจะทำให้ pH สูงขึ้น หาก pH สูงถึง 8.5 จะเริ่มเป็นพิษกับแบคทีเรียทำให้จำนวน Methanogen ลดลง นอกจากนี้หาก C/N ratio อยู่นอกช่วง 8 - 30 จะทำให้สัดส่วนปริมาณก๊าซที่ได้เป็นก๊าซอื่นๆ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์สูงขึ้น ซึ่งมูลสัตว์โดยเฉพาะวัวควายมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุด รองลงมาได้แก่ พวกดอกจอกผักตบและเศษอาหาร ขณะที่ฟางมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ค่อนข้างจะสูง อย่างไรก็ตามสามารถนำวัตถุดิบที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างกันมาผสมกันเพื่อให้ได้วัตถุดิบที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ต้องการได้

รุ่งทิวา สีม่าปาน และคณะ (2558) ศึกษาผลของการหมักร่วมกันระหว่างมูลสุกร และ หนุ้เ้าเนเปียร์ ที่อัตราส่วน 4:6 5:5 และ 6:4 ในน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นจากบ่อกักน้ำชีวภาพ ทำการทดลองในระดับนำร่อง (Pilot scale) ในถังปฏิกรณ์แบบกวนสมบูรณ์ (CSTR) ภายใต้สภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส ควบคุมการกวนที่ 60 รอบต่อนาที และใช้ระยะเวลาในการหมัก 23 วัน จากผลการทดลองพบว่าอัตราส่วนมูลสุกรต่อหนุ้เ้าเนเปียร์หมัก 4:6 5:5 และ 6:4 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทน ที่ 0.3831 0.3610 และ 0.3519 $\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg.VS}_{\text{added}}$ ตามลำดับ และมีศักยภาพการย่อยสลายให้ก๊าซมีเทน 51.76 - 54.38% นอกจากนี้ที่อัตราส่วนมูลสุกรต่อหนุ้เ้าเนเปียร์หมัก 4:6 ให้พลังงานทั้งหมด 943 kW/ton ของวัตถุดิบ ให้พลังงานความร้อนที่ 472 kW และสามารถผลิตกระแสไฟฟ้าได้ 330 kW

2.10.3 การนำกากสาหร่ายหลังจากการสกัดไขมันไปผลิตปุ๋ยชีวภาพ เอทานอล และสารต้านอนุมูลอิสระ

-การผลิตปุ๋ยชีวภาพ

Ogunwande และคณะ (2008) ทำการหมักปุ๋ยจากมูลไก่ โดยมีการควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้น ที่ 20:1 25:1 และ 30:1 และมีการกลับกองปุ๋ยโดยกลับกองที่ 2 4 และ 6 วัน จากการวิเคราะห์สมการถดถอยเชิงเส้น พบว่า อุณหภูมิ พีเอช และ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงไนโตรเจนทั้งหมด โดยปุ๋ยสูตรที่มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นที่ 20:1 จะเกิดการสูญเสียไนโตรเจนมากที่สุด รองลงมาคือ ปุ๋ยสูตรที่มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นที่ 30:1 ส่วนปุ๋ยสูตรที่มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นที่ 25:1 การสูญเสียไนโตรเจนจะเกิดได้น้อย ซึ่งจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักปุ๋ย

-การผลิตเอทานอล

ระวีวรรณ แก้วเกล้า (2537) ศึกษาการนำฟางข้าวไปผลิตเอทานอลโดยต้องมีการปรับสภาพฟางข้าวก่อนโดยการแช่ฟางในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2.0 โมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที จะได้ตะกอนฟางที่มีเซลลูโลส ประกอบอยู่ 94.46% เฮมิเซลลูโลส 1.24% และลิกนิน 2.16% จากนั้นนำตะกอนฟางไปย่อยด้วยเอ็นไซม์เซลลูเลส โดยใช้อัตราส่วนของเอ็นไซม์ต่อเซลลูโลส เท่ากับ 500 ไมโครลิตรต่อกรัมเซลลูโลส น้ำหนักแห้ง และย่อยในสารละลายโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.0 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการย่อย 16 ชั่วโมง ที่สภาวะดังกล่าว

สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 557.07 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลลูโลส สารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้หลังจากเติมสารอาหารที่จำเป็น และปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5013 แล้ว นำไปหมักที่อุณหภูมิห้องในสภาวะแบบไม่ใช้ออกซิเจน เป็นเวลา 4 วัน จะได้เอทานอลเข้มข้น 1.3% โดยปริมาตร ซึ่งสามารถเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้นได้เมื่อนำไปกลั่น

-การผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ

วรรณิณี จันทร์แก้ว และคณะ (2558) ทำการศึกษาความหลากหลายและการแพร่กระจายของสาหร่ายสีแดงน้ำจืดในพื้นที่ต้นน้ำตรัง เขตจังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 6 สถานี โดยสำรวจในแปลงศึกษาในแต่ละสถานีที่เลือกพื้นที่เพื่อการวางแผนสำรวจแบบถาวรซึ่งมีความยาว 100 เมตร ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงธันวาคม 2556 พบความหลากหลายของสาหร่ายสีแดงน้ำจืดจำนวน 10 ชนิด จาก 7 สกุล ได้แก่ *Audoniella*, *Batrachospermum*, *Caloglossa*, *Compsopogon*, *Kumanoa*, *Sirodotia* และ *Thorea* ซึ่ง *Compsopogon aeruginosus* Kutzing เป็นชนิดที่พบปริมาณมากที่สุด จากนั้นจึงนำมาสกัดด้วยเอทานอล, เอทิลอะซิเตต และน้ำ แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS Scavenging Assay พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด 11.90 ± 4.68 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลกติก/กรัมสารสกัด และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดทั้งหมด

เจนจิรา ผลโภคกุล (2558) พบว่า % ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายสไปรูลิน่าความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของเมทานอล ที่ทำการอบด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่ 0 และ 90 วัน มีค่าเท่ากับ 7.97 ± 0.17 และ 4.12 ± 0.13 % ตามลำดับ กล่าวคือ เมื่อเก็บตัวอย่างไว้นานขึ้น อาจส่งผลให้ความต้านสารอนุมูลอิสระน้อยลง

จากการทบทวนวรรณกรรมจะเห็นว่าสาหร่ายสไปรูลิน่ามีข้อดีหลายประการ คือ เพาะเลี้ยงง่าย มีรูปร่างทรงเกลียว ขนาดใหญ่กว่าจุลสาหร่ายชนิดอื่นๆทำให้สามารถทำการสกัดน้ำมันออกมาได้ง่ายเนื่องจากการที่มีเซลล์ขนาดใหญ่จะทนต่อคลื่นอัลตราซาวด์ได้ดีกว่าสาหร่ายขนาดเล็ก และการที่เซลล์เป็นรูปทรงเกลียวจะทนต่อการอัลตราซาวด์ได้ดีกว่าสาหร่ายที่เป็นทรงกลมเนื่องจากมีผนังเซลล์ที่แข็งแรงกว่า และ Hao และคณะ (2004) ศึกษาการใช้อัลตราซาวด์ที่ความถี่ 20, 200 กิโลเฮิร์ต และ 1.7 เมกกะเฮิร์ต และใช้ระดับกำลังงานเท่ากับ 40 วัตต์ เป็นเวลา 5 นาที พบว่า ที่ความถี่ 200 กิโลเฮิร์ต สามารถทำลายเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina platensis*) ได้ถึง 69 % และ วนาگانต์ เร่งเพียร (2557) ศึกษาการทำลายเซลล์สาหร่ายคลอเรลล่าด้วยเครื่องอัลตราซาวด์แบบโพรบที่ระดับกำลังงาน 130 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที สามารถทำลายเซลล์สาหร่ายได้ 75.66 %

จะเห็นได้ว่า สาหร่ายสไปรูลิน่าใช้พลังงานและเวลาน้อยกว่า เนื่องจากทนต่อคลื่นอัลตราซาวด์ได้ดีต่ำกว่าสาหร่ายคลอเรลล่า จึงเป็นการประหยัดพลังงานและเวลาในการสกัดน้ำมัน

งานวิจัยนี้เล็งเห็นถึงการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสไปรูลิน่าโดยวิธีอัลตราโซนิกร่วมกับตัวทำละลายเนื่องจากการสกัดน้ำมันโดยวิธีนี้ได้ปริมาณน้ำมันมากกว่าแบบ Solvent extraction เพียงอย่างเดียว Nautiyal และคณะ (2014) ศึกษาปริมาณน้ำมันที่ได้จาก *Spirulina platensis* โดยวิธีการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยเมทานอล โดยมีอัตราส่วนสาหร่ายต่อเมทานอลเป็น 1:4 พบว่าได้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.086 กรัมไขมันต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ซึ่งถ้าใช้วิธี Solvent extraction ร่วมกับอัลตราซาวด์น่าจะสกัดน้ำมันออกมาได้มากขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติทางกายภาพของสาหร่าย *Spirulina platensis* คือ รูปทรงเกลียว และมีขนาดใหญ่ ง่ายต่อการทำลายเซลล์และสกัดน้ำมัน (Mett และคณะ, 1988) จึงตอบปัญหาการหาแหล่งพลังงานทดแทนในปัจจุบัน และเนื่องจากสาหร่ายสไปรูลิน่ายังมีคุณประโยชน์หลายประการ เช่น มีโปรตีนถึง 50-70% งานวิจัยจึงมีการศึกษาองค์ประกอบของกากสาหร่ายเพื่อเป็นแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์

บทที่ 3

แผนการทดลองและการดำเนินงานวิจัย

3.1 แผนการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาการสกัดน้ำมันจาก *Spirulina platensis* โดยการใช้อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ทำการทดลองแบบที่ละเท ใน การทดลองจะใช้เครื่องอัลตราซาวด์แบบโพรบความถี่ 20 กิโลเฮิร์ต ที่ระดับกำลังงานและเวลาที่แตกต่างกัน โดยทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการอาคารภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในงานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 วิธีการดำเนินการทดลอง

การทดลองส่วนที่ 1	การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อหาจำนวนวันที่เหมาะสมในการเลี้ยง - วัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Growth curve) โดยวิธีการวัดน้ำหนักแห้งของสาหร่าย และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร การเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวสาหร่ายเพื่อนำมาสกัดน้ำมัน - วิเคราะห์การสะสมน้ำมันในช่วง Stationary phase โดยวิธี Bligh and Dyer (Bligh and Dyer, 1959) - เก็บเกี่ยวสาหร่ายในช่วงที่มีปริมาณน้ำมันสะสมสูงสุด
การทดลองส่วนที่ 2	การศึกษาประสิทธิภาพในการสกัดด้วย - วิธี Solvent extraction (เอทานอล) - วิธี Ultrasound - วิธี Ultrasound ร่วมกับ Solvent extraction (เอทานอล) ทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้โดยการชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันสูงสุด และปริมาณน้ำมันที่สภาวะเหมาะสม วิเคราะห์น้ำมันที่เหลือในสาหร่ายโดยการชั่งน้ำหนักและวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันที่สกัดในสภาวะเหมาะสมด้วย Gas chromatography (GC)

การทดลองส่วนที่ 3	การศึกษาองค์ประกอบของกากสาหร่ายเพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ โดยทำการทดลอง <ul style="list-style-type: none"> - การวิเคราะห์องค์ประกอบ C H และ N ของกากสาหร่าย โดยส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย - การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ได้ด้วยวิธี Bicinchoninic acid assay - การวิเคราะห์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) -การวิเคราะห์ความเป็นพิษ (Toxicity) ของกากสาหร่าย โดยวิธี Minimal Inhibitory Concentration, MIC โดยส่งตรวจที่ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
--------------------------	--

3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

3.2.1 น้ำตัวอย่างสาหร่ายที่ใช้เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

น้ำสาหร่ายสายพันธุ์ *Spirulina platensis* เพาะเลี้ยงโดยใช้น้ำ RO และสูตรอาหาร Zarrouk ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ โดยเปิด 16 ชั่วโมงและปิด 8 ชั่วโมง ความเข้มแสง 2 กิโลลักซ์ (วัดโดย Lux meter) และ อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2.2 ตัวอย่างสาหร่ายแห้งจากบุญสมฟาร์ม

ตัวอย่างสาหร่ายสไปรูลินาแห้ง ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท กรีนไดมอนด์ จำกัด โดยใช้น้ำแร่และปุ๋ยชนิด Food grade เพาะเลี้ยงในระบบเปิด (open-system) ภายใต้แสงธรรมชาติ อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส เก็บเกี่ยวด้วยวิธีการกรอง และฆ่าเชื้อด้วยระบบโอโซนแล้วรีดเป็นแผ่นเข้าตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง และรักษาความชื้นให้ไม่เกิน 5% (บริษัท กรีนไดมอนด์ จำกัด, 2552)

สำหรับน้ำตัวอย่างของสาหร่ายจากสถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ผ่านการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Zarrouk แต่เมื่อนำมาใช้เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจะใช้สูตร

อาหาร BG 11 ในการเพาะเลี้ยง ดังนั้นจึงต้องมาผ่านการเพาะเลี้ยงปรับสภาพ 3 รอบ ก่อนการทดลอง

3.2.3 สูตรอาหาร (BG 11) สำหรับเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า (BG 11)

ธาตุอาหารหลัก	ปริมาณสำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงในภาชนะรองรับ (g)	
	1 L	4 L
NaNO ₃	1.5 g	6 g
K ₂ HPO ₄	0.04 g	0.16 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.075 g	0.3 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.036 g	0.144 g
C ₆ H ₈ O ₇	0.006 g	0.024 g
NH ₄ Fe(C ₆ H ₅ O ₇)·H ₂ O	0.006 g	0.024 g
EDTA Na (disodium salt)	0.001 g	0.004 g
Na ₂ CO ₃	0.02 g	0.08 g

ธาตุอาหารเสริม A5	ปริมาณสำหรับเตรียมในภาชนะขนาด 1L
H ₃ BO ₃	2.86g
MnCl ₂ ·9H ₂ O	1.81 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222 g
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0.39 g
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.079 g
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.049 g
นำ trace metal mix A5 มา 1 mL แล้วผสมกับธาตุอาหารหลักกรณีภาชนะรองรับอาหาร 1 L	
นำ trace metal mix A5 มา 4 mL แล้วผสมกับธาตุอาหารหลักกรณีภาชนะรองรับอาหาร 4 L	

3.2.4 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.4.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

- ถังน้ำใสขนาด 5 ลิตร
- หลอดฟลูออเรสเซนต์ บริษัท LKS รุ่น DAI-ICHI,18W
- เครื่องให้อากาศ บริษัท Sonic รุ่น Double type 12000
- หัวทรายเป่าอากาศ

- สายยาง
- เครื่องกรองอากาศ
- อะลูมิเนียมฟอยล์
- ปีกเกอร์ขนาด 2 L
- ข้อต่อสำหรับเชื่อมสายยาง
- เครื่องต้มน้ำ (Hot plate)
- น้ำกลั่น Deionized Water (DI)
- กระจกตวง (cylinder) 10 ml

3.2.4.2 อุปกรณ์ในการวัดการเจริญเติบโตสำหรับ

- การวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (Optical Density measurement หรือ OD₅₆₀)
 - คิวเวตต์ (cuvette)
 - สารละลาย Blank (อาหารเลี้ยงเชื้อ BG 11)
 - น้ำกลั่น Deionized Water (DI)
 - UV-Visible spectrophotometer รุ่น Genesys 10s UV-Vis ยี่ห้อ Thermo scientific
- การวัดน้ำหนักแห้งของเซลล์ (Dry weight measurement)
 - ตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส บริษัท Binder รุ่น ED-53
 - Suction pump
 - กรวยบุคเนอร์
 - จุกยางยึดกรวย
 - กระดาษกรอง (Filter paper) ยี่ห้อ Whatman GF/C ขนาด 42 ไมครอน
 - ปากคีบ (forceps)
 - น้ำกลั่น Deionized Water (DI)
 - ปีกเกอร์ (Beaker)
 - ตู้ดูดความชื้น (Desicator)
 - เครื่องชั่งละเอียดชนิดนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท Ohaus : 8-14.5 VC,50/60Hz,4VA or 8-20 VDC ,4W
 - Volumetric flask ขนาด 25 ml

3.2.4.3 อุปกรณ์ในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

- ปีกเกอร์ขนาด 2 L
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) บริษัท Heraeus ความเร็วรอบ 20000 rpm อุณหภูมิ -10 -30 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที ถึง 9 ชั่วโมง
- หลอดเซนทริฟิวจ์ ขนาด 50 ml
- ตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส บริษัท Binder รุ่น ED-53
- อะลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium foil)

3.2.4.4 อุปกรณ์สกัดน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลาย

- เครื่องอัลตราซาวด์แบบโพรบ (ultrasound probe) บริษัท Sonic & Materials inc., Model:VCX130PB, Serial No.424561, Power 130 W, AC 230 V, Frequency 20 kHz
- เครื่อง Evaporator
- เครื่องปั่นเหวี่ยง บริษัท Heraeus ความเร็วรอบ 20000 rpm อุณหภูมิ -10 -30 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที ถึง 9 ชั่วโมง
- หลอดเซนทริฟิวจ์ ขนาด 50 ml
- เอทานอล 95% Grade AR RCL labscan
- น้ำกลั่น Deionized Water (DI)
- ถ้วยระเหย
- ปีกเกอร์
- เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท Ohaus : 8-14.5 VC,50/60Hz,4VA or 8-20 VDC,4W

3.2.4.5 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของคาร์บอน

- Gas Chromatography (GC) บริษัท Agilent Technology รุ่น 6890
- คลอโรฟอร์ม (CHCl_3) >99% Ajax Finechem
- เมทานอล (CH_3OH) >99% Ajax Finechem
- กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) >99.8% Grade AR QREC
- เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)
- ตู้ดูดควัน (Hood)
- น้ำกลั่น Deionized Water (DI)
- ปีกเกอร์

- หน้ากากอนามัยชนิดป้องกันสารเคมี (mask)

3.2.4.6 อุปกรณ์ในการตรวจสอบปริมาณของโปรตีนในสาหร่ายโดยวิธี Bicinchoninic acid assay

- ปีกเกอร์
- น้ำกลั่น Deionized Water (DI)

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bicinchoninic acid assay

Kit Contents: (Cell signaling)

- BCA Reagent A : 250 ml (Sodium carbonate, Sodium bicarbonate, bicinchoninic acid, and sodium tartarate in 0.1 M sodium hydroxide)
- BCA Reagent B : 25 ml (4% cupric sulfate)
- Albumin Standard (2mg/ml): 10 x 1ml ampules of bovine serum albumin (BSA) in 0.9% NaCl and 0.05% sodium azide

Additional Required Materials:

- 96-wellplate
- Adjustable volume pipette and disposable pipette tips
- An incubator set at 37 °C
- Plate reader capable of measuring absorbance at 562 nm รุ่น Multiskan go ยี่ห้อ Thermo Scientific

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

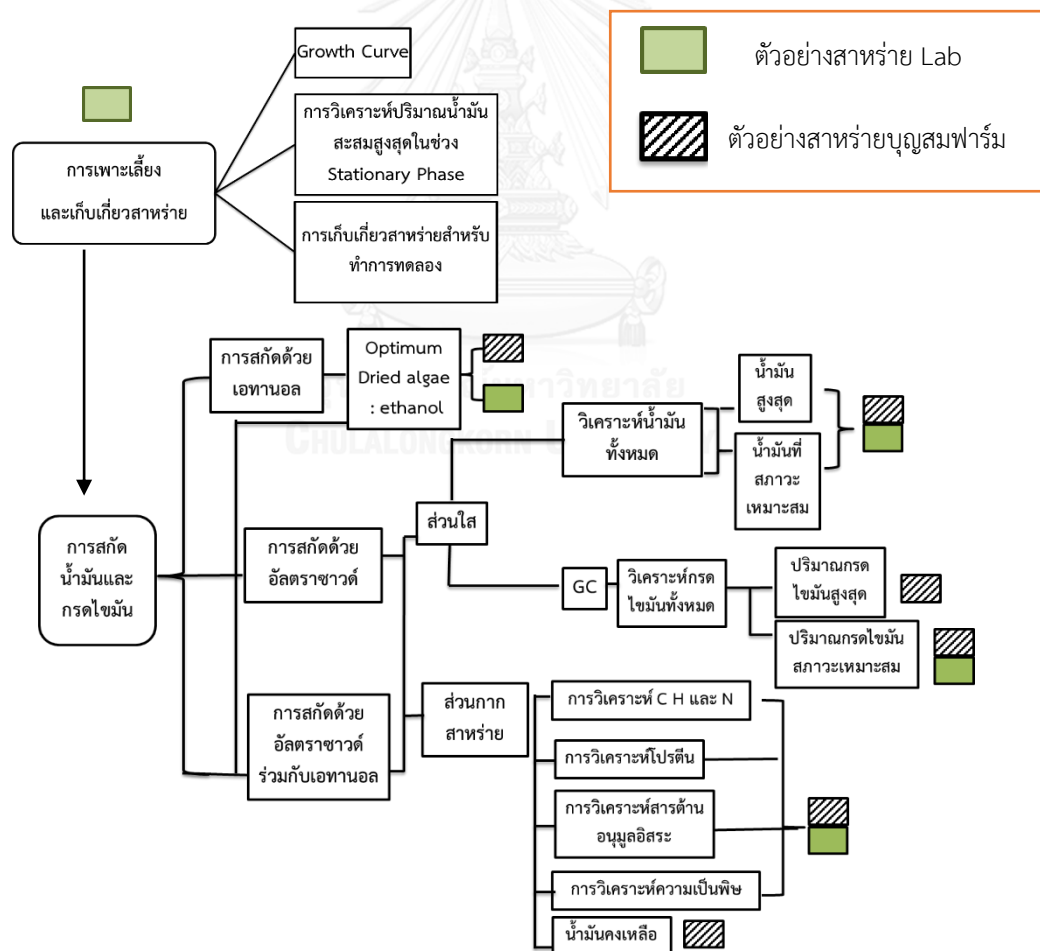
- Butylated hydroxytoluene (BHT) ≥ 99% Sigma-aldrich
- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 6×10^{-5} mM ≥ 99% Sigma-aldrich
- Absolute ethanol ≥ 99.8% Qrec
- 96-wellplate
- Plate reader capable of measuring absorbance at 517 nm รุ่น Multiskan go ยี่ห้อ Thermo Scientific

สารเคมีสำหรับเลี้ยงเชื้อสาหร่าย

- ไดโทเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) > 99% Ajax Finechem
- โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) > 99% Ajax Finechem
- แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) > 99.5% Qrec
- แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) > 99% Sigma-aldrich

- กรดซิตริก ($C_6H_8O_7$) > 99.5% Sigma-aldrich
- เฟอร์ริกแอมโมเนียมซัลเฟต ($NH_4Fe(C_6H_5O_7) \cdot H_2O$) > 99.8% Sigma-aldrich
- ไดโซเดียมเอ็ดทีเอ (Na_2 EDTA) 99-101% Sigma-aldrich
- โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) > 99.5% Sigma-aldrich
- กรดบอริก (H_3BO_3) > 99.5% Sigma-aldrich
- แมงกานีสคลอไรด์ ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$) > 99% Ajax Finechem
- ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) > 99% Ajax Finechem
- โซเดียมโมลิบดินัม ($NaMoO_4 \cdot 2H_2O$) > 99% Sigma-aldrich
- คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) > 99% Qrec
- โคบอลต์ไนเตรท ($Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$) > 98% Sigma-aldrich

3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย ดังแสดงในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 วิธีการดำเนินงานวิจัย

การทดลองส่วนที่ 1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

3.3.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อหาวันที่เหมาะสม

1. นำหัวเชื้อตัวอย่างสาหร่ายจากสถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์มาเพาะเลี้ยงในอัตราส่วนหัวเชื้อต่อน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 ที่ 1:10 (ตารางที่ 3.2) โดยให้อากาศ ให้แสงฟลูออเรสเซนต์ขนาด 36 วัตต์ จำนวน 2 หลอด โดยให้แสง 16 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 8 ชั่วโมง (ยวดี พิรพรพิศาล, 2538)
2. วัดปริมาณสาหร่ายด้วยวิธีชั่งน้ำหนักแห้ง (Dry weight) และความดูดกลืนแสง (OD_{560}) ทุกๆ 2 วัน
3. ทำกราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Growth curve) โดยพลอตระหว่างน้ำหนักแห้ง (Dry weight) และเวลา และ ความดูดกลืนแสง (OD_{560}) และเวลา
4. วิเคราะห์ปริมาณน้ำมันสะสมในช่วง Stationary phase ด้วยวิธี Bligh and Dyer (หัวข้อ 3.3.1.3)
5. เลือกวันที่ตัวอย่างสาหร่ายมีปริมาณน้ำมันสะสมสูงที่สุดสำหรับนำไปสกัดในการทดลองส่วนที่ 2 ต่อไป

3.3.1.1 การวัดน้ำหนักแห้งของสาหร่าย

1. เตรียมกระดาษกรองโดยอบกระดาษกรอง GF/C เบอร์ 47 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำไปใส่ในตู้ดูดความชื้น 30 นาที ชั่งน้ำหนักกระดาษ (A) และบันทึกค่า
2. เก็บตัวอย่างสาหร่าย ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงขวดวัดปริมาตร แล้วกรองผ่านกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแล้ว
3. นำตัวอย่างสาหร่ายหลังการกรอง อบที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปใส่ในตู้ดูดความชื้นนาน 30 นาที
4. ชั่งกระดาษกรอง (B) เพื่อหาค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายดังสมการที่ 3.1

$$\text{น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)} = \frac{B-A}{C} \times 1000 \quad (3.1)$$

โดย A = น้ำหนักกระดาษกรองก่อนกรองสาหร่าย (กรัม)
 B = น้ำหนักกระดาษกรองหลังกรองสาหร่าย (กรัม)
 C = ปริมาตรสาหร่ายที่ทำการกรอง (มิลลิลิตร)

3.3.1.2 การวัดค่าการดูดกลืนแสง หรือ OD₅₆₀

1. นำตัวอย่างสาหร่ายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Visible Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

หมายเหตุ สารละลายแบลงค์ (Blank) คือ สูตรอาหาร BG 11

3.3.1.3 วิธีการสกัดน้ำมัน Bligh and Dyer (Bligh และ Dyer, 1959)

1. ชั่งตัวอย่างสาหร่าย 1 กรัม (C) ลงในขวดแก้วมีฝาปิด
2. เติมนีโทานอล 4 มิลลิลิตร คลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น DI 1.6 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:2:1:0.8) ลงในขวดแก้วมีฝาปิดที่ชั่งสาหร่ายไว้แล้ว
3. ผสมสาหร่ายกับตัวทำละลายให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง
4. เติมนีโทานอลและน้ำปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน (1:1) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เกิดการแยกชั้นน้ำและคลอโรฟอร์ม
5. ดูดชั้นคลอโรฟอร์ม (ชั้นล่าง) ใส่ขวดก้นกลมที่ชั่งน้ำหนักแล้ว (A) นำไปประเหยที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส
6. ชั่งน้ำหนักขวดก้นกลมที่มีน้ำมัน (B) ด้วยเครื่องชั่งละเอียด บันทึกค่าน้ำหนักของขวดก้นกลม
7. คำนวณหาปริมาณน้ำมันจากสมการที่ 3.2

การคำนวณปริมาณน้ำมัน

$$\text{ปริมาณน้ำมัน (\%)} = \frac{B-A}{C} \times 100 \quad (3.2)$$

- โดย
- A = น้ำหนักขวดก้นกลมเปล่า (กรัม)
 - B = น้ำหนักขวดก้นกลมเปล่า + น้ำหนักไขมันที่สกัดได้ (กรัม)
 - C = น้ำหนักตัวอย่างสาหร่าย (กรัม)

3.3.1.4 การสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งและความดูดกลืนแสงของสาหร่าย

1. เตรียมตัวอย่างสาหร่ายในช่วง Stationary phase ที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.21 0.32 0.46 0.51 0.60 และ 0.73 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่น DI ปรับปริมาตร
2. วิเคราะห์น้ำหนักแห้งและการดูดกลืนแสงของสาหร่ายในข้อ 1
3. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างน้ำหนักแห้ง (X) และ ค่าความดูดกลืนแสง (Y)

3.3.2 การเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวสาหร่ายเพื่อมาสกัดน้ำมัน

1. นำน้ำตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงตามข้อ 3.3.1 มาวัด OD₅₆₀ เพื่ออ่านค่าน้ำหนักแห้งจากกราฟความสัมพันธ์ที่ได้จาก 3.3.1.4 โดยทำการเลี้ยงจนถึงระยะ Stationary phase และเลือกวันที่มีปริมาณน้ำมันสะสมสูงที่สุดจากหัวข้อ 3.3.1
2. นำตัวอย่างสาหร่ายมาทำการปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
3. อบแห้งตัวอย่างสาหร่ายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อใช้ในการสกัดน้ำมันในการทดลองที่ 2 ต่อไป

การทดลองส่วนที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์ที่ช่วยในการสกัดน้ำมัน

3.3.3 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยเอทานอล อัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

จากการคำนวณปริมาณตัวอย่างสาหร่ายแห้งที่ต้องใช้ในการทดลองทั้งวิธีการสกัดด้วยเอทานอล อัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล โดยทดลองซ้ำ 3 ครั้ง พบว่าต้องใช้ตัวอย่างสาหร่ายแห้งอย่างน้อย 200 กรัม ซึ่งเป็นสาหร่ายปริมาณมาก ต้องใช้เวลานานในการเพาะเลี้ยง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้ตัวอย่างสาหร่ายแห้งบุญสมฟาร์มในขั้นตอนการหาอัตราส่วนตัวอย่างสาหร่ายแห้งต่อเอทานอลที่เหมาะสม ปริมาณน้ำมันที่มากที่สุด และปริมาณน้ำมันที่สภาวะเหมาะสมด้วยวิธีอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล จากนั้นจึงเลือกสภาวะมาทดสอบกับตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

3.3.3.1 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยเอทานอล

ในขั้นตอนนี้จะศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างตัวอย่างสาหร่ายแห้งและเอทานอลของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มและตัวอย่างสาหร่ายจากห้องปฏิบัติการ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างสาหร่ายแห้งต่อตัวทำละลาย เอทานอล 1:4 1:5 1:6 และ 1:7 ตามลำดับ

1. นำตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม 2.5 2 1.67 และ 1.43 กรัม เติมตัวทำละลายเอทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. ผสมโดยกวน 6 ชั่วโมง แล้วปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของกากสาหร่ายและเอทานอล
3. แยกเอทานอลในขวดก้นกลมที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้ว ระเหยเอทานอล จากนั้นคำนวณปริมาณน้ำมันดังสมการที่ 3.2 โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ซ้ำ
4. ส่วนของกากสาหร่ายเก็บไว้ที่ตู้ดูดความชื้นสำหรับการวิเคราะห์ในการทดลองส่วนที่ 3
5. ใช้สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการทำการทดลองดังข้อ 1-4

6. เลือกอัตราส่วนตัวอย่างสำหรับแห้งต่อเอทานอลที่สกัดน้ำมันได้ปริมาณสูงสุดสำหรับตัวอย่างสำหรับบุญสมพาร์มและตัวอย่างสำหรับที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อทำการทดลอง 3.3.3.2 และ 3.3.3.3 ต่อไป

3.3.3.2 การสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์

ในการทดลองสกัดน้ำมันนี้ใช้ตัวอย่างสำหรับบุญสมพาร์มเพื่อหาสภาวะที่สกัดปริมาณน้ำมันได้สูงสุด และสภาวะที่เหมาะสมเมื่อพิจารณาจากปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล (วิธีการคำนวณแสดงดังภาคผนวก ก-6) เพื่อนำไปทดสอบและเปรียบเทียบกับตัวอย่างสำหรับที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการต่อไป โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างสำหรับบุญสมพาร์ม 1.67 กรัม ผสมน้ำกลั่น DI 10 มิลลิลิตร ลงในขวดชมพู ในอัตราส่วนสำหรับแห้งต่อเอทานอลที่สกัดได้ปริมาณน้ำมันสูงที่สุดจากการทดลอง 3.3.4.1
2. อัลตราซาวด์ตัวอย่างสำหรับบุญสมพาร์ม โดยทดลองที่ระดับกำลังงาน 0 40 60 80 และ 100 % เป็นเวลา 5 10 15 20 และ 30 นาที ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง
3. นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนใสและกากสำหรับ
4. นำส่วนใสไปสกัดด้วยเฮกเซน จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายเฮกเซนและน้ำ แล้วคำนวณปริมาณน้ำมัน ดังสมการที่ 3.2
5. เลือกสภาวะที่สกัดน้ำมันได้ปริมาณสูงที่สุดและสภาวะที่เหมาะสม 2 สภาวะซึ่งพิจารณาจากสภาวะที่สกัดน้ำมันได้สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับพลังงานไฟฟ้าที่ใช้สกัด 1 กิโลจูล
6. นำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการสกัดน้ำมันของตัวอย่างสำหรับบุญสมพาร์มไปทดสอบกับตัวอย่างสำหรับที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ดังข้อ 1-4
7. คำนวณปริมาณน้ำมันจากตัวอย่างสำหรับที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ดังสมการที่ 3.2 และปริมาณน้ำมันที่สกัดได้เมื่อเปรียบเทียบกับพลังงานไฟฟ้าที่ใช้สกัด 1 กิโลจูล (ภาคผนวก ก-6)
8. เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันสูงสุดและปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากสภาวะที่เหมาะสมของตัวอย่างสำหรับบุญสมพาร์มและตัวอย่างสำหรับที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ
9. จากนั้นนำส่วนใสจากข้อ 4 และ 6 วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันด้วยวิธี Gas Chromatography (GC) ดังการทดลองที่ 3.3.5
10. ส่วนกากสำหรับเก็บในตู้ดูดความชื้นเพื่อเตรียมสำหรับวิเคราะห์แนวทางการใช้ประโยชน์ในการทดลองส่วนที่ 3

3.3.3.3 การสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

ในการทดลองสกัดน้ำมันนี้ใช้ตัวอย่างสาหร่ายแห้งจากบุญสมฟาร์มเพื่อหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้สูงสุด และสภาวะที่เหมาะสม 2 สภาวะ เมื่อพิจารณาจากปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล (วิธีการคำนวณแสดงดังภาคผนวก ก-7) เพื่อนำไปทดสอบและเปรียบเทียบกับตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการต่อไป โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 3.3.3.2 แต่ใช้เอทานอลแทนน้ำกลั่น DI

3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายหลังวิธีอัลตราซาวด์ และวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

1. นำกากสาหร่ายหลังการสกัดน้ำมันไปทำการสกัดน้ำมันที่เหลือด้วยวิธี Bligh and Dyer ตามขั้นตอนที่ 3.3.1.3
2. จากนั้นคำนวณปริมาณน้ำมันในกากสาหร่าย ดังสมการ 3.2

3.3.5 การตรวจสอบองค์ประกอบคาร์บอนในน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธีทาง Gas chromatography

วิเคราะห์กรดไขมันในช่วง C14-C24 จากตัวอย่างน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มที่ระดับกำลังงาน 40 60 80 และ 100 % ระยะเวลา 5 10 15 20 และ 30 นาที เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม 2 สภาวะ โดยพิจารณาในแง่ของปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล แล้วจึงนำไปทดสอบและเปรียบเทียบกับปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ที่สภาวะเหมาะสมของตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

1. การเตรียมกราฟมาตรฐาน Fatty acid methyl esters (FAMES) C14-C24

- 1.1 ทำการชั่งสารมาตรฐาน FAMES C14-C24 25 มิลลิกรัมลงในขวดฝาเกลียวขนาดเล็ก
- 1.2 เตรียมสารมาตรฐาน FAMES C14-C24 ความเข้มข้น 25 5 2.5 1 และ 0.25 ด้วยวิธีการเจือจางโดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย
- 1.3 ฉีดสารมาตรฐาน ตามสภาวะดังตารางที่ 3.3
- 1.4 ทำกราฟมาตรฐาน (Standard Curve) ระหว่างปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ (Y) และพื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมัน (X) โดยให้มีความ $R^2 \geq 0.995$ ดังภาคผนวก ข

2. การเตรียมตัวอย่างน้ำมันสาหร่ายสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธี Gas chromatography

1. เต็มคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร และเมทานอลที่ผสมกรดซัลฟูริก 15% 2 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างน้ำมันในขวดก้นกลม

2. ถ่ายสารละลายที่ได้ลงหลอดทดลองขนาดเล็กปิดฝาแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง
3. ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่น DI 1 มิลลิลิตร
4. เขย่าให้เกิดการแยกชั้นระหว่างคลอโรฟอร์มและน้ำกลั่น DI
5. เก็บตัวอย่างคลอโรฟอร์มลงในหลอดฝาเกลียว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมัน C14-C24 ต่อไป

3. การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันด้วยวิธีทาง Gas chromatography

หลังจากเตรียมตัวอย่างและทำการพามาตรฐานแล้ว นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หา FAMES C14-C24 โดยใช้ Detector คือ Flame ionization detector (FID) และใช้สภาวะเครื่อง Gas Chromatography ในการวิเคราะห์ดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 สภาวะเครื่อง Gas Chromatography ในการวิเคราะห์กรดไขมัน

ชนิดคอลัมน์	Capillary column ชนิด HP-INNOWAX capillary Column
อุณหภูมิของ injector	260 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของคอลัมน์	80 องศาเซลเซียส คงที่นาน 2 นาที เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 10 องศาเซลเซียส / นาที ไปจนถึง 260 องศาเซลเซียส และคงที่นาน 5 นาที
อุณหภูมิของ Detector	260 องศาเซลเซียส
Split ratio	40:1
Carrier gas	ฮีเลียม
ปริมาตรการฉีด	1 ไมโครลิตร

คำนวณปริมาณกรดไขมันรวม (มิลลิกรัมต่อกรัมสารแห้ง) ดังภาคผนวก ก-14

คำนวณหาสัดส่วนกรดไขมันจากสมการ 3.4

$$\% \text{ กรดไขมันชนิดที่สนใจ} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันที่สนใจ} \times 100}{\text{พื้นที่ใต้กราฟรวมของ FAME (C14-C24)}} \quad (3.4)$$

กรดไขมันชนิดที่สนใจในสารละลายปฏิกิริยา มีดังนี้

- | | |
|---|---|
| -กรดไขมันชนิด C14:0 (Myristic acid) | -กรดไขมันชนิด C18:3n-3 (Linolenic acid) |
| -กรดไขมันชนิด C16:0 (Palmitic acid) | -กรดไขมันชนิด C20:0 (Arachidic acid) |
| -กรดไขมันชนิด C16:1n-7 (Palmitoleic acid) | -กรดไขมันชนิด C22:0 (Behenic acid) |
| -กรดไขมันชนิด C22:1n-9 (Eruric acid) | -กรดไขมันชนิด C22:1n-9 (Eruric acid) |
| -กรดไขมันชนิด C18:1n-7 (Oleic acid) | -กรดไขมันชนิด C24:0 (Lignoceric acid) |
| -กรดไขมันชนิด C18:2n-6 (Linoleic acid) | |

4. การทดสอบและเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดกรดไขมันระหว่างตัวอย่างสำหรับยาสมุนไพรและตัวอย่างสารละลายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มีขั้นตอนดังนี้

1. เลือกสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองโดยใช้ตัวอย่างสำหรับยาสมุนไพรพิจารณาจากสภาวะที่สกัดกรดไขมันรวมได้สูงที่สุดต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้สกัด 1 กิโลจูล ใช้สภาวะเดียวกันนี้ ไปสกัดกรดไขมันรวมจากตัวอย่างสารละลายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ
2. คำนวณปริมาณกรดไขมันรวมในตัวอย่างสารละลายในห้องปฏิบัติการที่สภาวะเดียวกับข้อ 1 ซึ่งพิจารณาจากปริมาณน้ำมันที่สกัดได้สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับพลังงานไฟฟ้าที่ใช้สกัด 1 กิโลจูล (ภาคผนวก ก-17)
4. เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสภาวะที่เหมาะสมของตัวอย่างสำหรับยาสมุนไพรและตัวอย่างสารละลายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

3.3.6 ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit Of Detection; LOD)

1. ขั้นตอนการประมาณขีดจำกัดในการตรวจพบ

1. เตรียมสารมาตรฐาน FAMES C8-C24 ความเข้มข้น 0.002 0.003 0.005 0.008 0.013 0.020 และ 0.029 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายมาตรฐาน 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับวิเคราะห์ GC โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย
2. ฉีดสารละลายมาตรฐาน(C8-C24) เข้าเครื่อง Gas chromatography ทำการฉีดซ้ำ 7 ครั้ง
3. อ่านค่า Signal to Noise ratio โดยความเข้มข้นที่ Signal to Noise ratio มากกว่า 3:1 นั่นคือ ค่า LOD โดยแต่ละคาร์บอน (C) จะมีค่าแตกต่างกันไป และบันทึกค่าความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของค่าขีดจำกัดที่ตรวจวัดได้ โดยมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) ดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ตารางแสดงค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD)

FAME	LOD (mg/ml)
C8:0	0.008
C10:0	0.008
C12:0	0.008
C14:0	0.008
C16:0	0.029
C16:1n-7	0.005
C18:0	0.020
C18:1n-7	0.013
C18:2n-6	0.005
C18:3n-3	0.008
C20:0	0.003
C22:0	0.002
C22:1n-9	0.003
C24:0	0.002

การทดลองส่วนที่ 3 การศึกษาองค์ประกอบของกากสาหร่ายเพื่อนำมาใช้ประโยชน์

กากสาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมันน่าจะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ งานวิจัยส่วนนี้จึงได้ทำการตรวจวัดองค์ประกอบต่างๆ ของตัวอย่างสาหร่าย ได้แก่ C H และ N ปริมาณโปรตีน ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษของกากสาหร่ายโดยในส่วนนี้ใช้ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการก่อนการสกัดน้ำมัน หลังจากการสกัดด้วยเอทานอล อัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่สภาวะเหมาะสมจากขั้นตอนการสกัดน้ำมัน 1 สภาวะ และตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มก่อนการสกัดน้ำมัน กากสาหร่ายหลังจากสกัดด้วยเอทานอล ด้วยอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์

ร่วมกับเอทานอล ที่ระดับกำลังงาน 40 60 80 และ 100% เป็นระยะเวลา 5 10 และ 15 นาที เพื่อเสนอแนวทางการใช้ประโยชน์ เช่น นำไปผลิตอาหารสัตว์ และการนำไปผลิตก๊าซชีวภาพ เป็นต้น

3.3.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบของ C H และ N

ส่งตัวอย่างสาหร่ายและกากสาหร่ายวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อหาองค์ประกอบ C H และ N จากนั้นพิจารณา C/N ratio เพื่อเป็นแนวทางในการนำกากสาหร่ายหลังจากการสกัดน้ำมันไปใช้ประโยชน์ เช่น ผลิตก๊าซชีวภาพ

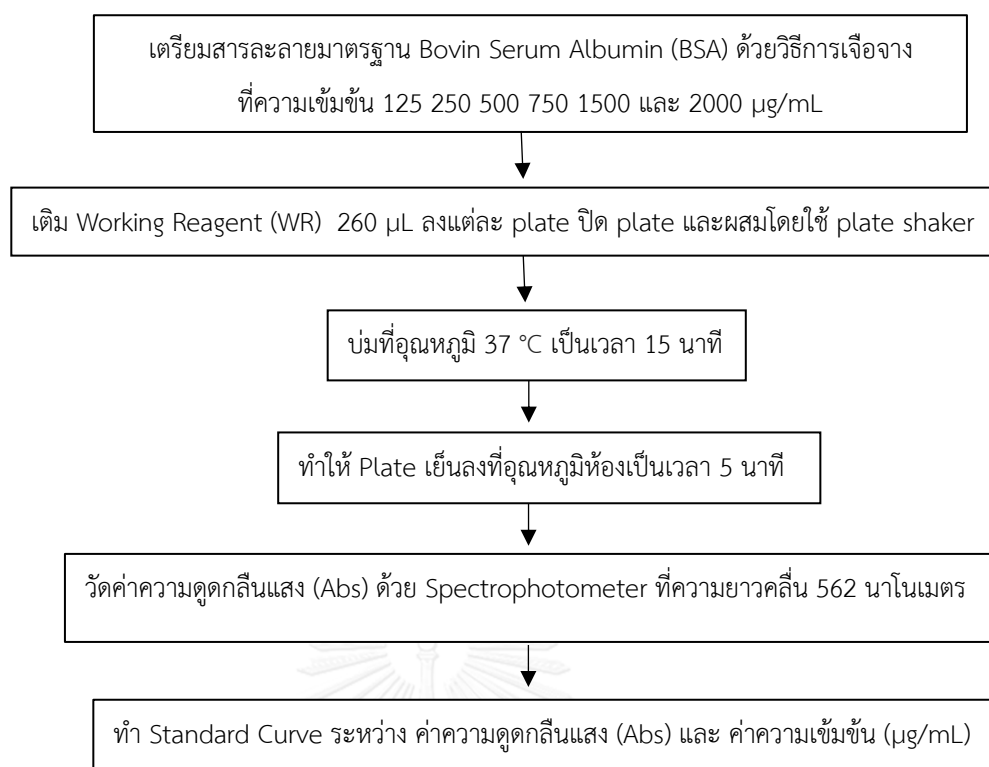
หลักการ เครื่อง Analyzer สำหรับวิเคราะห์ธาตุ C H และ N ในตัวอย่างทั้งของแข็งและของเหลว โดยอาศัยหลักการเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิสูงให้กลายเป็นแก๊สผสม จากนั้นจึงแยกปริมาณแก๊สชนิดต่างๆออกมา

3.3.8 การตรวจสอบปริมาณของโปรตีนในกากสาหร่ายโดยวิธี Bicinchoninic acid assay (BCA)

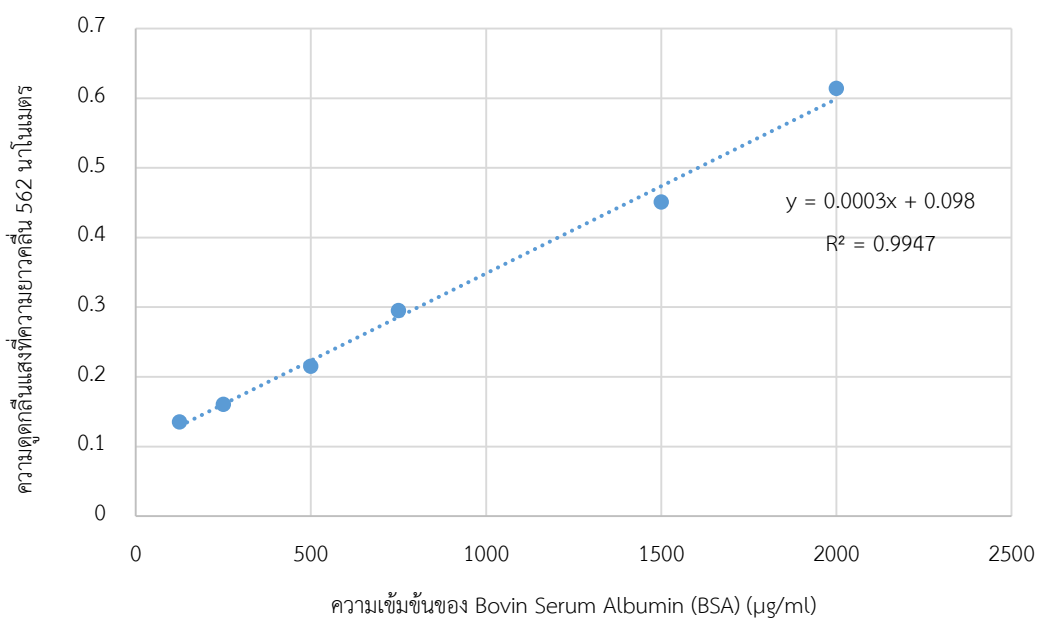
โดยผลที่ได้จะนำไปเปรียบเทียบกับมาตรฐานของกรมประมง (ตารางที่ 2.6) สำหรับเป็นแนวทางในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ (Smith และคณะ, 1985)

หลักการ โปรตีนจะทำปฏิกิริยากับ Cu^{2+} และ Bovin Serum Albumin (BSA) ทำให้เกิดสีสามารถวัดที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร

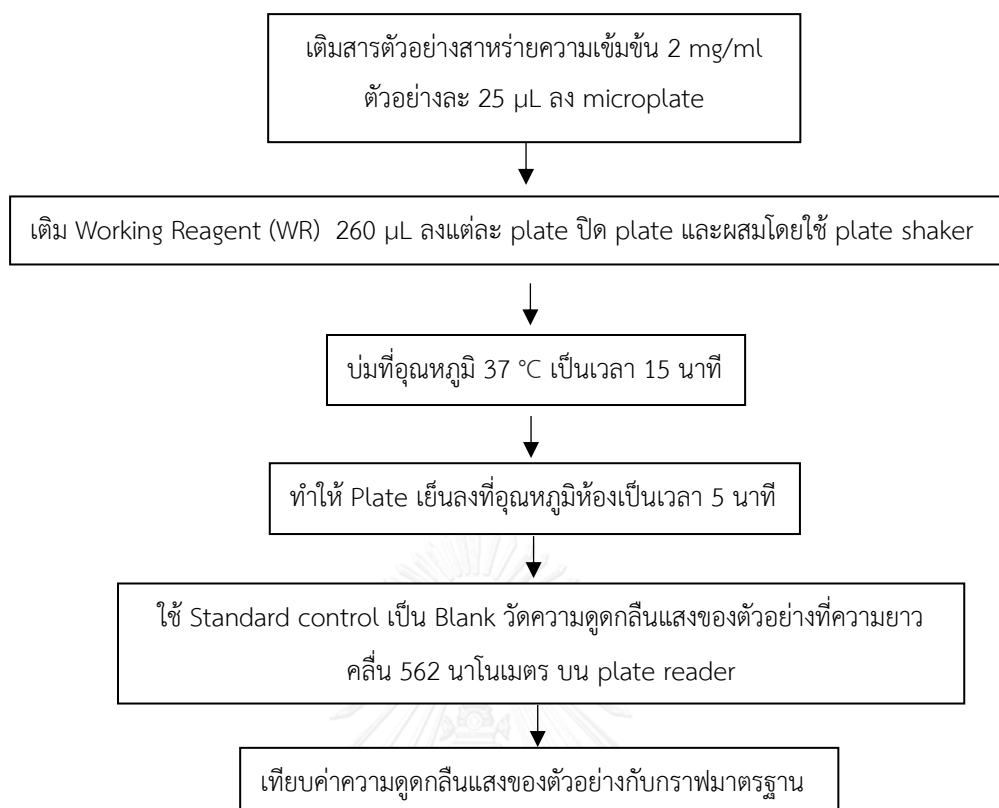
ข้อจำกัด : ปริมาณโปรตีนต่ำสุดที่วัดได้ในตัวอย่าง คือ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เวลาในการทดสอบ 60 นาที โดยมีขั้นตอนการทำกราฟมาตรฐานดังรูปที่ 3.2 และกราฟมาตรฐานได้ดังรูปที่ 3.3 และมีวิธีทดสอบโปรตีนดังรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.2 การทำกราฟมาตรฐานปริมาณโปรตีนในภาควิชาชีวเคมีโดยวิธี Bicinchoninic acid assay



รูปที่ 3.3 กราฟมาตรฐานวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในภาควิชาชีวเคมีโดยวิธี Bicinchoninic acid assay



รูปที่ 3.4 การวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีนในกากสาหร่ายโดยวิธี Bicinchoninic acid assay

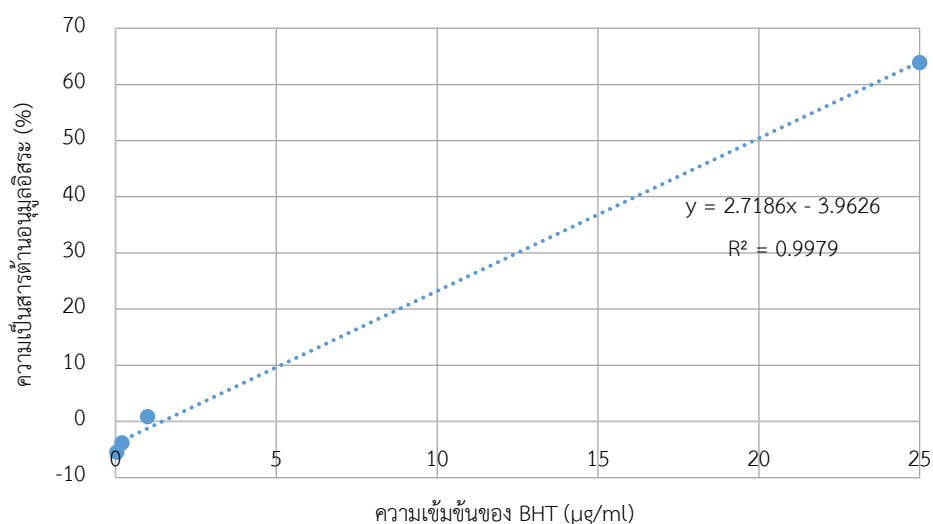
3.3.9 วิธีการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ซึ่งใช้สารเคมีคือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง (พรณี เต็นรุ่งเรือง, 2555) โดยผลการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระนี้ สามารถนำไปเป็นแนวทางการผลิตอาหารเสริมเพื่อสุขภาพได้ เนื่องจากมีสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ คลอโรฟิลล์ ช่วยบำรุงผิวพรรณ ลดการอักเสบของแผลในกระเพาะอาหาร นอกจากนี้ยังมีไฟโคไซยานิน ซึ่งช่วยบำรุงตับและป้องกันการแพร่กระจายของเนื้องอก (ไปรมา ยงมานิตชัย, 2546)

หลักการ เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สีของสารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้เป็นมาตรฐานคือ BHT (Butylated hydroxytoluene) ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลง โดยมีวิธีการทดลองดังนี้

1. การเตรียมกราฟมาตรฐาน 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

1. ปิเปตสารมาตรฐาน BHT 100 ไมโครลิตร ที่ความเข้มข้น 0.04 0.2 1 5 และ 25 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ลงใน 96-well plate แล้วปิเปตสารละลาย DPPH 6×10^{-5} มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน plate
2. ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader
4. ทำกราฟมาตรฐานระหว่างความดูดกลืนแสง (Y) และ ความเข้มข้น (X) ดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 กราฟมาตรฐานระหว่าง % ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของ BHT

2. การวิเคราะห์ตัวอย่างสารห่วยด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

1. ปิเปตส่วนใสของสารสกัดสารห่วยที่สกัดได้จากกากสารห่วยที่สภาวะต่างๆ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร และ DPPH 6×10^{-5} มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใน absolute ethanol ใส่ใน 96-well plate
2. ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที
3. วัดค่าความดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader
4. คำนวณหา % inhibition จากสมการที่ 3.5

$$\% \text{ inhibition} = \frac{\text{OD control} - \text{OD sample}}{\text{OD control}} \times 100 \quad (3.5)$$

หมายเหตุ

OD หรือ Optical Density คือ ค่าความดูดกลืนแสง

Control คือ absolute ethanol 100 ไมโครลิตร + DPPH 100 ไมโครลิตร

Blank control คือ absolute ethanol 200 ไมโครลิตร

Blank sample คือ สารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ 100 ไมโครลิตร + absolute ethanol 100 ไมโครลิตร

3.3.10 การวิเคราะห์ความเป็นพิษ (Toxicity) ของกากสาหร่ายต่อจุลินทรีย์ระบบย่อยสลายแบบไร้อากาศ โดยวิธี Disc Diffusion

การใช้ประโยชน์ของกากสาหร่ายเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพ ก่อนนำไปใช้ประโยชน์ต้องมีการตรวจสอบความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซชีวภาพด้วยการย่อยสลายแบบไร้อากาศ เนื่องจากกากสาหร่ายได้ผ่านการสกัดน้ำมันด้วยเอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่อาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Disc Diffusion

หลักการ ทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ด้วยสารทดสอบต่างๆ โดยหาค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC) คือ ค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ได้ โดยใช้วิธีทดสอบแบบ Disc diffusion ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Koeth และคณะ (2015) โดยนำแผ่น paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ไปจุ่มในน้ำสารสกัดจากสาหร่ายสไปรูลินาที่เตรียมโดยละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีเอทานอลเป็นตัวควบคุม (control) วางบน plate ที่มี *Clostridium sporogenes* (เชื้อมีความเข้มข้น 0.5 Mcfarland) กระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Trypticase Soy Agar (TSA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เป็นเวลา 7 วัน และดูการเกิด clear zone รอบแผ่น disc สารทดสอบที่นำมาใช้ทดสอบมี 5 ชนิด คือ

1. ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที
2. ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที
3. ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที
4. ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังสกัดด้วยเอทานอลอัตราส่วน 1:6

5. ตัวอย่างสารห่วยบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยเอทานอลอัตราส่วน 1:6
6. ทดลองโดยส่งวิเคราะห์ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
7. แปรผลการยับยั้งของสารสกัดเปรียบเทียบกับมาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute ; CLSI) ซึ่งแบ่งเป็น 3 ระดับ คือ

Susceptible (Sensitive: S) คือ ขนาดโซนใสใหญ่กว่า 16 มิลลิเมตร

Intermediate (I) คือ ขนาดโซนใสอยู่ในช่วง 8-16 มิลลิเมตร

Resistant (T) คือ ขนาดโซนใสเล็กกว่า 8 มิลลิเมตร

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลและการแปรผล

ข้อมูลที่วัดได้จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จะนำมาหาค่าเฉลี่ย (สมการที่ 3.6) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (สมการที่ 3.7) ซึ่งค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานต้องมีค่าไม่เกินร้อยละ 10 เพื่อเป็นการยืนยันความแม่นยำของข้อมูล และวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธี Two-way ANOVA

1. ค่าเฉลี่ย (Mean; \bar{x})

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (3.6)$$

2. ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (3.7)$$

3. การวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธี Two-way ANOVA ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics Data Editor

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมัน และประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์แบบโพรบในการสกัดน้ำมันจากตัวอย่างสาหร่ายบิโบลูสมิฟาร์มและตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ที่ระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่างกัน และการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล จากนั้นตรวจสอบปริมาณน้ำมันที่คงเหลือในเซลล์สาหร่ายหลังจากการสกัดด้วยวิธี Bligh and Dyer และศึกษาองค์ประกอบน้ำมันด้วย GC จากนั้นทำการศึกษาแนวทางการนำกากสาหร่ายหลังจากการสกัดน้ำมันมาใช้ประโยชน์ ได้แก่ การวิเคราะห์โปรตีน สารต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษ

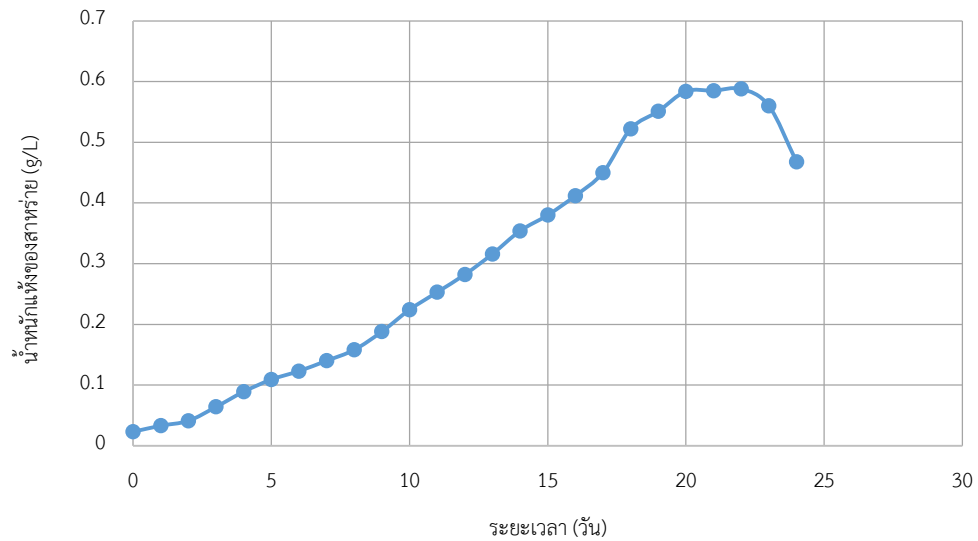
4.1 การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

4.1.1 การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

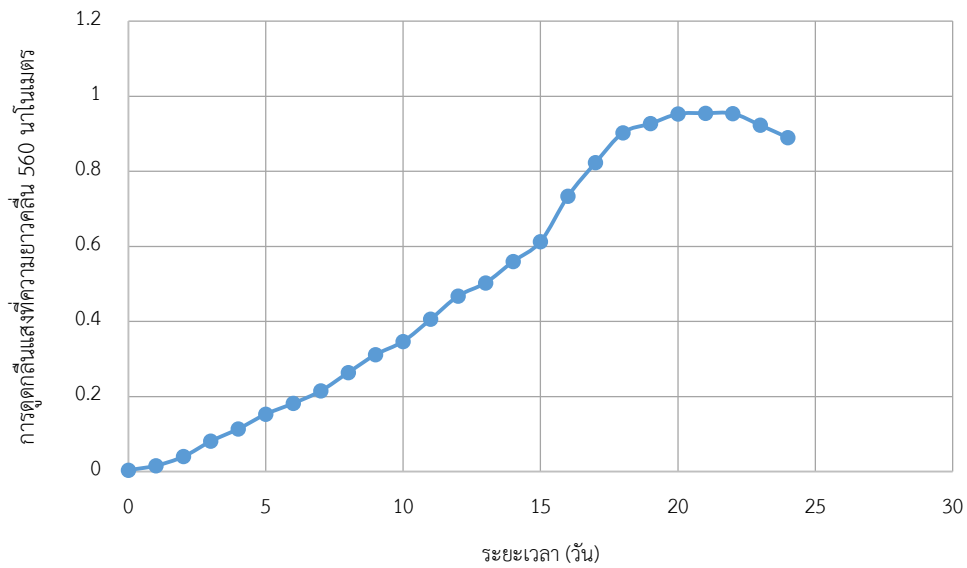
จากการเพาะเลี้ยงตัวอย่างสาหร่ายในห้องปฏิบัติการด้วย สูตรอาหาร BG 11 วัตน้ำหนักแห้ง และการดูดกลืนแสง ทุกๆ 2 วัน ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.1 และ 4.2

จากรูป 4.1 และ 4.2 พบว่าที่ระยะเวลา 0-2 วัน ความชันของกราฟไม่สูงนัก ซึ่งน่าจะอยู่ในช่วงสภาวะการปรับตัว (Lag phase) สาหร่ายจะปรับตัวเข้าสู่สภาวะแวดล้อมใหม่ๆ ที่ระยะเวลา 3-19 วัน พบว่าความชันของกราฟสูงขึ้น กล่าวคือ สาหร่ายสามารถปรับตัวเข้ากับสภาวะแวดล้อมได้ และมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น และสาหร่ายจะเริ่มสะสมน้ำมัน เรียกช่วงนี้ว่า Log phase หลังจากวันที่ 19 เริ่มมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นแต่อัตราเร็วของการเจริญเติบโตช้าลงเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงแรก โดยช่วงนี้สาหร่ายมีการสะสมน้ำมันมากที่สุด เรียกช่วงนี้ว่า Stationary phase โดยปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมน้ำมันในเซลล์สาหร่าย คือ ธาตุอาหาร เช่น ไนโตรเจน โดยสาหร่ายที่มีปริมาณไนโตรเจนที่จำกัดจะทำให้อัตราการสังเคราะห์น้ำมันเพิ่มสูงขึ้น มีผลทำให้เกิดการสะสมน้ำมันภายในเซลล์เพิ่มขึ้น และถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสง และปริมาณรงควัตถุของเซลล์ทำให้สาหร่ายมีสีที่เปลี่ยนไปด้วย (ผกาดี แก้วกันเนตร, 2552) และตั้งแต่วันที่ 23 พบว่าความชันของกราฟลดลง ซึ่งน่าจะมีการเจริญเติบโตที่ถดถอย (Death phase) ช่วงนี้พบว่าสาหร่ายจะตกตะกอนสู่ก้นถังปฏิกรณ์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกช่วงระยะการเพาะเลี้ยง 20 21 และ 22 วัน

มาทำการทดลองต่อ (Mezzomo และคณะ, 2010)



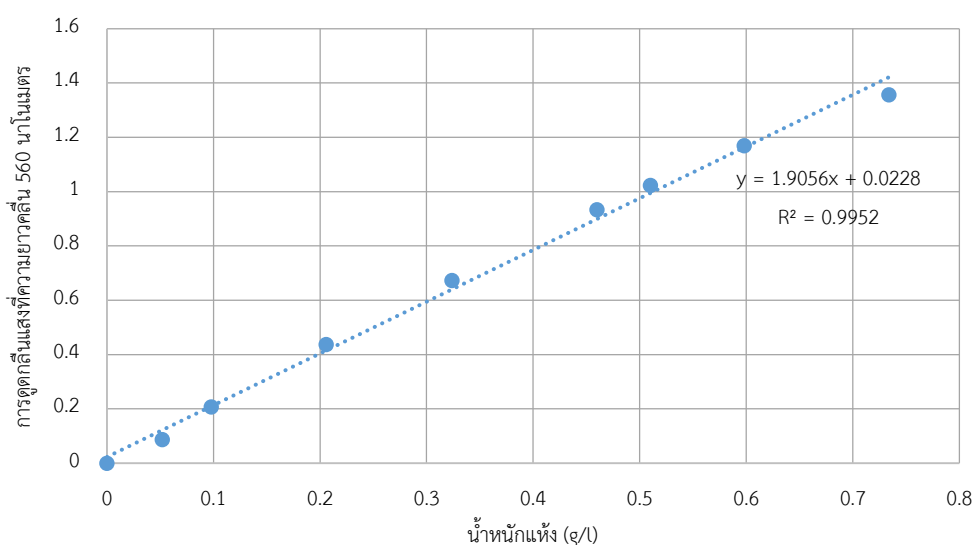
รูปที่ 4.1 น้ำหนักแห้งของตัวอย่างสารละลายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ระยะต่างๆ



รูปที่ 4.2 ความดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารละลายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ระยะต่างๆ

4.1.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งและค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ในการทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการทดลองต้องมีการติดตามการเจริญสาหร่าย แต่การวัดปริมาณน้ำหนักแห้งของตัวอย่างสาหร่ายนั้นใช้เวลานานในการตรวจวัด จึงทำกราฟความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งและค่าการดูดกลืนแสงเพื่อใช้ในการหาปริมาณสาหร่าย โดยพบว่าน้ำหนักแห้งกับการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์กัน กล่าวคือ เมื่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่างสาหร่ายมากขึ้น ส่งผลให้มีการดูดกลืนแสงมากขึ้น ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งและค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

4.2 ปริมาณน้ำมันสะสมในสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer

ทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันสะสมสูงสุดในสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีของ Bligh and Dyer ที่เป็นวิธีการสกัดที่นิยมใช้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการและสามารถสกัดน้ำมันจากเซลล์สาหร่ายมากกว่า 95 % (Bligh และคณะ, 1959)

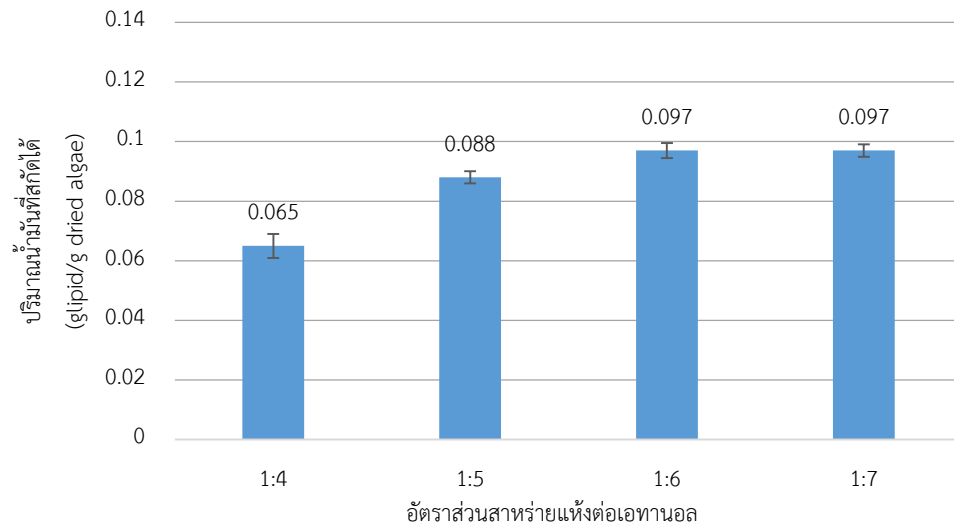
เมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันสะสมในตัวอย่างสาหร่ายที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 20 21 และ 22 วัน พบว่าปริมาณน้ำมันสะสมที่สกัดได้ที่ระยะเวลา 20 21 และ 22 วัน คือ 0.442 ± 0.000 0.474 ± 0.002 และ 0.453 ± 0.001 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (ภาคผนวก ก-2) โดยที่ระยะเวลา 20 วัน มีปริมาณน้ำมันสะสมน้อยที่สุดเนื่องจากสาหร่ายเพิ่งเข้าสู่สภาวะการเจริญเติบโตคงที่และสาหร่ายเริ่ม

สะสมน้ำมัน ที่ระยะเวลา 21 วัน สาหร่ายมีการสะสมปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้น และวันที่ 22 สาหร่ายเริ่มใช้น้ำมันภายในเซลล์เพื่อความอยู่รอดก่อนจะเข้าสู่ Death Phase ในวันที่ 23 ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกวันที่ 21 เป็นวันที่เหมาะสม ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยของ Mezzomo และคณะ (2010) ที่รายงานว่าเป็นวันที่ 20-23 เป็นช่วงที่มีการสะสมน้ำมันเนื่องจากเป็นช่วง Stationary phase

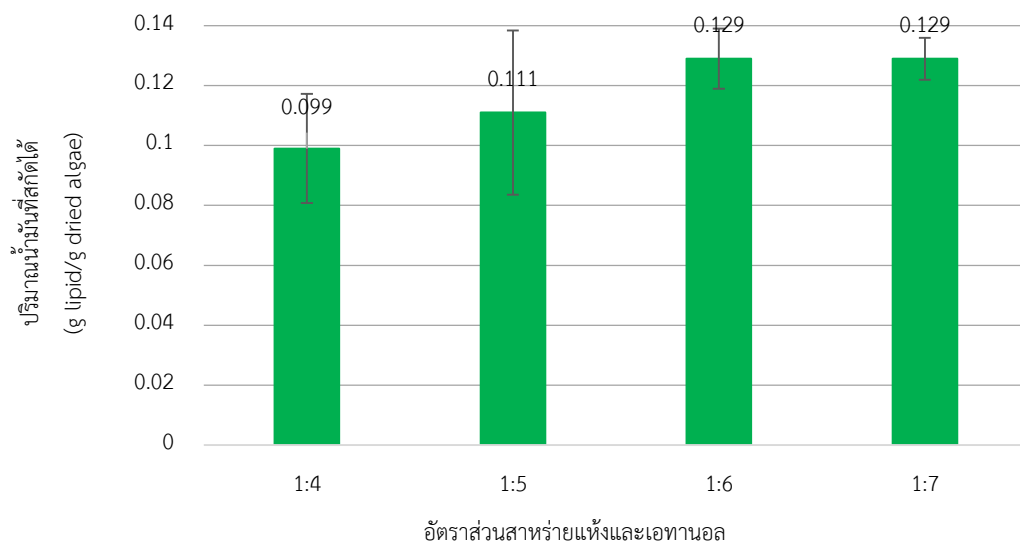
4.3 การสกัดน้ำมันจากตัวอย่างสาหร่ายด้วยเอทานอล อัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

4.3.1 การสกัดน้ำมันด้วยเอทานอล

การศึกษาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ที่อัตราส่วนระหว่างสาหร่ายแห้งต่อเอทานอล 1:4 1:5 1:6 และ 1:7 ของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม และตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.4 และ 4.5 พบว่ามีปริมาณน้ำมันสะสมเท่ากับ 0.097 ± 0.003 (ภาคผนวก ก-2) และ 0.129 ± 0.010 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (ภาคผนวก ก-3) ตามลำดับ โดยพบว่าที่อัตราส่วนสาหร่ายแห้งต่อเอทานอล 1:6 และ 1:7 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ภาคผนวก ค-1) และเมื่อเปรียบเทียบกับผลจากการสกัดน้ำมันด้วยวิธี Bligh and Dyer พบว่าวิธี Bligh and Dyer ที่ 21 วัน สามารถสกัดน้ำมันได้ปริมาณสูงกว่า คือ 0.474 ± 0.002 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง และจากงานวิจัยของ El-Shimi และคณะ (2013) ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย สไปรูลิน่าที่อัตราส่วนสาหร่ายต่อตัวทำละลายต่างกัน โดยจากการศึกษาพบว่า เมื่ออัตราส่วนสาหร่ายแห้งและตัวทำละลายในการสกัดเพิ่มขึ้น จะสกัดน้ำมันได้ในปริมาณที่มากขึ้นและคงที่แม้ว่าจะใช้ปริมาณตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงทำการเลือกอัตราส่วนที่ใช้ทดลอง ที่ 1:6 เพราะเป็นอัตราส่วนที่ใช้ตัวทำละลายน้อยที่สุด แต่ได้ปริมาณน้ำมันสะสมมากที่สุด



รูปที่ 4.4 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบวญสมฟาร์มที่อัตราส่วนสาหร่ายแห้งต่อเอทานอลต่างๆ

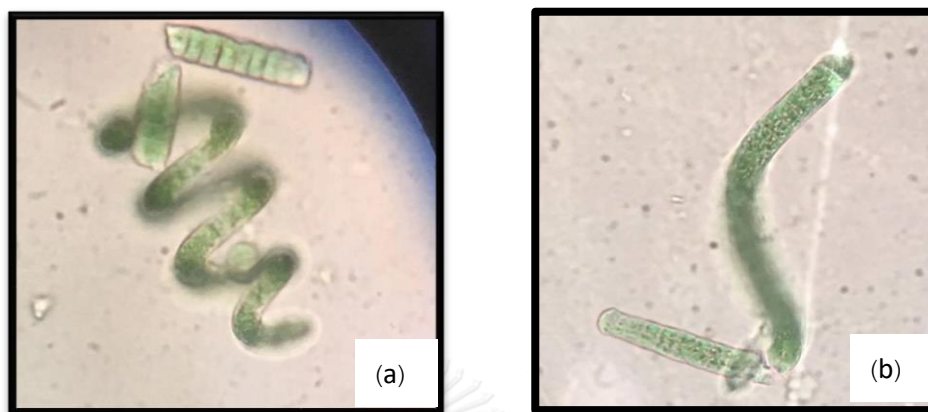


รูปที่ 4.5 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อัตราส่วนสาหร่ายแห้งต่อเอทานอลต่างๆ

4.3.2 การใช้อัลตราซาวด์

เมื่อทำการส่องเซลล์สาหร่ายสไปรูลิनाก่อนการสกัดด้วยอัลตราซาวด์และหลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าสาหร่ายก่อนอัลตราซาวด์มีลักษณะเป็นเกลียวอย่างชัดเจน ดังรูปที่ 4.6(a) และเมื่อนำสาหร่ายไปทำการอัลตราซาวด์เป็นเวลา 15 นาที

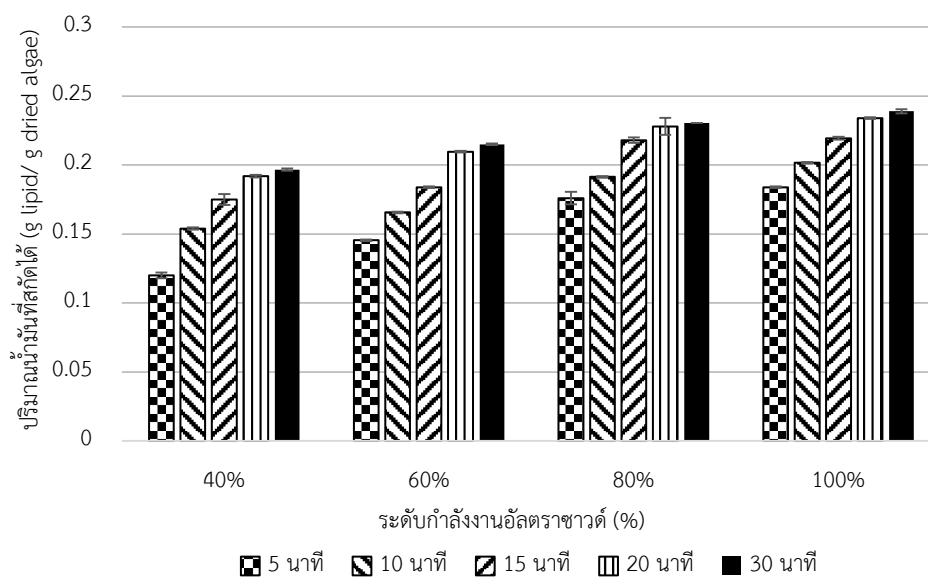
พบว่าการอัลตราซาวด์ส่งผลให้สาหร่ายคลายเกลียว และเซลล์แตกออกจากกัน มีลักษณะดังรูป 4.6 (b)



รูปที่ 4.6 สาหร่ายสไปรูลิน่าก่อนและหลังอัลตราซาวด์

(a) เซลล์ก่อนอัลตราซาวด์ (b) เซลล์หลังอัลตราซาวด์เป็นเวลา 15 นาที

เมื่อทำการสกัดน้ำมันจากตัวอย่างสาหร่ายบิโกลูสมฟาร์มด้วยวิธีอัลตราซาวด์ ได้ผลการทดลอง ดังรูปที่ 4.7 และภาคผนวก ก-4 พบว่าที่ระดับกำลังงาน 100 % เวลา 30 นาที มีปริมาณน้ำมันสูงสุด คือ 0.239 ± 0.002 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ซึ่งใกล้เคียงกับที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 นาที คือ 0.234 ± 0.001 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง โดยเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าวิธีอัลตราซาวด์ที่ ระดับกำลังงานเดียวกัน ที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 และ 30 นาที ไม่มีความแตกต่างกันทาง นัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาคผนวก ค-2 และ ค-3) แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ สำหรับ ระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์อื่นๆ พบว่า ระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ ส่งผลต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ กล่าวคือ ยิ่งระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์เพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ก็เพิ่มขึ้นด้วย โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ภาคผนวก ค-2 และ ค-3) และพบว่าระยะเวลาอัลตราซาวด์มีผลต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้มากกว่า ระดับกำลังงาน กล่าวคือ เมื่อเพิ่มเวลาในการอัลตราซาวด์ จะสกัดน้ำมันได้มากกว่าการเพิ่มระดับ กำลังงาน (ภาคผนวก ค-4)



รูปที่ 4.7 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงาน และเวลาต่างๆ

Parimi และคณะ (2015) ศึกษาปริมาณน้ำมันหลังการสกัดโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่า โดยใช้โพรบอัลตราซาวด์ ที่ระดับกำลังงาน 20% เป็นเวลา 60 นาที แล้วสกัดน้ำมันด้วยวิธีของ Folch โดยใช้คลอโรฟอร์มต่อเมทานอลในอัตราส่วน 2:1 พบว่า มีปริมาณน้ำมัน 8.03% โดยน้ำหนัก และงานวิจัยของ El-shimi และคณะ (2013) ที่ทำการศึกษ ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสไปรูลิน่า โดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล อัตราส่วนระหว่างสาหร่ายต่อตัวทำละลายเอทานอล คือ 1:5 พบว่าได้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.1095 กรัมไขมันต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ซึ่งสกัดน้ำมันได้ปริมาณน้อยกว่าวิธีอัลตราซาวด์อาจเป็นเพราะว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วซึ่งอาจสกัดน้ำมันได้เฉพาะน้ำมันที่มีขั้วจึงอาจสกัดน้ำมันออกมาได้น้อยกว่า แต่ทั้งนี้ก็ต้องเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันและองค์ประกอบอื่นๆของน้ำมันที่สกัดได้ด้วย

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันจากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มและที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ที่ระยะเวลาเท่ากัน พบว่า ปริมาณน้ำมันจะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับกำลังงานเพิ่มขึ้น และเช่นเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบที่ระดับกำลังงานเดียวกัน เมื่อเพิ่มระยะเวลาให้นานขึ้น (วนากานต์, 2557) ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าเมื่อเพิ่มระดับกำลังงานและระยะเวลา ทำให้สามารถสกัดน้ำมันได้มากขึ้น แต่การใช้ระดับกำลังงานของอัลตราซาวด์ในการสกัดน้ำมันสูง ต้องใช้พลังงานไฟฟ้ามากด้วย จึงอาจไม่คุ้มค่าต่อการลงทุน

4.3.3 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล

การวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ ปัจจัยหลักในการพิจารณา คือ พลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัด (ภาคผนวก ก-5) จึงได้ทำการเปรียบเทียบพลังงานไฟฟ้าที่ใช้สกัดน้ำมันจากผลการทดลองเพื่อหาช่วงที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันของตัวอย่างสาหร่ายบิโอบุสพาร์ม สรุปได้ว่าระดับกำลังงานและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ทำให้สามารถสกัดน้ำมันได้น้อยลง โดยพิจารณาจากรูปที่ 4.8

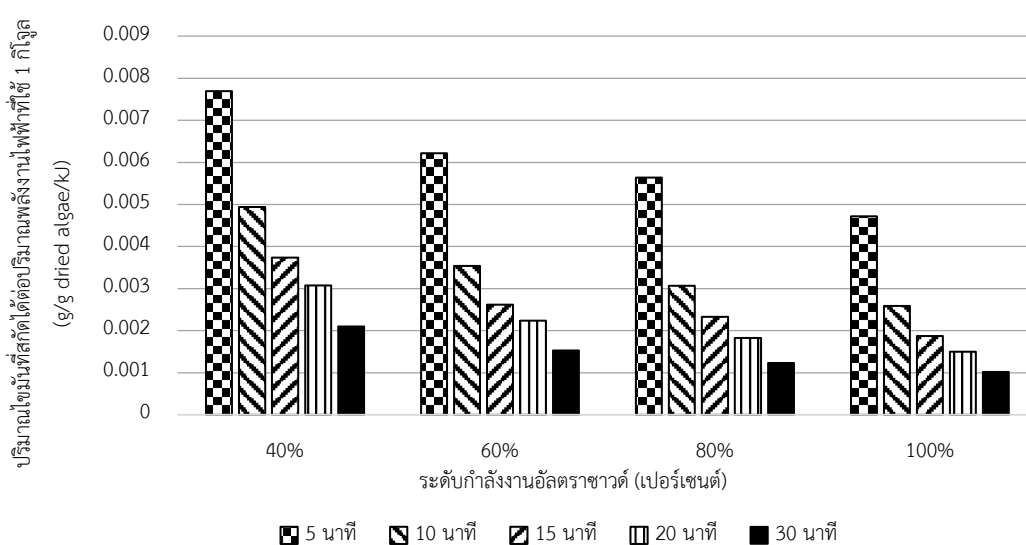
เมื่อคำนวณปริมาณน้ำมันที่ได้จากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบุสพาร์มต่อพลังงานที่ใช้ 1 กิโลจูล พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ คือ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที และ ระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลา 5 นาที ค่าปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัด 1 กิโลจูล ได้เท่ากับ 0.008 และ 0.006 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้งต่อพลังงานไฟฟ้า 1 กิโลจูล ตามลำดับ (รูปที่ 4.8) โดยวิธีการคำนวณดังแสดงในภาคผนวกที่ ก-6

เมื่อทำการทดลองโดยใช้ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยเลือกอัลตราซาวด์ 3 สภาวะ คือ สภาวะที่สามารถสกัดน้ำมันได้สูงสุด 1 สภาวะ คือ ที่ระดับกำลังงาน 100% ระยะเวลา 30 นาที และสภาวะที่เหมาะสม 2 สภาวะ คือ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที และระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลา 5 นาที โดยพบว่าที่ระดับกำลังงาน 100% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 30 นาที มีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.228 ± 0.002 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (แสดงในภาคผนวก ก-4) ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที และระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลา 5 นาที มีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.193 ± 0.001 และ 0.212 ± 0.003 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (ภาคผนวก ก-4) ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณน้ำมันจากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบุสพาร์ม

เมื่อนำผลการวิเคราะห์จากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบุสพาร์มเปรียบเทียบกับสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยการสกัดน้ำมันจากช่วงที่เหมาะสม คือ ที่ระดับกำลังงาน 40% และระยะเวลา 5 นาที และที่ระดับกำลังงาน 60% และระยะเวลา 5 นาที โดยพบว่าตัวอย่างสาหร่ายบิโอบุสพาร์มมีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.120 ± 0.002 และ 0.146 ± 0.001 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (รูปที่ 4.8) และตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.193 ± 0.001 และ 0.212 ± 0.003 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ (ภาคผนวก ก-4) และคำนวณปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานที่ใช้ในการสกัด 1 กิโลจูล ได้เท่ากับ 0.012 และ 0.008 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้งต่อพลังงานไฟฟ้า 1 กิโลจูล ตามลำดับ (รูปที่ 4.8) โดยวิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวกที่ ก-6 จะเห็นว่า ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีการสะสมปริมาณน้ำมันมากกว่าตัวอย่างสาหร่ายบิโอบุสพาร์ม แสดงว่า

ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีปริมาณน้ำมันที่สกัดได้มากกว่าตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มต่อพลังงานไฟฟ้า 1 กิโลจูล

สำหรับการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ พบว่า ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำมันของตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์ม และตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการเนื่องจากสกัดน้ำมันได้ปริมาณมากที่สุดต่อพลังงานที่ใช้ 1 กิโลจูล

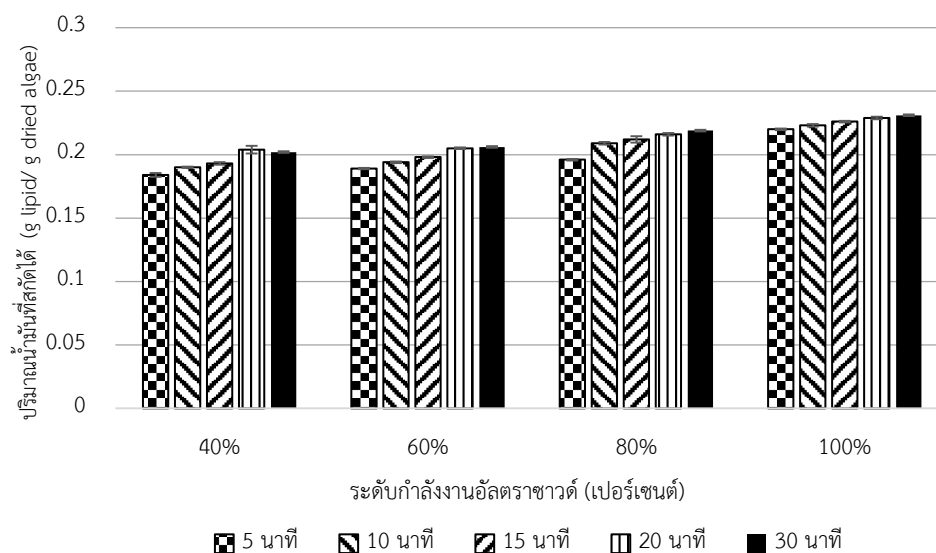


รูปที่ 4.8 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

4.3.4 การใช้อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

เมื่อทำการสกัดน้ำมันจากตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ได้ผลแสดงในภาคผนวก ก-7 และรูปที่ 4.9 ที่ระดับกำลังงาน 100% และระยะเวลาอัลตราซาวด์ 30 นาที สามารถสกัดน้ำมันได้สูงสุดเท่ากับ 0.231 ± 0.001 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าระดับกำลังงานส่งผลต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ กล่าวคือ ยิ่งเพิ่มระดับกำลังงานทำให้สกัดน้ำมันได้มากขึ้น (ภาคผนวก ค-5) สำหรับระยะเวลาจะมีผลต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ในช่วง 5-20 นาที หลัง 20 นาทีเป็นต้นไป ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาคผนวก ค-6) นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ระดับกำลังงานมีผลต่อวิธีการสกัดด้วย

อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลมากกว่าระยะเวลาอัลตราซาวด์ (ภาคผนวก ค-7) กล่าวคือ ถ้าเพิ่มระดับกำลังงานอาจทำให้สกัดน้ำมันออกมาได้มากกว่าการเพิ่มระยะเวลาในการสกัด



รูปที่ 4.9 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบิโบลูสมิพารมด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Guldhe และคณะ (2014) พบว่า ปริมาณน้ำมันที่ได้จาก *Scenedesmus* sp. สกัดด้วยวิธี ultrasound ที่ระดับกำลังงาน 100 วัตต์ ที่ความถี่ 22.5 กิโลเฮิร์ต เป็นเวลา 2 นาที ร่วมกับตัวทำละลายคลอโรฟอร์มกับเอทานอล (1:1) พบว่า ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ คือ 0.188 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง พบว่าน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลมีปริมาณสูงกว่า อาจเป็นเพราะลักษณะของสาหร่ายที่ใช้โดย *Spirulina platensis* เป็นสาหร่ายทรงเกลียวซึ่งทนต่อการอัลตราซาวด์ได้น้อยกว่า *Scenedesmus* sp ที่มีรูปทรงไข่หรือกระสวย นอกจากนี้ *Spirulina platensis* ยังมีขนาดใหญ่กว่า *Scenedesmus* sp อาจทำให้เซลล์เสียหายมากกว่าเมื่อทำการอัลตราซาวด์ ซึ่งอาจทำให้สกัดปริมาณน้ำมันได้มากกว่า แต่ทั้งนี้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้นั้นก็ขึ้นกับปัจจัยอื่นๆ เช่น ความถี่ ระดับกำลังงาน ระยะเวลาอัลตราซาวด์ และตัวทำละลายที่ใช้สกัดด้วย (Keris-Sen และคณะ, 2014) สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเรื่องตัวทำละลาย Nautiyal และคณะ (2014) ศึกษาปริมาณน้ำมันที่ได้จาก *Spirulina platensis* โดยวิธีการสกัดน้ำมันจากตัวอย่างสาหร่ายด้วยเมทานอล โดยมีอัตราส่วนสาหร่ายต่อเมทานอลเป็น 1:4 พบว่า ได้ปริมาณน้ำมัน เท่ากับ 0.086 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ซึ่งสกัดน้ำมันได้ปริมาณน้อยกว่าวิธีอัลตราซาวด์อาจเป็นเพราะเมทา

นอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วซึ่งอาจสกัดน้ำมันได้เฉพาะน้ำมันที่มีขั้วจึงอาจสกัดน้ำมันออกมาได้น้อยกว่า แต่ทั้งนี้ก็ต้องศึกษาปริมาณกรดไขมันและองค์ประกอบอื่นๆของน้ำมันที่สกัดได้ด้วย

4.3.5 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล

สำหรับการสกัดน้ำมันจากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลเมื่อคำนวณปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานที่ใช้ 1 กิโลจูล พบว่าช่วงที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล คือ ที่ระดับกำลังงาน 40% ที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที พบว่าปริมาณน้ำมัน คือ 0.184 ± 0.002 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (รูปที่ 4.9) วิธีคำนวณดังภาคผนวกที่ ก-7 โดยคำนวณปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัด 1 กิโลจูล ได้เท่ากับ 0.012 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้งต่อพลังงานไฟฟ้า 1 กิโลจูล (รูปที่ 4.10) วิธีการคำนวณดังแสดงในภาคผนวก ก-8

เมื่อทำการทดสอบกับตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยเลือกทำ 3 สภาวะ คือ สภาวะที่สกัดน้ำมันได้สูงที่สุด 1 สภาวะ คือ ที่ระดับกำลังงาน 100% ระยะเวลา 30 นาที และสภาวะที่เหมาะสม 2 สภาวะ คือ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที และระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลา 5 นาที พบว่าที่ระดับกำลังงาน 100% และระยะเวลา 30 นาที มีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.214 ± 0.003 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง และที่ระดับกำลังงาน 40% และระยะเวลา 5 นาที และระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลา 5 นาที พบว่ามีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.196 ± 0.002 และ 0.202 ± 0.003 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (ภาคผนวกที่ ก-7) หรือ 0.013 และ 0.009 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้งต่อพลังงานไฟฟ้า 1 กิโลจูล (ภาคผนวกที่ ก-8) พบว่าตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีการสะสมปริมาณน้ำมันมากกว่าตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม

เมื่อนำผลการวิเคราะห์ของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มเปรียบเทียบกับตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยการสกัดน้ำมันจากสภาวะที่เหมาะสม คือ ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที และ ระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลา 5 นาที พบว่าตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม มีปริมาณน้ำมัน คือ 0.184 ± 0.002 และ 0.189 ± 0.001 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (ภาคผนวกที่ ก-7) และตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.196 ± 0.002 และ 0.202 ± 0.003 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (ภาคผนวก ก-7) หรือ 0.013 และ 0.009 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้งต่อพลังงานไฟฟ้า 1 กิโลจูล (ภาคผนวก ก-8) พบว่า ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีการสะสมปริมาณน้ำมันที่สกัดได้มากกว่าตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล

สำหรับการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล พบว่า ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที เป็นสถานะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำมันจากตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มและตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการเนื่องจากสกัดน้ำมันได้ปริมาณมากที่สุดต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล

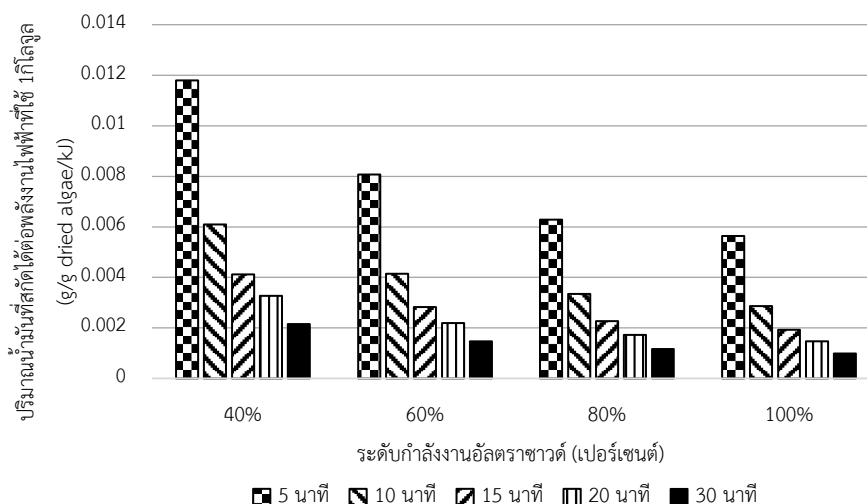
เมื่อเปรียบเทียบผลจากรูปที่ 4.7 และ 4.9 พบว่า การสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล (รูปที่ 4.8) สกัดปริมาณน้ำมันได้มากกว่าการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ (รูปที่ 4.7) แต่ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้นช้ากว่าอัลตราซาวด์ และที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 และ 30 นาที ไม่ส่งผลต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (ภาคผนวก ค-5) อาจเป็นเพราะว่า เมื่อทำการอัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลายเอทานอล เอทานอลมีความดันไอน้ำมากกว่าน้ำ จึงทำให้เกิดคาวีเทชันได้ง่าย แต่ความรุนแรงของคาวีเทชันต่ำ จึงสกัดน้ำมันได้ปริมาณแตกต่างกันในแต่ละระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ (Mason, 1989)

สำหรับปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลเมื่อพิจารณาโดยวิธีทางสถิติพบว่า ไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่าวิธีใดสามารถสกัดน้ำมันได้ดีกว่ากัน เนื่องจากมีปัจจัยของระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์มาเกี่ยวข้อง ซึ่งจากผลการวิเคราะห์นั้นมีค่าใกล้เคียงกัน ดังแสดงในภาคผนวกที่ ค-4 และ ค-7

แต่เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.9 และพิจารณาในเรื่องของปริมาณกรดไขมันที่อาจจะสกัดได้ด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล จากงานวิจัยของ Krishnan และคณะ (2015) จึงเลือกสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที เนื่องจากสามารถสกัดปริมาณน้ำมันได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเดียวกัน ที่ระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์อื่นๆ นอกจากนี้ยังสกัดน้ำมันได้มากกว่าวิธีอัลตราซาวด์เมื่อเปรียบเทียบกับพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างบุงูสมฟาร์มด้วยวิธี Bligh and Dyer พบว่ามีปริมาณน้ำมันที่สกัดได้เท่ากับ 0.374 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง สำหรับวิธีอัลตราซาวด์และวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 100% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 30 นาที มีปริมาณน้ำมันสูงสุด เท่ากับ 0.239 ± 0.002 และ 0.231 ± 0.001 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกันแล้ว พบว่า วิธี Bligh and Dyer ได้ปริมาณน้ำมันมากที่สุด แต่สีของน้ำมันมีสีเขียวเข้ม อาจเป็นเพราะว่ามีคลอโรฟิลล์ปนอยู่มาก ซึ่งอาจส่งผลเสียต่อคุณภาพของน้ำมัน เมื่อเปรียบเทียบกับ

วิธีอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล พบว่าวิธีอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลมีสีน้ำมันอ่อนกว่า

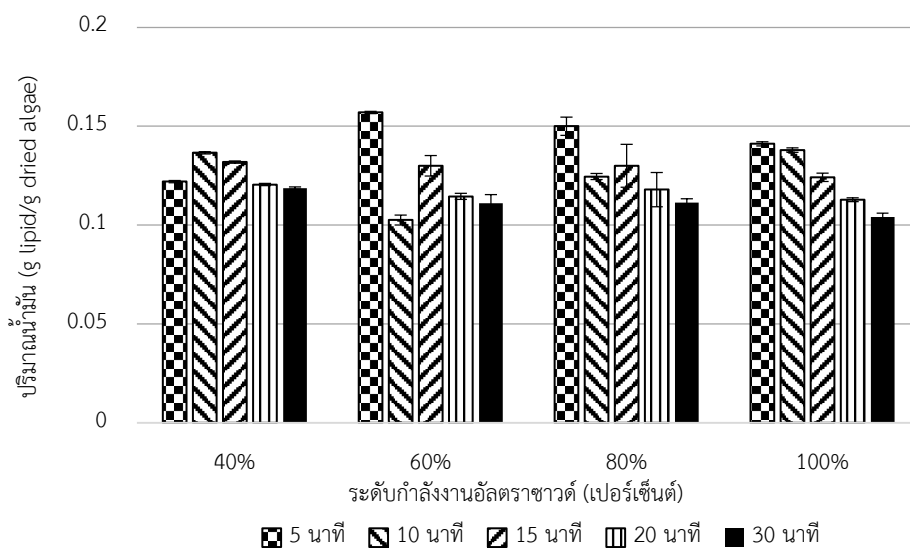


รูปที่ 4.10 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

4.3.6 ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มหลังอัลตราซาวด์

ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์ม วิเคราะห์ด้วยวิธี Bligh and Dyer ดังแสดงในรูปที่ 4.11 พบว่าปริมาณน้ำมันในกากสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มมีปริมาณสูงสุดคือ 0.157 ± 0.001 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ที่ระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลา 5 นาที และมีปริมาณน้ำมันต่ำสุดคือ 0.102 ± 0.003 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ที่ระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลา 10 นาที (ภาคผนวก ก-9)

ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์ด้วยวิธี Bligh and Dyer โดยวิเคราะห์ที่ 3 สภาวะเช่นเดียวกับการสกัดน้ำมัน คือ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที ระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที และที่ระดับกำลังงาน 100% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 30 นาที พบว่าปริมาณน้ำมันในกากของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีปริมาณสูงสุดคือ 0.123 ± 0.002 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ที่ระดับกำลังงาน 40 % ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที และมีปริมาณน้ำมันต่ำสุดคือ 0.102 ± 0.003 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ที่ระดับกำลังงาน 100 % ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 30 นาที (ภาคผนวก ก-9)



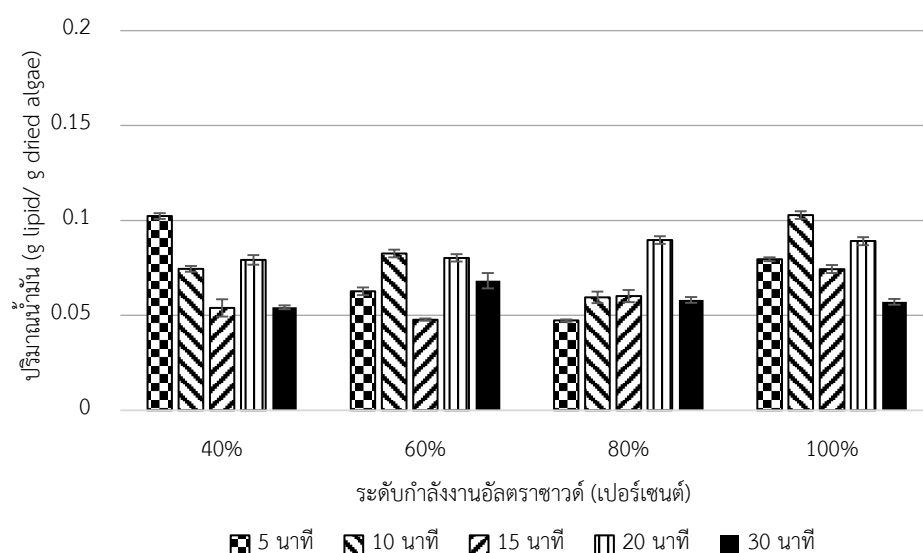
รูปที่ 4.11 ปริมาณน้ำมันในกากสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

4.3.7 ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มหลังอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มจะตรวจสอบด้วยวิธี Bligh and Dyer ดังแสดงในรูปที่ 4.12 พบว่า กากสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์ม มีปริมาณน้ำมันสูงสุดคือ 0.102 ± 0.002 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ที่ระดับกำลังงาน 40 % ระยะเวลา 5 นาที และมีปริมาณน้ำมันต่ำที่สุดคือ 0.047 ± 0.002 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ที่ระดับกำลังงาน 60 % ระยะเวลา 15 นาที (ภาคผนวก ก-10) โดยมีความเป็นไปได้ที่จะนำสาหร่ายหลังจากการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ไปสกัดซ้ำด้วยวิธีอื่นๆ

ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์ด้วยวิธี Bligh and Dyer โดยวิเคราะห์ที่ 3 สภาวะเช่นเดียวกับการสกัดน้ำมัน คือ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที ระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลา 5 นาที และที่ระดับกำลังงาน 100% ระยะเวลา 30 นาที พบว่าปริมาณน้ำมันในกากของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีปริมาณสูงที่สุดคือ 0.082 ± 0.002 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ที่ระดับกำลังงาน 40 % ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที และมีปริมาณน้ำมันต่ำที่สุดคือ 0.056 ± 0.001 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้งที่ระดับกำลังงาน 100 % ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 30 นาที (ภาคผนวก ก-10)

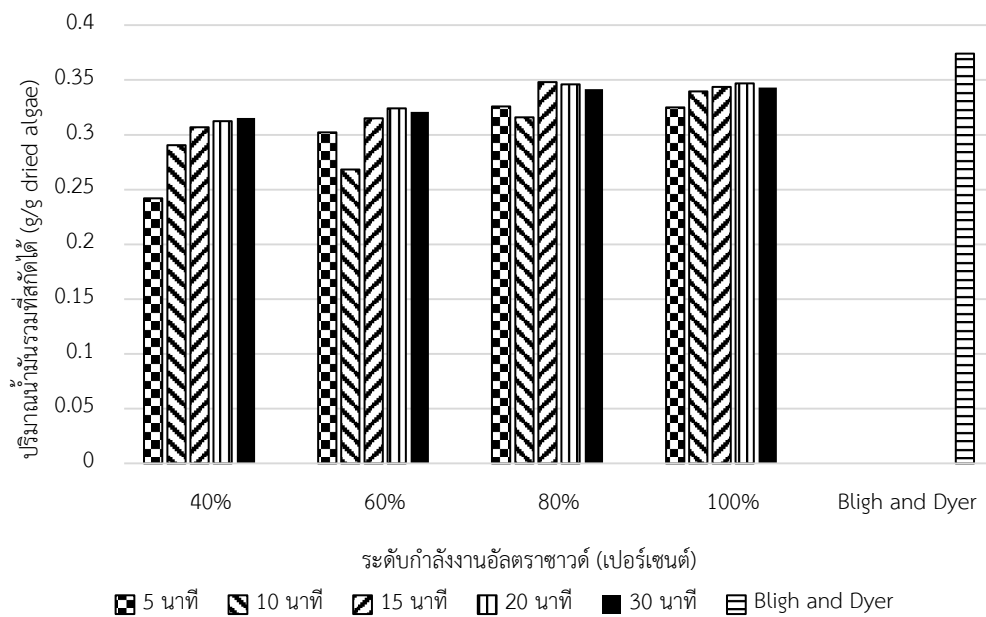
เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างสาหร่ายบิโญสมฟาร์มและตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ หลังจากอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล พบว่ามีปริมาณน้ำมันที่เหลือนแตกต่างกันในแต่ละระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์



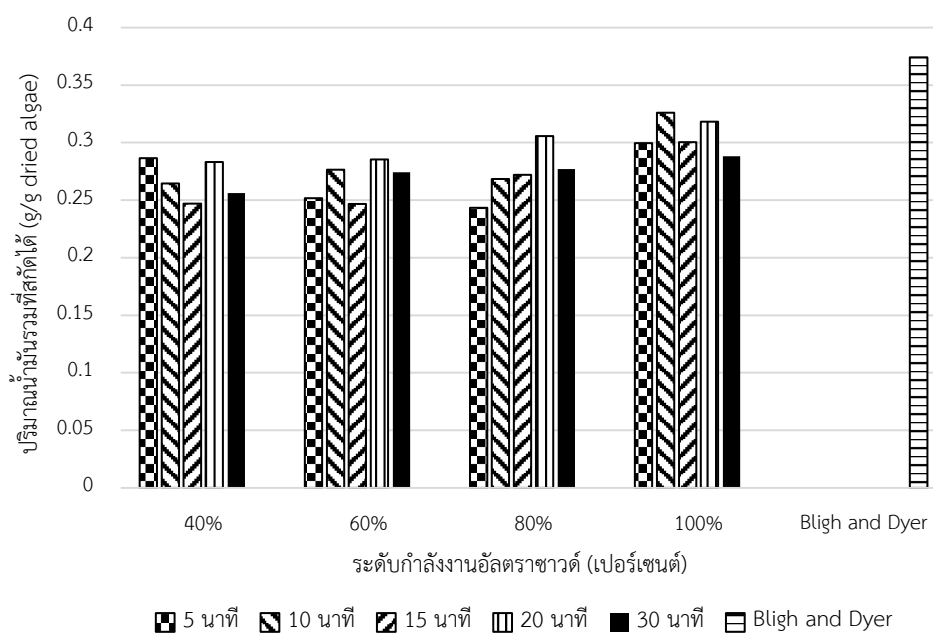
รูปที่ 4.12 ปริมาณน้ำมันในกากสาหร่ายบิโญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

จากรูป 4.13 และ 4.14 จะเห็นได้ว่า แม้จะมีปริมาณน้ำมันตั้งต้นไม่เท่ากันในแต่ละระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์แต่สามารถเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์รวมของน้ำมันจากการสกัดจากตัวอย่างสาหร่ายบิโญสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์และในกากสาหร่าย ที่ระดับกำลังงาน 80% นาน 15 นาที มีปริมาณน้ำมันรวมสูงสุด คือ 0.348 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ปริมาณน้ำมันรวมในตัวอย่างสาหร่ายบิโญสมฟาร์มที่สกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลและกากสาหร่าย ที่ระดับกำลังงาน 100% นาน 10 นาที มีปริมาณน้ำมันรวมสูงสุด คือ 0.326 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง โดยผลการทดลองที่ได้มีปริมาณน้ำมันรวมใกล้เคียงกับปริมาณน้ำมันที่สกัดจากวิธี Bligh and Dyer คือ 0.374 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง เนื่องจากเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขี้ จึงสกัดได้เฉพาะน้ำมันที่มีขี้ ดังนั้นอาจต้องใช้ตัวทำละลายอื่นที่ไม่มีขี้มาช่วยในการสกัด เช่น คลอโรฟอร์ม (El-Shimi และคณะ, 2013) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Guldhe และคณะ (2014) พบว่า ปริมาณน้ำมันที่ได้จาก *Scenedesmus* sp. สกัดด้วยวิธีอัลตราซาวด์ ที่ระดับกำลังงาน 100 วัตต์ ที่ความถี่ 22.5 กิโลเฮิร์ตเป็นเวลา 2 นาที ร่วมกับตัวทำละลายคลอโรฟอร์มกับเอทานอล (1:1) พบว่า ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ คือ 0.188 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ถือว่าได้ปริมาณน้อยกว่างานวิจัยนี้โดยอาจเป็นเพราะ

รูปทรงและขนาดของสาหร่ายซึ่งทนต่อการอัลตราซาวด์ได้แตกต่างกัน แต่ทั้งนี้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้นั้นก็ขึ้นกับปัจจัยอื่นๆ เช่น ความถี่ระดับกำลังงาน ระยะเวลาอัลตราซาวด์ และตัวทำละลายที่ใช้สกัดด้วย (Keris-Sen และคณะ, 2014) จึงอาจทำให้สกัดปริมาณน้ำมันได้มากกว่า



รูปที่ 4.13 ปริมาณน้ำมันรวมที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยอัลตราซาวด์และกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับวิธี Bligh and Dyer



รูปที่ 4.14 ปริมาณน้ำมันรวมที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลและกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับวิธี Bligh and Dyer

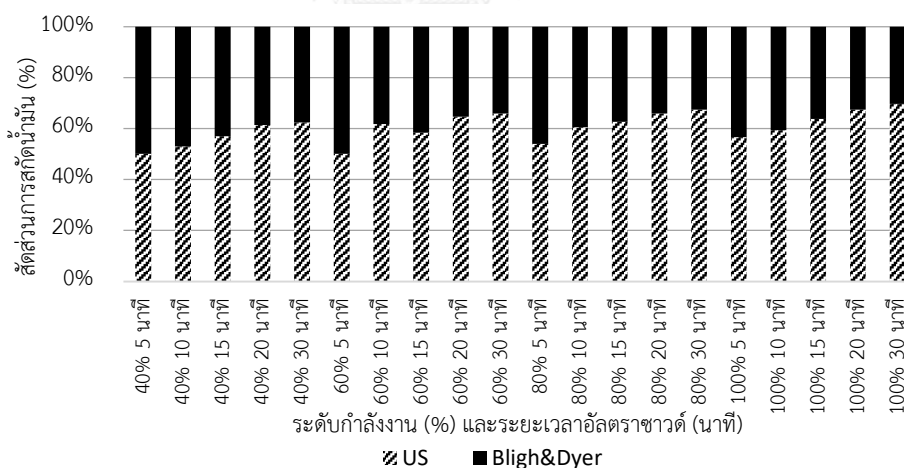
รูปที่ 4.15 และ 4.16 เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์และปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer

จากรูปที่ 4.15 สัดส่วนของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยวิธีอัลตราซาวด์ต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากกากสาหร่ายเพิ่มสูงขึ้นตามระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ทำให้เกิดคาวิตีชันมากขึ้น และเกิดแรงดันไปทำลายผนังเซลล์สาหร่าย ซึ่งจะเพิ่มโอกาสให้น้ำมันออกมาจากเซลล์สาหร่ายได้มากขึ้น โดยปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากวิธีอัลตราซาวด์จะคิดเป็น 50-71% ของผลรวมปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยวิธีอัลตราซาวด์และปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากกากสาหร่ายในแต่ละระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์

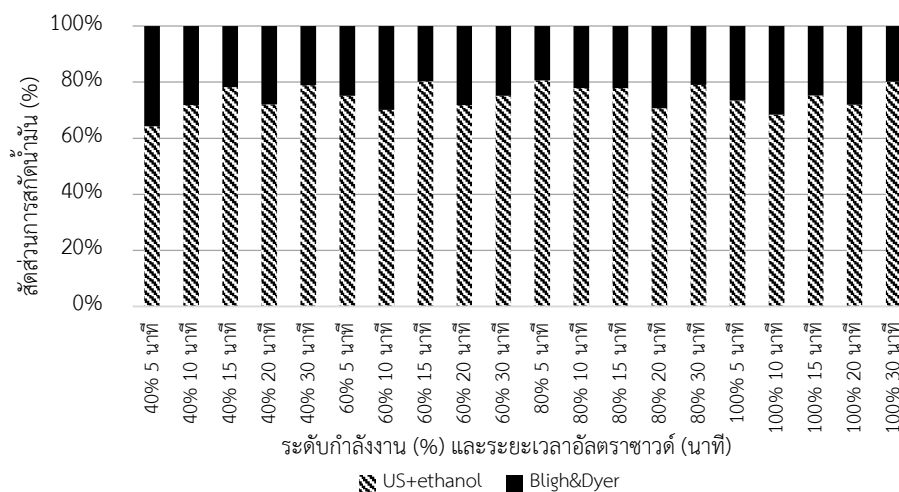
จากรูปที่ 4.16 สัดส่วนของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากกากสาหร่ายเพิ่มสูงขึ้นตามระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน ในช่วงระดับกำลังงานต่ำๆและระยะเวลาอัลตราซาวด์น้อยๆ เนื่องจากเอทานอลช่วยสกัดน้ำมันในช่วงแรก แต่เมื่อเพิ่มระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ก็ไม่ได้ส่งผลให้มีปริมาณน้ำมันเพิ่มสูงขึ้นอาจเป็นเพราะเมื่อสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอ

ทานอล เอทานอลมีความดันไอมากกว่าน้ำจึงทำให้เกิดควิเทชันได้ง่าย แต่มีความรุนแรงของควิเทชันต่ำ เป็นผลให้สกัดน้ำมันได้ปริมาณที่ไม่แตกต่างกันมากในแต่ละระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ (Mason, 1998) โดยปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล จะคิดเป็น 62-80% ของผลรวมน้ำมันที่สกัดได้จากวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลและปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากกากสาหร่ายในแต่ละระดับกำลังงาน และระยะเวลาอัลตราซาวด์

จากการทดลองสกัดน้ำมันทั้งหมดอาจสรุปได้ว่าวิธีการสกัดด้วยเอทานอลนั้นได้ปริมาณน้ำมันน้อยสุด คือ 0.129 กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ตามด้วยวิธีอัลตราซาวด์นั้นสกัดปริมาณน้ำมันได้สูงโดยเพิ่มขึ้นตามระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ แต่ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานที่ใช้้น้อยกว่าวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล อย่างไรก็ตาม วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลซึ่งสกัดน้ำมันได้สูงในช่วงระดับกำลังงาน 40-60% เมื่อเพิ่มระดับกำลังงาน ความดันไอของเอทานอลส่งผลทำให้เกิดการควิเทชันได้ง่าย แต่มีความรุนแรงของควิเทชันต่ำ ดังนั้นถ้าเลือกวิธีที่ดีที่สุด วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลจึงอาจมีประสิทธิภาพและคุ้มค่าเมื่อพิจารณาในเรื่องปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล



รูปที่ 4.15 สัดส่วนปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มด้วยวิธีอัลตราซาวด์และปริมาณน้ำมันจากกากสาหร่ายที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆต่อปริมาณน้ำมันรวม



รูปที่ 4.16 สัดส่วนปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มด้วยวิธีอัลตราซาวด์ ร่วมกับเอทานอลและปริมาณน้ำมันจากกากสาหร่ายที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆต่อปริมาณน้ำมันรวม

4.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน

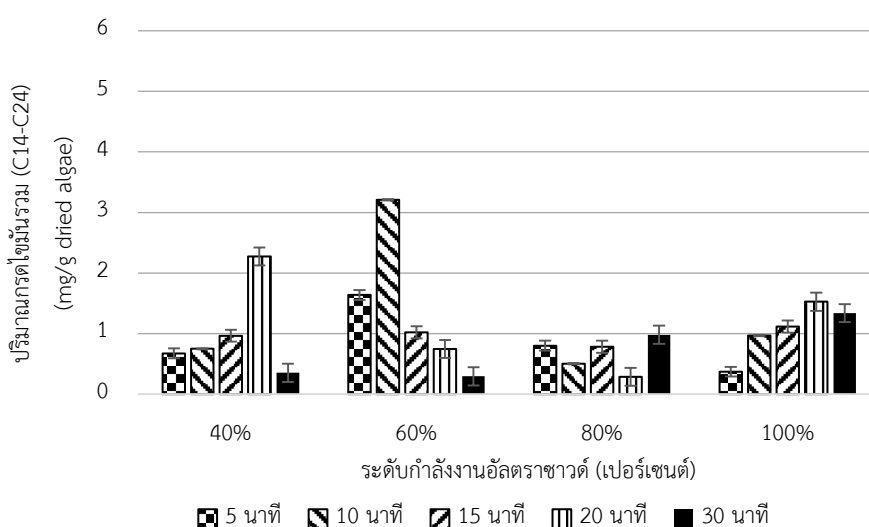
เป็นการวิเคราะห์ปริมาณเอสเทอร์ของ Fatty Acid Methyl Esters (FAMES) เพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของกรดไขมันที่ได้จากการสกัดในการนำไปผลิตไบโอดีเซล โดยกรดไขมันที่เหมาะสมต่อการผลิตไบโอดีเซลควรอยู่ระหว่าง C14-C24 (อัจฉรา อิมคำ, 2014)

4.4.1 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราซาวด์

ทดลองโดยใช้ตัวอย่างสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม โดยปริมาณกรดไขมันรวมที่สกัดได้จะแตกต่างกันไปตามแต่ละระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ ดังแสดงในรูป 4.17 สัดส่วนกรดไขมันมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ (ภาคผนวก ก-18) และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Two-way ANOVA พบว่าปริมาณกรดไขมันในแต่ละระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค-8) โดยกรดไขมันรวมที่พบมากที่สุด คือ ที่ระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที มีค่าเท่ากับ 3.210 ± 0.005 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (แสดงในภาคผนวก ก-13) โดยมีกรดไขมันหลัก คือ C16:0 (37.86%) C18:2n-6 (18.32%) และ C18:3n-3 (33.26%) (ภาคผนวก ก-17) ซึ่งมีสัดส่วนของกรดไขมันใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Nautiyal และคณะ (2014) ที่ทำการสกัด

น้ำมันจากสาหร่ายสไปรูลีนาโดยใช้ตัวทำละลาย คือ เมทานอล C16:0 (41.21%) C18:2n-6 (12.64%) และ C18:3n-3 (17.79%)

จากการทดลองพบว่า ที่ระดับกำลังงาน 40% เป็นเวลา 5 นาที ซึ่งเป็นสถานะเดียวกันกับการสกัดน้ำมันพบว่าปริมาณกรดไขมันรวมที่สกัดได้ของตัวอย่างสาหร่ายบิโอบุสฟาร์มและตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยอัลตราซาวด์ มีค่าแตกต่างกัน คือ 0.674 ± 0.004 และ 0.877 ± 0.003 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ (ภาคผนวก ก-17)



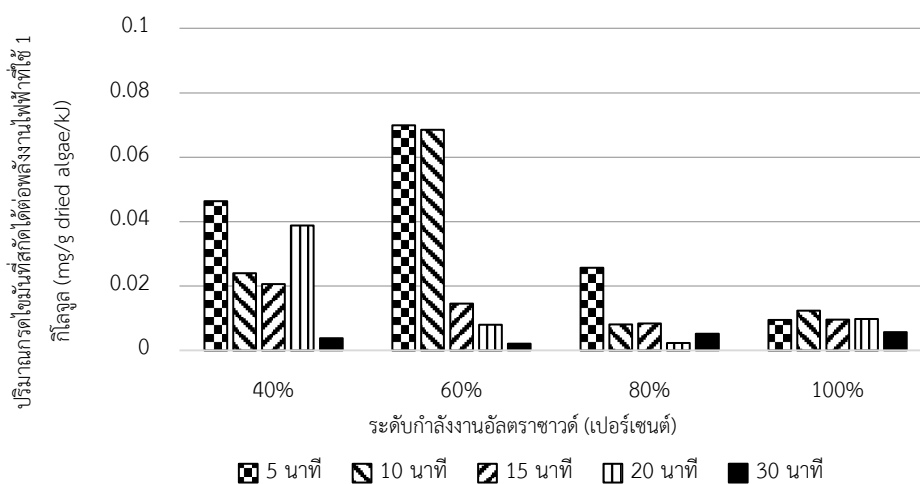
รูปที่ 4.17 ปริมาณกรดไขมันรวมจากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบุสฟาร์มที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

4.4.2 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล

เช่นเดียวกับการหาสถานะที่เหมาะสมของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ เนื่องจากปริมาณกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละสถานะการสกัดไม่เท่ากัน จึงพิจารณาคำนวณปริมาณกรดไขมันที่ได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 4.18 และการคำนวณพลังงานไฟฟ้าที่ใช้อัลตราซาวด์ในแต่ละสถานะดังแสดงในภาคผนวก ก-6 และปริมาณกรดไขมันต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล ดังแสดงในตารางภาคผนวก ก-14 ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพสูงสุดจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ คือ ที่ระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที โดยมีค่าเท่ากับ 0.07 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้งต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล

4.4.3 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสถานะของตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มเปรียบเทียบกับตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีอัลตราซาวด์

วิธีอัลตราซาวด์ที่สภาวะเหมาะสม คือ ที่ระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลา 5 นาที มีปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายฟาร์มบุงูสมและตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการเท่ากับ 1.640 ± 0.003 และ 0.053 ± 0.007 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (แสดงในภาคผนวก ก-17) โดยมีกรดไขมันหลักคือ C16:0 (40.6%) C18:2n-6 (18.1%) และ C18:3n-3 (33.6%) และ C16:0 (64.2%) C18:1n-9 (35.85%) (ภาคผนวก ก-17) ตามลำดับ



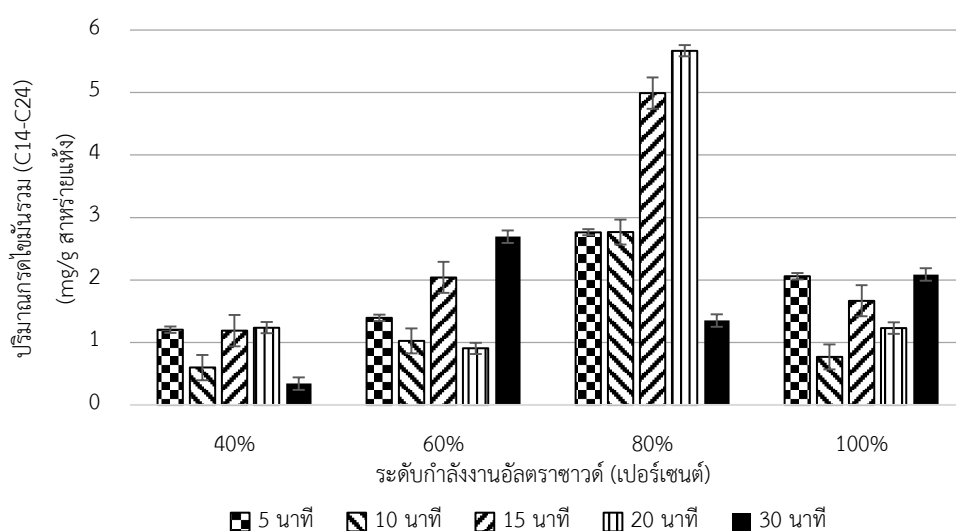
รูปที่ 4.18 ปริมาณกรดไขมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

4.4.4 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

สัดส่วนกรดไขมันมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ (ภาคผนวก ก-18) เนื่องจากทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Two-way ANOVA โดยพบว่าปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ในแต่ละระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค-10 และ ค-11) และกรดไขมันรวมที่พบมากที่สุด คือ ที่ระดับกำลังงาน 80% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 นาที เท่ากับ 5.670 ± 0.005 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (รูปที่ 4.19) โดยมีกรดไขมันหลักคือ C16:0 (54.55%) C18:1n-9 (24.61%) และ C18:2n-6 (14.96%) แสดงดังในภาคผนวก ก-18 ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Nautiyal และคณะ

(2014) ที่สกัดไขมันจากสาหร่ายสไปรูลิน่าโดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล พบว่าสัดส่วนกรดไขมันที่พบส่วนใหญ่คือ C16:0 (41.21%) C18:1n-9 (11.73%) และ C18:2n-6 (12.64%)

จากการทดลองพบว่า ที่ระดับกำลังงาน 40% เป็นเวลา 5 นาที ซึ่งเป็นสภาวะเดียวกันกับการสกัดน้ำมันพบว่าปริมาณกรดไขมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบุสและตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยอัลตราซาวด์ มีค่าแตกต่างกัน คือ 1.204 ± 0.003 และ 0.907 ± 0.002 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ (ภาคผนวก ก-17)



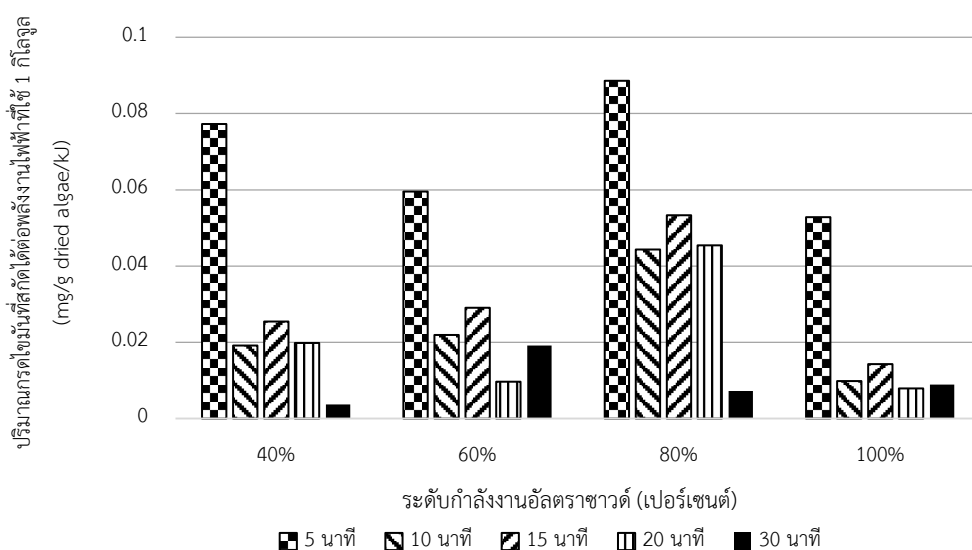
รูปที่ 4.19 ปริมาณกรดไขมันรวมที่สกัดได้จากสาหร่ายบิโอบุสด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

4.4.5 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล

สภาวะที่เหมาะสมจากการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายบิโอบุสด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล คือ ที่ระดับกำลังงาน 80% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที โดยมีค่าเท่ากับ 0.09 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้งต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล (รูปที่ 4.20)

4.4.6 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากสถานะเหมาะสมของตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลมีสถานะที่เหมาะสม คือ ที่ระดับกำลังงาน 80% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที มีปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์ม เท่ากับ 2.760 ± 0.003 มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง (ภาคผนวก ก-17) โดยมีกรดไขมันหลักคือ C16:0 (61.6%) C18:1n-9 (8.86%) และ C18:2n-6 (20.9%) (ภาคผนวก ก-17) ตามลำดับ



รูปที่ 4.20 ปริมาณกรดไขมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

จากผลการวิเคราะห์การสกัดกรดไขมันด้วยอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลพบว่า มีสัดส่วนของกรดไขมันชนิด C16 และ C18 เป็นส่วนใหญ่ (ภาคผนวก ก-18)

เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอัลตราซาวด์พบว่า เมื่อใช้อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลจะได้สัดส่วนคาร์บอนและปริมาณกรดไขมันมากกว่า (ภาคผนวก ก-17) เนื่องจากการสกัดกรดไขมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลนั้นตัวทำละลายเอทานอลและกระบวนการอัลตราซาวด์จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้สกัดกรดไขมันได้มากกว่าวิธีอัลตราซาวด์เพียงอย่างเดียว และจากงานวิจัยของ Krishnan และคณะ (2015) กล่าวว่า กรดไขมันที่สกัดได้จากวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลมีปริมาณมากกว่าที่สกัดได้จากวิธีอัลตราซาวด์ และเอทานอลเพียงอย่างเดียว ดังนั้น การสกัดน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 80% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที จึงเป็นวิธี

ที่มีประสิทธิภาพที่สุด เนื่องจากสามารถสกัดกรดไขมันได้ปริมาณต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล สูงกว่าวิธีเดียวกันที่ระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์อื่นๆ รวมทั้งวิธีอัลตราซาวด์ และมีสัดส่วนกรดไขมันอยู่ในช่วง C14-C24 โดยประกอบด้วยกรดไขมัน C16 และ C18 เป็นส่วนใหญ่ (ภาคผนวก ก-15) ซึ่งเหมาะสมต่อการนำมาผลิตไบโอดีเซล (อัจฉรา อิมคำ, 2014)

4.5 แนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดไปใช้ประโยชน์

4.5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบ C H และ N ของกากสาหร่าย

จากตารางที่ 4.1 พบว่า ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มและตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการก่อนการสกัดและกากสาหร่ายในแต่ละสภาวะมีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจน และไนโตรเจนที่ไม่ต่างกันมาก โดยสาหร่ายก่อนการสกัดน้ำมันที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมี C/N ratio สูงที่สุด คือ 7.7:1 แต่สาหร่ายก่อนการสกัดของฟาร์มบุญสมมี C/N ratio เพียง 4.8:1 อาจเป็นเพราะสาหร่ายจากฟาร์มบุญสมมีอัตราส่วนไนโตรเจนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของโปรตีนมากกว่าและมีความเหมาะสมที่จะไปผลิตเป็นอาหาร และเมื่อพิจารณา C/N ratio ของกากสาหร่ายหลังจากการสกัดด้วยเอทานอลที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการและจากฟาร์มบุญสม พบว่า มีค่าต่ำกว่าสาหร่ายก่อนการสกัดเล็กน้อย คือ 7.6:1 และ 4.4:1 ตามลำดับ

โดยแสดงอัตราส่วน C/N ของแต่ละระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ ดังตารางด้านล่าง ดังนี้

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบ C H และ N และ C/N ratio ของสาหร่ายแต่ละชนิด

ชนิดของสาหร่าย	C (%)	H (%)	N (%)	C/N ratio
1A	51.88	13.49	6.76	7.68:1
1B	51.26	13.28	10.75	4.77:1
2A	50.8	11.9	6.67	7.62:1
2B	50.91	11.27	11.49	4.43:1
3A	51.42	10.63	6.65	7.73:1
4A	49.86	10.37	6.63	7.52:1

โดยที่

A = สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ B = ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม

1 = สาหร่ายก่อนการสกัด

2 = กากสาหร่ายหลังสกัดด้วยเอทานอล 1:6

3 = กากสาหร่ายหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที

4 = กากสาหร่ายหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที

จากตารางที่ 4.2 และ 4.3 เมื่อพิจารณาจากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ตัวอย่างเช่น ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที มีค่า C/N ratio เท่ากับ 5.1:1 และ 4.6:1 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาจากสถานะอื่นๆของวิธีอัลตราซาวด์จากสาหร่ายบุญสมฟาร์ม พบว่ามีผลคล้ายกัน ดังนั้นจะเห็นว่า C/N ratio ของการสกัดด้วยอัลตราซาวด์สูงกว่าอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล อาจเป็นเพราะเอทานอลอาจไปทำลายพันธะเปปไทด์ในโปรตีน ซึ่งมี N เป็นองค์ประกอบหลัก (พงษ์ศิริ ไสเขียนวงษ์, 2555)

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบ C N และ C/N ratio ของกากตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยวิธีอัลตราซาวด์

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)								
	5			10			15		
	C	N	C/N	C	N	C/N	C	N	C/N
40	51.76	11.1	4.66:1	52.08	10.83	4.81:1	52.21	10.19	5.12:1
60	55.6	9.75	5.7:1	50.34	10.19	4.94:1	50.45	9.91	5.09:1
80	52.43	10.08	5.2:1	51.63	10.56	4.89:1	53.58	10.74	4.99:1
100	52.85	10.09	5.24:1	52.91	10.05	5.26:1	52.08	10.86	4.8:1

หมายเหตุ * ปริมาณ C และ N หน่วย เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบ C N และ C/N ratio ของกากตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มหลังสกัดด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)								
	5			10			15		
	C	N	C/N	C	N	C/N	C	N	C/N
40	52.6	11.14	4.72:1	51.15	10.76	4.75:1	49.75	10.93	4.55:1
60	50.97	10.97	4.65:1	52.04	10.84	4.81:1	50.78	10.78	4.71:1
80	51.59	10.28	5.02:1	51.32	10.62	4.83:1	51.69	13.4	3.86:1
100	49.36	11.66	4.23:1	49.4	11.72	4.22:1	50.19	11.71	4.29:1

หมายเหตุ * ปริมาณ C และ N หน่วย เปอร์เซ็นต์

โดยงานวิจัยนี้สนใจ C/N ratio เนื่องจากเป็นแนวทางในการนำกากสาหร่ายหลังจากการสกัดไปใช้ประโยชน์ ซึ่งงานวิจัยนี้ส่วนใหญ่วิเคราะห์ได้ C/N ratio มากกว่า 4.2:1 ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Kwietniewska (2014) พบว่าสาหร่าย *Spirulina platensis* มี C/N ratio = 4.2:1 ซึ่งต้องนำไปผสมกับสารอื่นๆเพื่อเพิ่มอัตราส่วนคาร์บอน เช่น มูลวัว เพื่อเป็นแนวทางสำหรับผลิตก๊าซชีวภาพ โดย C/N ratio ที่เหมาะสมสำหรับผลิตก๊าซชีวภาพ คือ 25:1 (Kwietniewska, 2014) ดังนั้น สามารถเลือกกากสาหร่ายจากสภาวะใดก็ได้ไปผลิตก๊าซชีวภาพ แต่ต้องมีการวิเคราะห์ความเป็นพิษก่อนนำไปใช้งาน ซึ่งจะกล่าวถึงหัวข้อที่ 4.5.4

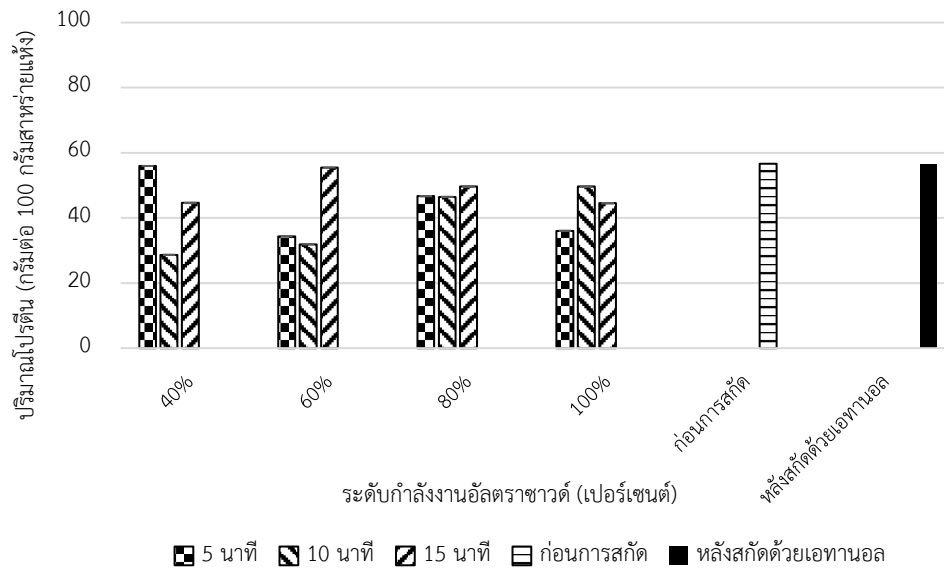
4.5.2 ปริมาณโปรตีน (Protein)

จากตารางที่ 4.6 ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มีค่าเท่ากับ 17.72 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง (17.72%) และตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มมีปริมาณโปรตีน เท่ากับ 56.67 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง (56.67%) แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์ม มีโปรตีนสะสมในเซลล์ก่อนสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์มากกว่าตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

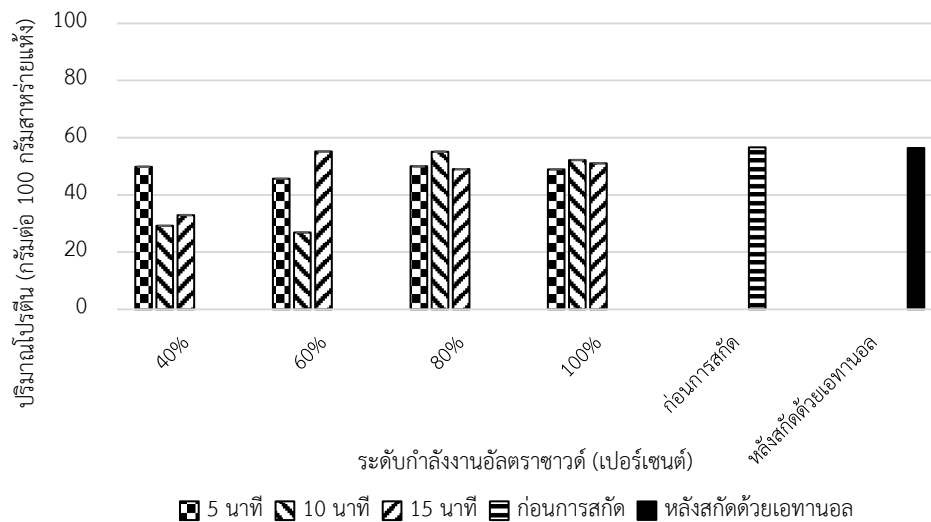
เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกากสาหร่ายหลังจากการสกัดด้วยเอทานอลที่อัตราส่วน 1:6 พบว่า มีค่าน้อยกว่าตัวอย่างสาหร่ายจากที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการและตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม คือ 13.94 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง (13.94%) และ 56.39 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง (56.39%) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) อาจกล่าวได้ว่าเอทานอลอาจไปทำลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีนในสาหร่าย (พงษ์ศิริ ไสเชียนวงศ์, 2555)

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังจากการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ และ อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลดังแสดงในรูปที่ 4.21 และ 4.22 พบว่าโปรตีนของกากสาหร่ายหลังจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล อยู่ในช่วง 27-55 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง ซึ่งน้อยกว่าในกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มที่ผ่านการอัลตราซาวด์ ซึ่งมีค่า 29-56 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Two-way ANOVA พบว่าปริมาณโปรตีนของแต่ละวิธีการสกัด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาคผนวกที่ ค-12 ถึง ค-14) นอกจากนี้เอทานอลอาจส่งผลต่อปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้ เนื่องจากอาจจะไปทำลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีน (พงษ์ศิริ ไสเชียนวงศ์, 2555) จึงสรุปได้ว่าการใช้เอทานอลสกัดน้ำมันมีผลต่อปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง

Parimi และคณะ (2015) ศึกษาปริมาณโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่า โดยวิธี pre-treatment แบบอัลตราโซนิกแบบโพรบที่ระดับกำลังงาน 20% เป็นเวลา 60 นาที พบว่าเมื่อวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธีลาวรี่ (Lawry's method) ได้ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 69.9 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง ซึ่งเป็นปริมาณต่างกับงานวิจัยนี้อาจเพราะเลี้ยงสาหร่ายที่สภาวะต่างกันและใช้วิธีการสกัดโปรตีนต่างกันเนื่องจากแต่ละวิธีการสกัดมีข้อจำกัดไม่เหมือนกัน



รูปที่ 4.21 ปริมาณโปรตีนของกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราไวโอเล็ตที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับตัวอย่างสาหร่ายก่อนการสกัดและสาหร่ายหลังจากสกัดด้วยเอทานอล



รูปที่ 4.22 ปริมาณโปรตีนของกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราไวโอเล็ตร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับตัวอย่างสาหร่ายก่อนการสกัดและสาหร่ายหลังจากสกัดด้วยเอทานอล

จากการสกัดน้ำมันจากกากของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ด้วยอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที พบว่ามีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 13.69 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง และ 11.86 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ (ภาคผนวก ก-19 และ ก-20)

จากการวิเคราะห์โปรตีนของตัวอย่างสาหร่ายทั้งบุญสมฟาร์มและตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังจากการสกัดน้ำมันด้วยเอทานอล อัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลวิธีเอทานอลได้โปรตีนมากที่สุด รองลงมา คือ วิธีอัลตราซาวด์ แต่ถ้าพิจารณาในเรื่องการปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ การสกัดด้วยเอทานอลกับอัลตราซาวด์ไม่เหมาะสม เพราะปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลต่ำกว่าวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงเลือกวิธีการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบ C H และ N ของกากสาหร่ายในการทดลองที่ 4.5.1 สามารถคำนวณปริมาณโปรตีนทั้งหมดได้จาก $6.25 \times \%N$ (นิธิยา รัตนานนท์, 2557) แต่โปรตีนที่คำนวณอาจคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากตัวอย่างบางชนิดมีปริมาณไนโตรเจนสูง แต่ไม่ใช่ไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของโปรตีน อาจเป็นไนโตรเจนที่ได้จากสารประกอบไนโตรเจนชนิดอื่น เช่น กรดนิวคลีอิก (นิธิยา รัตนานนท์, 2557) ตารางที่ 4.4 และ 4.5 แสดงผลการคำนวณเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้จากวิธี Bicinchoninic acid assay เห็นได้ว่ามีค่าแตกต่างกัน กล่าวคือ ปริมาณโปรตีนคำนวณได้มีปริมาณมากกว่าปริมาณโปรตีนที่วัดได้จริง ในสัดส่วนโดยเฉลี่ย คือ 1.6:1 จะเห็นได้ว่าโปรตีนคำนวณได้มีค่ามากกว่าค่าจริงประมาณ 2 เท่า

จากตารางที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนทั้งที่คำนวณและวัดได้เริ่มต้นของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มมีค่ามากกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากสาหร่ายจากฟาร์มบุญสมอาจเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตโปรตีน จะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนทั้งที่คำนวณและวัดได้ของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มมากกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังจากการสกัดด้วยเอทานอลอัตราส่วน 1:6 โดยมีค่าน้อยกว่าสาหร่ายก่อนการสกัดเพียงเล็กน้อย

เมื่อพิจารณาสถานะเหมาะสมโดยเลือกจากขั้นตอนการสกัดน้ำมัน (หัวข้อ 4.3.3 และ 4.3.5) คือ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที จากตารางที่ 4.6 จะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนทั้งที่คำนวณและวัดได้ของกากสาหร่ายจากห้องปฏิบัติการ หลังจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ มีค่ามากกว่าอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลเพียงเล็กน้อย โดยมีปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้ และปริมาณโปรตีนที่วัดได้ คือ 41.56% และ 13.69% และ 41.44% และ 11.86 % ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6)

เมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการแล้ว พบว่า ตัวอย่างสาหร่ายก่อนการสกัดมีปริมาณโปรตีนคำนวณและปริมาณโปรตีนที่วัดได้มากกว่าหลังการสกัดด้วยเอทานอล วิธีอัลตราซาวด์ และวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล สำหรับที่สภาวะอื่นๆ ผลก็เป็นไปในทางเดียวกับที่กล่าวข้างต้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองตั้งที่กล่าวข้างต้นของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม คือ เอทานอลอาจส่งผลต่อปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้ เนื่องจาก อาจจะไปทำลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีน (พงษ์ศิริ ไสเขียนวงศ์, 2555)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้และโปรตีนที่วัดได้ของกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)					
	5		10		15	
	โปรตีนคำนวณ (%)	โปรตีนวัดได้ (%)	โปรตีนคำนวณ (%)	โปรตีนวัดได้ (%)	โปรตีนคำนวณ (%)	โปรตีนวัดได้ (%)
40	69.38	55.94	67.69	28.67	63.69	44.61
60	60.94	34.33	63.69	31.89	61.93	55.44
80	63.00	46.67	66.00	46.44	67.13	49.61
100	63.06	36.00	62.81	49.61	67.88	44.50

ตารางที่ 4.5 ปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้และโปรตีนที่วัดได้ของกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)					
	5		10		15	
	โปรตีนคำนวณ (%)	โปรตีนวัดได้ (%)	โปรตีนคำนวณ (%)	โปรตีนวัดได้ (%)	โปรตีนคำนวณ (%)	โปรตีนวัดได้ (%)
40	69.63	49.83	67.25	29.17	68.31	32.94
60	68.56	45.67	67.75	26.89	67.38	55.17
80	64.25	50.00	66.38	55.11	83.75	49.00
100	72.88	48.89	73.25	52.22	73.19	51.06

ตารางที่ 4.6 ปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้และปริมาณโปรตีนที่วัดได้ของสาหร่ายแต่ละชนิด

ชนิดของสาหร่าย	% ปริมาณโปรตีนคำนวณ (a)	% ปริมาณโปรตีนวัดได้ (b)
1A	42.25	17.72
1B	67.19	56.67
2A	41.69	13.94
2B	71.81	56.39
3A	41.56	13.69
4A	41.44	11.86

โดยที่

A = สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ B = ตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์ม

1 = สาหร่ายก่อนการสกัด 2 = กากสาหร่ายหลังสกัดด้วยเอทานอล 1:6

3 = กากสาหร่ายหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที

4 = กากสาหร่ายหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที

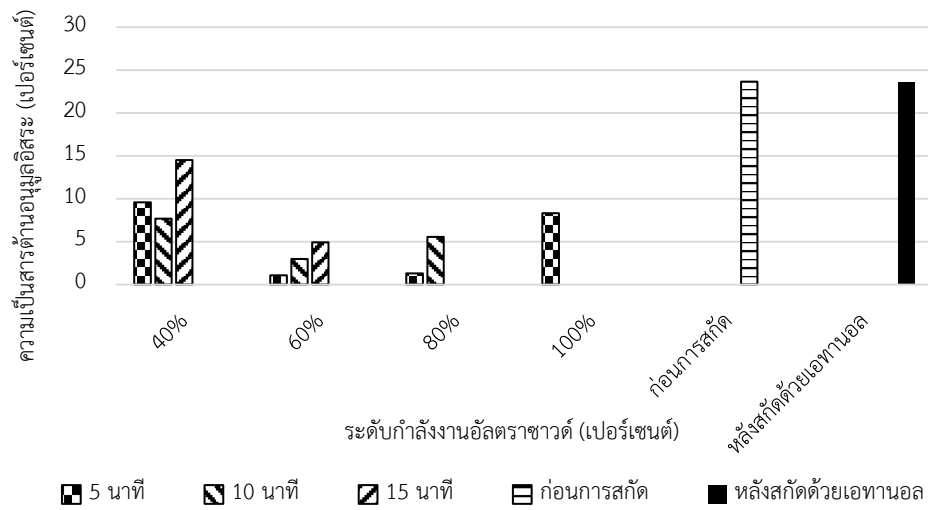
เมื่อนำผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างสาหร่ายบุงูสมฟาร์มและตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ก่อนการสกัด หลังสกัดด้วยเอทานอล อัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ซึ่งมีค่าในช่วง 12-18% และ 27-56% ต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง มาเปรียบเทียบกับมาตรฐานโปรตีนของการผลิตอาหารเม็ดดังตาราง 2.6 ที่แสดงถึงปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในอาหารเม็ด 100 กรัม สำหรับปลาน้ำจืดกินเนื้อ มีความต้องการโปรตีน 30-40 % โดยปริมาณโปรตีนของสาหร่ายบุงูสมจะอยู่ในช่วงที่นำมาผลิตอาหารปลาน้ำจืดกินเนื้อได้ แต่สาหร่ายในห้องปฏิบัติการมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่ามาตรฐาน ซึ่งถ้ามีค่าโปรตีนต่ำกว่ามาตรฐานจะต้องทำการเสริมโปรตีน เช่น ปลาป่น กากถั่วเหลือง หรือถ้าเกินช่วงความต้องการโปรตีนที่กำหนดจะต้องทำการเสริมองค์ประกอบอื่นลงไป เช่น ไขมัน ความชื้น ตามวิธีการผสมอาหารแบบ Square Method Balance (ประเสริฐ และคณะ, 2525) โดยสัตว์น้ำในวัยอ่อนจะมีความต้องการปริมาณโปรตีนมากกว่าวัยโตเต็มวัย เช่น ปลาน้ำจืดกินเนื้อ ดังภาคผนวกที่ ก-21 โดยสาหร่ายสไปรูลิน่าที่จะใช้ผลิตอาหารสัตว์น้ำต้องมี

ปริมาณไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า ความชื้นและแครโธทีน ที่มีคุณค่าทางโภชนาการเพียงพอต่อสัตว์น้ำ (กรมประมง, 2548)

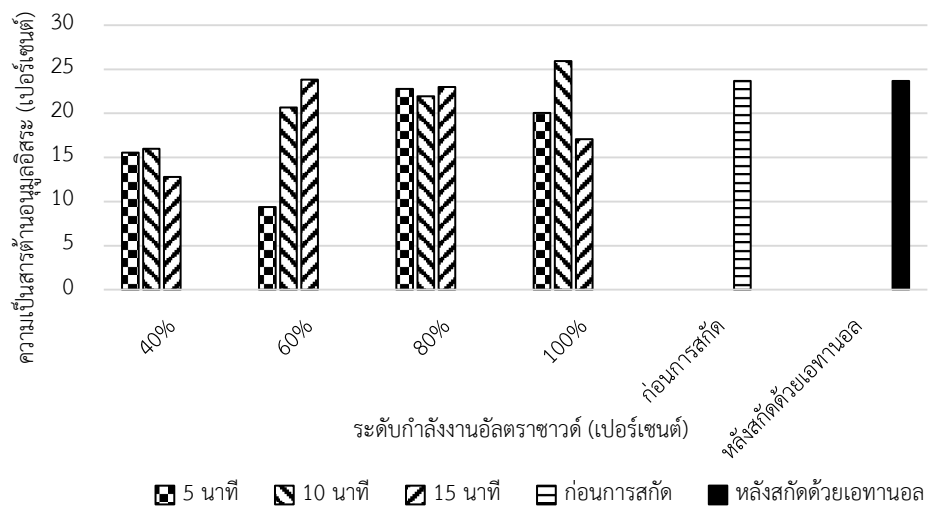
4.5.3 ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

จากตารางที่ 4.8 ผลการทดลองความต้านสารอนุมูลอิสระของตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการและตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มก่อนการสกัดน้ำมันมีค่าใกล้เคียงกัน คือ $27.07 \pm 0.04\%$ และ $23.67 \pm 0.04\%$ ตามลำดับ และเมื่อทำการวิเคราะห์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดหลังจากสกัดด้วยเอทานอล พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับก่อนการสกัดน้ำมัน คือ $27.06 \pm 0.66\%$ และ $23.67 \pm 0.66\%$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7) พบว่าเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Two-way ANOVA พบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของแต่ละวิธีการสกัด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค-16 ถึง ค-19) ซึ่งผลการทดลองใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Ramadan และคณะ (2007) รายงานว่า เบอร์เซ็นต์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายสไปรูลิनाเมื่อสกัดด้วยสารละลายโทลูอีน คือ 27%

เมื่อนำสารสกัดจากกาสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังจากการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ความเข้มข้น 10 mg/ml as Absolute ethanol มาวิเคราะห์ความต้านสารอนุมูลอิสระ พบว่าตัวอย่างจากวิธีอัลตราซาวด์ (รูปที่ 4.23) มีค่าความต้านสารอนุมูลอิสระสูงสุดที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 15 นาที คือ 14.49% และ ในตัวอย่างวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล (รูปที่ 4.24) มีค่าความต้านสารอนุมูลอิสระสูงสุด ที่ระดับกำลังงาน 100% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที คือ $25.95 \pm 0.04\%$ เมื่อพิจารณาแนวโน้มโดยรวมพบว่า ความต้านสารอนุมูลอิสระของกาสาหร่ายบุญสมฟาร์มที่สกัดด้วยอัลตราซาวด์น้อยกว่ากาสาหร่ายบุญสมฟาร์มที่สกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ดังรูปที่ 4.23 และ 4.24 เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่อาจหลุดออกจากเซลล์ไปด้วยจากการสกัดน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์เกิดคาเวชันได้รุนแรงกว่าเอทานอลที่อุณหภูมิเดียวกัน (Mason, 1998) จึงทำให้วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระได้น้อยกว่ากาสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล



รูปที่ 4.23 ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับสาหร่ายก่อนการสกัดและหลังสกัดด้วยเอทานอล



รูปที่ 4.24 ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆเปรียบเทียบกับสาหร่ายก่อนการสกัดและหลังสกัดด้วยเอทานอล

สำหรับตัวอย่างที่ตรวจไม่พบสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น การสกัดด้วยวิธีอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงาน 80% ระยะเวลา 15 นาที และ กำลังงาน 100% ระยะเวลา 10 และ 15 นาที (รูปที่ 4.22) เนื่องจากอาจเป็นเพราะหมูฟังก์ชั้นที่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระถูกทำลายไป หรือหลุดออกไปใน

ขั้นตอนวิธีการอัลตราซาวด์ จึงอาจส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สะสมในเซลล์ เนื่องจากสาหร่ายมีสารประกอบที่สามารถต้านออกซิเดชันได้หลายชนิด เช่น แคโรทีนอยด์ บีตา-แคโรทีน คลอโรฟิลล์ กรดไขมันไม่อิ่มตัว และสารกลุ่มพอลิแซคคาไรด์ (Chen et al, 2005) ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าสารที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันมีหลายกลุ่ม ซึ่งงานวิจัยนี้เตรียมสาหร่ายสไปรูลิनाที่ความเข้มข้น 10 mg/ml as Absolute ethanol โดยฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระจะแปรผันตรงกับ ความเข้มข้นสารสกัดและชนิดตัวทำละลาย นอกจากนี้สารสกัดจากเอทานอลจะวิเคราะห์ความเป็น สารต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าสารสกัดจากเมทานอล (ณัชชาพร ศรีทานันท์, 2559)

จากตารางที่ 4.7 ระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมจากตัวอย่าง สาหร่ายบุญสมฟาร์ม คือ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที จากขั้นตอนการ สกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล พบว่าค่าความต้านสารอนุมูลอิสระใน กากของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที มีค่าเท่ากับ 7.59 % และ 10.34 % ตามลำดับ สรุปได้ว่า ความต้านสารอนุมูลอิสระของสาหร่ายหลังจากสกัด ด้วยอัลตราซาวด์จะเกิดควิเทชั่นได้รุนแรงกว่าเอทานอลที่อุณหภูมิเดียวกัน (Mason, 1998) สำหรับการ อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลนั้นยังมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่อยู่ภายในเซลล์ เนื่องจากควิเทชั่นดังที่กล่าวไปข้างต้น จึงทำให้วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่ากากสาหร่าย หลังอัลตราซาวด์

จากผลการทดลองการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ เลือกวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล เนื่องจากได้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

ตารางที่ 4.7 ปริมาณความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายแต่ละชนิด

สภาวะที่เหมาะสม	C	D	C-D	%inhibition
1A	0.241	0.127	0.114	27.08
1B	0.379	0.26	0.119	23.67
2A	0.2	0.054	0.146	27.07
2B	0.198	0.056	0.142	23.67
3A	0.2	0.054	0.146	7.59
4A	0.198	0.056	0.142	10.34

โดยที่

A = สารละลายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ B = ตัวอย่างสารละลายบุญสมฟาร์ม

1 = สารละลายก่อนการสกัด 2 = กากสารละลายหลังสกัดด้วยเอทานอล 1:6

3 = กากสารละลายหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที

4. = กากสารละลายหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที

A คือ ค่าความดูดกลืนแสงของ Control (Absolute ethanol 100 μ l + DPPH 100 μ l)

B คือ ค่าความดูดกลืนแสงของ Blank control (Absolute ethanol 200 μ l)

C คือ ค่าความดูดกลืนแสงของ Sample (Sample 100 μ l + DPPH 100 μ l)

D คือ ค่าความดูดกลืนแสงของ Blank sample (Absolute ethanol 100 μ l + Sample 100 μ l)

% inhibition คือ ร้อยละความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

4.5.4 ความเป็นพิษ (Toxicity) ของกากสารละลายต่อจุลินทรีย์ระบบย่อยสลายแบบไร้อากาศ โดยวิธี Disc Diffusion

จากตารางที่ 4.8 พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1-7 mg/ml as Absolute ethanol ของสารสกัด กากสารละลายสไปรูลิน่า ไม่พบวงใส (Clear zone) แต่สำหรับความเข้มข้น 8 mg/ml as Absolute ethanol ขึ้นไป พบว่า มีวงใสแพร่กระจายเล็กน้อย ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าความเข้มข้นน้อยสุดที่ยับยั้ง การเจริญของ *Clostridium sporogenes* คือ 8 mg/ml as Absolute ethanol โดยตัวอย่าง สารละลายจากห้องปฏิบัติการและตัวอย่างสารละลายบุญสมฟาร์มที่สกัดด้วยเอทานอล (1:6) มีขนาดวงใส ใหญ่กว่ากากสารละลายหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล คือ 0.83 ± 0 และ 2 ± 0 มิลลิเมตร ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 9 และ 10 mg/ml as Absolute ethanol สารละลายจากฟาร์มบุญสมที่สกัด ด้วยเอทานอล (1:6) มีขนาดวงใสใหญ่กว่ากากสารละลายที่สกัดด้วยวิธีอื่นๆ คือ 3 ± 0 มิลลิเมตร และ 5 ± 0 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาคผนวก ก-24) โดยทั้ง 3 ความเข้มข้น สามารถสรุปได้ว่าสารละลายฟาร์ม บุญสมที่สกัดด้วยเอทานอล (1:6) มีขนาดวงใสใหญ่ที่สุด ซึ่งถือว่ามีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ประเภทสร้างกรดอะซิติก (Acetogen) เช่น *Clostridium sporogenes* เพียงเล็กน้อยตามมาตรฐาน CLSI โดยนอกจากเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ ทดสอบแล้ว ยังอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ขนาดโมเลกุลของสารสกัด ความสามารถในการ ละลายหรือซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราการเจริญของเชื้อ ภาวะความเป็นกรด-ต่าง ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดจนระยะเวลาในการเพาะเชื้อ (ประสาทรพ บัณฑิตพิเศษ, 2551) ดังที่ วินา ชูโชติ (2556) รายงานว่า สารสกัดสารละลายคลอเรลล่าจากเมทานอลเกิดการยับยั้ง

B.cereus เพียงเล็กน้อย โดยมีขนาดของวงใส 7 ± 0 มิลลิเมตร ซึ่งถือว่าแทบจะไม่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย ดังนั้นจากการทดลองกาการร่ายสไปรูลิน่า พบว่า ขนาดวงใสที่ใหญ่ที่สุดยังคงมีขนาดที่เล็กกว่าวงใสที่เกิดขึ้นในงานวิจัยของ วิภา ชูโชติ (2556) จึงสรุปได้ว่ากาการร่ายสไปรูลิน่าในทุกสภาวะการทดลองสามารถนำไปใช้ประโยชน์อื่นๆ เช่น ผลิตก๊าซชีวภาพได้ โดยมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศเพียงเล็กน้อย

ตารางที่ 4.8 การวิเคราะห์การยับยั้ง *Clostridium sporogenes* ด้วยสารสกัดสาหร่ายชนิดต่างๆ

สารทดสอบ	Clear zone of inhibition (mm)											
	ความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่าย (mg/ml)											
	0.1	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1±0	1±0	1±0
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1±0	2±0
D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.83±0.29	1±0	1.67±0.58
E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2±0	3±0	5±0

* ทดสอบโดยวิธี Disc Diffusion

โดยที่

A = สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที

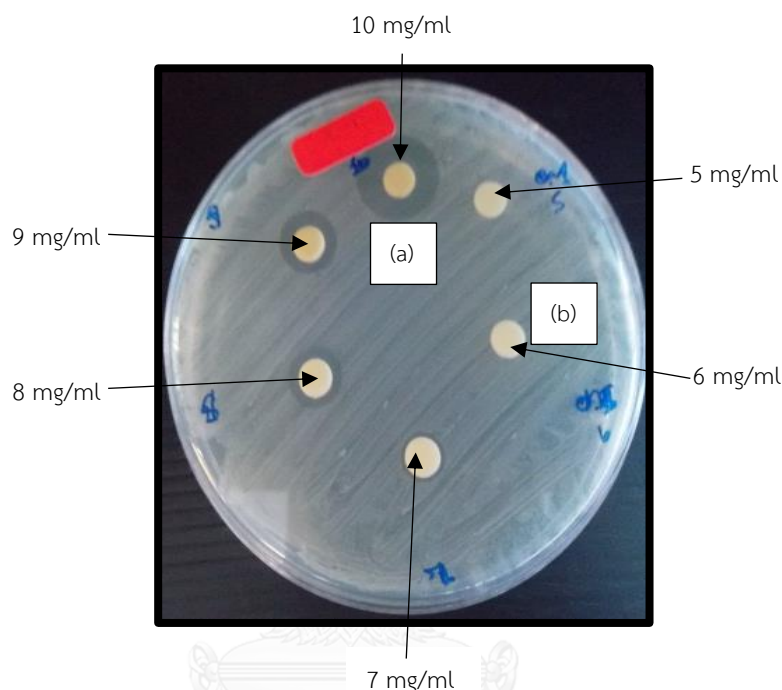
B = สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที

C = สาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที

D = สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังสกัดด้วยเอทานอลอัตราส่วน 1:6

E = สาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยเอทานอลอัตราส่วน 1:6

โดยผลการทดลองจะแบ่งเป็นพบวงใส (a) โดยจะถือว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Clostridium sporogenes* ซึ่งจะแบ่งเป็นระดับการยับยั้งตามมาตรฐาน CLSI ดังที่กล่าวในหัวข้อ 3.3.10 แต่ถ้าไม่เกิดวงใส (b) แสดงว่าสารสกัดจากสาหร่ายสไปรูลีนาไม่มีผลยับยั้งการเจริญของ *Clostridium sporogenes* ดังรูปที่ 4.25



รูปที่ 4.25 ตัวอย่างวงใสของวิธี Disc Diffusion
(a) เกิดวงใส (b) ไม่เกิดวงใส

จากการทดลองทั้งหมดนั้น เริ่มต้นจากการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายและกากสาหร่ายด้วยวิธีเอทานอล อัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล พบว่าวิธีการอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที มีความคุ้มค่ามากที่สุด เนื่องจากปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีอื่นๆ จากนั้นเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันโดยพบว่า วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 80% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที ได้ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ต่อพลังงานที่ใช้ 1 กิโลจูล สูงที่สุด ซึ่งกรดไขมันที่พบจะเป็น C16 และ C18 เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งมีความเหมาะสมต่อการผลิตไบโอดีเซล (อัจฉรา อิมคำ, 2014) และเมื่อวิเคราะห์แนวทางสำหรับนำกากสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ องค์ประกอบ C H และ N นั้นมีค่าใกล้เคียงกันเกือบทุกสภาวะจะเลือกใช้สภาวะใดก็ได้ ดังนั้น จึงได้ทำการเลือกวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล เมื่อวิเคราะห์โปรตีนของสาหร่าย วิธีเอทานอลได้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด รองลงมา คือ

วิธีอัลตราซาวด์ แต่ถ้าพิจารณาในเรื่องการปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ เอทานอล กับอัลตราซาวด์ไม่เหมาะสม เนื่องจากได้ปริมาณไขมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลต่ำกว่า ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ต่อมาวิเคราะห์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลได้ปริมาณมากที่สุด และสุดท้ายพิจารณาความเป็นพิษของกากสาหร่าย พบว่ามีผลยับยั้งจุลินทรีย์ *Clostridium sporogenes* ซึ่งเป็นตัวแทนของจุลินทรีย์ประเภทสร้างกรดอะซิติก (Acetogen) ในระบบย่อยสลายแบบไร้อากาศเพียงเล็กน้อย ดังนั้นวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล จึงเหมาะสมสำหรับงานวิจัยนี้ทั้งในแง่ปริมาณน้ำมันและกรดไขมันที่สกัดได้นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ เช่น Bligh and Dyer พบว่า วิธีการสกัดด้วยอัลตราซาวด์มีข้อดีกว่าหลายประการ เช่น ได้น้ำมันที่มีคุณภาพดีกว่า (วนากานต์ เร่งเพียร, 2557) เนื่องจากมีคลอโรฟิลล์เจือปนอยู่เป็นปริมาณน้อยกว่า ใช้เวลาในการสกัด และใช้ตัวทำละลายน้อยกว่า จึงมีความเหมาะสมในการนำไปผลิตไบโอดีเซล และผลจากการตรวจวัดความเป็นพิษของกากสาหร่ายต่อจุลินทรีย์หลังจากสกัดน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล พบว่ามีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อย สามารถนำไปผลิตก๊าซชีวภาพได้ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปผลิตอาหารสัตว์น้ำ และแนวทางสำหรับทำอาหารเสริมได้อีกด้วย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลวิจัย

จากการศึกษาการใช้อัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย และองค์ประกอบของกากสาหร่ายสายพันธุ์ *Spirulina platensis* หลังจากสกัดน้ำมันเพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ โดยการทดลองได้ทำการทดลองแบบทีละเท (Batch) โดยศึกษาระยะเวลาเพาะเลี้ยงของสาหร่ายโดยวิเคราะห์จากปริมาณน้ำมันสะสมสูงสุดในสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer จากนั้นจึงใช้ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่มีปริมาณน้ำมันสะสมสูงสุดในพบว่า เป็นวันที่ 21 แล้วจึงเลือกอัตราส่วนระหว่างสาหร่ายแห้งและเอทานอลที่ได้สกัดปริมาณน้ำมันสูงสุด พบว่า ที่ 1:6 มีปริมาณน้ำมันมากที่สุด แล้วใช้อัตราส่วนที่ได้มาสกัดด้วยอัลตราซาวด์แบบโพรบความถี่ 20 kHz เพื่อหาระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่เหมาะสม จากการสกัดน้ำมันและกรดไขมันจาก *Spirulina platensis* ด้วยวิธีอัลตราซาวด์ และวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล หลังจากนั้นศึกษาปริมาณน้ำมันที่เหลือจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ด้วยการสกัดด้วยวิธี Bligh and Dyer และศึกษาองค์ประกอบของกากสาหร่าย *Spirulina platensis* เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ เช่น วิเคราะห์โปรตีน สารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้

1. สภาพที่เหมาะสมในการสกัดไขมันในแง่ของพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้
 - วิธีอัลตราซาวด์ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที
 - วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที
2. สภาพที่เหมาะสมในการสกัดไขมันในแง่ของพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ต่อกรดไขมันที่สกัดได้
 - วิธีอัลตราซาวด์ ที่ระดับกำลังงาน 60% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที
 - วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ที่ระดับกำลังงาน 80% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที
3. กรดไขมันส่วนใหญ่ที่พบ
 - วิธีอัลตราซาวด์ คือ C16:0 C18:2n-6 และ C18:3n-3
 - วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล คือ C16:0 C18:1n-9 และ C18:2n-6

4. สาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมันแล้วยังมีปริมาณน้ำมันเหลืออยู่จึงอาจนำมาสกัดซ้ำได้อีก
5. การนำกากสาหร่ายหลังจากการสกัดไปใช้ประโยชน์
 - องค์ประกอบ C H และ N ในกากสาหร่าย
มีค่า C H และ N ใกล้เคียงกันทุกสภาวะ และมีค่า C/N ratio เฉลี่ยที่ประมาณ 5:1
 - ปริมาณโปรตีน
 - ก่อนนำมาสกัดน้ำมันด้วยวิธีการต่างๆ
 - ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มีค่าเท่ากับ 17.72 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
 - ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม มีค่าเท่ากับ 56.67 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
 - หลังจากการสกัดด้วยอัตราส่วนสาหร่ายแห้งและเอทานอล (1:6)
 - ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มีค่าเท่ากับ 13.94 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
 - ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม มีค่าเท่ากับ 56.39 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
 - หลังจากการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์
 - ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม มีค่าอยู่ในช่วง 29-56 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
 - เมื่อพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมจากขั้นตอนการสกัดน้ำมัน
 - ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที มีค่าเท่ากับ 13.69 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
 - หลังจากการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล
 - ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม มีค่าอยู่ในช่วง 27-55 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
- เมื่อพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมจากขั้นตอนการสกัดน้ำมัน
 - ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที มีค่าเท่ากับ 11.86 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
- ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (%)
 - ก่อนนำมาสกัดน้ำมันด้วยวิธีการต่างๆ
 - ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มีค่าเท่ากับ 27.07 ± 0.04 %
 - ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม มีค่าเท่ากับ 23.67 ± 0.04 %
 - หลังจากการสกัดด้วยอัตราส่วนสาหร่ายแห้งและเอทานอล (1:6)

-ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มีค่าเท่ากับ 27.06 ± 0.04 %

-ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม มีค่าเท่ากับ 23.67 ± 0.04 %

●หลังจากการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์

-ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม มีค่าไม่เกิน 14 %

-เมื่อพิจารณาสถานะที่เหมาะสมจากขั้นตอนการสกัดน้ำมัน

-ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที มีค่า 7.59 ± 0.04 %

●หลังจากการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

-ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม มีค่าอยู่ในช่วง 17-26 %

-เมื่อพิจารณาสถานะที่เหมาะสมจากขั้นตอนการสกัดไขมัน

-ตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที มีค่า 10.34 ± 0.66 %

-ความเป็นพิษ (Toxicity)

ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Clostridium sporogenes* คือ 8 mg/ml as Absolute ethanol

●สาหร่ายที่ทำการสกัดด้วยเอทานอล (1:6)

-ตัวอย่างสาหร่ายจากห้องปฏิบัติการ ขนาดวงใส เท่ากับ 0.83 ± 0.29 mm

-ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม ขนาดวงใส เท่ากับ 2 ± 0 mm

●กากสาหร่ายหลังจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

-กากสาหร่ายห้องปฏิบัติการ (ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที) ขนาดวงใสเท่ากับ 1 ± 0 mm

-กากสาหร่ายบุญสมฟาร์ม (ระดับกำลังงาน 40% 5 นาที) ขนาดวงใสเท่ากับ 0 mm

6. ควรเลือกใช้วิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที เนื่องจาก วิธีนี้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้า 1 กิโลจูล มีค่าสูงที่สุด และมีสัดส่วนกรดไขมัน C16 และ C18 เป็นส่วนใหญ่ซึ่งอยู่ในช่วง C14-C24 ซึ่งเหมาะสมต่อการนำไปผลิตไบโอดีเซล

7. กากสาหร่ายหลังจากการสกัดสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เนื่องจากสาหร่ายสไปรูลินามีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น โปรตีน สารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปผลิตก๊าซชีวภาพได้

เนื่องจากมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Clostridium sporogenes* ต่ำ ซึ่งเป็นตัวแทนของจุลินทรีย์ในระบบย่อยสลายแบบไร้อากาศ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากวิธีอัลตราซาวด์และวิธีมาตรฐาน มีคลอโรฟิลล์ปนอยู่ในน้ำมัน ดังนั้นควรปรับปรุงคุณภาพน้ำมันก่อนนำไปผลิตไบโอดีเซล
2. ควรมีการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันที่สกัดจากสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราซาวด์ และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพน้ำมันแล้ว
3. ในการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันมีบางประเภทที่ไม่ตรงกับสารมาตรฐาน จึงอาจใช้ mass spectrophotometer เพื่อระบุชนิดของกรดไขมัน



รายการอ้างอิง

ภาษาอังกฤษ

- Araujo, G. S., Matos, L. J., Goncalves, L. R., Fernandes, F. A., & Farias, W. R. (2011). Bioprospecting for oil producing microalgal strains: evaluation of oil and biomass production for ten microalgal strains. *Bioresour Technol*, 102(8), 5248-5250.
- Andrade, M. R., & Costa, J. A. V. (2007). Mixotrophic cultivation of microalgal *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. *Aquaculture*, 264(1-4), 130-134.
- Askbrandt & Kiessling. (1993). Nutritive value of two bacterial strains of Single cell protein for rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 109, 119-130.
- Balasubramanian, S., Allen, J. D., Kanitkar, A., & Boldor, D. (2011). Oil extraction from *Scenedesmus obliquus* using a continuous microwave system—design, optimization, and quality characterization. *Bioresour Technol*, 102(3), 3396-3403.
- Becker, E. W. (1994). Chemical composition. Application of algae. In beaker, E.W. (Ed.) *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press London. pp. 177-195.
- Bhakar, N. R., Brahmdudd & Pabbi, S. (2014). Total lipid accumulation and fatty acid profiles of microalga *Spirulina* under different nitrogen and phosphorus concentrations. *Egyptian Journal of Biology*, 16, 57-62.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A ripid method of total lipid extraction and purification. *Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- Bold, H. C., & Wynne, M. J. Introduction to the algae : Structure and Reproduction. New Delhi : Prentice Hall. pp. 706.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv.*, 25, 294-306.
- Debowski, M., Zielinski, M., Grala, A., & Dudek, M. (2013). Algae biomass as an

- alternative substrate in biogas production technologies—Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 596-604.
- Demirbas, A., & Demirbas, M. F. (2011). Importance of algae oil as a source of Biodiesel. *Energy Conversion and Management*, 52, 163 -170.
- Dewhurst, E., Rawson, M. D., & Steele, C. G. (1986). The use of a model system to compare the efficiency of ultrasound and agitation in the recovery of *Bacillus subtilis* spores from polymer surfaces. *Applied Microbiology*, 61(4), 357-363.
- El-Shimi, H. I., Attia, N. K., El-Sheltawy, S. T., & El-Diwani, G. I. (2013). Biodiesel Production from *Spirulina Platensis* Microalgae by In-Situ Transesterification Process. *Sustainable Bioenergy Systems*, 3(3), 224-233.
- Frizzell, L. A. (1988). Biological effects of acoustic cavitation. In: Suslick, K. S. (Ed.), *ultrasound: Its chemical, physical , and biological effects*, pp. 287-304. New York, NY, VCH.
- Guldhe, A., Singh, B., Rawat, I., Ramluckan, K., & Bux, F. (2014). Efficacy of drying and cell disruption techniques on lipid recovery from microalgae for biodiesel production. *Fuel*, 128, 46-52.
- Hao, H., Wu, M., Chen, Y., Tang, J., & Wu, Q. (2004). Cavitation mechanism in cyanobacterial growth inhibition by ultrasonic irradiation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 33(3-4), 151-156.
- Hoover, D. G. (2000). Microorganism and Their Products in Preservation of Food. In : Lund, B.M., T.C. Baird-Parker and G.W. Gould : (Eds.). *The Microbiological Safety and Quality of Food Vol. I*. Washington D.C. : ASM Pree. 251-276.
- Holm-Hansen, O., Lorenzen, C.J., & Holmes, R.W. (1965). Fluorometric determination of chlorophyll. *J ConsPerm Int Explor mer* , 30, 3-15.
- Hu, Z., Zheng, Y., Yan, F., Xiao, B., & Liu, S. (2013). Bio-oil production through pyrolysis of blue-green algae blooms (BGAB): Product distribution and bio-oil characterization. *Energy*, 52, 119-125.
- Joyce, E. M, Wu, X., & Mason, T. J. (2010). Effect of ultrasonic frequency and

- power on algae suspensions. *J Environ Sci Health A Toxic Hazard Subst Environ Eng*, 45(7), 863-866
- Keris-Sen, U. D., Sen, U., Soydemir, G., & Gurol, M. D. (2014). An investigation of ultrasound effect on microalgal cell integrity and lipid extraction efficiency. *Bioresour Technol*, 152, 407-413.
- Kim, Y.-H., Park, S., Kim, M. H., Choi, Y.-K., Yang, Y.-H., Kim, H. J., Kim, H., Kim, H.-S., Song, K.-G., & Lee, S. H. (2013). Ultrasound-assisted extraction of lipids from *Chlorella vulgaris* using [Bmim][MeSO₄]. *Biomass and Bioenergy*, 56, 99-103.
- Koeth, L. M., Matuschek, E., & Kahlmeter, G. (2015). Development of EUCAST zone diameter breakpoints and quality control range for *Staphylococcus aureus* with ceftaroline 5-mg disk. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 33, 1511-7.
- Krishnan, V., Kuriakose, S., & Rawson, A (2015). Ultrasound Assisted Extraction of Oil from Rice Bran: A Response Surface Methodology Approach. *Food Process Technol*, 6(6).
- Kwietniewska, E. & Tys, J. (2014). Process characteristics, inhibition factors and methane yields of anaerobic digestion process, with particular focus on microalgal biomass fermentation. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 34, 491-500.
- Liao, W. L., Nur-E-Borhan, S., Okada, S., Matsui, T., & Yamaguchi, K. (1993). Pigmentation of Cultured Black Tiger prawn by Feeding with Spirulina - Supplemented Diet, 59(1), 165-169.
- Long, R. D., & Abdelkader, E. (2011). Mixed-Polarity Azeotropic Solvents for Efficient Extraction of Lipids from *Nannochloropsis* Microalgae. *Biochemistry and Biotechnology*, 7(2), 70-73.
- Martinez - Guerra, E., Gude, V. G., Mondala, A., Holmes, W., and Hernandez, (2014). Microwave and ultrasound enhanced extractive transesterification of algal lipids. *Applied Energy*, 129, 354-363.
- Mason, T. J. (1998). *Sonochemistry*. New York: Oxford University.

- Mata, M. T, Martins, A. A., & Caetano. S. N. (2009). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 217-232
- Mett, H., Schacher, B. & Wegman, L. (1988). Ultrasonic disintegration of bacteria may lead to irreversible inactivation of lactamase. *Antimicrobial Chemotherapy*, 22, 293-298.
- Mezzomo, N., Saggiolato, G. A., Siebert, R., Tatsch, O. P., Lago, C. M., Hemkemeier, M., Costa, V. A. J., Bertolin, E. T., & Colla, M. L. (2010). Cultivation of microalgae *Spirulina platensis* (*Astthrospira platensis*) from biological treatment of swine wastewater. *Food Science and Technology*, 30(1)
- Nautiyal, P., Subramanian, K. A., & Dastidar, M. G. (2014). Production and characterization of biodiesel from algae. *Fuel Processing Technology*, 120, 79-88.
- Ogunwande, G. A., Osunade, J. A., Adekalu, K. O., & Ogunjimi, L.A.O. (2008). Nitrogen loss in chicken litter compost as affected by carbon to nitrogen ratio and turning frequency. *Bioresource Technology*, 99(16), 7495-7503.
- Parimi, S. N., Singh, M., Kastner, R. J., Das, C. K., Forsberg, S. L., & Azadi, P. (2015). Optimization of protein extraction from *Spirulina platensis* to generate a potential co-product and a biofuel feedstock with reduced nitrogen content. *Frontiers in Energy Research*, 30(3)
- Patarra, RF., Leite, J., Pereira, R., Baptista, J., & Neto, AI. (2013). Fatty acid composition of selected macrophytes. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 27(7), 665-669.
- Ramadan, F. M., Asker, S. M., & Ibrahi, K. Z. (2007). Functional Bioactive Compounds and Biological Activities of *Spirulina platensis* Lipids. *Czech J. Food Sci.*, 26(3), 211-222
- Richmond, A., Grobbelaar JU. (1986). Factors affecting the output rate of

- Spirulina platensis* with reference to mass cultivation. *Biomass*, 10, 253–264.
- Sala, F. J., J. Burgos, S. Condon, P., Lopez, J., R. (1995). Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. pp. 176-204. In " New methods of food preservation". G. W. Gould (ed.). Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Sansaw, H (2004). Chlorella : Industrial Production of Cell Mass and Chemicals Handbook of Microalgal Culture. DOI: 10.1002/9781118567166. Ch 16.
- Smith, M. G. (1951). Fresh water Algae of North America : Ecology and Classification. *Science*, 113, DOI: 10.1126/science.113.2938.457
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K. , Goeke, N. M., Olson, B. J. , & Klenk, D. C. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150(1), 76-85.
- Suslick, K. S. (1988). Ultrasound : its chemical, physical, and biological effects. New York : VCH.
- Takagi, M., Karseno, & Yoshida, T. (2006). Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells.

ภาษาไทย

- ขจรเกียรติ ศรีนวลสม และบัญญัติ มนเทียรอาสน์. (2552) . ผลของช่วงระยะเวลาที่ใช้ปุ๋ยมูลไก่ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบชนิดของแพลงก์ตอนและผลผลิตปลาในบ่อเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ (รายงานผลการวิจัย). เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ขวัญกมล พรหมมา และวันวิสาข์ ทองอินทร์ (2556). การเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำมันด้วยน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว. คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- จงดล พรหมยะ, บัญชา ทองมี และขจรเกียรติ ศรีนวลสม. (2555). ผลของอาหารผสมสไปรูลินาต่อการเจริญเติบโต ความสมบูรณ์เพศ และระบบภูมิคุ้มกันในปลาแฟนซีคาร์ฟ. *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง*, 6(1), 11-22.
- จิตรลดา สีเสน และยาฉรินทร์ ลักขณานุรักษ์. (2554). การผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

- เจนจิรา ผลโภคกุล, วิจิตรา แดงปรก, วิวัฒน์ หวังเจริญ, มงคล ธิรบุญยานนท์, และทองลา ภูคำวงศ์. (2558). *การเปรียบเทียบสมบัติทางเคมี กายภาพ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารละลายโปรตีนแห้งเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0 และ 90 วัน*. (รายงานผลการวิจัย). เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้
- ณภัทร น้อยนำใส, ณัฐวดี ธาณี, สมพงษ์ ธรรมถาวร, และมนู โอมะคุปต์. *ในบทความย่อโครงการวิจัยและวิทยานิพนธ์ 2544: การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 5*. กรุงเทพฯ, 2544, หน้า 66 (288 หน้า).
- ณัชชาพร ศรีทานนท์. (2559). *การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ*. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษา ระดับชาติและนานาชาติ 2559, 15 มกราคม 2559 ณ อาคารพจน์ สารสิน มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ธีรพร กงบังเกิด. (2547). *การใช้อัลตราซาวด์ในกระบวนการแปรรูปอาหาร*. มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.
- นิธยา รัตนานนท์. (2557). *การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในอาหาร*. สืบค้นเมื่อ 14 กุมภาพันธ์ 2560, จาก:<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/7011/การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในอาหาร>
- บริษัท กรีนไทมอนด์ จำกัด. (2552). *ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง*. สืบค้นเมื่อ 30 มิถุนายน 2560, จาก:http://www.boonsomfarm.com/info_keyfactor.html
- ประสาทร บริสุทธิ์เพชร. (2551). *การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ*. งานประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มข., 11-12 มิถุนายน 2551 ณ ห้องประชุมใหญ่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ครั้งที่ 9. ขอนแก่น
- ประเสริฐ สีตะสิทธิ์, มะลิ บุณยรัตน์ผลิน และนันทิยา อุ่นประเสริฐ. (2525). *อาหารปลา*. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. 88 หน้า.
- ประยูร เอ็นมาก. (2553). *อิทธิพลของความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์และความเค็มต่อการเร่งการสะสมน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล* (ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ไพโรมา ยงมานิตชัย. (2546). *สาหร่ายกับสารที่นำรู้*. สืบค้นเมื่อ 28 ธันวาคม 2558, จาก: <http://www.neuron.rmutphysics.com>
- ผกาวดี แก้วกันเนตร. (2552). *โครงการศักยภาพการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันที่ได้จากสาหร่าย*. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- พรณี เต่นรุ่งเรือง. (2550). *ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระของเปลือกต้นวงศ์อบเชย*. (รายงาน

- ผลวิจัย). สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้.
- พงษ์เทพ อันตะริกานนท์, ประเสริฐ อมะริต, อาภารัตน์ เชษฐสุมน, และพรทิพย์ ตันต์เจริญรัตน์. (2531). *ผลของปุ๋ยชีวภาพต่อผลผลิตและปริมาณโปรตีนของข้าว*. กรุงเทพฯ: คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พงษ์ศิริ ไสเซียนวงษ์. (2555). การแปลงสภาพโปรตีน.สืบค้นเมื่อ 13 กุมภาพันธ์ 2560, จาก: http://pongsiri703.blogspot.com/2012/11/blog-post_2389.html?m=1
- มรกต ตันติเจริญ. (2555). เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย : การวิจัยการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย. *The TRF Forum* 2, 7, 29-32.
- ระวีวรรณ แก้วกล้า. (2537). *การผลิตเอทานอลจากฟางข้าว*. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รุ่งทิพา สีม่าปาน, ศรีกาญจนา คล้ายเรือง , ศิราภรณ์ ชื่นบาล ,และธูปน ชื่นบาล. (2558) . *ศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทนจากการหมักร่วมของมูลสุกรและหญ้าเนเปียร์หมัก*. รายงานผลการวิจัยจาก: <http://www.sat.psu.ac.th/main/images/Doc/Punnee/02pdf>
- รุ่งโรจน์ ศรีภูมิ. การประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยสกัดไขมันจากสาหร่ายและแนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดมาใช้ประโยชน์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2558
- วนากานต์ เร่งเพียร. การสกัดน้ำมันจาก *Chlorella vulgaris* โดยใช้อัลตราซาวด์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2557
- วรรณิณี จันทร์แก้ว, ยุติ พิรพรพิศาล, และ Kumano, S. (2558). ชนิดและการแพร่กระจายของสาหร่ายสีแดงน้ำจืดบริเวณพื้นที่ต้นน้ำ เขตจังหวัดนครศรีธรรมราช. *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง*, 7, 1-13.
- วิษณีย์ ออมทรัพย์สิน. (2550). *การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มดิบ*. สุราษฎร์ธานี: สำนักการวิจัยและพัฒนาการเกษตร.
- วิภาดา พลที. (2555). สาหร่าย. สืบค้นเมื่อ 30 มกราคม 2559. จาก: <http://wipadapoltee.blogspot.com/>
- วีณา ซูโชติ. (2556). ผลการสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* spp. ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*, 22(2)
- สกานต์ พูลทวิ. (2535). สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Chlorella* sp. สายพันธุ์ B.K.1.

- รวมบทความอวทยานิพนธ์. ปีการศึกษา 2535. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : 472.
- สรวิศ เผ่าทองสุข. (2543). *ศักยภาพการวิจัยและพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายในประเทศไทย*. (รายงานฉบับสมบูรณ์). กรุงเทพฯ: ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.
- สุมาลี ดุลยอนุกิจ. (2535). *ผลของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการเจริญของสาหร่ายเกลียวทอง*. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- สุภภา ศิริรัฐนิคม, รัตติยา สะอู, และอัจฉรัตน์ สุวรรณภักดี. (2548). ระดับของสไปรูลินาในอาหารต่อการเจริญเติบโต และการเร่งสีปลาทอง. *Aquatic Science*, 27(1).
- สุรีย์วรรณ เบญจรงค์. (2548). การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิना. สืบค้นเมื่อ 27 มกราคม 2559 จาก: <http://www.web.yru.ac.th>
- สำนักคุณภาพน้ำมันเชื้อเพลิง. (2557). ขั้นตอนการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย. สืบค้นเมื่อ 27 มกราคม, 2559 จาก : http://www.doeb.go.th/v5/knowledge/data/algae_biofuel_mars7.pdf
- อรรวรรณ สัมฤทธิ์เดชขจร. (2553). เชื้อเพลิงจากสาหร่าย. *วารสารเทคโนโลยีวัสดุ*, 61, 29-35.
- อัจฉรา อิมคำ. (2557). การสังเคราะห์และคุณลักษณะของแคลเซียมออกไซด์ที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการผลิตไบโอดีเซล. *Science and technology*, 22(3)



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



ก-1 ปริมาณน้ำมันสะสมสูงสุดที่สกัดได้จากวิธี Bligh and Dyer จากสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ระยะเวลาในการสกัด น้ำมัน (วัน)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
20	0.441	0.442	0.442	0.442	0.001
21	0.473	0.475	0.474	0.474	0.001
22	0.455	0.452	0.451	0.453	0.002

ก-2 ปริมาณน้ำมันที่สกัดจากตัวอย่างสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์มที่อัตราส่วนสาหร่ายแห้งและเอทานอล
ต่างๆของตัวอย่างสาหร่ายบิโอบลูสมฟาร์ม

อัตราส่วนสาหร่าย แห้งต่อเอทานอล	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1:4	0.061	0.064	0.069	0.065	0.004
1:5	0.090	0.086	0.087	0.088	0.002
1:6	0.094	0.099	0.097	0.097	0.003
1:7	0.096	0.095	0.099	0.097	0.002

ก-3 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อัตราส่วนสาหร่ายแห้งและ
เอทานอลต่างๆ

อัตราส่วนสาหร่าย แห้งต่อเอทานอล	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมน้ำมันต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1:4	0.121	0.087	0.091	0.099	0.018
1:5	0.099	0.091	0.142	0.111	0.027
1:6	0.139	0.119	0.128	0.129	0.010
1:7	0.136	0.122	0.129	0.129	0.007

ก-4 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ตัวอย่างสำหรับยาสมุนไพร

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 40 %

ระยะเวลา (นาท)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
5	0.123	0.118	0.119	0.120	0.002
10	0.155	0.153	0.154	0.154	0.001
15	0.180	0.173	0.171	0.175	0.004
20	0.191	0.193	0.191	0.192	0.001
30	0.195	0.197	0.196	0.196	0.001

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 60 %

ระยะเวลา (นาท)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
5	0.146	0.145	0.146	0.146	0.001
10	0.166	0.165	0.166	0.166	0.001
15	0.184	0.184	0.183	0.184	0.001
20	0.210	0.209	0.209	0.209	0.001
30	0.215	0.214	0.215	0.215	0.001

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 80 %

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมน้ำมันต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
5	0.181	0.172	0.176	0.176	0.004
10	0.191	0.192	0.191	0.191	0.001
15	0.216	0.218	0.220	0.218	0.002
20	0.232	0.231	0.221	0.228	0.006
30	0.230	0.230	0.230	0.230	0

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 100 %

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
5	0.183	0.184	0.184	0.184	0.001
10	0.202	0.202	0.201	0.202	0.001
15	0.219	0.218	0.217	0.218	0.001
20	0.234	0.235	0.234	0.234	0.001
30	0.241	0.238	0.239	0.239	0.002

ตัวอย่างการคำนวณ : ที่ระดับกำลังงาน 40 % 5 นาที ครั้งที่ 1

น้ำหนักน้ำมัน = 0.205 กรัม

น้ำหนักสาหร่ายแห้ง = 1.67 กรัม

ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ = $\frac{0.205}{1.67} = 0.123$ กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง

สำหรับที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาทึ)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง)				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
40	5	0.192	0.194	0.192	0.193	0.001
60	5	0.212	0.215	0.208	0.212	0.003
100	30	0.228	0.23	0.225	0.228	0.002

ก-5 พลังงานไฟฟ้าที่ใช้

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาทึ)				
	5	10	15	20	30
40	15.6	31.2	46.8	62.4	93.6
60	23.4	46.8	70.2	93.6	140.4
80	31.2	62.4	93.6	124.8	187.2
100	39	78	117	156	234

หมายเหตุ : พลังงานไฟฟ้า (กิโลจูล)

ตัวอย่างการคำนวณ : ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ที่ 40% (52 วัตต์) 5 นาทึ

พลังงานไฟฟ้าที่ใช้ = กำลังงาน x ระยะเวลาอัลตราซาวด์

$$= 52 \text{ วัตต์} \times 300 \text{ วินาที} = 15.6 \text{ กิโลจูล}$$

ก-6 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)				
	5	10	15	20	30
40	0.008	0.005	0.004	0.003	0.002
60	0.006	0.004	0.003	0.002	0.002
80	0.006	0.003	0.002	0.002	0.001
100	0.005	0.003	0.002	0.002	0.001

หมายเหตุ : ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล (g lipid /g dried algae/ kJ)

ตัวอย่างการคำนวณ : ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ที่ 40% (52 วัตต์) 5 นาที

$$\text{ปริมาณน้ำมัน} = \frac{\text{ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้}}{\text{พลังงานไฟฟ้า}} = \frac{0.12}{15.6} = 0.008 \text{ g /g dried algae/kJ}$$

สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

สภาวะการสกัด	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้งต่อ 1 KJ)
40 % 5 นาที	0.012
60% 5 นาที	0.008
100 % 30 นาที	0.000

ก-7 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ตัวอย่างสำหรับบุญสมฟาร์ม

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 40 %

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
5	0.182	0.184	0.185	0.184	0.002
10	0.189	0.190	0.190	0.190	0.001
15	0.192	0.193	0.194	0.193	0.001
20	0.204	0.207	0.201	0.204	0.003
30	0.202	0.202	0.201	0.202	0.001

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 60 %

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
5	0.189	0.189	0.188	0.189	0.001
10	0.194	0.195	0.194	0.194	0.001
15	0.198	0.197	0.198	0.198	0.001
20	0.205	0.205	0.206	0.205	0.001
30	0.207	0.206	0.206	0.206	0.001

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 80%

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
5	0.196	0.196	0.195	0.196	0.001
10	0.209	0.210	0.208	0.209	0.001
15	0.209	0.212	0.214	0.212	0.003
20	0.216	0.215	0.217	0.216	0.001
30	0.219	0.219	0.218	0.219	0.001

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 100%

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
5	0.220	0.219	0.22	0.22	0.001
10	0.222	0.223	0.224	0.223	0.001
15	0.226	0.225	0.226	0.226	0.001
20	0.228	0.230	0.229	0.229	0.001
30	0.230	0.231	0.231	0.231	0.001

ตัวอย่างการคำนวณ : ที่ระดับกำลังงาน 40 % 5 นาที ครั้งที่ 1

$$\text{น้ำหนักน้ำมัน} = 0.305 \text{ กรัม}$$

$$\text{น้ำหนักสาหร่ายแห้ง} = 1.67 \text{ กรัม}$$

$$\text{ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้} = \frac{0.305}{1.67} = 0.182 \text{ กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง}$$

สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง)				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
40	5	0.194	0.195	0.198	0.196	0.002
60	5	0.202	0.198	0.205	0.202	0.003
100	30	0.216	0.209	0.215	0.214	0.003

ก-8 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับ
กำลังงานและเวลาต่างๆ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)				
	5	10	15	20	30
40	0.012	0.006	0.004	0.003	0.002
60	0.008	0.004	0.003	0.002	0.001
80	0.006	0.003	0.002	0.002	0.001
100	0.006	0.003	0.002	0.001	0.001

หมายเหตุ : ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูล (g /g dried algae/ kJ)

ตัวอย่างการคำนวณ : ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ที่ 40% (52 วัตต์) 5 นาที

$$\text{ปริมาณน้ำมัน} = \frac{\text{ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้}}{\text{พลังงานไฟฟ้า}} = \frac{0.184}{15.6} = 0.012 \text{ g /g dried algae/kJ}$$

สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

สภาวะการสกัด	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้งต่อ 1 KJ)
40 % 5 นาที	0.013
60% 5 นาที	0.009
100 % 30 นาที	0.000

ก-9 ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสาหร่ายหลังจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์ม

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 40 %

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
5	0.121	0.122	0.122	0.122	0.001
10	0.137	0.136	0.137	0.137	0.001
15	0.132	0.131	0.132	0.132	0.001
20	0.121	0.120	0.121	0.121	0.001
30	0.118	0.119	0.119	0.119	0.001

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 60 %

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
5	0.157	0.156	0.157	0.157	0.001
10	0.104	0.102	0.099	0.102	0.003
15	0.124	0.134	0.131	0.130	0.005
20	0.112	0.115	0.114	0.115	0.002
30	0.116	0.109	0.108	0.111	0.004

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 80 %

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
5	0.152	0.144	0.155	0.151	0.006
10	0.124	0.123	0.126	0.125	0.002
15	0.140	0.135	0.115	0.130	0.013
20	0.123	0.123	0.108	0.118	0.009
30	0.110	0.109	0.113	0.111	0.002

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 100 %

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
5	0.140	0.142	0.141	0.141	0.001
10	0.139	0.137	0.137	0.138	0.001
15	0.122	0.126	0.123	0.124	0.002
20	0.112	0.113	0.114	0.113	0.001
30	0.102	0.103	0.106	0.104	0.002

ตัวอย่างการคำนวณ : ที่ระดับกำลังงาน 40 % 5 นาที ครั้งที่ 1

$$\text{น้ำหนักน้ำมัน} = 0.203 \text{ กรัม}$$

$$\text{น้ำหนักสารห่วยแห้ง} = 1.67 \text{ กรัม}$$

$$\text{ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้} = \frac{0.203}{1.67} = 0.122 \text{ กรัมต่อกรัมสารห่วยแห้ง}$$

สารห่วยที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมสารห่วยแห้ง)				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
40	5	0.125	0.123	0.12	0.123	0.002
60	5	0.120	0.113	0.114	0.116	0.003
100	30	0.106	0.102	0.099	0.102	0.003

ก-10 ปริมาณน้ำมันที่เหลือในกากสารห่วยหลังจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ตัวอย่างสารห่วยบุญสมฟาร์ม

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 40 %

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สารห่วยแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
5	0.102	0.100	0.103	0.102	0.002
10	0.073	0.076	0.075	0.075	0.002
15	0.054	0.049	0.058	0.054	0.005
20	0.077	0.079	0.082	0.079	0.003
30	0.055	0.053	0.054	0.054	0.001

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 60 %

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
5	0.061	0.065	0.062	0.063	0.002
10	0.082	0.081	0.085	0.083	0.002
15	0.046	0.045	0.049	0.047	0.002
20	0.082	0.078	0.080	0.08	0.002
30	0.067	0.064	0.072	0.068	0.004

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 80 %

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
5	0.048	0.047	0.048	0.048	0.001
10	0.056	0.062	0.058	0.059	0.003
15	0.056	0.062	0.061	0.06	0.003
20	0.088	0.092	0.089	0.09	0.002
30	0.056	0.058	0.059	0.058	0.002

ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ 100%

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
5	0.080	0.078	0.079	0.079	0.001
10	0.103	0.101	0.099	0.101	0.002
15	0.072	0.076	0.073	0.074	0.002
20	0.088	0.091	0.087	0.089	0.002
30	0.057	0.055	0.058	0.057	0.002

ตัวอย่างการคำนวณ : ที่ระดับกำลังงาน 40 % 5 นาที ครั้งที่ 1

น้ำหนักน้ำมัน = 0.171 กรัม

น้ำหนักสหาร่ายแห้ง = 1.67 กรัม

ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ = $\frac{0.171}{1.67} = 0.102$ กรัมต่อกรัมสหาร่ายแห้ง

สหาร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (กรัมต่อกรัมสหาร่ายแห้ง)				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
40	5	0.081	0.079	0.085	0.082	0.002
60	5	0.08	0.075	0.072	0.076	0.003
100	30	0.055	0.057	0.055	0.056	0.001

ก-11 ปริมาณน้ำมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างสหาร่ายบุญสมพาร์มด้วยอัลตราซาวด์และจากกากสหาร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (นาที)	ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ (%)			
	40	60	80	100
5	0.242	0.302	0.326	0.325
10	0.291	0.268	0.316	0.339
15	0.307	0.315	0.348	0.344
20	0.313	0.324	0.346	0.347
30	0.315	0.321	0.342	0.343

หมายเหตุ : ปริมาณน้ำมันรวม (อัลตราซาวด์ และ Bligh and dyer) (กรัมต่อกรัมสหาร่ายแห้ง)

ก-12 ปริมาณน้ำมันรวมที่สกัดได้จากตัวอย่างบุญสมพาร์มด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล และ
 กากสหาร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (นาที)	ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ (%)			
	40	60	80	100
5	0.286	0.252	0.243	0.299
10	0.265	0.277	0.269	0.326
15	0.247	0.247	0.272	0.300
20	0.283	0.285	0.306	0.318
30	0.256	0.274	0.277	0.288

หมายเหตุ : ปริมาณน้ำมันรวม (อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล และ Bligh and dyer) (กรัมต่อกรัม
 สหาร่ายแห้ง)

ก-13 ปริมาณกรดไขมันรวม (C14-C24) จากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลา
 ต่างๆ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)				
	5	10	15	20	30
40	0.674	0.749	0.965	2.273	0.353
60	1.637	3.208	1.023	0.747	0.295
80	0.801	0.504	0.781	0.287	0.981
100	0.370	0.968	1.117	1.526	1.338

หมายเหตุ: ปริมาณกรดไขมันรวม (มิลลิกรัมต่อกรัมสหาร่ายแห้ง)

วิธีคำนวณ

ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที

ความเข้มข้นของกรดไขมัน 0.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร

จะมีกรดไขมัน $0.563 \times 2 = 1.13$ มิลลิกรัม

โดยสารนี้มาจากการสกัดด้วยสารห่วยแห้ง 1.67 กรัม ซึ่งมีกรดไขมัน 1.13 มิลลิกรัม

ดังนั้นจะสกัดกรดไขมันได้ $1.13/1.67 = 0.677$ มิลลิกรัมต่อกรัมสารห่วยแห้ง

ก-14 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ต่อพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)				
	5	10	15	20	30
40%	0.046	0.024	0.021	0.039	0.004
60%	0.070	0.069	0.015	0.008	0.002
80%	0.026	0.008	0.008	0.003	0.005
100%	0.009	0.012	0.010	0.010	0.006

หมายเหตุ: ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ต่อพลังงานที่ใช้สกัด (mg/g dried algae/kJ)

ตัวอย่างวิธีคำนวณ : ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ที่ 40% (52 วัตต์) 5 นาที

$$\text{ปริมาณกรดไขมัน} = \frac{\text{ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้}}{\text{พลังงานไฟฟ้า}} = \frac{0.674}{15.6} = 0.046 \text{ mg/g dried algae/kJ}$$

ก-15 ปริมาณกรดไขมันรวม (C14-C24) จากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)				
	5	10	15	20	30
40	1.204	0.599	1.190	1.237	0.345
60	1.393	1.025	2.042	0.907	2.694
80	2.764	2.768	4.990	5.667	1.352
100	2.060	0.769	1.668	1.231	2.088

หมายเหตุ: ปริมาณกรดไขมันรวม (มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง)

ก-16 ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลต่อพลังงานที่ใช้ 1 กิโลจูลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)				
	5	10	15	20	30
40	0.077	0.019	0.025	0.020	0.004
60	0.060	0.022	0.029	0.010	0.019
80	0.089	0.044	0.053	0.045	0.007
100	0.053	0.010	0.014	0.008	0.009

หมายเหตุ: ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้ต่อพลังงานที่ใช้ (mg/g dried algae/kJ)

ตัวอย่างวิธีคำนวณ : ที่ระดับกำลังงานอัลตราซาวด์ที่ 40% (52 วัตต์) 5 นาที

$$\text{ปริมาณกรดไขมัน} = \frac{\text{ปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้}}{\text{พลังงานไฟฟ้า}} = \frac{1.20}{15.6} = 0.077 \text{ mg/g dried algae/kJ}$$

ก-17 สัดส่วนกรดไขมันจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์และอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่สภาวะต่างๆของสาหร่ายฟาร์มบุญสมและสาหร่ายจากห้องปฏิบัติการที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

สภาวะ	C14:0	C16:0	C16:1n-7	C18:0	C18:1n-9	C18:2n-6	C18:3n-3	Total (mg/g dried algae)
US								
40% 5 min (Lab)	-	39.1	8.32	3.08	33.3	18.3	-	0.877
40% 5 min (ฟาร์ม)	2.82	42.3	1.93	-	2.37	17.7	33.1	0.674
60% 5 min (ฟาร์ม)	2.32	40.3	2.2	2.63	1.83	18.7	34.1	1.64
60% 5 min (Lab)	-	64.2	-	-	35.8	-	-	0.053
60% 10 min (ฟาร์ม)	4.21	37.8	2.52	1.49	2.31	18.3	33.3	3.208
US and ethanol								
40% 5 min (Lab)	-	39.6	7.83	1.76	36.8	14.1	-	0.907
40% 5 min (ฟาร์ม)	-	88.4	6.64	1.83	3.16	-	-	1.204
80% 5 min (ฟาร์ม)	-	61.6	2.14	6.48	8.87	20.9	-	2.764
80% 20 min (ฟาร์ม)	-	54.5	1.32	4.55	24.6	14.9	-	5.667

หมายเหตุ: ปริมาณกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์)

ก-18 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบ C H และ N ของกากสาหร่ายก่อนการสกัด วิเคราะห์ด้วยเอทานอล อัลตราซาวด์ อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ผลการวิเคราะห์ CHN เลขที่ 601101-9053


เจ้าของตัวอย่าง Pakjira Limphattarachai
 ตัวอย่าง Dried Spirulina Algae
 วัตถุประสงค์ วิเคราะห์ปริมาณธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และไนโตรเจน
 เครื่องมือวิเคราะห์ CHN Analyzer (LECO Coporation, 628 Series: CHN)
 วิธีวิเคราะห์ Dual-stage furnace system operates at high temperatures with pure oxygen to ensure the complete combustion of all organic samples, without requiring additional metal oxidizing reagents. Non-Dispersive infrared cells are utilized for the detection of C, H and N detected by thermal conductivity detector.
 วันที่วิเคราะห์ 6 กุมภาพันธ์ 2560
 ผลการวิเคราะห์


Sample No.	Sample Name		Carbon %	Hydrogen %	Nitrogen %
6011019053_1	Usw40%5 min.	(1)	51.52	11.26	11.00
		(2)	52.00	10.87	11.21
		เฉลี่ย	51.76	11.07	11.10
6011019053_2	Usw40%10 min.	(1)	51.84	10.28	10.72
		(2)	52.33	9.93	10.93
		เฉลี่ย	52.08	10.10	10.83
6011019053_3	Usw40%15min.	(1)	51.97	11.58	10.10
		(2)	52.46	11.18	10.29
		เฉลี่ย	52.21	11.38	10.19
6011019053_4	Usw60%5 min.	(1)	55.34	13.38	9.66
		(2)	55.86	12.91	9.84
		เฉลี่ย	55.60	13.14	9.75
6011019053_5	Usw60%10min	(1)	50.11	9.46	10.10
		(2)	50.58	9.13	10.29
		เฉลี่ย	50.34	9.30	10.19
6011019053_6	Usw60%15min.	(1)	50.22	10.65	9.82
		(2)	50.69	10.28	10.01
		เฉลี่ย	50.45	10.46	9.91
6011019053_7	Usw 80%5 min.	(1)	52.19	11.22	9.98
		(2)	52.68	10.83	10.17
		เฉลี่ย	52.43	11.02	10.08
6011019053_8	Usw 80%10 min.	(1)	51.39	10.55	10.46
		(2)	51.87	10.18	10.66
		เฉลี่ย	51.63	10.36	10.56
6011019053_9	Usw 80%15 min.	(1)	53.33	11.34	10.64
		(2)	53.83	10.94	10.85
		เฉลี่ย	53.58	11.14	10.74

1/3
 2
 3
 4

Sample No.	Sample Name		Carbon %	Hydrogen %	Nitrogen %
6011019053_10	Usw 100%5 min.	(1)	52.61	11.51	10.00
		(2)	53.10	11.11	10.19
		เฉลี่ย	52.85	11.31	10.09
6011019053_11	Usw 100%10 min.	(1)	52.67	11.39	9.95
		(2)	53.16	10.99	10.14
		เฉลี่ย	52.91	11.19	10.05
6011019053_12	Usw 100%15 min.	(1)	51.84	10.35	10.76
		(2)	52.33	9.99	10.97
		เฉลี่ย	52.08	10.17	10.86
6011019053_13	Uset 40% 5 min.	(1)	52.35	11.13	11.04
		(2)	52.84	10.74	11.25
		เฉลี่ย	52.60	10.94	11.14
6011019053_14	Uset 40% 10 min.	(1)	50.92	10.70	10.65
		(2)	51.39	10.32	10.86
		เฉลี่ย	51.15	10.51	10.76
6011019053_15	Uset 40% 15 min.	(1)	49.40	9.96	10.83
		(2)	50.10	9.62	11.03
		เฉลี่ย	49.75	9.79	10.93
6011019053_16	Uset 60% 5 min.	(1)	50.73	10.48	10.86
		(2)	51.20	10.12	11.07
		เฉลี่ย	50.97	10.30	10.97
6011019053_17	Uset 60% 10 min.	(1)	51.80	10.90	10.74
		(2)	52.28	10.52	10.94
		เฉลี่ย	52.04	10.71	10.84
6011019053_18	Uset 60% 15 min.	(1)	50.55	10.24	10.68
		(2)	51.02	9.89	10.88
		เฉลี่ย	50.78	10.07	10.78
6011019053_19	Uset 80% 5 min.	(1)	51.35	11.14	10.18
		(2)	51.83	10.76	10.38
		เฉลี่ย	51.59	10.95	10.28
6011019053_20	Uset 80% 10 min.	(1)	51.08	10.50	10.52
		(2)	51.56	10.14	10.72
		เฉลี่ย	51.32	10.32	10.62
6011019053_21	Uset 80% 15 min.	(1)	51.45	12.49	13.27
		(2)	51.93	12.05	13.52
		เฉลี่ย	51.69	12.27	13.40
6011019053_22	Uset 100% 5 min.	(1)	49.00	10.98	11.54
		(2)	49.72	10.60	11.77
		เฉลี่ย	49.36	10.79	11.66
6011019053_23	Uset 100% 10 min.	(1)	49.04	10.82	11.61
		(2)	49.76	10.44	11.83
		เฉลี่ย	49.40	10.63	11.72
6011019053_24	Uset 100% 15 min.	(1)	49.96	11.04	11.60
		(2)	50.42	10.65	11.82
		เฉลี่ย	50.19	10.85	11.71

Sample No.	Sample Name		Carbon %	Hydrogen %	Nitrogen %
6011019053_25	EtOH 1:6 (เลี้ยง)	(1)	50.56	12.11	6.60
		(2)	51.04	11.69	6.73
		เฉลี่ย	50.80	11.90	6.67
6011019053_26	EtOH 1:6 (ฟาร์ม)	(1)	50.68	11.47	11.38
		(2)	51.15	11.07	11.60
		เฉลี่ย	50.91	11.27	11.49
6011019053_27	สาหร่าย (เลี้ยง)	(1)	51.64	13.73	6.70
		(2)	52.12	13.25	6.83
		เฉลี่ย	51.88	13.49	6.76
6011019053_28	สาหร่าย (ฟาร์ม)	(1)	51.02	13.52	10.64
		(2)	51.49	13.05	10.85
		เฉลี่ย	51.26	13.28	10.75
6011019053_29	Usw 40% 5 min. (...)	(1)	51.18	10.82	6.59
		(2)	51.65	10.44	6.72
		เฉลี่ย	51.42	10.63	6.65
6011019053_30	Uset 40% 5 min. (...)	(1)	49.52	10.55	6.56
		(2)	50.21	10.18	6.69
		เฉลี่ย	49.86	10.37	6.63


(นางสาวอัมพร อังปกรณแก้ว)
ผู้วิเคราะห์


(นางสุนันท์ รังยิตายงนึ่งตอง)
หัวหน้าฝ่ายวิเคราะห์

หมายเหตุ ผลการทดสอบที่ได้รับนี้เป็นผลการทดสอบเฉพาะตัวอย่างที่ทำการทดสอบจากศูนย์เครื่องมือวิจัย
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเท่านั้น

ก-19 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

โดย

ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มก่อนอัลตราซาวด์ เท่ากับ 56.667 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง

ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยเอทานอล เท่ากับ 56.390 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง

ระดับกำลังงาน (%)	ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง หรือ เปอร์เซ็นต์)		
	ระยะเวลา (นาที)		
	5	10	15
40	55.941	28.673	44.614
60	34.332	31.891	55.442
80	46.671	46.443	49.611
100	36.002	49.612	44.520

ก-20 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกากสาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ระดับกำลังงาน (%)	ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง หรือ เปอร์เซ็นต์)		
	ระยะเวลา (นาที)		
	5	10	15
40	49.831	29.170	32.940
60	45.672	26.892	55.172
80	50.002	55.113	49.001
100	48.894	52.221	51.063

ก-21 ปริมาณโปรตีนที่ต้องการของปลาน้ำจืดกินเนื้อในแต่ละช่วงวัย (กรมประมง, 2548)

ใช้สำหรับ	ลักษณะ	ขนาดของอาหาร	โปรตีน	ไขมัน	กาก	ความชื้น
			ไม่ต่ำกว่า (%)	ไม่ต่ำกว่า (%)	ไม่มากกว่า (%)	ไม่มากกว่า (%)
1. ปลาน้ำจืดกินเนื้อ วัยอ่อน	ผง,แผ่น เกล็ด,เม็ด	ไม่จำกัดขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลาง	40	5	4	12
		ต้องมีขนาดเหมาะสม กับปากปลา				
เช่น ปลาช่อน ปลา กราย ปลาหมอไทย						
2. ปลาน้ำจืดกินเนื้อ ขนาดเล็ก	ผง,เกล็ด ,เม็ด	ไม่จำกัดขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลาง	37	4	4	12
		ต้องมีขนาดเหมาะสม กับปากปลา				
เช่น ปลาช่อน ปลา กราย ปลาหมอไทย						
3. ปลาทะเลกินเนื้อ ขนาดกลาง	ผง,เม็ด	ไม่จำกัดขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลาง	35	4	5	12
		ต้องมีขนาดเหมาะสม กับปากปลา				
เช่น ปลาช่อน ปลา กราย ปลาหมอไทย						
4. ปลาน้ำจืดกินเนื้อ ขนาดใหญ่	ผง,แผ่น	ไม่จำกัดขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลาง	30	4	6	12
		ต้องมีขนาดเหมาะสม กับปากปลา				
เช่น ปลาช่อน ปลา กราย ปลาหมอไทย						

ก-22 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากกากสาหร่ายบดผสมฟาร์มหลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)											
	5				10				15			
	C	D	C-D	E	C	D	C-D	E	C	D	C-D	E
40	0.227	0.086	0.141	9.6	0.239	0.10	0.144	7.68	0.239	0.105	0.134	14.5
60	0.214	0.059	0.155	1.07	2.99	0.07	2.92	2.99	0.221	0.072	0.149	4.9
80	0.225	0.071	0.154	1.28	0.218	0.07	0.148	5.54	0.233	0.076	0.157	0
100	0.201	0.058	0.143	8.32	0.221	0.06	0.162	0	0.223	0.061	0.162	0

หมายเหตุ : A - B = 0.158 และ E คือ % ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ก-23 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากกากสาหร่ายบดผสมฟาร์มหลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงานและเวลาต่างๆ

ระดับกำลังงาน (%)	ระยะเวลา (นาที)											
	5				10				15			
	C	D	C-D	E	C	D	C-D	E	C	D	C-D	E
40	0.182	0.050	0.132	15.6	0.266	0.135	0.131	16.0	0.266	0.124	0.142	12.8
60	0.258	0.116	0.142	9.38	0.311	0.186	0.125	20.7	0.300	0.180	0.120	23.8
80	0.289	0.167	0.122	22.8	0.303	0.180	0.123	21.9	0.294	0.172	0.122	23.0
100	0.254	0.128	0.126	20.0	0.287	0.170	0.117	25.9	0.245	0.114	0.131	17.1

หมายเหตุ: A - B = 0.158 และ E คือ % ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

และ

A คือ ค่าความดูดกลืนแสงของ Control (Absolute ethanol 100 μ l + DPPH 100 μ l)

B คือ ค่าความดูดกลืนแสงของ Blank control (Absolute ethanol 200 μ l)

C คือ ค่าความดูดกลืนแสงของ Sample (Sample 100 μ l + DPPH 100 μ l)

D คือ ค่าความดูดกลืนแสงของ Blank sample (Absolute ethanol 100 μ l + Sample 100 μ l)

ก-24 การวิเคราะห์ความเป็นพิษ (Toxicity) ของสารร้ายและกากสารร้ายหลังการสกัดน้ำมัน

เลขที่ R00004



ห้องปฏิบัติการงานบริการวิชาการ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ 15/03/2017

วิธีการทดลอง

การยับยั้งแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ด้วยสารทดสอบชนิดต่างๆ

ทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ด้วยยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ โดยหาค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ได้ โดยใช้วิธีทดสอบแบบ Disc diffusion ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Koeth และคณะ (2015) สารทดสอบที่นำมาใช้ทดสอบมี 5 ชนิด คือ 1. กากสารร้ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ที่ 40% 5 นาที่ (Lab) 2. กากสารร้ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ ที่ 40% 5 นาที่ (Lab) 3. กากสารร้ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ที่ 40% 5 นาที่ (บุญสมฟาร์ม) 4. กากสารร้ายหลังจากสกัดด้วยเอทานอล 1:6 (Lab) และ 5. กากสารร้ายหลังจากสกัดด้วยเอทานอล 1:6 (บุญสมฟาร์ม) และแปรผันความเข้มข้นของสารทดสอบตั้งแต่ 0.1-10 mg/ml การทดสอบแบบ Disc diffusion นั้นทำได้โดยนำแผ่น disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm ไปจุ่มในยาปฏิชีวนะความเข้มข้นต่างๆ และวางบนเพลทที่มีแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* (เชื้อมีความเข้มข้น 0.5 Mcfarland) กระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Trypticase Soy Agar (TSA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เป็นเวลา 7 วัน และดูการเกิด clear zone รอบแผ่น disc

ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 การยับยั้งแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ด้วยสารสกัดจากสาหร่ายชนิดต่างๆ

สารทดสอบ	Clear zone of inhibition (mm)											
	ความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่าย (mg/ml)											
	0.1	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1±0	1±0	1±0
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1±0	2±0
D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.83±0.29	1±0	1.67±0.58
E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2±0	3±0	5±0

*ทดสอบโดยวิธี Disc Diffusion

โดยที่

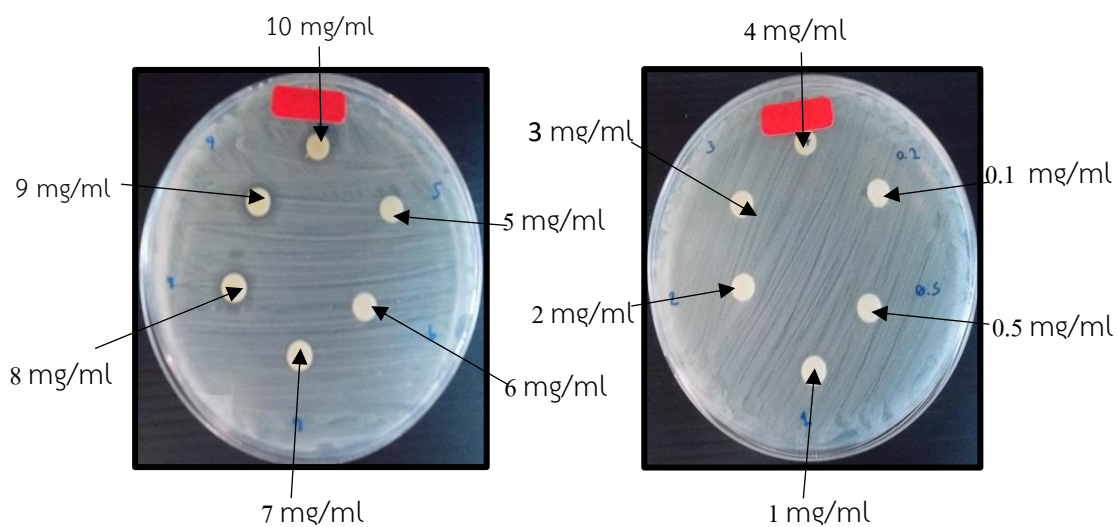
A = สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที

B = สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ ที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที

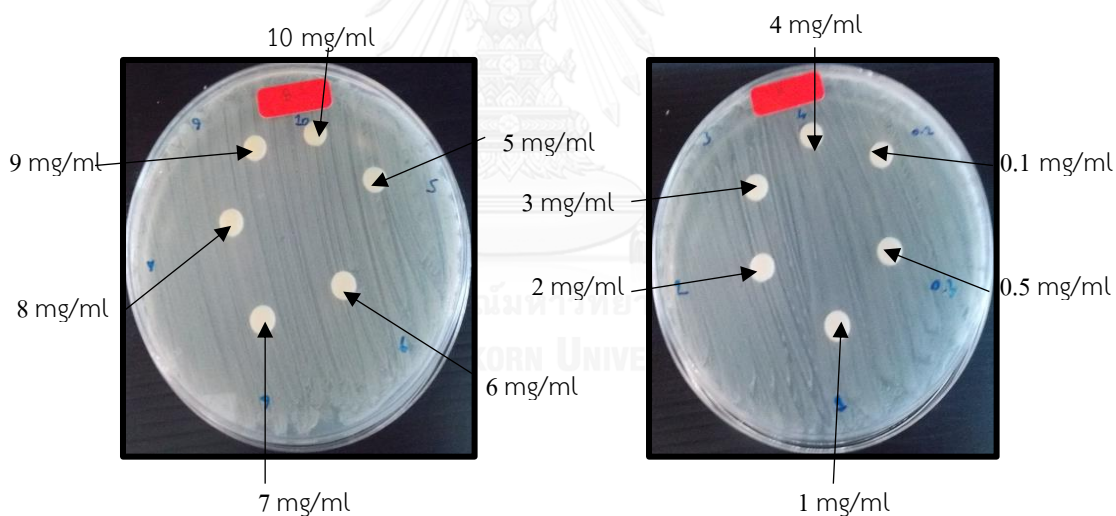
C = สาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอลที่ระดับกำลังงาน 40% ระยะเวลา 5 นาที

D = สาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหลังสกัดด้วยเอทานอลอัตราส่วน 1:6

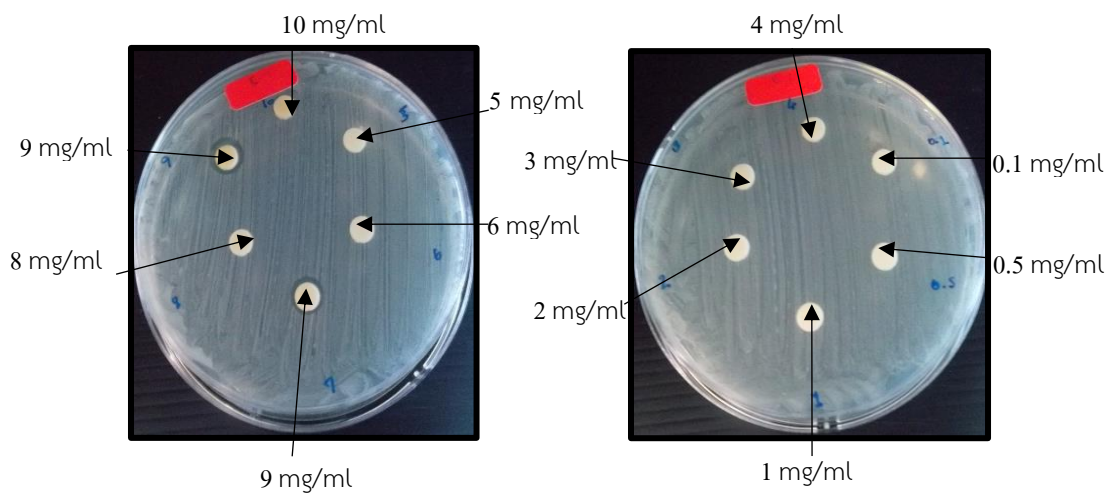
E = สาหร่ายบุญสมฟาร์มหลังสกัดด้วยเอทานอลอัตราส่วน 1:6



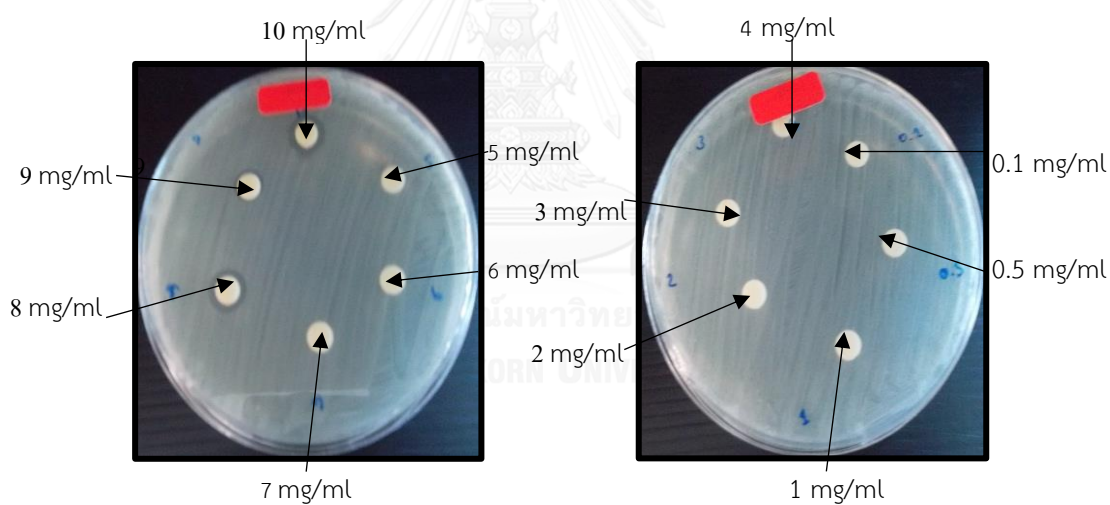
รูปที่ 1 การยับยั้งแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ด้วยกากระคายหลังจากสกัดด้วย อัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ที่ 40% 5 นาที (Lab) ที่ความเข้มข้นสารสกัดสาหร่าย 0.1-10 mg/ml



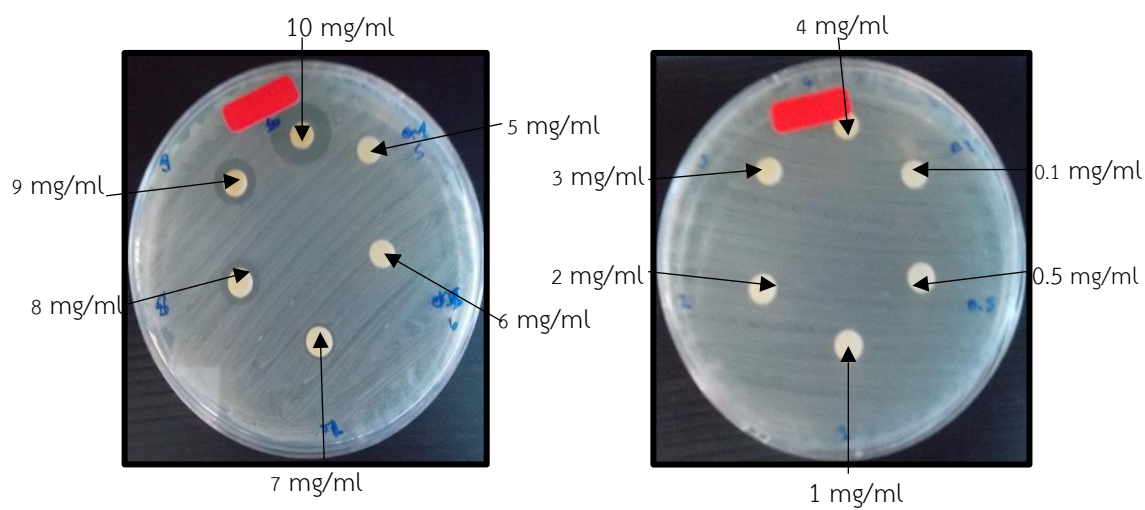
รูปที่ 2 การยับยั้งแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ด้วยกากระคายหลังจากสกัดด้วย อัลตราซาวด์ ที่ 40% 5 นาที (Lab) ที่ความเข้มข้นสารสกัดสาหร่าย 0.1-10 mg/ml



รูปที่ 3 การยับยั้งแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ด้วยกาบาสาหร่ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล ที่ 40% 5 นาที (บุญสมพาร์ม) ความเข้มข้นสารสกัดสาหร่าย 0.1-10 mg/ml



รูปที่ 4 การยับยั้งแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ด้วยกาบาสาหร่ายหลังจากสกัดด้วยเอทานอล 1:6 (Lab) ที่ความเข้มข้นสารสกัดสาหร่าย 0.1-10 mg/ml



รูปที่ 5 การยับยั้งแบคทีเรีย *Clostridium sporogenes* ด้วยกากสาหร่ายหลังจากสกัดด้วยเอทานอล 1:6 (บุญสมฟาร์ม) ที่ความเข้มข้นสารสกัดสาหร่าย 0.1-10 mg/ml



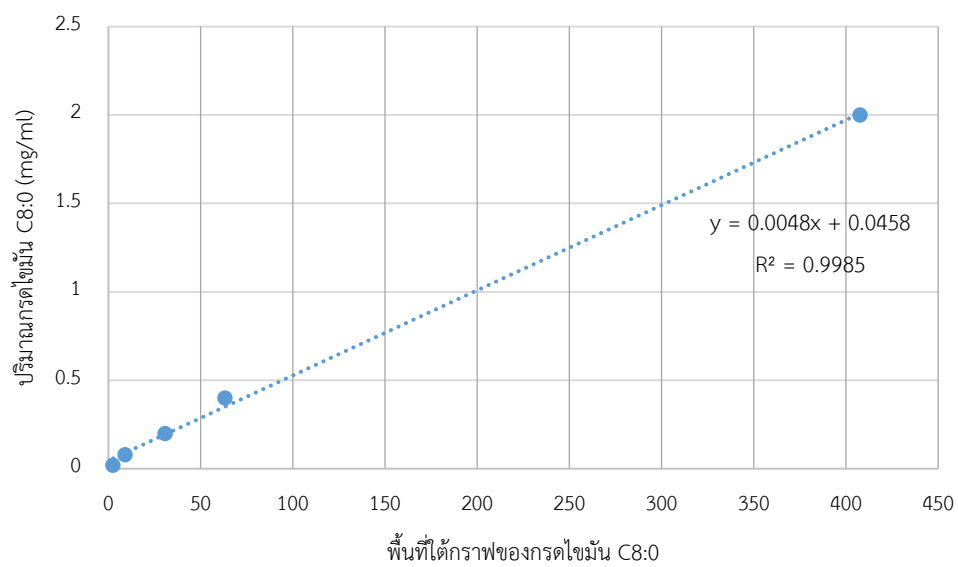
นันทิธร เภราราช
(นางสาวนันทิธร เภราราช)
เจ้าหน้าที่วิเคราะห์

ภาคผนวก ข

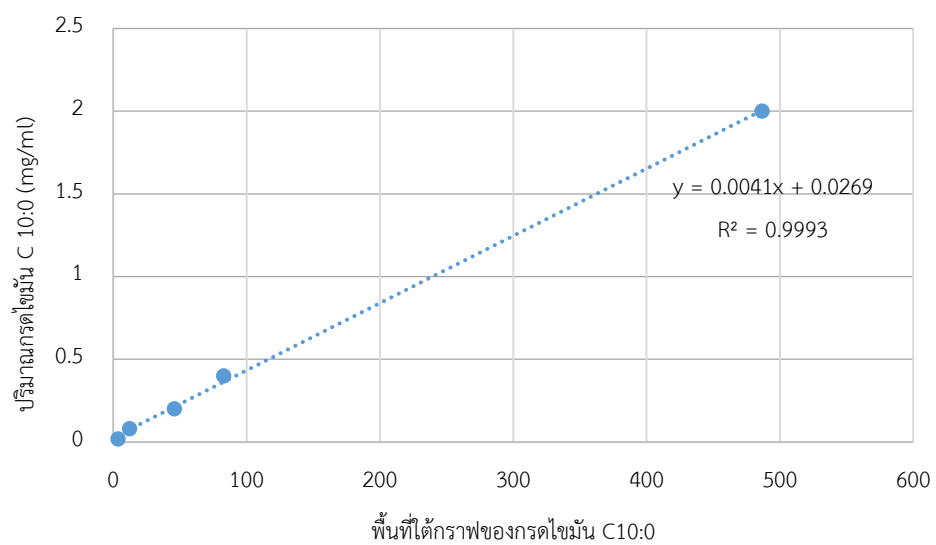
กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C8-C24 และโครมาโทแกรมของกรดไขมัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

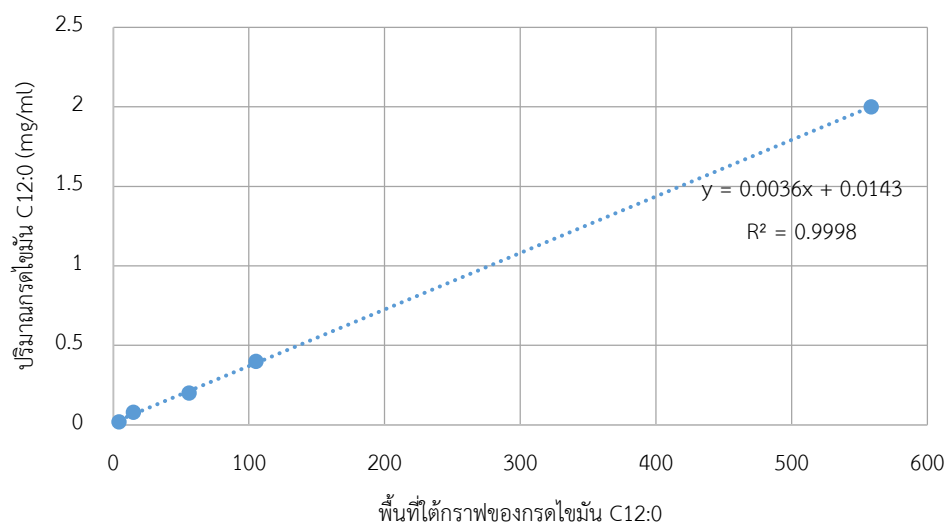
ข-1 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C8:0



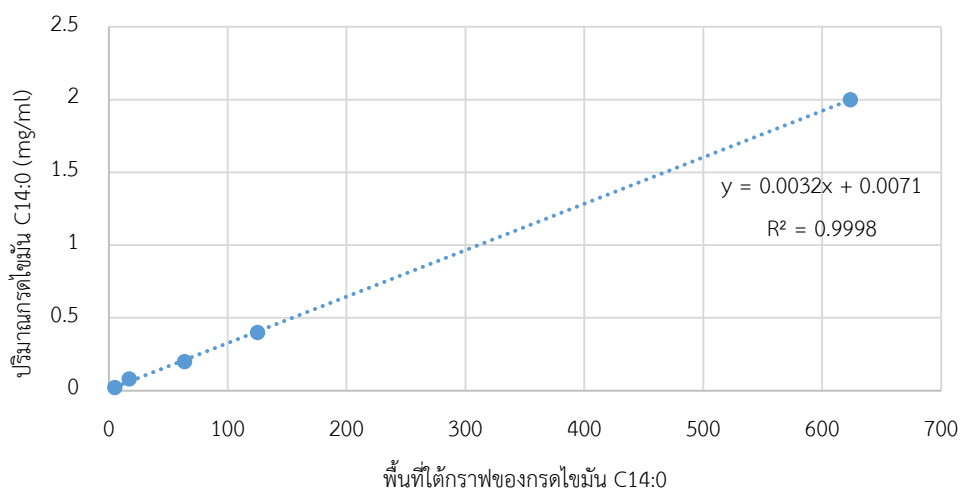
ข-2 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C10:0



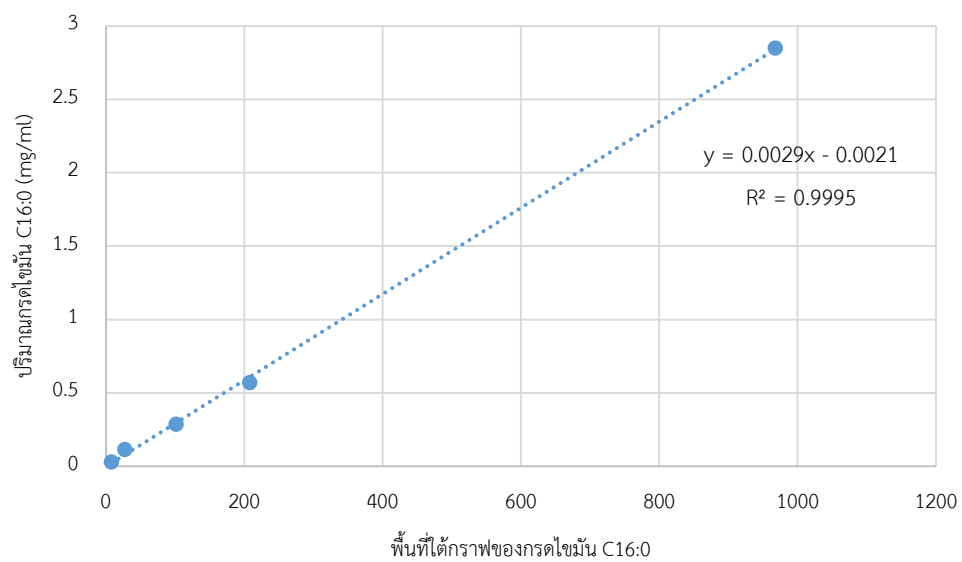
ข-3 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C12:0



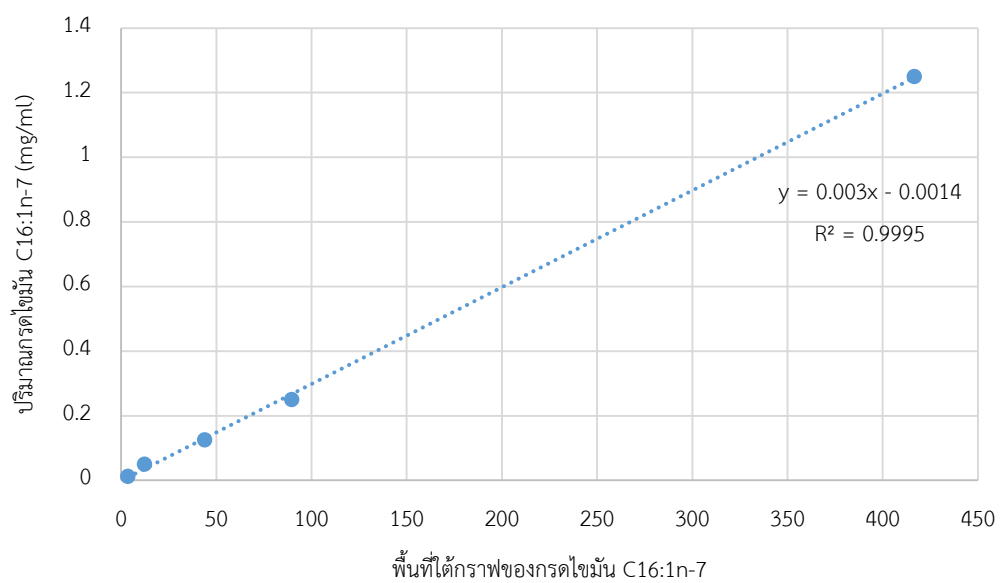
ข-4 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C14:0



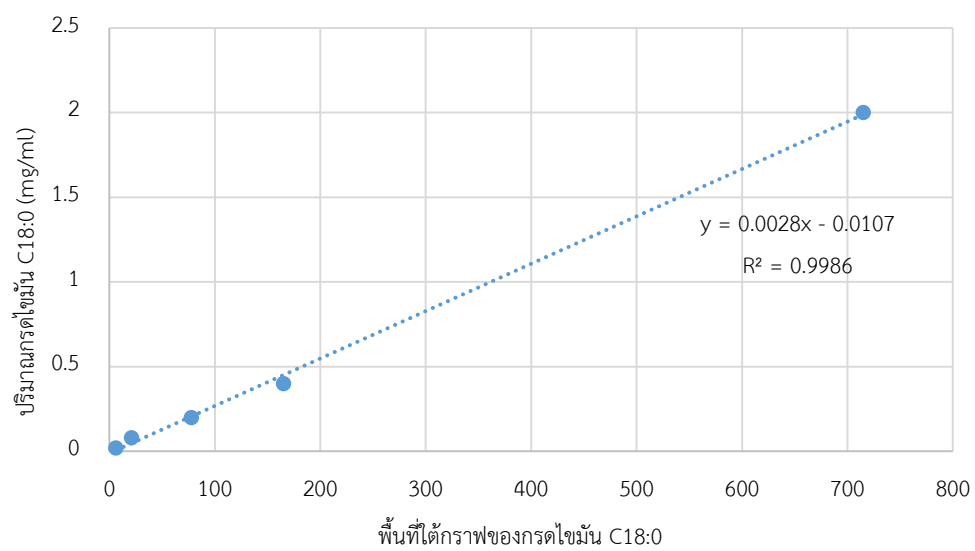
ข-5 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C16:0



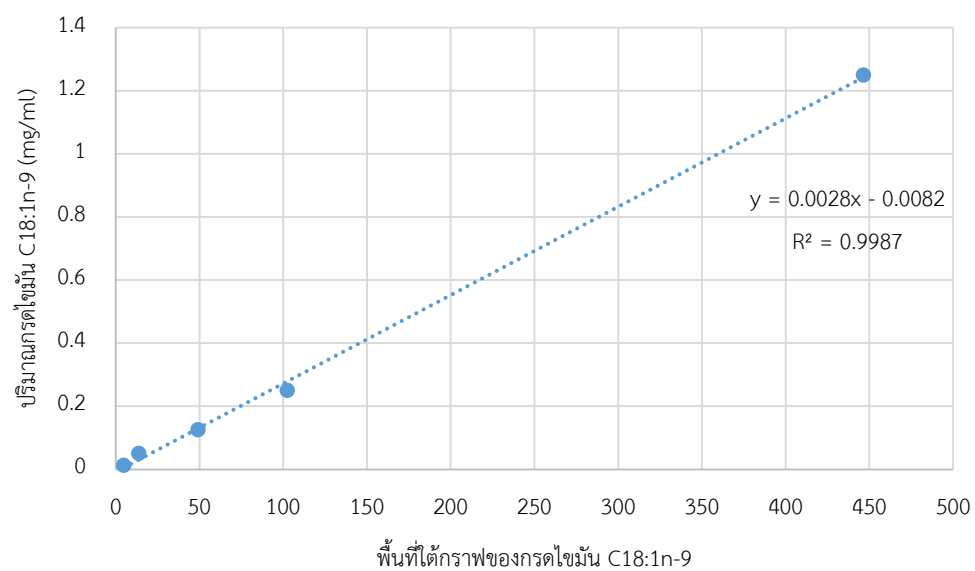
ข-6 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C16:1n-7



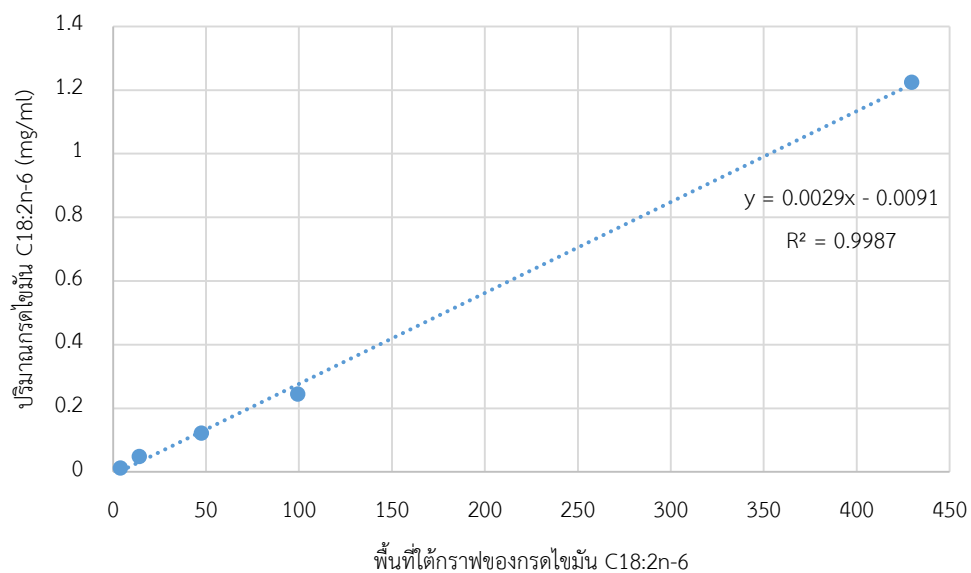
ข-7 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C18:0



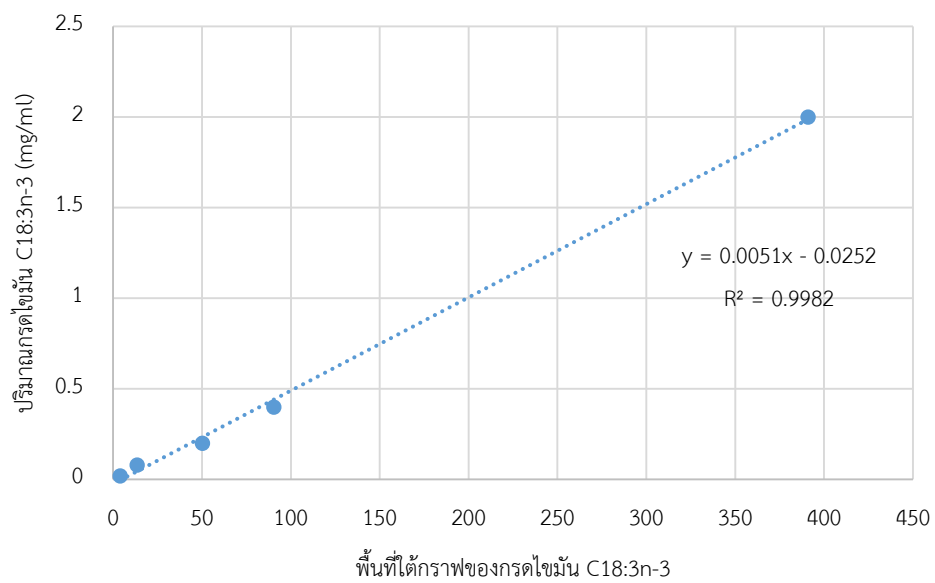
ข-8 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C18:1n-9



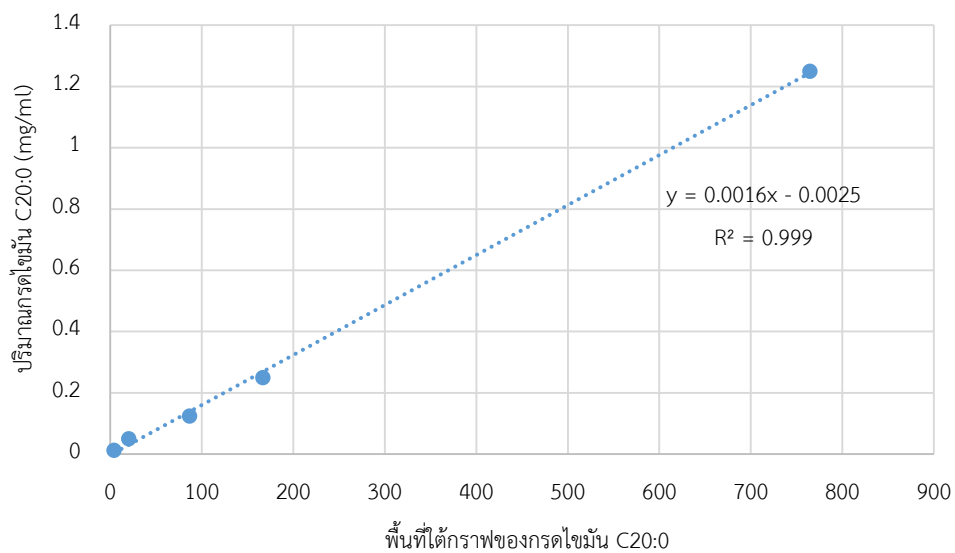
ข-9 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C18:2n-6



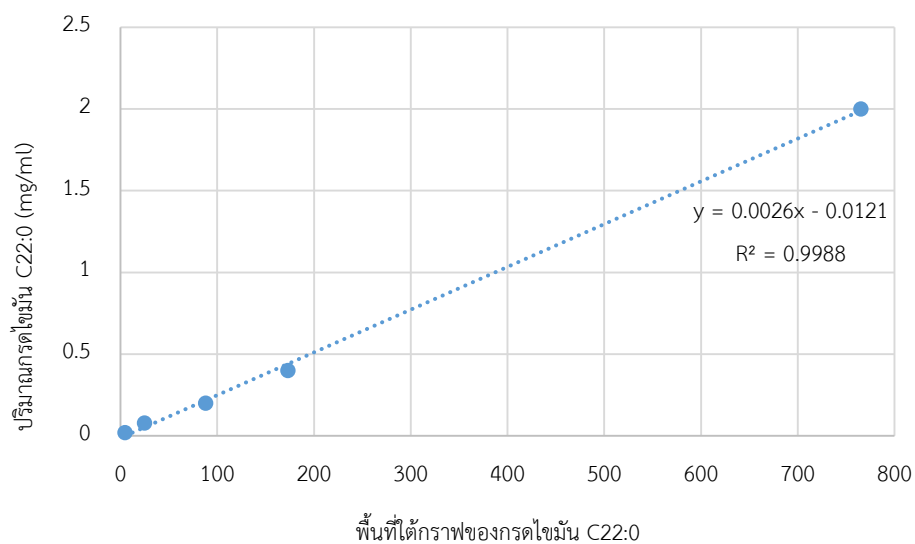
ข-10 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C18:3n-3



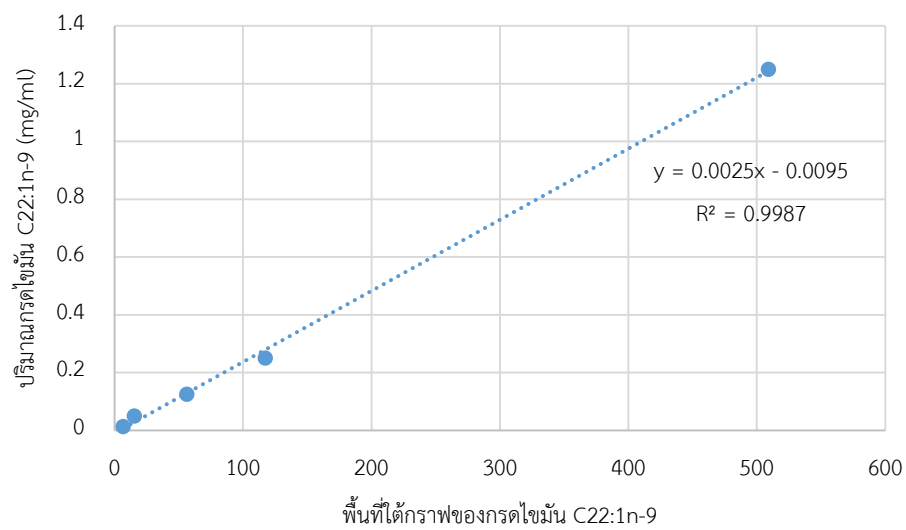
ข-11 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C20:0



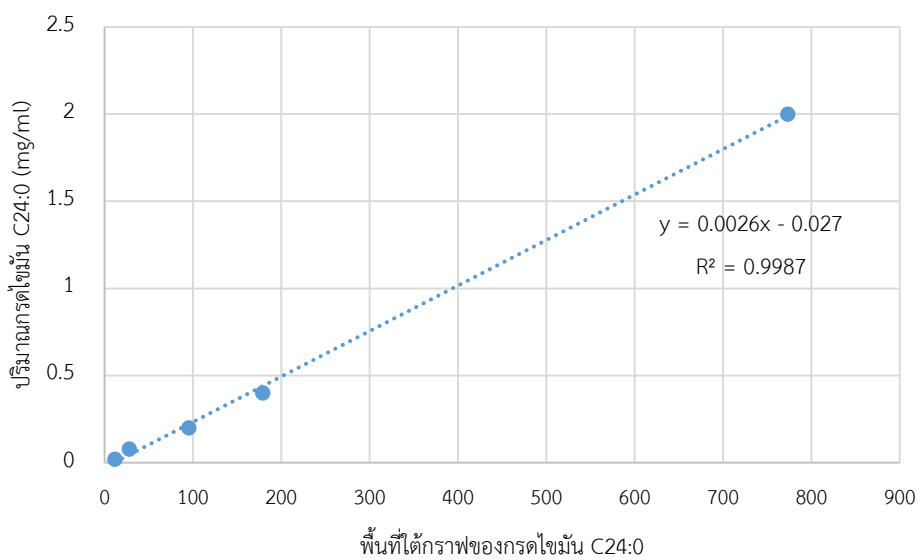
ข-12 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C22:0



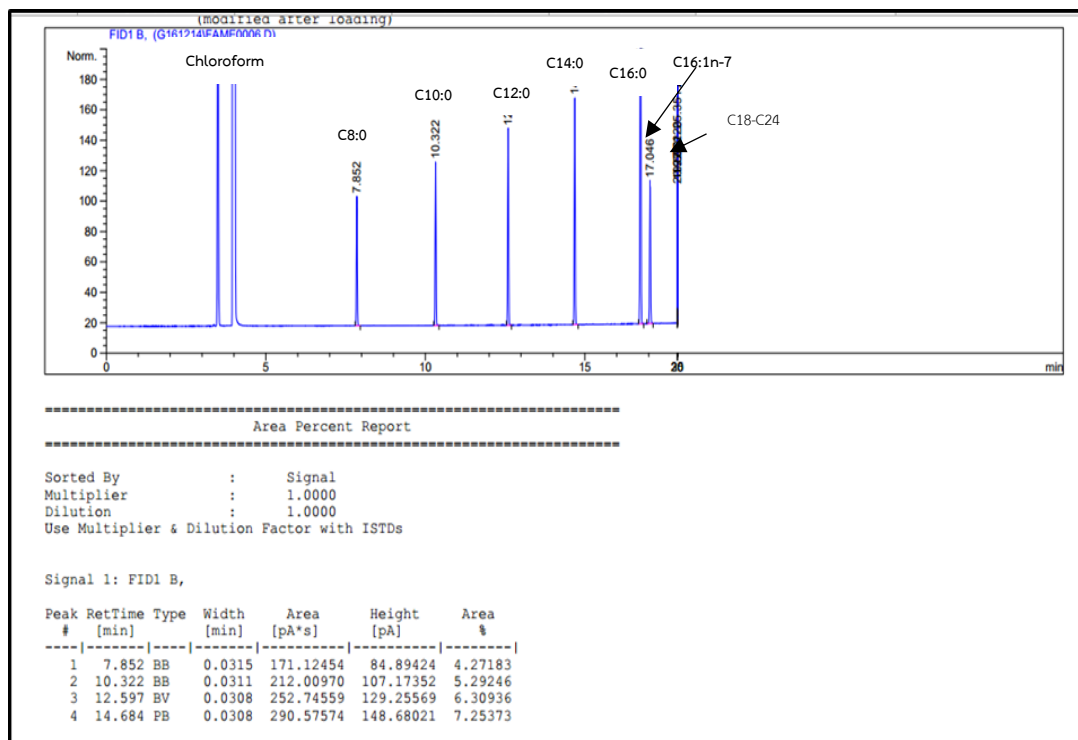
ข-13 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C22:1n-9



ข-14 กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C24:0



ข-15 ตัวอย่างโครมาโทแกรมกรดไขมัน (Fatty Acid Methyl Esters) C8-C24



ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Two-way ANOVA จากโปรแกรม IBM SPSS

Statistics Data Editor



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ค-1 อัตราส่วนสารห่วยแห้งต่อเอทานอลของตัวอย่างสารห่วยบุญสมฟาร์มและตัวอย่างสารห่วยที่เลี้ยง
ในห้องปฏิบัติการ

Pairwise Comparisons							
Dependent Variable	(I) อัตราส่วน	(J) อัตราส่วน	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^b	95% Confidence Interval for Difference ^b	
						Lower Bound	Upper Bound
ปริมาณน้ำมัน (ฟาร์ม)	1:4	1:5	-.023*	.002	.000	-.031	-.015
		1:6	-.032*	.002	.000	-.040	-.024
		1:7	-.032*	.002	.000	-.040	-.024
	1:5	1:4	.023*	.002	.000	.015	.031
		1:6	-.009*	.002	.026	-.017	-.001
		1:7	-.009*	.002	.026	-.017	-.001
	1:6	1:4	.032*	.002	.000	.024	.040
		1:5	.009*	.002	.026	.001	.017
		1:7	5.551E-17	.002	1.000	-.008	.008
	1:7	1:4	.032*	.002	.000	.024	.040
		1:5	.009*	.002	.026	.001	.017
		1:6	-5.551E-17	.002	1.000	-.008	.008
ปริมาณน้ำมัน (แลบ)	1:4	1:5	-.011	.014	1.000	-.061	.039
		1:6	-.029	.014	.474	-.079	.021
		1:7	-.029	.014	.458	-.079	.021
	1:5	1:4	.011	.014	1.000	-.039	.061
		1:6	-.018	.014	1.000	-.068	.032
		1:7	-.018	.014	1.000	-.068	.032
	1:6	1:4	.029	.014	.474	-.021	.079
		1:5	.018	.014	1.000	-.032	.068
		1:7	.000	.014	1.000	-.050	.050
	1:7	1:4	.029	.014	.458	-.021	.079
		1:5	.018	.014	1.000	-.032	.068
		1:6	.000	.014	1.000	-.050	.050

ค-2 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาอัลตราซาวด์ส่งผลต่อปริมาณน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระดับกำลังงาน 40%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.000	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.227
30					

ระดับกำลังงาน 60%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.000	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.058
30					

ระดับกำลังงาน 80%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.000	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					1.000
30					

ระดับกำลังงาน 100%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.000	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.093
30					

ค-3 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆส่งผลต่อปริมาณน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.002
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				1.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.008
100				

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 30 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ค-4 ผลของระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อปริมาณน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์

ปริมาณน้ำมัน

Duncan^{a,b}

power	N	Subset			
		1	2	3	4
40%	15	.1673			
60%	15		.1838		
80%	15			.2087	
100%	15				.2154
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5.017E-6.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.



ปริมาณน้ำมัน

Duncan^{a,b}

time	N	Subset				
		1	2	3	4	5
5	12	.1564				
10	12		.1782			
15	12			.1986		
20	12				.2158	
30	12					.2200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5.017E-6.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

ค-5 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่ส่งผลต่อปริมาณน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระดับกำลังงาน 40%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.018	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.191
30					

ระดับกำลังงาน 60%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.008	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					1.000
30					

ระดับกำลังงาน 80%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.074	0.000	0.000
15				0.001	0.000
20					0.097
30					

ระดับกำลังงาน 100%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.020	0.000	0.000	0.000
10			0.081	0.000	0.000
15				0.015	0.000
20					0.998
30					

ค-6 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆส่งผลต่อปริมาณน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		1.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 30 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ค-7 ผลของระดับกำลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อปริมาณน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

ปริมาณน้ำมัน

Duncan^{a,b}

power	N	Subset			
		1	2	3	4
40%	15	.19448			
60%	15		.19841		
80%	15			.21021	
100%	15				.22563
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.409E-6.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.



ปริมาณน้ำมัน

Duncan^{a,b}

time	N	Subset			
		1	2	3	4
5	12	.19703			
10	12		.20401		
15	12			.20706	
20	12				.21350
30	12				.21431
Sig.		1.000	1.000	1.000	.103

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.409E-6.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

ค-8 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อปริมาณกรดไขมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระดับกำลังงาน 40%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.000	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.000
30					

ระดับกำลังงาน 60%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.000	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.000
30					

ระดับกำลังงาน 80%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.000	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.000
30					

ระดับกำลังงาน 100%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.000	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.000
30					

ค-9 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณกรดไขมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 30 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ค-10 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อปริมาณกรดไขมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระดับกำลังงาน 40%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.018	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.000
30					

ระดับกำลังงาน 60%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.008	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.000
30					

ระดับกำลังงาน 80%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.956	0.000	0.000	0.000
10			0.000	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.000
30					

ระดับกำลังงาน 100%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)				
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)				
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15	20	30
5		0.000	0.000	0.000	0.000
10			0.000	0.000	0.000
15				0.000	0.000
20					0.000
30					

ค-11 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณกรดไขมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.073
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 30 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ค-12 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อปริมาณโปรตีนด้วยวิธีอัลตราซาวด์

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระดับกำลังงาน 40%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 60%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 80%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 100%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ค-13 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีนด้วยวิธีอัลตราซาวด์

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ค-14 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลกระทบต่อปริมาณโปรตีนด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระดับกำลังงาน 40%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 60%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 80%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 100%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ค-15 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีนด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ค-16 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อความต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธีอัลตราซาวด์

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระดับกำลังงาน 40%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 60%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 80%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 100%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			1.000
15			

ค-17 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีอัลตราซาวด์

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				1.000
100				

ค-18 ผลของระดับกำลังงานต่างๆต่อระยะเวลาส่งผลต่อความต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธีอัลตราซาวด์ร่วมกับเอทานอล

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระดับกำลังงาน 40%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		1.000	0.001
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 60%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.000
10			0.000
15			

ระดับกำลังงาน 80%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.430	1.000
10			0.246
15			

ระดับกำลังงาน 100%	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)		
	ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)		
ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	5	10	15
5		0.000	0.001
10			0.000
15			

ค-19 ผลของระยะเวลาอัลตราซาวด์ต่อระดับกำลังงานต่างๆที่ส่งผลต่อความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีอัลตราซาวด์

*ระดับนัยสำคัญ < 0.05 คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.000	0.000
80				0.002
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			0.655	0.000
80				0.000
100				

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที	ระดับนัยสำคัญ (Significance Level)			
	ระดับกำลังงาน (%)			
ระดับกำลังงาน (%)	40	60	80	100
40		0.000	0.000	0.000
60			1.000	0.000
80				0.000
100				



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวภัคจิรา ลิ้มภัทรชัย เกิดเมื่อวันที่ 26 กันยายน 2534 จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อวันที่ 17 เมษายน 2557 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษาต่อมา

การเผยแพร่งานวิจัย

Application of ultrasound for lipid extraction from *Spirulina platensis* with ethanol extraction at The 6th International Conference on Environmental Engineering, Science and Management May 17-18,2017 at The Twin Towers Hotel, Rong Muang, Thailand



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY