

วารสารวิศวกรรมศาสตร์

การกระตุ้นแอสตาแซนทีนใน *H.pluvialis* โดยใช้เครื่อง ปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบน

วรเดช พูนคำ^{1,a}, สรวิศ เผ่าทองสุข^{2,3,b}, และ ประเสริฐ ภาวนันต์^{1,c,*}

1 ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ ประเทศไทย 10330

2 ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ ประเทศไทย 10330

3 ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ปทุมธานี ประเทศไทย 12120

อีเมล: woradej_p@hotmail.com^a, sorawit@biotec.or.th^b, prasert.p@chula.ac.th^{c,*}

บทคัดย่อ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการกระตุ้นแอสตาแซนทีนในจุลสาหร่าย *H.pluvialis* โดยทำการศึกษาในเครื่องปฏิกรณ์ 2 ชนิดได้แก่ เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหออากาศและเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบน โดยสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการกระตุ้นแอสตาแซนทีนที่ได้รับจากงานวิจัยนี้ได้แก่ การกระตุ้นโดยการใช้น้ำเปล่าที่ไม่ใส่สารอาหาร การกระตุ้นโดยการใช้สัดส่วนของคาร์บอนไดออกไซด์เป็น 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และการกระตุ้นโดยการใช้อุณหภูมิการกระตุ้นที่ 33 องศาเซลเซียส โดยสภาวะดังกล่าวสามารถกระตุ้นให้เซลล์สะสมแอสตาแซนทีนในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหออากาศได้เท่ากับ 18.21 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร (3.64 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง) โดยไม่พบการตายของเซลล์เกิดขึ้นเลย และเมื่อใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบนที่สภาวะแวดล้อมเดียวกัน โดยกำหนดให้อัตราส่วนของพื้นที่ให้อากาศต่อพื้นที่ที่ไม่ให้อากาศเป็น 0.4 และความเร็วของอากาศเป็น 0.4 เซนติเมตรต่อวินาที สามารถกระตุ้นแอสตาแซนทีนได้เป็น 26.63 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร (5.32 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง) โดยไม่พบการตายของเซลล์เช่นกัน

คำสืบค้น: จุลสาหร่าย, รงควัตถุ, แคโรทีนอยด์, แอสตาแซนทีน, ฮีมาโตคอคคัส, พลูวียอลิส

วารสารวิศวกรรมศาสตร์ (ISSN: 1906-3636) ปีที่ 4 ฉบับที่ 4

วันที่ส่ง 12 ตุลาคม 2555

วันที่ตอบรับ 3 กรกฎาคม 2556

วันที่ตีพิมพ์ 20 กันยายน 2556

Online at <http://www.ej.eng.chula.ac.th/>

DOI:10.4186/ejth.2012.4.4.19

Astaxanthin Induction in *H. Pluvialis* Using Flat Panel Airlift Photobioreactor

Woradej Poonkum^{1,a}, Sorawit Powtongsook^{2,3,b}, and Prasert Pavasant^{1,c,*}

¹ Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

² Center of Excellence for Marine Biotechnology, Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

³ National Center of Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Pathumthani 12120, Thailand

E-mail: woradej_p@hotmail.com^a, sorawit@biotec.or.th^b, prasert.p@chula.ac.th^{c,*}

Abstract. Astaxanthin induction from *H. pluvialis* using bubble column and flat panel airlift photobioreactors was investigated. Suitable induction conditions were the use of sterilized clean water, aeration with 3% carbon dioxide at 330°C. These conditions could stimulate 18.21 g/m³ (3.64% dry wt) of astaxanthin in the bubble column photobioreactor without an apparent loss of cells. Flat panel airlift photobioreactor was studied under these induction conditions. The results indicate that the airlift with the ratio between the downcomer and riser cross section area (A_d/A_r) of 0.4 and superficial air velocity of 0.4 cm/s could accumulate the most astaxanthin at 26.63 g/m³ (5.32% dry wt) without cell losses.

Keywords: Microalgae, pigment, carotenoid, astaxanthin, haematococcus pluvialis.

Engineering Journal (ISSN: 1906-3636) Volume 4 Issue 4

Received 12 October 2012

Accepted 3 July 2013

Published 20 September 2013

Online at <http://www.ej.eng.chula.ac.th/>

DOI:10.4186/ejth.2012.4.4.19

1. บทนำ

จุลสาหร่าย (Microalgae) มีความสามารถในการผลิตผลิตภัณฑ์หรือสารประกอบทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงและมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงกว่ากลุ่มแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น ๆ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกทางชีวภาพ รงควัตถุสีแดงแอสตาแซนทินเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงกว่ากลุ่มแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น ๆ ค่อนข้างมาก (มีค่าสูงกว่า 6,000 เท่าเมื่อเทียบกับวิตามินซี 800 เท่าเมื่อเทียบกับโคเอนไซม์คิวเทนและ 500 เท่าเมื่อเทียบกับวิตามินอี) นอกจากนี้มีรายงานว่าแอสตาแซนทินสามารถช่วยต่อต้านโรคมะเร็ง ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกัน ช่วยยับยั้งโรคหัวใจ และโรคเกี่ยวกับเส้นโลหิตอีกด้วย [1, 2, 3]

H.pluvialis เป็นจุลสาหร่ายน้ำจืดชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่าภายใต้สภาวะการกระตุ้นที่เหมาะสม เช่น สภาวะสารอาหารที่ต่ำ สภาวะความเข้มแสงสูง หรือสภาวะอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม จะสามารถผลิตสารแอสตาแซนทินได้สูงถึง 2-3% ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ [4, 5, 6] ซึ่งจะสูงกว่าการผลิตแอสตาแซนทินด้วยวิธีอื่น ๆ เช่น สกัดจากเปลือกของสัตว์ทะเลประเภทกุ้ง หรือปู โดยสภาวะการกระตุ้นที่เหมาะสมดังกล่าวจะเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากเซลล์สีเขียวขนาดเล็กซึ่งมีแฟลคเจลลาช่วยในการเคลื่อนที่เรียกว่าเวเจเตทีฟเซลล์ (Vegetative Cell) เข้าสู่เซลล์ในระยะพักตัวหรือซิสต์ (Cyst) ซึ่งจะสลายแฟลคเจลลาทิ้งไปและมีการสร้างผนังเซลล์ให้หนาขึ้นรวมทั้งจะมีการสังเคราะห์รงควัตถุสีแดงแอสตาแซนทินกระจายอยู่ในไซโทพลาสซึมภายในเซลล์ นอกจากนี้แอสตาแซนทินที่สะสมในจุลสาหร่าย *H.pluvialis* ส่วนใหญ่จะมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบเอสเตอร์ซึ่งมีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าแบบที่มีโครงสร้างโมเลกุลแบบอิสระที่สังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีอีกด้วย [1]

อย่างไรก็ตาม *H.pluvialis* เป็นจุลสาหร่ายที่ค่อนข้างบอบบางไม่สามารถทนต่อสภาวะการกระตุ้นที่มากเกินไปจนเป็นผลทำให้เซลล์เกิดการตายได้ นอกจากนี้น้ำหนักเซลล์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะซิสต์จะส่งผลให้เกิดการรวมกลุ่มของเซลล์ ทำให้ตกตะกอนภายในเครื่องปฏิกรณ์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการกระตุ้นแอสตาแซนทินจากจุลสาหร่าย *H.pluvialis* โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบน (Flat Panel Airlift Photobioreactor) เนื่องจากระบบนี้เป็นระบบที่ออกแบบง่าย ราคาไม่แพง ให้การผสมผสานการไหลวนที่ค่อนข้างดีและมีแรงเฉือนต่ำเหมาะกับการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย *H.pluvialis* ซึ่งเป็นเซลล์ที่ไม่ทนต่อแรงเฉือน นอกจากนี้ยังขยายขนาดได้ง่ายเพียงแค่เพิ่มความยาวของระบบและไม่ส่งผลต่อความดันลดภายในระบบอีกด้วย

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1. วิธีการเลี้ยงจุลสาหร่าย *H.pluvialis* ในสภาวะเวเจเตทีฟเซลล์

จุลสาหร่าย *H.pluvialis* (NIES-144) ถูกเลี้ยงในขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร ด้วยสารอาหารสูตร F1-medium (ส่วนประกอบของสารอาหารสูตร F1-medium ประกอบไปด้วย $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 9.87 มิลลิกรัมต่อลิตร KNO_3 410 มิลลิกรัมต่อลิตร Na_2HPO_4 30 มิลลิกรัมต่อลิตร $\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 2.22 มิลลิกรัมต่อลิตร $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 16.41 มิลลิกรัมต่อลิตร $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.008 มิลลิกรัมต่อลิตร $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ มิลลิกรัมต่อลิตร MoO_3 มิลลิกรัมต่อลิตร Cr_2O_3 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร SeO_2 0.036 มิลลิกรัมต่อลิตร $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.0078 มิลลิกรัมต่อลิตร $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)$ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ วิตามิน B12 12 ไมโครกรัมต่อลิตร) ที่สภาวะความเข้มแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ขนาด 2,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25 ± 2 องศา

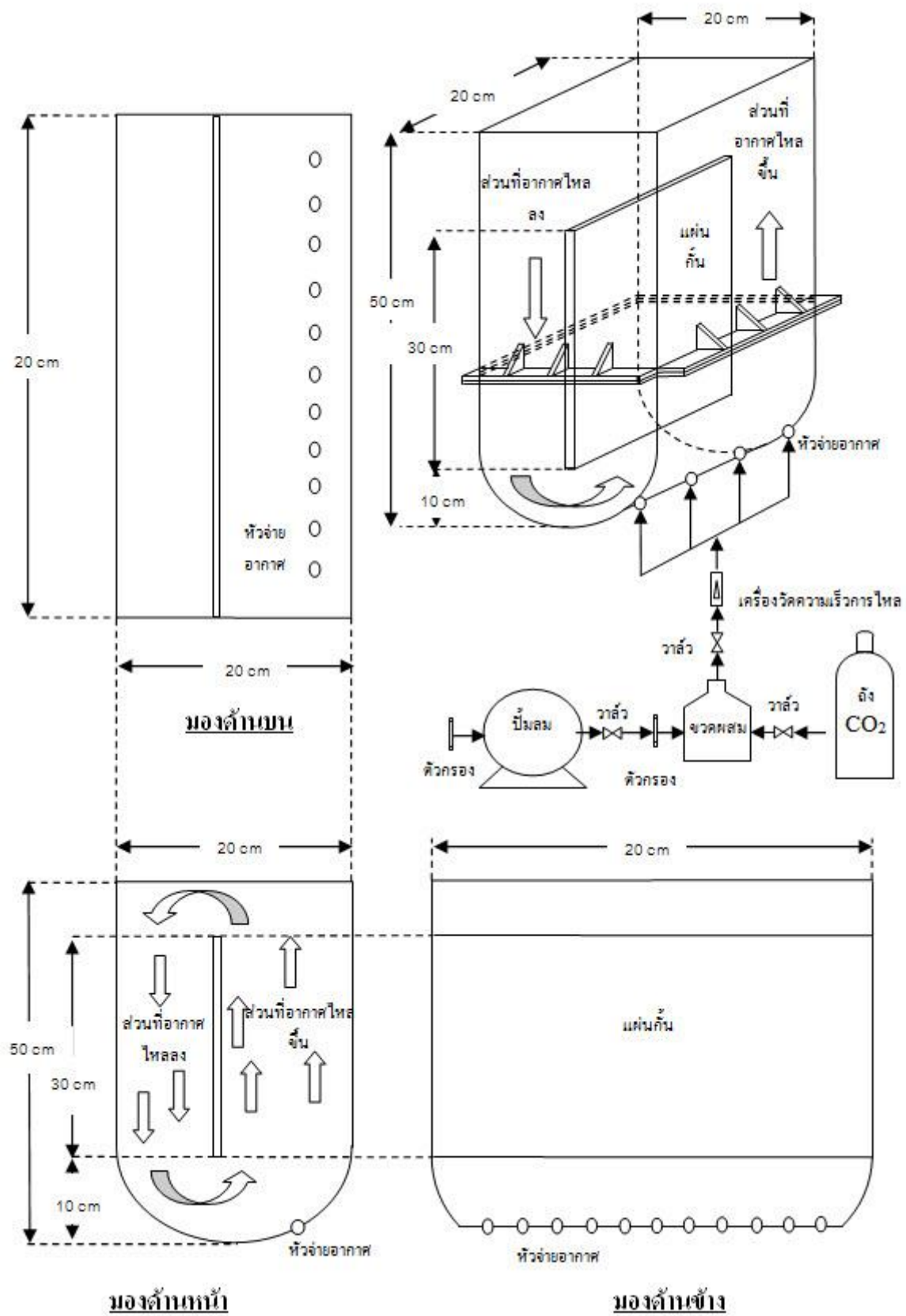
เซลล์ หลังจากนั้นเมื่อจุลสารหยาดโตเต็มที่แล้วในขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร เซลล์ทั้งหมดจะถูกนำไปเลี้ยงต่อในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหออากาศ (Bubble Column Photobioreactor) ขนาด 5 และ 10 ลิตรที่สภาวะเดียวกันเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบนขนาด 17 ลิตร โดยระบบดังกล่าวจะเลี้ยงที่โรงเรือนไอระเหย (Evaporative Room) เพื่อควบคุมอุณหภูมิอยู่ในช่วงระหว่าง 25 ± 4 องศาเซลเซียส สำหรับสภาวะที่ใช้เลี้ยงในโรงเรือนไอระเหยจะใช้ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ อัตราการให้อากาศ 0.4 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อวินาที อัตราส่วนพื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_0/A_i) เป็น 0.4 และอัตราส่วนของกาซคาร์บอนไดออกไซด์โดยปริมาตรเป็น 1 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเมื่อเซลล์มีความหนาแน่นตามที่ต้องการจะทำการแยกเซลล์ออกจากสารอาหารด้วยเครื่องแยกที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที (2054 xg) อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เซลล์หัวเชื้อที่ปราศจากสารอาหารจะถูกนำไปทดลองเลี้ยงเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการกระตุ้นแอสดาแซนทินในเครื่องปฏิกรณ์แบบหออากาศขนาด 1.5 ลิตรและเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกขนาด 17 ลิตรต่อไป ทั้งนี้ความหนาแน่นเซลล์ที่เกิดขึ้นจากการทดลองจะถูกนับผ่านกล้องจุลทรรศน์และปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่ใช้ทำการทดลองจะมีค่าเท่ากับ 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรในทุก ๆ การทดลอง

2.2. วิธีการกระตุ้นแอสดาแซนทินในจุลสารหยาด *H. pluvialis*

การกระตุ้นแอสดาแซนทินในงานวิจัยนี้ทำการจะทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ 2 ชนิดด้วยกันคือ เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหออากาศและเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบน โดยรูปที่ 1 และ 2 แสดงลักษณะรูปร่าง ขนาดและมิติของเครื่องปฏิกรณ์ทั้งสองชนิด โดยในระบบการทดลองดังกล่าวจะทำการกรองอากาศผ่านเครื่องกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตรก่อนนำมาผสมกับคาร์บอนไดออกไซด์ในขวดผสม หลังจากนั้นทำการกระตุ้นแอสดาแซนทินโดยการปรับสัดส่วนของกาซคาร์บอนไดออกไซด์และความเร็วของอากาศตามสัดส่วนที่ต้องการก่อนเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งการกระตุ้นแอสดาแซนทินในการทดลองจะใช้สัดส่วนของกาซคาร์บอนไดออกไซด์เป็น 0-5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรและความเร็วของอากาศเป็น 0.2-0.8 เซนติเมตรต่อวินาที ส่วนความเข้มแสงที่ใช้ในการกระตุ้นแอสดาแซนทินจะใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ร่วมกับแผ่นสะท้อนแสงโดยความเข้มแสงที่ใช้มีค่าเท่ากับ 35,000 ลักซ์ สำหรับการทดลองการกระตุ้นแอสดาแซนทินโดยใช้อุณหภูมิจะทำการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการทดลองเป็น 30-37 องศาเซลเซียส โดยจะใช้ระบบน้ำหล่อเย็นและลมเย็นเพื่อควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงที่ต้องการ นอกจากนี้สัดส่วนขนาดของพื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_0/A_i) ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบนในการทดลองจะใช้สัดส่วนเป็น 0.2-0.8 สำหรับการวัดความเข้มแสงจะใช้เครื่องวัดความเข้มแสงรุ่น LX-50 Digicon

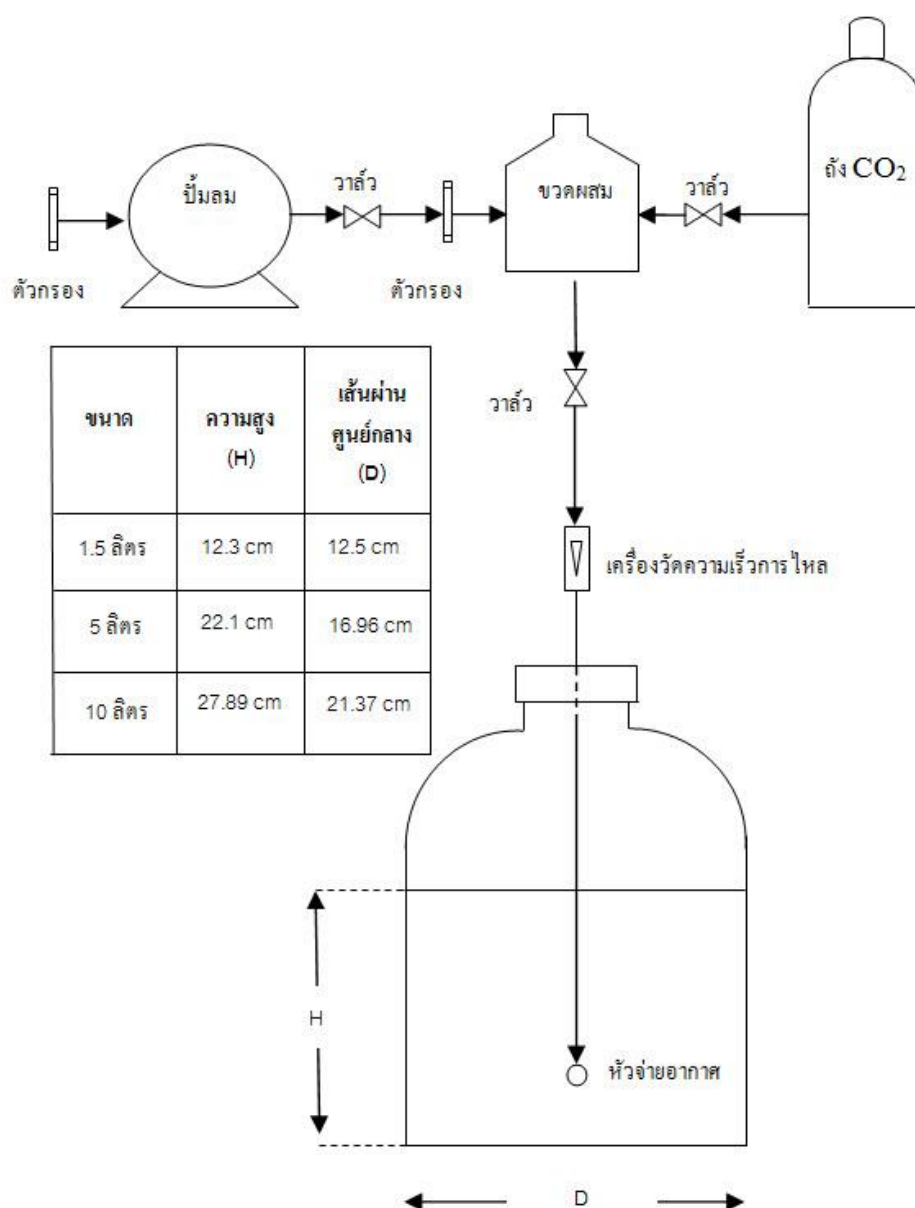
2.3. วิธีการสกัดและการวิเคราะห์แอสดาแซนทิน

ในกระบวนการวิเคราะห์แอสดาแซนทินจำเป็นต้องทำลายผนังเซลล์เพื่อให้แอสดาแซนทินที่อยู่ภายในเซลล์ออกมาละลายในตัวทำละลายก่อน หลังจากนั้นจึงค่อยนำสารตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์แอสดาแซนทิน โดยในกระบวนการทำให้เซลล์แตกจะใช้เซลล์ตัวอย่างปริมาณ 1 มิลลิลิตร มาทำการแยกสารอาหารออกจากเซลล์ด้วยเครื่องแยกที่ความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที (1048 xg) เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำการเติมเมทานอลเพื่อใช้เป็นตัวทำละลายลงไปในเซลล์และใช้เครื่องปั่นเซลล์บดให้ผนังเซลล์แตก (สังเกตว่าเมื่อดเซลล์เริ่มเป็นสีขาวแสดงว่าเซลล์แตกออกหมดแล้วจึงหยุดปั่น) แอสดาแซนทินที่อยู่ภายใน



รูปที่ 1 ลักษณะรูปร่าง ขนาดและมิติของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบน

เซลล์จะแตกออกมาและละลายในเมทานอล หลังจากนั้นจึงทำการแยกกากเซลล์ออกจากสารละลายด้วยเครื่องแยกอีกครั้งที่ความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที (1048 xg) เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณแอสตาแซนทินด้วยเครื่อง HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) โดยใช้คอลัมน์ C-18 ขนาด 4.6x150 มิลลิเมตร โดยสภาวะที่ใช้ทำการวิเคราะห์จะใช้ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที และเวลาในการวิเคราะห์ 5 นาที สำหรับสัดส่วนโดยปริมาตรของโมบายเฟส (Mobile Phase) ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์จะใช้ 79.9 เปอร์เซ็นต์อะซิโตนไนไตรล์ (Acetonitrile) 10 เปอร์เซ็นต์เมทานอล (Methanol) 10 เปอร์เซ็นต์ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำ นอกจากนี้ในทุก ๆ ขั้นตอนของสกัดและวิเคราะห์จะทำการทดลองในที่มีดเนื่องจากแอสตาแซนทินเป็นสารแคโรทีนอยด์ที่มีความไวต่อแสง



รูปที่ 2 ลักษณะรูปร่าง ขนาดและมิติของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบห่ออากาศ

2.4. วิธีการวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง

ในการวิเคราะห์น้ำหนักแห้งจะทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ในวันสุดท้ายของการทดลองโดยจะทำการแยกเซลล์ออกจากสารอาหารด้วยเครื่องแยกที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที (2054 xg) อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เซลล์ที่ได้จะถูกนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -2°C หลังจากนั้นเซลล์แช่แข็งที่ได้จะถูกทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิดน้ำ (Freeze-Dry) ที่อุณหภูมิ -42°C และความดัน 1.58×10^{-5} บาร์ ก่อนนำไปชั่งน้ำหนัก

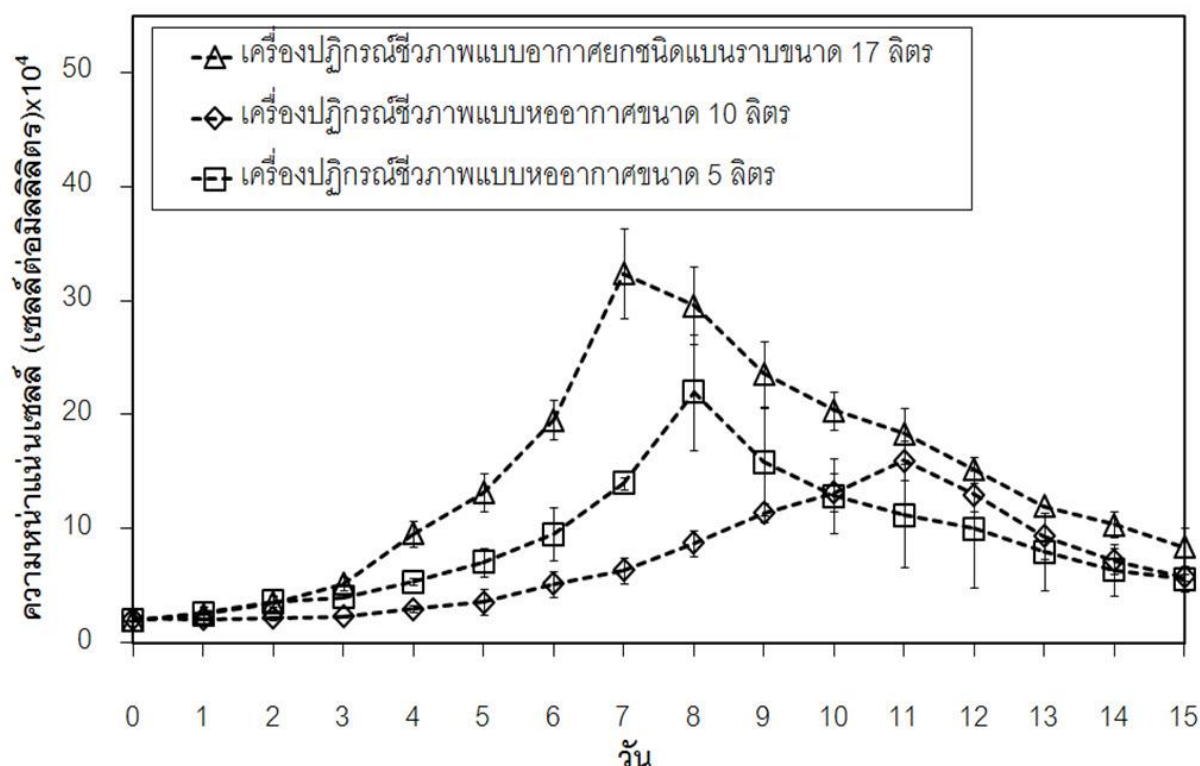
2.5. ขั้นตอนการทดลอง

ในการทดลองจะทำการเพาะเลี้ยงจุลสารห่วย *H.pluvialis* ในสภาวะเวเจเตทีฟเซลล์ (Vegetative Cell) เพื่อให้ได้ความหนาแน่นเซลล์ที่สูงก่อนโดยจะทำการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบห่ออากาศขนาด 5 และ 10 ลิตร กับเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบนขนาด 17 ลิตร หลังจากนั้นเซลล์ในสภาวะเวเจเตทีฟที่ได้จะถูกนำไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการกระตุ้นแอสตาแซนทินในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบห่ออากาศขนาด 1.5 ลิตร โดยสภาวะที่ใช้ทำการศึกษา ได้แก่ การเจือจางสารอาหาร การเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการกระตุ้นแอสตาแซนทินแล้วหลังจากนั้นจึงทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบน โดยสภาวะที่ใช้ศึกษาได้แก่ การเปลี่ยนแปลงความเร็วของการให้อากาศและการเปลี่ยนพื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_0/A_r)

3. ผลการทดลองและการวิจารณ์

3.1. ผลของการเลี้ยงเซลล์จุลสารห่วย *H.pluvialis* ในสภาวะเวเจเตทีฟเซลล์

การเลี้ยงจุลสารห่วย *H.pluvialis* ในสภาวะเวเจเตทีฟเซลล์ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบห่ออากาศขนาด 5 และ 10 ลิตร กับเครื่องปฏิกรณ์แบบชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบนขนาด 17 ลิตร โดยความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันของเครื่องปฏิกรณ์ทั้งสองชนิดจะแสดงดังรูปที่ 3 ผลการศึกษาพบว่าเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบนขนาด 17 ลิตรจะให้ความหนาแน่นเซลล์สูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 3.24×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรในวันที่ 7 ของการทดลอง ส่วนเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบห่ออากาศขนาด 5 และ 10 ลิตร จะให้ความหนาแน่นเซลล์น้อยกว่าเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบนขนาด 17 ลิตร โดยความหนาแน่นเซลล์ที่ได้จะมีค่าเท่ากับ 2.2×10^5 และ 1.6×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรในวันที่ 8 และ 11 ของการทดลองตามลำดับ



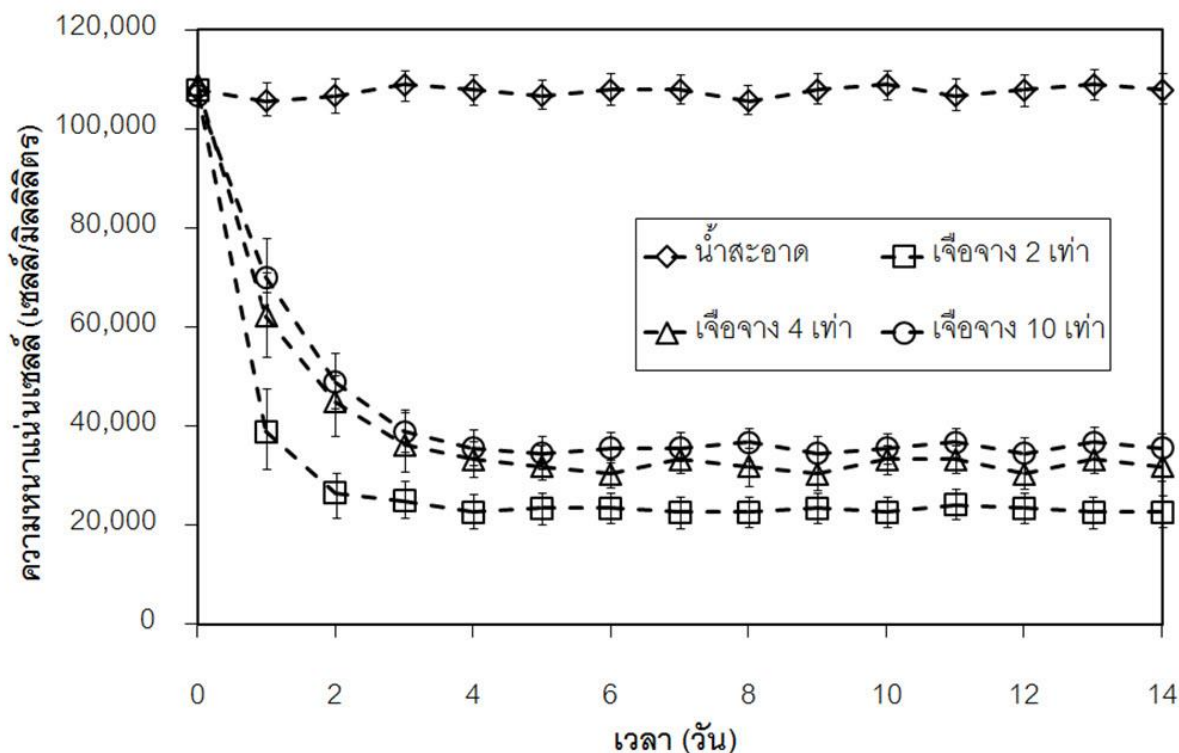
รูปที่ 3 ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันในเครื่องปฏิกรณ์แบบอากาศชนิดแบนขนาด 17 ลิตร และเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหออากาศขนาด 5 และ 10 ลิตร

3.2. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการกระตุ้นแอสตาแซนทินในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบหออากาศ (Bubble Column Photobioreactor)

3.2.1. การศึกษาผลกระทบของการเจือจางสารอาหารเพื่อการกระตุ้นแอสตาแซนทิน

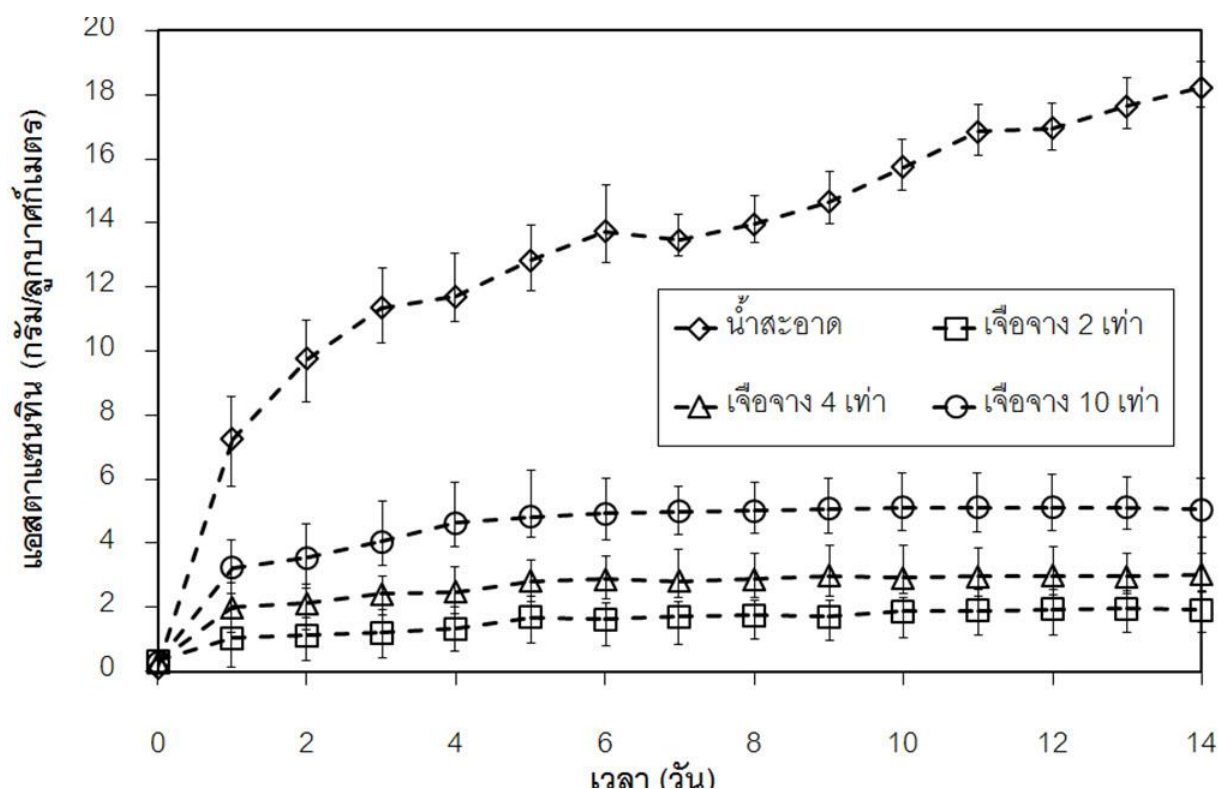
ในการศึกษาผลกระทบของการเจือจางสารอาหารเพื่อการกระตุ้นแอสตาแซนทินจะทำการศึกษาที่สภาวะการเจือจางสารอาหาร F1-Medium ด้วยน้ำสะอาดในปริมาณ 2 4 และ 10 เท่า เพื่อเปรียบเทียบกับการใช้ น้ำสะอาดที่ไม่ได้ใส สารอาหาร โดยผลการศึกษาปริมาณแอสตาแซนทินที่เกิดขึ้นต่อวัน ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวัน น้ำหนักแห้ง และสัดส่วนแอสตาแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง (โดยน้ำหนัก) เมื่อทำการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอาหารจะได้ผลการเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 4(ก) 4(ข) และตารางที่ 1 ตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณแอสตาแซนทินจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันแรกของการกระตุ้นและหลังจากนั้นจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นช้าลงเมื่อเวลาผ่านไป โดยสภาวะการใช้ น้ำสะอาดที่ไม่ใสสารอาหารเป็นสภาวะที่สามารถกระตุ้นแอสตาแซนทินได้มากที่สุดซึ่งมีปริมาณแอสตาแซนทินในวันสุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 18.21 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรหรือคิดเป็น 3.64 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง สำหรับสภาวะการเจือจางสารอาหาร 2 4 และ 10 เท่า สามารถกระตุ้นแอสตาแซนทินได้น้อยกว่าสภาวะน้ำสะอาดไม่ใสสารอาหารโดยมีปริมาณแอสตาแซนทินในวันสุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 1.92 3.03 และ 5.05 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรหรือคิดเป็น 0.92 1.21 และ 1.87 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งตามลำดับ นอกจากนี้ในสภาวะการเจือจางสารอาหาร 2 4 และ 10 เท่า ยังพบการปนเปื้อน

ของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นเกิดขึ้นได้ง่ายแต่ในขณะที่สภาวะการใช้น้ำสะอาดที่ไม่ใส่สารอาหารจะไม่พบการปนเปื้อนของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นแต่อย่างใด



รูปที่ 4(ก) ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันเมื่อทำการเจือจางสารอาหาร : คาร์บอนไดออกไซด์ 3% โดยปริมาตร อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

ดังนั้นเมื่อพิจารณาความหนาแน่นของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปจะพบว่าในสภาวะที่มีการเจือจางสารอาหารในช่วง 1-3 วันแรก เซลล์จะมีการตายเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากนั้นความหนาแน่นเซลล์จะเริ่มคงที่ตลอดการทดลองโดยความหนาแน่นเซลล์ในวันสุดท้ายของการทดลองที่สภาวะการเจือจางสารอาหาร 2 4 และ 10 เท่า มีค่าเท่ากับ 2.2×10^4 3.2×10^4 และ 3.5×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ แต่ในขณะที่สภาวะน้ำสะอาดที่ไม่ใส่สารอาหารความหนาแน่นเซลล์จะมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าในช่วง 3 วันแรกของการทดลอง จุลสาหร่าย *H. pluvialis* ยังไม่สามารถปรับตัวกับสภาวะการกระตุ้นเนื่องจากลดสารอาหารอย่างทันที จึงเป็นผลทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย จึงเป็นผลทำให้ความหนาแน่นของเซลล์มีค่าลดลงในช่วงแรกของการทดลอง หลังจากนั้นเมื่อจุลสาหร่าย *H. pluvialis* เริ่มเข้าสู่สภาวะซิส (Cyst) เซลล์จะมีการสร้างผนังเซลล์ที่หนาขึ้น และมีอัตราการตายลดลง จึงเป็นผลทำให้ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มคงที่ในช่วงประมาณวันที่ 4 ของการทดลอง แต่ในขณะที่สภาวะน้ำสะอาดที่ไม่ใส่สารอาหาร การเพาะเลี้ยงจะไม่ปรากฏการปนเปื้อนดังกล่าว อาจเป็นเพราะไม่มีสารอาหารที่จำเป็นต่อการดำรงชีพอยู่เลย แต่ขณะที่จุลสาหร่าย *H. pluvialis* จะยังสามารถอยู่รอดได้และเข้าสู่สภาวะซิส (Cyst) ในที่สุด และเมื่อพิจารณาปริมาณแอสตาแซนทีนที่เกิดขึ้นจะพบว่าสภาวะน้ำสะอาดไม่ใส่สารอาหารจะมีปริมาณแอสตาแซนทีนสูงที่สุด เนื่องจากสภาวะนี้เซลล์ไม่เกิดการตายเกิดขึ้น อีกทั้งสภาวะดังกล่าวเป็นสภาวะที่มีผลต่อสภาวะเครียดของจุลสาหร่าย *H. pluvialis* มากที่สุดเนื่องจากไม่มีสารอาหารอยู่เลยแตกต่างจากสภาวะการเจือจางสารอาหารอื่น ๆ ที่ยังพอมีสารอาหารเหลืออยู่



รูปที่ 4(ข) ปริมาณแอสตาแซนทีนที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันเมื่อทำการเจือจางสารอาหาร : คาร์บอนไดออกไซด์ 3% โดยปริมาตรอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

3.2.2. การศึกษาผลกระทบของการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อการกระตุ้นแอสตาแซนทีน

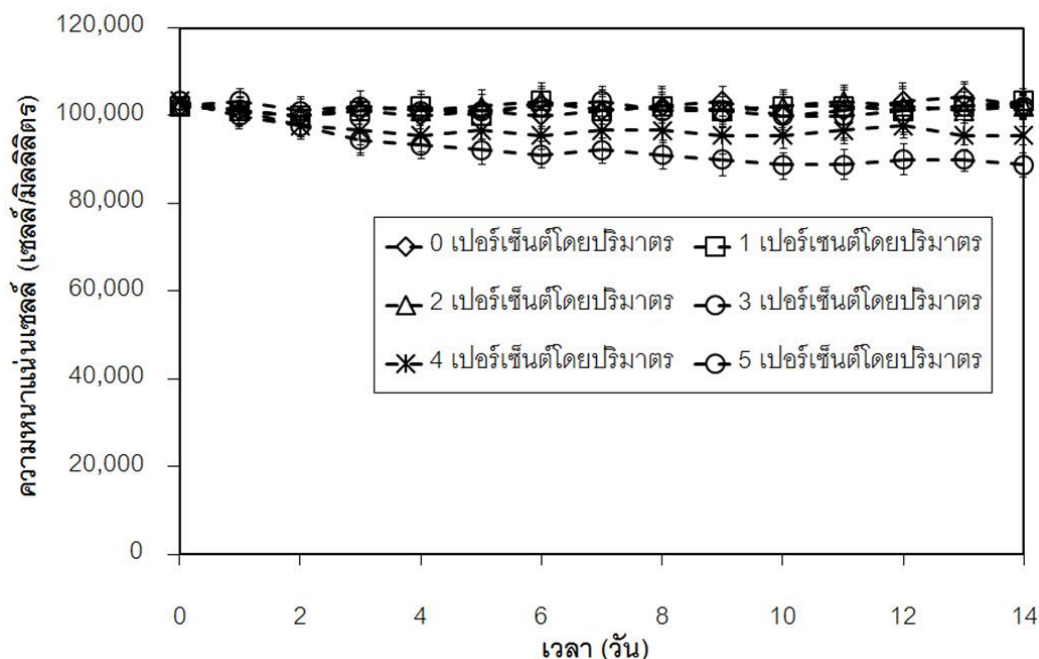
การศึกษามูลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการกระตุ้นแอสตาแซนทีนในสาหร่าย *H. pluvialis* ทำโดยปรับเปลี่ยนปริมาณการให้คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศเป็น 0 1 2 3 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร คิดเป็นอัตราการป้อนคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 0 0.49 0.98 1.47 1.96 และ 2.45 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อวินาทีตามลำดับ สำหรับผลการศึกษาปริมาณแอสตาแซนทีนที่เกิดขึ้นต่อวัน ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวัน น้ำหนักแห้งและสัดส่วนแอสตาแซนทีนต่อน้ำหนักแห้ง (โดยน้ำหนัก) ผลการเพาะเลี้ยงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงคาร์บอนไดออกไซด์สามารถแสดงในรูปที่ 5(ก) 5(ข) และตารางที่ 1 ตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อทำการเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เป็น 0 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาณแอสตาแซนทีนในจุลสาหร่าย *H. pluvialis* จะมีค่าเท่ากับ 10.12 13.45 15.67 และ 18.21 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรหรือคิดเป็น 2.47 3.06 3.33 และ 3.64 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าที่สภาวะเหล่านี้เซลล์ไม่ตายเกิดขึ้นโดยความหนาแน่นของเซลล์มีค่าคงที่ตลอดการทดลอง แต่เมื่อพิจารณาการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ตั้งแต่ 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จะพบว่าการกระตุ้นแอสตาแซนทีนเริ่มมีค่าลดลงเล็กน้อยโดยปริมาณแอสตาแซนทีนในวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าเท่ากับ 17.96 และ 17.26 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรหรือคิดเป็น 3.59 และ 3.58 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งตามลำดับ และความหนาแน่นเซลล์ก็ค่อย ๆ ลดลงอีกเช่นเดียวกัน

ตารางที่ 1 น้ำหนักแห้งและสัดส่วนแอสตาแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง

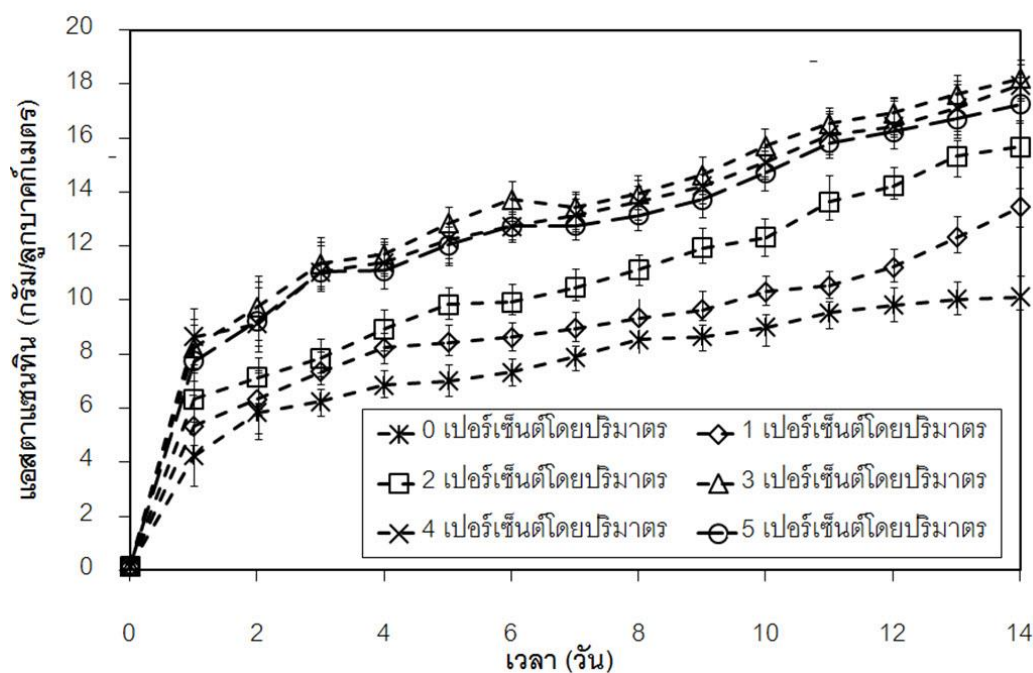
สภาวะ	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	สัดส่วนแอสตาแซน ทินต่อน้ำหนักแห้ง (โดยน้ำหนัก)
เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบห่ออากาศ		
น้ำสะอาดที่ไม่ใส่สารอาหาร	0.50	3.64
เจือจางสารอาหาร 2 เท่า	0.21	0.92
เจือจางสารอาหาร 4 เท่า	0.25	1.21
เจือจางสารอาหาร 10 เท่า	0.27	1.87
คาร์บอนไดออกไซด์ 0 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร	0.41	2.47
คาร์บอนไดออกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร	0.44	3.06
คาร์บอนไดออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร	0.47	3.33
คาร์บอนไดออกไซด์ 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร	0.50	3.64
คาร์บอนไดออกไซด์ 4 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร	0.50	3.59
คาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร	0.48	3.58
อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	0.33	3.80
อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส	0.42	3.44
อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส	0.50	3.64
อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	0.19	3.49
อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	0	0
เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบนราบ		
พื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_d/A_r) เท่ากับ 0.2	0.42	4.41
พื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_d/A_r) เท่ากับ 0.4	0.50	5.32
พื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_d/A_r) เท่ากับ 0.6	0.39	4.19
พื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_d/A_r) เท่ากับ 0.8	0.32	3.29
ความเร็วของการให้อากาศ 0.2 เซนติเมตรต่อวินาที	0.37	4.98
ความเร็วของการให้อากาศ 0.4 เซนติเมตรต่อวินาที	0.50	5.32
ความเร็วของการให้อากาศ 0.6 เซนติเมตรต่อวินาที	0	0
ความเร็วของการให้อากาศ 0.8 เซนติเมตรต่อวินาที	0	0

สำหรับเหตุผลที่เป็นเช่นนี้เป็นเพราะการเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จะเป็นการเพิ่มปริมาณแหล่งคาร์บอนสำหรับการสังเคราะห์แอสตาแซนทินในจุลสาหร่าย *H. pluvialis* เนื่องจากแอสตาแซนทินที่ได้จากสาหร่ายเป็นสารอินทรีย์ประเภทเอสเทอร์ ดังนั้นโมเลกุลของแอสตาแซนทินจึงประกอบไปด้วยคาร์บอนเป็นหลัก เป็นผลทำให้ปริมาณแอสตาแซนทินในเซลล์เพิ่มมากขึ้นเมื่อทำการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ตั้งแต่ 0-3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร อย่างไรก็ตามการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ที่มากเกินไปจะส่งผลทำให้เกิดสภาวะความเป็นกรดในสารอาหารมากขึ้น ด้วยสาเหตุนี้เองจึงสามารถเห็นถึงการลดลงของความหนาแน่นของเซลล์ในช่วงสภาวะการเพิ่มสัดส่วนคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศที่ป้อนเข้าสู่ระบบเป็น 4 และ 5

เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) แสดงว่าจุลสหาย *H.pluvialis* ไม่สามารถทนต่อสภาวะความเป็นกรดที่มากขึ้นนี้ได้ เมื่อพิจารณาปริมาณแอสตาแซนทินที่เกิดขึ้นในวันสุดท้ายของการทดลองจะพบว่าที่ปริมาณการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ตั้งแต่ 3-5 เปอร์เซ็นต์ จุลสหาย *H.pluvialis* สามารถกระตุ้นสารแอสตาแซนทินในวันสุดท้ายของการทดลองในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน



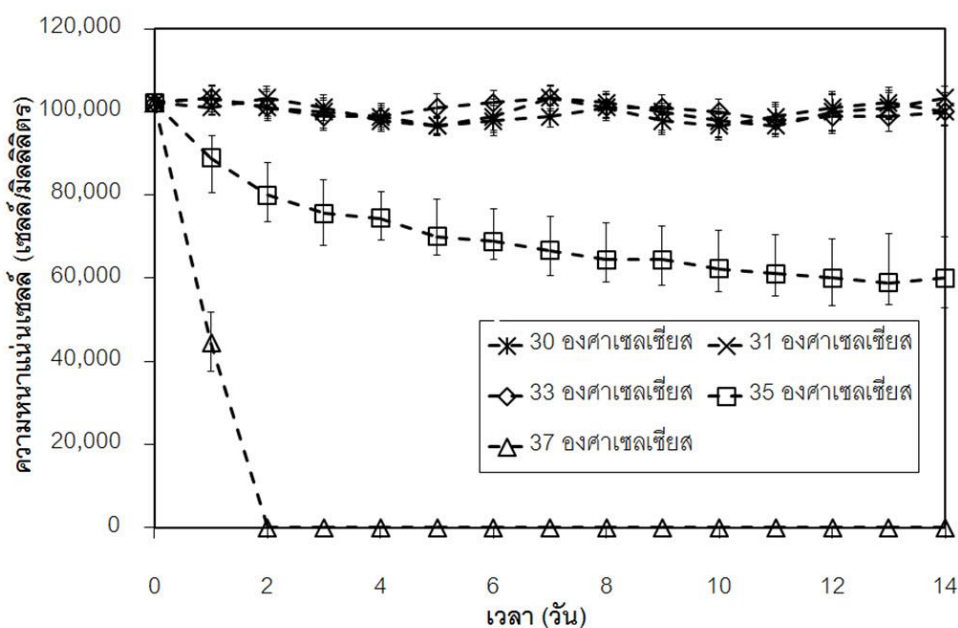
รูปที่ 5(ก) ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันเมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้เลี้ยง: น้ำสะอาดที่ไม่ได้ใส่สารอาหาร อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส



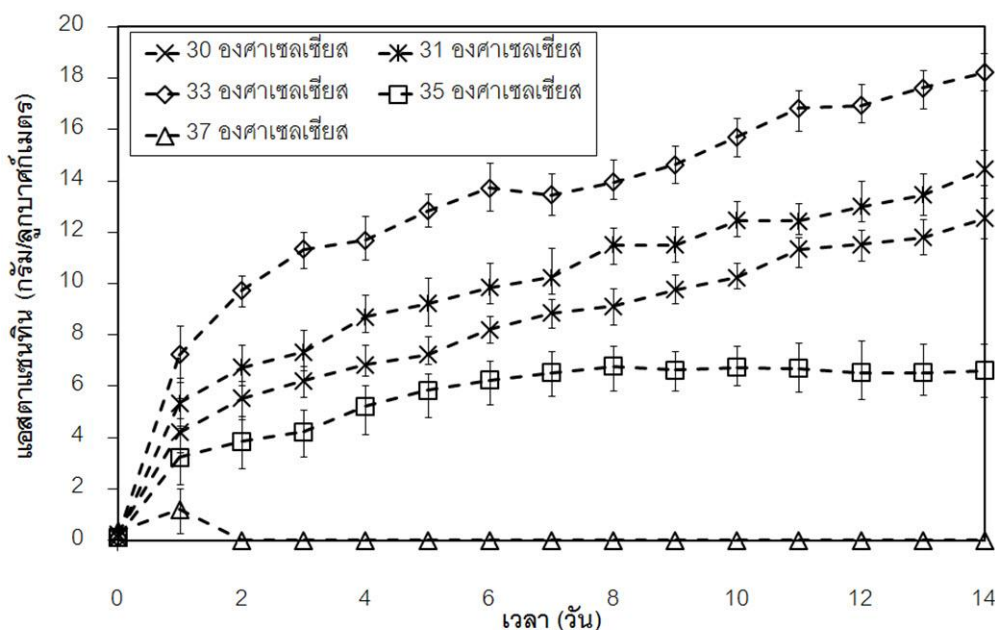
รูปที่ 5(ข) ปริมาณแอสตาแซนทินที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันเมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้เลี้ยง: น้ำสะอาดที่ไม่ได้ใส่สารอาหาร อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

3.2.3. การศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเพื่อการกระตุ้นแอสดาแซนทิน

การศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิที่ใช้ในการกระตุ้นจุลสำหรับ *H.pluvialis* ทำโดยการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิการเพาะเลี้ยง ในช่วง 30 31 33 35 และ 37 องศาเซลเซียส สำหรับผลการศึกษาปริมาณแอสดาแซนทินที่เกิดขึ้นต่อวัน ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวัน น้ำหนักแห้งและสัดส่วนแอสดาแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง (โดยน้ำหนัก) เมื่อเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ จะได้ผลการเพาะเลี้ยงดังในรูปที่ 6(ก) 6(ข) และตารางที่ 1 ตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อทำการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ใช้ในการกระตุ้นแอสดาแซนทินเป็น 30 31 และ 33 องศาเซลเซียสจะพบว่าจุลสำหรับ *H.pluvialis* มีการกระตุ้นแอสดาแซนทินมากขึ้นโดยปริมาณแอสดาแซนทินในวันสุดท้ายของการทดลองจะมีค่าเท่ากับ 12.55 14.46 และ 18.21 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรหรือคิดเป็น 3.80 3.44 และ 3.64 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งตามลำดับ และเมื่อพิจารณาความหนาแน่นของเซลล์ที่สภาวะดังกล่าวจะพบว่าเซลล์ไม่เกิดการตายเกิดขึ้น สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เป็นเพราะว่าจุลสำหรับ *H.pluvialis* จะมีการเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีอุณหภูมิค่อนข้างเย็น (23-25°C) [7] ดังนั้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้น จะส่งผลทำให้จุลสำหรับ *H.pluvialis* ตกในสภาวะเครียดเนื่องจากสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต ในช่วงนี้เองเซลล์จะมีการสร้างสภาวะการป้องกันตนเองโดยจะสร้างแอสดาแซนทินซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระให้มากขึ้นในไซโทพลาสซึม (Cytoplasm) เพื่อเป็นการป้องกันการเกิดการกลายพันธุ์ของเซลล์ที่อาจจะเกิดขึ้นได้ แต่เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิให้มากขึ้นเป็น 35 องศาเซลเซียสจะพบว่าจุลสำหรับ *H.pluvialis* เริ่มมีการตายเกิดขึ้นในทุก ๆ วันของการกระตุ้นโดยความหนาแน่นเซลล์ในวันสุดท้ายของการทดลองที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสมีค่าเท่ากับ 6.0×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและปริมาณแอสดาแซนทินในวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.62 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรหรือคิดเป็น 3.49 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง แต่สำหรับที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจะพบว่าจุลสำหรับ *H.pluvialis* จะตายหมดในวันที่ 2 ของการทดลองและไม่พบปริมาณแอสดาแซนทินเกิดขึ้นเลยในวันสุดท้ายของการทดลอง สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เป็นเพราะว่าการเพิ่มอุณหภูมิที่มากเกินไปจะไปทำลายเนื้อเยื่อหรือเอนไซม์บางชนิดภายในเซลล์ของ *H.pluvialis* จึงเป็นผลทำให้จุลสำหรับ *H.pluvialis* เกิดการตายที่อุณหภูมิมากเกินไป



รูปที่ 6(ก) ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันเมื่อเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ: น้ำสะอาดที่ไม่ได้ใส่สารอาหารคาร์บอนไดออกไซด์ 3% โดยปริมาตร



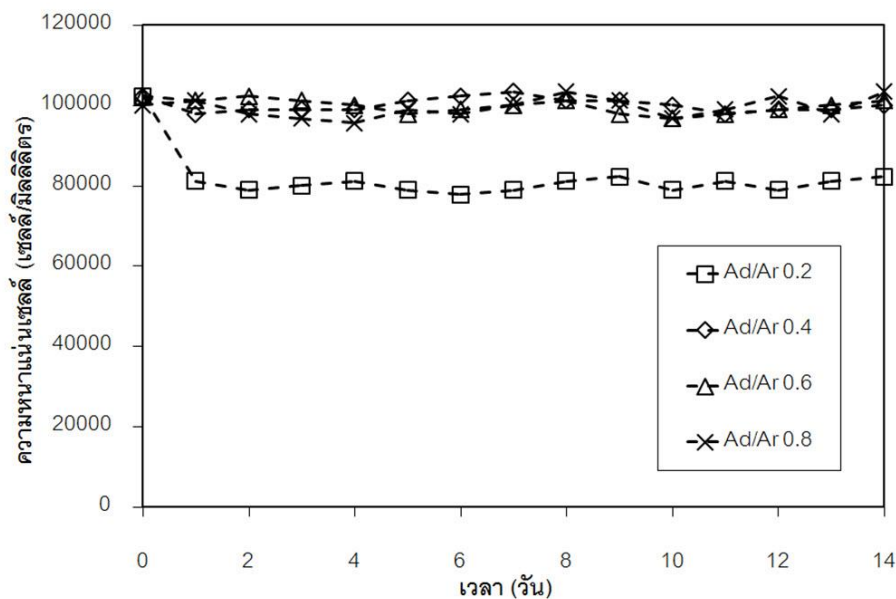
รูปที่ 6(ข) ปริมาณแอสตาแซนทินที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันเมื่อเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ : น้ำสะอาดที่ไม่ได้ใส่สารอาหารคาร์บอนไดออกไซด์ 3% โดยปริมาตร

3.3. การกระตุ้นแอสตาแซนทินโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบน (Flat Panel Airlift Photobioreactor)

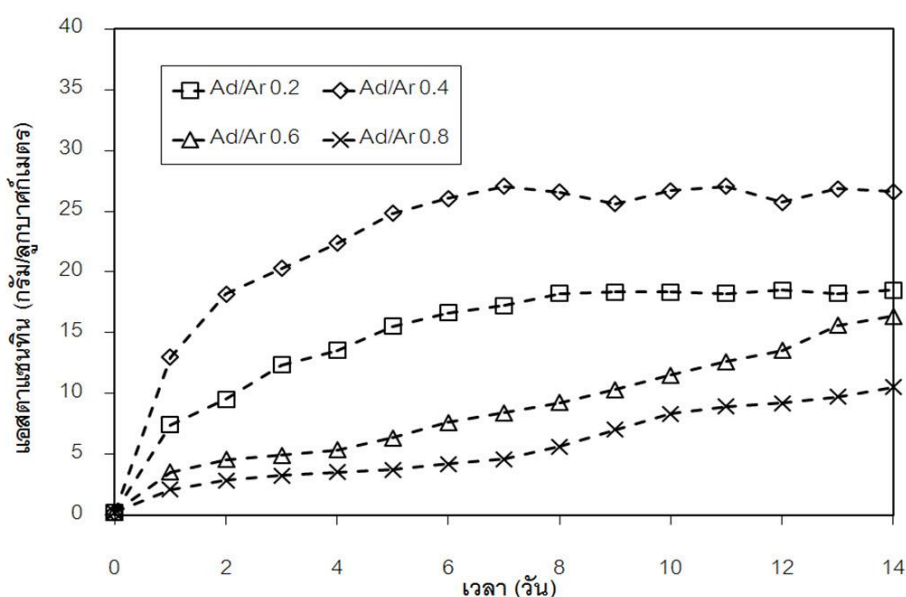
3.3.1. การศึกษาผลกระทบของสัดส่วนของพื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_0/A_r) ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบนต่อการกระตุ้นแอสตาแซนทิน

การศึกษาสัดส่วนของพื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_0/A_r) ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยกชนิดแบนจะทำการศึกษาในสัดส่วน A_0/A_r เป็น 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 สำหรับผลการศึกษาปริมาณแอสตาแซนทินที่เกิดขึ้นต่อวัน ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวัน น้ำหนักแห้งและสัดส่วนแอสตาแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง (โดยน้ำหนัก) เมื่อทำการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนพื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศจะได้ผลการเพาะเลี้ยงแสดงในรูปที่ 7(ก) 7(ข) และตารางที่ 1 ตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อลดสัดส่วน A_0/A_r จะมีผลทำให้ปริมาณแอสตาแซนทินมีค่ามากขึ้นโดยที่สัดส่วน A_0/A_r เป็น 0.8 0.6 และ 0.4 จะมีปริมาณแอสตาแซนทินในวันสุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 10.53 16.35 26.63 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร (หรือคิดเป็น 3.29 4.19 และ 5.32 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งตามลำดับ) เหตุผลที่เป็นเช่นนี้เป็นเพราะว่าเมื่อลดสัดส่วนของ A_0/A_r ลงจะเป็นผลทำให้พื้นที่ในส่วนที่ให้อากาศ (A_r) มีค่ามากขึ้น เมื่อพื้นที่ในส่วนที่ให้อากาศ (A_r) มีค่ามากขึ้นจะส่งผลทำให้ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ให้อากาศแก่เครื่องปฏิกรณ์มีโอกาสดูดซับในน้ำมากขึ้นเช่นเดียวกัน ด้วยสาเหตุนี้เองสารอาหารที่ใช้เลี้ยงจึงมีแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตแอสตาแซนทินในจุลสาหร่าย *H. pluvialis* มากขึ้น จึงเป็นผลทำให้ปริมาณแอสตาแซนทินเพิ่มขึ้นในวันสุดท้ายของการทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่าการลดสัดส่วนของ A_0/A_r ลงจะเป็นผลทำให้เกิดความเร็วของอากาศในส่วนที่อากาศไหลลง (Downcomer) มีค่ามากขึ้น จึงเป็นผลทำให้เกิดแรงยกเซลล์ให้ลอยมากขึ้นในช่วงข้างใต้ของเครื่องปฏิกรณ์ เซลล์จึงเกิดการตกตะกอนในส่วนข้างใต้ของเครื่องปฏิกรณ์น้อยลงและเมื่อเกิดการตกตะกอนน้อยลงจะเป็นผลทำให้เซลล์ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์อย่างทั่วถึงได้มากขึ้นและสามารถนำไปผลิตแอสตาแซน

ทินมากขึ้นเช่นเดียวกัน แต่เมื่อลดสัดส่วน A_d/A_r ลงไปอีกเป็น 0.2 จะพบว่าปริมาณแอสตาแซนทินที่เกิดขึ้นในวันสุดท้ายของการทดลองกลับมีค่าลดลงโดยมีค่าเท่ากับ 18.53 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร (หรือคิดเป็น 4.41 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง) และยังพบว่าที่สัดส่วนนี้เซลล์เกิดการตายเกิดขึ้นโดยความหนาแน่นของเซลล์ในวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าเท่ากับ 8×10^4 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เหตุผลที่เป็นเช่นนี้เป็นเพราะว่าเมื่อลดสัดส่วน A_d/A_r ลงเป็น 0.2 ทำให้พื้นที่ในส่วนของไม่ให้อากาศ (A_d) มีค่าน้อยลง จึงส่งผลทำให้ความเร็วของอากาศในส่วนที่อากาศไหลลง (Downcomer) มีค่ามากขึ้น เนื่องจากอัตราการไหลวนของทั้งระบบในส่วนของการให้อากาศไหลขึ้น (Riser) และในส่วนที่อากาศไหลลง (Downcomer) จะมีค่าเท่ากัน ด้วยสาเหตุนี้เองจึงเป็นผลทำให้เกิดแรงเฉือนในส่วนที่อากาศไหลลง (Downcomer) กระทำกับเซลล์มากขึ้นจึงเป็นผลทำให้เซลล์เกิดการตายมากขึ้น ดังนั้นปริมาณแอสตาแซนทินในวันสุดท้ายของการทดลองจึงมีค่าน้อยลงและน้อยกว่าที่สัดส่วน A_d/A_r เป็น 0.4



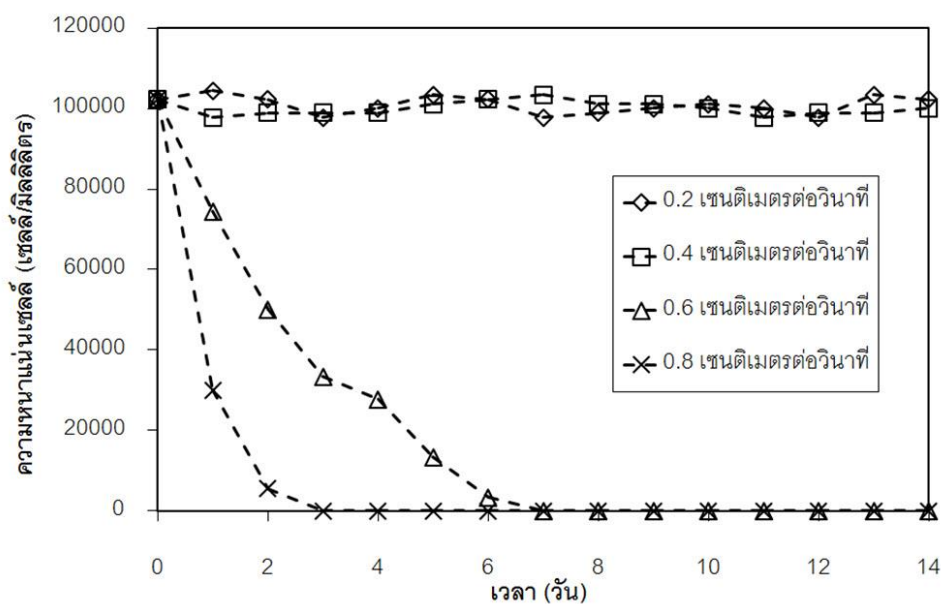
รูปที่ 7(ก) ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันเมื่อเปลี่ยนแปลงพื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_d/A_r)



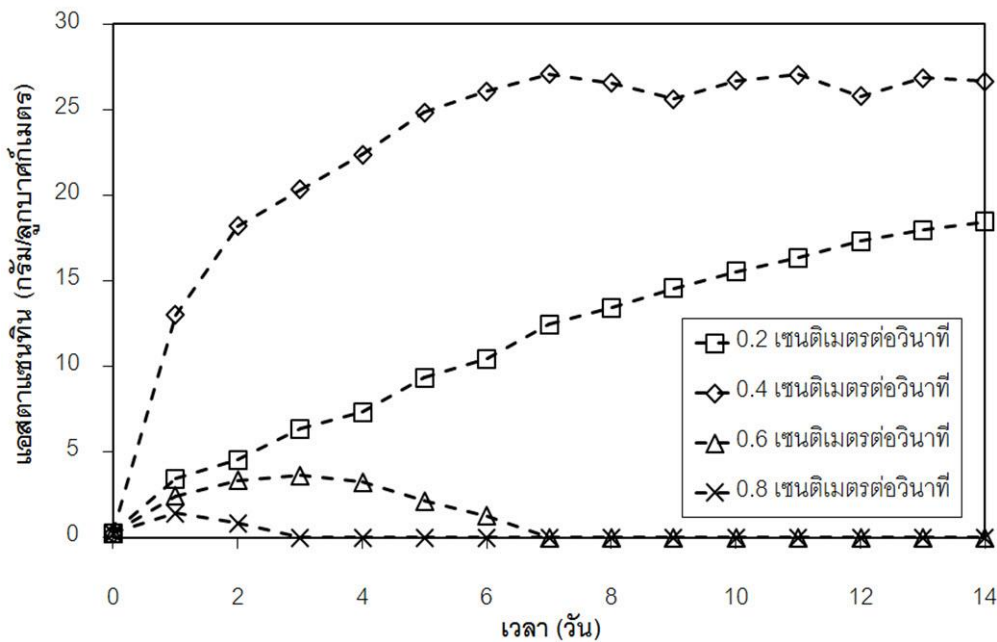
รูปที่ 7(ข) ปริมาณแอสตาแซนทินที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันเมื่อเปลี่ยนแปลงพื้นที่ไม่ให้อากาศต่อพื้นที่ให้อากาศ (A_d/A_r)

3.3.2. การศึกษาผลกระทบของการเพิ่มความเร็วของอากาศต่อการกระตุ้นแอสตาแซนทิน

การศึกษาการเพิ่มความเร็วของอากาศต่อการกระตุ้นแอสตาแซนทินในจุลสาหร่าย *H.pluvialis* จะทำการศึกษาที่ความเร็วของการให้อากาศเป็น 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 เซนติเมตรต่อวินาที สำหรับผลการศึกษาปริมาณแอสตาแซนทินที่เกิดขึ้นต่อวัน ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวัน น้ำหนักแห้งและสัดส่วนแอสตาแซนทินต่อน้ำหนักแห้ง (โดยน้ำหนัก) เมื่อทำการเปลี่ยนแปลงความเร็วของอากาศจะได้ผลการเพาะเลี้ยงดังแสดงในรูปที่ 8(ก) 8(ข) และตารางที่ 1 ตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มความเร็วของอากาศเป็น 0.2 และ 0.4 เซนติเมตรต่อวินาที จะส่งผลทำให้จุลสาหร่าย *H.pluvialis* เกิดการกระตุ้นแอสตาแซนทินมากขึ้น โดยปริมาณแอสตาแซนทินที่ได้ในวันสุดท้ายของการทดลองจะมีค่าเท่ากับ 14.43 และ 26.63 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรหรือคิดเป็น 4.98 และ 5.32 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้งตามลำดับและที่ความเร็วของอากาศดังกล่าวจะไม่พบการตายของเซลล์เกิดขึ้นเลย สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เป็นเพราะว่าการเพิ่มความเร็วของอากาศจะเปรียบเสมือนเป็นการเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นแหล่งของคาร์บอนในการผลิตแอสตาแซนทินให้กับจุลสาหร่าย *H.pluvialis* ให้มีค่ามากขึ้น ดังนั้นเมื่อเพิ่มความเร็วของอากาศให้มากขึ้นจึงส่งผลทำให้ปริมาณแอสตาแซนทินในวันสุดท้ายของการทดลองมีค่ามากขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้การเพิ่มความเร็วของอากาศยังมีส่วนในการป้องกันการตกตะกอนของเซลล์ในส่วนใต้ของเครื่องปฏิกรณ์ ดังนั้นที่ความเร็วของอากาศเป็น 0.2 เซนติเมตรต่อวินาทีที่จะพบว่าที่บริเวณข้างใต้ของเครื่องปฏิกรณ์จะพบการตกตะกอนมากกว่าที่ความเร็วของอากาศเป็น 0.4 เซนติเมตรต่อวินาที ด้วยสาเหตุนี้เองที่สภาวะความเร็วของอากาศเป็น 0.4 เซนติเมตรต่อวินาทีจะมีการกระตุ้นแอสตาแซนทินมากกว่าที่ความเร็วของอากาศเป็น 0.2 เซนติเมตรต่อวินาที และเมื่อพิจารณาการเพิ่มของความเร็วของอากาศมากขึ้นเป็น 0.6 และ 0.8 เซนติเมตรต่อวินาทีที่จะพบว่าจุลสาหร่าย *H.pluvialis* ตายหมดในวันที่ 7 และ 3 ของการทดลองตามลำดับ สำหรับเหตุผลที่เป็นเช่นนี้เป็นเพราะว่าที่สภาวะความเร็วของอากาศดังกล่าวเริ่มมีค่ามากจึงเป็นผลทำให้เกิดแรงเฉือนที่กระทำกับเซลล์มากขึ้นจึงเป็นผลทำให้เซลล์เกิดการตายเกิดขึ้น ดังนั้นในสัดส่วนความเร็วของอากาศมากขึ้นเป็น 0.6 และ 0.8 เซนติเมตรต่อวินาทีจึงไม่พบปริมาณแอสตาแซนทินเกิดขึ้นเลย



รูปที่ 8(ก) ความหนาแน่นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันเมื่อเปลี่ยนแปลงความเร็วของการให้อากาศ



รูปที่ 8(ข) ปริมาณแอสดาแซนทินที่เปลี่ยนแปลงไปต่อวันเมื่อเปลี่ยนแปลงความเร็วของการให้อากาศ

4. สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองสรุปได้ว่าการเจือจางสารอาหาร การเพิ่มอุณหภูมิและการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์จะมีผลต่อการกระตุ้นแอสดาแซนทินในจุลสาหร่าย *H. pluvialis* การใช้น้ำสะอาดที่ไม่ใส่สารอาหารจะสามารถกระตุ้นแอสดาแซนทินได้ดีที่สุดเนื่องจากสิ่งมีชีวิตปนเปื้อนชนิดอื่นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ส่วนการเพิ่มอุณหภูมิจะส่งผลดีต่อการกระตุ้นแอสดาแซนทินโดยอุณหภูมิที่ดีที่สุดสำหรับการกระตุ้นแอสดาแซนทินจะอยู่ที่ 33 องศาเซลเซียส เนื่องจากที่อุณหภูมินี้เซลล์สาหร่ายจะไม่เกิดการตายเกิดขึ้นแต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้มากกว่า 33 องศาเซลเซียสจะพบว่าจุลสาหร่าย *H. pluvialis* จะเริ่มมีการตายเกิดขึ้น และเมื่อพิจารณาการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ให้มากขึ้นจะส่งผลที่ดีต่อการกระตุ้นแอสดาแซนทินเนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญในการผลิตแอสดาแซนทินโดยปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ดีที่สุดสำหรับการกระตุ้นแอสดาแซนทินจะอยู่ที่ 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แต่เมื่อเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ให้มากขึ้นกว่านี้จะพบว่า การกระตุ้นแอสดาแซนทินมีค่าลดลงเนื่องจากจุลสาหร่าย *H. pluvialis* เกิดการตายเกิดขึ้นเนื่องจากสารอาหารที่ใช้เลี้ยงจะเริ่มมีค่าความเป็นกรดที่มากขึ้น นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการกระตุ้นแอสดาแซนทินในเครื่องปฏิกรณ์แบบอากาศยกชนิดแบนจะพบว่าที่สัดส่วน A_0/A_r เป็น 0.4 จะส่งผลทำให้จุลสาหร่าย *H. pluvialis* เกิดการกระตุ้นแอสดาแซนทินมากที่สุด เนื่องจากที่สัดส่วนนี้มีพื้นที่ในส่วนที่ให้อากาศ (A_r) เหมาะสมกับการสร้างสภาวะแขวนลอยของจุลสาหร่าย *H. pluvialis* โดยป้องกันไม่ให้เกิดการตกตะกอนมากเกินไปและสัดส่วนนี้ยังไม่พบการตายของเซลล์เกิดขึ้นเนื่องจากแรงเฉือนที่กระทำกับเซลล์ในส่วนที่อากาศไหลลง (Downcomer) อีกด้วยสำหรับการเพิ่มความเร็วของอากาศจะส่งผลทำให้ปริมาณแอสดาแซนทินเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน โดยที่ความเร็วของอากาศที่สามารถกระตุ้นแอสดาแซนทินได้ดีที่สุดคือ 0.4 เซนติเมตรต่อวินาทีแต่เมื่อเพิ่มความเร็วของอากาศให้มากขึ้น จะพบว่าเซลล์เกิดการตายมากขึ้นเนื่องจากแรงเฉือนที่กระทำต่อเซลล์มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บริษัท ปตท. เคมีคอล จำกัด (มหาชน) ที่ได้ให้การสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำวิจัยบางส่วน

บรรณานุกรม

- [1] R. T. Lorenz and G. R. Cysewski, "Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin," *Trends in Biotechnology*, vol. 18, no. 4, pp.160-167, 2000.
- [2] M. Guerin, M. E. Huntley, and M. Olaizola, "*Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition," *Trends in Biotechnol*, vol. 21, no. 5, pp. 210-216, 2003.
- [3] M. C. García-Malea López, E. Del Río Sánchez, J. L. Casas López, F. G. Acién Fernández, J. M. Fernández Sevilla, J. Rivas, M. G. Guerrero, and E. Molina Grima, "Comparative analysis of the outdoor culture of *Haematococcus pluvialis* in tubular and bubble column photobioreactors," *Journal of Biotechnology*, vol. 123, no. 9, pp. 329–342, 2006.
- [4] A. Lababpour, K. Shimahara, K. Hada, T. Katsuda, Y. Kyoui, and S. Katoh, "Fed-Batch Culture under Illumination with Blue Light Emitting Diodes (LEDs) for Astaxanthin Production by *Haematococcus pluvialis*," *Bioscience and Bioengineering*, vol. 100, no. 3, pp. 339-342, 2005.
- [5] C. D. Kang, J. Y. An, T. H. Park, and S. J. Sim, "Astaxanthin biosynthesis from simultaneous N and P uptake by the green alga *Haematococcus pluvialis* in primary-treated wastewater," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 31, no. 3, pp. 234-238, 2006.
- [6] I. S. Suh, H. N. Joo, and C. G. Lee, "A novel double-layered photobioreactor for simultaneous *Haematococcus pluvialis* cell growth and astaxanthin accumulation," *Journal of Biotechnology*, vol. 125, no. 4, pp. 540–546, 2006.
- [7] K. Kaewpintong, A. Shotipruk, S. Powtongsook, and P. Pavasant "Photoautotrophic high-density cultivation of vegetative cells of *Haematococcus pluvialis* in airlift bioreactor," *Bioresource Technology*, vol. 98, no.2, pp. 288-295, 2006.