

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในขวดโหลที่มีน้ำหล่อเย็น

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

ตารางที่ 4.1 ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในขวดโหลที่มีน้ำหล่อเย็น

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

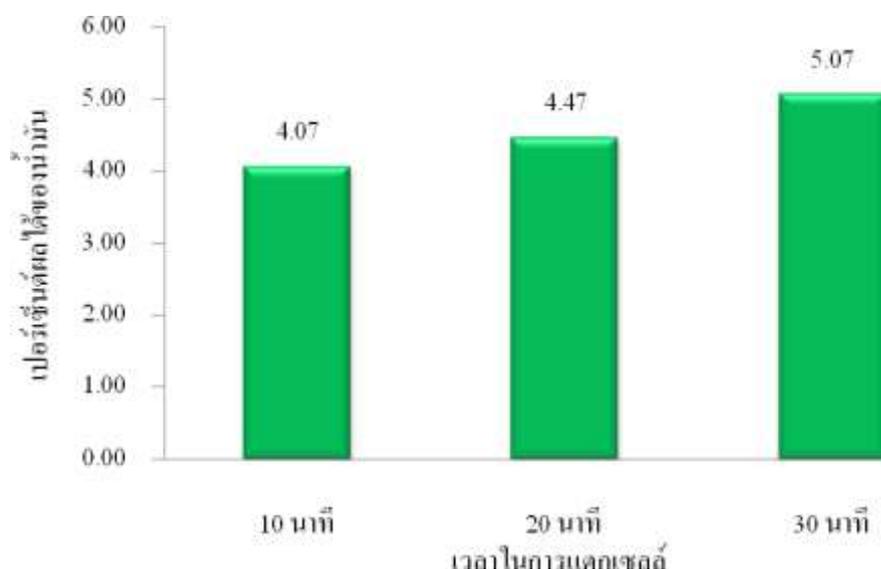
## 4.2 การวิเคราะห์ความชื้นของเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง

เซลล์แห้งของจุลสาหร่ายที่ได้จากการเลี้ยงที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสอาจยังมีความชื้นหลงเหลืออยู่ และอาจมีผลต่อการสกัดน้ำหนักรวมได้ทำการวิเคราะห์หาความชื้นของจุลสาหร่ายจากการวิเคราะห์หาความชื้นจากจุลสาหร่ายพบว่าเซลล์จุลสาหร่ายแห้งมีความชื้นอยู่ที่ 7.4 เปอร์เซ็นต์

## 4.3 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่าย

### 4.3.1 ผลการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิก

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

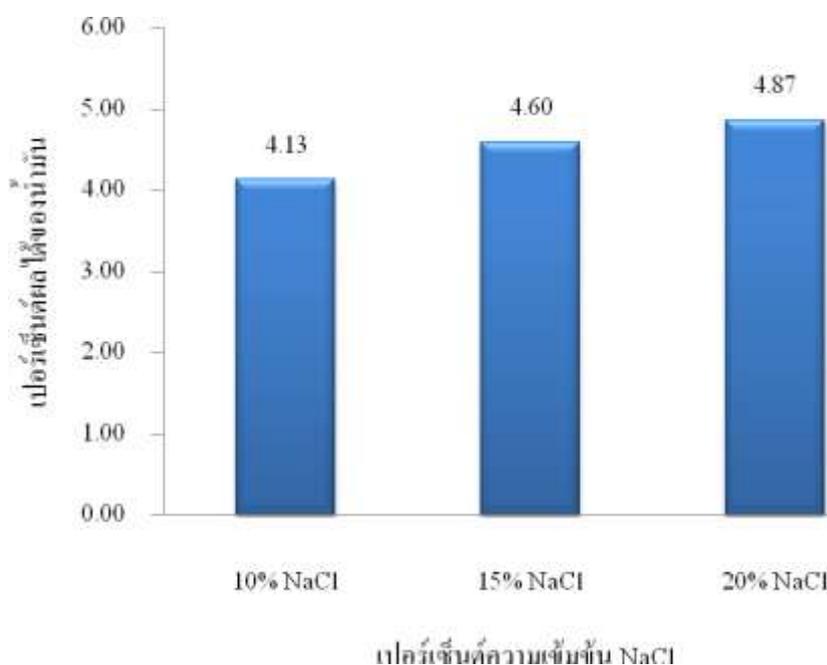


**รูปที่ 4.1** ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่สกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

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

#### 4.3.2 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกซ็อก

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

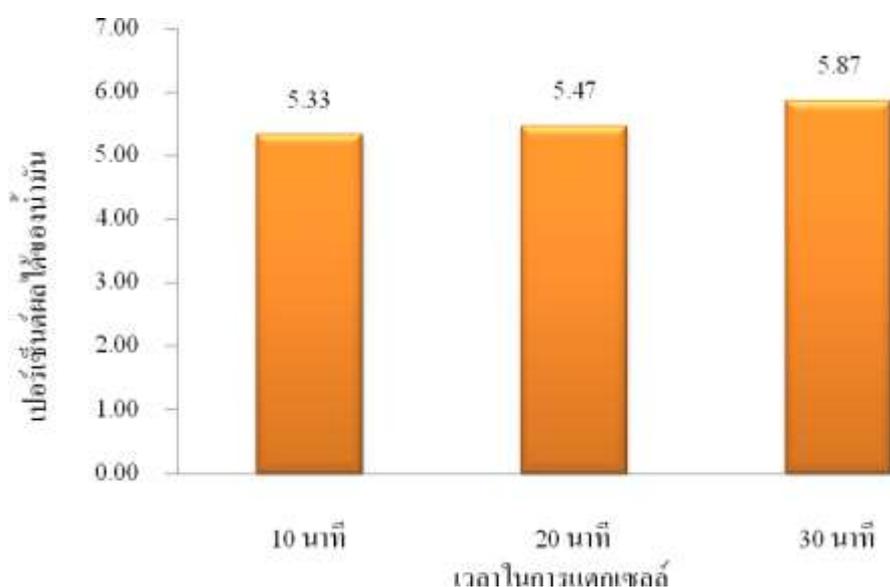


รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่สกัดด้วยวิธีออสโมติกซ็อก

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

### 4.3.3 การสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ

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

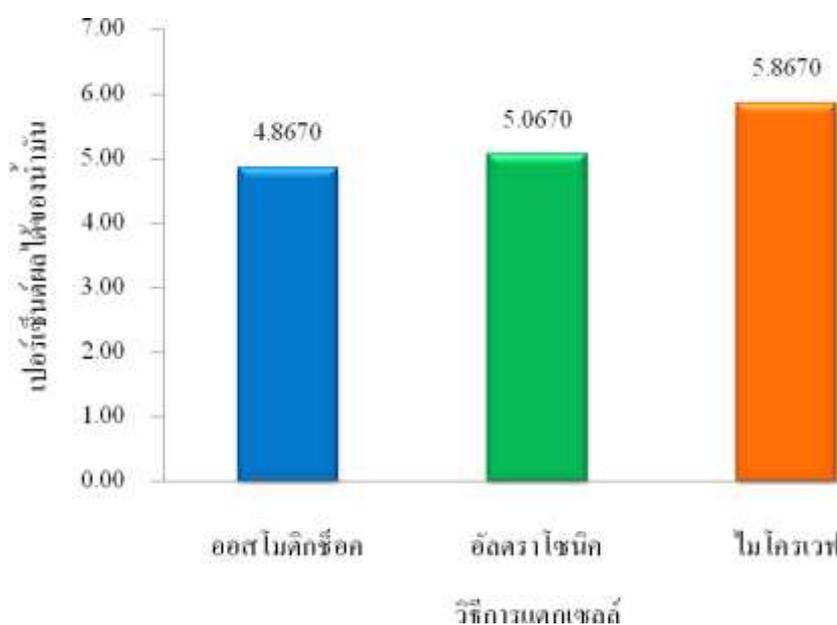


รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันจากการสกัดกับเวลาที่สกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์

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

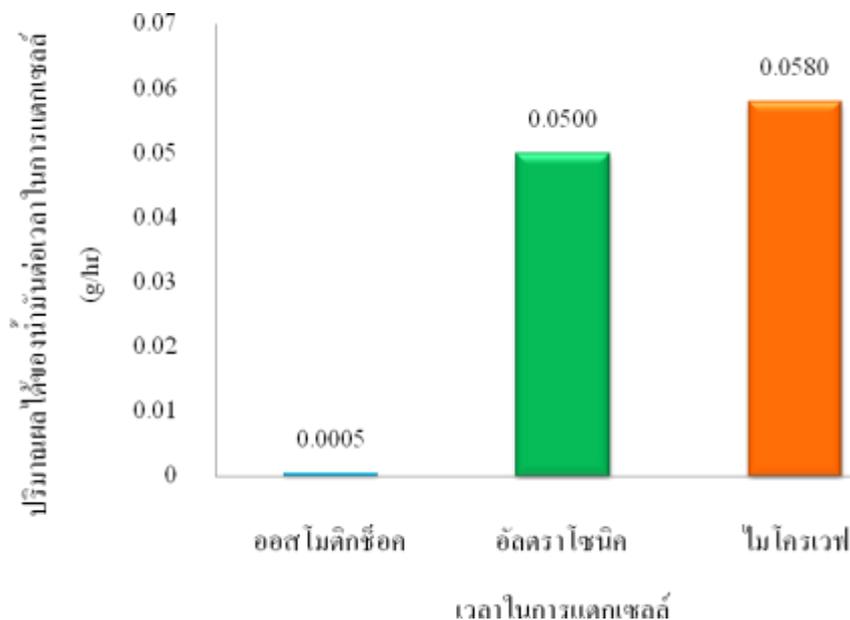
ของผลได้ของไขมันจากการสกัดต่อเซลล์ของจุลสาหร่ายเพิ่มขึ้นคือ 5.40 เปอร์เซ็นต์ 5.60 เปอร์เซ็นต์ และ 5.87 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 4.3 จากการทดลองทำให้สามารถสรุปได้ว่าการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์ ที่เวลา 30 นาทีจะได้เปอร์เซ็นต์ผลได้จากการสกัดต่อเซลล์จุลสาหร่ายมากที่สุด

#### 4.4 การเปรียบเทียบผลที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 วิธีต่อเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์



รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับวิธีการสกัดต่างๆ

จากรูปที่ 4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลได้กับวิธีการสกัดต่างๆ จะเห็นได้เปอร์เซ็นต์ไขมันจากการสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟมีปริมาณสูงกว่าไขมันจากการสกัดอีกสองวิธีทั้งที่ใช้เวลาในการสกัดเท่ากับวิธีอัลตราโซนิค และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีออสโมติกซ็อก



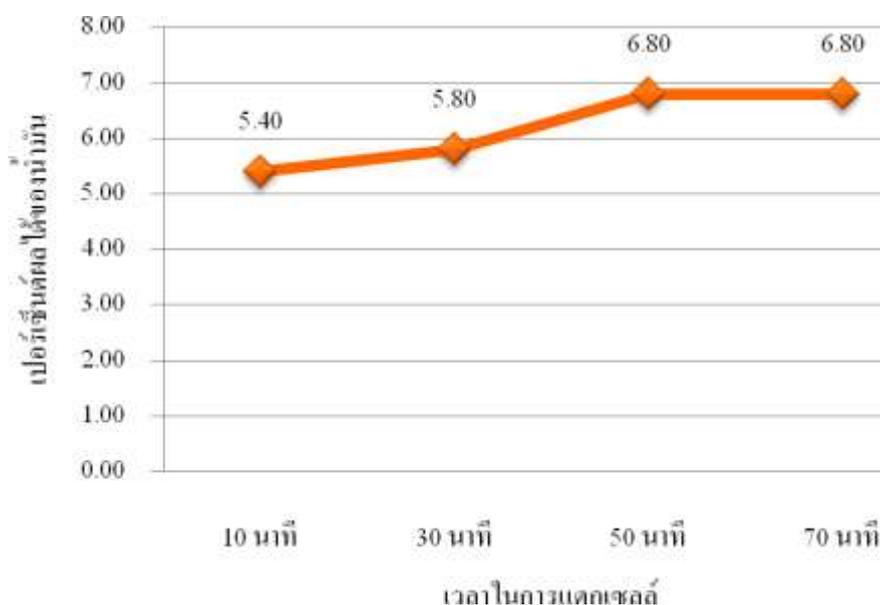
**รูปที่ 4.5** ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณผลได้ของไขมันต่อเวลาในการแตกเซลล์กับวิธีการสกัดต่างๆ

จากรูปที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีออสโมติกซ็อก ด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์ และด้วยเครื่องอัลตราโซนิค เมื่อเปรียบเทียบกับเวลาในการสกัดที่เท่ากัน พบว่าวิธีออสโมติกซ็อกให้ไขมันในปริมาณที่น้อยที่สุด คือ 0.0005 กรัมต่อเวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับวิธี อัลตราโซนิค และวิธีไมโครเวฟถือว่ามีค่าน้อยมาก ส่วนวิธีอัลตราโซนิค และวิธีไมโครเวฟมีค่าผลได้ของไขมันที่ใกล้เคียงกัน คือ 0.0500 และ 0.0580 กรัมต่อชั่วโมง

เมื่อดูผลที่ได้จากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายจากทั้ง 3 วิธี โดยเปรียบเทียบกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ พบว่าวิธีออสโมติกซ็อกให้ปริมาณผลได้น้อยกว่าอีกสองวิธีมาก เพราะการสกัดด้วยวิธีนี้ต้องใช้เวลาในการแตกเซลล์นานถึง 2 วัน แต่กับอีกสองวิธีใช้เวลาในการแตกเซลล์เพียง 30 นาที และมีไขมันในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน จึงได้ทำการหาสภาวะที่ดีที่สุดของทั้งสองวิธี

#### 4.5 การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ

จากผลการเปรียบเทียบการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วย จึงทำให้ต้องหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟ โดยทำการทดลองเช่นเดียวกันกับการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยเครื่องไมโครเวฟแต่เพิ่มเวลาในการแตกเซลล์ครั้งละ 20 นาที จนกว่าจะได้ไขมันจากการสกัดคงที่



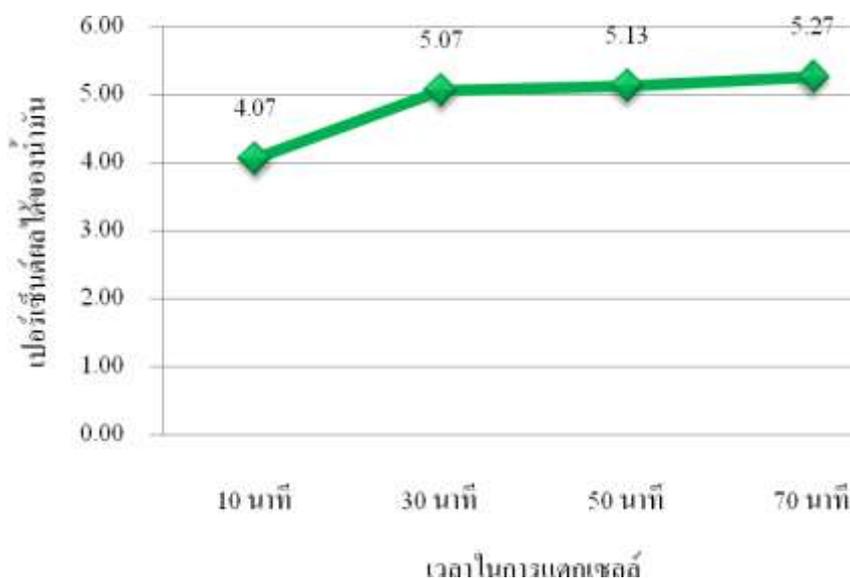
**รูปที่ 4.6** ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องไมโครเวฟ 100 วัตต์

จากรูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องไมโครเวฟ เพื่อหาเวลาในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องไมโครเวฟที่ทำให้ไขมันจากการสกัดมีค่าสูงที่สุด จากการทดลองพบว่า ที่เวลาในการแตกเซลล์ที่ 50 และ 70 นาที ไขมันจากการสกัดมีค่าเท่ากันคือ 6.8 เปอร์เซ็นต์ ไขมันจากการสกัดต่อเซลล์จุลสาหร่ายแห้ง ที่เวลา 50 นาทีเป็นเวลาน้อยที่สุด ที่ทำให้ได้ไขมันจากการสกัดมีค่าสูงที่สุด จึงถือได้ว่าเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องไมโครเวฟที่ดีที่สุดคือ 50 นาที จากหลักการทำงานของเครื่องไมโครเวฟคือ การที่คลื่นไมโครเวฟไปทำให้อนุภาคของน้ำภายในเซลล์เกิดการสั่นสะเทือน และเสียดสีกันจนเกิดความร้อนจึงทำให้น้ำภายในเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะทำให้ความดันภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น ผนังเซลล์จึงแตกออก และไขมันจากจุลสาหร่ายที่อยู่ภายในเวคิลโอล ก็เกิดการสั่นสะเทือนจนเกิดความร้อนและความดันภายในเวคิลโอลเพิ่มสูงขึ้นและแตกออก ด้วยหลักการดังกล่าวจึงทำให้การแตกเซลล์ด้วยวิธีนี้ได้ผลดี

#### 4.6 การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราโซนิค

จากผลการเปรียบเทียบการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วย จึงทำให้ต้องหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีอัลตราโซนิค โดยทำการทดลองเช่นเดียวกันกับการสกัดไขมันจากจุล

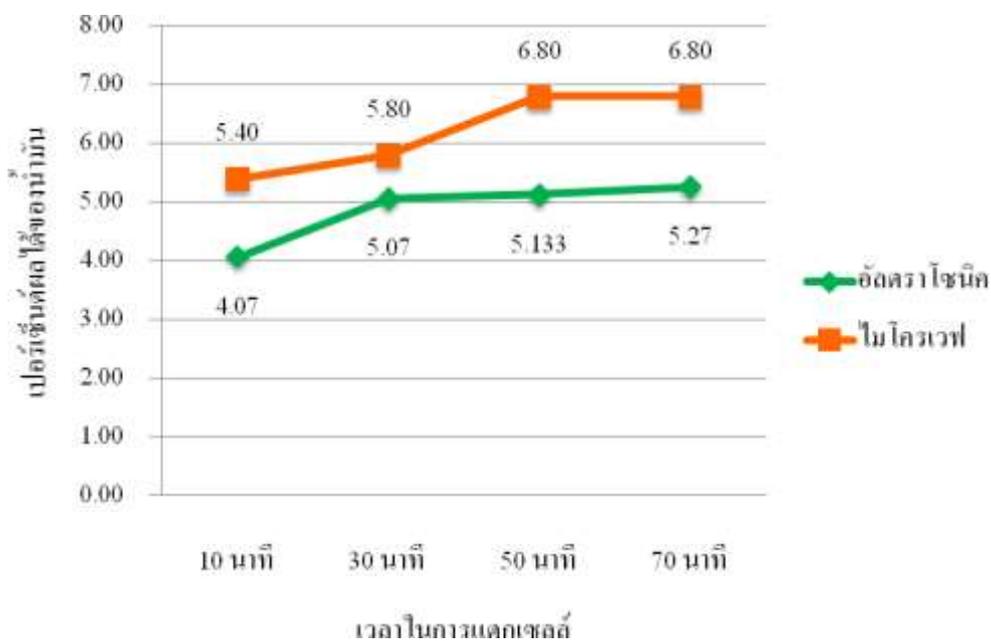
สำหรับด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแต่เพิ่มเวลาในการแตกเซลล์ครั้งละ 20 นาที จนกว่าจะได้ไขมันจากการสกัดคงที่



**รูปที่ 4.7** ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันกับเวลาที่ใช้ในการแตกเซลล์ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

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

#### 4.7 การเปรียบเทียบสภาวะที่ดีที่สุดจากการสกัดไขมันจากจุลสาหร่ายด้วยวิธีไมโครเวฟกับวิธีอัลตราโซนิก



รูปที่ 4.8 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของไขมันจากการสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิกกับวิธีไมโครเวฟ

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

#### 4.8 การวิเคราะห์ผลได้จากการสกัดด้วยไมโครเวฟ 50 นาที

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