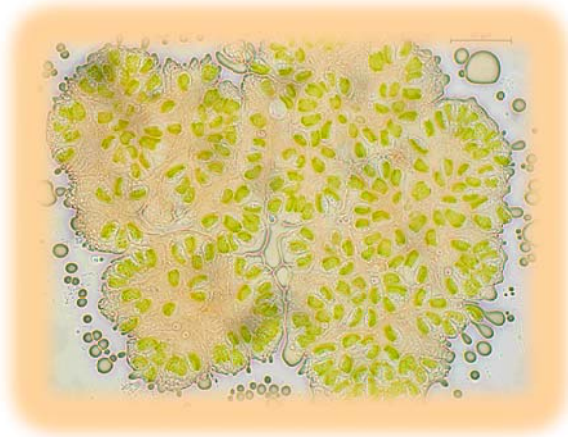




## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำมัน *Botryococcus braunii* แบบหมวมวลใน  
ระบบ photobioreactor เพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซล

Mass cultivation of *Botryococcus braunii* in photobioreactor for  
biodiesel production



รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

ผศ. ดร. ประมวล ศรีกาหลง

ผศ. ดร. มณฑล แก่หมณี

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2557

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำมัน *Botryococcus braunii* แบบหมวมวลในระบบ  
photobioreactor เพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซล

Mass cultivation of *Botryococcus braunii* in photobioreactor for  
biodiesel production

รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

ผศ. ดร. ประมวล ศรีกาหลง

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2557

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำมัน *Botryococcus braunii* แบบหมวมวลในระบบ photobioreactor เพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซล

แหล่งเงิน เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2557

ประจำปีงบประมาณ 2557 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 550,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2556 ถึง 30 กันยายน 2557

หัวหน้าโครงการและผู้ร่วมโครงการวิจัย รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

ผศ. ดร. ประมวล ศรีกาหลง

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *B. braunii* ในห้องปฏิบัติการเปรียบเทียบกับนอกห้องปฏิบัติการแบบหมวมวลในระบบ closed-photobioreactor ผลการศึกษาพบว่าภาวะการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมแสงอย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการให้อากาศธรรมชาติ สาหร่ายมีผลผลิตชีวมวล  $0.66 \pm 0.03$  กรัมต่อลิตร ไขมัน  $27.81 \pm 0.09$  เปอร์เซ็นต์ และจากการนำมาเพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการแบบไม่ควบคุมแสง อุณหภูมิให้อากาศปกติ สาหร่ายมีผลผลิตชีวมวล  $0.12 \pm 0.01$  กรัมต่อลิตร ไขมัน  $20.66 \pm 0.44$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเพาะเลี้ยงในระบบ closed-photobioreactor สามแบบคือ แบบกะ แบบต่อเนื่อง และแบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่าการเพาะเลี้ยงแบบกะให้ผลผลิตชีวมวลสูงที่สุดคือ  $6.85 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตร ส่วนการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องให้ปริมาณไขมันและผลผลิตไขมันสูงที่สุดคือ  $45.79 \pm 5.02$  เปอร์เซ็นต์ และ  $15.46 \pm 3.95$  กรัมต่อลิตรต่อวัน ชนิดกรดไขมันที่พบมากที่สุดในสาหร่าย *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในทุกระบบคือ palmitic acid ส่วนเศษสาหร่ายที่เหลือจากการสกัดพบว่ามีโปรตีนสูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ และยังคงมีคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์อยู่ในเซลล์ ซึ่งทำให้สามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์ได้ ซึ่งยังสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ด้วย ส่วนการเปลี่ยนน้ำมันจากสาหร่ายเพื่อผลิตเป็นไบโอดีเซลพบว่าสามารถเปลี่ยนได้ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากผลการศึกษาแสดงให้เห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการบางสภาวะสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตและไขมันได้ซึ่งพบว่าการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องให้ผลผลิตไขมันได้สูงที่สุดโดยมากกว่าการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการถึง 18 เท่า

คำสำคัญ : โบทริโอคอคคัส บราวเนียนี, ไขมัน, กรดไขมัน, ไบโอดีเซล, การเพาะเลี้ยงระบบปิด

**Research Title:** Mass cultivation of *Botryococcus braunii* in photobioreactor for biodiesel production

**Researcher:** Assoc. Prof. Dr. Suneerat Ruangsomboon

**Faculty:** Faculty of Agricultural Technology **Department:** Department of Fisheries Science

## ABSTRACT

The comparison between laboratory and outdoor (closed-photobioreactor) cultivation of green microalga *B. braunii* were studied. The results showed that the biomass of *B. braunii* cultured in laboratory with continuous illumination at 25 °C with ambient air-bubbled was  $0.66 \pm 0.03$  g/l and  $27.81 \pm 0.09$  % of lipid content. The biomass of alga in outdoor cultivation with natural light and temperature was  $0.12 \pm 0.01$  g/l and lipid content  $20.66 \pm 0.44$  %. *B. braunii* cultured in closed-photobioreactor with batch, continuous and semi-continuous showed that the maximum biomass was showed in batch cultivation with  $6.85 \pm 0.05$  g/l. The maximum lipid content and lipid productivity of  $45.79 \pm 5.02$  % and  $15.46 \pm 3.95$  g/l/d were shown in alga cultured as continuous system. Dominant fatty acid content in *B. braunii* cultured in both indoor and outdoor was palmitic. Protein content in residual biomass after lipid extracted was 30 %. The residual biomass also contain chlorophyll and carotenoid, thus this biomass could be used as raw material (protein source) for animal feed which could enhanced immune in animal. Transesterification of lipid using 0.7 M NaOH produced 80% of biodiesel. The results of this study indicated that outdoor cultivation as continuous system of *B. braunii* could increase growth and lipid productivity. Lipid productivity of *B. braunii* in continuous system was 18 times higher than laboratory cultivation.

**Key words:** *Botryococcus braunii*, lipid, fatty acid, biodiesel, closed-photobioreactor

### III

#### กิตติกรรมประกาศ

“การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุนเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557”

รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

ผศ. ดร. ประมวล ศรีกาหลง

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VIII
<b>บทที่ 1 บทนำ.....</b>	<b>1</b>
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 สมมุติฐานงานวิจัย.....	2
1.5 คำสำคัญของการวิจัย.....	2
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
<b>บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม.....</b>	<b>3</b>
2.1 เชื้อเพลิงชีวภาพ.....	3
2.2 การสังเคราะห์กรดไขมันที่พบในสาหร่ายขนาดเล็ก .....	3
2.3 การใช้สาหร่ายเป็นแหล่งไบโอดีเซล.....	5
2.4 ไบโอดีเซล (Biodiesel).....	5
2.5 สาหร่ายและความเหมาะสมในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมัน.....	7
2.6 การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการผลิตน้ำมัน.....	8
2.7 ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก.....	9
2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อกำลังผลิตของสาหร่ายในระบบ photobioreactor. ....	11
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....</b>	<b>16</b>
3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย.....	16
3.2 การเลี้ยงสาหร่ายเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการและนอกห้องปฏิบัติการ.....	18
3.3 การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย.....	18
3.4 หาแนวทางในการใช้เศษสาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมัน .....	18

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	20
4.1 ระบบ horizontal tubular photobioreactor .....	20
4.2 การเลี้ยงสาหร่าย <i>B. braunii</i> ในห้องปฏิบัติการ.....	20
4.3 การเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ.....	28
4.4 การทดลองเลี้ยงในระบบ photobioreactor แบบท่อ .....	37
4.4.1 เพาะเลี้ยงแบบ batch culture.....	37
4.4.2 เพาะเลี้ยงแบบ continuous culture.....	42
4.4.3 เพาะเลี้ยงแบบ semi-continuous culture.....	48
4.4 การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย.....	54
4.5 หาแนวทางในการใช้เศษสาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมัน.....	56
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	58
บรรณานุกรม.....	59
ประวัติผู้เขียน.....	66

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิต ไบโอดีเซล	8
4.1 คุณค่าทางโภชนาการ และ น้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	25
4.2 รงควัตถุของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	26
4.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	26
4.4 กรดไขมันคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของ <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	27
4.5 คุณค่าทางโภชนาการ และ น้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ.....	33
4.6 รงควัตถุของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ.....	33
4.7 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ.....	34
4.8 กรดไขมันคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของ <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ.....	35
4.9 แสดงกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวของ C16-C20 ของ <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ.....	36
4.10 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	40
4.11 ค่ากรดไขมันของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	41
4.12 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	42
4.13 รงควัตถุของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	43
4.14 โภชนาการของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	43
4.15 ค่ากรดไขมันของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	47
4.16 โภชนาการของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	48
4.17 รงควัตถุของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	49

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.18 โภชนาการของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	49
4.19 ค่ากรดไขมันของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	53
4.20 ปริมาณเฉลี่ยคุณค่าทางโภชนาการและรงควัตถุที่ได้จากสาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่ผ่านการสกัดไขมัน.....	56

## VIII

### สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 Transesterification ของน้ำมันเป็น biodiesel (R1-3 คือกลุ่มของไฮโดรคาร์บอน).....	7
2.2 Photobioreactor แบบท่อที่วางขนานกันในแนวนอน.....	9
2.3 การวาง Photobioreactor ในแนวตั้ง.....	10
2.4 การวางในแนวนอนเรียงกันแบบกำแพง (แนวตั้ง) .....	10
2.5 Photobioreactor แบบ airlift แสดงด้านสี่เหลี่ยมมุมฉากซึ่งมีตัวช่วยในการผสมแสง.....	12
2.6 ผลของความเข้มแสงต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	13
2.7 Photobioreactors ในการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก.....	14
3.1 สาหร่าย <i>B. braunii</i> โคโลนีที่เจริญเติบโตเต็มและที่ปล่อยน้ำมันออกนอกโคโลนี.....	16
3.2 สาหร่าย <i>B. braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และการตกตะกอนก่อนเก็บผลผลิต.....	17
3.3 horizontal tubular photobioreactor สำหรับการเพาะเลี้ยง <i>B. braunii</i> .....	19
4.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ....	21
4.2 คลอโรฟิลล์-เอ (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ.....	21
4.3 คลอโรฟิลล์-เอ (mg/g) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ.....	22
4.4 แสดงค่าแคโรทีนอยด์ (mg/L) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ.....	22
4.5 แสดงปริมาณคาร์โบไฮเดรต (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่เพาะเลี้ยง ในห้องปฏิบัติการ.....	23
4.6 คาร์โบไฮเดรต (mg/g) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ.....	23
4.7 แสดงปริมาณโปรตีน (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ.....	24
4.8 แสดงปริมาณโปรตีน (mg/g) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ.....	24
4.9 ปริมาณไขมันคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> KMITL2 ที่ เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	25
4.10 แสดงการเจริญเติบโตโดยวัดจากน้ำหนักแห้ง (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่ เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ.....	29
4.11 คลอโรฟิลล์-เอ (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ...	29
4.12 แสดงค่าแคโรทีนอยด์ (mg/g) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงนอก ห้องปฏิบัติการ.....	30

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.13 คาร์โบไฮเดรต (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ...	30
4.14 คาร์โบไฮเดรต (mg/g) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ..	31
4.15 แสดงค่าโปรตีน (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ.	31
4.16 แสดงค่าโปรตีน (mg/g) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ.	32
4.17 ปริมาณไขมันคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ.....	32
4.18 น้ำหนักแห้ง (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	37
4.19 คลอโรฟิลล์-เอ (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	38
4.20 คลอโรฟิลล์-เอ (mg/g) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	38
4.21 แสดงค่าแคโรทีนอยด์ (mg/L) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	38
4.22 แสดงค่าแคโรทีนอยด์ (mg/g) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	39
4.23 คาร์โบไฮเดรต (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	39
4.24 คาร์โบไฮเดรต (mg/g) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	39
4.25 แสดงค่าโปรตีน (mg/l) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	40
4.26 แสดงค่าโปรตีน (mg/g) ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> ในระบบ photobioreactor.....	40
4.27 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	44
4.28 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	44
4.29 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	44
4.30 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	45
4.31 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	45
4.32 ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	45
4.33 ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	46

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.34 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	46
4.35 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous.....	46
4.36 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	49
4.37 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	50
4.38 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	50
4.39 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	50
4.40 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	51
4.41 ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	51
4.42 ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	51
4.43 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	52
4.44 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>Botryococcus braunii</i> เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous.....	52
4.45 การสกัดน้ำมันจากสาหร่าย <i>B. braunii</i> .....	54
4.46 ปริมาณน้ำมันไบโอดีเซล (ด้านบนของหลอด) และกลีเซอริน (ด้านล่างของหลอด).....	55
4.47 ลักษณะน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากไขมันของสาหร่าย.....	55
4.48 คลอโรฟิลล์สกัดได้จากเซลล์หลังสกัดน้ำมัน.....	57
4.49 แคโรทีนอยด์สกัดได้จากเซลล์หลังสกัดน้ำมัน.....	57
4.50 โปรตีนสกัดได้จากเซลล์หลังสกัดน้ำมัน.....	57

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สาหร่ายขนาดเล็กเป็นทางเลือกในการนำมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลในปัจจุบัน เพื่อทดแทนแหล่งไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มซึ่งเป็นวัตถุดิบที่เป็นแหล่งอาหารของมนุษย์ เพราะสาหร่ายไม่ใช่พืชอาหาร (non-food crop) และยังเป็นทางเลือกของแหล่งพลังงานทดแทนที่ดีกว่าน้ำมันปิโตรเลียมเพราะไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม เพราะสาหร่ายขนาดเล็กมีการดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ดังนั้นแม้จะเกิดคาร์บอนไดออกไซด์จากการเผาไหม้ไบโอดีเซลที่ผลิตจากสาหร่าย ก็จัดเป็นสมดุลกับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกดึงไปใช้ระหว่างการเจริญเติบโต ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าไบโอดีเซลจากสาหร่ายไม่เพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ให้กับสิ่งแวดล้อม และไม่ส่งผลให้เกิดภาวะโลกร้อน สาหร่ายขนาดเล็กมีข้อดีเหนือสุดคือสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย มีวัฏจักรชีวิตที่สั้นเพียง 1-2 สัปดาห์ก็สามารถเก็บผลผลิตเพื่อนำมาสกัดน้ำมันได้

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อเป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพนั้นต้องได้ผลผลิตสาหร่ายต่อพื้นที่สูงที่สุดและใช้ต้นทุนต่ำ ซึ่งเทคนิคที่สำคัญคือการเลือกระบบเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม ซึ่งระบบปิด (closed photobioreactor) เป็นวิธีที่ดีกว่าระบบเปิด (open pond) เพราะสามารถควบคุมสภาวะในการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสม และป้องกันการปนเปื้อนของสาหร่ายอื่นได้ ระบบเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุดสำหรับสาหร่ายแต่ละชนิดนั้นแตกต่างกัน ขึ้นกับประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงและความสามารถในการเจริญเติบโตของสาหร่ายแต่ละชนิด

สาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถผลิตน้ำมันได้มากที่สุดคือสาหร่ายสีเขียวชนิด *Botryococcus braunii* ซึ่งผลิตน้ำมันได้ 25-75 % แต่การเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้นอกห้องปฏิบัติการในระบบเปิดนั้นเพาะเลี้ยงได้ยาก โดยมักมีปัญหาการปนเปื้อนของสาหร่ายชนิดอื่นเข้ามาแทนที่สาหร่ายนี้ ซึ่งวิธีการแก้ไขคือควรทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้ในระบบปิดหรือใน photobioreactor ซึ่งการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระบบ photobioreactor ให้ผลผลิตสาหร่ายมากกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบเปิดที่มีปริมาตรน้ำเท่ากันถึง 2 เท่า และไม่มีปัญหาด้านการปนเปื้อนของสาหร่ายชนิดอื่นในการเพาะเลี้ยง แต่ปัญหาของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบ photobioreactor คือ ระหว่างการเพาะเลี้ยงค่าพีเอชและปริมาณออกซิเจนที่เกิดขึ้นจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจะมีการเพิ่มสูงจนอาจเป็นอันตรายต่อสาหร่าย ดังนั้นจึงต้องมีการออกแบบระบบให้สามารถควบคุมระดับพีเอช และออกซิเจนในระบบให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อสาหร่ายชนิดที่ทำการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการออกแบบระบบให้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายมากที่สุด เช่น แสง ธาตุอาหาร คาร์บอนไดออกไซด์ และอุณหภูมิ ซึ่งสาหร่ายแต่ละชนิดมีสภาวะที่เหมาะสมแตกต่างกัน

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบระบบ photobioreactor ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำมันชนิด *Botryococcus braunii* (strain KMITL 2 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผู้วิจัยแยกสายพันธุ์ได้ เอง) ให้ได้ผลผลิตสูงที่สุด โดยออกแบบระบบให้มีการหมุนเวียนของน้ำ ปริมาณสารอาหาร พีเอช คาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสม และสามารถควบคุมการกำจัดออกซิเจนส่วนเกินออกจากระบบ และทำการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงได้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษารูปแบบของการควบคุมระบบ (อาหาร, อุณหภูมิ, แสง, พีเอช, คาร์บอนไดออกไซด์, ออกซิเจน) และขนาด photobioreactor ที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii*

1.2.2 ศึกษารูปแบบการเลี้ยงสาหร่าย (เก็บเกี่ยวครั้งเดียว, ต่อเนื่อง, กึ่งต่อเนื่อง) ที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่าย โดยทำให้สาหร่ายมีผลผลิตไขมันสูงสุด

1.2.3 ผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงจากระบบ photobioreactor

1.2.4 ศึกษาแนวทางการนำเศษเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมันมาใช้ประโยชน์ด้านอื่น (เชื้อเพลิงประเภทอื่น, แหล่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ, อาหารสัตว์ ฯลฯ)

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

สร้างระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบ photobioreactor ขนาดความจุไม่น้อยกว่า 1000 ลิตร และทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* โดยหาวิธีทำการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ของระบบให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ไม่เป็นอันตรายต่อสาหร่าย และหารูปแบบการเลี้ยงที่สาหร่ายให้ผลผลิตไขมันสูงสุด จากนั้นทำการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย

## 1.4 สมมุติฐานงานวิจัย

สาหร่าย *Botryococcus braunii* เป็นสาหร่ายที่ผลิตน้ำมันได้สูงจนได้ชื่อเรียกว่า “สาหร่ายน้ำมัน” ได้รับการยอมรับจากนักวิจัยทั่วโลกว่ามีความเหมาะสมในการนำมาผลิตน้ำมันไบโอดีเซลมากที่สุด แต่ปัญหาที่พบคือสาหร่ายชนิดนี้เพาะเลี้ยงในระบบเปิดได้ยาก ต้องทำการเพาะเลี้ยงในระบบปิดจึงจะได้ผลผลิตที่ดี และสายพันธุ์ของแต่ละประเทศมีความต้องการสภาวะในการเพาะเลี้ยงไม่เหมือนกัน จึงควรทำการหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมของสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยเอง

## 1.5 คำสำคัญของการวิจัย

โบทริโอคอคคัส บราวน์, ไขมัน, กรดไขมัน, ไบโอดีเซล, การเพาะเลี้ยงระบบปิด  
*Botryococcus braunii*, lipid, fatty acid, biodiesel, closed-photobioreactor

## 1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

### 1.6.1 ด้านวิชาการ

เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยสำหรับนักวิจัยท่านอื่น ๆ ต่อไปทางด้าน สาหร่ายวิทยา การผลิตน้ำมันจากสาหร่าย การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิด

### 1.6.2 ด้านเศรษฐกิจ/พาณิชย์

ได้ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบ closed-photobioreactor ที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* และสามารถเผยแพร่ระบบและปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสมให้กับผู้ที่สนใจในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนี้ได้

1.6.3 อื่น ๆ สามารถผลิตบัณฑิต ให้เป็นนักวิจัยที่มีความรู้ด้านการเพาะเลี้ยงสาหร่าย การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย

## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 เชื้อเพลิงชีวภาพ

การเพิ่มขึ้นของประชากร และการพัฒนาทางเศรษฐกิจ ทำให้มีความต้องการในการใช้พลังงาน และแหล่งอาหารโดยรวมเพิ่มขึ้น แหล่งพลังงานจากถ่านหิน น้ำมันปิโตรเลียม เป็นแหล่งพลังงานที่มีปริมาณจำกัด มีความผันแปรของราคาสูง และการเผาไหม้แหล่งพลังงานเหล่านี้ ยังมีผลต่อการเกิดภาวะเรือนกระจก (green house gases) เนื่องจากมีการปล่อย CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> และ NO<sub>x</sub> ปัจจุบันแหล่งพลังงานทางเลือกได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก และมีหลายทางเลือกทั้งพลังงานนิวเคลียร์ แสงอาทิตย์ ไฮโดรเจน ลม และ biofuels (Patil, 2008) โดย biofuel เป็นพลังงานที่ได้จากสิ่งมีชีวิต อาจอยู่ในรูปของแข็ง ของเหลว หรือแก๊ส

ได้มีการใช้ biofuel มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 โดยได้มาจากผลผลิตทางการเกษตร แต่ในช่วงต้น ศตวรรษที่ 20 เมื่อน้ำมันปิโตรเลียมราคาถูกลง ความนิยมใน biofuel จึงลดลง แต่หลังจากนั้นก็ได้รับความสนใจอีกครั้งเพราะต้องการแก้ปัญหาเรื่องโลกร้อนจากภาวะเรือนกระจกและปัญหาจากราคาที่ผันผวนของปิโตรเลียม ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการหันมาเลือกใช้วัตถุดิบทางการเกษตรเป็นแหล่งผลิต biofuel แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลผลิตทางการเกษตรมาเป็นวัตถุดิบในการผลิต biofuel นั้นได้รับการวิพากษ์วิจารณ์ในหลายด้าน ทั้งด้านการใช้พื้นที่ปริมาณมากในการปลูกพืชรวมทั้งผลิตผลหลายชนิดเช่นปาล์ม น้ำมัน อ้อย ข้าวโพด นั้น เดิมล้วนใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์หรืออาหารสำหรับมนุษย์ เมื่อวัตถุดิบจำนวนมากถูกเปลี่ยนไปเป็น biofuel แทน จึงทำให้ราคาของผลิตภัณฑ์สำหรับการบริโภคของมนุษย์สูงขึ้น นอกจากนี้แม้ในทางสิ่งแวดล้อม biofuel จะทำให้อากาศสะอาดขึ้นเมื่อเทียบกับควันการเผาไหม้จากน้ำมันธรรมดา แต่กระแสด้าน biofuel คือการเป็นห่วงความสิ้นเปลืองของการใช้พืชเกษตรที่อาจต้องตัดไม้ทำลายป่าเพิ่มขึ้นมาก เพื่อหาที่เพาะปลูกสมบูรณ์พอเพียง

#### 2.2. การสังเคราะห์กรดไขมันที่พบในสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายขนาดเล็กสามารถผลิตน้ำมันเป็นอาหารสะสมภายในเซลล์ได้โดยเกิดขึ้นในกรณีที่สาหร่ายเกิดความเครียด เช่น ภาวะขาดธาตุไนโตรเจนในอาหาร เมื่อเกิดความเครียดจากสภาวะแวดล้อมดังกล่าว สาหร่ายจะมีกลไกภายในเซลล์โดยเปลี่ยนอาหารสะสมจากแป้งเป็นน้ำมันและสะสมในส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ (Cytosol) โดยการทำงานของกระบวนการนี้ต้องอาศัย Organell 2 ตัวคือ คลอโรพลาสต์และไมโทคอนเดรีย โดยที่คลอโรพลาสต์ทำหน้าที่สร้างน้ำตาล G-3-P (Glycerol-3-phosphate) จากกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยผ่านขั้นตอนต่างๆ ได้แก่ การถ่ายอิเล็กตรอน กระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และวัฏจักรเควิน ส่วนไมโทคอนเดรียจะเปลี่ยนน้ำตาล G-3-P (Glycerol-3-phosphate) เป็น อะซิติล-โคเอ (Acetyl CoA) ซึ่งเปรียบเสมือนสารตั้งต้นของการสังเคราะห์กรดไขมันโดยมีสารทำงานร่วมคือ NADPH<sup>+</sup> เมื่อเกิดการสร้างกรดไขมันภายในเซลล์กรดไขมันดังกล่าวจะรวมตัวกับ G-3-P (Glycerol-3-phosphate) ซึ่งทำหน้าที่เป็นแกนกลางสำหรับการสร้าง Triacylglycerol (TAG, Triglyceride) ซึ่งเป็นสารเคมีที่สามารถเป็นไปเป็นเชื้อเพลิง Biodiesel ที่แท้จริงได้ (Zeng et al., 2011)

กรดไขมันเป็นสารอินทรีย์ประเภทหนึ่งซึ่งกรดไขมันสามารถแบ่งออกได้ 2 ประเภทคือ กรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว กรดไขมันอิ่มตัว(Saturated fatty acid) คือ กรดไขมันที่พันธะระหว่างคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลเป็นพันธะเดี่ยว และไม่สามารถรับไฮโดรเจนได้อีก มีสูตรทั่วไปเป็น  $C_nH_{2n}O_2$  มีความเสถียร ไม่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ทำให้ไม่เกิดการเหม็นหืนจากออกซิเจน (lipid oxidation) และ กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันที่มีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนอะตอมในโมเลกุล 1 พันธะหรือมากกว่า โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวแบ่งออกได้ 2 ประเภท คือ Monounsaturated fatty acid เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่งและ Polyunsaturated fatty acid เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป

กรดไขมันและTriacylglyceral เป็นสารที่เซลล์สาหร่ายสามารถสร้างโดยกลไกและกระบวนการสังเคราะห์ซึ่งกลไกต่างๆแสดงในภาพที่ และ จากการศึกษาของ Hu et al. (2008) ได้อธิบายกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันในเซลล์สาหร่ายได้ โดยเริ่มต้นสารตั้งต้นคือ Acetyl-CoA ซึ่งเป็นสารที่ได้มาจากการไมโทคอนเดรียภายในเซลล์ ซึ่ง Acetyl-CoAจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยการกระตุ้นของเอนไซม์หลายชนิดได้แก่

1. Acetyl-CoA carboxylase (ACC ase)
2. Malonyl CoA:ACP transferase
3. 3- ketoacyl ACP reductase
4. 3- hydroxyacyl ACP dehydrase
5. Enoyl ACP reductase

สุดท้ายผลผลิตที่ได้จากกระบวนการดังกล่าวจะได้กรดไขมันที่มีคาร์บอน 18 อะตอมและไม่มีพันธะคู่ในโมเลกุลซึ่ง กลไกทั้งหมดส่วนมากเกิดขึ้นที่คลอโรพลาสต์ของเซลล์สาหร่าย แต่ในความเป็นจริงแล้วเมื่อทำการวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันของสาหร่ายขนาดเล็กพบว่ามีกรดไขมันมีคาร์บอนมากกว่า 18 อะตอม อีกทั้งยังมีกรดไขมันที่เป็นพันธะคู่หลากหลายชนิด จากการศึกษาของ Guschina and Harwood (2006) ได้อธิบายได้ว่าสาหร่ายขนาดเล็กสามารถกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนมากกว่า 18 อะตอมและทำให้เกิดพันธะคู่ได้จากกระบวนการ Elongation และกระบวนการ Desaturation โดยกระบวนการ Elongation คือ กระบวนการเติมอะตอมของคาร์บอนลงไปทีละ 2 อะตอมเพื่อให้สายของกรดไขมันมีโมเลกุลยาวมากขึ้นสารที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งให้อะตอมของคาร์บอนในโมเลกุลกรดไขมันคือ Malonyl-ACP (Hu et al., 2008) ส่วนกระบวนการ Desaturation คือ กระบวนการที่ทำให้เกิดพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันโดยดึงอะตอมของไฮโดรเจนออกจากโมเลกุลจากภาพที่ กรดไขมัน C18:0ผ่านกระบวนการกระบวนการ Elongation และกระบวนการ Desaturationโดยมีการเติมคาร์บอน 4 อะตอมและทำให้เกิดพันธะคู่ที่ 6 ตำแหน่งซึ่งอยู่ ณ คาร์บอนอะตอมที่ 4,7,10,13,16,19 ตามลำดับ ผลสุดท้ายเมื่อผ่านขั้นตอนต่างๆที่กล่าวมาสาหร่ายขนาดเล็กจะสามารถสร้างกรดไขมันอะราซิโดอิก(C22:6n-4) เพื่อนำไปรวมตัวกับสารอื่นๆภายในเซลล์เพื่อทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่เซลล์ต้องการซึ่งหนึ่งในผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและนับว่ามีความสำคัญมากต่อการผลิตไบโอดีเซลล์จากสาหร่ายขนาดเล็กคือ Triacylglyceral

กรดไขมันที่พบในสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละชนิดสร้างขึ้นภายในเซลล์ มีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติของ ไบโอดีเซลที่ผลิตจากสาหร่ายขนาดเล็ก จากการศึกษาของ Moazami et al. (2011) ได้กล่าวไว้ว่าสาหร่ายที่มีปริมาณกรดไขมันโอเลอิก (C18:0) ในเซลล์สูงจะส่งผลทำให้ไบโอดีเซลมีความเหมาะสมในแง่เชื้อเพลิงสำหรับการคมนาคม เนื่องจากกรดไขมันโอเลอิกจะช่วยเพิ่มความสามารถ

การต่อต้านการทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (Oxidative stability) ซึ่งจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของไบโอดีเซล นอกจากนี้ยังช่วยลดค่า จุดอุดตันไส้กรองที่อุณหภูมิต่ำ (Cold filter plugging point, CFPP) ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้งานไบโอดีเซลในพื้นที่ที่เป็นเขตหนาว ทำให้ไบโอดีเซลที่ผลิตจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถใช้งานในวงกว้างได้มากขึ้น มากยิ่งกว่านั้นปริมาณและชนิดของกรดไขมันในสาหร่ายขนาดเล็กยังส่งผลต่อ จุดหลอมเหลว ค่าความหนืด ค่าซีเทน ซึ่งเป็นค่าที่ใช้บอกคุณภาพของไบโอดีเซลอีกด้วย ในเชิงพาณิชย์การผลิตไบโอดีเซลมีข้อระบุไว้ว่ากรดไขมันในสาหร่ายขนาดเล็กไม่ควรมีพันธะคู่ในสายเกินกว่า 4 ตำแหน่ง เพื่อความเสถียรของน้ำมันดีเซล ดังนั้นหากทราบว่าสาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มหรือชนิดใดเป็นองค์ประกอบกรดไขมันหลักเป็นตัวใดจะสามารถทำให้ผู้ผลิต ผลิตไบโอดีเซลได้ง่ายมากขึ้น

### 2.3 การใช้สาหร่ายเป็นแหล่งไบโอดีเซล

การเพิ่มขึ้นของประชากร และการพัฒนาทางเศรษฐกิจ ทำให้มีความต้องการในการใช้พลังงาน และแหล่งอาหารโดยรวมเพิ่มขึ้น แหล่งพลังงานจากถ่านหิน น้ำมันปิโตรเลียม เป็นแหล่งพลังงานที่มีปริมาณจำกัด มีความผันแปรของราคาสูง และการเผาไหม้แหล่งพลังงานเหล่านี้ ยังมีผลต่อการเกิดภาวะเรือนกระจก (green house gases) เนื่องจากมีการปล่อย CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> และ NO<sub>x</sub> ปัจจุบันแหล่งพลังงานทางเลือกได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก และมีหลายทางเลือกทั้งพลังงานนิวเคลียร์ แสงอาทิตย์ ไฮโดรเจน ลม และ biofuels (Patil, 2008) โดย biofuel เป็นพลังงานที่ได้จากสิ่งมีชีวิต อาจอยู่ในรูปของแข็ง ของเหลว หรือแก๊ส

ได้มีการใช้ biofuel มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 โดยได้มาจากผลิตผลทางการเกษตร แต่ในช่วงต้น ศตวรรษที่ 20 เมื่อน้ำมันปิโตรเลียมราคาถูกลง ความนิยมใน biofuel จึงลดลง แต่หลังจากนั้นก็ได้รับความนิยมอีกครั้งเพราะต้องการแก้ปัญหาเรื่องโลกร้อนจากภาวะเรือนกระจกและปัญหาจากราคาที่ผันผวนของปิโตรเลียม ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการหันมาเลือกใช้วัตถุดิบทางการเกษตรเป็นแหล่งผลิต biofuel แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลิตผลทางการเกษตรมาเป็นวัตถุดิบในการผลิต biofuel นั้นได้รับการวิพากษ์วิจารณ์ในหลายด้าน ทั้งด้านการใช้พื้นที่ปริมาณมากในการปลูกพืช รวมทั้งผลิตผลหลายชนิดเช่น ปาล์ม น้ำมัน อ้อย ข้าวโพด นั้น เดิมล้วนใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์หรืออาหารสำหรับมนุษย์ เมื่อวัตถุดิบจำนวนมากถูกเปลี่ยนไปเป็น biofuel แทน จึงทำให้ราคาของผลิตภัณฑ์สำหรับการบริโภคของมนุษย์สูงขึ้น นอกจากนี้แม้ในทางสิ่งแวดล้อม biofuel จะทำให้อากาศสะอาดขึ้นเมื่อเทียบกับควันการเผาไหม้จากน้ำมันธรรมดา แต่กระแสด้าน biofuel คือการเป็นห่วงความสิ้นเปลืองของการใช้พืชเกษตรที่อาจต้องตัดไม้ทำลายป่าเพิ่มขึ้นมาก เพื่อหาที่เพาะปลูกสมบูรณ์พอเพียง

### 2.4 ไบโอดีเซล (Biodiesel)

Biodiesel เป็นประเภทหนึ่งของ biofuel ซึ่งอยู่ในรูปของเหลว ในระดับอุตสาหกรรม การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลเป็นการนำน้ำมันพืชและไขมันสัตว์ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นไตรกลีเซอไรด์และแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ เช่น เอทานอลหรือเมทานอล ในปริมาณที่มากมาทำปฏิกิริยาเคมีทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) โดยใช้กรดหรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อเกิดการรวมพันธะของไตรกลีเซอไรด์และแอลกอฮอล์ เปลี่ยนวัตถุดิบตั้งต้นไปเป็นเอทิลเอสเทอร์ (FAEs) หรือเมทิลเอสเทอร์ (FAMES) และมีกลีเซอรินเป็นผลพลอยได้ ซึ่งเอสเทอร์มีคุณสมบัติที่เหมือนกับน้ำมัน

ดีเซลมากที่สุด ข้อดีคือค่าซีเทน (cetane ค่าดัชนีการจุดติดไฟ) สูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้ติดเครื่องดี การสันดาปสมบูรณ์ เกิดคาร์บอนมอนอกไซด์น้อย ไม่มีควันดำและซัลเฟอร์ไดออกไซด์ สามารถใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้โดยตรงไม่มีผลกระทบต่อเครื่องยนต์ในระยะยาว ส่วนกลีเซอรินที่ได้จากการผลิต ถือเป็นผลพลอยได้ใช้เป็นวัตถุดิบ สำหรับอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง น้ำมันหล่อลื่น ฯลฯ

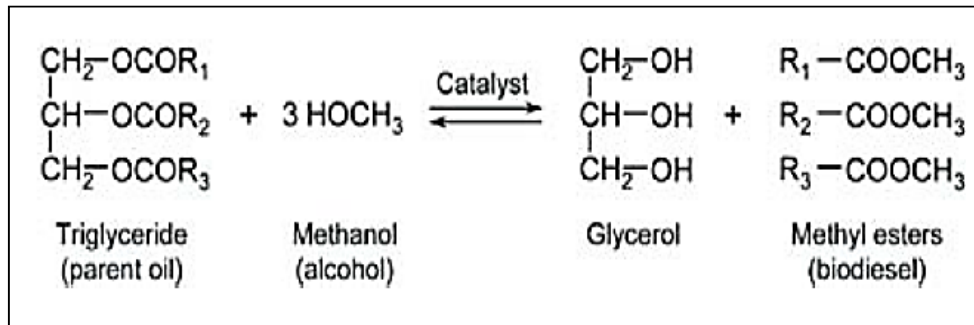
biodiesel เป็นแหล่งพลังงานที่ได้รับความนิยมและมีความสำคัญเพิ่มขึ้น ในปัจจุบันการหันมาเลือกใช้วัตถุดิบที่ไม่ใช่อาหารสำหรับมนุษย์ในการผลิต biodiesel ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก โดยสาหร่ายได้รับความนิยมอย่างยิ่งในการนำมาเป็นทางเลือกแทนพืชที่เป็นแหล่งอาหารเช่น ถั่วเหลือง ปาล์ม และคาโนลา เพราะทำให้ไม่กระทบต่อแหล่งอาหารมนุษย์ และเป็นแหล่งพลังงานที่มีความปลอดภัย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดยังมีปริมาณน้ำมันที่สูงมาก และน้ำมันจากสาหร่ายสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย นอกจากนี้ข้อดีของสาหร่ายคือสามารถกำจัด ฟอสฟอรัส ไนโตรเจนจากน้ำเสีย และสามารถกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์จึงช่วยแก้ปัญหาภาวะเรือนกระจกได้ (Antoni et al., 2007, Chisti, 2008; Huang et al., 2010)

แต่สิ่งที่เป็นประเด็นสำคัญในการนำสาหร่ายมาใช้เป็นแหล่งน้ำมันคือ ต้องเลือกสายพันธุ์สาหร่ายให้เหมาะสม คือให้ปริมาณน้ำมันได้สูงที่สุดและมีการเจริญเติบโตที่สูงด้วย หลังจากนั้นคือต้องพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงให้ใช้ต้นทุนต่ำ และพัฒนาวิธีการเก็บผลผลิตให้ง่าย ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการที่จะนำสาหร่ายมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลได้สำเร็จ

ซึ่งประเด็นเหล่านี้ไม่ใช่สิ่งที่ยุ่งยาก ซับซ้อนจนเกินไป โดยพบว่านักวิทยาศาสตร์สหรัฐอเมริกาได้มีการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่สามารถนำมาผลิตเป็น biodiesel ได้ในเชิงพาณิชย์ได้สำเร็จ และเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อกักน้ำเสียโรงงาน เนื่องจากมีฟอสเฟต และไนเตรทปนเปื้อนอยู่ สารทั้งสองชนิดมีผลเสียต่อแม่น้ำ ลำคลอง แต่กลับเป็นปุ๋ยที่ดีสำหรับทำฟาร์มสาหร่าย จึงมีการทำฟาร์มสาหร่ายใกล้กับโรงบำบัดเสีย และพบว่าการใช้ไขมันจากสาหร่ายเป็นไบโอดีเซลสามารถนำมาใช้ได้กับรถเครื่องยนต์ดีเซล และเครื่องบินไอพ่นได้ (<http://scinaction>)

โดยการผลิต biodiesel จากสาหร่ายขนาดเล็กต้องมีการควบคุมมาตรฐานของน้ำมันที่ได้ให้เป็นไปตามเกณฑ์ที่แตกต่างกันไปในแต่ละทวีป เช่นมาตรฐานในสหรัฐอเมริกา คือ ASTM Biodiesel Standard D6751 สำหรับในยุโรปแยกมาตรฐานที่ใช้สำหรับยานพาหนะ (Standard EN 14214) และใช้สำหรับหุงต้ม (Standard 14213) น้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กค่อนข้างมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวสูง ที่มี 4 พันธะคู่หรือมากกว่า ตัวอย่าง กรด eicosapentaenoic (EPA C20: 5n-3; 5 พันธะคู่) และ กรด docosahexaenoic (DHA C22: 6n-3; 6 พันธะคู่) ซึ่งพบได้โดยทั่วไปในน้ำมันจากสาหร่าย กรดไขมัน methyl esters (FAME) ที่มีพันธะคู่ 4 หรือมากกว่า โดยแหล่งกำเนิดของน้ำมันที่ใช้ทำ biodiesel ประกอบด้วย triglycerides (ภาพที่ 2.1) ประกอบด้วยกรดไขมัน 3 โมเลกุลที่ทำพันธะ ester กับโมเลกุลของ glycerol ในการทำ biodiesel นั้นโดย triglycerides จะทำปฏิกิริยากับ methanol เรียกปฏิกิริยา transesterification หรือ alcoholysis ปฏิกิริยานี้จะผลิต methyl esters ของกรดไขมันซึ่งเป็น biodiesel และ glycerol ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นขั้นตอนดังนี้ อันดับแรก triglycerides จะเปลี่ยนเป็น diglycerides หลังจากนั้นเป็น monoglycerides และสุดท้ายจะได้ glycerol ซึ่งปฏิกิริยา transesterification ต้องการ alcohol 3 โมเลกุลในแต่ละโมเลกุลของ triglycerides เพื่อผลิต glycerol 1 โมเลกุล และ 3 โมเลกุลของ methyl esters ปฏิกิริยาจะสมดุล พบว่าในอุตสาหกรรมการผลิตจะใช้ methanol 6 โมเลกุล ในแต่ละโมเลกุลของ triglycerides ซึ่งเป็นการใช้ methanol ที่มากเกินไปเพื่อความแน่ใจในการเกิดปฏิกิริยาในการ

เปลี่ยนเป็น methyl esters เพื่อเป็น biodiesel ผลผลิตของ methyl esters จะสูงถึง 98 % ต่อ น้ำหนักมาตรฐาน (Chisti, 2007)



ภาพที่ 2.1 Transesterification ของน้ำมันเป็น biodiesel (R1-3 คือกลุ่มของไฮโดรคาร์บอน)  
ที่มา : Chisti (2007)

นอกจากนี้ชีวมวลของสาหร่ายยังมีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและสารอาหารอื่นๆ สูง ดังนั้นชีวมวลดังกล่าวเมื่อนำมาผลิต biodiesel แล้ว เศษของชีวมวลยังนำไปสกัดผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงอื่นๆ เช่น สารสี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แล้วนำส่วนที่เหลือไปผลิตพลังงานอื่นเช่น มีเทน หรือนำไปทำอาหารสัตว์ได้ด้วย ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กที่ใช่ว่ามีอะไรเป็นองค์ประกอบบ้าง (Chisti, 2007)

### 2.5 สาหร่ายและความเหมาะสมในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมัน

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสามารถทำได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อยกว่าพืชทั่วไป โดยเมื่อเทียบกับพื้นที่ 1 เฮกเตอร์ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถให้น้ำมันได้มากถึง 58,700-136,900 ลิตร ซึ่งมากกว่าน้ำมันปาล์มที่ให้น้ำมันได้ 5950 ลิตร (Chisti, 2007) นอกจากนี้ยังสามารถใช้น้ำทิ้งจากแหล่งต่าง ๆ เช่น ของเสียจากธุรกิจปศุสัตว์ เช่น จากฟาร์มสุกร หรือจากน้ำตาล มาใช้เป็นสารอาหารในการเพาะเลี้ยง (Mulbry et al., 2008) และใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ในระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเร่งการเจริญเติบโต จึงทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำ นอกจากนี้ยังช่วยแก้ปัญหาการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ของโรงงานอุตสาหกรรมได้ด้วย โดยจากการทดลองในระบบปิดพบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสามารถลดปริมาณก๊าซเรือนกระจกได้มากถึง 82% (Scott et al., 2010)

สาหร่ายให้ผลผลิตน้ำมันมากกว่าพืชหลายชนิด (ตารางที่ 2.4) โดยพบว่าหากสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณน้ำมันในเซลล์ที่ร้อยละ 30 น้ำหนักแห้ง สามารถให้น้ำมันได้ถึง 58,700 ลิตรต่อเฮกเตอร์ต่อหนึ่งปี โดยสามารถผลิตไบโอดีเซลได้สูงถึง 51,927 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์ต่อปี ซึ่งสูงกว่าพืชอื่น ทั้งข้าวโพด ปาล์ม ถั่วเหลือง ฯลฯ

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล

ชนิดพืช	ปริมาณน้ำมัน (L oil/ha year)	พื้นที่ที่ต้องการใน การปลูก (M <sup>2</sup> year/kg biodiesel)	การผลิตไบโอดีเซล (kg biodiesel/ha year)
ข้าวโพด	172	66	152
ถั่วเหลือง	636	18	562
คาโนลา (Canola)	974	12	862
สบู่ดำ	741	15	656
ละหุ่ง	1307	9	1156
ทานตะวัน	1070	11	946
ปาล์มน้ำมัน	5,366	2	4,747
คาเมลินา (Camelina sativa)	915	12	809
สาหร่ายขนาดเล็ก (น้ำมัน 30%)	58,700	0.2	51,927
สาหร่ายขนาดเล็ก (น้ำมัน 50%)	97,800	0.1	86,515
สาหร่ายขนาดเล็ก (น้ำมัน 70%)	136,900	0.1	121,104

ที่มา: Mata et al. (2010)

## 2.6 การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการผลิตน้ำมัน

การผลิต biodiesel จากสาหร่าย ทำได้โดยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ได้ปริมาณมาก มีไขมันสูง จากนั้นนำมาสกัดน้ำมันออกจากสาหร่าย ทำการแยกน้ำมันออกจากน้ำตาลที่เป็นอาหารสะสมของสาหร่าย และนำไปเปลี่ยนรูปเป็น biodiesel (Mata et al., 2010) สายพันธุ์สาหร่ายที่จะนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งของน้ำมัน ควรเป็นสายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงง่าย มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว มีปริมาณน้ำมันสูง และง่ายต่อการเก็บเกี่ยว โดยพบรายงานว่าปริมาณน้ำมันและกรดไขมันของสาหร่าย ขึ้นแปรตามปริมาณสารอาหารและสภาวะในการเลี้ยงสาหร่ายด้วย (Khotimchenko and Yakovleva, 2004; Merzlyak et al., 2007; Mulbry et al., 2008; สุณีรัตน์ 2549) โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงสาหร่ายมีหลายปัจจัยด้วยกันได้แก่ ปัจจัยทางกายภาพ เช่น แสง (light) เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของสาหร่าย การเจริญเติบโตอาจถูกยับยั้งหากได้รับแสงมากเกินไป อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่างๆ ของสาหร่าย มีผลต่อโครงสร้างขององค์ประกอบภายในเซลล์โดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน ปัจจัยทางเคมี เป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการ เช่น ไนโตรเจน มีหน้าที่หลักช่วยในการสังเคราะห์แสงสร้างรงควัตถุ ช่วยในกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ สาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะสร้างสารประกอบคาร์บอนขึ้นมามากแทน เช่น สร้างขึ้นมาในรูปของน้ำมัน หรือแป้ง พอสฟอรัส เกี่ยวข้องกับกระบวนการถ่ายทอดพลังงาน ขบวนการสร้างกรดนิวคลีอิกของสาหร่าย ถ้าขาดฟอสฟอรัสทำให้ปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์-เอ RNA, DNA ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินลดลง ส่วนปริมาณแป้งคาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มขึ้น เหล็กช่วยในการดูดซึมไนโตรเจนของสาหร่าย ช่วยในขบวนการสังเคราะห์แสง ช่วยสร้างคลอโรฟิลล์-เอ phycocyanin

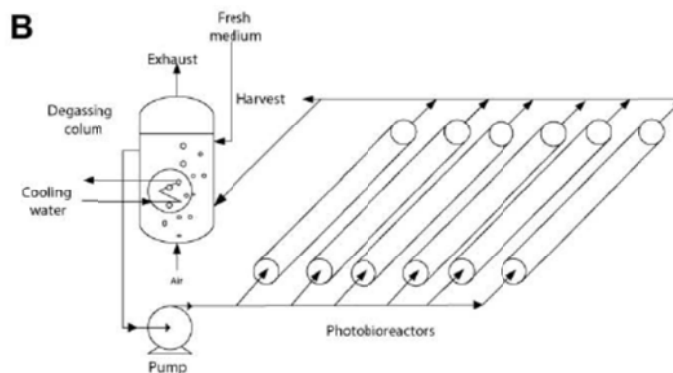
## 2.7 ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อการผลิตเชื้อเพลิง Biodiesel ในปัจจุบันพบว่าสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทหลักๆ ได้แก่ประเภทที่ 1 ระบบปิด (closed systems) เป็นระบบที่เพาะเลี้ยงสาหร่ายภายในตัวอาคารหรือในระบบปิดที่สร้างขึ้น มี 52 % เช่นระบบ Photobioreactor ประเภทที่ 2 คือ ระบบเปิด (open pond) คือระบบที่เพาะเลี้ยงสาหร่ายกลางแจ้ง มีประมาณ 26 % ตัวอย่างเช่นระบบ Raceway ส่วนประเภทที่ 3 คือการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในพื้นที่ธรรมชาติ (natural settings) มี 22 % (Singh and Gu, 2010)

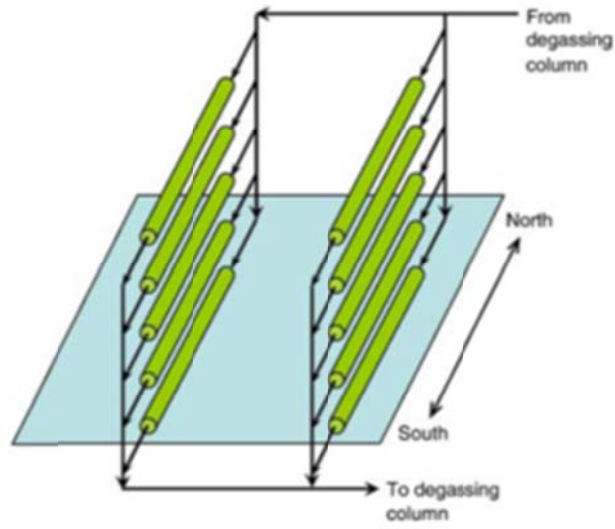
### 2.7.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในท่อเพาะเลี้ยงแบบระบบปิด (photobioreactor)

ระบบ photobioreactor มีความจำเป็นในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียวในระบบ ของสาหร่ายขนาดเล็กเป็นระยะเวลาสั้น ซึ่งระบบนี้ประสบความสำเร็จในการผลิตสาหร่ายขนาดเล็กในปริมาณมาก (Chisti, 2007) photobioreactor มีหลายแบบ เช่น photobioreactor แบบท่อประกอบด้วยการจัดเรียงของท่อโปร่งแสงในแนวนอนหรือแนวตั้ง ท่อส่วนใหญ่ทำจากพลาสติกหรือแก้ว การเรียงของท่อเพื่อให้แสงอาทิตย์สัมผัสได้ทั่วถึง (ภาพที่ 2.2-2.4) ท่อนี้โดยทั่วไปมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 เมตร หรือต่ำกว่า เส้นผ่านศูนย์กลางท่อที่ใหญ่มีข้อจำกัดคือแสงไม่สามารถส่องผ่านได้มากทำให้สาหร่ายโตได้ช้า ระบบนี้มีกระบวนการเลี้ยงเป็นไปอย่างต่อเนื่อง มีการป้องกันการเกิดตะกอนในท่อโดยให้มีอัตราการไหลในท่อสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเครื่องปั๊ม ให้อากาศแบบ airlift และต้องมีช่วงเวลาทำความสะอาดท่อจากสาหร่ายที่เกาะติดท่อ และต้องควบคุมออกซิเจนที่เกิดจากการสังเคราะห์แสง เพราะออกซิเจนที่สูงเกินไปจะยับยั้งการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายได้ ค่าการละลายออกซิเจนสูงสุดที่เซลล์สามารถทนได้โดยทั่วไปต้องไม่เกิน 400 % อิ่มตัวจากอากาศ ออกซิเจนไม่สามารถเคลื่อนย้ายออกจากท่อ photobioreactor ดังนั้นการเพาะเลี้ยงจะต้องมีช่วงนำเข้าสู่บริเวณลดก๊าซ (degassing zone) เป็นการลดฟองอากาศจากการสะสมของออกซิเจน

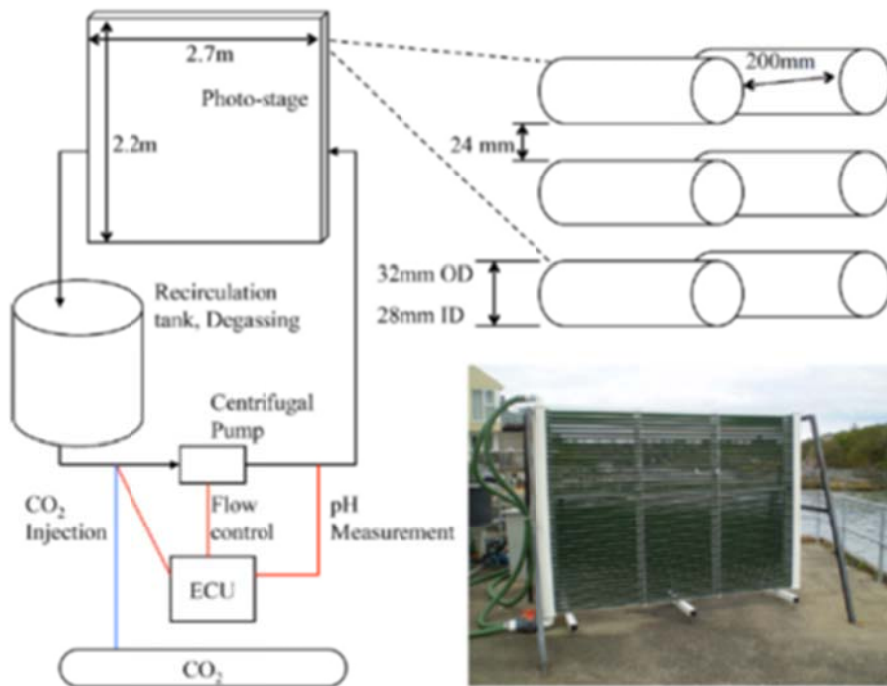
ซึ่งการทดลองของ Hulatt and Thomus, (2011) ได้ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ใน photobioreactor แบบท่อในแนวนอนเรียงขึ้นไปตามแนวกำแพงกลางแจ้งเป็นเวลา 6 เดือนตั้งแต่ช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนกันยายน ซึ่งมีการเติมสารอาหารเป็นปรกติ และมีการควบคุม pH ให้คงที่เท่ากับ 7 แต่ไม่มีการควบคุมในส่วนของเรื่องอุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงพบว่าสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* สามารถให้ผลผลิตและให้ไขมันสูงสุดพบในเดือนมิถุนายน  $14.26 \text{ g/m}^2/\text{d}^1$  และ  $1.90 \text{ g/m}^2/\text{d}$



ภาพที่ 2.2 Photobioreactor แบบท่อที่วางขนานกันในแนวนอน  
ที่มา : Jorquera et al. (2010)



ภาพที่ 2.3 การวาง Photobioreactor ในแนวตั้ง  
ที่มา : Chisti (2007)



ภาพที่ 2.4 การวางในแนวนอนเรียงกันแบบกำแพง (แนวตั้ง)  
ที่มา : Hulatt and Thomus (2011)

## 2.7.2 การเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิดและระบบปิด

การเพาะเลี้ยงระบบเปิด หรือแบบ Raceway มีข้อได้เปรียบเชิงเศรษฐศาสตร์เมื่อเปรียบเทียบกับระบบ Photobioreactor การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบ Raceway มีข้อได้เปรียบเชิงเศรษฐศาสตร์ที่เด่นชัดที่สุดคือเรื่องต้นทุนของการผลิตที่มีต้นทุนในการผลิตที่ราคาต่ำกว่าระบบ Photobioreactor ดังนั้นในการผลิตสาหร่ายเชิงการค้าระบบ Raceway ย่อมทำให้ผลผลิตที่ได้มีราคาขายที่ต่ำกว่า แต่อย่างไรก็ตามข้อเสียเปรียบของระบบ Raceway คือการปนเปื้อนของสาหร่ายชนิดอื่นที่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่ระบบการเลี้ยงเนื่องจากการเลี้ยงสาหร่ายในระบบ Raceway โดยทั่วไปเป็นการเลี้ยงภายนอกอาคาร (Outdoor) ไม่สามารถควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยงให้คงที่ ผลผลิตที่ได้ต่ำกว่าระบบ photobioreactor ส่วนระบบปิดมีข้อดีก็คือ ให้ผลผลิตสูง การปนเปื้อนเกิดได้ยาก ส่วนในเรื่องพื้นที่ที่ต้องการใช้นั้นใกล้เคียงกันในทั้งสองระบบ Chisti (2007) ได้เปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กระหว่างระบบปิดและเปิดที่ใช้ในการผลิตสาหร่ายขนาดเล็กที่ผลิตในรอบปีต่อ 100 ตัน จากทั้ง 2 แบบ ทั้งวิธีการผลิต การใช้คาร์บอนไดออกไซด์ โดยแสดงถึงการผสมผสานที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงและกำลังการผลิตชีวมวลซึ่งคำนึงถึงความเข้มข้นของสาหร่ายที่ผลิตได้จริงในการเลี้ยงแบบขนาดใหญ่ ในรูปแบบของระบบปิดนั้นสามารถผลิตน้ำมันได้สูงกว่าแบบระบบเปิดถึง 13 เท่า

## 2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อกำลังผลิตของสาหร่ายในระบบ photobioreactor

### 2.8.1 แสง อุณหภูมิ:

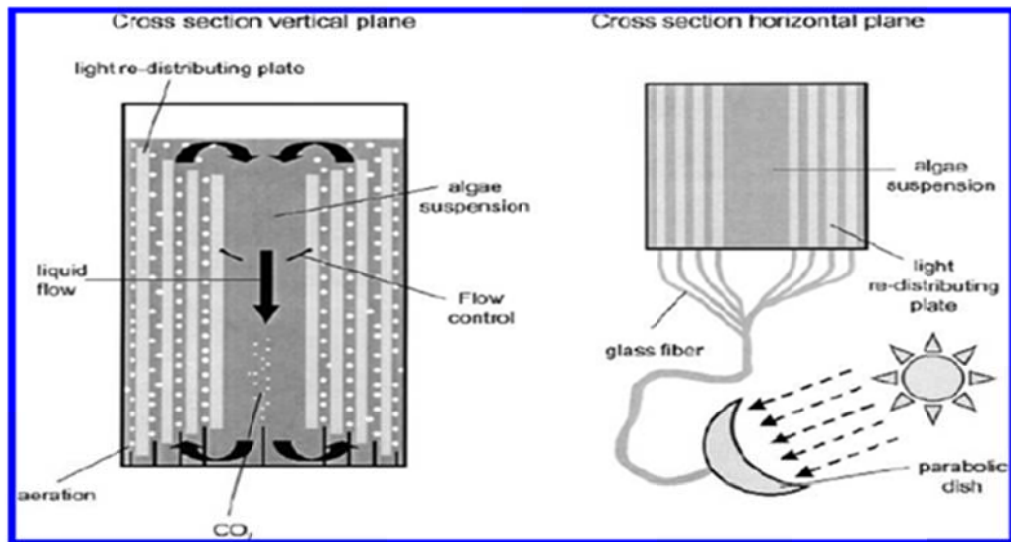
สาหร่ายขนาดเล็กสามารถใช้พลังงานแสงเข้าสู่เซลล์แล้วเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นองค์ประกอบทางชีวเคมีที่สำคัญคือลิพิดผ่านทางขบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งนำไปใช้เป็นน้ำมันทางชีวภาพได้ ดังนั้น Photobioreactor ที่เหมาะสมคือ การเพิ่มความเข้มแสงหรือการส่องผ่านของแสงรวมถึงความยาวคลื่นของแสงและความถี่ของเซลล์ในการสัมผัสแสง โดยการกระจายของรังสีจากแสงอาทิตย์ต่อพื้นที่ผิวในการสังเคราะห์แสงที่เหมาะสมคือลดเงาที่บังกันของเซลล์ในการเพาะเลี้ยงจะทำให้อัตราการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น ดังนั้นหลักในการออกแบบ Photobioreactor คือให้มีพื้นที่ผิวมากที่สุดต่ออัตราส่วนปริมาตร และอาจมีอุปกรณ์ติดตั้งภายในระบบเพื่อช่วยดูดซับแสงและค่อยๆ มีการถ่ายเทปริมาณแสงเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่องและเหมาะสม ความเหมาะสมของปริมาณความเข้มข้นที่สูงสุดโดยปราศจากเงาเซลล์ที่บังกันในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายยังถูกออกแบบตามปัจจัยต่างๆ เพราะบางการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกันเมื่อมีการสัมผัสแสงสีต่างกัน อย่างไรก็ตามในระบบนี้การให้แสงอย่างต่อเนื่องโดยแสงธรรมชาติมีความสามารถในการกระตุ้นมากกว่าในระบบที่มีการให้แสงอย่างต่อเนื่องโดยแสงเทียม (Traveiso et al., 2001; Kunjapur and Eldrige, 2010) แต่แสงที่มากเกินไปจะทำให้ อุณหภูมิสูง แสงและอุณหภูมิอาจทำลายบางส่วนของเซลล์ ดังนั้นความเข้มข้นที่สูงขึ้นอาจลดการเจริญเติบโต (photoinhibit) สาหร่ายขนาดเล็กจะถูกยับยั้งด้วยแสงที่ความเข้มแสงสูง และลดอัตราการเจริญเติบโตลง (Chisti. 2007; Kunjapur and Eldrige. 2010) ดังนั้นแสงต้องถูกควบคุมให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมไม่มาก หรือน้อยเกินไป

Narwade et al. (2011) ออกแบบ Photobioreactor ในการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Spirulina* sp. โดยแสงสีแดงหรือน้ำเงิน จาก LED lamps ในการสังเคราะห์ของสาหร่ายพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในระบบ Photobioreactor โดยคลื่นแสงสีแดง

หรือน้ำเงินเป็นส่วนสำคัญในการกระตุ้นการเจริญเติบโต และความต่อเนื่องในการได้รับแสงอย่างน้อยที่สุด 18 ชั่วโมงต่อวันเป็นเวลาที่เหมาะสมที่สุด

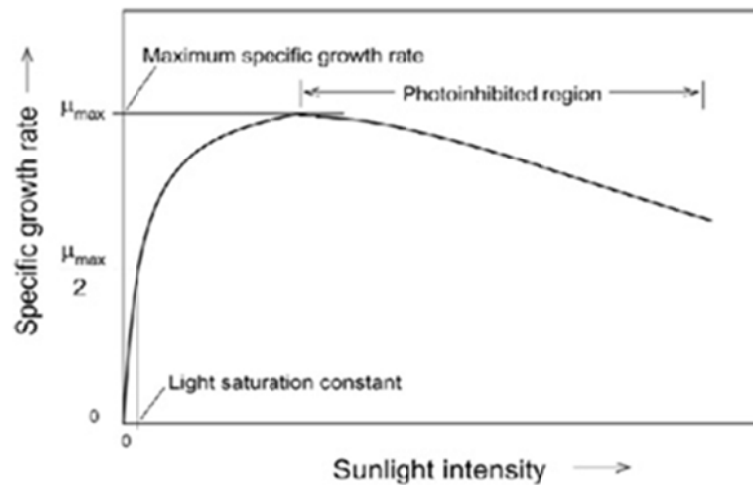
สำหรับรายขนาดเล็กสามารถใช้พลังงานแสงเข้าสู่เซลล์แล้วเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นองค์ประกอบทางชีวเคมีที่สำคัญคือลิพิดผ่านขบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งนำไปใช้เป็นน้ำมันทางชีวภาพได้ ดังนั้น Photobioreactor ที่เหมาะสมคือ การเพิ่มความเข้มแสงหรือการทะลุทะลวงของแสงรวมถึงความยาวคลื่นของแสงและความถี่ของเซลล์ในการสัมผัสแสง โดยการกระจายของรังสีจากแสงอาทิตย์ต่อพื้นที่ผิวในการสังเคราะห์แสงที่เหมาะสมคือลดเงาที่บังกันของเซลล์ในการเพาะเลี้ยงจะทำให้อัตราการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น ดังนั้นหลักในการออกแบบ Photobioreactor ให้พื้นที่ผิวมากที่สุดต่ออัตราส่วนปริมาตร ซึ่งสามารถใช้เปรียบเทียบระหว่างตัวรีแอกเตอร์ นอกจากนี้พื้นที่ผิวและปริมาตร หน่วยทางเรขาคณิตของรีแอกเตอร์มีอิทธิพลในการกระจายแสงในรีแอกเตอร์แบบท่อ ตัวอย่าง การถ่ายเทของแสงในการประเมินเบื้องต้น โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อและความหนาแน่นของเซลล์ในอาหาร ความหนาแน่นของเซลล์ส่งผลถึงความเข้มแสงและการทะลุทะลวงของแสงในการรักษาระดับคงที่ในระบบ และอาจมีอุปกรณ์ติดตั้งภายในระบบเพื่อช่วยดูดซับแสงและค่อยๆ มีการถ่ายเทปริมาณแสงเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่องและเหมาะสม (ภาพที่ 2.5)

ความเหมาะสมของปริมาณความเข้มขั้นที่สูงสุดโดยปราศจากเงาเซลล์ที่บังกันในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายยังถูกออกแบบตามปัจจัยต่างๆ เพราะบางการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกันเมื่อมีการสัมผัสแสงสีต่างกัน อย่างไรก็ตามในระบบนี้ การให้แสงอย่างต่อเนื่องโดยแสงธรรมชาติมีความสามารถในการกระตุ้นมากกว่าในระบบที่มีการให้แสงอย่างต่อเนื่องโดยแสงเทียม (Traveiso et al., 2001; Kunjapur and Eldrige. 2010)



ภาพที่ 2.5 Photobioreactor แบบ airlift แสดงด้านสี่เหลี่ยมมุมฉากซึ่งมีตัวช่วยในการสะสมแสง  
ที่มา : Kunjapur and Eldrige (2010)

การอิ่มตัวด้วยแสง (Light Saturation) เป็นลักษณะที่แสงอิ่มตัวอย่างคงที่ (ภาพที่ 11) ที่ความเข้มแสงระดับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของชีวมวลสูงสุด ( $\mu_{max}$ ) การอิ่มตัวด้วยแสงนี้จะคงที่ต่อสาหร่ายขนาดเล็กแต่ต่ำกว่าแสงอาทิตย์ระดับสูงสุดที่เกิดขึ้นในเที่ยงวัน (midday) การอิ่มตัวด้วยแสงของสาหร่ายขนาดเล็กกลับทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดลง ซึ่งเป็นไปได้ว่าแสงที่มากเกินไปอาจทำลายบางส่วนของเซลล์ ดังนั้นความเข้มแสงที่สูงขึ้นอาจลดการเจริญเติบโต ปรากฏการณ์ดังกล่าวเรียกว่า การถูกยับยั้งด้วยแสง (photoinhibit) สาหร่ายขนาดเล็กจะถูกยับยั้งด้วยแสงที่ความเข้มแสงสูงค่อยๆ ลดอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดลงมา ดังนั้นการถูกยับยั้งด้วยแสงส่งผลต่อการทำลายองค์ประกอบที่ใช้สังเคราะห์แสงที่ระดับแสงที่สูงเกินไป (Chisti. 2007; Kunjapur and Eldrige. 2010)



ภาพที่ 2.6 ผลของความเข้มแสงต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายขนาดเล็ก  
ที่มา : Chisti (2007)

Narwade et al. (2011) ออกแบบ Photobioreactor ในการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Spirulina sp.* ที่มีลักษณะดังภาพที่ 12 ที่มีความยาวคลื่นแสง 20-30 นาโนเมตร โดยแสงสีแดงหรือน้ำเงิน จาก LED lamps ในการสังเคราะห์ของสาหร่าย พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กในครั้งนีสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะ Photobioreactor แต่ต้องเพิ่มแหล่งของแสงเพื่อให้ปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นแหล่งของพลังงานที่สามารถกระตุ้นเมตาบอลิซึมในสาหร่ายขนาดเล็กโดยคุณภาพของคลื่นแสงและระยะเวลาได้รับแสง โดยคลื่นแสงสีแดงหรือน้ำเงินต้องให้เป็นพิเศษในครั้งนี ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการกระตุ้นเพื่อให้คลื่นแสงที่เหมาะสมในการสังเคราะห์แสง และความต่อเนื่องในการได้รับแสงอย่างน้อยที่สุด 18 ชั่วโมงต่อวัน อย่างไรก็ตาม LED มีขนาดเล็กพอเหมาะซึ่งพอดีกับ Photobioreactor



ภาพที่ 2.7 Photobioreactors ในการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก  
ที่มา : Narwade et al. (2011)

### 2.8.2 ปริมาณเซลล์และความเข้มข้นของสารอาหาร

ปริมาณเซลล์และความเข้มข้นของสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กที่เหมาะสมใน Photobioreactor มีผลต่อกำลังผลิตที่สูงที่สุดต่อหน่วย เพราะปริมาณเซลล์และความเข้มข้นของสารอาหารที่สูงหรือต่ำเกินไปอาจทำให้ได้ผลผลิตไม่ดี จากการทดลองของ Traveiso et al. (2001) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Spirulina platensis* ใน Photobioreactor แบบท่อ โดยเติมอาหาร (วันที่ 9 ของการเลี้ยง) ในรีแอกเตอร์โดยใช้อัตราส่วนโดยปริมาตร 1:20, 1:10, 1:5 และ 1:4 ที่อัตราการเจือจาง (Dilution rate, D) คือ 0.0019, 0.0039, 0.0078 และ 0.0117 ต่อชั่วโมง ระยะเวลาในแต่ละขั้นตอนของระดับอัตราการเจือจางคือ 9, 7, 7 และ 7 วัน ตามลำดับ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 28-30 องศาเซลเซียส รวมเวลาการเลี้ยงทั้งหมด 42 วัน พบว่า Photobioreactor แบบท่อมีประสิทธิภาพดีเพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของ *Spirulina platensis* กำลังผลิตของชีวมวลของ Photobioreactor แบบท่อในระบบมีกำลังการผลิตสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.40 กรัมต่อลิตรต่อวัน (8.52 กรัมต่อรีแอกเตอร์ต่อวันหรือ 6.45 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน) ที่ระดับการเจือจาง 1:5 และอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.0078 ต่อชั่วโมง

Henrard et al. (2011) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของ *Cyanobium* sp. ที่เลี้ยงใน Photobioreactor แบบท่อที่ปริมาณเซลล์และความเข้มข้นของสารอาหารที่แตกต่างกัน ปริมาณเซลล์ 0.8, 1.0, 1.2 กรัมต่อลิตร อัตราความเข้มข้นของสารอาหารที่ใส่กลับเข้าไป (renewal rate) 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นของโซเดียมไบคาร์บอเนต ( $\text{NaHCO}_3$ ) ในการผันแปรระหว่าง 0.4, 1.0 และ 1.6 กรัมต่อลิตร ภายใต้ความเข้มแสง 3200 ลักซ์ ได้รับแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน เก็บเซลล์ทุกวันหน้าหนึ่งหน้าหนึ่ง เป็นเวลา 57 วัน พบว่าสาหร่ายขนาดเล็ก *Cyanobium* sp. มีการตอบสนองการเปลี่ยนแปลงที่ดีที่สุดเมื่อไบคาร์บอเนตเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร ปริมาณเซลล์ 1.0 กรัมต่อลิตร และอัตราความเข้มข้นสารอาหารที่ใส่กลับเข้าไป 30 หรือ 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้สภาวะดังกล่าวค่าสูงสุดของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ กำลังผลิต และวัฏจักรการเจริญเติบโตคือ 0.127 ต่อวัน 0.71 กรัมต่อลิตรต่อวัน และ 10 รอบ ตามลำดับ และในการทดลองที่ 2 (ปริมาณเซลล์ 1.0

กรัมต่อลิตร อัตราการเติมอาหารกลับเข้าไปในการเลี้ยง 30 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นของไบคาร์บอเนตในอาหาร 1 กรัมต่อลิตร สภาวะดังกล่าวนี้มีช่วงเวลาระยะการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (exponential phase) ยาวนานที่สุด (55 วัน) ส่วนการทดลองที่ 6, 11, 13 และ 15 มีวัฏจักรในการเจริญเติบโต 8 รอบ ในการทดลองการเพาะเลี้ยงที่ให้กำลังผลิตต่ำเมื่อสำหรับรายขนาดเล็กเลี้ยงในอัตราความเข้มข้นสารอาหารที่ใส่กลับเข้าไป 40 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นของโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.4 และ 1.6 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามกำลังผลิตที่ได้จากอัตราความเข้มข้นสารอาหารที่ใส่กลับเข้าไป 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ สัมพันธ์กับโซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้เนื่องจากการถูกยับยั้งด้วยแสงเป็นปรากฏการณ์ธรรมชาติที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงสำหรับรายขนาดเล็กเนื่องจากปริมาณแสงที่มากเกินไป ซึ่งจะชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยการยับยั้งหรือทำให้การสังเคราะห์แสงช้าลงในสำหรับรายขนาดเล็ก เนื่องจากการสะสมของ  $H_2O_2$  ปรากฏการณ์ธรรมชาติอาจทำให้เกิดภาวะเครียด เช่น ความเข้มข้นของเซลล์ต่ำในการเลี้ยงแต่แสงที่ได้รับสูงเกินไป

### 2.8.3 คาร์บอนไดออกไซด์และพีเอช

ในระบบการเพาะเลี้ยงสำหรับรายขนาดเล็กแบบ photobioreactor ต้องมีการควบคุมปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ไม่ให้มีมากเกินไปจนเป็นอันตรายกับสาหร่ายเพราะทำให้ค่าพีเอชลดต่ำมากเกินไป หรือต้องไม่ให้มีคาร์บอนไดออกไซด์น้อยเกินไปจนสาหร่ายเจริญเติบโตช้าเพราะมีไม่เพียงพอสำหรับใช้ในขบวนการสังเคราะห์แสง โดยพบว่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปริมาณ 1-5 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของระบบเป็นระดับที่เหมาะสมกับสาหร่าย โดยแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ที่ดีที่สุดคือจากโรงงานอุตสาหกรรม เพราะเป็นการช่วยลดคาร์บอนไดออกไซด์ที่จะปล่อยสู่บรรยากาศ และช่วยลดปัญหาภาวะโลกร้อนได้ (Ugwu et al., 2008)

### 2.8.4 ออกซิเจน

ออกซิเจนมีความจำเป็นต่อการหายใจของสาหร่าย แต่หากมีมากก็ทำอันตรายกับสาหร่ายเช่นกัน ปริมาณก๊าซออกซิเจนในระบบการเพาะเลี้ยงแบบ photobioreactor เกิดจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย และเนื่องจากเป็นระบบปิด ออกซิเจนเหล่านี้จึงมีการสะสมอยู่ในระบบ ซึ่งหากมีออกซิเจนมากเกินไปจะทำลายเซลล์สาหร่าย จึงต้องมีการออกแบบระบบให้มีการระบายออกซิเจนจากระบบเพาะเลี้ยงได้

### 2.8.5 การหมุนเวียนของน้ำในระบบ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบ photobioreactor ต้องมีการควบคุมให้น้ำในระบบมีการหมุนเวียนต่อเนื่อง เพื่อให้สาหร่ายสามารถสัมผัสกับสารอาหารและแสงได้อย่างทั่วถึง จะทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดี หากการหมุนเวียนของน้ำไม่ดีจะทำให้สาหร่ายตกตะกอนทับถมกันที่ก้นของระบบเพาะเลี้ยงทำให้สาหร่ายตายได้

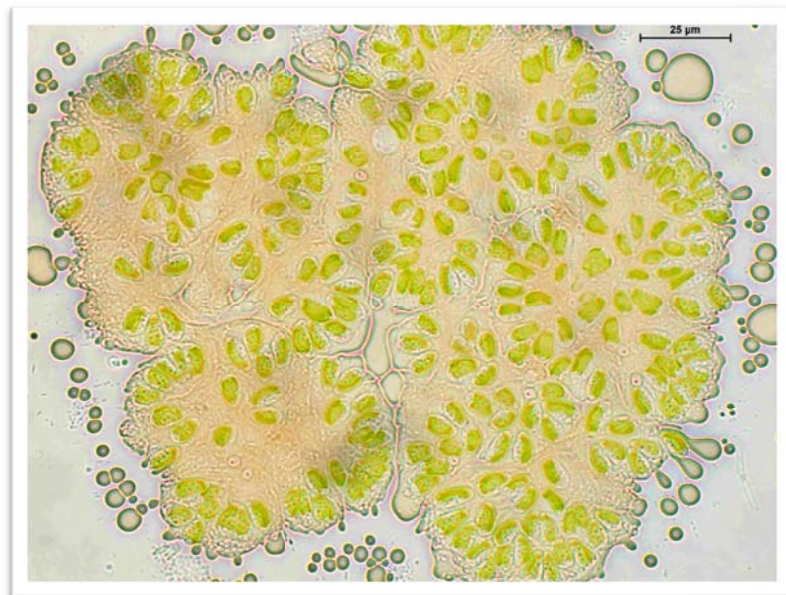
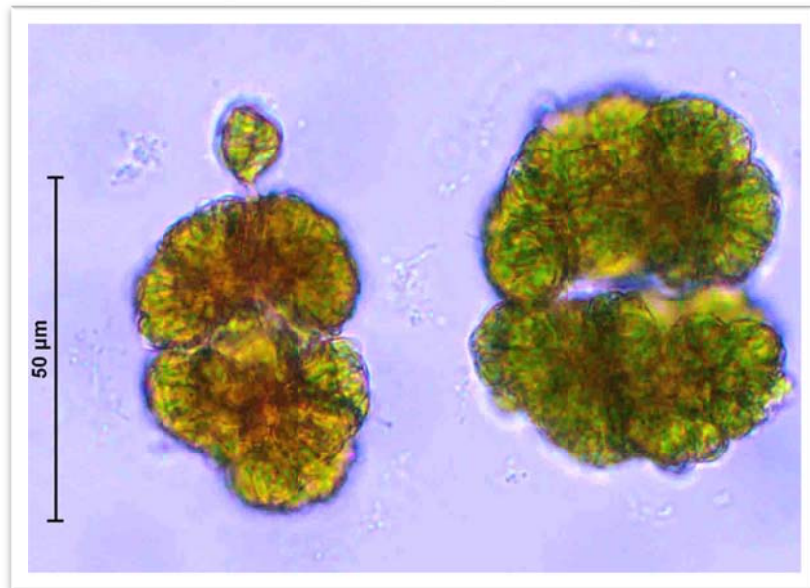
### 2.8.6 ปัจจัยอื่น ๆ

การควบคุมสภาวะแวดล้อมในระบบเพาะเลี้ยงให้คงที่ มีผลทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดี ให้ผลผลิตสูง นอกจากนี้สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงควรเป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมกับสภาวะการเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ (outdoor) และควรเป็นสายพันธุ์ที่โตดี ให้น้ำมันได้สูง ซึ่งทำให้ไม่จำเป็นต้องมีการตัดแปลงพันธุกรรมของสาหร่าย ซึ่งเป็นวิธีการที่ต้องใช้เวลานานและต้นทุนสูง

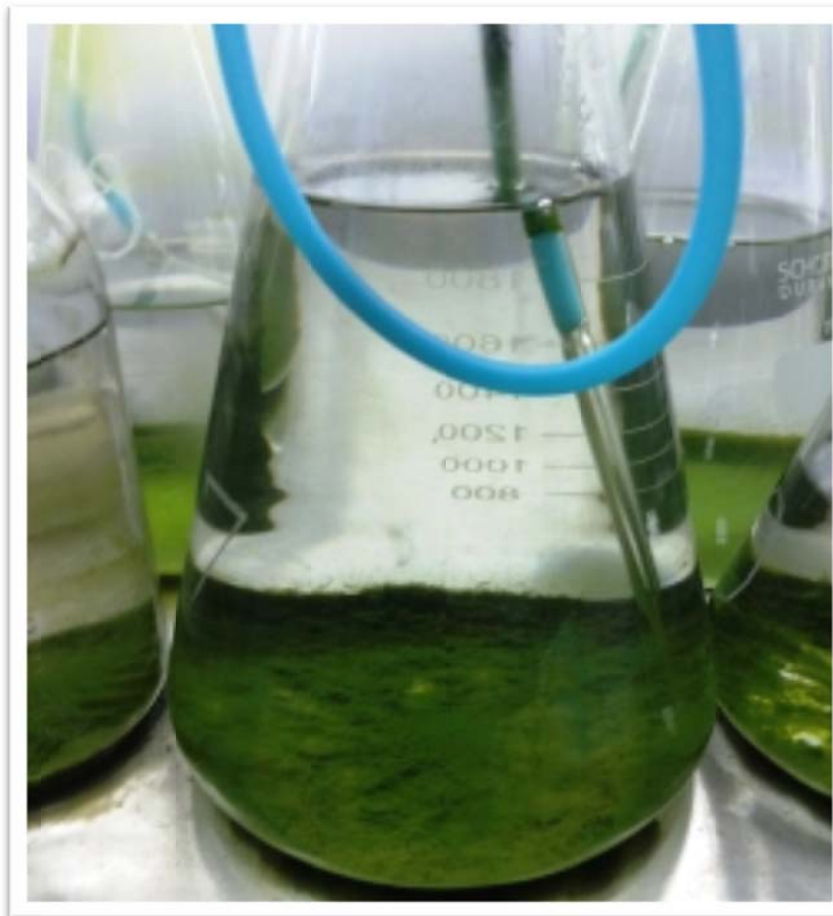
### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

ทำการเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย *Botryococcus braunii* โดยการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารสูตร Chlorella medium ในสถานะแก้วที่บรรจุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว ในห้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ปลอดเชื้อ มีการควบคุมแสงและอุณหภูมิ เพื่อใช้สาหร่ายเป็นหัวเชื้อในการศึกษาขั้นต่อไป



ภาพที่ 3.1 สาหร่าย *B. braunii* โคโลนีที่เจริญเติบโตเต็มและที่ปล่อยน้ำมันออกนอกโคโลนี



ภาพที่ 3.2 สำหรับ *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และการตกตะกอนก่อนเก็บผลผลิต

### 3.2 การเลี้ยงสาหร่ายเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการและนอกห้องปฏิบัติการ

#### 3.2.1 การเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ

นำหัวเชื้อสาหร่าย *Botryococcus braunii* ซึ่งเจริญเติบโตเต็มที่แล้วขยายลงในขวดแก้วหรือ flask ขนาด 1 ลิตร ในห้องปฏิบัติการ โดยควบคุมแสง อุณหภูมิให้คงที่ ศึกษาการเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณรงควัตถุ (คลอโรฟิลล์ เอ, แคโรทีนอยด์) ทุก 2 วัน และวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ผลิตไขมัน และชนิดกรดไขมัน ของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ 30 วัน (ภาพที่ 3.1, 3.2)

#### 3.2.2 การเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ

นำหัวเชื้อสาหร่าย *Botryococcus braunii* ซึ่งเจริญเติบโตเต็มที่แล้วขยายลงในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร วางไว้บนชั้นที่มีการให้แสงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมง นอกห้องปฏิบัติการ ศึกษาการเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณรงควัตถุ (คลอโรฟิลล์ เอ, แคโรทีนอยด์) ทุก 2 วัน และวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ผลิตไขมัน และชนิดกรดไขมัน ของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ระยะ stationary phase

#### 3.2.3 การทดลองเลี้ยงในระบบ photobioreactor แบบท่อ

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบปิด ซึ่งสร้างด้วยวัสดุโปร่งแสงเป็นวัสดุหลัก มีระบบการหมุนเวียนน้ำเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง และสามารถควบคุมอัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเพาะเลี้ยงได้ มีระบบการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมถึงระบบเติมและปล่อยน้ำเพาะเลี้ยงออกจากระบบ ศึกษาการเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณรงควัตถุ ทุก 2 วัน และวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ผลิตไขมัน และชนิดกรดไขมัน ของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ระยะ stationary phase

### 3.3 การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย

เก็บผลผลิตสาหร่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในระบบ photobioreactor และสกัดน้ำมันออกจากสาหร่าย จากนั้นศึกษาความเป็นไปได้ในการเปลี่ยนน้ำมันให้เป็นไบโอดีเซล โดยทำการหาระดับอุณหภูมิ ปริมาณต่างและแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย เพราะน้ำมันจากสาหร่ายแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่แตกต่างกัน

### 3.4 หาแนวทางในการใช้เศษสาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมัน

นำเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และสารสี (คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์) เปรียบเทียบกับปริมาณก่อนสกัดน้ำมัน จากนั้นจึงดูความเหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์อื่น เช่นการสกัดสารสีที่เหลือมาใช้ประโยชน์ หรือการนำเซลล์ไปหมักทำมีเทน หรือการนำไปเป็นปุ๋ย เป็นอาหารสัตว์ต่อไป



ภาพที่ 3.3 horizontal tubular photobioreactor สำหรับการเพาะเลี้ยง *B. braunii*

## บทที่ 4

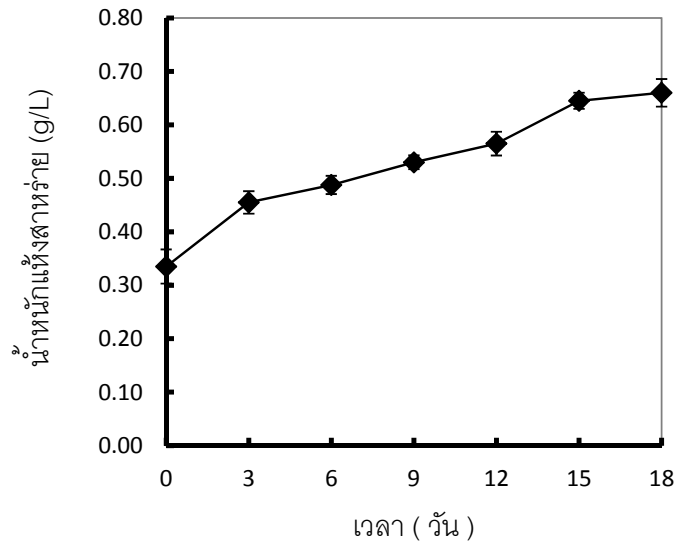
### ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

#### 4.1 ระบบ horizontal tubular photobioreactor

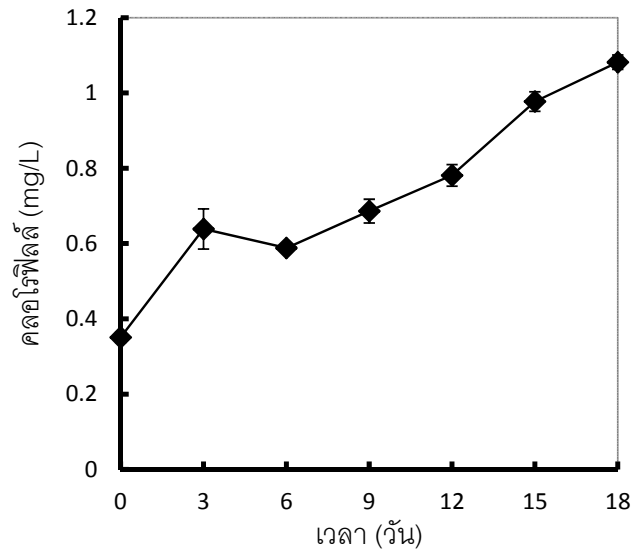
จัดทำระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบ closed-photobioreactor ซึ่งวางระบบเป็นแบบ horizontal tubular photobioreactor โดยใช้วัสดุในการเลี้ยงสาหร่ายคือท่อคริลิกใสเพื่อให้แสงผ่านได้ จัดเป็นแบบชั้นเรียงในแนวตั้ง ทางน้ำเข้าจากด้านบน และหมุนเวียนด้วยแรงปั้มน้ำลงมาชั้นด้านล่าง เข้าสู่ถังพักซึ่งสามารถเติมอาหารลงในถังพักทั้งแบบกึ่งต่อเนื่องและต่อเนื่องได้ และปั้มน้ำส่งสาหร่ายกลับไปด้านบนของระบบเลี้ยงใหม่ ซึ่งข้อดีของระบบคือใช้พื้นที่น้อยกว่าการวางแนวราบกับพื้น และใช้ปั้มน้ำเพียงตัวเดียวในการควบคุมทั้งระบบ ชั้นเลี้ยงออกแบบให้มีล้อสำหรับเคลื่อนที่ได้ เพื่อจัดวางในพื้นที่ ที่ได้รับแสงตามธรรมชาติอย่างเหมาะสม (ภาพที่ 3.3)

#### 4.2 การเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในห้องปฏิบัติการ

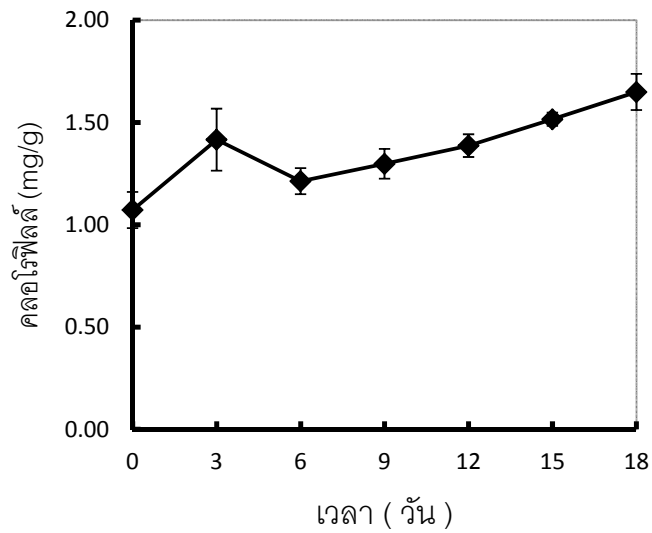
นำหัวเชื้อสาหร่าย *Botryococcus braunii* ซึ่งเจริญเติบโตเต็มที่แล้วขยายลงในขวดแก้วหรือ flask ขนาด 1 ลิตร ในห้องปฏิบัติการ โดยควบคุมแสง อุณหภูมิให้คงที่ ศึกษาการเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณรงควัตถุ (คลอโรฟิลล์ เอ, แคโรทีนอยด์) และวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ผลผลิตไขมัน และชนิดกรดไขมัน ของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ 30 วัน ผลการศึกษาพบว่า *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในช่วงเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน พบว่าสาหร่ายยังคงเจริญเติบโตได้ดี ไม่เข้าสู่ระยะ stationary phase (ภาพที่ 4.1-4.3) ที่สิ้นสุดการทดลอง สาหร่ายมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ  $0.66 \pm 0.03$  กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.1 และ 4.3) มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณแคโรทีนอยด์อย่างรวดเร็วโดยพบแคโรทีนอยด์สูงที่สุดในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง โดยพบแคโรทีนอยด์เท่ากับ  $10.87 \pm 0.77$  mg/g (ภาพที่ 4.4, ตารางที่ 4.2) มีคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดการเพาะเลี้ยง และมีค่าสูงที่สุดที่สิ้นสุดการทดลองเท่ากับ  $89.81 \pm 6.17$  มิลลิกรัมต่อกรัม โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่พบในสาหร่ายในวันที่ 0-9 ของการเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 4.5 และ 4.6, ตารางที่ 4.1) พบปริมาณโปรตีนสูงที่สุดที่สิ้นสุดการทดลองเท่ากับ  $182.82 \pm 11.55$  mg/g (ภาพที่ 4.7 และ 4.8, ตารางที่ 4.1) และปริมาณน้ำมันสูงสุดเท่ากับ น้ำมัน  $27.81 \pm 0.09$  เปอร์เซ็นต์ พบในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ส่วนผลผลิตไขมันพบสูงที่สุดวันที่ 12 โดยพบเท่ากับ  $0.84 \pm 0.20$  กรัมต่อลิตรต่อวัน (ตารางที่ 4.3) ชนิดกรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ pentadecanoic acid พบ 32-40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.4)



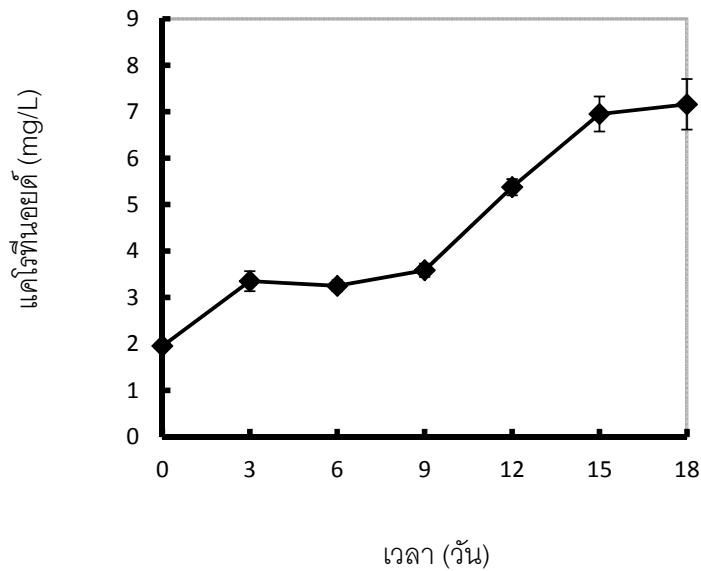
ภาพที่ 4.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ



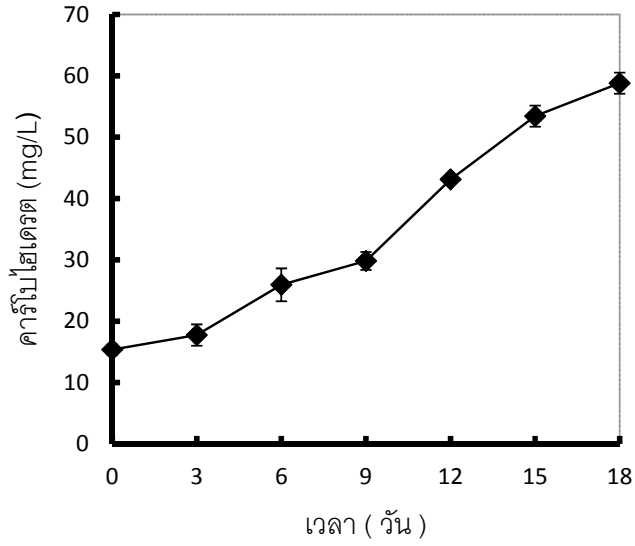
ภาพที่ 4.2 คลอโรฟิลล์-เอ (mg/L) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ



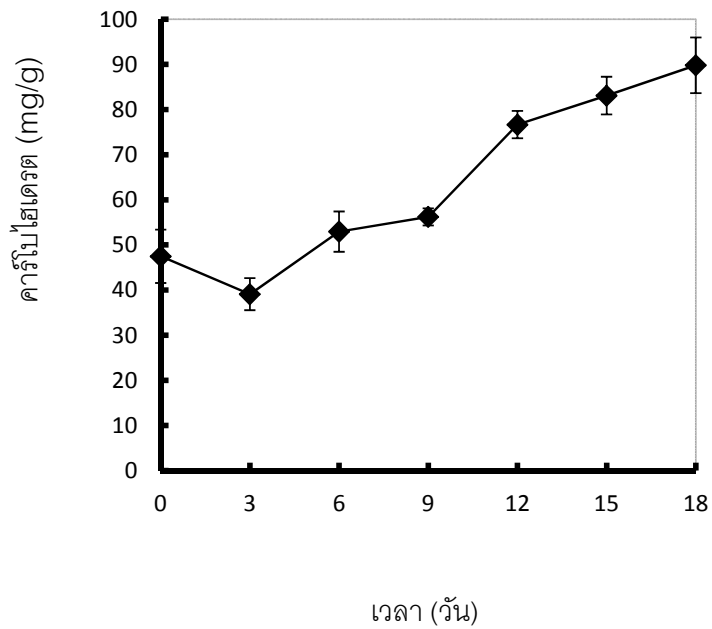
ภาพที่ 4.3 คลอโรฟิลล์-เอ (mg/g) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ



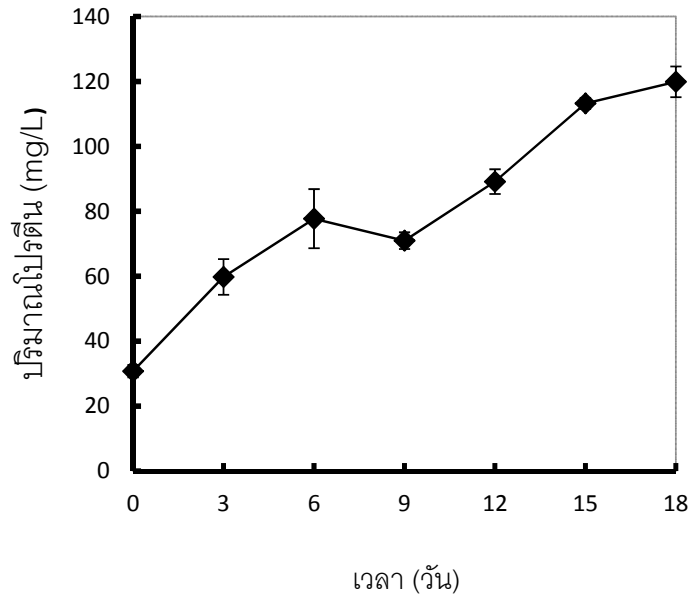
ภาพที่ 4.4 แสดงค่าแคโรทีนอยด์ (mg/L) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ



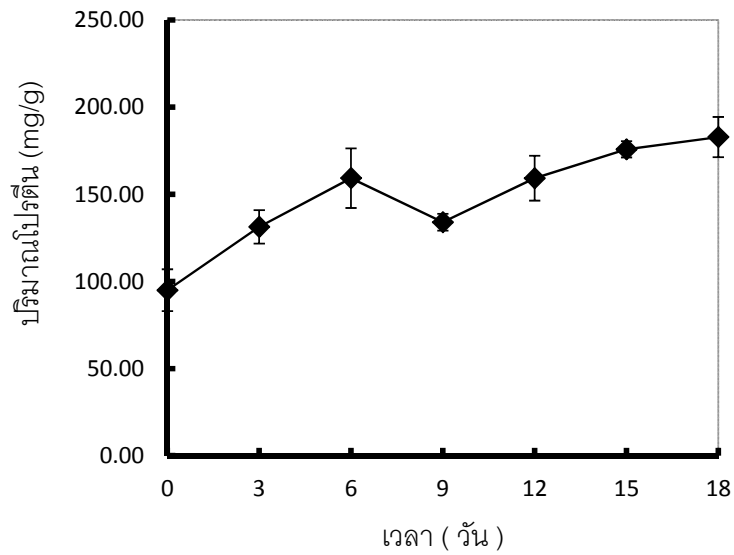
ภาพที่ 4.5 แสดงปริมาณคาร์โบไฮเดรต (mg/l) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ



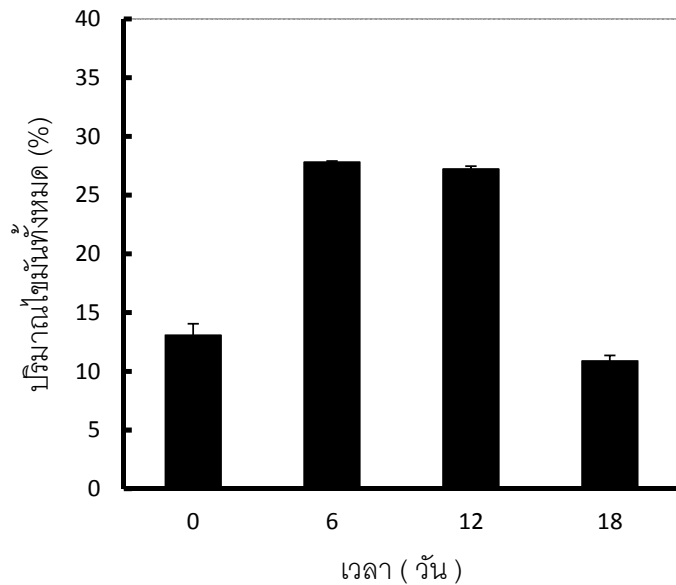
ภาพที่ 4.6 คาร์โบไฮเดรต (mg/g) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4.7 แสดงปริมาณโปรตีน (mg/L) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4.8 แสดงปริมาณโปรตีน (mg/g) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4.9 ปริมาณไขมันคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4.1 คุณค่าทางโภชนาการ และ น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

วันที่	น้ำหนักแห้ง (mg/l)	คาร์โบไฮเดรต (mg/l)	คาร์โบไฮเดรต (mg/g)	โปรตีน (mg/l)	โปรตีน (mg/g)
0	0.34±0.03 <sup>a</sup>	15.37±0.86 <sup>a</sup>	47.47±5.91 <sup>ab</sup>	30.79±1.89 <sup>a</sup>	94.95±12.00 <sup>a</sup>
3	0.46±0.02 <sup>b</sup>	17.74±1.75 <sup>a</sup>	39.09±3.54 <sup>a</sup>	59.80±5.49 <sup>b</sup>	131.30±9.58 <sup>b</sup>
6	0.49±0.02 <sup>bc</sup>	25.94±2.68 <sup>b</sup>	52.95±4.46 <sup>b</sup>	77.72±9.09 <sup>bc</sup>	159.22±17.09 <sup>bc</sup>
9	0.53±0.01 <sup>cd</sup>	29.82± 1.46 <sup>b</sup>	56.22±1.91 <sup>b</sup>	70.95±2.56 <sup>cd</sup>	133.97±4.80 <sup>b</sup>
12	0.57±0.02 <sup>c</sup>	43.11± 0.16 <sup>c</sup>	76.66±3.05 <sup>c</sup>	89.15±3.78 <sup>d</sup>	159.21±12.89 <sup>bc</sup>
15	0.65±0.02 <sup>e</sup>	53.43±1.73 <sup>d</sup>	83.09±4.17 <sup>c</sup>	113.22±1.71 <sup>e</sup>	175.79±4.68 <sup>c</sup>
18	0.66±0.03 <sup>e</sup>	58.81±1.73 <sup>e</sup>	89.81±6.17 <sup>c</sup>	119.89±4.74 <sup>e</sup>	182.82±11.55 <sup>c</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 4.2 รงควัตถุของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

วันที่	คลอโรฟิลล์-เอ (mg/l)	แคโรทีนอยด์ (mg/g)
0	0.35±0.014 <sup>a</sup>	6.07±0.85 <sup>a</sup>
3	0.63±0.053 <sup>b</sup>	7.41±0.60 <sup>a</sup>
6	0.58±0.011 <sup>bc</sup>	6.67±0.07 <sup>a</sup>
9	0.68±0.032 <sup>c</sup>	6.77±0.26 <sup>a</sup>
12	0.78±0.028 <sup>d</sup>	9.59±0.66 <sup>b</sup>
15	0.97±0.026 <sup>e</sup>	10.77±0.48 <sup>b</sup>
18	1.08±0.019 <sup>f</sup>	10.87±0.77 <sup>b</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 4.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

วันที่	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไขมันทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณไขมัน (กรัมต่อลิตร)	ผลผลิตไขมัน (กรัมต่อลิตรต่อวัน)
0	-	0.34±0.03 <sup>a</sup>	13.07±0.98 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>a</sup>	-
6	0.015±0.03 <sup>ab</sup>	0.49±0.02 <sup>b</sup>	27.81±0.09 <sup>c</sup>	0.13±0.01 <sup>c</sup>	0.71±0.51 <sup>a</sup>
12	0.008±0.01 <sup>ab</sup>	0.57±0.02 <sup>c</sup>	27.22±0.24 <sup>c</sup>	0.15±0.01 <sup>d</sup>	0.84±0.20 <sup>a</sup>
18	0.009±0.01 <sup>b</sup>	0.66±0.03 <sup>d</sup>	10.87±0.48 <sup>b</sup>	0.07±0.01 <sup>b</sup>	0.40±0.10 <sup>b</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 4.4 กรดไขมันคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของ *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

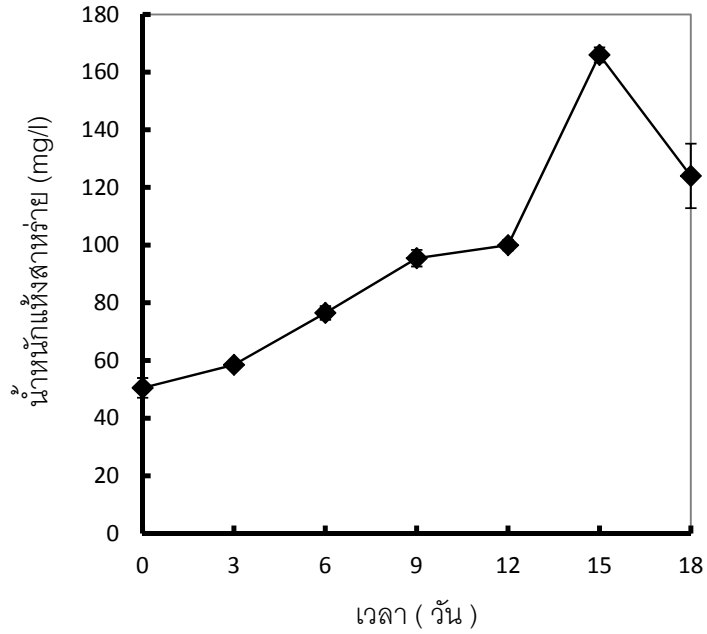
Component/ วัน		0	6	12	18
Caproic Acid	C6:0	0.28	0.25	0.16	0.15
Capric Acid	C10:0	0.22	0.21	0.43	0.28
Undecanoic Acid	C11:0	4.66	0.60	10.62	7.03
Lauric Acid	C12:0	2.26	3.18	5.39	3.39
Tridecanoic Acid	C13:0	1.57	0.62	1.05	1.27
Myristic Acid	C14:0	0.48	0.44	0.38	0.38
Myristoleic Acid	C14:1	0.47	0.40	0.17	0.11
Pentadecanoic Acid	C15:0	40.14	33.70	32.22	32.82
Palmitic Acid	C16:0	0.40	0.52	1.59	0.34
Palmitoleic Acid	C16:1	6.45	3.3	11.78	12.21
Heptadecanoic Acid	C17:0	1.60	1.55	1.73	1.9
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	5.86	5.53	3.17	5.96
Stearic Acid	C18:0	18.04	15.86	13.48	5.29
Elaidic Acid	C18:1n9t	6.11	6.07	6.85	12.01
Oleic Acid	C18:1n9c	0.82	-	0.25	1.23
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	4.35	2.87	3.42	4.03
Linoleic Acid	C18:2n6c	-	-	-	-
γ-Linolenic Acid	C18:3n6	0.67	0.85	1.10	1.58
Arachidic Acid	C20:0	2.19	2.37	0.80	1.29
Linolenic Acid	C18:3n3	0.11	0.22	-	0.42
cis-11-Eicosenoic Acid	C20:1	0.45	0.81	0.14	-
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	0.41	0.32	0.27	0.37
Heneicosanoic Acid	C21:0	-	-	0.14	0.24
cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	C20:3n6	-	-	-	-
Behenic Acid	C22:0	-	-	-	-
Erucic Acid	C22:1n9	-	-	-	-
cis-13,16-Docosadienoic Acid	C22:2	-	-	0.35	-
Lignoceric Acid	C24:0	-	5.04	0.83	2.8

### 4.3 การเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ

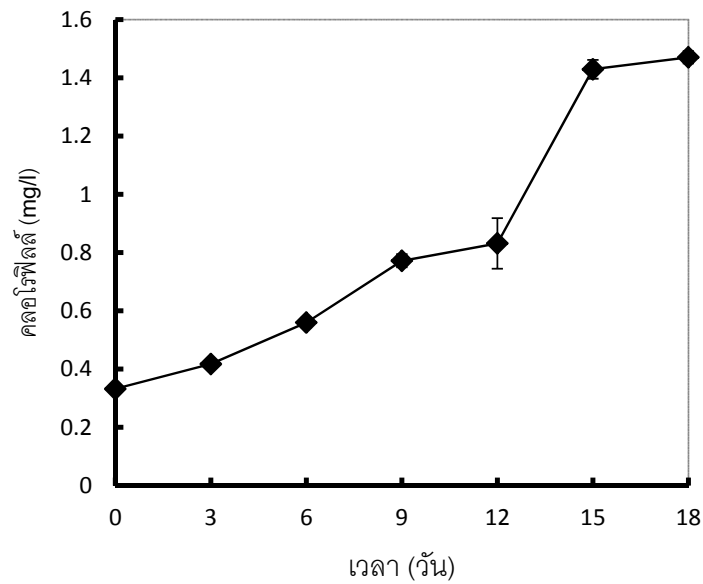
นำหัวเชื้อสาหร่าย *Botryococcus braunii* ซึ่งเจริญเติบโตเต็มที่แล้วขยายลงในโหลแก้ว ขนาด 10 ลิตร วางไว้บนชั้นที่มีการให้แสงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมง นอกห้องปฏิบัติการ ศึกษาการเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณรงควัตถุ (คลอโรฟิลล์ เอ, แคโรทีนอยด์) และวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ผลิตไขมัน และชนิดกรดไขมัน ของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ระยะ stationary phase

ผลการศึกษาพบว่า *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการมีผลผลิตชีวมวลเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ  $166 \pm 2.58$  มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระยะเวลาการเลี้ยงอื่น ๆ (ภาพที่ 4.10, ตารางที่ 4.5) มีคลอโรฟิลล์ เอ สูงที่สุดเท่ากับ  $1.47 \pm 0.02$  มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันที่ 0-9 ของการเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 4.11, ตารางที่ 4.6) มีแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ  $14.10 \pm 1.13$  มิลลิกรัมต่อกรัม โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกค่าที่เหลือ (ภาพที่ 4.12, ตารางที่ 4.6) มีคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดเท่ากับ  $64.7 \pm 0.45$  มิลลิกรัมต่อกรัม โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกวันของการเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 4.13 และ 4.14, ตารางที่ 4.5) มีโปรตีนสูงที่สุดเท่ากับ  $180.84 \pm 0.62$  มิลลิกรัมต่อกรัม ในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกวันของการเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 4.15 และ 4.16, ตารางที่ 4.5)

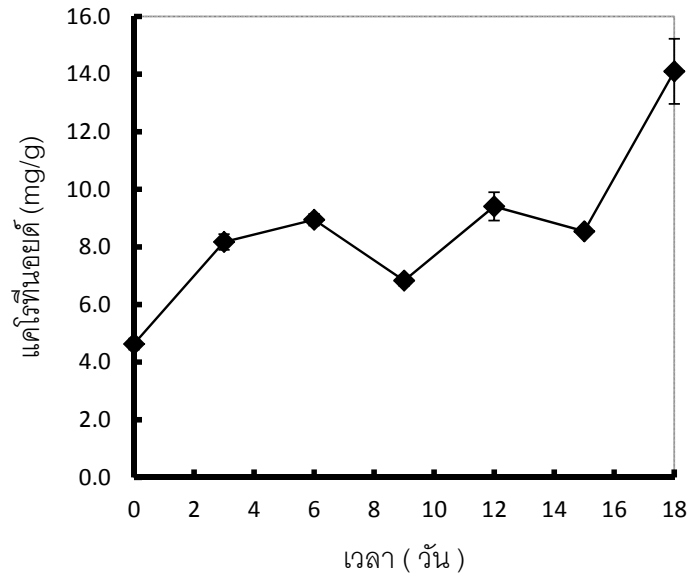
มีไขมันสูงที่สุดเท่ากับ  $20.66 \pm 0.44$  เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับวันอื่น ๆ (ภาพที่ 4.17, ตารางที่ 4.7) ผลิตไขมันสูงที่สุดเท่ากับ  $1.89 \pm 4.90$  มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกวันของการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 4.7) ชนิดกรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ Pentadecanoic acid มีค่าอยู่ในช่วง 42-61 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.8 และ 4.9)



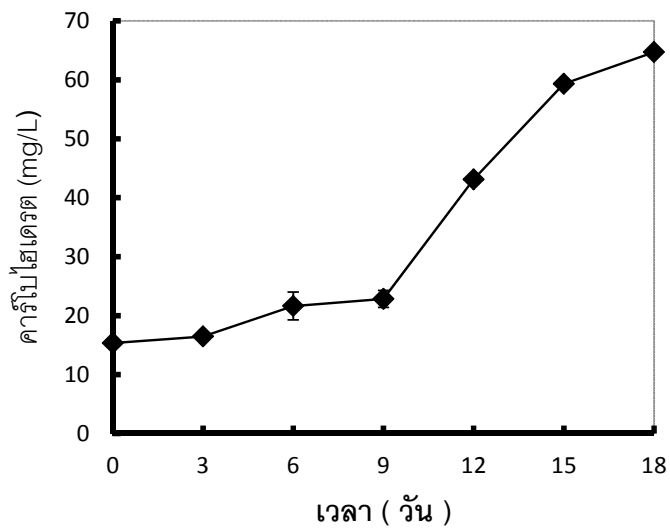
ภาพที่ 4.10 แสดงการเจริญเติบโตโดยวัดจากน้ำหนักแห้ง (mg/l) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ



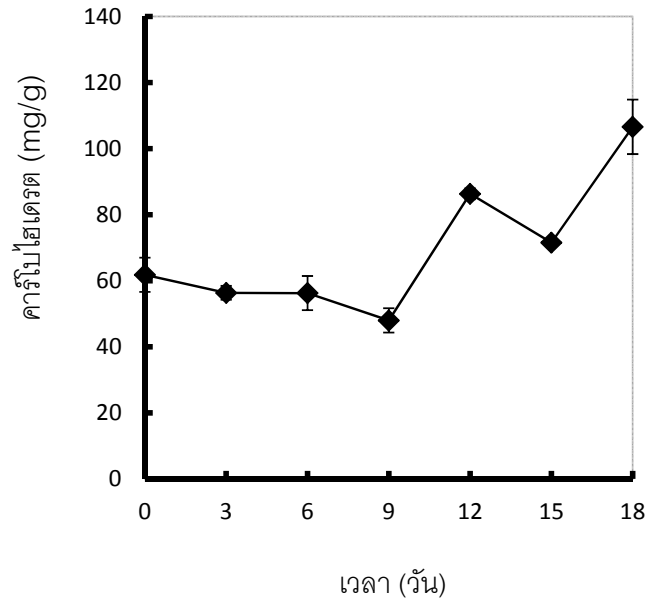
ภาพที่ 4.11 คลอโรฟิลล์-เอ (mg/l) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ



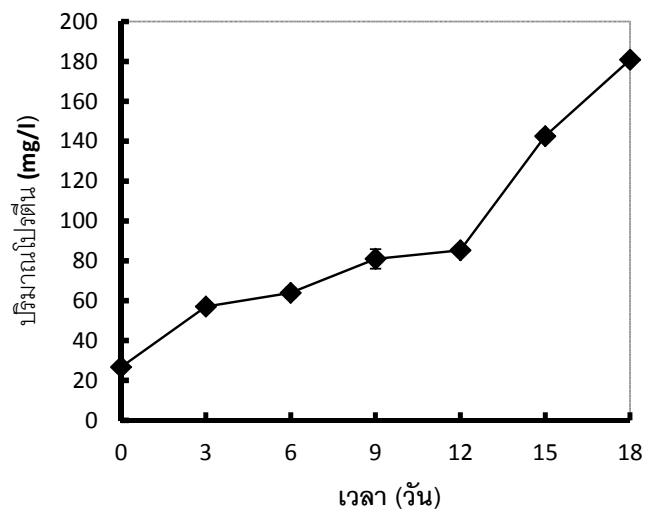
ภาพที่ 4.12 แสดงค่าแคโรทีนอยด์ (mg/g) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ



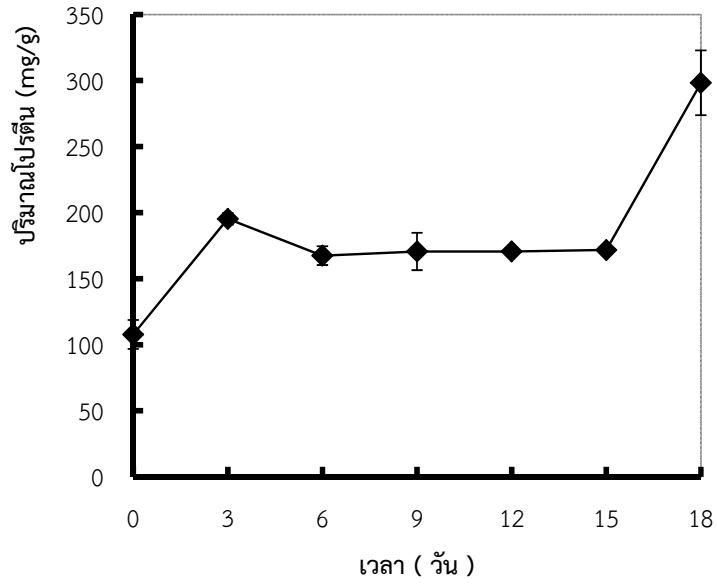
ภาพที่ 4.13 คาร์โบไฮเดรต (mg/L) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ



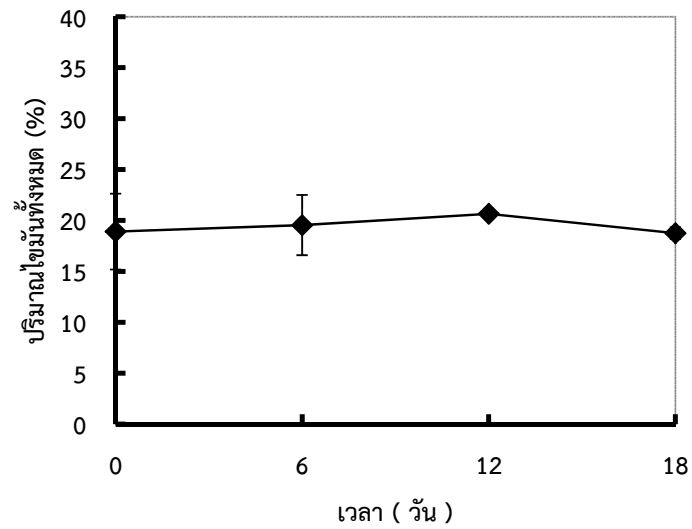
ภาพที่ 4.14 คาร์โบไฮเดรต (mg/g) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4.15 แสดงค่าโปรตีน (mg/l) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4.16 แสดงค่าโปรตีน (mg/g) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4.17 ปริมาณไขมันคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4.5 คุณค่าทางโภชนาการ และ น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ

วันที่	น้ำหนักแห้ง (mg/l)	คาร์โบไฮเดรต (mg/l)	คาร์โบไฮเดรต (mg/g)	โปรตีน (mg/l)	โปรตีน (mg/g)
0	50.5±3.40 <sup>a</sup>	15.34±0.33 <sup>a</sup>	61.79±5.19 <sup>a</sup>	26.67±0.81 <sup>a</sup>	107.80±10.97 <sup>a</sup>
3	58.5±2.12 <sup>a</sup>	16.47±0.65 <sup>a</sup>	56.33±0.65 <sup>ab</sup>	57.03±0.13 <sup>b</sup>	195.29±4.45 <sup>b</sup>
6	76.5±2.36 <sup>b</sup>	21.63±5.16 <sup>b</sup>	56.26±2.36 <sup>ab</sup>	63.95±2.59 <sup>b</sup>	167.47±7.09 <sup>b</sup>
9	95.5±2.87 <sup>c</sup>	22.82±3.68 <sup>b</sup>	47.99±1.44 <sup>ab</sup>	80.96±4.92 <sup>c</sup>	170.63±14.14 <sup>b</sup>
12	100±1.83 <sup>c</sup>	43.11±1.63 <sup>c</sup>	86.30±0.15 <sup>ab</sup>	85.27±0.83 <sup>c</sup>	170.64±1.95 <sup>b</sup>
15	166±2.58 <sup>d</sup>	59.33±0.34 <sup>c</sup>	71.53±1.05 <sup>b</sup>	142.51±2.56 <sup>b</sup>	171.73±2.44 <sup>b</sup>
18	124±11.19 <sup>e</sup>	64.7±0.45 <sup>e</sup>	64.7±0.45 <sup>c</sup>	180.84±0.62 <sup>e</sup>	298.28±24.60 <sup>c</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่ต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 4.6 รงควัตถุของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ

วันที่	คลอโรฟิลล์-เอ (mg/l)	แคโรทีนอยด์ (mg/g)
0	0.33±0.01 <sup>a</sup>	4.63±0.19 <sup>a</sup>
3	0.41±0.01 <sup>a</sup>	8.17±0.27 <sup>b</sup>
6	0.56±0.02 <sup>b</sup>	8.95±0.20 <sup>bc</sup>
9	0.77±0.02 <sup>c</sup>	6.83±0.18 <sup>c</sup>
12	0.83±0.08 <sup>c</sup>	9.41±0.49 <sup>c</sup>
15	1.42±0.03 <sup>c</sup>	8.54±0.13 <sup>c</sup>
18	1.47±0.02 <sup>c</sup>	14.10±1.13 <sup>d</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่ต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 4.7 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ

วันที่	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไขมันทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณไขมัน (กรัมต่อลิตร)	ผลผลิตไขมัน (กรัมต่อลิตรต่อวัน)
0	-	50.5±3.40 <sup>a</sup>	18.91±3.73 <sup>a</sup>	9.55±0.91 <sup>a</sup>	-
6	0.014±0.02 <sup>ab</sup>	76.5±2.36 <sup>b</sup>	19.55±2.96 <sup>a</sup>	14.95±0.53 <sup>b</sup>	1.08±0.43 <sup>a</sup>
12	0.011±0.01 <sup>ab</sup>	100±1.83 <sup>c</sup>	20.66±0.44 <sup>a</sup>	20.65±0.38 <sup>c</sup>	0.93±0.16 <sup>b</sup>
18	0.025±0.03 <sup>b</sup>	124±11.19 <sup>e</sup>	18.75±0.59 <sup>a</sup>	23.25±2.09 <sup>c</sup>	1.89±4.90 <sup>c</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่ต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 4.8 กรดไขมันคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของ *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ

Component / วัน		0	6	12	18
Caproic Acid	C6:0	1.81	0.20	0.33	0.29
Capric Acid	C10:0	0.32	0.41	0.43	0.30
Undecanoic Acid	C11:0	7.30	10.58	10.10	8.12
Lauric Acid	C12:0	3.62	5.76	3.65	3.97
Tridecanoic Acid	C13:0	2.85	1.65	2.02	2.16
Myristic Acid	C14:0	0.83	0.51	0.63	0.60
Myristoleic Acid	C14:1	0.52	0.27	0.24	0.30
Pentadecanoic Acid	C15:0	42.81	46.02	53.90	61.46
Palmitic Acid	C16:0	0.67	0.42	1.17	1.16
Palmitoleic Acid	C16:1	12.01	6.37	2.65	2.19
Heptadecanoic Acid	C17:0	2.31	2.38	2.03	2.28
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	4.66	4.95	3.01	3.05
Stearic Acid	C18:0	11.15	1.52	6.28	4.52
Elaidic Acid	C18:1n9t	0.17	9.00	1.09	1.54
Oleic Acid	C18:1n9c	0.19	0.99	1.79	1.65
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	3.53	2.37	0.13	0.14
γ-Linolenic Acid	C18:3n6	0.45	1.15	0.52	0.47
Arachidic Acid	C20:0	1.24	1.44	0.50	0.55
Linolenic Acid	C18:3n3	0.19	0.90	2.66	2.72
cis-11-Eicosenoic Acid	C20:1	0.13	0.11	0.25	0.09
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	0.09	0.12	0.16	0.20
Heneicosanoic Acid	C21:0	0.22	0.14	0.08	0.10
cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	C20:3n6	0.22	-	0.08	0.09
Behenic Acid	C22:0	0.06	0.30	0.35	0.22
Erucic Acid	C22:1n9	-	-	0.20	0.03
cis-13,16-Docosadienoic Acid	C22:2	0.07	-	0.06	0.06
Lignoceric Acid	C24:0	0.11	0.08	0.07	0.03

ตารางที่ 4.9 แสดงกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวของ C16-C20 ของ *Botryococcus braunii* KMITL2 ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ

Fatty Acid	วันที่ 0	วันที่ 6	วันที่ 12	วันที่ 18
Saturated fatty acids (SFAs)				
C16:0	40.95	23.24	31.59	37.20
C17:0	0.73	0.33	0.49	0.64
C18:0	3.28	1.49	1.25	1.68
C20:0	6.55	-	8.95	-
Total	51.52	25.06	42.28	39.52
Monounsaturated fatty acids (MUFAs)				
C16:1	-	3.81	-	0.37
C17:1	5.98	10.97	7.54	9.20
C18:1	6.78	11.21	14.60	20.80
C20:1	0.77	-	-	-
Total	13.53	26.00	22.14	30.37
Polyunsaturated fatty acids (PUFAs)				
C18:2	16.14	22.92	14.79	0.21
C18:3	2.16	16.21	3.62	14.43
C20:2	-	-	0.15	-
C20:3	-	-	0.06	-
Total	18.30	39.13	18.62	14.64

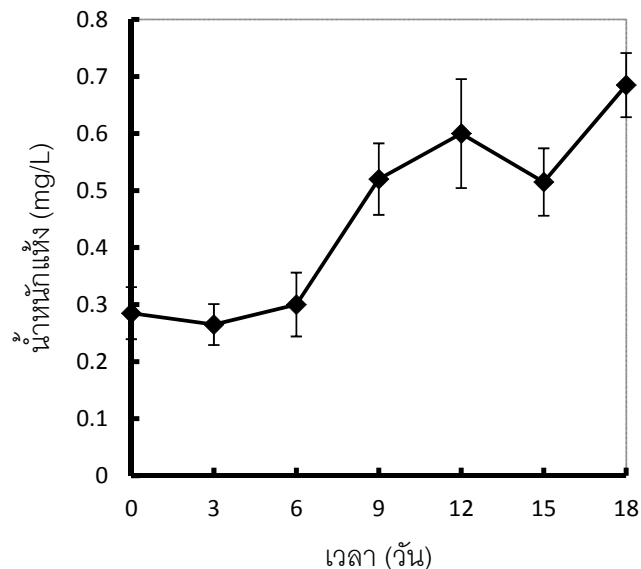
#### 4.4 การทดลองเลี้ยงในระบบ photobioreactor แบบท้อ

##### 4.4.1 เพาะเลี้ยงแบบ batch culture

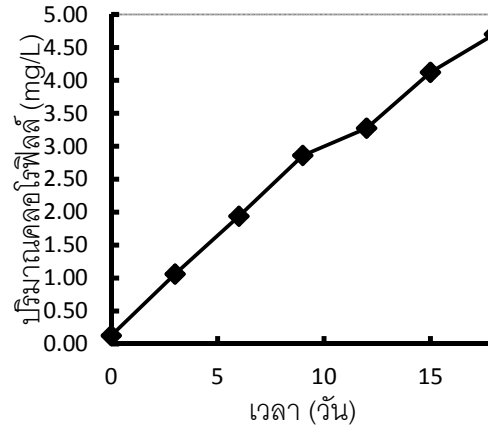
ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบปิด ซึ่งสร้างด้วยวัสดุโปร่งแสงเป็นวัสดุหลัก มีระบบการหมุนเวียนน้ำเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง เพาะเลี้ยงแบบ batch culture

ผลการศึกษาพบว่า *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในระบบ photobioreactor แบบท้อ แบบ batch culture มีผลผลิตชีวมวลเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยมีค่าสูงสุดเท่ากับ  $6.85 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตร ที่สิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 4.18, ตารางที่ 4.10) มีคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ตลอดเวลาของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 3.57 มิลลิกรัมต่อกรัม (ภาพที่ 4.19 และ 4.20) มีแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นในช่วงการเพาะเลี้ยง 12 วันแรก หลังจากนั้นค่าแคโรทีนอยด์จะลดลง โดยมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 1.65 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.21 และ 4.22, ตารางที่ ) คาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนสิ้นสุดการทดลอง โดยมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 198.89 มิลลิกรัมต่อกรัม (ภาพที่ 4.23 และ 4.24) โปรตีนเพิ่มขึ้นในช่วง 6 วันแรกของการเพาะเลี้ยง จากนั้นมีค่าลดลง และเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 351.2 มิลลิกรัมต่อกรัม ในวันที่ 6 (ภาพที่ 4.25 และ 4.26)

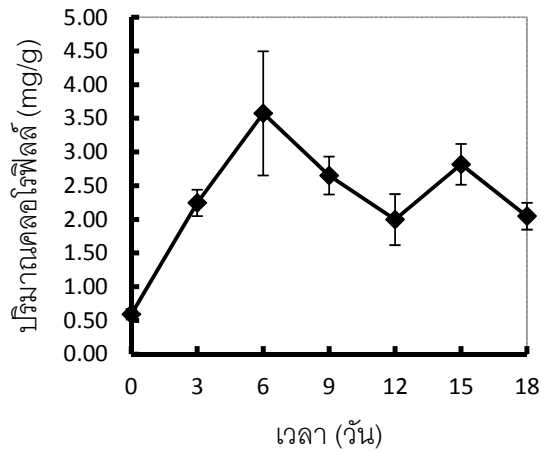
ไขมันสูงที่สุดเท่ากับ  $14.90 \pm 0.81$  เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตไขมันสูงที่สุดเท่ากับ  $2.35 \pm 1.15$  มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกวัน (ตารางที่ 4.10) ชนิดกรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ pentadecanoic acid พบ 29-48 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.11)



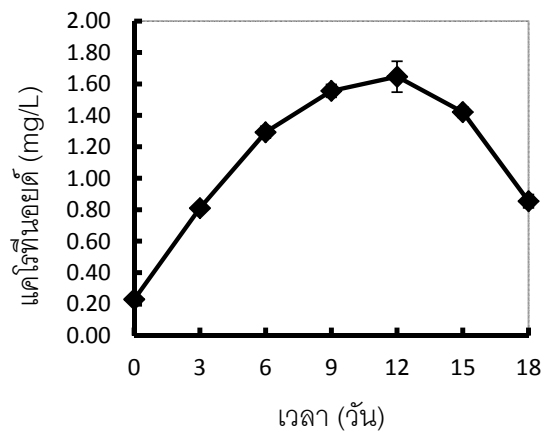
ภาพที่ 4.18 น้ำหนักแห้ง (mg/L) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor



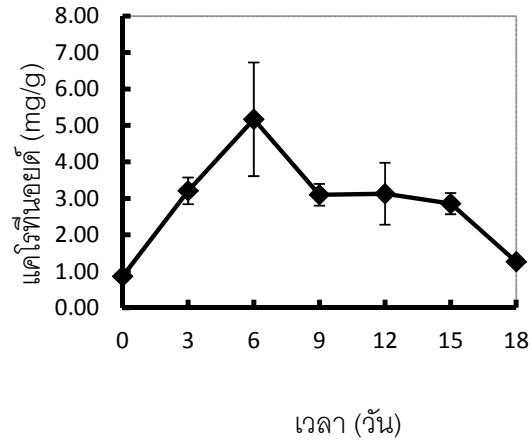
ภาพที่ 4.19 คลอโรฟิลล์-เอ (mg/L) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor



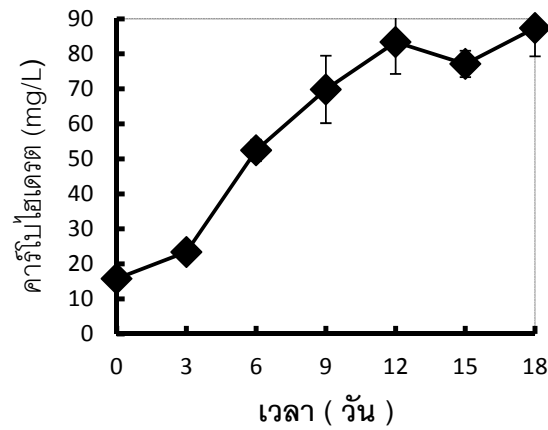
ภาพที่ 4.20 คลอโรฟิลล์-เอ (mg/g) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor



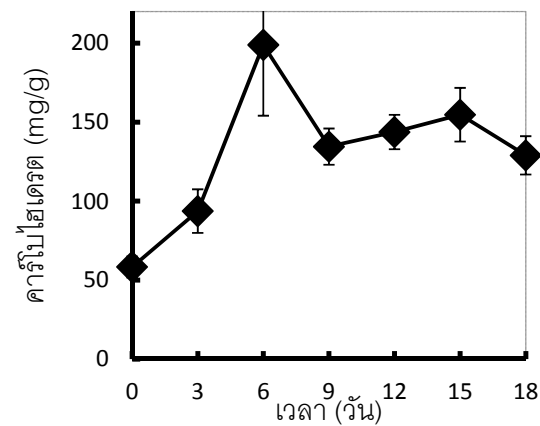
ภาพที่ 4.21 แสดงค่าแคโรทีนอยด์ (mg/L) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor



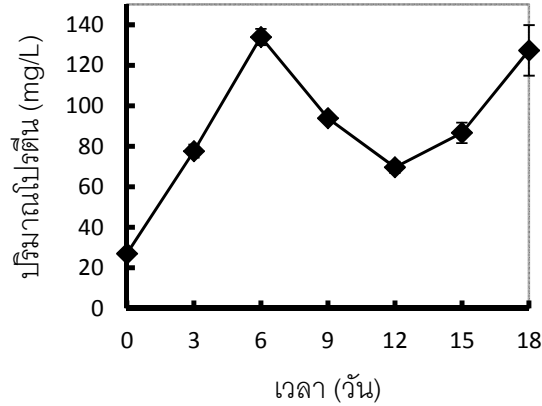
ภาพที่ 4.22 แสดงค่าแคโรทีนอยด์ (mg/g) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor



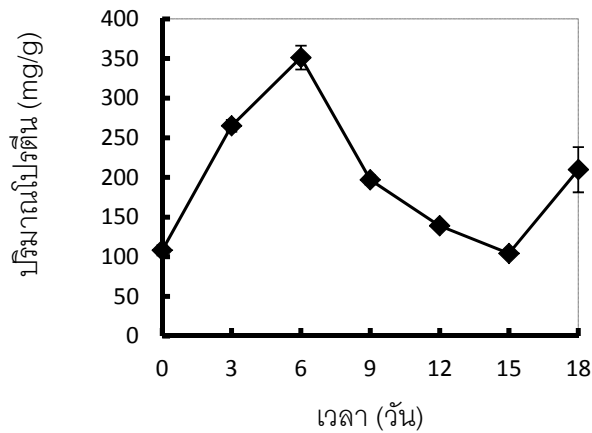
ภาพที่ 4.23 คาร์โบไฮเดรต (mg/L) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor



ภาพที่ 4.24 คาร์โบไฮเดรต (mg/g) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor



ภาพที่ 4.25 แสดงค่าโปรตีน (mg/L) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor



ภาพที่ 4.26 แสดงค่าโปรตีน (mg/g) ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor

ตารางที่ 4.10 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor

วันที่	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไขมันทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณไขมัน (กรัมต่อลิตร)	กำลังการผลิตไขมัน (กรัมต่อลิตรต่อวัน)
0	-	2.75±0.01 <sup>a</sup>	12.77±0.39 <sup>b</sup>	0.35±0.09 <sup>a</sup>	-
6	0.16±0.08 <sup>a</sup>	3±0.77 <sup>b</sup>	14.90±0.81 <sup>d</sup>	0.45±0.10 <sup>ab</sup>	2.35±1.15 <sup>a</sup>
12	0.13±0.04 <sup>a</sup>	6±0.21 <sup>c</sup>	11.57±0.21 <sup>ab</sup>	0.69±0.11 <sup>cd</sup>	1.52±0.5 <sup>b</sup>
18	0.01±0.02 <sup>b</sup>	6.85±0.05 <sup>d</sup>	10.97±0.05 <sup>a</sup>	0.75±0.06 <sup>d</sup>	1.10±0.25 <sup>c</sup>

หมายเหตุ: สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแถวแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 4.11 ค่ากรดไขมันของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor

กรดไขมัน		วัน			
		0	6	12	18
Caproic Acid	C6:0	0.46		0.15	0.13
Capric Acid	C10:0	1.08	0.26	0.71	0.48
Undecanoic Acid	C11:0	6.32	8.56	8.69	5.11
Lauric Acid	C12:0	4.66	4.76	4.60	4.51
Tridecanoic Acid	C13:0	0.31	0.86	1.23	1.75
Myristic Acid	C14:0	1.06	0.37	0.74	0.51
Myristoleic Acid	C14:1	0.44	0.26	0.66	0.42
Pentadecanoic Acid	C15:0	29.02	36.14	37.29	48.46
cis-10-Pentadecenoic Acid	C15:1	4.65	4.51	2.58	3.95
Palmitic Acid	C16:0	0.90	0.37	0.66	0.57
Palmitoleic Acid	C16:1	5.62	6.71	11.22	9.05
Heptadecanoic Acid	C17:0	3.24	2.29	1.04	1.41
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	10.08	8.69	7.80	4.74
Stearic Acid	C18:0	0.41	1.24	0.66	0.69
Elaidic Acid	C18:1n9t	18.13	17.41	15.28	12.16
Oleic Acid	C18:1n9c	0.57	0.40		
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	5.03	4.23	4.85	3.19
Arachidic Acid	C20:0	1.35	1.01	0.81	1.52
Y-Linolenic Acid	C18:3n6	1.90	0.93	1.02	0.65
cis-11-Eicosenoic Acid	C20:1	0.92	0.28		0.70
Linolenic Acid	C18:3n3	0.29	0.17		
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	1.03	0.21		
Behenic Acid	C22:0	0.15			
cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	C20:3n6	0.21	0.29		
cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid	C20:3n3		0.07		
Arachidonic Acid	C20:4n6	0.34			
cis-13,16-Docosadienoic Acid	C22:2	0.99			
Lignoceric Acid	C24:0	0.69			
Nonadecanoic Acid (I.S)	C 19:0	10.30	12.36	2.84	5.92
รวม		100	100	100	100

#### 4.4.2 เพาะเลี้ยงแบบ continuous culture

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบปิด ซึ่งสร้างด้วยวัสดุโปร่งแสงเป็นวัสดุหลัก มีระบบการหมุนเวียนน้ำเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง เพาะเลี้ยงแบบ continuous culture มีการเติมอาหารทุก 6 ชั่วโมง

ผลการศึกษาพบว่า *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในระบบ photobioreactor แบบ continuous culture มีผลผลิตชีวมวลเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยมีผลผลิตสูงสุดเท่ากับ  $630 \pm 104.72$  มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.27, ตารางที่ 4.12) มีคลอโรฟิลล์ เอ สูงที่สุดเท่ากับ  $1.67 \pm 0.11$  มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.28 และ 4.29, ตารางที่ 4.13) มีแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง และเพิ่มขึ้นตลอดจนสิ้นสุดการทดลอง โดยมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ  $11.705 \pm 0.40$  มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.30 และ 4.31, ตารางที่ 4.13) โปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง ส่วนโปรตีนในเซลล์มีการผันแปรค่อนข้างสูง มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ  $163.80 \pm 13.73$  มิลลิกรัมต่อกรัม ในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 4.32 และ 4.33, ตารางที่ 4.12) มีคาร์โบไฮเดรตต่อลิตรเพิ่มขึ้นตลอดจนสูงสุดในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยง แต่คาร์โบไฮเดรตในเซลล์จะลดลงหลังวันที่ 9 ของการเพาะเลี้ยง สูงที่สุดเท่ากับ  $50.16 \pm 5.91$  มิลลิกรัมต่อกรัม (ภาพที่ 4.34 และ 4.35, ตารางที่ 4.12)

ไขมันสูงที่สุดเท่ากับ  $45.79 \pm 5.02$  เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตไขมันสูงที่สุดเท่ากับ  $15.26 \pm 3.95$  มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน โดยมีความแตกต่างทางสถิติกับวันที่ 6 ของการทดลอง (ตารางที่ 4.14) ชนิดกรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ Palmitic acid โดยมีค่าอยู่ในช่วง 14-24 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.15)

ตารางที่ 4.12 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในระบบ photobioreactor แบบ continuous

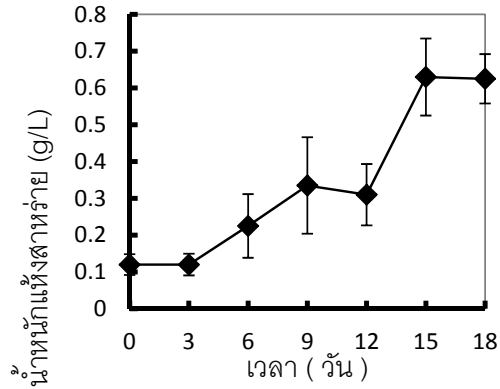
วันที่	น้ำหนักแห้ง (mg/l)	คาร์โบไฮเดรต (mg/l)	คาร์โบไฮเดรต (mg/g)	โปรตีน (mg/l)	โปรตีน (mg/g)
0	$120 \pm 28.28^a$	$14.32 \pm 1.13^a$	$57.49 \pm 6.31^a$	$13.07 \pm 1.04^a$	$52.50 \pm 5.87^a$
3	$120 \pm 29.44^a$	$14.81 \pm 1.18^a$	$50.71 \pm 4.28^a$	$17.27 \pm 1.16^a$	$59.19 \pm 4.46^a$
6	$225 \pm 86.55^a$	$21.00 \pm 4.20^{ab}$	$55.56 \pm 11.71^a$	$34.74 \pm 3.88^b$	$91.30 \pm 10.83^b$
9	$335 \pm 131.24^a$	$30.12 \pm 1.98^b$	$63.53 \pm 5.54^a$	$43.58 \pm 2.74^b$	$91.93 \pm 7.86^b$
12	$310 \pm 83.47^a$	$31.11 \pm 4.35^b$	$62.58 \pm 9.48^a$	$61.05 \pm 4.29^c$	$122.63 \pm 10.74^c$
15	$630 \pm 104.72^b$	$51.36 \pm 5.58^c$	$61.97 \pm 7.00^a$	$41.28 \pm 3.81^b$	$49.91 \pm 5.05^a$
18	$625 \pm 67.02^b$	$30.16 \pm 1.41^b$	$50.16 \pm 5.91^a$	$99.27 \pm 0.28^d$	$163.80 \pm 13.73^d$

ตารางที่ 4.13 รงควัตถุของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous

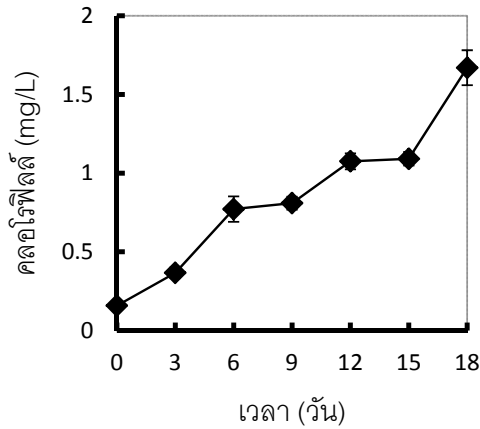
วันที่	คลอโรฟิลล์-เอ (mg/l)	แคโรทีนอยด์ (mg/l)
0	0.16±0.01 <sup>a</sup>	3.10±0.30 <sup>ab</sup>
3	0.37±0.03 <sup>b</sup>	2.24±0.28 <sup>a</sup>
6	0.77±0.08 <sup>c</sup>	3.87±0.43 <sup>b</sup>
9	0.81±0.05 <sup>c</sup>	5.53±0.43 <sup>c</sup>
12	1.08±0.05 <sup>d</sup>	8.10±0.71 <sup>d</sup>
15	1.09±0.04 <sup>d</sup>	9.81±0.50 <sup>e</sup>
18	1.67±0.11 <sup>e</sup>	11.705±0.40 <sup>f</sup>

ตารางที่ 4.14 โภชนาการของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous

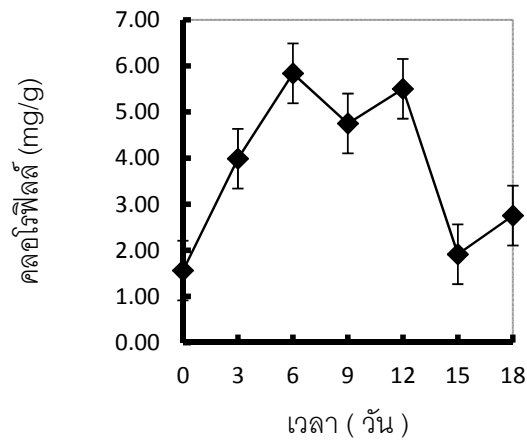
วันที่	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (/day)	น้ำหนักแห้ง (g/l)	ปริมาณไขมันทั้งหมด (%)	ปริมาณไขมัน (g/l)	ผลผลิตไขมัน (g/l/day)
0	-	0.12±0.04 <sup>a</sup>	19.57±1.80 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>a</sup>	-
6	0.17±0.18 <sup>a</sup>	0.23±0.10 <sup>a</sup>	41.67±7.47 <sup>b</sup>	0.09±0.04 <sup>a</sup>	7.07±7.60 <sup>a</sup>
12	0.42±0.11 <sup>b</sup>	0.31±0.08 <sup>b</sup>	35.93±4.16 <sup>b</sup>	0.11±0.03 <sup>a</sup>	15.26±3.95 <sup>b</sup>
18	0.30±0.14 <sup>b</sup>	0.67±0.07 <sup>b</sup>	45.79±5.02 <sup>b</sup>	0.29±0.03 <sup>b</sup>	13.85±6.40 <sup>b</sup>



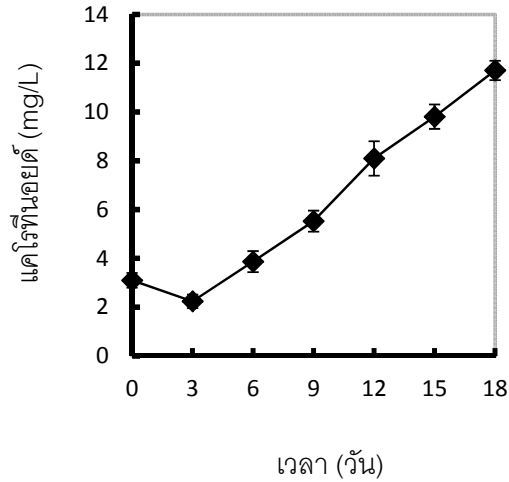
ภาพที่ 4.27 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous



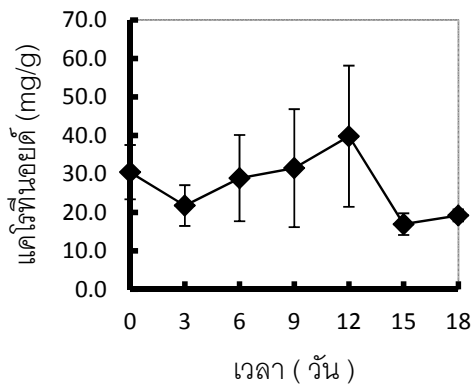
ภาพที่ 4.28 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous



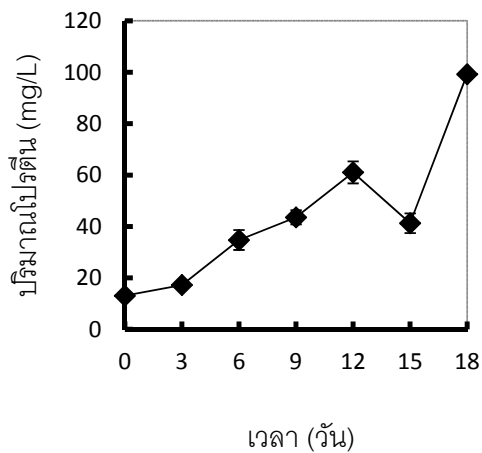
ภาพที่ 4.29 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous



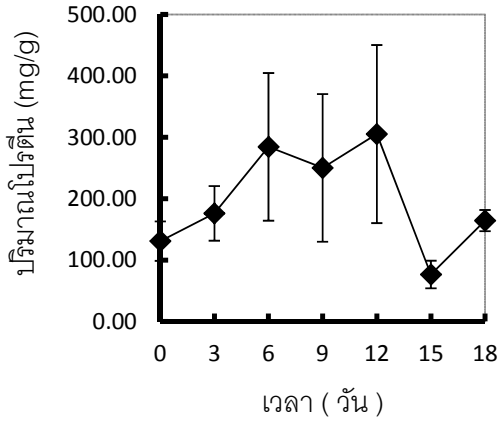
ภาพที่ 4.30 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous



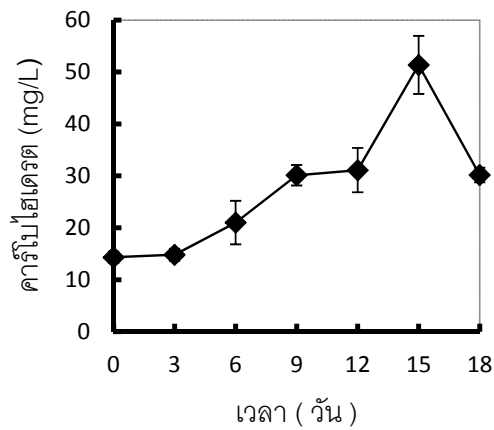
ภาพที่ 4.31 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous



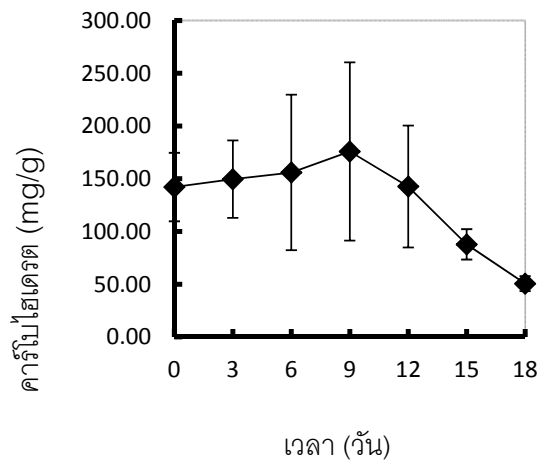
ภาพที่ 4.32 ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous



ภาพที่ 4.33 ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous



ภาพที่ 4.34 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous



ภาพที่ 4.35 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ continuous

ตารางที่ 4.15 ค่ากรดไขมันของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor แบบ continuous

Component		0	6	12	18
Butyric Acid	C4:0	0.98	0.12	0.24	0.04
Caproic Acid	C6:0	0.15	0.13	11.62	0.02
Capric Acid	C10:0	0.45	0.34	0.05	35.25
Undecanoic Acid	C11:0	5.19	4.20	0.07	0.19
Lauric Acid	C12:0	15.44	14.42	5.22	11.00
Tridecanoic Acid	C13:0	0.71	0.13	0.14	1.74
Myristic Acid	C14:0	0.63	0.40	0.11	0.10
Myristoleic Acid	C14:1	1.40	0.51	0.13	0.45
Pentadecanoic Acid	C15:0	0.47	0.24	0.09	0.37
cis-10-Pentadecenoic Acid	C15:1	0.62	0.13	0.04	0.13
Palmitic Acid	C16:0	23.71	22.85	24.87	14.16
Palmitoleic Acid	C16:1	3.02	1.85	1.52	3.80
Heptadecanoic Acid	C17:0	7.51	7.42	3.22	8.09
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	0.64	8.34	0.24	0.96
Stearic Acid	C18:0	7.75	12.09	3.00	7.54
Oleic Acid	C18:1n9c	7.02	5.99	1.16	3.72
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	9.25	6.08	0.31	2.16
Linoleic Acid	C18:2n6c	0.35	0.05	0.81	6.47
Arachidic Acid	C20:0	0.09	2.69	0.02	0.06
γ-Linolenic Acid	C18:3n6	0.78	0.66	0.17	0.72
cis-11-Eicosenoic Acid	C20:1	0.23	0.21	0.01	0.01
Linolenic Acid	C18:3n3	0.04	0.96	0.02	0.05
Heneicosanoic Acid	C21:0	0.09	0.03	0.02	0.03
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	0.10	0.03	0.02	0.03
Behenic Acid	C22:0		0.10		0.00
cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	C20:3n6		0.15	0.02	0.01
Erucic Acid	C22:1n9	0.03	1.21		0.03
cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid	C20:3n3		0.09		0.00
Arachidonic Acid	C20:4n6		0.09		0.00
Lignoceric Acid	C24:0	13.11	8.49	0.81	1.06
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid	C:20:5n3				0.07
Nervonic Acid	C24:1			0.08	1.72
cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid	C22:6n3	0.27	0.02	0.01	0.02

#### 4.4.3 เพาะเลี้ยงแบบ semi-continuous culture

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบปิด ซึ่งสร้างด้วยวัสดุโปร่งแสงเป็นวัสดุหลัก มีระบบการหมุนเวียนน้ำเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง เพาะเลี้ยงแบบ semi-continuous culture

ผลการศึกษาพบว่า *B. braunii* ที่เพาะเลี้ยงในระบบ semi-continuous culture มีผลผลิตชีวมวลเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง และสูงสุดเท่ากับ  $575 \pm 12.58$  กรัมต่อลิตร ที่สิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 4.36, ตารางที่ 4.16) มีคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ  $1.70 \pm 0.06$  มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.37 และ 4.38, ตารางที่ 4.17) มีแคโรทีนอยด์เพิ่มเมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น โดยมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ  $7.86 \pm 0.12$  มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.39 และ 4.40, ตารางที่ 4.17) มีโปรตีนเพิ่มในช่วง 12 วันแรกของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นมีความลดลงในวันที่ 15 โดยมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ  $190.56 \pm 23.54$  มิลลิกรัมต่อกรัม ในวันที่ สิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 4.41 และ 4.42, ตารางที่ 4.16) มีคาร์โบไฮเดรตในเซลล์สาหร่ายมีแนวโน้มลดลง เมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสูงขึ้น โดยมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ  $120.05 \pm 10.84$  มิลลิกรัมต่อกรัม ที่สิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 4.43 และ 4.44, ตารางที่ 4.16)

ไขมันสูงที่สุดเท่ากับ  $27.92 \pm 0.91$  เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับวันที่ 6, 12 และ 18 ของการเพาะเลี้ยง ผลผลิตไขมันสูงที่สุดเท่ากับ  $4.54 \pm 0.56$  มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 4.18) ชนิดกรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ palmitic acid โดยพบมีค่าในช่วง 12-26 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.19)

ตารางที่ 4.16 โภชนาการของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous

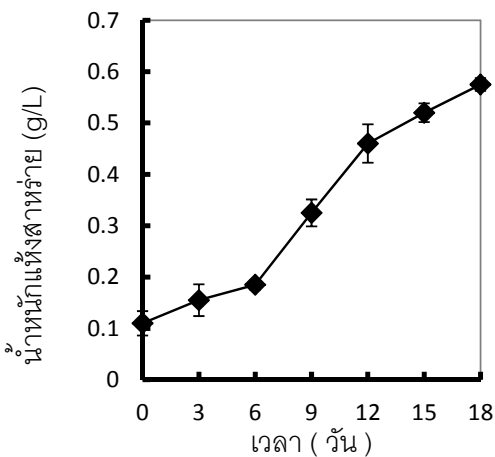
วันที่	น้ำหนักแห้ง (mg/l)	คาร์โบไฮเดรต (mg/l)	คาร์โบไฮเดรต (mg/g)	โปรตีน (mg/l)	โปรตีน (mg/g)
0	$110 \pm 23.80^a$	$15.40 \pm 1.79^a$	$61.10 \pm 6.15^{ab}$	$8.68 \pm 2.18^a$	$35.18 \pm 8.67^{ab}$
3	$155 \pm 30.96^a$	$15.46 \pm 1.17^a$	$53.12 \pm 4.84^a$	$18.59 \pm 2.55^{ab}$	$63.17 \pm 7.26^{bc}$
6	$185 \pm 9.57^a$	$24.34 \pm 2.30^b$	$63.77 \pm 6.19^{ab}$	$28.36 \pm 3.02^b$	$74.25 \pm 7.92^c$
9	$325 \pm 26.30^b$	$29.34 \pm 3.00^b$	$61.14 \pm 4.68^{ab}$	$40.95 \pm 3.99^c$	$85.95 \pm 8.80^c$
12	$460 \pm 37.42^c$	$40.76 \pm 4.61^c$	$81.37 \pm 8.77^b$	$61.66 \pm 4.36^d$	$123.15 \pm 7.45^d$
15	$520 \pm 18.26^{cd}$	$55.73 \pm 4.01^d$	$67.35 \pm 5.63^{ab}$	$13.36 \pm 5.67^a$	$16.05 \pm 6.91^a$
18	$575 \pm 12.58^d$	$72.64 \pm 0.89^e$	$120.05 \pm 10.84^c$	$114.23 \pm 5.50^e$	$190.56 \pm 23.54^e$

ตารางที่ 4.17 รงควัตถุของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous

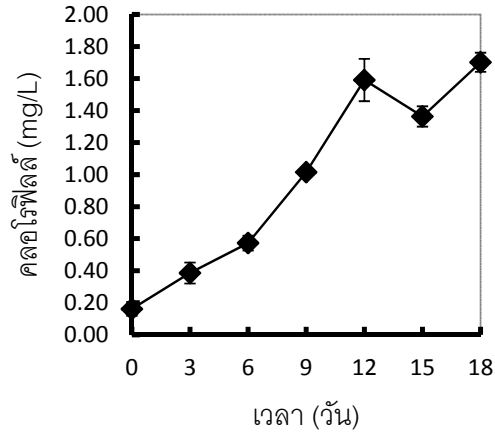
วันที่	คลอโรฟิลล์-เอ (mg/l)	แคโรทีนอยด์ (mg/l)
0	0.16±0.04 <sup>a</sup>	2.80±0.42 <sup>ab</sup>
3	0.39±0.07 <sup>b</sup>	2.21±0.07 <sup>a</sup>
6	0.57±0.05 <sup>b</sup>	3.59±0.29 <sup>b</sup>
9	1.02±0.01 <sup>c</sup>	5.17±0.21 <sup>c</sup>
12	1.59±0.13 <sup>e</sup>	6.44±0.26 <sup>d</sup>
15	1.36±0.06 <sup>d</sup>	6.50±0.38 <sup>d</sup>
18	1.70±0.06 <sup>e</sup>	7.86±0.12 <sup>e</sup>

ตารางที่ 4.18 โภชนาการของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous

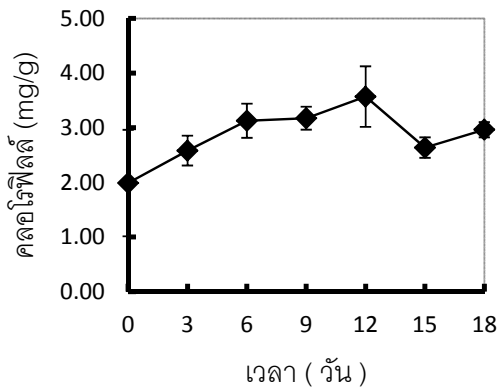
วันที่	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (/day)	น้ำหนักแห้ง (g/l)	ปริมาณไขมันทั้งหมด (%)	ปริมาณไขมัน (g/l)	ผลผลิตไขมัน (g/l/day)
0	-	0.11±0.03 <sup>a</sup>	14.83±1.07 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	-
6	0.12±0.04 <sup>b</sup>	0.19±0.01 <sup>b</sup>	27.92±0.91 <sup>b</sup>	0.05±0.00 <sup>b</sup>	3.41±1.20 <sup>b</sup>
12	0.18±0.02 <sup>b</sup>	0.46±0.04 <sup>c</sup>	24.98±1.27 <sup>b</sup>	0.11±0.01 <sup>c</sup>	4.54±0.56 <sup>b</sup>
18	0.04±0.01 <sup>a</sup>	0.58±0.01 <sup>d</sup>	27.38±2.78 <sup>b</sup>	0.16±0.00 <sup>d</sup>	1.22±0.24 <sup>a</sup>



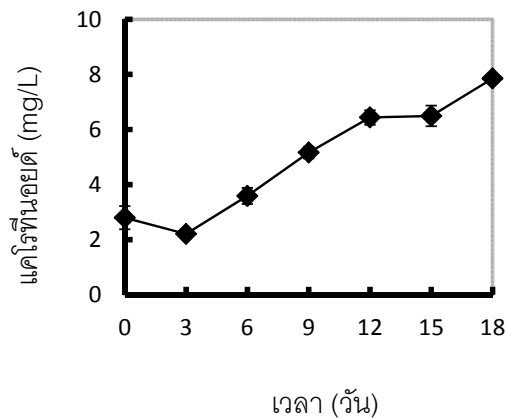
ภาพที่ 4.36 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous



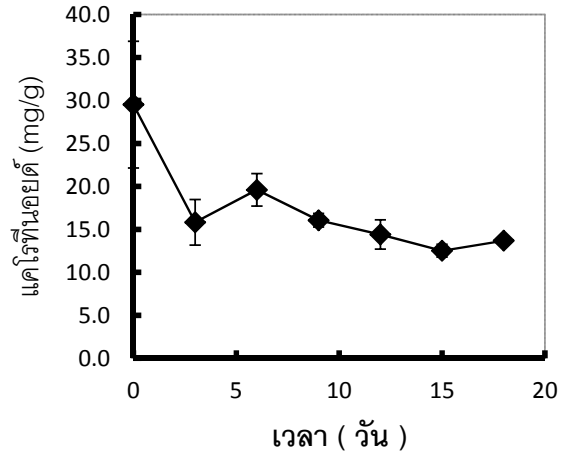
ภาพที่ 4.37 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous



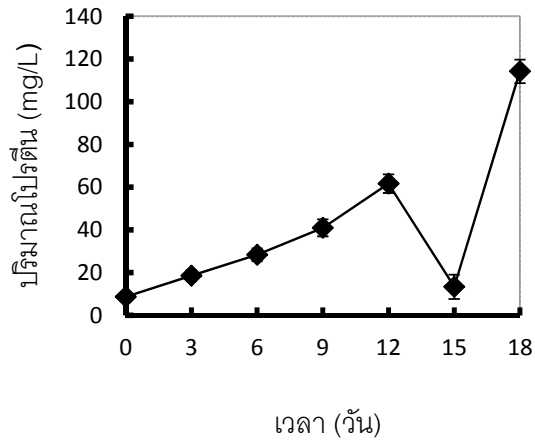
ภาพที่ 4.38 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous



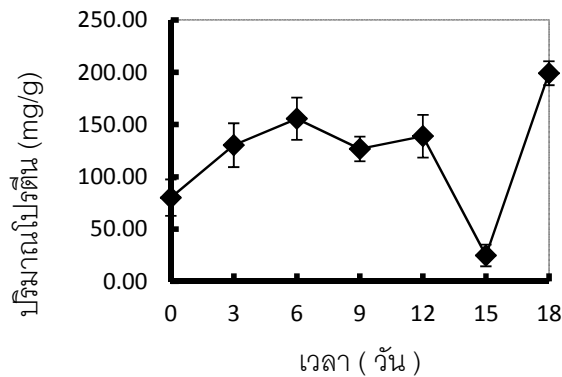
ภาพที่ 4.39 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous



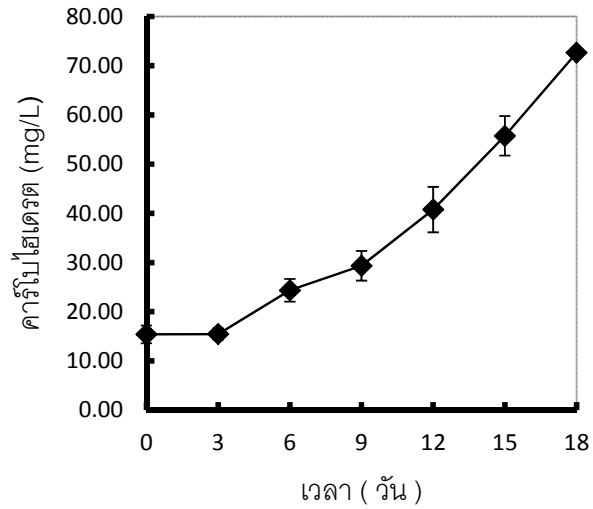
ภาพที่ 4.40 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous



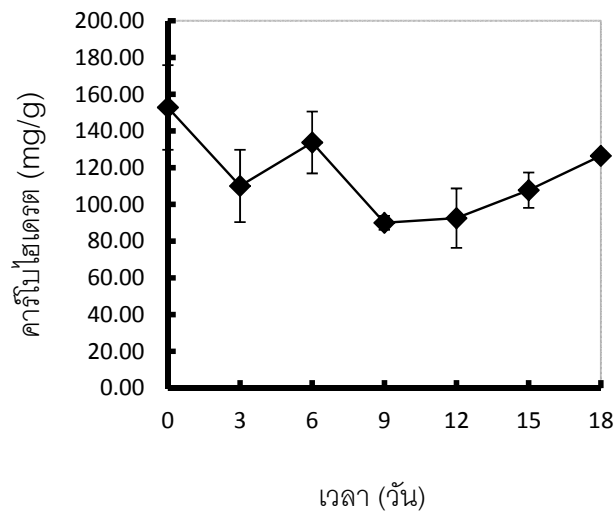
ภาพที่ 4.41 ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous



ภาพที่ 4.42 ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous



ภาพที่ 4.43 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous



ภาพที่ 4.44 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *Botryococcus braunii* เลี้ยงในในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous

ตารางที่ 4.19 ค่ากรดไขมันของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในระบบ photobioreactor แบบ semi-continuous

Component /Time (day)		0	6	12	18
Butyric Acid	C4:0	0.25	0.10	0.14	0.17
Caproic Acid	C6:0	0.19	16.26	0.05	0.05
Capric Acid	C10:0	0.64	0.35	0.04	0.35
Undecanoic Acid	C11:0	0.97	0.38	0.06	0.32
Lauric Acid	C12:0	12.66	12.21	61.07	23.41
Tridecanoic Acid	C13:0	1.97	1.70	0.38	2.61
Myristic Acid	C14:0	1.15	0.90	0.31	0.59
Myristoleic Acid	C14:1	0.51	0.83	0.44	1.10
Pentadecanoic Acid	C15:0	0.27	0.43	0.25	0.17
cis-10-Pentadecenoic Acid	C15:1	0.24	0.24	0.04	0.27
Palmitic Acid	C16:0	16.71	24.56	12.02	26.98
Palmitoleic Acid	C16:1	3.81	2.13	2.26	3.54
Heptadecanoic Acid	C17:0	8.18	3.54	2.59	7.28
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	8.90	8.83	2.30	5.39
Stearic Acid	C18:0	10.24	10.77	4.47	10.88
Elaidic Acid	C18:1n9t			0.71	9.00
Oleic Acid	C18:1n9c	10.13	5.64	1.91	2.96
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	7.02	2.30	3.38	0.86
Linoleic Acid	C18:2n6c	0.57	0.46	3.97	1.73
Arachidic Acid	C20:0	0.16	0.07	0.14	0.12
γ-Linolenic Acid	C18:3n6	0.14	0.23	0.71	0.04
cis-11-Eicosenoic Acid	C20:1	0.14	0.06	0.03	0.03
Linolenic Acid	C18:3n3	0.35	0.07	0.06	0.07
Heneicosanoic Acid	C21:0	0.32	0.07	0.08	0.04
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	0.27	0.01	0.07	0.03
Behenic Acid	C22:0	0.02	0.05	0.06	0.05
cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	C20:3n6	0.13	0.06	0.07	0.06
Erucic Acid	C22:1n9	0.10	0.21	1.44	0.00
cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid	C20:3n3	0.05	0.05	0.06	0.05
Arachidonic Acid	C20:4n6	0.00	0.00	0.08	0.13
Tricosanoic Acid	C23:0			0.07	0.03
cis-13,16-Docosadienoic Acid	C22:2			0.04	0.08
Lignoceric Acid	C24:0	13.46	7.04	0.40	1.32
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid	C:20:5n3		0.34	0.25	0.02
Nervonic Acid	C24:1			0.07	0.08
cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid	C22:6n3	0.43	0.09	0.01	0.18

#### 4.4 การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย

จากการทดลองใช้ต่างที่ระดับ 0.60-0.86 โมลาร์ ในการเปลี่ยนน้ำมันจากสาหร่ายให้เป็นไบโอดีเซล ที่ระดับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่า สาหร่ายเปลี่ยนน้ำมันสาหร่ายเป็นไบโอดีเซลได้ 40-80 เปอร์เซ็นต์ โดยต่างที่ความเข้มข้น 0.70 โมลาร์ สามารถเปลี่ยนน้ำมันสาหร่ายเป็นไบโอดีเซลได้สูงที่สุด ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นเช่นเดียวกันกับการเปลี่ยนน้ำมันจากสาหร่าย *Scenedesmus dimorphus* เป็นไบโอดีเซล (2.55±0.05 มิลลิลิตรจาก 3 มิลลิลิตร) แต่ปริมาณน้ำมันไบโอดีเซลที่เปลี่ยนได้นั้น สาหร่าย *B. braunii* จะมีค่าสูงกว่าสาหร่าย *S. dimorphus*



ภาพที่ 4.45 การสกัดน้ำมันจากสาหร่าย *B. braunii*



ภาพที่ 4.46 ปริมาณน้ำมันไพโรทีเซล (ด้านบนของหลอด) และกลีเซอริน (ด้านล่างของหลอด)



ภาพที่ 4.47 ลักษณะน้ำมันไพโรทีเซลที่ผลิตได้จากไขมันของสาหร่าย

Sathish *et al.* (2012) ได้ทำการการศึกษาการผลิตน้ำมันไพโรทีเซลจากการสกัดไขมันจากสาหร่ายสด โดยสาหร่ายที่ใช้ได้แก่ *Chlorella* และ *Scenedesmus* sp. นำสาหร่ายที่ทำการปั่นเหวี่ยงจนเหลือแค่ชีวมวล ใส่หลอดโดยที่ปริมาตรของชีวมวลเท่ากับ 100 กรัมแห้งแล้วเติมกรดซัลฟูริก 1 มิลลิลิตรที่มีความเข้มข้น 1 โมล ทำการผสม และให้ความร้อนที่เท่ากับ 90 องศาเซลเซียสโดยใช้ Hach DRB-200 เป็นเวลา 30 นาที โดยการเติมกรดลงไปจะทำให้เซลล์ของสาหร่ายแตก ต่อมาให้เติม

สารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 5 โมล ทำการผสม และให้ความร้อนที่เท่ากับ 90 องศาเซลเซียสโดยใช้ Hach DRB-200 เป็นเวลา 30 นาที โดยการเติมสารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์นี้จะทำให้ pH ที่เป็นกลาง เมื่อครบเวลาทิ้งไว้ให้เย็น แล้วทำการปั่นเหวี่ยงผลที่ได้คือจะมีชีวมวลของสาหร่ายตกตะกอนอยู่ ส่วนที่ลอยอยู่ที่เป็นส่วนใสให้ทำการแยกส่วนใสออกมา โดยส่วนที่เป็นชีวมวลของสาหร่ายนั้นให้เติมน้ำกลั่นและทำการปั่นเหวี่ยงอีกหนึ่งรอบเมื่อปั่นเหวี่ยงเสร็จให้นำส่วนใสออกมา แล้วเติมเฮกเซนเข้าไปในตัวอย่าง 5 มิลลิลิตรทำการผสมและให้ความร้อน 90 องศาเซลเซียส 15 นาที โดยที่จะทำการเขย่าทุก 5 นาทีที่ขณะให้ความร้อนอยู่ ทำการปั่นเหวี่ยง และดูดส่วนใสออกมา

Wahlen *et al.* 2011 ได้ทำการศึกษาการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยการทดลองได้ทดสอบความเหมาะสมของตัวเร่งปฏิกิริยา สารที่ใช้กรดซัลฟูริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และ เมทานอล ความเข้มข้นของกรดมีทั้งหมด 7 ระดับ ได้แก่ 1.2 1.4 1.6 1.8 2.0 2.2 และ 2.4 % โดยปริมาตรต่อ เมทานอล 2 มิลลิลิตร ผลที่ได้พบว่า ในความเข้มข้นที่ 2.0 %โดยปริมาตร มีค่าไบโอดีเซลสูงสุด (FAME) โดยที่ใช้เวลาในการให้ความร้อนไม่เกิน 20 นาที เนื่องจากถ้าเกิน 20 นาทีไปจะส่งผลให้เกิดผลผลิตน้ำมันไบโอดีเซล ผลผลิตไบโอดีเซลจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นที่มากกว่า 1.8 %โดยปริมาตร และลดลงเมื่อใช้ความเข้มข้นที่มากกว่า 2.4 %โดยปริมาตร

#### 4.5 หาแนวทางในการใช้เศษสาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมัน

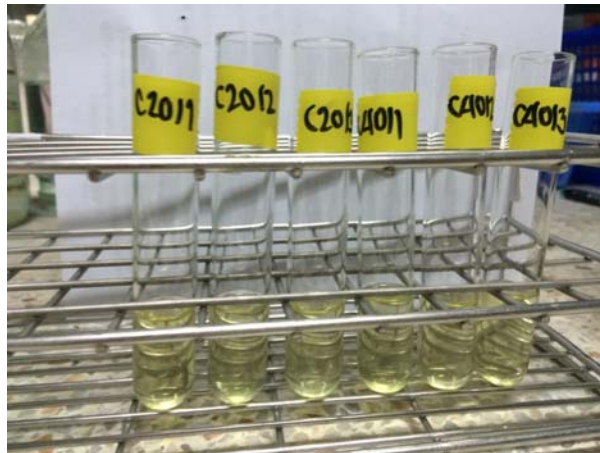
จากการนำเศษเซลล์สาหร่าย *B. braunii* ที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกไปแล้ว มาวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารและรงควัตถุที่เหลือในเศษเซลล์ พบว่ามีปริมาณโปรตีนสูงประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 11 เปอร์เซ็นต์ คลอโรฟิลล์ 3.6 เปอร์เซ็นต์ แคโรทีนอยด์ 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับอาหารสัตว์มากที่สุด เพราะมีโปรตีนในปริมาณที่สูง และยังมีรงควัตถุทั้งคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ที่ช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ ช่วยกำจัดสารพิษ และกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์ได้เป็นอย่างดี

ตารางที่ 4.20 ปริมาณเฉลี่ยคุณค่าทางโภชนาการและรงควัตถุที่ได้จากสาหร่าย *B. braunii* ที่ผ่านการสกัดไขมัน

คุณค่าทางโภชนาการและรงควัตถุ (mg/g)				
	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	คลอโรฟิลล์	แคโรทีนอยด์
<i>B. braunii</i>	303.6 ± 22.6	112±13	362± 15	103.4 ± 0.4



ภาพที่ 4.48 คลอโรฟิลล์สกัดได้จากเซลล์หลังสกัดน้ำมัน



ภาพที่ 4.49 แคโรทีนอยด์สกัดได้จากเซลล์หลังสกัดน้ำมัน



ภาพที่ 4.50 โปรตีนสกัดได้จากเซลล์หลังสกัดน้ำมัน

## บทที่ 5

## สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำมัน *B. braunii* ในห้องปฏิบัติการเปรียบเทียบกับภายนอกห้องปฏิบัติการ พบว่าผลผลิตชีวมวล น้ำมัน และผลผลิตน้ำมันของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีค่าสูงกว่าการเพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ การเพาะเลี้ยงในระบบ closed-photobioreactor ภายนอกห้องปฏิบัติการโดยไม่มีการควบคุมแสงและอุณหภูมิ พบว่าการเพาะเลี้ยงในรูปแบบ batch ให้ผลผลิตชีวมวลสูงที่สุด แต่การเพาะเลี้ยงแบบ continuous ให้ปริมาณน้ำมันและผลผลิตไขมันสูงที่สุด ส่วนกรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ C16:0 โดยพบมากในทุกสภาวะและรูปแบบการเพาะเลี้ยง น้ำมันจากสาหร่ายสามารถผ่านขบวนการเปลี่ยนไปเป็นไบโอดีเซลได้สูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ เศษเซลล์สาหร่ายที่เหลือหลังจากการสกัดน้ำมันพบว่ามีโปรตีนสูง เหมาะสำหรับการนำไปทำอาหารสัตว์

ควรมีการทดลองนำเศษเซลล์ที่เหลือไปผสมในอาหารสัตว์น้ำจริงเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำที่ใช้เศษสาหร่ายนี้เป็นวัตถุดิบในอาหาร

## บรรณานุกรม

- จิระพรรณ ศรีสุขงาม. 2537. โพรตีนธรรมชาติจากสาหร่ายเกลียวทอง.วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม 13(2): 43-47.
- เจียมจิตต์ บุญสม. 2531. ความลับของสาหร่ายเกลียวทอง : ผลของการรักษาโรคที่นายแพทย์ชาวญี่ปุ่นค้นพบ. งานแปลอันดับที่ 105 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- ยวดี พิรพรพิศาล, สุดาพร ตงศิริ และปาวลี ศรีสุขสงวงศ์. 2547. รายงานฉบับสมบูรณ์เรื่องการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาในน้ำอากาศสำห้เล้าในระดับนาร่อง. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ยวดี พิรพรพิศาล, อัญชลี เชื้อนเพ็ชร, วีระนันท์ เกียรติภักดิ์, ศักดา พริงลำภู และสาคร พรหมขัติแก้ว. 2545. การศึกษาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ระดับนาร่องจากน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วจากก๊าซชีวภาพฟาร์มเลี้ยงสุกร ปีที่ 2. รายงานการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ยวดี พิรพรพิศาล. 2546. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ลัดดา วงรัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.127 หน้า.
- สร้อยญา ทองเล็ก. 2542 การเพิ่มผลผลิตสาหร่ายเกลียวทองโดยการจัดความถี่ในการสัมผัสแสง. วิทยานิพนธ์ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- สุนิสา บุญมา, ปานมุก วัชรปิยะโสภณ และยวดี พิรพรพิศาล. 2554. ผลของอุณหภูมิและสภาวะในการเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *Botryococcus braunii* Kutzing PK5. การประชุมวิชาการ สาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5. โรงแรมพีพี สมิทลา บีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท จังหวัดสงขลา.
- สุนิรัตน์ เรื่องสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ และปวีณา ทวีกิจการ. 2553. คุณค่าทางโภชนาการและปริมาณรงควัตถุของ *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงในปุ๋ยผสมมูลสุกร. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง ปีที่ 4 ฉบับที่ 2. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.
- สุนิรัตน์ เรื่องสมบูรณ์. 2554. ปริมาณไขมันของไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก และความเค็ม ที่แตกต่างกัน. การประชุมวิชาการ สาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5. โรงแรมพีพี สมิทลา บีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท จังหวัดสงขลา.
- Alberto, Jorge ,Luciane Maria Colla, and Paulo Duarte Filho, 2002, *Spirulina platensis* Growth in Open Raceway Ponds Using Fresh Water Supplemented with Carbon, Nitrogen and Metal Ions, Bioscience, 58c, 76-80
- Ali and Saleh. 2012. Spirulina - an overview. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol. 4, Issue 3: 9-15.

- Antoni, D.; Zverlov, V.V.; and Schwarz, H. 2007. Biofuels from Microbes. Appl. Microbiol. Biotechnol. 77:23-35.
- Ashokkumar.Veeramuthu and Ramasamy Rengasamy, 2012, Mass culture of *Botryococcus braunii* Kutz. under open raceway pond for biofuel production, Bioresource Technology ,104 ,394–399
- Balasubramanian,S., J.D. Allen, A. Kanitkar and D. Boldor. 2011. Oil extraction from *Scenedesmus obliquus* using a continuous microwave system-design, optimization, and quality characterization. Bioresource. 102. 3396-3406.
- Becker, E.W. 1994. Microalgae : biotechnology and microbiology In:Baddiley,J.(Ed.) Cambridge University Press, Cambridge, NewYork.
- Belarbi E-H, Molina Grima E., Chisti Y. 2000. A process for high yield and acaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid ewsters from microalgae and fish oil. Enzyme Microb technol. 26: 516-529.
- Chen, G. Q., Jiang, Y. and Chen, F. 2007. Fatty acid and lipid class composition of the eicosapentaenoic acid-producing microalga, *Nitzschia laevis*. Food Chemistry. 104 : 1580–1585.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances 25:294–306.
- Chisti, Y. 2008. Biodiesel from Microalgae Beats Bioethanol. Trends Biotechnol. 26:126-131.
- Ciferri O.1983. Spirulina, the Edible Microorganism. Microbiological. Department of Genetics and Microbiology, University of Pavia, 27100 Pavia, Italy. Vol. 47, No. 4: 551-578.
- Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P., and Borghi, M.D. 2009. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. Chemical Engineering and Processing 48:1146-1151.
- Dayananda, C., Sarada, R., Usha Rani, M., Shamala, T.R., Ravishankar, G.A., 2007. Autotrophic cultivation of *Botryococcus braunii* for the production of hydrocarbons and exopolysaccharides in various media. Biomass Bioenergy. 31, 87-93.
- El-Moniem M.R.A., Shalady E.A. and Shanab S. M. M. 2010. Enhancement of biodiesel production from different species of algae. Grasas y aceites, 61 (4): 416-422.
- Fang, J.Y., Chiu, H.C., Wu, J.T., Chiang, Y.R. and Hsu, S.H. 2004. “Fatty acid in *Botryococcus braunii* accelerate tropical delivery of flurbiprofen into and across skin.” International Journal of Pharm. 276 : 163–173.
- Food and Agriculture organization of the united nations (FAO). 2008. A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for human and feed for domestic animals and fish. Fisheries and Aquaculture Circular NO.1034.

- Ge, Y., Liu, J., Tian, G., 2011. Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO<sub>2</sub> concentration in photobioreactor. *Bioresour. Technol.* 102, 130-134.
- Halim, R., M.K. Danquah and P.A. Webley. 2012. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production. *Biotechnology advances.* 30. 709-732.
- Hamdy, A.E.A, and Dawes, C.J. 1988. Proximate constituents and lipid chemistry in two species of from the west coast of Florida. *Bot Mar.* 31:79–81.
- Hart, B.T., Bailey, P., Edwards, R., Hortlek, K., James, K., McMohan, A., Meredith, C. and Swading, K. 1991. "A review of the salt sensitivity of the Australian fresh water biota." *Hydrobiologia.* 210 : 105–144.
- Hase et al., 2000, Photosynthetic Production of Microalgal Biomass in a Raceway System under Greenhouse Conditions in Sendai City, *Bioscience and Bioengineering*, Vol. 89, No. 2, 157-163. 2000
- Herbreteau F, Coffard L.J.M., Derrien A., De Roeck-Holzharuer Y. 1997. The fatty acid composition of five species of macroalgae. *Bot Mar.* 40:25–27.
- Hotimchenko, S.V. 2002. Fatty acid composition of algae from habitats with varying amounts of illumination. *Russian Journal of Mirine Biology.* 28 : 218-220.
- Hsieh, C.H., and Wu, W.T. 2009. Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation. *Bioresource Technology* 100:3921-3926.  
<http://poserinparadise.blogspot.com/2011/09/second-week-in-santa-marta.html>  
[http://sciinaction.blogspot.com/2007/12/blog-post\\_18.html](http://sciinaction.blogspot.com/2007/12/blog-post_18.html)  
[http://www.neduet.edu.pk/environmental/Bio\\_Diesel\\_Online/algae\\_biodiesel.ht](http://www.neduet.edu.pk/environmental/Bio_Diesel_Online/algae_biodiesel.ht)
- Hu, Q. 2004. Environmental effects on cell composition, in: Richmond, A., (Eds.). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology.* Blackwell Science, Victoria, pp. 83-93.
- Huang, G.H., Chen, F., Wei, D., Zhang, X., and Chen, G. 2010. Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied Energy.* 87:38–46
- Kalacheva, G.S., Zhila, N.O., Volova, T.G., 2001. Lipids of the green alga *Botryococcus* cultured in a batch mode. *Microbiol.* 70, 256-262.
- Khotimchenko ,S.V. and Yakovleva, I.M. 2004. Effect of solar irradiance on lipids of the green alga *Ulva fenestrata* Postels et Ruprecht. *Bot Mar.* 47:395–401.
- Khotimchenko, S.V. 2002. Fatty Acid Composition of Algae from Habitats with Varying Amounts of Illumination. *Russian Journal of Marine Biology.* 28(3) : 218–220.
- Khozin-Goldberg, I. and Cohen, Z. 2006. The effect of phosphate starvation on the lipid and fatty acid composition of the fresh water eustigmatophyte *Monodus subterraneus*. *Phytochemistry* 67:696–701.
- Kojima, E., Zhang, K., 1999. Growth and hydrocarbon production by microalga *Botryococcus braunii* in bubble column photobioreactor. *J. Biosci. Bioeng.* 87, 811-817.

- Lee, A.K., D.M. Lewis and P.J. Ashman. 2012. Disruption of microalgal cells for the extraction of lipids for biofuel: Processes and specific energy requirements. *Biomass and bioenergy*. 46. 89-101.
- Lee, J.Y., C. Yoo, S.Y. Jun, C.Y. Ahn and H.M. Oh. 2010. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource technology*. 101. S75-S77.
- Li, Y. and J.G. Qin. 2001. Comparison of growth and lipid content in three *Botryococcus braunii* strains. *Journal of Applied Phycology*. 17:551-556.
- Li, Y., M. Horsman, B. Wang, N. Wu and C.Q. Lan. 2008. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 81:629-636.
- Liu, Z.Y., Wang, G.C., and Zhou, B.C. 2008. Effect of iron growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*. 99 : 4717-4722.
- Mata, T.M., Martins, A.A., and Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14 :217-232
- Matanjun, P., Mohamed, N., Mustapha, M., and Muhammad, K. 2008. Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *J Appl Phycol*. DOI10.1007/s10811-008-93264.
- Matsunaga, T., Takeyama, H., Miura, Y., Yamazaki, T., Furuya, H. and Sode, K. 1995. Screening of marine cyanobacteria for high palmitoleic acid production. *FEMS Microbiology Letters*. 133 : 137-141.
- Meharban, S. 2005. Essential Fatty Acids, DHA and Human Brain. *Indian J Pediatr*. 72 : 239-242.
- Merzlyak, M.N., Chivkunova, O.B., Gorelova, O.A., Reshetnikova, I.V., Solovchenko, A.E., Khozin-Goldberg, I., and Cohen, Z. 2007. Effect of nitrogen starvation on optical properties, pigments and arachidonic acid content of the unicellular green alga *Parietochloris incisa* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *J Phycol* 43:833-843.
- Moazami, Nasrin. Alireza Ashori, Reza Ranjbar, Mehrnoush Tangestani, Roghieh Eghtesadi, Ali Sheykhi Nejad, 2012, Large-scale biodiesel production using microalgae biomass of *Nannochloropsis*, *biomass and bioenergy*, xxx, 1-5
- Mulbry, W., Kondrad, S., Pizarro, C., Kebede-Westhead, E., 2008. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers. *Bioresour. Technol*. 99:8137-8142.
- Nagano, S., Yamamoto, S., Nagakubo, M., Atsumi, K., Watanabe, M.M. 2010. Automotive fuel and microalgae oil. P. 27. *Proceeding of The 1<sup>st</sup> Asia-Oceania Innovation Summit*, 13-14 December, 2010, Tsukuba, Japan.

- Nuutila, A.M. and Aura, A.M. 1997. The effect of salinity, nitrate concentration, pH and temperature on eicosapentaenoic acid (EPA) production by the red unicellular alga *Porphyridium purpureum*." *Journal of Biotechnology* 55: 55-63.
- Okada, S., Murakami, M., Yamaguchi, K., 1995. Hydrocarbon composition of newly isolated strains of the green microalga *Botryococcus braunii*. *J. Appl. Phycol.* 7, 555-559.
- Olivera, De M.A.C.L, Monteiro M.P.C., Robbs P.G. and Leite S.G.F. 1999. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquaculture International* 7: 261-275.
- Orpez, R., Martínez, M.E., Hodaifa, G., El Yousfi, F., Jbari, N., Sanchez, S., 2009. Growth of the microalga *Botryococcus braunii* in secondarily treated sewage. *Desalin.* 246, 625-630.
- Pandey J. P., A. Tiwari and R. M. Mishra. 2010. Evaluation of Biomass Production of *Spirulina maxima* on Different Reported Media. *Journal of Algal Biomass Utilization.* 1(3): 70-81.
- Pandey J.P., A. Tiwari. 2010. Optimization of Biomass Production of *Spirulina maxima*. *Journal of Algal Biomass Utilization.* 1(2): 20-32.
- Parsons, T.R., Maita, Y., and Lalli, C.M., 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press.
- Patil, V. 2007. The Relevance of Biofuels. *Curr. Sci.* p. 92, 707.
- Patil, V., Tran, K.Q., Khanh-Quang, Giselrød H. R. 2008. Towards Sustainable Production of Biofuels from Microalgae. *International Journal of Molecular Sciences.* 9:1188-1195.
- Patil, V.; Reitan, K.I.; Knudsen, G.; Mortensen, L.; Kallqvist, T.; Olsen, E.; Vogt, G.; and Gislørød, H.R. 2005. Microalgae as Source of Polyunsaturated Fatty Acids for Aquaculture. *Curr. Topics Plant Biol.*, 6:57-65.
- Petkov, G. and G.Garcia. 2007. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*?. *Biochemical Systematics and Ecology.* 35:281-285.
- Rao, A.R., C. Dayananda, R. Sarada, T. R. Shamala and G. A. Ravishankar. 2007. Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. *Bioresource Technology.* 98:560-564.
- Romano I., M.R. Bellitti, B. Nicolaus, L. Lama, M.C. Manca, E. Pagnotta, A. Gambacorta. 2000. Lipid profile: a useful chemotaxonomic marker for classification of a new cyanobacterium in *Spirulina* genus. *Phytochemistry* 54: 289-294.
- Ruangsobmoon S. 2012. Effect of Light, Nutrient, Cultivation Time and Salinity on Lipid Production of Newly Isolated Strain of the Green Microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2. *Bioresource Technology.* 109:261-265..

- Ruangsomboon, S., Choochote, S. and Worasing, S. 2010. "Study of total lipid content of fifteen genera of algae." Proceedings of 6<sup>th</sup> Asian Agriculture Symposium and 1<sup>st</sup> International Symposium on Agriculture Technology
- Sanchez,Angel, Raceway Pond Design for Microalgae culture for Biodiesel, Chemical Engineering Department. University of Vigo
- Sathish,A and R.C. Sims. 2012. Biodiesel from mixed culture algae via a wet lipid extraction procedure. *Bioresource technology*. 118. 643-647.
- Schiewer, S. and Volesky, B. 2000. Biosorption Process for Heavy Metal Removal In: Environmental Microbe-Metal Interactions. ASM Press. Washington.
- Scott S.A., Davey M.P, Dennis J.S, Horst I., Howe C.J., Lea-Smith D. and Smith A.G. 2010. Biodiesel from algae: challenges and prospects. *Current Opinion in Biotechnology*. 21:277–286.
- Singh. Jasvinder and Sai Gu, 2010, Commercialization potential of microalgae for biofuels production ,*Renewable and Sustainable Energy Reviews* .14, 2596–2610
- Solovchenko A. E., Khozin-Goldberg I., Didi-Cohen S., Cohen Z., and Merzlyak M.N. 2008. Effects of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga *Parietochloris incise*. *J Appl Phycol*. 20:245–251.
- Takagi, M., Karseno and Yohida, T. 2006. Effect of Salt Concentration on Intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* *Journal of biosciendce and Bioengineering*. 101: 223-226.
- Tomaselli L., G. Boldrini and M.C. Margheri. 1997. Physiological behaviour of *Arthrospira (Spirulina) maxima* during acclimation to changes in irradiance. *Journal of Applied Phycology* 9: 37–43.
- Valdivia, M.D., P.M. Aparicio-Tejo, C. Lamsfus, C. Cruz, M.A. Martins-Loucoa and J.F. Moran. 2008. "Nitrogen nutrition and oxidant metabolism in ammonium-tolerant and sensitive plants." *Physiol Plant*. 132 : 359-369.
- Vazquez-Duhalt, R. and Arredondo-Vega, B.O., 1991. "Haloadaptation of the green alga *Botryococcus braunii* ('A' Race)." *Phytochemistry*. 30 (9) : 2919–2925.
- Vieler, A., Wilhelm, C., Goss, R., Siib, R., and Schiller, J. 2007. The lipid composition of the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* and the diatom *Cyclotella meneghiniana* investigated by MALDI-TOF MS and TLC. *Chemistry and Physics of Lipids* 150:143–155.
- Wahbeh, M.I. 1997. Amino acid macroalgae and fatty acid profiles of four species of from Aqaba and their suitability for use in fish diets. *Aquaculture*, 159, 101–109.
- Wahlen,B.D., R.M. Lance and L.C. Seefeldt. 2011. Biodiesel production by extraction and conversion of total lipids from microalgae, cyanobacteria, and wild mixed-cultures. *Bioresource technology*. 102. 2724-2730.

- Widjaja, A., Chao-Chang, Chien C., Yi-Hsu, C., Ju, Y.H. 2009. Study of increasing lipid production from freshwater microalgae *Chlorella vulgaris*. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 40:13-20.
- Xin, L., Hong-ying, H. and Jia, Y. 2010. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent. New Biotechnology. 27:59-63.
- Xin, L., H.H.ying, G.Ke and S.Ying-xue. 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. Bioresource Technology. 101.5494-5500.
- Yeesang, C., Cheirsilp, B., 2011. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. Bioresour. Technol. 102, 3034-3040.
- Ying, L.M., Kang-Sen, Shi-Chun, S. and Dao-Zhan, Y. 2001. Effect of light intensity on the total lipid and fatty acid composition of six strains of Marine diatoms. Chinese Journal of Oceanology and Limnology 19: 249-254
- Yusuf, C. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances. 25 : 294 – 306.
- Zeng, Xianhai, Michael K. Danquah, Xiao Dong Chen, Yinghua Lua, 2011, Microalgae bioengineering: From CO<sub>2</sub> fixation to biofuel production, Renewable and Sustainable Energy Reviews. 15 ,3252– 3260
- Zhila, N., Kalacheva, G., Volova, T., 2011. Effect of salinity on the biochemical composition of the alga *Botryococcus braunii* Kütz IPPAS H-252. J. Appl. Phycol. 23, 47-52.
- Zhila, N.O., G.S.Kalacheva and T.G.Volova. 2004. Effect of nitrogen limitation on the growth and lipid composition of the green alga *Botryococcus braunii* Kutz IPPAS H-252. Russian Journal of Plant Physiology. 52:311-319.

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวสุนีรัตน์ เรืองสมบุญ  
Miss Suneerat Ruangsomboon

เพศ หญิง  
ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ8

## ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
2538	ตรี	วท.บ. (ประมง) วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกียรตินิยม)	ม.เกษตรศาสตร์	ไทย
2541	โท	วท.ม. (วิทยาศาสตร์การประมง) วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	ม.เกษตรศาสตร์	ไทย
2549	เอก	Ph.D. (Environmental Technology)	King Mongkut's University of Technology Thonburi (International program)	ไทย

## สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

อนุกรมวิธานของแพลงก์ตอน การใช้ประโยชน์สารสกัดจากสาหร่าย การบำบัดน้ำเสีย  
ทุนวิจัยที่เคยได้รับ

1. ความเป็นไปได้ในการผลิตไขฟักโรแดงเป็นการค้า (งบประมาณแผ่นดิน 2544)
2. การบำบัดน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์และสีย้อมปนเปื้อนโดยใช้ *Lemna*, *Chlorella* และ *Phormidium* (ทุนอุดหนุนการวิจัย ม.ศรีปทุม 2544)
3. การกำจัดสารอินทรีย์และสีย้อมจากน้ำเสียโดยใช้ *Oscillatoria* และ *Microcystis* (งบประมาณแผ่นดิน 2546)
4. การสะสมและถ่ายทอดแคดเมียมผ่านทางห่วงโซ่อาหารในแหล่งน้ำ (สกว. มิ.ย. 2546- มิ.ย. 2547)
5. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดลาบ *Nostoc commune* เพื่อการค้า (รายได้ภาคฯ 2547)
6. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดลาบ (*Nostoc commune*) และสาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina platensis*) ในน้ำนมดิบที่ทิ้งจากโรงงานผลิตนมเพื่อใช้เป็นอาหารปลาสวยงามและปลาเศรษฐกิจ(งบประมาณแผ่นดิน 2548-2549)
7. ผลกระทบของแสง และอุณหภูมิ ที่มีต่อเสถียรภาพการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากสาหร่ายในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของเมล็ดพืชทดสอบ (รายได้ภาคฯ 2549)
8. ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาสารสกัดจากสาหร่ายต่อการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ (รายได้ภาคฯ 2550)
9. การกำจัดสีย้อมจากน้ำเสียโดยใช้วัสดุเหลือใช้จากสัตว์น้ำ (เปลือกกุ้ง เปลือกปู) (รายได้คณะฯ 2550)

10. แนวทางในการเพิ่มผลผลิต และปริมาณโปรตีนในปลาช่อนโดยการเลี้ยงด้วยอาหารผสม *Spirulina platensis* (เครือข่ายการวิจัยภาคกลางตอนบนประจำปีงบประมาณ 2550)
11. การเจริญเติบโต และคุณค่าทางโภชนาการของปลาช่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* (รายได้ภาคฯ 2551)
12. ศักยภาพและแนวทางการใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Nostoc commune* (งบประมาณแผ่นดิน 2551-2552)
13. ศักยภาพและความเป็นไปได้ในการใช้เซลล์สาหร่ายไซยาโนแบคทีเรียที่มีชีวิตในการกำจัดตะกั่วจากน้ำเสีย (สกว. มิ.ย. 2550- มิ.ย. 2552)

#### ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

1. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ. 2544. การใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ควบคุมปริมาณแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria*. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 9(3):19-23.
2. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ. 2545. การควบคุมการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* โดยใช้ฟอร์มาลินและคลอรีน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 18(3):30-37.
3. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ. 2545. การบำบัดน้ำเสียที่มีตะกั่วและแคดเมียมปนเปื้อนโดยใช้แหนเบ็ดเล็ก (*Lemna perpusilla* Torr.). วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 20 (3):1-11.
4. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ, ศักดิ์ชัย ชูโชติ, ปวีณา ทวีกิจการ และ กลิ่นสุคนธ์ สุวรรณรัตน์. 2546. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย : *Oscillatoria* sp., *Microcystis* sp. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 21:48-60.
5. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ, ศักดิ์ชัย ชูโชติ, ปวีณา ทวีกิจการ และ จตุพร บัณฑิต. 2546. ผลของความเข้มแสงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและการสร้างไขฟักของไรแดง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 21:61-68
6. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ. 2547. การกำจัดตะกั่วและแคดเมียมโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็ก *Phormidium angustissimum* และ *Chlorella vulgaris*. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ (Section T) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 3(1): 287-296.
7. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ. 2547. การดูดซับตะกั่วและแคดเมียมจากน้ำเสียโดยใช้ *Scenedesmus dimorphus* เป็นตัวดูดซับ. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 12(1):42-47.
8. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ และศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2547. การผลิตไขฟักของไรแดงภายใต้สภาวะการควบคุมระดับพีเอชและแอมโมเนีย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 22(2):65-75.
9. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ และ จำรูญ เล้าสินวัฒนา. 2548. ผลของสารสกัดจากสาหร่ายต่อการออกของพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 36:978-981.
10. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ บุปผา จงพัฒน์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ปวีณา ทวีกิจการ. 2548. คุณค่าทางโภชนาการของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23(2):38-47.
11. สุรินทร์ เรื่องสมบูรณ. 2549. การสร้างไขฟักของไรแดงที่ระดับอุณหภูมิต่ำและอัตราฟักของไขฟักที่ฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลิน และไขฟักที่เก็บรักษาไว้ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(2):54-62.

12. สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ. 2549. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ไซน้ำ *Wolffia arrhiza* (L.) Wimmer. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(3):1-14.
13. สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ และ จำริญ เล้าสินวัฒนา. 2549. ผลของแสงและอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถของสาารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Phormidium angustissimum* ในการยับยั้งการออกของเมล็ดพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 37(6):925-928.
14. ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher. 2549. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 14(2):40-49.
15. สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ. 2550. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Calothrix marchica* Lemm. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 25:13-26.
16. สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ และ ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2550. การกำจัดตะกั่วจากน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria jatorvensis* และ *Microcystis aeruginosa*. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 14:46-54.
17. สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ปวีณา ทวีกิจการ นิธิ พันธุ์คงชื่น. 2551. การเจริญเติบโตของปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Spirulina platensis* แห่ง. การประชุมวิชาการประมงครั้งที่ 3 “เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ” 8-9 ธันวาคม 2551. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ น. 95-104.
18. สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ปวีณา ทวีกิจการ ชาตีสกุล เตรียมธนานันท์. 2551. คุณค่าทางโภชนาการและปริมาณรงควัตถุของ *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงในปุ๋ยผสมมูลสุกร. การประชุมวิชาการประมงครั้งที่ 3 “เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ” 8-9 ธันวาคม 2551. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ น. 105-115
19. อธิยา สะพานกลาง และ สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ. .การดูดซับตะกั่วโดยไซยาโนแบคทีเรีย *Stigonema* sp. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28:20-30.
20. อภิญญา สโมสร, สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ, อำร อินทร์สังข์ และ จรงค์ดี พุ่มนวน. 2553. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายขนาดใหญ่ ต่อไรฝุ่น *Dematophagoides pteronyssinus* (Trouessart) โดยวิธีสัมผัส. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. น 184-191.
21. อธิยา สะพานกลาง และ สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ. 2553. การเจริญเติบโตและการดูดซับตะกั่วจากน้ำเสียโดยไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium* sp. ที่เลี้ยงภายใต้สารอาหารที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. น 193-202.

งานวิจัยที่ตีพิมพ์เป็นภาษาอังกฤษ

1. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2004. Bioremoval of Lead by cyanobacteria : *Gloeocapsa* sp. and *Calothrix marchica*. Proceeding of the 1<sup>st</sup> KMITL International Conference on Integration of Science and technology. 2:188-191.

2. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2004 . Lead ( $Pb^{2+}$ ) Adsorption potentials of *Gloeocapsa* sp. and role of its capsular polysaccharides. Proceeding of The International Conference on Sustainable Energy and Environment. 3(011):210-213 .
3. Ruangsomboon, S., A. Chidthaisong, B. Bunnag, D. Inthorn and N.W. Harvey. 2004b. Lead ( $Pb^{2+}$ ) Adsorption potentials of *Gloeocapsa* sp. and role of its capsular polysaccharides. Proceeding of The International Conference on Sustainable Energy and Environment. 3(011):210-213 .
4. Ruangsomboon, S. and Wongrat, L. 2006. Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*C. regularis*), zooplankton (*M. macrocopa*), and the predatory catfish. Aquatic Toxicology. 78:15-20.
5. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2006. Production, composition and  $Pb^{2+}$  adsorption characteristics of capsular polysaccharides extracted from a cyanobacterium *Gloeocapsa gelatinosa*. Water Research. 40:3759-3766.
6. Ruangsomboon, S. and Wongrat, L. 2007. Bioaccumulation of Cadmium in an Experimental Aquatic Ecosystem Involving Phytoplankton, Zooplankton, Catfish and Sediment. Kasetsart Journal (Natural Science) 41:180-185.
7. Ruangsomboon, S. 2007. Removal of lead ( $Pb^{2+}$ ) by the cyanobacterium *Phormidium angustissimum*. Proceedings of The International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST) "Biological Diversity, Food and Agricultural Technology", Bangkok, Thailand. 26-27 April 2007, 340-344.
8. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2007. Lead ( $Pb^{2+}$ ) adsorption characteristics and sugar composition of capsular polysaccharides of cyanobacterium *Calothrix marchica*. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 29:529-541.
9. Ruangsomboon, S. 2007. Removal of lead ( $Pb^{2+}$ ) by the cyanobacterium *Phormidium angustissimum*. Proceedings of The International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST) "Biological Diversity, Food and Agricultural Technology". 26-27 April 2007. p. 340-344.
10. Ruangsomboon, S. 2007. Nitrate, ammonia and orthophosphate removal from wastewater by duckweed *Lemna perpusilla* Torr. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 922-925.

11. Ruangsomboon, S. 2007. Study of the parameters affecting the binding of cadmium ( $\text{Cd}^{2+}$ ) in solution by *Phormidium angustissimum* West & G.S. West. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 918-921.
12. Ruangsomboon, S. and Choochote, S. 2007. Effect of feeding diets containing *Nostoc commune* on growth, survival, protein and carotenoid content of red tilapia *Oreochromis niloticus*. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 772-775.
13. Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2008. Removal of lead ( $\text{Pb}^{2+}$ ) by cyanobacteria *Gloeocapsa* sp. Bioresource Technology. 99:5650-5658.
14. Ruangsomboon, S. Choochote, S. and Taveekijakarn P. 2010. Growth performance and nutritional composition of red tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus*) fed Diets containing raw *Spirulina platensis*. The international conference on Sustainable community development 2010. 21-23 January, 2010. Khon Kaen University, Nong Khai campus, Thailand and Vientiane, Lao PDR. P. 27-31.