ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากสาหร่ายน้ำเค็ม *Chlorella* sp., *Spirulina* sp. และ *Chaetoceros* sp.

ภควรรณ เศรษฐมงคล[1*] เมธินี จามกระโทก[2] มะลิวัลย์ คุตะโค[1] และ วศิน ยุวนะเตมีย์[1]

Optimization of organic solvent for lipid extraction from marine microalgae, *Chlorella* sp., *Spirulina* sp. and *Chaetoceros* sp.

Pakawan Setthamongkol[1*], Matinee Jamkratoke[2], Maliwan Kutako[1] and Vasin Yuvanatemiya[1]

[1]คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี [2]คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

[1]Faculty of Marine Technology, Burapha University Chanthaburi Campus

[2]Faculty of Science & Arts, Burapha University Chanthaburi Campus

*Corresponding author E-mail : pakawan-p@buu.ac.th (P. Setthamongkol)

บทคัดย่อ

ไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นหนึ่งในพลังงานทางเลือกที่กำลังได้รับความสนใจ งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาชนิดตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับสกัดไขมันจากสาหร่ายน้ำเค็ม *Spirulina* sp., *Chlorella* sp. และ *Chaetoceros* sp. เพื่อคัดเลือกตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับการสกัดไขมันจากสาหร่ายแต่ละชนิด โดยแตกเซลล์สาหร่ายด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ผลจากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางพัฒนาวิธีการสกัดไขมันจากสาหร่ายที่ใช้ระยะเวลา และปริมาณตัวทำละลายน้อยลง โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ผสม 3 รูปแบบ คือ (1) Hexane: Petroleum ether, (2) Hexane:Dichloromethane และ (3) Methanol:Chloroform ร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงและระเหยเพื่อลดปริมาตรตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน ผลการทดลองพบว่าตัวทำละลายอินทรีย์ผสมระหว่าง Methanol:Chloroform สามารถสกัดไขมันจากสาหร่ายทุกชนิดได้ดีที่สุด ส่วน Hexane:Dichloromethane และ Hexane:Petroleum ether มีประสิทธิภาพในการสกัดไขมันรองลงมาตามลำดับ เมื่อใช้ Methanol:Chloroform สกัดไขมัน พบว่าสาหร่าย *Spirulina* sp., *Chlorella* sp. และ *Chaetoceros* sp. มีปริมาณไขมันเท่ากับ 19.01+0.97, 10.11+0.84 และ 7.94+0.88 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ โดยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี One-Way Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

คำสำคัญ: สาหร่ายน้ำเค็ม การสกัดไขมัน ตัวทำละลายอินทรีย์

Abstract

Biodiesel from microalgae is the one of alternate interested energy source. In this research, various kinds of mixed organic solvents were tested for lipid extraction from marine microalgae including *Spirulina* sp., *Chlorella* sp. and *Chaetoceros* sp. to select the most effective of lipid extraction method from each of microalgae species. Of these, sonication has been used for microalgae cells disruption. The result of this research, it could be used to develop the process of lipid extraction to the high efficiency and also to reduce the time frame and volume of organic solvents. For this experiment, there were three lipid types of mixed organic solvents; (1) Hexane: Petroleum ether, (2) Hexane:Dichloromethane and (3) Methanol:Chloroform. For lipid extraction, cell was disrupted using ultrasonic bath and then solvent evaporate using a rotary evaporator. The highest efficient of lipid extraction from all microalgae species was found when using Methanol:Chloroform and followed with Hexane:Dichloromethane and Hexane:Petroleum ether, respectively. With Methanol:Chloroform, lipid content in *Spirulina* sp., *Chlorella* sp. and *Chaetoceros* sp. were 19.01+0.97, 10.11+0.84 and 7.94+0.88 %, respectively. Data of lipid content in microalgae was performed by One-Way Analysis of Variance (ANOVA) for a reliability of 95% ($p<0.05$).

Keywords : Marine Microalgae, Lipid Extraction, Organic Solvent

บทนำ

เนื่องจากน้ำมันปิโตรเลียมเป็นทรัพยากรที่มีอยู่อย่างจำกัดและกำลังลดจำนวนลงอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้น้ำมันมีราคาสูงขึ้น หลายฝ่ายจึงได้มุ่งเน้นหาแหล่งพลังงานทดแทน โดยพลังงานชีวภาพในรูปของไบโอดีเซลเป็นหนึ่งในพลังงานทางเลือกที่กำลังได้รับความสนใจ ไบโอดีเซลเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากน้ำมันของพืชและสัตว์ที่ทำปฏิกิริยา

กับแอลกอฮอล์ และผ่านกระบวนการทรานเอสเตอริฟิเคชัน (transesterification) ในสภาวะที่มีตัวเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสม เช่น กรด เบส หรือเอนไซม์ (Vicente *et al*, 2004) ปัจจุบันนี้ได้มีความพยายามในการพัฒนาวิธีการสกัดไขมันและค้นหาวัตถุดิบชนิดใหม่เพื่อใช้เป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลทดแทนการใช้วัตถุดิบทางการเกษตร เช่น ถั่วเหลือง อ้อย และปาล์ม เพราะพืชเหล่านี้อาจมีปริมาณไม่เพียงพอต่อการบริโภค นอกจากนี้การเติบโตของพืชบกยังขึ้นอยู่กับฤดูกาลและคุณภาพดิน (Teresa et al, 2010) สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) มีศักยภาพสำหรับนำมาใช้ประโยชน์หลายด้าน และที่สำคัญอีกด้านหนึ่งคือ สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอดีเซลได้ เนื่องจากสาหร่ายมีอัตราการเติบโตเร็วกว่าพืชบก และจากข้อมูลในหลายงานวิจัยได้รายงานว่าสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณไขมันในช่วง 20-50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (da Silva et al., 2009; Widjaja et al., 2009; Wahlen et al., 2011) อีกทั้งยังมีปริมาณซัลเฟอร์และสารอะโรมาติกน้อยกว่าน้ำมันจากปิโตรเลียม ดังนั้นน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กจึงเกิดก๊าซพิษในระหว่างการเผาไหม้ได้น้อยกว่าน้ำมันจากปิโตรเลียม (Dismukes *et al*, 2008) นอกจากนี้สาหร่ายยังสามารถตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศมาใช้ในการเติบโต สาหร่ายจึงมีบทบาทในการลดก๊าซเรือนกระจกได้อีกด้วย (Xu *et al*, 2006)

การสกัดไขมันจากสาหร่ายนิยมใช้ตัวทำละลาย คือ คลอโรฟอร์ม เฮกเซน เมททานอล เอทานอล และสารผสมระหว่างเฮกเซนกับเอทานอล ซึ่งคลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายพื้นฐานที่เหมาะสมที่สุดสำหรับสกัดไขมันจากสาหร่าย (Richmond, 2004) ถึงแม้ว่าคลอโรฟอร์มจะมีประสิทธิภาพในการสกัดไขมันได้ดีกว่าเฮกเซน แต่มีความเป็นพิษสูง อีกทั้งไขมันที่สกัดโดยใช้เฮกเซนนั้นจะมีความบริสุทธิ์สูงถึง 98 เปอร์เซ็นต์ (Amaro *et al*, 2011) ส่วนการใช้เมทานอลหรือเอทานอลมีข้อดีคือ ไม่จำเป็นต้องใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา (Warabi *et al*, 2004) อย่างไรก็ตาม การใช้ตัวทำละลายในการสกัดไขมันมีข้อเสีย คือ (1) ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน (2) สูญเสียแรงงานในการดำเนินการ (3) ตัวทำละลายมีความเป็นพิษจึงต้องหลีกเลี่ยงไอระเหยและการสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง (4) ประสิทธิภาพการสกัดไขมันสูงในสาหร่ายสายพันธุ์ที่มีผนังเซลล์บางเท่านั้น และ (5) ตัวทำละลายที่เหลือจากการสกัดไขมันอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้ (Lee et al., 1998; Govindarajan et al.,2009) แนวทางการสกัดไขมันจากสาหร่ายจึงได้พัฒนาขึ้นโดยเน้นกระบวนการสกัดที่ลดปริมาณตัวทำละลายและใช้เวลาดำเนินการน้อยลง เช่น วิธีการใช้ไมโครเวฟ คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonic) และการบีดอัดของเหลว (cavitation) (Teresa et al, 2010) ซึ่งการสกัดไขมันจากสาหร่ายโดยใช้คลื่นเสียงทำให้ได้ปริมาณไขมันมากกว่าวิธี Soxhlet (Cravotto *et al*, 2008: Sharma and Gupta, 2006) หรือการใช้เพียงตัวทำละลายอย่างเดียว (Wahlen *et al*, 2011; Converti *et al*, 2009) รวมทั้งมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ไมโครเวฟ (Cravotto et al., 2008) ดังนั้นการสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงจึงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดไขมันได้ เนื่องจากคลื่นความถี่สูงจะทำให้เซลล์สาหร่ายแตกได้ดีและยังช่วยลดระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาจึงป้องกันการเสื่อมสภาพของไขมันและกรดไขมันได้ (Teresa et al, 2010; Converti *et al*, 2009) ส่วนเศษเซลล์สาหร่ายที่เหลือจากการสกัดไขมันนี้ยังนำไปสกัดโปรตีน เอทานอล มีเทน เครื่องสำอาง ยา อาหารสัตว์และอาหารเสริมที่มีคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือใช้และลดของเสียได้อีกแนวทางหนึ่ง (Demirbas, 2011) ในการวิจัยนี้จึงได้ศึกษาวิธีการสกัดไขมันจากสาหร่ายน้ำเค็ม 3 ชนิด คือ *Spirulina* sp., *Chaetoceros* sp. และ *Chlorella* sp. โดยใช้ตัวทำละลายผสมที่ประกอบด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกันร่วมกับการใช้คลื่นความถี่สูง เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตให้สามารถสกัดไขมันได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพสำหรับใช้เป็นแนวทางในการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายในอนาคตได้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาชนิดตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับสกัดไขมันและศึกษาปริมาณไขมันจากสาหร่ายน้ำเค็มชนิด *Spirulina* sp., *Chaetoceros* sp. และ *Chlorella* sp.

วิธีการวิจัย

สาหร่ายที่ใช้ในการวิจัย

เพาะเลี้ยงสาหร่าย 3 ชนิด คือ *Spirulina* sp., *Chaetoceros* sp. และ *Chlorella* sp. ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมมาจากน้ำทะเลความเค็ม 25 พีเอสยู (ตารางที่ 1) เพาะเลี้ยงสาหร่ายภายใต้สภาวะที่ความเข้มแสง 3.0 Klux และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายตามวิธีการของลัดดา (2541) ด้วยวิธีการนับเซลล์ โดยสาหร่าย *Spirulina* sp. ใช้ Sedgwick-Rafter counting chamber ส่วนสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *Chlorella* sp. ใช้ Haemacytometer รวมทั้งวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของสาหร่ายตามวิธีของ Chu *et al.* (1996) เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) จึงเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) แล้วอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 1 รายละเอียดการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่นำมาใช้ในการวิจัย

ชนิดสาหร่าย	อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่าย
Spirulina sp.	สูตร F/2 (Guillard, 1975) ที่เติมโซเดียมคาร์บอเนต 16.8 กรัม/ลิตร
Chaetoceros sp.	สูตร F/2 (Guillard, 1975)
Chlorella sp.	สูตร F/2 (Guillard, 1975)

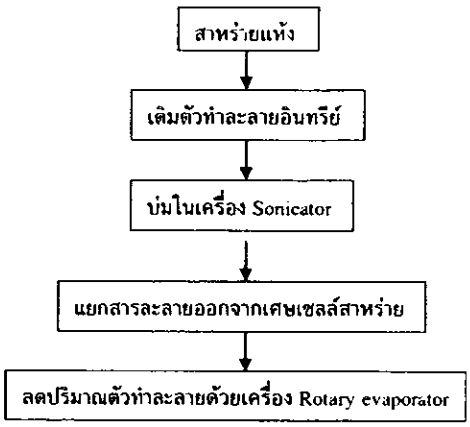
การสกัดไขมัน

ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองสกัดไขมันจากสาหร่ายแต่ละชนิดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ผสมที่เตรียมจากตัวทำละลายชนิดที่แตกต่างกัน 3 รูปแบบ คือ (1) Hexane:Petroleum ether (2) Hexane:Dichloromethane และ (3) Methanol:Chloroform ในอัตราส่วน 1 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ซึ่งแผนการทดลองแสดงดังตารางที่ 2 โดยแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

ตารางที่ 2 แผนการทดลองศึกษาตัวทำละลายอินทรีย์ผสมที่เหมาะสมสำหรับสกัดไขมันจากสาหร่าย

สาหร่าย	รูปแบบตัวทำละลายอินทรีย์ผสม		
	Hexane:Petroleum ether	Hexane:Dichloromethane	Methanol:Chloroform
Spirulina sp.	✓	✓	✓
Chaetoceros sp.	✓	✓	✓
Chlorella sp.	✓	✓	✓

ขั้นตอนการสกัดไขมันจากสาหร่ายได้ปรับปรุงมาจากวิธีการของ Lee *et al.* (2010) (แสดงดังรูปที่ 1) เริ่มจากชั่งสาหร่ายแห้งชนิดละ 50 มิลลิกรัม เติมตัวทำละลายอินทรีย์ผสม 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในเครื่อง sonicator (รุ่น Transsonic 460; ยี่ห้อ ELMA) โดยใช้คลื่นความถี่ 35 กิโลเฮิรตซ์ นาน 10 นาที จากนั้นกรองตัวทำละลายผ่านกระดาษกรอง GF/C (Whatman) ลงในขวด vial ที่ทราบน้ำหนักแล้ว นำไประเหยเพื่อลดปริมาตรตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator (รุ่น Rotavapor R-205; ยี่ห้อ Buchi) จากนั้นชั่งน้ำหนักขวด vial อีกครั้ง คำนวณหาปริมาณไขมันของสาหร่ายโดยรายงานในหน่วยของเปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำหนักเซลล์แห้ง วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างสารละลายทั้ง 3 ชนิดด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA)ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)ด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, version 11.5)



รูปที่ 1 ขั้นตอนการสกัดไขมันจากสาหร่าย ที่ใช้สำหรับงานวิจัยนี้

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำเค็ม *Spirulina* sp., *Chaetoceros* sp. และ *Chlorella* sp. เพื่อใช้ในการทดลองครั้งนี้ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5, 5 และ 7 วัน ตามลำดับ ซึ่งให้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.30±0.01, 0.55±0.01 และ 0.38±0.02 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นผลผลิตเซลล์แห้งของสาหร่ายเท่ากับ 0.06, 0.11 และ 0.05 กรัมต่อลิตรต่อวัน

รูปแบบของตัวทำละลายอินทรีย์ผสมที่เหมาะสมต่อการสกัดไขมันจากสาหร่าย

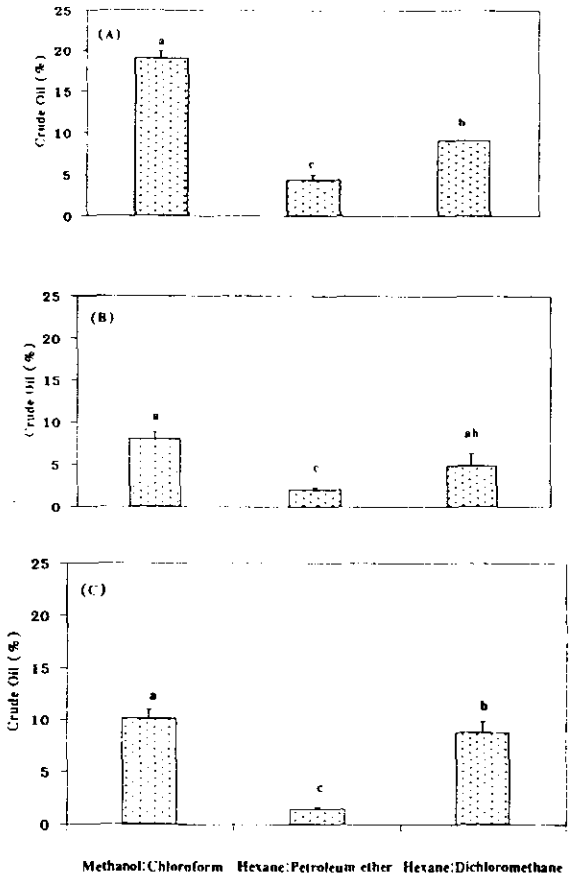
รูปที่ 2 ได้แสดงให้เห็นผลการนำสาหร่ายแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาสกัดไขมันโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ผสม 3 รูปแบบ (ตารางที่ 1) พบว่าการสกัดไขมันในสาหร่าย *Spirulina* sp. ด้วย Methanol:Chloroform สามารถให้ปริมาณไขมัน 19.01+0.97 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งสูงกว่าการใช้ Hexane:Dichloromethane และ Hexane:Petroleum ether ที่ได้ไขมันเพียง 9.07+0.01 และ 4.35+0.61 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ (รูปที่ 2A) หรือคิดเป็น 4.4 และ 2.1 เท่า ตามลำดับ เช่นเดียวกับผลการทดลองในสาหร่าย *Chaetoceros* sp. ที่พบว่าการสกัดไขมันด้วย Methanol:Chloroform จะให้ปริมาณไขมันสูงกว่าการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ผสมในรูปแบบอื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 7.94+0.88 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่ 2B) ส่วนในสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่าการใช้ Methanol:Chloroform สกัดไขมันนั้นสามารถให้ปริมาณไขมันได้สูงกว่าการใช้ Hexane:Petroleum ether ถึง 7.3 เท่า (รูปที่ 2C) ซึ่งผลการทดลองได้ชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่า Methanol:Chloroform เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ผสมที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการสกัดไขมันจากสาหร่ายทุกชนิดที่ใช้ในการทดลอง ส่วน Hexane:Dichloromethane และ Hexane:Petroleum ether มีประสิทธิภาพในการสกัดไขมันรองลงมา ตามลำดับ ซึ่งตัวทำละลายอินทรีย์ผสม 3 รูปแบบนี้ มีประสิทธิภาพในการสกัดไขมันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ผลจากการทดลองในครั้งนี้ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Converti *et al.* (2009) ที่สกัดไขมันจากสาหร่าย *Nannochloropsis oculata* พบว่าการสกัดด้วยวิธี Folch ที่ใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง Methanol กับ Chloroform ร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงมีประสิทธิภาพในการสกัดไขมันสูงสุดคือ 24.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือวิธี Soxhlet, การสกัดวิธีพื้นฐานที่ใช้ Petroleum ether และการใช้ Petroleum ether ร่วมกับคลื่นเสียง โดยได้ไขมันเท่ากับ 8.2, 7.2 และ 3.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุเนื่องจากไขมันที่เป็นองค์ประกอบในเซลล์สาหร่ายมีทั้งกรดไขมันชนิดมีขั้วและไม่มีขั้ว การสกัดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง Methanol:Chloroform สามารถสกัดไขมันจากสาหร่ายได้ทั้ง 2 ชนิด เพราะ Methanol เป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดไขมันที่มีความเป็นขั้วสูง (Wahlen *et al*, 2011) ส่วน Chloroform เหมาะสมสำหรับสกัดไขมันจากสาหร่ายชนิดที่มีขั้วน้อย (Amaro *et al*, 2011)

เปรียบเทียบปริมาณไขมันในสาหร่าย

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันระหว่างสาหร่ายแต่ละชนิดที่เลี้ยงในสูตรอาหาร F/2 พบว่าสาหร่าย *Spirulina* sp. มีไขมันปริมาณสูงกว่าสาหร่ายชนิดอื่นๆ โดยมีปริมาณไขมันอยู่ในช่วง 4.35+0.61 ถึง 19.01+0.97 เปอร์เซ็นต์

ของน้ำหนักเซลล์แห้ง รองลงมาคือ *Chlorella* sp. ที่มีไขมันในช่วง 1.39+0.17 ถึง 10.11±0.84 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ส่วนสาหร่าย *Chaetoceros* sp. มีค่าเท่ากับ 1.97±0.25 ถึง 7.94±0.88 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่านั้น (รูปที่ 2A-C) ซึ่งผลจากการทดลองครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับการทดลองของ Demirbas (2011) ที่พบว่าสาหร่าย *Chlorella vulgaris*, *Spirulina platensis* และ *S. maxima* มีปริมาณไขมันอยู่ในช่วง 14 ถึง 22, 4 ถึง 9 และ 6 ถึง 7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน Li *et al.* (2011) พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. มีปริมาณไขมัน 11.04 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Teresa *et al.* (2010) ได้รายงานว่าสาหร่าย *Chaetoceros muelleri*, *C. vulgaris* และ *S. platensis* มีปริมาณไขมัน 33.6, 5.0 ถึง 58.0 และ 4.0 ถึง 16.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่า ยังมีปัจจัยอื่นๆ นอกเหนือจากชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์และวิธีการสกัดที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดไขมันจากสาหร่าย โดยสิ่งที่ควรคำนึงถึงอีกประการหนึ่งคือ ลักษณะโครงสร้างของผนังเซลล์ แร่ธาตุ หรือสารประกอบอื่นๆ ที่มีอยู่ภายในเซลล์สาหร่าย ซึ่งอาจมีผลกระตุ้นหรือขัดขวางประสิทธิภาพการสกัดไขมันซึ่งทำให้ได้ค่าที่แตกต่างกันได้ เช่น สาหร่าย *Spirulina* sp. มีผนังเซลล์บางที่ประกอบด้วยน้ำตาลกับโปรตีน ในขณะที่สาหร่าย *Chlorella* sp. มีผนังเซลล์ที่องค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นเซลล์ลูโลส จึงมีความหนาและแข็งแรงกว่าสาหร่าย *Spirulina* sp. ส่งผลให้การสกัดหรือการทำให้ผนังเซลล์แตกทำได้ยากกว่า (Narwade *et al*, 2011)



รูปที่ 2 ปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบสาหร่าย *Spirulina* sp. (A), สาหร่าย *Chaetoceros* sp. (B), สาหร่าย *Chlorella* sp. (C) โดยสกัดด้วยวิธีการใช้ตัวทำละลายผสม 3 รูปแบบ ร่วมกับการใช้คลื่นความถี่สูง โดยที่ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

สรุปและข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าการใช้ตัวทำละลายผสมชนิด Methanol:Chloroform ร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงมีประสิทธิภาพสูงสุดในการสกัดไขมันจากสาหร่ายน้ำเค็ม 3 ชนิด โดยสาหร่ายชนิดที่มีปริมาณไขมันมากที่สุดคือ *Spirulina* sp., รองลงมาคือ *Chlorella* sp. และ *Chaetoceros* sp. ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้ยังอยู่ใน

ขั้นตอนของการศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น ซึ่งต้องมีการปรับปรุงและพัฒนาวิธีการสกัดไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็กชนิดต่าง ๆ ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น โดยต้องมีการประเมินในด้านของเวลาและต้นทุนที่ใช้ในการสกัดไขมันด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี สำหรับเครื่องมือที่ใช้ในการสกัดไขมัน และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่ในการทำการวิจัยในครั้งนี้

บรรณานุกรม

ลัดดา วงศ์รัตน์. (2543) *คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน.* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Amaro, H. M., Catarina G. A. & Xavier M. F. (in press). Advances and perspectives in using microalgae to produc biodiesel. *Applied Energy.*

Chu, W. L., Phang, S. M. & Goh, S. H. (1996). Environmental Effects on Growth and Biochemical Composition of *Nitzschia inconspicua* Grunow. *Journal of Applied Phycology.* 8, 389-396.

Converti, A. Casazza, A. A., Ortiz, E. Y., Perego, P. & 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: Process Intensification. 48(6), 1146-1151.

Cravotto, G., Boffa, L., Mantegna, S., Perego, P., Avogadro, M. & Cintas, P. (2008). Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry. 15*(5), 898-902.

Da Silva, T.L., Santos, C.A. & Reis, A. (2009). Multi-parameter flow cytometry as a tool to monitor heterotrophic microalgal batch fermentations for oil production towards biodiesel. *Biotechnol Bioprocess Eng. 14*(3), 330-337.

Demirbas, A. & Demirbas, M. F. (2011). Importance of algae oil as a source of biodiesel. *Energy Conversion and Management. 52*, 163-170.

Dismukes, G.C., Carrieri, D., Bennette, N., Ananyev, G.M. & Posewitz, M.C. (2008). Aquatic phototrophs: efficient alternatives to land-based crops for biofuels. *Curr. Opin. Biotechnol, 19*, 235-240.

Govindarajan, L., Raut, N. & Alsaeed, A. (2009). Novel solvent extraction for extraction of oil from algae biomass grown in desalination reject stream. *J. Algal Biomass Utln. 1*(1), 18 - 28.

Guillard, R.R.L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In W.L. Smith, & M.H. Chanley (Eds.), *Culture of Marine Invertebrate Animals* (pp. 26-60). New York, USA:Plenum Press.

Lee, J. Y., Yoo C., Jun S. Y., Ahn, C. Y. & Oh, H. M. (2010). Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource Technology. 101*, S75-S77.

Lee, S.J., Yoon, B.D. & Oh, H.M. (1998). Rapid method for the determination of lipid from the green algae *Botryococcus braunii. Biotechnology Techniques. 12*, 553-556.

Li, Y., Chen, Y. F., Chen, P., Min M., Zhou W., Martinez, B. (2011). Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource Technology. 102*, 5138-5144.

Narwade, S. S., Rajmalwar, S.A. & Shrivastava, P. (2011). Photo bioreactor prototype for micro algae production. *Asiatic Journal of Biotecnology Resources*. 2(04), 471-477.

Richmond, A. (2004). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Blackwell Science Ltd.

Sharma, A., & Gupta, M.N. (2006). Ultrasonic pre-irradiation effect upon aqueous enzymatic oil extraction from almond and apricot seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*. *13*, 529-534.

Teresa, M. M., Antonio A. M. & Nidia. S. C. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *14*, 217-232.

Vicente, G., MartInez, M. & Aracil, J. (2004). Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems, *Bioresou Technol*. *92*, 297-305.

Wahlen, B. D., Willis, R. M. & Seefeldt. L. C. (2011). Biodiesel production by simultaneous extraction and conversion of total lipids from microalgae, cyanobacteria, and wild mixed-cultures *Bioresource Technology*, *102*, 2724-2730.

Warabi, Y., Kusdiana, D. & Saka, S. (2004). Reactivity of triglycerides and fatty acids of rapeseed oil in supercritical alcohols. *Bioresource Technology*, *91*(3), 283-287.

Widjaja, A., Chien, C.C. & Ju, Y.H. (2009). Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, *40*, 13-20.

Xu, H., Miao, X. & Wu, Q. (2006). High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *J. Biotechnol*, *126*, 499-507.