บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ในสถานการณ์ปัจจุบันมีการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงกันในปริมาณมาก โดยเฉพาะน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซล (diesel fuel) จึงเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญและส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐศาสตร์อุตสาหกรรมของประเทศไทย โดยน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลได้นำมาใช้ในภาคธุรกิจของประเทศไทยหลายๆ ด้าน มีรายงานการใช้ในระบบการขนส่งมากที่สุด เช่น การใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิงสำหรับรถยนต์ขนส่ง, รถบัสขนส่ง, รถยนต์ส่วนบุคคล, รถไฟ และเรือขนส่ง เป็นต้น ได้มีการนำมาใช้ในด้านการผลิตกระแสไฟฟ้าและพลังงานความร้อน การใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิงในเครื่องจักรกลการเกษตร, อุตสาหกรรม, เหมืองแร่, ก่อสร้าง และกิจการพาณิชย์อื่นๆ (สถาบันปิโตรเลียมแห่งประเทศไทย, 2541) โดยประเทศไทยมีความต้องการบริโภคน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลมากกว่าน้ำมันเชื้อเพลิงเบนซินประมาณ 2.3 เท่า ซึ่งในปี 2546 น้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลถูกบริโภคประมาณ 17,451 ล้านลิตร หรือคิดเป็น 51.4 เปอร์เซนต์ของการบริโภคผลิตภัณฑ์เชื้อเพลิงปิโตรเลียมทั้งหมด (www.doeb.go.th/dbd/data-stat/y_sale2.htm) จะเห็นได้ว่าน้ำมันเชื้อเพลิงมีความสำคัญต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศไทย ทั้งนี้ยังเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำมันดิบปิโตรเลียมซึ่งจำเป็นต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

Srivastava และ Prasad (2000) รายงานว่า ในช่วงที่ผ่านมามีการประมาณน้ำมันดิบปิโตรเลียมสำรองของโลกแหล่งใหม่ว่าน่าจะมีใช้ต่อไปได้ไม่เกิน 45 ปีเท่านั้น จากการประเมินดังกล่าวและสาเหตุอื่นๆประกอบกัน ทำให้ราคาน้ำมันดิบพุ่งสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งแนวโน้มของสถานการณ์ดังกล่าว ย่อมส่งผลกระทบโดยตรงต่อพฤติกรรมการบริโภคน้ำมันดิบปิโตรเลียมของโลกและประเทศไทยในอนาคต

ด้วยเหตุผลทางด้านแนวโน้มของราคาน้ำมันดิบปิโตรเลียมที่เพิ่มสูงขึ้น และการเกิดกระแสความต้องการอนุรักษ์และปกป้องสิ่งแวดล้อมของโลก การค้นคว้าวิจัยในด้านการหาแหล่งพลังงานทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซล จึงได้มุ่งเน้นที่จะนำไขมันและน้ำมันจากพืชและสัตว์ที่มีอยู่ในธรรมชาติหรือใช้แล้วจากกระบวนการผลิตและแปรรูป โดยกรรมวิธีทางอุตสาหกรรมเกษตร ทั้งที่สามารถและไม่สามารถนำมารับประทานได้ ในรูปแบบต่างๆมาใช้ทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซล หรือเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลชีวภาพ จากรายงานการค้นคว้าวิจัยพบว่า น้ำมันดีเซลชีวภาพมีความเหมาะสมสำหรับการใช้ทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลปิโตรเลียมมากที่สุดในขณะนี้ ทั้งในแง่ความ

เป็นไปได้ของกระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมและเชิงพาณิชย์และคุณภาพ จึงสามารถใช้ทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงได้เป็นอย่างดี โดยไม่ต้องปรับเปลี่ยนเครื่องยนต์ดีเซลแต่อย่างใด (Ma and Hanna, 1999 ; Srivastava and Prasad, 2000) โดยปัจจุบันมีรายงานการทดลองผลิตน้ำมันดีเซลชีวภาพโดยใช้ไขมันสัตว์, น้ำมันจากพืชชนิดต่างๆและน้ำมันสำหรับทอดที่ใช้แล้วมาผ่านกระบวนการเพื่อให้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล และสามารถนำมาใช้งานได้จริงในทางปฏิบัติ (กัญจนา บุณยเกียรติ และสุกัญญา มากมี, 2544) ในปัจจุบันต้นทุนของกระบวนการผลิตและจัดจำหน่ายน้ำมันดีเซลชีวภาพยังมีมูลค่าค่อนข้างสูง ซึ่งถือได้ว่าเป็นอุปสรรคสำคัญ สำหรับการดำเนินการทางการค้าของน้ำมันดีเซลชีวภาพ เพื่อให้สามารถนำน้ำมันดีเซลชีวภาพมาใช้งานได้จริงในเชิงปฏิบัติ จึงมีการค้นคว้าวิจัยถึงแหล่งของสารตั้งต้นราคาถูก เช่น สาหร่ายขนาดเล็กบางชนิดสามารถผลิตน้ำมันเพื่อนำมาใช้เป็นน้ำมันดีเซลชีวภาพได้ (Sheehan *et al*., 1998) ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่สามารถลดต้นทุนในการผลิตได้โดยการเลี้ยงสาหร่ายเหล่านั้นในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ แต่ถ้าหากว่าราคาน้ำมันเชื้อเพลิงดีเซลซึ่งได้จากกระบวนการกลั่นน้ำมันดิบปิโตรเลียม มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว สืบเนื่องด้วยปริมาณน้ำมันดิบสำรองของโลกมีจำนวนจำกัดและถูกบริโภคในอัตราค่อนข้างสูง ประกอบกับเกิดการพัฒนาเทคโนโลยีสมัยใหม่ซึ่งมุ่งเน้นสำหรับการค้นคว้าวิจัย เพื่อผลิตน้ำมันดีเซลชีวภาพทดแทนอาจทำให้การผลิตและใช้น้ำมันดีเซลชีวภาพมีศักยภาพทางการค้าในอนาคตอันใกล้นี้

ด้วยคุณสมบัติของสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่มีการเติบโตอย่างรวดเร็วและมีน้ำมันประเภท fuel oil ในปริมาณมาก ประมาณ 75% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Sawayama *et al*., 1985) จึงได้ศึกษาการนำสาหร่ายชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ในการผลิตน้ำมันดีเซลชีวภาพและยังเป็นการนำทรัพยากรมาใช้ให้เป็นประโยชน์ เนื่องจากสาหร่ายสามารถใช้แสงและคาร์บอนไดออกไซด์ในการเติบโต ทำให้สามารถลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ ซึ่งเป็นปัญหาที่ทำให้โลกร้อนขึ้นนั่นเอง (Kojima and Zhang, 1999) อย่างไรก็ตาม ปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อต้นทุนการผลิตสาหร่ายในระดับอุตสาหกรรมคือปริมาณธาตุอาหาร (nutrients) ที่จะต้องใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจน ซึ่งต้องใช้ปริมาณมากและมีผลต่อต้นทุนการผลิต ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเติบโตและปริมาณน้ำมันจากสาหร่าย *B. braunii* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลที่มีปริมาณไนโตรเจนสูง ในห้องทดลอง เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตระดับ อุตสาหกรรม และมีประโยชน์ต่อการบำบัดน้ำทิ้ง เพื่อลดปัญหาการเติบโตอย่างรวดเร็วของสาหร่ายหรือยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) ในแหล่งน้ำสาธารณะอีกด้วย

การตรวจเอกสาร

สาหร่าย *Botryococcus braunii*

สาหร่าย *Botryococcus braunii* ถูกค้นพบครั้งแรกกว่า 100 ปีมาแล้ว เป็นสาหร่ายสีเขียวที่สามารถผลิตไฮโดรคาร์บอนได้ในปริมาณมากจัดอยู่ในดิวิชั่น Chlorophyta ชั้น Chlorophyceae ออเดอร์ Chlorococcales ตระกูล Dictyosphaeriaceae สกุล *Botryococcus* มีลักษณะสำคัญคือ อยู่รวมกันเป็นโคโลนี โคโลนีมีสีเขียว, น้ำตาลหรือส้ม ความยาวประมาณ 6 -10 μm และกว้าง 3 - 6 μm รอบนอกมีเมือกหุ้มจึงมีลักษณะไม่สม่ำเสมอ และเมือกทำให้โคโลนีมีขนาดใหญ่ขึ้นและลอยน้ำได้ มีสายบางไซโตพลาสซึมเชื่อมระหว่างโคโลนี ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างกลมรี แต่ละเซลล์มีหนึ่งคลอโรพลาสต์ คลอโรพลาสต์มีลักษณะรูปถ้วยหรือ discoid มีไพรีนอยด์รูปถ้วยเช่นกัน และในโคโลนีที่ยังไม่เจริญเต็มที่จะผลิตเม็ดแป้งรูปจานและผลิตน้ำมันในปริมาณมาก เพิ่มจำนวนเซลล์โดยการแบ่งเซลล์ตามยาวเท่านั้น โดยเซลล์มารวมตัวกันเพิ่มขึ้นหลังจากที่โคโลนีมีการแบ่งตัวตามยาวบริเวณเมือกหุ้ม หรือเพิ่มจำนวนเซลล์โดยการแบ่งตัวของโคโลนีที่มีอายุมาก (Fritsch, 1927; Blackburn, 1936 and Prescott,1962 อ้างโดย Vongprasert, 1986)

สาหร่าย *B. braunii* มีลำดับ r-RNA เป็น 16s RNA ซึ่งเหมือนกับสาหร่าย *Characium vaculatum* และ *Dunaliella parva* (Sawayama *et al*., 1995) สามารถพบสาหร่ายชนิดนี้ได้ทั่วไป พบทั้งในแหล่งน้ำจืดและแหล่งน้ำกร่อย (Chisti, 1980 อ้างโดย Banerjee *et al*., 2002) ดังแสดงในตารางที่ 1 สาหร่ายชนิดนี้ที่พบทั่วโลกนั้นเป็นชนิดเดียวกัน โดยพบได้ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Wolf *et al*., 1985 a,b) โปรตุเกต, โบลิเวีย,ฝรั่งเศส, ชายฝั่งไอวอรี่, โมรอคโค, ฟิลิปปินส์, ไทยและอินเดียใต้ (Metzger *et al*., 1985) ซึ่งแหล่งที่พบสาหร่ายชนิดนี้ล้วนมีความแตกต่างกันทั้งในด้านสภาวะอากาศและอุณหภูมิ (Wake and Hillen, 1980)

สาหร่าย *B. braunii* มีศักยภาพที่จะใช้เป็นแหล่งพลังงานแหล่งใหม่เนื่องจากสามารถผลิตไฮโดรคาร์บอนได้ในปริมาณมาก ซึ่งขึ้นกับสายพันธุ์และสภาวะในการเจริญ โดยผลิตได้มากถึง 75% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Sawayama *et al*., 1995) สาหร่าย *B. braunii* มี 3 สายพันธุ์ ซึ่งแต่ละสายพันธุ์สามารถผลิตไฮโดรคาร์บอนได้ต่างชนิดกัน (ตารางที่ 2)

สายพันธุ์ A ผลิต C_{25} ถึง C_{31} , n-alkadienes และ trienes

สายพันธุ์ B ผลิต triterpenoid hydrocarbons เรียกว่า botryococcenes (C_nH_{2n-10} , n=30-37) และยังพบ isoprenoid (Chisti, 1980 อ้างโดย Banerjee *et al*., 2002)

สายพันธุ์ L ผลิต lycopadiene และ tetraterpene

ตารางที่ 1 การแพร่กระจายของสาหร่าย *B. braunii* ในทวีปต่างๆ

Table 1 Distribution of living *B. braunii* in various continents

Continent	Site	Type of Water
Europe	lakes, ponds, water containers such as butts, tanks	fresh water
Africa	lakes	fresh water
Asia	lakes	fresh water, saline water
Australia	lakes, reservoirs	fresh water
North America	lake, ponds, reservoirs	fresh water, saline water
South America	lakes	fresh water, brackish water

Source : Blackburn (1936) and Aeronson *et al*. (1983) refered by Vongprasert (1986)

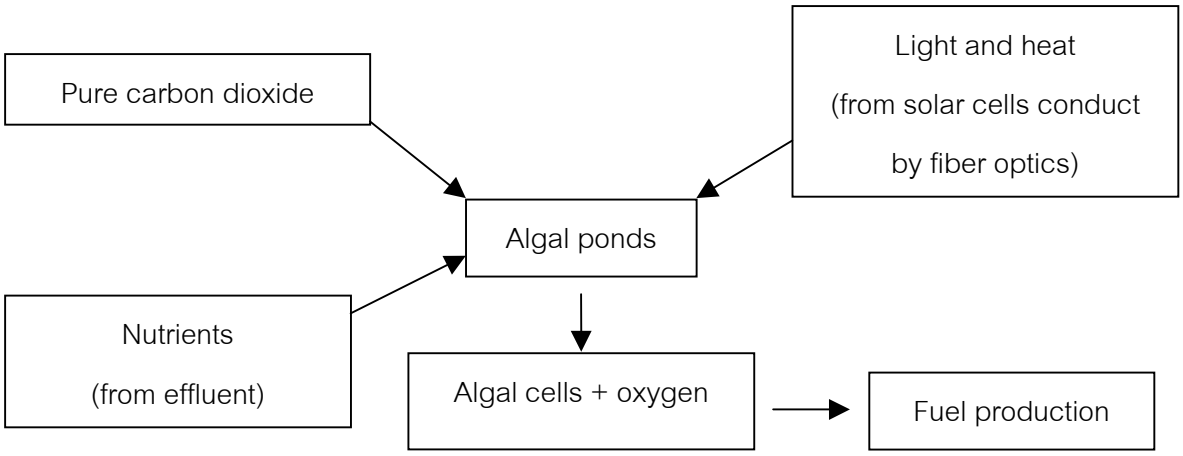
ตารางที่ 2 ลักษณะเฉพาะของสาหร่าย *B. braunii* แต่ละสายพันธุ์

Table 2 Distinctive features of races of *B. braunii*

B. braunii			
	Race-A	Race-B	Race-L
Nature of hydrocarbon	C_{25}-C_{31} Odd numbered n-alkadienes/trienes	Botryococcenes (triterpenes) C_nH_{2n-10}, n=30-37	Lycopadienes (tetraterpene) $C_{40}H_{78}$
Colony color in stationary phase	Pale yellow or green	Orange-reddish or orange-brownish due to accumulation of carotenoids	
Long chain alkenyl phenols	Present	Absent	Absent
Nature of biopolymers	Very long aliphatic chains cross- linked by ether bridges and bearing fatty esters		Tetraterpenoid cross-linked by ether bridges

Source : Banerjee *et al.* (2002)

สาหร่าย *B. braunii* สามารถเปลี่ยนพลังงานแสงอาทิตย์เป็นไฮโดรคาร์บอนได้ถึง 3% (Gudin and Thepnier, 1986) และเซลล์สาหร่ายยังสามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศมาสังเคราะห์ด้วยแสงเพื่อการเจริญเติบโตได้อีกด้วย จึงมีแนวคิดที่จะผลิตน้ำมันเชื้อเพลิงจากสาหร่ายชนิดนี้ในปริมาณมากในอนาคตดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แนวคิดการผลิตน้ำมันเชื้อเพลิงจากสาหร่าย

Figure 1 Fuel production concepts from algal cells

Source : Modified from Sheehan *et al.* (1998) and www.eng.monash.edu.au/mecheng/pgrad/current/disputation%20caleb.pdf

เนื่องจากสาหร่าย *B. braunii* เมื่อเข้าสู่ระยะพักจะมีโคโลนีสีน้ำตาลส้มและมีไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบถึง 76% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังนั้นปัจจุบันจึงมีการศึกษากันมากในด้านองค์ประกอบของเซลล์, ของเหลวภายในเซลล์, ลักษณะทางสัณฐานวิทยา, การสังเคราะห์ไฮโดรคาร์บอน, บริเวณที่มีการสะสมน้ำมันภายในเซลล์, ultrastructural information และแหล่งธรรมชาติที่พบสาหร่ายชนิดนี้ (Maxwell *et al*., 1968)

สาหร่าย *Botryococcus braunii* สายพันธุ์ B

สาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ B เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กเซลล์เดียว อยู่รวมกันเป็นโคโลนี มีขนาดประมาณ 13 ไมโครเมตร x 7-9 ไมโครเมตร ผลิต polymethlyated unsaturated triterpenes

เรียกว่า botryococcenes (C_nH_{2n-10}, n=30-37) โดยในธรรมชาติสาหร่ายสามารถผลิต botryococcene ได้ 27–86% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Metzger *et al*., 1988)

ระยะการเจริญของสาหร่าย *Botryococcus braunii* สายพันธุ์ B

สาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ B มีระยะการเจริญและสะสมน้ำมัน 3 ระยะ ดังนี้ (Brown and Knights,1969)

1. ระยะเซลล์เจริญ

สาหร่าย *B. braunii* ในระยะเจริญจะมีโคโลนีสีเขียว พบได้ทั้งในธรรมชาติและในสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องทดลอง สาหร่ายชนิดนี้พบในธรรมชาติที่เมืองแคมบริดจ์ประเทศอังกฤษ, เมืองกอตทิงเจน ประเทศเยอรมัน, และเมืองออสตินประเทศสหรัฐอเมริกา โดยสาหร่ายที่พบในทุกแหล่งมีลักษณะโคโลนีเหมือนกัน คือโคโลนีมีสีเขียว มีจำนวนเซลล์น้อยกว่า 15 เซลล์ บางโคโลนีมีเพียง 2-3 เซลล์ มีปริมาณไฮโดรคาร์บอน 17-44% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Casadevall and Largeau, 1985) โดยไฮโดรคาร์บอนที่สกัดได้ประกอบด้วยโอเลฟิน, ไดอีนและไตรอีน โดยมีคาร์บอนอะตอมเท่ากับ C_{17}-C_{31} และองค์ประกอบส่วนใหญ่คือไดโอเลฟิน มีคาร์บอนอะตอม C_{29}, C_{31} และ C_{27} (Gelpi and Oro, 1968 อ้างโดย Vongprasert, 1986) ส่วนใหญ่สาหร่ายชนิดนี้สร้างและสะสมไฮโดรคาร์บอนไว้ที่ผนังเซลล์ โดยมีปริมาณถึง 95% ของไฮโดรคาร์บอนที่สาหร่ายผลิตขึ้น ส่วนไฮโดรคาร์บอนที่เหลือสาหร่ายเก็บไว้ภายในเซลล์และบริเวณรอบๆเซลล์

2. ระยะพัก

ในธรรมชาติสาหร่าย *B. braunii* ในระยะพัก โคโลนีมีสีน้ำตาลหรือส้ม โดยเซลล์สาหร่ายจะประกอบด้วย unusual isomeric triterpenoid botryococcene และไอโซโบไทรโอคอกคีน (isobotryococcene) มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{34}H_{58}$ (Maxwell *et al*., 1968) โดยองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นโบไทรโอคอกคีนถึง 31-76% ซึ่งระยะนี้จะไม่พบในสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในห้องทดลอง เนื่องจากขณะที่สาหร่ายมีอายุมาก จะมีการสะสมคาโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น เซลล์จึงเปลี่ยนเป็นสีแดง ซึ่งมีลักษณะเหมือนกับเซลล์ในธรรมชาติที่อยู่ในระยะพัก แต่มีชนิดของไฮโดรคาร์บอนต่างกัน โดยสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องทดลอง ในระยะพักจะสะสมไฮโดรคาร์บอนชนิดเดียวกับสาหร่ายที่มีโคโลนีสีเขียวในระยะเจริญ

3. ระยะเซลล์สีเขียวขนาดใหญ่

ระยะนี้มีลักษณะโคโลนีคล้าย “Mulberry” ประกอบด้วยไฮโดรคาร์บอนที่มีคาร์บอนอะตอม C_{27} และ C_{29} (Wake, 1976 อ้างโดย Vongprasert, 1986) โดย Brown และ Knights (1969) รายงานว่าเกิดเซลล์ในระยะนี้ได้โดยนำโคโลนีสีน้ำตาลที่อยู่ในระยะพัก (เก็บเซลล์มาจากเมือง Loch Lomond

และ Oakmere ประเทศอังกฤษ) มาเลี้ยงในอาหารใหม่ โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ, ระยะเวลาให้แสงและความ เข้มแสงคงที่ เซลล์ก็จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวและมีขนาดใหญ่ขึ้น

โบไทรโอคอกคีน (Botryococcene)

สาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ B ผลิตไฮโดรคาร์บอนเรียกว่าโบไทรโอคอกคีน (Botryococcene) ซึ่งเป็นสารประกอบ isoprenoid และ unusual 1'-3 fusion of isoprene units บริเวณตรงกลางของสายโซ่ ดังภาพที่ 2 แสดงกลไกการสังเคราะห์โบไทรโอคอกคีนและควาลีน (Squalene) โดยสาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ B การสังเคราะห์ C_{30} โบไทรโอคอกคีน หรือโบไทรโอคอกคีนที่มีสายโซ่ยาวกว่า เริ่มจากสารตั้งต้นคือ farnesol จำนวน 2 โมเลกุลถูกเปลี่ยนเป็น farnesyl diphosphate โดยเอนไซม์ farnesol phosphokinase (Inone *et al*., 1994) จากนั้น farnesyl diphosphate รวมตัวกับ carbene ซึ่งให้พันธะคู่ olefenic ได้เป็น presqualene diphosphate โดยพันธะคู่ olefenic อยู่ในกลุ่มของ chrysanthemyl species (1'-2-3 fused compounds) จากนั้นปล่อย pyrophosphate ได้ cyclopropylcarbinyl cation ซึ่งมีโครงสร้าง 1'-3 (artemisyl), 1'-3 (santolinyl) และ 1'-1 (head-to-head)

โบไทรโอคอกคีน เป็นส่วนหนึ่งของโครงสร้าง artemisyl ที่มีการจัดเรียงตัวใหม่ของสารตั้งต้นคือ cyclopropylcarbinyl โดยในกรณีนี้ C_{30} cation ($R=C_{11}H_{19}$) จะทำปฏิกิริยาโดยเคลื่อนย้าย hydride จาก NADH หรือ NADPH ไปยัง allylic cation (Poulter *et al*., 1977) ส่วนสควาลีนเกิดจากสารตั้งต้น cyclopropylcarbinyl มาจัดเรียงตัวใหม่และมี hydride มาจับที่ตำแหน่ง 1'-1 fusion โดยมากปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นไปทางด้านการผลิตโบไทรโอคอกคีนมากกว่าสควาลีน เนื่องจากบริเวณพันธะ 1'-2 สามารถแตกตัวได้ง่ายกว่า

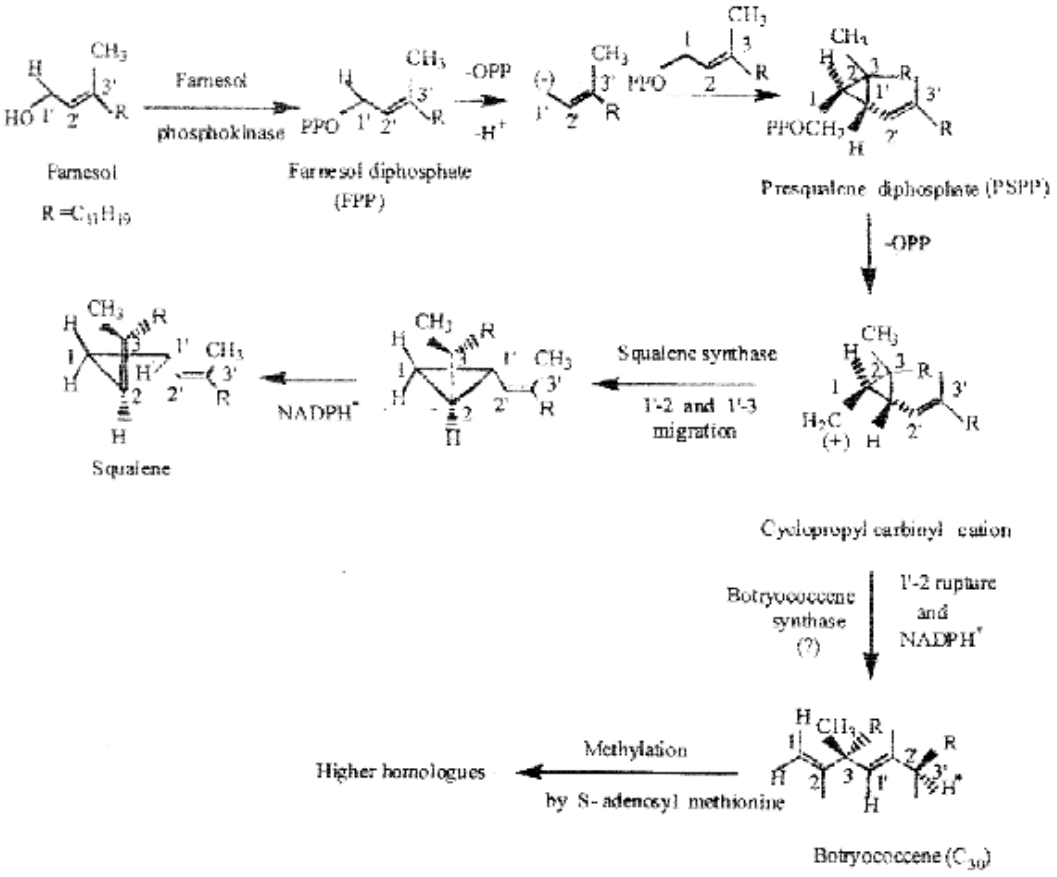
เมื่อเปรียบเทียบการสังเคราะห์โบไทรโอคอกคีนและสควาลีนแล้ว พบว่ามีความสัมพันธ์กับตำแหน่งของ C_{30} และ nicotinamide co-factor ซึ่งการจับกันของเอนไซม์กับ substrate ของการสังเคราะห์สควาลีนเหมือนกันกับการสังเคราะห์โบไทรโอคอกคีน (Huang, 1988 อ้างโดย Banerjee *et al*., 2002) ซึ่งแสดงว่าอาจมีการใช้เอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาที่มีโครงสร้างพื้นฐานร่วมกัน รวมทั้งที่สำคัญคือการจับกันของ substrate และความเป็นไปได้ขององค์ประกอบ เนื่องจากการสังเคราะห์โบไทรโอคอกคีนต้องมีการแตกพันธะที่ตำแหน่ง C(1')-C(2') ของพันธะ cyclopropane จึงอธิบายได้ว่าเกิดขึ้นระหว่างเซลล์มีการสะสมและสร้างสควาลีน โดยมีขั้นตอนในการเจริญ 2 ขั้นตอนคือ (Gu *et al*., 1998 อ้างโดย Banerjee *et al*., 2002)

ขั้นตอนที่ 1 เซลล์มีการรวมกลุ่มกันและสะสมสควาลีนเพื่อสร้างสเตอรอลและผนังเซลล์ และสร้างโพลีเมอร์ภายนอกเซลล์ ระยะนี้จึงมีการเหนี่ยวนำให้เซลล์มีการสร้างสควาลีน เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของเซลล์

ขั้นตอนที่ 2 เมื่อเซลล์เจริญถึงที่สุด ก็จะเปลี่ยนไปสร้างและสะสมโบไทรโอคอกคีนแทนสควาลีน

C_{30} โบไทรโอคอกคีนจะถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในการสร้างโบรไทรโอคอกคีนสายโซ่ยาวกว่า โดยเกิด monomethylations ในกรณีที่คาร์บอนอะตอม 3, 7, 16 และ 20 อะตอม ก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่ง 18 (สำหรับ 12), 22 (สำหรับ 15) และ 30 (สำหรับ 16) (Metzger *et al*., 1985) โดยมี S-adenosyl methionine เป็น methylating agent (Wolf *et al*., 1985b) โดยการเกิด methylation นั้นจะเกิดขึ้นได้น้อยหากมี substrate ที่จำเพาะเจาะจงอยู่น้อย ดังนั้นโครงสร้างไฮโดรคาร์บอนที่สาหร่ายผลิตได้จึงมีหลายรูปแบบดังแสดงในตารางที่ 3

Largeau และคณะ (1980) รายงานว่าจากการศึกษาการสะสมไฮโดรคาร์บอนของสาหร่าย *B. braunii* ด้วยกล้อง Spectroscopy และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนพบว่าไฮโดรคาร์บอนถูกสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึม 4% บริเวณผนังเซลล์ 95% และลอยอยู่ในอาหารที่เลี้ยง 2 % ของไฮโดรคาร์บอนที่สาหร่ายผลิตขึ้นทั้งหมด โดยไฮโดรคาร์บอนบริเวณผนังเซลล์สามารถสกัดได้ด้วยสารละลายเช่น เฮกเซน โดยใช้เวลาในการสกัดน้อย (short-contact extraction) ไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในไซโตพลาซึมและผนังเซลล์จะมีโครงสร้างเหมือนกัน แต่จะพบไฮโดรคาร์บอนสายโซ่ยาวบริเวณผนังเซลล์ได้มากกว่า โดย Metzger และคณะ (1987) รายงานว่าพบโบไทรโอคอกคีนสายโซ่ยาว (C_{34}, C_{36} เป็นต้น) ถูกสะสมอยู่บริเวณผนังเซลล์ ส่วนโบไทรโอคอกคีนสายโซ่สั้น (C_{30}, C_{31} เป็นต้น) ถูกสะสมอยู่ในไซโตพลาซึม



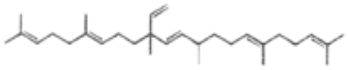
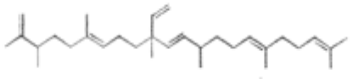
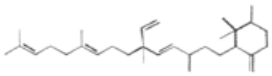
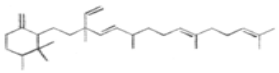
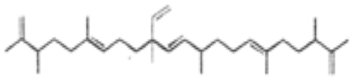
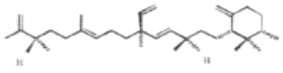
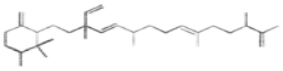
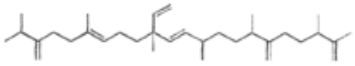
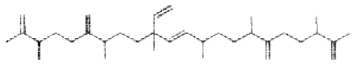
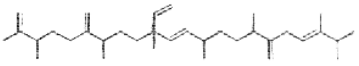
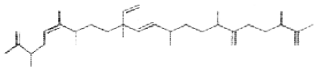
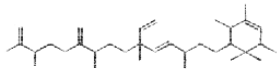
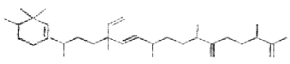
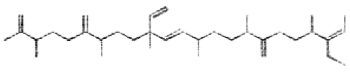
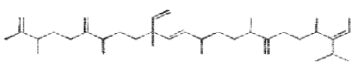
ภาพที่ 2 กลไกการสังเคราะห์โบไทรโอคอกคีนและสควาลีนโดยสาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ B

Figure 2 Mechanism of biosynthesis of botryococcenes and squalene by *B. braunii* race B

Source : Banerjee *et al.* (2002)

ตารางที่ 3 โครงสร้างไฮโดรคาร์บอนที่ผลิตโดยสาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ B

Table 3 The major characteristics of hydrocarbons production by *B. braunii* race B

Hydrocarbons		Structure
1.	$C_{30}H_{50}$	
2.	$C_{31}H_{52}$	
3.	$C_{31}H_{52}$ (Wolficine)	
4.	$C_{31}H_{52}$ (Isowolficine)	
5.	$C_{32}H_{54}$	
6.	$C_{32}H_{54}$ (Meijicoccene/Braunicene)	
7.	$C_{32}H_{54}$ (Isobraunicene)	
8.	$C_{33}H_{56}$	
9.	$C_{34}H_{58}$	
10.	$C_{34}H_{58}$ (Isobotryococcene)	
11.	$C_{34}H_{58}$	
12.	$C_{34}H_{58}$	
13.	$C_{34}H_{58}$	
14.	$C_{35}H_{60}$ (strain isolated from Darwin lake Australia)	Structure yet to be elucidated
15.	$C_{36}H_{62}$ (Darwinene)	
16.	$C_{37}H_{64}$	

Source : Banerjee *et al.* (2002)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการสะสมไฮโดรคาร์บอนของ *B. braunii*

1. **สารอาหาร**

1.1 แหล่งคาร์บอน

คาร์บอนเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย คาร์บอนที่พืชนำไปใช้ได้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ คาร์บอนอนินทรีย์ และคาร์บอนอินทรีย์ โดยสาหร่ายใช้คาร์บอนประเภท อนินทรีย์ในรูปของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งละลายได้ในน้ำ หรือในรูปของเกลือคาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต การที่คาร์บอนจะอยู่ในรูปใดนั้นขึ้นอยู่กับระดับของค่ากรด-เบส เช่นอยู่ในรูปเกลือไบคาร์บอเนตเมื่อค่ากรด-เบส มีค่าระหว่าง 7-9 อยู่ในรูปของเกลือคาร์บอเนตเมื่อค่ากรด-เบส มีค่าสูงกว่า 9.5 ขึ้นไป คาร์บอนจะอยู่ในรูปของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อน้ำมีสภาพเป็นกรดหรือค่ากรด-เบสมีค่าประมาณ 5 สาหร่ายจะใช้คาร์บอนประเภทอินทรีย์ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ซึ่งช่วยการเจริญเติบโต เช่นน้ำตาลชนิดต่างๆ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540) แต่การเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ไม่นิยมใช้คาร์บอนประเภทนี้

Wolf และคณะ (1985a) รายงานว่าสาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ B ต้องการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารสังเคราะห์ ให้อากาศบริสุทธิ์และอากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 0.3% พบว่าชุดที่ให้อากาศบริสุทธิ์สาหร่ายมีการเจริญเติบโตช้า มีค่าการเจริญเป็น 2 เท่าใน 6 วัน และสะสมโบไทรโอคอกคีนสายโซ่ยาว (C_{33}-C_{34}) ในขณะที่ชุดที่ให้อากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 0.3 % พบว่ามีการเจริญเติบโตเร็ว มีค่าการเจริญเป็น 2 เท่าใน 40 ชั่วโมง และสะสมโบไทรโอคอกคีนสายโซ่สั้น (C_{30}-C_{32}) เนื่องจากในชุดทดลองที่ให้อากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์นั้นจะเกิดขั้นตอน methylation ทำให้เกิด C_{30}, C_{31} และ C_{32} ได้เร็วกว่า C_{33} และ C_{34}

1.2 แหล่งไนโตรเจน

ไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการเติบโตของสาหร่าย เป็นตัวที่มีบทบาทเกี่ยวกับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย โดยมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ สาหร่ายมีปริมาณไนโตรเจนคิดเป็นร้อยละ 1-10 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ในสาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะมีการสร้างสารประกอบคาร์บอน เช่นน้ำมันหรือแป้งมาแทน (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540)

สาหร่ายสามารถใช้ไนโตรเจนได้ทั้งในรูปของอินทรีย์สารและอนินทรีย์สาร อีกทั้งยังใช้ไนโตรเจนในรูปแก๊สได้อีกด้วย ไนโตรเจนในรูปสารอนินทรีย์ได้แก่เกลือแอมโมเนีย (NH_4^+) ไนเทรต (NO_3^-) และไนไตรท์ (NO_2^-) แต่พบว่าอัตราการเติบโตสูงเมื่อใช้ในรูปไนเทรตหรือแอมโมเนีย นอกจากนี้ยังขึ้นกับชนิดของสาหร่ายด้วย โดยทั่วไปพบว่าสาหร่ายใช้แอมโมเนียหมดก่อนแล้วจึงใช้ไนเทรต สำหรับสาหร่ายบางชนิด สามารถใช้ไนไตรท์ได้แต่จะใช้ได้ในความเข้มข้นต่ำประมาณ 1 มิลลิโมล

ที่ความเข้มข้นสูงไนไตรท์มีผลยับยั้งการเติบโตของสาหร่าย ส่วนการใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าจะทำให้ค่ากรด-เบสของอาหารลดลง ก่อให้เกิดความเป็นพิษได้ สาหร่ายบางชนิดมีความไวสูงต่อความเข้มข้นของแอมโมเนีย โดยจะเกิดการยับยั้งการเติบโตที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลของแอมโมเนีย (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540)

ไนโตรเจนในรูปอินทรีย์สารที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้ได้ ได้แก่ เอไมด์ อมีน ยูเรีย และแอสพาราจีน เป็นต้น การใช้ยูเรียให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการใช้ไนเทรต และแอมโมเนีย ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของสาหร่าย ถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสง และปริมาณรงควัตถุหรือสารสี (pigments) ของเซลล์รวมทั้งทำให้กิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดลดลงด้วย (Richmond, 1986 และลัดดา วงศ์รัตน์, 2540)

Wolf และคณะ (1985a) ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ B ในอาหารสังเคราะห์โดยให้ไนโตรเจนในรูปโพแทสเซียมไนเทรต (KNO_3) เพิ่มปริมาณ 1 และ 3 เท่าของอาหารสังเคราะห์ และไม่ใส่โพแทสเซียมไนเทรตเลย พบว่าไนโตรเจนมีผลต่อการเจริญของ *B. braunii* โดยในอาหารชุดที่ไม่ใส่โพแทสเซียมไนเทรต พบว่าสาหร่ายหยุดการเจริญภายใน 9 วัน และชุดที่ใช้โพแทสเซียมไนเทรต 3 เท่า พบว่าสาหร่ายมีการเจริญสูงสุดโดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 3.7 กรัมต่อลิตร หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน

Vongprasert (1986) ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 และอาหารสังเคราะห์ Kratz and Myers โดยอาหารสังเคราะห์ Kratz and Myers มีปริมาณโพแทสเซียมไนเทรตมากกว่าอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ถึง 40 เท่า พบว่า สาหร่ายเจริญในอาหารสังเคราะห์ Kratz and Myers ได้เร็วกว่าโดยมีค่าการเจริญเป็น 2 เท่า เท่ากับ 0.65 วัน เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ส่วนในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 มีค่าการเจริญเป็น 2 เท่า เท่ากับ 1.75 วัน เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน

Lupi และคณะ (1994) ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* UC58 ในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ให้อากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 1% โดยใช้แหล่งไนโตรเจน 3 แหล่งคือ โพแทสเซียมไนเทรตความเข้มข้น 2 มิลลิโมล, ยูเรีย ($CO(NH_2)_2$) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลไนโตรเจน และแอมโมเนียมคาร์บอเนตความเข้มข้น ($(NH_4)_2CO_3$) 2 มิลลิโมลไนโตรเจน พบว่าสาหร่าย *B. braunii* UC58 ผลิต exopolysaccharide (EPS) ได้สูงสุดที่ 2.5 กรัมต่อลิตร หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน โดยให้แสงอย่างต่อเนื่องในอาหารที่มีโพแทสเซียมไนเทรต 2 มิลลิโมลเป็นองค์ประกอบ จากนั้นศึกษาต่อโดยทดลองให้โพแทสเซียมไนเทรต ที่ความเข้มข้นต่างๆกันคือ 0.5 มิลลิโมล, 2 มิลลิโมลและ 8 มิลลิโมลตามลำดับ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเทรต เท่ากับ 0.5 และ 2 มิลลิโมล พบว่าสาหร่ายเจริญสูงสุดในระยะเวลา 10 วัน แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิโมลจะผลิต EPS สูงกว่า

ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเทรต 8 มิลลิโมล พบว่าสาหร่ายเจริญสูงสุดในระยะเวลา 15 วัน และผลิต EPS สูงสุดเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 35 วัน ดังนั้นการเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* โดยให้โพแทสเซียมไนเทรต เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิโมล จึงเหมาะสมต่อการเจริญและผลิต EPS มากที่สุด

1.3 แหล่งฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเติบโต มีบทบาทต่อกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงาน และกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก รวมทั้งทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ช่วยให้ค่ากรด-เบสค่อนข้างคงที่ แม้ว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีปริมาณสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงกว่าฟอสฟอรัสอนินทรีย์ แต่สาหร่ายต้องการใช้ฟอสฟอรัสในรูปสารอนินทรีย์มากกว่า ฉะนั้นสารฟอสฟอรัสอินทรีย์จึงจัดว่าเป็นแหล่งเบื้องต้นของฟอสฟอรัสซึ่งจะแตกตัวเป็นสารอนินทรีย์ ได้แก่ ฟอสฟอรัส และออโธฟอสเฟต หรือฟอสเฟต โดยอาศัยเอนไซม์ที่เรียกว่าฟอสฟาเทสหรือฟอสโฟเอสทาเรสในปริมาณ 20 ไมโครกรัมต่อลิตร ทั้งนี้ปริมาณอาจสูงกว่าหรือต่ำกว่านี้ก็ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำ ระดับค่ากรด-เบส และปริมาณของธาตุอาหารชนิดอื่น ได้แก่ โซเดียม โปแตสเซียม หรือแมกนีเซียม ถ้าสาหร่ายขาดฟอสฟอรัสจะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโต คือปริมาณโปรตีน รงควัตถุชนิดคลอโรฟิลล์-เอ RNA และ DNA จะลดลง แต่แป้งหรือคาร์โบไฮเดรตกลับเพิ่มขึ้นซึ่งมีผลทำให้รูปร่างเซลล์เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540)

Casadevall และคณะ (1985) ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหาร Modified Chu 13 โดยให้อากาศผสมคาร์บอนไดออกไซด์ 1% โดยอาหารมีปริมาณฟอสเฟตต่างๆกันพบว่า ในช่วงแรกของการเจริญเติบโตปริมาณฟอสเฟตในอาหารลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากสาหร่ายเก็บไว้ในเซลล์ในรูป polyphosphate granules หลังจากนั้นสาหร่ายจะปล่อยฟอสเฟตออกมาอย่างต่อเนื่องมากกว่า 85% และจะหยุดปล่อยเมื่อสาหร่ายเติบโตเต็มที่ และเมื่อเพิ่มปริมาณฟอสเฟตเป็น 2 เท่า หรือลดปริมาณฟอสเฟตลง 10 เท่า พบว่า ค่าการเจริญเป็น 2 เท่าของสาหร่ายไม่เปลี่ยนแปลงโดยเท่ากับ 2.3 วัน แต่สาหร่ายจะผลิตไฮโดรคาร์บอนได้มากที่สุด 33% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเพิ่มปริมาณฟอสเฟตเป็น 2 เท่า แต่ในปีเดียวกัน Wolf และคณะ (1985a) รายงานว่าฟอสเฟตไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารสังเคราะห์ที่มีฟอสเฟตและไม่มีฟอสเฟตพบว่าในอาหารที่ไม่มีฟอสเฟต สาหร่ายยังมีการเจริญได้ดี

2. แสง

แสงเป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมจากภายนอก มีความสำคัญในการเลี้ยงสาหร่ายโดยเป็นปัจจัยที่ก่อให้เกิดการสังเคราะห์ด้วยแสง เมื่อความเข้มของแสงเพิ่มขึ้นการเติบโตของสาหร่ายจะ

เพิ่มสูงขึ้นด้วย โดยจะเพิ่มการสังเคราะห์ด้วยแสงและเร่งการทำงานของเซลล์ (Kosaric *et al*., 1974 อ้างโดย กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์, 2536) แต่ความเข้มแสงที่สูงเกินไปจะมีผลไปยับยั้งการหายใจของเซลล์ ส่วนการเกิดปรากฏการณ์การยังยั้งด้วยแสง (photoinhibition) ขึ้นกับสายพันธุ์ของสาหร่าย และช่วงระยะเวลาได้รับแสง สาหร่ายได้รับแสงที่ความเข้มสูงเป็นเวลานาน จะเกิดการยับยั้งการหายใจของเซลล์ (Richmond, 1986)

Lupi และคณะ (1994) ศึกษาผลของระยะเวลาการให้แสง โดยทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* UC58 ในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ให้แสงที่ความเข้มแสง 250 $\mu Em^{-2}s^{-1}$ โดยมีระยะเวลาให้แสงเท่ากับ 14 ชั่วโมงและให้แสงอย่างต่อเนื่อง พบว่าชุดที่ให้แสงอย่างต่อเนื่องสาหร่ายมีอัตราการเติบโตสูงกว่าชุดที่ให้แสงเป็นช่วง และยังผลิต EPS มากกว่า โดยเมื่อเลี้ยงสาหร่าย 20 วัน พบว่าสาหร่ายผลิต EPS เท่ากับ 5.3 กรัมต่อลิตร สำหรับชุดที่ให้แสงอย่างต่อเนื่อง ส่วนชุดที่ให้แสงเป็นช่วงมีค่าเท่ากับ3.4 กรัมต่อลิตร

Zhang และ Kojima (1998) ศึกษาผลของความเข้มแสงในขณะเตรียมเชื้อเริ่มต้นต่อขนาดโคโลนี โดยทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ระดับความเข้มแสง 3 และ 10 กิโลลักซ์ หลังจากนั้นทำการทดลองให้แสง 10 กิโลลักซ์ พบว่าในชุดที่ให้แสง 3 กิโลลักซ์ โคโลนีเริ่มต้นมีขนาดใหญ่และเล็กลงเมื่อเวลาผ่านไป ส่วนในชุดที่ให้แสงในเชื้อเริ่มต้น 10 กิโลลักซ์ โคโลนีเริ่มต้นมีขนาดเล็กและใหญ่ขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป

Kojima และ Zhang (1999) ศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการเจริญของสาหร่ายขณะเตรียมเชื้อเริ่มต้น โดยทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ B ในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ระดับความเข้มแสง 3 และ 10 กิโลลักซ์ หลังจากนั้นทำการทดลองให้แสง 10 กิโลลักซ์ โดยทำการบดบังแสงให้สาหร่ายได้รับแสง 5-100% ของพื้นที่รับแสงในหลอดทดลอง พบว่าชุดที่ให้แสง 10 กิโลลักซ์ และเมื่อทดลองให้สาหร่ายรับแสง 100% สาหร่ายมีการเจริญสูงสุด โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 7 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร และสาหร่ายผลิตไฮโดรคาร์บอนสูงถึง 50% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง

ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดไฮโดรคาร์บอน

Frenz และคณะ (1989) ศึกษาผลของชนิดสารละลายต่อการสกัดไฮโดรคาร์บอนโดยใช้สารละลายที่มีคุณสมบัติต่างๆกันเช่น n-hexane, n-heptane, n-octane, n-dodecane, dodecyl acetate, dihexyl ether, 1,12-dodecanedionic acid และ diethyl ether มาสกัดไฮโดรคาร์บอนจากเซลล์แห้งของสาหร่าย *B. braunii* สายพันธุ์ B พบว่า n-Hexane สามารถสกัดไฮโดรคาร์บอนได้มากถึง 70% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยสกัดพร้อมการกวนเป็นเวลา 30 นาที เนื่องจากโบไทรโอคอกคีนเป็นไฮโดรคาร์บอนที่ไม่มีขั้ว และเฮกเซนก็เป็นสารละลายที่ไม่มีขั้วและยังมีจุดเดือดต่ำ จึงสามารถสกัด

โบไทรโอคอกคีนได้ดี และยังสามารถแยกออกจากกันได้ง่าย นอกจากนั้นยังได้ศึกษาผลของน้ำที่หลงเหลืออยู่รอบๆเซลล์สาหร่ายต่อประสิทธิภาพการสกัดไฮโดรคาร์บอน พบว่าเมื่อสกัดไฮโดรคาร์บอนด้วยเฮกเซนเป็นเวลา 10 นาที โดยมีน้ำหลงเหลืออยู่ 1% สามารถสกัดไฮโดรคาร์บอนได้มากที่สุดเท่ากับ 32% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และเมื่อมีน้ำหลงเหลืออยู่มากขึ้นประสิทธิภาพในการสกัดก็ลดลง ดังนั้นน้ำจึงเป็นปัจจัยจำกัดในการสกัดไฮโดรคาร์บอน

การใช้สาหร่าย *B. braunii* ในการบำบัดน้ำทิ้ง

Sawayama และคณะ (1992) ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้วจากแหล่งต่างๆ 3 แหล่งคือ น้ำทิ้งจากบ้านเรือน 2 แหล่ง ซึ่งผ่านการบำบัดด้วยวิธีตะกอนเร่ง และน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนสามารถผลิตไฮโดรคาร์บอนได้สูง 53% (มีปริมาณไนเทรตในน้ำทิ้ง 7.67 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ 40% (มีปริมาณไนเทรตในน้ำทิ้ง 4.48 มิลลิกรัมต่อลิตร) ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ ส่วนน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมนั้น สาหร่ายไม่เติบโตเนื่องจากมีปริมาณไนเทรตในน้ำทิ้งเพียง 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 สาหร่ายสามารถผลิตไฮโดรคาร์บอนได้ 58% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และสาหร่ายยังสามารถใช้ไนเทรตและฟอสเฟตในน้ำทิ้งเพื่อการเจริญได้ดี จึงเป็นการลดปริมาณสารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งและยังสามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิตไฮโดรคาร์บอนในปริมาณมากได้อีกด้วย ต่อมาในปี 1994 Sawayama และคณะ ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* อย่างต่อเนื่อง (continuous culture) ในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนที่ผ่านการบำบัดแล้วด้วยวิธีตะกอนเร่ง พบว่าสามารถผลิตเซลล์สาหร่ายแห้งได้ 196 มิลลิกรัมต่อสัปดาห์ โดยมีปริมาณไฮโดรคาร์บอน 49% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยสาหร่ายสามารถลดปริมาณไนโตรเจนในน้ำทิ้งจาก 5.5 เหลือ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และลดปริมาณฟอสฟอรัสจาก 0.05 เหลือ 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตไฮโดรคาร์บอน

2. ศึกษาความเป็นไปได้เพื่อใช้สาหร่าย *B. braunii* ในการบำบัดน้ำทิ้ง