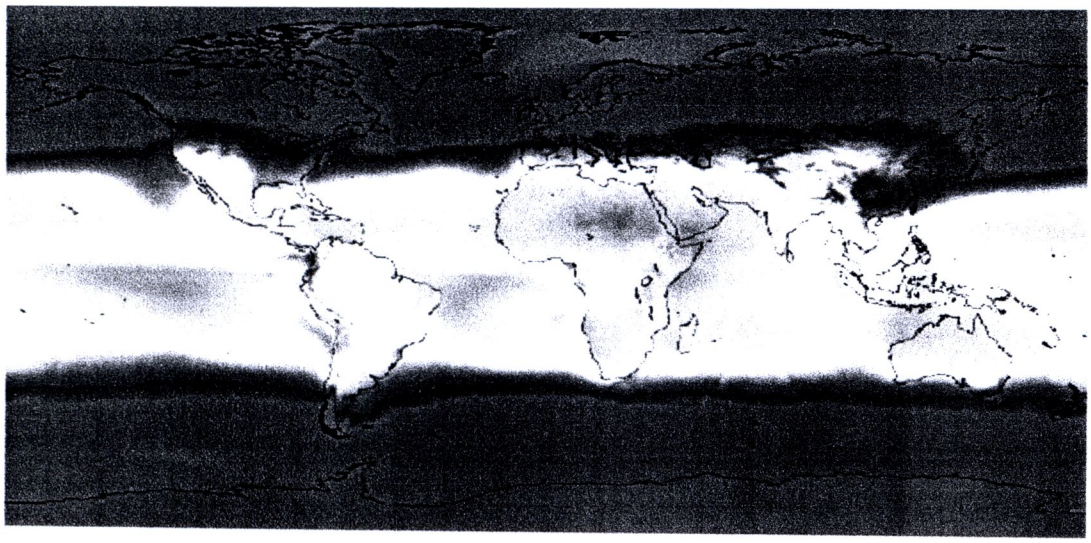
บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก

โดยทั่วไปเมื่อกล่าวถึงสาหร่ายแล้ว ส่วนใหญ่มักจะนึกถึงพืชน้ำบางชนิด เช่น สาหร่ายหางกระรอก สาหร่ายฉัตร เป็นต้น สาหร่ายเหล่านี้ เป็นพืชใน Division Angiospermae ซึ่งจัดเป็นกลุ่มของพืชชั้นสูง แต่สาหร่ายที่จะกล่าวถึงในที่นี้ หมายถึง สิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ ตรงกับภาษาอังกฤษว่า Algae เป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์กลายเป็นราก ลำต้นและใบที่แท้จริง จึงเรียกส่วนที่คล้ายราก ใบ และลำต้นของสาหร่ายว่า ทัลลัส (Thallus) รูปร่างของเซลล์สาหร่ายมีขนาดแตกต่างกันไป เช่น สาหร่ายบางชนิดมีขนาดเล็กมาก (Microalgae) ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ แต่บางชนิดเซลล์มีขนาดใหญ่ที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า (Macro algae)

สาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้สามารถเจริญและพบตามแหล่งน้ำธรรมชาติทั่วๆไป ทั้งแหล่งน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม กระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายมีลักษณะคล้ายกับพืชชั้นสูง คือ สามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งอาหาร และมีคลอโรฟิลล์เอ (Chlorophyll a) เป็นตัวรับพลังงานจากแสงแล้วเปลี่ยนพลังงานแสงนั้นให้อยู่ในรูปของสารอินทรีย์อย่างง่าย สาหร่ายที่มีกลไกดังกล่าวนี้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีการเจริญแบบออโตโทรฟิก (Autotrophic)



รูปที่ 2.1 พื้นที่ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก (Mayfield, 2008)

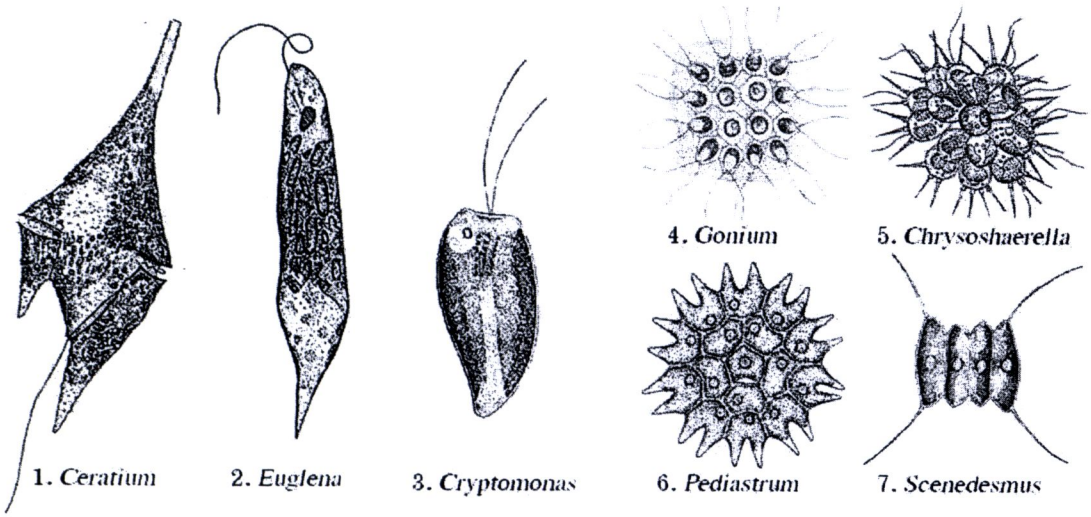
พื้นที่ที่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายเหล่านี้จะต้องมีอุณหภูมิเฉลี่ยทั้งปี ไม่ต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส นั่นก็คืออยู่ในบริเวณแถบเส้นศูนย์สูตรซึ่งมีอุณหภูมิโดยเฉลี่ย 37 องศาเซลเซียส ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ดังนั้นพื้นที่บริเวณประเทศไทยจึงเป็นพื้นที่ที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้เป็นอย่างดี โดยลักษณะของเซลล์ ประโยชน์ และความสำคัญของสาหร่ายขนาดเล็ก ซึ่งจัดได้ว่าเป็นผู้ผลิตขั้นปฐมภูมินั้น ดังจะกล่าวในลำดับต่อไป

2.1.1 ส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์สาหร่าย

เซลล์สาหร่ายก็เหมือนเซลล์พืชทั่วๆ ไป คือประกอบด้วย เยื่อหุ้มเซลล์ (ซึ่งอาจจะมีหรือไม่มีผนังเซลล์) ไซโตพลาสซึม (ซึ่งประกอบด้วยออร์แกเนลชนิดต่างๆ) นิวเคลียส และแฟลกเจลลัม ซึ่งจะขอกล่าวถึงองค์ประกอบที่สำคัญต่างๆ ดังต่อไปนี้

2.1.1.1 จำนวนและตำแหน่งของแฟลกเจลลัม

สาหร่ายหลายชนิดสามารถเคลื่อนที่ได้ บางชนิดเคลื่อนที่ไม่ได้ ซึ่งการที่สาหร่ายสามารถเคลื่อนที่ได้นั้นเป็นเพราะว่าสาหร่ายมีแฟลกเจลลัม ซึ่งจะมีจำนวน ลักษณะ และตำแหน่ง ที่แตกต่างกันออกไปแล้วแต่ชนิดของสาหร่าย

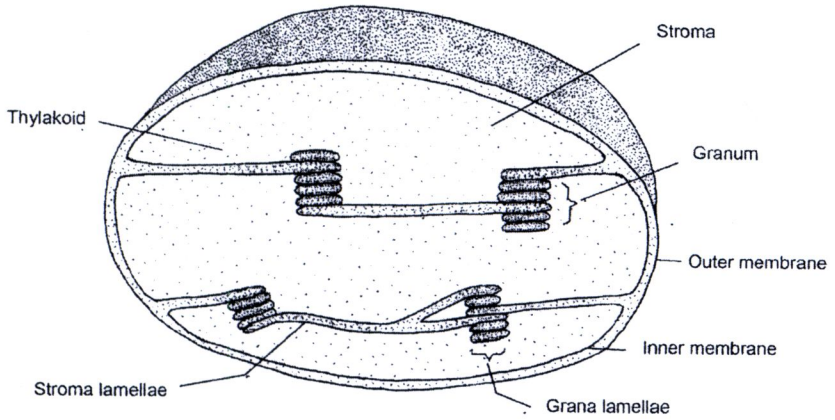


รูปที่ 2.2 รูปร่างและจำนวนแฟลกเจลลัมของสาหร่าย (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2549)

1, 2, 3 รูปร่างสาหร่ายแบบที่มีแฟลกเจลเลตที่อยู่แบบเดี่ยวๆ
4, 5 รูปร่างสาหร่ายแบบโคโลนีที่มีแฟลกเจลลัม
6, 7 รูปร่างสาหร่ายแบบโคโลนีที่ไม่มีแฟลกเจลลัม

2.1.1.2 รงควัตถุ

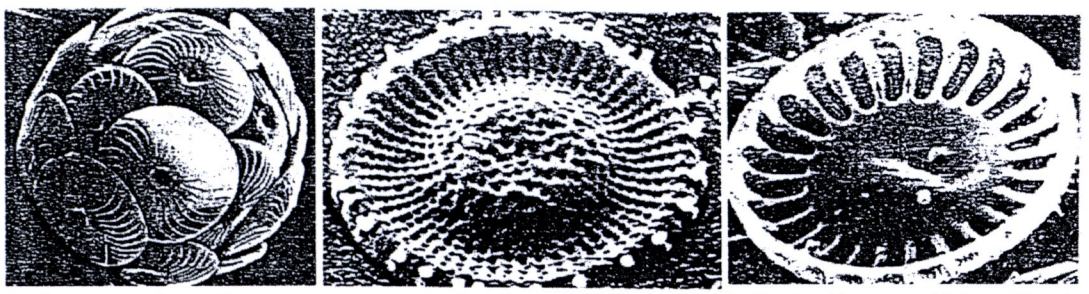
คลอโรพลาสต์ในสาหร่ายจะมีส่วนที่เรียกว่าไทลาคอยส์ ซึ่งจะประกอบด้วยโปรตีนและไขมัน จะมีรงควัตถุที่ทำหน้าที่สังเคราะห์แสง ได้แก่ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยส์ (Carotenoid) ซึ่งประกอบด้วยแคโรทีน (Carotene) และแซนโทฟิลล์ (Xantophyll) ส่วนไฟโคบิลิน (Phycobilin) จะประกอบด้วย ไฟโคอิริทริน (Phycoerytrin) และไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) รงควัตถุเหล่านี้มีความสำคัญต่อการสร้างอาหารของสาหร่าย ซึ่งบางชนิดรงควัตถุจะทำให้เซลล์มีสีคล้อยตามชนิดของรงควัตถุนั้นๆ สาหร่ายแต่ละชนิด จะมีรงควัตถุแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ



รูปที่ 2.3 ไดอะแกรมแสดงโครงสร้างของคลอโรพลาสต์ (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2549)

2.1.1.3 องค์ประกอบของผนังเซลล์

จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอิเลคตรอนและกระบวนการทางชีวเคมี ทำให้สามารถทราบถึงลักษณะและองค์ประกอบของผนังเซลล์สาหร่าย สาหร่ายหลายชนิดไม่มีผนังเซลล์ บางชนิดผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไปโดยมีสารอื่นมาห่อหุ้ม ผนังเซลล์ของสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบแตกต่างกันไป ซึ่งส่วนใหญ่แล้วผนังเซลล์จะประกอบด้วย เซลลูโลส ไซแลน แมนแนน กรดอัลจีนิค (ส่วนใหญ่พบในสาหร่ายสีน้ำตาล) เพคติน ไคติน ซิลิกา และหินปูน เป็นต้น



1. *Cyclococcolithus leptoporus* 2. *Stephanodiscus* 3. *Cyclotella meneghiniana Kutzing*

รูปที่ 2.4 ลักษณะและองค์ประกอบของผนังเซลล์ของสาหร่าย (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2549)

1) ผนังเซลล์สาหร่ายที่มีหินปูนเป็นส่วนประกอบ
2) โครงสร้างของไดอะตอม ที่มีสารซิลิกาเป็นองค์ประกอบ
3) โครงสร้างของไดอะตอม ที่มีสารซิลิกาเป็นองค์ประกอบ

2.1.1.4 อาหารที่สะสมในเซลล์

จากการสร้างอาหารของสาหร่ายจะได้สารประกอบจำพวกคาร์โบไฮเดรต โดยสะสมไว้ในรูปของแป้ง ลิวโคนซิน ลามินาริน แมนนิทอล ไขมัน น้ำมัน (ซึ่งส่วนใหญ่จะพบในสาหร่ายสีเขียวสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีน้ำตาล) คลอเรสเตอรอล เออโกสเทอรอล ฟิวโคสเทอรอล พาราไมรอน เป็นต้น

2.1.2 ลักษณะของสาหร่ายที่แตกต่างจากแบคทีเรียและพืชทั่วไป

2.1.2.1 ลักษณะของสาหร่ายที่แตกต่างจากแบคทีเรีย

เนื่องจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีจุดกำเนิดพร้อม ๆ กับแบคทีเรียและมีลักษณะบางอย่างเหมือนกัน เช่น มีคุณสมบัติเป็นโพรคาริโอต แบคทีเรียบางชนิดสามารถสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria) ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายสาหร่าย แต่ก็มีลักษณะหลายอย่างที่แตกต่างกันออกไป (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2549) โดยสาหร่ายจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นแหล่งคาร์บอน มีการหายใจแบบใช้ออกซิเจน โดยมีน้ำเป็นตัวให้อิเลคตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสงแล้วมีออกซิเจนเกิดขึ้น ในขณะที่แบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ จะมีไฮโดรเจนซัลไฟด์หรืออนินทรีย์สารอื่น ๆ ที่อยู่ในสภาพลดออกซิเจน มีการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน และไม่ผลิตก๊าซออกซิเจนจากกระบวนการสังเคราะห์แสง

2.1.2.2 ลักษณะของสาหร่ายที่แตกต่างจากพืชทั่วไป

สาหร่ายจัดเป็นพืชชั้นต่ำเพราะมีคลอโรฟิลล์ สามารถสร้างอาหารเองได้ด้วยการสังเคราะห์แสง แต่มีความแตกต่างจากพืชในดิวิชันอื่น ๆ ดังต่อไปนี้

1. สาหร่ายอาจจะประกอบไปด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (Colony) บางชนิดประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมา (Parenchyma) คล้ายราก ลำต้น และใบ ซึ่งรวมเรียกว่า ทัลลัส เช่นสาหร่ายสีเขียวบางชนิด สาหร่ายสีน้ำตาล และสาหร่ายสีแดง แต่อย่างไรก็ตามกลุ่มเซลล์ดังกล่าวยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อ (Tissue) หรือ อวัยวะ (Organ)

2. สาหร่าย ไม่มีระบบท่อลำเลียง (Vascular system) แต่สาหร่ายที่มีทัลลัสบางชนิดจะมีเซลล์คล้ายคลึงกับเนื้อเยื่อชนิดโฟลเอม (Phloem) และเนื้อเยื่อเมอริสเตม (Meristematic tissue) แต่ยังไม่มีไซเลม (Xylem)

3. เซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายประกอบด้วย เซลล์เพียงเซลล์เดียว โดยไม่มีชั้นของเซลล์อื่น ๆ มาห่อหุ้มด้วย พวกที่ประกอบด้วยเซลล์เดียว เซลล์ทั้งเซลล์ทำหน้าที่เป็นแกมีท แม้ในพวกที่อยู่เป็นกลุ่มก็จะมีเซลล์เพียง 1 เซลล์ ทำหน้าที่สร้างแกมีท ยกเว้นในสาหร่ายบางชนิด เช่น สาหร่ายสีน้ำตาล สาหร่ายสีแดง และสาหร่ายไฟ ที่อวัยวะสร้างแกมีทอาจมีหลายเซลล์

4. ไซโกต (Zygote) ของสาหร่ายยังไม่มีการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอ

2.1.3 สาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายสีเขียว (Green algae) จัดอยู่ในหมวดคลอโรไฟตา (Division Chlorophyta) ในอาณาจักรพืช ส่วนใหญ่มีสีเขียวเหมือนหญ้า ทั้งนี้เพราะภายในคลอโรพลาสต์มีรงควัตถุพวก คลอโรฟิลล์เอ และ บี จำนวนมาก ซึ่งจะบดบังรงควัตถุอื่น ๆ ไว้ นอกจากนั้นยังมีรงควัตถุพวกแคโรทีนและแซนโทฟิลล์อีกหลายชนิด โดยรงควัตถุทั้งหมดที่อยู่ในคลอโรพลาสต์จะมีรูปร่างหลายแบบ คุณสมบัติเหล่านี้สามารถนำมาจัดจำแนกสาหร่ายสีเขียวได้อย่างชัดเจน สาหร่ายสีเขียวส่วนใหญ่จะมีไพรีนอยส์ในคลอโรพลาสต์ ซึ่งเป็นศูนย์กลางของการสร้างแป้งในเซลล์ของสาหร่าย โดยจะมีเอนไซม์สร้างแป้ง (Amylose synthetase) ซึ่งแต่ละชนิดก็จะมีจำนวนไพรีนอยส์แตกต่างกันไป

สาหร่ายสีเขียวจะพบได้ทั่วไป ประมาณกันว่า 10% ของสาหร่ายสีเขียวทั้งหมดเป็นสาหร่ายทะเล สามารถเจริญได้แตกต่างกันตามสภาพอุณหภูมิของน้ำ ความเข้มของแสง และความสมบูรณ์ของสารอาหาร ส่วนอีก 90% ของสาหร่ายสีเขียวทั้งหมดเป็นสาหร่ายน้ำจืด โดยสามารถเจริญอยู่ในน้ำตื้น ๆ หรือในน้ำลึกที่แสงส่องถึง และหลายชนิดมีสภาพเป็นแพลงก์ตอนพืช หรือแม้กระทั่งอาศัยอยู่ในดิน เปลือกไม้ ก้อนหิน หรือ ทราย เป็นต้น

สาหร่ายสีเขียวเป็นดิวิชันที่มีสมาชิกมากที่สุด กล่าวคือ มีประมาณ 450 จีนัส และ 7,500 สปีชีส์ แต่ละจีนัสมีความแตกต่างกันมากทั้งรูปร่างโครงสร้าง และการสืบพันธุ์ ซึ่งมีทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ สาหร่ายสีเขียวมีครบทุกรูปร่างของสาหร่าย กล่าวคือ มีทั้งเซลล์เดียว โคโลนี ทั้งที่เคลื่อนที่ได้และเคลื่อนที่ไม่ได้ ซึ่งมักพบเป็นแพลงก์ตอนพืชในน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่ ส่วนพวกที่เป็นหลอดหรือท่อติดต่อกันตลอด รวมทั้งเป็นแบบทัลลัส ที่เป็นเนื้อเยื่อพาเรนไคมา จะพบเป็นสาหร่ายทะเลเป็นส่วนใหญ่

ดังนั้นการจัดจำแนกหมวดหมู่ของสาหร่ายจึงมีหลายหลายรูปแบบ ในที่นี้จะใช้ระบบของ Bold and Wynne (1985) ที่แบ่งดิวิชันออกเป็น 1 คลาส 16 ออเดอร์ ดังมีรายละเอียดต่อไปนี้

อาณาจักร(Kingdom) Plantae

หมวด (Division) Chlorophyta

ชั้น (Class) Chlorophyceae

อันดับ

Order 1 Volvocales	Order 9 Oedogoniales
Order 2 Tetrasporales	Order 10 Ulvales
Order 3 Chlorococales	Order 11 Cladopphorales
Order 4 Chlorosaracinales	Order 12 Acrosiphoniales
Order 5 Ulotrichales	Order 13 Caulerpales
Order 6 Sphaeropleaceae	Order 14 Siphonoctadales
Order 7 Chaetophorales	Order 15 Dasycladales
Order 8 Trentepohiales	Order 16 Zygnematales

2.1.4 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย

จากลักษณะและองค์ประกอบที่สำคัญของเซลล์สาหร่ายดังกล่าวไปแล้วนั้น จะพบว่าภายในเซลล์สาหร่ายมีการสะสมสารอาหารในรูปแบบต่าง ๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรตโดยเฉพาะในรูปของแป้ง หรือแม้กระทั่ง ไขมัน ซึ่งจะอยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ (Triacylglycerides, TAGs) ซึ่งพบว่าสาหร่ายมีการสะสมไขมันไว้ภายในเซลล์ในปริมาณมากน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ต่าง ๆ จากองค์ประกอบดังกล่าวจะเป็นส่วนสำคัญในการจำแนกหรือการใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ จากเซลล์สาหร่ายอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน ตั้งแต่การนำมาใช้เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ยา ตลอดจนการจัดการสิ่งแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นการนำไปใช้บำบัดน้ำเสีย การดูดซับก๊าซเรือนกระจก หรือแม้กระทั่งการผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนดังรายละเอียดต่อไปนี้

2.1.4.1 ประโยชน์ต่อระบบนิเวศน์

สาหร่ายดำรงชีวิตแบบออโตโทรฟิค (Autotrophic organism) เป็นสิ่งมีชีวิตที่ผลิตออกซิเจนให้แก่สิ่งแวดล้อมอย่างมาก ประมาณว่า 50% ของออกซิเจนในน้ำเกิดจากกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยสาหร่าย นอกจากนี้สาหร่ายยังเป็นผู้ผลิต (Producer) และเป็นส่วนหนึ่งของห่วงโซ่อาหารขั้นต้นของสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยเป็นอาหารของตัวอ่อนแมลง กุ้ง หรือปลา เป็นต้น ซึ่งจะเห็นได้ว่าผลผลิต (Productivity) จากทะเล แม่น้ำ ลำคลอง และทะเลสาบทั่วไป จะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณแพลงก์ตอนพืชที่อยู่ในแหล่งน้ำนั้น ๆ ถ้ามีมากก็มักจะมีสิ่งมีชีวิตในน้ำเช่น ปู กุ้ง ปลา มากตามไปด้วย

2.1.4.2 ประโยชน์ต่อด้านการเกษตร

สาหร่ายสามารถนำมาใช้ด้านการเกษตรได้หลายด้านด้วยกันที่เห็นได้อย่างชัดเจนก็คือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายชนิดช่วยเพิ่มไนโตรเจนให้กับนาข้าว โดยได้มาจากสาหร่ายตามธรรมชาติ

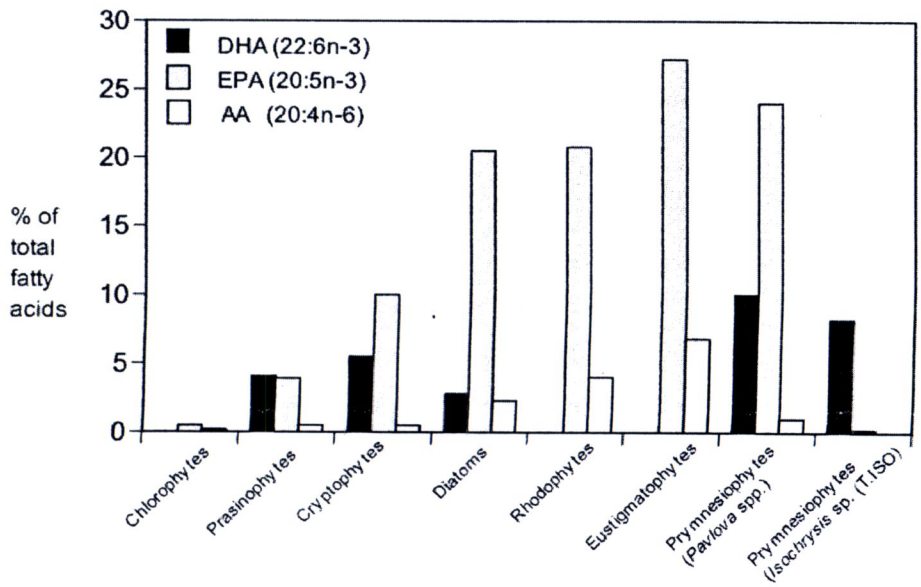
หรือจากแหนแดง ซึ่งจะมีสาหร่ายพวก *Anabaena* อยู่บริเวณช่องว่างในใบ (Leaf cavity) มาใส่ในนาข้าวได้เช่นกัน ดินที่มีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวก *Nostoc* ปกคลุมอยู่มาก ๆ จะพบว่าบริเวณนั้นมีปริมาณสารอินทรีย์และไนโตรเจนสูง สาหร่ายสีแดงและสาหร่ายสีน้ำตาลที่มีขนาดใหญ่ เป็นกลุ่มสาหร่ายที่มีประมาณโพแทสเซียมสูง สามารถอุ้มน้ำได้ดี ทำให้ดินชุ่มชื้นอยู่เสมอ สามารถนำมาใช้ได้โดยการไถกลบ ในขณะเดียวกันสาหร่ายพวกคลอรัลไลน์ สามารถนำมาบดใช้แทนหินปูนในบริเวณที่ขาดแคลนได้

2.1.4.3 ประโยชน์ต่อด้านเภสัชกรรม

ปัจจุบันมีการนำเอาสาหร่ายมาใช้เป็นยาหลายประเภท เช่นสาหร่ายสีแดง *Digenia simplex* นำมาใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ และโรคตาลขโมย สารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาลที่เรียกว่าโซเดียมลามินาริน ซัลเฟต และ ฟิวคอยดิน นำมาใช้เป็นยาช่วยให้เม็ดเลือดแข็งตัว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Spirulina* ใช้เป็นอาหารเสริมและยารักษาเบาหวาน สาหร่ายสีเขียว *Cladophora* และ *Microspora* หรือที่เรียกว่า สาหร่ายไก มีผลในการบำบัดแผลในกระเพาะอาหาร สารสกัดที่เรียกว่า คลอเรลลิน (Chlorellin) จากสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียได้ สามารถนำมาใช้ทำเป็นยาปฏิชีวนะได้ แต่ยังไม่แพร่หลายมากนัก เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายในการผลิตค่อนข้างสูง

2.1.4.4 ใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหาร

สาหร่ายที่นำมาใช้เพื่อการบริโภคนั้น ส่วนใหญ่พบว่าในเซลล์จะมีการสะสม หรือผลิตสารต่าง ๆ อาทิ เช่น เหล็ก โพแทสเซียม แคลเซียม และ วิตามินบางชนิดสูง เช่น วิตามินบี 6 และ บี 12 สาหร่าย *Haematococcus pluvialis* สามารถสังเคราะห์ เบต้า-แคโรทีน และแอสตาแซนทิน ได้ในปริมาณที่สูงมาก (Guerin et al., 2003) สารดังกล่าวเป็นสารในกลุ่มของแคโรทีนอยส์ ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในขณะเดียวกันสาหร่ายหลาย ๆ กลุ่มมีการสร้างและสะสมสารอาหารไว้ในรูปของไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เช่น Docosahexaenoic acid (DHA) และ Eicosapentaenoic acid (EPA) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีความจำเป็นของร่างกาย ดังแสดงในรูปที่ 2.5 ปัจจุบันมีการนำสาหร่ายหลายชนิดมาใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์อย่างแพร่หลายดังแสดงในตารางที่ 2.1



รูปที่ 2.5 องค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัว Docosahexaenoic acid (DHA), Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Arachidonic acid ที่เซลล์สาหร่ายชนิดต่าง ๆ ผลิตได้ (Brown, 2008)

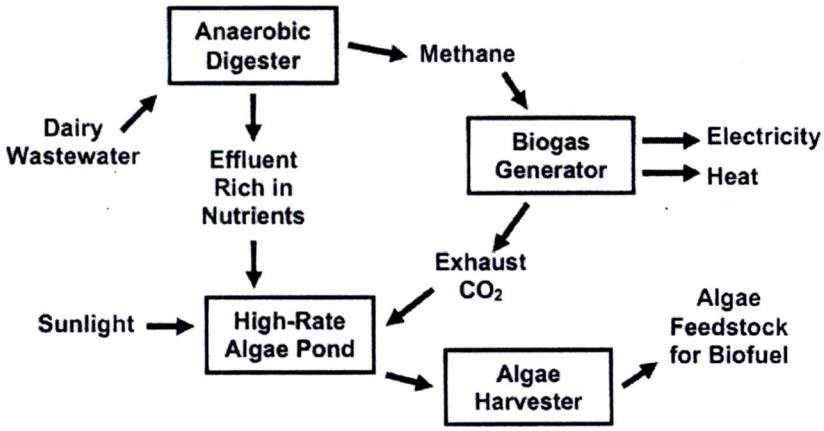
ตารางที่ 2.1 การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็กในทางการค้า

สายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก	ผลิตภัณฑ์	ผู้ผลิต
Dunaliella	เบต้า แคโรทีน (β-Carotene)	Aqua Carotene (Washington, USA) Cognis Nutrition & Health (Australia) Nikken Sohonsha Corporation (Japan)
Haematococcus	แอสต้าแซนทิน (Astaxanthin)	Algae Technologies (Israel) Bioreal (Hawaii, USA)
Spirulina *Chlorella* *Chlamydomonas*	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร	Blue Biotech International Gmbh (Germany) Cyanotech (Hawaii, USA) Earthrise Nutritionals (California, USA)
Crypthecodinium *Schizochytrium*	กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid)	Spectra Stable Isotopes (Maryland, USA) Martek Biosciences (Maryland, USA)
Chlamydomonas	โปรตีน	Rincon Pharmaceuticals (California, USA)
Botryococcus *Chlamydomonas* *Chlorella* *Neochloris*	พลังงานชีวภาพ (Biofuel)	Cellana (Hawaii, USA) LiveFuels, Inc (California, USA) PetroAlgae (Florida, USA) Solix Biofuels (Colorado, USA)

(ดัดแปลงจาก Rosenberg et al., 2008)

2.1.4.5 การจัดการด้านสิ่งแวดล้อม

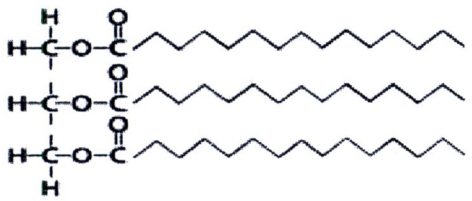
ปัจจุบันได้มีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดการด้านสิ่งแวดล้อมอย่างกว้างขวาง เช่น ในระบบการบำบัดน้ำเสีย โดยมีกระบวนการจัดการดังแผนภูมิที่แสดงในรูปที่ 2.6 น้ำเสียจะถูกนำมาผ่านกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศเพื่อผลิตก๊าซเพื่อใช้เป็นพลังงาน ในขณะเดียวกันส่วนที่เหลือจากกระบวนการหมักจะมีปริมาณสารอาหารสูงจึงเหมาะสำหรับใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้เป็นอย่างดี ในขณะเดียวกันนั้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากกระบวนการเผาไหม้เชื้อเพลิงจะนำมาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายได้เช่นเดียวกัน ซึ่งเป็นการลดการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกสู่ชั้นบรรยากาศได้อีกทางหนึ่ง เซลล์สาหร่ายที่เก็บเกี่ยวได้จะนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นพลังงานทดแทนต่อไป



รูปที่ 2.6 แผนภาพความเชื่อมโยงของระบบการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรม และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (Woertz, 2007)

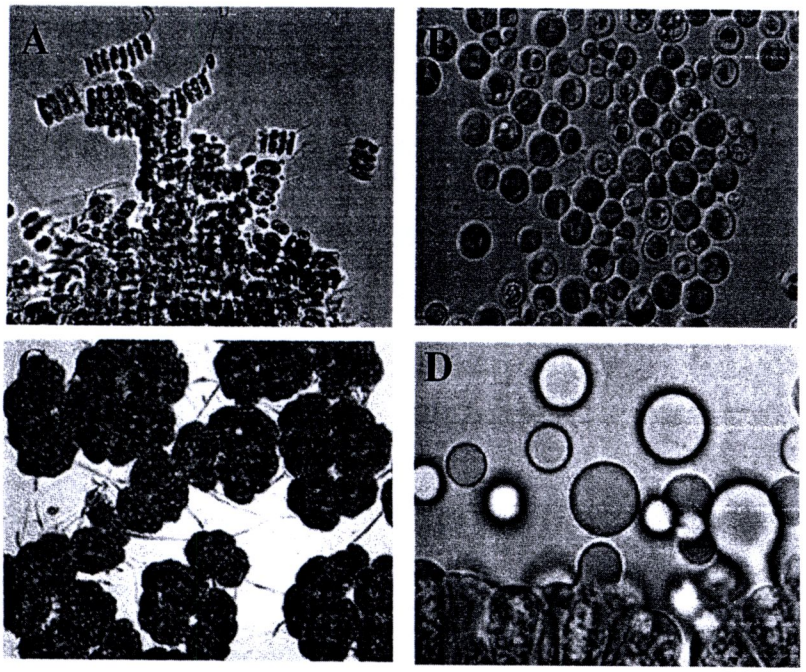
2.1.4.6 เชื้อเพลิงชีวภาพ

สาหร่ายขนาดเล็กสามารถนำมาใช้ผลิตเป็นพลังงานได้หลายแนวทาง เช่น การผลิตไฮโดรเจน เอทานอล และที่กำลังได้รับความสนใจในปัจจุบันคือ การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่าย ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่ายที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและกรรมวิธีในการเพาะเลี้ยง น้ำมันที่ได้จากสาหร่ายมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นไตรกลีเซอไรด์เช่นเดียวกันกับน้ำมันพืชทั่วๆ ไป ดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของไตรกลีเซอไรด์ (HR BioPetroleum, 2008)

ลักษณะของสาหร่ายบางชนิดที่มีการสะสมน้ำมัน และลักษณะของน้ำมันที่เก็บสะสมไว้ภายในเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 2.8 ซึ่งปริมาณน้ำมันในเซลล์สาหร่ายส่วนใหญ่มีค่าเฉลี่ยประมาณ 25-50% ของน้ำหนักแห้ง โดยพบว่าสาหร่ายบางชนิดมีปริมาณน้ำมันสะสมไว้สูงถึง 80% ขึ้นอยู่กับสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมชนิดของกรดไขมันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กที่พบมากที่สุด ได้แก่ กรดโอเลอิก และกรดปาล์มมิติค (Rao et al., 2007)



รูปที่ 2.8 สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่สามารถสร้างและสะสมน้ำมัน (Lehman, 2008) (A: *Scenedesmus sp.*, B: *Chlorella sp.*, C: *Botryococcus braunii D*: น้ำมันที่สะสมในสาหร่าย *B. braunii*)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณน้ำมันที่สะสมไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ชนิดสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก	ปริมาณน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)
Botryococcus braunii	25-80
Chlorella protothecoides	23-30
Chlorella vulgaris	14-40
Crypthecodinium cohnii	20
Cylindrotheca sp.	16-37
Dunaliella salina	14-20
Neochloris oleoabundans	35-65
Nitzschia sp.	45-47
Phaeodactylum tricornutum	20-30
Schizochytrium sp.	50-77
Spirulina maxima	4 - 9
Tetraselmis suecia	15-23

(ดัดแปลงจาก Chisti, 2007)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

สาหร่ายสามารถขนาดเล็กมีศักยภาพในการให้น้ำมันได้ในปริมาณสูงดังตารางที่ 2.3 เนื่องจากสาหร่ายมีระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสั้นกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ และเมื่อเปรียบเทียบพื้นที่ ระยะเวลาการเพาะปลูกกับพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.4 แล้วหากสามารถนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงทดแทนได้ย่อมสามารถลดการเกิดปัญหาในการแย่งส่วนแบ่งทางอาหารหรือเกษตรกรรมจากพืชน้ำมันทั่วไปได้

ตารางที่ 2.3 เปรียบเทียบศักยภาพในการผลิตชีวมวล ปริมาณน้ำมันสะสม และพลังงานเชื้อเพลิงระหว่างพืชน้ำมันชนิดต่าง ๆ และสาหร่ายขนาดเล็ก

ชนิดของพืชน้ำมัน	ชีวมวล (เมตตริกตัน/เฮกตาร์/ปี)	ปริมาณน้ำมัน (% น้ำหนักแห้ง)	ไบโอดีเซล (เมตตริกตัน/เฮกตาร์/ปี)
ถั่วเหลือง	1-2.5	20 %	0.2-0.5
เมล็ดเรพ	3	40 %	1.2
ปาล์มน้ำมัน	19	20 %	3.7
สบู่ดำ	7.5-10	30-50 %	2.2-5.3
สาหร่ายขนาดเล็ก	140-255	35-65 %	50-100

(ดัดแปลงจาก HR BioPetroleum, 2008)

1 เฮกตาร์ เท่ากับ 100 เอเคอร์ หรือ 10000 ตารางเมตร หรือ 6.25 ไร่

ตารางที่ 2.4 การเปรียบเทียบผลผลิตน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็กกับพืชน้ำมันชนิดอื่นและพื้นที่ที่ต้องใช้ในการเพาะปลูก

แหล่งของน้ำมัน	ผลผลิตน้ำมัน (ลิตร/เฮกตาร์)	พื้นที่ที่ต้องการ (ล้านเฮกตาร์)*	ร้อยละของพื้นที่การเพาะปลูกในสหรัฐอเมริกา
ข้าวโพด (corn)	172	1540	846
ถั่วเหลือง (soybean)	446	594	326
คาโนลา (canola)	1190	223	122
สบู่ดำ (jatropha)	1892	140	77
มะพร้าว (coconut)	2689	99	54
ปาล์มน้ำมัน(oil palm)	5950	45	24
สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae)**	136,900	2	1.1

(ดัดแปลงจาก Chisti, 2007)

* เพื่อใช้ในระบบขนส่งร้อยละ 50 ของเชื้อเพลิงที่ต้องการในสหรัฐอเมริกา

** น้ำมันสาหร่ายร้อยละ 70 ของน้ำหนักเซลล์

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 12 มี.ค. 2556
เลขทะเบียน 208884
เลขเรียกหนังสือ

2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

สาหร่ายที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในทางการค้า ควรเป็นสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ไม่มีสารพิษ ทนต่ออุณหภูมิสูง ถ้าเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ก็จะง่ายต่อการเก็บเกี่ยว กระบวนการผลิตชีวมวลสาหร่าย มี 3 ขั้นตอนที่สำคัญ คือ

1. การเพาะเลี้ยง (Algal cultivation) ได้แก่ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในพื้นที่ควบคุมการเพาะเลี้ยงในอ่างขนาดใหญ่ มีการกวน การให้อากาศ และการเติมสารอาหาร

2. การเก็บเกี่ยว (Harvesting) โดยจะใช้เครื่องมือและวิธีการต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย เช่นการใช้เครื่องเหวี่ยง การตกตะกอน การกรอง เป็นต้น

3. การทำแห้ง (Drying) โดยวิธีต่าง ๆ เช่น การตากแดด (Sun-drying) การทำแห้งโดยความร้อนจากแผงเซลล์ไฟฟ้า (Solar-drying) การอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum-drying) การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray-drying) การอบแห้งแบบระเหิด (Freeze-drying) เป็นต้น

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้นต้องอาศัยปัจจัยต่าง ๆ หลายปัจจัย ขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ของสาหร่าย โดยปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย คือ คุณภาพและส่วนประกอบของสารอาหาร แสง อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่างของอาหาร รวมถึงต้องมีการกวนผสมสาหร่ายเพื่อป้องกันการตกตะกอนของเซลล์สาหร่ายด้วย (Barsanti & Gualtieri, 2006) ในปัจจุบันสภาวะในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบ่งออกเป็น 2 สภาวะ คือ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบไม่ใช้แสง (Heterotrophic cultivation) และการเพาะเลี้ยงแบบใช้แสง (Photo autotrophic cultivation)

2.2.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบไม่ใช้แสง

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบไม่ใช้แสง (Heterotrophic cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่ปกติของการเจริญเติบโตของสาหร่าย เป็นการเพาะเลี้ยงแบบไม่ให้แสงโดยใช้สารประกอบอินทรีย์ (Organic compounds) เช่น กลูโคส ซูโครส ฟรุกโตส อะซิเตท หรือกากน้ำตาล เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน เป็นสภาวะที่กดดันไม่ให้สาหร่ายมีการสะสมโปรตีนไว้ในเซลล์แต่ชักนำให้เซลล์สาหร่ายสะสมน้ำมันมากขึ้น การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบนี้มีวิธีการเช่นเดียวกับกระบวนการหมักในเชื้อจุลินทรีย์ทั่ว ๆไป คือ เพาะเลี้ยงในถังหมัก (Fermenter) ที่มีการควบคุมการเติมอาหาร การให้อากาศ ตลอดจนการควบคุมอุณหภูมิและความเป็นกรดด่าง ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กชนิดต่าง ๆ แบบไม่ใช้แสง

ชนิดสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก	ผลิตภัณฑ์	การเพาะเลี้ยง	อัตราการเจริญสูงสุด กรัม/ลิตร	กำลังการผลิต กรัม/ลิตร/วัน
Euglena gracilis	α-tocopherol	กึ่ง-กะ	48	7.7
Nitzchia laevis	Eicosapentaenoic acid	perfusion	30	6.75
Crypthecodinium cohnii	Docosahexaenoic acid	กึ่ง-กะ	83	10.0
Chlorella protothecoides	Biodiesel	กึ่ง-กะ	51.2	7.7
Galdieria sulphuraria	C-phycocyanin	ต่อเนื่อง	83.3	50.0

(ดัดแปลงจาก Eriksen, 2008)

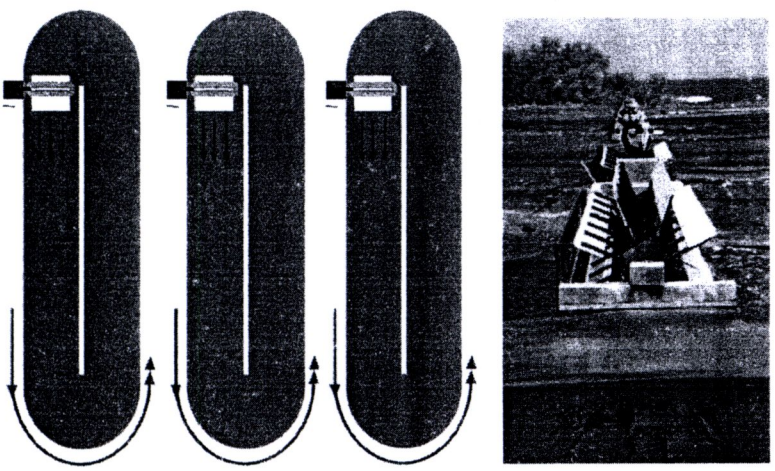
2.2.2 การเพาะเลี้ยงแบบใช้แสง

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้แสง (Photo autotrophic cultivation) จำเป็นต้องมีการใช้แสง น้ำและเกลืออินทรีย์เป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงควรอยู่ประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับขยายขนาดส่วนใหญ่นิยมเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (Continuous cultivation) ทั้งในระบบบ่อเปิด (Open pond system) และระบบปิด (Close system) เช่น เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบใช้แสง (Photo bioreactor)

2.2.2.1 ระบบบ่อเปิด

ระบบการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิด (Open raceway pond system) เป็นระบบการเพาะเลี้ยงที่มีต้นทุนต่ำ ดูแลรักษาง่าย และใช้พื้นที่น้อย โดยทั่วไปมีรูปแบบการเลี้ยงที่สำคัญ 3 รูปแบบ ได้แก่ การเลี้ยงในทะเล การเลี้ยงบริเวณชายฝั่งทะเล และการเลี้ยงในบ่อดิน สำหรับในประเทศไทยการเลี้ยงในบ่อดินเป็นรูปแบบที่มีผู้ให้ความสนใจมากที่สุด เนื่องจากสามารถนำสาหร่ายมาเลี้ยงในบ่อพักน้ำ บ่อบำบัดน้ำเสีย เพื่อช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำ หรือแม้แต่การเลี้ยงในบ่อกุ้งทิ้งร้าง

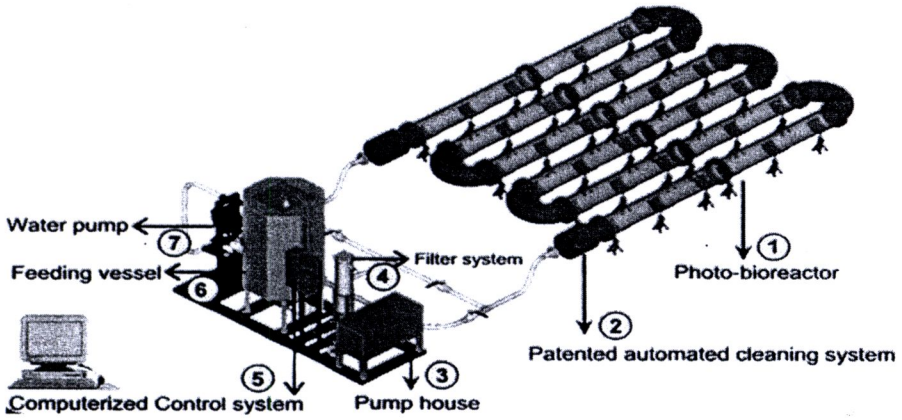
การเลี้ยงสาหร่ายในบ่อดินโดยทั่วไปจะเป็นระบบคลองวนเวียน (Oxidation ditch) ดังแสดงในรูปที่ 2.9 สร้างขึ้นด้วยคอนกรีตหรือดินอัดแน่น และทำให้ภายในบ่อมีการไหลเวียนอาหารและสาหร่ายตลอดเวลาตลอดระยะความยาวของบ่อ (Plug flow) ระดับความลึกของน้ำในบ่อเลี้ยงควรอยู่ระหว่าง 0.6-2.0 เมตร หากน้ำในบ่อตื้นเกินไปอาจพบปัญหาการเกิดขี้แดดและการแก่งแย่งพื้นที่ของชนิดสาหร่ายที่ไม่ต้องการ และควรเลือกพื้นที่การเลี้ยงที่มีน้ำที่สะอาด ห่างไกลจากแหล่งปนเปื้อน เช่น โรงงานอุตสาหกรรม หรือแหล่งชุมชน



รูปที่ 2.9 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบบ่อเปิด (Helvacioglu, 2008)

2.2.2.2 ระบบปิด

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยเทคนิคนี้ สามารถควบคุมสภาวะต่าง ๆได้ง่าย ให้ผลผลิตสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิด แต่ จะมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสาหร่ายสูงขึ้น รูปแบบการเพาะเลี้ยงทั่ว ๆไปของระบบนี้คือใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (Photo bioreactor) ซึ่งจะประกอบด้วยส่วนที่เป็นชุดอุปกรณ์เพาะเลี้ยงและรับแสง และส่วนที่เป็นชุดควบคุมการทำงานของปั๊มให้อากาศและอาหารเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิด โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (Lehman, 2008)

1) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบใช้แสง 2) ระบบทำความสะอาดแบบอัตโนมัติ
3) ปั๊ม 4) ระบบกรอง
5) ชุดควบคุมการทำงานด้วยคอมพิวเตอร์ 6) ถังผสมอาหาร 7) ปั๊มน้ำ

2.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและสะสมน้ำมันของสาหร่ายขนาดเล็ก

2.2.3.1 แหล่งคาร์บอน

คาร์บอนเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นที่สาหร่ายต้องการในปริมาณมาก เนื่องจากมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย เพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสง คาร์บอนที่พืชนำไปใช้ได้มี 2 ประเภท คือ คาร์บอนอินทรีย์และคาร์บอนอนินทรีย์ โดยสาหร่ายใช้คาร์บอนประเภทสารอนินทรีย์ในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งละลายได้ในน้ำ หรือในรูปของเกลือคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนต และสาหร่ายสามารถใช้คาร์บอนอินทรีย์ในรูปของน้ำตาลชนิดต่าง ๆได้ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540) นอกจากนี้พบว่าสาหร่ายจะใช้สารอินทรีย์ที่มากับน้ำเสียได้เป็นจำนวนมากแล้วยังเป็นการเพิ่มปริมาณก๊าซออกซิเจนในน้ำจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย ส่งผลให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้น (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2549)

2.2.3.2 ไนโตรเจน

ไนโตรเจนมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ สาหร่ายมีปริมาณไนโตรเจนประมาณ 1-10% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ในสาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะมีการสร้างสารประกอบคาร์บอน เช่นแป้งหรือน้ำมันมาแทน สาหร่ายสามารถใช้ไนโตรเจนได้ทั้งในรูปของอินทรีย์สาร อนินทรีย์สาร รวมทั้งในรูปของแก๊ส ขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย ซึ่งสาหร่ายจะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงเมื่อใช้ในรูปโพแทสเซียมไนเตรต เป็นแหล่งไนโตรเจน และยังพบว่าแอมโมเนียที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิโมล จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์และยับยั้งการเจริญเติบโต (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540)

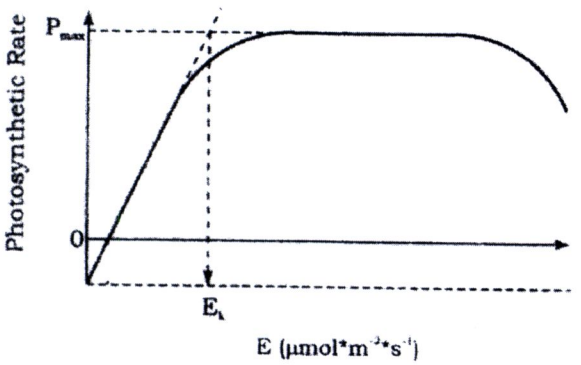
2.2.3.3 ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารสำคัญที่มีบทบาทต่อกระบวนการต่าง ๆภายในเซลล์สาหร่าย โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงาน และกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก

2.2.3.4 แสง

แสงเป็นปัจจัยหลักของสาหร่ายที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง โดยสาหร่ายจะนำไปใช้ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในวัฏจักรคาลวิน (Calvin cycle) เพื่อการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับพืชทั่วไปแสงที่

เพิ่มขึ้นส่งผลให้อัตราส่วนของแคโรทีนอยด์ต่อคลอโรฟิลด์เพิ่มขึ้น ดังนั้นปริมาณแสงที่เหมาะสมและระยะเวลาการให้แสงที่เหมาะสมจะมีผลต่อการเพิ่มชีวมวลแตกต่างกันในแต่ละชนิดของสายพันธุ์ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายถ้าเป็นการเพาะเลี้ยงด้วยหลอดไฟควรเพาะเลี้ยงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนส์ดีกว่าการใช้หลอดไฟธรรมดา เนื่องจากอุณหภูมิจากแสงประเภทอื่นมักสูงกว่าแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540) โดยการให้แสงช่วงเวลาหนึ่งและหยุดการให้แสงช่วงเวลาหลัง จะทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีกว่าการให้แสงติดต่อกันตลอดเวลาอัตราการให้และไม่ให้แสงสว่างที่นิยมใช้เลี้ยงสาหร่ายคือ 16:8, 14:10 หรือ 12:12 ชั่วโมง (Barsanti and Gualtieri, 2006) สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีเมื่อมีความเข้มแสงที่เหมาะสม ดังรูปที่ 2.11 กราฟแสดงอัตราการสังเคราะห์แสงต่อความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้น พบว่าจุดที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย คือจุดตัดระหว่าง P_{max} (อัตราการสังเคราะห์แสงสูงสุด) และ E_k (ความเข้มแสงที่เหมาะสม) มีหน่วยเป็นไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที



รูปที่ 2.11 ความสัมพันธ์ของการสังเคราะห์แสงต่อความเข้มแสง (Barsanti and Gualtieri, 2006)

2.2.3.5 ปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการสะสมน้ำมันในสาหร่าย

สภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมอื่น ๆ (Stress condition) จะส่งผลให้สาหร่ายมีการปรับตัวเพื่อให้เซลล์สามารถดำรงชีวิตได้ ภายใต้สภาวะแวดล้อมนั้น ๆ โดยอาจจะมีการสะสมไขมันไว้ในเซลล์เป็นต้น ซึ่งปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสะสมน้ำมันในสาหร่าย ได้แก่ อุณหภูมิ (Lupi et al., 1991) ช่วงเวลาการให้แสงและความเข้มของแสง (Brenckmann et al., 1985) ความเป็นกรดด่าง (pH) ของสารอาหาร ปริมาณไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบในสารอาหาร (Largeau et al., 1980) ตลอดจนระดับความเค็มในอาหารที่ใช้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (Vazquez Duhalt et al., 1991ab) เป็นต้น

2.2.4 การเก็บเกี่ยวสาหร่าย

สาหร่ายขนาดเล็กที่ทำการเพาะเลี้ยงจะมีขนาดของเซลล์เล็กมาก ขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญของการเพาะเลี้ยงคือ การเก็บเกี่ยวเซลล์ วิธีที่สามารถใช้ได้ผลดีที่สุดในขณะนี้ คือ การปั่นเหวี่ยง อย่างไรก็ตามวิธีนี้ไม่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงในระดับขยายขนาดเพราะมีต้นทุนในการผลิตสูง ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นและใช้ต้นทุนในการผลิตที่ต่ำ เช่น การนำเทคนิคต่าง ๆมาประยุกต์ใช้ร่วมกัน เช่น การตกตะกอน (Flocculation) การชะน้ำออก (Dewatering) และการทำแห้ง (Drying) การตกตะกอนจะใช้วัสดุและสารเคมีช่วยเร่งกาเกิดอนุภาคที่มีน้ำหนักมากขึ้น เช่น การใช้ 10% Cellulose fibers และ Ferric nitrate แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนหลังจากนั้นจึงทำการเทน้ำและอาหารเลี้ยงสาหร่ายส่วนบนทิ้งก่อนเข้าสู่กระบวนการระเหยน้ำออกเพื่อทำแห้งต่อไป

2.2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันสาหร่าย

การสกัดน้ำมันสาหร่ายสามารถทำได้โดยอาศัยคุณสมบัติที่แตกต่างกันของสารละลาย โดยทั่วไปแล้วนิยมใช้เฮกเซน สารละลายผสมของคลอโรฟอร์มและเมทานอล หรือทำให้เซลล์สาหร่ายแตกด้วยคลื่นความถี่สูง อย่างไรก็ตามการสกัดเพื่อให้ได้น้ำมันสูง ๆนั้นจะต้องขึ้นอยู่กับสภาวะที่เหมาะสมด้วย

2.3 ไบโอดีเซล

ความเป็นมาของไบโอดีเซล (Biodiesel) ในประเทศไทยนั้นเริ่มขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ.2526 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงมีพระราชดำริให้จัดสร้างโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มขนาดเล็กที่สหกรณ์นิคมอ่าวลึก จังหวัดกระบี่ และทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้สร้างโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ขนาดเล็ก มีกำลังการผลิตวันละ 110 ลิตร ที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส โดยทดลองนำน้ำมันปาล์มมาใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์ดีเซล พบว่าน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์ดีเซล โดยไม่ต้องผสมกับน้ำมันเชื้อเพลิงอื่น ๆ จนกระทั่งเมื่อวันที่ 9 เมษายน พ.ศ.2544 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวจึงทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้นายอำพล เสนาณรงค์ องคมนตรี เป็นผู้แทนพระองค์ยื่นจดสิทธิบัตรนานาชาติ "การใช้น้ำมันปาล์มกลั่นบริสุทธิ์เป็นน้ำมันเชื้อเพลิงเครื่องยนต์ดีเซล" (สถาบันปิโตรเลียมแห่งประเทศไทย, 2549)

ไบโอดีเซล เป็นเชื้อเพลิงดีเซลทางเลือกที่ผลิตได้จากน้ำมันจากพืชหรือไขมันจากสัตว์โดยไบโอดีเซลมีคุณสมบัติที่สามารถย่อยสลายได้เองตามกระบวนการทางชีวภาพ (Biodegradable) และไม่มีพิษ (Nontoxic) ดังนั้นจึงไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ไบโอดีเซลสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงกับยานพาหนะได้โดยไม่ต้องดัดแปลงเครื่องยนต์แต่อย่างใด มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล อีกทั้งยังช่วยรักษาสภาพเครื่องยนต์ให้ใช้งานได้นานกว่าอีกด้วย เนื่องจากออกซิเจนในไบโอดีเซลให้การสันดาปที่สมบูรณ์กว่าน้ำมันดีเซล ทำให้มีควันดำและก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์น้อย ช่วยลดมลพิษทางอากาศ รวมทั้งลดการอุดตันของระบบไอเสียเนื่องจากองค์ประกอบของไบโอดีเซลไม่มีธาตุกำมะถันแต่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบประมาณ 10% โดยน้ำหนัก จึงช่วยการเผาไหม้ได้ดีขึ้น ลดมลพิษจากซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไฮโดรคาร์บอน คาร์บอนมอนนอกไซด์ และฝุ่นละออง ไบโอดีเซลจึงได้รับความสนใจอย่างยิ่งในปัจจุบัน ซึ่งในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลนั้นมีปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกระบวนการผลิต ได้แก่ อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา อัตราส่วนระหว่างน้ำมันและแอลกอฮอล์ ชนิดและความเข้มข้นของสารเร่งปฏิกิริยา การผสมสารตั้งต้น และความบริสุทธิ์ของน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์

2.3.1 เทคนิคการผลิตไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลสามารถผลิตได้หลายวิธี กล่าวคือ การใช้โดยตรงและการผสมไมโครอิมัลชัน (Microemulsion) กระบวนการแตกสลายด้วยความร้อน ตลอดจนกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ซึ่งเป็นกระบวนการที่นิยมผลิตไบโอดีเซลในระดับอุตสาหกรรม (Ma & Hanna, 1999; Fukuda et al., 2001)

2.3.1.1 การใช้โดยตรงและการผสม

การใช้โดยตรง (Direct extraction) หมายถึง การนำน้ำมันไบโอดีเซลที่สกัดได้จากจากน้ำมันพืชบริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันหมูมาใช้ได้เลยกับเครื่องยนต์ดีเซลโดยไม่ต้องผสมหรือผสมสารเคมีอื่นหรือไม่ต้องนำมาเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของน้ำมันก่อนใช้ส่วนแบบผสม (Blending) เป็นการผสมระหว่างน้ำมันพืช (หรือไขมันสัตว์) กับน้ำมันก๊าดน้ำมันดีเซล หรืออื่น ๆ เพื่อให้ไบโอดีเซลที่ได้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซลให้มากที่สุด เช่น การผสมระหว่างน้ำมันมะพร้าวกับน้ำมันก๊าด หรือที่เรียกปาล์มดีเซล (KU Biodiesel, 2548)

2.3.1.2 ไมโครอิมัลชัน

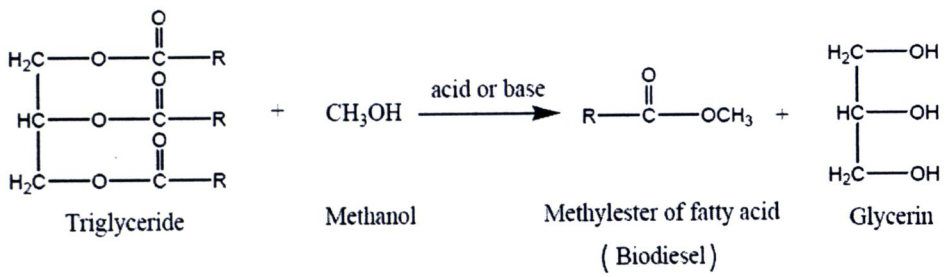
ไมโครอิมัลชัน (Micro emulsion) คือ คอลลอยด์ที่กระจายตัวในสภาวะสมดุลโดยมีอนุภาคในคอลลอยด์ ทำให้น้ำมันพืชมีค่าความหนืดลดลง โดยใช้ควบคู่กับตัวทำละลาย เช่น เมทานอล หรือ เอทานอล (Srivasyava and Prasad, 1999) ไมโครอิมัลชั่นที่เกิดจากเมทานอลกับน้ำมันพืชจะได้น้ำมันที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล แต่เมื่อนำมาทดสอบกับเครื่องยนต์พบว่ามีการสะสมตัวของคราบเกาะรอบ ๆ หัวฉีดและวาล์วของเครื่องยนต์ (Ma & Hanna, 1999)

2.3.1.3 กระบวนการแตกสลายด้วยความร้อน

กระบวนการแตกสลายด้วยความร้อน (Pyrolysis) เป็นกระบวนการเปลี่ยนจากสารประกอบหนึ่งชนิดไปเป็นสารประกอบอื่น ๆ มากกว่าหนึ่งชนิด โดยใช้ความร้อนหรือใช้ความร้อนร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยา ทั้งนี้จะต้องจำกัดปริมาณอากาศหรือออกซิเจนที่ใช้ในกระบวนการด้วยเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเผาไหม้ที่สมบูรณ์ โดยใช้อุณหภูมิสูงประมาณ 450-600 องศาเซลเซียส สารประกอบที่ผ่านกระบวนการไพโรไลซิสจะถูกทำให้มีขนาดโมเลกุลที่เล็กลง วัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้ในกระบวนการไพโรไลซิส ได้แก่ น้ำมันพืช ไขมันสัตว์ หรือ กรดไขมันธรรมชาติ (Natural Fatty Acid) (Ma & Hanna, 1999)

2.2.1.4 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

กระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) เป็นการทำปฏิกิริยาเคมีระหว่างไขมันหรือน้ำมันไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) กับแอลกอฮอล์ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเอสเทอร์และกลีเซอรอล (Ma & Hanna, 1999) โดยมีตัวเร่งในปฏิกิริยา ซึ่งทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ได้เร็วขึ้น (Agarwal, 2007) ดังแสดงในรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอร์ไรด์ (รติกร อลงกรณ์โชติกุล, 2550)

จากการศึกษากระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่ผ่านมา พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน มีดังต่อไปนี้

1. ความชื้นและกรดไขมันอิสระ

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดเบส เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ กลีเซอไรด์ และแอลกอฮอล์ที่ใช้จะต้องไม่มีน้ำเป็นส่วนผสม เพราะน้ำจะทำให้เกิดสบู่ขึ้นในระหว่างการทำปฏิกิริยา สบู่ที่เกิดขึ้นจะไปลดประสิทธิภาพของตัวเร่งปฏิกิริยาลง และยังทำให้น้ำมันไบโอดีเซลมีค่าความหนืดเพิ่มสูงขึ้น ทำให้แยกไบโอดีเซลออกจากกลีเซอรอลได้ยาก ในขณะเดียวกันกรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid) ที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันของวัตถุดิบควรมีค่าความเป็นกรด (Acid value) ไม่เกิน 4 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อกรัม เพราะถ้ามีกรดไขมันอิสระในน้ำมันวัตถุดิบมากเกินไปจะได้ผลิตภัณฑ์ (ไบโอดีเซล) น้อยลง แต่สำหรับน้ำมันวัตถุดิบที่ค่าความเป็นกรดสูง

(มากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อกรัม) จะต้องนำน้ำมันมาทำการลดค่าความเป็นกรดลง โดยให้ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันซึ่งใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแล้วจึงนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันโดยใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาต่อไป (Ramadhas et al., 2005)

2. อัตราส่วนโดยโมล ระหว่างแอลกอฮอล์ต่อน้ำมัน

อัตราส่วนโดยโมลระหว่างแอลกอฮอล์ต่อน้ำมันเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตไบโอดีเซลอย่างมาก เนื่องจากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเป็นปฏิกิริยาแบบผันกลับได้ ดังนั้นแอลกอฮอล์ที่ใช้ในปฏิกิริยาจะต้องใช้ในปริมาณที่มากเกินพอให้ปฏิกิริยาเกิดไปทางขวามากขึ้นเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์มากขึ้น (Agarwal, 2006) ในปัจจุบันนิยมใช้อัตราส่วนของแอลกอฮอล์และไตรกลีเซอร์ไรด์ที่ใช้ในปฏิกิริยา 6:1 (โดยโมล) สามารถผลิตเมทิลเอสเทอร์ได้มากกว่า 98 เปอร์เซ็นต์ (Fukuda et al., 2001) ซึ่งเป็นค่าที่ถูกใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรมยิ่งใช้อัตราส่วนมากเท่าไหร่ก็จะทำให้ได้เอสเทอร์ (ไบโอดีเซล) มากขึ้นเท่านั้นและใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาน้อยกว่า

3. ตัวเร่งปฏิกิริยา

กระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่ใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะเกิดเร็วกว่าเมื่อใช้กรดเป็นตัวเร่ง แต่อย่างไรก็ตามกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันมันอิสระในปริมาณมากและมีน้ำผสมอยู่ด้วยการใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะเหมาะสมกว่า (Ma & Hanna, 1999) การเพิ่มปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาเบสไม่ได้เป็นการช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดมากขึ้นแต่กลับเพิ่มค่าใช้จ่ายในขั้นตอนของการล้างเอาตัวเร่งปฏิกิริยาเบสออกจากผลิตภัณฑ์ ตัวเร่งปฏิกิริยาเบสที่ความเข้มข้น 0.5-1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะทำให้ผลได้ผลิตภัณฑ์ (Yield) 94-99% (Agarwal, 2006) ซึ่งความแตกต่างของการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิด เบส กรด และเอนไซม์ที่มีผลต่อปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อผลิตไบโอดีเซลดังแสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 การเปรียบเทียบการผลิตไบโอดีเซลจากตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดต่าง ๆ

ตัวแปรที่ศึกษา	ตัวเร่งปฏิกิริยา			
	ด่าง	กรด	เอนไซม์ไลเปส	การใช้แอลกอฮอล์สูง
อุณหภูมิที่ใช้ทำปฏิกิริยา (^{o}C)	60 - 70	55 - 80	30 - 40	239 - 385
กรดไขมันอิสระในวัตถุดิบ	เกิดสบู่ในผลิตภัณฑ์	เกิดเอสเทอร์	เกิดเอสเทอร์	เกิดเอสเทอร์
น้ำในวัตถุดิบ	รบกวนการทำปฏิกิริยา	รบกวนการทำปฏิกิริยา	ไม่มีอิทธิพลในการทำปฏิกิริยา	-
ผลได้ของเมทิลเอสเทอร์	ปกติ	ปกติ	สูง	ดี
การกำจัดกลีเซอรอล	ยาก	ยาก	ง่าย	-
การทำเมทิลเอสเทอร์ให้บริสุทธิ์	ต้องล้างน้ำซ้ำหลายครั้ง	ต้องล้างน้ำซ้ำหลายครั้ง	ไม่ต้องล้างน้ำ	-
ราคาของตัวเร่งปฏิกิริยา	ถูก	ถูก	ค่อนข้างแพง	ปานกลาง

(ดัดแปลงจาก Marchetti et al., 2007)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

4. เวลาและอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา

อัตราการเกิดไบโอดีเซลจะแปรผันโดยตรงกับเวลาถ้าเพิ่มเวลาในการทำปฏิกิริยาก็จะทำให้ได้ปริมาณเอสเทอร์มากขึ้นเช่นกัน (Meher et al., 2006) ในขณะเดียวกันอุณหภูมิยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันอย่างมาก ปฏิกิริยาก็จะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ภายใต้อุณหภูมิห้อง แต่อุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาโดยทั่วไปจะใช้อุณหภูมิใกล้เคียงกับจุดเดือดของแอลกอฮอล์ที่ใช้เช่นถ้าเป็นเมทานอลอุณหภูมิที่ใช้คือ 60-70 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศเมื่อใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Agarwal, 2006)

5. อัตราการกวนผสม

น้ำมันหรือไขมันที่นำมาใช้ในการผลิตไบโอดีเซลนั้นไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับแอลกอฮอล์และตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการกวนผสมให้เนื้อสารสัมผัสกันอย่างสม่ำเสมอจึงจะเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันอย่างสมบูรณ์และได้เป็นไบโอดีเซล (Meher et al., 2006)

2.3.2 ประโยชน์ของการใช้ไบโอดีเซล

2.3.2.1 ด้านสิ่งแวดล้อม

การใช้ไบโอดีเซลสามารถช่วยลดมลพิษทางอากาศซึ่งเป็นผลจากการเผาไหม้ในเครื่องยนต์ สำนักงานป้องกันสิ่งแวดล้อม (US Environment Protection Agency) ของสหรัฐอเมริกาได้ทำวิจัยและทดลองใช้น้ำมันไบโอดีเซลสูตรต่าง ๆ กับเครื่องยนต์ดีเซล พบว่าไบโอดีเซลสูตร B100 และ B20 สามารถลดมวลปลดปล่อยจากการเผาไหม้ได้อย่างมีนัยสำคัญ ในส่วนกรมอู่ทหารเรือ กองทัพเรือ ก็ได้รายงานผลการทดลองใช้น้ำมันไบโอดีเซลกับเครื่องยนต์ดีเซลขนาด 145 แรงม้า ว่าสามารถลดควันดำได้มากกว่า 40%

2.3.2.2 ด้านสมรรถนะเครื่องยนต์

สถาบันวิจัยและเทคโนโลยี บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) ได้ทดลองผสมไบโอดีเซลที่ผลิตจากน้ำมันพืชที่ใช้แล้วและน้ำมันมะพร้าวในอัตราร้อยละ 0.5 สามารถเพิ่มดัชนีการหล่อลื่นได้ถึง 2 เท่า ประสิทธิภาพการเผาไหม้ดีขึ้นเนื่องจากในไบโอดีเซลมีออกซิเจนผสมอยู่ประมาณร้อยละ 10 ทำให้การผสมระหว่างอากาศกับน้ำมันมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ และเป็นการเพิ่มอัตราส่วนปริมาตรของอากาศต่อน้ำมันได้เป็นอย่างดีจึงทำให้การเผาไหม้ดีขึ้นด้วย

2.3.2.3 ด้านเศรษฐศาสตร์และความมั่นคง

การใช้ไบโอดีเซลช่วยสร้างงานในชนบทด้วยการสร้างตลาดพลังงานไว้รองรับผลผลิตทางการเกษตรที่เหลือจากการบริโภค การใช้ไบโอดีเซลสามารถช่วยลดการสูญเสียเงินตราต่างประเทศเพื่อการนำเข้าน้ำมันดิบจากต่างประเทศได้บางส่วน การใช้น้ำมันไบโอดีเซลที่สามารถผลิตได้ภายในประเทศถือเป็นการเสริมสร้างความมั่นคงและเสถียรภาพทางด้านพลังงานของประเทศ

2.3.3 คุณสมบัติของไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลเป็นผลผลิตที่ได้จากน้ำมันพืชที่ผ่านกระบวนการทางเคมีให้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล อย่างไรก็ตาม เนื่องจากน้ำมันดีเซลและไบโอดีเซลมีองค์ประกอบและมีโครงสร้างที่แตกต่างกันทำให้ไบโอดีเซลยังคงมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากน้ำมันดีเซล ซึ่งบางคุณสมบัติเป็นข้อได้เปรียบ บางคุณสมบัติก็เป็นข้อเสียเปรียบ เมื่อนำไบโอดีเซลมาใช้เป็นเชื้อเพลิงเปรียบเทียบกับน้ำมันดีเซล เช่น ไบโอดีเซล มีจุดวาบไฟสูงกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้มีความปลอดภัยในการขนส่งมากกว่า มีค่าซีเทนสูง ช่วยทำให้เครื่องยนต์สตาร์ทติดง่าย เครื่องยนต์เดินเรียบ เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 เปรียบเทียบคุณสมบัติของไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ

ไบโอดีเซลจากน้ำมันชนิดต่าง ๆ	ความถ่วงจำเพาะ (กรัม/มิลลิลิตร)	จุดวาบไฟ (องศาเซลเซียส)	ค่าซีเทน	ค่าความร้อน (กิโลจูล/กิโลกรัม)
ปาล์ม	0.887	167	62-65	39,300
เมล็ดเรพ	0.883	> 170	58	37,100
ถั่วเหลือง	na	na	51-53	na
ทานตะวัน	na	na	52	na
น้ำมันดีเซล	0.81-0.87	> 52	> 47	46,800

(สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2550)

โดยทั่วไปแล้วสามารถเปรียบเทียบคุณสมบัติของไบโอดีเซลกับน้ำมันดีเซล(สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2550) ได้ดังนี้

1. ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงสะอาด ไม่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ทำให้ไอเสียที่ปล่อยออกจากเครื่องยนต์ไม่ก่อให้เกิดภาวะฝนกรด เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันดีเซลที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ เมื่อถูกเผาไหม้แล้ว กำมะถันในน้ำมันดีเซล จะเปลี่ยนรูปเป็นซัลเฟอร์ไดออกไซด์และกรดซัลฟิวริกหรือกรดกำมะถัน ตามลำดับ เกิดเป็นมลพิษทางอากาศ เมื่อฝนตกจะชะล้างมลพิษเหล่านี้เกิดเป็นฝนกรดได้

2. น้ำมันดีเซล ไม่มีออกซิเจนอยู่ในโครงสร้างโมเลกุล และมีองค์ประกอบของสาร Aromatic compound ถึงร้อยละ 20-40 ขณะที่ไบโอดีเซลไม่มีสารประกอบประเภท Aromatic compound แต่มีออกซิเจนอยู่ในโครงสร้างโมเลกุลถึงร้อยละ 10-12 ทำให้เมื่อใช้ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิง ไอเสียที่เกิดขึ้นจะมีปริมาณฝุ่นละอองขนาดเล็ก และมีควันดำต่ำกว่าการใช้น้ำมันดีเซล

3. น้ำมันดีเซลไม่มีพันธะคู่ในโครงสร้างโมเลกุล ขณะที่ไบโอดีเซลมีพันธะคู่ในน้ำมันพืช ซึ่งมีปริมาณที่แตกต่างกันตามชนิดของน้ำมันพืช ทำให้ไบโอดีเซลไม่เสถียรตัว เกิดออกซิเดชันได้เร็วกว่าน้ำมันดีเซล และมีระยะการเก็บรักษาหลังการผลิตสั้นกว่าน้ำมันดีเซล

4. ไบโอดีเซลมีจุดวาบไฟสูงกว่าน้ำมันดีเซล จึงมีค่าการจุดระเบิดในเครื่องยนต์ช้ากว่าน้ำมันดีเซล

5. ไบโอดีเซลมีคุณสมบัติในการหล่อลื่นเครื่องยนต์ดีกว่าน้ำมันดีเซล ทำให้ช่วยลดการสึกหรอของเครื่องยนต์ได้ดี

2.3.4 การควบคุมคุณภาพมาตรฐานของไบโอดีเซล

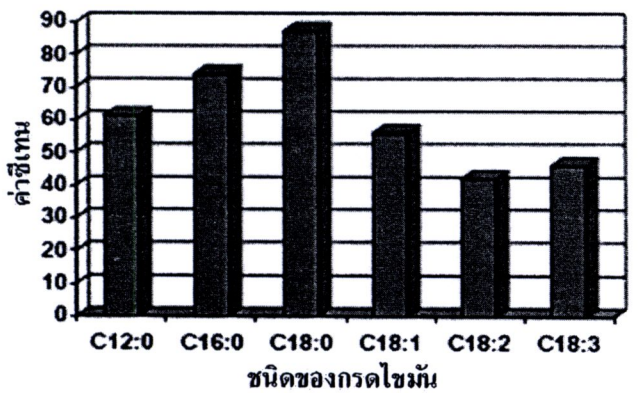
คุณภาพของไบโอดีเซลที่ผลิตได้ นอกจากจะขึ้นกับกระบวนการผลิตแล้วยังขึ้นกับชนิดของน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ที่ใช้ด้วย เนื่องจากน้ำมันแต่ละชนิดประกอบด้วยกรดไขมันประเภทต่าง ๆในปริมาณที่แตกต่างกัน กรดไขมันส่วนใหญ่ที่พบในไบโอดีเซลจะมีสายโซ่มากกว่า 10 ชนิด ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปของกรดไขมันอิ่มตัว หรือกรดไขมันไม่อิ่มตัว ไบโอดีเซลที่มีคุณภาพดีนั้นจะต้องผลิตจากน้ำมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูง เพราะจะทำให้ปริมาณสารประกอบไนโตรเจน (NO_x) ลดลงมีเสถียรภาพสูงขึ้น ค่าจุดขุ่นและค่าซีเทนเพิ่มสูงขึ้น แต่ถ้ามีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูงจะให้ค่า จุดขุ่น ค่าซีเทน เสถียรภาพลดลง และปริมาณ NO_x เพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 สมบัติของไบโอดีเซลกับกรดไขมันประเภท ต่าง ๆ

กรดไขมัน	กรดไขมันอิ่มตัว 12:0, 14:0, 16:0, 18:0, 20:0, 22:0	กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว 16:1, 18:1, 20:1, 22:1	กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงพหุ 18:2, 18:3
ค่าซีเทน	สูง	กลาง	ต่ำ
จุดขุ่น	สูง	กลาง	ต่ำ
เสถียรภาพ	สูง	กลาง	ต่ำ
NO_x	ลดลง	เพิ่มขึ้นเล็กน้อย	เพิ่มขึ้นมาก

(ศิริวรรณ ศิลป์สกุลสุข, 2550)

ไบโอดีเซลที่ผลิตจากน้ำมันพืชต่างชนิดกันจะมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันพืชเป็นสารประกอบไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันอยู่ในโครงสร้างของไตรกลีเซอไรด์ถึงร้อยละ 94-96 ของน้ำหนักโมเลกุล ทำให้คุณสมบัติของน้ำมันมีคุณสมบัติทั้งทางเคมีและกายภาพเป็นไปตามกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบอยู่ (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2550)



รูปที่ 2.13 ค่าซีเทนกับชนิดของกรดไขมันในเมทิลเอสเตอร์ประเภทต่าง ๆ (ศิริวรรณ ศิลป์สกุลสุข, 2550)

ประเทศไทยได้กำหนดคุณภาพไบโอดีเซลสำหรับเครื่องยนต์เกษตร โดยกรมธุรกิจพลังงานกำหนดว่าต้องมีจำนวนซีเทนไม่น้อยกว่า 47 จากรูปที่ 2.13 จะเห็นว่า ค่าซีเทนจะมีความสัมพันธ์กับชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ และคุณภาพของไบโอดีเซลที่มีผลต่อเครื่องยนต์ (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2550) มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.2.6.1 ปริมาณเมทิลเอสเทอร์

ไบโอดีเซลที่สมบูรณ์ มาตรฐานกำหนดให้มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 96.5 โดยน้ำหนัก เมื่อปริมาณเอสเทอร์น้อยกว่าที่กำหนด ชี้บอกถึงยังมีโมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ หรือไตรกลีเซอไรด์ อยู่ในไบโอดีเซลในปริมาณสูงกว่าที่กำหนด ส่งผลให้ความหนืดของไบโอดีเซลมีค่าสูง และเกี่ยวเนื่องกับการอุดตันในหัวฉีด หรือกระบอกสูบของเครื่องยนต์ ปริมาณเมทิลเอสเทอร์แสดงถึงความบริสุทธิ์ของไบโอดีเซลและการเกิดปฏิกิริยาการผลิตไบโอดีเซล

2.2.6.2 ความหนาแน่น ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

ความหนาแน่นเป็นตัวแปรที่สำคัญในการออกแบบระบบหัวฉีดจ่ายน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซล ค่าความหนาแน่นเป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณของพลังงานเชื้อเพลิง เมื่อค่าความหนาแน่นมีค่ามากก็จะให้พลังงานความร้อนมากขึ้นตามไปด้วยเมื่อเทียบกับปริมาณน้ำมันเชื้อเพลิงในปริมาณเดียวกัน ความหนาแน่นของไบโอดีเซลจากวัตถุดิบน้ำมันพืชแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน โดยค่าความหนาแน่นมาตรฐานจะกำหนดที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ปริมาณเมทานอลที่ตกค้างในไบโอดีเซลยังเป็นสาเหตุให้ความหนาแน่นมีค่าต่ำอีกด้วย

2.2.6.3 ความหนืด ณ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ความหนืดเกี่ยวข้องกับการไหล การฉีดเป็นฝอยของหัวฉีดในห้องเผาไหม้ การฉีดเป็นฝอยขนาดเล็กจะทำให้การเผาไหม้สมบูรณ์ ความหนืดของไบโอดีเซลที่ผลิตได้ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันพืชที่เป็นวัตถุดิบความหนืดยังเป็นดัชนีแสดงการเสื่อมสภาพของไบโอดีเซลเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอีกทางหนึ่ง

2.2.6.4 จุดวาบไฟ

จุดวาบไฟเป็นค่าอุณหภูมิต่ำสุดเมื่อเปลวไฟผ่านเหนือไอของน้ำมันแล้วทำให้น้ำมันติดไฟมาตรฐานกำหนดให้มีค่าจุดวาบไฟมากกว่า 120 องศาเซลเซียส จุดวาบไฟมีผลต่อการขนส่ง เคลื่อนย้าย และการจัดเก็บปริมาณเมทานอลที่เหลือในไบโอดีเซลทำให้จุดวาบไฟมีค่าต่ำกว่ามาตรฐาน ปริมาณเมทานอลที่เหลืออยู่ในไบโอดีเซลในปริมาณมากกว่า 0.2% ส่งผลให้จุดวาบไฟมีค่าต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส

2.2.6.5 กำมะถัน

ไบโอดีเซล เป็นเชื้อเพลิงที่มีปริมาณกำมะถันต่ำ เนื่องจากน้ำมันพืชดิบที่ใช้ในการผลิตมักมีองค์ประกอบของกำมะถันต่ำกว่า 15 ส่วนในล้านส่วน องค์ประกอบกำมะถันในน้ำมันเมื่อถูกเผาไหม้จะเปลี่ยนเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ซึ่งถูกปล่อยออกมาพร้อมไอเสียจากเครื่องยนต์และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

2.2.6.6 กากถ่าน

กากถ่าน หมายถึง ปริมาณกากร้อยละ 10 ที่เหลือจากการกลั่น โดยปริมาณกากถ่านมีความสัมพันธ์กับปริมาณกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ สบู่ ตัวเร่งปฏิกิริยา ที่ยังหลงเหลืออยู่ในไบโอดีเซล หากมีปริมาณกากถ่านสูงกว่าข้อกำหนดแสดงว่ายังคงมีสารต่าง ๆ ที่กล่าวข้างต้นหลงเหลืออยู่ในไบโอดีเซล นอกจากนั้นยังแสดงถึงแนวโน้มของปริมาณกากถ่านที่เหลืออยู่หลังจากการเผาไหม้ในห้องเผาไหม้กากถ่านมีผลต่อการอุดตันในหัวฉีดหรือที่ลูกสูบ ทำให้กำลังของเครื่องยนต์ลดลง เครื่องยนต์สกปรกและต้องเปลี่ยนถ่ายน้ำมันเครื่องบ่อยครั้ง

2.2.6.7 เถ้าซัลเฟต

เถ้าซัลเฟตเกิดจากการเผาไหม้ของสารปนเปื้อนในไบโอดีเซล เนื่องมาจากการตกค้างของสบู่ และตัวเร่งปฏิกิริยา ปริมาณเถ้าซัลเฟตมีผลต่อการอุดตันในเครื่องยนต์

2.2.6.8 น้ำ

ปริมาณน้ำในน้ำมันทำให้การเผาไหม้ไม่ดี นอกจากนั้นน้ำในไบโอดีเซลยังเป็นสาเหตุให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลติกระหว่างน้ำกับเอสเทอร์เกิดเป็นกรดไขมันอิสระ ส่งผลต่อการกัดกร่อนในเครื่องยนต์ และเป็นตัวเร่งให้เกิดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในถังเก็บน้ำมัน ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้หัวฉีดอุดตัน

2.2.6.9 สิ่งปนเปื้อนทั้งหมด

สารปนเปื้อนในน้ำมันไบโอดีเซลส่วนใหญ่เป็นผลเนื่องมาจากกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน และปฏิกิริยาข้างเคียง เช่น ปฏิกิริยาการเกิดสบู่ของกรดไขมันอิสระและตัวเร่งปฏิกิริยา

ชนิดเบส ตัวเร่งปฏิกิริยาและสารที่ไม่สะปอนิฟาย ได้แก่ ไขมันที่ไม่อยู่ในรูปของกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ Fatty alcohol สารประกอบไฮโดรคาร์บอน แอลกอฮอล์แข็ง Triterpene alcohol สารประกอบแคโรทีน วิตามิน และอื่น ๆ ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของวัตถุดิบน้ำมันพืชเริ่มต้น โดยทั่วไปสิ่งปนเปื้อนทั้งหมดจะถูกกำจัดออกจากไบโอดีเซลในขั้นตอนการล้างน้ำ สิ่งปนเปื้อนในไบโอดีเซลมีผลเสียต่อเครื่องยนต์หลายด้าน เช่น คุณสมบัติด้านความเสถียรของไบโอดีเซลระหว่างการเก็บรักษาทำให้ไบโอดีเซลเปลี่ยนสภาพกลายเป็นสารที่มีผลในการลดคุณสมบัติด้านความเสถียรของไบโอดีเซล

2.2.6.10 การกัดกร่อนแผ่นทองแดง

การกัดกร่อนแผ่นทองแดง แสดงการกัดกร่อนของน้ำมันต่อโลหะที่ใช้เป็นชิ้นส่วนในเครื่องยนต์ดีเซลเนื่องจากปริมาณกรดเช่น กรดไขมันอิสระ และสารประกอบซัลเฟอร์ในน้ำมัน ซึ่งค่าการกัดกร่อนนี้มีผลต่อการทำงานของเครื่องยนต์

2.2.6.11 ค่าของกรด

เป็นค่าที่แสดงความเป็นกรดในน้ำมันไบโอดีเซล เป็นผลมาจากปริมาณกรดไขมันอิสระในวัตถุดิบน้ำมันพืชและปริมาณกรดที่ใช้ในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลซึ่งมีผลต่อการกัดกร่อนในเครื่องยนต์ ทำให้อายุการใช้งานของปั๊ม และไส้กรองน้ำมันลดลง นอกจากนี้ยังแสดงถึงการเสื่อมสภาพของน้ำมันเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลติกจากปริมาณน้ำที่ปนอยู่ในน้ำมันและผลของสภาวะในการจัดเก็บ

2.2.6.12 กรดลิโนเลนิกเมทิลเอสเทอร์

แสดงถึงพันธะคู่หรือความไม่อิ่มตัวของไบโอดีเซล ซึ่งมีแนวโน้มทำให้เกิดพอลิเมอร์ในเครื่องยนต์ ทำให้เกิดการอุดตัน และการเสื่อมสภาพของน้ำมันเครื่อง ปริมาณกรดลิโนเลนิกเมทิลเอสเทอร์ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันพืชที่เลือกมาใช้เป็นวัตถุดิบ

2.2.6.13 เสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเนื่องจากการเกิดสารประเภทเพอร์รอกไซด์ ขึ้นระหว่างพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ที่อยู่ในโครงสร้างของไบโอดีเซล ปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดเมื่อน้ำมันสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ โดยที่ความร้อนและแสงแดดมีผลช่วยเร่งปฏิกิริยา ในขณะที่โลหะเช่น ทองแดง และตะกั่ว ก็เป็นตัวเร่งให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้น ผลของปฏิกิริยาทำให้เกิดสารพอลิเมอร์ (Oxidation polymerization) และเกิดของแข็งที่ไม่ละลายในไบโอดีเซลเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากจะขึ้นกับประเภทและคุณสมบัติของน้ำมันพืชที่เป็นวัตถุดิบแล้วยังขึ้นกับกระบวนการผลิตไบโอดีเซลอีกด้วย โดยกระบวนการผลิตที่มีการให้ความร้อนสูงแก่ไบโอดีเซลเป็นระยะเวลานานอาจส่งผลให้เสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดให้มีค่าสูงกว่า 6 ชั่วโมง ที่ 110 องศาเซลเซียส

2.2.6.14 ค่าไอโอดีน

ค่าไอโอดีนแสดงพันธะคู่ในน้ำมัน ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของน้ำมันพืชที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล ค่าไอโอดีนต่ำแสดงถึงการมีสัดส่วนกรดไขมันอิ่มตัวในโครงสร้างไบโอดีเซลสูง ทำให้ไม่มีแนวโน้มในการเกิดออกซิเดชัน นอกจากนี้ค่าไอโอดีนยังมีความสัมพันธ์กับจุดขุ่น ซึ่งแสดงถึงอุณหภูมิที่น้ำมันเริ่มเกิดไข หรือจับตัวเป็นก้อนแข็ง ไบโอดีเซลที่มีค่าไอโอดีนต่ำจะมีจุดขุ่นสูง ซึ่งมีผลต่อการใช้งานสภาพอากาศเย็น ไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มดิบมีค่าไอโอดีน 50-55 ประกาศกรมธุรกิจพลังงานกำหนดให้ค่าไอโอดีนไม่สูงกว่า 120 กรัมไอโอดีนต่อ 100 กรัม

2.2.6.15 เมทานอล

เมทานอลเป็นสารตั้งต้นที่เหลือจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งจำเป็นต้องกำจัดออกให้หมดก่อนนำไบโอดีเซลออกจำหน่าย ถ้ายังมีเมทานอลปะปนอยู่ในไบโอดีเซลจะทำให้ไบโอดีเซลมีจุดวาบ

ไฟต่ำลงด้วย (จุดวาบไฟขั้นต่ำของไบโอดีเซลคือ 130 องศาเซลเซียส) ซึ่งมีผลต่อความปลอดภัยในการเก็บรักษา การขนส่งและการนำมาใช้ในเครื่องยนต์ เมทานอลที่มีค่าความเข้มข้นมากกว่า 5% จะมีผลกระทบต่อค่าซีเทน และความหล่อลื่นของน้ำมัน

2.2.6.16 โมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์

ปริมาณโมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์แสดงถึงความสมบูรณ์ของปฏิกิริยาในการผลิตไบโอดีเซล ปริมาณโมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์ที่เหลือจากการเกิดปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันที่ไม่สมบูรณ์ ส่งผลให้เกิดการอุดตันบริเวณหัวฉีด กระบอกสูบ และวาล์วภายในเครื่องยนต์

2.2.6.17 กลีเซอรีนอิสระ

ปริมาณกลีเซอรีนที่ยังเหลืออยู่ในไบโอดีเซลเนื่องมาจากการแยกกลีเซอรีนไม่สมบูรณ์ ทำให้มีปัญหาการแยกชั้นของกลีเซอรีนในการจัดเก็บไบโอดีเซล รวมถึงการสะสมที่บริเวณด้านล่างของถังน้ำมัน กลีเซอรีนมีผลต่อการอุดตันที่หัวฉีดและระบบลำเลียงน้ำมัน

2.2.6.18 กลีเซอรีนทั้งหมด

กลีเซอรีนทั้งหมดคือปริมาณของกลีเซอรีนอิสระ และปริมาณกลีเซอรีนในโมเลกุลโมโนกลีเซอไรด์ไดกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์ ที่เจือปนในองค์ประกอบไบโอดีเซล ซึ่งเป็นผลจากการเกิดปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันไม่สมบูรณ์ มีผลก่อให้เกิดการอุดตันที่บริเวณหัวฉีดและไส้กรอง ปัญหาการใช้งานในสภาพอากาศอากาศเย็น

ดังนั้นหากต้องการนำไบโอดีเซลไปใช้เป็นพลังงานทดแทนสำหรับใช้ในเครื่องยนต์จำเป็นต้องมีคุณภาพที่ได้มาตรฐาน การกำหนดมาตรฐานและวิธีการตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของไบโอดีเซลเพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน กรมธุรกิจพลังงานกำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเตอร์ของกรดไขมันดังแสดงในตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 รายละเอียดแนบท้ายประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่อง กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเตอร์ของกรดไขมัน

รายการ	คุณสมบัติ		ข้อกำหนด		วิธีทดสอบ
1	เมทิลเอสเตอร์ (Methyl Ester)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (% wt.)	ไม่ต่ำกว่า	96.5	EN 14103
2	ความหนาแน่น ณ อุณหภูมิ 15 °ซ (Density at 15 °C)	กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร (kg/m^3)	ไม่ต่ำกว่า ไม่สูงกว่า	860 900	ASTMD 1298
3	ความหนืด ณ อุณหภูมิ 40 °ซ (Viscosity at 40 °C)	เซนติสโตกส์ (cSt)	ไม่ต่ำกว่า ไม่สูงกว่า	3.5 5.0	ASTMD 445
4	จุดวาบไฟ (Flash Point)	องศาเซลเซียส (°C)	ไม่ต่ำกว่า	120	ASTMD 93
5	กำมะถัน (Sulphur)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.0010	ASTMD 2622
6	กากถ่าน (ร้อยละ 10 ของกากที่เหลือจากการกลั่น)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.30	ASTMD 4530
7	จำนวนซีเทน(Cetane Number)		ไม่ต่ำกว่า	51	ASTMD 613
8	เถ้าซัลเฟต (Sulphated Ash)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.02	ASTMD 874
9	น้ำ (Water)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.050	ENISO 12937
10	สิ่งปนเปื้อนทั้งหมด (Total Contaminate)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.0024	EN 12662

ตารางที่ 2.9 รายละเอียดแนบท้ายประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่อง กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเตอร์ของกรดไขมัน (ต่อ)

รายการ	คุณสมบัติ		ข้อกำหนด		วิธีทดสอบ
11	การกัดกร่อนแผ่นทองแดง (Copper Strip Corrosion)		ไม่สูงกว่า	หมายเลข 1	ASTMD 130
12	เสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ณ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส	ชั่วโมง (hours)	ไม่ต่ำกว่า	6	EN 14112
13	ค่าความเป็นกรด (Acid Value)	มิลลิกรัมโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์/กรัม (mg KOH/g)	ไม่สูงกว่า	0.50	ASTMD 664
14	ค่าไอโอดีน (Iodine Value)	กรัมไอโอดีน/100 กรัม (g Iodine/100 g)	ไม่สูงกว่า	120	EN 14111
15	กรดลิโนเลนิกเมทิลเอสเตอร์ (Linolenic Acid Methyl Ester)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	12.0	EN 14103
16	เมทานอล (Methanol)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.20	EN 14110
17	โมโนกลีเซอไรด์ (Monoglyceride)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.80	EN 14105
18	ไดกลีเซอไรด์ (Diglyceride)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.20	EN 14105
19	ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.20	EN 14105
20	กลีเซอรีนอิสระ (Free glycerin)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.02	EN 14105
21	กลีเซอรีนทั้งหมด (Total glycerin)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.25	EN 14105
22	โลหะกลุ่ม 1 (โซเดียมและโปแตสเซียม) (Group I metals (Na+K)) โลหะกลุ่ม 2 (แคลเซียมและแมกนีเซียม)(Group II metals (Ca+Mg))	มิลลิกรัม/กิโลกรัม (mg/kg) มิลลิกรัม/กิโลกรัม (mg/kg)	ไม่สูงกว่า ไม่สูงกว่า	5 5	EN14108 และ EN 14109 pr EN 14538
23	ฟอสฟอรัส (Phosphorus)	ร้อยละโดยน้ำหนัก (%wt.)	ไม่สูงกว่า	0.0010	ASTMD4951
24	สารเติมแต่ง (ถ้ามี) (Additive)		ให้เป็นไปตามที่ได้รับความเห็นชอบจากอธิบดีกรมธุรกิจพลังงาน		

(กรมธุรกิจพลังงาน, 2550)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประเทศไทยยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยในต่างประเทศ ซึ่งมีงานวิจัยที่ครอบคลุมตั้งแต่กระบวนการต้นน้ำ(เทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบต่าง ๆ) กระบวนการกลางน้ำเช่น เทคนิคการเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย และการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายที่มีประสิทธิภาพสูง เช่น การใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic wave) หรือการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (Microwave extraction) จนกระทั่งกระบวนการปลายน้ำได้แก่การทดสอบการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดต่าง ๆ เป็นต้น ปัจจุบันยังคงมีรายงานผลการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้นยังไม่มีรายงานวิจัยในเชิงสาธารณะในระดับขยายขนาดเป็นเชิงพาณิชย์ ตัวอย่างงานวิจัยด้านการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กมีดังต่อไปนี้

กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ (2536) รายงานว่าเมื่อความเข้มของแสงเพิ่มขึ้นการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วยแต่ความเข้มของแสงที่สูงเกินไปจะทำให้เกิดปรากฏการณ์ยับยั้งด้วยแสง (Photo inhibition) จะมีผลไปยับยั้งการหายใจของเซลล์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่ายและระยะเวลาการได้รับแสง

ยศวดี สวัสดิรักษา (2547) ศึกษาการเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* โดยใช้น้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลที่มีการปรับปริมาณสารอาหารให้ใกล้เคียงกับสูตรอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 medium ค่ากรด-เบส 6.7 และให้อากาศผสม CO_2 % พบว่าสาหร่ายสามารถลดปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตในน้ำทิ้งได้ 87.8% และ 57.2% ตามลำดับ และทำการสกัดน้ำมันออกจากเซลล์สาหร่ายด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์ พบว่าสาหร่ายสามารถผลิตไฮโดรคาร์บอนได้สูงสุด 23.87% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง

Wolf et al. (1985) รายงานว่า ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อการสะสมไฮโดรคาร์บอน โดยทำการทดลองให้อากาศบริสุทธิ์เปรียบเทียบกับการให้อากาศบริสุทธิ์ผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 0.3% พบว่าชุดที่ให้อากาศบริสุทธิ์ สาหร่ายเจริญเติบโตได้ช้า มีค่าการเจริญเป็น 2 เท่าใน 6 วัน และสะสมไฮโดรคาร์บอนสายโซ่ยาว (C_{32}-C_{34}) ในขณะที่ชุดการทดลองที่ให้อากาศบริสุทธิ์ผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 0.3% นั้นสาหร่ายมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีค่าการเจริญเป็น 2 เท่า ใน 40 ชั่วโมง สะสมไฮโดรคาร์บอนสายโซ่สั้นกว่า (C_{30}-C_{32}) เนื่องจากชุดการทดลองที่ให้คาร์บอนไดออกไซด์นั้นจะเกิดขั้นตอน Methylation ทำให้เกิด C_{30} C_{31} และ C_{32} ได้เร็วกว่า C_{33} และ C_{34} และยังพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท 3 เท่า ในอาหารสูตร modified Chu 13 medium สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุด มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 3.7 กรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 21 วัน โดยที่ฟอสเฟตไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของสาหร่าย แต่จะมีบทบาทต่อกระบวนการต่าง ๆภายในเซลล์สาหร่ายโดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงาน และกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ในปีเดียวกันนั้น Casadevall et al. (1985) ได้ทำการศึกษาผลของคาร์บอนไดออกไซด์ โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ด้วยอาหารสูตร modified Chu 13 medium และให้อากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 1% และพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณฟอสเฟตเป็น 2 เท่า สามารถชักนำให้สาหร่ายมีการสะสมไฮโดรคาร์บอนได้มากที่สุดถึง 33% นอกจากนั้นมีรายงานว่าที่ระดับความเค็ม 0.5 M NaCl ทำให้สาหร่ายมีการสะสมโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และ สารให้สี (Pigments) ในปริมาณที่ต่ำ แต่พบว่ามีปริมาณน้ำมันที่สูงขึ้น (Ben-Amotz et al., 1987)

Minowa (1995) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Dunaliella tertiolecta* แบบ batch wise ใน open tank ที่อุณหภูมิ 27 °C ให้แสงอย่างต่อเนื่องที่ 20,000 lux และพ่นอากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 3% แล้วนำชีวมวลมาศึกษาการผลิตน้ำมันจากเซลล์สาหร่ายโดยใช้ปฏิกิริยาเคมีที่ใช้ความร้อนสูง เรียกว่า "Thermo chemical liquefaction" ที่อุณหภูมิ 340 °C ความดัน 10 MPa ใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยา 60 นาที เมื่อผ่านปฏิกิริยาดังกล่าวจะเปลี่ยนเป็นน้ำมัน 37% (on organic basis) โดยมีค่าความหนืด 300 mPas.

ผลการทดลองพบว่าเซลล์สาหร่าย ที่มีความชื้นเริ่มต้น ต่อมา Sawayama et al. (1995) รายงานว่าเมื่อให้ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นในสูตรอาหารที่เพาะเลี้ยงพบว่าทั้งชีวมวลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และปริมาณกรดไขมันเพิ่มขึ้นถึง 3 เท่า ซึ่งหากสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กก็จะเป็นการลดการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกสู่บรรยากาศได้อีกทางหนึ่งอีกทั้งยังสามารถลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้

Borowitzka (1998) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิดและระบบปิด พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Dunaliella salina* ในบ่อเปิดขนาด 250 เฮกเตอร์ โดยไม่มีการกวนส่วนผสมใด ๆ แต่ใช้การเคลื่อนที่เนื่องจากลมและการเคลื่อนที่ของของเหลวเนื่องจากความแตกต่างของความเข้มข้นตามธรรมชาติ พบว่าสามารถผลิตสาหร่ายได้ตลอดปี และมีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Dunaliella* ชนิดอื่นโดยเพาะเลี้ยงในบ่อเปิด (Raceway pond) ที่มีใบพัดกวนส่วนผสม (Paddle wheel) พบว่ามีความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายมากกว่าแบบที่ไม่มีใบพัด และเมื่อมีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella cohnii* ในระบบปิดแบบ Heterotrophic โดยใช้อะซิเตท และกลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าได้ความเข้มข้นของเซลล์สาหร่ายจำนวนมากถึง 20-100 กรัม/ลิตร ในปีเดียวกันนี้ Lee, S. et al. (1998) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในอาหารสูตร Modified Chu 13 medium แล้วศึกษาการสกัดน้ำมัน พบว่าการทำให้เซลล์แตกด้วย bead-beater แล้วสกัดน้ำมันด้วยคลอโรฟอร์มและเมทานอล ด้วยสัดส่วน 2:1 โดยปริมาตร พบว่าได้ปริมาณไขมันสูงถึง 28.6% ของน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ Lee, K. et al. (1998) ได้ศึกษาการเก็บเกี่ยวสาหร่าย *Botryococcus braunii* โดยพบว่าประสิทธิภาพในการเกิดการรวมกลุ่มกันของเซลล์สาหร่าย (Flocculation) มากที่สุดเมื่อปรับค่ากรด-ด่างของสารแขวนลอยของสาหร่าย เป็น 11 ด้วย HCl หรือ NaOH เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน ซึ่งให้ค่า Flocculating activities เท่ากับ 14 ซึ่งสูงกว่าการตกตะกอนด้วย Aluminium sulphate ในลำดับต่อมา Grima et al. (2002) ศึกษาการเก็บเกี่ยวชีวมวลของเซลล์สาหร่าย โดยวิธีการทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเซลล์สาหร่าย (Flocculation) ด้วยวิธีการการปั่นเหวี่ยง (Centrifugal recovery) และการกรอง (Filtration) โดยการทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเซลล์สาหร่ายทำการศึกษาใน *Anabaena* และ *Asterionella* โดยใช้สารที่ทำให้เกิดการรวมกลุ่ม (Flocculants) คือ เฟอริคคลอไรด์ อะลูมิเนียมซัลเฟต เฟอริคซัลเฟต และ โพลีเฟอริคซัลเฟต จากการทดลองพบว่าโพลีเฟอริคซัลเฟต ทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเซลล์สาหร่ายทั้ง 2 ชนิดมากที่สุด ส่วนการปั่นเหวี่ยงได้ทำการศึกษาในสาหร่าย *Coelastrum proboscideum* พบว่าสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายได้ 95% 60% และ 40% เมื่อใช้ความเร็วในการปั่นเหวี่ยงเท่ากับ 13,000×g, 6,000×g และ 1,300×g ตามลำดับ และวิธีการการกรองได้ทำการศึกษาในสาหร่าย *Coelastrum proboscideum* พบว่าการกรองแบบใช้ความดัน (pressure filter) มีประสิทธิภาพดีกว่าการกรองแบบสุญญากาศ (Vacuum filter) คือสามารถกรอง Suspended solids ได้ 27% และ 18% ตามลำดับ

Kojima and Zhang (1999) ทำการศึกษาระดับความเข้มของแสง 3 และ 10 klux พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุด มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 7 kg/m^3 และผลิตไฮโดรคาร์บอนได้สูงถึง 50% ของน้ำหนักเซลล์แห้งที่ระดับความเข้มของแสง 10 klux

Illman et al. (2000) ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวสายสายพันธุ์ *Chlorella* 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella vulgaris, C. emersonii, C. protothecoides, C. sorokiniana* และ *C. minutissima* โดยใช้อาหารสูตร Watanabe medium ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 ที่อุณหภูมิ 25 °C อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 76 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ อัตราการให้แสงต่อไม่ให้แสง 16 ชั่วโมง ต่อ 8 ชั่วโมง ที่มีการดัดแปลงให้มีปริมาณไนโตรเจนน้อยคือ 203 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนโตรเจนในรูปของโปตัสเซียมไนเตรท (KNO_3) ในระดับปกติคือ 1.25 กรัมต่อลิตร พบว่าในสภาวะที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจนปกติ

สาหร่าย *C. vulgaris* มีอัตราการเจริญอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดคือ 0.99 d^{-1} สาหร่ายที่มีจำนวนเซลล์มากที่สุดคือสาหร่าย *C. sorokiniana* และสาหร่าย *C. vulgaris* คือ 6×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 5.2×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สาหร่ายที่มีน้ำหนักแห้งมากที่สุดคือ *C. minutissima* และ *C. vulgaris* คือ 0.46 และ 0.41 กรัมต่อลิตรตามลำดับ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจนน้อย พบว่าสาหร่ายที่มีปริมาณน้ำมันมากที่สุดคือสาหร่าย *C. emersonii, C. minutissima* และ *C. vulgaris* คือ 63% 57% และ 40% ตามลำดับ

Scragg et al. (2002) ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* และ *Chlorella emersonii* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบท่อเกลียว (Helical tubular photo bioreactor) ขนาด 230 ลิตร โดยใช้อาหารสูตร Watanabe medium ที่มีปริมาณไนโตรเจน (KNO_3) 1.25 กรัมต่อลิตร และสูตรที่มีการดัดแปลงให้มีปริมาณไนโตรเจนน้อยคือ 203 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยง พบว่าปริมาณน้ำมันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในสภาวะที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารปกติ และอาหารที่มีไนโตรเจนน้อย คือ 28% และ 58% ตามลำดับ ส่วนสาหร่าย *Chlorella emersonii* มีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 25% และ 34% ตามลำดับ

Bouarab et al. (2004) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Micractinium pusillum* โดยใช้อะซิเตท (Acetate) และกลูโคส (Glucose) เป็นแหล่งคาร์บอนที่มีการให้แสงในอัตราการให้แสงต่อไม่ให้แสงเท่ากับ 15 ชั่วโมง ต่อ 9 ชั่วโมง ภายในขวดเพาะเลี้ยง ขนาด 300 มิลลิลิตร ด้วยอาหารสูตร Dauta medium พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมิกโซโทรฟิค เซลล์สาหร่ายมีจำนวนเซลล์มากที่สุดคือ 6.5×10^6เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดคือ 0.94 d^{-1}

Qin (2005) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ในอาหารสูตร Modified Chu 13 medium ที่มีความเข้มข้นของเกลือที่ระดับต่าง ๆ พบว่า ในสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) 0.15 M สาหร่ายเจริญได้ดีที่สุดมีค่า Generation time เท่ากับ 2.00± 0.02 วัน ค่า K 0.150 ± 0.002 และมีค่า mean lipid production (rTLC) เท่ากับ 1.3 และได้ทำการศึกษาความเข้มแสงที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก พบว่า ความเข้มข้นแสง 60 W/m^2 สาหร่ายเจริญเติบโตดีที่สุดโดยมีค่า generation time เท่ากับ2.51+ 0.05 วัน เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Modified Chu 13 medium ในขณะที่ Sen et al. (2005) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในน้ำทะเลสังเคราะห์ พบว่า สาหร่ายมีการเจริญได้ดีที่สุด $10,000\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระดับความเค็ม 25%oS โดยให้แสง 2,000-3,000 Lux และมีการเติม CO_2 ตลอด 24 ชั่วโมง

Dayananda et al. (2006) ได้ศึกษาชนิดของสูตรอาหารที่มีต่อการเจริญและสะสมน้ำมันของสาหร่าย โดยเพาะเลี้ยงในสภาวะแบบใช้แสง เมื่อให้แสง16:8 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25 °C พบว่า modified Chu 13 medium และ BG11 ให้ปริมาณการสะสมน้ำมันสูง โดยพบว่าโพแทสเซียมไนเตรต เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด สามารถเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้ชีวมวล 1.2 กรัมต่อลิตร และสะสมน้ำมันได้ 30-35% (โดยน้ำหนัก) ในขณะเดียวกันเมื่อใช้ยูเรีย เป็นแหล่งไนโตรเจน ได้ชีวมวลของสาหร่าย 0.9 กรัมต่อลิตร และสะสมน้ำมันได้ 28-35% (โดยน้ำหนัก) ซึ่งสาหร่ายจะผลิตกรดไขมัน ที่มีสายคาร์บอนยาวขนาดน้อยกว่า C_{20} และในปีเดียวกัน Miao and Wu (2006) ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella protothecoides* โดยใช้อาหารสูตร Basal medium ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบออโตโทรฟิค และเฮทเทอโรโทรฟิคโดยในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบเฮทเทอโรโทรฟิคจะทำการเพาะเลี้ยงในที่มืด และเติมกลูโคสเพิ่มเข้าไปในอาหารเพาะเลี้ยงเท่ากับ 10 กรัมต่อลิตร และลดปริมาณไนโตรเจนในอาหารลงเหลือ 0.1 กรัมต่อลิตร จากนั้นทำการสกัดน้ำมันสาหร่ายโดยวิธีทางเคมีด้วยเฮกเซน พบว่าในสภาวะเฮทเทอโรโทรฟิค สาหร่ายมีการสะสมน้ำมันสูงถึง 55.2 % โดยมากกว่าสภาวะออโตโทรฟิคประมาณ 4 เท่า (14.57%) จากนั้นนำไปศึกษาการผลิตไบโอดีเซลด้วย

ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ที่มีกรดซัลฟูริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอดีเซล คือ เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C และใช้อัตราส่วนระหว่างเมทานอลต่อน้ำมันที่ 56:1 โมลาร์ ทำให้ได้ Crude lipid ออกมาจากเซลล์สาหร่ายเป็นปริมาณสูงถึง 55.2% และได้ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาเคมีทรานส์เอสเทอริฟิเคชันที่มีกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา acidic tranesterification พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการไบโอดีเซล คือ ใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาคือ 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C ค่าความร้อน 41 KJ kg^{-1} ความหนาแน่น 0.864 Kg l^{-1} และค่าความหนืด 5.2×10^{-4} Pas.

Rao et al. (2007) ได้ใช้อาหารสูตร Modified Chu 13 medium ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กโดยให้คาร์บอนไดออกไซด์ตลอดระยะการเพาะเลี้ยง พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น ของ CO_2 2% (โดยปริมาตร) ให้ผลผลิตชีวมวลได้สูงที่สุดคือ 2 กรัม/ลิตร มีน้ำมันสะสมสูงถึง 14-28% โดยพบว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดปาล์มมิติค และโอเลอิก เพิ่มขึ้น 2.5-3 เท่า ในปีเดียวกันนี้ Andrade and Costa (2007) ได้ศึกษาการใช้กากน้ำตาล (Molasses) เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* โดยใช้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมิกโซโทรฟิคในขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตร ด้วยอาหารสูตร Zarrouk medium ภายใต้ความเข้มแสง 45.5 µmol m^{-2} s^{-1} ที่มีอัตราการให้แสงต่อไม่ให้แสงคือ 12 ชั่วโมง ต่อ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C โดยแปรผันความเข้มข้นของกากน้ำตาลในอาหาร 3 ระดับคือ 0.25, 0.5 และ 0.75 กรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาล 0.75 กรัมต่อลิตร สาหร่ายมีชีวมวลมากที่สุดคือ 2.94 กรัมต่อลิตร และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (Maximum specific growth rate; μ_{max}) มากที่สุดคือ 0.067 d^{-1}

Hossain et al. (2008) ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดใหญ่สายพันธุ์ *Oedogonium* sp. และ *Spirogyra* sp. ทำการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายโดยใช้เฮกเซน: อีเทอร์ อัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสาหร่าย *Oedogonium* มีน้ำมันมากกว่าสาหร่าย *Spirogyra* คือ 9.2% และ 7.3% ตามลำดับ จากนั้นทำการผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน พบว่าสาหร่าย *Oedogonium* สามารถผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้เท่ากับ 97% มากกว่าผลได้ของไบโอดีเซลที่ได้จากสาหร่าย *Spirogyra* เท่ากับ 92% เท่านั้น

Converti et al. (2009) ศึกษาผลของอุณหภูมิและความเข้มข้นของไนโตรเจนในการชักนำให้มีการสะสมน้ำมันในสาหร่าย *Nannochloropsis oculata* โดยใช้อาหารสูตร Guillard ที่อุณหภูมิ 15 °C, 20 °C และ 25 °C ลดไนโตรเจน ($NaNO_3$) ลงจาก 0.30 กรัมต่อลิตร เหลือ 0.15 กรัมต่อลิตร และ 0.075 กรัมต่อลิตร สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารสูตร Bold' s Basal medium ที่อุณหภูมิ 25 °C, 30 °C และ 35 °C ลดไนโตรเจน ($NaNO_3$) ลงจาก 1.50 กรัมต่อลิตร เหลือ 0.75 กรัมต่อลิตร และ 0.375 กรัมต่อลิตร พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการชักนำให้สาหร่าย *N. oculata* มีการสะสมน้ำมันสูงที่สุดคือ 15 °C มีปริมาณน้ำมัน 14.92% และความเข้มข้นของไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ 0.075 กรัมต่อลิตร ทำให้มีปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้น 7.88% เป็น 15.86% ในขณะที่สาหร่าย *C. vulgaris* อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 25 °C มีปริมาณน้ำมัน 14.71% และความเข้มข้นของไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ 0.375 กรัมต่อลิตร มีปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้นจาก 5.90% เป็น 15.86% ในขณะที่ Widjaja et al. (2009) ได้ศึกษาการเพิ่มการสะสมน้ำมันจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยศึกษาอิทธิพลของคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้อาหารสูตร Fitzgerald medium โดยอิทธิพลของ CO_2 นั้นได้แปรผันอัตราการพ่นลงไปในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่าย 4 ระดับคือ 0, 20, 50 และ 200 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าที่อัตราการพ่น CO_2 20 มิลลิลิตรต่อนาที สาหร่ายมีการเจริญเติบโตและมีการสะสมปริมาณน้ำมันมากที่สุด

จากรายงานการวิจัยดังได้กล่าวมาข้างต้น การศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลในครั้งนี้ จึงได้มุ่งศึกษาอิทธิพลในการเร่งการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่ง

คาร์บอนเพื่อเร่งการเจริญของชีวมวลสาหร่าย และทำศึกษาการชักนำให้เกิดการสะสมน้ำมันในเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็กโดยใช้ความเค็มในรูปของโซเดียมคลอไรด์ (เกลือแกง) โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Photo bioreactor) ขนาด 3 ลิตร เมื่อเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายภายหลังการเพาะเลี้ยงสิ้นสุดแล้วจะนำมาทดสอบการผลิตไบโอดีเซลแบบ *In-situ* acidic transesterification จากสาหร่าย และน้ำมันไบโอดีเซลที่ได้จะนำมาตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นเทียบกับมาตรฐานไบโอดีเซลที่กำหนดโดยสถาบันมาตรฐานการทดสอบวัสดุของสหรัฐอเมริกา (American Standard for Testing of Materials, ASTM) รวมถึงการเปรียบเทียบจากวัตถุดิบอื่น ๆ ที่มีการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ โดยมีขั้นตอน วิธีการทดลอง และผลการทดลองดังรายละเอียดที่จะกล่าวถึงในลำดับต่อไป โดยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กที่คัดเลือกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติด้วยสูตรอาหาร Modified Chu 13 medium หลังจากนั้นเมื่อได้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมแล้วจึงนำมาทำการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ชีวมวลเพื่อใช้สำหรับการทดสอบการผลิตไบโอดีเซลแบบ *In-situ* acidic transesterification จากเซลล์สาหร่ายต่อไป