ชื่อวิทยานิพนธ์ การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ที่มีไฮโดรคาร์บอนสูงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล
ผู้เขียน นางสาวยศวดี สวัสดิรักษา
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2547

## บทคัดย่อ

คัดแยกสาหร่าย *Botryococcus braunii* ซึ่งเป็นสาหร่ายที่ผลิตไฮโดรคาร์บอนในปริมาณมากจากน้ำในอ่างเก็บน้ำมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยใช้คาปิลลารีปิเปต นำไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 ค่ากรด-เบส 6.7 ศึกษาการเติบโตของ *B. braunii* ในอาหารสังเคราะห์ Modified Chu 13 และ Kratz and Myers media ค่ากรด-เบส 6.7 โดยเลี้ยงในอ่างแก้วควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาให้แสง 16 ชั่วโมง ที่ความเข้มแสง 3,000, 5,000 และ 10,000 ลักซ์ ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น ($OD_{435}$) เท่ากับ 0.2 เลี้ยงในหลอดแก้วปริมาตร 200 มิลลิลิตร ให้อากาศผสม $CO_2$ 1% อัตรา 1 ลิตรต่อนาที ทำการเลี้ยงแบบกะ พบว่าสาหร่ายเติบโตสูงสุดในอาหาร Modified Chu 13 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.52 กรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์

ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลปรับค่ากรด-เบส 6.7 และไม่ปรับค่ากรด-เบส (ค่ากรด-เบส 7.8) เลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ให้อากาศผสม $CO_2$ 1% อัตรา 1 ลิตรต่อนาที พบว่าสาหร่ายเติบโตสูงสุดในน้ำทิ้งค่ากรด-เบส 6.7 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.62 กรัมต่อลิตร จากนั้นทดลองเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลโดยปรับปริมาณสารอาหาร (ไนเทรต) ให้ใกล้เคียงกับปริมาณอาหารสังเคราห์ Modified Chu 13 ค่ากรด-เบส 6.7 และน้ำทิ้งไม่ปรับปริมาณสารอาหารค่ากรด-เบส 6.7 เลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ให้อากาศผสม $CO_2$ 1% อัตรา 1 ลิตรต่อนาที พบว่าสาหร่ายเติบโตสูงสุดในน้ำทิ้งที่มีการปรับปริมาณสารอาหาร เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 18 วัน มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.22 กรัมต่อลิตร และเมื่อสกัดไฮโดรคาร์บอนโดยการทำแห้งสาหร่ายด้วยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่าได้ปริมาณเท่ากันคือ 16.98%ของน้ำหนักเซลล์แห้ง

ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *B. braunii* ในน้ำทิ้งปรับปริมาณสารอาหาร ค่ากรด-เบส 6.7 โดยเลี้ยงในขวดแก้วก้นแบนปริมาตร 2 ลิตร ความเข้มแสง 10,000 ลักซ์ ให้อากาศผสม $CO_2$ 1% อัตรา 5 ลิตรต่อนาที ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 0.2 และ 0.4 พบว่าเมื่อเลี้ยงที่ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น

เท่ากับ 0.2 สาหร่ายมีการเติบโตสูงสุด เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.24 กรัมต่อลิตร และเมื่อสกัดไฮโดรคาร์บอนโดยการทำแห้งสาหร่ายด้วยวิธีอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่ามีปริมาณไฮโดรคาร์บอน (16.72% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง) สูงกว่าที่ความหนาแน่น 0.4 (13.72% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง) จากนั้นทดลองเพิ่มอัตราการให้อากาศเป็น 7 ลิตรต่อนาที โดยใช้ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 0.2 และสภาวะต่างๆคงเดิม พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 13 วัน มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.49 กรัมต่อลิตร และเมื่อสกัดไฮโดรคาร์บอนโดยการทำแห้งสาหร่ายด้วยวิธีอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และวิธี Freeze drying พบว่าได้ปริมาณ 9.49% และ 23.87%ของน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ ซึ่งปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่สกัดได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของไฮโดรคาร์บอนด้วยเครื่อง thin layer chromatography (TLC) และ gas chromatography (GC) พบสารสควาลีนซึ่งเป็นสารที่เซลล์สาหร่าย *B. braunii* ผลิตขึ้น ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะนำมาผลิตไฮโดรคาร์บอนเพื่อใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิง นอกจากนี้สาหร่าย *B. braunii* ยังสามารถใช้ในการบำบัดน้ำทิ้งโดยลดปริมาณไนเตรทและฟอสเฟตในน้ำทิ้งลงได้ 87.8% และ 57.2% ตามลำดับ

| | |
|---|---|
| Thesis title | Cultivation of the Hydrocarbon-Rich Alga *Botryococcus braunii* in Effluent from Seafood Processing Plant |
| Author | Miss Yodsavadee Savaddiraksa |
| Major Program | Biotechnology |
| Academic Year | 2004 |

## Abstract


The hydrocarbon rich alga *Botryococcus braunii* were isolated by micropipette washing method from water samples collected from Prince of Songkla University's reservoir. Isolated algal colonies were cultivated in Modified Chu 13 at pH 6.7. Growth of *B. braunii* was studied in test tube containing each of 200 ml Modified Chu 13 and Kratz and Myers media with an initial algal density ($OD_{435}$) of 0.2. The alga were incubated in a glass rectangular water bath at a temperature of 25°C under 16:8 hour light and dark cycle with the light intensity of 3,000, 5,000 and 10,000 lux under air-lift conditions (air-1%$CO_2$ rate of 1 l/min) using batch culture. Comparison on growth of *B. braunii* in two synthetic media revealed that Modified Chu 13 exhibited a higher growth rate than Kratz and Myers media. The fastest growth rate was recorded under low light intensity (3,000 lux) with a dry weight of 3.52 g/l after 4 days cultivation.

Cultivation of *B. braunii* in effluent from seafood processing plant at pH 6.7 and pH 7.8 was investigated with the light intensity of 3,000 lux, air with 1%$CO_2$ rate of 1 l/min. A maximum dry weight of 3.62 g/l after 10 days cultivation in the effluent from at pH 6.7. In addition, *B. braunii* grew well in the effluent with adjusted nitrate nearly the same concentration as that in Modified Chu 13 at pH 6.7, air with 1%$CO_2$ rate of 1 l/min. The fastest growth rate with a dry weight of 2.22 g/l after 18 days cultivation. The extracted hydrocarbon from dried algal cells was dried in an oven at 80 °C and of constituted 16.98% of the total algal dry weight.

Moreover, the effect of initial algal density of 0.2 and 0.4 were carried out in 2 l conical flasks with the light intensity of 10,000 lux and air with 1%$CO_2$ rate of 5 l/min. It revealed that *B. braunii* in the effluent with adjusted nitrate (diluted 0.6 fold) at the initial

optical density of 0.2 exhibited the highest growth rate with a dry weight of 2.24 g/l after 14 days cultivation. The hydrocarbon content of dried algal cells, with an initial optical density of 0.2 (16.72% of the total algal dry weight) was higher than that using optical density of 0.4 (13.72% of the total algal dry weight). Thereafter, cultivation of *B. braunii* was conducted under the same conditions except the rate of air-1%$CO_2$ was increased to 7 l/min. Dry weight of 2.49 g/l were obtained after 13 days. A comparison of drying methods of *B. braunii*, before hydrocarbon extraction were analysed. The results indicated that the hydrocarbon content of dried algal cells by freeze dry (23.87% of the total algal dry weight) was higher than by drying at 80 $^{\circ}$C (9.49% of the total algal dry weight) and the percentage of hydrocarbon contents were significantly different ($P<0.05$). Furthermore, squalene was detected during hydrocarbon analysis with thin layer chromatography (TLC) and gas chromatography (GC) this indicated that. *B. braunii* produced hydrocarbon which can be used as biodiesel. In addition, the algae could reduced nitrate and phosphate concentration in the effluent by 87.8% and 57.2% ,respectively.