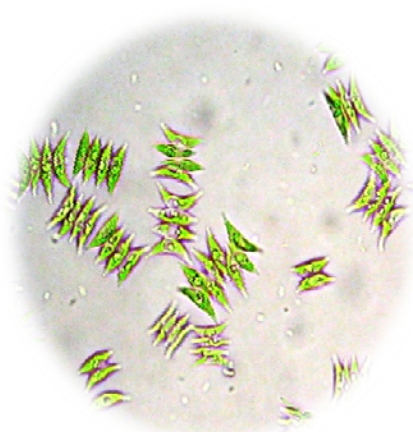




รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบหมวลในระบบ photobioreactor
เพื่อการผลิตทางการค้า

**Mass cultivation of microalgae in photobioreactor for commercial
production**



รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

นางสาวจิรรัตน์ พรหมนารถ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2556

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบหมวลในระบบ photobioreactor
เพื่อการผลิตทางการค้า

**Mass cultivation of microalgae in photobioreactor for commercial
production**

รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

นางสาวจิรรัตน์ พรหมนารถ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2556

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบหมวมวลในระบบ photobioreactor เพื่อการผลิตทาง
การค้า

แหล่งเงิน เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556

ประจำปีงบประมาณ 2556 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 500,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2555 ถึง 30 กันยายน 2556

หัวหน้าโครงการและผู้ร่วมโครงการวิจัย รศ. ดร. สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

นางสาวจิรรัตน์ พรหมนารถ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *S. platensis* และ *S. dimorphus* เปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการ และนอกห้องปฏิบัติการในระบบ horizontal tubular photobioreactor พบว่า *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยง ในระบบ horizontal tubular photobioreactor แบบกะ มีผลผลิตชีวมวลสูงกว่าในห้องปฏิบัติการ 2.4 เท่า โดยที่ปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน ส่วนการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ในอาหารที่มีการผันแปร ธาตุอาหารในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าสาหร่ายผลิตไขมันได้สูงที่สุดเมื่อเพาะการเลี้ยงในอาหารที่มีการ ผันแปรเหล็กทำให้มีไขมันเท่ากับ $24.7 \pm 0.5\%$ การเพาะเลี้ยง *S. dimorphus* ในระบบ horizontal tubular photobioreactor ด้วยอาหารที่มีระดับเหล็กที่เหมาะสมทั้งการเลี้ยงแบบกะ และแบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่า การเพาะเลี้ยงแบบกะสามารถเพิ่มไขมันได้มากขึ้น 1.3 เท่า แต่ไขมันไม่แตกต่างจากการเลี้ยงใน ห้องปฏิบัติการ ส่วนการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องเพิ่มไขมันได้ 2 เท่า และเพิ่มชีวมวลได้ 1.8 เท่า การ วิเคราะห์กรดไขมันของ *S. dimorphus* พบว่ามี C16-C18 สูง จึงมีความเหมาะสมในการนำน้ำมันจาก สาหร่ายชนิดนี้มาผลิตไบโอดีเซล ซึ่งจากการทำปฏิกิริยา transesterification โดยใช้ NaOH สามารถ ผลิตไบโอดีเซลได้ 85 % จากไขมันทั้งหมด เศษเซลล์ที่ผ่านการสกัดไขมันมีรงควัตถุ คาร์โบไฮเดรตและ โปรตีนเหลืออยู่ ซึ่งสามารถนำรงควัตถุที่เหลือมาใช้ประโยชน์ หรือนำเซลล์ผลิตมีเทน ทำปุ๋ย หรือเป็น อาหารสัตว์ต่อไป

คำสำคัญ : ซีนีเดสมัส, สไปรูลีนา, โฟโตไบโอรีแอคเตอร์, ถังเพาะเลี้ยงปฏิกรณ์, ไขมัน, หมวมวล

Research Title: Mass cultivation of microalgae in photobioreactor for commercial production

Researcher: Assoc. Prof. Dr. Suneerat Ruangsomboon

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

ABSTRACT

The comparison between laboratory and outdoor (horizontal tubular photobioreactor) cultivation of microalgae *S. platensis* and *S. dimorphus* were studied. Biomass of *S. platensis* cultured in photobioreactor was 2.4 times higher than that of laboratory. There was no significant difference of protein among laboratory and outdoor. In the laboratory, the highest lipid content ($24.7 \pm 0.5\%$) in *S. dimorphus* was observed in condition of optimum iron concentration. Biomass of *S. dimorphus* in semi-continuous photobioreactor was 1.8 times higher than that of laboratory. Lipid content of *S. dimorphus* in batch and semi-continuous photobioreactor was 1.3 and 2 times higher than that of laboratory, respectively. Lipid of *S. dimorphus* displayed a fatty acid profile which is suitable for biodiesel production as the most abundant compounds were C16-C18. Transesterification of lipid using NaOH produced 85% of biodiesel. The residual biomass of *S. dimorphus* after lipid extraction contained pigment, carbohydrate and protein which could use as raw material for pigment, methane, fertilizer or animal feed production.

Key words: *Scenedesmus*, *Spirulina*, photobioreactor, lipid, large scale cultivation

III

กิตติกรรมประกาศ

“การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง จากแหล่งทุนเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556”

รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

นางสาวจิรรัตน์ พรหมนารถ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 สมมุติฐานงานวิจัย.....	2
1.5 คำสำคัญของการวิจัย.....	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม.....	4
2.1 การใช้สาหร่ายเป็นแหล่งอาหารของมนุษย์.....	4
2.2 การสังเคราะห์กรดไขมันที่พบในสาหร่ายขนาดเล็ก	7
2.3 การใช้สาหร่ายเป็นแหล่งไบโอดีเซล.....	8
2.4 ไบโอดีเซล (Biodiesel).....	9
2.5 สาหร่ายและความเหมาะสมในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมัน.....	11
2.6 การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการผลิตน้ำมัน.....	12
2.7 ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก.....	13
2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อกำลังผลิตของสาหร่ายในระบบ photobioreactor.	15
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	18
3.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย.....	18
3.2 การเลี้ยงสาหร่ายเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการและนอกห้องปฏิบัติการ.....	18
3.3 การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย.....	19
3.4 หาแนวทางในการใช้เศษสาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมัน	19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	20
4.1 ระบบ closed-photobioreactor	20
4.2 การเลี้ยงสาหร่ายเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการและนอกห้องปฏิบัติการ.....	20
4.3 การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย.....	50
4.4 หาแนวทางในการใช้เศษสาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมัน	52
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	53
เอกสารอ้างอิง.....	54
ประวัติผู้เขียน.....	62

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 กรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) และกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (non essential acid) ของสไปรูลินา.....	5
2.2 กรดอะมิโน (%) ที่จำเป็นต่อร่างกายในสไปรูลินาเมื่อเปรียบเทียบกับสารอาหารอื่น.....	6
2.3 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของ <i>Spirulina</i> (แห้ง) กับแหล่งอาหารประเภทอื่น ๆ.....	6
2.4 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิต ไบโอดีเซล.....	12
4.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	23
4.2 กรดไขมันของสาหร่าย <i>Spirulina maxima</i> ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	24
4.3 กรดไขมันของ <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร <i>chlorella medium</i> สูตรปกติ	27
4.4 การเจริญเติบโตและไขมันของ <i>S. dimorphus</i> ในอาหารสูตร <i>chlorella medium</i> ที่ผันแปรความเข้มข้นของเหล็ก.....	29
4.5 กรดไขมันของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ในความเข้มข้นเหล็กที่แตกต่างกัน.....	30
4.6 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันในสาหร่าย <i>S. platensis</i> และ <i>S. dimorphus</i> เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตรการค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ.....	33
4.7 กรดไขมันของสาหร่าย <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรการค้าสูตร 16-16-16.....	35
4.8 กรดไขมันของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรการค้า สูตร 8:24:24.....	36
4.9 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor.....	39
4.10 กรดไขมันของ <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor	40
4.11 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor	44
4.12 กรดไขมันของ <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor.....	45
4.13 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของ <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor	48
4.14 กรดไขมันของ <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor	49
4.15 ผลของระดับความเข้มข้นของธาตุที่แตกต่างกันต่อปริมาณน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้.....	50

VII

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.16 ปริมาณเฉลี่ยคุณค่าทางโภชนาการและรงควัตถุที่ได้จากสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่ผ่านการสกัดไขมัน.....	52

VIII

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 Transesterification ของน้ำมันเป็น biodiesel	11
2.2 Photobioreactor แบบท่อที่วางขนานกันในแนวนอน.....	14
2.3 การวาง Photobioreactor ในแนวตั้ง.....	14
4.1 ระบบ horizontal tubular photobioreactor ที่สร้างขึ้นเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย.....	20
4.2 น้ำหนักแห้ง และคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	21
4.3 แคโรทีนอยด์ และโปรตีนของสาหร่าย <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	21
4.4 คาร์โบไฮเดรต และไขมันของสาหร่าย <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....	22
4.5 การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ผันแปรปริมาณ ไนโตรเจน (A) ฟอสฟอรัส (B) เหล็ก (C) และความเค็ม (D)	25
4.6 ชีวมวล ไขมัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และผลผลิตไขมัน ของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ผันแปรปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก และความเค็ม.....	26
4.7 น้ำหนักแห้ง ของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ในอาหารสูตร chlorella medium ที่ผันแปรความ เข้มข้นของเหล็ก.....	28
4.8 คลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ในอาหารสูตร chlorella medium ที่ผันแปรความเข้มข้นของเหล็ก.....	29
4.9 โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ในอาหารสูตร chlorella medium ที่ ผันแปรความเข้มข้นของเหล็ก.....	29
4.10 การเจริญเติบโตของ <i>S. platensis</i> (A) และ <i>S. dimorphus</i> (B) เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตรการค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ.....	31
4.11 คลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่าย <i>S. platensis</i> (A) และ <i>S. dimorphus</i> (B) เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตร การค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ.....	32
4.12 แคโรทีนอยด์ของสาหร่าย <i>S. platensis</i> (A) และ <i>S. dimorphus</i> (B) เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตร การค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ.....	32
4.13 โปรตีนของสาหร่าย <i>S. platensis</i> (A) และ <i>S. dimorphus</i> (B) เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตรการค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ.....	32
4.14 ปริมาณไขมันของสาหร่าย <i>S. platensis</i> (A) และ <i>S. dimorphus</i> (B) เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตร การค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ.....	34
4.15 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor.....	38

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.16 ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ และแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor.....	38
4.17 โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ของสาหร่าย <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor.....	38
4.18 ไขมันของสาหร่าย <i>S. platensis</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor.....	39
4.19 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor.....	42
4.20 คลอโรฟิลล์-เอ และแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor.....	42
4.21 โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor.....	42
4.22 ไขมันของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor.....	43
4.23 การเจริญเติบโตของ <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor.....	46
4.24 ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ และแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor.....	47
4.25 โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor.....	47
4.26 ไขมันของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i> ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor.....	47
4.27 ระดับความเข้มข้นของต่างที่แตกต่างกันต่อปริมาณน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้.....	50
4.28 ปริมาณน้ำมันไบโอดีเซล (ด้านบนของหลอด) และกลีเซอริน (ด้านล่างของหลอด) ที่ผลิตได้ที่ระดับความเข้มข้นต่างแตกต่างกัน.....	51
4.29 ลักษณะน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากไขมันของสาหร่าย <i>S. dimorphus</i>	51

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สาหร่ายขนาดเล็กได้รับการยอมรับในด้านเป็นแหล่งอาหารและเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลที่สำคัญในปัจจุบัน โดยในด้านเป็นแหล่งอาหารนั้น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (ไซยาโนแบคทีเรีย) *Spirulina platensis* เป็นที่ยอมรับว่าเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีโปรตีนสูงที่สุดถึง 70 % มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ รวมทั้งมีรงควัตถุไฟโคไซยานินซึ่งมีราคาสูงมากเป็นองค์ประกอบ จึงเป็นที่นิยมเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย เพื่อเป็นแหล่งอาหารหรือสกัดสารสำคัญต่างๆ ออกจำหน่าย แต่การผลิตยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาดทั้งด้านอาหาร อาหารเสริมและเครื่องสำอาง ส่วนสาหร่ายขนาดเล็กชนิดที่ไม่ใช่พืชอาหาร (non-food crop) ยังได้รับความนิยมนำมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล เพราะสามารถทดแทนแหล่งไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มซึ่งเป็นแหล่งอาหารของมนุษย์ และยังเป็นทางเลือกของแหล่งพลังงานทดแทนที่ดีกว่าน้ำมันปิโตรเลียมเพราะไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม เพราะสาหร่ายขนาดเล็กมีการดัดแปลงคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ในการเจริญเติบโต แม้จะเกิดคาร์บอนไดออกไซด์จากการเผาไหม้ไบโอดีเซลที่ผลิตจากสาหร่าย ก็จัดเป็นสมดุลกับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกดักไปใช้ระหว่างการเจริญเติบโต ดังนั้นไบโอดีเซลจากสาหร่ายจึงไม่เพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ให้กับสิ่งแวดล้อม และไม่ส่งผลให้เกิดภาวะโลกร้อน โดยสาหร่ายขนาดเล็กที่ได้รับความนิยมในการนำมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลชนิดหนึ่งคือสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus dimorphus* ซึ่งผลิตน้ำมันได้สูงและเพาะเลี้ยงได้ง่ายกว่าสาหร่ายน้ำมันชนิดอื่น ๆ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อเพิ่มปริมาณให้เพียงพอต่อการนำมาเป็นแหล่งอาหาร แหล่งวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่าง ๆ หรือเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลนั้นต้องได้ผลผลิตสาหร่ายต่อพื้นที่สูงที่สุดและใช้ต้นทุนต่ำ เทคนิคที่สำคัญคือการเลือกระบบเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม ซึ่งระบบปิด (closed photobioreactor) เป็นวิธีที่ดีกว่าระบบเปิด (open pond) เพราะสามารถควบคุมสภาวะในการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสม และป้องกันการปนเปื้อนของสาหร่ายอื่นได้ ระบบเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุดสำหรับสาหร่ายแต่ละชนิดนั้นแตกต่างกัน ขึ้นกับประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง และความสามารถในการเจริญเติบโตของสาหร่ายแต่ละชนิด

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* และ *S. dimorphus* ในระบบเปิดนั้นยังให้ผลผลิตไม่พอเพียงพอต่อความต้องการ และมีปัญหาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณผลผลิตตามสภาวะแวดล้อม ซึ่งแนวทางการแก้ไขคือทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบ photobioreactor ซึ่งมีรายงานว่าให้ผลผลิตสาหร่ายมากกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบเปิดที่มีปริมาตรน้ำเท่ากัน 5-13 เท่า แต่ปัญหาของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบ photobioreactor คือค่าพีเอชและปริมาณออกซิเจนที่เกิดขึ้นจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจะมีการเพิ่มสูงจนอาจเป็นอันตรายต่อสาหร่าย ดังนั้นจึงต้องมีการออกแบบระบบให้สามารถควบคุมระดับพีเอช และออกซิเจนในระบบให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตราย

ต่อสาหร่าย นอกจากนี้ยังมีปัจจัยต่าง ๆ อีกหลายปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการออกแบบระบบให้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายแต่ละชนิดมากที่สุด

ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบระบบ photobioreactor ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *S. platensis* และสาหร่ายสีเขียว *S. dimorphus* ให้ได้ผลผลิตสูงที่สุด โดยออกแบบระบบให้มีการหมุนเวียนของน้ำ ปริมาณสารอาหาร พีเอช คาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสม และสามารถควบคุมการกำจัดออกซิเจนส่วนเกินออกจากระบบ เพื่อให้ได้ผลผลิตสาหร่ายที่มากพอต่อการนำไปใช้ประโยชน์ต่อทั้งด้านการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล ด้านอาหาร หรือแหล่งของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษารูปแบบของการควบคุมระบบ (อาหาร, อุณหภูมิ, แสง, พีเอช, คาร์บอนไดออกไซด์, ออกซิเจน) และขนาด photobioreactor ที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus dimorphus* และ *Spirulina platensis*

1.2.2 ศึกษาแบบการเลี้ยงสาหร่าย (เก็บเกี่ยวครั้งเดียว, ต่อเนื่อง, กึ่งต่อเนื่อง) ที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่าย โดยทำให้สาหร่ายมีผลผลิตสูงที่สุดสำหรับ *S. platensis* และผลผลิตไขมันสูงสุดสำหรับ *S. dimorphus*

1.2.3 หาสัดส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงจากระบบ photobioreactor

1.2.4 ตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการนานาชาติที่มีค่าดัชนีอ้างอิง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

สร้างระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบ photobioreactor ขนาดความจุไม่น้อยกว่า 1000 ลิตร และทดลองเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* และ *S. platensis* ซึ่งมีรูปร่างของสาหร่ายแตกต่างกัน และการใช้ประโยชน์ต่างกัน โดยหาวิธีทำการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ของระบบให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ไม่เป็นอันตรายต่อสาหร่าย และหาระบบที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีรูปร่างเป็นสายยาว และรูปร่างเป็นเซลล์กลม และหารูปแบบการเลี้ยงที่สาหร่ายให้ผลผลิตสาหร่าย และผลผลิตไขมันสูงสุด จากนั้นทำการหาวิธีการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เหมาะสม

1.4 สมมุติฐานงานวิจัย

สาหร่าย *Scenedesmus dimorphus* และ *Spirulina platensis* เป็นสาหร่ายที่ใช้ประโยชน์ได้มาก ทั้งผลิตน้ำมันและเป็นอาหาร การเพาะเลี้ยงในระบบปิดให้ผลผลิตที่ดีมากกว่าระบบเปิด และสายพันธุ์ของแต่ละประเทศมีความต้องการสภาวะในการเพาะเลี้ยงไม่เหมือนกัน จึงควรทำการหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมของสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยเอง

1.5 คำสำคัญของการวิจัย

ชีนีเดสมัส, สไปรูลีนา, ไขมัน, กรดไขมัน, ไบโอดีเซล, การเพาะเลี้ยงระบบปิด

Scenedsmus dimorphus, *Spirulina platensis*, lipid, fatty acid, biodiesel, closed-photobioreactor

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1. ได้ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบ closed-photobioreactor ที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* และ *S. dimorphus* และสามารถเผยแพร่ระบบและปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสมให้กับผู้ที่สนใจในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสองชนิดนี้ได้

1.6.2. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยสำหรับนักวิจัยท่านอื่น ๆ ต่อไปทางด้าน สาหร่ายวิทยา การผลิตน้ำมันจากสาหร่าย การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิด

1.6.3. สามารถผลิตนักศึกษาปริญญาโท ให้เป็นนักวิจัยที่มีความรู้ด้านการเพาะเลี้ยงสาหร่าย การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย

1.6.4. ได้ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ ที่มีค่าดัชนีอ้างอิง

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การใช้สาหร่ายเป็นแหล่งอาหารของมนุษย์

การเพิ่มขึ้นของประชากรในปัจจุบันทำให้มีความต้องการอาหารในการบริโภคเพิ่มขึ้นตามมา ซึ่งปัญหาหลายปัญหาที่ตามมาคือการขาดแคลนอาหารโดยเฉพาะในกลุ่มผู้ที่มีฐานะยากจน ปัญหาการขาดแคลนสารอาหารประเภทโปรตีนนับเป็นปัญหาใหญ่ เนื่องจากแหล่งโปรตีนหลักที่ได้จากเนื้อสัตว์นั้นมีต้นทุนสูง และต้องใช้เวลาในการผลิต (การเลี้ยงสัตว์) นาน และยังมีปัญหาการตกค้างของสารอันตรายเช่นสารเร่งสีเนื้อแดงในสุกร หรือฮอร์โมนที่ผสมในไก่เนื้อ จึงทำให้ผู้บริโภคได้รับอันตรายจากสารตกค้างเหล่านี้ แหล่งอาหารโปรตีนที่เป็นที่นิยมในปัจจุบันคือแหล่งโปรตีนจากพืช โดยเฉพาะจากสาหร่ายทั้งสาหร่ายทะเลและสาหร่ายน้ำจืด แต่เนื่องจากในประเทศไทยเป็นประเทศที่มีแหล่งน้ำจืดมากกว่าทะเลสาหร่ายน้ำจืดจึงมีความเหมาะสมและความเป็นไปได้ที่ประชาชนจะสามารถผลิตเพื่อบริโภคได้เองในครัวเรือนมากกว่า ข้อได้เปรียบของสาหร่ายคือเพาะเลี้ยงได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อยกว่าพืชขนาดใหญ่ ใช้ระยะเวลาสั้น และให้คุณค่าทางโภชนาการสูง เช่นสาหร่ายสไปรูลินา (*Spirulina*) ซึ่งเป็นที่ยอมรับและรู้จักกันแพร่หลายทั่วโลก

โดย *Spirulina* นอกจากเป็นอาหารมนุษย์แล้วยังสามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มสีให้สวยงาม เร่งการเจริญเติบโตและเพิ่มอัตราการรอดได้อีกด้วย เนื่องจากมีสารสีพวกแคโรทีนอยด์และ phycocyanin เป็นองค์ประกอบอยู่ โดยสารสีนี้มีราคาแพงมีการผลิตขายในระดับอุตสาหกรรม (Patricia *et al.*, 1996) นิยมนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนธรรมชาติ (natural protein) โดยเฉพาะ phycocyanin นั้นนิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ ใช้เป็นเครื่องมือช่วยในการตรวจวัดระบบภูมิคุ้มกัน (fluorescent markers) (Tchernov *et al.*, 1999) ใช้ผสมในยาต่าง ๆ

สาหร่าย *Spirulina* มีโปรตีนสูง อาจจะมีการแตกต่างกันไปบ้างตามคุณสมบัติของของน้ำที่นำมาเลี้ยง นอกจากนั้นยังมีโปรวิตามินเอหรือเบต้าแคโรทีนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวิตามินตัวอื่นๆ ในด้านเกลือแร่จะมีแคลเซียม ฟอสฟอรัส และโปตัสเซียมค่อนข้างสูงกว่าแร่ธาตุตัวอื่นๆ กรดอะมิโนในสาหร่ายชนิดนี้มีครบทุกชนิดและค่อนข้างสูง (ยวดี, 2549) (ตาราง 2.1-2.3)

สาหร่าย *Spirulina* sp. ประกอบด้วยโปรตีน 50-70 % ของน้ำหนักแห้ง มีวิตามินและเกลือแร่ที่สำคัญต่อร่างกายหลายชนิด (Santillan, 1982) ไขมันในเซลล์สาหร่ายประกอบด้วยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวในปริมาณสูง (Ciferri, 1983) จึงเป็นที่นิยมรับประทานเป็นอาหารเสริมสุขภาพ (สุมาลี, 2535) ผนังเซลล์ประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์สามารถย่อยสลายได้ถึง 86 % (Borowitzka, 1989; Li and Qi, 1997; เบญจวรรณ, 2543) สาหร่าย *Spirulina* มีคาร์โบไฮเดรตอยู่ประมาณ 12-20 % นอกจากนี้สาหร่าย *Spirulina* ยังเป็นแหล่งที่มีศักยภาพในการผลิตสารเคมีสำคัญซึ่งพบไม่ค่อยพบในสิ่งมีชีวิตอื่น โดยประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายพันธะ (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) โดยเฉพาะกรดแกมมา - ลิโนเลนิก หรือ GLA (g -linolenic acid, 18:3 w 6), ริงควัตถุ

ธรรมชาติ เช่น ไฟโคไซยานิน (phycocyanin) และคาโรทีนอยด์ ชนิด myxoxanthophyll, zeaxanthin และสารพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) เป็นต้น (มาร์ศรี, 2541)

ตารางที่ 2.1 กรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) และกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (non essential acid) ของสไปรูลินา

กรดอะมิโนที่จำเป็น	ร้อยละ
ไอโซลิวซีน (isoleucine)	4.13
ลิวซีน (leucine)	5.80
ไลซีน (lysine)	4.00
เมทไทโอนีน (methionine)	2.17
ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine)	3.95
ทรีโอนีน (threonine)	4.17
ทริปโตเฟน (tryptophan)	1.13
วาลีน (valine)	6.00
อะลานีน (alanine)	5.82
อาร์จินีน (arginine)	5.98
กรดแอสปาทิก (aspartic acid)	6.43
ซิสทีน (cystine)	0.67
กรดกลูตามิก (glutamic acid)	8.94
ไกลซีน (glycine)	3.46
ฮิสทีดีน (histidine)	1.08
โพรลีน (proline)	2.97
เซอรีน (serine)	4.00
ไทโรซีน (tyrosine)	4.60

ที่มา: สมบัติ (2528)

Spirulina มีวิตามินอยู่ในปริมาณต่าง ๆ กัน วิตามิน ที่น่าสนใจได้แก่ วิตามิน B12 ซึ่งปกติจะมีมากในเนื้อสัตว์ และมีปริมาณ น้อยมากในพืชทั่ว ๆ ไป แต่สาหร่ายสไปรูลินาเป็นสาหร่ายที่มีวิตามิน B12 สูง วิตามินอีกชนิดหนึ่งที่มีมากในสาหร่ายสไปรูลินาคือ วิตามิน A ซึ่งอยู่ในรูปของเบต้าแคโรทีน มีบทบาทสำคัญในการลดอนุมูลอิสระ (free radical) ส่งผลให้ภูมิคุ้มกันโรคสูง และยังเป็นแหล่งอาหารที่มีวิตามิน E, C, B1, B6 และไนอาซินสูง นอกจากวิตามินต่าง ๆ แล้ว สาหร่ายสไปรูลินายังอุดมไปด้วยเกลือแร่ที่จำเป็นอีกมากมาย เช่น ธาตุเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง เซเลเนียม และแคลเซียม นอกจากนี้รงควัตถุในสาหร่ายสไปรูลินายังประกอบด้วยสีเขียวของคลอโรฟิลล์ สีน้ำเงินของไฟโคไซยานิน สีส้มของเบต้าแคโรทีนและแซนโทฟิลล์ โดยพบว่าคลอโรฟิลล์หรืออนุพันธ์มีผล

ต่อการเจริญของแบคทีเรียและสัตว์ การเผาผลาญอาหาร การหายใจ กระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดง การทำงานของฮอร์โมน และการกำจัดสารพิษออกจากร่างกาย (สุพิศ, 2536)

ตารางที่ 2.2 กรดอะมิโน (%) ที่จำเป็นต่อร่างกายในสไปรูลินาเมื่อเปรียบเทียบกับสารอาหารอื่น

กรดอะมิโน	สไปรูลินา	คลอ เรลลา	ถั่ว เหลือง	เนื้อวัว	ไข่ไก่	ปลา
ไอโซลิวซีน (isoleucine)	3.3-3.9	3.9	1.8	0.93	0.67	0.83
ลิวซีน (leucine)	5.9-6.5	6.01	2.70	1.7	1.08	1.28
ไลซีน (lysine)	2.6-3.3	3.6	2.58	1.76	0.89	1.95
เมทไทโอนีน (methionine)	1.3-2.0	0.61	0.48	0.43	0.40	0.58
ซีสทีน (cystine)	0.5-0.7	0.48	0.48	0.23	0.35	0.38
ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine)	2.6-3.3	3.00	1.98	0.86	0.65	0.61
ไทโรซีน (tyrosine)	2.6-3.1	2.53	1.38	0.68	0.49	0.61
ทรีโอนีน (threonine)	3.0-3.6	2.30	1.62	0.86	0.59	0.99
ทริปโตเฟน (tryptophan)	1.0-1.6	0.59	0.55	0.25	0.20	0.30
วาลีน (valine)	4.0-4.6	3.30	1.86	1.05	0.83	1.02

ตารางที่ 2.3 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของ *Spirulina* (แห้ง) กับแหล่งอาหารประเภทอื่น ๆ

	ปริมาณโปรตีน (%)
เนื้อวัว	18-20
ไข่	10-25
ข้าวสาลี	6-10
ข้าวเจ้า	7
ถั่วเหลือง	33-35
ปลา ปลายี่สก	20
คลอเรลลา	40-56
<i>Spirulina</i>	69.5-71

ที่มา: เจียมจิตต์ (2531)

การผลิตสาหร่าย *Spirulina* ในปัจจุบันนอกจากเป็นอาหารเสริมสุขภาพแล้วยังนิยมใช้สาหร่ายผงเพื่อผสมในอาหารสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอาหารปลาสวยงามเพื่อเร่งสี นอกจากนี้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ในสาหร่ายยังทำให้สัตว์น้ำมีอัตราการรอดและอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มสูงขึ้นด้วย

2.2. การสังเคราะห์กรดไขมันที่พบในสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายขนาดเล็กสามารถผลิตน้ำมันเป็นอาหารสะสมภายในเซลล์ได้โดยเกิดขึ้นในกรณีที่สาหร่ายเกิดความเครียด เช่น ภาวะการขาดธาตุไนโตรเจนในอาหาร เมื่อเกิดความเครียดจากสภาวะแวดล้อมดังกล่าว สาหร่ายจะมีกลไกภายในเซลล์โดยเปลี่ยนอาหารสะสมจากแป้งเป็นน้ำมันและสะสมในส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ (Cytosol) โดยการทำงานของกระบวนการนี้ต้องอาศัย Organell 2 ตัวคือ คลอโรพลาสต์และไมโทคอนเดรีย โดยที่คลอโรพลาสต์ทำหน้าที่สร้างน้ำตาล G-3-P (Glyceral-3-phosphate) จากกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยผ่านขั้นตอนต่างๆ ได้แก่ การถ่ายอิเล็กตรอน กระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และวัฏจักรเครวิน ส่วนไมโทคอนเดรียจะเปลี่ยนน้ำตาล G-3-P (Glyceral-3-phosphate) เป็น อะซิติล-โคเอ (Acetyl CoA) ซึ่งเปรียบเสมือนสารตั้งต้นของการสังเคราะห์กรดไขมันโดยมีสารทำงานร่วมคือ NADPH^+ เมื่อเกิดการสร้างกรดไขมันภายในเซลล์กรดไขมันดังกล่าวจะรวมตัวกับ G-3-P (Glyceral-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 $\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O}_2$ 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

กรดไขมันและ Triacylglycerol เป็นสารที่เซลล์สาหร่ายสามารถสร้างโดยกลไกและกระบวนการสังเคราะห์ซึ่งกลไกต่างๆแสดงในภาพที่ และ จากการศึกษาของ Hu et al. (2008) ได้อธิบายกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันในเซลล์สาหร่ายได้ โดยเริ่มต้นสารตั้งต้นคือ Acetyl-CoA ซึ่งเป็นสารที่ได้มาจากการไมโทคอนเดรียภายในเซลล์ ซึ่ง Acetyl-CoA จะถูกเปลี่ยนแปลงโดยการกระตุ้นของเอนไซม์หลายชนิดได้แก่

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 แต่ในความเป็นจริงแล้วเมื่อทำการวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันของสาหร่ายขนาดเล็กพบว่ามีกรดไขมันมี

คาร์บอนมากกว่า 18 อะตอม อีกทั้งยังมีกรดไขมันที่เป็นพันธะคู่หลากหลายชนิด จากการศึกษาของ Guschina and Harwood (2006) ได้อธิบายได้ว่าสาหร่ายขนาดเล็กสามารถกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนมากกว่า 18 อะตอมและทำให้เกิดพันธะคู่ได้จากกระบวนการ Elongation และกระบวนการ Desaturation โดยกระบวนการ Elongation คือ กระบวนการเติมอะตอมของคาร์บอนลงไปที่ละ 2 อะตอมเพื่อให้สายของกรดไขมันมีโมเลกุลยาวมากขึ้นสารที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งให้อะตอมของคาร์บอนในโมเลกุลกรดไขมันคือ Malonyl-ACP (Hu et al., 2008) ส่วนกระบวนการ Desaturation คือกระบวนการที่ทำให้เกิดพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันโดยดึงอะตอมของไฮโดรเจนออกจากโมเลกุลจากภาพที่ กรดไขมัน C18:0 ผ่านกระบวนการกระบวนการ Elongation และกระบวนการ Desaturation โดยมีการเติมคาร์บอน 4 อะตอมและทำให้เกิดพันธะคู่ที่ 6 ตำแหน่งซึ่งอยู่ ณ คาร์บอนอะตอมที่ 4,7,10,13,16,19 ตามลำดับ ผลสุดท้ายเมื่อผ่านขั้นตอนต่างๆ ที่กล่าวมาสาหร่ายขนาดเล็กจะสามารถสร้างกรดไขมันอะราซิโดอิก(C22:6n-4) เพื่อนำไปรวมตัวกับสารอื่นๆ ภายในเซลล์เพื่อทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่เซลล์ต้องการซึ่งหนึ่งในผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและนับว่ามีความสำคัญมากต่อการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กคือ Triacylglycerol

กรดไขมันที่พบในสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละชนิดสร้างขึ้นภายในเซลล์ มีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติของ ไบโอดีเซลที่ผลิตจากสาหร่ายขนาดเล็ก จากการศึกษาของ Moazami et al. (2011) ได้กล่าวไว้ว่าสาหร่ายที่มีปริมาณกรดไขมันโอเลอิก (C18:0) ในเซลล์สูงจะส่งผลทำให้ไบโอดีเซลมีความเหมาะสมในแง่เชื้อเพลิงสำหรับการคมนาคม เนื่องจากกรดไขมันโอเลอิกจะช่วยเพิ่มความสามารถต่อต้านการทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (Oxidative stability) ซึ่งจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไบโอดีเซล นอกจากนี้ยังช่วยลดค่า จุดอุดตันไส้กรองที่อุณหภูมิต่ำ (Cold filter plugging point, CFPP) ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้งานไบโอดีเซลในพื้นที่ที่เป็นเขตหนาว ทำให้ไบโอดีเซลที่ผลิตจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถใช้งานในวงกว้างได้มากขึ้น มากยิ่งกว่านั้นปริมาณและชนิดของกรดไขมันในสาหร่ายขนาดเล็กยังส่งผลต่อ จุดหลอมเหลว ค่าความหนืด ค่าซีเทน ซึ่งเป็นค่าที่ใช้บอกคุณภาพของไบโอดีเซลอีกด้วย ในเชิงพาณิชย์การผลิตไบโอดีเซลมีข้อระบุไว้ว่ากรดไขมันในสาหร่ายขนาดเล็กไม่ควรมีพันธะคู่ในสายเกินกว่า 4 ตำแหน่ง เพื่อความเสถียรของน้ำมันดีเซล ดังนั้นหากทราบว่าสาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มหรือชนิดใดเป็นองค์ประกอบกรดไขมันหลักเป็นตัวใดจะสามารถทำให้ผู้ผลิต ผลิตไบโอดีเซลได้ง่ายมากขึ้น จากตารางที่ x,y และ Z เป็นการรวบรวมข้อมูลกรดไขมันที่พบในสาหร่ายขนาดเล็กที่นิยมนำมาใช้เพื่อการผลิตไบโอดีเซล

2.3 การใช้สาหร่ายเป็นแหล่งไบโอดีเซล

การเพิ่มขึ้นของประชากร และการพัฒนาทางเศรษฐกิจ ทำให้มีความต้องการในการใช้พลังงาน และแหล่งอาหารโดยรวมเพิ่มขึ้น แหล่งพลังงานจากถ่านหิน น้ำมันปิโตรเลียม เป็นแหล่งพลังงานที่มีปริมาณจำกัด มีความผันแปรของราคาสูง และการเผาไหม้แหล่งพลังงานเหล่านี้ ยังมีผลต่อการเกิดภาวะเรือนกระจก (green house gases) เนื่องจากการปล่อย CO₂, SO₂ และ NO_x

ปัจจุบันแหล่งพลังงานทางเลือกได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก 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 แต่หลังจากนั้นก็ได้รับความสนใจอีกครั้งเพราะต้องการแก้ปัญหาเรื่องโลกร้อนจากภาวะเรือนกระจกและปัญหาจากราคาที่ผันผวนของปิโตรเลียม ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการหันมาเลือกใช้วัตถุดิบทางการเกษตรเป็นแหล่งผลิต biofuel แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลิตผลทางการเกษตรมาเป็นวัตถุดิบในการผลิต biofuel นั้นได้รับการวิพากษ์วิจารณ์ในหลายด้าน ทั้งด้านการใช้พื้นที่ปริมาณมากในการปลูกพืช รวมทั้งผลิตผลหลายชนิดเช่นปาล์มน้ำมัน อ้อย ข้าวโพด นั้น เดิมล้วนใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์หรืออาหารสำหรับมนุษย์ เมื่อวัตถุดิบจำนวนมากถูกเปลี่ยนไปเป็น biofuel แทน จึงทำให้ราคาของผลิตภัณฑ์สำหรับการบริโภคของมนุษย์สูงขึ้น นอกจากนี้แม้ในทางสิ่งแวดล้อม biofuel จะทำให้อากาศสะอาดขึ้นเมื่อเทียบกับควันการเผาไหม้จากน้ำมันธรรมดา แต่กระแสด้าน biofuel ก็คือการเป็นห่วงความยั่งยืนของการใช้พืชเกษตรที่อาจต้องตัดไม้ทำลายป่าเพิ่มขึ้นมาก เพื่อหาที่เพาะปลูกสมบูรณ์พอเพียง

2.4 ไบโอดีเซล (Biodiesel)

Biodiesel เป็นประเภทหนึ่งของ biofuel ซึ่งอยู่ในรูปของเหลว ในระดับอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลเป็นการนำน้ำมันพืชและไขมันสัตว์ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นไตรกลีเซอไรด์ และแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ เช่น เอทานอลหรือเมทานอล ในปริมาณที่มากมาทำปฏิกิริยาเคมี ทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) โดยใช้กรดหรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อเกิดการรวมพันธะของไตรกลีเซอไรด์และแอลกอฮอล์ เปลี่ยนวัตถุดิบตั้งต้นไปเป็นเอทิลเอสเทอร์ (FAEs) หรือเมทิลเอสเทอร์ (FAMES) และมีกลีเซอรินเป็นผลพลอยได้ ซึ่งเอสเทอร์มีคุณสมบัติที่เหมือนกับน้ำมันดีเซลมากที่สุด ข้อดีคือค่าซีเทน (cetane ค่าดัชนีการจุดติดไฟ) สูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้ติดเครื่องยนต์ การสันดาปสมบูรณ์ เกิดคาร์บอนมอนอกไซด์น้อย ไม่มีควันดำและซัลเฟอร์ไดออกไซด์ สามารถใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้โดยตรงไม่มีผลกระทบกับเครื่องยนต์ในระยะยาว ส่วนกลีเซอรินที่ได้จากการผลิตถือเป็นผลพลอยได้ใช้เป็นวัตถุดิบ สำหรับอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง น้ำมันหล่อลื่น ฯลฯ

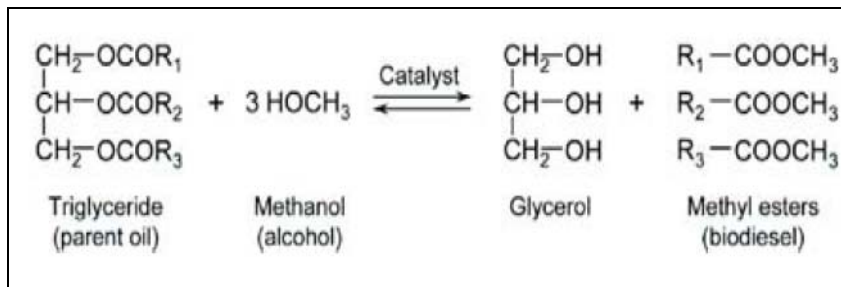
biodiesel เป็นแหล่งพลังงานที่ได้รับความต้องการและมีบทบาทที่สำคัญเพิ่มขึ้น ในปัจจุบันการหันมาเลือกใช้วัตถุดิบที่ไม่ใช่อาหารสำหรับมนุษย์ในการผลิต biodiesel ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก โดยสาหร่ายได้รับความสนใจอย่างยิ่งในการนำมาเป็นทางเลือกแทนพืชที่เป็นแหล่งอาหาร เช่น ถั่วเหลือง ปาล์ม และคาโนลา เพราะทำให้ไม่กระทบต่อแหล่งอาหารมนุษย์ และเป็นแหล่งพลังงานที่มีความปลอดภัย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดยังมีปริมาณน้ำมันที่

สูงมาก และน้ำมันจากสาหร่ายสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย นอกจากนี้ข้อดีของสาหร่ายคือสามารถกำจัด ฟอสฟอรัส ไนโตรเจนจากน้ำเสีย และสามารถกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งช่วยแก้ปัญหาภาวะเรือนกระจกได้ (Antoni et al., 2007, Chisti, 2008; Huang et al., 2010)

แต่สิ่งที่เป็นประเด็นสำคัญในการนำสาหร่ายมาใช้เป็นแหล่งน้ำมันคือ ต้องเลือกสายพันธุ์สาหร่ายให้เหมาะสม คือให้ปริมาณน้ำมันได้สูงที่สุดและมีการเจริญเติบโตที่สูงด้วย หลังจากนั้นก็ต้องพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงให้ใช้ต้นทุนต่ำ และพัฒนาวิธีการเก็บผลผลิตให้ง่าย ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการที่จะนำสาหร่ายมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลได้สำเร็จ

ซึ่งประเด็นเหล่านี้ไม่ใช่สิ่งที่ยุ่งยาก ซับซ้อนจนเกินไป โดยพบว่านักวิทยาศาสตร์สหรัฐอเมริกาได้มีการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่สามารถนำมาผลิตเป็น biodiesel ได้ในเชิงพาณิชย์ได้สำเร็จ และเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อกักน้ำเสียโรงงาน เนื่องจากมีฟอสเฟต และไนโตรเจนเป็นอาหารทั้งสองชนิดมีผลเสียต่อแม่น้ำ ลำคลอง แต่กลับเป็นปุ๋ยที่ดีสำหรับทำฟาร์มสาหร่าย จึงมีการทำฟาร์มสาหร่ายใกล้กับโรงบำบัดเสีย และพบว่าการใช้ไขมันจากสาหร่ายเป็นไบโอดีเซลสามารถนำมาใช้ได้กับรถเครื่องยนต์ดีเซล และเครื่องบินไอพ่นได้ (<http://sciinaction>)

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 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นขั้นตอนดังนี้อันดับแรก triglycerides จะเปลี่ยนเป็น diglycerides หลังจากนั้นเป็น monoglycerides และสุดท้ายจะได้ glycerol ซึ่งปฏิกิริยา transesterification ต้องการ alcohol 3 โมเลกุลในแต่ละโมเลกุลของ triglycerides เพื่อผลิต glycerol 1 โมเลกุล และ 3 โมเลกุล ของ methyl esters ปฏิกิริยาจะสมดุลพบว่าในอุตสาหกรรมการผลิตจะใช้ methanol 6 โมเลกุล ในแต่ละโมเลกุลของ triglycerides ซึ่งเป็นการใช้ methanol ที่มากเกินไปเพื่อความแน่ใจในการเกิดปฏิกิริยาในการเปลี่ยนเป็น methyl esters เพื่อเป็น biodiesel ผลผลิตของ methyl esters จะสูงถึง 98 %ต่อน้ำมันมาตรฐาน (Chisti, 2007)



ภาพที่ 2.1 Transesterification ของน้ำมันเป็น biodiesel (R1-3 คือกลุ่มของไฮโดรคาร์บอน)

ที่มา: Chisti (2007)

นอกจากนี้ชีวมวลของสาหร่ายยังมีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและสารอาหารอื่นๆ สูง ดังนั้นชีวมวลดังกล่าวเมื่อนำมาผลิต biodiesel แล้ว เศษของชีวมวลยังนำไปสกัดผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงอื่นๆ เช่นสารสี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แล้วนำส่วนที่เหลือไปผลิตพลังงานอื่นเช่น มีเทน หรือนำไปทำอาหารสัตว์ได้ด้วย ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กที่ใช้ว่ามีอะไรเป็นองค์ประกอบบ้าง (Chisti, 2007)

2.5 สาหร่ายและความเหมาะสมในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมัน

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสามารถทำได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อยกว่าพืชทั่วไป โดยเมื่อเทียบต่อพื้นที่ 1 เฮกเตอร์ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถให้น้ำมันได้มากถึง 58,700-136,900 ลิตร ซึ่งมากกว่าน้ำมันปาล์มที่ให้น้ำมันได้ 5950 ลิตร (Chisti, 2007) นอกจากนี้ยังสามารถใช้น้ำทั้งจากแหล่งต่าง ๆ เช่นของเสียจากธุรกิจปศุสัตว์ เช่นจากฟาร์มสุกร หรือกากน้ำตาล 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 2.4 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล

ชนิดพืช	ปริมาณน้ำมัน (L oil/ha year)	พื้นที่ที่ต้องการในการปลูก (M ² 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
คาเมลไลน่า (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 ผันแปรตามปริมาณสารอาหารและสภาวะในการเลี้ยงสาหร่ายด้วย (Khotimchenko and Yakovleva, 2004; Merzlyak et al., 2007; Mulbry et al., 2008; สุณีรัตน์ 2549) โดยปัจจัยที่มีผลต่อ

การเลี้ยงสาหร่ายมีหลายปัจจัยด้วยกันได้แก่ ปัจจัยทางกายภาพ เช่น แสง (light) เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของสาหร่าย การเจริญเติบโตอาจถูกยับยั้งหากได้รับแสงมากเกินไป อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่างๆ ของสาหร่าย มีผลต่อโครงสร้างขององค์ประกอบภายในเซลล์โดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน ปัจจัยทางเคมี เป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการ เช่น ไนโตรเจน มีหน้าที่หลักช่วยในการสังเคราะห์แสง สร้างรงควัตถุช่วยในกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ สาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะสร้างสารประกอบคาร์บอนขึ้นมาทดแทน เช่น สร้างขึ้นมาในรูปของน้ำมัน หรือแป้ง ฟอสฟอรัส เกี่ยวข้องกับขบวนการถ่ายทอดพลังงาน ขบวนการสร้างกรดนิวคลีอิกของสาหร่าย ถ้าขาดฟอสฟอรัสทำให้ปริมาณโปรตีนคลอโรฟิลล์-เอ RNA, DNA ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินลดลง ส่วนปริมาณแป้ง คาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มขึ้น เหล็กช่วยในการดูดซึมไนโตรเจนของสาหร่าย ช่วยในขบวนการสังเคราะห์แสง ช่วยสร้างคลอโรฟิลล์-เอ phycocyanin

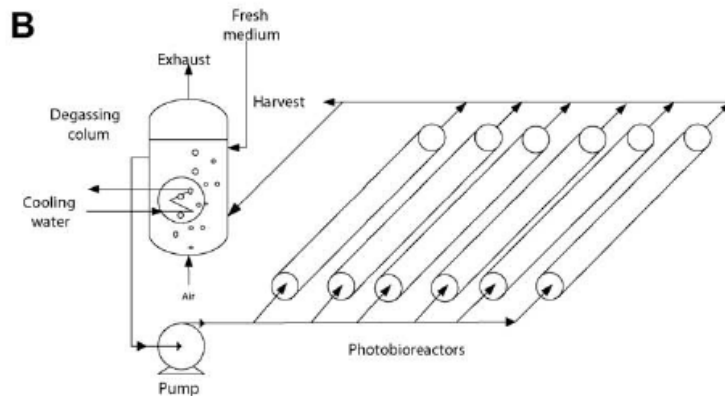
2.7 ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

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)

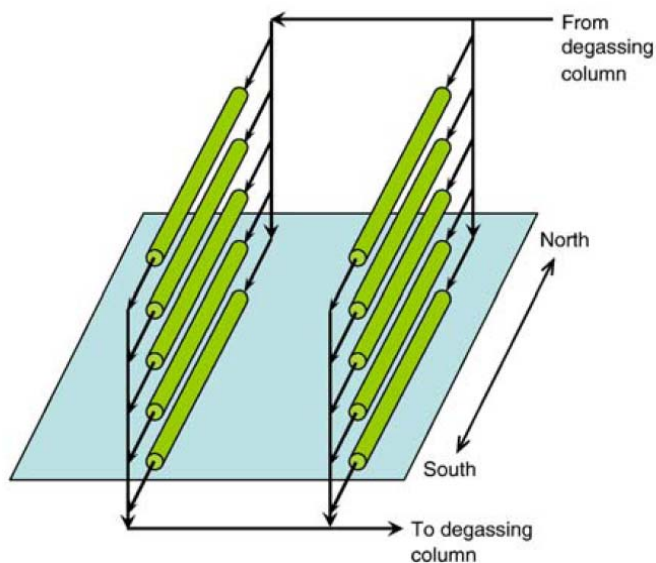
ระบบ photobioreactor มีความจำเป็นในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียวในระบบ ของสาหร่ายขนาดเล็กเป็นระยะเวลานาน ซึ่งระบบนี้ประสบความสำเร็จในการผลิตสาหร่ายขนาดเล็กในปริมาณมาก (Chisti, 2007) photobioreactor มีหลายแบบ เช่น photobioreactor แบบท่อประกอบด้วยการจัดเรียงของท่อโปร่งแสงในแนวนอนหรือแนวตั้ง ท่อส่วนใหญ่ทำจากพลาสติกหรือแก้ว การเรียงของท่อเพื่อให้แสงอาทิตย์สัมผัสได้ทั่วถึง (ภาพที่ 2.2, 2.3) ท่อนี้โดยทั่วไปมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 เมตร หรือต่ำกว่า เส้นผ่านศูนย์กลางท่อที่ขนาดใหญ่มีข้อจำกัดคือแสงไม่สามารถส่องผ่านได้มากทำให้สาหร่ายโตได้ช้า ระบบนี้มีกระบวนการเลี้ยงเป็นไปอย่างต่อเนื่อง มีการป้องกันการเกิดตะกอนในท่อโดยให้มีอัตราการไหลในท่อสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเครื่องปั๊ม ให้อากาศแบบ airlift และต้องมีช่วงเวลาทำความสะอาดท่อจากสาหร่ายที่เกาะติดท่อ และต้องควบคุมออกซิเจนที่เกิดจากการสังเคราะห์แสง เพราะออกซิเจนที่สูงเกินไปจะยับยั้งการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายได้ ค่าการละลายออกซิเจนสูงสุดที่เซลล์สามารถทนได้โดยทั่วไปต้องไม่เกิน 400 % อิมัตัวจากอากาศออกซิเจนไม่สามารถเคลื่อนย้ายออกจากท่อ photobioreactor ดังนั้นการเพาะเลี้ยงจะต้องมีช่วงนำเข้าสู่บริเวณลดก๊าซ (degassing zone) เป็นการลดฟองอากาศจากการสะสมของออกซิเจน

ซึ่งการทดลองของ Hulatt and Thomus, (2011) ได้ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ใน photobioreactor แบบท่อในแนวนอนเรียงขึ้นไปตามแนวกำแพงกลางแจ้งเป็นเวลา 6 เดือนตั้งแต่ช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนกันยายน ซึ่งมีการเติมสารอาหารเป็นปรกติและมีการควบคุม pH ให้คงที่เท่ากับ 7 แต่ไม่มีการควบคุมในส่วนในเรื่องอุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงพบว่าสาหร่าย *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)

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 ส่วนระบบปิดมีข้อดีกว่าคือ 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 ที่เหมาะสมคือการเพิ่มความเข้มแสงหรือการส่องผ่านของแสงรวมถึงความยาวคลื่นของแสงและความถี่ของเซลล์ในการสัมผัสแสง โดยการกระจายของรังสีจากแสงอาทิตย์ต่อพื้นที่ผิวในการสังเคราะห์แสงที่เหมาะสมคือลดเงาที่บังกันของเซลล์ในการเพาะเลี้ยงจะทำให้อัตราการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น ดังนั้นหลักในการออกแบบ Photobioreactor คือให้มีพื้นที่ผิวมากที่สุดต่ออัตราส่วนปริมาตร และอาจมีอุปกรณ์ติดตั้งภายในระบบเพื่อช่วยดูดซับแสงและค่อยๆ มีการถ่ายเทปริมาณแสงเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่องและเหมาะสม ความเหมาะสมของปริมาณความเข้มข้นที่สูงสุดโดยปราศจากเงาเซลล์ที่บังกันในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายยังถูกออกแบบตามปัจจัยต่างๆ เพราะบางการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกันเมื่อมีการสัมผัสแสงสีต่างกัน อย่างไรก็ตามในระบบนี้การให้แสงอย่างต่อเนื่องโดยแสงธรรมชาติมีความสามารถในการกระตุ้นมากกว่าในระบบที่มีการให้แสงอย่างต่อเนื่องโดยแสงเทียม (Traveiso et al., 2001; Kunjapur and Eldrige, 2010) แต่แสงที่มากเกินไปจะทำให้อุณหภูมิสูง แสงและอุณหภูมิอาจทำลายบางส่วนของเซลล์ ดังนั้นความเข้มแสงที่สูงขึ้นอาจลดการเจริญเติบโต (photoinhibit) สาหร่ายขนาดเล็กจะถูกยับยั้งด้วยแสงที่ความเข้มแสงสูง และลดอัตราการเจริญเติบโตลง (Chisti.

2007; Kunjapur and Eldrige. 2010) ดังนั้นแสงต้องถูกควบคุมให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมไม่มาก หรือน้อยเกินไป

Narwade et al. (2011) ออกแบบ Photobioreactor ในการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Spirulina* sp. โดยแสงสีแดงหรือน้ำเงิน จาก LED lamps ในการสังเคราะห์ของสาหร่าย พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในระบบ Photobioreactor โดยคลื่นแสงสีแดงหรือน้ำเงินเป็นส่วนสำคัญในการกระตุ้นการเจริญเติบโต และความต่อเนื่องในการได้รับแสงอย่างน้อยที่สุด 18 ชั่วโมงต่อวันเป็นเวลาที่เหมาะสมที่สุด

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 % และความเข้มข้นของโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ในการผันแปรระหว่าง 0.4, 1.0 และ 1.6 กรัมต่อลิตร ภายใต้ความเข้มแสง 3200 ลักซ์ ได้รับแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน เก็บเซลล์ทุกวันหา น้ำหนักแห้ง เป็นเวลา 57 วัน พบว่าสาหร่ายขนาดเล็ก *Cyanobium* sp. มีการตอบสนองการเปลี่ยนแปลงที่ดีที่สุดเมื่อไบคาร์บอเนตเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร ปริมาณเซลล์ 1.0 กรัมต่อลิตร และอัตราความเข้มข้นสารอาหารที่ใส่กลับเข้าไป 30 หรือ 50 % ภายใต้สภาวะดังกล่าวค่าสูงสุดของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ กำลังผลิต และวัฏจักรการเจริญเติบโตคือ 0.127 ต่อวัน 0.71 กรัมต่อลิตรต่อวัน และ 10 รอบ ตามลำดับ และในการทดลองที่ 2 (ปริมาณเซลล์ 1.0 กรัมต่อลิตร อัตราการเติมอาหารกลับเข้าไปในการเลี้ยง 30 % และความเข้มข้นของไบคาร์บอเนตในอาหาร 1 กรัมต่อลิตร สภาวะดังกล่าวนี้มีช่วงเวลาระยะการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (exponential phase) ยาวนานที่สุด (55 วัน) ส่วนการทดลองที่ 6, 11, 13 และ 15 มีวัฏจักรในการเจริญเติบโต 8 รอบ ในการทดลองการเพาะเลี้ยงที่ทำให้กำลังผลิตต่ำเมื่อสาหร่ายขนาดเล็กเลี้ยงในอัตราความเข้มข้นสารอาหารที่ใส่กลับเข้าไป

40 % และความเข้มข้นของโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.4 และ 1.6 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามกำลังผลิตที่ได้จากอัตราความเข้มข้นสารอาหารที่ใส่กลับเข้าไป 30 และ 50 % สัมพันธ์กับโซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้เนื่องจากการถูกยับยั้งด้วยแสงเป็นปรากฏการณ์ธรรมชาติที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเนื่องจากปริมาณแสงที่มากเกินไป ซึ่งจะชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยการยับยั้งหรือทำให้การสังเคราะห์แสงช้าลงในสาหร่ายขนาดเล็ก เนื่องจากการสะสมของ H_2O_2 ปรากฏการณ์ธรรมชาติอาจทำให้เกิดสภาวะเครียด เช่น ความเข้มข้นของเซลล์ต่ำในการเลี้ยงแต่แสงที่ได้รับสูงเกินไป

2.8.3 คาร์บอนไดออกไซด์และพีเอช

ในระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบ photobioreactor ต้องมีการควบคุมปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ไม่ให้มีมากเกินไปจนเป็นอันตรายกับสาหร่ายเพราะทำให้ค่าพีเอช ลดต่ำมากเกินไป หรือต้องไม่ให้มีคาร์บอนไดออกไซด์น้อยเกินไปจนสาหร่ายเจริญเติบโตช้าเพราะมีไม่เพียงพอสำหรับใช้ในขบวนการสังเคราะห์แสง โดยพบว่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปริมาณ 1-5 % (โดยปริมาตร) ของระบบเป็นระดับที่เหมาะสมกับสาหร่าย โดยแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ที่ดีที่สุดคือจากโรงงานอุตสาหกรรม เพราะเป็นการช่วยลดคาร์บอนไดออกไซด์ที่จะปล่อยสู่บรรยากาศและช่วยลดปัญหาภาวะโลกร้อนได้ (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 ซึ่งทำให้ไม่จำเป็นต้องมีการดัดแปลงพันธุกรรมของสาหร่าย ซึ่งเป็นวิธีการที่ต้องใช้เวลานานและต้นทุนสูง

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1. การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

ทำการเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย 2 ชนิด ได้แก่ *S. platensis* และ *S. dimorphus* โดยการเลี้ยงสาหร่ายในอาหารสูตร Zarrouk medium และ Chlorella medium ในภาชนะแก้วที่บรรจุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว ในห้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ปลอดเชื้อ มีการควบคุมแสงและอุณหภูมิ เพื่อใช้สาหร่ายเป็นหัวเชื้อในการศึกษาขั้นต่อไป

3.2. การเลี้ยงสาหร่ายเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการและนอกห้องปฏิบัติการ

3.2.1 การเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ

นำหัวเชื้อสาหร่าย *S. platensis* และ *S. dimorphus* ซึ่งเจริญเติบโตเต็มแล้วขยายลงในขวดแก้วหรือ flask ขนาด 1 ลิตร ในห้องปฏิบัติการ โดยควบคุมแสง อุณหภูมิให้คงที่ ศึกษาการเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณรงควัตถุ (คลอโรฟิลล์ เอ, แคโรทีนอยด์, ไฟโคบิลิน) ทุก 2 วัน และวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ผลผลิตไขมัน และชนิดกรดไขมัน ของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ 30 วัน

3.2.2 การเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ

นำหัวเชื้อสาหร่าย *S. platensis* และ *S. dimorphus* ซึ่งเจริญเติบโตเต็มแล้วขยายลงในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร วางไว้บนชั้นที่มีการให้แสงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมง นอกห้องปฏิบัติการ ศึกษาการเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณรงควัตถุ ทุก 2 วัน และวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ผลผลิตไขมัน และชนิดกรดไขมัน ของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ระยะ stationary phase

3.2.3 การทดลองเลี้ยงในระบบ photobioreactor แบบท่อ

ทำการออกแบบระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิด โดยออกแบบและสร้างวัสดุโปร่งแสงเป็นวัสดุหลัก มีระบบการหมุนเวียนน้ำเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง และสามารถควบคุมอัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเพาะเลี้ยงได้ มีระบบการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมถึงระบบเติมและปล่อยน้ำเพาะเลี้ยงออกจากระบบ มีระบบการแยกเซลล์สาหร่ายออกจากน้ำเพาะเลี้ยง เมื่อครบกำหนดระยะเวลาเพาะเลี้ยง เมื่อออกแบบระบบขั้นต้นเสร็จสิ้น จะทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* และ *S. dimorphus* ในระบบดังกล่าว และทำการศึกษาการเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณรงควัตถุ ทุก 2 วัน และวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ผลผลิตไขมัน และชนิดกรดไขมัน ของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ระยะ stationary phase โดยศึกษาปัญหาที่เกิดขึ้นและทำการปรับระบบจนได้ระบบและปัจจัยในการควบคุมระบบที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแต่ละชนิด

3.3. การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย

เก็บผลผลิตสาหร่าย *S. dimorphus* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในระบบ photobioreactor และสกัดน้ำมันออกจากสาหร่าย จากนั้นทำการเปลี่ยนน้ำมันให้เป็นไบโอดีเซล โดยทำการหาระดับ อุณหภูมิ ปริมาณต่างและแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย เพราะ น้ำมันจากสาหร่ายแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่แตกต่างกัน

3.4. หาแนวทางในการใช้เศษสาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมัน

นำเซลล์สาหร่าย *S. dimorphus* ที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว มาวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และสารสี (คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์) เปรียบเทียบกับปริมาณก่อนสกัดน้ำมัน จากนั้นจึงดูความเหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์อื่น เช่นการสกัดสารสีที่เหลือมาใช้ประโยชน์ หรือ การนำเซลล์ไปหมักทำมีเทน หรือการนำไปเป็นปุ๋ย เป็นอาหารสัตว์ต่อไป

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

4.1. ระบบ closed-photobioreactor

ทำการออกแบบระบบ closed-photobioreactor เป็นแบบ horizontal tubular photobioreactor โดยใช้ท่อคริลิคใส จัดเป็นแบบชั้นเรียงในแนวตั้ง ทางน้ำเข้าจากด้านบน และหมุนเวียนด้วยแรงปั๊มน้ำลงมาชั้นด้านล่าง เข้าสู่ถังพักซึ่งสามารถเติมอาหารลงในถังพักทั้งแบบกึ่งต่อเนื่องและต่อเนื่องได้ และปั๊มส่งสาหร่ายกลับไปด้านบนของระบบเลี้ยงใหม่ ซึ่งข้อดีของระบบคือใช้พื้นที่น้อยกว่าการวางแนวราบกับพื้น และใช้ปั๊มเพียงตัวเดียวในการควบคุมทั้งระบบ ชั้นเลี้ยงออกแบบให้มีล้อสำหรับเคลื่อนที่ได้ เพื่อจัดวางในพื้นที่ที่ได้รับแสงเหมาะสม (ภาพที่ 4.1)



ภาพที่ 4.1 ระบบ horizontal tubular photobioreactor ที่สร้างขึ้นเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

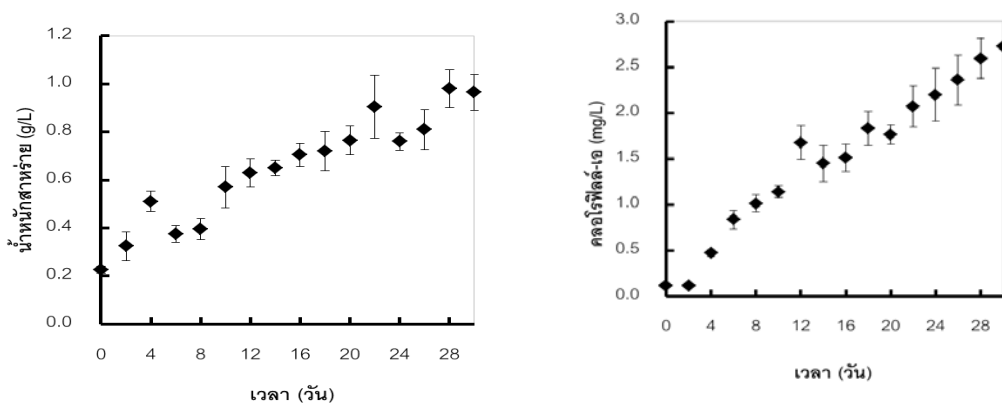
4.2. การเลี้ยงสาหร่ายเปรียบเทียบในห้องปฏิบัติการและนอกห้องปฏิบัติการ

4.2.1 การเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ในห้องปฏิบัติการ

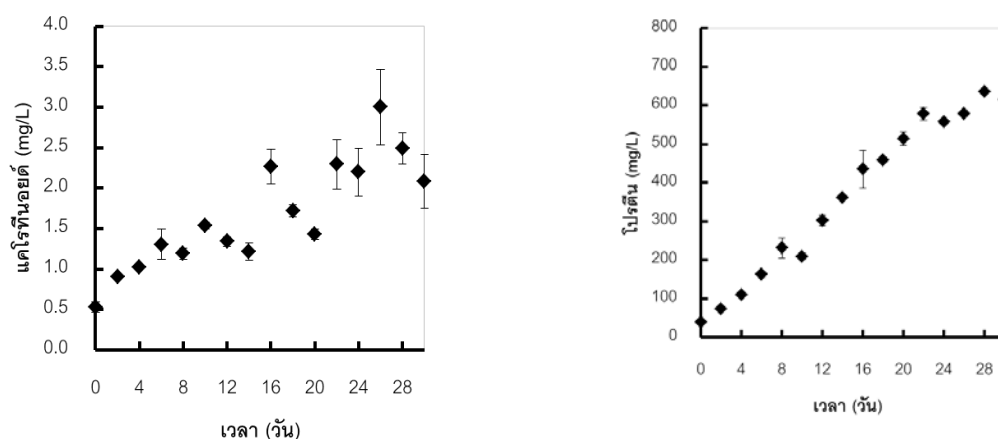
นำสาหร่าย *S. platensis* เลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ Zarrouk medium ในห้องปฏิบัติการ ควบคุมแสงและอุณหภูมิ พบว่าในช่วงของการทดลองวันที่ 28 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด เท่ากับ 0.98 ± 0.08 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.2) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ มีค่าปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ สูงสุด วันที่ 30 โดยมีค่าเท่ากับ 2.73 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 2.87 มิลลิกรัมต่อกรัม ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด วันที่ 26 ของการทดลอง เท่ากับ 3.00 ± 0.46 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.3) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ ยกเว้นวันที่ 28 ของการทดลองและมีแนวโน้มการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นที่มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ

ในช่วงของวันที่ 28 ของการทดลองมีค่าปริมาณโปรตีนสูงสุดเท่ากับ 636.10 ± 4.04 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.3) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ ยกเว้นวัน

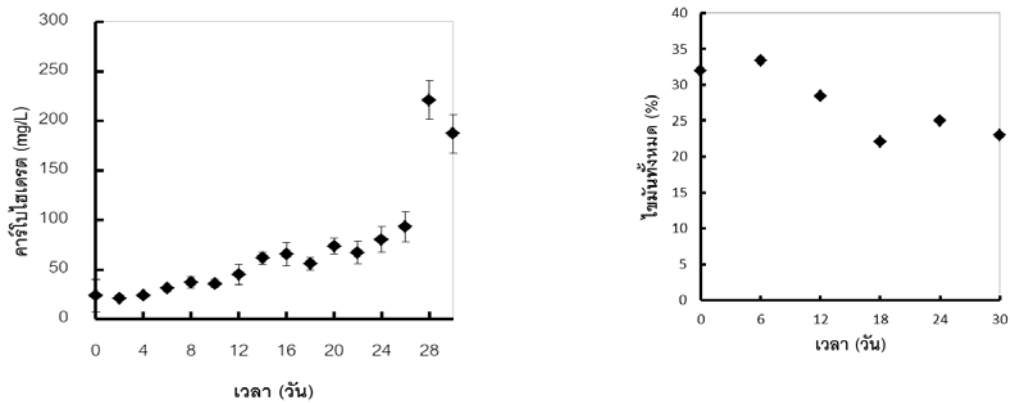
สุดท้ายของการทดลองคือวันที่ 30 จากการทดลองของ Pandey *et al.* (2010) พบว่าในระดับอุณหภูมิห้อง 30 ± 2 องศาเซลเซียส ที่มีระยะเวลาการเลี้ยง 20 วัน มีปริมาณโปรตีนสูงสุดเท่ากับ 62.0 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณที่น้อยกว่าอย่างชัดเจนกับการทดลองโครงการวิจัยในครั้งนี้ที่มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 71.30 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง ที่สอดคล้องกับการทดลองของ Oliveira *et al.* (1999) ที่ได้มีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina maxima* ที่เลี้ยงในระดับที่อุณหภูมิต่างกันในถังขนาด 4 ลิตร ในระดับที่อุณหภูมิสูงสุดที่ 40 องศาเซลเซียส ภายใต้การควบคุมความเข้มแสงสว่างที่ 1.5 Klux ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 15 วัน พบว่ามีปริมาณโปรตีนที่มากกว่าซึ่งเท่ากับ 68.01 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง โดยมีปริมาณมากกว่าผลของโครงการวิจัยในครั้งนี้ ที่เพาะเลี้ยงในอุณหภูมิห้อง 25 ± 2 องศาเซลเซียส ผลปริมาณของโปรตีนระหว่างวันที่ 14-16 (56.01 และ 59.15 %) ของการทดลองที่น้อยกว่า



ภาพที่ 4.2 น้ำหนักแห้ง และคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4.3 แคโรทีนอยด์ และโปรตีนของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4.4 คาร์โบไฮเดรต และไขมันของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีค่าสูงสุด วันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยง เท่ากับ 221.08 ± 19.49 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.4) โดยมีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ และมีแนวโน้มอัตราการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักแห้งและปริมาณรงควัตถุ

พบว่าในช่วงของวันที่ 6 ของการทดลอง มีค่าปริมาณไขมันทั้งหมดสูงสุด เท่ากับ 33.38 ± 2.07 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.4) หลังจากวันที่ 18 กลับมีแนวโน้มอัตราการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น โดยมีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในวันที่ 6 มีค่าเท่ากับ 0.204 ± 0.027 ต่อวัน โดยมีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ ยกเว้นวันที่ 12 มีปริมาณสูงสุดวันที่ 30 มีค่าเท่ากับ 0.22 ± 0.02 กรัมต่อลิตร โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีผลผลิตไขมันสูงสุดในวันที่ 6 มีค่าเท่ากับ 6.80 ± 0.89 กรัมต่อลิตรต่อวัน โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับวันอื่นๆ (ตารางที่ 4.1)

กรดไขมัน Palmitic Acid (C16:0) มีมากที่สุดรองลงมาก็คือ Linoleic Acid (C18:2n6c) และพบว่ากรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acids) มากกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัว (Monounsaturated fatty acids และ Polyunsaturated fatty acids) (ตารางที่ 4.2) สอดคล้องกับการทดลองของ Romano *et al.* (2000) ได้ทำการวิเคราะห์กรดไขมันของสาหร่าย *Spirulina* สายพันธุ์ *pantelleria* ภายใต้เงื่อนไขการเจริญเติบโต ที่ต่างกันที่พบว่ามีการดไขมันอิ่มตัวมากกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวเกือบทั้งหมด

ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

Time(d)	μ (d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (mg/l)	Lipid Productivity (g/l/day)
6	0.20±0.02 ^b	0.37±0.03 ^a	33.38±2.07 ^c	0.12±0.012 ^a	6.8010±0.8857 ^b
12	0.14±0.04 ^{ab}	0.63±0.05 ^b	28.38±0.66 ^b	0.17±0.01 ^{bc}	4.0360±1.3527 ^a
18	0.08±0.00 ^a	0.72±0.08 ^b	22.05±1.32 ^a	0.15±0.01 ^{ab}	1.8489±0.1986 ^a
24	0.07±0.07 ^a	0.77±0.04 ^{bc}	24.98±0.71 ^{ab}	0.19±0.01 ^{bc}	1.8293±0.1954 ^a
30	0.06±0.00 ^a	0.96±0.07 ^c	22.97±0.79 ^a	0.22±0.01 ^c	1.5650±0.1792 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวดิ่งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

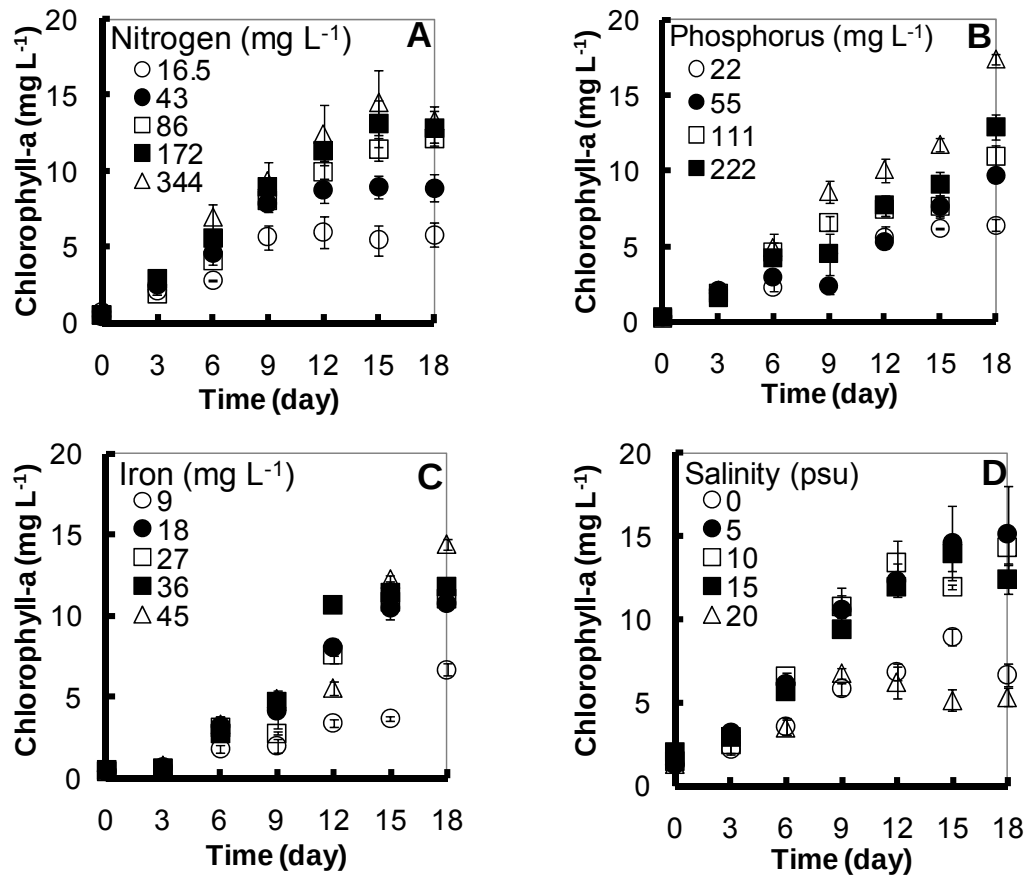
4.2.2 การเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ในห้องปฏิบัติการ

โดยเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ในอาหาร chlorell medium ในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมแสง อุณหภูมิ โดยวัตถุประสงค์หลักในการเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้คือเพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซล จึงได้ทำการทดลองหาความเข้มข้นของธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อสาหร่ายชนิดนี้ก่อนในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทำการผันแปรความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก และ ความเค็ม โดยพบว่าเมื่อธาตุอาหารทุกชนิดเพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิดนี้เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน โดยเฉพาะในความเค็มที่ 15 psu เป็นความเค็มที่ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีกว่าที่ความเค็ม 0 (ภาพที่ 4.5) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณโซเดียมในน้ำเค็มน่าจะช่วยในการทำให้สาหร่ายสามารถแลกเปลี่ยนไอออนที่เป็นธาตุอาหารได้ดีขึ้น

และจากการศึกษาชีวมวล อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณไขมัน ผลผลิตไขมันพบว่า การเพิ่มแร่ธาตุอาหารนั้นเพิ่มชีวมวลและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในสาหร่าย ส่วนความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ทำให้สาหร่ายมีไขมันสูงที่สุดคือ การเลี้ยงในอาหารที่มีไนโตรเจน 16.5 mg/l, ฟอสฟอรัส 22 mg/l เหล็ก 45 mg/l ความเค็ม 5 psu ซึ่งจะทำให้มีไขมันเท่ากับ 20.3±0.4%, 19.4±0.2%, 24.7±0.5%, และ 14.3±0.2% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6) และจากการวิเคราะห์กรดไขมันพบว่ามี C16-C18 (97.52%) สูง จึงมีความเหมาะสมในการนำน้ำมันจากสาหร่ายชนิดนี้มาผลิตไบโอดีเซล (ตารางที่ 4.3)

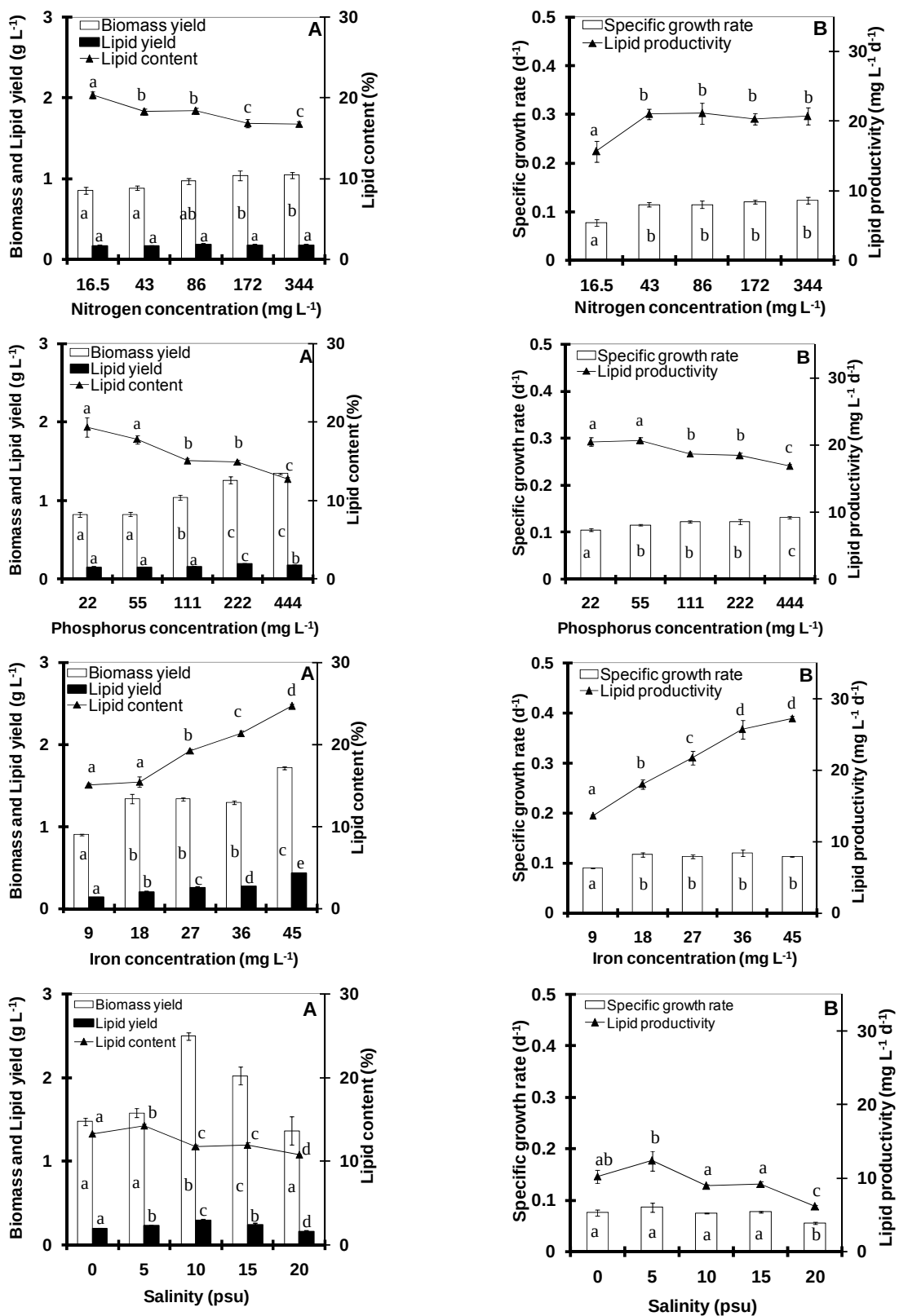
ตารางที่ 4.2 กรดไขมันของสาหร่าย *Spirulina maxima* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

Fatty acid (%)		เวลา (วัน)					
		0	6	12	18	24	30
Caproic Acid	C6:0	0.26	-	-	0.05	-	-
Capric Acid	C10:0	2.93	3.05	2.56	3.09	0.61	2.95
Undecanoic Acid	C11:0	0.32	0.16	-	0.05	0.08	0.09
Lauric Acid	C12:0	2.62	1.17	0.63	0.46	0.23	1.02
Tridecanoic Acid	C13:0	0.69	0.34	0.42	0.52	0.06	0.32
Myristic Acid	C14:0	5.96	2.19	2.16	1.08	0.53	1.11
Myristoleic Acid	C14:1	0.93	0.18	0.06	0.10	0.04	0.16
Pentadecanoic Acid	C15:0	2.20	0.68	0.16	0.14	0.11	0.26
cis-10-Pentadecenoic Acid	C15:1	0.16	0.08	-	0.06	-	0.11
Palmitic Acid	C16:0	56.36	59.28	56.44	58.87	81.54	51.28
Palmitoleic Acid	C16:1	3.97	3.75	4.69	5.06	1.29	5.02
Heptadecanoic Acid	C17:0	1.40	0.93	0.98	0.72	0.54	1.40
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	0.43	-	0.41	0.47	-	0.06
Stearic Acid	C18:0	3.13	1.90	1.24	0.88	0.98	1.13
Elaidic Acid	C18:1n9t	0.23	0.47	0.15	0.03	2.89	0.22
Oleic Acid	C18:1n9c	6.79	6.39	8.07	8.22	1.76	8.42
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	-	-	-	-	0.31	0.07
Linoleic Acid	C18:2n6c	10.44	16.83	19.35	17.77	5.90	24.10
γ-Linolenic Acid	C18:3n6	0.07	2.19	2.11	1.82	0.74	1.82
Linolenic Acid	C18:3n3	0.29	0.18	-	-	0.02	-
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	-	0.23	0.51	0.60	1.48	0.38
Heneicosanoic Acid	C21:0	-	-	-	-	0.89	0.09
Erucic Acid	C22:1n9	0.54	-	0.07	-	-	-
Lignoceric Acid	C24:0	0.27	-	-	-	-	-



ภาพที่ 4.5 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ผันแปรปริมาณ ไนโตรเจน (A) ฟอสฟอรัส (B) เหล็ก (C) และความเค็ม (D)

และจากขั้นต้นพบว่าการผันแปรเหล็กสามารถเพิ่มปริมาณไขมันได้ดีที่สุด จึงได้ทำการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบในเซลล์สาหร่ายเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีระดับเหล็กแตกต่างกันอีกครั้งหนึ่ง โดยศึกษาการเจริญเติบโต รงควัตถุและคุณค่าทางโภชนาการของ *S. dimorphus* พบว่าน้ำหนักแห้งมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงในทุกระดับความเข้มข้นเหล็ก *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นเหล็กสูงสุด มีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดคือ 1353 ± 45 มิลลิกรัมต่อลิตร ณ วันที่ 20 ของการทดลองโดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับชุดการทดลองที่มีระดับความเข้มข้นเหล็ก 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่.4.7)



ภาพที่ 4.6 ชีวมวล, ไขมัน (A) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และผลผลิตไขมัน (B) ของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ผันแปรปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก และความเค็ม

ตารางที่ 4.3 กรดไขมันของ *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร chlorella medium สูตรปกติ

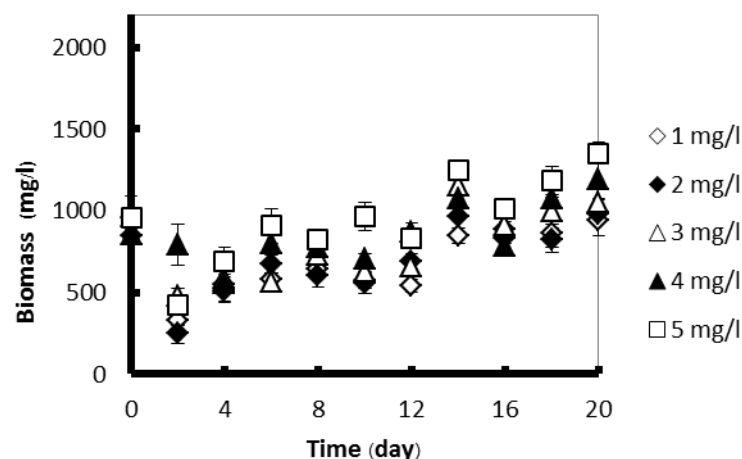
Type of fatty acid	Content (%)
Lauric acid (C12:0)	0.14
Myristic acid (C14:0)	1.01
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.30
Palmitic acid (C16:0)	30.24
Palmitoleic acid (C16:1n7)	3.50
Heptadecanoic acid (C17:0)	0.26
Stearic acid (C18:0)	1.20
Cis-9-Oleic acid (C18:1n9c)	17.83
Trans-9-Elaidic acid (C18:1n9t)	0.16
Cis-9, 12-linoleic acid (C18:2n6)	17.50
Trans-Linolelaidic acid (C18:2n6t)	5.44
Alpha-Linolenic acid (C18:3n3)	19.33
Gamma-Linolenic acid (C18:3n6)	2.06
Cis-11, 14-Eicosadienoic acid (C20:2)	0.18
Cis-11, 14, 17-Eicosatrienoic acid (C20:3n3)	0.06
Arachidonic acid (C20:4n6)	0.08
Cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid (C20:5n3)	0.26
Behenic acid (C22:0)	0.38
Erucic acid (C22:1n9)	0.08
Saturated fatty acid	33.53
Unsaturated fatty acid	66.48
Monounsaturated fatty acid	21.57
Polyunsaturated fatty acid	44.91

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายที่เลี้ยงในทุกระดับความเข้มข้นเหล็กมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงและพบว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นเหล็ก 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดเท่ากับ 14.08 ± 0.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ในวันที่ 14 ของการทดลองโดยมีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้นความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.8) ปริมาณแคโรทีนอยด์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างชุดการทดลองเมื่อเปรียบเทียบในแต่ละวันตั้งแต่วันที่ 0 ถึง 20 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาการ

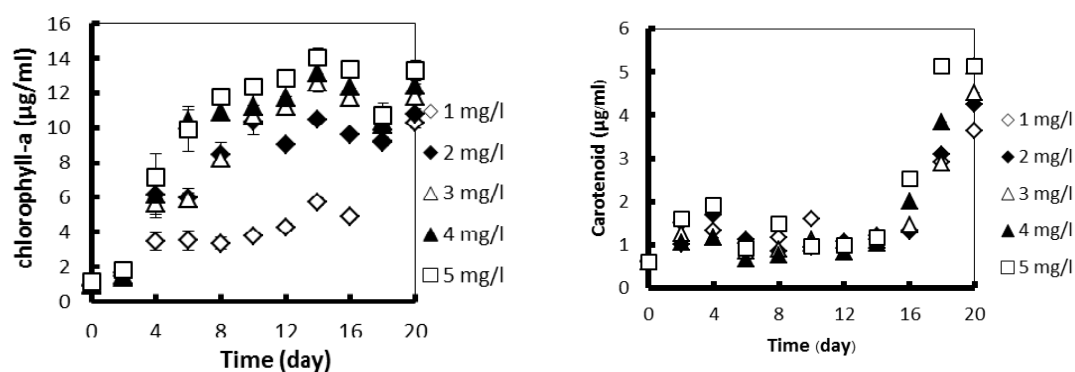
เพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นและมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 5.14 ± 0.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เมื่อเลี้ยงสาหร่ายที่ระดับความเข้มข้นเหล็ก 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 20 ของการทดลองแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กับระดับความเข้มข้นอื่นๆ

ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นหลังวันที่ 12 ของการเลี้ยงและมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 ซึ่งเป็นเช่นนี้ในทุกๆระดับความเข้มข้นของเหล็ก สาหร่าย ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีความเข้มข้นของเหล็ก 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเท่ากับ 1.70 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อกรัม ในวันที่ 18 ของการทดลอง แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ภาพที่ 4.9) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นเช่นนี้ในทุกๆระดับความเข้มข้นของเหล็ก พบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุดที่ระดับความเข้มข้นเหล็ก 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 0.75 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม ในวันที่ 18 ของการทดลองแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กับชุดการทดลองอื่นๆ

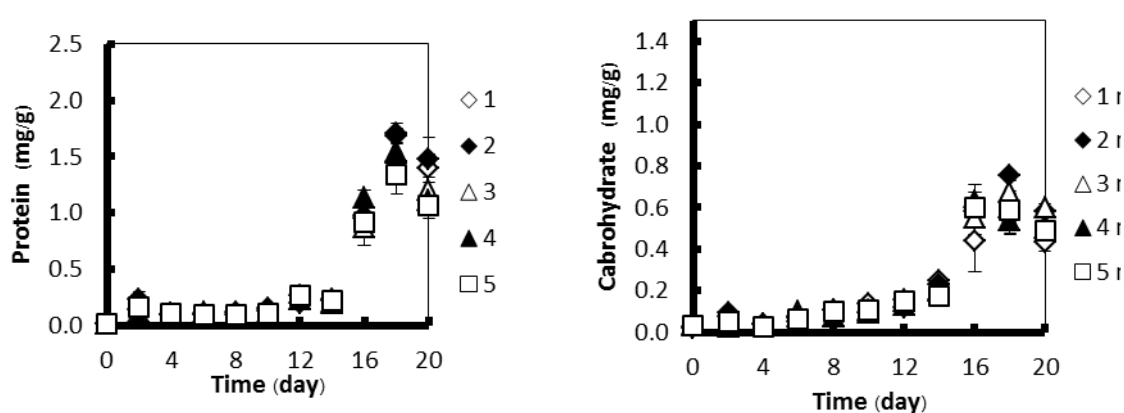
การสะสมน้ำมันของ *S. dimorphus* ภายใต้ความเข้มข้นเหล็กที่แตกต่างกัน ปริมาณน้ำมันสูงสุดที่ระดับความเข้มข้นเหล็กต่ำสุด เท่ากับ 26.13 ± 1.19 เปอร์เซ็นต์ โดยการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ผลผลิตน้ำมันมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้นเหล็ก 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 292.77 ± 10.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นเหล็ก 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กำลังการผลิตน้ำมันได้ค่าสูงสุดในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นเหล็ก 3 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่ากับ 18.50 ± 3.00 กรัมต่อลิตรต่อวัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ กับชุดการทดลองอื่นที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.4) กรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ palmitic acid โดยเมื่อปริมาณเหล็กเพิ่มมากขึ้น กรดไขมันชนิดนี้จะเพิ่มมากขึ้น โดยพบมีค่าในช่วง 46.4-52.9% (ตารางที่ 4.5)



ภาพที่ 4.7 น้ำหนักแห้ง ของสาหร่าย *S. dimorphus* ในอาหารสูตร chlorella medium ที่ผันแปรความเข้มข้นของเหล็ก



ภาพที่ 4.8 คลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *S. dimorphus* ในอาหารสูตร chlorella medium ที่ผันแปรความเข้มข้นของเหล็ก



ภาพที่ 4.9 โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย *S. dimorphus* ในอาหารสูตร chlorella medium ที่ผันแปรความเข้มข้นของเหล็ก

ตารางที่ 4.4 การเจริญเติบโตและไขมันของ *S. dimorphus* ในอาหารสูตร chlorella medium ที่ผันแปรความเข้มข้นของเหล็ก

Iron (mg/l)	μ (d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (mg/l)	Lipid Productivity (g/l/day)
1	0.069 ± 0.005^{ab}	940 ± 65^a	26.13 ± 1.19^{ab}	247.32 ± 25.22^a	17.96 ± 0.81^a
2	0.091 ± 0.007^b	980 ± 22^a	20.76 ± 4.72^a	247.95 ± 67.65^a	17.25 ± 3.77^{ab}
3	0.082 ± 0.014^b	1053 ± 17^a	22.70 ± 0.71^{ab}	278.83 ± 5.87^b	18.50 ± 3.00^c
4	0.058 ± 0.002^a	1193 ± 91^{ab}	23.89 ± 0.75^{ab}	283.30 ± 15.07^b	13.75 ± 0.29^{bc}
5	0.068 ± 0.002^{ab}	1353 ± 45^b	21.67 ± 0.73^b	292.77 ± 10.24^b	14.61 ± 0.40^c

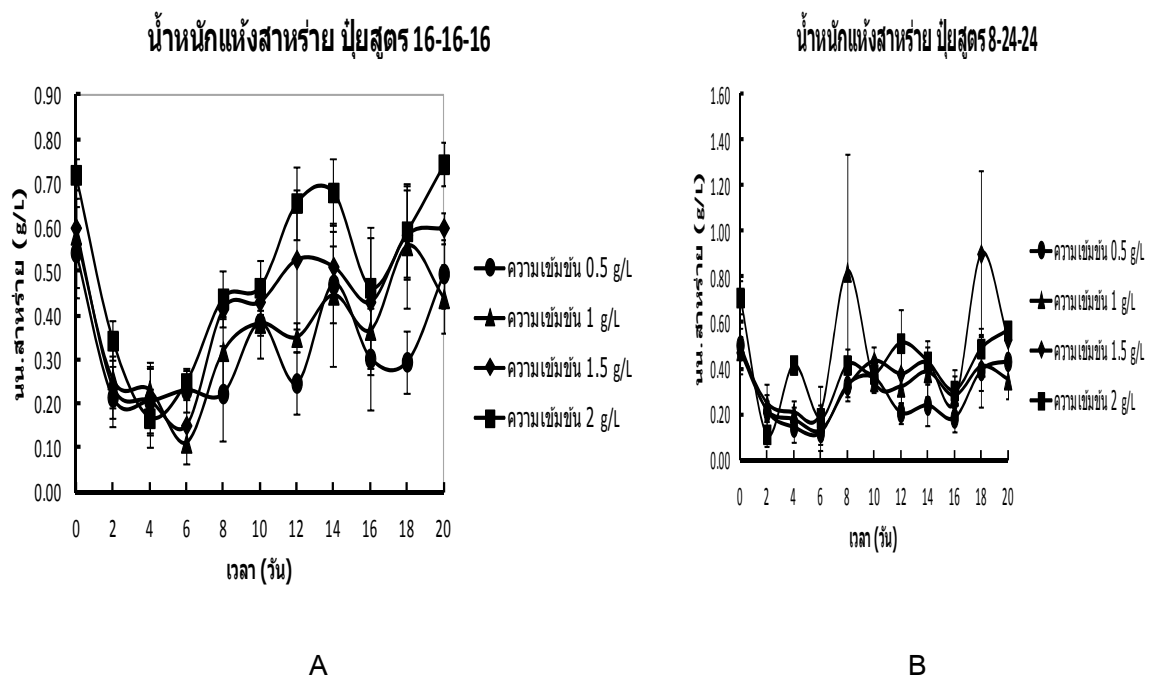
หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.5 กรดไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* ในความเข้มข้นหลักที่แตกต่างกัน

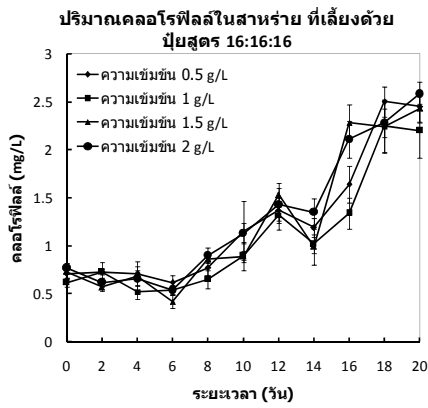
Fatty acid (%)	Fe (g/l)				
	1	2	3	4	5
Caproic Acid	0.72	1.75	0.60	0.67	1.15
Caprylic Acid	0.30	1.30	0.62	0.00	0.82
Capric Acid	0.00	0.18	0.31	0.00	0.33
Undecanoic Acid	0.08	1.57	0.47	0.22	0.50
Lauric Acid	10.71	5.75	9.51	9.66	7.67
Tridecanoic Acid	1.10	0.47	0.91	1.19	0.99
Myristic Acid	2.01	3.49	1.68	1.67	1.64
Myristoleic Acid	0.10	1.04	0.63	0.00	0.47
Pentadecanoic Acid	1.47	2.86	1.42	1.47	1.70
cis-10-Pentadecenoic Acid	0.20	0.61	0.60	0.16	0.61
Palmitic Acid	46.41	48.15	48.41	50.31	52.90
Palmitoleic Acid	6.24	5.03	6.49	6.02	5.21
Heptadecanoic Acid	3.12	3.47	2.48	2.37	2.60
cis-10-Heptadecenoic Acid	0.00	0.22	0.00	0.00	0.00
Stearic Acid	1.52	0.37	1.61	0.80	1.55
Oleic Acid	6.65	3.86	7.96	8.36	5.89
Nonadecanoic acid	4.70	13.15	6.56	8.33	6.45
Linoleic Acid	6.32	2.65	5.46	4.82	4.65
Arachidic Acid	0.00	0.32	0.00	0.00	0.00
Y-Linolenic Acid	4.89	2.20	3.47	2.73	3.85
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	0.00	0.00	0.10	0.15	0.00
cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid	0.00	0.00	0.11	0.25	0.17
Arachidonic Acid	3.46	0.00	0.37	0.68	0.83
Tricosanoic Acid	0.00	1.37	0.00	0.00	0.00
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid	0.00	0.21	0.21	0.15	0.00

4.2.2 การเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ

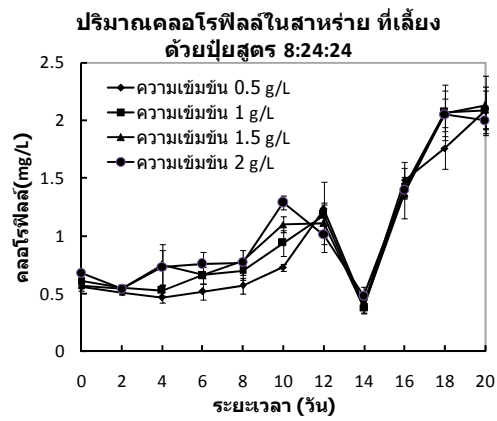
นำหัวเชื้อสาหร่าย *S. platensis* และ *S. dimorphus* ซึ่งเจริญเติบโตเต็มแล้วขยายลงในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร วางไว้บนชั้นที่มีการให้แสงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมง นอกห้องปฏิบัติการ โดยเฉพาะเลี้ยง *S. platensis* และ *S. dimorphus* ในปุ๋ยสูตรการค้า นอกห้องปฏิบัติการ โดยเฉพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตรการค้า 16:16:16 และ 8:24:24 ตามลำดับ ซึ่งเป็นสูตรปุ๋ยที่จากการทดลองขั้นต้นมีความเหมาะสมกับสาหร่ายเหล่านั้น ผลการศึกษาพบว่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายมีการผันแปรค่อนข้างสูงเนื่องจากภายนอกห้องปฏิบัติการมีการผันแปรของแสงสูง แม้มีการควบคุมแสงที่ให้ไว้แล้ว แต่มีปัจจัยเรื่องแสงธรรมชาติเข้ามาเกี่ยวข้อง จึงทำให้ค่าพีเอชในรอบวันมีการเปลี่ยนแปลงมาก จึงส่งผลให้เกิดการตกตะกอนของปุ๋ย การเจริญเติบโตของสาหร่ายจึงมีการผันแปรสูง โดยมีน้ำหนักแห้งสูงสุดที่เท่ากับ 0.74 ± 0.08 และ 0.9 ± 0.36 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.10) ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดแสดงถึงการเจริญเติบโตที่ต่อเนื่องเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.11, 4.12) โดยพบปริมาณโปรตีนผันแปรสูงมากเช่นเดียวกับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย โดยจากแนวโน้มจะพบว่ามีโปรตีนสูงในช่วงแรกของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนจะลดลง (ภาพที่ 4.13) ปริมาณไขมันในสาหร่าย *S. platensis* พบว่าความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร มีปริมาณไขมันทั้งหมดสูงที่สุด เท่ากับร้อยละ 66.59 ± 3.08 ปริมาณไขมันในสาหร่าย *S. dimorphus* พบว่าปริมาณไขมันที่ความเข้มข้นปุ๋ย 1.5 กรัมต่อลิตร มีปริมาณไขมันสูงสุดในวันที่ 14 เท่ากับ 87.89 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.6) โดยพบว่าปริมาณไขมันจะเพิ่มมากในวันที่ 7 และ 14 จากนั้นปริมาณไขมันจะลดลง (ภาพที่ 4.14)



ภาพที่ 4.10 การเจริญเติบโตของ *S. platensis* (A) และ *S. dimorphus* (B) เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตรการค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ

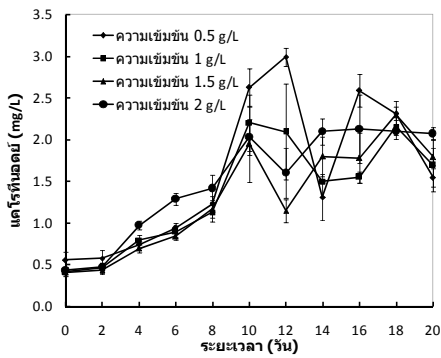


A

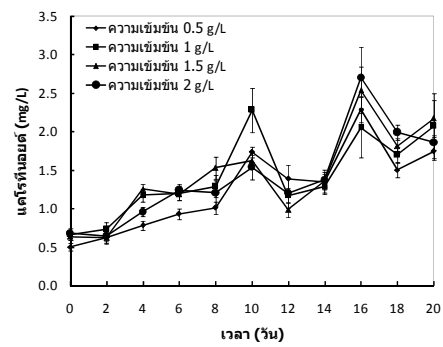


B

ภาพที่ 4.11 คลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่าย *S. platensis* (A) และ *S. dimorphus* (B) เพาะเลี้ยงในปุ๋ย
สูตรการค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ

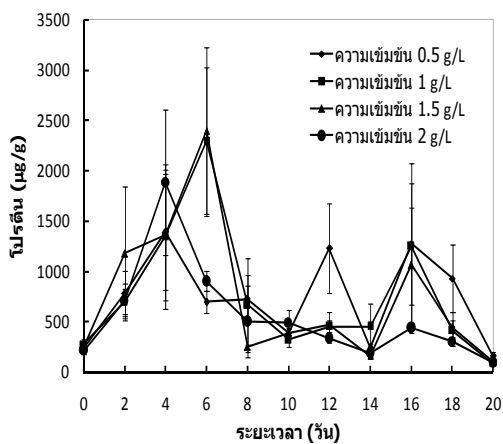


A

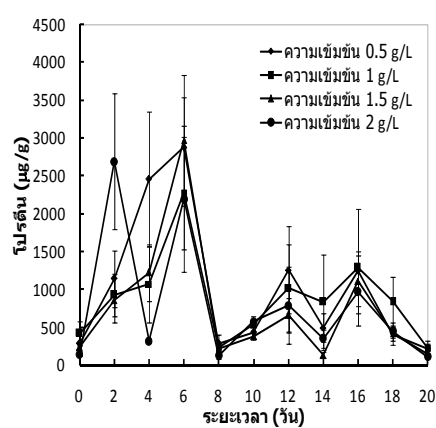


B

ภาพที่ 4.12 แคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *S. platensis* (A) และ *S. dimorphus* (B) เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตร
การค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ



A



B

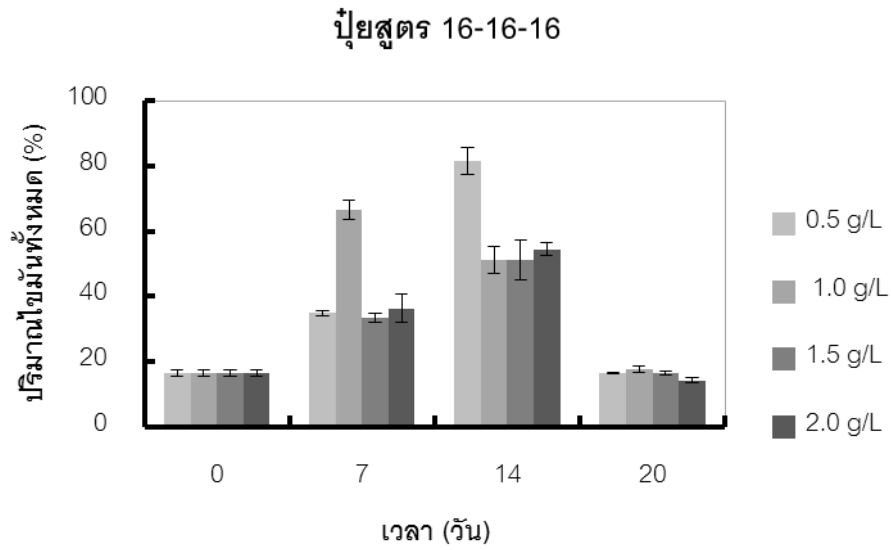
ภาพที่ 4.13 โปรตีนของสาหร่าย *S. platensis* (A) และ *S. dimorphus* (B) เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตรการค้า
16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4.6 แสดงการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันในสาหร่าย *S. platensis* และ *S. dimorphus* เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตรการค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ

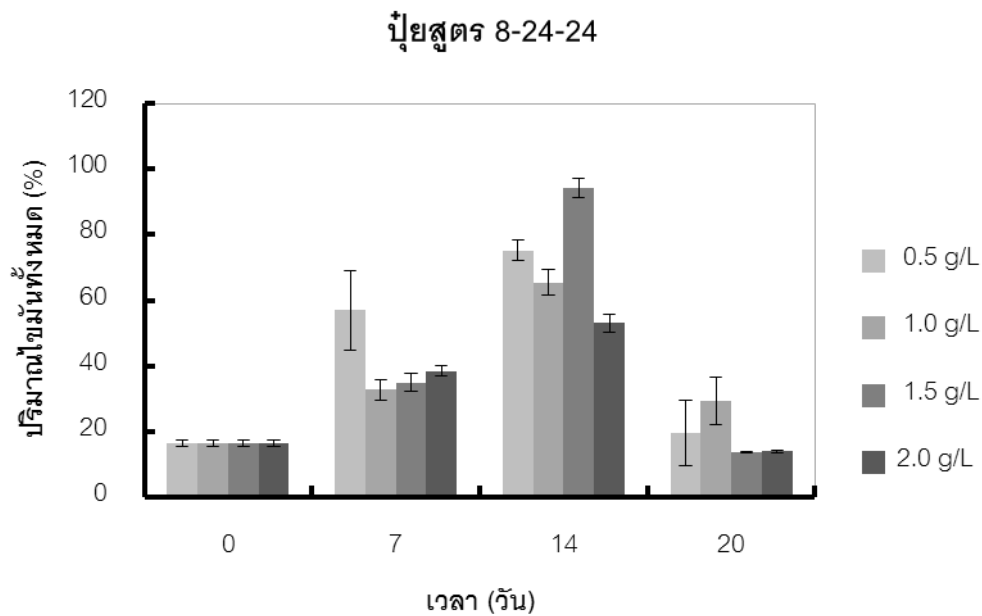
g/l		μ (d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (mg/l)	Lipid Productivity (g/l/day)
ปุ๋ยสูตร 16-16-16	0.5	0.14 ± 0.01^a	0.52 ± 0.05^{abc}	16.61 ± 0.14^{ab}	$0.08 \pm 0.008_{ab}$	10.13 ± 4.71^a
	1	0.19 ± 0.02^a	0.38 ± 0.06^{ab}	17.62 ± 0.95^{ab}	0.06 ± 0.01^a	2.52 ± 0.20^a
	1.5	0.17 ± 0.02^a	0.59 ± 0.04^c	16.37 ± 0.57^{ab}	$0.09 \pm 0.007_{ab}$	3.25 ± 0.40^a
	2	0.28 ± 0.02^a	0.79 ± 0.08^d	14.25 ± 0.89^a	0.11 ± 0.01^b	2.42 ± 3.41^a
ปุ๋ยสูตร 8-24-24	0.5	0.20 ± 0.26^a	0.43 ± 0.03^{abc}	19.52 ± 9.94^{ab}	$0.08 \pm 0.006_{ab}$	4.06 ± 0.55^a
	1	0.73 ± 0.47^a	0.33 ± 0.10^a	22.07 ± 8.90^b	$0.097 \pm 0.03_{ab}$	12.31 ± 7.65^a
	1.5	0.27 ± 0.06^a	0.55 ± 0.07^{bc}	13.78 ± 0.26^a	$0.07 \pm 0.009_{ab}$	10.17 ± 6.46^a
	2	0.62 ± 0.27^a	0.59 ± 0.02^c	13.92 ± 0.50^a	$0.08 \pm 0.002_{ab}$	3.64 ± 0.85^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวดิ่งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

กรดไขมันของสาหร่าย *S. platensis* ที่พบมากที่สุดคือ Palmitic Acid (C16:0) 63.25% รองลงมาเป็น Oleic Acid (C18:1n9c) 12.48 % (ตารางที่ 4.7) กรดไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่พบมากที่สุดคือ Palmitic Acid (C16:0) 58.89% รองลงมาเป็น Oleic Acid (C18:1n9c) 12.67 % (ตารางที่ 4.8) กรดไขมันที่เหมาะสมแก่การนำไปใช้เป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล คือ กรดไขมันอิ่มตัว (C16:0) เนื่องจากกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวไม่มีพันธะคู่ จึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ยากกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ที่มีร้อยละของกรดไขมันอิ่มตัวที่สูงกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ ซึ่งจะทำให้เกิดการทำปฏิกิริยากับ O_2 ทำให้เกิดการเหม็นหืนขึ้น



A



B

ภาพที่ 4.14 ปริมาณไนโตรเจนของสาหร่าย *S. platensis* (A) และ *S. dimorphus* (B) เพาะเลี้ยงในปุ๋ยสูตร การค้า 16:16:16 และ 8:24:24 นอกห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4.7 กรดไขมันของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรการค้าสูตร 16-16-16 ที่

Fatty Acid (%)		ความเข้มข้น g/l			
Component		0.5	1	1.5	2.0
Butyric Acid	C4:0	1.48	1.57	-	-
Caproic Acid	C6:0	-	1.98	4.74	-
Capric Acid	C10:0	1.02	0.89	2.78	2.80
Undecanoic Acid	C11:0	-	0.96	0.98	0.27
Lauric Acid	C12:0	3.29	2.12	2.74	3.75
Tridecanoic Acid	C13:0	1.67	1.24	1.21	2.92
Myristic Acid	C14:0	9.96	8.26	4.63	2.66
Myristoleic Acid	C14:1	1.07	1.08	1.86	2.29
Pentadecanoic Acid	C15:0	4.35	4.01	4.01	1.17
cis-10-Pentadecenoic Acid	C15:1	0.76	0.72	1.15	-
Palmitic Acid	C16:0	58.59	60.07	63.25	53.16
Palmitoleic Acid	C16:1	2.85	0.34	1.46	4.74
Heptadecanoic Acid	C17:0	3.73	2.41	4.28	1.79
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	-	-	-	0.46
Stearic Acid	C18:0	1.25	3.98	4.34	1.40
Elaidic Acid	C18:1n9t	4.67	1.64	1.87	0.56
Oleic Acid	C18:1n9c	2.65	5.35	0.70	12.48
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	-	-	-	0.70
Linoleic Acid	C18:2n6c	2.65	2.65	-	5.89
Y-Linolenic Acid	C18:3n6	-	-	-	0.85
Linolenic Acid	C18:3n3	-	0.73	-	2.12

ตารางที่ 4.8 กรดไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรการค้า สูตร 8:24:24

Fatty Acid (%)		ความเข้มข้น g/l			
Component		0.5	1	1.5	2.0
Butyric Acid	C4:0	1.48	-	-	-
Caproic Acid	C6:0	-	-	7.82	-
Capric Acid	C10:0	1.02	0.17	2.76	3.21
Undecanoic Acid	C11:0	-	0.25	0.98	-
Lauric Acid	C12:0	3.29	2.77	3.54	4.11
Tridecanoic Acid	C13:0	1.67	2.34	1.15	3.04
Myristic Acid	C14:0	9.96	2.26	5.78	2.97
Myristoleic Acid	C14:1	1.07	1.78	0.33	2.23
Pentadecanoic Acid	C15:0	4.35	1.01	3.73	0.33
cis-10-Pentadecenoic Acid	C15:1	0.76	-	1.13	-
Palmitic Acid	C16:0	58.59	58.89	55.79	51.55
Palmitoleic Acid	C16:1	2.85	5.48	3.89	5.27
Heptadecanoic Acid	C17:0	3.73	1.33	4.98	2.08
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	-	0.49	-	0.43
Stearic Acid	C18:0	1.25	1.12	3.24	0.96
Elaidic Acid	C18:1n9t	4.67	1.32	1.85	0.54
Oleic Acid	C18:1n9c	2.65	11.65	2.54	12.67
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	-	-	-	0.71
Linoleic Acid	C18:2n6c	2.65	4.42	0.50	5.69
Y-Linolenic Acid	C18:3n6	-	0.97	-	1.06
Linolenic Acid	C18:3n3	-	2.30	-	3.15
Arachidic Acid	C20:0	-	0.22	-	-
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	-	0.27	-	-
Behenic Acid	C22:0	-	0.45	-	-

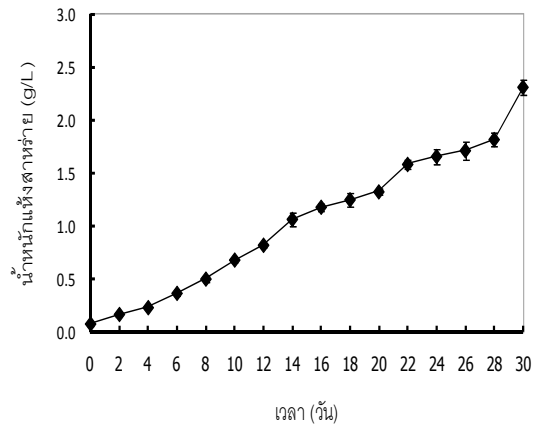
ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

Fatty Acid (%)		ความเข้มข้น g/l			
Component		0	7	14	20
Erucic Acid	C22:1n9	-	0.33	-	-
Lignoceric Acid	C24:0	-	0.17	-	-

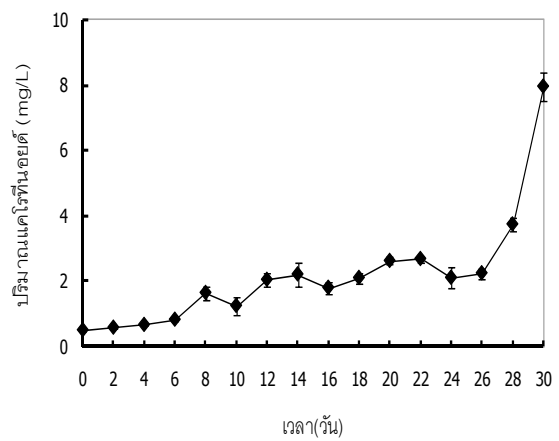
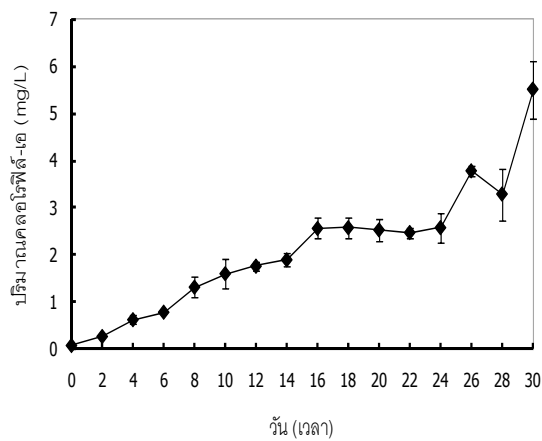
4.2.3 การทดลองเลี้ยงในระบบ horizontal tubular photobioreactor

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* และ *S. dimorphus* ในระบบ horizontal tubular photobioreactor โดยในแบบแรกจะทำการเพาะเลี้ยงแบบกะ (batch) คือการเพาะเลี้ยงโดยให้สารอาหารครั้งแรกเพียงครั้งเดียว เลี้ยงจนเจริญเติบโตเต็มที่ แล้วเก็บผลผลิตออกจากระบบทั้งหมด

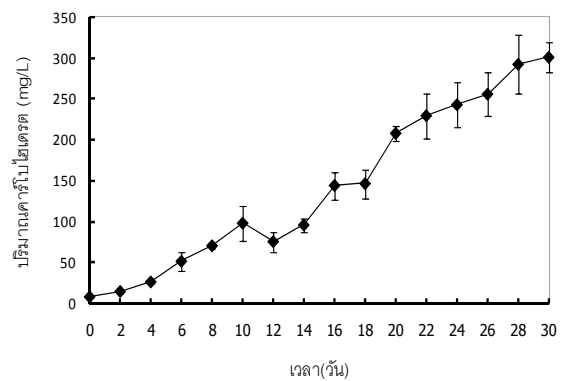
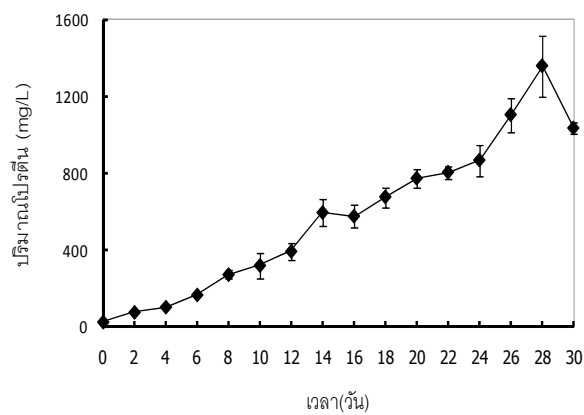
ผลการศึกษาพบว่า *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor มีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยที่สุดในวันที่ 0 คือ 0.08 ± 0.01 g/l และมากที่สุดในวันที่ 30 คือ 2.32 ± 0.08 g/l ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.15) ปริมาณคลอโรฟิลล์ มีปริมาณสูงในช่วงวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง คือ 5.50 ± 0.61 mg/l ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย มีปริมาณสูงสุดในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง คือ 7.95 ± 0.45 mg/l (ภาพที่ 4.16) ปริมาณโปรตีนของสาหร่าย มีปริมาณสูงสุดในวันที่ 28 ซึ่งมีปริมาณโปรตีนคือ 1357.21 ± 160.93 mg/l คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย มีปริมาณสูงสุดในวันที่ 30 ซึ่งมีปริมาณ 300.90 ± 18.66 mg/l (ภาพที่ 4.17) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่าย (ต่อวัน) สูงสุดในวันที่ 6 มีค่า 0.275 ± 0.021 g/l และมีค่าต่ำสุดในวันที่ 30 คือ 0.145 ± 0.034 g/l ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่น้ำหนักแห้งของสาหร่ายมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและสูงสุดในวันที่ 30 มีค่า 2.31 ± 0.07 g/l ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับวันที่ 0, 6, 12, 18, และ 24 ตามลำดับปริมาณไขมันรวมของวันที่ 0 มีปริมาณมากที่สุดมีค่า 47.50 ± 2.79 (%) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับวันอื่นๆ ปริมาณไขมันสูงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและสูงสุดในวันที่ 24 มีค่า 80.38 ± 0.02 g/l และลดลงในวันที่ 30 มีค่า 0.31 ± 0.01 g/l ส่วนค่าที่น้อยสุดในวันที่ 0 คือ 0.04 ± 0.01 g/l ซึ่งในแต่ละวันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนผลผลิตไขมันสูงที่สุดอยู่ที่วันที่ 6 มีค่า 8.47 ± 0.65 g/l/D และน้อยสุดในวันที่ 30 มีค่า 2.02 ± 0.47 g/l/D แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ (ภาพที่ 4.18, ตารางที่ 4.9)



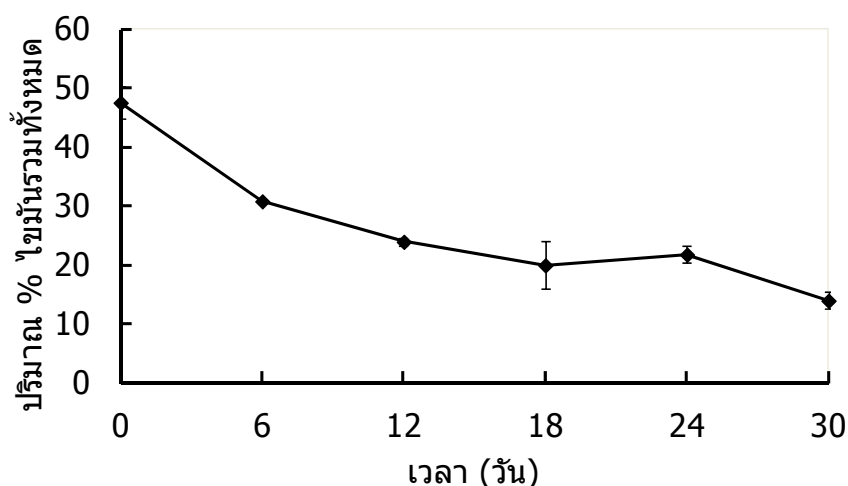
ภาพที่ 4.15 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor



ภาพที่ 4.16 ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ และแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor



ภาพที่ 4.17 โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor



ภาพที่ 4.18 ไขมันของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor

ตารางที่ 4.9 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor

Time (d)	μ (d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (mg/l)	Lipid Productivity (g/l/day)
0	-	0.09±0.01 ^a	47.50±2.79 ^d	0.04±0.01 ^a	-
6	0.275±0.021 ^b	0.36±0.02 ^b	30.80±0.29 ^c	0.13±0.01 ^b	8.47±0.65 ^d
12	0.228±0.017 ^{ab}	0.82±0.02 ^c	23.93±0.54 ^b	0.19±0.00 ^c	5.45±0.39 ^c
18	0.209±0.027 ^{ab}	1.25±0.06 ^d	19.95±4.00 ^{ab}	0.23±0.01 ^d	4.17±0.53 ^c
24	0.188±0.039 ^{ab}	1.66±0.07 ^e	21.76±1.46 ^b	0.38±0.02 ^e	4.08±0.84 ^c
30	0.145±0.034 ^a	2.31±0.07 ^f	13.94±1.42 ^a	0.31±0.01 ^f	2.02±0.47 ^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลผลิตไขมันของสาหร่าย *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor ที่ได้นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน พบว่ากรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ Palmitic Acid (C16:0) รองลงมาเป็น Oleic Acid (C18:1n9c) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10) พบว่ามีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมากกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งกรดไขมันอิ่มเป็นพันธะเดี่ยวมีความเสถียรไม่ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงเหมาะสมแก่การนำไปใช้เป็นไบโอดีเซล ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวปฏิกิริยาออกซิเดชันเนื่องจากมีพันธะคู่ในสายมากกว่า 1 ตำแหน่ง

ตารางที่ 4.10 กรดไขมันของ *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor

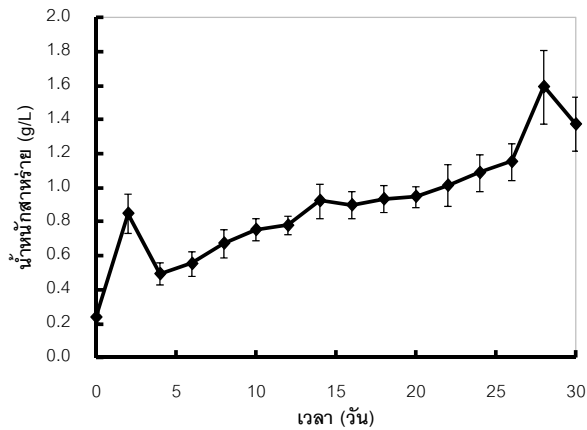
		เวลา (วัน)					
Fatty acid (%)		0	6	12	18	24	30
Capric Acid	C10:0	0.61	0.33	0.19	0.19	0.17	0.14
Undecanoic Acid	C11:0	0.82	0.12	0.08	0.09	0.10	0.04
Lauric Acid	C12:0	1.92	5.62	6.95	5.51	6.16	7.20
Tridecanoic Acid	C13:0	-	-	0.16	-	0.17	0.04
Myristic Acid	C14:0	-	1.41	1.04	1.17	0.92	0.98
Myristoleic Acid	C14:1	0.69	0.15	0.06	0.16	0.40	-
Pentadecanoic Acid	C15:0	-	0.45	0.36	0.41	0.37	0.34
Palmitic Acid	C16:0	42.49	47.98	48.47	50.90	44.39	39.67
Palmitoleic Acid	C16:1	3.97	4.26	-	4.97	5.98	6.31
Heptadecanoic Acid	C17:0	-	0.49	0.37	-	0.51	1.22
cis-10-Heptadecenoic Acid	C17:1	0.55	0.57	0.84	1.13	1.08	-
Stearic Acid	C18:0	5.32	2.61	1.88	1.51	1.70	4.27
Elaidic Acid	C18:1n9t	-	-	0.22	0.26	-	-
Oleic Acid	C18:1n9c	12.07	17.15	15.89	16.10	22.98	15.91
Linolelaidic Acid	C18:2n6t	-	-	-	-	-	5.11
Linoleic Acid	C18:2n6c	8.33	5.35	11.08	11.38	8.22	9.58
Y-Linolenic Acid	C18:3n6	-	-	1.67	0.62	0.59	1.09
Arachidic Acid	C20:0	-	-	-	-	-	5.78
Linolenic Acid	C18:3n3	2.93	2.52	5.83	5.61	4.27	-
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	C20:2	-	-	0.20	-	0.28	-
Heneicosanoic Acid	C21:0	-	-	0.65	-	0.45	0.53
Behenic Acid	C22:0	-	-	0.83	-	0.49	-

ตารางที่ 4.10 (ต่อ)

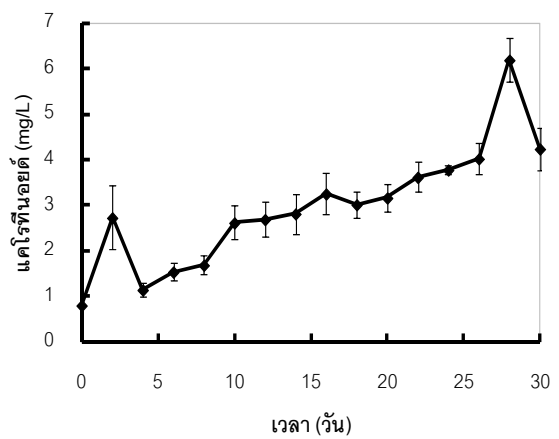
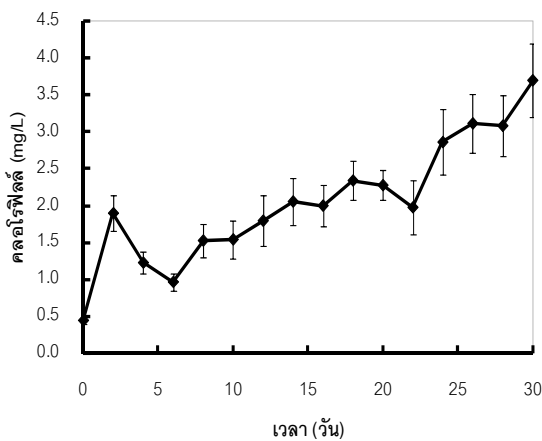
		Fatty Acid (%)					
Component		0	6	12	18	24	30
Erucic Acid	C22:1n9	-	4.68	-	-	-	0.44
cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid	C20:3n3	13.61	-	-	-	-	0.44
cis-13,16-Docosadienoic Acid	C22:2	-	3.22	1.07	-	0.42	0.17
Lignoceric Acid	C24:0	6.68	3.08	2.16	-	0.34	0.75

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* แบบกะใน horizontal tubular photobioreactor โดยใช้ความเข้มข้นของเหล็กที่ให้ไขมันสูงสุดจากห้องปฏิบัติการคือ 1 mg/l เพื่อเปรียบเทียบผล พบว่าในวันที่ 28 ของการทดลองให้การเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 1.60 ± 0.22 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.19) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ สำหรับค่าคลอโรฟิลล์-เอ พบว่ามีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เมื่อระยะเวลาของการเลี้ยงมากขึ้น โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 30 มีค่าเท่ากับ 3.70 ± 0.49 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.20) ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับวันที่ 24, 26 และ 28 ของการทดลอง และยังมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับมวลชีวภาพ อาจเนื่องมาจากการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ มากขึ้นตาม แคโรทีนอยด์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่อมีระยะเวลาของการเลี้ยงมากขึ้นเช่นเดียวกับมวลชีวภาพและคลอโรฟิลล์-เอ โดยพบว่ามีค่าสูงสุดในวันที่ 28 มีค่าเท่ากับ 6.19 ± 0.48 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ อย่างไรก็ตามการสังเคราะห์และสะสมแคโรทีนอยด์เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของกลไกการทำงานของเซลล์สังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงในด้านสรีรวิทยาของสาหร่าย โดยชักนำให้เกิดการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์เป็นอย่างมาก (Pirastu *et al.*, 2012)

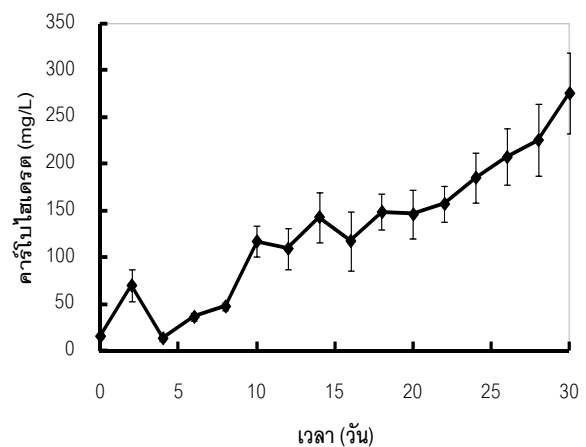
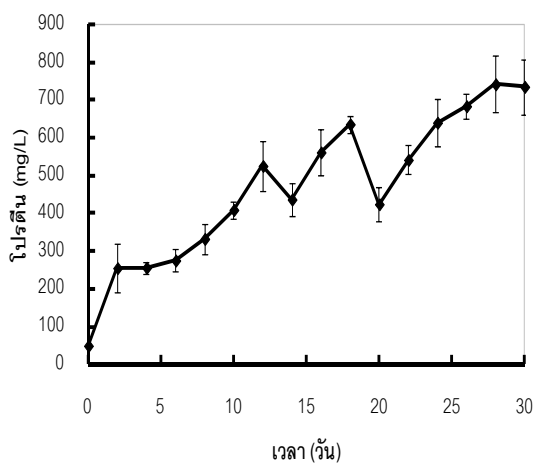
โปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีระยะเวลาของการเลี้ยงมากขึ้น (ภาพที่ 4.21) แต่ในช่วงวันที่ 12 ถึง 20 ของการทดลอง โปรตีนของสาหร่าย มีแนวโน้มที่ผันผวนทั้งเพิ่มขึ้นและลดลง แต่หลังจากวันที่ 20 พบว่าโปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องอีกครั้งจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง พบโปรตีนสูงสุดในวันที่ 28 มีค่าเท่ากับ 741.44 ± 74.60 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับวันที่ 18, 24, 26 และ 30 คาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีระยะเวลาของการเลี้ยงมากขึ้น โดยเฉพาะในช่วงตั้งแต่วันที่ 20 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง พบคาร์โบไฮเดรตสูงสุดในวันที่ 30 มีค่าเท่ากับ 275.80 ± 42.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับวันที่ 26 และ 28 ของการทดลอง



ภาพที่ 4.19 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor



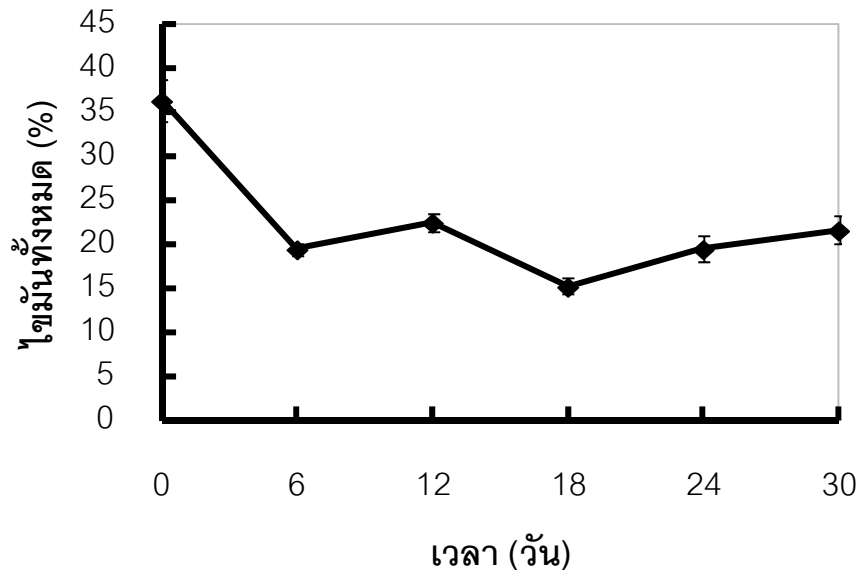
ภาพที่ 4.20 คลอโรฟิลล์-เอ และแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor



ภาพที่ 4.21 โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor

ปริมาณไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor วันที่ 0-12 ไม่คงที่ แต่ในช่วงตั้งแต่วันที่ 18 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปริมาณไขมัน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (ภาพที่ 4.22) โดยวันที่ 0 ให้ปริมาณไขมันสูงที่สุดเท่ากับ $36.45 \pm 2.37\%$ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ อาจเนื่องมาจากหัวเชื้อที่นำมาใช้ในการทดลองนี้อยู่ในระดับที่มีการสะสมไขมันมากที่สุดแล้ว เนื่องจากใช้เวลาในการขยายหัวเชื้อให้มีสีเขียวเข้มประมาณ 20 วัน ซึ่งอาจนานเกินไป ส่งผลให้วันที่ 0 มีปริมาณไขมันสูงที่สุด สำหรับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในช่วงวันที่ 6 มีค่าเท่ากับ 0.54 ± 0.18 ต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลผลิตไขมันที่พบว่าสูงสุดในช่วงวันที่ 6 (10.51 ± 3.56 กรัมต่อลิตรต่อวัน) สำหรับปริมาณไขมันที่ได้ต่อลิตรสูงสุดเท่ากับ 0.29 ± 0.05 กรัมต่อลิตร พบในวันที่ 30 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวันอื่นๆ และ ยังสอดคล้องกับมวลชีวภาพ (น้ำหนักแห้งต่อลิตร) ที่สูงสุด 1.34 ± 0.22 กรัมต่อลิตร ของวันที่ 30 และพบว่าปริมาณไขมันสูงสุด $36.45 \pm 2.37\%$ (ตารางที่ 4.11)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เลี้ยงที่เพาะเลี้ยงแบบกะใน horizontal tubular photobioreactor พบกรดไขมัน Palmitic Acid (C16:0) มากที่สุด 87.91% ในวันที่ 24 ของการทดลอง (ตารางที่ 4.12) และพบว่ามีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว



ภาพที่ 4.22 ไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor

ตารางที่ 4.11 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor

Time (d)	μ (d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (mg/l)	Lipid Productivity (g/l/day)
0	-	0.21±0.02 ^a	36.45±2.37 ^c	0.08±0.01 ^a	-
6	0.54±0.18 ^b	0.54±0.10 ^{ab}	19.59±0.69 ^{ab}	0.11±0.02 ^a	10.51±3.56 ^b
12	0.11±0.03 ^a	0.83±0.04 ^{bc}	22.62±0.98 ^b	0.19±0.01 ^b	2.46±0.63 ^a
18	0.10±0.02 ^a	0.94±0.08 ^c	15.34±0.94 ^a	0.14±0.01 ^{ab}	1.55±0.34 ^a
24	0.06±0.01 ^a	1.01±0.11 ^{cd}	19.60±1.43 ^{ab}	0.20±0.02 ^b	1.26±0.27 ^a
30	0.06±0.01 ^a	1.34±0.22 ^d	21.73±1.58 ^b	0.29±0.05 ^c	1.38±0.12 ^a

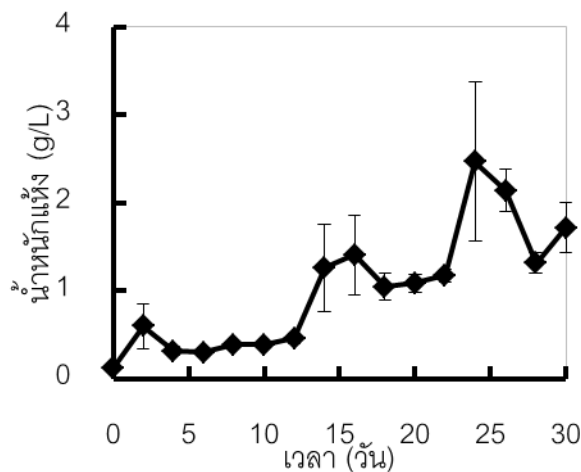
หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.12 กรดไขมันของ *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกะ ใน horizontal tubular photobioreactor

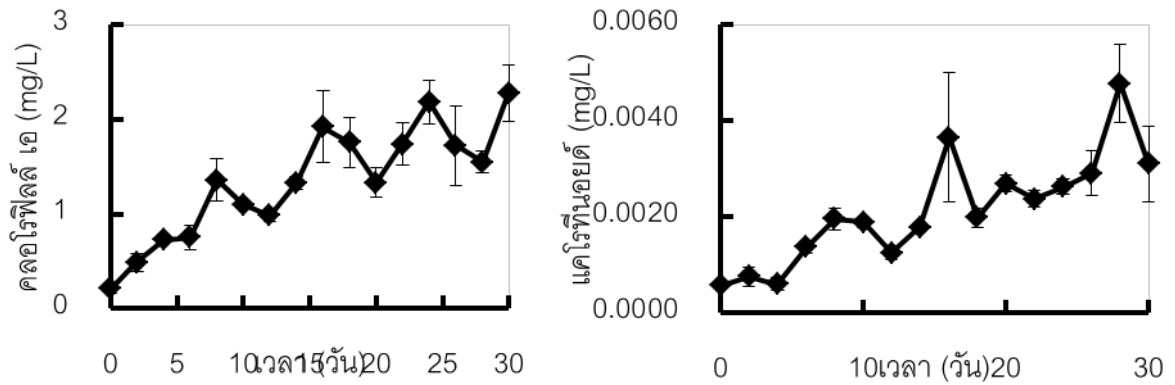
	เวลา (วัน)					
Fatty acid (%)	0	6	12	18	24	30
Caprylic Acid	-	-	-	0.06	-	-
Capric Acid	0.07	0.24	0.20	0.25	-	-
Undecanoic Acid	-	-	-	0.32	-	-
Lauric Acid	0.07	0.08	0.08	0.08	-	-
Tridecanoic Acid	0.04	0.05	0.05	-	-	-
Myristic Acid	2.00	1.30	1.31	1.89	1.60	1.63
Myristoleic Acid	0.31	-	0.13	0.61	0.23	0.45
Pentadecanoic Acid	0.78	0.35	0.39	0.56	0.54	0.32
Palmitic Acid	69.64	77.01	80.10	85.40	87.91	67.36
Palmitoleic Acid	0.71	-	0.85	1.99	1.75	2.24
Heptadecanoic Acid	0.55	0.54	0.51	0.78	-	0.48
cis-10-Heptadecenoic Acid	-	-	0.12	1.41	-	1.32
Stearic Acid	3.74	2.22	1.77	3.92	2.83	1.95
Elaidic Acid	1.66	2.78	2.80	1.92	-	1.39
Oleic Acid	0.28	2.19	2.09	0.82	1.04	0.71
Linolelaidic Acid	0.86	0.51	0.59	-	0.49	0.19
Linoleic Acid	0.46	-	0.28	-	0.35	-
Y-Linolenic Acid	-	0.41	0.31	-	0.51	0.35
Arachidic Acid	0.64	0.40	0.34	-	0.69	0.38
cis-11-Eicosenoic Acid	0.81	1.08	0.71	-	-	-
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	8.27	7.31	3.80	-	-	1.18
Heneicosanoic Acid	3.05	2.22	1.95	-	0.21	0.65
cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	-	-	0.55	-	-	0.65
Behenic Acid	2.13	1.30	1.09	-	1.85	1.17
Erucic Acid+cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid	0.22	-	-	-	-	-
cis-13,16-Docosadienoic Acid	2.55	-	-	-	-	14.08
Lignoceric Acid	0.30	-	-	-	-	-
Nervonic Acid	0.87	-	-	-	-	3.52

และเนื่องจาก *S. dimorphus* มีแนวโน้มที่เป็นไปได้ในการนำมาเป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลแหล่งใหม่ จึงได้ทำการเพาะเลี้ยงอีกหนึ่งแบบคือ แบบกึ่งต่อเนื่อง (semicontinuous) โดยการเพาะเลี้ยงแบบนี้คือการเติมสารอาหารเพิ่มบางช่วงระหว่างการเลี้ยง โดยในการทดลองนี้จะมีการเติมสารอาหารเพิ่มในวันที่ 10 และ 20 ของการเลี้ยง โดยจะเติมในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 ของความเข้มข้นอาหารปกติ หรือประมาณ 10 % เพื่อดูการเจริญเติบโตและไขมันที่เปลี่ยนไป

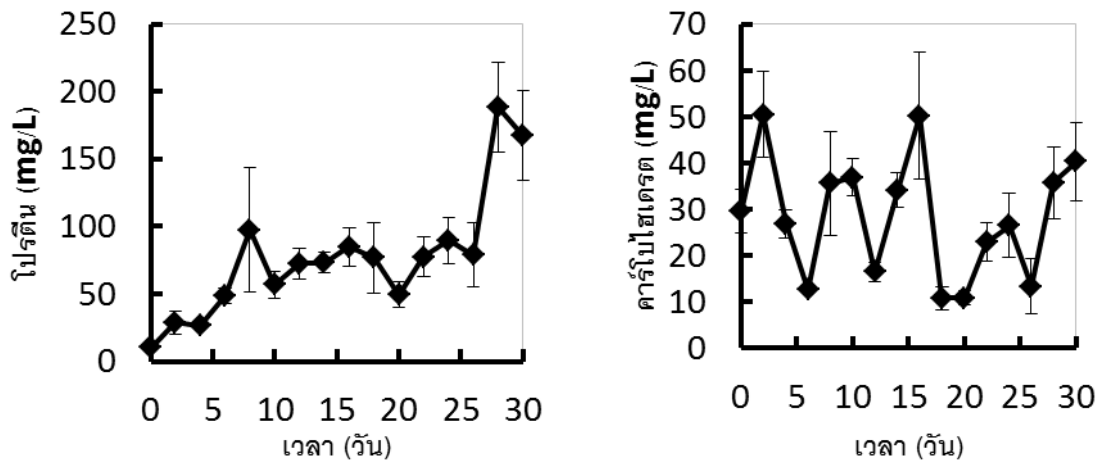
ผลพบว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยมีน้ำหนักแห้งมากที่สุดในวันที่ 24 มีค่า 2.47 ± 0.90 g/l เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 30 มีค่า 1.72 ± 0.28 g/l ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.23) โดยหลังการเติมอาหารในวันที่ 10 และวันที่ 20 พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นหลังได้รับอาหารที่เติมเข้าระบบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (mg/l) มีการผันแปรและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยมีปริมาณมากที่สุดในวันที่ 30 มีค่า 2.28 ± 0.29 mg/l (ภาพที่ 4.24) ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/l) มีการผันแปรและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุดวันที่ 28 มีค่า 0.0048 ± 0.0008 mg/l ปริมาณโปรตีน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยวันที่ 28 มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดมีค่า 188.60 ± 33.05 mg/l ปริมาณคาร์โบไฮเดรต มีการผันแปรตลอดเวลา โดยมากที่สุดในวันที่ 16 มีค่า 50.26 ± 13.74 mg/l (วันที่ 2 มีค่า 50.52 ± 9.36 mg/l และ 16 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ) (ภาพที่ 4.25)



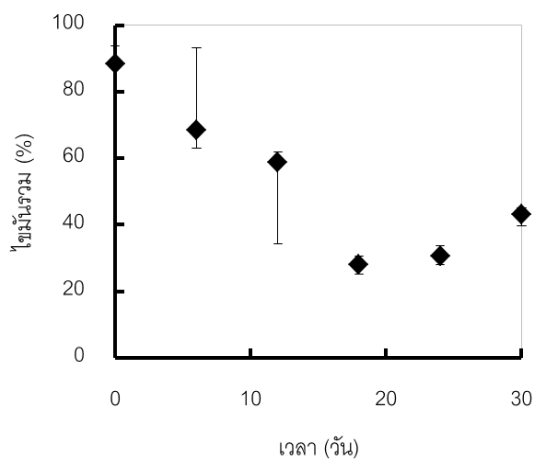
ภาพที่ 4.23 การเจริญเติบโตของ *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor



ภาพที่ 4.24 ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ และแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบ กิ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor



ภาพที่ 4.25 โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกิ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor



ภาพที่ 4.26 ไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกิ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor

ตารางที่ 4.13 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและปริมาณไขมันของ *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor

Time (d)	μ (d)	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (mg/l)	Lipid Productivity (g/l/day)
6	0.58±0.21 ^b	0.30±0.02 ^a	68.51±24.61 ^a	0.21±0.01 ^a	39.98±14.12 ^b
12	0.16±0.06 ^a	0.46±0.06 ^a	58.79±2.97 ^a	0.27±0.04 ^a	8.40±3.88 ^a
18	0.11±0.02 ^a	1.05±0.15 ^{ab}	28.03±2.50 ^a	0.29±0.04 ^a	2.99±0.63 ^a
24	0.17±0.02 ^a	2.47±0.90 ^c	30.48±3.17 ^a	3.37±2.89 ^a	5.09±0.50 ^a
30	0.22±0.05 ^a	1.72±0.28 ^{bc}	43.01±2.06 ^a	0.74±0.12 ^a	9.57±2.10 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

S. dimorphus ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor มีปริมาณไขมันรวมสูงสุด (%) เท่ากับ 68.51±24.61 % โดยสาหร่ายมีแนวโน้มที่ผลิตไขมันลดลง อาจเป็นเพราะการเติมอาหารเพิ่มในระบบ ทำให้สาหร่ายเน้นการเจริญเติบโตมากกว่าการสะสมไขมัน (ภาพที่ 4.26, ตารางที่ 4.13) แต่จากการทดลองครั้งนี้พบว่าปริมาณไขมันมีค่าค่อนข้างสูงผิดปกติ จึงสมควรต้องทำการทดลองซ้ำอีกครั้งหนึ่งในช่วงฤดูกาลเดียวกันหรือช่วงที่มีสภาพอากาศเช่นเดียวกันในรอบปี พบกรดไขมัน C16: 0 ในสัดส่วนที่สูงประมาณ 50-75% และพบกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนมากกว่า 20 ตัว อีกด้วย (ตารางที่ 4.14) สาหร่ายขนาดเล็กจะแบ่งออกเป็นสองประเภทตามตัวเลขคาร์บอน โดยกรดไขมันที่มีเลขคาร์บอน 14-20 ใช้สำหรับการผลิตไบโอดีเซลและกรดไขมันไม่อิ่มตัว (คาร์บอนมากกว่า 20 ตัว) (Yen *et al.*, 2012) การผลิตจะใช้จำนวนคาร์บอน 14-20 ซึ่งเหมาะกับการทำไบโอดีเซล ในทางตรงข้ามกรดไขมันไม่อิ่มตัว (PUFAs) ที่มีคาร์บอนมากกว่า 20 ตัว เป็นสารประกอบที่คุณค่าสูงสำหรับการใช้งานในตลาดอาหารเพื่อสุขภาพ ในหมู่ของ PUFAs สาหร่ายที่ผลิตเชิงพาณิชย์ ได้แก่ EPA และ DHA ถือเป็นแหล่งที่มีศักยภาพของกรดไขมันที่ดี (Spolaore *et al.*, 2006; Vazhappilly and Chen, 1998) แสดงว่า สาหร่ายที่ใช้ทำการทดลองนี้มีประสิทธิภาพในการทำน้ำมันไบโอดีเซล นอกจากนี้ยังทำเป็นอาหารเสริมได้อีกด้วย

ตารางที่ 4.14 กรดไขมันของ *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องใน horizontal tubular photobioreactor

Fatty acid (%)	เวลา (วัน)					
	0	6	12	18	24	30
Caproic Acid	-	-	-	-	4.50	23.13
Capric Acid	-	0.14	0.10	-	0.41	0.26
Undecanoic Acid	-	-	-	0.53	0.46	0.24
Tridecanoic Acid	-	-	0.05	-	-	-
Myristic Acid	6.02	3.12	2.10	2.36	2.69	-
Myristoleic Acid	-	0.48	0.25	1.01	0.46	0.50
Pentadecanoic Acid	3.08	1.36	0.75	0.69	0.95	-
Palmitic Acid	65.50	74.60	75.93	48.59	65.06	50.99
Palmitoleic Acid	0.84	0.91	2.37	1.28	2.34	2.22
Heptadecanoic Acid	-	0.68	0.97	0.62	-	-
cis-10-Heptadecenoic Acid	-	0.25	0.34	2.18	-	0.11
Stearic Acid	11.15	4.14	3.83	2.53	2.89	2.16
Elaidic Acid	1.03	2.08	-	0.67	1.16	4.11
Oleic Acid	-	0.53	1.21	1.44	1.26	2.76
Linolelaidic Acid	0.57	0.68	0.86	0.11	0.38	0.66
Linoleic Acid	-	-	0.46	-	-	0.20
Y-Linolenic Acid	-	-	0.45	-	-	-
Arachidic Acid	-	1.26	0.72	-	-	-
cis-11,14-Eicosadienoic Acid	-	-	1.53	0.87	0.16	-
Heneicosanoic Acid	6.06	-	0.22	0.21	-	0.67
cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	-	1.13	0.62	0.53	-	-
Behenic Acid	-	6.31	1.77	-	-	-
cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid+Erucic Acid	1.37	-	-	-	0.63	-
cis-13,16-Docosadienoic Acid	3.28	-	3.56	29.29	12.88	9.97
Lignoceric Acid	-	-	0.77	-	-	-
Nervonic Acid	1.08	2.35	1.12	7.08	3.77	2.03

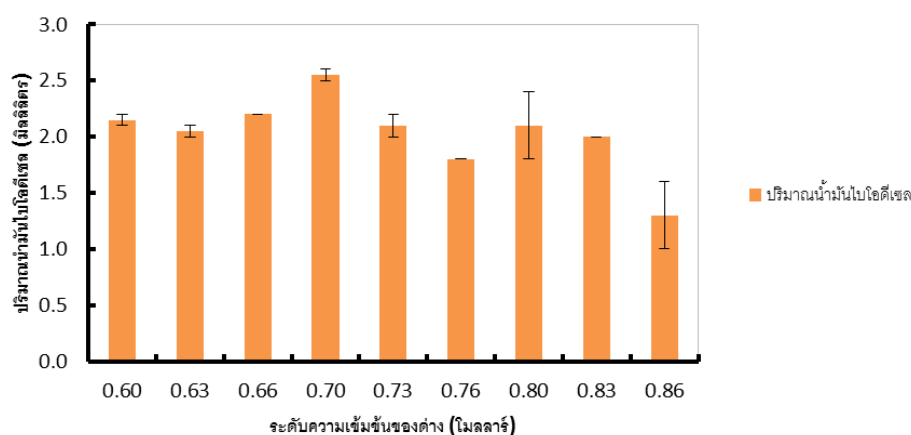
4.3. การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่าย

เก็บผลผลิตสาหร่าย *S. dimorphus* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในระบบ photobioreactor และสกัดน้ำมันออกจากสาหร่าย จากนั้นทำการเปลี่ยนน้ำมันให้เป็นไบโอดีเซล จากการทำปฏิกิริยา transesterification โดยใช้ด่าง (NaOH) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันคือ 0.60-0.86 โมลาร์ ในการเร่งปฏิกิริยาเพื่อหาปริมาณน้ำมันไบโอดีเซล พบว่าค่าที่ความเข้มข้น 0.70 โมลาร์ สามารถทำให้ได้ปริมาณไบโอดีเซลสูงสุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.55 ± 0.05 มิลลิลิตรต่อ 3 มิลลิลิตร เมื่อผลการวิเคราะห์ไขมันพบว่าปฏิกิริยาไขมันชนิดอิ่มตัวที่เหมาะสมกับการผลิตไบโอดีเซล (ตารางที่ 4.15 , ภาพที่ 4.27-4.29)

ตารางที่ 4.15 ผลของระดับความเข้มข้นของด่างที่แตกต่างกันต่อปริมาณน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้

ระดับความเข้มข้น (โมลาร์)	น้ำมันไบโอดีเซล (จากน้ำมัน 3 มิลลิลิตร)
0.60	2.15 ± 0.05^c
0.63	2.05 ± 0.05^{bc}
0.66	2.20 ± 0.00^c
0.70	2.55 ± 0.05^d
0.73	2.10 ± 0.10^c
0.76	1.80 ± 0.00^b
0.80	2.10 ± 0.30^c
0.83	2.00 ± 0.00^{bc}
0.86	1.30 ± 0.30^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4.27 ระดับความเข้มข้นของด่างที่แตกต่างกันต่อปริมาณน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้



ภาพที่ 4.28 ปริมาณน้ำมันไบโอดีเซล (ด้านบนของหลอด) และกลีเซอริน (ด้านล่างของหลอด) ที่ผลิตได้ ที่ระดับความเข้มข้นต่างแตกต่างกัน



ภาพที่ 4.29 ลักษณะน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus*

Sathish *et al.* (2012) ได้ทำการการศึกษาการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากการสกัดไขมันจากสาหร่ายสด โดยสาหร่ายที่ใช้ได้แก่ *Chlorella* และ *Scenedesmus* sp. นำสาหร่ายที่ทำกรบั่นเหวี่ยงจนเหลือแค่ชีวมวล ใส่หลอดโดยที่ปริมาตรของชีวมวลเท่ากับ 100 กรัมแห้งแล้วเติมกรดซัลฟิวริก 1 มิลลิลิตรที่มีความเข้มข้น 1 โมล ทำการผสม และให้ความร้อนที่เท่ากับ 90 องศาเซลเซียสโดยใช้ Hach DRB-200 เป็นเวลา 30 นาที โดยการเติมกรดลงไปจะทำให้เซลล์ของสาหร่ายแตก ต่อมาให้

เติมสารละลายโซเดียม 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 ทำการปั่นเหวี่ยงและดูดส่วนใสออกมา

Wahlen *et al.* 2011 ได้ทำการศึกษาการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยการทดลองได้ทดสอบความเหมาะสมของตัวเร่งปฏิกิริยา สารที่ใช้กรดซัลฟริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา 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 นาทีไปจะไม่ส่งผลให้เกิดผลผลิตน้ำมันไบโอดีเซล ผลผลิตไบโอดีเซลจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นที่มากกว่า 1.8 %โดยปริมาตร และลดลงเมื่อใช้ความเข้มข้นที่มากกว่า 2.4 %โดยปริมาตร

4.4. หาแนวทางในการใช้เศษสาหร่ายที่ผ่านการสกัดน้ำมัน

สาหร่าย *S. dimorphus* ที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว มีปริมาณโปรตีนอยู่ที่ 151.73 ± 0.16 ไมโครกรัม คาร์โบไฮเดรตอยู่ที่ 68.61 ± 0.46 ไมโครกรัม คลอโรฟิลล์อยู่ที่ 475.64 ± 104.44 ไมโครกรัม และแคโรทีนอยด์อยู่ที่ 151.5 ± 61.30 ไมโครกรัม จึงมีความเหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์อื่น เช่นการนำสารสีที่เหลือมาใช้ประโยชน์ หรือการนำเซลล์ไปหมักทำมีเทน หรือการนำไปเป็นปุ๋ย เป็นอาหารสัตว์ต่อไป

ตารางที่ 4.16 ปริมาณเฉลี่ยคุณค่าทางโภชนาการและรงควัตถุที่ได้จากสาหร่าย *S. dimorphus* ที่ผ่านการสกัดไขมัน

คุณค่าทางโภชนาการและรงควัตถุ (ไมโครกรัมต่อกรัม)				
	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	คลอโรฟิลล์	แคโรทีนอยด์
<i>Scenedesmus</i> sp.	151.73 ± 0.16	68.61 ± 0.46	475.6 ± 104.44	151.5 ± 0.61

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* และ *S. dimorphus* ในห้องปฏิบัติการ และนอกห้องปฏิบัติการในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร และในระบบ horizontal tubular photobioreactor พบว่า *S. platensis* ที่เพาะเลี้ยงในระบบ horizontal tubular photobioreactor มีผลผลิตชีวมวลสูงที่สุด โดยสูงกว่าระบบเปิด 2-3 เท่า โดยที่ปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันในแต่ละระบบเพาะเลี้ยง

ส่วนการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* พบว่าในการผันแปรธาตุอาหารในการเลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการ สาหร่าย *S. dimorphus* ผลิตไขมันได้สูงเมื่อเพาะการเลี้ยงในอาหารที่มีไนโตรเจน 16.5 mg/l, ฟอสฟอรัส 22 mg/l เหล็ก 45 mg/l ความเค็ม 5 psu ซึ่งจะทำให้มีไขมันเท่ากับ $20.3 \pm 0.4\%$, $19.4 \pm 0.2\%$, $24.7 \pm 0.5\%$, และ $14.3 \pm 0.2\%$ ตามลำดับ และเมื่อทดลองนำสาหร่ายนี้ไปเลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตรการค้าเพื่อหาแนวทางในการลดต้นทุน พบว่าสามารถเจริญเติบโตได้ดีให้ผลผลิตใกล้เคียงกับในห้องปฏิบัติการ แต่เนื่องจากน้ำมันน้อยกว่า การนำไปเลี้ยงในระบบ horizontal tubular photobioreactor จึงเลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับเหล็กที่เหมาะสมคือ 1 g/l ทั้งแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่าทั้งสองแบบสามารถเพิ่มชีวมวลและไขมัน ได้มากกว่าการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการประมาณ 2-3 เท่า จากการวิเคราะห์กรดไขมันของ *S. dimorphus* พบว่ามี C16-C18 สูง จึงมีความเหมาะสมในการนำน้ำมันจากสาหร่ายชนิดนี้มาผลิตไบโอดีเซล ซึ่งจากการทำปฏิกิริยา transesterification โดยใช้ด่าง (NaOH) ที่ความเข้มข้น 0.70 โมลาร์ มีปริมาณไบโอดีเซลสูงสุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.55 มิลลิลิตรจากน้ำมัน 3 มิลลิลิตร

บรรณานุกรม

- เจียมจิตต์ บุญสม. 2531. ความลับของสาหร่ายเกลียวทอง : ผลของการรักษาโรคที่นายแพทย์ ชาว
ญี่ปุ่นค้นพบ. งานแปลฉบับที่ 105 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- จิระพรรณ ศรีสุขงาม. 2537. โปรตีนธรรมชาติจากสาหร่ายเกลียวทอง. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทร
รวิโรฒ มหาสารคาม 13(2): 43-47.
- ยุวดี พีรพรพิศาล, สุตาพร ตงศิริ และปาวลี ศรีสุขสงวงศ์. 2547. รายงานฉบับสมบูรณ์เรื่อง การ
เพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาในน้ำอากาศเปล่าในระดับนาร่อง. ภาควิชาชีววิทยา คณะ
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ยุวดี พีรพรพิศาล, อัญชลี เชื้อนเพ็ชร, วีระนันท์ เกียรติภักดิ์, ศักดา พริงลำภู และสาคร
พรหมขัติแก้ว. 2545. การศึกษาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina*
platensis ระดับนาร่องจากน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วจากก๊าซชีวภาพฟาร์มเลี้ยงสุกร ปีที่ 2.
รายงานการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. 2546. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ลัดดา วงรัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์. 127 หน้า.
- สรัญญา ทองเล็ก. 2542 การเพิ่มผลผลิตสาหร่ายเกลียวทองโดยการจัดการความถี่ในการสัมผัสแสง.
วิทยานิพนธ์ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา
เทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี พระ
จอมเกล้าธนบุรี.
- สุนิสา บุญมา, ปานมุก วัชรปิยะโสภณ และยุวดี พีรพรพิศาล. 2554. ผลของอุณหภูมิและสภาวะใน
การเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *Botryococcus braunii*
Kutzing PK5. การประชุมวิชาการ สาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5. โรงแรมบีพี สมิ
หลา บีช โฮเทลแอนด์รีสอร์ท จังหวัดสงขลา.
- สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ และปวีณา ทวีกิจการ. 2553. คุณค่าทางโภชนาการและ
ปริมาณรงควัตถุของ *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงในปุ๋ยผสมมูลสุกร. วารสารวิจัย
เทคโนโลยีการประมง ปีที่ 4 ฉบับที่ 2. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพ.
- สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2554. ปริมาณไขมันของไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. ที่เพาะเลี้ยงใน
อาหารที่มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก และความเค็ม ที่แตกต่างกัน. การประชุม

วิชาการ สหรัยและเพลงก็ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5. โรงแรมบีพี สมิหลา 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 CO₂ 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://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
- Matanjan, 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 Egtesadi, 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 micro algae oil. P. 27. Proceeding of The 1st 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 Gislerød, 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 6th Asian Agriculture Symposium and 1st 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., Wilhelmb, 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. Danquahb,Xiao Dong Chen,Yinghua Lua, 2011, Microalgae bioengineering: From CO2 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

วันเดือนปีเกิด 9 พฤศจิกายน 2515 อายุ 41 ปี

ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 8

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. ความเป็นไปได้ในการผลิตไขพัคไรแดงเป็นการค้า (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. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดฉาบ *Nostoc commune* เพื่อการค้า (รายได้ภาคฯ 2547)
6. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดฉาบ (*Nostoc commune*) และสาหร่ายสไปรูลีนา (*Spirulina platensis*) ในน้ำหมักที่ทิ้งจากโรงงานผลิตนมเพื่อใช้เป็นอาหารปลาสวยงามและปลาเศรษฐกิจ(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. มี.ย. 2550- มี.ย. 2552)

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

1. สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2544. การใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ควบคุมปริมาณแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria*. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 9(3):19-23.
2. สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2545. การควบคุมการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* โดยใช้ฟอร์มาลินและคลอรีน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 18(3):30-37.
3. สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2545. การบำบัดน้ำเสียที่มีตะกั่วและแคดเมียมปนเปื้อนโดยใช้แหนเป็ดเล็ก (*Lemna perpusilla* Torr.). วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 20 (3):1-11.
4. สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ, ปวีณา ทวีกิจการ และ กลิ่นสุคนธ์ สุวรรณรัตน์. 2546. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย : *Oscillatoria* sp., *Microcystis* sp. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 21:48-60.
5. สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ, ปวีณา ทวีกิจการ และ จตุพร บัณฑิต. 2546. ผลของความเข้มแสงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและการสร้างไขฟักของไรแดง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 21:61-68
6. สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2547. การกำจัดตะกั่วและแคดเมียมโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็ก *Phormidium angustissimum* และ *Chlorella vulgaris*. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ (Section T) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 3(1): 287-296.
7. สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2547. การดูดซับตะกั่วและแคดเมียมจากน้ำเสียโดยใช้ *Scenedesmus dimorphus* เป็นตัวดูดซับ. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 12(1):42-47.

8. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ และศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2547. การผลิตไขแพคของไรแดงภายใต้สภาวะการควบคุมระดับพีเอชและแอมโมเนีย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 22(2):65-75.
9. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ และ จำรูญ เล้าสินวัฒนา. 2548. ผลของสารสกัดจากสาหร่ายต่อการงอกของพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 36:978-981.
10. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ บุปผา จงพัฒน์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ปวีณา ทวีกิจการ. 2548. คุณค่าทางโภชนาการของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23(2):38-47.
11. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์. 2549. การสร้างไขแพคของไรแดงที่ระดับอุณหภูมิต่ำและอัตราพักของไขแพคที่ฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลิน และไขแพคที่เก็บรักษาไว้ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(2):54-62.
12. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์. 2549. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ไขแพค *Wolffia arrhiza* (L.) Wimmer. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(3):1-14.
13. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ และ จำรูญ เล้าสินวัฒนา. 2549. ผลของแสงและอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Phormidium angustissimum* ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 37(6):925-928.
14. ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher. 2549. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 14(2):40-49.
15. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์. 2550. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Calothrix marchica* Lemm. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 25:13-26.
16. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ และศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2550. การกำจัดตะกั่วจากน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria jatorvensis* และ *Microcystis aeruginosa*. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 14:46-54.
17. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ 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. สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ปวีณา ทวีกิจการ ชาติสกุล เจริญมรณานันท์. 2551. คุณค่าทางโภชนาการและปริมาณรงควัตถุของ *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงในปุ๋ยผสมมูลสุกร. การประชุมวิชาการประมงครั้งที่ 3 “เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ” 8-9 ธันวาคม 2551. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ น. 105-115
19. อธิยา สะพานกลาง และ สุนิรัตน์ เรื่องสมบุรณ์. .การดูดซับตะกั่วโดยไซยาโนแบคทีเรีย *Stigonema* sp. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28:20-30.

20. อภิญา สโมสร, สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์, อำร อินทร์สังข์ และ จรงค์ศักดิ์ พุ่มนวน. 2553. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายขนาดใหญ่ ต่อไรฝุ่น *Dematophagoides pteronyssinus* (Trouessart) โดยวิธีสัมผัส. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. น 184-191.
21. อธิยา สะพานกลาง และ สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 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 1st 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 (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 (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.