บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

“การผลิตไบโอดีเซลจากยีสต์ไขมันสูงที่แยกได้จากดินในพื้นที่เขตโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราช กุมารี พื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ จ.ชัยภูมิ เมื่อใช้มันเทศเป็นวัตถุดิบ”

ไบโอดีเซลเป็นพลังงานทดแทนที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน อย่างไรก็ดีไบโอดีเซลยังคงมีราคาสูงเนื่องจากราคาของวัตถุดิบที่มีประมาณ 75% ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการผลิตและใช้ประโยชน์ และการใช้น้ำมันพืชผลิตไบโอดีเซลทำให้การผลิตน้ำมันเพื่อการบริโภคลดลงและอาจขาดแคลนพืชอาหารเนื่องจากเกษตรกรหันไปปลูกพืชน้ำมันมากขึ้นปัจจุบันงานวิจัยการผลิตไบโอดีเซลจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ศึกษาในสาหร่ายขนาดเล็ก อย่างไรก็ตามยีสต์จัดเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสูงในการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากผลิตและสะสมลิปิดภายในเซลล์ได้สูงถึง 60-70% และลิปิดเป็นไตรกลีเซอไรด์ที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันส่วนใหญ่คือ กรดปาลมิติก กรดโอเลอิคและกรดสเตียริกซึ่งมีความคล้ายกับน้ำมันจากเมล็ดพืช ข้อได้เปรียบของยีสต์ในด้านการเพาะเลี้ยง คือ เจริญเร็ว ใช้แหล่งคาร์บอนราคาถูกได้ เช่น ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตร น้ำตาลจากวัสดุเกษตรฯ การเพาะเลี้ยงยีสต์ *Rhodosporidium toruloides* Y4 แบบกะป้อนเมื่อใช้กลูโคสพบว่าให้ลิปิดสูงถึง 67.5% โดยน้ำหนักแห้ง และน้ำมันที่สกัดได้ประกอบด้วยกรดปาลมิติก กรดโอเลอิก กรดสเตียริกและกรดลิโนเลอิกและใช้ในการผลิตไบโอดีเซลได้ ยีสต์ไขมันสูงที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นสายพันธุ์ที่คัดแยกจากตัวอย่างดินในพื้นที่อนุรักษ์พันธุกรรมพืชเขื่อนจุฬาภรณ์ ที่สามารถเจริญและให้ลิปิดสูงเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และอยู่ระหว่างการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงเพื่อให้มีทั้งเซลล์และลิปิดสูง เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แต่การใช้กลูโคสทำให้ต้นทุนสูงซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการขยายขนาดการผลิตในเชิงพาณิชย์ ผลผลิตทางการเกษตรอื่นๆ เช่น มันเทศ (Sweet potato) ซึ่งเป็นพืชอีกชนิดที่มีการศึกษาเพื่อนำมาผลิตพลังงานทดแทน เช่น การหมักเป็นเอทานอลเนื่องจากมันเทศให้เปอร์เซ็นต์แป้งสูง ลักษณะเดียวกับมันสำปะหลัง แต่เป็นพืชล้มลุกเก็บเกี่ยวระยะสั้นประมาณ 90 วัน สามารถนำหัวมันเทศมาใช้ประโยชน์ได้ สามารถปลูกหมุนเวียนสูงถึงปีละ 2-3 ครั้ง โดยให้ผลผลิตเบื้องต้น 2-3 ตันไร่/ ดังนั้นมันเทศจึงเป็นพืชทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจนำมาใช้ผลิตน้ำมันจากจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งไปที่การศึกษาและพัฒนากระบวนการผลิตน้ำมันจากยีสต์ไขมันสูงเมื่อใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยมันเทศเป็นแหล่งคาร์บอน จากนั้นศึกษาการผลิตไบโอดีเซล (FAMEs) จากน้ำมันยีสต์ด้วยวิธีทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น

วัตถุประสงค์การวิจัย เพื่อผลิตน้ำมันหรือลิปิดจากยีสต์ไขมันสูง *Torulaspora maleeae* Y30 ที่แยกได้จากดินในเขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ เมื่อใช้น้ำตาลจากมันเทศเป็นแหล่งคาร์บอนและศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันยีสต์

วิธีดำเนินงานวิจัย

การศึกษาระยะเวลาการเจริญและการผลิตลิปิดของยีสต์ด้วยการหมักแบบกะ (batch cultivation) ในในอาหาร LAM medium ปริมาตร 200mL ในฟลาสก์ 500mL โดยมีน้ำตาลจากมันเทศสด (SPH1) และผง

มันเทศ (SPH2) เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มแบบเขย่าที่ 30°C, 150 rpm, 10 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวัดการเจริญของยีสต์ในรูปน้ำหนักแห้ง วิเคราะห์ปริมาณลิปิดด้วยวิธีวัดสี Colorimetric method และน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีด้วยวิธี DNS method จากนั้นศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจน คือ Urea, $(NH_4)_2SO_4$, $NaNO_3$ และ yeast extract ปริมาณ 0.75g/L และศึกษาความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่ค่าต่างๆ คือ 0.75, 1.0, 1.25, 1.5g/L และขยายขนาดการผลิตลิปิดจากยีสต์ไขมันสูงในฟลาสก์ขนาด 4000mL ปริมาตรอาหาร 2000mL บ่มโดยมีการกวนแบบสม่ำเสมอบนเครื่องกวนผสมสาร (stirrer plate) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน จากนั้นเก็บเซลล์ยีสต์ด้วยการปั่นเหวี่ยงและนำมาอบแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dryer) และนำไปศึกษาการผลิตไบโอดีเซลในรูป fatty acid methyl ester (FAME) โดยวิธีทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นแบบโดยตรง (direct transesterification) ตามวิธีการที่ดัดแปลงของ Bradley and Robert (2011) และนำส่วนของไบโอดีเซล (FAME) มาวิเคราะห์ค่าของกรด (acid value) และร้อยละของไบโอดีเซลโดยน้ำหนักแห้งยีสต์ที่ใช้

ผลการวิจัย

การศึกษาระยะเวลาการเจริญและผลิตลิปิดด้วยการเพาะเลี้ยงยีสต์ *T. maleeae* Y30 แบบกะ (batch cultivation) ในอาหารที่มีน้ำตาลจากมันเทศสด (SPH1) เป็นแหล่งคาร์บอนมีการเจริญเข้าสู่ช่วง log phase ในวันที่ 1 และเข้าสู่ช่วงท้ายการเจริญ (late log phase) หรือช่วงต้นของระยะ stationary phase ในวันที่ 3 ส่วนการเจริญในอาหารที่มีน้ำตาลจากมันเทศผง (SPH2) เป็นแหล่งคาร์บอนมีการเจริญเข้าสู่ช่วง log phase ในวันที่ 1 และเข้าสู่ stationary phase ในวันที่ 8-9 ของการเพาะเลี้ยง การผลิตลิปิดของเซลล์เกิดขึ้นพร้อมกับการเจริญ พบว่าเมื่อยีสต์เจริญใน SPH2 ให้ปริมาณลิปิดสูงกว่าการเจริญใน SPH1 โดยให้ปริมาณลิปิด 2.152g/L (28%โดยน้ำหนักเซลล์แห้ง,%DCW) อัตราการผลิตลิปิด (Q_P) ที่ 0.269g/L/d และอัตราการผลิตเซลล์ (Q_X) 0.934g/L/d ลิปิดที่ 0.462g/L (23.28%DCW) เมื่อใช้ SPH1 ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ดังนั้นในจึงเลือกมันเทศผง (SPH2) เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตลิปิดจากยีสต์ *T. maleeae* Y30

เมื่อศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญและการผลิตลิปิดของยีสต์ *T. maleeae* Y30 พบว่าเมื่อใช้ yeast extract และยูเรีย (urea) ซึ่งเป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน (organic nitrogen) จะส่งเสริมการเจริญได้ดีกว่าอนินทรีย์ไนโตรเจน (inorganic nitrogen) คือ $(NH_4)_2SO_4$, $NaNO_3$ โดยมีอัตราการผลิตเซลล์ (Q_X) สูงสุด 1.356g/L/d, 1.179g/L/d หรือมีผลได้ของเซลล์ ($Y_{X/S}$) ที่ 1.207 และ 0.945 เมื่อใช้ urea และ yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจนตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบปริมาณลิปิดพบว่าการใช้ yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจนให้ปริมาณลิปิดสูงสุดที่ 3.18g/L (35.66%DCW) และ Q_P สูงสุดที่ 0.398g/L/d ส่วนการใช้ $(NH_4)_2SO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ Q_X, $Y_{X/S}$, ปริมาณลิปิด และ Q_P เท่ากับ 1.022g/L/d, 0.155, 1.26g/L (16.05%DCW) และ 0.158g/L/d ตามลำดับ การใช้ $NaNO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ Q_X, $Y_{X/S}$, ปริมาณลิปิด และ Q_P เท่ากับ 0.934g/L/d, 0.236, 1.77g/L (23.06%DCW) และ 0.221/L/d ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกใช้ yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจนในการศึกษานี้ เมื่อศึกษาความเข้มข้นของ yeast extract ต่อการเจริญและการผลิตลิปิดพบว่าเมื่อใช้ yeast extract 0.75g/L ให้ปริมาณเซลล์ต่ำสุด 9.82g/L (Q_X, 1.227g/L/d) ในขณะที่ yeast extract 1.50g/L ให้ปริมาณเซลล์สูงสุดที่ 16.07g/L (Q_X, 1.783g/L/d) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณลิปิดพบว่าไม่แตกต่างกันมากนักเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี yeast extract 0.75,

1.0, 1.25, 1.50g/L โดยให้ปริมาณลิปิด 3.40 g/L (35.05%DCW), 3.98g/L (37.55%DCW), 4.05g/L (25.39%DCW), 3.97g/L(28.68%DCW) แต่เมื่อเทียบเป็นอัตราการผลิตลิปิด (Q_P) ได้เท่ากับ 0.425, 0.498, 0.506, 0.497g/L/d ในอาหารที่มี yeast extract 0.75, 1.0, 1.25, 1.50g/L ตามลำดับ และผลได้ของเซลล์ ($Y_{X/S}$) เท่ากับ 1.003, 1.134, 1.443, 1.644 ในอาหารที่มี yeast extract 0.75, 1.0, 1.25, 1.50g/L ตามลำดับ ปริมาณผลได้ของลิปิด ($Y_{P/X}$) เท่ากับ 0.347, 0.352, 0.284, 0.247 ในอาหารที่มี yeast extract 0.75, 1.0, 1.25, 1.50g/L ตามลำดับ เมื่อพิจารณา Q_X, Q_P, $Y_{P/X}$ สามารถเลือกใช้ปริมาณ yeast extract 1.25-1.5g/L เป็นแหล่งไนโตรเจน

เมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์ *T. maleeae* Y30 ในระดับขยายขนาดในอาหาร LAM medium ที่มี SPH2 เป็นแหล่งคาร์บอนในฟลาสก์ 4000mL ปริมาตรอาหาร 2000mL บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน ได้ปริมาณเซลล์สูงสุด 16.89g/L ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณลิปิดสูงสุด 5.02g/L (29.73%DCW) เมื่อนำเซลล์แห้ง (freeze dried) มาผลิตไบโอดีเซลในรูป FAME แบบโดยตรง (direct transesterification) พบว่าค่าของกรด (acid value) เท่ากับ 3.29 mgKOH/g ของ FAME และมีปริมาณไบโอดีเซลเท่ากับ 60.1% ของปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาพบว่าปริมาณเซลล์และลิปิดยังไม่สูงมากนักอาจเนื่องมาจากกระบวนการผลิตยังไม่เหมาะสม ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเจริญและผลิตลิปิดคือแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน การลดต้นทุนการผลิตที่สามารถทำได้อีกประการหนึ่งคือการหาแหล่งไนโตรเจนราคาถูก เช่น การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ (organic fertilizer) หรือน้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor) เป็นต้น การศึกษานี้เป็นการเพาะเลี้ยงแบบกะซึ่งมีข้อจำกัดของปริมาณแหล่งคาร์บอนต่อทั้งการเจริญและการผลิตลิปิดเนื่องจากเป็นการให้แหล่งคาร์บอนรวมทั้งแหล่งไนโตรเจนเพียงครั้งเดียวในช่วงต้นของการเพาะเลี้ยงซึ่งทำให้ได้ผลผลิตไม่สูงมากนักทั้งปริมาณเซลล์และปริมาณลิปิด ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไปจึงควรศึกษาการเพาะเลี้ยงแบบกะป้อน (fed-batch cultivation) ซึ่งมีรายงานการศึกษาว่าให้ผลผลิตสูงทั้งปริมาณเซลล์และลิปิดพร้อมกัน การผลิตไบโอดีเซลด้วยวิธีทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นโดยตรงจากเซลล์ยีสต์เป็นวิธีหนึ่งที่จะลดต้นทุนในการผลิตลงโดยการลดสารเคมีและตัวทำละลายในการสกัดลิปิดหรือน้ำมันออกจากเซลล์ดังนั้นจึงต้องศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซลด้วยวิธีการดังกล่าว เช่น การหาชนิดของตัวเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสม การใช้ไมโครเวฟหรืออัลตราโซนิคช่วยในการทำปฏิกิริยาเป็นต้น นอกจากนั้นควรศึกษาการลดปริมาณคลอโรฟิลล์ในเซลล์ลงเพื่อให้ได้น้ำมันที่ใสมากขึ้น นอกจากนั้นควรศึกษาการผลิตลิปิดด้วยการเพาะเลี้ยงเชื้อผสม (Mixed-culture system) ระหว่างยีสต์กับสาหร่ายขนาดเล็ก และการเพาะเลี้ยงแบบบูรณาการ (integrated culture system) ระหว่างยีสต์กับสาหร่ายขนาดเล็ก ซึ่งระบบการผลิตลิปิดผ่านทั้ง mixed-culture system และ integrated culture system อาจทำให้ผลผลิตลิปิดสูงขึ้นนอกจากนั้นยังเป็นการใช้ CO_2 ให้เกิดประโยชน์สูงสุดซึ่งเป็นการลดการปล่อย CO_2 ออกสู่บรรยากาศได้อีกทางหนึ่งด้วย