รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไบโอดีเซลจากจุลสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในถังปฏิกรณ์ ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

Increasing efficiency on biodiesel production from microalga *Chlorella vulgaris* in reactor by CO_2

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2557
จำนวน 240,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นางศิราภรณ์ ชื่นบาล
ผู้ร่วมโครงการ นาย ฐปน ชื่นบาล
นางสาวรุ่งทิพย์ กาวารี

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

15/09/58

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยฉบับนี้ สำเร็จลงได้ด้วยความร่วมมือและความอนุเคราะห์จากหลายฝ่ายด้วยกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ข้าพเจ้าขอขอบคุณ นายณัฐกิจ คำปา และนายวัฒนชัย สัปทน นักศึกษาปริญญาโทสาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้ช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมการเกษตร ที่สนับสนุนงบประมาณ ประจำปี 2557 สำหรับการวิจัยในครั้งนี้

ศิราภรณ์ ชื่นบาล

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์การทดลอง	6
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
การตรวจเอกสาร	7
อุปกรณ์และวิธีการ	29
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	36
สรุปผลการทดลอง	50
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	56

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ชนิดของจุลสาหร่ายที่มีความทนทานต่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณสูง 16

ตารางที่ 2.2 ความเข้มข้นของ CO_2 และผลผลิตของน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย 17

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติของไบโอดีเซลเปรียบเทียบกับน้ำมันดีเซล 21

ตารางที่ 2.4 เปรียบเทียบเทคโนโลยีอื่นๆ ที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล 23

ตารางที่ 2.5 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายในน้ำหนักแห้ง (%) 25

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบของน้ำมันของสาหร่ายบางชนิด 25

ตารางที่ 2.7 ประโยชน์ของการใช้สาหร่ายในการผลิตเป็นไบโอดีเซล 26

ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นของมวลสูงสุด (X_{max}), อัตราผลผลิตสูงสุด (P_{max}) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ของ *Chlorella vulgaris* ในถังปฏิกรณ์และสภาวะการให้ CO_2 43

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำมันสาหร่ายและปริมาณกากที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน 43

ตารางที่ 4.3 ปริมาณของไบโอดีเซลที่ผลิตได้ 46

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบของลิปิดในไบโอดีเซล 49

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 ระบบการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายรวมกับระบบอื่น ๆ แบบครบวงจร 16
รูปที่ 2.2 ลักษณะและองค์ประกอบของสาหร่ายคลอเรลลา 18
รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยา Transesterification 22
รูปที่ 2.4 ขั้นตอนการผลิตน้ำมันด้วยสาหร่าย 28
รูปที่ 3.1 การเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่ายในอาหารเหลว BG11 ในขวดลูกชมพู่บนเครื่องเขย่า 31
รูปที่ 3.2 หัวเชื้อสาหร่ายที่ขยายเพื่อเพิ่มปริมาณในถังน้ำพลาสติกขนาด 6 ลิตร 31
รูปที่ 3.3 การเลี้ยงสาหร่ายที่เลี้ยงในถังปฏิกรณ์ 32
รูปที่ 3.4 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการดำเนินการวิจัย 35
รูปที่ 4.1 จุลสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ใช้ในการทดลอง (กำลังขยาย 400 เท่า) 36
รูปที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) ของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะ ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR 37
รูปที่ 4.3 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะ ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR 38
รูปที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) ของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะ ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR และการเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 41
รูปที่ 4.5 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะ ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR และการเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 41
รูปที่ 4.6 ลักษณะของน้ำมันสาหร่ายที่ผลิตได้ 44
รูปที่ 4.7 ลักษณะของไบโอดีเซล (Fatty acid methyl esters, FAMEs) ที่ผลิตได้ 45
รูปที่ 4.8 GC Chromatogram ที่ได้จาก FAMEs ที่ไม่เติม CO_2 48
รูปที่ 4.9 GC Chromatogram ที่ได้จาก FAMEs ที่เติม CO_2 48

การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไบโอดีเซลจากจุลสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในถังปฏิกรณ์ ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

Increasing efficiency on biodiesel production from microalga *Chlorella vulgaris* in reactor by CO_2

ศิราภรณ์ ชื่นบาล ฐปน ชื่นบาล และ รุ่งทิพย์ กาวารี

Siraporn Cheunbarn, Tapana Cheunbarn and Rungthip Kawaree

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพในการผลิตไบโอดีเซลจากจุลสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ซึ่งเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ 2 ชนิดคือ (Tubular Flow Reactor, TFR and Oscillatory Flow Reactor, OFR) จากผลการศึกษาพบว่า จุลสาหร่ายที่เลี้ยงในถังปฏิกรณ์แบบ TFR ให้ผลผลิตที่สูงกว่าที่เลี้ยงในถังปฏิกรณ์แบบ OFR การให้ CO_2 สามารถเพิ่มอัตราผลผลิตสูงสุดในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 ชนิด โดยเพิ่มจาก 43.8 mg/L/d เป็น 118.5 mg/L/d ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และเพิ่มจาก 21.8 mg/L/d เป็น 62.6 mg/L/d ในถังปฏิกรณ์แบบ OFR จากผลการทดลองพบว่าการให้ CO_2 ทำให้ปริมาณไขมันในสาหร่ายเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยมีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นจาก 9.76 % ของน้ำหนักแห้ง เมื่อไม่มีการให้ CO_2 เพิ่มเป็น 10.74 % ของน้ำหนักแห้ง เมื่อมีการให้ CO_2 ไบโอดีเซลที่ได้มีปริมาณ 1% ของน้ำหนักแห้ง โดยน้ำมันไบโอดีเซลที่ได้นี้มีองค์ประกอบที่เหมือนกันแต่มีปริมาณขององค์ประกอบที่ต่างกัน ภายใต้การให้ CO_2 และไม่ให้ CO_2 โดยองค์ประกอบหลักที่สำคัญของไบโอดีเซล ที่ให้ CO_2 ได้แก่ Phytol, Hexamethylcyclotrisiloxane และ Octamethylcyclotetrasiloxane มีปริมาณ 39.25% 13.07% และ 3.74% ตามลำดับ ส่วนประกอบหลักที่สำคัญของไบโอดีเซล ที่ไม่ให้ CO_2 ได้แก่ Phytol, Methyl palmitate และ Eicosamethylyclodecasiloxane มีปริมาณ 27.29% 10.08 % และ 9.72 % ตามลำดับ

คำสำคัญ: คาร์บอนไดออกไซด์ ถังปฏิกรณ์ไหลแบบท่อ ถังปฏิกรณ์ไหลแบบเป็นจังหวะ ไบโอดีเซล *Chlorella vulgaris*

Abstract

In this study, the efficiency in biodiesel production from microalga *Chlorella vulgaris* was investigated in 2 difference type of reactors (Tubular Flow Reactor, TFR and Oscillatory Flow Reactor, OFR). The results showed that the microalga cultivated in TFR had higher productivity than in OFR. The CO_2 feeding could increase maximum biomass productivity in both type of reactors form 0.0438 $gL^{-1}d^{-1}$ to 0.1185 $gL^{-1}d^{-1}$ in TFR and 0.0218 $gL^{-1}d^{-1}$ to 0.0626 $gL^{-1}d^{-1}$ in OFR. The results showed that the lipid from alga was a few increasing from 9.76% dry weigh of biomass with no CO_2 feeding to 10.74% dry weigh of biomass with CO_2 feeding. FAMEs were around 1% of biomass dry weight with the same components under CO_2 feeding and no CO_2 feeding, however there were difference in the amount of the component of FAMEs. The main components of FAMEs with CO_2 feeding were Phytol, Hexamethylcyclotrisiloxane and Octamethylcyclotetrasiloxane at 39.25, 13.07 and 3.74, respectively. The 3 main components of FAMEs with no CO_2 feeding were Phytol, Methyl palmitate and Eicosamethylyclodecasiloxane at 27.29, 10.08 and 9.72 , respectively.

Key words: Carbon dioxide, Tubular flow reactor, Oscillatory flow reactor, Biodiesel, *Chlorella vulgaris*

คำนำ

ในสภาวะปัจจุบัน ปัญหาเรื่องของการขาดแคลนพลังงานถือได้ว่าเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างยิ่งที่ประเทศทั่วโลกต่างให้ความสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากพลังงานที่ใช้อยู่ในปัจจุบันนี้มากกว่า 80% ส่วนใหญ่เป็นพลังงานจากฟอสซิล ได้แก่ น้ำมัน ถ่านหิน และก๊าซธรรมชาติ (Najafi *et al*, 2011) ซึ่งพลังงานเหล่านี้เป็นพลังงานที่ใช้แล้วหมดไป ต้องใช้ทั้งกระบวนการและระยะเวลาที่ยาวนานจึงจะสามารถเกิดขึ้นใหม่ได้ อีกทั้งผลจากการใช้พลังงานจากฟอสซิลเหล่านี้ ยังทำให้เกิดผลกระทบด้านลบและปัญหาต่างๆ ตามมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมและการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศของโลก แต่อย่างไรก็ตามความต้องการใช้พลังงานนั้นนับวันก็ยิ่งทวีความรุนแรงมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากรของโลกอย่างรวดเร็ว รวมไปถึงการเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจและเทคโนโลยีที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้ต้องมีการใช้พลังงานมากยิ่งขึ้นและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกปี ทำให้เกิดวิกฤตการณ์ด้านพลังงานและปัญหาด้านพลังงานนี้ยิ่งจะทวีเพิ่มความรุนแรงขึ้นเรื่อยๆ ในอนาคต ดังนั้นในหลายประเทศจึงได้มีการพัฒนาพลังงานทางเลือกใหม่ๆ ขึ้นมาทดแทนพลังงานฟอสซิล โดยพลังงานทางเลือกเหล่านี้ส่วนมากแล้วเป็นพลังงานที่มีอยู่เดิม โดยมีการใช้ในกิจกรรมต่างๆ อยู่แล้วตั้งแต่ในอดีต มักเป็นพลังงานหมุนเวียนและเป็นพลังงานที่ใช้ไม่หมด เช่น พลังงานจากแสงอาทิตย์ พลังงานลม พลังงานจากคลื่น พลังงานความร้อนใต้พิภพ รวมไปถึงพลังงานชีวมวลซึ่งมักเป็นของเสียจากภาคการเกษตร เช่น ก๊าซชีวภาพ กาก (ชานอ้อย) แกลบ และวัชพืชต่างๆ เป็นต้น

พลังงานทางเลือกหนึ่งที่กำลังเป็นที่นิยมอย่างมากในปัจจุบันคือไบโอดีเซล ซึ่งเป็นเชื้อเพลิงดีเซลที่ผลิตจากทรัพยากรหมุนเวียน เช่นน้ำมันพืช ไขมันสัตว์ เป็นต้น โดยมีคุณสมบัติการเผาไหม้เหมือนกับดีเซลที่ได้จากปิโตรเลียมมาก แต่มีคุณสมบัติคือสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติซึ่งไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยพืชที่นิยมนำมาใช้ในการทำไบโอดีเซลได้แก่ ปาล์มน้ำมัน สบู่ดำ และถั่วเหลือง เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามพืชน้ำมันเหล่านี้พบว่าแม้จะได้พลังงานที่สะอาดเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นทรัพยากรหมุนเวียนได้ก็ตาม แต่ก็จะพบปัญหาตามมาเนื่องจากพืชน้ำมันเหล่านี้ต้องใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกค่อนข้างมาก ทำให้เกิดข้อจำกัดในเรื่องการขยายพื้นที่ในการเพาะปลูก ซึ่งอาจทำให้เกิดปัญหากับพื้นที่ที่ใช้ในการปลูกพืชสำหรับเป็นอาหารคนและสัตว์ได้ในอนาคต อย่างไรก็ตามในปัจจุบันพบว่าจุลสาหร่ายเป็นพืชชนิดหนึ่งที่สามารถตอบโจทย์และการแก้ไขปัญหาในเรื่องพื้นที่เหล่านี้ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากการเพาะเลี้ยงและการขยายพันธุ์สาหร่ายเพื่อผลิตน้ำมันนั้นใช้พื้นที่ขนาดเล็กกว่าพืชตระกูลน้ำมันทั้งหลาย สามารถใช้พื้นที่เสื่อมโทรมเพาะเลี้ยงได้ รวมไปถึงในแหล่งที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ออกมาจาก

ขบวนการผลิตเป็นจำนวนมาก เช่น โรงงานไฟฟ้าที่ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่บรรยากาศ เป็นต้น สำหรับประเทศไทยได้มีหลายหน่วยงานด้วยกันที่ทำการวิจัยเกี่ยวกับสาหร่ายที่สามารถใช้ในการผลิตเป็นน้ำมัน เช่น สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) บริษัท ปตท.จำกัด (มหาชน) และโรงไฟฟ้าราชบุรี เป็นต้น ซึ่งจากการวิจัยของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) สามารถคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายน้ำมันด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์ เรด (Nile Red staining) ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็วในการคัดเลือก ซึ่งในปัจจุบันนั้นพบสาหร่ายมากกว่า 40 สายพันธุ์ที่สามารถนำมาผลิตน้ำมันได้และมีความเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงในประเทศไทย

แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ถึงแม้ว่าจะพบสายพันธุ์ของสาหร่ายหลายชนิดที่สามารถผลิตน้ำมันได้แต่วิธีการที่ยากยิ่งกว่าคือ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อให้เจริญเติบโตได้ดี การเก็บเกี่ยวผลผลิต และขั้นตอนการนำไปสกัดเป็นน้ำมัน จึงทำให้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อผลิตเป็นน้ำมันนั้นยังคงต้องได้รับการพัฒนาต่อไป โดยเฉพาะในด้านการเพาะเลี้ยงซึ่งมักพบปัญหาเรื่องของการปนเปื้อนเมื่อสาหร่ายถูกเลี้ยงในระบบกลางแจ้ง ปัญหาในเรื่องของการปนเปื้อน และสภาพแวดล้อมที่ไม่เอื้ออำนวยเช่น ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ไม่เพียงพอ อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงตลอดเวลา การระเหยของน้ำ และการปนเปื้อนจากฝุ่นละอองต่างๆ ดังนั้นในปัจจุบันการใช้ระบบปิดหรือการเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ (Enclosed photo bioactive system) จึงได้ถูกพัฒนาและนำมาใช้โดยมีจุดประสงค์หลักคือสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่และให้ผลผลิตได้สูง ซึ่งนับว่าถังปฏิกรณ์แบบปิดนี้เป็นระบบที่ให้ผลผลิตที่ดีกว่าระบบเปิด โดยเฉพาะเมื่อต้องการผลิตเป็นปริมาณมากๆ โดยมีข้อดีคือสามารถควบคุมสภาวะต่างๆ ได้ มีพื้นที่สัมผัสแสงได้มาก สามารถควบคุมปริมาณก๊าซต่างๆ ที่ผ่านเข้าออกได้ ควบคุมการระเหยได้ ควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสม สามารถเคลื่อนย้ายและสามารถเพาะเลี้ยงในพื้นที่ต่างๆ ได้ ปกป้องการปนเปื้อนจากฝุ่นละอองจากภายนอก และให้ผลผลิตที่มากกว่าเลี้ยงในระบบเปิด (Chen and Johns, 1996) ถังปฏิกรณ์ที่นิยมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยทั่วไปนั้นมักเป็นรูปทรงกระบอก เนื่องจากทำให้การกวนผสมมีประสิทธิภาพ สามารถควบคุมปริมาณก๊าซผ่านเข้าออกได้ดี ทำให้สาหร่ายมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงได้มาก เนื่องจากพื้นที่สัมผัสแสงมีมากและใช้พื้นที่น้อยกว่าระบบเปิด (Tridici and Materassi,1992) โดยในปัจจุบันได้มีการพัฒนาถังปฏิกรณ์แบบต่างๆ เพื่อใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย (Javanmardian and Palson, 1991/ Jorquer *et al*., 2010/ Stephenson *et al*., 2010/ Zheng *et al*., 2007)

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงการเพิ่มผลผลิตของสาหร่ายด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในระบบปิด โดยใช้ถังปฏิกรณ์ 2 แบบคือ Tubular Flow Reactor และ Oscillatory Flow Reactor เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเลี้ยงสาหร่ายและเพิ่มผลผลิตสาหร่าย

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยใช้ถังถังปฏิกรณ์แบบปิด ที่ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดี และให้ปริมาณน้ำมันสูง

2 เพื่อศึกษาผลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อผลผลิตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* และปริมาณน้ำมัน

3. เพื่อศึกษาผลผลิตของไบโอดีเซลที่ได้จากสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการแสวงหาพลังงานทดแทนใหม่ๆ เพื่อทดแทนพลังงานจากฟอสซิล

2. สามารถนำไปพัฒนาให้แก่ผู้ประกอบการหรือกลุ่มของชุมชนเพื่อการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายที่ราคาไม่แพง

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. สาหร่ายที่ใช้ทดลองในครั้งนี้เป็นจุลสาหร่ายที่คัดเลือกได้จากการทบทวนวรรณกรรมว่าสามารถนำมาสกัดเป็นน้ำมันได้และเป็นสาหร่ายที่มีอยู่โดยทั่วไป สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายคือ *Chlorella vulgaris*

2. เป็นการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ

การตรวจเอกสาร

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสาหร่าย (algae)

สาหร่ายตรงกับภาษาอังกฤษว่า "algae" ซึ่งมาจากภาษาลาตินคือ "alga" และภาษากรีกว่า phykos มีลักษณะคล้ายพืชแต่ไม่มีส่วนที่เป็นรากลำต้นและใบที่แท้จริงมีขนาดตั้งแต่เล็กมากมีเซลล์เดียวไปจนถึงขนาดใหญ่ ซึ่งประกอบด้วยเซลล์จำนวนมากอาจเป็นเส้นสาย หรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูงชนิดและสายพันธุ์ของสาหร่ายจะสามารถแบ่งตามรูปร่างลักษณะภายนอกหรือดูตามสีซึ่งจะพบว่ามีตั้งแต่ สาหร่ายสีเขียว เขียวแกมน้ำเงิน น้ำตาล และสีแดงสาหร่ายสามารถสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศแหล่งที่อยู่ของสาหร่ายมีต่าง ๆ กันส่วนใหญ่อยู่ในน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็มสาหร่ายเป็นส่วนหนึ่งของต้นทางห่วงโซ่อาหารระบบนิเวศน์เป็นตัวรักษาสมดุลทางธรรมชาติและเป็นแหล่งของสารอาหารมากมายคือแร่ธาตุวิตามินหลายชนิดนอกจากเป็นอาหารคนเช่นสาหร่ายอบกรอบแล้วยังใช้เป็นอาหารสัตว์เป็นปุ๋ยและเป็นยา (ผกาวดี และ พนิดา, 2553)

1. วิวัฒนาการของสาหร่าย

จากการศึกษาทางธรณีวิทยา (geological time table) พบว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) เป็นสิ่งมีชีวิตพวกแรกที่เกิดขึ้นในโลกนับตั้งแต่ยุคพรีแคมเบรียน (precambrian) ซึ่งเป็นระยะเวลามากกว่า 4,500 ล้านปีด้านสาหร่ายสีเขียวพบในยุคแคมเบรียน (cambrian) ซึ่งเป็นระยะเวลา 600 ล้านปีมาแล้ว และพบว่าสาหร่ายสีเขียวนั้นวิวัฒนาการไปเป็นพืชบก (Land plants) ในยุคซิลูเรียน (Silurian) ประมาณ 440 ล้านปี มาแล้วจากนั้นวิวัฒนาการของสาหร่ายก็เกิดขึ้นมากมายทั้งสาหร่ายสีแดงสาหร่ายสีน้ำตาลสาหร่ายได้ถูกจัดไว้ในอาณาจักรต่างๆ เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจัดไว้ในอาณาจักรโมเนอราไดอะตอม (diatoms) และยูกลีนอยด์ (euglenoids) จัดอยู่ในอาณาจักรโปรติสตา ส่วนสาหร่ายสีเขียว (green algae) สาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae) สาหร่ายไฟ (stoneworts) และสาหร่ายสีแดง (red algae) จัดอยู่ในอาณาจักรพืช (kingdom plantae) สาหร่ายบางกลุ่มมีลักษณะคล้ายพืชเช่นสาหร่ายสีเขียวสาหร่ายไฟสาหร่ายสีน้ำตาลและสาหร่ายสีแดงแต่ลักษณะของสาหร่ายจะแตกต่างจากพืชกล่าวคือสาหร่ายบางชนิดประกอบด้วยเซลล์พวกพาเรนไคมา (parenchyma) มองดูคล้ายรากลำต้นและใบรวมเรียกว่าทัลลัส (thallus)อย่างไรก็ตามกลุ่มเซลล์ดังกล่าวยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อ (tissue) หรืออวัยวะ (organ) ที่แท้จริงและสาหร่ายไม่มีระบบท่อลำเลียง (vascular system) เหมือนในพืช สาหร่ายบางกลุ่มมีโครงสร้างเซลล์คล้ายแบคทีเรียเช่นสาหร่ายสีเขียวแกมสีน้ำเงินมีลักษณะคล้ายกับแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์แสงได้ (photosynthetic bacteria) มีลักษณะแตกต่างกันคือสาหร่าย

สีเขียวแกมน้ำเงินมีคลอโรฟิลล์เอ (chlorophyll a) สำหรับใช้ในการสังเคราะห์แสงซึ่งได้ออกซิเจนออกมาส่วนแบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ใช้คลอโรเบียมคลอโรฟิลล์ (chlorobium chlorophyllII) ในการสังเคราะห์แสงและไม่มีออกซิเจนออกมาสาหร่ายบางกลุ่มมีลักษณะคล้ายสัตว์คือมีหนวดที่ทำให้สามารถเคลื่อนที่ได้เช่นพวกยูกลีนอยด์และไดโนแฟลกเจลเลตเป็นต้น (ผกาวดีและพนิดา, 2553)

2. การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย (classification)

Hossain *et al.* (2008) ได้กล่าวไว้ว่าสาหร่ายได้มีการจัดจำแนกออกเป็นหมวดหมู่โดยพิจารณาจากลักษณะสำคัญต่างๆเช่นรงควัตถุ (pigment) อาหารที่สะสมภายในเซลล์ (stored food) องค์ประกอบของผนังเซลล์ (cell wall) หรือที่อยู่อาศัย (habitat) นอกจากนี้ยังจำแนกได้ตามขนาด (size) ของสาหร่ายโดยทั่วไปสาหร่ายจะแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆดังนี้

2.1 สาหร่ายขนาดใหญ่ (macroalgae)

สาหร่ายประเภทนี้จัดเป็นสาหร่ายที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าโดยไม่ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์เช่นสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์*Spirogyra*หรือสาหร่ายไก่และสาหร่ายน้ำตาลสายพันธุ์*Macrocystis* ส่วนใหญ่จะเป็นพวกสาหร่ายทะเลใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมากกว่าสาหร่ายขนาดเล็ก

2.2 สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae)

สาหร่ายประเภทนี้จัดเป็นสาหร่ายที่มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าสาหร่ายชนิดนี้เส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 2 ไมโครเมตรเช่นสาหร่าย *Spirulina* sp. และ *Chlorella* sp.สาหร่ายขนาดเล็กมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงเหมือนกับพืชสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อยสามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในน้ำกร่อยน้ำเค็มและมีวงจรชีวิต (generation time) สั้นนอกจากนี้ข้อดีของสาหร่ายขนาดเล็กในด้านของพลังงานคือปริมาณน้ำมันที่ได้ต่อพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมากกว่าพวกพืชน้ำมัน (oilseed crops) และชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก 1 กิโลกรัมสามารถใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ถึง 1.8 กิโลกรัมและให้ออกซิเจนออกมาจากกระบวนการสังเคราะห์แสงเหมือนพืชนั่นคือสามารถใช้พลังงานจากแสงเป็นแหล่งพลังงานใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนและนอกจากนั้นสารอินทรีย์ต่างๆสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานโดยสาหร่ายขนาดเล็ก

3. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย (จงกล, 2552)

3.1 ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง

3.1.1 ธาตุอาหารหลัก (macronutrient)หมายถึง ธาตุอาหารที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้ในการสร้างโครงสร้าง เช่น ใช้ในการสร้างผนังเซลล์เยื่อเซลล์ สารสีโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ธาตุอาหารหลักที่สาหร่ายใช้ในการเจริญเติบโตค่อนข้างมากได้แก่คาร์บอน ไนโตรเจนฟอสฟอรัสแคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโพแทสเซียม

1) คาร์บอนที่สาหร่ายนำไปใช้ได้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1.1) อนินทรีย์คาร์บอนสาหร่ายจะใช้อินทรีย์คาร์บอนในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งละลายน้ำหรือในรูปของเกลือคาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต การที่คาร์บอนจะอยู่ในรูปใดนั้นขึ้นอยู่กับระดับของค่าพีเอชในน้ำ เช่นค่าพีเอช เท่ากับ 5 คาร์บอนจะอยู่ในรูปของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ค่าพีเอช อยู่ในช่วง 7-9 คาร์บอนจะอยู่ในรูปของเกลือไบคาร์บอเนตและค่าพีเอช สูงกว่า 9.5 คาร์บอนจะอยู่ในรูปของเกลือคาร์บอเนต

1.2) อินทรีย์คาร์บอนสาหร่ายจะใช้อินทรีย์คาร์บอนในรูปของสารประกอบอินทรีย์ซึ่งจะช่วยในการเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น ซูโครส กลูโคส และกาแลคโตส

2) ไนโตรเจนมีความสำคัญรองลงมาจากคาร์บอนปริมาณสาหร่ายจะมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบประมาณ 7-10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ยกเว้นไดอะตอมซึ่งมีปริมาณไนโตรเจนน้อยกว่าสาหร่ายกลุ่มอื่น เนื่องจากซิลิกาเป็นธาตุอาหารที่สำคัญของผนังเซลล์ไดอะตอมสาหร่าย สีเขียวแกมน้ำเงินที่มี heterocyst จะมีความสามารถใช้ตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้โดยทั่วไปสาหร่ายสามารถไนโตรเจนในรูปของ NH_3-Nไนโตรเจนที่แบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

2.1) อนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท โดยปกติแล้วแอมโมเนียจะถูกสาหร่ายนำไปใช้ก่อนไนเตรท ส่วนไนไตรท์สาหร่ายต้องการในปริมาณที่น้อยหรืออาจจะไม่ใช้เลย สำหรับไนเตรทนั้นถ้าสาหร่ายนำไปใช้ดูดซึมเข้าสู่เซลล์แล้วต้องเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียก่อนจึงนำไปใช้ได้ถ้าในน้ำมีทั้งแอมโมเนียและไนเตรทสาหร่ายจะเลือกดูดซึมแอมโมเนียก่อนเพราะจะได้ไม่ต้องเสียพลังงานในการเปลี่ยนไนเตรทให้แอมโมเนีย ดังนั้นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเลแอมโมเนียจึงเป็นแหล่งไนโตรเจนของสาหร่าย

2.2) อินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ ยูเรียเอไมด์กลูทามีนและแอสพาราจีนซึ่งจัดว่าเป็นแหล่งไนโตรเจนชนิดดี ส่วนสารอินทรีย์ไนโตรเจนชนิดอื่นกรดอะมิโนโดยเฉพาะกรดไกลซีน เซรีนอะลามีนกรดกลูทามิคและกรดแอสพาร์ติคนั้นสาหร่ายต้องการใช้เพื่อการเติบโตซึ่งจะแตกต่างกันตามชนิดของสาหร่ายไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญต่อกระบวนการสร้างสาร

พันธุกรรมของสาหร่ายโดยเป็นองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) กรดอะมิโนและสารสีบางชนิด เช่นคลอโรฟิลล์ ถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสง และปริมาณสารสีของเซลล์รวมทั้งทำให้กิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดลดลง

3) ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อกระบวนการต่างๆของเซลล์โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงานและกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิคแม้ว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีปริมาณสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงกว่าอนินทรีย์ฟอสฟอรัส สาหร่ายต้องการใช้สารอนินทรีย์ฟอสฟอรัสมากกว่าโดยสาหร่ายต้องการใช้จะอยู่ในรูปออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate)ซึ่งสาหร่ายสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง ความต้องการฟอสฟอรัสของสาหร่ายแต่ละชนิดไม่เท่ากันสาหร่ายสีเขียวจะมีความต้องการฟอสฟอรัสมากกว่าสาหร่ายกลุ่มอื่น ถ้าสาหร่ายขาดฟอสฟอรัสจะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโตทำให้ปริมาณสารสีชนิดคลอโรฟิลล์เอ อาร์เอ็นเอ และดีเอ็นเอลดลงแต่แป้งหรือคาร์โบไฮเดรตกลับเพิ่มขึ้นมีผลทำให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

4) ซัลเฟอร์เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อสาหร่ายทุกชนิดซัลเฟอร์ในเซลล์สาหร่ายมีหลายรูปแบบเช่น ในรูปกรดอะมิโน วิตามินบี กรดแพนโทเธนิคกรดลิโพอิค และอื่นๆ ซัลเฟอร์ที่สาหร่ายใช้ส่วนใหญ่อยู่ในรูปสารอนินทรีย์ได้แก่เกลือของโลหะคือซัลเฟตแต่ถ้าเป็นสภาวะที่ขาดออกซิเจน เช่น ในบริเวณแหล่งน้ำปิดหรือพื้นที่ท้องน้ำ จะใช้ในรูปของซัลไฟด์

5) แคลเซียมเป็นธาตุอาหารที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้างเกล็ดและโครงสร้างของสาหร่ายโดยเฉพาะสาหร่ายน้ำเค็มหรือมีบทบาทสำคัญในการสร้างผนังของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้โดยปกติแล้วธรรมชาติจะมีปริมาณแคลเซียมเพียงพอที่สาหร่ายจะนำไปใช้ได้ นอกจากนี้สาหร่ายบางประเภทมีความต้องการแคลเซียมเพื่อใช้ในการสร้างโครงสร้างภายนอก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องดูดซึมแคลเซียมจากน้ำทะเลค่อนข้างมาก

6) โซเดียมและโพแทสเซียม โซเดียมเป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายบางชนิดต้องการ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต้องการโซเดียมในปริมาณมากกว่าสาหร่ายกลุ่มอื่นที่อยู่ในน้ำจืด เป็นธาตุอาหารที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิดเป็นตัวควบคุมการทำหน้าที่ต่างๆ ของเซลล์ สำหรับโพแทสเซียมนั้นจัดว่าเป็นธาตุอาหารที่เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์หลายชนิดและยังจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์แสงถ้าสาหร่ายขาดโพแทสเซียมจะทำให้การสังเคราะห์แสงลดลงและการหายใจเพิ่มขึ้น สาหร่ายใช้โซเดียมทดแทนโพแทสเซียมในกรณีที่แหล่งน้ำขาดธาตุโพแทสเซียม

7) แมกนีเซียม เป็นธาตุอาหารที่มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมโดยสาหร่ายจะนำไปใช้ในการสร้างคลอโรฟิลล์ซึ่งแมกนีเซียมเป็นส่วนประกอบของนิวเคลียสในคลอโรฟิลล์

3.2 ธาตุอาหารรอง(micronutrient)หมายถึง ธาตุอาหารที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้เป็นตัวช่วย กระตุ้นปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในเซลล์ ซึ่งสาหร่ายจะต้องการธาตุอาหารประเภทนี้ในปริมาณน้อยโดยปกติธาตุอาหารรองจะแบ่งออกเป็น 2กลุ่มย่อยคือ

3.2.1 ธาตุอาหารรองอนินทรีย์ (inorganic micronutrients) ธาตุอาหารรองอนินทรีย์ที่สาหร่ายส่วนมากต้องการใช้ ได้แก่ เหล็ก แมกกานีส สังกะสี ทองแดง โคบอลล์ โบรอน โซเดียม และซิลิกา

1) เหล็ก เป็นธาตุอาหารที่ช่วยในการดูดซึมไนโตรเจน รวมไปถึงกระบวนการสังเคราะห์แสง คือ ช่วยสร้างคลอโรฟิลล์เอ และซีไฟโคไซยานินมีความจำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ในน้ำทะเลมีเหล็กอยู่มากเกินพอสำหรับความต้องการของสาหร่ายแต่อาจจะขาดแคลนได้ เนื่องจากเหล็กเมื่อถูกชะล้างลงสู่น้ำทะเลแล้วส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของเฟอร์ริคไฮดรอกไซด์ สารตัวนี้มีลักษณะเป็นคอลลอยด์คล้ายวุ้นใสๆ และจับกับสารอินทรีย์อื่นจมลงสู่พื้นทะเล ถ้าสาหร่ายขาดเหล็กจะทำให้เมตาบอลิซึมต่ำลงส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลงด้วย

2) โบรอน เป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายบางชนิดต้องการใช้ ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและไดอะตอม โดยเฉพาะไดอะตอมน้ำเค็ม

3) แมงกานีส ทองแดงและสังกะสีเป็นธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายรวมทั้งเป็นองค์ประกอบที่จำเป็นของเอนไซม์อีกหลายชนิดถ้าขาดจะทำให้การสังเคราะห์แสงลดลงและการหายใจเพิ่มขึ้น ธาตุอาหารทั้ง 3 ชนิดนี้ถ้ามีมากเกินไปสาหร่ายจะตาย

4) โมลิบดินัมวานาเดียโคบอลท์โมลิบดินัมมีบทบาทสำคัญในการตรึงไนโตรเจนของสาหร่าย สีเขียวแกมน้ำเงิน นอกจากนี้ยังเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ช่วยในการสังเคราะห์ วานาเดียมเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายบางชนิด

5) ซิลิกา เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นที่สุดของไดอะตอมเพื่อใช้ในการสร้างผนังเซลล์ส่วนสาหร่าย ชนิดอื่นไม่จำเป็นมากนักปริมาณของซิลิกาในแหล่งน้ำธรรมชาติแตกต่างกันตามฤดูกาล ในขณะที่ไดอะตอมเกิดขึ้นจำนวนมากหรือเกิดการบูมปริมาณของซิลิกาในน้ำจะลดลงถ้าไดอะตอมขาดซิลิกาจะทำให้ผนังเซลล์บางลง

6) เซเลเนียม บทบาทของธาตุอาหารชนิดนี้ยังไม่เด่นชัดแต่มีข้อสังเกตจากการทดลองว่าถ้าปริมาณเซเลเนียมเพิ่มขึ้นจะมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพิ่มขึ้น และไดอะตอมจะลดปริมาณลง

3.2.2 ธาตุอาหารรองอินทรีย์ (organic micronutrient) แบ่งออกเป็น3กลุ่มย่อย ดังนี้

1) คาร์โบไฮเดรท ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น เดกโตสปกติจะใช้ความเข้มข้น 0.2 - 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยงสาหร่ายจะมีการเติมน้ำตาลในอาหารเลี้ยงสาหร่ายหลังจากการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วมิฉะนั้นน้ำตาลจะสลายตัว

2) เกลืออินทรีย์หรือสารประกอบที่มีเกลืออินทรีย์ได้แก่ เกลือแอซิเตท เช่น โซเดียมแอซิเตท โพแทสเซียมแอซเตท ความเข้มข้นที่ใช้ 0.1-0.5 เปอร์เซ็นต์

3) วิตามิน ได้แก่ วิตามินบี3 ชนิดคือบี 1 และบีรวมควรเติมในอาหารเลี้ยงสาหร่ายหลังจากผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ได้แก่ อาหารที่ช่วยการเจริญเติบโตของสาหร่าย เช่น แอดีนิน (adenine) ไคเนติน (kinetin) ทั้ง 2 ชนิดที่นิยมใช้ คือ กรดจิบเบอเรลลิก ละลายในน้ำได้ดี และกรดอินดอลมีสมบัติละลายได้เล็กน้อยในน้ำร้อนและสลายตัวง่ายเมื่อถูกแสงสว่าง

4. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการดูดซึมธาตุอาหารของจุลสาหร่าย

1. ปัจจัยทางกายภาพ

ปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายได้แก่

1.1 แสงมีอิทธิพลทางอ้อมต่ออัตราการดูดซึมธาตุอาหารโดยผ่านทางการสังเคราะห์แสง สาหร่ายแต่ละชนิดความเหมาะสมของปริมาณแสงจะแตกต่างกัน

1.2 อุณหภูมิมีผลต่อการดูดซึมธาตุอาหารและกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ กล่าวคือ ถ้าอุณหภูมิสูงจะทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมสูงขึ้นส่งผลให้การดูดซึมธาตุอาหารของสาหร่ายเพิ่มขึ้นด้วย ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปจะจำกัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

1.3 การเคลื่อนตัวของน้ำ มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงอยู่ในน้ำที่เคลื่อนไหวตลอดเวลามีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าสาหร่ายที่อยู่ในน้ำนิ่ง เนื่องจากไอออนสามารถผ่านและแพร่ผ่านเข้าสู่เซลล์ได้แต่ทั้งนี้ต้องขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของธาตุอาหารด้วย

2. ปัจจัยทางเคมี ปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการดูดซึมธาตุอาหารของสาหร่าย คือ ความเข้มข้นของธาตุอาหาร กล่าวคือถ้าสาหร่ายอยู่ในน้ำที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารสูงๆจะทำให้อัตราการดูดซึมธาตุอาหารมีมากขึ้น

3. ปัจจัยทางชีวภาพ ปัจจัยทางชีวภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้แก่

3.1 อายุของทัลลัสสาหร่าย สาหร่ายที่ยังอ่อนหรืออายุน้อยจะสามารถดูดซึมธาตุอาหารได้ดีกว่าสาหร่ายที่มีอายุมาก

3.2 สภาพของสาหร่าย สาหร่ายที่อยู่ในบริเวณที่มีธาตุอาหารแตกต่างกันพบว่าสาหร่ายอยู่ในบริเวณที่มีธาตุอาหารปริมาณมากเมื่อนำมาเลี้ยงใหม่เพื่อศึกษาการดูดซึมธาตุอาหารพบว่าจะมีอัตราการดูดซึมน้อยกว่าสาหร่ายที่อยู่บริเวณที่มีธาตุอาหารปริมาณน้อย

เทคโนโลยีในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

1. ระบบเปิด (open pond)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อให้ได้เป็นปริมาณมากๆ ด้วยขบวนการสังเคราะห์แสงตามธรรมชาตินั้น เริ่มมีการพัฒนาครั้งแรกในเยอรมัน ในช่วงต้นศตวรรษที่ 1940 ซึ่งเป็นการผลิตไขมันจาก diatom โดยพบว่าไขมันจะถูกสะสมอย่างรวดเร็วภายสภาวะที่ขาดแคลนไนโตรเจน โดยสาหร่ายจะใช้การสังเคราะห์แสง โดยอาศัยแสงจากดวงอาทิตย์เป็นแหล่งพลังงาน และใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน จึงนิยมเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อเปิดที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นวิธีง่ายๆ ซึ่งต่อมามีการเพิ่มผลผลิตด้วยการเติมคาร์บอนไดออกไซด์และมีการกวนผสมแต่พบปัญหาคือประสิทธิภาพการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่าย และการผสมผสานในบ่อค่อนข้างต่ำ รวมทั้งการระบายความร้อนจากระบบเกิดจากการระเหยเท่านั้น ซึ่งการเลี้ยงในแบบระบบเปิดนี้จะมีค่าใช้จ่ายไม่มากทั้งในเรื่องของการก่อสร้างและค่าใช้จ่ายในการดำเนินงาน และยังสามารถเพาะเลี้ยงได้ทั้งพื้นที่แห้งแล้ง พื้นที่เค็ม หรือพื้นที่อื่นๆ ที่ไม่เหมาะสมต่อการปลูกพืชอื่นใด แต่อย่างไรก็ตาม มักมีปัญหาในเรื่องของการปนเปื้อน และสภาพแวดล้อมที่ไม่เอื้ออำนวย (Chen and Johns, 1996)

เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อน และการเริ่มต้นเลี้ยงใหม่ในกรณีเมื่อเกิดการปนเปื้อนขึ้น จึงพัฒนาการเลี้ยงในบ่อขนาดเล็ก มีการเพิ่มประสิทธิภาพโดยการกวนผสม และมีการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งการกวนผสมนั้นทำให้สาหร่ายสังเคราะห์แสงได้มากขึ้น เนื่องจากหมดปัญหาเรื่องการบดบังแสง การให้ออกซิเจนที่เพียงพอ ทำให้สาหร่ายทำงานได้มากขึ้น เต็มประสิทธิภาพ เป็นการป้องกันการปนเปื้อนที่ดีอีกทางหนึ่ง นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวิธีการ

เพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดต่างๆ ที่เฉพาะเจาะจงยิ่งขึ้น ซึ่งทำให้ลดการปนเปื้อนจากสาหร่ายชนิดอื่นๆ จุลินทรีย์และแบคทีเรียได้ดีขึ้น เช่น *Dunaliella salina* เจริญได้ดีในน้ำที่มีความเค็มสูง (Nacl > 20% w/v) *Spirulina platensis* เจริญได้ดีในน้ำที่มีความเป็นด่างสูง (pH > 9.2) สาหร่ายหลายชนิดที่ชอบเจริญในบ่อเปิดได้แก่ *Chlorella Scenedesmus* และ *Phaeodactylum* ซึ่งเมื่อมีสภาวะที่เหมาะสม จะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการปนเปื้อนได้น้อย แต่สำหรับสาหร่ายบางชนิดก็ไม่สามารถเจริญเติบโตในระบบเปิดได้ เนื่องจากมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนได้สูง เช่น *Porphyridium cruentum* ซึ่งผลิต polysaccharide และ *Botryococcus braunii* ซึ่งผลิตไฮโดคาร์บอน เป็นต้น (Benemann, 1989)

อย่างไรก็ตามในการเพาะเลี้ยงในระบบเปิดขนาดใหญ่จะมีปัญหาในเรื่องของการปนเปื้อนได้ง่าย และมักมีปัญหาในเรื่องของสภาพแวดล้อมเป็นสำคัญ เช่น ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ไม่เพียงพอ อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงตลอดเวลา การระเหยของน้ำ และการปนเปื้อนจากฝุ่นละอองต่างๆ

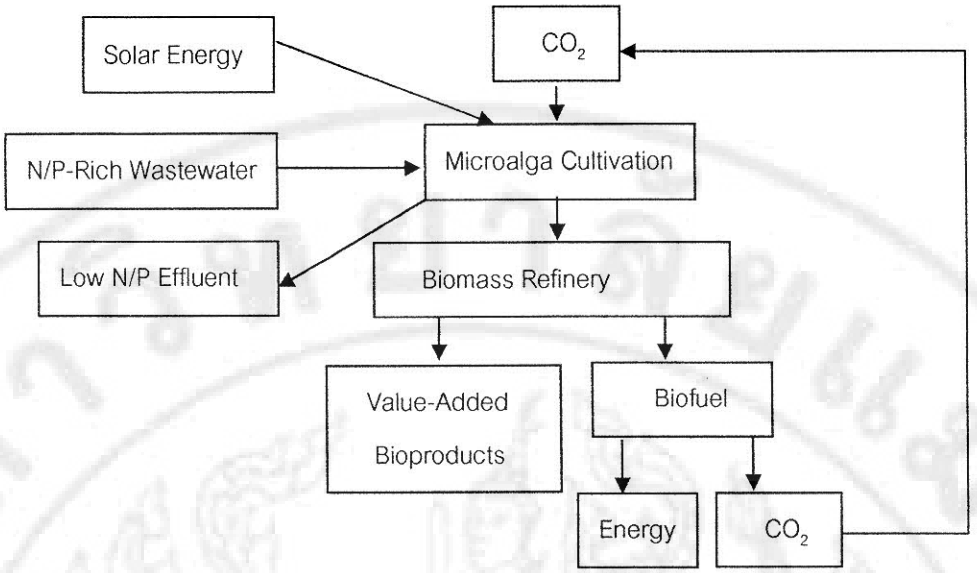
2. ระบบปิด (Enclosed photo bioactive system)

จุดประสงค์หลักของระบบปิด คือสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ และให้ผลผลิตได้สูง ซึ่งนับว่าถังปฏิกรณ์แบบปิดนี้เป็นระบบที่ให้ผลผลิตที่ดีกว่าระบบปิด โดยเฉพาะเมื่อต้องการผลิตเป็นปริมาณมากๆ โดยมีข้อดีมากกว่าระบบปิดดังนี้ 1) สามารถควบคุมสภาวะต่างๆ ได้ดีกว่าระบบแบบเปิด 2) มีพื้นที่สัมผัสแสงได้มาก 3) สามารถควบคุมปริมาณก๊าซต่างๆ ที่ผ่านเข้าออกได้ 4) ควบคุมการละเหยได้ 5) ควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสม 6) สามารถเคลื่อนย้ายและเพาะเลี้ยงในพื้นที่ใด ๆ ก็ได้ 7) ปกป้องการปนเปื้อนจากฝุ่นละอองจากภายนอก และ 8) ให้ผลผลิตที่มากกว่าเลี้ยงในระบบเปิด (Chen and Johns, 1996) ถังปฏิกรณ์ ที่นิยมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยทั่วไปนั้นมักเป็นรูปทรงกระบอก เนื่องจาก 1) ทำให้การกวนผสมมีประสิทธิภาพ 2) สามารถควบคุมปริมาณก๊าซผ่านเข้าออกได้ดี 3) ทำให้สาหร่ายมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงได้มาก เนื่องจากพื้นที่สัมผัสแสงมีมาก และ 4) ใช้พื้นที่น้อยกว่าระบบเปิด ซึ่งในระบบปิดโดยทั่วไปจะให้ผลผลิตของสาหร่ายมากกว่าในระบบแบบเปิด Tridici and Materassi (1992) พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในถังปฏิกรณ์แบบท่อไหล (tubular) จะให้ผลผลิตสาหร่าย 30-33 t $ha^{-1}y^{-1}$ ในขณะที่เลี้ยงในระบบเปิดจะได้ผลผลิตไม่มากกว่า 20 t $ha^{-1}y^{-1}$ ซึ่งในเวลาต่อมาก็ได้มีการพัฒนาถังปฏิกรณ์แบบต่างๆ ออก มา เช่น แบบ vertical alveolar panel และที่ใช้เป็น fiber optic photobioreactors (Javanmardian and Palson, 1991) ถังปฏิกรณ์แบบ air –life tubular reactor (Jorquer *et.al.*, 2010; Stephenson *et al.*, 2010) และถังปฏิกริริยาแบบ Oscillatory flow reactor (Zheng *et al.*, 2007)

การเพาะเลี้ยงแบบ fed-batch หรือ semi-batch เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในทางอุตสาหกรรม เนื่องจากเซลล์เจริญเติบโตได้ดีและให้ผลผลิตที่มาก Chen and Johns (1994) เลี้ยงสาหร่าย *Chlorella sorokiniana* ในกลูโคส ในการเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟิคจะได้ผลผลิต 9 gl^{-1} ซึ่งมากกว่าการเลี้ยงแบบกะ (batch) 2 เท่า และทำให้ผลผลิตของ *Chlamydomonas reinhardtii* ที่เลี้ยงใน acetate medium มากกว่าการเพาะเลี้ยงแบบกะ (batch) 2 เท่า (Chen and Johns, 1996)

การเพิ่มผลผลิตของสาหร่ายด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ในปัจจุบันมีการพัฒนาเทคโนโลยีในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ในการนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากขวนการผลิตทางอุตสาหกรรมกลับมาใช้ประโยชน์ โดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่าย รูปที่ 2.1 ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านกระบวนการทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพและไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากจุลสาหร่ายมีการเติบโตโดยใช้แสงเป็นพลังงาน และใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนในการสังเคราะห์แสง ซึ่งจำเป็นต้องใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารอาหารหลักเพื่อการเติบโตและสร้างชีวมวล ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และสามารถนำชีวมวลของจุลสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังสามารถนำเซลล์ที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์แล้วกลับไปใช้เป็นเชื้อเพลิงที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นสามารถนำกลับไปใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายได้ใหม่ (Ahn *et al.*, 2012) โดยจุลสาหร่ายที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในรูปแบบต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นแหล่งเชื้อเพลิง อาหาร หรือผลผลิตอื่น ๆ ได้ โดยพบว่ามีสาหร่ายหลายชนิดที่สามารถทนทานต่อปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูง ๆ ได้ (ตารางที่ 2.1) และมีสาหร่ายหลายชนิดที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีการเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของสาหร่ายเป็นสำคัญ ในตารางที่ 2.2 จะแสดงให้เห็นถึงความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อผลน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย



รูปที่ 2.1 ระบบการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายรวมกับระบบอื่น ๆ แบบครบวงจร
ที่มา: Wang *et al.* (2008)

ตารางที่ 2.1 ชนิดของจุลสาหร่ายที่มีความทนทานต่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณสูง

ชนิดของจุลสาหร่าย	ปริมาณสูงสุด CO_2 (% V/V)
Cyanidium caldarium	100
Scenedesmus sp.	80
Chlorococcum littorale	60
Synechococcus elongatus	60
Euglena gracilis	45
Chlorella sp.	40
Eudorina spp.	20
Dunaliella tertiolecta	15
Nannochloris sp.	15
Chlamydomonas sp.	15
Tetraselmis sp.	14

ที่มา: Salih (2011)

ตารางที่ 2.2 ความเข้มข้นของ CO_2 และผลผลิตของน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่าย

ชนิดของจุลสาหร่าย	ความเข้มข้น CO_2 (%)	ผลผลิตน้ำหนักแห้ง (g/l/d)	อ้างอิง
Botryococcus braunii	5 (อากาศที่เติมไปด้วย CO_2)	4.96	Sydney *et al.*, 2001
	5.5 (ก๊าซที่เกิดจากขบวนการเผาไหม้)	0.077	Yoo *et al.*, 2010
	10 (CO_2 บริสุทธิ์)	0.026	Yoo *et al.*, 2010
Chlorella sp.	5 (อากาศที่เติมไปด้วย CO_2)	2.51	Sydney *et al.*, 2001
	6-8 (ก๊าซที่เกิดจากขบวนการเผาไหม้)	0.323-0.38	Doucha *et al.*, 2005
	6-8 (CO_2 บริสุทธิ์)	0.318-0.376	Doucha *et al.*, 2005
	9-10 (CO_2 บริสุทธิ์)	0.15	Lee *et al.*, 1996
Chlorococcum littorale	10-20 (CO_2 บริสุทธิ์)	0.19	Lee *et al.*, 1996
Dunaliella tertiolecta	5 (อากาศที่เติมไปด้วย CO_2)	2.72	Sydney *et al.*, 2001
Scenedesmus sp.	5.5 (ก๊าซที่เกิดจากขบวนการเผาไหม้)	0.203	Yoo *et al.*, 2010
	10 (CO_2 บริสุทธิ์)	0.217	Yoo *et al.*, 2010
Spirulina platensis	5 (อากาศที่เติมไปด้วย CO_2)	3.18	Sydney *et al.*, 2001
Spirulina sp.	6 (CO_2 บริสุทธิ์)	0.22	deMorais *et al.*, 2007
Synechocystis aquatilis	5 (อากาศที่เติมไปด้วย CO_2)	0.15	Zhang *et al.*, 2001
Monoraphidium minutum	9-10 (CO_2 บริสุทธิ์)	0.480	Chiu *et al.*, 2009

ที่มา: ดัดแปลงจาก Suali and Sarbatly (2012)

Chlorella sp.

สาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีชื่อมาจากภาษากรีกคือคาว่า chloros ซึ่งแปลว่าสีเขียวและจากภาษาละติน ella ซึ่งแปลว่าเล็กสาหร่ายชนิดนี้มีลักษณะเป็นเซลเดียวที่มีขนาดเล็กโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-10 μm ไม่มี flagella อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรืออยู่กันเป็นกลุ่มก้อน ลักษณะของเซลล์ มีรูปร่างหลายแบบ เช่น ทรงกลม รูปไข่และรูปรี เซลล์มีหลายขนาดในสภาพแวดล้อมเดียวกัน รูปร่างกลมหรือรีผนังค่อนข้างบางมีรงควัตถุที่ช่วยสังเคราะห์แสงคือคลอโรฟิลล์ A และ B โดยจะอยู่ในคลอโรพลาสซึ่งมีลักษณะเป็นเป็นรูปถ้วย รูประฆังหรือเป็นแผ่นอยู่ริมเซลล์ (รูปที่ 2.2) สืบพันธ์โดยไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออโตสปอร์ (auto spore) มีจานวน 4,8 หรือ 16 สาหร่ายชนิดนี้พบทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม อนุกรมวิธานของสาหร่ายคลอเรลลามีดังนี้

Kingdom : Plantae

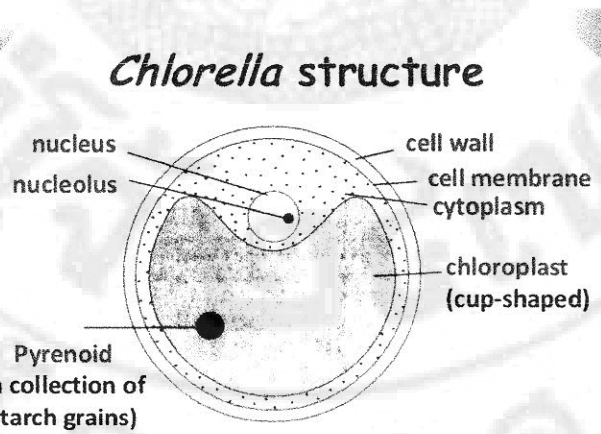
Division: Chlorophyta

Class: Trebouxiophyceae

Order: Chlorellales

Family: Chlorellaceae

Genues: *Chlorella*



รูปที่ 2.2 ลักษณะและองค์ประกอบของสาหร่ายคลอเรลลา

ที่มา : Azzopard, 2012

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไบโอดีเซล (Biodiesel)

ไบโอดีเซล (Biodiesel) เป็นเชื้อเพลิงเหลวที่ผลิตได้จาก น้ำมันพืชและไขมันสัตว์ เช่น ปาล์ม มะพร้าว ถั่วเหลือง ทานตะวัน สบู่ดำ โดยมีการผลิตอยู่ 3 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. ไบโอดีเซล (Straight Vegetable Oil) ที่ใช้น้ำมันของพืช หรือไขมันจากสัตว์โดยตรง เช่น ใช้น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม หรือ น้ำมันจากไขสัตว์ เช่น น้ำมันหมู เป็นต้น ป้อนลงไปในเครื่องยนต์ดีเซล โดยไม่ต้องผสมหรือเติมสารเคมีอื่นใด อย่างไรก็ตามสิ่งสำคัญของการใช้น้ำมันพืชโดยตรง คือ ต้องมีการอุ่นน้ำมันในทุกจุดที่มีน้ำมันผ่านได้แก่ ถังน้ำมัน ท่อทางเดินน้ำมัน ชุดกรองน้ำมัน อุณหภูมิของน้ำมันที่อุ่นอย่างน้อย 70°C แนวทางในการนำน้ำมันพืชมาใช้โดยตรงเป็นวิธีการที่ได้น้ำมันในราคาที่ถูกโดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำน้ำมันพืชซึ่งยังไม่ผ่านกระบวนการกลั่นมาใช้ แต่การที่จะนำมาใช้ได้อย่างเหมาะสมจำเป็นต้องอาศัยความร้อนในการหลอมเหลว ไขแข็ง และลดความหนืดของน้ำมัน เนื่องจากน้ำมันพืชมีความหนืดสูงกว่าน้ำมันดีเซลประมาณ 11-17 เท่า ที่อุณหภูมิต่ำน้ำมันพืชยิ่งมีความหนืดสูงขึ้นเป็นลำดับจนเกิดเป็นไข การที่น้ำมันพืชมีความหนืดสูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้หัวฉีดน้ำมันฉีดน้ำมันให้เป็นฝอยได้ยาก เกิดเป็นอุปสรรคต่อการป้อนน้ำมันเชื้อเพลิงเข้าสู่ห้องเผาไหม้ และเกิดการสันดาปไม่สมบูรณ์ นอกจากนี้แล้ว น้ำมันพืชมีคุณสมบัติที่ระเหยตัวกลายเป็นไอได้ช้าและน้อยมาก (slow/low volatility) ยิ่งทำให้เกิดการจุดระเบิดได้ยาก เครื่องยนต์ติดยาก และหลงเหลือคราบเขม่าเกาะที่หัวฉีด ผนังลูกสูบ แหวนและวาล์ว จากคุณสมบัติที่น้ำมันพืชมีความหนืดสูงและระเหยตัวได้ต่ำกว่าน้ำมันดีเซลนี้ ทำให้เกิดความยุ่งยาก เมื่อใช้น้ำมันพืชโดยตรงในเครื่องยนต์

2. ไบโอดีเซลแบบลูกผสม (Veggie / Kero Mix) เป็นการผสมน้ำมันพืช หรือน้ำมันจากสัตว์กับ "น้ำมันก๊าด" หรือ"น้ำมันดีเซล" เพื่อลดความหนืดของน้ำมันพืชลง เพื่อให้ได้ไบโอดีเซลที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ "น้ำมันดีเซล" ให้มากที่สุด เช่น ไบโอดีเซลที่ผสมกับน้ำมันมะพร้าว เรียกว่า โคโคดีเซล (Cocodiesel) ซึ่งอำเภอทับสะแก จังหวัดประจวบคีรีขันธ์เป็นจุดกำเนิด "ไบโอดีเซล ในประเทศไทย" ดังจะเห็นว่าในปี พ.ศ.2542 เกิดวิกฤติราคาน้ำมันเชื้อเพลิงเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ภาวะเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศชะลอตัวลง ประกอบกับในช่วงเวลานี้ผลผลิตทางการเกษตรหลายๆชนิดล้นตลาด ทำให้ราคาผลผลิตตกต่ำ จึงเป็นผลให้กลุ่มเกษตรกรต่างๆ ทำการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลไว้จำหน่ายเพื่อใช้กับเครื่องจักรกลทางเกษตรต่างๆภายในชุมชน น้ำมันที่ได้จากวิธีการดังกล่าวเหมาะกับกรณีจำเป็นต้องการใช้น้ำมันอย่างเร่งด่วน และใช้กับเครื่องยนต์ที่ใช้งานหนัก ตลอดจนใช้งานในภูมิอากาศเขตร้อน อัตราส่วนผสมระหว่างน้ำมันก๊าดและน้ำมันพืชขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของพื้นที่ใช้งาน อัตราส่วนผสมมีตั้งแต่ 10 % น้ำมันก๊าด 90 % น้ำมันพืช จนถึง 40 %

น้ำมันก๊าด 60% น้ำมันพืช อัตราส่วนผสมที่เหมาะสมอยู่ที่ 20 % น้ำมันก๊าด 80 % น้ำมันพืช อย่างไรก็ตามหากต้องการเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้น้ำมันพืชผสมน้ำมันก๊าด สามารถติดตั้งถังน้ำมันดีเซลหรือน้ำมันไบโอดีเซลเพื่อใช้ในการสตาร์ทเครื่องยนต์และตอนก่อนเลิกใช้งานเครื่องยนต์ ปัจจุบันมีการนำวิธีดังกล่าวไปใช้งาน แต่เนื่องจากราคาของน้ำมันก๊าดค่อนข้างสูงทำให้ใช้ปริมาณของน้ำมันก๊าดน้อยเกินไป ทำให้น้ำมันผสมที่ได้เมื่อนำไปใช้จึงเกิดผลกระทบต่อเครื่องยนต์จากปัญหาการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ของน้ำมันผสม นอกจากนี้เพื่อใช้ในเครื่องยนต์ดีเซลที่ไม่มีการดัดแปลงเครื่องยนต์ จึงต้องเลือกชนิดน้ำมันพืช ชนิดของตัวทำละลาย และสัดส่วนผสมที่เหมาะสมกับพื้นที่และฤดูกาลที่ใช้ เพื่อให้เกิดความสะดวกในการใช้ และไม่เกิดความยุ่งยากต่างๆตามมา เช่น การเกิดไขในท่อส่งน้ำมัน ทำให้เกิดการอุดตัน เป็นต้น

3. ไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์ เป็นความหมายของ “ไบโอดีเซลที่แท้จริง” และเป็นที่ยอมรับในสากล และมีการใช้อย่างทั่วไป เช่น สหพันธรัฐเยอรมัน สหรัฐอเมริกา มีคำจำกัดความว่า เป็นเชื้อเพลิงที่มีคุณสมบัติเหมือนกับ “น้ำมันดีเซล” มากที่สุดทำให้ไม่มีปัญหากับเครื่องยนต์ ได้น้ำมันที่มีความคงตัวมากขึ้น สามารถนำไปเติมในเครื่องยนต์ดีเซลได้ทุกชนิด ทั้งเติมโดยตรงและผสมลงในน้ำมันดีเซลในอัตราส่วนต่างๆ เช่น B5 หมายถึงการผสมไบโอดีเซลต่อน้ำมันดีเซลในอัตราส่วน 5:95 หรือ B100 ซึ่งเป็นน้ำมัน ไบโอดีเซล 100 % เป็นต้น แต่ปัญหาคือ ต้นทุนการผลิตมีราคาแพงกว่าเมื่อเทียบกับไบโอดีเซลแบบอื่นๆ ปัจจุบันราคาของน้ำมันไบโอดีเซลยังสูงกว่าน้ำมันดีเซล 1-2 เท่าตัว อย่างไรก็ตามการนำมาใช้กับเครื่องยนต์มักจะนำน้ำมันดีเซลมาผสมด้วย ซึ่งในปัจจุบันได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในระบบขนส่งมวลชน เนื่องจากเป็นน้ำมันที่มีราคาไม่ต่างจากน้ำมันดีเซลมากนัก นอกจากนี้เผาไหม้ได้อย่างหมดจดไม่มีเขม่าควันหลงเหลือให้เป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม จากความนิยมเป็นอย่างมากเช่นนี้ทำให้ปั๊มน้ำมันจำนวนมากนำไบโอดีเซลมาบริการให้กับลูกค้า เชื้อเพลิงชนิดนี้ มีความหนืดใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล และมีความคงตัว ความหนืดเปลี่ยนแปลงได้น้อยมากเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยน จุดวาบไฟของไบโอดีเซล มีค่าสูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้มีความปลอดภัยในการใช้และการขนส่ง นอกจากนั้นแล้ว ค่าซีเทน ที่เป็นดัชนีบอกถึงคุณภาพการติดไฟของไบโอดีเซล ยังมีค่าสูงกว่าน้ำมันดีเซล ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติของไบโอดีเซลเปรียบเทียบกับน้ำมันดีเซล

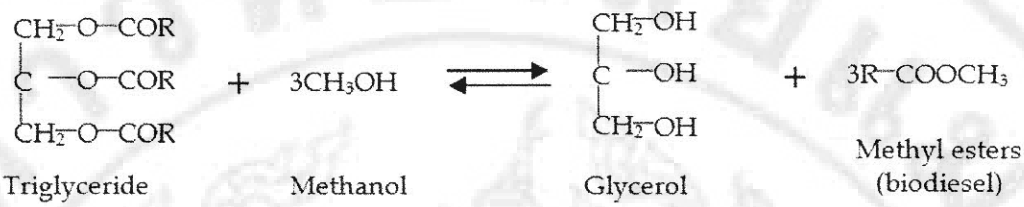
Fuel Property	Diesel	Biodiesel
Fuel Standard	ASTM D975	ASTM D6751
Lower Heating Value, Btu/gal	~129,050	~118,170
Kinematic Viscosity@ 40°C	1.3-4.1	4.0-6.0
Specific Gravity Kg/l@ 60°F	0.85	0.88
Density, lb/gal@15°C	7.079	7.328
Water and Sediment, vol%	0.05 max	0.05 max
Carbon, wt%	87	77
Hydrogen,wt%	13	12
Oxygen, by dif.Wt%	0	11
Sulfur,wt%	0.05 max	0.0 to 0.0024
Boiling Point,°C	180 to 340	315 to 350
Flash Point, °C	60 to 80	100 to 170
Cloud Point, °C	-15 to 5	-3 to 12
Pour Point, °C	-35 to -15	-15 to 10
Cetane Number	40-55	48-65
Lubricity SLBOCLE, grams	2000-5000	›7,000
Lubricity HFRR, microns	300-600	<300

ที่มา : อาภาณี, 2549

ไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์

ไบโอดีเซลประเภทนี้เกิดจากการปฏิกิริยาระหว่าง น้ำมันพืช ไขมันสัตว์ หรือน้ำมันพืชที่ใช้แล้ว กับแอลกอฮอล์ เช่น เมทานอล หรือ เอทานอล แต่เนื่องจากเมทานอลมีราคาถูกกว่าจึงมีการใช้ในการผลิตไบโอดีเซลมากกว่า จึงทำให้เรารู้จักไบโอดีเซลในอีกชื่อหนึ่ง คือ Fatty Acid Methyl Esters (FAME) โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งเป็นกรดหรือด่าง โดยปกติในน้ำมันพืชประกอบไปด้วยกรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid), Phospholipids, Sterols, น้ำ และสิ่งเจือปนอื่นๆ ดังนั้นในการนำน้ำมันมาใช้เป็นเชื้อเพลิง จำเป็นต้องผ่านกระบวนการต่างๆ เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างให้เป็นสายโซ่ตรง และหนึ่งในกระบวนนั้น คือ ปฏิกิริยา Transesterification (หรือปฏิกิริยา

Alcoholysis) เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างของน้ำมันจาก Triglycerides ให้เป็นโมโนอัลคิลเอสเตอร์ (Mono alkyl Ester) ได้แก่ เมทิล เอสเตอร์ (Methyl Ester) หรือ เอทิล เอสเตอร์ (Ethyl Ester) และกลีเซอรีน (Glycerine หรือ Glycerol) ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยา Transesterification

ตัวแปรต่าง ๆ สำหรับการศึกษาปฏิกิริยา Transesterification ได้แก่

1. กรดไขมันอิสระในน้ำมันซึ่งเป็นวัตถุดิบควรมีปริมาณไม่สูงกว่าร้อยละ 3 ถ้ามีปริมาณสูงกว่าจะทำให้กรดไขมันอิสระทำปฏิกิริยากับด่างเกิดเป็นสบู่ ดังปฏิกิริยาข้างต้น ดังนั้นในการในน้ำมันที่ใช้แล้วจึงจำเป็นต้องลดปริมาณกรดไขมันอิสระลงให้น้อยกว่าร้อยละ 1 ก่อนที่จะทำปฏิกิริยา Transesterification เพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซลต่อไป

2. ปริมาณของตัวเร่งปฏิกิริยา NaOH ควรอยู่ระหว่าง 0.4-2% w/w ของน้ำมันที่นำมาผลิตไบโอดีเซล

3. อัตราส่วนโดยโมลของเมทานอลและน้ำมัน เมื่อดูจากปฏิกิริยาในรูปที่ 3 พบว่าอัตราส่วนอยู่ที่ 3:1 แต่เนื่องจากปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับได้ ดังนั้นเพื่อผลักดันปฏิกิริยาให้เกิดน้ำมันไบโอดีเซลสูงสุดจึงมักใช้อัตราส่วนโดยโมลของเมทานอลและน้ำมัน ที่อัตราส่วน 6:1 ถึง 9:1

4. ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา อัตราเร็วในการเปลี่ยนน้ำมันเป็นน้ำมันไบโอดีเซลสูงขึ้นตามระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา

5. อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา อัตราเร็วในการเปลี่ยนน้ำมันเป็นน้ำมันไบโอดีเซลสูงขึ้นตามอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา โดยทั่วไปมักใช้อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่เกิน boiling point ของเมทานอล

นอกจากนี้ยังมีเทคโนโลยีอื่นๆ ที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 เปรียบเทียบเทคโนโลยีอื่นๆ ที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล

Variable	Alkali catalysis	Lipase catalysis	Supercritical alcohol	Acid catalysis
Reaction temperature (°C)	60-70	30-40	239-238	55-80
Free fatty acid in raw materials	Saponified products	Methyl esters	Esters	Esters
Water in raw materials	Interference with reaction	No influence		Interference with reaction
Yield of methyl ester	Normal	Higher	Good	Normal
Recovery of glycerol	Difficult	Easy		Difficult
Purification of methyl esters	Repeated washing	None		Repeated washing
Production cost of catalyst	Cheap	Relatively expensive	Medium	Cheap

ที่มา : อาภาณี, 2549

ความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่ายในการผลิตน้ำมัน

พลังงานแยกได้เป็นพลังงานที่ใช้แล้วหมดไปและพลังงานที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ซึ่งพลังงานที่ใช้แล้วหมดไปนั้น ถูกจำกัดด้วยปริมาณ และของเสียที่เกิดจากขบวนการผลิต พลังงานจากฟอสซิล เป็นพลังงานที่มีการนำมาใช้ตั้งแต่ยุคของการประวัติอุตสาหกรรมเป็นต้นมา ซึ่งมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ มาจาก ปิโตรเลียม ถ่านหิน และก๊าซธรรมชาติ โดยที่ 98 เปอร์เซ็นต์ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจกที่สำคัญยิ่ง เกิดขึ้นจากขบวนการเผาไหม้เชื้อเพลิงซากฟอสซิลเหล่านี้ ดังนั้นการลดปริมาณการใช้น้ำมัน และเชื้อเพลิงจากฟอสซิลเหล่านี้จึงถือได้ว่ามีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยพลังงานทางเลือกอื่นๆ ที่สามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนจากพลังงานฟอสซิลนั้น ต้องเป็นพลังงานที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ ต้องสะอาดและต้องปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม รวมไปถึงต้องปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกเป็นจำนวนน้อย หรือแทบไม่มีเลยเมื่อเปรียบเทียบกับพลังงานจากฟอสซิล ไบโอดีเซลนับว่าเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ ส่วนมากทำมาจากไขมันพืชหรือไขมันสัตว์ แต่อย่างไรก็ตามไบโอดีเซลเหล่านี้ยังไม่ค่อยได้รับความนิยม

เนื่องจากต้นทุนที่มีราคาแพงเมื่อเทียบกับน้ำมันปิโตรเลียม อีกทั้งยังต้องใช้พื้นที่สำหรับการปลูกพืชน้ำมันเป็นจำนวนมาก ซึ่งจะทำให้เกิดปัญหาเรื่องพื้นที่การเพาะปลูกตามมา

สาหร่ายเป็นพืชที่เจริญเติบโตเร็วที่สุดในโลก และสาหร่ายหลายชนิดยังสามารถผลิตน้ำมันได้ก็เหมือนกับพืชอื่นๆ ไม่ว่าจะเป็นข้าวโพด ปาล์มน้ำมัน อ้อย คือใช้ขบวนการสังเคราะห์แสงแล้วเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมี ซึ่งเก็บสะสมพลังงานเหล่านี้ไว้ในรูปของน้ำมัน คาร์โบไฮเดรท และโปรตีน ส่วนมากการเพาะเลี้ยงมักทำในบ่อกลางแจ้ง ในถังปฏิกรณ์หรือในระบบปิด และในอนาคตอันใกล้จะเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้ในทุกๆ ที่ ไม่ว่าจะเป็นบนบก ในน้ำจืด ในทะเล หรือแม้แต่ในน้ำทิ้ง อีกทั้งไม่ต้องการพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมากนัก และมีหลายสายพันธุ์ที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ จึงสามารถที่จะพัฒนามาแทนที่ของน้ำมันจากฟอสซิลในอนาคตได้ โดยสามารถนำมาผลิตเป็นไบโอดีเซล สำหรับ รถยนต์ เรือและเครื่องบินได้ สาหร่ายขนาดเล็กหรือจุลสาหร่ายนั้นส่วนมากมีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าพืชบกมาก โดยสามารถให้ผลผลิตประมาณ 20,000-80,000 ลิตร/เอเคอร์/ปี ซึ่งหมายถึงให้ผลผลิตมากกว่าปาล์มน้ำมันซึ่งเป็นพืชน้ำมันที่สำคัญในปัจจุบันประมาณ 7-31 เท่า (Demirbas and Demirbas, 2011)

สาหร่ายมีความเหมาะสมที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้เร็ว ในแต่ละรอบของการเจริญเติบโตใช้เวลาเพียงไม่กี่วัน และในสาหร่ายหลายชนิดที่มีองค์ประกอบของไขมันและน้ำมัน ประมาณ 2-40 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนัก ส่วนประกอบของสาหร่ายแต่ละชนิดจะประกอบไปด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรท ไขมันและกรดนิวคลีอิคในสัดส่วนที่ต่างๆ กัน ขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย สาหร่ายบางชนิดสามารถมีส่วนที่เป็นไขมันได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ดังแสดงในตารางที่ 2.5 และองค์ประกอบของน้ำมันในสาหร่ายแสดงในตารางที่ 2.6 (Chisti, 2007) ซึ่งสาหร่ายสามารถให้ผลผลิตเป็นน้ำมันได้ 30-50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคิดเป็นผลผลิตประมาณ 47,000-308,000 $lh^{-1}y^{-1}$ (Demirbas, 2009) ประโยชน์ของการใช้สาหร่ายในการผลิตเป็นไบโอดีเซลแสดงในตารางที่ 2.7 แต่อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัตินั้นการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายยังไม่ประสบผลสำเร็จ เนื่องจากขั้นตอนการผลิต การเก็บเกี่ยว และการสกัดน้ำมันออกจากสาหร่ายนั้นค่อนข้างยากและเป็นขบวนการที่ต้องใช้พลังงานมาก

ตารางที่ 2.5 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายในน้ำหนักแห้ง (%)

Strain	Protein	Carbohydrates	Lipid	Nucleic acid
Scenedesmus obliquus	50-56	10-17	12-14	3-6
Scenedesmus quadricauda	47	-	1.9	-
Scenedesmus dimorphus	8-18	21-52	16-40	-
Chlamydomonas reinhardtii	48	17	21	-
Chlorella vulgaris	51-58	12-17	14-22	4-5
Chlorella pyrenoidosa	57	26	2	-
Spirogyra sp.	6-20	33-64	11-21	-
Dunaliella bioculata	49	4	8	-
Dunaliella salina	57	32	6	-
Euglena gracilis	39-61	14-18	14-20	-
Prymnestum parvum	28-45	25-33	22-38	1-2
Tetraselmis maculata	52	15	3	-
Porphyridium cruentum	28-39	40-57	9-14	-
Spirulina platensis	46-63	8-14	4-9	2-5
Spirulina maxima	60-71	13-16	6-7	3-4.5
Synechococcus sp.	63	15	11	5
Anabaena cylindrica	43-56	25-30	4-7	-

ที่มา: Becker, 1994

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบของน้ำมันของสาหร่ายบางชนิด

Microalga	Oil content(%dry wt)
Botryococcus brauni	25-75
Chlorella	28-32
Crypthecodinium cohnii	20
Cylindrotheca	16-37
Dunaliella primolecta	23
Isochrysis sp.	2533
Monacanthus salina	›20
Nannochloris sp.	20-35
Nannochloropsis sp.	31-68
Neochloris oleoabundans	35-34
Nitzschia sp.	45-47
Phaeodactylum tricornutum	20-30
Schizochytrium sp.	50-77
Tetraselmis sueica	15-23

ที่มา : Chisti, 2007

ตารางที่ 2.7 ประโยชน์ของการใช้สาหร่ายในการผลิตเป็นไบโอดีเซล

จุดเด่นของการใช้สาหร่ายในการผลิตเป็นไบโอดีเซล
1. เจริญเติบโตได้รวดเร็ว
2. สามารถเจริญเติบโตได้ทุกพื้นที่และทุกสภาวะอากาศ
3. ให้ผลผลิตมาก (7-13 เท่าเมื่อเทียบกับปาล์มน้ำมัน)
4. ไม่ต้องใช้พืชเศรษฐกิจอื่นๆ ที่ต้องนำมาผลิตเป็นน้ำมัน
5. สามารถเก็บเกี่ยวสาหร่ายได้ทุกวัน
6. น้ำมันจากสาหร่ายไม่เกิดมลพิษ
7. น้ำมันจากสาหร่ายสลายตัวได้ง่าย
8. สามารถนำเอาสาหร่ายที่นำน้ำมันออกแล้วผลิตเป็นอาหารสัตว์หรือผลิตเป็นเอทานอลได้

9. น้ำมันจากสาหร่ายไม่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ
10. ไบโอดีเซลจากสาหร่ายมีความคงตัวมากทำเหมาะสมต่อสภาพอากาศที่เย็นได้
11. สามารถปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จากการเผาไหม้ได้
ข้อด้อยของการใช้สาหร่ายในการผลิตเป็นไบโอดีเซล
1. น้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายมีราคาแพง
2. ต้องใช้สาหร่ายเป็นจำนวนมาก จำเป็นต้องพัฒนารูปแบบของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ที่มา : ดัดแปลงจาก Najafi, *et al.*, 2011

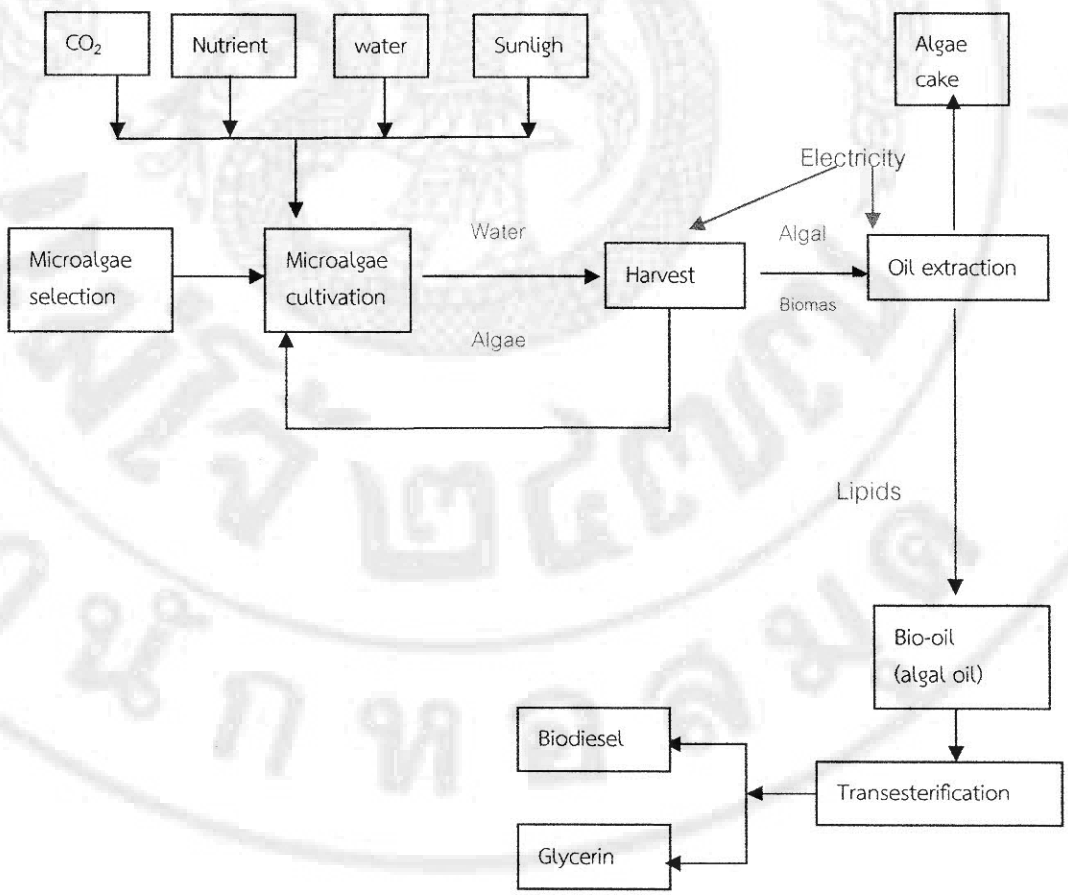
การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย

สาหร่ายที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล ส่วนมากแล้วจะเป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียวขนาดเล็ก และมักเป็นพวก eukaryote โดยเซลล์ที่มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วและให้ผลผลิตเป็นจำนวนมาก ในสภาวะที่เหมาะสมสาหร่ายบางชนิด สามารถเพิ่มจำนวนได้ถึง 2 เท่า ภายใน 24 ชั่วโมงเท่านั้น (Chisti, 2007; Scheneider, 2006) ดังนั้นสาหร่ายสีเขียวหลายชนิดที่มีศักยภาพที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลได้

โดยในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนี้สามารถทำได้ทั้งในระบบปิดหรือระบบเปิด ถ้าเป็นระบบปิดจะเป็นการเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ใส ภายในบรรจุอาหาร และทิ้งไว้กลางแจ้งเพื่อให้แสง เรียกว่า Photobiorector (PBR) ซึ่งจะมีการไหลวนด้วยปั๊ม ซึ่งจะไม่มีปัญหาเรื่องการปนเปื้อนและมักมีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้กับระบบซึ่งส่วนมากจะเป็นก๊าซซึ่งมาจากแหล่งต่างๆ เช่น จากการผลิตก๊าซชีวภาพ (Kao *et al.*, 2012) และก๊าซที่เกิดจากการเผาไหม้เชื้อเพลิง (Kamdam, 1997) โดยทั่วไปพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1-20% (Lam *et al.*, 2012) ส่วนในระบบเปิดนั้นมักจะเลี้ยงแบบบ่อเปิดแบบร่างคู่ (Raceway pond) ซึ่งมีการไหลเวียนของสารอาหารและเซลล์สาหร่ายตลอดเวลา มีค่าใช้จ่ายต่ำ ขบวนการในการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายเริ่มจากแสง คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำและสารอาหารอนินทรีย์ ซึ่งโดยหลักๆ ได้แก่ ไนเตรท ฟอสเฟต เหล็ก และแร่ธาตุอื่นๆ การเก็บเกี่ยวสาหร่ายจากระบบมีด้วยกันหลายวิธีด้วยกัน เช่น การกรองผ่านผ้ากรองสาหร่าย การตกตะกอน การปั่นเหวี่ยง การาวมตัวเป็นตะกอนลอย หรือการกรองผ่านเยื่อกรอง และสาหร่ายที่เก็บเกี่ยวแล้วนำไปทำแห้ง ประมาณว่าครึ่งหนึ่งของน้ำหนักแห้งของจุลสาหร่ายเหล่านี้จะเป็นคาร์บอนที่มาจากคาร์บอนไดออกไซด์ ประมาณว่า 100 ตันของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายมาจากคาร์บอนไดออกไซด์ 183 ตัน สาหร่ายที่แห้งแล้วนำไปผ่านกระบวนการเพื่อให้ได้เป็นน้ำมันสาหร่ายด้วยวิธีต่างๆ เช่น

Expeller/Press เป็นวิธีที่ง่ายในการสกัดน้ำมัน ซึ่งจะได้น้ำมันประมาณ 70-75 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันทั้งหมด Solvent extraction with hexane เป็นวิธีที่เป็นที่นิยม โดยใช้ hexane เป็นตัวสกัด และSupercritical fluid extraction เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ โดยสามารถสกัดน้ำมันที่มีความบริสุทธิ์มากได้เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำมันที่มีอยู่ทั้งหมด โดยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลวเป็นตัวทำละลาย โดยคาร์บอนไดออกไซด์จะเป็นของเหลวภายใต้แรงดันและให้ความร้อนถึงจุดๆหนึ่ง น้ำมันสาหร่ายที่ได้นำไปผ่านกระบวนการ Transesterification ซึ่งจะให้ผลผลิตเป็น Glycerin และ Biodiesel (methyl esters) ขั้นตอนการผลิตน้ำมันจากสาหร่ายแสดงดังรูปที่ 2.4

แต่อย่างไรก็ตามการนำเอาสาหร่ายแม้ว่าจะมีศักยภาพในการผลิตเป็น ไบโอดีเซล แต่ราคาในการผลิตค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับการการผลิตน้ำมันที่ได้จากปิโตเลียม ซึ่งต้องใช้แนวทางในการทำให้การผลิตสาหร่ายเป็นปริมาณมากนั้นมีประสิทธิภาพและมีราคาที่ถูกลง โดยต้องอาศัยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงที่ทันสมัย



รูปที่ 2. 4 ขั้นตอนการผลิตน้ำมันด้วยสาหร่าย

ที่มา : Najafi *et al.*, 2011

วิธีการดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิธีวิจัย

1. อาหารเลี้ยงสาหร่าย

สารเคมีสำหรับเตรียมอาหาร BG11 medium สำหรับเลี้ยงสาหร่ายโดยเตรียม Stock solution ของสารเคมีดังนี้

1.1	$NaNO_3$	1.5 g
1.2	K_2HPO_4	0.04 g
1.3	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.075 g
1.4	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.036 g
1.5	Citric acid	0.006 g
1.6	Ferric ammonium citrate	0.006 g
1.7	EDTA (disodium salt)	0.001 g
1.8	Na_2CO_3	0.02 g
1.9	Trace metal mix A5	1.0 ml
1.10	Agar (if needed)	10.0 g

* ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ 1.0 L

*ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 7

Trace metal mix A5: ประกอบด้วย

1.	H_3BO_3	2.86 g
2.	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.81 g
3.	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.222 g
4.	$NaMoO_4 \cdot 2H_2O$	0.39 g
5.	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.079 g
6.	$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	49.4 mg
7.	Distilled water	1.0 L

2.อุปกรณ์สำหรับเลี้ยงสาหร่าย

2.1 ท่ออะคีลิคใส ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 ซม.

2.2 เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ

2.3 สาหร่าย *Chlorella vulgaris*

3. เครื่องมือ

3.1 pH Meter; Sartorius : Professional Meter PP-50

3.2 Air pump; AP-10 YAMANO

3.3 Balance; MettlerToledo PL3002

3.4 UV-Visible Spectrophotometer; HACH ModelDR/4000U

3.5 Light Meter Model; LX-73 Digicon

3.6Perlistertic pump; Watson marlow Pumps Model 520SIR UK.

3.7 Oven; memmert UM500 Germany

3.8ตู้ดูดความชื้น; Weifo DRY-300-2 Taiwan

3.9หม้อนึ่งความดัน (Autoclave); Labtech LAC-5100S Korer

3.10เครื่องปั่นเหวี่ยง, Hettichรุ่น EBA12R, Germany

3.11 โถดูดความชื้น

3.12 กล้องจุลทรรศน์,Olympus รุ่น CHS แบบ 2 ตา

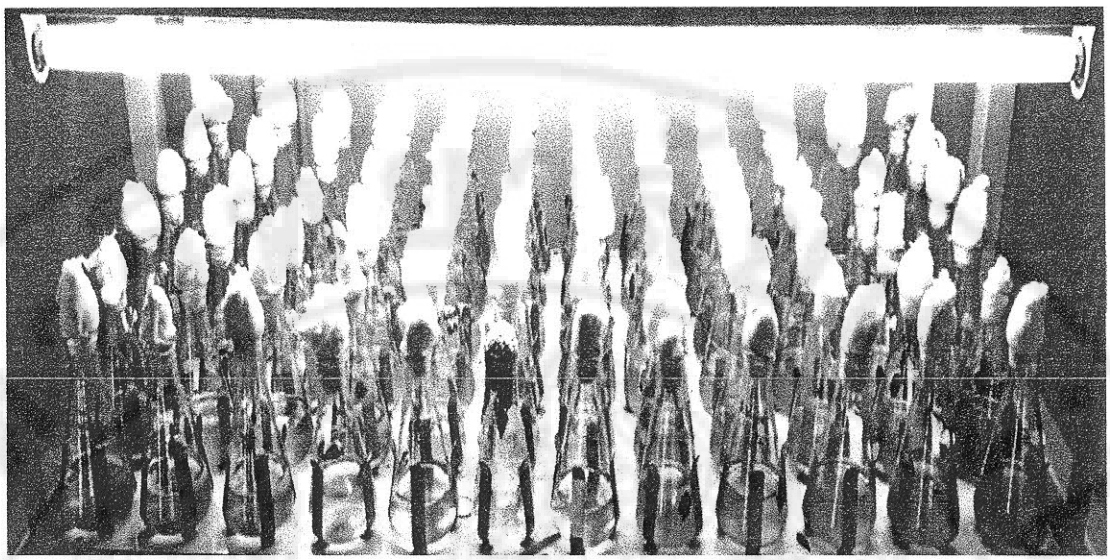
3.13 Brightlinehemacytometer

3.14 เครื่องเขย่าพร้อมชุดหลอดไฟ

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

นำหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella vulgaris* จากสาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ มาทำการเพิ่มจำนวน โดยเลี้ยงในอาหารเหลว BG11 ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น 10% ในขวดลูกชมพู่และทำการขยายขนาดของการเลี้ยงในถังน้ำพลาสติกขนาด 6 ลิตร เพื่อทำการเพิ่มจำนวนของสาหร่าย เพื่อนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป



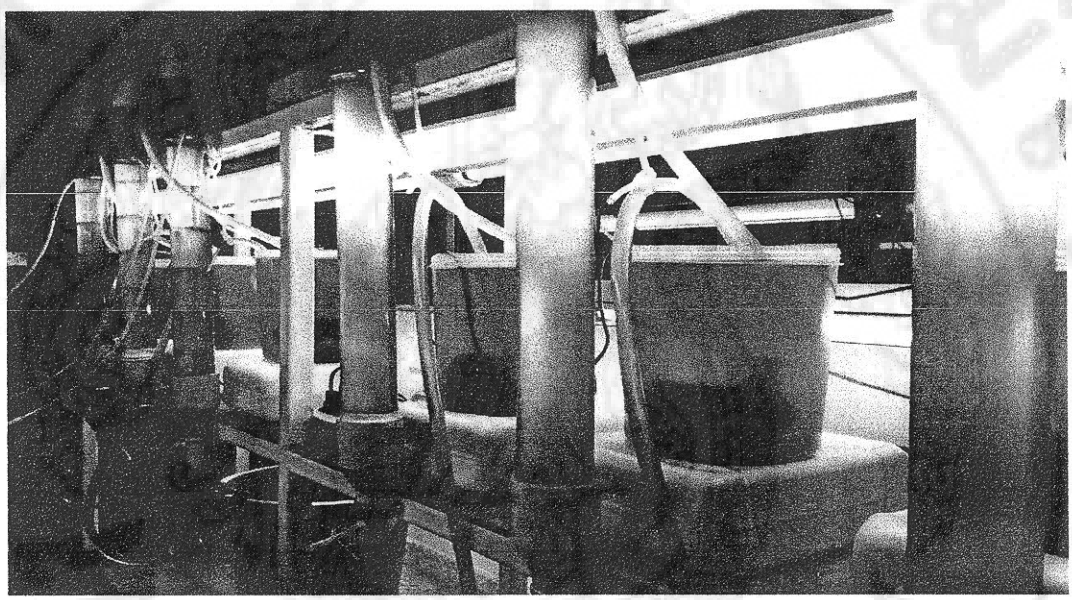
รูปที่ 3.1 การเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่ายในอาหารเหลว BG11ในขวดลูกชมพู่บนเครื่องเขย่า

รูปที่ 3.2 หัวเชื้อสาหร่ายที่ขยายเพื่อเพิ่มปริมาณในถังน้ำพลาสติกขนาด 6 ลิตร

การเตรียมถังปฏิกรณ์และการติดตั้งระบบ

เตรียมถังปฏิกรณ์แบบปิด Tubular Flow Reactor (TFR) และ Oscillatory Flow Reactor (OFR) เพื่อใช้เลี้ยงสาหร่าย โดยใช้ท่ออะคีลิคใส ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 ซม. ภายในท่อมีพื้นที่ทำการ 2 ลิตร ต่อท่อเข้ากับถังกักเก็บน้ำขนาด 4 ลิตร มีช่องสำหรับปล่อยก๊าซเข้าบริเวณปลายท่อ

สำหรับถัง OFR นั้น ภายในท่อ อะคีลิคใส ติดตั้งแผ่นกั้น (baffle) แบบวงแหวน ที่ทำจากแผ่นอะคีลิคใส มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 ซม. และเจาะรูกลมด้านใน เส้นผ่าศูนย์กลางรู 3.5 ซม. เพื่อให้น้ำไหลผ่าน โดยมีระหว่างวงแหวน 10 ซม. โดยแต่ละแผ่นวงแหวนมีแผ่นยึดที่ทำจากอะคีลิคใส เพื่อให้อยู่ตัว (รูปภาคผนวกที่ 1) แต่ละชุดทดลองมีจำนวน 3 ถัง ทำการติดตั้งปั๊มเพื่อให้อาหารและสาหร่ายหมุนวนระหว่างถังปฏิกรณ์ และถังกักเก็บน้ำ อัตราการไหล 15 ลิตร/นาที ให้แสงจากหลอดไฟ ค่าความเข้มแสงประมาณ 4000 ลักซ์ อุณหภูมิห้อง ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 การเลี้ยงสาหร่ายที่เลี้ยงในถังปฏิกรณ์

ตอนที่ 1 การเจริญเติบโตของสาหร่ายในถังปฏิกรณ์แบบปิด

ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR โดยใช้อาหารเหลว BG11 และให้แสงสว่างตลอด 24 ชั่วโมงทำการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย ทุกวันตั้งแต่เริ่มต้นจนสาหร่ายอยู่ในระยะการเจริญลดลง โดยใช้ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (Optical density) ที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตรด้วย Spectronicgenesys UV-visible spectrophotometer ค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายด้วย Brightlinehemacytometer น้ำหนักแห้งของสาหร่าย (Cell dry weight) และมวลของสาหร่าย (Biomass) จากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) ผลผลิตของมวล (Biomass productivity; กรัม/ลิตร/วัน) จากสมการที่ 1

(Tang *et al*., 2011) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; ต่อวัน) จากสมการที่ 2 (Tang *et al*., 2011)

$$P = \frac{X_1 - X_0}{t_1 - t_0} \quad (1)$$

$$\mu = \frac{\ln(X_1/X_0)}{t_1 - t_0} \quad (2)$$

เมื่อ P = ผลผลิตของมวล (Biomass productivity; กรัม/ลิตร/วัน)

μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; ต่อวัน)

X_0 และ X_1 = มวลของสาหร่าย (กรัม/ลิตร) ในวันที่ T_0 และ T_1 ตามลำดับ

ตอนที่ 2 การเพิ่มผลผลิตของสาหร่ายด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ทำการศึกษาการเพิ่มผลผลิตของสาหร่ายด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับตอนที่ 1 โดยเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (20%) ลงไปในอาหารเลี้ยง ทำการตรวจวัดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ก่อนเข้าระบบและออกจากระบบ ด้วย CO_2 gas detector ทำการตรวจวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายเช่นเดียวกับในตอนที่ 1

ตอนที่ 3 การวิเคราะห์ไบโอดีเซลจากสาหร่าย *Chlorella sp.*

1. การวัดปริมาณลิปิดโดยน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย

<u>วิธีการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย</u>

1. ชั่งน้ำหนักผงสาหร่าย 5 กรัม เติมตัวทำละลายเฮกเซน (hexane) ลงไป 20 มิลลิลิตร
2. ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง
3. กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1
4. นำกากที่ได้ (biomass) ไปอบแห้งที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
5. นำส่วนสารละลายไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ(rotary evaporator) โดยตั้งอุณหภูมิ water bath ที่ 40 องศาเซลเซียส
6. บันทึกปริมาณน้ำมัน

2. นำสาหร่ายแห้งที่ได้มาผลิตเป็นไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชั่น ด้วยเมทานอล

<u>วิธีการผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชั่น</u>

1. ชั่งโพแทสเซียมไฮดอกไซด์ (potassium hydroxide) 0.1 กรัม ละลายด้วยเมทานอล (methanol) 5 มิลลิลิตรนำไปอุ่นที่ 60 องศาเซลเซียส

2. ผสมลงไปในน้ำมันที่สกัดได้

3. ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง

4. เมื่อครบเวลาจะได้น้ำมันไบโอดีเซล (FAMEs) *(ชั้นบน)* จะแยกชั้นกับชั้นของกลีเซอรอล (glycerol) *(ชั้นล่าง)*

5. เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรลงในกรวยแยก

6. เติมสารทั้งหมดจากข้อ 4 ลงในกรวยแยก

7. เติมเอกเซน (hexane) ลงไป 25 มิลลิลิตร เพื่อชะสารในข้อ 4 ลงไปรวมในกรวยแยก

8. เขย่ากรวยแยก 2 นาที และตั้งให้แยกชั้น

9. ไขชั้นน้ำทิ้ง *(ชั้นล่าง)*

10. เติม 10% sodium carbornate 25 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆและตั้งให้แยกชั้น

11. ไขชั้น sodium carbornate ทิ้ง *(ชั้นล่าง)*

12. เติมน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตรลงในกรวยแยก

13. เขย่า และตั้งให้แยกชั้น

14. ไขชั้นน้ำทิ้ง *(ชั้นล่าง)*

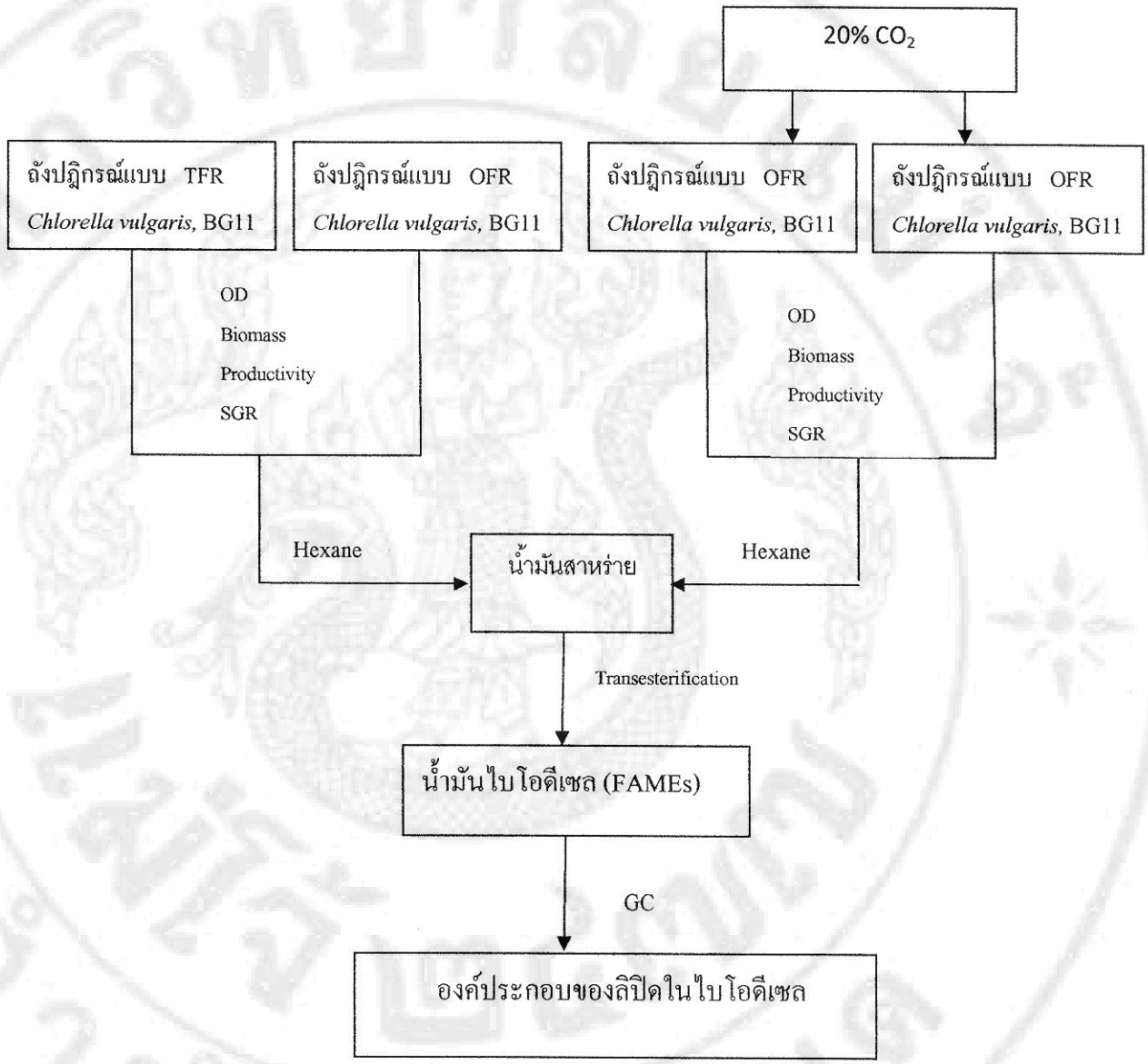
15. เก็บชั้นเฮกเซน*(ชั้นบน)* ไปกรอง และระเหยด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ (rotary evaporator) โดยตั้งอุณหภูมิ water bath ที่ 40 องศาเซลเซียส

16. ชั่งน้ำหนักและปรับปริมาตรด้วยเฮกเซนให้เป็น 500 ไมโครลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS ต่อไป

3. หาองค์ประกอบของลิปิดที่ได้ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมัน ใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC การแปลผลองค์ประกอบของน้ำมันใช้การเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลแมสสเปคตรา (mass spectra) คือ WILEY และ NIST วิธีการวิเคราะห์และสภาวะที่ใช้วิเคราะห์แสดงในภาคผนวก

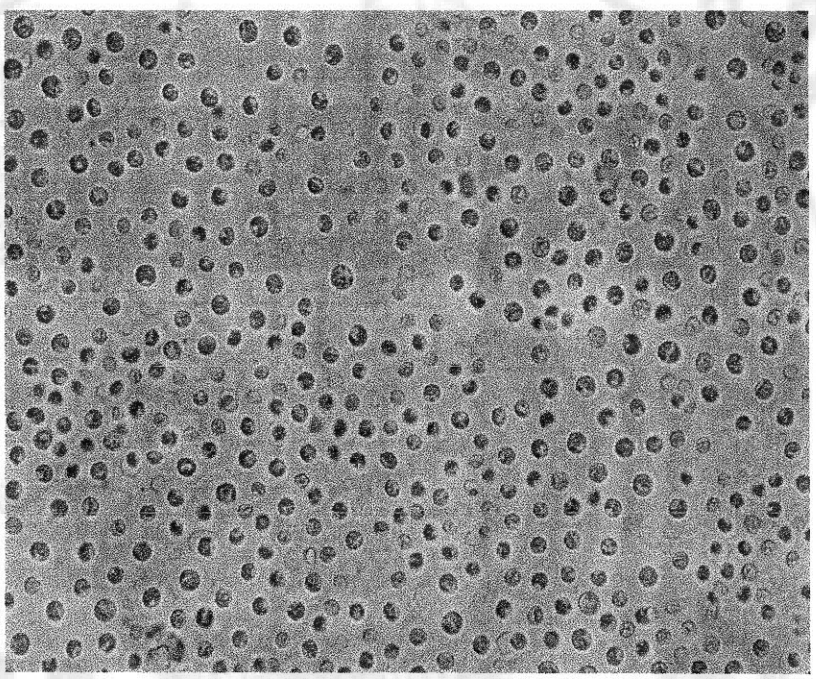
สรุปขั้นตอนการดำเนินการวิจัยแสดงได้ดังรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

ผลการทดลองและวิจารย์ผลการทดลอง

ในการศึกษาการเจริญเติบโตของจุลสาหร่าย *Chlorella vulgaris* (รูปที่ 4.1) ในถังปฏิกรณ์แบบปิด 2 ชนิดคือ Tubular Flow Reactor (TFR) และ Oscillatory Flow Reactor (OFR) และผลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญของจุลสาหร่ายได้ผลการทดลองดังนี้

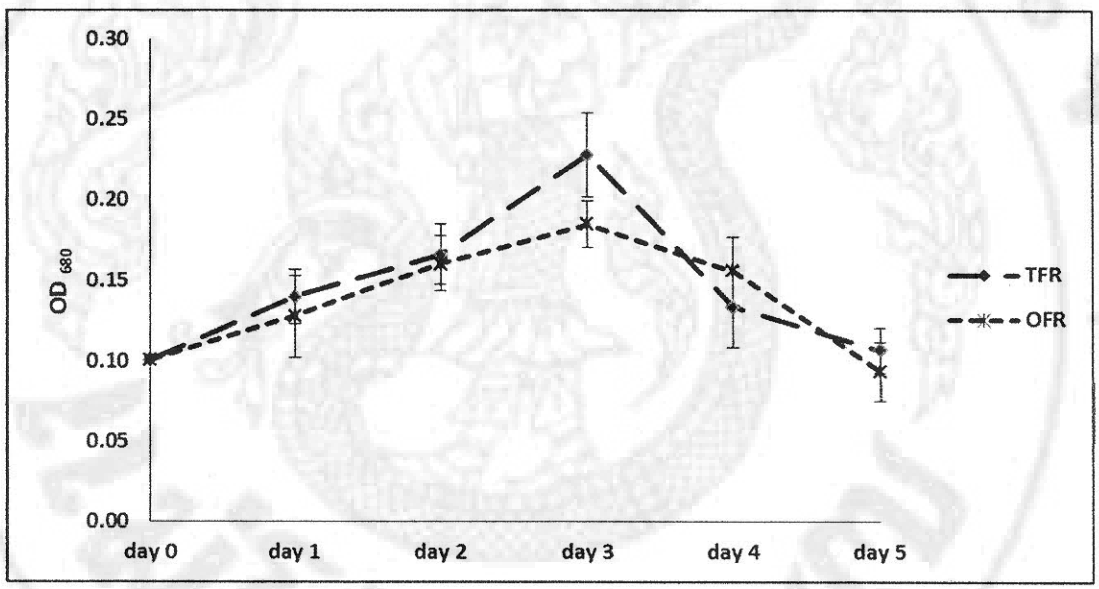


รูปที่ 4.1 จุลสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ใช้ในการทดลอง (กำลังขยาย 400 เท่า)

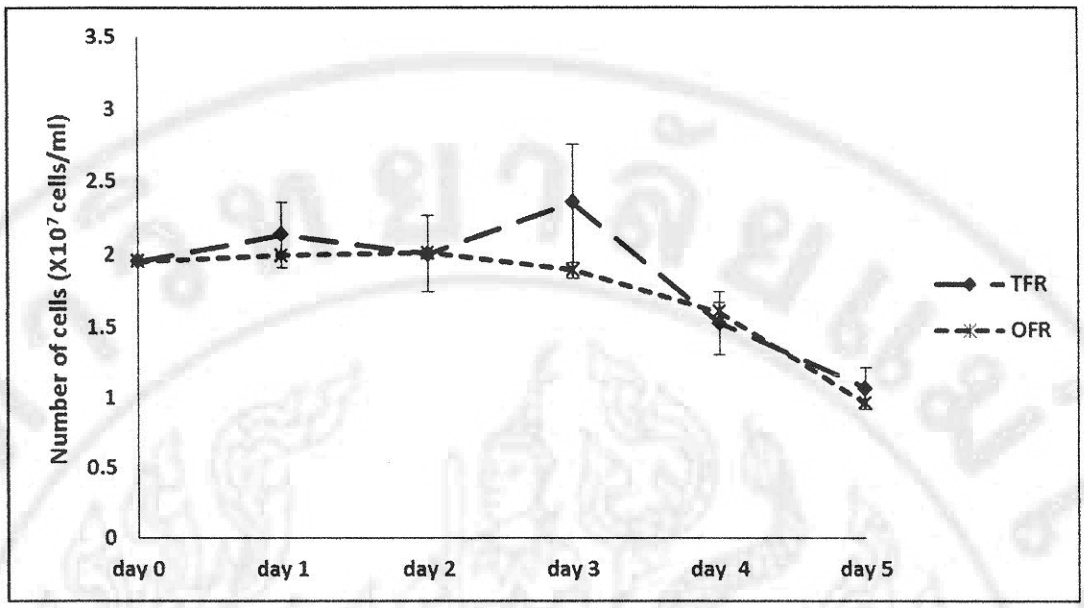
ชนิดของถังปฏิกรณ์ต่อการเจริญของสาหร่าย

จากผลการทดลอง พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในถังปฏิกรณ์แบบ TFR นั้นสาหร่ายจะเจริญได้ดีกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในถังปฏิกรณ์แบบ OFR ตลอดการทดลอง โดยเมื่อเริ่มต้นนั้นสาหร่ายมีค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) 0.1 โดยสาหร่ายจะค่อยๆ เจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง และสาหร่ายเจริญได้ดีที่สุดในวันที่ 4 ของการทดลอง ในทั้ง 2 แบบของถังปฏิกรณ์โดยถังปฏิกรณ์แบบ TFR สาหร่ายมีค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) สูงสุด และค่าความหนาแน่นของเซลล์สูงสุด เท่ากับ 0.23±0.03 และ 2.35 ±0.41 x10^7 เซลล์/มล.ตามลำดับ ในขณะที่ถังปฏิกรณ์แบบ OFR สาหร่ายมีค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) สูงสุด และค่าความหนาแน่นของเซลล์สูงสุด เท่ากับ 0.19 ± 0.02 และ 1.89±0.06x10^7 เซลล์/มล. ตามลำดับซึ่งผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.2 และ 4.3 ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงปริมาณของ

น้ำหนักแห้งโดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่าง จากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) พบว่าในระบบถังปฏิกรณ์แบบ TFR นั้น ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเป็นดังสมการ $y=0.7107X+0.052$ $R^2 = 0.984$ (รูปภาคผนวกที่ 2) และในระบบถังปฏิกรณ์แบบ OFR นั้น ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายดังสมการ $y=0.6789X-0.0016$ $R^2 = 0.9904$ (รูปภาคผนวกที่ 3) จากความสัมพันธ์พบว่าถังปฏิกรณ์ทั้งสองมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดในวันที่ 4 ของการทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ 0.2141 กรัม/ลิตร ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ 0.1240 กรัม/ลิตร ในถังปฏิกรณ์แบบ OFR ลำดับ



รูปที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) ของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะ ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR



รูปที่ 4.3 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะ ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR

ในการเลี้ยงสาหร่ายนั้นการกวนผสมและการเติมอากาศถือได้ว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญของการทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดี โดยเฉพาะการเลี้ยงแบบกะ (batch culture) เนื่องจากการกวนที่ทั่วถึงทำให้สาหร่ายสัมผัสกับสารอาหาร และแสงได้ดี และยังช่วยป้องกันการตกตะกอนของสาหร่าย (Molina-grima*et al*., 1999) แต่อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าถังปฏิกรณ์แบบ OFR นั้นสาหร่ายเจริญได้น้อยกว่าถังปฏิกรณ์แบบ TFR ทั้งนี้เนื่องจาก ถังปฏิกรณ์แบบ OFR นั้นทำให้ความเร็วของกระแสน้ำเพิ่มขึ้นซึ่งอาจทำให้สภาพไม่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย และทำให้เกิดฟองอากาศมากขึ้น ซึ่งฟองอากาศเหล่านี้อาจทำให้จุลสาหร่ายซึ่งเป็นสาหร่ายที่มีขนาดเล็กถูกทำลายเสียหายได้เช่นกัน (Eriksen, 2008) ทั้งนี้ขึ้นกับความไวของแรงเฉือนที่เกิดจากกระแสวนในถังปฏิกรณ์แบบ OFR เป็นสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายมีการตกตะกอนตามบริเวณด้านบนของวงแหวน โดยเฉพาะเมื่อสาหร่ายถูกเลี้ยงนานขึ้น แสดงถึงการกวนผสมที่ยังไม่ทั่วถึง ซึ่งปัญหาเหล่านี้จะไม่พบในถังปฏิกรณ์แบบ TFR เนื่องจากมีการเกิดฟองที่น้อยกว่าจะมีการกวนผสมที่ทั่วถึงกว่าสังเกตได้จากการไม่มีการตกตะกอนของสาหร่ายเกิดขึ้นในถังปฏิกรณ์ จากผลการทดลองพบว่าในการเลี้ยงสาหร่ายนั้นไม่ควรมีการไหลของน้ำที่รุนแรง แต่ควรมีการกวนผสมให้ทั่วถึง จึงจะทำให้สาหร่ายเจริญได้ดี แต่อย่างไรก็ตาม ถังปฏิกรณ์แบบ OFR นี้จะมีประสิทธิภาพมากขึ้นถ้าลดความเร็วของกระแสน้ำลง เพื่อให้เกิดการกวนผสมที่พอเหมาะต่อการเจริญของ

สาหร่าย และรูปแบบของวงแหวน เพื่อให้เกิดการตกตะกอนที่น้อยลง ทั้งนี้จะเป็นการลดต้นทุนด้านพลังงานในการกวนผสมให้น้อยลง เนื่องจากในระบบ TFR นั้นจะเสียพลังงานมากในการกวนผสม (Harvey *et al*., 2003; Zheng *et al*., 2007)

เมื่อพิจารณาถึงอุณหภูมิตลอดการทดลองพบว่าตลอดการทดลองอุณหภูมิในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 ชนิดนั้นอยู่ในช่วง 31-33 °C (ตารางภาคผนวกที่ 4) และเมื่อพิจารณาถึงค่า pH ของทั้งสองถังปฏิกรณ์พบว่าค่า pH ของถังปฏิกรณ์ทั้งสองถังปฏิกรณ์มีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยจากเริ่มต้นคือจากค่า 8.4 ในวันแรกและมีค่า pH อยู่ในช่วง 8.4-6.8 ในถัง TFR ในขณะที่ ในขณะที่ถัง OFR มีค่าการลดลงของ pH เพียงเล็กน้อยเช่นกันคืออยู่ในช่วง 8.4-6.9 ซึ่งเป็นช่วง pH ที่มีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 6.5-8.5 (ผกาวดีและพนิดา, 2552) ผลการทดลองแสดงในตารางภาคผนวกที่ 3

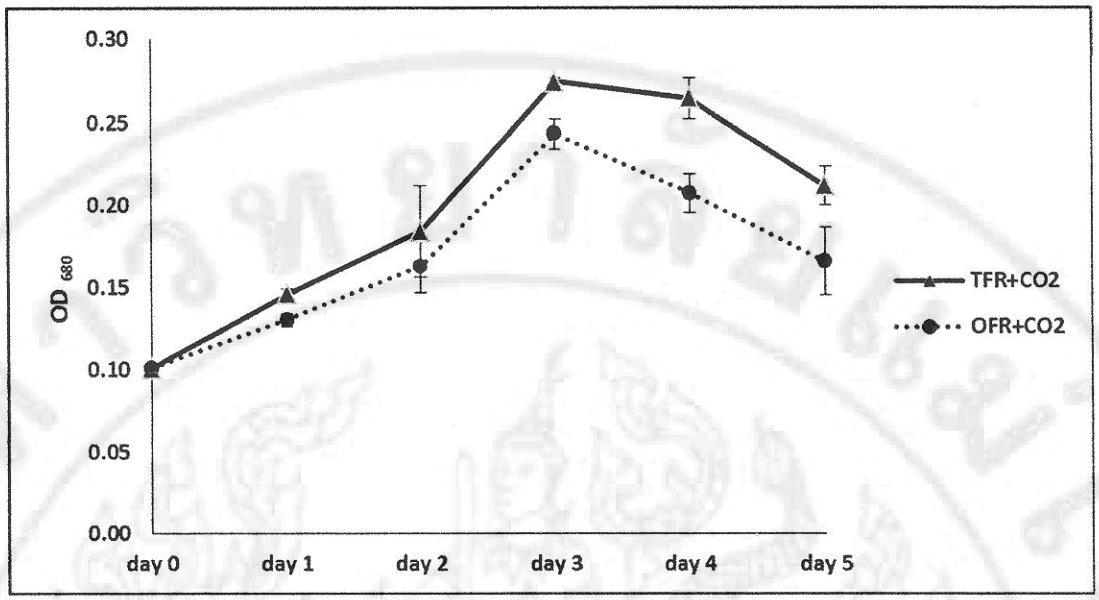
ผลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญของสาหร่าย

ผลจากการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20% พบว่าสาหร่ายในถังปฏิกรณ์ทั้งสองแบบมีปริมาณเพิ่มขึ้นโดยถังปฏิกรณ์แบบTFR นั้นสาหร่ายจะเจริญได้ดีกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในถังปฏิกรณ์แบบ OFR ตลอดการทดลอง โดยเจริญได้ดีที่สุดในวันที่ 4 ของการทดลอง ในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 แบบ โดยถังปฏิกรณ์แบบ TFR ที่เติมคาร์บอนไดออกไซด์ สาหร่ายมีค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) สูงสุด และค่าความหนาแน่นของเซลล์สูงสุด เท่ากับ 0.28±0.002 และ 3.12±0.07x10^7เซลล์/มล. ตามลำดับ ในขณะที่ถังปฏิกรณ์แบบ OFR สาหร่ายค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) สูงสุด และค่าความหนาแน่นของเซลล์สูงสุด เท่ากับ 0.24±0.01 และ 2.73±0.24x10^7 เซลล์/มล. ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.4 และ 4.5 ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงปริมาณของน้ำหนักแห้งโดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) พบว่าในระบบถังปฏิกรณ์แบบ TFR และมีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20% นั้น ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเป็นดังสมการ $y=1.3064X-0.043$ $R^2 = 0.9935$ (รูปภาคผนวกที่ 4) และในระบบถังปฏิกรณ์แบบ OFR นั้น ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเป็นดังสมการ $y=0.7764X+0.006$ $R^2 = 0.9751$ (รูปภาคผนวกที่ 5) จากความสัมพันธ์

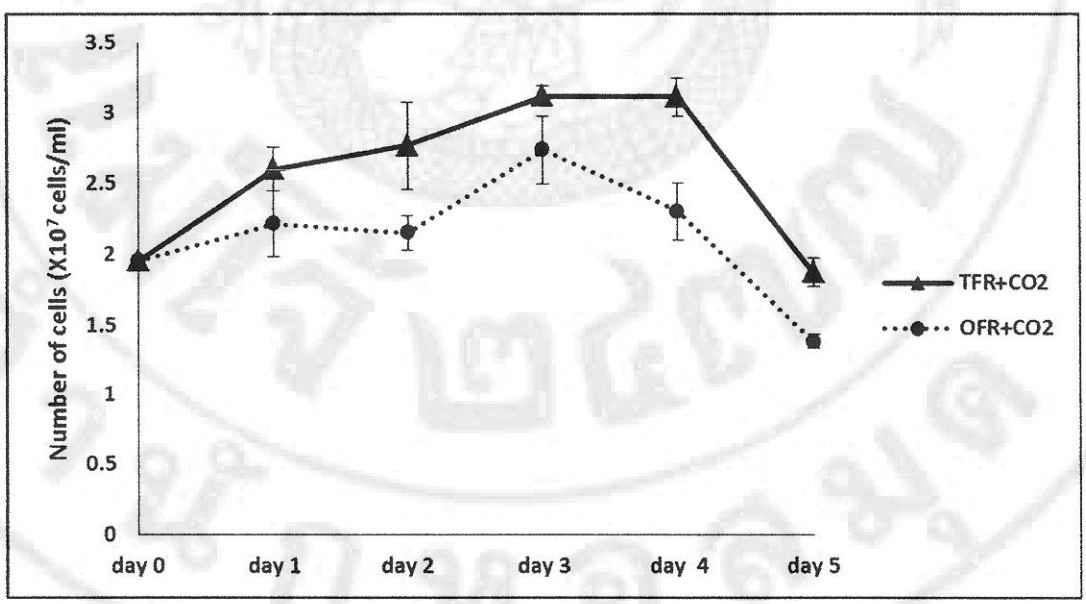
พบว่าถังปฏิกรณ์ทั้งสองมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดในวันที่ 4 ของการทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ 0.3163 กรัม/ลิตร ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ 0.1952 กรัม/ลิตร ในถังปฏิกรณ์แบบ OFR ตามลำดับ

ผลการทดลองพบว่าสาหร่ายเมื่อได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้การเจริญเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจน ในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 ชนิด ทั้งนี้เนื่องจากสาหร่ายสามารถใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน ดังนั้นเมื่อมีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในถังปฏิกรณ์ทำให้ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารสูงขึ้น จะทำให้เกิด อนินทรีย์คาร์บอนมากขึ้นในอาหาร เกิดขบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายที่เพิ่มมากขึ้น โดยสาหร่ายสามารถใช้อนินทรีย์คาร์บอนในการเจริญเติบโต จึงสามารถเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นน้ำหนักแห้งได้ ทำให้สาหร่ายมีการเจริญที่มากขึ้น จากการทดลองพบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เข้าสู่ระบบคือ 99% และมีการออกจากระบบ ระหว่าง 4.90%-10.53% ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และระหว่าง 4.52%-10.10% ในถังปฏิกรณ์แบบ OFR ผลการทดลองแสดงในตารางภาคผนวกที่ 5

แต่อย่างไรก็ตามในการทดลองต้องมีการปรับค่า pH อยู่เสมอเพื่อให้ pH ของอาหารที่ใช้เลี้ยงมีค่าอยู่ระหว่าง 6.5-8.5 (ผกาวดีและพนิดา, 2552) ทั้งนี้เนื่องจาก ปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มลงไป มีผลทำให้ค่า pH ในอาหารลดลง เป็นเพราะกรดคาร์บอนิก ที่เกิดจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เติมลงไปในปริมาณที่มาก ซึ่งค่า pH ที่ลดลงมากๆ จะส่งผลให้ปฏิกิริยาไฮเดรชัน (hydration) ลดลง ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กลายเป็นไบคาร์บอนเนตได้น้อยลง ซึ่งไปยับยั้งการเจริญของสาหร่ายได้ (Tang *et al.*,2011) จึงต้องมีการดูแลและปรับค่า pH ของอาหารอยู่เสมอ ซึ่งเป็นเหตุผลหนึ่งในการควบคุมปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใส่ลงไปในระบบ



รูปที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) ของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะ ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR และการเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์



รูปที่ 4.5 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะ ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR และการเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

การเพิ่มผลผลิตสาหร่ายด้วยคาร์บอนไดออกไซด์

จากผลการทดลองพบว่าถังปฏิกรณ์แบบ TFR นั้นมีความเหมาะสมสำหรับเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะได้ดีกว่าถังปฏิกรณ์แบบ OFR โดยถังปฏิกรณ์แบบ TFR นั้นสาหร่ายมีความเข้มข้นของมวลสูงสุดที่ 0.2141 กรัม/ลิตร มีอัตราผลผลิตสูงสุด 0.0438 กรัม/ลิตร/วัน และมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด 0.2291 ต่อวัน ในขณะที่ ถังปฏิกรณ์แบบ OFR สาหร่ายมีความเข้มข้นของมวลสูงสุดที่ 0.1240 กรัม/ลิตร มีอัตราผลผลิตสูงสุด 0.0218 กรัม/ลิตร/วัน และมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 0.1430 ต่อวันและเมื่อมีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20% พบว่าสาหร่ายให้ผลผลิตที่ดีขึ้น โดยสาหร่ายมีความเข้มข้นของมวลสูงสุดที่ 0.3163 กรัม/ลิตร มีอัตราผลผลิตสูงสุด 0.1185 กรัม/ลิตร/วัน และมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 0.4447 ต่อวัน ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และความเข้มข้นของมวลสาหร่ายสูงสุดที่ 0.1952 กรัม/ลิตร มีอัตราผลผลิตสูงสุด 0.0626 กรัม/ลิตร/วัน และมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 0.3870 ต่อวัน ในถังปฏิกรณ์แบบ OFR (ตารางที่ 4.1)

ผลการทดลองพบว่าเมื่อมีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเพิ่มสูงขึ้น ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ของสาหร่าย ทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเพิ่มสูงขึ้น โดยจะใช้เวลาที่สั้นลงในการเกิดเซลล์ใหม่ๆ จึงทำให้สาหร่ายมีน้ำหนักแห้งเพิ่มสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มากเกินไปก็อาจไม่เป็นผลดีต่อสาหร่าย โดยทั่วไปสาหร่ายจะสามารถเจริญดีและให้ผลผลิตที่ดีเมื่อมีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 5-20 % ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายเป็นสำคัญ ทั้งนี้พบว่าสาหร่ายบางชนิดสามารถเจริญในที่มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สูงๆ ได้เช่น *Chlorella pyrenoidosa* สามารถเจริญได้ในคาร์บอนไดออกไซด์สูงถึง 50% (Tang *et al.*, 2011) ในขณะที่สาหร่าย *Chlorella*sp.KR-1 สามารถเจริญได้ในคาร์บอนไดออกไซด์สูงถึง 30% (Sung *et al.*, 1999) ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้ได้เพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20% ให้แก่สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ซึ่งพบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ และให้ผลผลิตที่ดีเมื่อเทียบกับถังปฏิกรณ์ที่ไม่เติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

แต่อย่างไรก็ตามพบว่าผลผลิตของสาหร่ายที่ได้จากการทดลองนั้นมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับการทดลองอื่นๆ ในทั้งสองชนิดของถังปฏิกิริยา ทั้งนี้เนื่องจากสภาพอากาศที่ร้อน ทำให้อุณหภูมิของอาหารในถังปฏิกิริยาทั้งสองมีค่าค่อนข้างสูง คืออยู่ระหว่าง 31-33 °C ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่

เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย ซึ่งในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่ายควรมีอุณหภูมิการเลี้ยงอยู่ที่ 25- 30 ºC (นุชนารถ, 2557)

ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นของมวลสูงสุด (X_{max}), ผลผลิตของมวลสูงสุด (P_{max}) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ของ *Chlorella vulgaris* ในถังปฏิกรณ์และสภาวะการให้ CO_2

Reactor	X_{max} (gL^{-1})	P_{max} ($gL^{-1}d^{-1}$)	μ_{max} (d^{-1})
tubular flow reactor (TFR)	0.2141	0.0438	0.2291
oscillatory flow reactor (OFR)	0.1240	0.0218	0.1430
tubular flow reactor+CO_2 (TFR+CO_2)	0.3163	0.1185	0.4447
oscillatory flow reactor+CO_2(OFR+CO_2)	0.1952	0.0626	0.3870

การวิเคราะห์ไบโอดีเซลจากสาหร่าย *Chlorella sp.*

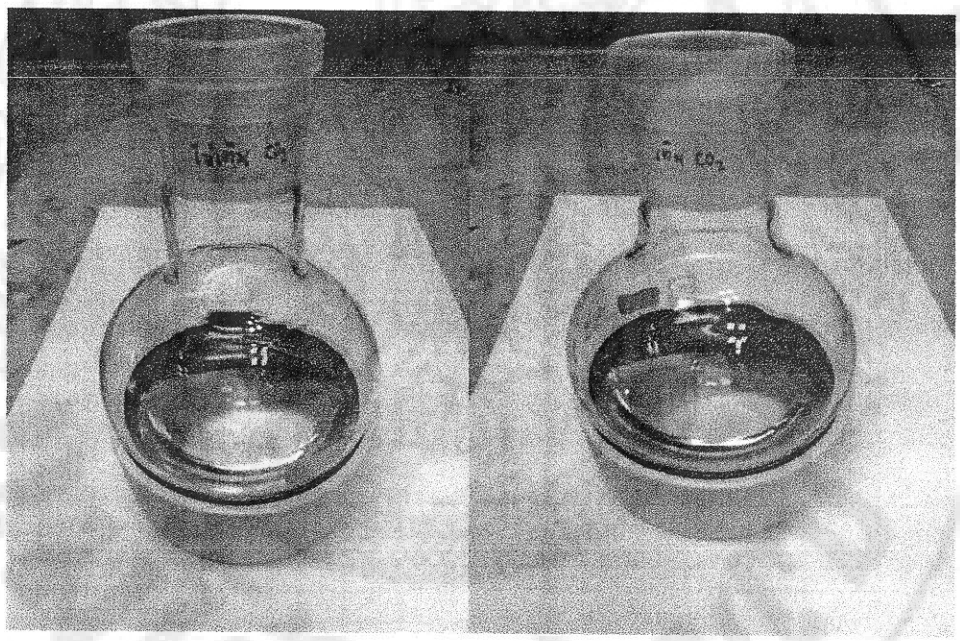
1. การวัดปริมาณลิปิดโดยน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำมันสาหร่ายและปริมาณกากที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

สภาวะการเลี้ยงสาหร่าย	น้ำหนักของสาหร่ายสด (g)	น้ำหนักของสาหร่ายแห้ง (g)	ปริมาณน้ำมันสาหร่าย			ปริมาณกากสาหร่าย	
			น้ำหนัก (g)	ร้อยละ (w/w) น้ำหนักแห้ง	ร้อยละ (w/w) น้ำหนักสด	น้ำหนัก (g)	ร้อยละ (w/w) น้ำหนักแห้ง
ไม่เติม CO_2	39.9625	5.0113	0.4889	9.76	0.1359	4.5224	90.24
เติม CO_2	23.4507	5.0161	0.5382	10.74	0.2324	4.4779	69.33

สภาวะการเลี้ยงสาหร่ายที่ไม่เติม CO_2 ต้องใช้ปริมาณน้ำหนักสดมากกว่า

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณน้ำมันจากสาหร่ายที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนจะมีปริมาณ 9.76 % เมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้งของสาหร่ายในชุดการทดลองที่ไม่เติม CO_2 ในขณะที่ชุดการทดลองที่เติม CO_2 จะมีปริมาณน้ำมันจากสาหร่าย 10.74 % ซึ่งพบว่าในชุดที่เติม CO_2 จะให้ปริมาณน้ำมันที่มากกว่าประมาณ 1% ซึ่งจากผลการทดลองจะพบว่า การเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้แก่สาหร่ายนั้น ไม่ได้มีส่วนช่วยให้สาหร่ายผลิตน้ำมันได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะสามารถช่วยให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีและเพิ่มผลผลิตให้แก่สาหร่ายได้



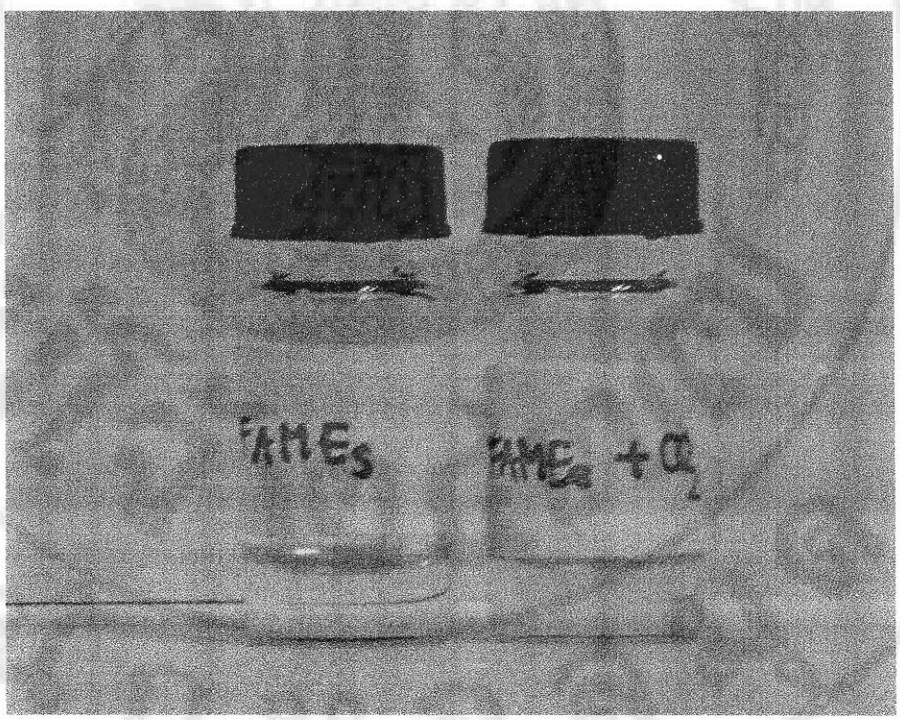
รูปที่ 4.6 ลักษณะของน้ำมันสาหร่ายที่ผลิตได้

2. นำสาหร่ายแห้งที่ได้มาผลิตเป็นไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชั่นด้วยเมทานอล

เมื่อนำเอาน้ำมันที่สกัดได้มาผ่านกระบวนการปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชั่น ด้วยเมทานอล ปริมาณร้อยละของการเปลี่ยนไปเป็นไบโอดีเซล (Fatty acid methyl esters, FAMEs) พบว่า น้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายที่ชุดการทดลองที่ไม่เติมCO_2 นั้น มีปริมาณการผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซลได้ร้อยละ 86.19% หรือ 8.41% เมื่อเทียบกับน้ำหนักสาหร่ายแห้ง ในขณะที่น้ำมันที่สกัดได้จาก

สาหร่ายมีการเติม CO_2 นั้น มีปริมาณการผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซลได้ร้อยละ 86.06% และหรือ 9.25% เมื่อเทียบกับน้ำหนักสาหร่ายแห้งผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณของน้ำมันจากสาหร่ายจะมีประมาณ 10 % ของน้ำหนักแห้งซึ่งเป็นปริมาณนำมันที่น้อยที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยสาหร่ายชนิดนี้สามารถจะมีปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ประมาณ 14-22 % ของน้ำหนักแห้งสาหร่าย (Demirbas and Demirbas, 2011; Farcas, 2012) แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Brian *et al.*, 2011 พบว่า น้ำมันที่สกัดทั้งหมดที่ได้จากสาหร่าย 3 ชนิดที่ทำการทดลองมีประมาณ 15-19 % ของน้ำหนักแห้งสาหร่าย แต่เมื่อนำมาทำให้เป็นไบโอดีเซลแล้ว จะได้ไบโอดีเซลประมาณ 1% ของน้ำหนักแห้งสาหร่าย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้คือเมื่อพิจารณาถึงปริมาณของไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากการทดลองนี้พบว่า สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงและจะผลิตเป็นไบโอดีเซลได้ประมาณ 1% ของน้ำหนักแห้งของทั้งชุดการทดลองที่เติม CO_2 และชุดการทดลองที่ไม่เติมก๊าซ



รูปที่ 4.7 ลักษณะของไบโอดีเซล (Fatty acid methyl esters, FAMEs) ที่ผลิตได้

ตารางที่ 4.3 ปริมาณของไบโอดีเซลที่ผลิตได้

รายการ	สภาวะ: ไม่เติม CO_2	สภาวะ: เติม CO_2
น้ำหนักผงสาหร่ายแห้ง (กรัม)	5.0113	5.0161
น้ำหนักน้ำมัน (กรัม)	0.4889	0.5382
น้ำหนัก FAMEs (กรัม)	0.468	0.469
ร้อยละผลผลิตไบโอดีเซล FAMEs เมื่อเทียบกับปริมาณน้ำมันสาหร่ายที่ผลิตได้	86.19	86.06
ร้อยละผลผลิตไบโอดีเซล FAMEs เมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย	8.41	9.25

3. การศึกษาองค์ประกอบของลิปิดที่ได้ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

เมื่อนำน้ำมันไบโอดีเซลที่ได้มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมัน ใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC): โดยใช้สภาวะดังนี้

Carrier gas: helium gas (ca. 1.0 ml/min),

Mode: Electron impact (EI, 70 eV)

Injector temperature: 250 °C

Oven temperature: 3 min isothermal at 70 °C, at 5°C/min to 200°C and then at 10 °C/min to 280 °C (10 min isothermal)

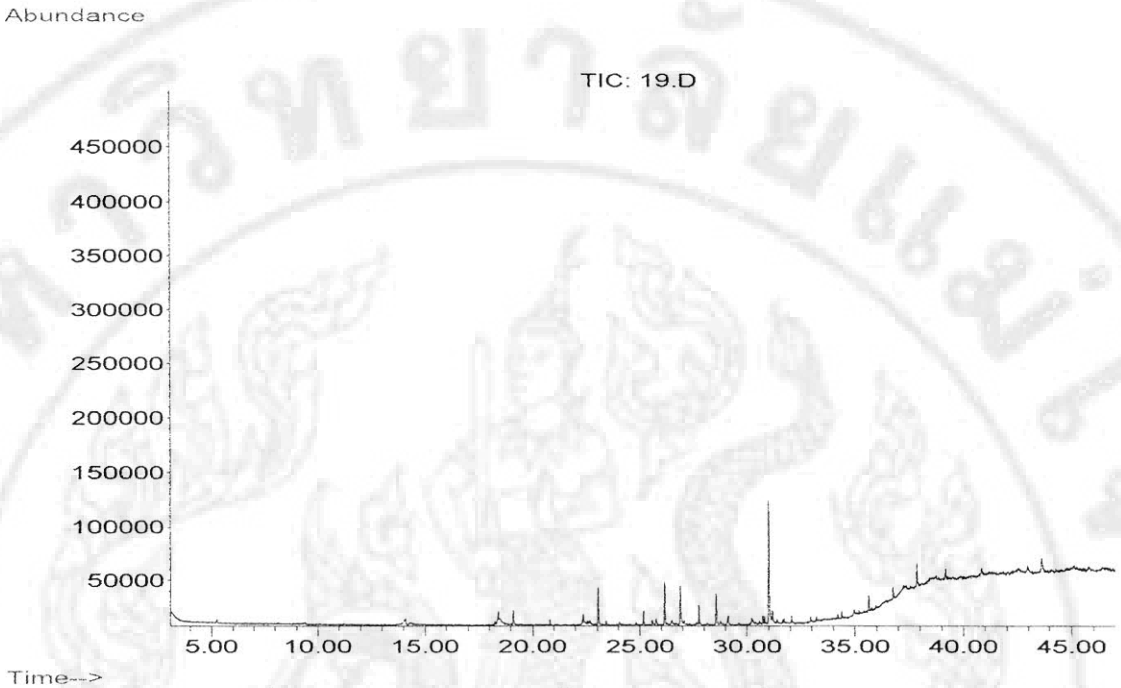
Detector temperature: 280 °C.

ผลการทดลองแสดงดังรูป 4.8 และ 4.9 แสดงให้เห็นว่า องค์ประกอบของไบโอดีเซลที่ได้จากสาหร่ายที่เติมและไม่เติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นั้นมีองค์ประกอบที่เหมือนกัน แต่มีปริมาณขององค์ประกอบที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.3 4.4 และตารางที่ 4.3 จากผลการทดลองพบว่าสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นี้มีองค์ประกอบ 21 ชนิด และส่วนมากเป็นสารประเภทเมทิล เอสเตอร์ โดยองค์ประกอบหลักที่สำคัญที่มากที่สุด 3 ชนิดคือ Phytol, Hexamethylcyclotrisiloxane และ

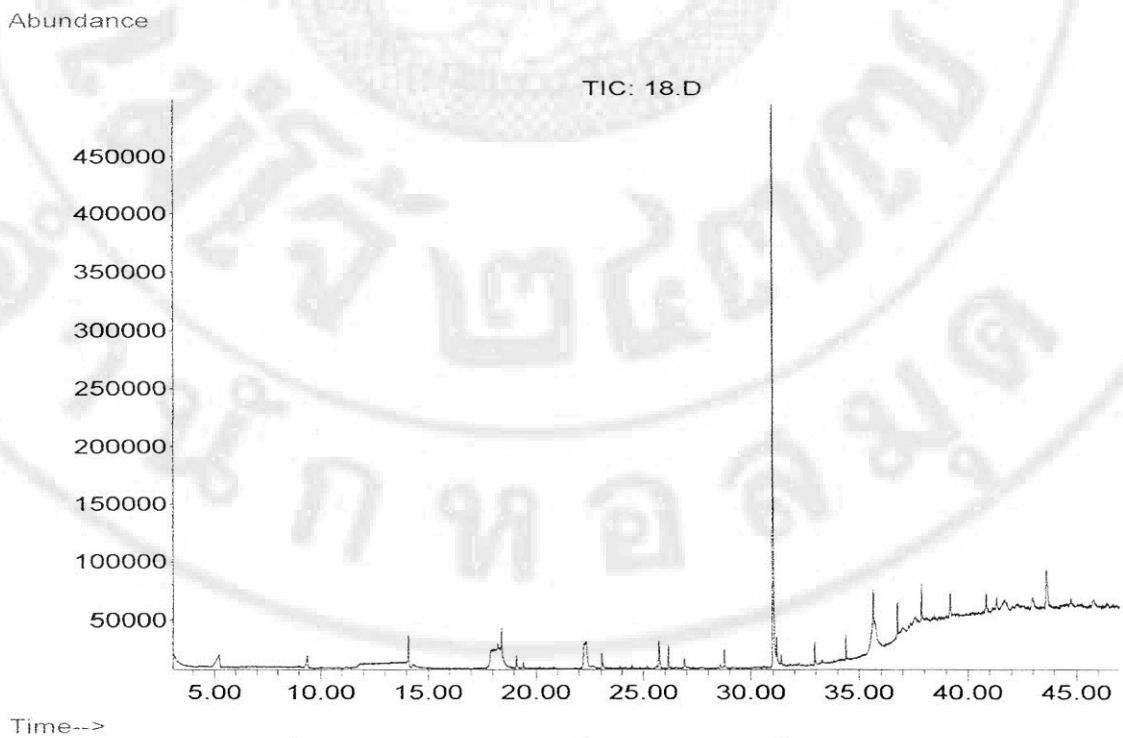
Octamethylcyclotetrasiloxane ในอัตราส่วนร้อยละ 39.25 13.07 และ 3.74 ตามลำดับ ในขณะที่สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นี้มีองค์ประกอบที่สำคัญหลักที่สำคัญที่มากที่สุด 3 ชนิด คือ Phytol, Methyl palmitate และ Eicosamethylyclodecasiloxane ในอัตราส่วนร้อยละ 27.29 10.08 และ 9.72 ตามลำดับ ซึ่งไฟทอล (Phytol, $C_{20}H_{40}O$) ที่พบเป็นองค์ประกอบสำคัญในไบโอดีเซลที่ได้จากสาหร่ายนี้มาจากปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชั่น ที่สามารถเปลี่ยน pigment ในเซลล์ของพืชไปเป็นไฟทอลได้ เนื่องจากไฟทอลนั้นเป็นส่วนประกอบของคลอโรฟิลล์ที่เป็นไฮโดรคาร์บอนสายยาว (รูปภาคผนวกที่ 7) ซึ่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไฟทอลได้โดยการย่อยของแบคทีเรียบางชนิดหรือใช้เอ็นไซด์บางชนิดเช่น Chlorophyllase ซึ่งสามารถผลิตไฟทอลออกมาได้จากการทำให้ไฮโดรคาร์บอนสายยาวนั้นแตกออกจาก Chlorophyll โดยไฟทอล นี้สามาถผลิตได้จากพืชหรือของเหลือใช้จากการเกษตรหลายชนิดเช่น เยื่อไม้ หรือเปลือกข้าวโพด เป็นต้น (Argonne national labolatory, 2015) โดยไฟทอลนี้มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับน้ำมันดีเซล สามารถใช้เป็นส่วนผสมในน้ำมันดีเซลได้เป็นอย่างดี การเปรียบเทียบองค์ประกอบระหว่างไฟทอลและดีเซลแสดงในตารางภาคผนวกที่ 9

จากผลการทดลองพบว่านั่นแสดงได้ว่าการเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้แก่สาหร่ายนั้น ทำให้สาหร่ายมีความเครียดและเหนี่ยวนำให้ผลิตสารพวก neutral lipid ได้ดีกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มสภาวะความเครียดให้แก่สาหร่าย เช่น การจำกัดสารอาหาร แสง อุณหภูมิหรือ pH (Hu, 2004; Hu *et al.*, 2008) จะสามารถช่วยให้สาหร่ายผลิต neutral lipid ซึ่งมีองค์ประกอบจำพวก fatty acids, glycerol ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตไบโอดีเซลได้มากขึ้นในในปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชั่น (Krohn *et al.*, 2011) ทั้งนี้เนื่องจากภายใต้สภาวะการเจริญที่เหมาะสมนั้น พบว่า fatty acids ในสาหร่ายจะมีประมาณ 5-20% ของน้ำหนักแห้งสาหร่าย แต่ภายใต้สภาวะที่ตึงเครียดสาหร่ายจะเปลี่ยนกระบวนการในการสังเคราะห์ lipid ที่เปลี่ยนไป โดยจะเปลี่ยนเป็นให้อยู่ในรูปของ neutral lipid (20-50%) ในรูปของ triacylglycerol (TAGs) (Guschina and Harwood, 2006; Hu *et al.*, 2008, Thompson, 1996) ทั้งนี้ขึ้นอยู่ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงและศักยภาพของสาหร่ายแต่ละชนิดเป็นสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามความเครียดเหล่านี้แม้จะสามารถเหนี่ยวนำให้สาหร่ายผลิตไขมันในรูป neutral lipid ได้มาก ซึ่งมีผลดีต่อการผลิตไบโอดีเซล แต่ก็อาจเป็นผลเสียต่อผลผลิตของสาหร่ายเอง เนื่องจากการที่สาหร่ายไม่ได้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมหรือมีความเครียดอาจทำให้การเจริญลดลง ทำให้ปริมาณผลผลิตลดลงเช่นกัน (Krohn *et al.*, 2011) ซึ่งท้ายสุดก็อาจส่งผลไปยังผลผลิตน้ำมันของสาหร่ายในที่สุด ซึ่งผลจากการทดลองพบว่าการใส่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปในระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้น เป็นความเครียดอย่างหนึ่งที่แตกต่างจากสภาวะปกติ แต่สาหร่ายยังเจริญเติบโตและให้ผลผลิตมากกว่าการไม่เติมก๊าซ

คาร์บอนไดออกไซด์ และเมื่อนำมาผ่านกระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชั่น สาหร่ายได้ผลผลิตไบโอดีเซลได้มากกว่า



รูปที่ 4.8 GC Chromatogram ที่ได้จาก FAMEs ที่ไม่เติม CO_2



รูปที่ 4.9 GC Chromatogram ที่ได้จาก FAMEs ที่เติม CO_2

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบของลิปิดในไบโอดีเซล

No.	RT	สภาวะ: ไม่เติม CO_2		สภาวะ: เติม CO_2		Compounds
		Area	%Area	Area	%Area	
1	5.22	8736	0.08	1126989	3.74	octamethylcyclotetrasiloxane
2	9.38	47904	0.44	536132	1.78	decamethylcyclopentasiloxane
3	14.09	477867	4.38	708258	2.35	unidentified
4	18.44	1060927	9.72	533672	1.77	eicosamethylcyclodecasiloxane
5	19.11	370119	3.39	243900	0.81	2,4-di-tert-butylphenol
6	22.34	344038	3.15	2310604	7.66	unidentified
7	25.73	196331	1.80	807503	2.68	benzodiazepin-2-one
8	26.16	1015053	9.30	451507	1.50	6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone
9	26.91	1100445	10.08	308032	1.02	methyl palmitate
10	28.77	101124	0.93	403975	1.34	methyl glycol phthalate
11	31.03	2990993	27.39	11834932	39.25	phytol
12	31.20	346082	3.17	897419	2.98	glycine amide hydrochloride
13	32.96	94185	0.86	470984	1.56	heptamethyl-3,3-bis(trimethylsiloxy)tetrasiloxane
14	34.40	129254	1.18	391067	1.30	octadecamethylcyclononasiloxane
15	35.65	397595	3.64	3941763	13.07	hexamethylcyclotrisiloxane
16	36.78	281779	2.58	646738	2.15	unidentified
17	37.88	525658	4.81	791320	2.62	unidentified
18	39.20	291619	2.67	641434	2.13	unidentified
19	40.85	163111	1.49	649305	2.15	unidentified
20	42.99	193603	1.77	658488	2.18	unidentified
21	43.64	783772	7.18	1796137	5.96	unidentified
	รวม	10,920,195	รวม	30,150,159		

หมายเหตุ

RT. = Retention time คือเวลาที่สารถูกแยกออกมา

Area คือ พื้นที่ใต้พีค

%Areaคือ พื้นที่ใต้พีคขององค์ประกอบนั้นๆ เทียบกับพื้นที่ขององค์ประกอบทั้งหมดในตัวอย่างนั้นๆ

สรุปผลการทดลอง

1. ถังปฏิกรณ์แบบOFR นั้นสาหร่ายเจริญได้น้อยกว่าถังปฏิกรณ์แบบ TFR ทั้งนี้เนื่องจาก ถังปฏิกรณ์แบบOFR นั้นทำให้ความเร็วของกระแสน้ำเพิ่มขึ้นมากเกินไป ทำให้สภาพไม่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย และทำให้เกิดฟองอากาศมากขึ้น ซึ่งอาจทำให้จุลสาหร่ายซึ่งที่มีขนาดเล็กถูกทำลายเสียหายได้ถ้าลดความเร็วของกระแสน้ำลง เพื่อให้เกิดการกวนผสมที่พอเหมาะต่อการเจริญของสาหร่าย และพัฒนารูปแบบของวงแหวน เพื่อให้เกิดการตกตะกอนที่น้อยลง จะเป็นการลดต้นทุนด้านพลังงานในการกวนผสมให้น้อยลงได้

2. สาหร่ายเมื่อได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้การเจริญเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจนในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 ชนิด

3. ปริมาณน้ำมันจากสาหร่ายที่สกัดมีปริมาณ 9.76 % เมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้งของสาหร่ายในชุดการทดลองที่ไม่เติมCO_2 ในขณะที่ชุดการทดลองที่เติมCO_2 จะมีปริมาณน้ำมันจากสาหร่าย 10.74 % จากผลการทดลองนี้พบว่า การเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้แก่สาหร่ายนั้นไม่ได้มีส่วนช่วยให้สาหร่ายผลิตน้ำมันได้ขึ้นมากนัก แต่ช่วยให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีและเพิ่มผลผลิตให้แก่สาหร่ายได้

4. ปริมาณของไบโอดีเซลที่ผลิตได้จาก สาหร่าย*Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงสามารถผลิตเป็นไบโอดีเซลได้ประมาณ 1% ของน้ำหนักแห้งของทั้งชุดการทดลองที่เติม CO_2 และชุดการทดลองที่ไม่เติมก๊าซ

5. องค์ประกอบของไบโอดีเซลที่ได้จากสาหร่ายที่เติมและไม่เติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นั้นมีองค์ประกอบที่เหมือนกัน แต่มีปริมาณขององค์ประกอบที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีองค์ประกอบหลักที่สำคัญที่มากที่สุด 3 ชนิดคือ Phytol, Hexamethylcyclotrisiloxane และ Octamethylcyclotetrasiloxane ในอัตราส่วนร้อยละ 39.25 13.07 และ 3.74 ตามลำดับ ในขณะที่สาหร่าย ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นี้มีองค์ประกอบที่สำคัญหลักที่สำคัญที่มากที่สุด 3 ชนิดคือ Phytol, Methyl palmitate และ Eicosamethylyclodecasiloxaneในอัตราส่วนร้อยละ 27.29 10.08 และ 9.72 ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

จงกล พรมยะ. 2552. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

นุชนารถ แช่มช้อย. 2557. สาหร่ายขยาดเล็กและการนำมาใช้ประโยชน์. **ว. มฉก.วิชาการ**. 17 (34): 169-183

ผกาวดี แก้วกันเนตร และพนิดา รัตนพลที. 2552. ศักยภาพการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก. **ว.ศูนย์บริการวิชาการ**. 16(1): 9-13

ภาคภูมิ. 2550. คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) สารสกัดจากพืช. จาก http://www.siamchemi.com/ [10 กันยายน 2558].

อาภาณี เหลืองนฤมิตชัย. 2549. Biodiesel. จาก krooneng.blogsport.com/2006/10/biodiesel. html [10 กันยายน 2558].

Ahn, J., Kwon, H., Young, L.S., Han-Gu, C., Youn-ll, P., Ryol, L.J. and Won-Joong, J. 2012. A new arctic Chlorella species for biodiesel production. Short communication. **Bioresource Technol**. 125:340-343

Argonne national laboratory. 2015. New tech could be "Mr. Fusion" for biofuel. Available from: http://anl.gov/articles/new-tech-could-be-mr-fusion-biofuel [10 September 2015].

Azzopard, M. 2012. Amoeba-Chlorella. Available from: www.slideshare.net/SECBIO/ amoeba-chlorella. [10 September 2015].

Becker E.W. In: Baddiley J et al., editors. **Microalgae: biotechnology and microbiology**. Cambridge (New York): Cambridge Unvi. Press; 1994

Benemann, J.R. 1989. The future of microalgal biotechnology. In **Algal and Cyanobacterial Biotechnology**. Edited by Cresswell, R.C., Rees, T.A.V. and Shah, N. pp. 317–337. Longman Scientific & Technical, Harlow

Chen, F. and Johns, M.R. 1991. Effect of C/N ratio and aeration on the fatty acid composition of heterotophic *Chlorella sorokiniana*. **J. Appl. Phycol**. 3: 203-206

Chen, F. and Johns, M.R. 1994. Substrate inhibition of *Chlamydomonas reinhardtii* by Acetate in heterotrophic culture. **Process Biochem**. 29: 245–252

Chen, F., and John, M. R. 1996. Heterotrophic growth of *Chlamydomonas reinhardtii* on acetate in chemostat culture. **Process Biochem**. 31: 601-604

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotecnol. Adv. 25(3): 294-306

Demirbas A.H. 2009. Inexpensive oil and fats feedstocks for production of biodiesel. **Energy Educ. Sci. Technol. Part A**. 23: 1-13

Demirbas, A., and Demirbas, M.F. 2011. Importance of algae oil as a source of biodiesel. **Energ. Convers. Manage**. 52: 163-170

deMorais, M.G. Costa, J.A.V. 2007. Biofixation of carbon dioxide *by Spirulina* sp.and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. **J. Biotechnol**. 129:439-445

Doucha, J. Straka, F and Livansky, K.2005. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in outdoor openthin-layer photobioreactor. **J. Appl. Phycol**. 17: 403-412

Eriksen, N.T. 2008. The technology of microalgal culturing. **Biotechnol Lett**. 30:1525-1536

Farcas, M.T. 2012. **Growth of Chlorella vulgaris and Chlamydomonas reinhardtii for biodiesel production and carbon dioxide capture**. Thesis Master of Science in Applied and environmental microbiology. West verginia.

Guschina, I.A. and Harwood, J.L. 2006. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. **Prog. Lipid Res**. 45:160-186

Hervey, A.P., Mackley, M.R. and Seliger, T. 2003. Process intensification of biodiesel production using a continuous oscillatory flow reactor. **J. Chem. Technol. Biotechnol**. 78:338-341

Hossain, S., Aishah, S., Amru, N.B., Partha, C. and Mohd. N. 2008. Biodiesel Fuel Production from Algae as Renewable Energy. **Am. J. Biochem. Biotechnol**. 4 (3):250-254

Hu, Q. 2004. Environmental effects on cell composition. In **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Blackwell Science Ltd., Oxford. pp. 83-93

Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M. and Darzins, A.L. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. **Plant J.** 54:621-639

Javanmardian. M. and Palsson, B.O. 1991. High-density photoautotrophic algal cultures: design, construction, and opration of noval photobioreactor system. **Biotechnol. Bioeng.** 38: 1182-1189

Jorquera, O., Kiperstok, A., Sales, E. A., Embiruçu, M. and Ghirardi, M. L. 2010. Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. **Bioresource Technol.** 101: 1406-1413

Kadam, K.L. 1997. Power plant flue gas as a source of CO_2 for microalgae cultivation: economic impact of different process options. **Energ. Convers. Manage.** 38:S505-S510

Kao, C.Y, Chiu, S.Y., Huang, T.T., Dai, L., Hsu, L. K. and Lin., C. S. 2012. Ability of a mutant strain of microalgae Chlorella sp. to capture carbon dioxide for biogas upgrading. **App. Energ.** 93:176-183

Krohn, B. J., McNeff, C.V. Yan, B. and Nowlan, D. 2011. Production of algae-based biodiesel using the continuous catalytic Mcgyan Process. **Bioresource Technol.** 102:94-10

Lee, J.S. Sung, K.D. Kim, M.s. Park, S.C. and Lee, K.W. 1996. Current aspects of carbon dioxide fixation by microalgae in Korea. In: **Symposium on the capture, utilization and disposal of CO_2**

Molina –Grima, E.M., Fernandez, F.G.A., Camacho, F.G. and Christi, Y. 1999. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scalup. **J. Biotechnol.** 70:231-247

Najafi, G., Ghobadian, B. and Yusaf, T.F. 2011. Algae as a sustainable energy source for biofuel production in Iran: A case study. **Renew. Sust. Energ. Rev.** 15:3870-3876

Ramírez, A.I., Aggarwal, S.K., Som, S. Rutter, T.P. and Longman. D.E. 2014. Effects of blending a heavy alcohol ($C_{20}H_{40}O$) with diesel in a heavy-duty compression-ignition engine. **Fuel.** 36:89-102

Running, J.A., Huss, R.J. and Olson, P.T. 1994. Heterotrophic production of ascorbic acid by microalgae. **J. Appl. Phycol**. 6: 99-104

Salih, F.M. 2011. Microalgae tolerance to high concentrations of carbon dioxide: A review. **Environ. Prot**. 2:648-654

Schneider, D. 2006. Grow your own? Would the wide spread adoption of biomass-derived transportation fuels really help the environment. **Am. Sci.** 94: 408-409

Stephenson, A. L., Kazamia, E., Dennis, J. S., Howe, C. J., Scott, S.A. and Smith, A. G. 2010. Life-Cycle Assessment of Potential Algal Biodiesel Production in the United Kingdom: A Comparison of Raceways and Air-Lift Tubular Bioreactors. **Energy Fuels**. 24 (7): 4062–4077

Suali, E. and Sarbatly. 2012. Conversion of microalgae to biofuel. **Renew. Sust. Energ. Rev**. 16:4316-4342

Sung, K.D., Lee, J.S., Shin, C.S., Park, S.C. and Choi, M.J. 1999. CO_2 fixation by Chlorella sp. KR-1 and its cultural characteristics. **Bioresource Technol**. 68: 269-273

Sydney, E.B., Sturm, W., Carvalho, J.C., Thoomaz-Soccol, V., Larroche, C. and Pandey A. 2001. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. **Bioresource Technol.** 101:5892-5896

Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X. and Zhong, J. 2011. CO_2 biofixation and fatty acid composition of Scenedesmus obliquus and Chlorella pyrenoidosa in response to different CO_2 levels. **Bioresource Technol**. 102: 3071-3076

Tompson, G.A. 1996. Lipids and membrane function in green algae. Biochim. **Biophys. Acta**. 1302:17-45

Tredici, M. R. and Materassi, R. 1992. From open ponds to vertical alveolar panels—the Italian experience in the development of reactors for the mass cultivation of phototrophic microorganisms. **J. Appl. Phycol.** 4: 221–231

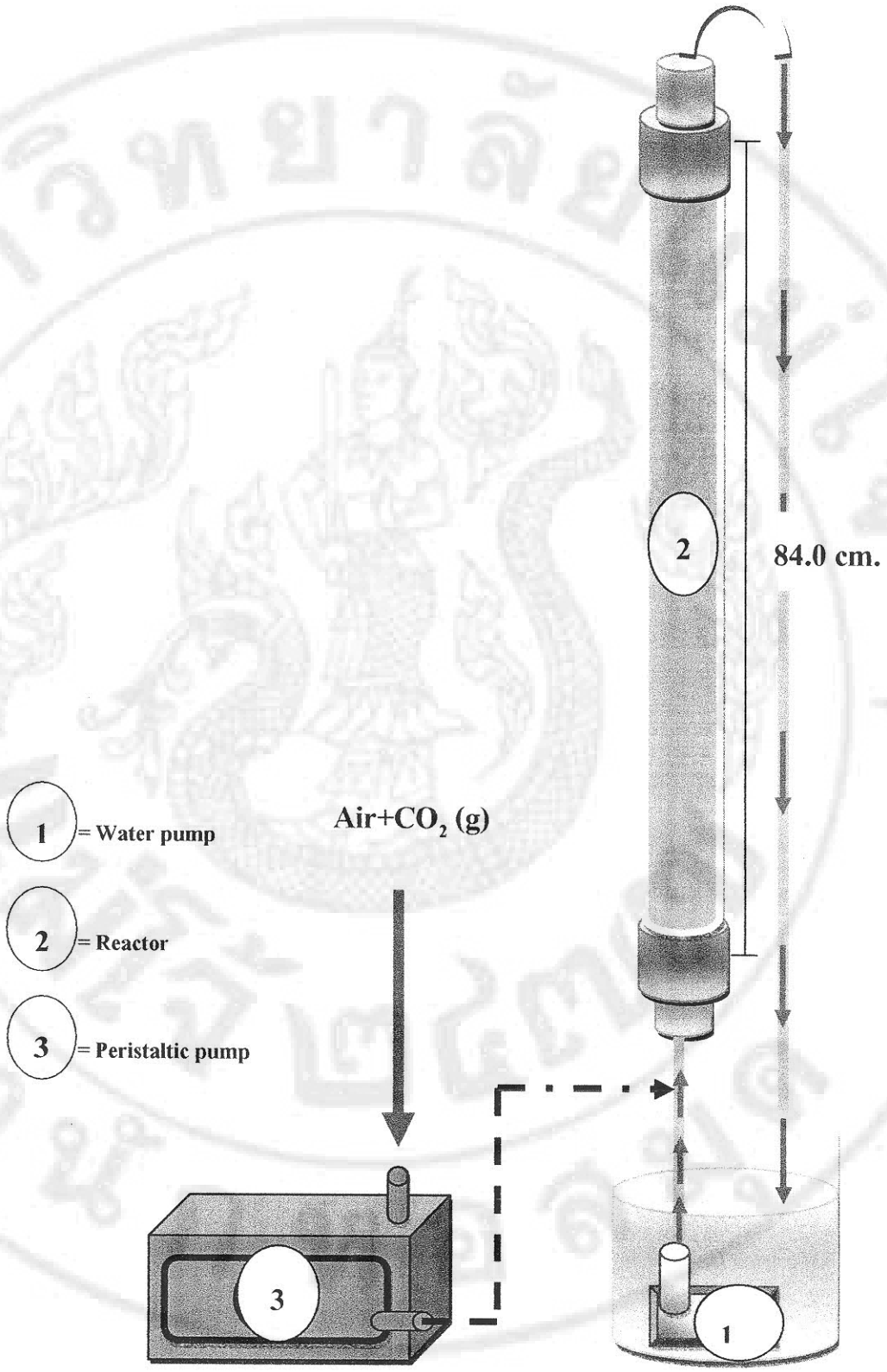
Wang, B., Yanqun, L., Nan, W. and Christopher L.Q. 2008. Co_2 biomitigation using microalgae. Mini-review. **Appl. Microbio. Biotechnol**. 79:707-718

Yoo C., Jun, S., Lee,J. and Ahn, C.Oh. Selection of microalga for lipid productio under high level carbon dioxide. **Bioresource Technol**. 101:571-574

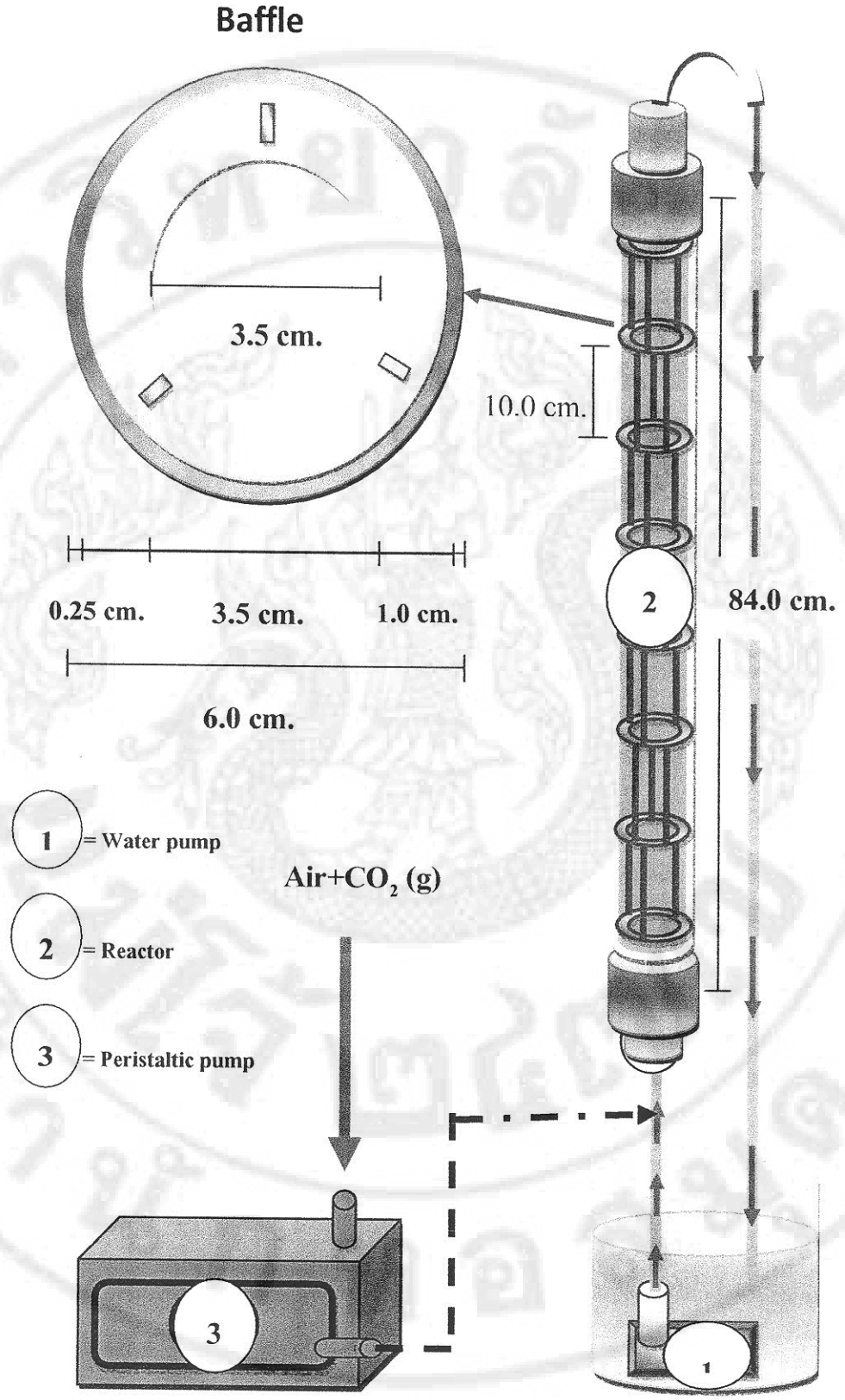
Zhang, K. and Miyachi, S. and Kurano, N. 2001. Evaluation of a vertical flat-plate photobioreactorfor dimensions, irradiation and cell concentration on biomass productivity and irradiation utilization efficiency. **Appl. Microbio. Biotechnol**. 55:428-433

Zheng, M., Skelton, R. L., and Mackley, M. R. 2007. Biodiesel reactor screening using oscillatory flow meso reactors. **Process Saf. Environ. Prot**. 85: 365-371

ภาคผนวก



รูปภาคผนวกที่ 1 แผนภาพแสดงรูปแบบของถังปฏิกิริยาTubular Flow Reactor



รูปภาคผนวกที่ 2 แผนภาพแสดงรูปแบบของถังปฏิกิริยา Oscillatory Flow Reactor

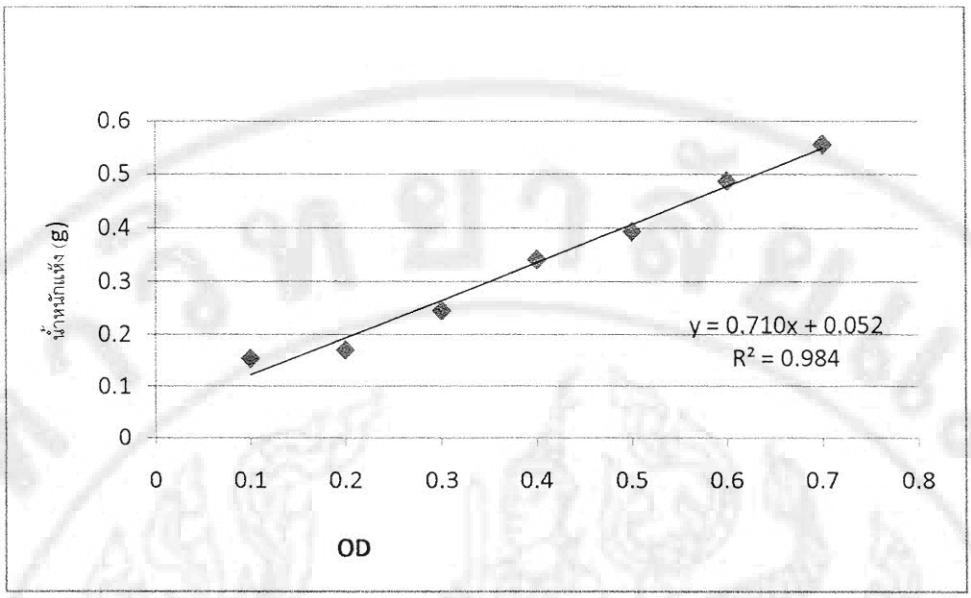
ตารางภาคผนวกที่ 1ผลการทดลองพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษาในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR และการเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ไม่เติมคาร์บอนไดออกไซด์							
ถังปฏิกรณ์	พารามิเตอร์	วันที่					
		0	1	2	3	4	5
TFR	OD	0.1010	0.1400	0.1663	0.2280	0.1337	0.10696
	cell number (cell) x10^7	1.95	2.13	2	2.33	1.53	1.07
	temp(°C)	32	31.5	33	32.2	31	33
	pH	8.4	6.8	6.8	7.0	7.1	6.9
OFR	OD	0.1010	0.1280	0.1607	0.1850	0.1560	0.0936
	cell number (cell) x10^7	1.95	1.99	2.01	1.89	1.61	0.96
	temp(°C)	32	31.50	33	32.2	31	33
	pH	8.4	6.9	7.1	7.0	6.9	7.0
เติมคาร์บอนไดออกไซด์ 20%							
ถังปฏิกรณ์	พารามิเตอร์	วันที่					
		0	1	2	3	4	5
TFR	OD	0.1010	0.1457	0.1843	0.2750	0.2650	0.212
	cell number (cell) x10^7	1.95	2.6	2.77	3.12	3.11	1.87
	Temp (°C)	31	32	32	31.5	32.5	32
	pH	8.4	8.0	7.9	7.8	8.0	7.9
OFR	OD	0.1010	0.1303	0.1630	0.2437	0.2073	0.16584
	cell number (cell) x10^7	1.95	2.22	2.15	2.73	2.3	1.38
	temp(°C)	31	32	32	31.5	32.5	32
	pH	8.4	8.1	7.9	7.8	8.1	8.0

*มีการปรับค่า pH

ตารางภาคผนวกที่ 2 ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เข้าและออกจากระบบระหว่างการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แบบกะ ในถังปฏิกรณ์แบบ TFR และ OFR เมื่อมีการเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

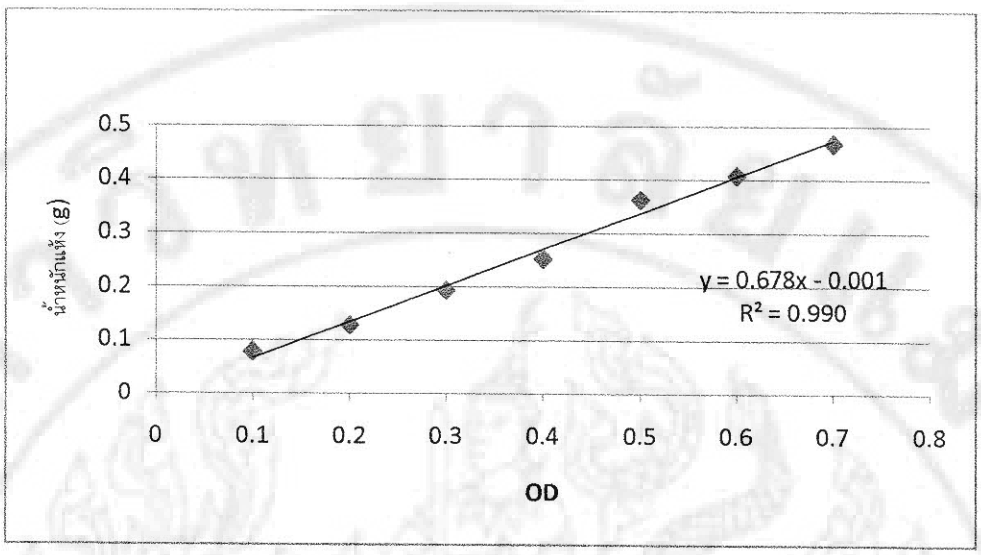
ถังปฏิกรณ์	%CO_2 เข้า/ออกระบบ	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5
TFR	CO_2เข้า	99	99	99	99	99	99
	CO_2ออก	4.90	7.43	6.97	7.71	10.53	10.45
OFR	CO_2เข้า	99	99	99	99	99	99
	CO_2ออก	4.52	7.38	7.51	9.76	8.42	10.10



รูปภาคผนวกที่ 3แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression)ในระบบถังปฏิกรณ์แบบ TFR

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression)ในระบบถังปฏิกรณ์แบบ TFR

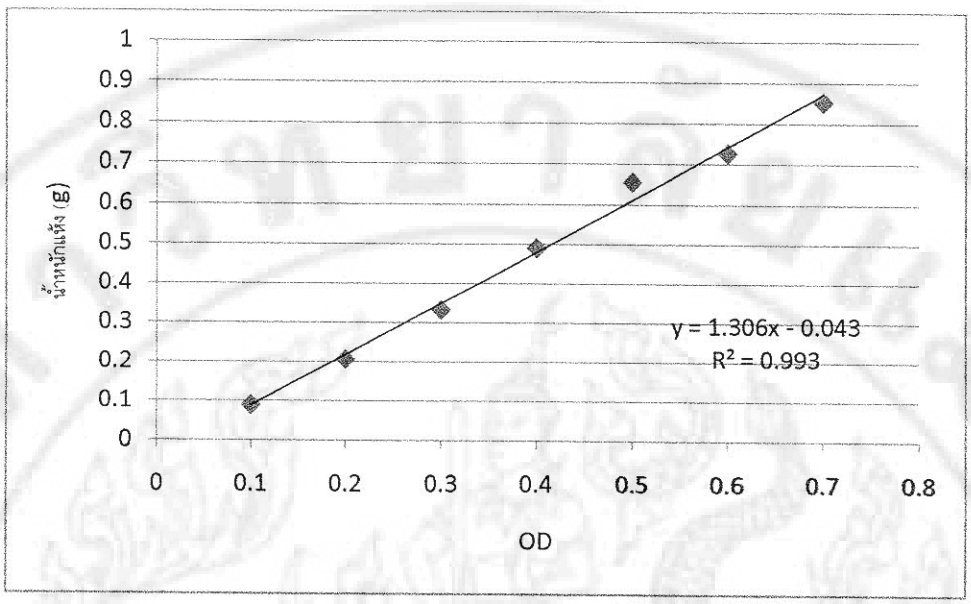
OD 680 nm	น้ำหนักแห้ง (g)
0.1	0.155
0.2	0.171
0.3	0.246
0.4	0.342
0.5	0.394
0.6	0.489
0.7	0.557



รูปภาคผนวกที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) ในระบบถังปฏิกรณ์แบบ OFR

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) ในระบบถังปฏิกรณ์แบบ OFR

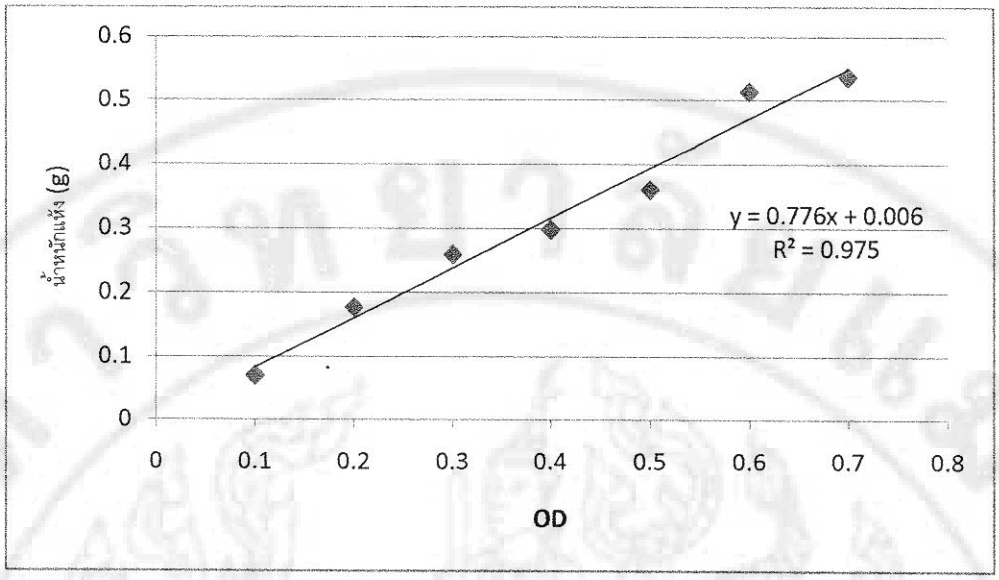
OD 680 nm	น้ำหนักแห้ง (g)
0.1	0.078
0.2	0.127
0.3	0.194
0.4	0.252
0.5	0.363
0.6	0.408
0.7	0.468



รูปภาคผนวกที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) ในระบบถังปฏิกรณ์แบบ TFR และเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ตารางภาคผนวกที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) ในระบบถังปฏิกรณ์แบบ TFR และเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

OD 680 nm	**น้ำหนักแห้ง (g)**
0.1	0.089
0.2	0.207
0.3	0.333
0.4	0.491
0.5	0.656
0.6	0.727
0.7	0.854

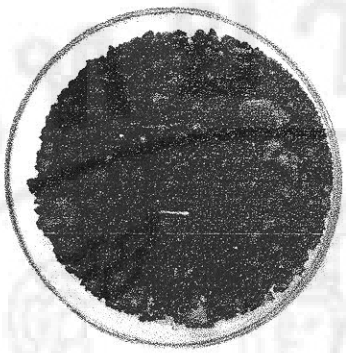


รูปภาคผนวกที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) ในระบบถังปฏิกรณ์แบบ OFR และเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ตารางภาคผนวกที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) ในระบบถังปฏิกรณ์แบบ OFR และเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

OD 680 nm	**น้ำหนักแห้ง (g)**
0.1	0.07
0.2	0.178
0.3	0.259
0.4	0.298
0.5	0.36
0.6	0.514
0.7	0.537

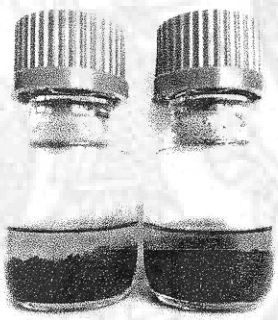
การสกัดน้ำมันจากสาหร่าย



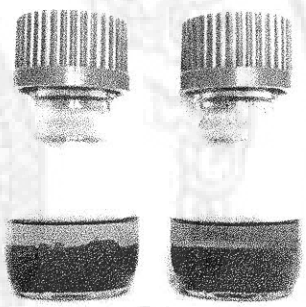
ลักษณะผงสาหร่ายแห้ง-ไม่เติม CO_2

ลักษณะผงสาหร่ายแห้ง-เติม CO_2

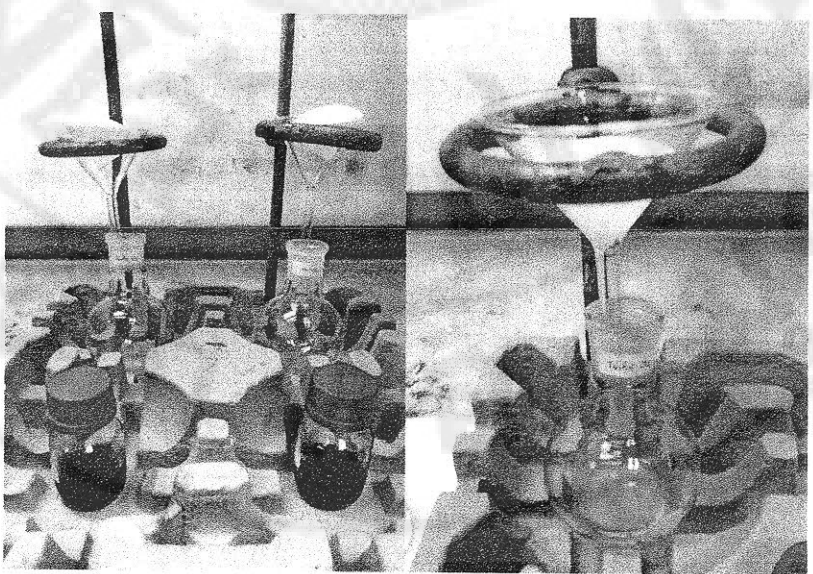
ก่อนสกัด



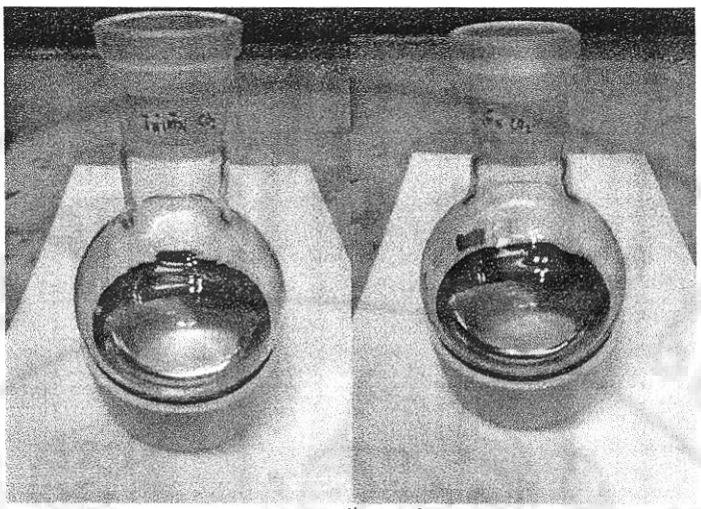
เริ่มสกัด



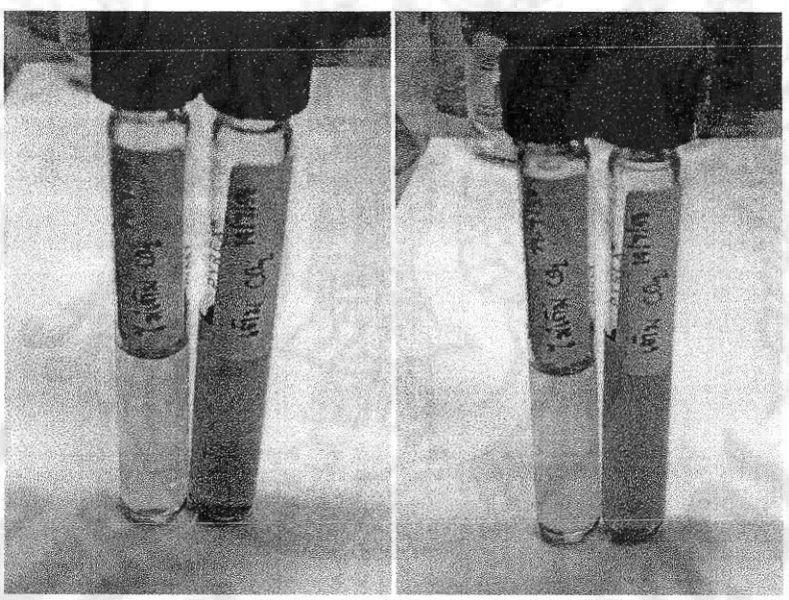
สกัดครบ 24 ชั่วโมง



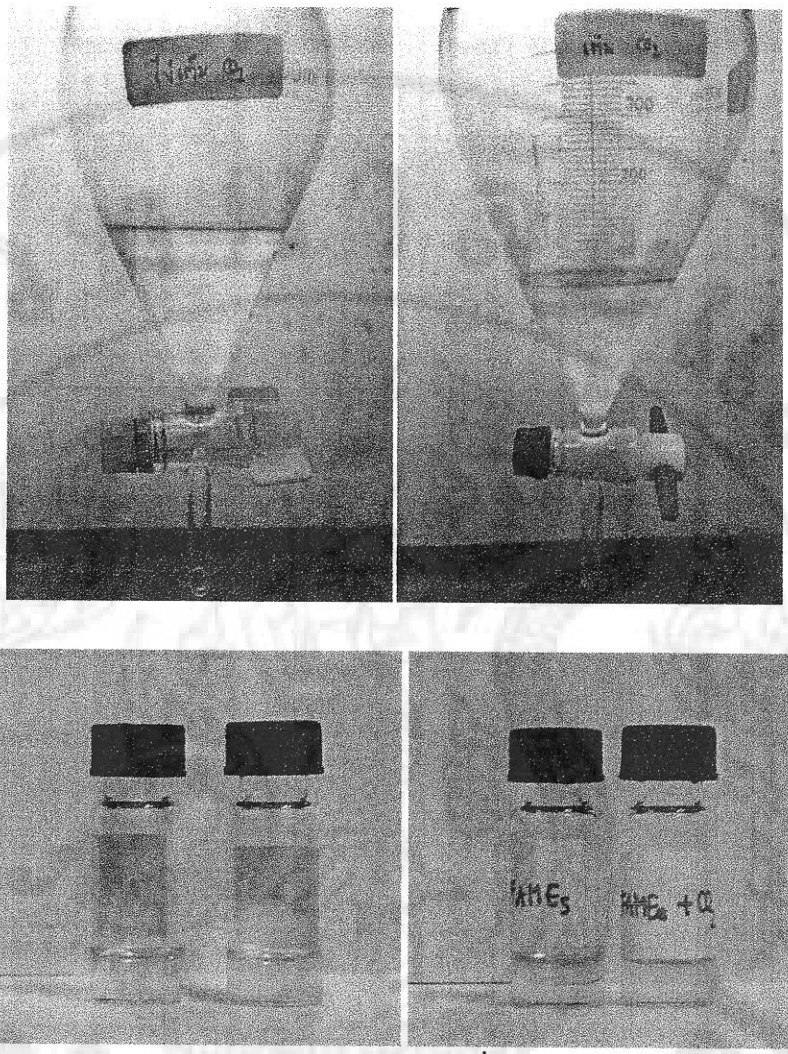
การกรองน้ำมัน



ลักษณะน้ำมันที่ได้



ลักษณะหลังผสม KOH 0.1 g+MeOH 5 ml



ลักษณะของไบโอดีเซลที่สกัดได้

รูปภาคผนวกที่ 7 การสกัดน้ำมันจากสาหร่าย

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับ ไฟทอล (phytol)

ชื่อภาษาอังกฤษ: phytol

ภาษาอังกฤษนามแฝง:Phytol, ส่วนผสมของสารอินทรีย์;(e2,7r, r11)- 3,7,11,15-tetramethylhexadec- 2- ol- en- 1;(e2)- 3,7,11,15- tetramethylhexadec- 2- ol- en- 1;(e2,7r, s11)-3,7,11,15- tetramethylhexadec- 2- ol- en- 1; ธรรมชาติphytol;

สูตรโมเลกุล: $C_{20}H_{40}O$

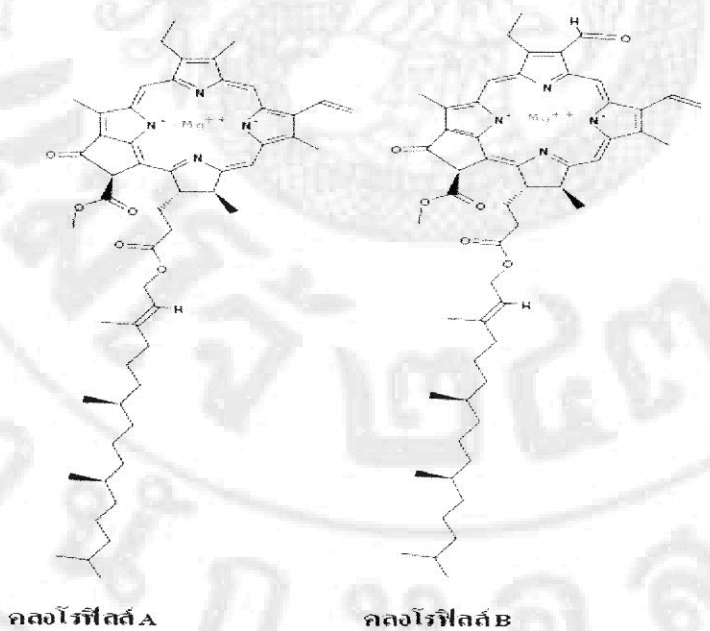
น้ำหนักโมเลกุล: 296.531

ความหนาแน่นของ: 0.845g/cm3

จุดเดือด: 335.486 ° cที่760mmhg

Phytol ไม่มีสีหรือสีเหลืองอ่อนของเหลวน้ำมัน

Miscibilityสามารถและตัวทำละลายอินทรีย์, ไม่ละลายในน้ำของ



รูปภาคผนวกที่ 8 รูปคลอโรฟิลล์และไฟทอล

ที่มา: ภาคภูมิ, 2550

จากรูปแสดงถึงคลอโรฟิลล์ที่ประกอบด้วยวงแหวนไพรอล (Pyrrole ring) จำนวน 4 วง โดยส่วนที่ทำให้แตกต่างกัน คือ คลอโรฟิลล์ที่ต่างกันจะมีโซ่ข้าง (Side Chain) ที่แตกต่างกัน เช่น โครงสร้างโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์ บี (Chlorophyll b) จะแตกต่างกันที่ตำแหน่งวงแหวนไพรอล ตำแหน่งที่ 3 (Carbon C-3) นับจากตำแหน่งอะตอมไนโตรเจนล่างสุดเวียนขึ้นด้านบน โดยโซ่ต่อด้านข้างคลอโรฟิลล์ เอ เป็นหมู่เมททิล ($-CH_3$) ส่วนโซ่ต่อด้านข้างของคลอโรฟิลล์ บี เป็นหมู่อัลดีไฮด์ (-CHO) ทำให้โมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เอ มีขั้ว จึงละลายในสารละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ และเมทิลแอลกอฮอล์ ได้ดีกว่าคลอโรฟิลล์ บี มีหมู่อัลดีไฮด์ที่ไม่มีขั้ว จึงละลายได้ดีในสารที่ไม่มีขั้ว เช่น อีเทอร์ และคีโตน เป็นต้น

ตารางภาคผนวกที่ 7การเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของไฟทอลและน้ำมันดีเซล

Fuel property	Diesel	Phytol
Carbon content (wt%)	86.64	80.62
Hydrogen content (wt%)	13.01	13.5
Oxygen content (wt%)	0	6.05
Molecular weight (g/mole)	170	269.54
Sulfur content (ppm)	11.2	<10
Heat of combustion(kj/kg)	45,500	43,600
Heat of vaporization (kj/kg)	361	130
Cetane number	47.7	45.9
Density@ 25°C (kg/m^3)	849.2	850.9
Vapor pressure @ 25°C (Pa)	1,000	<1
Viscosity @ 25°C (cSt)	3.775	63.54
Boilling point (°C)	320	358

ที่มา: Ramírez*et al.*, 2014

การวิเคราะห์องค์ประกอบของลิปิดที่ได้ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมัน ใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC การแปลผลองค์ประกอบของน้ำมันใช้การเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลแมสสเปคตรา (mass spectra) คือ WILEY และ NIST สภาวะที่ใช้วิเคราะห์แสดงมีดังนี้

Carrier gas:	helium gas (ca. 1.0 ml/min),
Mode:	Electron impact (EI, 70 eV)
Injector temperature:	250 °C
Oven temperature:	3 min isothermal at 70 °C, at 5°C/min to 200°C
	and then at 10 °C/min to 280 °C (10 min isothermal)
Detector temperature:	280 °C.