การศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย *Spirogyra* sp.ผลิตเป็นไบโอดีเซลเพื่อเป็นพลังงานทดแทน

Biodiesel production from *Spirogyra* sp. as renewable energy

ศิวคุปต์ ธัญญเจริญ[1] รัตนชัย ไพรินทร์[1] และ ทรงพล ชื่นคำ[1]

Thunyajaroen, S.[1], Pairintra, R.[1] and Chunkumn, S.[1]

Abstract

Thailand's primary energy consumption mostly comes from fossil fuels which are imported from foreign countries. Biodiesel is mostly produced from edible feedstock which affects food supplies and biodiesel prices. This research studied biodiesel produced from *Spirogyra* sp. oil, which is extracted using hexane as a solvent. From fresh algae, the yield of the extracted oil was 12%, which was 87% of the moisture content in the extracted oil. The 6 fatty acids in this extracted oil are palmitoleic acid, heptadecanoic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid and alpha-linoleic acid. The extracted oil contains high amounts of free fatty acids (65.9%). Thus, a two-step in situ process was used. This technique can reduce the high free fatty acid content in extracted oil. During the first step, the free fatty acid content of extracted oil was reduced to 2.2% and was obtained in an hour at 60°C using the 9:1 methanol to oil molar ratio and 1% w/w of oil of H_2SO_4. Methyl ester was found at 32.4% and triglycerides were found at 27.9%. In the second step, the alkali catalyzed transesterification using the methanol to oil molar ratio of 6:1 and the catalyst to oil ratio of 0.55% w/w to produce biodiesel from the product of the first step at 60°C. After the reaction, the amount of methyl ester increased up to 50% and the viscosity value was 3.94 Cst. These results indicated that biodiesel can be produced from spirogyra sp. oil. In addition, algae can grow faster and easier and have high productivity per area. Furthermore, the cultivation of algae can absorb CO_2, which reduces GHG emissions.

Keywords: biodiesel, transesterification, *Spirogyra* sp., methanol

บทคัดย่อ

ปัจจุบันประเทศไทยบริโภคน้ำมันดีเซลจากฟอสซิลที่นำเข้าจากต่างประเทศเป็นส่วนใหญ่ และไบโอดีเซลที่ผลิตได้ส่วนมาก มักจะนำพืชอาหารมาใช้เป็นวัตถุดิบ ส่งผลให้ราคาต้นทุนในการผลิตสูงขึ้น เพื่อลดปัญหาดังกล่าว จึงได้มีการค้นหาแหล่งวัตถุดิบใหม่ๆ มาทดแทน ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (Hexane) จากนั้นนำน้ำมันที่สกัดได้มาผลิตเป็นไบโอดีเซลโดยใช้กระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น พบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสดมีความชื้นสูงถึงร้อยละ 87 และปริมาณน้ำมันประมาณร้อยละ 12 โดยองค์ประกอบหลักของน้ำมันนั้นเป็นกรดไขมัน 6 ชนิด ได้แก่ palmitoleic acid, heptadecanoic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid และ alpha-linoleic acid น้ำมันที่สกัดได้มีค่า Free Fatty acid สูงถึงร้อยละ 65.9 ทำให้ไม่สามารถใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นเบสได้ ต้องใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นกรด (H_2SO_4) แทน และต้องทำปฏิกิริยาแบบ 2 ขั้นตอน ผลจากงานวิจัยพบว่า หลังจากผ่านขั้นตอนแรก ค่า Free Fatty acid ได้ลดลงเหลือร้อยละ 2.2 มีเมทิลเอสเทอร์อยู่ร้อยละ 32.4 และมีไตรกลีเซอร์ไรด์ร้อยละ 27.9 เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น พบว่าปริมาณเมทิลเอสเทอร์เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 50.0 โดยมีความหนืดอยู่ที่ 3.94 Cst. ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า น้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย *Spirogyra* sp. สามารถนำมาผลิตเป็นไบโอดีเซลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนได้ เพราะสาหร่ายเลี้ยงง่าย โตเร็ว ไม่รบกวนพื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร ให้ผลผลิตต่อพื้นที่ในปริมาณที่สูง และยังช่วยลดปัญหาโลกร้อน ทำให้สาหร่ายเป็นอีกทางเลือกที่น่าสนใจ

คำสำคัญ: ไบโอดีเซล ทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น สาหร่ายสไปโรไจร่า เมทานอล

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี เขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150

[1]Division of Biotechnology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien) Bangkok 10150

คำนำ

ไบโอดีเซลสามารถผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ระหว่างน้ำมันพืชหรือน้ำมันจากไขมันสัตว์กับแอลกอฮอล์ ด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) ทำให้เกิดเป็นเอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) และกลีเซอรีนในปฏิกิริยาจะใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาและผลผลิต ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้โดยทั่วไป ได้แก่ กรด เบส และเอนไซม์ เป็นต้น การผลิตพลังงานจากพืชในประเทศไทย มักจะพบปัญหาการขัดแย้งด้านวัตถุดิบ เนื่องจากพืชที่ใช้สกัดเป็นน้ำมันเชื้อเพลิง เช่น ปาล์มน้ำมัน อ้อย มันสำปะหลังเป็นชนิดเดียวกับพืชน้ำมันที่ใช้บริโภค ยังสามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆที่มีมูลค่าสูงกว่าการนำมาผลิตเป็นไบโอดีเซล อีกทั้งต้องใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกมาก และใช้ระยะเวลานานในการเจริญเติบโต ทำให้มีการค้นคว้าหาวัตถุดิบที่สามารถนำมาผลิตเป็นพลังงานทดแทนได้ โดยต้องเป็นวัตถุดิบที่มีมูลค่าต่ำ ไม่สามารถนำมารับประทานได้ และมีปริมาณวัตถุดิบมาก รวมถึงใช้ระยะเวลาและพื้นที่ในการเพาะปลูกไม่มากเกินไป สาหร่ายจึงเป็นหนึ่งในวัตถุดิบที่มีบทบาทในการนำมาผลิตพลังงานทดแทนเมื่อกล่าวถึงสาหร่าย ส่วนใหญ่มักจะนึกถึงการนำไปใช้ประโยชน์ในแง่การเป็นอาหารของสัตว์หรือเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมของคน ซึ่งแท้จริงแล้วสาหร่ายจัดเป็นพืชอีกชนิดหนึ่ง ที่มีศักยภาพสูงในการนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล สาหร่ายก็มีลักษณะเหมือนกับ ข้าวโพด ถั่วเหลือง อ้อย ต้นไม้และพืชอื่นๆ ที่ใช้กระบวนการสังเคราะห์แสงในการแปลงพลังงานแสงอาทิตย์เป็นพลังงานเคมี (Kapdan และ Kargi, 2006) โดยใช้แหล่งคาร์บอนในรูปก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และใช้แสงอาทิตย์เป็นแหล่งพลังงาน แล้วเก็บสะสมไขมันไว้ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ (TAGs) แต่คุณลักษณะเด่นที่ทำให้แตกต่างจากพืชน้ำมันชนิดอื่นๆหลายอย่าง คือความรวดเร็วในการสะสมพลังงานภายในเซลล์ การเจริญเติบโตของสาหร่ายจะแตกต่างจากพืชทั่วไปเพราะเป็นการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (binary fission) ซึ่งคล้ายคลึงกับแบคทีเรีย ด้วยสาเหตุนี้สาหร่ายจึงเติบโตได้รวดเร็ว โดยใช้เวลาเพาะเลี้ยงเพียง 7-14 วัน ก็สามารถเก็บเกี่ยวมาสกัดน้ำมันเพื่อผลิตไบโอดีเซลได้ จึงทำให้ดังนั้น การวิจัยนี้จึงได้มีแนวความคิดที่จะศึกษาความเป็นไปได้ในการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายสายพันธุ์ Spirogyra ที่มีอยู่ภายในท้องถิ่นเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตไบโอดีเซลเพื่อเป็นพลังงานทดแทน

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่างสาหร่าย จะทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายสด 1000 กรัม นำมาอบไล่ความชื้นจนแห้งที่อุณหภูมิ 100°C นาน 24 ชั่วโมง แล้วชั่งเพื่อหาปริมาณความชื้นที่มีอยู่แล้วจึงบดจนละเอียดร่อนตะแกรงจนเป็นผง

การสกัดน้ำมัน นำผงสาหร่าย 100 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลาย Hexane อย่างละ 100 mL ปั่นกวนด้วยเครื่องปั่นกวน 3 ชั่วโมง สกัดอุณหภูมิห้อง เมื่อสกัดน้ำมันเรียบร้อยแล้วแยกตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Evaporator และคำนวนปริมาณน้ำมันที่สกัดได้

วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันและเมทิลเอสเทอร์ใน ด้วย TLC , HPLC เพื่อดูคุณภาพและปริมาณของน้ำมันที่มีอยู่สาหร่ายสไปโจไจราโดยใช้คอลัมน์ Phenogel 5μ 100°A ตัวชะ (Mobile phase) 35% Toluene 65% Isooctane 0.15% Acetic acid ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 ml/min

การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปโจไจราโดยต้มไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 105°C ใช้เวลา 30 นาที เตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาชนนิดกรด ที่ความเข้มข้น 0.5 M (H_2SO_4) ในเมทานอลนำน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายปริมาณ 50 ml กวนผสมกับตัวเร่งปฏิกิริยา โดยอัตราส่วน ระหว่างน้ำมันกับแอลกอฮอล์ใช้ 6:1 น้ำหนักโดยน้ำหนักทำปฏิกิริยาในอ่างที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 60°C 1 ชั่วโมง กวนผสมตลอดเวลาด้วยเครื่องแมกเนติก เก็บตัวอย่างที่เวลา 120 นาที นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ล้างน้ำ น้ำอุ่นที่มีอุณหภูมิประมาณ 50-55°C ล้างน้ำจนกว่าชั้นของเมทิลเอสเทอร์จะมีค่า pH ประมาณ 6-7 แยกกลีเซอรีนที่อยู่ชั้นล่างออกไปปล่อยให้แยกชั้นจากนั้นดูดน้ำมันชั้นบนแยกออกใส่หลอดทดลองและเติมโซเดียมซัลเฟตแอน-ไฮดรัส (Na_2SO_4) เก็บตัวอย่างน้ำมันบางส่วนเพื่อเตรียมสารตัวอย่างโดยละลายในทูโลอีน

วิเคราะห์องค์ประกอบเมทิลเอสเทอร์ ด้วยเครื่องเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) คอลัมน์ที่ใช้ชนิด Phenogel ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 300 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคบรรจุ 5 ไมครอน ความพรุน (Porosity) 100°A ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นเริ่มจาก เตรียมน้ำมันที่ได้จากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น ปริมาตร 30 ml เตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดด่าง คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ในเอทานอล อัตราส่วนโมล ระหว่างน้ำมันกับเอทานอลใช้ 6:1 ทำปฏิกิริยาในอ่างที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 60°C นาน 1 ชั่วโมง กวนผสมตลอดเวลาด้วยเครื่องแมกเนติกหยุดปฏิกิริยาด้วยกรดอะซิติกปล่อยให้แยกชั้นจากนั้นดูดน้ำมันชั้นบนแยกออกใส่หลอดทดลองและเติมโซเดียมซัลเฟตแอน-ไฮดรัส (Na_2SO_4) เตรียมสารตัวอย่างโดยละลายในทูโลอีนสำหรับฉีดวิเคราะห์ HPLC (Gerpen, 2005)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สาหร่ายมีความชื้นสูงร้อยละ 87 ปริมาณน้ำมันที่มีอยู่ในผงสาหร่าย (Total oil) มีเพียงร้อยละ 18% เมื่อนำมาทำการวิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ และกรดไขมันอิสระเบื้องต้นด้วย TLC และ HPLC พบว่า น้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปโรไจร่ามีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ร้อยละ 30 และมีกรดไขมันอิสระสูงร้อยละ 65.9 ดังแสดงใน Figure 1

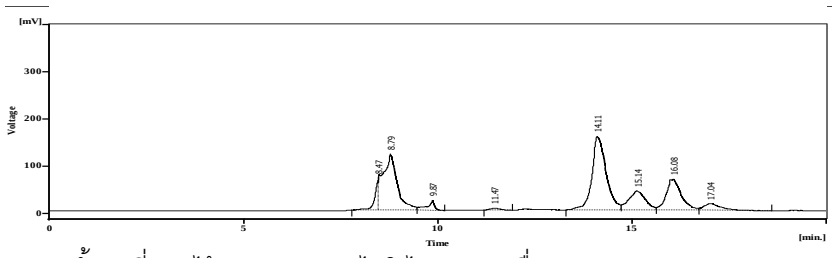

Figure1 โครมาโตแกรมของน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปโรไจราจากเครื่อง HPLC

หลังการทำปฏิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น กรดไขมันอิสระลดลงมาอยู่ที่ร้อยละ 2.2 และร้อยละของไบโอดีเซลอยู่ที่ 32.4 ดังแสดงใน Figure 2 และเมื่อเสร็จสิ้นปฏิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นพบว่าปริมาณร้อยละของ ไบโอดีเซลที่เกิดขึ้นเพิ่มสูงขึ้นอยู่ที่ร้อยละ 50 ดังแสดงในรูป Figure 3

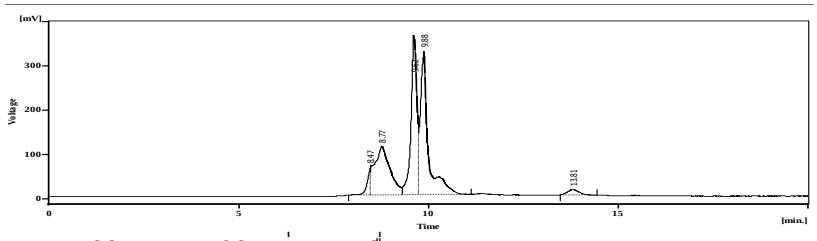

Figure 2 โครมาโตแกรมหลังปฏิกิยาเอสเทอริฟิเคชั่นจากเครื่อง HPLC

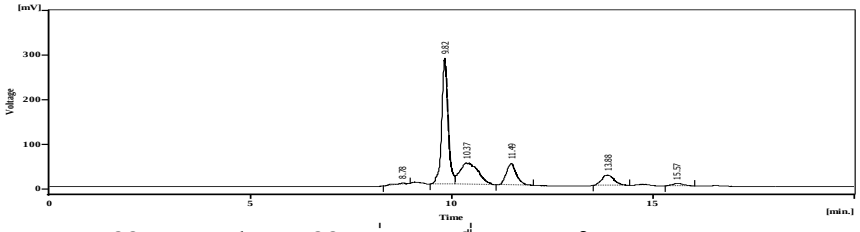

Figure 3 โครมาโตแกรมหลังปฏิกิยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นจากเครื่อง HPLC โดย

นอกจากนี้สาหร่ายสไปโรไจร่ามีองค์ประกอบของกรดไขมันหลักๆอยู่ 6 ชนิด ได้แก่ Palmitoleic acid, Heptadecanoic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid และ Alpha-Linoleic acid

น้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปโรไจราในการทดลองครั้งนี้ ซึ่งเก็บตัวอย่างสาหร่ายสดมาจากแหล่งน้ำธรรมชาติในตำบลหนองกุง อำเภอน้ำพอง จังหวัดขอนแก่น ซึ่งได้ทำการศึกษาสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายเฮกเซน (มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2555) โดยการนำสาหร่ายสดที่เก็บมาได้อบที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อคำนวณหาปริมาณความชื้นหลังจากการอบจนแห้งแล้วพบว่าสาหร่าย สไปโรไจรามีความชื้นที่สูงมากโดยมีความชื้นสูงถึงร้อยละ 75 และเมื่อนำสาหร่ายที่อบแห้ง 100 กรัม มาสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายเฮกเซน พบว่าในผงสาหร่ายอบแห้งมีปริมาณน้ำมันที่น้อยมากเพียง 18 กรัม จากนั้นนำน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปโรไจราทดสอบคุณภาพของน้ำมันเบื้องต้นด้วยด้วยแผ่น TLC โดยเปรียบเทียบกับไตรกลีเซอร์ไรด์ของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ และกรดไขมันอิสระของน้ำมันไขรำข้าว จากการทดลองนี้พบว่า น้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปโรไจรามีองค์ประกอบของไตรกลีเซอร์ไรด์และ มีองค์ประกอบของกรดไขมันอิสระอยู่ด้วย จากนั้นจึงได้นำน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปโรไจรามาฉีดวิเคราะห์ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เพื่อต้องการทราบร้อยละของไตรกลีเซอร์ไรด์ และ กรดไขมันอิสระที่แน่นอนก่อนที่จะนำไปผลิตไบโอดีเซลจึงพบว่า ปริมาณของกรดไขมันมีสูงถึงร้อยละ 65.9 จึงไม่สามารถทำไบโอดีเซลที่เร่งปฏิกิริยาแบบทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นแบบขั้นตอนเดียวได้ ดังนั้น

จึงต้องนำน้ำมันที่สกัดได้นั้นผ่านกระบวนการเอสเทอริฟิเคชั่นเสียก่อนโดยมีเมทานอล (CH_3OH) และใช้กรดซัลฟิวริก(H_2SO_4) ความเข้มข้น 0.5 M เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยใช้ตัวอย่างน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปโรไจร่า 50 ml (Oilgae, 2012) โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมคือ อัตราส่วนน้ำมันกับแอลกอฮอล์ใช้ 6:1 อุณหภูมิ 60°C และเวลาในการทำปฏิกิริยา 60 นาที เพื่อลดกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ให้ต่ำกว่าร้อยละ 3 ผลที่ได้หลังจากการทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่นวิเคราะห์ด้วย HPLC กรดไขมันอิสระลดลงเหลือเพียงร้อยละ 2.2 ซึ่งเหมาะสมกับต่อการใช้ปฏิกิริยาแบบทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นด้วยเมทานอล (CH_3OH) โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 1 ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยใช้ตัวอย่างน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปโรไจร่า 30 ml โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมคือ อัตราส่วนน้ำมันกับแอลกอฮอล์ใช้ 6:1 อุณหภูมิ 60°C และเวลาในการทำปฏิกิริยา 60 นาที เมื่อวิเคราะห์ร้อยละองค์ประกอบของไบโอดีเซลด้วยเครื่อง HPLC อีกครั้ง พบว่าไบโอดีเซลมีความบริสุทธิ์ที่ร้อยละ 50

สรุปผล

ในการทดลองพบว่าสาหร่ายสไปโรไจราสดมีความชื้นสูงถึงร้อยละ 87 และปริมาณน้ำมันประมาณร้อยละ 12 โดยองค์ประกอบหลักของน้ำมันนั้นเป็นกรดไขมัน 6 ชนิด ได้แก่ palmitoleic acid, heptadecanoic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid และ alpha- linoleic acid น้ำมันที่สกัดได้มีค่า Free Fatty acid สูงถึงร้อยละ 65.9 หลังจากผ่านขั้นตอนเอสเทอริฟิเคชั่นค่า Free Fatty acid ได้ลดลงเหลือร้อยละ 2.2 มีเมทิลเอสเทอร์อยู่ร้อยละ 32.4 และมีไตรกลีเซอร์ไรด์ร้อยละ 27.9 เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น พบว่าปริมาณเมทิลเอสเทอร์เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 50 โดยมีความหนืดอยู่ที่ 3.94 Cst จากผลการทดลองสาหร่ายสาหร่ายสไปโรไจราสามารถนำมาผลิตไบโอดีเซลได้เพียงร้อยละ 50 ซึ่งถือว่าน้อย แต่การทดลองนี้เป็นเพียงการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสาหร่ายสไปโรไจร่าซึ่งเป็นสาหร่ายน้ำจืดที่พบอยู่ตามแหล่งน้ำทั่วไปในธรรมชาติมาผลิตเป็นไบโอดีเซลเพื่อเป็นพลังงานทดแทนในอนาคต ส่วนผลของการหาคุณสมบัติบางประการของไบโอดีเซลที่ผลิตได้จากน้ำมันสาหร่ายได้แก่ ค่าไอโอดีน ค่าดัชนีซีเทน และค่าความร้อนในการเผาไหม้นั้นไม่ได้ทำการทดลอง เนื่องด้วยข้อจำกัดทางวัตถุดิบที่มีน้อย แต่อย่างไรก็ตาม สำหรับวัตถุดิบที่จะนำมาสกัดน้ำมันนั้นสาหร่ายก็ยังเป็นที่น่าสนใจในการพัฒนาต่อยอดออกไปอีกซึ่งอาจมีประโยชน์ทางด้านพลังงานไม่มากก็น้อย เนื่องจากสาหร่ายที่นำมาทดลองนั้น เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และไม่ต้องการพื้นที่ในการเพาะปลูก อีกทั้งไม่แย่งพื้นที่พืชอาหารเหมือนพืชอื่นๆ ที่นำมาสกัดน้ำมัน จึงมีความเป็นไปได้ว่าในอนาคต สาหร่ายสไปโรไจร่าจะเป็นอีกหนึ่งในวัตถุดิบทดแทนในการผลิตไบโอ-ดีเซล เพื่อช่วยลดการนำเข้าน้ำมันเชื้อเพลิงและรักษาสิ่งแวดล้อมให้กับเมืองไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร. คณิต กฤษณังกูร รศ. ดร. กรณ์กนก อายุสุข รศ. ดร. อรพิน เกิดชูชื่น รศ. ดร. ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีไขมัน คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

เอกสารอ้างอิง

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2555, นักวิชาการ ม.อ. วิจัยการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กโดยไม่ผ่านการอบแห้ง [สืบค้น], http://www.psu.ac.th/en/node/2623 [27/January/12].

Kapdan, I.K. and Kargi, F., 2006, Bio-Hydrogen Production from Waste Materials, Enzyme and Microbial Technology, Vol. 38, pp. 569-582.

Gerpen, J.V., 2005, Biodiesel Processing and Production, Fuel Processing Technology, 86: 1097-1107.

Oilgae, 2012, Biodiesel from Algae Oil [Online], Available: http://www.oilgae.com/ [10/January/12].