

ความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กผลิตน้ำมันในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

Diversity of Bio-oil Freshwater Microalgae in Satuek District, Buri Ram Province

วิไลวัลย์ มานำเที่ยง¹ วชรี กัลยาลัง² และบังอร แถวโนนงิ้ว^{3*}

Wilaiwan Manamthiang¹, Watcharee Kunyalung² and Bungorn Thaewnon-ngiw^{3*}

บทคัดย่อ

ปัจจุบันปริมาณการใช้ไขมันเชื้อเพลิงสูงขึ้นโดยเฉพาะพลังงานจากน้ำมัน ทำให้ประสบปัญหาขาดแคลนน้ำมัน จึงมีการหาแหล่งพลังงานทดแทนซึ่งสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กมีศักยภาพในการผลิตน้ำมันได้คุ้มทุนกว่าพืชน้ำมันหลายชนิด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก ตรวจสอบสาหร่ายขนาดเล็กที่ผลิตน้ำมันโดยวิธีไนล์เรดและเทียบเคียงกับงานวิจัยก่อนนี้ เก็บตัวอย่างสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กด้วยถุงพลาสติกขนาดตา 10 ไมโครเมตรจากแหล่งน้ำต่าง ๆ ในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ พบสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กทั้งหมด 5 ดิวิชัน 22 วงศ์ 47 สกุล 71 ชนิด โดยพบสาหร่ายขนาดเล็กที่ผลิตน้ำมันได้ทั้งหมด 15 ชนิด ดิวิชัน Chlorophyta พบมากที่สุด ผลการตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิด คือ *Botryococcus braunii* *Scenedesmus acuminatus* และ *Chlorella* sp. พบว่า *B. braunii* ผลิตน้ำมันได้มากที่สุดเพราะมีการเรียงแสงสีเหลืองเกือบเต็มเซลล์ ซึ่งพบในจุดที่ 3 7 8 และ 12 คือ บ้านหนองน้ำขุ่น ตำบลร้อนทอง บ้านสระกอไทรและบ้านตลาด ตำบลนิคม และบ้านสะแก ตำบลสะแก ตามลำดับ ความหลากหลายของชนิดสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันพบมากที่สุดในจุดที่ 12 ข้อมูลสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันจากวิจัยนี้เป็นข้อมูลใหม่เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกต่อไป

คำสำคัญ: สาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กผลิตน้ำมัน ความหลากหลาย การย้อมสีไนล์เรด

¹ สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

² ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

³ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

* Corresponding author e-mail: ttbungorn@hotmail.com

Received: 12 September 2019, Revised: 31 October 2019, Accepted: 7 February 2020

Abstract

Nowadays, there are increasing energy consumption, especially energy from oil. According to the search of renewable energy sources, there are found that freshwater microalgae have the potential to produce oil more cost-effective than many oil plants do. The aims of this research were to study the diversity of freshwater microalgae, examine freshwater microalgae for bio-oil production by Nile Red Staining technique and compare them with the results of previous research. The collection of microalgae used a 10 micrometer plankton net from water sources in Satuek district, Buri Ram province. The results found that diversity of microalgae could be classified into 5 divisions, 22 families, 47 genus, 71 species. There were 15 species of microalgae that can produce bio-oil, most of them were Chlorophyta division. The tests of bio-oil production among the 3 microalgae; namely, *Botryococcus braunii*, *Scenedesmus acuminatus* and *Chlorella* sp. found that *B. braunii* produced the highest amount of oil because almost full of its cells had yellow glow. This microalgae were found at the stations of number 3, 7, 8 and 12; which were Ban Nong Nam Khun, Ron Thong Subdistrict, Ban Sakor Sai and Ban Talat, Nikom Subdistrict, and Ban Sakae, Sakae Subdistrict, respectively. The most diverse species of microalgae for bio-oil production were found at the station of number 12. The data of microalgae for bio-oil production from this research are new data to be used as an alternative energy source.

Keywords: freshwater microalgae for bio-oil production, diversity, Nile red staining

บทนำ

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ และเจริญได้ดีในน้ำซึ่งมีคุณสมบัติทางเคมีหรือทางกายภาพที่เหมาะสม (ยุวดี, 2546) บทบาทสำคัญของสาหร่ายในระบบนิเวศคือเป็นผู้ผลิต นอกจากนี้สาหร่ายยังสามารถสร้างสารบางชนิดทั้งที่มีประโยชน์และโทษต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ มนุษย์จึงนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร อาหารเสริม เครื่องสำอางและยา ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพในพื้นที่เกษตรกรรม ใช้ในการติดตามและตรวจสอบคุณภาพน้ำ และใช้ในการบำบัดน้ำเสียในแหล่งน้ำต่าง ๆ รวมทั้งใช้เป็นแหล่งในการผลิตน้ำมันเชื้อเพลิงต่าง ๆ เป็นต้น

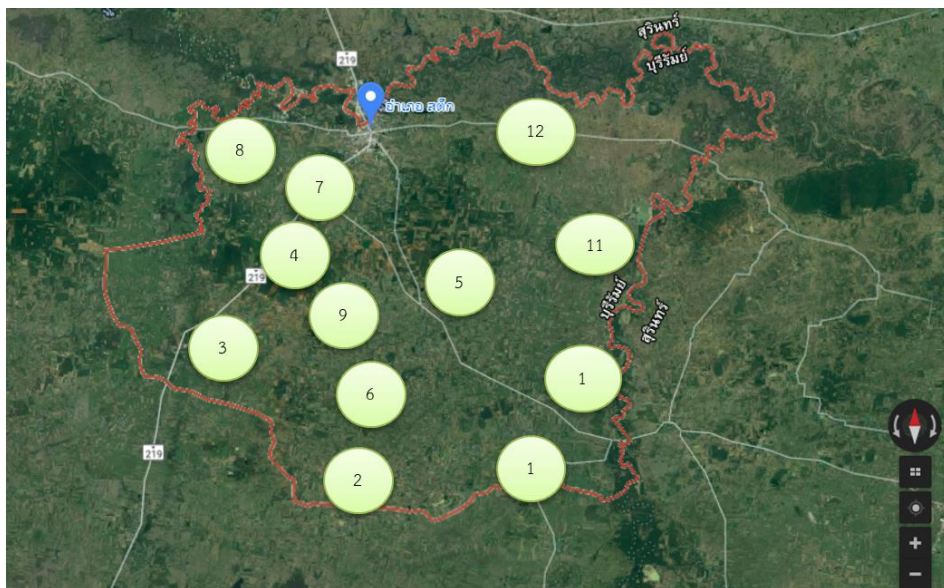
ในสถานการณ์โลกปัจจุบันมีปริมาณการใช้พลังงานเชื้อเพลิงสูงขึ้น โดยเฉพาะพลังงานจากน้ำมัน ส่งผลให้ราคาน้ำมันเชื้อเพลิงสูงขึ้นกระทบต่อการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศต่าง ๆ รวมทั้งประเทศไทยที่ต้องพึ่งพาพลังงานนำเข้าอย่างมากในแต่ละปี ส่วนผลกระทบอีกด้านที่สำคัญคือ ภาวะโลกร้อนที่เกิดจากการใช้พลังงานเชื้อเพลิงประเภทฟอสซิล ทำให้ประเทศต่าง ๆ เร่งประหยัดพลังงานทุกภาคส่วนและใช้พลังงานทางเลือกทดแทนซึ่งได้รับความสนใจมากที่สุดขณะนี้คือไบโอดีเซล โดยผลิตจากชีวมวลนั่นคือการนำน้ำมันจากสัตว์หรือจากพืช ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภทไตรกลีเซอไรด์มาผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ซึ่งเป็นกระบวนการทางเคมี แต่จากการนำน้ำมันจากสัตว์หรือจากพืชมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาจส่งผลกระทบต่อราคาต้นทุนการผลิตเนื่องจากพืชดังกล่าวจำเป็นต้องใช้ระยะเวลาและพื้นที่เพาะปลูกจำนวนมาก ดังนั้นจึงมีการแสวงหาแหล่งวัตถุดิบอื่นในการผลิตพลังงานทดแทน พบว่าวัตถุดิบดังกล่าวคือชีวมวลจากสาหร่ายขนาดเล็ก แต่คุณสมบัติเด่นที่แตกต่างจากพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ คือสาหร่ายขนาดเล็กใช้พื้นที่เพาะปลูกน้อย เจริญเติบโตเร็ว ให้ผลผลิตต่อพื้นที่มาก ในการตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งวิธีที่สะดวกและรวดเร็วโดยใช้สีย้อมไนล์เรดจะแสดงความมีขี้และไม่มีขี้ของไขมันซึ่งจะปล่อยคลื่นจากสีแดงเป็นสีเหลือง (Diaz *et al.*, 2008) ดังนั้นฟอสโฟลิปิดส่วนใหญ่ที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ทั่วไปจะปล่อยแสงสีแดง ในขณะที่ไขมันประกอบด้วยนิวทรัลลิพิดคล้ายกับคลอเรสเตอรอลเอสเทอร์ และไตรกลีเซอไรด์จะเรืองแสงสีเหลืองซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้เป็นข้อดีของสีย้อมไนล์เรด นอกจากนี้กระบวนการประเมินผลแสดงให้เห็นว่าวิธีการนี้มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายสดสำหรับการใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (Xu *et al.*, 2011)

งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถผลิตน้ำมันได้ และตรวจสอบการผลิตน้ำมันในสาหร่ายโดยใช้เทคนิคการย้อมสีไนล์เรด (Nile red staining) โดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ ซึ่งยังไม่มีรายงานการสำรวจมาก่อน ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาด้านความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันและเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างและการตรวจสอบชนิดของสาหร่ายขนาดเล็ก

1.1 เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ แบบสุ่มครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมด 12 จุด ดังภาพที่ 1 โดยใช้ถุงพลาสติกขนาดตา 10 ไมโครเมตร ลากในแนวเฉียงจากระดับความลึกจากผิวน้ำ 50 เซนติเมตร จากนั้นเทตัวอย่างลงในขวดพลาสติกเพื่อนำไปตรวจสอบชนิดของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง 3 ข้ว เวลาในการเก็บตัวอย่าง ตั้งแต่ 08.00-12.00 น. ในช่วงระหว่างเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม พ.ศ. 2560



ภาพที่ 1 พื้นที่เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

จุดที่ 1) บ้านตามา ตำบลชุมแสง พิกัด 15.119604 103.347739

จุดที่ 2) บ้านสวายตางวน ตำบลหนองใหญ่ พิกัด 15.126172 103.314470

จุดที่ 3) บ้านหนองน้ำขุ่น ตำบลร่อนทอง พิกัด 15.179044 103.263102

จุดที่ 4) โรงงานน้ำแข็ง ตำบลนิคม พิกัด 15.266754 103.265975

จุดที่ 5) บ้านหนองเกาะ ตำบลสตึก พิกัด 15.275929 103.309685

จุดที่ 6) โรงเรียนเมืองแกพิทยาคม ตำบลเมืองแก พิกัด 15.172970 103.319973

จุดที่ 7) บ้านสระกอไทร ตำบลนิคม พิกัด 15.280384 103.257326

จุดที่ 8) บ้านตลาด ตำบลนิคม พิกัด 15.294069 103.204086

จุดที่ 9) บ้านคูขาด ตำบลสตึก พิกัด 15.264155 103.283863

จุดที่ 10) บ้านกระสัง ตำบลกระสัง พิกัด 15.214932 103.413609

จุดที่ 11) บ้านทุ่งวัง ตำบลทุ่งวัง พิกัด 15.263857 103.388409

จุดที่ 12) บ้านสะแก ตำบลสะแก พิกัด 15.302936 103.352996

1.2 การตรวจสอบชนิดของสาหร่ายขนาดเล็ก ตรวจสอบชนิดโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยเตรียมสไลด์สดศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยี่ห้อ Olympus รุ่น BX53F และบันทึกภาพ เพื่อจัดจำแนกชนิดตามวิธีของ ยูวตี (2556); ลัดดา (2542); Graham *et al.* (2009) และ Bold and Wynne (1985)

2. การตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก

ตรวจสอบการผลิตน้ำมันโดยการเปรียบเทียบกับรายงานวิจัยของอรพรรณ และรัฐภูมิ (2556); Chisti, (2007); Abdo *et al.* (2013); Nascimento *et al.* (2014); Prasertsin and Peerapornpisal (2018) และอื่น ๆ ที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ จากนั้นคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมัน จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *B. braunii* *S. acuminatus* และ *Chlorella* sp. มาตรวจสอบการผลิตน้ำมันด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรดและมีขั้นตอนการตรวจสอบดังนี้

2.1 คัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กให้ได้เซลล์เดี่ยวโดยเทคนิคการล้างเซลล์ด้วยไมโครปิเปต (micropipette washing) ตามวิธีของลัดดา (2540)

2.2 นำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร BG-11 เป็นเวลา 45 วัน แล้วนำไปตรวจสอบการผลิตน้ำมัน

2.3 ตรวจสอบน้ำมันในเซลล์ด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรด (ดัดแปลงจาก Chen *et al.*, 2009) โดยซึ่งสารไนล์เรดปริมาณ 1 มิลลิกรัม ผสมลงในตัวทำละลายอะซีโตน (acetone) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำ dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 75 มิลลิลิตร แล้วทำการเตรียมสาหร่ายในการย้อมสีไนล์เรด ตามอัตราส่วนดังนี้ สาหร่าย 5 ไมโครลิตร : DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 25 100 ไมโครลิตร : สีไนล์เรด 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำเซลล์สาหร่ายไปตรวจสอบปริมาณน้ำมันด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ ถ้ามีไขมันจะเห็นการเรืองแสงสีเหลือง บันทึกภาพ

ผลการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างและการตรวจสอบชนิดของสาหร่ายขนาดเล็ก

ผลจากการสำรวจความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กในพื้นที่ทั้งหมด 12 จุด ซึ่งสามารถจัดจำแนกได้ 5 ดิวิชัน (division) 22 วงศ์ (family) 47 สกุล (genus) 71 ชนิด (species) ดังแสดงในตารางที่ 1 จากข้อมูลพบสาหร่ายขนาดเล็กในดิวิชัน Chlorophyta มีความหลากหลายมากที่สุด จำนวน 35 ชนิด รองลงมาคือ ดิวิชัน Euglenophyta จำนวน 12 ชนิด Cyanophyta จำนวน 12 ชนิด Bacillariophyta จำนวน 11 ชนิด และดิวิชัน Chrysophyta จำนวน 1 ชนิด ตามลำดับ

ตารางที่ 1 การจำแนกสาหร่ายขนาดเล็กที่พบจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

ดิวิชัน	แฟมิลี	จีนัส	สปีชีส์
Cyanophyta	6	9	12
Bacillariophyta	5	9	11

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ดิวิชัน	แฟมิลี	จีนัส	สปีชีส์
Euglenophyta	1	4	12
Chlorophyta	9	24	35
Chrysophyta	1	1	1

2. การตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก

การศึกษาน้ำมันในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรด จากตัวอย่างทั้งหมด 12 จุด ดังตารางที่ 2 จากข้อมูลพบสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันมากที่สุดในจุดที่ 12 บ้านสะแก ตำบลสะแก ส่วนจุดที่ไม่พบสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมัน คือจุดที่ 9 บ้านคูขาด ตำบลสตึก

ตารางที่ 2 ชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กที่พบและจำนวนชนิดที่สามารถผลิตน้ำมันได้จากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ ทั้งหมด 12 จุด

จุดเก็บตัวอย่าง	ชนิดที่พบ	ชนิดที่สามารถผลิตน้ำมัน
จุดที่ 1	4	1
จุดที่ 2	7	3
จุดที่ 3	7	3
จุดที่ 4	3	1
จุดที่ 5	8	5
จุดที่ 6	6	2
จุดที่ 7	1	1
จุดที่ 8	18	2
จุดที่ 9	8	0
จุดที่ 10	12	1
จุดที่ 11	5	2
จุดที่ 12	10	6

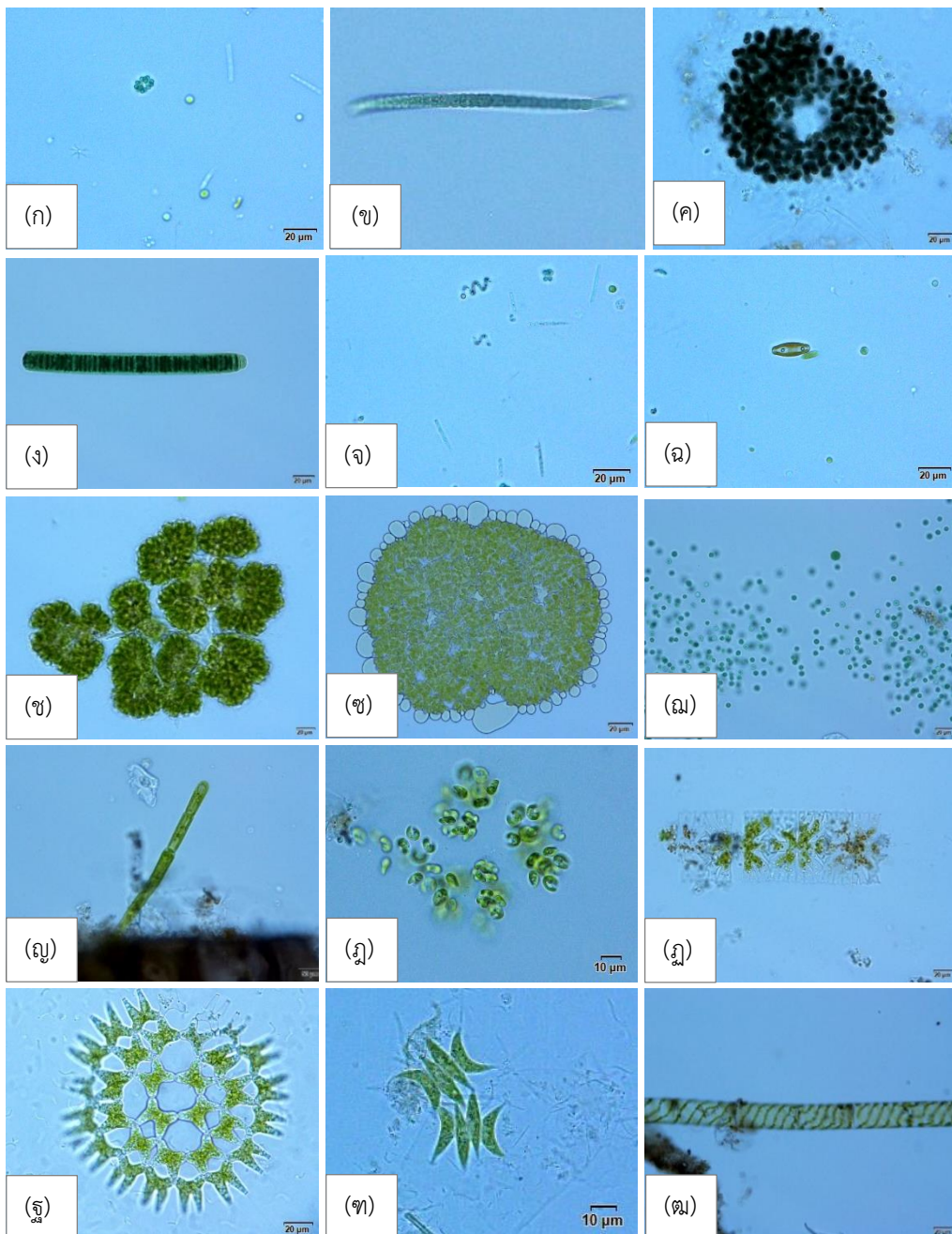
จากตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กทั้งหมด 71 ชนิด พบสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันทั้งหมด 15 ชนิด ประกอบด้วย ดิวิชัน Cyanophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 5 ชนิด จาก 12 ชนิด Bacillariophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 1 ชนิด จาก 11 ชนิด และ Chlorophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 9 ชนิด จาก

35 ชนิด ดังภาพที่ 2 และตารางที่ 3 ส่วนสาหร่ายขนาดเล็กในดิวิชัน Euglenophyta จำนวน 12 ชนิด และดิวิชัน Chrysophyta จำนวน 1 ชนิด ไม่พบการผลิตน้ำมัน

ตารางที่ 3 สาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันที่พบจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

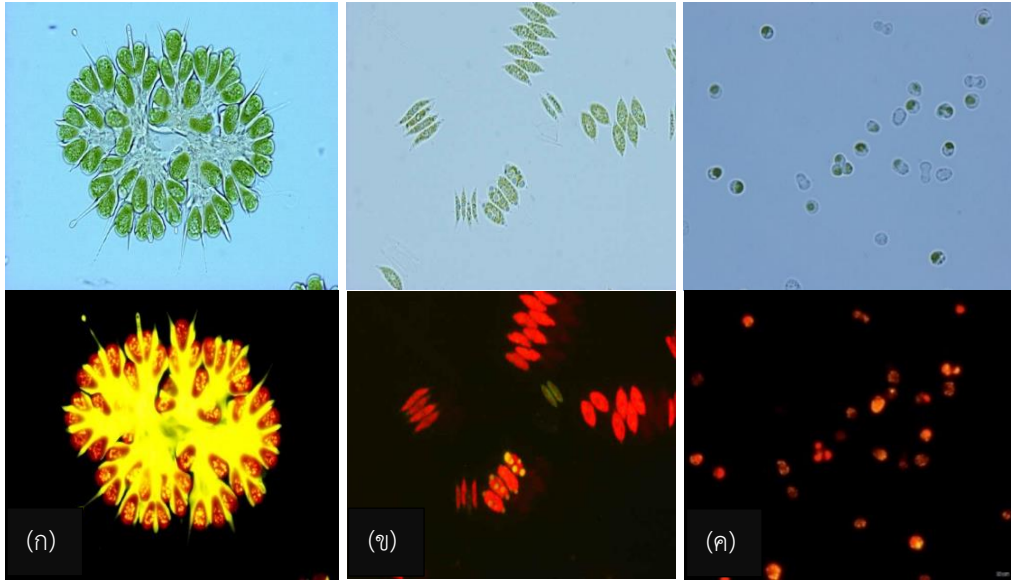
ดิวิชัน	ชนิด	จุดที่พบตัวอย่าง
Cyanophyta	<i>Coelomoron pusillum</i>	2
	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	12
	<i>Microcystis aeruginosa</i>	5 6 11 12
	<i>Oscillatoria</i> sp.	5 6 12
	<i>Spirulina</i> sp.	2
Bacillariophyta	<i>Navicula</i> sp.	2 4
Chlorophyta	<i>Botryococcus</i> sp.1	3
	<i>B. braunii</i>	3 7 8 12
	<i>Chlorella</i> sp.	10
	<i>Cladophora</i> sp.	12
	<i>Kirchneriella lunaris</i>	1 5
	<i>Micrasterias foliacea</i>	8
	<i>Pediastrum duplex</i>	5 11
	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	5
	<i>Spirogyra</i> sp.	3 12

ผลการตรวจสอบการผลิตน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิด ได้แก่ *B. braunii* *S. acuminatus* และ *Chlorella* sp. ด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรด ดังแสดงในภาพที่ 3 ก่อนย้อมสีไนล์เรดสามารถมองเห็นคลอโรฟิลล์ในเซลล์ได้อย่างชัดเจน หลังการย้อมสีไนล์เรดจะปรากฏการเรืองแสงสีเหลือง ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการสร้างน้ำมัน ส่วนบริเวณสีแดงประกอบด้วยคลอโรฟิลล์และสารอื่น ๆ ที่เซลล์สร้างขึ้นโดยการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ จากการทดลองสาหร่ายขนาดเล็กที่เห็นการเรืองแสงสีเหลืองเกือบเต็มเซลล์และชัดเจนที่สุดคือ *B. braunii*



ภาพที่ 2 สาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันที่พบจากแหล่งน้ำในอำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

(ก) *C. pusillum* (ข) *C. raciborskii* (ค) *M. aeruginosa* (ง) *Oscillatoria* sp.
 (จ) *Spirulina* sp. (ฉ) *Navicula* sp. (ช) *Botryococcus* sp.1 (ซ) *B. braunii*
 (ณ) *Chlorella* sp. (ญ) *Cladophora* sp. (ฎ) *K. lunaris* (ฏ) *M. foliacea*
 (ฐ) *P. duplex* (ฑ) *S. acuminatus* และ (ฒ) *Spirogyra* sp.



ภาพที่ 3 การตรวจสอบน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กโดยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรด (ภาพบนก่อนย้อมสีไนล์เรด-ภาพล่างหลังย้อมสีไนล์เรด)

(ก) *B. braunii* (ข) *S. acuminatus* และ (ค) *Chlorella* sp.

การอภิปรายผลการวิจัย

จากการสำรวจสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กในเขตพื้นที่อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ ทั้งหมด 12 จุด โดยเก็บตัวอย่างด้วยถุงพลาสติกขนาดตา 10 ไมโครเมตร แล้วเทลงในขวดพลาสติกโดยไม่ใช้สารเคมีในการเก็บรักษาภาพเนื่องจากต้องทำการคัดแยกเซลล์เพื่อนำไปเลี้ยงสำหรับขั้นตอนการตรวจสอบน้ำมันต่อไป สามารถจัดจำแนกได้ทั้งหมด 5 ดิวิชัน (division) 22 วงศ์ (family) 47 สกุล (genus) 71 ชนิด (species) จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบสาหร่ายขนาดเล็กในดิวิชัน Chlorophyta มีความหลากหลายมากที่สุด จำนวน 35 ชนิด รองลงมาคือ ดิวิชัน Euglenophyta จำนวน 12 ชนิด ดิวิชัน Cyanophyta จำนวน 12 ชนิด ดิวิชัน Bacillariophyta จำนวน 11 ชนิด และดิวิชัน Chrysophyta จำนวน 1 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 49.30 16.90 16.90 15.49 และ 1.41 ของสาหร่ายขนาดเล็กที่พบทั้งหมดตามลำดับ ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 5 ดิวิชันนี้เป็นสาหร่ายที่พบทั่วไปในน้ำจืด สอดคล้องกับงานวิจัยของไพริน และคณะ (2553) ได้ศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายในบึงบอระเพ็ด จังหวัดนครสวรรค์ พบความหลากหลายของดิวิชัน Chlorophyta มากที่สุด ส่วนดิวิชันที่พบน้อยที่สุดคือ Chrysophyta

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการผลิตน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กบางชนิดเท่านั้น โดยเลือกสาหร่ายมาจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *B. braunii* *S. acuminatus* และ *Chlorella* sp. เนื่องจากต้องใช้ความชำนาญอย่างสูงในขั้นตอนการคัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กให้ได้เซลล์เดี่ยว ด้วยเทคนิคการล้างเซลล์ด้วยไมโครปิเปต แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร BG-11 เป็นเวลา 45 วัน เพื่อตรวจสอบการผลิตน้ำมันโดยใช้เทคนิคการย้อมสีไนล์เรด ในเซลล์สาหร่ายที่สามารถผลิตน้ำมันจะเรืองแสงสีเหลืองเมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ (Rattanapoltee and Kaewkannetra, 2013; Gusbeth *et al.*, 2016) และผลจากการทดลองนี้สาหร่ายที่เห็นการเรืองแสงสีเหลืองเกือบเต็มเซลล์ชัดเจนที่สุดคือ *B. braunii* ซึ่งพบสาหร่ายดังกล่าวนี้ในจุดที่ 3 7 8 และ 12 คือ บ้านหนองน้ำขุน ตำบลร่อนทอง บ้านสระกอไทรและบ้านตลาด ตำบลนิคม และบ้านสะแก ตำบลสะแก ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของสุนิรัตน์ และคณะ (2555) ได้ทำการคัดเลือกสาหร่ายเพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซลพบว่า *B. braunii* มีไขมันมากที่สุด ร้อยละ 13.2 ± 0.2 และกรดไขมันที่มีปริมาณมากที่สุดคือกรดปาล์มติก Prasertsin and Peerapornpisal (2018) ทำการคัดแยกและตรวจสอบความสามารถในการผลิตน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำจืดในภาคเหนือของประเทศไทย พบว่า *B. braunii* มีปริมาณน้ำมันมากที่สุด ร้อยละ 39.25 ± 0.32 โดยน้ำหนักแห้ง และมีรายงานวิจัยการพัฒนาและศึกษาวิธีการนำน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กมาใช้ในการผลิตพลังงานชีวภาพ Boni *et al.* (2018) ศึกษาไขมันจาก *B. braunii* เพื่อศึกษาภาพในการผลิตไบโอดีเซล ด้วยวิธีการสกัดแบบซอกซ์เล็ท Dilia and Leila (2018) พบว่า *B. braunii* มีปริมาณของกรดโอเลอิกอยู่ระหว่างร้อยละ 15.65-35.85 กรดไลโนเลอิก ร้อยละ 3.05-23.15 กรดปาล์มติก ร้อยละ 4.03-22.13 และกรดสเตียริก ร้อยละ 0.48-15.41 ซึ่งเป็นตัวแปรในการเลือกน้ำมันจากสาหร่ายชนิดนี้ในการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากอัตราส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวไม่แตกต่างกันมาก

ส่วนสาหร่ายขนาดเล็กอีก 13 ชนิดที่ไม่ได้ตรวจสอบการผลิตน้ำมันโดยใช้เทคนิคการย้อมสีไนล์เรด สามารถสรุปว่าผลิตน้ำมันได้ โดยอ้างอิงจากเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของอรพรรณและรัฐภูมิ (2556) วิเคราะห์ปริมาณน้ำมันชีวภาพที่สกัดด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส พบว่า *Spirogyra* sp. มีปริมาณน้ำมันชีวภาพอย่างหนาแน่นมากที่สุด ร้อยละ 14.05 ± 3.00 (น้ำหนักน้ำมันต่อน้ำหนักสาหร่ายแห้ง) รองลงมาคือ *Microcystis* sp. ร้อยละ 13.35 ± 3.00 และน้อยที่สุดใน *Cladophora* sp. ร้อยละ 5.84 ± 0.10 และผลการวิเคราะห์ดังกล่าวนี้สามารถนำมาพัฒนาการผลิตพลังงานทดแทนในรูปแบบของน้ำมันไบโอดีเซลได้ ภาณีนิ และคณะ (2559) ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญและการผลิตน้ำมันในเซลล์สดของสาหร่ายขนาดเล็กพบว่า *Chlorella* sp. ให้ค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 32.814 โดยน้ำหนัก และเมื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณไขมันพบว่า มีความเหมาะสมในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล Abdo *et al.* (2013) ตรวจสอบองค์ประกอบของกรดไขมันและปริมาณน้ำมันทั้งหมดของสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 19 สายพันธุ์ ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างจากแม่น้ำไนล์ของ

อียิปต์ จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร BG-11 ก่อนทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตและตรวจสอบปริมาณน้ำมันพบว่า *M. aeruginosa* มีปริมาณน้ำมันสูงที่สุดคือร้อยละ 30 Nascimento *et al.* (2014) วิเคราะห์ไบโอดีเซลจากน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กเปรียบเทียบกับน้ำมันจากพืช พบว่าน้ำมันจากสาหร่าย 6 สายพันธุ์มีผลผลิตของน้ำมันที่สูงกว่า 40 มิลลิลิตร $1^{-1}day^{-1}$ และ *B. braunii* มีปริมาณน้ำมันร้อยละ 45.0 ± 3.6 ต่อน้ำหนักแห้ง Abdo *et al.* (2014) ทำการแยกสาหร่ายผลิตน้ำมันเพื่อเป็นกุญแจสำคัญในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล โดยตรวจสอบการผลิตน้ำมันด้วยเทคนิคการย้อมสีไนล์เรด และศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ที่ค่า excitation 450-490 นาโนเมตร และค่า emission 515 นาโนเมตร โดยนิวทริลลิฟิเคชันหรือไตรกลีเซอไรด์จะปรากฏจุดสีเหลือง และพบว่า *M. aeruginosa* ปรากฏสีเหลืองชัดเจนและมีปริมาณไขมันสูงถึงร้อยละ 30 ± 0.3 Chtourou *et al.* (2015) ทำการสกัดน้ำมันจาก *Navicula* sp. พบว่าน้ำมันที่ได้มีความเหมาะสมในการนำไปผลิตไบโอดีเซล Melanie and Fithriani (2015) ศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันสำหรับใช้ทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิลจาก *Spirulina* sp. และ *Chlorella* sp. พบว่าวิธี sonicator เป็นวิธีที่ดีที่สุด Gani *et al.* (2016) ชี้ให้เห็นว่า *Botryococcus* sp. มีประสิทธิภาพในการกำจัดมลพิษและสำหรับพัฒนาแหล่งพลังงานหมุนเวียนในการผลิตไบโอดีเซล Patel *et al.* (2017) ศึกษาผลจากการสังเคราะห์ด้วยแสงของไซยาโนแบคทีเรียทั้งหมด 7 สายพันธุ์ เพื่อใช้สำหรับเป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ โดยวัดการเจริญเติบโต ชีวมวล คาร์โบไฮเดรตและไขมัน พบว่า *Oscillatoria* sp. มีปริมาณไขมันร้อยละ 8.9 Prasertsin and Peerapornpisal (2018) ทำการคัดแยกและตรวจสอบความสามารถในการผลิตน้ำมันในสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำจืดในภาคเหนือของประเทศไทย พบว่า *B. braunii* มีปริมาณน้ำมันมากที่สุดร้อยละ 39.25 ± 0.32 โดยน้ำหนักแห้ง และสาหร่ายขนาดเล็กอื่น ๆ ที่พบน้ำมันได้แก่ *K. lunaris* *P. duplex* *C. pusillum* *M. foliacea* และ *C. raciborskii* มีปริมาณน้ำมันร้อยละ 24.30 ± 0.34 14.50 ± 0.20 10.73 ± 0.25 10.45 ± 0.07 และ 8.24 ± 0.09 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาสาหร่ายในการสร้างน้ำมันซึ่งเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตไบโอดีเซล Unpaprom *et al.* (2015) ได้ทำการเพาะเลี้ยง *S. acuminatus* ในน้ำทิ้งจากโรงเลี้ยงสุกร เพื่อการบำบัดของเสียคู่กับการผลิตไบโอดีเซล พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลของสาหร่ายสดโดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการอบแห้ง Dehaghani and Pirouzfar (2018) ศึกษาสาหร่ายขนาดเล็กระหว่าง *Chlorella* sp. และ *S. platensis* พบว่า *Chlorella* sp. มีความเหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซลมากกว่าเนื่องจากเจริญเติบโตเร็ว ผลผลิตชีวมวลสูง มีปริมาณและชนิดของกรดไขมันที่เหมาะสม (C14:0 C16:0 และ C18:0) ซึ่งเป็นสารประกอบของกรดไขมันทั่วไปในไบโอดีเซล

สรุปผลการวิจัย

ผลการจำแนกสาหร่ายขนาดเล็กจากตัวอย่างทั้งหมดประกอบด้วย 5 ดิวิชัน จำแนกได้ 71 ชนิด พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถผลิตน้ำมันได้ 15 ชนิด โดยดิวิชันที่พบมากที่สุดคือ Chlorophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 9 ชนิด รองลงมาคือ Cyanophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 5 ชนิด พบน้อยที่สุดคือ Bacillariophyta สามารถผลิตน้ำมันได้ 1 ชนิด ส่วนที่ไม่พบการผลิตน้ำมัน คือ Euglenophyta และ Chrysophyta เมื่อตรวจสอบการผลิตน้ำมันโดยใช้เทคนิคการย้อมสีไนล์เรดจากสาหร่ายขนาดเล็กที่เลือกมา 3 ชนิด สาหร่ายที่เห็นการเรืองแสงสีเหลืองชัดเจนที่สุดคือ *B. braunii* ซึ่งพบสาหร่ายดังกล่าวนี้ในจุดที่ 3 7 8 และ 12 คือบ้านหนองน้ำขุ่น ตำบลร่อนทอง บ้านสระกอไทรและบ้านตลาด ตำบลนิคม และบ้านสะแก ตำบลสะแก ตามลำดับ ในด้านการแพร่กระจายของสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมันมากที่สุดในจุดที่ 12 บ้านสะแก ตำบลสะแก 6 ชนิด ส่วนจุดที่ไม่พบสาหร่ายขนาดเล็กผลิตน้ำมัน คือจุดที่ 9 บ้านคูขาด ตำบลสตึก จากข้อมูลงานวิจัยนี้ถือเป็นรายงานครั้งแรกในการศึกษาสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กผลิตน้ำมันในพื้นที่อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ เพื่อใช้เป็นแหล่งเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อการเพาะเลี้ยงสำหรับการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิริวิชญ์ เพชรจุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อีรพร กทิสาสตร์ และดร.เอกพจน์ ศรีฟ้า ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่เสียสละเวลาให้คำปรึกษาและยืนยันการจัดจำแนกสาหร่ายขนาดเล็กที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษา ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอำนวยความสะดวกในการวิจัยนี้บรรลุผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- ไพริน สุดทั้ง สรัญญา วัชรไทย์ ศรีสม สุวรรณวงศ์ และณัฐา เสนีवास. (2553). ความหลากหลายของสาหร่ายแวนดิงในบึงบอระเพ็ดจังหวัดนครสวรรค์. *พฤกษศาสตร์ไทย*, 2 (พิเศษ), 21-31.
- ภาณินี จรุงกิตติวิมล จารุวรรณ ชลสงคราม วีระสิทธิ์ สรรพมงคลไชย สมุลลิกา โมลากุล และประมุข ภาระกุลสุขสถิต. (2559). การเปรียบเทียบการเจริญและการผลิตลิพิดระหว่าง *Ankistrodesmus* sp. IFRPD No. 1061 และ *Chlorella* sp. IFRPD No. 1092 ในบ่อเปิดแบบรางคู่. ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54* (หน้า 1004-1011). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. (2546). *สาหร่ายวิทยา (Phycology)*. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

- ยุวดี พิรพรพิศาล. (2556). *สาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทย*. (พิมพ์ครั้งที่ 2). เชียงใหม่: โซटनाพรีนซ์จำกัด.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. (2540). *คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. (2542). *แพลงก์ตอนพืช (Phytoplankton)*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ปวีณา ทวีกิจการ และมณฑล แก่นมณี. (2555). การคัดเลือกสายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีไขมันสูงแบบหมวมวลเพื่อความเป็นไปได้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ. ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2555. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- อรพรรณ พรหมธนพันธ์ และรัฐภูมิ พรหมณะ. (2556). น้ำมันชีวภาพที่สกัดจากไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายสีเขียวบางชนิดที่พบในจังหวัดพะเยาและจังหวัดน่าน. *นเรศวรพะเยา*, 6(2), 96-99.
- Abdo, S.M., Ahmed, E., El-Enin, S.A., El Din, R.S., Diwani, G.E. and Ali, G. (2013). Growth rate and fatty acids profile of 19 microalgal strains isolated from river Nile for biodiesel production. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 4(4), 51-59.
- Abdo, S.M., Ahmed, E., El-Enin, S.A., El-Din, R.S., Diwani, G.E. and Ali, G. (2014). Qualitative and quantitative determination of lipid content in microalgae for biofuel production. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 5(3), 223-228.
- Bold, H.C. and Wynne, M.J. (1985). *Introduction to the algae*. (2nd ed). New Jersey: Prentice-Hall.
- Boni, J., Aida, S. and Leila, K. (2018). Lipid extraction method from microalgae *Botryococcus braunii* as raw material to make biodiesel with soxhlet extraction. *Journal of Physics*, 1095(1), 012004.
- Chen, W., Zhang, C., Song, L., Sommerfeld, M. and Hu, Q. (2009). A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae. *Journal of Microbiological Methods*, 2009(77), 41-47.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294-306.
- Chtourou, H., Dahmen, I., Karray, F., Sayadi, S. and Dhoub, A. (2015). Biodiesel production of *Amphora* sp. and *Navicula* sp. by different cell disruption and lipid extraction methods. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 9(6), 588-595.
- Dehaghani, A.H.S. and Pirouzfar, V. (2018). Investigation on the effect of microalgae *Chlorella* sp. and *Spirulina* on biodiesel production. *Petroleum Chemistry*, 58(8), 702-708.

- Diaz, G., Melis, M., Batetta, B., Angius, F. and Falchi, A.M. (2008). Hydrophobic characterization of intracellular lipids in situ by Nile red red/yellow emission ratio. *Micron*, 39(7), 819-824.
- Dilia, P. and Leila, K. (2018). Fatty acids from microalgae *Botryococcus braunii* for raw material of biodiesel. *Journal of Physics*, 1095(1), 012010.
- Gani, P., Sunar, N.M., Matias-Peralta, H.M., Latiff, A.A.A., Parjo, U.K., Embong, Z., Khalid, A. and Tajudin, S.A.A. (2016). The potential of biodiesel production from *Botryococcus* sp. biomass after phycoremediation of domestic and industrial wastewater. *Materials Science and Engineering*, 160(1), 1-9.
- Graham, L.E., Graham, J.M. and Wilcox, L.W. (2009). *Algae* (2nd ed). California: Benjamin Cummings.
- Gusbeth, C.A., Eing, C., Göttel, M., Straßner, R. and Frey, W. (2016). Fluorescence diagnostics for lipid status monitoring of microalgae during cultivation. *Journal of Renewable Energy & Biofuels*, 2016(1), 1-12.
- Melanie, S. and Fithriani, D. (2015). Determination of oil extraction rate from *Spirulina* sp. and *Chlorella* sp. by using cell disruption technique. *Journal of Widyariset*, 1(1), 61-70.
- Nascimento, A.I., Marques, S.S.I., Cabanelas, I.T.D., Carvalho, G.C., Nascimento, M.A., Souza, C.O., Druzian, J.I., Hussain, J. and Liao, W. (2014). Microalgae versus land crops as feedstock for biodiesel: productivity, quality, and standard compliance. *BioEnergy Research*, 7(3), 1002-1003.
- Patel, V.K., Sundaram, S., Patel, A.K. and Kalra, A. (2017). Characterization of seven species of cyanobacteria for high-quality biomass production. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 43(1), 109-121.
- Prasertsin, T. and Peerapornpisal, Y. (2018). Distribution and isolation of microalgae for lipid production in selected freshwater reservoirs of northern Thailand. *Biodiversitas*, 19(1), 343-350.
- Rattanapoltee, P. and Kaewkannetra, P. (2013). Nile red, an alternative fluorescence method for quantification of neutral lipids in microalgae. *Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 7(9), 889-893.

- Unpaprom, Y., Tipnee, S. and Rameshprabu, R. (2015). Biodiesel from green alga *Scenedesmus acuminatus*. *International Journal of Sustainable and Green Energy*, 4(1-1), 1-6.
- Xu, L., Brilman, D.W.F.W., Withag, J.A.M., Brem, G. and Kersten, S.R.A. (2011). Assessment of a dry and a wet route for the production of biofuels from microalgae: Energy balance analysis. *Bioresource Technology*, 102(8), 5113-5122.