

บทความวิจัย (Research Article)

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากไข่น้ำ (*Wolffia* sp.) ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมสกัดโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง

วีรวรรณ จงวุฒิ¹, จักรวรุฒ ไม้ทิพย์¹ และ สุนิสา อึ้งวิวัฒน์กุล^{1*}

Optimization of lipid extraction from Khai-Nam (*Wolffia* sp.) by ultrasound-assisted extraction using response surface methodology

Weerawan Jongwut¹, Jakkrawut Maitip¹ and Sunisa Ungwiwatkul^{1*}

¹ Chemical Industrial Process and Environment program, Faculty of Science, Energy and Environment, King Mongkut's University of Technology North Bangkok (Rayong campus), Rayong, 21120

*Correspondence author: sunisa.b@sciee.kmutnb.ac.th

Naresuan Phayao J. 2021;14(3):83-94.

Received: 8 January 2021; Revised: 21 May 2021; Accepted: 10 August 2021

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากไข่น้ำ (*Wolffia* sp.) ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมสกัดโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง และการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน ปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วย อัตราส่วนระหว่างชีวมวลต่อตัวทำละลาย (0.1:10-1.0:10 กรัมต่อมิลลิลิตร) ระยะเวลาในการสกัด (10-30 นาที) และระดับพลังงานคลื่นเสียงความถี่สูง (78-130 วัตต์) ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย มีผลต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้ โดยสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ใช้อัตราส่วนระหว่างชีวมวลต่อตัวทำละลาย 0.1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที และระดับพลังงานคลื่นเสียงความถี่สูง 130 วัตต์ และให้ปริมาณไขมันสูงสุดที่ร้อยละ 9.78 โดยน้ำหนัก เมื่อนำสภาวะดังกล่าวไปทำการทดลองพบว่า ปริมาณไขมันที่สกัดได้มีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 9.54 ± 0.31 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ทำนายได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการถดถอยที่ได้จากแบบจำลองสามารถนำไปในการทำนายปริมาณไขมันที่สกัดจากไข่น้ำด้วยวิธีคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมสกัดได้อย่างแม่นยำ

คำสำคัญ: การสกัดไขมัน, ไข่น้ำ, คลื่นเสียงความถี่สูง, วิธีพื้นผิวตอบสนอง

¹ สาขาวิชากระบวนการเคมีอุตสาหกรรมและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ พลังงาน และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ วิทยาเขตระยอง อำเภอบ้านค่าย จังหวัดระยอง 21120

Abstract

The objective of this research was to investigate the optimal condition of lipid extraction from Khai-Nam (*Wolffia* sp.) by ultrasound-assisted extraction (UAE) using response surface methodology (RSM) with Box-Behnken design (BBD). The factors in this work including solid to solvent ratio (0.1:10-1:10 g/mL), extraction time (10-30 min) and sonication power (78-130 Watt). The experimental results showed that these three factors affected yield of lipid extraction. The optimum conditions for lipid extraction were solid to solvent ratio of 0.1:10 g/mL, extraction time of 30 min and sonication power of 130 Watt, which resulted in lipid yield of 9.78% w/w. After the experiments performed under these conditions, the maximum lipid yield was found to be $9.54 \pm 0.31\%$ w/w, which is similar to the predicted value. Therefore, it can be concluded that the regression model obtained from the experimental data could be applied for accurate prediction of the lipid yield obtained by UAE.

Keywords: Lipid extraction, Khai-Nam, Ultrasound, Response surface methodology

คำนำ

ไข่น้ำ หรือ ผา (*Wolffia* sp.) เป็นพืชน้ำตระกูลแห่น จัดอยู่ในวงศ์ Lemnaceae อาศัยลอยอยู่บนผิวน้ำ มีรูปร่างรีค่อนข้างกลม มีขนาดยาวประมาณ 0.5 – 0.8 มิลลิเมตร มีสีเขียว ไม่มีราก ไม่มีใบ สืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศโดยการผสมเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียภายในดอก และแบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ พบมากทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางของประเทศไทย สายพันธุ์ที่พบส่วนใหญ่จะเป็น *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm. และ *W. globosa* Hartog & Plas [1], [2] นอกจากนี้ยังพบได้ในประเทศจีน ลาว พม่า บางประเทศในเอเชียใต้ เช่น อินเดีย บังคลาเทศ และปากีสถาน เป็นต้น [3] ในประเทศไทยมักนิยมนำมาบริโภคเป็นอาหาร รวมถึงใช้ประโยชน์เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ อาทิ เลี้ยงเป็ด และสุกร จากรายงานวิจัยพบว่าไข่น้ำเป็นแหล่งอาหารที่มีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 35 โดยน้ำหนัก [4], [5] อีกทั้งยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุและสารอาหารสำคัญหลายชนิดเช่น ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ วิตามินบี แคลเซียม เส้นใยคาร์โบไฮเดรต และกรดอะมิโนหลายชนิด นอกจากนี้เพื่อการบริโภคแล้ว ไข่น้ำยังมีคุณสมบัติในการบำบัดน้ำเสียโดยการดูดซับโลหะหนักบางชนิดในน้ำ ทำให้ที่

ผ่านมามีงานวิจัยเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ประโยชน์จากไข่น้ำด้านต่าง ๆ มากมาย อาทิเช่น การผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริม การปรับปรุงคุณภาพสีปลาทอง การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนแคดเมียม และการใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์ เป็นต้น [2], [6], [7]

นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าไข่น้ำมีองค์ประกอบที่เป็นไขมันอยู่ระหว่างร้อยละ 5 - 9.6 ของน้ำหนักแห้ง [5] อีกทั้งยังพบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับการสกัดไขมันจากไข่น้ำเพื่อการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพอยู่น้อยมาก เนื่องจากไข่น้ำมีอัตราการขยายพันธุ์สูง สามารถเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวได้ง่าย งานวิจัยนี้จึงสนใจนำไข่น้ำมาศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากไข่น้ำโดยใช้วิธีคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมสกัด (Ultrasound-assisted extraction, UAE) โดยใช้สารละลายเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ซึ่งเป็นวิธีการสกัดไขมันสมัยใหม่ที่มีประสิทธิภาพ [8] ร่วมกับวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken Design, BBD) [9], [10] เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพเช่นไบโอดีเซลจากไข่น้ำในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

เก็บตัวอย่างไข่น้ำ จากฟาร์มเพาะเลี้ยงไข่น้ำ ตาลท่าไข อำเภอมือง จังหวัดพะเยา ในช่วงเดือน มีนาคม พ.ศ. 2563 ทำการแยกฟิชน้ำที่ไม่เกี่ยวข้อง ออก ล้างด้วยน้ำประปาจนสะอาด นำไปทำแห้งโดยใช้ ตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1-2 มิลลิเมตร

การออกแบบการทดลอง

ออกแบบการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากไข่น้ำ ในงานวิจัยนี้ใช้วิธีพินผิวดตอบสนองร่วมกับการออกแบบ การทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน [9] โดยใช้โปรแกรม Minitab 18 (Trial version) โดยผันแปร 3 ปัจจัย คือ อัตราส่วนระหว่างไข่น้ำต่อตัวทำละลาย (X_1) (0.1:10-1:10 กรัมต่อมิลลิกรัม) ระยะเวลาในการสกัด (X_2) (10-30 นาที) และระดับพลังงานของคลื่นเสียงความถี่สูง (X_3) (78-130 วัตต์) ดังแสดงในตาราง 1 และมีจำนวน การทดลองทั้งหมด 15 การทดลอง โดยทำการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลางจำนวน 3 ซ้ำ

ตาราง 1 ปัจจัยและระดับของปัจจัยที่ใช้ทดลอง

ปัจจัย	ระดับ		
	-1	0	1
X_1	0.1:10	0.5:10	1:10
X_2	10	20	30
X_3	78	104	130

การสกัดไขมันจากไข่น้ำโดยใช้คลื่นเสียง ความถี่สูงร่วมสกัด

นำไข่น้ำแห้งผสมกับสารละลายเฮกเซน ในขวดขนาด 50 มิลลิกรัม ตามอัตราส่วนที่ได้ออกแบบ การทดลองไว้ จากนั้นนำไปสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซ นิก (รุ่น Vibra Cell VCX 130PB) ที่ให้คลื่นเสียงความถี่ สูง 20 กิโลเฮิร์ตซ์ กำลังไฟฟ้า 130 วัตต์ โดยใช้ระยะเวลา และระดับพลังงานของคลื่นเสียงความถี่สูงตามที่ได้ออกแบบการทดลองไว้ (ดัดแปลงจาก Byreddy และคณะ [11]) เมื่อครบเวลานำไปปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 3,000 g เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวางในตู้ดูดควันเพื่อระเหยเฮกเซนออก จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง [12] พักให้เย็นในตู้ดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักไขมันที่ได้ เพื่อคำนวณปริมาณไขมันที่ได้จากการสกัด ดังสมการ (1)

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักไข่น้ำ}} \times 100 \quad (1)$$

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม Minitab 18 (Trial version) แบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-Square, R-Sq) และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) จากนั้นจึงนำค่าที่ได้มาสร้างสมการแสดงความสัมพันธ์ร่วมของแต่ละปัจจัยเพื่อทำนายปริมาณ

ไขมันที่สกัดได้จากไข่น้ำให้อยู่ในรูปแบบดังสมการ (2) และสร้างพื้นผิวดตอบสนองของปริมาณไขมันที่สกัดได้เทียบกับปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง จากนั้นทำการหาค่าสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณไขมันที่สกัดได้มากที่สุดด้วยฟังก์ชัน Response Optimizer และทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบผลโดยนำค่าที่ได้จากสมการทางคณิตศาสตร์มาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลอง

ไขมันที่สกัดได้จากไข่น้ำให้อยู่ในรูปแบบดังสมการ (2) และสร้างพื้นผิวดตอบสนองของปริมาณไขมันที่สกัดได้เทียบกับปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง จากนั้นทำการหาค่าสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณไขมันที่สกัดได้มากที่สุดด้วยฟังก์ชัน Response Optimizer และทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบผลโดยนำค่าที่ได้จากสมการทางคณิตศาสตร์มาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลอง

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} x_i x_j \quad (2)$$

เมื่อ Y คือร้อยละผลผลิตที่ทำนายได้ β_0 คือค่าคงที่ β_i , β_{ii} , β_{ij} คือค่าสัมประสิทธิ์ และ X_i , X_j คือปัจจัยการทดลอง

การวิเคราะห์องค์ประกอบของไขมันที่สกัดจากไข่น้ำ

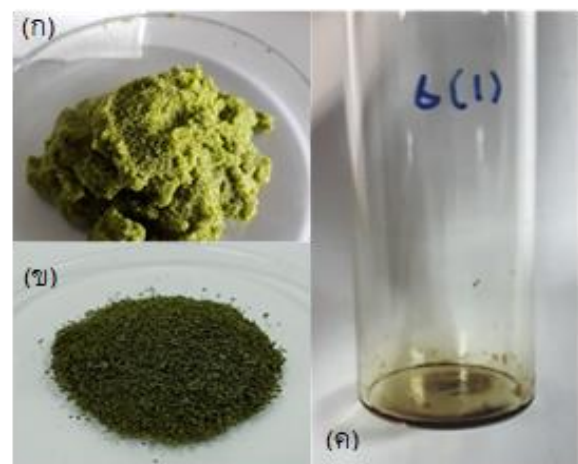
นำไขมันที่สกัดได้จากสภาวะที่เหมาะสมไปทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในรูปของ Fatty acid methyl ester (FAME) ด้วยเครื่อง Gas Chromatography - Flame Ionization Detector (GC-FID) ยี่ห้อ Agilent 7890a FID-Detector วิเคราะห์สารด้วยคอลัมน์ CP-Sil 88 (100 m x 0.25 mm x 0.2 μ m) อุณหภูมิของ injector และ detector เท่ากับ 240 และ 250 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ใช้ He เป็นแก๊สตัวพาที่อัตราการไหล 0.38 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที และเพิ่มขึ้น 13 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 175 องศาเซลเซียส คงไว้ 27 นาที จากนั้นเพิ่มขึ้น 4 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 215 องศาเซลเซียส คงไว้ 15 นาที และเพิ่มขึ้น 4 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 240 องศาเซลเซียส คงไว้ 12 นาที

ผลการศึกษา

ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากชีวมวลไข่น้ำ

การสกัดไขมันจากชีวมวลไข่น้ำด้วยวิธีคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมสกัดโดยใช้ตัวทำละลายคือเฮกเซน ได้ใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบบล็อกซ์-เบห์นเคน ร่วมกับวิธีพื้นผิวตอบสนอง ประมวลผลโดยโปรแกรม Minitab 18 (Trial version) ซึ่งมี 3 ปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างชีวมวลต่อตัวทำละลาย (X_1)

ระยะเวลาในการสกัด (X_2) และระดับพลังงานของคลื่นเสียงความถี่สูง (X_3) แบ่งระดับของปัจจัยเป็น 3 ระดับ และมีการทำซ้ำที่จุดกึ่งกลาง 3 ครั้ง จากนั้นทำการทดสอบตามลำดับสภาวะที่กำหนดไว้ ตัวอย่างไข่น้ำและไขมันที่สกัดได้ แสดงดังรูป 1 ผลการทดสอบพบว่า ไข่น้ำมีปริมาณไขมันตั้งแต่ร้อยละ 3.77 ถึง 8.91 โดยน้ำหนัก (ตาราง 2) ซึ่งสภาวะที่ดีที่สุดได้จากการใช้อัตราส่วนชีวมวลต่อตัวทำละลาย 0.1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร เวลาในการสกัด 30 นาที และระดับพลังงานของคลื่นเสียงความถี่สูง 104 วัตต์ ให้ปริมาณไขมันเท่ากับร้อยละ 8.91 โดยน้ำหนัก



รูป 1 ตัวอย่าง (ก) ไข่น้ำสด, (ข) ไข่น้ำบดแห้ง และ (ค) ไขมันที่สกัดได้จากไข่น้ำ

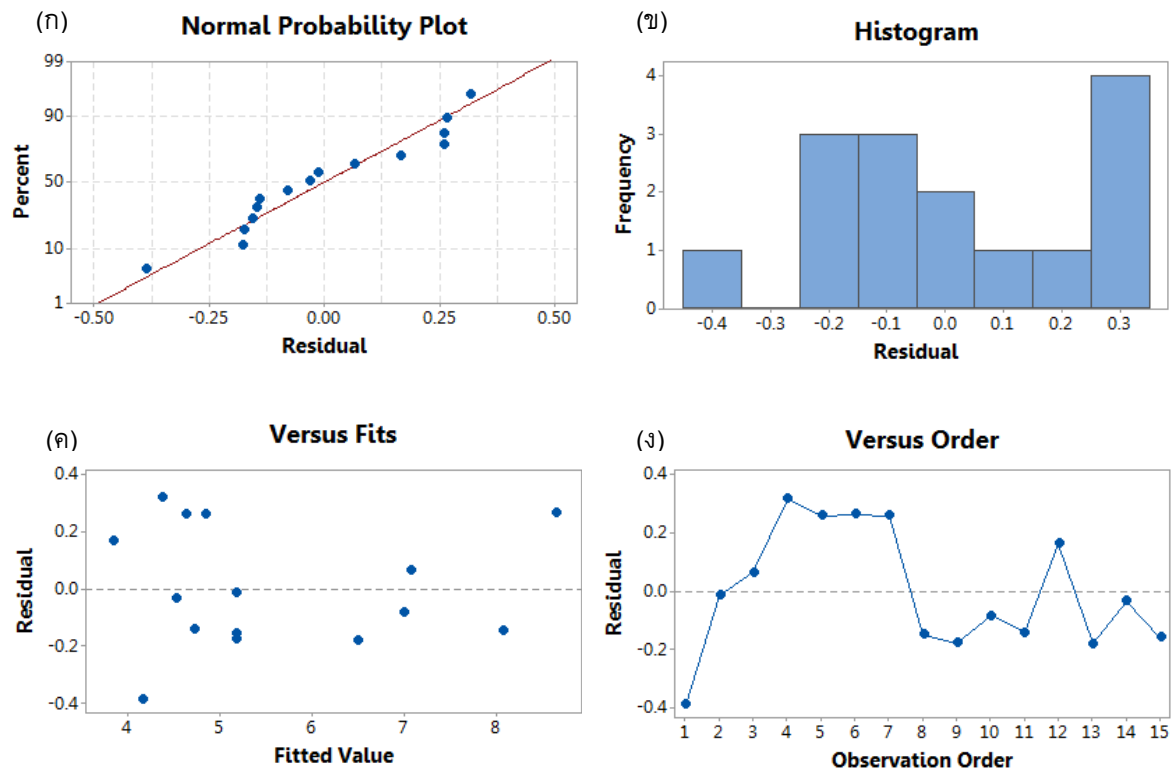
ตาราง 2 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากชีวมวลไข่น้ำของแต่ละลำดับการทดลอง

ลำดับการทดลอง	อัตราส่วนระหว่างชีวมวลต่อตัวทำละลาย (X_1) (กรัมต่อมิลลิลิตร)	ระยะเวลา (X_2) (นาที)	ระดับพลังงาน (X_3) (วัตต์)	ปริมาณไขมัน (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)
1	1.0:10	10	104	3.77
2	0.5:10	20	104	5.16
3	0.1:10	20	78	7.13
4	0.5:10	10	130	4.68
5	0.5:10	10	78	4.88
6	0.1:10	30	104	8.91
7	1.0:10	20	130	5.10
8	0.1:10	20	130	7.92
9	0.5:10	20	104	5.00
10	0.5:10	30	130	6.91
11	0.5:10	30	78	4.58
12	1.0:10	20	78	4.00
13	0.1:10	10	104	6.31
14	1.0:10	30	104	4.49
15	0.5:10	20	104	5.02

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

เมื่อทำการทดลองสกัดไขมันจากชีวมวลไข่น้ำทั้ง 15 ลำดับการทดลอง จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลอง ได้แก่การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล และการตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน ผลการวิเคราะห์แสดงดังรูป 2

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแต่ละปัจจัยหลัก อันตรกิริยาระหว่างปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้จากชีวมวลไข่น้ำ แสดงดังตาราง 3 โดยพบว่าปัจจัยหลัก ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างชีวมวลต่อตัวทำละลาย (X_1) ระยะเวลาในการสกัด (X_2) และระดับพลังงานของคลื่นเสียงความถี่สูง (X_3) มีผลต่อปริมาณไขมันทั้งหมด เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยหลักกำลังสอง มีเพียง $X_1 \times X_1$ ที่มีผลต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้ และเมื่อวิเคราะห์อิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย พบว่า $X_1 \times X_2$ และ $X_2 \times X_3$ มีผลต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญ



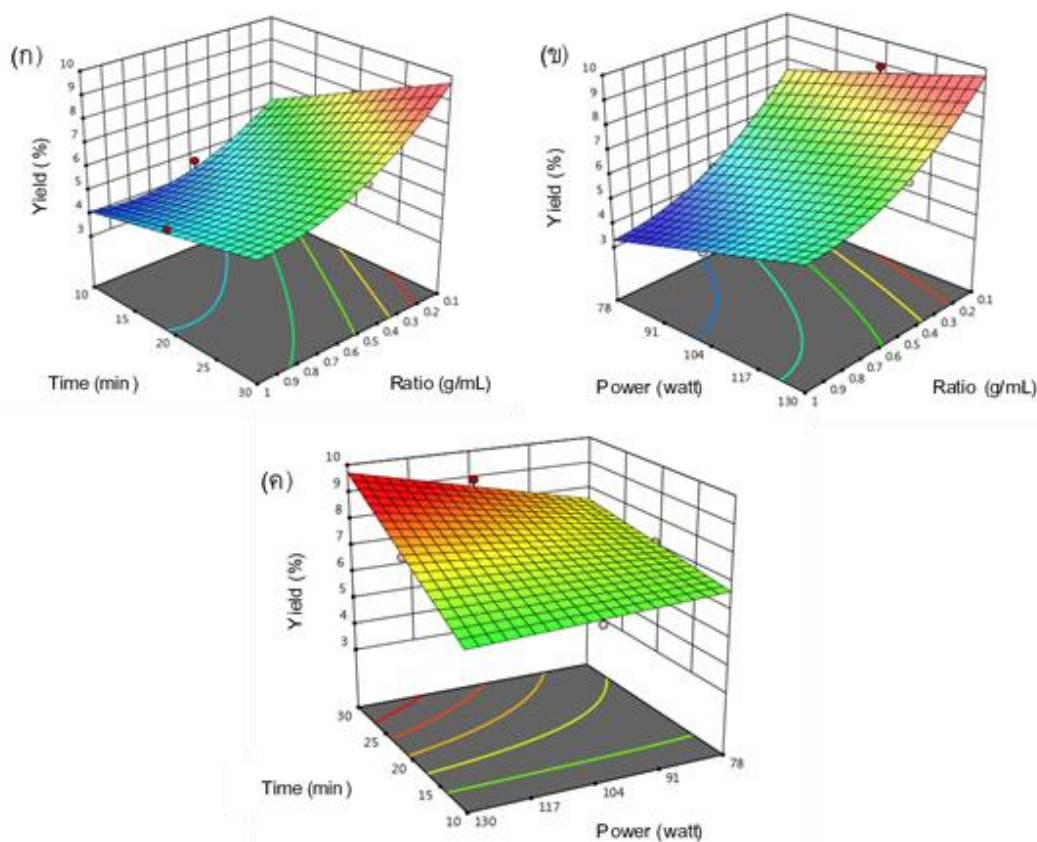
รูป 2 (ก) กราฟการกระจายแบบปกติส่วนตกค้าง, (ข) กราฟฮิสโทแกรมส่วนตกค้าง, (ค) กราฟค่าส่วนตกค้างต่อค่าที่ถูกทำนาย และ (ง) กราฟค่าส่วนตกค้างต่อลำดับการทดลอง

ตาราง 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละผลผลิตปริมาณไขมันที่สกัดจากชีวมวลไข่น้ำ

Source	Sum of Squares	df	Mean of Squares	F-Value	P-Value
Model	30.9298	6	5.1550	66.13	0.000
Linear	25.9832	3	8.6611	111.10	0.000
X_1	20.7980	1	20.7980	266.80	0.000
X_2	3.1561	1	3.1561	40.49	0.000
X_3	2.0291	1	2.0291	26.03	0.001
Square	3.3894	1	3.3894	43.48	0.000
$X_1 * X_1$	3.3894	1	3.3894	43.48	0.000
2-Way Interaction	2.4200	2	1.2100	15.52	0.002
$X_1 * X_2$	0.8134	1	0.8134	10.43	0.012
$X_2 * X_3$	1.6066	1	1.6066	20.61	0.002
Lack-of-Fit	0.6078	6	0.1013	12.82	0.074
Pure Error	0.0158	2	0.0079		
Total SS	31.5534	14			
R-Square (R^2)	98.02%		Adjust R^2	96.54%	

กราฟโครงร่าง (Contour plots) และกราฟพื้นผิวตอบสนอง (3D Surface plot) แสดงอิทธิพลร่วมของปัจจัยหลักที่มีต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้จากชีว

มวลไขมัน โดยใช้โปรแกรม Design Expert (Trial version) แสดงดังรูป 3

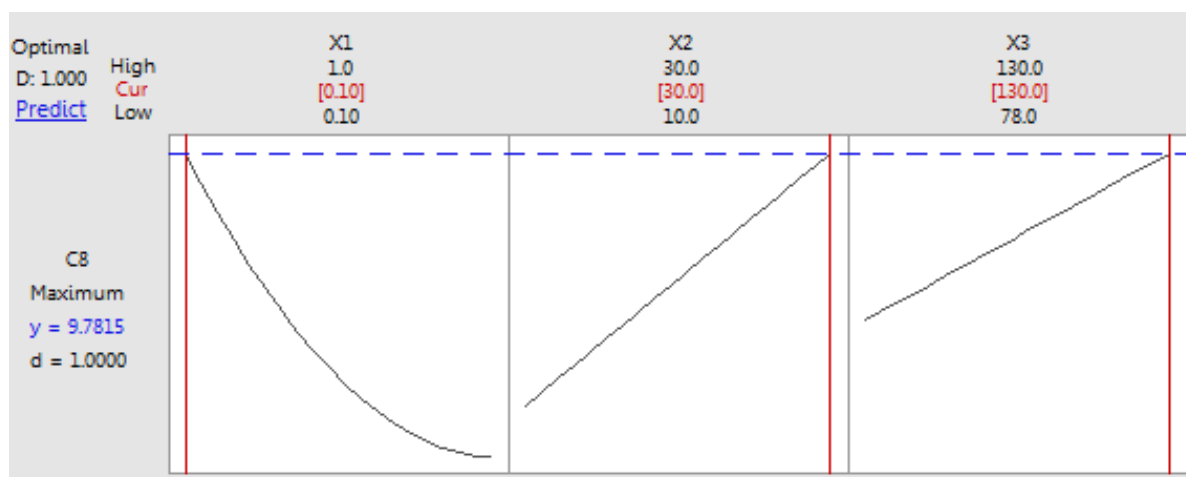


รูป 3 กราฟโครงร่าง และกราฟพื้นผิวตอบสนองแสดงอิทธิพลร่วมระหว่าง (ก) อัตราส่วนชีวมวลต่อตัวทำละลาย และระยะเวลาในการสกัด (ข) อัตราส่วนชีวมวลต่อตัวทำละลาย และระดับพลังงานคลื่นเสียงความถี่สูง และ (ค) ระยะเวลาในการสกัด และระดับพลังงานคลื่นเสียงความถี่สูง

การวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมและการยืนยันผลแบบจำลอง

ทำนายสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของแต่ละปัจจัยในการสกัดไขมันจากชีวมวลไขมันด้วยวิธีคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมสกัด โดยใช้ฟังก์ชัน Response Optimizer ในโปรแกรม Minitab 18 (Trial version) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัด คือ อัตราส่วนระหว่างชีวมวลต่อตัวทำละลาย 0.1:10 กรัมต่อ

มิลลิลิตร ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที และระดับพลังงานคลื่นเสียงความถี่สูง 130 วัตต์ ซึ่งจะได้ปริมาณไขมันที่สกัดเท่ากับร้อยละ 9.78 โดยน้ำหนัก ดังแสดงในรูป 4 จากนั้นนำสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวไปทำการทดลองจริง จำนวน 3 ซ้ำ พบว่าได้ปริมาณไขมันเท่ากับร้อยละ 9.54 ± 0.31 โดยน้ำหนัก ดังแสดงในตาราง 4



รูป 4 ระดับปัจจัยที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากชีวมวลไข่น้ำ

ตาราง 4 เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองจริงกับค่าที่ทำนายได้จากแบบจำลอง

สภาวะที่เหมาะสม		ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากชีวมวลไข่น้ำ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)		ค่าอคติ* (Bias)
		ค่าที่ได้จากการทดลอง	ค่าที่ได้จากแบบจำลอง	
อัตราส่วนระหว่างชีวมวล	0.1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร			
ต่อตัวทำละลาย				
ระยะเวลาในการสกัด	30 นาที	9.54 ± 0.31	9.78	2.43
ระดับพลังงานคลื่นเสียง	130 วัตต์			

*ค่าอคติ คำนวณได้จาก [(ค่าที่ได้จากแบบจำลอง – ค่าที่ได้จากการทดลอง)/ค่าที่ได้จากแบบจำลอง] x 100

การวิเคราะห์องค์ประกอบของไขมันที่สกัดจากไข่น้ำ

ผลการวิเคราะห์กรดไขมันในรูป FAME ของไขมันที่สกัดจากไข่น้ำ แสดงดังตาราง 5 พบว่าไข่น้ำสามารถผลิตกรดไขมัน (Fatty acid) ที่มีคุณสมบัติเป็น

กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) ซึ่งพบทั้งในรูปแบบ Monounsaturated fatty acid และ Polyunsaturated fatty acid

ตาราง 5 ชนิดและร้อยละของกรดไขมันในรูป FAME ของไขมันที่สกัดได้จากไขมัน

ชนิดของ FAME		ร้อยละโดยน้ำหนัก
Saturated Fatty Acid	Capric AME (C10:0)	0.34
	Lauric AME (C12:0)	0.68
	Myristic AME (C14:0)	1.01
	Palmitic AME (C16:0)	59.55
	Stearic AME (C18:0)	8.21
	Arachidic AME (C20:0)	1.15
Total		70.94
Unsaturated Fatty Acid	trans-9-Elaidic AME (C18:1n9t)	4.02
	cis-9-Oleic AME (C18:1n9c)	1.19
	Linoleic AME (C18:2n6c)	6.88
	α -Linolenic AME (C18:3n3)	15.18
	Arachidonic AME (C20:2)	0.70
	Eicosapentaenoic AME (C20:5n3)	1.09
Total		29.06

วิจารณ์

การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง เป็นการตรวจสอบข้อมูลที่ได้จากการทดลอง โดยข้อมูลนั้นจะต้องเป็นไปตามสมมติฐานดังต่อไปนี้ คือ ส่วนตกค้างมีการแจกแจงแบบปกติ ค่าความแปรปรวนมีเสถียรภาพ ค่าส่วนตกค้างมีความเป็นอิสระต่อกัน จึงจะถือว่าข้อมูลมีความเหมาะสมที่จะนำไปวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจและการวิเคราะห์ความแปรปรวนตามลำดับ [13] จากการพิจารณากราฟการกระจายแบบปกติของส่วนตกค้างในรูปที่ 2(ก) พบว่าจุดบนกราฟมีการกระจายตัวตามแนวเส้นตรง แสดงถึงความปกติของข้อมูลที่ดำเนินการทดลอง จึงสรุปว่าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติสอดคล้องกับรูป 2(ค) ส่วนรูป 2(ข) นั้นเป็นกราฟค่าส่วนตกค้างต่อค่าที่ถูกทำนาย เห็นได้ว่าส่วนตกค้างของผลการทดลองของปริมาณไขมันที่สกัดได้จากไขมันไขมันนั้นมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอทั้งทางด้านบวกและลบแสดงถึงความมีเสถียรภาพของความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ออกแบบไว้และรูป 2(ง) เป็นแผนภูมิการกระจายของค่าส่วนตกค้างต่อลำดับการทดลอง พบว่าส่วนตกค้างของผลการทดลองการสกัดไขมันจากไขมันไขมันนั้นมีการกระจายที่ไม่แน่นอน แสดงว่าข้อมูลมีความเป็นอิสระต่อ

กันจากการตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล ดังนั้นสรุปได้ว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองชุดนี้มีความถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจและวิเคราะห์ความแปรปรวนต่อไป

ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-Sq) เป็น การวิเคราะห์ว่าการออกแบบที่ใช้ในการทดลองมีความเหมาะสมหรือไม่ โดยแสดงผลออกมาเป็นค่าร้อยละ การเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามที่สามารถอธิบายได้ด้วยตัวแปรอิสระในสมการถดถอย [14] จากตาราง 3 ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจมีค่าเท่ากับ 98.02% หมายความว่าชุดข้อมูลของตัวแปรอิสระ (อัตราส่วนระหว่างชีวมวลต่อตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด และระดับพลังงานคลื่นเสียง) มีผลต่อตัวแปรตาม (ปริมาณไขมันที่สกัดได้) แสดงว่าแบบจำลองสามารถนำไปสร้างสมการทำนายได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไขมันที่สกัดได้จากไขมันที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ดังตาราง 3 พบว่าค่า p -value ของรูปแบบสมการมีความเหมาะสม (Model Fit) มีค่าเท่ากับ 0.000 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่านัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด และการขาดความเหมาะสมของสมการ (Lack-of-Fit) มีค่าเท่ากับ 0.074

ซึ่งไม่มีความสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแบบจำลองแบบกำลังสอง (Quadratic Model) ในสมการ 2 มีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นแบบจำลองในการทำนายปริมาณไขมันที่สกัดได้และสามารถนำมาเขียนสมการถดถอยแสดงความสัมพันธ์ร่วมของแต่ละตัวแปรกับตัวแปรตามโดยตัดตัวแปรที่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติออก แสดงดังสมการ 3

$$Y = 4.985 - 1.6124X_1 + 0.63X_2 + 0.5036X_3 + 0.968X_1 \cdot X_1 - 0.45X_1 \cdot X_2 + 0.634X_2 \cdot X_3 \quad (3)$$

เมื่อ Y คือ ร้อยละผลผลิตของปริมาณไขมัน X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างชีวมวลต่อตัวทำละลาย X_2 คือ ระยะเวลาในการสกัด และ X_3 คือ ระดับพลังงานคลื่นเสียงความถี่สูง

จากการนำสมการทำนายที่ได้มาสร้างกราฟโครงร่าง 2 มิติ และกราฟพื้นผิวตอบสนอง 3 มิติ เพื่อทำการวิเคราะห์หิทธิพลร่วมของแต่ละปัจจัย จากรูปที่ 3(ก) จะเห็นว่าอัตราส่วนของชีวมวลต่อตัวทำละลาย 0.1 : 10 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 30 นาที ให้ปริมาณไขมันสูงที่สุด และจะมีแนวโน้มลดต่ำลงเมื่ออัตราส่วนระหว่างชีวมวลต่อตัวทำละลายลดลงไปที่ 0.5:10 ถึง 1.0 : 10 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลากัดเดียวกัน ที่เป็นเช่นนั้นอาจเนื่องมาจากมีตัวทำละลายมากพอในการสกัดและตัวทำละลายมีผลต่อความสามารถในการละลายและการแพร่ของสาร [13] ซึ่งมีผลสอดคล้องกับงานวิจัยของพรทิพย์และกิตติชัย [15] ศึกษาการสกัดน้ำมันจากเมล็ดมะละกอ พบว่าแสดงการใช้อัตราส่วนของเมล็ดมะละกอต่ตัวทำละลายต่ำทำให้ปริมาณผลผลิตน้ำมันสูงกว่า จากรูปที่ 3(ข) พบว่าที่อัตราส่วนชีวมวลต่อตัวทำละลาย 0.1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ร้อยละปริมาณไขมันจะผันแปรตามระดับพลังงานคลื่นเสียง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Xu และคณะ [16] ศึกษาการสกัดไขมันจากข้าวญี่ปุ่นพันธุ์ Koshihikari พบว่าร้อยละปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นตามระดับพลังงานคลื่นเสียงความถี่สูงที่เพิ่มขึ้น จากรูป 3(ค) จะเห็นว่าที่ระดับพลังงานคลื่นเสียง 130 วัตต์ ร้อยละของปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการสกัดที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาการสกัดไขมันในสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วยวิธีคลื่นเสียงความถี่สูง

ร่วมสกัด พบว่ามีปริมาณไขมันสูงที่สุดเมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที [17]

จากการนำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ไปทำการทดลองจริง พบว่าได้ปริมาณไขมันเท่ากับร้อยละ 9.54 ± 0.31 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Baidya และ Patel [18] ที่ทำการสกัดไขมันจากไข่น้ำ *W. arrhiza* พบว่ามีปริมาณไขมันเท่ากับร้อยละ 9.1 โดยน้ำหนัก และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ruekaewma และคณะ [5] ที่รายงานว่ไข่น้ำ *W. globosa* มีปริมาณไขมันเท่ากับร้อยละ 9.6 โดยน้ำหนัก จากตาราง 4 จะเห็นว่าปริมาณไขมันที่ได้จากการทดลองมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทำนาย และเมื่อพิจารณาค่าอคติ พบว่ามีค่าเท่ากับร้อยละ 2.43 ซึ่งค่าอคติที่ยอมรับได้ไม่ควรมีค่ามากกว่าร้อยละ 5 [19] แสดงให้เห็นว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากแบบจำลองตามสมการที่ 3 มีความน่าเชื่อถือ สามารถนำไปใช้ทำนายได้

เมื่อนำไขมันที่สกัดได้จากสภาวะที่เหมาะสมไปวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในรูป FAME พบว่าไขมันจากไข่น้ำมีปริมาณกรดปาล์มมิติก (C16:0) กรดไลโนเลนิก (C18:3n3) กรดสเตียริก (C18:0) และกรดไลโนเลอิก (C18:2n6c) มากที่สุด ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Appenroth และคณะ [4] ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในรูป FAME ของไข่น้ำทั้งหมด 11 สายพันธุ์ พบว่ากรดไขมันที่พบส่วนใหญ่ คือ กรดปาล์มมิติก กรดไลโนเลอิก และกรดไลโนเลนิก โดยไข่น้ำ *W. globosa* 9498 พบปริมาณกรดปาล์มมิติกสูงที่สุดเท่ากับ ร้อยละ 34.3 โดยน้ำหนัก จะเห็นว่า กรดไขมันที่ได้จากไข่น้ำประกอบด้วยกรดไขมันที่มีอะตอมของคาร์บอน C16 และ C18 ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับกรดไขมันที่พบในพืชน้ำมันซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอดีเซล [20]

ในการศึกษารั้ครั้งนี้สรุปได้ว่าวิธีพื้นผิวตอบสนองและการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนสามารถนำมาใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากไข่น้ำด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมสกัดได้ โดยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัด คือ อัตราส่วนระหว่างชีวมวลต่อตัวทำ

ละลาย 0.1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที และระดับพลังงานคลื่นเสียงความถี่สูง 130 วัตต์ ได้ผลผลิตไขมันเท่ากับร้อยละ 9.54 ± 0.31 โดยน้ำหนัก มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทำนาย แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองที่ได้สามารถนำไปใช้งานได้จริงในการทำนายปริมาณไขมันที่สกัดจากไข่น้ำด้วยวิธีคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมสกัด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชากระบวนการอุตสาหกรรมเคมีและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ พลังงานและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Sangyoka S, Kusolma P, Suthiphasilp R. The potential of *Wolffia globosa* and *Cladophora* sp. treated the wastewater and lipid production. PSRU Journal of Science and Technology. 2016;1(1):40-52.
2. Tipnee S, Jutiviboonsuk A, Wongtrakul P. The bioactivity study of active compounds in *Wolffia globosa* extract for an alternative source of bioactive substances. Cosmetics. 2017; 4(4):53.
3. Appenroth K, Sree K, Böhm V, Hammann S, Vetter W, Leiterer M et al. Nutritional value of duckweeds (Lemnaceae) as human food. Food Chem. 2017;217:266-273.
4. Appenroth K, Sree K, Bog M, Ecker J, Seeliger C, Böhm V, et al. Nutritional value of the duckweed species of the genus *Wolffia* (Lemnaceae) as human food. Front Chem. 2018;6:1-15.
5. Ruekaewma N, Piyatiratitivorakul S, Powtongsook S. Culture system for *Wolffia globosa* L. (Lemnaceae) for hygiene human food. Songklanakarin J Sci Technol. 2015;37:575-580.
6. Kansinee P, Sukhoom R. Proceedings of 47th Kasetsart University Annual Conference: Fisheries. In: Experimental study on culture of *wolffia* (*Wolffia arrhiza* (L.) Wimm.) and it's use for gold fish color quality improvement. Bangkok (Thailand): The Thailand Research Fund, Bangkok (Thailand). 2009:641.
7. Xie W, Huang Q, Li G, Rensing C, Zhu Y. Cadmium accumulation in the rootless macrophyte *Wolffia globosa* and its potential for phytoremediation. Int J Phytoremediation. 2013;15(4):385-397.
8. Marhamati M, Kheirati Kakhaki Z, Rezaie M. Advance in ultrasound-assisted extraction of edible oils: a review. J Nutr Fast Health. 2020; 8(4): 220-230.
9. Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escaleira LA. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. Talanta. 2008;76:965-977.
10. Kantakapan K, Sukpondma Y. Optimization of total phenolics and flavonoids from ginger using response surface methodology. HCU J Health Sci. 2016;39(20):69-80.
11. Byreddy AR, Gupta A, Barrow CJ, Puri M. Comparison of cell disruption methods for improving lipid extraction from thraustochytrid strains. Mar drugs. 2015;13(8):5111-5127.
12. Zhang X, Ya S, Tyagi RD, Drogui P, Surampalli RY. Ultrasonication assisted lipid extraction from oleaginous microorganisms. Bioresour Technol. 2014;158:253-261.

13. Chanpirak A, Dumnin P, Hongpuay A. Optimization of oil extraction from spent coffee grounds (*Coffea canephora var. robusta*/*Coffea arabica*) by hexane using response surface methodology. J KMUTNB. 2018;28(4):799-811.
14. Awapak D, Mahae N, Pitchairat D. Optimization of polysaccharide extraction from *Gracilaria fisheri* using response surface methodology. KKU Sci J. 2013;41(2):414-30.
15. Katsuwan P, Banjong K. Optimization of microwave-assisted extraction of Papaya seed oil by response surface methodology. SWU J Sci Technol. 2018;10(20):76-88.
16. Xu G, Liang C, Huang P, Liu Q, Xu Y, Ding C, Li T. Optimization of rice lipid production from ultrasound-assisted extraction by response surface methodology. J Cereal Sci. 2016;70:23-28.
17. Hadrich B, Akremi I, Dammak M, Barkallah M, Fendri I, Abdelkafi S. Optimization of lipids' ultrasonic extraction and production from *Chlorella* sp. using response-surface methodology. Lipids Health Dis. 2018;17:87.
18. Baidy, S, Patel AB. Effect of Co-cultivation of *Wolffia arrhiza* (L.) on flesh quality and organoleptic quality of Catla, Rohu, Mrigal, Grass carp, Puntius and Amur carp. Int J Fish Aquatic Stud. 2017;5(5):327-333.
19. Worapun I, Chooppava C, Thinvongpituk C. Optimal conditions of friction welding process for AISI 1015 steel using response surface methodology. KKU Res J. 2013;18(6):909-924.
20. Zahan KA, Kano M. Biodiesel production from palm oil, its by-products, and mill effluent: a review. Energies. 2018;11(8):2132:1-25.