น้ำมันจุลินทรีย์วัตถุดิบใหม่เพื่อการผลิตไบโอดีเซล: ทางเลือกสำหรับพลังงานทดแทน
Microbial Oils as New Biodiesel Feedstock: Alternative for Renewable Energy

สาลินี ศรีวงษ์ชัย
Salinee Sriwongchai
คณะวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว
Faculty of Science and Social Sciences, Burapha University Sakaeo Campus

บทคัดย่อ

โลกกำลังเผชิญกับวิกฤตการณ์การลดลงของพลังงานเชื้อเพลิงฟอสซิล ราคาของพลังงานที่เพิ่มสูงและปัญหาสิ่งแวดล้อม การผลิตพลังงานที่สามารถหมุนเวียนได้ มีความยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเป็นที่ต้องการเพื่อจะนำมาใช้แทนพลังงานเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น เชื้อเพลิงปิโตรเลียมและอนุพันธ์ พลังงานทางเลือกอย่างไบโอดีเซลเป็นพลังงานที่สามารถแทนน้ำมันดีเซลได้และน่าสนใจตรงที่เป็นเชื้อเพลิงที่สามารถย่อยสลายได้ ไม่เป็นพิษและเป็นพลังงานหมุนเวียนที่สะอาด มีต้นกำเนิดจากน้ำมันพืชและไขมันสัตว์ที่ผ่านกระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชั่นของไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAGs) โดยทั่วไปน้ำมันพืชจะถูกใช้เพื่อการบริโภคของมนุษย์ ความต้องการของน้ำมันพืชเพื่อการบริโภคและการผลิตไบโอดีเซลที่เพิ่มขึ้นทำให้ราคาของน้ำพืชสูงขึ้นตามไปด้วยและทำให้การผลิตไบโอดีเซลมีต้นทุนสูงขึ้น ในทำนองเดียวกัน ถ้าต้องใช้ไขมันสัตว์ก็จะต้องให้อาหารเพื่อให้สัตว์สร้างไขมัน เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงความขัดแย้งระหว่างการผลิตเชื้อเพลิงและอาหาร แหล่งวัตถุดิบเพื่อการผลิตไบโอดีเซลทางเลือกจากแหล่งน้ำมันที่กินไม่ได้ เช่น จุลินทรีย์ไขมันสูง ได้แก่ ยีสต์ จุลสาหร่าย ราและแบคทีเรีย น่าจะเป็นทางเลือกที่เหมาะสมได้ เนื่องจากสามารถใช้แหล่งวัตถุดิบได้อย่างหลากหลายเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำมันและไขมันในเซลล์ โครงสร้างและองค์ประกอบของกรดไขมันมีความคล้ายคลึงกับน้ำมันพืช บทความนี้มุ่งเน้นที่จะทบทวนความแตกต่างของชนิดจุลินทรีย์ไขมันสูงในการสร้างน้ำมันและแนวทางในอนาคตสำหรับการใช้น้ำมันจากจุลินทรีย์เป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับการผลิตไบโอดีเซล

คำสำคัญ : จุลินทรีย์ไขมันสูง น้ำมันจุลินทรีย์ กรดไขมัน แหล่งวัตถุดิบสำหรับการผลิตไบโอดีเซล

Abstract

The world is confronting with the crisis of fossil fuel depletion, high energy prices, and environmental problems. Renewable, sustainable and ecologically friendly process to produce energy is required to replace fossil fuels such as petroleum-based fuels and derivatives. Alternative fuels as biodiesel fuel is an alternative to diesel and an attractive for its biodegradable, nontoxic and clean renewable characteristics, originating from vegetable oils and animal fats mainly by transesterification of triacylglycerols (TAGs). Generally, vegetable oils are used for human consumption, the increasing of vegetable oils demand is turning the cost vegetable oils to rise and biodiesel to become expensive, likewise, animal fat oils need to feed these animals. To avoid conflict between fuels and food, in such a situation, alternative biodiesel feedstock from non-edible oil sources as oleaginous microorganisms such as yeast, microalgae, mold and bacteria may be suitable alternatives, as they have the capacity to convert several raw materials into oils and fats and their structures and lipid compositions instead of vegetable oils. The paper is an attempt to review the different of oleaginous microorganisms producing oils and the prospects of such microbial oils used for biodiesel feedstock.

Keywords : Oleaginous microorganisms, microbial oils, fatty acid composition, biodiesel feedstock

Corresponding author. E-mail address : salinee@buu.ac.th

บทนำ

ปิโตรเลียม เป็นพลังงานเชื้อเพลิงฟอสซิลชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาของระบบเศรษฐกิจและการดำเนินชีวิตของมนุษย์ เป็นทรัพยากรที่ใช้แล้วหมดไป ไม่สามารถทดแทนได้ในระยะเวลาอันสั้น ปริมาณสำรองของพลังงานเชื้อเพลิงฟอสซิลในธรรมชาติมีอยู่อย่างจำกัดและกำลังลดลงอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่ความต้องการของประชากรโลกและราคาพลังงานเชื้อเพลิงฟอสซิลเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้มนุษยชาติกำลังเผชิญกับปัญหาการขาดแคลนพลังงาน นอกจากนี้ยังประสบกับปัญหาที่เกิดจากการใช้พลังงานเชื้อเพลิงฟอสซิล นั่นคือ ภาวะโลกร้อน (Global warming) ในช่วงเวลาหลายปีที่ผ่านมาพลังงานทดแทนถูกนำมากล่าวถึงเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะไบโอดีเซล เนื่องจากเป็นพลังงานทางเลือกที่สามารถใช้แทนพลังงานเชื้อเพลิงฟอสซิลอย่างน้ำมันดีเซลได้ เป็นพลังงานสะอาดที่ลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจกและเป็นพลังงานที่ย่อยสลายเองได้ตามกระบวนการทางชีวภาพ [1] ในปัจจุบันความต้องการในการใช้ไบโอดีเซลของโลกมีแน้วโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ ในหลายๆ ประเทศให้ความสำคัญในการผลิตไบโอดีเซลไม่เฉพาะเพียงแค่ผลิตขึ้นเพื่อใช้ทดแทนน้ำมันดีเซลเท่านั้น ยังมีการผลิตเพื่อเชิงพาณิชย์อีกด้วย เช่น กลุ่มยูโรโซน สหรัฐอเมริกา จีน บราซิล อาร์เจนตินา อินโดนิเซียและมาเลเซีย [1 - 2] จากการขยายตัวและการเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจของโลก ทำให้คาดการณ์ได้ว่าภายในระยะเวลาไม่เกิน 10 ปี ความต้องการในการใช้น้ำมันไบโอดีเซลจะเพิ่มสูงขึ้นเป็นเท่าตัว ซึ่งดูได้จากการอุปโภคน้ำมันไบโอดีเซลของประเทศเศรษฐกิจใหม่อย่างจีนและอินเดีย [3] ไบโอดีเซล ผลิตได้จากน้ำมันพืช เช่น น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันเรพซีดหรือน้ำมันจากไขมันสัตว์ หรือแม้แต่น้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์ที่ผ่านการใช้งานแล้ว [1] ถึงแม้ว่าไบโอดีเซลจะมีแหล่งวัตถุดิบเพื่อการผลิตที่หลากหลาย แต่ก็ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการบริโภคไบโอดีเซลของประชากรทั่วโลก การมองหาแหล่งวัตถุดิบใหม่เพื่อการผลิตไบโอดีเซลจึงเป็นเรื่องที่ท้าท้ายสำหรับนักวิจัยหลายๆ ประเทศ การนำน้ำมันจุลินทรีย์ (Microbial oils) มาผลิตไบโอดีเซลเป็นเรื่องหนึ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา

น้ำมันจุลินทรีย์ (microbial oils) หรือ น้ำมันเซลล์เดียว (single cell oils : SCO) คือ น้ำมันที่สร้างขึ้นจากจุลินทรีย์ไขมันสูง (oleaginous microorganisms) ได้แก่ ยีสต์ จุลสาหร่าย รา และแบคทีเรีย ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถสร้างและสะสมไขมันได้มากกว่า 20% ของน้ำหนักแห้ง สามารถเจริญได้ดีและเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ เป็นส่วนประกอบ เช่น กลูโคส น้ำมันพืช น้ำมันดิบ สบู่ สารประกอบไฮโดรคาร์บอน และกลีเซอรอล [4] หรือแม้แต่วัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรและของเสียที่เกิดจากอุตหกรรม เช่น เศษพืช กากน้ำตาลและกลีเซอรอลดิบ เป็นต้น [5 - 6] และด้วยเหตุผลที่ว่าน้ำมันจุลินทรีย์มีองค์ประกอบของกรดไขมันคล้ายคลึงกับน้ำมันพืช [7] ต้นทุนในการผลิตไบโอดีเซลต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันพืชหรือน้ำมันจากไขมันสัตว์ ใช้แรงงานคนและพื้นที่น้อยกว่าในการผลิต การผลิตไม่ขึ้นกับฤดูกาล ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวสั้น สามารถขยายกำลังการผลิตได้ง่ายและไม่มีผลกระทบหรือความขัดแย้งต่อการผลิตอาหารของมนุษย์และสัตว์ [8] นอกจากนี้ สิ่งที่เหลือจากการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันจุลินทรีย์ยังสามารถนำมาทำปุ๋ยเพื่อการเกษตรได้อีกด้วย [9] ดังนั้น น้ำมันจุลินทรีย์จึงน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบใหม่เพื่อการผลิตไบโอดีเซลได้ต่อไปในอนาคต

น้ำมันจากยีสต์ไขมันสูง (Oleaginous yeasts)

ยีสต์หลายสกุลสามารถสร้างและสะสมไขมัน (lipid) ได้มากกว่า 20% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งจัดให้อยู่ในกลุ่มยีสต์ที่เรียกว่า ยีสต์ไขมันสูง (oleaginous yeasts) เช่น *Cryptococcus Yarrowia Rhodotorula Rhodosporidium Lipomyces* และ *Trichosporon* [3] เป็นต้น ยีสต์บางชนิด เช่น *Rhodotorula sp. Rhodosporidium sp. Yarrowia lipolytica* และ *Cryptococcus curvatus* สร้างและสะสมไขมันได้สูงถึง 50% ของน้ำหนักแห้ง [10] เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนโตรเจนอยู่อย่างจำกัด ความสามารถของยีสต์ไขมันสูงในการสร้างและสะสมไขมันจะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์และ

แหล่งคาร์บอนที่เป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Table 1) นอกจากนี้ สภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงยีสต์ ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio) แหล่งไนโตรเจน อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง ปริมาณออกซิเจนและความเข้มข้นของแร่ธาตุที่พบน้อยแต่จำเป็น (trace element) และเกลือแร่ถือว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญสำหรับการสร้างและสะสมไขมันในเซลล์ยีสต์ [3, 11] ด้วยความสามารถของยีสต์ในการใช้แหล่งคาร์บอนที่หลากหลาย การลดต้นทุนในการผลิตไขมันจากยีสต์ไขมันสูงด้วยการใช้แหล่งคาร์บอนที่ไม่มีมูลค่า เช่น ของเสียจากภาคอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม จึงเป็นเรื่องที่เป็นไปได้สำหรับการพัฒนายีสต์ไขมันสูงต่อไป

Table 1. Different carbon sources used for oil production.

Yeasts	Carbon sources	Lipid content (% wt/wt)	References
Y. lipolytica	Glycerol	54.4	Salinee et al. [10]
R. toruloides	Glucose	57	Wu et al. [22]
C. curvatus	Waste spent yeast from brewery industry	37.7	Ryu et al. [9]
T. cutaneum	Corncob residues hydrolysate	32.1	Gao et al. [13]
R. graminis	Raw glycerol	34	Galafassi et al. [14]
L. starkeyi	Flour-rich waste streams	40.4	Tsakona et al. [15]

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันที่สกัดได้จากยีสต์ไขมันสูง พบกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ กรดไมสเตียริค (C14:0) กรดปาล์มิติก (C16:0) กรดปาล์มิโตเลอิค (C16:1) กรดสเตียริค (C18:0) กรดโอเลอิค (C18:1) กรดไลโนเลอิค (C18:2) และกรดไลโนเลนิค (C18:3) (Table 2) และน้ำมันยีสต์นี้สามารถนำมาผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมีหรือชีวภาพเป็นไบโอดีเซลได้ [16]

Table 2.. The fatty acid composition produced by different yeast. [3]

Yeasts	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1)	Linoleic acid (C18:2)	Linolenic acid (C18:3)
L. starkeyi	33.0	4.8	4.7	55.1	1.6	ND
R. toruloides	24.3	1.1	7.7	54.6	2.1	ND
C. albidus	16	1	3	56	ND	3
L. lipofera	37	4	7	48	3	ND.
R. glutinis	18	1	6	60	12	2
T. pullula	15	ND	10	57	7	ND
Y. lipolytica	11	6	1	28	51	1

ND. = Not detected

น้ำมันจากจุลสาหร่าย (microalgae)

จุลสาหร่ายนอกจากจะเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญต่อระบบนิเวศในแหล่งน้ำในแง่ของแหล่งอาหารแล้ว ยังเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถผลิตออกซิเจนให้กับสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำได้อีกด้วย มากไปกว่านั้นจุลสาหร่ายยังเป็นแหล่งสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ ได้แก่ วิตามิน เกลือแร่และน้ำมัน (oils) น้ำมันที่ได้จากจุลสาหร่ายอุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว (Polyunsaturated fatty acids; PUFs) ที่มีพันธะคู่ตั้งแต่ 4 พันธะขึ้นไปชนิดต่างๆ เช่น กรดแอลฟา-ไลโนเลนิก (α-linolenic acid; ALA) กรดอีพีเอ (eicosapentaenoic acid; EPA) และกรดดีเอชเอ (docasahexaenoic acid; DHA) ซึ่งเป็นกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า-สาม (ω-3 group) [17 - 18] ความสามารถของจุลสาหร่ายอีกอย่างหนึ่ง คือ สามารถสร้างและสะสมไขมันภายในเซลล์ได้อย่างรวดเร็วและมากกว่าพืชเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการเจริญ [19] โดยไขมันที่สร้างได้ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอล ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สามารถนำไปผลิตเป็นไบโอดีเซลได้โดยตรง [18]

จุลสาหร่ายที่สามารถสร้างและสะสมไขมันได้อาจแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามความสามารถในการสร้างอาหาร คือ จุลสาหร่ายที่สามารถสร้างอาหารเองได้หรือพวกออโตโทรป (autotrophic microalgae) โดยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนและใช้พลังงานแสงเพื่อการสร้างและสะสมไขมันภายในเซลล์ ได้แก่ *Chlorella vulgaris Botryococcus braunii Navicula pelliculosa Scenedesmus acutus Crypthecodinium cohnii Dunaliella primolecta Monallanthus salina Neochloris oleoabundans Phaeodactylum tricornutum* และ *Tetraselmis suecica* เป็นต้น และจุลสาหร่ายที่สามารถเปลี่ยนจากพวกออโตโทรปไปเป็นพวกเฮทเทอโรโทรป (heterotrophic microalgae) ซึ่งจะใช้สารสารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวของจุลสาหร่าย จะขึ้นอยู่กับสภาวะการเพาะเลี้ยงหรือการปรับปรุงทางพันธุกรรม เช่น Chlorella pototheco ides [1, 18] Miao และ Wu [20] รายงานว่ามวลชีวภาพและปริมาณน้ำมันที่ได้จากจุลสาหร่ายชนิดนี้จะมากกว่าจุลสาหร่ายพวกออโตโทรป ง่ายต่อการเพาะเลี้ยงและควบคุมการผลิต [3] ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากจุลสาหร่ายจะต่างกันไป ดังแสดงใน Table 3 สภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มแสง ความเป็นกรดด่าง ความเค็ม เกลือแร่และแหล่งไนโตรเจน มีผลต่อการสร้างและสะสมไขมันภายในเซลล์ของจุลสาหร่าย นักวิจัยหลายท่านรายงานว่า ในสภาวะที่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนต่ำหรือขาดแหล่งไนโตรเจน จุลสาหร่ายจะสร้างไขมันได้ดี [21] ส่วน Liu และคณะ [22] รายงานว่า ความเข้มข้นของ Fe^{3+} มีผลต่อการสะสมไขมันในเซลล์จุลสาหร่าย C. vulgaris

โดยส่วนใหญ่ กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันที่สกัดได้จุลสาหร่ายจะเป็นกรดปาล์มิติก กรดปาล์มิโตเลอิค กรดสเตียริค กรดโอเลอิค กรดไลโอเลอิค และกรดไลโนเลนิค (Table 4) กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักอาจแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะในการเพาะเลี้ยง เมื่อเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายในสภาวะตึงเครียดหรือสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ จุลสาหร่ายจะผลิตน้ำมันได้ในปริมาณมากกว่าในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ [23] น้ำมันที่สร้างขึ้นอยู่ในรูปของไขมันที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง (neutral lipid) ประมาณ 20-50% โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นไตรเอซิลกลีเซอรอล และเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ จุลสาหร่ายจะสร้างกรดไขมันที่มีสายคาร์บอนยาวแตกต่างกัน คือ คาร์บอนสายยาวปานกลาง (C10-C14) คาร์บอนสายยาว (C16-C18) และคาร์บอนสายยาวมาก (C > 20) รวมไปถึงอนุพันธ์ของกรดไขมัน [18]

ปัจจุบัน งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไบโอดีเซลจากจุลสาหร่ายได้รับการพัฒนาและต่อยอดไปอย่างต่อเนื่อง นักวิจัยหลายๆ ท่านได้ทำการศึกษาการเพิ่มจำนวนจุลสาหร่ายพวกออโตโทรป โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์และพลังงานแสงในการผลิตเพื่อลดต้นทุน ด้วยเทคนิคการเลี้ยงแบบระบบน้ำวน (Raceway pond) แต่ด้วยปัจจัยเรื่องการส่องสว่างของแสงในแต่ละวันและฤดูกาล จึงได้มีการพัฒนาเทคนิคการเลี้ยงในถังหมักแบบให้แสง (Photobioreactors) เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว และเป็นเทคนิคการเลี้ยงที่ประหยัดกว่า [24] นอกจากนี้ ยังมีการพัฒนาจุลสาหร่ายพวกเฮทเทอโรโทรป เพื่อให้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูกอย่างน้ำเสียจากชุมชนหรือน้ำเสียจากภาคเกษตรกรรมในการเพาะเลี้ยง เพื่อเป็นการบำบัดคุณภาพน้ำและลดต้นทุนในการผลิตเช่นกัน [26]

Table 3. Lipid accumulation by different microalgae. [17]

Microalgae	Lipid content (% wt/wt)
B. braunii	25-75
Chlorella sp.	28-32
C. cohnii	20
Cylindrotheca sp.	16-37
D. primolecta	23
Isochrysis sp.	25-33
M. salina	>20
Nannocloris sp.	20-35
Nannochloropsis sp.	31-68
N. oleoabundans	35-54
Nitzschia sp.	45-47
P. tricornutum	20-30
Schizochytrium sp.	50-77
T. suecica	15-23

Table 4. Fatty acid composition of microalgal strains [24]

Microalgal strains	Relative proportion of fatty acids (%, w/w)									
	C12:0	C14:0	C16:1	C16:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:0	C20:0	C22:0
Scenedesmus sp.	7.77	4.11	1.57	29.15	24.41	11.26	11.87	-	3.18	4.67
Chlorococcum sp.	17.22	22.12	3.39	20.78	8.12	5.2	5.55	3.91	-	-
Chlororella sp.	1.81	12	3.2	36.22	13.25	19.19	14.3	-	-	-
Ankistrodesmus sp.	-	2.68	3.55	46.3	6.76	12.38	24.39	3.37	-	-
Dictysphaerium sp.	-	1.37	1.84	27.82	64.08	Traces	Traces	4.47	-	-
Coelastrum asteroidum	-	0.97	2.6	31.81	47.92	2.06	11.61	5.5	-	-
Oocystis pusilla	1.37	1.79	2.57	39.93	25.0	Traces	23.21	3.81	-	-
Selenastrum gracile	5.58	3.16	Traces	26.58	39.59	4.27	17.11	-	0.56	0.37

Trace = Fatty acids detected less than 0.5% mass fraction of Total FAMEs are considered as traces.

น้ำมันจากเชื้อรา (Oleaginous fungi)

เชื้อราสามารถสร้างและสะสมไขมันภายในเซลล์เช่นเดียวกับยีสต์และจุลสาหร่ายแต่จะแตกต่างกันไปในแต่ละชนิด สายพันธุ์ สภาวะการเพาะเลี้ยงและแหล่งคาร์บอน [27] (Table 5) บางสายพันธุ์เป็นเชื้อราไขมันสูง (oleaginous fungi) สามารถสร้างและสะสมไขมันภายในเซลล์ได้มากกว่า 25% โดยน้ำหนักแห้ง เช่น Trichosporon sp. Aspergillus sp. Mortierrela sp. Mucor sp. Zygorhynchus sp. Zygomycetes sp. เป็นต้น ส่วนใหญ่น้ำมันที่สกัดได้จากเชื้อราจะถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ โดยเฉพาะอุตสาหกรรมอาหารและยา เนื่องจากมีกรดไขมันที่เป็นประโยชน์หลากหลาย เช่น กรดดีเอชเอ กรดจีเอลเอ (γ-linolenic acid; GLA) กรดอีพีเอและกรดอะราคิโดนิกหรือกรดเออาร์เอ (arachidonic acid; ARA) [1] นอกจากนี้ ยังพบกรดไขมันที่มีคาร์บอนสายยาว (C14 – C18) ที่สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตไบโอดีเซลได้อีกด้วย เช่น Aspergillus oryzae ให้น้ำมันที่มีกรดไขมันหลัก ได้แก่ กรดไมสเตียริค (4.0%) กรดปาล์มิติค (11.6%) กรดปาล์มิโตลิค (15.6%) กรดสเตียริค (19.3%) กรดโอเลอิค (30.3%) กรดไลโนเลอิค (6.5%) และกรดไลโนเลนิค (5.5%) การเพาะเลี้ยงเชื้อราไขมันสูงที่สภาวะต่างกันจะทำให้สัดส่วนของกรดไขมันสายยาวเปลี่ยนแปลงได้ [28] (Table 6) แต่การเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ไม่มีผลต่อการนำน้ำมันจากเชื้อราไขมันสูงไปผลิตเป็นไบโอดีเซล เนื่องจากข้อบังคับของยุโรปในเรื่องของการผลิตไบโอดีเซลจากจุลินทรีย์ กล่าวว่า น้ำมันที่สกัดได้จากจุลินทรีย์จะต้องมีค่าของกรดไลโนเลนิคเท่ากับ 5% แต่ไม่เกิน 12% [29]

Table 5. Oil accumulation produced by different fungal strains.

Strains	Carbon sources	Biomass (g/L)	Lipid yield (g/L)	References
A. tubingensis	Lignocelluloses palm byproducts	37.5 mg/gds	31.1 mg/g	Kitchaa & Cheirsilpa [30]
M. isabellina	Glucose	27.0	14.0	Fakas et al. [31]
M. isabellina	Glucose	22.9	10.2	Ruan et al. [32]
Mucor sp. RRL001	Tapioca starch	28.0	5.0	Ahmed et al. [33]
Collectricum sp. (DM06)	Glucose	18.4	7.8	Dey et al.[34]
Alternaria sp. (DM09)	Glucose	15.2	8.6	Dey et al. [34]
A. oryzae	Potato processing wastewater	N.A.	3.5	Muniraj et al. [29]

N.A. = Not available

Table 6. The fatty acid composition of lipid produced (%, wt/wt of total lipid) during growth of fungal strains on raw glycerol utilized as substrate at several time incubation. [28]

Strains	Time (h)	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
Mucor sp. LGAM 365	39	31.0	3.7	14.7	28.6	11.2	3.4
	124	25.1	2.8	6.5	26.2	22.7	11.3
	147	25.6	2.8	5.6	23.2	24.0	14.6
	290	26.0	2.1	5.5	31.5	21.9	9.0
Cunninghamella echinulata ATHUM 4411	64	20.6	2.6	9.1	34.5	20.1	9.9
	158	20.3	2.2	4.9	44.5	17.4	8.7
	256	20.5	3.1	4.7	49.8	12.5	6.8
T. elegans CCF 1465	54	23.9	2.4	14.7	42.2	11.3	3.4
	154	19.5	1.2	12.6	47.3	12.7	5.0
	247	19.2	1.3	11.7	50.4	11.8	3.9
	312	19.7	1.4	9.6	52.9	11.3	3.6
M. ramanniana MUCL 9235	31	23.8	3.8	6.2	44.4	15.0	3.0
	103	25.4	1.4	5.9	46.8	12.1	3.8
	199	25.9	1.5	5.5	45.9	13.0	4.3
	240	25.6	2.0	4.3	43.0	16.3	6.1
M. isabellina MCUL15102	24	30.7	2.7	19.1	31.5	3.5	6.5
	134	21.0	3.4	6.1	45.6	14.7	4.4
	182	20.7	3.4	6.0	44.9	14.5	4.4
Z. moelleri MUCL 1430	50	17.8	1.4	6.4	20.3	47.0	1.3
	150	17.0	1.8	5.9	23.5	43.5	3.7
	192	15.1	1.4	5.5	21.9	47.5	3.7

น้ำมันจากแบคทีเรียไขมันสูง (Oleaginous bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีทบางชนิด สามารถสร้างและสะสมไขมันภายในเซลล์ได้มากกว่า 20% ของน้ำหนักแห้ง เช่น Streptomyces Norcardia Rhodococcus Mycobacterium และ Dietzia หรือ Gornadia ซึ่งไขมันที่สะสมจะอยู่ในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอล เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีแหล่งไนโตรเจนต่ำ [35] ปริมาณไตรเอซิลกลีเซอรอลของแบคทีเรียไขมันสูงแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียไขมันสูงและแหล่งคาร์บอนที่ประกอบอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Table 7) Gouda และคณะ [36] พบว่า Gordonia sp. สะสมไขมันภายในเซลล์ได้สูงถึง 80% ของน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ Streptomyces สะสมน้ำมันได้สูงมากกว่า 60% ของน้ำหนักเซลล์ [35] Rhodococcus opacus PD630 เป็นแบคทีเรียต้นแบบในการศึกษาการสะสมไขมันภายในเซลล์ โดยสามารถสะสมไขมันได้สูงถึง 93% ของน้ำหนักแห้ง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งไขมันส่วนใหญ่อยู่ในรูปไตรเอซิลกลีเซอรอล (ประมาณ 50% โดยน้ำหนักแห้ง) กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันที่สกัดได้จาก R. opacus PD630 แสดงในTable 8 ส่วน R. opacus DSM 1069 สะสมน้ำมันภายในเซลล์ประมาณ 27% ของน้ำหนักแห้ง โดยมีกรดโอเลอิค (30%) กรดปาล์มิติก (20%) และกรดสเตียริค (17%) เป็นกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลัก [37] Rhodococcus erythropolis IGTS8 สะสมน้ำมันภายในเซลล์ 45.8% ของน้ำหนักแห้ง พบกรดไมสเตียริค กรดปาล์มิติค กรดปาล์มิโตเลติกและกรดโอเลอิค เป็นองค์ประกอบหลักของกรดไขมัน [38] เมื่อพิจารณากรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันที่สกัดได้จากแบคทีเรียไขมันสูงมีความคล้ายคลึงกับกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันคาโนลา [39] น้ำมันปาล์มหรือน้ำมันเมล็ดทานตะวัน [40] ซึ่งพืชเหล่านี้เป็นวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล

Table 7. Occurrence of TAGs in bacteria. [35]

Bacterium	Carbon sources	TAG-content
Dietzer maris	Acetate, hexadecane	19.2% (cdw)[a]
Gordonia amarae	Glucose, hexadecane	6.1% (cdw)[a]
Mycobacterium avian	Palmitic acid	5.0% (cdw)[b]
Norcardia asteroides	Gluconate, pentadecane, hexadecane	12.2%(cdw)[a]
Rhodococcus erythrolis	Gluconate, pentadecane, hexadecane, valrarate	21.0%(cdw)[a]
Rhodococcus sp. strain 20	Gluconate, hexadecane	8.1%(cdw)[a]
Rhodococcus opacus	Gluconate, fructose, acetate, citrate, succinate, propionate, valerate, phenylactate, olive oil, phenyldecane n-alkane	87%(cdw)[a]
Streptococcus lividans	Nutrient medium	125mg/l medium
Acenetobacter sp. strain 211	Acetate, ethanol, olive oil, hexadecane, heptadecane	25%(cdw)[a]
Pseudomonas aeruuginosa	Glucose, n-alkane, olive oil	38%(cdw)[a]

a = Total amounts of cellular fatty acids

b = Total amounts of TAGs

Table 8. The fatty acid composition of oils from plant, animal yeast and bacterial sources. [35]

Sources	Relative proportion of fatty acids (%, wt/wt)											
	C12:0	C13:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1	C18:2
Bovine tallow	-	-	3	0.5	-	26	3.5	-	-	19.5	40	4.5
Cocoa butter	-	-	-	-	-	25	-	-	-	37	34	3
Illipe butter	-	-	-	-	-	28	-	-	-	14	49	9
Maize seeds	-	-	-	-	-	10.5	0.5	-	-	2.5	32.5	52
Palm oil	-	-	-	-	-	44	-	-	-	5	39	11
R. glutinis	-	-	-	-	-	37	1	-	-	3	47	8
L. starkeyi	-	-	-	-	-	34	6	-	-	5	51	3
R. opacus PD630 Substrate:gluconate	0.8	-	4.3	-	6.3	25.7	9.5	12.3	15.4	3.5	22.0	-
R. opacus PD630 Substrate:octadecane	-	-	4.7	-	-	41.7	1.4	-	-	14.3	37.9	-
R. opacus PD630 Substrate:olive oil	-	-	0.7	-	-	16.8	5.9	-	-	2.8	73.8	-
R. opacus PD630 Substrate:gluconate	0.8	-	7.1	-	1.6	47.1	17.8	-	-	18.8	6.4	-

แนวทางการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันจุลินทรีย์ในอนาคต

จุลินทรีย์ไขมันสูงหลายชนิดมีศักยภาพในการสร้างและสะสมไขมันภายในเซลล์ได้สูง เช่น ยีสต์ R. toruloides หรือ แบคทีเรีย R. opacus PD630 น่าที่จะเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลอย่างยั่งยืนต่อไปได้ในอนาคต ด้วยน้ำมันที่สกัดได้จากจุลินทรีย์ไขมันสูงมีองค์ประกอบกรดไขมันหลักและคุณสมบัติทางกายภาพเคมีบางประการคล้ายคลึงกับน้ำมันพืช เช่น น้ำมันปาล์ม ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลแล้ว ยังสามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลากหลายรวมไปถึงวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อยกว่า อัตราการเจริญสูงและสามารถหมุนเวียนกลับมาเลี้ยงใหม่ได้ หลายงานวิจัยมีการมุ่งเน้นการศึกษาอย่างต่อเนื่องเกี่ยวกับการคัดแยก การคัดเลือก การหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม การนำเอาวัสดุเหลือทิ้งจากภาคการเกษตรหรือของเสียจากภาคอุตสาหกรรมมาใช้เป็นวัสดุเพาะเลี้ยงหรือการปรับปรุงสูตรอาหารเพาะเลี้ยง เพื่อเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ไขมันสูงทั้งที่เป็นพวกออโตโทรปและเฮทเทอโรโทรป การเก็บเกี่ยวเซลล์และการสกัดน้ำมันจากเซลล์ของจุลินทรีย์ไขมันสูง ทั้งนี้ก็เพื่อลดต้นทุนการผลิต นอกจากนี้ยังมีการศึกษาและวิจัยในด้านการปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ไขมันสูงด้วยกระบวนการทางพันธุวิศวกรรมซึ่งเป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่ทำให้จุลินทรีย์ไขมันสูงสามารถสร้างและสะสมไขมันในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอลได้เพิ่มมากขึ้นและง่ายต่อการนำไปผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันให้ได้เป็นไบโอดีเซล แต่ยังเป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ การพัฒนาเพื่อการขยายหรือการเพิ่มขนาดการผลิตเป็นสิ่งที่ท้าท้ายและนักวิจัยหลายท่านกำลังให้ความสำคัญ เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันจากจุลินทรีย์ไขมันสูงเพิ่มขึ้นอันจะเป็นแนวทางในการผลิตน้ำมันจากจุลินทรีย์ไขมันสูงในระดับอุตสาหกรรมได้อย่างคุ้มทุนทางเศรษฐกิจ และเพื่อให้ได้น้ำมันซึ่งจะสามารถใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อการผลิตไบโอดีเซลต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Li, Q., Du, W. and Liu, D. 2008. Perspectives of microbial oils for biodiesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 80: 749–756.
2. Yusuf, N. N. A. N., Kamarudin, S. K. and Yaakub, Z. 2011. Overview on the current trends in biodiesel production. *Energy Conversion and Management*. 52: 2741-2751.
3. อรัญญา ศรีวิโรจน์ และจิดาภา ช่วยพันธุ์ มีนาคม 2556 สถานการณ์น้ำมันปาล์มภายใต้ความไม่แน่นอนของโลก ธนาคารแห่งประเทศไทย สำนักงานภาคใต้. http://www.bot.or.th/Thai/EconomicConditions/Thai/ South/EconomicPapers/ReasearchPaper/PalmOilNavigatingThroughGlobalUncertainties.pdf. เข้าถึงวันที่ 2 มิถุนายน 2557.
4. Easterling, E. R., Todd, F. W., Hernandez, R. and Licha, M. 2009. The effect of glycerol as a sole and secondary substrate on the growth and fatty acid composition of *Rhodotorula glutinis*. *Bioresource Technology*. 100: 356–361.
5. Papanikolaoua, S., Fakasb, S., Ficka, M., Chevalota, I., Galiotou-Panayotoub, M., Komaitisb, M., Marca, I. and Aggelis, G. 2008. Biotechnological valorisation of raw glycerol discharged after bio-diesel (fatty acid methyl esters) manufacturing process: Production of 1,3-propanediol, citric acid and single cell oil. *Biomass and Bioenergy*. 32: 60-71.
6. Papanikolaou, S., Chatzifragkou, A., Fakas, S., Galiotou-Panayotou, M., Komaitis, M., Nicaud, J. and Aggelis, G. 2009. Biosynthesis of lipids and organic acids by *Yarrowia lipolytica* strains cultivated on glucose. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 111: 1-12.
7. Papanikolaou S. and Aggelis G. 2011. Lipid of oleaginous yeast part II: Technology and potential applications. *European Journal Lipid Science Tech*nology. 113: 1052-1073.
8. Zhu, L. Y., M. H. Zong and Wu, H. 2008. Efficient lipid production with *Trichosporon fermentans*and its use for biodiesel preparation. *Bioresource Technology*. 99: 7881–7885.
9. Ryu, B. G., Kim, J., Kim, K., Choi, Y. E., Han J. I. and Yang J. W. 2013. High cell density cultivation of oleaginous yeast *Cryptococcus curvatus* for biodiesel production using organic waste from the brewery industry. *Bioresource Technology*. 135: 357-364.
10. Sriwongchai, S., Pokethitiyook, P., Kruatrachue, M., Bajwa, P. K. and Lee, H. 2013. Screening of selected oleaginous yeasts for lipid production from glycerol and some factors which affect lipid production by *Yarrowia lipolytica* strains. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Science*. 2: 2344-2348.
11. El-Fadaly, H. A., El-Naggar, N. El-Ahmady and Marwan, El-Sayed M. 2009. Oleaginous yeast strains in a low cost cultivation medium. *Research Journal of Microbiology*. 4: 301-313.
12. Liang, X. A., Dong, W. B., Miao, X. J. and Dai, C. J. 2006. Production technology and influencing factors of microorganism grease. *Food Research and Dev*elopment *Journal*. 27: 46–47.
13. Gao, Q. Cui, Z., Zhang, J. and Bao, J. 2014. Lipid fermentation of corncob residues hydrolysate by oleaginous yeast *Trichosporon cutaneum*. *Bioresource Technology*. 152: 552-556.
14. Galafassi, S., Cucchetti, D., Pizza, F., Franzosi, G., Bianchi, D. and Campagno, C. 2012. Lipid production for the second generation biodiesel by the oleaginous yeast *Rhodotorula graminis*. *Bioresource Technology*. 111: 398-403.

15. Tsakona, S., Kopasahelis, N., Chatzifragkou, A., Papanikolaou, S., Kookos, I, K. and Koutinas, A. A, 2014. Formulation of fermentation media from flour-rich waste stream for microbial lipid production by *Lipomyces starkryi*. *Journal of Biotechnology*. 189: 36-45.
16. Liu, B. and Zhao, Z. 2007. Biodesel production by direct methanolysis of oleaginous microbial biomass. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 82: 775-780.
17. Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25: 294-306.
18. Khan, S. A., Rhashmi, Hussain, M. Z., Prasad, S. and Benerjee, U. C. 2009. Prospects of biodiesel production from microalgae in India. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 13: 2361-2372.
19. Rawat, I., Kumar, R. R., Mutanda, T. and Bux, F. 2013. Biodiesel from microalgae; A critical evaluation from laboratory to large scale production. *Applied Energy*. 103: 444-467.
20. Miao, X. and Wu, Q. 2006. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresource Technology*. 97: 841-846.
21. Solovchenko, A. E., Khozin-Goldberg, I., Didi-Cohen, S., Cohen, Z. and Merzlyak, M. N. 2008. Effect of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga *Parietochloris incise*. *Journal of Applied. Phycology*. 20: 245-251.
22. Liu, Z. Y., Wang, G. C. and Zhou, B. C. 2008. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*. 99: 4717-4722.
23. Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M. and Darzins A. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *The Plant Journal*. 54: 621-663.
24. Vidyadhankar, S., Venugopal, K. S.,Swarnalatha, G. V., Kavitha, M. D., Chauhan, V. S., Ravi, R., Bansal, A. K., Singh, R., Pande, A., Ravishankar, G. A. and Sarada R. 2015. Characterization of fatty acids and hydrocarbons of chlorophycean microalgae towards their use as biofuel source. *Biomass and Bioenergy*. 77: 75-91.
25. Peer, M., Skye, R., Thomas, H., Evan, S., Ute, C. and Jan, H. 2008. Second generation biofuel: high efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenergy Research* 1: 20-43.
26. Zhu, L., Wang, Z., Shu, Q., Takala, J., Hiltunen, E., Feng, P. and Yuan, Z. 2013. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water Research*. 47: 4294-4302.
27. Subramaniam, R., Dufreche, S., Zappi, M. and Bajpal, R. 2010. Microbial lipid from renewable sources: production and characterization. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 37: 1271-1281.
28. Chatzifragkou, A., Makri, A., Belka, A., Bellou, S., Mavrou, M., Mastoridou, M., Mystrioti, P., Onjaro, G., Aggelis, G. and Papanikolaou, S. 2011. Biotechnological conversions of biodiesel derived waste glycerol by yeast and fungal species. *Energy*. 36: 1097-1108.
29. Muniraj, I. K., Xiao, L., Hu, Z., Zhan, X. and Shi, J. 2013. Microbial lipid production from potato processing wastewater using oleaginous filamentous fungi *Aspergillus oryzae*. *Water Research*. 47: 3477-3483.
30. Kitchaa, S. and Cheirsilpa, B. 2014. Bioconversion of lignocellulosic palm byproducts into enzymes and lipid by newly isolated oleaginous fungi. *Biochemical Engineering Journal*. 88: 95-100.

31. Fakas, S., Papanikolaou, S., Batsos, A., Galiotou-Panayotou, M., Mollouchos, A. and Aggelis, G. 2009. Evaluating renewable carbon sources as substrates for single cell oil production by *Cunninghamella echinulata* and *Mortierella isabellina*. *Biomass and Bioenergy*. 33: 573-580.
32. Ruan, Z., Zanotti, M., Wang, X., Ducey, C. and Liu, Y. 2012. Evaluation of lipid accumulation from lignocellulosic sugars by *Mortierella isabellina* for biodiesel production. *Bioresource Technology*. 110: 298-205.
33. Ahmed, S. U., Singh, S. K., Pandey, A., Kanjilal, S. and Prasad, R. B. N. 2006. Effects of various process parameters on the production of gamma-linolenic acid in submerged fermentation. *Food Technology and Biotechnology*. 44: 283-287
34. Dey, P., Banerjee, J. and Maiti, M. K. 2011. Comparative lipid profiling of two endophytic fungal isolates-*Collectotrichum* sp. and *Alternaria* sp. having potential utilities as biodiesel feedstocks. *Bioresource Techonology*. 102: 5815-5823.
35. Alvarez, H. M. and Steinbüchel, A. 2002. Triacylglycerols in prokaryotic microorganisms. *Applied Environmental Microbiology*. 60: 367–376.
36. Gouda, M. K., Omar, S. H. and Aouad, L. M. 2008. Single cell oil production by *Gordonia* sp. DG using agro-industrial wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 24: 1703–1711.
37. Well, Jr. T., Wei, Z. and Ragauskas, A. 2014. Bioconversion of lignocellulosic pretreatment effluent via oleaginous *Rhodococcus opacus* DSM 1069. *Biomass and Bioenergy*. 1-6.
38. Sriwongchai, S., Pokethitiyook, P., Pugkaew, W., Kruatrachue, M. and Lee, H. 2012. Optimization of lipid production in the oleaginous bacterium *Rhodococcus erythropolis* growing on glycerol as the sole carbon source. *African Journal of Biotechnology*. 11: 14440-14447.
39. Abou El-Hawa, S. H., Ragab, W. S., El-Dengawy, R. A. and Ali, F. F. 2004. Composition of Canola seed oil. *Yemeni Journal of Science*. 6: 25-35.
40. Moser, B. R. 2008. Influence of blending canola, palm, soybean and sunflower oil methyl esters on fuel properties of biodiesel. *Energy and Fuels*. 22: 4301-4306.