

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Dunaliella salina* ในน้ำเกลือสินเธาว์เพื่อผลิตเบตาแคโรทีน

นางสาวนิศาชล แสนละมุด



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-637-344-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CULTURE OF Dunaliella salina IN ROCK SALT WATER
FOR BETA-CAROTENE PRODUCTION

Miss Nisachol Saenlamool

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Biotechnology

Programme of Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1997

ISBN 974-637-344-7

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

นิศาชล แสนละมุล : การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Dunaliella salina* ในน้ำเกลือสินเธาว์เพื่อผลิตเบตาแคโรทีน (CULTURE OF *Dunaliella salina* IN ROCK SALT WATER FOR BETA-CAROTENE PRODUCTION) อ. ที่ปรึกษา : ศ. ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต, อ. ที่ปรึกษาร่วม : อ. ดร. ประสาท กิตตะอุปต์ ; 86 หน้า. ISBN 974-637-344-7.

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคูนาลิเอลลา (*Dunaliella salina*) ในน้ำเกลือสินเธาว์เพื่อผลผลิตเบตาแคโรทีน แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง คือ 1) ทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเบตาแคโรทีน 2) ทดลองระบบการเพาะเลี้ยง และ 3) การประเมินความคุ้มค่าต่อการลงทุน การทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม โดยการทดลองปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของ KNO_3 ตามสูตรอาหาร J/1 เป็น 0.5 และ 1.0 g/l ในโหล 10 ลิตร พบว่าความเข้มข้นของ KNO_3 0.5 g/l สาหร่ายมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูง และการทดลองระดับความลึกของการเลี้ยงสาหร่าย 4 ระดับคือ 10, 20, 25 และ 30 ซม. ในบ่อขนาด 5.4x1.3 ตร.ม. พบว่าความลึก 20 ซม. จะให้อัตราการเจริญและปริมาณแคโรทีนอยด์ดีที่สุด

การทดลองระบบการเลี้ยงสาหร่ายแบบใช้พื้นที่กว้าง ในบ่อขนาด 6x6 ตร.ม. ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 3.81 pg/cell ทดลองระบบการเลี้ยงแบบใช้อากาศผ่านท่อ PVC เพื่อให้ น้ำเลี้ยงเกิดการหมุนเวียน ในบ่อขนาด 25x6 ตร.ม. ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 18.5 pg/cell และทดลองระบบการเลี้ยงแบบเข็ม ในบ่อขนาด 38x15 ตร.ม. เป็นบ่อแบบ raceway รูปวงรี ใช้ใบพัดเพื่อให้น้ำเกิดการหมุนเวียน ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 82.8 pg/cell

การประเมินความคุ้มค่าต่อการลงทุน ทำการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเข็ม ในบ่อขนาด 12.5 x5 ตร.ม. ระยะเวลาการประเมิน 5 ปี พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคูนาลิเอลลาในน้ำเกลือสินเธาว์เพื่อผลิตเบตาแคโรทีน ให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่า

ภาควิชา
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ
ปีการศึกษา 2540

ลายมือชื่อนิสิต นิศาชล แสนละมุล
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

C726924 MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD:

Dunaliella salina / BETA-CAROTENE / CULTURE SYSTEMS
NISACHOL SAENLAMOOL : CULTURE OF Dunaliella salina
IN ROCK SALT WATER FOR BETA-CAROTENE. THESIS ADVISOR :
PROF. PIAMSAK MENASVETA, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR :
PRASAT KITTAKOOP, Ph.D. 86 pp. : ISBN 974-637-344-7.

Culture of Dunaliella salina in rock salt water for beta-carotene production was carried out in 3 experiments, 1) optimal cultured conditions for beta-carotene production, 2) comparison of culture systems, and 3) analysis of the cost of investment and the expected benefit. The first experiment was to find the optimal cultured conditions. D. salina was cultured in 10 liter-flask at KNO_3 concentrations of 0.5 and 1.0 g/l in modified J/1 medium. The result indicated that the medium of 0.5 g/l KNO_3 gave the higher content of carotenoid. D. salina was cultured in a $5.4 \times 1.3 \text{ m}^2$ pond at different depth (10, 20, 25 and 30 cm), it was found that the condition for an optimal growth rate with high content of carotenoid was at 20 cm.

In the second experiment, an extensive system without aeration carried out in a $6 \times 6 \text{ m}^2$ pond produced a maximum carotenoid content of 3.81 pg/cell, while that with aeration in a $25 \times 6 \text{ m}^2$ pond produced a maximum carotenoid content of 18.5 pg/cell. For intensive culture in a $38 \times 15 \text{ m}^2$ raceway pond with a paddle wheel for the water circulation produced the maximum carotenoid content of 82.8 pg/cell.

A cost-benefit analysis for an intensive culture of D. salina in a $12.5 \times 5 \text{ m}^2$ pond indicated that it is profitable within 5 years operation.

ภาควิชา.....

สาขาวิชา..... เทคโนโลยีทางชีวภาพ

ปีการศึกษา..... 2540

ลายมือชื่อนิสิต..... นิตชาพล แสนงาม

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... นิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... นิสิต



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. ประสาท กิตตะคุปต์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิดิวรรกุล และ รองศาสตราจารย์ สุชนา วิเศษสังข์ ซึ่งทุกๆ ท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ในการวิจัยมาด้วยดีตลอด และทุนการวิจัยในครั้งนี้ ได้รับมาจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ จึงขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบคุณ คุณสรวิศ เผ่าทองสุข นักวิจัยของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ให้คำแนะนำที่ดี คุณชลธยา ทรงรูป นิสิตภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเลที่ช่วยดูแลสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ คุณนิภา เตโชดำรงสิน ตลอดจนเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจ

ท้ายนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และญาติ ๆ ซึ่งสนับสนุนในด้านการเงิน และความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. วิธีดำเนินการทดลอง.....	17
3. ผลการทดลอง.....	30
4. วิเคราะห์ผลการทดลอง.....	61
5. สรุปผลการทดลองและขอเสนอแนะ.....	70
รายการอ้างอิง.....	73
ภาคผนวก.....	79
ประวัติผู้วิจัย.....	86

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. สูตรอาหารที่ปรับเปลี่ยนมาจากสูตรอาหาร Modified J/1.....	21
2. แสดงค่าปัจจัยแวดล้อมของการทดลองปรับเปลี่ยนสูตรอาหาร.....	31
3. แสดงค่าปัจจัยแวดล้อมของการทดลองระดับความลึก (10, 20 และ 30 ซม.).....	35
4. แสดงค่าปัจจัยแวดล้อมของการทดลองระดับความลึก (20, 25 และ 30 ซม.).....	36
5. แสดงค่าปัจจัยแวดล้อมของการทดลองเพาะเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง.....	40
6. แสดงค่าปัจจัยแวดล้อมของการทดลองเพาะเลี้ยงการใช้อากาศผ่านท่อ PVC.....	44
7. แสดงค่าปัจจัยแวดล้อมของการทดลองเพาะเลี้ยงแบบเข็ม.....	48
8. แสดงค่าปัจจัยแวดล้อมของการทดลองเพาะเลี้ยงแบบสองชั้นตอน (ชั้นที่ 1).....	54
9. แสดงค่าปัจจัยแวดล้อมของการทดลองเพาะเลี้ยงแบบสองชั้นตอน (ชั้นที่ 2).....	54
10. แสดงค่าปัจจัยแวดล้อมของการทดลองเพาะเลี้ยงแบบเข็ม ในการประเมินความคุ้มค่าต่อการลงทุนปรับเปลี่ยนสูตรอาหาร.....	57
11. การหามูลค่าปัจจุบันสุทธิของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคุณาภิเษลา ในน้ำเกลือสินเธาว์.....	58

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. แสดงส่วนประกอบภายในเซลล์ของ <i>Dunaliella bardawil</i>	5
2. แสดงสูตรโครงสร้างของ all-Trans และ 9-Cis betacarotene	8
3. แสดงการสะสมเบตาแคโรทีนของ <i>Dunaliella bardawil</i>	10
4. รูปภาพการทดลองปรับเปลี่ยนสูตรอาหาร	19
5. รูปภาพการทดลองระดับความลึก	20
6. รูปภาพการทดลองระบบการเพาะเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง (Extensive culture)	21
7. รูปภาพการทดลองระบบการเพาะเลี้ยงแบบใช้อากาศผ่านท่อ PVC	23
8. รูปภาพการทำงานของอากาศผ่านท่อ PVC ช่วยให้น้ำเลี้ยงเกิดการหมุนเวียน	23
9. รูปภาพการทดลองระบบการเลี้ยงแบบเข้มข้น (Intensive culture)	25
10. รูปภาพแสดงลักษณะของไบฟัด และการทำงานเพื่อให้น้ำเลี้ยงหมุนเวียน	25
11. รูปภาพการทดลองระบบการเพาะเลี้ยงแบบสองชั้นตอน (ชั้นที่ 1)	27
12. รูปภาพแสดงลักษณะบ่อ raceway รูปวงรี ขนาด 12.5 x 5 x 0.3 ลูกบาศก์เมตร การทดลองเพื่อประเมินความคุ้มค่าต่อการลงทุน	28
13. รูปภาพแสดงลักษณะของไบฟัดที่ใช้ในการทดลอง การประเมินความคุ้มค่าต่อการลงทุน	29
14. รูปภาพแสดงอุปกรณ์ที่ช่วยให้ไบฟัดหมุน เพื่อให้เกิดการหมุนเวียนของน้ำ	29
15. การเจริญของสาหร่ายคูนาลิเอลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีปริมาณสารอาหารต่างๆ กัน	32
16. ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายคูนาลิเอลลาที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีปริมาณสารอาหารต่างๆ กัน	32
17. ความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อในการทดลองปรับเปลี่ยนสูตรอาหาร.....	33
18. ความเข้มข้นของการทดลองปรับเปลี่ยนสูตรอาหาร.....	33
19. อุณหภูมิของการทดลองปรับเปลี่ยนสูตรอาหาร.....	34
20. การเจริญของสาหร่ายคูนาลิเอลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ระดับความลึก 10, 20 และ 30 ซม.	36

21. ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายคูลานาเลียเอลลาที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ระดับความลึก 10, 20 และ 30 ซม.....	37
22. ความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อในการทดลองระดับความลึก 10, 20 และ 30 ซม.....	37
23. ความเข้มแสงของการทดลองระดับความลึก 10, 20 และ 30 ซม.....	38
24. อุณหภูมิของการทดลองระดับความลึก 10, 20 และ 30 ซม.....	38
25. การเจริญของสาหร่ายคูลานาเลียเอลลาในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ระดับความลึก 20, 25 และ 30 ซม.	39
26. การเจริญของสาหร่ายคูลานาเลียเอลลาในระบบการเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง	41
27. การสะสมแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายคูลานาเลียเอลลา ในระบบการเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง	41
28. ความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อในระบบการเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง.....	42
29. ความเข้มแสงในระบบการเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง.....	42
30. อุณหภูมิในระบบการเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง.....	43
31. การเจริญของสาหร่ายคูลานาเลียเอลลาในระบบการเลี้ยง แบบใช้อากาศผ่านท่อ PVC.....	45
32. การสะสมแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายคูลานาเลียเอลลา ในระบบการเลี้ยงแบบใช้อากาศผ่านท่อ PVC	45
33. ความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อในระบบการเลี้ยงแบบใช้อากาศผ่าน PVC.....	46
34. ความเข้มแสงในระบบการเลี้ยงแบบใช้อากาศผ่านท่อ PVC.....	46
35. อุณหภูมิในระบบการเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง.....	47
36. การเจริญของสาหร่ายคูลานาเลียเอลลาในระบบการเลี้ยงแบบเข้ม	49
37. การสะสมแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายคูลานาเลียเอลลาในระบบการเลี้ยงแบบเข้ม	49
38. ความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อในระบบการเลี้ยงแบบเข้ม.....	50
39. ความเข้มแสงในระบบการเลี้ยงแบบเข้ม.....	50
40. อุณหภูมิในระบบการเลี้ยงแบบเข้ม.....	51
41. ความเข้มแสง (วันที่ฝนตก) ในระบบการเลี้ยงแบบเข้ม.....	51
42. อุณหภูมิ (วันที่ฝนตก) ในระบบการเลี้ยงแบบเข้ม.....	52

43. การเจริญของสาหร่ายคูนาลิเอลลาในระบบการเลี้ยง แบบสองขั้นตอน (ขั้นที่ 2) ที่มีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นต่างๆ กัน	55
44. การสะสมแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายคูนาลิเอลลาในระบบการเลี้ยง แบบสองขั้นตอน (ขั้นที่ 2) ที่มีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นต่างๆ กัน	55
45. ความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อในระบบการเลี้ยงแบบสองขั้นตอน (ขั้นที่ 2).....	56
46. การเจริญของสาหร่ายคูนาลิเอลลาในระบบการเลี้ยงแบบเข็ม เพื่อการประเมินความคุ้มค่าต่อการลงทุน	59
47. ความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อในระบบการเลี้ยงแบบเข็ม เพื่อการประเมินความคุ้มค่าต่อการลงทุน	60
48. แสดงลักษณะน้ำเลี้ยงขณะสาหร่ายมีการสะสมเบตาแคโรทีน.....	60