ผลของความเข้มข้นของเหล็กที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus*

Effects of different iron concentrations on the growth and lipid production of green microalga, *Scenedesmus dimorphus*

วัฒนา นุชซอและ[1*] และสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์[1]

Wattana nushsalea[1*] and Suneerat Ruangsomboon[1]

[1]สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพ 10520

*Email: bb_buddyboy@hotmail.com

บทคัดย่อ

สาหร่ายขนาดเล็กได้รับการยอมรับว่าเป็นทางเลือกของแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพที่สำคัญ เนื่องจากมีปริมาณไขมันสูงซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพได้ รายงานการวิจัยนี้เกี่ยวกับวิธีการหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตไขมันในสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus* ซึ่งมีรายงานว่าเป็นสาหร่ายที่มีศักยภาพสูงในการผลิตไขมัน โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* ในอาหารสูตรคลอเรลลาซึ่งมีความเข้มข้นของเหล็กแตกต่างกัน 10 – 50 mg/l และวิเคราะห์การเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย ผลการศึกษาพบว่าผลผลิตชีวมวล, ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ แคโรทีนอยด์ และผลผลิตไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเหล็กในอาหารเพิ่มขึ้น แต่พบว่ากำลังการผลิตไขมัน, ปริมาณไขมัน และปริมาณโปรตีนกลับมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของเหล็กในอาหารเพิ่มขึ้น โดยพบค่าสูงสุดของปริมาณไขมัน (26.13 ± 1.19 %), ผลผลิตไขมัน (292.77 ± 10.24 mg/l), และชีวมวล (1.4 ± 0.05 g/l) ใน *S. dimorphus* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเหล็ก 50 mg/l ในขณะที่กำลังการผลิตไขมัน (18.50 ± 3.00 g/l/day) มีค่าสูงสุดที่ความเข้มเหล็ก 30 mg/l การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเหล็กเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการสะสมไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* ซึ่งเหล็กไม่ได้ทำให้ไขมันเพิ่มอย่างชัดเจนแต่ทำให้จำนวนเซลเพิ่มซึ่งถ้าจำนวนเซลเพิ่ม ในภาพรวมก็จะได้น้ำมันเพิ่มขึ้นนั่นเอง

คำค้น: ความเข้มข้นของเหล็ก, ปริมาณไขมัน, กำลังการผลิตไขมัน, สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก

Abstract

In today's scenario, microalgae are widely recognized as a promising source for biofuel production. They are exceedingly rich in lipid, which can be converted to biofuel. This study deals with one of the method to enhance the lipid production in

microalga,*Scenedesmus dimorphus,* which has been reported as potential microalgal species used for lipid production. Microalga, *S. dimorphus* was cultivated in chlorella medium containing different iron concentrations (10 – 50 mg/l). The growth and chemical compositions of this microalga were determined. The results showed that biomass production (dw), chlorophyll-a, carotenoid content and lipid yield of *S. dimorphus* increased as concentration of iron in the medium increased. On the other hand, lipid productivity, lipid content and protein decreased as concentration of iron in the medium increased. Highest lipid content (26.13 ± 1.19 %), lipid yield (292.77 ± 10.24 mg/l) and biomass (1.4 ± 0.05 g/l) were achieved when algae grew in medium with iron concentration 50 mg/l. While), lipid productivity (26.13 ± 0.81 g/l/day)) were achieved when algae grew in medium with iron concentration 30 mg/l. This study indicates that iron rouse to the accumulation of lipid in microalgae “S. dimorphus”. Namely, The iron encourages the increasing of cell. Even if number of cell is increased, the overall of lipid in microalgae cell will be increased as well.

Keywords: iron concentrations, lipid content, lipid productivity, green microalga

บทนำ

การใช้เชื้อเพลิงซากดึกดำบรรพ์อย่างต่อเนื่องทำให้ปริมาณเชื้อเพลิงลดลงอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของมลพิษทางอากาศและปัญหาภาวะโลกร้อน เหตุการณ์ดังกล่าวนับเป็นจุดกำเนิดซึ่งก่อให้เกิดแรงผลักดันในการค้นหาและพัฒนาแหล่งทรัพยากรเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือก ซึ่งเชื้อเพลิงชีวภาพที่ผลิตจากสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีคุณสมบัติในการสังเคราะห์ด้วยแสงนับเป็นทรัพยากรที่มีประสิทธิภาพในฐานะของแหล่งพลังงานทางเลือกและแหล่งพลังงานหมุนเวียน หนึ่งในตัวเลือกของชีวมวลสำหรับเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกคือ สาหร่ายขนาดเล็ก ซึ่งนับว่าเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีอัตราการเจริญเติบโตและปริมาณไขมันที่สูงมาก (Lin and Lin, 2011b) นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กไม่จำเป็นต้องใช้พื้นที่มาก น้ำที่นำมาเพาะเลี้ยงไม่จำเป็นต้องเป็นน้ำสะอาดและยังไม่มีข้อจำกัดในเรื่องฤดูกาลเข้ามาเกี่ยวข้อง ทำให้สาหร่ายขนาดเล็กสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตเพื่อการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพได้ทุกวัน (Ho *et al.,* 2010) หนึ่งในสาหร่ายขนาดเล็กที่มีความเป็นไปได้ทางเศรษฐกิจว่าสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานหมุนเวียนคือ *Scenedesmus* sp. ซึ่งเป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวและจัดว่าเป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่มีปริมาณไขมันที่สูง (Chen *et al.,* 2012) นอกจากนี้ผลผลิตอื่นๆ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายยังสามารถไปใช้ประโยชน์ได้อีกได้แก่ โปรตีนนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์หรืออาหารเสริม คาร์โบไฮเดรตสามารถเปลี่ยนไปเป็นเชื้อเพลิงเอทานอลหรือใช้เพื่อการผลิตกระแสไฟฟ้า ส่วนสารสีที่ได้เช่นคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ เป็นผลผลิตที่นำไปใช้อุตสาหกรรมยา

เป็นต้น (Cheng and Ordog, 2011) สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ปัจจัยต่างๆ นับตั้งแต่ สภาวะแวดล้อม ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง พบว่ามีผลต่อชีวมวลและการสะสมไขมันของสาหร่าย (Liu *et al.,* 2012)

Lin *et al*. (2012) รายงานว่า เหล็กเป็นหนึ่งในธาตุที่มีความสำคัญมากต่อสาหร่ายขนาดเล็กเนื่องจากทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบพื้นฐานของเอนไซม์ต่างๆ เข้าร่วมปฏิกิริยาการสังเคราะห์ด้วยแสงในระบบแสง 2 มีอิทธิพลต่อการใช้ไนโตรเจนของสาหร่ายและเป็นหนึ่งในองค์ประกอบที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ของเซลล์สาหร่าย ภาวะการขาดหรือมีปริมาณธาตุเหล็กมากเกินไปของในเซลล์สาหร่ายมีผลทำให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่ายลดลง ในรอบหลายสิบปีที่ผ่านมา งานวิจัยส่วนมากมุ่งเน้นในการศึกษาผลกระทบของเหล็กต่อแพลงก์ตอนในทะเลและมีงานค่อนข้างน้อยที่ศึกษาผลของเหล็กต่อการสะสมไขมันของสาหร่ายขนาดเล็กที่เลี้ยงเพื่อการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อการศึกษาผลของความเข้มข้นเหล็กต่อการสะสมไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus* sp. เพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกในอนาคต

วิธีการทดลอง

การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายภายในห้องปฏิบัติการ

ทำการเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย *Scenedesmus dimorphus* ในอาหารสูตร Chlorella medium ในภาชนะแก้วที่บรรจุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ในห้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ปลอดเชื้อ มีการให้แสง 24 ชั่วโมง ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และมีการให้ฟองอากาศในขวดเพาะเลี้ยงเพื่อใช้สาหร่ายเป็นหัวเชื้อในการศึกษาขั้นต่อไป

การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีความเข้มข้นเหล็กต่างกัน

นำหัวเชื้อสาหร่าย *S. dimorphus* ซึ่งเจริญเติบโตเต็มที่ขยายลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 1 ลิตร บนชั้นเลี้ยงสาหร่ายที่มีความเข้มแสง 20.45 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที มีการให้แสง 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 29 - 32 องศาเซลเซียส และมีการให้ฟองอากาศในขวดเพาะเลี้ยง โดยมีการผันแปรความเข้มข้นของเหล็ก 5 ระดับ คือ 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมกรัมต่อลิตร (ใช้เฟอริกซัลเฟต,Fe^{2+}) และวิเคราะห์การเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณรงควัตถุ ปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ทุก 2 วัน วิเคราะห์ผลผลิตไขมันของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ 20 วัน

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

การวิเคราะห์หาค่าน้ำหนักแห้งโดยเก็บเซลล์สาหร่ายปริมาตร 5 มิลลิลิตร ล้างเซลล์ 2 ครั้งด้วยน้ำกลั่น pH 4 โดยนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง นำเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการตกตะกอนทั้งหมดเข้าเครื่องอบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ตามวิธีของ Pearson *et al.* (2003) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธี

Lowry *et al.* (1951) คาร์โบไฮเดรตตามวิธี Phenol-sulfuric ของ Bois *et al.* (1956) เมื่อสิ้นสุดการทดลองวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยงเก็บเซลล์ทั้งหมดล้างเซลล์ 2 ครั้งโดยทำการปั่นแล้วเข้าเครื่องอบ ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส จนเซลล์แห้งและวิเคราะห์ไขมัน ตามวิธีของ Bligh and Dyer (1959)

วิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลทั้งหมดด้วยวิธี One-way ANOVA โดยใช้โปรแกรม Microsoft office excel 2007 และโปรแกรม SPSS for windows version 16.0

ผลการทดลอง

1. การเจริญเติบโต

พบว่า *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในความเข้มข้นของเหล็กที่แตกต่างกัน 5 ระดับ เมื่อพิจารณาพบว่าน้ำหนักแห้งมีแน้วโน้มเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงในทุกระดับความเข้มข้นเหล็ก *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นเหล็กสูงสุด (50 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดคือ 1353 ± 45 มิลลิกรัมต่อลิตร ณ วันที่ 20 ของการทดลองโดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่มีระดับความเข้มข้นเหล็ก 10, 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (Fig. 1, Table 1)

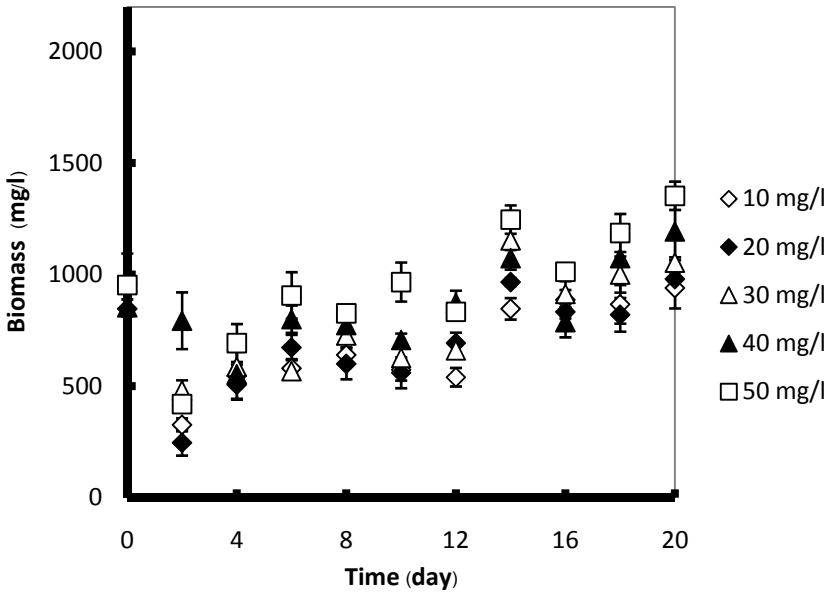

Fig. 1 Dry weight (mg/l) of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium under different iron concentration

2. รงควัตถุ

2.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายที่เลี้ยงในทุกระดับความเข้มข้นเหล็กมีแน้วโน้มเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงและพบว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นเหล็ก 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดเท่ากับ 14.08±0.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 14 ของการทดลองโดยมีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้นความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ($p<0.05$) (Fig. 2)

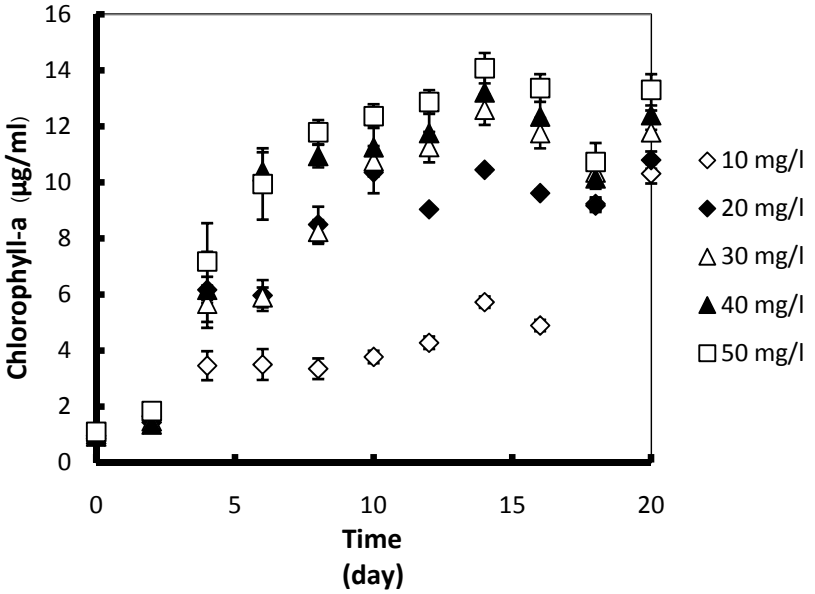

Fig. 2 Chlorophyll *a* content (µg/ml) of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium under different iron concentration

2.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์

ผลการศึกษาพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละวันตั้งแต่วันที่ 0 ถึง 20 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เมื่อเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นและมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 5.14±0.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เมื่อเลี้ยงสาหร่ายที่ระดับความเข้มข้นเหล็ก 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 20 ของการทดลองแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับระดับความเข้มข้นอื่นๆ (Fig 3)

3. ปริมาณโปรตีน

ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นหลังวันที่ 12 ของการเลี้ยงและมีปริมาณลดลงในวันที่ 20 ซึ่งเป็นเช่นนี้ในทุกระดับความเข้มข้นของเหล็ก สาหร่าย *S. dimorphus* ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีความเข้มข้นของเหล็ก 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเท่ากับ 1.70 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อกรัม ในวันที่ 18 ของการทดลอง แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ (Fig. 4)

4. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นเช่นนี้ในทุกระดับความเข้มข้นของเหล็ก พบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุดที่ระดับความเข้มข้นเหล็ก 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 0.75 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม ในวันที่ 18 ของการทดลองแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ (Fig. 5)

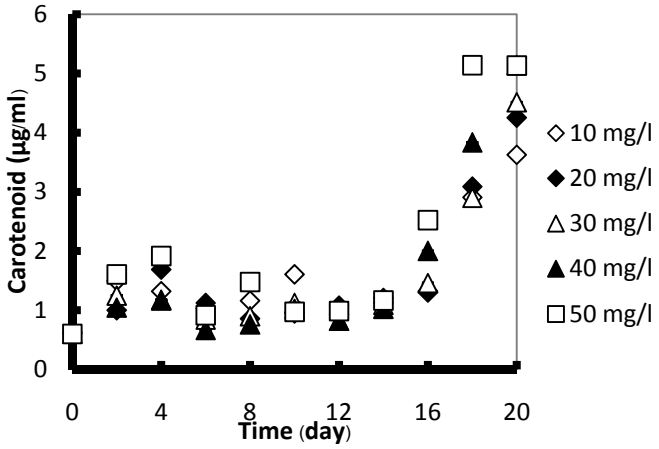

Fig. 3 Carotenoid (µg/ml) of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium under different iron concentration

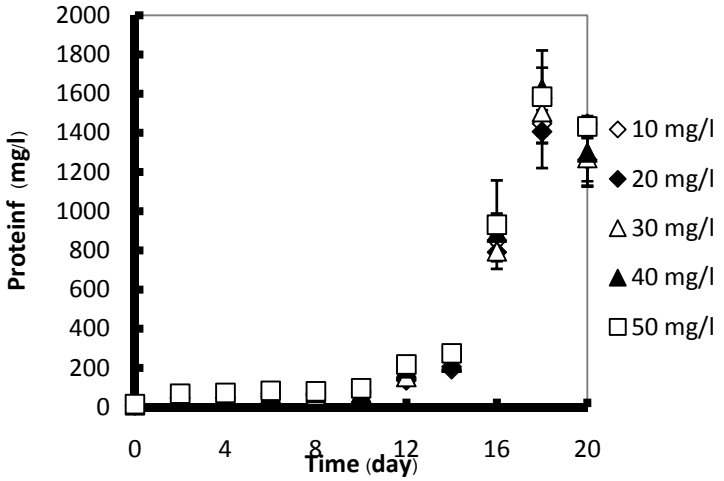

Fig. 4 Protein (mg/g) of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium under different iron concentration

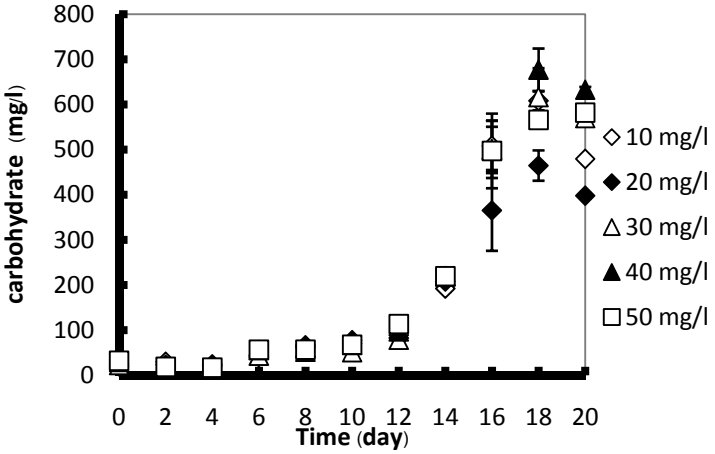

Fig. 5 Carbohydrate (mg/g) of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium under different iron concentration

5. ปริมาณไขมัน

การสะสมของ *S. dimorphus* ภายใต้ความเข้มข้นเหล็กที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 20 วัน ผลการทดลองแสดงให้ทราบว่า ปริมาณไขมัน (Lipid content)ที่พบใน *S. dimorphus* สูงสุดที่ระดับความเข้มข้นเหล็กต่ำสุดเท่ากับ 26.13±1.19 เปอร์เซ็นต์ โดยการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ผลผลิตไขมัน (Lipid yield)มีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้นเหล็ก 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 292.77±10.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นเหล็ก 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร กำลังการผลิตไขมัน (Lipid Productivity) ได้ค่าสูงสุดในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นเหล็ก 30 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่ากับ 18.50±3.00 กรัมต่อลิตรต่อวัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองอื่นที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

Table 1 Growth and lipid production of *S. dimorphus* cultured for 2o daysin chlorella medium under different iron concentration

Iron concentration (mg/l)	Specific growth rate (d)	Biomass (mg/L)	Lipid content (%)	Lipid yield (mg/l)	Lipid Productivity (g/l/day)
10	0.069±0.005^{ab}	940±65^{a}	26.13±1.19^{ab}	247.32±25.22^{a}	17.96±0.81^{a}
20	0.091±0.007^{b}	980±22^{a}	20.76±4.72^{a}	247.95±67.65^{a}	17.25±3.77^{ab}
30	0.082±0.014^{b}	1053±17^{a}	22.70±0.71^{ab}	278.83±5.87^{b}	18.50±3.00^{c}
40	0.058±0.002^{a}	1193±91^{ab}	23.89±0.75^{ab}	283.30±15.07^{b}	13.75±0.29^{bc}
50	0.068±0.002^{ab}	1353±45^{b}	21.67±0.73^{b}	292.77±10.24^{b}	14.61±0.40^{c}

Values are mean ± S.D. Within the same column, significant differences are indicated by different superscripts ($P< 0.05$)

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และชีวมวลของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นเหล็กเพิ่มขึ้น ชุดการทดลองที่เลี้ยงสาหร่ายในสภาวะที่มีความเข้มข้นเหล็กต่ำสุดมีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และชีวมวลมีค่าน้อยสุด เนื่องจากเหล็กมีบทบาทหน้าที่ในการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ของสาหร่าย โดยเหล็กมีผลต่อการกระตุ้นการทำงานของ delta-Aminolevulinic acid ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Huang *et al.*,1984) ดังนั้นเมื่อสาหร่ายขาดเหล็กทำให้สารดังกล่าวมีปริมาณลดลง การสร้างคลอโรฟิลล์ก็น้อยลงด้วย นอกจากนี้การขาดเหล็กยังส่งผลกระทบต่อระบบการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (Electron transport system) ของระบบแสง II ซึ่งเหล็กเป็นส่วนประกอบของพาหะอิเล็กตรอนคือไซโทโครมและเฟอร์รีดอกซินซึ่งอยู่ในคลอโรพาสต์ (สารทั้ง 2 ตัวทำหน้าที่รับและส่งอิเล็กตรอน) ดังนั้นภาวะการขาดเหล็กทำให้ประสิทธิภาพการถ่ายทอดอิเล็กตรอนลดลง นอกจากนี้การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ก็ลดลงด้วยเนื่องจาก

เอนไซม์ RubisCo ซึ่งทำหน้าที่ในตรึงคาร์บอนไดออกไซด์มีปริมาณและกิจกรรมลดลง ดังนั้นอัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจึงมีค่าต่ำกว่าปรกติ (Terry and Abadia, 1986) การสังเคราะห์ด้วยแสงเป็นกระบวนการที่ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโต เนื่องจากผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยแสงถูกนำไปใช้เพื่อเป็นส่วนประกอบต่างๆของเซลล์ เช่นผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์และออแกร์แนลล์ ดังนั้นอัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายที่ต่ำลงจากการขาดเหล็กย่อมทำให้เซลล์ไม่มีการเจริญเติบโต ปริมาณชีวมวลที่พบในการทดลองจึงมีค่าต่ำที่สุดเมื่อเลี้ยงที่เหล็กระดับต่ำสุด จากผลการศึกษาของ Granick (1951) เหล็กมีความเกี่ยวข้องการกลไกการสังเคราะห์แสงและการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ โดยทำหน้าที่ร่วมกับแมกนีเซียม นอกจากนี้การศึกษาของ Pirson *et al.* (1952) รายงานว่าในสภาวะที่ขาดธาตุเหล็กในอาหารที่ใช้เลี้ยง *Ankistrodesmus falcatus* สาหร่ายแสดงอาการซีดเหลืองเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการสังเคราะห์แสงก็ลดลง

จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นของเหล็กไม่มีทำให้ต่อปริมาณโปรตีนและแคโรทีนอยด์ที่สาหร่ายสร้างขึ้น จากผลการทดลองอาจเป็นไปว่าความเข้มข้นเหล็กที่ระดับต่ำสุดก็เพียงพอที่จะทำให้สาหร่ายมีการสร้างสารทั้ง 2 ชนิดอย่างเป็นปกติ

ปริมาณไขมันที่สาหร่ายสร้างขึ้นพบว่าให้ผลเชิงลบกับความเข้มข้นของเหล็ก โดยปริมาณไขมันสูงสุดพบที่ความเข้มข้นเหล็กต่ำสุด ในสภาวะทั่วไปแล้วความเข้มเหล็กที่สูงมักมีผลให้เกิดการกระตุ้นการสะสมไขมันของสาหร่ายแต่ในกรณีที่ระดับความเข้มข้นเหล็กที่มากเกินไปมักจะส่งผลทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการเมตาบอลึซึมของไขมัน นอกจากนี้ยังพบว่าเหล็กมียังมีผลต่อการดึงไนโตรเจนไปใช้ของสาหร่ายอีกด้วย ในสภาวะที่สาหร่ายขาดเหล็กจะส่งผลทำให้สาหร่ายไม่สามารถดึงไนโตรเจนจากอาหารไปใช้ได้ทำให้เซลล์เกิดความเครียดเซลล์สาหร่ายจะปรับตัวโดยเปลี่ยนรูปอาหารที่เก็บจากคาร์โบไฮเดรตเป็นไขมัน (Shen *et al.,* 2009) การทดลองในครั้งนี้ให้ผลการที่สอดคล้องกับข้อมูลที่กล่าวไว้ข้างต้นเนื่องจากในการทดลองปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีแนวโน้มแปรผกผันกับปริมาณไขมันที่สาหร่ายสร้างขึ้น จากผลการศึกษาของ Lin *et al.* (2012) พบว่าสาหร่าย *Scenedesmus rubescen* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นเหล็ก (Fe^{2+}) ต่ำ (0.05-1 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีปริมาณไขมันสูงมากกว่าเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นเหล็กสูง (5-20 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าผลการทดลองมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน

ปริมาณไขมันที่พบในสาหร่ายขนาดเล็กเป็นหนึ่งในดัชนีชี้วัดที่สำคัญมากเนื่องจากเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการประเมินศักยภาพของสาหร่ายขนาดเล็กในฐานะแหล่งผลิตไบโอดีเซลได้ (Shen *et al.,* 2009) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันจากการศึกษากับการทดลองอื่นๆ ซึ่งปรากฏในตารางที่ 2 พบว่า *S. dimorphus* พบว่าเป็นหนึ่งในตัวเลือกที่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งผลิตไขมันได้ในอนาคต

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าความเข้มข้นของเหล็กมีผลเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการสะสมไขมันเท่านั้น ซึ่งเหล็กไม่ได้ทำให้ไขมันเพิ่มอย่างชัดเจนแต่ทำให้จำนวนเซลเพิ่มซึ่งถ้าจำนวนเซลเพิ่ม ในภาพรวมก็จะได้น้ำมันเพิ่มขึ้นนั่นเอง

Table 2 Comparison of lipid content of *Scenedemus dimorphus* with other *Scenedemus* strains reportes in the literature

Strain	Lipid content (%)	Reference
S. dimorphus	26.13±1.19	This study
S. dimorphus KMITL	25	Ruangsomboon *et al.,* (2012)
Scenedemus sp. LX1	53	Xin *et al.* (2010b)
Scenedemus sp. LX1	31-33	Xin *et al,* (2010a)
Scenedemus sp. LX1	35	Xin *et al.* (2011)
S. dimorphus EPS-5	8	Ho *et al.* (2012)
S. dimorphus CNW-N	22	Ho *et al.* (2012)
S. dimorphus SJTE-3	15-24	Tang *et al.* (2011)
S. rubescens	21-27	Lin and Lin (2011a)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

เอกสารอ้างอิง

Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol. 37:911-917.

Bois, D.M., Gilles KA., Hamilton JK., Rebers PA., Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substaces. Analy Chem. 28:350-356.

Chen, Z., Gong Y., Fang X. and Hu H. 2012. *Scenedesmus* sp. NJ-1 isolated from Antarctica: a suitable renewable lipid source for biodiesel production. World J Microbiol Biotechnol. 28:3219–3225.

Cheng, K.C. and Ogden K.L. 2011. Renewable and Sustainable Energy Reviews. AIChE. Arizona. 5.

Granick, S. 1951. Biosynthesis of chlorophyll and related pigment. Annu. Rev. Plant Physiol. 2:115-144.

Ho, SH., Chen WM. and Chang JS. 2010. *Scenedesmus obliquus* CNW-N as a potential candidate for CO_2 mitigation and biodiesel production. Bioresour Technol. 101:8725–8730.

Ho, SH., Chene CY. And Chang JS. 2012. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO_2 fixation and lipid/carbohydrate pro-duction of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. Bioresour Technol. 113:244–252.

Huang, DD., Wang WY., Gough SP. and Kannangara CG. 1984. delta-Aminolevulinic acid-synthesizing enzymes need an RNA moiety for activity. Science. 22:1482-1484.

Lin, Q. and Lin J. 2011a. Biomass and oil productivity of a *Scenedesmus rubescens*-like microalga, a promising candidate for biodiesel production. Bioresour Technol.102:1615–1621.

Lin, Q. and Lin J. 2011b. Effects of nitrogen source and concentration on biomass and oil production of a *Scenedesmus rubescens* like microalga. Bioresour Technol. 102:1615-1621.

Lin, Q., Gu N. and Lin J. 2012. Effect of ferric ion on nitrogen consumption, biomass and oil accumulation of a *Scenedesmus rubescens*-like microalga. Biooresour Technol. 112:242–247.

Lowry, O.H., Rosenbrough N.J.,Farr A.L. and Randall R.J. 1951. Protein measurement which the folin phenol reagent. Journal Boil Chem. 193:265-275.

Pearson, H. 2003. Microbial interactions in facultative and maturation ponds in Handbook of Water and Wastewater Microbiology (Ed. D. Mara and N. Horan). Academic press, London, pp. 449-458.

Pirson, A., Cornelie T. and Gerda W. 1952. Metabolism and mineral nutrition of one-celled green algae. I. The effects of deficiencies on cultures of *Ankistrodesmus*. Planta. 40:199-253.

Ruangsomboon, S., Ganmanee M. and Choochote S. 2012. Effects of different nitrogen, phosphorus, and iron concentrations and salinity on lipid production in newly isolated strain of the tropical green microalga, *Scenedesmus dimorphus* KMITL. J. Appl Phycol. In press.

Shen, Y., Pei Z., Yuan W. and Mao E. 2009. Effect of nitrogen and extraction method on algae lipid yield. Int J Agric & Biol Eng. 2(1):51-57.

Tang, D., Han W., Li P., Miao X. and Zhong J. 2011. CO_2 biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO_2 levels. Bioresour Technol. 102:3071–3076.

Terry, N. and Abadia J. 1986. Function of iron in chloroplasts. J Plant Nutr. 9:609-646.

Xin , L., Hong-ying H. and Yu-ping Z. 2011. Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. under different cultivation temperature. Bioresour Technol. 102: 3098-3102.

Xin, L., Hong-Ying H. and Jia Y. 2010a. Lipid accumulation and nutrients removal properties in secondary effluent of a newly-isolated freshwater microalga *Scenedesmus* sp.LX1. New Biotechnol. 27:59–63.

Xin, L., Hong-ying H., Ke G. and Ying-Xue S. 2010b. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp.. Bioresour Technol. 101:5494-5500.