

การสกัดน้ำมันจาก *Chlorella vulgaris* โดยใช้อัลตราซาวด์

นางสาววนากานต์ เร่งเพียร



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)

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม  
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EXTRACTION OF LIPIDS FROM *CHLORELLA VULGARIS* BY APPLYING ULTRASOUND

Miss Wanakarn Rengpian



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 2014

Copyright of Chulalongkorn University



วนากานต์ เร่งเพียร : การสกัดน้ำมันจาก *Chlorella vulgaris* โดยใช้อัลตราซาวด์ (EXTRACTION OF LIPIDS FROM *CHLORELLA VULGARIS* BY APPLYING ULTRASOUND) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ดร.อรอนงค์ ลาภปริสุทธิ, 154 หน้า.

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์/มิลลิลิตร โดยใช้อ่างอัลตราซาวด์ ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ พบว่า ที่ 150 วัตต์ นาน 40 นาที ทำให้เซลล์สาหร่ายแตกมากที่สุด และมีปริมาณน้ำมันมากที่สุดคือ 17.3 มิลลิกรัม/กรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง อย่างไรก็ตามเมื่อวัดปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{22}$  ด้วยเทคนิค Gas chromatography พบว่า ที่ 120 วัตต์ นาน 30 นาที มีความเหมาะสมในการสกัดน้ำมันมากกว่า โดยมีปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{22}$  สูงสุด คือ 7.9 มิลลิกรัม/กรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง เมื่อใช้โพรบอัลตราซาวด์ ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ที่ 20%-80% ระดับพลังงานสูงสุด 130 วัตต์ นาน 10 นาที พบว่า ที่ 80% ทำให้เซลล์สาหร่ายแตกมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 75.66 มีปริมาณน้ำมันที่สกัดได้มากที่สุดคือ 64.9 มิลลิกรัม/กรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง เมื่อวัดปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{22}$  พบว่า ที่ 70% มีปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{22}$  สูงสุด คือ 43.33 มิลลิกรัม/กรัมของเซลล์สาหร่าย ซึ่งจะเห็นได้ว่าการใช้อัลตราซาวด์แบบอ่างและแบบโพรบมีความแตกต่างกัน เนื่องจากอัลตราซาวด์แบบอ่างต้องอาศัยน้ำเป็นตัวกลางในการถ่ายเทคลื่นอัลตราซาวด์ ส่วนอัลตราซาวด์แบบโพรบ คลื่นอัลตราซาวด์จะถ่ายเทพลังงานโดยตรงกับตัวอย่าง นอกจากนี้การสกัดน้ำมันโดยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ โดยทำการอบแห้งสาหร่ายก่อนการสกัด พบว่า วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ มีปริมาณน้ำมันสูงสุด คือ 119.6 มิลลิกรัม/กรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง ลำดับถัดมาคือวิธี Bligh and Dyer สกัดน้ำมันได้ 102.4 มิลลิกรัม/กรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง และวิธี Soxhlet สกัดน้ำมันได้ 74.1 มิลลิกรัม/กรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง และวัดปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{22}$  พบว่า วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์มีปริมาณน้ำมันสูงที่สุด ซึ่งการใช้คลื่นอัลตราซาวด์จะเกิดปรากฏการณ์คาวิเทชัน เกิดการปลดปล่อยของเหลวภายในเซลล์สาหร่ายเนื่องจากผนังเซลล์สาหร่ายถูกทำลาย แม้ว่าอาจได้ปริมาณน้ำมันที่น้อยกว่าวิธีมาตรฐาน แต่การใช้คลื่นอัลตราซาวด์นั้นสามารถลดขั้นตอนการอบแห้ง และช่วยทำให้การสกัดด้วยวิธีมาตรฐานได้น้ำมันมากขึ้น ดังนั้นการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายโดยใช้อัลตราซาวด์จึงอาจเป็นแนวทางที่สามารถประยุกต์ใช้ในเชิงอุตสาหกรรมรวมทั้งลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์

ภาควิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2557

# # 5570355121 : MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEYWORDS: MICROALGAE / ULTRASOUND / OIL / LIPIDS / EXTRACTION

WANAKARN RENGPIAN: EXTRACTION OF LIPIDS FROM *CHLORELLA VULGARIS* BY APPLYING ULTRASOUND. ADVISOR: ON-ANONG LARPPARISUDTHI, Ph.D., 154 pp.

In this study, extraction of lipids from *Chlorella vulgaris* at the initial concentration of  $1 \times 10^9$  cells/ml by applying a 40 kHz ultrasonic bath at the power level of 80, 100, 120, and 150 watts. It was found that ultrasound at 150 watts for 40 minutes disrupted cell the most and gave the most lipids quantity of 17.3 mg/g dried algae cells. However, when analyzed the amount of fatty acids ( $C_{14}$ - $C_{22}$ ) by gas chromatography technique, it was found that applying ultrasound at the power level of 120 watts for 30 minutes was more suitable as it gave the highest amount of  $C_{14}$ - $C_{22}$  at 7.9 mg/g dried cells. Further study by using a 20 kHz ultrasonic probe at 20%-80% of 130 Watts for 10 minutes, it was found that ultrasound at 80% power gave the highest cell disruption at 75.66% and the highest weight of lipids at 64.9 mg/g dried cells, but when compared the  $C_{14}$ - $C_{22}$  content, ultrasound at 70% gave the highest amount at 43.33 mg/g dried cell. From the results, the ultrasonic bath and the probe gave the different results as applying ultrasonic bath required water as a medium to transfer the ultrasonic wave but a ultrasonic probe could transfer the energy directly into the sample. Moreover, when compared the extraction by Soxhlet method, Bligh and Dyer method and Bligh and Dyer method with ultrasound, it was found that extraction by Bligh and Dyer method with ultrasound gave the most lipids at 119.6 mg/ g dried cells, the second was the Bligh and Dyer method giving the lipids of 102.4 mg/g dried cells and then the Soxhlet method at 74.1 mg/g dried cells. When compared the GC results, samples extracted by Bligh and Dyer method with ultrasound contained the most  $C_{14}$ - $C_{22}$  contents. Applying ultrasound might induce cavitation that disrupted the algae cell wall so that the intracellular fluids released from the cell. Although, ultrasound gave less amount of lipids than those of the standard methods, it was able to cut off the drying process and enhance the standard extraction methods. Therefore, applying ultrasound for lipid extraction from algae might be able to apply for industrial use to reduce the organic solvent usage.

Department: Environmental Engineering Student's Signature .....

Field of Study: Environmental Engineering Advisor's Signature .....

Academic Year: 2014

## กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร.อรอนงค์ ลาภปริสุทธิ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้คำปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ทุกขั้นตอน อบรมสั่งสอน และให้ความรู้ คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย ตลอดจนให้กำลังใจและทุนทรัพย์ในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ตลอดมา

ขอกราบของพระคุณประธานการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.พิสุทธิ เพ็ญมณฑล คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เขมรัฐ โอสถาปนธ์ อาจารย์ ดร.ดาว สุวรรณแสง จันเจริญ และกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกมหาวิทยาลัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จารุวรรณ วงศ์พะเนตร ที่ได้ให้เกียรติและสละเวลาในการสอบวิทยานิพนธ์ ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ บุคลากรภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม และครูผู้ดูแลห้องปฏิบัติการของภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมทุกท่าน ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ ให้ใช้สถานที่ และใช้เครื่องมือของห้องปฏิบัติการ ให้คำปรึกษาการใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นห้องปฏิบัติการเคมี ห้องปฏิบัติการชีววิทยา และห้องปฏิบัติการวิจัยบัณฑิต

ขอขอบพระคุณคุณรามนรี เนตรวิเชียร เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการอาคารสี่ภาควิชา คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ช่วยแก้ไขปัญหา และให้ใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ภายในห้องปฏิบัติการ รวมถึงความรู้ทางด้านเคมีวิเคราะห์ที่เป็นประโยชน์แก่งานวิจัย

ขอขอบพระคุณห้องปฏิบัติการชีววิทยา ห้องปฏิบัติการน้ำดี ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุเคราะห์สาหร่ายพันธุ์โคลอเรลล่ามาใช้ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ช่วยแก้ปัญหา และให้กำลังใจ ตลอดระยะเวลาที่ทำวิทยานิพนธ์

และสุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่คอยช่วยเหลือ สนับสนุนในทุกๆ เรื่อง

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ .....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย .....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	4
2.1 สาหร่าย.....	4
2.2 สาหร่ายสีเขียว (Green Algae).....	6
2.3 สาหร่ายคลอเรลล่า (Chlorella).....	7
2.4 ความสำคัญของสาหร่าย .....	7
2.4.1 ความสำคัญต่อระบบนิเวศ.....	7
2.4.2 ความสำคัญทางด้านอาหาร .....	8
2.4.3 ความสำคัญทางการเกษตร.....	9
2.4.4 ความสำคัญในการกำจัดน้ำเสีย.....	9
2.4.5 ความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรม.....	10
2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย .....	12
2.5.1 แสง (Light).....	12
2.5.2 ความขุ่นของน้ำ (Turbidity).....	12

2.5.3 อุณหภูมิ (Temperature).....	12
2.5.4 กระแสไฟฟ้า (Current).....	12
2.5.5 สภาพการนำไฟฟ้า (Conductivity).....	13
2.5.6 ความเป็นกรด-เบส (pH) .....	13
2.5.7 ออกซิเจนละลาย (Dissolved Oxygen, DO).....	13
2.6 สาหร่ายกับการนำมาผลิตเป็นพลังงาน .....	14
2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิต (Productivity) ของสาหร่ายในการผลิตน้ำมัน .....	15
2.8 องค์ประกอบของน้ำมันสาหร่าย.....	16
2.9 การนำน้ำมันจากสาหร่ายชนิดต่างๆ มาใช้ประโยชน์.....	18
2.9.1 ผลิตน้ำมันไบโอดีเซล (Demirbas และ Fatih Demirbas, 2011).....	18
2.9.2 ผลิตเป็นอาหารเสริม (มาฆะ เพ็ญทรงอาจ และคณะ, 2556).....	18
2.10 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย .....	18
2.11 วิธีการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย.....	19
2.11.1 ขั้นตอนการเก็บเกี่ยวสาหร่าย .....	19
2.11.2 ขั้นตอนการสกัดน้ำมันสาหร่าย.....	19
2.11.3 การหาปริมาณน้ำมันสาหร่าย .....	23
2.12 คุณสมบัติทั่วไปและธรรมชาติของคลื่นเสียง .....	24
2.12.1 คลื่นเสียง (Sound wave) .....	24
2.12.2 คุณสมบัติที่สำคัญของคลื่นเสียง .....	24
2.12.3 อัตราเร็วของเสียง .....	25
2.13 อัลตราซาวด์ (Ultrasound).....	26
2.14 ระบบของอัลตราซาวด์.....	27
2.15 ประเภทของเครื่องอัลตราซาวด์ (Ultrasonic Reactor) .....	28



2.15.1 อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasonic Bath).....	28
2.15.2 อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasonic Probe Systems) .....	29
2.16 ปฏิกิริยาการเกิดโพรงอากาศ (Cavitation) .....	31
2.17 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโพรงอากาศ (Cavitation) .....	32
2.17.1 ความถี่ (Frequency) .....	32
2.17.2 ความหนืดของสารละลาย (Solvent viscosity).....	32
2.17.3 แรงตึงผิวของสารละลาย (Solvent surface tension).....	32
2.17.4 อุณหภูมิ (Temperature).....	33
2.17.5 ความเข้ม (Intensity).....	33
2.18 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย .....	33
2.18.1 การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet.....	33
2.18.2 การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Bligh and Dyer .....	35
2.18.3 การใช้ตัวทำละลายสกัดร่วมกับอัลตราซาวด์ (Ultrasound-assisted organic solvent extraction) .....	38
2.18.4 การใช้ความถี่และพลังงานของอัลตราซาวด์กับสาหร่าย.....	42
2.18.5 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายเพื่อนำมาผลิตเป็นพลังงานทดแทน .....	44
บทที่ 3 แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย.....	46
3.1 แผนการวิจัย .....	46
3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	50
3.3 พารามิเตอร์.....	53
3.4 วิธีการดำเนินการวิจัย .....	53
3.4.1 การศึกษาพลังงานของการอัลตราซาวด์ (ภาคผนวก ก-5).....	53
3.4.1.1 อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasonic bath).....	53

3.4.1.2 อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasonic probe) .....	54
3.4.2 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต (Growth curve) ของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> .....	54
3.4.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย การเก็บเกี่ยว และการเตรียมตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (ภาคผนวก ก-2).....	55
3.4.4 ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง.....	56
3.4.4.1 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยการอัลตราซาวด์แบบอ่าง เพื่อหาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมที่สกัดน้ำมันได้ปริมาณมากที่สุด.....	56
3.4.4.2 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยการอัลตราซาวด์แบบโพรบ เพื่อหาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมที่สกัดน้ำมันได้ปริมาณมากที่สุด.....	58
3.4.4.3 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Soxhlet (Balasubramanian และคณะ, 2011).....	60
3.4.4.4 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer.....	62
3.4.4.5 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ (Araujo และคณะ, 2013).....	64
3.4.5 วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันสาหร่าย .....	66
3.4.5.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำมันสาหร่าย.....	66
3.4.5.2 การเตรียมกราฟสารมาตรฐาน Free fatty acid methyl ester (F.A.M.E) C <sub>14</sub> -C <sub>22</sub> .....	66
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลและการแปลผล.....	67
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล .....	68
4.1 ผลการศึกษาพลังงานของอัลตราซาวด์แบบอ่างและการอัลตราซาวด์แบบโพรบ.....	68
4.2 ผลการหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> .....	70

4.3 ผลการศึกษาน้ำหนักสาหร่ายยอบแห้งปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้นสาหร่าย ประมาณ $1 \times 10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร .....	72
4.4 ผลการศึกษาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบอ่าง โดยการนับเซลล์ สาหร่ายแตกหลังการอัลตราซาวด์ .....	74
4.5 ผลการศึกษาผลของระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบอ่าง โดยการชั่ง น้ำหนักของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ .....	76
4.6 ผลการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมัน $C_{14}$ - $C_{22}$ ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์ แบบอ่าง โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี.....	78
4.7 ผลการศึกษาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบโพรบ โดยการนับเซลล์ สาหร่ายแตกหลังการอัลตราซาวด์ .....	82
4.8 ผลการศึกษาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบโพรบ โดยการชั่ง น้ำหนักของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ .....	84
4.9 ผลการศึกษาค่าประกอบของกรดไขมัน $C_{14}$ - $C_{22}$ ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์ แบบโพรบ โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี .....	85
4.10 ผลการศึกษ ปริมาณน้ำมันจากสาหร่ายที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และ วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง .....	90
4.11 ผลการศึกษ ปริมาณกรดไขมัน $C_{14}$ - $C_{22}$ จากสาหร่ายด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทก ราฟี 92	
4.12 ผลการศึกษ ปริมาณของน้ำมันที่สกัดได้ต่อจำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตก โดยใช้อัลตรา ซาวด์ แบบอ่างและแบบโพรบ .....	94
4.13 ผลการศึกษ ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานที่ใช้ 1 จูล ของอัลตราซาวด์แบบอ่าง และแบบโพรบ .....	96
4.14 ผลการศึกษ การสกัดน้ำมันทั้ง 5 วิธี คือ วิธีอัลตราซาวด์แบบอ่าง วิธีอัลตราซาวด์แบบโพรบ วิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง...98	
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ .....	102

5.1 สรุปผลการวิจัย.....	102
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	104
รายการอ้างอิง.....	105
ภาคผนวก.....	109
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ตัวอย่าง.....	110
ก-1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	111
ก-2 วิธีการเพาะเลี้ยง.....	111
ก-3 วิธีการนับเซลล์สาหร่าย.....	112
ก-4 วิธีการใช้ Haemocytometer counting chamber.....	113
ก-5 วิธีการวัดพลังงานอัลตราซาวด์.....	116
ก-6 การหาปริมาณเซลล์สาหร่ายแห้ง.....	117
ก-7 การวิเคราะห์หาคลอร์ฟิลล์ เอ.....	118
ภาคผนวก ข ผลการทดลองในแต่ละช่วงการทดลอง.....	119
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐาน และโครมาโทแกรมของกรดไขมัน.....	149
(Fatty Acid Methyl Ester) C <sub>14</sub> -C <sub>22</sub> .....	149
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	154

## สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1	สาหร่ายคลอเรลล่า.....7
รูปที่ 2.2	โครงสร้างโมเลกุลของกรดไขมัน .....17
รูปที่ 2.3	โครงสร้างโมเลกุลของไขมัน.....17
รูปที่ 2.4	การเคลื่อนที่ของคลื่นเสียง.....26
รูปที่ 2.5	อัลตราซาวด์แบบอ่าง .....28
รูปที่ 2.6	อัลตราซาวด์แบบคัพฮอร์น .....29
รูปที่ 2.7	อัลตราซาวด์แบบโพรบ.....30
รูปที่ 2.8	การยุบตัวของฟองอากาศควิเทชั่น.....31
รูปที่ 3.1	ขั้นตอนการหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....54
รูปที่ 3.2	ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและการเตรียมตัวอย่างสาหร่าย.....55
รูปที่ 3.3	ขั้นตอนการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยการอัลตราซาวด์.....57
รูปที่ 3.4	Experimental set-up.....57
รูปที่ 3.5	ขั้นตอนการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยการอัลตราซาวด์.....59
รูปที่ 3.6	การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Soxhlet.....61
รูปที่ 3.7	การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer .....63
รูปที่ 3.8	การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์.....65
รูปที่ 4.1	อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> .....71
รูปที่ 4.2	สาหร่ายอายุ 6 วัน ที่มีความเข้มข้นประมาณ $1 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร .....71
รูปที่ 4.3	สาหร่ายที่ผ่านการทำขึ้นแล้ว มีความเข้มข้นประมาณ $1 \times 10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร .....73
รูปที่ 4.4	จำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตกหลังอัลตราซาวด์ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ.....75
รูปที่ 4.5	รูปร่างของเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการอัลตราซาวด์ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....75

รูปที่ 4.6	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้หลังอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ .....	76
รูปที่ 4.7	ลักษณะสเปกโตรโฟลล์ที่ละลายอยู่ในน้ำมัน .....	77
รูปที่ 4.8	ปริมาณกรดไขมัน $C_{14}$ - $C_{22}$ ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์แบบอ่าง วิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี.....	79
รูปที่ 4.9	ปริมาณกรดไขมันรวม $C_{14}$ - $C_{22}$ ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์ แบบอ่างที่ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ.....	81
รูปที่ 4.10	จำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตกหลังอัลตราซาวด์ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที .....	83
รูปที่ 4.11	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้หลังอัลตราซาวด์แบบโพรบ ที่ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที.....	84
รูปที่ 4.12	ปริมาณกรดไขมัน $C_{14}$ - $C_{22}$ ที่สกัดได้หลังอัลตราซาวด์แบบโพรบ ที่ระดับพลังงาน 26, 39, 51, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที.....	87
รูปที่ 4.13	ปริมาณกรดไขมันรวม $C_{14}$ - $C_{22}$ ในน้ำมันที่สกัดได้จากอัลตราซาวด์แบบโพรบ ที่ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที .....	89
รูปที่ 4.14	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ สาหร่ายแห้ง).....	91
รูปที่ 4.15	ปริมาณกรดไขมัน $C_{14}$ - $C_{22}$ ในน้ำมันที่สกัดได้จากวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และ วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง.....	93
รูปที่ 4.16	ปริมาณกรดไขมันรวม $C_{14}$ - $C_{22}$ ในน้ำมันที่สกัดได้จากวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และ วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง.....	93
รูปที่ 4.17	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง) ต่อจำนวนเซลล์ สาหร่ายที่แตก (%) หลังการอัลตราซาวด์แบบอ่าง .....	94
รูปที่ 4.18	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง) ต่อจำนวนเซลล์ สาหร่ายที่แตก (%) หลังการอัลตราซาวด์แบบโพรบ .....	95
รูปที่ 4.19	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอที่สกัดได้จากวิธีอัลตราซาวด์แบบอ่าง วิธีอัลตราซาวด์แบบ โพรบ และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง.....	101

## สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	การเปรียบเทียบลักษณะของสาหร่ายและพืช.....	4
ตารางที่ 2.2	ปริมาณลิวคินที่พบในสาหร่ายแต่ละชนิด .....	14
ตารางที่ 2.3	วิธีการสกัดน้ำมันสาหร่าย.....	22
ตารางที่ 2.4	ความเร็วของเสียงที่ใช้เดินทางในตัวกลางต่างๆ .....	25
ตารางที่ 2.5	การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet.....	34
ตารางที่ 2.6	การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Bligh and Dyer .....	37
ตารางที่ 2.7	การสกัดน้ำมันโดยใช้ตัวทำละลายสกัดร่วมกับอัลตราซาวด์.....	40
ตารางที่ 2.8	การใช้ความถี่และพลังงานของอัลตราซาวด์กับสาหร่าย.....	43
ตารางที่ 3.1	เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์พารามิเตอร์.....	53
ตารางที่ 3.2	สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี.....	67
ตารางที่ 4.1	ระดับพลังงานของการอัลตราซาวด์แบบอ่าง .....	69
ตารางที่ 4.2	ระดับพลังงานของการอัลตราซาวด์แบบโพรบ.....	69
ตารางที่ 4.3	ผลการศึกษาน้ำหนักเซลล์สาหร่ายแห้ง ที่ความเข้มข้นประมาณ 1x10 <sup>9</sup> เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร .....	72
ตารางที่ 4.4	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง) ต่อ 1 จูล ของอัลตราซาวด์แบบอ่าง.....	96
ตารางที่ 4.5	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง) ต่อ 1 จูล ของอัลตราซาวด์แบบโพรบ.....	97
ตารางที่ 4.6	สรุปผลการศึกษาการแตกของเซลล์สาหร่าย ปริมาณน้ำมันและ กรดไขมันรวม C <sub>14</sub> -C <sub>22</sub> ที่สกัดได้ด้วยวิธีอัลตราซาวด์แบบอ่าง วิธีอัลตราซาวด์แบบโพรบ วิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง.....	99

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันความต้องการใช้พลังงานมีการเติบโตขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลทำให้เกิดความสนใจในการหาแหล่งพลังงานทดแทนจากพืช สาหร่าย และสัตว์ ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) ถูกนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือก เนื่องจากสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และสามารถสะสมไขมันเป็นจำนวนมาก (ประมาณ 20-50% ของน้ำหนักแห้ง) (Kim และคณะ, 2013) ซึ่งสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณน้ำมันที่สะสมอยู่ภายในเซลล์แตกต่างกัน ดังนั้นการนำสาหร่ายมาใช้ในการผลิตน้ำมัน จะต้องมีการเลือกสายพันธุ์ของสาหร่ายให้เหมาะสม (Araujo และคณะ, 2013)

เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายตามที่ต้องการแล้ว ต้องมีการเก็บเกี่ยว และสกัดน้ำมันอย่างเหมาะสม เนื่องจากวิธีการสกัดน้ำมันสาหร่ายส่วนมากต้องนำสาหร่ายไปผ่านกระบวนการทำให้แห้งก่อนนำมาสกัดน้ำมันสาหร่าย แต่สาหร่ายที่นำมาใช้นั้น จะมีเนื้อสาหร่ายอยู่ไม่ถึงร้อยละ 5 นอกนั้นเป็นน้ำที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย ซึ่งการสกัดน้ำมันสาหร่ายแต่เดิมมีหลายวิธี เช่น การใช้การบีบอัด ซึ่งไม่เหมาะสม เนื่องจากสาหร่ายมีขนาดเล็กมาก และการใช้เฮกเซน (Hexane) มาเป็นตัวทำละลาย แต่เฮกเซนนี้เป็นตัวทำละลายที่ไม่ละลายในน้ำ ดังนั้นหากมีน้ำผสมอยู่จะทำให้การสกัดทำได้ไม่ดี อีกทั้งยังเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายอีกด้วย (ผกาภาศ เจษฎ์พัฒนานนท์, 2556)

นอกจากนี้วิธีการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายโดยทั่วไปนั้นอาจจะใช้การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet และวิธีของ Bligh and Dyer ซึ่งวิธีเหล่านี้มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งเมื่อคำนึงถึงด้านสุขภาพ และความปลอดภัย การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซนและคลอโรฟอร์ม ควรที่จะหลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมาก (Kim และคณะ, 2013) แต่ลดปริมาณตัวทำละลายก็อาจส่งผลให้ประสิทธิภาพของการสกัดน้ำมันอาจลดลง ดังนั้นจึงมีการวิจัยเพื่อหาวิธีที่ใช้แทนการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดน้ำมันของสาหร่าย ได้แก่ การใช้อัลตราซาวด์ ไมโครเวฟ เอนไซม์ การสกัดของเหลวด้วยแรงดันสูง และการบีบอัด ซึ่งวิธีการเหล่านี้มีกลไกที่แตกต่างกัน แต่ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับการทำลายผนังเซลล์ของสาหร่ายที่จะทำให้เกิดการปลดปล่อยของเหลวภายในเซลล์รวมทั้งน้ำมันออกมาด้วย (Araujo และคณะ, 2013)

จากงานวิจัยจำนวนหนึ่งแสดงให้เห็นว่า เมื่อให้คลื่นของอัลตราซาวด์ต่อสาหร่ายมีผลทำให้โครงสร้างเซลล์ถูกทำลาย โดยเมื่อตัวกลางหรือสารละลายได้รับคลื่นอัลตราซาวด์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและกายภาพ เช่น การเกิดควิวเทชัน (Cavitation) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำอัลตราซาวด์มาเป็นเครื่องมือในการสกัดน้ำมันจากเซลล์ของสาหร่าย และจากผลการศึกษาของ



(Joyce และคณะ, 2010) พบว่า ความถี่และพลังงานของอัลตราซาวด์มีผลทำให้เกิดการแตกของเซลล์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการสกัดน้ำมันดีที่สุดในที่สุด จึงควรมีการศึกษาความถี่ ระดับพลังงาน และระยะเวลาในการอัลตราซาวด์ต่อไปด้วย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อหาเพื่อหาระดับพลังงานและระยะเวลาที่เหมาะสมของการอัลตราซาวด์ที่ทำให้สามารถสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสีเขียวพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ออกมาได้ปริมาณสูงสุด

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธีการอัลตราซาวด์ วิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์

1.2.3 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}-C_{22}$  ที่สกัดได้ด้วยวิธีการอัลตราซาวด์ วิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการดำเนินการระดับห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม และห้องปฏิบัติการอาคารสีภาค คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อศึกษาการสกัดน้ำมันจาก *Chlorella vulgaris* โดยใช้อัลตราซาวด์ โดยมีขอบเขตดังนี้

1.3.1 ใช้น้ำตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris*

1.3.2 อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasonic bath) ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ใช้ระดับพลังงานที่ 0, 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ และแต่ละระดับพลังงานจะอัลตราซาวด์เป็นระยะเวลาที่ 5, 10, 20, 30 และ 40 นาที และเปรียบเทียบหาปริมาณน้ำมันและปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}-C_{22}$  ที่สกัดได้กับการสกัดโดยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์อ่าง

1.3.3 อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasonic probe) ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงานสูงสุด 130 วัตต์ ใช้ระดับพลังงานที่ 0, 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 และแต่ละระดับพลังงานจะอัลตราซาวด์เป็นระยะเวลาที่ 10 นาที และเปรียบเทียบหาปริมาณน้ำมันและปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}-C_{22}$  ที่สกัดได้กับการสกัดโดยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์โพรบ

1.3.4 นับจำนวนเซลล์สาหร่ายและดูรูปร่างของเซลล์สาหร่ายโดยใช้ Haemocytometer counting chamber ผ่านกล้องจุลทรรศน์

1.3.5 วัดปริมาณน้ำมันด้วยวิธีการชั่งน้ำหนัก (Kim และคณะ, 2013)

1.3.6 วัดปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}-C_{22}$  โดยใช้เทคนิค Gas chromatography

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 เป็นแนวทางในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ
- 1.4.2 เป็นแนวทางที่สามารถนำไปพัฒนาอุตสาหกรรมการสกัดน้ำมันสาหร่ายได้



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้ จะกล่าวในเรื่องต่อไปนี้ คือ การจัดจำแนกสาหร่าย ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายสีเขียว ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อสาหร่าย การควบคุมสาหร่ายในแหล่งน้ำ น้ำมันสาหร่าย วิธีการสกัดน้ำมัน อัลตราซาวด์ ปฏิกิริยาการคาวิเทชัน (Cavitation) รวมทั้งงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้

#### 2.1 สาหร่าย

สาหร่าย (Algae หรือ Alga) เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะคล้ายพืช สามารถพบได้ทั้งน้ำจืด น้ำเค็มและน้ำกร่อย อีกทั้งยังสามารถพบได้ในดิน น้ำพุร้อน หรืออยู่ในสภาวะร่วมกับบราที่เรารู้จักว่าไลเคนส์ สาหร่ายเป็นพืชชั้นต่ำที่มีโครงสร้างไม่สลับซับซ้อน เนื่องจากสาหร่ายไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้น หรือใบที่แท้จริง จึงมีลักษณะเป็นก้อนๆ หรือบางพวกอาจมีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว บางชนิดมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูงแต่ยังไม่มีการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ขึ้นมาโดยเฉพาะ เรียกลักษณะของสาหร่ายนี้ว่า ทัลลัส (Thallus) มักเป็นสาหร่ายขนาดใหญ่ (ปรีชา สุวรรณพินิจ และคณะ, 2542) สาหร่ายสามารถสังเคราะห์แสงได้ เนื่องจากมีคลอโรพลาสต์เช่นเดียวกับพืช ทำให้สามารถสร้างอาหารได้เอง ดังนั้นสาหร่ายจึงคุณสมบัติบางอย่างที่เหมือนและแตกต่างจากพืช (ตารางที่ 1) นอกจากนี้สาหร่ายยังมีรงควัตถุอื่นๆ ที่ทำให้สาหร่ายมีสีแตกต่างกันไป เช่น แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) แซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) และไฟโคบิลิน (Phycobilin) (เบญจภรณ์ ประภักดี, 2551)

ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบลักษณะของสาหร่ายและพืช

ลักษณะ	สาหร่าย	พืช
มีเซลล์เป็น Eucaryotes	ใช่	ใช่
สังเคราะห์แสงได้	ใช่	ใช่
มีคลอโรพลาสต์	ใช่	ใช่
ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งพลังงาน	ใช่	ใช่
เก็บพลังงานในรูปแบบแป้ง	ใช่	ใช่

ลักษณะ	สาหร่าย	พืช
มีราก ลำต้น และใบ	ไม่มี	มี ยกเว้นมอส
ผนังเซลล์เป็นเซลลูโลส	ใช่ ยกเว้นไดอะตอม	ใช่
วิธีการสืบพันธุ์	อาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ	อาศัยเพศ
มีระบบท่อลำเลียงภายใน	ไม่มี	มี ยกเว้นมอส

ที่มา: (เบญจภรณ์ ประภักดี, 2551 อ้างถึงใน Burton and Engelkirk, 2004)

สาหร่ายมีรูปร่างและขนาดที่มีความหลากหลายมาก สาหร่ายชนิดที่มีขนาดเล็กที่สุดอาจมีขนาดใกล้เคียงกับแบคทีเรีย ซึ่งมีขนาด 0.2-2 ไมครอน ส่วนสาหร่ายที่มีขนาดใหญ่ เรียกว่า สาหร่ายเคลป์ (Kelp) สามารถพบในเฉาะมหาสมุทรแปซิฟิก มีขนาดยาวถึง 200 ฟุต มีรูปร่างที่แตกต่างกัน เช่น รูปกลม แบน ทรงกระบอก เป็นแฉก เป็นเหลี่ยม หรือเป็นรูปดาว เป็นต้น ดังนั้นหลักเกณฑ์ที่ใช้ในการจัดหมวดหมู่จะดูจากลักษณะเซลล์ คือสาหร่ายเซลล์เดี่ยว (Unicellular) และสาหร่ายหลายเซลล์ (Multicellular) เป็นเส้นสาย (Filament) หรือเป็นกลุ่มเซลล์ (Colony) ดูจากการเคลื่อนที่ คือ เคลื่อนที่ได้และเคลื่อนที่ไม่ได้ นอกจากนี้ยังดูจากรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง (ทันดาว ทองตัน, 2545)

การจัดหมวดหมู่สิ่งมีชีวิตในช่วงแรกๆ มีการจัดสาหร่ายอยู่รวมกับกลุ่มของไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งในภายหลังพบว่า ไซยาโนแบคทีเรียมีลักษณะเซลล์แบบ Prokaryotes ซึ่งอยู่ในกลุ่มเดียวกับแบคทีเรีย ส่วนสาหร่ายมีลักษณะเซลล์แบบ Eucaryotes ดังนั้นในการจัดหมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิตตามแบบ 5 อาณาจักรของ Whittaker RH (ปี 1969) ได้จัดสาหร่ายอยู่ในอาณาจักร โปรติสตา (Protista) (เบญจภรณ์ ประภักดี, 2551)

สำหรับสาหร่ายสามารถจำแนกออกได้เป็น 9 ดิวิชัน (Divisions) ดังนี้ (ยูวดี พิรพรพิศาล, 2549)

- 1) Division Cyanophyta      ได้แก่      สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
- 2) Division Chlorophyta      ได้แก่      สาหร่ายสีเขียว
- 3) Division Chrysophyta      ได้แก่      สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง สาหร่ายสีเขียวแกมเหลืองและไดอะตอม
- 4) Division Euglenophyta      ได้แก่      สาหร่ายยูกลีนาอยด์
- 5) Division Charophyta      ได้แก่      สาหร่ายไฟ
- 6) Division Phaeophyta      ได้แก่      สาหร่ายสีน้ำตาล
- 7) Division Pyrrophyta      ได้แก่      สาหร่ายสีเหลืองแกมน้ำตาล
- 8) Division Cryptophyta      ได้แก่      สาหร่ายคริปโตโมแนดส์
- 9) Division Rhodophyta      ได้แก่      สาหร่ายสีแดง

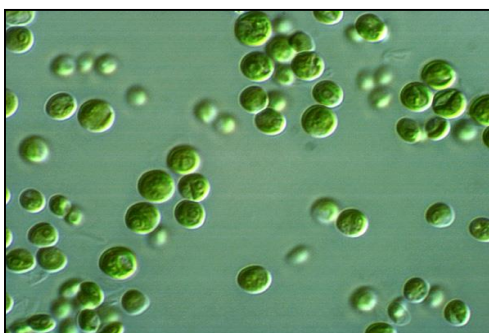
## 2.2 สาหร่ายสีเขียว (Green Algae)

สาหร่ายสีเขียวจัดอยู่ใน Division Chlorophyta มีเซลล์เหมือนพืชชั้นสูง (Eucaryotic cell) ส่วนใหญ่มีสีเขียวเหมือนหญ้า เนื่องจากภายในคลอโรพลาสต์มีรงควัตถุพวกคลอโรฟิลล์ทั้ง เอ และบี จำนวนมาก นอกจากนี้ก็ยังมีพวกแคโรทีนและแซนโทฟิลล์อีกหลายชนิด สาหร่ายสีเขียวส่วนใหญ่ มักจะมีไฟรินอยด์ในคลอโรพลาสต์ ซึ่งเป็นศูนย์กลางของการสร้างแป้งในเซลล์ของสาหร่าย สาหร่ายสีเขียวสามารถพบได้ทุกหนทุกแห่งไม่ว่าจะเป็นในน้ำจืด น้ำกร่อย น้ำทะเล บางชนิดก็ขึ้นอยู่บนก้อนหิน ทราาย โคลน เปลือกหอย บนพืชหรือสัตว์อื่น บนดิน แม้กระทั่งในเปลือกไม้ ซึ่งสาหร่ายสีเขียว มีลักษณะทั่วไปดังนี้ (ยูวดี พีรพรพิศาล, 2549)

- 1) รงควัตถุสีเขียว เป็นรงควัตถุที่ไม่ถูกบดบังด้วยรงควัตถุอื่นๆ คือ มีคลอโรฟิลล์ทั้ง เอ (Chlorophyll A) และบี (Chlorophyll B) แคโรทีนอยด์ และแซนโทฟิลล์ โดยรงควัตถุนี้จะอยู่ในคลอโรพลาสต์ เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนจะมองเห็นลักษณะเป็นแบบกรานา (Grana chloroplast) คลอโรพลาสต์จะมีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น รูปร่างของคลอโรพลาสต์มีหลากหลายรูปแบบ เช่น ลักษณะเป็นรูปถ้วย (Cup-shaped chloroplast) เป็นรูปเกลียว (Spiral chloroplast) รูปดาว (Stellate chloroplast) เป็นแผ่นแบน 1 แผ่น (Flat chloroplast) เป็นร่างแห (Reticulate chloroplast) เป็นกระบอกตวงหัวท้ายเปิด (Open cylinder chloroplast)
- 2) ผนังเซลล์ อาจมีหรือไม่มีก็ได้ โดยทั่วไปมีผนังเซลล์จะมี 2 ชั้น
- 3) หนวด อาจมีหรือไม่มีก็ได้ จะพบหนวดในกลุ่มที่สามารถเคลื่อนที่ได้ โดยพบตั้งแต่ 1 เส้นหรือมากกว่า หนวดไม่มีขน (Tubular hair) อาจพบเกล็ด (Scale) บนหนวดได้
- 4) อาหารสะสม
  - แป้ง (Starch) อยู่ในรูปของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน มักอยู่ในรูปของเม็ดแป้ง (Starch grains) สร้างจากไฟรินอยด์ซึ่งอยู่ภายในหรือบนคลอโรพลาสต์
  - น้ำตาล (Sugar) อยู่ในรูปของน้ำตาลซูโครสและโพลีออล (Polyols)
  - ไขมัน (Lipid) ส่วนใหญ่จะเป็นไกลโคลิปิดมีถึง 45% ของไขมันทั้งหมด
- 5) การสืบพันธุ์ มีทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ

## 2.3 สาหร่ายคลอเรลล่า (Chlorella)

เป็นสาหร่ายในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวมีขนาดเล็กมากประมาณ 2-12 ไมโครเมตร เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบว่า เป็นสาหร่ายเซลล์เดี่ยว มีรูปร่างกลม รูปรีหรือรูปไข่ ดังรูปที่ 1 คลอโรพลาสต์จะอยู่ด้านข้าง หรือเป็นรูปถ้วย ภายในคลอโรพลาสต์มีไพรีนอยด์ และคลอโรฟิลล์ ผันเซลล์ค่อนข้างบางประกอบไปด้วยสารพวก Sporopollenin มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างอโอโตสปอร์ขึ้นมา ซึ่งปกติแล้วจะมีจำนวน 4-8 เซลล์ บางครั้งอาจพบถึง 16 เซลล์



รูปที่ 2.1 สาหร่ายคลอเรลล่า

ที่มา : (National institute for environmental studies, 1987)

สาหร่ายคลอเรลล่าสามารถพบได้ทั่วไปโดยเฉพาะในดิน แม้กระทั่งในขวดน้ำดื่มหรือถังบรรจุ น้ำที่ไม่ค่อยได้ล้าง และจะพบอาศัยอยู่ร่วมกับแบคทีเรียไซมิโอซิส (Symbiosis) กับสัตว์ เช่น พารามีเซียม ฟองน้ำ ไฮดรา เป็นต้น ในปัจจุบันสาหร่ายคลอเรลล่าได้รับความนิยมมาก เนื่องจากมีโปรตีนสูงถึง 50-60% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งถ้ามีคุณภาพสูงจะถูกนำมาใช้เป็นอาหารเสริมของคน แต่ถ้ามีคุณภาพรองลงมาก็ถูกนำไปเป็นอาหารเสริมของสัตว์ นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถสร้างสารปฏิชีวนะชื่อ คอเรลลิน (Chlorellin) ได้ (ยุวดี พิรพรพิศาล, 2549)

## 2.4 ความสำคัญของสาหร่าย

### 2.4.1 ความสำคัญต่อระบบนิเวศ

สาหร่ายดำรงชีวิตแบบออโตโทรฟิค (Autotrophic organism) ผลิตออกซิเจนให้กับสิ่งแวดล้อม ประมาณ 50% ของออกซิเจนในน้ำเกิดจากกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยสาหร่าย นอกจากนี้สาหร่ายยังเป็นผู้ผลิตและเป็นส่วนหนึ่งของห่วงโซ่อาหารขั้นต้นของสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยเป็นอาหารของแมลง ลูกกุ้ง ลูกปลาอีกด้วย

## 2.4.2 ความสำคัญทางด้านอาหาร

มนุษย์นำสาหร่ายมาใช้เป็นอาหารนานแล้วทั้งที่เป็นอาหารคนและสัตว์

1) ใช้เป็นอาหารมนุษย์ ชาวจีนเป็นพวกแรกที่นำสาหร่ายมาทำเป็นอาหาร เช่น ใช้สาหร่ายสีน้ำตาล (*Laminaria*) และสาหร่ายสีแดง (*Porphyra*) หรือที่เรียกว่า จีฉ่าย มาทำอาหารพวกแกงจืด ชาวญี่ปุ่นเป็นชาติที่นิยมบริโภคสาหร่ายทะเลมากที่สุด มีการผสม *Chlorella* ลงในซูป น้ำผลไม้ บะหมี่ และไอศกรีม สำหรับในประเทศไทยนิยมรับประทานสาหร่ายสีแดงพวก *Porphyra* หรือจีฉ่าย ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะนำเข้ามาจากญี่ปุ่น เกาหลี และจีน ประชากรในภาคเหนือและภาคอีสานนิยมเอาสาหร่ายสีเขียวพวก *Spirogyra* หรือทาน้ำหรือเตา มาย่าเป็นอาหารเรียกว่า ย่าเตา

2) ใช้เป็นอาหารสัตว์ มนุษย์นำสาหร่ายทะเลมาเป็นอาหารสัตว์ เช่น วัว ควาย แพะ แกะ เพราะสัตว์เหล่านี้มีน้ำย่อยที่สามารถย่อยสลายผนังของสาหร่ายที่เป็นเซลลูโลสได้ หรือนำไปเลี้ยงเป็ด ไก่ และหมู โดยนำมาผสมกับปลาปน เปลือกหอยป่า รำข้าว และยีสต์ ซึ่งพบว่าวัวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมที่มีสาหร่าย มีไขมันเนยในนมสูง ไข่ที่ได้จากไก่ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายจะมีปริมาณไอโอดีน ในประเทศญี่ปุ่นใช้สาหร่ายเกลียวทองเลี้ยงปลาไหล ปลาเทร้า กุ้ง ปลาคาร์พสี เป็นต้น ทำให้เศรษฐกิจของอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาสวยงามได้ พัฒนาก้าวไกลออกไปมาก ผลงานวิจัย เช่น การเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina Sp.* จากน้ำทิ้งแหล่งชุมชนเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ สำหรับในประเทศไทยก็มีการพยายามนำเทคโนโลยีใหม่ๆ มาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวแล้วนำสาหร่ายมาเป็นอาหารสัตว์ต่อไป เช่น การเอาน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ ไม่ว่าจะเป็น โรงงานทำแป้งมันสำปะหลัง โรงงานผลิตนมถั่วเหลือง โรงงานผลิตสุรา น้ำทิ้งจากโรงงานเหล่านี้มีสารอาหารที่สาหร่ายจะใช้ในการเจริญเติบโตได้ เมื่อได้สาหร่ายในปริมาณมากๆแล้ว ก็จะนำมาเลี้ยงไรแดง โรติเฟอร์ ซึ่งพวกนี้จะเป็นอาหารของพวกลูกกุ้ง ลูกปลาต่อไป

สาหร่ายเซลล์เดียวหรือที่เป็นโคลนเล็กๆ เช่น *Chlorella*, *Scenedesmus* และ *Spirulina* จะมีโปรตีนสูงกว่าสาหร่ายชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ในสาหร่ายยังมีแร่ธาตุ และวิตามิน เช่น วิตามินบี 12 วิตามินบี 1 ไบโอดีน ไนอาซิน กรดพาราแอมมิโนเบนโซอิก กรดโฟลิก กรดเพนโทธินิกไพริดอกซิน กรดแอสคอร์บิก ไกลซีน ฮิสติดีน และไอโอดีน รวมทั้งสารป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระต่างๆ เป็นต้น

### 2.4.3 ความสำคัญทางการเกษตร

มีการนำเอสาหร่ายมาใช้ด้านการเกษตรหลายด้านเช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินช่วยเพิ่มไนโตรเจนให้กับนาข้าว อาจได้มาจากเซลล์สาหร่ายตามธรรมชาติ หรืออาจจะใช้แทนแฉะ ซึ่งมีสาหร่ายพวก *Anabaena* อยู่บริเวณช่องว่างในใบ (Leaf cavity) มาใส่ในนาข้าว ดินที่มีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวก *Nostoc* ปกคลุมอยู่หลายๆ จะพบว่ามีการเพิ่มสารอินทรีย์และไนโตรเจนให้กับดินบริเวณนั้น บางประเทศใช้สาหร่ายทะเลพวกสาหร่ายสีแดง หรือสาหร่ายสีน้ำตาลที่มีขนาดใหญ่มาทำปุ๋ยอินทรีย์สำหรับพื้นที่เพาะปลูกบริเวณใกล้ทะเล สาหร่ายเหล่านี้มีปริมาณโพแทสเซียมสูง แต่มีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำกว่าปุ๋ยคอก สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ ทำให้ดินชุ่มชื้นอยู่เสมอ โดยการใส่สาหร่ายเหล่านี้ลงไปแล้วไถกลบ หรือนำมาผลิตเป็นปุ๋ยแล้วส่งไปใช้ในบริเวณที่ห่างไกลทะเล หรือนำมาสกัดเป็นปุ๋ยเหลวที่เข้มข้นก็ได้ ปุ๋ยที่ผลิตจากสาหร่ายทะเลจะช่วยให้ดินทรายรวมตัวกันได้ดี และช่วยทำให้ดินเหนียวแตกจากกัน ทำให้โครงสร้างของดินเหมาะกับการเพาะปลูก

### 2.4.4 ความสำคัญในการกำจัดน้ำเสีย

กระบวนการกำจัดน้ำเสีย (Sewage disposal process) ในระบบที่เรียกว่า บ่อแผลคัลเททีฟ (Facultative Pond) เป็นบ่อที่นิยมใช้กันมาก ในบ่อมีลักษณะการทำงานแบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วนบนของบ่อเป็นแบบแอโรบิก ได้รับออกซิเจนจากการถ่ายเทอากาศที่บริเวณผิวน้ำ และจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย ส่วนล่างของบ่ออยู่ในสภาพแอนแอโรบิก โดยปกติแล้วบ่อจะรับน้ำเสียจากที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นมาก่อน กระบวนการบำบัดที่เกิดขึ้นในบ่อแผลคัลเททีฟ เรียกว่า การทำความสะอาดตัวเอง (Self-Purification) สารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ประเภทที่ใช้ออกซิเจน (Aerobic Bacteria) เพื่อเป็นอาหารและสำหรับการสร้างเซลล์ใหม่และเป็นพลังงาน โดยใช้ออกซิเจนที่ได้จากการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายที่อยู่ในบ่อส่วนบน สำหรับบ่อส่วนล่างจนถึงก้นบ่อซึ่งแสงแดดส่องไม่ถึง จะมีปริมาณออกซิเจนต่ำ จนเกิดสภาวะไร้ออกซิเจน (Anaerobic Condition) และมีจุลินทรีย์ประเภทไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Bacteria) ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์และแปรสภาพเป็นก๊าซเช่นเดียวกับบ่อแอนแอโรบิก แต่ก๊าซที่ลอยขึ้นมาจะถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนที่อยู่ช่วงบนของบ่อทำให้ไม่เกิดกลิ่นเหม็น อย่างไรก็ตาม ถ้าหากปริมาณสารอินทรีย์ที่เข้าระบบสูงเกินไป จนออกซิเจนในน้ำไม่เพียงพอ เมื่อถึงเวลากลางคืนสาหร่ายจะหายใจเอาออกซิเจนและปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ทำให้ค่าความเป็น



กรด-ต่าง (pH) ลดต่ำลง และปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่ำลงจนอาจเกิดสภาวะขาดออกซิเจน และเกิดปัญหากลิ่นเหม็นขึ้นได้ (กรมควบคุมมลพิษ, 2557)

#### 2.4.5 ความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรม

##### 2.4.5.1 อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

ในสาหร่ายประกอบด้วยสารบางชนิดที่ช่วยในการรักษาผิวหนัง โดยใช้สาหร่ายเกลียวทองรักษาโรคผิวหนังบางชนิด ในประเทศญี่ปุ่นพบว่า เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสาหร่ายและสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองช่วยให้ผิวพรรณดีขึ้นและลดริ้วรอย สำหรับในประเทศไทยมีบริษัทหลายแห่งที่ใช้สาหร่ายเกลียวทองเป็นเครื่องสำอางในรูปแบบของครีมบำรุงผิว

##### 2.4.5.2 อุตสาหกรรมยา

นักวิทยาศาสตร์และนายแพทย์หลายท่านได้ทดลองใช้สาหร่ายในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคเบาหวาน โรคกระเพาะ อีกทั้งยังช่วยลดความเครียดและความไม่สมดุลในร่างกาย ประเทศฝรั่งเศส ได้ทดลองใช้ยาที่ผสมสาหร่ายเกลียวทองทาแผล ทำให้แผลแห้งเร็วขึ้น ซึ่งแมกนีเซียมในคลอโรฟิลล์มีบทบาทอย่างสำคัญในการรักษาบาดแผล เนื่องจากมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อป้องกันการเกิดของแบคทีเรีย อีกทั้งยังช่วยสร้างเซลล์ขึ้นมาใหม่ด้วย นอกจากนี้คลอโรฟิลล์ในสาหร่ายมีโครงสร้างเหมือนฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ในเลือด นักวิทยาศาสตร์จึงใช้คลอโรฟิลล์รักษาโรคโลหิตจาง นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดนำมาผลิตเป็นยาปฏิชีวนะทางการแพทย์ ได้แก่ *Cyanophycin* หรือ *Marinamycin* ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ ได้ สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว *Scytonema* No.11 เป็นสาหร่ายที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย แยกได้จากดินนาจังหวัดพิษณุโลกพบว่าสามารถผลิตสารปฏิชีวนะ *Cyanobacterin* ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นทั้ง *Algicide* และ *Bacteriocide* ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายและแบคทีเรียบางชนิดได้ (ไปรมา ยงมานิตชัย, 2546)

##### 2.4.5.3 อุตสาหกรรมอื่น ๆ

1) การผลิตวุ้น ได้มาจากสาหร่ายสีแดงพวก *Gelidium*, *Gracilaria*, *Pterocladia* และ *Acanthopeltis* สามารถนำไปสกัดทำเป็นวุ้น เพื่อนำไปใช้ในการประกอบอาหารหวานคาว เช่น แยม ลูกอม ไอศกรีม เนย มายองเนส กันสนิมในอาหารกระป๋อง ผสมเบียร์ และไวน์ให้มีสีใสและฟองมาก และยังสามารถนำมาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

อีกด้วย ปริมาณและคุณภาพของวุ้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายที่นำมาสกัด ซึ่งจะเปลี่ยนไปตามฤดูกาล คุณภาพของวุ้นขึ้นอยู่กับความแข็งของวุ้น (Gel strength) สี ปริมาณเถ้า (Ash content) และอุณหภูมิหลอมละลาย (Melting temperature)

2) การผลิตอัลจิน ได้มาจากสาหร่ายสีน้ำตาลพวก *Laminaria*, *Macrocystis*, *Ascophyllum*, *Fucus*, *Cystoserira*, *Ecklonia* และ *Eisenia* ซึ่งอัลจินหรืออัลจินเนตจะอยู่ที่ผนังเซลล์ และเม็ดเตลลา เมลลา จะมีปริมาณสูงในฤดูหนาว และต่ำในฤดูร้อน อัลจินเป็นชื่อรวมของสาร 2 ตัวคือ กรดอัลจินิกซึ่งไม่ละลายน้ำ และเกลืออัลจินเนตซึ่งละลายน้ำได้ เกลืออัลจินเนตอาจเป็นโซเดียม หรือโพแทสเซียมอัลจินเนตก็ได้ เรานำอัลจินไปใช้ในการทำนม ขนม ขนมปัง ไอศกรีม ขนมหวาน ลูกกวาด ลูกอม มายองเนส ครีมทาผิว สบู่ แชมพูสระผม ครีมโกนหนวด เป็นต้น

3) การผลิตคาร์ราจีนิน ได้จากสาหร่ายสีแดงพวก *Chondrus*, *Gigartina*, *Euchauma* และ *Hypnea* คาร์ราจีนินมีคุณสมบัติคล้ายวุ้น แต่มีปริมาณเถ้าสูงกว่า และต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่าจึงจะแข็งตัวได้ เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากผนังเซลล์สาหร่าย เรานำคาร์ราจีนินมาเป็นส่วนประกอบในไอศกรีม นม ครีมโกนหนวด สบู่ โลชั่น เครื่องหนัง เป็นต้น (ยูวดี พีรพรพิศาล, 2549)

## 2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

การเจริญเติบโตของสาหร่ายนั้นขึ้นอยู่กับหลายๆ ปัจจัยทั้งทางกายภาพ เคมีและชีวภาพ ดังนี้ (ทันตาว ทองตัน, 2545)

### 2.5.1 แสง (Light)

เป็นปัจจัยทางกายภาพที่มีความสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย โดนปริมาณและความเข้มของแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งจะใช้พลังงานแสงในกระบวนการชีวเคมีในเซลล์ ความเข้มของแสงจะขึ้นอยู่กับสี ความขุ่น และปริมาณเกลือแร่ที่ละลายอยู่ในน้ำ อัตราในการสังเคราะห์แสงจะลดลงไปตามระดับความลึกของน้ำที่เพิ่มขึ้น โดยสาหร่ายแต่ละชนิดมีความต้องการความเข้มข้นของแสงแตกต่างกันออกไป

### 2.5.2 ความขุ่นของน้ำ (Turbidity)

ความขุ่นนี้เกิดจากมีสิ่งแขวนลอยที่มีขนาดแตกต่างกันออกไปกั้นทางเดินแสงในน้ำ มีทั้งอินทรีย์สารและอนินทรีย์สาร เช่น ดินละเอียด แพลงก์ตอน และสิ่งมีชีวิตเล็กๆ โดยสิ่งเหล่านี้จะทำให้เกิดการกระจาย (Scattered) และดูดซึม (Absorbed) แสง แหล่งน้ำโดยทั่วไปนั้นก็จะมีความขุ่นที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับหลายๆ ปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นลักษณะดินบนพื้นน้ำ อัตราการไหลของน้ำ อุณหภูมิ น้ำ เป็นต้น

### 2.5.3 อุณหภูมิ (Temperature)

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำโดยทั่วไปนั้น จะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ความเข้มของแสง ฤดูกาล อุณหภูมิอากาศ กระแสน้ำ กระแสลม ระดับความสูง ลักษณะ ภูมิประเทศ ปริมาณน้ำ ความลึกของน้ำ ความขุ่น ต้นกำเนิดของแหล่งน้ำ เวลา ความร้อน และสภาพแวดล้อมบริเวณแหล่งน้ำนั้น เป็นต้น ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของสาหร่ายอยู่ที่ 20-29 องศาเซลเซียส

### 2.5.4 กระแสน้ำ (Current)

มีผลต่อการเจริญเติบโต การแพร่กระจาย รูปร่าง และชนิดของสาหร่ายบางชนิดที่มีโครงสร้างที่เรียกว่า Holdfast และสร้างเมือกเพื่อช่วยยึดเกาะกับสิ่งต่างๆ ที่อยู่ในน้ำ ได้แก่ *Cladophora*, *Gomphonema*, *Achnanthes* เป็นต้น

### 2.5.5 สภาพการนำไฟฟ้า (Conductivity)

เป็นความสามารถของน้ำในการนำกระแสไฟฟ้าผ่านสื่อไฟฟ้า จำพวกไอออนของสารประกอบอนินทรีย์ เช่น กรดอนินทรีย์ ด่าง และเกลือ สารอนินทรีย์เป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดีเพราะแตกตัวให้อิออนบวกและไอออนลบ ทำให้ทราบปริมาณของสารอนินทรีย์ที่ละลายอยู่ในน้ำ ส่วนสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำนั้นไม่มีการแตกตัวจึงไม่นำไฟฟ้า โดยค่าของการนำไฟฟ้าไม่ได้เป็นค่าของไอออนตัวใดตัวหนึ่ง แต่เป็นค่าไอออนรวมของไอออนทั้งหมดในน้ำ และบอกไม่ได้ว่าเป็นสารชนิดใดในน้ำ บอกได้เพียงว่ามีไอออนทั้งหมดในน้ำเพิ่มหรือลดเท่านั้น ค่าของการนำไฟฟ้าของน้ำจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ และจะแปรผันตามความเข้มข้นของสารละลาย อุณหภูมิ และ pH ของน้ำ สภาพการนำไฟฟ้าของน้ำจะขึ้นอยู่กับลักษณะของดินและหิน ภูมิประเทศ ฝน การระบายน้ำ ปริมาณน้ำ กระบวนการทางชีวเคมีในแหล่งน้ำ และกิจกรรมของมนุษย์ เป็นต้น น้ำที่กำเนิดมาจากแหล่งต้นน้ำเมื่อผ่านพื้นที่มนุษย์อาศัยอยู่ จะมีค่าการนำไฟฟ้าของน้ำเพิ่มมากขึ้น ในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีค่าการนำไฟฟ้าอยู่ระหว่าง 100-5,000 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร ค่าการนำไฟฟ้าอาจเป็นเครื่องชี้วัดได้ถึงความเป็นพิษ คือถ้ามีค่าสูงกว่า 3,000 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร จัดว่ามีผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของสัตว์และพืชในน้ำ (บานเย็น จันทราฤทธิกุล, 2534)

### 2.5.6 ความเป็นกรด-เบส (pH)

เป็นค่าที่แสดงถึงความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนในน้ำ ณ ช่วงเวลาที่ทำการวัดเป็นลักษณะทางเคมีของน้ำที่มีความสำคัญและมีความสัมพันธ์กับระบบอื่นๆ มากมาย ในน้ำธรรมชาติจะมีค่า pH แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับลักษณะสภาพแวดล้อม โดยทั่วไปนั้นน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.5-8.5 น้ำใต้ดินอาจมี pH ต่ำกว่า 6 เนื่องจากในน้ำมีปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ละลายอยู่ในปริมาณสูง และน้ำในบ่อหรืออ่างเก็บน้ำอาจมี pH สูงถึง 9 หรือมากกว่า (มันสิน ตัณฑุลเวศม์, 2543) ซึ่งค่า pH มีผลต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำ นอกจากนี้ถ้าในแหล่งน้ำมีสาหร่ายเติบโตในปริมาณมากและมีการสังเคราะห์แสงนั้น pH ในน้ำอาจมีค่าถึง 10 ได้ เนื่องจากสาหร่ายมีการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ละลายอยู่ในน้ำในการสังเคราะห์แสง ทำให้มีปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ละลายอยู่ในน้ำน้อยลง ส่งผลให้ค่า pH เพิ่มสูงขึ้น

### 2.5.7 ออกซิเจนละลาย (Dissolved Oxygen, DO)

สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำมีความต้องการออกซิเจนจากการสังเคราะห์แสงจากพืชน้ำอย่างเช่น สาหร่าย จากสิ่งมีชีวิตที่สามารถปล่อยออกซิเจนอิสระออกมาละลายในน้ำ และจาก

การแพร่ของออกซิเจนจากบรรยากาศสู่แหล่งน้ำ นอกจากนี้การละลายของออกซิเจนในน้ำขึ้นอยู่กับความดัน อุณหภูมิ และปริมาณของแข็งละลายน้ำ ค่า DO สามารถบอกให้ทราบว่าน้ำมีมลภาวะหรือไม่ และมีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำเพียงใด ดังนั้นค่า DO มีความสำคัญในการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่อยู่ในบริเวณแหล่งน้ำนั้นด้วย

## 2.6 สาหร่ายกับการนำมาผลิตเป็นพลังงาน

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่สามารถสังเคราะห์แสง และใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการสร้างเซลล์ (Biomass) มนุษย์มีการนำสาหร่ายทั้ง Microalgae และ Macroalgae มาใช้ประโยชน์ในด้านอาหารเพื่อสุขภาพสำหรับคน อาหารสัตว์ และเครื่องสำอาง แม้กระทั่งนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสีย ปัจจุบัน ได้มีการพัฒนานำสาหร่ายมาใช้ในการผลิตพลังงาน อย่างเช่นน้ำมัน การนำชีวมวลสาหร่ายมาผลิตเป็นไบโอแก๊ส (Biogas) หรือใช้สาหร่ายในการผลิตไฮโดรเจน โดยสาหร่ายที่นำมาใช้ในการผลิตเป็นพลังงานได้แก่ *Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella* สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) หลายสายพันธุ์มีโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และลิปิด (lipid) เป็นส่วนประกอบของเซลล์ โดยพบว่าหลายชนิดอาจมีปริมาณลิปิดสูงถึงร้อยละ 50-70 ของน้ำหนักแห้ง (มรกต ดันติเจริญ, 2555)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณลิปิดที่พบในสาหร่ายแต่ละชนิด (มรกต ดันติเจริญ, 2555)

ชนิดของสาหร่าย	ปริมาณลิปิด (%ของน้ำหนักแห้ง)
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75%
<i>Chlorella sp.</i>	28-32%
<i>Nannochloris sp.</i>	20-35%
<i>Nannochloropsis</i>	45-47%
<i>Nitzschia sp</i>	31-68%

นอกจากนี้สาหร่าย *Chlorella sp.* และ *Nannochloris sp.* สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว โดยเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเป็นเท่าตัว (Doubling time) เท่ากับ 40 และ 10 ชั่วโมงตามลำดับ เมื่อเทียบกับพืชน้ำมันอื่นๆ

### ข้อได้เปรียบของสาหร่ายในการนำมาผลิตเป็นพลังงานที่ต่างจากพืชมีดังนี้

- 1) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่มีองค์ประกอบของเซลล์ที่ไม่ซับซ้อน เมื่อทำการเพาะเลี้ยง สามารถที่จะควบคุมองค์ประกอบภายในเซลล์ อย่างเช่น ลิปิด ได้โดยผลผลิตเซลล์ (Productivity) ไม่ลดลง
- 2) มีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงสูง ถึงประมาณ 3-8% ของพลังงานแสงอาทิตย์ ที่ถูกเปลี่ยนเป็นชีวมวล เมื่อเทียบกับพืชที่มีเพียง 0.5%
- 3) การเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ออกมาจากโรงงานอุตสาหกรรม รวมทั้งใช้สารอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ที่อยู่ในน้ำเสียนั้น จึงเป็นการบำบัดน้ำเสีย และสามารถผลิตพลังงานไปพร้อมๆ กัน (Recycle) ได้
- 4) สาหร่ายจะใช้เวลาในการแบ่งตัว 1-10 วัน เจริญเติบโตและสร้าง Biomass ได้เร็วและสามารถสะสม ลิปิดได้สูง (40-80% น้ำหนักแห้ง) ให้ปริมาณน้ำมันต่อพื้นที่การเพาะเลี้ยงมากกว่าพืช 10-20 เท่า
- 5) สาหร่ายสามารถเลี้ยงได้ในน้ำเค็มหรือพื้นที่ที่ไม่เหมาะในการปลูกพืชอาหาร อีกทั้งยังไม่เป็นการแย่งแย่งระหว่างอาหารและพลังงาน
- 6) สาหร่ายเลี้ยงได้ในระบบ Bioreactor แบบปิดที่สามารถควบคุมสภาวะการเลี้ยง ทำให้เลี้ยงได้ตลอดทั้งปี

### 2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิต (Productivity) ของสาหร่ายในการผลิตน้ำมัน

- 2.7.1 ชนิดของสาหร่าย (Characteristics)
- 2.7.2 สภาวะที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง ความต้องการสารอาหาร
- 2.7.3 วิธีในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย เช่น บ่อเปิด (Raceway) หรือในระบบปิด (Photobioreactor)

สาหร่ายที่มีความเหมาะสมในการนำมาผลิตน้ำมันนั้นควรมีอัตราในการเจริญเติบโตสูง ให้ปริมาณน้ำมันสูง ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่กว้าง และมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงสูงด้วย นอกจากนี้สาหร่ายควรให้น้ำมันที่มีมูลค่าสูงด้วย ดังนั้นเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีปริมาณของน้ำมันสูง จึงควรศึกษาและเข้าใจในชีววิทยาของสาหร่าย เช่น การคัดแยกสายพันธุ์จากธรรมชาติ มีวิธีการ Screening ที่รวดเร็วเพื่อค้นหาว่าสายพันธุ์ใดมีปริมาณน้ำมันสูง และมีการเก็บรวบรวมสาหร่าย

สายพันธุ์เดียวกัน เนื่องจากอาจมีความแตกต่างกันในแต่ละ Strain จึงต้องมีข้อมูลความแตกต่างในแต่ละ Strain หรือ Variety เช่น ปริมาณน้ำมัน และสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง

ในการศึกษา Physiology ของสาหร่ายนั้นประกอบด้วย การศึกษาการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ของสาหร่าย การศึกษาระดับยีน และการควบคุมผลของสภาวะแวดล้อมที่มีต่อการสร้างและสะสมลิพิดภายในเซลล์สาหร่าย ซึ่งองค์ประกอบของผนังเซลล์มีผลต่อการสกัดน้ำมัน และศึกษาความสามารถในการสังเคราะห์แสงและจับคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น (มรกต ตันติเจริญ, 2555)

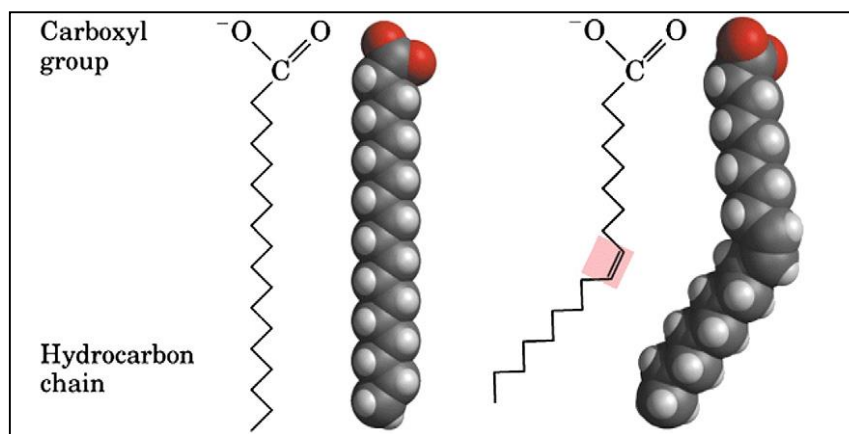
## 2.8 องค์ประกอบของน้ำมันสาหร่าย

ภายในเซลล์ของสาหร่ายมีทั้งไขมันและกรดไขมันเป็นส่วนประกอบ โดยกรดไขมันของน้ำมันสาหร่ายแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ กรดไขมันอิ่มตัว และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (โดยส่วนใหญ่แล้วกรดไขมันอิ่มตัวจะได้อาจมาจากสัตว์เช่น เนื้อ นม และกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะได้อาจมาจากพืช) (Demirbas และคณะ, 2011)

กรดไขมัน (Fatty acid, FA) ประกอบด้วยกลุ่มของ Carboxylate ซึ่งเป็นกลุ่มชอบน้ำติดอยู่กับปลายด้านหนึ่งของสายไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon chain) ที่ไม่ชอบน้ำ (รูปที่ 2.2) องค์ประกอบของกรดไขมันนี้มีทั้งที่เป็นกลางและมีขั้ว คุณสมบัติที่สำคัญที่สุดของกรดไขมันนี้จะขึ้นอยู่กับจำนวนอะตอมคาร์บอนในสายไฮโดรคาร์บอน ได้แก่ จำนวนของพันธะคู่ในสายไฮโดรคาร์บอน (กรดไขมันอิ่มตัวจะไม่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ แต่กรดไขมันไม่อิ่มตัวจะประกอบไปด้วยพันธะคู่อย่างน้อยหนึ่งพันธะ) ส่วนปลายที่เป็นกลุ่ม Carboxylate ของโมเลกุลกรดไขมันนี้เชื่อมกับกลุ่มที่ไม่มีประจุ เช่น กลีเซอรอล เกิดเป็นโมเลกุลของไขมันที่มีความเป็นกลาง อย่างเช่น Triacylglycerol ในทางตรงกันข้ามนั้นพันธะของโมเลกุลกรดไขมันในกลุ่มที่มีประจุ เช่น กลีเซอรอล และฟอสเฟต จะเป็นโมเลกุลของไขมันที่มีขั้ว เช่น Phospholipid

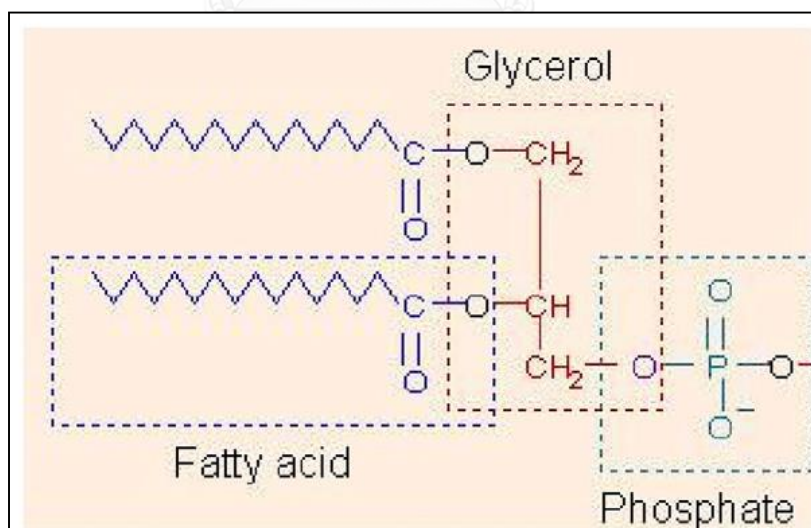
ไขมันเป็นสารชีวโมเลกุลอย่างหนึ่งสามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากไขมันมีส่วนประกอบดังที่กล่าวมา (รูปที่ 2.3) โดยทั่วไปไขมันสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามลักษณะของการมีขั้ว คือ (1) ไขมันที่เป็นกลางจะประกอบไปด้วย เอซิลกลีเซอรอล (Acylglycerols) และกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) (2) ไขมันที่มีขั้วสามารถแบ่งออกได้เป็นฟอสโฟลิพิด (Phospholipids) และไกลโคลิพิด (Glycolipids) สำหรับในเซลล์สาหร่ายจะมีไขมันที่เป็นกลางเป็นหลักซึ่งใช้เป็นที่เก็บพลังงานให้กับเซลล์ ในขณะที่ไขมันที่มีขั้วนั้นจะอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์สาหร่ายในลักษณะ 2 ชั้นขนานกัน เรียกว่า Bilayer โดยเอซิลกลีเซอรอลจะประกอบไปด้วยกรดไขมันกับกลีเซอรอลด้วยพันธะเอสเทอร์ (Ester-bond) โดยที่กลีเซอรอลเป็นสารพวกแอลกอฮอล์ที่มีหมู่

ฟังก์ชัน ไฮดรอกซิล จำนวน 3 หมู่ ถ้ากรดไขมันเพียงหนึ่งโมเลกุล ทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลของ กลีเซอรอล จะเรียกว่า โมโนกลีเซอไรด์ (Monoglyceride) ถ้ากรดไขมันสองโมเลกุล ทำปฏิกิริยา จะได้ไดกลีเซอไรด์ (Diglyceride) และถ้ากรดไขมันสามโมเลกุลทำปฏิกิริยาจะได้ ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) (Nelson และคณะ, 2000)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของกรดไขมัน

ที่มา : Nelson และ Cox, 2000



รูปที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของไขมัน

ที่มา : Nelson และ Cox, 2000



## 2.9 การนำน้ำมันจากสาหร่ายชนิดต่างๆ มาใช้ประโยชน์

### 2.9.1 ผลิตน้ำมันไบโอดีเซล (Demirbas และ Fatih Demirbas, 2011)

ในน้ำมันของสาหร่ายขนาดเล็กมีองค์ประกอบพวก Triacylglycerols ที่ประกอบไปด้วยกรดไขมันต่อกับกลีเซอรอลนั้น ถูกนำมาทำให้เป็นน้ำมันไบโอดีเซลสำหรับรถยนต์ รถบรรทุก และเครื่องบินโดยผ่านกระบวนการ Transesterification ดังสมการ



### 2.9.2 ผลิตเป็นอาหารเสริม (มาฆะ เพ็ญทรงอาจ และคณะ, 2556)

น้ำมันของสาหร่ายทะเลถูกนำมาผลิตเป็นอาหารเสริมทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ เนื่องจากองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันของสาหร่ายจำพวกโอเมก้า 3 เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ (Polyunsaturated fatty acids; PUFAs) ซึ่งประกอบไปด้วย Alpha-linolenic acid (ALA), Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexaenoic acid (DHA) โดยปกติ DHA เป็นกรดไขมันชนิดจำเป็นที่มีบทบาทสำคัญต่อพัฒนาการและการทำงานของสมองในทารก ตั้งแต่อยู่ในครรภ์มารดาจนถึงทารกแรกเกิด มีบทบาทต่อการทำงานของเรตินา รวมถึงเนื้อเยื่อในระบบสืบพันธุ์ มีผลในการป้องกันและรักษาอาการความดันโลหิตสูงอันเนื่องมาจากหลอดเลือดหัวใจตีบ ภาวะผนังเส้นเลือดแดงหนา ภาวะการเกิดมะเร็ง และภาวะซึมเศร้า โดยสาหร่าย *Schizochytrium* เป็นสาหร่ายในกลุ่ม Marine thraustochytrids ที่สามารถพบและเจริญเติบโตในแหล่งน้ำกร่อยและในน้ำทะเล เป็นสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตเร็วและมีปริมาณไขมันสะสมในเซลล์สูง โดยเฉพาะ DHA จึงถูกนำมาเพาะเลี้ยงเชิงอุตสาหกรรม ในปัจจุบันมีการนำน้ำมันสาหร่ายมาบรรจุในรูปของ Softgel ขายทั่วไปในตลาดเพื่อการบริโภค

## 2.10 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย

การเจริญเติบโตของสาหร่ายสามารถระบุได้ในรูปแบบของการสะสมพลังงานเพื่อสร้างเซลล์ โดยปกติสาหร่ายจะมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละคงที่ของหน่วยเวลาที่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนเซลล์ ซึ่งประมาณการของอัตราการเติบโตของสาหร่ายเป็นความสัมพันธ์เชิงเส้นและแบบ Exponential โดยการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะแบ่งออกเป็น 4 ส่วน คือ (1) Lag phase (2) Log/Exponential phase (3) Stationary phase (4) Death phase ในช่วง (1) สาหร่ายจะมีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมและสารอาหารที่ได้รับ ในช่วง (2) มีการเพิ่มของเซลล์สาหร่ายอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีสารอาหารอย่างไม่จำกัดเพื่อใช้ในการสร้างเซลล์ การเพิ่มของเซลล์จะเป็น

ในลักษณะ Exponential แต่เมื่อเข้าสู่ในช่วงที่ (3) จะเกิดความจำกัดของสารอาหารทำให้อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย ลดลง สาหร่ายที่ตายจะกลายเป็นสารอาหารให้กับสาหร่ายที่ยังมีชีวิตอยู่ จากนั้นจะเข้าสู่ ช่วงที่ (4) เนื่องจากสารอาหารหมด จากงานวิจัยของ Neto และคณะ (2013) ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *C. minutissima*, *T. fluviatilis* และ *T. pseudonana* เพื่อสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลาย N-hexane ร่วมกับอัลตราซาวด์ โดยได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย และเก็บตัวอย่างสาหร่ายในระยะการเจริญเติบโตของสาหร่ายช่วง Stationary phase มาทำการกรองแบบสุญญากาศ ซึ่งในช่วงนี้พบว่า มีอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายสูงสุดที่จะนำมาทำการสกัดน้ำมัน จากงานวิจัยของ (Xu และคณะ, 2014) ได้ทำการศึกษาการออกแบบ (Modeling) การสะสมไขมันสูงสุดในเซลล์สาหร่าย *Nannochloropsis* พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตเป็น 3 ช่วงคือ Lag phase, Exponential phase และ Stationary phase โดยปริมาณการสะสมไขมันที่สูงที่สุดจะอยู่ในช่วงของการเจริญเติบโตที่สูงสุด (Stationary phase) งานวิจัยของ (Nobre และคณะ, 2013) ได้ทำการสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet และวิธี Bligh and dyer จากสาหร่าย *Nannochloropsis sp.* ในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจะใช้ช่วงการเจริญเติบโตที่ Stationary phase พบว่า จะมีการสะสมของไขมันในเซลล์ปริมาณสูงสุด ซึ่งเหมาะแก่การนำไปทำการสกัดน้ำมันต่อไป (Karcher, 2010)

## 2.11 วิธีการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย

การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายทำได้หลายวิธี ในที่นี้จะกล่าวถึงการสกัดน้ำมันที่มีการใช้อยู่ในปัจจุบันทั้งในห้องปฏิบัติการและในเชิงพาณิชย์ดังนี้

### 2.11.1 ขั้นตอนการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

จะใช้เครื่องกรองหรือสารเคมีแยกสาหร่ายออกจากน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง เครื่องกรองหรือสารเคมีจะทำให้สาหร่ายรวมตัวกันเป็นก้อน จากนั้นสาหร่ายจะถูกนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกน้ำออกจากสาหร่าย อีกทั้งยังเป็นการลดความชื้นออกจากสาหร่ายด้วย สุดท้ายจะแยกน้ำมันโดยการใส่สารละลายเหมือนกับที่ใช้สกัดน้ำมันจากพืชน้ำมันอื่นๆ เพื่อแยกน้ำมันออกจากโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตของสาหร่ายต่อไป (โจชัว ทิคเคลล์, 2552)

### 2.11.2 ขั้นตอนการสกัดน้ำมันสาหร่าย

#### 1) การสกัดน้ำมันสาหร่ายทางกายภาพ

- วิธีการทำเป็นของเหลวด้วยความร้อน (Thermochemical liquidification)

วิธีนี้จะเป็นการเปลี่ยนสาหร่ายไปเป็นน้ำมัน โดยการใช้ความร้อนสูงและความดันสูง ซึ่งการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายวิธีนี้จะได้น้ำมันประมาณ 30-40 % โดยน้ำหนัก (โจชัว ทิคเคลล์, 2552)

- วิธีการบีบอัดเพื่อให้คายน้ำมัน (Expeller/Press)

การใช้แรงเชิงกลบีบอัดเพื่อให้ได้น้ำมัน ซึ่งวิธีการบีบอัดน้ำมันมี 2 แบบ คือ การบีบอัดแบบเย็น (Cold pressing) และการบีบอัดแบบร้อน (Hot pressing) ซึ่งวิธีการบีบอัดแบบเย็นเป็นการใช้แรงกดเซลล์สาหร่ายทำให้แตกออกแล้วบีบน้ำมันออกมา น้ำมันที่ได้จากวิธีการบีบอัดแบบเย็นจะสามารถนำน้ำมันมาใช้ได้เลย แต่ข้อจำกัดของวิธีการนี้คือ จะได้น้ำมันในปริมาณน้อยและมีน้ำมันตกค้างในเซลล์สาหร่ายที่เราต้องการบีบอัดเพื่อให้คายน้ำมัน ส่วนวิธีการบีบอัดแบบร้อนเป็นการใช้แรงเชิงกลบีบอัดเซลล์สาหร่าย ร่วมกับการใช้ความร้อน (ดารณี เจริญสุข, 2554)

- วิธีการใช้เทคนิคออสโมซิสโดยอาศัยความต่างของความดัน (Osmotic shock)

การดึงน้ำออกโดยอาศัยหลักการเคลื่อนย้ายสารบางส่วนภายในเซลล์สาหร่าย ซึ่งเกิดจากความแตกต่างของแรงดันออสโมติกระหว่างภายในเซลล์ของสาหร่ายและสารละลายออสโมติก เกิดเป็นแรงขับ (Driving force) ทำให้มีการถ่ายโอนมวลสารระหว่างเซลล์ของสาหร่ายและสารละลายออสโมติกในลักษณะสวนทางกันผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งทำหน้าที่เป็นเยื่อเลือกผ่าน (Semi-permeable membrane) เมื่อมีแรงดันเกิดขึ้นภายในเซลล์สาหร่าย เยื่อหุ้มเซลล์จะทำหน้าที่เป็นเยื่อเลือกผ่าน โดยยอมให้สารภายในเซลล์สาหร่ายแพร่ผ่านได้มากกว่าตัวถูกละลายของสารละลายออสโมติก (วิชมณี ยืนยงพุทธกาล, 2556)

- วิธีการใช้อัลตราซาวด์ (Ultrasonic-assisted extraction)

การประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดน้ำมันจากเซลล์สาหร่าย เนื่องจากสาหร่ายมีผนังเซลล์อยู่ชั้นนอกสุดซึ่งจะเป็นตัวป้องกันการสกัด ซึ่งในการสกัดจะประกอบด้วยสองขั้นตอนคือ กระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลาย และการชะน้ำมันออกจากเซลล์ โดยอัลตราซาวด์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้โดยการเกิดปรากฏการณ์ Cavitation เนื่องจากคลื่นนั้นจะประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดโพรงก๊าซ (Bubble) ของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก จากนั้นเมื่อโพรงก๊าซได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัดจะทำให้ฟองนั้นแตกออกและเกิด Microjet ที่มีความแรงมาก

จนสามารถทำลายผนังเซลล์สาหร่ายได้ เมื่อผนังเซลล์สาหร่ายแตกออกจะทำให้เพิ่มอัตรา  
การถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น (สุเมธ บุญเกิด, 2550)

## 2) การสกัดน้ำมันโดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent extraction)

มีการนำเอาตัวทำละลายมาช่วยในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายซึ่งวิธีการสกัดน้ำมันโดย  
ใช้ตัวทำละลายแบ่งออกดังนี้

### - วิธี Folch (1957)

เป็นวิธีที่เก่าแก่ที่สามารถสกัดไขมันหรือน้ำมันได้สูงสุด แต่จะมีสารที่ไม่ใช่ไขมัน  
หรือน้ำมันปนมาด้วย ในการแยกสารที่ไม่ใช่ไขมันนั้นออกก่อนโดยจะใช้ 0.9% ของ NaCl  
จะทำให้เกิดการแยกออกเป็น 2 ชั้น แล้วจึงทำการสกัดไขมันหรือน้ำมันได้ด้วย  
คลอโรฟอร์ม-เมทานอลในอัตราส่วน 2:1 (Folch และคณะ, 1956)

### - วิธี Bligh and Dyer (1959)

เป็นวิธีการที่ง่ายและรวดเร็ว ใช้เวลาสั้นคือประมาณ 10 นาที มีการใช้  
ตัวทำละลายในปริมาณน้อยซึ่งเหมาะสมกับตัวอย่างที่มีปริมาณน้ำมันหรือไขมันในปริมาณ  
สูง แต่จะมีความชื้นหลังจากการสกัดมากกว่า 80% อีกทั้งยังสามารถใช้กับตัวอย่าง  
ที่มีปริมาณมาก ความสามารถในการสกัดน้ำมันจากเซลล์สาหร่ายมากกว่า 95%  
โดยตัวทำละลายที่ใช้คือ คลอโรฟอร์ม-เมทานอล ในอัตราส่วน 1:2 (Bligh และคณะ,  
1959)

### - วิธี Hara and Radin (1978)

เป็นวิธีที่มีพิษน้อยกว่า การสกัดน้ำมันด้วยวิธีนี้สามารถยับยั้งการทำงานของ  
(Activity) ของเอนไซม์ (Enzyme) ได้ โดยมีการใช้ตัวทำละลาย 2 ตัว คือ Isopropanol  
และ Hexane ในอัตราส่วน 3:2 (Hara และคณะ, 1978)

### - วิธี Soxhlet

เป็นวิธีที่นิยมอย่างแพร่หลาย เป็นการแยกสารโดยอาศัยสมบัติการละลาย  
ของสารในตัวทำละลาย หรือการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารที่ต้องการ  
ออกจากของผสม มีการใช้ทำละลายในปริมาณน้อย เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้สกัดสาร  
แล้วจะถูกทำให้ระเหยและควบแน่นกลับมา โดยระบบหล่อเย็นจะทำให้สามารถใช้  
ตัวทำละลายสกัดได้อีกเป็นลักษณะหมุนเวียน โดยตัวทำละลายที่ใส่ลงไปในเรื่องมือ

จะหมุนเวียนผ่านของผสมที่ต้องการสกัดหลายๆ ครั้งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด จนกระทั่งสารที่ต้องการสกัดออกมามีปริมาณเข้มข้นมากพอ ตัวทำละลายที่ใช้ มีดังนี้คือ Hexane, Hexane/Cyclohexane (1:1), Cyclohexane/2-propanol (2:1), Hexane/2-propanol (3:1) และ Cyclohexane/1-butanol (9:1) (Long และคณะ, 2011)

ตารางที่ 2.3 วิธีการสกัดน้ำมันสำหรับ

การสกัดน้ำมันสำหรับ	วิธีการสกัด	หลักการ
ทางกายภาพ	การทำเป็นของเหลวด้วยความร้อน (Thermochemical liquidification)	ใช้ความร้อนสูง และความดันสูง
	การบีบอัดเพื่อให้คายน้ำมัน (Expeller/ Press)	1. ใช้แรงเชิงกลบีบอัดแบบเย็น (Cold pressing) ใช้แรงกดเซลล์สำหรับทำให้แตกออกแล้วบีบน้ำมันออกมาน้ำมันที่ได้สามารถนำน้ำมันมาใช้ได้เลย 2. การบีบอัดแบบร้อน (Hot pressing) ใช้แรงเชิงกลบีบอัดเซลล์สำหรับร่วมกับการใช้ความร้อน
	การใช้เทคนิคออสโมซิสโดยอาศัยความต่างของความดัน (Osmotic shock)	อาศัยหลักการเคลื่อนย้ายสารภายในเซลล์สำหรับ ซึ่งเกิดความแตกต่างของแรงดันออสโมติกระหว่างภายในเซลล์สำหรับและสารละลายออสโมติก
	การใช้อัลตราซาวด์ (Ultrasonic-assisted extraction)	ใช้เครื่องอัลตราซาวด์ ทำให้ผนังเซลล์สำหรับถูกทำลาย

ตารางที่ 2.3 วิธีการสกัดน้ำมันสาหร่าย (ต่อ)

การสกัดน้ำมันสาหร่าย	วิธีการสกัด	หลักการ
ใช้ตัวทำละลาย	Folch (1957)	ใช้ 0.9% ของ NaCl ทำให้เกิดการแยกออกเป็น 2 ชั้น แล้วจึงทำการสกัดน้ำมันด้วย Chloroform และ Methanol ในอัตราส่วน 2:1
	Bligh and Dyer (1959)	ใช้ตัวทำละลายคือ Chloroform และ Methanol ในอัตราส่วน 1:2
	Hara and Radin (1978)	ใช้ตัวทำละลายคือ Isopropanol และ Hexane ในอัตราส่วน 3:2
	Soxhlet	ใช้ตัวทำละลายคือ <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hexane</li> <li>- Hexane/Cyclohexane (1:1)</li> <li>- Cyclohexane/2-propanol (2:1)</li> <li>- Hexane/2-propanol (3:1)</li> <li>- Cyclohexane/1-butanol (9:1)</li> </ul>

### 2.11.3 การหาปริมาณน้ำมันสาหร่าย

จากงานวิจัยของ Kim และคณะ (2013) ได้ทำการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ด้วยวิธี Bligh and Dyer และ วิธี Soxhlet หลังจากทำการสกัดน้ำมันแล้วได้ทำการหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธีการชั่งน้ำหนัก และจากงานวิจัยของ Araujo และคณะ (2013) ทำการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายทั้งหมด 10 สายพันธุ์คือ *Chaetoceros gracilis*, *Chaetoceros mulleri*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella sp.*, *Isochrysis sp.*, *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis sp.*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis tetrathele* and *Thalassiosira weissflogii*. ด้วยวิธี Bligh and Dyer พบว่า ได้มีการวัดหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธีการชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนัก (Electronic scale)

## 2.12 คุณสมบัติทั่วไปและธรรมชาติของคลื่นเสียง

คลื่นเกิดจากการสั่นสะเทือนของวัตถุส่งผลทำให้เกิดการถ่ายทอดพลังงานจากแหล่งกำเนิดออกไปบริเวณโดยรอบ ซึ่งสามารถจำแนกตามความสัมพันธ์ระหว่างทิศทางการสั่นของอนุภาคตัวกลางกับทิศทางของการเคลื่อนที่ได้เป็น 2 ชนิดดังนี้ (กนก ขำหุ่น, 2546)

1) คลื่นตามยาว (Longitudinal wave) คือคลื่นที่ทำให้อนุภาคตัวกลางนั้นเกิดการสั่นสะเทือนไปในทิศทางเดียวกันกับทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่น เช่น คลื่นเสียง ซึ่งคลื่นตามยาวนี้สามารถเคลื่อนที่ไปได้ทั้งในของแข็ง ของเหลว และก๊าซ ทำให้เกิดการส่งและการรับคลื่นได้ง่าย มีความเร็วสูงมาก

2) คลื่นตามขวาง (Transverse wave) คือคลื่นที่ทำให้อนุภาคตัวกลางเกิดการสั่นสะเทือนในทิศทางที่ตั้งฉากกับทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่น เช่น คลื่นของแม่เหล็กไฟฟ้าและคลื่นน้ำ

### 2.12.1 คลื่นเสียง (Sound wave)

คลื่นเสียงเป็นคลื่นตามยาวสามารถที่จะเดินทางผ่านตัวกลางที่เป็นได้ทั้งของแข็ง ของเหลว และก๊าซ โดยที่อนุภาคของตัวกลางนั้นจะเคลื่อนที่ไปในทิศทางที่คลื่นเสียงผ่าน เราสามารถแบ่งคลื่นเสียงออกได้เป็นดังนี้

- 1) ย่านอินฟราโซนิก (Infrasonic range) เป็นย่านความถี่ของคลื่นเสียงที่มีความถี่ต่ำกว่าที่มนุษย์จะได้ยิน ช่วงความถี่อยู่ที่ 0 ถึงต่ำกว่า 20 Hz
- 2) ย่านออดิเบิล (Audible range) เป็นย่านความถี่ของคลื่นเสียงที่มนุษย์สามารถได้ยิน ซึ่งมีความถี่อยู่ในช่วง 20 Hz ถึง 20 kHz
- 3) ย่านอัลตราซาวด์ (Ultrasound range) เป็นย่านความถี่ของคลื่นเสียงที่สูงกว่ามนุษย์ได้ยิน ซึ่งมีความถี่มากกว่า 20 kHz

### 2.12.2 คุณสมบัติที่สำคัญของคลื่นเสียง

คุณสมบัติโดยทั่วไปของคลื่นเสียงมี 4 แบบ

- 1) การแทรกสอด (Interference) เกิดจากการรวมกันของคลื่นสองคลื่นขึ้นไปในตัวกลางเดียวกันผลที่ได้ทำให้เกิดการบิต (Beats) และคลื่นนิ่ง (Standing waves)
  - บิต (Beats) เกิดจากการรวมกันของคลื่นที่มีความถี่หรือเฟสต่างกันในตัวกลางเดียวกัน ทำให้เกิดเป็นคลื่นใหม่ที่มีแอมพลิจูดเปลี่ยนแปลงไป
  - คลื่นนิ่ง (Standing waves) เกิดจากการแทรกสอดของคลื่นที่มีแอมพลิจูดและความถี่เท่ากัน แต่มีทิศทางการเคลื่อนที่ตรงกันข้ามหรือมีเฟสตรงข้ามกัน

2) การเลี้ยวเบน (Diffraction) คือคลื่นเสียงสามารถเลี้ยวเบนอ้อมสิ่งกีดขวางที่มีลักษณะเป็นมุมหรือช่องแคบได้ ซึ่งลักษณะแบบนี้เราสามารถพบได้ทั่วไปในชีวิตประจำวัน เช่น การได้ยินเสียงแตรรถที่เลี้ยวเบนผ่านมุมตึก หรือแม้กระทั่งการได้ยินเสียงที่ผ่านช่องเล็กๆ จากอีกห้องหนึ่ง

3) การสะท้อน (Reflection) คลื่นเสียงเกิดการสะท้อนได้เมื่อเกิดการกระทบกับตัวกลาง โดยมุมตกกระทบเท่ากับมุมสะท้อน การสะท้อนของเสียงที่ทำให้เราได้ยินเสียงห่างจากครั้งแรกเป็นเวลามากกว่า 0.1 วินาที จะทำให้เราได้ยินเสียงก้อง (Echo)

4) การหักเห (Refraction) เกิดขึ้นเมื่อคลื่นเสียงเดินทางผ่านตัวกลางที่มีความหนาแน่นต่างกัน ทำให้ความเร็วของคลื่นเสียงเปลี่ยนไป โดยที่ความถี่ยังคงเดิม ผลที่เกิดจากการหักเหคือทิศทางเสียงที่เกิดขึ้นนั้นจะเปลี่ยนไปโดยเกิดการเบนออกจากแนวเส้นปกติ เมื่อเสียงเคลื่อนที่จากตัวกลางที่มีความหนาแน่นมากไปสู่ตัวกลางที่มีความหนาแน่นน้อยกว่า และเกิดการเบนเข้าหาเส้นปกติเมื่อเสียงเคลื่อนที่จากตัวกลางที่มีความหนาแน่นน้อยไปสู่ตัวกลางที่มีความหนาแน่นมากกว่า

### 2.12.3 อัตราเร็วของเสียง

อัตราเร็วของคลื่นเสียงจะแปรตามคุณสมบัติของตัวกลางที่เสียงเดินทางผ่าน ตัวแปรที่จำกัดอัตราเร็วของเสียงก็คือ ความหนาแน่น อุณหภูมิ และความยืดหยุ่นของตัวกลางจากตารางที่ 2.4 แสดงอัตราเร็วของเสียงในตัวกลางชนิดต่างๆ ดังนี้

ตารางที่ 2.4 ความเร็วของเสียงที่ใช้เดินทางในตัวกลางต่างๆ

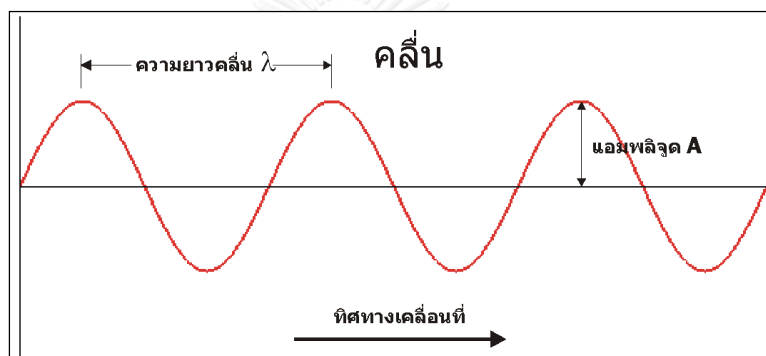
ตัวกลาง	ความเร็วของเสียง (เมตรต่อวินาที)	
	0 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
อากาศ	331.5	345.0
ไนโตรเจน	1,270.0	1,339.0
น้ำ	1,450.0	1,498.0
แก้ว	5,500.0	4,554.0
เหล็ก	5,100.0	5,200.0



### 2.13 อัลตราซาวด์ (Ultrasound)

คลื่นอัลตราซาวด์ (Ultrasound waves) คือคลื่นเสียงที่มีความถี่ (Frequency) สูงเกินกว่าที่มนุษย์จะได้ยินโดยทั่วไปแล้วหูของมนุษย์โดยเฉลี่ยแล้วจะได้ยินเสียงสูงเพียงแค่ประมาณ 15 กิโลเฮิร์ตซ์ (KHz) เท่านั้นหรืออาจจะได้ยินเสียงที่มีความถี่สูงกว่านี้ได้ในเด็กที่อายุน้อยๆ ดังนั้นอัลตราซาวด์จึงหมายถึง คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงกว่า 20 กิโลเฮิร์ตซ์ขึ้นไป

คลื่นเสียง (Sound) เกิดจากการสั่นของตัวกลางที่สามารถยืดหยุ่น (Elastic medium) ลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาว (Longitudinal waves) แต่คลื่นเสียงที่ผ่านเข้าไปในวัตถุที่เป็นของแข็งอาจอยู่ในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาวหรือคลื่นตามขวาง (Transverse waves) การเคลื่อนที่ของคลื่นจากพลังงานของเสียงแสดงดังรูปที่ 2.4 โดยคลื่นที่มีความถี่สูงขึ้นความยาวคลื่นก็จะยิ่งสั้นลง ปัจจุบัน



รูปที่ 2.4 การเคลื่อนที่ของคลื่นเสียง

พบว่า คลื่นอัลตราซาวด์สามารถไปใช้งานได้หลายอย่าง เช่น มีการใช้อัลตราซาวด์ในการเดินเรือเพื่อหาความลึก และวัตถุในมหาสมุทร ใช้ในเครื่องล้างอุปกรณ์ (Ultrasonic cleaner) นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนามาใช้ในกระบวนการทางด้านอุตสาหกรรม เช่น การใช้อัลตราซาวด์ในการเชื่อม การตัดชิ้นงาน และใช้อัลตราซาวด์ในด้านการแพทย์ เช่น ในการตรวจวินิจฉัยโรค การตรวจการตั้งครรภ์ การหาตำแหน่งอวัยวะบางส่วนในร่างกาย อีกทั้งยังสามารถใช้ทดสอบการรั่วไหลของท่อ เป็นต้น โดยสามารถแบ่งการใช้งานคลื่นอัลตราซาวด์เป็น 2 ประเภท ดังนี้

- 1) การใช้อัลตราซาวด์กำลังต่ำ ความถี่สูง (Low Power And High Frequency)
- 2) การใช้อัลตราซาวด์กำลังสูง ความถี่ต่ำ (High Power And Low Frequency)

การใช้อัลตราซาวด์จะทำให้เกิดผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี เนื่องจากการปล่อยคลื่นเสียงอัลตราซาวด์ จะทำให้เกิดปรากฏการณ์คาวิเทชัน (Cavitation) ซึ่งความถี่ปกติที่ใช้

ทั่วไปอยู่ในช่วงความถี่ 20-40 กิโลเฮิร์ตซ์ จะเป็นความถี่ที่สามารถสร้างขึ้นได้จากอุปกรณ์อัลตราซาวด์ทั่วไปที่นำไปใช้ในกระบวนการทำความสะอาด (Mason, 1999)

#### 2.14 ระบบของอัลตราซาวด์

ระบบส่วนประกอบของอัลตราซาวด์มีอุปกรณ์ที่สำคัญอยู่ 3 ส่วนดังนี้

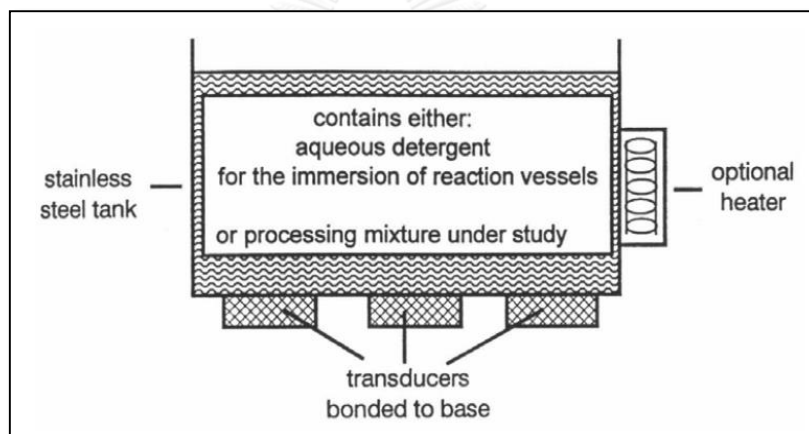
- 1) เครื่องกำเนิดไฟฟ้า (Generator) เป็นการเปลี่ยนไฟฟ้ากระแสตรงให้เป็นกระแสสลับที่มีความถี่ที่ต้องการโดยทรานส์ดิวเซอร์
- 2) ทรานส์ดิวเซอร์ ทำหน้าที่เปลี่ยนไฟฟ้ากระแสสลับความถี่สูงไปเป็นการสั่นเนื่องจากพลังงานกล ปัจจุบันนิยมใช้ทรานส์ดิวเซอร์ชนิดพีโซอิเล็กทริก โดยที่รูปร่างและขนาดของทรานส์ดิวเซอร์ที่นำมาประกอบกันจะขึ้นอยู่กับความถี่ที่ต้องการใช้งานและพลังงานของทรานส์ดิวเซอร์แต่ละชนิดจะแปรผกผันกับกำลังสองของความถี่ ดังนั้นในการประยุกต์ใช้พลังงานอัลตราซาวด์จึงมักใช้ในช่วงความถี่ต่ำ โดยตัวทรานส์ดิวเซอร์จะอยู่ติดกับบูสเตอร์ (Booster) หรือฮอร์น (Horn) ด้านบนและเชื่อมต่อกับระบบส่งถ่ายพลังงาน
- 3) ระบบส่งถ่ายพลังงาน (Delivery systems) ทำหน้าที่ส่งถ่ายพลังงานจากการสั่นสะเทือนไปยังของเหลว ในกรณีที่ใช้อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasonic bath) ตัวทรานส์ดิวเซอร์จะอยู่ตรงบริเวณฐานด้านล่างของตัวอ่างและส่งถ่ายพลังงานไปยังของเหลวที่อยู่ภายในอ่าง สำหรับระบบที่ต้องการพลังงานที่สูงขึ้น จะใช้วิธีขยายสัญญาณหรือพลังงานและส่งถ่ายไปยังของเหลว โดยใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า ฮอร์น เป็นโลหะที่มีรูปร่างแตกต่างกันและจะติดอยู่กับตัวทรานส์ดิวเซอร์ ซึ่งตัวฮอร์นจะทำจากวัสดุที่ทำให้เกิดขนาดของความยาวคลื่นครึ่งหนึ่งหรือเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนเท่าตัวของความยาวคลื่นเสียง หลังจากใช้งานเป็นเวลานานจะทำให้บริเวณส่วนปลายของฮอร์นเกิดการกัดกร่อนและมีผลต่อความยาวของฮอร์นโดยทำให้สั้นลง จึงนิยมใช้ส่วนปลายฮอร์นชนิดที่ถอดได้ มีลักษณะเป็นเกลียวสามารถเปลี่ยนได้ง่าย

## 2.15 ประเภทของเครื่องอัลตราซาวด์ (Ultrasonic Reactor)

เครื่องอัลตราซาวด์ที่ใช้กันทั่วไปมีความแตกต่างกันตรงที่การออกแบบแหล่งกำเนิดไฟฟ้า (Generator) แหล่งกำเนิดคลื่นและตัวเครื่องที่ใช้ร่วมกับแหล่งกำเนิดคลื่น โดยสามารถแบ่งเป็น 2 ชนิด ดังนี้

### 2.15.1 อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasonic Bath)

อ่างอัลตราซาวด์เป็นอุปกรณ์ที่นิยมใช้กันอย่างมาก โดยเฉพาะในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากมีราคาไม่แพงเมื่อเปรียบเทียบกับระบบแบบโพรบ โดยทั่วไปทรานส์ดิวเซอร์จะติดอยู่กับบริเวณฐานด้านล่างและความถี่ที่ใช้งานส่วนใหญ่ประมาณ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ อัลตราซาวด์ชนิดอ่างแสดงดังรูปที่ 2.5



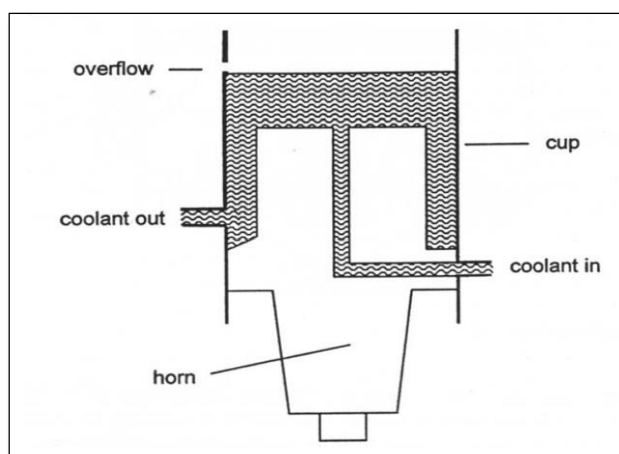
รูปที่ 2.5 อัลตราซาวด์แบบอ่าง  
ที่มา: Mason (1999)

สำหรับอ่างอัลตราซาวด์นั้นพลังงานสูงสุดจะอยู่บริเวณระดับความสูงระดับหนึ่งตลอดตามความลึกของอ่าง เนื่องจากการเกิดคลื่นจากการสะท้อนของคลื่นอัลตราซาวด์ที่ถูกสร้างขึ้นตรงบริเวณรอยต่อระหว่างอากาศและของเหลว ซึ่งแยกโดยระยะทางที่เทียบเท่ากับครึ่งหนึ่งของความยาวคลื่นเสียงของของเหลวภายในอ่าง สำหรับน้ำ มีค่า  $\lambda = 37$  มิลลิเมตร ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ดังนั้นถ้าระดับน้ำในอ่างลดลงต่ำกว่าค่า  $\lambda$  จะมีผลทำให้ไม่สามารถทำให้เกิดคลื่นเสียงที่มีพลังงานสูงได้

อ่างอัลตราซาวด์นั้นมีอุปกรณ์เสริมประเภทต่างๆที่นำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานให้ดีขึ้น เช่น อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ (Thermostatically controlled heating) อุปกรณ์กระจายคลื่น (Frequency sweeps) ที่ทำให้คาวิตีชั่นเกิดขึ้น

อย่างสม่ำเสมอ อุปกรณ์ปรับระดับพลังงาน สวิตช์เปิดปิดแบบจังหวะหรือนาฬิกาจับเวลา เป็นต้น อ่างอัลตราซาวด์ทั่วไปมักจะให้พลังงานต่ำ เพื่อหลีกเลี่ยงความเสียหายจากคาวิตेशनที่เกิดขึ้นตรงบริเวณผนังด้านในของอ่าง นอกจากนั้นของเหลวที่เติมในอ่างมักมีปริมาณมาก ทำให้ปริมาณพลังงานมีค่าลดลง

รูปแบบของอ่างอัลตราซาวด์อีกประเภทหนึ่งเรียกว่า คัพฮอร์น (Cup Horn) ดังรูปที่ 2.6 จัดว่าเป็นอ่างอัลตราซาวด์ที่สร้างพลังงานได้สูงมาก ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณผิวหน้าที่เกิดคลื่นอัลตราซาวด์ซึ่งติดอยู่กับทรานส์ดีวเซอร์จะสัมผัสโดยตรงกับของเหลว และลักษณะของการเกิดพลังงานนั้นจะขึ้นอยู่กับระดับของของเหลว ซึ่งมีความสำคัญมาก

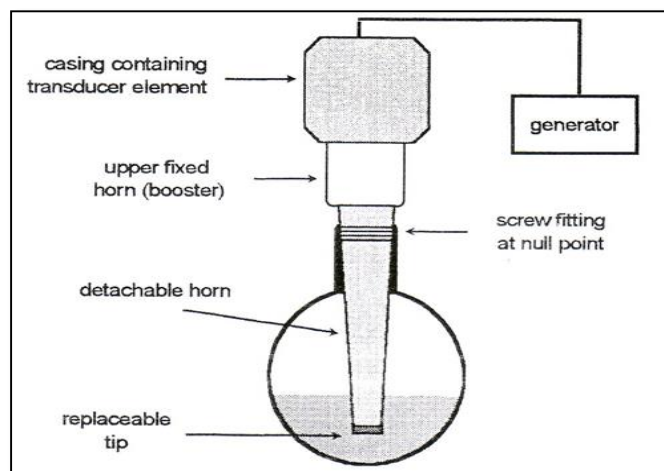


รูปที่ 2.6 อัลตราซาวด์แบบคัพฮอร์น

ที่มา: Mason (1999)

### 2.15.2 อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasonic Probe Systems)

ในการขยายพลังงานหรือคลื่นเสียงที่เกิดจากทรานส์ดีวเซอร์ ปกติทั่วไปจะนำทรานส์ดีวเซอร์มาต่อเข้ากับอุปกรณ์ที่เรียกว่า ฮอร์น (Horn) ลักษณะของฮอร์นจะมีความแตกต่างกันดัง โดยฮอร์นส่วนใหญ่จะให้ขนาดของความยาวคลื่นครึ่งหนึ่งหรือเป็นพหุคูณกับความยาวของคลื่นเสียงของวัสดุที่นำมาผลิตระบบอัลตราซาวด์ แสดงดังรูปที่ 2.7



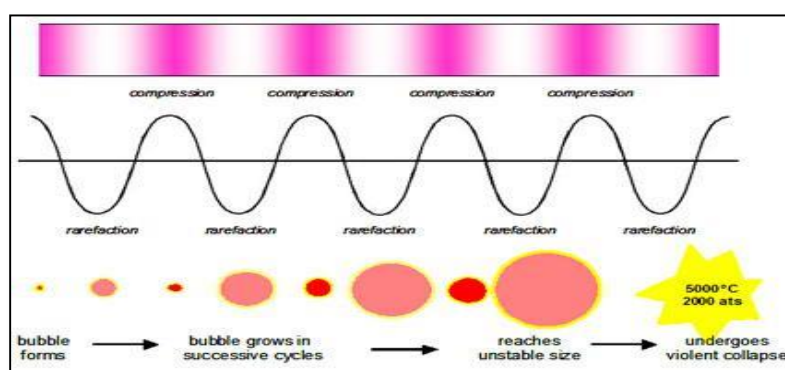
รูปที่ 2.7 อัลตราซาวด์แบบโพรบ

ที่มา : Mason (1999)

แอมพลิฟายด์ที่ถูกสร้างขึ้นจากระบบนี้จะขึ้นอยู่กับรูปร่างของฮอร์น สำหรับฮอร์นที่มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอก (Uniform cylinder) นั้นแอมพลิฟายด์จะไม่มี การเปลี่ยนแปลง แต่ฮอร์นจะทำหน้าที่ขยายหรือเพิ่มการส่งถ่ายพลังงานเสียง ขนาด ความยาวคลื่นที่ได้จากตัวขยาย (Amplifier) สามารถคำนวณได้จากอัตราส่วนของเส้นผ่าน ศูนย์กลางของผิวหน้าตัดของฮอร์นระหว่าง 2 พื้นที่คือ Driven Face (D) และ Emitting Face (d) โดยอัตราส่วนระหว่าง  $D/d$  จะต้องมีค่าไม่สูงเกินไป ซึ่งพลังงานไฟฟ้าสูงสุดที่ได้จาก แหล่งกำเนิดพลังงานนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญสองส่วน คือ คุณสมบัติของวัสดุที่ใช้ในการ ผลิตทรานส์ดีวเซอร์มักจะนิยมใช้วัสดุที่สามารถยืดหยุ่นและกลับคืนตัวได้ดี เช่น ไทเทเนียม หรืออะลูมิเนียมอัลลอย ซึ่งวัสดุทั้งสองชนิดมีความทนต่อความล้า เนื่องจากแรงกล แต่อะลูมิเนียมอัลลอยนั้นจะถูกกัดกร่อนได้ง่ายหากสัมผัสกับของเหลว ที่เกิดปฏิกิริยาควิเทชั่น จึงนิยมใช้ไทเทเนียมในการผลิตฮอร์นแทน สำหรับพื้นผิวบริเวณที่มี การปลดปล่อยคลื่นนั้น พบว่าพื้นที่ขนาดเล็กจะให้ประสิทธิภาพสูงกว่า แต่แอมพลิฟายด์ที่สูง จะทำให้เกิดฟองอากาศขึ้นที่บริเวณพื้นผิวหน้าของโพรบ ซึ่งจะรบกวนการส่งต่อพลังงานไป ยังของเหลวตัวกลาง

## 2.16 ปรากฏการณ์คาวิเทชัน (Cavitation)

เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นภายในตัวกลางหรือสารละลายที่ได้รับคลื่นอัลตราซาวด์ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและกายภาพ จากการเกิดแก๊ส ซึ่งการที่ฟองก๊าซนี้จะเกิดขึ้นเมื่อของเหลวได้รับคลื่นอัลตราซาวด์ ซึ่งมีทั้งการบีบอัด (Compress) และคลายตัว (Rarefaction) ซ้ำไปมาจำนวนหลายพันรอบต่อวินาที ส่งผลทำให้เกิดฟองก๊าซขึ้นดังรูปที่ 2.8 ซึ่งฟองก๊าซที่เกิดขึ้นภายในของเหลวนี้ จะสัมพันธ์กับการสั่นสะเทือนที่เกิดจากคลื่นอัลตราซาวด์เป็นรอบๆ (ธีรพร กงบังเกิด, 2547) ส่งผลทำให้ฟองก๊าซมีขนาดใหญ่อขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งแตกในที่สุด



รูปที่ 2.8 การยุบตัวของฟองอากาศคาวิเทชัน  
ที่มา: Mason (1999)

คาวิเทชันแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่คาวิเทชันแบบถาวร (Stable cavitation) และคาวิเทชันแบบชั่วคราว (Transient cavitation) (Mason, 1999) ซึ่งแต่ละแบบจะมีผลทำให้พฤติกรรมหรือลักษณะฟองอากาศที่ได้รับคลื่นอัลตราซาวด์แตกต่างกันออกไป โดยคาวิเทชันแบบถาวรจะเกิดขึ้นเมื่อฟองอากาศหรือฟองแก๊สเกิดการสั่นแกว่ง (Oscillate) เมื่อได้รับคลื่นอัลตราซาวด์เป็นจำนวนหลายรอบของการสั่นแต่ไม่เกิดการแตกของฟองดังกล่าว ซึ่งฟองอากาศหรือฟองแก๊สนี้อาจเพิ่มขนาดถึงขนาดเรโซแนนซ์ (Resonance size) เป็นขนาดของฟองแก๊สที่มีความถี่ธรรมชาติเท่ากับความถี่ในการสั่นแบบบังคับ ส่วนคาวิเทชันแบบชั่วคราวนั้น เกิดขึ้นในระยะบีบอัดของฟองอากาศ ในของเหลวที่ได้รับความเครียด (Tension stress) ที่เกิดขึ้นขณะเริ่มเกิดการขยายตัวของฟองอากาศ ซึ่งมีผลทำให้เกิดการแตกตัวของฟองแก๊สอย่างรวดเร็ว หรืออาจเกิดจากฟองแก๊สเกิดการสั่นแกว่งและขยายขนาดเพิ่มขึ้นในลักษณะคงที่ในระยะหนึ่ง ก่อนที่จะแตกอย่างรวดเร็วเมื่อฟองอากาศหรือฟองแก๊สขยายขนาดขึ้นถึงขนาดจำเพาะ (ธีรพร กงบังเกิด, 2547)

ในสถานะที่ฟองอากาศหรือฟองแก๊สแตกนั้น พบว่าทำให้เกิดอุณหภูมิสูงขึ้นถึง 5,000 เคลวิน และความดันสูงถึง 2,000 atm (Mason, 1999) ในบริเวณที่เกิดคลื่นกระแทก (Shock waves)

ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่างเกิดการขยายและหดตัวของฟองอากาศนั้น จะเกิดสมดุลขึ้นระหว่างความดันไภายในและภายนอกฟองอากาศและพื้นผิวของฟองอากาศขณะขยายตัวจะมีมากกว่าพื้นที่ผิวของฟองอากาศขณะหดตัว จึงเป็นผลให้การซึมผ่านของแก๊สในขณะที่เกิดการขยายตัวเกิดขึ้นได้มากกว่าและฟองอากาศนี้จะขยายตัวเพิ่มขึ้น เมื่อจำนวนรอบเพิ่มขึ้นโดยอัตราส่วนของอัตราการซึมผ่านของแก๊สในขณะฟองอากาศขยายตัวต่ออัตราการซึมผ่านของแก๊สในขณะถูกบีบอัดจะเพิ่มมากขึ้นในแต่ละรอบ จนกระทั่งฟองแก๊สมีขนาดเรโซแนนซ์ ซึ่งทำให้ช่องว่างภายในฟองแก๊สมีขนาดโตขึ้นอย่างรวดเร็วภายในหนึ่งรอบของการสั่น และเนื่องจากพลังงานที่ได้รับจากคลื่นอัลตราซาวด์ไม่เพียงพอในการคงสถานะของแก๊สหรือไอ จึงทำให้เกิดการควบแน่น (Condensation) ขึ้นในทันทีโดยโมเลกุลที่ควบแน่นนั้นจะชนกันอย่างรุนแรง ทำให้เกิดคลื่นกระแทกขึ้นและเกิดจุดหรือบริเวณเล็กๆ ที่มีอุณหภูมิและความดันที่สูงมาก และเป็นที่ยืนยันว่าปรากฏการณ์นี้เป็นปรากฏการณ์ที่สำคัญที่เกิดในระหว่างที่ของเหลวได้รับคลื่นอัลตราซาวด์ ซึ่งพื้นที่ที่ฟองอากาศหรือฟองแก๊สแตกจะเกิดการปลดปล่อยพลังงานที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาเคมีทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่แตกต่างไปจากสถานะปกติ (ธีรพร กงบังเกิด, 2547)

## 2.17 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดฟองอากาศคาวิเทชัน

### 2.17.1 ความถี่ (Frequency)

เมื่อมีการเพิ่มความถี่ ทำให้ช่วงเวลาส่วนขยายของคลื่นสั้นลง ดังนั้นเพื่อให้ได้พลังงานคาวิเทชันของระบบที่เท่ากัน ต้องมีการเพิ่มพลังงานหรือแอมพลิจูด หรืออาจกล่าวได้ว่า เมื่อความถี่เพิ่มขึ้นระบบก็ต้องการพลังงานที่มากขึ้น เพื่อให้ได้พลังงานคาวิเทชันที่ระดับเดียวกัน เช่นที่ความถี่ 400 กิโลเฮิร์ตซ์ ต้องการพลังงานที่มากกว่า 10 กิโลเฮิร์ตซ์ ถึง 10 เท่า เพื่อทำให้เกิดคาวิเทชันในน้ำ เมื่อความถี่เพิ่มถึงระดับเมกะเฮิร์ตซ์ (MHz) จึงเป็นการยากมากที่จะทำให้เกิดคาวิเทชันในของเหลว

### 2.17.2 ความหนืดของสารละลาย (Solvent viscosity)

การเกิดฟองอากาศคาวิเทชันในบริเวณช่องว่างของโมเลกุลสารละลายจะเกิดได้ยากขึ้นหากสารละลายนั้นมีความหนืดสูง

### 2.17.3 แรงตึงผิวหน้าของสารละลาย (Solvent surface tension)

การเกิดฟองอากาศคาวิเทชันที่ผิวของเหลว แก๊สจะเกิดขึ้นได้ง่ายเมื่อสารละลายมีแรงตึงผิวต่อหน่วยพื้นที่ต่ำ เพราะเป็นการลดค่าพลังงานต่ำสุดในการเกิดคาวิเทชันลดลง

### 2.17.1 ความดันไอของสารละลาย (Solvent vapour pressure)

ในระหว่างช่วงขยายของการเกิดควิเทชั่น ไอของของเหลวรอบๆจะผ่านเข้าไปในโพรงควิเทชั่น ซึ่งในของเหลวที่มีความดันไอต่ำการเกิดไอของสารเข้าไปในโพรงจะน้อย ทำให้การเกิดควิเทชั่นยากกว่าสารที่มีความดันไอสูง แต่สิ่งที่ระบบต้องการคือพลังงานที่เกิดขึ้น เนื่องจากการแตกตัวของควิเทชั่น ซึ่งในของเหลวที่มีความดันไอสูงการเกิดไอระเหยผ่านเข้าไปในควิเทชั่นเกิดได้ง่าย แต่การแตกของควิเทชั่นเกิดเป็นพลังงานน้อยกว่า

### 2.17.4 อุณหภูมิ (Temperature)

เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทำให้ความดันไอของตัวกลางเพิ่มขึ้น ทำให้การเกิดควิเทชั่นง่ายขึ้น แต่พลังงานก็ลดลง แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นใกล้จุดเดือด จะเกิดฟองควิเทชั่นจำนวนมากพร้อมกัน ซึ่งฟองเหล่านี้จะทำหน้าที่ขัดขวางการถ่ายเทพลังงานอัลตราซาวด์จากแหล่งกำเนิดสู่ของเหลว

### 2.17.5 ความเข้ม (Intensity)

ความเข้มของพลังงานมีส่วนสัมพันธ์กันกับการสั่นแอมพลิจูดของคลื่น อัลตราซาวด์ที่ปล่อยออกมา เมื่อมีการเพิ่มความเข้มของพลังงานจะทำให้การเกิดฟองควิเทชั่นเพิ่มขึ้น สำหรับความถี่จะมีความเข้มต่ำสุดที่ทำให้เกิดควิเทชั่นได้ เมื่อให้พลังงานอัลตราซาวด์มากขึ้นจะทำให้ฟองควิเทชั่นเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งฟองที่เกิดขึ้นจะขัดขวางการถ่ายเทพลังงาน (Mason, 1999)

## 2.18 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย

### 2.18.1 การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์ เช่น การสกัดแยกสารประกอบบางชนิดออก การสกัดแยกสารผลิตภัณฑ์ออกจากของผสมหลังทำปฏิกิริยา หลักการของการสกัดคือการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสม

จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการนำวิธี Soxhlet มาใช้ในการสกัดน้ำมันออกจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ซึ่งงานวิจัยของ Kim และคณะ (2013) ใช้สาหร่ายอบแห้ง ปริมาณ 0.5 กรัม ใช้ตัวทำละลายคือ ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl Ether) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร สกัดน้ำมันออกจากเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* เป็นเวลา 36 ชั่วโมง พบว่า สามารถสกัดน้ำมันจากสาหร่ายได้ 21 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย แต่การใช้



ตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันเพียงอย่างเดียวส่งผลให้ประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันลดลง ควรมีการปรับสภาพกระบวนการเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มผลผลิตในการสกัดน้ำมัน นอกจากนี้ ตัวทำละลายที่นำมาใช้นั้นมีความเป็นพิษและความยุ่งยากในกระบวนการรีไซเคิลตัวทำละลาย งานวิจัยของ Araujo และคณะ (2013) ใช้สาหร่ายอบแห้งปริมาณ 5 กรัม ใช้ตัวทำละลายคือ Acetone ปริมาตร 110 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 120-180 องศาเซลเซียส ทำการสกัดเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง พบว่า สามารถสกัดน้ำมันสาหร่ายได้  $1.8 \pm 0.3$  % w/w ในการใช้ตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันนั้นอาศัยเพียงการแพร่ของน้ำมันออกจากเซลล์สาหร่าย ซึ่งเป็นกระบวนการที่ช้าและได้ผลผลิตของน้ำมันออกมาในอัตราที่ต่ำ งานวิจัยของ Guckert และคณะ (1988) มีการใช้สาหร่ายอบแห้งจำนวน 100 มิลลิกรัม ใช้ตัวทำละลายคือ เมทิลีน (Methylene) และเมทานอล (Methanol) จำนวน 100 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน (2:1 v/v) ทำการสกัดน้ำมันสาหร่าย *Chlorella vulgaris* เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิต่ำกว่า 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำน้ำมันสาหร่ายไปวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันด้วย Gas Chromatography (GC) พบว่า น้ำมันสาหร่ายที่สกัดมาได้นั้นมีองค์ประกอบของไกลโคลิพิด (Glycolipid) 42% ที่เป็นองค์ประกอบของ Chloroplast membranes รองลงมาคือ ไขมันที่เป็นกลาง (Neutral lipid) 33% และไขมันมีขี้ (Polar lipid) 25% ที่เป็นองค์ประกอบของ Plasma membrane ซึ่งไขมันที่เป็นกลางนี้เป็นส่วนสำคัญที่นำไปใช้ในอุตสาหกรรมประเภทน้ำมันต่อไป

ตารางที่ 2.5 การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet

	(Kim และคณะ, 2013)	(Araujo และคณะ, 2013)	(Guckert และคณะ, 1988)
ชนิดสาหร่าย	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>
การเก็บเกี่ยว	อบแห้ง	อบแห้ง	อบแห้ง
ปริมาณสาหร่าย	0.5 กรัม	5 กรัม	100 มิลลิกรัม
ตัวทำละลาย	Diethyl Ether	Acetone	Methylene และ Methanol (2:1 v/v)
ปริมาณตัวทำละลาย	200 มล.	110 มล.	100 มล.
อุณหภูมิในการสกัด	-	120 - 180 °C	น้อยกว่า 37 °C
ระยะเวลาในการสกัดน้ำมัน	36 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	3 ชั่วโมง

ตารางที่ 2.5 การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet (ต่อ)

	(Kim และคณะ, 2013)	(Araujo และคณะ, 2013)	(Guckert และคณะ, 1988)
ผลการวิจัย	สกัดน้ำมันสาหร่ายได้ 21 มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่าย	สกัดน้ำมันสาหร่ายได้ 1.8 ± 0.3 %w/w	วิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบของน้ำมันพบว่า 1) Glycolipid 42% 2) Neutral lipid 33% 3) Polar lipid 25%

#### 2.18.2 การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Bligh and Dyer

เป็นวิธีการที่ง่ายและรวดเร็วใช้เวลาสั้นมาก มีการใช้ตัวทำละลายในปริมาณน้อยซึ่งเหมาะสมกับตัวอย่างที่มีปริมาณน้ำมันหรือไขมันในปริมาณสูง อีกทั้งยังสามารถใช้กับตัวอย่างที่มีปริมาณมากความสามารถในการสกัดน้ำมันจากเซลล์สาหร่ายมากกว่า 95% โดยตัวทำละลายที่ใช้คือ คลอโรฟอร์ม-เมทานอล ในอัตราส่วน 1:2

จากงานวิจัยของ Kim และคณะ (2013) ใช้สาหร่ายอบแห้ง 0.5 กรัม ใช้ตัวทำละลายคือ คลอโรฟอร์ม 4 มิลลิลิตรและเมทานอล 2 มิลลิลิตร สกัดน้ำมันออกจากเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นมีการเติมเมทานอล 2 มิลลิลิตรและน้ำ 2 มิลลิลิตร พบว่าสามารถสกัดน้ำมันจากสาหร่ายได้ 29 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย งานวิจัยของ Long และ Abdelkader (2011) ใช้สาหร่าย *Nannochloropsis* อบแห้ง 5 กรัม เติมตัวทำละลายคือ คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ในอัตราส่วน (1:2 v/v) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และทำการเขย่าข้ามคืน นำไปกรองเพื่อเอาเนื้อสาหร่ายออก จากนั้นนำตัวทำละลายที่ผ่านการกรองแล้ว เติม 0.9%NaCl ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในกรวยแยก (Separation funnel) ตั้งทิ้งไว้ข้ามคืน และนำไประเหยแห้งด้วย Rotary evaporator พบว่าสามารถสกัดน้ำมันสาหร่ายได้ 24.8% w/w ซึ่งการสกัดน้ำมันสาหร่ายด้วย Chloroform และMethanol ที่อุณหภูมิห้อง ได้น้ำมันออกมาสูงกว่าการใช้ตัวทำละลาย Hexane และIsopropanol ประมาณ 10% w/w งานวิจัยของ Guckert และคณะ (1988) มีการใช้สาหร่ายอบแห้งจำนวน 100 มิลลิกรัม ใช้ตัวทำละลายคือ คลอโรฟอร์ม 35 มิลลิลิตร

เมทานอล 70 มิลลิลิตร และมีการเติมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 7.4) จำนวน 28 มิลลิลิตร ทำการสกัดน้ำมันสาหร่าย *Chlorella vulgaris* เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นเติมคลอโรฟอร์ม 35 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 35 มิลลิลิตรลงไป นำน้ำมันสาหร่ายที่สกัดได้ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบของน้ำมันด้วย Gas chromatography (GC) พบว่า น้ำมันสาหร่ายที่สกัดมาได้นั้นมีองค์ประกอบของไกลโคลิพิด (Glycolipid) 50% ที่เป็นองค์ประกอบของ Chloroplast membranes รองลงมาคือ ไขมันมีขั้ว (Polar lipid) 30% ที่เป็นองค์ประกอบของ Plasma membrane และไขมันที่เป็นกลาง (Neutral lipid) 20%

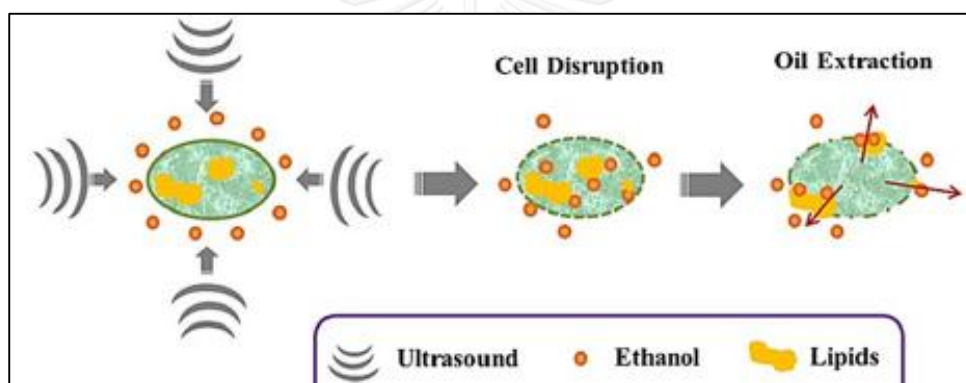


ตารางที่ 2.6 การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Bligh and Dyer

	(Kim และคณะ, 2013)	(Long และ Abdelkader, 2011)	(Guckert และคณะ, 1988)
ชนิดสาหร่าย	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Nannochloropsis</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>
การเก็บเกี่ยว	อบแห้ง	อบแห้ง	อบแห้ง
ปริมาณสาหร่าย	0.5 กรัม	5 กรัม	100 มิลลิกรัม
ตัวทำละลาย	- Chloroform และ Methanol (1:2 v/v) ปริมาตร 6 มล.	- Chloroform และ Methanol (1:2 v/v) ปริมาตร 100 มล.	- Chloroform และ Methanol (1:2 v/v) ปริมาตร 100 มล. - ฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (ความเข้มข้น 50 มล. โมลาร์, pH 7.4) ปริมาตร 28 มล.
อุณหภูมิในการ สกัด	-	อุณหภูมิห้อง	น้อยกว่า 37 °C
ระยะเวลาใน การสกัดน้ำมัน	- 2 ชั่วโมง - จากนั้นเติม Methanol 2 มล. และน้ำ 2 มล.	- Overnight - จากนั้นกรองเอาเนื้อ สาหร่ายออก นำตัวทำ ละลายที่ผ่านการกรอง - เติ ม 0.9%Nacl ปริมาตร 50มิลลิลิตร แล้วนำไปใส่ลงในกรวย แยกตั้ง - ทิ้งไว้ข้ามคืน	- 18 ชั่วโมง - เติม Chloroform 35 มล. และน้ำ 35 มล.
ผลการวิจัย	สกัดน้ำมันสาหร่ายได้ 29 มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่าย	สกัดน้ำมันสาหร่ายได้ 24.8% w/w	วิเคราะห์องค์ประกอบ ของน้ำมันพบว่า 1) Glycolipid 50% 2) Neutral lipid 20% 3) Polar lipid 25%

### 2.18.3 การใช้ตัวทำละลายสกัดร่วมกับอัลตราซาวด์ (Ultrasound-assisted organic solvent extraction)

การประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดน้ำมันจากเซลล์สาหร่ายร่วมกับตัวทำละลายเนื่องจากสาหร่ายมีผนังเซลล์อยู่ชั้นนอกสุดซึ่งจะเป็นตัวต้านทานการสกัดจึงมีการใช้อัลตราซาวด์เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการสกัดน้ำมันที่เข้าร่วมกับตัวทำละลาย ดังรูปที่ 2.9 (Martinez-Guerra และคณะ, 2014) โดยการเกิดปรากฏการณ์คาวิเทชันเนื่องจากคลื่นนั้นจะประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟอง (Bubble) ของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก จากนั้นเมื่อฟองได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัดจะทำให้ฟองนั้นแตกออกและเกิด Microjet ที่มีความแรงมากจนสามารถเจาะทำลายผนังเซลล์สาหร่ายได้ เมื่อผนังเซลล์สาหร่ายแตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น (สุเมธ บุญเกิด, 2550)



รูปที่ 2.9 การใช้ตัวทำละลายร่วมกับอัลตราซาวด์ในการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย  
ที่เมา (Martinez-Guerra และคณะ, 2014)

จากงานวิจัยของ Araujo และคณะ (2011) ได้ทำการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายทั้งหมด 10 สายพันธุ์คือ *Chaetoceros gracilis*, *Chaetoceros mulleri*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella sp.*, *Isochrysis sp.*, *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis sp.*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis tetraathele* and *Thalassiosira weissflogii*. ที่ถูกเลี้ยงในขวดแก้วขนาด 3 ลิตร ที่ให้ความเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ที่ 25 และ 35 กรัมต่อลิตร เติมอากาศ 2 ลิตรต่อนาที่ จากนั้นนำสาหร่ายไปอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในการสกัดน้ำมันใช้วิธีการสกัดของ Bligh and Dyer (1959) ตัวทำละลายคือ คลอโรฟอร์มและเมทานอล เติมในอัตราส่วน 2:1 v/v จากนั้นนำไปอัลตราซาวด์ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ พลังงานที่ 80 วัตต์ เป็นเวลา 20 นาที อนุญาตให้มีห้อง และสุดท้ายทำการเติมคลอโรฟอร์ม เมทานอลและน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1:0.9 นำไป

ระเหยแห้ง พบว่าสาหร่าย *Chaetoceros gracilis* ที่เลี้ยงภายใต้ความเค็มที่ 25 กรัมต่อลิตร สกัดน้ำมันออกมาได้ 60.3% w/w และสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงภายใต้ความเค็มที่ 35 กรัมต่อลิตร สกัดน้ำมันออกมาได้ 52.5% w/w ซึ่งการเพิ่มความเค็มในสาหร่ายสายพันธุ์อื่นๆ มีผลต่อการผลิตน้ำมันของสาหร่ายยกเว้นสาหร่าย *Isochrysis sp.*, *Thalassiosira weissflogii* และ *Chlorella vulgaris* ดังนั้นสาหร่ายสายพันธุ์ *Chaetoceros gracilis* และ *Chlorella vulgaris* มีความเหมาะสมในการนำสาหร่ายมาผลิตน้ำมันขนาดใหญ่ ต่อมา Araujo และคณะ (2013) ได้มีการใช้สาหร่าย *Chlorella vulgaris* จำนวน 5 กรัม สกัดน้ำมันด้วยวิธีของ Bligh and Dyer โดยใช้ตัวทำละลายคือ เมทานอล 25 มิลลิลิตร คลอโรฟอร์ม 12.5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร จากนั้นทำการอัลตราซาวด์ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ พลังงานที่ 12.7 วัตต์ต่อลิตร เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นเติม คลอโรฟอร์ม 12.5 มิลลิลิตร และโซเดียมซัลเฟต 1.5% ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 12.5 มิลลิลิตร และทำการอัลตราซาวด์เป็นเวลา 20 นาที พบว่าสามารถสกัดน้ำมันจากเซลล์สาหร่ายได้ 54.5 w/w แต่จากงานวิจัยของ Kim และคณะ (2013) ได้มีการใช้ตัวทำละลาย  $[\text{Bmim}][\text{MeSO}_4]$  ซึ่งเป็นตัวทำละลาย สีเขียว ไม่ติดไฟ สามารถทนความร้อนได้ แตกต่างจากตัวทำละลายที่ใช้กันทั่วไป แต่ข้อเสียคือ มีความหนืดสูงทำให้มีการถ่ายโอนมวลสารต่ำจึงได้มีการนำมาใช้ร่วมกับการอัลตราซาวด์ ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ใช้สาหร่าย *Chlorella vulgaris* อบแห้งจำนวน 0.5 กรัม ใช้ตัวทำละลาย  $[\text{Bmim}][\text{MeSO}_4]$  5 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และทำการอัลตราซาวด์ (Power UB-405, Hawashin, Korea) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และนำไปปั่นเหวี่ยงจะเกิดการแยกเฟสของน้ำมัน พบว่าการสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลาย  $[\text{Bmim}][\text{MeSO}_4]$  ร่วมกับการอัลตราซาวด์ได้น้ำมัน 74.0 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ในขณะที่ใช้ตัวทำละลาย  $[\text{Bmim}][\text{MeSO}_4]$  เพียงอย่างเดียวจะสกัดน้ำมันได้ 47.4 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง

ตารางที่ 2.7 การสกัดน้ำมันโดยใช้ตัวทำละลายสกัดร่วมกับอัลตราซาวด์

	(Araujo และคณะ, 2011)	(Araujo และคณะ, 2013)	(Kim และคณะ, 2013)
ชนิดสาหร่าย	<i>Chaetoceros gracilis</i> , <i>Chaetoceros mulleri</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Dunaliella sp.</i> , <i>Isochrysis sp.</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Tetraselmis sp.</i> , <i>Tetraselmis chui</i> , <i>Tetraselmis tetrathele</i> , <i>Thalassiosira weissflogii</i> .	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>
การเก็บเกี่ยว	อบแห้ง	อบแห้ง	อบแห้ง
ปริมาณสาหร่าย	3 ลิตร	5 กรัม	0.5 กรัม
ตัวทำละลาย	- Chloroform และ Methanol (2:1 v/v)	- Chloroform 12.5 มล. - Methanol 25 มล. - น้ำ 5 มล.	- [Bmim][MeSO <sub>4</sub> ] 5 มล. (กวนให้เข้า กัน) - จากนั้นเติมน้ำกลั่น 5 มล.
อัลตราซาวด์	- ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ - พลังงานที่ 80 วัตต์ - เวลา 20 นาที	- ความถี่ 40 กิโล เฮิร์ตซ์ - พลังงานที่ 12.7 วัตต์ ต่อลิตร	- Power UB-405, Hawashin, Korea

ตารางที่ 2.7 การสกัดน้ำมันโดยใช้ตัวทำละลายร่วมกับอัลตราซาวด์ (ต่อ)

	(Araujo และคณะ, 2011)	(Araujo และคณะ, 2013)	(Kim และคณะ, 2013)
อุณหภูมิ	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิ 60 °C
ระยะเวลา	- 20 นาที - จากนั้นเติม hloroform Methanol และน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1:0.9	- 40 นาที แล้วเติม Chloroform 12.5 มล. และ 1.5% Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 12.5 มล. - และอัลตราซาวด์ต่อ อีก 20 นาที	- ไม่ได้ระบุ
ผลการวิจัย	- <i>Chaetoceros gracilis</i> ที่เลี้ยงภายใต้ความเค็มที่ 25 กรัมต่อลิตร สกัด น้ำมันออกมา ได้ 60.3% w/w - <i>Chlorella vulgaris</i> ที่ เลี้ยงภายใต้ความเค็มที่ 35 กรัม ต่อลิตร สกัด น้ำมันออกมา ได้ 52.5% w/w	- สกัดน้ำมันจากเซลล์ สำหรับได้ 54.5 w/w	- [Bmim] [MeSO <sub>4</sub> ] ร่วมกับอัลตรา ซาวด์สกัดน้ำมัน 74 มก. w/w - [Bmim][MeSO <sub>4</sub> ] สกัดน้ำมันได้ 47.4 มก. w/w



#### 2.18.4 การใช้ความถี่และพลังงานของอัลตราซาวด์กับสาหร่าย

การใช้อัลตราซาวด์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการได้โดยการเกิดปรากฏการณ์คาวิเทชัน จากงานวิจัยของ Joyce และคณะ (2010) ศึกษาความถี่ของอัลตราซาวด์กับสาหร่าย *Microcystis aeruginosa* โดยทำการเลี้ยงสาหร่ายเป็นเวลา 7-10 วัน เตรียมสาหร่ายที่ความเข้มข้น OD เท่ากับ 0.2 (ที่ 680 นาโนเมตร) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นทดลองใช้ความถี่อัลตราซาวด์ที่ 20, 40, 580, 864 และ 1145 กิโลเฮิร์ตซ์ พลังงานที่ 0.0015 - 0.0714 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร อัลตราซาวด์เป็นเวลา 30 นาที ทำการตรวจวัดที่ระยะเวลา 0, 5, 10, 20 และ 30 นาที พบว่า ในช่วงความถี่ที่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ (0.0178 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร) และความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ (0.021 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร) ให้ผลลัพธ์คล้ายกันคือ ความเข้มข้นของสาหร่ายค่อยๆ ลดลงตั้งแต่ 5 นาทีแรก จนถึง 20 นาที หลังจากนั้นการอัลตราซาวด์จะส่งผลให้เซลล์สาหร่ายแตก และในช่วงความถี่ 580 กิโลเฮิร์ตซ์ ทดลองที่พลังงาน 0.0018, 0.0210 และ 0.0490 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร ผลที่ได้คือการเพิ่มพลังงานอัลตราซาวด์ยิ่งส่งผลให้เซลล์ของสาหร่ายแตก โดยใช้ระยะเวลาตั้งแต่ 5 นาทีแรกทำให้เซลล์สาหร่ายแตกหมด ซึ่งเร็วกว่าที่ความถี่ 20 และ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ดังนั้นการลดลงหรือเพิ่มขึ้นของเซลล์สาหร่ายจะขึ้นอยู่กับความถี่และพลังงานของอัลตราซาวด์ จากงานวิจัยของ Hao และคณะ (2004) ศึกษากลไกคาวิเทชันในการยับยั้งการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียด้วยการอัลตราซาวด์ โดยใช้สาหร่าย *Spirulina platensis* ทำการอัลตราซาวด์ที่ความถี่ 20, 200 กิโลเฮิร์ตซ์ และ 1.7 เมกะเฮิร์ตซ์ พลังงานที่ 40 วัตต์ เป็นระยะเวลา 5 นาที พบว่า ความถี่ที่ 200 กิโลเฮิร์ตซ์ สามารถลดปริมาณสาหร่ายได้สูงที่สุดถึง 69% เนื่องจากปรากฏการณ์คาวิเทชันของ อัลตราซาวด์ ส่งผลให้ก๊าซแควิวโอลถูกปลดปล่อยออกมาจากสาหร่าย *Spirulina platensis* เนื่องจากผนังเซลล์ถูกทำลายหรืออ่อนแอ ดังนั้นอัลตราซาวด์สามารถลดการเติบโตอย่างรวดเร็วของสาหร่ายจำพวกไซยาโนแบคทีเรียได้ จากงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2006) ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสาหร่าย *Microcystis aeruginosa* โดยการอัลตราซาวด์ที่พลังงาน 80 วัตต์ ความถี่ที่ 20, 80, 150, 410 และ 1,320 กิโลเฮิร์ตซ์ เป็นเวลา 5 นาที พบว่าที่ความถี่ 80 กิโลเฮิร์ตซ์ส่งผลทำให้เซลล์ความเข้มข้นของสาหร่ายลดลงมากที่สุด โดยที่พลังงานและความถี่ของอัลตราซาวด์สูงขึ้น จะช่วยเร่งการเกิดปรากฏการณ์คาวิเทชัน ทำให้เซลล์สาหร่ายแตกและมีการปล่อยสาร Microcystin ออกมาทำให้น้ำมีความเป็นพิษมากขึ้น ดังนั้นที่ความถี่ 80 กิโลเฮิร์ตซ์ หากมีการเพิ่มพลังงานมากกว่า 48 วัตต์ แล้ว จะทำให้เซลล์สาหร่ายแตกมากขึ้น และทำให้น้ำมีความเข้มข้นของมวลสาหร่ายมากกว่าเดิม

ตารางที่ 2.8 การใช้ความถี่และพลังงานของอัลตราซาวด์กับสาหร่าย

	(Joyce และคณะ, 2010)	(Hao และคณะ, 2004)	(Zhang และคณะ, 2006)
ชนิดสาหร่าย	<i>Microcystis aeruginosa</i>	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Microcystis aeruginosa</i>
ความเข้มของสาหร่าย	OD เท่ากับ 0.2 (ที่ 680 นาโนเมตร)	-	-
ปริมาตรสาหร่าย	200 มิลลิลิตร	-	-
ความถี่	20, 40, 580, 864, 1,145 กิโลเฮิร์ตซ์	20, 200 กิโลเฮิร์ตซ์ และ 1.7 เมกะเฮิร์ตซ์	20, 80, 150, 410, 1,320 กิโลเฮิร์ตซ์
ระดับพลังงาน	0.0015-0.0714 วัตต์ต่อตร.ซม.	40 วัตต์	80 วัตต์
ระยะเวลา	30 นาที	5 นาที	5 นาที
ผลการวิจัย	- ความถี่ที่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ (0.0178 วัตต์ต่อตร.ซม.) และ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ (0.021 วัตต์ต่อตร.ซม.) พบว่าความเข้มข้นของสาหร่ายค่อยๆ ลดลง - ความถี่ที่ 580 กิโลเฮิร์ตซ์ (0.0018, 0.0210 และ 0.0490 วัตต์ต่อตร.ซม.) พบว่าการเพิ่มพลังงานจะส่งผลให้เซลล์ของสาหร่ายแตก ซึ่งเร็วกว่าที่ความถี่ 20 และ 40 กิโลเฮิร์ตซ์	- ความถี่ที่ 200 กิโลเฮิร์ตซ์สามารถลดปริมาณสาหร่ายได้สูงที่สุดถึง 69%	- ความถี่ที่ 80 กิโลเฮิร์ตซ์ ส่งผลทำให้เซลล์ความเข้มข้นของสาหร่ายลดลงมากที่สุด แต่หากมีการเพิ่มพลังงานมากกว่า 48 วัตต์ จะทำให้เซลล์สาหร่ายแตกมากขึ้นและทำให้น้ำมีความเข้มข้นของมวลสาหร่ายมากกว่าเดิม

### 2.18.5 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายเพื่อนำมาผลิตเป็นพลังงานทดแทน

จากงานวิจัยของ รศ.ดร.ประหยัด โภคฐิติยุกต์ อาจารย์และนักวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ร่วมกับ ปตท. ในการวิจัยการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย โดยนำสาหร่ายสีเขียวที่ให้น้ำมันในเซลล์ประมาณร้อยละ 20-30 คือ สาหร่ายสายพันธุ์น้ำเค็ม 2 สายพันธุ์ คือ *Tetraselmis sp.* และ *Dunaliella sp.* และสายพันธุ์น้ำจืด คือ *Chlorococcum sp.* มาทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้สภาพแวดล้อมในประเทศไทยยังเหมาะกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายอีกด้วย สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ขณะที่พืชพลังงานต้องใช้เวลาเพาะปลูกนานถึง 6-7 ปี ถึงจะให้น้ำมันได้ ส่วนกรรมวิธีในการผลิตมีอยู่ 5 วิธี คือ การใช้แรงเหวี่ยงแยกเอาน้ำมันออก การตกตะกอนแยกเอาตัวสาหร่ายออก การใช้สารละลายทางเคมีละลายเอาน้ำมันออก การใช้กระแสไฟฟ้ากระตุ้นให้สาหร่ายคลายน้ำมัน และการบีบอัดเพื่อให้สาหร่ายคายน้ำมัน หลังจากทำการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายแล้ว ยังสามารถนำกากสาหร่ายที่ตกตะกอน มาใช้เป็นอาหารสัตว์ ปุ๋ย และยา ได้อีกด้วย (บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน), 2552)

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ ดร.อาภารัตน์ มหาพันธ์ ผู้เชี่ยวชาญวิจัย ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้ทำการวิจัยคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายน้ำมันด้วยเทคนิคย้อมสี โดยสำรวจและเก็บรวบรวมสาหร่ายขนาดเล็กที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงทั้งจาก แหล่งน้ำ ดิน ที่ชุ่มชื้น ทั่วประเทศไทย (ไม่รวมจังหวัดสุรินทร์ และจังหวัดร้อยเอ็ด) จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงและย้อมสีไนล์ เรด (Nile red staining) พบว่า สาหร่ายกว่า 40 สายพันธุ์ มีคุณสมบัติ ทนแสง ทนอุณหภูมิ เหมาะที่จะนำมาเป็นสายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตน้ำมันได้อย่างรวดเร็ว และในจำนวนนี้กลุ่มที่มีความเหมาะสมคือ สาหร่ายกลุ่มสีเขียวและกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงิน นอกจากนี้ยังพบว่ากากใยที่เหลือยังมีโปรตีนที่มีประโยชน์ต่อการนำไปทำเป็นส่วนผสมเพื่อใช้เลี้ยงสัตว์ด้านการเร่งเนื้อ เร่งสี อย่างเช่น ปลาสวยงาม และไก่ไข่ เป็นต้น (เพ็ญพิชญา เทียว, 2554)

จากงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาพบว่า สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อสังเคราะห์แสงในปริมาณมาก อุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหารไม่ว่าจะเป็นคาร์โบไฮเดรต โปรตีน แร่ธาตุ และวิตามินอีกหลายชนิด ที่สำคัญคือ มีปริมาณการสะสมของน้ำมันอยู่ภายในเซลล์มากพอที่จะสกัดออกมาใช้ ถ้ามีการเพาะเลี้ยง และควบคุมตัวแปร สภาพแวดล้อมจะทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่าพืช งานวิจัยของ Kim และคณะ (2013) มีการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ โดยวิธี Soxhlet และวิธี Bligh and Dyer ซึ่งมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล มาเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ แต่ตัวทำละลายนี้ไม่ละลายในน้ำ หากมีน้ำผสมอยู่จะทำให้การสกัดทำได้ไม่ดี จึงต้องนำสาหร่ายไปผ่านกระบวนการอบแห้งก่อน

เป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย (ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์, 2556) อีกทั้งตัวทำละลายอินทรีย์เหล่านี้ยังเป็นอันตรายต่อสุขภาพร่างกายของมนุษย์ และสัตว์ด้วย

จากงานวิจัยที่ผ่านมากการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายนิยมใช้วิธีมาตรฐาน เช่น วิธี Soxlet วิธี Bligh and Dyer ซึ่งต้องมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดน้ำมัน หากคำนึงถึงด้านสุขภาพและความปลอดภัยในการใช้ตัวทำละลาย ควรที่จะลดหรือหลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณที่มาก นอกจากนี้วิธีมาตรฐานต้องนำเซลล์สาหร่าย ไปผ่านกระบวนการอบแห้งเซลล์สาหร่ายก่อนทำการสกัดน้ำมัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำอัลตราซาวด์มาเป็นเครื่องมือในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายเพื่อสกัดน้ำมันโดยไม่ผ่านกระบวนการอบแห้ง และเป็นการลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ทำให้สามารถลดขั้นตอนการสกัดน้ำมันและค่าใช้จ่ายในกระบวนการอบแห้งได้ เนื่องจากอัลตราซาวด์ทำให้ผนังเซลล์ของสาหร่ายถูกทำลายจากการเกิดปรากฏการณ์คาวิเทชัน (Cavitation) คลื่นอัลตราซาวด์นั้นจะประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางที่เป็นของเหลวจะทำให้เกิดฟอง (Bubble) ของตัวกลางขนาดเล็กจำนวนมาก จากนั้นเมื่อฟองได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัดจะทำให้ฟองนั้นแตกออกและเกิด Microjet ที่มีความแรงมากจนสามารถเจาะทำลายผนังเซลล์สาหร่ายได้ เมื่อผนังเซลล์สาหร่ายแตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น (สุเมธ บุญเกิด, 2550) ส่วนกากตะกอนสามารถนำไปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้ เช่น อาหารสัตว์ ปุ๋ย และอาหารเสริม ดังนั้นจากงานวิจัยของ Joyce และคณะ (2010), Hao และคณะ (2004) และ Zhang และคณะ (2006) พบว่า ระดับพลังงานและระยะเวลาของอัลตราซาวด์มีผลทำให้เกิดการแตกของเซลล์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการสกัดน้ำมัน จึงต้องมีการหาระดับพลังงานและระยะเวลาที่เหมาะสมในการอัลตราซาวด์ที่ทำให้สามารถสกัดน้ำมันจากสาหร่ายออกมาได้ปริมาณสูงสุดด้วย

## บทที่ 3

### แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 แผนการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ (Laboratory scale) เพื่อศึกษาการสกัดน้ำมันจาก *Chlorella vulgaris* โดยใช้อัลตราซาวด์ ทำการทดลองแบบทีละเท (Batch reactor) ในการทดลองจะใช้อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasound bath) ใช้ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์ที่ 40 กิโลเฮิรตซ์ และระดับพลังงานของอัลตราซาวด์ที่แตกต่างกัน และใช้อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasound probe) ใช้ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์ที่ 20 กิโลเฮิรตซ์ และระดับพลังงานของอัลตราซาวด์ที่แตกต่างกัน และใช้การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ ภายใต้อุณหภูมิห้อง ซึ่งทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการอาคารภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ทั้ง 4 วิธี มีขั้นตอนในการทดลองดังนี้

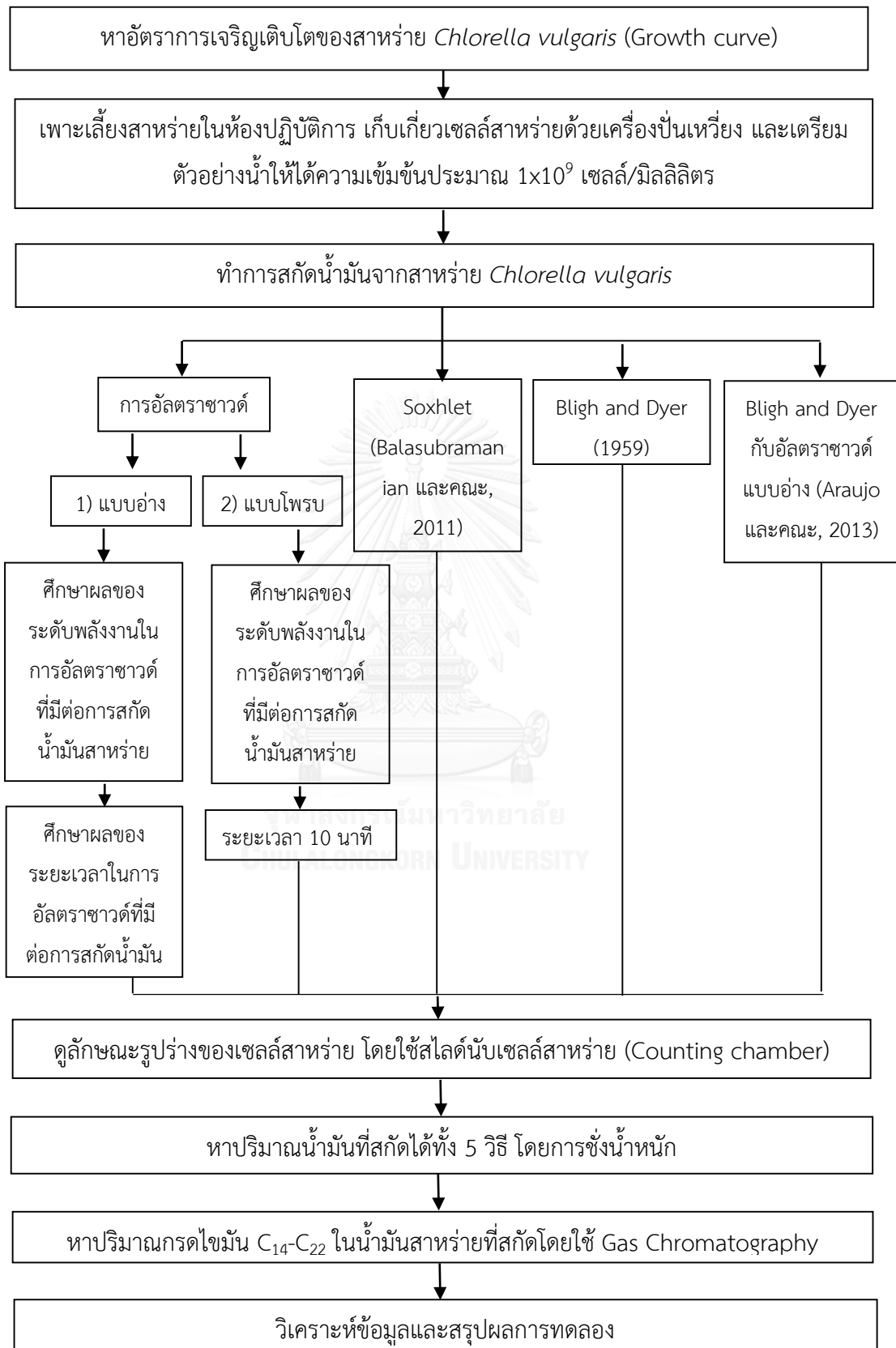
1. หาอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นของการอัลตราซาวด์แบบอ่างและแบบโพรบ
2. หาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (Growth curve)
3. ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* เป็นระยะเวลา 6 วัน (Stationary phase) เก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และเตรียมตัวอย่างสาหร่ายให้ได้ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
4. การสกัดน้ำมันจะแบ่งออกเป็น 5 วิธี ได้แก่
  - 4.1 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยการอัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasonic bath)
    - 4.1.1 ในการทดลองจะใช้อัลตราซาวด์แบบอ่าง ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์
    - 4.1.2 ใช้ระดับพลังงานที่แตกต่างกันคือ 0, 20, 40, 60, 120 และ 150 วัตต์
    - 4.1.3 ใช้ระยะเวลาแต่ละระดับพลังงานคือ 5, 10, 20, 30 และ 40 นาที ตามลำดับ
    - 4.1.4 ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ
  - 4.2 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยการอัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasonic probe)
    - 4.2.1 ในการทดลองจะใช้อัลตราซาวด์แบบโพรบ ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิรตซ์
    - 4.2.2 ใช้ระดับพลังงานที่แตกต่างกันคือ 0, 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์
    - 4.2.3 ใช้ระยะเวลาแต่ละระดับพลังงานคือ 10 นาที

- 4.2.4 ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ
- 4.3 การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet (Balasubramanian และคณะ, 2011)
- 4.3.1 อบแห้งสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ 60 องศาเซลเซียส
- 4.3.2 ใช้เฮกเซน (Hexane) เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ สกัดด้วยเครื่อง Soxhlet extractor ที่อุณหภูมิ 85-90 องศาเซลเซียส
- 4.3.3 ใช้เครื่อง Evaporator ระเหยตัวทำละลายอินทรีย์
- 4.3.4 ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ
- 4.4 การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Bligh and Dyer
- 4.4.1 อบแห้งสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ 60 องศาเซลเซียส
- 4.4.2 ใช้ตัวทำละลายเป็นสารละลายผสมระหว่างเมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำ ในอัตราส่วน 2:1:0.8 และเมทานอลและน้ำ ในอัตราส่วน 1:1 ตามลำดับ
- 4.4.3 ใช้เครื่อง Evaporator ระเหยตัวทำละลายอินทรีย์
- 4.4.4 ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ
- 4.5 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง (Araujo และคณะ, 2013)
- 4.5.1 อบแห้งสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ 60 องศาเซลเซียส
- 4.5.2 ใช้ตัวทำละลายเมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำ ในอัตราส่วน 2:1:0.8 อัลตราซาวด์ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงานที่ 80 วัตต์ เป็นระยะเวลา 40 นาที เดิมคลอโรฟอร์ม และ 1.5% โซเดียมซัลเฟต ในอัตราส่วน 1:1 และอัลตราซาวด์ต่ออีก 20 นาที
- 4.5.3 ใช้เครื่อง Evaporator ระเหยตัวทำละลายอินทรีย์
- 4.5.4 ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ
5. พารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวัด ได้แก่ ความเข้มข้นเซลล์สาหร่าย รูปร่างของเซลล์สาหร่ายก่อนและหลังการสกัด ปริมาณน้ำมันที่สกัดออกมาได้ และปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$ - $C_{22}$
6. วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการทดลอง

ขั้นตอนการทดลองสกัดน้ำมันจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

การทดลองที่ 1	ศึกษาอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นของการอัลตราซาวด์แบบอ่างและแบบโพรบ
การทดลองที่ 2	การหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i>
การทดลองที่ 3	การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ เก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง และเตรียมตัวอย่างน้ำให้ได้ความเข้มข้นประมาณ $1 \times 10^9$ เซลล์/มิลลิลิตร
การทดลองที่ 4	ศึกษาผลของระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์ที่มีต่อการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ
การทดลองที่ 5	ศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> ด้วยวิธีการอัลตราซาวด์แบบอ่าง การอัลตราซาวด์แบบโพรบวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และ วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์
การทดลองที่ 6	ศึกษาปริมาณกรดไขมัน $C_{14}$ - $C_{22}$ ในน้ำมันสาหร่ายที่สกัดได้ด้วยวิธีการอัลตราซาวด์แบบอ่าง การอัลตราซาวด์แบบโพรบ วิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ โดยใช้เทคนิค Gas Chromatography

### ผังขั้นตอนการดำเนินการวิจัย





### 3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

#### 3.2.1 น้ำตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

- น้ำสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ในห้องปฏิบัติการ ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### 3.2.2 อาหารเลี้ยงสาหร่าย (ภาคผนวก ก-1)

#### 3.2.3 อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 5 ส่วนดังนี้

- 1) อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย
  - ถังน้ำใสขนาด 5 ลิตร
  - หลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent Lamp) บริษัท LKS รุ่น DAI-ICHI, 18W
  - เครื่องให้อากาศ บริษัท Sonic รุ่น Double type 12000
- 2) อุปกรณ์ในเก็บเกี่ยวสาหร่าย
  - เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) บริษัท Heraeus ความเร็วรอบ 20,000 rpm อุณหภูมิ -10 ถึง 30 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที ถึง 9 ชั่วโมง
- 3) อุปกรณ์ในสกัดน้ำมันด้วยวิธีการอัลตราซาวด์
  - อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasonic bath) บริษัท Y J Tech ultrasonic Frequency: 40 kHz
  - เครื่องกำเนิดไฟฟ้า (Ultrasonic generator) บริษัท Y J Tech ultrasonic รุ่น MS-4014, AC 220-230 v
  - อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasonic probe) บริษัท Sonics & Materials inc., Model: VCX 130PB, Serial No: 42456L, Power: 130W, AC: 230V, Frequency: 20 kHz
- 4) อุปกรณ์ในการสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet
  - เครื่อง Soxhlet extractor
  - ตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส บริษัท Binder รุ่น ED-53
  - เครื่อง Evaporator

- 5) อุปกรณ์ในการสกัดน้ำมันวิธี Bligh and Dyer
  - เครื่อง Vortex บริษัท Scientific industries, inc., Model: G-560E
- 6) อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ผลการทดลอง
  - เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท Ohaus : 8-14.5VC, 50/60 Hz, 4 VA or 8-20VDC, 4W
- 7) อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย
  - ถังน้ำใสขนาด 5 ลิตร
  - หลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent Lamp) บริษัท LKS รุ่น DAI-ICHI, 18W
  - เครื่องให้อากาศ บริษัท Sonic รุ่น Double type 12000
- 8) อุปกรณ์ในเก็บเกี่ยวสาหร่าย
  - เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) บริษัท Heraeus ความเร็วรอบ 20,000 rpm อุณหภูมิ -10 ถึง 30 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที ถึง 9 ชั่วโมง
- 9) อุปกรณ์ในสกัดน้ำมันด้วยวิธีการอัลตราซาวด์
  - อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasonic bath) บริษัท Y J Tech ultrasonic Frequency: 40 kHz
  - เครื่องกำเนิดไฟฟ้า (Ultrasonic generator) บริษัท Y J Tech ultrasonic รุ่น MS-4014, AC 220-230 v
  - อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasonic probe) บริษัท Sonics & Materials inc., Model: VCX 130PB, Serial No: 42456L, Power: 130W, AC: 230V, Frequency: 20 kHz
- 10) อุปกรณ์ในการสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet
  - เครื่อง Soxhlet extractor
  - ตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส บริษัท Binder รุ่น ED-53
  - เครื่อง Evaporator
- 11) อุปกรณ์ในการสกัดน้ำมันวิธี Bligh and Dyer
  - เครื่อง Vortex บริษัท Scientific industries, inc., Model: G-560E
- 12) อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ผลการทดลอง
  - เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท Ohaus : 8-14.5VC, 50/60 Hz, 4 VA or 8-20VDC, 4W

กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) บริษัท Nikon รุ่น Eclipse E200 MV R,  
Tokyo, Japan

- สไลด์นับเซลล์สาหร่าย (Counting chamber) HBG 0.100 mm Tiefe depth, Germany
- ก๊าซโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) บริษัท Agilent Technology รุ่น GC 6890
- เครื่องแก้ว (Laboratory glassware)
- กระดาษกรอง (Filter paper) ยี่ห้อ Whatman เบอร์ 42 ขนาดรูปวง 2.5 ไมครอน

#### สารเคมี

- ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) > 99% Ajax Finechem
- โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) > 99% Ajax Finechem
- ไอรอน อีดีทีเอ (Fe EDTA) 14% Labchem
- แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) > 99.5% Qrec
- โพแทสเซียมไนเตรต ( $\text{KNO}_3$ ) > 99% Ajax Finechem
- แมงกานีสคลอไรด์ ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ) > 99% Ajax Finechem
- คอปเปอร์ซัลเฟต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ) > 99% Qrec
- ซิงค์ซัลเฟต ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ) > 99% Ajax Finechem
- เฮกเซน (Hexane) > 95% Ajax Finechem
- คลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) > 99% Ajax Finechem
- เมทานอล ( $\text{CH}_4\text{O}$ ) > 99% Ajax Finechem
- กรดซัลฟูริก ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )
- แคลเซียมไฮโปคลอไรด์ ( $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ) (Commercial grade: COM)

### 3.3 พารามิเตอร์

เครื่องมือในการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ แสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์พารามิเตอร์

พารามิเตอร์	เครื่องมือและอุปกรณ์
ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้	เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
ความเข้มข้นเซลล์สำหรับย	Counting chamber และ Microscope
รูปร่างของเซลล์สำหรับย	Counting chamber และ Microscope

### 3.4 วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.4.1 การศึกษาพลังงานของการอัลตราซาวด์ (ภาคผนวก ก-5)

##### 3.4.1.1 อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasonic bath)

- 1) นำน้ำ DI ปริมาตร 50 ml ใส่ลงในปิกเกอร์
- 2) อัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 0, 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ โดยแต่ละระดับพลังงานจะใช้ระยะเวลาที่ 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 นาที ตามลำดับ
- 3) วัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมคัปเปิล (Thermocouple)
- 4) คำนวณพลังงานของอัลตราซาวด์ด้วยวิธี Calorimetric method ดังสมการที่ 3-1

$$P = \left( \frac{\Delta T}{T_x} \right) \times C \times M \quad (3-1)$$

เมื่อ

- $\Delta T$  = อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง (เคลวิน)  
 $T_x$  = เวลาการเดินระบบอัลตราซาวด์ (วินาที)  
 $C$  = ค่าคงที่ความร้อนของน้ำ (3.18 จูลต่อกรัมต่อเคลวิน)  
 $M$  = มวลของน้ำในระบบ (กรัม)

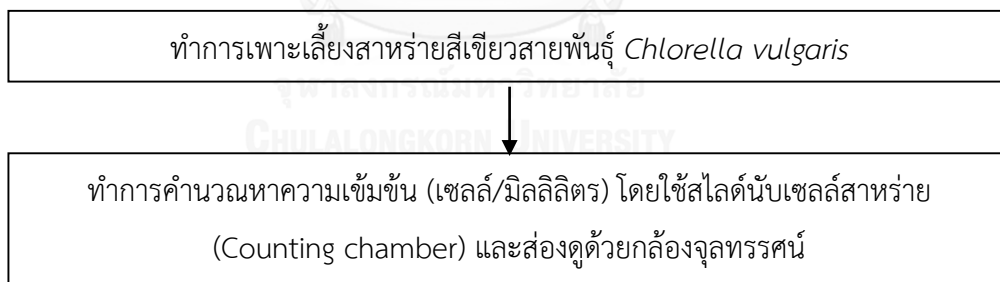
### 3.4.1.2 อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasonic probe)

- 1) นำน้ำ DI ปริมาตร 50 ml ใส่ลงในบีกเกอร์
- 2) อัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 0, 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ โดยแต่ละระดับพลังงานจะใช้ระยะเวลา 10 นาที
- 3) วัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมคัปเปิล (Thermocouple)
- 4) คำนวณพลังงานของอัลตราซาวด์ด้วยวิธี Calorimetric method ดังสมการ 3-1

### 3.4.2 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต (Growth curve) ของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

- 1) นำหัวเชื้อสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ถ่ายลงในภาชนะที่บรรจุน้ำขนาด 5 ลิตร เติมน้ำ (N8) (ภาคผนวก ก-1) โดยใช้หัวเชื้อ 1 ส่วนต่อน้ำ 10 ส่วน และให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ และเติมอากาศโดยเครื่องเติมอากาศตลอดเวลา
- 2) วิเคราะห์หาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (Growth curve) ความเข้มข้น หน่วย เซลล์/มิลลิลิตร โดยใช้สไลด์นับเซลล์สาหร่าย (Counting chamber) และส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ภาคผนวก ก-3, ก-4)

ขั้นตอนการหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ดังรูปที่ 3.1

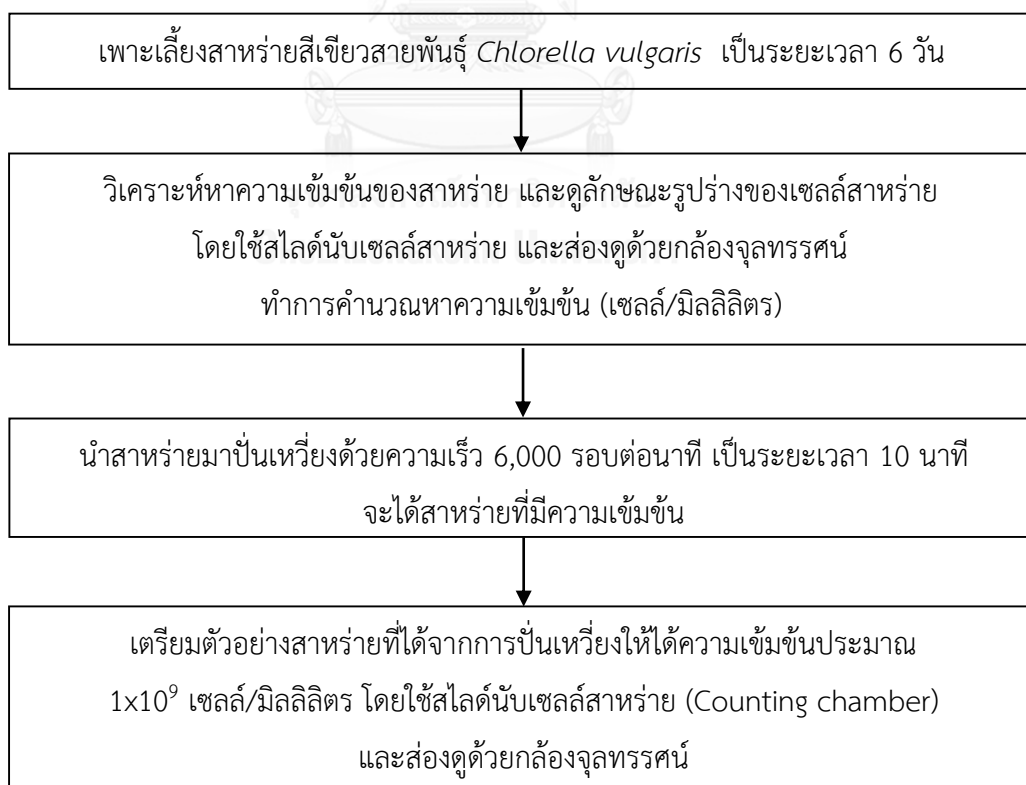


รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

### 3.4.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย การเก็บเกี่ยว และการเตรียมตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (ภาคผนวก ก-2)

- 1) นำหัวเชื้อสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ถ่ายลงในภาชนะที่บรรจุน้ำขนาด 5 ลิตร โดยใช้หัวเชื้อ 1 ส่วนต่อน้ำ 10 ส่วน เติมอาหาร N8 และให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์และเติมอากาศโดยเครื่องเติมอากาศตลอดเวลาเป็นระยะเวลา 6 วัน (Stationary phase)
- 2) นำน้ำสาหร่ายมาวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นเซลล์สาหร่าย และดูลักษณะรูปร่างของเซลล์สาหร่าย โดยใช้สไลด์นับเซลล์สาหร่าย และส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์
- 3) เก็บเกี่ยวสาหร่ายโดยการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที จะได้สาหร่ายที่มีความเข้มข้น
- 4) จากนั้นเตรียมตัวอย่างสาหร่ายที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง ให้ได้ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์/มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่าย การเก็บเกี่ยว และการเตรียมตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและการเตรียมตัวอย่างสาหร่าย

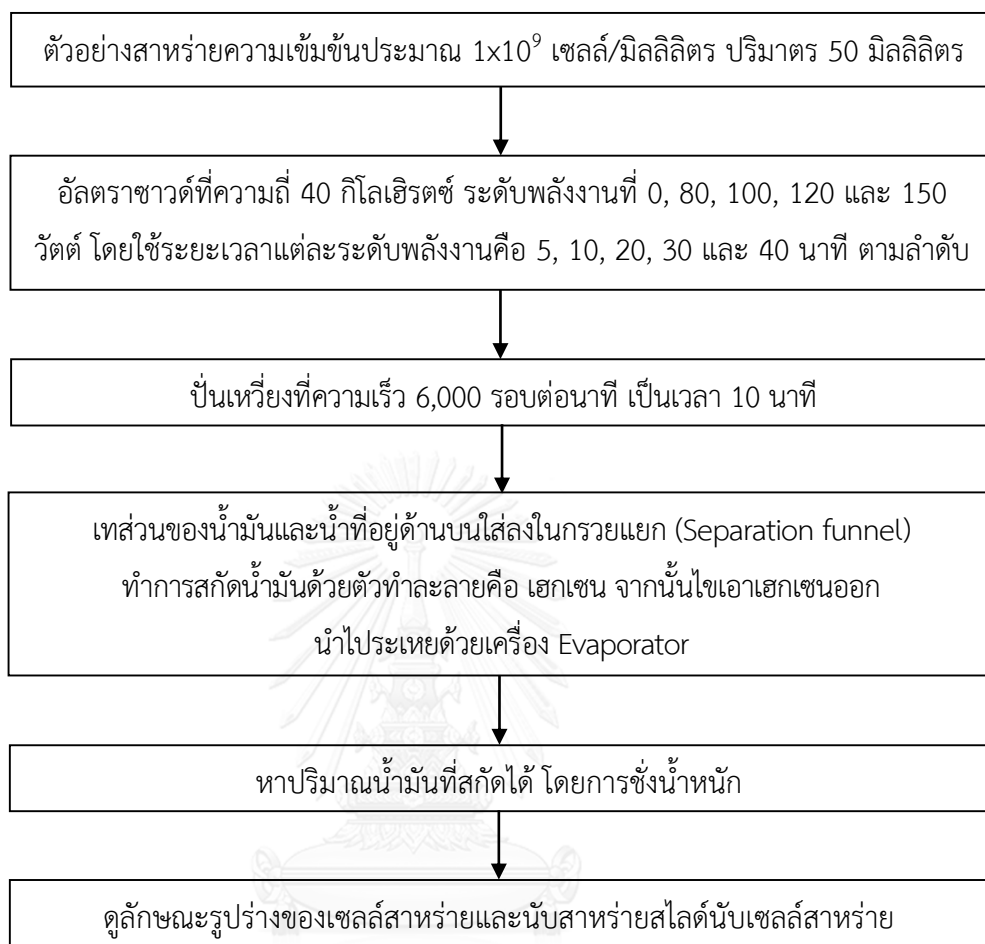
### 3.4.4 ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง

- 3.4.4.1 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยการอัลตราซาวด์แบบอ่าง เพื่อหาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมที่สกัดน้ำมันได้ปริมาณมากที่สุด

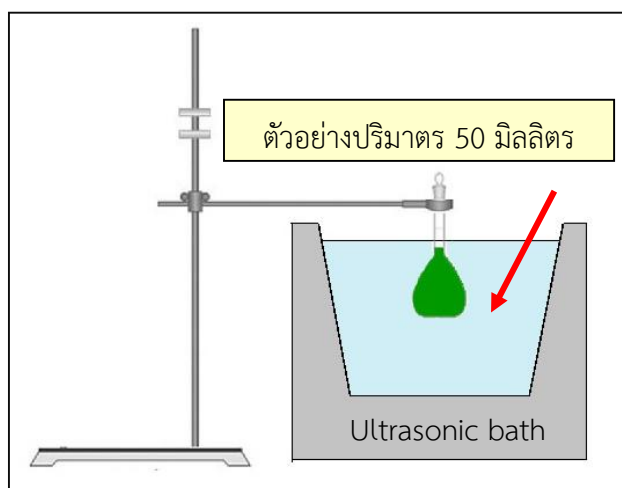
#### วิธีการทดลอง

1. นำตัวอย่างสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
2. อัลตราซาวด์ระดับพลังงานที่ 0, 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาแต่ละระดับพลังงานคือ 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 นาที ตามลำดับ
3. นำไปปั่นเหวี่ยง เพื่อให้เกิดการแยกเฟสของน้ำมัน น้ำ และเซลล์สาหร่าย
4. เทส่วนน้ำมันและน้ำที่อยู่ด้านบนใส่ลงในกรวยแยก (Separation funnel)
5. ทำการสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายคือ เฮกเซน จากนั้นไซเอาเฮกเซนออกใส่ Evaporating flask ที่ซึ่งน้ำหนักแล้ว นำไประเหยด้วยเครื่อง Evaporator
6. นำน้ำมันที่สกัดได้ไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง เพื่อหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้
7. นับจำนวนเซลล์สาหร่ายที่สมบูรณ์ด้วยสไลด์นับเซลล์สาหร่าย (Counting chamber) ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ และดูลักษณะรูปร่างของเซลล์สาหร่าย

ขั้นตอนการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 ขั้นตอนการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยการอัลตราซาวด์



รูปที่ 3.4 Experimental set-up

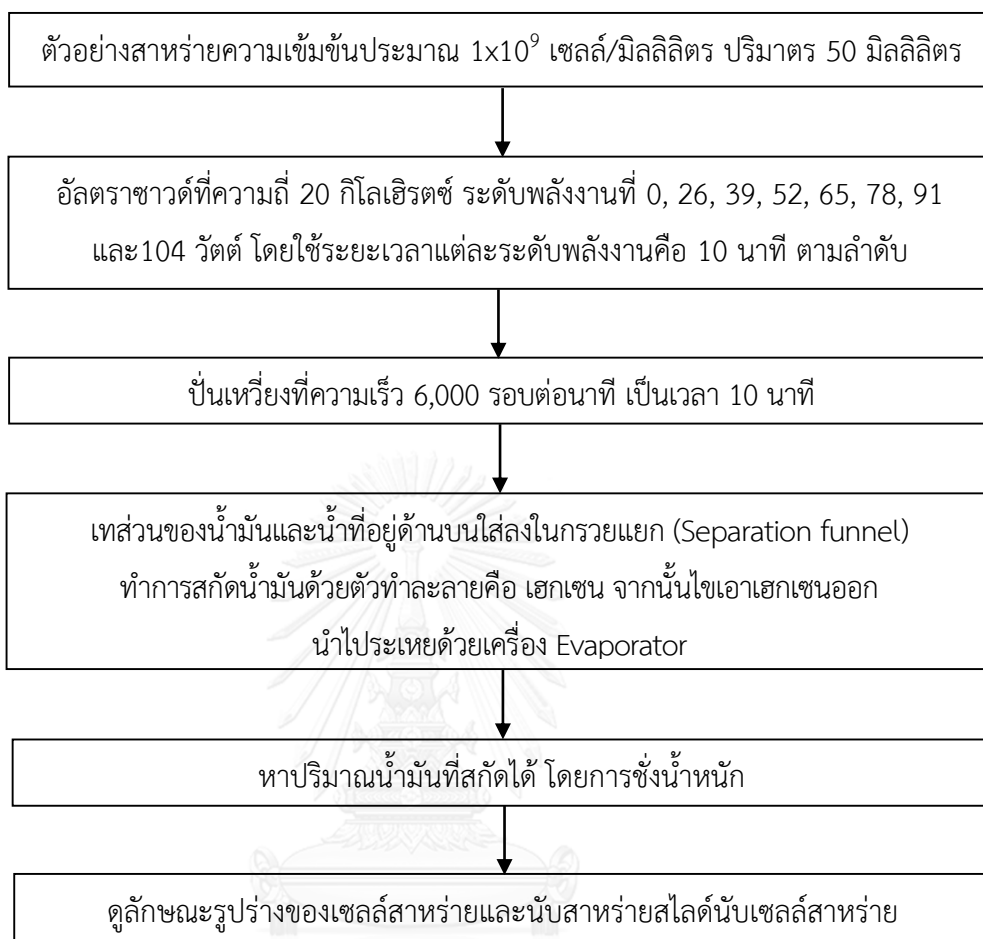


3.4.4.2 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยการอัลตราซาวด์แบบโพรบ เพื่อหาระดับพลังงาน และระยะเวลาในการอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมที่สกัดน้ำมันได้ปริมาณมากที่สุด

วิธีการทดลอง

- 1) นำตัวอย่างสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์/ มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- 2) อัลตราซาวด์ระดับพลังงานที่ 0, 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ โดยใช้ระยะเวลาแต่ละระดับพลังงานคือ 10 นาที ตามลำดับ
- 3) นำไปปั่นเหวี่ยง เพื่อให้เกิดการแยกเฟสของน้ำมัน น้ำ และเซลล์สาหร่าย
- 4) เทส่วนน้ำมันและน้ำที่อยู่ด้านบนใส่ลงในกรวยแยก (Separation funnel)
- 5) ทำการสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายคือ เฮกเซน จากนั้นไขเอาเฮกเซนออกใส่ Evaporating flask ที่ซึ่งน้ำหนักแล้ว นำไประเหยด้วยเครื่อง Evaporator
- 6) นำน้ำมันที่สกัดได้ไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง เพื่อหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้
- 7) นับจำนวนเซลล์สาหร่ายที่สมบูรณ์ด้วยสไลด์นับเซลล์สาหร่าย (Counting chamber) ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ และดูลักษณะรูปร่างของเซลล์สาหร่าย

ขั้นตอนการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 ขั้นตอนการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยการอัลตราซาวด์

### 3.4.4.3 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Soxhlet (Balasubramanian และคณะ, 2011)

#### วิธีการทดลอง

- 1) นำตัวอย่างสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- 2) นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) บดสาหร่ายที่อบแห้งแล้วให้มีขนาดเล็ก
- 4) จากนั้นชั่งน้ำหนักของ Evaporating flask ก่อนเก็บตัวอย่าง
- 5) สกัดน้ำมันด้วยเครื่อง Soxhlet extractor ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมง โดยใช้เฮกเซน 250 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย
- 6) ทำการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Evaporator
- 7) นำน้ำมันที่สกัดได้ไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง เพื่อหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้
- 8) จากนั้นคุณลักษณะรูปร่างของเซลล์สาหร่ายด้วยสไลด์นับเซลล์สาหร่าย (Counting chamber) และส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

ขั้นตอนการทดลองการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Soxhlet แสดงดังรูปที่ 3.6



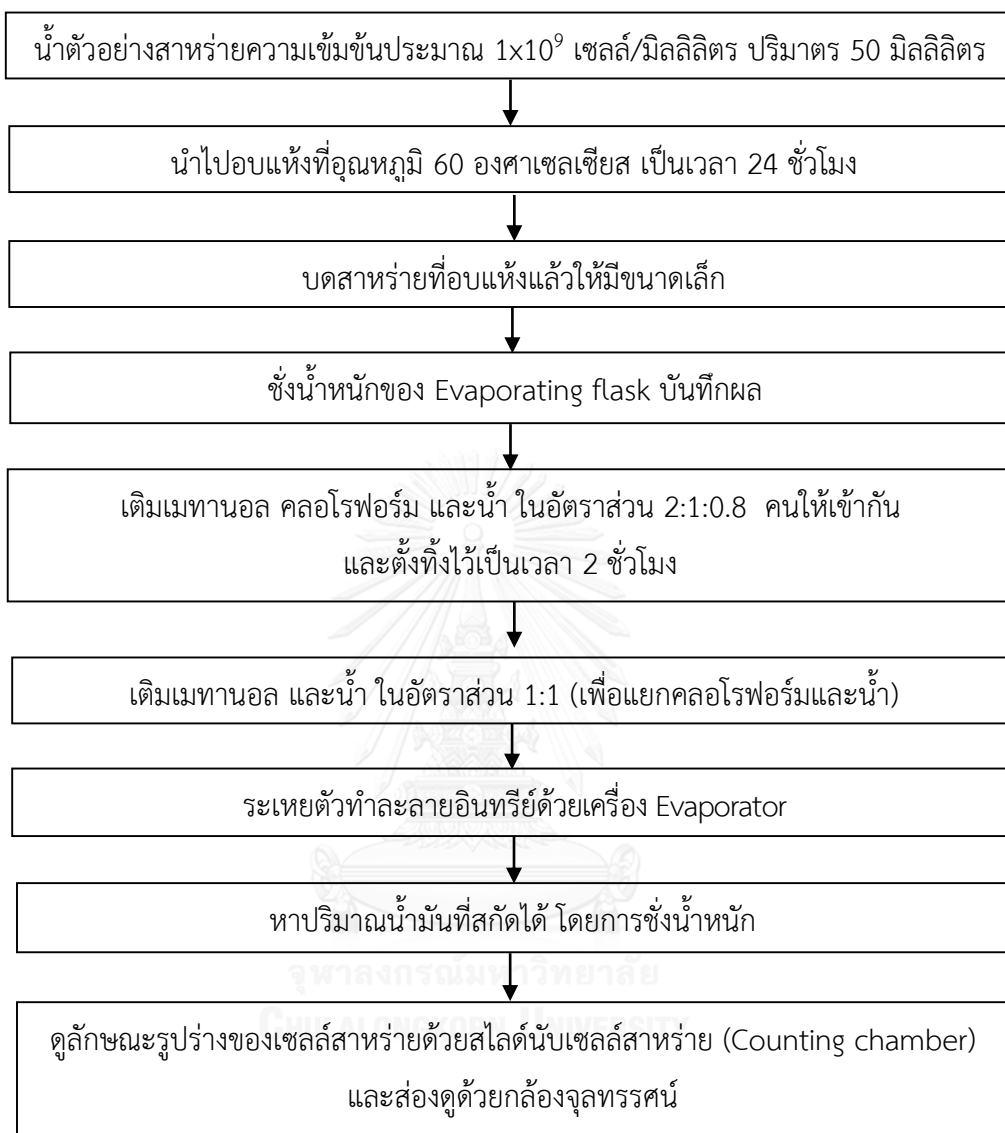
รูปที่ 3.6 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Soxhlet

#### 3.4.4.4 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer

##### วิธีการทดลอง

- 1) นำน้ำตัวอย่างสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- 2) นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) บดสาหร่ายที่อบแห้งแล้วให้มีขนาดเล็ก
- 4) ทำการชั่งน้ำหนักของ Evaporating flask บันทึกผล
- 5) สกัดน้ำมันใน Evaporating flask โดยเติมเมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำ ในอัตราส่วน 2:1:0.8 คนให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- 6) จากนั้นเติมเมทานอล และน้ำ ในอัตราส่วน 1:1 (เพื่อแยกคลอโรฟอร์มและน้ำ)
- 7) ทำการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยเครื่อง Evaporator
- 8) นำน้ำมันที่สกัดได้ไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียดตศนิยม 4 ตำแหน่ง เพื่อหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้
- 9) จากนั้นดูลักษณะรูปร่างของเซลล์สาหร่ายด้วยสไลด์นับเซลล์สาหร่าย (Counting chamber) และส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

ขั้นตอนการทดลองการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer แสดงดังรูปที่ 3.7



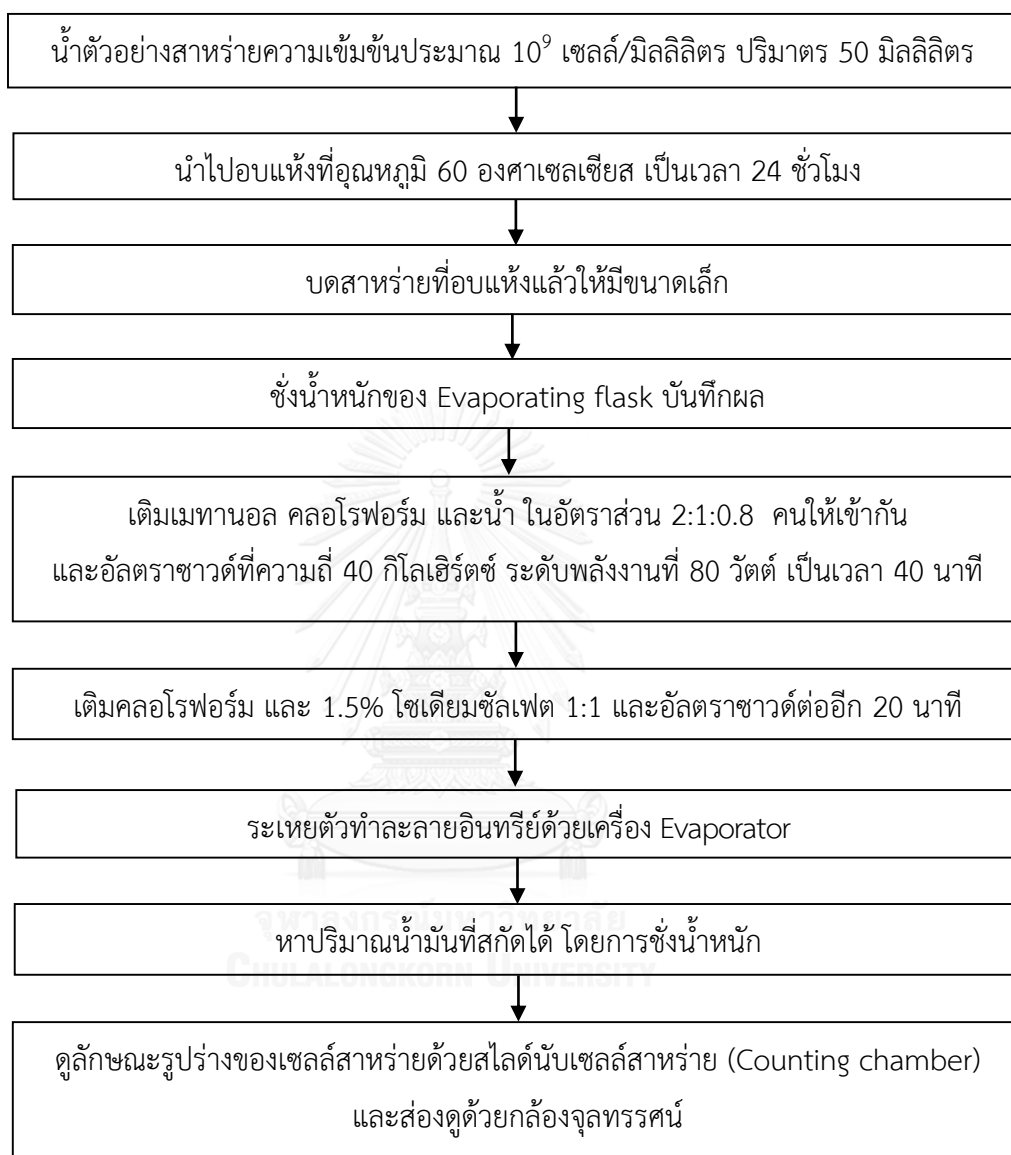
รูปที่ 3.7 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer

3.4.4.5 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ (Araujo และคณะ, 2013)

วิธีการทดลอง

- 1) นำน้ำตัวอย่างสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- 2) นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) บดสาหร่ายที่อบแห้งแล้วให้มีขนาดเล็ก
- 4) ทำการชั่งน้ำหนักของ Evaporating flask บันทึกผล
- 5) สกัดน้ำมันใน Evaporating flask โดยเติมเมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำ ในอัตราส่วน 2:1:0.8 คนให้เข้ากัน และอัลตราซาวด์ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงานที่ 80 วัตต์ เป็นเวลา 40 นาที
- 6) จากนั้นเติมคลอโรฟอร์ม และ 1.5% โซเดียมซัลเฟต ในอัตราส่วน 1:1 และอัลตราซาวด์ต่ออีก 20 นาที
- 7) ทำการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยเครื่อง Evaporator
- 8) นำน้ำมันที่สกัดได้ไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียดชนิดนิยม 4 ตำแหน่ง เพื่อหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้
- 9) จากนั้นดูลักษณะรูปร่างของเซลล์สาหร่ายด้วยสไลด์นับเซลล์สาหร่าย (Counting chamber) และส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

ขั้นตอนการทดลองการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์  
แบบอย่าง แสดงดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์



### 3.4.5 วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันสาหร่าย

ตรวจวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันทั้งหมด (EN 14103) เป็นการวิเคราะห์ปริมาณเอสเทอร์ของ Fatty Acid Methyl Ester เหมาะสำหรับการหาปริมาณเอสเทอร์ของเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันที่มีมากกว่า 96.5% โดยน้ำหนัก โดยวิธีการนี้เหมาะสมกับ FAME ที่มีจำนวนเมทิลเอสเทอร์ระหว่าง  $C_4-C_{22}$

#### 3.4.5.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำมันสาหร่าย

- 1) นำน้ำมันที่ผ่านการชั่งน้ำหนักแล้ว เติมคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร และเมทานอล (ประกอบด้วยกรดซัลฟูริก 15%) 2 มิลลิลิตร
- 2) นำไปทำปฏิกิริยาในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 90-100 องศาเซลเซียส โดยปิดฝาครอบลงมา เพื่อป้องกันน้ำระเหย เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง (ระบบปิด)
- 3) นำขึ้นมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- 4) เติมน้ำ DI 1 มิลลิลิตร แล้วนำมา vortex หลอดละ 3 นาที ที่ตั้งไว้สักครู่ จะเกิดการแยกชั้นออกจากกันของคลอโรฟอร์ม เมทานอล และกรด โดยที่คลอโรฟอร์มจะอยู่ชั้นล่าง
- 5) ทำการเก็บตัวอย่างในชั้นคลอโรฟอร์มออกมา โดยใช้ปิเปตแก้วปลายแหลม ใส่ลงในหลอดฝาเกลียวขนาดเล็ก ห้ามดูดส่วนที่เป็นชั้นน้ำด้านบนออกติดออกมาด้วย
- 6) ปิดฝาเกลียวให้แน่น เก็บไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

#### 3.4.5.2 การเตรียมกราฟสารมาตรฐาน Free fatty acid methyl ester (F.A.M.E) $C_{14}-C_{22}$

- 1) ทำการชั่งสารมาตรฐาน F.A.M.E  $C_{14} - C_{22}$  ลงในขวดฝาเกลียวขนาดเล็ก
  - 2) เตรียมสารมาตรฐานความเข้มข้น 21.7, 10.9, 4.3, 2.2, 0.22 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย
  - 3) ฉีดสารมาตรฐานครั้งละ 1 ไมโครลิตร ภายใต้สภาวะเครื่องเดียวกันกับตัวอย่าง
  - 4) ทำกราฟสารมาตรฐาน (Standard curve) โดยให้มีค่า  $R^2$  มากกว่าหรือเท่ากับ 0.995
- หลังจากที่ทำการเตรียมตัวอย่างและทำกราฟสารมาตรฐานแล้ว นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หา F.A.M.E  $C_{14}-C_{22}$  ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ชนิด Detector คือ Flame Ionization Detector (FID) โดยใช้สภาวะเครื่องในการวิเคราะห์ดังนี้

ตารางที่ 3.2 สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ชนิดคอลัมน์	แคปิลลารีคอลัมน์ (Capillary column) ชนิด HP-1 ขนาด 30 เมตร x 0.32 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร
อุณหภูมิของ injector	250 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของคอลัมน์	80 องศาเซลเซียส คงที่นาน 2 นาที เพิ่ม อุณหภูมิในอัตรา 10 องศาเซลเซียส/นาที ไป จนถึง 300 องศาเซลเซียส และคงที่นาน 5 นาที
อุณหภูมิของ Detector	250 องศาเซลเซียส
Split ratio	40 ต่อ 1
ก๊าซตัวพา (Carrier gas)	ก๊าซไฮโดรเจน
ปริมาตรการฉีด	1 ไมโครลิตร

### 3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลและการแปรผล

ข้อมูลที่วัดได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ในแต่ละชุดการทดลอง จะมีการนำมาหาค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) หาร้อยละของจำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตก และทำการวิเคราะห์ความแม่นยำด้วยการหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ซึ่งค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานต้องไม่เกินร้อยละ 10 เพื่อเป็นการยืนยันความแม่นยำในการวิจัยทดลองนี้จะเป็นสถิติประเภทสถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics) (ภัทธิรา ผลงาม, 2550)

(1) หาค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ )

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n Xi}{n} \quad (3-2)$$

(2) หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

$$SD = \sqrt{\frac{(x-\bar{x})^2}{n-1}} \quad (3-3)$$

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันจาก *Chlorella vulgaris* โดยใช้อัลตราซาวด์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 วัน ภายในห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการทดลองแบบทีละเท (Batch reactor) ในการทดลองจะใช้อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasound bath) ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์ที่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงานและระยะเวลาของการอัลตราซาวด์ที่แตกต่างกัน และใช้อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasound probe) ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์ที่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงานของอัลตราซาวด์ที่แตกต่างกัน ที่ระยะเวลา 10 นาทีและใช้การสกัดน้ำมันด้วยวิธีมาตรฐานคือ วิธี Soxlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง สภาวะภายใต้อุณหภูมิต้อง

#### 4.1 ผลการศึกษาพลังงานของอัลตราซาวด์แบบอ่างและการอัลตราซาวด์แบบโพรบ

การศึกษาระดับพลังงานของอัลตราซาวด์แบบอ่าง ได้ทำการทดลองในอ่างอัลตราซาวด์ขนาด 10 ลิตร โดยใช้น้ำในอ่าง 9 ลิตร หรือเท่ากับ 9,000 มิลลิลิตร และตัวอย่างสาหร่ายความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในปีกเกอร์ ใส่ลงในอ่างอัลตราซาวด์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า เมื่อใช้ระดับพลังงานอัลตราซาวด์เข้าในระบบที่ 80, 100, 120, และ 150 วัตต์ จะได้พลังงานเข้าทำปฏิกิริยาในระบบจริงเท่ากับ 47.7, 72.0, 95.4 และ 95.4 วัตต์ คิดเป็นความเข้ม (Intensity) ที่ทำปฏิกิริยาในระบบจริงเท่ากับ 0.0054, 0.0080, 0.0110 และ 0.0110 วัตต์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่อัลตราซาวด์แบบโพรบ ทำการทดลองโดยใช้โพรบอัลตราซาวด์เข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่า เมื่อให้ระดับพลังงานคลื่นอัลตราซาวด์เข้าในระบบที่ 26, 39, 52, 65, 78, 91, 104 วัตต์ ตามลำดับ จะได้พลังงานเข้าทำปฏิกิริยาในระบบจริงเท่ากับ 1.20, 1.59, 2.65, 4.24, 6.36, 9.54 และ 13.25 วัตต์ คิดเป็นความเข้ม (Intensity) ที่ทำปฏิกิริยาในระบบจริงเท่ากับ 0.0238, 0.0318, 0.0530, 0.0848, 0.1272, 0.1908 และ 0.2650 วัตต์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ 80 วัตต์ มีระดับพลังงานเข้าทำปฏิกิริยาจริงเท่ากับ 0.0054 วัตต์ต่อมิลลิลิตร กับอัลตราซาวด์แบบโพรบที่ 78 วัตต์ มีระดับพลังงานเข้าทำปฏิกิริยาจริงเท่ากับ 0.1272 วัตต์ต่อมิลลิลิตร และเปรียบเทียบอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ 100 วัตต์ มีระดับพลังงานเข้าทำปฏิกิริยาจริงเท่ากับ 0.0080 วัตต์ต่อมิลลิลิตร กับอัลตราซาวด์แบบโพรบที่ 104 วัตต์ มีระดับพลังงานเข้าทำปฏิกิริยาจริงเท่ากับ 0.2650 วัตต์ต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่ามีพลังงานที่เข้าทำปฏิกิริยา (วัตต์ต่อ

มิลลิลิตร) แตกต่างกัน เนื่องจากลักษณะการใช้งานของอัลตราซาวด์ทั้งสองแบบมีความแตกต่างกัน โดยที่อัลตราซาวด์แบบอย่างต้องมีการเติมน้ำเพื่อเป็นตัวกลางประมาณ 9,000 มิลลิลิตร ลงในอ่าง ก่อนนำตัวอย่างสำหรับที่บรรจุอยู่ในบีกเกอร์ใส่ลงไป ในอ่างเพื่อทำการอัลตราซาวด์ ซึ่งคลื่นอัลตราซาวด์แบบอย่างจะเข้าทำปฏิกิริยากับตัวอย่างปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่อยู่ในอ่างอัลตราซาวด์ที่มีน้ำเป็นตัวกลาง และภาชนะบรรจุตัวอย่างสำหรับคือ แก้ว จึงทำให้เกิดการสูญเสียพลังงานอัลตราซาวด์ก่อนเข้าทำปฏิกิริยาได้ ส่วนอัลตราซาวด์แบบโพรบ คลื่นอัลตราซาวด์จะเข้าทำปฏิกิริยาได้โดยตรงกับตัวอย่างปริมาตร 50 มิลลิลิตร เนื่องจากตัวโพรบจุ่มลงไปในตัวกลางระหว่างทำการอัลตราซาวด์

ดังนั้นอาจเป็นสาเหตุทำให้พลังงานอัลตราซาวด์ที่เข้าทำปฏิกิริยาในระบบจริงของอัลตราซาวด์แบบอย่างมีความเข้ม (วัตต์ต่อมิลลิลิตร) น้อยกว่าอัลตราซาวด์แบบโพรบอย่างชัดเจน

ตารางที่ 4.1 ระดับพลังงานของการอัลตราซาวด์แบบอย่าง

Power input (วัตต์)	Power output (วัตต์)	Intensity (วัตต์ต่อมิลลิลิตร)
80	47.7	0.0054
100	72.0	0.0080
120	95.4	0.0110
150	95.4	0.0110

ตารางที่ 4.2 ระดับพลังงานของการอัลตราซาวด์แบบโพรบ

Power input (วัตต์)	Power output (วัตต์)	Intensity (วัตต์ต่อมิลลิลิตร)
26	1.20	0.0238
39	1.59	0.0318
52	2.65	0.0530
65	4.24	0.0848
78	6.36	0.1272
91	9.54	0.1908
104	13.25	0.2650

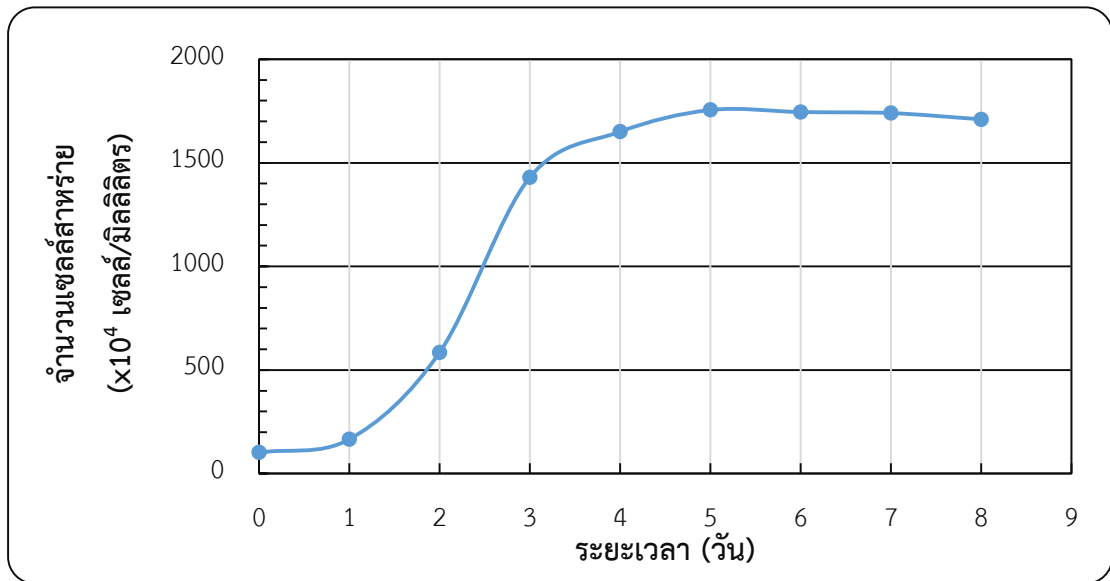
หมายเหตุ (1) อัลตราซาวด์แบบโพรบระดับพลังงานมากที่สุดคือ 130 วัตต์

(2) Power output คำนวณได้จากสมการ 3.1 หน้า 53

#### 4.2 ผลการหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

การศึกษาหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้ห้องปฏิบัติการด้วยอาหารสูตร N-8 (ภาคผนวก ก-1) โดยให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์และอากาศจากเครื่องปั๊มอากาศตลอดเวลา ทำการนับจำนวนเซลล์สาหร่ายด้วยสไลด์นับเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกวัน ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.1 พบว่า การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* มีแนวโน้มเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนคงที่ระยะหนึ่ง ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 4 ช่วง คือในวันที่ 0-1 จะอยู่ในช่วงการปรับตัว (Lag phase) คือ มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม เช่น อาหาร แสง อากาศ เป็นต้น ในช่วงนี้เซลล์สาหร่ายจะมีการเจริญเติบโตไม่มาก จากนั้นวันที่ 2-4 จะอยู่ในช่วงที่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตอย่างเต็มที่ (Log phase) เป็นช่วงที่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีสารอาหารอยู่อย่างไม่จำกัด เพื่อนำมาใช้ในการสร้างเซลล์ และวันที่ 5-8 จะเริ่มเข้าสู่ช่วงการเจริญเติบโตแบบคงที่ (Stationary phase) ซึ่งเป็นช่วงที่สาหร่ายมีการสะสมของสารอาหารอย่างเช่น ไขมัน อยู่ภายในเซลล์ปริมาณมาก สาหร่ายจะแขวนลอยอยู่ในน้ำได้อย่างมีเสถียรภาพ และช่วงนี้จะเกิดการจำกัดของสารอาหารที่มีอยู่ในระบบ อีกทั้งยังพบว่า ในช่วงการเจริญเติบโตแบบคงที่มีความเข้มข้นของเซลล์สาหร่ายประมาณ  $1 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นช่วงที่สาหร่ายมีความเข้มข้นมากที่สุดอีกด้วย จากนั้นสาหร่ายก็จะเริ่มเข้าสู่ช่วงการเจริญเติบโตแบบถดถอย (Death phase) คือจำนวนเซลล์สาหร่ายค่อยๆ ลดจำนวนลง เกิดการตกตะกอนตามธรรมชาติที่ก้นถัง เนื่องจากสารอาหารที่ใช้ในการสร้างเซลล์มีไม่พอ

จากการผลทดลองหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายนี้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้เลือกวันที่ 6 มาเป็นระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการเพื่อสกัดน้ำมันด้วยวิธีอัลตราซาวด์แบบอ่าง อัลตราซาวด์แบบโพรบ วิธี Soxlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ให้ได้ปริมาณน้ำมันสูงสุด



รูปที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*



รูปที่ 4.2 สาหร่ายอายุ 6 วัน ที่มีความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

#### 4.3 ผลการศึกษาน้ำหนักสาหร่ายอบแห้งปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้นสาหร่าย ประมาณ $1 \times 10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

การศึกษาหาน้ำหนักของเซลล์สาหร่ายแห้ง โดยนำน้ำตัวอย่างสาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 วัน ทำการเก็บเกี่ยวสาหร่าย โดยการปั่นเหวี่ยงให้มีความเข้มข้นเซลล์สาหร่ายประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.3 จากนั้นทำการอบแห้งสาหร่ายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำใส่ตู้ดูดความชื้น 1 คืน แล้วจึงวิเคราะห์โดยวิธีชั่งน้ำหนัก ทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.3 พบว่า จำนวนเซลล์สาหร่ายที่นำมาทำการทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยคือ 375 มิลลิกรัม หรือ 0.375 กรัม ซึ่งผลของการทดลองนี้จะนำไปใช้ในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ต่อไป เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบเซลล์เปียกและเซลล์แห้งของแต่ละวิธี

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาน้ำหนักเซลล์สาหร่ายแห้ง ที่ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

น้ำหนักเซลล์สาหร่ายแห้ง ที่ความเข้มข้นประมาณ $1 \times 10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (มิลลิกรัม)			
ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
374.4	375.9	374.7	375.0



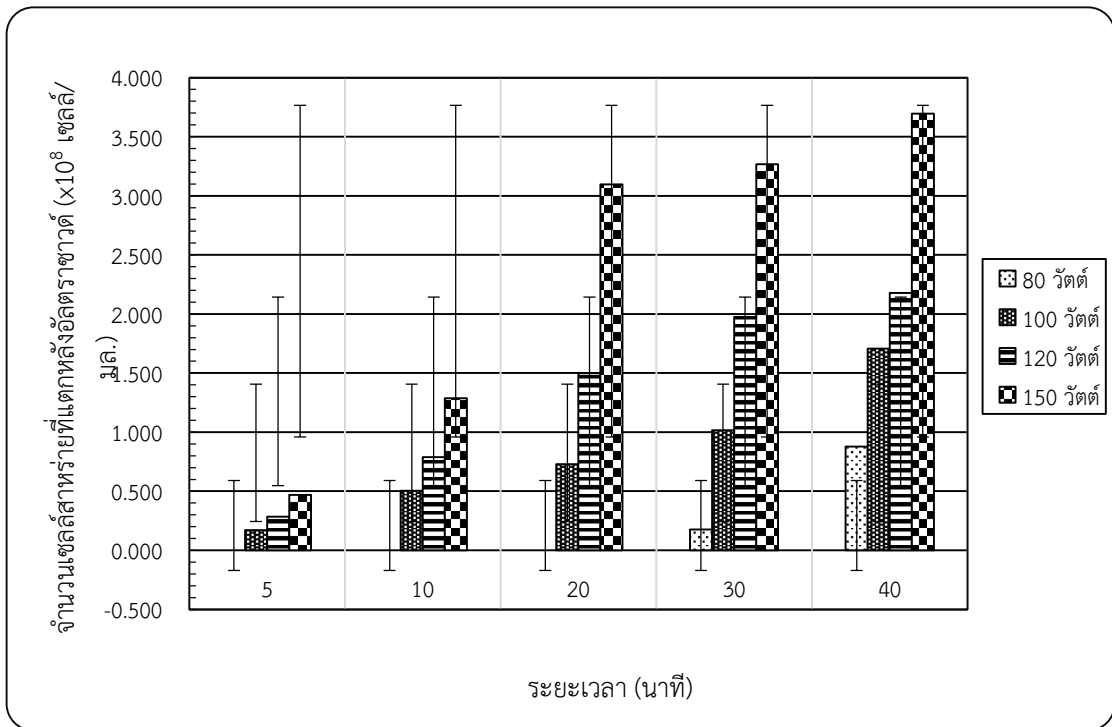
รูปที่ 4.3 สาหร่ายที่ผ่านการทำขึ้นแล้ว มีความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร



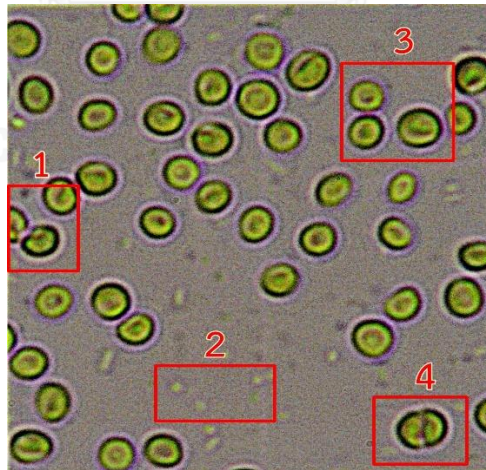
#### 4.4 ผลการศึกษาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบอ่าง โดยการนับเซลล์ สำหรับแยกหลังการอัลตราซาวด์

จากการศึกษาจำนวนเซลล์สำหรับโดยใช้สไลด์นับเซลล์สำหรับ (Counting chamber) (ภาคผนวก ก-3) ทั้งก่อนและหลังการอัลตราซาวด์ (ภาคผนวก ข ข้อมูลการทดลองที่ 4.4) ที่ระดับพลังงานคือ 0, 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ (0.0054, 0.0080, 0.0110 และ 0.0110 วัตต์ ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ) และระยะเวลาแต่ละระดับพลังงานคือ 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 นาที ตามลำดับ เมื่อไม่มีการให้พลังงานอัลตราซาวด์กับระบบพบว่า ผนังของเซลล์สำหรับไม่ถูกทำลาย ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.4 เมื่อมีการเพิ่มระดับพลังงานและระยะเวลานานขึ้น ส่งผลทำให้เซลล์สำหรับแตกเพิ่มขึ้น ซึ่งระดับพลังงานของการอัลตราซาวด์ที่เท่ากัน แต่ระยะเวลาของการอัลตราซาวด์แตกต่างกันนั้น มีผลทำให้เซลล์สำหรับแตกไม่เท่ากัน โดยจำนวนเซลล์สำหรับแตกเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระยะเวลาการอัลตราซาวด์ตามลำดับ โดยที่ระดับพลังงาน 150 วัตต์ ระยะเวลา 40 นาที มีผลทำให้เซลล์สำหรับแตกมากที่สุด คือ  $3.695 \times 10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 36.95 จากความเข้มข้นเซลล์สำหรับเริ่มต้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่จากการทดลอง แนวโน้มการแตกของจำนวนเซลล์สำหรับเมื่อมีการอัลตราซาวด์ เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อมีการเพิ่มระดับพลังงานมากขึ้นและระยะเวลานานขึ้น ทั้งนี้เมื่อมีการเพิ่มระดับพลังงานและระยะเวลานานขึ้นของการอัลตราซาวด์จะเกิดปรากฏการณ์ควิเทชั่นเพิ่มมากขึ้น ทำให้ผนังเซลล์สำหรับถูกทำลายเพิ่มขึ้น รูปร่างของเซลล์สำหรับที่สมบูรณ์ และเซลล์สำหรับที่แตกหลังการอัลตราซาวด์ ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังรูปที่ 4.5

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบในเชิงพลังงานรวมที่เท่ากันคือ 2,400 วัตต์-นาที ที่ระดับพลังงานต่ำ เช่น 80 วัตต์ ต้องใช้เวลาในการอัลตราซาวด์นานที่จะทำให้เซลล์สำหรับแตก โดยเมื่อเปรียบเทียบการอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 80 วัตต์ นาน 30 นาที กับระดับพลังงาน 120 วัตต์ นาน 20 นาที ซึ่งมีพลังงานรวมเท่ากัน พบว่า ที่ระดับพลังงาน 120 วัตต์ 20 นาทีมีประสิทธิภาพที่ทำให้เซลล์สำหรับแตกได้ดีกว่า ซึ่งการอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงานต่ำๆ จะส่งผลทำให้เซลล์สำหรับที่เกาะกันเป็นกลุ่มเกิดการแยกตัว (Deglomeration) ของเซลล์สำหรับมากกว่าการทำลายผนังของเซลล์สำหรับ นอกจากนี้การอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 80 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที ทำให้เซลล์สำหรับแตก  $1.7 \times 10^7$  เซลล์/มิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 1.7 จากความเข้มข้นเซลล์สำหรับเริ่มต้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งเซลล์สำหรับแตกหลังการอัลตราซาวด์น้อยมาก จึงไม่ได้ทำการทดลองระดับพลังงาน 80 วัตต์ ที่ระยะเวลา 5, 10 และ 20 นาที ต่อไป



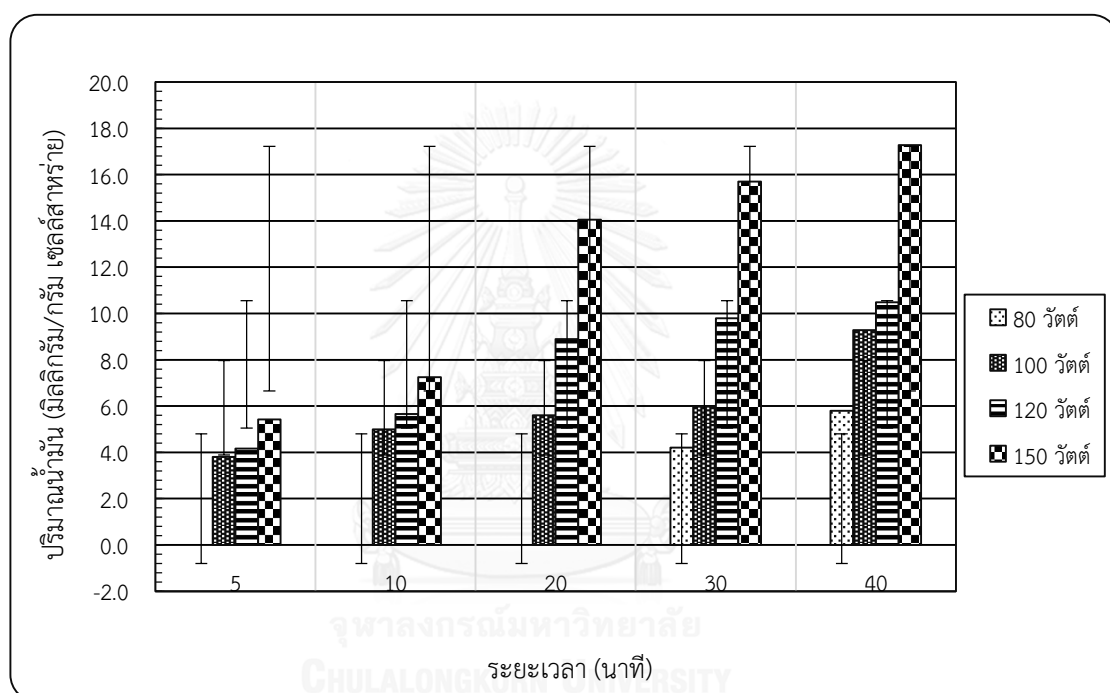
รูปที่ 4.4 จำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตกหลังอัลตราซาวด์ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 4.5 รูปร่างของเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการอัลตราซาวด์ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยที่ หมายเลข 1 คือ เซลล์สาหร่ายที่ผนังเซลล์ถูกทำลาย  
 หมายเลข 2 คือ เซลล์สาหร่ายที่แตก  
 หมายเลข 3 คือ เซลล์สาหร่ายที่สมบูรณ์  
 หมายเลข 4 คือ เซลล์สาหร่ายที่กำลังแบ่งเซลล์

#### 4.5 ผลการศึกษาผลของระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบอ่าง โดยการชั่งน้ำหนักของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้

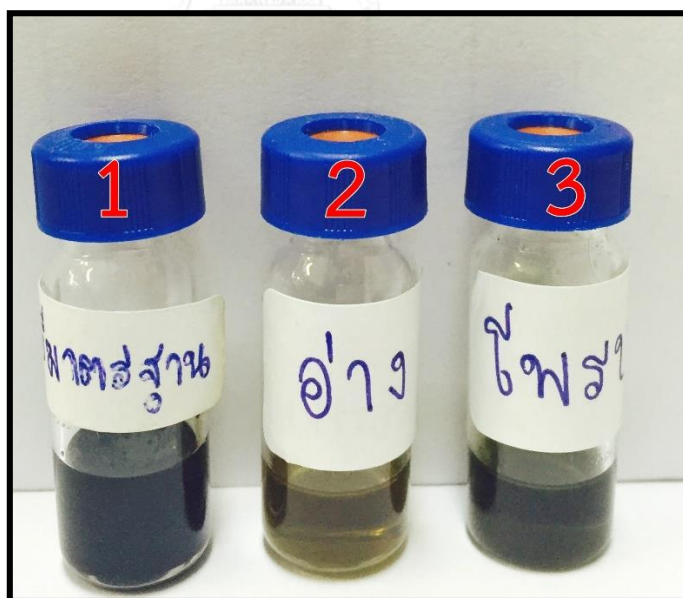
จากการทดลองหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยวิธีการชั่งน้ำหนัก (Kim และคณะ, 2013) ใช้อัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์ ระดับพลังงานที่ 0, 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ (0.0054, 0.0080, 0.0110 และ 0.0110 วัตต์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ระยะเวลาของการอัลตราซาวด์คือ 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 นาที ตามลำดับ



รูปที่ 4.6 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้หลังอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ

เมื่อไม่มีการให้พลังงานอัลตราซาวด์กับระบบ พบว่า ผนังของเซลล์สาหร่ายไม่ถูกทำลาย ส่งผลให้ไม่สามารถสกัดน้ำมันออกจากเซลล์สาหร่ายได้ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.6 พบว่า การอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 150 วัตต์ (0.0110 วัตต์ต่อมิลลิลิตร) ระยะเวลา 40 นาที มีผลทำให้เซลล์สาหร่ายแตกมากที่สุดแล้ว ยังพบว่าเมื่อทำการชั่งน้ำหนักหาปริมาณน้ำมันที่ได้จากการอัลตราซาวด์ มีปริมาณน้ำมันที่สกัดออกมาได้สูงสุด คือ 17.3 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี Bligh and Dyer ของ (Kim และคณะ, 2013) พบว่า สกัดน้ำมันออกมาได้น้อยกว่า 11.7 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง ในการใช้อัลตราซาวด์แม้ว่าจะได้ปริมาณน้ำมันที่น้อยกว่า แต่ข้อดีของการ

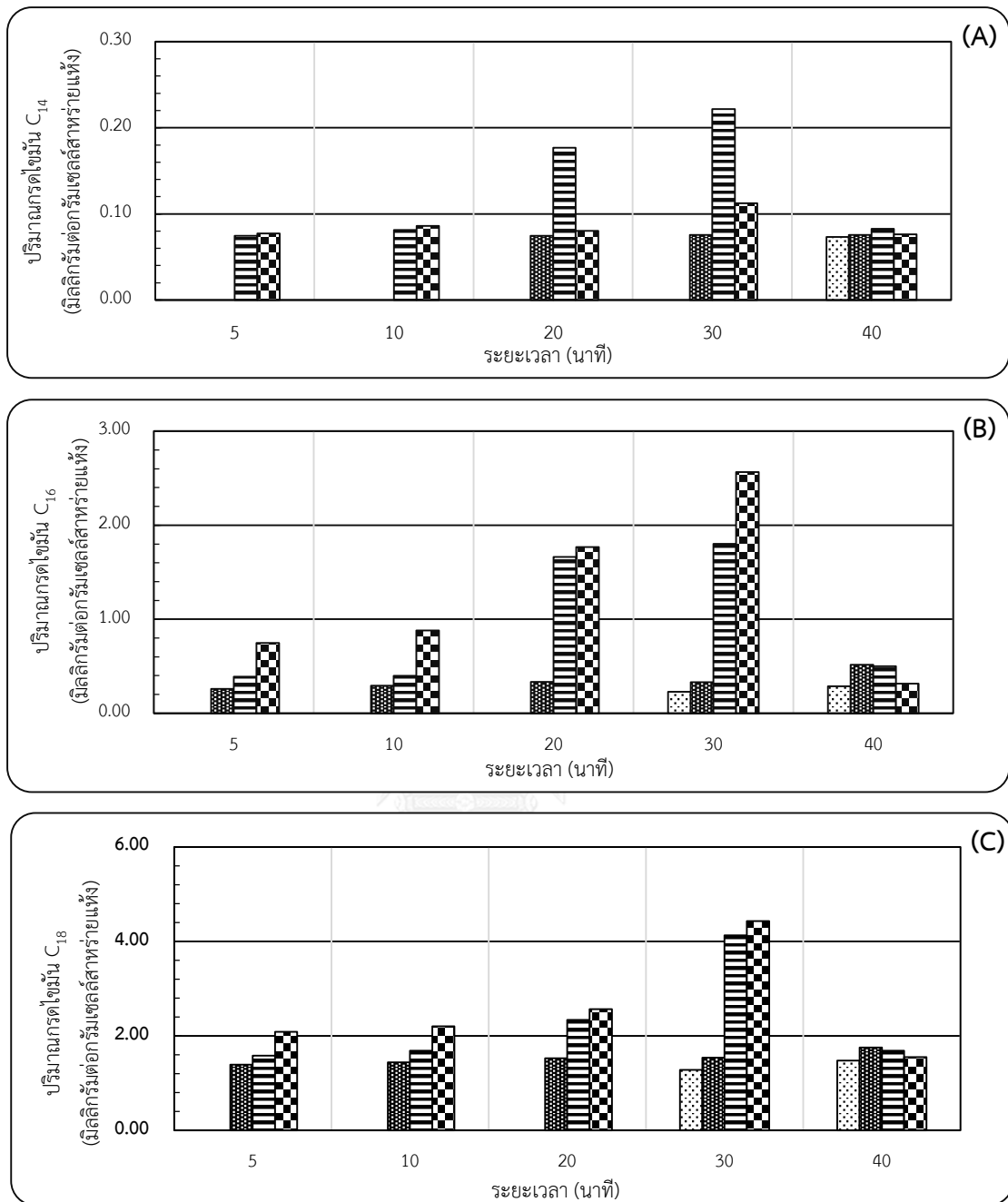
ใช้อัลตราซาวด์คือ เป็นการลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดน้ำมันและลดขั้นตอนในการอบแห้งหลังจากเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อใช้คลื่นอัลตราซาวด์นั้นจะเกิดปรากฏการณ์คาวิตेशन ทำให้ผนังเซลล์สาหร่ายถูกทำลายเกิดการปล่อยของเหลวภายในเซลล์ออกมา โดยอาศัยน้ำเป็นตัวกลางในการถ่ายเทพลังงานให้กับเซลล์สาหร่าย นอกจากนี้ น้ำมันสาหร่ายที่ได้จากการสกัดโดยใช้อัลตราซาวด์แบบอ่าง พบว่ามีลักษณะเป็นสีเขียวย่นมาก (ดังรูปที่ 4.7 หมายเลข 2) อาจเนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ปนอยู่ในน้ำมันปริมาณเล็กน้อย จากรายงานพบว่า *Chlorella vulgaris* จะมีคลอโรฟิลล์เป็นองค์ประกอบของเซลล์ประมาณ 7% ของน้ำหนักเซลล์ และเป็นคลอโรฟิลล์ที่ละลายได้ในน้ำมัน (Sreevatsan, 2015) หากใช้วิธีอัลตราซาวด์แบบอ่างจะทำให้คลอโรฟิลล์ได้รับการตกตะกอนไปกับเซลล์สาหร่าย ซึ่งจะไม่ถูกละลายออกมาในปริมาณมากเหมือนกับวิธีมาตรฐานที่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งจะช่วยให้ลดการปนเปื้อนของคลอโรฟิลล์ในน้ำมันสาหร่ายได้ เนื่องจากคลอโรฟิลล์จะมีผลต่อคุณภาพของน้ำมัน (Sathish และคณะ, 2012) ในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายโดยใช้อัลตราซาวด์แบบอ่างนั้น หากนำไปใช้ประโยชน์อาจต้องทำการปรับปรุงคุณภาพน้ำมันเพียงเล็กน้อย โดยการสกัดคลอโรฟิลล์ออกจากน้ำมันด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide) เป็นตัวทำละลายในการสกัดต่อไป (Sreevatsan, 2015)



รูปที่ 4.7 ลักษณะสีคลอโรฟิลล์ที่ละลายอยู่ในน้ำมัน

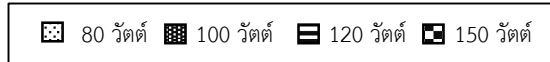
#### 4.6 ผลการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมัน $C_{14}$ - $C_{22}$ ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์แบบอ่าง โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

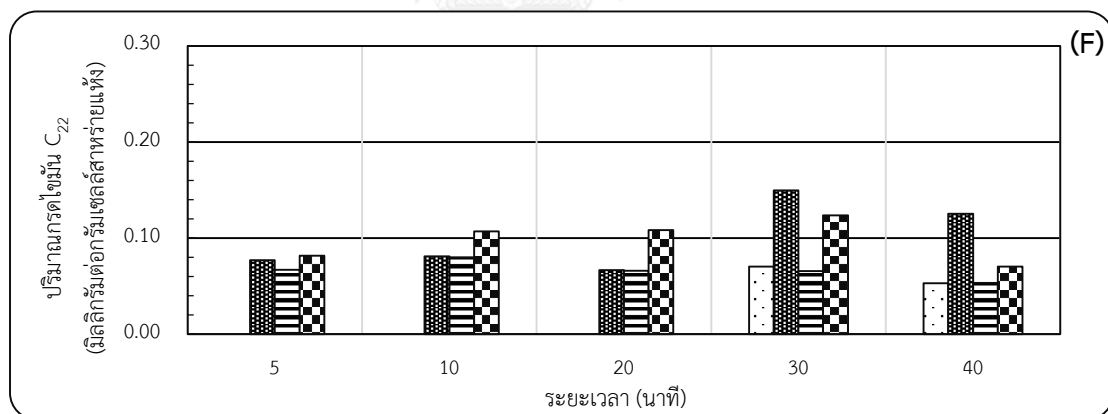
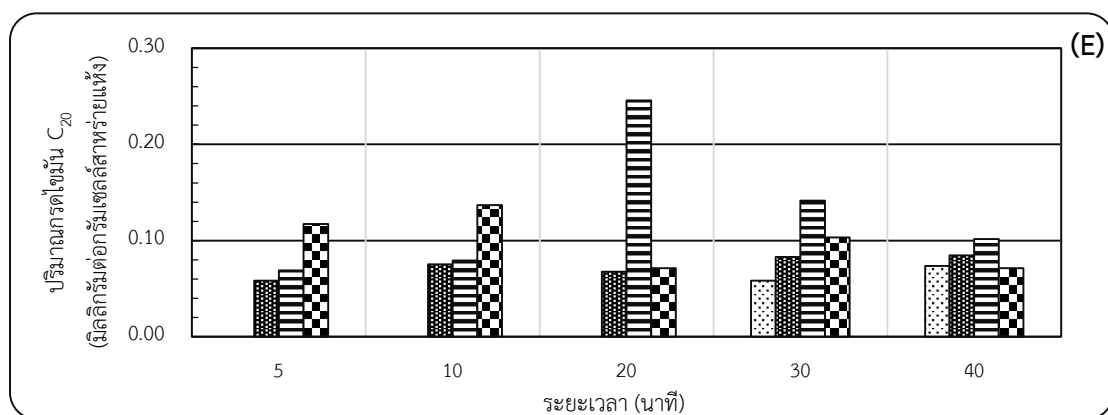
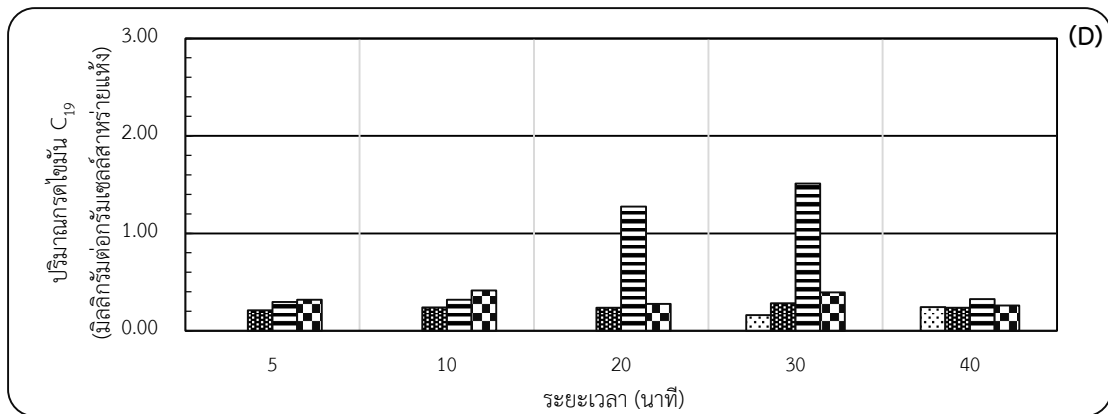
จากการศึกษาหาปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$ - $C_{22}$  ที่สกัดได้หลังการอัลตราซาวด์แบบอ่าง ที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ (0.0054, 0.0080, 0.0110 และ 0.0110 วัตต์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ที่ระยะเวลา 5, 10, 20, 30 และ 40 นาที ทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.8 พบว่า ที่ระดับพลังงาน 120 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$  สูงสุด คือ 0.22 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย ที่ระดับพลังงาน 150 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{16}$  สูงสุด คือ 2.56 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย ที่ระดับพลังงาน 150 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{18}$  สูงสุด คือ 4.43 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย ที่ระดับพลังงาน 150 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{19}$  สูงสุด คือ 1.51 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย ที่ระดับพลังงาน 150 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{20}$  สูงสุด คือ 0.25 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย และที่ระดับพลังงาน 100 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{22}$  สูงสุด คือ 0.15 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย จากผลการทดลอง ระดับพลังงาน 80 และ 100 วัตต์ เมื่อมีการเพิ่มระยะเวลาของการอัลตราซาวด์สูงขึ้น พบว่า มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$ - $C_{22}$  เพิ่มมากขึ้น แต่ที่การอัลตราซาวด์ระดับพลังงาน 120 และ 150 วัตต์ เมื่อมีการเพิ่มระยะเวลาของการอัลตราซาวด์ พบว่าทำให้ปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$ - $C_{22}$  มีจำนวนลดลง โดยเปรียบเทียบที่ระยะเวลา 30 และ 40 นาที นอกจากนี้เมื่อทำการหาปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.9 พบว่า การอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 120 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที มีปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  สูงสุด คือ 7.9 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง และใกล้เคียงกันกับที่ระดับพลังงาน 150 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที คือ 7.7 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง ดังนั้นระดับพลังงานที่ 120 วัตต์ มีความเหมาะสมกว่าที่ระดับพลังงาน 150 วัตต์ ในระยะเวลาที่เท่ากัน เนื่องจากมีการใช้พลังงานต่ำกว่า แต่ให้ปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  มากกว่าด้วย จากงานวิจัยของ (Halim และคณะ, 2011) การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายที่สภาวะความดันแตกต่างกัน จะได้ปริมาณของกรดไขมันแตกต่างกันพบว่า ที่สภาวะความดันสูงส่งผลทำให้กรดไขมันมีปริมาณลดต่ำลง และจากงานวิจัยของ (Martinez-Guerra และคณะ, 2014) ได้ทำการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายโดยใช้ตัวทำละลายร่วมกับอัลตราซาวด์ซึ่งใช้ระดับพลังงานของอัลตราซาวด์แตกต่างกัน พบว่า มีผลทำให้ได้ปริมาณกรดไขมัน  $C_8$ - $C_{24}$  แตกต่างกัน โดยเมื่อมีการเพิ่มระดับพลังงานสูงขึ้น จะทำให้ปริมาณกรดไขมัน  $C_8$ - $C_{24}$  ลดลง ดังนั้นจากผลการทดลองหาปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{24}$  ของงานวิจัยนี้ จะเห็นได้ว่า เมื่อเพิ่มระดับพลังงานมากขึ้นและใช้ระยะเวลาในการอัลตราซาวด์นานขึ้นส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันรวมมีปริมาณลดลง เนื่องจากเกิดการตัดสายของคาร์บอนในกรดไขมันบางส่วนลง



รูปที่ 4.8 ปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$ - $C_{22}$  ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์แบบอ่าง วิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

โดยที่ (A) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$  (B) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{16}$   
(C) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{18}$



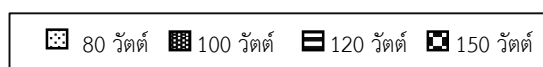


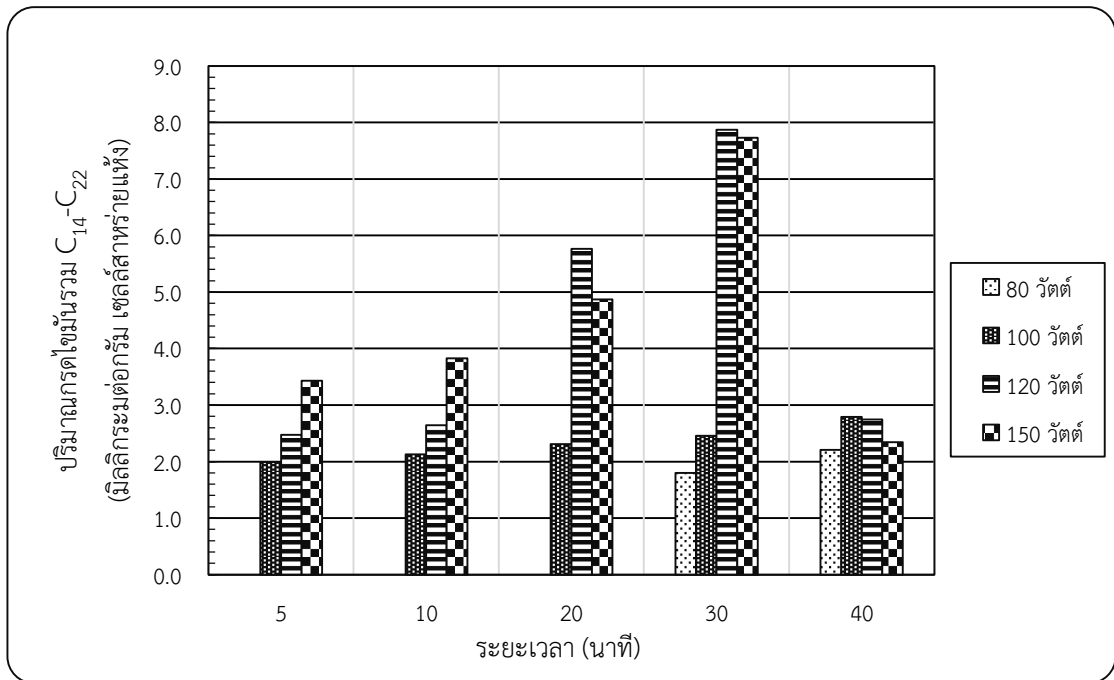
รูปที่ 4.6 ปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$ - $C_{22}$  ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์แบบอ่าง วิเคราะห์โดย

เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (ต่อ)

โดยที่ (D) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{19}$  (E) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{20}$

(F) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{22}$



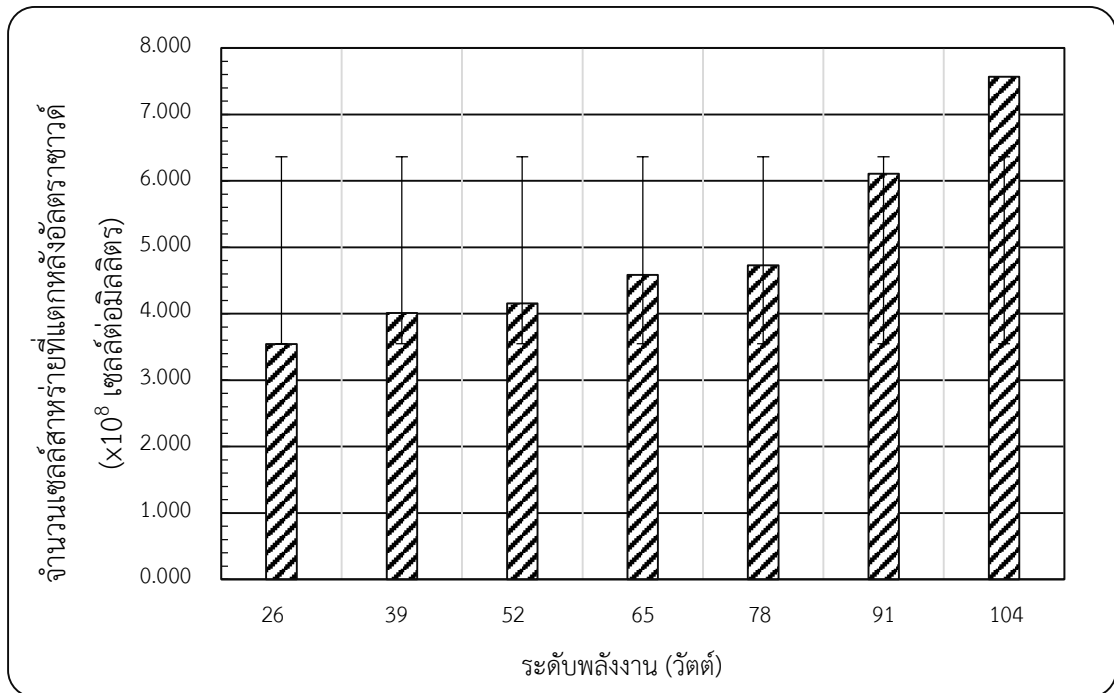


รูปที่ 4.9 ปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14} - C_{22}$  ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์แบบอย่างทีละดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ



#### 4.7 ผลการศึกษาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบโพรบ โดยการนับเซลล์ สำหรับแตกหลังการอัลตราซาวด์

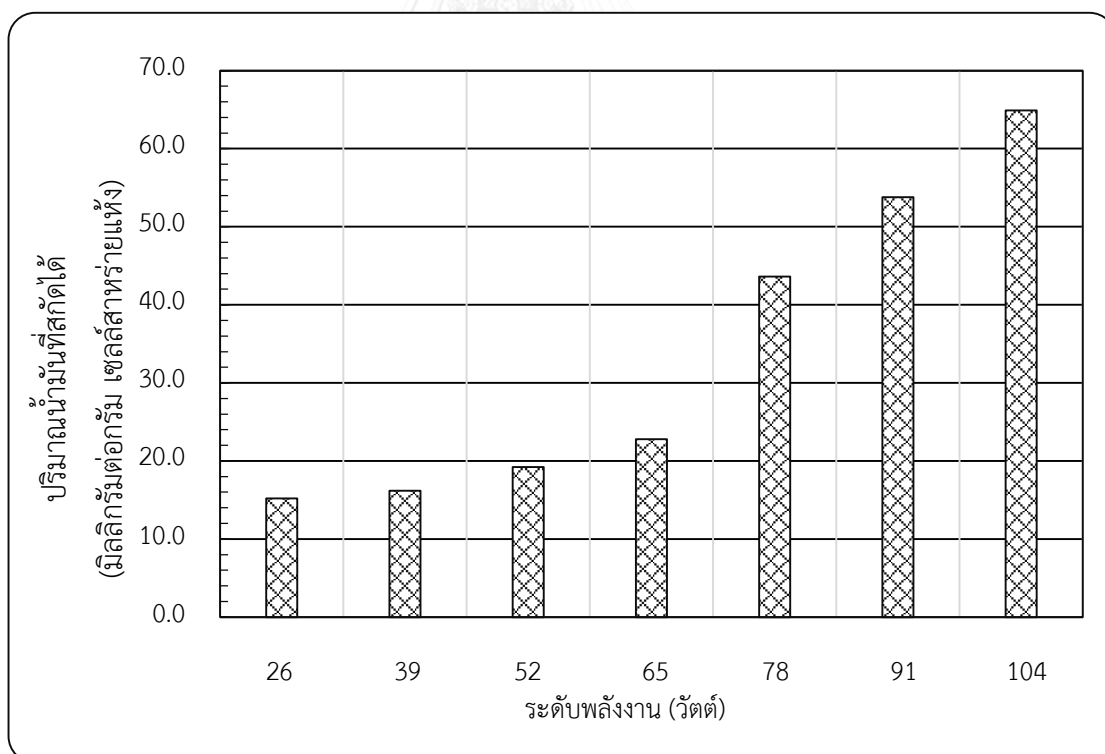
จากการศึกษาจำนวนเซลล์สำหรับโดยใช้สไลด์นับเซลล์สำหรับ (Counting chamber) (ภาคผนวก ก-2) ทั้งก่อนและหลังการอัลตราซาวด์ (ภาคผนวก ข ข้อมูลการทดลองที่ 4.7) ที่ระดับพลังงานคือ 0, 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ (0.0238, 0.0318, 0.0530, 0.0848, 0.1272, 0.1908 และ 0.2650 วัตต์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) อัลตราซาวด์เป็นระยะเวลา 10 นาที เมื่อไม่มีการให้พลังงานอัลตราซาวด์กับระบบ พบว่า ผนังของเซลล์สำหรับไม่ถูกทำลาย ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.10 พบว่า จำนวนเซลล์สำหรับแตกเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระดับพลังงานของการอัลตราซาวด์ โดยที่ระดับพลังงาน 104 วัตต์ มีผลทำให้เซลล์สำหรับแตกมากที่สุด คือ  $7.566 \times 10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 75.66 จากความเข้มข้นเริ่มต้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ถึงแม้ว่าการอัลตราซาวด์แบบโพรบจะทำให้เซลล์สำหรับแตกสูงถึงร้อยละ 75.66 แต่จากผลการทดลองรูปที่ 4.10 จะเห็นได้ว่าการแตกของจำนวนเซลล์สำหรับยังคงมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อมีการเพิ่มระดับพลังงานของการอัลตราซาวด์และระยะเวลาขึ้น ทั้งนี้การอัลตราซาวด์หากเพิ่มระดับพลังงานและระยะเวลานานขึ้น จะส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์คาวิเทชันที่เพิ่มมากขึ้นทำให้ผนังเซลล์สำหรับถูกทำลายได้ ในการใช้อัลตราซาวด์แบบโพรบนั้นจะเห็นได้ว่า จำนวนเซลล์สำหรับแตกมีจำนวนมาก จากผลของการใช้อัลตราซาวด์แบบอ่างและแบบโพรบ หากเปรียบเทียบในระดับพลังงานที่สูงสุด 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที ทำให้จำนวนเซลล์สำหรับแตกมาก ใกล้เคียงกับระดับพลังงานที่ 100 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาทีของอัลตราซาวด์แบบอ่าง จะเห็นได้ว่าการแตกของเซลล์สำหรับที่อัลตราซาวด์แบบโพรบแตกต่างกับอัลตราซาวด์แบบอ่างมากกว่าร้อยละ 70.62 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะลักษณะของคลื่นอัลตราซาวด์แบบโพรบสามารถถ่ายเทพลังงานให้กับตัวอย่างได้โดยตรง นอกจากนี้ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์แบบโพรบและแบบอ่างแตกต่างกันคือ 20 และ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ตามลำดับ โดยความถี่ที่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ จะทำให้เกิดการแตกของฟองแก๊สจากปรากฏการณ์คาวิเทชันได้ดีกว่าที่ระดับพลังงานต่ำๆ เนื่องจากมีความยาวของคลื่นยาวกว่าความยาวคลื่นที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ซึ่งคลื่นที่ความถี่มากจะต้องใช้ระดับพลังงานสูงๆ จึงจะทำให้เกิดการแตกของฟองแก๊สจากปรากฏการณ์คาวิเทชันได้ดี และความถี่ที่ต่ำจะเกิดฟองแก๊สที่มีขนาดใหญ่ ผลก็คือ เมื่อฟองแก๊สมีขนาดใหญ่ก็จะทำให้เกิดความรุนแรงทางกายภาพและทางเคมีที่สูงกว่าในขณะที่ฟองแก๊สแตก (Mason, 1999)



รูปที่ 4.10 จำนวนเซลล์สายที่แยกหลังอัลตราซาวด์ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์  
ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที

#### 4.8 ผลการศึกษาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบโพรบ โดยการชั่งน้ำหนักของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้

จากการทดลองหาปริมาณน้ำมันจากการสกัดน้ำมันสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยการชั่งน้ำหนัก (Kim และคณะ, 2013) ใช้อัลตราซาวด์แบบโพรบที่ความถี่ 20 กิโลเฮิรตซ์ ใช้ระดับพลังงาน 0, 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ (0.0238, 0.0318, 0.0530, 0.0848, 0.1272, 0.1908 และ 0.2650 วัตต์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) อัลตราซาวด์เป็นระยะเวลา 10 นาที เมื่อไม่มีการให้พลังงานอัลตราซาวด์กับระบบ พบว่า ผนังของเซลล์สาหร่ายไม่ถูกทำลาย จึงไม่สามารถสกัดน้ำมันออกจากเซลล์สาหร่ายได้ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.11 พบว่า การอัลตราซาวด์ระดับพลังงานที่ 104 วัตต์ ทำให้เซลล์สาหร่ายแตกมากที่สุดแล้ว ยังพบว่าเมื่อทำการชั่งหาปริมาณน้ำมันที่ได้จากการอัลตราซาวด์ มีปริมาณน้ำมันสูงสุด คือ 64.9 มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง โดยน้ำมันที่ได้ด้วยวิธีอัลตราซาวด์เนื่องจากการเกิดปรากฏการณ์ควิเทชั่น ทำให้เกิดการปล่อยของเหลวภายในเซลล์ออกมาจากการที่ผนังเซลล์สาหร่ายถูกทำลาย พบว่าที่ระดับพลังงาน 104 วัตต์นั้น น้ำมันมีลักษณะสีเขียวเข้ม (ดังรูปที่ 4.7 หมายเลข 3) เนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ละลายอยู่ในน้ำมันด้วย (Sreevatsan, 2015)



รูปที่ 4.11 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้หลังอัลตราซาวด์แบบโพรบ ที่ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที

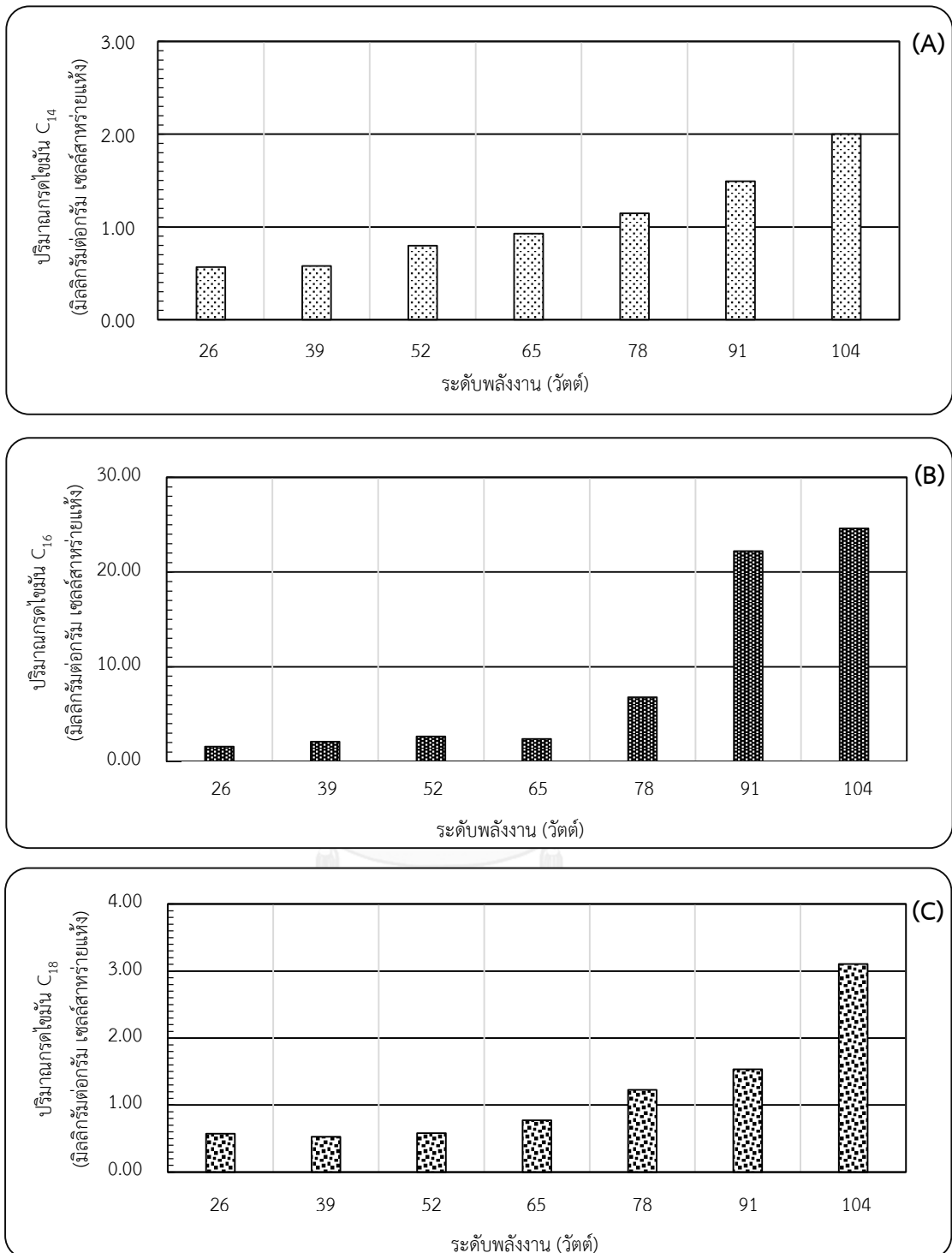
หากทำการเปรียบเทียบกับการวิจัยของ (Kim และคณะ, 2013) ที่ทำการสกัดน้ำมันด้วยวิธี Bligh and Dyer ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน พบว่า การสกัดน้ำมันจากอัลตราซาวด์แบบโพรบมีปริมาณน้ำมันที่สกัดได้สูงกว่าประมาณ 35.9 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์แบบโพรบนี้ มีปริมาณคลอโรฟิลล์ละลายอยู่เป็นจำนวนหนึ่งซึ่งยังไม่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพของน้ำมันโดยการสกัดเอาคลอโรฟิลล์ออก ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันที่สูงกว่าวิธีมาตรฐาน จะเห็นว่าหากนำน้ำมันจากสาหร่ายที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์แบบโพรบนี้ไปใช้ประโยชน์ต้องทำการปรับปรุงคุณภาพของน้ำมันต่อไป ข้อดีของการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์ดังที่กล่าวแล้วในผลการทดลองที่ 4.5

#### 4.9 ผลการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมัน $C_{14}$ - $C_{22}$ ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์แบบโพรบ โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

จากการศึกษาหาปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$ - $C_{22}$  ที่สกัดได้หลังการอัลตราซาวด์แบบโพรบที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ (0.0238, 0.0318, 0.0530, 0.0848, 0.1272, 0.1908 และ 0.2650 วัตต์ต่อมิลลิลิตร) เป็นระยะเวลา 10 นาที ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.12 พบว่า ที่ระดับพลังงาน 104 วัตต์ มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$  สูงสุดคือ 2.00 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{16}$  สูงสุดคือ 24.61 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง และมีปริมาณกรดไขมัน  $C_{18}$  สูงสุดคือ 3.10 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง ที่ระดับพลังงาน 91 วัตต์ มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{19}$  สูงสุดคือ 7.62 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง และมีปริมาณกรดไขมัน  $C_{20}$  สูงสุดคือ 7.10 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง และที่ระดับพลังงาน 78 วัตต์ มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{22}$  สูงสุดคือ 11.38 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง นอกจากนี้เมื่อทำการหาปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.13 พบว่าการอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 70% มีปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  สูงสุดคือ 43.33 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง และที่ระดับพลังงาน 104 วัตต์ มีปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  คือ 34.04 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง ซึ่งใกล้เคียงกับที่ระดับพลังงาน 78 คือ 32.96 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่าย นอกจากนี้เมื่อเพิ่มระดับพลังงานมากขึ้น และใช้ระยะเวลาในการอัลตราซาวด์ที่เท่ากัน พบว่าปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  มีปริมาณลดลงจากงานวิจัยของ (Halim และคณะ, 2011) การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายที่สภาวะความดันแตกต่างกัน จะได้ปริมาณกรดไขมันที่แตกต่างกัน โดยพบว่า ที่สภาวะความดันสูงส่งผลทำให้กรดไขมันมีปริมาณลดต่ำลง และจากงานวิจัยของ (Martinez-Guerra และคณะ, 2014) ได้ทำการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายโดยใช้ตัวทำละลายร่วมกับอัลตราซาวด์ซึ่งใช้ระดับพลังงานของอัลตราซาวด์แตกต่างกัน พบว่า มีผลทำให้

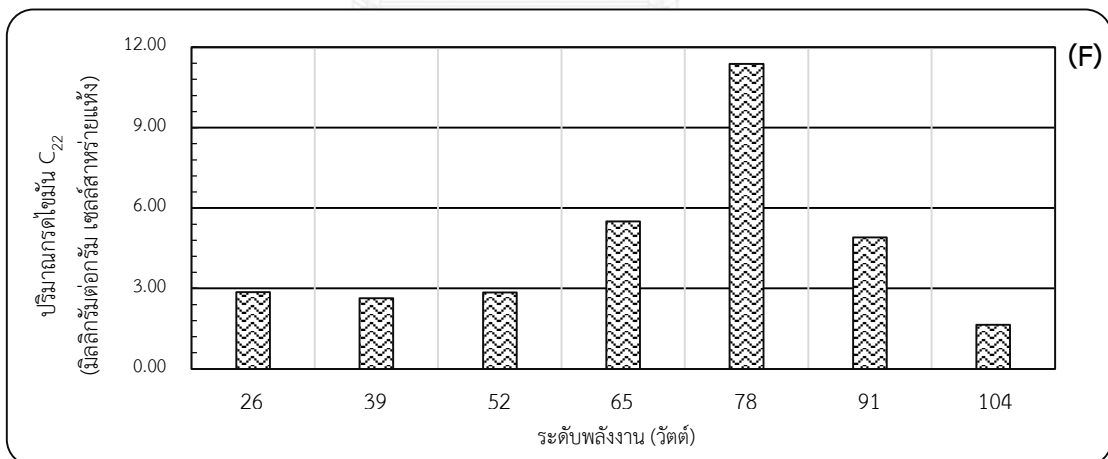
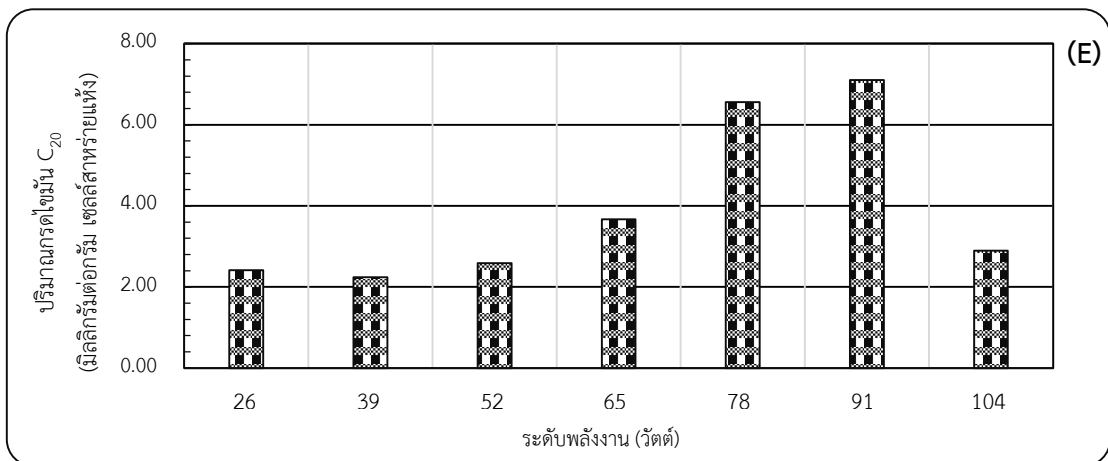
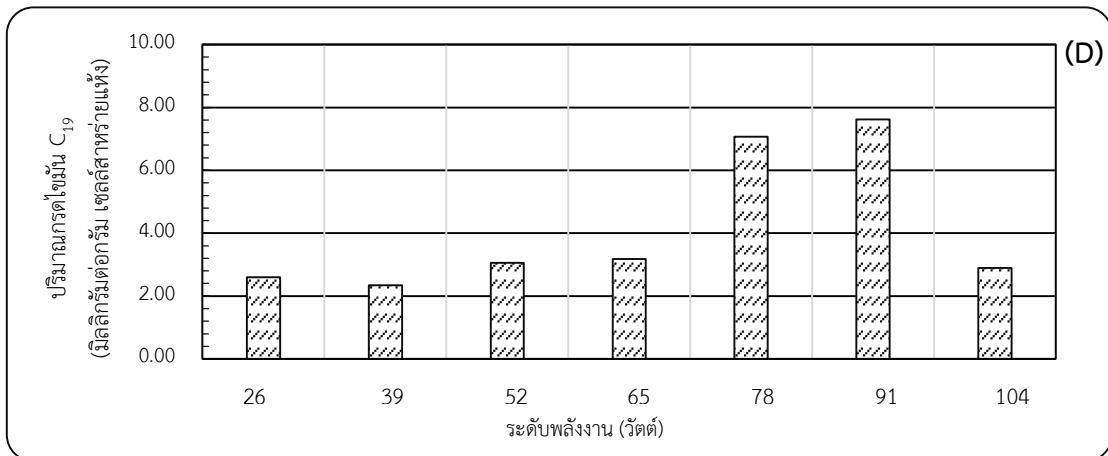
ได้ปริมาณกรดไขมัน  $C_8-C_{24}$  แตกต่างกัน โดยเมื่อมีการเพิ่มระดับพลังงานสูงขึ้น จะทำให้ปริมาณกรดไขมัน  $C_8-C_{24}$  ลดลง ดังนั้นจากผลการทดลองหาปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{24}$  ของงานวิจัยนี้ จะเห็นได้ว่า เมื่อเพิ่มระดับพลังงานมากขึ้นและใช้ระยะเวลาในการอัลตราซาวด์นานขึ้นส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันรวมมีปริมาณลดลง เนื่องจากเกิดการตัดสายของคาร์บอนในกรดไขมันบางส่วนลง



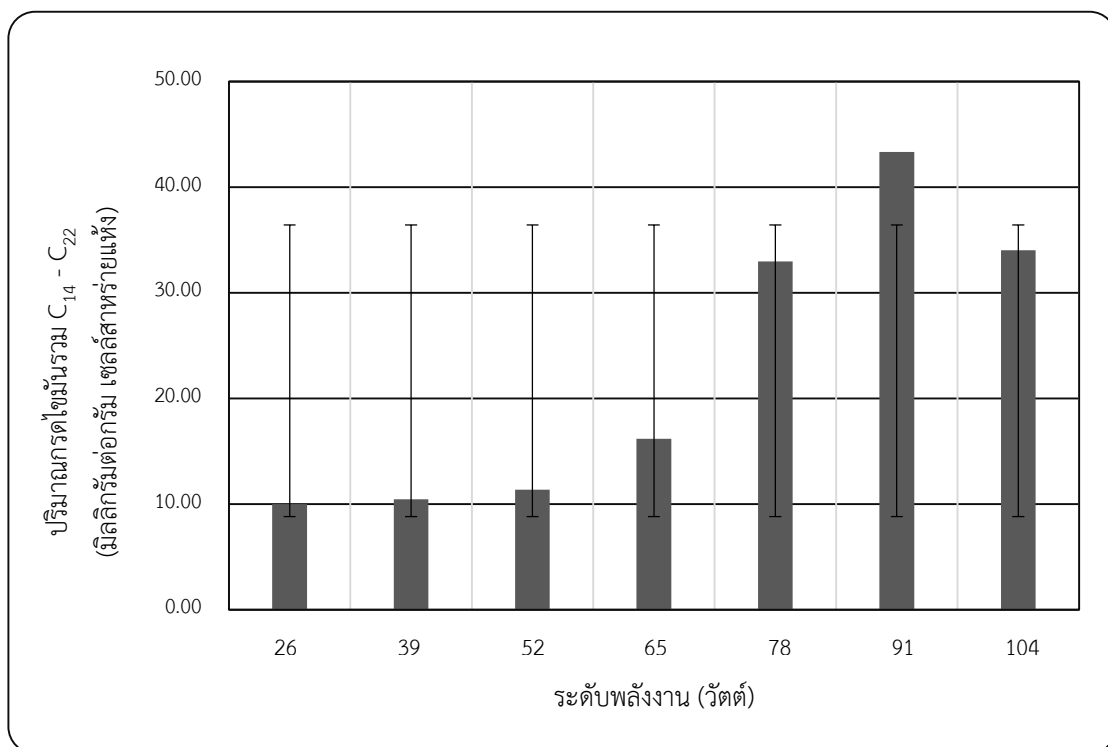


รูปที่ 4.12 ปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$  -  $C_{22}$  ที่สกัดได้หลังอัลตราซาวด์แบบโพรบ ที่ระดับพลังงาน 26, 39, 51, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที

โดยที่ (A) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$  (B) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{16}$   
(C) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{18}$



รูปที่ 4.10 ปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$  -  $C_{22}$  ที่สกัดได้หลังอัลตราซาวด์แบบโพรบ  
ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที (ต่อ)  
โดยที่ (D) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{19}$  (E) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{20}$   
(F) แสดงปริมาณกรดไขมัน  $C_{22}$

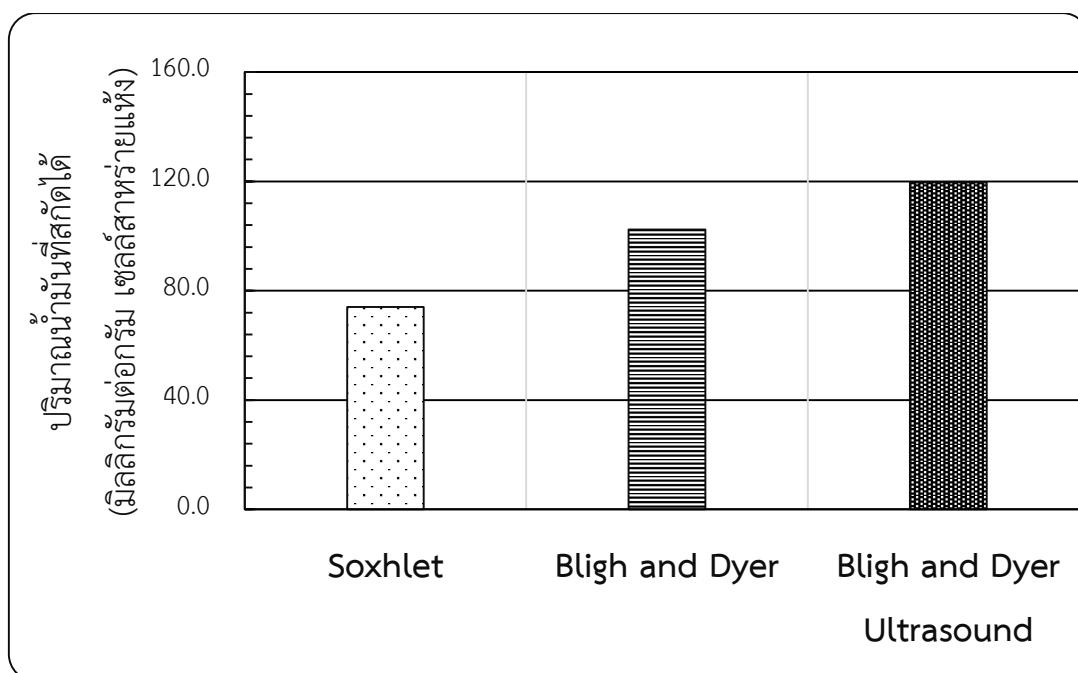


รูปที่ 4.13 ปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{22}$  ในน้ำมันที่สกัดได้จากอัลตราซาวด์แบบโพรบ ที่ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที



#### 4.10 ผลการศึกษาปริมาณน้ำมันจากสาหร่ายที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และ วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง

จากการศึกษาหาปริมาณน้ำมันที่สกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง เมื่อทำการชั่งหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากทั้ง 3 วิธี ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.14 พบว่า วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง มีปริมาณน้ำมันสูงสุด คือ 119.6 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง รองลงมาคือ วิธี Bligh and Dyer สกัดน้ำมันได้ 102.4 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง และวิธี Soxhlet สกัดน้ำมันได้ 74.1 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง จะเห็นได้ว่า วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ จะเกิดกระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลายที่ในการสกัดน้ำมันคือ คลอโรฟอร์ม โดยมีเมทานอลเป็นตัวช่วยในการทำละลายผนังเซลล์สาหร่าย เกิดการชะน้ำมันออกจากเซลล์ และการใช้อัลตราซาวด์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้ โดยการเกิดปรากฏการณ์ควิเทชั่นขึ้น เมื่อผนังเซลล์สาหร่ายแตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น (สุเมธ บุญเกิด, 2550) จากงานวิจัยของ Kim และคณะ (2013) พบว่า การสกัดด้วยวิธี Soxhlet มีปริมาณน้ำมัน 21 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง วิธี Bligh and Dyer มีปริมาณน้ำมัน 29 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง มีปริมาณน้ำมัน 74 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง ตามลำดับ ซึ่งในการทดลองนี้เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Kim และคณะ (2013) พบว่า ได้ปริมาณน้ำมันมากกว่ามาก แต่จากการสกัดน้ำมันทั้ง 3 วิธี พบว่าน้ำมันที่สกัดได้นั้นจะมีลักษณะเหนียวและสีเขียวเข้มมาก (ดังรูปที่ 4.7 หมายเลข 1) อาจเนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ละลายในน้ำมันปริมาณมาก เพราะตัวทำละลายจะละลายสารที่อยู่ภายในเซลล์สาหร่ายออกมา หากนำไปใช้ประโยชน์อาจต้องทำการปรับปรุงคุณภาพน้ำมันอย่างมาก เพราะคลอโรฟิลล์จะมีผลต่อคุณภาพของน้ำมัน (Sathish และ Sims, 2012) โดยในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายโดยใช้อัลตราซาวด์นั้น โดยการสกัดคลอโรฟิลล์ออกจากน้ำมันด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide) ต่อไป (Sreevatsan, 2015)

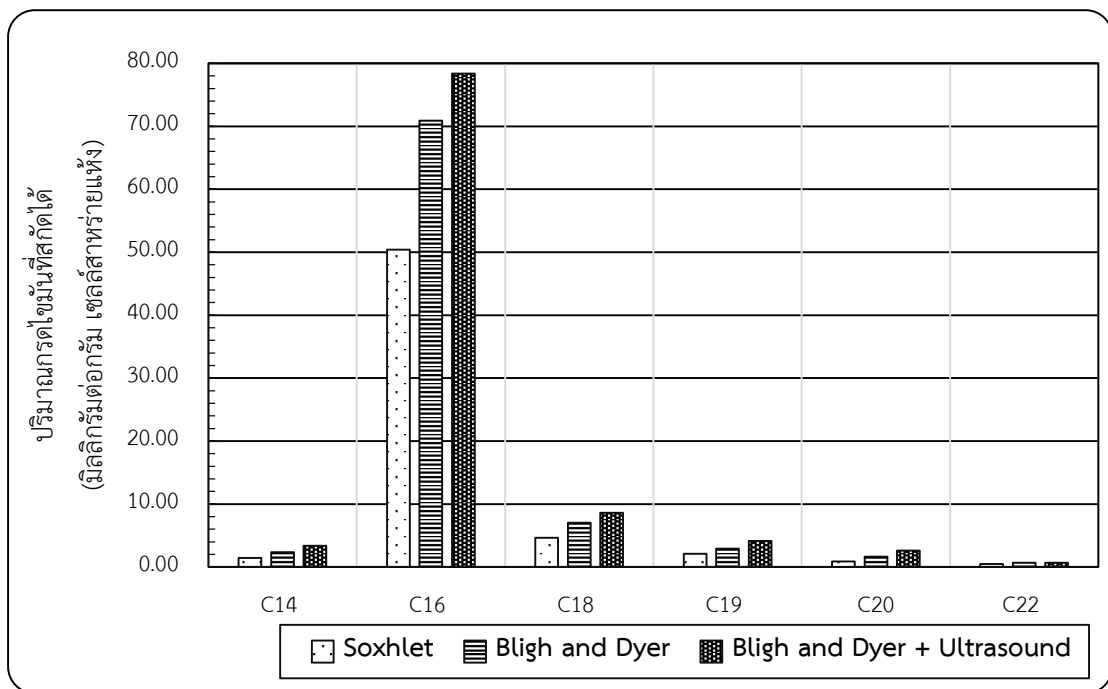


รูปที่ 4.14 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ สาหร่ายแห้ง)

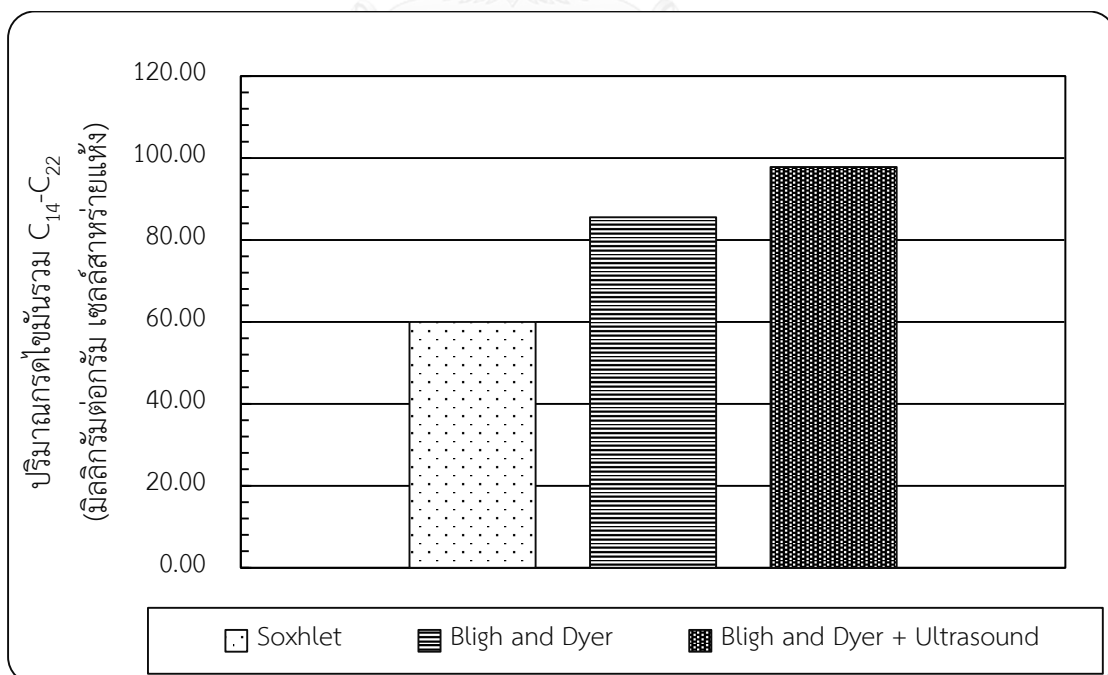
#### 4.11 ผลการศึกษาปริมาณกรดไขมัน $C_{14}$ - $C_{22}$ จากสาหร่ายด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

จากการศึกษาหาปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$ - $C_{22}$  ที่สกัดได้โดยใช้วิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณปริมาณกรดไขมันที่สกัดได้จากทั้ง 3 วิธี ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.15 พบว่า วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{16}$  สูงสุดคือ 78.39 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ของสาหร่ายแห้ง รองลงมาคือวิธี Bligh and Dyer และวิธี Soxhlet มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{16}$  คือ 70.89 และ 50.41 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ของสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ จะเกิดกระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายคือ คลอโรฟอร์ม โดยมีเมทานอลเป็นตัวช่วยในการทำละลายผนังเซลล์สาหร่าย เกิดการชะน้ำมันออกจากเซลล์ และการใช้อัลตราซาวด์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้ เมื่อผนังเซลล์สาหร่ายแตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น (สุเมธ บุญเกิด, 2550) มากกว่าใช้ตัวทำละลายอย่างเดียวอย่างเช่น วิธี Soxhlet มักการใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย และ Bligh and Dyer ที่มีการใช้คลอโรฟอร์มและเมทานอล แต่พบว่า วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง มีปริมาณกรดไขมัน  $C_{22}$  ใกล้เคียงกันคือ 0.69 และ 0.68 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่าย ตามลำดับ จากงานวิจัยของ (Halim และคณะ, 2011) พบว่า การสกัดน้ำมันที่สภาวะความดันแตกต่างกัน จะได้ปริมาณกรดไขมันที่แตกต่างกัน ดังนั้นการใช้อัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 80 วัตต์ นาน 40 นาที อาจทำให้เกิดการตัดสายของคาร์บอนในกรดไขมันบางส่วนลงได้ จึงทำให้กรดไขมัน  $C_{22}$  วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง ใกล้เคียงกับวิธี Bligh and Dyer

จากการศึกษาหาปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  ที่สกัดได้โดยใช้วิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากทั้ง 3 วิธี โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.16 พบว่า วิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง มีปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  สูงสุดคือ 97.8 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่าย รองลงมาคือ วิธี Bligh and Dyer มีปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  คือ 85.6 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่าย และวิธี Soxhlet มีปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  คือ 60 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่าย ตามลำดับ ซึ่งวิธี Bligh and Dyer ที่มีการใช้อัลตราซาวด์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้โดยการเกิดปรากฏการณ์ควาวิเทชั่นขึ้น เมื่อผนังเซลล์สาหร่ายแตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น



รูปที่ 4.15 ปริมาณกรดไขมัน C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> ในน้ำมันที่สกัดได้จากวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง



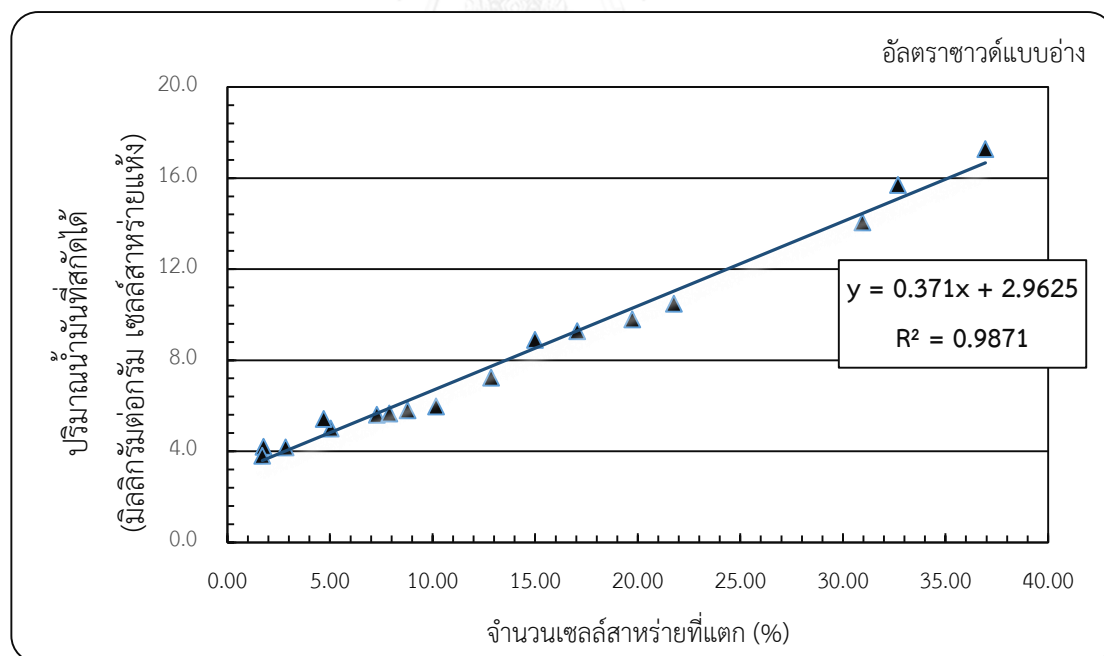
รูปที่ 4.16 ปริมาณกรดไขมันรวม C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> ในน้ำมันที่สกัดได้จากวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง

#### 4.12 ผลการศึกษาปริมาณของน้ำมันที่สกัดได้จากต่อจำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตก โดยใช้อัลตราซาวด์แบบอ่างและแบบโพรบ

จากผลการศึกษาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธีอัลตราซาวด์แบบอ่างต่อจำนวนเซลล์สาหร่ายแตกหลังการอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ และระยะเวลา 5, 10, 20, 30 และ 40 นาที ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.17 พบว่า ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง) ต่อจำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตก (%) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยจำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตกเพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้ได้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้นด้วย โดยมีความสัมพันธ์ดังสมการที่ 4-1 ซึ่งที่ระดับพลังงานต่ำๆ ผนังเซลล์สาหร่ายจะไม่ถูกทำลาย เนื่องจากระดับพลังงานไม่เพียงพอต่อการทำลายผนังเซลล์ของสาหร่าย แต่ทำให้เกิดการแยกกันของสาหร่ายที่เกาะกลุ่มกัน

$$Y = 0.371X + 2.9625 \quad (4-1)$$

โดยที่ Y = ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม ของเซลล์สาหร่ายแห้ง)  
X = จำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตกหลังการอัลตราซาวด์แบบอ่าง (%)



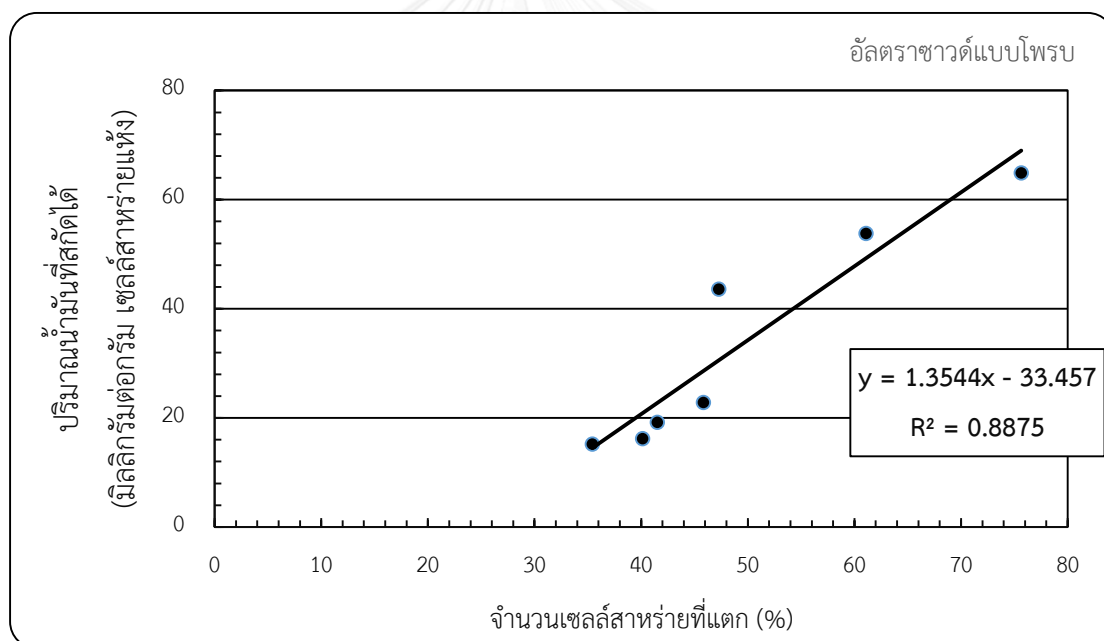
รูปที่ 4.17 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง) ต่อจำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตก (%) หลังการอัลตราซาวด์แบบอ่าง

และเมื่อทำการศึกษาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธีอัลตราซาวด์แบบโพรบต่อจำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตกหลังการอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ที่ระยะเวลา 10 นาที ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.18 พบว่า ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง) ต่อจำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตก (%) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยจำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตกเพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้ได้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้นด้วย โดยมีความสัมพันธ์ดังสมการที่ 4-2 ซึ่งที่ระดับพลังงานต่ำๆ ผนังเซลล์สาหร่ายจะไม่ถูกทำลาย เนื่องจากระดับพลังงานไม่เพียงพอต่อการทำลายผนังเซลล์ของสาหร่าย แต่ทำให้เกิดการแยกกันของสาหร่ายที่เกาะกลุ่มกัน

$$Y = 1.3544X - 33.457 \quad (4-2)$$

โดยที่ Y = ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม ของเซลล์สาหร่ายแห้ง)

X = จำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตกหลังการอัลตราซาวด์แบบโพรบ (%)



รูปที่ 4.18 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง)

ต่อจำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตก (%) หลังการอัลตราซาวด์แบบโพรบ

#### 4.13 ผลการศึกษาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ต่อพลังงานที่ใช้ 1 จูล ของอัลตราซาวด์แบบอ่าง และแบบโพรบ

การศึกษาปริมาณพลังงานของอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ให้กับระบบในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายที่ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากผลการทดลองตารางที่ 4.5 เมื่อมีการให้พลังงานอัลตราซาวด์เข้าในระบบเท่ากับ 1 จูล พบว่า ที่ระดับพลังงาน 100 วัตต์ ระยะเวลา 5 นาที สามารถสกัดน้ำมันได้  $1.267 \times 10^{-4}$  มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้งต่อจูล ซึ่งคิดในแง่ของค่าไฟฟ้าที่ให้กับระบบ จะเห็นได้ว่ามีความเหมาะสมมากกว่าที่ระดับพลังงานอื่นๆ ในการสกัดน้ำมัน แต่จากผลการทดลองที่ 4.5 พบว่า เมื่อทำการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ระดับพลังงาน 100 วัตต์ ระยะเวลา 5 นาที ทำให้สามารถสกัดน้ำมันได้ 4.2 มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง ดังนั้นอาจไม่เหมาะสมในแง่ของการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันสูงสุด

ตารางที่ 4.4 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง) ต่อ 1 จูล ของอัลตราซาวด์แบบอ่าง

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง ต่อจูล)			
	80	100	120	150
0	0.000	0.000	0.000	0.000
5	-	$1.267 \times 10^{-4}$	$1.167 \times 10^{-4}$	$1.200 \times 10^{-4}$
10	-	$0.833 \times 10^{-4}$	$0.792 \times 10^{-4}$	$0.800 \times 10^{-4}$
20	-	$0.467 \times 10^{-4}$	$0.618 \times 10^{-4}$	$0.783 \times 10^{-4}$
30	$0.292 \times 10^{-4}$	$0.333 \times 10^{-4}$	$0.454 \times 10^{-4}$	$0.581 \times 10^{-4}$
40	$0.302 \times 10^{-4}$	$0.388 \times 10^{-4}$	$0.365 \times 10^{-4}$	$0.481 \times 10^{-4}$

นอกจากนี้ปริมาณพลังงานของอัลตราซาวด์แบบโพรบที่ให้กับระบบในการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย จากผลการทดลองตารางที่ 4.6 เมื่อมีการให้พลังงานอัลตราซาวด์เข้าในระบบเท่ากับ 1 จูล พบว่า ที่ระดับพลังงาน 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที สามารถสกัดน้ำมันได้  $10.40 \times 10^{-4}$  มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้งต่อจูล ซึ่งมากกว่าที่ระดับพลังงานอื่นๆ หากคิดในแง่ของพลังงานที่ให้กับระบบ จะเห็นได้ว่า ที่ระดับพลังงาน 26 วัตต์ 10 นาที มีความเหมาะสมมากกว่าที่ระดับพลังงาน 104 วัตต์ แต่จากผลการทดลองที่ 4.5 พบว่า ที่ระดับพลังงาน 26 วัตต์ 10 นาที สามารถสกัดน้ำมันได้น้อย

กว่า ที่ระดับพลังงาน 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที อยู่ 49.7 มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง  
 ดังนั้นที่ระดับพลังงาน 26 วัตต์ อาจไม่เหมาะสมในแง่ของการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันสูงสุด

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง) ต่อ 1 จุล  
 ของอัลตราซาวด์แบบอ่าง

ระดับพลังงาน (วัตต์)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สาหร่ายแห้งต่อจุล)
26	$9.74 \times 10^{-4}$
39	$6.92 \times 10^{-4}$
52	$6.15 \times 10^{-4}$
65	$5.85 \times 10^{-4}$
78	$9.32 \times 10^{-4}$
91	$9.85 \times 10^{-4}$
104	$10.40 \times 10^{-4}$



#### 4.14 ผลการศึกษาการสกัดน้ำมันทั้ง 5 วิธี คือ วิธีอัลตราซาวด์แบบอ่าง วิธีอัลตราซาวด์แบบโพรบ วิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง

จากผลการศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* จำนวนเซลล์สาหร่ายที่ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิเมตร หรือประมาณ 0.375 กรัม เซลล์สาหร่ายแห้งด้วยวิธีอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ระดับพลังงาน 0, 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ระยะเวลา 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 นาที วิธีอัลตราซาวด์แบบโพรบที่ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที และการสกัดน้ำมันด้วยวิธีมาตรฐานมี 3 วิธีคือ วิธี Soxhlet ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย วิธี Bligh and Dyer ใช้คลอโรฟอร์มและเมทานอลเป็นตัวทำละลาย และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ ใช้คลอโรฟอร์มและเมทานอลเป็นตัวทำละลายร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง โดยการสกัดน้ำมันด้วยวิธีมาตรฐานหรือเรียกว่า เป็นการสกัดแบบแห้ง ก่อนทำการสกัดน้ำมันต้องนำตัวอย่างสาหร่ายไปผ่านกระบวนการอบแห้งก่อน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.6 พบว่าการสกัดน้ำมันด้วยวิธีมาตรฐานได้น้ำมันจากสาหร่ายออกมาได้ปริมาณสูง โดยที่การสกัดน้ำมันจากเซลล์สาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์มีผลทำให้สามารถสกัดน้ำมันและกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{22}$  ออกมาได้ปริมาณสูงสุดคือ 119.6 และ 97.80 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง ตามลำดับ รองลงมาคือวิธี Bligh and Dyer สกัดน้ำมันและกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{22}$  ได้ 102.4 และ 85.55 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง ตามลำดับ และวิธี Soxhlet สกัดน้ำมันและกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{22}$  ได้ 74.1 และ 59.95 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ จะเกิดกระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลายที่ในการสกัดน้ำมันคือ คลอโรฟอร์ม โดยมีเมทานอลเป็นตัวช่วยในการทำละลายผนังเซลล์สาหร่าย เกิดการชะน้ำมันที่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบออกจากเซลล์ และการใช้อัลตราซาวด์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้ โดยการเกิดปรากฏการณ์ควิเทชั่นขึ้น เมื่อผนังเซลล์สาหร่ายแตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น (สุเมธ บุญเกิด, 2550)

นอกจากนี้การสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์หรือเรียกว่า เป็นการสกัดแบบเปียก พบว่าการอัลตราซาวด์แบบโพรบที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที มีผลทำให้เซลล์สาหร่ายแตกมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 75.66 ทำให้สามารถสกัดน้ำมันจากสาหร่ายได้ 64.9 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง และการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 150 วัตต์ 40 นาที มีผลทำให้เซลล์สาหร่ายแตกมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 36.95 ทำให้สามารถสกัดน้ำมันจากสาหร่ายได้ 17.3 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง แต่พบว่าอัลตราซาวด์แบบโพรบที่ระดับพลังงาน 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที และอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ระดับพลังงาน 150 วัตต์ 40 นาที กลับทำให้ปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}-C_{22}$  ลดลง

ตารางที่ 4.6 สรุปผลการศึกษาการแตกของเซลล์สำหรับ ปริมาณน้ำมันและกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  ที่สกัดได้ด้วยวิธีอัลตราซาวด์แบบอ่าง วิธีอัลตราซาวด์แบบโพรบ วิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง

	อัลตราซาวด์ แบบอ่าง	อัลตราซาวด์ แบบโพรบ	Soxhlet	Bligh and Dyer	Bligh and Dyer อัลตรา ซาวด์แบบอ่าง
ความถี่ (kHz)	40	20			40
เซลล์สหารายที่แตก (%)	36.95	75.66			
ปริมาณน้ำมัน (mg/g dried cell)	17.3	64.9	74.1	102.4	119.6
ระดับพลังงานและ ระยะเวลา	150 วัตต์ 40 นาที	104 วัตต์ 10 นาที			
ปริมาณกรดไขมัน รวม $C_{14}$ - $C_{22}$ (mg/g dried cell)	7.87	43.33	59.95	85.55	97.80
ระดับพลังงานและ ระยะเวลา	120 วัตต์ 30 นาที	91 วัตต์ 10 นาที			

อัลตราซาวด์แบบโพรบที่ระดับพลังงาน 91 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที และอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ระดับพลังงาน 120 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที มีผลทำให้ได้ปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  สูงสุดคือ 43.33 และ 7.87 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สหารายแห้ง จากงานวิจัยของ (Martinez-Guerra และคณะ, 2014) ทำการสกัดน้ำมันจากสหารายโดยใช้ตัวทำละลายร่วมกับอัลตราซาวด์ซึ่งใช้ระดับพลังงานของอัลตราซาวด์แตกต่างกัน พบว่า มีผลทำให้ได้ปริมาณกรดไขมัน  $C_8$ - $C_{24}$  แตกต่างกัน โดยเมื่อมีการเพิ่มระดับพลังงานสูงขึ้น จะทำให้ปริมาณกรดไขมัน  $C_8$ - $C_{24}$  ลดลง จากผลการทดลองหาปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{24}$  ของงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่า เมื่อเพิ่มระดับพลังงานมากขึ้นและใช้ระยะเวลาในการอัลตราซาวด์นานขึ้นส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันรวมมีปริมาณลดลง เนื่องจากเกิดการตัดสายของคาร์บอนในกรดไขมันบางส่วนลง

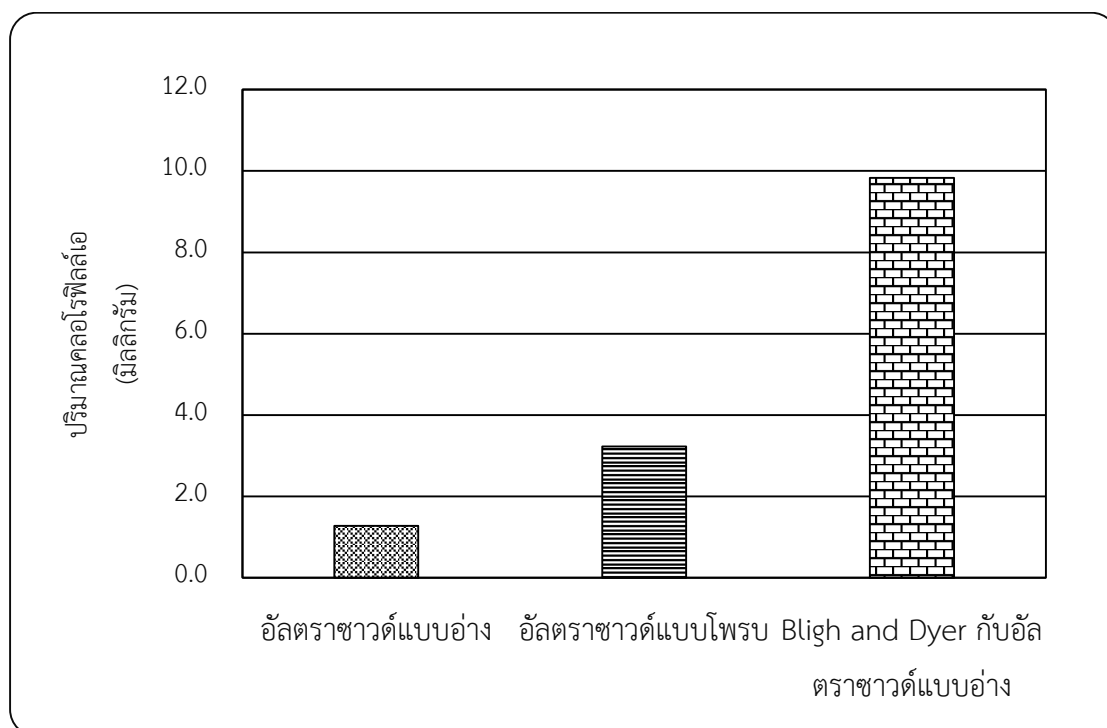
ในการสกัดน้ำมันจากเซลล์สาหร่ายนั้นยังพบว่า น้ำมันที่สกัดได้มีปริมาณของคลอโรฟิลล์ละลายปนอยู่ จึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (ภาคผนวก ก-7) ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.19 พบว่า วิธีอัลตราซาวด์แบบอ่าง มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณ 1.3 มิลลิกรัมต่อน้ำมัน 17.3 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง วิธีอัลตราซาวด์แบบโพรบ มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณ 3.2 มิลลิกรัมต่อน้ำมัน 64.9 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณ 9.8 มิลลิกรัมต่อน้ำมัน 119.6 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง โดยการสกัดน้ำมันจากอัลตราซาวด์แบบอ่างมีคลอโรฟิลล์ละลายอยู่ในน้ำมันปริมาณที่น้อยที่สุด (ดังรูปที่ 4.7 หมายเลข 2) รองลงมาคือ อัลตราซาวด์แบบโพรบ (ดังรูปที่ 4.7 หมายเลข 3) และวิธีมาตรฐาน (ดังรูปที่ 4.7 หมายเลข 1) เนื่องจากการสกัดน้ำมันด้วยอัลตราซาวด์คลอโรฟิลล์ได้รับการตกตะกอนไปกับเซลล์สาหร่าย ช่วยลดการปนเปื้อนของคลอโรฟิลล์ในน้ำมันสาหร่ายได้ ซึ่งจะไม่ถูกละลายออกมาในปริมาณมากเหมือนกับวิธีมาตรฐานที่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อย่างเช่น เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล หากนำไปใช้ประโยชน์ควรมีการปรับปรุงคุณภาพน้ำมันก่อน เนื่องจากคลอโรฟิลล์จะมีผลต่อคุณภาพของน้ำมัน (Sathish และ Sims, 2012) โดยใช้ตัวทำละลายในการสกัดคลอโรฟิลล์ออกจากน้ำมันด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide) เป็นตัวทำละลายในการสกัดต่อไป (Sreevatsan, 2015)

หากมองในแง่ของการทำให้เซลล์สาหร่ายแตกมากและได้ปริมาณน้ำมันที่สูง และลดกระบวนการอบแห้งเซลล์สาหร่าย และลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ควรเลือกอัลตราซาวด์แบบโพรบมาประยุกต์ใช้เพื่อนำไปทำการสกัดน้ำมันจากเซลล์สาหร่าย เนื่องจากคลื่นอัลตราซาวด์จะถ่ายเทพลังงานได้โดยตรงกับตัวอย่างที่ทำการสกัดน้ำมัน และผลของความถี่ที่แตกต่างกันโดยที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ จะทำให้เกิดการแตกของฟองแก๊สจากปรากฏการณ์คาวิเทชันได้ดีกว่าที่ระดับพลังงานต่ำๆ เนื่องจากมีความยาวของคลื่นยาวกว่าความยาวคลื่นที่ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ซึ่งคลื่นที่มีความถี่มากจะต้องใช้ระดับพลังงานสูงๆ จึงจะทำให้เกิดการแตกของฟองแก๊สจากปรากฏการณ์คาวิเทชันได้ดี และความถี่ที่ต่ำจะเกิดฟองแก๊สที่มีขนาดใหญ่ ผลก็คือเมื่อฟองแก๊สมีขนาดใหญ่ก็จะทำให้เกิดความรุนแรงทางกายภาพและทางเคมีที่สูงกว่าในขณะที่ฟองแก๊สแตก (Mason, 1999)

นอกจากนี้จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$ - $C_{22}$  ที่พบในเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* พบว่ามีปริมาณกรดไขมัน  $C_{16}$  สูงที่สุด รองลงมาคือ  $C_{18}$  ดังนั้นสามารถนำน้ำมันจากสาหร่ายนี้ไปประยุกต์ใช้เป็นน้ำมันไบโอดีเซลได้ ไม่ว่าจะเป็นการสกัดน้ำมันทั้งแบบเปียกและแบบแห้ง จากรายงานของ ศิริวรรณ ศิลปสกุลสุข (2550) กล่าวว่า โดยทั่วไปกรดไขมันที่พบในน้ำมันไบโอดีเซลจะมีคาร์บอนอยู่ระหว่าง 12-22 และพบปริมาณมากที่สุดถึงร้อยละ 90 จะมีสายโซ่คาร์บอนระหว่าง 16-18 น้ำมันไบโอดีเซลที่ดีจะมีกรดไขมันอิ่มตัว คือ  $C_{12:0}$ ,  $C_{14:0}$ ,  $C_{16:0}$ ,  $C_{18:0}$ ,

C20:0 และ C22:0 ซึ่งไปโอดีเซลที่ผลิตจากกรดไขมันที่อิ่มตัวสูงจะทำให้จำนวนซีเทน (Cetane number) สูงขึ้น ปริมาณ  $\text{NO}_x$  ลดลง และมีเสถียรภาพ (Stability)

อีกทั้งน้ำมันสาหร่ายที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ยังสามารถไปใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร ยา เครื่องสำอางค์ เนื่องจากได้น้ำมันออกมาโดยไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด หากทำเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ตะกอนของเซลล์สาหร่ายซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้เลย เช่น อาหารสัตว์ อาหารเสริม เป็นต้น



รูปที่ 4.19 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (มิลลิกรัม) ที่สกัดได้จากวิธีอัลตราซาวด์แบบอ่าง วิธีอัลตราซาวด์แบบโพรบ และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยใช้อัลตราซาวด์ทำการทดลองแบบที่ละเท (Batch reactor) ในการทดลองจะใช้อัลตราซาวด์แบบอ่าง (Ultrasound bath) ใช้ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์ที่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ และระดับพลังงานของอัลตราซาวด์ที่แตกต่างกัน และใช้อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasound probe) ใช้ความถี่ของคลื่นอัลตราซาวด์ที่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ และระดับพลังงานของอัลตราซาวด์ที่แตกต่างกัน และใช้การสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์ โดยจากการทดลองสามารถสรุปได้ดังนี้

1. การชั่งน้ำหนักสาหร่ายที่ความเข้มข้นประมาณ  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีน้ำหนักคิดเป็น 375 มิลลิกรัมของเซลล์สาหร่ายแห้ง เพื่อนำไปใช้ในการเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธีอัลตราซาวด์กับวิธี Soxlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง
2. การเพิ่มระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบอ่าง และการเพิ่มระดับพลังงาน ระยะเวลาที่เท่ากันคือ 10 นาที ของอัลตราซาวด์แบบโพรบ ส่งผลทำให้ผนังเซลล์สาหร่ายถูกทำลายมากขึ้น เกิดการปลดปล่อยของเหลวภายในเซลล์ออกมา จากการเกิดปรากฏการณ์คาวิเทชัน
3. ระดับพลังงานและระยะเวลาการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ทำให้สกัดน้ำมันได้ปริมาณสูงสุดคือ 150 วัตต์ (0.0110 วัตต์ต่อมิลลิลิตร) ระยะเวลา 40 นาที และระดับพลังงานการอัลตราซาวด์แบบโพรบที่ทำให้สกัดน้ำมันได้ปริมาณสูงสุดคือ 104 วัตต์ (0.2650 วัตต์ต่อมิลลิลิตร) ระยะเวลา 10 นาที เป็นสภาวะที่มีความเหมาะสมในการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันสูงสุด
4. หากเปรียบเทียบในแง่ของปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  พบว่าอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ระดับพลังงาน 120 วัตต์ ระยะเวลา 30 นาที และอัลตราซาวด์แบบโพรบ ที่ระดับพลังงาน 104 วัตต์ (0.2650 วัตต์ต่อมิลลิลิตร) ระยะเวลา 10 นาที เป็นสภาวะที่มีความเหมาะสมในการสกัดน้ำมัน เพื่อนำไปใช้เป็นน้ำมันไบโอดีเซลได้

5. การเพิ่มระดับพลังงานสูงและระยะเวลาานาน จะส่งผลทำให้มีปริมาณกรดไขมันรวมลดลง เนื่องมาจากการใช้อัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงานแตกต่างกัน เกิดความดันที่แตกต่างกัน มีผลทำให้ได้ปริมาณกรดไขมันแต่ละระดับพลังงานแตกต่างกันด้วย

6. การใช้อัลตราซาวด์แบบโพรบมีความเหมาะสมมากกว่าอัลตราซาวด์แบบอ่าง โดยจากการทดลองพบว่า ทำให้เซลล์สหาร่ายแตกและปริมาณน้ำมันมากกว่า อีกทั้งในแง่ของการใช้ระดับพลังงานและระยะเวลาที่น้อยกว่าด้วย

7. การสกัดน้ำมันโดยใช้อัลตราซาวด์แบบอ่างและแบบโพรบทำให้มีคลอโรฟิลล์ละลายอยู่ในน้ำมันที่สกัดได้น้อยกว่าวิธีมาตรฐาน เนื่องจากคลอโรฟิลล์ได้รับการตกตะกอนไปกับเซลล์สหาร่าย



## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายควรใช้อัลตราซาวด์แบบโพรบมากกว่าอัลตราซาวด์แบบอ่าง เพราะอัลตราซาวด์แบบโพรบจะเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับตัวอย่าง
2. น้ำมันที่สกัดได้จากวิธีอัลตราซาวด์และวิธีมาตรฐาน มีคลอโรฟิลด์ปนอยู่ในน้ำมัน ดังนั้นควรมีการปรับปรุงคุณภาพน้ำมันก่อน หากนำน้ำมันไปใช้ประโยชน์ต่อไป
3. ควรมีการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันจากสาหร่ายที่สกัดได้ด้วยวิธีอัลตราซาวด์ที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพของน้ำมันแล้ว
4. ควรมีการศึกษาลักษณะทางเคมีของตะกอนสาหร่ายที่ผ่านการอัลตราซาวด์แล้ว เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป



## รายการอ้างอิง

- Ai, W., Guo, S., Qin, L., and Tang, Y. (2008). Development of a ground-based space micro-algae photo-bioreactor. *Advances in Space Research*, 41(5), 742-747.
- Araujo, G. S., Matos, L. J., Fernandes, J. O., Cartaxo, S. J., Goncalves, L. R., Fernandes, F. A., and Farias, W. R. (2013). Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: prospection of the optimal extraction method. *Ultrason Sonochem*, 20(1), 95-98.
- Araujo, G. S., Matos, L. J., Goncalves, L. R., Fernandes, F. A., and 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.
- Balasubramanian, S., Allen, J. D., Kanitkar, A., and Boldor, D. (2011). Oil extraction from *Scenedesmus obliquus* using a continuous microwave system--design, optimization, and quality characterization. *Bioresour Technol*, 102(3), 3396-3403.
- Bligh, E. G., and Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- Demirbas, A., and Fatih Demirbas, M. (2011). Importance of algae oil as a source of biodiesel. *Energy Conversion and Management*, 52(1), 163-170.
- Folch, J., Lees, M., and Stanley, G. H. S. (1956). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- Guckert, J. B., Cooksey, K. E., and Jackson, L. L. (1988). Lipid solvent systems are not equivalent for analysis of lipid classes in the microeukaryotic green alga, *Chlorella*. *Journal of Microbiological Methods*, 8(3), 139-149.
- Halim, R., Gladman, B., Danquah, M. K., and Webley, P. A. (2011). Oil extraction from microalgae for biodiesel production. *Bioresour Technol*, 102(1), 178-185.



- Hao, H., Wu, M., Chen, Y., Tang, J., and Wu, Q. (2004). Cavitation mechanism in cyanobacterial growth inhibition by ultrasonic irradiation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 33(3-4), 151-156.
- Hara, A., and Radin, N. S. (1978). Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical Biochemistry*, 90(1), 420-426.
- Joyce, E. M., Wu, X., and Mason, T. J. (2010). Effect of ultrasonic frequency and power on algae suspensions. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 45(7), 863-866.
- Karcher, K. M. (2010). *Optimization of environmental conditions to maximize carbon dioxide sequestration through algal growth*. (Master's Degree), Air University.
- Kikuchi, T., and Uchida, T. (2011). Calorimetric method for measuring high ultrasonic power using water as a heating material. *Journal of Physics: Conference Series*, 279, 012012.
- 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., and Lee, S. H. (2013). Ultrasound-assisted extraction of lipids from *Chlorella vulgaris* using [Bmim][MeSO<sub>4</sub>]. *Biomass and Bioenergy*, 56, 99-103.
- Long, R. D., and 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, R. (2014). Microwave and ultrasound enhanced extractive-transesterification of algal lipids. *Applied Energy*, 129, 354-363.
- Mason, T. J. (1999). *Sonochemistry*. New York: Oxford University.
- National institute for environmental studies. (1987). *Chlorella vulgaris* 642. แหล่งที่มา: [http://cfb.unh.edu/phycokey/Choices/Chlorophyceae/unicells/non\\_flagellate\\_d/CHLORELLA/Chlorella\\_image\\_page.htm](http://cfb.unh.edu/phycokey/Choices/Chlorophyceae/unicells/non_flagellate_d/CHLORELLA/Chlorella_image_page.htm)
- Nelson, D. L., and Cox, M. M. (2000). *Lehninger Principles of Biochemistry*. New York.
- Nobre, B. P., Villalobos, F., Barragan, B. E., Oliveira, A. C., Batista, A. P., Marques, P. A., Mendes, R. L., Sovova, H., Palavra, A. F., and Gouveia, L. (2013). A biorefinery from *Nannochloropsis* sp. microalgae--extraction of oils and pigments.

- Production of biohydrogen from the leftover biomass. *Bioresour Technol*, 135, 128-136.
- Sathish, A., and Sims, R. C. (2012). Biodiesel from mixed culture algae via a wet lipid extraction procedure. *Bioresour Technol*, 118, 643-647.
- Sreevatsan, S. (2015). Chlorophyll. แหล่งที่มา: [http://www.oilgae.com/non\\_fuel\\_products/chlorophyll.html](http://www.oilgae.com/non_fuel_products/chlorophyll.html)
- Strickland, J. D. H., and Parson, T. R. (1972). *A Practical Handbook of Seawater Analysis*. Ottawa: The alger Press Ltd.
- Xu, Y., and Boeing, W. J. (2014). Modeling maximum lipid productivity of microalgae: Review and next step. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 32, 29-39.
- Zhang, G., Zhang, P., Wang, B., and Liu, H. (2006). Ultrasonic frequency effects on the removal of *Microcystis aeruginosa*. *Ultrason Sonochem*, 13(5), 446-450.
- กนก ขำหุ่น. (2546). เครื่องวัดปริมาณการจรรยาบรรณท้องถนนโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร.
- กรมควบคุมมลพิษ. (2557). ระบบบำบัดน้ำเสีย. Retrieved 7 มกราคม 2557, แหล่งที่มา: [http://www.pcd.go.th/info\\_serv/water\\_wt.html](http://www.pcd.go.th/info_serv/water_wt.html)
- โจชัว ทิคเคลล์. (2552). สาหร่ายน้ำมันเชื้อเพลิงสำหรับอนาคต. วารสารเกษตรกรรมธรรมชาติ, 11(12), 5-7.
- ดารณี เจริญสุข. (2554). น้ำมันเมล็ดขมิ้นขาวกับการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (กรกฎาคม-กันยายน), 25.
- ทันดาว ทองตัน. (2545). สาหร่ายในกระบวนการผลิตน้ำประปาที่โรงผลิตน้ำประปาสามเสน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร.
- ธีรพร กงบังเกิด. (2547). การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในกระบวนการแปรรูปอาหาร. มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.
- บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน). (2552). สาหร่ายพลังงานใหม่จากโลกใต้น้ำ. วารสารสื่อพลัง, 17(มกราคม-มีนาคม), 46-48.
- บานเย็น จันทราฤทธิกุล. (2534). ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณและการแพร่กระจายของสาหร่ายกับการใช้ประโยชน์ที่ดินบริเวณลุ่มน้ำมูล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- เบญจภรณ์ ประภักดี. (2551). จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม (*Environmental Microbiology*). นครปฐม: คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ปรีชา สุวรรณพินิจ และคณะ. (2542). ชีววิทยา2 (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ไพบรมา ยงมานิตชัย. (2546). สหรัยกับสารระที่น้ำรั. แหล่งที่มา: <http://www.ku.ac.th/e-magazine/july46/agri/seaweed.html>
- ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์. (2556). นักริชาการ ม.อ.วิจัยการสกัดน้ำมัน จากสาหร่ายขนาดเล็กโดยไม่ผ่านการอบแห้ง. แหล่งที่มา: <http://w08.psu.ac.th/node/2623>
- พิชญพล สงวนนวล. (2543). การศึกษากระบวนการทำให้ลอยด้วยอากาศที่ละลายน้ำเพื่อกำจัดสาหร่ายออกจากน้ำดิบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร.
- เพ็ญพิชญา เตียว. (2554). วิจัยน้ำมันใน 'สาหร่าย' หาค่าด้วยเทคนิคย้อมสีไนล์เรด. แหล่งที่มา: <https://www.thairath.co.th/content/edu/148716>
- ภัทริรา ผลงาม. (2550). การเลือกใช้สถิติในการวิเคราะห์ข้อมูล. 175-176.
- มรกต ตันติเจริญ. (2555). เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย: การวิจัยพัฒนาเพื่อการผลิตพลังงาน. แหล่งที่มา: <http://prp.trf.or.th/ContentView.aspx?id=163&page=1>
- มันลิน ตันจุลเวศม์. (2543). คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มาชะ เพ็ญทรงอาจ, ยุวเรศ เรืองพานิช และเสกสม อาตมางกูร. (2556). ผลของการเสริมสาหร่าย *Schizochytrium sp.* ต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่และปริมาณกรดไขมันโอเมก้า 3 ในไข่แดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาโภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. (2549). สาหร่ายวิทยา (*Phycology*) (พิมพ์ครั้งที่ 2). เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วิชมณี ยืนยงพุทธกาล. (2556). ปัจจัยที่มีผลต่อการดึงน้ำออกด้วยวิธีออสโมซิสของผักและผลไม้. ชลบุรี: ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สุเมธ บุญเกิด. (2550). การใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยสกัดพืชสมุนไพร. แหล่งที่มา: <http://www.gpo.or.th/rdi/html/Ultrasound.html>



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY



### ก-1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris*

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* (พิชญพล สงวนนวล, 2543) น้ำสาหร่ายสังเคราะห์ในงานวิจัยนี้ ใช้สาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ในการสังเคราะห์ โดยได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ก-1 สูตรอาหาร N-8

สารเคมี	ปริมาณ (มก. ต่อน้ำ 1000 มล.)
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	260.0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	740.0
Fe EDTA	10.0
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	50.0
KNO <sub>3</sub>	1000.0
Trace element*	1.0
Distilled water	1000.0
Trace element*	
Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> ·18H <sub>2</sub> O	3.58
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	12.98
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	1.83
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	3.20
Distilled water	1000.0

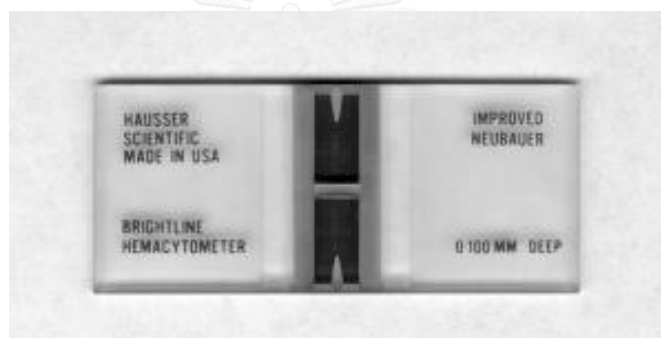
### ก-2 วิธีการเพาะเลี้ยง

นำหัวเชื้อ (Seed) สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 วัน จากนั้นถ่ายหัวเชื้อสาหร่ายลงในภาชนะที่บรรจุน้ำ อาหาร (N8) โดยใช้หัวเชื้อ 1 ส่วน ในน้ำ 10 ส่วน ภาชนะที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายในงานวิจัยนี้คือ ถังน้ำขนาด 5 ลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ตลอดเวลา และมีท่ออากาศจากเครื่องปั๊มอากาศจ่ายอากาศให้กับสาหร่ายที่เลี้ยงไว้ในถังแต่ละใบ

### ก-3 วิธีการนับเซลล์สาหร่าย

การวัดความเข้มข้นสาหร่ายโดยวิธีการนับเซลล์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากในการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตหรือปริมาณสาหร่าย เนื่องด้วยเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว โดยในการนับเซลล์สาหร่ายจะใช้ Haemocytometer counting chamber ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการนับเซลล์เม็ดเลือดแดง จึงสามารถประยุกต์มาใช้ในการนับจำนวนสาหร่ายเซลล์เดียว เช่น *Chlorella vulgaris* ซึ่งมีขนาดเซลล์ใกล้เคียงกับเซลล์เม็ดเลือดแดง

Haemocytometer counting chamber ในงานวิจัยนี้เป็นชนิด Neubauer improved bright-line ซึ่งทราบขนาดของช่องที่แน่นอน คือ  $0.0025 \text{ มม.}^2$  และมีความลึก  $0.100 \text{ มม.}$  โดยตัวอย่างของ Haemocytometer counting chamber และพื้นที่ตารางสำหรับนับเซลล์สาหร่าย แสดงดังรูปที่ ก.1 และ ก.2



รูปที่ ก.1 Haemocytometer counting chamber

#### ก-4 วิธีการใช้ Haemocytometer counting chamber

1. หยดตัวอย่างสารห่วยที่ต้องการนับจำนวนลงไป 1 หยด ในช่องใส่ตัวอย่าง (Load port) ของสไลด์ Hemacytometer ที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ ตัวอย่างสารห่วยจะกระจายไปทั่วตารางสี่เหลี่ยม
2. วางสไลด์ Hemacytometer ทิ้งไว้ 1 นาที เพื่อให้เซลล์สารห่วยจมลงสู่พื้นสไลด์
3. วางสไลด์ Hemacytometer บนแท่นกล้องจุลทรรศน์ ปรับกล้อง และเริ่มกำลังขยายจากต่ำไปสูง
4. นับเซลล์สารห่วยบนช่องสี่เหลี่ยมตรงกลาง (25 ช่องใหญ่ ซึ่งภายในมีตารางขนาดเล็กจำนวน 16 ช่อง)

#### หมายเหตุ :

- 1) ถ้าจำนวนเซลล์สารห่วยหนาแน่นสูง อาจสุ่มนับ 5 ช่อง แต่ผลที่ได้ต้องคูณ 5 หรือ สุ่มนับ 10 ช่อง ผลที่ได้ต้องคูณ 2.5
- 2) ถ้าเซลล์สารห่วยทับเส้นให้เลือกรับแบบใดแบบหนึ่งต่อไปนี้
  - ทับเส้นแนวนอน และเส้นแนวขวาให้นับ (ซ้าย-ล่าง ไม่นับ)
  - ทับเส้นแนวล่าง และเส้นแนวซ้ายให้นับ (ขวา-บน ไม่นับ)
5. ทำการนับจำนวนเซลล์สารห่วยทั้ง 2 ตาราง (สมมติทำการนับได้ n และ m เซลล์)

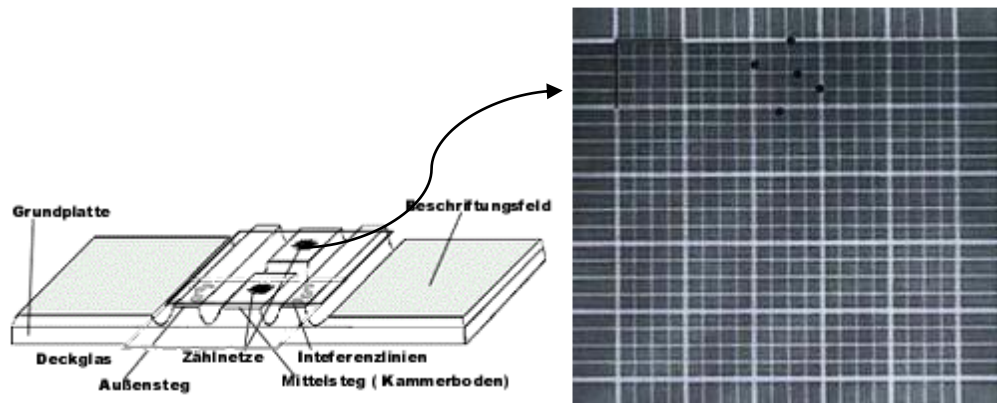
$$\text{ความเข้มข้นสารห่วย} = \frac{n+mm}{2} \times 10^4 \text{ เซลล์/มล.}$$

หรือคำนวณปริมาณสารห่วยจากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นสารห่วย/มล.} = \frac{CC \times 1000 \text{ มม.}^3}{AA \times DD \times FF}$$

เมื่อ	C	=	จำนวนสารห่วยที่นับได้
	A	=	พื้นที่ของ grids; 0.04 มม. <sup>2</sup>
	D	=	ความลึกของพื้นที่ที่นับ; 0.1 มม.
	F	=	จำนวนช่องหรือตารางที่นับ





รูปที่ ก.2 พื้นที่ตารางสำหรับนับเซลล์สำหรับ



### ตัวอย่างการนับเซลล์สำหรับ

ในตารางเล็กๆ 16 ตารางในตารางใหญ่	หมายเลข 1 นับสาหรัยได้ 50 เซลล์
	หมายเลข 2 นับสาหรัยได้ 28 เซลล์
	หมายเลข 3 นับสาหรัยได้ 42 เซลล์
	หมายเลข 4 นับสาหรัยได้ 71 เซลล์
	หมายเลข 5 นับสาหรัยได้ 35 เซลล์
	หมายเลข 6 นับสาหรัยได้ 43 เซลล์
	หมายเลข 7 นับสาหรัยได้ 54 เซลล์
	หมายเลข 8 นับสาหรัยได้ 19 เซลล์
	หมายเลข 9 นับสาหรัยได้ 22 เซลล์

ดังนั้น ใน 9 ตารางใหญ่ นับสาหรัยได้  $50+28+42+71+35+43+54+19+22 = 364$  เซลล์

เนื้อที่ในตารางใหญ่แต่ละตาราง =  $16/400$  ตารางมิลลิเมตร

ดังนั้น  $9 \times 16/400$  ตารางมิลลิเมตรมีสาหรัย = 354 เซลล์

ใน 1 ตารางมิลลิเมตรมีสาหรัย  $\frac{364 \times 1 \times 400}{9 \times 16} = \frac{145600}{144} = 1011$  เซลล์

Media มีความลึก = 0.1 มิลลิเมตร

ใน  $1 \times 0.1$  ลูกบาศก์มิลลิเมตรมีสาหรัย = 1011 เซลล์

ใน 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตรมีสาหรัย  $\frac{1011 \times 1}{1 \times 0.1} = 10110$  เซลล์

ใน 1 มล. (ลบ.ชม.) จะมีสาหรัย =  $10110 \times 10^3$  เซลล์

### ก-5 วิธีการวัดพลังงานอัลตราซาวด์

การวัดพลังงานอัลตราซาวด์ทำได้โดยการวัดพลังงานความร้อน (Calorimetric method) ใน น้ำที่ผ่านการอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงานที่แตกต่างกัน และต้องมั่นใจว่าตัวทรานสดิวส์เซอร์ไม่เกิดการ เสื่อมหรือสึกหรอที่จะเป็นผลต่อการศึกษาพลังงานอัลตราซาวด์ และทำการคำนวณความเข้ม (Intensity) ของพลังงานอัลตราซาวด์ในระบบ (วัดต่อมิลลิลิตร) โดยเครื่องมือที่ใช้ในการวัดอุณหภูมิ ในระบบอัลตราซาวด์คือ เทอร์โมคัปเปิล (Thermocouple) (Mason, 1999)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. อัลตราซาวด์แบบอ่าง
2. อัลตราซาวด์แบบโพรบ
3. เครื่องวัดอุณหภูมิ Thermocouple

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. ทำการวัดอุณหภูมิเริ่มต้นก่อนทำการอัลตราซาวด์
2. ทำการอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงานและระยะเวลาต่างๆ
3. วัดอุณหภูมิของน้ำที่เปลี่ยนไป โดยทั่วไปจะวัดอุณหภูมิของน้ำจวนกระทั่งอุณหภูมิของน้ำ ก่อนข้างคงที่

วิธีการคำนวณพลังงานอัลตราซาวด์ (Kikuchi และคณะ, 2011)

$$P = \left( \frac{\Delta T}{T_x} \right) C \times M$$

$$\Delta T = T_{\text{after}} - T_{\text{before}}$$

เมื่อ

- $\Delta T$  = อุณหภูมิน้ำที่เปลี่ยนไป
- $T_x$  = เวลาการเดินระบบอัลตราซาวด์
- $C$  = ค่าคงที่ความร้อนของน้ำ ( $3.18 \text{ Jg}^{-1}\text{K}^{-1}$ )
- $M$  = ปริมาตรน้ำ

### ก-6 การหาปริมาณเซลล์สาหร่ายแห้ง

การหาปริมาณเซลล์สาหร่ายแห้ง เป็นการหาน้ำหนักของเซลล์สาหร่ายจำนวนมาก ที่ไม่สามารถแยกเป็นจำนวนเซลล์สาหร่ายได้อย่างชัดเจน (Ai และคณะ, 2008)

#### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. กระจกกรอง GF/C ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.7 mm
2. ชุดเครื่องกรอง
3. บีกดูดอากาศ
4. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. โถดูดความชื้น

#### ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. อบกระจกกรอง GF/C ที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส
2. จากนั้นนำเข้าโถดูดความชื้น 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง เพื่อหาค่าน้ำหนักกระจกกรอง ก่อนนำมาทำการกรองเซลล์สาหร่าย
3. เตรียมตัวอย่างสาหร่ายที่มีความเข้มข้น  $1 \times 10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
4. กรองผ่านกระจกกรองที่ต่อกับบีกดูดอากาศ
5. อบกระจกกรองที่กรองเซลล์สาหร่ายแล้ว ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม.
6. จากนั้นนำเข้าโถดูดความชื้นเป็นระยะเวลา 1 วัน
7. ชั่งน้ำหนักกระจกกรองด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

#### วิธีคำนวณเซลล์สาหร่าย

$$\text{ปริมาณเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักกระจกกรองหลัง} - \text{น้ำหนักกระจกกรองก่อน}}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

### ก-7 การวิเคราะห์หาคลอรอโรฟิลล์ เอ

คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุสังเคราะห์แสงที่มีสีเขียว พบในแพลงก์ตอนพืชมีหลายชนิด โดยทั่วไปส่วนใหญ่จะเป็นคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์จะละลายได้ดีในไขมัน แต่ไม่ละลายในน้ำ คลอโรฟิลล์เอเป็นรงควัตถุ ที่ใช้ในการบ่งชี้ถึงปริมาณแพลงก์ตอนพืชในแหล่งน้ำ แต่จะมีรงควัตถุชนิดหนึ่งที่เรียกว่า ฟิโอฟิติน เอ (Phaeophytin a) เป็นคลอโรฟิลล์ เอ ที่สลายตัวไปแล้ว ดังนั้นในการวิเคราะห์หาคลอรอโรฟิลล์ เอ ฟิโอฟิติน เอ สามารถรบกวนการวิเคราะห์ค่าคลอโรฟิลล์ เอ ได้ เพราะสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นช่วงเดียวกับคลอโรฟิลล์เอ ดังนั้นเมื่อวัดคลอโรฟิลล์ เอ ควรทำการวิเคราะห์ฟิโอฟิติน เอ ที่ความยาวคลื่นช่วง 750 นาโนเมตร

การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์เอด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยการเตรียมตัวอย่างที่ Dilute แล้ว เทสารละลายลงใน Cuvette เทอย่างช้าๆ วัดจะทำการวัดที่ความยาวคลื่น 750, 663, 645 และ 630 นาโนเมตร เมื่อทำการวัดค่าการดูดแสงแล้ว ทำการคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ดังนี้

**การคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Strickland และคณะ, 1972)**

$$\text{คลอโรฟิลล์เอ (mg/ml)} = \frac{[11.64(\text{abs}663) - 2.16(\text{abs}645) + 0.10(\text{abs}630)] \times \text{Dilute factor}}{\text{Volume}}$$

เมื่อ	Volume	=	ปริมาณตัวอย่าง (ml)
	abs 630, 645, 663	=	ค่า abs ที่ปรับแก้ด้วยค่า abs 750 แล้ว
	Dilute factor	=	จำนวนเท่าของการเจือจางตัวอย่างด้วยตัวทำละลาย



ภาคผนวก ข

ผลการทดลองในแต่ละช่วงการทดลอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

#### ข้อมูลการทดลองที่ 4.1 ผลการศึกษาระดับพลังงานของการอัลตราซาวด์แบบอ่างและการอัลตราซาวด์แบบโพรบ

ตารางที่ ข.1 ข้อมูลของการวัดอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นของการอัลตราซาวด์แบบอ่าง

ระยะเวลา (วินาที)	ระดับพลังงาน (วัตต์)				
	0	80	100	120	150
30	26.4	26.4	26.5	26.5	26.5
60	26.4	26.5	26.5	26.6	27.6
120	26.4	26.5	26.6	26.8	27.8
180	26.4	26.6	26.8	27.6	28.6
240	26.4	26.8	27.2	28.2	28.9
300	26.4	27.0	27.3	28.4	29.3
360	26.4	27.1	27.6	28.6	29.7
420	26.4	27.2	27.9	28.6	29.8

การคำนวณพลังงานอัลตราซาวด์

$$P = \left( \frac{\Delta T}{T_x} \right) C \times M$$

$$\Delta T = T_{\text{after}} - T_{\text{before}}$$

เมื่อ

- $\Delta T$  = อุณหภูมิที่เปลี่ยนไป (เคลวิน)
- $T_x$  = เวลาการเดินระบบอัลตราซาวด์
- $C$  = ค่าคงที่ความร้อนของน้ำ (3.18 จูลต่อกรัมต่อเคลวิน)
- $M$  = มวลน้ำ

ระดับพลังงานที่ 80 วัตต์

$$\Delta T = 26.6 - 26.5 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{0.1}{180-120} = 0.00167$$

$$M = 9000 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 9000 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.00167 \times 3.18 \times 9000 = 47.7 \text{ วัตต์} = 0.00537 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$

ระดับพลังงานที่ 100 วัตต์

$$\Delta T = 26.8 - 26.5 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{0.3}{180-60} = 0.00250$$

$$M = 9000 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 9000 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.00250 \times 3.18 \times 9000 = 72 \text{ วัตต์} = 0.0080 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$

ระดับพลังงานที่ 120 วัตต์

$$\Delta T = 26.8 - 26.6 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{0.2}{120-60} = 0.00333$$

$$M = 9000 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 9000 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.00333 \times 3.18 \times 9000 = 95.4 \text{ วัตต์} = 0.0106 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$

ระดับพลังงานที่ 150 วัตต์

$$\Delta T = 27.8 - 27.6 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{0.2}{120-60} = 0.00333$$

$$M = 9000 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 9000 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.00333 \times 3.18 \times 9000 = 95.4 \text{ วัตต์} = 0.0106 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$



ตารางที่ ข.2 ข้อมูลของการวัดอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นของการอัลตราซาวด์แบบโพรบ

ระดับพลังงาน (วัตต์)	ระยะเวลา (วินาที)					
	30	60	120	180	240	300
0	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2
26	26.2	26.2	26.2	26.3	26.9	27.5
39	26.3	26.6	27.2	27.6	28.2	28.8
52	26.4	26.9	27.7	28.3	28.9	29.0
65	26.5	27.3	29.3	29.9	30.5	31.5
78	26.7	27.9	29.2	30.3	31.2	32.2
91	27.3	29.1	30.2	32.1	33.2	33.8
104	27.4	29.9	31.5	33.0	33.9	34.3

การคำนวณระดับพลังงานของการอัลตราซาวด์

$$P = \left( \frac{\Delta T}{T_x} \right) C \times M$$

$$\Delta T = T_{\text{after}} - T_{\text{before}}$$

เมื่อ

$\Delta T$  = อุณหภูมิที่เปลี่ยนไป (เคลวิน)

$T_x$  = เวลาการเดินระบบอัลตราซาวด์

$C$  = ค่าคงที่ความร้อนของน้ำ (3.18 จูลต่อกรัมต่อเคลวิน)

$M$  = ปริมาณน้ำ

ระดับพลังงานที่ 26 วัตต์

$$\Delta T = 26.3 - 26.2 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{0.1}{180-60} = 0.00750$$

$$M = 50 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 50 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.01500 \times 3.18 \times 50 = 1.2 \text{ วัตต์} = 0.0238 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$

ระดับพลังงานที่ 39 วัตต์

$$\Delta T = 26.6 - 26.3 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{0.3}{60-30} = 0.01000$$

$$M = 50 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 50 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.01000 \times 3.18 \times 50 = 1.59 \text{ วัตต์} = 0.0318 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$

ระดับพลังงานที่ 52 วัตต์

$$\Delta T = 26.9 - 26.4 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{0.5}{60-30} = 0.01667$$

$$M = 50 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 50 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.01667 \times 3.18 \times 50 = 2.65 \text{ วัตต์} = 0.053 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$

ระดับพลังงานที่ 65 วัตต์

$$\Delta T = 27.3 - 26.5 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{0.8}{120-60} = 0.02667$$

$$M = 50 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 50 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.02667 \times 3.18 \times 50 = 4.24 \text{ วัตต์} = 0.0848 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$

ระดับพลังงานที่ 78 วัตต์

$$\Delta T = 27.9 - 26.7 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{1.2}{60-30} = 0.04000$$

$$M = 50 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 50 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.04000 \times 3.18 \times 50 = 6.36 \text{ วัตต์} = 0.1272 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$

ระดับพลังงานที่ 91 วัตต์

$$\Delta T = 29.1 - 27.3 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{1.8}{60-30} = 0.06000$$

$$M = 50 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 50 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.06000 \times 3.18 \times 50 = 9.54 \text{ วัตต์} = 0.1908 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$

ระดับพลังงานที่ 104 วัตต์

$$\Delta T = 29.9 - 27.4 \text{ องศาเซลเซียส} = \frac{2.5}{60-30} = 0.08333$$

$$M = 50 \text{ มิลลิลิตร} \times 1 \text{ (ความหนาแน่นน้ำ กรัมต่อมิลลิลิตร)} = 50 \text{ กรัม}$$

$$P = 0.08333 \times 3.18 \times 50 = 13.25 \text{ วัตต์} = 0.2650 \text{ วัตต์ต่อมิลลิลิตร}$$

ข้อมูลการทดลองที่ 4.2 ผลการหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* เพื่อการจำนวนวันเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่นำไปใช้ในการสกัดน้ำมัน

ตารางที่ ข.1 ผลการหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

วันที่	จำนวนเซลล์สาหร่าย ( $\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร )
0	102
1	166
2	585
3	1430
4	1650
5	1755
6	1745
7	1740
8	1710

**ข้อมูลการทดลองที่ 4.4 ผลการศึกษาาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบอ่าง โดยการนับเซลล์สาหร่ายแตก หลังการอัลตราซาวด์แบบอ่าง**

ตารางที่ ข.2 จำนวนเซลล์สาหร่ายที่สมบูรณ์ก่อนการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สาหร่ายสมบูรณ์ก่อนอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
5 นาที					
80	-	-	-	-	-
100	9.991	9.980	9.995	9.989	0.008
120	10.036	10.053	10.026	10.038	0.014
150	10.02	10.013	10.013	10.0153	0.004

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สาหร่ายสมบูรณ์ก่อนอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
10 นาที					
80	-	-	-	-	-
100	10.021	10.028	10.014	10.021	0.007
120	9.981	10.009	9.990	9.993	0.014
150	10.046	10.048	10.053	10.049	0.004

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สำหรับยีสหมูร์นก่อนอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
20 นาที					
80	-	-	-	-	-
100	10.010	10.019	10.012	10.013	0.005
120	9.990	9.998	10.01	9.998	0.010
150	9.999	10.011	10.016	10.009	0.009

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สำหรับยีสหมูร์นก่อนอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
30 นาที					
80	10.003	10.019	10.026	10.016	0.012
100	10.030	10.007	10.012	10.016	0.012
120	9.980	9.992	9.993	9.988	0.007
150	10.008	9.989	9.989	9.995	0.011

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สำหรับยีสหมูร์นก่อนอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
40 นาที					
80	10.020	10.010	10.023	10.018	0.007
100	10.001	10.03	10.023	10.018	0.015
120	9.990	10.003	10.012	10.002	0.011
150	10.009	9.998	10.004	10.004	0.006

ตารางที่ ข.3 จำนวนเซลล์สาหร่ายที่สมบูรณ์ ก่อนการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์  
ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สาหร่ายสมบูรณ์ก่อนอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ระยะเวลา (นาที)				
	5	10	20	30	40
80	-	-	-	10.016	10.018
100	9.989	10.021	10.013	10.016	10.018
120	10.035	9.993	9.9984	9.988	10.002
150	10.015	10.049	10.009	9.995	10.004

ตารางที่ ข.4 จำนวนเซลล์สำหรับยีสที่สมบูรณ์ หลังการอัลตราซาวด์แบบอย่างที่มีความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สำหรับยีสที่สมบูรณ์หลังอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
5 นาที					
80	-	-	-	-	-
100	9.818	9.813	9.825	9.819	0.006
120	9.740	9.751	9.763	9.751	0.012
150	9.523	9.551	9.56	9.545	0.019

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สำหรับยีสที่สมบูรณ์หลังอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
10 นาที					
80	-	-	-	-	-
100	9.498	9.520	9.534	9.517	0.018
120	9.205	9.210	9.197	9.204	0.007
150	8.769	8.757	8.762	8.763	0.006



ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สำหรับรายสมบูรณ์หลังอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
20 นาที					
80	-	-	-	-	-
100	9.295	9.275	9.284	9.285	0.010
120	8.490	8.519	8.487	8.499	0.018
150	6.915	6.905	6.919	6.913	0.007

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สำหรับรายสมบูรณ์หลังอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
30 นาที					
80	9.848	9.830	9.840	9.839	0.009
100	8.990	8.995	9.012	8.999	0.012
120	8.014	8.011	8.016	8.014	0.003
150	6.713	6.732	6.735	6.727	0.012

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สำหรับรายสมบูรณ์หลังอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
40 นาที					
80	9.130	9.149	9.142	9.140	0.010
100	8.301	8.323	8.312	8.312	0.011
120	7.815	7.825	7.834	7.825	0.010
150	6.304	6.308	6.315	6.309	0.006

ตารางที่ ข.5 จำนวนเซลล์สำหรับยีสี่สมบูรณ์ หลังการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระดับ พลังงาน	จำนวนเซลล์สำหรับยีสี่สมบูรณ์หลังอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ระยะเวลา (นาที)				
	5	10	20	30	40
80	-	-	-	9.839	9.140
100	9.819	9.517	9.285	8.999	8.312
120	9.751	9.204	8.499	8.014	7.825
150	9.545	8.763	6.913	6.727	6.309

ตารางที่ ข.6 จำนวนเซลล์สำหรับยีสี่ที่แตก หลังการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระดับ พลังงาน	จำนวนเซลล์สำหรับยีสี่ที่แตกหลังอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	ระยะเวลา (นาที)				
	5	10	20	30	40
80	0.000	0.000	0.000	0.177	0.878
100	0.170	0.504	0.728	1.017	1.706
120	0.284	0.789	1.499	1.974	2.177
150	0.470	1.286	3.096	3.268	3.695

**ข้อมูลการทดลองที่ 4.5 ผลการศึกษาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบอ่าง  
โดยการชั่งน้ำหนักของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ หลังการอัลตราซาวด์แบบอ่าง**

ตารางที่ ข.7 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ หลังการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์ ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สำหรับ)				
	0	80	100	120	150
0	-	0.0	0.0	0.0	0.0
5	0.0	-	3.8	4.2	5.4
10	0.0	-	5.0	5.7	7.2
20	0.0	-	5.6	8.9	14.1
30	0.0	4.2	6.0	9.8	15.7
40	0.0	5.8	9.3	10.5	17.3

ข้อมูลการทดลองที่ 4.6 ผลการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันที่  $C_{14}$ - $C_{22}$  ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์แบบอย่างที่ระดับพลังงาน 80, 100, 120 และ 150 วัตต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

ตารางที่ ข.8 องค์ประกอบของกรดไขมันที่  $C_{14}$  ในน้ำมันที่สกัดได้

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณกรดไขมันที่ $C_{14}$ (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สำหรับ)				
	0	80	100	120	150
0	-	-	-	-	-
5	-	-	ND	0.07	0.08
10	-	-	ND	0.08	0.09
20	-	-	0.07	0.18	0.08
30	-	ND	0.08	0.22	0.11
40	-	0.1	0.08	0.08	0.08

ตารางที่ ข.9 องค์ประกอบของกรดไขมันที่  $C_{16}$  ในน้ำมันที่สกัดได้

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณกรดไขมันที่ $C_{16}$ (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สำหรับ)				
	0	80	100	120	150
0	-	-	-	-	-
5	-	-	0.26	0.39	0.75
10	-	-	0.29	0.40	0.88
20	-	-	0.33	1.66	1.77
30	-	0.2	0.33	1.80	2.56
40	-	0.3	0.52	0.50	0.31

ตารางที่ ข.10 องค์ประกอบของกรดไขมันที่  $C_{18}$  ในน้ำมันที่สกัดได้

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณกรดไขมันที่ $C_{18}$ (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่าย)				
	0	80	100	120	150
0	-	-	-	-	-
5	-	-	1.39	1.58	2.09
10	-	-	1.44	1.68	2.20
20	-	-	1.53	2.34	2.56
30	-	1.28	1.54	4.13	4.43
40	-	1.48	1.75	1.69	1.55

ตารางที่ ข.11 องค์ประกอบของกรดไขมันที่  $C_{19}$  ในน้ำมันที่สกัดได้

ระยะเวลา (นาทีก)	ปริมาณกรดไขมันที่ $C_{19}$ (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่าย)				
	0	80	100	120	150
0	-	-	-	-	-
5	-	-	0.21	0.29	0.32
10	-	-	0.24	0.32	0.41
20	-	-	0.24	1.27	0.28
30	-	0.16	0.28	1.51	0.39
40	-	0.24	0.24	0.33	0.26

ตารางที่ ข.12 องค์ประกอบของกรดไขมันที่  $C_{20}$  ในน้ำมันที่สกัดได้

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณกรดไขมันที่ $C_{20}$ (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่าย)				
	0	80	100	120	150
0	-	-	-	-	-
5	-	-	0.06	0.07	0.12
10	-	-	0.08	0.08	0.14
20	-	-	0.07	0.25	0.07
30	-	0.06	0.08	0.14	0.10
40	-	0.07	0.08	0.10	0.07

ตารางที่ ข.13 องค์ประกอบของกรดไขมันที่  $C_{22}$  ในน้ำมันที่สกัดได้

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณกรดไขมันที่ $C_{22}$ (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่าย)				
	0	80	100	120	150
0	-	-	-	-	-
5	-	-	0.08	0.07	0.08
10	-	-	0.08	0.08	0.11
20	-	-	0.07	0.07	0.11
30	-	0.07	0.15	0.07	0.12
40	-	0.05	0.13	0.05	0.07

ตารางที่ ข.14 องค์ประกอบของกรดไขมันรวมที่ C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> ในน้ำมันที่สกัดได้

ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณกรดไขมันรวม C <sub>14</sub> -C <sub>22</sub> (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สาหร่าย)				
	0	80	100	120	150
0	-	-	-	-	-
5	-	-	1.99	2.47	3.43
10	-	-	2.13	2.64	3.83
20	-	-	2.31	5.76	4.87
30	-	1.80	2.46	7.87	7.73
40	-	2.21	2.79	2.75	2.34

ข้อมูลการทดลองที่ 4.7 ผลการศึกษาในระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบโพรบ  
โดยการนับเซลล์สำหรับรายแตกหลังการอัลตราซาวด์แบบโพรบ

ตารางที่ ข.15 จำนวนเซลล์สำหรับรายที่สมบูรณ์ ก่อนการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์  
ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที

ระดับ พลังงาน	จำนวนเซลล์สำหรับรายสมบูรณ์ก่อนอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิเมตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD
26	10.043	9.995	9.996	10.011	0.028
39	9.996	10.028	9.999	10.008	0.018
52	10.008	10.000	10.004	10.004	0.004
65	10.005	10.004	10.001	10.003	0.002
78	10.003	9.998	9.999	10.000	0.003
91	9.997	10.007	10.002	10.002	0.005
104	10.000	10.004	10.004	10.003	0.002

ตารางที่ ข.16 จำนวนเซลล์สำหรับรายที่สมบูรณ์ หลังการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์  
ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที

ระดับ พลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สำหรับรายสมบูรณ์หลังอัลตราซาวด์ ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิเมตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD
26	6.486	6.465	6.460	6.470	0.013
39	6.023	5.965	6.000	5.996	0.029
52	5.833	5.870	5.851	5.851	0.019
65	5.413	5.490	5.355	5.419	0.068
78	5.214	5.326	5.272	5.271	0.056
91	3.899	3.902	3.882	3.894	0.011
104	2.418	2.448	2.444	2.437	0.016



ตารางที่ ข.17 จำนวนเซลล์สาหร่ายที่แตก หลังการอัลตราซาวด์แบบอย่างที่มีความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที

ระดับพลังงาน (วัตต์)	จำนวนเซลล์สาหร่าย ( $\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)		
	ก่อนอัลตราซาวด์ (เซลล์สมบูรณ์)	หลังอัลตราซาวด์ (เซลล์สมบูรณ์)	เซลล์สาหร่าย ที่แตก
26	10.011	6.470	3.541
39	10.008	5.996	4.012
52	10.004	5.851	4.153
65	10.003	5.419	4.584
78	10.000	5.271	4.729
91	10.002	3.894	6.108
104	10.003	2.437	7.566

ข้อมูลการทดลองที่ 4.8 ผลการศึกษาระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์แบบโพรบ  
โดยการชั่งน้ำหนักของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ หลังการอัลตราซาวด์แบบโพรบ

ตารางที่ ข.18 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ หลังการอัลตราซาวด์แบบอ่างที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับ  
พลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที

ระดับพลังงาน	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สำหรับ)
0	-
26	15.2
39	16.2
52	19.2
65	22.8
78	43.6
91	53.8
104	64.9

ข้อมูลการทดลองที่ 4.9 ผลการศึกษาขององค์ประกอบของกรดไขมันที่  $C_{14}$ - $C_{22}$  ในน้ำมันที่สกัดได้จากการอัลตราซาวด์แบบโพรบที่ระดับพลังงาน 26, 39, 52, 65, 78, 91 และ 104 วัตต์ % ระยะเวลา 10 นาที โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

ตารางที่ ข.19 องค์ประกอบของกรดไขมันที่  $C_{14}$  ในน้ำมันที่สกัดได้

ระดับพลังงาน (วัตต์)	ปริมาณกรดไขมันที่ $C_{14}$ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย)
0	-
26	0.57
39	0.58
52	0.80
65	0.93
78	1.15
91	1.49
104	2.00

ตารางที่ ข.20 องค์ประกอบของกรดไขมันที่  $C_{16}$  ในน้ำมันที่สกัดได้

ระดับพลังงาน (วัตต์)	ปริมาณกรดไขมันที่ $C_{16}$ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย)
0	-
26	1.57
39	2.10
52	2.63
65	2.38
78	6.80
91	22.21
104	24.61

ตารางที่ ข.21 องค์ประกอบของกรดไขมันที่ C<sub>18</sub> ในน้ำมันที่สกัดได้

ระดับพลังงาน (วัตต์)	ปริมาณกรดไขมันที่ C <sub>18</sub> (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สหาร่าย)
0	-
26	0.57
39	0.53
52	0.58
65	0.77
78	1.23
91	1.54
104	3.10

ตารางที่ ข.22 องค์ประกอบของกรดไขมันที่ C<sub>19</sub> ในน้ำมันที่สกัดได้

ระดับพลังงาน (วัตต์)	ปริมาณกรดไขมันที่ C <sub>19</sub> (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สหาร่าย)
0	-
26	2.60
39	2.34
52	3.06
65	3.18
78	7.07
91	7.62
104	2.89

ตารางที่ ข.23 องค์ประกอบของกรดไขมันที่ C<sub>20</sub> ในน้ำมันที่สกัดได้

ระดับพลังงาน (วัตต์)	ปริมาณกรดไขมันที่ C <sub>20</sub> (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สหาร่าย)
0	-
26	2.41
39	2.24
52	2.59
65	3.67
78	6.56
91	7.10
104	2.89

ตารางที่ ข.24 องค์ประกอบของกรดไขมันที่ C<sub>22</sub> ในน้ำมันที่สกัดได้

ระดับพลังงาน (วัตต์)	ปริมาณกรดไขมันที่ C <sub>22</sub> (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สหาร่าย)
0	-
26	2.86
39	2.63
52	2.85
65	5.50
78	11.38
91	4.91
104	1.64

ตารางที่ ข.25 องค์ประกอบของกรดไขมันรวมที่ C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> ในน้ำมันที่สกัดได้

ระดับพลังงาน (วัตต์)	ปริมาณกรดไขมันรวมที่ C <sub>14</sub> -C <sub>22</sub> (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สหาร่าย)
0	-
26	10.01
39	10.46
52	11.36
65	16.19
78	32.96
91	43.33
104	34.04

**ข้อมูลการทดลองที่ 4.10 ผลการศึกษาปริมาณน้ำมันจากสาหร่ายที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับ Ultrasound**

ตารางที่ ข.26 ปริมาณน้ำมันจากสาหร่ายที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับ Ultrasound

วิธีมาตรฐาน	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย)
Soxhlet	74.1
Bligh and Dyer	102.4
Bligh and Dyer + Ultrasound	119.6



ข้อมูลการทดลองที่ 4.11 ผลการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันที่ C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> ในน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับ Ultrasound

ตารางที่ ข.27 ปริมาณกรดไขมัน C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> ในน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet

กรดไขมัน	ปริมาณกรดไขมัน (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สำหรับ)
C <sub>14</sub>	1.45
C <sub>16</sub>	50.41
C <sub>18</sub>	4.66
C <sub>19</sub>	2.09
C <sub>20</sub>	0.86
C <sub>22</sub>	0.48

ตารางที่ ข.27 ปริมาณกรดไขมัน C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> ในน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี Bligh and Dyer

กรดไขมัน	ปริมาณกรดไขมัน (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สำหรับ)
C <sub>14</sub>	2.37
C <sub>16</sub>	70.89
C <sub>18</sub>	7.02
C <sub>19</sub>	2.93
C <sub>20</sub>	1.65
C <sub>22</sub>	0.69



ตารางที่ ข.28 ปริมาณกรดไขมัน  $C_{14}$ - $C_{22}$  ในน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับ Ultrasound

กรดไขมัน	ปริมาณกรดไขมัน (มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์สำหรับ)
$C_{14}$	3.36
$C_{16}$	78.39
$C_{18}$	8.60
$C_{19}$	4.15
$C_{20}$	2.63
$C_{22}$	0.68

ข้อมูลการทดลองที่ 4.12 ผลการศึกษาปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  จากสาหร่ายด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับ Ultrasound โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

ตารางที่ ข.29 ปริมาณกรดไขมันรวม  $C_{14}$ - $C_{22}$  จากสาหร่ายที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet วิธี Bligh and Dyer และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับ Ultrasound

วิธีมาตรฐาน	ปริมาณกรดไขมันรวม $C_{14}$ - $C_{22}$ สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์สาหร่าย)
Soxhlet	59.95
Bligh and Dyer	85.55
Bligh and Dyer ร่วมกับ Ultrasound	97.80

ข้อมูลการทดลองที่ 4.14 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (มิลลิกรัม) ในน้ำมันที่สกัดได้จากอัลตราซาวด์แบบอ่าง อัลตราซาวด์แบบโพรบ และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง

ตารางที่ ข.30 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 663, 645 และ 630 nm

วิธีการสกัด	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง		
	663 nm	645 nm	630 nm
อัลตราซาวด์แบบอ่าง	0.001	0.001	0.001
อัลตราซาวด์แบบโพรบ	0.003	0.005	0.001
Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง	0.010	0.020	0.005

หมายเหตุ ดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ทำการ Dilute ตัวอย่าง 25 เท่า จากตัวอย่างในสารละลายคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร

ตารางที่ ข.31 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (มิลลิกรัม) ในน้ำมันที่สกัดด้วยวิธีอัลตราซาวด์แบบอ่าง อัลตราซาวด์แบบโพรบ และวิธี Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง

วิธีการสกัด	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (มิลลิกรัม)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อกรัม เซลล์สำหรับแห้ง)
อัลตราซาวด์แบบอ่าง	1.3	17.3
อัลตราซาวด์แบบโพรบ	3.2	64.9
Bligh and Dyer ร่วมกับอัลตราซาวด์แบบอ่าง	9.8	119.6



ภาคผนวก ค

กราฟมาตรฐาน และโครมาโทแกรมของกรดไขมัน

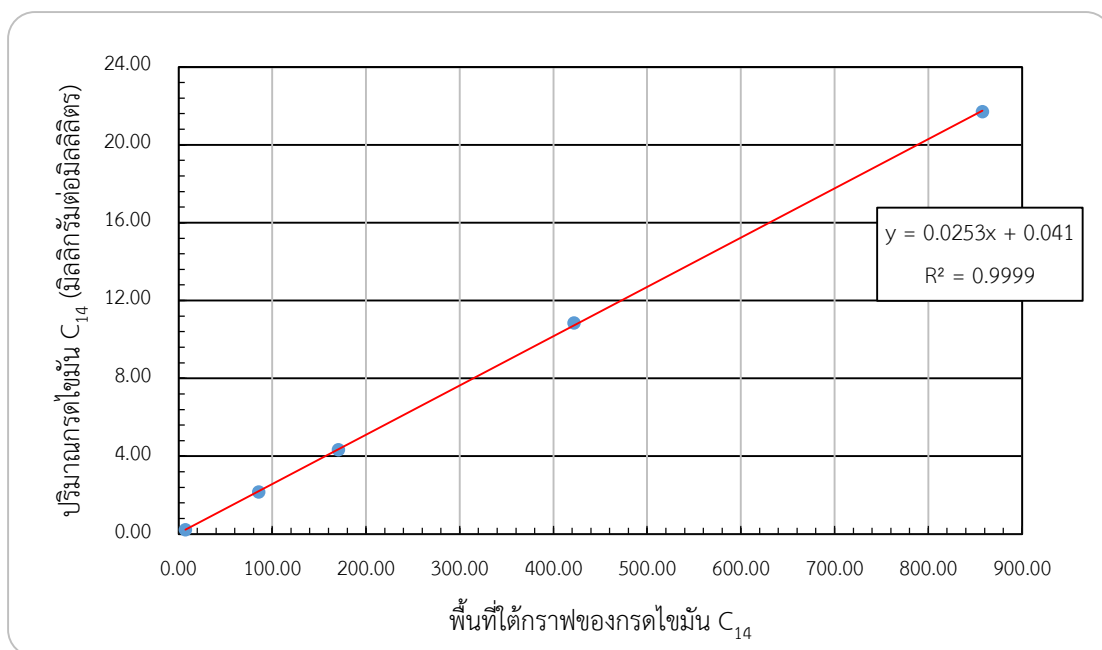
(Fatty Acid Methyl Ester) C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub>

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

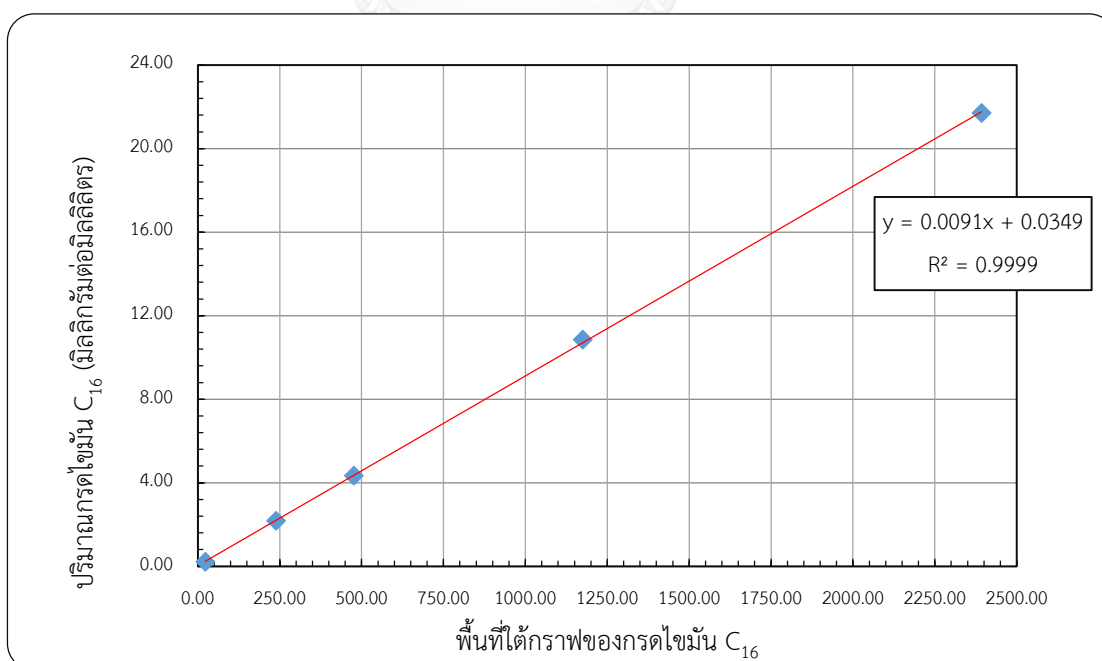
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน (Fatty Acid Methyl Ester) C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub>

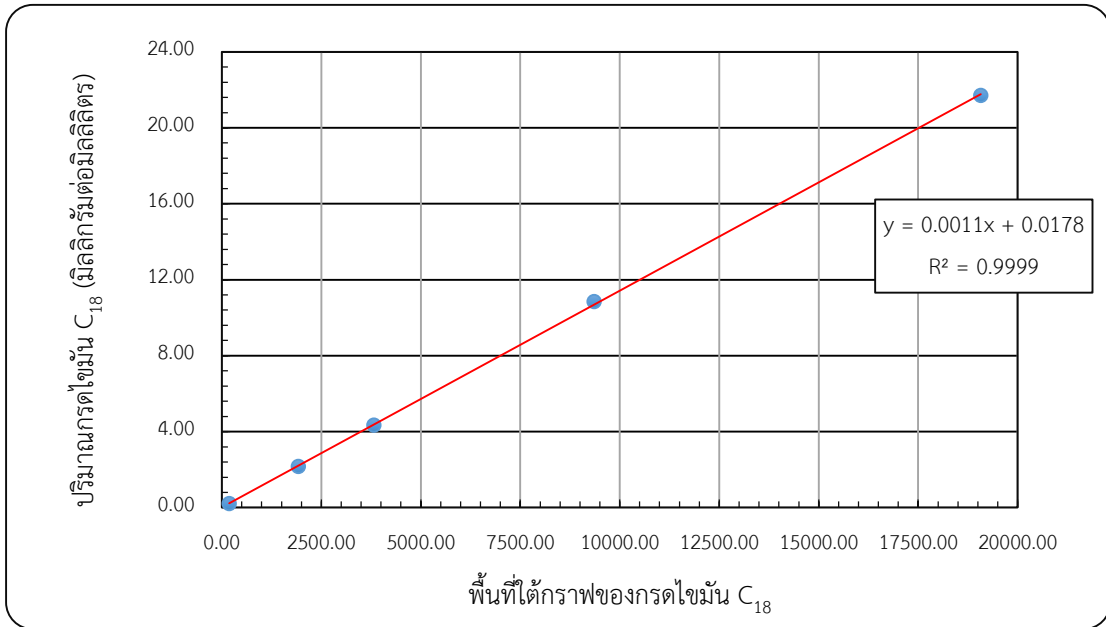
### 1. กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C<sub>14</sub>



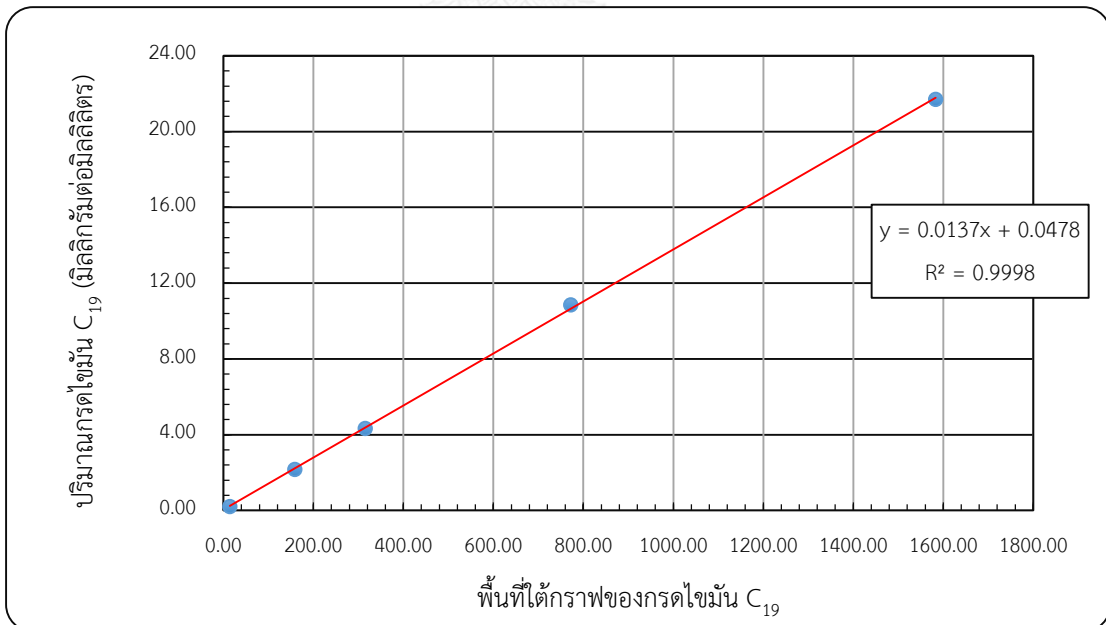
### 2. กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C<sub>16</sub>



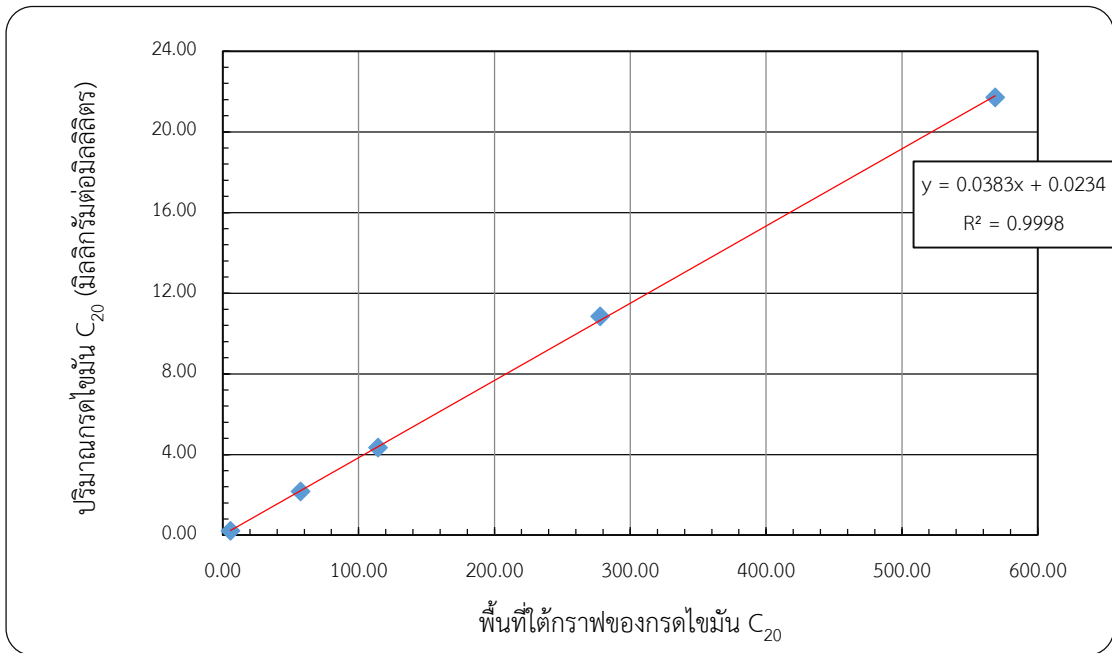
### 3. กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C<sub>18</sub>



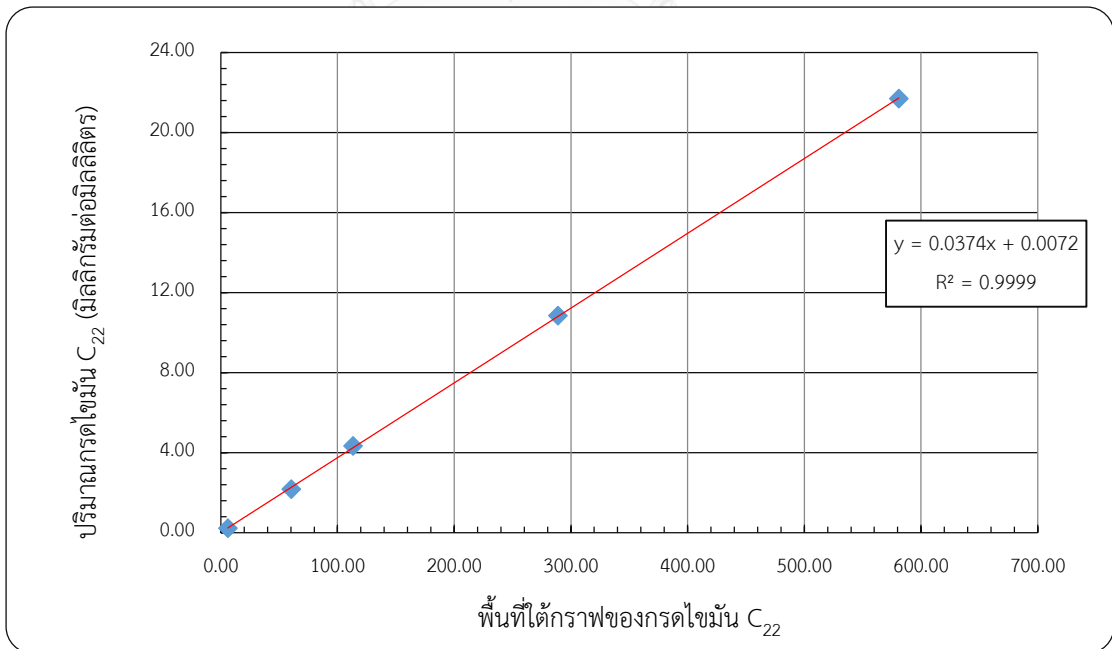
### 4. กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C<sub>19</sub>



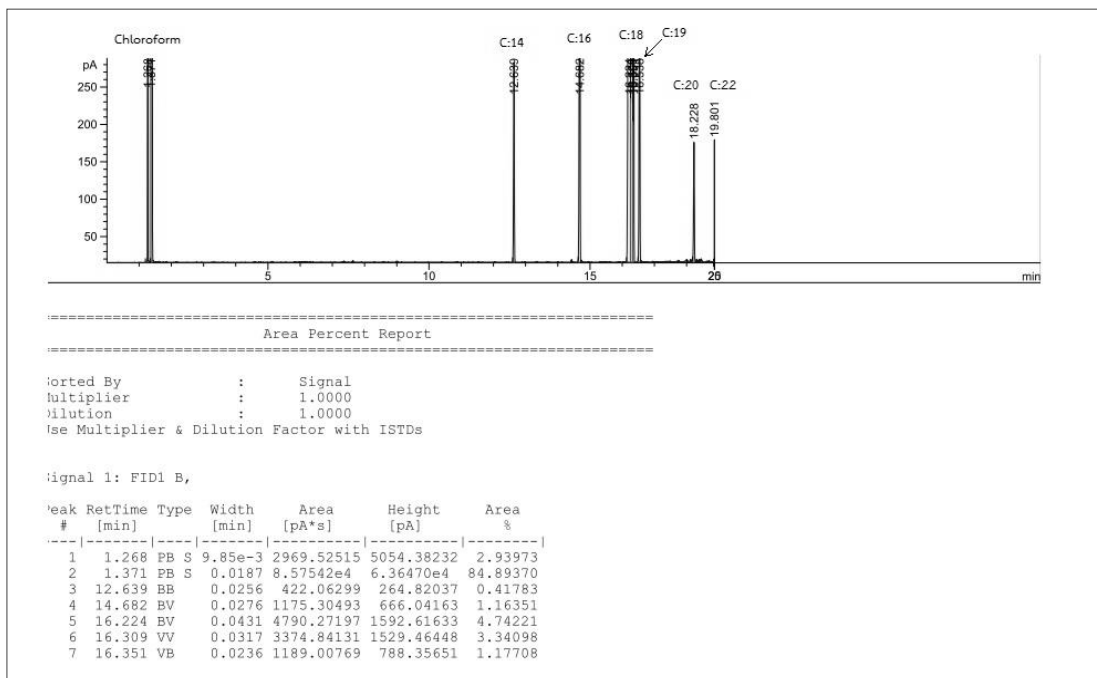
### 5. กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C<sub>20</sub>



### 6. กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน C<sub>22</sub>



## ตัวอย่างโครมาโทแกรมกรดไขมัน (Fatty Acid Methyl Ester) C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub>





### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววนากานต์ เร่งเพียร เกิดเมื่อวันที่ 21 ธันวาคม 2532 ที่จังหวัดพิษณุโลก สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปีการศึกษา 2554 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2555

การเผยแพร่งานวิจัย

การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 7 (The 7th National Conference on Algae and plankton) วันที่ 25-27 มีนาคม 2558 ณ โรงแรมนารายณ์ กรุงเทพมหานคร เรื่อง การใช้อัลตราซาวด์ในการทำลายผนังเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* เพื่อสกัดน้ำมัน



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY