

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย
Extraction of Lipid from Microalgae

โดย

วัชระ เวียงแก้ว

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องค์กรักษ์
งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2552

การสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาการสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG11 ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7 มีการให้อากาศและแสงประเภทวอลุ่มไวท์ ตลอด 24 ชั่วโมง ในขั้นตอนการสกัดน้ำมันใช้คลอโรฟอร์มและเมทานอลเป็นตัวทำละลายในอัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตร ร่วมกับกระบวนการแตกเซลล์โดยวิธีออสโมติกช็อก ไมโครเวฟ และ อัลตราโซนิก ที่สภาวะต่างๆ จากผลการทดลองพบว่า การใช้ไมโครเวฟเป็นวิธีสกัดน้ำมันได้ผลดีที่สุด สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องไมโครเวฟ คือใช้เวลาในการแตกเซลล์ 50 นาที มีเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันจากการสกัดด้วยวิธีไมโครเวฟเท่ากับ 6.80 เปอร์เซ็นต์ ผลได้ของไขมันมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 7.41 เปอร์เซ็นต์ และมีกรดไขมันอิสระ (ในรูปของกรดปาล์มเมติก) 35.73 เปอร์เซ็นต์ ของไขมันจากการสกัดจุลสาหร่าย

คำสำคัญ: คลอเรลลา วากาลิส/ ไมโครเวฟ/ ออสโมติกช็อก/ อัลตราโซนิก/ ไขมัน

Extraction of Lipid from Microalgae

ABSTRACT

The aim of this research was to study on the lipid extraction from micro algae *Chlorella vulgaris* cultured in BG11 medium at 27 °C and the pH of 7 with an aeration and warm-white light for 24 hours. Chloroform and methanol in the ratio of 2:1 by volume, was used as a solvent mixture with the following cell-breaking methods: osmotic shock, microwave, and ultrasonic applications. At various conditions the results showed that the microwave application was the best method for the lipid extraction procedure and the most suitable condition for the lipid extraction from micro algae by using the microwave application, was at 50 minutes of cell breaking with 6.80 % yield. The characterization of lipid was studied of moisture content and free fatty acid (palmitic acid), and found to be 7.4 % and 35.73 %, respectively.

Key words: *Chlorella vulgaris*/ Microwave/ Osmotic shock/ Ultrasonic/ Lipid

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือต่างๆ ตลอดจนการทำวิจัยนี้มาตั้งแต่ต้นจนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ นายมานะ แซ่ตั้ง และนางสาวสายฝน ชื้อสัตย์ นิสิตภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ช่วยเก็บข้อมูล

ขอขอบคุณ คุณเกสร บัวทอง พนักงานห้องปฏิบัติการและผู้ช่วยวิจัยที่ให้คำแนะนำในด้านต่างๆ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาวิศวกรรมเคมีทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการทำวิจัย

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2552

วัชระ เวียงแก้ว

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
 บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาของโครงการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ทฤษฎี	3
2.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับจุลสาหร่าย	3
2.1.2 ลักษณะที่สำคัญของจุลสาหร่าย <i>Chlorella sp.</i>	4
2.1.3 การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์	4
2.1.4 ระยะของการเจริญเติบโต	6
2.1.5 การสังเคราะห์แสงของสาหร่าย	7
2.1.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์สาหร่าย	8
2.1.7 อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ	9
2.1.8 การนำสาหร่ายมาใช้ในเทคโนโลยีชีวภาพ	10
2.1.9 คุณค่าทางโภชนาการ	12
2.1.10 หลักการทำงานของคลื่นไมโครเวฟ	13
2.1.11 หลักการทำงานของเครื่องอัลตราโซนิก	15
2.1.12 หลักการของออสโมติกช็อค	16
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	20
3.2 เครื่องมือวิเคราะห์	20
3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	21
3.4 สภาพในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย	22
3.5 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	22
3.6 วิธีการเลี้ยงสาหร่าย	24
3.7 วิธีการวิเคราะห์ความชื้นของจุลสาหร่าย	25
3.8 วิธีการสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย	25
3.8.1 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิก	25
3.8.2 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกช็อค	26
3.8.3 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ	26
3.9 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย	26
3.10 การวิเคราะห์ความชื้นของไขมันที่ได้จากการสกัด	27
3.11 การวิเคราะห์หากรดไขมัน	27
3.11.1 การเตรียมสารเคมี	27
3.11.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานสำหรับกรดไขมันอิสระ	28
3.11.3 การหาปริมาณกรดกรดไขมันจากสาหร่าย	29
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	
4.1 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในขวดโหลที่มีน้ำหล่อเย็น	30
4.2 การวิเคราะห์ความชื้นของเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง	31
4.3 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย	31
4.4 การเปรียบเทียบผลที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 วิธีต่อเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์	34
4.5 การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ	35
4.6 การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราโซนิก	36
4.7 การเปรียบเทียบสภาวะที่ดีที่สุดจากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟกับวิธีอัลตราโซนิก	38

สารบัญ (ต่อ)

	หน้าที่
4.8 การวิเคราะห์ผลได้จากการสกัดด้วยไมโครเวฟ 50 นาที	38
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	39
5.2 ข้อเสนอแนะ	40
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	43
ภาคผนวก จ ตัวอย่างการคำนวณ	52
ประวัติผู้วิจัย	56



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้าที่	
2.1	กรดไขมันที่มีในสาหร่าย	12
2.2	สารอาหารที่เป็นประโยชน์ในจุลสาหร่าย	13
2.3	ค่าระดับความร้อนกับกำลังคลื่นไมโครเวฟ (วัตต์)	15
3.1	สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ BG11	23
3.2	การเตรียมบัฟเฟอร์	24
3.3	ปริมาณของกรดปาล์มเมติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐาน (standard curve)	28
4.1	ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในขวดโหลที่มีน้ำหล่อเย็น	30
ภาคผนวก		
ก1	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีไมโครเวฟครั้งที่ 1	44
ก2	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีไมโครเวฟครั้งที่ 2	44
ก3	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีไมโครเวฟครั้งที่ 3	44
ก4	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีอัลตราโซนิก ครั้งที่ 1	45
ก5	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีอัลตราโซนิก ครั้งที่ 2	45
ก6	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีอัลตราโซนิก ครั้งที่ 3	45
ก7	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีออสโมติกช็อค ครั้งที่ 1	46
ก8	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีออสโมติกช็อค ครั้งที่ 2	46
ก9	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีออสโมติกช็อค ครั้งที่ 3	46
ก10	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีไมโครเวฟเพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุด	47
ก11	ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีอัลตราโซนิกเพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุด	48
ข1	ค่ามาตรฐานการดูดกลืนแสงของกรดปาล์มเมติก ที่ความยาวคลื่น 704 นาโนเมตร	49
ง1	ค่าความชื้นของจุลสาหร่ายแห้ง	51
ง2	ค่าความชื้นของไขมันจากการสกัด	51

สารบัญรูป

รูปที่	หน้าที่
2.1	ขั้นตอนการแบ่งเซลล์ของเซลล์สาหร่าย
2.2	การเจริญเติบโตของเซลล์จุลสาหร่าย
4.1	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่สกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
4.2	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่สกัดด้วยวิธีออสโมติกช็อก
4.3	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันจากการสกัดกับเวลาที่สกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์
4.4	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับวิธีการสกัดต่างๆ
4.5	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณผลได้ของไขมันต่อเวลาในการแตกเซลล์กับวิธีการสกัดต่างๆ
4.6	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์
4.7	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
4.8	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันจากการสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิกกับวิธีไมโครเวฟ
ภาคผนวก	
ก1	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 704 นาโนเมตร ของกรดกรดปาล์มเมติก ที่ความเข้มข้นต่างๆ
ฉ1	การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในตู้ปลา
ฉ2	การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในขวดโหลใส
ฉ3	การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในขวดโหลที่มีน้ำหล่อเย็น
ฉ4	การสกัดไขมันด้วยไมโครเวฟ
ฉ5	การสกัดไขมันด้วยวิธีออสโมติกช็อก
ฉ6	การสกัดไขมันด้วยเครื่องอัลตราโซนิก

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงการวิจัย

น้ำมันปิโตรเลียมเป็นเชื้อเพลิงที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย และมีอยู่ทั่วโลก ซึ่งดูเหมือนว่าจะไม่มีวันใช้หมด แต่เชื้อเพลิงนี้ทำให้เกิดการสะสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ต่อมาไบโอดีเซลซึ่งเป็นน้ำมันที่ได้จากน้ำมันพืชโดยถูกกลั่นขึ้นเพื่อลดการใช้้ำมันปิโตรเลียม แต่น้ำมันจากพืชไม่ค่อยได้รับความนิยมมากนัก เนื่องจากการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากพืชในทางเกษตรกรรมจะมีค่าใช้จ่ายสูงกว่าการผลิตน้ำมันดีเซลจากปิโตรเลียม การค้นหาวิธีการต่างๆ เพื่อลดต้นทุนที่สูงของไบโอดีเซลเป็นสิ่งที่มีการค้นคว้าและพัฒนาอย่างมากในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา โดยเฉพาะวิธีการลดต้นทุนการผลิตน้ำมันจากพืช ในขณะที่น้ำมันจากสาหร่ายเซลล์เดียว หรือ จุลสาหร่าย (microalgae) ดูเหมือนว่ากำลังเป็นที่สนใจในการที่จะนำมาทำเป็นน้ำมันเชื้อเพลิง นั่นอาจเป็นเพราะว่าสาหร่ายเซลล์เดียวเปรียบเสมือนโรงงานเซลล์ผลิตพลังงานจากแสง โดยการเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ แหล่งอาหารของมนุษย์ และสัตว์ สาหร่ายเซลล์เดียวได้รับการยอมรับว่าเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนพลังงานแสงมาเป็นพลังงานเคมีโดยการสังเคราะห์แสง เมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นๆ เราพบว่าการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายเซลล์เดียวสามารถใช้พื้นที่ไม่เกิน 2.5 เฮกตาร์ของพื้นที่เกษตรกรรมเดิมในการผลิต จึงไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อโลกด้านความต้องการอาหาร สาหร่ายเซลล์เดียวสามารถเก็บเกี่ยวได้ตลอดทั้งปี สามารถใช้เกลือ และน้ำเสียในการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ยังเป็นพลังงานทดแทนที่ช่วยลดการสะสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ก่อให้เกิดสภาวะเรือนกระจก

ปัจจุบันนักวิจัยมุ่งความสนใจไปที่แหล่งที่สามารถผลิตเป็นพลังงานทดแทน จนกระทั่งพบว่าสาหร่ายเซลล์เดียวที่เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก แต่มีศักยภาพสูง อย่างสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กในแหล่งน้ำจืด โดยการเพาะเลี้ยงแบบสังเคราะห์แสง และไม่มีแสงเมื่อนำเซลล์สาหร่ายมาสกัดจะได้ น้ำมันหรือลิปิดที่เป็นไตรกลีเซอไรด์ โดยมีกรดปาล์มเมติก กรดสเตียริก และกรดโอเลอิก เป็นส่วนประกอบหลัก ซึ่งเป็นกรดไขมันประเภทเดียวกันกับที่พบในน้ำมันพืช แสดงว่าน้ำมันที่ผลิตได้จากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก มีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอดีเซลได้ คาดว่าจะพัฒนาถึงขั้นผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซล หากจะเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กนี้ ในระดับอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันไบโอดีเซล ก็สามารถทำได้ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้นไม่

จำเป็นต้องใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมาก อีกทั้งยังใช้เวลาเพาะเลี้ยงเพียง 1 - 2 สัปดาห์ ก็สามารถนำมาสกัดเป็นน้ำมันได้แล้ว แต่พืชน้ำมันชนิดอื่นๆ ที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตไบโอดีเซลในไทย เช่น สบู่ดำ ปาล์มน้ำมัน ในการเพาะปลูกใช้เวลานานและใช้พื้นที่มาก นอกจากนั้นผลผลิตยังขึ้นกับสภาพภูมิอากาศ และฤดูกาลอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาวิธีการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายโดยใช้ตัวทำละลาย ร่วมกับวิธีการแตกเซลล์ในการสกัด ด้วยวิธีออสโมติกช็อค อัลตราโซนิก และไมโครเวฟ

1.2.2 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและประสิทธิภาพในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย

1.3 ขอบเขตโครงการวิจัย

1.3.1 ศึกษาการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายภายใต้สภาวะ ดังต่อไปนี้

1.3.1.1 สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris*

1.3.1.2 อาหารที่ใช้ คือ BG11

1.3.1.3 แหล่งกำเนิดแสงจาก หลอดไฟวอลุ่มไวท์ 18 วัตต์

1.3.1.4 ค่าความเป็นกรด่างเริ่มต้นที่ 7.15

1.3.1.5 อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

1.3.2 ศึกษากรรมวิธีที่ทำให้เซลล์แตกตัวเพื่อนำมาสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย

1.3.2.1 วิธีไมโครเวฟ

1.3.2.2 วิธีอัลตราโซนิก

1.3.2.3 วิธีออสโมติกช็อค

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงวิธีการสกัดไขมันที่ได้ผลดีที่สุดและให้ปริมาณไขมันที่ดีที่สุด

1.4.2 สามารถนำไขมันที่ผลิตได้ไปใช้ให้เกิดประโยชน์ เช่น เป็นแหล่งพลังงานทดแทน

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎี

2.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับจุลสาหร่าย

จุลสาหร่าย (Microalgae) เป็นพืชชั้นต่ำที่ไม่มีระบบท่อลำเลียง ทำอาหาร มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นชัดเจนด้วยตาเปล่า ต้องตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูง การดำรงชีพเป็นแบบพึ่งตนเอง โดยการผลิตสารอาหารและพลังงาน ผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสงบริเวณที่พบจุลสาหร่ายคือแหล่งน้ำที่มีสีเขียว พื้นดินที่ชื้นและ บนผิวใบไม้ ต้นไม้ ร่องน้ำ หรือพื้นผนัง ที่มีความชื้นสูง จุลสาหร่ายชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน (colony) จึงพบเห็นในลักษณะเป็นแผ่นสีเขียวสด หรือ สีเขียวคล้ำ บางครั้งมีลักษณะเป็นเมือกลื่นๆ

จุลสาหร่ายจัดเป็นทรัพยากรชีวภาพ (bioresource) ที่มีความสำคัญยิ่งทางเศรษฐกิจเนื่องจากสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเป็นจำนวนมากได้ ตามความต้องการและมีศักยภาพในการนำมาเป็นวัตถุดิบของโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ เพื่อผลิตสารที่เป็นประโยชน์หลายชนิด เพราะภายในเซลล์ของ จุลสาหร่ายมีสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีคุณค่าในเชิงพาณิชย์สูงอยู่มากมาย อันได้แก่ กรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด กรดไขมันไม่อิ่มตัว วิตามิน เกลือแร่ รงควัตถุหรือสีธรรมชาติ และสารปฏิชีวนะ เป็นต้น

จุลสาหร่าย จึงหมายถึงสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ ที่มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เป็นพืชชั้นต่ำไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้นและใบที่แท้จริง มีขนาดตั้งแต่เล็กมากมีเซลล์เดียว ไปจนถึงขนาดใหญ่ ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมาก อาจเป็นเส้นสายหรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง ซึ่งดูเหมือนมีราก ลำต้น และใบ ซึ่งรวมเรียกว่า ทัลลัส (Thallus) ส่วนใหญ่จะมีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์แสง อาศัยอยู่ในน้ำหรือบริเวณที่มีความชื้นสูง จัดเป็นผู้ผลิตเบื้องต้นที่สำคัญที่สุดในระบบนิเวศทางน้ำ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมายทั้งบริโภคโดยตรงและ ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ สาหร่ายมีรงควัตถุหลัก 3 ชนิด ได้แก่ คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) และไฟโคบิลิน (phycobilin) ซึ่งรงควัตถุเหล่านี้กระจาย อยู่ในไซโตพลาสซึม (cytoplasm)

2.1.2 ลักษณะที่สำคัญของจุลสาหร่าย *Chlorella sp.*

คลอเรลลา (*Chlorella sp.*) (นวลรัตน์, 2532) เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวชนิดแรกที่ใช้ในการวิจัย ตั้งแต่ในปี ค.ศ.1950 นอกจากนี้ได้มีการใช้เป็น แบบจำลองในโครงการอวกาศอีกด้วย ต่อมาได้มี

การศึกษามาก เพื่อจะดูความเป็นไปได้ ในการใช้ทำโปรตีนเซลล์เดี่ยว (single cell protein) ในปี ค.ศ.1960 ได้เริ่มมีบริษัทผลิตคลอเรลล่าขึ้น ในประเทศไต้หวัน และหลังจากนั้น มีถึง 30 บริษัทที่ผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ กัน จากคลอเรลล่า ซึ่งการที่คลอเรลล่ายังมีสีเขียวของเซลล์มาก จะเป็นตัวบอกถึงคุณภาพของเซลล์ ในกระบวนการผลิตคลอเรลล่าส่วนมากจะเลี้ยงแบบกลางแจ้ง โดยให้แสงในสภาวะที่มีแหล่งคาร์บอน ที่เป็นสารอินทรีย์ต่ำ ราคาของคลอเรลล่าจะอยู่ในช่วงประมาณ 10 - 15 ดอลลาร์สหรัฐ ต่อκιโลกรัม น้ำหนักแห้งผลิตภัณฑ์ ส่วนมากใช้ผลิตเป็นอาหารเสริมสุขภาพ ซึ่งในอนาคต ควรจะมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ เพิ่มขึ้นต่อไป และควรพยายามลดต้นทุนการผลิต เพื่อเป็นการขยายตลาด

คลอเรลล่า (*Chlorella sp.*) มีลักษณะที่สำคัญดังนี้

1. มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวที่มีขนาดเล็ก รูปร่างกลมหรือรี ผนังเซลล์ค่อนข้างบางคลอโรพลาสต์ เป็นแบบแถบข้างเซลล์
2. เป็นพวกเซลล์เดี่ยวที่เคลื่อนที่ไม่ได้ โดยไม่มีแฟลกเจลลัม
3. รังควัตถุที่พบจะเป็นเช่นเดียวกับที่พบในพืชชั้นสูง คือ มีคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี เบตาแคโรทีน และแซนโทฟิลล์ รังควัตถุทั้งหมดนี้จะประกอบกันด้วยอัตราส่วนที่เหมือนกับพวกพืชชั้นสูงจึงทำให้มีสีเขียวสด รังควัตถุทั้งหมดนี้จะรวมกันอยู่ในเม็ดสี หรือพลาสติด (Plastid) ที่เรียกว่าคลอโรพลาสต์ โดยอาจจะมี 1 อัน หรือมากกว่า 1 อัน คลอโรพลาสต์ของสาหร่ายสีเขียวมีรูปร่างเป็นรูปตัว U
4. อาหารที่เก็บไว้ก็คือ ไพรินอยด์ (Pyrenoids) อยู่ในเม็ดคลอโรพลาสต์ มีไพรินอยด์เป็นโครงสร้างที่มีโปรตีนเป็นแกนกลาง และมีแผ่นแป้งหุ้มล้อมรอบอยู่
5. การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออโตสปอร์ (autospore) มีจำนวน 4 8 หรือ 16
6. แหล่งที่อยู่ สาหร่ายสีเขียวพบในน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่ ในน้ำเค็มก็มีบ้างตามที่ขึ้นและทั่วไปเปลือกไม้ ใบไม้ ก้อนหินเปียกและบนหินก็มี บางชนิดอยู่ในภาวะพึ่งพากับรา เกิดเป็นไลเคน บางชนิดก็เป็นปรสิตของพืชชั้นสูง

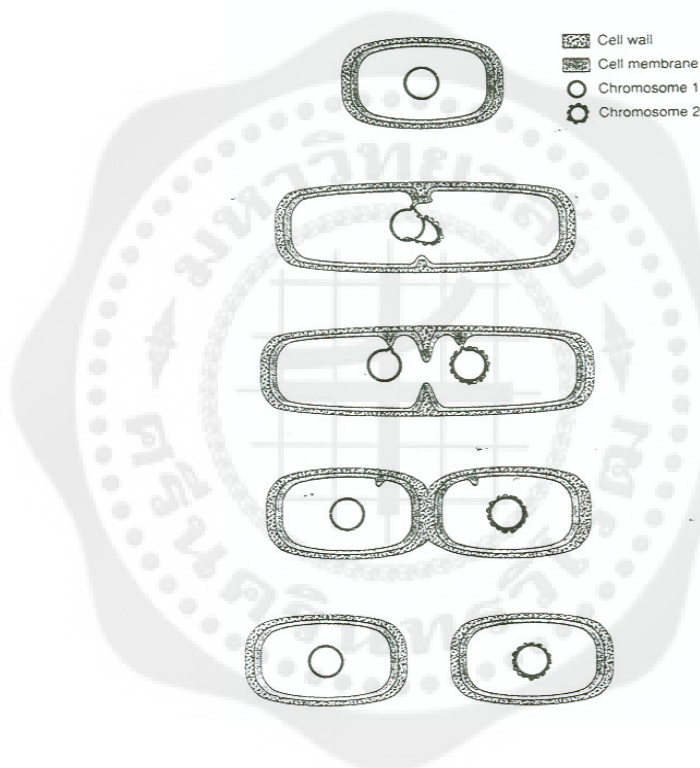
2.1.3 การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์

คลอเรลล่า (*Chlorella sp.*) (ธวัชชัย, 2547) สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) โดยการแบ่งเซลล์และสร้างสปอร์ได้แก่

1. การแบ่งเซลล์ (cell division) โดยการเพิ่มจำนวนเซลล์จาก 1 เป็น 2 4 8 และ 16 ถ้าเซลล์ใดมีชีทหุ้ม เมื่อเซลล์ทำการแบ่งเซลล์หลายๆ ครั้งจะเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ (colony) มีขนาดใหญ่ขึ้นต่อมาจะหลุดออกจากกันเป็นกลุ่มเซลล์ย่อยโดยวิธีการฉีกขาด (fragmentation) ส่วนพวกที่เป็นเส้นสาขการแบ่งเซลล์ทำให้ trichome ยืดยาวออก และจะขาดท่อน เมื่อมีการกระทบกระเทือน แต่ละ

ท่อนจะเจริญเป็น trichome ใหม่ พวกที่มี heterocyst การขาดท่อนจะเกิดตรงรอยต่อของเซลล์ปกติกับ heterocyst

2. การสร้างสปอร์ (sporulation) สปอร์ที่สร้างขึ้นเป็นสปอร์ที่ไม่มีหนวด (non-motile spore) สำหรับการเคลื่อนไหวแบ่งเป็น 2 ชนิด ชนิดแรกเรียกว่า endospore คือสปอร์ที่เกิดภายในเซลล์โดยการแบ่งโปรโตพลาสซึมออกเป็น 2 ส่วนหรือหลายส่วน แต่ละส่วนเมื่อหลุดออกจากผนังเซลล์จะงอกเป็นต้นใหม่ ชนิดที่สองได้แก่ exospore สปอร์ที่เกิดขึ้นโดยการแบ่งส่วนของเซลล์ออกมาเป็นสปอร์มีจำนวน 1 หรือหลายสปอร์เรียงต่อกัน

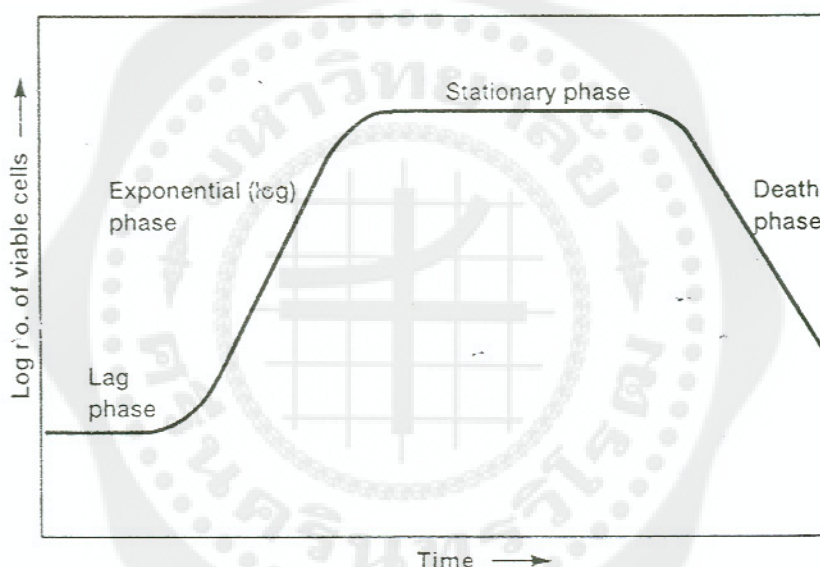


รูปที่ 2.1 ขั้นตอนการแบ่งเซลล์ของเซลล์สาหร่าย (ธวัชชัย, 2547)

3. เซลล์สาหร่ายมีเจริญเติบโต (growth) และการเจริญพันธุ์ (reproduction) โดยการแบ่งเซลล์การเจริญเติบโตโดยทั่วไป การเพิ่มจำนวนและการเจริญพันธุ์ โดยทั่วไปเซลล์สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งตัวเองจาก 1 เซลล์เป็น 2 เซลล์ (binary fission) และเป็นการแบ่งเซลล์ตามขวาง (transverse fission) ก่อนที่จะมีการแบ่งเซลล์ จะมีขนาดยาวขึ้น มีการสร้าง DNA RNA โปรตีนชนิดต่างๆ และสารประกอบอื่นๆ ขึ้นภายในเซลล์ ต่อมาจะมีการสร้างผนังกันเซลล์ทางขวาง แบ่งเซลล์ออกเป็น 2 ส่วน จากนั้นเซลล์ที่เกิดขึ้นใหม่จึงแยกออกจากกันเป็น 2 เซลล์ การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายในแต่ละช่วงที่เพิ่มจำนวนขึ้นเท่าตัวนั้น เรียกว่า generation ระยะเวลา

ที่ใช้ในแต่ละ generation เรียกว่า generation time ดังรูปที่ 2.1 แสดงขั้นตอนการแบ่งเซลล์ของเซลล์สาหร่าย

เนื่องจากเซลล์สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนแบบทวีคูณ การหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนของเซลล์สาหร่าย และระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง โดยวิธีทำกราฟแสดงความสัมพันธ์โดยใช้สเกลธรรมดาจึงไม่เหมาะสม เพราะถ้าเซลล์สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่เร็ว ดังนั้น การหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ และเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจึงมักใช้ค่า logarithmic (log) ของจำนวนเซลล์สาหร่าย ดังนั้น หากมีการทำกราฟเพื่อแสดงการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แกน Y ของกราฟจะเป็นค่า log ของจำนวนเซลล์สาหร่าย ส่วนแกน X จะเป็นเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง จำนวนของเซลล์สาหร่ายที่สัมพันธ์กับเวลาแสดงเป็น growth curve ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 การเจริญเติบโตของเซลล์จุลสาหร่าย (ธวัชชัย, 2547)

2.1.4 ระยะของการเจริญเติบโต

เมื่อนำเซลล์สาหร่าย (ธวัชชัย, 2547) จำนวนหนึ่ง ใส่ลงไปในการเลี้ยงเชื้อที่เป็นของเหลวแล้วจัดสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ออกซิเจน ให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโต จะพบว่าเซลล์สาหร่ายมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น รูปแบบของการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายจะเป็นไป ดังแสดงในรูปที่ 2.2 ซึ่งแบ่งเป็นระยะต่างๆ ได้ 4 ระยะ ดังนี้

1. Lag phase (ระยะพัก) เป็นระยะแรกที่เซลล์สาหร่าย เริ่มพบกับอาหารและสิ่งแวดล้อมใหม่ จะปรับตัวให้เข้ากับอาหารและสิ่งแวดล้อมนั้น มีการสร้างเอนไซม์ที่เหมาะสม ที่จะใช้กับอาหารเลี้ยงเชื้อมีการสร้างโปรตีน และส่วนประกอบอื่นๆ ที่สำคัญของเซลล์ ตอนระยะท้ายๆ ของ

ระยะนี้ เซลล์อาจจะมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าเดิมเล็กน้อยและพร้อมที่จะแบ่งตัวระยะ lag นี้จะยาวนานแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. Exponential หรือ log phase (ระยะแบ่งตัวทวีคูณ) เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด มีอัตราการแบ่งตัวคงที่ ส่วนประกอบทางเคมีของเซลล์ และขบวนการต่างๆ ตลอดจนคุณสมบัติทางสรีรวิทยา เป็นแบบเดียวกัน

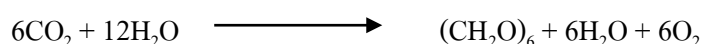
3. Stationary phase (ระยะคงจำนวนเซลล์) เป็นระยะที่เซลล์มีจำนวนคงที่ ซึ่งแสดงว่าเซลล์สาหร่ายไม่มีการเพิ่มจำนวนอีก หรือคืออัตราเกิดเท่ากับอัตราตาย การที่เซลล์สาหร่ายเจริญเติบโตแล้วเข้าสู่ระยะ Stationary นี้เพราะอาหารเลี้ยงเชื้อใกล้จะหมดลง จึงเจริญช้าลง นอกจากนี้ ของเสียที่เซลล์สาหร่ายสร้างขึ้นยังยับยั้งการเจริญเติบโตด้วย

4. Death phase หรือ decline phase (ระยะเซลล์ตาย) เป็นระยะสุดท้าย เซลล์สาหร่ายที่มีอยู่จะตายลงมากกว่าเซลล์สาหร่ายที่เพิ่มจำนวนขึ้น ทั้งนี้ เป็นเพราะอาหารอาจหมด มีสารพิษสะสมอยู่เป็นจำนวนมาก

2.1.5 การสังเคราะห์แสงของสาหร่าย

เนื่องจากสาหร่าย (นวรรตน์, 2532) ส่วนใหญ่ได้พลังงานมากจากกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) การศึกษาสรีรวิทยาการเจริญของสาหร่ายจึงต้องการความเข้าใจในกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งบางคนอาจจะมองข้ามความสำคัญในจุดนี้ไปดังจะเห็นได้ว่าในหนังสือหรือตำราเกี่ยวกับสาหร่ายมักจะไมกล่าวถึงเรื่องการสังเคราะห์แสงรวมทั้งปัจจัยทางสรีรวิทยาอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของสาหร่าย ซึ่งอาจทำให้สภาวะการเลี้ยงสาหร่ายที่ใช้ไม่อยู่ในระดับที่เหมาะสม เช่น สาหร่ายอาจจะได้รับแสงที่มีความเข้มต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมทำให้สาหร่ายมีการเจริญช้า ในขณะที่ความเข้มแสงที่มากเกินไป (Photoinhibition) ซึ่งจะทำให้ผลผลิตสาหร่ายลดลงและความเข้มของแสงยังมีผลต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์ เช่น มีผลต่อปริมาณสารสีคาโรทีนอยด์ในสาหร่ายคลอเรลลา สาหร่ายดูนาเลียเอลลา สาหร่ายอีมาโตคอคคัส ปริมาณเอนไซม์ ไนโตรรีดักเตสในไดอะตอม เป็นต้น

การสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจะใช้พลังงานจากแสงในช่วงคลื่นที่เรียกว่า photosynthetically active radiation (PAR) ซึ่งมีความยาวคลื่นระหว่าง 400 – 700 นาโนเมตร พลังงานที่ได้จากแสงจะนำไปใช้ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในวัฏจักรคัลวิน (Calvin cycle) สมการโดยภาพรวมของการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายและพืชเป็นดังนี้



จากสมการข้างต้น แสดงให้เห็นว่าเมื่อสาหร่ายมีการสังเคราะห์แสง จะมีการปลดปล่อยออกซิเจนออกมาภายนอกเซลล์ ดังนั้นการวัดอัตราการปลดปล่อยออกซิเจนจากสาหร่ายจึงเป็นวิธีหนึ่งในการวัดประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายซึ่งจะเป็นเครื่องบ่งชี้ถึงสภาวะทางสรีรวิทยาของสาหร่ายได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่นๆ เช่น การวัดการตรึงคาร์บอนที่ติดฉลากด้วยสารรังสี เช่น คาร์บอน - 14 หรือ คาร์บอน - 13 ก็เป็นวิธีการที่ทำได้อย่างรวดเร็วและมีความไวสูง แต่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพงและยังต้องมีระบบความปลอดภัยเกี่ยวกับการใช้สารกัมมันตรังสีมาเกี่ยวข้องด้วย

2.1.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์สาหร่าย

การเจริญเติบโต (สแกนด์, 2535) ของเซลล์สาหร่ายต้องอาศัยปัจจัยดังต่อไปนี้

- อุณหภูมิ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายคือ 25 - 35 องศาเซลเซียส สาหร่ายคลอเรลลาไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส ประเทศไทยมีสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมมากสำหรับเป็นแหล่งผลิตสาหร่ายคลอเรลลา เนื่องจากมีอุณหภูมิอากาศที่เหมาะสม ค่าอุณหภูมิของอากาศโดยเฉลี่ยประมาณ 32 - 35 องศาเซลเซียส

- แสง ความเข้มแสง เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ถ้าความเข้มของแสงสูง ความสามารถในการใช้พลังงานแสงของสาหร่ายจะลดลง ความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายคลอเรลลาเมื่อเพาะเลี้ยงสภาพกลางแจ้งคือ 30 - 35 กิโลลักซ์

- ความเข้มข้นเชื้อตั้งต้น การเพาะเลี้ยงสาหร่ายจำนวนมาก ควรใช้สารตั้งต้นในปริมาณที่เหมาะสม อยู่ระหว่าง 225 - 250 มิลลิลิตรของน้ำหนักแห้งต่ออาหารที่เพาะเลี้ยง 1 ลิตร

- แร่ธาตุอาหาร แร่ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามปริมาณของแร่ธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการ แร่ธาตุอาหารแต่ละกลุ่ม มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช

แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณมาก (macronutrients หรือ major elements) ได้แก่ ธาตุคาร์บอน ไนโตรเจน ออกซิเจน ไฮโดรเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโปแตสเซียม แหล่งของธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ได้มาจากการคายน้ำไดออกไซด์ น้ำ และก๊าซออกซิเจน ตามลำดับ ทั้งคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสารหลักภายในพืชได้แก่โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน

แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณน้อย (micronutrients หรือ minor elements) คือ ต้องการเป็นปริมาณมิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ต่ำกว่านี้ แร่ธาตุเหล่านี้มีอยู่ 7 ชนิด ได้แก่ คลอรีน เหล็ก แมงกานีส โบรอน สังกะสี ทองแดง และโมลิบดีนัม

- แหล่งคาร์บอนโซเดียมไบคาร์บอเนตในเป็นแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยังสามารถใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้โดยตรงได้

- การกวนน้ำการกวนมีผลต่อการเจริญของสาหร่าย ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตดี เป็นการเพิ่มการกระจายตัวของสาหร่ายให้ได้รับแสงอย่างสม่ำเสมอ ช่วยลดอัตราการตกตะกอนของสาหร่าย สารอาหารกระจายตัวอย่างทั่วถึง ทำให้เซลล์สาหร่ายดูดซึมสารอาหารต่าง ๆ ไปใช้ได้มีประสิทธิภาพ ป้องกันไม่ให้เกิดความแตกต่างของอุณหภูมิที่ผิวน้ำ และระดับลึกลงไป เครื่องมือที่สามารถติดตั้งเพื่อทำการกวนอาจเป็นใบพัด หรือ thermozipphon การกวนโดยให้น้ำเคลื่อนที่ควรอยู่ที่ความเร็วประมาณ 21 - 25 เซนติเมตรต่อวินาที ซึ่งเป็นอัตราที่ไม่รบกวนสาหร่าย

- น้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นหัวเชื้อในห้องปฏิบัติการ คือ น้ำกลั่น เพื่อให้บริสุทธิ์สะอาด แต่น้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงปริมาณมากจะเป็นน้ำประปาที่ไม่มีคลอรีน น้ำบ่อหรือน้ำบาดาลที่ใสสะอาดไม่มีโลหะหนัก ใช้หุงต้มได้ก็ได้น้ำบ่อหรือน้ำบาดาลมักจะใช้ได้ผลดีกว่า

- ความเป็นกรดด่าง การควบคุมค่าความเป็นกรดด่างให้อยู่ช่วงที่เหมาะสม 9.5 - 10.5 ซึ่งเป็นสภาวะที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เนื่องจากค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะอยู่ในช่วง 4 - 6 อีกทั้งยังควบคุมไม่ให้เกิดการปนเปื้อนจากสิ่งมีชีวิตหรือสาหร่ายชนิดอื่นที่เป็นพิษ

2.1.7 อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ

อาหาร (สกานต์, 2535) ที่ใช้เลี้ยงเชื้อสามารถแบ่งได้ดังนี้

1. อาหารแข็งหรืออาหารวุ้น (Solid or agar media) ทำโดยเตรียมอาหารเหลวก่อนแล้วเติมน้ำลงไป วุ้นที่ใช้เป็นวุ้นที่บริสุทธิ์ การแยกเชื้อสาหร่ายควรเตรียมวุ้นให้แข็งหรือถ้าต้องการทำอาหารแบบเอียง (Slant agar) เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิที่เหมาะสม

2. อาหารเหลว การเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวทำโดยนำเชื้อที่ว่องไวจากอาหารแข็งมาถ่ายเพาะลงในอาหารเหลวในขวดรูปชมพู่ (flask) แล้วปิดด้วยจุกสำลี

3. ส่วนประกอบที่สำคัญสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่

แหล่งพลังงาน ได้จากการสลายสารประกอบอินทรีย์ และอนินทรีย์ แต่บางชนิดใช้แสงสว่างเป็นแหล่งของพลังงานได้

แหล่งคาร์บอน พวกที่หากินได้เอง (autotroph) ได้จาก CO_2 ส่วนพวกอื่นๆ ได้จากสารประกอบอินทรีย์ เช่น น้ำตาล คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน

แหล่งของไนโตรเจน บางชนิดสามารถใช้ N_2 ในอากาศได้ บางชนิดในรูปของสารอนินทรีย์ เช่น แกลือแอมโมเนีย บางชนิดก็ได้จากสารอาหารพวกโปรตีน

แร่ธาตุต่างๆ เช่น P K Mg Fe Mn Ca Cu Zn CO มีความต้องการน้อยแล้วแต่ชนิดของเซลล์

วิตามิน ซึ่งมีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์

2.1.8 การนำสาหร่ายมาใช้ในเทคโนโลยีชีวภาพ

ในระยะ 15 ปีที่ผ่านมา (ดร.ดวงรัตน์, 2549) ได้มีการศึกษาถึง การนำสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) มาเลี้ยงเพื่อผลิตในเชิงการค้ากันมาก ซึ่งพื้นฐานของการเลี้ยงสาหร่ายทางชีวภาพนี้ จะเหมือนกับการทำการเกษตรกรรมแบบเก่า กล่าวคือ เป็นการให้การสังเคราะห์แสงเพื่อผลิตเซลล์สาหร่ายเป็นจำนวนมาก เพื่อมาใช้เป็นแหล่งสารอาหาร แหล่งสารเคมีและพลังงาน โดยเฉพาะสาหร่ายสีเขียว ซึ่งในทางจุลชีววิทยาจัดจำแนกสาหร่ายนี้ ว่าเป็นจุลินทรีย์ประเภทหนึ่ง ชื่อว่า ไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) ในทางพฤกษศาสตร์ จัดจำแนกสาหร่ายสีเขียว ไว้ในส่วนของพืชชั้นต่ำ ที่ไม่มีระบบท่อน้ำท่ออาหาร ดำรงชีวิตแบบพึ่งตนเอง โดยการผลิตสารอาหาร และพลังงาน โดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง ถึงแม้สาหร่ายสีเขียว จะมีขนาดเล็กมาก จนไม่สามารถมองเห็นชัดได้ด้วยตาเปล่า ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ แต่สาหร่ายนี้ จัดเป็นทรัพยากรชีวภาพ (bioresource) ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือ การผลิตสาหร่ายในเชิงการค้า เนื่องจากสาหร่ายนี้มีศักยภาพที่เหมาะสมในการใช้เป็นวัตถุดิบในทางการเกษตร และทางอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหารเสริมสุขภาพสำหรับคน อุตสาหกรรมอาหารสัตว์ และอุตสาหกรรมการผลิตเคมีภัณฑ์ เป็นต้น

ในการผลิตเซลล์สาหร่ายนั้น มีขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอน คือ การเลี้ยงสาหร่ายให้ได้เซลล์จำนวนมาก การเก็บเกี่ยวเซลล์ และการทำแห้ง การเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ได้เซลล์จำนวนมากนั้น เราจะต้องเข้าใจวิธีการ (know-how) ในการเลี้ยงจุลชีพที่เป็นพวก photoautotrophic และการออกแบบบ่อเลี้ยงที่เหมาะสม สำหรับสาหร่ายแต่ละชนิด (appropriate reactor) คือต้องมีความรู้ และความเข้าใจในปัจจัยต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้อง เช่น แสง และอุณหภูมิในระบบการเลี้ยงแบบกลางแจ้ง ความเป็นกรดด่าง การเกิด photoinhibition และการหายใจในสถานะที่ไม่มีแสง (dark respiration) รวมไปถึงความเข้มข้นของอาหารอีกด้วย ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ จะเป็นตัวแปรที่จะต้องคำนึงถึง ในการควบคุมการผลิต ระบบการเลี้ยงกลางแจ้งส่วนมาก จะใช้ shallow raceways และมีการกวนโดยใช้ใบพัด กระบวนการผลิตขั้นตอนการขยายพันธุ์สาหร่าย มีดังนี้

1. การเพาะเลี้ยง นำสายพันธุ์ที่มีคุณภาพดี ผ่านการคัดเลือกแล้วมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ได้เตรียมไว้ในหลอดทดลอง อาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายในระดับหลอดทดลองนี้จะผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ซึ่งขั้นตอนนี้จะทำด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic Technique)

เมื่อได้สาหร่ายในระดับหลอดทดลองที่มีความเข้มข้นของเซลล์มากพอแล้ว จะทำการถ่ายสาหร่ายลงในฟลาสก์ (Flask) และให้แสงสว่างตลอด 24 ชั่วโมง รวมทั้งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นครั้งคราว เพื่อปรับค่าความเป็นกรดด่าง เนื่องจากเมื่อสาหร่ายมีการเจริญเติบโตจะทำให้

ค่าความเป็นกรดค่าสูงขึ้น โดยจะนำพลาสก์ที่มีสาหร่ายวางบนเครื่องเขย่าเพื่อให้สาหร่ายได้รับแสงและสัมผัสสารอาหารทั่วถึงกัน จากนั้นจะทำการขยายตามขั้นตอนจนถึงระดับบ่อเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ในการเก็บเกี่ยว

สารเคมีทุกชนิดที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบของอาหารในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้น จะทำการคัดเลือกวัตถุดิบที่ผ่านการตรวจสอบแล้วว่าปลอดภัยจากการปนเปื้อนของโลหะหนัก ทั้งนี้เพื่อสร้างความมั่นใจแก่ผู้บริโภคว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความปลอดภัยจากโลหะหนัก รวมทั้งยังมีการควบคุมสถานะของการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งเป็นสถานะที่สิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ การที่มีระบบการจัดการและควบคุมสถานะในการเพาะเลี้ยงที่ดี ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สาหร่ายที่มีความปลอดภัยและมีคุณภาพดีเหมาะแก่การนำไปบริโภคเป็นอาหารเสริมสุขภาพ ซึ่งครอบคลุมตั้งแต่กระบวนการเพาะเลี้ยงนี้ด้วย

2. การเก็บเกี่ยวสาหร่าย (Harvest) การเก็บเกี่ยวสามารถเก็บเกี่ยวได้จากทุกบ่อเลี้ยง ก่อนการวางแผนการเก็บเกี่ยวฝ่ายวิเคราะห์คุณภาพจะดักตัวอย่างสาหร่ายทุกบ่อไปตรวจค่าต่างๆของสาหร่ายเพื่อนำมาคำนวณอัตราการเจริญเติบโตแล้วกำหนดปริมาณการเก็บเกี่ยว

ในขั้นตอนการเก็บเกี่ยวสาหร่ายนี้มีความสำคัญมาก เพราะเกี่ยวกับต้นทุนในการผลิต ซึ่งความเข้มข้นของสาหร่ายจะไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนมากจะอยู่ระหว่าง 200 - 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะมีเทคนิคที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายต่างๆในที่นี้ จะกล่าวถึงเทคนิคที่นิยมใช้โดยทั่วไป

การกรอง (filtration) วิธีการกรองนี้ เหมาะสำหรับสาหร่ายที่มีลักษณะ เป็นเส้นสาย หรือมีเซลล์ขนาดใหญ่ เช่น สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina sp.*) จะทำโดยใช้ผ้ากรองไนลอน (nylon sieve) ที่มีรูให้กรองผ่าน ตามขนาดที่เหมาะสม ซึ่งวิธีการนี้ใช้ได้ผลดี สะดวกและราคาถูก

การปั่นแยก (centrifugation) เทคนิคนี้ใช้กันมากในการแยกสาหร่าย ที่มีขนาดเล็ก เช่น คลอเรลลา (*Chlorella sp.*) วิธีการนี้ทำให้ค่าใช้จ่าย ในการลงทุนสูง เนื่องจากต้องใช้พลังงานในการแยก

การทำให้เกิดฟล็อก และการตกตะกอน (flocculation and sedimentation) ซึ่งการใช้เทคนิคนี้ ส่วนใหญ่จะใช้ในการแยกเซลล์สาหร่าย จากระบบบำบัดน้ำเสีย

สายพันธุ์สาหร่ายที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในทางการค้า ควรเป็นสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ไม่มีสารพิษ ทนทานต่ออุณหภูมิสูง ถ้าเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ก็จะง่ายต่อการเก็บเกี่ยว

3. การอบแห้ง (Dryness) มีระบบการอบแห้งสาหร่ายที่ทันสมัยเป็น Spray dry system ซึ่งควบคุมอุณหภูมิด้วยกราฟิจดิจิตอล สามารถอบเนื้อสาหร่ายที่มีความเข้มข้นสูง ให้เป็นฝอยละเอียดภายในระยะเวลาสั้นๆ ซึ่งรักษาค่าทางอาหารของสาหร่ายให้อยู่ในปริมาณสูง

2.1.9 คุณค่าทางโภชนาการ

สถาบันวิจัยโภชนาการ ได้ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย โดยได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ พบว่าคุณค่าทางด้านโปรตีน อยู่ระหว่าง 10 - 40 กรัม ต่อสาหร่าย 100 กรัม ซึ่งถ้าเทียบกับอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนที่ดี เช่น เนื้อสัตว์ที่นำมาทำแห้ง เช่น เนื้อวัวอบแห้ง หมูแผ่น กุ้งแห้ง ซึ่งจะมีโปรตีนประมาณ 50 11 60 กรัม ต่อ 100 กรัม ตามลำดับ นอกจากนี้คุณค่าทางด้านใยอาหาร (Dietary fiber) ก็พบว่ามียู้งตั้งแต่ 27 - 41 กรัมต่อสาหร่าย 100

ตารางที่ 2.1 กรดไขมันที่มีในสาหร่าย (Lee, J-Y et al., 2009)

กรดไขมัน	ปริมาณของกรดไขมัน (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง)			
	โบทีโอคอคัส	คลอเรลลา วากาลิส	ซีนีเดสมีส	
C16:1	0.58 (4.8)			
C17:0	0.10 (0.8)	0.20 (0.1)	0.13 (0.7)	
C18:0	0.52 (4.3)	0.85 (3.4)	0.57 (3.0)	
C18:1	6.68 (55.7)	4.07 (16.3)	10.75 (57.2)	
C18:2	4.10 (34.2)	19.79 (79.4)	6.91 (36.8)	
C18:3	0.02 (0.2)	0.03 (0.1)	0.40 (2.2)	
รวม	12.00 (100)	24.94 (100)	18.78 (100)	

หมายเหตุ: (-) คือองค์ประกอบกรดไขมันโดยน้ำหนัก

C18:1 Oleic acid C18:3 linolenic acid C18:2 linoleic acid C18:0 Stearic acid

ตารางที่ 2.2 สารอาหารที่เป็นประโยชน์ในจุลสาหร่าย

กรดโฟลิก	ในจุลสาหร่ายมีกรดโฟลิกมากกว่า ไข่ นม และ ดับ หลายสิบเท่ากรดโฟลิกในสาหร่าย ช่วยบำรุงเลือด ป้องกันโรคโลหิตจาง และป้องกันความผิดปกติในลำไส้
กรดไขมันจำเป็น	กรดไขมันจำเป็นคือกรดไขมันที่ร่างกายสร้างขึ้นเองไม่ได้ มีกรดไขมันจำเป็นมากกว่าที่พบในดอกคำฝอยและน้ำมันพริมโรส กรดไขมัน GLA สามารถทำให้ผิวหนังนุ่ม ผสมจำเป็นเงางาม และยังช่วยเสริมรากผมให้แข็งแรงและหยุดอาการผมร่วง

วิตามินบี 12	ในสาหร่ายจะมีวิตามินบี 12 มากกว่าที่มีในอาหารชนิดอื่นและมากกว่าดับถึง 250 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายสไปรูลิน่าจึงเหมาะสำหรับผู้บริโภคอาหารมังสวิรัตเพราะในพืชชนิดอื่นมีวิตามินบี 12 น้อยมากหรือไม่มีเลย
วิตามินอี	ในสาหร่ายจะมีวิตามินอีเป็น 3 เท่าของจมูกข้าวสาลี เป็นสารแอนติออกซิเจนที่ช่วยป้องกัน และลดการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย ช่วยชะลอกระบวนการของความชรา ลดการเกิดริ้วรอย และการเสื่อมสลายของเซลล์
โปรตีนและกรดอะมิโน	ในสาหร่ายจะมีโปรตีนอยู่ถึงร้อยละ 60 - 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นโปรตีนจากพืช จะเห็นว่าในสาหร่ายจะมีโปรตีนมากกว่าถั่วเหลือง เนื้อสัตว์และนม เนื่องจากโปรตีนจากสาหร่ายเป็นโปรตีนจากพืชจึงสามารถย่อย และดูดซึมได้ดีกว่าโปรตีนจากเนื้อสัตว์ สาหร่ายมีกรดอะมิโนที่จำเป็นซึ่งร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้ อยู่ครบในสัดส่วนที่เหมาะสม

2.1.10 หลักการทำงานของคลื่นไมโครเวฟ

ไมโครเวฟ (http://www.dss.go.th/dssweb/starticles/files/pep_2_2546_microwave.pdf) เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูงมากถึง 2,450 ล้านรอบต่อวินาที ที่มีลักษณะคล้ายกับคลื่นวิทยุ แต่มีความถี่ที่สูงกว่า หัวใจสำคัญของเตาไมโครเวฟ คือ ตัวแมกนีตรอนที่จะเป็นตัวเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าเป็นคลื่นไมโครเวฟ ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ เพราะคลื่นไมโครเวฟเป็นความถี่สูงมีใช้รังสีจึงไม่กระจายและสะสมในร่างกายมนุษย์

ระบบการทำงานของเตาไมโครเวฟ คลื่นไมโครเวฟจะพุ่งเข้าสู่อาหารจากทุกทิศทางโดยรอบของผนังเตาด้านในแล้วแผ่กระจายไปสู่อาหาร เมื่อคลื่นไปกระทบอาหารทำให้โมเลกุลของอาหารเกิดการสั่นและเสียดสีกัน ก่อให้เกิดเป็นพลังงานความร้อนทำให้อาหารสุกอย่างรวดเร็ว ลักษณะเช่นเดียวกับที่เราใช้มือถูกันไปมาเร็วๆ จะรู้สึกร้อนขึ้นทันที

คลื่นไมโครเวฟมีลักษณะเด่น 3 ประการ ดังนี้

1. การสะท้อนกลับ (Reflection) คลื่นไมโครเวฟเมื่อไปกระทบกับภาชนะที่เป็นโลหะหรือมีส่วนผสมของโลหะ คลื่นไมโครเวฟไม่สามารถทะลุผ่านภาชนะดังกล่าวได้ จะสะท้อนกลับหมด ดังนั้นอาหารที่ใส่ในภาชนะที่เป็นโลหะก็จะไม่สุก

2. การส่งผ่าน (Transmission) คลื่นไมโครเวฟสามารถทะลุผ่านภาชนะที่ทำด้วยแก้ว กระดาษ ไม้ เซรามิกและพลาสติกได้ เพราะภาชนะดังกล่าวไม่มีส่วนผสมของโลหะ จึงเป็นภาชนะที่ใช้ได้ดีในเตาไมโครเวฟ

3. การดูดซึม (Absorption) ปกติอาหารโดยทั่วไปจะประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำในอาหาร ซึ่งจะดูดซึมคลื่นไมโครเวฟทำให้อาหารร้อนอย่างรวดเร็ว และอีกนัยหนึ่งเมื่อโมเลกุลของน้ำดูดซึมคลื่นไมโครเวฟแล้วจะสลายตัวได้ในทันทีที่ไม่สะสมในอาหาร

เทคนิคการสกัดสารโดยอาศัยคลื่นไมโครเวฟ การสกัดโดยอาศัยคลื่นไมโครเวฟเป็นวิธีที่พัฒนามาจากวิธีการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายโดยการประยุกต์ใช้คลื่นไมโครเวฟมาช่วยในการสกัดพร้อมกับตัวทำละลาย ซึ่งมีข้อดีคือสิ้นเปลืองระยะเวลาในการสกัดสั้น มีต้นทุนในการสกัดต่ำ และคลื่นไมโครเวฟไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ การสกัดสารโดยใช้คลื่นไมโครเวฟมาช่วยในการสกัดได้ มีผู้ทำการทดลองศึกษาปัจจัยต่างๆเกี่ยวกับการสกัด คือ อุณหภูมิ ปริมาณสารตัวอย่าง ชนิดของตัวทำละลาย ปริมาณของตัวทำละลายและระยะเวลาในการสกัด

เตาไมโครเวฟ (Microwave Oven) การประกอบอาหารด้วยเตาไมโครเวฟนี้แตกต่างจากการประกอบอาหารด้วยเตาอบธรรมดา คือเตาอบธรรมดาให้พลังงานความร้อนโดยเปลวไฟแบบเตาอบแก๊สหรือความร้อนจากขดลวดไฟฟ้า ซึ่งจะทำให้อาหารสุกโดยการถ่ายเทความร้อน คือการนำความร้อน การพาความร้อนและการแผ่รังสีความร้อนแต่เตาไมโครเวฟทำให้อาหารสุกโดยคลื่นไมโครเวฟที่มีความถี่สูง ทำให้โมเลกุลของน้ำในอาหารเกิดการสั่นสะเทือนและชนโมเลกุลอื่นๆต่อไปจนเกิดเป็นพลังงานจลน์และพลังงานจลน์นี้จะกลายเป็นพลังงานความร้อน จึงทำให้อาหารสุกอย่างรวดเร็วและเร็วกว่าการประกอบอาหารด้วยระบบอื่นๆ โดยไม่เสียพลังงานความร้อน

ระดับความร้อนของเตาไมโครเวฟที่ผลิตขึ้นใช้งานส่วนมากจะมี 5 ระดับของการทำงาน คือ HIGH MEDIUM HIGH MEDIUM MEDIUM LOW LOW VERY LOW ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ค่าระดับความร้อนกับกำลังคลื่นไมโครเวฟ (วัตต์)

ระดับความร้อน	กำลังคลื่นไมโครเวฟ (วัตต์)
HIGH	800
MEDIUM HIGH	600
MEDIUM	450
MEDIUM LOW	300
LOW	180
VERY LOW	100

HIGH (FULL POWER) หมายถึง กำลังแรงสุดถ้าใช้ระบบนี้ในการปรุงอาหารก็จะช่วยให้ อาหารสุกอย่างรวดเร็ว โดยทั่วไปใช้ในการปรุงอาหารประเภทปลา เบคอน ผักต่างๆ อุณหภูมิให้ ร้อน เครื่องดื่มร้อน ละลายเนย และเนื้อ

MEDIUM HIGH (ROAST) ระบบนี้เหมาะสำหรับอบอาหาร ปิ้งอาหารและอาหารที่สุก แล้วโดยทั่วไปจะใช้ระบบนี้กับประเภทอาหารดังนี้ อุณหภูมิที่ต้องการให้ร้อน อุณหภูมิขมบ่ง ใก่อย่าง หมูย่างและปรุงอาหารประเภทที่มีส่วนผสมของเนยแข็ง

MEDIUM (SIMMER) ระบบนี้เหมาะทำอาหารประเภท ซุป สเต็ก ข้าวอบหมูสับ อาหารที่ แห้งแข็ง ทำแฮมเบอเกอร์ ละลายน้ำแข็ง และต้มไข่

MEDIUM LOW (DEFROST) ระบบนี้ใช้ละลายอาหารที่แช่แข็ง เคี้ยวหรืออุ่นอาหารบาง ประเภทเท่านั้นอาหารสดส่วนใหญ่จะต้องเก็บรักษาไว้ในห้องเย็น เมื่อต้องการจะใช้ต้องเสียเวลาใน การรอกอยให้น้ำแข็งละลายหรือคลายความเย็น แต่ระบบนี้ช่วยให้ประหยัดเวลาในการละลาย อาหารแช่แข็งโดยอาหารยังคงสภาพสดไว้เช่นเดิมและไม่เสียคุณค่าทางอาหาร

LOW (WARM) ระบบนี้ใช้สำหรับอุ่นอาหารที่ไม่ต้องการให้อาหารร้อนจัดเกินไปจะทำให้ รสชาติและสีของอาหารสดกว่าการอุ่นอาหารจากเตาทั่วไปเพราะสามารถปรับระดับความร้อน ที่เหมาะสมกับชนิดของอาหารได้ตามที่ต้องการ

2.1.11 หลักการทำงานของเครื่องอัลตราโซนิก

อัลตราซาวด์ (Barroso et al., 2008) มาจากคำว่า ultra+sound ซึ่งแปลว่าคลื่น ที่อยู่ นอกเหนือการได้ยินของมนุษย์ ที่มีค่าประมาณ 16 เฮิร์ตซ์ ถึง 16 กิโลเฮิร์ตซ์ อัลตราซาวด์นั้น สามารถแบ่งการใช้งานออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงให้พลังงานต่ำ หรือช่วงความถี่สูง (Low power high frequency ultrasound) ช่วงความถี่ประมาณ 2 - 10 เมกะเฮิร์ตซ์ ซึ่งจะนำคลื่นอัลตราซาวด์ช่วงนี้ไป

ประยุกต์ใช้ในการแพทย์ เช่น เครื่องอัลตราซาวด์สำหรับดูเพศ หรือความผิดปกติของทารกในครรภ์ และ ช่วงให้พลังงานสูง (High power หรือ Low frequency ultrasound) จะมีค่าความถี่ประมาณ 20 - 100 กิโลเฮิร์ตซ์ เป็นช่วงที่สามารถนำมาใช้ในการสกัดสารจากพืชได้ วิธีการที่ใช้ในการสกัดแบ่งเป็น

1. การสกัดด้วยตัวทำละลาย (โดยการสกัดแบบเดิมนั้นจะขึ้นอยู่กับวิธีการเลือกตัวทำละลายที่ถูกต้อง การผสม การให้ความร้อน และการกวน)
2. การกลั่น
3. การใช้เทคนิคสมัยใหม่เข้าช่วย เช่น การสกัดด้วยของเหลวยิ่งยวด Vortical extraction การสกัดโดยใช้พลังงานไฟฟ้าช่วย (Extraction by electrical energy) และการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonically assisted extraction)

จากการประยุกต์ใช้อัลตราซาวด์ในการสกัดพืช จำเป็นต้องทราบว่าเพราะเหตุใด อัลตราซาวด์จึงช่วยในการสกัดสารสำคัญได้ เนื่องจากเนื้อเยื่อของพืชที่ประกอบเป็นเซลล์นั้นมีส่วนผนังเซลล์อยู่ชั้นนอกสุด ซึ่งจะเป็นตัวต้านทานการสกัดได้ ซึ่งการสกัดจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ กระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลาย และการชะสลายสารสำคัญออกจากเซลล์เมื่อผนังเซลล์ถูกทำลายลง ส่วนการสกัดพืชแห้งจะเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งกระบวนการคือ กระบวนการดูดน้ำกลับ อัลตราซาวด์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้ โดยการเกิดปรากฏการณ์คาวิเทชัน เนื่องจากคลื่นนั้นประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟอง (bubble) ของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก จากนั้นเมื่อฟองได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัดจะทำให้ฟองนั้นแตกออก และเกิด microjet ที่มีความแรงมาก จนสามารถเจาะทำลายผนังเซลล์ของพืชได้ เมื่อผนังเซลล์นั้นแตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การทำให้ขนาดของตัวอย่างเล็กลงก่อนจะเพิ่มการสัมผัสกับตัวทำละลาย และคาวิเทชันได้ดียิ่งขึ้น

2.1.12 หลักการของออสโมติกช็อก

ออสโมติกช็อก (http://en.wikipedia.org/wiki/Osmotic_shock) คือ การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของตัวถูกละลายรอบเซลล์อย่างฉับพลัน ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของน้ำผ่านบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ภายใต้เงื่อนไขของเกลือที่มีความเข้มข้นสูงน้ำจะไหลออกจากเซลล์ด้วยวิธีออสโมซิส ด้วยเหตุนี้จึงไปยับยั้งการส่งผ่านของสารตั้งต้นและเป็นปัจจัยที่มีผลร่วมทำให้เซลล์แตกตัว หรือที่ความเข้มข้นของตัวถูกละลายต่ำๆ น้ำภายนอกเซลล์ก็จะไหลเข้าไปในเซลล์ทำให้เซลล์ขยายออก

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Lee, J-Y et al. (2009) ได้ทำการศึกษาสาหร่ายสามสายพันธุ์คือโบทีโอคอกคัส คลอเรลลา วูกลาลิส และซีนีเดสมัส ที่เลี้ยงด้วยอาหาร BG 11 ในอากาศ 150 มิลลิโมลต่อตารางเมตรต่อนาที่ อยู่ในระบบหมุนเวียน เพื่อนำสาหร่ายที่เลี้ยงได้มาสกัดไขมันด้วยตัวทำละลาย คลอโรฟอร์มและเมทานอล ในอัตราส่วน 1:1 ในการสกัดไขมันนั้นต้องทำให้เซลล์สาหร่ายแตกตัว โดยเปรียบเทียบกรรมวิธีต่างๆ 5 วิธี ดังนี้

1. วิธี Autoclave ที่อุณหภูมิ 125 องศาเซลเซียส ความดัน 1.5 เมกะปาสคาล ในเวลา 5 นาที
2. วิธี Bead beating ที่ความเร็ว 2,800 รอบนาที่ ในเวลา 5 นาที
3. วิธี Microwave ที่อุณหภูมิสูง 100 องศาเซลเซียส และ 2,450 เมกะเฮิร์ตซ์ ในเวลา 5 นาที
4. วิธี Sonication ใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่ 10 กิโลเฮิร์ตซ์ ในเวลา 5 นาที
5. วิธี Osmotic shock ใช้สารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์ ของ NaCl ในน้ำวน 1 นาที หลังจากนั้นเก็บไว้ 48 ชั่วโมง

การเปรียบเทียบกรรมวิธีการสกัดไขมัน สาหร่ายโบทีโอคอกคัส (*Botryococcus sp.*) ให้ผลที่น่าพอใจ คือ 160 มิลลิกรัม ซึ่งให้ผลที่สูงกว่าคลอเรลลา วูกลาลิส (*Chlorella vulgaris*) และซีนีเดสมัส (*Scenedesmus*) และคลอเรลลา วูกลาริส (*Chlorella vulgaris*) และซีนีเดสมัส (*Scenedesmus*) มีผลคล้ายกัน ในขณะที่ผลผลิตของไขมันที่ได้จากสาหร่ายโบทีโอคอกคัส ให้ผลสูงถึง 11.5 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ซึ่งมีผลคล้ายกันกับ คลอเรลลา วูกลาริส ซึ่งกรรมวิธีที่ใช้คือไมโครเวฟ ซึ่งทั้งสามสายพันธุ์ใช้วิธีนี้จะได้ปริมาณน้ำมันสูงกว่าวิธีอื่น สาหร่ายโบทีโอคอกคัส ใช้กรรมวิธีเบดบีดดิ้ง (bead beating) และ ไมโครเวฟ (microwave) จะให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับวิธีอื่นให้ผลคือ 28.1 และ 28.6 ตามลำดับ และวิธีโซนิเคชัน (sonication) จะให้ผลที่ต่ำ 8.8 เปอร์เซ็นต์ ในการศึกษาที่ผ่านมาและกรรมวิธีเบดบีดดิ้ง แสดงผลที่สกัดไขมันที่สูงเช่นกัน จากสาหร่ายโบทีโอคอกคัส เมื่อเทียบกับวิธีโซนิเคชัน อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยวิธี เบดบีดดิ้ง เป็นวิธีที่ยุ่งยาก กับคลอเรลลา วูกลาลิส เมื่อเทียบกับวิธีไมโครเวฟ กับวิธีออโตคลอว์ (autoclave) วิธีไมโครเวฟสามารถนำไปปรับปรุงใช้ในการสกัดไขมันจากสาหร่ายได้ดีที่สุด

Yusuf Chisti (2007) กล่าวว่าปัจจุบันได้มีการศึกษาแนะนำการรวมวิธีการผลิตไบโอดีเซลจากจุลสาหร่าย การเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella protothecoides* แบบ heterotrophic ในสภาวะที่ได้รับแสง ใน Batch ภายใต้อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส (± 1) ให้แสงที่ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรวินาที ให้ออกซิเจนภายใต้ความดันปกติ เพิ่มกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร และลด glycine ลงเหลือ 0.1 กรัมต่อลิตร จะมีการสะสม lipid ภายในเซลล์สูงถึง 55 เปอร์เซ็นต์ เซลล์ที่นำมาสกัด

น้ำมันถูกเก็บโดยวิธี ปั่นแยก การล้างน้ำกลั่น อบแห้ง และนำมาสกัดโดยใช้ n-Hexane เมื่อเราได้ทำการเปรียบเทียบน้ำมันดีเซลกับน้ำมันไบโอดีเซลที่ได้จากคลอเรลลา โพรโตคอคอยด์ (*Chlorella protothecoides*) โดยวิธี Acidic transesterification โดยวิธีที่ดีที่สุดคือการใส่ตัวเร่งปฏิกิริยาลงไป 100 เปอร์เซ็นต์ (ขึ้นอยู่กับน้ำหนักของน้ำมัน) อัตราส่วนของเมทิลแอลกอฮอล์ต่อน้ำมันคือ 56:1 โดยโมล ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และลดค่า Specific gravity ลงจาก 0.912 เหลือ 0.8637 ในการทดลอง 4 ชั่วโมงด้วยวิธี Acidic transesterification จึงทำให้ได้กระบวนการใหม่ คือการรวม Bioengineering และ Transesterification เพื่อการผลิตไบโอดีเซลจาก จุลสาหร่าย ที่มีประสิทธิภาพ และคุณภาพสูง น้ำมันที่ได้สามารถตรวจสอบคุณสมบัติต่างๆ โดยใช้ CE - 440 Element analyzer

คณกุล และ ศิริลักษณ์ (2008) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่าย 2 สายพันธุ์คือ *Chlorella sp.* และ *Chlorella vulgaris* ที่สภาวะต่างๆ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายสาหร่าย ผลปรากฏสภาวะและสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการเลี้ยงจุลสาหร่ายคือ *Chlorella vulgaris* เลี้ยงด้วยอาหาร BG 11 ที่อุณหภูมิ 29.56 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 7.14 อัตราการไหลของ CO₂ เท่ากับ 15.54 มิลลิลิตรต่อนาที ให้อัตราการไหลของอากาศที่ 600 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งทำให้ได้น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 1.932 กรัมต่อลิตร

จิโนรส และ คณะ (2551) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและเปอร์เซ็นต์ของการสะสมไขมันในการเลี้ยงสาหร่ายพื้นเมืองในขวดแก้วใส (PET) โดยใช้สูตรอาหารดัดแปลงให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ 1 % ณ ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ และ 5,000 ลักซ์ โดยใช้แสงสีส้มและแสงสีขาวจากหลอด ฟลูออเรสเซนต์ ขนาด 36 วัตต์ ช่วงเวลาของการให้แสงสว่างต่อมืด เท่ากับ 12:12 และ 16:8 ชั่วโมง อุณหภูมิประมาณ 27 - 29 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมันของสาหร่ายท้องถิ่นพื้นเมือง จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้สาหร่ายพื้นเมืองมีการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.542 ต่อวัน และมีไขมันสะสมในเซลล์ ร้อยละ 6.42 ตามลำดับ ณ ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ โดยมีแสงสีส้มเป็นแหล่งพลังงาน ช่วงสว่างต่อมืดเท่ากับ 16:8 ชั่วโมง ปริมาณเฟอร์ริคคลอไรด์และกลูโคสเท่ากับ 0.003 และ 0.45 กรัมต่อลิตรตามลำดับ โครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella sp.* และ *Chlorella vulgaris* เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น อัตราการไหลโดยปริมาตรของ CO₂ และชนิดของอาหาร เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย และเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในสาหร่ายตามวิธีการของ Lowry

ประหยัด โภคจิตติยกุล (2550) ได้ศึกษาการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย ได้กล่าวถึงงานวิจัยในช่วงเบื้องต้นว่า สาหร่ายสีเขียว 3 ชนิด ที่นำมาทดสอบจะให้น้ำมันประมาณร้อยละ 20 - 30 ขณะที่สาหร่ายทั่วไปจะให้น้ำมันเฉลี่ยร้อยละ 7 - 14 และสาหร่ายที่โตเร็วก็มักจะให้น้ำมันน้อยกว่าสาหร่ายที่โตช้า คณะวิจัยได้เพาะเลี้ยงสาหร่ายในห้องทดลอง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับ

การเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วพร้อมทั้งให้น้ำมันมากแล้วจึงขยายลงสู่บ่อเพาะเลี้ยงต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่าสภาพแวดล้อมในประเทศไทยเหมาะแก่การเพาะเลี้ยงสาหร่ายอย่างยิ่ง เพราะภายใน 24 ชั่วโมงสาหร่ายก็เติบโตได้อย่างสมบูรณ์ ขณะที่พืชพลังงานอื่นๆ ต้องใช้เวลาเพาะปลูกนานกว่า 6 - 7 ปี จึงจะสกัดน้ำมันได้ และหากเลี้ยงสาหร่ายในบ่อพื้นที่ขนาดเท่ากับพื้นที่ปลูกสับปะรด 1 ไร่ เป็นเวลา 7 ปี สับปะรดจะให้น้ำมันร้อยละ 25 ในขณะที่สาหร่ายให้น้ำมันมากถึงร้อยละ 70 ปริมาณน้ำมันนี้อาจเพียงพอกระทั่งผลิตเพื่อส่งออกต่างประเทศได้ในส่วนของกรรมวิธีในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายนั้นคณะวิจัยได้นำองค์ความรู้ที่สืบเนื่องมาจากการวิจัยพืชพลังงานรุ่นก่อน โดยวางแผนทางได้ 5 วิธี ได้แก่ การใช้แรงเหวี่ยงแยกเอาน้ำมันออก การตกตะกอนแยกเอาตัวสาหร่ายออก การใช้สารละลายทางเคมีละลายเอาน้ำมันออก การใช้กระแสไฟฟ้ากระตุ้นให้สาหร่ายคลายน้ำมัน และบีบอัดเพื่อให้คลายน้ำมัน อย่างไรก็ตาม ทั้งนี้ยังเป็นแนวทางที่ยังต้องศึกษาต่อไปว่าวิธีใดเหมาะสมกับเครื่องยนต์และความต้องการในการใช้งานของคนไทยมากที่สุด ในทางอ้อมผลประโยชน์ได้จากการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย คือการนำกากสาหร่ายที่ตกตะกอนไปใช้เป็นวัตถุดิบของผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น อาหารสัตว์ ปุ๋ย ยา เป็นต้น นอกจากนี้สาหร่ายยังเอื้อประโยชน์ในด้านอื่นๆ ทั้งการสร้างงานของเกษตรกรสร้างรายได้ให้แก่ชุมชน สังคม และประเทศชาติ ลดการพึ่งพาพลังงานจากต่างประเทศ บรรเทาผลกระทบจากวิกฤตราคาน้ำมันที่มีต่อทุกภาคส่วนของสังคม ก่อเกิดการขยายตัวของธุรกิจปิโตรเลียมและธุรกิจอื่นๆ อย่างต่อเนื่อง

วิชญ์ มีอยู่ (2550) ได้กล่าวถึงการนำสาหร่ายมาผลิตน้ำมันว่าการเผาเซลล์โลสที่เป็นโพลิเมอร์ทางธรรมชาติ ความร้อนจะแตกโครงสร้างทางเคมี โมเลกุลที่ใหญ่จะเล็กลงกลายเป็น น้ำมันกับแก๊สซึ่งในกระบวนการแตกเซลล์โลสเป็นน้ำมัน สามารถทำได้กับพืชทุกชนิด แต่จะมองกันที่ความคุ้มค่ามากกว่า และต้องดูว่าพืชแต่ละชนิดมีน้ำเป็นองค์ประกอบมากน้อยแค่ไหน เพราะถ้าเป็นพืชที่มีน้ำมาก เมื่อนำมาเผาแล้วก็ได้น้ำมันน้อย อันที่จริงแล้วน้ำมันที่ได้จากการแตกเซลล์โลส ไม่อยากให้เรียกว่าน้ำมัน ควรเรียกว่าสารเคมีชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงน้ำมัน เพราะเราสามารถนำสารเคมีที่ได้จากพืชนี้ไปตกแต่งทางเคมีให้มีคุณสมบัติเหมือนน้ำมันดีเซล เบนซิน โพลีเมอร์พลาสติก ที่ขายกันอยู่ก็ทำได้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 3.1.1 ขวดแก้วขนาด 2 ลิตร
- 3.1.2 หัวทราย
- 3.1.3 ตู้ปลาขนาด $10 \times 18 \times 12$ นิ้ว
- 3.1.4 หลอดไฟคอมไวท์ 18 วัตต์ บริษัท จีอี โลทติ้ง (ประเทศไทย) จำกัด
- 3.1.5 บั้มลมเล็ก รุ่น Magic 6600 ยี่ห้อ TWIN
- 3.1.6 บั้มลมใหญ่
- 3.1.7 ถังบรรจุ ถ้ำคาร์บอนไดออกไซด์ บริสุทธิ์ 99.99 % บริษัทธนบุรีวัฒนา จำกัด
- 3.1.8 ชุดเครื่องแก้ว
- 3.1.9 สายยางขนาดเล็ก
- 3.1.10 สายยางขนาดใหญ่
- 3.1.11 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 3.1.12 กระดาษลิทมัส
- 3.1.13 ลวดเขี่ยเชื้อปลายห่วง
- 3.1.14 หลอดทดลอง
- 3.1.15 ตะแกรง

3.2 เครื่องมือวิเคราะห์

- 3.2.1 เครื่อง Autoclave บริษัท Astell Scientific ประเทศอังกฤษ
- 3.2.2 เครื่อง Centrifuge ยี่ห้อ Sanyo รุ่น MSE ประเทศอังกฤษ
- 3.2.3 เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV1601 ประเทศญี่ปุ่น
- 3.2.4 เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง บริษัท Denver Instrument รุ่น TR-403 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.2.5 ตู้อบความร้อนแห้ง ยี่ห้อ Memmert รุ่น 500
- 3.2.6 ตู้เขี่ยเชื้อ
- 3.2.7 เครื่องอัลตราโซนิก Cole-Parmer 8891 บริษัท Chemosience (Thailand) Co.,Ltd.
- 3.2.8 เตาอบไมโครเวฟ รุ่น NW73V บริษัท ไทยซัมซุงอิเล็กทรอนิกส์ จำกัด

- 3.2.9 เครื่องเขย่า (shaker) บริษัท Gallenkamp Made in UK
- 3.2.10 Vortex mixer Model 232 Made in U.S.A
- 3.2.11 Water bath Made in Germany

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 3.3.1 CaCl_2 บริษัท J.T.Baker ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.2 KNO_3 บริษัท J.T.Baker ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.3 NaNO_3 บริษัท Fluka Chemie ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- 3.3.4 NaOH บริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Limited ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.5 H_3BO_3 บริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Limited ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.6 EDTA บริษัท J.T.Baker ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.7 Na_2CO_3 บริษัท Carlo Erba Reagent ประเทศอิตาลี
- 3.3.8 K_2HPO_4 บริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Limited ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.9 KH_2PO_4 บริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Limited ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.10 Fe EDTA บริษัท J.T.Baker ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.11 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ บริษัท J.T.Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.3.12 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ บริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Limited ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.13 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ บริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Limited ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.14 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ บริษัท Carlo Erba Reagent ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.15 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ บริษัท Carlo Erba Reagent ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.16 $\text{NaMoO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ บริษัท Carlo Erba Reagent ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.17 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ บริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Limited ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.18 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ บริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Limited ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.19 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ บริษัท J.T.Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.3.20 Folin-Ciocalteu reagent บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน
- 3.3.21 Sodium Potassium tartrate บริษัท Carlo Erba Reagent ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.22 Bovine Serum Albumin (BSA) บริษัท Fluka ประเทศเยอรมัน

- 3.3.23 Monosodium phosphate, monohydrate บริษัท Carlo Erba Reagent ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.24 Disodium phosphate, heptahydrate ยี่ห้อ Panreac
- 3.3.25 Citric Acid บริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Limited ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.26 Ferric Ammonium Citrate บริษัท J.T.Baker ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.27 Chloroform บริษัท RCI Labscan Limited ประเทศไทย
- 3.3.28 Methanol บริษัท J.T.Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.3.29 NaCl บริษัท J.T.Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.3.30 น้ำกลั่น
- 3.3.31 เอทานอล บริษัท J.T.Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.3.32 กรดไฮโดรคลอริก บริษัท VWR INTERNATIONAL ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.3.33 กรดปาล์มเมติก บริษัท MERCK - Schuchardt ประเทศเยอรมัน
- 3.3.34 Isooctane บริษัท Ajex Finechem Pty Ltd. ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.35 Cupric acetate บริษัท Ajex Finechem Pty Ltd. ประเทศออสเตรเลีย

3.4 สภาพในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

เพาะเลี้ยงสาหร่ายพันธุ์ คลอเรลลา วูกาลีส (*Chlorella vulgaris*) ในอาหาร BG11 ที่สภาวะดังนี้ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 7 ให้แสงวอลุ่มไลท์

3.5 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.5.1 นำเชื้อสาหร่าย *Chlorella sp.* และ *Chlorella vulgaris* มาเลี้ยงในอาหารแข็งให้แสงตลอดเวลา เป็นเวลา 7 วัน (Stock culture)

3.5.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย คือ BG11 ซึ่งเป็นอาหารสูตรที่นิยมใช้ในการเลี้ยงจุลสาหร่าย โดยมีองค์ประกอบดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ BG11

สต็อก	สารละลายสต็อก (กรัมต่อลิตร)	ปริมาตร (มิลลิลิตรต่อลิตร)	สารละลาย (Trace solution) (กรัมต่อลิตร)	
NaNO_3	150	10	H_3BO_3	2.86
K_2HPO_4	40	1	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.81
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	75	1	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.222
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	36	1	$\text{Na MoO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.390
Citric Acid combined with Ferric Ammonium Citrate	6	1	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.079
EDTA	1	1	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0494
Na_2CO_3	20	1	-	-
Trace Metal solution	See right	1	-	-

เมื่อได้อาหารเลี้ยงเชื้อตามสูตรข้างต้นแล้วต้องทำการปรับค่าความเป็นกรดต่าง เริ่มต้นให้ได้ค่าตามที่ได้ออกแบบการทดลองไว้แล้วตามหัวข้อที่ 3.4 ด้วยสารละลาย NaOH จากนั้นใส่สารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตลงไปเพื่อควบคุมค่าความเป็นกรดต่าง ลงในอาหารเหลวให้ได้ค่าความเป็นกรดต่าง ประมาณ 7 ซึ่งสามารถเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตได้จาก Monosodium phosphate, monohydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 0.2918 กรัม และ Disodium phosphate, heptahydrate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.7733 กรัม ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรแล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

ตารางที่ 3.2 การเตรียมบัฟเฟอร์

ค่าความเป็นกรดค่า	% $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	% $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
6.7	0.4098	0.5442
6.8	0.3708	0.6199
6.9	0.3311	0.697
7	0.2918	0.7733
7.1	0.2539	0.847
7.14	0.2393	0.8753
7.2	0.2128	0.9163
7.3	0.1853	0.98
7.4	0.1558	1.0374

อาหารเลี้ยงเชื้อ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเชื้อ ต้องต้มฆ่าเชื้อในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

การเตรียมเชื้อสาหร่ายก่อนทำการทดลอง โดยทำการถ่ายเชื้อเซลล์สาหร่ายจาก Stock culture ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเหลวปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่ไว้ในตู้อุณหภูมิห้องและได้รับแสงเป็นเวลานาน 7 วัน จึงสามารถนำเชื้อไปใช้ในการทดลองได้ โดยอัตราส่วนระหว่างเชื้อกับอาหารเหลว คือ 1 หลอดทดลองต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตร

3.6 วิธีการเลี้ยงสาหร่าย

3.6.1 นำเชื้อสาหร่ายที่เตรียมไว้ตามหัวข้อที่ 3.5 ถ่ายลงในขวดโหลสีที่มีอาหารเหลวอยู่ 3 ลิตร แล้วไปวางในตู้ปลาที่มีน้ำหล่อเย็นอยู่ ให้แสงจากหลอดไฟวอร์มไลท์ 18 วัตต์

3.6.2 ทำการป้อนเฉพาะอากาศเข้าสู่ตู้ปลาที่มีสารละลายสาหร่ายอยู่จำนวน 3 ลิตร ทำการเพาะเลี้ยงทั้งสิ้น 7 - 14 วัน

3.6.3 เมื่อครบ 7 - 14 วัน จึงนำสารละลายสาหร่ายไปกรองด้วยผ้ากรอง

3.6.4 จากนั้นนำสาหร่ายที่ได้ไปอบแห้งในเครื่องอบความร้อน จนน้ำหนักของสาหร่ายไม่เปลี่ยนแปลง

3.7 วิธีการวิเคราะห์ความชื้นของจุลสาหร่าย

3.7.1 นำครุชีเบิ้ลพร้อมฝาไปอบที่อุณหภูมิ 107 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลาครึ่งชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนัก

3.7.2 ชั่งจุลสาหร่ายน้ำหนัก 0.5 กรัม ใส่ลงในครุชีเบิ้ล นำไปอบที่อุณหภูมิ 107 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลาครึ่งชั่วโมงแล้วนำไปชั่ง

การคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น

$$W = \frac{(M_1 - M_2)}{M_1} \times 100$$

W = เปอร์เซ็นต์ความชื้น (โดยน้ำหนักแห้ง)

M₁ = น้ำหนักจุลสาหร่ายก่อนอบ

M₂ = น้ำหนักจุลสาหร่ายหลังอบ

3.8 วิธีการสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย

การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายนั้นก่อนอื่นต้องทำให้ผนังเซลล์ของจุลสาหร่ายแตกก่อน เพราะผนังเซลล์ของจุลสาหร่ายมีความแข็งแรงมาก จึงต้องทำการแตกผนังเซลล์ก่อน และการแตกผนังเซลล์ และกรรมวิธีที่ใช้คือ ไมโครเวฟ อัลตราโซนิก และออสโมติกช็อก ที่เงื่อนไขต่างๆ ส่วนตัวทำละลายที่ใช้คือ คลอโรฟอร์มและเมทานอล ในอัตราส่วน 2:1 โดยคลอโรฟอร์มจะทำหน้าที่ในการทำละลายไขมันจากจุลสาหร่าย และเมทานอลทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายคลอโรฟิลล์

3.8.1 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิก

การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิก โดยใช้เซลล์จุลสาหร่ายแห้ง 0.5 กรัมผสมน้ำกลั่น 30 เพื่อทำการแตกเซลล์โดยทำการปรับเครื่องอัลตราโซนิกให้มีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใส่ก๊าซ 1 นาที แล้วทำการแตกเซลล์ด้วยเครื่องเป็นเวลา 10 20 และ 30 นาที เมื่อทำการแตกตัวเซลล์ของจุลสาหร่ายแล้วก็นำจุลสาหร่ายที่ทำการแตกเซลล์แล้วมาเติมตัวทำละลายลงไป ตัวทำละลายที่ใช้คือ คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ในอัตราส่วน 2:1 นำไปเข้าเครื่องเขย่าเพื่อให้สารละลายผสมเข้ากัน ทำให้ความสามารถของการชะไขมันออกจากเซลล์จุลสาหร่ายดีขึ้นเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำมาเทใส่กรวยแยก ไขสารละลายออกจากกรวยแยก นำไปปั่นแยกต่อ 10 นาทีเพื่อให้สารละลายและสาหร่ายแยกตัวออกจากกันอย่างชัดเจน แยกชั้นคลอโรฟอร์มที่มีน้ำมันผสมอยู่ออกมาทำการระเหยคลอโรฟอร์มออกโดยการนำเข้าเตาอบ อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

หลังจากการอบแห้งเสร็จ นำไปเข้าโถดูดความชื้นเป็นเวลาครึ่งชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปซึ่งจะได้ น้ำหนักของไขมัน

3.8.2 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกซ็อก

การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกซ็อกโดยใช้เซลล์จุลสาหร่ายแห้ง 0.5 กรัมผสมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 30 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ หลังจากนั้นห่อปิดขวดรูปชมพู่ด้วยฟอลซ์ให้มิดชิดเพื่อป้องกันแสงจากภายนอก หลังจากนั้นวางทิ้งไว้เพื่อให้เซลล์สาหร่ายแตกตัวเป็นเวลา 2 วัน เมื่อทำการแตกตัวเซลล์ของจุลสาหร่ายแล้วก็นำจุลสาหร่ายที่ทำการแตกเซลล์แล้วมาเติมตัวทำละลายลงไป ตัวทำละลายที่ใช้คือ คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ในอัตราส่วน 2:1 นำไปเข้าเครื่องเขย่าเพื่อให้สารละลายผสมเข้ากันเพื่อให้ความสามารถของการชะไขมันออกจากเซลล์จุลสาหร่ายดีขึ้นเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำมาเทใส่กรวยแยก ไขสารละลายออกจากกรวยแยก นำไปปั่นแยกต่อ 10 นาทีเพื่อให้สารละลายและสาหร่ายแยกตัวออกจากกันอย่างชัดเจน แยกชั้นคลอโรฟอร์มที่มีน้ำมันผสมอยู่ออกมาทำการระเหยคลอโรฟอร์มออกโดยการนำเข้าเตาอบ อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส หลังจากการอบแห้งเสร็จนำไปเข้าโถดูดความชื้นเป็นเวลาครึ่งชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปซึ่งจะได้ น้ำหนักของไขมัน

3.8.3 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ

การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ โดยใช้เซลล์จุลสาหร่ายแห้ง 0.5 กรัมผสมน้ำ 30 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องไมโครเวฟที่พลังงาน 100 วัตต์ เป็นเวลา 10 20 และ 30 นาที เมื่อทำการแตกตัวเซลล์ของจุลสาหร่ายแล้วก็นำจุลสาหร่ายที่ทำการแตกเซลล์แล้วมาเติมตัวทำละลายลงไป ตัวทำละลายที่ใช้คือ คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ในอัตราส่วน 2:1 นำไปเข้าเครื่องเขย่าเพื่อให้สารละลายผสมเข้ากันเพื่อให้ความสามารถของการชะไขมันออกจากเซลล์จุลสาหร่ายดีขึ้นเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำมาเทใส่กรวยแยก ไขสารละลายออกจากกรวยแยก นำไปปั่นแยกต่อ 10 นาทีเพื่อให้สารละลายและสาหร่ายแยกตัวออกจากกันอย่างชัดเจน แยกชั้นคลอโรฟอร์มที่มีน้ำมันผสมอยู่ออกมาทำการระเหยคลอโรฟอร์มออกโดยการนำเข้าเตาอบ อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส หลังจากการอบแห้งเสร็จ นำไปเข้าโถดูดความชื้นเป็นเวลาครึ่งชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปซึ่งจะได้ น้ำหนักของไขมัน

3.9 การหาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย

จากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยทั้งสามวิธีข้างต้น แล้วนำไขมันจากการสกัดของทั้งสามวิธีมาเปรียบเทียบ เมื่อได้วิธีที่จะสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายที่เหมาะสมที่สุด จะใช้วิธีนั้นมาหาสถานะที่จะสามารถสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายได้ปริมาณมากที่สุด

3.10 การวิเคราะห์ความชื้นของไขมันที่ได้จากการสกัด

หลังจากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายแล้วไขมันจากการสกัดที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนแห้งแล้วทำการวิเคราะห์หาความชื้น โดย

3.10.1 นำไขมันจากการสกัดที่อยู่ในหลอดทดลองอบจนแห้งที่เก็บในโถดูดความชื้นซึ่งเพื่อหาน้ำหนักของผลได้

3.10.2 นำหลอดทดลองที่มีไขมันจากการสกัดที่ทราบน้ำหนักแน่นอนอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 107 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลาครึ่งชั่วโมง ซึ่งเพื่อน้ำหนักที่เหลือ

การคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น

$$W = \frac{(M_1 - M_2)}{M_1} \times 100$$

W = เปอร์เซ็นต์ความชื้น

M_1 = น้ำหนักไขมันจากการสกัดก่อนอบ

M_2 = น้ำหนักไขมันจากการสกัดหลังอบ

3.11 การวิเคราะห์หาคกรดไขมัน

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลจากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีต่างๆ แล้ว นำไขมันที่ได้จากการสกัดมาวิเคราะห์กรดไขมัน เพื่อยืนยันว่าผลที่ได้จากการสกัดมีองค์ประกอบของกรดไขมันจริง

3.11.1 การเตรียมสารเคมี

3.11.1.1 เตรียม 5 เปอร์เซ็นต์ cupric acetate (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยชั่ง cupric acetate (copper reagent) 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 450 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรดค่าเท่ากับ 6.1 ด้วย pyridine ปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น กรองก่อนเก็บไว้

3.11.1.2 สารละลายกรดไขมันอิสระมาตรฐาน (Stock standard) 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งกรดปาล์มเมติก 0.25 กรัม ละลายใน isooctane และปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

3.11.1.3 สารละลายกรดไขมันอิสระที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน (working standard) จากสารละลายกรดปาล์มเมติก 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเจือจางด้วย isooctane

ตารางที่ 3.3 ปริมาณของกรดปาล์มเมติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐาน (standard curve)

ความเข้มข้นของกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม/3 มิลลิลิตรของสารละลาย)	ปริมาตรของ Stock standard (มิลลิลิตร)	ปริมาตรของ Isooctane (มิลลิลิตร)
0.25	0.10	2.90
0.50	0.20	2.80
1.00	0.40	2.60
2.00	0.80	2.20
3.00	1.20	1.80
4.00	1.60	1.40
5.00	2.00	1.00

3.11.1.4 เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ตวง absolute ethanol 800 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตร

3.11.1.5 การเตรียม 0.5 M KOH ในเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 28.055 กรัม ละลายในเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) แล้วทำปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

3.11.1.6 การเตรียม 1 M HCl ตวงกรดไฮโดรคลอริก 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) 121.67 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.11.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานสำหรับกรดไขมันอิสระ

ปิเปตสารละลายกรดปาล์มเมติก ความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 0.25 0.50 1.00 2.00 3.00 4.00 และ 5.00 มิลลิกรัมต่อ 3 มิลลิลิตร (ตามตารางที่ 3.3) อย่างละ 3 มิลลิลิตร ลงในจุกหลอดเกลียว เติมสารละลาย copper reagent 1.0 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด ปิดจุกและเขย่าด้วย vortex mixer ประมาณ 1 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้สักครู่จนสารละลายในแต่ละหลอดแยกชั้นกัน ดูดสารละลายส่วนบนไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 704 นาโนเมตร เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายกรดปาล์มเมติก

3.11.3 การหาปริมาณกรดกรดไขมันจากสาหร่าย

นำไขมันที่ได้จากการสกัดมาเติม 0.5 M KOH ในเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 4.0 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำปฏิกิริยาที่ 100 องศาเซลเซียส ใน water bath เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา ทำให้เย็นลง เติม 1 M HCl 5.0 มิลลิลิตร และ Isooctane 5.0 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer ประมาณ 1 นาที เพื่อสกัดให้กรดไขมันอิสระมาอยู่ในชั้นของ Isooctane ที่ซึ่งไว้วางสารละลายแยกชั้นกัน ใช้ปิเปตดูดน้ำส่วนล่างทิ้ง แล้วเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer ประมาณ 1 นาที ตั้งทิ้งไว้สักครู่จนสารละลายแยกชั้น ดูดสารละลายส่วนบน 3.0 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยากับ copper reagent ปริมาณกรดปาล์มเมติกหาได้โดยการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน



บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในขวดโหลที่มีน้ำหล่อเย็น

ถ่ายเซลล์สาหร่ายจาก stock culture ที่เลี้ยงไว้ในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเหลวปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องและได้รับแสงเป็นเวลานาน 7 วัน จึงสามารถนำเชื้อไปเลี้ยงลงในขวดโหลที่มีอาหารเหลว BG11 อยู่ 3 ลิตร แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตลงไปเพื่อควบคุมความเป็นกรดต่างให้ได้ประมาณ 7 และนำขวดโหลไปวางในตู้ปลาที่มีน้ำอยู่ให้ได้ระดับเท่ากับอาหารในขวดโหลเพื่อช่วยควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ และให้แสงตลอดเวลา เลี้ยงไว้เป็นเวลา 7 - 14 วัน แล้วทำการกรองเซลล์สาหร่ายและนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้เซลล์แห้งจากการเลี้ยงคือ 0.23 กรัมต่ออาหารเหลว 1 ลิตร

ตารางที่ 4.1 ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในขวดโหลที่มีน้ำหล่อเย็น

ขวดโหลที่	วันที่เลี้ยง (วัน)	เซลล์แห้ง (กรัม)
1	7	0.392
2	5	0.465
3	5	0.476
4	5	1.275
5	3	0.655
6	4	0.464
7	7	1.331
8	3	0.272
9	4	0.463
10	3	0.39
11	8	1.191
12	5	0.715

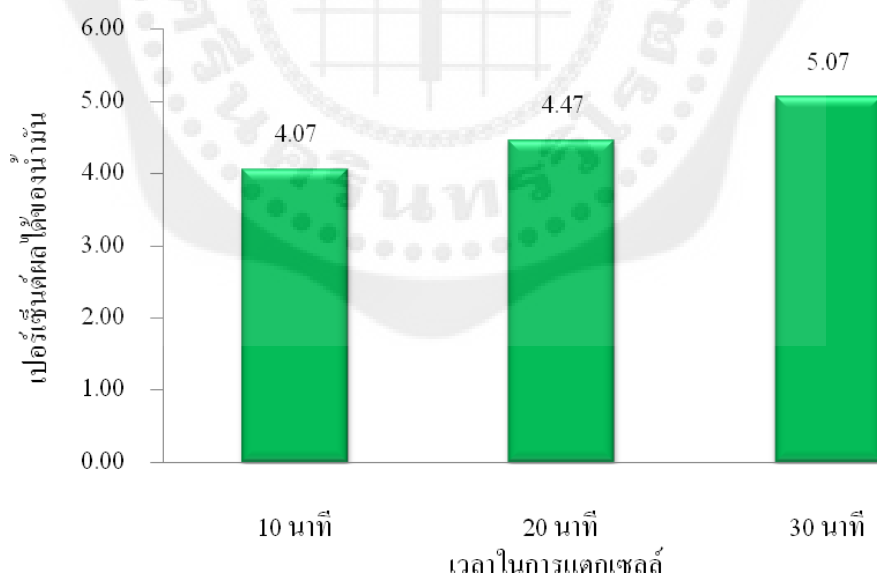
4.2 การวิเคราะห์ความชื้นของเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง

เซลล์แห้งของจุลสาหร่ายที่ได้จากการเลี้ยงที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสอาจยังมีความชื้นหลงเหลืออยู่ และอาจมีผลต่อการสกัดน้ำหนักรังได้ทำการวิเคราะห์หาความชื้นของจุลสาหร่ายจากการวิเคราะห์หาความชื้นจากจุลสาหร่ายพบว่าเซลล์จุลสาหร่ายแห้งมีความชื้นอยู่ที่ 7.4 เปอร์เซ็นต์

4.3 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย

4.3.1 ผลการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิก

การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิก โดยใช้เซลล์จุลสาหร่ายแห้ง 0.5 กรัมผสมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร เพื่อทำการแตกเซลล์โดยทำการปรับเครื่องอัลตราโซนิกให้มีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใส่ก๊าซ 1 นาที แล้วทำการแตกเซลล์เป็นเวลา 10 20 และ 30 นาที นำจุลสาหร่ายที่ทำการแตกเซลล์แล้วมาเติมตัวทำละลาย นำไปเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลา 20 นาที ทำการระเหยคลอโรฟอร์มทิ้งโดยการนำเข้าเตาอบ อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส หลังจากการอบแห้งเสร็จ นำไปเข้าโถดูดความชื้นเป็นเวลาครึ่งชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปชั่งจะได้น้ำหนักของไขมันจากการสกัด

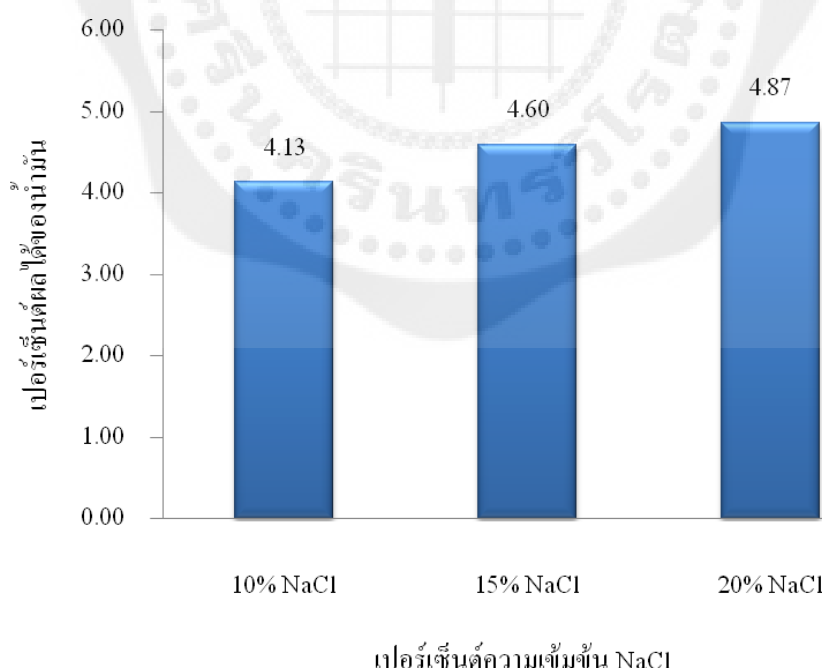


รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่สกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

จากรูปที่ 4.1 แสดงการเปรียบเทียบการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิก 50 องศาเซลเซียส ที่ 10 20 และ 30 นาที พบว่าการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่เวลาเพิ่มขึ้นจะทำให้ได้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันต่อเซลล์ของจุลสาหร่ายเพิ่มขึ้นคือ 4.07 เปอร์เซ็นต์ 4.47 เปอร์เซ็นต์ และ 5.07 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 4.1 จากการทดลองทำให้สามารถสรุปได้ว่าการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่เวลา 30 นาที จะได้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันจากการสกัดต่อเซลล์จุลสาหร่ายแห้งมากที่สุด

4.3.2 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกซ็อก

การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกซ็อกโดยใช้เซลล์จุลสาหร่ายแห้ง 0.5 กรัมผสมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 30 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ หลังจากนั้นห่อปิดขวดรูปชมพู่ด้วยฟอลซ์ให้มิดชิดเพื่อป้องกันแสงจากภายนอก หลังจากนั้นวางทิ้งไว้เพื่อให้เซลล์สาหร่ายแตกตัวเป็นเวลา 2 วัน นำจุลสาหร่ายที่ทำการแตกเซลล์แล้วมาเติมตัวทำละลาย นำไปเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลา 20 นาที ทำการระเหยคลอโรฟอร์มทิ้งโดยการนำเข้าเตาอบ อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส หลังจากการอบแห้งเสร็จ นำไปเข้าโถดูดความชื้นเป็นเวลาครึ่งชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปชั่งจะได้น้ำหนักของไขมันจากการสกัด

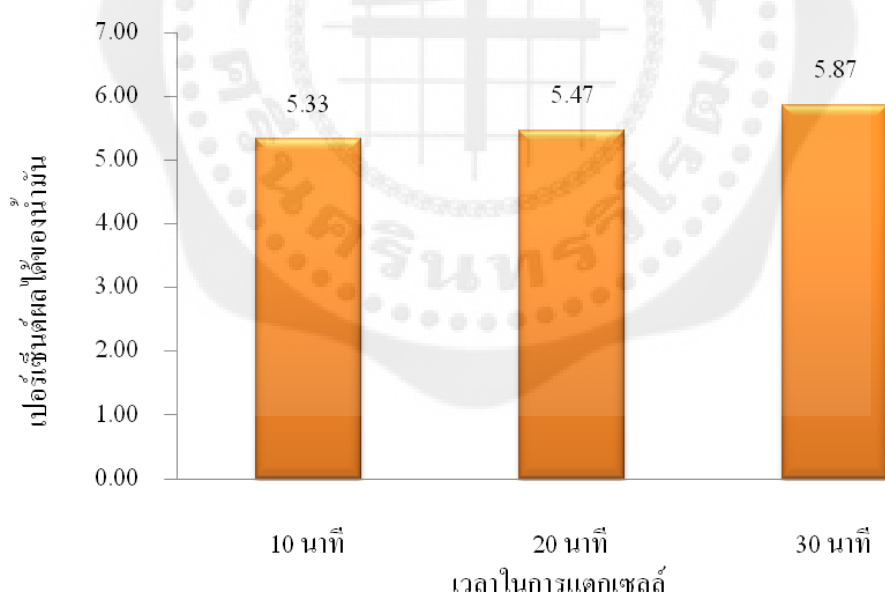


รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่สกัดด้วยวิธีออสโมติกซ็อก

จากรูปที่ 4.2 แสดงการเปรียบเทียบการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกซ็อก ที่เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ พบว่าการสกัดด้วยวิธีออสโมติกซ็อกที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะทำให้ได้เปอร์เซ็นต์ของไขมันจากการสกัดต่อเซลล์ของจุลสาหร่ายเพิ่มขึ้นคือ 4.13 เปอร์เซ็นต์ 4.60 เปอร์เซ็นต์ และ 4.87 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 4.2 จากการทดลองทำให้สามารถสรุปได้ว่าการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกซ็อกที่ความเข้มข้น NaCl 20 เปอร์เซ็นต์จะได้เปอร์เซ็นต์ไขมันจากการสกัดต่อเซลล์จุลสาหร่ายมากที่สุด

4.3.3 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ

การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ โดยใช้เซลล์จุลสาหร่ายแห้ง 0.5 กรัมผสมน้ำ 30 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องไมโครเวฟที่พลังงาน 100 วัตต์ เป็นเวลา 10 20 และ 30 นาที นำจุลสาหร่ายที่ทำการแตกเซลล์แล้วมาเติมตัวทำละลาย นำไปเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลา 20 นาที ทำการระเหยคลอโรฟอร์มทิ้งโดยการนำเข้าเตาอบ อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส หลังจากการอบแห้งเสร็จ นำไปเข้าโถดูดความชื้นเป็นเวลาครึ่งชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปชั่งจะได้น้ำหนักของไขมันจากการสกัด

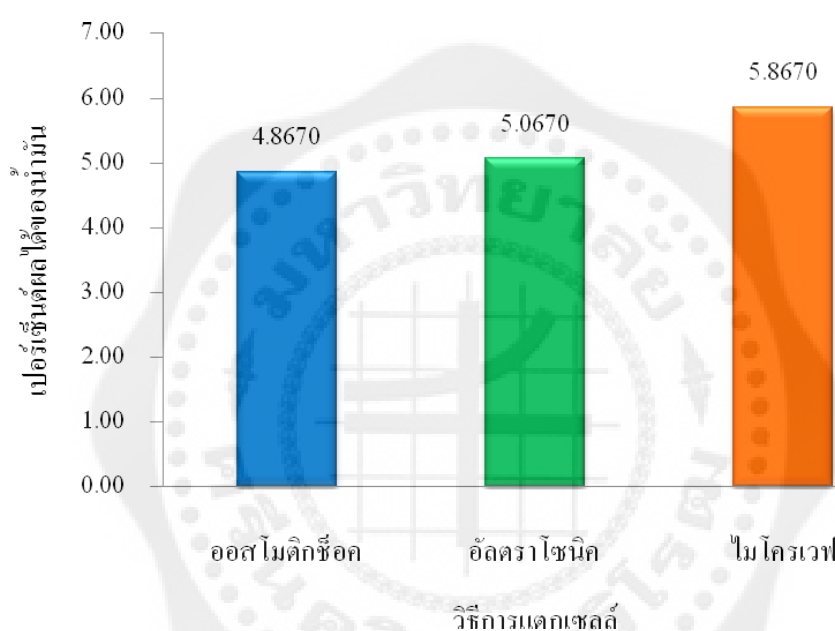


รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันจากการสกัดกับเวลาที่สกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์

จากรูปที่ 4.3 แสดงการเปรียบเทียบการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์ ที่ 10 20 และ 30 นาที พบว่าการสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์ ที่เวลาเพิ่มขึ้นจะทำให้ได้เปอร์เซ็นต์

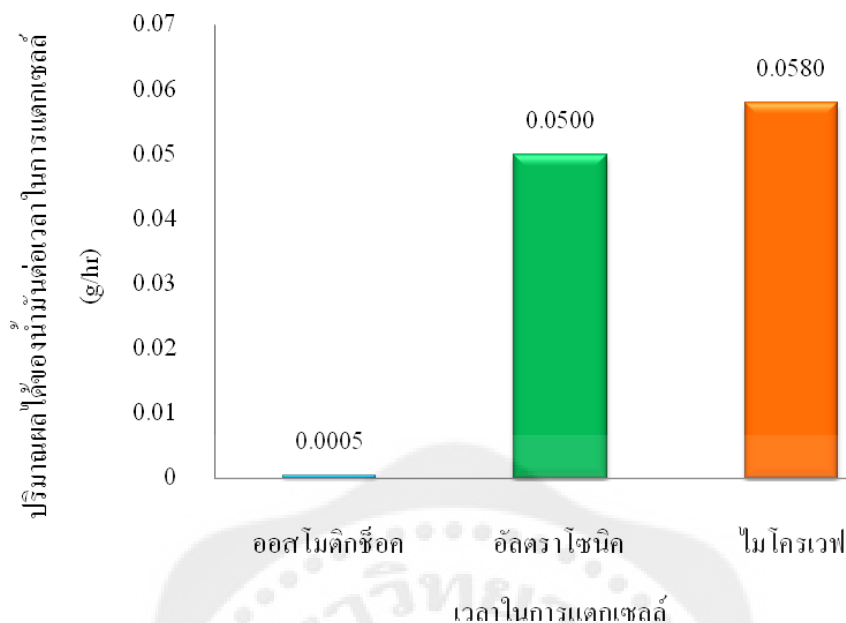
ของผลได้ของไขมันจากการสกัดต่อเซลล์ของจุลสาหร่ายเพิ่มขึ้นคือ 5.40 เปอร์เซ็นต์ 5.60 เปอร์เซ็นต์ และ 5.87 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 4.3 จากการทดลองทำให้สามารถสรุปได้ว่าการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์ ที่เวลา 30 นาทีจะได้เปอร์เซ็นต์ผลได้จากการสกัดต่อเซลล์จุลสาหร่ายมากที่สุด

4.4 การเปรียบเทียบผลที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 วิธีต่อเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์



รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับวิธีการสกัดต่างๆ

จากรูปที่ 4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลได้กับวิธีการสกัดต่างๆ จะเห็นได้เปอร์เซ็นต์ไขมันจากการสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟมีปริมาณสูงกว่าไขมันจากการสกัดอีกสองวิธีทั้งที่ใช้เวลาในการสกัดเท่ากับวิธีอัลตราโซนิก และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีออสโมติกซ็อก



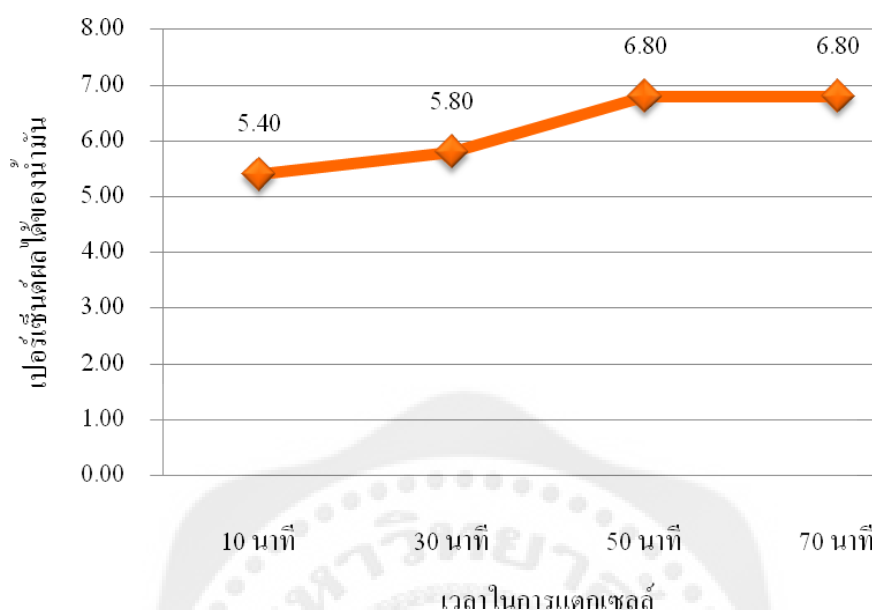
รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณผลได้ของไผ่น้ำต่อเวลาในการแตกเซลล์กับวิธีการสกัดต่างๆ

จากรูปที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบการสกัดไผ่น้ำจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกซ็อก ด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์ และด้วยเครื่องอัลตราโซนิก เมื่อเปรียบเทียบกับเวลาในการสกัดที่เท่ากัน พบว่าวิธีออสโมติกซ็อกให้ไผ่น้ำในปริมาณที่น้อยที่สุด คือ 0.0005 กรัมต่อเวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับวิธี อัลตราโซนิก และวิธีไมโครเวฟถือว่ามีค่าน้อยมาก ส่วนวิธีอัลตราโซนิก และวิธีไมโครเวฟมีค่าผลได้ของไผ่น้ำที่ใกล้เคียงกัน คือ 0.0500 และ 0.0580 กรัมต่อชั่วโมง

เมื่อดูผลที่ได้จากการสกัดไผ่น้ำจากจุลสาหร่ายจากทั้ง 3 วิธี โดยเปรียบเทียบกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ พบว่าวิธีออสโมติกซ็อกให้ปริมาณผลได้น้อยกว่าอีกสองวิธีมาก เพราะการสกัดด้วยวิธีนี้ต้องใช้เวลาในการแตกเซลล์นานถึง 2 วัน แต่กับอีกสองวิธีใช้เวลาในการแตกเซลล์เพียง 30 นาที และมีไผ่น้ำในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน จึงได้ทำการหาสภาวะที่ดีที่สุดของทั้งสองวิธี

4.5 การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไผ่น้ำจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ

จากผลการเปรียบเทียบการสกัดไผ่น้ำจากจุลสาหร่ายด้วย จึงทำให้ต้องหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไผ่น้ำจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ โดยทำการทดลองเช่นเดียวกันกับการสกัดไผ่น้ำจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องไมโครเวฟแต่เพิ่มเวลาในการแตกเซลล์ครั้งละ 20 นาที จนกว่าจะได้ไผ่น้ำจากการสกัดคงที่



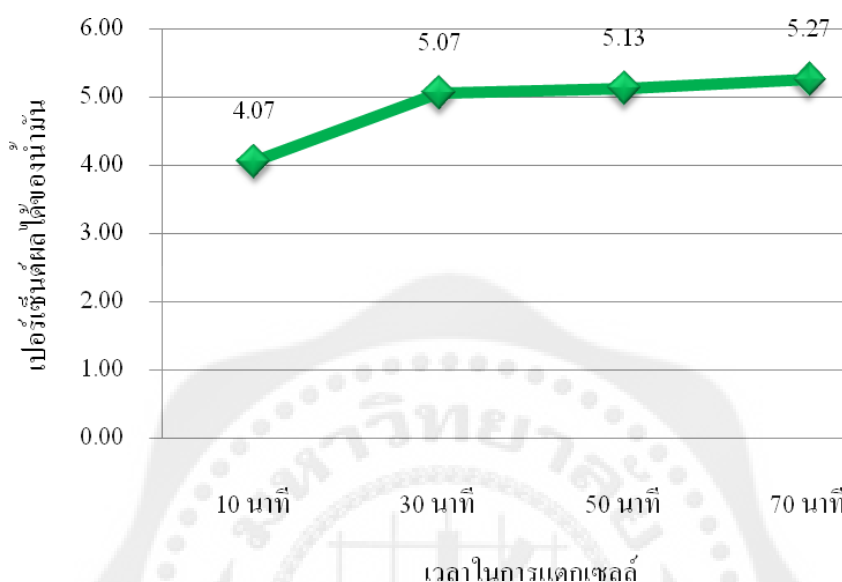
รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์

จากรูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องไมโครเวฟ เพื่อหาเวลาในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องไมโครเวฟที่ทำให้ไขมันจากการสกัดมีค่าสูงที่สุด จากการทดลองพบว่า ที่เวลาในการแตกเซลล์ที่ 50 และ 70 นาที ไขมันจากการสกัดมีค่าเท่ากันคือ 6.8 เปอร์เซ็นต์ ไขมันจากการสกัดต่อเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง ที่เวลา 50 นาทีเป็นเวลาน้อยที่สุด ที่ทำให้ได้ไขมันจากการสกัดมีค่าสูงที่สุด จึงถือได้ว่าเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องไมโครเวฟที่ดีที่สุดคือ 50 นาที จากหลักการทำงานของเครื่องไมโครเวฟคือ การที่คลื่นไมโครเวฟไปทำให้อนุภาคของน้ำภายในเซลล์เกิดการสั่นสะเทือน และเสียดสีกันจนเกิดความร้อนจึงทำให้น้ำภายในเซลล์เกิดการเปลี่ยนสถานะทำให้ความดันภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น ผนังเซลล์จึงแตกออก และไขมันจากจุลสาหร่ายที่อยู่ภายในแวกคิลโอล ก็เกิดการสั่นสะเทือนจนเกิดความร้อนและความดันภายในแวกคิลโอลเพิ่มสูงขึ้นและแตกออก ด้วยหลักการดังกล่าวจึงทำให้การแตกเซลล์ด้วยวิธีนี้ได้ผลดี

4.6 การหาสถานะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราโซนิก

จากผลการเปรียบเทียบการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วย จึงทำให้ต้องหาสถานะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราโซนิก โดยทำการทดลองเช่นเดียวกันกับการสกัดไขมันจากจุล

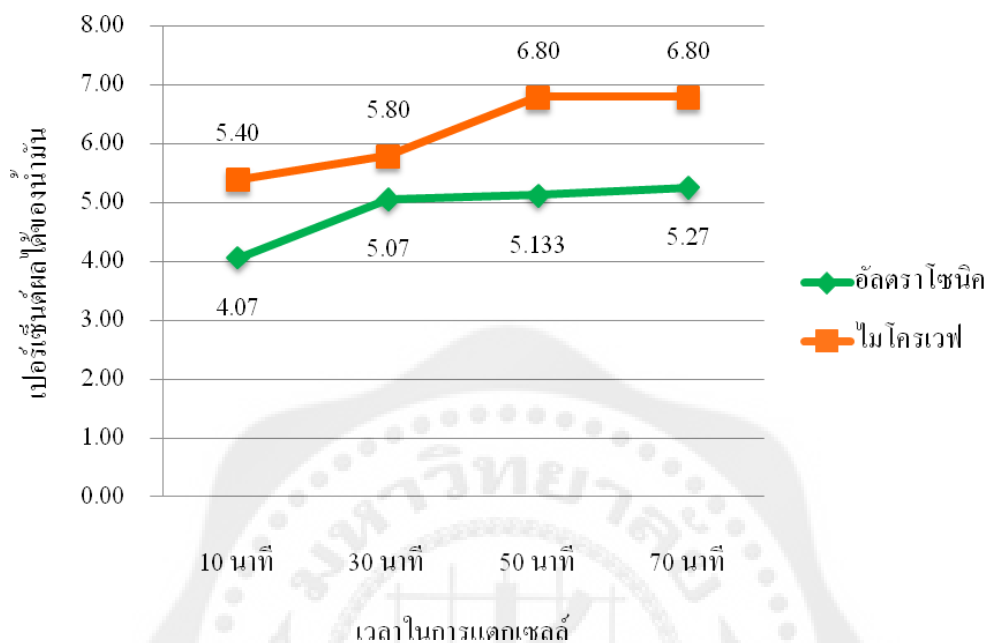
สาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแต่เพิ่มเวลาในการแตกเซลล์ครั้งละ 20 นาที จนกว่าจะได้ไขมันจากการสกัดคงที่



รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

จากรูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก เพื่อหาเวลาในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่ทำให้ผลได้จากการสกัดมีค่าสูงที่สุด จากการทดลองพบว่า ที่เวลาในการแตกเซลล์ที่ 30 50 และ 70 นาที ไขมันจากการสกัดมีค่าใกล้เคียงและเกือบคงที่ที่ 5.07 - 5.27 เปอร์เซ็นต์ ไขมันของน้ำมันจากการสกัดต่อเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง ที่เวลา 30 นาที ขึ้นไปมีค่าไม่ต่างกันมากจึงถือได้ว่าที่เวลาในการแตกเซลล์ 30 นาทีเป็นเวลาน้อยที่สุด ที่ทำให้ได้ไขมันจากการสกัดมีค่าสูงที่สุด โดยหลักการทำงานของเครื่องอัลตราโซนิกเป็นการอาศัยหลักการเชิงกลโดยที่คลื่นอัลตราโซนิกทำให้อนุภาคของน้ำสั่นเกิดเป็นคลื่นอัดคลื่นขยาย ทำให้ผนังเซลล์โดนอัดและขยายจนเกินแรงที่ผนังเซลล์รับได้จนแตกในที่สุด แต่เนื่องไขมันจากจุลสาหร่ายอาศัยอยู่ในแวคิโอล และแวคิโอลมีขนาดเล็กกว่าเซลล์มากจึงทำให้คลื่นอัดคลื่นขยายไปทำให้เชื้อหุ้มแวคิโอลแตกได้ไม่หมด การแตกเซลล์ด้วยวิธีนี้จึงมีความสามารถน้อยกว่าวิธีไมโครเวฟ

4.7 การเปรียบเทียบสถานะที่ดีที่สุดจากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟกับวิธีอัลตราโซนิก



รูปที่ 4.8 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันจากการสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิกกับวิธีไมโครเวฟ

จากรูปที่ 4.8 สถานะที่ดีที่สุดจากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องไมโครเวฟ คือเวลาในการแตกเซลล์ 50 นาที ได้เปอร์เซ็นต์ไขมันจากการสกัด 6.8 เปอร์เซ็นต์ต่อเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง และการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิก คือใช้เวลาในการแตกเซลล์ 30 นาที ได้เปอร์เซ็นต์ไขมันจากการสกัด 5.07 เปอร์เซ็นต์ต่อเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง พบว่าวิธีการสกัดไขมันด้วยวิธีไมโครเวฟที่ใช้เวลาในการแตกเซลล์ 50 นาที สามารถได้เปอร์เซ็นต์ไขมันจากการสกัดต่อเซลล์จุลสาหร่ายแห้งสูงที่สุด

4.8 การวิเคราะห์ผลได้จากการสกัดด้วยไมโครเวฟ 50 นาที

จากการหาสถานะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายพบว่าการสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟที่เวลา 50 นาที เป็นเวลาที่น้อยที่สุดที่จะได้ผลได้สูงที่สุด และเพื่อเป็นการยืนยันผล ได้ทำการวิเคราะห์ความชื้นของไขมันจากการสกัด และได้วิเคราะห์กรดไขมันจากผลได้พบว่าผลได้ของไขมันประกอบไปด้วย 35.729 เปอร์เซ็นต์น้ำมันในรูปกรดปาล์มเมติกอิสระ และมีค่าความชื้นอยู่ 7.41 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากกรดปาล์มเมติกเป็นองค์ประกอบหลักของกรดไขมันที่มีในจุลสาหร่าย จึงช่วยยืนยันได้ว่าผลได้จากการสกัดไขมันมีกรดไขมันจากจุลสาหร่ายเป็นส่วนประกอบหลัก

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การเลี้ยงจุลสาหร่ายและการวิเคราะห์ความชื้นของเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง

จากการเลี้ยงจุลสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในอาหาร BG11 ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7 ให้แสงวอลุ่มไวท์ และอากาศตลอดเวลา ได้เซลล์แห้ง 0.23 กรัมต่อลิตร วิเคราะห์ค่าความชื้นของเซลล์จุลสาหร่ายแห้งมีค่าเท่ากับ 7.40 เปอร์เซ็นต์

5.1.2 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย

จากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟพบว่าเปอร์เซ็นต์ไขมันจากการสกัดจะเพิ่มขึ้นตามเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ เปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันสูงสุดจากการทดลองคือ 5.87 เปอร์เซ็นต์ต่อเซลล์สาหร่ายแห้ง ใช้เวลาในการแตกเซลล์ 30 นาที จากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราโซนิกแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นของไขมันเป็นเช่นเดียวกับวิธีไมโครเวฟ เปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันสูงสุดจากการทดลองคือ 5.07 เปอร์เซ็นต์ต่อเซลล์สาหร่ายแห้ง ใช้เวลาในการแตกเซลล์ 30 นาที จากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกช็อคพบว่าเปอร์เซ็นต์ผลได้จากการสกัดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ เปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันสูงสุดจากการทดลองคือ 4.87 เปอร์เซ็นต์ต่อเซลล์สาหร่ายแห้ง ใช้ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 20 เปอร์เซ็นต์ แตกเซลล์เป็นเวลา 2 วัน

จากผลการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายพบว่าการสกัดด้วยวิธีไมโครเวฟ และวิธีอัลตราโซนิก เปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันมีค่าใกล้เคียงกันเมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ ส่วนวิธีออสโมติกช็อคมีปริมาณผลได้ของไขมันน้อยกว่าสองวิธีมากเมื่อเทียบกับเวลาในการแตกเซลล์ จึงทำการหาสภาวะที่ดีที่สุดของวิธีไมโครเวฟ และอัลตราโซนิกสภาวะที่ดีที่สุดจากการสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ คือใช้เวลาในการแตกเซลล์ 50 นาที ได้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมัน 6.8 เปอร์เซ็นต์ต่อเซลล์สาหร่ายแห้ง ส่วนวิธีอัลตราโซนิกสภาวะที่ดีที่สุด คือใช้เวลาในการแตกเซลล์ 30 นาที ได้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมัน 5.07 เปอร์เซ็นต์ต่อเซลล์สาหร่ายแห้ง ดังนั้นการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องไมโครเวฟที่เวลาในการแตกเซลล์ 50 นาที เป็นวิธีและสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย

5.1.3 การวิเคราะห์ผลได้จากการสกัดด้วยวิธีการสกัดที่ดีที่สุด

ค่าผลได้ของไขมันจากการสกัดด้วยวิธีไมโครเวฟมีค่าเท่ากับ 6.80 เปอร์เซ็นต์ต่อเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง พบว่าผลที่ได้ของไขมันประกอบไปด้วยกรดปาล์มเมดิกอิสระ 35.73 เปอร์เซ็นต์ และมีน้ำอยู่ 7.41 เปอร์เซ็นต์

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในถังชีวภาพแบบต่างๆ เพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์จุลสาหร่ายสูงสุด

5.2.2 ควรศึกษาการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องไมโครเวฟที่ใช้ตัวทำละลายชนิดอื่นๆ และอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับเซลล์แห้งเพื่อให้ผลการสกัดไขมันที่ดีขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- ชินโรส ศรีศิริ และคณะ (2551). การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมันของสาหร่ายท้องถิ่น
เซลล์เดียว. โครงการงานวิศวกรรมเคมี. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- ดวงรัตน์ อินทร (2549). การนำสาหร่ายมาใช้ในทางเทคโนโลยีชีวภาพ บทความปริทัศน์.
ภาควิชาวิทยาศาสตร์อณูสมัยสิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
- ธวัชชัย เอกสันติ และคณะ (2547). จุลชีววิทยาในทางสาธารณสุข. คณะพลศึกษาภาควิชาสุข
ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
- นวรรตน์ เหล่าขวลิตกุล (2532). สาหร่ายที่รับประทานได้ วิทยาศาสตร์เพื่อเยาวชน. สถาบันวิจัย
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี
และการพลังงาน หน้า 65-70
- ประหยัด โภคจิตติยุทธ์ (2550). การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล
- วิษณุ มีอยู่ (2550). ผลิตน้ำมันจากสาหร่าย พลังงานใหม่ในอนาคต โครงการงานวิศวกรรมเคมี.
ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
- สกานต์ พูลทวี (2535). สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Chlorella* sp. สายพันธุ์ B.K.1 รวมบทคัดย่อ
วิทยานิพนธ์. ปีการศึกษา 2535. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย บัณฑิตวิทยาลัย: 472
- Barbero, G. F. Liazig, A. Palma, M and Barroso, C. G. (2008). *Ultrasound-Assisted Extraction of Capsaicinoids from Peppers. Talanta*. 75(5): 1332-1337.
- Lee.J-Y., Yoo.C., Jun.S-Y., Ahn.C-Y. and Oh.H-M., (2009). *Comparison of Several Methods for Effective Lipid Extraction from Microalgae, Bioresource Technology*
- วัชร เวียงแก้ว
- รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องการสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย

Miao.X. and Wu.Q (2004). **Journal of Biotechnology**. 110: 85–93.

Yusuf Chisti (2007). *Biodiesel from Microalgae*, **Biotechnology Advances**. 25: 294–306.

แหล่งสืบค้นออนไลน์:

<http://www.greenpeace.org/seasia/th/campaigns/climate-and-energy/climate-change-science>

สืบค้นเมื่อ 20 มกราคม 2553

http://en.wikipedia.org/wiki/Osmotic_shock

สืบค้นเมื่อวันที่ 22 มกราคม 2553

<http://th.wikipedia.org/wiki/>

สืบค้นวันที่ 5 มีนาคม 2553

http://www.dss.go.th/dssweb/starticles/files/pep_2_2546_microwave.pdf

สืบค้นวันที่ 12 ตุลาคม 2552



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีการสกัดต่างๆ

ตารางที่ภาคผนวก ก1 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีไมโครเวฟครั้งที่ 1

วิธีการแตกเซลล์ ไมโครเวฟ 100 วัตต์ ครั้งที่ 1	เวลาในการแตกเซลล์		
	10 นาที	20 นาที	30 นาที
ปริมาณไขมัน(กรัม)	0.029	0.030	0.031
% ไขมัน	5.800	6.000	6.200
ปริมาณกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม)	8.593	9.436	11.111
% กรดปาล์มเมติก ต่อผลได้ทั้งหมด	29.631	30.439	37.037
% กรดปาล์มเมติก ต่อสาหร่าย	1.719	1.887	2.222

ตารางที่ภาคผนวก ก2 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีไมโครเวฟครั้งที่ 2

วิธีการแตกเซลล์ ไมโครเวฟ 100 วัตต์ ครั้งที่ 2	เวลาในการแตกเซลล์		
	10 นาที	20 นาที	30 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.029	0.030	0.031
% ไขมัน	5.800	6.000	6.200
ปริมาณกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม)	7.630	7.778	8.526
% กรดปาล์มเมติก ต่อผลได้ทั้งหมด	24.613	25.927	27.841
% กรดปาล์มเมติก ต่อสาหร่าย	1.526	1.556	1.615

ตารางที่ภาคผนวก ก3 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีไมโครเวฟครั้งที่ 3

วิธีการแตกเซลล์ ไมโครเวฟ 100 วัตต์ ครั้งที่ 3	เวลาในการแตกเซลล์		
	10 นาที	20 นาที	30 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.022	0.022	0.026
% ไขมัน	4.400	4.400	5.200
ปริมาณกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม)	10.370	9.333	9.407
% กรดปาล์มเมติก ต่อผลได้ทั้งหมด	47.136	42.423	36.181
% กรดปาล์มเมติก ต่อสาหร่าย	2.074	1.867	1.881

ตารางที่ภาคผนวก ก4 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีอัลตราโซนิก ครั้งที่ 1

วิธีการแตกเซลล์ อัลตราโซนิก (ครั้งที่ 1)	เวลาในการแตกเซลล์		
	10 นาที	20 นาที	30 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.022	0.022	0.026
% ไขมัน	4.400	4.400	5.200
ปริมาณกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม)	3.740	4.678	6.222
% กรดปาล์มเมติก ต่อผลได้ทั้งหมด	17.000	21.264	23.931
% กรดปาล์มเมติก ต่อสาหร่าย	0.748	0.936	1.244

ตารางที่ภาคผนวก ก5 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีอัลตราโซนิกครั้งที่ 2

วิธีการแตกเซลล์ อัลตราโซนิก (ครั้งที่ 2)	เวลาในการแตกเซลล์		
	10 นาที	20 นาที	30 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.022	0.023	0.024
% ไขมัน	4.400	4.600	4.800
ปริมาณกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม)	5.630	6.519	6.593
% กรดปาล์มเมติก ต่อผลได้ทั้งหมด	25.591	28.343	27.471
% กรดปาล์มเมติก ต่อสาหร่าย	1.126	1.304	1.319

ตารางที่ภาคผนวก ก6 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีอัลตราโซนิก ครั้งที่ 3

วิธีการแตกเซลล์ อัลตราโซนิก (ครั้งที่ 3)	เวลาในการแตกเซลล์		
	10 นาที	20 นาที	30 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.017	0.022	0.026
% ไขมัน	3.400	4.400	5.200
ปริมาณกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม)	4.137	4.760	5.562
% กรดปาล์มเมติก ต่อผลได้ทั้งหมด	24.335	21.636	21.392
% กรดปาล์มเมติก ต่อสาหร่าย	0.827	0.952	1.112

ตารางที่ภาคผนวก ก7 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีออสโมติกซ็อก ครั้งที่ 1

วิธีการแตกเซลล์ ออสโมติกซ็อก ครั้งที่ 1	ความเข้มข้น		
	10 % NaCl	15 % NaCl	20 % NaCl
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.021	0.022	0.022
% ไขมัน	4.200	4.400	4.400
ปริมาณกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม)	6.714	6.815	7.926
% กรดปาล์มเมติก ต่อผลได้ทั้งหมด	31.971	30.977	36.027
% กรดปาล์มเมติก ต่อสาหร่าย	1.343	1.363	1.585

ตารางที่ภาคผนวก ก8 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีออสโมติกซ็อก ครั้งที่ 2

วิธีการแตกเซลล์ ออสโมติกซ็อก ครั้งที่ 2	ความเข้มข้น		
	10 % NaCl	15 % NaCl	20 % NaCl
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.020	0.022	0.024
% ไขมัน	4.000	4.400	4.800
ปริมาณกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม)	4.548	5.671	7.704
% กรดปาล์มเมติก ต่อผลได้ทั้งหมด	20.672	25.777	32.100
% กรดปาล์มเมติก ต่อสาหร่าย	0.910	1.134	1.541

ตารางที่ภาคผนวก ก9 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีออสโมติกซ็อก ครั้งที่ 3

วิธีการแตกเซลล์ ออสโมติกซ็อก ครั้งที่ 3	ความเข้มข้น		
	10 % NaCl	15 % NaCl	20 % NaCl
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.021	0.025	0.027
% ไขมัน	4.200	5.000	5.400
ปริมาณกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม)	4.075	5.333	5.418
% กรดปาล์มเมติก ต่อผลได้ทั้งหมด	19.405	21.332	20.067
% กรดปาล์มเมติก ต่อสาหร่าย	0.815	1.067	1.084

ตารางที่ภาคผนวก ก10 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีไมโครเวฟเพื่อหาสถานะที่ดีที่สุด

วิธีการแตกเซลล์ ไมโครเวฟ 100 วัตต์ (ครั้งที่ 1)	เวลาในการแตกเซลล์			
	10 นาที	30 นาที	50 นาที	70 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.029	0.031	0.034	0.035
% ไขมัน	5.800	6.200	6.800	7.000

วิธีการแตกเซลล์ ไมโครเวฟ 100 วัตต์ (ครั้งที่ 2)	เวลาในการแตกเซลล์			
	10 นาที	30 นาที	50 นาที	70 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.029	0.031	0.034	0.033
% ไขมัน	5.800	6.200	6.800	6.600

วิธีการแตกเซลล์ ไมโครเวฟ 100 วัตต์ (ครั้งที่ 3)	เวลาในการแตกเซลล์			
	10 นาที	30 นาที	50 นาที	70 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.022	0.026	0.034	0.034
% ไขมัน	4.400	5.200	6.800	6.800

ตารางที่ภาคผนวก ก11 ผลการสกัดไขมันด้วยวิธีอัลตราโซนิกเพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุด

วิธีการแตกเซลล์ อัลตราโซนิก (ครั้งที่ 1)	เวลาในการแตกเซลล์			
	10 นาที	20 นาที	30 นาที	50 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.022	0.026	0.026	0.026
% ไขมัน	4.400	5.200	5.200	5.200

วิธีการแตกเซลล์ อัลตราโซนิก (ครั้งที่ 2)	เวลาในการแตกเซลล์			
	10 นาที	20 นาที	30 นาที	50 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.02	0.02	0.03	0.03
% ไขมัน	4.40	4.80	5.20	5.20

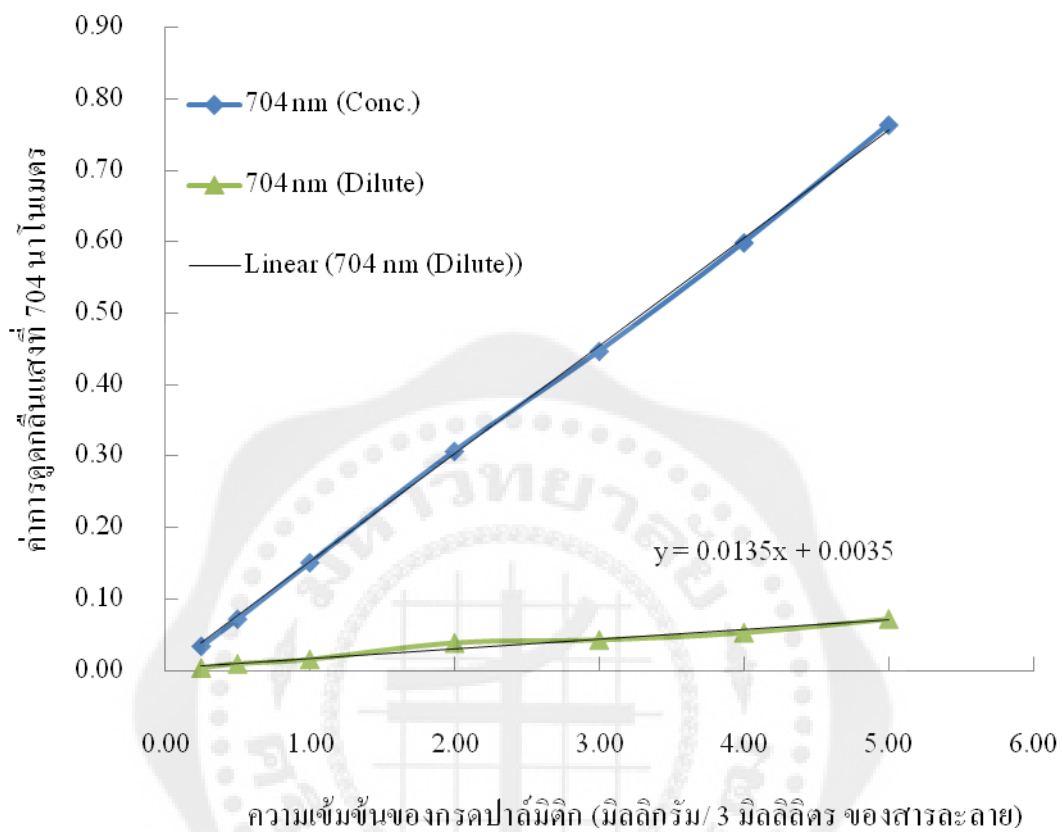
วิธีการแตกเซลล์ อัลตราโซนิก (ครั้งที่ 3)	เวลาในการแตกเซลล์			
	10 นาที	20 นาที	30 นาที	50 นาที
ปริมาณไขมัน (กรัม)	0.02	0.03	0.03	0.03
% ไขมัน	3.40	5.20	5.00	5.40

ภาคผนวก ข ค่ามาตรฐานการดูดกลืนแสงของกรดปาล์มเมติก

ตารางที่ภาคผนวก ข1 ค่ามาตรฐานการดูดกลืนแสงของกรดปาล์มเมติก ที่ความยาวคลื่น 704 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของกรดปาล์มเมติก (มิลลิกรัม/ 3 มิลลิลิตร ของสารละลาย)	ค่า ABS ที่ 704 นาโนเมตร	
	ความเข้มข้นเดิม	เจือจาง 10 เท่า
0.25	0.034	0.004
0.50	0.072	0.010
1.00	0.151	0.016
2.00	0.307	0.039
3.00	0.447	0.043
4.00	0.599	0.053
5.00	0.764	0.072

ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐาน



รูปที่ภาคผนวก ค1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 704 นาโนเมตร ของกรดคลอโรฟิลล์เม-
ดิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ค่าความชื้น

ตารางที่ภาคผนวก ง1 ค่าความชื้นของเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง

ครั้งที่	ค่าความชื้นของเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง (%)
1	7.43
2	7.37
3	7.40
เฉลี่ย	7.40

ตารางที่ภาคผนวก ง2 ค่าความชื้นของไขมันจากการสกัด

ครั้งที่	ค่าความชื้นของไขมันจากการสกัด (%)
1	7.47
2	7.36
3	7.40
เฉลี่ย	7.41

ภาคผนวก จ ตัวอย่างการคำนวณ

จากผลการทดลองการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายผลได้จากการสกัดที่ได้มีหน่วยเป็นกรัม
สามารถคำนวณให้ได้เป็นเปอร์เซ็นต์ดังนี้

$$\begin{aligned}\text{เปอร์เซ็นต์ไขมันต่อเซลล์จุลสาหร่าย} &= \frac{\text{ผลได้ (g)} \times 100}{\text{เซลล์สาหร่ายที่ใช้ในการสกัด (g)}} \\ &= \frac{0.0203 \text{ (g)} \times 100}{0.5} \\ &= 4.07\%\end{aligned}$$

ภาคผนวก ฉ ภาพการสกัดด้วยวิธีการต่างๆ



รูปที่ภาคผนวก ฉ1 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในตู้ปลา



รูปที่ภาคผนวก ฉ2 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในขวดโหลใส



รูปที่ภาคผนวก ฉ3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในขวดโหลที่มีน้ำหล่อเย็น



รูปที่ภาคผนวก ฉ4 การสกัดไขมันด้วยไมโครเวฟ



รูปที่ภาคผนวก จ5 การสกัดไขมันด้วยวิธีออสโมติกซ็อก



รูปที่ภาคผนวก จ6 การสกัดไขมันด้วยเครื่องอัลตราโซนิก

ประวัติผู้วิจัย

(ชื่อ-สกุล ภาษาไทย) นายวัชร เวียงแก้ว

(ชื่อ-สกุล ภาษาอังกฤษ) MR. WACHARA WEANGKAEW

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

สถานที่ทำงาน ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

107 ถนนรังสิต-นครนายก คลอง16 อ. องค์กรักษ์ จ. นครนายก รหัสไปรษณีย์ 26120

โทรศัพท์ 0-2649-5000 ต่อ 2075, 2069 โทรศัพท์มือถือ 087 9085128 โทรสาร 037-322-608

E-mail: watchara@swu.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี สาขาวิชา เทคโนโลยีการอาหารและโภชนาการ สถาบัน มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ปีที่สำเร็จ พ.ศ. 2537

ปริญญาโท สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี (M.Eng.) สถาบัน Illinois Institute of Technology, USA
ปีที่สำเร็จ ค.ศ. 1999

สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ Biosorption, Bio-catalyst, Waste Water Treatment, Food Technology

ประวัติการทำงานและประสบการณ์การทำงาน

August 1996-present	Lecturer at the Department of Chemical Engineering, Srinakharinwirot University, Nakhonnayok, Thailand.
January 1997-December 1999	Teaching assistant for undergraduates at the Department of Chemical and Environmental Engineering, IIT Graduate research assistant for Chemical Engineering laboratories, IIT Research Institute (IITRI)

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

1. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

1.1 N.R. Khalili, J.D. Vyas, **W. Weangkaew**, S.J. Westfall, S.J. Parulekar. Synthesis and Characterization of Activated Carbon and Bioactive Adsorbent Produced from Paper Mill Sludge. Sep. and Purification Tech. 26 (2002), pp. 295-304.

2. ผลงานวิชาการอื่นๆ

2.1 T. Sittinun, C. Muangnapoh, **W. Weangkaew**. Preparation and Characterization of Ceramic Filter for Bioseparation. Poster Presentation. The 1st International Conference: Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products. KhonKaen, Thailand (2005).

2.2 ฉัฏฐมณจน์ แยมเกตุ, ปวีณรัตน์ ชาญวิมลวัฒน์, วิษุพร สุขสมพงษ์ และ วัชร เวียงแก้ว การจัดไอออนิกเจลและแคปซูลด้วยเถ้ากลบและแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*. การจัดประชุมวิชาการทางวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทยครั้งที่ 15: นานาเทคโนโลยีและพลังงานกับการพัฒนาอุตสาหกรรมเคมี, ชลบุรี, 27-28 ตุลาคม 2548 (การเสนอผลงาน)

2.3 บุษบง ศรีคุรงค์ธรรม, เกียรติศักดิ์ ผดุงเสรีวิทย์, ชากร อาศิริพงษ์พร, ศิริวรรณ ศรีสรณ์ตร์ และ วัชร เวียงแก้ว การสกัดเพคตินจากผิวมะนาว. การจัดประชุมวิชาการทางวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 16. โรงแรมราม่า การ์เด้นส์ กรุงเทพฯ, 26-27 ตุลาคม 2549 (การเสนอผลงานภาคโปสเตอร์)

2.4 วัชร เวียงแก้ว การสกัดเพคตินจากเปลือกส้มโอด้วยไอน้ำ. วารสารวิศวกรรมศาสตร์ มศว ปีที่ 3 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2551 หน้า 22 - 33

2.5 กิตติพล กลีภาร์, วัชร เวียงแก้ว, ศิริวรรณ ศรีสรณ์ตร์ การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ด้วยวิธีการออกแบบการทดลองทางสถิติ. การประชุมวิชาการ เรื่อง สหรัยและเพลงตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 4 จ.ขอนแก่น วันที่ 25-28 มีนาคม 2552 (การเสนอผลงาน)

2.6 ชยาภาส ทับทอง, วัชร เวียงแก้ว, กิติโรจน์ หวันตาหารา การศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันจากเมล็ด
สบู่ดำ. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปีที่ 11 ฉบับที่ 2 มกราคม – เมษายน
 2551 หน้า 1–7

3. ทูสนับสนุนงานวิจัย

3.1 งบประมาณเงินรายได้มหาวิทยาลัย ปี 2549 โครงการวิจัย เรื่องการผลิตถ่านกัมมันต์จาก
 เปลือกเมล็ดยางพาราและการทดสอบกำจัดฟีนอลในน้ำเสีย สัญญาเลขที่138/2549

3.2 งบประมาณเงินรายได้มหาวิทยาลัย ปี 2549 โครงการวิจัย เรื่องการสกัดเพคตินด้วยไอน้ำจาก
 เปลือกส้มโอ สัญญาเลขที่145/2549

3.3 เงินงบประมาณแผ่นดิน ปี 2550 โครงการวิจัย เรื่องกรรมวิธีการสกัดเพคตินจากเปลือกมะนาว
 โดยการอบความร้อนสูงด้วยไอน้ำ สัญญาเลขที่ 002/2550

3.4 เงินงบประมาณแผ่นดิน ปี 2550 โครงการวิจัย เรื่องการผลิตถ่านกัมมันต์จากเนื้อเมล็ด
 ยางพารา สัญญาเลขที่ 076/2550

3.5 เงินงบประมาณแผ่นดิน ปี 2550 ชุดโครงการวิจัย เรื่องการใช้สบู่ดำเพื่อเป็นเชื้อเพลิงทดแทน
 สัญญาเลขที่ 006/2550

3.6 เงินงบประมาณแผ่นดิน ปี 2552 โครงการวิจัย เรื่องการสกัดน้ำมันจากจุลสาหร่าย สัญญา
 เลขที่ 054/2552