

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษากาเพาะเลี้ยงเซลล์จุลสาหร่ายเซลล์เดียว *Haematococcus pluvialis* เนื่องด้วยจุลสาหร่ายสกุลนี้สามารถผลิตสารประกอบแอสตาแซนทินซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง โดยการดำเนินงานแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน ในส่วนแรกคือส่วนของการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยได้ทำการศึกษาสภาวะการเจริญที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์จุลสาหร่ายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกแบบต่าง ๆ คือ แบบทรงกระบอก 3 ลิตรและ 17 ลิตร และแบบแผ่นแนวระนาบขนาด 17 และ 90 ลิตร จากผลการศึกษาสรุปได้ว่า สารอาหารสูตร F1 มีความเหมาะสมในการนำมาเพาะเลี้ยงเซลล์จุลสาหร่ายมากที่สุด ส่วนถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดทรงกระบอกขนาด 3 ลิตรมีประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงสูงที่สุด แต่ระบบรูปทรงนี้ไม่สามารถขยายขนาดได้ง่ายทำให้ไม่เหมาะกับการดำเนินงานในระดับอุตสาหกรรม ระบบแนวระนาบมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเซลล์จุลสาหร่าย *H. pluvialis* ที่อยู่ในเกณฑ์ดี โดยระบบแนวระนาบขนาด 90 ลิตร ให้เซลล์ที่มีความหนาแน่นสูงสุด 38×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.45 ต่อวัน ซึ่งช้ากว่าถังปฏิกรณ์รูปทรงเดียวกันขนาด 17 ลิตร (ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 40×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.52 ต่อวัน) เล็กน้อย แสดงว่าระบบนี้สามารถขยายขนาดได้ง่ายเพียงเพิ่มความยาวของระบบออกไปตามขนาดปริมาตรที่ต้องการ สำหรับสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์จุลสาหร่ายที่ใช้ในการดำเนินงานของถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแนวระนาบ คือ ค่าสัดส่วนพื้นที่อากาศไหลลงต่อพื้นที่อากาศไหลขึ้น (A_d/A_r) ในระบบเท่ากับ 0.4 ค่าอัตราเร็วการป้อนอากาศเท่ากับ 0.4 เซนติเมตรต่อวินาที ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1% โดยปริมาตร และค่าความเข้มข้นของแสงเท่ากับ 2,000 ลักซ์ นอกจากนั้นแล้ว ผลการวิจัยยังแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบในอุตสาหกรรมจริงได้ งานในส่วนที่ 2 คือ การศึกษาสภาวะการเหนี่ยวนำการผลิตสารสีแดงแอสตาแซนทินของเซลล์จุลสาหร่าย ซึ่งได้ทำการศึกษาสองตัวแปรหลัก คือ ปริมาณเซลล์เริ่มต้น และระดับความเข้มข้นของสารอาหาร ในสภาวะควบคุมทั้งในห้องปฏิบัติการและสภาวะทางธรรมชาติ จากผลการทดลองสรุปผลได้ว่า ผลของการเจือจางเซลล์เริ่มต้นเป็นสภาวะกระตุ้นที่ให้ปริมาณสารแอสตาแซนทินสูงที่สุดภายใต้สภาวะควบคุมในห้องปฏิบัติการคือ การเจือจางเซลล์เริ่มต้น 10 เท่า (ประมาณหนึ่งหมื่นเซลล์ต่อลิตร) และความเข้มแสง 6.5 กิโลลักซ์ (หลอดฟลูออเรสเซนต์ 6 หลอด) ซึ่งให้สารแอสตาแซนทิน 5.39% ต่อน้ำหนักแห้งต่อเซลล์หลังจากวันที่ 8 ของการกระตุ้น การศึกษาในส่วนสุดท้ายเป็นศึกษาเพื่อหาวิธีที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารแอสตาแซนทินออกจากเซลล์จุลสาหร่าย *H. pluvialis* พบว่าอะซิโตนเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดสำหรับการสกัดสารแอสตาแซนทิน ซึ่งการใช้รังสีไมโครเวฟร่วมกับการใช้ตัวทำละลายอะซิโตน เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถสกัดเอาสารแอสตาแซนทินออกมาจากตัวเซลล์จุลสาหร่าย *H. pluvialis* ได้ในปริมาณสูงและเร็วที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดอื่นๆ โดยสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับการใช้ในการสกัดสารแอสตาแซนทินด้วยวิธีไมโครเวฟคือ ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 นาที ให้ค่า % recovery สูงถึง 74% (4.79 มิลลิกรัมต่อกรัม)

The cultivation of *Haematococcus pluvialis* NIESS144 alga was thoroughly investigated as a potential source of astaxanthin. The research could be structured into three stages. The first stage is the cultivation of vegetative motile cells of *H. pluvialis*. In this stage, the cells were cultivated with the optimal growth conditions in airlift photobioreactors. A comparative evaluation of the performance of the different airlift systems with different configuration was carried out, and the systems to be evaluated included the 3 and 17L cylindrical airlift photobioreactors (C-ALPBR) and 17 and 90L flat panel airlift photobioreactors (FP-ALPBR). The 3L C-ALPBR clearly outperformed the others but the difficulty regarding the scaleup of such system posed some serious concern. FP-ALPBR was proposed as an alternative cultivation system where the upscale was achieved simply by increasing the length of the reactor. The performance of the 90L system was still quite satisfactorily where the attainable maximum cell density of 41×10^4 cell mL⁻¹ and specific growth rate of 0.52 d⁻¹ were achieved. The optimum for the growth of *H. pluvialis* in the FP-ALPBR was obtained with the F1 medium where: pH = 7, light illumination at 2,000 Lux, aeration rate of 0.4 cm s⁻¹ and ratio of downcomer and riser of 0.4. Semi continuous cultures which could be periodically harvested were successfully implemented. Of all the systems investigated in this research, the 90L FP-ALPBR was found to be the most cost effective. The second stage is to determine suitable conditions for the induction of astaxanthin. In this stage, cells were grown as cyst and started to accumulate astaxanthin. This experiment was achieved in 1.5L bubble column photobioreactor. Parameters of interest included nutrient concentration, initial cell concentrations, light intensity and mode of illumination (indoor/outdoor). The maximum astaxanthin production at 5.39% by weight (dry) was obtained from indoor condition after 8 days at 10 times diluted final harvested cell concentration and 6.5 klux light intensity. In the last stage, various techniques were examined for the extraction of astaxanthin from the cells, i.e. solvent extraction, maceration, soxhlet extraction, ultrasound assisted extraction (UAE), and microwave assisted extraction (MAE). For all cases, acetone was found to give the highest astaxanthin recovery compared to the performances of other selected solvents, i.e. methanol, ethanol, and acetonitrile. Among the various methods, MAE provided the best extraction performance, with astaxanthin recovery of 74% (4.79 mg g⁻¹) being achieved at the extraction temperature of 75°C and 3 min extraction time.