การสกัดน้ำมันสาหร่ายน้ำจืดด้วยการใช้สารทำความเย็น

EXTRACTION OF FRESHWATER ALGAE OIL

BY USING THE REFRIGERANT

นางสาวปนิดา อุตตะบุญ รหัส 58366061

นางสาวพัชรียา เดชณรงค์ รหัส 58366092

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ปีการศึกษา 2561

ใบรับรองปริญญานิพนธ์

ชื่อหัวข้อโครงงาน การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายน้ำจืดด้วยสารทำความเย็น

ผู้ดำเนินโครงงาน นางสาวปนิดา อุตตะบุญ รหัส 58366061

นางสาวพัชรียา เดชณรงค์ รหัส 5836609**2**

ที่ปรึกษาโครงงาน ดร. วัฒนชัย เยาวรัตน์

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ภาควิชา วิศวกรรมอุตสาหการ

ปีการศึกษา 2561

.....

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อนุมัติให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี

.....ที่ปรึกษาโครงงาน

(ดร. วัฒนชัย เยาวรัตน์)

.....กรรมการ

(ผศ.ดร. ปณัฐพงศ์ บุญนวล)

.....กรรมการ

(ดร. นพวรรณ โม้ทอง)

ชื่อหัวข้อโครงงาน	การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายน้ำจืดด้วยสารทำความเย็น
ผู้ดำเนินโครงงาน	นางสาวปนิดา อุตตะบุญ รหัส 58366061
	นางสาวพัชรียา เดชณรงค์ รหัส 58366092
ที่ปรึกษาโครงงาน	ดร. วัฒนชัย เยาวรัตน์
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
ภาควิชา	วิศวกรรมอุตสาหการ
ปีการศึกษา	2561

.....

บทคัดย่อ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ได้ทำการศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายน้ำจืดด้วยสารทำความเย็น ซึ่งในการศึกษานี้จะศึกษาหาปริมาณน้ำมันจากการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี (Chlorella sp.) ด้วยสารทำความเย็น โดยใช้สารทำความเย็นชนิด R-134a ที่สถานะของเหลว ตัวแปรที่ศึกษา 3 ตัวแปร ได้แก่ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด 1 ถึง 5 ชั่วโมง ความดันที่ใช้ในการสกัด 7 ถึง 9 บาร์ และอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของสาหร่ายแห้งต่อสารทำความเย็น 1 ต่อ 15 ถึง 1 ต่อ 25 กรัมสาหร่ายแห้งต่อกรัมสารทำความเย็น จากการศึกษาพบว่าการสกัดด้วยวิธี Low pressure compression โดยใช้ตัวทำละลายเป็นสารทำความเย็นชนิด R-134a สภาวะที่ดีที่สุดคือ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด 5 ชั่วโมง อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของสาหร่ายแห้งต่อสารทำความเย็น 1 ต่อ 25 กรัมสาหร่ายแห้งต่อกรัมสารทำความเย็น และความดัน 9 บาร์ ซึ่งได้ปริมาณน้ำมันมากที่สุดเท่ากับ 285 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละ 5.70 โดยน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยซอกห์เลต การสกัดด้วยความดันต่ำมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า ซึ่งมีข้อได้เปรียบคือ เป็นตัวทำละลายที่ไม่ทำลายโอโซน และไม่สร้างก๊าซเรือนกระจก รวมถึงการลดขั้นตอน และลดค่าใช้จ่ายการแยกน้ำมันกับตัวทำละลาย

Title	EXTRACTION OF FRESHWATER ALGAE OIL BY USING THE REFRIGERANT
Author	Ms. Panida Attabun ID no. 58366061
	Ms. Patchareeya Detnarong ID no. 58366092
Advisor	Dr. Watanachai Yaowarat
Major	Chemical Engineering
Department	Industrial Engineering
Year	2561

.....

Abstract

This project is studied about the extraction of freshwater algae oil by using the refrigerant. Study the amount of oil from oil extraction from algae species Chlorella sp. by using the refrigerant type R-134a at liquid. Three studied parameters were time used for extraction 1 to 5 hour, pressure 7 to 9 bar and ratio of weight of dried algae to refrigerant 1:15 to 1:25 g dry algae/g R-134a. The experimental results showed that the extraction with low pressure compression using a solvent as a refrigerant (R-134a). The best condition is extraction time of 5 hours, ratio of weight of dried algae to refrigerant 1:25 g dry algae per g R-134a and pressure 9 bar. Which has the highest amount of oil equal to 285 mg/g dry algae, accounted for 5.70% by weight. When compared with the extraction with the soxhlet. Which has the advantage of being a solvent, not destroying ozone and not creating greenhouse gases. Including reducing the process and cost to extract the oil with solvent.

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความอนุเคราะห์และด้วยความช่วยเหลือของหลายๆ ฝ่าย โดยเฉพาะ ดร.วัฒนชัย เยาวรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน ที่ได้ให้คำแนะนำ คำปรึกษา แนะนำวิธีแก้ปัญหา รวมถึงข้อคิดเห็นต่างๆตลอดจนดูแลเอาใจใส่ ติดตามการดำเนินโครงงานมาโดยตลอด และขอขอบคุณพระคุณคณะกรรมการปริญญานิพนธ์ อันประกอบไปด้วย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปณัฐพงศ์ บุญนวล และ ดร. นพวรรณ โม้ทอง ที่กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของปริญญานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่ จนทำให้ปริญญานิพนธ์สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบคุณพระคุณ อาจารย์ รณกฤต แสงผ่อง ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือ อุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย และ คุณจักรพงษ์ อุ้ยสุวรรณ ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษาในการทำเครื่องสกัดความดันต่ำ

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนผู้ดูแลห้องปฏิบัติการที่คอยให้ ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการเข้าใช้สถานที่และเครื่องมือเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ผู้ดำเนินโครงงานใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้การดูแล อบรมสั่งสอนและให้กำลังใจด้วยดีเสมอมา ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการช่วยเหลือและให้กำลังใจด้วยดี ตลอดการดำเนินโครงงานจนสำเร็จการศึกษา

ผู้ดำเนินโครงงาน
ปนิดา อุตตะบุญ
พัชรียา เดชณรงค์

พฤษภาคม 2562

สารบัญ

เรื่อง หน้า

ใบรับรองปริญญานิพนธ์ ..... ก

บทคัดย่อ ..... ข

Abstract ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... ง

สารบัญ ..... จ

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูปภาพ ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

1.4 ขอบเขตการวิจัย 3

1.4.1. ตัวแปรต้น 3

1.4.2 ตัวแปรตาม 3

1.4.3 ตัวแปรควบคุม 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำมันจากพืช 4

2.1.1 น้ำมันจากพืช 4

2.1.2 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล 4

2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสาหร่ายขนาดเล็ก 5

2.2.1 สาหร่ายทะเล 6

2.2.2 สาหร่ายน้ำจืด 8

2.2.3 ลักษณะที่สำคัญของสาหร่ายคลอเรลลาเอสพี (Chlorella sp.) 9

2.3 กรดไขมัน (Fatty Acid) 11
2.3.1 กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated Fatty Acids) 11
2.3.2 กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids) 11
2.4 การสกัด (Extraction) 15
2.4.1 การสกัดด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical extraction) 15
2.4.2 การสกัดด้วยวิธีทางเคมี (Chemical extraction) 16
2.4.3 การทำลายผนังเซลล์ (The cell disruption) 16
2.5 สารทำความเย็น (Refrigerant) 17
2.5.1 สารกลุ่มคลอโรฟลูออโรคาร์บอน 17
2.5.2 สารกลุ่มไฮโดรคลอโรฟลูออโรคาร์บอน 18
2.5.3 สารกลุ่มไฮโดรฟลูออโรคาร์บอน 18
2.5.4 สารกลุ่มไฮโดรคาร์บอน 18
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 20
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 23
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 23
3.1.1 สาหร่ายขนาดเล็ก 23
3.1.2 สารเคมี 23
3.1.3 อุปกรณ์ 24
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย 25
3.2.1 การเตรียมการทดลอง 25
3.2.2 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายคลอเรลลาเอสพีโดยใช้ชุดอุปกรณ์การสกัด 26
3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายคลอเรลลา 29
3.3.4 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายคลอเรลลาเอสพีโดยใช้การสกัดแบบซอกห์เลต 30
บทที่ 4 ผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง 31

4.1 ผลการเก็บเกี่ยวสาหร่ายคลอเรลลาเอสพี..... 31

4.2 ศึกษาผลของระยะเวลาในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน 32

4.3 ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของสาหร่ายแห้งต่อสารทำความเย็นในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน 33

4.4 ศึกษาผลของความดันในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน..... 34

4.5 เปรียบเทียบผลของการสกัดระหว่างวิธีการสกัดด้วยความดันต่ำ และวิธีการสกัดด้วยซอกห์เลต 35

บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ 37

5.1 สรุปผลการทดลอง..... 37

5.2 ข้อเสนอแนะ..... 37

เอกสารอ้างอิง 39

ภาคผนวก ก..... 45

ภาคผนวก ข..... 48

ภาคผนวก ค..... 46

ประวัติผู้ดำเนินโครงงาน..... 53

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล.....5
ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของสาหร่ายทะเลแห้ง (กรัม ต่อ 100 กรัม).....6
ตารางที่ 2.3 รงควัตถุสังเคราะห์แสงของสาหร่ายทะเล.....7
ตารางที่ 2.4 ปริมาณน้ำมันที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็กชนิดต่างๆ.....10
ตารางที่ 2.5 ชนิดของกรดไขมันที่พบในน้ำมันสาหร่าย.....14
ตารางที่ 2.6 คุณสมบัติทางเคมี และฟิสิกส์ของสารทำความเย็น R-134a.....19
ตารางที่ 4.1 แสดงตัวอย่างปริมาณสาหร่ายแห้ง.....31
ตารางที่ 4.2 แสดงการเปรียบวิธีการสกัดด้วยความดันต่ำและวิธีการสกัดด้วยซอกห์เลต.....35
ตารางที่ ข.1 แสดงข้อมูลดิบร้อยละผลได้ของน้ำมันจากการสกัดด้วยความดันต่ำ.....49
ตารางที่ ค.1 แสดงข้อมูลดิบร้อยละผลได้ของน้ำมันจากการสกัดด้วยซอกห์เลต.....52

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ **หน้า**

รูปที่ 2.1 ลักษณะรูปร่างของสาหร่ายคลอเรลลาเอสพี....9

รูปที่ 2.2 กรดไขมันอิ่มตัว (บน) กรดไขมันไม่อิ่มตัว (ล่าง)....11

รูปที่ 2.3 กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic Acid)....12

รูปที่ 2.4 กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid)....12

รูปที่ 2.5 กรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic Acid)....13

รูปที่ 2.6 กรดไขมันเออาร์เอ (Arachidonic Acid)....13

รูปที่ 2.7 ไดอะแกรมความสัมพันธ์อุณหภูมิและความดัน ณ จุดเดือด....18

รูปที่ 2.8 สารทำความเย็น R-134a....19

รูปที่ 3.1 แผนผังการทดลองศึกษาผลของระยะเวลาในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน....27

รูปที่ 3.2 แผนผังการทดลองศึกษาผลของอัตราส่วนของน้ำหนักสาหร่ายแห้งต่อสารทำความเย็นที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน....28

รูปที่ 3.3 แผนผังการทดลองศึกษาความดันในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน....29

รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละผลได้ของน้ำมัน และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด....32

รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละผลได้ของน้ำมัน และอัตราส่วนน้ำหนักสาหร่ายแห้งต่อตัวทำละลาย R-134a ที่ใช้ในการสกัด....33

รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละผลได้ของน้ำมัน และความดันที่ใช้ในการสกัด....34

รูปที่ ก.1 การขยายสาหร่ายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี (ก) สาหร่าย 1 สัปดาห์ (ข) สาหร่าย 2 สัปดาห์ (ค) สาหร่าย 3 สัปดาห์....46

รูปที่ ก.2 การเก็บเกี่ยวสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี (ก) การกรองสาหร่าย (ข) สาหร่ายหลังกรอง (ค) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) (ง) สาหร่ายหลังทำแบบแช่เยือกแข็ง....47

รูปที่ ข.1 น้ำมันจากการสกัดความดันต่ำ....49

รูปที่ ค.1 การสกัดด้วยซอกห์เลต (ก) สาหร่ายแห้ง 5 กรัม (ข) สกัดด้วยซอกห์เลต 10 ชั่วโมง (ค) น้ำมันละลายในเฮกเซน (ง) ระเหยเฮกเซน....51

รูปที่ ค.2 น้ำมันหลังระเหยเฮกเซน....52

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันเกือบทุกประเทศทั่วโลกรวมถึงประเทศไทย มีการเตรียมความพร้อมในการรับมือกับปริมาณน้ำมันเชื้อเพลิงปิโตรเลียมที่จะมีปริมาณลดลงตามการคาดการณ์ไว้ เนื่องจากเป็นแหล่งพลังงานที่มีปริมาณจำกัด มีความผันแปรของราคาสูง และการเผาไหม้เชื้อเพลิงมีผลต่อการเกิดภาวะเรือนกระจก การมองหาแหล่งน้ำมันแห่งใหม่มาใช้เป็นแหล่งทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมนับว่ามีความสำคัญ ประเทศไทยมีการเพาะปลูกพืชทางการเกษตรหลายชนิด เช่น ปาล์ม ถั่วเหลือง และมะพร้าว เป็นต้น ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้สามารถนำมาผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้ แต่มีข้อเสียในหลายด้าน ทั้งการใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกมาก ใช้เวลาในการเพาะปลูกนาน และแต่เดิมใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตผลิตภัณฑ์ทางด้านการบริโภค เมื่อวัตถุดิบจำนวนมากถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำมันไบโอดีเซลแทน ส่งผลให้ราคาของผลิตภัณฑ์สำหรับการบริโภคสูงขึ้น จึงได้มีการมองหาวัตถุดิบชนิดอื่นๆ โดยพบว่าสาหร่ายได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่ง และเป็นไปได้ที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบตั้งต้น เพราะไม่กระทบต่อแหล่งอาหารมนุษย์ และเป็นพลังงานที่ปลอดภัย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ข้อได้เปรียบของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กคือ มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ภายใน 24 ชั่วโมงก็เติบโตได้อย่างสมบูรณ์ (ประหยัด โภคฐิติยุกต์, 2550) สามารถใช้พื้นที่เสื่อมโทรมในการเพาะเลี้ยงได้ และสาหร่ายยังมีค่าผลผลิตน้ำมันสูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น (Demirbas A., 2552)

การสกัดน้ำมันออกจากผนังเซลล์ของสาหร่ายโดยทั่วไปแล้วนิยมการสกัดด้วยวิธีทางเคมี โดยตัวทำละลายที่ใช้ส่วนใหญ่คือ เฮกเซน ตัวทำละลายที่ผสมระหว่างเมทานอล-คลอโรฟอร์ม (Lee et al., 2553) ตัวทำละลายที่ผสมระหว่างเฮปเทน-เมทานอล (Nickolas J & Themelis, 2545) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายนี้จะมีเทคนิคช่วยการทำลายผนังเซลล์ของสาหร่าย คือ วิธีการออสโมติกช็อก (Osmotic shock) แรงดันสามารถรบกวนผนังเซลล์สาหร่ายผ่านการเพิ่มขึ้น และลดลงอย่างรวดเร็วของความเข้มข้นเกลือในสารละลาย วิธีออสโมติกช็อกจะเกิดขึ้นง่าย และเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพเพื่อสกัดไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก (Westwood SA., 2536) วิธีอัลตราโซนิก เป็นเทคนิคที่ประหยัดมากขึ้น เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม สามารถทำได้ในระยะเวลาสั้นๆ และมีความสามารถในการทำซ้ำได้สูง การป้อนพลังงานน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีปกติ สามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิต่ำ (Chemat et al., 2554) วิธีการใช้คลื่นไมโครเวฟ จะทำให้เกิดความร้อนเนื่องจากแรงเสียดทานที่เกิดขึ้นจากการ

เคลื่อนไหวภายในโมเลกุล (Amarni, F & Kadi, H., 2553) สาหร่ายขนาดเล็กที่สกัดด้วยวิธีไมโครเวฟจะมีผลผลิตน้ำมันไบโอดีเซลดีกว่า เนื่องจากมีรอยแตกขนาดเล็กหลายชิ้นในผนังเซลล์ (Sostaric, M et al., 2555) เมื่อได้สารละลายที่มีส่วนผสมของน้ำมัน และตัวทำละลาย จึงต้องนำไปแยกตัวทำละลายออกจากน้ำมันโดยการให้ความร้อน ข้อด้อยจากการใช้ตัวทำละลายส่วนใหญ่เป็นสารเคมีอันตรายต่อมนุษย์ และสิ่งแวดล้อม ส่วนวิธีการออสโมติกช็อก วิธีอัลตราโซนิก วิธีไมโครเวฟ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดได้ดีขึ้น แต่ต้องแลกด้วยการใช้พลังงานที่สูงขึ้น และค่าใช้จ่ายที่สูงขึ้นด้วยเช่นกัน

ในการศึกษาสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ มีองค์ประกอบหลักในสัดส่วนที่แตกต่างกันของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดนิวคลีอิก ในปริมาณร้อยละที่แตกต่างกันของสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละชนิด สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี ประกอบด้วยร้อยละ 28-32 มวลรวมของกรดไขมัน (Yusuf Chisti., 2550) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่สามารถสกัดเป็นไบโอดีเซลได้ (Becker E.W., 2537) ในกรดไขมันที่ได้จะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีประโยชน์ และจำเป็นต่อร่างกาย (พัชรี บุญศิริ และคณะ, 2551)

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นการศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี โดยการใช้สารทำความเย็น หรือ น้ำยาแอร์ ประเภทเอชเอฟซี (HFC) ซึ่งไม่ทำลายโอโซน และไม่สร้างก๊าซเรือนกระจก (Nickolas J & Themelis, 2545) เพื่อที่จะสร้างข้อได้เปรียบของการใช้ตัวทำละลายอื่นที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม และช่วยลดขั้นตอนการแยกน้ำมันที่ได้กับสารละลายที่เราใช้สกัดได้ง่าย และรวดเร็ว โดยที่ใช้พลังงานไม่มาก โดยเลือกสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี (Chlorella sp.) ใช้ในการศึกษา เนื่องจากเป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่ให้ปริมาณน้ำมันสูงสุดเมื่อเทียบกับสาหร่ายขนาดใหญ่ และสาหร่ายขนาดเล็กชนิดอื่นๆ (อมรรัตน์ รังสิวิวัฒน์ และคณะ, 2546) มีปริมาณกรดไขมันไลโนเลอิกสูง (Jena, J., 2555) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีมูลค่า จึงเป็นสาหร่ายสายพันธุ์ที่เลือกนำมาศึกษา

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1. เพื่อศึกษาหาปริมาณน้ำมันจากการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพีด้วยสารทำความเย็น

1.2.2. เพื่อศึกษาหาเงื่อนไขที่ดีที่สุดในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพีด้วยสารทำความเย็น

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1. เป็นการแสวงหาพลังงานทดแทนใหม่ๆ เพื่อทดแทนพลังงานจากฟอสซิล

1.3.2. เพื่อเป็นการเพิ่มศักยภาพการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก และเป็นการส่งเสริมการใช้พลังงานทดแทน

1.3.3. สามารถนำความรู้ไปประยุกต์ใช้และพัฒนาการผลิตน้ำมันได้

1.4 ขอบเขตการวิจัย

1.4.1. ตัวแปรต้น

1.4.1.1 ความดัน และอุณหูมิที่ใช้ในการสกัด คือ 7 บาร์ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส 8 บาร์ ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส และ9 บาร์ ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

1.4.1.2 ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด คือ 1 3 และ5 ชั่งโมง ตามลำดับ

1.4.1.3 อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของสาหร่ายแห้ง และสารทำความเย็น คือ 1 ต่อ 15 1 ต่อ 20 และ1 ต่อ 25 ตามลำดับ

1.4.2 ตัวแปรตาม

1.4.2.1 ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัด

1.4.3 ตัวแปรควบคุม

1.4.3.1 ชนิดของสาหร่าย คือ สาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี

1.4.3.2 สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย BG-11 MEDIUM

1.4.3.3 ชนิดของสารทำความเย็น คือ 1, 1, 1, 2-เตตระฟลูออโรอีเทน (R-134a)

1.4.3.4 ความชื้นของสาหร่ายแห้ง

1.4.3.5 ปริมาณสาหร่ายแห้งที่ใช้ในการสกัด

1.4.3.6 ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายทิ้งไว้ก่อนนำมาสกัดน้ำมัน

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำมันจากพืช

2.1.1 น้ำมันจากพืช

อุตสาหกรรมน้ำมันพืชเกิดขึ้นมานานนับหลายสิบปีในประเทศไทย ซึ่งเดิมเป็นโรงงานขนาดเล็กหรือทำเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือน ต่อมาได้มีการพัฒนาวิธีการสกัด และกลั่นที่ทันสมัยขึ้น จึงได้มีการตั้งโรงงานผลิตน้ำมันจากพืชขนาดกลาง และขนาดใหญ่มากมาย น้ำมันพืชเป็นผลิตภัณฑ์ที่สำคัญในการประกอบอาหารโดยตรง และใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น อุตสาหกรรมผลิตสบู่ ผลิตภัณฑ์นม ไอศกรีม และน้ำมันหล่อลื่น

น้ำมันพืชที่ทำการผลิตในปัจจุบัน สามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่

2.1.1.1 น้ำมันพืชสำหรับการบริโภคโดยตรง เช่น น้ำมันจากถั่วเหลือง ถั่วลิสง รำข้าว เมล็ดนุ่น เมล็ดฝ้าย เมล็ดทานตะวัน เมล็ดของผลมะกอก

2.1.1.2 น้ำมันพืชสำหรับอุตสาหกรรม ได้แก่ น้ำมันละหุ่ง น้ำมันจากเมล็ดยางพารา

2.1.1.3 น้ำมันพืชสำหรับบริโภคและสำหรับอุตสาหกรรม ได้แก่ น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม น้ำมันข้าวโพด

2.1.2 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงเหลวที่ผลิตได้จากน้ำมันพืช และไขมันสัตว์ เช่น ปาล์มน้ำมัน (Oil palm) มะพร้าว (Coconut) ถั่วเหลือง (Soybean) ทานตะวัน (Sunflower) เมล็ดเรพ (Rape seeds) สบู่ดำ (Jatropha) สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) หรือ น้ำมันพืช น้ำมันสัตว์ที่ใช้แล้ว ซึ่งพืชน้ำมันเหล่านี้เป็นแหล่งทรัพยากรที่สามารถผลิตทดแทนได้ในธรรมชาติ แต่วัตถุดิบที่นิยมนำมาผลิตไบโอดีเซล ได้แก่ ทานตะวัน เมล็ดเรพ ปาล์มน้ำมัน สบู่ดำ ถั่วเหลือง น้ำมันพืชใช้แล้ว และรวมถึงสาหร่ายขนาดเล็ก เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กมีอาหารสะสมเป็นแป้งไขมัน และกลีเซอรอล ปัจจุบันสาหร่ายขนาดเล็กเป็นทางเลือกใหม่ในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานทดแทน การนำสาหร่ายขนาดเล็กมาใช้เป็นแหล่งน้ำมันจะไม่ส่งผลกระทบต่อราคาของอาหารหรือ สินค้าอุปโภคประเภทอื่นๆ จากการเปรียบเทียบปริมาณไขมันในสาหร่ายขนาดเล็กกับพืชน้ำมันชนิดอื่นต่อพื้นที่ใช้

ในการเพาะปลูกที่เท่ากัน พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กให้ผลผลิตน้ำมันมากกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น ดังตารางที่ 2.1 โดยพบว่าหากสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณน้ำมันในเซลล์ที่ร้อยละ 30 ของน้ำหนักแห้ง สามารถให้น้ำมันได้ถึง 58,700 ลิตรต่อเฮคตาร์ต่อปี โดยสามารถผลิตไบโอดีเซลได้สูงถึง 51,927 กิโลกรัมต่อเฮคตาร์ต่อปี ซึ่งสูงกว่าพืชชนิดอื่น ทั้งข้าวโพด ปาล์มน้ำมัน ถั่วเหลือง ฯ

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็ก กับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล

พืชน้ำมัน	**ผลผลิตน้ำมัน (ลิตรน้ำมัน/ เฮกตาร์ต่อปี)**	**ขนาดพื้นที่การเพาะปลูก(ตารางเมตร ต่อปี/ กิโลกรัมไบโอดีเซล)**	**การผลิตไบโอดีเซล (กิโลกรัมไบโอดีเซล / เฮกตาร์ปี)**
ข้าวโพด	172	66	152
กัญชา	363	31	321
ถั่วเหลือง	636	18	562
สบู่ดำ	741	15	656
คาเมลีนาดรีม	915	12	809
คาโนลา / เมล็ดเรพ	974	12	862
ดอกทานตะวัน	1070	11	946
ละหุ่ง	1307	9	1,156
ปาล์มน้ำมัน	5366	2	4,747
สาหร่ายขนาดเล็ก	58,700	0.2	51,927

ที่มา : Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews. (Mata, T.M. et al., 2553)

2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายที่พบในประเทศไทยมี 1,621 ชนิด แบ่งออกเป็นสาหร่ายทะเล 132 จีนัส 333 ชนิด และสาหร่ายน้ำจืด 220 จีนัส 1,595 ชนิด 420 วาไรตี้ และแบ่งออกเป็น 4 ดิวิชัน ได้แก่ Cyanophyta, Chlorophyta, Phaeophyta, Rhodophyta (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2546)

สาหร่ายขนาดเล็ก เป็นพืชชั้นต่ำที่ไม่มีระบบท่อน้ำ ท่ออาหาร มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นชัดเจนด้วยตาเปล่า ต้องตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูง การดำรงชีพเป็นแบบพึ่งตนเอง โดยการผลิตสารอาหาร และพลังงานผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง บริเวณที่พบสาหร่ายขนาดเล็ก คือแหล่งน้ำที่มีสีเขียว พื้นดินที่ชื้นแฉะ บนผิวใบไม้ ต้นไม้ ร่องน้ำ หรือพื้นผนังที่มีความชื้นสูง สาหร่ายขนาดเล็กชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน (Colony) จึงพบเห็นในลักษณะเป็นแผ่นสีเขียวสด หรือ สีเขียวคล้ำ บางครั้งมีลักษณะเป็นเมือกลื่นๆ และสาหร่ายขนาดเล็กมีสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และมีคุณค่าในเชิงพาณิชย์สูงอยู่มาก ได้แก่ กรดแอมิโนที่จำเป็นหลายชนิด กรดไขมันไม่อิ่มตัว วิตามิน เกลือแร่ รงควัตถุหรือ สีธรรมชาติ และสารปฏิชีวนะ เป็นต้น (วัชระ เวียงแก้ว, 2552) สาหร่ายขนาดเล็กเป็นสิ่งมีชีวิตที่มียูคาริโอต ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีเซลล์ประกอบด้วยนิวเคลียส และโครงสร้างอื่นๆ (Organelles) ที่อยู่ภายในเยื่อ อาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ชื้น ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสัตว์พืชน้ำ และมีคลอโรฟิลล์

2.2.1 สาหร่ายทะเล

สาหร่ายทะเลเป็นหนึ่งในบรรดาพืชที่มีคุณค่าทางอาหาร ซึ่งเกี่ยวข้องโดยตรงกับองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายทะเล สาหร่ายทะเลสดมีน้ำร้อยละ 80-90 เมื่อทำให้แห้งแล้ว น้ำจะลดลงเหลือเพียงร้อยละ 10-20 มีส่วนประกอบอื่นคือ คาร์โบไฮเดรตมากที่สุดประมาณร้อยละ 40-60 รองลงมาเป็นโปรตีน ส่วนไขมันมีน้อยมากประมาณร้อยละ 1-2 นอกจากนี้ยังมี วิตามิน สารสี และอื่นๆ ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของสาหร่ายทะเลแห้ง (กรัม ต่อ 100 กรัม)

	สาหร่ายทะเล	น้ำ	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	เส้นใย	เถ้า
แดง	Gracilaria sp.	12.9	7.9	0.05	58.4	3.0	17.9
	Porphyra tenera	13.4	29.0	0.6	39.1	7.0	10.9
น้ำตาล	Laminaria sp.	18.0	6.7	1.6	49.1	5.4	19.2
	Undaria pinnatifida	16.0	12.7	1.5	47.8	3.6	18.4
เขียว	Ulva sp.	15.2	23.8	0.6	42.1	4.6	13.7

ที่มา : . สาหร่ายวิทยา ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2546)

คาร์โบไฮเดรต ในสาหร่ายทะเลส่วนใหญ่เป็นพอลิแซ็กคาไรด์

โปรตีน สาหร่ายทะเลมีโปรตีนประมาณร้อยละ 20-25 ของน้ำหนักแห้ง บางชนิดมีโปรตีนสูงมากเช่น สาหร่ายสีแดง องค์ประกอบกรดแอมิโนมากกว่าในโปรตีนพืชบก มีค่าใกล้เคียงกับองค์ประกอบกรดแอมิโนของไข่ขาว สำหรับความสามารถในการย่อยของโปรตีนสาหร่ายทะเลสูงกว่าร้อยละ 75

ลิพิด สาหร่ายทะเลมีไขมันน้อยมากประมาณร้อยละ 1 ของน้ำหนักแห้ง ส่วนประกอบของกรดไขมัน เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันหลักคือ กรดโอเลอิก (Oleic acid) ส่วนในกลุ่มกรดไขมันอิ่มตัว มีกรดปาล์มมิติ (Palmitic acid) มากที่สุด

วิตามิน คุณค่าทางโภชนาการของสาหรายทะเลที่เด่นเมื่อเทียบกับพืชบกชนิดอื่นๆ คือ มีปริมาณวิตามิน และเกลือแร่สูง โดยทั่วไปสาหร่ายทะเลมีวิตามินบี 1 วิตามินบี2 วิตามินบี6 วิตามินบี12 วิตามินซี ไนอะซิน (Niacin) กรดโฟลิก (Folic acid) สูง และมีวิตามินดี3 วิตามินอี วิตามินเค กรดแพนโทเทนิก (Pantothenic acid)

เกลือแร่ สาหร่ายทะเลมีเกลือแร่มากกว่าอาหารอื่น เพราะเนื้อเยื่อที่ผิวสาหร่ายทะเลสามารถดูดไอออนอนินทรีย์จากน้ำทะเลได้โดยตรง จะมีปริมาณเกลือแร่มากน้อยต่างกันไป ตั้งแต่ร้อยละ 7-38 ของน้ำหนักแห้ง โดยเกลือแร่ที่มีการสะสมในสาหร่ายทะเล ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก และสังกะสี

รงควัตถุ ในสาหร่ายทะเลมีทั้งคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคนิลินทั้งหมดนี้มีความสำคัญในการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 รงควัตถุสังเคราะห์แสงของสาหร่ายทะเล

สารสี	**ชนิดของสาหร่าย**			
	สาหร่ายสีแดง	สาหร่ายสีน้ำตาล	สาหร่ายสีเขียว	สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
Chlorophylls	A	a,c	a,b	a
Phycobilins	Phycoerythrin	-	-	Phycocyanin
	Phycocyanin	-	-	Pycoerythrin
Carotenes	α, β	β	α, β, γ	β

ตารางที่ 2.3 รงควัตถุสังเคราะห์แสงของสาหร่ายทะเล (ต่อ)

สารสี	ชนิดของสาหร่าย			
	สาหร่ายสีแดง	สาหร่ายสีน้ำตาล	สาหร่ายสีเขียว	สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
Xanthophylls	Lutein	Lutein	Lutein	Xeaxanthin
	Violaxanthin	Violaxanthin	Violaxanthin	Myxoxanthin
	Violaxanthin	Fucoxanthin	Nenxanthin	Oscillaxanthin
	-	Diatoxanthin	Astaxanthin	-
	-	-	Siphonoxanthin	-

ที่มา : สารอาหาร และองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายทะเล, ราชบัณฑิตยสถาน กองวิทยาศาสตร์ สำนักวิทยาศาสตร์ (กฤษณา ชุติมา, 2535)

2.2.2 สาหร่ายน้ำจืด

สาหร่ายน้ำจืด ประกอบไปด้วย

กรดแอมิโน (Amino acid) ที่พบในสาหร่ายน้ำจืด ได้แก่ เมไธนีน (Methionine) ซิสเตอีน (Cystine) และไลซีน (Lysine) เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งโปรตีนมาตรฐาน เช่น เนื้อสัตว์ ไข่ หรือนม แต่ก็จัดได้ว่ามีโปรตีนเหนือกว่าพืชชนิดอื่น เช่น ถั่ว เป็นต้น

กรดไขมันจำเป็น (Essential fatty acids) ประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (Polyunsaturated fatty acids; PUFAs) ในปริมาณสูง โดยในปริมาณไขมันทั้งหมดประมาณร้อยละ 5-6 มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งสิ้นอยู่ร้อยละ 1-2 โดยชนิดของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบมาก คือ γ-กรดไลโนเลนิก (γ-Linolenic acid; ALA) γ-กรดไลโนเลอิก (Linoleic acid; LA) กรดสเตียริโดนิก (Stearidonic acid; SDA) และกรดอีโคซะเพนตะอีโนอิก (Arachidonic acid; AA)

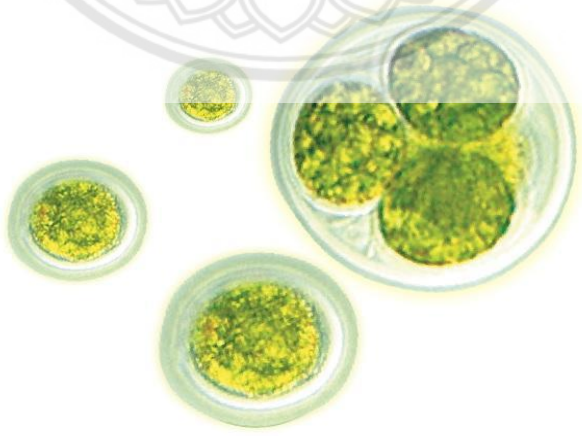
วิตามิน (Vitamins) ประกอบด้วยวิตามินบี 1 (Thiamine) บี2 (Riboflavin) บี3 (Ncotinamide) บี6 (Pyridoxine) บี9 (Folic acid) บี12 (Cyanocobalamin) ซี ดี และอี

เกลือแร่ (Minerals) ประกอบ โพแทสเซียม (Potassium) แคลเซียม (Calcium) โครเมียม (Chromium) ทองแดง (Copper) เหล็ก (Iron) แมกนีเซียม (Magnesium) แมงกานิส (Mangnesium) ฟอสฟอรัส (Phosphorus) ซีลีเนียม (Selenium) โซเดียม (Sodium) และสังกะสี (Zinc)

รงควัตถุสังเคราะห์แสง (Photosynthetic pigments) ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอ (Chlorophyll a) แซนโทฟิล (Xanthoptyll) เบต้า-แคโรทีน (Betacarotene) เอคินีโนน (Echineone) ไมโซแซนโทฟิล (Myxoxanthophyll) ซีแซนทิน (Zeaxantgin) แคนทาแซนทิน (Cnthaxanthin) ไดอะโตแซนธิน (Diatoxanthin) 3-ไฮดรอกซีเอคินีโนน (3-Hydroxyechinenone) เบต้าคริปโทแซนทิน (Beta-cryptoxanthin) ออสซิลลาแซนทิน (Oscillaxanthin) และยังมีฟิโคบิลิโปรตีน (Phycobiliproteins) ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) และอัลโลไฟโคไซยานิน (Allophycocyanin)

2.2.3 ลักษณะที่สำคัญของสาหร่ายคลอเรลลาเอสพี (Chlorella sp.)

สาหร่ายคลอเรลลา ดังรูปที่ 2.1 เป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีชื่อมาจากภาษากรีก คือ Chloros ซึ่งแปลว่า “สีเขียว” และจากภาษาละติน Ella ซึ่งแปลว่า “เล็ก” สาหร่ายชนิดนี้มีขนาดเซลล์ประมาณ 5-10 ไมโครเมตร ลักษณะเป็นเซลล์เดียว (Unicellular) รูปร่างทรงกลม หรือวงรีเล็กน้อย ผนังเซลล์ค่อนข้างบาง ไม่มี Flagella ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (Non-motile algae) มีรงควัตถุที่ช่วยสังเคราะห์แสง คือ คลอโรฟิล A และ B โดยจะอยู่ในคลอโรพลาส ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปถ้วย หรือเป็นแผ่นอยู่ริมเซลล์ สาหร่ายขนิดนี้พบทั้งในน้ำจืด และน้ำเค็ม เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว (พนิดา รัตนพลที, 2552) และมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์เฉลี่ยประมาณร้อยละ 28-32 ของน้ำหนักแห้ง (Yusuf Chisti., 2550)



รูปที่ 2.1 ลักษณะรูปร่างของสาหร่ายคลอเรลลาเอสพี

ที่มา : http://th.nfnatural.com/super-foods/chlorella-powder-tablet-for-keep-health.html

สาหร่ายคลอเรลลาเอสพีจัดเป็นแหล่งของโปรตีน วิตามิน และเกลือแร่ โดยมีโปรตีนที่อยู่ในรูปของกรดนิวคลีอิกคือ อาร์เอ็นเอ (RNA) สูงมาก คลอเรลลาเอสพีได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากเจริญเติบโตง่าย และมีคุณค่าทางอาหารสูง ประกอบไปด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และอื่นๆ (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2546) นอกจากนี้ ยังมีวิตามินหลากหลาย คือ วิตามินซี เบต้า-แคโรทีน บี1 บี2 บี6 บี12 ไนอาซิน กรดโฟลิก ไบโอติน โคลีน อินโนซิทอล พีเอบีเอ อี และเค เกลือแร่ ได้แก่ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก แคลเซียม แมงกานีส ทองแดง สังกะสี ไอโอดีน และโคบอลต์ รวมทั้งมีกรดไขมันไลโปอิก (อาภารัตน์ มหาขันธ์, 2547) ดังตารางที่ 2.4 เป็นปริมาณน้ำมันที่พบภายในเซลล์ของสาหร่าย ซึ่งสาหร่ายคลอเรลลาเอสพีที่เราเลือกนำมาสกัด มีปริมาณน้ำมันร้อยละ 28-32 ของน้ำหนักแห้ง

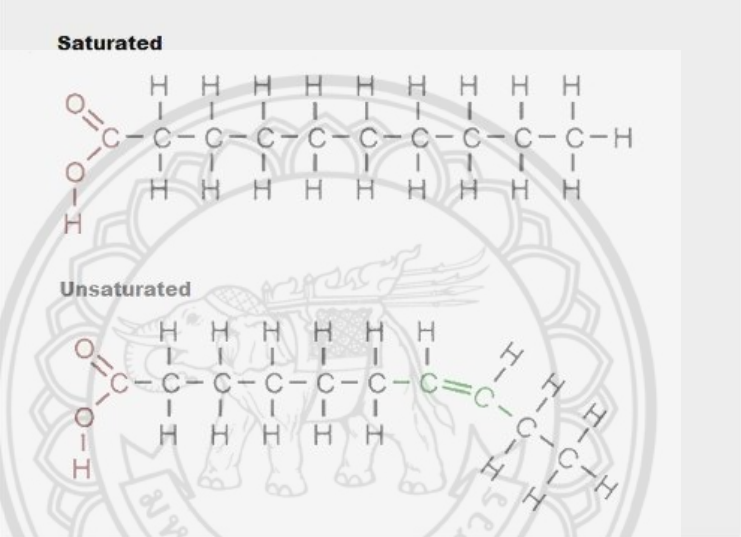
ตารางที่ 2.4 ปริมาณน้ำมันที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็กชนิดต่างๆ

สายพันธุ์สาหร่าย	ปริมาณน้ำมัน (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)
Botryococcus braunii	25-75
Chlorella sp.	28-32
Crypthecodinium cohnii	20
Cylindrotheca sp.	16-37
Dunaliella primolecta	23
Isochrysis sp.	25-33
Monallanthus salina	>20
Nannochloris sp.	20-35
Nannochloropsis sp.	31-68
Neochloris oleoabundans	35-54
Nitzchia sp.	45-47
Phaeodactylum tricornutum	20-30
Schizochtrytrium sp.	50-77
Tetraselmis sueica	15-23

ที่มา : Biodiesel from microalgae. J. Biotechnology Advances, 294-306. (Yusuf Chisti., 2550)

2.3 กรดไขมัน (Fatty Acid)

กรดไขมันจัดเป็นกรดคาร์บอกซิลิค (Carboxylic Acid) ที่มีหมู่ –COOH เพียงหมู่เดียวต่อกับไฮโดรคาร์บอนสายยาวเส้นตรง กรดไขมันที่พบในธรรมชาติมักมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นจำนวนคู่ระหว่าง 4-24 อะตอม และพบในรูปกรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid) เล็กน้อย แต่ส่วนใหญ่พบในรูปที่ละลายในไขมัน (Saponifiable lipid) (ศุภศิษฐ์ อรุณรุ่งสวัสดิ์, 2541) กรดไขมันที่พบมากที่สุดในกลุ่มลิปิด แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กรดไขมันอิ่มตัว และกรดไขมันไม่อิ่มตัว มีลักษณะโครงสร้างดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 กรดไขมันอิ่มตัว (บน) กรดไขมันไม่อิ่มตัว (ล่าง)

ที่มา : https://sites.google.com/site/chemistrytuppt/li-phid

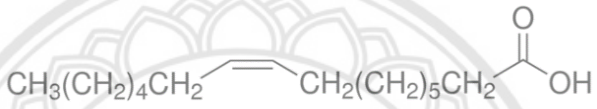
2.3.1 กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated Fatty Acids) เป็นกรดไขมันที่มีโซ่คาร์บอนสายสั้น และยาว ไม่มีพันธะคู่ (Double Bond) จึงทำให้มีจุดหลอมเหลวสูง (กรดไขมันอิ่มตัวที่มีโซ่คาร์บอนยาวบางชนิดอาจมีจุดหลอมเหลวมากกว่า 60 องศาเซลเซียส) เช่น น้ำมันหมู น้ำมันวัว เป็นต้น กรดไขมันอิ่มตัวที่พบเป็นองค์ประกอบในน้ำมันทั่วไป เช่น กรดไขมันไมริสติก (Myristic Acid, C14:0) กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic Acid, C16:0) และกรดไขมันสเตียริก (Stearic Acid, C18:0)

2.3.2 กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids) เป็นกรดไขมันที่มีโซ่คาร์บอนยาว (16 -22 อะตอม) และมีพันธะคู่ตั้งแต่ 1-6 กรดไขมันกลุ่มนี้ มีจุดหลอมเหลวต่ำ โดยจุดหลอมเหลวของกรด

ไขมันแต่ละชนิด ขึ้นอยู่กับจำนวนคาร์บอนอะตอม เช่น กรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic Acid, C18:3n3) ซึ่งมีจุดหลอมเหลวที่ -11 องศาเซลเซียส ในขณะที่กรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic Acid, C20:5n3) มีโซ่คาร์บอนยาว จึงมีจุดหลอมเหลวที่ -54 องศาเซลเซียส (พัชรี บุญศิริ และคณะ, 2551)

กรดไขมันไม่อิ่มตัว สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

2.3.2.1 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated Fatty Acid, MUFA) เป็นกรดไขมันที่โซ่คาร์บอน เชื่อมกันในสายด้วยพันธะคู่เพียง 1 ตำแหน่ง พบได้ในไขมันแทบทุกชนิด และพบมากมี 2 ชนิด คือ กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic Acid, C16:1n7) ดังรูปที่ 2.3 และกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.3 กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic Acid)
ที่มา : https://www.sigmaaldrich.com

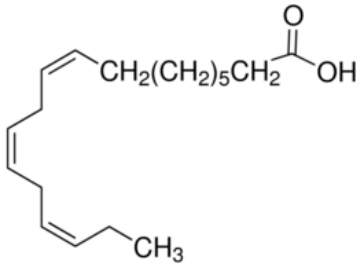
รูปที่ 2.4 กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid)
ที่มา : https://www.sigmaaldrich.com

2.3.2.2 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acid, PUFA) เป็นกรดไขมันที่โซ่คาร์บอนเชื่อมกันในสายด้วยพันธะคู่ตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป นอกจากนี้ กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 20 คาร์บอนอะตอมขึ้นไป และมีจำนวนพันธะคู่มากกว่า 2 ตำแหน่งขึ้นไป เรียกกรดไขมันกลุ่มนี้ว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Highly unsaturated fatty acid, HUFA) ที่พบโดยทั่วไป คือ กลุ่ม โอเมก้า 3 และ 6 เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร เพราะร่างกายไม่สามารถผลิตขึ้นเองได้ (พิทักษ์ สูตอนันต์, 2552)

ความสำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6

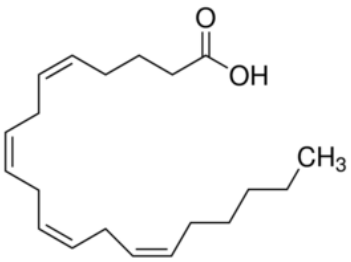
กรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic Acid) ดังรูปที่ 2.5 เป็นกรดไขมันชนิดกรดไขมันไม่อิ่มตัว มีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอม และมีพันธะคู่ 3 ตำแหน่ง ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 9 12 และ15 เป็นกรด

ไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน กรดไขมันไลโนเลนิก เป็นกรดไขมันที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย (Essential Fatty Acid) เนื่องจากเป็นสารตั้งต้นของกรดไขมันกลุ่มเดียวกันที่มีโซ่คาร์บอนสายยาว แหล่งที่พบโดยทั่วไปพบน้ำมันพืช เช่น น้ำมันเมล็ดแฟลก น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันคาโนลา และสาหร่าย



รูปที่ 2.5 กรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic Acid)
ที่มา : https://www.sigmaaldrich.com

กรดไขมันเออาร์เอ (Arachidonic Acid, C20:4n6) ดังรูปที่ 2.6 เป็นกรดไขมันที่สร้างมาจากกรดไขมันไลโนเลอิก และเป็นสารเริ่มต้นของ Eicosanoids เช่น Thromboxanes A2 มีคุณสมบัติในการทำให้เม็ดเลือดเกาะกลุ่ม กรดไขมันเออาร์เอ มีบทบาทในการสร้าง และการเก็บความจำระยะยาวของทารกซึ่งเป็นพื้นฐานของการเรียนรู้ ช่วยเพิ่มความไวของการรับแสงในส่วนเรตินาของลูกตา และความสามารถในการมองเห็น กรดไขมันเออาร์เอ เป็นส่วนประกอบหลักของซินแนปซ์ หรือจุดเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ประสาท และมีบทบาทเป็นตัวนำข้อมูลตรง รอยต่อของซินแนปซ์และภายในเซลล์ นอกจากนี้กรดไขมันเออาร์เอ ยังช่วยเพิ่มความเร็วในการส่งสัญญาณประสาทระหว่างเซลล์ประสาทของทารก เพื่อนำข้อมูลมาเก็บไว้ในสมอง ซึ่งเป็นการช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของกระบวนการเรียนรู้ และความจำในระยะยาว (Albert, C el al., 2541) โดยทั่วไปพบมากในน้ำมันตับปลา น้ำมันจากปลาทะเล น้ำมันเมล็ดคำฝอย น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง



รูปที่ 2.6 กรดไขมันเออาร์เอ (Arachidonic Acid)
ที่มา : https://www.sigmaaldrich.com

ชนิดของกรดไขมันที่ประกอบด้วย กรดไขมันลอริค (Lauric acid; C12:0) กรดไขมันไมริสติก (Myristic acid; C14:0) กรดไขมันเพนตะเดคาโนอิก (Pentadecanoic acid; C15:0) กรดไขมันปาล์มมิติก (Palmitic acid; C16:0) กรดไขมันเฮปตะเดคาโนอิค (Heptadecanoic acid; C17:0) กรดไขมันกิงค์โดลิค (Ginkgolic acid; C17:1) กรดไขมันโอเลอิค (Oleic acid; C18:1) กรดไขมันไลโนอิค (Linoleic acid; C18:2) กรดไขมันลิโนเลนิค (**α**-Linolenic acid; C18:3) กรดไขมันสเตไรโดนิค (Stearidonic acid; C18:4) กรดไขมันอะราคิดิก (Arachidic acid; C20:0) กรดไขมันพอลลินิค (Paullinic acid; C20:1) กรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic Acid, C20:5n3) กรดไขมันเฮนนีโคซีลิค (Heneicosylic acid; C21:0) ที่พบในสาหร่ายสายพันธุ์คลอโรคอคคัม สายพันธุ์คอลเรลลาเอสพี สายพันธุ์ซีนีเดสมัส แสดงดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ชนิดของกรดไขมันที่พบในน้ำมันสาหร่าย

ชนิดของกรดไขมัน	**ร้อยละของน้ำหนักแห้ง**		
	คลอโรคอคคัม	**คอลเรลลาเอสพี**	**ซีนีเดสมัส**
C12:0	-	0.3	-
C14:0	-	0.9	0.7
C15:0	-	0.3	0.3
C16:0	19.5	24.5	30.3
C16:1	6.2	4.9	6.5
C16:2	7.5	1.3	5.7
C16:3	2.2	-	-
C16:4	12.6	-	-
C17:0	-	2.1	2.6
C17:1	1.1	1.0	2.7
C18:0	0.5	2.5	1.2
C18:1	12.8	15.1	17.5
C18:3	20.6	26.3	9.2
C18:4	2.5	-	-

ตารางที่ 2.5 ชนิดของกรดไขมันที่พบในน้ำมันสาหร่าย (ต่อ)

ชนิดของกรดไขมัน	ร้อยละของน้ำหนักแห้ง		
	คลอโรคอคคัม	คอลเรลลา	ซีนีเดสมัส
C20:0	0.2	0.4	0.1
C20:1	-	0.4	-
C20:2	0.2	0.3	0.3
C20:3	0.2	0.3	0.1
C20:4	-	-	-
C20:5	0.1	1.1	0.8
C21:1	-	1.1	-

ที่มา : Microalgae of odisha coast as a potential source for biodiesel production. Institute of Minerals and Materials Technology. 2: 11-16 (Jena, J. 2555)

2.4 การสกัด (Extraction)

วิธีที่ใช้ในการสกัด หลังจากการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ขั้นตอนต่อมาคือการสกัดน้ำมันออกจากผนังเซลล์ของสาหร่าย ซึ่งโดยทั่วไปแบ่งได้เป็น 2 วิธี หลัก ดังนี้

2.4.1 การสกัดด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical extraction) (อรวรรณ สัมฤทธิ์เดชขจร, 2553)

2.4.1.1 การบด (Mechanical crushing) โดยการนำสาหร่ายตากแห้งมาคั้นด้วย เครื่อง (Oil press) ซึ่งมีหลากหลายรูปแบบ เช่น สกรู หรือลูกสูบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่าย ที่ต้องการคั้น วิธีนี้สามารถสกัดน้ำมันได้ประมาณร้อยละ 75 ซึ่งส่วนใหญ่มักทำร่วมกับการสกัดด้วยสารเคมี

2.4.1.2 วิธีออสโมติกช็อก (Osmotic shock) เป็นวิธีที่ทำให้เซลล์แตกโดยการลดความดันออสโมซิสอย่างฉับพลัน มีการนำวิธีการนี้มาใช้ในการสกัดน้ำมันจากเซลล์ของสาหร่าย โดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของตัวถูกละลายรอบเซลล์อย่างฉับพลัน ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของน้ำผ่านบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ภายใต้เงื่อนไขของเกลือที่มีความเข้มข้นสูง น้ำจะไหลออกจากเซลล์ด้วยวิธีออสโม

ซิส ด้วยเหตุนี้จึงไปยับยั้งการส่งผ่านของสารตั้งต้น และเป็นปัจจัยที่มีผลร่วมทำให้เซลล์แตกตัว หรือที่ความเข้มข้นของตัวทำละลายต่ำๆ น้ำจากภายนอกเซลล์ก็จะไหลเข้าไปในเซลล์ทำให้เซลล์ขยายออก

2.4.1.3 วิธีการสกัดแบบอัลตราโซนิก (Ultrasonic extraction) เป็นวิธีการเร่งกระบวนการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก ซึ่งคลื่นอัลตราโซนิกจะทำให้เกิดฟองอากาศขนาดเล็กในตัวทำละลาย เมื่อฟองอากาศแตกใกล้ๆกับบริเวณผนังเซลล์จะทำให้เกิดคลื่นกระแทก (Shock wave) และกระแสของของเหลว (liquid jet) ซึ่งสามารถทำให้ผนังเซลล์แตก และปลดปล่อยสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ออกมาในตัวทำละลาย นอกจากนี้ยังสามารถนำวิธีการสกัดนี้ไปใช้ร่วมกับเอนไซม์ ซึ่งจะเรียกว่าการสกัดแบบอัลตราโซนิกเอนไซมาติก (Ultrasonic enzymatic extraction) วิธีนี้ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และมีเอนไซม์เป็นตัวทำลายผนังเซลล์ โดยคลื่นอัลตราโซนิกจะเป็นตัวทำให้เกิดฟองอากาศ ซึ่งฟองอากาศจะช่วยให้เอนไซม์แทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อ และทำลายผนังเซลล์ได้เร็วขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้น

2.4.2 การสกัดด้วยวิธีทางเคมี (Chemical extraction) (อรวรรณ สัมฤทธิ์เดชขจร, 2553)

การสกัดด้วยวิธีทางเคมีเป็นวิธีที่นิยมนำมาสกัดน้ำมัน แต่ว่าวิธีนี้มีข้อด้อยจากการใช้ตัวทำละลายที่เป็นสารเคมีอันตราย ดังนั้นจึงควรเอาใจใส่ในการทำงานกับสารเคมีเพื่อป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้น ตัวทำละลายที่ใช้ส่วนใหญ่คือ เฮกเซน (Hexane) เนื่องจากมีราคาถูก ส่วนเบนซีน (Benzene) และอีเทอร์ (Ether) ก็สามารถใช้สกัดน้ำมันได้ แต่ตัวทำละลายเบนซีนจัดเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (Carcinogen)

2.4.2.1 วิธีการสกัดแบบซอกห์เลต (Soxhlet extraction) เป็นวิธีการสกัดสาหร่ายด้วยตัวทำละลายเฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ภายใต้ความร้อน เพื่อให้ตัวทำละลายระเหยขึ้นไปและควบแน่นลงมาในสาหร่าย ทำให้น้ำมันถูกสกัดออกมา ข้อเด่นของวิธีนี้คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดจะใช้ซ้ำไปมาอย่างต่อเนื่อง เป็นการประหยัดตัวทำละลาย

2.4.2.2 การสกัดวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical fluids method) วิธีนี้ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นตัวทำละลาย โดยจะทำให้คาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในรูปของเหลวภายใต้ความดัน และความร้อนซึ่งสามารถสกัดน้ำมันออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.4.3 การทำลายผนังเซลล์ (The cell disruption)

เป็นสิ่งที่จำเป็นสำหรับการสกัด และการนำผลิตภัณฑ์ที่ต้องการภายในเซลล์ออกมา ซึ่งสามารถทำได้โดยใช้วิธีการ และเทคโนโลยีที่แตกต่างกัน ทั้งแบบวิธีการเชิงกล (Mechanical

physical methods) และวิธีการที่ไม่ใช่เชิงกล (Non-mechanical physical methods) โดยวิธีเชิงกล ได้แก่ วิธีการใช้บีดมิล (Bead mill) วิธีการใช้โซนิกเคชั่น (Sonication) และการอัดด้วยความดันสูง วิธีการที่ไม่ใช่เชิงกล ได้แก่ วิธีการเทอโมไลซิส (Thermolysis) วิธีการบีดอัด (Decompress) วิธีการออสโมติกช็อค (Osmotic shock) วิธีทางเคมีและเอนไซม์ที่ไม่เกี่ยวกับทางกล (Non-mechanical chemical and enzymatic methods) ได้แก่ วิธีการใช้สารเคมี (Solvent) เอนไซม์ (Enzymes) ส่วนวิธีเทคโนโลยีหรือ วิธีการที่เลือกขึ้นอยู่กับ ผลิตภัณฑ์ ชนิดของเซลล์ และขนาดของเซลล์ (Natalia Kakko et al., 2559)

อย่างไรก็ตามวิธีที่กล่าวมานั้น เป็นวิธีที่ถูกใช้อย่างแพร่หลายมานาน เช่น วิธีการสกัดแบบซอกซ์เล็ต วิธีการสกัดแบบอัลตราโซนิก ต้องใช้ระยะเวลานานในการสกัด และต้องใช้ตัวทำละลายที่เป็นมลพิษเป็นจำนวนมาก การสกัดวิกฤตยิ่งยวด การใช้คลื่นไมโครเวฟเข้าช่วยในการสกัด และการสกัดด้วยตัวทำละลายอัดความดัน (Pressurised solvent extraction) เป็นวิธีที่มีความรวดเร็วในการสกัด และมีประสิทธิภาพมากขึ้น (King MB & Bott TR., 2536, Lee Ml & Markides KE., 2533)

การสกัดด้วยวิธี Low pressure compression เป็นวิธีการที่เราศึกษาในงานวิจัยนี้ ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยให้ระยะเวลาในการสกัดน้อยลง ใช้ตัวทำละลายน้อย แต่ได้สารจากการสกัดที่มากขึ้น โดยจะใช้สารละลายอินทรีย์ที่ความดัน และอุณหภูมิสูง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นช่วยเร่งการจลนพลศาสตร์การสกัด และการเพิ่มความดันทำให้ตัวทำละลายอยู่ในสถานะของเหลว จึงช่วยให้การสกัดมีความปลอดภัย และรวดเร็ว นอกจากนี้การที่ใช้ความดันสูง จะเพิ่มความสามารถตัวทำละลายสามารถเข้าไปรูพรุน และด้วยเหตุนี้จึงเป็นส่วนที่ช่วยให้การสกัดสารมีประสิทธิภาพขึ้นจากวิธีอื่นๆ นอกจากนี้อุณหภูมิที่สูงขึ้นช่วยเพิ่มการกระจายตัวของตัวทำละลาย ซึ่งส่งผลให้ความเร็วในการสกัดเพิ่มขึ้น (Be'atrice & Philippe., 2545)

2.5 สารทำความเย็น (Refrigerant)

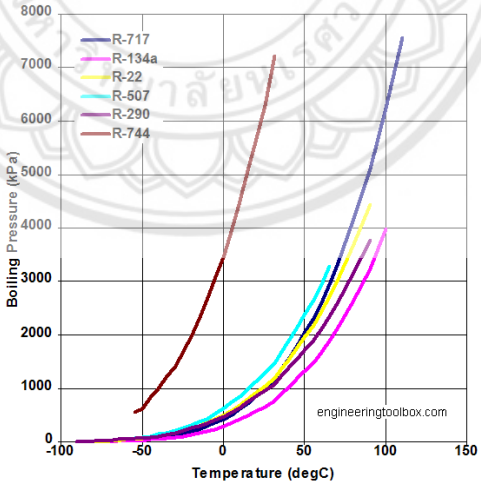
สารทำความเย็นที่ใช้ทั่วไป แบ่งตามคุณสมบัติทางเคมีได้ 4 ประเภทหลักๆ ได้แก่ สารกลุ่มคลอโรฟลูออโรคาร์บอน (CFC, chlorofluorocarbon) สารกลุ่มไฮโดรฟลูออโรคาร์บอน (HFC, hydrofluorocarbon) สารกลุ่มไฮโดรคลอโรฟลูออโรคาร์บอน (HCFC,hydrochlorofluorocarbon) และสารกลุ่มไฮโดรคาร์บอน (HC, hydrocarbon)

2.5.1 สารกลุ่มคลอโรฟลูออโรคาร์บอน ประกอบด้วย คลอรีน ฟลูออรีน และคาร์บอน ซึ่งจัดได้ว่าเป็นสารอันตรายที่ทำลายชั้นโอโซน และก่อให้เกิดภาวะเรือนกระจก (Greenhouse Effect)

2.5.2 สารกลุ่มไฮโดรคลอโรฟลูออโรคาร์บอน ประกอบด้วยสารประกอบของไฮโดรเจนคลอรีน ฟลูออรีน และคาร์บอน เป็นสารเคมีที่ใช้แทนสารกลุ่มคลอโรฟลูออโรคาร์บอน แต่ยังมีส่วนประกอบของคลอรีนที่เป็นสารประกอบในสารทำความเย็นชนิดนี้ ซึ่งมีผลกระทบในการทำลายโอนโซน (Jasen & Steve., 2541).

2.5.3 สารกลุ่มไฮโดรฟลูออโรคาร์บอน ประกอบด้วย ไฮโดรเจน ฟลูออรีน และคาร์บอน เป็นสารทำความเย็นที่สามารถใช้แทน สารทำความเย็นชนิดคลอโรฟลูออโรคาร์บอน และไฮโดรคลอโรฟลูออโรคาร์บอน เป็นสารทดแทนที่ดีที่สุดสำหรับการลดการสูญเสียโอโซนในชั้นบรรยากาศเนื่องจากอายุการใช้งานสั้น และไม่มีคลอรีน (James W et al., 2542) ซึ่งสารทำความเย็น R-134a ใช้อุณหภูมิและความดัน ณ จุดเดือดไม่สูงมาก ดังรูปที่ 2.7 สามารถบรรจุในภาชนะได้หลายขนาด ทั้งขนาด 1 ลิตร 6 ลิตร 12 ลิตร 24 ลิตร 40 ลิตร และ120 ลิตร ดังรูปที่ 2.8 สำหรับคุณสมบัติทางเคมี และฟิสิกส์ของสารทำความเย็น R-134a แสดงดังตารางที่ 2.6

2.5.4 สารกลุ่มไฮโดรคาร์บอน ประกอบด้วย ไฮโดรเจน และคาร์บอน เช่น R-290 หรือเรียกว่า HC-290 สารกลุ่มนี้ส่งผลกระทบต่อชั้นโอโซนน้อยกว่าสารใน 3 กลุ่มแรก



รูปที่ 2.7 ไดอะแกรมความสัมพันธ์อุณหภูมิและความดัน ณ จุดเดือด

ที่มา : https://www.engineeringtoolbox.com/constant-boiling-refrigerants-d_1184.html

R-717: แอมโมเนีย	R-134: เตตระฟลูออโรอีเทน	R-22: ไฮโดรคลอโรฟลูออโรคาร์บอน
R-290: โพรเพน	R-744: คาร์บอนไดออกไซด์	R-507: HFC-125 และ HFC-143a

รูปที่ 2.8 สารทำความเย็น R-134a

ที่มา https://www.agassouthafrica.com/products-and-solutions/products-refrigerants/hfcs/r134a/

ตารางที่ 2.6 คุณสมบัติทางเคมี และฟิสิกส์ของสารทำความเย็น R-134a

คุณสมบัติ	ข้อมูล
ชนิดของสารเคมี	ไฮโดรฟลูออโรคาร์บอน
สูตรทางเคมี	CH_2FCF_3
ชื่อสารเคมี	1,1,1,2-เตตระฟลูออโรอีเทน
จุดเดือด	-26.5 องศาเซลเซียสที่ 0.98 บาร์
ความดันไอ	7 บาร์ ที่ 25 องศาเซลเซียส
ความหนาแน่นของไอ	3.6 ที่ 25 องศาเซลเซียส
ความหนาแน่นของของเหลว	1.21 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ 25 องศาเซลเซียส
ความถ่วงจำเพาะ	1.208 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ที่มา : Compassion of Environmental Impacts and Physical Properties of Refrigerants. Earth and environmental engineering. Engineering. Columbia University

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี พ.ศ. 2552 Mustapaac และคณะ ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันปาล์ม จากส่วนที่เป็นเนื้อปาล์ม โดยใช้ sub-critical 1,1,1,2-เตตระฟลูออโรอีเทน (R-134a) เป็นตัวทำละลาย ทำการสกัดที่ความดันระหว่าง 45 และ 100 บาร์ และใช้อุณหภูมิระหว่าง 40 ถึง 80 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วย R134a ผลผลิตเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มความดันและอุณหภูมิในการสกัด อุณหภูมิมีผลต่อการละลายของน้ำมันปาล์มมากกว่าความดัน ได้ผลผลิตสูงสุดร้อยละ 66.06 ที่ความดัน 100 บาร์ และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัด ที่ความดันค่อนข้างต่ำพิสูจน์ให้เห็นว่า sub-critical R-134a เป็นอีกทางเลือกในการสกัดน้ำมันปาล์ม (A.N.Mustapa et al., 2552) ในปีเดียวกัน คุณวัชระ เวียงแก้ว ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันจากจุลสาหร่ายคลอเรลลาวูลกาลิส โดยใช้ตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม และเมทานอล ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 แตกเซลล์โดยวิธีออสโมติกช็อค ไมโครเวฟ และอัลตราโซนิก ที่สภาวะต่างๆ จากผลการทดลองพบว่า วิธีที่สกัดน้ำมันได้ผลที่ดีที่สุด คือ วิธีไมโครเวฟ และสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ในการสกัดน้ำมันจากจุลสาหร่าย ด้วยเครื่องไมโครเวฟ คือ การใช้เวลาในการแตกเซลล์ 50 นาที โดยเปอร์เซ็นต์ผลได้ของน้ำมัน เท่ากับร้อยละ 6.80 ผลได้ของน้ำมันมีปริมาณ ความชื้นร้อยละ 7.41 (วัชระ เวียงแก้ว, 2552) และ lee J-Y และคณะ ได้ทำการศึกษาสาหร่ายสามสายพันธุ์ คือ โบทีโอคอกคัส คลอเรลลาวูกาลิส และซีนีเดสมัส สกัดไขมันด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม และเมททานอล ในอัตราส่วน 19 ต่อ 1 ในการสกัดไขมัน นั้นต้องทำให้เซลล์สาหร่ายแตกตัว โดยเปรียบเทียบ 5 วิธี ดังนี้

1) วิธีการออโตเคลฟ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 125 องศาเซลเซียส ความดัน 1.5 เมกะปาสคาล ในเวลา 5นาที

2) การเบดบีดติ้ง (Bead beating) ที่ความเร็ว 2,800 รอบนาทีในเวลา 5 นาที

3) วิธีการใช้คลื่นไมโครเวฟ (Microwave) ที่อุณหภูมิสูง 100 องศาเซลเซียส และ 2,450 เมกะเฮิรตซ์ ในเวลา 5 นาที

4) วิธีโซนิคเคชั่น (Sonication) โดยใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่ 10 กิโลเฮิรตซ์ ในเวลา 5 นาที

5) วิธีออสโมติกช็อค โดยใช้สารละลายร้อยละ 10 ของโซเดียมคลอไรด์ ในน้ำวน 1 นาที หลังจากนั้นเก็บไว้ 48 ชั่วโมง

การเปรียบเทียบวิธีการสกัดไขมันสาหร่ายโบทีโอคอกคัส ให้ผลที่น่าพอใจ ซึ่งให้ผลที่สูงกว่าคลอเรลลาวูลกาลิส และซินีเดสมัส วิธีที่ใช้คือ ไมโครเวฟ ซึ่งทั้งสามสายพันธุ์ ใช้วิธีนี้จะได้ปริมาณ

น้ำมันสูงกว่าวิธีอื่น สาหร่ายโบทีโอคอกคัสใช้กรรมวิธีเบดบีดติ้ง และไมโครเวฟ จะให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับวิธีอื่น และวิธีโซนิคเคชั่นจะให้ผลที่ต่ำ (lee J-Y et al., 2552)

ในปี พ.ศ. 2554 Wiyarno และคณะ ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายเนนโนคลอโรปซิส (Nannochloropsis SP) โดยใช้วิธีการสกัดแบบซอกห์เลต และอัลตราโซนิก โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลทั้งสองวิธี วิธีการสกัดแบบซอกห์เลต มีการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอทานอล และเวลาที่นำมาใช้ วิธีอัลตราโซนิกช่วยสกัดเปรียบเทียบปริมาณเอทานอล เวลา และอุณหภูมิที่นำไปใช้ โดยใช้ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์ คุณภาพของน้ำมันสาหร่ายดำเนินการโดยวิธีการสกัดแบบซอกห์เลต ดีที่สุดคือการใช้ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 70 เวลาที่กำหนดคือ 200 นาที ซึ่งในระดับกรดไขมันอิสระเป็นร้อยละ 9.4 ในการศึกษาวิธีอัลตราโซนิกช่วยสกัด 51.6 นาที ใช้ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 98 ใช้อุณหภูมิ 69.62 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณของผลผลิตน้ำมันสูงสุด และวิธีอัลตราโซนิกช่วยสกัดจะช่วยให้ระยะเวลาในการสกัดลดลง (B. Wiyarno et al., 2554) และในปีเดียวกัน Hideki Kanda และ Peng Li ได้ศึกษาวิธีการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และมีประสิทธิภาพในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยใช้ไดเมธิลอีเทอร์ (DME) ในการศึกษานี้วิธีนี้ทดสอบสาหร่ายสีเขียวหลายสายพันธุ์ ดังนั้นน้ำมันได้จากการสกัดสาหร่ายที่มีความชื้นสูง มีปริมาณน้ำร้อยละ 78.2-93.4 มีอัตราการสกัดตั้งแต่ร้อยละ 9.9-40.1 ของน้ำหนักสาหร่ายแห้ง เมื่อเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์จากการสกัดโดยใช้ไดเมธิลอีเทอร์เหลว และวิธีการของไบลห์-ไดเออร์ (Bligh-Dyer’s method) ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ผลจากการทดลองในการสกัดวิธีไดเมธิลอีเทอร์ เทียบเท่ากับวิธีการของไบลห์-ไดเออร์ (Hideki Kanda & Peng Li, 2554)

ในปี พ.ศ. 2556 คุณนฤตษวรรณ สัญญาโณ ได้ศึกษาการเก็บเกี่ยว และผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์คลอเรลลา ชนิดน้ำเค็ม โดยใช้สารเคมีในการสกัด 2 ชนิด คือ เฮกเซน และเมทานอล โดยมีการใช้เครื่องอัลตราโซนิคเข้าช่วยในการสกัด พบว่าสารที่สกัดได้จากสาหร่ายประกอบด้วยกรดไขมัน 3 ชนิดหลัก คือ กรดปาล์มมิติกร้อยละ 27.73 กรดปาล์มมิโอเลอิก ร้อยละ 15.99 และกรดโอเลอิค ร้อยละ 5.69 (นฤตษวรรณ สัญญาโณ, 2556) และในปีเดียวกัน คุณอมรรัตน์ รังสิวิวัฒน์ และคณะ ได้ศึกษาชนิดและปริมาณของสาหร่ายท้องถิ่นที่ให้น้ำมันในแหล่งน้ำ ในการนำมาสกัดทำน้ำมันไบโอดีเซล โดยได้ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายในแหล่งน้ำหนองหาร เพื่อคัดเลือกชนิดมาสกัดน้ำมันไบโอดีเซลอย่างง่าย การใช้ตัวทำละลายผสมเฮกเซน ทำการระเหย เพื่อแยกตัวทำละลายเฮกเซนออกไป โดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) กับสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 5 ชนิด โดยสาหร่ายที่มีปริมาณน้ำมันไบโอดีเซลสูงสุดคือ สาหร่ายคลอเรลลา ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 2.247 มิลลิลิตร ต่อ 100 กรัมแห้งของสาหร่าย (อมรรัตน์ รังสิวิวัฒน์ และคณะ, 2556)

ในปี พ.ศ. 2557 Prakash Binnal และคณะ ได้ศึกษาการใช้สารสกัดน้ำมันขมิ้นสกัดด้วยสารทำความเย็น R-134a (1,1,1,2-เตตระฟลูออโรอีเทน) เป็นตัวทำละลาย ผลที่ได้ขึ้นอยู่กับตัวแปรในการปฏิบัติการ คือ แรงดันของตัวทำละลาย ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของขิ้นขมิ้น และเวลาในการสกัด ผลผลิตน้ำมันที่ได้สูงสุดคือ ร้อยละ 98.69 โดยใช้ความดันที่ 11 บาร์ ขนาดอนุภาคของ 170 เมช และใช้เวลาในการสกัด 5 ชั่วโมง (Prakash Binnal et al., 2557)

ในปี พ.ศ. 2559 Kiyoshi Sakuragi และคณะ ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายยูกลีนาเกรซิลิส (Euglena gracilis) แบบเปียก ถูกนำมาสกัดโดยผสมกับไดเมทิลอีเทอร์เหลว และเขย่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และความดัน 0.51 เมกะปาสคาล ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที หลังจากการเขย่า ประมาณร้อยละ 96.70 ของน้ำมันทั้งหมดที่ถูกสกัด โดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลาย และสาหร่ายเปียก คือ 8 ต่อ 1 การกระจายน้ำหนักโมเลกุลของน้ำมันที่สกัด โดยใช้วิธีการนี้ถูกนำมาเปรียบเทียบกับการสกัดน้ำมัน โดยใช้วิธีสกัดซอกห์เลตใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ามันเป็นไปได้ในการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายเปียก โดยใช้วิธีการที่ง่ายประหยัด และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Kiyoshi Sakuragi et al., 2559) และในปีเดียวกัน วรัญญา วงศ์วานิช และกิตติชัย บรรจง ศึกษาเมล็ดองุ่นพันธุ์ชีราซ (Vitis vinifera cv Shiraz) มีปริมาณน้ำมันทั้งหมดร้อยละ 13.61 โดยน้ำหนักแห้ง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่น ได้แก่ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น และระยะเวลาในการสกัด เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยวิธีการแช่ (maceration extraction; ME) และวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด (ultrasound-assisted extraction;UAE) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธี ME คือ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น 6 ต่อ 1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ใช้เวลาในการสกัด 30 นาที ให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 11.13 โดยน้ำหนักแห้ง และวิธี UAE ใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อผงเมล็ดองุ่น 2 ต่อ 1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และใช้คลื่นเสียงความถี่สูงสกัดตลอดระยะเวลา 15 นาที ให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 11.42 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพโดยช่วยลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายได้ถึง 3 เท่า และลดระยะเวลาในการสกัดเป็น 2 เท่าของวิธี ME (วรัญญา วงศ์วานิช และกิตติชัย บรรจง, 2559)

ในปี พ.ศ. 2560 Nurfarahanim Abdullah และคณะ ได้ศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันเพื่อหาปริมาณน้ำมันสูงสุดจากสาหร่ายคลอเรลลาวูลกาลิส (Chlorella vulgaris) วิธีการสกัดแบบโมดิไฟด์ซอกห์เลต (modified soxhlet) ปริมาณน้ำมันสูงสุดที่ได้รับจากการสกัด สาหร่ายคลอเรลลาวูลกาลิส ร้อยละ 61.27 โดยใช้เฮปเทนเป็นตัวทำละลาย โดยสภาวะที่เหมาะสม คือ อัตราการผสม 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการสกัด 5 ชั่วโมง การศึกษานี้ยืนยันว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ผลผลิตน้ำมันเพิ่มขึ้น แต่ที่อุณหภูมิสูงขึ้น (มากกว่า 65 องศา

เซลเซียส) ผลผลิตน้ำมันก็จะลดลง อุณหภูมิในการสกัดน้ำมันสูงเกินไปอาจทำให้เกิดการสลายตัวของเซลล์จุลภาคได้บางส่วนและผลผลิตของน้ำมันที่สกัดได้มีปริมาณลดลง (Nurfarahanim Abdullah et al., 2560)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 สาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายที่ใช้ในงานวิจัยเป็นสาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์คอลเรลลาเอสพี (Chlorella sp.) ชนิดน้ำจืด จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) สาเหตุที่เลือกใช้สาหร่ายสายพันธุ์นี้ เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่มีการสะสมน้ำมันภายในเซลล์สูง เพาะเลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว อีกทั้งสาหร่ายยังสามารถผลิตได้ตลอดทั้งปี ทั้งนี้ในงานวิจัยได้ทำการเริ่มเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร สารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 MEDIUM และใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ให้ออกซิเจนตลอดเวลา และให้แสงที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ 12 ชั่วโมงต่อวัน ก็สามารถนำมาสกัดน้ำมันได้

3.1.2 สารเคมี

1. สารทำความเย็น R134a
2. $NaNO_3$
3. $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$
4. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
5. $CaCl_2 \cdot 2H_2O$
6. Ferric ammonium Citrate
7. EDTA (disodium magnesium salt)
8. Na_2CO_3
9. Citric acid
10. Distilled water
11. H_3BO_3
12. $MnCl_2 \cdot 4H_2O$
13. $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$

14. $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$
15. $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
16. $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$
17. PAC
18. CO_2
19. N_2
20. เฮกเซน

3.1.3 อุปกรณ์

1. บีกเกอร์
2. ปิเปต
3. กระบอกตวง
4. กรวยแยก
5. แท่งแก้วคน
6. ช้อนตักสาร
7. ถังสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย
8. กระดาษกรอง
9. เครื่องชั่งไฟฟ้า (Balance)
10. ชุดอุปกรณ์การสกัดน้ำมัน
11. เครื่อง Freeze dry
12. ขวดรูปชมพู่
13. Magnetic bar
14. แผ่นฟอยล์อลูมิเนียม
15. ผ้ากรอง
16. ชุดขาตั้ง และแคลมป์จับ
17. ตู้แช่แข็ง
18. ปั๊มสุญญากาศ
19. หลอดกระดาษกรอง
20. ชุดอุปกรณ์การสกัดแบบซอกห์เลต

21. ชุดอุปกรณ์การกรอง

22. ตู้ดูดความชื้น

23. เครื่องระเหยสุญญากาศ

24. Hot plate

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมการทดลอง

3.2.1.1 การเตรียมสูตรอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย

เตรียมสารละลายตามสูตรอาหาร BG-11 MEDIUM โดยมีส่วนผสมสองส่วน ดังนี้

ส่วนแรกมีส่วนผสมสารเคมี คือ

$NaNO_3$	1500.0	มิลลิกรัม
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	40.0	มิลลิกรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	75.0	มิลลิกรัม
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	36.0	มิลลิกรัม
Ferric ammonium Citrate	6.0	มิลลิกรัม
EDTA (disodium magnesium salt)	1.0	มิลลิกรัม
Na_2CO_3	20.0	มิลลิกรัม
Citric acid	6.0	มิลลิกรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

ส่วนที่สอง Trace metal mix A5+Co มีส่วนผสมของสารเคมี คือ

H_3BO_3	2.86	กรัม
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.81	กรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	220.0	มิลลิกรัม
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	390.0	มิลลิกรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	79.0	มิลลิกรัม
$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	49.0	มิลลิกรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

เมื่อได้ส่วนผสมทั้งสองส่วนแล้ว จะนำสารละลาย Trace metal mix A5+Co ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมในสารละลายส่วนที่หนึ่งปริมาตร 1 ลิตร จะได้อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายตามสูตรอาหาร BG-11 MEDIUM

3.2.1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

นำเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาเอสพี เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมอาหารให้สาหร่ายปริมาตร 75-100 มิลลิตร (3 วันต่อ 1 ครั้ง) เขย่าให้อาหารกระจายทั่วทั้งสาหร่ายที่อยู่ในขวดรูปชมพู่ตั้งทิ้งไว้ให้เซลล์สาหร่ายเติบโต เมื่อระยะเวลาผ่านไป 7-14 วัน เมื่อสีของสาหร่ายมีความเข้มขึ้น สามารถนำไปเพาะเลี้ยงในถังที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

3.2.1.3 การเก็บเกี่ยวสาหร่าย

เก็บตัวอย่างสาหร่ายจากถังเลี้ยงปริมาณ 20 ลิตร กรองด้วยผ้ากรองขนาด 297 ไมครอน หลังจากนั้นตกตะกอนด้วย PAC ตั้งทิ้งไว้ 1 วัน แยกสาหร่ายที่ตกตะกอนมากรองอีกครั้งโดยใช้เครื่องกรอง ใช้ผ้ากรองขนาด 60 ไมครอน เมื่อได้ส่วนที่เป็นเนื้อเซลล์สาหร่ายแล้ว นำมาชั่งน้ำหนักก่อนนำเข้าตู้แช่แข็งเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำสาหร่ายที่ผ่านการแช่แข็งแล้วเข้าสู่เครื่อง Dry เป็นเวลา 1 วัน และนำมาชั่งน้ำหนักหลังการ Dry แล้วนำกลับเข้าสู่ตู้แช่แข็งอีกครั้ง เพื่อดำเนินการแช่แข็งและ Dry ซ้ำอีก โดยทำซ้ำเช่นนี้ 2 ครั้ง เพื่อให้แน่ใจว่าสาหร่ายถูกกำจัดความชื้นเรียบร้อยแล้ว ก่อนนำไปใช้ในการสกัดน้ำมันออกจากเซลล์สาหร่าย

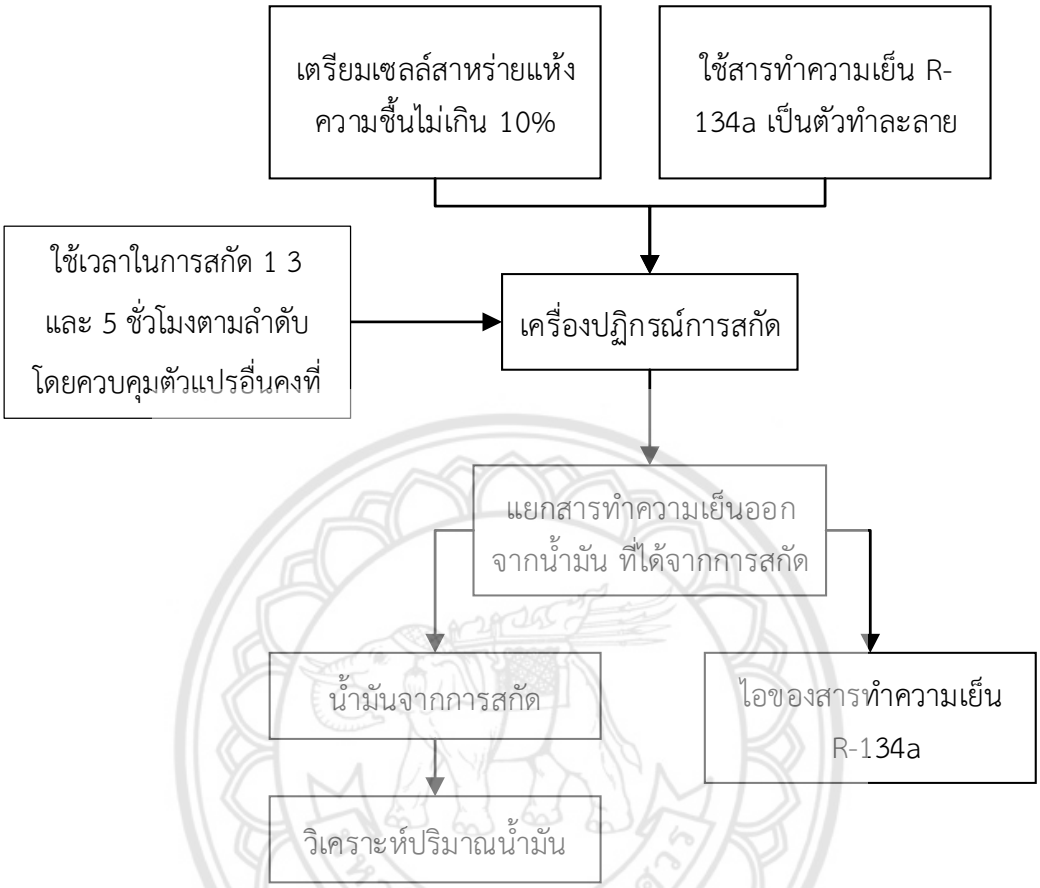
3.2.2 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายคลอเรลลาเอสพีโดยใช้ชุดอุปกรณ์การสกัด

การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันในเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาเอสพี โดยสกัดด้วยวิธี Low pressure compression ตัวทำละลาย คือสารทำความเย็น R-134a สามารถแบ่งออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

3.2.2.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของระยะเวลาในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน

เตรียมสาหร่ายแห้งปริมาณ 5 กรัม ในหลอดกระดาษกรอง ใส่ Magnetic bar ในคอลัมม์การสกัดก่อน แล้วจึงใส่หลอดกระดาษกรองที่เตรียมไว้ในคอลัมม์การสกัด หลังจากนั้นติดตั้งชุดอุปกรณ์ท่อ และวาล์วให้แน่น ชั่งน้ำหนักชุดอุปกรณ์การสกัด และเติมสารทำความเย็น R-134a ที่สถานะของเหลว อัตราส่วนที่ 1 ต่อ 10 หลังจากนั้นนำชุดอุปกรณ์การสกัดเพิ่มความดันด้วยการเติมก๊าซไนโตรเจนให้ได้ความดัน 9 บาร์ แล้วดำเนินการสกัดโดยวางบน Hot plate ใช้ความเร็วรอบในการหมุน Magnetic bar ที่หมายเลข 3 เริ่มจับเวลาการสกัดเป็นเวลา 1 3 และ5 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อครบตามเวลาแล้ว นำขวดรูปชมพู่รองรับที่ปลายท่อด้านล่างของชุดอุปกรณ์การสกัดเพื่อรองรับ

น้ำมันที่ได้จากการสกัด และเพื่อปล่อยสารทำความเย็น R-134a ออกสู่บรรยากาศ หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วนำน้ำมันที่ได้มาชั่งน้ำหนักเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ ดังรูปที่ 3.1

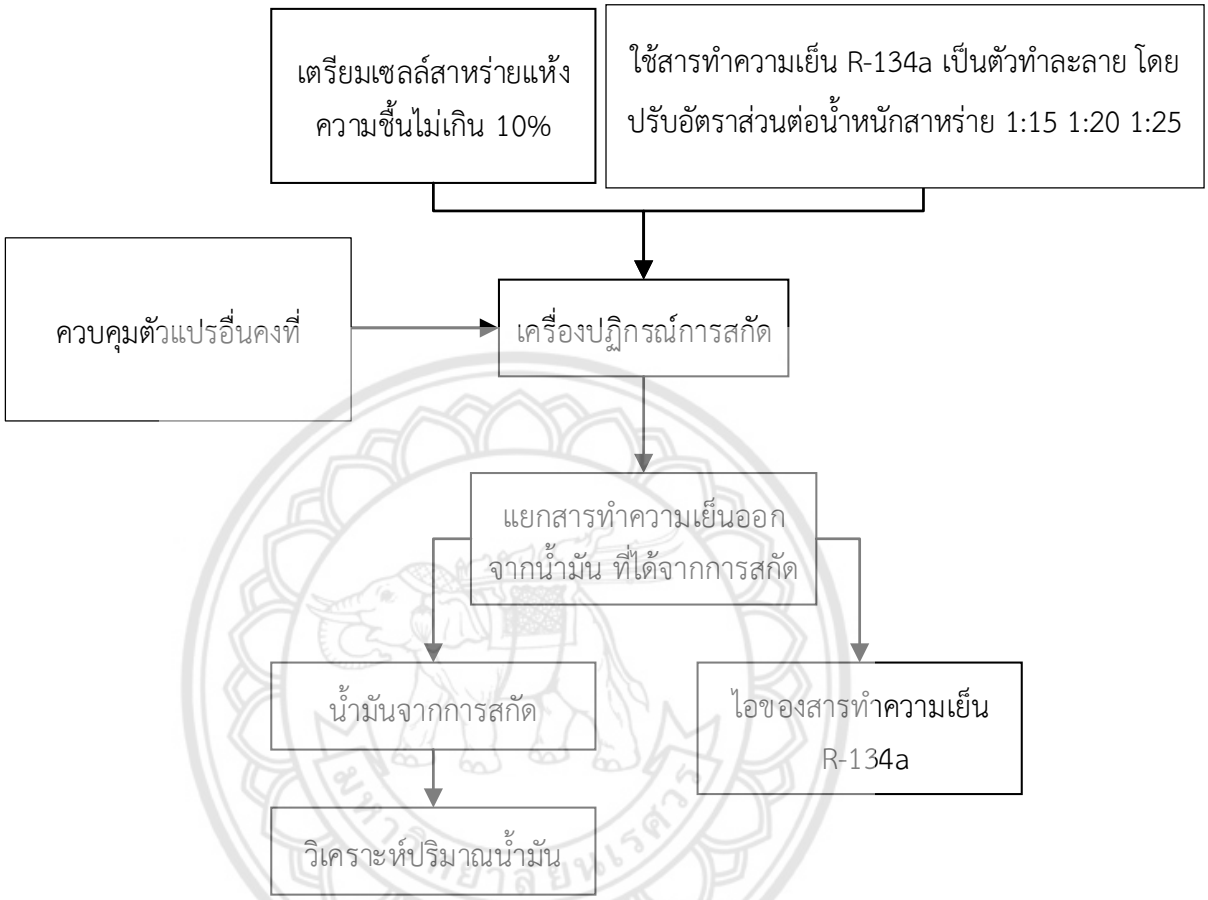


รูปที่ 3.1 แผนผังการทดลองศึกษาผลของระยะเวลาในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน

3.2.2.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของอัตราส่วนของน้ำหนักสาหร่ายแห้งต่อสารทำความเย็นที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน

เตรียมสาหร่ายแห้งปริมาณ 5 กรัม ในหลอดกระดาษกรอง ใส่ Magnetic bar ในคอลัมม์การสกัดก่อน แล้วจึงใส่หลอดกระดาษกรองที่เตรียมไว้ในคอลัมม์การสกัด หลังจากนั้นติดตั้งชุดอุปกรณ์ท่อ และวาล์วให้แน่น ชั่งน้ำหนักชุดอุปกรณ์การสกัด และเติมสารทำความเย็น R-134a ที่สถานะของเหลว ตามอัตราส่วน 1 ต่อ 15 1 ต่อ 20 และ1 ต่อ 25 ตามลำดับ หลังจากนั้นนำชุดอุปกรณ์การสกัดเพิ่มความดันด้วยการเติมก๊าซไนโตรเจนให้ได้ความดัน 9 บาร์ แล้วดำเนินการสกัด โดยวางบน Hot plate ใช้ความเร็วรอบในการหมุน Magnetic bar ที่หมายเลข 3 เริ่มจับเวลาการสกัด โดยเลือกจากเวลาที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 1 เมื่อครบตามเวลาแล้ว นำขวดรูปชมพู่รองรับที่

ปลายท่อด้านล่างของชุดอุปกรณ์การสกัดเพื่อรองรับน้ำมันที่ได้จากการสกัด และเพื่อปล่อยสารทำความเย็น R-134a ออกสู่บรรยากาศ หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วนำน้ำมันที่ได้มาชั่งน้ำหนักเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ ดังรูปที่ 3.2

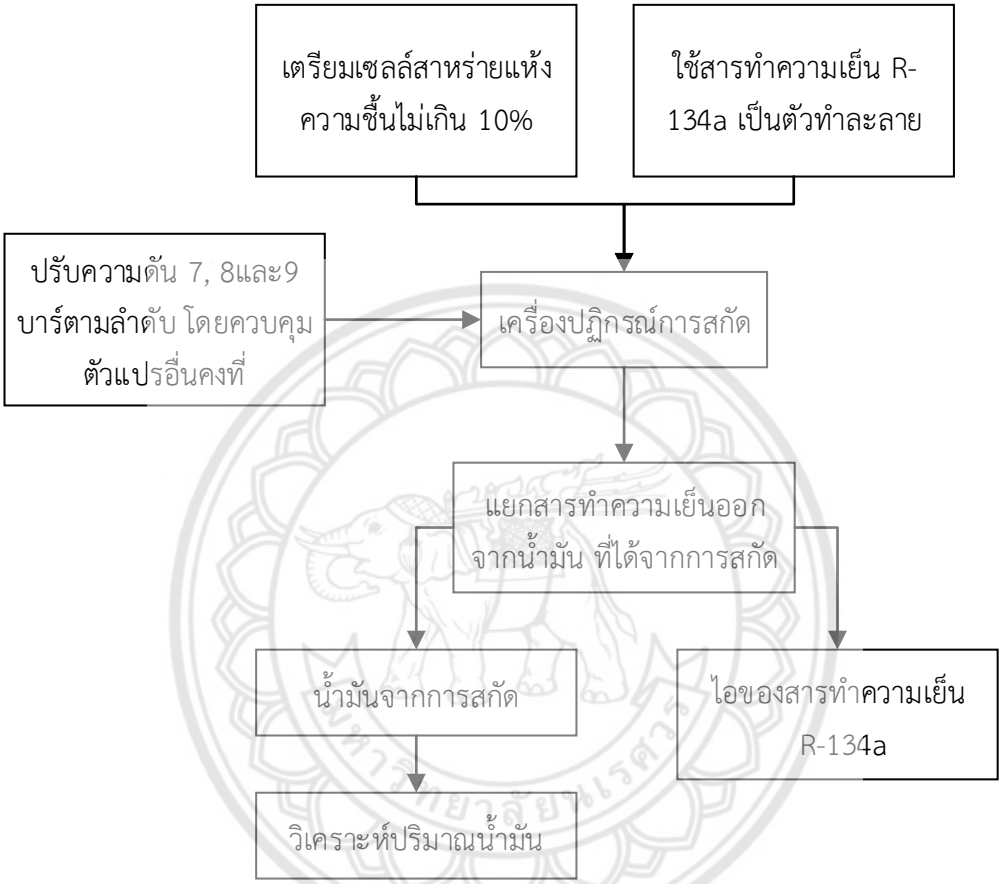


รูปที่ 3.2 แผนผังการทดลองศึกษาผลของอัตราส่วนของน้ำหนักสาหร่ายแห้งต่อสารทำความเย็นที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน

3.2.2.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาความดันในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน

เตรียมสาหร่ายแห้งปริมาณ 5 กรัม ในหลอดกระดาษกรอง ใส่ Magnetic bar ในคอลัมม์การสกัดก่อน แล้วจึงใส่หลอดกระดาษกรองที่เตรียมไว้ในคอลัมม์การสกัด หลังจากนั้นติดตั้งชุดอุปกรณ์ท่อ และวาล์วให้แน่น ชั่งน้ำหนักชุดอุปกรณ์การสกัด และเติมสารทำความเย็น R-134a ที่สถานะของเหลว ตามอัตราส่วนที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 2 หลังจากนั้นนำชุดอุปกรณ์การสกัดที่เติมสารทำความเย็น R-134a เรียบร้อยแล้ว เพิ่มความดันด้วยการเติมก๊าซไนโตรเจนให้ได้ความดันตามที่กำหนด คือ 7 8 และ9 บาร์ ตามลำดับ แล้วดำเนินการสกัดโดยวางบน Hot plate ใช้ความเร็วรอบใน

การหมุน Magnetic bar ที่หมายเลข 3 เริ่มจับเวลาการสกัด โดยเลือกจากเวลาที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 1 เมื่อครบตามเวลาแล้ว นำขวดรูปชมพู่รองรับที่ปลายท่อด้านล่างของชุดอุปกรณ์การสกัดเพื่อรองรับน้ำมันที่ได้จากการสกัด และเพื่อปล่อยสารทำความเย็น R-134a ออกสู่บรรยากาศ หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วนำน้ำมันที่ได้มาชั่งน้ำหนักเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 แผนผังการทดลองศึกษาความดันในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน

3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายคลอเรลลา

ชั่งน้ำหนักเซลล์สาหร่ายแห้งก่อนนำไปทำการสกัด เมื่อได้น้ำมันหลังจากการสกัดเรียบร้อยแล้ว นำมาชั่งน้ำหนัก เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่ได้จากเซลล์สาหร่ายแห้งนั้น จากสมการ 3.1

$$\text{ร้อยละผลผลิตของน้ำมัน} = \frac{n}{n_o} \times 100 \qquad (3.1)$$

n_0 คือ น้ำหนักของสาหร่ายแห้งที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

n คือ น้ำหนักของน้ำมันที่ออกมาได้หลังการสกัด (กรัม)

3.3.4 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายคลอเรลลาเอสพีโดยใช้การสกัดแบบซอกห์เลต

เตรียมสาหร่ายแห้งปริมาณ 5 กรัม ในหลอดกระดาษกรอง เตรียมเฮกเซนปริมาณ 250 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดในขวดก้นกลม และนำวางบนเตาหลุมให้ความร้อน จากนั้นประกอบชุดอุปการณ์การสกัดซอกห์เลต ใส่หลอดกระดาษกรองที่เตรียมไว้ใน Soxhlet Extractor ให้เรียบร้อย แล้วจึงต่อเข้ากับส่วนของ Condenser Allihn และสายยาง เปิดน้ำเข้าเพื่อให้เกิดการไหลรอบบริเวณนี้ จากนั้นเปิดเตาหลุมให้ความร้อนแก่ตัวทำละลายเฮกเซน เริ่มจับเวลาเมื่อเฮกเซนที่ถูกให้ความร้อนควบแน่นที่บริเวณด้านล่างของ Condenser Allihn และเริ่มหยดลงสู่หลอดกระดาษกรอง เป็นเวลา 10 ชั่วโมง

เมื่อการสกัดเสร็จเรียบร้อยแล้ว นำขวดก้นกลมที่มีตัวทำละลายเฮกเซน และน้ำมันจากการสกัด กำจัดตัวทำลายเฮกเซนออกจากน้ำมัน โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ ดำเนินการที่อุณภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการหมุน 50 รอบต่อนาที จนตัวทำละลายเฮกเซนถูกกำจัดออกทั้งหมด จากนั้นจึงนำน้ำมันที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมัน

บทที่ 4
ผลและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ได้มีการศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายน้ำจืดด้วยสารทำความเย็น โดยการเพิ่มความดันเพื่อให้เกิดการแตกผนังเซลล์ของสาหร่ายเพื่อที่จะให้น้ำมันออกมา โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือ ศึกษาหาปริมาณน้ำมันจากการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี (Chlorella sp.) และศึกษาหาเงื่อนไขที่ดีที่สุดในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพีด้วยสารทำความเย็น R-134a ที่สถานะของเหลว เป็นตัวทำละลาย

4.1 ผลการเก็บเกี่ยวสาหร่ายคลอเรลลาเอสพี

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายคลอเรลลาเอสพี ทำได้โดยเก็บสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์ กรองด้วยผ้ากรอง นำสาหร่ายเปียกที่ได้จากการกรองแช่แข็ง 1 วัน ถึงนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งโดยทำให้น้ำเปลี่ยนสถานะเป็นผลึกน้ำแข็งก่อน แล้วจึงลดความดันเพื่อให้ผลึกน้ำแข็งระเหิด (sublimation) เป็นไอ ด้วยการลดความดันให้ต่ำกว่าบรรยากาศปกติ ขณะควบคุมให้อุณหภูมิต่ำ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2554)

ตารางที่ 4.1 แสดงตัวอย่างปริมาณสาหร่ายแห้ง

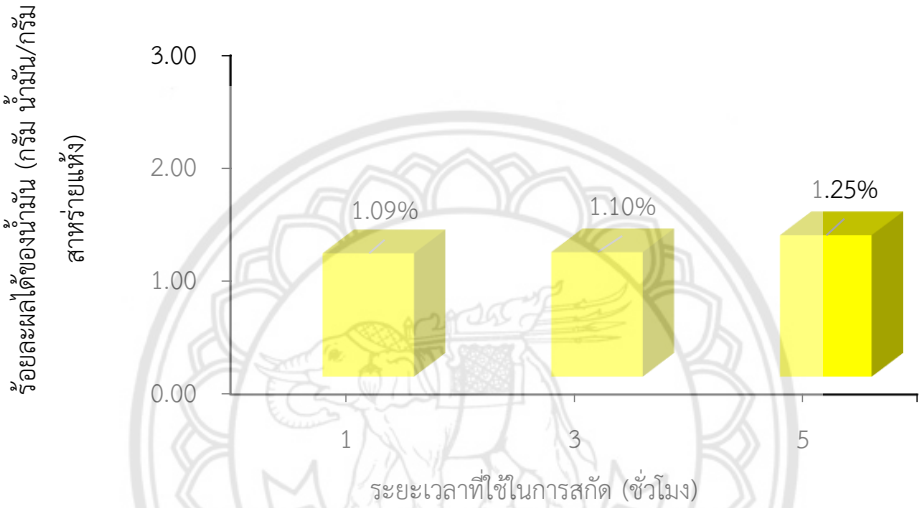
ปริมาณน้ำสาหร่าย (ลิตร)	ปริมาณสารตกตะกอน PAC (กรัม)	ปริมาณสาหร่ายหลังกรอง (กรัม)	ปริมาณสาหร่ายแห้งหลัง Freeze dry 3 ครั้ง (กรัม)
20	-	84.5	3.52
20	4	108	9.15
30	6	280	16.23

จากตารางที่ 4.1 พบว่า ปริมาณน้ำสาหร่าย 20 ลิตร โดยที่คณะผู้จัดทำไม่ใช้สารตกตะกอน ได้ปริมาณสาหร่ายแห้งเท่ากับ 3.52 กรัม ในขณะที่ผู้จัดทำใช้ปริมาณน้ำสาหร่ายเท่ากัน แต่ใช้สารตกตะกอนปริมาณ 4 กรัม ช่วยให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวได้มากขึ้น และทำให้สามารถกรองปริมาณสาหร่ายได้มากขึ้น ส่งผลให้ได้ปริมาณสาหร่ายแห้งเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มจาก 3.52 กรัม เป็น 9.15 กรัม เนื่องจากใช้สารโพลีอลูมิเนียมคลอไรด์ PAC ($Al_2OH_nCl_{6n}$) เป็นสารตกตะกอน มีคุณสมบัติทำให้สารแขวนลอย หรืออนุภาคคอลลอยด์ที่ละลายอยู่ในน้ำจับตัวกันเป็นก้อนได้ดี เนื่องจากมีประจุไฟฟ้าบวก มีคุณสมบัติสูงในการจับตัวสารแขวนลอยที่เป็นประจุลบ และมีเสถียรภาพมาก ทำให้สารแขวนลอยมีขนาดใหญ่ขึ้น และตกตะกอนอย่างรวดเร็ว เป็นสารเร่งการตกตะกอนที่มีประสิทธิภาพสูง

สามารถใช้ได้ในน้ำที่มีช่วงค่า pH และอุณหภูมิ กว้างกว่าการใช้สารส้ม เหลืออลูมิเนียมตกค้างน้อย (Chemiall Co.,Ltd., 2019)

4.2 ศึกษาผลของระยะเวลาในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน

ศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดน้ำมัน โดยศึกษาที่ช่วง 1 ถึง 5 ชั่วโมง โดยควบคุมความดันที่ 9 บาร์ อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของสาหร่ายแห้งต่อสารทำความเย็น 1 ต่อ 10 และใช้ปริมาณสาหร่ายแห้ง 5 กรัม แสดงผลการทดลองดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละผลได้ของน้ำมัน และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด

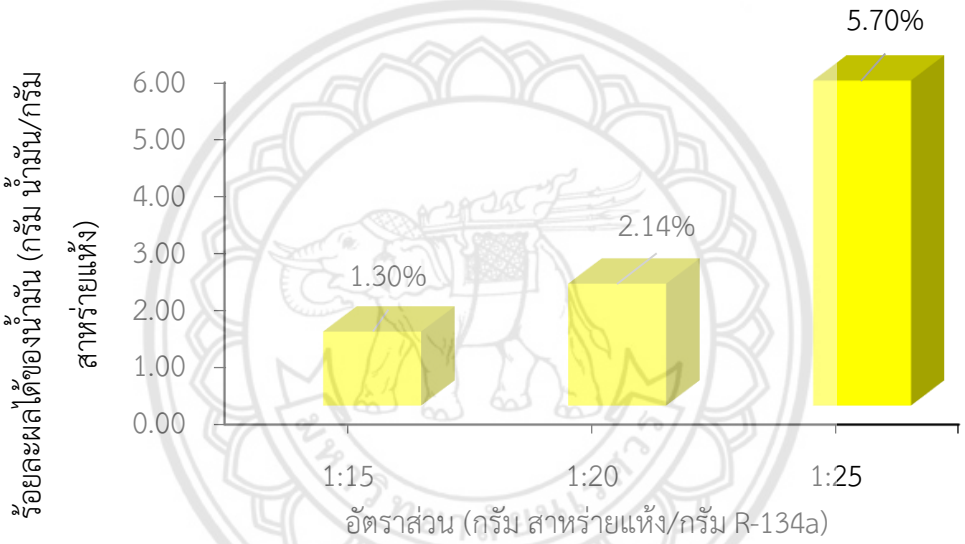
จากรูปที่ 4.1 พบว่า ในเวลา 1 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำมัน 54.77 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 1.09 เวลา 3 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำมัน 55 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 1.10 เวลา 5 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำมัน 62.5 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 1.25

การเพิ่มระยะเวลาในการสกัดทำให้ได้ปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้น (Prakash Binnal et al., 2557) จากผลการทดลองที่ได้สามารถนำมาวิเคราะห์ประสิทธิภาพการสกัดที่ดีขึ้น เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการสกัดนาน ทำให้การสัมผัสระหว่างสารทำความเย็น R-134a และเซลล์สาหร่ายแห้งเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ตัวทำละลายมีเวลาเพียงพอสำหรับการนำน้ำมันออกจากเซลล์สาหร่ายแห้ง (Xiao Sui et al., 2558, Maja Dent et al., 2556) ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดได้ปริมาณน้ำมันที่มากที่สุด คือ 5 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ 1 ถึง 5 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำมันที่ใกล้เคียงกันโดยไม่มีนัยสำคัญ

คณะผู้จัดทำจึงเลือกระยะเวลาสกัดที่ 5 ชั่วโมง เพื่อความมั่นใจว่าเข้าสู่สมดุลและเป็นไปตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย

4.3 ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของสาหร่ายแห้งต่อสารทำความเย็นในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน

ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของสาหร่ายแห้งต่อสารทำความเย็นในการสกัดน้ำมัน โดยศึกษาที่ช่วง 1 ต่อ 15 1 ต่อ 20 และ 1 ต่อ 25 โดยควบคุมความดันที่ 9 บาร์ เวลา 5 ชั่วโมง และปริมาณสาหร่ายแห้ง 5 กรัม แสดงผลการทดลองดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละผลได้ของน้ำมัน และอัตราส่วนน้ำหนักสาหร่ายแห้งต่อตัวทำละลาย R-134a ที่ใช้ในการสกัด

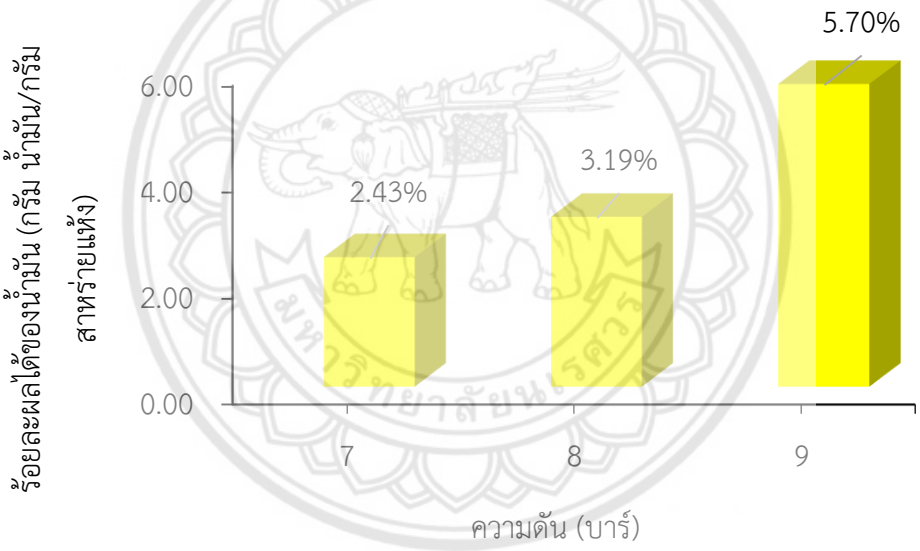
จากรูปที่ 4.2 พบว่า อัตราส่วน 1 ต่อ 15 ได้ปริมาณน้ำมัน 65 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 1.30 อัตราส่วน 1 ต่อ 20 ได้ปริมาณน้ำมัน 107.20 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 2.14 อัตราส่วน 1 ต่อ 25 ได้ปริมาณน้ำมัน 285 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 5.70

การเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อน้ำหนักสาหร่ายแห้ง เป็นการเพิ่มปริมาณตัวทำละลายมากขึ้น ทำให้สามารถสกัดน้ำมันออกมาได้มากขึ้น เพราะน้ำมันจะแพร่ออกมาจากสาหร่ายที่อิ่มตัวด้วยสารทำความเย็นไปยังเฟสของสารทำความเย็น ซึ่งแพร่จากบริเวณที่มีความเข้มข้นของสารสูงไปสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นของสารต่ำ (วรัญญา วงษ์วานิช และกิตติชัย บรรจง, 2559) เมื่อเพิ่มปริมาณ

สารทำความเย็นมากขึ้น ในขณะที่ปริมาณน้ำหนักสาหร่ายแห้งเท่าเดิม จะเกิดการแพร่ของน้ำมันออกมาเรื่อยๆ จนกว่าสภาวะที่ความเข้มข้นของน้ำมันที่อยู่ภายในเซลล์สาหร่ายเท่ากับความเข้มข้นน้ำมันที่อยู่ในสารทำความเย็น เรียกสภาวะนี้ว่า สมดุลการแพร่ (ชฎารัตน์ ฝั้นคำสาย, 2555) จากกราฟจะเห็นได้ว่า ในการทดลองของคณะผู้จัดทำยังไม่ถึงสภาวะนี้เพราะยังคงมีปริมาณน้ำมันที่เพิ่มขึ้นอยู่

4.4 ศึกษาผลของความดันในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน

ศึกษาความดันที่ใช้ในการสกัดน้ำมัน โดยศึกษาที่ช่วง 7 ถึง 9 บาร์ โดยควบคุมเวลาที่ 5 ชั่วโมง อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของสาหร่ายแห้งต่อสารทำความเย็น 1 ต่อ 25 และปริมาณสาหร่ายแห้ง 5 กรัม แสดงผลการทดลองดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละผลได้ของน้ำมัน และความดันที่ใช้ในการสกัด

จากรูปที่ 4.3 พบว่า ความดันที่ 7 บาร์ ได้ปริมาณน้ำมัน 121.40 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 2.43 ความดันที่ 8 บาร์ ได้ปริมาณน้ำมัน 159.50 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 3.19 ความดันที่ 9 บาร์ ได้ปริมาณน้ำมัน 285 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 5.7

เมื่อเพิ่มความดันมากขึ้นจะทำให้ผนังเซลล์สาหร่ายถูกทำลายหรือแตกมากขึ้น รวมถึงทำให้ความหนาแน่นของตัวทำละลาย R-134a เพิ่มขึ้น ในขณะที่ความหนาแน่นของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น

ปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของตัวละลายก็เพิ่มขึ้นเช่นกัน เป็นผลทำให้น้ำมัน และตัวทำละลายสามารถละลายเข้ากันได้ดี ส่งผลทำให้สกัดน้ำมันได้ปริมาณมากขึ้น (Machmudah et al., 2550) ซึ่งเป็นไปตามแนวโน้มของงานวิจัยของ A.N. Mustapaac และคณะ อย่างไรก็ตาม ปริมาณน้ำมันที่ได้เมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่นๆที่ศึกษายังคงน้อยกว่า เนื่องจากอุปกรณ์ของคณะผู้จัดทำมีข้อจำกัดเรื่องความดัน ซึ่งไม่สามารถสกัดได้เกิน 10 บาร์ ทำให้คณะผู้จัดทำไม่สามารถเพิ่มความดันที่สูงกว่านี้ได้ ส่งผลให้ผนังเซลล์สาหร่ายอาจจะไม่ถูกทำลายหรือแตกทั้งหมด

4.5 เปรียบเทียบผลของการสกัดระหว่างวิธีการสกัดด้วยความดันต่ำ และวิธีการสกัดด้วยซอกห์เลต

ศึกษาการเปรียบเทียบการสกัดวิธีการสกัดด้วยวิธี Low pressure compression และวิธีการสกัดด้วยซอกห์เลต โดยใช้ตัวทำละลายชนิด เฮกเซน (นากานต์ เร่งเพียร, 2557) และสารทำความเย็น R-134a ตามลำดับ ต่อปริมาณสาหร่ายแห้ง 5 กรัม

ตารางที่ 4.2 แสดงการเปรียบวิธีการสกัดด้วยความดันต่ำและวิธีการสกัดด้วยซอกห์เลต

วิธีการสกัด	ชนิดตัวทำละลาย	ปริมาณตัวทำละลาย (กรัม)	ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (ชั่วโมง)	ความดัน (บาร์)	ปริมาณน้ำมัน (มิลลิกรัม)	ร้อยละผลได้ของน้ำมัน
ความดันต่ำ	R-134a	125.00	5	9	285	5.70
ซอกห์เลต	เฮกเซน	163.75	10	-	175.67	3.51

จากผลการทดลองดังตารางที่ 4.2 การสกัดด้วยวิธี Low pressure compression ที่สภาวะที่ดีที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ โดยใช้ตัวทำลายชนิด R-134a ปริมาณ 125 กรัม ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด 5 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำมัน 285 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 5.7 การสกัดด้วยซอกห์เลต ใช้ตัวทำลายชนิดเฮกเซนปริมาณ 163.75 กรัม ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด 10 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำมัน 175.67 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 5 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของน้ำมันเท่ากับ 3.51 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการสกัดด้วยวิธี Low pressure compression และวิธีการสกัดด้วยซอกห์เลต

การสกัดด้วยวิธี Low pressure compression มีความได้เปรียบกว่า คือ เป็นวิธีการเพิ่มความดันเพื่อช่วยให้ผนังเซลล์สาหร่ายถูกทำลาย หรือแตกออก และเพิ่มความสามารถให้ตัวทำละลาย R-134a สามารถเข้าสู่รูพรุน (Be'atrice & Philippe., 2545) ของเซลล์สาหร่ายเพื่อสกัดนำน้ำมันออกมาได้ง่าย ใช้ระยะเวลาในสกัดน้อยลง ใช้ปริมาณตัวทำละลายในการสกัดน้อยกว่า รวมถึงช่วยลดขั้นตอนการแยกน้ำมันที่ได้กับสารละลายที่ใช้สกัดได้ง่าย รวดเร็ว และได้ปริมาณน้ำมันมากกว่าวิธีการสกัดด้วยซอกห์เลต เนื่องมาจากสาหร่ายมีผนังเซลล์ค่อนข้างหนา ต้องมีกระบวนการทำลายผนังเซลล์สาหร่าย เพื่อให้ได้ผลการสกัดที่ดีขึ้น (Natalia Kakko et al., 2559) ส่วนการสกัดด้วยวิธีซอกห์เลตเป็นวิธีการสกัดโดยให้ความร้อนแก่ตัวทำละลายเฮกเซน ให้ระเหยไปแล้วควบแน่นลงมาสกัดน้ำมันในสาหร่าย ไหลลงสู่ด้านล่าง ซ้ำไปมาอย่างต่อเนื่อง จนกระบวนการสกัดเสร็จสมบูรณ์ (อรวรรณ สัมฤทธิ์เดชขจร, 2553) จึงทำให้ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน และใช้ปริมาณตัวทำละลายมาก รวมถึงต้องมีขั้นตอนการแยกน้ำมัน และตัวทำละลายออกจากกัน ทำให้สิ้นเปลืองเวลา และค่าใช้จ่ายในส่วนนี้

อย่างไรก็ตาม การนำสาหร่ายมาสกัดน้ำมันจำเป็นต้องมีการควบคุมสภาวะการเลี้ยงสาหร่าย เพราะการเลี้ยงสาหร่ายมีความสำคัญต่อปริมาณน้ำมันมาก ซึ่งมีหลายปัจจัยที่ส่งผลโดยตรง เช่น ความเข้มของแสง อุณหภูมิ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ และอื่นๆ สำหรับงานวิจัยนี้ปริมาณน้ำมันจากสาหร่ายที่สกัดได้ยังคงมีปริมาณที่น้อย เมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่นๆที่ศึกษา และยังไม่เพียงพอต่อการนำไปผลิตเป็นไบโอดีเซล เพื่อเป็นพลังงานทดแทน คณะผู้จัดทำจึงเล็งเห็นว่าปริมาณน้ำมันจากสาหร่ายที่สกัดได้ สามารถนำไปวิเคราะห์หาสารสำคัญที่อยู่ในน้ำมัน อาทิ เช่น กรดไขมันไลโนเลนิกเป็นกรดไขมันที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย แต่ไม่สามารถสังเคราะห์ได้โดยมนุษย์ ซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ทั้งในด้านโภชนาการ เภสัชศาสตร์ และอุตสาหกรรมความงาม

บทที่ 5
บทสรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการสกัดน้ำมันสาหร่ายน้ำจืดสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี ด้วยการใช้สารทำความเย็น R-134a เป็นตัวทำละลาย เพื่อหาเงื่อนไขที่ดีที่สุด การสกัดด้วยวิธี Low pressure compression พบว่า การใช้สาหร่ายแห้งปริมาณ 5 กรัม ในการทดลอง สภาวะที่ดีที่สุดในงานวิจัยนี้ คือระยะเวลาการดำเนินการสกัดที่ 5 ชั่วโมง ที่ความดัน 9 บาร์ อัตราส่วนน้ำหนักสาหร่ายแห้งต่อน้ำหนักตัวทำละลาย 1 ต่อ 25 ให้ปริมาณน้ำมันสูงสุด 285 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 5.70 โดยน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยซอกห์เลต โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายแล้ว ในเรื่องของปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และการใช้พลังงาน การสกัดด้วยวิธี Low pressure compression มีความได้เปรียบกว่าทุกด้าน และได้ปริมาณน้ำมันมากกว่าวิธีการสกัดด้วยซอกห์เลต

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย และควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้เหมาะสม เพื่อให้ได้สาหร่ายที่มีปริมาณน้ำมันที่เพียงพอต่อการนำมาดำเนินการสกัด

5.2.2 การทดลองควรเพิ่มปริมาณสาหร่ายแห้งในการสกัดเป็น 10 กรัม เนื่องจากปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัดโดยใช้สาหร่ายแห้งเพียง 5 กรัมนั้น มีปริมาณน้อยจนแทบไม่สามารถนำออกจากภาชนะที่ลองรับไปสู่ภาชนะบรรจุอื่นได้

5.2.3 การทดลองขั้นตอนการเติมสารทำความเย็นในเครื่องมือการสกัด วัดปริมาณโดยใช้เครื่องชั่งในการชั่งสารทำความเย็นที่เข้าสู่เครื่องสกัดตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้ แต่ด้วยเครื่องชั่งต้องใช้เวลาสักระยะหนึ่งที่จะคงที่ อาจทำให้การเติมสารทำความเย็นเกิดความคาดเคลื่อนไปจากน้ำหนักจริงได้ ควรใช้เครื่องชั่งที่มีขนาดมากกว่า 4 กิโลกรัม

5.2.4 การทดลองวัดหาปริมาณของน้ำมันจากการสกัดด้วยเครื่องชั่ง ควรศึกษาการอบเพื่อกำจัดความชื้นออกจากน้ำมันก่อนทำการวัดหาปริมาณน้ำมัน เนื่องจากสารทำความเย็น R-134a ที่ถูกใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัด ที่ความดันบรรยากาศจะทำให้เกิดน้ำแข็งเกาะบริเวณโดยรอบภาชนะที่รองรับน้ำมันจากการสกัด ส่งผลให้อาจเกิดความชื้นภายในภาชนะยังคงหลงเหลืออยู่

5.2.5 เนื่องจากปริมาณน้ำมันจากการสกัดด้วยวิธี Low pressure compression ได้ปริมาณน้ำมันออกมาน้อย อาจจะไม่มีความคุ้มค่าที่จะใช้เป็นเชื้อเพลิง หากในการศึกษาต่อไปควรนำน้ำมันที่ได้จากการสกัดวิเคราะห์หาองค์ประกอบภายในเพื่อหาสารสำคัญ คือ ปริมาณกรดไขมันที่มีมูลค่าสูง เช่น กรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 โอเมก้า 6 และรงควัตถุ เช่น แคโรทีนอยด์ที่มีสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง

เอกสารอ้างอิง

กฤษณา ชุติมา. (2535). **สารอาหาร และองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายทะเล.** ราชบัณฑิตยสถาน กองวิทยาศาสตร์ สำนักวิทยาศาสตร์. ปีที่ 17 ฉบับที่ 4, 73-83

ชนารัตน์ ฝั้นคำสาย. (2555). **การแพร่ (Diffusion)**. สืบค้นเมื่อ 13 พฤษภาคม 2562, จาก https://kwangbabyhood.wordpress.com

นากานต์ เร่งเพียร. (2557). **การสกัดน้ำมันจาก Chlorella vulgaris โดยใช้อัลตราซาวด์** วิศวกรรมศาสตร์ มหาบัณฑิต. วิศวกรรมส่งแวดล้อม, คณะวิศวกรรมศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นฤตษวรรณ สัญญาโณ. (2556). **การเก็บเกี่ยวและผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก.** วิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต. วิศวกรรมเคมี, คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ประหยัด โภคฐิติยุกต์. (2550). **การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย**. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล.

พนิดา รัตนพลที. (2552). **การประยุกต์ใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อผลิตไบโอดีเซล.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พัชรี บุญศิริ, เปรมใจ อารีจิตรานุสรณ์ และอุบล ชาอ่อน. (2551). **ตำราชีวเคมี.** (พิมพ์ครั้งที่ 5). ขอนแก่น: คลังนานาวิทยา.

พิทักษ์ สูตอนันต์. (2552). **ชีวเคมีทั่วไป.** ชลบุรี: สานักพิมพ์มหาวิทยาลัยบูรพา.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2554). **Freeze drying.** สืบค้นเมื่อ 29 พฤษภาคม 2562, จาก www.foodnetworksolution.com

ยุวดี พีรพรพิศาล. (2546). **สาหร่ายวิทยา.** ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

วัชระ เวียงแก้ว. (2552). **การสกัดน้ำมันจากจุลสาหร่าย.** วิศวกรรมเคมี. คณะวิศวกรรมศาสตร์. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องค์รักษ์.

วรัญญา วงศ์วานิช และกิตติชัย บรรจง. (2559). **ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยวิธีการแช่ และการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด.** วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. คณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.

ศุภศิษฐ์ อรุณรุ่งสวัสดิ์. (2541). **ชีวเคมีพื้นฐาน.** กรุงเทพฯ: พิมพ์ท๊อป,

อมรรัตน์ รังสิวิวัตน์, สมศักดิ์ ระยัน, สุกัญญา คำหล้า, พิพิตชัย เฒ่าอุดม และนัยนา เสนาศรี. (2556). **ศึกษาการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายท้องถิ่นในแหล่งน้ำหนองหาร จังหวัดสกลนคร.** คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร.

อรวรรณ สัมฤทธิ์เดชขจร. (ตุลาคม 2553). **เชื้อเพลิงจากสาหร่าย.** ศูนย์เทคโนโลยีโลหะ และวัสดุแห่งชาติ, 32.

อาภารัตน์ มหาขันธ์. (2547). **สาหร่ายมากคุณค่า โอชารส.** ศูนย์จุลินทรีย์ (ศจล.). สถาบันวิจัย วิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีแห่งประเทศไทย(วว), จังหวัดประทุมธานี

A.N.Mustapaa, Z.A.Manana, C.Y.Mohd Azizia, N.A.Nik Norulainib and A.K. MohdOmarb. (2552). **Effects of parameters on yield for sub-critical R134a extraction of palm oil**. 606-616, Malaysia: International Society of Food Engineering (ISFE),

Albert, C. M., & Hennekens, (2541). **C. H. Fish consumption and risk of sudden cardiac death.** JAMA, 279 (1), 23 - 28

Amarni, F., and Kadi, H. (2553). **Kinetics study of microwave-assisted solvent extraction of oil from olive cake using hexane: comparison with the conventional extraction.** Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 11, 322–327.

Be'atrice Kaufmann and Philippe Christen. (2545). **Recent Extraction Techniques for Natural Products: Microwave-assisted Extraction and Pressurised Solvent Extraction**, 105-113, Switzerland: John Wiley & Sons, Ltd,

Becker E.W. (2537). **Microalgae biotechnology and microbiology.** New York: Cambridge University Press,

Budi Wiyarno, R.M. Yunus and Maizirwan Mel. (2554). **Extraction of Algae Oil from Nannocloropsis sp: A Study of Soxhlet and Ultrasonic-Assisted Extractions**. 3607- 3612, Malaysia: Asian Network for Scientific Information

Chalermpol Loyratn. (2559). **โอเมก้า3 (Omega-3)**: Common Let's have good health, สืบค้นเมื่อ 10 พฤศจิกายน 2561 จาก https://healthgossip.co/what-is-omega-3/

Chemat, F., Zill, E. H., and Khan, M. K. (2554). **Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction.** Ultrason. Sonochem. 18, 813–835.

Chemiall Co.,Ltd. (2562). **Poly Aluminium Chloride – PAC.** CHEMIALL COMPANY LIMITED, สืบค้นเมื่อ 30 พฤษภาคม 2562 จาก http://www.chemiall.com

Demirbas, A. (2552). **Production of biodiesel from algae oils**. Energ. Source 31, 163–168.

Editor.engineeringtoolbox. (2550). **Refrigerants - Temperature and Pressure at Constant Boiling.** : The Engineering Tool Box,. สืบค้นเมื่อ 17 พฤศจิกายน 2561 จาก https://www.engineeringtoolbox.com/constant-boiling-refrigerants-d_1184.html

Haidy S. Basily, Mamdouh M. Nassar, Guzine I. El Diwani and Sanaa A. Abo El-Enin. (2561). **Extraction of algal lipid as a natural cosmetic component.** 13-20, Egypt: Wolters Kluwer - Medknow,

Hideki Kanda and Peng Li. (2554) **Simple extraction method of green crude from natural blue-green microalgae by dimethyl ether**: Extraction efficiency on several species compared to the Bligh-Dyer's method. 1264-1266

James W. Elkins. David E. Alexander and Rhodes W. Fairbridge. (2542). **Halocarbons and other Atmospheric Trace Gases**, Chlorofluorocarbons (CFCs), 78-80, Boston: The Chapman & Hall Encyclopedia of Environment Science.

Jena, J. (2555). **Microalgae of odisha coast as a potential source for biodiesel production**. Institute of Minerals and Materials Technology. 2: 11-16

Jasen Neese and Steve Oravetz. (2541). **Replacing Chlorofluorocarbon Refrigerants. Technology & Development Program**. Engineering.

Kim, J., and Yoo, G. **Methods of downstream processing for the production of biodiesel from microalgae.** Biotechnol Advance. 31, 862–876.

King MB and Bott TR. (2536). **Extraction of Natural Products using Near-Critical Solvent**. London: Blackie

Kiyoshi Sakuragi, Nobuo Aoki, Maromu Otaka, Hisao Makino and Peng Li. (2559). **Oil recovery from wet Euglena gracilis by shaking with liquefied dimethyl ether**. Fuel Processing Technology, 184-187.

Lee Ml and Markides KE. (2533). **Analytical Supercritical Fluid Chromatography and Extraction.** Provo: Chromatography Conferences

Lee, J. Y., Yoo, C., Jun, S. Y., Ahn, C. Y., and Oh, H. M. (2553). **Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae.** Bioresour. Technol. 101, 75–77.

Machmudah, S., Kawahito, Y., Sasaki, M., Goto, M., (2560). **Supercritical and process optimization**. Journal of supercritical fluids. 20, 45-53

Maja Dent, Verica Dragovic-Uzelac, Marija Penic, Mladen Brn~ic, Tomislav Bosiljkov and Branka Levaj. (2556). **The Effect of Extraction Solvents, Temperature and Time on the Composition and Mass Fraction of Polyphenols in Dalmatian Wild Sage (Salvia officinalis L.) Extracts**. Polyphenols from Dalmatian Wild Sage, Food Technol. Biotechnol. 51 (1) 84–91

Mata, T.M., Martins, A.A., and Caetano, N.S. (2553). **Microalgae for biodiesel production and other applications**: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 14. 217–232.

Natalia Kakko, Nicoletta Ivanova and Anssi Rantasalo. (2559). **Cell disruption methods.** Bioprocess Technology II, 3-14

Natural field. (2553). **Chlorella powder**. China: Natural Bio-Technology Co., Ltd, สืบค้นเมื่อ 17 พฤศจิกายน 2561 จาก http://th.nfnatural.com/super-foods/chlorella-powder-tablet-for-keep-health.html

Nickolas J. Themelis. (2545). **Comparsion of Environmental Impacts and Physical Properties of Refrigerants.** Earth and environmental engineering. Engineering. Columbia University

Nurfarahanim Abdullah, Nur Amelia Amran and Nur Hidayah Mat Yasin. (2560). **Algae Oil Extraction from Freshwater Microalgae Chlorella vulgaris**, 735 - 744, Malaysian: Malaysian Analytical Sciences Society

P. Nirguna Babu, Raviteja M V, Prakash Binnal and Shithil Bangera, Aswini S. (July 2557). **Subcritical Extraction of Turmeric oil in a pilot plant Unit using R134a**, International Journal of Natural Products Research, 77-81.

Prafulla D. Patila, Kodanda Phani Raj Dandamudi, Jun Wanga, Qiang Denga, Shuguang Deng. (2561). **Extraction of bio-oils from algae with supercritical carbon dioxide and co-solvents**, The Journal of Supercritical Fluids, China, 60-68

Ramasamy Sakthivel, Sanniyasi Elumalai and M. Mohommad arif. (2554). **Microalgae lipid research**, past, present: A critical review for biodiesel production, in the future, 29-49, India: Experimental Sciences

Ranjan, A., Patil, C., and Moholkar, V. S. (2553). **Mechanistic assessment of microalgal lipid extraction.** Ind. Eng. Chem. Res. 49, 2979–2985.

Satnarain. **R134a Refrigerant Gas**. Delhi, India: indiamart, 2558. สืบค้นเมื่อ 17 พฤศจิกายน 2561 จาก https://www.agassouthafrica.com/products-and-solutions/products-refrigerants/hfcs/r134a/

Sigma-Aldrich is now Merck. **Arachidonic Acid**. Singapore: Sigma-Aldrich Pte. Ltd. Ltd., 2561. สืบค้นเมื่อ 17 พฤศจิกายน 2561 จาก https://www.sigmaaldrich.com

Sigma-Aldrich is now Merck. **Linoleic acid**. Singapore: Sigma-Aldrich Pte. Ltd. Ltd., 2561. สืบค้นเมื่อ 17 พฤศจิกายน 2561 จาก https://www.sigmaaldrich.com

Sigma-Aldrich is now Merck. **Linolenic Acid**. Singapore: Sigma-Aldrich Pte. Ltd. Ltd., 2561. สืบค้นเมื่อ 17 พฤศจิกายน 2561 จาก https://www.sigmaaldrich.com

Sigma-Aldrich is now Merck. **Oleic Acid**. Singapore: Sigma-Aldrich Pte. Ltd. Ltd., 2561. สืบค้นเมื่อ 17 พฤศจิกายน 2561 จาก https://www.sigmaaldrich.com

Sostaric, M., Klinar, D., Bricelj, M., Golob, J., Berovic, M., and Likozar, B. Growth, (2555) **lipid extraction and thermal degradation of the microalga Chlorella vulgaris.** N. Biotechnol. 29, 325–331.

Stuart Corr. (2548). **1,1,1,2-Tetrafluoroethane (R-134a): A Selective Solvent for the Generation of Flavor and Fragrance Ingredients.** Technology and engineering Group, Runcorn Technical Centre, The Health. Runcorn, United Kingdom

Suganya, T. and Renganathan, S. (2555). **Optimization and kinetic studies on algae oil extraction from marine macroalgae Ulvalactuca**. Bioresources Technology, 107: 319 – 326.

Westwood SA. (2536). **Supercritical Fluid Extraction and its Use in Chromatographic Sample Preparation.** London: Blackie

Xiao Sui, Rongyan Yue, Lan Wang, Yuqian Han. (2558). **Process Optimization of Astaxanthin Extraction from Antarctic kill (Euphausia superba) by subcritical R1 3 4 a.** 3rd International Conference on Material, Mechanical and Manufacturing Engineering, China

Yoo, G., Park, W. K., Kim, C. W., Choi, Y. E., and Yang, J. W. (2555). **Direct lipid extraction from wet Chlamydomonas reinhardtii biomass using osmotic shock.** Bioresour. Technol, 717-722.

Yusuf Chisti. (May 2550). **biodiesel from microalgae.** J. Biotechnology Advances, 294-306.

ภาคผนวก ก

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายและการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

1. ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

(ก)

(ข)

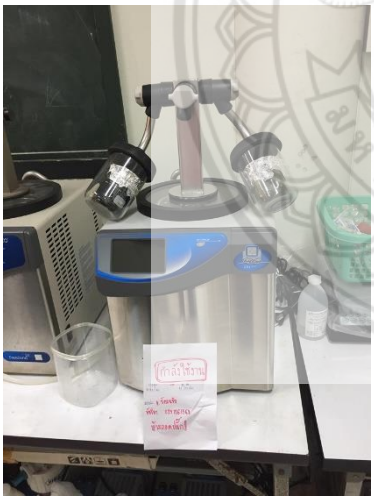
(ค)

รูปที่ ก.1 การขยายสาหร่ายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี (ก) สาหร่าย 1 สัปดาห์ (ข) สาหร่าย 2 สัปดาห์ (ค) สาหร่าย 3 สัปดาห์

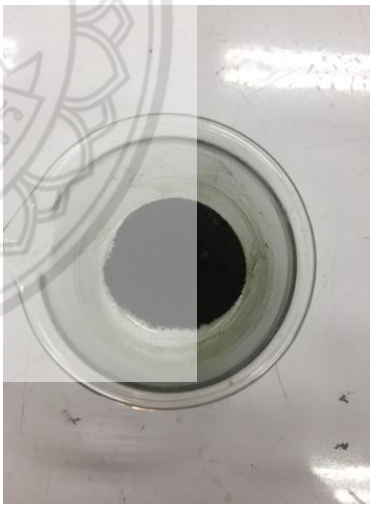
2. ขั้นตอนการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

(ก)

(ข)



(ค)



(ง)

รูปที่ ก.2 การเก็บเกี่ยวสาหร่ายสายพันธุ์คลอเรลลาเอสพี (ก) การกรองสาหร่าย (ข) สาหร่ายหลังกรอง (ค) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) (ง) สาหร่ายหลังทำแบบแช่เยือกแข็ง

ภาคผนวก ข

การสกัดด้วยวิธี Low pressure compression

1. ขั้นตอนการทดลองการสกัดด้วยวิธี Low pressure compression

1.1 เตรียมสาหร่ายแห้งปริมาณ 5 กรัม ในหลอดกระดาษกรอง

1.2 เติมตัวทำละลาย สารทำความเย็น R-134a จากนั้นสกัดในเครื่องสกัดด้วยวิธี Low pressure compression

1.3 น้ำมันจากสกัดที่ได้ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วจึงวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมัน

ตารางที่ ข.1 แสดงข้อมูลดิบร้อยละผลได้ของน้ำมันจากการสกัดด้วยวิธี Low pressure compression

ความดัน (บาร์)	น้ำหนักสาหร่าย (กรัม)	อัตราส่วน	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาตร R-134a ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำมัน (มิลลิกรัม)	ร้อยละผลได้ของน้ำมัน
9	5	1:10	1	43.03	54.77	1.10
			3		55.00	1.10
			5		62.50	1.25
9	5	1:15	5	64.54	65.00	1.30
		1:20		86.06	107.20	2.14
		1:25		107.57	285.00	5.70
7	5	1:25	5	107.57	121.40	2.43
8					159.50	3.19
9					285.00	5.70

รูปที่ ข.1 น้ำมันจากการสกัดด้วยวิธี Low pressure compression

ภาคผนวก ค

การสกัดด้วยซอกห์เลต

1. ขั้นตอนการทดลอง

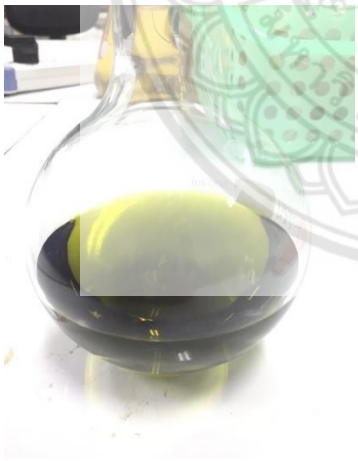
1.1 เตรียมสาหร่ายแห้งปริมาณ 5 กรัม ในหลอดกระดาษกรอง

1.2 เตรียมเฮกเซนปริมาณ 250 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลม ประกอบอุปกรณ์ ใช้เวลาสกัด 10 ชั่วโมง

1.3 ระเหยด้วยเครื่องระเหยชนิดสุญญากาศ (Vacuum evaporator)

(ก)

(ข)



(ค)

(ง)

รูปที่ ค.1 การสกัดด้วยซอกห์เลต (ก) สาหร่ายแห้ง 5 กรัม (ข) สกัดด้วยซอกห์เลต 10 ชั่วโมง (ค) น้ำมันละลายในเฮกเซน (ง) ระเหยเฮกเซน

รูปที่ ค.2 น้ำมันหลังระเหยเฮกเซน

ตารางที่ ค.1 แสดงข้อมูลดิบร้อยละผลได้ของน้ำมันจากการสกัดด้วยซอกห์เลต

ครั้งที่	**ปริมาณสาหร่าย (กรัม)**	**ปริมาณน้ำมัน (มิลลิกรัม)**	**ร้อยละผลได้ของน้ำมัน**
1	5	137	2.74
2		155	3.1
3		235	4.7
	เฉลี่ย	175.67	3.51