ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อการผลิตพลังงานทางเลือก

ผู้เขียน นางสาว กรองกาญจน์ จันต๊ะ

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ยุวดี พีรพรพิศาล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
รองศาสตราจารย์ ดร. นิวุฒิ หวังชัย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
อาจารย์ ดร. จีรพร เพกเกาะ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

ไบโอดีเซลเป็นพลังงานทางเลือกที่มีบทบาทสำคัญในการทดแทนน้ำมันปิโตรเลียมที่กำลังจะหมดไปในอนาคต กระบวนการผลิตไบโอดีเซลนั้นเกิดจากไตรกลีเซอไรด์ทำปฏิกิริยากับเมทานอลผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันแล้วเปลี่ยนเป็นเมทิลเอสเทอร์ซึ่งคือ ไบโอดีเซล โดยทั่วไปไตรกลีเซอไรด์พบได้ในพืช สัตว์ รวมไปถึงสาหร่ายขนาดเล็กซึ่งไม่เพียงมีอัตราการเจริญอย่างรวดเร็วแต่ยังมีการสะสมลิพิดภายในเซลล์ในปริมาณมากอีกด้วย ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทยที่มีอัตราการเจริญ และปริมาณลิพิดในเซลล์สูง และพัฒนาสภาวะที่ใช้เพาะเลี้ยงเพื่อหาความเป็นไปได้ในการผลิตเป็น ไบโอดีเซล โดยศึกษาสาหร่ายท้องถิ่น 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* sp. AARL G008, *Scenedesmus* sp. AARL G022, *Monoraphidium* sp. AARL G044, *Carteria* sp. AARL G045 และ *Carteria* sp. AARL G046 กับสายพันธุ์จากต่างประเทศคือ *Nannochloropsis limnetica* SAG 18.99 ที่มีรายงานว่ามีการสะสมปริมาณลิพิดสูง *Carteria* sp. AARL G045 เป็นสายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญอย่างรวดเร็วและมีการสะสมปริมาณลิพิดภายในเซลล์สูง จากนั้นศึกษาองค์ประกอบของสูตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อาหาร AM ที่มีผลต่อการเจริญ และการเพิ่มปริมาณลิพิด ซึ่งออกแบบการทดลองโดยใช้วิธี Plackett-Burman Design (PBD) พบว่า NH_4Cl, K_2HPO_4, $NaNO_3$ และ $MgSO_4.7H_2O$ เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ และการเพิ่มปริมาณลิพิดอย่างมีนัยสำคัญและ ได้นำปัจจัยเหล่านี้มาวิเคราะห์ เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมโดยใช้วิธี Box-Behnken design (BBD) พบว่าการใช้สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของสูตรอาหาร AM ที่ปรับปรุงแล้วนี้กลับไปเพิ่มต้นทุนการผลิต ดังนั้นจึงมีการนำสูตรอาหาร CMU03 ที่มีราคาถูกมาใช้ในการเพาะเลี้ยง พบว่า *Carteria* sp. AARL G045 สามารถเจริญได้ดีในสูตรอาหารดังกล่าว และมีการสะสมลิพิดสูงกว่าที่เพาะเลี้ยงในอาหาร AM ที่ปรับปรุงแล้ว จากนั้นได้แปรค่าความเข้มข้นของ N และ P ในอาหาร CMU03 โดยเพิ่มและลดความเข้มข้นของ N 5 เท่า และ P 1.5 เท่า และเปรียบเทียบกับอาหาร CMU03 ปกติ ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับแสงธรรมชาติ พบว่า *Carteria* sp. AARL G045 สามารถเจริญได้ดีในอาหาร CMU03 ปกติภายใต้แสงธรรมชาติ และสามารถขยายขนาดการเพาะเลี้ยงในระดับ 100 L

นอกจากนี้ยังได้หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดลิพิดจาก *Carteria* sp. AARL G045 โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิกพลังงานต่ำร่วมกับตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม และเมทานอล อัตราส่วน 2:1 พบว่าที่ความถี่ 1 เมกกะเฮิร์ต ที่มีการใช้กำลังไฟฟ้า 4 วัตต์ 30 นาทีในอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดและตัวทำละลายที่เหมาะสมคือ 1:25 ให้ผลผลิตลิพิดเฉลี่ยสูงสุดที่ 47.43 % ซึ่งเป็นสองเท่าของวิธีการสกัดเดิม และเมื่อประเมินต้นทุนในการผลิตไบโอดีเซลจาก *Carteria* sp. AARL G045 โดยประมาณเท่ากับ 21.46 บาทต่อลิตร โดยคิดเฉพาะต้นทุนจากสารอาหาร พลังงาน และสารเคมีบางส่วน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Optimization of Microalgal Cultivation for Alternative Energy Production

Author Ms. Krongkan Janta

Degree Doctor of Philosophy (Applied Microbiology)

Thesis Advisory Committee Assoc. Prof. Dr. Yuwadee Peerapornpisal Advisor

Assoc. Prof. Dr. Niwooti Whangchai Co-advisor

Lect. Dr. Jeeraporn Pekkoh Co-advisor

ABSTRACT

Biodiesel is an alternative energy which plays the principal role in replacing the depleting petroleum in the future. In biodiesel production, triglycerides reacted with methanol through transesterification and converted to methyl ester which is biodiesel. Triglycerides were found commonly in plant, animal including microalgae. Microalgae not only grow rapidly but they also accumulate high amount of lipid in the cells. Thus microalgal strains found in Thailand which have high growth rate and high lipid content in the cells were investigated and cultivation condition for possibility of biodiesel production was developed. This research investigated five native microalgal strains such as *Chlorella* sp. AARL G008, *Scenedesmus* sp. AARL G022, *Monoraphidium* sp. AARL G044, *Carteria* sp. AARL G045 and *Carteria* sp. AARL G046 with a foreign strain (*Nannochloropsis limnetica* SAG 18.99) which was

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

reported to accumulate high lipid content. It was found that the native strains, *Carteria* sp. AARL G045 was a promising strain with fast growth rate and high accumulation of cellar lipid. Then, the effect of nutrient composition of Algal Medium (AM) on the growth and enhancement of lipid content was investigated using Plackett and Burman design (PBD). It was found that NH_4Cl, K_2HPO_4, $NaNO_3$ and $MgSO_4.7H_2O$ were the important significant factors on the growth rate and increase in lipid content. These factors were further analyzed for appropriate formula of the medium based on three-level Box-Behnken design (BBD). It was found that utilization of some chemical components in the modified AM medium led to the increase in cultivation cost. Therefore, CMU03 medium which is inexpensive, was used for cultivation. It was shown that *Carteria* sp. AARLG045 grew well in this medium with higher lipid accumulation than in the modified AM. Then, the concentrations of nitrogen and phosphorus in CMU03 were varied by increasing and decreasing N for 5 fold and P for 1.5 fold compared with normal CMU03. Cultivation was done under illumination with florescent light for 24 hr compared with natural sunlight. It was found that *Carteria* sp. AARL G045 grew well in normal CMU03 under the natural sunlight and the cultivation could be expanded to 100 L scale.

In addition, lipid extraction condition was optimized from *Carteria sp.* AARL G045 using low power ultrasound assisted with chloroform and methanol at 2:1 ratio as solvents. It was found that, ultrasonication at 1 MHz, 4 W for 30 mins and suitable biomass to solvent ratio at 1:25 gave the highest lipid yield of 47.43% which was twice the original yield. Cost estimation in biodiesel production from *Carteria sp.* AARL G045 was 21.46 baht.L^{-1}, calculated from media, energy and some chemicals.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved