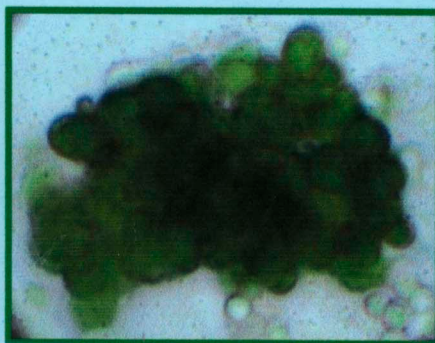
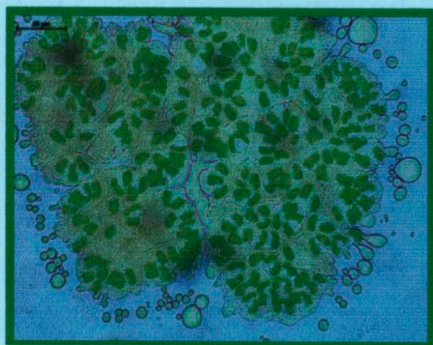




รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การคัดเลือกสายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีไขมันสูงแบบหมวมวล
เพื่อความเป็นไปได้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ

**Strain Selection and Mass Culture of High Lipid Content Algae for the
Feasibility of Biofuel Production**



รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

รศ. ศักดิ์ชัย ชูโชติ

ผศ. ดร. ปวีณา ทวีกิจการ

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2555

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



191090



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การคัดเลือกสายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีไขมันสูงแบบหมวกล
เพื่อความเป็นไปได้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ

**Strain Selection and Mass Culture of High Lipid Content Algae for the
Feasibility of Biofuel Production**

รศ. ดร. สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์

รศ. ศักดิ์ชัย ชูโชติ

ผศ. ดร. ปวีณา ทวีกิจการ

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี



ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2555

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ การคัดเลือกสายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีไขมันสูงแบบหมวมวล เพื่อความเป็นไปได้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ

แหล่งเงิน เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2555

ประจำปีงบประมาณ 2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 355,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2554 ถึง 30 กันยายน 2555

หัวหน้าโครงการและผู้ร่วมโครงการวิจัย รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

รศ. ศักดิ์ชัย ชูโชติ

ผศ. ดร. ปวีณา ทวีกิจการ

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

191090

การคัดเลือกสาหร่ายเพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซล โดยทำการคัดเลือกจากไซยาโนแบคทีเรีย (*Phormidium*, *Stigonema*, *Oscillatoria*, *Fischerella*, *Hapalosiphon*, *Arthrospira*, *Nostoc*, *Mastigocladopsis*) สาหร่ายสีเขียว (*Botryococcus braunii*, *Chlorella*, *Ulva intestinalis*, *U. rigida*, *Cladophra*, *Caulerpa racemosa*, *C. lentilifera*) ไดอะตอม (*Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Tetraselmis*) สาหร่ายสีแดง (*Acanthophora*) และสาหร่ายสีน้ำตาล (*Sargassum*, *Padina*) พบว่าสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *B. braunii* มีไขมันมากที่สุด $13.2 \pm 0.2\%$ กรดไขมันที่มีปริมาณมากที่สุดในสาหร่ายทุกชนิดคือ palmitic acid พบกรดไขมันโอเมกา linoleic acid ในสาหร่ายเกือบทุกชนิด พบ DHA ใน *Mastigocladopsis*, *Chlorella*, *Chaetoceros*, *Tetraselmis* และ *Sargassum* พบ EPA ใน *Chlorella*, *U. intestinalis*, *Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Tetraselmis* และ *Acanthophora*

สภาวะที่เหมาะสมต่อสาหร่ายแต่ละชนิดในการผลิตน้ำมันคือ สาหร่าย *Hapalosiphon* sp. เลี้ยงภายใต้การได้รับแสงต่อเนื่องมีไขมันสูงสุด $11.09 \pm 0.46\%$, *Mastigocladopsis* sp. เลี้ยงภายใต้การได้รับแสง 4120 ลักซ์ มีไขมันสูงสุด $23.31 \pm 1.92\%$, *Oscillatoria limnetica* เลี้ยง 40 วัน มีไขมันสูงสุด $19.45 \pm 0.61\%$, *Botryococcus braunii* เลี้ยง 40 วัน มีไขมันสูงสุด $46.56 \pm 10.43\%$ และ *Scenedesmus dimorphus* เลี้ยงภายใต้อาหารเพิ่มเหล็กขึ้น 250% มีไขมันสูงสุด $24.7 \pm 0.49\%$ การเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ในระดับหมวมวล ด้วยปุ๋ยสูตร 18-12-6 ที่ 5 g/L ให้ไขมันมากที่สุด $44.83 \pm 2.10\%$

คำสำคัญ : ไซยาโนแบคทีเรีย สาหร่ายสีเขียว ไดอะตอม สาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีน้ำตาล น้ำมัน ไบโอดีเซล

Research Title: Strain selection and mass culture of high lipid content algae for the feasibility of biofuel production

Researcher: Assoc. Prof. Dr. Suneerat Ruangsomboon

Faculty: Faculty of Agricultural Technology **Department:** Department of Fisheries Science

ABSTRACT

191090

To select algae with a high lipid content for biodiesel production, the lipid content of cyanobacteria (*Phormidium*, *Stigonema*, *Oscillatoria*, *Fischerella*, *Hapalosiphon*, *Arthrospira*, *Nostoc*, *Mastigocladopsis*), green algae (*Botryococcus braunii*, *Chlorella*, *Scenedesmus dimorphus*, *Ulva intestinalis*, *U. rigida*, *Cladophra*, *Caulerpa racemosa*, *C. lentilifera*), diatom (*Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Tetraselmis*), red algae (*Acanthophora*) and brown algae (*Sargassum*, *Padina*) were studied. *B. braunii* showed the maximum total lipid content of $13.2 \pm 0.2\%$. The most abundant fatty acids in all genera of algae were palmitic acid. Linoleic acid was present in all genera of algae, DHA was present in *Mastigocladopsis*, *Chlorella*, *Chaetoceros*, *Tetraselmis*, and *Sargassum* extract, EPA was present in *Chlorella*, *U. intestinalis*, *Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Tetraselmis*, and *Acanthophora* extract.

Among the different culture conditions, continuous illumination was found to be the best condition for lipid production of *Hapalosiphon* sp. ($11.09 \pm 0.46\%$). The highest lipid content of *Mastigocladopsis* sp. ($23.31 \pm 1.92\%$) was obtained when cultured under light intensity 4120 lux. The highest lipid content of *Oscillatoria limnetica* ($19.45 \pm 0.61\%$) and *Botryococcus braunii* ($46.56 \pm 10.43\%$) was occurred when cultured for 40 days. The highest lipid content of *S. dimorphus* $24.7 \pm 0.49\%$ was occurred in medium containing 250 % iron. The highest lipid content of *S. dimorphus* ($44.83 \pm 2.10\%$) under mass scale production was occurred in medium containing 5 g/L of commercial fertilizer 18-12-6.

Key words: cyanobacteria, green algae, diatom, red algae, brown algae, lipid, biodiesel

III

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ท่าน รศ.ดร. วิเชียร ยงมานิตไชย อาจารย์ประจำภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่ให้ความรู้และอนุญาตให้ใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์กรดไขมัน “การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุนงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555”

รศ. ดร. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

รศ. ศักดิ์ชัย ชูโชติ

ผศ. ดร. ปวีณา ทวีกิจการ

ผศ. ดร. มณฑล แก่นมณี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 สมมุติฐานงานวิจัย.....	3
1.5 คำสำคัญของการวิจัย.....	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม.....	4
2.1 ไบโอดีเซล (Biodiesel)	4
2.2 สาหร่ายและความเหมาะสมในการนำมาเป็นแหล่งน้ำมัน.....	5
2.3 กรดไขมันในสาหร่าย.....	8
2.4 การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการผลิตน้ำมัน.....	10
2.5 ปริมาณไขมันในสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยปัจจัยทางเคมีและกายภาพที่แตกต่างกัน.....	10
2.6 การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย.....	13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	14
3.1 ศึกษาปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันในสาหร่าย.....	14
3.2 การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับการผลิตน้ำมัน : การหาสภาวะในการเลี้ยงที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ไขมันสูง.....	15
3.3 การเพาะเลี้ยงระดับมหวมล.....	15
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	15

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	16
4.1 ศึกษาปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันในสาหร่าย.....	16
4.2 การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับการผลิตน้ำมัน : การหาสภาวะในการเลี้ยงที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ไขมันสูง	22
4.3 การเพาะเลี้ยงระดับมหวมวล.....	46
4.4 วิจารณ์ผลการทดลอง.....	48
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	55
เอกสารอ้างอิง.....	56
ประวัติผู้เขียน.....	61

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตน้ำมันระหว่างสาหร่ายขนาดเล็กกับพืชบางชนิดที่ใช้ผลิตไบโอดีเซล.....	7
4.1 ปริมาณไขมันที่พบในสาหร่าย	27
4.2 กรดไขมัน (%) ที่พบในไซยาโนแบคทีเรีย	19
4.3 กรดไขมัน (%) ที่พบในสาหร่ายกลุ่มสาหร่ายสีเขียว.....	20
4.4 กรดไขมัน (%) ที่พบในสาหร่ายกลุ่มสาหร่ายสีแดง สีนํ้าตาลและไดอะตอม	21
4.5 กรดไขมัน (%) ที่พบใน <i>Botryococcus braunii</i> KMITL 2	22
4.6 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ใน <i>Hapalosiphon</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้ระยะเวลาการเลี้ยงที่แตกต่างกัน.....	23
4.7 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ใน <i>Hapalosiphon</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงที่แตกต่างกัน.....	23
4.8 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ใน <i>Hapalosiphon</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้ระยะเวลาการรับแสงที่แตกต่างกัน.....	24
4.9 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ใน <i>Hapalosiphon</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้ความเค็มที่แตกต่างกัน	24
4.10 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ใน <i>Hapalosiphon</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้ปริมาณไนโตรเจนที่แตกต่างกัน.....	25
4.11 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ใน <i>Hapalosiphon</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้ปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน.....	26
4.12 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ใน <i>Hapalosiphon</i> sp. ที่เลี้ยงภายใต้ปริมาณเหล็กที่แตกต่างกัน.....	26
4.13 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ <i>Mastigocladopsis</i> sp. ที่เลี้ยงในระยะเวลาในการเลี้ยงที่แตกต่างกัน.....	27
4.14 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ <i>Mastigocladopsis</i> sp. ที่เลี้ยงในความเข้มแสงที่แตกต่างกัน.....	28
4.15 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ <i>Mastigocladopsis</i> sp. ที่เลี้ยงในระยะการให้แสงที่แตกต่างกัน.....	28
4.16 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ <i>Mastigocladopsis</i> sp. ที่เลี้ยงในระยะเวลาในปริมาณไนโตรเจนแตกต่างกัน.....	29

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.17 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ <i>Mastigocladopsis</i> sp. ที่เลี้ยงในปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน.....	30
4.18 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ <i>Mastigocladopsis</i> sp. ที่เลี้ยงในปริมาณเหล็กที่แตกต่างกัน.....	30
4.19 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันของ <i>Mastigocladopsis</i> sp. ที่เลี้ยงในความเค็มที่แตกต่างกัน.....	31
4.20 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ของ <i>O. limnetica</i> ที่เลี้ยงในระยะเวลาการเลี้ยงที่ต่างกัน...	32
4.21 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ของ <i>O. limnetica</i> ที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน.....	33
4.22 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ของ <i>O. limnetica</i> ที่เลี้ยงในความเข้มข้นของปริมาณไนโตรเจนแตกต่างกัน.....	33
4.23 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ของ <i>O. limnetica</i> ที่เลี้ยงในความเข้มข้นของปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกัน.....	34
4.24 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ของ <i>O. limnetica</i> ที่เลี้ยงในปริมาณเหล็กที่แตกต่างกัน....	35
4.25 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ของ <i>O. limnetica</i> ที่เลี้ยงในความเข้มข้นของปริมาณความเข้มแสงต่างกัน.....	36
4.26 ปริมาณไขมัน (%น้ำหนักแห้ง) ของ <i>O. limnetica</i> ที่เลี้ยงในระยะเวลาการให้แสงต่างกัน...	36
4.27 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>B. braunii</i> ในความเข้มแสงที่แตกต่างกัน.....	37
4.28 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>B. braunii</i> ในระยะให้แสงที่แตกต่างกัน.....	38
4.29 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>B. braunii</i> ในความเค็มที่แตกต่างกัน.....	38
4.30 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>B. braunii</i> ในระยะเวลาเลี้ยงที่ต่างกัน.....	39
4.31 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>B. braunii</i> ในปริมาณเหล็กที่แตกต่างกัน.....	40
4.32 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>B. braunii</i> ในปริมาณไนโตรเจนที่แตกต่างกัน.....	40
4.33 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>B. braunii</i> ในปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน.....	41
4.34 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>S. dimorphus</i> ที่ความเข้มข้นของอาหารสูตร <i>chlorella</i> medium แตกต่างกัน.....	42
4.35 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>S. dimorphus</i> ในระยะเวลาการให้แสงที่แตกต่างกัน..	43
4.36 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>S. dimorphus</i> ในความเข้มแสงที่แตกต่างกัน.....	43
4.37 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>S. dimorphus</i> ในปริมาณไนโตรเจนที่แตกต่างกัน...	44

VIII

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.38 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>S. dimorphus</i> ในปริมาณฟอสฟอรัสที่แตกต่างกัน...	45
4.39 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>S. dimorphus</i> ในปริมาณเหล็กที่แตกต่างกัน.....	45
4.40 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>S. dimorphus</i> ในความเค็มที่แตกต่างกัน.....	46
4.41 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>S. dimorphus</i> ในสูตรปุ๋ยที่แตกต่างกันเมื่อเพาะเลี้ยงในระดับมหมวล.....	47
4.42 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>S. dimorphus</i> ในปุ๋ยสูตร 16-16-16 เมื่อเพาะเลี้ยงในระดับมหมวล.....	47
4.43 การเจริญเติบโตและปริมาณไขมันใน <i>S. dimorphus</i> ในปุ๋ยสูตร 18-12-6 เมื่อเพาะเลี้ยงในระดับมหมวล.....	47

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ไดอะแกรมการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย.....	13