

หัวข้อขุณยนิพนธ์	การเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงกลุ่มสาหร่ายขนาดเล็กโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อการผลิตชีวมวลและลิพิด	
ผู้เขียน	นางสาวสุนิสา บุญมา	
ปริญญา	วิทยาศาสตรคุณวุฒิบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)	
คณะกรรมการที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ยุวดี พิรพรพิศาล	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภรินทร์ ไชยกลางเมือง	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	อาจารย์ ดร. สุรพล ใจวงศ์ษา	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	อาจารย์ ดร. จีรพร เพกเกาะ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	อาจารย์ ดร. ชยากร ภูมาศ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

### บทคัดย่อ

คาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) เป็นก๊าซหลักของก๊าซเรือนกระจกที่สามารถดูดซับความร้อนในชั้นบรรยากาศที่ก่อให้เกิดภาวะโลกร้อนได้ ในบรรดาวิธีการต่างๆ สำหรับการบรรเทาหรือลดปริมาณ  $\text{CO}_2$  ที่ถูกปล่อยออกมานั้น การใช้สาหร่ายขนาดเล็กที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ เป็นวิธีการหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสาหร่ายสามารถตรึง  $\text{CO}_2$  เพื่อเปลี่ยนเป็นชีวมวลและลิพิดในเซลล์ สาหร่ายยังสามารถนำไปใช้ในการผลิตไบโอดีเซลได้อีกด้วย งานวิจัยนี้ทำการเพาะเลี้ยงกลุ่มสาหร่ายขนาดเล็กทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและภาคสนาม ในระดับปฏิบัติการได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในสถานะที่มีการให้อากาศแตกต่างกันคือ ไม่ให้อากาศ (control) ให้อากาศปกติ ( $0.03\% \text{CO}_2$ ) และ  $10\% \text{CO}_2$  ที่อัตรา  $0.2 \text{ vvm}$  (ปริมาตรก๊าซ/ปริมาตรอาหาร/นาที่) ผลการทดลองพบว่าสาหร่ายเจริญได้ดีที่สุดในสถานะที่มีการให้  $10\% \text{CO}_2$  จากนั้นทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของ  $\text{CO}_2$  ( $0.03\text{-}30\%$ ) ต่อการเจริญ การผลิตลิพิด และการตรึง  $\text{CO}_2$  ของสาหร่าย ผลการศึกษาพบว่าสาหร่ายสามารถเจริญในสถานะที่มีการให้  $\text{CO}_2$  ที่ความเข้มข้น  $10\%$  และ  $30\%$  ได้ดีกว่าการให้อากาศปกติ ( $0.03\% \text{CO}_2$ ) สาหร่ายมีการเจริญสูงสุดและในสถานะที่มีการให้  $30\% \text{CO}_2$  โดยมีปริมาณชีวมวลและลิพิดเท่ากับ  $0.31 \pm 0.17 \text{ g L}^{-1}$  และ  $27.6 \pm 0.68\%$  ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และพบว่าอัตราการตรึง  $\text{CO}_2$  ของสาหร่ายในสถานะที่มีการให้  $30\% \text{CO}_2$  มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 6 เท่า เมื่อเทียบกับการให้อากาศปกติ

สาหร่ายที่พบในสภาวะการเพาะเลี้ยงนี้ พบว่าส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายสีเขียว ได้แก่ *Acutodesmus obliquus* (Turpin) Kützing, *Chlamydomonas crassa* H.R. Christen, *Dictyosphaerium granulatum* Hindák และ *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] ต่อมาได้ทำการศึกษาผลของอัตราการให้ CO<sub>2</sub> ต่อความสามารถในการตรึง CO<sub>2</sub> พบว่า การเพิ่มอัตราการให้ 30% CO<sub>2</sub> ในช่วง 0.2-1.0 vvm ส่งผลให้ ปริมาณชีวมวลและลิพิดของสาหร่ายเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดที่อัตราการให้ CO<sub>2</sub> ที่ 1.0 vvm โดยมีค่า เท่ากับ 0.92±0.1 g L<sup>-1</sup> และ 24.45±1.03% ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากการคำนวณอัตราการตรึง CO<sub>2</sub> พบว่าความสามารถในการตรึง CO<sub>2</sub> ในสภาวะที่มีการให้ CO<sub>2</sub> ที่อัตรา 1.0 vvm เพิ่มขึ้นเป็น 2.7 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการให้ CO<sub>2</sub> ที่ 0.2 vvm สาหร่ายชนิดเด่นที่พบได้แก่ *C. vulgaris* Beyerinck [Beijerinck], *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko, *Carteria* sp. และ *Monoraphidium contortum* (Thuret) Komárková-Legnerová.

เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการลดปริมาณ CO<sub>2</sub> จากก๊าซที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมและการผลิตน้ำมันชีวภาพจากสาหร่าย ทำการเพาะเลี้ยงกลุ่มสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อเปิดระดับภาคสนามโดยให้ก๊าซโอเลีย (19% CO<sub>2</sub>) ที่ปล่อยจากเครื่องผลิตกระแสไฟฟ้าจากก๊าซชีวภาพมูลไก่ ผลการศึกษาพบว่า การใช้ก๊าซโอเลียส่งผลให้สาหร่ายมีผลผลิตชีวมวลและลิพิดสูงขึ้นเมื่อเทียบกับการให้อากาศปกติ โดยมีปริมาณชีวมวลและลิพิดเท่ากับ 0.25±0.04 g L<sup>-1</sup> และ 16.96±2.29% ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อศึกษาสาหร่ายชนิดเด่นพบว่า เป็นสาหร่ายในกลุ่ม *Acutodesmus* spp. และยังพบว่าอัตราการตรึง CO<sub>2</sub> ของสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยก๊าซโอเลียเพิ่มสูงขึ้นเป็น 1.3 เท่า เมื่อเทียบกับการให้อากาศปกติ นอกจากนั้นได้ทำการศึกษาผลของฤดูกาลและการให้ CO<sub>2</sub> ต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อหาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพในระดับอุตสาหกรรมและการบรรเทาหรือลดปริมาณของ CO<sub>2</sub> ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่ายโดยการให้ CO<sub>2</sub> บริสุทธิ์ (100% CO<sub>2</sub>) ที่อัตราการให้ 0.0002 vvm ในบ่อเปิดแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยทำการเพาะเลี้ยง 2 ฤดู คือฤดูฝนและฤดูแล้ง (ฤดูหนาว) ผลการศึกษาพบว่า การเพาะเลี้ยงทั้งสองฤดูให้ผลในทิศทางเดียวกัน โดยพบว่าปริมาณชีวมวล ปริมาณลิพิด องค์ประกอบคาร์บอน รวมทั้งอัตราการตรึง CO<sub>2</sub> ของสาหร่ายที่มีการให้ CO<sub>2</sub> มีค่าสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบไม่ให้ CO<sub>2</sub> (ให้อากาศเพียงอย่างเดียว) เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการเจริญและค่าต่างๆของสาหร่ายที่มีการให้ CO<sub>2</sub> ทั้งสองฤดูพบว่าฤดูกาลไม่มีผลต่อการเจริญและการตรึง CO<sub>2</sub> ของสาหร่าย โดยในฤดูฝนสาหร่ายที่มีการให้ CO<sub>2</sub> มีปริมาณชีวมวล ลิพิดและอัตราการตรึง CO<sub>2</sub> เฉลี่ยเท่ากับ 0.41±0.04 g L<sup>-1</sup> 17.3±0.77% ของน้ำหนักแห้ง และ 0.0502±0.01 g CO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> ตามลำดับ ส่วนในฤดูแล้งสาหร่ายมีปริมาณชีวมวล ลิพิดและอัตราการตรึง CO<sub>2</sub> เฉลี่ยเท่ากับ 0.43±0.04 g L<sup>-1</sup> 17.02±0.44% ของน้ำหนักแห้ง และ 0.0504±0.01 g CO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> ตามลำดับ สาหร่ายชนิดเด่นที่พบทั้งสองฤดูกาล

ได้แก่ *A. dimorphus* (Turpin) Tsarenko, *C. vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] และ *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบในลิพิดจากสาหร่ายโดยใช้ GC-MS องค์ประกอบหลักที่พบเป็นกลุ่มของกรดไขมัน คือ กรดปาล์มมิติก และกรดโอเลอิก จะเห็นได้ว่ากลุ่มสาหร่ายขนาดเล็กมีศักยภาพสูงที่จะนำไปใช้ในการลดปริมาณ CO<sub>2</sub> และยังเหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตไบโอดีเซลได้



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

<b>Dissertation Title</b>	Enhancement of Microalgal Consortium Cultivation Efficiency Using Carbon Dioxide for Biomass and Lipid Production	
<b>Author</b>	Ms. Sunisa Boonma	
<b>Degree</b>	Doctor of Philosophy (Applied Microbiology)	
<b>Advisory Committee</b>	Assoc. Prof. Dr. Yuwadee Peerapornpisal	Advisor
	Asst. Prof. Dr. Suparin Chaiklangmuang	Co-advisor
	Lect. Dr. Suraphon Chaiwongsar	Co-advisor
	Lect. Dr. Jeerapon Pekkoh	Co-advisor
	Lect. Dr. Chayakorn Pumas	Co-advisor

## ABSTRACT

Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) is one of the main greenhouse gases that traps heat in the atmosphere and contributes to global warming. Among the various methods being proposed to reduce CO<sub>2</sub> emissions, the biological CO<sub>2</sub> sequestration using phototropic microalgae has received widespread attention in recent years. Through biological CO<sub>2</sub> sequestration, CO<sub>2</sub> can be fixed and converted into biomass and lipids. These algal lipids could then be used as feedstock for biodiesel production. In this study, the cultivation of a microalgal consortium (MC) using CO<sub>2</sub> were done on the laboratory scale and in the outdoor open system. In the laboratory experiment, the MC was cultivated with different aerations: non-aeration (control), normal air (0.03% CO<sub>2</sub>) and 10% CO<sub>2</sub> at flow rate of 0.2 vvm. It was found that the growth of microalgae under 10% CO<sub>2</sub> aeration was higher than those of the other conditions. Next, the effects of CO<sub>2</sub> concentrations (0.03%-30% v/v CO<sub>2</sub>) on algal biomass, lipid production, and CO<sub>2</sub> fixation were investigated. It was found that the MC could grow well under 10% and 30% CO<sub>2</sub> supplementation. The biomass concentration and lipid content of the culture supplemented with 30% CO<sub>2</sub> was the highest among all the specimens with  $0.31 \pm 0.17$  g L<sup>-1</sup> and  $27.6 \pm 0.68\%$  of dry weight, respectively. The CO<sub>2</sub> fixation rate that was recorded at under 30% CO<sub>2</sub> supplementation

was increased 6-fold when compared with ambient air (0.03% CO<sub>2</sub>). The common algal species found in this supplement were green microalgae, specifically *Acutodesmus obliquus* (Turpin) Kützing, *Chlamydomonas crassa* H.R. Christen, *Dictyosphaerium granulatum* Hindák and *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck]. Next, the effects of the CO<sub>2</sub> aeration rate on the CO<sub>2</sub> fixation efficiency of MC were studied. The results found that an increase of the CO<sub>2</sub> aeration rate between 0.2-1.0 vvm could lead to increased biomass concentration and the lipid content of the microalgae. The MC under 1.0 vvm CO<sub>2</sub> aeration rate had the highest biomass concentration and the lipid content with  $0.92 \pm 0.1$  g L<sup>-1</sup> and  $24.45 \pm 1.03\%$  of dry weight, respectively. The potential of CO<sub>2</sub> fixation under 1.0 vvm CO<sub>2</sub> aeration rate was increased 2.7-fold when compared with the 0.2 vvm CO<sub>2</sub> aeration rate. The dominant microalgal species were *C. vulgaris* Beyerinck [Beijerinck], *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko, *Carteria* sp. and *Monoraphidium contortum* (Thuret) Komárková-Legnerová.

In order to study the possibility of CO<sub>2</sub> reduction from the industrial exhaust gas and bio-oil production from microalgae, MC was cultivated with the exhaust gas (19% CO<sub>2</sub>) that was derived from a power generator supplied by biogas from chicken manure in an outdoor open system. It was found that the biomass concentration and lipid content of the microalgae supplemented with the exhaust gas was higher than that of the ambient air. The biomass concentration and lipid content of MC under exhaust gas condition were  $0.25 \pm 0.04$  g L<sup>-1</sup> and  $16.96 \pm 2.29\%$  of dry weight, respectively. The major microalgal species found in the exhaust gas condition was *Acutodesmus* spp. The CO<sub>2</sub> fixation level under exhaust gas supplementation was increased 1.3-fold when compared with the ambient air. In addition, the effects of the season and CO<sub>2</sub> supplementation on microalgae cultivation were studied for the feasibility of large-scale biofuel production and CO<sub>2</sub> mitigation. The MC was cultivated with pure CO<sub>2</sub> (100% CO<sub>2</sub>) at aeration rate of 0.0002 vvm in the semi-continuous outdoor open system at Boonsom Farm during two seasons: the wet and the cold dry season. The results found that the wet and cold dry seasons showed the same trend. The recorded levels of dry weight, lipid content, carbon content and CO<sub>2</sub> fixation rate of MC with CO<sub>2</sub> supplement were all higher than of those without CO<sub>2</sub> supplementation. When compare between two seasons, it found that the season had no significant effect on growth, lipid and CO<sub>2</sub> fixation ability of microalgae. In wet season, the means of biomass concentration, lipid content and CO<sub>2</sub> fixation rate of the

MC with CO<sub>2</sub> supplementation were  $0.41 \pm 0.04$  g L<sup>-1</sup>,  $17.3 \pm 0.77\%$  of dry weight and  $0.0502 \pm 0.01$  g CO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, respectively. While in the cold dry season, the means of biomass concentration, lipid content and CO<sub>2</sub> fixation rate of the MC with CO<sub>2</sub> supplementation were  $0.43 \pm 0.04$  g L<sup>-1</sup>,  $17.02 \pm 0.44\%$  of dry weight and  $0.0504 \pm 0.01$  g CO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, respectively. The dominant microalgal species observed under the CO<sub>2</sub> supplementation condition in both two seasons were *A. dimorphus* (Turpin) Tsarenko, *C. vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] and *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith. The major compounds of the lipids from the MC with CO<sub>2</sub> supplementation in the wet season were palmitic acid and oleic acid. The MC showed a high potential for CO<sub>2</sub> mitigation and should be suitable for use as a raw material in biodiesel production.