

การคัดเลือกราทะเลจากแนวปะการังที่มีการสะสมไขมัน เพื่อพัฒนาศักยภาพนำไปผลิตไบโอดีเซล[†]

กนกกร หลงมัจฉา¹, วรวิทย์ ไชยแสง^{1,2}, กลั่นผกา ภูถาวร¹, มาฆมาส สุทธาชีพ³, ธรรมศักดิ์ ยี่มิน³ และ จำเริญ บัวเรือง^{1,*}

¹หน่วยวิจัยจุลชีพในสิ่งแวดล้อมทางทะเล สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร 10240

²ภาควิชาเคมี และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร 10240

³กลุ่มวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพในทะเล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง แขวงหัวหมาก เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร 10240

*อีเมล: jbuaruang@gmail.com

บทคัดย่อ

การใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลเป็นแหล่งพลังงานหลักในหลายประเทศรวมถึงประเทศไทยก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในเชิงลบ ไบโอดีเซลเป็นทางเลือกหนึ่งที่เข้ามาแก้ปัญหาดังกล่าวได้ แต่ไบโอดีเซลจากพืชเป็นวัตถุดิบที่สามารถนำไปประกอบอาหารได้ จึงส่งผลให้ราคาน้ำมันพืชแพงขึ้น ราทะเลจึงเป็นวัตถุดิบทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำไปผลิตไบโอดีเซลได้ เนื่องจากสามารถสังเคราะห์และสะสมกรดไขมันไว้ในรูปแบบของไตรกลีเซอไรด์ได้ซึ่งมีลักษณะคล้ายน้ำมันพืช อย่างไรก็ตามราทะเลไม่สามารถสะสมไขมันได้ทุกชนิด ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกราทะเลชนิดที่มีศักยภาพในการสะสมไขมันที่แยกได้จากตัวอย่างสิ่งมีชีวิตในแนวปะการัง โดยการเก็บตัวอย่างสิ่งมีชีวิตด้วยการดำน้ำแบบ SCUBA และนำตัวอย่างมาแยกเชื้อราในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Tissue Transplanting จำแนกชนิดของราทะเลด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากนั้นคัดเลือกราทะเลที่การสะสมไขมันด้วยวิธีการคัดเลือกเชิงคุณภาพโดยใช้สีย้อม Sudan Black B หากเซลล์ไขมันในเส้นใยราทะเลติดสีย้อมจะมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลออกดำ และวิธีการคัดเลือกเชิงปริมาณด้วยการสกัดไขมันจากราทะเล โดยใช้คลอโรฟอร์มและเมทานอลในอัตราส่วน 2:1 ปริมาตรต่อปริมาตร ผลการแยกราทะเลจากตัวอย่างสิ่งมีชีวิตทั้งหมด 14 ตัวอย่าง แบ่งเป็นฟองน้ำ 10 ตัวอย่าง และสาหร่าย 4 ตัวอย่าง ซึ่งแยกราทะเลได้ทั้งหมด 48 สายพันธุ์ โดยพบจำนวนสายพันธุ์ราทะเลจากฟองน้ำ *Haliclona* sp. สูงที่สุด 9 สายพันธุ์ และจากการจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถแบ่งราทะเลได้ 8 สกุล คือ *Alternaria* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Syncephalastrum racemosum*, *Trichoderma* spp. และกลุ่ม Sterile mycelium โดยพบ *Aspergillus* spp. เป็นราทะเลสกุลเด่น จากการคัดเลือกราทะเลสะสมไขมันด้วยวิธีเชิงคุณภาพพบราทะเล 34 สายพันธุ์ แสดงให้เห็นการติดสีของเซลล์ไขมันภายในเส้นใยราทะเล และจากการคัดเลือกด้วยวิธีเชิงปริมาณพบราทะเล *Aspergillus* sp.5-5 ที่แยกได้จากฟองน้ำ *Haliclona* sp. มีปริมาณไขมันทั้งหมดต่อน้ำหนักชีวมวลแห้งของราทะเลสูงที่สุดคือ 20.90 ± 1.71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าเป็นเชื้อราไขมันสูง (Oleaginous Fungi) ที่มีศักยภาพในการนำไปพัฒนาต่อยอด เพื่อผลิตเป็นเชื้อเพลิงไบโอดีเซลที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

คำสำคัญ: แนวปะการัง, ราทะเล, เชื้อราไขมันสูง, ไบโอดีเซล

Abstract

Nowadays, fossil fuels are used as a primary source of energy in many countries, including Thailand, which occurs of negative impact on the environment. Therefore, biodiesel is considered one of the alternatives for solving the problem. But biodiesel is derived from plants and can be used for food products as result vegetable oils have a rising price. Marine fungi are an alternative feedstock that is applied to produce biodiesel due to synthesized and stored fatty acids in the form of triglycerides, which are similar to vegetable oils. However, marine fungi do not have the potential to accumulate fatty acids in every species. The aim of this research was select marine fungi with the potential to accumulate lipids isolated from marine organisms in the coral reef. Marine organism samples were taken by SCUBA diving, separated marine fungi in the laboratory using the tissue transplanting method, and identified species of marine fungi by morphological characteristics. Screened lipid accumulation was a qualitative selection method using Sudan Black B dye, detect lipid within cells to show blue or grayish-colored, and a quantitative selection method by extracted lipids from marine fungi

[†]การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลงาน ชมรมคณะปฏิบัติการงานวิชาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 10 (ระหว่างวันที่ 20 - 22 กันยายน 2565 ณ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์)

using chloroform:methanol in 2:1 v/v ration. The result was 48 strains of marine fungi isolated from 14 samples of marine organisms, divided into 10 sponges and 4 algae. Found marine fungi from sponge *Haliclona* sp., the highest 9 genera, and classified by morphological characteristics into 8 genera, namely *Alternaria* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Syncephalastrum racemosum*, *Trichoderma* spp., and Sterile mycelium found that *Aspergillus* spp. was the dominant genera of marine fungi. The qualitative selection method found that 34 strains of marine fungi detected lipid within cells. The quantitative selection method, *Aspergillus* sp.5-5 isolated from *Haliclona* sp., give the percent of the highest total lipid per dry biomass of marine fungi at 20.90 ± 1.71 percent, indicating that oleaginous fungi that have potential for further development to produce biodiesel that can be an alternative resource and use in the future.

Keywords: The coral reef, Marine fungi, Oleaginous fungi, Biodiesel

บทนำ

การใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลเป็นแหล่งพลังงานหลักในหลายประเทศรวมถึงประเทศไทยก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในเชิงลบหลายประการ เช่น ภาวะโลกร้อน และมลพิษทางอากาศ เป็นต้น (Martins et al., 2019) จึงเริ่มมีการแสวงหาแหล่งน้ำมันที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพที่ได้จากชีวมวลของสิ่งมีชีวิต และมีคุณสมบัติคล้ายน้ำมันดีเซล ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ในยุคแรกของการผลิตไบโอดีเซลใช้น้ำมันจากพืช เช่น น้ำมันปาล์ม น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันเรพซีด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันมะพร้าว น้ำมันข้าวโพด น้ำมันมะกอก น้ำมันรำข้าว น้ำมันสบู่ดำ เป็นต้น เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิต ซึ่งพืชดังกล่าวสามารถนำไปประกอบอาหารได้ ส่งผลให้ราคาน้ำมันพืชแพงขึ้น รวมทั้งใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกค่อนข้างมาก และระยะเวลาเจริญเติบโตนาน (Bardhan et al., 2019; Havlik et al., 2011; Singh et al., 2020) ในปัจจุบันนักวิจัยได้แสวงหาแหล่งวัตถุดิบเพื่อเป็นทางเลือกใหม่ในการนำมาผลิตไบโอดีเซล น้ำมันจุลินทรีย์หรือน้ำมันเซลล์เดี่ยว (Single-Cell Oils, SCOs) คือน้ำมันที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถสังเคราะห์กรดไขมันได้ตั้งแต่ไฮโดรคาร์บอนสายสั้น (C6) ไปจนถึงไฮโดรคาร์บอนสายยาว (C36) อาจมีทั้งกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (Saturated Fatty Acid, SFA), กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated Fatty Acid, MUFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acids, PUFA) โดยมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถสะสมไขมันได้ เช่น สาหร่ายขนาดเล็ก แบคทีเรีย ยีสต์ และรา เป็นต้น (Patel et al., 2020; Yousuf, 2012)

ราทะเล เป็นราชนิดหนึ่งที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีความเค็ม แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ราทะเลที่แท้จริง (Obligate Marine Fungi) คือ ราที่มีวงจรชีวิตสมบูรณ์ภายใต้สภาวะสิ่งแวดล้อมที่มีความเค็มเท่านั้น และราทะเลแฟคัลเททีฟ (Facultative Marine Fungi) คือ ราบนบกหรือราน้ำจืดที่สามารถเจริญเติบโตสร้างเส้นใยและอาจสืบพันธุ์ได้ในสภาวะสิ่งแวดล้อมที่มีความเค็ม (Kohlmeyer & Kohlmeyer, 2013) การเจริญเติบโตภายใต้สภาวะที่มีความเค็มนั้นจำเป็นต้องปรับตัวให้เหมาะสมกับสิ่งแวดล้อมที่อยู่อาศัย โดยการสร้างสารกลุ่มโพลีออล (Polyols) เช่น แมนนิทอล อาราบิทอล และกลีเซอรอล เป็นต้น เพื่อควบคุมความสมดุลของเกลือระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ (Wethered et al., 1985) นอกจากนี้ไขมันหรือลิพิด (Lipid) ยังมีส่วนสำคัญในการช่วยรักษาสมดุลของเซลล์ ซึ่งพบได้ทั่วไปตามเยื่อหุ้มเซลล์ และผนังเซลล์ของเชื้อรา แต่เมื่อไขมันมีปริมาณมากเกินไปจะถูกสะสมไว้ในรูปแบบของไตรกลีเซอไรด์ สเตอรอล สควาลีน และกรดไขมันอิสระอยู่ภายในเส้นใย โดยปริมาณและรูปแบบของไขมันขึ้นอยู่กับชนิดและอายุหรือช่วงระยะเวลาเจริญเติบโตของเชื้อรา รวมทั้งสารอาหาร และปัจจัยสิ่งแวดล้อม (Akpınar-Bayazit, 2014) ทั้งนี้จากการรายงานของ (Athenaki et al., 2018) กล่าวว่าเชื้อราชนิดใดสามารถสะสมไขมันได้มากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปจะเรียกเชื้อราชนิดนั้นว่า “เชื้อราไขมันสูง (Oleaginous Fungi)”

อย่างไรก็ตามราทะเลไม่สามารถสะสมไขมันได้มากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ทุกชนิด ซึ่งจำเป็นต้องคัดเลือกราทะเลชนิดที่มีศักยภาพในการนำมาผลิตไบโอดีเซลโดยคัดเลือกทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกราทะเลชนิดที่มีศักยภาพในการสะสมไขมันที่แยกได้จากตัวอย่างสิ่งมีชีวิตในแนวปะการัง เพื่อนำไปพัฒนาสู่การผลิตไบโอดีเซลจากราทะเลต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1) การเก็บตัวอย่างสิ่งมีชีวิตในแนวปะการัง

ดำน้ำแบบ SCUBA เก็บตัวอย่างสิ่งมีชีวิต เช่น ฟองน้ำ สาหร่าย เป็นต้น ในแนวปะการังบริเวณหมู่เกาะยาว จังหวัดพังงา ใส่ถุงซิปล็อคและเก็บรักษาตัวอย่างในถังน้ำแข็งผสมเกลือ เพื่อนำมาแยกเชื้อราในห้องปฏิบัติการ

2) การแยกราทะเลในห้องปฏิบัติการ

แยกราทะเลจากตัวอย่างสิ่งมีชีวิตด้วยวิธี Tissue Transplanting โดยการตัดและล้างตัวอย่างในสารละลาย 0.06 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ประมาณ 1 นาที และนำมาล้างทำความสะอาดในน้ำทะเลที่ฆ่าเชื้อแล้วอย่าง

น้อย 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองหรือทิชชูที่ฆ่าเชื้อแล้ว วางตัวอย่างบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ Malt Extract Agar (MEA) ผสมน้ำตาล 70 เปอร์เซ็นต์ และ Yeast Extract Bacteriological Peptone Agar (YPA) ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ประมาณ 5-7 วัน เมื่อพบมีเชื้อราขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อทำการเก็บและแยกเชื้อราทะเลแต่ละชนิดไว้ใน Deep MEA อย่างน้อย 3 ขั้ว เมื่อพบว่าเชื้อบริสุทธิ์ (Pure Culture) แล้วจำแนกชนิดด้วยข้อมูลจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Buaruang et al., 2015)

3) การคัดเลือกราทะเลที่มีศักยภาพการสะสมไขมัน

3.1) การคัดเลือกด้วยวิธีเชิงคุณภาพ

เลี้ยงเชื้อราทะเลในอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA เป็นระยะเวลา 7 วัน และย้อมสีเชื้อราทะเลด้วย Sudan Black B บน Glass Slide 10 นาที และปิดทับด้วย Cover Slip นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light Microscope) โดยสีจะจับกับเซลล์ไขมันในเส้นใยของเชื้อรา เมื่อสีย้อมติดเซลล์จะพบเป็นสีน้ำเงินออกดำ (Burdon, 1946; Cheirsilp & Kittha, 2015)

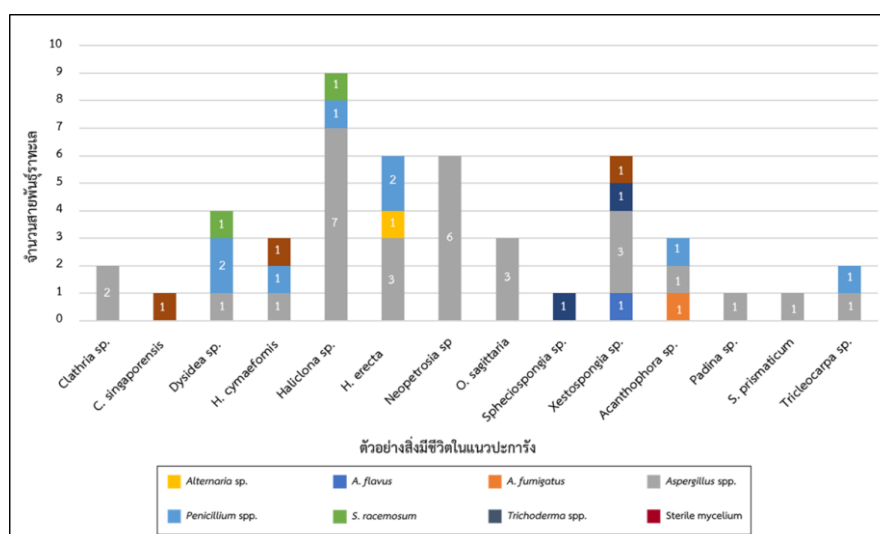
3.2) การคัดเลือกด้วยวิธีเชิงปริมาณ

เลี้ยงเชื้อราทะเลในอาหารเลี้ยงเชื้อ Malt Extract Broth (MEB) ผสมน้ำตาล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 7 วัน แยกราทะเลออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง ซึ่งน้ำหนักเชื้อราทะเลแห้ง 200 มิลลิกรัม สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม:เมทานอล ในอัตราส่วน 2:1 (Vicente et al., 2009) โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และหาค่าเฉลี่ย พร้อมทั้งส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, S.D < 5) และคำนวณปริมาณไขมันต่อน้ำหนักราทะเลแห้งตามสมการที่ 1 (ดัดแปลงจาก Reis et al., 2019) ดังนี้

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{ไขมันของเชื้อราทะเลที่ได้จากการสกัด (มิลลิกรัม/ลิตร)}}{\text{น้ำหนักเชื้อราทะเลแห้ง (มิลลิกรัม/ลิตร)}} \times 100 \quad (1)$$

ผลและอภิปรายผล

จากตัวอย่างสิ่งมีชีวิตในแนวปะการังจำนวน 14 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อราในห้องปฏิบัติการได้จำนวนทั้งหมด 48 สายพันธุ์ ได้แก่ ฟองน้ำ: *Clathria* sp. 2 สายพันธุ์, *Coelocarteria singaporensis* 1 สายพันธุ์, *Dysidea* sp. 4 สายพันธุ์, *Haliclona cymaeformis* 3 สายพันธุ์, *Haliclona* sp. 9 สายพันธุ์, *Hytios erecta* 6 สายพันธุ์, *Neopetrosia* sp. 6 สายพันธุ์, *Oceanapia sagittaria* 3 สายพันธุ์, *Spheciospongia* sp. 1 สายพันธุ์ และ *Xestospongia* sp. 6 สายพันธุ์ สาหร่าย: *Acanthophora* sp. 3 สายพันธุ์, *Padina* sp. 1 สายพันธุ์, *Sargassum prismaticum* 1 สายพันธุ์ และ *Tricleocarpa* sp. 2 สายพันธุ์ โดยพบจำนวนสายพันธุ์ราทะเลจากฟองน้ำ *Haliclona* sp. สูงที่สุด 9 สายพันธุ์ และสามารถจำแนกราทะเลได้ 8 สกุล ได้แก่ *Alternaria* sp., *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *S. racemosum*, *Trichoderma* spp. และกลุ่ม Sterile mycelium โดยพบ *Aspergillus* spp. เป็นราทะเลสกุลเด่น (ภาพที่ 1)



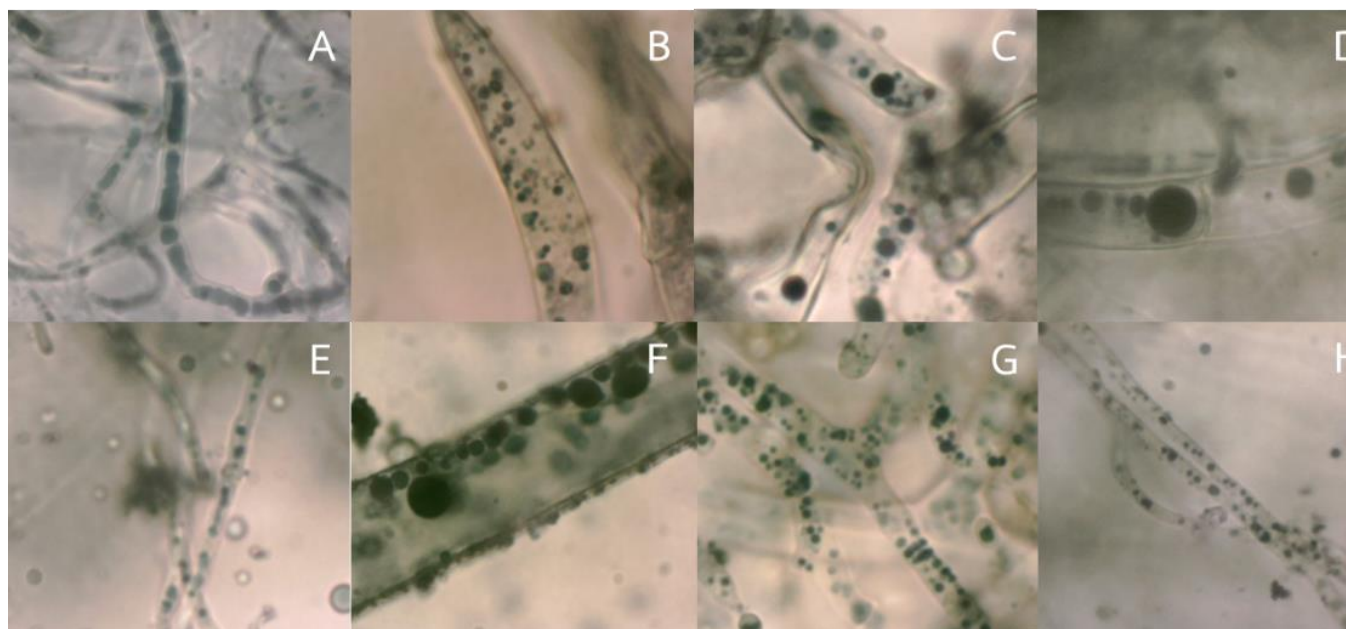
ภาพที่ 1 แสดงจำนวนสายพันธุ์ของราทะเลที่แยกได้จากตัวอย่างสิ่งมีชีวิตในแนวปะการัง

จากราหะเล 48 สายพันธุ์ พบ 34 สายพันธุ์ ที่สามารถติดสีย้อม Sudan Black B ได้ (ตารางที่ 1) โดยแบ่งออกเป็น 8 สกุล ได้แก่ *Alternaria* sp., *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *S. racemosum*, *Trichoderma* spp. และกลุ่ม Sterile mycelium (ภาพที่ 2) และจากการคัดเลือกด้วยวิธีเชิงปริมาณพบราหะเลสายพันธุ์ *Aspergillus* sp.5-5 ที่แยกได้จากฟองน้ำ *Haliclona* sp. มีปริมาณไขมันทั้งหมดต่อน้ำหนักชีวมวลแห้งของราหะเลสูงที่สุด คือ 20.90 ± 1.71 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1 และภาพที่ 3) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าเชื้อราชนิดดังกล่าวเป็นเชื้อราไขมันสูง

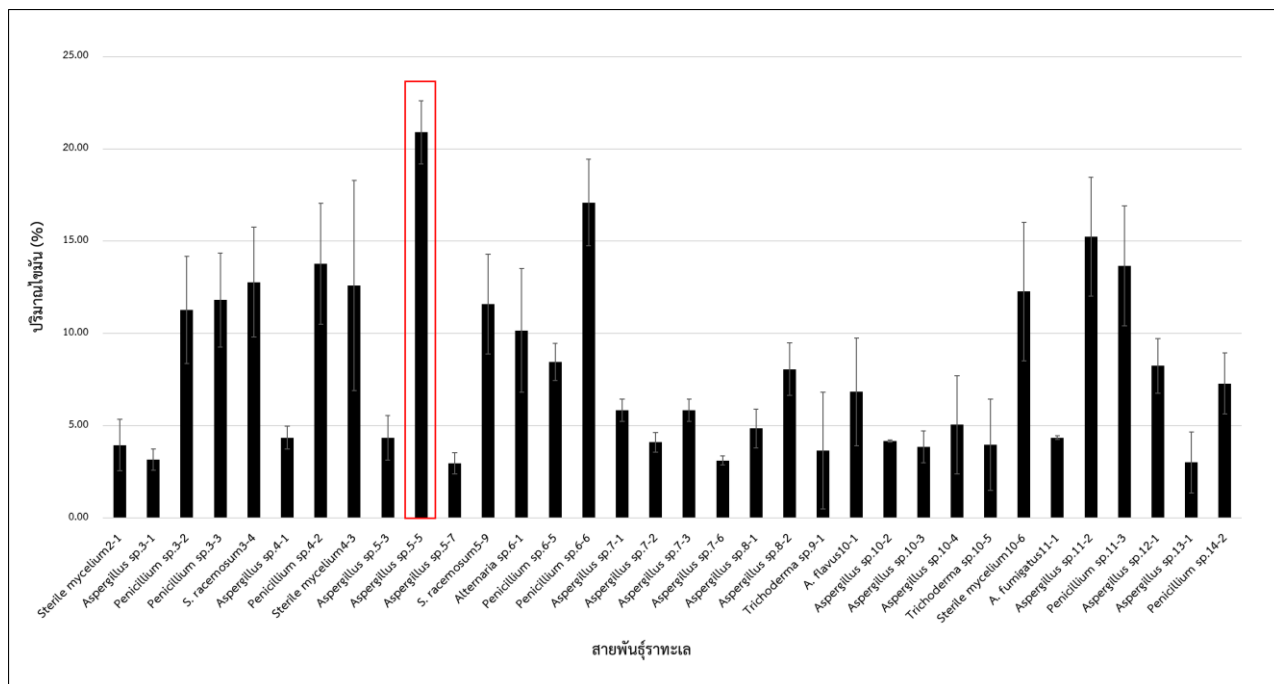
ตารางที่ 1 แสดงผลการคัดเลือกด้วยวิธีเชิงคุณภาพและปริมาณของราหะเล

ลำดับ	ตัวอย่างสิ่งมีชีวิต	สายพันธุ์ราหะเล	ผลการติดสีย้อม Sudan Black B		ผลการสกัดไขมันจากราหะเล		
			ติดสีย้อม	ไม่ติดสีย้อม	ไขมันที่ได้จากการสกัด (มิลลิกรัม/ลิตร)	ปริมาณไขมัน (%)	S.D.
1	<i>Clathria</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.1-1		✓			
		<i>Aspergillus</i> sp.1-2		✓			
2	<i>C. singaporensis</i>	Sterile mycelium2-1	✓		7.90	3.95	1.40
		<i>Aspergillus</i> sp.3-1	✓		6.33	3.17	0.59
3	<i>Dysidea</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.3-2	✓		22.53	11.27	2.90
		<i>Penicillium</i> sp.3-3	✓		23.63	11.82	2.55
		<i>S. racemosum</i> 3-4	✓		25.57	12.78	2.97
		<i>Aspergillus</i> sp.4-1	✓		8.70	4.35	0.62
4	<i>H. cymaefomis</i>	<i>Penicillium</i> sp.4-2	✓		27.53	13.77	3.28
		Sterile mycelium4-3	✓		25.20	12.60	4.70
		<i>Aspergillus</i> sp.5-1		✓			
5	<i>Haliclona</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.5-2		✓			
		<i>Aspergillus</i> sp.5-3	✓		8.70	4.35	1.20
		<i>Aspergillus</i> sp.5-4		✓			
		<i>Aspergillus</i> sp.5-5	✓		41.80	20.90	1.71
		<i>Aspergillus</i> sp.5-6		✓			
		<i>Aspergillus</i> sp.5-7	✓		5.93	2.97	0.59
		<i>Penicillium</i> sp.5-8		✓			
		<i>S. racemosum</i> 5-9	✓		23.17	11.58	2.71
		<i>Alternaria</i> sp.6-1	✓		20.33	10.17	3.36
		<i>Aspergillus</i> sp.6-2		✓			
6	<i>H. erecta</i>	<i>Aspergillus</i> sp.6-3		✓			
		<i>Aspergillus</i> sp.6-4		✓			
		<i>Penicillium</i> sp.6-5	✓		16.90	8.45	1.01
		<i>Penicillium</i> sp.6-6	✓		34.17	17.08	2.34
7	<i>Neopetrosia</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.7-1	✓		11.67	5.83	0.61
		<i>Aspergillus</i> sp.7-2	✓		8.20	4.10	0.53
		<i>Aspergillus</i> sp.7-3	✓		11.67	5.83	0.61
		<i>Aspergillus</i> sp.7-4		✓			
		<i>Aspergillus</i> sp.7-5		✓			
		<i>Aspergillus</i> sp.7-6	✓		6.23	3.12	0.25
8	<i>O. sagittaria</i>	<i>Aspergillus</i> sp.8-1	✓		9.70	4.85	1.06

ลำดับ	ตัวอย่างสิ่งมีชีวิต	สายพันธุ์ราทะเล	ผลการติดสีย้อม Sudan Black B		ผลการสกัดไขมันจากราทะเล		
			ติดสีย้อม	ไม่ติดสีย้อม	ไขมันที่ได้จากการ สกัด (มิลลิกรัม/ ลิตร)	ปริมาณ ไขมัน (%)	S.D.
9	<i>Spheciospongia</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.8-2	✓		16.13	8.07	1.44
		<i>Aspergillus</i> sp.8-3		✓			
		<i>Trichoderma</i> sp.9-1	✓		7.33	3.67	3.16
		<i>A. flavus</i> 10-1	✓		13.67	6.83	2.93
10	<i>Xestospongia</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.10-2	✓		8.33	4.17	0.06
		<i>Aspergillus</i> sp.10-3	✓		7.70	3.85	0.85
		<i>Aspergillus</i> sp.10-4	✓		10.10	5.05	2.67
		<i>Trichoderma</i> sp10-5	✓		7.93	3.97	2.47
11	<i>Acanthophora</i> sp.	Sterile mycelium10-6	✓		24.53	12.27	3.74
		<i>A. fumigatus</i> 11-1	✓		8.70	4.35	0.10
		<i>Aspergillus</i> sp.11-2	✓		30.50	15.25	3.22
		<i>Penicillium</i> sp.11-3	✓		27.33	13.67	3.25
12	<i>Padina</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.12-1	✓		16.50	8.25	1.48
13	<i>S. prismaticum</i>	<i>Aspergillus</i> sp.13-1	✓		6.03	3.02	1.65
14	<i>Tricleocarpa</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.14-1		✓			
		<i>Penicillium</i> sp.14-2	✓		14.57	7.28	1.65



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะการติดสีย้อม Sudan Black B ของเซลล์ไขมันในเส้นใยเชื้อราทะเลแต่ละสกุล: (A) *Alternaria* sp., (B) *A. flavus*, (C) *A. fumigatus*, (D) *Aspergillus* sp., (E) *Penicillium* sp., (F) *S. racemosum*, (G) *Trichoderma* sp. และ (H) กลุ่ม Sterile mycelium



ภาพที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์ของปริมาณไขมันทั้งหมดต่อน้ำหนักชีวมวลแห้งของราทะเล

สรุปผล

จากตัวอย่างสิ่งมีชีวิตในแนวปะการังจำนวน 14 ตัวอย่าง สามารถแยกราทะเลได้ 48 สายพันธุ์ โดยพบจำนวนสายพันธุ์ราทะเลจากฟองน้ำ *Haliclona* sp. สูงที่สุด 9 สายพันธุ์ และสามารถจำแนกราทะเลด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาออกได้ 8 สกุล ได้แก่ *Alternaria* sp., *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *S. racemosum*, *Trichoderma* spp. และกลุ่ม Sterile mycelium โดยพบ *Aspergillus* spp. เป็นราทะเลสกุลเด่น จากการคัดเลือกด้วยวิธีเชิงคุณภาพพบราทะเล 34 สายพันธุ์ สามารถติดสีย้อม Sudan Black B ได้ ซึ่งแสดงให้เห็นลักษณะของเซลล์ไขมันที่สะสมอยู่ในเส้นใยของราทะเล และจาก 34 สายพันธุ์ พบราทะเล *Aspergillus* sp.5-5 ที่แยกได้จากฟองน้ำ *Haliclona* sp. มีปริมาณไขมันทั้งหมดต่อน้ำหนักชีวมวลแห้งของราทะเลสูงที่สุด คือ 20.90 ± 1.71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งบ่งชี้ว่าเป็นเชื้อราไขมันสูง (Oleaginous Fungi) มีศักยภาพที่จะนำไปพัฒนาต่อยอดในการศึกษาเรื่องของปัจจัยหรือสภาวะ (อุณหภูมิ, pH, แหล่งคาร์บอน, แหล่งไนโตรเจน, ระยะเวลา) ที่เหมาะสมที่ราทะเล *Aspergillus* sp.5-5 จะสามารถสะสมไขมันได้ปริมาณมากที่สุด และตรวจวิเคราะห์คุณภาพไบโอดีเซล (ค่าความหนืด, ค่าความร้อน, องค์ประกอบของกรดไขมัน, ค่าซีเทน, ค่าไอโอดีน) จากราทะเลเพื่อผลิตเป็นไบโอดีเซลที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ทั้งนี้ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงสะอาดเนื่องจากมีวัตถุดิบตั้งต้นเป็นน้ำมันหรือไขมันของสิ่งมีชีวิต เช่น น้ำมันปาล์ม, ไขมันสัตว์ และไขมันราทะเล เป็นต้น ส่งผลให้เกิดการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมซึ่งสอดคล้องกับนโยบายที่มุ่งสู่การปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกสุทธิเป็นศูนย์ (Net Zero Emissions) นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยส่งเสริมการใช้พลังงานทดแทนและเป็นส่วนหนึ่งในการสนับสนุนเศรษฐกิจชีวภาพ (Bioeconomy) เศรษฐกิจหมุนเวียน (Circular Economy) และเศรษฐกิจสีเขียว (Green Economy) หรือ BCG ซึ่งจะช่วยให้เกิดการพัฒนาไปพร้อมกับการรักษาสภาพสิ่งแวดล้อมที่ยั่งยืน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้เขียนขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี กองทัพอากาศ หน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการพัฒนากำลังคน และทุนด้านการพัฒนาสถาบันอุดมศึกษา การวิจัยและการสร้างนวัตกรรม (บพค.) สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และมหาวิทยาลัยรามคำแหง ที่ช่วยเหลือและสนับสนุนโครงการวิจัย

บรรณานุกรม

- Akpinar-Bayazit, A. (2014). Fungal lipids: The biochemistry of lipid accumulation. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5), 409.
- Athenaki, M., Gardeli, C., Diamantopoulou, P., Tchakouteu, S. S., Sarris, D., Philippoussis, A., & Papanikolaou, S. (2018). Lipids from yeasts and fungi: physiology, production and analytical considerations. *Journal of Applied Microbiology*, 124(2), 336-367.
- Bardhan, P., Gupta, K., & Mandal, M. (2019). *Microbes as bio-resource for sustainable production of biofuels and other bioenergy products* (pp. 205-222). In Singh, J. S., & Singh, D. P. (Eds.). *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier.
- Buaruang, J., Manoch, L., Chamswang, C., Piasai, O., Yaguchi, T., & Kijjoa, A. (2015). Species of *Aspergillus* Section *Fumigati* from the Coral Reefs in the Gulf of Thailand and Andaman Sea and their Antagonistic Effects Against Plant Pathogenic Fungi. *Thai Journal of Agricultural Science*, 48(2), 87-107.
- Burdon, K. L. (1946). Fatty material in bacteria and fungi revealed by staining dried, fixed slide preparations. *Journal of bacteriology*, 52(6), 665-678.
- Cheirsilp, B., & Kitcha, S. (2015). Solid state fermentation by cellulolytic oleaginous fungi for direct conversion of lignocellulosic biomass into lipids: fed-batch and repeated-batch fermentations. *Industrial Crops and Products*, 66, 73-80.
- Havlik, P., Schneider, U. A., Schmid, E., Böttcher, H., Fritz, S., Skalský, R., Aoki, K., Cara, S. D., K, Georg., Kraxner, F., Leduc, S., McCallum, I., Mosnier, A., Sauer, T., & Obersteiner, M. (2011). Global land-use implications of first and second generation biofuel targets. *Energy policy*, 39(10), 5690-5702.
- Kohlmeyer, J., & Kohlmeyer, E. (2013). *Marine mycology: the higher fungi*. Elsevier.
- Martins, F., Felgueiras, C., Smitkova, M., & Caetano, N. (2019). Analysis of fossil fuel energy consumption and environmental impacts in European countries. *Energies*, 12(6), 964.
- Patel, A., Karageorgou, D., Rova, E., Katapodis, P., Rova, U., Christakopoulos, P., & Matsakas, L. (2020). An overview of potential oleaginous microorganisms and their role in biodiesel and omega-3 fatty acid-based industries. *Microorganisms*, 8(3), 434.
- Reis, C. E. R., Carvalho, A. K. F., Bento, H. B., & de Castro, H. F. (2019). Integration of microbial biodiesel and bioethanol industries through utilization of vinasse as substrate for oleaginous fungi. *Bioresource Technology Reports*, 6, 46-53.
- Singh, D., Sharma, D., Soni, S. L., Sharma, S., Sharma, P. K., & Jhalani, A. (2020). A review on feedstocks, production processes, and yield for different generations of biodiesel. *Fuel*, 262, 116553.
- Vicente, G., Bautista, L. F., Rodríguez, R., Gutiérrez, F. J., Sádaba, I., Ruiz-Vázquez, R. M., Torres-Martínez, S. & Garre, V. (2009). Biodiesel production from biomass of an oleaginous fungus. *Biochemical Engineering Journal*, 48(1), 22-27.
- Wethered, J. M., Metcalf, E. C., & Jennings, D. H. (1985). Carbohydrate metabolism in the fungus *Dendryphiella salina*: VIII. The contribution of polyols and ions to the mycelial solute potential in relation to the external osmoticum. *New phytologist*, 101(4), 631-649.
- Yousuf, A. (2012). Biodiesel from lignocellulosic biomass—Prospects and challenges. *Waste Management*, 32(11), 2061-2067.