ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตชีวมวลและการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของ *Scenedesmus dimorphus* KMITL

Optimum Carbon Dioxide Concentrations for Enhancing Biomass and Carbon Dioxide Biofixation of *Scenedesmus dimorphus* KMITL

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์[1] และจันทรา ดีมาก[1*]
Suneerat Ruangsomboon[1] and Jantra Dimak[1*]

บทคัดย่อ

การศึกษาระดับที่เหมาะสมของคาร์บอนไดออกไซด์ในการเพิ่มผลผลิตชีวมวล องค์ประกอบทางชีวเคมี และการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus* KMITL โดยผันแปรระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 0.03, 2.50, 5.00 และ 7.50 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารสูตร *Chlorella* ปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 18 วัน ผลการศึกษาพบว่าที่ระดับการเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหาร 5.00 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายมีชีวมวล คลอโรฟิลล์-เอ โปรตีน และ คาร์บอนในเซลล์ สูงสุดเท่ากับ 1.15±0.03 กรัมต่อลิตร 2.48±0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร 305.73±28.65 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 33.83±0.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์พบสูงสุด 2.33±0.35 ไมโครกรัมต่อลิตร ที่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ 0.03 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตพบสูงสุด 206.31±18.82 มิลลิกรัมต่อกรัม ที่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ 7.50 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงที่สุด โดยมีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ 1.24±0.03 กรัมต่อกรัม หรือ 1.43±0.03 กรัมต่อลิตร, อัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ 50.95±3.98 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตรต่อปี สาหร่ายชนิดนี้มีกรดไขมัน C16:0 เป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีค่าอยู่ในช่วง 19.85-57.91 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ C18:0 มีค่าอยู่ในช่วง 11.33-20.53 เปอร์เซ็นต์ และ C18:3n3 มีค่าอยู่ในช่วง 9.45-22.44 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5.00 เปอร์เซ็นต์ คือระดับที่เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มผลผลิตของสาหร่ายสายพันธุ์นี้ และสาหร่ายนี้ยังมีความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูง ดังนั้น *S. dimorphus* KMITL จึงเป็นทางเลือกในการนำไปใช้เป็นตัวดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมได้

คำสำคัญ: *Scenedesmus dimorphus* KMITL คาร์บอนไดออกไซด์ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต

Abstract

The aim of this study was to investigate the optimum CO_2 concentrations for growth, chemical composition and carbon dioxide biofixation of the green microalga *Scenedesmus dimorphus* KMITL. A range of carbon dioxide concentrations, 0.03, 2.50, 5.00 and 7.50%, were supplied to the alga samples, which were cultivated in axenic *Chlorella* medium in the laboratory for 18 days. Cultivating the alga with 5% CO_2 produced alga with the highest biomass, chlorophyll-a, protein and carbon contents, which were 1.15±0.03 g/l, 2.48±0.05 mg/l, 305.73±28.65 mg/g and 33.83±0.56%, respectively. The maximum carotenoid (2.33±0.35 µg/l) and carbohydrate (206.31±18.82 mg/g) levels were observed in alga cultivated with 0.03 and 7.50% CO_2 concentrations, respectively. Cultivation of this alga supplied with 5% CO_2 gave the highest CO_2 fixations (1.24±0.03 g/g, 1.43±0.03 g/l) and CO_2 fixation rate (50.95±3.98 kg/m^3/year). The most abundant fatty acid component found in this alga was C16:0 (19.85-57.91%), followed by C18:0 (11.33-20.53%) and C18:3n3 (9.45-22.44%). The results of this study indicated that 5% CO_2 was optimal for enhancing the biomass of the algal strain. Moreover, this alga showed a high capability for CO_2 fixation. Thus, *S. dimorphus* KMITL can be used as an alternative strain for industrial flue gas fixation.

Keywords: *Scenedesmus dimorphus* KMITL, carbon dioxide, protein, lipid, carbohydrate

[1] คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
[1] Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Ladkrabang, Bangkok 10520
*Corresponding author, Email: jantra.di@kmitl.ac.th

คำนำ

ปัจจุบันมีการนำสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิดมาใช้ประโยชน์ในหลายรูปแบบ ทั้งใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมนุษย์ อาหารสัตว์น้ำ เครื่องสำอาง บำบัดน้ำเสีย และใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบเพื่อผลิตพลังงาน เป็นต้น โดยพบว่าสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus* spp. เป็นสาหร่ายน้ำจืดที่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้ประโยชน์ในหลายรูปแบบ เนื่องจากมีองค์ประกอบทางชีวเคมีที่เหมาะสม คือมีปริมาณโปรตีน 185.84 มิลลิกรัมต่อกรัม หรือ 11.2-56 เปอร์เซ็นต์ มีคาร์โบไฮเดรต 28-63.4 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 15-55.7 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ 52.91 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแคโรทีนอยด์-แอสตาแซนทิน 59.48 เปอร์เซ็นต์ (Qin et al., 2008; Toledo-Cervantes et al., 2013) สาหร่ายชนิดนี้มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว พบมีผลผลิตในการเพาะเลี้ยง 0.85-6.5 กรัมต่อลิตร (Morais and Costa., 2007; Toledo-Cervantes et al., 2013) นอกจากนี้ยังทนต่อการปนเปื้อนของเชื้อหรือสาหร่ายชนิดอื่นที่มาปนเปื้อนได้ดี จึงเหมาะต่อการเพาะเลี้ยงขยายปริมาณมากนอกห้องปฏิบัติการ และพบว่ามีการนำไปใช้ประโยชน์ เป็นสารต้านมะเร็ง กระตุ้นภูมิคุ้มกัน (เนื่องจากมีแอสตาแซนทินและคลอโรฟิลล์) ใช้เป็นอาหารแพลงก์ตอนสัตว์ และสัตว์น้ำวัยอ่อน (Qin et al., 2008) ปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงเพื่อจำหน่ายและเพาะเลี้ยงเป็นแหล่งผลิตแคโรทีนอยด์ โดยการพิจารณานำมาใช้ประโยชน์ด้านใด ต้องพิจารณาองค์ประกอบทางชีวเคมีที่พบในการเพาะเลี้ยงนั้น ๆ แล้วจึงวางแผนนำไปใช้ประโยชน์ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงในสารอาหารหรือภาวะแวดล้อมที่ต่างกัน ส่งผลให้มีองค์ประกอบทางชีวเคมีที่ต่างกัน

การเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตสาหร่ายมีหลายวิธี ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลให้เพิ่มผลผลิตได้คือปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ในอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย เพราะสาหร่ายต้องการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเจริญเติบโต โดยระดับที่เหมาะสมสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายได้ สาหร่ายแต่ละชนิดต้องการปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกัน (Pooja and Himabindu, 2012; Yoshimura et al., 2013) จึงมีแนวความคิดในการนำคาร์บอนไดออกไซด์มาเสริมในระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเพิ่มผลผลิต ซึ่งพบว่าการเผาไหม้เชื้อเพลิงของโรงงานอุตสาหกรรมนั้นมีการระบายปล่อยแก๊สที่เกิดขึ้นออกจากระบบ (flue gas) โดยในแก๊สนั้นมีคาร์บอนไดออกไซด์เป็นองค์ประกอบหลัก ดังนั้นหากนำแก๊สที่ปล่อยทิ้งเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ย่อมสามารถลดต้นทุนในการซื้อคาร์บอนไดออกไซด์บริสุทธิ์จากแหล่งจำหน่ายต่าง ๆ ได้ นอกจากนี้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ใช้การเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิล (fossil fuel) นั้น เป็นต้นเหตุให้มีการเพิ่มของแก๊สเรือนกระจก เกิดปัญหาภาวะโลกร้อนมากที่สุด โดยแก๊สเรือนกระจกประกอบด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นหากใช้แก๊สที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรม เป็นแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเพิ่มผลผลิตสาหร่าย ย่อมสามารถช่วยลดแก๊สเรือนกระจกและช่วยแก้ปัญหาภาวะโลกร้อนได้ นั่นคือการใช้สาหร่ายเป็นตัวตรึงคาร์บอนไดออกไซด์นั่นเอง (carbon dioxide biofixation) โดยมีรายงานว่าการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์โดยสาหร่าย *Scenedesmus* spp. พบว่ามี C-content 51.57 เปอร์เซ็นต์ CO_2 assimilation 13.56-28.08 เปอร์เซ็นต์ และ 131-1420 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรต่อวัน (Morais and Costa, 2007; Toledo-Cervantes et al., 2013)

โรงไฟฟ้าบางปะกงเป็นแหล่งผลิตไฟฟ้าที่มีการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลปริมาณมาก และมีการปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาตลอดเวลา การที่จะนำแก๊สที่ปล่อยจากโรงไฟฟ้าบางปะกงมาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายได้นั้น เกณฑ์แรกคือสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงต้องสามารถเจริญเติบโตได้ในระดับความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยออกมาได้ เพราะสาหร่ายทั่วไปตามธรรมชาติ เจริญเติบโตโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่มีในอากาศปกติ ซึ่งมีความเข้มข้นประมาณ 0.036 เปอร์เซ็นต์ (National Oceanic and Atmospheric Administration, 2018) จากการศึกษาขั้นต้นโรงไฟฟ้าบางปะกงปล่อยแก๊สที่มีองค์ประกอบของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นหากต้องการนำแก๊สที่ปล่อยนี้มาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่าย จะต้องคัดเลือกสาหร่ายที่เติบโตที่ระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์นี้ได้ เพราะสาหร่ายแต่ละชนิดมีความสามารถในการทนต่อระดับคาร์บอนไดออกไซด์และต้องการระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมแตกต่างกัน

สาหร่าย *Scenedesmus dimorphus* สายพันธุ์ KMITL เป็นสาหร่ายที่มีปริมาณโปรตีนและไขมันที่สูงเหมาะต่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ทั้งด้านเป็นแหล่งโปรตีน แหล่งพลังงาน หรือใช้บำบัดน้ำเสีย (สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, 2558; สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และจันทรา ดีมาก, 2561; Ruangsomboon et al., 2012; 2013) หากพิจารณาด้านแหล่งพลังงาน มีรายงานว่าสาหร่าย *Scenedesmus* spp. มีองค์ประกอบทางชีวเคมีทั้งคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน ซึ่งนำไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับผลิตพลังงานชีวภาพ เช่น ไบโอไฮโดรเจน ไบโอเอทานอล ไบโอแก๊ส ไบโอดีเซล (Ostgaard et al., 1993, Farias Silva and Bertucco, 2016) นอกจากนี้ยังมีรงควัตถุ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ (Borowitzka, 2010; 2013) ซึ่งนำไปใช้ประโยชน์ด้านอาหาร ยา และเครื่องสำอางได้ (Dufosse et al., 2005)

ด้วยองค์ประกอบทางชีวเคมีและแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ดังนั้นจึงควรเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้เพื่อเพิ่มปริมาณมากโดยการเสริมด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป โดยขั้นตอนแรกคือต้องทำการทดสอบความสามารถในการทนต่อความเป็นกรดของคาร์บอนไดออกไซด์ ว่าสามารถเจริญเติบโตได้ในระดับคาร์บอน-ไดออกไซด์ที่ใกล้เคียงกับที่ปล่อยจากโรงไฟฟ้าบางปะกงหรือไม่ และมีระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตที่ระดับใด การทราบระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมกับสายพันธุ์สาหร่ายที่เราต้องการเพาะเลี้ยงย่อมเป็นวิธีที่ดีที่สุดที่จะทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่เร็ว มีชีวมวลสูง และอีกสิ่งหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงคือความสามารถของสาหร่ายในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อประยุกต์ใช้ประโยชน์ด้านสิ่งแวดล้อมต่อไป

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมกับสาหร่าย *Scenedesmus dimorphus* KMITL ที่ทำให้สาหร่ายมีผลผลิตชีวมวลสูงที่สุด และศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายที่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ต่าง ๆ เพื่อวางแผนการนำไปใช้ประโยชน์ให้เหมาะสม และเพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงโดยใช้ flue gas ที่ปล่อยจากโรงไฟฟ้าบางปะกง เพื่อช่วยในการลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *S. dimorphus* strain KMITL เป็นสาหร่ายที่คัดแยกโคโลนีเดี่ยวมาจากบ่อเลี้ยงปลา เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร *Chlorella* (Vonshak and Maske, 1982) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±1.0 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมง ความเข้มแสง 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้อากาศตลอดเวลาโดยผ่านตัวกรองแบคทีเรีย เพาะเลี้ยงสาหร่ายให้เพิ่มปริมาณมากเพื่อใช้สาหร่ายเป็นหัวเชื้อในการทดลองขั้นต่อไป

การศึกษาผลของระดับคาร์บอนไดออกไซด์ต่อผลผลิตชีวมวลและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย

เพาะเลี้ยงสาหร่ายในฟลาสก์แก้วขนาด 1 ลิตร ด้วยอาหารสูตร *Chlorella* ปริมาตร 1 ลิตร ในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 25±1.0 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสงที่ระดับ 60 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน คือที่เวลา 07.00-19.00 น. โดยใช้เครื่องตั้งเวลาอัตโนมัติ และให้คาร์บอนไดออกไซด์ในภาชนะเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ระดับ 0.03 (ชุดควบคุม), 2.50, 5.00 และ 7.50 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) (เนื่องจากระดับคาร์บอนไดออกไซด์ของโรงไฟฟ้าบางปะกงอยู่ที่ประมาณ 4.3-4.6 เปอร์เซ็นต์ จึงวางแผนการทดลองให้ความเข้มข้นครอบคลุมระดับคาร์บอนไดออกไซด์ของโรงไฟฟ้าและเผื่อให้ความเข้มข้นสูงขึ้นอีกหนึ่งระดับในกรณีที่มีการเพิ่มของคาร์บอนไดออกไซด์ในอนาคต) ซื้อคาร์บอนไดออกไซด์บริสุทธิ์จาก United Industrial Gases Co., Ltd., Thailand โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 100 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับอากาศปกติ ให้ได้ระดับที่กำหนด โดยใช้วาล์วควบคุมเปอร์เซ็นต์ของแก๊สและปริมาณของแก๊ส (Nitto model DK800S-6, K-1013, Japan) ให้ที่อัตรา 0.4 ลิตรต่อลิตรต่อนาที (vvm) ตลอดการเพาะเลี้ยง โดยมีแผ่นกรองแบคทีเรียในอากาศก่อนเข้าฟลาสก์เพาะเลี้ยงทุกฟลาสก์ ชุดควบคุมคือชุดที่ให้อากาศปกติผ่านตัวกรองแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยง ฟลาสก์เพาะเลี้ยงสาหร่ายทุกฟลาสก์ต้องทำการปิดปาก ฟลาสก์ด้วยสำลีและพันทับด้วย parafilm และปิดฟอยล์ เพื่อป้องกันการรั่วซึมของแก๊สออกนอกฟลาสก์เพาะเลี้ยง

เพาะเลี้ยงสาหร่ายจนเข้าสู่ปลายระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ (late exponential phase 18 วัน) ทำการวิเคราะห์ชีวมวล คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ตามวิธีของ Becker (1994) คาร์โบไฮเดรตด้วยวิธี phenol sulfuric acid method (DuBois et al., 1956) โปรตีนด้วยวิธี Lowry method (Lowry et al., 1951) พีเอชด้วยเครื่องวัดดิจิตอล (HANNA HI 8424, Japan) ทุก 3 วัน การสกัดไขมันด้วยวิธีของ Bligh and Dyer (1959) และวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่อง gas chromatography (FID, Agilent Technologies 6890 N USA) โดยมีรายละเอียดสภาวะในการฉีดตัวอย่างตามรายงานของ Ruangsomboon et al. (2013) ของสาหร่ายทุก 6 วัน วิเคราะห์คาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจนในเซลล์สาหร่ายที่สิ้นสุดการทดลอง (CHNS Analyzer - PerkinElmer 2400 Series II, USA) และคำนวณอัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่าย (Jacob-Lopes et al., 2009) การรายงานผลรายงานเป็นค่าต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่าย และต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงสาหร่าย 1 ลิตร

การเก็บตัวอย่างทุกครั้งจะเก็บสาหร่ายและวัดพีเอชที่เวลา 9.00 น. คือหลังจากการได้รับแสง 2 ชั่วโมง โดยสาหร่ายในทุกชุดการทดลองจะทำการเพาะเลี้ยง 24 ฟลาสก์ เพื่อให้มีปริมาณสาหร่ายพอเพียงต่อการวิเคราะห์ไขมัน วิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีของ Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อพีเอชของอาหารเลี้ยงสาหร่าย ชีวมวล และองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่าย

การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย โดยเสริมแตกต่างกัน 4 ระดับ 0.03, 2.50, 5.00 และ 7.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าค่าพีเอช (pH) ของอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีความสัมพันธ์ในทางลบกับระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เสริมในระบบ โดยค่าพีเอชของอาหารสาหร่ายมีค่าลดลง เมื่อได้รับระดับคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์รวมกับน้ำทำให้เกิดกรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) จึงส่งผลให้อาหารมีความเป็นกรดมากขึ้น โดยที่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์สูงสุด 7.50 เปอร์เซ็นต์ ค่าพีเอชของอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายตลอดการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 5.52 (วันที่ 3) ถึง 6.03 (เริ่มทดลอง) (Figure 1A) และพบว่าตลอดการทดลอง สาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์มีการเจริญเติบโตที่ปกติ ไม่พบการตายในชุดการทดลองใด (Figure 1B) แสดงให้ทราบว่าสาหร่าย *S. dimorphus* KMITL สามารถเจริญเติบโตได้ทุกระดับคาร์บอนไดออกไซด์ในการทดลองนี้ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการนำสาหร่ายชนิดนี้ไปเพาะเลี้ยงโดยใช้ flue gas จากโรงไฟฟ้าบางปะกงได้ ซึ่งมีคาร์บอนไดออกไซด์ไม่เกิน 5.00 เปอร์เซ็นต์

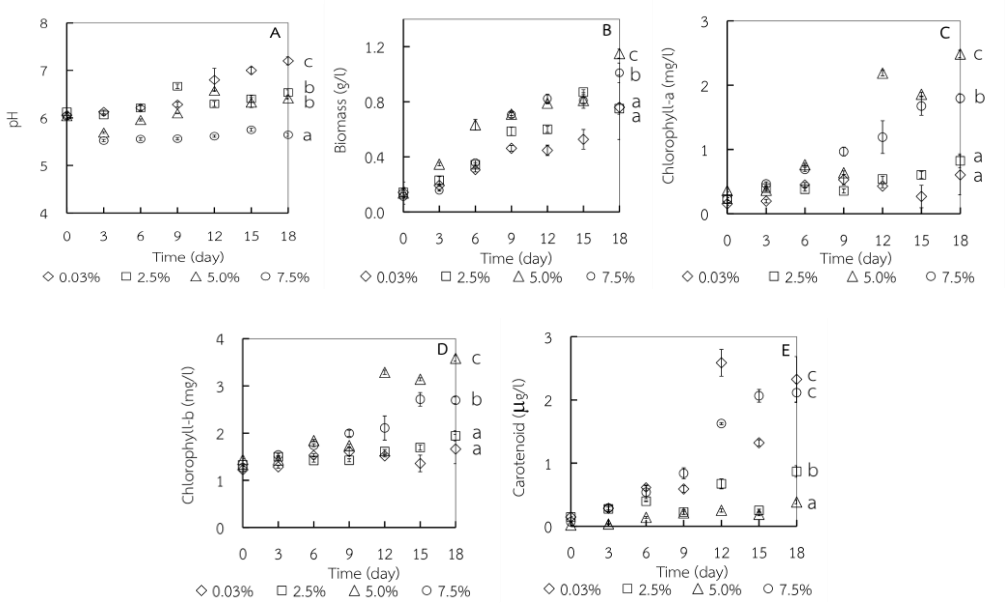

Figure 1 Medium pH (A), biomass yield (B) and pigments (C-E) of *S. dimorphus* KMITL cultivated under CO_2 at different concentrations (0.03-7.50%). Different small letters on the lines indicate significant difference at 95% confidence level ($P<0.05$). Error bars represent ± S.D. of four replicates.

ผลผลิตชีวมวล (biomass) ของสาหร่ายในอาหารที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์มีผลผลิตเพิ่มขึ้นเมื่อคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นจาก 0.03-5.00 เปอร์เซ็นต์ และลดลงที่คาร์บอนไดออกไซด์ 7.50 เปอร์เซ็นต์ โดยสาหร่ายมีผลผลิตชีวมวลสูงที่สุดเท่ากับ 1.15±0.03 กรัมต่อลิตร ที่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 เปอร์เซ็นต์ (Figure 1B) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 0.03 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมและเพียงพอต่อการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายชนิดนี้มากที่สุดคือ 5.00 เปอร์เซ็นต์ ไม่จำเป็นต้องเสริมคาร์บอนไดออกไซด์มากกว่าระดับนี้ แต่หากจำเป็นต้องนำไปเลี้ยงในที่ที่มีระดับคาร์บอนไดออกไซด์สูงถึง 7.50 เปอร์เซ็นต์ ก็ยังคงได้รับผลผลิตชีวมวลที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหากต้องมีค่าใช้จ่ายในการซื้อคาร์บอนไดออกไซด์ การเสริมที่ 5.00 เปอร์เซ็นต์ ก็เพียงพอแล้ว

ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ และ บี (chlorophyll-a, b) ของสาหร่ายที่ได้รับการเสริมด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสูงที่สุดคือ 2.48±0.05 และ 3.58±0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง (Figure 1C-D) โดยพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์มีความสอดคล้องกับชีวมวลของสาหร่าย ชุดการทดลองที่มีชีวมวลสูงทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูง นอกจากนี้อีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้คลอโรฟิลล์ของสาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 7.50 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่า 5.00 เปอร์เซ็นต์ อาจเป็นเพราะระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูงเริ่มยับยั้งการสังเคราะห์ polyketides ในสาหร่าย จึงทำให้คลอโรฟิลล์ลดลง (Dufosse et al., 2005)

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ที่พบในสาหร่าย พบว่าชุดที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำที่สุด มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 2.33±0.35 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 2.50 และ 5.00 เปอร์เซ็นต์ (Figure 1E) โดยปกติแล้วแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายจะพบมีปริมาณสูงในสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างแคโรทีนอยด์ ซึ่งจากการทดลองนี้คือชุดควบคุม และอีกสภาวะที่สร้างแคโรทีนอยด์ได้สูงคือสาหร่ายที่อยู่ในสภาวะเครียด โดยแคโรทีนอยด์จะถูกสร้างขึ้นมาเพื่อป้องกันอันตรายให้กับเซลล์สาหร่าย (Aburai et al., 2015) โดยจากการทดลองนี้พบว่าที่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ 7.50 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงเป็นอันดับสองรองจากชุดควบคุม แสดงว่าที่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์นี้สาหร่ายเริ่มได้รับความเครียดจากค่าพีเอชของอาหารที่ลดลง (แต่ไม่ถึงกับทำให้สาหร่ายตาย)

ปริมาณโปรตีน (protein) ต่อลิตรของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย สอดคล้องกับปริมาณชีวมวลของสาหร่าย โดยมีค่าสูงสุดในชุดการทดลองที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีโปรตีนเท่ากับ 313.99±28.54 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 0.03 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2A) ส่วนปริมาณโปรตีนที่พบในเซลล์สาหร่าย (มิลลิกรัมต่อกรัม) พบว่าชุดการทดลองของสาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 0.03 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าใกล้เคียงกัน โดยสูงกว่าชุดการทดลองอื่น โดยการสะสมโปรตีนในเซลล์สาหร่ายของสองชุดการทดลองนี้เพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น จนถึงวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 488.08±81.84 และ 466.82±26.05 มิลลิกรัมต่อกรัม ในชุดที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 0.03 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนจึงลดลง ที่สิ้นสุดการเพาะเลี้ยงทุกชุดการทดลองมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าที่สิ้นสุดการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโปรตีนที่สุดคือ 305.73±28.65 มิลลิกรัมต่อกรัม สูงกว่าชุดควบคุม 1.3 เท่า (Figure 2B) ปริมาณเปอร์เซ็นต์โปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัม) ในสาหร่ายมีแนวโน้มตรงข้ามกับผลผลิตชีวมวล ทั้งนี้เป็นเพราะสาหร่ายที่มีผลผลิตชีวมวลมาก มีการใช้อาหารสะสมไปในการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์มากนั่นเอง ส่วนสาหร่ายที่เจริญเติบโตช้าจึงมีการสะสมโปรตีนในเซลล์ได้มากกว่า

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ของสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) มีความสอดคล้องกับผลผลิตชีวมวลของสาหร่าย คือมีปริมาณสูงสุดในชุดการทดลองที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเท่ากับ 143.94±10.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลองที่เหลือ (Figure 2C) ซึ่งปริมาณคาร์โบไฮเดรตต่อลิตรมีความสอดคล้องกับปริมาณของชีวมวลของสาหร่าย ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อกรัม) ในสาหร่าย พบสูงที่สุดในชุดการทดลองที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 7.50 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเท่ากับ 206.31±18.82 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง และมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม 3.76 เท่า (Figure 2D) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในเซลล์สาหร่ายสอดคล้องกับระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่สาหร่ายได้รับ เมื่อระดับคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมต่อกรัม) ก็เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะมีคาร์บอนไดออกไซด์สำหรับใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มมากขึ้น จึงได้คาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นผลผลิตของกระบวนการนี้ปริมาณมากขึ้นนั่นเอง

ปริมาณไขมัน (lipid) ของสาหร่ายเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงและปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น โดยเมื่อสาหร่ายเข้าสู่ปลายระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ (late exponential phase) สาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์เสริมระหว่างการเพาะเลี้ยงที่ระดับ 7.50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 35.50±1.9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง (Figure 2E) โดยมีปริมาณไขมันสูงกว่าชุดควบคุม 1.76 เท่า และสูงกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยระดับคาร์บอนไดออกไซด์เดียวกันที่เวลา 6 วัน อยู่ที่ 1.8 เท่า ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เพิ่มขึ้น สามารถเพิ่มปริมาณไขมันในสาหร่าย *S. dimorphus* KMITL ได้ ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Ge et al. (2011) ซึ่งทำการทดลองในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Botryococcus braunii* strain 765 โดยได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 2-20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ทุกระดับคาร์บอนไดออกไซด์สาหร่ายมีปริมาณไขมันไม่แตกต่างกัน

ปริมาณไขมันของสาหร่าย *S. dimorphus* KMITL ที่พบสูงสุดในการศึกษาครั้งนี้ มีค่าสูงกว่าสาหร่ายสกุลเดียวกันที่มีรายงานไว้ เช่น สาหร่าย *S. dimorphus* EPS-5 มีไขมัน 8 เปอร์เซ็นต์ (Ho et al., 2012), *S. dimorphus* SJTE-3 มีไขมัน 15-24 เปอร์เซ็นต์ (Tang et al., 2011), *S. dimorphus* CNW-N มีไขมัน 22 เปอร์เซ็นต์ (Ho et al., 2012), *Scenedemus* sp. LX1 มีไขมัน 31-33 เปอร์เซ็นต์ (Xin et al., 2010a) แต่ต่ำกว่าของ *Scenedemus* sp. LX1 ซึ่งมีไขมัน 53 เปอร์เซ็นต์ (Xin et al., 2010b)

จากการวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และไนโตรเจน (N) ในสาหร่าย ที่เพาะเลี้ยงโดยได้รับระดับคาร์บอนไดออกไซด์แตกต่างกัน พบว่าสาหร่ายมีระดับคาร์บอนในเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น แต่ที่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 และ 7.50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณคาร์บอนในเซลล์ไม่แตกต่างกัน นั่นแสดงให้เห็นว่าระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5.00 เปอร์เซ็นต์ เพียงพอแล้วสำหรับสาหร่ายสายพันธุ์นี้ในการเจริญเติบโตในครั้งนี้ แต่หากนำไปเพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการหรือในสภาวะที่ได้รับแสงมากกว่านี้ ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 7.50 เปอร์เซ็นต์ อาจกระตุ้นให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้มากกว่านี้

และสาหร่ายสามารถสะสมคาร์บอนในเซลล์ได้มากกว่านี้ เพราะแสงมีผลต่อปริมาณการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่าย โดยจากการทดลองนี้สาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณคาร์บอนในเซลล์สูงสุด 33.83±0.56 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 0.03 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) ส่วนปริมาณไฮโดรเจนและไนโตรเจน พบสูงสุดในสาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเท่ากับ 5.87±0.08 และ 5.69±0.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (CN ratio) ของสาหร่ายชนิดนี้มีค่าอยู่ในช่วง 4.77-6.70

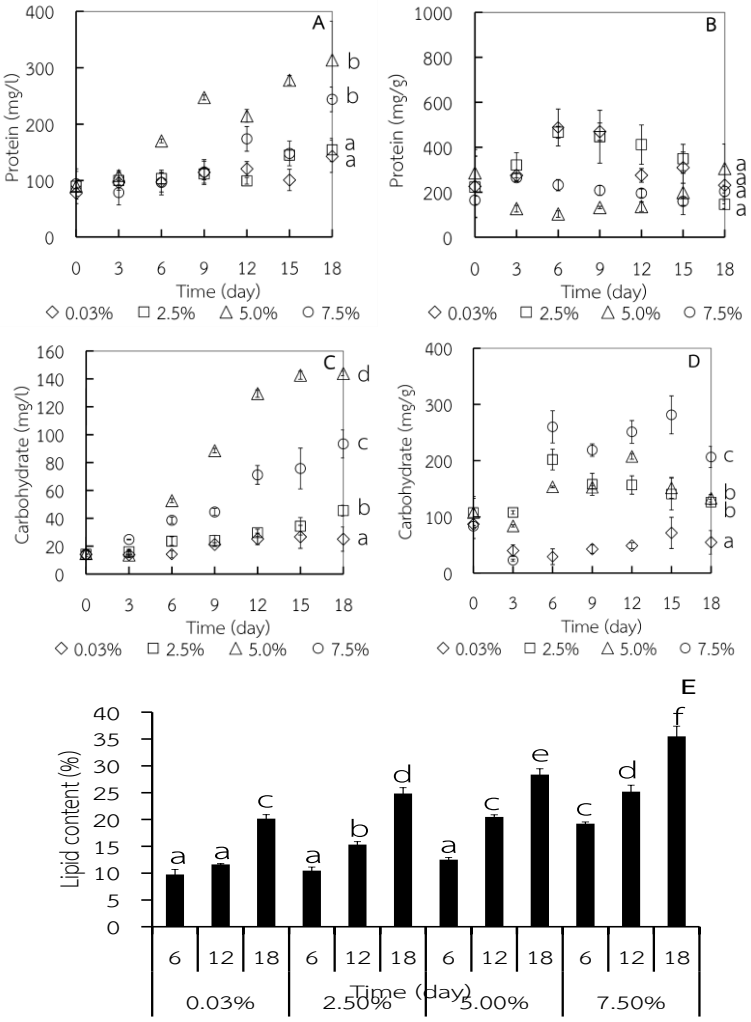

Figure 2 Protein (A-B), carbohydrate (C-D) and lipid content (E) of *S. dimorphus* KMITL cultivated under CO_2 at different concentrations (0.03-7.50%). Different small letters on the lines indicate significant difference at 95 % confidence level (P<0.05). Error bars represent±S.D. of four replicates.

Table 1 Carbon, hydrogen and nitrogen contents (% DW) of *S. dimorphus* KMITL cultivated under CO_2 at different concentrations (0.03-7.50%) for 18 days.

CO_2 (%)	C-content (%)	H-content (%)	N-content (%)	CN ratio
0.03	16.93±0.28^{a}	4.37±0.04^{a}	3.55±0.00^{a}	4.77±0.00^{a}
2.50	24.09±0.33^{b}	5.23±0.06^{b}	4.55±0.01^{b}	5.29±0.02^{b}
5.00	33.83±0.56^{c}	5.87±0.08^{b}	5.69±0.02^{c}	5.95±0.02^{c}
7.50	33.62±0.49^{c}	5.31±0.08^{b}	5.02±0.02^{bd}	6.70±0.03^{d}

Different small letters in each column indicates significant difference (P<0.05). Average±S.D., n=4.

สาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 เปอร์เซ็นต์ เสริมในอาหารเพาะเลี้ยง มีความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงที่สุด โดยความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 fixed) ของสาหร่ายสูงสุดเท่ากับ 1.24±0.03 กรัมต่อกรัม ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์รวม (total CO_2 fixed in biomass) ที่ถูกตรึงโดยสาหร่ายหนึ่งลิตร มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 1.43±0.03 กรัมต่อลิตร อัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 fixation rate) มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 0.14±0.00 กรัมต่อลิตรต่อวัน และ 50.95±3.98 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตรต่อปี (Table 2)

โดยมีรายงานการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์โดยสาหร่ายชนิดอื่นไว้เช่น สาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris* มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้ 0.251 และ 0.624 กรัมต่อลิตรต่อวัน (Sydney et al., 2010) สาหร่ายสีเขียว *Botryococcus braunii* มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้ 1 กรัมต่อลิตรต่อวัน (Marakumi and Ikenouchi, 1997) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Spirulina platensis* มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้ 0.413 กรัมต่อลิตรต่อวัน (Morais and Costa, 2007) และสาหร่ายสีเขียว *Dunaliella tertiolecta* มีการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้ 0.313 กรัมต่อลิตรต่อวัน (Kishimoto et al., 1994) ซึ่งจากการศึกษานี้สาหร่าย *S. dimorphus* KMITL มีอัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่ำกว่าสาหร่ายชนิดอื่นที่มีรายงานไว้ ซึ่งค่านี้ขึ้นกับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะหรืออัตราเร็วในการแบ่งตัว สาเหตุที่ในการศึกษานี้มีค่าต่ำอาจเป็นเพราะการทดลองนี้ทำการเพาะเลี้ยงโดยการควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งที่อุณหภูมิสูงกว่านี้หรือหากนำมาเพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ สาหร่ายย่อมมีการแบ่งเซลล์ที่เร็วขึ้นและจะเพิ่มค่าอัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงขึ้น ทั้งนี้ต้องมีการศึกษาค่าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการต่อไป

Table 2 Carbon dioxide fixation of *S. dimorphus* KMITL cultivated under CO_2 at different concentrations (0.03-7.50%) for 18 days.

CO_2 (%)	Biomass (g/l)	CO_2 fixed/biomass (g/g)	Total CO_2 fixed in biomass (g/l)	biomass productivity (g/l/d)	CO_2 fixation rate (g/l/d)	CO_2 fixation rate ($kg/m^3/y$)
0.03	0.75±0.02[a]	0.62±0.01[a]	0.47±0.00[a]	0.068±0.000[a]	0.04±0.00[a]	15.30±1.28[a]
2.50	0.76±0.04[a]	0.88±0.01[b]	0.67±0.00[b]	0.069±0.000[a]	0.06±0.00[a]	22.13±1.32[b]
5.00	1.15±0.03[b]	1.24±0.03[c]	1.43±0.03[c]	0.113±0.001[b]	0.14±0.00[b]	50.95±3.98[c]
7.50	1.01±0.03[b]	1.23±0.02[c]	1.25±0.02[c]	0.100±0.002[b]	0.12±0.00[b]	44.88±4.46[c]

Different small letters in each column indicates significant difference ($P<0.05$). Average±S.D., n=4.

องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่ายสามารถเป็นดัชนีบ่งบอกถึงความเหมาะสมในการนำสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ เช่น เป็นอาหารเสริมของมนุษย์ ของสัตว์ หรือนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานเพื่อผลิตไบโอดีเซล ซึ่งผลจากการทดลองครั้งนี้พบว่าสาหร่ายที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์เกือบทุกระดับมีกรดไขมัน C16:0 หรือ palmitic acid เป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีค่าของทุกชุดการทดลองอยู่ในช่วง 19.85-57.91 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาในชุดการทดลองที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 0.03-2.50 เปอร์เซ็นต์ คือกรดไขมัน C18:0 หรือ stearic acid โดยมีค่าอยู่ในช่วง 11.33-20.53 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00-7.50 เปอร์เซ็นต์ คือกรดไขมัน C18:3n3 หรือ linolenic acid 9.45-22.44 เปอร์เซ็นต์ (Table 3)

กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) มีค่าอยู่ในช่วง 39.96-83.88 เปอร์เซ็นต์ โดยค่าต่ำสุดและสูงสุดพบในสาหร่ายที่ได้รับ คาร์บอนไดออกไซด์ 7.50 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) มีค่าอยู่ในช่วง 16.12-60.04 เปอร์เซ็นต์ โดยแบ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated fatty acid) อยู่ในช่วง 12.05-28.63 เปอร์เซ็นต์ และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid) 4.07-43.41เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาครั้งนี้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อได้รับคาร์บอนไดออกไซด์ 5.00 เปอร์เซ็นต์ การศึกษานี้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้ไม่มีการปนเปื้อนของแก๊สอื่น แต่หากนำไปเพาะเลี้ยงโดยเสริมด้วย flue gas จากโรงไฟฟ้า ซึ่งมีองค์ประกอบแก๊สชนิดอื่นด้วยนอกจากคาร์บอนไดออกไซด์ เช่น ไนตรัสออกไซด์ ซัลเฟอร์ออกไซด์ ซึ่งมีบทบาททั้งช่วยเสริมและยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายได้ ขึ้นกับความเข้มข้นของแก๊สดังกล่าว ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาถึงการอยู่รอดการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีอีกครั้งหนึ่ง เพราะผลที่ได้ย่อมส่งผลต่างจากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

Table 3 Fatty acid profiles of *S. dimorphus* KMITL under CO_2 at different concentrations (0.03-7.50%) on day 0^{th}, 6^{th}, 12^{th}, and 18^{th}.

FA (%)	CO_2 0.03%				CO_2 2.50%			CO_2 5.00%			CO_2 7.50%		
	0	6^{th}	12^{th}	18^{th}	6^{th}	12^{th}	18^{th}	6^{th}	12^{th}	18^{th}	6^{th}	12^{th}	18^{th}
C4:0	0.32	0.98	0.12	0.31	0.46	0.22	3.37	0.19	0.08	0.07	2.11	1.11	1.55
C6:0	0.02	0.23	0.09	0.10	0.43	0.05	2.60	0.01	0.08	0.03	3.70	1.05	0.52
C8:0	0.03	0.50	0.02	0.05	0.49	0.34	4.91	0.26	0.08	0.07	0.59	0.33	0.23
C10:0	0.89	0.39	0.01	0.18	0.39	0.02	4.12	0.22	0.16	0.10	0.09	0.17	0.11
C11:0	0.26	0.34	0.10	0.69	0.44	0.16	1.48	0.42	0.59	0.03	1.94	0.52	1.39
C12:0	2.53	1.24	0.35	1.14	0.97	0.69	2.88	0.80	9.07	4.71	2.20	1.77	2.95
C13:0	1.31	1.23	0.52	0.70	0.61	0.16	4.85	3.12	4.82	4.32	3.25	0.82	1.44
C14:0	5.48	6.02	6.18	6.75	7.30	5.16	7.24	2.62	0.95	1.36	1.66	2.21	0.63
C14:1	2.58	0.40	0.44	0.47	0.73	0.57	0.97	0.32	0.27	0.37	0.14	0.18	0.64
C15:0	0.95	0.97	0.42	0.53	1.13	0.94	2.85	0.95	0.83	0.83	0.95	0.74	0.45
C15:1	0.26	0.31	1.33	0.50	0.39	0.58	0.15	0.19	0.10	0.10	1.01	1.87	0.73
C16:0	31.10	30.46	32.49	28.14	27.00	26.86	36.38	57.91	26.56	35.76	19.85	24.98	22.05
C16:1	4.72	1.51	1.18	2.06	1.89	1.76	0.00	4.15	4.57	7.00	2.20	5.37	3.97
C17:0	1.55	2.68	0.13	1.49	3.17	3.22	0.03	1.13	2.72	2.94	1.99	3.11	2.53
C17:1	0.27	0.02	0.06	0.11	0.06	0.16	0.36	0.19	0.48	0.60	0.24	2.24	0.03
C18:0	11.66	20.53	11.33	13.15	17.06	19.93	12.71	2.63	2.93	4.02	0.62	0.54	5.84
C18:1n9t	2.05	4.94	1.15	4.71	5.92	6.26	0.42	1.81	0.01	0.21	5.47	5.60	4.75
C18:1n9c	8.82	14.17	0.32	10.94	15.98	11.44	9.37	3.88	9.38	10.81	3.24	3.76	2.53
C18:2n6t	0.41	0.23	0.11	0.34	0.39	0.27	0.03	0.39	0.01	0.08	0.17	2.47	0.76
C18:2n6c	6.92	3.38	1.01	2.49	2.26	2.22	0.02	2.23	11.13	10.51	8.75	4.79	8.09
C18:3n3	6.49	5.37	2.92	15.36	4.34	3.31	0.01	9.45	11.12	12.41	11.19	16.81	22.44
C18:3n6	0.59	0.36	0.21	0.33	0.07	0.12	0.01	0.28	0.57	0.46	0.60	2.38	0.45
C20:0	1.49	0.02	0.02	0.10	0.04	0.05	0.03	0.22	10.46	0.02	0.14	0.08	0.42
C20:1	0.27	0.02	0.02	0.58	0.01	0.02	0.03	0.81	0.90	1.03	0.84	0.71	0.15
C20:2	0.20	0.08	0.16	0.18	0.01	0.42	0.02	0.70	0.04	0.08	0.48	0.10	0.25
C20:3n3	0.05	0.08	0.00	1.55	0.17	1.32	0.48	0.27	0.04	0.18	1.38	0.55	2.93
C20:3n6	0.11	0.20	2.71	0.41	0.16	2.04	2.60	0.18	0.05	0.19	8.11	2.76	2.03
C20:4n6	0.10	0.70	5.54	1.60	1.29	2.13	0.79	0.36	0.09	0.24	1.56	0.70	2.55
C:20:5n3	0.11	0.01	3.59	0.05	0.02	1.00	0.05	0.05	0.03	0.04	4.34	1.70	0.03
C21:0	0.34	0.04	0.37	0.25	0.08	0.50	0.01	0.57	0.06	0.07	0.24	0.04	0.14
C22:0	0.86	0.20	2.21	0.49	0.25	0.72	0.05	0.93	0.43	0.46	1.72	0.14	0.45
C22:1n9	1.74	0.30	4.25	0.80	2.67	1.19	0.41	0.65	0.23	0.36	1.82	0.31	0.38
C22:2	0.67	0.06	2.37	1.33	0.14	0.00	0.05	0.39	0.30	0.03	2.38	6.73	3.07
C22:6n3	0.60	0.00	0.00	0.05	0.00	0.93	0.01	0.22	0.18	0.05	0.02	0.32	0.81
C23:0	0.88	0.54	1.51	0.89	1.16	1.17	0.35	0.23	0.33	0.10	0.75	0.47	1.16
C24:0	2.05	0.85	3.42	0.78	1.55	2.47	0.01	0.94	0.30	0.35	2.50	1.86	0.62
C24:1	1.31	0.63	13.34	0.42	0.99	1.59	0.35	0.34	0.05	0.06	1.75	0.70	0.92
SFA	61.72	67.22	59.29	55.73	62.52	62.67	83.88	73.15	60.45	55.22	44.32	39.96	42.47
UFA	38.28	32.78	40.71	44.27	37.48	37.33	16.12	26.85	39.55	44.78	55.68	60.04	57.53
MUFA	22.02	22.30	22.09	20.59	28.63	23.58	12.05	12.33	15.98	20.53	16.71	20.74	14.11
PUFA	16.25	10.48	18.61	23.68	8.85	13.75	4.07	14.52	23.56	24.25	38.97	39.31	43.41

FA: Fatty acid, SFA: Saturated fatty acid, UFA: Unsaturated fatty acid, MUFA: Monounsaturated fatty acid, PUFA: Polyunsaturated fatty acid.

สรุปผลการศึกษา

การเสริมคาร์บอนไดออกไซด์ในอาหาร 5.00 เปอร์เซ็นต์ คือระดับที่เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มผลผลิตของสาหร่าย *S. dimorphus* KMITL โดยทำให้สาหร่ายมีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 1.15±0.03 กรัมต่อลิตร และมีความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงที่สุดเท่ากับ 1.43±0.03 กรัมต่อลิตร มีอัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ 50.95±3.98 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตรต่อปี แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายนี้มีความเหมาะสมในการใช้เป็นตัวตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (A118-0260-013)

เอกสารอ้างอิง

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2558. การดูดซับสีย้อมแอซิด เบเนวอล เรด โดยใช้สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus* ที่มีชีวิตแบบตรึงเซลล์. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า* 33: 82-92.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และจันทรา ดีมาก. 2561. ผลของอัตราส่วนไนโตรเจนต่อเหล็ก ต่อการเจริญและการผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus dimorphus*. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า* 36: 77-86.

Aburail, N., Sumida, D., and Abe, K. 2015. Effect of light level and salinity on the composition and accumulation of free and ester-type carotenoids in the aerial microalga *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae). *Algal Research* 8: 30-36.

Becker, E. W. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. Great Britain: Cambridge University Press.

Bligh, E. G., and Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37: 911-917.

Borowitzka, M. A. 2010. Carotenoid production using microorganisms, pp. 225-240. In *Single cell oils*. *Microbial and Algal Oils,* Z. Cohen, and C. Ratledge, eds. Urbana: AOCS Press.

Borowitzka, M. A. 2013. High-value products from microalgae-their development and commercialization. *Journal of Applied Phycology* 25: 743-756.

DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.

Dufosse, L., Galaup, P., Yaron, A., Arad, S. M., Blanc, P., Chidambara Murthy, K. N., and Pavishankar, G. A. 2005. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or and industrial reality?. *Trends in Food Science and Technology* 16: 389-406.

Farias Silva, C. E., and Bertucco, A. 2016. Bioethanol from microalgae and cyanobacteria: A review and technological outlook. *Process Biochemistry* 51: 1833-1842.

Ge, Y., Liu, J., and Tian, G. 2011. Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO_2 concentration in photobioreactor. *Bioresource Technology* 102: 130-134.

Ho, S. H., Chen, C. Y., and Chang, J. S. 2012. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO_2 fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresource Technology* 113: 244-252.

Jacob-Lopes, E., Scoparo, C. H. G., Lacerda, L. M. C. F., and Franco, T. T. 2009. Effect of light cycles (night/day) on CO_2 fixation and biomass production by micro-algae in photobioreactors. *Chemical Engineering and Processing* 48: 306-310.

Kishimoto, M., Okakura, T., Nagashima, H., Minowa, T., Yokoyama, S., and Yamabe, K. 1994. CO_2 fixation and oil production using micro-algae. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 78: 479-482.

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

Morais, M. G., and Costa, J. A. V. 2007. Carbon dioxide fiation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris, Scenedesmus obliquus and Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. *Biotechnology Letters* 29: 1349-1352.

Murakami, M., and Ikenouchi, M. 1997. The biological CO_2 fixation and utilization project by RITE-Screening and breeding of microalgae with high capability in fixing CO_2. *Energy Conversion Management* 38: S493-S497.

National Oceanic and Atmospheric Administration. 2018. Trends in atmospheric carbon dioxide. Source: https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/global.html#global (15 May 2019).

Ostgaard, K., Indergaard, M., Markussen, S., Knutsen, S. H., and Jensen, A. 1993. Carbohydrate degradation and methane production during fermentation of *Laminaria saccharina* (Laminariales, Phaeophyceae). *Journal of Applied Phycology* 5: 333-342.

Pooja, K., and Himabindu, V. 2012. CO_2 removal from industrial flue gas using *Botrycoccus branii* for simultaneous lipid production. *International Journal of Science and Research* 3: 366-373.

Qin, S., Liu, G. X., and Hu, Z. Y. 2008. The accumulation and metabolism of astaxanthin in *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae). *Process Biochemistry* 43: 795-802.

Ruangsomboon, S., Ganmanee, M., and Choochote, S. 2013. 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. *Journal of Applied Phycology* 25: 867-874.

Ruangsomboon, S., Choochote, S., Thaweekijakarn, P., and Aue-umneoy, D. 2012. Nitrogen and Phosphorus removal from wastewater by green microalga, *Scenedesmus dimorphus*. In *Proceeding of the 2nd Asia-Oceania algae innovation summit: algae for sustainable development*. 3-5 September 2012. Bangkok. Thailand.

Sydney, E. B., Sturm, W., Carvalho, J. C., Thomax-Soccol, V., Larroche, C., Pandey, A., and Soccol, C. R. 2010. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresource technology* 101: 5892-5896.

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. *Bioresource Technology* 102: 3071–3076.

Toledo-Cervantes, A., Morales, M., Novelo, E., and Revah, S. 2013. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresource Technology* 130: 652-658.

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

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 Biotechnology* 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. *Bioresource Technology* 101: 5494-5500.

Yoshimura, T., Okada, S., and Honda, M. 2013. Culture of the hydrocarbon producing microalga *Botryococcus braunii* strain Showa: optimal CO_2, salinity, temperature, and irradiance conditions. *Bioresource Technology* 133: 232-239.

วันรับบทความ (Received date) : 12 พ.ย. 62

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 2 ม.ค. 63

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 17 ก.ค. 63