

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการใช้ประโยชน์จากกลีเซอรอลที่ได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ในการนำมาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเลสายพันธุ์ *Schizochytrium limacinum* ATCC MYA-1381 เพื่อผลิต กรดโคโคซาเฮกซาโนอิก (Docosahexaenoic acid: DHA) หรือดีเอชเอ จากการศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของ กลีเซอรอล พบว่า มีค่าความเป็นกรดค่า (pH) เท่ากับ 9.98 มีความหนืดสูง และสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ เมื่อนำมา ผสมในอาหารเพาะเลี้ยง พบว่า สาหร่ายไม่สามารถเจริญเติบโตได้ จึงทำการปรับสภาพกลีเซอรอล โดยการเจือจาง ด้วยน้ำกลั่นและปรับค่าพีเอชให้มีค่าประมาณ 6.5 แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงและแยกส่วนใสเพื่อนำไปผสมกับน้ำ ทะเลสังเคราะห์ พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ในกลีเซอรอลที่ปรับสภาพแล้ว และจากการศึกษาผลของ การให้แสงและระยะเวลาการให้แสงต่อการเจริญในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับฟลากซ์เชย่า พบว่า ภายใต้การ เพาะเลี้ยงที่ไม่ให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง สาหร่ายมีการเจริญสูงกว่าภายใต้การเพาะเลี้ยงแบบให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง และสภาวะให้แสงต่อไม่ให้แสง 14:10 ชั่วโมง โดยให้มวลชีวภาพสูงที่สุดเท่ากับ 8 กรัมต่อลิตร จึงเลือกใช้ สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไม่ให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง ในการทดลองขั้นต่อไป จากการศึกษาผลของปริมาณร อาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตดีเอชเอของสาหร่าย พบว่าที่ระดับปริมาณอาหาร 30 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายมีมวลชีวภาพสูงที่สุด 8 กรัมต่อลิตร และให้ปริมาณดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 400 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง เมื่อเทียบกับปริมาณอาหาร 15, 45, 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นของกลีเซอรอลจาก กระบวนการผลิตไบโอดีเซล (25, 50, 75, 100, 125 และ 150 กรัมต่อลิตร) เพื่อเติมลงในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงแทน กลูโคส พบว่าสาหร่ายให้ผลผลิตสารดีเอชเอสูงที่สุดเท่ากับ 510 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งในวันที่ 5 ของการ เพาะเลี้ยงเมื่อใช้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และเมื่อเปรียบเทียบการใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน 3 ชนิด คือ กลูโคส กลีเซอรอลบริสุทธิ์ และ กลีเซอรอลจากการผลิตไบโอดีเซล พบว่าสาหร่ายมีการผลิตสารดีเอชเอ เท่ากับ 536, 667 และ 586 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ เมื่อขยายผลการผลิตภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร ภายใต้การควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 25 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที และปรับอัตรา การให้อากาศเท่ากับ 2 vvm ไม่ให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง พบว่าสาหร่าย *S. limacinum* ATCC MYA-1381 มีมวล ชีวภาพสูงที่สุดเท่ากับ 12 กรัมต่อลิตร และสามารถผลิตสารดีเอชเอสูงสุดประมาณ 950 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 120 ผลการวิจัยแสดงให้เห็นถึงศักยภาพการใช้ประโยชน์จากกลีเซอรอลที่เป็นผลพลอยได้จาก กระบวนการผลิตไบโอดีเซล นำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนทางเลือกราคาถูกในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อผลิตสาร ดีเอชเอที่มีมูลค่าสูงได้เป็นอย่างดี

This research aimed to produce docosahexaenoic acid or DHA from *Schizochytrium limacinum* strain ATCC MYA-1381, a marine microalga, by using glycerol, a by-product obtained from biodiesel production. Preliminary studies for the properties of glycerol showed that it had pH value at 9.98, dark brown in color and high in viscosity. When it was directly mixed with the cultivation medium, the algae could not grow. Thus, pretreatments of glycerol by diluting with distilled water and pH adjustment to 6.5 were required. Then, the synthetic seawater was added to the supernatant obtained after the glycerol was centrifuged. It was found that the algae can grow well. Hereafter, effects of light and no light duration on cell growth in shake flask culture were determined. It was found that under the condition of no light supply for 24 hr, the algae gave the highest biomass equaled to  $8 \text{ gL}^{-1}$  compared to the condition of 24 hr light supply and the condition of dark: light (14:10 hr). Therefore, the condition of 24 hr no light supply was chosen. Next, effect of medium volumes on cell growth and DHA content were investigated. It was found that at the 30 % medium volume, the maximum biomass of  $8 \text{ gL}^{-1}$  and the highest amount of DHA at  $400 \text{ mgG}^{-1}$  were obtained when compared to other volumes at 15%, 45%, 60%, and 75%. Furthermore, initial glycerol concentration was also conducted by replacing glucose with 25, 50, 75, 100, 125, and  $150 \text{ gL}^{-1}$  of glycerol into the 30 % medium volume. The highest DHA at  $510 \text{ mgG}^{-1}$  was obtained within 5 days of cultivation when  $50 \text{ gL}^{-1}$  glycerol was added. Moreover, different carbon sources as glucose, commercial glycerol, and glycerol waste at  $50 \text{ gL}^{-1}$  in each were each investigated for DHA production. The results showed that the DHA content at approximately 536, 667 and  $586 \text{ mgG}^{-1}$  cell dry weight was obtained respectively. Finally, DHA production was carried out in a 5 L bioreactor under batch fermentation condition. The optimal conditions obtained from flask scale as  $25^\circ\text{C}$ , 150 rpm, aeration rate at 2 vvm and without light supply were used. The results illustrated that the maximum dry weight of algal biomass at  $12 \text{ gL}^{-1}$  and the highest amount of DHA at  $950 \text{ mgG}^{-1}$  were gained within 120 hr cultivation. This research proved that the glycerol obtained from biodiesel production has a potential to use as alternative cheap carbon source to produce DHA, a higher value chemical, from a marine microalgae.