ผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus*

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

จิรรัตน์ พรหมนารถ[1*] และสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์[1]

[1]สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพ 10520

*Email: fa1it2ent46@hotmail.com

บทคัดย่อ

ปริมาณไขมันที่มีในสาหร่ายขนาดเล็กทำให้มีความเป็นไปได้ในการใช้เป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซล วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้คือศึกษาผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนต่อผลผลิตไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus* เพื่อทราบความเป็นไปได้ในการใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบแหล่งใหม่ในการผลิตไบโอดีเซล โดยเพาะเลี้ยง *S. dimorphus* ในอาหาร chlorella medium ที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนตั้งแต่ 0.17 ถึง 0.85 g/l (ใช้โพแทสเซียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน ผลพบว่า *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีไนโตรเจน 0.51 g/l มีค่าคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดเท่ากับ 16.13 ± 1.13 μg/ml ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจน 0.17 g/l ($p<0.05$) นอกจากนี้ *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจน 0.85 g/l พบค่าสูงสุดของปริมาณไขมัน (25.72 ± 0.66 %) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจน 0.34 g/l ($p<0.05$), ผลผลิตไขมัน (415.87 ± 25.23 mg/l), กำลังการผลิตไขมัน (28.98 ± 3.55 g/l/day) และชีวมวล (1.6 ± 0.06 g/l) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจน 0.17 g/l ($p<0.05$) ตามลำดับ จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของไนโตรเจนมีผลต่อการเพิ่มผลผลิตไขมันใน *S. dimorphus* ได้

คำค้น: ความเข้มข้นของไนโตรเจน, ปริมาณไขมัน, กำลังการผลิตไขมัน, สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก

Abstract

A possible source of biological material for the production of biodiesel is represented by microalgae, in particular by their lipid content. The aim of present work was to study the effect of nitrogen concentrations on the lipid production of *Scenedesmus dimorphus,* in view the possible utilization as novel raw materials for biodiesel production. *S. dimorphus* was cultured in chlorella medium with nitrogen concentrations 0.17 – 0.85 g/l (KNO_3 as nitrogen source). The results showed *S. dimorphus* cultured with nitrogen

concentration 0.51 g/l had the highest chlorophyll-a content, 16.13 ± 1.13 µg/ml it was significantly different with nitrogen concentration 0.17 g/l ($p<0.05$). Howewer, *S. dimorphus* cultured with nitrogen concentration 0.85 g/l showed the highest lipid content (25.72 ± 0.66 %) it was significantly different with nitrogen concentration 0.34 g/l ($p<0.05$), lipid yield (415.87 ± 25.23 mg/l), lipid productivity (28.98 ± 3.55 g/l/day) and biomass (1.6 ± 0.06 g/l) their were significantly different with nitrogen concentration 0.17 g/l ($p<0.05$), respectively were achieved when algae grew in medium with nitrogen concentration 0.85 g/l. The present study indicated the nitrogen concentrations can increase lipid productivity of *S. dimorphus*.

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

บทนำ

เชื้อเพลิงซากดึกดำบรรพ์เป็นแหล่งพลังงานที่ใช้แล้วหมดไปอีกทั้งยังก่อให้เกิดปัญหาด้านสภาพภูมิอากาศและส่งผลให้ภาวะโลกร้อนมีความรุนแรงมากยิ่งขึ้นซึ่งเป็นแรงผลักดันให้มนุษย์ค้นหาแหล่งพลังงานทดแทนเพื่อตอบสนองต่อความต้องการ (Liu *et al.,* 2012) ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงเหลวที่ผลิตได้จากไขมันพืช เช่น ถั่วเหลือง สบู่ดำและพืชไขมันต่างๆ โดยผ่านกระบวนการที่มีชื่อว่า ทรานเอสเทอริฟิเคชั่น (Nigam *et al.,* 2011) เพื่อทดแทนเชื้อเพลิงดีเซลที่ได้จากกระบวนการกลั่นปิโตรเลียม อย่างไรก็ตามการปลูกพืชไขมันนั้นต้องการพื้นที่ในการเพาะปลูกสูง ด้วยสาเหตุนี้จึงมีความสนใจในการใช้ไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็กมากขึ้น ทั้งนี้เพราะข้อได้เปรียบของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กคือใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย เติบโตเร็ว (Liu *et al.,* 2012 and Converti *et al.,* 2009) นอกจากนี้สาหร่ายยังมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงโดยสามารถดูดซับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูงกว่าพืชไขมันชนิดอื่นๆ โดยเป็นตัวช่วยในการแก้ปัญหาภาวะเรือนกระจก (Mandal and mallick, 2009) ซึ่งปริมาณไขมันที่พบในสาหร่ายมีแตกต่างกันไปแปรผันโดยอยู่ในช่วง 20 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (Chisti, 2007)

Scenedesmus sp. เป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว ซึ่งพบว่ามีปริมาณไขมัน 21 เปอร์เซ็นต์ (Singh and Gu, 2010) และมีศักยภาพในฐานะของแหล่งผลิตไขมัน นอกจากนี้ผลผลิตอื่นๆที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายยังสามารถไปใช้ประโยชน์ได้อีกได้แก่ โปรตีนนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์หรืออาหารเสริม คาร์โบไฮเดรตสามารถเปลี่ยนไปเป็นเชื้อเพลิงเอทานอลหรือใช้เพื่อการผลิตกระแสไฟฟ้า ส่วนสารสีที่ได้เช่นคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ เป็นผลผลิตที่นำไปใช้อุตสาหกรรมยา เป็นต้น (Cheng and Ogden, 2011) อย่างไรก็ตามความสามารถในการผลิตไขมันมีความสัมพันธ์กับสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง หากสภาวะการเลี้ยงที่แตกต่างกัน การสะสมไขมันก็จะแตกต่างกันด้วย (Liu *et al.,* 2012) สำหรับ *Scenedesmus sp.* พบว่าสามารถสะสมปริมาณไขมันภายในเซลล์ได้มากเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่เหมาะสมเช่นสภาวะการขาดไนโตรเจน (Chen *et al.,* 2012) โดยการขาดไนโตรเจนในอาหารจะมีผลต่อปริมาณไขมันเนื่องจากมีผลต่อการ

ทำงานของเอนไซม์ซึ่งทำให้เอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์ไขมันทำงานได้ดีขึ้น (Shen *et al.,* 2009) ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อการสะสมไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus* sp.

วิธีการทดลอง

การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายภายในห้องปฏิบัติการ

ทำการเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย *Scenedesmus dimorphus* ในอาหารสูตร Chlorella medium (Vonshak and Maske,1982) ในภาชนะแก้วที่บรรจุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ในห้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ปลอดเชื้อ มีการให้แสง 24 ชั่วโมง ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และมีการให้ฟองอากาศในขวดเพาะเลี้ยงเพื่อใช้สาหร่ายเป็นหัวเชื้อในการศึกษาขั้นต่อไป

การเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีความเข้มข้นไนโตรเจนแตกต่างกัน

นำหัวเชื้อสาหร่าย *S. dimorphus* ซึ่งเจริญเติบโตเต็มที่ขยายลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 1 ลิตร บนชั้นเลี้ยงสาหร่ายที่มีความเข้มแสง 20.45 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที มีการให้แสง 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 29 - 32 องศาเซลเซียส และมีการให้ฟองอากาศในขวดเพาะเลี้ยง โดยมีการผันแปรความเข้มข้นของไนโตรเจน 5 ระดับคือ 0.17, 0.34, 0.51, 0.68 และ 0.85 กรัมต่อลิตร (ใช้โพแทสเซียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวิเคราะห์การเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณรงควัตถุ ปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ทุก 2 วัน เป็นเวลา 20 วันและวิเคราะห์ผลผลิตไขมันของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ 20 วัน

การวิเคราะห์ข้อมูล

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) ทุก 2 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยง เก็บเซลล์ทั้งหมดล้างเซลล์ 2 ครั้งโดยทำการปั่นแล้วเข้าเครื่องอบ ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส จนเซลล์แห้งและวิเคราะห์ไขมัน ตามวิธีของ Bligh and Dyer (1959)

การวิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวนด้วย One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูล โดยวิธี Duncan new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

1. การเจริญเติบโต

S. dimorphus ที่เลี้ยงในความเข้มข้นของไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ 0.85, 0.68, 0.51, 0.34 และ 0.17 กรัมต่อลิตร พบว่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น ซึ่งมีค่าสูงที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจน 0.85 กรัมต่อลิตร เท่ากับ 1613 ± 63 มิลลิกรัมต่อลิตร ณ วันที่ 20 ของการทดลองโดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนเท่ากับ 0.17 กรัมต่อลิตร ($p<0.05$) (Fig. 1, Table 1)

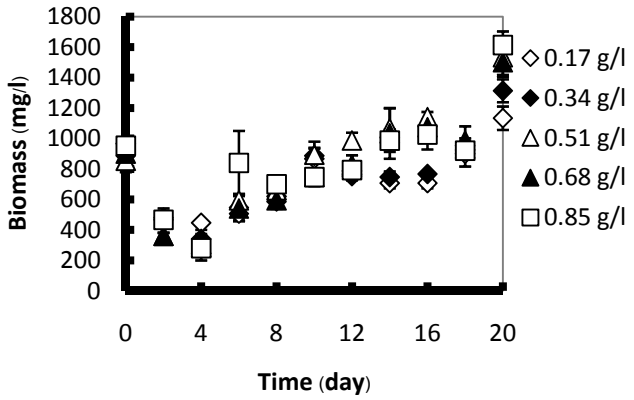

Fig. 1 Dry weight (mg/l) of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium under different nitrogen concentration

2. รงควัตถุ

2.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้น โดยอาหารที่มีไนโตรเจน 0.51 กรัมต่อลิตร มีค่าคลอโรฟิลล์ เอ สูงเท่ากับ 16.13±1.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 16 ของการทดลอง โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจน 0.17 กรัมต่อลิตร ($p<0.05$) (Fig. 2)

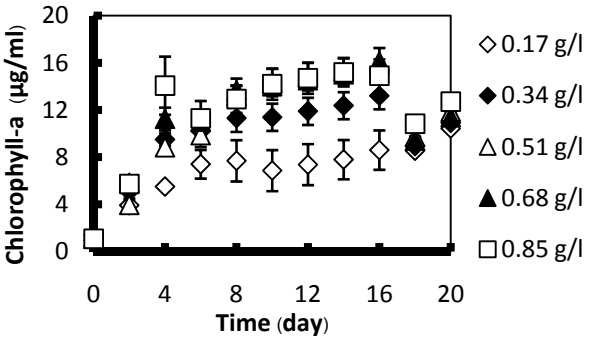

Fig. 2 Chlorophyll *a* content (µg/ml) of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium under different nitrogen concentration

2.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์

ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *S. dimorphus* ในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) โดยปริมาณแคโรทีนอยด์ในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นหลังวันที่ 14 ของการทดลอง โดยปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดเมื่อเลี้ยงสาหร่ายที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจน 0.51 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 3.69± 0.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 20 ของการทดลองแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) กับชุดการทดลองอื่นๆ (Fig 3)

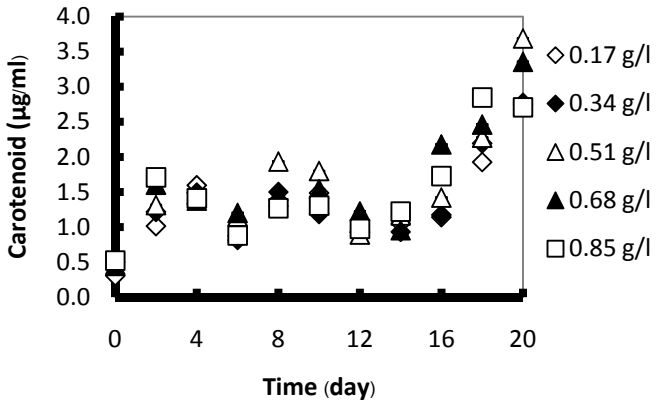

Fig. 3 Carotenoid (µg/ml) of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium under different nitrogen concentration

3. ปริมาณโปรตีน

ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายขนาดเล็ก *S. dimorphus* มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นหลังวันที่ 12 ในทุกชุดการทดลองจนถึงวันที่ 18 ของการทดลอง โดยสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงสุด (0.85 กรัมต่อลิตร) มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเท่ากับ 1.58±0.21 มิลลิกรัมต่อกรัม ในวันที่ 18 ของการทดลอง แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) กับชุดการทดลองอื่นๆ (Fig. 4)

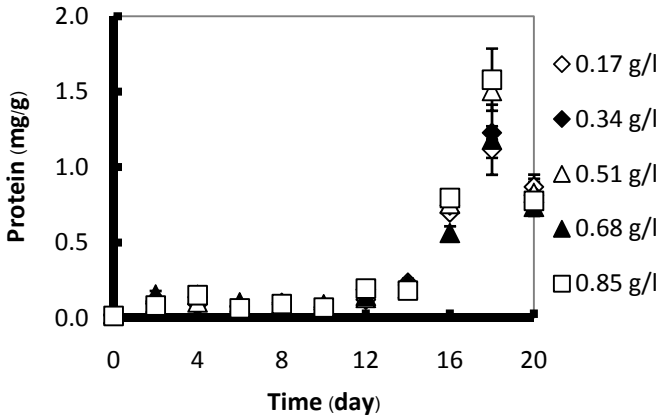

Fig. 4 Protein (mg/g) of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium under different nitrogen concentration

4. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

จากผลการศึกษาพบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นหลังวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงซึ่ง *S. dimorphus* ที่เลี้ยงในระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทุกระดับความเข้มข้น มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุดเมื่อเลี้ยงสาหร่ายที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจน 0.51 กรัมต่อลิตร เท่ากับ 0.68±0.05 มิลลิกรัมต่อกรัม ในวันที่ 18 ของการทดลอง โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ความเข้มข้นไนโตรเจน 0.17, 0.34 และ 0.68 กรัมต่อลิตร ($p<0.05$) (Fig. 5)

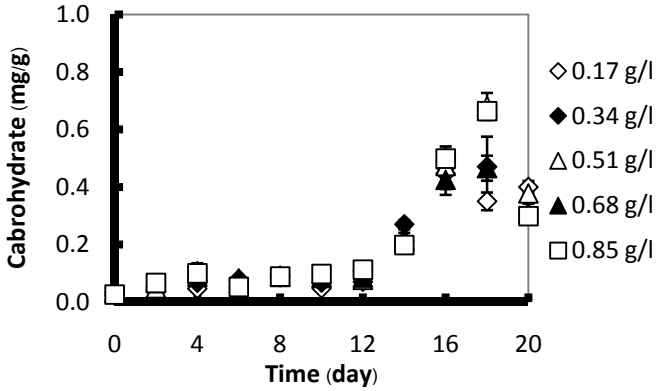

Fig. 5 Carbohydrate (mg/g) of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium under different nitrogen concentration

5. ปริมาณไขมัน

การสะสมไขมันของ *S. dimorphus* ภายใต้ความเข้มข้นไนโตรเจนที่แตกต่างกัน พบว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่ายที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนสูงสุด ปริมาณไขมันที่พบในสาหร่ายมีค่าสูงสุดเท่ากับ 25.72±0.66 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจน 0.34 กรัมต่อลิตร ($p<0.05$) ผลผลิตไขมันค่าสูงสุดเท่ากับ 415.87±25.23 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีความเข้มข้นไนโตรเจนสูงที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่มีไนโตรเจน 0.17 และ 0.34 กรัมต่อลิตร ($p<0.05$) กำลังการผลิตไขมันสูงสุดในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นไนโตรเจนสูงสุดเท่ากับ 28.98±3.55 กรัมต่อลิตรต่อวัน โดยพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ ยกเว้นชุดการทดลองที่ความเข้มข้นไนโตรเจน 0.51และ 0.68 กรัมต่อลิตร

Table 1 Growth and lipid production of *S. dimorphus* cultured in chlorella medium for 20 days under different nitrogen concentration

Nitrogen concentration (g/l)	Specific growth rate (1/d)	Biomass (mg/l)	Lipid Content (%)	Lipid Yield (mg/l)	Lipid Productivity (g/l/day)
0.17	0.055±0.002[a]	1133±54[a]	24.02±0.81[ab]	271.93±14.67[a]	13.27±0.51[a]
0.34	0.086±0.005[b]	1313±53[ab]	22.47±1.00[a]	294.47±13.55[a]	19.47±1.83[ab]
0.51	0.114±0.012[b]	1533±82[b]	24.82±0.68[ab]	379.31±13.56[b]	28.11±2.58[c]
0.68	0.098±0.009[b]	1500±67[b]	23.87±1.25[ab]	358.35±26.36[b]	23.51±2.89[bc]
0.85	0.112±0.012[b]	1613±63[b]	25.72±0.66[b]	415.87±25.23[b]	28.98±3.55[c]

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

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

S. dimorphus เป็นสาหร่ายที่มีศักยภาพสูงมากในฐานะแหล่งพลังงานทางเลือกในอนาคต จากผลการทดลองเมื่อเลี้ยง *S. dimorphus* ในอาหารสูตรคลอเรลลาที่มีการผันแปรความเข้มข้นไนโตรเจน 5 ระดับ พบว่า ผลผลิตไขมัน กำลังการผลิตไขมัน มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นไนโตรเจนในอาหารเพิ่มขึ้นซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองของ Shen *et al.* (2009) โดยรายงานว่าการเลี้ยงสาหร่าย *S. dimorphus* (UTEX 417) มีผลผลิตไขมันและกำลังการผลิตไขมันเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นไนโตรเจนในอาหารเพิ่มมากขึ้น

ปริมาณไขมันในเซลสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารมีปริมาณไนโตรเจนต่ำ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปริมาณความเข้มข้นไนโตรเจนที่สูงกว่า ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์สาหร่ายมีการแบ่งตัวที่ช้าลงซึ่งเกิดจากสารอาหารที่ไม่เพียงพอทำให้เซลล์เลือกที่จะสะสมอาหารในรูปของไขมัน เพราะเอนไซม์ที่ใช้เพื่อการสังเคราะห์ไขมันสามารถทนต่อการขาดไนโตรเจนได้ดีกว่าเอนไซม์ที่ใช้เพื่อการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้การขาดไนโตรเจนยังช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ให้ดีมากขึ้น เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในกลไกการสังเคราะห์ไขมันคือ Diacylglycerol transferase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน Diacylglyceral เป็น Triacylglyceriade (TAG) ดังนั้นโมเลกุลคาร์บอนที่ได้จากการตรึงคาร์บอนไดออกไซต์หรือสารอินทรีย์จึงถูกชักนำให้เปลี่ยนไปเป็นไขมันมากกว่าคาร์โบไฮเดรต ทำให้สามารถพบปริมาณไขมันมีค่าสูงในภาวะที่มีไนโตรเจนจำกัด (Xin *et al*., 2010b)

ผลการทดลองปรากฏว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นไนโตรเจนลดลง เนื่องจากไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบหลักของ ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ เอนไซม์และกรดอะมิโน โมเลกุลทั้งหมดที่กล่าวมาเป็นส่วนประกอบในคลอโรพลาสต์ซึ่งเป็นออร์แกเนลล์ที่ทำหน้าที่สร้างคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่าย (Neill *et al.,* 2003) และไนโตรเจนยังมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโน ดังนั้นการขาด

ไนโตรเจนจะมีผลทำให้การสร้างกรดอะมิโนมีปริมาณลดลง โดยกรดอะมิโนบางชนิดมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์โดยตรงต่อสาหร่ายเช่นกรดอะมิโนไกลซีนซึ่งทำหน้าที่สำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์โดยรวมตัวกับ Succinyl-Coenzyme A เกิดการสังเคราะห์ delta-Aminolevulinic acid และผ่านวิถีทางชีวเคมีภายในเซลล์จนได้สาร คลอโรฟิลล์ เอ ซึ่งไกลซีนเป็นสารเคมีที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ภาวะการขาดไนโตรเจนอาจทำให้ปริมาณไกลซีนลดลงโดยอาจจะส่งผลต่อความสามารถในการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ ของเซลล์สาหร่าย ทำให้เซลล์สาหร่ายมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ลดลง โดยการสังเคราะห์ด้วยแสงเป็นกระบวนที่ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโต เนื่องจากผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยแสงถูกนำไปใช้เพื่อเป็นส่วนประกอบต่างๆของเซลล์ เช่นผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์และออแกร์แนลล์ ดังนั้นการลดลงของอัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายจากการขาดไนโตรเจนย่อมทำให้เซลล์ไม่มีการเจริญเติบโตที่เหมาะสม (Lewin, 1962) การขาดไนโตรเจนจึงทำให้ชีวมวลและคลอโรฟิลล์ เอ มีปริมาณลดลง

การวิจัยก่อนหน้านี้รายงานว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะการขาดไนโตรเจนสามารถเพิ่มปริมาณไขมันได้ ปริมาณไขมันที่พบในสาหร่ายขนาดเล็กเป็นหนึ่งในดัชนีชี้วัดที่สำคัญมากเนื่องจากเป็นเครื่องมือที่สามารถใช้ในการประเมินศักยภาพของสาหร่ายขนาดเล็กในฐานะแหล่งผลิตไบโอดีเซลได้ (Shen *et al.,* 2009) รายงานผลการทดลองในครั้งนี้ แสดงให้ทราบว่าการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนไม่ได้ช่วยให้มีการผลิตไขมันเพิ่มมากขึ้น แต่ทำให้ได้ชีวมวลเพิ่มขึ้นจึงได้ผลผลิตไขมันโดยรวมสูงขึ้นนั้นเอง หากต้องการเพิ่มปริมาณไขมัน โดยการจัดการด้านสารอาหารไนโตรเจน เทคนิคที่ใช้กันก็คือเลี้ยงในสภาวะไนโตรเจนสูงที่เหมาะสมเพื่อให้ได้มวลชีวภาพมากจนถึงจุดสูงสุดแล้วลดปริมาณไนโตรเจนลงเพื่อกระตุ้นให้มีการสร้างไขมันมากขึ้น (Prochazkova *et al.,* 2013) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันจากการศึกษาครั้งนี้กับการทดลองอื่น ๆ แสดงใน Table 2 พบว่า *S. dimorphus* ก็นับว่าเป็นหนึ่งในตัวเลือกที่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งผลิตไขมันได้ในอนาคต

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

Strain	Lipid content (%)	Reference
S. dimorphus	25.72±0.66	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 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

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

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnol. Adv. 25:294-306

Converti, A., Casazza A.A., Ortiz E.Y., Perego P. and Borghi M.D. 2009. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. Chem Eng Process. 48:1146-1151

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

Lewin, R.A. 1962. Physiology and Biochemisty of Algae. Academic press inc. (London) LTD. New York. 929

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

Liu, J., Yuan C., Hu G. and Li F. 2012. Effects of light intensity on the growth and lipid accumulation of microalga *Scenedesmu* ssp. 11-1 under nitrogen limitation. Appl Biochem Biothechnol. 166:2127-2137

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

Mandal, S. and Mallick N. 2009. Microalga *Scenedesmus obliquusas* a potential source for biodiesel production. Appl Microbiol Biotechnol. 84:281-291

Neill, S.J., Desikan R. and Hancock J.T. 2003. Nitric oxide signalling in plants. New Phytologist. 159:11-35

Nigam, S., Rai M.P. and Sharma R. 2011. Effect of nitrogen on growth and lipid content of *Chlorella pyrenoidosa*. AIChE. 7(3):124-129

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

Prochazkova, G., Branyikova I., Zachleder V. and Branyik T. 2013. Effect of nutrient supply status on biomass composition of eukaryotic green microalgae. J. Appl phycol. In press

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

Singh, J. and Gu S. 2010. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. Renew Sust Energ Rev. 14:2596-2610

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

Vonshak, A., Maske, H., 1982. Algae: growth techniques and biomass production. In: Coombs, J., Hall, D.O. (Eds.), Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis. Pergamon Press, Oxford, pp. 66–77

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