



การเก็บเกี่ยวและผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก
Harvest and Biodiesel Production from Microalgae

นฤตชวรรณ สัตยญาโณ
Naruetsawan Sanyano

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Engineering in Chemical Engineering
Prince of Songkla University**

2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การเก็บเกี่ยวและผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก
Harvest and Biodiesel Production from Microalgae

นฤตชวรรณ สัตยญาโน
Naruetsawan Sanyano

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Engineering in Chemical Engineering
Prince of Songkla University**

2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเก็บเกี่ยว และผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก
 ผู้เขียน นางสาวนฤตยวรรณ สัจญญาโณ
 สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์)

.....ประธานกรรมการ
 (รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา ศรีสุวรรณ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์)

.....
 (ดร.สินินาฏ จงคง)

.....กรรมการ
 (ดร.สินินาฏ จงคง)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์)

.....กรรมการ
 (รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาศ เขียรศิลป์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
 เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี

.....
 (รองศาสตราจารย์ ดร. ชีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอแสดงความขอบคุณ
บุคคลที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....
(นางสาวนฤตชวรรณ สัจญญาโณ)
นักศึกษา

(4)

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวนฤตวรรณ สัจญาโณ)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเก็บเกี่ยว และผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก
 ผู้เขียน นางสาวนฤตชววรรณ สัญญาโณ
 สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี
 ปีการศึกษา 2555

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเก็บเกี่ยว และผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp. ชนิดน้ำเค็ม โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 4 ส่วน คือ 1) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ด้วยวิธีโคแอกกูเลชัน-ฟลอกกูเลชัน โดยใช้โปรแกรม Response Surface Methodology (RSM) ตัวแปรที่ศึกษา 2 ตัวแปร ได้แก่ ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน (อลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอริคคลอไรด์) 30-200 มิลลิกรัมต่อลิตร และพีเอช 6-10 2) ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตกจมสาหร่าย 3) ศึกษาชนิดของกรดไขมันจากสารที่สกัดได้ ด้วยเครื่อง Thin layer chromatography (TLC) และเครื่อง Gas chromatography – Flame ionization detector (GC-FID) และ 4) ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลด้วยกระบวนการทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน และเอสเตอริฟิเคชัน พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต คือ ความเข้มข้น 152 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 6 เวลาในการตกจม 60 นาที และ เฟอริคคลอไรด์ คือ ความเข้มข้น 143 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 8.1 เวลาในการตกจม 40 นาที ซึ่งให้ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว เท่ากับ 100 และจากการศึกษาชนิดของกรดไขมัน พบว่าสารที่สกัดได้จากสาหร่ายประกอบด้วยกรดไขมัน 3 ชนิดหลัก คือ กรดปาล์มมิก ร้อยละ 27.73 กรดปาล์มมิโอเลอิก ร้อยละ 15.99 และกรดโอเลอิก ร้อยละ 5.69 และศึกษาการผลิตไบโอดีเซลด้วยวิธีทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน และเอสเตอริฟิเคชัน พบว่ามีร้อยละเมทิลเอสเทอร์เกิดขึ้น แต่ค่าที่ได้ยังต่ำกว่าค่ามาตรฐานอยู่มาก หากพิจารณาคุณลักษณะทางกายภาพ พบว่าการใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีผลทำให้การแยกชั้นในขั้นตอนการล้างน้ำทำได้ยากกว่าการใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เนื่องจากวัตถุดิบตั้งต้นมีร้อยละกรดไขมัน เท่ากับ 20.95 ดังนั้นการผลิตไบโอดีเซลจึงควรทำปฏิกิริยาแบบ 2 ขั้นตอน คือทำปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชันเพื่อลดปริมาณกรดไขมันอิสระ แล้วตามด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน

Thesis Title Harvest and biodiesel production from microalgae
Author Miss Naruetsawan Sanyano
Major Program Chemical Engineering
Academic Year 2012

ABSTRACT

This research studied harvesting and production of biodiesel from marine microalgae strain *Chlorella* sp. The study is divided into 4 parts: 1) Study the optimum conditions for harvesting method by coagulation-flocculation using Response surface methodology. Two studied parameters were flocculant concentration (aluminum sulfate and ferric chloride) of 30-200 mg/L and pH 6-10. 2) Study of algae settling time. 3). Study of fatty acid profiles by Thin Layer chromatography (TLC) and Gas chromatography-Frame ionization detector (GC-FID). 4) Study of biodiesel production by transesterification and esterification processes. It was found that the optimum condition for 100% harvesting algae with aluminum sulfate was concentration of 152 mg/L, pH 6 and setting time of 60 min. and concentration of 143 mg/L, pH 8.1 and setting time of 40 min for ferric chloride. Furthermore, the analysis of extract from microalgae found that the major fatty acids were palmitic acid (27.73%), palmioleic acid (15.99%) and oleic acid (5.69%) Biodiesel production was run by transesterification and esterification. Methyl ester was obtained, but still lower than the standard requirement. It was found out from physical observation that product separation was easier by using acid catalyst due to the free fatty acid content was up to 20.95%. Consequently, the 2 steps of biodiesel production should be used. The first step is to reduce the FFA content of oil by esterification and the second step is transesterification.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ ดร.สินินาฏ จงคง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหา ตลอดจนตรวจแก้วิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา ศรีสุวรรณ รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาศ เขียรศิลป์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่อง ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย และคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้จัดสรรทุนอุดหนุนสนับสนุนการทำวิจัยและทุนสนับสนุนการศึกษา และขอขอบพระคุณบุคลากรในภาควิชาวิศวกรรมเคมีทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการทำวิจัยด้วยดี

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา ที่ให้ความอนุเคราะห์สำหรับ

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และพี่ชายด้วยความเคารพรัก ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษามาโดยตลอด และขอขอบพระคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิศวกรรมเคมีทุกคนสำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือต่างๆ ตลอดจนทุกท่านที่มีได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ ที่มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ขึ้นได้

นฤตยวรรณ สัจญญาโณ

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
ABSTRACT	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(13)
รายการภาพประกอบ	(17)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก	4
2.2 ข้อได้เปรียบของการใช้สาหร่ายขนาดเล็กสำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ	7
2.3 สาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์ <i>Chlorella</i> sp.	8
2.4 ระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่าย	9
2.4.1 การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด	9
2.4.2 การเพาะเลี้ยงในระบบปิด	10
2.5 การเก็บเกี่ยวสาหร่าย-การแยกสาหร่ายออกจากน้ำ	11
2.5.1 กระบวนการโคแอกกูเลชัน	12
2.5.2 กระบวนการฟลอคคูเลชัน	12
2.5.3 Autofloccultion	12
2.5.4 โคแอกกูแลนต์	13
2.5.4.1 สารตกตะกอนชีวภาพ	13
2.5.4.2 โพลีอิเล็กโตรไลต์ หรือพอลิเมอร์	13

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.5.4.3 สารตกตะกอนที่เป็นสารอนินทรีย์	13
2.5.4.3.1 อลูมิเนียมซัลเฟต (Aluminium Sulfate หรือ alum)	13
2.5.4.3.2 เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride)	17
2.6 น้ำมันจากสาหร่าย	18
2.7 ไบโอดีเซล	19
2.7.1 ปฏิกริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน	20
2.7.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน	22
2.7.2.1 อิทธิพลของตัวเร่งปฏิกริยาแอลคาไลน์เอกพันธ์	22
2.7.2.2 อิทธิพลของความชื้น และกรดไขมันอิสระ	22
2.7.2.3 อิทธิพลของอัตราส่วนเชิงโมลระหว่างแอลกอฮอล์ต่อน้ำมัน	23
2.7.2.4 อิทธิพลของอุณหภูมิ และเวลาในการทำปฏิกริยา	23
2.7.2.5 ผลของอัตราการกวนผสม	24
2.7.3 ปฏิกริยาเอสเตอริฟิเคชัน	25
2.7.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกริยาเอสเตอริฟิเคชัน	25
2.7.4.1 อิทธิพลของอัตราส่วนเชิงโมลระหว่างแอลกอฮอล์ต่อน้ำมัน	25
2.7.4.2 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกริยา	26
2.8 การเปรียบเทียบคุณภาพของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันสาหร่าย น้ำมันดีเซล และไบโอดีเซลตามมาตรฐานของอเมริกา	26
2.9 การออกแบบพื้นที่ตอบสนอง (Response surface methodology, RSM)	27
2.9.1 นิยามของ RSM	27
2.9.2 หลักการที่สำคัญของการทำพื้นที่ผิวผลตอบสนอง	28
2.10 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	30
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย	33
3.1 วัสดุ	33
3.1.1 สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก จากสถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา	33

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
3.1.2 สำหรับสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์	34
3.1.3 สารเคมี	34
3.2 อุปกรณ์	35
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย	36
3.3.1 การเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย	36
3.3.1.1 การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการปรับพีเอช	36
3.3.1.2 การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการเติมสารช่วยตกตะกอน	37
3.3.1.2.1 ศึกษาช่วงความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนที่เหมาะสมใน การเก็บเกี่ยวสาหร่าย	37
3.3.1.2.2 ศึกษาช่วงพีเอชที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย	37
3.3.1.2.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้โปรแกรม RSM	38
3.3.1.2.4 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตกจมสาหร่าย	39
3.3.2 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิค	40
3.3.2.1 ส่วนประกอบของเครื่องอัลตราโซนิค	40
3.3.2.2 วิธีการสกัด	41
3.3.3 การวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันในสารสกัดจากสาหร่าย	43
3.3.4 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย	43
3.3.4.1 การผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน	43
3.3.4.2 การผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน	44
บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง	45
4.1 การเก็บเกี่ยวสาหร่าย	45
4.1.1 ตัวอย่างสาหร่าย จากสถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา	45
4.1.2 ผลของการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการปรับพีเอช	46
4.1.3 ผลของการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการเติมสารช่วยตกตะกอน	47

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
4.1.3.1 ช่วงความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน ที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย	47
4.1.3.2 ช่วงของพีเอชที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย	48
4.1.3.3 ผลของการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์	50
4.1.3.3.1 สมการทางคณิตศาสตร์ที่ได้จากโปรแกรม RSM	51
4.1.3.3.2 พื้นผิวตอบสนองของตัวแปรต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย	56
4.1.3.3.3 สภาวะการเก็บเกี่ยวสาหร่ายที่เหมาะสม	59
4.1.3.3.4 การทดลองเพื่อยืนยันผลการทำนายที่ได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์	60
4.1.4 เวลาการตกจมที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกคลอไรด์	61
4.1.5 ผลการตกจมสาหร่ายจากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์	63
4.2 ผลการวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันในสารสกัดจากสาหร่าย	65
4.3 การคำนวณต้นทุนเบื้องต้นของการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp.	67
4.3.1 ราคาวัตถุดิบ	67
4.3.2 ราคาสารเคมี	67
4.3.3 ประมาณการต้นทุน	68
4.4 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย	70
4.4.1 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย ด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน และปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน	70
4.4.2 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่ายที่ผ่านการเหวี่ยงแยกออกเป็นชั้นบน และชั้นล่าง	74

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
4.4.3 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่ายผสมกับน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ และผสมกับน้ำมันปาล์มดิบ ด้วยปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน	77
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	81
5.1 การเก็บเกี่ยวสาหร่าย	81
5.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมัน	81
5.3 การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์	81
5.4 การผลิตไบโอดีเซล	82
5.5 ข้อเสนอแนะ	83
บรรณานุกรม	84
ภาคผนวก	89
ภาคผนวก ก ข้อมูลดิบ	90
ภาคผนวก ข วิธีการตรวจวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ	100
ภาคผนวก ค เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์และใช้ในการทดลอง	105
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์	110
ภาคผนวก จ การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน	114
ประวัติผู้เขียน	121

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1 ตารางเปรียบเทียบน้ำมันจากสาหร่ายกับพืชชนิดอื่นๆ	5
2-2 ปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็กชนิดต่างๆ	6
2-3 ชนิดของกรดไขมันที่พบในน้ำมันสาหร่าย	18
2-4 การเปรียบเทียบคุณสมบัติของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันสาหร่าย น้ำมันดีเซล และไบโอดีเซลตามมาตรฐานของอเมริกา	27
3-1 สภาวะการทดลองที่ได้จากการออกแบบด้วยโปรแกรม RSM	39
4-1 คุณลักษณะของตัวอย่างสาหร่ายก่อนการทดลอง	45
4-2 ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการปรับพีเอช	46
4-3 ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อใช้เทคนิค RSM	50
4-4 ข้อมูลทางสถิติของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของค่าประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก เมื่อใช้ลูมิเนียมซัลเฟต เป็นสารช่วยตกตะกอน	53
4-5 ข้อมูลทางสถิติของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของค่าประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก เมื่อใช้เฟอร์ริกคลอไรด์ เป็นสารช่วยตกตะกอน	53
4-6 ผลการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของการทดลองจากโปรแกรม Essential regression เมื่อใช้ลูมิเนียมซัลเฟตเป็นสารช่วยตกตะกอน	54
4-7 ผลการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของการทดลองจากโปรแกรม Essential regression เมื่อใช้เฟอร์ริกคลอไรด์เป็นสารช่วยตกตะกอน	54
4-8 สภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กด้วยลูมิเนียมซัลเฟต โดยใช้โปรแกรม Optimized เพื่อให้มีประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสูงสุด จากสมการ 4-4	60
4-9 สภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ โดยใช้โปรแกรม Optimized เพื่อให้มีประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสูงสุด จากสมการ 4-5	60
4-10 ผลการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กด้วยลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกคลอไรด์ เมื่อใช้สภาวะที่ได้จากโปรแกรม Optimized	60
4-11 ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ด้วยลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกคลอไรด์	63
4-12 ผลการวิเคราะห์สารที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยเครื่อง TLC	65

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-13	องค์ประกอบของกรดไขมันจากน้ำมันสาหร่ายที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID เมื่อใช้ตัวทำละลายเฮกเซน และเมทานอล	66
4-14	รายละเอียดการคำนวณต้นทุนการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต	68
4-15	รายละเอียดการคำนวณต้นทุนการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยเฟอริคคลอไรด์	69
4-16	ปริมาณ และค่าใช้จ่ายของไขมันที่สกัดได้ต่อเนื้อสาหร่าย ที่ได้จากบ่อเพาะเลี้ยง ขนาด 25 ตัน	69
4-17	ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน	71
4-18	ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน	72
4-19	ร้อยละกรดไขมันอิสระ ที่ได้จากการไฮดรอลิสน้ำมันในแต่ละชั้น	74
4-20	ร้อยละเมทิลเอสเทอร์จากการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน และเอสเทอร์ฟิเคชัน ของน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายหลังจากเหวี่ยงแยกเป็นชั้นบน และชั้นล่าง	75
4-21	ร้อยละกรดไขมันอิสระที่ได้จากการไฮดรอลิสน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ น้ำมันปาล์มดิบ และน้ำมันสาหร่ายตอนเริ่มต้น	77
4-22	ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ น้ำมันปาล์มดิบ และน้ำมันผสม	78
ก-1	แสดงข้อมูลคิปร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของการหาช่วงความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.73394 และพีเอช เริ่มต้น 8.52 กำหนดให้มีการปรับพีเอชของน้ำสาหร่ายคงที่ เท่ากับ 7	90
ก-2	แสดงข้อมูลคิปร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของการหาช่วงพีเอชที่เหมาะสมในการตกจมสาหร่ายด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.73394 และพีเอช เริ่มต้น 8.52 กำหนดให้ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนคงที่ เท่ากับ 140 มิลลิกรัมต่อลิตร	91
ก-3	แสดงข้อมูลคิปร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของการหาช่วงความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.83292 และพีเอช เริ่มต้น 8.62 กำหนดให้มีการปรับพีเอชของน้ำสาหร่ายคงที่ เท่ากับ 7	92

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ก-4 แสดงข้อมูลคิปร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของการหาช่วงพีเอชที่เหมาะสมในการตกจมสาหร่ายด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.83292 และพีเอช เริ่มต้น 8.62 กำหนดให้ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนคงที่ เท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร	93
ก-5 แสดงข้อมูลคิปร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากการตกจมสาหร่ายด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต เมื่อใช้เทคนิค RSM ในการออกแบบสภาวะการทดลองสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.67106 และ พีเอช เริ่มต้น 9.00	94
ก-6 แสดงข้อมูลคิปร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากการตกจมสาหร่ายด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ เมื่อใช้เทคนิค RSM ในการออกแบบสภาวะการทดลองสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.67603 และพีเอช เริ่มต้น 8.43	95
ก-7 แสดงข้อมูลคิปร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของเวลาการตกจม เมื่อใช้อลูมิเนียมซัลเฟตเป็นสารช่วยตกตะกอน ที่สภาวะความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน 152 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 6 เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.64153 และพีเอช เริ่มต้น 9.14	96
ก-8 แสดงข้อมูลคิปร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของเวลาการตกจม เมื่อใช้เฟอร์ริกคลอไรด์เป็นสารช่วยตกตะกอน ที่สภาวะความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน 143 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 8.1 เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.64153 และพีเอช เริ่มต้น 9.14	97
ก-9 แสดงข้อมูลคิปร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว เมื่อใช้สาหร่ายจากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่มีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 3.3871 พีเอช เท่ากับ 9.75	98
ก-10 แสดงข้อมูลคิปร้อยละกรดไขมันอิสระของสารที่สกัดได้จากสาหร่าย	99
ก-11 แสดงข้อมูลคิปร้อยละกรดไขมันอิสระของสารสกัดชั้นบน เมื่อทำการเหวี่ยงแยกสารที่สกัดได้จากสาหร่ายออกเป็น 2 ชั้น	99
ก-12 แสดงข้อมูลคิปร้อยละกรดไขมันอิสระของสารสกัดชั้นล่าง เมื่อทำการเหวี่ยงแยกสารที่สกัดได้จากสาหร่ายออกเป็น 2 ชั้น	99

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ง-1	อัตราค่าไฟฟ้าประเภทกิจกรรมขนาดเล็ก ซึ่งมีความต้องการพลังไฟฟ้าเฉลี่ยใน 15 นาที สูงสุดต่ำกว่า 30 กิโลวัตต์ โดยต่อผ่านเครื่องวัดไฟฟ้าเครื่องเดียว (การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค, 2555)	112

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่	หน้า
2-1 ลักษณะสาหร่ายขนาดเล็ก	4
2-2 การเปลี่ยนแปลงเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก	7
2-3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิด	9
2-4 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบถังปฏิกรณ์	10
2-5 ความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบเชิงซ้อนอลูมิเนียมซัลเฟต และค่าพีเอช	15
2-6 ไคโอะแกรมที่ใช้ออกแบบ และควบคุมโคแอกกูเลชันด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต	16
2-7 ไคโอะแกรมที่ใช้ออกแบบ และควบคุมโคแอกกูเลชันด้วยเฟอริกคลอไรด์	17
2-8 ปฏิกริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์ และแอลกอฮอล์	20
2-9 กลไกของปฏิกริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันระหว่างน้ำมันพืชกับแอลกอฮอล์	21
2-10 กลไกของปฏิกริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมัน และแอลกอฮอล์	25
3-1 สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก สายพันธุ์ <i>Chlorella</i> sp. จากสถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา	33
3-2 สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก สายพันธุ์ <i>Chlorella vulgaris</i> . จากคณะอุตสาหกรรม-เกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	34
3-3 ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการสกัด	40
3-4 ลักษณะของฮอร์นที่ใช้ในงานวิจัย	40
3-5 เครื่องอัลตราโซนิก ยี่ห้อ Equipment รุ่น YPSH1020204 จากประเทศจีน	41
3-6 ช่องของถังปฏิกรณ์สำหรับใส่ตัวอย่าง	41
3-7 การติดตั้งถังปฏิกรณ์เข้ากับฮอร์น	42
3-8 วาล์วสำหรับปล่อยสารสกัดออกจากเครื่อง	42
4-1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำสาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์ <i>Chlorella</i> sp.	45
4-2 ผลของความเข้มข้นต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.73 และ 0.83 สำหรับอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอริกคลอไรด์ กำหนดให้ พีเอชคงที่ เท่ากับ 7 และเวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที	47

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
4-3 ผลของพีเอชต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.73 และ 0.83 สำหรับอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอริคคลอไรด์ กำหนดให้ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนครั้งที่เท่ากับ 140 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอริคคลอไรด์ เวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที	49
4-4 ความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต ที่ได้จากการทดลอง และจากการทำนายโดยใช้แบบจำลองตามสมการ 4-4	55
4-5 ความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยเฟอริคคลอไรด์ ที่ได้จากการทดลอง และจากการทำนายโดยใช้แบบจำลองตามสมการ 4-5	55
4-6 กราฟพื้นผิวแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต และค่าพีเอช ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.67 และเวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที	57
4-7 กราฟโครงร่างแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต และค่าพีเอช ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.67 และเวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที	57
4-8 กราฟพื้นผิวแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ และค่าพีเอช ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.68 และเวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที	58
4-9 กราฟโครงร่างแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ และค่าพีเอช ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.68 และเวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที	59
4-10 กราฟแสดงเวลาตกจมที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.67 กำหนดให้ความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต เท่ากับ 152 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 6 และความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ เท่ากับ 143 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 8.1	61
4-11 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงการเกาะกลุ่มของสาหร่าย เมื่อเติมสารช่วยตกตะกอน	62

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
4-12 ลักษณะทางกายภาพของน้ำสาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์ <i>Chlorella</i> sp. ชนิดน้ำเค็ม จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	63
4-13 สารที่สกัดได้จากสาหร่ายในตัวทำละลาย	65
4-14 ลักษณะน้ำมันสาหร่ายที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล	70
4-15 ลักษณะของไบโอดีเซลที่ถูกดึงไปอยู่ในชั้นของกลีเซอรอล	73
4-16 ลักษณะน้ำมันสาหร่ายที่ได้หลังการเหวี่ยงแยก	74
4-17 ลักษณะการแยกชั้นของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันสาหร่ายชั้นบน ในขั้นตอนการล้างด้วยน้ำอุ่น	76
4-18 ลักษณะการแยกชั้นของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันสาหร่ายชั้นล่าง ในขั้นตอนการล้างด้วยน้ำอุ่น	76
4-19 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันก่อนทำไบโอดีเซล	78
4-20 ลักษณะทางกายภาพของไบโอดีเซล	80
ข-1 น้ำสาหร่ายเริ่มต้น	100
ข-2 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง UV- Spectrophotometer	100
ข-3 รูปแบบโปรแกรม Chemstation ที่ใช้ในการวิเคราะห์	101
ข-4 ช่องใส่เซลล์ (Cuvette) ของเครื่อง UV- Spectrophotometer	102
ข-5 เบลสไลด์ของเบลงค์	102
ข-6 การเปลี่ยนสีของน้ำมัน เมื่อไตเตรทด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	104
ค-1 เครื่อง UV-Vis spectroscopy	105
ค-2 เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)	106
ค-3 เครื่อง Freezedry	107
ค-4 เครื่อง Gas Chromatograph (GC)	108
ค-5 เครื่องอัลตราโซนิก	109
ง-1 ปุ่มหยอโข่ง	111

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันเกือบทุกประเทศทั่วโลก รวมถึงประเทศไทยกำลังประสบกับปัญหาการขาดแคลนน้ำมันเชื้อเพลิงปิโตรเลียม การมองหาน้ำมันแหล่งใหม่มาใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมจึงนับว่ามีความสำคัญ ประเทศไทยถือได้ว่าเป็นประเทศเกษตรกรรม และเป็นผู้นำทางด้านการผลิต และส่งออกผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรหลายชนิด เช่น ปาล์ม มันสำปะหลัง และอ้อย เป็นต้น ซึ่งผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเหล่านี้ นอกจากการบริโภค ยังสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้อีกด้วย แต่การปลูกพืชเหล่านี้ จำเป็นต้องใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกมาก และใช้เวลานาน จึงได้มีการมองหาวัตถุดิบชนิดอื่นๆ และหนึ่งในวัตถุดิบที่ได้รับความสนใจ และเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้น คือ สาหร่าย โดยเฉพาะสาหร่ายขนาดเล็ก ทั้งนี้เพราะข้อได้เปรียบของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก คือ สาหร่ายขนาดเล็กสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้น (รัตนภรณ์ ลิสิงห์, 2551) โดยพบว่าภายในเวลา 24 ชั่วโมง สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์ ขณะที่พืชพลังงานชนิดอื่นๆ ต้องใช้เวลาในการเพาะปลูกนานกว่า 6-7 ปี จึงจะสกัดน้ำมันได้ และสาหร่ายขนาดเล็กยังมีอัตราการผลิตน้ำมันสูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ เมื่อเปรียบเทียบกับหน่วยพื้นที่ นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายยังช่วยลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (Xu et al, 2006) เพราะสาหร่ายต้องใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสง ทำให้เป็นการลดภาวะโลกร้อนได้อีกทางหนึ่ง

สาหร่ายที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella* sp. เนื่องจากเป็นสาหร่ายที่หาได้ง่าย ราคาถูก เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วแม้ในน้ำเค็ม หรือน้ำกร่อย และมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบในเซลล์เฉลี่ยประมาณร้อยละ 22 ของน้ำหนักแห้ง (พนิดา รัตนพลที, 2552)

จากความสำคัญของสาหร่ายที่ได้กล่าวมา จึงได้มีการค้นคว้าวิจัยเพื่อหาแนวทางในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ได้ปริมาณมาก และมีประสิทธิภาพสูงเพื่อการแข่งขันในอนาคต นอกจากการคัดเลือกสายพันธุ์ และกรรมวิธีการเลี้ยงสาหร่ายแล้ว ขั้นตอนการเก็บเกี่ยวถือเป็นขั้นตอนที่มี

ความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากวิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบันยังมีประสิทธิภาพต่ำ หรือหากเป็นกรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงก็จะมีค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูงตามไปด้วย ซึ่งไม่เหมาะในการขยายขนาดสู่ระดับอุตสาหกรรม

ข้อแตกต่างของเทคนิคการเก็บเกี่ยวสาหร่าย มีดังนี้

- Centrifugation คือกระบวนการหมุนเหวี่ยง ต้องใช้พลังงานสูง เงินลงทุนในการเริ่มต้นสูง และอาจทำให้โครงสร้างเซลล์เกิดความเสียหาย

- Filtration and screening คือกระบวนการกรอง เงินลงทุนส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนตัวกรองในส่วน of screen และ membrane

- Gravity sedimentation คือกระบวนการตกจมโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก วิธีนี้ถือได้ว่าเป็นวิธีที่ประหยัดที่สุด แต่มีข้อเสียเนื่องจากการตกตะกอนจะเกิดขึ้นช้ามาก

- Electro flotation คือการตกจมโดยใช้ไฟฟ้า ต้องมีการเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าเมื่อเกิดการชำรุด และมีค่าใช้จ่ายในส่วน of ไฟฟ้าสูง

- Coagulation- Flocculation คือ กระบวนการทำให้อนุภาคคอลลอยด์ไม่มีเสถียรภาพ และเกิดการรวมตัวกัน เป็นกระบวนการที่ใช้พลังงานน้อย และสามารถเลือกใช้สารช่วยตกตะกอนที่มีราคาไม่แพงได้

ด้วยเหตุนี้การเก็บเกี่ยวด้วยวิธีการ Coagulation-Flocculation จึงเป็นทางเลือกที่ใช้ในงานวิจัยนี้ เนื่องจากการใช้พลังงานน้อย ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม แต่อาจมีค่าใช้จ่ายสูง หากใช้สารช่วยตกตะกอนที่มีราคาแพง และใช้ในปริมาณมาก อย่างไรก็ตามการตกตะกอนของสาหร่ายสามารถใช้สารตกตะกอนที่มีราคาไม่แพงได้ เช่น เฟอร์ริกคลอไรด์, อลูมิเนียมซัลเฟต, โคลโคซาน และพอลิเมอร์ เป็นต้น (Uduman, 2010)

ในการผลิตไบโอดีเซลนั้น จำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิต ได้แก่ ชนิดของน้ำมัน อัตราส่วนระหว่างน้ำมันกับแอลกอฮอล์ อัตราการกวนผสม อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา ชนิด และปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยา เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อปริมาณผลผลิต

ของไบโอดีเซล ดังนั้น จุดมุ่งหมายในการวิจัย คือ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ตลอดจนศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันที่ผลิตได้จากเซลล์สาหร่าย และศึกษาศักยภาพของการใช้น้ำมันสาหร่ายเพื่อผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน และเอสเตอริฟิเคชันในระดับห้องปฏิบัติการ

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp. ด้วยวิธีโคแอกกูเลชัน-ฟลอคคูเลชัน
2. เพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่ายที่สกัดได้

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยวิธี โคแอกกูเลชัน-ฟลอคคูเลชัน ซึ่งสารตกตะกอนที่ใช้มี 2 ชนิด คือ อลูมิเนียมซัลเฟต และ เฟอร์ริกคลอไรด์

ตัวแปรที่ใช้ในการศึกษา

- ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน
- พีเอช
- เวลาการตกจม

2. ศึกษาศักยภาพในการผลิตไบโอดีเซลจากไขมันสาหร่ายที่สกัดได้ด้วยกระบวนการทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน และเอสเตอริฟิเคชัน

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการทำโครงการ

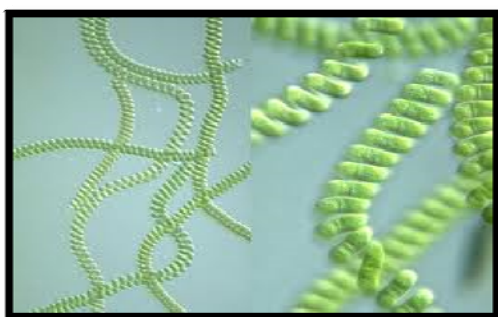
1. ทำให้ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp. โดยวิธีโคแอกกูเลชัน-ฟลอคคูเลชัน
2. ทำให้ทราบกระบวนการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย
3. สามารถนำความรู้ไปประยุกต์ใช้ และพัฒนากระบวนการผลิตไบโอดีเซลได้

บทที่ 2

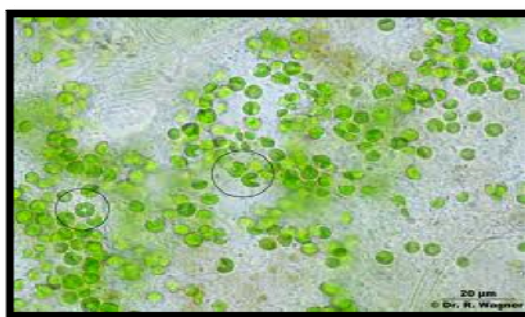
ทฤษฎี

2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายขนาดเล็ก ได้รับการยอมรับว่าเป็นหนึ่งในสิ่งมีชีวิตที่เก่าแก่ที่สุด ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ (ไม่มีราก ลำต้น และใบ) เช่น สาหร่ายสายพันธุ์ *Spirulina* sp. และสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2-1 ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-50 μm พื้นผิวเป็นประจุลบ (Shelef, 1984) สามารถสังเคราะห์แสงเองได้ โดยการเปลี่ยนพลังงานจากแสงอาทิตย์ (Sun energy) ไปเป็นพลังงานเคมี เหมือนพืชชนิดอื่นๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน รวมถึงน้ำมัน เป็นต้น สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย คือ น้อยกว่า 49 ถึง 132 เท่า เมื่อเทียบกับเมล็ดต้นเรพ หรือถั่วเหลือง สำหรับร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก จากปริมาณน้ำมันในมวลชีวภาพของสาหร่าย (Mata, 2010) สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำเค็ม หรือน้ำกร่อย และมีวงจรชีวิตสั้น นอกจากนี้ ข้อดีของสาหร่ายขนาดเล็กในด้านพลังงาน คือ ปริมาณน้ำมันที่ได้ต่อพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงสูง เมื่อเทียบกับพืชผลทางการเกษตร และพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ ตัวอย่างการนำน้ำมันจากพืชชนิดต่างๆ มาผลิตไบโอดีเซลแสดงดังตารางที่ 2-1



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 2-1 ลักษณะสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ (ก) *Spirulina* sp. (ข) *Chlorella* sp.

ตารางที่ 2-1 ตารางเปรียบเทียบน้ำมันจากสาหร่ายกับพืชชนิดอื่นๆ (Chisti, 2007)

แหล่งของน้ำมัน	ผลผลิตน้ำมัน (ลิตรต่อเฮกเตอร์)	พื้นที่ที่ต้องการ (ล้านเฮกเตอร์) ¹	ร้อยละของพื้นที่การ เพาะปลูกใน สหรัฐอเมริกา ¹
สบู่ดำ	1892	140	77
มะพร้าว	2689	99	54
ปาล์มน้ำมัน	5950	45	24
สาหร่ายขนาดเล็ก ²	136900	2	1.1
สาหร่ายขนาดเล็ก ³	58700	4.5	2.5

¹ เพื่อใช้ในระบบขนส่งครั้งหนึ่ง สำหรับเชื้อเพลิงที่ต้องการใช้ทั้งหมดในสหรัฐอเมริกา

² น้ำมันสาหร่ายร้อยละ 70 ของน้ำหนักเซลล์

³ น้ำมันสาหร่ายร้อยละ 30 ของน้ำหนักเซลล์

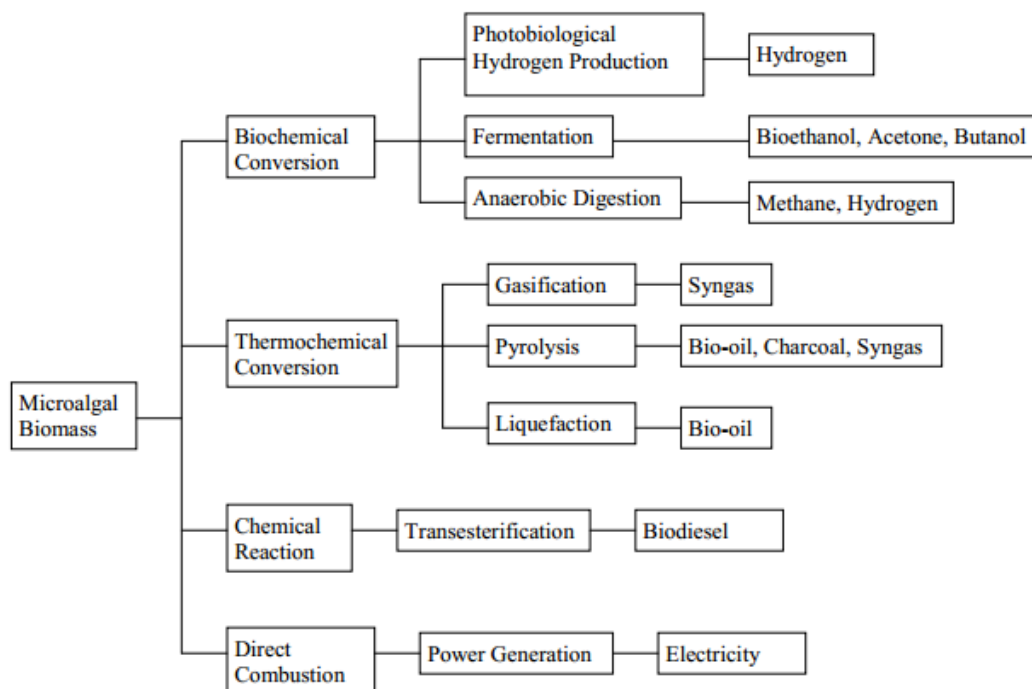
จากตารางจะเห็นว่าสาหร่ายขนาดเล็กมีข้อได้เปรียบในเรื่องของพื้นที่ในการเพาะเลี้ยง จากข้อมูลการวิจัย ถ้าต้องการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่ายขนาดเล็กให้ได้ปริมาณร้อยละ 50 ของน้ำมันดีเซลที่ใช้ในระบบขนส่งของสหรัฐอเมริกา จะต้องใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพียงร้อยละ 1 ใน 3 ของพื้นที่ทั้งหมดที่ใช้ในการปลูกพืชน้ำมัน

สาหร่ายขนาดเล็กมีการสะสมพลังงานภายในเซลล์ ในรูปสารอินทรีย์จากการสังเคราะห์แสง โดยใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์ สารอินทรีย์สะสมเหล่านี้ ได้แก่ แป้ง น้ำตาล พอลิแซ็กคาไรด์ และไขมัน (Graham, 2000) เป็นต้น ส่วนใหญ่จะสะสมอยู่บริเวณผนังเซลล์ หรือแวกิวโอลของสาหร่าย สาหร่ายขนาดเล็กบางสายพันธุ์มีการสะสมน้ำมันสูงเกือบร้อยละ 80 ของน้ำหนักแห้ง ตารางที่ 2-2 แสดงให้เห็นถึงปริมาณไขมันในเซลล์ของสาหร่ายบางชนิด โดยสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบของกรดไขมันแตกต่างกัน (Sik, 1999) อาทิ *Nitzschia laevis* เป็นสาหร่ายที่มีปริมาณไขมันในเซลล์สูง โดยมีปริมาณไตรกลีเซอไรด์สูงถึงร้อยละ 69.1 ของปริมาณไขมันทั้งหมด (Chen, 2007) Miao และคณะ (2004) รายงานว่าน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella protothecoides* และ *Microcystis aeruginosa* มีค่า saturated fraction ของ alkane ที่เหมือนกับน้ำมันดีเซล

ตารางที่ 2-2 ปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็กชนิดต่างๆ
(Chisti, 2007)

สาหร่ายขนาดเล็ก	ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chlorella</i> sp.	28–32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16–37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25–33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris</i> sp.	20–35
<i>Nannochloropsis</i> sp.	31–68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia</i> sp.	45-47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Schizochytrium</i> sp.	50-77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23

นอกจากนี้พบว่ามีการหลายวิธีในการแปลงพลังงานชีวมวลของสาหร่าย ไปยังแหล่งพลังงานชนิดอื่นๆ ซึ่งสามารถจำแนกออกเป็น การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี (Biochemical conversion) โดยผ่านกระบวนการหมัก ปฏิกิริยาเคมี (Chemical reaction) การเผาไหม้โดยตรง (Direct combustion) และการเปลี่ยนแปลงความร้อน (Thermo chemical conversion) ดังนั้นสาหร่ายจึงสามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตเป็นเชื้อเพลิงเหลว เช่น เอทานอล และไบโอดีเซล ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2-2



ภาพประกอบที่ 2-2 การเปลี่ยนแปลงเชื้อเพลิงชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก (Dragone, 2010)

2.2 ข้อได้เปรียบของการใช้สาหร่ายขนาดเล็กสำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ

ความคิดของการใช้สาหร่ายเป็นแหล่งเชื้อเพลิงชีวภาพไม่ใช่เรื่องใหม่ แต่ถูกดำเนินการอย่างจริงจัง เนื่องจากราคาที่เพิ่มขึ้นของน้ำมันปิโตรเลียม และความกังวลที่เกิดขึ้นเกี่ยวกับภาวะโลกร้อน เนื่องจากการเผาไหม้ของเชื้อเพลิงฟอสซิล (Chisti, 2007) ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก สำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพจึงมีข้อได้เปรียบมากกว่าพืชชนิดอื่นดังต่อไปนี้ (Dragone, 2010)

1. สาหร่ายมีการสะสมไขมันในปริมาณที่มาก (ร้อยละ 20-50 ของน้ำหนักแห้ง) และมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูง
2. สาหร่ายมีความสามารถในการผลิตตลอดทั้งปี ดังนั้นผลผลิตน้ำมันต่อพื้นที่ของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย จึงมีอัตราผลตอบแทนที่สูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ
3. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไม่จำเป็นต้องใช้สารกำจัดวัชพืช หรือยาฆ่าแมลง
4. สาหร่ายช่วยในการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ โดยการกำจัด NH_4^+ NO_3^- PO_4^{3-} จากแหล่งที่มาของน้ำเสีย (เช่น ภาคเกษตรกรรม น้ำเสียจากอุตสาหกรรม และเทศบาล เป็นต้น)

5. สาหร่ายจะกักเก็บก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จากก๊าซไอเสียที่ปล่อยออกมาจากการเผาไหม้ ฟอสซิลของโรงไฟฟ้า และแหล่งอื่นๆ จึงช่วยลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก (ชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก 1 กิโลกรัม สามารถใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ถึง 1.83 กิโลกรัม) (Brennan, 2010)
6. สาหร่ายสามารถปลูกในน้ำทะเลเค็ม / น้ำกร่อย / ชายฝั่งบนที่ดินที่ไม่เหมาะต่อการเพาะปลูก และไม่ชิงทรัพย์การกับการเกษตรแบบเดิม

2.3 สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella*

Chlorella sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีชื่อมาจากภาษากรีก คือ chloros ซึ่งแปลว่า “สีเขียว” และจากภาษาละติน ella ซึ่งแปลว่า “เล็ก” สาหร่ายชนิดนี้ มีขนาดเซลล์ประมาณ 5-10 ไมโครเมตร ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว (Unicellular) รูปร่างทรงกลม หรือวงรีเล็กน้อย ผนังเซลล์ค่อนข้างบาง ไม่มี Flagella ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (Non-motile algae) มีรงควัตถุที่ช่วยสังเคราะห์แสง คือคลอโรฟิลล์ A และ B โดยจะอยู่ในคลอโรพลาสต์ ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปถ้วย หรือเป็นแผ่นอยู่ริมเซลล์ สาหร่ายชนิดนี้พบทั้งในน้ำจืด และน้ำเค็ม เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว หาง่าย ราคาถูก และมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์เฉลี่ยประมาณร้อยละ 22 ของน้ำหนักแห้ง (พนิดา รัตนพลที, 2552)

การสืบพันธุ์ของสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella* sp. เป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยมีการสร้างซุสสปอร์ (Zoospore) และออโตสปอร์ (Autospore) การสืบพันธุ์แบบซุสสปอร์เป็นการเพิ่มจำนวนเซลล์ โดยนิวเคลียสจะแบ่งไมโทซิส เป็น 2, 4 หรือ 8 ส่วน แล้วไซโทพลาสซึมจะแบ่งตามทีหลัง แต่ละส่วนที่ได้เรียกว่า ซุสสปอร์ มีโครงสร้างเหมือนกับเซลล์แม่ แต่มีขนาดเล็กกว่า และมีแฟลกเจลลาเคลื่อนที่ได้ ต่อมาเมื่อเจริญได้ระยะหนึ่ง แฟลกเจลลาจะหลุดออกไป ทำให้ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ส่วนการสืบพันธุ์แบบออโตสปอร์ เซลล์จะสร้างเซลล์ใหม่ตั้งแต่ 2-6 เซลล์ อยู่ในผนังเซลล์แม่ และจะถูกปล่อยออกมา เมื่อเซลล์มีการเจริญเติบโตเต็มที่ (ยุวดี อินสำราญ, 2543)

2.4 ระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่าย

2.4.1 การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิด มีมาตั้งแต่ปี 1950 (Borowitzka, 1999) สามารถแบ่งออกเป็น 2 ระบบหลักๆ คือ ระบบตามแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น ทะเลสาบ บึง และบ่อ เป็นต้น ระบบบ่อเทียม (Artificial ponds) หรือภาชนะบรรจุ (Containers) ระบบส่วนใหญ่ที่ใช้กันทั่วไป ได้แก่ บ่อตื้นเขินขนาดใหญ่ (Shallow big ponds) ถัง (Tanks) บ่อกลม (Circular ponds) และบ่อร่องน้ำ (Raceway ponds) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2-3



(ก)



(ข)

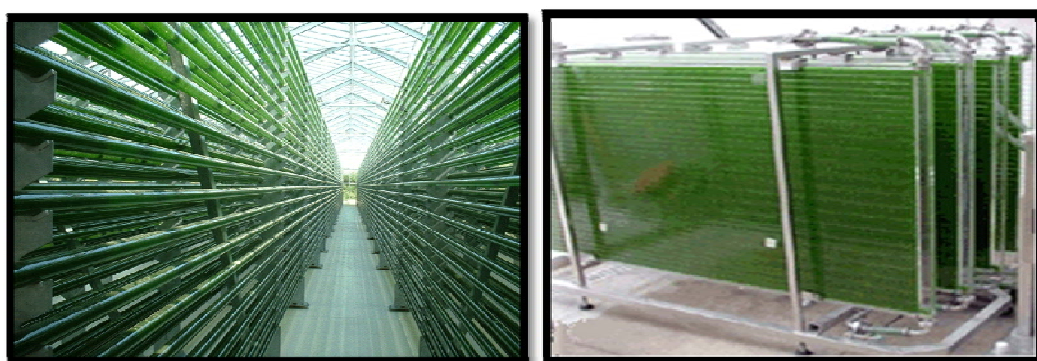
ภาพประกอบที่ 2-3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิด (ก) บ่อร่องน้ำ (ข) บ่อกลม
(<http://making-biodiesel-books.com/about-algae/algae-cultivation-in-open-ponds/>)

ข้อดี คือ ราคาถูก ทำความสะอาด และบำรุงรักษาได้ง่าย ใช้พลังงานน้อย เนื่องจากสามารถใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์ได้โดยตรง และเพาะเลี้ยงได้ในปริมาณมาก (Brennan, 2010)

ข้อเสีย คือ การควบคุมสภาพแวดล้อมทำได้ยาก จึงทำให้ระบบมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นๆ ได้ง่าย มีการสูญเสียน้ำบริเวณพื้นผิวจากกระบวนการระเหย และหากบ่อมีขนาดใหญ่ และลึกมาก จะทำให้สาหร่ายได้รับแสงไม่เพียงพอ จึงส่งผลให้ผลผลิตต่อพื้นที่ และปริมาณน้อยกว่าที่ควรจะเป็น (Brennan, 2010)

2.4.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิด

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิด เป็นการเพาะเลี้ยงในระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Photo bioreactor) เช่น ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบท่อ (Tubular Photobioreactors) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นราบ (Flat-plate Photo bioreactors) เป็นต้น ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2-4 โดยเครื่องปฏิกรณ์ได้รับการออกแบบเพื่อเพิ่มการดูดซึมของแสงที่เข้ามา และเพื่อลดผลกระทบเชิงลบ เช่น การอิ่มตัวเกินไปของออกซิเจน (Oxygen oversaturation)



(ก)

(ข)

ภาพประกอบที่ 2-4 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบถังปฏิกรณ์ (ก) แบบท่อ (ข) แบบแผ่นราบ

ข้อดี คือ ผลผลิตต่อพื้นที่การเพาะเลี้ยงสูง ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย มีการสูญเสียน้ำจากกระบวนการระเหยน้อยกว่าระบบเปิด และเนื่องจากเป็นระบบปิด จึงเป็นระบบที่สะอาด และง่ายต่อการป้องกันการปนเปื้อนจากสาหร่ายขนาดเล็กชนิดอื่นๆ ทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพสูง (Lassing, 2008)

ข้อเสีย คือ การก่อสร้างมีราคาแพง เนื่องจากมีความซับซ้อน นอกจากนี้ระบบยังจำเป็นต้องมีระบบทำความเย็น (Cooling) เพื่อป้องกันระบบจากความร้อนสูงเกินไป การทำความสะอาดทำได้ยาก ปัญหาเนื่องจากการอิ่มตัวเกินไปของออกซิเจน และในระบบปิดส่วนใหญ่จะใช้แสงสังเคราะห์จากเครื่องกำเนิดแสงต่างๆ ทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการใช้พลังงานสูง (Lassing, 2008)

2.5 การเก็บเกี่ยวสาหร่าย – การแยกสาหร่ายออกจากน้ำ

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กเป็นหนึ่งในกระบวนการที่สำคัญ ที่จะกำหนดความเป็นไปได้ของการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย เนื่องจากกรรมวิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบันยังมีประสิทธิภาพต่ำ หรือวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงก็มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงตามไปด้วย (ค่าใช้จ่ายประมาณร้อยละ 20-30 ของค่าใช้จ่ายทั้งหมด) หรือไม่เหมาะสมในการขยายขนาดสู่ระดับอุตสาหกรรม (Sheehan, 1988) โดยวิธีการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมจะขึ้นอยู่กับชนิด และคุณสมบัติของสาหร่าย เช่น ความหนาแน่น ขนาด และมูลค่าของผลผลิตที่ต้องการ (Brennan, 2010) สาหร่ายจากบ่อเลี้ยงประกอบด้วย 0.02-0.06 เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด โดยเซลล์มักจะมีประจุลบ และมี Allogenic organic matter ส่วนเกิน ทำให้ค่าใช้จ่ายในการเก็บเกี่ยวค่อนข้างสูง (Chen, 2011) ในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายครั้งแรกจะมีน้ำอยู่มากกว่าร้อยละ 90 ด้วยกรรมวิธีการสกัดที่นิยมทำในปัจจุบันจะต้องมีการดึงน้ำออกมากกว่า 2 ขั้นตอน Uduman และคณะ (2010) เสนอการเก็บเกี่ยว 2 ขั้นตอน โดยในขั้นตอนแรกจะได้ของแข็งร้อยละ 2-7 ของแข็งทั้งหมด โดยในขั้นตอนนี้ Brennan และ Owende (2010) เสนอว่าในขั้นตอนนี้ควรใช้กระบวนการ Flocculation, Flotation และขั้นตอนที่ 2 จะได้ของแข็งร้อยละ 15-25 ของแข็งทั้งหมด โดยอาจใช้วิธี filtration และ Centrifugation

Nyomi Uduman และคณะ (2010) กล่าวว่า กระบวนการหมุนเหวี่ยง (Centrifugation) ต้องใช้พลังงานสูง เงินลงทุนในการเริ่มต้นสูง และอาจทำให้โครงสร้างเซลล์เกิดความเสียหาย กระบวนการกรอง (Filtration and screening) เงินลงทุนส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนตัวกรองในส่วนของ screen และ membrane กระบวนการตกจมโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก (Gravity sedimentation) วิธีนี้ถือได้ว่าเป็นวิธีที่ประหยัดที่สุด แต่มีข้อเสียเนื่องจากการตกตะกอนจะเกิดขึ้นช้ามาก การตกจมโดยใช้ไฟฟ้า (Electro flotation) ต้องมีการเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าเมื่อเกิดการชำรุด และมีค่าใช้จ่ายในส่วน of ไฟฟ้าสูง โคแอกกูเลชัน-ฟลอคคูเลชัน (Coagulation-Flocculation) เป็นกระบวนการที่ใช้พลังงานน้อย และสามารถเลือกใช้สารช่วยตกตะกอนที่มีราคาไม่แพงได้ โดยสารตกตะกอนที่นิยมใช้ ได้แก่ เพอริคลอไรด์ อลูมิเนียมซัลเฟต โคลโคซาน และพอลิเมอร์ เป็นต้น ด้วยเหตุนี้การเก็บเกี่ยวด้วยวิธีการ โคแอกกูเลชัน-ฟลอคคูเลชัน จึงเป็นทางเลือกที่ใช้ในงานวิจัยนี้

2.5.1 กระบวนการโคแอกกูเลชัน

Coagulation มีรากศัพท์มาจากภาษาละตินว่า “Coagulare” ซึ่งหมายความว่า การจับเคลื่อนไปด้วยกัน กระบวนการโคแอกกูเลชันจัดเป็นกระบวนการทางเคมีที่ทำให้อนุภาคคอลลอยด์ที่มีเสถียรภาพกลายเป็นอนุภาคคอลลอยด์ที่ไม่มีเสถียรภาพ โดยการเติมสารเคมีเพื่อให้อนุภาคคอลลอยด์ที่ไม่มีเสถียรภาพสามารถเคลื่อนที่เข้าใกล้กัน เนื่องจากเซลล์สาหร่ายมีประจุเป็นลบ การทำลายเสถียรภาพทำได้โดยการเติมสารโคแอกกูแลนต์ เช่น Multivalent cations หรือ Cationic polymers เป็นต้น (ซึ่งสารเคมีเหล่านี้ ในบางกรณีอาจไม่เป็นที่ยอมรับ เมื่อชีวมวลจะถูกนำมาใช้ในวิธีการบางอย่าง เช่น ทำเป็นอาหารสัตว์ เป็นต้น) ความเข้มข้นของเซลล์ และการกวนผสมจะช่วยให้เกิดการรวมตะกอน เนื่องจากทำให้เซลล์เจอกันมากขึ้น แต่หากแรงอัดมีมากเกินไป อาจส่งผลให้เกิดการทำลายตะกอน (ณัฐธยาน์ พงศ์สถาปติ, 2551)

2.5.2 กระบวนการฟลอคคูเลชัน

Flocculation มีรากศัพท์มาจากภาษาละตินว่า Flocculare ซึ่งมีความหมายว่า การจับตัวเป็นก้อน (Floc) วัตถุประสงค์เพื่อให้อนุภาคตัวถูกละลายในสารละลายเกิดการรวมตัวกันในรูปแบบต่างๆ ซึ่งการตกตะกอนนั้นเป็นผลมาจากการชนกันระหว่างอนุภาคตัวถูกละลาย และการยึดติดกันของอนุภาคอื่นๆ โดยอาจมีการปั่นอย่างช้าๆ เพื่อช่วยให้อนุภาคคอลลอยด์ที่ไม่มีเสถียรภาพได้เคลื่อนที่เข้าหากัน และเกาะรวมตัวกัน (ณัฐธยาน์ พงศ์สถาปติ, 2551)

2.5.3 Autoflocculation

Autoflocculation หมายถึง การทำลายเสถียรภาพของอนุภาคสาหร่าย โดยการเพิ่มพีเอช ไปยังจุดที่สารละลายอิ่มตัวด้วยไอออนประจุ 2+ เช่น Mg^{2+} และ Ca^{2+} การเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชอาจเกิดขึ้นได้ตามธรรมชาติ เช่น การสังเคราะห์แสงในเวลากลางวัน หรือการเติมเบสลงในสารละลายเพื่อเพิ่มค่าพีเอช

Harith และคณะ (2009) ได้ศึกษาการเก็บเกี่ยวสาหร่าย สายพันธุ์ *Chaetoceros calcitrans* ด้วยวิธี Autoflocculation พบว่าการปรับพีเอช เท่ากับ 10.2 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวมีค่าสูงถึงร้อยละ 90

2.5.4 โคนอกกุลแลนต์

โคนอกกุลแลนต์ (Coagulant) คือ สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการ โคนอกกุลแลชัน เช่น

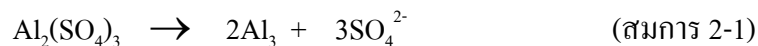
2.5.4.1 สารตกตะกอนชีวภาพ สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลากหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย รา หรือ ยีส ซึ่งกำลังได้รับความสนใจ แต่ยังไม่นิยมนำมาใช้เป็นสารช่วยตกตะกอน เนื่องจากมีราคาแพง (Eldridge, 2012)

2.5.4.2 โพลีอิเล็กโตรไลต์ หรือ พอลิเมอร์ เป็นสารที่นิยมใช้มากที่สุด มีทั้งแบบประจุบวก ประจุลบ และไม่มีประจุ โพลีอิเล็กโตรไลต์แบบประจุบวกมีหลายชนิด ทำให้ต้องมีการเลือกใช้งานที่เหมาะสม โพลีอิเล็กโตรไลต์แบบประจุบวกที่มีมวลโมเลกุลสูงๆ สามารถทำงานได้ทั้งกลไกการทำให้ประจุที่ผิวของอนุภาคคอลลอยด์เป็นกลาง และกลไกการสร้างสะพานเชื่อม โพลีอิเล็กโตรไลต์แบบประจุบวกที่นิยมใช้ได้แก่ Polydiallyldimethyl ammonium (PDADMA, cat-floc) และ Epichlorohydrin dimethylamine (EpiDMA) ส่วนโพลีอิเล็กโตรไลต์แบบประจุลบ และไม่มีประจุ มักจะผลิตจาก Monomer acrylamide โดยโพลีเมอร์แบบประจุลบ และแบบไม่มีประจุนิยมใช้ร่วมกับอลูมิเนียมซัลเฟต เพื่อให้เกิดการเกาะกันระหว่างฟล็อกได้ดียิ่งขึ้น โดยถ้าเติมหลังการเติมอลูมิเนียมซัลเฟต จะช่วยลดการใช้อลูมิเนียมซัลเฟตลงได้มาก ตะกอนสลัดจ์ที่เกิดขึ้นมีปริมาณลดลง และกำจัดน้ำออกได้ง่าย แต่โพลีอิเล็กโตรไลต์มีราคาแพงกว่าอลูมิเนียมซัลเฟต หรือ โคนอกกุลแลนต์สามัญอื่นๆ มาก นอกจากนี้สำหรับน้ำที่มีความขุ่นต่ำ การเติมโพลีอิเล็กโตรไลต์เพียงลำพังจะไม่ทำให้เกิดโคนอกกุลแลชัน (ผกามาศ เจริญพัฒนานนท์, 2555)

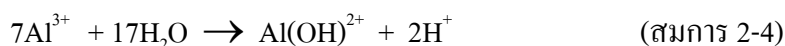
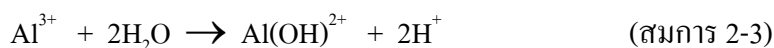
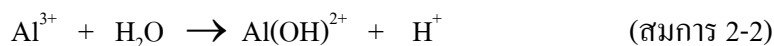
2.5.4.3 สารตกตะกอนที่เป็นสารอนินทรีย์ เป็นสารช่วยตกตะกอนที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะในรูปของ อลูมิเนียม และ เหล็กเฟอริก เช่น อลูมิเนียมซัลเฟต เฟอริกซัลเฟต และเฟอริกคลอไรด์ เนื่องจากสามารถใช้ได้ดี กับน้ำดิบจากแหล่งต่างๆ และหาซื้อได้ง่ายในราคาที่ ไม่แพงมากนัก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้สารช่วยตกตะกอน 2 ชนิด คืออลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอริกคลอไรด์ ในศึกษาการเก็บเกี่ยวสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp.

2.5.4.3.1 อลูมิเนียมซัลเฟต (Aluminium Sulfate หรือ Alum) เป็น โคนอกกุลแลนต์ที่นิยมใช้มากที่สุด เนื่องจากราคาถูก มีทั้งในแบบของแข็งในรูปของ $Al_2(SO_4)_3 \cdot xH_2O$ โดย x มักจะเท่ากับ 14 และของเหลวที่มีอลูมิเนียมซัลเฟตอยู่ 48.8 เปอร์เซ็นต์ (8.3 เปอร์เซ็นต์ Al_2O_3) อีก 51.2 เปอร์เซ็นต์เป็นน้ำ (เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาการตกผลึกของอลูมิเนียมซัลเฟตระหว่างการขนส่ง

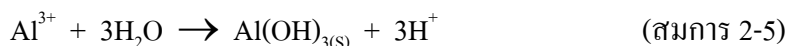
หรือในระหว่างการเก็บสารเคมี) อลูมิเนียมซัลเฟตทางการค้า จะมีมวลโมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 594 เมื่อเติมอลูมิเนียมซัลเฟตลงในน้ำจะแตกตัวให้อิออนบวก และลบ ดังสมการที่ 2-1



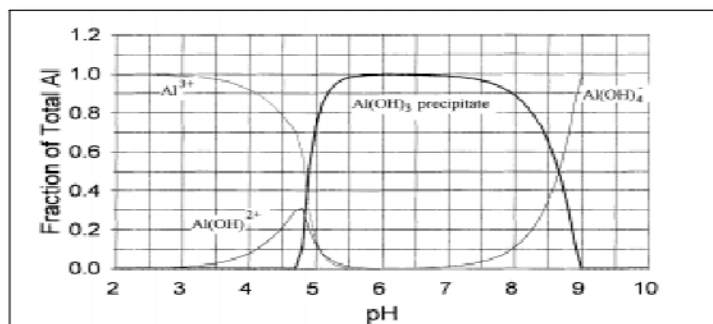
เมื่อเติมอลูมิเนียมซัลเฟตในน้ำ อลูมิเนียมไอออนจาก $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ จะถูกล้อมรอบด้วยโมเลกุลของน้ำได้ $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ หรือ Al^{3+} ไฮโดรไลซิสของ Al^{3+} จะเกิดขึ้นทันที โดยเฉพาะอย่างยิ่ง OH^- จะเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (Complex substance) ระหว่างอลูมิเนียมกับไฮดรอกไซด์ไอออน ดังสมการที่ 2-2 ถึง 2-4



กรณีที่มีความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟตสูงกว่าความเข้มข้นที่จุดอิ่มตัว (Saturation point) ไฮโดรไลซิสจะดำเนินต่อไปจนได้ผลของปฏิกิริยาสุดท้ายเป็นผลึก $\text{Al}(\text{OH})_3$ ดังสมการที่ 2-5



ผลของปฏิกิริยาที่จะเกิดการดูดติดผิวอนุภาคคอลลอยด์ คือ สารคอมเพล็กซ์ ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างไฮโดรไลซิสจาก Al^{3+} ถึง $\text{Al}(\text{OH})_3$ สารคอมเพล็กซ์อาจมีประจุบวก หรือลบก็ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพีเอชของน้ำ กล่าวคือ ถ้าพีเอชของน้ำสูงกว่าจุดสะเทินทางไฟฟ้า (Zero Point of Charge) ของ $\text{Al}(\text{OH})_3$ จะเกิดสารคอมเพล็กซ์ประจุลบ เช่น $\text{Al}(\text{OH})_4^-$, $\text{Al}(\text{OH})_5^{2-}$ ถ้าพีเอชของน้ำต่ำกว่าจุดสะเทินทางไฟฟ้าของ $\text{Al}(\text{OH})_3(\text{s})$ ซึ่งเป็นลักษณะที่เกิดขึ้นโดยทั่วไปในกระบวนการโคแอกกูเลชัน จะเกิดสารคอมเพล็กซ์ประจุบวก เช่น $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})_3^+$, $\text{Al}_7(\text{OH})_{17}^{4+}$, $\text{Al}_{13}(\text{OH})_{34}^{5+}$ ดังภาพประกอบที่ 2-5



ภาพประกอบที่ 2-5 ความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบเชิงซ้อนอลูมิเนียมซัลเฟต และค่าพีเอช

(Amirtharajah and Mills, 1982)

อลูมิเนียมซัลเฟตที่เติมลงในน้ำจะเกิดการทำลายเสถียรภาพของอนุภาคคอลลอยด์ ด้วยกลไกหลักดังนี้

1. กลไกแบบดูดติดผิว และทำลายประจุ (Adsorption and charge neutralization) เกิดจากสารประกอบเชิงซ้อนอลูมิเนียมซัลเฟตที่มีประจุบวก ทำลายเสถียรภาพของคอลลอยด์ ซึ่งมักมีประจุลบให้เป็นกลาง เป็นการสร้างโอกาสสัมผัสให้อนุภาครวมตัวกันจนมีขนาดใหญ่ และสามารถตกตะกอน ด้วยน้ำหนักของอนุภาคเพียงลำพัง กลไกนี้มีช่วงความเหมาะสมที่แคบ ซึ่งควบคุมการทำงานได้ยาก เพราะสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจะต้องพอเหมาะเท่านั้น ถ้ามีปริมาณต่ำเกินไป โคแอกกูเลชันจะไม่เกิด แต่ถ้าสูงเกินไปสารประกอบเชิงซ้อนจะดูดติดผิวอนุภาคมาก ทำให้อนุภาคเปลี่ยนเป็นประจุบวก และเกิดเสถียรภาพขึ้นอีก แต่ตะกอนที่เกิดจากกลไกนี้สามารถแยกออกจากน้ำได้ง่าย ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่าย (พรศักดิ์ สมไกรสรกิจ, 2556)

2. กลไกแบบกวาด (Sweep coagulation)

- ในกรณีความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟตมากเกินไปจนปฏิกิริยาดำเนินต่อไปจนได้ $Al(OH)_3$ ดังสมการที่ 2-5 การทำลายเสถียรภาพของอนุภาคคอลลอยด์ด้วยกลไกนี้ จะเกิดขึ้นเมื่อมีการเติมอลูมิเนียมซัลเฟตมากเกินไป จนมีความเข้มข้นเกินจุดอิ่มตัว ซึ่งทำให้ผลึกของ $Al(OH)_3$ ซึ่งมีลักษณะเหนียว สามารถห่อหุ้มอนุภาค และทำให้ผิวของอนุภาคมีความเหนียว ไม่สามารถแสดงอิทธิพลทางประจุไฟฟ้า จึงทำหน้าที่สร้างเป้าสัมผัสอนุภาคคอลลอยด์จนมีขนาดใหญ่ และสามารถตกตะกอนได้เพียงลำพัง

- ความสามารถในการละลายน้ำของอลูมิเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3$) จะแตกตัวให้ Al^{3+} ซึ่งสามารถรวมตัวกับไฮดรอกไซด์ในน้ำ (OH^-) และตกผลึกทางเคมีเป็นอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์

$(\text{Al}(\text{OH})_3)$ ซึ่งกรณีนี้จะเกิดขึ้นได้ ก็ต่อเมื่อผลคูณของความเข้มข้นของไอออนทั้งสอง (Al^{3+} และ OH^-) มากกว่าค่าความสามารถในการละลายน้ำ (K_{sp}) ดังสมการ

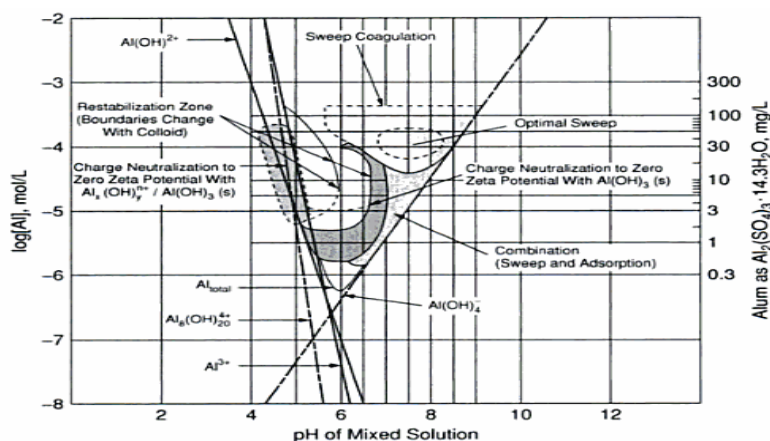
$$[\text{Al}^{3+}][\text{OH}^-] > K_{sp} \quad \text{โดยไฮดรอกไซด์มาจากความเป็นด่างในน้ำ}$$

(กลไกแบบห่อหุ้มนี้จะใช้ปริมาณอลูมิเนียมซัลเฟตมากกว่ากลไกแบบดูดติดผิว/ทำลายประจุ ซึ่งจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อ $[\text{Al}^{3+}][\text{OH}^-] < K_{sp}$ มิฉะนั้นจะเกิดเป็นกลไกแบบห่อหุ้มแทน)

- ปริมาณอลูมิเนียมซัลเฟตที่ต้องใช้จะแปรผกผันกับความเข้มข้นของคอลลอยด์ในน้ำ เช่น น้ำที่มีความขุ่นน้อยต้องใช้ปริมาณอลูมิเนียมซัลเฟตมาก เพื่อสร้างผลึกจำนวนมากมาเป็นเป้าสัมผัสกับคอลลอยด์

3. กลไกโคแอกกูเลชันแบบร่วม (Combination coagulation) เป็นการทำลายเสถียรภาพอนุภาคคอลลอยด์ร่วมกันระหว่างกลไกแบบดูดติดผิว และทำลายประจุ และแบบกวาด โดยที่ความแตกต่างระหว่างอิทธิพลของกลไกทั้งสองมีไม่เด่นชัด ซึ่งจะเกิดเมื่อมีการใช้ปริมาณอลูมิเนียมซัลเฟตเพิ่มสูงขึ้นกว่ากลไกการทำลายเสถียรภาพแบบดูดติดผิว และทำลายประจุ แต่จะใช้ปริมาณอลูมิเนียมซัลเฟตต่ำกว่ากลไกแบบกวาด (พรศักดิ์ สมไกรสรกิจ, 2556)

Amirtharajah and Mills, 1982 ได้รวบรวมผลการวิจัยเกี่ยวกับกระบวนการโคแอกกูเลชันด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต และนำมาวิเคราะห์หึ่งเสนอหลักการออกแบบ และควบคุมโคแอกกูเลชันด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2-6 ซึ่งจากภาพแสดงให้เห็นว่าโคแอกกูเลชันด้วยกลไกแบบกวาด จะเกิดขึ้นในช่วงพีเอช 6 ถึง 8



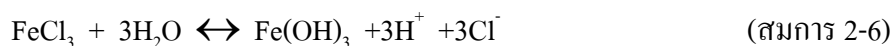
ภาพประกอบที่ 2-6 โคอะแกรมที่ใช้ออกแบบ และควบคุมโคแอกกูเลชันด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต

(Amirtharajah and Mills, 1982)

2.5.4.3.2 เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride)

เฟอริกคลอไรด์ มีสูตรทางเคมี FeCl_3 โดยมักอยู่ในรูปของ FeCl_3 anhydrous หรือ $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ มีลักษณะผลึกสีน้ำตาล หรือเหลือง เป็นเม็ดยาวหรือค้ำ และมีรูปสารละลายสีน้ำตาลแกมเหลือง ปกติละลายน้ำได้ดี สารละลายมีฤทธิ์เป็นกรด และมีความสามารถในการกัดกร่อน ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นจะได้ตะกอนเฟอริกไฮดรอกไซด์ ($\text{Fe}(\text{OH})_3$)

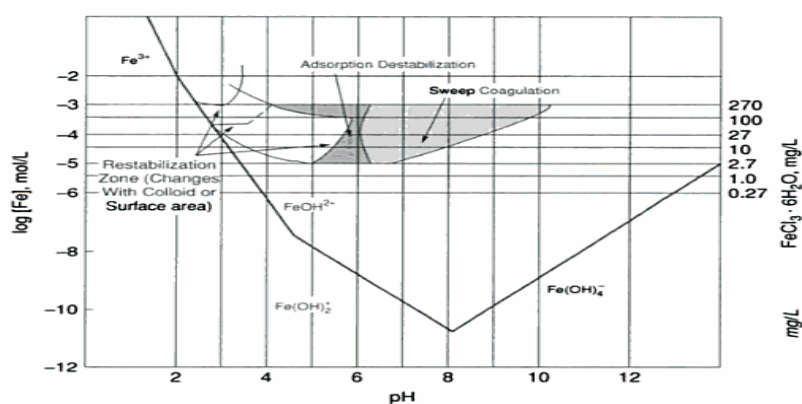
เมื่อเติมเฟอริกคลอไรด์ลงในน้ำที่ไม่มีด่าง จะได้ตะกอนของเฟอริกไฮดรอกไซด์ ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) และกรดคาร์บอนิก ดังสมการที่ 2-6



เกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดกับ Bicarbonate ในน้ำ ดังสมการที่ 2-7



การเกิดกรดไฮโดรคลอริกจะทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลง ถ้าพีเอช ต่ำกว่า 8 ก็ จะเปลี่ยนรูปเป็นโมโนเมอร์ชนิดต่างๆ ที่มีประจุบวก เช่น Fe^{3+} , $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$ กรณีสที่พีเอช สูงกว่า 9 ก็ จะเปลี่ยนรูปเป็น $\text{Fe}(\text{OH})_4^-$ นอกจากนี้เฟอริกคลอไรด์ยังมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่า อลูมิเนียมซัลเฟต แต่ช่วงของพีเอชที่เหมาะสมจะกว้างกว่าอลูมิเนียมซัลเฟต คือ ตั้งแต่ 4 ถึง 9 ดัง แสดงในภาพประกอบที่ 2-7



ภาพประกอบที่ 2-7 ไดอะแกรมที่ใช้ออกแบบ และควบคุม โภคเอกกุเลชันด้วยเฟอริกคลอไรด์

(Amirtharajah 1982)

2.6 น้ำมันจากสาหร่าย

ชีวมวลของสาหร่าย ประกอบด้วยน้ำมันตามธรรมชาติ โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต สาหร่ายหลายสายพันธุ์สามารถผลิตน้ำมันได้มากกว่าร้อยละ 35 ของน้ำหนักแห้ง องค์กรประกอบ และโครงสร้างของน้ำมันที่พบในสาหร่าย มีลักษณะคล้ายคลึงกับพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ เช่น ถั่วเหลือง ปาล์ม หรือเรพซิด เป็นต้น เรียกว่า ไตรกลีเซอไรด์ ประกอบด้วย กรดไขมัน (Fatty acid) ชนิดต่างๆ 3 โมเลกุล และกลีเซอรอล 1 โมเลกุล สาหร่ายขนาดเล็กจะผลิตกรดไขมันซึ่งมีความยาวของคาร์บอนอยู่ระหว่าง 12- 22 อะตอม โดยกรดไขมันพบทั้งชนิดอิ่มตัว และไม่อิ่มตัว กรดไขมันที่พบมากที่สุดจะเป็นกรดไขมันที่มีคาร์บอน C₁₆ และ C₁₈ (ตารางที่ 2-3) ซึ่งจำนวนกรดไขมันทั้งหมดจะแปรผันตามระยะเวลาของการเจริญ และสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง โดยพบว่าในสภาวะที่ไนโตรเจนมีปริมาณจำกัด หรือขาดไนโตรเจน สาหร่ายจะสร้างสารประกอบคาร์บอน เช่น น้ำมัน หรือแป้งมาทดแทน ทำให้สาหร่ายมีปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้น (พนิดา รัตนพลที, 2552)

ตารางที่ 2-3 ชนิดของกรดไขมันที่พบในน้ำมันสาหร่าย (Jayashree , 2012)

Fatty acid	<i>Chlorococcum</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp.	<i>Scenedesmus</i> sp.
C12:0	-	0.3	-
C14:0	-	0.9	0.7
C15:0	-	0.3	0.3
C16:0	19.5	24.5	30.3
C16:1	6.2	4.9	6.5
C16:2	7.5	1.3	5.7
C16:3	2.2	-	-
C16:4	12.6	-	-
C17:0	-	2.1	2.6
C17:1	1.1	10	2.7
C18:0	0.5	2.5	1.2
C18:1	12.8	15.1	17.5
C18:2	13.7	5.7	21.1

ตารางที่ 2-3 (ต่อ)

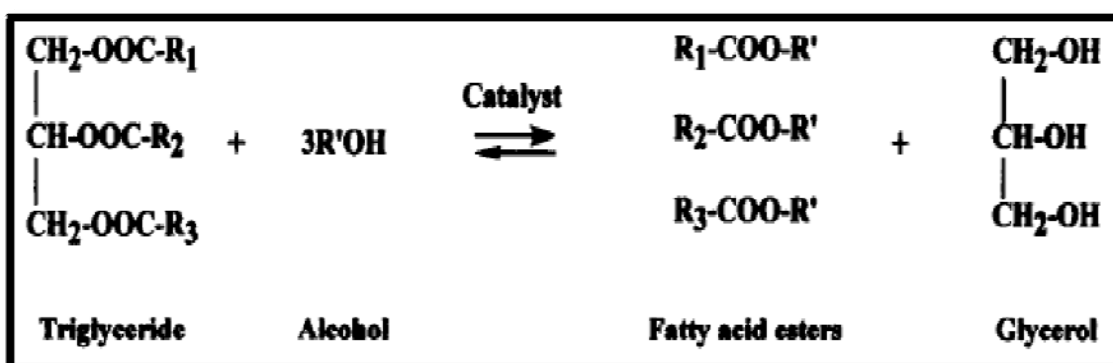
Fatty acid	<i>Chlorococcum</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp.	<i>Scenedesmus</i> sp.
C18:3	20.6	26.3	9.2
C18:4	2.5	-	-
C20:0	0.2	0.4	0.1
C20:1	-	0.4	-
C20:2	0.2	0.3	0.3
C20:3	0.2	0.3	0.1
C20:4	-	-	-
C20:5	0.1	1.1	0.8
C21:0	-	1.1	-
C22:0	0.1	1.1	0.6
C22:1	-	0.6	-
C24:0	-	0.8	0.3

2.7 ไบโอดีเซล

Bio = life มาจากภาษากรีก แปลว่า ชีวิต diesel เป็นชื่อที่ตั้งให้กับนาย Diesel ไบโอดีเซลมีอีกชื่อหนึ่งว่า Fatty acid (Ethly) methyl esters (FAMEs) หมายถึงเชื้อเพลิงชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วย โมโนแอลคิลเอสเทอร์ (Mono-alkyl ester) ของกรดไขมันโซ่ยาว โดยการนำเอาน้ำมันจากพืช หรือ ไขมันสัตว์ ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภทไตรกลีเซอไรด์ มาผ่านกระบวนการทางเคมีโดยทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์โซ่ตรง เช่น เมทานอล หรือเอทานอล ได้ผลผลิตเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันโซ่ตรง และผลพลอยได้กลีเซอรอล ซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล และสามารถนำมาใช้กับเครื่องยนต์ได้ (พนิดา รัตนพลที, 2552)

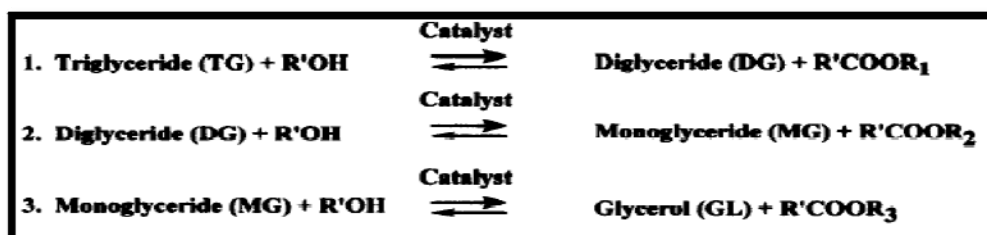
2.7.1 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน

ทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน ซึ่งมักจะถูกรู้จักว่า แอลกอฮอล์ไลซิส (Alcoholysis) คือ กระบวนการตัดโมเลกุลของไขมันจากน้ำมันพืช หรือไขมันจากสัตว์ให้มีขนาดเล็กลง เพื่อลดความหนืดให้กับน้ำมัน และให้น้ำมันมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล โดยเกิดจากการทำปฏิกิริยาของน้ำมัน หรือ ไขมันที่ได้จากพืช และสัตว์กับแอลกอฮอล์ เพื่อเกิดเอสเทอร์ และกลีเซอรอล มักจะใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยา และให้ได้ผลได้ (Yield) ของปฏิกิริยาสูง เนื่องจากปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชันเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ จึงต้องใช้แอลกอฮอล์ที่มากเกินไป เพื่อให้สมดุลเลื่อนไปด้านของผลผลิตไบโอดีเซลให้มากที่สุด (ประกอบ กิจไชยา, 2550) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2-8



ภาพประกอบที่ 2-8 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์ และแอลกอฮอล์

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน ประกอบด้วยปฏิกิริยาย่อยแบบผันกลับได้ที่ต่อเนื่องกัน 3 ขั้นตอน คือเริ่มจากไตรกลีเซอไรด์ เปลี่ยนเป็นไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ ตามลำดับ สุดท้ายได้เป็นเอสเทอร์ กับ กลีเซอรอล ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2-9 จากกลไกข้างล่างพบว่าแต่ละขั้นตอนย่อยจะได้ 1 โมล ของเอสเทอร์ แม้ว่าจะเป็นปฏิกิริยาผันกลับได้ แต่สมดุลจะโน้มเอียงไปทางผลิตภัณฑ์ คือ เอสเทอร์ของกรดไขมัน (Fatty acid ester) และกลีเซอรอล



ภาพประกอบที่ 2-9 กลไกของปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันระหว่างน้ำมันพืชกับแอลกอฮอล์

(Fukuda, 2001)

แอลกอฮอล์ที่ใช้จะต้องเป็นแอลกอฮอล์ปฐมภูมิ หรือทุติยภูมิ สายโซ่ตรงที่มีหมู่ OH เพียงหมู่เดียว ซึ่งที่นิยมใช้มากที่สุดคือ เมทานอล และเอทานอล โดยเฉพาะเมทานอล เนื่องจากมีราคาถูก และมีข้อได้เปรียบในเชิงฟิสิกส์ และเคมีในตัวของมันเอง จากการเป็นแอลกอฮอล์ที่มีขั้ว และมีโซ่สั้นที่สุด ทำให้สามารถเกิดปฏิกิริยากับไตรกลีเซอไรด์ได้อย่างรวดเร็ว และละลายตัวเร่งปฏิกิริยาแอลคาไลน์ได้ง่าย

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันสามารถเกิดได้ที่ความดันบรรยากาศ ตั้งแต่อุณหภูมิห้อง ถึงจุดเดือดของแอลกอฮอล์ (ประมาณ 65 องศาเซลเซียส) ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้โดยทั่วไปเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแบบเอกพันธ์ (Homogeneous catalyst) ซึ่งแบ่งออกเป็นสองชนิด คือ กรด และด่าง แต่ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่ใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เกิดขึ้นเร็วกว่าใช้กรดเป็นตัวเร่ง และมักใช้กันในเชิงอุตสาหกรรม

สำหรับปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่ใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ต้องใช้ไตรกลีเซอไรด์ และแอลกอฮอล์ที่ปราศจากน้ำ หรือมีน้ำน้อยที่สุด เนื่องจากน้ำจะทำให้เกิดปฏิกิริยาสะพอนิฟิเคชัน (Saponification) สบู่ที่เกิดขึ้นจะทำให้ตัวเร่งปฏิกิริยามีปริมาณน้อยลง ผลิตภัณฑ์เมทิลเอสเทอร์ และกลีเซอรอลไม่แยกออกจากกัน หรือใช้เวลานานในการแยก และทำให้ร้อยละผลได้ของไบโอดีเซลลดลง วัตถุประสงค์น้ำมันเริ่มต้นที่ใช้ในกระบวนการเร่งด้วยด่างต้องมีปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำ โดยต้องควบคุมให้มีปริมาณกรดไขมันอิสระน้อยกว่าร้อยละ 1 หากมีปริมาณกรดไขมันอิสระสูง ควรเลือกใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแทน หรือต้องทำวัตถุประสงค์เริ่มต้นให้บริสุทธิ์ขึ้นด้วยการกลั่นลำดับส่วน หรือผ่านปฏิกิริยาสะพอนิฟิเคชันเพื่อเปลี่ยนกรดไขมันอิสระเป็นสบู่ก่อนแล้วแยกสบู่ออก หลังจากนั้นจึงทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (www.biodiesel.eng.psu.ac.th, 2013)

2.7.2 ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการผลิตไบโอดีเซล ด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน

2.7.2.1 อิทธิพลของตัวเร่งปฏิกิริยาแอลคาไลน์เอกพันธ์

ตัวเร่งปฏิกิริยาเอกพันธ์ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ โซดาไฟ (NaOH) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) โซเดียมเมทิลเลต หรือ โซเดียมเมทอกไซด์ (NaOCH₃) โดยโซเดียมไฮดรอกไซด์มีราคาถูกที่สุด หาได้ง่าย โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์จะมีราคาสูงกว่า แต่นิยมใช้มากกว่า เนื่องจากสบู่ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์จะเป็นของเหลว ดังนั้นเมื่อปนเปื้อนในกลีเซอรอล จะทำให้กลีเซอรอลยังคงสภาพเป็นของเหลวอยู่ ต่างจากสบู่ที่เกิดจากการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นของแข็ง เมื่อปนเปื้อนในกลีเซอรอลดิบ จะส่งผลให้กลีเซอรอลดิบแข็งตัวตามไปด้วย ซึ่งอาจทำให้หั่นออกตันได้เมื่อดำเนินการแบบเบทซ์ (ชาคริต ทองอุไร และคณะ, 2556)

2.7.2.2. อิทธิพลของความชื้นและกรดไขมันอิสระ

สำหรับปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชันที่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นด่าง น้ำมัน และแอลกอฮอล์ที่ใช้จะต้องมีน้ำในส่วนผสมน้อยที่สุด เพราะน้ำเป็นสาเหตุทำให้เกิดสบู่ขึ้นในระหว่างทำปฏิกิริยา นอกจากน้ำแล้วกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในน้ำมันก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเกิดสบู่เช่นเดียวกัน

น้ำจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับทั้งกลีเซอไรด์ที่มีในน้ำมัน และเอสเทอร์ซึ่งเป็นผลผลิตที่ต้องการ ก่อเกิดเป็นกรดไขมันอิสระ และกรดไขมันอิสระจะทำปฏิกิริยาสะพอนิฟิเคชันกับตัวเร่งปฏิกิริยาแอลคาไลด์ ในกรณีใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาไฮดรอกไซด์จะเกิดสบู่ และน้ำ ซึ่งน้ำที่ได้นั้นก็จะเป็นสบู่เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสต่อไป วงจรปฏิกิริยานี้จะหยุดก็ต่อเมื่อตัวเร่งปฏิกิริยาไฮดรอกไซด์ทำปฏิกิริยาเป็นสบู่จนหมด

กรดไขมันอิสระจะทำปฏิกิริยาสะพอนิฟิเคชันกับตัวเร่งปฏิกิริยาแอลคาไลน์อย่างรวดเร็ว ในกรณีตัวเร่งปฏิกิริยาไฮดรอกไซด์จะได้สบู่และน้ำ ในกรณีตัวเร่งปฏิกิริยาเมทอกไซด์จะได้สบู่ และแอลกอฮอล์ ดังนั้นในการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชันโดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาควรมีค่าความเป็นกรด (Acid value) ไม่เกิน 4 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อกรัม (ชาคริต ทองอุไร และคณะ, 2556)

การจำแนกประเภทในการแบ่งคุณภาพน้ำมันด้วยกรดไขมันอิสระ (ชาคริต ทองอุไร และคณะ, 2556)

1. FFA < 1.5% สามารถทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชันได้ทันที
2. FFA ระหว่าง 1.5 - 4% ทำการลดกรดไขมันอิสระโดยการทำปฏิกิริยาสะเทินกับด่าง แล้วเข้าผลิตแบบ 2 ขั้นตอน
3. FFA > 4% ผ่านกระบวนการเอสเตอริฟิเคชันก่อน แล้วตามด้วยทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน

2.7.2.3 อิทธิพลของอัตราส่วนเชิงโมลระหว่างแอลกอฮอล์ต่อน้ำมัน

อัตราส่วนระหว่างแอลกอฮอล์ต่อน้ำมันถือเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชันเป็นปฏิกิริยาผันกลับได้ เพราะฉะนั้นแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาจะต้องใช้ในปริมาณที่มากเกินไป เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดไปทางขวามากขึ้น เพื่อที่ผลผลิตไบโอดีเซลจะได้มีความบริสุทธิ์สูง โดยจากค่าปริมาณสัมพัทธ์ สัดส่วนแอลกอฮอล์ที่ต้องการคือ 3 โมลแอลกอฮอล์ ต่อ 1 โมลไตรกลีเซอไรด์ ดังนั้นยิ่งใช้สัดส่วนที่สูงขึ้นจะทำให้ได้ร้อยละความบริสุทธิ์ของเอสเทอร์สูงขึ้น และส่งผลให้เวลาในการทำปฏิกิริยาลดลง นอกจากนี้การใช้อัตราส่วนปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้น ยังช่วยลดความหนืดของน้ำมันลง (ชาคริต ทองอุไร และคณะ, 2556)

2.7.2.4 อิทธิพลของอุณหภูมิ และเวลาในการทำปฏิกิริยา

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญ โดยอัตราการเกิดไบโอดีเซลจะแปรผันตรงกับเวลา (Meher *et al.*, 2006) นั่นคือ ถ้าเพิ่มเวลาในการทำปฏิกิริยาที่เพียงพอ ปฏิกิริยาก็จะเกิดอย่างสมบูรณ์ภายใต้อุณหภูมิห้อง ส่วนกลไกการเกิดปฏิกิริยา พบว่า ถ้าใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมด 15 นาที ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 5 นาทีแรก โดยเกิดเป็นเอสเทอร์ถึงร้อยละ 90 จากนั้นปฏิกิริยาจะเกิดอย่างช้าๆ จนสมบูรณ์ที่ 15 นาที และถ้าปล่อยเวลาผ่านไปจนกระทั่งอยู่ในช่วง 15-30 นาที พบว่าปริมาณเมทิลเอสเทอร์ที่ได้ไม่เพิ่มขึ้น แต่จะไปลดผลิตภัณฑ์ เนื่องจากเวลาที่มากขึ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอสเทอร์ ทำให้ปริมาณ

เอสเทอร์ลดลง มีกรดไขมันเพิ่มขึ้น และเกิดสบู่ขึ้นในที่สุด ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมเวลาไม่ให้ใช้เวลานานเกินไป เนื่องจากจะไปเร่งปฏิกิริยาผันกลับ (รุ่งนภา แก้วมีศรี, 2554)

Galen และคณะ (2003) ศึกษาปัจจัยของเวลาต่อการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันจาก Beef tallow พบว่าในช่วง 1 นาทีแรกปฏิกิริยาเกิดขึ้นช้ามาก เนื่องจากต้องมีการกวนผสมเพื่อให้เมทานอลละลายเข้าไปใน Beef tallow แต่หลังจากนาทีแรกจนถึงนาทีที่ 5 พบว่าปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นสมบูรณ์ภายใน 15 นาที

อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาสูงขึ้น ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยา (k) จะมีค่าสูงขึ้น และอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเร็วขึ้น ทำให้เวลาในการทำปฏิกิริยาลดลง

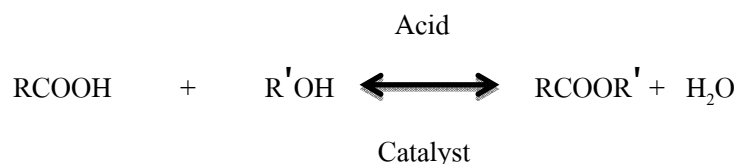
Agarwal (2006) รายงานว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน โดยจะใช้อุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับจุดเดือดของแอลกอฮอล์ เช่น ถ้าเป็นเมทานอล อุณหภูมิที่ใช้ คือ 60, 70 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศ โดยใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

2.7.2.5 ผลของอัตราการกวนผสม

เนื่องจากการผลิตไบโอดีเซล สารตั้งต้นที่ใช้ คือน้ำมัน และแอลกอฮอล์ที่มีสภาพไม่ละลายหรือละลายเข้ากันได้ ปริมาณที่น้อยมาก หากไม่มีการกวนผสม ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นเฉพาะบริเวณรอยต่อของชั้นน้ำมัน และแอลกอฮอล์เท่านั้น ดังนั้นจึงต้องมีการกวนผสมให้สารเข้าทำปฏิกิริยามาสัมผัสกัน ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันจึงจะเกิด และได้ไบโอดีเซล (Meher *et al.*, 2006) แต่ถ้าการกวนผสมมากกว่าค่าๆ หนึ่งแล้ว ก็ไม่ได้ทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้นไปมากกว่านั้น เนื่องจากค่าๆ นั้นเป็นค่าการสัมผัสของน้ำมันกับแอลกอฮอล์ และตัวเร่งปฏิกิริยาที่มากที่สุด (Rashid *et al.*, 2008)

2.7.3 ปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน

เป็นกระบวนการทางเคมีสำหรับทำเอสเทอร์ เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดและแอลกอฮอล์ มีสมการทั่วไปดังแสดงในภาพประกอบที่ 2-10



ภาพประกอบที่ 2-10 กลไกของปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชันระหว่างกรดไขมัน และแอลกอฮอล์

ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใ้ใช้มักเป็นกรดสามัญทั่วไป คือ กรดเกลือ และกรดซัลฟิวริก เพราะเป็นกรดแก่ เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นกรดจะถูกทำให้เป็นกลาง เพื่อแยกออกจากผลผลิต และเนื่องจากปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชันเป็นปฏิกิริยาผันกลับได้ ดังนั้นต้องดึงน้ำออกเพื่อให้ปฏิกิริยาดำเนินไปทางขวาเพื่อเพิ่มผลได้ (Yield) ของเอสเทอร์ (ประกอบ กิจไชยา, 2550)

2.7.4 ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน

2.7.4.1 อิทธิพลของอัตราส่วนเชิงโมลระหว่างแอลกอฮอล์ต่อน้ำมัน

อิทธิพลของปริมาณแอลกอฮอล์ต่อปริมาณน้ำมันจะส่งผลกระทบต่อจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน 2 ประเด็นหลัก คือ

1. คุณสมบัติเชิงกายภาพของระบบ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น จะส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น สภาพละลายได้ของน้ำมัน และแอลกอฮอล์ ความหนาแน่นปรากฏ ความหนืด สมดุลของเหลว-ของเหลว สมดุลไอ-ของเหลว ซึ่งส่งผลกระทบต่อกระจายตัวของสารประกอบในแต่ละเฟส และการเจือจาง เป็นต้น
2. การเพิ่มความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ เป็นการเพิ่มโอกาสในการชนของคาร์บอนแคตไอออนกับแอลกอฮอล์มากขึ้น แต่หากใช้อัตราส่วนเชิงโมลของแอลกอฮอล์สูงเกินไป ร้อยละการ

เปลี่ยนจะลดลง เนื่องจากอิทธิพลการเงาจาก ซึ่งส่งผลให้สารที่เข้าทำปฏิกิริยาเจอกับตัวเร่งปฏิกิริยาได้ยากขึ้น (ชาคริต ทองอุไร และคณะ, 2556)

2.7.4.2 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยา

อุณหภูมิมีอิทธิพลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา โดยพบว่าอุณหภูมิที่สูงกว่า และใกล้จุดเดือดของแอลกอฮอล์ที่ใช้ทำปฏิกิริยา จะให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชันเร็ว

การกำหนดเวลาในการดำเนินการ จะพิจารณาจากร้อยละผลได้ที่เกิดขึ้น โดยปกติอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะสูงมากในช่วงต้น และจะลดลงตามเวลาที่ผ่านไป นอกจากนี้การใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ยังใช้เวลาในการทำปฏิกิริยานานกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นด่าง เนื่องจากการใช้กรดปฏิกิริยาจะเกิดได้ช้า ดังนั้นการลดเวลาในการทำปฏิกิริยา สามารถทำได้โดยการทำให้สมดุลของระบบเปลี่ยนไป เช่น เปลี่ยนอุณหภูมิ หรือเปลี่ยนความเข้มข้นของสารที่เข้าทำปฏิกิริยา เช่น ในกระบวนการเอสเตอริฟิเคชัน เราควรแยกน้ำออกจากระบบ และจึงทำปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชันต่อ (ชาคริต ทองอุไร และคณะ, 2556)

2.8 การเปรียบเทียบคุณภาพของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันสาหร่าย น้ำมันดีเซล และไบโอดีเซลตามมาตรฐานของอเมริกา

คุณภาพของน้ำมัน ไบโอดีเซลที่ผลิตได้นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิด และคุณภาพของวัตถุดิบ ชนิดของตัวเร่งปฏิกิริยา และอื่นๆ อีกมากมาย ดังนั้นส่วนหนึ่งของการสร้างความเชื่อมั่นในการใช้เชื้อเพลิง เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาใดๆ กับยานยนต์ คือการสร้างมาตรฐานคุณภาพน้ำมันเชื้อเพลิงที่เหมาะสมกับเครื่องยนต์ประเภทนั้นๆ เช่น กำหนดมาตรฐานน้ำมันดีเซล และน้ำมันเบนซิน ให้เหมาะกับเครื่องยนต์ดีเซล และเครื่องยนต์เบนซิน ตามลำดับ ต่อมาเมื่อมีการพัฒนาพลังงานทดแทน และใช้เชื้อเพลิงเหลวชีวภาพในเครื่องยนต์ ก็มีการกำหนดมาตรฐานคุณภาพเชื้อเพลิงเหลวชีวภาพเหล่านั้นเช่นเดียวกัน ทั้งนี้เพื่อไม่ให้เกิดปัญหากับเครื่องยนต์ในระยะยาว ซึ่งจากตารางที่ 2-4 พบว่าน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล และอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของน้ำมันไบโอดีเซล ตามมาตรฐาน ASTM

ตารางที่ 2-4 การเปรียบเทียบคุณสมบัติของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันสาหร่าย น้ำมันดีเซล และไบโอดีเซลตามมาตรฐานของอเมริกา (Xu, 2006)

คุณสมบัติ	ไบโอดีเซลจากสาหร่าย	น้ำมันดีเซล	มาตรฐานไบโอดีเซลของ ASTM
ความหนาแน่น (Kg L ⁻¹)	0.864	0.838	0.84-0.90
ความหนืด ที่ 40°C (mm ² s ⁻¹)	5.2	1.9-4.1	3.5-5.0
จุดวาบไฟ (°C)	115	75	ต่ำสุด 100
จุดแข็งตัว (°C)	-12	-50 ถึง 10	-
จุดไหลเท (°C)	-11	-3.0	ฤดูร้อนสูงสุด 0 ฤดูหนาวสูงสุด < -15
ค่าของกรด (mg KOH g ⁻¹)	0.374	สูงสุด 0.5	สูงสุด 0.5
ค่าความร้อน (MJ Kg ⁻¹)	41	40-45	-
อัตราส่วน H/C	1.81	1.81	-

2.9 การออกแบบพื้นที่ตอบสนอง (Response surface methodology, RSM)

2.9.1 นิยามของ RSM

RSM คือ การรวบรวมเอาเทคนิคทั้งทางคณิตศาสตร์ และทางสถิติที่มีประโยชน์ต่อการสร้างแบบจำลอง การวิเคราะห์ปัญหา การเพิ่มประสิทธิภาพ และการหาจุดที่เหมาะสมของกระบวนการ ซึ่ง RSM ประกอบขึ้นมาจากผลของตัวแปรอิสระซึ่งอาจจะมีตัวเดียว หรือหลายตัว ผลของการทดลองจะถูกนำมาสร้างเป็นสมการทางคณิตศาสตร์

$$Y = f(X_1, X_2) + \varepsilon$$

โดยที่ ε คือค่าความผิดพลาดของผลตอบ Y ที่เป็นผลมาจากการทดลอง

2.9.2 หลักการที่สำคัญของการทำพื้นที่ผิวที่ผิวตอบสนองเพื่อเสนอผลงานวิจัย มีหลักการดังนี้

1. การเสนอแบบพื้นที่ผิวที่ผิวตอบสนอง ต้องมีแผนการทดลองที่เหมาะสม คือ มีตัวแปรอิสระ 2 ตัวขึ้นไป และตัวแปรตามอย่างน้อย 1 ตัวขึ้นไป ซึ่งตัวแปรทั้ง 2 ชนิด ต้องเป็นตัวแปรเชิงปริมาณ ดังนั้นแผนการทดลองที่สามารถสร้างพื้นที่ผิวที่ผิวตอบสนองได้ คือ Factorial design, Mixture design, Central composite design (CCD), Plackett & Burman design

2. ระดับของตัวแปรอิสระที่ผันแปรไปนั้น จำเป็นต้องครอบคลุมพื้นที่ที่ต้องการศึกษา

3. นำข้อมูลของตัวแปรอิสระแต่ละตัว (X_i) ที่สัมพันธ์กับข้อมูลของตัวแปรตาม (Y_i) มาสร้างเป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ โดยกำหนดให้อยู่ในรูปของรหัส (Code) ซึ่งในการดำเนินการนี้จะต้องทราบค่าสูงสุด และค่าต่ำสุดของตัวแปรอิสระที่สนใจศึกษา ก่อนทำการแปลงค่ารหัส

$$X_{code} = \frac{X_{Actual} - (X_{Hi} + X_{Low})/2}{(X_{Hi} - X_{Low})/2}$$

เมื่อ	X_{code}	คือ Coded Variables
	X_{Actual}	คือ ค่าจริง
	X_{Hi}	คือ ค่าสูงสุดของตัวแปรอิสระ
	X_{Low}	คือ ค่าต่ำสุดของตัวแปรอิสระ

4. นำผลของตัวแปรอิสระต่างๆ ที่ได้จากการทดลองมาแสดงผลรูปของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ และทำการหาแบบจำลองในรูปของกราฟ 3 มิติ

Linear effect: $Y = a_0 + a_1X_1 + e$

Quadratic effect: $Y = a_0 + a_1X_1 + a_{11}X_1^2 + e$

Interaction effect: $Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{12}X_1X_2 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + e$

เมื่อ Y คือ ผลตอบสนอง (Response) ที่เกิดขึ้น

X_1, X_2 คือ ตัวแปรอิสระ ซึ่งจะถูกรเรียกว่า ตัวแปรธรรมชาติ

e คือ ค่าคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากแหล่งต่างๆ

ดังนั้นสมการทางคณิตศาสตร์พจน์ทั่วไปจึงเขียนได้ดังนี้

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \sum \beta_{ij} X_i X_j + e$$

เมื่อ $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}$ และ β_{ij} คือ สัมประสิทธิ์ถดถอยทั้งแบบเชิงเส้น แบบกำลังสอง และแบบสัมประสิทธิ์เชิงซ้อน ตามลำดับ

5. วิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติ เพื่อที่ข้อมูล และข้อสรุปที่เกิดขึ้นจะเป็นไปตามวัตถุประสงค์ของการทดลอง และข้อได้เปรียบของวิธีการทางสถิติก็คือ ทำให้ผู้ที่มีอำนาจในการตัดสินใจมีเครื่องมือช่วยที่มีประสิทธิภาพ และแนะนำเอาวิธีทางสถิติมาผนวกกับความรู้ทางด้านวิศวกรรม จะทำให้ข้อสรุปที่ได้ออกมานั้นมีเหตุผลสนับสนุน และน่าเชื่อถือ

6. สรุปและข้อเสนอแนะ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลแล้ว ผู้ทดลองจะต้องหาข้อสรุปในทางปฏิบัติ และแนะนำแนวทางที่จะเกิดขึ้น ในขั้นตอนนี้เราจะนำวิธีการทางกราฟเข้ามาช่วย และควรมีการทำการทดลองเพื่อยืนยันผล (Confirmation testing) เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อสรุปที่เกิดขึ้นด้วย

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Uduman *et al.* (2010) ได้ทำการศึกษาการตกตะกอนของสาหร่ายทะเล และวัชการสะท้อนแสง (FBRM) โดยสารช่วยตกตะกอนที่ใช้คือ Cationic, Anionic และ Non-ionic Polyelectrolyte ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าพีเอชแตกต่างกัน 3 ค่า คือ 6, 7 และ 8 พบว่า ชนิด ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน และค่าพีเอช มีผลทำให้การตกตะกอนของสาหร่ายแตกต่างกัน โดยสารที่ทำให้การตกตะกอนของสาหร่ายเกิดขึ้นได้ดีที่สุดคือ Cationic- polyelectrolyte ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และพีเอช 8 เนื่องจากปกติเซลล์สาหร่ายมีประจุลบ จึงแขวนลอยอยู่ในน้ำเลี้ยง เพราะมีประจุเดียวกัน เมื่อใส่สารช่วยตกตะกอนลงไป จะทำให้เซลล์สาหร่ายตกตะกอน เพราะสารช่วยตกตะกอนเป็นสารอนินทรีย์ เมื่อนำไปละลายในน้ำจะเกิดการแตกตัวออกเป็นประจุบวกกับประจุลบ โดยเซลล์ของสาหร่ายที่มีประจุลบจะไปรวมตัวกับอนุภาคของสารอนินทรีย์ที่มีประจุบวก ทำให้มีอนุภาคใหญ่ขึ้นจึงตกลงสู่ด้านล่าง ในส่วน พีเอช เมื่อค่า พีเอช เพิ่มขึ้น การตกตะกอนของสาหร่ายจะเกิดได้ดีขึ้น

Morales *et al.* (1985) ได้ทำการศึกษาการเก็บเกี่ยวสาหร่ายน้ำเค็ม 5 ชนิด คือ *Skeletonema costatum*, *Dunaliella tertiolecta*, *Thalassiosira nordenskoldii*, *Chlorella* sp. และ *Thalassionema* sp. ด้วยสารตกตะกอนไคโตซาน พบว่าเมื่อไม่มีการควบคุมพีเอช ร้อยละประสิทธิภาพการตกตะกอนของสาหร่ายจะเกิดขึ้นได้ถึง 100 แต่ต้องใช้ไคโตซาน ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 40 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่หากมีการปรับพีเอช ให้อยู่ในช่วง 7.8 – 8.0 จะได้ร้อยละประสิทธิภาพการตกตะกอนเท่ากับ 100 ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม เมื่อปรับพีเอช ประมาณ 7 หรือต่ำกว่านี้ก่อนที่จะเติมไคโตซาน ลงไปในสาหร่ายชนิด *Skeletonema costatum* และ *chlorella* sp. พบว่าความเข้มข้นของไคโตซาน ที่จะทำให้อัตราประสิทธิภาพการตกตะกอนของสาหร่ายเกิดขึ้น 95-100 จะลดลง โดยสำหรับไคโตซาน ใช้ที่ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน *Skeletonema costatum* ใช้ที่ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

Divakaran (2002) ได้ทำการศึกษาการเก็บเกี่ยวสาหร่ายน้ำจืด 3 ชนิด คือ *Spirulina*, *Oscillatoria* และ *Chlorella* ส่วน *Synechocystis* เป็นสาหร่ายน้ำกร่อย สารตกตะกอนที่ใช้ คือ Chitosan โดยจะทำการศึกษาพีเอช ในช่วง 4-9 และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอ ในช่วง 80-800

มิลลิลิตรต่อลูกบาศก์เมตร โดยน้ำสาหร่ายมีค่าความขุ่นในช่วง 10-100 NTU พบว่าประสิทธิภาพการตกตะกอนจะขึ้นกับพีเอชค่อนข้างมาก และประสิทธิภาพจะมากที่สุดที่พีเอช เท่ากับ 7 สำหรับสาหร่ายน้ำจืด และจะมีค่าต่ำลงสำหรับสาหร่ายน้ำเค็ม นอกจากนี้ประสิทธิภาพการตกตะกอนสาหร่ายยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาหร่าย โดยพบว่าการตกตะกอนของสาหร่ายจะเกิดขึ้นได้ดีเมื่อความเข้มข้นของไคโตซานสูงกว่าจุดที่เหมาะสม แต่จากผลการทดลองยังไม่พบความสัมพันธ์ที่ชัดเจน ดังนั้นจากการทดลองที่ความเข้มข้นสูงสุด 15 มิลลิลิตรต่อลิตร จึงเป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุดในการตกตะกอนสาหร่าย

McGarry (1970) ได้ทำการศึกษาการตกตะกอนของสาหร่ายโดยใช้อลูมิเนียมซัลเฟต และ โพลีอิเล็กโทรไลต์ ที่มีการควบคุมค่าพีเอช ให้คงที่อยู่ที่พีเอช 5.5 ซึ่งในการทดลองมีการใช้อลูมิเนียมซัลเฟต โพลีอิเล็กโทรไลต์ และอลูมิเนียมซัลเฟตผสมกับโพลีอิเล็กโทรไลต์ พบว่าอลูมิเนียมซัลเฟตมีประสิทธิภาพในการแยกสาหร่ายออกจากน้ำในบ่อเลี้ยงได้ดี โดยมีค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 75-100 มิลลิลิตรต่อลิตร

Leung and Guo (2006) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของตัวเร่งปฏิกิริยา 3 ชนิด คือ โปแทสเซียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมเมทอกไซด์ ด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันคาโนลา และน้ำมันทอดที่ใช้แล้ว จากการศึกษาพบว่า โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ดีที่สุด สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซล คืออุณหภูมิการทำปฏิกิริยา 45 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ภายใต้สภาวะที่ใช้ NaOH ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก และอัตราส่วนระหว่างเมทานอลต่อน้ำมัน คือ 6:1

Freedman (1984) ได้ทำการศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันถั่วเหลืองกับเมทานอล โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นกรด และด่าง พบว่าอัตราส่วนโดยโมลของแอลกอฮอล์ต่อน้ำมัน ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ โดยหากต้องการผลิตให้ได้ปริมาณไบโอดีเซลที่เท่ากัน การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้กรดซัลฟิวริกเป็นตัวเร่ง ต้องใช้อัตราส่วนระหว่างแอลกอฮอล์ต่อน้ำมันมากกว่าที่ใช้ด่าง (โซเดียมเมทอกไซด์) เป็นตัวเร่ง คือ 30:1 เมื่อใช้กรด และ 6:1 เมื่อใช้ด่าง

พนิดา รัตนพลที (2552) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 เพื่อชักนำให้มีการสะสมน้ำมัน และศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเฮเทอโรโทรฟิก สาหร่ายจะมีปริมาณน้ำมันสะสมเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะตามธรรมชาติ (ออโตเทอโรฟิก) และการทดสอบการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน ด้วยอัตราส่วนระหว่างน้ำมันต่อเมทานอล 1:3 (v/v) ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 (w/v) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าค่าร้อยละผลได้ของไบโอดีเซลเท่ากับ 93.33

Miao and Wu (2006) ศึกษาการเพาะเลี้ยง และการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella protothecoilds* พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการหมักแบบเฮเทอโรโทรฟิก โดยมีกลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะไม่มีแสง และลดปริมาณไนโตรเจนลง จะทำให้สาหร่ายมีการสะสมน้ำมันภายในเซลล์สูงถึงร้อยละ 55 โดยน้ำหนัก ซึ่งมากกว่าสภาวะออโตโทรฟิก ประมาณ 4 เท่า และเมื่อนำน้ำมันไปผลิตไบโอดีเซลด้วยกระบวนการทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน โดยใช้กรดซัลฟิวริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซล คือ อัตราส่วนแอลกอฮอล์ต่อน้ำมัน คือ 56:1 โดยโมล, ปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาร้อยละ 100 ของน้ำหนักน้ำมันสาหร่าย, อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเวลาในการทำปฏิกิริยา 4 ชั่วโมง

Xu และคณะ (2006) ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลคุณภาพสูงโดยใช้น้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย สายพันธุ์ *Chlorella protothecoilds* ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟิก โดยมีแป้งข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อลดต้นทุนการผลิต ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน พบว่าในสาหร่ายดังกล่าวมีปริมาณน้ำมันสูงถึงร้อยละ 55.2 โดยองค์ประกอบส่วนใหญ่ของน้ำมันคือ กรดโอเลอิก, กรดลิโนเลอิก ซึ่งไบโอดีเซลที่ได้จากปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน คือ Fatty acid methyl ester ซึ่งมีปริมาณสูงถึงร้อยละ 80 และมีคุณลักษณะการเผาไหม้ที่ค่าพลังงานความร้อนสูง 41 เมกะจูลต่อกิโลกรัม มีค่าความหนาแน่นเท่ากับ 0.864 กิโลกรัมต่อลิตร และมีค่าความหนืดเท่ากับ 5.2×10^{-4} Pa s (ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1. วัสดุ

3.1.1 สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก จากสถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา

สาหร่ายที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp. ชนิดน้ำเค็ม สาเหตุที่เลือกใช้สาหร่ายสายพันธุ์นี้ เนื่องจากเป็นหนึ่งในสายพันธุ์ที่มีการสะสมน้ำมันภายในเซลล์สูง เพาะเลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว นอกจากนี้ยังพบได้ทั่วไปในแหล่งตามธรรมชาติต่างๆ ตัวอย่างสาหร่ายที่นำมาจากสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา โดยสาหร่ายจะเพาะเลี้ยงในบ่อเปิดขนาด 25 ตัน ดังแสดงในภาพประกอบที่ 3-1 สารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงคือ ปุ๋ยยูเรีย และปุ๋ยนา ซึ่งวัตถุประสงค์ของการเพาะเลี้ยง เพื่อใช้เป็นอาหารของลูกปลา ดังนั้นปริมาณน้ำมันที่สะสมอยู่ภายในเซลล์จึงมีน้อย เมื่อเทียบกับสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงเพื่อใช้สำหรับทำไบโอดีเซลโดยเฉพาะ ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงจะอยู่ที่ประมาณ 2 อาทิตย์



ภาพประกอบที่ 3-1 สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp. จากสถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา

3.1.2 สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สาหร่ายที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp. ชนิดน้ำเค็ม จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 3-2 โดยสาหร่ายจะเพาะเลี้ยงในขวดลูกผสมฟุ้งขนาด 1000 มิลลิลิตร สารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง คือ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , CaCl_2 , KNO_3 , $\text{Fe} \cdot \text{EDTA}$ และ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง 28 ± 1 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2000-3000 ลักซ์ ซึ่งวัตถุประสงค์ในการเพาะเลี้ยงนั้น ก็เพื่อให้มีปริมาณน้ำมันสะสมภายในเซลล์มาก เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านพลังงาน ซึ่งระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงจะอยู่ที่ 2-3 อาทิตย์ ก็สามารถนำมาใช้สำหรับผลิตไบโอดีเซลได้



ภาพประกอบที่ 3-2 สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp. จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

3.1.3 สารเคมี

- (1) อลูมิเนียมซัลเฟต ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$, Commercial Grade)
- (2) เฟอริกคลอไรด์ (FeCl_3 , Commercial Grade)
- (3) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- (4) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)
- (5) กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)
- (6) เฮกเซน (Hexane, Commercial Grade)
- (7) เมทานอล (Methanol, Commercial Grade)

3.2. อุปกรณ์

- (1) บีกเกอร์ ขนาด 50 250 และ 500 มิลลิลิตร
- (2) กระจกตวง ขนาด 250 มิลลิลิตร
- (3) ปิเปต ขนาด 10 และ 1 มิลลิลิตร
- (4) ขวดก้นกลม ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
- (5) กรวยแยก ขนาด 250 มิลลิลิตร
- (6) ขวดขนาดเล็ก
- (7) แท่งแก้วคน
- (8) ซ้อนตักสาร
- (9) พาราฟิน
- (10) กระดาษกรอง (Whatman No.142)
- (11) ฝ้ามัสลิน
- (12) เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช meter)
- (13) เครื่องชั่งไฟฟ้า (Balance)
- (14) เครื่องกรองสุญญากาศ
- (15) เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer)
- (16) เครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge)
- (17) เครื่องไมโครเวฟ (Microwave)
- (18) เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic)
- (19) เครื่องกวนสารแบบให้ความร้อน (Hotplate Stirrer)
- (20) เครื่องระเหยแบบลดความดัน (Rotary Evaporator)

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.3.1 การเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย

3.3.1.1 การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการปรับพีเอช

1. นำตัวอย่างน้ำสาหร่ายไปวัดค่าความขุ่นเริ่มต้น (Optical Density, OD) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อบ่งบอกปริมาณความเข้มข้นของเซลล์สาหร่าย ที่ความยาวคลื่น 318 นาโนเมตร และวัดค่าพีเอช เริ่มต้น ด้วยเครื่องวัดพีเอช

2. เตรียมสารละลาย NaOH และ KOH ที่ความเข้มข้น 2.5 M

3. ปรับพีเอช ด้วย NaOH และ KOH ให้มีค่าเท่ากับ 10.2 (อ้างจาก Harith *et al.*, 2009 ซึ่งได้ศึกษาการตกจมสาหร่าย สายพันธุ์ *Chaetoceros calcitrans* พบว่าเมื่อทำการปรับพีเอช เท่ากับ 10.2 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวมีค่าสูงถึงร้อยละ 90

4. กวนเร็ว ที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที และกวนช้า ที่ความเร็วรอบ 25 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-24 ชั่วโมง

5. เมื่อ *Chlorella* sp. ตกตะกอนครบ 2 ชั่วโมง ดึงน้ำใสส่วนบนออกจากบีกเกอร์ แล้วนำไปวัดค่า OD โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 318 นาโนเมตร

6. นำค่า OD ที่ได้ไปคำนวณหาประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว สามารถหาได้จากการวัดค่า OD ของสาหร่ายตอนเริ่มต้น และที่สถานะต่างๆ หลังจากนั้นนำค่า OD ที่ได้มาคำนวณหาประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ดังสมการที่ 3-1

$$\% \text{ ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย} = \frac{OD1 - OD2}{OD1} \times 100 \quad \text{สมการที่ 3-1}$$

โดย OD1 = initial optical density

OD2 = final optical density

3.3.1.2 การเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการเติมสารช่วยตกตะกอน

3.3.1.2.1 ศึกษาช่วงความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน ที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

1. นำตัวอย่างน้ำสาหร่ายไปวัดค่าความขุ่นเริ่มต้น (Optical Density, OD) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อบ่งบอกปริมาณความเข้มข้นของเซลล์สาหร่าย ที่ความยาวคลื่น 318 นาโนเมตร และวัดค่าพีเอช เริ่มต้น ด้วยเครื่องวัดพีเอช
2. เตรียมอลูมิเนียมซัลเฟต และ เฟอร์ริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 8000 มิลลิกรัมต่อลิตร
3. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 0.1 M
4. เติมอลูมิเนียมซัลเฟต ลงในบีกเกอร์ที่บรรจุ *Chlorella* sp. แต่ละบีกเกอร์ให้มีความเข้มข้น 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ
5. ปรับพีเอช ด้วยสารละลาย NaOH ให้มีค่าเท่ากับ 7 เนื่องจากอลูมิเนียมซัลเฟตจะมีประสิทธิภาพในการเป็นสารช่วยตกตะกอนที่ดีที่สุดในช่วงพีเอช 6-9
6. กวนเร็ว ที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที และกวนช้า ที่ความเร็วรอบ 25 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
7. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-6 แต่เปลี่ยนจากสารละลายอลูมิเนียมซัลเฟต เป็น เฟอร์ริกคลอไรด์
8. เมื่อ *Chlorella* sp. ตกตะกอนครบ 2 ชั่วโมง ดึงน้ำในส่วนบนออกจากบีกเกอร์ แล้วนำไปวัดค่า OD โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 318 นาโนเมตร
9. นำค่า OD ที่ได้ไปคำนวณหาประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว

3.3.1.2.2 ศึกษาช่วงพีเอช ที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

1. นำตัวอย่างน้ำสาหร่ายไปวัดค่าความขุ่นเริ่มต้น (Optical Density, OD) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อบ่งบอกปริมาณความเข้มข้นของเซลล์สาหร่าย ที่ความยาวคลื่น 318 นาโนเมตร และวัดค่าพีเอช เริ่มต้น ด้วยเครื่องวัดพีเอช
2. เติมอลูมิเนียมซัลเฟต ลงในบีกเกอร์ที่บรรจุ *Chlorella* sp. แต่ละบีกเกอร์ให้มีความเข้มข้นเท่ากับความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.3.1.2.1
3. ปรับพีเอช ด้วยสารละลาย NaOH ให้มีค่า 6, 7, 8, 9, 10 ตามลำดับ จากนั้นกวนเร็ว ที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที และกวนช้า ที่ความเร็วรอบ 25 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-3 แต่เปลี่ยนจากสารละลายอลูมิเนียมซัลเฟต เป็นเฟอริกคลอไรด์

5. เมื่อ *Chlorella sp.* ตกตะกอนครบ 2 ชั่วโมง ดึงน้ำใสส่วนบนออกจากบีกเกอร์ แล้วนำไปวัดค่า OD โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 318 นาโนเมตร

6. นำค่า OD ที่ได้ไปคำนวณหาประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว

3.3.1.2.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้โปรแกรม RSM

ออกแบบสภาวะการทดลองโดยใช้เทคนิค Response Surface Methodology (RSM) โดยมีตัวแปรที่ศึกษา คือความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน และพีเอช ทำการศึกษาสารช่วยตกตะกอน (Coagulant) 2 ชนิด ได้แก่ อะลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอริกคลอไรด์

ช่วงของตัวแปรที่ศึกษา คือ ปริมาณ Flocculant (30 – 200 มิลลิกรัมต่อลิตร) และพีเอช (6-10) ส่วนเวลาในการตกตะกอนกำหนดให้คงที่ที่ 120 นาที (อ้างจาก Ghafari et al., 2009)

1. กำหนดตัวแปรที่จะศึกษาซึ่งประกอบด้วย

1.1 ตัวแปรอิสระ ประกอบด้วย

- ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน (x_1 , 30-200 มิลลิกรัมต่อลิตร)

- พีเอช (x_2 , 6 -10)

1.2 ตัวแปรตามประกอบด้วย

-ประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยว (Y)

2. กำหนดรหัส (Code) ของช่วงตัวแปรอิสระที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการออกแบบสภาวะการทดลอง

3. ออกแบบการทดลองตามสภาวะของการทดลองจาก Code ของตัวแปรอิสระที่ได้กำหนดไว้ โดยใช้วิธีการ Central composite design (CCD) โดยใช้สภาวะต่างๆ ซึ่งแสดงรหัสตัวแปรและขอบเขตของตัวแปรที่ทำการศึกษา เมื่อแปลงค่ารหัสตัวแปรที่ได้เป็นค่าของตัวแปรดำเนินการจะได้สภาวะการทดลองสำหรับการทดลองทั้งหมด 11 การทดลอง แสดงดังตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 สภาวะการทดลองที่ได้จากการออกแบบด้วยโปรแกรม RSM

สภาวะการทดลอง	ความเข้มข้นสารช่วยตกตะกอน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พีเอช	Response
1	115	6	ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย (ร้อยละ)
2	55	9.4	
3	115	8	
4	115	8	
5	30	8	
6	200	8	
7	175	9.4	
8	175	6.6	
9	115	10	
10	115	8	
11	55	6	

3.3.1.2.4 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตกจมสาหร่าย

- นำตัวอย่างน้ำสาหร่ายไปวัดค่าความขุ่นเริ่มต้น (Optical Density, OD) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อบ่งบอกปริมาณความเข้มข้นของเซลล์สาหร่าย ที่ความยาวคลื่น 318 นาโนเมตร และวัดค่าพีเอช เริ่มต้น ด้วยเครื่องวัดพีเอช
- เตรียมอลูมิเนียมซัลเฟต และ เฟอริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 8000 มิลลิกรัมต่อลิตร
- เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 0.1 M
- ปรับความเข้มข้น และพีเอช ให้มีสภาวะที่ได้จากโปรแกรม RSM
- กวนเร็ว ที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที และกวนช้า ที่ความเร็วรอบ 25 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที
- ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 และ 200 นาที โดยดึงน้ำส่วนบนที่เวลาต่างๆ ไปวัดค่า OD โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 318 นาโนเมตร

3.3.2 การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยเครื่องอัลตราโซนิก

3.3.2.1 ส่วนประกอบของเครื่องอัลตราโซนิก

1. ถังปฏิกรณ์ ขนาด 1.5 ลิตร ดังแสดงในภาพประกอบที่ 3-3



ภาพประกอบที่ 3-3 ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการสกัด

2. สอ์ร่น มีความยาว 47.5 เซนติเมตร แสดงในภาพประกอบที่ 3-4



ภาพประกอบที่ 3-4 ลักษณะของสอ์ร่นที่ใช้ในงานวิจัย

3. เครื่องอัลตราโซนิก (Generator type: Intelligent ultrasonic generator V2.0) กำลัง 1,000 วัตต์ ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ตซ์ แสดงในภาพประกอบที่ 3-5



ภาพประกอบที่ 3-5 เครื่องอัลตราโซนิก ยี่ห้อ Equipment รุ่น YPSH1020204 จากประเทศจีน

3.3.2.2 วิธีการสกัด

1. นำเนื้อสาหร่ายที่ผ่านการตกจมมาล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปทำแห้งด้วยวิธี Freeze drying
2. ชั่งผงสาหร่ายแห้งให้ได้น้ำหนัก 40 กรัม ใส่ลงในถังปฏิกรณ์ จากนั้นใส่เฮกเซน ลงไป ปริมาตร 1400 มิลลิลิตร ดังภาพประกอบที่ 3-6



ภาพประกอบที่ 3-6 ช่องของถังปฏิกรณ์สำหรับใส่ตัวอย่าง

3. ติดตั้งถังปฏิกรณ์เข้ากับฮอว์นให้แน่น ดังแสดงในภาพประกอบที่ 3-7 และปิดวาล์วทุกวาล์วบนถังปฏิกรณ์



ภาพประกอบที่ 3-7 การติดตั้งถังปฏิกรณ์เข้ากับฮอว์น

4. เปิดเครื่องอัลตราโซนิกเพื่อทำการสกัดเป็นเวลา 20-30 นาที
 5. ปิดเครื่องอัลตราโซนิก แล้วเปิดวาล์วด้านล่างเพื่อปล่อยส่วนที่สกัดออก ดังภาพประกอบที่ 3-8



ภาพประกอบที่ 3-8 วาล์วสำหรับปล่อยสารสกัดออกจากเครื่อง

6. นำส่วนที่สกัดได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ
 7. นำส่วนที่เหลือจากการระเหยตัวทำละลายออกทั้งหมดไปวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน ดังแสดงในภาคผนวก ข

3.3.3 การวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันในสารสกัดจากสาหร่าย

ศึกษาชนิดของกรดไขมัน (Fatty acid) ในสารที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยเครื่อง Thin Layer Chromatography (TLC) และ Gas Chromatography –Flame Ionization Detector (GC-FID)

สภาวะการทดลองด้วยเครื่อง TLC

อัตราการไหลของแก๊สไฮโดรเจน : 160 มิลลิลิตรต่อนาที

อัตราการไหลของอากาศ : 2000 มิลลิลิตรต่อนาที

อุณหภูมิอบคอลัมน์ : 105 องศาเซลเซียส

คอลัมน์ : quartz rods (silica gel powder coated Chromarod S-III)

สภาวะการทดสอบด้วยเครื่อง GC

อุณหภูมิทางเข้า : 290 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิดีเทคเตอร์ : 300 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเตาอบ : 210 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิสุดท้าย : 250 องศาเซลเซียส

อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียม : 1 มิลลิลิตรต่อนาที

อัตราการไหลของแก๊สไฮโดรเจน : 30 มิลลิลิตรต่อนาที

อัตราการไหลของอากาศ : 300 มิลลิลิตรต่อนาที

อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน : 25 มิลลิลิตรต่อนาที

คอลัมน์ : ยาว 30 เมตร, เส้นผ่านศูนย์กลาง 320 ไมโครเมตร, ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร

3.3.4 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย

3.3.4.1 การผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน

1. น้ำมันสาหร่ายที่สกัดได้จะแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง จึงต้องนำมาอุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และเตรียม เมทานอล : น้ำมันสาหร่าย ในอัตราส่วน 8:1 และ 10:1 โดยน้ำหนัก
2. เตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 และ 2 โดยน้ำหนัก
3. อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 และ 80 องศาเซลเซียส และเวลาในการทำปฏิกิริยา 60-90 นาที
4. ล้างด้วยน้ำอุ่น จนน้ำล้างที่ได้มี พีเอช เท่ากับ 7
5. ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยน้ำออกจนหมด

3.3.4.2 การผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน

1. น้ำมันสำหรับที่สกัดได้จะแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง จึงต้องนำมาอุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และเตรียม เมทานอล : น้ำมันสำหรับ ในอัตราส่วน 8:1 และ 10:1 โดยน้ำหนัก
2. เตรียมกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1.8 และ 2 โดยน้ำหนัก
3. อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียส และเวลาในการทำปฏิกิริยา 40-60 นาที
4. ล้างด้วยน้ำอุ่น จนน้ำล้างที่ได้มี พีเอช เท่ากับ 7
5. ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยน้ำออกจนหมด

ภายหลังสิ้นสุดการทดลองจะนำไปโอดีเซลที่ได้ ไปวิเคราะห์หาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ คือ

- ปริมาณสารเมทิลเอสเตอร์ที่ได้ โดยใช้เครื่อง GC หรือ TLC
- คำนวณร้อยละผลได้ (Yield)

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{ปริมาณไบโอดีเซลที่ได้}}{\text{ปริมาณน้ำมันสำหรับเริ่มต้นที่ใช้}} \times 100$$

บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเก็บเกี่ยวสาหร่าย

4.1.1 ตัวอย่างสาหร่าย จากสถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา

ตัวอย่างสาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง มีลักษณะทางกายภาพดังภาพประกอบที่ 4-1 ค่าพีเอช ความขุ่น (OD) และอุณหภูมิ ก่อนการตกจม แสดงดังตารางที่ 4-1



ภาพประกอบที่ 4-1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำสาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp.

ตารางที่ 4-1 คุณลักษณะของตัวอย่างสาหร่ายก่อนการทดลอง

พารามิเตอร์	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	ค่าเฉลี่ย
ความเป็นกรด-ด่าง	8.24	8.43	8.33
Optical density (OD)	0.61	0.83	0.72
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	28	32	30

4.1.2 ผลของการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการปรับพีเอช

ศึกษาการตกตะกอนแบบไม่เติมสารเคมีใดๆ เปรียบเทียบกับการปรับพีเอชด้วย 2.5 M NaOH หรือ 2.5 M KOH พบว่าการปรับพีเอชให้เป็น 10.2 ใช้ NaOH 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ซึ่งน้อยกว่าการใช้ KOH ที่ต้องใช้ปริมาณ 3.4 มิลลิลิตรต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Harith และคณะ (2009) ที่ใช้ปริมาณของ NaOH น้อยกว่าเช่นกัน ผลของประสิทธิภาพในการตกตะกอนต่อเวลาการตกจมแสดงดังตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการปรับพีเอช

เวลาดตกตะกอน (ชั่วโมง)	ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว (ร้อยละ)		
	NaOH พีเอช 10.2	KOH พีเอช 10.2	ไม่ปรับพีเอช
1	23.47	15.61	1.85
2	26.06	16.67	3.16
3	27.35	16.67	3.57
4	29.11	16.44	3.64
5	29.11	19.37	6.04
24	45.77	35.09	18.85

จากตารางที่ 4-2 จะเห็นว่าในช่วงเวลา 5 ชั่วโมงแรกของการตกตะกอน ประสิทธิภาพการตกตะกอนจะดีที่สุดเมื่อปรับพีเอช ด้วย NaOH และ KOH ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Harith และคณะ (2009) และเมื่อทิ้งให้ตกตะกอนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวดีขึ้น โดยพบว่าประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า แต่ประสิทธิภาพที่ได้ยังน้อยอยู่ และเมื่อพิจารณาค่าใช้จ่ายในการปรับพีเอช พบว่าการปรับพีเอช ให้เท่ากับ 10.2 ถ้าใช้ NaOH ค่าใช้จ่ายประมาณ 0.0034 บาทต่อลิตร ถ้าใช้ KOH ค่าใช้จ่ายประมาณ 0.04 บาทต่อลิตร ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงศึกษาการปรับพีเอช ด้วย NaOH ร่วมกับการเติมสารช่วยตกตะกอน

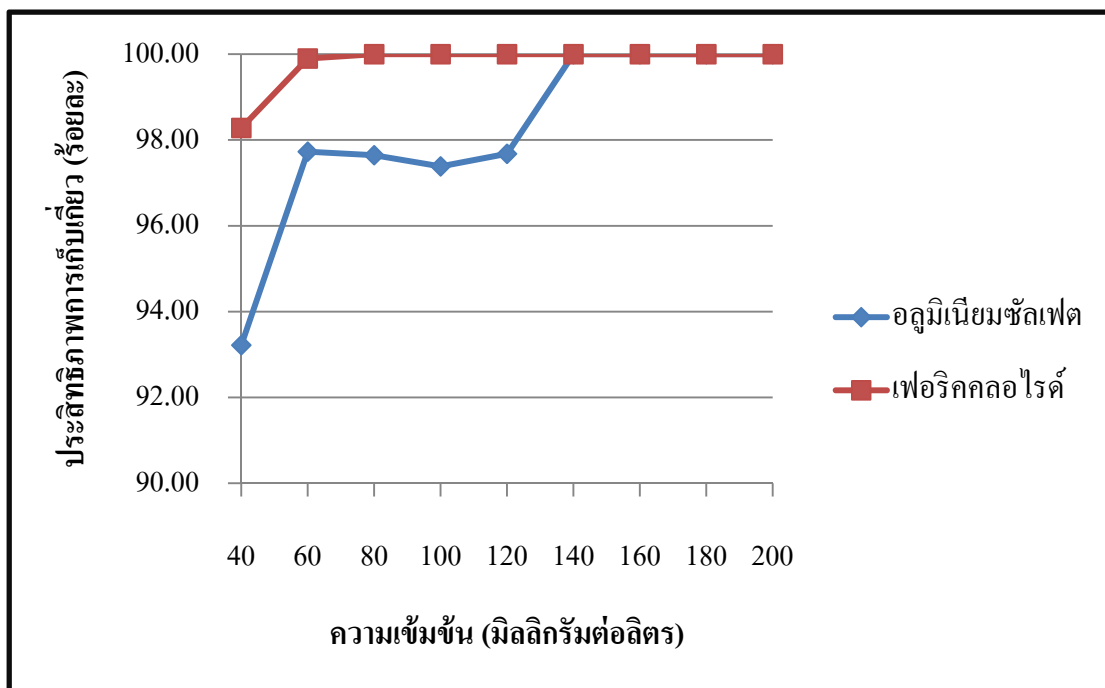
4.1.3 ผลของการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยการเติมสารช่วยตกตะกอน

4.1.3.1 ช่วงความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

ศึกษาช่วงความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน 2 ชนิด คือ อลูมิเนียมซัลเฟต และ เฟอร์ริกคลอไรด์ โดยศึกษาที่ช่วงความเข้มข้น 40-200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับให้พีเอชคงที่ เท่ากับ 7 เวลาการตกจม 120 นาที ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-2

- การทดลองของอลูมิเนียมซัลเฟต น้ำสาหร่ายมีค่า Optical density (OD) เริ่มต้น เท่ากับ 0.73 และพีเอช เท่ากับ 8.52

- การทดลองของเฟอร์ริกคลอไรด์ น้ำสาหร่ายมีค่า Optical density (OD) เริ่มต้น เท่ากับ 0.83 และพีเอช เริ่มต้น 8.62



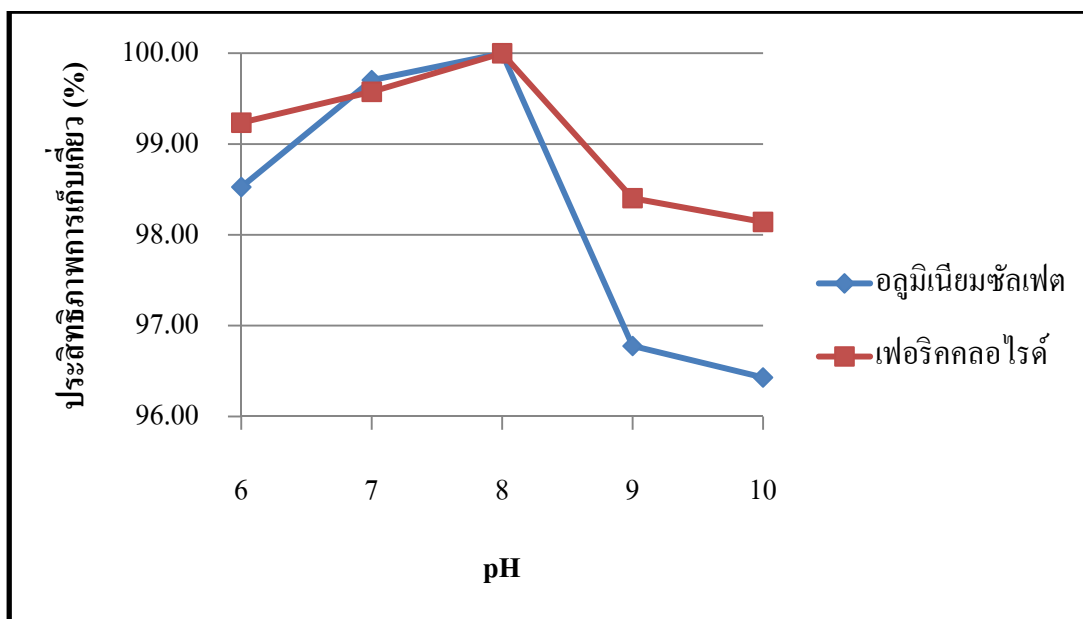
ภาพประกอบที่ 4-2 ผลของความเข้มข้นต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.73 และ 0.83 สำหรับอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกคลอไรด์ กำหนดให้ พีเอชคงที่ เท่ากับ 7 และเวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที

จากภาพประกอบที่ 4-2 จะเห็นว่าประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนเพิ่มขึ้น จนถึงจุดๆหนึ่ง ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวจะคงที่ โดยพบว่าความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนที่ทำให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสูงถึงร้อยละ 100 คือความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต เท่ากับ 140 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ เท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ McGarry (1970) ที่พบว่าปริมาณอลูมิเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมในการตกตะกอนสาหร่ายคือ 75-100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่งานวิจัยของ Uduman และคณะ (2010) สรุปว่าปริมาณอลูมิเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมในการตกตะกอนสาหร่ายคือ 80-250 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับงานวิจัยของ Eckenfelder (1989) สรุปว่าปริมาณเฟอริคคลอไรด์ที่เหมาะสมในการตกตะกอนสาหร่ายคือ 35-150 มิลลิกรัมต่อลิตร จากช่วงความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนที่เหมาะสมนี้ พบว่าหากความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนต่ำเกินไป โคลแอกกูเลชันจะไม่เกิดขึ้น แต่ถ้าสูงเกินไป สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น จะดูดติดผิวอนุภาคคอลลอยด์มาก จนทำให้อนุภาคคอลลอยด์เปลี่ยนเป็นประจุบวก และกลับมามีเสถียรภาพอีกครั้ง และจากการคำนวณหาค่าความคลาดเคลื่อน (error bar) พบว่าค่าที่ได้มีค่าน้อยมาก (แสดงดังภาพผนวก ก)

4.1.3.2 ช่วงของพีเอชที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

ศึกษาที่พีเอช 6-10 และให้ความเข้มข้นอลูมิเนียมซัลเฟต มีค่าเท่ากับ 140 มิลลิกรัมต่อลิตร และ เฟอริคคลอไรด์ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลาการตกจม 120 นาที ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-3

- การทดลองของอลูมิเนียมซัลเฟต น้ำสาหร่ายมีค่า Optical density (OD) เริ่มต้นเท่ากับ 0.73 และพีเอช เท่ากับ 8.52
- การทดลองของเฟอริคคลอไรด์ น้ำสาหร่ายมีค่า Optical density (OD) เริ่มต้น เท่ากับ 0.83 และพีเอช เริ่มต้น 8.62



ภาพประกอบที่ 4-3 ผลของพีเอชต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.73 และ 0.83 สำหรับอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกคลอไรด์ กำหนดให้ ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนคงที่ เท่ากับ 140 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกคลอไรด์ เวลาการตกตะกอน เท่ากับ 120 นาที

ผลของประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว แสดงในภาพประกอบที่ 4-3 พบว่าสารช่วยตกตะกอน ทั้ง 2 ชนิด คือ อลูมิเนียมซัลเฟต และ เฟอร์ริกคลอไรด์ มีพีเอชที่เหมาะสมในการตกตะกอนสาหร่าย เท่ากับ 8 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Amirtharajah and Mills (1982) ที่สรุปว่า ช่วงของพีเอชที่เหมาะสมในการตกตะกอนด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต คือ พีเอช 6-8 และช่วงของพีเอชที่เหมาะสมในการตกตะกอนด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ คือ พีเอช 4-9 ทั้งนี้เนื่องจาก pH มีผลต่อการเกิดประจุของ สารประกอบเชิงซ้อน คือ ถ้าค่า pH ต่ำเกินไป สารประกอบเชิงซ้อนจะเกิดเป็นประจุ Al^{3+} และ Fe^{3+} ซึ่งไม่ดูดติดผิวของอนุภาคคอลลอยด์ แต่ถ้าสูงเกินไป สารประกอบเชิงซ้อนจะกลายเป็นประจุลบ และจากการคำนวณหาค่าความคลาดเคลื่อน (error bar) พบว่าค่าที่ได้มีค่าน้อยมาก (แสดงดัง ภาคผนวก ก)

4.1.3.3 ผลของการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

ออกแบบสภาวะการทดลองโดยใช้เทคนิค RSM โดยมีตัวแปรที่ศึกษาคือ ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน และพีเอช โดยออกแบบการทดลองจาก Code ของตัวแปรอิสระที่ได้กำหนดไว้ ด้วยวิธีการ Central composite design (CCD) ซึ่งมีการทดลองทั้งหมด 11 การทดลอง ผลการทดลองแสดงเป็นประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวของแต่ละสภาวะการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4-3 จากนั้นนำข้อมูลไปวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมด้วยโปรแกรม RSM วิเคราะห์ผลการทดลองตามหลักการ Analysis of variance (ANOVA) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์เชิงสถิติ และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยโปรแกรม Essential regression

- การทดลองของอลูมิเนียมซัลเฟต น้ำสาหร่ายมีค่า Optical density (OD) เริ่มต้น เท่ากับ 0.67 และพีเอช เท่ากับ 8.62

- การทดลองของเฟอร์ริกคลอไรด์ น้ำสาหร่ายมีค่า Optical density (OD) เริ่มต้น เท่ากับ 0.68 และพีเอช เริ่มต้น 8.55

ตาราง 4-3 ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อใช้เทคนิค RSM

สภาวะการทดลอง	ความเข้มข้นสารช่วยตกตะกอน (มิลลิกรัมต่อลิตร) (Code)	พีเอช	ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว(%)	
			อลูมิเนียมซัลเฟต	เฟอร์ริกคลอไรด์
1	115 (0)	6.0 (-1)	99.71±0.0001	99.80±0.0002
2	55 (-0.7)	9.4 (0.7)	97.52±0.0005	97.25±0.0001
3	115 (0)	8.0 (0)	99.53±0.0001	99.98±0.0000
4	115 (0)	8.0 (0)	99.51±0.0000	99.98±0.0000
5	30 (-1)	8.0 (0)	91.45±0.0002	96.07±0.0001
6	200 (1)	8.0 (0)	97.45±0.0004	99.44±0.0001
7	175 (0.7)	9.4 (0.7)	98.50±0.0000	99.52±0.0007
8	175 (0.7)	6.6 (-0.7)	99.30±0.0006	99.01±0.0003
9	115 (0)	10.0 (1)	98.05±0.0001	99.32±0.0000
10	115 (0)	8.0 (0)	99.52±0.0000	99.98±0.0000
11	55 (-0.7)	6.6 (-0.7)	95.20±0.0001	96.71±0.0012

4.1.3.3.1 สมการทางคณิตศาสตร์ที่ได้จากโปรแกรม RSM

จากข้อมูลประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยสารช่วยตกตะกอนที่แสดงดังตารางที่ 4-3 สามารถนำมาวิเคราะห์หาสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายกับตัวแปรดำเนินการที่ศึกษา ดังแสดงในสมการที่ 4-2 และ 4-3 ซึ่งสมการทั้ง 2 สมการนี้ เป็นสมการที่แทนค่าด้วยตัวแปรไร้หน่วย หรือรหัส

$$Y_1 = 99.45 + 2.401X_1 - 0.148X_2 - 4.551X_1^2 - 1.585X_1X_2 \quad (\text{สมการ 4-2})$$

$$Y_2 = 99.98 + 1.651X_1 + 0.0667X_2 - 2.493X_1^2 - 0.687X_2^2 \quad (\text{สมการ 4-3})$$

โดยที่ $-1 \leq X_1 \leq 1, -1 \leq X_2 \leq$

เมื่อ Y_1 คือ ประสิทธิภาพการตกตะกอนเมื่อใช้ลูมิเนียมซัลเฟต

Y_2 คือ ประสิทธิภาพการตกตะกอนเมื่อใช้เฟอร์ริกคลอไรด์

X_1 คือ ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน (มิลลิกรัม/ลิตร)

X_2 คือ พีเอช

จากสมการ 4-2 และ 4-3 เป็นสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่มีสัมประสิทธิ์หน้าตัวแปร ซึ่งสามารถบ่งบอกถึงความสำคัญของตัวแปรนั้นๆ ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย โดยหากสัมประสิทธิ์ของตัวแปรใดมีค่าสูงกว่าตัวแปรอื่น แสดงว่าตัวแปรนั้นมีผลต่อค่า Y_1 มากกว่าตัวแปรอื่นๆ เครื่องหมายบวก หรือลบเป็นเครื่องหมายแสดงผลของตัวแปรอิสระที่แปรผันตรง หรือแปรผกผันกับตัวแปร ตามลำดับ แบบจำลองของสมการ Essential regression ที่ได้ อยู่ในรูปสมการกำลังสอง (Quadratic equation) ประกอบด้วยเทอมของตัวแปรเชิงเส้น (X_1) และ (X_2) เทอมของตัวแปรเชิงซ้อน (X_1X_2) เทอมของตัวแปรกำลังสอง (X_1^2) และ (X_2^2) และค่าสัมประสิทธิ์จุดตัด โดยสามารถจัดลำดับความสำคัญของตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายคือ ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน และพีเอช ตามลำดับ

จากข้อมูลประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยสารช่วยตกตะกอนที่แสดงดังตารางที่ 4-3 สามารถนำมาวิเคราะห์หาสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ซึ่งเป็นสมการที่แทนค่าด้วยค่าจริง ดังสมการที่ 4-4 และ 4-5

$$Y_1 = 79.88 + 0.248x_1 - 0.998x_2 - 0.00063x_1^2 - 0.00932x_1x_2 \quad (\text{สมการ 4-4})$$

$$Y_2 = 81.93 + 0.0988x_1 + 2.78x_2 - 0.000345x_1^2 - 0.172x_2^2 \quad (\text{สมการ 4-5})$$

โดยที่ $30 \leq x_1 \leq 200, 6 \leq x_2 \leq 10$

เมื่อ Y_1 คือ ประสิทธิภาพการตกตะกอนเมื่อใช้ลูมิเนียมซัลเฟต

Y_2 คือ ประสิทธิภาพการตกตะกอนเมื่อใช้เพอริคคโลไรด์

x_1 คือ ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน (มิลลิกรัม/ลิตร)

x_2 คือ พีเอช

จากสมการที่ 4-4 และ 4-5 เป็นสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ได้จากการแทนค่าจริง ซึ่งสามารถบ่งบอกถึงความสำคัญของตัวแปรนั้นๆ ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย โดยพิจารณาจากค่า P value ของตัวแปรแต่ละตัว ถ้าตัวแปรใดมีค่า P Value ต่ำกว่า 0.05 มากๆ แสดงว่าตัวแปรนั้นมีผลต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนตัวแปรที่มีค่า P Value สูงกว่า 0.05 ถือว่ามีนัยสำคัญน้อย จากตารางที่ 4-4 และ 4-5 ผลการวิเคราะห์ตัวแปรที่มีผล เมื่อพิจารณาค่าของตัวแปร (x_1) (x_2), (x_1^2) และ (x_1x_2) มีค่า P value เท่ากับ 0.00208, 0.761, 0.000891 และ 0.048 ตามลำดับ สำหรับลูมิเนียมซัลเฟต และค่าของตัวแปร (x_1) (x_2), (x_1^2) และ (x_2^2) มีค่า P value เท่ากับ 0.000181, 0.754, 0.000333 และ 0.09131 ตามลำดับ สำหรับเพอริคคโลไรด์ โดยค่า P value ยิ่งน้อยตัวแปรนั้นจะยิ่งมีอิทธิพลมาก ดังนั้นตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กมากที่สุดจะมีค่า P value ของสัมประสิทธิ์ต่ำที่สุดและมีค่าสัมบูรณ์ของสัมประสิทธิ์สูงที่สุด โดยสามารถจัดลำดับความสำคัญของตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายคือ ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน และพีเอช ตามลำดับ

ตารางที่ 4-4 ข้อมูลทางสถิติของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของค่าประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว
สำหรับขนาดเล็ก เมื่อใช้ลูมิเนียมซัลเฟตเป็นสารช่วยตกตะกอน

สัมประสิทธิ์		P value	Std Error	-95%	95%	t Stat	VIF
b0	99.45	2.44562E-13	0.390	98.49	100.40	255.15	
b1	2.401	0.00208	0.465	1.264	3.538	5.168	1.000
b2	-0.148	0.761	0.466	-1.290	0.993	-0.318	1.000
b3	-4.551	0.000891	0.747	-6.379	-2.722	-6.091	1.000
b4	-1.585	0.142	0.939	-3.884	0.713	-1.688	1.000

ตารางที่ 4-5 ข้อมูลทางสถิติของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของค่าประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว
สำหรับขนาดเล็ก เมื่อใช้เฟอร์ริกคลอไรด์ เป็นสารช่วยตกตะกอน

สัมประสิทธิ์		P value	Std Error	-95%	95%	t Stat	VIF
b0	99.98	1.08866E-14	0.233	99.41	100.55	428.61	
b1	1.651	0.000181	0.202	1.157	2.146	8.167	1.000
b2	0.06672	0.754	0.203	-0.430	0.564	0.329	1.000
b3	-2.493	0.000333	0.341	-3.327	-1.659	-7.315	1.098
b4	-0.687	0.09131	0.342	-1.523	0.150	-2.009	1.098

ในการพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลองที่ได้จากสมการที่ 4-4 และ 4-5 นั้นได้
พิจารณาการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมการแบบจำลองด้วยวิธี ANOVA ซึ่งแสดงให้เห็นถึง
ตัวแปรดำเนินการที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อประสิทธิภาพการตกตะกอน ซึ่งตัวแปรดำเนินการ
สามารถพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลองได้จากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน สำหรับ
รายละเอียดในการวิเคราะห์สมการแบบจำลองด้วยวิธี ANOVA ของแบบจำลองตามสมการ 4-4
และ 4-5 นั้น อธิบายได้ดังตารางที่ 4-6 และ 4-7

ตารางที่ 4-6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดลองจากโปรแกรม Essential regression
เมื่อใช้ข้อมูลนิยามซัลเฟตเป็นสารช่วยตกตะกอน

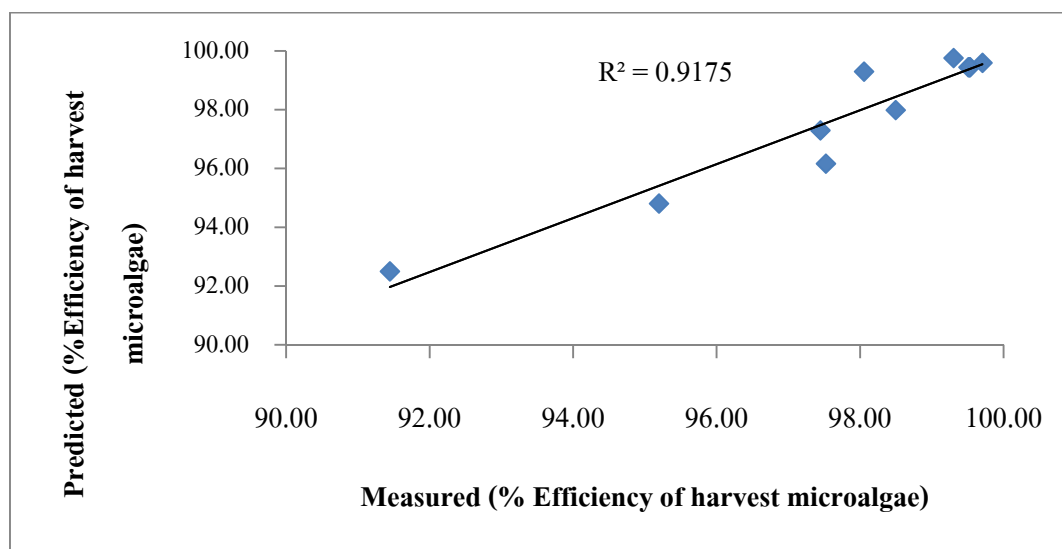
Source	SS	SS%	MS	F	F Signif	df
Regression	57.52	92	14.38	16.69	0.00210	4
Residual	5.170	8	0.862			6
LOF Error	5.170	8 (100)	1.293	10742.9482	9.31E-05	4
Pure Error	0.000241	0 (0)	0.000120			2
Total	62.69	100				10

ตารางที่ 4-7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดลองจากโปรแกรม Essential regression
เมื่อใช้เฟอร์ริคคลอไรด์เป็นสารช่วยตกตะกอน

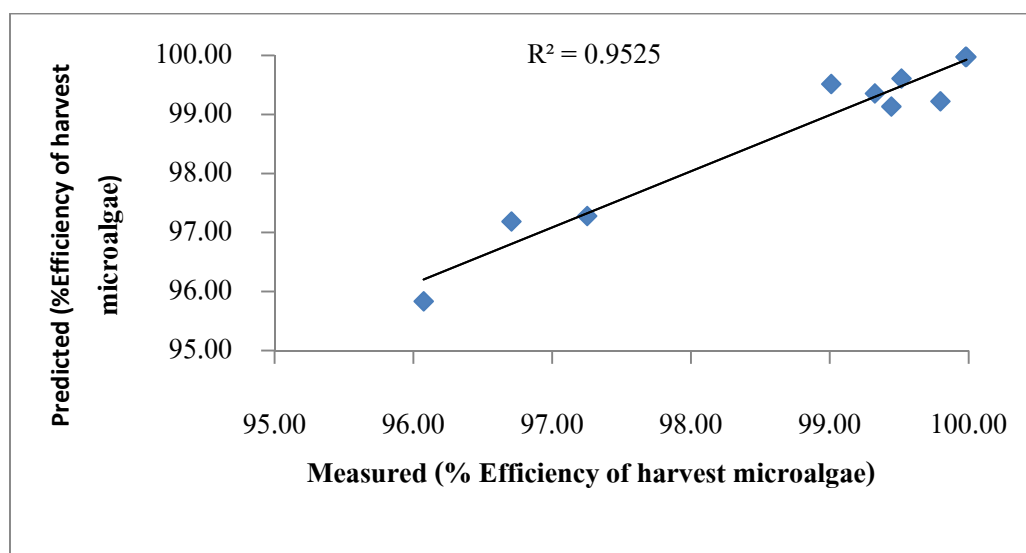
Source	SS	SS%	MS	F	F Signif	df
Regression	19.65	95	4.912	30.09	0.000413	4
Residual	0.979	5	0.163			6
LOF Error	0.979	5 (100)	0.245	32474.8674	3.08E-05	4
Pure Error	1.51E-05	0 (0)	7.54E-06			2
Total	20.63	100				10

ผลลัพธ์ของตาราง 4-6 และ 4-7 พบว่าค่า F significant หรือ P value เท่ากับ 0.0021 และ 0.000413 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 แสดงว่าตัวแปรที่ศึกษามีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย และเมื่อนำค่าที่ได้จากการทำนาย กับค่าจากการทดลองจริงมาพล็อตกราฟ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-4 และ 4-5 ได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.918 และ 0.953 ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.75 จึงเป็นค่าที่ยอมรับได้ (Seyedeh *et al.*, 2007) และค่า R^2 มีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากการทำนายโดยแบบจำลองมีค่าที่ใกล้เคียงกับค่าการทดลองจริง ส่วนค่า R^2_{adj} หากมีค่าใกล้เคียงกับค่า R^2 แสดงว่าแต่ละเทอมในแบบจำลองที่ได้มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายทั้งหมด

โดยจากผลการทดลองพบว่า R^2_{adj} เท่ากับ 0.863 และ 0.921 ซึ่งจะเห็นว่าค่า R^2_{adj} มีค่าต่ำกว่าค่า R^2 เนื่องจากการปรับค่าการทดลอง และค่าจากแบบจำลองให้มีความสัมพันธ์กันมากขึ้น



ภาพประกอบที่ 4-4 ความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต ที่ได้จากการทดลอง และจากการทำนายโดยใช้แบบจำลองตามสมการ 4-4



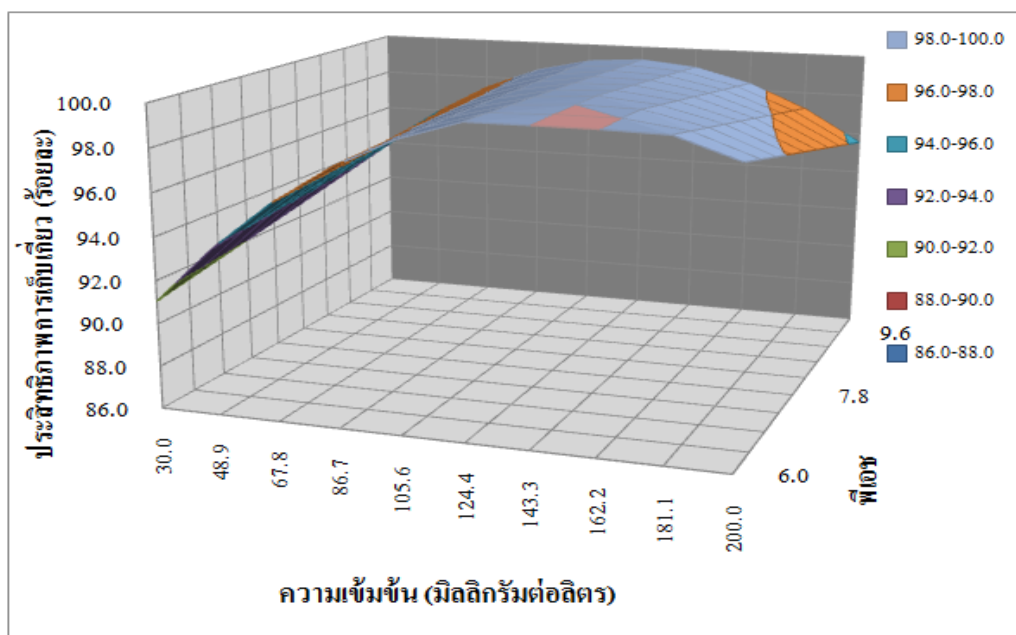
ภาพประกอบที่ 4-5 ความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ ที่ได้จากการทดลอง และจากการทำนายโดยใช้แบบจำลองตามสมการ 4-5

4.1.3.3.2 พื้นผิวตอบสนองของตัวแปรต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย

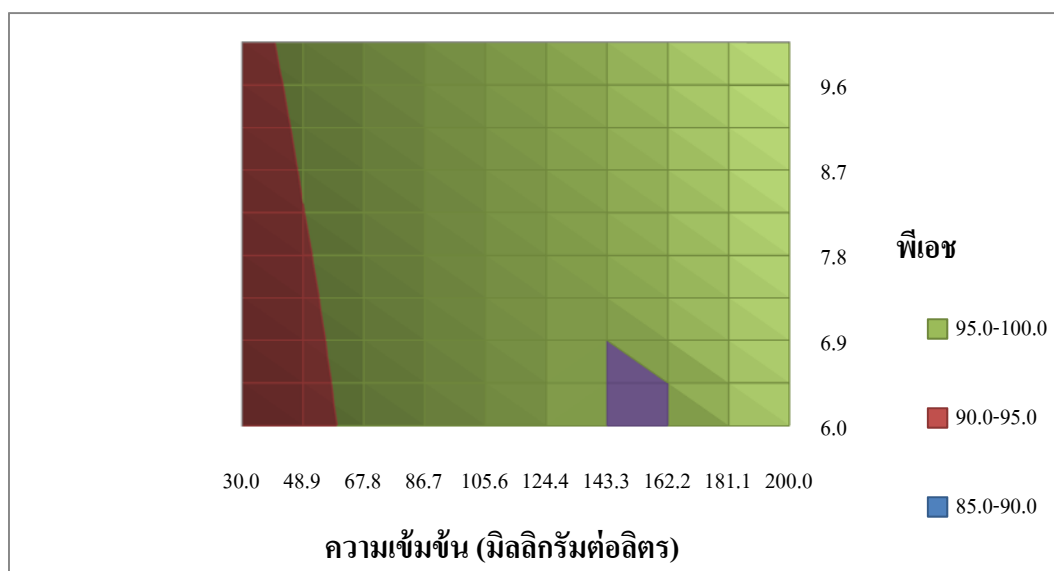
จากข้อมูลแบบจำลองตามสมการที่ 4-4 และ 4-5 สามารถนำผลมาแสดงความสัมพันธ์ของค่าประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว โดยการพล็อตกราฟพื้นผิวสามมิติ (Surface plot) และพล็อตกราฟโครงร่าง (Contour plot) ของความสัมพันธ์ตัวแปรต่างๆ เพื่อคาดคะเนสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งในการทดลองนี้สนใจ 2 ตัวแปร คือ ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน และพีเอช โดยมีรายละเอียดดังนี้

ผลของความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต และพีเอช ที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก

ผลของความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต และค่าพีเอชต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ในรูปแบบของกราฟพื้นผิวตอบสนอง และกราฟโครงร่าง ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-6 และ 4-7 ตามลำดับ พบว่าความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟตเท่ากับ 152 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่ให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กสูงถึงร้อยละ 100 สำหรับค่าพีเอช พบว่าที่พีเอช 6 ให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายสูงที่สุด ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของ Amirtharajah และ Mills (1982) เนื่องจากเมื่อพีเอชของน้ำเป็นกลาง หรือเป็นกรดเล็กน้อย ผลึกอลูมิเนียมซัลเฟต ($\text{Al}(\text{OH})_3$) จะเกิดขึ้นมากกว่าไอออนอื่นๆ ดังนั้นการกำจัดตะกอนด้วยอลูมิเนียมซัลเฟตควรให้พีเอชของน้ำเป็นกลาง หรือเป็นกรดเล็กน้อย อยู่ระหว่าง 6-8 น้ำไม่ควรมีพีเอชสูง เนื่องจากจะได้ไอออนลบ (AlO_2^-) และไม่ควรมีพีเอชต่ำ เนื่องจากจะได้ Al^{3+} ซึ่งไม่ดูดซับผิวของคอลลอยด์ สำหรับความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต พบว่าการเติมปริมาณของอลูมิเนียมซัลเฟตมากเกินไป หรืออาจกล่าวได้ว่าความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟตสูงกว่าความเข้มข้นที่จุดอิ่มตัว (Saturation point) อลูมิเนียมจะคงอยู่ในรูปตะกอน $\text{Al}(\text{OH})_3$ ซึ่งทำให้ผลึกของ $\text{Al}(\text{OH})_3$ มีลักษณะเหนียว สามารถห่อหุ้มอนุภาค และทำให้ผิวของอนุภาคมีความเหนียว ไม่สามารถแสดงอิทธิพลทางประจุไฟฟ้า จึงทำหน้าที่สร้างเปลือกหุ้มอนุภาคคอลลอยด์จนมีขนาดใหญ่ และสามารถตกตะกอนได้เพียงลำพัง



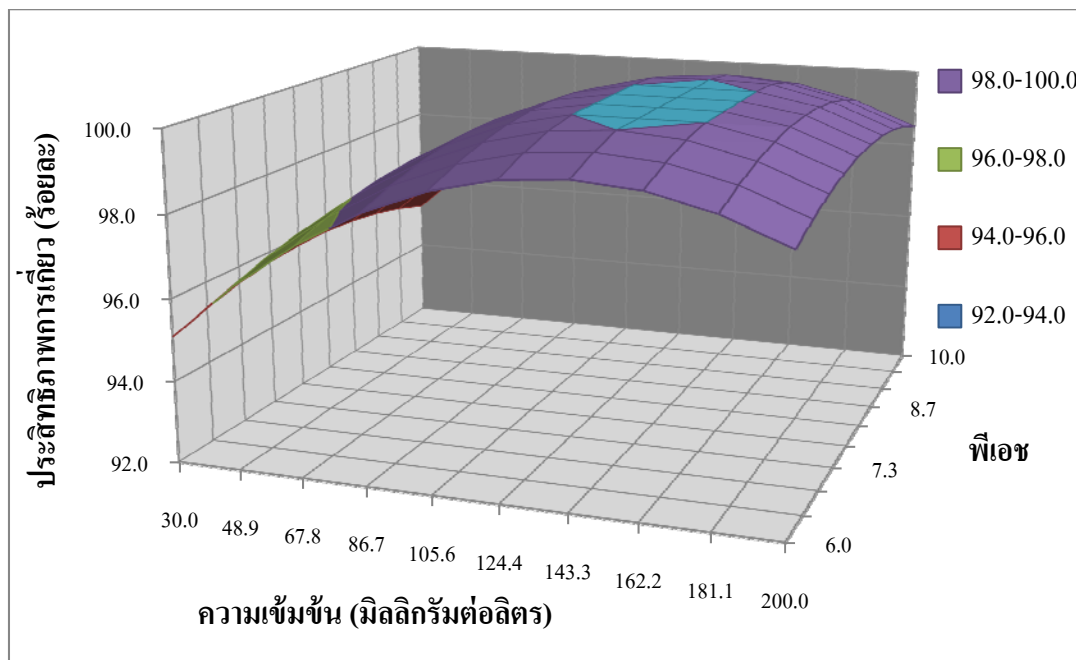
ภาพประกอบที่ 4-6 กราฟพื้นผิวแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต และค่าพีเอช ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.67 และเวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที



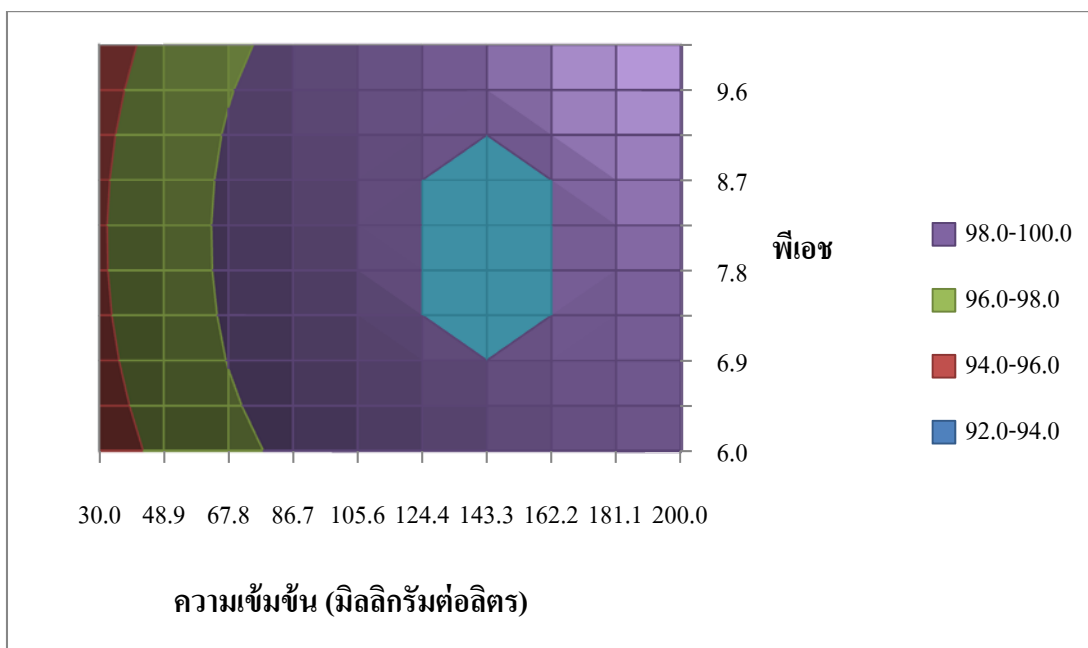
ภาพประกอบที่ 4-7 กราฟโครงร่างแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต และค่าพีเอช ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.67 และเวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที

ผลของความเข้มข้นของเฟอร์ริกคลอไรด์ และพีเอชที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก

ผลของความเข้มข้นของเฟอร์ริกคลอไรด์ และค่าพีเอช ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ในรูปของกราฟพื้นผิวดตอบสนอง และกราฟโครงร่าง ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-8 และ 4-9 ตามลำดับ พบว่าประสิทธิภาพการตกตะกอนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณเฟอร์ริกคลอไรด์เพิ่มขึ้นจาก 30-143 มิลลิกรัมต่อลิตร และประสิทธิภาพจะค่อยๆลดลง จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของเฟอร์ริกคลอไรด์ 143 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่ให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็กสูงถึงร้อยละ 100 สำหรับค่าพีเอชพบว่าที่พีเอช 8.1 ให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายสูงที่สุด ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของ Amirtharajah and Mills (1982) เนื่องจากโดยปกติแล้วเกลือเฟอร์ริก จะมีช่วงที่เหมาะสมในการใช้เป็นสารช่วยตกตะกอนที่กว้างกว่าช่วงพีเอช ของอลูมิเนียมซัลเฟต คือ ตั้งแต่ 4-9 เนื่องจาก $FeCl_3$ เมื่อละลายน้ำในช่วง พีเอช ต่ำกว่า 8 จะอยู่ในรูปประจุบวก ได้แก่ Fe^{3+} $FeOH^{2+}$ และ $Fe(OH)_2^+$ ซึ่งจะเกิดการสะเทินที่ผิวคอลลอยด์ เมื่อพีเอชสูงกว่า 9 จะอยู่ในรูปประจุลบ คือ $Fe(OH)_4^-$ มากขึ้น และตั้งแต่พีเอช 3 ขึ้นไป $FeCl_3$ จะอยู่ในรูปตะกอน $Fe(OH)_3$



ภาพประกอบที่ 4-8 กราฟพื้นผิวแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเฟอร์ริกคลอไรด์ และค่าพีเอช ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.68 และเวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที



ภาพประกอบที่ 4-9 กราฟโครงร่างแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ และค่าพีเอช ต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.68 และเวลาการตกจม เท่ากับ 120 นาที

4.1.3.3.3 สถานะการเก็บเกี่ยวสาหร่ายที่เหมาะสม

สมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สามารถใช้ทำนายประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ในช่วงของตัวแปรที่ศึกษา และยังสามารถใช้ทำนายสถานะที่เหมาะสมในการดำเนินการได้อีกด้วย ซึ่งสามารถวิเคราะห์หาสถานะที่เหมาะสมของอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอริคคลอไรด์จากสมการ 4-4 และ 4-5 ตามลำดับ โดยใช้โปรแกรม Optimized ซึ่งค่าที่ได้จะเป็นค่าที่ทำให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายมีค่าสูงสุด และยังสามารถใช้เป็นแนวทางในการกำหนดสถานะการดำเนินการของตัวแปรที่เกี่ยวข้อง เช่น ความเข้มข้น และพีเอช

จากการวิเคราะห์ พบว่าสถานะการดำเนินการที่เหมาะสม ที่ได้จากการใช้อลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอริคคลอไรด์เป็นสารช่วยตกตะกอน มีสถานะการดำเนินการที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต 152 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช เท่ากับ 6 และความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ 143 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช เท่ากับ 8.1 ซึ่งจะให้อัตราประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก สูงสุด คือร้อยละ 100 ดังตารางที่ 4-8 และ 4-9 ตามลำดับ

ตารางที่ 4-8 สภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสำหรับขนาดเล็กด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต โดยใช้โปรแกรม Optimized เพื่อให้มีประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสูงสุด จากสมการ 4-4

Term	พีเอช	ความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Data Min	6	30
Data Avg	8	115
Data Max	10	200
Cur Value	6	152

ตารางที่ 4-9 สภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสำหรับขนาดเล็กด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ โดยใช้โปรแกรม Optimized เพื่อให้มีประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสูงสุด จากสมการ 4-5

Term	พีเอช	ความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Data Min	6	30
Data Avg	8	115
Data Max	10	200
Cur Value	8.1	143

4.1.3.3.4 การทดลองเพื่อยืนยันผลการทำนายที่ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์

เพื่อตรวจสอบว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของสมการ 4-4 และ 4-5 สามารถใช้ทำนายประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสำหรับได้อย่างแม่นยำ จึงได้ทำการทดลอง โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากตาราง 4-8 และ 4-9 ผลทดลองที่ได้แสดงในตาราง 4-10

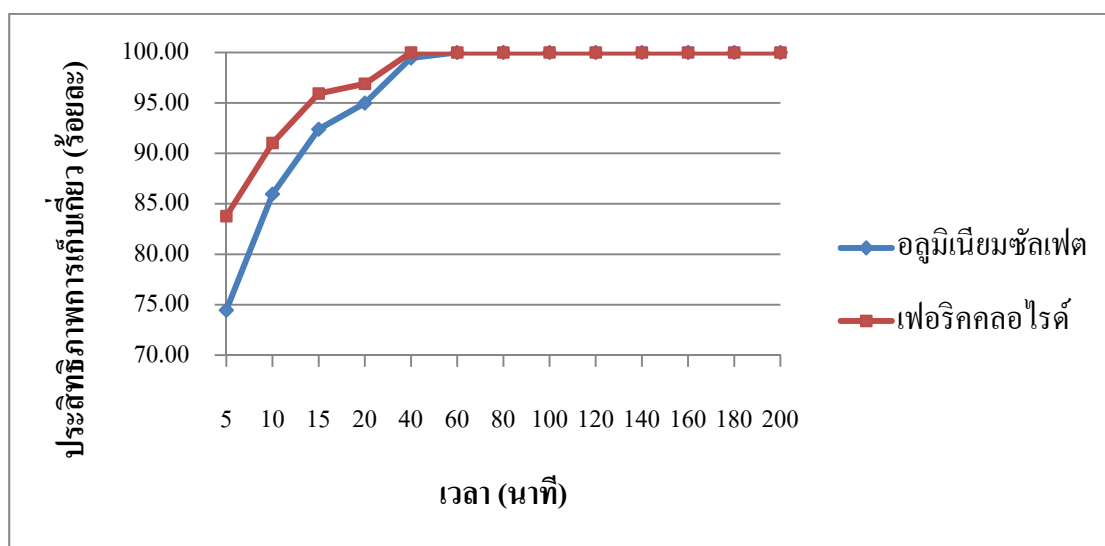
ตารางที่ 4-10 ผลการเก็บเกี่ยวสำหรับขนาดเล็กด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกคลอไรด์ เมื่อใช้สภาวะที่ได้จากโปรแกรม Optimized

สารช่วยตกตะกอน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พีเอช	ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสำหรับ (ร้อยละ)
อลูมิเนียมซัลเฟต	152	6	100
เฟอร์ริกคลอไรด์	143	8.1	100

จะเห็นว่าผลจากการทดลองจริงกับผลที่ได้จากการทำนายด้วยโปรแกรมนั้นมีความสอดคล้องกัน ดังนั้นสมการแบบจำลองที่แสดงด้วยสมการ 4-4 และ 4-5 มีความแม่นยำเพียงพอสำหรับการนำไปใช้ในการทำนายการเก็บเกี่ยวสาหร่ายขนาดเล็ก

4.1.4. เวลาการตกจมที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต และ เฟอร์ริกคลอไรด์

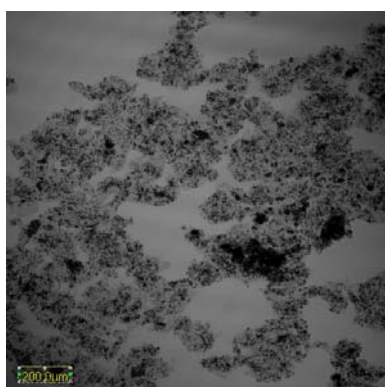
ทำการศึกษาในช่วงเวลา 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 และ 200 นาที และใช้ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน และ พีเอชที่เหมาะสมจากข้อ 4.1.3.3.4 โดยน้ำสาหร่ายมีค่า Optical density (OD) เริ่มต้น เท่ากับ 0.64 และพีเอช เท่ากับ 9.14 ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4-10



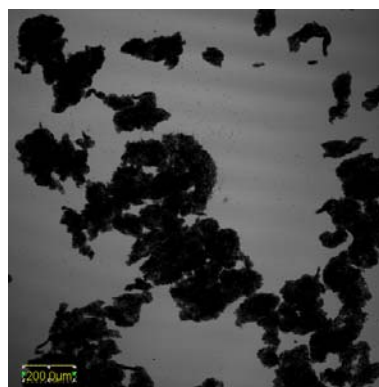
ภาพประกอบที่ 4-10 กราฟแสดงเวลาตกจมที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย เมื่อน้ำสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.67 กำหนดให้ความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต เท่ากับ 152 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 6 และความเข้มข้นของเฟอร์ริกคลอไรด์ เท่ากับ 143 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 8.1

จากภาพประกอบที่ 4-10 พบว่าประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น และจะเริ่มคงที่ที่เวลา 60 และ 40 นาที สำหรับอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกคลอไรด์ ตามลำดับ ให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวร้อยละ 100 ดังนั้นจึงสามารถสรุปสภาวะที่ดีที่สุดในการ

เก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต คือ ความเข้มข้น 152 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 6 เวลาในการตกจม 60 นาที และเฟอร์ริกคลอไรด์ คือ ความเข้มข้น 143 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 8.1 เวลาในการตกจม 40 นาที และพบว่าจากการตกจมด้วยสารช่วยตกตะกอนทั้ง 2 ชนิด จะได้เนื้อสาหร่ายเท่ากับ 0.12 กรัมต่อน้ำสาหร่าย 1 ลิตร และจากเวลาที่ใช้ในการตกจมสาหร่าย จะเห็นว่า เฟอร์ริกคลอไรด์ใช้เวลาในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายน้อยกว่าอลูมิเนียมซัลเฟต เนื่องจากสารแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการสร้างตะกอนกับสารอินทรีย์ได้แตกต่างกัน อันเนื่องมาจากประจุไฟฟ้าทางเคมีที่แตกต่างกันและความสามารถในการสร้างตะกอน ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-11 เป็นภาพแสดงการเกาะกลุ่มของตะกอนสาหร่ายเมื่อเติมสารช่วยตกตะกอน



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4-11 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงการเกาะกลุ่มของสาหร่าย เมื่อเติมสารช่วยตกตะกอน (ก) อลูมิเนียมซัลเฟต (ข) เฟอร์ริกคลอไรด์

จากภาพประกอบที่ 4-11 พบว่าตะกอนที่เกิดจากการใช้เฟอร์ริกคลอไรด์ มีตะกอนของสาหร่ายเกาะกลุ่มกันหนาแน่นมากกว่าอลูมิเนียมซัลเฟต เนื่องจาก Al^{3+} และ Fe^{3+} เป็นแคทไอออนิกที่มีค่าอิเล็กโทรเนกาติวิตีแตกต่างกัน (ค่าอิเล็กโทรเนกาติวิตี คือ ค่าที่แสดงถึงความสามารถของอะตอมในการดึงอิเล็กตรอนเข้าหาตัวเองเมื่อเกิดพันธะเคมี) ธาตุที่มีค่าอิเล็กโทรเนกาติวิตีสูง จะมีความสามารถในการดึงดูด หรือรับอิเล็กตรอนได้ดี ส่วนธาตุที่มีค่าอิเล็กโทรเนกาติวิตีต่ำ จะดึงดูดหรือรับอิเล็กตรอนได้ไม่ดี โดย Al มีค่าอิเล็กโทรเนกาติวิตี 1.61 ส่วน Fe มีค่าอิเล็กโทรเนกาติวิตี 1.83 จึงส่งผลให้การใช้เฟอร์ริกคลอไรด์เป็นสารช่วยตกตะกอนมีความสามารถในการดึงดูดอิเล็กตรอนจากตะกอนสาหร่ายได้ดีกว่าอลูมิเนียมซัลเฟต ทำให้ตะกอนมีขนาดใหญ่ และมีน้ำหนักมาก เวลาที่ใช้ในการตกตะกอนจึงน้อยกว่าการใช้อลูมิเนียมซัลเฟต

4.1.5 ผลการตกจมสาหร่ายจากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ตัวอย่างสาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง มีลักษณะทางกายภาพดังภาพประกอบที่ 4-12 ซึ่งมีค่าพีเอช เริ่มต้น เท่ากับ 9.78 และค่า OD เท่ากับ 3.38 โดยสภาวะที่ใช้ในการทดลองเป็นสภาวะที่ได้จากโปรแกรม RSM ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4-11



ภาพประกอบที่ 4-12 ลักษณะทางกายภาพของน้ำสาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella* sp. ชนิดน้ำเค็ม จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ตารางที่ 4-11 ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอริกคลอไรด์

สภาวะ	ความเข้มข้นสารช่วยตกตะกอน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พีเอช	เวลา ตกจม (นาที)	ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว (ร้อยละ)
1	อลูมิเนียมซัลเฟต, 152 มิลลิกรัมต่อลิตร	6	60	69.03
2	เฟอริกคลอไรด์, 143 มิลลิกรัมต่อลิตร	8.1	40	56.54
3	ไม่เติม	10	60	8.60
4	ไม่เติม	10.2	40	9.95
5	ไม่เติม	10.2	60	6.58
6	ไม่เติม	10	40	5.28

จากตารางที่ 4-11 พบว่าการเติมสารช่วยตกตะกอน ช่วยให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่ายเกิดขึ้นได้ดีกว่าการปรับพีเอชเพียงอย่างเดียว และเมื่อทำการเปรียบเทียบผลของการปรับพีเอช ที่เวลา 40 และ 60 นาที พบว่าประสิทธิภาพที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติมสารช่วยตกตะกอนมีความสำคัญต่อการเก็บเกี่ยวสาหร่าย แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับ การเก็บเกี่ยวสาหร่ายจากสถาบันวิจัยเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา ที่สถานะเดียวกัน พบว่าประสิทธิภาพที่ได้ต่ำกว่ามาก ทั้งนี้เนื่องมาจากความเข้มข้นของสาหร่ายตอนเริ่มต้นแตกต่างกันค่อนข้างมาก ดังนั้นสถานะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายนอกจากจะขึ้นกับความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน และพีเอชแล้ว ยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำสาหร่ายอีกด้วย ดังนั้นหากต้องการให้ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสูงขึ้น จะต้องทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน เพื่อเพิ่มโอกาสในการสัมผัสกันระหว่างสารช่วยตกตะกอน และอนุภาคคอลลอยด์

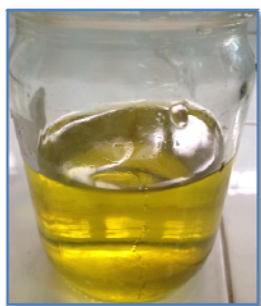
4.2 ผลการวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันในสารสกัดจากสาหร่าย

ศึกษาองค์ประกอบของสารที่สกัดได้จากสาหร่าย เมื่อใช้สารสกัด 2 ชนิด คือ เมทานอล และเฮกเซน โดยทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Thin Layer Chromatography (TLC) และ Gas Chromatography –Flame Ionization Detector (GC-FID)

ตารางที่ 4-12 ผลการวิเคราะห์สารที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยเครื่อง TLC

ตัวอย่างสารที่สกัดเมื่อใช้	ร้อยละผลได้	ผลการทดสอบ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)			
		ไตรกลีเซอไรด์	ไดกลีเซอไรด์	โมนอกลิเซอไรด์	กรดไขมัน
เฮกเซน	2.21	55.02	36.25	2.87	5.86
เมทานอล	2.81	10.82	41.11	0	47.77

จากตารางที่ 4-12 พบว่า ร้อยละผลได้จากสารสกัดทั้ง 2 ชนิด ไม่แตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเฮกเซน จะเห็นว่า มีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ร้อยละ 55.02 และกรดไขมันร้อยละ 5.86 โดยน้ำหนัก แต่เมื่อทำการสกัดด้วยเมทานอล จะมีไตรกลีเซอไรด์น้อยกว่าเป็นร้อยละ 10.82 และมีกรดไขมันมากกว่าเป็นร้อยละ 47.77 โดยน้ำหนัก ทั้งนี้เนื่องจากกรดไขมันมีความเป็นขี้ ดังนั้นเมทานอล ซึ่งเป็นสารที่มีความเป็นขี้จึงมีความสามารถในการสกัดแล้วได้กรดไขมันมากกว่าเฮกเซนซึ่งไม่มีขี้ และเมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพของสารที่สกัดได้ ดังภาพประกอบที่ 4-13 จะเห็นว่าสารที่สกัดด้วยเฮกเซนมีสีสวยใสกว่าสารที่สกัดด้วยเมทานอล เนื่องจากสารที่สกัดด้วยเฮกเซนมีกรดไขมัน ซึ่งเป็นตัวทำให้เกิดสีคล้ำปริมาณน้อยกว่า และน่าจะทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชันได้ดีกว่า เพราะมีองค์ประกอบของกลีเซอไรด์มากกว่า ส่วนสารที่สกัดด้วยเมทานอล จะมีสีค่อนข้างดำ เนื่องจากมีกรดไขมันสูง และวิธีการสกัดที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีความร้อนเกิดขึ้น เมื่อกรดไขมันโดนความร้อน กรดไขมันจะกลายเป็นสีดำ



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4-13 สารที่สกัดได้จากสาหร่ายในตัวทำละลาย (ก) เฮกเซน (ข) เมทานอล

ตารางที่ 4-13 องค์ประกอบของกรดไขมันจากน้ำมันสาหร่ายที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID เมื่อใช้
ตัวทำละลายเฮกเซน และเมทานอล

ประเภทของกรดไขมัน	ชนิดของกรดไขมัน	พื้นที่โครมาโตแกรม (ร้อยละ)	
		เฮกเซน	เมทานอล
กรดไขมันชนิดอิ่มตัว	Caprylic acid; C8:0	0	0
	Capric acid; C10:0	0	0
	Lauric acid; C12:0	1.05	0
	Myristic acid; C14:0	5.66	8.50
	Palmitic acid; C16:0	27.73	23.22
	Heptadecanoic acid; C17:0	0	0
	Stearic acid; C18:0	2.33	0.75
	Behenic acid; C22:0	0	24.69
กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว	Palmitoleic acid; C16:1	15.98	19.68
	Oleic acid; C18:1	5.69	2.03
	Linoelaidic acid; C18:2	1.82	1.59
	Erucic acid; C22:1	0	0.16
	Lignoceric acid; C24:0	0	0.09

จากตารางที่ 4-13 พบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย เพื่อการผลิตไบโอดีเซลคือ เฮกเซน เนื่องจากจำนวนคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซล ควรมีจำนวนคาร์บอนในช่วง C12 - C18 เมื่อนำมาวิเคราะห์ห้องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยเครื่อง GC-FID พบว่า การสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน จะประกอบด้วยกรดไขมัน 3 ชนิดหลัก คือ กรดปาล์มมิติก ร้อยละ 27.73 กรดปาล์มมิโอเลอิกร้อยละ 15.98 และกรดโอเลอิกร้อยละ 5.69 และเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆที่ศึกษา ชนิดของกรดไขมันในไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากวัตถุดิบอื่นๆ เช่น น้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันจากถั่วเหลือง เป็นต้น พบว่าชนิดของกรดไขมันที่ได้ส่วนใหญ่เหมือนกัน แตกต่างกันเฉพาะปริมาณ หรือร้อยละ ในขณะที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล จะประกอบด้วยกรดไขมัน 3 ชนิดหลัก คือ กรดปีเฮนิกร้อยละ 25.69 กรดปาล์มมิติกร้อยละ 23.21 และกรดปาล์มมิโอเลอิกร้อยละ 19.67

4.3 การคำนวณต้นทุนเบื้องต้นของการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย *Chlorella* sp.

4.3.1 ราคาวัตถุดิบ

* น้ำสาหร่าย 0.2 บาท/ลิตร หรือ 0.2 บาทต่อเนื้อสาหร่าย 0.12 กรัม
(แสดงดังภาคผนวก ง)

4.3.2 ราคาสารเคมี

* อลูมิเนียมซัลเฟต ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) Commercial grade	23 บาทต่อกิโลกรัม
* เฟอริกคลอไรด์ (FeCl_3) Commercial grade	35 บาทต่อกิโลกรัม
* โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) Commercial grade	23 บาทต่อกิโลกรัม
* โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) Commercial grade	82 บาทต่อกิโลกรัม
* เฮกเซน (C_6H_{14}) Commercial grade	
* เมทานอล (CH_3OH) Commercial grade	
* ปุ๋ยยูเรีย	1,050 บาทต่อ 50 กิโลกรัม
* ปุ๋ยนา	980 บาทต่อ 50 กิโลกรัม

4.3.3 ประมาณการต้นทุน

หลังจากได้สถานะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายดังตารางที่ 4-10 สามารถประมาณการต้นทุนที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายดังตารางที่ 4-14 สำหรับอลูมิเนียมซัลเฟต และตารางที่ 4-15 สำหรับเฟอร์ริกคลอไรด์

จากตารางที่ 4-14 และ 4-15 การเติมสารช่วยตกตะกอนร่วมกับการปรับพีเอช พบว่าอลูมิเนียมซัลเฟต และเฟอร์ริกคลอไรด์ มีค่าใช้จ่ายของสารเคมี เท่ากับ 75.44 บาท และ 128.62 บาท ต่อเนื้อสาหร่าย 2,400 กรัม ตามลำดับ สำหรับต้นทุนของน้ำสาหร่าย พบว่าต้นทุนของวัตถุดิบ เท่ากับ 4,221 ต่อเนื้อสาหร่าย 2,400 กรัม ซึ่งจะเห็นว่าเป็นต้นทุนที่ไม่สูงมากนัก เนื่องจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้นเป็นการเพาะเลี้ยงระบบเปิด ใช้แสงอาทิตย์เป็นแหล่งให้พลังงาน ใช้น้ำเค็มจากทะเลสงขลา และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพียง 2 ตัว คือ ปุ๋ยยูเรีย 75 กรัมต่อตัน และปุ๋ยนา 15 กรัมต่อตัน และเมื่อพิจารณาเนื้อสาหร่ายแห้งที่ได้จากการเก็บเกี่ยว พบว่าการใช้สารช่วยตกตะกอนทั้ง 2 ชนิด ให้น้ำสาหร่ายแห้งเท่ากับ 0.12 กรัมต่อน้ำสาหร่าย 1 ลิตร หรือเท่ากับ 2,400 กรัมต่อน้ำสาหร่าย 20 ตัน จากนั้นทำการสกัดไขมันจากเนื้อสาหร่ายที่ได้ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค ที่มีปริมาตรถังปฏิกรณ์ เท่ากับ 1,500 มิลลิลิตร โดยตัวทำละลายคือ เฮกเซน และเมทานอล อัลตราส่วนเนื้อสาหร่ายแห้งต่อสารสกัด 1 ครั้ง คือ 40 กรัม ต่อ 1,400 มิลลิลิตร พบว่าสามารถสกัดได้ไขมันดังแสดงในตารางที่ 4-16

ตารางที่ 4-14 รายละเอียดการคำนวณต้นทุนการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต

รายละเอียด	ราคา (บาท/หน่วย)	ปริมาณที่ใช้ ต่อน้ำสาหร่าย 1 ลิตร	ต้นทุน (บาทต่อน้ำ สาหร่าย 1 ลิตร)	ปริมาณที่ใช้ ต่อ น้ำสาหร่าย 20 ตัน	ต้นทุน (บาทต่อ น้ำสาหร่าย 20 ตัน)
น้ำสาหร่าย (ลิตร)	0.211	1	0.211	20,000	4,221
NaOH (กิโลกรัม)	23	0.000012	0.0003	0.24	5.52
อลูมิเนียมซัลเฟต (กิโลกรัม)	23	0.000152	0.0035	3.04	69.92
รวมต้นทุน			0.2175		4,296.44

ตารางที่ 4-15 รายละเอียดการคำนวณต้นทุนการเก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยเฟอริคคลอไรด์

รายละเอียด	ราคา (บาท/หน่วย)	ปริมาณที่ใช้ ต่อน้ำสาหร่าย 1 ลิตร	ต้นทุน (บาทต่อ น้ำสาหร่าย 1 ลิตร)	ปริมาณที่ใช้ ต่อ น้ำสาหร่าย 20 ตัน	ต้นทุน (บาทต่อ น้ำสาหร่าย 20 ตัน)
น้ำสาหร่าย (ลิตร)	0.211	1	0.211	20,000	4,221
NaOH (กิโลกรัม)	23	0.000062	0.0014	1.24	28.52
เฟอริคคลอไรด์ (กิโลกรัม)	35	0.000143	0.005	2.86	100.1
รวมต้นทุน			0.217		4,349.62

ตารางที่ 4-16 ปริมาณ และค่าใช้จ่ายของไขมันที่สกัดได้ต่อเนื้อสาหร่ายที่ได้จากบ่อเพาะเลี้ยง 25 ตัน

สารสกัดที่ ใช้	ปริมาณสารที่สกัดได้ ต่อเนื้อ สาหร่ายแห้ง 2,400 กรัม (กรัม)	ค่าใช้จ่ายต่อสารที่สกัดได้ คิดจากต้นทุนของ อลูมิเนียมซัลเฟต (บาท/กรัม)	ค่าใช้จ่ายต่อสารที่สกัดได้ คิดจากต้นทุนของ เฟอริคคลอไรด์ (บาท/กรัม)
เฮกเซน	53.02	81.03	82.04
เมทานอล	67.38	63.76	64.55

จากตารางที่ 4-16 จะเห็นว่าจากเนื้อสาหร่ายแห้ง 2,400 กรัม สามารถนำมาสกัดได้สารสกัด ปริมาณ 53.02 และ 67.38 กรัม สำหรับเฮกเซน และเมทานอล ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่าใช้จ่าย ต่อสารที่สกัดได้จากตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด จะเห็นว่าไม่แตกต่างกันมากนัก ค่าใช้จ่ายต่อสารที่สกัด ได้ค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องมาจากสารที่สกัดได้จากเนื้อสาหร่ายแห้งมีปริมาณค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตาม ค่าดำเนินการเพาะเลี้ยงในระดับที่ใหญ่ขึ้น จะสามารถลดต้นทุนการผลิตได้ และควรใช้ ประโยชน์จากสารสกัดอื่นๆ นอกเหนือจากไขมัน เพื่อให้กระบวนการมีความน่าสนใจในการลงทุน มากขึ้น

4.4 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย

4.4.1 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย ด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน และปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน

นำน้ำมันสาหร่ายที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-14 มาผลิตไบโอดีเซลในรูปของเมทิลเอสเทอร์ โดยศึกษาอัตราส่วนเมทานอล : น้ำมันสาหร่าย เท่ากับ 8:1 และ 10:1 โดยน้ำหนัก ใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และกรดซัลฟิวริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การทดลองทำในขวดแก้วดูแลนค์ขนาด 250 มิลลิลิตร อุณหภูมิของการทำปฏิกิริยาที่ 70 และ 80 องศาเซลเซียส กวนผสมเป็นเวลา 40, 60 และ 90 นาที ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4-17 และ 4-18



ภาพประกอบที่ 4-14 ลักษณะน้ำมันสาหร่ายที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล

ตารางที่ 4-17 ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

สถานะ	MeOH : oil (โดยน้ำหนัก)	KOH (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ร้อยละ เมทิลเอสเทอร์
1	10:1	1	70	60	40.63
2	8:1	1	70	60	1.72
3	8:1	2	70	60	56.82
4	8:1	3	70	60	2.32
5	10:1	2	70	60	2.36
6	8:1	2	80	60	0.87
7	8:1	2	80	90	0
8	8:1	2	80	60	20.96
9	10:2	2	80	60	4.81
10	10:2	2	80	60	5.69

จากผลการวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการของสารที่สกัดได้ เมื่อใช้เฮกเซนเป็นสารสกัด พบว่ามีกรดไขมัน ประมาณร้อยละ 5 จึงเลือกผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน แสดงผลดังตารางที่ 4-17 โดยในช่วงแรกของการทดลอง คือที่สถานะ 1-7 ได้ทำการวิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง TLC แต่เนื่องจากผลผลิตที่ได้มีเม็ดยิ่งขึ้น ถึงแม้จะใช้เฮกเซนเป็นสารสกัด แต่เมื่อทำการระเหยเฮกเซนออก พบว่าสารที่สกัดได้มีสีเข้มขึ้น เห็นเม็ดยิ่งชัดเจนขึ้น ซึ่งเม็ดยิ่งนี้จะไปติดอยู่ภายในคอลัมน์ ทำให้คอลัมน์เกิดความเสียหาย ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการเปลี่ยนวิธีการวิเคราะห์ มาเป็นการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID ผลที่ได้จึงอาจมีแนวโน้ม หรือค่าต่างกัน ซึ่งผลจากการวิเคราะห์พบว่า เมื่อใช้เครื่อง GC-FID ผลที่ได้กลับลดลงอย่างเห็นได้ชัด สังเกตได้จากค่าร้อยละเมทิลเอสเทอร์ ซึ่งมีค่ามากที่สุดประมาณร้อยละ 20 และจากสถานะที่ 8 จึงได้ทำการเพิ่มอัตราส่วนของเมทานอล : น้ำมันสาหร่าย เป็น 10:1 ผลปรากฏว่า ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้กลับลดลง และค่าที่ได้ยังถือว่าต่ำอยู่มาก ด้วยเหตุนี้จึงได้ลองผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน แสดงผลดังตารางที่ 4-18

ตารางที่ 4-18 ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

สภาวะ	MeOH : oil (w/w)	H ₂ SO ₄ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ร้อยละ เมทิลเอสเทอร์
1	8:1	1.8	70	40	18.3
2	8:1	2	70	60	10.32

การผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน คือการเปลี่ยนกรดไขมันอิสระไปเป็นไบโอดีเซล ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบเบื้องต้นของสารที่สกัดได้ด้วยเครื่อง TLC พบว่ามีกรดไขมันประมาณร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ดังนั้น การเปลี่ยนกรดไขมันไปเป็นไบโอดีเซล ไม่น่าที่จะเปลี่ยนไปมาก และเนื่องจากมีกรดไขมันอยู่น้อย จึงต้องใช้อัตราส่วนเมทานอลต่อน้ำมันในสัดส่วนที่มาก เพื่อเพิ่มโอกาสในการสัมผัสกัน ดังนั้นจึงเลือกทำปฏิกิริยาที่สภาวะเมทานอล : น้ำมัน เท่ากับ 8:1 ใช้กรดซัลฟิวริกตามมาตรฐานการทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน คือ ร้อยละ 1.8 โดยน้ำหนัก อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที ผลปรากฏว่าได้เมทิลเอสเทอร์ร้อยละ 18.3 ซึ่งร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้ ไม่น่าจะมาจากกรดไขมันเพียงร้อยละ 5 แต่อาจจะเกิดจากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของเมทานอลกับกลีเซอไรด์ และเมื่อพิจารณา สภาวะที่ 8 จากตารางที่ 4-17 และสภาวะที่ 1 จากตารางที่ 4-18 จะเห็นว่าที่สภาวะแตกต่างกัน ตัวเร่งปฏิกิริยาแตกต่างกัน แต่กลับให้ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ใกล้เคียงกัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า น้ำมันทำปฏิกิริยากับเมทานอล โดยไม่อาศัยตัวเร่งปฏิกิริยา ด้วยเหตุนี้จึงได้ลองเพิ่มร้อยละกรดซัลฟิวริกเป็นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก และเวลาในการทำปฏิกิริยาเป็น 60 นาที ผลปรากฏว่า ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้มีค่าลดลง และค่าที่ได้ยังต่ำกว่าค่ามาตรฐานอยู่มาก

ดังนั้นจากตารางที่ 4-17 และ 4-18 จึงไม่สามารถสรุปสภาวะที่ดีที่สุดในการผลิตไบโอดีเซลได้ แต่พบว่าสำหรับขนาดเล็กสามารถนำมาผลิตไบโอดีเซลได้ เนื่องจากมีร้อยละเมทิลเอสเทอร์เกิดขึ้น แต่ค่าร้อยละผลได้ของไบโอดีเซลจากน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายยังต่ำกว่ามาตรฐานอยู่มาก ซึ่งตามมาตรฐานของอเมริกา (ASTM) มีค่าร้อยละ 96.5 ขึ้นไป ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายถูกนำมาผลิตไบโอดีเซล โดยยังไม่ได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ จึงยังมีสารประกอบอื่นๆ นอกเหนือจากน้ำมันที่เข้าไปขัดขวางการเกิดปฏิกิริยา เช่น เม็ดสี ยางเหนียว และอื่นๆ แต่หากพิจารณาในลักษณะทางกายภาพ พบว่าการใช้ต่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในขณะที่กรดไขมันอิสระ (Free fatty acid, FFA) มีค่ามากกว่าร้อยละ 1 ทำให้กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในน้ำมันทำปฏิกิริยากับต่างกลายเป็นสบู่ และน้ำ ซึ่งสบู่ที่มีอยู่ทำให้เกิดลักษณะอิมัลชัน (Emulsion) ขัดขวางการแยกชั้น

ผลผลิตข้างเคียงของกลีเซอรอลที่มีขั้วออกจากผลผลิตไบโอดีเซลที่ไม่มีขั้ว อีกทั้งยังดึงเอาไบโอดีเซลไปอยู่ในชั้นของกลีเซอรอลอีกเป็นจำนวนมาก ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-15 นอกจากนี้สบู่ที่เกิดขึ้นยังไปขัดขวางอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน แต่เมื่อใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าการแยกชั้นของไบโอดีเซลทำได้ง่ายขึ้น เนื่องจากไม่มีสบู่เกิดขึ้นหรือเกิดขึ้นน้อยมาก ดังนั้นโดยทั่วไป ปริมาณกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชันไม่ควรเกินร้อยละ 1.5 และหากมีต่ำลงจะดีมากขึ้น เพราะสามารถทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชันได้ง่ายขึ้น ดังนั้นสำหรับน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย ควรทำการผลิตไบโอดีเซลแบบ 2 ขั้นตอน คือทำปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน เพื่อลดปริมาณกรดไขมันอิสระให้ลดลงก่อน โดยทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ที่มีกรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้ผลผลิตเป็นเอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) และมีน้ำเป็นผลพลอยได้ แล้วตามด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน โดยใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แต่เนื่องจากน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายมีปริมาณน้อย ซึ่งไม่เพียงพอสำหรับการทำปฏิกิริยาแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการมองหาแนวทางอื่น ๆ ในการผลิตไบโอดีเซล เพื่อให้ได้ไบโอดีเซลที่บริสุทธิ์ และมีร้อยละผลได้ของไบโอดีเซลเพิ่มมากขึ้น จากการสังเกตสารที่สกัดได้จากสาหร่าย พบว่าเมื่อตั้งสารที่สกัดได้จากสาหร่ายทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง สารที่สกัดได้จะเกิดการแยกชั้นขึ้น ซึ่งเกิดความสงสัยว่าชั้นบน และชั้นล่างอาจมีองค์ประกอบบางอย่างแตกต่างกัน จึงได้ลองทำการเหวี่ยงแยกสารสกัดที่ได้ ออกเป็น 2 ชั้น แล้วจึงทำการผลิตไบโอดีเซล



← เอสเทอร์ที่ต้องสูญเสียไปใน
ชั้นตอนล่างน้ำ

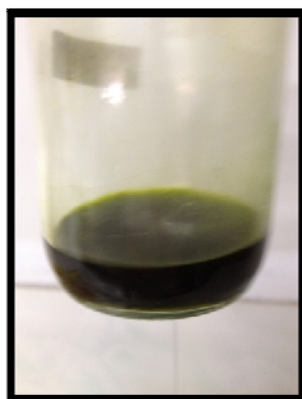
ภาพประกอบที่ 4-15 ลักษณะของไบโอดีเซลที่ถูกดึงไปอยู่ในชั้นของกลีเซอรอล

4.4.2 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่ายที่ผ่านการเหวี่ยงแยกออกเป็นชั้นบน และชั้นล่าง

ทำการเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เพื่อแยกสารที่สกัดได้จากสาหร่ายทั้ง 2 ส่วนออกจากกัน ดังภาพประกอบที่ 4-16 และได้ทำการไตเตรทหาปริมาณกรดไขมันอิสระของแต่ละชั้น แสดงดังตารางที่ 4-19 โดยพบว่าชั้นล่างที่เหวี่ยงแยกออกมานั้นมีลักษณะเป็นของแข็งที่มีความหนืดค่อนข้างมาก ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นกรดไขมัน การผลิตไบโอดีเซลจึงเลือกใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ส่วนชั้นบนมีความหนืดน้อยกว่า ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นกลีเซอไรด์ การผลิตไบโอดีเซลจึงเลือกใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพประกอบที่ 4-16 ลักษณะน้ำมันสาหร่ายที่ได้หลังการเหวี่ยงแยก (ก) การแยกชั้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ข) ชั้นบน (ค) ชั้นล่าง

ตารางที่ 4-19 ร้อยละกรดไขมันอิสระ ที่ได้จากการไตเตรทน้ำมันในแต่ละชั้น

ชั้นน้ำมันสาหร่าย	ร้อยละกรดไขมันอิสระ
ไม่แยกชั้น	20.95
ชั้นบน	13.33
ชั้นล่าง	24.56

จากตารางที่ 4-19 จะเห็นว่าเมื่อไม่ทำการเหวี่ยงแยกสารที่สกัดได้ออกเป็น 2 ชั้น จะได้กรดไขมันร้อยละ 20.95 แต่เมื่อทำการเหวี่ยงแยกพบว่า ชั้นบนมีกรดไขมันร้อยละ 13.33 และชั้นล่างมีกรดไขมันร้อยละ 24.56 ซึ่งค่าที่ได้พบว่ามีค่าแตกต่างจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง TLC ซึ่งได้กรดไขมัน เท่ากับ 5% ทั้งนี้เนื่องมาจากตัวอย่างมีการแยกชั้นเกิดขึ้น โดยทั้ง 2 ชั้น ต่างก็มีกรดไขมัน ดังนั้นการดึงตัวอย่างไปวิเคราะห์ TLC หากดึงชั้นใดชั้นหนึ่งมาน้อยแตกต่างกัน ค่าที่ได้ก็จะแตกต่างกันด้วย แต่การที่มีกรดไขมันมากกว่าร้อยละ 5 น่าจะเป็นค่าที่เป็นไปได้มากกว่า เนื่องจากการทำปฏิกิริยาเพื่อผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านมา พบว่าทำปฏิกิริยาได้ยาก แสดงว่าสารที่สกัดได้น่าจะมีกรดไขมันมากกว่าร้อยละ 5

ตารางที่ 4-20 ร้อยละเมทิลเอสเทอร์จากการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน และเอสเตอริฟิเคชัน ของน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายหลังจากเหวี่ยงแยกเป็นชั้นบน และชั้นล่าง

ชั้น	MeOH : oil (โดยน้ำหนัก)	KOH (ร้อยละ โดยน้ำหนัก)	H ₂ SO ₄ (ร้อยละ โดยน้ำหนัก)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ร้อยละ เมทิลเอสเทอร์
บน	8:1	2		80	60	9.1
ล่าง	8:1		1.8	70	40	1.08

จากตาราง 4-20 จะเห็นว่าทั้ง 2 ชั้นมีร้อยละเมทิลเอสเทอร์เกิดขึ้น โดยชั้นบนให้ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ 9.1 ส่วนชั้นล่างให้ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ 1.08 ซึ่งถือว่าเป็นร้อยละผลได้ที่น้อยมาก เมื่อเทียบกับผลการทดลองที่ผ่านมา ทั้งนี้อาจเป็นเพราะไบโอดีเซลที่ผลิตได้ยังไม่ผ่านกระบวนการกำจัดเมื่อดีส และยางเหนียว ซึ่งเป็นอุปสรรคในการวิเคราะห์ และจากการสังเกตกระบวนการผลิตไบโอดีเซล พบว่า การเหวี่ยงแยกน้ำมันออกเป็น 2 ส่วน ทำให้การแยกชั้นผลผลิตเกิดขึ้นได้ง่าย เนื่องจากมีไบโอดีเซลที่สูญเสียในชั้นของน้ำล่างลดลง ทั้งนี้เพราะการลดลงของปริมาณกรดไขมันอิสระ จึงอาจทำให้เกิดสบู่ปริมาณลดลง ดังแสดงในภาพที่ 4-17 แต่เมื่อพิจารณาถึงผลได้สุทธิ พบว่าค่าที่ได้ยังต่ำอยู่มาก ดังนั้นในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย ซึ่งมีร้อยละกรดไขมันอิสระสูง ควรทำการผลิตไบโอดีเซลแบบ 2 ขั้นตอน คือทำปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชันเพื่อลดปริมาณกรดไขมันอิสระ แล้วจึงทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน และหากเลือกทำการผลิตไบโอดีเซลแบบ 2 ขั้นตอน การเหวี่ยงแยกเพื่อลดปริมาณกรดไขมันในน้ำมันสาหร่ายจึงไม่มีความจำเป็น



ภาพประกอบที่ 4-17 ลักษณะการแยกชั้นของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันสาหร่ายชั้นบน ในขั้นตอนการล้างด้วยน้ำอุ่น



ภาพประกอบที่ 4-18 ลักษณะการแยกชั้นของไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันสาหร่ายชั้นล่าง ในขั้นตอนการล้างด้วยน้ำอุ่น

4.4.3 การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่ายผสมกับน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ และผสมกับน้ำมันปาล์มดิบ ด้วยปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน

ผลการสังเกตจากการทดลองที่ผ่านมา ไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากน้ำมันสาหร่ายมีความหนืดค่อนข้างสูง และแข็งตัวเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลง โดยจะเริ่มแข็งตัวที่อุณหภูมิประมาณ 56 องศาเซลเซียส ซึ่งสาเหตุที่ไบโอดีเซลยังแข็งตัว อาจเป็นเพราะไบโอดีเซลที่ผลิตได้ยังมีองค์ประกอบของกรดไขมันอิสระอยู่มาก และเพื่อลดความหนืดของน้ำมันสาหร่าย จึงทดลองนำน้ำมันสาหร่ายมาผสมกับน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ และผสมกับน้ำมันปาล์มดิบ (CPO) โดยได้ทำการผสมน้ำมันสาหร่ายกับน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ หรือน้ำมันปาล์มดิบในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก การผลิตไบโอดีเซลใช้อัตราส่วนเมทานอลต่อน้ำมันผสม เท่ากับ 8:1 โดยน้ำหนัก ใช้กรดซัลฟิวริกร้อยละ 1.8 โดยน้ำหนัก อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 70 องศาเซลเซียส และเวลาในการทำปฏิกิริยา 40 นาที ร้อยละเมทิลเอสเตอร์ที่ได้แสดงดังตารางที่ 4-22

ตารางที่ 4-21 ร้อยละกรดไขมันอิสระที่ได้จากการไคเตรท น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ น้ำมันปาล์มดิบ และน้ำมันสาหร่ายตอนเริ่มต้น

ชนิดของน้ำมัน	ร้อยละกรดไขมันอิสระ
น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์	0.87
น้ำมันปาล์มดิบ	7.62
น้ำมันสาหร่าย	20.95

ตารางที่ 4-21 แสดงปริมาณกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในน้ำมันประเภทต่างๆ พบว่าน้ำมันสาหร่ายมีร้อยละกรดไขมันอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันปาล์มดิบ และน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันตอนเริ่มต้นแตกต่างกัน โดยพบว่ายังมีปริมาณกรดไขมันอิสระมาก น้ำมันก็จะยังเป็นไขมากที่อุณหภูมิห้อง ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-19



(ก)

(ข)

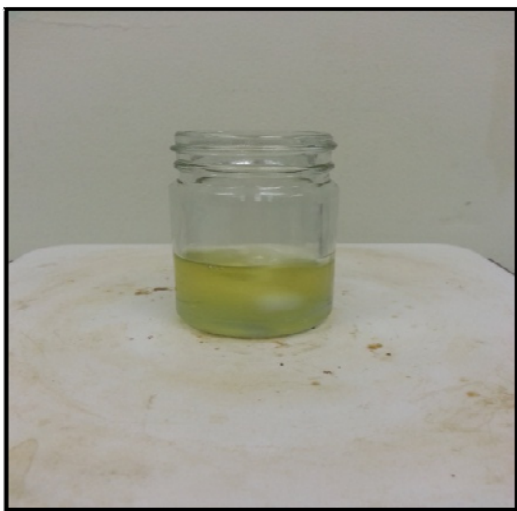
(ค)

ภาพประกอบที่ 4-19 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันก่อนทำไบโอดีเซล (ก) น้ำมันสาหร่าย (ข) น้ำมันปาล์มดิบ (ค) น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์

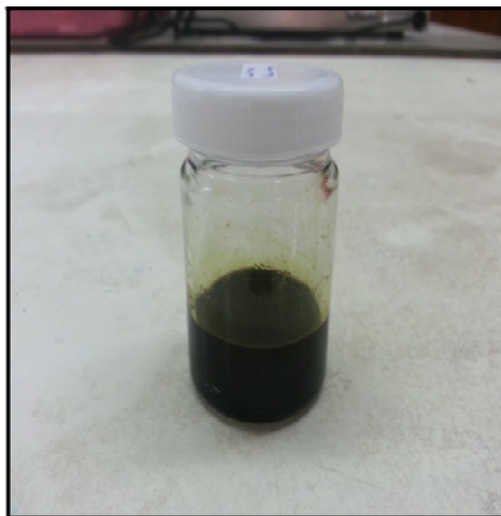
ตารางที่ 4-22 ร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ น้ำมันปาล์มดิบ และน้ำมันผสม

น้ำมัน	ร้อยละเมทิลเอสเทอร์
น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์	1.97
น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์+น้ำมันสาหร่าย	5.83
น้ำมันปาล์มดิบ	4.5
น้ำมันปาล์มดิบ+น้ำมันสาหร่าย	8.75
น้ำมันสาหร่าย	18.3

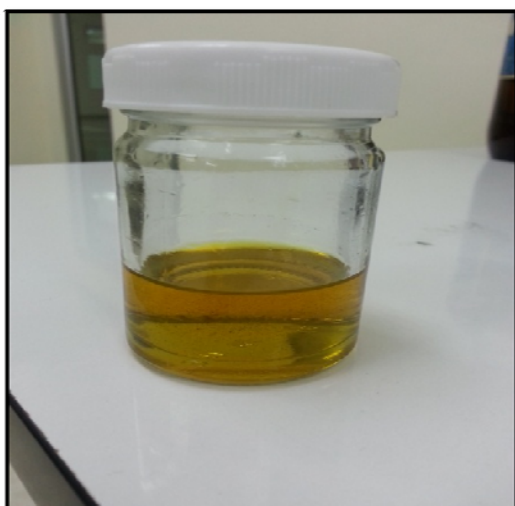
จากตาราง 4-22 จะเห็นว่าน้ำมันสำหรับยี่ห้อร้อยละเมทิลเอสเตอร์สูงสุด เนื่องจากมีองค์ประกอบของกรดไขมันอิสระสูงสุด และเป็นที่ยืนยันว่า น้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายมีกรดไขมันอิสระมากกว่าร้อยละ 5 รองลงมาคือ น้ำมันปาล์มดิบผสมกับน้ำมันสำหรับ น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ผสมกับน้ำมันสำหรับ น้ำมันปาล์มดิบ และน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ ซึ่งจะสังเกตเห็นว่าร้อยละเมทิลเอสเตอร์ที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงกับปริมาณกรดไขมันอิสระในวัตถุดิบตั้งต้น และเมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพ พบว่าน้ำมันสำหรับที่ผสมกับน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ หรือผสมน้ำมันปาล์มดิบ จะแข็งตัวช้ากว่าน้ำมันสำหรับ โดยจะแข็งตัวที่อุณหภูมิประมาณ 41 องศาเซลเซียส ในขณะที่น้ำมันสำหรับจะแข็งตัวที่อุณหภูมิประมาณ 56 องศาเซลเซียส สาเหตุที่น้ำมันยังแข็งตัวอาจเนื่องมาจากน้ำมันสำหรับยังเปลี่ยนไปเป็นไบโอดีเซลน้อย และยังมีกรดไขมันอิสระสูงอยู่ ส่วนสีของน้ำมันสำหรับ น้ำมันสำหรับผสมน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ หรือผสมน้ำมันปาล์มดิบนั้นไม่แตกต่างกัน โดยสีที่ได้จะมีสีค้ำอมเขียว ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-20 จากที่ได้กล่าวมาจะเห็นว่า การนำน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ หรือน้ำมันปาล์มดิบมาผสมกับน้ำมันสำหรับ ไม่ได้ช่วยให้ร้อยละเมทิลเอสเตอร์สูงขึ้น หรือทำให้ไบโอดีเซลที่ได้เป็นของเหลว หรือทำให้สีสวยขึ้น เนื่องจากการทดลองปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชันของกรดไขมันเปลี่ยนเป็นเมทิลเอสเตอร์ การผสมจึงเป็นเพียงการเจือจางปริมาณกรดไขมันในสารตั้งต้นให้ลดน้อยลง ดังนั้นการผลิตไบโอดีเซลด้วยวิธีนี้จึงไม่ใช่แนวทางที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย ส่วนการเหวี่ยงแยกน้ำมันออกเป็น 2 ส่วนนั้น จะเห็นว่าร้อยละกรดไขมันอิสระของน้ำมันชั้นบนลดลง แต่ร้อยละเมทิลเอสเตอร์ที่ได้ยังถือว่าต่ำมาก และไบโอดีเซลที่ได้ยังแข็งตัวเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลง ด้วยเหตุนี้จากการพิจารณากระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ได้ทำมา คาดว่าการผลิตไบโอดีเซลแบบ 2 ขั้นตอน น่าจะเป็นทางเลือกที่ดีที่สุดสำหรับการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย



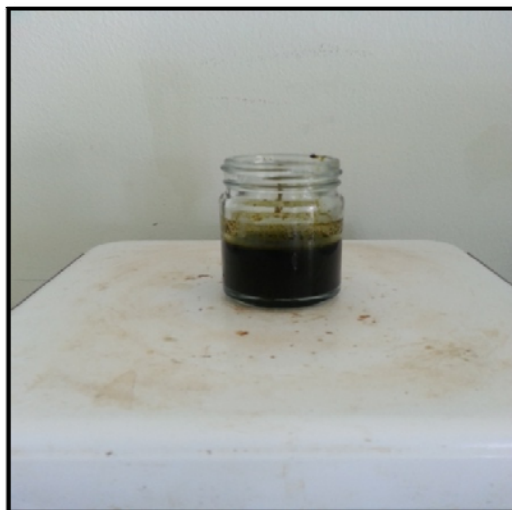
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพประกอบที่ 4-20 ลักษณะทางกายภาพของไบโอดีเซล (ก) น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ (ข) น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ผสมน้ำมันสาหร่าย (ค) น้ำมันปาล์มดิบ (ง) น้ำมันปาล์มดิบผสมน้ำมันสาหร่าย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 การเก็บเกี่ยวสาหร่าย

การเก็บเกี่ยวสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยการปรับพีเอช และการเติมสารช่วยตกตะกอน ร่วมกับการปรับพีเอช มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยพบว่าการเติมสารช่วยตกตะกอนเป็น การเพิ่มประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายให้ดียิ่งขึ้น ซึ่งชนิดของสารตกตะกอนที่ทำให้การเก็บ เกี่ยวสาหร่ายดีที่สุด คือ เฟอริคคลอไรด์ รองลงมาคือ อลูมิเนียมซัลเฟต โซเดียมไฮดรอกไซด์ และ โปแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ตามลำดับ และจากการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย พบว่า สภาวะที่เหมาะสมของอลูมิเนียมซัลเฟต คือ ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน เท่ากับ 152 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 6 เวลาตกจม 60 นาที ส่วนเฟอริคคลอไรด์ คือ ความเข้มข้นของสารช่วย ตกตะกอน เท่ากับ 143 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 8.1 เวลาในการตกจม 40 นาที ให้ประสิทธิภาพการ เก็บเกี่ยวร้อยละ 100 และจากการตกจมด้วยสารช่วยตกตะกอนทั้ง 2 ชนิด ให้เนื้อสาหร่าย 0.12 กรัม ต่อน้ำสาหร่าย 1 ลิตร

5.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมัน

การสกัดน้ำมันจากสาหร่ายด้วยสารสกัด 2 ชนิด คือเฮกเซน และเมทานอล พบว่าเฮกเซน เป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดสำหรับใช้ในกระบวนการสกัดน้ำมัน เนื่องจากสารที่สกัดได้จากสาหร่าย เมื่อใช้เฮกเซน มีกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักอยู่ 3 ชนิด คือ กรดปาล์มมีติก ร้อยละ 27.73 กรดปาล์มมิโอเลอิก ร้อยละ 15.98 และกรดโอเลอิก ร้อยละ 5.69 ซึ่งมีความคล้ายกับองค์ประกอบ ของกรดไขมันที่พบในน้ำมันพืช จึงมีความเหมาะสมในการใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอดีเซล

5.3 การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์

การตกจมน้ำสาหร่าย ปริมาตร 20 ตัน เมื่อใช้สารช่วยตกตะกอนร่วมกับการปรับพีเอช พบว่าเฟอริคคลอไรด์ จะมีค่าใช้จ่ายในส่วนของสารเคมี เท่ากับ 128.62 บาท และ อลูมิเนียมซัลเฟต จะมีค่าใช้จ่ายในส่วนของสารเคมี เท่ากับ 75.44 บาท และเมื่อนำตะกอนสาหร่ายที่ได้มาทำให้แห้ง จะได้น้ำหนักเท่ากับ 2,400 กรัม สำหรับในส่วนของ การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิค พบว่าจาก

สาหร่ายแห้ง 2,400 กรัม สามารถนำมาสกัดได้สารสกัดปริมาณ 53.02 และ 67.38 กรัม สำหรับเฮกเซน และเมทานอล ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่าใช้จ่ายต่อปริมาณสารที่สกัดได้จากสารสกัดทั้ง 2 ชนิด จะเห็นว่าไม่แตกต่างกัน คือมีค่าใช้จ่ายประมาณ 82 และ 64 บาทต่อกรัมของสารที่สกัดได้ ตามลำดับ

5.4 การผลิตไบโอดีเซล

เมื่อทำการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย พบว่าน้ำมันสาหร่ายที่ผ่านกระบวนการทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน และเอสเตอริฟิเคชันสามารถนำมาผลิตไบโอดีเซลได้ เนื่องจากมีร้อยละเมทิลเอสเทอร์เกิดขึ้น แต่ค่าร้อยละผลได้ของไบโอดีเซลจากน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายยังต่ำกว่ามาตรฐานอยู่มาก อาจเนื่องมาจากน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายถูกนำมาผลิตไบโอดีเซล โดยยังไม่ได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ จึงยังมีสารประกอบอื่นๆ นอกเหนือจากน้ำมันที่เข้าไปขัดขวางการเกิดปฏิกิริยา เช่น เม็ดสี ยางเหนียว และอื่นๆ จึงไม่สามารถสรุปสถานะที่ดีที่สุดในการผลิตไบโอดีเซลได้ แต่หากพิจารณากระบวนการผลิตไบโอดีเซล พบว่าเมื่อใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะแยกชั้นได้ยากกว่าการใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และมีการสูญเสียผลได้ในชั้นน้ำล้าง เนื่องจากน้ำมันสาหร่ายมีร้อยละกรดไขมันอิสระที่สูง เมื่อใช้ด่างเป็นตัวเร่งทำให้มีสบู่เกิดขึ้นมาก ในขณะที่การใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลพลอยได้ที่เกิดขึ้นคือน้ำ สำหรับการเหวี่ยงแยกชั้นของน้ำมัน พบว่าเมื่อทำการเหวี่ยงแยกน้ำมันออกเป็น 2 ชั้น ร้อยละกรดไขมันอิสระของน้ำมันชั้นบนลดลง เมื่อนำมาผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน จึงช่วยให้การแยกชั้นทำได้ง่ายขึ้น เนื่องจากปริมาณสบู่ที่เกิดขึ้นลดลง จึงส่งผลให้การสูญเสียผลได้ในชั้นของน้ำล้างลดลง แต่เมื่อพิจารณาร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้ยังถือว่าต่ำอยู่มาก และไบโอดีเซลที่ได้ยังแข็งตัว เมื่ออุณหภูมิลดต่ำลง ดังนั้นในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่ายจึงควรมีการขจัดองค์ประกอบปนเปื้อนที่ไม่พึงประสงค์ เช่น เม็ดสี ยางเหนียว และสิ่งสกปรกออกก่อน จากนั้นจึงทำการผลิตไบโอดีเซล โดยการผลิตไบโอดีเซลแบบทำปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน คือทำปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน เพื่อลดปริมาณกรดไขมันอิสระให้น้อยกว่าร้อยละ 3 เพื่อให้สามารถทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน ในขั้นตอนต่อไปได้ง่ายขึ้น และน่าจะได้อัตราร้อยละเมทิลเอสเทอร์ที่ได้มาตรฐาน

5.5 ข้อเสนอแนะ

5.5.1 เนื่องจากการเก็บเกี่ยวสาหร่ายนั้น สภาพที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย นอกจากจะขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน และพีเอช ยังขึ้นอยู่กับค่า OD ตอนเริ่มต้นของสาหร่ายด้วย หากค่า OD ของสาหร่ายตอนเริ่มต้นแตกต่างกัน สภาพที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายก็จะแตกต่างกันด้วย ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD ของสาหร่ายตอนเริ่มต้น กับความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน และพีเอช

5.5.2 เนื่องจากสารที่สกัดได้จากผงสาหร่าย มีองค์ประกอบอื่นๆที่ไม่ใช่น้ำมันอยู่มาก เช่น เม็ดสี โพรตีน คาร์โบไฮเดรต ยางเหนียว และอื่นๆ เป็นต้น ดังนั้นก่อนที่จะนำสารที่สกัดได้มาผลิตเป็นไบโอดีเซล ควรมีการกำจัดสิ่งต่างๆ ที่ไม่ใช่น้ำมันออกก่อน เพื่อให้ให้น้ำมันมีความบริสุทธิ์ยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

- แก้วนภา รุ่งมีศรี. 2554. กระบวนการผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่องจากน้ำมันพืชใช้แล้วด้วย แอลกอฮอล์ผสม (เมทานอล/เอทานอล) โดยใช้คลื่นอัลตราโซนิค. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ชาคริต ทองอุไร และคณะ. 2556. เทคโนโลยีไบโอดีเซล ฉบับปฏิบัติการจริง. สถานวิจัยและพัฒนาพลังงานทดแทนจากน้ำมันปาล์มและพืชน้ำมัน คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ณัฐชยาน์ พงศ์สถาปติ. 2551. กระบวนการบำบัดน้ำ ทางวิศวกรรมเคมี. ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์.
- ณัฐพงศ์ เอกวรรณัง. 2551. การผลิตไบโอดีเซลจากสารอินทรีย์ที่อยู่ในเฟสกลีเซอรอลของกระบวนการ ทรานส์เอสเตอร์ฟิเคชันน้ำมันพืช. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ประกอบ กิจไชยา. 2550. การสังเคราะห์น้ำมันดีเซลชีวภาพในแง่มุมทางวิศวกรรมปฏิกิริยา. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ศกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์. 2555. เทคโนโลยีสิ่งแวดลอมชั้นสูง. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- พนิดา รัตนพลที . 2552. การประยุกต์ใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อผลิตไบโอดีเซล. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ภัทราวดี ภูมิภักดิ์. 2551. การศึกษาอัตราเร็วในการตกตะกอนและปริมาณกากตะกอนจากการบำบัดตัวอย่างน้ำเสียคลองแสนแสบด้วยวิธีการรวมกลุ่มตะกอนเคมี. ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์
- ยุวดี อินสำราญ. 2543. ผลของสารตกตะกอนที่มีต่อการเก็บเกี่ยวสาหร่ายและการเจริญหลังการเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยบูรพา.

- รัตน์ภรณ์ ลีสิงห์ และ งามนิจ นนทโส. 2551. การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กชนิดที่คัดเลือกได้จากแหล่งน้ำจืดในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Agarwal, A.K. 2007. Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. *Progress in Energy and Combustion Science*. 33: 233-271.
- Amirtharajah, A. and Mills, KJ. 1982. Rapid Mix Mechanisms of Alum coagulation, *Journal of the American Water Works Association, Research and Technology*. 74 (4): 210-216.
- Borowitzka, MA. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters, *Journal of Biotechnology*. 70: 313–21.
- Brennan, L. and Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae -A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14: 557-577.
- Chen, G-Q., Jiang, Y. and Chen, F. 2007. Fatty acid and lipid class composition of the eicosapentaenoic acid-producing microalga. *Nitzschia laevis*. *Food chemistry*. 104: 1580-1585.
- Chen, C-Y., Yeh, K-L., Aisyah, R., Lee, L-J. and Chang, J-S. 2011. Cultivation, Photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresource Technology*. 102: 71-81.
- Chisti Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25: 294-306.
- Divakaran, R. and Pillai, S. 2002. Flocculation of algae using chitosan. *Journal of applied phycology*. 14: 419-422.
- Dragone, G., Fernandes, B., Vicente, A. and Teixeira, J. 2010. Third generation biofuels from microalgae. *Microbiology and microbial biotechnology*. 47 :10-57.

- Eckenfelder, W. W., Jr. 1989. *Industrial Water Pollution Control*. McGraw-Hill. New York. 84-110.
- Eldridge R.J., Hill D.R.A., and Gladman B.R. 2012. A comparative study of the coagulation medium. *Bioresource Technol.* 110: 496-502.
- Freedman, B., et al. 1984. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 61: 1638-1643.
- Fukuda, H., et al. 2001. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 92: 405-416.
- Graham, L.E. and Wilcox, L.W. 2000. *Algae*, Prentice-Hall, Upper Saddle River. New Jersey. 640.
- Harith Z.T., Yusoff F.M., Mohame M.S., Din M.S.M., and Ariff A.B. 2009. Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, *Chaetoceros calcitrans*, cells, *Afr.J. Biotechnol.* 8: 5971-5978.
- ISik, O., Sarihana, E., KuSvuran E., Gul, O. and Erbatur, O. 1999. Comparison of the fatty acid composition of the freshwater fish larvae *Tilapia Zillii*, the rotifer *Brachionus calyciflorus*, and the microalgae *Scenedesmus abundans*, *Monoraphidium minutum* and *Chlorella vulgaris* in the algae-rotifer-fish larvae food chains. *Aquaculture.* 174: 299-311.
- Jena, J. 2012. Microalgae of odisha coast as a potential source for biodiesel production. *Institute of Minerals and Materials Technology.* 2: 11-16.
- Lassing, M., Martensson, P., Olsson, E. and Svensson, M. 2008. final report on Biodiesel Production from Microalgae. Department of Chemical Engineering. Lund University.
- Leung, D. Y. C. and Guo, Y. 2006. Transesterification of neat and used frying oil: Optimization for biodiesel production. *Fuel Processing Technology.* 87: 883-890.

- Mata, TM., Martins, AA. and Caetano, NS. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable Sustainable Energy Review*. 14: 217-232.
- McGarry, M. G. 1970. Algal Flocculation with Aluminum Sulfate and Polyelectrolytes. *Journal (Water Pollution Control Federation)*. 42: 191-201.
- McHugh, DJ. 2003. A guide to the seaweed industry. Rome, FAO. FAO Fisheries Technical Paper No. 441.
- Meher, L.C., Sagar D.V., and Naik S.N. 2006. Technical Aspects of biodiesel Production by Tranesterification. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 10: 248-268.
- Miao, X. and Wu, Q. 2006. Biodiesel production from heterotrophic microalgae oil. *Bioresource Technol.* 97: 841-846.
- Morales, J., et al. 1985. Harvesting marine microalgae species by chitosan flocculation. *Aquacultural Engineering*. 4 : 257-270.
- Peretti, P., Losordo, T. and Hoob, A. 2007. Algae to Biodiesel conversion and scale-up. Department of biological and agricultural Engineering.
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J. and Roessler, P. 1988. A look back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program – Biodiesel from Algae. Renewable Energy Laboratory.
- Shelef, G., Sukenik, A. and Green, M. 1984. Microalgae Harvesting and Processing: A Literature Review. A Subcontract Report. Technion Research and Development Foundation Ltd, Haifa, Israel.
- Uduman, N., et al. 2010. Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement. *Chemical Engineering Journal*. 162: 935-940.

Xu, H., et al. 2006. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *Journal of Biotechnology*. 126: 499-507.

Yamamoto, M., M. Fujishita, et al. 2004. Regeneration and maturation of daughter cell walls in the autospore-forming green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Journal of Plant Research*. 117: 257-264.

พรศักดิ์ สมไกรสรกิจ. Available online: http://www.mwa.co.th/ewt_dl_link.php?nid=441 (สืบค้นเมื่อวันที่ 3 พฤศจิกายน 2555)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายระบบเปิด. Available online: <http://making-biodiesel-books.com/about-algae/algae-cultivation-in-open-ponds/> (สืบค้นเมื่อวันที่ 18 มกราคม 2555)

ไบโอดีเซล. Available online: <http://www.biodiesel.eng.psu.ac.th> (สืบค้นเมื่อวันที่ 30 มกราคม 2555)

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ก-1 แสดงข้อมูลดิบร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของการหาช่วงความเข้มข้นของอลูมิเนียมซัลเฟต เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.73394 และพีเอช เริ่มต้น 8.52 กำหนดให้มีการปรับพีเอชของน้ำสาหร่ายคงที่ เท่ากับ 7

สภาวะ	ความเข้มข้น (mg/l)	ปริมาณ NaOH ที่ใช้ในการปรับพีเอชต่อ น้ำสาหร่าย 500 ml (ml)	OD ₁	OD ₂	OD เฉลี่ย	STD
1	40	0.3	0.049098	0.05046	0.049779	0.0010
2	60	0.9	0.017213	0.016136	0.0166745	0.0008
3	80	1.3	0.016816	0.017761	0.0172885	0.0007
4	100	1.9	0.019792	0.018597	0.0191945	0.0008
5	120	2.4	0.017579	0.01651	0.0170445	0.0008
6	140	2.8	0	0	0	0
7	160	3.4	0	0	0	0
8	180	4.4	0	0	0	0
9	200	4.9	0	0	0	0

ตัวอย่างการคำนวณหาร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ที่ความเข้มข้น 40 mg/l พีเอช 7

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว} = [(0.73394 - 0.049779) / 0.73394] \times 100 = 93.22$$

ตารางที่ ก-2 แสดงข้อมูลดิบร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของการหาช่วงพีเอชที่เหมาะสมในการตกจมสาหร่ายด้วยอลูมิเนียมซัลเฟต เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.73394 และพีเอช เริ่มต้น 8.52 กำหนดให้ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนคงที่ เท่ากับ 140 มิลลิกรัมต่อลิตร

สภาวะ	พีเอช	ปริมาณ NaOH ที่ใช้ในการปรับพีเอชต่อน้ำสาหร่าย 500 ml (ml)	OD ₁	OD ₂	OD เฉลี่ย	STD
1	6	0.6	0.010938	0.010689	0.0108135	0.0002
2	7	1.9	0.002194	0.002152	0.002173	0
3	8	3.0	0	0	0	0
4	9	7.1	0.020948	0.026383	0.0236655	0.0038
5	10	19	0.026534	0.025887	0.0262105	0.0005

ตัวอย่างการคำนวณหาร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ที่ความเข้มข้น 140 mg/l พีเอช 6

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว} = [(0.73394 - 0.0108135) / 0.73394] \times 100 = 98.53$$

ตารางที่ ก-3 แสดงข้อมูลดิบร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของการหาช่วงความเข้มข้นของเฟอริคคลอไรด์ เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.83292 และพีเอช เริ่มต้น 8.62 กำหนดให้มีการปรับพีเอชของน้ำสาหร่ายคงที่ เท่ากับ 7

สภาวะ	ความเข้มข้น (mg/l)	ปริมาณ NaOH ที่ใช้ในการปรับพีเอชต่อน้ำสาหร่าย 500 ml (ml)	OD ₁	OD ₂	OD เฉลี่ย	STD
1	40	0.4	0.014819	0.013848	0.0143335	0.0007
2	60	1.0	0.0008118	0.0008842	0.00084802	0.0001
3	80	1.0	0	0	0	0
4	100	2.4	0	0	0	0
5	120	3.0	0	0	0	0
6	140	3.6	0	0	0	0
7	160	4.2	0	0	0	0
8	180	6.1	0	0	0	0
9	200	6.8	0	0	0	0

ตัวอย่างการคำนวณหาร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ที่ความเข้มข้น 40 mg/l พีเอช 7

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว} = [(0.83292 - 0.0143335) / 0.83292] \times 100 = 98.28$$

ตารางที่ ก-4 แสดงข้อมูลดิบร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของการหาช่วงพีเอชที่เหมาะสมในการตกจมสาหร่ายด้วยเฟอริคคลอไรด์ เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 0.83292 และพีเอช เริ่มต้น 8.62 กำหนดให้ความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอนคงที่ เท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร

สภาวะ	พีเอช	ปริมาณ NaOH ที่ใช้ในการปรับพีเอชต่อน้ำสาหร่าย 500 ml (ml)	OD ₁	OD ₂	OD เหลือ	STD
1	6	2.5	0.0063033	0.006444	0.00637365	9.9E-05
2	7	3.8	0.003536	0.003545	0.0035405	6.4E-06
3	8	4.6	0	0	0	0
4	9	7.0	0.0133	0.013292	0.013296	5.7E-06
5	10	13	0.015195	0.01575	0.0154725	3.9E-04

ตัวอย่างการคำนวณหาร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ที่ความเข้มข้น 40 mg/l พีเอช 6

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว} = [(0.83292 - 0.00637365) / 0.83292] \times 100 = 99.23$$

ตารางที่ ก-5 แสดงข้อมูลคิปร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากการตกจมสาหร่ายด้วย
 อลูมิเนียมซัลเฟต เมื่อใช้เทคนิค RSM ในการออกแบบสภาวะการทดลอง สาหร่ายมี
 ค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.67106 และ พีเอช เริ่มต้น 9.00

สภาวะ	ความ เข้มข้น (mg/l)	พีเอช	ปริมาณ NaOH ที่ใช้ใน การปรับพีเอชต่อน้ำ สาหร่าย 500 ml (ml)	OD1	OD2	ODเฉลี่ย
1	115	6.0	0.6	0.0020666	0.0018778	0.0019722
2	55	9.4	8.5	0.016998	0.016249	0.0166235
3	115	8.0	4.0	0.0032057	0.0030827	0.0031442
4	115	8.0	4.0	0.0032748	0.0033054	0.0032901
5	30	8.0	0.1	0.057521	0.057296	0.0574085
6	200	8.0	7.5	0.0174077	0.0168612	0.01713445
7	175	9.4	17.5	0.010108	0.010082	0.010095
8	175	6.6	3.5	0.0051022	0.0042596	0.0046809
9	115	10.0	16.1	0.0130081	0.0131023	0.01305524
10	115	8.0	3.0	0.0032011	0.0031992	0.00320015
11	55	6.6	0	0.03219	0.032279	0.0322345

ตัวอย่างการคำนวณหาร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ที่ความเข้มข้น 115 mg/l พีเอช 6

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว} = [(0.67106 - 0.0019722) / 0.67106] \times 100 = 99.71$$

ตารางที่ ก-6 แสดงข้อมูลดิบร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากการตกจมสาหร่ายด้วย
เฟอริคคลอไรด์ เมื่อใช้เทคนิค RSM ในการออกแบบสภาวะการทดลอง สาหร่ายมีค่า
OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.67603 และพีเอช เริ่มต้น 8.43

สภาวะ	ความ เข้มข้น (mg/l)	พีเอช	ปริมาณ NaOH ที่ใช้ใน การปรับพีเอชต่อน้ำ สาหร่าย 500 ml (ml)	OD1	OD2	ODเฉลี่ย
1	115	6.0	1.3	0.0015234	0.001224	0.0013737
2	55	9.4	4.5	0.0184953	0.0186583	0.0185768
3	115	8.0	3.7	0.00014911	0.00013421	0.00014166
4	115	8.0	3.9	0.000102	0.0001142	0.0001081
5	30	8.0	0.7	0.026468	0.026615	0.0265415
6	200	8.0	7.6	0.003712	0.0038123	0.00376215
7	175	9.4	10.8	0.0037661	0.0027733	0.0032697
8	175	6.6	4.7	0.0064697	0.0069124	0.00669105
9	115	10.0	10.5	0.00454809	0.0045802	0.00456415
10	115	8.0	3.8	0.00013912	0.00013814	0.00013863
11	55	6.6	0.2	0.0231	0.02143	0.022265

ตัวอย่างการคำนวณหาร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ที่ความเข้มข้น 115 mg/l พีเอช 6

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว} = [(0.67603 - 0.0013737) / 0.67603] \times 100 = 99.80$$

ตารางที่ ก-7 แสดงข้อมูลปริมาณร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของเวลาการตกจม เมื่อใช้ลุมิเนียมซัลเฟตเป็นสารช่วยตกตะกอน ที่สภาวะความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน 152 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 6 เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.64153 และพีเอช เริ่มต้น 9.14

เวลาตกจม (นาที)	OD1	OD2	OD3	ODเฉลี่ย
5	0.16695	0.16251	0.16222	0.163893
10	0.092715	0.089531	0.087881	0.090042
15	0.049968	0.048141	0.048394	0.048834
20	0.033452	0.031772	0.031329	0.032184
40	0.0035253	0.0037379	0.0033398	0.003534
60	0	0	0	0
80	0	0	0	0
100	0	0	0	0
120	0	0	0	0
140	0	0	0	0
160	0	0	0	0
180	0	0	0	0
200	0	0	0	0

ตัวอย่างการคำนวณหาร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ที่เวลาตกจม เท่ากับ 40 นาที

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว} = [(0.64153 - 0.163893) / 0.64153] \times 100 = 74.45$$

ตารางที่ ก-8 แสดงข้อมูลคิบริ้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย จากผลของเวลาการตกจม เมื่อใช้เฟอริคคลอไรด์เป็นสารช่วยตกตะกอน ที่สภาวะความเข้มข้นของสารช่วยตกตะกอน 143 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 8.1 เมื่อสาหร่ายมีค่า OD เริ่มต้น เท่ากับ 0.64153 และพีเอช เริ่มต้น 9.14

เวลาตกจม (นาที)	OD1	OD2	OD3	OD เฉลี่ย
5	0.10724	0.10271	0.10219	0.10405
10	0.059944	0.056832	0.055822	0.05753
15	0.027077	0.025584	0.025681	0.02611
20	0.019455	0.018991	0.021234	0.01989
40	0	0	0	0.00000
60	0	0	0	0.00000
80	0	0	0	0.00000
100	0	0	0	0.00000
120	0	0	0	0.00000
140	0	0	0	0.00000
160	0	0	0	0.00000
180	0	0	0	0.00000
200	0	0	0	0.00000

ตัวอย่างการคำนวณหาร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวสาหร่าย ที่เวลาตกจม เท่ากับ 40 นาที

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว} = [(0.64153 - 0.10405) / 0.64153] \times 100 = 83.78$$

ตารางที่ ก-9 แสดงข้อมูลคิบริยละเอียดประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว เมื่อใช้สหาร่ายจากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่มีค่า OD เริ่มต้นเท่ากับ 3.3871 พีเอช เท่ากับ 9.75

สภาวะ	ความเข้มข้น (mg/l)	พีเอช	เวลาดกวม (นาที)	ปริมาณ NaOH ที่ใช้ในการปรับพีเอชต่อ น้ำสหาร่าย 500 ml (ml)	ปริมาณ CH ₃ COOH ที่ใช้ในการปรับ พีเอช ต่อ น้ำสหาร่าย 500 ml (ml)	OD ₁	OD ₂	OD เฉลี่ย
1	อลูมิเนียมซัลเฟต 152 mg/l	6	60		7.5	1.0666	1.0317	1.0492
2	เฟอร์ริกคลอไรด์ 143 mg/l	8.1	40	1.9		1.4668	1.477	1.4719
3	ไม่เติม	10	60	2.2		3.1187	3.0732	3.0960
4	ไม่เติม	10.2	40	4.4		3.0432	3.0571	3.0502
5	ไม่เติม	10.2	60	4.2		3.19	3.1385	3.1643
6	ไม่เติม	10	40	2.2		3.1574	3.2592	3.2083

ตารางที่ ก-10 แสดงข้อมูลดิบร้อยละกรดไขมันอิสระของสารที่สกัดได้จากสาหร่าย

ครั้งที่	น้ำหนักน้ำมัน (กรัม)	เอทิลแอลกอฮอล์ที่ใช้ (มิลลิกรัม)	ปริมาณ NaOH ที่ ใช้ในการไตเตรท	ร้อยละ กรดไขมันอิสระ
1	0.0308	50	0.6	23.69
2	0.0316	50	0.5	19.24
3	0.0305	50	0.5	19.93
ร้อยละกรดไขมันอิสระ (เฉลี่ย)				20.95

ตารางที่ ก-11 แสดงข้อมูลดิบร้อยละกรดไขมันอิสระของสารสกัดชั้นบน เมื่อทำการเหวี่ยงแยกสารที่สกัดได้จากสาหร่ายออกเป็น 2 ชั้น

ครั้งที่	น้ำหนักน้ำมัน (กรัม)	เอทิลแอลกอฮอล์ที่ใช้ (มิลลิกรัม)	ปริมาณ NaOH ที่ ใช้ในการไตเตรท	ร้อยละ กรดไขมันอิสระ
1	0.03	50	0.3	12.16
2	0.0308	50	0.4	15.79
3	0.1314	50	1.3	12.03
ร้อยละกรดไขมันอิสระของชั้นบน (เฉลี่ย)				13.33

ตารางที่ ก-12 แสดงข้อมูลดิบร้อยละกรดไขมันอิสระของสารสกัดชั้นล่าง เมื่อทำการเหวี่ยงแยกสารที่สกัดได้จากสาหร่ายออกเป็น 2 ชั้น

ครั้งที่	น้ำหนักน้ำมัน (กรัม)	เอทิลแอลกอฮอล์ที่ใช้ (มิลลิกรัม)	ปริมาณ NaOH ที่ ใช้ในการไตเตรท	ร้อยละ กรดไขมันอิสระ
1	0.0303	50	0.6	24.08
2	0.0318	50	0.65	24.86
3	0.0344	50	0.7	24.74
ร้อยละกรดไขมันอิสระของชั้นล่าง (เฉลี่ย)				24.56

ภาคผนวก ข

วิธีการตรวจวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

1. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตกตะกอนด้วยเครื่อง UV- Spectrophotometer

วัสดุอุปกรณ์

1. น้ำสาหร่ายเริ่มต้น



ภาพประกอบที่ ข-1 น้ำสาหร่ายเริ่มต้น

3. น้ำเลี้ยงสาหร่าย

4. น้ำกลั่น

5. ภาชนะใส่ตัวอย่าง (Cuvette)

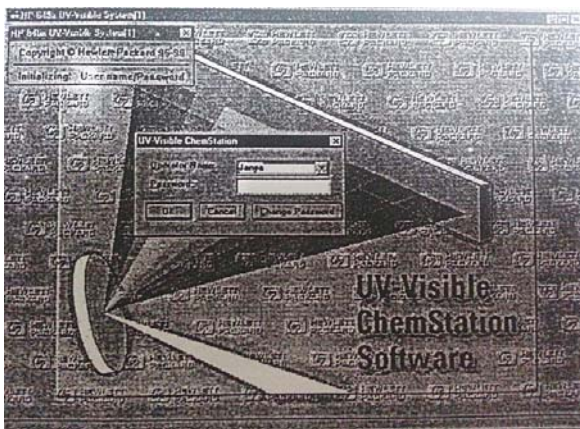


ภาพประกอบที่ ข-2 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง UV- Spectrophotometer

วิธีการวิเคราะห์

การเตรียมความพร้อม

1. เปิดเครื่องควบคุมแรงดันไฟฟ้า (UPS), คอมพิวเตอร์ และเครื่อง UV-Spectrophotometer อุณหภูมิเครื่องไว้ประมาณ 45 นาที
2. คลิกคำสั่ง Cont. Alt. Delete แล้วคลิก OK เพื่อเข้าสู่เมนูหน้าจอคอมพิวเตอร์
3. เลือก Instrument Online จะเข้าสู่การทำงานบน Chemstation



ภาพประกอบที่ ข-3 รูปแบบโปรแกรม Chemstation ที่ใช้ในการวิเคราะห์

หาความยาวคลื่นที่ดีที่สุดในการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเริ่มต้น

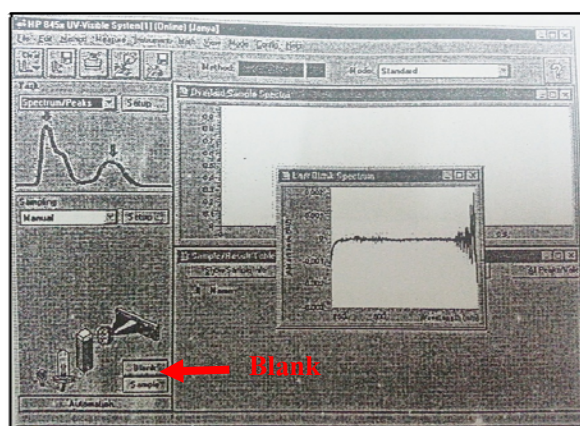
1. สร้าง Method ขึ้นมา โดยคลิกที่ File เลือก New method
2. ที่ Mode เลือกเป็น Standard และที่ Task เลือกเป็น Spectrum Peak
3. ใส่น้ำละลาย แบลงค์ (ในที่นี้ใช้น้ำเลี้ยงสาหร่าย) ในเซลล์ (Cuvette) ใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้ง แล้วเช็ดให้สะอาด จากนั้นวางลงในช่องแสงผ่าน ดังภาพประกอบที่ ข-4 โดยให้ส่วนสีทึบเข้าหาทิศทางแสงผ่าน ล็อกตำแหน่งวางเซลล์



ช่องใส่เซลล์

ภาพประกอบที่ ข-4 ช่องใส่เซลล์ (Cuvette) ของเครื่อง UV- Spectrophotometer

4. คลิก Blank เครื่องจะวัดการดูดกลืน (Absorbance) ของเบลงค์



ภาพประกอบที่ ข-5 เบสไลน์ของเบลงค์

ข้อสังเกต เบสไลน์ของเบลงค์ควรเป็นเส้นตรง หากไม่ตรงแสดงว่าอาจมีสิ่งสกปรก หรือ ฟองอากาศในเซลล์ (Cuvette)

5. นำน้ำสาหร่ายที่ยังไม่ผ่านการตกตะกอน ใส่ในเซลล์ ล้างเซลล์ คลิกที่ Sample เครื่องจะสแกนความยาวคลื่นมาให้ 3 ความยาวคลื่น เรียงลำดับจากมากไปหาน้อย นำความยาวคลื่นที่ดีที่สุดไปวิเคราะห์ต่อไป ในที่นี้คือที่ความยาวคลื่น 318 nm

หาค่า Optical density (OD) ของตัวอย่างที่สภาวะต่างๆ

1. ตี้น้ำส่วนบนของตัวอย่างที่ผ่านการตกตะกอนที่สภาวะต่างๆ มาตัวอย่างละ 30 มิลลิลิตร
2. สร้าง Method ขึ้นมา โดยคลิกที่ File เลือก New method
3. ที่ Mode เลือกเป็น Standard และที่ Task เลือกเป็น Fix Peak จากนั้นใส่ค่าความยาวคลื่นที่ต้องการ ในที่นี้คือ 318 nm เนื่องจากเป็นความยาวคลื่นที่ดีที่สุดที่สามารถดูดกลืนแสงได้
4. ใส่สารละลายแบลลงค์ (ในที่นี้ใช้น้ำเลี้ยงสาหร่าย) ในเซลล์ (Cuvette)
5. คลิก Blank
6. ใส่ตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ลงในเซลล์ ปริมาณ 5 มิลลิลิตร คลิกที่ Sample จดบันทึกค่าที่ได้
7. นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว

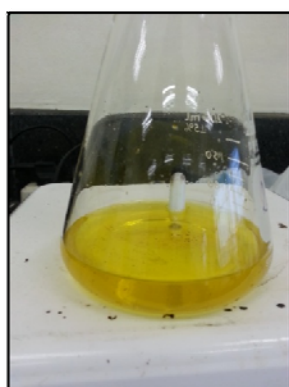
2. วิธีการวิเคราะห์กรดไขมันอิสระ

วัสดุอุปกรณ์

1. เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.05 M
3. ฟีนอล์ฟทาลีน
4. ขวดรูปชมพูนขนาด 100 มิลลิลิตร
5. แมกเนติกสเตอเรียร์
6. บิวเรต

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างน้ำมัน 0.01 - 0.5 กรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกลาง โดยการเติมฟีนอล์ฟทาลีน 10 หยด แล้วปรับให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.05 M จนเปลี่ยนเป็นสีชมพูถาวร
3. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ที่เป็นกลาง 50 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง ทำการกวนให้ตัวอย่างละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ด้วยแมกเนติกสเตอโรร์ ถ้าละลายได้ไม่ดีให้อุ่นที่อุณหภูมิ 60-65 °C
4. หยดฟีนอล์ฟทาลีนลงในตัวอย่าง 10 หยด
5. ไตเตรตสารละลายตัวอย่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05 M จนได้สีชมพูคงที่



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ ข-6 การเปลี่ยนสีของน้ำมัน เมื่อไตเตรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ก) สารละลายเริ่มต้นก่อนการไตเตรต (ข) สารละลายตัวอย่างที่ได้หลังการไตเตรต

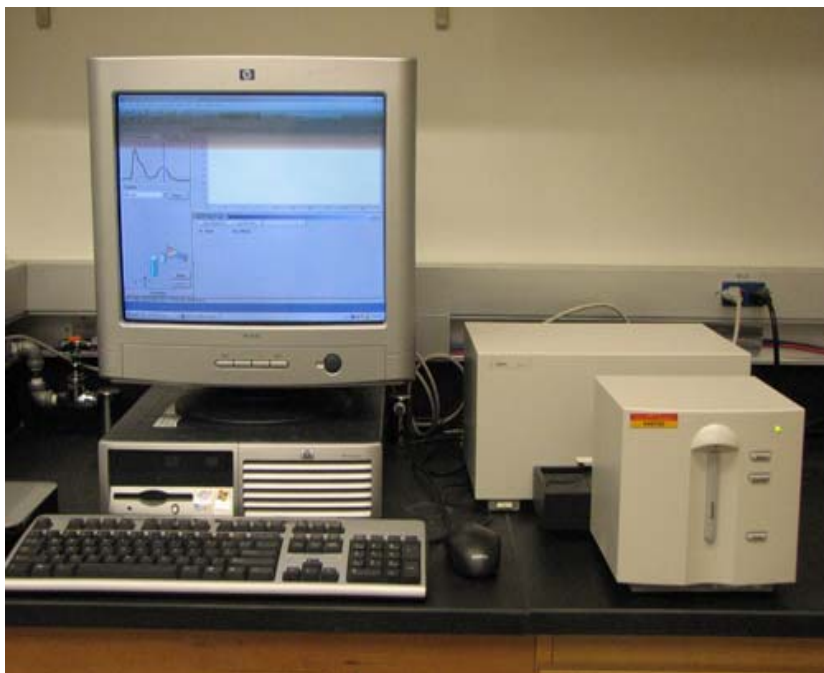
6. คำนวณปริมาณกรดไขมันอิสระจากสูตร

$$\text{ร้อยละกรดไขมันอิสระ} = \frac{\text{ปริมาณค่าที่ใช้ (มิลลิลิตร)} \times \text{ความเข้มข้นค่า (M)} \times 25.6}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ภาคผนวก ค

เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์และใช้ในการทดลอง

1. เครื่อง UV-Vis spectroscopy



ภาพประกอบที่ ค-1 แสดงภาพเครื่อง UV-Vis spectroscopy

ยี่ห้อและรุ่นของเครื่องมือ

UV-Vis spectroscopy ยี่ห้อ Agilent รุ่น 8453

2. เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)



ภาพประกอบที่ ค-2 แสดงภาพเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)

ยี่ห้อและรุ่นของเครื่องมือ

เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน ยี่ห้อ Heidolph รุ่น Laborota 4000 Efficient evaporator

3. เครื่อง Freeze Dryer (Freezedry)



ภาพประกอบที่ ค-3 แสดงภาพเครื่อง Freezedry

ยี่ห้อและรุ่นของเครื่องมือ

Freezedry ยี่ห้อ FTS Systems รุ่น DuraDry

Freezedry ยี่ห้อ FTS Systems รุ่น FlexiDry

4. เครื่อง Gas Chromatograph (GC)



ภาพประกอบที่ ค-4 แสดงภาพเครื่อง Gas Chromatograph (GC)

ยี่ห้อและรุ่นของเครื่องมือ

Gas Chromatograph ยี่ห้อ Agilent รุ่น 7890A

Gas Chromatograph ยี่ห้อ Hewlett Packard รุ่น 6890A

5. เครื่องอัลตราโซนิก



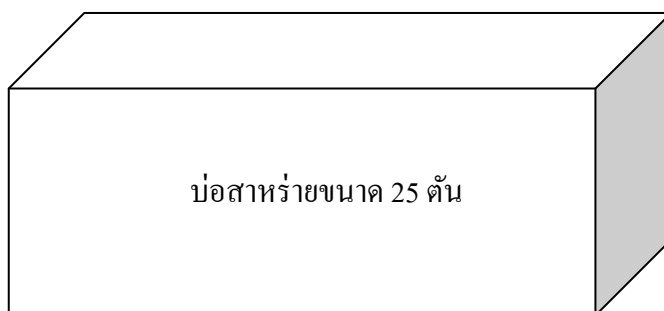
ภาพประกอบที่ ค-5 แสดงภาพเครื่องอัลตราโซนิก

ยี่ห้อและรุ่นของเครื่องมือ

Ultrasonic ยี่ห้อ Equipment รุ่น YPSH1020204

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์



บ่อสำหรับขนาด 25 ตัน จะทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายปริมาณ 20 ตัน โดยมีวิธีการเพาะเลี้ยง ดังนี้

1. เติมหิวเชื้อปริมาณ 10 ตันลงในบ่อ ด้วยวิธีกลักน้ำ โดยหิวเชื้อที่ใช้จะเป็นน้ำสาหร่ายจากบ่อด้านข้างที่มีการเพาะเลี้ยงไว้อยู่แล้ว
2. เติมน้ำเค็มปริมาณ 10 ตัน โดยใช้วิธีการสูบน้ำจากทะเลด้วยปั๊มหอยโข่ง
3. เติมหาอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ ปุ๋ยยูเรีย 750 กรัมต่อปริมาตรน้ำเค็ม 10 ตัน และปุ๋ยนา 150 กรัมต่อปริมาตรน้ำเค็ม 10 ตัน
4. ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 อาทิตย์ ก็สามารถนำมาใช้ได้

1. การประมาณค่าพลังงานไฟฟ้าทั้งหมดที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ในบ่อ ขนาด 25 ตัน

การประมาณราคาค่าไฟฟ้าที่ใช้ ทำโดยการประมาณจากค่ากำลังไฟฟ้าของอุปกรณ์จำพวกปั๊มที่ใช้ในกระบวนการ ในที่นี้คือ ปั๊มหอยโข่ง ซึ่งเป็นปั๊มที่ใช้สูบน้ำเค็มจากทะเล ดังแสดงในภาพประกอบที่ ง-1 โดย 1 บ่อ จะใช้ปริมาณน้ำเค็ม 10 ตัน



ภาพประกอบที่ ง-1 ปั๊มหอยโข่งสำหรับสูบน้ำเค็มจากทะเล

รายละเอียดของปั๊มหอยโข่ง

- * ท่อดูด-ส่ง: 3 นิ้ว
- * มอเตอร์: 3 แรงม้า หรือ 2.2371 กิโลวัตต์, ความเร็วรอบ 2850 รอบต่อนาที, กำลังไฟฟ้า 220 V/50 Hz.
- * ปริมาณน้ำ: 700 ลิตรต่อนาที
- * สูงสูง: 20 เมตร

ระยะเวลาการใช้งาน

ระยะเวลาการใช้งานต่อปริมาณน้ำเค็ม 10 ตัน ที่ต้องใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 บ่อ เท่ากับ 0.5 ชั่วโมง

ตารางที่ ง-1 อัตราค่าไฟฟ้าประเภทกิจกรรมขนาดเล็ก ซึ่งมีความต้องการพลังไฟฟ้าเฉลี่ยใน 15 นาที สูงสุดต่ำกว่า 30 กิโลวัตต์ โดยต่อผ่านเครื่องวัดไฟฟ้าเครื่องเดียว (การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค, 2555)

อัตราการใช้พลังงานไฟฟ้า	ค่าพลังงานไฟฟ้า (บาท/หน่วย)
150 หน่วยแรก (หน่วยที่ 0 – 150)	2.7628
250 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 151 – 400)	3.7362
เกิน 400 หน่วยขึ้นไป (หน่วยที่ 401 เป็นต้นไป)	3.9361

การประมาณค่าพลังงานที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อ ขนาด 25 ตัน เพื่อใช้เป็นข้อมูลนำไปวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์

การประเมินค่าพลังงานไฟฟ้าทั้งหมดที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้จากสมการ

$$\text{Cost} = W \times C$$

โดย W = กำลังไฟฟ้า (กิโลวัตต์)

C = ค่าพลังงานไฟฟ้าต่อหน่วย (บาทต่อกิโลวัตต์ชั่วโมง)

การคำนวณ

คำนวณค่าไฟฟ้าที่ต้องใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 บ่อ จากข้อมูลกำลังไฟฟ้าของอุปกรณ์ (กิโลวัตต์) และระยะเวลาการใช้งาน จะได้ว่า ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 บ่อใช้กำลังไฟฟ้าเท่ากับ $(2.2371 \times 0.5) = 1.12$ หน่วย ดังนั้นต้องจ่ายค่าไฟต่อครั้ง เท่ากับ $1.12 \times 2.7628 = 3.09$ บาท

2. การประมาณค่าอาหารเลี้ยงสาหร่ายทั้งหมดที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ในบ่อ ขนาด 25 ตัน

ราคาสารเคมี

1. ปุ๋ยยูเรีย สูตร 46-0-0 ตราหัววัว-คันไถ ราคา 1,050 บาท/50 กิโลกรัม
2. ปุ๋ยนา ตราหัววัว-คันไถ ราคา 980 บาท/50 กิโลกรัม

การคำนวณ

จากข้อมูลการใช้สารเคมีในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ใน 1 บ่อ จะใช้ปุ๋ยยูเรีย ปริมาตร 750 กรัม คิดเป็นเงิน $(1050 \times 750) / 50000 = 15.75$ บาท และใช้ปุ๋ยนา ปริมาตร 150 กรัม คิดเป็นเงิน $(980 \times 150) / 50000 = 2.94$ บาท ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 บ่อ จะมีค่าใช้จ่ายในส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด เท่ากับ 18.69 บาท

3. การประมาณค่าแรงงาน

การคำนวณค่าแรงงานในการทำงาน จะต้องคำนึงถึงชั่วโมงที่ทำในแต่ละวัน เพื่อให้ค่าจ้างที่ผู้ใช้แรงงานจะได้รับอย่างเหมาะสมกับภาระงานที่ทำได้แต่ละวัน โดยอัตราค่าแรงงานขั้นต่ำของผู้ใช้แรงงานของ อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ปี 2556 คือ 300 บาทต่อวัน ระยะเวลาการทำงาน 8 ชั่วโมงต่อวัน หรือคิดอัตราค่าแรง $300/8 = 37.5$ บาทต่อวัน

การคำนวณ

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 บ่อ ปริมาณน้ำสาหร่าย 20 ตัน จะใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 2 อาทิตย์ ก็สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับนำไปสกัดน้ำมันได้ ดังนั้นค่าแรงในการจ้างคนงานต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 บ่อ จะอยู่ที่ $14 \times 300 = 4,200$ บาทต่อ 14 วัน

4. ประมาณค่าใช้จ่ายทั้งหมดต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 บ่อ

- ค่าไฟฟ้า เท่ากับ 3.09 บาท
- ค่าสารเคมี เท่ากับ 18.69 บาท
- ค่าแรงงาน เท่ากับ 4,200 บาท

จากการประเมินค่าใช้จ่ายทั้งหมดที่ต้องใช้ต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1 บ่อ พบว่ามีค่าใช้จ่ายทั้งหมดเท่ากับ $3.09 + 18.69 + 4,200 = 4,221.78$ บาท ต่อปริมาณน้ำสาหร่ายที่ได้ 20 ตัน ดังนั้นต้นทุนของน้ำสาหร่าย 1 ลิตร เท่ากับ 0.211 บาท

ภาคผนวก จ

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

เรื่อง Optimization of Flocculation of Marine *Chlorella* sp. by Response Surface
Methodology

**THAILAND CHEMICAL ENGINEERING
AND APPLIED CHEMISTRY CONFERENCE (TIChE)
INTERNATIONAL CONFERENCE 2011**

SOCIALLY RESPONSIBLE/ENVIRONMENTALLY ACCOUNTABLE

ENERGY TECHNOLOGY
CATALYST AND REACTION ENGINEERING
ENVIRONMENTAL AND SAFETY TECHNOLOGY
FOOD AND BIOCHEMICAL ENGINEERING
MATERIAL SCIENCE AND ENGINEERING
FUNDAMENTAL OF CHEMICAL ENGINEERING AND APPLIED CHEMISTRY
POLYMER AND PETROCHEMICAL TECHNOLOGY
PROCESS AND CONTROL ENGINEERING
SEPARATION AND PURIFICATION TECHNOLOGY
PALM TECHNOLOGY

NOVEMBER 10 - 11, 2011

THE 60TH ANNIVERSARY OF HIS MAJESTY THE KING'S
ACCESSION TO THE THRONE INTERNATIONAL CONVENTION CENTER,
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY,
HATYAI SONGKHLA, THAILAND

ORGANIZED BY
THE THAI INSTITUTE OF CHEMICAL ENGINEERING AND APPLIED CHEMISTRY
DEPARTMENT OF CHEMICAL ENGINEERING, FACULTY OF ENGINEERING, PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY (PSU)
NATIONAL RESEARCH UNIVERSITY - PALM TECHNOLOGY CLUSTER

Optimization of Flocculation of Marine *Chlorella* sp. by Response Surface Methodology

Naruetsawan Sanyano^{1*}, Pakamas Chetpattananondh¹, Sininart Chongkhong¹

¹ Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering,

Prince of Songkla University, Songkhla, 90112, Thailand

*e-mail: Naruetsawan_S@hotmail.com

Abstract – Harvesting is one of the key processes that determine the feasibility of algal biodiesel production. The cost of algae harvesting can be high, since the mass fractions in culture broth are generally low, while the cells normally carry negative charge and excess algogenic organic matters to keep them suspended in water. One of the most promising harvesting techniques appears to be flocculation. In this work, the ability of two flocculants: aluminum sulphate (alum) and ferric chloride in harvesting of marine *Chlorella* sp. was investigated. The standard jar stirrer test at varying pH, coagulant dosage and flocculation time were operated with the experimental design by response surface methodology (RSM). The empirical models from RSM are in a good agreement with the experimental results. The optimum flocculation efficiency was achieved at a dosage of 120 mg/L at pH 10 for flocculation time of 48 hr for both alum and ferric chloride. Using ferric chloride gave higher efficiency, but also higher cost.

Keyword: *Microalgae, Flocculation, Harvesting, Alum, Ferric chloride*

1. INTRODUCTION

Petroleum fuels should be replaced by renewable biofuels due to the limited availability and the contribution to accumulation of carbon dioxide in the environment leading to global warming [1,2]. Biodiesel (monoalkyl esters) is a potential renewable and carbon neutral alternative to petroleum fuels, which is obtained by the transesterification of triglyceride oil with monohydric alcohols [3]. Major sources of triglycerides for biodiesel production are crop oils such as canola, soybean, palm or sunflower oils [4]. However, these edible oils cannot realistically satisfy to replace all uses of petroleum fuels due to their high cost with adversely impacting of supply of food and other agricultural products.

Microalgae are suggested as more sustainable candidates for fuel production because of their advantages of higher photosynthetic efficiency, higher biomass production and faster growth compared to other energy crops [5]. Algae are simple organisms that are mainly aquatic and microscopic. Microalgae are unicellular photosynthetic microorganisms, living in saline or freshwater environments that convert sunlight, water and carbon dioxide to algal biomass [6,7]. If cultivated efficiently with the right conditions, algae can multiply their weight several times in a day. This is beneficial as it would possible for daily harvesting, unlike other biodiesel feedstocks [8]. In biodiesel production, microalgae are needed to be concentrated as much as possible to simplify the lipid extraction step. Increased product concentration decreases the cost of extraction and purification as well as the effective unit cost of the raw biomass. The techniques currently used in microalgae harvesting and recovery are centrifugation, filtration and screening, gravity sedimentation, flotation, electrophoresis techniques and flocculation [9]. Each technique has its disadvantages that affect the overall economics of the process. Centrifugation requires high energy input and high initial capital cost. Filtration and screening require regular replacement of filters, screens and membranes. Gravity sedimentation is a slow process. Electro-flotation requires the replacement of worn electrodes with a high cost of electricity.

Flocculation is a low energy process, but can be expensive if the flocculant is costly and the dosage is high. However, coagulation-flocculation is considered as a potential viable microalgae dewatering process if cheap flocculants such as ferric chloride, aluminium sulphate (alum), chitosan and various polymeric flocculants are used [10, 11, 12].

Flocculation efficiency depends upon how precisely flocculant dosage, pH and flocculation time are chosen, which requires a particular set of experiments. Response surface methodology (RSM) is a technique that can help researchers to design experiment, build models, evaluate the effects of several factors and achieve the optimum conditions for desirable responses without running too many experiments.

In this study the flocculation efficiencies of alum and ferric chloride in harvesting *Chlorella* sp. were investigated by varying pH, flocculant dosage and flocculation time using RSM as an optimization tool.

2. Material and Methods

2.1. Algae

Water containing suspended cells of *Chlorella* sp. was obtained from Faculty of Agro Industry, Prince of Songkla University. The suspensions had an original pH of 8.75

2.2. Flocculation Procedure

Alum and ferric chloride used were commercial grade. The complete flocculation procedure is show in Fig.1. pH was adjusted in a range of 6 – 10 with flocculant dosage of 30 - 120 mg/l and flocculation time 1- 48 hr. After a settling period, samples were taken specifically at the 200 ml position for optical density (OD) measurement at 510 nm (OD510) with an UV-spectrophotometer. The biomass density and OD are linearly correlated, thus Eq. (1) was used to calculate the harvesting efficiency, Heff (%).

$$\text{Heff (\%)} = 1 - [\text{final OD} / \text{initial OD}] \quad (1)$$

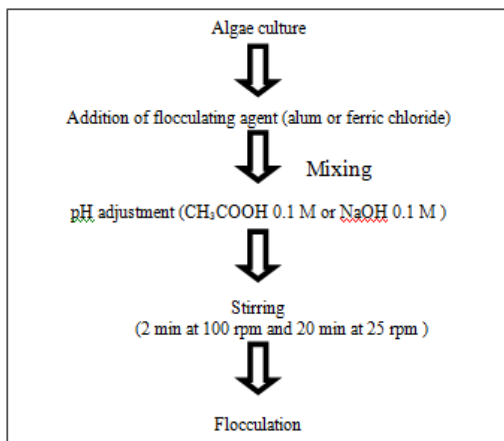


Fig. 1. Flocculation procedure by alum or ferric chloride

2.3. Response surface methodology (RSM)

RSM with a Box–Behnken design was used to optimize the three variables: flocculant concentration, pH and flocculation time. The Box–Behnken design contained a total of 15 experiments with the first 12 experiments organized in a factorial design with the experimental trials from 13 to 15 involving the replication of the central point. The independent variable used in this study was coded according to Eq. (2).

$$x_{\text{coded}} = \frac{X_{\text{Actual}} - (X_{\text{Hi}} + X_{\text{Low}})/2}{(X_{\text{Hi}} - X_{\text{Low}})/2} \quad (2)$$

Where x_{coded} is the dimensionless coded value of the independent variable, X_{Actual} is the actual value of the independent variable, X_{Hi} and X_{Low} are the high and low independent variables. The behavior of the system is explained by the following empirical second-order polynomial model, Eq. (3).

$$Y_i = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ii} x_{ii}^2 + \sum a_{ij} x_i x_j + e \quad (3)$$

Where Y is the predicted response, a_0 is the constant coefficient, a_i is the i th linear coefficient, a_{ii} is the i th quadratic coefficient, a_{ij} is the interaction coefficient and e is the error of the model.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Response Surface Models

The application of the response surface methodology indicated an empirical relationship between the response and input variables expressed by Eq. (4) and Eq. (5).

$$Y_1(\%) = 32.22 + 3.19 x_1 + 6.96x_2 + 11.2 x_3 - 3.567 x_1^2 + 12.47x_2^2 - 4.377x_3^2 + 1.115 x_1x_2 + 3.475 x_1x_3 + 4.355 x_2x_3 \quad (4)$$

$$Y_2(\%) = 44.33 + 8.91 x_1 + 9.621 x_2 + 7.576 x_3 - 4.381x_1^2 + 7.026 x_2^2 - 1.229x_3^2 + 0.915x_1x_2 + 2.035 x_1x_3 + 5.963 x_2x_3 \quad (5)$$

Where x_1 , x_2 and x_3 are three independent variables, Y_1 and Y_2 are flocculation efficiency of alum and ferric chloride, respectively.

From Eq. (4) the first order effect of time (x_3) and second order main effect of pH (x_2) were highly significant. The variable x_3 (time) had positive effect on flocculation process and second order effect pH (x_2) had a significant positive effect on flocculation process by alum. From Eq. (5) the first order effect of pH (x_2) and second order main effect of pH (x_2) were highly significant. The variable x_2 (pH) had positive effect on flocculation process and second order effect pH (x_2) had a significant positive effect on flocculation process by ferric chloride.

3.2. Regression Coefficients and Analysis of Variance (ANOVA)

ANOVA is required to test the significance and adequacy of the model [12]. The ANOVA results are presented in Table 1. The probability values of both predicted models are less than 0.05, indicating that the models are statistically significant. The R^2 values are closed to 1 (0.956 for alum and 0.937 for ferric chloride), suggesting a good agreement to the experimental results.

Table 1. ANOVA results for response parameters.

Source	Sum of squares	Mean square	F	F-signif. or p value	DF
Regression of alum	2346.3	260.71	11.9	0.0068	9
Regression of ferric chloride	2276.7	252.97	7.98	0.0170	9
Residual of alum	108.99	21.80			5
Residual of ferric chloride	158.32	31.66			5
Total of alum	2455.2				14
Total of ferric chloride	2435.0				14

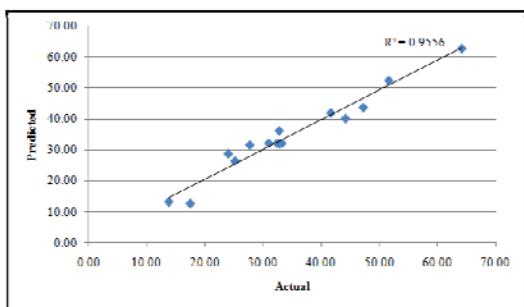


Fig. 2. Flocculation efficiency when used Alum; X = Actual flocculation efficiency and Y = Predicted flocculation efficiency

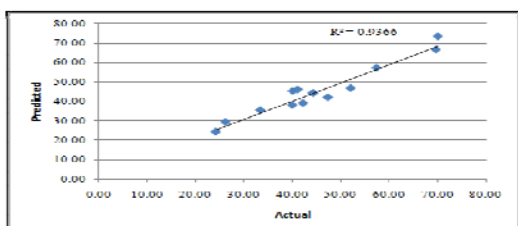


Fig. 3. Flocculation efficiency when used Ferric chloride; X = Actual flocculation efficiency and Y = Predicted flocculation efficiency.

3.3. Results from Surface Plots

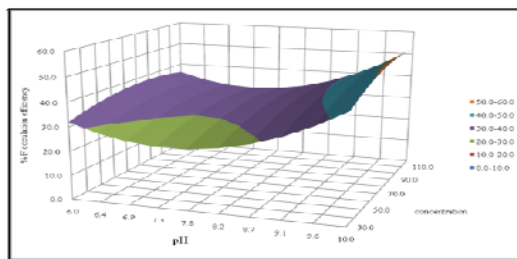


Fig. 4. 3D plot showing effect of concentration of alum and pH on flocculation efficiency

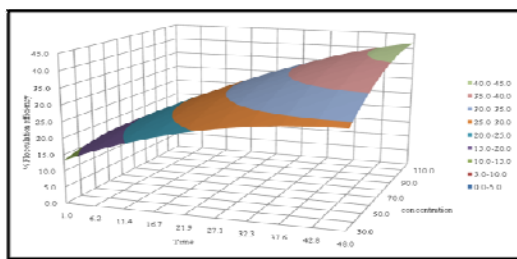


Fig. 5. 3D plot showing effect of concentration of alum and time on flocculation efficiency

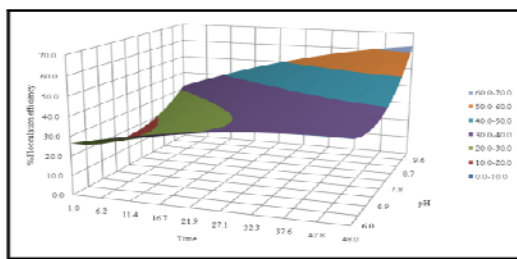


Fig. 6. 3D plot showing effect of pH and time on flocculation efficiency when used alum

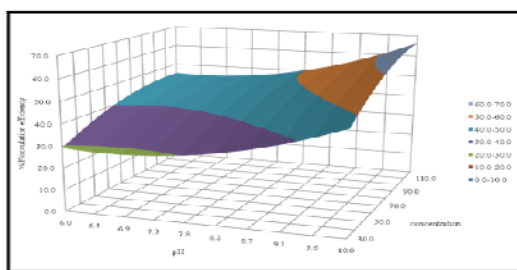


Fig. 7. 3D plot showing effect of concentration of ferric chloride and pH on flocculation efficiency.

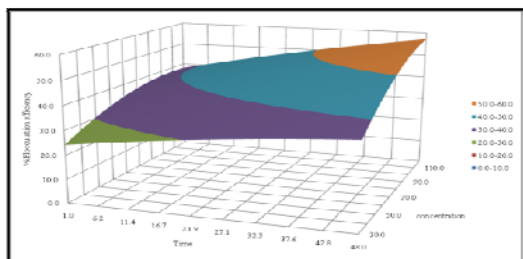


Fig. 8. 3D plot showing effect of concentration of ferric chloride and time on flocculation efficiency.

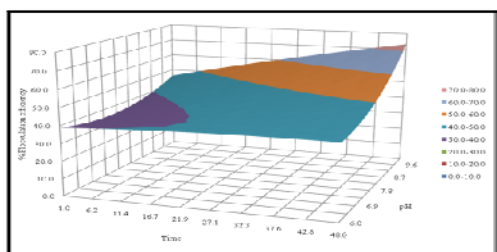


Fig. 9. 3D plot showing effect of pH and time on flocculation efficiency when used ferric chloride.

From Figs. 4 show flocculation efficiency using alum decreased with increasing pH from 6 to 8 and then increased with increasing pH and reached maximum at 52.3% at 120 mg/l dosage. With ferric chloride flocculation efficiency increased with increasing pH and reached maximum at 66.3% at 120 mg/l dosage (Fig. 7).

Figs.5 and 8 represent the effects of concentration and time on the flocculation efficiency using alum and ferric chloride, respectively. The maximum flocculation efficiency was obtained with concentration of 120 mg/l and time of 48 hr for both alum and ferric chloride. Figs. 6 and 9 confirm that the maximum flocculation efficiency was obtained with pH 10 and flocculation of 48 hr.

3.4 Response Optimization and Confirmation

When verifying the models by running further experiments with the optimum condition the observed and predicted flocculation efficiencies are in a good agreement as shown in Table 2. Using of ferric chloride provided higher flocculation efficiency.

Table 2. Flocculation efficiency at optimum values of the process parameters.

	Concentration (mg / L algae)	pH	ti me	Predicted H _{eff} (%)	Observed H _{eff} (%)
Alum	120	10	48	66.94	68.22
Ferric chloride	120	10	48	80.78	83.12

4. Conclusions

RSM can be employed to optimize flocculation of *Chlorella* sp. using alum and ferric chloride. The optimum flocculation efficiency was achieved at a dosage of 120 mg/L at pH 10 for flocculation time of 48 hr for both alum and ferric chloride. With ferric chloride the flocculation efficiency was higher. However, using of ferric chloride is cost 4.22 baht/L of algae, which is higher than using of alum that cost 2.78 baht/L of algae.

5. Acknowledgments

The authors gratefully acknowledged the financial supports from the Energy Policy and Planning Office (EPPO), the Graduate School of Prince of Songkla University, Discipline of Excellence (DoE) in Chemical Engineering, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Prince of Songkla University.

References

- [1] Y. Chisti, Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv* 25 (2007) 294- 306.
- [2] Y. Chisti, Biodiesel from microalgae beats bioethanol, *Trends Biotechnol* 26 (2008) 126-131.
- [3] M.G. Kulkarni, & A.K Dalai., Waste Cooking Oil An Economical Source for Biodiesel: A Review. *Ind Eng Chem Res.* 45 (2006) 2901-2913.
- [4] A. B. M. S. Hossain, A. Salleh, A. N. Boyce, P. Chowdhury, M. Naquiuddin, Biodiesel fuel production from algae as renewable energy, *Am J. Biochem Biotech.* 4 (2008) 250-254.

- [5] Miao, X. & Wu, Q, Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil, *Bioresource and Technology*. 97 (2006) 841-846.
- [6] A. Demirbas, Use of algae as biofuel sources, *Energy Convers Manage* 51 2738-2749.
- [7] I. Ozkurt, Qualifying of safflower and algae for energy, *Energy Educ Sci Technol -A* 23 (2009) 145-151.
- [8] G. H. F. Lim., J.P.Obbard., Das. Probir , NURP Congress Paper Biodiesel from Algae Feedstocks 3 – A Study of the Efficiency of Various Coagulants for Harvesting Freshwater Algae Occurring in Natural Water Bodies, *Environ Eng Sci*.
- [9] N. Uduman, Y. Qi, M.K. Danquah, G.M. Forde, A. Hoadley, Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels, *J. Renew Sust Energ* 2 012701-012715.
- [10] N. Uduman, Y. Qi, M.K. Danquah, A.F.A. Hoadley, Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement, *Chem Eng J* 162 935-940.
- [11] E. Molina Grima, E.-H. Belarbi, F. G. Ación Fernández, A. Robles Medina, Y. Chisti, Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics, *Biotechnol Ade*. 20 (2003) 491-515.
- [12] A.R. Khataee, G. Dehghan, E. Ebadi, M. Pourhassan, Central Composite Design Optimization of Biological Dye Removal in the Presence of Macroalgae Chara sp, *CLEAN – Soil, Air, Water* 38 750-757.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล	นางสาวนฤตชวรรณ สัญญาโณ		
รหัสประจำตัวนักศึกษา	5310120102		
วุฒิการศึกษา			
	วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (เคมี)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2555

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

โครงการสู่ความเป็นเลิศ สาขาวิศวกรรมเคมี (DOE)

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Sanyano, N., Chetpattananondh, P. and Chongkhong, S. 2011. Optimization of Flocculation of Marine *Chlorella* sp. by Response Surface Methodology. Proceeding of the 21st Thai Institute of Chemical Engineering And Applied Chemistry (TICHE-2011), November 10-11, 2011, Hatyai, Thailand.