

การประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยสกัดไขมันจากสาหร่ายและแนวทางการนำสาหร่ายหลังการ  
สกัดมาใช้ประโยชน์



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

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

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม  
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2558  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Application of ultrasound for lipid extraction from algae and usage of extracted algae

Mr. Rungrot Sripnum



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 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยสกัดไขมันจาก  
สาหร่ายและแนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดมาใช้  
ประโยชน์

โดย

นายรุ่งโรจน์ ศรีภูมิ

สาขาวิชา

วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอนงค์ ลาภปริสุทธิ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิชญ รัชฎาวงศ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอนงค์ ลาภปริสุทธิ)

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.เขมรัฐ โอสถาปนิจ)

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปฎิภาณ ปัญญาพลกุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ดร.ทรงเกียรติ ภัทรปัทมาวงศ์)

รุ่งโรจน์ ศรีภูมิ : การประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยสกัดไขมันจากสาหร่ายและแนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดมาใช้ประโยชน์ (Application of ultrasound for lipid extraction from algae and usage of extracted algae) อ.ที่ปริกษาวิทยาพนธ์หลัก: ผศ. ดร.อรอนงค์ ลาภปริสุทธิ, 142 หน้า.

งานวิจัยนี้ทำการประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดไขมันจากสาหร่าย และศึกษาแนวโน้มการนำสาหร่ายหลังการสกัดมาใช้ประโยชน์ โดยศึกษาการสกัดไขมันจากสาหร่าย 2 ชนิด คือ *Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus obliquus* ด้วยอัลตราซาวด์ชนิดโพรบที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ที่ระดับพลังงานและระยะเวลาต่างๆ โดยพบว่าปริมาณไขมันที่สกัดได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระดับพลังงานและระยะเวลาในการอัลตราซาวด์ สำหรับสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจาก *C. vulgaris* คือ ที่ระดับพลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 3 นาที ได้ปริมาณไขมัน 0.166 กรัม/กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง และสำหรับ *S. obliquus* คือที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ได้ปริมาณไขมัน 0.040 กรัม/กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง เมื่อพิจารณาปริมาณกรดไขมันรวม (C12-C22) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับ *C. vulgaris* คือ ที่พลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 5 นาที พบกรดไขมัน 68.98 มิลลิกรัม/กรัมสาหร่ายแห้ง และสำหรับ *S. obliquus* คือที่พลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 15 นาที พบกรดไขมันเท่ากับ 74.20 มิลลิกรัม/กรัมสาหร่ายแห้ง เมื่อวัดปริมาณไขมันคงเหลือในกากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh และ Dyer พบปริมาณไขมันในกากสาหร่าย *C. vulgaris* ในช่วง 0.047-0.187 กรัม/กรัมเซลล์สาหร่ายแห้งและ ในกากสาหร่าย *S. obliquus* ในช่วง 0.050-0.136 กรัม/กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง เมื่อศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์ของกากสาหร่าย โดยวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งตรวจพบเฉพาะใน *S. obliquus* และตรวจพบปริมาณโปรตีนใน *C. vulgaris* และ *S. obliquus* ในช่วง 40.28-44.15 และ 39.94-44.73 กรัม/100กรัมสาหร่ายแห้งตามลำดับ

ภาควิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2558

# # 5670354621 : MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEYWORDS: ULTRASOUND, LIPID EXTRACTION, ALGAE

RUNGROT SRIPHUM: Application of ultrasound for lipid extraction from algae and usage of extracted algae. ADVISOR: ASST. PROF.ON-ANONG LARPPARISUDTHI, Ph.D., 142 pp.

This research focused on application of ultrasound for lipid extraction from algae and potential of using extracted algae. *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* were used in this research. Ultrasound extraction was investigated by using a 20 kHz ultrasound probe at different power and sonication time. It was found that the amount of extracted lipids increased with the increase of power and sonication time. For *C. vulgaris* , 0.166 g lipid/g dried algae was found at optimal conditions, which were at 80 percent and 3 minute sonication time. For *S. obliquus*, 0.040 g lipid/g dried algae was found at 40 percent with 1 minute sonication. When considered the total fatty acids (C12-C22), the optimal conditions for *C. vulgaris* were at 100 percent for 5 minutes with the total lipids of 68.98 mg fatty acids/g dried algae and for *S. obliquus*, the conditions were at 40 percent and 15 minutes with the lipids of 74.20 mg fatty acids/g dried algae. When compared the remained lipids using Bligh and Dyer’s method, 0.047-0.187 g lipid/g dried algae was found in extracted *C. vulgaris* and 0.050-0.136 g lipid/g dried algae was found in extracted *S. obliquus*. Extracted algae sample was analyzed for antioxidant and only found in *S. obliquus*. The amount of protein in extracted *S. obliquus* and *C. vulgaris* were 40.28-44.15 and 39.94-44.73 g/100 g dried algae, respectively.

Department: Environmental  
Engineering

Student's Signature .....  
Advisor's Signature .....

Field of Study: Environmental  
Engineering

Academic Year: 2015

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอนงค์ ลาภปริสุทธิ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้คำปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ทุกขั้นตอน อบรมสั่งสอน และให้ความรู้ คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ตลอดจนแนะแนวทางหลักการทำงานและทุนทรัพย์ในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ตลอดมา

ขอขอบพระคุณประธานการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิชญ รัชฎาวงศ์ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.เขมรัฐ โอสถาปนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ปฏิภาณ ปัญญาพกุล และกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกมหาวิทยาลัย อาจารย์ ดร.ทรงเกียรติ ภัทรปัทมาวงศ์ ที่ได้ให้เกียรติและสละเวลาในการสอบวิทยานิพนธ์ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ ทำให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ บุคลากรภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ที่ให้ความรู้ และคำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์

ขอขอบพระคุณภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และเครื่องมือในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสาร และของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่ให้ความอนุเคราะห์หัวข้อสำหรับ

ขอขอบคุณ พี่ๆ พี่ๆ และ น้องๆ ที่คอยช่วยเหลือ แนะนำแนวทางการแก้ปัญหาในการทำงานวิจัย

และสุดท้ายนี้ขอบคุณ มารดา และ บิดา ที่สนับสนุนในทุกๆเรื่อง

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญรูป .....	ฐ
สารบัญตาราง.....	ฒ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ .....	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย .....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	4
2.1 สาหร่าย .....	4
2.2 <i>Chlorella sp.</i> .....	5
2.3 <i>Scenedesmus sp.</i> .....	10
2.4 ประเภทของบ่อเลี้ยงสาหร่าย .....	12
2.5 การเก็บเกี่ยวสาหร่ายหลังจากการเพาะเลี้ยง .....	16
2.6 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย.....	18
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์.....	20
2.8 คลื่นอัลตราซาวด์ .....	21
2.8.1 Cavitation.....	21
2.8.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิด Cavitation.....	22

2.8.2.1 ความถี่ .....	22
2.8.2.2 ความเข้มของพลังงาน .....	22
2.8.2.3 ชนิดของตัวทำละลาย.....	23
2.8.2.4 อุณหภูมิ .....	23
2.8.2.5 ความดันภายนอกและฟองแก๊ส .....	23
2.8.3 Hot-spot theory.....	23
2.8.4 อุปกรณ์อัลตราซาวด์.....	24
2.8.4.1 อ่างอัลตราซาวด์.....	24
2.8.4.2 อัลตราซาวด์แบบโพรบ.....	27
2.9 กระบวนการสกัดไขมันจากสาหร่าย .....	29
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับอัลตราซาวด์และการสกัด.....	30
2.11 สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	40
บทที่ 3 แผนการทดลองและการดำเนินงานวิจัย.....	41
3.1 แผนการวิจัย .....	41
3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี .....	46
3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	48
3.3.1 ศึกษาพลังงานของอัลตราซาวด์.....	48
3.3.2 วิเคราะห์ปริมาณไขมันของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> .....	48
3.3.3 การสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์.....	51
3.3.4 ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิด <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	53
3.3.5 วิเคราะห์ปริมาณไขมันของสาหร่ายชนิด <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	53
3.3.6 การสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์.....	54
3.3.7 วิเคราะห์องค์ประกอบคาร์บอนของไขมันด้วยวิธีทาง Gas chromatography ....	57



3.4.7.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน Fatty acid methyl ester (FAME).....	57
3.3.7.2 การเตรียมตัวอย่างไขมันสำหรับทำการวิเคราะห์ .....	58
3.3.7.3 วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน C12-C22 ในไขมันที่สกัดได้.....	58
3.3.8 ปริมาณไขมันที่คงเหลือของกากสาหร่ายชนิด <i>Chlorella vulgaris</i> .....	58
3.3.9 ปริมาณไขมันที่คงเหลือของสาหร่ายชนิด <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	59
3.3.10 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนคงเหลือในกากสาหร่าย (base on AOAC (2012), 991.20) .....	60
3.3.11 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระคงเหลือในกากสาหร่าย ด้วยวิธี DPPH assay.....	61
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล .....	63
4.1 การหาปริมาณพลังงานของอัลตราซาวด์จากโพรบเข้าสู่ระบบของอัลตราซาวด์ .....	63
4.2 การตรวจสอบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย .....	63
4.2.1 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> .....	63
4.2.2 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	64
4.3 ผลการศึกษามวลของสาหร่ายแห้ง .....	65
4.3.1 ผลการศึกษามวลของ <i>Chlorella vulgaris</i> แห้ง .....	65
4.3.2 ผลการศึกษามวลแห้งของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	65
4.4 วิเคราะห์ปริมาณไขมันสะสมของสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer .....	65
4.4.1 ปริมาณไขมันสะสมสูงสุดของสาหร่ายชนิด <i>Chlorella vulgaris</i> .....	66
4.4.2 ปริมาณไขมันสะสมของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	67
4.4.3 เปรียบเทียบปริมาณไขมันสะสมของสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer.....	67
4.5 ศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์ชนิดโพรบที่ใช้ในการสกัดไขมันจากสาหร่าย .....	68
4.5.1 ผลของอัลตราซาวด์ที่ใช้สกัดไขมันจาก <i>Chlorella vulgaris</i> .....	68
4.5.2 ผลของอัลตราซาวด์ที่ใช้สกัดไขมันจาก <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	70

4.5.3 ปริมาณไขมันในกากสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> หลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์.....	72
4.5.4 ปริมาณไขมันของกาก <i>Scenedesmus obliquus</i> หลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์.....	74
4.5.5 เปรียบเทียบพลังงานที่ใช้ในการสกัดไขมันของสาหร่ายชนิด <i>Chlorella vulgaris</i> .....	76
4.5.6 เปรียบเทียบพลังงานที่ใช้ในการสกัดไขมันของสาหร่ายชนิด <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	77
4.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยวิธีการทาง Gas chromatography.....	78
4.6.1 ปริมาณกรดไขมันของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	78
4.6.2 กรดไขมันที่ได้ต่อพลังงานที่ใช้ของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	80
4.6.3 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	81
4.6.4 กรดไขมันที่ได้ต่อพลังงานที่ใช้ของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	82
4.7 แนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ไปใช้ประโยชน์ .....	82
4.7.1 ปริมาณโปรตีนคงเหลือในกากสาหร่าย.....	83
4.7.1.1 ปริมาณโปรตีนของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	83
4.7.1.2 ปริมาณโปรตีนของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	84
4.7.1.3 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของสาหร่ายทั้งสองชนิด.....	84
4.7.2 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ .....	85
4.7.2.1 ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	85
4.7.2.2 ประสิทธิภาพการต้านสารอนุมูลอิสระของ <i>Scenedesmus obliquus</i> ..	85
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ .....	87
5.1 สรุปผลวิจัย .....	87
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	88
รายการอ้างอิง .....	89
ภาคผนวก.....	94

ภาคผนวก ก ขั้นตอนการวิเคราะห์.....	95
ก-1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย.....	96
ก-2 การคำนวณน้ำหนักแห้งสาหร่าย.....	96
ก-3 การนับเซลล์สาหร่าย.....	97
ภาคผนวก ข ผลการทดลอง.....	98
ข-1 การศึกษาพลังงานของอัลตราซาวด์.....	99
ข-2 อัตราการเจริญเติบโตของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	107
ข-3 ปริมาณไขมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	108
ข-4 ปริมาณไขมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	110
ข-5 ปริมาณไขมันคงเหลือในกากสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> .....	112
ข-6 ปริมาณไขมันคงเหลือในกากสาหร่าย <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	114
ข-7 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	116
ข-8 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีของ <i>Scenedesmus obliquus</i> เปอร์เซ็นต์.....	120
ข-9 พลังงานไฟฟ้าที่ใช้.....	124
ข-10 พลังงานไฟฟ้าที่ใช้สกัดไขมันปริมาณ 1 กรัม จาก <i>Chlorella vulgaris</i> .....	124
ข-11 พลังงานไฟฟ้าที่ใช้สกัดไขมันปริมาณ 1 กรัม <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	125
ข-12 กราฟมาตรฐานกรดไขมัน FAME.....	126
ข-13 ปริมาณกรดไขมันโดยรวม (C12-C22) ของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	134
ข-14 ปริมาณกรดไขมันโดยรวม (C12-C22) ของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	135
ข-15 ปริมาณพลังงานที่ใช้ต่อกรดไขมันของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	135
ข-16 ปริมาณพลังงานที่ใช้ต่อกรดไขมันของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	136
ข-17 การวิเคราะห์โปรตีนคงเหลือ.....	137

ข-18 ปริมาณโปรตีนของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	139
ข-19 ปริมาณโปรตีนของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	139
ข-20 ความต้านทางสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของกากสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> .....	140
ข-21 ความต้านทางสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของกากสาหร่าย <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	141
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	142



## สารบัญรูป

รูปที่ 2. 1 ลักษณะของ <i>Chlorella</i> sp. ....	5
รูปที่ 2. 2 ลักษณะของ <i>Scenedesmus</i> sp.....	10
รูปที่ 2. 3 แผนผังแสดงกระบวนการแปลงสภาพสาหร่าย .....	11
รูปที่ 2. 4 ระบบการเลี้ยงแบบเปิด .....	13
รูปที่ 2. 5 ระบบการเลี้ยงแบบปิด .....	13
รูปที่ 2. 6 รูปแสดงช่วงคลื่นความถี่ของอัลตราซาวด์.....	21
รูปที่ 2. 7 รูปแสดงลักษณะการเกิด Cavitation แบบเสถียร และ Cavitation แบบชั่วคราว....	22
รูปที่ 2. 8 ่างอัลตราซาวด์.....	25
รูปที่ 2. 9 อลูมิเนียมฟอยล์ที่ผ่านอัลตราซาวด์ที่ความถี่และความเข้มต่างๆเป็นระยะเวลา 5 นาที่.....	26
รูปที่ 2. 10 แสดงส่วนประกอบต่างๆของอัลตราซาวด์แบบโพรบ.....	27
รูปที่ 2. 11 ลักษณะของโพรบ .....	28
รูปที่ 2. 12 ลักษณะของภาชนะแบบต่างๆ .....	29
รูปที่ 3. 1 ขั้นตอนการทดลองหาระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีปริมาณไขมันสูงสุด .....	50
รูปที่ 3. 2 Experiment set up.....	51
รูปที่ 3. 3 ขั้นตอนการทดลองเพื่อหาระดับพลังงานและเวลาที่เหมาะสมของอัลตราซาวด์.....	52
รูปที่ 3. 4 ขั้นตอนการหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิด <i>Scenedesmus obliquus</i> ...	53
รูปที่ 3. 5 ขั้นตอนการทดลองหาระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีปริมาณไขมันสูงสุด .....	54
รูปที่ 3. 6 ขั้นตอนการทดลองเพื่อหาระดับพลังงานและเวลาที่เหมาะสมของอัลตราซาวด์.....	56
รูปที่ 3. 7 ขั้นตอนการทดลองหาปริมาณไขมันที่คงเหลือของสาหร่ายชนิด <i>Chlorella vulgaris</i> 59	
รูปที่ 3. 8 ขั้นตอนการทดลองหาปริมาณไขมันที่คงเหลือของสาหร่ายชนิด <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	60
รูปที่ 3. 9 กราฟมาตรฐานสารต้านอนุมูลอิสระ.....	61

รูปที่ 4. 1 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	64
รูปที่ 4. 2 ปริมาณไขมันสะสมของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	66
รูปที่ 4. 3 ปริมาณไขมันสะสมของสาหร่าย <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	67
รูปที่ 4. 4 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จาก <i>Chlorella vulgaris</i> ด้วยอัลตราซาวด์ .....	69
รูปที่ 4. 5 เซลล์ <i>Chlorella vulgaris</i> ก่อนและหลังอัลตราซาวด์ด้วย ESEM .....	70
รูปที่ 4. 6 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จาก <i>Scenedesmus obliquus</i> ด้วยอัลตราซาวด์ .....	71
รูปที่ 4. 7 เซลล์ <i>Scenedesmus obliquus</i> ก่อนและหลังอัลตราซาวด์ด้วย ESEM .....	72
รูปที่ 4. 8 ปริมาณไขมันของกากสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> หลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ ..	73
รูปที่ 4. 9 อัตราส่วนในการสกัดไขมันจากสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> .....	74
รูปที่ 4. 10 ปริมาณไขมันของกากสาหร่าย <i>Scenedesmus obliquus</i> หลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์.....	75
รูปที่ 4. 11 อัตราส่วนในการสกัดไขมันจากสาหร่าย <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	76
รูปที่ 4. 12 ปริมาณกรดไขมันโดยรวม (C12-C22) ของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	79
รูปที่ 4. 13 ปริมาณของกรดไขมันโดยรวม (C12-C22) ของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	81
รูปที่ 4. 14 ปริมาณโปรตีนของ <i>Chlorella vulgaris</i> .....	83
รูปที่ 4. 15 ปริมาณโปรตีนของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	84
รูปที่ 4. 16 ประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระของ <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	86

## สารบัญตาราง

ตารางที่ 2. 1 ตารางแสดงปริมาณไขมันในพืชแต่ละชนิด.....	4
ตารางที่ 2. 2 ตารางแสดงปริมาณเปอร์เซ็นต์ไขมันในสาหร่ายแต่ละชนิดโดยน้ำหนักแห้ง .....	5
ตารางที่ 2.3 อัตราการเติบโตของ Chlorella .....	8
ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบของสาหร่ายในสภาวะที่ปริมาณของไนโตรเจนต่ำของสาหร่าย Chlorella .....	9
ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของโปรตีน และ คาร์โบไฮเดรต ในสาหร่ายแต่ละชนิด .....	12
ตารางที่ 2. 6 การเปรียบเทียบของการเพาะเลี้ยงระบบปิดและระบบเปิด .....	14
ตารางที่ 2. 7 มูลค่าของผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากสาหร่าย .....	19
ตารางที่ 2. 8 สรุปผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ .....	35
ตารางที่ 3. 1 สภาวะของเครื่อง Gas chromatography.....	57
ตารางที่ 4. 1 กำลังงานที่เข้าสู่ระบบของอัลตราซาวด์ ชนิดโพรบ .....	63
ตารางที่ 4. 2 มวลของสาหร่ายแห้งปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อเซลล์ Chlorella vulgaris.....	65
ตารางที่ 4. 3 น้ำมวลของสาหร่ายแห้งปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อเซลล์ Scenedesmus obliquus.....	65
ตารางที่ 4. 4 พลังงานที่ใช้ในการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ต่อไขมันที่ได้ของ Chlorella vulgaris.....	77
ตารางที่ 4. 5 พลังงานที่ใช้ในการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ต่อไขมันที่ได้ของ Scenedesmus obliquus.....	78
ตารางที่ 4. 6 กรดไขมันที่ได้ต่อพลังงานที่ใช้ของ Chlorella vulgaris.....	80
ตารางที่ 4. 7 กรดไขมันที่ได้ต่อพลังงานที่ใช้ของ Scenedesmus obliquus.....	82

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โลกในสภาวะปัจจุบันมีการศึกษาและค้นคว้าหาแหล่งพลังงานต่างๆ มากมายเพื่อเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกสำหรับทดแทนการใช้พลังงานจากไขมัน โดยพลังงานทางเลือกที่มีการศึกษาและวิจัยนั้นมีด้วยกันหลากหลาย อาทิ พลังงานจากแสงอาทิตย์ พลังงานชีวมวล พลังงานลม พลังงานน้ำ หรือแม้แต่พลังงานจากนิวเคลียร์ และหนึ่งในหลากหลายทางเลือกเหล่านั้น คือ พลังงานจากสาหร่าย โดยมีการแปรสภาพสาหร่ายในรูปแบบต่างๆ เช่น การสกัดไขมันออกจากเซลล์ของสาหร่าย การนำสาหร่ายไปผลิตเป็นแอลกอฮอล์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการนำผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมความงาม เพื่อเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายให้สูงเนื่องจากสาหร่ายมีองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ต้องการในผลิตภัณฑ์เสริมความงาม สาหร่ายเป็นพืชไขมันที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างสูง และผลผลิตโดยมวลของสาหร่ายก็สูงกว่าพืชไขมันชนิดอื่นๆ อยู่มากทำให้เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงในพื้นที่ที่จำกัดได้ นอกจากนี้เซลล์สาหร่ายมีองค์ประกอบของไขมันประมาณ 30 -70 เปอร์เซ็นต์โดยมวลขึ้นกับชนิดของสาหร่าย ถือว่ามีปริมาณที่สูงเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่นๆ ทำให้สาหร่ายเป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจในการนำมาผลิตเป็นไขมัน สำหรับขั้นตอนในการผลิตไขมันจากสาหร่ายแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนหลักๆ ได้แก่ 1. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย 2. การเก็บเกี่ยวและการสกัดไขมัน และ 3. การปรับปรุงคุณภาพไขมัน การเก็บเกี่ยวและการสกัดไขมันเป็นขั้นตอนที่สำคัญ โดยเป็นการทำให้เซลล์สาหร่ายมีความเข้มข้นสูงขึ้น การทำลายเซลล์ของสาหร่ายและการนำไขมันออกจากเซลล์ซึ่งต้องใช้พลังงานและสารเคมี สิ่งเหล่านี้ล้วนส่งผลถึงต้นทุนในการผลิตไขมันอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ จึงต้องมีการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวและการสกัดไขมัน เพื่อควบคุมต้นทุนในการผลิตไขมันจากสาหร่ายให้อยู่ในระดับที่จะสามารถขยายสู่ระดับอุตสาหกรรมได้ สำหรับในระดับห้องปฏิบัติการมีการศึกษากระบวนการสกัดไขมันจากสาหร่ายหลากหลายวิธีด้วยกัน เช่น การใช้ตัวทำละลาย, การบีบอัด, การใช้เอมไซม์, Supercritical CO<sub>2</sub>, คลื่นไมโครเวฟ และ อัลตราซาวด์ เป็นต้น

สำหรับงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาการสกัดไขมันจากสาหร่ายโดยใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดไขมันแบบไม่ใช้ตัวทำละลาย แต่จะใช้ตัวทำละลายเฮกเซนในขั้นตอนการวิเคราะห์ และ จะทำการหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมของอัลตราซาวด์ในการสกัดไขมัน อาทิ ระดับพลังงานของอัลตราซาวด์ และระยะเวลาอัลตราซาวด์ นอกจากนี้จะศึกษาแนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์แล้วมาใช้ประโยชน์



## 1.2 วัตถุประสงค์

- เพื่อศึกษาระดับพลังงานของอัลตราซาวด์ และระยะเวลาที่เหมาะสมของอัลตราซาวด์ที่ใช้ในการสกัดไขมันจากสาหร่าย
- เพื่อศึกษาแนวทางในการนำกากสาหร่ายหลังการสกัดไขมันแล้วมาใช้ประโยชน์

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

- งานวิจัยนี้ดำเนินการที่ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทดลองแบบที่ละเท ที่อุณหภูมิห้อง สาหร่ายที่ใช้ในงานวิจัย คือ *Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus obliquus*
- ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 7 และ 8 วัน และวิเคราะห์ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่มีปริมาณไขมันมากที่สุด ด้วยวิธี Bligh and Dyer และทำการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของ *Scenedesmus obliquus* เพื่อทำการสกัดไขมัน โดยแหล่งกำเนิดแสง คือ หลอดฟลูออเรสเซนต์ แบบคูไลท์ และมีการเติมอากาศอยู่ตลอดเวลา และวิเคราะห์ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่มีปริมาณไขมันที่สูงที่สุด การเพาะเลี้ยงสาหร่ายจะเลี้ยงในระบบปิด สูตรอาหารที่ใช้ คือ N8 ซึ่งเป็นอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว
- ศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์ในขั้นตอนการสกัดไขมันจากสาหร่าย ด้วยอัลตราซาวด์ชนิดโพรบ ความถี่ของอัลตราซาวด์ 20 KHz พลังงาน 130 watts (Sonics & Materials, Model: VCX 130PB, U.S.A) โดยศึกษาระดับพลังงานอัลตราซาวด์ที่ 40 60 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของ 130 watts และระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่ 1 3 5 7 10 15 และ 20 นาที โดยตรวจวัดปริมาณของไขมัน และองค์ประกอบคาร์บอนในไขมัน
- ปริมาณไขมันที่สกัดได้วิเคราะห์ด้วยวิธีการชั่งน้ำหนัก และ คุณสมบัติองค์ประกอบของคาร์บอนในไขมันที่สกัดได้ด้วย Gas chromatography
- ศึกษาคุณสมบัติกากสาหร่ายที่ผ่านการสกัดแล้วเพื่อเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์ เช่น การศึกษาปริมาณโปรตีนที่คงเหลือหลังการสกัด และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่คงเหลือหลังการสกัด

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดไขมันจากสาหร่ายได้อย่างเหมาะสม
- เป็นแนวทางการนำสาหร่ายหลังจากสกัดไขมันมาใช้ประโยชน์



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องจะกล่าวถึง สาหร่ายขนาดเล็ก การเพาะเลี้ยง ปัจจัยในการเพาะเลี้ยง การเก็บเกี่ยวสาหร่ายเพื่อนำมาใช้ วิธีการสกัดไขมันจากสาหร่าย อัลตราซาวด์ การเกิดคาวิเทชัน (Cavitation) ประกอบกับเอกสารและงานวิจัยอื่นๆที่ใช้เพื่อในงานวิจัยนี้

#### 2.1 สาหร่าย

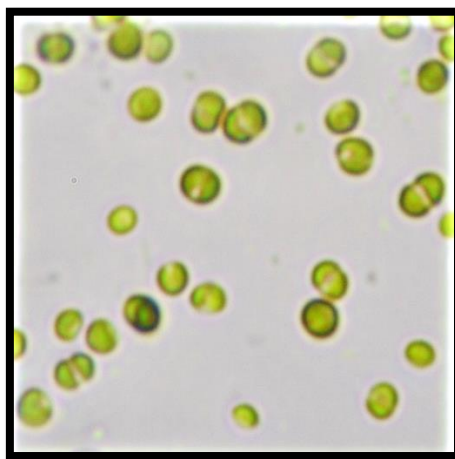
ปัจจุบันโลกกำลังประสบปัญหาด้านพลังงานโดยเฉพาะอย่างยิ่งพลังงานที่มาจากไขมันซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้แล้วหมดไป เพราะฉะนั้นพลังงานทดแทนที่ได้จากสาหร่ายจึงเป็นหนทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหาด้านพลังงานนี้ เนื่องจากภายในเซลล์ของสาหร่ายจะมีปริมาณของไขมันต่อมวลสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังสามารถเจริญเติบโตได้ในพื้นที่ที่จำกัด มีอัตราในการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว และผลพลอยได้ของการเจริญเติบโตที่รวดเร็วของสาหร่ายนี้ยังสามารถช่วยในการตรึงก๊าซ CO<sub>2</sub> ที่เป็นสาเหตุของภาวะโลกร้อนได้อีกทางหนึ่ง ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณไขมันในพืชแต่ละชนิดจะเห็นได้ว่าสาหร่ายนั้นมีปริมาณไขมันภายในเซลล์ที่เลี้ยงต่อพื้นที่สูงที่สุดจึงทำให้เหมาะแก่การนำมาใช้ศึกษาเป็นพลังงานทางเลือก

ตารางที่ 2. 1 ตารางแสดงปริมาณไขมันในพืชแต่ละชนิด (L. Gouveia & Oliveira, 2009)

Crop	Lipid yield (Lha-1)
Corn	172
Soybean	446
Canola	1,190
Jatropha	1,892
Coconut	2,689
Palm	5,950
Microalgae 70% lipid by wt.	130,900
Microalgae 30% lipid by wt.	58,700

## 2.2 *Chlorella* sp.

คลอเรล่า เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวอยู่ในไฟลัมของสาหร่ายสีเขียว (Chlorophyta) มีลักษณะเป็นทรงกลมเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 2-10 ไมโครเมตร สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแบ่งเซลล์แบบ  $2^n$  ที่ขนาด 5-7 ไมโครเมตร ผนังเซลล์มี 2 ชั้น คือ ชั้นนอกซึ่งเป็น Sporopollenin เป็นชั้นที่มีความแข็งแรง ถัดมาเป็นชั้นผนังที่ประกอบไปด้วย mannose และ chitin-like polysaccharides ถัดจากชั้นผนังเซลล์คือ Phospholipid bilayer membrane (plasma membrane) ซึ่งจะมี cytoplasm กับ organelles อยู่ภายใน (Kim et al., 2016) เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะแสดงให้เห็นดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2. 1 ลักษณะของ *Chlorella* sp.

Rakesh Bajpai. et al. (2014) ได้ทำการศึกษาปริมาณเปอร์เซ็นต์ของไขมันในสาหร่ายแต่ละชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.2 พบว่า *Chlorella vulgaris* มีปริมาณไขมันประมาณ 14 – 56 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 2. 2 ตารางแสดงปริมาณเปอร์เซ็นต์ไขมันในสาหร่ายแต่ละชนิดโดยน้ำหนักแห้ง (Rakesh Bajpai. et al., 2014)

Microalgal species	Lipid content (เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง)
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	17
<i>Chaetoceros gracilis</i>	19
<i>Chaetoceros muelleri</i>	21
<i>Chlorella emersonii</i>	63

ตารางที่ 2.2 ตารางแสดงปริมาณเปอร์เซ็นต์ไขมันในสาหร่ายแต่ละชนิดโดยน้ำหนักแห้ง (ต่อ)  
(Rakesh Bajpai. et al., 2014)

Microalgal species	Lipid content (เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง)
<i>Chlorella minutissima</i>	57
<i>Chlorella sorokiana</i>	22-44
<i>Chlorella protothecoides</i>	50-58
<i>Chlorella vulgaris</i>	14-56
<i>Chlorococcum sp.</i>	53
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca sp.</i>	16-37
<i>Dunaliella bioculata</i>	8
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Dunaliella salina</i>	14-20
<i>Isochrysis galbana</i>	20-24
<i>Microcystis aeruginosa</i>	50-58
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Monodus subterraneus</i>	30
<i>Nannochloris sp.</i>	20-25
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia sp.</i>	45-47
<i>Pavlova lutheri</i>	50
<i>Pavlova salina</i>	49
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	6-40
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11-55
<i>Schizochytrium sp.</i>	50-77
<i>Skeletonema costatum</i>	12
<i>Spirulina maxima</i>	4-9

A. H. S. A.M. Illman, S.W. Shales (2000) ได้ทำการศึกษาถึงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* ดังตารางที่ 2.3 โดยพบว่า อัตราการเติบโตของ *Chlorella vulgaris* ( $\mu$ ) สูงสุดถึง 0.99 เซลล์ต่อวัน ทำให้เหมาะแก่การเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งพลังงานทางเลือก นอกจากนี้ยังพบว่าที่การเลี้ยงสาหร่ายโดยที่อาหารมีปริมาณของไนโตรเจนที่น้อยทำให้ปริมาณของไขมันภายในเซลล์ของสาหร่ายมีปริมาณมากขึ้นตามตารางที่ 2.4 การนำสาหร่ายมาใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกนั้นมีความคล้ายคลึงกันหลายวิธีการด้วยกันไม่ว่าจะเป็นการนำไขมันจากสาหร่ายมาใช้โดยการสกัดไขมัน การเผาเพื่อนำมาเป็นแหล่งเชื้อเพลิง เป็นต้น

นอกจากนี้ในเซลล์ของสาหร่ายยังประกอบไปด้วย คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์อย่างอื่นได้อีกด้วย โดย Becker (2007) ได้กล่าวถึงการนำโปรตีนจากสาหร่ายมาเป็นแหล่งโปรตีนสำหรับคนและสัตว์ สำหรับคนนั้นมีการนำไปผสมในขนมปังและเส้นของก๊วยเตี๋ยว และเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพ ส่วนของสัตว์นั้นประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของสาหร่ายที่เลี้ยงทั่วโลกได้ขายให้กับโรงงานผลิตอาหารสัตว์

ตารางที่ 2.3 อัตราการเติบโตของ Chlorella (A. H. S. A.M. Illman, S.W. Shales, 2000)

	<i>C. vulgaris</i> Control	<i>C. vulgaris</i> Low-N	<i>C. em.</i> Control	<i>C. em.</i> Low-N	<i>C. prot.</i> Control	<i>C. prot.</i> Low-N	<i>C. sora.</i> Control	<i>C. sora.</i> Low-N	<i>C. min.</i> Control	<i>C. min.</i> Low-N
Growth rate $\mu$ (cell $d^{-1}$ )	0.99	0.77	0.86	0.46	0.33	0.27	0.58	0.19	0.43	0.43
Doubling time $t_d$ (d)	0.7	0.9	0.8	1.5	2.1	2.6	1.2(9.5)*	3.6	1.6	1.6
Dry weight g/l (14 days)	0.41	0.52	0.39	1.11	0.03	0.33	0.04	0.07	0.46	0.22
Productivity mg dry wt./d	41	37	28	79	2.5	23	2.7	4.8	32	16

\*biphasic growth

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบของสาหร่ายในสภาวะที่ปริมาณของไนโตรเจนต่ำของสาหร่าย *Chlorella* (A. H. S. A.M. Illman, S.W. Shales, 2000)

	<i>C. vulgaris</i> Control	<i>C. vulgaris</i> Low-N	<i>C.em.</i> Control	<i>C.em.</i> Low-N	<i>C.prot.</i> Control	<i>C.prot.</i> Low-N	<i>C.sora.</i> Control	<i>C.sora.</i> Low-N	<i>C.min.</i> Control	<i>C.min.</i> Low-N
Protein (%)	29±2.5	7±1.6	32±2.9	28±3.8	38±3	36±3	45±2.9	42±1.6	24±3.1	9±2
Carbohydrate (%)	51±2	55±3.2	41±2.5	11±2.2	52±2.3	41±3	38±2.2	32±2.2	42±3.5	14±2.1
Lipid (%)	18±2.1	40±2.1	29±2.5	63±1	11±3.2	23±1.2	20±1.6	22±2.6	31±3.2	57±2.5
Calorific value KJ/g	18±0.7	23±2.1	21±0.7	29±0.7	19±1.6	24±2	21±0.7	20±1.6	21±1.2	21±1
Calorific yield KJ/l/d	0.52	0.64	0.59	0.73	0.24	0.34	0.43	0.46	0.34	0.25



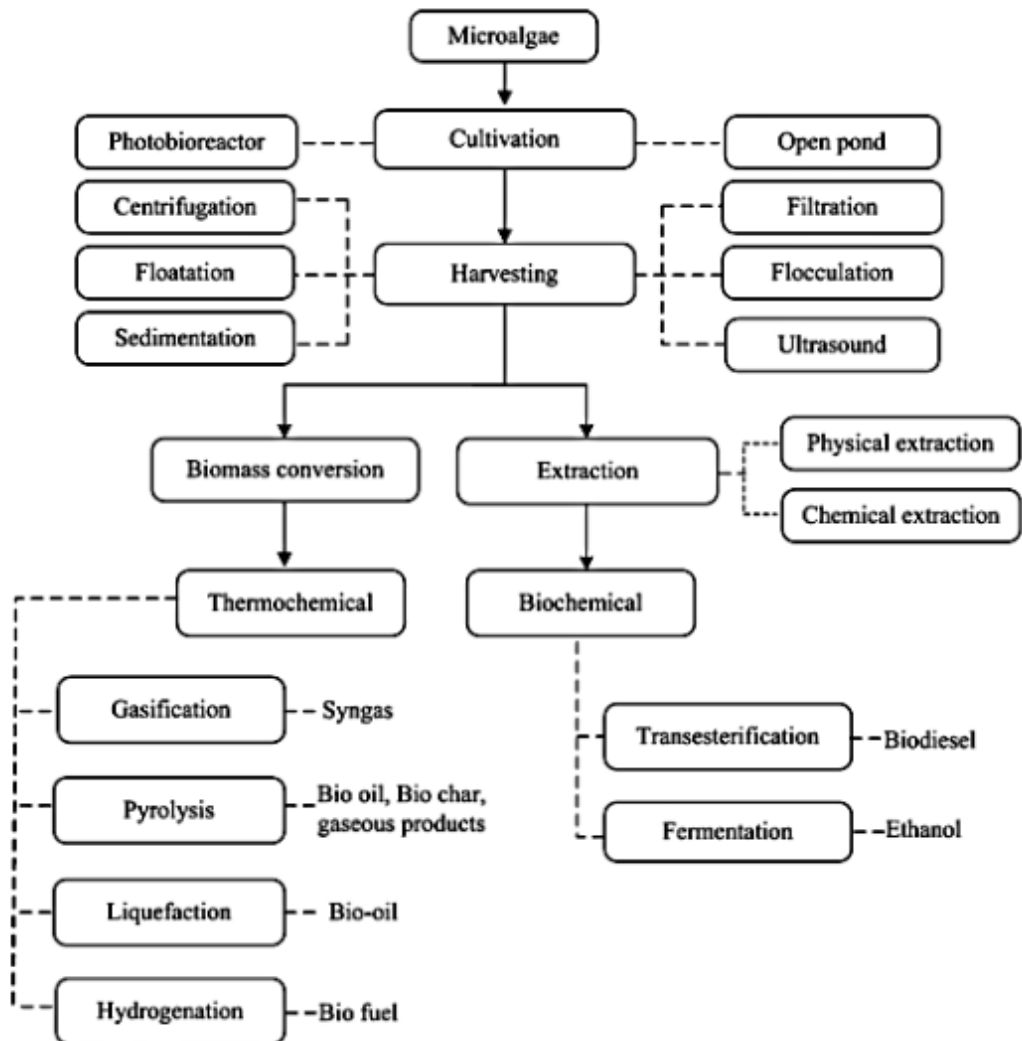
### 2.3 *Scenedesmus* sp.

*Scenedesmus* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว สาหร่ายกลุ่มมีลักษณะเป็นทรงรีโดยขนาดของเซลล์จะอยู่ระหว่าง 5- 15 ไมโครเมตร พบได้ทั้งเป็นเซลล์เดี่ยวๆ และกลุ่ม (H.C. Bold et al., 1980) ดังรูปที่ 2.2 โดยลักษณะการแตกหน่อจะเป็นในรูปแบบ  $2^n$  ผนังเซลล์มีลักษณะที่นุ่ม ภายในเซลล์ที่ยังอ่อนคลอโรพลาสต์จะมีอยู่อย่างเบาบางและจะมีปริมาณที่มากขึ้นเมื่อเซลล์เติบโตขึ้น



รูปที่ 2. 2 ลักษณะของ *Scenedesmus* sp

รูปที่ 2.3 แสดงถึงขั้นตอนการเปลี่ยนสภาพสาหร่ายมาใช้เป็นพลังงานโดยมีขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอน คือ 1. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย 2. การเก็บเกี่ยว และ 3 การสกัดและการแปลงสภาพไบโอแมส นอกจากนี้ในสาหร่ายยังอุดมไปด้วยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต แสดงในตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของโปรตีน และ คาร์โบไฮเดรต ในสาหร่ายแต่ละชนิด



รูปที่ 2. 3 แผนผังแสดงกระบวนการแปลงสภาพสาหร่าย (Suali & Sarbatly, 2012)

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของโปรตีน และ คาร์โบไฮเดรต ในสาหร่ายแต่ละชนิด (Becker, 2007)

Algae	Protein (%)	Carbohydrates (%)
Anabaena cylindrical	43-56	25-30
Aphanizomenon flos-aquae	62	23
Chlamydomonas reinhardtii	48	17
Chlorella pyrenoidosa	57	26
Chlorella vulgaris	51-58	12-17
Dunaliella salina	57	32
Euglena gracillis	39-61	14-18
Porphyridium cruentum	28-39	40-57
Scenedesmus obliquus	50-56	10-17
Spirogyra sp.	6-20	33-64
Arthrospira maxima	60-71	13-16
Spirulina platensis	46-63	8-14
Synechococcus sp.	63	15

#### 2.4 ประเภทของบ่อเลี้ยงสาหร่าย

การเพาะเลี้ยงแบบระบบเปิด เป็นระบบที่เพาะเลี้ยงสาหร่ายไว้ในบ่อกลางแจ้ง ซึ่งเหมาะกับพื้นที่ที่ราคาที่ดินไม่สูงมาก ต้นทุนในการก่อสร้างและเพาะเลี้ยงจะไม่สูงมาก แต่จะไม่สามารถควบคุมปริมาณ แสง ปริมาณการละลายของก๊าซ CO<sub>2</sub> และอาจมีการเจือปนของแบคทีเรีย หรือ จุลินทรีย์ได้



รูปที่ 2. 4 ระบบการเลี้ยงแบบเปิด

การเพาะเลี้ยงแบบระบบปิด เป็นระบบที่เหมาะสมกับพื้นที่ที่จำกัด การเพาะเลี้ยงแบบระบบปิดนั้นจะสามารถควบคุมปัจจัยได้ เช่น แสง ปริมาณก๊าซ  $\text{CO}_2$  และควบคุมการเจ็บปนที่เกิดจากจุลินทรีย์ หรือแบคทีเรีย เป็นต้น ต้นทุนในการก่อสร้างและการเพาะเลี้ยงนั้นสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบระบบเปิด



รูปที่ 2. 5 ระบบการเลี้ยงแบบปิด

โดยลักษณะข้อแตกต่างในการเลี้ยงของระบบปิดและระบบเปิดแสดงใน ตารางที่ 2.6 การเปรียบเทียบของการเพาะเลี้ยงระบบปิดและระบบเปิด

ตารางที่ 2. 6 การเปรียบเทียบของการเพาะเลี้ยงระบบปิดและระบบเปิด (Luisa Gouveia, 2011)

คุณสมบัติ	ระบบเปิด	ระบบปิด
<b>การเพาะเลี้ยง</b>		
อัตราส่วนพื้นที่ต่อปริมาตร	ใหญ่(ประมาณ 4-10 เท่า)	เล็ก
สายพันธุ์ของสาหร่าย	จำกัด	หลากหลาย
การคัดเลือกสายพันธุ์	เจริญเติบโตแบบแก่งแย่ง	ใช้แรงเฉือนเป็นตัวต้านทาน
การปนเปื้อน	มีความเป็นไปได้	โอกาสมีน้อย
ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง	จำกัด	สามารถขยายได้
น้ำที่สูญเสียไปจากการระเหย	มีความเป็นไปได้	มีการป้องกันการระเหย
การควบคุมสภาวะการเจริญเติบโต	ยาก	ง่าย
ประสิทธิภาพของแสงที่ได้รับ	ต่ำ ถึง พอใช้	พอใช้ ถึง ดีเยี่ยม
การส่งผ่านของแก๊ส	ต่ำ	พอใช้ ถึง สูง
อุณหภูมิ	เปลี่ยนแปลงอย่างมาก	มีระบบหล่อเย็น
การควบคุมอุณหภูมิ	ไม่มี	ดีเยี่ยม
ระบบหล่อเย็นอัตโนมัติ	ไม่มี	สามารถใส่ได้
ระบบให้ความร้อนอัตโนมัติ	ไม่มี	สามารถใส่ได้
การทำความสะอาด	ไม่มี	จำเป็นต้องมีเนื่องจากผนังมีความสกปรก
ความปลอดภัยทางจุลชีววิทยา	ไม่มี	UV
ประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยว	ต่ำ	สูง
<b>การผลิตชีวมวล</b>		
คุณภาพของชีวมวล	ไม่แน่นอน	ทำซ้ำได้
อัตราการผลิตชีวมวล	ต่ำ	สูง
ความหนาแน่นของเซลล์	ต่ำ	สูง

ตารางที่ 2. 6 การเปรียบเทียบของการเพาะเลี้ยงระบบปิดและระบบเปิด (ต่อ) (Luisa Gouveia, 2011)

คุณสมบัติ	ระบบเปิด	ระบบปิด
<b>ระบบการควบคุม</b>		
ปริมาณอากาศ	สามารถใส่ได้	สามารถใส่ได้
แรงเฉือน	ต่ำ	สูง
อัตราการละลายของ CO <sub>2</sub>	ต่ำ	ดีมาก
ประสิทธิภาพการผสม	ต่ำ	ดีมาก
การสูญเสียน้ำ	สูง	ต่ำ
ความเข้มข้นของ O <sub>2</sub>	ต่ำ	ขึ้นกับอุปกรณ์
การสูญเสีย CO <sub>2</sub>	สูง	ต่ำ
<b>เศรษฐศาสตร์</b>		
พื้นที่การเพาะเลี้ยง	สูง	ต่ำ
การลงทุน	ต่ำ	สูง
ระยะเวลาการบำรุงรักษา	น้อยกว่า	มากกว่า
ค่าบำรุงรักษา	ต่ำกว่า	สูงกว่า
ค่าการเก็บเกี่ยว	สูง	ต่ำ
ปัจจัยที่มีราคาสูงสุด	การผสม	การควบคุมอุณหภูมิ และ O <sub>2</sub>
การขยายขนาดเพื่อใช้ในระดับอุตสาหกรรม	ง่ายต่อการขยายขนาด	ยากต่อการขยายขนาด

## 2.5 การเก็บเกี่ยวสาหร่ายหลังจากการเพาะเลี้ยง

สาหร่ายโดยทั่วไปแล้วจะเจริญเติบโตและแขวนลอยอยู่ในน้ำ เนื่องด้วยความหนาแน่นของสาหร่ายที่น้อย มีไขมันอยู่ในเซลล์ และมีขนาดเล็ก ทำให้เป็นการยากที่จะแยกสาหร่ายออกจากน้ำได้ถึงแม้สาหร่ายจะมีความเข้มข้นที่สูงในระดับหนึ่งแล้วก็ตาม (Show & Lee, 2014)

ในปัจจุบันมีกระบวนการแยกสาหร่ายออกจากน้ำหลายกระบวนการด้วยกัน ตัวอย่างเช่น กระบวนการดักจับ (Screening), กระบวนการโคแอกกูเลชัน - ฟล็อกกูเลชัน (Coagulation - flocculation), กระบวนการกรอง (Filtration), กระบวนการตกตะกอน (Sedimentation), กระบวนการลอยตัว (Flotation) และ การปั่นเหวี่ยง (Centrifugation) เป็นต้น (Show & Lee, 2014)

### กระบวนการดักจับ (Screening)

กระบวนการดักจับเป็นกระบวนการดักจับโดยให้น้ำไหลผ่านช่องว่าง อนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่าช่องว่างจะถูกดักจับเอาไว้ และประสิทธิภาพของการดักจับขึ้นอยู่กับขนาดช่องว่างของตัวกลางที่ใช้ดักจับ และ ขนาดของอนุภาคที่ต้องการดักจับ กระบวนการดักจับจะมีอยู่ 2 ประเภทได้แก่ Microstraining และ Vibrating Screen

Microstraining จะประกอบด้วย เพลาหมุนที่จะถูกคลุมด้วย ผ้า, ตะแกรงสแตนเลส หรือ พอลิเอสเตอร์ โดยลักษณะการทำงานของ Microstraining จะทำงานโดยการหมุนของเพลาก็จะหมุนลงไปใต้น้ำและดักจับอนุภาคขึ้นมาจากน้ำซึ่งความเร็วของการหมุนจะหมุนไปอย่างช้าๆ และวิธีการนี้จะได้ประสิทธิภาพดีกับอนุภาคที่มีขนาดใหญ่

Vibrating Screen ส่วนใหญ่จะใช้ในอุตสาหกรรมจำพวกกระดาษและอาหาร เพื่อที่จะควบคุมปริมาณความเข้มข้นของตะกอนในน้ำเสีย สำหรับสาหร่ายนั้นมีการนำมาใช้ในการแยก Spirulina เพื่อมาเป็นสินค้าสำหรับการบริโภค เป็นต้น

### โคแอกกูเลชัน - ฟล็อกกูเลชัน (Coagulation - flocculation)

เป็นกระบวนการที่ทำให้อนุภาคมีขนาดที่ใหญ่ขึ้นทำให้แยกการตกตะกอน โดยทำการเติมสารเคมีลงไปเพื่อรวบรวมอนุภาคต่างๆในน้ำ ซึ่งสารเคมีที่ใช้สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทดังนี้

สารเคมีประเภทสารอนินทรีย์ :  $Al(OH)_3$ ,  $Fe(OH)_3$  จะไปทำการทำลายเสถียรภาพของอนุภาคที่แขวนลอยอยู่ในน้ำทำให้อนุภาคสามารถรวมตัวกันและมีขนาดที่ใหญ่ขึ้นได้

สารเคมีประเภทสารอินทรีย์สายยาว: เป็นสายพอลิเมอร์จะไปเชื่อมอนุภาคต่างๆมารวมตัวกัน และมีขนาดใหญ่ขึ้น สำหรับพอลิเมอร์นั้นจะมีด้วยกันอยู่ 3 ประเภทได้แก่ แคทไอออนพอลิ-เมอร์, แอนไอออนพอลิเมอร์, และนอนไอออนิกพอลิเมอร์ ซึ่งการเลือกใช้จะขึ้นอยู่กับอนุภาคที่ต้องการจะให้มารวมกัน

สำหรับกระบวนการ Coagulation – flocculation นั้นเป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพดีในการรวมอนุภาคของสาหร่ายให้มีขนาดใหญ่ขึ้น แต่มีข้อเสียคือ มีการใช้สารเคมีและต้องมีกระบวนการอื่นๆตามมา ซึ่งอาจทำให้มีต้นทุนให้การเก็บเกี่ยวที่สูงขึ้น

Borges et al. (2011) ได้ทำการศึกษาผลกระทบของฟล็อกกูแลนท์ต่อการสกัดไขมันและลักษณะของกรดไขมันในสาหร่าย 2 ชนิด *Nannochloropsis oculata* และ *Thalassiosira weissflogi* โดยใช้แอนไอออนิก และ แคทไอออนิก ฟล็อกกูแลนท์ โดยพบว่าใน *N. oculata* ก่อนทำการเติมฟล็อกกูแลนท์นั้นกรดไขมันที่พบส่วนใหญ่ คือ C16:0, C:16:1 และ C20:5 แต่หลังจากการเติมแอนไอออนิก ฟล็อกกูแลนท์แล้วพบว่ามี C14:0 เพิ่มขึ้นและ C20:5 มีปริมาณที่ลดลง และสำหรับ *T. weissflogi* กรดไขมันส่วนใหญ่ที่พบคือ C16:0, C:16:1, C16:3 และ C20:5 ซึ่งหลังจากการเติมแอนไอออนิก ฟล็อกกูแลนท์ และแคทไอออนิก ฟล็อกกูแลนท์ แล้วพบว่า C18:0 และ C18:1 ลดลง จากผลการทดลองนี้สามารถบ่งชี้ถึงระดับความอิมตัวของกรดไขมันหลังจากทำการใช้ฟล็อกกูแลนท์ ว่าไม่มีความเสถียรเพียงพอต่อการนำมาผลิตเป็นไบโอดีเซล และหากจำเป็นต้องใช้ฟล็อกกูแลนท์ควรหลีกเลี่ยงการใช้ แอนไอออนิกฟล็อกกูแลนท์

#### กระบวนการกรอง (Filtration)

ในกระบวนการกรองนั้นจะประกอบไปด้วย ปุ่ม และตัวกลางที่ใช้กรอง กระบวนการกรองนิยมใช้ในการกรองสาหร่ายเป็นอย่างมาก เนื่องจากในการกรองสามารถเลือกขนาดของตัวกรองได้จากขนาดของรูพรุนสารกรอง สำหรับขั้นตอนในการเดินระบบนั้นจะมีปัญหาเรื่องการอุดตันของตัวกลางที่ใช้กรอง จึงทำให้ต้องมีการล้างย้อนเป็นระยะๆ แต่เป็นวิธีการที่ไม่ต้องใช้สารเคมีเข้ามาเกี่ยวข้องจึงทำให้กระบวนการกรองก็ยังเป็นวิธีการที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย

#### กระบวนการตกตะกอน (Sedimentation)

การตกตะกอนนั้นอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลกในการดึงอนุภาคให้ตกตะกอนแยกออกจากตัวกลางโดยอนุภาคต้องมีความหนาแน่นมากกว่าตัวกลางจึงจะสามารถตกตะกอนได้ สำหรับสาหร่ายส่วนใหญ่แล้วจะมีความหนาแน่นที่ใกล้เคียงกับน้ำจึงส่งผลให้สาหร่ายแขวนลอยอยู่ในน้ำและไม่สามารถตกตะกอนได้จึงมักใช้ร่วมกับกระบวนการ Coagulation – flocculation ช่วยเพื่อให้สาหร่ายรวมตัวกันแล้วและสามารถตกตะกอนได้

#### กระบวนการลอยตัว (Flotation)

กระบวนการลอยตัวเป็นกระบวนการที่ตรงกันข้ามกับกระบวนการตกตะกอน คือ กระบวนการลอยตัวนั้นจะใช้ฟองอากาศพาอนุภาคแยกออกไปซึ่งจะให้ได้ผลได้ดีกับอนุภาคที่ไม่สามารถตกตะกอนได้หรือมีความหนาแน่นต่ำ



## การปั่นเหวี่ยง (Centrifugation)

การปั่นเหวี่ยงเป็นกระบวนการแยกอนุภาคออกจากตัวกลางโดยอาศัยแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง หลักการจะคล้ายกับการตกตะกอนเพียงแต่แรงที่ใช้ในการแยกอนุภาคนั้นแตกต่างกัน โดยแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลางนั้นจะเพิ่มแรงที่ใช้แยกอนุภาคมากกว่าแรงโน้มถ่วงทำให้สามารถแยกอนุภาคได้เร็วและมีประสิทธิภาพมากกว่าแม้ว่าอนุภาคนั้นจะมีค่าความหนาแน่นใกล้เคียงกับน้ำ

## 2.6 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย

ในปัจจุบันมีการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์มากมายทั้งการนำมาเป็นแหล่งอาหารเสริมของมนุษย์และสัตว์ การนำมาประยุกต์ใช้ในเชิงพลังงานโดยการสกัดแล้วแปรสภาพไปยังรูปแบบต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ ไบโอดีเซล และเชื้อเพลิงชีวภาพ เป็นต้น (Spolaore et al., 2006) นอกจากนี้ได้มีการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์บำรุงต่างๆอีกด้วย ซึ่งมูลค่าของการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายดังแสดงในตารางที่ 3.7

### อาหารเสริมของมนุษย์

สาหร่ายที่ใช้เป็นแหล่งสารอาหารสำหรับมนุษย์ในปัจจุบันนั้นจะเป็นในรูปแบบของอาหารเสริมที่มีการบรรจุใส่แคปซูล ขนมอบเคี้ยว และเครื่องดื่ม เป็นต้น สำหรับสาหร่ายที่นิยมใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบมีด้วยกัน 4 ชนิดด้วยกัน คือ *Arthrospira*, *Chlorella*, *D. salina* และ *Aphanizomenon flos-aquae*

*Arthrospira* นิยมนำมาทำเป็นอาหารเสริมของมนุษย์เนื่องจากมีองค์ประกอบของโปรตีนค่อนข้างสูง นอกจากนี้สาหร่ายยังมีสรรพคุณในด้านต่าง เช่น การยับยั้งไขมันในเส้นเลือด ช่วยป้องกันโรคความดันโลหิตสูง ป้องกันไตวาย ช่วยในการทำงานของแลคโตบาซิลลัสในลำไส้ และช่วยควบคุมระดับของน้ำตาลในเลือด โดยจะมีการเพาะเลี้ยงกันอย่างกว้างขวางในประเทศจีน และอินเดีย โดยเฉพาะที่ไหหนานมีการผลิตสาหร่ายในปริมาณถึง 200 ตัน ซึ่งคิดเป็น 10 เปอร์เซ็นต์ ของการส่งออกทั่วโลก (Spolaore et al., 2006)

*Chlorella* ส่วนใหญ่จะมีการเพาะเลี้ยงที่ได้หวั่น ซึ่งส่วนประกอบที่สำคัญใน *Chlorella* ก็คือ  $\beta$ -1,3 -glucan ซึ่งจะช่วยลดการเกาะของไขมันในเส้นเลือด และยังมีสรรพคุณอื่นๆ เช่น มีประสิทธิภาพในการสมานแผลในกระเพาะอาหาร ช่วยระบาย บรรเทาอาการท้องผูก เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการนำ *Chlorella* มาใช้เป็นสียผสมอาหาร แต่งกลิ่น และปรับแต่งรสชาติ

*D. salina* มีองค์ประกอบของ  $\beta$ -carotene อยู่ภายในเซลล์ถึง 14 เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักแห้ง สำหรับ *D. salina* เป็นสาหร่ายที่เป็นที่ต้องการในการบริโภคของมนุษย์สามารถพบได้ทั่วไปในอาหารเสริม อาหารเพื่อสุขภาพ และส่วนผสมอาหารทั่วไป

*Aphanizomenon flos-aquae* เป็นสาหร่ายที่มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายทั้งการใช้เฉพาะ *Aphanizomenon flos-aquae* หรือนำไปใช้ควบคู่กับสาหร่ายชนิดอื่นๆ เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับบำรุงร่างกาย

#### อาหารเสริมสำหรับสัตว์

สาหร่ายนอกจากเป็นอาหารเสริมสำหรับมนุษย์แล้วยังมีการนำสาหร่ายไปใช้ในการเลี้ยงสัตว์หลายชนิดด้วยกัน ทั้งสัตว์น้ำ และสัตว์บก ซึ่งสาหร่ายประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ถูกผลิตมาเพื่อส่งขายในกับโรงงานผลิตอาหารสัตว์ โดยเป็น *Arthrospira* ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ในปี 1999 สาหร่ายมากกว่า 1000 ชนิดถูกผลิตเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์น้ำ (Spolaore et al., 2006)

#### ด้านความงาม

สาหร่ายบางชนิดถูกใช้เป็นส่วนผสมสำหรับผลิตภัณฑ์เสริมความงามจำพวกบำรุงผิว ซึ่งชนิดแรกๆที่ถูกนำมาใช้ก็คือ *Arthrospira* และ *Chlorella* นักวิจัยเริ่มให้ความสนใจในสาหร่ายเนื่องจากสาหร่ายสามารถที่จะผลิตเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าได้ นอกจากนี้สาหร่ายยังสามารถปกป้องผิวจากแสงแดดได้ จึงมีการนำมาเป็นส่วนประกอบสำหรับผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม (Spolaore et al., 2006)

ตารางที่ 2. 7 มูลค่าของผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากสาหร่าย (Spolaore et al., 2006)

Product name	Price (US\$)	Distributor
R-phycoerythrin	3.25-14/mg	Cyanotech
Allophycocyanin	6-17/mg	Cyanotech
Streptavidin: B-phycoerythrin	145/mg	Martek
Goat anti-mouse IgG: R-phycoerythrin	165/mg	Martek
Sensilight PBXL1: Anti GST	1500/mg	Martek
Mixed fatty acids	60/g	Specta Stable Isotopes
<sup>13</sup> C-mixed free fatty acids	200/g	Specta Stable Isotopes
<sup>13</sup> C-DHA (>95%)	38000/g	Specta Stable Isotopes
<sup>15</sup> N-alanine	260/g	Specta Stable Isotopes
<sup>2</sup> H <sub>2</sub> , <sup>13</sup> C, <sup>15</sup> N <sub>4</sub> -arginine	5900/g	Specta Stable Isotopes
dATP-CN	26000/g	Specta Stable Isotopes

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์

Z. Zhang et al. (2010) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของพอลิแซกคาไรด์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการสกัดมาจากสาหร่าย 5 ชนิด ดังนี้ สาหร่ายสีน้ำตาล *Laminaria japonica*, สาหร่ายสีแดง *Porphyra haitanensis*, และสาหร่ายสีเขียว 3 ชนิดคือ *Ulva pertusa*, *Enteromorpha linza* และ *Bryopsis plumose* และทำการตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระด้วยไฮดรอกซิลเรดิคอล โดยใช้ FT-IR spectrum เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์ ปรากฏว่าพอลิแซกคาไรด์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี ส่วนปัจจัยที่มีผลอื่น ๆ ยังต้องทำการศึกษาต่อไป

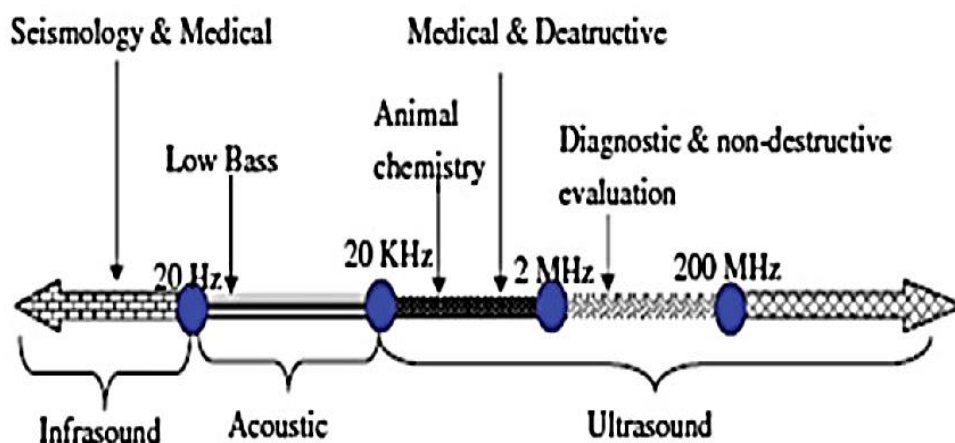
Budhiyanti et al. (2012) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum sp.* ที่พบได้ในหมู่เกาะจาวา ประเทศอินโดนีเซีย โดยทำการตรวจสอบปริมาณของฟีนอลิกด้วย ด้วยวิธีของ Follin Ciocalteu พบว่ามีอยู่ 0.006-0.65 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และ ทำการตรวจสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วย 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl กับ Ferrous Ion-Chelating พบว่ามีความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 0.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็น 14.61-48.71 เปอร์เซ็นต์

X. Zhang et al. (2016) ได้ทำการศึกษาการนำสาหร่ายมาเป็นตัวกลางการดูดซับโลหะหนัก ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus* AS-6-1 เป็นตัวกลางการดูดซับ cadmium (II) พบว่า *Scenedesmus obliquus* AS-6-1 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร พีเอช 6 ระยะเวลา 20 นาที และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถบำบัด cadmium (II) ได้ถึง 93.39 เปอร์เซ็นต์ โดยความเข้มข้นเริ่มต้นของ  $Cd^{2+}$  คือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

Tang et al. (2011) ได้ทำการศึกษาผลของก๊าซ  $CO_2$  ต่อตำแหน่งของกรดไขมันในสาหร่ายสองชนิดคือ *Scenedesmus obliquus* SJTU-3 และ *Chlorella pyrenoidosa* SJTU-2 โดยทำการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นของ  $CO_2$  เท่ากับ 0.03 5 10 20 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดที่ความเข้มข้นของ  $CO_2$  10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง *Scenedesmus obliquus* SJTU-3 มีอัตราการเจริญเติบโต และ อัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ดังนี้ 1.84 กรัมต่อลิตร และ 0.288 กรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ และ *Chlorella pyrenoidosa* SJTU-2 มีอัตราการเจริญเติบโต และ อัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ดังนี้ 1.55 กรัมต่อลิตร และ 0.264 กรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ สำหรับกรดไขมันที่พบส่วนใหญ่คือ C16-C18 (>94 เปอร์เซ็นต์) ภายใต้สภาวะความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่แตกต่างกัน และที่ระดับความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 30 – 50 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณมากที่สุด โดยงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายสามารถที่จะใช้เป็นตัวกลางในการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ได้ และยังสามารถเพิ่มปริมาณไขมันภายในเซลล์ได้อีกทางหนึ่ง

## 2.8 คลื่นอัลตราซาวด์

คลื่นอัลตราโซนิกนั้นเป็นคลื่นเสียงที่มีความถี่อยู่นอช่วงความถี่ที่มนุษย์จะสามารถได้ยินได้ (2 Hz - 20 kHz) ช่วงความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิกนั้นจะมีอยู่ 3 ช่วง คือ คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ต่ำ (20–100 kHz) , คลื่นอัลตราโซนิกความถี่สูง (100 kHz –1 MHz) และ คลื่นอัลตราโซนิกที่ใช้ในการแพทย์ (1-500 MHz) ดังในรูปที่ 2.8 สำหรับคลื่นอัลตราโซนิกในช่วง 20-100 kHz จะใช้ในด้านของเคมี เช่น การผสมสารเคมี เป็นต้น ส่วนคลื่นอัลตราโซนิกในช่วง 1-10 MHz จะใช้ในการนำทางและการสื่อสารของสัตว์, การตรวจวัดความเสียหายของวัสดุ (Wu et al., 2013) และการระบุตำแหน่ง

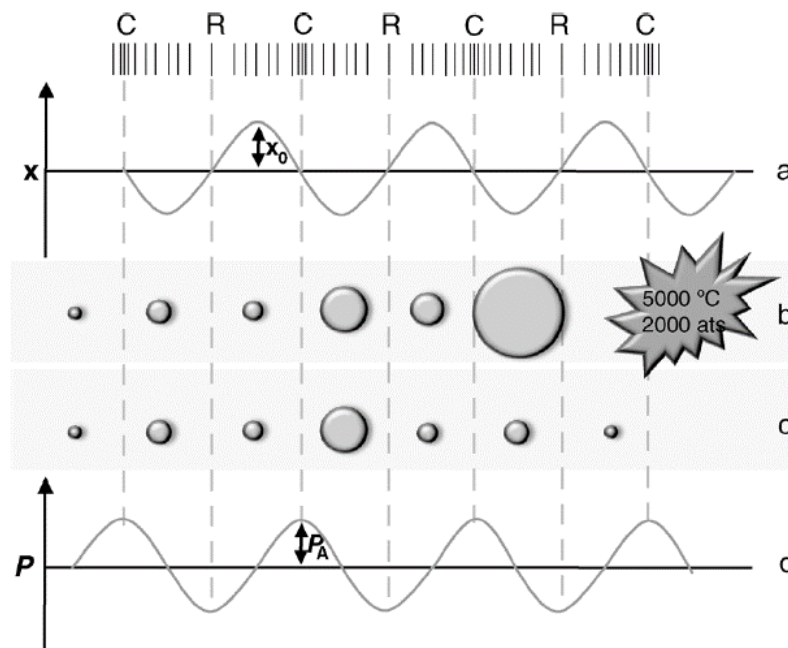


รูปที่ 2. 6 รูปแสดงช่วงคลื่นความถี่ของอัลตราซาวด์ (Wu et al., 2013)

### 2.8.1 Cavitation

Cavitation เกิดจากการที่คลื่นส่งผ่านตัวกลางที่เป็นของเหลวและเกิดการบีบอัดและขยายของคลื่นภายในตัวกลางโดยลักษณะการเกิด Cavitation สามารถเกิดได้ 2 รูปแบบ ดังนี้ การเกิด Cavitation แบบเสถียร ฟอง Cavitation เกิดในช่วงความเข้มของอัลตราโซนิกต่ำประมาณ  $1-2 \text{ Wcm}^{-2}$  สมดุลขนาดฟอง Cavitation มีขนาดใกล้เคียงกัน

การเกิด Cavitation แบบชั่วคราวเกิดในช่วงความเข้มของอัลตราโซนิกที่มากกว่า  $10 \text{ Wcm}^{-2}$  สำหรับขนาดของ Cavitation แบบชั่วคราวจะขยายตัวอย่างรวดเร็วในช่วง 2-3 รอบคลื่น และสลายตัว ซึ่งการสลายตัวของ Cavitation แบบชั่วคราวจะมีอุณหภูมิสูงถึง 5000 องศาเซลเซียส และความดันมากกว่า 2000 atm (Santos et al., 2008)



รูปที่ 2. 7 รูปแสดงลักษณะการเกิด Cavitation แบบเสถียร และ Cavitation แบบชั่วคราว (Santos et al., 2008)

## 2.8.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิด Cavitation

การเกิด Cavitation หรือ ฟองอากาศ ด้วยอัลตราซาวด์นั้นจะเกิดขึ้นเมื่อมีการสั่นของโมเลกุลของน้ำที่เกิดจากคลื่นที่ส่งผ่านออกมาจากแหล่งกำเนิด โดยการเกิดฟองอากาศนั้นจะมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อปริมาณและสถานะของ Cavitation เช่น ความถี่ของคลื่น ความเข้มของคลื่น ชนิดของตัวกลางของเหลว และอุณหภูมิ เป็นต้น (Santos et al., 2008)

### 2.8.2.1 ความถี่

อัลตราซาวด์ที่มีความถี่สูงในช่วง MHz นั้นจะเกิด Cavitation ได้ยากกว่าที่ความถี่ต่ำในช่วง kHz เนื่องจากที่ความถี่สูง การอัดตัวและการขยายตัวของช่วงคลื่นจะเกิดขึ้นในช่วงสั้นๆ ทำให้โมเลกุลของน้ำไม่สามารถที่จะแยกออกจากกันแล้วเกิดช่องว่างได้จึงทำให้ไม่เกิด Cavitation ฉะนั้นเมื่อความถี่เพิ่มขึ้น ต้องมีการปรับเพิ่มความเข้มตามเพื่อที่จะทำให้ตัวกลางเกิดช่องว่างได้ เช่น พลังงานที่จะทำให้เกิด Cavitation ของที่ความถี่ 400 kHz จะต้องใช้พลังงานมากกว่าที่ ความถี่ 20 kHz ถึง 10 เท่า

### 2.8.2.2 ความเข้มของพลังงาน

ความเข้มของพลังงาน คือ ความสูงของช่วงคลื่นหรือ Amplitude เมื่อความเข้มสูงขึ้นก็จะทำให้เกิดการสั่นของตัวกลางมากขึ้น เนื่องจากพลังงานส่งผ่านไปยังตัวกลางมากขึ้นทำให้เกิด Cavitation ได้มากขึ้นแต่ความเข้มของพลังงานสูงจะส่งผลกระทบต่อตัว transducer ทำให้เสื่อมสภาพได้เร็วกว่า

ปกติและการส่งผ่านพลังงานของคลื่นอัลตราซาวด์ไปในตัวกลางของเหลวลดลง และถ้าตัวกลางมีความหนืดสูงก็จำเป็นต้องใช้ความเข้มที่สูงขึ้น

#### 2.8.2.3 ชนิดของตัวทำละลาย

การเลือกตัวทำละลายที่ใช้กับอัลตราโซนิกนั้นต้องทำการเลือกอย่างระมัดระวัง ตัวทำละลายที่นิยมใช้เป็นส่วนใหญ่คือน้ำ และตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น พวกละอองอินทรีย์ โดยขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ ซึ่งแรงตึงผิวกับความหนืดจะมีผลกับการเกิด Cavitation ถ้าความหนืด และ แรงตึงผิวสูงจะเกิด Cavitation ได้ยาก

#### 2.8.2.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิของตัวทำละลายนั้นส่งผลต่อการอัลตราโซนิก การเพิ่มอุณหภูมิจะไปทำลายแรง Van der Waals และพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของสารละลาย และทำให้อัตราการแพร่สูงขึ้น แต่ Cavitation จะมีประสิทธิภาพดีกว่าที่อุณหภูมิต่ำเมื่อให้ปริมาณพลังงานของตัวกำเนิดคลื่นอัลตราโซนิกคงที่ เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิตัวทำละลายเพิ่มขึ้นไอของตัวทำละลายจะเข้าไปใน Cavitation เมื่อมีไอของตัวทำละลายอยู่ใน Cavitation จะทำให้ความรุนแรงเมื่อเกิดการสลายตัวของฟองอากาศลดลงซึ่งจะทำให้ผลของอัลตราโซนิกมีความรุนแรงน้อยกว่าที่คาด

#### 2.8.2.5 ความดันภายนอกและฟองแก๊ส

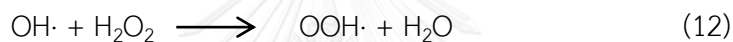
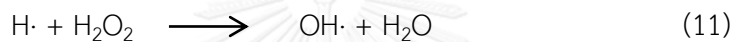
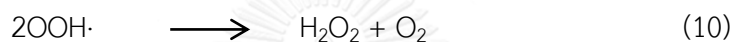
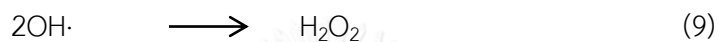
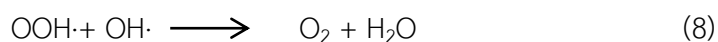
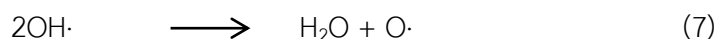
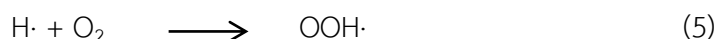
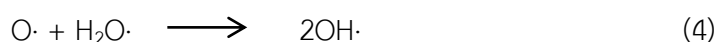
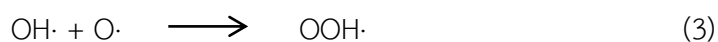
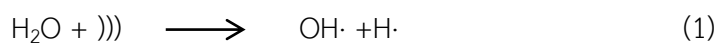
เมื่อความดันภายนอกเพิ่มขึ้น พลังงานที่ใช้เพื่อให้เกิด Cavitation ต้องเพิ่มขึ้นเพื่อไปทำลายแรงระหว่างโมเลกุลของตัวทำละลาย นอกจากนี้การเพิ่มความดันจะทำให้ความรุนแรงของการแตกสลายของ Cavitation เพิ่มขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพของอัลตราโซนิกเพิ่มขึ้น

### 2.8.3 Hot-spot theory

เป็นทฤษฎีที่อธิบายถึงความร้อนที่เกิดจากการสลายตัวของ Cavitation ที่เป็นผลจากคลื่นอัลตราโซนิก ลักษณะของอุณหภูมิที่เกิดจากการสลายตัวของ Cavitation สามารถแบ่งได้ 3 บริเวณ ดังนี้ จุดศูนย์กลางของฟอง Cavitation (Hot spot) มีอุณหภูมิประมาณ 5000 องศาเซลเซียส และ ความดันประมาณ 500 บรรยากาศ โดยโมเลกุลน้ำในสถานะของแก๊สจะเปลี่ยนไปเป็น OH· และ H· บริเวณผิวของฟอง Cavitation กับ ตัวกลางของเหลวส่วนใหญ่ ลักษณะของอุณหภูมิและปฏิกิริยาจะคล้ายกับบริเวณ Hot spot แต่เกิดในสถานะของของเหลว โดย OH· จะเกิดการรวมตัวกันและเปลี่ยนรูปเป็น H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Santos et al., 2008)

บริเวณของเหลวส่วนใหญ่ อุณหภูมิบริเวณนี้มีความใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง สำหรับปฏิกิริยาที่เกิดจะเกิดจากสารตัวอย่างกับ OH· หรือ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

สำหรับการใช้น้ำเป็นตัวกลางนั้นจะเกิดเรดิคอลดังสมการ (Wu et al., 2013)



#### 2.8.4 อุปกรณ์อัลตราซาวด์

อัลตราซาวด์โดยทั่วไปแล้วจะมีด้วยกัน 2 ประเภทด้วยกันคือ อ่างอัลตราซาวด์ และ อัลตราซาวด์แบบโพรบ ซึ่งจะมีวิธีการในการใช้ที่แตกต่างกันออกไป (Santos et al., 2008)

##### 2.8.4.1 อ่างอัลตราซาวด์

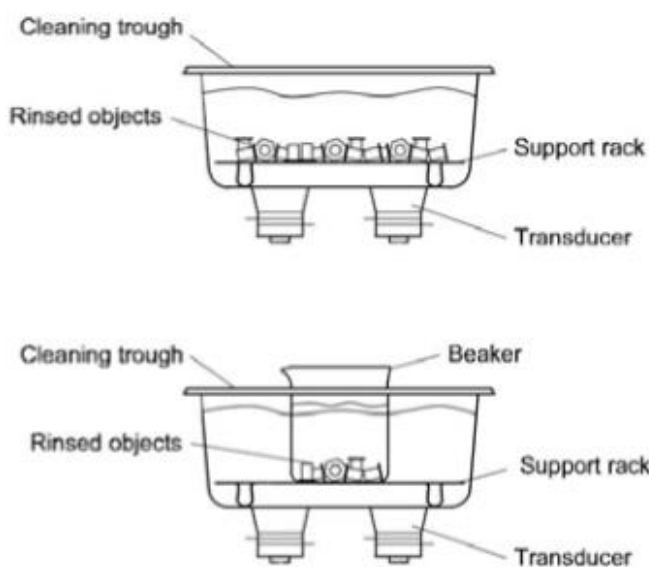
อ่างอัลตราซาวด์ ประกอบไปด้วย 2 ส่วน ได้แก่

Generator เป็นแหล่งกำเนิดพลังงาน

Transducer เป็นส่วนแปลงพลังงานจากแหล่งกำเนิดพลังงานให้เป็นคลื่นอัลตราโซนิก

สำหรับอ่างอัลตราซาวด์ในปัจจุบันนี้มีอุปกรณ์ในการควบคุมค่าพารามิเตอร์ เช่น อุณหภูมิ เวลา และระดับความเข้มของพลังงาน เป็นต้น เพื่อให้อ่างอัลตราซาวด์นั้นใช้งานได้สะดวกขึ้น ดังแสดงในรูปที่

2.8



รูปที่ 2. 8 อ่างอัลตราซาวด์

(ที่มา : [http://www.nist.gov/ncnr/upload/UltrasonicCleaner\\_VWR.pdf](http://www.nist.gov/ncnr/upload/UltrasonicCleaner_VWR.pdf))

ประเภทของอ่างอัลตราซาวด์ (Santos et al., 2008)

ปัจจุบันได้มีการแบ่งประเภทของอ่างอัลตราซาวด์ออกเป็น 3 แบบ ดังนี้

- 1) อ่างอัลตราซาวด์ทั่วไปพบได้ในห้องปฏิบัติการ โดยอ่างชนิดนี้มักจะมี ความถี่อยู่ที่ 40 kHz สามารถที่จะควบคุมอุณหภูมิได้
- 2) อ่างอัลตราซาวด์แบบหลายความถี่ ซึ่งสามารถใช้งานพร้อมกันได้ เช่น ความถี่ 25 kHz ที่ด้านล่างของอ่าง และ 40 kHz ที่ด้านข้างของอ่างเป็นต้น ประโยชน์ที่ได้คือการกระจายตัวของคลื่นอัลตราซาวด์
- 3) อ่างอัลตราซาวด์ขั้นสูงเป็นอ่างอัลตราซาวด์ที่พัฒนามาจากแบบปรับความถี่

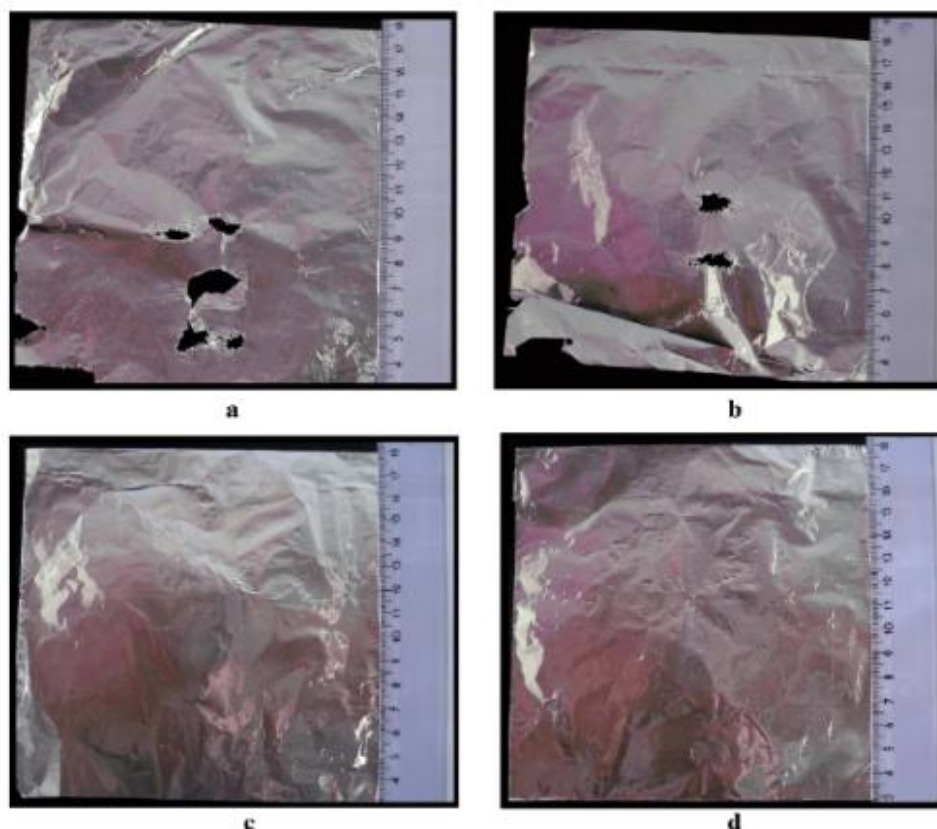
ตัวอย่างการวางตำแหน่งในอ่างอัลตราซาวด์

สำหรับการกระจายตัวของคลื่นอัลตราซาวด์ในอ่างอัลตราซาวด์นั้นจะไม่ได้กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอตามแกน Y วิธีที่สะดวกและรวดเร็วในการคือหาตำแหน่งที่ความเข้มของอัลตราซาวด์สูงสุด โดยใช้ลูมิเนียมฟอสฟอรัสเป็นตัวทดสอบ โดยจุ่มลูมิเนียมฟอสฟอรัสลงในอ่างอัลตราซาวด์ทำให้สามารถ



บอกตำแหน่งที่มีความเข้มของอัลตราซาวด์สูงที่สุดได้ ฟองอากาศที่เกิดจากคาวีเทชันจะทำให้พอยล์  
อลูมิเนียมเป็นรูพรุน ดังในรูปที่ 2.11

\



รูปที่ 2. 9 อลูมิเนียมพอยล์ที่ผ่านอัลตราซาวด์ที่ความถี่และความเข้มต่างๆเป็นระยะเวลา 5 นาที

a.อัลตราซาวด์ที่ความถี่ 35 kHz และ Amplitude 100%

b.อัลตราซาวด์ที่ความถี่ 35 kHz และ Amplitude 50%

c.อัลตราซาวด์ที่ความถี่ 130 kHz และ Amplitude 100%

d.อัลตราซาวด์ที่ความถี่ 130 kHz และ Amplitude 50% (Santos et al., 2008)

การควบคุมอุณหภูมิ

โดยปกติในการประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์นั้นจะใช้เวลาในการทำงานมากกว่า 30 นาที ทำให้  
อุณหภูมิของของเหลวเพิ่มสูงขึ้น สำหรับปฏิกิริยาดูดความร้อนจะทำให้ความเร็วของอัตราการ  
เกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้น อ่างอัลตราซาวด์ส่วนใหญ่ที่ใช้กันนั้นจะไม่มีระบบควบคุมอุณหภูมิที่สูงขึ้น ดังนั้น  
จึงต้องมีการควบคุมอุณหภูมิโดยใช้ระบบหล่อเย็นเพื่อควบคุมอุณหภูมิของอ่างอัลตราซาวด์  
รูปร่างและวัสดุของภาชนะ

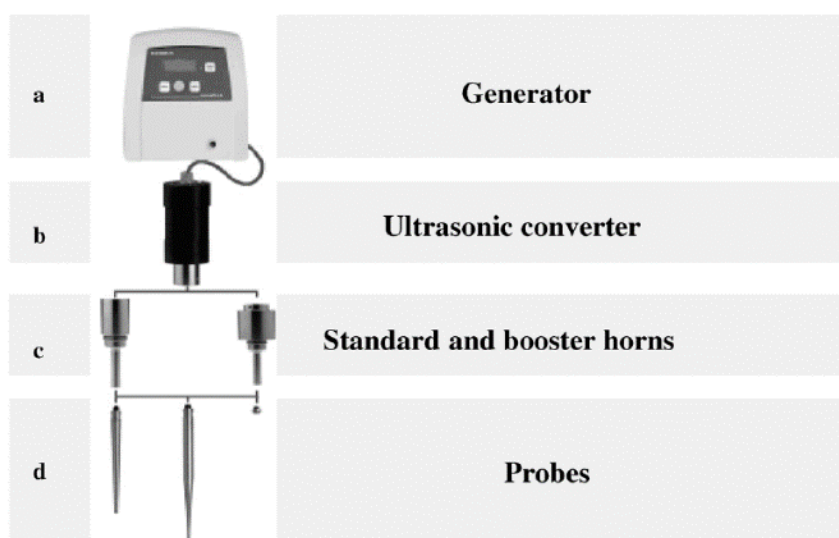
รูปร่างของภาชนะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ด้วยอ่างอัลตราซาวด์เพราะเมื่อคลื่นอัลตราซาวด์เคลื่อนผ่านของแข็งพลังงานบางส่วนจะถูกลดทอนลงไปเพราะตัวกลางได้ทำการกั้นพลังงานที่ความถี่บางช่วงออกไปทำให้เวลาเลือกภาชนะมาใช้ในการสก๊ตนั้น ควรที่จะเลือกภาชนะที่กว้างเพื่อลดการสะท้อนกลับของคลื่นให้น้อยที่สุด

#### 2.8.4.2 อัลตราซาวด์แบบโพรบ

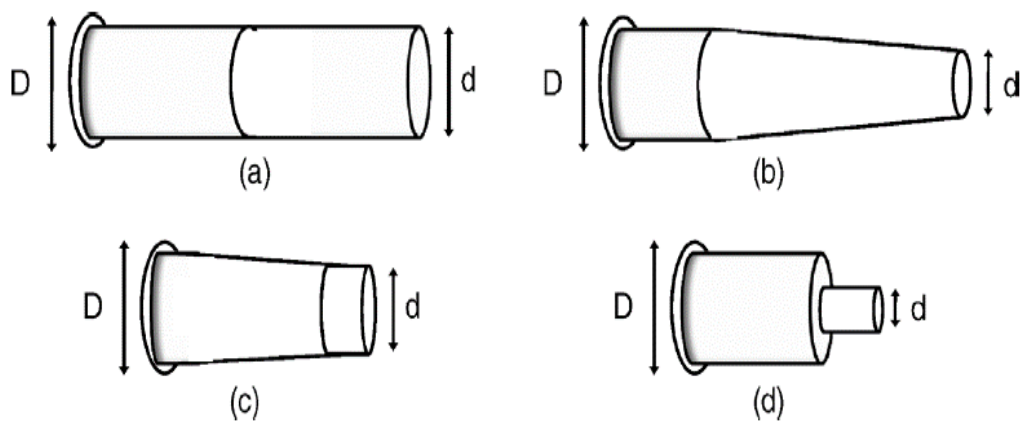
ความแตกต่างระหว่างอัลตราซาวด์โพรบกับอ่างอัลตราซาวด์มีด้วยกัน 2 ประการ ได้แก่การส่งผ่านคลื่นอัลตราซาวด์ไปยังตัวอย่างโดยตรงโดยไม่ผ่านภาชนะของตัวกลาง และ อัลตราซาวด์แบบโพรบสามารถโฟกัสเพื่อให้ความเข้มของอัลตราซาวด์ได้มากกว่าแบบอ่างอัลตราซาวด์ประมาณ 100 เท่า ทำให้การประยุกต์ใช้งานต่างกัน โดยส่วนใหญ่แล้วอัลตราซาวด์แบบโพรบจะใช้สำหรับงานบางประเภท เช่น การแยกชนิดของสารหนูและปรอทในปัสสาวะของมนุษย์หรืออาหารทะเล เป็นต้น

ส่วนประกอบของอัลตราซาวด์แบบโพรบ

จากรูปที่ 2.12 แสดงส่วนประกอบต่างๆของอัลตราซาวด์แบบโพรบ ซึ่งประกอบไปด้วยแหล่งกำเนิดพลังงานความถี่สูง ตัวแปลงสัญญาณจากพลังงานไฟฟ้าเป็นพลังงานกลที่ทำให้เกิดการสั่นสะเทือน ปรับเพิ่ม Amplitude ของอัลตราซาวด์ และตัวโพรบที่ส่งผ่านพลังงานอัลตราซาวด์สู่ตัวอย่าง โดยขนาดของปลายโพรบนั้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณของตัวอย่างที่ใช้ ซึ่งจะแตกต่างกันไปดังรูปที่ 2.13 ลักษณะของโพรบ



รูปที่ 2. 10 แสดงส่วนประกอบต่างๆของอัลตราซาวด์แบบโพรบ (Santos et al., 2008)



รูปที่ 2. 11 ลักษณะของโพรบ (Santos et al., 2008)

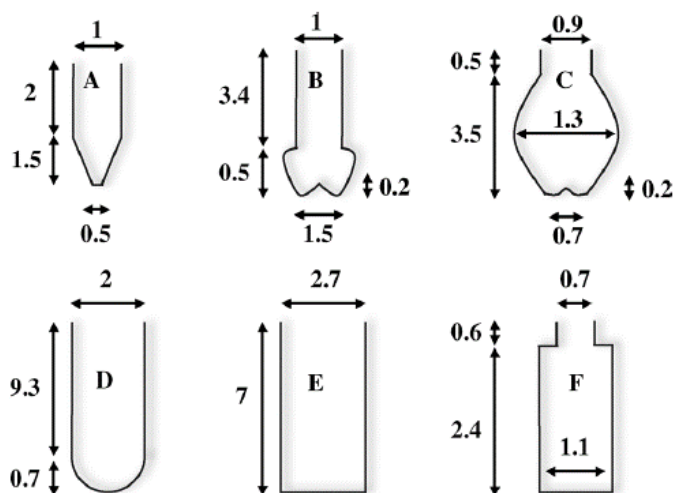
a. uniform cylinder; b. exponential taper; c. linear taper or cone; d. stepped

ประเภทของอัลตราซาวด์แบบโพรบ

วัสดุที่ใช้ทำโพรบส่วนใหญ่จะเป็นไททาเนียมอัลลอยด์ สามารถทำความสะอาดโดย Autoclave การเลือกชนิดของโพรบนั้นจะต้องคำนึงถึงแอมพลิฟายด์ ที่ใช้ ถ้าใช้ความเข้มของพลังงานที่สูงมากอาจทำให้โพรบไททาเนียมเกิดการบวมเปื้อน เช่น จากโลหะของอลูมิเนียม และโครเมียม จึงมีการพัฒนาชนิดของโพรบที่ทำมาจากซิลิกา เพื่อป้องกันการรบกวนที่เกิดจากโลหะ โดยซิลิกาโพรบนี้สามารถทนสารเคมีกับอุณหภูมิที่สูงได้ดี และไม่นำไฟฟ้า แต่โพรบซิลิกาจะมีอัตราการเกิด Cavitation ค่อนข้างต่ำเพราะมีข้อจำกัดในการปรับแอมพลิฟายด์

Dead Zone (Santos et al., 2008)

ความเข้มของอัลตราซาวด์จะลดลงอย่างรวดเร็วตามแนวแกนของอัลตราซาวด์โพรบ ดังนั้นตำแหน่งของโพรบและผนังของภาชนะที่ใส่ตัวอย่างควรอยู่ห่างกันให้น้อยที่สุด ให้ส่วนของบริเวณที่เป็นจุดอับน้อยที่สุดและมีส่วนที่สัมผัสกับพื้นที่ที่เกิด Cavitation ให้มากที่สุด ซึ่งสามารถปรับให้บริเวณที่เป็นจุดอับให้น้อยลงได้จากภาชนะที่ใส่ตัวอย่างดังในรูปที่ 2.14



รูปที่ 2. 12 ลักษณะของภาชนะแบบต่างๆ (Santos et al., 2008)

## 2.9 กระบวนการสกัดไขมันจากสาหร่าย

สำหรับกระบวนการสกัดไขมันจากสาหร่ายในเชิงห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปแล้วจะใช้สารเคมีในการสกัด ตัวอย่างเช่น วิธีของ Bligh and Dyer และ Soxhlet

วิธีของ Bligh and Dyer : เป็นวิธีการสกัดไขมันที่ให้ผลมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด ซึ่งการสกัดด้วยวิธีนี้สามารถใช้สกัดไขมันจากสาหร่ายได้ทั้งแบบแห้งและแบบเปียก โดย Shin et al. (2014) ได้แนะนำอัตราส่วนสารเคมีที่ใช้สำหรับแบบแห้งได้แก่ เมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำผสมกันในอัตราส่วน 2:1:1.8 และนำสารละลายที่ได้มาใช้กับสาหร่ายในอัตราส่วน 3:1 และอัตราส่วนสารเคมีที่ใช้แบบเปียกได้แก่ เมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำในอัตราส่วน 2:2:1.8 และนำสารละลายที่ได้มาใช้กับ สาหร่าย ในอัตราส่วน 4:1

วิธีของ Soxhlet : ใช้เฮกเซนในการสกัด โดยทำให้ระเหยและควบแน่นกลับมาด้วยระบบหล่อเย็น การสกัดซ้ำด้วยเฮกเซน ยิ่งมีการหมุนเวียนจำนวนครั้งมากขึ้นก็จะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด จนกระทั่งสารที่สกัดออกมามีปริมาณเข้มข้นมากพอ ประสิทธิภาพสูงสุดที่สามารถสกัดได้คือ 95 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด และวิธีการนี้จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่าวิธีของ Bligh and Dyer (Araujo et al., 2013)

## 2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับอัลตราซาวด์และการสกัด

Keris-Sen et al. (2014) ทำการศึกษาผลของของอัลตราโซนิกต่อเซลล์สาหร่ายและผลต่อการสกัดไขมัน โดยทำการศึกษาอัลตราโซนิก ช่วงความเข้มของอัลตราซาวด์ (0.1- 0.5 วัตต์ต่อมิลลิลิตร) ที่ความถี่ 30 kHz เป็นระยะเวลา 5 – 60 นาที โดยเลี้ยงสาหร่ายในน้ำ 2 ชนิด คือ ในอาหารชนิด BG11 medium และในน้ำเสีย ปรากฏว่าในน้ำทั้งสองชนิด ผลของอัลตราโซนิกทำให้เกิดการทำลายเซลล์ได้มากขึ้นโดยวัดจากปริมาณความเข้มข้นของโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตที่เพิ่มมากขึ้น และความเข้มข้นของของแข็งแขวนลอยที่ลดลง ช่วงความเข้มของอัลตราซาวด์ที่ได้ผลดีที่สุดคือ 0.4 วัตต์ต่อมิลลิลิตร และผลของอัลตราซาวด์ช่วยในการสกัดไขมันด้วยสารละลาย 2 ชนิด ได้แก่ n-hexane และ Chloroform/methanol โดยพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณไขมันที่สามารถสกัดได้เพิ่มขึ้น 1.5 - 2 เท่า

Wang et al. (2014) ทำการศึกษาเรื่องการทำลายเซลล์ของสาหร่ายโดยใช้อัลตราโซนิก ความถี่สูง โดยใช้สาหร่าย 2 ชนิด ได้แก่ *Scenedemus dimorphus* และ *Nannochloropiss oculata* ที่ความถี่ 3.2 MHz ความเข้มของอัลตราซาวด์ 40 W และ ที่ความถี่ต่ำ 20 KHz ความเข้มของอัลตราซาวด์ 100 W ปรากฏว่าที่ความถี่สูงสามารถทำลายเซลล์สาหร่ายได้ดีกว่าที่ความถี่ต่ำ โดยตรวจพบปริมาณไขมัน และ คลอโรฟิลล์ที่เพิ่มขึ้น และเมื่อใช้ทั้งสองช่วงความถี่ควบคู่กันพบว่า ประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ของสาหร่ายมีมากกว่าการใช้ที่ความถี่ใดความถี่หนึ่ง

Halim et al. (2011) ทำการศึกษาการสกัดไขมันจากสาหร่ายทะเล *Chlorococcum sp.* โดยใช้เฮกเซน และ Supercritical carbon dioxide ในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งสาหร่ายที่นำมาวิจัยมีไขมันเป็นองค์ประกอบอยู่ในเซลล์ประมาณ 7.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง เมื่อตรวจสอบองค์ประกอบของไขมันที่สกัดแล้ว พบว่ามีองค์ประกอบของ C18:1 อยู่ 63 เปอร์เซ็นต์ C16:0 อยู่ 19 เปอร์เซ็นต์ C18:2 อยู่ 4 เปอร์เซ็นต์ C16:1 อยู่ 4 เปอร์เซ็นต์ และ C18:0 อยู่ 3 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์นั้น พบว่าเมื่อลดอุณหภูมิและเพิ่มความดันทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดไขมันสูงขึ้น และค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลของการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ก็สูงขึ้น สำหรับการสกัดด้วยเฮกเซนแบบต่อเนื่องด้วยวิธี Soxhlet มีการเพิ่มไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายร่วม การสกัดด้วยเฮกเซนสำหรับสาหร่ายเปียกและแห้งนั้นได้ไขมันที่สกัดออกมาในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน

Neto et al. (2013) ได้ทำการศึกษาปรับปรุงการสกัดไขมันจากสาหร่ายโดยใช้อัลตราโซนิกเป็นตัวช่วย และได้ทำการศึกษาในสาหร่าย 3 ชนิด คือ *Chlorella minutissima*, *Thalassiosira fluviatilis* และ *Thalassiosira pseudonana* โดยใช้เซลล์ของสาหร่ายแห้งผสม n-hexane 20 ml และใช้อัลตราโซนิกชนิดต่างทำลายเซลล์ของสาหร่ายระยะเวลา 20 นาที จากนั้นนำตัวอย่างไปปั่น

เหวี่ยงที่ความเร็ว 4500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เพื่อแยกส่วนตัวทำละลายกับส่วนของเซลล์ สาหร่ายแล้วแยกตัวทำละลายโดยการระเหยเพื่อแยกไขมันออกมา และจากการวิจัยพบว่า *Chlorella minutissima*, *Thalassiosira fluviatilis* และ *Thalassiosira pseudonana* ได้ไขมันจากเซลล์ เท่ากับ 15.5, 40.3, และ 39.5 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้งแต่เมื่อพิจารณาจากปริมาณไขมัน และการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่ได้จึงมีความเป็นไปได้ว่า *Chlorella minutissima* น่าจะเหมาะสมกับการนำไปผลิตเป็นเชื้อเพลิง

Kaul et al. (2011) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับผลของอัลตราโซนิก ความถี่ 24 kHz ความเข้มของพลังงาน 200 W ต่อการใช้ตัวทำละลายในการสกัดไขมันและคุณภาพของไขมันที่ได้สบูดำและหยีน้ำ โดยเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดโดยทั่วไป อาทิ การกลั่นโดยตรง หรือการสกัดแบบ Soxhlet โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย โดยศึกษาปัจจัยต่างๆด้วยการปรับอัตราส่วนของสารละลายและตัวทำละลายที่อัตราส่วน 1:2.5 ถึง 1:10 และระยะเวลาสกัดระหว่าง 30 วินาที ถึง 60 นาที แล้วทำการตรวจสอบปริมาณเปอร์เซ็นต์ของไขมัน และตรวจสอบคุณภาพของไขมันของแต่ละวิธีจะทำการวัดจากกรดไขมันด้วยวิธี ASTM D-974/04 ตรวจวัดไตรกลีเซอไรด์ และ การย่อยสลายของกรดไขมันด้วย HPLC ภายใต้สภาวะอัตราส่วนสารละลายและตัวทำละลาย 1:10 (W/V) ระยะเวลาในการสกัด 3 นาที ประสิทธิภาพการสกัดมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ ในสบูดำมีกรดไขมันอิสระ น้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ และ หยีน้ำที่ระยะเวลาการสกัด 30 วินาทีมี FFA น้อยกว่าการสกัดด้วยวิธีทั่วไปที่ระยะเวลา 16 ชั่วโมง อยู่ 2 เปอร์เซ็นต์

Adam et al. (2012) ได้ทำการศึกษาความเป็นไปได้ที่จะลดการใช้สารเคมีในการสกัดไขมันจากสาหร่ายและการพัฒนาไปใช้ในระดับที่ใหญ่ขึ้น โดยใช้อัลตราโซนิกช่วยในการสกัดไขมันจาก *Nannochloropsis oculata* ผ่านทางพารามิเตอร์ที่เหมาะสมดังต่อไปนี้ (i) ความเข้มของอัลตราซาวด์ 1000 w, (ii) ระยะเวลาการสกัด 30 นาที และ (iii) น้ำหนักแห้งของสาหร่ายประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ คำนวณจากปริมาณกรดไขมันรวมที่ผ่านการวิเคราะห์ GC-FID-MS ค่าสูงสุดในการนำไขมันกลับมามากกว่าวิธีการสกัดโดยทั่วไป(Bligh and Dyer) ประมาณ 0.21 เปอร์เซ็นต์ จากผลทั้งหมดที่ได้นั้นมีความเป็นไปได้ที่จะขยายระดับได้

Guldhe et al. (2014) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสำหรับการผลิตไบโอดีเซลในสเกลใหญ่ ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ *Scenedesmus sp.* เพาะเลี้ยงในระบบเปิดในบ่อกลม ผลผลิตสูงสุดที่วันที่ 21 คือ 1.16 กรัมของสาหร่ายต่อลิตร สำหรับการเก็บเกี่ยวใช้การตกตะกอนด้วยวิธีปั่นเหวี่ยง และการเก็บเกี่ยวแบบทำให้เซลล์ตายคือ freeze drying อบแห้ง และ ตากแดดให้แห้ง แล้วทำการสกัดไขมันโดยได้ไขมัน 29.65%, 28.63% และ 28.33% ต่อน้ำแห้ง ตามลำดับ สำหรับการสกัดนั้นเลือกใช้ไมโครเวฟ และ อัลตราโซนิก ในการทำลายเซลล์ของสาหร่าย หลังจากนั้นสกัดด้วยคลอโรฟอร์มกับเอทานอลในอัตราส่วน 1:1 โดยตัวอย่างจากการทำให้เซลล์แห้งด้วยแสงอาทิตย์และ

ใช้ไมโครเวฟในการช่วยสกัดนั้น จะได้ไขมันอยู่ที่ 28.33 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับอัลตราโซนิกได้ไขมันอยู่ที่ 18.9 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง สำหรับการทำให้เซลล์แห้งนั้นพบว่าการแตกของพันธะไขมันที่สูงดังนั้นการทำให้เซลล์แห้งและการทำลายเซลล์สาหร่ายทำให้ลักษณะของไขมันที่สกัดได้แตกต่างกันออกไป จากผลทางขึ้นต้นได้บ่งบอกถึงความเป็นไปได้ที่จะนำมาผลิตเป็นไบโอดีเซลได้

Cheng et al. (2011) ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดไขมันจากสาหร่าย *Pavlova sp.* โดยตัวทำละลายและsupercritical CO<sub>2</sub> ปริมาณไขมันในสาหร่ายที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายร่วมกับใช้อัลตราซาวด์ ได้ 44.7 wt.% และสำหรับการใช้ตัวทำละลายวัดได้ 15.6 wt.% โดยประสิทธิภาพของการสกัดจะขึ้นอยู่กับการทำลายเซลล์ของสาหร่าย และการสกัดด้วย supercritical CO<sub>2</sub> จะได้ไขมันสูงสุดอยู่ที่ 98.7 %

Araujo et al. (2013) ทำการศึกษาความเป็นไปได้การประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก สำหรับงานวิจัยนี้ศึกษาการสกัดไขมันจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* และใช้วิธีการสกัดทั้งหมด 5 วิธีด้วยกัน ได้แก่ Bligh และ Dyer, Chen, Folch, Hara and Radin, และ Soxhlet และมีการเติมผงซิลิกาเพื่อทดสอบประสิทธิภาพว่าจะสามารถเพิ่มแรงเฉือนในการทำลายผนังเซลล์ของสาหร่าย ผลที่ได้พบว่าผงซิลิกาไม่ได้เพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดไขมันจากสาหร่าย และวิธีของ Bligh และ Dyer โดยใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยสกัดนั้นมีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่เหลือซึ่งมีประสิทธิภาพในการสกัดอยู่ 52.5% w/w

Lee et al. (2010) ทำการเปรียบเทียบวิธีการสกัดไขมัน 5 วิธีคือ ออโต้เคลฟ, การบีบอัด, ไมโครเวฟ, อัลตราโซนิก และ ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการตรวจสอบประสิทธิภาพในการทำลายผนังเซลล์ สาหร่ายที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ *Botryococcus sp.*, *Chlorella vulgaris*, และ *Scenedesmus sp.* และทำการสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มผสมกับเมทานอลในอัตราส่วน 1:1 ซึ่งได้ไขมันออกมาจากทั้งสามชนิดดังนี้ 5.4–11.9, 7.9–8.1, 10.0–28.6, 6.1–8.8, และ 6.8–10.9 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ *Botryococcus sp.* จะเป็นชนิดที่มีกรดโอเลอิกสูงสุดที่ 5.7 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน เมื่อถูกทำลายเซลล์ด้วยไมโครเวฟ ดังนั้นวิธีไมโครเวฟจึงเป็นวิธีที่เรียบง่ายและได้ผลดีที่สุดสำหรับการสกัดไขมันจากสาหร่าย

Balasubramanian et al. (2013) ทำการศึกษาปัจจัยในการสกัดไขมันจากสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก ได้แก่ การทำให้เซลล์แห้ง ความชื้น และการสกัดด้วยตัวทำละลาย และวิเคราะห์ไขมันที่ได้นั้นจะแบ่งออกเป็น 3 แบบ ได้แก่ ลักษณะทางธรรมชาติของไขมัน กรดไขมันอิสระ และไขของกรดไขมัน ผลปรากฏว่าการสกัดในสถานะของแข็ง และวิธีทำให้เซลล์แห้ง (การแช่แข็ง, ตู้อบ, และใช้แสงอาทิตย์) ไม่มีผลต่อไขมันในเซลล์ แต่กรดไขมันที่คงเหลือจากการทำให้แห้งด้วยการใช้แสงอาทิตย์จะมีมากถึงสามเท่า เมื่อพิจารณาวิธีการสกัดไขมันด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ การใช้อัลตราซาวด์ การทำให้

เป็นเนื้อเดียวกัน การใช้ตัวทำละลายในการสกัด และ วิธีการสกัดแบบ Soxhlet พบว่าอัลตราซาวด์ เป็นวิธีที่ได้ปริมาณไขมันน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ เมื่อใช้เฮกเซนกับเมทานอล ส่วน คลอโรฟอร์มกับเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ผสมที่มีประสิทธิภาพได้ดีที่สุดคือ 33 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ ผลของความชื้นในสาหร่ายพบว่าที่ความชื้นมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ประสิทธิภาพในการสกัด ไขมันนั้นลดลงและเพิ่มอัตราส่วนของกรดไขมันอิสระ

Chen et al. (2013) ได้ทำการศึกษาการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อย่างต่อเนื่องในการสกัด ไขมันจากสาหร่าย เนื่องจากการสกัดด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แบบที่ละเท มีการนำตัวทำละลาย มาช่วยในการสกัด ซึ่งใช้ในปริมาณมาก การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการสกัดอย่างต่อเนื่องทำให้ ใช้ตัวทำละลายลดลง โดยทำการควบคุมอุณหภูมิ ความดัน การคัดกรองก่อนเข้าสู่กระบวนการสกัด และชนิดของตัวทำละลาย โดยทำการสกัดเป็นเวลา 5 วัน พบว่าปริมาณของไขมันที่ได้สูงถึง 90.56 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการบีบอัด

Natarajan et al. (2014) ได้ทำการศึกษาการสกัดไขมันด้วยอัลตราโซนิกแบบต่อเนื่องจาก สาหร่าย 3 ชนิด ดังนี้ *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis sp.* และ *Chlorella sp.* พบว่า หลังจากการทำลายเซลล์ด้วยอัลตราโซนิกแล้วไขมันจาก *Chlorella sp.* จะปนอยู่กับน้ำ แต่ไขมันจาก *Tetraselmis suecica* และ *Nannochloropsis sp.* จะคงอยู่ภายในเซลล์เนื่องจากผนังเซลล์มีความ ยืดหยุ่น โดยวิธีการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิกแบบต่อเนื่องเป็นวิธีการสกัดที่สามารถข้ามขั้นตอนการทำ ให้เซลล์ของสาหร่ายแห้งได้เนื่องจากการทำให้เซลล์แห้งนั้นมีค่าใช้จ่ายสูง สำหรับผลของอัลตราซาวด์ ต่อการสกัดไขมันสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดพบว่า ปริมาณของคาร์บอนที่ลำดับสูงจะลดลงเนื่องจากพลังงาน จากอัลตราโซนิกไปทำลายพันธะของไขมันให้มีโมเลกุลเล็กลง

Xu and Pan (2013) ได้ทำการศึกษาระยะเวลาการสกัด อุณหภูมิ อัตราส่วนตัวทำละลาย และความเข้มข้นของอัลตราโซนิก ในการสกัด all-trans-lycopene จากองุ่นแดง โดยเปรียบเทียบกับ วิธีการสกัดโดยตัวทำละลายแบบทั่วไป พบว่าการใช้อัลตราโซนิกช่วยสกัดสามารถลดระยะเวลาในการสกัด ลงเหลือ 30 นาทีโดยที่ปริมาณของ all-trans-lycopene ที่สกัดยังอยู่ในปริมาณที่สูงที่สุด สำหรับ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดคือ 30 องศาเซลเซียส อัตราส่วนที่เหมาะสมของตัวทำละลายต่อ ตัวอย่างคือ 3:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) โดยในส่วนของอัลตราโซนิกพบว่าในระยะแรกที่ทำให้การเพิ่มความ เข้มของอัลตราโซนิกพบว่าปริมาณ all-trans-lycopene สูงขึ้น และเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของอัล ตราโซนิกต่อไปพบว่าปริมาณของ all-trans-lycopene ที่ได้มีปริมาณที่ลดลง จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่า all-trans-lycopene ได้สลายตัวกลายเป็น 9,130-di-cis-, 9,13-di-cis-, 15-cis-, 13-cis- และ 9-cis-lycopene isomers

Gerde et al. (2012) ได้ทำการศึกษาความเสียหายเซลล์สาหร่ายด้วยคลื่นอัลตราโซนิก สำหรับการสกัดเพื่อนำไขมันที่ได้ไปผลิตเป็นไบโอดีเซล สำหรับชนิดของสาหร่ายที่ทำการศึกษาคือ



*Schizochytrium limacinum* และ *Chlamydomonas reinhardtii* พบว่าต้องใช้พลังงานประมาณ 800 จูล ต่อ 10 มิลลิลิตร ในการทำลายเซลล์สาหร่าย โดยเมื่อเพิ่มระยะเวลาอัลตราโซนิกและความเข้มของพลังงานพบว่าเกิดเรติคูลมากขึ้น ดังนั้นการใช้อัลตราโซนิกต้องทำการควบคุมความเข้มของพลังงานและระยะเวลาอัลตราโซนิกเพื่อเรติคูลที่เกิดส่งผลต่อพันธะของไขมันที่สกัดได้น้อยที่สุด และเพื่อประหยัดค่าใช้จ่ายในด้านการจัดการ



ตารางที่ 2. 8 สรุปผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดด้วยอัลตราซาวด์

รายชื่อผู้วิจัย	สิ่งที้นำมาสกัด	วิธีดำเนินการวิจัย	สารเคมีที่ใช้	ผลวิจัยที่ได้
Keris-Sen et al. (2014)	สาหร่าย Mixed culture	อัลตราโซนิก ช่วงความเข้ม (0.1- 0.5 วัตต์ต่อมิลลิลิตร) ที่คงที่ 30 KHz เป็นนาน 5 – 60 นาที	n-hexane และ chloroform /methanol	ที่ความเข้มของอัลตราโซนิก 0.4 วัตต์ต่อมิลลิลิตร สกัดไขมันได้สูงสุด
Wang et al. (2014)	Scenedemus dimorphus และ Nannochloropsis oculata	ความถี่ 3.2 MHz ความเข้มของอัลตราซาวด์ 40 W และความถี่ต่ำ 20 KHz ความเข้มของอัลตราซาวด์ 100 W	-	การใช้ความถี่สูงและต่ำควบคู่กันมีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ของสาหร่ายมีมากกว่าการใช้ที่ความถี่ใดความถี่หนึ่ง
Neto et al. (2013)	Chlorella minutissima, Thalassiosira fluviatillis, และ Thalassiosira pseudonan	อ่างอัลตราโซนิก ความถี่ 40 KHz นาน 20 นาที หลังจากนั้น ผสมกับ n-hexane ด้วย vortex	n-hexane	สามารถสกัดไขมันจาก Chlorella minutissima ได้ 15.5 % by wt., Thalassiosira fluviatillis ได้ 40.3 % by wt., และ Thalassiosira pseudonan ได้ 39.5 % by wt.

ตารางที่ 2. 8 สรุปผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ (ต่อ)

ร าย ชี อ ผู้วิจัย	สิ่งทีนำมาสกัด	วิธีดำเนินการวิจัย	สารเคมีที่ใช้	ผลวิจัยที่ได้
Halim et al. (2011)	Chlorococccum sp.	สกัดโดยใช้ เฮกเซน และ Supercritical carbon dioxide	n-hexane	สำหรับที่เปียก และแห้งนั้นจะได้ ไขมัน ที่ ส กั ด ออกมาในสำหรับ ที่เปียกและแห้งนั้น จะได้ไขมันที่สกัด ออกมาใน
Kaul et al. (2011)	สบู่ดำและหยีน้ำ	อัลตราซาวด์ความถี่ 24 kHz ความเข้ม ของอัลตราซาวด์ 200 W สกัดด้วย วิธีการกลั่นโดยตรง หรือ การสกัดแบบ ซอกเล็ท โดยทำการ ปรับอัตราส่วนตัวทำ ละลายและ ระยะเวลาการทำ ปฏิกริยา	Hexane	อั ต ร า ส ่ว น สารละลายและตัว ทำ ล ะ ล าย ที่ เหมาะสมอยู่ที่ 1:10 (W/V) นาน 3 นาที ประสิทธิภาพ การสกัด > 95 เปอร์เซ็นต์ หยีน้ำ ระยะเวลาสกัด นาน 30 วินาที
Adam et al. (2012)	Nannochloropsis oculata	ทำการสกัดด้วยวิธี Bligh & Dyer แบบ ประยุกต์ และใช้อัล ตราซาวด์ที่ความถี่ 20 kHz ในการช่วย สกัด ทำการศึกษา ค่าความเข้มของอัล ตราซาวด์ และ ระยะเวลาการสกัด	Chloroform /methanol , hexane	ความเข้มของอัล ตราซาวด์ที่ 1000 W และนาน 30 นาที และสามารถ นำไขมันกลับมาได้ เพิ่ม 0.21 % เมื่อ เทียบกับวิธีปกติ

ตารางที่ 2. 8 สรุปผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ (ต่อ)

รายชื่อผู้วิจัย	สิ่งที้นำมาสกัด	วิธีดำเนินการวิจัย	สารเคมีที่ใช้	ผลวิจัยที่ได้
Guldhe et al. (2014)	Scenedesmus sp	ทำให้เซลล์แห้งด้วยวิธี freeze drying, อบแห้ง และ ตากแดด และทำการสกัดด้วยวิธี Bligh and Dyer โดยใช้อัลตราซาวด์และคลื่นไมโครเวฟในช่วยในการสกัด	Chloroform /methanol	วิธีทำให้แห้งด้วยการใช้แสงอาทิตย์โดยใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยสกัดได้ไขมันอยู่ 18.9 % และการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยสกัดได้ไขมันอยู่ 28.33 %
Cheng et al. (2011)	Pavlova sp.	ทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย/สกัดด้วยตัวทำละลายโดยใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยสกัด/สกัดด้วย supercritical CO <sub>2</sub>	Hexane	สกัดโดยใช้ตัวทำละลายได้ไขมัน 15.6 wt.% ใช้อัลตราซาวด์ช่วยสกัดสามารถสกัดได้ไขมัน 44.7 wt.% และการสกัดด้วย supercritical CO <sub>2</sub> จะได้ไขมันสูงสุดอยู่ที่ 98.7 % เมื่อเทียบกับการบีบอัด
Araujo et al. (2013)	Chlorella vulgaris	ทำการสกัดด้วยวิธีของ Bligh และ Dyer, Chen, Folch, Hara and Radin, และ Soxhlet และมี การเพิ่มผงซิลิกา	Chloroform /methanol , hexane	วิธีของ Bligh และ Dyer โดยใช้อัลตราซาวด์ในการช่วยสกัดได้ประสิทธิภาพดีที่สุด เท่ากับ 52.5 % (w/w)

ตารางที่ 2. 8 สรุปผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ (ต่อ)

รายชื่อผู้วิจัย	สิ่งทีนำมาสกัด	วิธีดำเนินการวิจัย	สารเคมีที่ใช้	ผลวิจัยที่ได้
Lee et al. (2010)	Botryococcus sp., Chlorella vulgaris, และ Scenedesmus sp.	วิธีการสกัดไขมัน 5 วิธี คือ ออโต้เคลฟ, การบีบอัด, ไมโครเวฟ, อัลตราโซนิก และ ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์ ในการทำลายเซลล์และสกัดด้วยวิธีของ Bligh และ Dyer	Chloroform /methanol	ไขมันออกมาจากทั้งสามชนิดดังนี้ 5.4–11.9, 7.9–8.1, 10.0–28.6, 6.1–8.8, และ 6.8–10.9 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยไมโครเวฟเป็นวิธีการทำลายเซลล์ที่ง่ายที่สุด
Balasubramanian et al. (2013)	Nannochloropsis sp.	การใช้อัลตราซาวด์, Homogenization, การใช้ตัวทำละลายในการสกัด และ วิธีการสกัดแบบ Soxhlet	Hexane, acetone, Chloroform, Ethyl Acetate diethyl ether, Isopropanol, Methanol, Ethanol, และ acetic	วิธีการสกัดแบบ Soxhlet เป็นวิธีการสกัดไขมันที่ดีที่สุดได้ เปอร์เซ็นต์ไขมันอยู่ที่ 33 และ 30 % ตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ Chloroform/methanol
Chen et al. (2013)	DHA algae	การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการสกัดอย่างต่อเนื่อง ทำการสกัดเป็นเวลา 5 วัน	ethanol, ethyl acetate, และ 1-propanol	ปริมาณของไขมันที่ได้สูงถึง 90.56 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2.8 สรุปผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ (ต่อ)

รายชื่อผู้วิจัย	สิ่งทีนำมาสกัด	วิธีดำเนินการวิจัย	สารเคมีที่ใช้	ผลวิจัยที่ได้
Natarajan et al. (2014)	Tetraselmis suecica, Nannochloropsis sp. Chlorella sp.	สกัดไขมันด้วยอัลตราโซนิกแบบต่อเนื่อง	-	Tetraselmis suecica, Nannochloropsis sp. ไขมันคงค้างอยู่ในเซลล์ Chlorella sp. น้ำในหลอดออกจากเซลล์
Xu and Pan (2013)	องุ่นแดง	เปรียบเทียบกับวิธีการสกัดโดยตัวทำละลายแบบทั่วไปกับการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในการสกัด	-	อัลตราซาวด์สามารถลดเวลาการสกัดลงเหลือ 30 นาที
Gerde et al. (2012)	Schizochytrium limacinum, Chlamydomonas reinhardtii	ใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการช่วยสกัด	-	ในการทำละลายเซลล์สำหรับพลังงานที่เหมาะสมคือ 800 จูลต่อ 10 มิลลิลิตร

## 2.11 สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่าในปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าหาแหล่งพลังงานต่างๆ เพื่อหาแหล่งพลังงานทางเลือกทดแทนการใช้พลังงานจากไขมัน และหนึ่งในพลังงานทางเลือกที่น่าสนใจคือ พลังงานจากสาหร่าย ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นพลังงานได้อย่างหลากหลายเช่น ไขมันไปโอดีเซล เอทานอล หรือผลิตภัณฑ์ ไบโอดีเซล เป็นต้น เนื่องจากภายในเซลล์สาหร่ายมีไขมันเป็นองค์ประกอบ ไขมันสูงกว่าพืชชนิดอื่น ๆ (L. Gouveia & Oliveira, 2009) นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายสามารถนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เสริมความงามและเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมยาอีกด้วย ซึ่งการได้มาของไขมันจากสาหร่ายประกอบด้วย 3 ขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้ 1.การเพาะเลี้ยงสาหร่าย 2.การเก็บเกี่ยวและการสกัดไขมัน และ 3.การปรับปรุงคุณภาพไขมัน ซึ่งในส่วนของ การสกัดไขมันเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ ซึ่งสามารถเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไขมันได้ที่ได้จากสาหร่าย แต่เนื่องจากในปัจจุบันวิธีการสกัดโดยทั่วไปมีการใช้ตัวทำละลายในการสกัดซึ่งเป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ประกอบกับค่าใช้จ่ายสูง ทำให้ในงานวิจัยนี้เลือกศึกษาวิธีการสกัดที่ช่วยลดปริมาณตัวทำละลายในการสกัดด้วยการใช้อัลตราซาวด์ช่วยในการสกัด โดยศึกษาความเข้มของพลังงาน และระยะเวลาในการอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมสำหรับการสกัด แล้ววิเคราะห์องค์ประกอบของคาร์บอนในไขมัน และแนวทางในการนำสาหร่ายหลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ไปใช้ประโยชน์ เช่น ปริมาณโปรตีน และสารต้านอนุมูลอิสระ

## บทที่ 3

### แผนการทดลองและการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 แผนการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์ในการสกัดไขมันออกจากสาหร่าย และศึกษาแนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์แล้วไปใช้ประโยชน์ เช่น การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่คงเหลือ วิเคราะห์ค่าความร้อนของสาหร่ายหลังการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ และวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่คงเหลือ โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการเลือกการทำลายผนังเซลล์ด้วยอัลตราซาวด์ เนื่องจากการสกัดไขมันในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีเป็นตัวทำลายซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต และ สิ่งแวดล้อม ในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกใช้อัลตราซาวด์เพื่อลดปัญหาจากวิธีการสกัดในปัจจุบัน ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่ต้องใช้สารเคมีและอาจนำไขมันออกมาจากเซลล์ของสาหร่ายได้ด้วย แต่ในงานวิจัยนี้ทำการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการทำให้ปริมาณของไขมันมีน้อย จึงใช้ตัวทำลายนำไขมันที่ได้มาวิเคราะห์ซึ่งถ้าทำในระดับที่ใหญ่ขึ้นก็อาจไม่มีความจำเป็นที่จะต้องใช้สารเคมีหรือตัวทำลาย ในงานวิจัยนี้เลือกใช้เฮกเซนเป็นตัวทำลาย และสาหร่ายที่ใช้ในงานวิจัยมีด้วยกัน 2 ชนิด คือ *Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus obliquus*

สำหรับงานวิจัยนี้ได้มีการแบ่งขั้นตอนในงานวิจัยออกเป็น 5 ขั้นตอน ดังนี้

1. วัดพลังงานจากอัลตราซาวด์ที่ใช้ในการสกัด
2. ตรวจวัดปริมาณไขมันสะสมที่สูงสุดของสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and dyer
  - สาหร่ายชนิด *Chlorella vulgaris* ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 7 และ 8 วัน ซึ่งเป็นช่วงเวลากการเติบโตที่อยู่ในช่วง Stationary phase (A.M. Illman et al., 2000) และนำผลการวิเคราะห์ที่ได้ทำการวิเคราะห์ในลำดับต่อไป
  - สาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus* หลังจากตรวจสอบอัตราการเจริญจากขั้นตอนที่ 2 และทำการเลือกช่วงเวลากการเติบโตที่อยู่ใน Stationary phase มา 3 ช่วงเวลาและทำการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันสะสมสูงสุด และนำผลการวิเคราะห์ที่ได้ทำการวิเคราะห์ในลำดับต่อไป
3. ศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์ชนิดโพรบที่ใช้ในการสกัดไขมันจากสาหร่ายแต่ละชนิด
  - สาหร่ายแต่ละชนิดจะใช้ อัลตราซาวด์ชนิดโพรบที่ใช้มีความถี่ 20 kHz ระดับพลังงานสูงสุด 130 watt
  - ระดับพลังงานที่ใช้ในการทดลอง คือ 40 60 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์



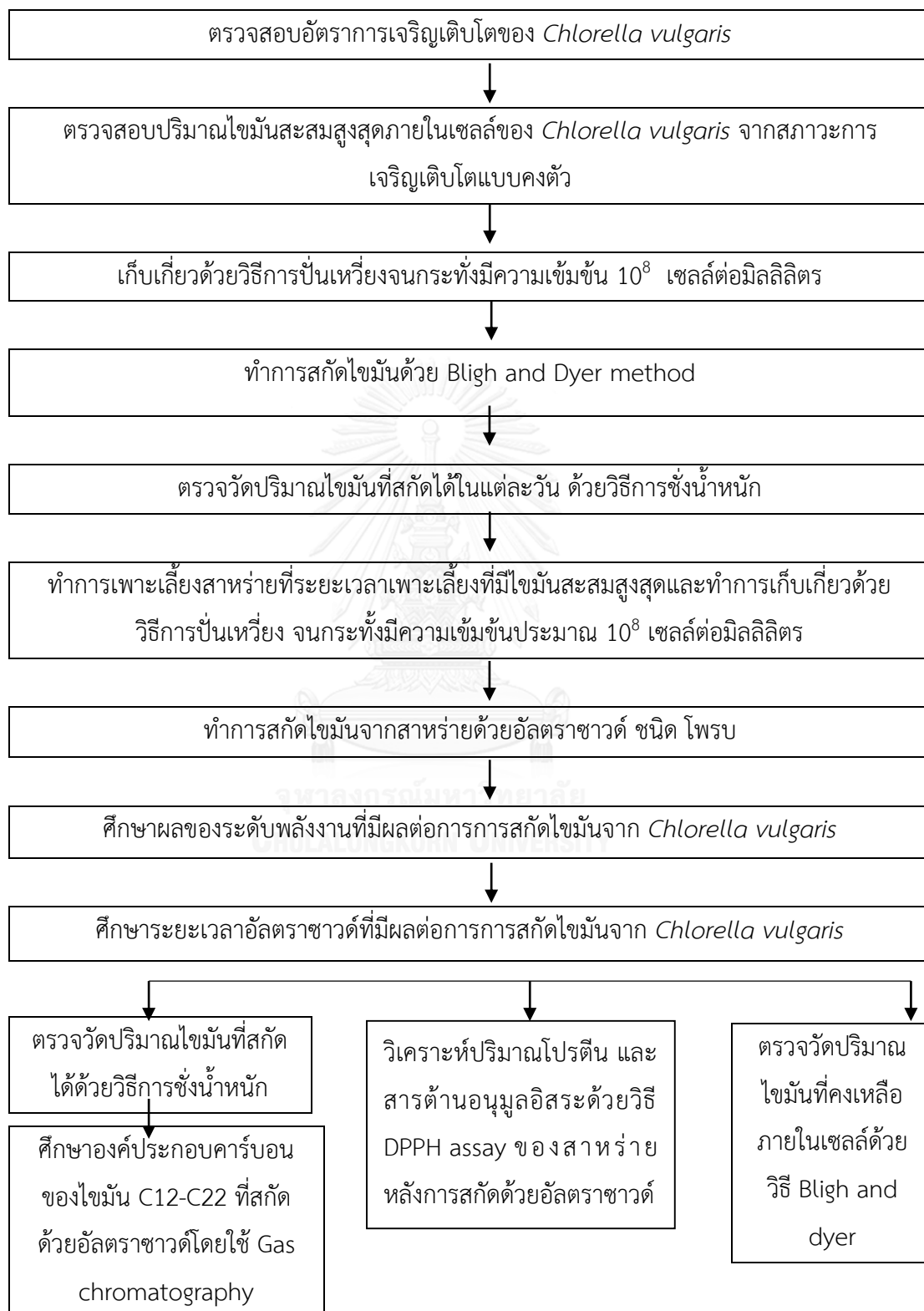
- ระยะเวลาอัลตราซาวด์ คือ 1 3 5 7 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ
  - ทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ซ้ำการทดลอง
4. ตรวจวัดปริมาณไขมันของกากสาหร่ายแต่ละชนิดหลังการสกัดไขมันจากอัลตราซาวด์ ด้วยวิธีของBligh and Dyer
- นำสาหร่ายแต่ละชนิดหลังจากทำการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
  - ใช้ตัวทำละลาย คลอโรฟอร์ม:เมทานอล:น้ำ ในอัตราส่วน 1:2:0.8 และ เมทานอล:น้ำ ในอัตราส่วน 1:1 ตามลำดับ
  - จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายด้วย Rotary evaporation ที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส
5. ทำการวิเคราะห์แนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดแล้วมาใช้ประโยชน์
- วิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายแต่ละชนิด
  - วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายแต่ละชนิด
6. พารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวัดได้แก่ ความเข้มข้นของเซลล์สาหร่าย ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากอัลตราซาวด์ ปริมาณไขมันที่คงเหลือหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ องค์ประกอบของคาร์บอนในไขมันที่สกัดได้ C12-C22 และแนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดมาใช้ประโยชน์
7. วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการทดลอง

ขั้นตอนการทดลองสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์จากสาหร่าย

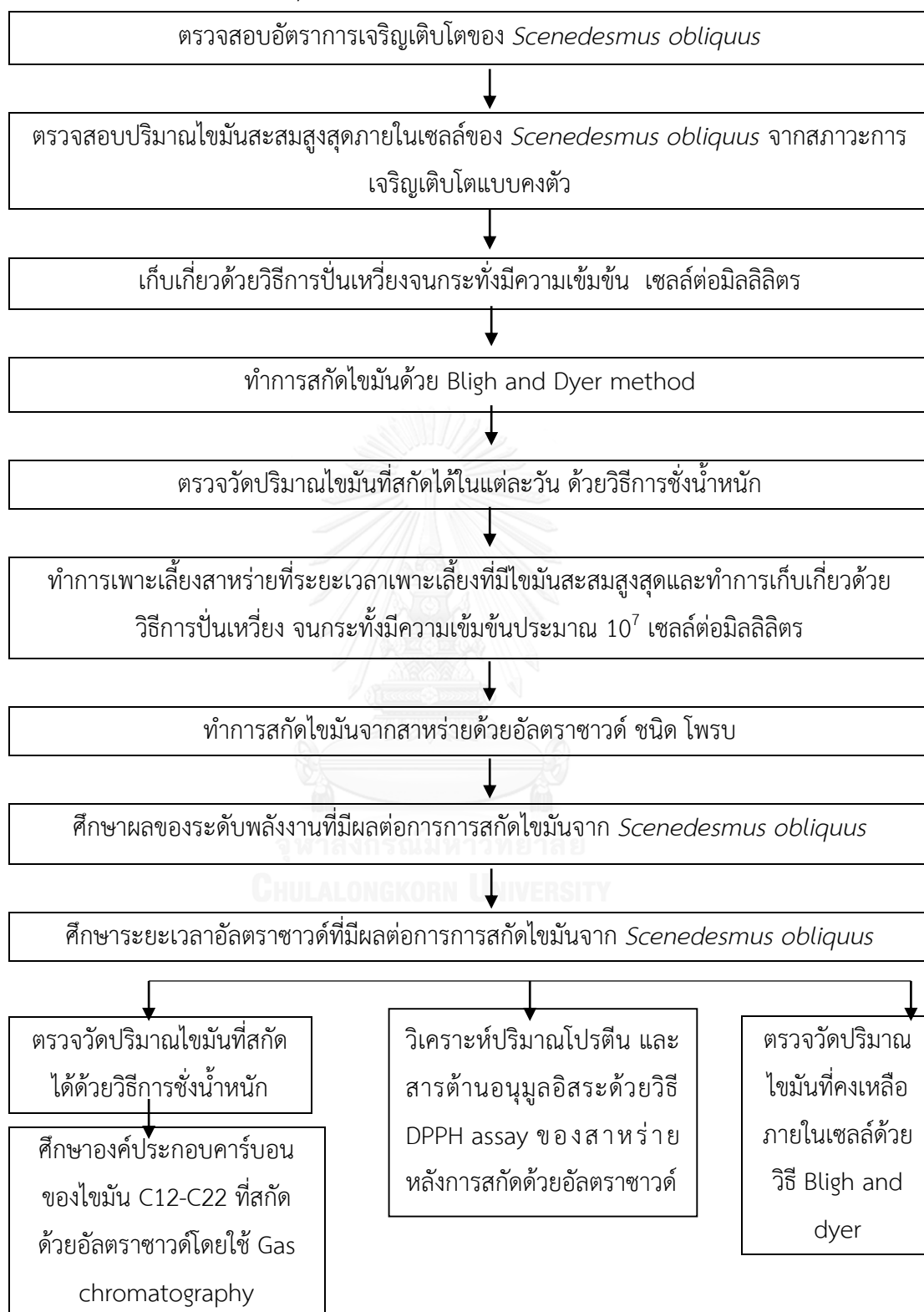
การทดลองที่ 1	วิเคราะห์พลังงานจากอัลตราซาวด์ที่เข้าสู่ระบบ ตรวจสอบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิด <i>Scenedesmus obliquus</i> วิเคราะห์ปริมาณไขมันสะสมที่สูงสุดของสาหร่ายแต่ละชนิดด้วยวิธี Bligh and dyer การเก็บเกี่ยวสาหร่ายทั้งสองชนิดด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยง
การทดลองที่ 2	ศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์ชนิดโพรบที่ใช้ในการสกัดไขมันจากสาหร่ายแต่ละชนิด ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 40 60 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของ 130 วัตต์ และระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 3 5 7 10 15 และ 20 นาที
การทดลองที่ 3	ศึกษาองค์ประกอบคาร์บอนของไขมันที่สกัดด้วยอัลตราซาวด์ เพื่อวิเคราะห์ความเป็นไปได้ในการนำไปผลิตไบโอดีเซล
การทดลองที่ 4	ตรวจสอบปริมาณไขมันที่เหลือในกากสาหร่ายแต่ละชนิด โดยวิธีของ Bligh and Dyer
การทดลองที่ 5	ทำการวิเคราะห์แนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดแล้วมาใช้ประโยชน์ <ul style="list-style-type: none"> <li>● วิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายแต่ละชนิด</li> <li>● วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายของสาหร่ายแต่ละชนิด</li> </ul>

ศึกษาระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่มีผลต่อการสกัดไขมันจาก *Chlorella vulgaris*

ส่วนที่ 1 *Chlorella vulgaris*



ส่วนที่ 2 *Scenedesmus obliquus*



### 3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

#### 1. สายพันธุ์สาหร่าย

- สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- สาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus* ได้รับความอนุเคราะห์จาก สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

#### 2. สูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย N-8 (ภาคผนวก ก-1)

#### 3. อุปกรณ์สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

- ขวดน้ำพลาสติกใสขนาด 5 ลิตร
- หลอดฟลูออเรสเซนต์
- ปีม้อากาศ บริษัท Sonic รุ่น Double type 12000

#### 4. อุปกรณ์สำหรับการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

- เครื่อง Centrifuge บริษัท Heraeus ความเร็วสูงสุด 20,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ -10 ถึง 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 นาที ถึง 9 ชั่วโมง

#### 5. อุปกรณ์สำหรับสกัดไขมันด้วย วิธี Bligh and dyer

- เครื่อง Vortex บริษัท Scientific industries, Inc., Model: G-560E
- เครื่อง Centrifuge บริษัท Boscoco., Model: C-28

#### 6. อุปกรณ์สำหรับสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์

- เครื่อง Ultrasound probe บริษัท Sonic & Materials Inc., Model: VCX 130PB, Serial No: 42456l, Power: 130 Watts, AC: 230 Volts, Frequency: 20 kHz

#### 7. อุปกรณ์สำหรับการระเหย

- เครื่อง Rotary evaporator บริษัท Büchi., Model: R-200

#### 8. อุปกรณ์เตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบคาร์บอนด้วยวิธีทาง Gas chromatography

- อ่างควบคุมอุณหภูมิ บริษัท Wisd. Laboratory Instruments, Model: WSB-45

## 9. อุปกรณ์วิเคราะห์ผลการทดลอง

- กล้องจุลทรรศน์ บริษัท Nikon, Model: Eclipse E200 MV R
- Counting chamber, HBG 0.100 mm Tiefe depth, Germany
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท Ohaus: 8-14.5VC, 50/60 Hz, 4 VA or 8-20 VDC, 4 W
- Gas Chromatography บริษัท Agilent Technology, Model: GC 6890
- Micro plate reader บริษัท Victor3, Model: Wallac 1420

## 9. สารเคมี

- Hexane บริษัท RCI Labscan
- Methanol บริษัท RCI Labscan
- Chloroform บริษัท Ajax Finechem
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> บริษัท QRèC
- Ethanol บริษัท EMSURE
- DPPH บริษัท Sigma-Aldrich

### 3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

สำหรับวิธีดำเนินงานวิจัยนั้นจะอธิบายถึงขั้นตอนในการทำการทดลองในแต่ละการทดลองดังต่อไปนี้

#### 3.3.1 ศึกษาพลังงานของอัลตราซาวด์

1. นำน้ำ DI ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในปิกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. อัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 40 60 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของ 130 วัตต์ เป็นระยะเวลา 10 นาที
3. วัดอุณหภูมิทุกๆ 10 วินาที ด้วย Thermocouple
4. คำนวณพลังงานอัลตราซาวด์ดังสมการที่ 3.1

$$P = \left(\frac{\Delta T}{t_x}\right) \times C \times M \quad (3.1)$$

โดยที่

P	=	กำลังงานของอัลตราซาวด์ (วัตต์)
$\Delta T$	=	อุณหภูมิที่เปลี่ยนไป (องศาเซลเซียส)
$t_x$	=	ระยะเวลาเดินระบบ (วินาที)
C	=	ค่าความจุความร้อนของน้ำ (3.18 จูล ต่อ องศาเซลเซียส)
M	=	มวลของน้ำ (กรัม)

#### 3.3.2 วิเคราะห์ปริมาณไขมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

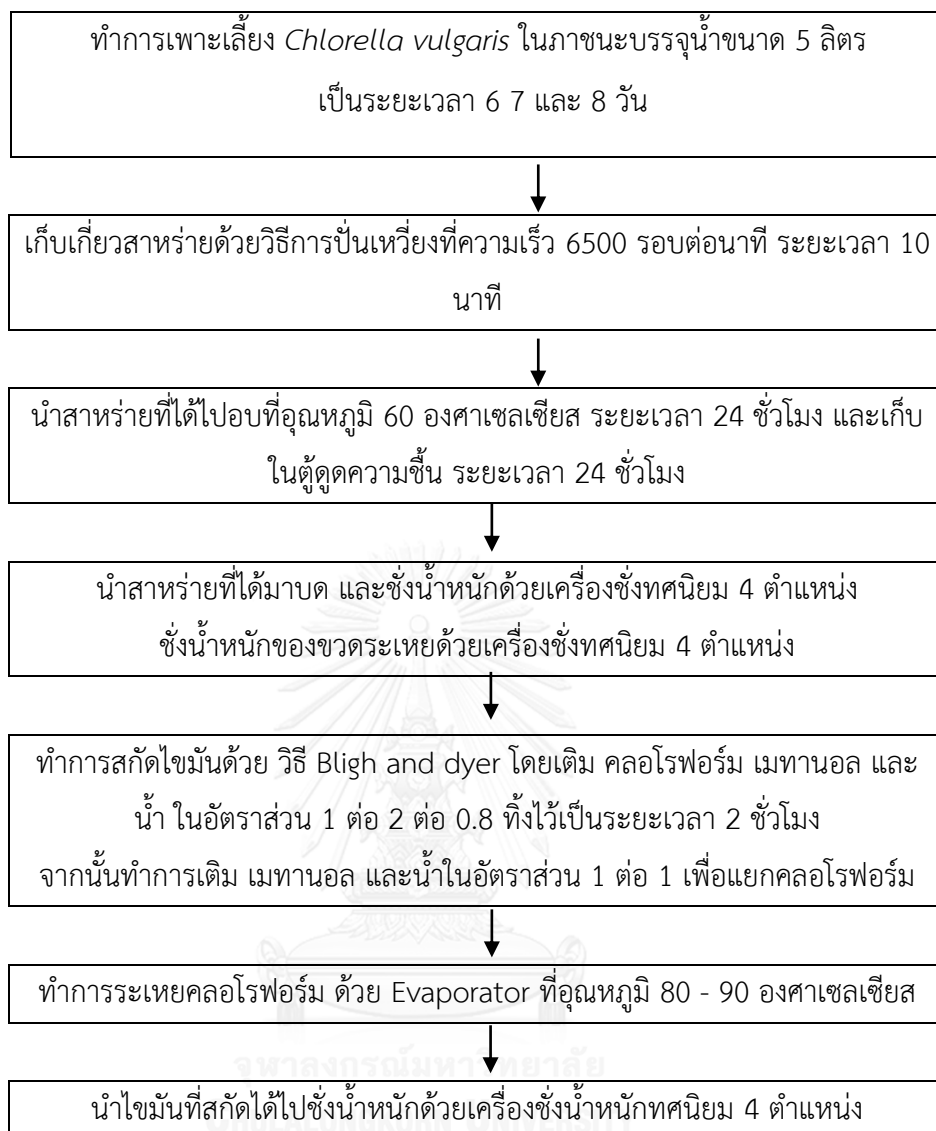
จากงานวิจัยของ (วนากานต์, 2557) และ (A.M. Illman et al., 2000) พบว่าที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่ 6 วัน เป็นระยะเวลาที่เข้าสู่สภาวะการเจริญเติบโตที่คงที่ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้ข้อมูลนี้เป็นฐานข้อมูลในงานวิจัย

1. นำหัวเชื้อสาหร่าย ชนิด *Chlorella vulgaris* เพาะเลี้ยงในภาชนะบรรจุน้ำขนาด 5 ลิตร ด้วยสูตรอาหาร N-8 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 แหล่งกำเนิดแสงคือหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ และทำการเติมอากาศตลอดเวลา โดยทำการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 6 7 และ 8 วัน (Stationary phase)
2. นำสาหร่ายที่ได้มาตรวจวัดความเข้มข้นด้วย Counting chamber และกล้องจุลทรรศน์
3. ทำการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6500 รอบต่อนาที ระยะเวลา 10 นาที

4. สาหร่ายที่ได้จะมีความเข้มข้นประมาณ  $10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร
  5. นำสาหร่ายที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บในตู้ดูดความชื้น ระยะเวลา 24 ชั่วโมง
  6. นำสาหร่ายที่ได้มาบด และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
  7. ชั่งน้ำหนักของขวตระเหยด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
  8. ทำการสกัดไขมันด้วย วิธี Bligh and dyer โดยเติม คลอโรฟอร์ม เมทานอล และน้ำ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 0.8 ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการเติมเมทานอล และน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 เพื่อแยกคลอโรฟอร์มออกจากน้ำ
  9. ทำการระเหยคลอโรฟอร์ม ด้วย Evaporator ที่อุณหภูมิ 80 - 90 องศาเซลเซียส
  10. นำไขมันที่สกัดได้ไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- ขั้นตอนการทดลองหาระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีปริมาณไขมันสูงสุดแสดงดังรูปที่

3.1



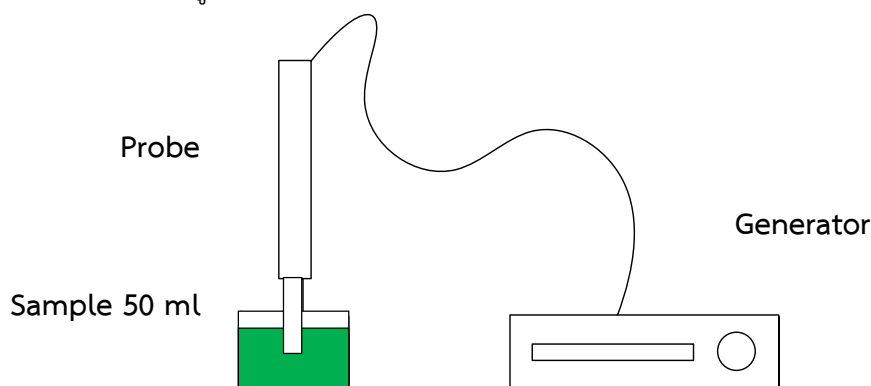


รูปที่ 3. 1 ขั้นตอนการทดลองหาระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีปริมาณไขมันสูงสุด

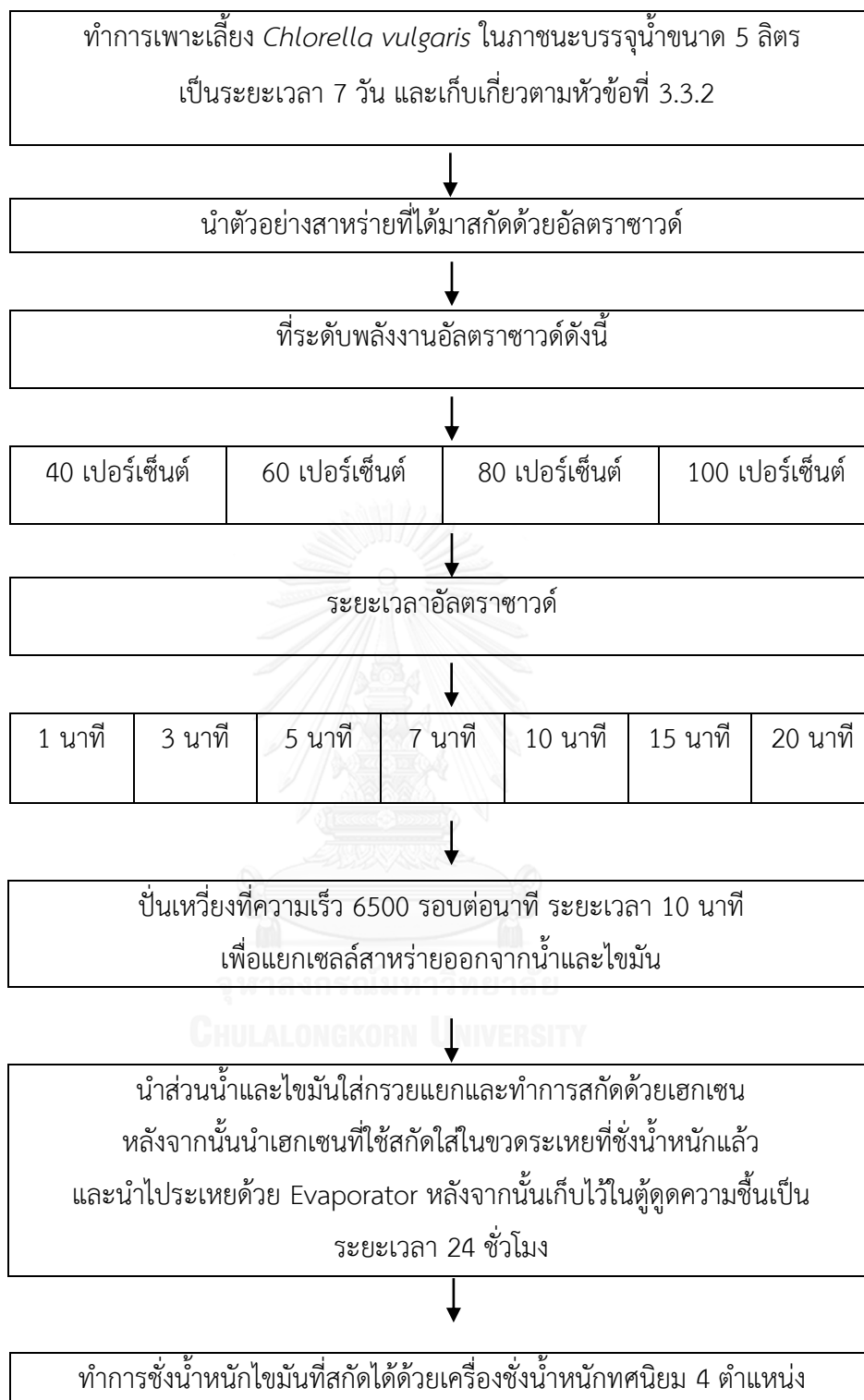
### 3.3.3 การสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์

นำหัวเชื้อสาหร่าย ชนิด *Chlorella vulgaris* เพาะเลี้ยงในภาชนะบรรจุน้ำขนาด 5 ลิตร ด้วยสูตรอาหาร N-8 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 แหล่งกำเนิดแสงคือหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ และทำการเติมอากาศตลอดเวลา โดยทำการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 7 วัน

1. นำสาหร่ายที่ได้มาตรวจวัดความเข้มข้นด้วย Counting chamber และกล้องจุลทรรศน์
2. ทำการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6500 รอบต่อนาที ระยะเวลา 10 นาที
3. ตัวอย่างสาหร่ายความเข้มข้นประมาณ  $10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
4. นำตัวอย่างสาหร่ายที่ได้มาสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 40 60 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของ 130 วัตต์ ตามลำดับ และระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 3 5 7 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ Experiment set up จะแสดงรูปที่ 3.2
5. หลังจากอัลตราซาวด์นำตัวอย่างไปทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์สาหร่ายออกจากน้ำและไขมัน
6. นำส่วนน้ำและไขมันใส่กรวยแยกและทำการสกัดด้วยเฮกเซน
7. นำเฮกเซนที่ใช้สกัดใส่ในขวดระเหยที่ซึ่งน้ำหนักแล้ว
8. นำไประเหยด้วย Evaporator หลังจากนั้นเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง
9. ทำการชั่งน้ำหนักไขมันที่สกัดได้ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง และเก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์ในการหาค่าประกอบของคาร์บอนด้วยวิธีทาง Gas chromatography ขั้นตอนการทดลองเพื่อหาระดับพลังงานและเวลาที่เหมาะสมของอัลตราซาวด์สำหรับการสกัดไขมันแสดงในรูปที่ 3. 3



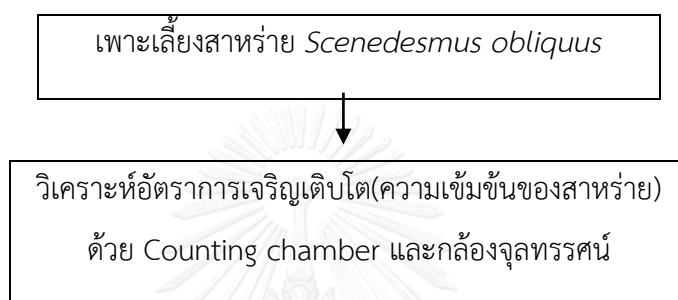
รูปที่ 3. 2 Experiment set up



รูปที่ 3. 3 ขั้นตอนการทดลองเพื่อหาระดับพลังงานและเวลาที่เหมาะสมของอัลตราชาวด์

### 3.3.4 ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus*

1. นำหัวเชื้อสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus* เพาะเลี้ยงในภาชนะบรรจุน้ำขนาด 5 ลิตร ด้วยสูตรอาหาร N-8 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 แหล่งกำเนิดแสงคือหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ และทำการเติมอากาศตลอดเวลา
2. วิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วย Counting chamber และกล้องจุลทรรศน์ ขั้นตอนการวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus* แสดงในรูปที่ 3.4



รูปที่ 3. 4 ขั้นตอนการหาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus*

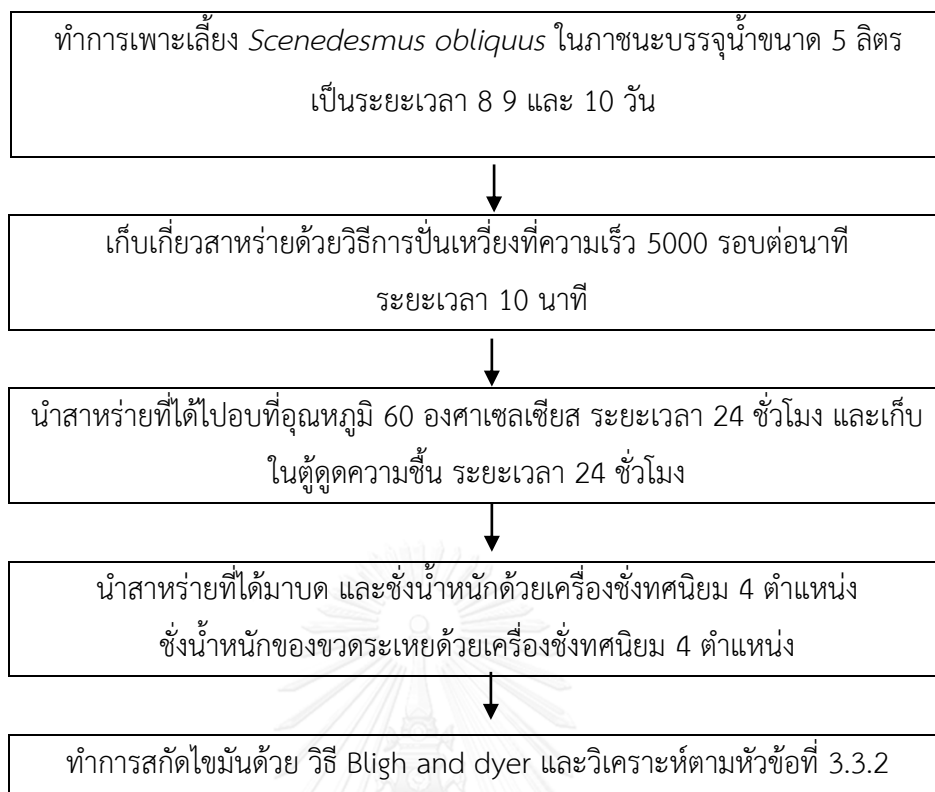
### 3.3.5 วิเคราะห์ปริมาณไขมันของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus*

นำหัวเชื้อสาหร่าย ชนิด *Scenedesmus obliquus* เพาะเลี้ยงในภาชนะบรรจุน้ำขนาด 5 ลิตร ด้วยสูตรอาหาร N-8 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 แหล่งกำเนิดแสงคือหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ และทำการเติมอากาศตลอดเวลา โดยทำการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 8 9 และ 10 วัน (Stationary phase)

1. นำสาหร่ายที่ได้มาตรวจวัดความเข้มข้นด้วย Counting chamber และกล้องจุลทรรศน์
2. ทำการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที ระยะเวลา 10 นาที
3. สาหร่ายที่ได้จะมีความเข้มข้นประมาณ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร
4. นำสาหร่ายที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บในตู้ดูดความชื้น ระยะเวลา 24 ชั่วโมง
5. นำสาหร่ายที่ได้มาบด และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. วิเคราะห์ปริมาณไขมันที่ได้เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 3.4.2

ขั้นตอนการทดลองหาระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีปริมาณไขมันสูงสุดแสดงดังรูปที่

3.5



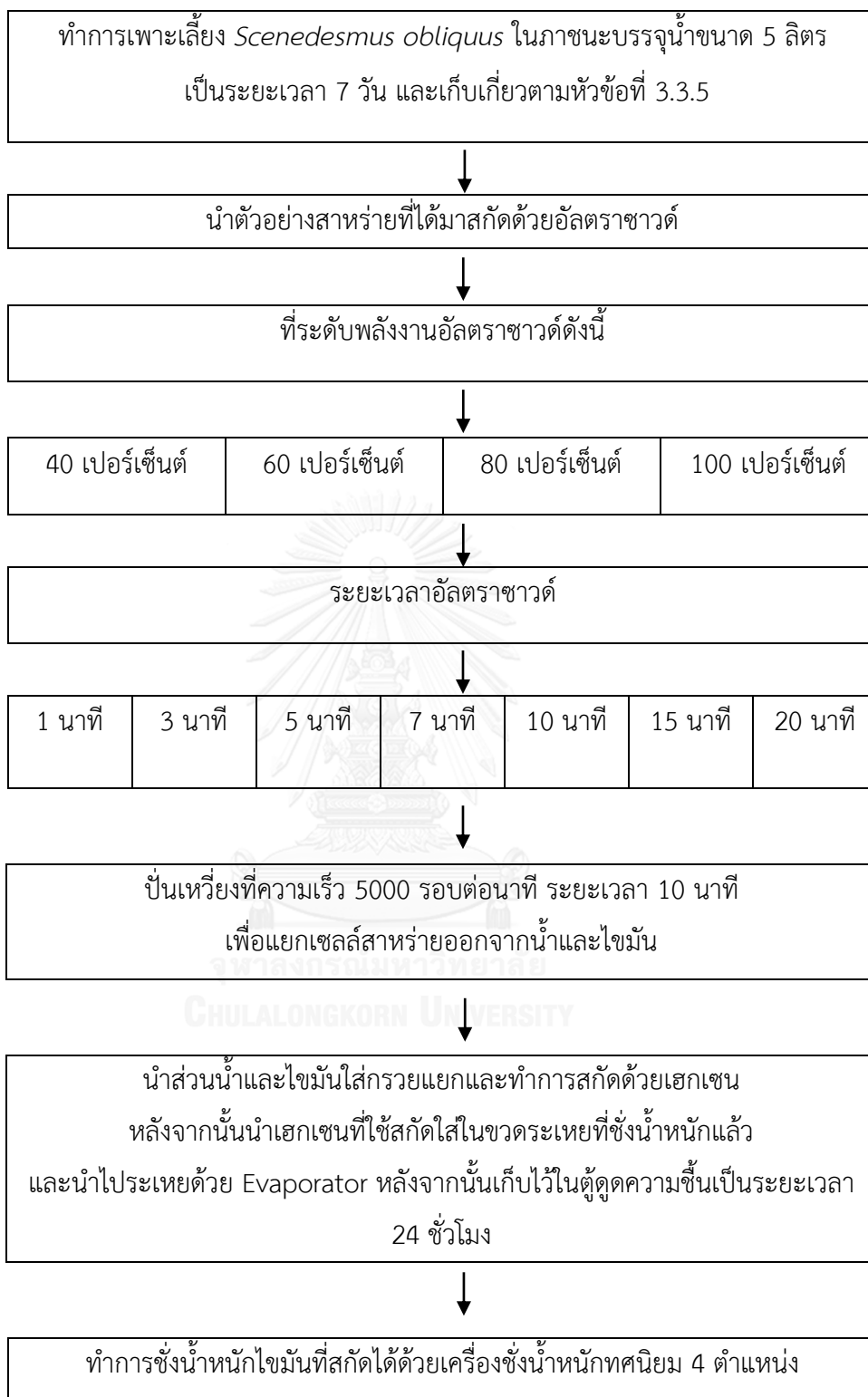
รูปที่ 3. 5 ขั้นตอนการทดลองหาระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีปริมาณไขมันสูงสุด

### 3.3.6 การสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์

1. นำสาหร่ายที่ได้มาตรวจวัดความเข้มข้นด้วย Counting chamber และกล้องจุลทรรศน์
2. ทำการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที ระยะเวลา 10 นาที
3. ตัวอย่างสาหร่ายความเข้มข้นประมาณ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
4. นำตัวอย่างสาหร่ายที่ได้มาสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 40 60 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของ 130 วัตต์ ตามลำดับ และระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 3 5 7 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ
5. หลังจากอัลตราซาวด์นำตัวอย่างไปทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์สาหร่ายออกจากน้ำและไขมัน
6. นำส่วนน้ำและไขมันใส่กรวยแยกและทำการสกัดด้วยเฮกเซน
7. นำเฮกเซนที่ใช้สกัดใส่ในขวตระเหยที่ชั่งน้ำหนักแล้ว
8. นำไประเหยด้วย Evaporator หลังจากนั้นเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

9. ทำการชั่งน้ำหนักไขมันที่สกัดได้ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง และเก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์ในการหาค่าประกอบของคาร์บอนด้วยวิธีทาง Gas chromatography ขั้นตอนการทดลองเพื่อหาระดับพลังงานและเวลาที่เหมาะสมของอัลตราซาวด์สำหรับการสกัดไขมันแสดงในรูปที่ 3. 6





รูปที่ 3. 6 ขั้นตอนการทดลองเพื่อหาระดับพลังงานและเวลาที่เหมาะสมของอัลตราซาวด์

### 3.3.7 วิเคราะห์องค์ประกอบคาร์บอนของไขมันด้วยวิธีทาง Gas chromatography

สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบคาร์บอนของกรดไขมันจะวิเคราะห์คาร์บอนในรูปของกรดไขมัน Fatty acid methyl ester (FAME) สำหรับงานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของคาร์บอนตั้งแต่ C12-C22

#### 3.4.7.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน Fatty acid methyl ester (FAME)

1. ชั่งสารมาตรฐาน Fatty acid methyl ester C12-C22 ลงในขวดเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ GC
2. เตรียมสารมาตรฐานความเข้มข้น 0.1 1.0 1.5 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย
3. ฉีกสารมาตรฐานครั้งละ 1 ไมโครลิตรภายใต้สภาวะในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3. 1 สภาวะของเครื่อง Gas chromatography

Column type	Capillary column ชนิด HP-INNOWAX ขนาด 30 เมตร x 0.32 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร
Detector	Flame Ionization Detector (FID)
Injector temp.	260 องศาเซลเซียส
Column temp.	80 องศาเซลเซียส คงที่นาน 2 นาที และเพิ่มอุณหภูมิถึง 260 องศาเซลเซียส ในอัตราเร็ว 10 องศาเซลเซียส ต่อนาที และคงอุณหภูมิคงที่ไว้ 5 นาที
Detector temp.	260 องศาเซลเซียส
Split ratio	40 ต่อ 1
Carrier gas	ก๊าซฮีเลียม
Injection volume	1 ไมโครลิตร



### 3.3.7.2 การเตรียมตัวอย่างไขมันสำหรับเพื่อทำการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างไขมันจากขั้นตอนที่ 3.3.3 และ 3.3.6 ที่ผ่านการแล้วการชั่งน้ำหนักแล้ว เติม คลอโรฟอร์ม และ เมทานอลในซัลฟูริก 15 เปอร์เซ็นต์ อย่างละ 2 มิลลิลิตร
2. นำไปให้ความร้อน 90 -100 องศาเซลเซียสด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ ระยะเวลา 2.5 ชั่วโมง
3. จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. เติมน้ำ DI 1 มิลลิลิตร แล้วนำไป vortex เพื่อให้เกิดการแยกชั้นของสาร
5. นำส่วนที่อยู่ล่างสุดมาถ่ายใส่ขวดสำหรับเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ GC
6. ทำการปิดฝาขวดแล้วพันพาราฟิล์ม และเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### 3.3.7.3 วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน C12-C22 ในไขมันที่สกัดได้

- คำนวณปริมาณกรดไขมัน C12-C22 ที่ได้จากราฟมาตรฐาน
- คำนวณสัดส่วนของกรดไขมัน C12-C22 ต่อไขมันที่สกัดได้

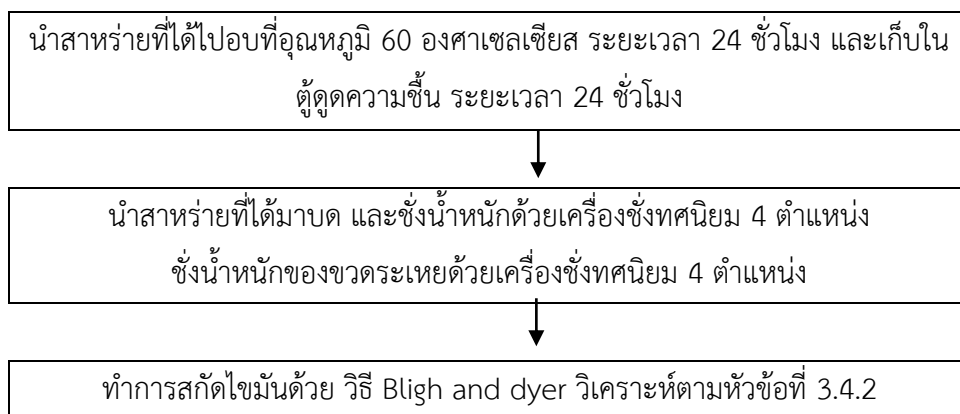
$$\text{ตามสมการกรดไขมัน C12-C22 ต่อ ไขมันที่สกัดได้} = \frac{\text{ปริมาณกรดไขมัน C12-C22}}{\text{ไขมันที่สกัดได้}} \times 100 \quad (3.2)$$

### 3.3.8 ปริมาณไขมันที่คงเหลือของกากสาหร่ายชนิด *Chlorella vulgaris*

นำเซลล์สาหร่ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่สภาวะต่างๆมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บในตู้ดูดความชื้น ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

1. นำสาหร่ายที่ได้มาบด และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. ชั่งน้ำหนักของขวดระเหยด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. ทำการสกัดไขมันด้วย วิธี Bligh and dyer โดยเติม คลอโรฟอร์ม เมทานอล และน้ำ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 0.8 ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการ เติมน้ำ เมทานอล และน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 เพื่อแยกคลอโรฟอร์มออกจากน้ำ
4. ทำการระเหยคลอโรฟอร์ม ด้วย Evaporator ที่อุณหภูมิ 80 - 90 องศาเซลเซียส
5. นำไขมันที่สกัดได้ไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง

ขั้นตอนการทดลองหาปริมาณไขมันที่คงเหลือของกากสาหร่ายชนิด *Chlorella vulgaris* หลังจากทำการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ แสดงในรูปที่ 3.8



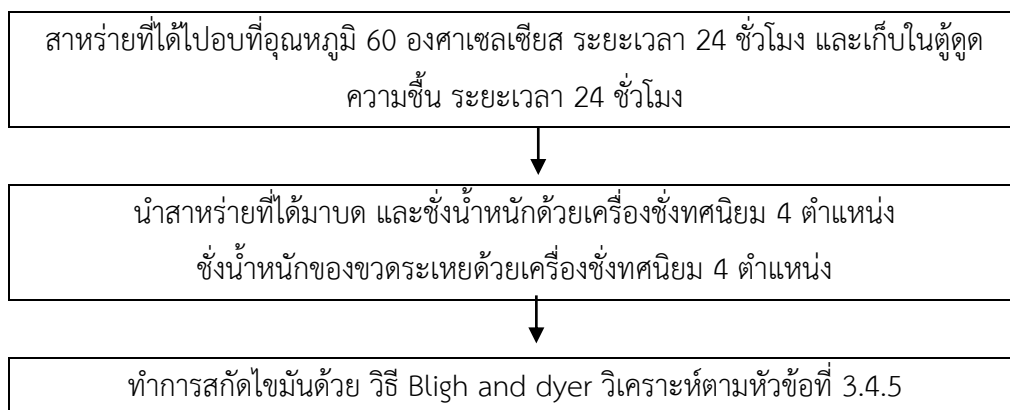
รูปที่ 3. 7 ขั้นตอนการทดลองหาปริมาณไขมันที่คงเหลือของสาหร่ายชนิด *Chlorella vulgaris*

### 3.3.9 ปริมาณไขมันที่คงเหลือของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus*

นำเซลล์สาหร่ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่สภาวะต่างๆมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บในตู้ดูดความชื้น ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

6. นำสาหร่ายที่ได้มาบด และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
7. ชั่งน้ำหนักของขวดระเหยด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
8. ทำการสกัดไขมันด้วย วิธี Bligh and dyer โดยเติม คลอโรฟอร์ม เมทานอล และน้ำ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 0.8 ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการเติม เมทานอล และน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 เพื่อแยกคลอโรฟอร์มออกจากน้ำ
9. ทำการระเหยคลอโรฟอร์ม ด้วย Evaporator ที่อุณหภูมิ 80 - 90 องศาเซลเซียส
10. นำไขมันที่สกัดได้ไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง

ขั้นตอนการทดลองหาปริมาณไขมันที่คงเหลือของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus* หลังจากทำการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ แสดงในรูปที่ 3.13



รูปที่ 3. 8 ขั้นตอนการทดลองหาปริมาณไขมันที่คงเหลือของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus*

3.3.10 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนคงเหลือในกากสาหร่าย (base on AOAC (2012), 991.20)

- นำเซลล์สาหร่ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์สภาวะต่างๆทั้ง 2 ชนิดมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บในตู้ดูดความชื้น ระยะเวลา 24 ชั่วโมง
- นำสาหร่ายที่ได้มาบด และชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้ประมาณ 0.5 – 1 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใส่ขวดย่อย
- ใส่ทั้ง Kjeldahl catalyst 5 กรัม และ Conc.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 200 มิลลิลิตร
- เตรียมหลอดใส่สารเคมีข้างต้นยกเว้น blank ทำการให้ความร้อนจนกระทั่งฟองหมดไป
- ทิ้งไว้ให้เย็นและเติมน้ำ DI 60 มิลลิลิตร
- นำขวดย่อยไปต่อกับเครื่องควบแน่นให้ส่วนปลายของเครื่องควบแน่นจุ่มลงในสารมาตรฐานกรดพิเอช 5-7 โดยมีอินดิเคเตอร์เป็นตัวชี้วัด ทำการย่อยจน NH<sub>3</sub> ระเหยหมด
- ทำการไทเทรตด้วย HCl 0.2 นอร์มอล และคำนวณหาปริมาณโปรตีนดังสมการที่ 3.2

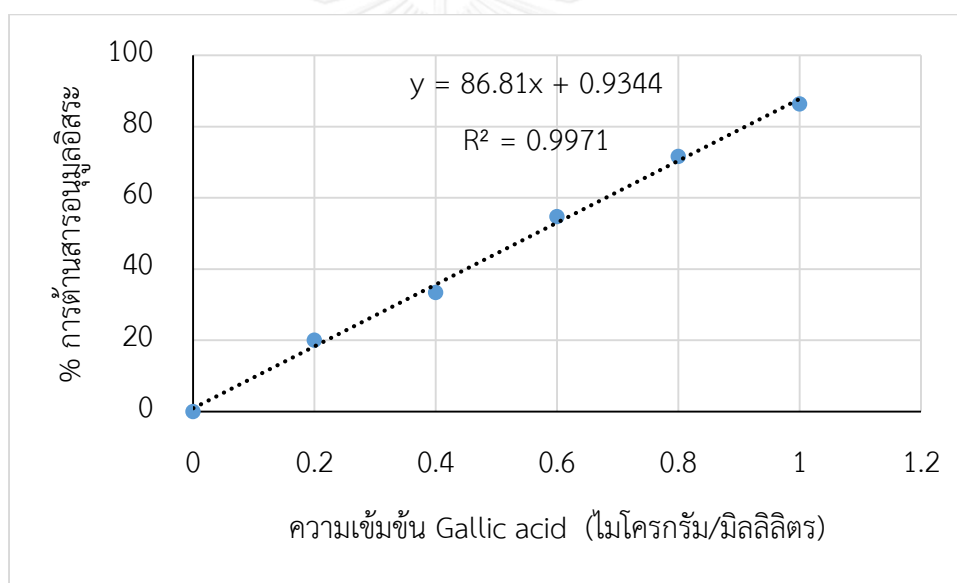
$$\text{Protein(\%)} = \frac{(A-B) \times N \times 1.4007 \times 6.25}{W} \quad (3.3)$$

โดยที่

- A = ปริมาตรของ HCl 0.2 N ที่ไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)  
 B = ปริมาตรของ HCl 0.2 N ที่ไทเทรตกับ blank (มิลลิลิตร)  
 N = ความเข้มข้นของ HCl (นอร์มอล)  
 W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

### 3.3.11 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระคงเหลือในกากสาหร่าย ด้วยวิธี DPPH assay

- การเตรียมสาร 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)
  1. ชั่งสาร DPPH 1.18 มิลลิกรัม และ ละลายด้วยเอทานอลปริมาตร 50 มิลลิลิตร และ เก็บไว้ในที่มืด
- การเตรียมกราฟมาตรฐาน
  1. ชั่ง Gallic acid 1 มิลลิกรัม
  2. ละลายในเอทานอล 10 มิลลิลิตร
  3. เตรียมสารละลายให้ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
  4. ผสมกับ DPPH ที่ละลายในเอทานอล เก็บไว้ในที่มืดในอุณหภูมิห้อง 30 นาที
  5. วัดค่าการดูดกลืนแสง 517 นาโนเมตร



รูปที่ 3. 9 กราฟมาตรฐานสารต้านอนุมูลอิสระ

- การเตรียมตัวอย่าง
  1. ชั่งตัวอย่างสาหร่าย 10 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 1 มิลลิลิตร
  2. ผสมกับ DPPH ที่ละลายในเอทานอล เก็บไว้ในที่มืดในอุณหภูมิห้อง 30 นาที
  3. วัดค่าการดูดกลืนแสง 517 นาโนเมตร
  4. คำนวณเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระด้วยสมการที่ 3.3

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(A-B) - (C-D)}{(A-B)} \times 100 \quad (3.4)$$

โดยที่

- A= ค่า Abs. ของ DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร + เอทานอล ปริมาตร 100 ไมโครลิตร  
B= ค่า Abs. เอทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร  
C= ค่า Abs. DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร + ตัวอย่าง ปริมาตร 100 ไมโครลิตร  
D= ค่า Abs. เอทานอล ปริมาตร 100 ไมโครลิตร + ตัวอย่าง ปริมาตร 100 ไมโครลิตร



## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์โพรบ ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ ในการสกัดไขมันจากสาหร่ายโดยการทดลองได้ทดลองแบบทีละเท (Batch) ที่ระดับพลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์แตกต่างกัน จากนั้นตรวจสอบปริมาณไขมันที่คงเหลือภายในเซลล์สาหร่ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ด้วยวิธี Bligh and Dyer และศึกษาแนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดมาใช้ประโยชน์

#### 4.1 การหาปริมาณพลังงานของอัลตราซาวด์จากโพรบเข้าสู่ระบบของอัลตราซาวด์

ทำการทดลองโดยอัลตราซาวด์เข้ากับน้ำ DI ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่ระดับพลังงาน 40 60 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของ 130 วัตต์ ซึ่งคิดเป็น 52 78 104 และ 130 วัตต์ ตามลำดับ บันทึกอุณหภูมิของน้ำทุก 10 วินาที และคำนวณระดับพลังงานที่เข้าสู่ระบบ ดังแสดงในภาคผนวก ข-1 และตารางที่ 4.1 โดยพบว่าพลังงานไฟฟ้าที่เปลี่ยนเป็นพลังงานอัลตราซาวด์และส่งผ่านไปในตัวอย่างนั้นมีการสูญเสียพลังงาน ซึ่งหากสามารถลดการสูญเสียพลังงานได้ ทำให้ปริมาณพลังงานส่งผ่านเข้าไปในระบบได้เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจทำให้สามารถสกัดไขมันได้ดียิ่งขึ้น

ตารางที่ 4. 1 กำลังงานที่เข้าสู่ระบบของอัลตราซาวด์ ชนิดโพรบ

Intensities initials(percent)	Intensities initials (watt)	Intensities input into reactor (watt)	Intensities input into reactor (watt/ml)
40	52	2.01	0.0401
60	78	3.62	0.0723
80	104	5.45	0.1091
100	130	7.65	0.1530

#### 4.2 การตรวจสอบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย

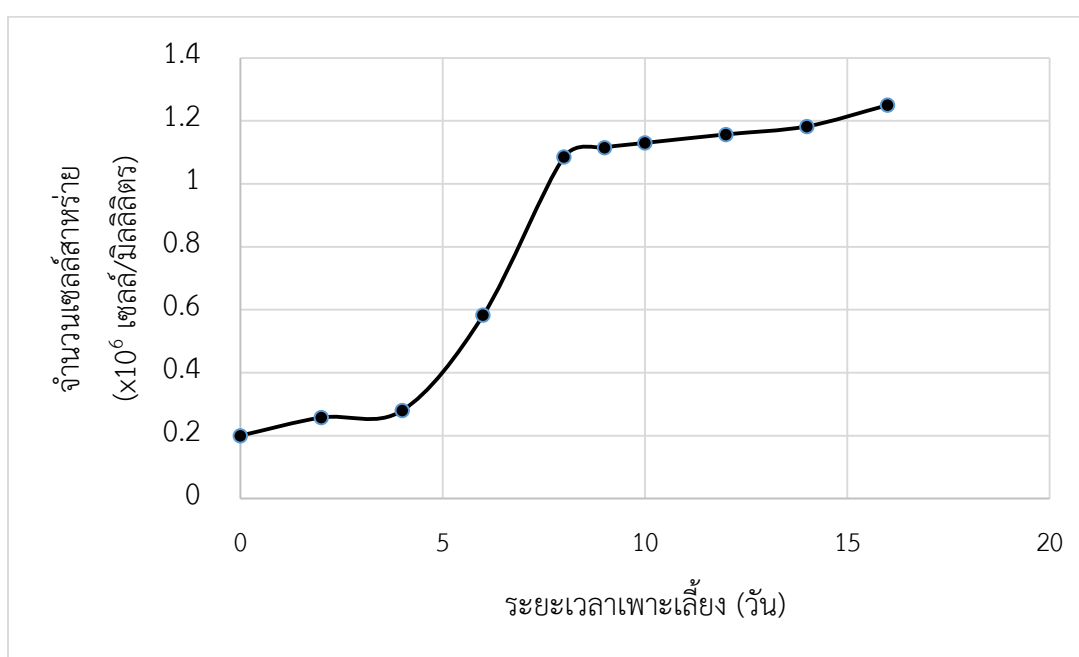
##### 4.2.1 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

การศึกษ้อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิด *Chlorella vulgaris* เช่นเดียวกับงานวิจัยของ วนากานต์ (2557) พบว่าที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยงวันที่ 6 พบว่า *Chlorella vulgaris* เริ่มเข้าสู่สภาวะการเจริญเติบโตคงที่ (Stationary phase) จึงทำให้เลือกช่วงระยะเวลา 6 7 และ 8 วัน มาทำ

การทดลองต่อ และเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ A.M. Illman et al. (2000) พบว่ามีช่วงอัตราการเจริญเติบโตที่ใกล้เคียงกันโดย *Chlorella vulgaris* จะเข้าสู่สภาวะการเจริญเติบโตคงที่ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง

#### 4.2.2 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus*

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus* ทำการเพาะเลี้ยงที่สภาวะและอาหารสูตรเดียวกับ *Chlorella vulgaris* โดยอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus* เป็นดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus*

จากรูปที่ 4.1 พบว่าที่ระยะเวลา 0 ถึง 4 วัน ความชันของกราฟในช่วง 0 ถึง 4 วัน ไม่สูงนัก ซึ่งน่าจะอยู่ในช่วงสภาวะการปรับตัวหรือ Lag phase โดยในช่วงนี้สาหร่ายจะทำการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ เช่น อากาศ อุณหภูมิ อาหาร และแหล่งกำเนิดแสง เป็นต้น ในช่วงเวลา 4 ถึง 8 วัน พบว่าความชันของกราฟสูงขึ้นน่าจะเป็นช่วงที่สาหร่ายสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ได้ และมีอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้นหรือคือ ช่วงการเจริญเติบโต หรือ Log phase หลังจากวันที่ 8 การเจริญเติบโตก็เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องแต่อัตราเร็วของการเจริญเติบโตเริ่มช้าลงเมื่อเทียบกับช่วงแรก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกช่วงการเพาะเลี้ยง 8 9 และ 10 วัน เมื่อทดลองเปรียบเทียบกับ งานวิจัยของ M. A. Toyub et al. (2008), Tang et al. (2011) และ Mandal and Mallick (2009) พบว่ารูปแบบการเจริญเติบโตนั้นคล้ายกัน แต่ที่ระยะเวลา 9 วันไป 10 วัน ได้เข้าสู่สภาวะการเจริญเติบโตที่

ถดถอย (Dead phase) สำหรับความเข้มข้นของสาหร่ายนั้นพบว่าในงานวิจัยนี้สาหร่ายมีความเข้มข้นน้อยกว่าในงานวิจัยข้างต้นซึ่งอาจเป็นเพราะสูตรอาหาร และการให้แสงที่แตกต่างกัน

#### 4.3 ผลการศึกษามวลของสาหร่ายแห้ง

##### 4.3.1 ผลการศึกษามวลของ *Chlorella vulgaris* แห้ง

เมื่อทำการอบแห้งสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ความเข้มข้น  $10^8$  เซลล์ ต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ได้มวลแห้งดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4. 2 มวลของสาหร่ายแห้งปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อเซลล์ *Chlorella vulgaris*

น้ำหนักแห้งของสาหร่ายปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อเซลล์ <i>Chlorella vulgaris</i> ที่ความเข้มข้น $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (กรัมสาหร่ายแห้ง)			
ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0.3114	0.3322	0.3283	0.3240

##### 4.3.2 ผลการศึกษามวลแห้งของ *Scenedesmus obliquus*

มวลของ *Scenedesmus obliquus* ความเข้มข้นประมาณ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร อบแห้ง ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4. 3 น้ำมวลของสาหร่ายแห้งปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อเซลล์ *Scenedesmus obliquus*

น้ำหนักแห้งของสาหร่ายปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อเซลล์ <i>Scenedesmus obliquus</i> ที่ความเข้มข้น $10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (กรัมสาหร่ายแห้ง)			
ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0.2519	0.2552	0.2521	0.2531

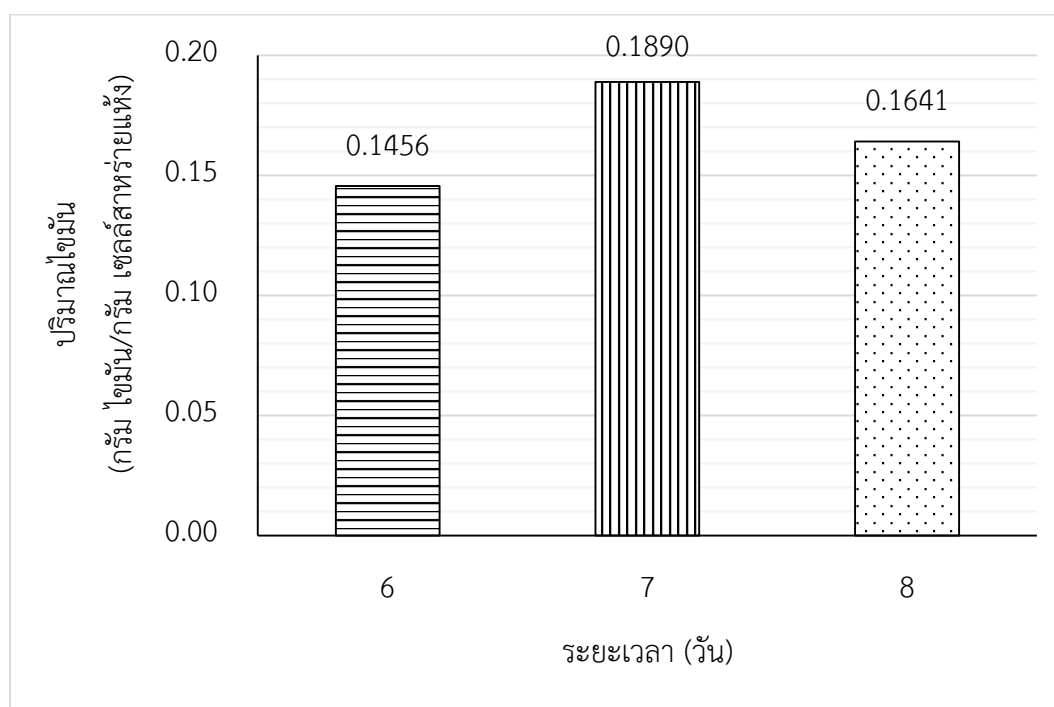
#### 4.4 วิเคราะห์ปริมาณไขมันสะสมของสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer

การวิเคราะห์ปริมาณไขมันสะสมสูงสุดนี้ได้เลือกวิธีการสกัดของ Bligh and Dyer เนื่องจากเป็นวิธีการสกัดที่ใช้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการ มีประสิทธิภาพดี สะดวก และรวดเร็ว



#### 4.4.1 ปริมาณไขมันสะสมสูงสุดของสาหร่ายชนิด *Chlorella vulgaris*

จากงานวิจัยของ A.M. Illman et al. ( 2000) และวนากานต์ (2557) พบว่าสภาวะอัตราการเจริญคงที่เริ่มที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 6 วัน จึงได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณไขมันสะสมที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 6 7 และ 8 วัน พบว่าปริมาณไขมันสะสมที่สกัดได้ดังรูปที่ 4.2

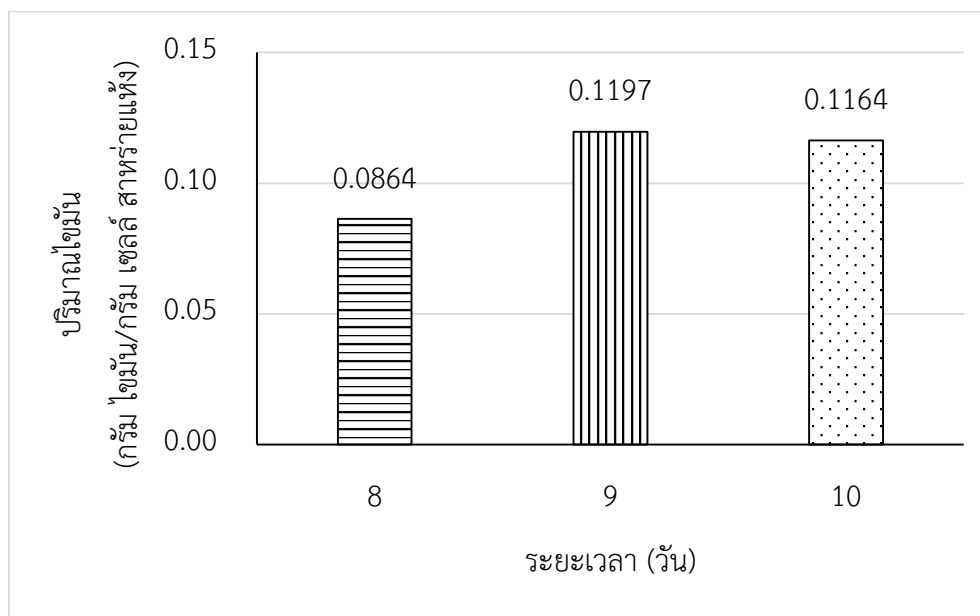


รูปที่ 4. 2 ปริมาณไขมันสะสมของ *Chlorella vulgaris*

จากรูปที่ 4.2 พบว่าปริมาณไขมันสะสมที่สกัดได้ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 6 7 และ 8 วัน คือ 0.145 0.189 และ 0.164 กรัม ไขมัน ต่อ กรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง โดยปริมาณไขมันสะสมที่วันที่ 6 มีปริมาณน้อยที่สุดเนื่องจากเพิ่งเข้าสู่สภาวะอัตราการเจริญเติบโตคงที่ที่ทำให้สาหร่ายเพิ่งเริ่มสะสมไขมันที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 7 วัน สาหร่ายมีการสะสมปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น และที่ 8 วัน สาหร่ายเริ่มใช้ไขมันภายในเซลล์เพื่อการอยู่รอดซึ่งอาจเป็นเพราะอาหารจากภายนอกลดลง ซึ่งปริมาณไขมันสะสมที่วัดได้ของ *Chlorella vulgaris* สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lv et al. (2010) ที่พบว่าปริมาณไขมันสะสมภายในเซลล์ของ *Chlorella vulgaris* เริ่มสะสมไขมันเมื่อเข้าสู่สภาวะการเจริญเติบโตคงที่ โดยปริมาณไขมันที่สกัดได้เมื่อเทียบกับ วนากานต์. (2557) พบว่าสภาวะปริมาณที่ใกล้เคียงกันและเมื่อเทียบกับ Rakesh Bajpai. et al. (2014) ที่รายงานว่ามีปริมาณไขมันระหว่าง 14-56 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสาหร่ายแห้ง พบว่าปริมาณไขมันที่ได้อยู่ในช่วงที่รายงาน

#### 4.4.2 ปริมาณไขมันสะสมของ *Scenedesmus obliquus*

จากผลของการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus* ที่ช่วงอัตราการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างคงที่ที่ 8 9 และ 10 วัน เมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณไขมันสะสมด้วยวิธี Bligh and Dyer ได้ผลดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4. 3 ปริมาณไขมันสะสมของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus*

จากรูปที่ 4.3 พบว่าปริมาณไขมันสะสมที่สกัดด้วยวิธี Bligh and Dyer ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 8 9 และ 10 วัน คือ 0.086 0.119 และ 0.116 กรัม ไขมัน ต่อ กรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง โดยพบว่าปริมาณไขมันที่ 8 วัน มีปริมาณน้อยสุดเนื่องจาก *Scenedesmus obliquus* เริ่มเข้าสู่ภาวะอัตราการเจริญเติบโตค่อนข้างคงที่ที่ยังไม่เกิดการสะสมปริมาณไขมันเนื่องจากใช้พลังงานไปกับการเจริญเติบโต จากนั้นเมื่อเข้าสู่วันที่ 9 อัตราการเจริญเติบโตอยู่ในสถานะที่ค่อนข้างคงที่ที่ให้อาหารที่ได้รับสะสมอยู่ในรูปของไขมันทำให้ปริมาณไขมันสะสมที่ 9 วันสูงขึ้น และที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 10 วัน ปริมาณไขมันลดลงเล็กน้อยอาจเนื่องมาจากปริมาณอาหารเริ่มลดลง ทำให้มีการใช้ไขมันสะสมเพื่อความอยู่รอด

#### 4.4.3 เปรียบเทียบปริมาณไขมันสะสมของสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันสะสมสูงสุดของ *Scenedesmus obliquus* ที่ 9 วัน มีปริมาณไขมันสะสม 0.119 กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์แห้ง กับ *Chlorella vulgaris* ที่ 7 วัน มีปริมาณไขมันสะสม 0.189 กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์แห้ง โดยพบว่าปริมาณไขมันสะสมของ *Chlorella vulgaris*

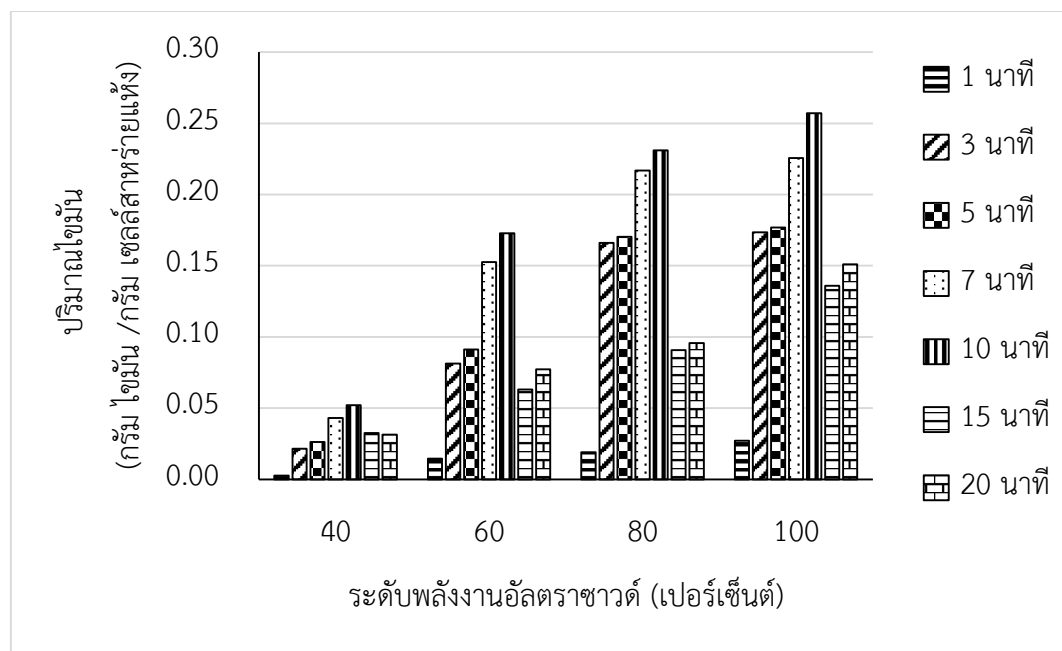
สูงกว่า *Scenedesmus obliquus* และมีระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่สั้นกว่า อาจเพราะเซลล์ของ *Chlorella vulgaris* มีขนาดเล็กกว่าพลังงานจึงไม่ถูกใช้ไปกับการเติบโตของเซลล์เท่ากับ *Scenedesmus obliquus* ที่มีขนาดใหญ่กว่า ส่งผลให้พลังงานที่ได้รับนั้นสะสมอยู่ในรูปของไขมันภายในเซลล์สูงกว่า

#### 4.5 ศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์ชนิดโพรบที่ใช้ในการสกัดไขมันจากสาหร่าย

สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์ชนิดโพรบที่ใช้ในการสกัดไขมันจากสาหร่าย 2 ชนิด ได้แก่ *Scenedesmus obliquus* และ *Chlorella vulgaris* โดยทั้ง 2 ชนิดนี้มีความแตกต่างกันในเรื่องของขนาดของเซลล์โดยที่ *Scenedesmus obliquus* นั้นจะมีขนาดของเซลล์ที่ใหญ่กว่า ซึ่งผลของควิเทชั่นที่เกิดขึ้นกับเซลล์ทั้งสองชนิดอาจมีประสิทธิภาพไม่เท่ากัน

##### 4.5.1 ผลของอัลตราซาวด์ที่ใช้สกัดไขมันจาก *Chlorella vulgaris*

หลังจากการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการปั่นเหวี่ยง เตรียมสาหร่ายความเข้มข้น  $10^8$  เซลล์ต่อ มิลลิลิตร และอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน 40 60 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของ 130 วัตต์ ( 52 78 104 และ 130 วัตต์ ตามลำดับ) และระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 3 5 7 10 15 และ 20 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง และวิเคราะห์ปริมาณไขมันที่สกัดได้ด้วยวิธีการชั่งน้ำหนัก ซึ่งผลการทดลองได้มาจากสาหร่าย 2 ชุดการเพาะเลี้ยง ชุดการเพาะเลี้ยงที่ 1 ได้ทำการอัลตราซาวด์ที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 3 5 7 และ 10 นาที และชุดการเพาะเลี้ยงที่ 2 ได้ทำการอัลตราซาวด์ที่ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 และ 20 นาที เนื่องจากสาหร่ายที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงเป็นคนละ Strain ซึ่งส่งผลให้ผลการทดลองมีความแตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 4.4



รูปที่ 4. 4 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จาก *Chlorella vulgaris* ด้วยอัลตราชาวด์

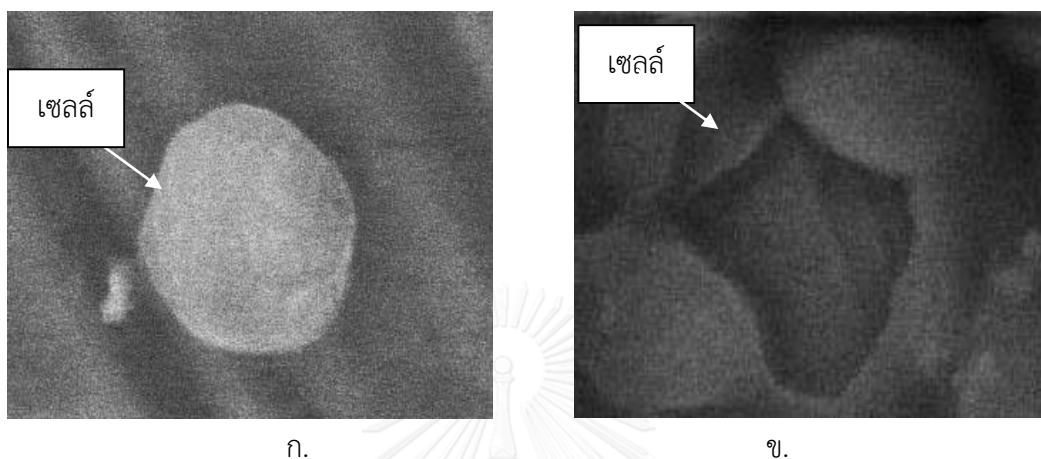
จากผลการทดลองจึงแยกอธิบายผลของอัลตราชาวด์ออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแรกเป็นผลการทดลอง ที่ระยะเวลาอัลตราชาวด์ 1 3 5 7 และ 10 นาที่ และส่วนที่ 2 เป็นผลการทดลอง ที่ระยะเวลาอัลตราชาวด์ 15 และ 20 นาที่ เนื่องจากสาหร่ายคนละ strain อาจมีปริมาณไขมันที่แตกต่างกัน จึงไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้โดยตรง

สำหรับผลการทดลองในส่วนแรกนั้นเมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันที่สกัดได้ที่ระยะเวลาเท่ากันพบว่า ปริมาณไขมันจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับพลังงานเพิ่มขึ้น และเช่นเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบที่ระดับพลังงานเดียวกัน เมื่อเพิ่มระยะเวลาให้นานขึ้น ปริมาณไขมันที่สกัดได้ก็มีปริมาณเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าระดับพลังงาน และระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ทำให้สามารถสกัดไขมันได้มากขึ้น

เมื่อพิจารณาผลการทดลองในส่วนที่ 2 ที่ระยะเวลาอัลตราชาวด์ 15 และ 20 นาที่ ปริมาณไขมันที่สกัดได้ก็เพิ่มขึ้นตามระดับพลังงานและระยะเวลาอัลตราชาวด์ที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน

สำหรับปริมาณไขมันที่สกัดได้มากที่สุดพบที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราชาวด์ 10 นาที่ ปริมาณไขมันที่สกัดได้ เท่ากับ 0.257 กรัม ต่อ กรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง เมื่อเทียบกับปริมาณไขมันที่สกัดด้วยวิธี Bligh and Dyer เท่ากับ 0.189 กรัม ต่อ กรัมสาหร่ายแห้ง และเมื่อเทียบกับ Lv et al. (2010) ได้ทำการตรวจสอบปริมาณไขมันของ *Chlorella vulgaris* ด้วยเทคนิค FT-IR พบว่า *Chlorella vulgaris* ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 7 วัน มีปริมาณไขมันประมาณ 20 มิลลิกรัม ต่อ กรัมสาหร่ายแห้ง พบว่ามีปริมาณไขมันที่ใกล้เคียงกันโดยปริมาณไขมันที่สกัดได้นั้นอยู่ช่วง 14 – 56 เปอร์เซ็นต์ ต่อ กรัมสาหร่ายแห้ง Rakesh Bajpai. et al (2014) และ Araujo et al. (2013) ใช้อัลตราชาวด์ร่วมกับวิธี Bligh and Dyer ในการสกัดไขมันจาก *Chlorella vulgaris* โดยอัลตราชาวด์ที่ใช้มี

ความถี่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ ระดับพลังงาน 29.7 วัตต์ ต่อ ลิตร สามารถสกัดไขมันได้ 52.5 เปอร์เซ็นต์ต่อ น้ำหนัก (0.5250 กรัม ต่อกรัมสาหร่ายแห้ง) ซึ่งมากกว่าที่วิเคราะห์ได้ FT-IR อาจเป็นเพราะตัวอย่าง สาหร่ายที่ทำการวิเคราะห์นั้นมีปริมาณไขมันในเซลล์ไม่เท่ากัน และการสกัดด้วยวิธี Bligh and dyer นั้นจะละลายคลอโรฟิลล์มาด้วย

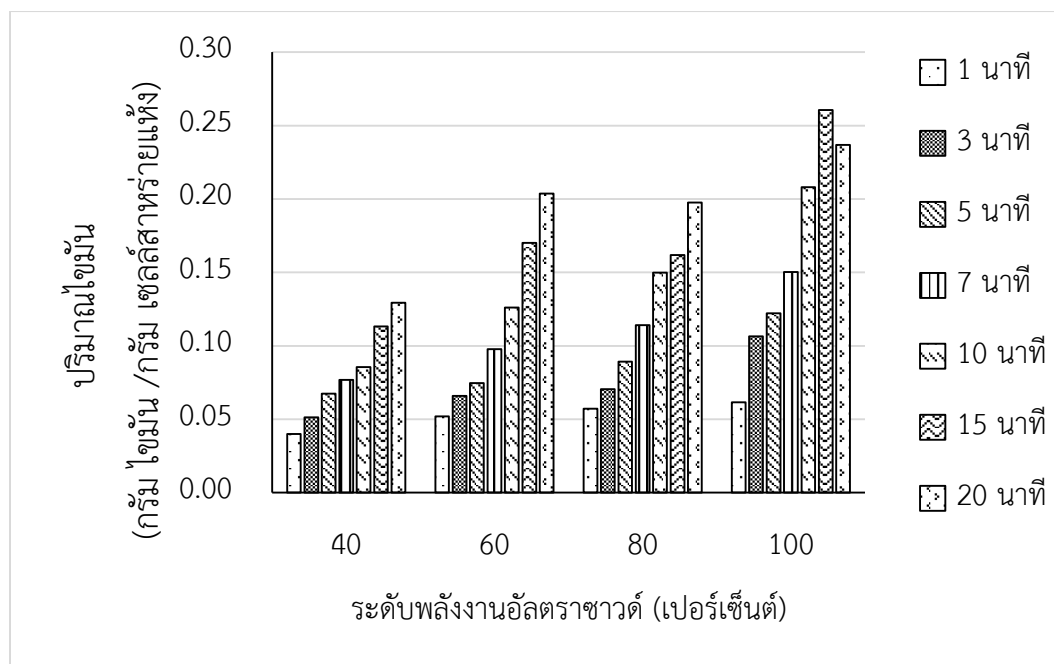


รูปที่ 4. 5 เซลล์ *Chlorella vulgaris* ก่อนและหลังอัลตราซาวด์ด้วย ESEM

ก. เซลล์ก่อนอัลตราซาวด์ ข. เซลล์หลังอัลตราซาวด์

#### 4.5.2 ผลของอัลตราซาวด์ที่ใช้สกัดไขมันจาก *Scenedesmus obliquus*

เตรียมตัวอย่างความเข้มข้น  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการอัลตราซาวด์ด้วยระดับ พลังงาน 40 60 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของ 130 วัตต์ ( 52 78 104 และ 130 วัตต์ ตามลำดับ) เป็น ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 3 5 7 10 15 และ 20 นาที ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4. 6 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จาก *Scenedesmus obliquus* ด้วยอัลตราซาวด์

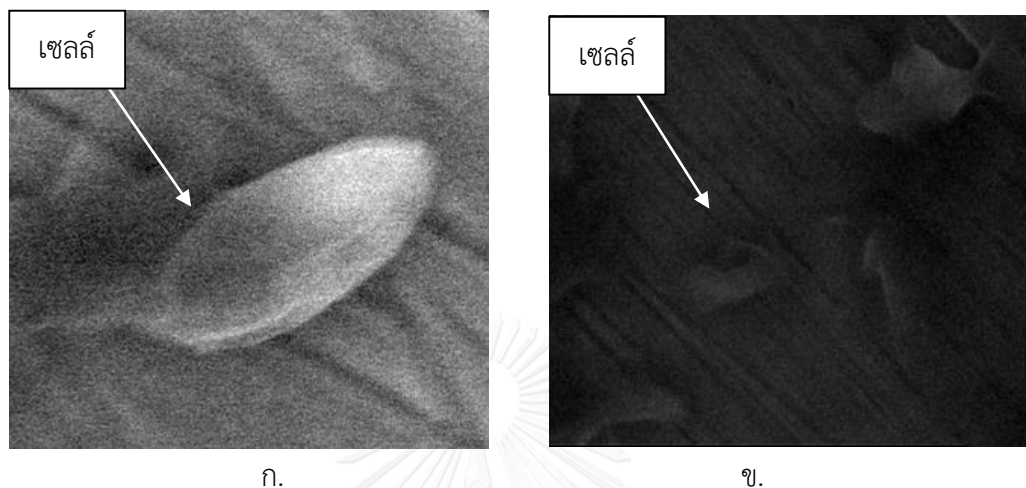
จากรูปที่ 4.6 เมื่อพิจารณาปริมาณไขมันที่ระยะเวลาเดียวกัน ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ นั้นมีปริมาณไขมันที่สกัดได้น้อยที่สุด ปริมาณไขมันที่สกัดได้จะมากขึ้นเมื่อเพิ่มระดับพลังงานสูงขึ้น ทำให้เกิดคาวิตีชันรุนแรงขึ้นส่งผลให้มีการทำลายผนังเซลล์มากขึ้น ทำให้โอกาสที่ไขมันจะหลุดออกจากเซลล์เพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน

และเมื่อพิจารณาที่ระดับพลังงานเดียวกันพบว่าปริมาณไขมันที่สกัดได้นั้นเพิ่มสูงขึ้น เมื่อระยะเวลาอัลตราซาวด์นานขึ้น ซึ่งทำให้เกิดคาวิตีชันเพิ่มขึ้นและส่งผลให้ผนังเซลล์เสียหายมากขึ้นเช่นเดียวกัน

และจากรูปที่ 4.6 เมื่อ ที่ระดับพลังงาน 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 และ 20 นาที ปริมาณไขมันที่สกัดได้ใกล้เคียงกัน จึงอาจสรุปได้ว่าในช่วงนี้ประสิทธิภาพของอัลตราซาวด์ที่ใช้ในการสกัดไขมันจากสาหร่ายนั้นไม่ต่างกัน ส่วนที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 นาที ปริมาณไขมันที่สกัดได้น้อยกว่าที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที โดยปริมาณไขมันที่สกัดได้ควรจะมีปริมาณเท่าเดิมหรือมากขึ้น แต่ที่ปริมาณไขมันที่สกัดได้ลดลงนั้น อาจเป็นเพราะปริมาณไขมันในเซลล์สาหร่ายในชุดการทดลองนี้มีปริมาณที่น้อยกว่าที่ 15 นาที

สำหรับปริมาณไขมันที่สกัดได้มากที่สุดพบที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที ปริมาณไขมันที่สกัดได้ เท่ากับ 0.0204 กรัม ต่อ กรัม เซลล์สาหร่ายแห้ง และเมื่อเปรียบเทียบกับ Mandal and Mallick (2009) ได้ใช้วิธีสกัดของ Bligh and Dyer พบว่าปริมาณไขมันที่ได้เท่ากับ 12 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (0.12 กรัม ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง) โดยจะพบว่าวิธีสกัดของ Bligh and Dyer นั้นให้ปริมาณไขมันที่มากกว่าแต่ลักษณะของไขมันที่ได้จะมี

ปริมาณคลอโรฟิลล์เจือปนอยู่ทำให้ไขมันนั้นมีประสิทธิภาพแย่งเมื่อนำไปผลิตไบโอดีเซล และเมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Shin et al. (2014) ซึ่งใช้เฮกเซนในการสกัดพบว่าสามารถสกัดไขมันได้เท่ากับ 4 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนัก (0.04 กรัม ต่อ กรัมสาหร่ายแห้ง) โดยจะเห็นได้ว่าอัลตราซาวด์สามารถสกัดไขมันได้ดีใกล้เคียงกับการสกัดโดยใช้เฮกเซน

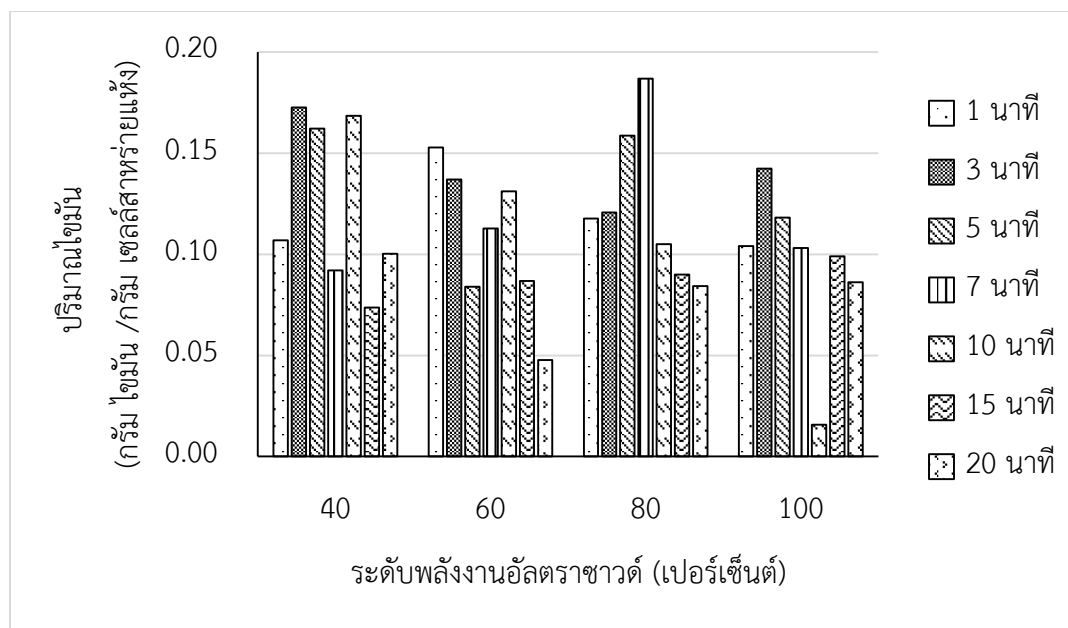


รูปที่ 4. 7 เซลล์ *Scenedesmus obliquus* ก่อนและหลังอัลตราซาวด์ด้วย ESEM

ก. เซลล์ก่อนอัลตราซาวด์ ข. เซลล์หลังอัลตราซาวด์

#### 4.5.3 ปริมาณไขมันในกากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* หลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์

สำหรับปริมาณไขมันที่เหลือในกากสาหร่ายหลังจากสกัดด้วยอัลตราซาวด์ตรวจสอบด้วยวิธี Bligh and Dyer ดังแสดงในรูปที่ 4.8 พบว่าปริมาณไขมันภายในกากสาหร่ายที่มีปริมาณสูงสุดคือ 0.187 กรัม ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 7 นาที และปริมาณไขมันต่ำสุดคือ 0.016 กรัม ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะนำสาหร่ายหลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ไปสกัดต่อด้วยวิธีการอื่นๆ ดังแสดงในภาคผนวก ข-7



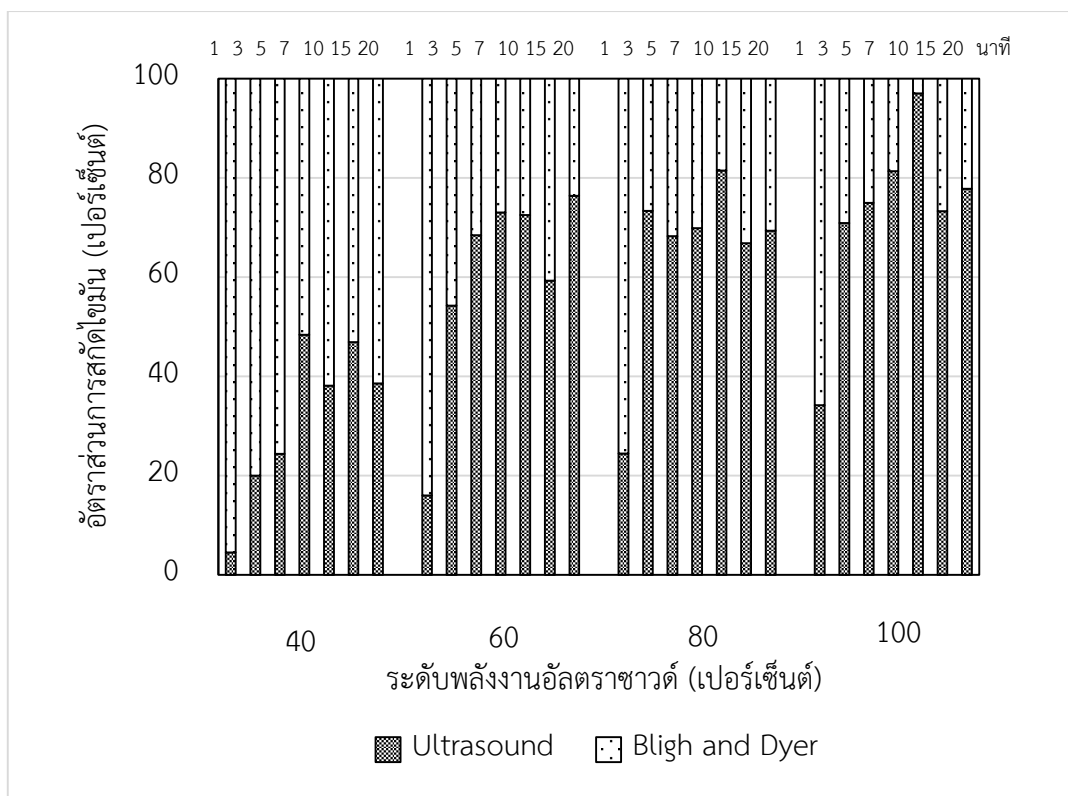
รูปที่ 4. 8 ปริมาณไขมันของกากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* หลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์

นอกจากนี้เมื่อคำนวณอัตราส่วนของไขมันได้จากอัลตราซาวด์ และการสกัดไขมันคงเหลือในกากสาหร่ายด้วยวิธี Blich and dyer ดังแสดงในรูปที่ 4.9 ผลการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ตามหัวข้อที่ 4.5.1 คือส่วนที่ 1 สาหร่ายที่ผ่านการอัลตราซาวด์ที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 ถึง 10 นาที และส่วนที่ 2 สาหร่ายที่ผ่านการอัลตราซาวด์ที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 และ 20 นาที จากรูปที่ 4.9

สำหรับส่วนแรก พบว่าอัตราส่วนของอัลตราซาวด์ในการสกัด นั้นเพิ่มสูงขึ้นตามระดับพลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มระดับพลังงานและระยะเวลานั้นทำให้เกิดควิเทชั่นมากขึ้นซึ่งเพิ่มโอกาสที่จะทำให้ไขมันหลุดออกมาได้เพิ่มขึ้น และพบว่าอัตราส่วนในการสกัดด้วยอัลตราซาวด์สูงสุดอยู่ที่ 97 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที โดยแนวโน้มปริมาณไขมันที่สกัดได้ควรเพิ่มขึ้นตามระดับพลังงานและระยะเวลาที่เพิ่มมากขึ้น แต่พบว่าที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที อัตราส่วนในการสกัดไขมันของอัลตราซาวด์นั้นลดลง เช่นเดียวกับที่ระดับพลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่ 5 และ 7 นาที ที่อัตราส่วนของการสกัดนั้นน้อยกว่าที่ 3 นาที ซึ่งอาจเป็นเพราะปริมาณไขมันเริ่มต้นไม่เท่ากัน

และสำหรับสาหร่ายส่วนที่ 2 จะคล้ายคลึงกับส่วนที่ 1 แต่ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 15 นาที นั้น อัตราส่วนการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์สูงกว่าที่ 20 นาที อยู่ประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอาจเป็นเพราะสาหร่ายนั้นมีปริมาณไขมันเริ่มต้นไม่เท่ากัน

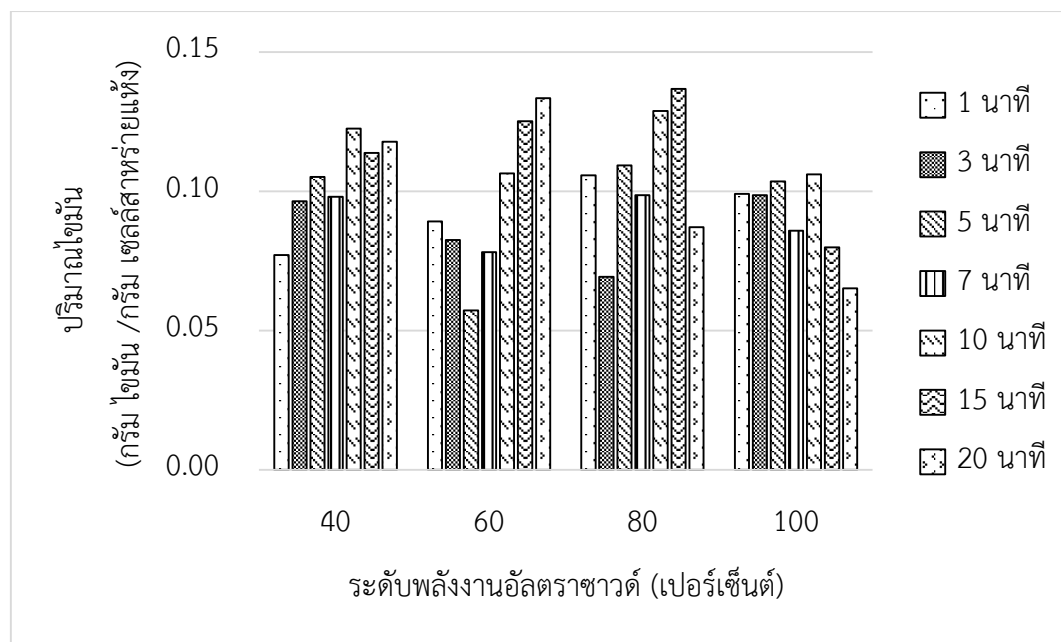




รูปที่ 4. 9 อัตราส่วนในการสกัดไขมันจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

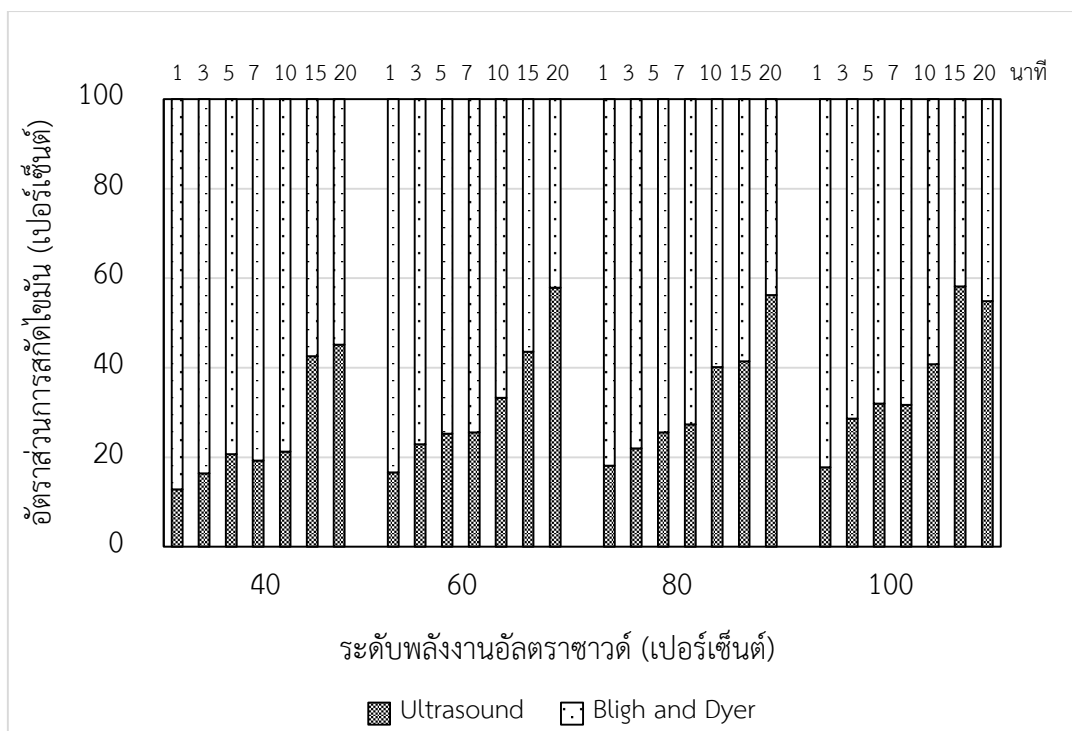
#### 4.5.4 ปริมาณไขมันของกาก *Scenedesmus obliquus* หลังสกัดด้วยอัลตราซาวด์

จากผลการทดลองหาปริมาณไขมันคงเหลือในกากสาหร่ายด้วยวิธี Bligh and Dyer พบว่า ปริมาณไขมันคงเหลือสูงสุด คือ 0.137 กรัม ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง ที่ระดับพลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที และปริมาณไขมันคงเหลือน้อยสุด คือ 0.069 กรัม ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง ดังแสดงในรูปที่ 4.10 พบว่าปริมาณไขมันนั้นไม่เท่ากัน ซึ่งหากปริมาณไขมันสะสมภายในเซลล์สาหร่ายมีปริมาณที่เท่ากัน เมื่อสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ระดับพลังงาน และระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่เพิ่มขึ้น อัตราส่วนการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ควรจะลดลงแต่ไม่เป็นเช่นนั้น โดยตามสมมูลมวลแล้วหากปริมาณไขมันที่สกัดได้เพิ่มขึ้นตามระดับพลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ ดังนั้นปริมาณไขมันคงเหลือจะต้องลดลงตามระดับพลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่เพิ่มขึ้น แต่ในรูปที่ 4.10 นั้นไม่เป็นเช่นนั้นจึงสันนิษฐานว่าปริมาณไขมันเริ่มต้นในเซลล์สาหร่ายนั้นมีความแตกต่างกัน



รูปที่ 4. 10 ปริมาณไขมันของกากสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* หลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์

อัตราส่วนของอัลตราซาวด์ในการสกัดไขมันจาก *Scenedesmus obliquus* นั้นสอดคล้องกับผลของ *Chlorella vulgaris* คือ เมื่อพลังงานและระยะเวลาเพิ่มขึ้น อัตราส่วนของอัลตราซาวด์ก็จะสูงขึ้น ยกเว้นที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 20 นาที ที่มีอัตราส่วนของสกัดด้วยอัลตราซาวด์น้อยกว่า ที่ระดับพลังงานเดียวกันที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที อยู่ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ สำหรับความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นนี้อาจเกิดขึ้นจากขั้นตอนการวิเคราะห์ โดยประสิทธิภาพที่ได้นี้คำนวณมาจากปริมาณไขมันที่สกัดได้ ซึ่งอัตราส่วนของการสกัดด้วยอัลตราซาวด์สูงสุดอยู่ที่ 58 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่ 15 นาที และประสิทธิภาพต่ำสุดเท่ากับ 13 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 นาที ดังแสดงในรูปที่ 4.11



รูปที่ 4. 11 อัตราส่วนในการสกัดไขมันจากสาหร่าย *Scenedesmus obliquus*

#### 4.5.5 เปรียบเทียบพลังงานที่ใช้ในการสกัดไขมันของสาหร่ายชนิด *Chlorella vulgaris*

สำหรับการวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดไขมัน ปัจจัยด้านพลังงานที่ใช้ในการสกัดไขมันจะเป็นปัจจัยหลักในการพิจารณา ในหัวข้อนี้จึงทำการเปรียบเทียบพลังงานที่ใช้สกัดไขมันโดยคำนวณจากพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดเพื่อให้ได้ไขมัน 1 เนื่องจาก การที่ไขมันสกัดออกมาได้ในปริมาณที่มากนั้นไม่อาจไม่คุ้มค่าเมื่อเปรียบเทียบกับพลังงานที่นำมาใช้ในการสกัดไขมัน จากตารางที่ 4.4 พบว่าปริมาณพลังงานที่น้อยที่สุดที่ใช้สกัดไขมันจากสาหร่ายคือ 113 กิโลจูล ต่อ กรัมไขมัน ที่ระดับพลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 3 นาที และพลังงานสูงสุดที่ใช้เพื่อสกัดไขมัน คือ 1982 กิโลจูล ต่อ กรัมไขมัน ต่อ เซลล์สาหร่ายแห้ง ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 นาที วิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวก ข-10

ตารางที่ 4. 4 พลังงานที่ใช้ในการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ต่อไขมันที่ได้ของ *Chlorella vulgaris*

ระดับพลังงาน(เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาท)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	1234	434	596	506	600	1439	1982
60	321	173	256	215	271	1111	1213
80	328	113	183	201	270	1032	1305
100	289	135	220	242	303	861	1033

หมายเหตุ: หน่วยเป็นกิโลจูล

#### 4.5.6 เปรียบเทียบพลังงานที่ใช้ในการสกัดไขมันของสาหร่ายชนิด *Scenedesmus obliquus*

พลังงานที่ใช้ในการสกัดไขมันของ *Scenedesmus obliquus* การคำนวณจะคำนวณเหมือนกับของ *Chlorella vulgaris* จากตารางที่ 4.5 พลังงานที่ใช้จะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณไขมันสกัดได้มากขึ้น ซึ่งพลังงานที่น้อยที่สุดในการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ คือ 78 กิโลจูล ต่อ กรัมไขมัน ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 นาที และพลังงานสูงสุดที่ใช้เพื่อสกัดไขมัน คือ 659 กิโลจูล ต่อ กรัมไขมัน ที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 นาที วิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวก ข-11

ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณไขมันที่สกัดได้สูงนั้นก็ใช้พลังงานที่สูงเพื่อสกัดออกมาเช่นกันดังนั้นเมื่อพิจารณาในเชิงพลังงานที่ใช้นั้นควรที่จะเลือกสภาวะการสกัดที่ใช้พลังงานน้อยเพื่อความคุ้มค่าในการใช้พลังงาน และเมื่อเปรียบเทียบพลังงานที่ใช้สกัดไขมันของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดแล้วพบว่า *Scenedesmus obliquus* ใช้พลังงานในการสกัดไขมันน้อยกว่า *Chlorella vulgaris* เนื่องมาจากขนาดของเซลล์ที่ใหญ่กว่าทำให้ได้รับผลของอัลตราซาวด์ได้มากกว่านั่นเอง

ตารางที่ 4. 5 พลังงานที่ใช้ในการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ต่อไขมันที่ได้ของ *Scenedesmus obliquus*

ระดับพลังงาน(เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาท)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	78	182	231	284	365	413	483
60	90	213	313	335	371	413	460
80	109	266	350	383	416	579	631
100	127	220	320	363	375	449	659

หมายเหตุ: หน่วยเป็นกิโลจูล

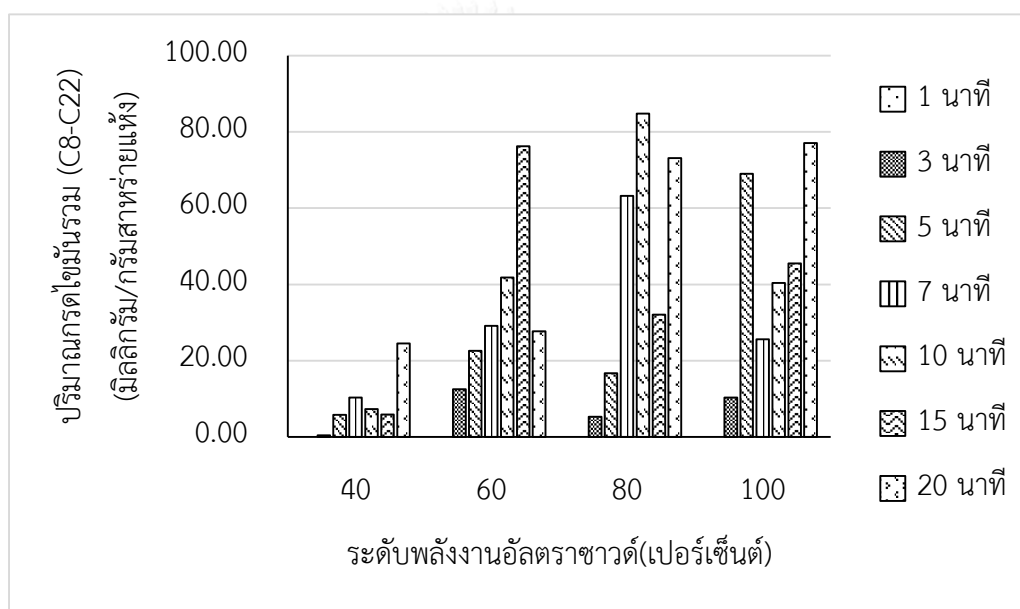
#### 4.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยวิธีการทาง Gas chromatography

การทดลองนี้ทำเพื่อตรวจสอบลักษณะของกรดไขมันที่ได้ว่าเหมาะสมกับการนำไปผลิตไบโอดีเซลหรือไม่ โดยกรดไขมันที่เหมาะสมสำหรับผลิตไบโอดีเซลจะอยู่ระหว่าง C12-C22 J. C. J. Bart et al., (2010) และ R. Luque et al., (2011) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงตรวจวัดปริมาณกรดไขมันที่มีคาร์บอนระหว่าง 12-22 โดยไขมันที่สกัดได้นั้นจะผ่านกระบวนการ transesterification เพื่อแปลงไขมันให้กลายเป็นกรดไขมันก่อนทำการวิเคราะห์

##### 4.6.1 ปริมาณกรดไขมันของ *Chlorella vulgaris*

สำหรับกรดไขมันโดยรวมที่ได้นั้นก็แปรผันตามปริมาณไขมันที่สกัดได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.12 ที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 20 นาที ปริมาณกรดไขมันกลับลดลงซึ่งอาจเป็นผลมาจากปริมาณไขมันที่ได้มีการเจือปนของคลอโรฟิลล์ และกรดไขมันโดยรวมที่พบมากที่สุดคือที่ระดับพลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 10 นาที โดยมีกรดไขมันหลักคือ C16:0 C18:1n9c C18:2n6c และ C18:3n3 และ ภาวะผนวก ข-11 สำหรับที่ระดับพลังงาน 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่ 1 นาที พบว่าไม่สามารถตรวจพบปริมาณกรดไขมันได้ เนื่องจากฟีดที่เกิดขึ้นไม่ตรงกับสารมาตรฐาน ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้จาก 2 สาเหตุ คือ อาจจะมีกรดไขมันแต่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นชนิดใดเนื่องจากไม่มีสารฐาน หรือ สิ่งที่สกัดมาได้นั้นอาจไม่ใช่กรดไขมันแต่เป็นสารอื่นที่สามารถละลายได้ในเฮกเซน ดังนั้นจึงควรที่จะวิเคราะห์ต่อด้วย Mass Spectrophotometer หรือวิธีวิเคราะห์อื่นๆเพื่อที่จะสามารถระบุฟีดต่างๆที่ไม่ตรงกับสารมาตรฐานทำให้สามารถวิเคราะห์ได้ในเชิงลึกยิ่งขึ้น โดย Ramirez-Lopez et al. (2016) ได้ทำการสกัดไขมันจาก *Chlorella vulgaris* โดยใช้โพรพานอล และเฮกเซนพบว่ากรดไขมันหลักที่ได้คือ linolenic acid (C18:3n3) palmitic acid

(C16:0) และ stearic acid (C18:0) พบว่ากรดไขมันที่ได้นั้นมีความคล้ายคลึงกัน และ Monirul et al. (2016) ได้ทำการศึกษาลักษณะของกรดไขมันของไขมันปาล์มเพื่อใช้เป็นองค์ประกอบสำหรับผลิตไบโอดีเซล ซึ่งกรดไขมันที่พบเป็นส่วนใหญ่ นั่นคือ C16 และ C18 โดยกรดไขมันกลุ่มนี้จะเป็นกลุ่มหลักของกรดไขมันที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล และเมื่อเปรียบเทียบกับกรดไขมันจากสาหร่ายแล้วพบว่า มีลักษณะที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าไขมันที่สกัดได้จากสาหร่ายนั้นสามารถที่จะนำมาเป็นส่วนประกอบสำหรับผลิตไบโอดีเซลได้ และจากการศึกษาของ J. C. J. Bart et al. (2010) และ R. Luque et al., (2011) ได้อธิบายถึงช่วงของลักษณะของกรดไขมันที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ผลิตไบโอดีเซลควรอยู่ในช่วง C12-C22 ซึ่งเป็นการยืนยันข้อสรุปที่ว่าไขมันจากสาหร่ายนั้นสามารถที่จะนำมาผลิตไบโอดีเซลได้



รูปที่ 4. 12 ปริมาณกรดไขมันโดยรวม (C12-C22) ของ *Chlorella vulgaris*

#### 4.6.2 กรดไขมันที่ได้ต่อพลังงานที่ใช้ของ *Chlorella vulgaris*

จากปริมาณของกรดไขมันที่วิเคราะห์ได้จะพบว่าปริมาณของกรดไขมันในแต่ละสภาวะการสกัดนั้นไม่เท่ากันในหัวข้อนี้จึงนำปริมาณกรดไขมันนั้นมาทำการวิเคราะห์ความเหมาะสมของพลังงานที่ใช้ต่อกรดไขมัน 1 มิลลิกรัม โดยผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.6 และภาคผนวก ข-13 ซึ่งผลที่ได้มานี้คำนวณจากปริมาณกระแสไฟฟ้าที่ใช้เดินระบบอัลตราซาวด์ในแต่ละสภาวะ สำหรับสภาวะอัลตราซาวด์ที่กรดไขมันต่อพลังงานที่ใช้ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 5 นาที และ ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 7 นาที โดยพลังงานที่ใช้ต่อกรดไขมัน 1 มิลลิกรัม เท่ากับ 5 กิโลจูล และสภาวะอัลตราซาวด์ที่กรดไขมันต่อพลังงานที่ใช้ที่มีประสิทธิภาพต่ำสุดคือ ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 นาที โดยใช้พลังงาน 145 กิโลจูล ต่อ กรดไขมัน 1 กรัม

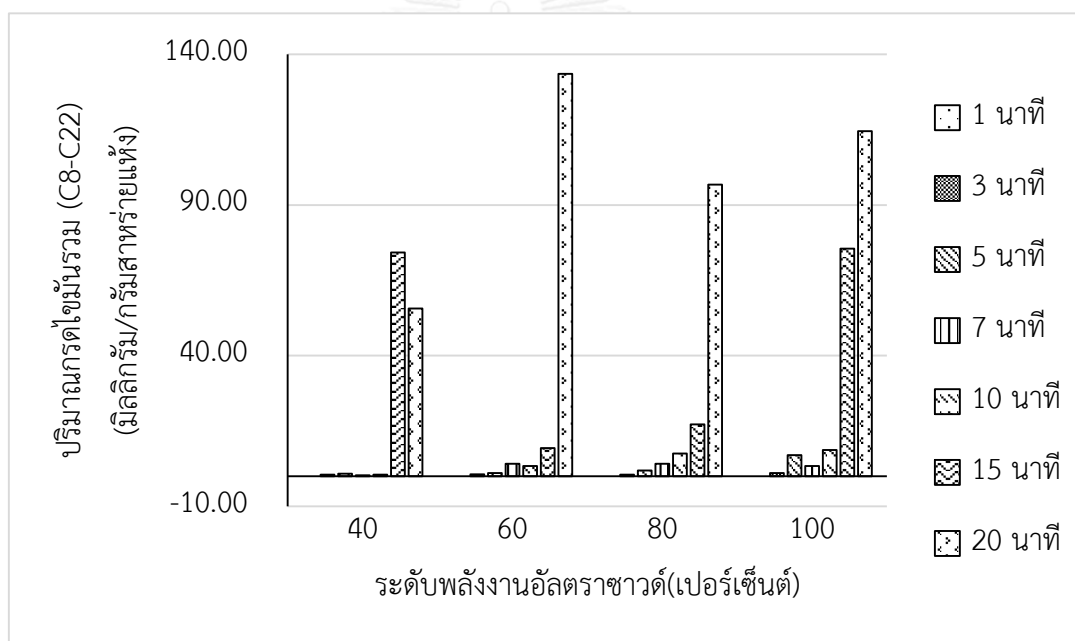
ตารางที่ 4. 6 กรดไขมันที่ได้ต่อพลังงานที่ใช้ของ *Chlorella vulgaris*

ระดับพลังงาน(เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	-	-	7	33	-	-	7
60	145	11	18	14	145	11	18
80	31	6	11	5	31	6	11
100	11	7	5	17	11	7	5

หมายเหตุ พลังงานเป็นหน่วยกิโลจูล

#### 4.6.3 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมของ *Scenedesmus obliquus*

สำหรับปริมาณของกรดไขมันโดยรวมที่ได้นั้นก็จะแปรผันตามไขมันที่สกัดได้ กรดไขมันที่ได้นั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาอัลตราซาวด์ และ ระดับพลังงานของอัลตราซาวด์ โดยกรดไขมันโดยรวมที่พบสูงสุดคือ ที่ระดับพลังงาน 60 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 20 นาที โดยมี C16:0 C18:0 และ C20:0 อยู่ 14 35 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงในรูปที่ 4.13 และภาคผนวก ข-12 โดยปริมาณกรดไขมันส่วนใหญ่ที่พบนั้นคล้ายคลึงกับ *Chlorella vulgaris* เพราะฉะนั้นไขมันที่สกัดได้จาก *Scenedesmus obliquus* ก็มีความเป็นไปได้ที่จะนำไปผลิตเป็นไบโอดีเซลเช่นกัน และในทำนองกันที่ทุกระดับพลังงาน ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 นาทีนั้นไม่สามารถตรวจพบพิกของกรดไขมันได้ จึงสรุปได้ว่าไขมันที่สกัดมาได้นั้นไม่ใช่กรดของไขมันแต่อาจเป็นสารอื่นๆที่สามารถละลายได้ในเฮกเซน



รูปที่ 4. 13 ปริมาณของกรดไขมันโดยรวม (C12-C22) ของ *Scenedesmus obliquus*



#### 4.6.4 กรดไขมันที่ได้ต่อพลังงานที่ใช้ของ *Scenedesmus obliquus*

สำหรับพลังงานไฟฟ้าที่ใช้สำหรับอัลตราซาวด์ในการนำมาซึ่งกรดไขมันของ *Scenedesmus obliquus* นั้นจะคำนวณในทำนองเดียวกันกับกรดไขมันต่อพลังงานที่ใช้ของสาหร่ายชนิด *Chlorella vulgaris* ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.7 และภาคผนวก ข-14 พบว่าสภาวะอัลตราซาวด์ที่พลังงานที่ใช้ต่อกรดไขมัน 1 มิลลิกรัมที่มีประสิทธิภาพสูงสุดเท่ากับ 8 กิโลจูล ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 15 นาที และสภาวะอัลตราซาวด์ที่ได้กรดไขมันต่อพลังงานที่ใช้ที่มีประสิทธิภาพต่ำสุด คือ ที่ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 1 นาที ของทุกระดับพลังงานอัลตราซาวด์ ซึ่งไม่สามารถตรวจพบปริมาณกรดไขมันได้ โดยที่สภาวะนี้สารที่สกัดมาได้นั้นอาจไม่ใช่กรดไขมัน

ตารางที่ 4. 7 กรดไขมันที่ได้ต่อพลังงานที่ใช้ของ *Scenedesmus obliquus*

ระดับพลังงาน(เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	-	-	-	-	-	-	-
60	169	228	314	182	169	228	314
80	161	201	125	42	161	201	125
100	434	60	72	101	434	60	72

หมายเหตุ พลังงานเป็นหน่วยกิโลจูล

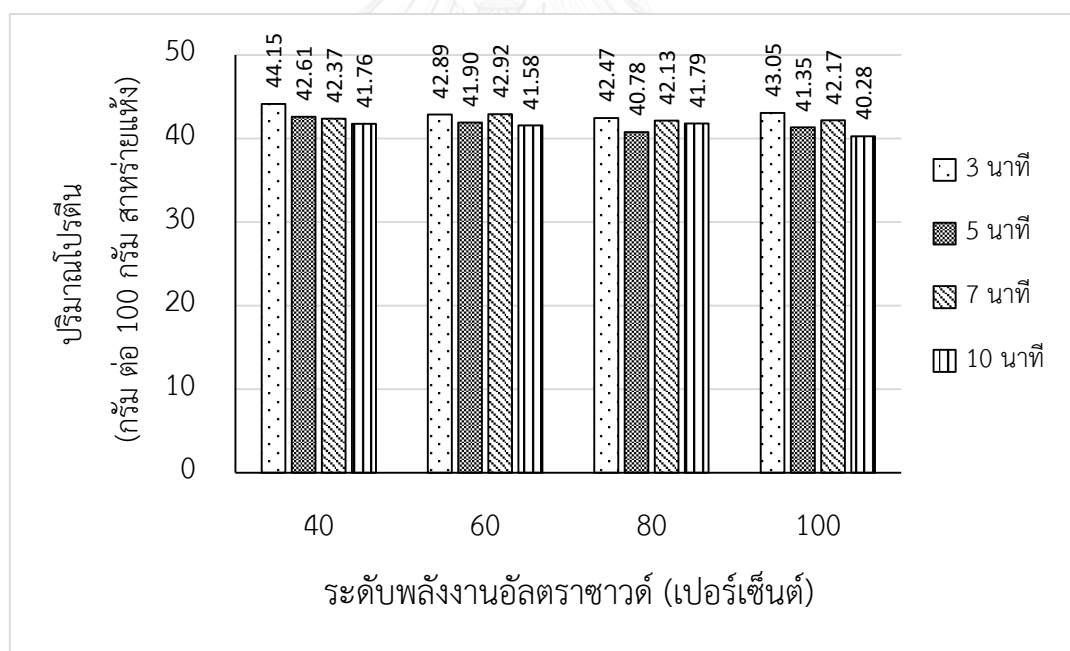
#### 4.7 แนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ไปใช้ประโยชน์

Cornish and Garbary (2010) ได้กล่าวถึงความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่ายในด้านต่างๆ เช่น ด้านสุขภาพ และอาหารสำหรับมนุษย์ เนื่องจากมีการค้นพบสารต้านอนุมูลอิสระบางตัว นอกจากนี้สาหร่ายยังอุดมไปด้วยโปรตีนที่สูงถึง 40 ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง (Becker, 2007) ในงานวิจัยนี้จึงได้วิเคราะห์ความเป็นไปได้ในการนำกากสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ต่อเนื่องจากวิธีการสกัดในงานวิจัยนี้ไม่ได้ใช้ตัวทำละลายหรือสารเคมีในขั้นตอนการสกัดไขมัน

#### 4.7.1 ปริมาณโปรตีนคงเหลือในกากสาหร่าย

##### 4.7.1.1 ปริมาณโปรตีนของ *Chlorella vulgaris*

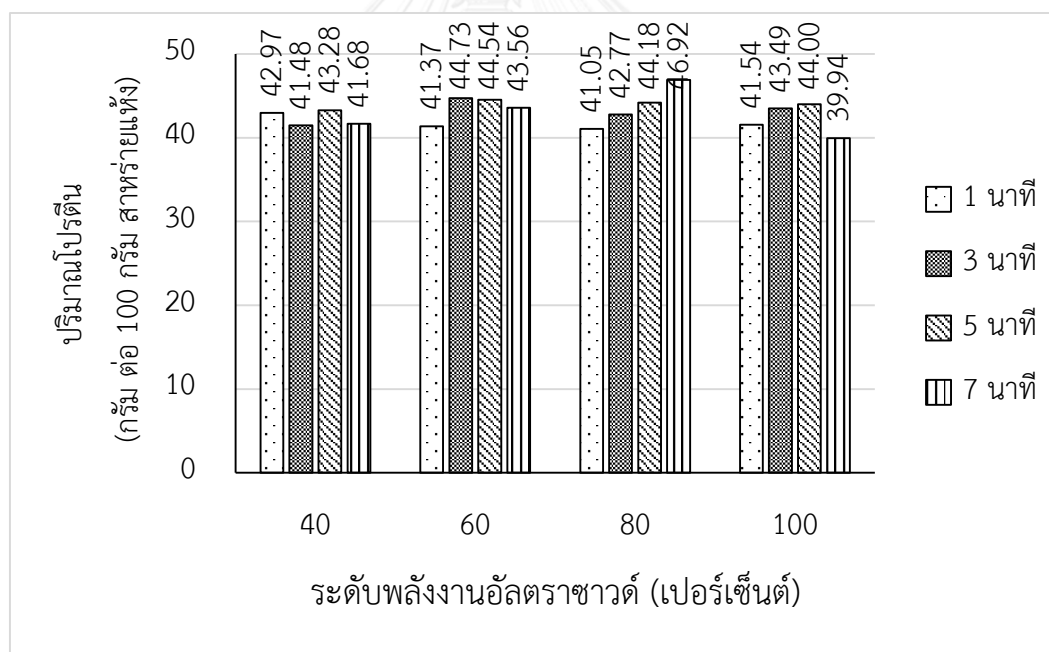
การวิเคราะห์โปรตีนได้ทำการวิเคราะห์ โดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับวิธีวิเคราะห์นั้นได้ทำตามวิธีของ AOAC (2012), 991.20 ได้ผลแสดงดังรูปที่ 4.14 พบว่าโปรตีนที่ได้นั้นมีปริมาณอยู่ในช่วง 40-44 กรัม ต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง โดยแนวโน้มของโปรตีนหลังจากการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์นั้นมีค่าที่ลดลงเล็กน้อยตามความระดับพลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่เพิ่มขึ้นและเมื่อวิเคราะห์ด้านปริมาณโปรตีนที่วัดได้หลังการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์นั้นมีต่ำกว่าตัวอย่างสาหร่ายที่ไม่ผ่านการอัลตราซาวด์ โดยโปรตีนที่วัดได้จากตัวอย่างที่ไม่ผ่านการอัลตราซาวด์ เท่ากับ 44.18 กรัม ต่อ 100 กรัม สาหร่ายแห้ง ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าปริมาณของโปรตีนนั้นได้หลุดไปพร้อมกับของเหลวในขั้นตอนการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ โดยโปรตีนที่ได้นี้จะเป็นอาหารเสริมสำหรับมนุษย์ และ สัตว์ได้ (Becker, 2007)



รูปที่ 4. 14 ปริมาณโปรตีนของ *Chlorella vulgaris*

#### 4.7.1.2 ปริมาณโปรตีนของ *Scenedesmus obliquus*

การวิเคราะห์โปรตีน แสดงดังรูปที่ 4.15 เมื่อผลโปรตีนที่ได้หลังจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ พบว่าโปรตีนที่ได้นั้นมีปริมาณอยู่ในช่วง 39-44 กรัม ต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง และสำหรับตัวอย่างที่ไม่ผ่านอัลตราซาวด์นั้นมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 40.97 กรัม ต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง ซึ่งจากรูปที่ 4.17 พบว่ามีสาหร่ายหลังอัลตราซาวด์แล้วมีปริมาณโปรตีนมากกว่า ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการสกัด เนื่องจากการวิเคราะห์โปรตีนที่ได้นี้ไม่ได้ทำการทำซ้ำทำให้ไม่อาจหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้ ซึ่งเมื่อได้วิเคราะห์ในเบื้องต้นพบว่าปริมาณโปรตีนของตัวอย่างทั้งหมดนั้นยกเว้นที่ระดับพลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 7 นาที มีค่าต่างกันไม่ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่ระดับพลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 7 นาทีที่มีค่าแตกต่างกันอยู่ 6.8 เปอร์เซ็นต์ ด้วยข้อมูลในข้างต้นสำหรับค่าโปรตีนที่ได้นั้นยังไม่อาจสรุปได้ว่าลดลงตามระดับพลังงานและระยะเวลาอัลตราซาวด์หรือไม่ แต่สามารถที่จะสรุปได้ในเบื้องต้นนั้นคือกากสาหร่ายหลังการสกัดนั้นมีปริมาณโปรตีนคงเหลืออยู่ซึ่งมีแนวโน้มจะนำมาเป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์ได้



รูปที่ 4. 15 ปริมาณโปรตีนของ *Scenedesmus obliquus*

#### 4.7.1.3 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของสาหร่ายทั้งสองชนิด

เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนจากสาหร่ายก่อนการสกัดพบว่า *Scenedesmus obliquus* และ *Chlorella vulgaris* มีปริมาณโปรตีน เท่ากับ 40.97 และ 44.18 กรัม ต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ โดยพบว่า *Chlorella vulgaris* นั้นมีปริมาณโปรตีนที่มากกว่า โดยอาจจะ

สาเหตุมาจากโปรตีนบางส่วนนั้นอาจถูกสกัดด้วยอัลตราซาวด์ไปพร้อมกับของเหลวในการสกัดไขมัน แต่สำหรับ *Scenedesmus obliquus* นั้นมีปริมาณโปรตีนที่ได้นั้นใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของกากสาหร่ายจากสาหร่ายทั้งสองชนิด พบว่าปริมาณโปรตีนคงเหลือนั้นไม่แตกต่างกัน แสดงว่าปริมาณโปรตีนส่วนใหญ่ยังคงอยู่ในกากสาหร่าย

#### 4.7.2 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

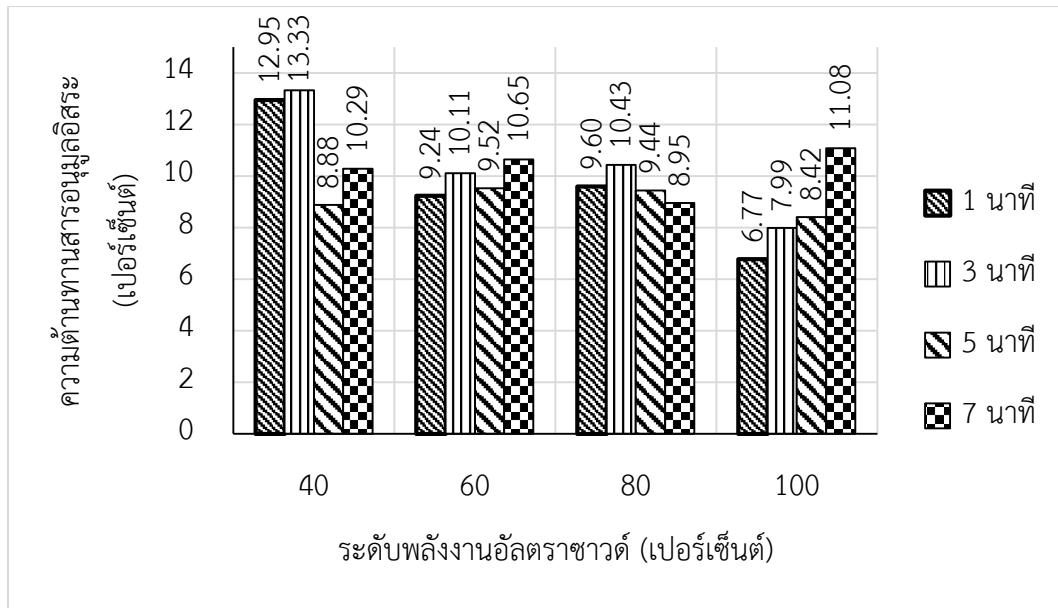
ทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH assay (Miliauskas et al., 2004) โดยทดสอบประสิทธิภาพของสาหร่ายในการต้านการออกซิไดซ์ของสารDPPH ซึ่งเป็นเพียงการทดสอบเบื้องต้น

##### 4.7.2.1 ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของ *Chlorella vulgaris*

สำหรับ *Chlorella vulgaris* เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่าประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระ โดยส่วนใหญ่แล้วนั้นมีค่าน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ และบางตัวอย่างมีค่าติดลบ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าหมู่ฟังก์ชันที่ทำหน้าที่ต้านสารอนุมูลอิสระโดยทำลายโดยอัลตราซาวด์ทำให้ไม่สามารถตรวจวัดได้ หรือเกิดจากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างทำให้สภาพของสารต้านอนุมูลอิสระเสียไป เช่น ขั้นตอนการอบสาหร่าย การนำตัวอย่างไปสกัด เป็นต้น

##### 4.7.2.2 ประสิทธิภาพการต้านสารอนุมูลอิสระของ *Scenedesmus obliquus*

จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสาหร่ายหลังการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ที่มีค่าต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ การสกัดด้วยอัลตราซาวด์ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอัลตราซาวด์ 3 นาที คือ 13.33 เปอร์เซ็นต์ หรือ 0.1428 µg/ml เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid และตัวอย่างที่มีความต้านทานสารอนุมูลอิสระน้อยสุดเท่ากับ 6.77 เปอร์เซ็นต์ หรือ 0.0672 µg/ml เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid ที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 1 นาที แสดงในรูปที่ 4.16 โดยความต้านทานที่ได้นี้อาจต้องมีการวิเคราะห์ต่อในเชิงลึกขึ้นเพื่อคำนึงถึงความเป็นไปได้ที่จะนำกากสาหร่ายมาใช้จริง



รูปที่ 4. 16 ประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระของ *Scenedesmus obliquus*

## บทที่ 5

### สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลวิจัย

จากการศึกษาการประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดไขมันจากสาหร่าย และแนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดไปใช้ประโยชน์ (*Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus obliquus*) สำหรับการทดลองนั้นได้ทำการทดลองแบบทีละเท (Batch) โดยศึกษาระยะเวลาการเพาะเลี้ยงของสาหร่ายโดยวิเคราะห์จากปริมาณของไขมันสะสมด้วยการสกัดด้วยวิธี Bligh and Dyer เพื่อหาปริมาณไขมันที่สูงสุด จากนั้นจึงใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่มีปริมาณไขมันสะสมสูงสุดมาสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ เพื่อหาระดับพลังงานอัลตราซาวด์ และระยะเวลาอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมของสาหร่ายทั้งสองชนิด หลังจากนั้นศึกษาปริมาณไขมันคงเหลือจากการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ด้วยการสกัดด้วยวิธี Bligh and Dyer และศึกษาแนวทางการนำสาหร่ายหลังการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ไปใช้ประโยชน์ในด้านของ โปรตีน และสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้

1. สภาพที่เหมาะสมในการสกัดไขมันในแง่ของพลังงานที่ใช้ต่อปริมาณไขมันที่ได้
  - *Chlorella vulgaris* ระดับพลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์ 3 นาที
  - *Scenedesmus obliquus* ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที
2. สภาพที่เหมาะสมในการสกัดไขมันในแง่ของพลังงานที่ใช้ต่อกรดไขมันที่ได้
  - *Chlorella vulgaris* ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที และ 80 เปอร์เซ็นต์ 7 นาที
  - *Scenedesmus obliquus* ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที
3. กรดไขมันส่วนใหญ่ที่พบคือ
  - *Chlorella vulgaris* คือ C16:0 (30.2%) C18:2n6c (39.2%) และ C18:3n3 (20.73%)
  - *Scenedesmus obliquus* คือ C16:0 (17.6%) และ C18:0 (48.9%)
4. สาหร่ายที่ผ่านการสกัดยังคงมีปริมาณไขมันคงเหลืออยู่จึงอาจนำมาสกัดได้อีก
5. การนำสาหร่ายหลังการสกัดไปใช้ประโยชน์
  - ด้านสารต้านอนุมูลอิสระ ตรวจสอบด้วย DPPH assay
    - *Chlorella vulgaris* ตรวจพบเปอร์เซ็นต์ต้านอนุมูลอิสระได้น้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์

- *Scenedesmus obliquus* ตรวจพบเปอร์เซ็นต์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 6 – 13 เปอร์เซ็นต์
- ปริมาณโปรตีน
  - *Chlorella vulgaris* ตรวจพบโปรตีนภายในเซลล์ระหว่าง 40-44 กรัม ต่อ 100 กรัม สำหรับแห้ง
  - *Scenedesmus obliquus* ตรวจพบโปรตีนภายในเซลล์ระหว่าง 39- 47 กรัม ต่อ 100 กรัม สำหรับแห้ง

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. สำหรับที่ผ่านการสกัดไขมันด้วยอัลตราซาวด์ยังมีปริมาณไขมันคงเหลืออยู่ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาสกัดอีกครั้ง
2. ในการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันนั้นมีบางประเภทที่ไม่ตรงกับสารมาตรฐาน จึงอาจใช้ Mass spectrophotometer เพื่อระบุประเภทของฟีด
3. สารต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจวัดได้นั้นเป็นวิธีการตรวจวัดขั้นพื้นฐาน อาจจะต้องมีการตรวจวิเคราะห์ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการอื่นๆเพิ่มเติม
4. ในกรณีนำโปรตีนไปเป็นอาหารสัตว์นั้นต้องทำการศึกษาอัตราส่วน C:N เพราะวัตถุดิบที่จะนำมาเป็นอาหารสัตว์นั้นจะมีค่า C:N พื้นฐานอยู่ ซึ่งในกรณีนี้อาจนำมาเป็นส่วนเสริมได้

## รายการอ้างอิง

- A.M. Illman, A.H. Scragg, & Shales, S. W. ( 2000). Increase in Chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme and Microbial Technology*, 27, 631-635.
- A.M. Illman, A. H. S., S.W. Shales. (2000). Increase in Chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme and Microbial Technology*, 27, 631-635.
- Adam, F., Abert-Vian, M., Peltier, G., & Chemat, F. (2012). "Solvent-free" ultrasound-assisted extraction of lipids from fresh microalgae cells: a green, clean and scalable process. *Bioresour Technol*, 114, 457-465.
- Araujo, G. S., Matos, L. J., Fernandes, J. O., Cartaxo, S. J., Goncalves, L. R., Fernandes, F. A., & Farias, W. R. (2013). Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: prospection of the optimal extraction method. *Ultrason Sonochem*, 20(1), 95-98.
- Balasubramanian, R. K., Yen Doan, T. T., & Obbard, J. P. (2013). Factors affecting cellular lipid extraction from marine microalgae. *Chemical Engineering Journal*, 215-216, 929-936.
- Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnol Adv*, 25(2), 207-210.
- Borges, L., Morón-Villarreyes, J. A., D'Oca, M. G. M., & Abreu, P. C. (2011). Effects of flocculants on lipid extraction and fatty acid composition of the microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Thalassiosira weissflogii*. *Biomass and Bioenergy*, 35(10), 4449-4454.
- Budhiyanti, S. A., Raharjo, S., Marseno, D. W., & Lelana, I. Y. B. (2012). Antioxdant actilivity of brown alga *sagassum* species extracts from the coastline of Java island. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 7(3), 337-346.
- Chen, K. T., Cheng, C. H., Wu, Y. H., Lu, W. C., Lin, Y. H., & Lee, H. T. (2013). Continuous lipid extraction of microalgae using high-pressure carbon dioxide. *Bioresour Technol*, 146, 23-26.



- Cheng, C. H., Du, T. B., Pi, H. C., Jang, S. M., Lin, Y. H., & Lee, H. T. (2011). Comparative study of lipid extraction from microalgae by organic solvent and supercritical CO<sub>2</sub>. *Bioresour Technol*, 102(21), 10151-10153.
- Cornish, M. L., & Garbary, D. J. (2010). Antioxidants from macroalgae: potential applications in human health and nutrition. *Algae*, 25(4), 155-171.
- Gerde, J. A., Montalbo-Lomboy, M., Yao, L., Grewell, D., & Wang, T. (2012). Evaluation of microalgae cell disruption by ultrasonic treatment. *Bioresour Technol*, 125, 175-181.
- Gouveia, L., & Oliveira, A. C. (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 36(2), 269-274.
- Guldhe, A., Singh, B., Rawat, I., Ramluckan, K., & Bux, F. (2014). Efficacy of drying and cell disruption techniques on lipid recovery from microalgae for biodiesel production. *Fuel*, 128, 46-52.
- H.C. Bold, C.J. Alexopoulos, & Delevoryas, T. (1980). *Morphology of plants and fungi*.
- Halim, R., Gladman, B., Danquah, M. K., & Webley, P. A. (2011). Oil extraction from microalgae for biodiesel production. *Bioresour Technol*, 102(1), 178-185.
- J. C. J. Bart, N. Palmeri, & Cavallaro, S. (2010). *Biodiesel Science and Technology: From Soil to Oil*.
- Kaul, S., Sharma, G., Porwal, J., & Bisht, N. (2011). Effect of low frequency ultrasonic assisted extraction on the quality of seed oils of Indian origin. *Fuel Processing Technology*, 92(10), 1813-1820.
- Keris-Sen, U. D., Sen, U., Soydemir, G., & Gurol, M. D. (2014). An investigation of ultrasound effect on microalgal cell integrity and lipid extraction efficiency. *Bioresour Technol*, 152, 407-413.
- Kim, D. Y., Vijayan, D., Praveenkumar, R., Han, J. I., Lee, K., Park, J. Y., . . . Oh, Y. K. (2016). Cell-wall disruption and lipid/astaxanthin extraction from microalgae: *Chlorella* and *Haematococcus*. *Bioresour Technol*, 199, 300-310.
- Lee, J. Y., Yoo, C., Jun, S. Y., Ahn, C. Y., & Oh, H. M. (2010). Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresour Technol*, 101 Suppl 1, S75-77.

- Lv, J. M., Cheng, L. H., Xu, X. H., Zhang, L., & Chen, H. L. (2010). Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. *Bioresour Technol*, 101(17), 6797-6804.
- M. A. Toyub, M. I. Miah, M. A. B. Habib, & Rahman, M. M. (2008). Growth performance and nutritional value of *Scenedesmus obliquus* cultured in different concentrations of sweetmeat factory waste media. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 37, 86-93.
- Mandal, S., & Mallick, N. (2009). Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. *Appl Microbiol Biotechnol*, 84(2), 281-291.
- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217-232.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2), 231-237.
- Monirul, I. M., Masjuki, H. H., Kalam, M. A., Mosarof, M. H., Zulkifli, N. W. M., Teoh, Y. H., & How, H. G. (2016). Assessment of performance, emission and combustion characteristics of palm, jatropha and *Calophyllum inophyllum* biodiesel blends. *Fuel*, 181, 985-995.
- Natarajan, R., Ang, W. M., Chen, X., Voigtmann, M., & Lau, R. (2014). Lipid releasing characteristics of microalgae species through continuous ultrasonication. *Bioresour Technol*, 158, 7-11.
- Neto, A. M. P., Sotana de Souza, R. A., Leon-Nino, A. D., da Costa, J. D. a. A., Tiburcio, R. S., Nunes, T. A., . . . Ganesella, S. M. F. (2013). Improvement in microalgae lipid extraction using a sonication-assisted method. *Renewable Energy*, 55, 525-531.
- R. Luque, J. Campelo, & Clark, J. (2011). *Handbook of biofuels production Process and technologies*

- Ramirez-Lopez, C., Chairez, I., & Fernandez-Linares, L. (2016). A novel culture medium designed for the simultaneous enhancement of biomass and lipid production by *Chlorella vulgaris* UTEX 26. *Bioresour Technol*, 212, 207-216.
- Santos, H. M., Lodeiro, C., & Capelo-Martínez, J.-L. (2008). *Ultrasound in Chemistry Analytical Applications*.
- Shin, H.-Y., Ryu, J.-H., Bae, S.-Y., Crofcheck, C., & Crocker, M. (2014). Lipid extraction from *Scenedesmus* sp. microalgae for biodiesel production using hot compressed hexane. *Fuel*, 130, 66-69.
- Show, K.-Y., & Lee, D.-J. (2014). Algal Biomass Harvesting. 85-110.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *J Biosci Bioeng*, 101(2), 87-96.
- Suali, E., & Sarbatly, R. (2012). Conversion of microalgae to biofuel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(6), 4316-4342.
- Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X., & Zhong, J. (2011). CO<sub>2</sub> biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO<sub>2</sub> levels. *Bioresour Technol*, 102(3), 3071-3076.
- Wang, M., Yuan, W., Jiang, X., Jing, Y., & Wang, Z. (2014). Disruption of microalgal cells using high-frequency focused ultrasound. *Bioresour Technol*, 153, 315-321.
- Wu, T. Y., Guo, N., Teh, C. Y., & Hay, J. X. W. (2013). Theory and Fundamentals of Ultrasound. 5-12.
- Xu, Y., & Pan, S. (2013). Effects of various factors of ultrasonic treatment on the extraction yield of all-trans-lycopene from red grapefruit (*Citrus paradise* Macf.). *Ultrason Sonochem*, 20(4), 1026-1032.
- Zhang, X., Zhao, X., Wan, C., Chen, B., & Bai, F. (2016). Efficient biosorption of cadmium by the self-flocculating microalga *Scenedesmus obliquus* AS-6 - 1. *Algal Research*, 16, 427-433.
- Zhang, Z., Wang, F., Wang, X., Liu, X., Hou, Y., & Zhang, Q. (2010). Extraction of the polysaccharides from five algae and their potential antioxidant activity in vitro. *Carbohydrate Polymers*, 82(1), 118-121.

วนากานต์ เร่งเพียร. การสกัดน้ำมันจาก *Chlorella vulgaris* โดยใช้อัลตราซาวด์. วิทยานิพนธ์  
ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์  
มหาวิทยาลัย, 2557.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY



ภาคผนวก ก

ขั้นตอนการวิเคราะห์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

### ก-1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

สำหรับสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้นเป็นสูตรอาหาร N-8 ซึ่งเป็นสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวโดยเฉพาะ

#### สูตรอาหาร N-8

สารเคมี	ปริมาณสารต่อน้ำ 1 ลิตร
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.26 g.
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0.74 g.
Fe EDTA	0.01 g.
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05 g.
$\text{KNO}_3$	1 g.
Trace element*	1 ml.
Seed <i>Chlorella Vulgaris</i>	100 ml.

Trace element\*

สารเคมี	ปริมาณสารต่อน้ำ 1 ลิตร
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	3.6 mg.
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	13 mg.
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.8 mg.
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.0 mg.

### ก-2 การคำนวณน้ำหนักแห้งสาหร่าย

#### ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. อบถ้วยกระเบื้องที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง
2. นำเข้าตู้ดูดความชื้น 24 ชั่วโมง
3. นำมาชั่งน้ำหนัก
4. นำสาหร่ายปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ถ้วยกระเบื้อง และระเหยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง
5. นำเข้าตู้ดูดความชื้น 24 ชั่วโมง
6. ทำการชั่งน้ำหนักถ้วยกระเบื้อง

### วิธีคำนวณ

$$\text{น้ำหนักสาหร่ายแห้ง (มิลลิกรัม ต่อ ลิตร)} = \frac{(\text{น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง+สาหร่าย}) - \text{น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง}}{\text{ปริมาตรน้ำสาหร่าย (มิลลิลิตร)}}$$

### ก-3 การนับเซลล์สาหร่าย

#### วิธีการใช้ Haemocytometer counting chamber

1. หยดตัวอย่างสาหร่ายที่ต้องการนับจำนวนลงไป 1 หยด ในช่องใส่ตัวอย่าง (Load port) ของสไลด์ Hemacytometer ที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ ตัวอย่างสาหร่ายจะกระจายไปทั่วตารางสี่เหลี่ยม
2. วางสไลด์ Hemacytometer ทิ้งไว้ 1 นาที เพื่อให้เซลล์สาหร่ายจมลงสู่พื้นสไลด์
3. วางสไลด์ Hemacytometer บนแท่นกล้องจุลทรรศน์ ปรับกล้อง และเริ่มกำลังขยายจากต่ำไปสูง
4. นับเซลล์สาหร่ายบนช่องสี่เหลี่ยม ตรงกลาง (25 ช่องใหญ่ ซึ่งภายในมีตารางขนาดเล็กจำนวน 16 ช่อง)

#### หมายเหตุ :

- 1) ถ้าจำนวนเซลล์สาหร่ายหนาแน่นสูง อาจสุ่มนับ 5 ช่อง แต่ผลที่ได้ต้องคูณ 5 หรือสุ่มนับ 10 ช่อง ผลที่ได้ต้องคูณ 2.5
- 2) ถ้าเซลล์สาหร่ายทับเส้นให้เลือกให้เลือกนับแบบใดแบบหนึ่งต่อไปนี้
  - ทับเส้นแนวนบน และเส้นแนวขวาให้นับ (ซ้าย-ล่าง ไม่นับ)
  - ทับเส้นแนวล่าง และเส้นแนวซ้ายให้นับ (ขวา-บน ไม่นับ)
5. ทำการนับจำนวนเซลล์สาหร่ายทั้ง 2 ตาราง (สมมติทำการนับได้ n และ m เซลล์)

$$\text{ความเข้มข้นสาหร่าย} = \frac{n+mm}{2} \times 10^4 \text{ เซลล์/มิลลิลิตร}$$

หรือ คำนวณปริมาณสาหร่ายจากสูตร

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

เมื่อ C = จำนวนสาหร่ายที่นับได้

A = พื้นที่ของ grid; 0.04 มิลลิลิตร<sup>2</sup>

D = ความลึกของพื้นที่ที่นับได้; 0.1 มิลลิลิตร

F = จำนวนช่องหรือตารางที่นับ





ภาคผนวก ข  
ผลการทดลอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ข-1 การศึกษาพลังงานของอัลตราซาวด์

วัดอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปของน้ำทุกๆ 10 วินาที แล้วพล็อตค่าระหว่างระยะเวลาอัลตราซาวด์ และ อุณหภูมิ และ นำค่าความชันมาแทนค่าในสมการเพื่อคำนวณพลังงานตามสมการ

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

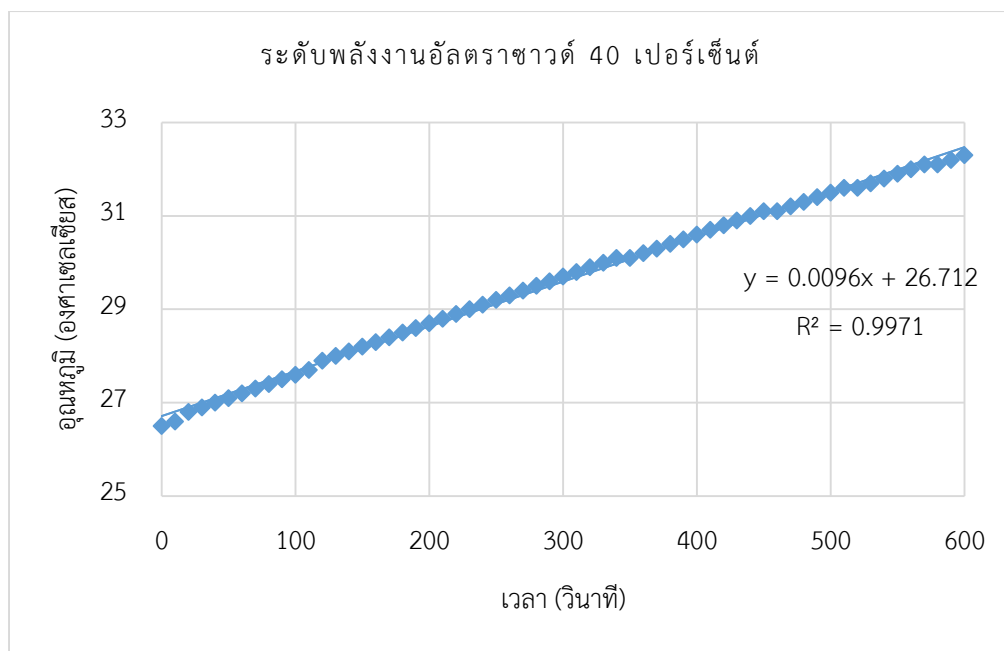
โดยที่

P	=	กำลังงานของอัลตราซาวด์ (วัตต์)
$\Delta T$	=	อุณหภูมิที่เปลี่ยนไป (องศาเซลเซียส)
$t_x$	=	ระยะเวลาเดินระบบ (วินาที)
C	=	ค่าความจุความร้อนของน้ำ (3.18 จูล ต่อ องศาเซลเซียส)
M	=	มวลของน้ำ (กรัม)



## ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์

Time (s)	Temp. (°C)	Time (s)	Temp. (°C)	Time (s)	Temp. (°C)
0	26.5	200	28.7	400	30.6
10	26.6	210	28.8	410	30.7
20	26.8	220	28.9	420	30.8
30	26.9	230	29.0	430	30.9
40	27.0	240	29.1	440	31.0
50	27.1	250	29.2	450	31.1
60	27.2	260	29.3	460	31.1
70	27.3	270	29.4	470	31.2
80	27.4	280	29.5	480	31.3
90	27.5	290	29.6	490	31.4
100	27.6	300	29.7	500	31.5
110	27.7	310	29.8	510	31.6
120	27.9	320	29.9	520	31.6
130	28.0	330	30.0	530	31.7
140	28.1	340	30.1	540	31.8
150	28.2	350	30.1	550	31.9
160	28.3	360	30.2	560	32.0
170	28.4	370	30.3	570	32.1
180	28.5	380	30.4	580	32.1
190	28.6	390	30.5	590	32.2
				600	32.3



ตัวอย่างการคำนวณ

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 40 เปอร์เซ็นต์

โดยที่

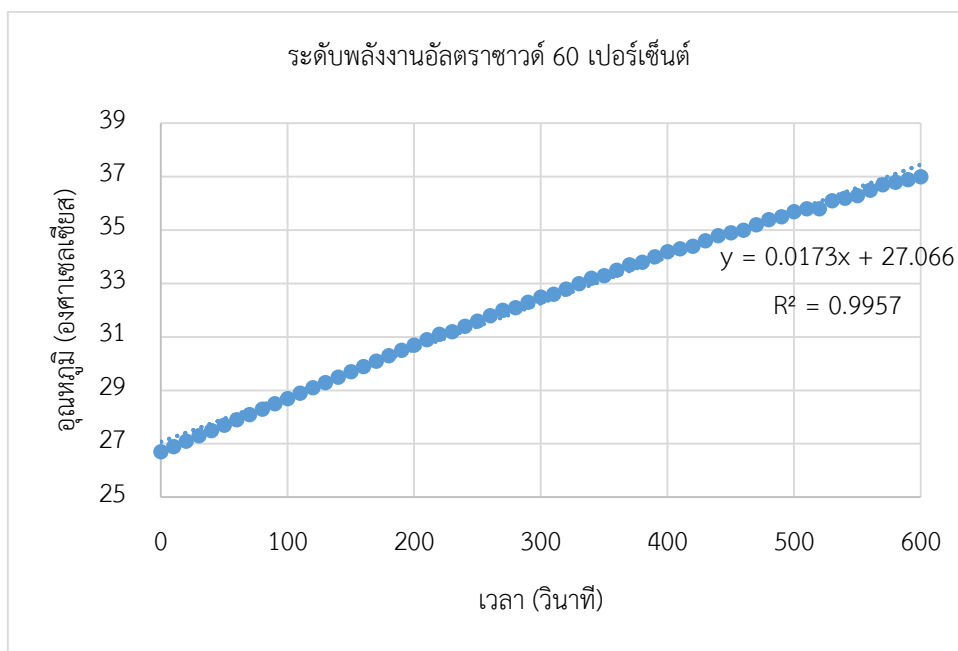
$$\frac{\Delta T}{t_x} = \text{ความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ ระยะเวลา}$$

$$P = 0.0096 \times 3.18 \times 50$$

$$= 2.01 \text{ จูล ต่อ วินาที}$$

ระดับพลังงาน 60 เฮอร์เซ็นต์

Time (s)	Temp. (°C)	Time (s)	Temp. (°C)	Time (s)	Temp. (°C)
0	26.7	200	30.7	400	34.2
10	26.9	210	30.9	410	34.3
20	27.1	220	31.1	420	34.4
30	27.3	230	31.2	430	34.6
40	27.5	240	31.4	440	34.8
50	27.7	250	31.6	450	34.9
60	27.9	260	31.8	460	35.0
70	28.1	270	32.0	470	35.2
80	28.3	280	32.1	480	35.4
90	28.5	290	32.3	490	35.5
100	28.7	300	32.5	500	35.7
110	28.9	310	32.6	510	35.8
120	29.1	320	32.8	520	35.8
130	29.3	330	33.0	530	36.1
140	29.5	340	33.2	540	36.2
150	29.7	350	33.3	550	36.3
160	29.9	360	33.5	560	36.5
170	30.1	370	33.7	570	36.7
180	30.3	380	33.8	580	36.8
190	30.5	390	34.0	590	36.9
				600	37.0



ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 60 เปอร์เซ็นต์

โดยที่

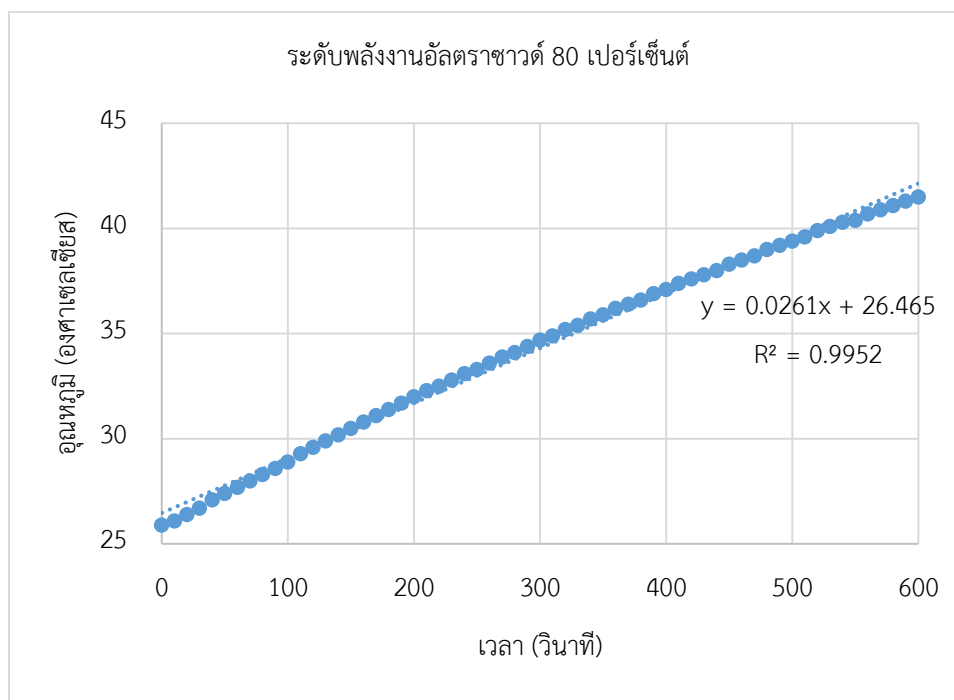
$$\frac{\Delta T}{t_x} = \text{ความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ ระยะเวลา}$$

$$P = 0.0173 \times 3.18 \times 50$$

$$= 3.62 \text{ จูล ต่อ วินาที}$$

ระดับพลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์

Time (s)	Temp. (°C)	Time (s)	Temp. (°C)	Time (s)	Temp. (°C)
0	25.9	200	32.0	400	37.1
10	26.1	210	32.3	410	37.4
20	26.4	220	32.5	420	37.6
30	26.7	230	32.8	430	37.8
40	27.1	240	33.1	440	38.0
50	27.4	250	33.3	450	38.3
60	27.7	260	33.6	460	38.5
70	28.0	270	33.9	470	38.7
80	28.3	280	34.1	480	39.0
90	28.6	290	34.4	490	39.2
100	28.9	300	34.7	500	39.4
110	29.3	310	34.9	510	39.6
120	29.6	320	35.2	520	39.9
130	29.9	330	35.4	530	40.1
140	30.2	340	35.7	540	40.3
150	30.5	350	35.9	550	40.4
160	30.8	360	36.2	560	40.7
170	31.1	370	36.4	570	40.9
180	31.4	380	36.6	580	41.1
190	31.7	390	36.9	590	41.3
				600	41.5



ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 80 เปอร์เซ็นต์

โดยที่  $\frac{\Delta T}{t_x} =$  ความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ ระยะเวลา

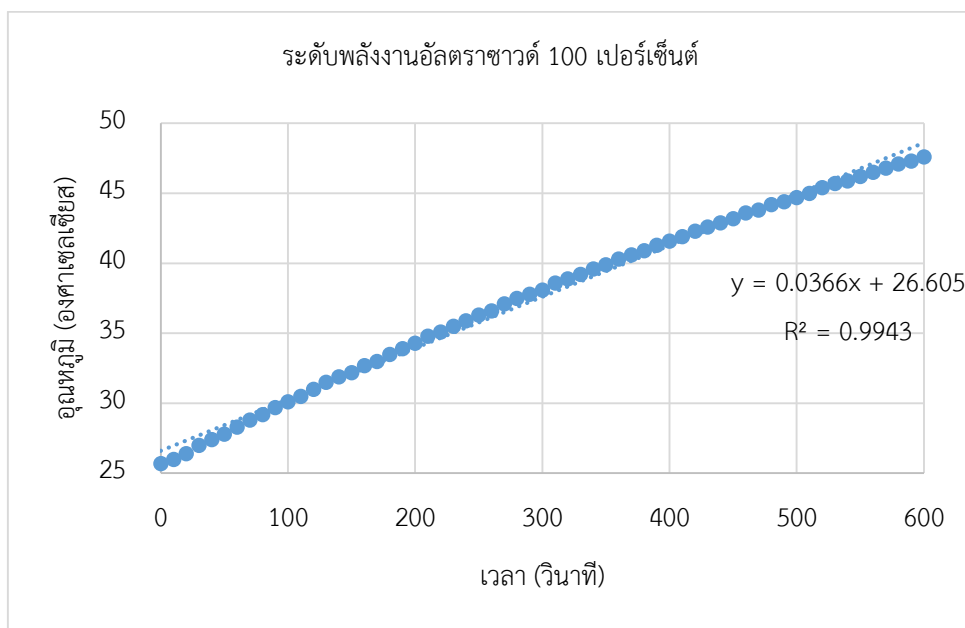
$P = 0.0261 \times 3.18 \times 50$

$= 5.45$  จูล ต่อ วินาที



ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์

Time (s)	Temp. (°C)	Time (s)	Temp. (°C)	Time (s)	Temp. (°C)
0	25.7	200	34.3	400	41.6
10	26.0	210	34.8	410	41.9
20	26.4	220	35.1	420	42.3
30	27.0	230	35.5	430	42.6
40	27.4	240	35.9	440	42.9
50	27.8	250	36.3	450	43.2
60	28.3	260	36.6	460	43.6
70	28.8	270	37.1	470	43.8
80	29.2	280	37.5	480	44.2
90	29.7	290	37.8	490	44.4
100	30.1	300	38.1	500	44.7
110	30.5	310	38.6	510	45.0
120	31.0	320	38.9	520	45.4
130	31.5	330	39.2	530	45.7
140	31.9	340	39.6	540	45.9
150	32.2	350	39.9	550	46.2
160	32.7	360	40.3	560	46.5
170	33.0	370	40.6	570	46.8
180	33.5	380	40.9	580	47.1
190	33.9	390	41.3	590	47.3
				600	47.6



ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 100 เปอร์เซ็นต์

โดยที่  $\frac{\Delta T}{t_x} =$  ความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ ระยะเวลา

$P = 0.0366 \times 3.18 \times 50$

$= 7.65$  จูล ต่อ วินาที

ข-2 อัตราการเจริญเติบโตของ *Scenedesmus obliquus*

วันที่	จำนวนเซลล์ ( $\times 10^6$ เซลล์ ต่อ มิลลิลิตร)
0	0.20
2	0.26
4	0.28
6	0.58
8	1.09
9	1.12
10	1.13
12	1.16
14	1.18
16	1.25

ข-3 ปริมาณไขมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ของ *Chlorella vulgaris*

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 40 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.002	0.003	0.003	0.003	0.001
3	0.025	0.019	0.021	0.022	0.003
5	0.025	0.028	0.025	0.026	0.002
7	0.051	0.042	0.036	0.043	0.007
10	0.057	0.052	0.047	0.052	0.005
15	0.035	0.033	0.030	0.032	0.003
20	0.028	0.031	0.033	0.031	0.003

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 60 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.014	0.015	0.015	0.015	0.001
3	0.088	0.058	0.098	0.081	0.020
5	0.088	0.089	0.097	0.091	0.005
7	0.144	0.162	0.152	0.153	0.009
10	0.174	0.173	0.172	0.173	0.001
15	0.064	0.063	0.060	0.063	0.002
20	0.077	0.079	0.075	0.077	0.002

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 80 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สหาร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.019	0.018	0.020	0.019	0.001
3	0.172	0.168	0.158	0.166	0.007
5	0.165	0.180	0.166	0.170	0.008
7	0.218	0.211	0.221	0.217	0.005
10	0.237	0.231	0.225	0.231	0.006
15	0.094	0.091	0.087	0.090	0.004
20	0.096	0.094	0.098	0.096	0.002

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 100 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สหาร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.030	0.028	0.023	0.027	0.003
3	0.175	0.172	0.173	0.173	0.002
5	0.173	0.182	0.176	0.177	0.005
7	0.256	0.214	0.207	0.226	0.026
10	0.258	0.248	0.265	0.257	0.008
15	0.137	0.136	0.134	0.136	0.002
20	0.149	0.151	0.153	0.151	0.002

ตัวอย่างการคำนวณ

ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที ครั้งที่ 1

น้ำหนักไขมัน = 0.0004 กรัม

น้ำหนักสหาร่ายแห้ง = 0.2250 กรัม

ปริมาณไขมันที่สกัดได้ =  $\frac{0.0004}{0.2250} = 0.0018$  กรัมไขมันต่อกรัมเซลล์สหาร่ายแห้ง

ข-4 ปริมาณไขมันที่สกัดได้ด้วยอัลตราซาวด์ของ *Scenedesmus obliquus*

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 40 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.040	0.040	0.040	0.040	0.000
3	0.051	0.052	0.051	0.051	0.001
5	0.066	0.069	0.067	0.068	0.001
7	0.076	0.079	0.076	0.077	0.002
10	0.087	0.085	0.085	0.085	0.001
15	0.111	0.113	0.115	0.113	0.002
20	0.132	0.129	0.128	0.130	0.002

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 60 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.053	0.053	0.050	0.052	0.002
3	0.066	0.066	0.065	0.066	0.001
5	0.075	0.073	0.075	0.075	0.001
7	0.099	0.097	0.097	0.098	0.001
10	0.122	0.136	0.120	0.126	0.009
15	0.175	0.170	0.164	0.170	0.006
20	0.203	0.204	0.205	0.204	0.001

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 80 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.060	0.055	0.057	0.057	0.002
3	0.070	0.069	0.072	0.070	0.001
5	0.089	0.091	0.088	0.089	0.002
7	0.114	0.116	0.112	0.114	0.002
10	0.149	0.152	0.148	0.150	0.002
15	0.162	0.162	0.163	0.162	0.001
20	0.198	0.199	0.196	0.197	0.002

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 100 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.060	0.060	0.064	0.061	0.002
3	0.108	0.104	0.107	0.106	0.002
5	0.124	0.119	0.123	0.122	0.003
7	0.148	0.151	0.151	0.150	0.002
10	0.210	0.208	0.206	0.208	0.002
15	0.260	0.261	0.263	0.261	0.002
20	0.235	0.237	0.237	0.236	0.001

ตัวอย่างการคำนวณ

ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที ครั้งที่ 1

น้ำหนักไขมัน = 0.0106 กรัม

น้ำหนักสำหรับแห้ง = 0.2637 กรัม

ปริมาณไขมันที่สกัดได้ =  $\frac{0.0106}{0.2637} = 0.0402$  กรัมไขมันต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง

ข-5 ปริมาณไขมันคงเหลือในกากสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 40 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.104	0.120	0.098	0.107	0.011
3	0.281	0.080	0.158	0.173	0.101
5	0.171	0.153	0.163	0.162	0.009
7	0.118	0.032	0.126	0.092	0.052
10	0.017	0.130	0.358	0.169	0.174
15	0.073	0.074	0.076	0.074	0.002
20	0.100	0.101	0.099	0.100	0.001

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 60 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.109	0.101	0.248	0.153	0.083
3	0.142	0.172	0.097	0.137	0.038
5	0.112	0.073	0.066	0.084	0.025
7	0.152	0.113	0.073	0.113	0.039
10	0.135	0.141	0.117	0.131	0.012
15	0.089	0.087	0.084	0.086	0.003
20	0.045	0.048	0.049	0.047	0.002

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 80 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.115	0.122	0.116	0.118	0.004
3	0.190	0.079	0.093	0.121	0.060
5	0.107	0.109	0.260	0.159	0.088
7	0.201	0.193	0.166	0.187	0.018
10	0.084	0.108	0.122	0.105	0.019
15	0.090	0.090	0.084	0.088	0.004
20	0.085	0.084	0.083	0.084	0.001

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 100 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.086	0.110	0.117	0.104	0.016
3	0.159	0.094	0.174	0.142	0.043
5	0.121	0.110	0.123	0.118	0.007
7	0.108	0.094	0.107	0.103	0.008
10	0.012	0.013	0.022	0.016	0.006
15	0.099	0.095	0.103	0.099	0.004
20	0.085	0.085	0.088	0.086	0.002

ตัวอย่างการคำนวณ

ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที ครั้งที่ 1

น้ำหนักไขมัน = 0.0233 กรัม

น้ำหนักสาหร่ายแห้ง = 0.2250 กรัม

ปริมาณไขมันที่สกัดได้ =  $\frac{0.0233}{0.2637} = 0.1036$  กรัมไขมันต่อกรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง



ข-6 ปริมาณไขมันคงเหลือในกากสาหร่าย *Scenedesmus obliquus*

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 40 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.088	0.066	0.068	0.074	0.012
3	0.108	0.085	0.086	0.093	0.013
5	0.099	0.112	0.113	0.108	0.008
7	0.093	0.103	0.104	0.100	0.006
10	0.133	0.112	0.101	0.115	0.016
15	0.116	0.114	0.113	0.114	0.002
20	0.118	0.117	0.119	0.118	0.001

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 60 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สาหร่ายแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.100	0.079	0.050	0.050	0.025
3	0.088	0.077	0.065	0.065	0.012
5	0.058	0.057	0.075	0.075	0.010
7	0.088	0.068	0.097	0.097	0.015
10	0.108	0.105	0.120	0.120	0.008
15	0.125	0.125	0.164	0.125	0.022
20	0.134	0.134	0.205	0.134	0.041

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 80 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.114	0.097	0.057	0.089	0.029
3	0.077	0.062	0.072	0.070	0.008
5	0.107	0.111	0.088	0.102	0.013
7	0.105	0.092	0.112	0.103	0.010
10	0.140	0.117	0.148	0.135	0.016
15	0.140	0.136	0.133	0.136	0.004
20	0.092	0.097	0.087	0.092	0.005

ที่ระดับพลังงานอัลตราซาวด์ 100 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาอัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สำหรับแห้ง)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	0.100	0.098	0.064	0.087	0.020
3	0.097	0.101	0.107	0.102	0.005
5	0.105	0.102	0.123	0.110	0.011
7	0.090	0.082	0.151	0.108	0.038
10	0.107	0.105	0.118	0.110	0.007
15	0.080	0.090	0.070	0.080	0.010
20	0.064	0.066	0.072	0.067	0.004

ตัวอย่างการคำนวณ

ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที ครั้งที่ 1

น้ำหนักไขมัน = 0.0232 กรัม

น้ำหนักสารแห้ง = 0.2637 กรัม

ปริมาณไขมันที่สกัดได้ =  $\frac{0.0232}{0.2637} = 0.0880$  กรัมไขมันต่อกรัมเซลล์สำหรับแห้ง

ข-7 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีของ *Chlorella vulgaris* ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลา อัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้รวม (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สภาพแห้ง)										ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			ครั้งที่ 3			เฉลี่ย	
	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม		
1	0.002	0.104	0.105	0.003	0.120	0.122	0.003	0.098	0.101	0.110	0.011
3	0.025	0.281	0.305	0.019	0.080	0.099	0.021	0.158	0.179	0.194	0.104
5	0.025	0.171	0.196	0.028	0.153	0.181	0.025	0.163	0.188	0.188	0.007
7	0.051	0.118	0.169	0.042	0.032	0.074	0.036	0.126	0.162	0.135	0.053
10	0.057	0.017	0.074	0.052	0.130	0.183	0.047	0.358	0.405	0.221	0.169
15	0.035	0.073	0.107	0.033	0.074	0.106	0.030	0.076	0.105	0.106	0.001
20	0.028	0.100	0.129	0.031	0.101	0.133	0.033	0.099	0.133	0.131	0.002

ที่ระดับพลังงาน 60 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลา อัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้รวม (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สัหรายแห้ง)											
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			ครั้งที่ 3			เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	
	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม			
1	0.014	0.109	0.123	0.015	0.101	0.116	0.015	0.248	0.264	0.167	0.084	
3	0.088	0.142	0.230	0.058	0.172	0.231	0.098	0.097	0.194	0.218	0.021	
5	0.088	0.112	0.200	0.089	0.073	0.162	0.097	0.066	0.164	0.175	0.021	
7	0.144	0.152	0.296	0.162	0.113	0.274	0.152	0.073	0.226	0.265	0.036	
10	0.174	0.135	0.309	0.173	0.141	0.313	0.172	0.117	0.289	0.304	0.013	
15	0.064	0.089	0.153	0.063	0.087	0.150	0.060	0.084	0.144	0.149	0.005	
20	0.077	0.045	0.122	0.079	0.048	0.127	0.075	0.049	0.124	0.124	0.003	

ที่ระดับพลังงาน 80 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลา อัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้รวม (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สหารายแห้ง)											
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			ครั้งที่ 3			เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	
	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม			
1	0.019	0.115	0.134	0.018	0.122	0.140	0.020	0.116	0.136	0.137	0.003	
3	0.172	0.190	0.362	0.168	0.079	0.248	0.158	0.093	0.250	0.287	0.065	
5	0.165	0.107	0.272	0.180	0.109	0.289	0.166	0.260	0.427	0.329	0.085	
7	0.218	0.201	0.419	0.211	0.193	0.405	0.221	0.166	0.387	0.404	0.016	
10	0.237	0.084	0.321	0.231	0.108	0.339	0.225	0.122	0.347	0.336	0.014	
15	0.094	0.090	0.184	0.091	0.090	0.181	0.087	0.084	0.171	0.178	0.007	
20	0.096	0.085	0.180	0.094	0.084	0.178	0.098	0.083	0.181	0.180	0.002	

ที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลา อัตราขาด (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้รวม (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สหารายแห้ง)												ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			ครั้งที่ 3			เฉลี่ย			
	อัตราขาด	Bligh&dlyer	รวม	อัตราขาด	Bligh&dlyer	รวม	อัตราขาด	Bligh&dlyer	รวม				
1	0.030	0.086	0.116	0.028	0.110	0.138	0.023	0.117	0.140	0.131	0.014		
3	0.175	0.159	0.335	0.172	0.094	0.266	0.173	0.174	0.347	0.316	0.044		
5	0.173	0.121	0.294	0.182	0.110	0.292	0.176	0.123	0.299	0.295	0.003		
7	0.256	0.108	0.364	0.214	0.094	0.308	0.207	0.107	0.314	0.329	0.031		
10	0.258	0.012	0.270	0.248	0.013	0.261	0.265	0.022	0.287	0.273	0.013		
15	0.137	0.099	0.236	0.136	0.095	0.231	0.134	0.103	0.237	0.235	0.003		
20	0.149	0.085	0.234	0.151	0.085	0.236	0.153	0.088	0.241	0.237	0.004		

ข-8 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีของ *Scenedesmus obliquus* ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลา อัลตรา ซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้รวม (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สหารายแห้ง)											
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			ครั้งที่ 3			เฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน	
	อัลตรา ซาวด์	Bligh&dye	รวม	อัลตรา ซาวด์	Bligh&dye	รวม	อัลตรา ซาวด์	Bligh&dye	รวม			
1	0.040	0.088	0.128	0.040	0.066	0.106	0.040	0.068	0.108	0.114	0.012	
3	0.051	0.108	0.159	0.052	0.085	0.137	0.051	0.086	0.137	0.144	0.013	
5	0.066	0.099	0.165	0.069	0.112	0.181	0.067	0.113	0.180	0.175	0.009	
7	0.076	0.093	0.169	0.079	0.103	0.182	0.076	0.104	0.179	0.177	0.007	
10	0.087	0.133	0.219	0.085	0.112	0.197	0.085	0.101	0.186	0.201	0.017	
15	0.111	0.116	0.227	0.113	0.114	0.227	0.115	0.113	0.228	0.227	0.001	
20	0.132	0.118	0.250	0.129	0.117	0.246	0.128	0.119	0.247	0.248	0.002	

ที่ระดับพลังงาน 60 เฟอร์เซ็นต์

ระยะเวลา อัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้รวม (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สหารายแห้ง)											
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			ครั้งที่ 3			เฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน	
	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม	อัลตราซาวด์	Bligh&dwyer	รวม			
1	0.053	0.100	0.153	0.053	0.079	0.132	0.050	0.050	0.100	0.128	0.026	
3	0.066	0.088	0.154	0.066	0.077	0.143	0.065	0.065	0.130	0.142	0.012	
5	0.075	0.058	0.133	0.073	0.057	0.130	0.075	0.075	0.150	0.138	0.011	
7	0.099	0.088	0.187	0.097	0.068	0.165	0.097	0.097	0.194	0.182	0.015	
10	0.122	0.108	0.230	0.136	0.105	0.241	0.120	0.120	0.240	0.237	0.006	
15	0.175	0.125	0.300	0.170	0.125	0.295	0.164	0.164	0.328	0.308	0.018	
20	0.203	0.134	0.337	0.204	0.134	0.337	0.205	0.205	0.409	0.361	0.042	



ที่ระดับพลังงาน 80 เบลอร์เซ็นต์

ระยะเวลา อัลตราซาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้รวม (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สัฟร่ายแห้ง)											
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			ครั้งที่ 3			เฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน	
	อัลตราซาวด์	Bligh&dye	รวม	อัลตราซาวด์	Bligh&dye	รวม	อัลตราซาวด์	Bligh&dye	รวม			
1	0.060	0.114	0.174	0.055	0.097	0.153	0.057	0.057	0.114	0.147	0.030	
3	0.070	0.077	0.147	0.069	0.062	0.131	0.072	0.072	0.143	0.141	0.008	
5	0.089	0.107	0.196	0.091	0.111	0.202	0.088	0.088	0.175	0.191	0.014	
7	0.114	0.105	0.220	0.116	0.092	0.208	0.112	0.112	0.224	0.217	0.008	
10	0.149	0.140	0.290	0.152	0.117	0.269	0.148	0.148	0.297	0.285	0.014	
15	0.162	0.140	0.301	0.162	0.136	0.298	0.163	0.133	0.296	0.298	0.003	
20	0.198	0.092	0.290	0.199	0.097	0.296	0.196	0.087	0.283	0.290	0.007	

ที่ระดับพลังงาน 100 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลา อัลตรา ชาวด์ (นาที)	ปริมาณไขมันที่สกัดได้รวม (กรัมไขมัน ต่อ กรัมเซลล์สหายแห้ง)											
	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			ครั้งที่ 3			เฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน	
	อัลตรา ชาวด์	Bligh&dye	รวม	อัลตรา ชาวด์	Bligh&dye	รวม	อัลตรา ชาวด์	Bligh&dye	รวม			
1	0.060	0.100	0.160	0.060	0.098	0.158	0.064	0.064	0.128	0.149	0.018	
3	0.108	0.097	0.204	0.104	0.101	0.205	0.107	0.107	0.215	0.208	0.006	
5	0.124	0.105	0.229	0.119	0.102	0.221	0.123	0.123	0.246	0.232	0.013	
7	0.148	0.090	0.238	0.151	0.082	0.233	0.151	0.151	0.303	0.258	0.039	
10	0.210	0.107	0.318	0.208	0.105	0.313	0.206	0.118	0.324	0.318	0.006	
15	0.260	0.080	0.340	0.261	0.090	0.351	0.263	0.070	0.333	0.341	0.009	
20	0.235	0.064	0.299	0.237	0.066	0.302	0.237	0.072	0.309	0.303	0.005	

ข-9 พลังงานไฟฟ้าที่ใช้

ระดับพลังงาน(เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	3	9	16	22	31	47	62
60	5	14	23	33	47	70	94
80	6	19	31	44	62	94	125
100	8	23	39	55	78	117	156

หมายเหตุ พลังงานเป็นหน่วยกิโลจูล

ตัวอย่างวิธีคำนวณ

$$\text{พลังงานที่ใช้} = \text{กำลังงาน} \times \text{ระยะเวลาอัลตราซาวด์}$$

ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ (52 วัตต์) ระยะเวลา 1 นาที

$$\text{พลังงานที่ใช้} = 52 \text{ วัตต์} \times 60 \text{ วินาที}$$

$$= 3120 \text{ จูล}$$

ข-10 พลังงานไฟฟ้าที่ใช้สกัดไขมันปริมาณ 1 กรัม จาก *Chlorella vulgaris*

ระดับพลังงาน(เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	1234	434	596	506	600	1439	1982
60	321	173	256	215	271	1111	1213
80	328	113	183	201	270	1032	1305
100	289	135	220	242	303	861	1033

หมายเหตุ พลังงานเป็นหน่วยกิโลจูล

ตัวอย่างวิธีคำนวณ

$$\text{พลังงานที่ใช้} = \frac{\text{พลังงานไฟฟ้า}}{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้}}$$

ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ (52 วัตต์) ระยะเวลา 1 นาที

$$\text{พลังงานที่ใช้} = \frac{3 \text{ กิโลจูล}}{0.0025 \text{ กรัมไขมัน}} = 1234 \text{ กิโลจูล}$$

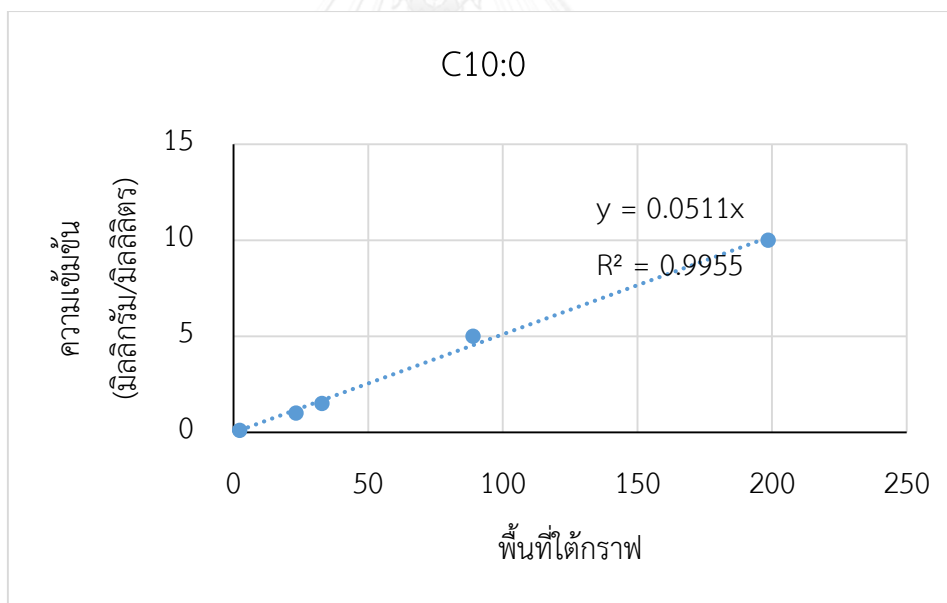
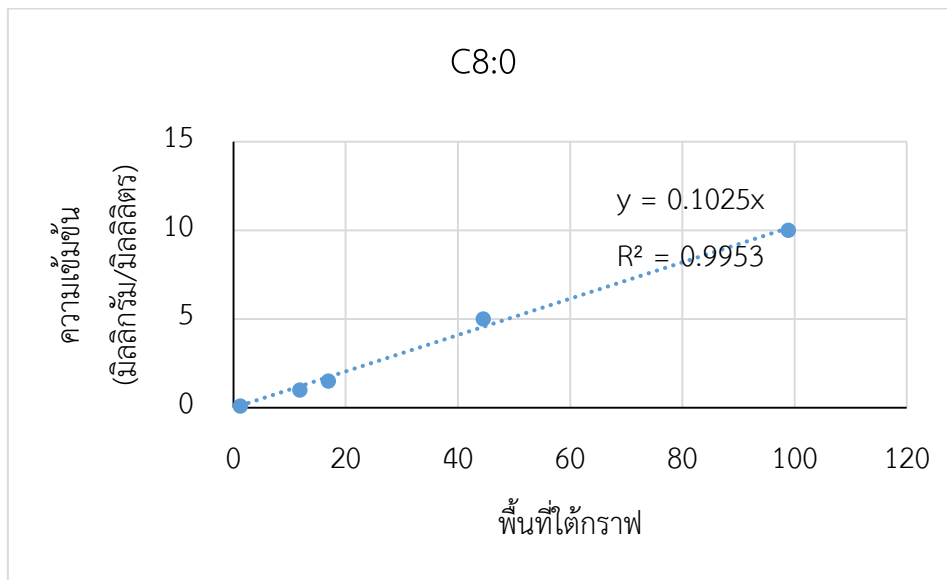
ข-11 พลังงานไฟฟ้าที่ใช้สกัดไขมันปริมาณ 1 กรัม *Scenedesmus obliquus*

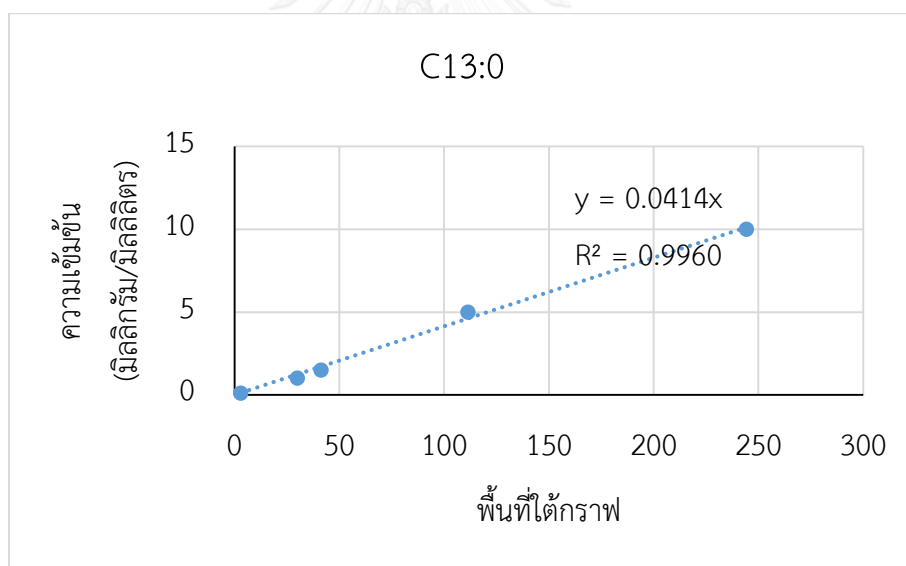
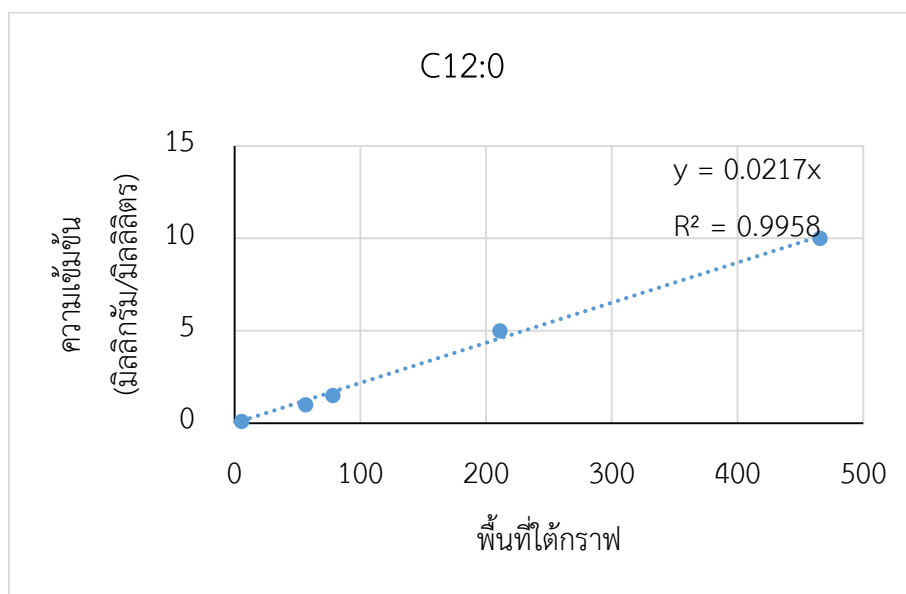
ระดับพลังงาน(เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	78	182	231	284	365	413	483
60	90	213	313	335	371	413	460
80	109	266	350	383	416	579	631
100	127	220	320	363	375	449	659

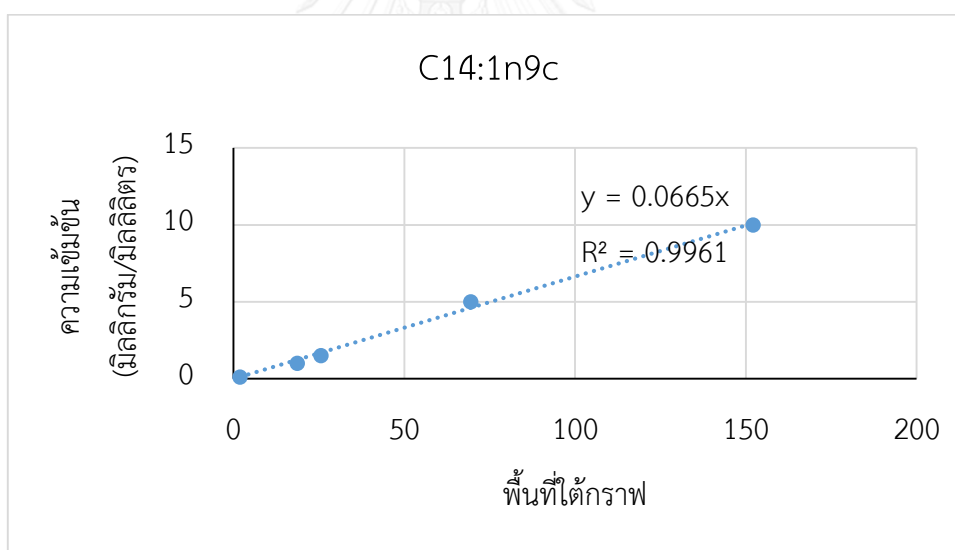
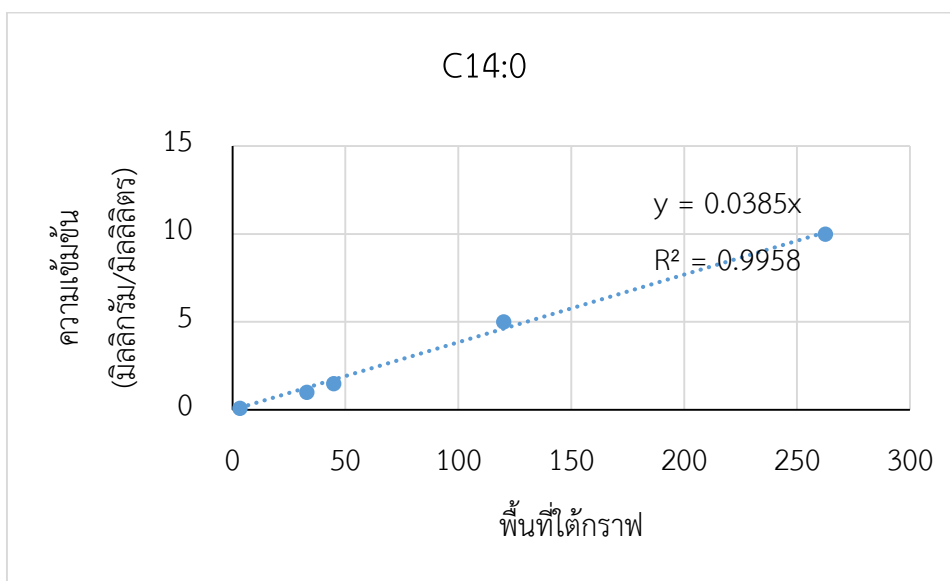
ตัวอย่างวิธีคำนวณ

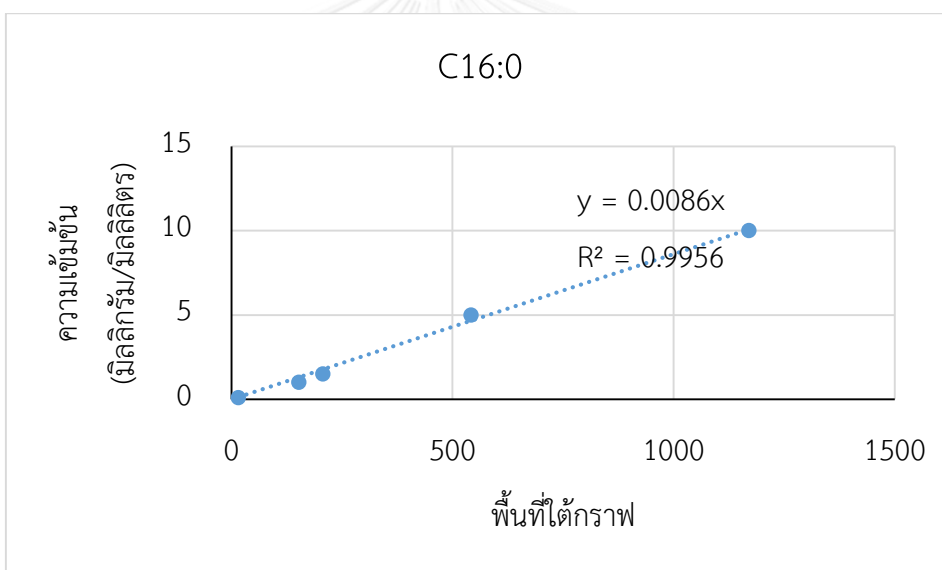
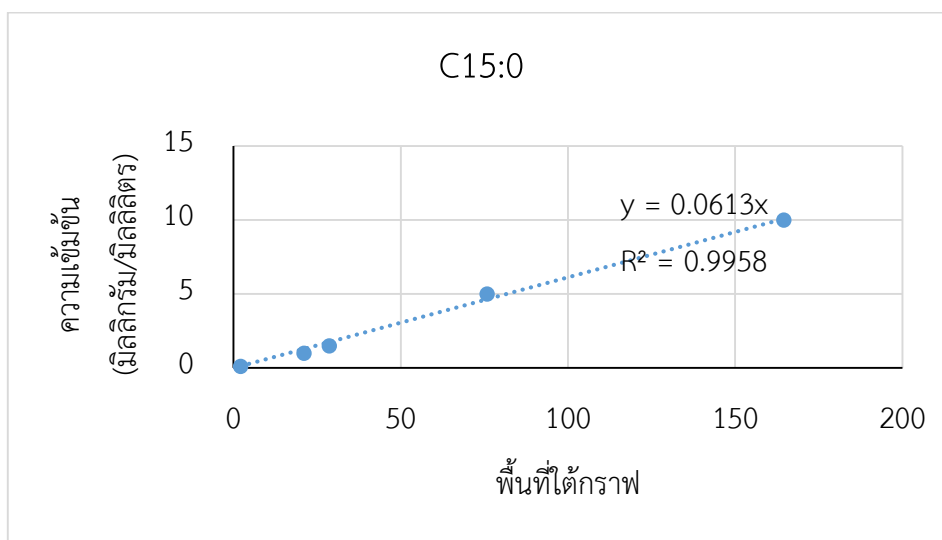
$$\begin{aligned} \text{พลังงานที่ใช้} &= \frac{\text{พลังงานไฟฟ้า}}{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้}} \\ \text{ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ (52 วัตต์) ระยะเวลา 1 นาที} & \\ \text{พลังงานที่ใช้} &= \frac{3 \text{ กิโลจูล}}{0.0399 \text{ กรัมไขมัน}} = 78 \text{ กิโลจูล} \end{aligned}$$

## ช-12 กราฟมาตรฐานกรดไขมัน FAME

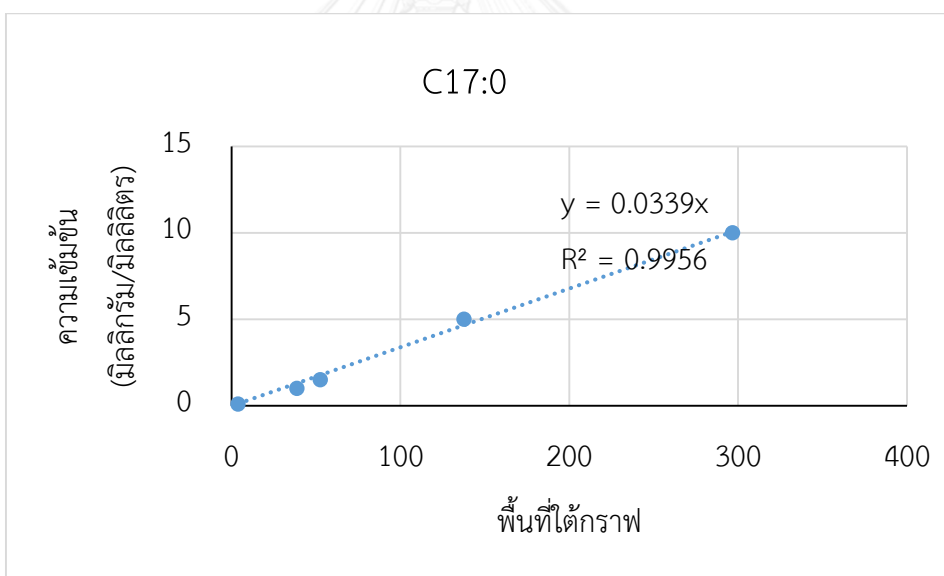
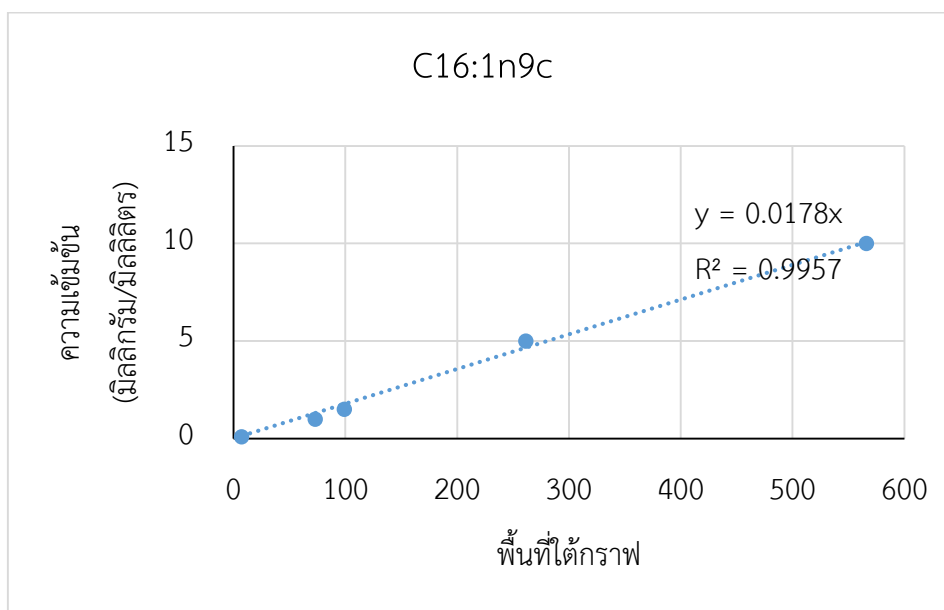


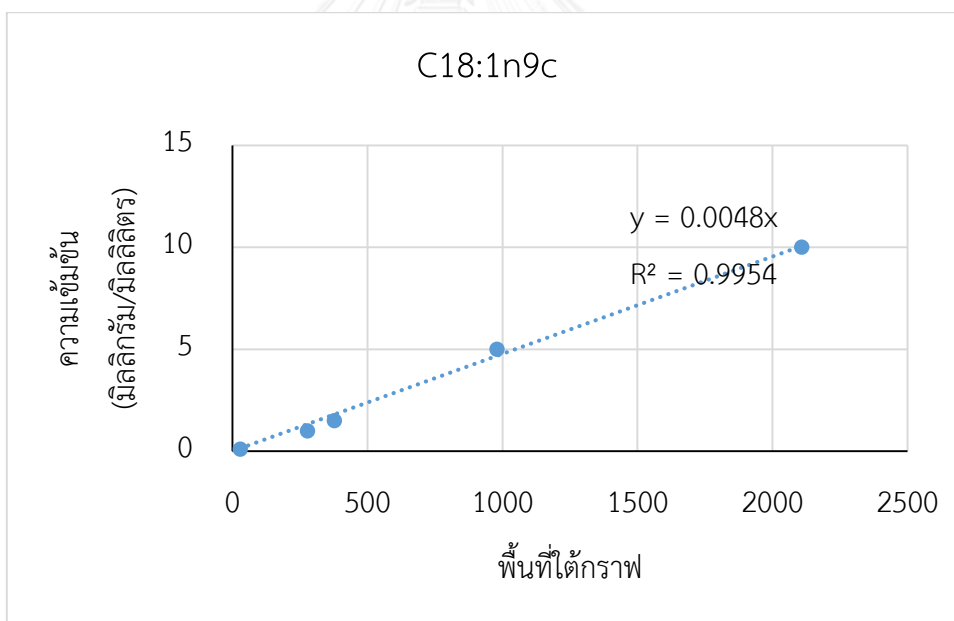
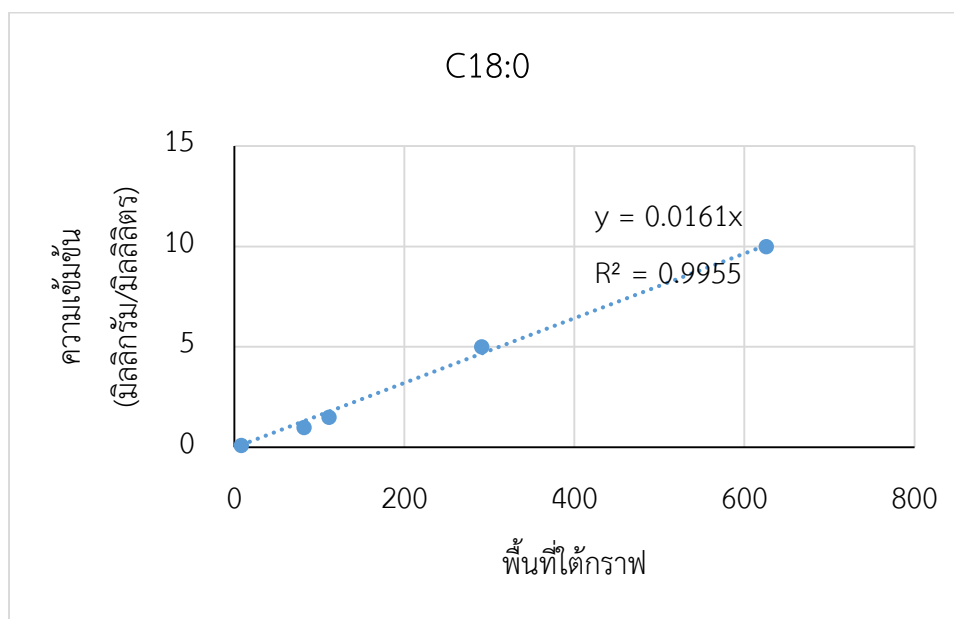


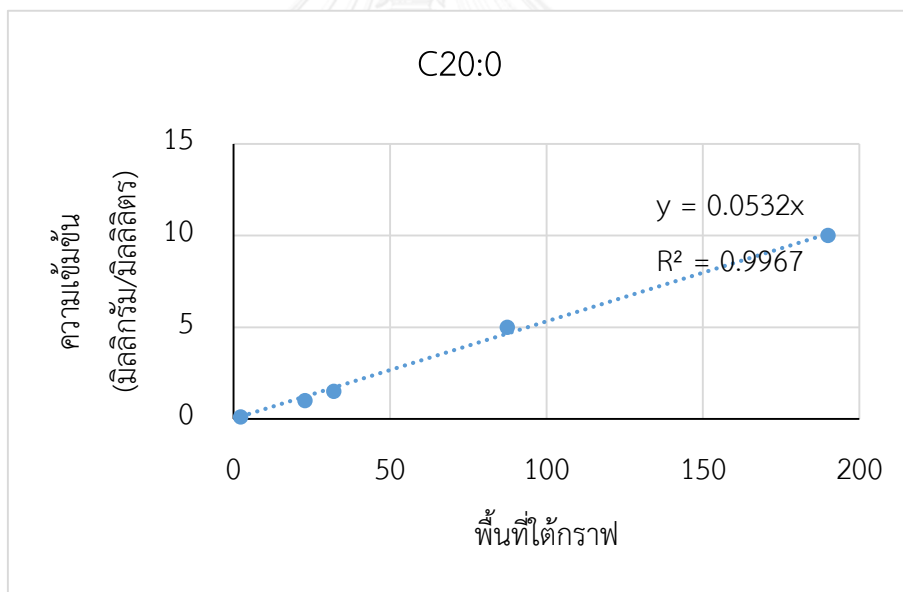
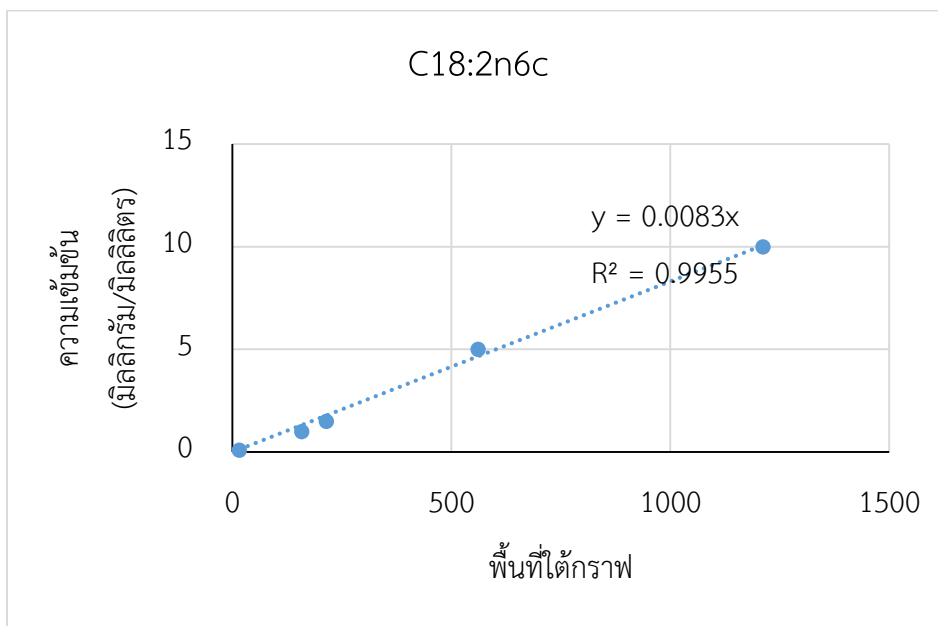


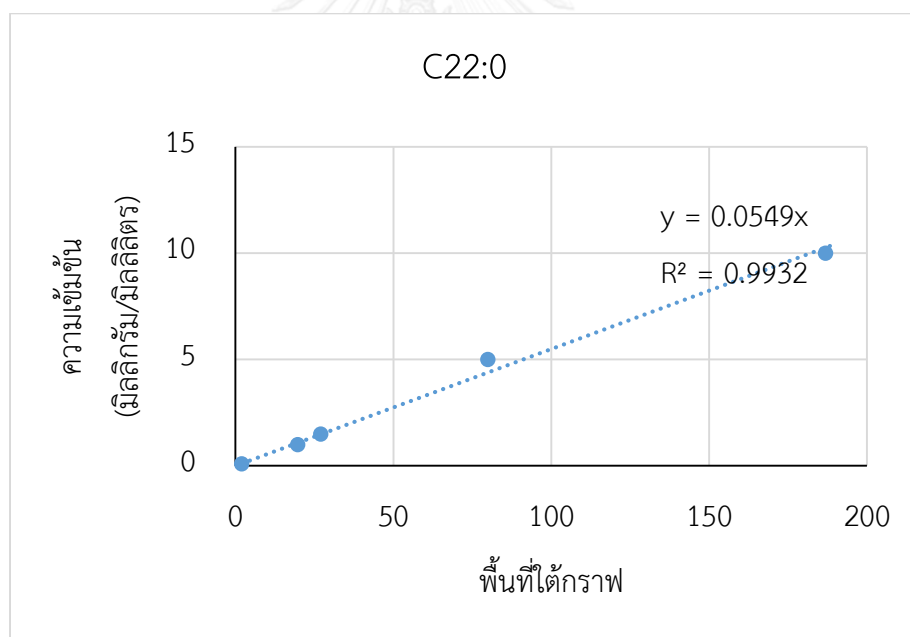
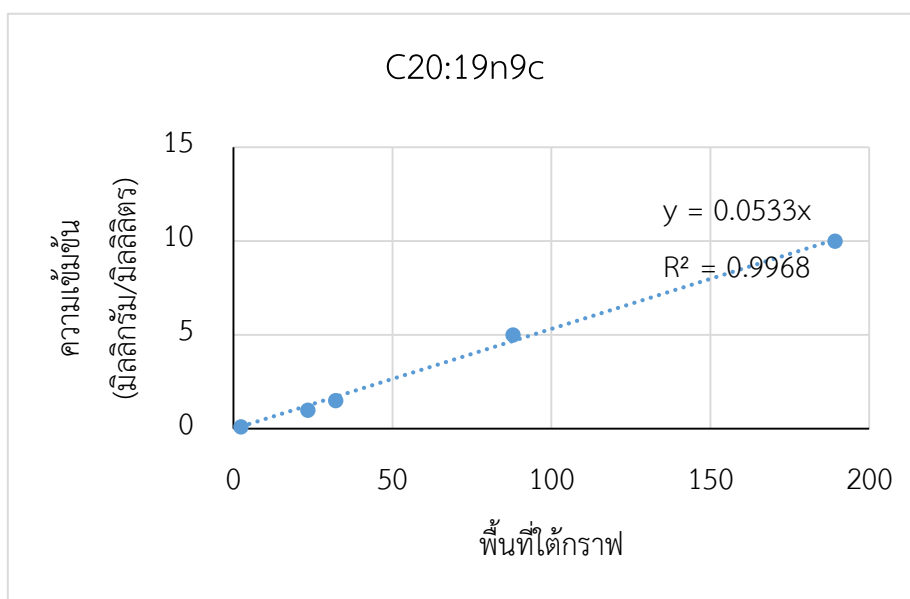


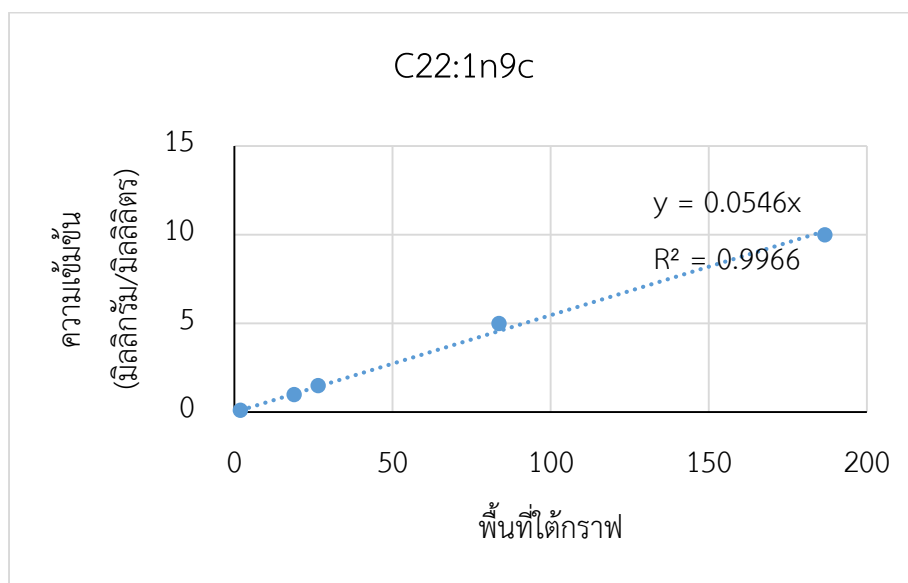












ข-13 ปริมาณกรดไขมันโดยรวม (C12-C22) ของ *Chlorella vulgaris*

ระดับพลังงาน(เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	0.00	0.42	5.81	10.36	7.32	5.86	24.51
60	0.00	12.54	22.56	29.18	41.83	76.26	27.72
80	3.62	5.29	16.70	63.20	84.79	32.05	73.10
100	1.37	10.38	68.98	25.58	40.42	45.47	77.02

หมายเหตุ น้ำหนักกรดไขมันเป็นหน่วย (มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง)

ข-14 ปริมาณกรดไขมันโดยรวม (C12-C22) ของ *Scenedesmus obliquus*

ระดับพลังงาน(เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	0.00	0.44	0.78	0.32	0.52	74.20	55.65
60	0.00	0.56	1.04	4.07	3.33	9.31	133.50
80	0.00	0.48	1.92	4.09	7.51	17.18	96.71
100	0.00	1.02	6.99	3.33	8.64	75.50	114.52

หมายเหตุ น้ำหนักกรดไขมันเป็นหน่วย (มิลลิกรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง)

ข-15 ปริมาณพลังงานที่ใช้ต่อกรดไขมันของ *Chlorella vulgaris*

ระดับพลังงาน(เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	-	145	31	11	31	38	15
60	-	11	6	7	13	7	15
80	7	18	11	5	10	21	11
100	33	14	5	17	15	20	16

หมายเหตุ พลังงานเป็นหน่วยกิโลจูล

ตัวอย่างวิธีคำนวณ

$$\text{พลังงานที่ใช้} = \frac{\text{พลังงานไฟฟ้า}}{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้}}$$

ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ (52 วัตต์) ระยะเวลา 3 นาที

$$\text{พลังงานที่ใช้} = \frac{94 \text{ กิโลจูล}}{0.0644 \text{ กรัมไขมัน}} = 145 \text{ กิโลจูล}$$

ข-16 ปริมาณพลังงานที่ใช้ต่อกรดไขมันของ *Scenedesmus obliquus*


ระดับพลังงาน (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)						
	1	3	5	7	10	15	20
40	-	169	161	434	389	8	14
60	-	228	201	60	105	68	9
80	-	314	125	72	75	48	17
100	-	182	42	101	60	17	14

หมายเหตุ พลังงานเป็นหน่วยกิโลจูล

ตัวอย่างวิธีคำนวณ

$$\begin{aligned}
 \text{พลังงานที่ใช้} &= \frac{\text{พลังงานไฟฟ้า}}{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้}} \\
 \text{ที่ระดับพลังงาน 40 เปอร์เซ็นต์ (52 วัตต์) ระยะเวลา 3 นาที} & \\
 \text{พลังงานที่ใช้} &= \frac{94 \text{ กิโลจูล}}{0.0555 \text{ กรัมไขมัน}} = 169 \text{ กิโลจูล}
 \end{aligned}$$

ข-17 การวิเคราะห์โปรตีนคงเหลือ



ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร  
 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
 ชั้น 16 อาคารมหาณฤกษ์ ถนนพญาไท  
 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10530

เลขที่รายงาน : C 0193/16  
 วันที่รับงาน : 25 พฤษภาคม 2559  
 รหัสตัวอย่าง : 161996 - 162029  
 หน้าที่ : ของจำนวน 2 หน้า

เริ่มรายงาน

### รายงานการทดสอบ

ชื่อผู้รับบริการ : ศาสตราจารย์ดร.วราวุฒินันท์ วัฒนศิริ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
 ที่อยู่ผู้รับบริการ : ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330  
 ชื่อตัวอย่าง รายละเอียดตัวอย่าง : คำนวณ ว่างการทดสอบ / สหราชอาณาจักร พงศะเอ็ดเค็ดิด้า ห่ออณูนินอนฟือฮ์  
 น้ำหนักประมาณ 1 กรัมต่อตัวอย่าง  
 ผู้ส่งตัวอย่าง : ผู้ส่งตัวอย่างเป็นผู้ส่งตัวอย่าง  
 วันที่รับตัวอย่าง : 19 พฤษภาคม 2559  
 วันที่เริ่มทดสอบ : 23 พฤษภาคม 2559

#### ผลการทดสอบ

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รายการทดสอบ	ผล (กรัม/100 กรัม)	วิธีทดสอบ
161996	1	Protein*	40.97	In house Method T058 based on AOAC (2012), 991.20
161997	2		42.60	
161998	3		41.48	
161999	4		43.28	
162000	5		41.68	
162001	6		41.73	
162002	7		44.73	
162003	8		45.54	
162004	9		43.56	
162005	10		41.05	
162006	11		42.77	
162007	12		44.18	
162008	13		46.02	
162009	14		41.54	
162010	15		43.49	
162011	16		44.00	
162012	17		39.94	
162013	18		44.18	
162014	19		44.13	
162015	20		42.61	

หมายเหตุ : \* Nitrogen factor = 6.25

ผลการทดสอบนี้มีวัตถุประสงค์เฉพาะตัวอย่างที่ได้ทดสอบเท่านั้น  
 ห้ามนำรายงานการทดสอบนี้ไปประกาศโฆษณาและสิ่งใดก็ตามที่กล่าวถึง  
 โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ

F-004-001.000



ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ชั้น 16 อาคารมหามงกุฎ ถนนพญาไท  
ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330



เลขที่รายงาน : C 0193/16  
วันที่รายงาน : 25 พฤษภาคม 2559  
รหัสตัวอย่าง : 161996 - 162029  
หน้าที่ 2 ของจำนวน 2 หน้า

เริ่มรายงาน

## รายงานการทดสอบ(ต่อ)

### ผลการทดสอบ(ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รายการทดสอบ	ผล (กรัม/100 กรัม)	วิธีทดสอบ
162016	21	Protein*	42.37	In house Method T058 based on AOAC (2012), 991.20
162017	22		41.76	
162018	23		42.89	
162019	24		41.90	
162020	25		42.92	
162021	26		41.58	
162022	27		42.47	
162023	28		40.78	
162024	29		42.13	
162025	30		41.79	
162026	31		43.05	
162027	32		41.35	
162028	33		42.17	
162029	34	40.28		

หมายเหตุ : \* Nitrogen factor = 6.25

สิ้นสุดรายงาน

อนุเมติ โด

ลงชื่อ

(นางสาววิไล ภักดิ์ปัญญกุล)  
ผู้จัดการด้านวิชาการ  
ห้องปฏิบัติการเคมี

ลงชื่อ

(นางสาวบุษมา วงศ์ถาว)  
รองผู้อำนวยการ (แทน)

ลงชื่อ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ กักหมด)  
ผู้อำนวยการ

ผลการทดสอบนี้มีไว้เฉพาะตัวอย่างที่ได้ทดสอบเท่านั้น  
ห้ามนำรายงานการทดสอบนี้ไปประกาศ โฆษณา และต้องไม่ถูกทำซ้ำ (ยกเว้นทำซ้ำฉบับ)  
โดยไม่ให้ความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ

ข-18 ปริมาณโปรตีนของ *Chlorella vulgaris*

ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายที่ไม่ผ่านอัลตราซาวด์ 44.18 ต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง

ระดับพลังงาน (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)			
	3	5	7	10
40	44.15	42.61	42.37	41.76
60	42.89	41.90	42.92	41.58
80	42.47	40.78	42.13	41.79
100	43.05	41.35	42.17	40.28

หมายเหตุ หน่วยโปรตีนเป็น กรัม ต่อ 100 กรัมสาหร่าย

ข-19 ปริมาณโปรตีนของ *Scenedesmus obliquus*

ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายที่ไม่ผ่านอัลตราซาวด์ 40.97 ต่อ 100 กรัมสาหร่ายแห้ง

ระดับพลังงาน (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)			
	1	3	5	7
40	42.97	41.48	43.28	41.68
60	41.37	44.73	44.54	43.56
80	41.05	42.77	44.18	46.92
100	41.54	43.49	44.00	39.94

หมายเหตุ หน่วยโปรตีนเป็น กรัม ต่อ 100 กรัมสาหร่าย

ข-18 ความต้านทานสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของกากสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

ระดับ พลังงาน (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)															
	3			5			7			10						
	C	D	C-D	%Inhibition	C	D	C-D	%Inhibition	C	D	C-D	%Inhibition				
40	0.227	0.041	0.186	0.773	0.228	0.040	0.188	-0.10	0.231	0.038	0.192	-2.55	0.228	0.041	0.187	0.51
60	0.228	0.040	0.188	0.02	0.229	0.040	0.189	-0.86	0.226	0.040	0.186	1.03	0.228	0.041	0.188	0.00
80	0.226	0.045	0.181	3.41	0.226	0.044	0.182	3.17	0.225	0.042	0.182	2.24	0.229	0.043	0.186	0.95
100	0.223	0.041	0.182	3.28	0.225	0.040	0.185	1.54	0.226	0.041	0.185	1.21	0.230	0.041	0.189	-0.52
ตัวอย่างที่ ไม่ผ่านอัล ตราซาวด์	0.239	0.042	0.197	-4.83	A	0.229	B	0.041	A-B	0.188						

ข-19 ความต้านทานสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของกากสหพราย *Scenedesmus obliquus*

ระดับพลังงาน (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลา (นาที)															
	1				3				5				7			
	C	D	C-D	%Inhibition	C	D	C-D	%Inhibition	C	D	C-D	%Inhibition	C	D	C-D	%Inhibition
40	0.207	0.039	0.168	15.02	0.210	0.400	0.170	14.39	0.215	0.039	0.176	11.19	0.216	0.040	0.176	11.31
60	0.216	0.039	0.177	10.72	0.215	0.039	0.175	11.83	0.215	0.041	0.174	12.19	0.216	0.040	0.176	10.97
80	0.214	0.038	0.177	10.75	0.217	0.040	0.176	11.06	0.221	0.004	0.178	10.20	0.220	0.041	0.180	9.31
100	0.222	0.039	0.183	7.65	0.220	0.040	0.180	9.28	0.220	0.040	0.180	9.00	0.215	0.039	0.175	11.52
ตัวอย่างที่ไม่ผ่านอัตราชีวาคัด	0.216	0.046	0.170	14.22	A	0.239	B	0.041	A-B	0.198						

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นาย รุ่งโรจน์ ศรีภูมิ เกิดเมื่อวันที่ 18 สิงหาคม 2534 จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อวันที่ 9 มีนาคม 2556 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษาต่อมา

การเผยแพร่งานวิจัย

Application of ultrasound for lipid extraction from microalgae at The 5th International Conference on Environmental Engineering, Science and Management May 11-13, 2016 at The Twin Towers Hotel Bangkok, Thailand



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY