

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Nostoc commune* ที่เลี้ยงภายใต้อาหารที่แตกต่างกัน
Nutritional value of *Nostoc commune* cultured in different media

นางสาวสมสุดา เตชกิจเจริญ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุนิรัตน์ เรืองสมบุญ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....

สุนิรัตน์ เรืองสมบุญ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุนิรัตน์ เรืองสมบุญ)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ 4 พฤษภาคม พ.ศ 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Nostoc commune* ที่เลี้ยงภายใต้อาหารที่แตกต่างกัน

Nutritional value of *Nostoc commune* cultured in different media



T099226

โดย

นางสาวสมสุดา เตชกิจเจริญ

ปก.

ส 286 ศ

2547

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 99226

วันเดือนปี..... 17 3 1999

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

คุณค่าทางโภชนาการของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงภายใต้อาหารที่แตกต่างกัน Nutritional value of *Nostoc commune* cultured in different media

ในการศึกษานี้ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Nostoc commune* ในอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน 4 สูตร ได้แก่ Bold's basal medium, BG-11, Nitrogen free medium และ Chlorella medium เพื่อวัดการเจริญเติบโตและคุณค่าทางโภชนาการของ *N. commune* ผลการทดลองปรากฏว่าอาหารสูตร Chlorella medium ให้ผลผลิต *N. commune* ในวันสุดท้ายมากที่สุดเท่ากับ 2.63 ± 1.71 กรัมต่อลิตร รองลงมาได้แก่ Nitrogen free medium, BG-11 และ Bold's basal medium ตามลำดับ นอกจากนี้ Chlorella medium ยังทำให้ *N. commune* มีปริมาณโปรตีนและไขมันมากที่สุดด้วยคือร้อยละ 42.81 ± 0.17 และ 2.00 ± 0.29 ตามลำดับ และ *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหาร BG-11 ให้คาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดคือร้อยละ 45.53 ± 2.89

ในส่วนของ การเลี้ยง *N. Commune* ในอาหารสูตร BBM โดยใช้ยูเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นแหล่งไนโตรเจนนั้นพบว่ายูเรียที่ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณผลผลิตดีที่สุดคือ 1.96 ± 0.05 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ ยูเรียที่ความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในยูเรียทั้ง 3 ความเข้มข้นนั้นพบว่าให้ร้อยละของโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตไม่แตกต่างกัน โดยที่ ยูเรียเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ให้โปรตีน สูงที่สุดคือร้อยละ 50.69 ± 0.36 ส่วนที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ให้ไขมันร้อยละ 0.91 ± 0.02 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 16.96 ± 1.25

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอาจารย์สุธีรัตน์ เรื่องสมบุญ เป็นอย่างสูงที่ได้กรุณาสละเวลาอันมีค่าคอยให้คำแนะนำเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาคอยดูแลเอาใจใส่ ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่อง ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงมาได้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านด้วยความเคารพเป็นอย่างสูงที่อาจารย์ทุกท่านได้ประสิทธิประสาทวิชาความรู้แก่ข้าพเจ้าทั้งเรื่องการเรียนรู้และคำแนะนำเกี่ยวกับการใช้ชีวิตต่าง ๆ นานา รวมทั้งต้องขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่ต้องเหน็ดเหนื่อยเสียสละเวลาคอยให้ความสนับสนุนช่วยเหลือข้าพเจ้าในระหว่างการทำปัญหาพิเศษมาโดยตลอด

นางสาวสมสุดา เตชกิจเจริญ

พฤษภาคม 2548

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	16
ผลการทดลองและวิจารณ์	28
สรุปผลการทดลอง	41
เอกสารอ้างอิง	42
ภาคผนวก	46



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายเห็ดคลาบ (<i>N. Commune</i>)	13
2	คุณค่าทางโภชนาการของ <i>Nostoc commune</i> ที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร	32
3	คุณค่าทางโภชนาการของ <i>Nostoc commune</i> ที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน	33
4	เปรียบเทียบร้อยละโปรตีนของแหล่งโปรตีนชนิดต่างๆ	34
5	คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายเกลียวทอง <i>Spirulina maxima</i>	35
6	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้รับจากสาหร่ายอัดเม็ดและแหล่งโปรตีนอื่นๆ	35
7	ส่วนประกอบทางเคมีของสาหร่ายทะเล <i>Enteromorpha sp.</i>	35
8	โปรตีน ไขมัน และไขมันของสาหร่ายบางชนิด (กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม)	36
9	ไขมัน คลอโรฟิลล์และกรดไขมันของสาหร่ายทะเล <i>Enteromorpha sp.</i>	36
10	กรดอะมิโนที่พบใน <i>Enteromorpha sp.</i> (กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน)	37
11	ปริมาณกรดอะมิโนชนิดจำเป็น (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) ที่พบในอาหาร จำพวกสัตว์และพืชรวมทั้งในผลิต	38
ตารางผนวกที่		หน้า
1	อาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร Bold's basal	46
2	อาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร BG-11	47
3	อาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร Nitrogen free	48
4	สูตรอาหารเลี้ยงคลอโรลลา (<i>Chlorella medium</i>)	49
5	น้ำหนักแห้งของ <i>Nostoc commune</i> ที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร (กรัมต่อลิตร)	50
6	ปริมาณคลอโรฟิลล์ของ <i>Nostoc commune</i> ที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	51
7	น้ำหนักแห้งของ <i>Nostoc commune</i> ในอาหารสูตร BBM ที่ใช้ยูเรีย ความเข้มข้นต่างๆ (กรัมต่อลิตร)	52
8	ปริมาณคลอโรฟิลล์ของ <i>Nostoc commune</i> ในอาหารสูตร BBM ที่ใช้ยูเรียความเข้มข้นต่างๆ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ก. ลักษณะ Capsular jelly ของ <i>Nostoc commune</i> ที่แยกได้จากดิน	3
	ข. ลักษณะของทริยโคกรมของ <i>Nostoc commune</i> ที่แยกได้จากดิน	3
2	กราฟแสดงการเจริญเติบโตของ <i>Nostoc commune</i> ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ	28
3	กราฟแสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ของ <i>Nostoc commune</i> ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ	28
4	การเจริญเติบโตของ <i>Nostoc commune</i> ที่เลี้ยงในอาหารที่ยูเรีย ความเข้มข้นต่างๆเป็น แหล่งไนโตรเจน	30
5	ปริมาณคลอโรฟิลล์ของ <i>Nostoc commune</i> ที่เลี้ยงในอาหารมียูเรีย ความเข้มข้นต่างเป็นแหล่งไนโตรเจน	31

คำนำ

ในปัจจุบันประชากรโลกได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วมากจนทำให้นักวิทยาศาสตร์ต้องทำการศึกษาค้นคว้าหาแหล่งอาหารแหล่งใหม่เพื่อรองรับความต้องการการบริโภคของมนุษย์ สาหร่ายหลายชนิดถูกค้นพบว่าสามารถนำมาบริโภคได้และเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าสำหรับสัตว์และมนุษย์ เช่น สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina sp.*) สาหร่าย *Nostoc commune* เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันสาหร่ายเกลียวทองได้รับความนิยมนำมาผสมในอาหารสัตว์เพื่อเป็นแหล่งโปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ และยังสามารถผลิตเป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพสำหรับมนุษย์อีกด้วย และเนื่องจากแนวโน้มการรับประทานอาหารเพื่อสุขภาพที่มากขึ้นในปัจจุบันทำให้สาหร่ายเป็นที่ต้องการของตลาดมากขึ้นด้วย

สาหร่าย *Nostoc commune* เป็นสาหร่ายอีกชนิดหนึ่งที่มนุษย์สามารถนำมารับประทานได้และนิยมรับประทานกันในระดับชาวบ้านในหลายประเทศทั่วโลก จึงเป็นอีกตัวเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาเลือกรับประทานกันได้แต่ยังไม่ได้รับนิยมอย่างกว้างขวางเท่ากับสาหร่ายเกลียวทอง ดังนั้นในปัญหาพิเศษนี้จึงตั้งใจที่จะศึกษาถึงคุณค่าทางโภชนาการและการเจริญเติบโตของ *N. Commune* นี้เพื่อที่จะสามารถนำ *N. Commune* นี้ไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไปทั้งในด้านที่ใช้เป็นอาหารสัตว์และอาหารเสริมสำหรับมนุษย์นอกจากสาหร่ายเกลียวทองที่ได้รับความนิยมอยู่ในปัจจุบัน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบว่าคุณค่าทางอาหารเลี้ยงชีพของ 4 สูตร คือ Bold's basal medium, BG-11, Nitrogen free medium และ Chlorella medium อาหารสูตรใดที่สามารถทำให้ *N. commune* เจริญเติบโตได้ดีที่สุด
2. เพื่อที่ทราบว่ายูเรียสามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนแทนการใช้ไนเตรตเพื่อลดต้นทุนการผลิตได้หรือไม่และยูเรียที่ความเข้มข้นใดที่ทำให้ *N. commune* เจริญเติบโตได้ดีที่สุด
3. เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของ *N. commune* เพื่อเป็นทางเลือกในการนำมาบริโภคเป็นอาหารเพื่อสุขภาพสำหรับมนุษย์และผสมในอาหารสัตว์

การตรวจเอกสาร

สาหร่ายเห็ดลดาบ

สาหร่าย *Nostoc commune* สายพันธุ์ TISTR 8283 จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินซึ่งถือเป็นพืชชั้นต่ำที่มีลักษณะแตกต่างจากสาหร่ายในกลุ่มอื่นๆอย่างชัดเจน คือ 1. สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นพวก Prokaryotic คือ ไม่มีนิวเคลียสที่แท้จริงและไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส 2. เป็นกลุ่มที่ไม่มีหนวดสำหรับใช้ในการเคลื่อนที่ 3. เมื่อมีการเคลื่อนที่จะใช้การวิธีที่เรียกว่า Gliding motion 4. มี Biloprotien เป็นรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงและมีแคโรทีนอยด์บางชนิด เช่น Myxoxanthin และ Mycoxanthophyll 5. อาหารสะสมมีองค์ประกอบของโปรตีนเรียกว่า Cyanophycin (Fox, 1967)

N. commune เป็นชนิดที่มีการบริโภคกันมากในหลายประเทศทั่วโลก เช่น โบลิเวีย เอกวาดอร์ ฟิจิ อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น เม็กซิโก มองโกเลีย และจีน ในประเทศไทยเรียกว่า "ไซหิน" , "ดอกหิน" หรือ "เห็ดลดาบ" ประเทศจีนเรียกว่า "Koxianmi" ในประเทศญี่ปุ่นเรียกว่า "Ishikurage" ส่วนในแถบยุโรปเรียก *Nostoc* ว่า "Star shot" , "Star jelly" , "Witch's butter" หรือ "Fairies butter" สาหร่าย *N. commune* เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ มีลักษณะเป็นแผ่นวุ้นแบนบางคล้ายเห็ดหูหนูสีเขียวที่ขึ้นบนดิน ชาวบ้านในพื้นที่อำเภอนาเชือก จังหวัดมหาสารคาม นิยมเก็บไปทำลดาบ จึงทำให้ได้ชื่อประจำท้องถิ่นว่า "เห็ดลดาบ" โดยมีความเชื่อตามภูมิปัญญาท้องถิ่นว่าการบริโภคเห็ดลดาบจะช่วยรักษาระบบกระเพาะอาหารและลำไส้ เมื่อเกิดฝนตกสาหร่ายในหน้าร้อนที่หดตัวเป็นแผ่นบางกรอบ คล้ายกระดาษซึ่งเป็นระยะพักตัว (resting stage) ดูดซับน้ำฝน ขยายตัวและเติบโตโดยการแบ่งเซลล์แล้วออกเป็นแผ่นวุ้นบาง ไม่มีรสชาติ มีเนื้อนุ่มหยุ่นแต่กรอบ คล้ายสาหร่ายทะเล *Undaria pinnatifida* หรือ Wakame ที่นิยมบริโภคในญี่ปุ่น ทำให้ชาวบ้านนิยมเก็บมาบริโภคกันเป็นประจำทุกปี ในฤดูฝนเป็นฤดูกาลเดียวเท่านั้นที่สาหร่ายชนิดนี้จะแพร่และขยายพันธุ์ได้จนเป็นที่น่าเกรงขามความนิยมบริโภคสาหร่าย *N. commune* ของชาวบ้านในท้องถิ่นจะเป็นสาเหตุให้สาหร่ายชนิดนี้สูญหายไปจากพื้นที่ในที่สุด (อภารัตน์, 2546) ซึ่งสอดคล้องกับปัญหาพิเศษฉบับนี้ที่ต้องการทราบว่าสูตรอาหารใดที่จะทำให้สาหร่าย *N. commune* เจริญเติบโตได้ดีที่สุด (ในห้วงปฏิบัติการ) เพื่อที่จะสามารถทำการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ได้ต่อไป

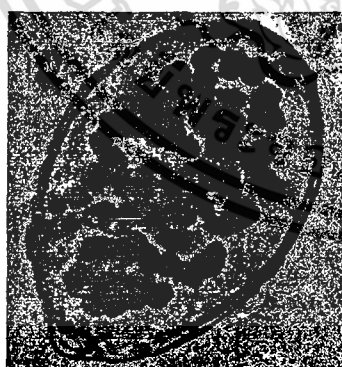
อนุกรมวิธาน

Division	Cyanophyta
Class	Cyanophyceae
Order	Nostocales
Family	Nostocaceae

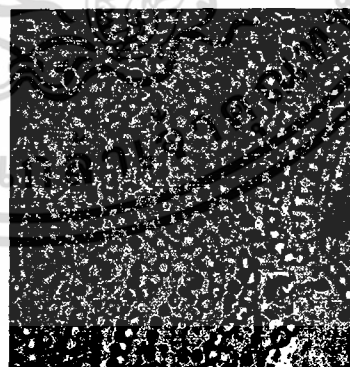
ลักษณะของสาหร่าย *N. commune*

N. commune มีลักษณะของทลลัสประกอบด้วยเซลล์ที่มีแคปซูลเจลไค ห่อหุ้มตัวรวมกันอย่างหนาแน่น มีลักษณะนุ่มหรือแน่นทำให้มีลักษณะผิวคล้ายแผ่นหนัง สามารถสร้างกลุ่มเซลล์ได้ทั้งขนาดเล็กขนาดใหญ่ ทรัยโคมอยู่เดี่ยวๆมีความกว้าง 5 – 7 ไมครอน เส้นสายมีความกว้างของเซลล์เท่ากันทั้งสาย ไม่แตกแขนง อาจมีเมือกสีใส หรือไม่มีสีหุ้มอยู่ มีเฮเทอโรซิสต์ใช้ในการตรึงไนโตรเจนกว้างประมาณ 7.25 ไมครอน ส่วนใหญ่พบว่ามีตำแหน่งอยู่ทางด้านปลายสุดของเส้นสาย เรียกว่า เบซอลเฮเทอโรโรซิสต์ (Basal heterocyst) บางครั้งอาจพบอยู่กลางทรัยโคม อาจพบอะคิเนต (Akinete) ซึ่งทำหน้าที่สืบพันธุ์อยู่ติดกับเฮเทอโรซิสต์ (อาภารัตน์, 2546)

สาหร่าย *N. commune* มีลักษณะเป็นวุ้นแบนบางหนา 1.0 มิลลิเมตร มีสีตั้งแต่สีน้ำเงินแกมเขียวจนถึงสีเหลือง ซึ่งคล้ายเห็ดหูหนูสีเขียวที่ขึ้นบนดิน ดังภาพที่ 1 ขนาดของแผ่นจะแตกต่างกันไปตามสถานที่ที่พบ หากเป็นพื้นที่ที่มีน้ำขังและอยู่นานสาหร่ายที่พบจะมีลักษณะเป็นแผ่นขนาดใหญ่ ส่วนสาหร่าย *N. commune* แห่งจะมีลักษณะหดตัวเป็นแผ่นแข็งสีน้ำตาลถึงดำมีลักษณะขรุขระ



ก.



ข.

ภาพที่ 1 *Nostoc commune* ที่แยกได้จากดิน ก. ลักษณะของ Capsular jelly ข. ลักษณะของทรัยโคม

ที่มา : Singh (1961)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะเด่นของ *N. commune* คือสามารถสร้างโพลีแซคคาไรด์แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ได้ในลักษณะคล้ายเมือก (Extracellular polysaccharide) ที่ปล่อยออกทุกทิศทางหรืออยู่ในเซลล์รูปแคปซูลห่อหุ้ม (Capsular jelly)

แหล่งที่อยู่อาศัย

Nostoc มีการแพร่กระจายไปทั่วโลกสามารถพบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำเค็ม ในเขตร้อนและเขตอบอุ่นรวมทั้งเขตขั้วโลกด้วย แต่มักจะพบได้น้อยในน้ำเค็ม (Fritsch, 1945) นอกจากนี้ที่อยู่อาศัยของสาหร่ายในกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงินยังสามารถพบได้ทั้งในน้ำ ปอน้ำร้อน บนดินและก้อนหินที่ชื้นแฉะรวมถึง ตามต้นไม้ที่ชื้นแฉะโดยอยู่ร่วมกับแบคทีเรียในลักษณะที่เรียกว่าไลเคน (*Collma tenax*) ด้วย หรืออาจอาศัยอยู่ในต้นพืช เช่น เฟิร์น ลิเวอร์เวิร์ต อีกด้วย (Singh, 1961) Fritsch (1922) อ้างโดย Singh, 1961 ได้แบ่งที่อยู่อาศัยของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบนพื้นดินออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มที่อาศัยอยู่ใต้ผิวน้ำดิน เรียก Subterranean community
2. กลุ่มที่อาศัยอยู่ผิวน้ำดินหรือใต้ผิวน้ำดินเพียงเล็กน้อย เรียก Surface community
3. กลุ่มที่อาศัยอยู่บนชั้นสเตรทอื่นๆ เช่น ก้อนหิน, ลำต้นของต้นไม้ เรียก Terrestrial subsrata
4. กลุ่มที่ลอยลอยอยู่ในอากาศ เรียก Aerial community

ในกลุ่ม Subterranean community เป็นที่ทราบกันดีว่าสาหร่ายบางชนิดมักจะพบในบริเวณที่มีแสงแดดน้อยแต่มีสารอินทรีย์สูง จัดเป็นพวก Chemo-organotrophic ได้มีการศึกษายืนยันว่า *N. muscorum* สามารถเจริญเติบโตได้ในที่มืดโดยใช้กลูโคสหรือซูโคส แต่จะมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำเมื่อถูกเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีแสง (Allison และคณะ, 1937 และ Myers, 1955) อ้างโดย Singh (1961) Allen (1952) อ้างโดย Singh (1961) พบว่าสาหร่ายชนิดอื่นๆเจริญเติบโตได้ช้าเมื่อไม่มีแสงแม้ว่าจะได้รับสารอาหารที่เหมาะสม อาจจะเป็นเพราะว่าสาหร่ายจะต้องดำรงชีวิตแย่งอาหารกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆในดินและดูเหมือนว่าสาหร่ายจะแข่งขันได้ไม่ดี

Bristol (1927) อ้างโดย Singh (1961) พบว่าประชากรสาหร่ายมีความอุดมสมบูรณ์มากใต้พื้นดินลงมา 1 นิ้ว และพบว่าที่ 4 นิ้วใต้พื้นดินมีจำนวนมากกว่า ในขณะที่ 2-3 นิ้วใต้พื้นดินและต่ำกว่า 4 นิ้วใต้พื้นดินมีจำนวนประชากรสาหร่ายน้อย เป็นที่ทราบกันดีว่าที่ความลึก 4 นิ้วใต้พื้นดินนั้นมีกิจกรรมทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในดินมากที่สุด ในประเทศไทย *Nostoc* พบได้ในบริเวณที่จำกัด สามารถพบได้เฉพาะบริเวณที่ใกล้เทือกเขาที่มีไอน้ำเย็นๆ มักพบ *Nostoc* ลอยอยู่บนผิวน้ำ (Bhumintana, 1977)

การสืบพันธุ์ของ *Nostoc*

ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะไม่พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเลย สาหร่ายสกุล *Nostoc* มีการสืบพันธุ์โดยการหักท่อน ในบางชนิดการขาดของเส้นสายจะขาดตรงจุดที่มีเฮเทอริโรซิสต์ อาจพบมีการสร้างโฮโมโกเนีย (Homogonia) ภายในเส้นสายที่เรียกว่าทริยโคม โฮโมโกเนียเป็นเส้นสายสั้นๆปลายกลมมนอยู่ในทริยโคมและจะเคลื่อนตัวออกนอกทริยโคมโดยอาศัยวิธี Gliding motion การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศสามารถทำได้โดยการสร้าง Akinete ซึ่งมักพบในเส้นสายที่มีความยาว เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และมีอาหารสะสมอยู่มาก โดยได้รับอาหารมาจากเฮเทอริโรซิสต์ (Fox, 1967)

Lazaroff และ Vishniac อ้างโดย Fox (1967) ได้ศึกษาอิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่อการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตของ *N. muscorum* จากการศึกษาสรุปได้ว่า *N. muscorum* มีวงจรชีวิต 2 แบบ คือ Heterocystous cycle และ Sporogenous cycle ในสภาวะที่มีการสังเคราะห์แสง คือ มีแสงเพียงพอและใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสงจะมีการสืบพันธุ์โดยการสร้างโฮโมโกเนีย และมีหักท่อนของเส้นสายที่เฮเทอริโรซิสต์ แต่เมื่อ *N. muscorum* เจริญเติบโตในสภาวะที่ไม่มีแสงและมีกลูโคสหรือซูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนมันจะแตกเส้นสายเป็นเซลล์เดี่ยวๆ ในตอนแรกเซลล์จะฟอร์มตัวเป็น Motile filament (มีลักษณะเหมือนกับโฮโมโกเนีย) และเข้าสู่ระยะเฮเทอริโรซิสต์ เมื่อได้รับแสง Motile filament จะเจริญเป็น heterocystous filament หลังจากช่วงระยะ anastomosis (Fox, 1967)

เฮเทอโรซิสต์

ลักษณะเด่นของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินกลุ่ม Nostocales คือ มีเฮเทอโรซิสต์ ซึ่งเป็นเซลล์พิเศษที่แตกต่างจากเซลล์ปกติทั่วไปโดยมีหน้าที่หลักในการตรึงไนโตรเจน เกิดขึ้นในระหว่างมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว Fay (1973) อ้างโดย อภารัตน์ (2546) สรุปกลไกการเกิดเฮเทอโรซิสต์ไว้โดยรวมนัดนี้ คือ ชั้นแรกเซลล์ปกติเซลล์ใดเซลล์หนึ่งจะขยายขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากมีอาหารมาสะสมมากขึ้น ทำให้จากเดิมเซลล์ที่เป็นรูปเหลี่ยมจะเปลี่ยนเป็นกลมขึ้นชั้นต่อมาเกิดการคอดกั้วระหว่างเซลล์ที่กำลังพัฒนาไปเป็นเฮเทอโรซิสต์กับเซลล์ปกติมากขึ้น และชั้นสุดท้ายผนังเซลล์จะสร้างไพบรุตเป็นชั้นขึ้นมา

ระหว่างเฮเทอโรซิสต์และเซลล์ปกติเชื่อมต่อกันโดยผ่านทางรูเล็กๆที่เรียกว่า โพลานอดูล (Polar nodule) เฮเทอโรซิสต์ที่อยู่ปลายจะมีหนึ่งโพลานอดูล ในขณะที่เฮเทอโรซิสต์ที่อยู่ระหว่างเซลล์ในเส้นสายจะมี 2 โพลานอดูล และในชนิดที่มีการแตกแขนงจะมี 3 โพลานอดูล เมื่อเฮเทอโรซิสต์ปรากฏอยู่ตรงฐานที่แตกแขนง เช่น *Mastigocladus laminosus* (Venkataraman, 1957) ซึ่งทำให้เฮเทอโรซิสต์สามารถเชื่อมต่อกับเซลล์ได้ทั้ง 3 เซลล์ (อภารัตน์, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้าที่ของเฮเทอโรซิสต์นั้นมีมากมายหลายทฤษฎีด้วยกัน ในจำนวนนั้นมี 3 ทฤษฎีที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง คือ 1) เฮเทอโรซิสต์เป็นจุดที่ทำให้เกิดการขาดท่อนของเส้นสายทริยโคมเป็นไฮโมโกเนีย ซึ่งทฤษฎีนี้สนับสนุนโดยความจริงที่การขาดท่อนของทริยโคมหรือการแตกแขนงเทียมนั้นมักจะเกิดขึ้นที่ตำแหน่งที่มีเฮเทอโรซิสต์ 2) เฮเทอโรซิสต์จะไปกระตุ้นการสร้างอะคินีต ซึ่งทฤษฎีนี้ได้มาจากการสังเกตและศึกษาในสาหร่ายหลายชนิดพบว่าการสร้างอะคินีตถูกจำกัดให้อยู่ใกล้ๆเฮเทอโรซิสต์ ซึ่ง Fritsch (1951) ได้ขยายความทฤษฎีข้อนี้ คือ เฮเทอโรซิสต์จะปลดปล่อยสารบางอย่างซึ่งจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ และตลอดระยะเวลาการสืบพันธุ์สารที่หลั่งออกมาจะมีการเปลี่ยนแปลงและมีการกระตุ้นการสร้างสปอร์ 3) สันนิษฐานว่าในอดีตเฮเทอโรซิสต์คือเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งในปัจจุบันได้สูญเสียหน้าที่ดังกล่าวไปแล้ว ทฤษฎีนี้ได้มาจากการสังเกตพบว่าในบางครั้งเฮเทอโรซิสต์สามารถงอกเป็นเส้นสายใหม่ได้ อย่างไรก็ตามการที่เฮเทอโรซิสต์จะสามารถงอกเป็นเส้นสายใหม่ได้ขึ้นอยู่กับอาหารที่ต้องมีความจำเพาะเจาะจงเท่านั้น ซึ่งเฮเทอโรซิสต์จะไม่งอกเป็นเส้นสายใหม่ในอาหารพื้นฐานทั่วไป (Fox, 1967)

(จันทนาและบพิธ, 2514) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบจำนวนเฮเทอโรซิสต์ของ *Anabaena* ที่เลี้ยงในอาหารผสมที่มีและไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบทำให้ทราบผลว่าไนโตรเจนเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้จำนวนเฮเทอโรซิสต์ของ *Anabaena* เปลี่ยนแปลงไป ผลการทดลองทำให้เห็นความแตกต่างกันอย่างเด่นชัดว่าหลังถ่าย *Anabaena* จากอาหารผสมที่มีไนโตรเจนมาเลี้ยงในอาหารผสมที่ไม่มีไนโตรเจนเพียง 24 ชั่วโมง เมื่อตรวจนับจำนวนเฮเทอโรซิสต์จะพบว่าเฮเทอโรซิสต์เพิ่มขึ้นจากเดิมอย่างเห็นได้ชัด คือ จาก 4 ต่อ 1000 ไมโครกรัม เป็น 10.3 ต่อ 1000 ไมโครกรัม จากการที่จำนวนเฮเทอโรซิสต์เปลี่ยนแปลงในระยะเวลาอันสั้นนั้นเนื่องจาก *Anabaena* มีความสามารถสร้างเฮเทอโรซิสต์ได้ในระยะเวลาอันสั้น อันเป็นผลโดยตรงมาจากขาดไนโตรเจน ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Fogg (1956) อ้างโดยจันทนาและบพิธ (2514) ซึ่งได้ทำการเลี้ยง *Anabaena* และ *Nostoc* พบว่า *Anabaena* เมื่อถูกย้ายจากอาหารผสมชนิดหนึ่งไปยังอาหารผสมต่างชนิดกัน *Anabaena* จะหยุดชะงักเพียง 2-3 ชั่วโมงเท่านั้น แล้วจะเริ่มชบวนการเมตาบอลิซึมทันที แต่ *Nostoc* ต้องใช้เวลาชะงักถึง 8-9 ชั่วโมงจึงจะเริ่มชบวนการเมตาบอลิซึม

เฮเทอโรซิสต์ที่เพิ่มจำนวนขึ้นเกิดมาจากเซลล์ธรรมดา โดยมีการเปลี่ยนแปลงภายในเกิดขึ้น เซลล์ปกติจะเปลี่ยนเป็นเฮเทอโรซิสต์ได้ก็ต่อเมื่อปริมาณไนโตรเจนในอาหารที่เลี้ยงน้อยกว่าจำนวนที่พอเหมาะหรืออาจจะกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าเฮเทอโรซิสต์สามารถควบคุมได้โดยควบคุมปริมาณไนโตรเจน คือ ถ้าอาหารผสมมีไนโตรเจนอยู่น้อยก็จะกระตุ้นการสร้างเฮเทอโรซิสต์ขึ้นและธาตุอาหารที่สำคัญในอาหารผสมอีกอย่างหนึ่งที่จะช่วยให้เกิดการสร้างเฮเทอโรซิสต์ คือ ฟอสเฟต (จันทนาและบพิธ, 2514)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อะคีนีต (Akinete)

อะคีนีตเป็นเซลล์พิเศษที่มีผนังหนา โดยทั่วไปมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ปกติและสามารถทนอยู่ได้ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้มากกว่า อะคีนีตอาจมีรูปร่างเป็นทรงกลม เช่น *Anabaena* ทรงแบน เช่น *Nodularia* หรืออาจยาวเรียวยาว เช่น *Gloeostrichia*, *Cylindrospermum* ซึ่งใน 2 สฤกหลังนี้อะคีนีตจะเกิดอยู่ติดกับเฮเทอโรซิสต์ *Anabaena* บางชนิดเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพที่ขาดไนโตรเจนอะคีนีตจะถูกสร้างขึ้นมาอยู่ตรงกลางระหว่างเฮเทอโรซิสต์ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เจริญในสภาพที่มีไนโตรเจนจะมรการสร้างอะคีนีตแต่ไม่มีการสร้างเฮเทอโรซิสต์ มีความเชื่อกันว่าการขาดฟอสเฟตจะทำให้อะคีนีตถูกสร้างขึ้นมา (Rai และคณะ, 1985 อ้างโดย อภารัตน์, 2546) นอกจากนี้แสงยังเป็นปัจจัยที่สำคัญเช่นเดียวกันในการสร้างอะคีนีต โดยปกติอะคีนีตจะถูกสร้างมากขึ้นเมื่อความเข้มแสงลดลง (อภารัตน์, 2546)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

1. ปัจจัยทางกายภาพ

1.1 แสง (Light)

แสงเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน การเจริญเติบโตอาจถูกยับยั้งหากได้รับแสงมากเกินไป การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้รับและการสังเคราะห์แสง พบว่าการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับความเข้มแสงเพิ่มขึ้นและจากนั้นจะค่อยๆลดลงเมื่อความเข้มแสงถึงระดับอิ่มตัว (อภารัตน์, 2546)

แสงมีผลต่อการเกิด Photoinhibition และ Photoinactivity ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยทั้ง 2 กระบวนการขึ้นอยู่กับความเข้มแสงและคุณภาพของแสงหรือคลื่นแสงในช่วงต่างๆ โดยปรากฏการณ์ Photoinhibition จะเกิดขึ้นเมื่อมีความเข้มแสงประมาณ 2,000 ไมโครโฟโตออนต่อตารางเมตรต่อวินาที ส่วนคุณภาพแสงหรือช่วงคลื่นแสงต่างๆมีผลต่อการเกิด photoinhibition เช่นกัน (อภารัตน์, 2546)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ขึ้นอาศัยอยู่บริเวณที่ได้รับแสงความเข้มสูง เช่น อาศัยอยู่ตามหินหรือดิน ซึ่งภายใต้สภาพเหล่านี้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจำเป็นต้องมีกลไกเพื่อป้องกันอันตรายจากแสงที่ได้รับ กลไกในการป้องกันของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น การเคลื่อนที่หนีแสงเพื่อเลี่ยงจากแสงที่มีความเข้มแสงสูงหรือการสร้างสารประกอบที่ใช้ในการดูดซับรังสีอัลตราไวโอเล็ตเพื่อป้องกันแสงที่จัดเกินไม่ให้เป็นอันตรายต่อรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง (อภารัตน์, 2546)

ในการเพาะเลี้ยง การให้แสงในช่วงเวลาหนึ่งและหยุดการให้แสงในช่วงเวลาหลังจะทำให้มีการเจริญเติบโตดีกว่าการให้แสงติดต่อกันตลอดเวลา ช่วงเวลาที่ให้แสงสว่างที่นิยมใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย คือ ให้แสง 12 ชั่วโมง และ หยุดการให้แสง 12 ชั่วโมง หรือ ให้แสง 12 ชั่วโมง สลับกับ 8 ชั่วโมงมืด สอดคล้องกับ Allen (1937) อ้างโดย Singh (1961) รายงานว่า *N. muscorum* เมื่อให้แสงเป็นเวลา 18 ชั่วโมงจะเจริญเติบโตได้ดีกว่าเมื่อให้แสงเป็นตลอด 24 ชั่วโมง แสงจากหลอดไฟธรรมดาจะให้ผลดีที่สุด รองลงมาคือแสงแดดและแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ แต่แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์มีข้อดีที่ไม่ทำให้เกิดความร้อน

1.2 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่างๆของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยอุณหภูมิมีผลต่อโครงสร้างขององค์ประกอบภายในเซลล์โดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน นอกจากนี้ อุณหภูมิยังมี อิทธิพลร่วมกับอัตราการเกิดปฏิกิริยาต่างๆซึ่งอุณหภูมิไปมีผลต่อพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยาเหล่านี้ (Richmond, 1986 อ้างโดย อภารัตน์, 2546)

สาหร่ายน้ำจืดทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ระดับอุณหภูมิตั้งแต่ 15 -25 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส สาหร่ายจะอ่อนแอและตายในที่สุด สำหรับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญได้ดีในช่วง 30 -35 องศาเซลเซียส

มีข้อมูลของ Allison และ Hoover (1935) อ้างโดย Singh (1961) ได้รายงานว่ *N. muscorum* สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิสูงถึง 40 ถึง 44 องศาเซลเซียส แต่จะเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 28 ถึง 30 องศาเซลเซียส แต่ Kratz และ Myers (1955) อ้างโดย Singh (1961) พบว่าสายพันธุ์เดียวกันนี้ไม่สามารถเจริญเติบโตได้เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส

1.3 ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

ความเป็นกรดเป็นด่างมีผลต่อกระบวนการทางชีววิทยา ผลต่อประจุไฟฟ้าที่ผนังเซลล์ การถ่ายเทประจุที่พลาสมาเมมเบรนและเกี่ยวข้องกับศักย์ไฟฟ้าที่เซลล์เมมเบรน ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายชนิด ความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเพาะเลี้ยงระหว่าง 7.0 ถึง 10.0 มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์แสง

ความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารที่เพาะเลี้ยงมีผลต่อการละลายของเกลือและสารประกอบต่างๆ (Cook, 1965 อ้างโดย อภารัตน์ (2546) ซึ่งการละลายของเกลือและสารประกอบต่างๆอาจเป็นพิษหรือไปยับยั้งปฏิกิริยาต่างๆได้ นอกจากนี้ความเป็นกรดเป็นด่างยังมีผลต่อการละลายของโลหะหลายชนิด ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างเพิ่มขึ้นอาจทำให้จุลธาตุบางตัวไม่ละลายได้ (อภารัตน์, 2546)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะเจริญได้ดีที่สุดในสภาพความเป็นด่างเล็กน้อย Allison (1935) อ้างโดย Singh (1961) รายงานว่า *N. muscorum* จะไม่เจริญเติบโตหากอาหารปราศจากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนโตรเจนและมีความเป็นกรดเป็นด่างอยู่นอกขอบเขต 5.7 ถึง 9.0 การเจริญเติบโตจะดีที่สุดเมื่อความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ระหว่าง 7.0 ถึง 8.5 และการเจริญเติบโตจะลดลงเมื่อความเป็นกรดเป็นด่างต่ำกว่า 6.5 (Singh, 1961)

1.4 ความเค็มและแรงดันออสโมติก (Salinity and Osmotic pressure)

การสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อาศัยอยู่ในน้ำจืดจะถูกยับยั้งถ้าย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่มีความเค็มสูงหรือมีค่าแรงดันออสโมติกสูง (Batterton และ van Baalen, 1971 อ้างโดย อภารัตน์, 2546) ผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้นมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมากกว่าตัวเพิ่มแรงดันออสโมติกตัวอื่นๆ (อภารัตน์, 2546)

2. ปัจจัยทางเคมี

ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ ธาตุอาหารหลัก (Macronutrient) ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณมากมักมีหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร และธาตุอาหารรอง (Micronutrient) ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต้องการในปริมาณน้อยแต่ไม่สามารถขาดได้ มักมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

ธาตุอาหารหลัก

1. คาร์บอน (Carbon)

คาร์บอนเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จากการวิเคราะห์พบว่าประมาณร้อยละ 50 ขององค์ประกอบของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน คือ คาร์บอน (Kaplan และคณะ, 1986 อ้างโดย อภารัตน์, 2546) แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมักใช้ในรูปแบบอินทรีย์คาร์บอน เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนเนต หรือไบคาร์บอนเนตโดยอยู่ในรูปเกลือและการที่คาร์บอนจะอยู่ในรูปใดขึ้นกับระดับความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร (อภารัตน์, 2546)

2. ไนโตรเจน (Nitrogen)

ไนโตรเจนมีหน้าที่หลักคือ ช่วยในการสังเคราะห์แสง, สร้างรงควัตถุ, ช่วยในกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ โดยทั่วไปในเซลล์สาหร่ายจะมีไนโตรเจนประมาณ 7 ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสงและปริมาณรงควัตถุและสารสีของเซลล์ รวมทั้งทำให้กิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดลดลงด้วย (Allen, 1969 อ้างโดย อภารัตน์, 2546) สาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะสร้างสารประกอบคาร์บอน เช่น น้ำมันหรือแป้งมาทดแทนแหล่งไนโตรเจนที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ ไนเตรต ยูเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ฟอสฟอรัส (Phosphorus)

ฟอสฟอรัสมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการต่างๆของเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงานและกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก โดยทั่วไปสาหร่ายต้องการต้องการใช้ฟอสฟอรัสในรูปอนินทรีย์ฟอสฟอรัส ถ้าขาดฟอสฟอรัสจะทำให้ปริมาณโปรตีน, คลอโรฟิลล์ เอ , RNA และ DNA ของสาหร่ายลดลง ส่วนแบ่งและคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น ทำให้รูปร่างเซลล์สาหร่ายเปลี่ยนแปลงไป

4. ซัลเฟอร์ (Sulfer)

ซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็น ได้แก่ เมทไธโอนีน (methionine) ซีสตีน (cystine) และ ซิสเตอีน (cysteine) วิตามินต่างๆ และ ซัลโฟลิปิด (sulfolipid) เป็นต้น โดยปกติซัลเฟอร์ที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะใช้จะอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ได้แก่ เกลือของโลหะ คือ ซัลเฟต ซัลไฟต์ และ ซัลไฟด์

5. แคลเซียม (Calcium)

บทบาทของแคลเซียม ต่อสรีระวิทยาและการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดแต่อย่างไรก็ตามเป็นที่ยอมรับกันว่าแคลเซียมเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นแต่ต้องการในปริมาณน้อยกว่าธาตุหลักตัวอื่นๆ ปริมาณแคลเซียมที่สาหร่ายต้องการขึ้นกับปริมาณธาตุอาหารอื่นด้วย

6. โซเดียม (Sodium) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีความต้องการโซเดียมมากกว่าสาหร่ายชนิดอื่นๆเกี่ยวข้องกับกิจกรรมต่างๆของเอนไซม์ ในกรณีที่แหล่งน้ำขาดโพแทสเซียมสามารถใช้โซเดียมทดแทนโพแทสเซียมได้

7. โพแทสเซียม (Potassium) เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ของสาหร่าย มีความสำคัญในการแบ่งเซลล์ การสังเคราะห์แสงโดยทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Stiles และ Cocking, 1969 อ้างโดย Nguittagoon, 1973)

8. แมกนีเซียม (Magnesium) แมกนีเซียมเป็นองค์ประกอบของรงควัตถุในการสังเคราะห์แสง คือ คลอโรฟิลล์ และมีบทบาทต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมด้วย โดยทั่วไปจะเป็นตัวกำหนดการทำงานของระบบ Nitrogenase enzyme และ Glutamine synthetase แมกนีเซียมซัลเฟตจะไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย ถ้าใช้กับสาหร่ายโดยปราศจากสารประกอบพวกฟอสเฟต

ธาตุอาหารรอง

1. เหล็ก (iron)

เหล็กเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมเพราะเป็นองค์ประกอบของไซโตโครมต่างๆ และนอกจากนี้เหล็กยังมีบทบาทสำคัญต่อการดูดซึมไนโตรเจนและกระบวนการสังเคราะห์แสง

2. แมงกานีส ทองแดง สังกะสี (Manganese, Copper and Zinc)

แมงกานีส ทองแดง สังกะสี เป็นองค์ประกอบสำคัญในระบบการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง อีกทั้งเป็นองค์ประกอบที่จำเป็นของเอนไซม์อีกหลายชนิด ถ้าขาดธาตุเหล่านี้จะทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงลดลง แต่ถ้ามีมากเกินไปจะเป็นพิษต่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายอื่นๆ

3. โมลิบดีนัม วาเนเดียม และโคบอลต์ (Molybdenum, Vanadium and Cobalt)

โมลิบดีนัมมีความสำคัญต่อการตรึงไนโตรเจนและยังเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ช่วยในการสังเคราะห์แสง Bortels (1940) อ้างโดย Singh, 1961 พบว่า โมลิบดีนัมมีความจำเป็นสำหรับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดที่เลี้ยงในอาหารที่ปราศจากไนโตรเจน Allen (1956) อ้างโดย Singh, 1961 พบว่าโมลิบดีนัมจะไม่มีผลจำเป็นเมื่อสาหร่ายได้รับแอมโมเนียหรือยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน วาเนเดียมเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิด วาเนเดียมสามารถใช้ทดแทนโมลิบดีนัมได้ ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการตรึงไนโตรเจน โคบอลต์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของวิตามินบี 12 ซึ่งสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ถ้าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินขาดโคบอลต์จะทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญเติบโตลดลงร้อยละ 20 ถึง 75 (Singh, 1961)

4. โบรอน (Boron)

Eyster (1952) อ้างโดย Singh, 1961 พบว่าโบรอนมีความจำเป็นเพื่อการเจริญเติบโตของ *N. muscorum* ความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 0.1 พีพีเอ็ม และที่ความเข้มข้นมากกว่า 1.0 พีพีเอ็ม จะทำให้เกิดความเป็นพิษ (Singh, 1961)

การใช้ประโยชน์จาก *Nostoc*

Nostoc มีทั้งประโยชน์และสามารถก่อความรำคาญให้กับคนได้ เช่น *Nostoc* ที่ขึ้นบนสนามหญ้าก่อให้เกิดความรำคาญโดยทำให้สกปรกเลอะเทอะได้ นอกจากนี้ *Nostoc* ยังก่อให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ในน้ำดื่ม (Takenaka H. และคณะ, 1998)

ในการใช้ประโยชน์จาก *Nostoc* พบว่า *Nostoc* บางชนิดสามารถนำมารับประทานได้ บางชนิดใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็ง โรคเกาต์ ลดคลอเรสเตอรอลได้อย่างมีนัยสำคัญในหนูทดลอง ซึ่งคาดว่าความสามารถลดคลอเรสเตอรอลนี้น่าจะมาจากใยอาหารของ *Nostoc* (Hori และคณะ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

, 1994 อ้างโดย อภาภรณ์, 2546) นอกจากนี้ *Nostoc* นี้ยังนำมาใช้ในการบำบัดโรคตาบอดในเวลา กลางคืน แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวกหรือความเจ็บป่วยที่ไม่รุนแรงต่างๆ มีงานวิจัยพบว่าสารสกัดด้วย น้ำร้อนจาก *N. flagelliforme* มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก ซึ่งคุณสมบัติ เหล่านี้เป็นผลมาจากองค์ประกอบของสารโพลีแซคคาไรด์ ยังมีรายงานการวิจัยของ *N. commune* พบว่าองค์ประกอบหลักของสารโพลีแซคคาไรด์จากแหล่งธรรมชาติจะมีกลูโคส ไซโรส และกาแลคโตส ในสัดส่วน 2:1:1 โดยประมาณ (Huang และคณะ, 1998 อ้างโดย อภาภรณ์, 2546)

ชาวบ้านในพื้นที่ อำเภอนาเชือก จังหวัดมหาสารคาม นิยมเก็บ *N. commune* มาเป็น อาหารโดยมีความเชื่อตามภูมิปัญญาท้องถิ่นว่าการบริโภคสาหร่ายเห็ดลดาบจะช่วยรักษาระบบ ภาวะอาหารและลำไส้ได้ (อภาภรณ์, 2546) นอกจากนี้ *Nostoc* ชนิดอื่นๆที่สามารถนำมา บริโภคได้เช่น *N. flagelliforme* หรือ Facai หรือ Black moss ที่นิยมรับประทานเป็นอาหาร สุขภาพกันในประเทศจีนและประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Takenaka H. และคณะ, 1998)

นอกจากการประโยชน์ที่ได้จากการนำ *Nostoc* มารับประทานเป็นอาหารแล้วเรายัง สามารถสกัดสารต่างๆจาก *N. commune* มาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆได้อีกด้วย Kobayashi และ คณะ (1994) อ้างโดย Kajiyama (1998) ได้ทำการศึกษาและรายงานว่าพบ Antimitotic compound , Nostodione A จากการสกัด *N. commune* ที่ขึ้นอยู่บนพื้นดินได้ Kajiyama (1998) ทำการสกัด *N. commune* จากพื้นดินพบว่าสามารถให้สารที่ต่อต้านการเจริญของเชื้อราได้ (Antifungal) เรียกว่า Nostofungicidine ซึ่งเป็น lipopeptide ที่มี 3-amino-6-hydroxyl stearic acid (Ahs) เป็นองค์ประกอบอยู่ในโครงสร้าง Nostofungicidine พบว่ามีศักยภาพในการยับยั้ง เชื้อรา *Aspergillus candidus* โดยความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ใช้ยับยั้งได้ (Minimum Inhibitory Concentration : MIC) เท่ากับ 1.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และนอกจากนี้ยังพบว่ามีความเป็นพิษ ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวในหนูด้วย โดยมีค่า IC₅₀ หรือ ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการ เจริญเติบโตของเซลล์ได้ร้อยละ 50 (Concentration required for 50%inhibition of cell growth) เท่ากับ 1.5 ไมโครโมล ต่อ NSF 60 เซลล์ (Kajiyama, 1998)

de Calno และคณะ (1990) อ้างโดย Takenaka H. และคณะ (1998) พบว่าสารสกัด Phenolic extract จาก *Nostoc* สามารถยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียที่เป็นตัวก่อโรคในคนได้ Takenaka และคณะ (1998) พบว่า *N. flagelliforme* ที่แยกออกมาจากดินสามารถเพิ่ม กระบวนการทำงานของเซลล์ macrophage ในหนูได้ ดังนั้น *Nostoc* จึงมีศักยภาพในการนำมา รับประทานเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ (Takenaka H. และคณะ, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และนอกจากนี้ *nostoc* และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอื่นๆที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้นั้น พบว่ายังสามารถช่วยให้ต้นไม้และข้าวในนาที่สาหร่ายเหล่านี้อาศัยอยู่เจริญงอกงามได้ดีอีกด้วย เนื่องจากความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจึงทำให้พืชที่เป็นที่ยึดเกาะอยู่ได้รับไนโตรเจน ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักอย่างเพียงพอด้วย (Takenaka H. และคณะ, 1998)

อาภารัตน์ (2546) ได้ทำการศึกษาคุณค่าทางอาหารของสาหร่ายเห็ดดลอบซึ่งเป็นสาหร่ายที่บริเวณโคกได้พบในพื้นที่คุ้มครองทรัพยากรธรรมชาติป่าดงลำพัน อำเภอนาเชือก จังหวัดมหาสารคาม พบว่ามีคุณค่าทางอาหารดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายเห็ดดลอบ (*N. Commune*)

รายการ (หน่วย)	ปริมาณ
ความชื้น (กรัม/100กรัม)	10.19
โปรตีน (กรัม/100กรัม)	20.26
เถ้า (กรัม/100กรัม)	16.2
ไขมันทั้งหมด (กรัม/100กรัม)	0.02
ใยอาหาร (กรัม/100กรัม)	43
วิตามินเอ (ไมโครกรัม/100กรัม)	2.31
วิตามินบี1 (มิลลิกรัม/100กรัม)	0.02
วิตามินบี2 (มิลลิกรัม/100กรัม)	0.01
วิตามินซี (มิลลิกรัม/100กรัม)	ตรวจไม่พบ
แคลเซียม (กรัม/100กรัม)	3.55
เหล็ก (กรัม/100กรัม)	0.28
กรดอะมิโน (มิลลิกรัม/100กรัม)	
Asparatic acid	3166.21
Threonine*	1193.92
Serine	1186.14
Glutamic acid	2064.97
Proline	486.36
Glycine	1044.1
Alanine	1658.27
Cystine	ตรวจไม่พบ
Valine*	1220.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้วงวนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 (ต่อ)

รายการ (หน่วย)	ปริมาณ
Methionine*	49.33
Isoleucine	797.17
Leucine*	1374.11
Tyrosine	446.47
Phenylalanine*	1000.05
Histidine	886.22
Lysine*	450.99
Arginine	1015.52
Tryptophan*	35.62

* กรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid)

ที่มา : อภารัตน์ (2546)

ยูเรีย (Urea)

ยูเรียเป็นที่ยอมรับว่าสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนแทนการใช้โพแทสเซียมไนเตรตและโซเดียมไนเตรตได้ ทั้งนี้เพราะยูเรียมักจะให้ผลผลิตและปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ดีกว่าการใช้ไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนดังเช่นการทดลองของ Danesi และคณะ (2002) ที่ทำการศึกษาคาร์บอนยูเรียแทนการใช้โพแทสเซียมไนเตรตในสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) พบว่าสาหร่ายเกลียวทองที่เลี้ยงโดยใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนให้ปริมาณผลผลิตของสาหร่ายและปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าการใช้โพแทสเซียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน ทั้งนี้เนื่องจากยูเรีย 1 โมเลกุลนั้นให้ไนโตรเจนถึง 2 อะตอม ในขณะที่โพแทสเซียมไนเตรต 1 โมเลกุลให้ไนโตรเจนเพียง 1 อะตอม นอกจากนี้พบว่าคาร์บอนที่สาหร่ายเกลียวทองเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มียูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนเพราะยูเรียเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียที่สาหร่ายสามารถไปใช้ได้โดยตรง ส่วนกรณีของไนเตรตนั้นสาหร่ายต้องเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรต์แล้วเปลี่ยนไนไตรต์เป็นแอมโมเนียเสียก่อนจึงสามารถนำไปใช้ได้ทำให้สูญเสียพลังงานในกระบวนการเปลี่ยนไนเตรตไปเป็นแอมโมเนีย (Danesi และคณะ, 2002)

นอกจากนี้ Nguitrageool (1973) ยังพบว่านอกจากการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนจะทำให้ได้ปริมาณผลผลิตมากกว่าการใช้ไนเตรตแล้วยังทำให้สาหร่ายมีโปรตีนสูงกว่าการใช้ไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของการใช้ยูเรียคือทำให้สามารถลดต้นทุนการผลิตได้เนื่องจากยูเรียมีราคาต่ำกว่าโพแทสเซียมไนเตรตและโซเดียมไนเตรต แต่ข้อควรระวังในการใช้ยูเรียที่เลี้ยงสาหร่ายในบ่อเปิดคือยูเรียสามารถเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียได้ง่ายซึ่งแอมโมเนียสามารถระเหยสู่บรรยากาศได้ง่าย ดังนั้นหากทำการเลี้ยงสาหร่ายในบ่อเปิดจึงควรมีการเติมยูเรียเพื่อชดเชยส่วนที่ระเหยออกไปด้วย (Danesi และคณะ, 2002)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย

ก. วัสดุและอุปกรณ์

1. สาหร่าย *Nostoc commune* สายพันธุ์ TISTR 8283 จากห้องเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน ณ. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2. สูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย 4 ชนิด ได้แก่

2.1 Bold's basal medium (BBM) เป็นสูตรอาหารที่สามารถเลี้ยงสาหร่ายได้เป็นช่วงกว้างหลายกลุ่มทั้งสาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง

2.2 BG-11 เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

2.3 Nitrogen free medium (NF) เป็นสูตรอาหารที่ปราศจากธาตุไนโตรเจนซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักของสาหร่าย เพื่อพิสูจน์ว่าสาหร่ายเห็ดลาบสามารถใช้เฮเทอโรซิสต์ตรึงไนโตรเจนจากอากาศเพื่อการเจริญเติบโตได้จริงหรือไม่

2.4 Chlorella medium เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยง *Chlorella sp.* ทำการเลี้ยงสาหร่ายในสูตรอาหารชนิดนี้เพื่อพิสูจน์ว่าสาหร่ายเห็ดลาบสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่เหมาะสมสำหรับสาหร่ายชนิดอื่นหรือไม่

3. เครื่องมือที่ใช้

3.1 ตูปลอดเชื้อ

3.2 เครื่องปั่นเหวี่ยง

3.3 หม้อนึ่งความดัน

3.4 เครื่องชั่งสารทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.5 vortex

3.6 ตู้อบ 105 องศาเซลเซียส

3.7 อ่างควบคุมอุณหภูมิ

3.8 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

3.9 โถดูดความชื้น

4. อุปกรณ์อื่นๆ

4.1 ขวดน้ำเกลือขนาด 1 ลิตร

4.2 กระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร

4.3 ปีกเกอร์ขนาดต่างๆ

4.4 appendoft tube

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 4.5 ที่วางหลอดทดลอง
- 4.6 ปากคีบ
- 4.7 จานแก้ว
- 4.8 แท่งแก้ว
- 4.9 ถาดอลูมิเนียม
- 4.10 ปิเปต ขนาด 10 มิลลิลิตร
- 4.11 glass bead
- 4.12 ลูกยาง
- 4.13 หลอดวัดการดูดกลืนแสง

ข. การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อวัดการเจริญเติบโต

ตอนที่ 1 การเจริญเติบโตและคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายในสูตรอาหารต่างกัน 4 ชนิด

นำ *N. Commune* จากห้องเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง น้ำหนักสด 5 กรัม ใส่ลงในขวดน้ำเกลือซึ่งบรรจุอาหารชนิดต่างๆ ทั้ง 4 ชนิด คือ BBM, BG-11, NF และ *Chlorella medium* ชนิดละ 3 ขวด (3 ซ้ำ) เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *N. Commune* ในอาหารทั้ง 4 สูตร เพื่อหาสูตรอาหารที่ทำให้ *N. Commune* เจริญได้ดีที่สุด ทำการต่อเชื้อในตู้ปลอดเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อน และเลี้ยงสาหร่ายเป็นเวลา 22 วัน ภายในห้องเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่อุณหภูมิตั้งที่ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์และออกซิเจนตลอดการทดลองและทำการวัดการเจริญเติบโตโดยวิธีการวัดน้ำหนักแห้งและปริมาณคลอโรฟิลล์ทุกๆ 2 วัน (รวม 11 ครั้ง)

ตอนที่ 2 การเจริญเติบโตและคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตร Bold's basal โดยให้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนแทนไซโตซิมไนเตรต

นำ *N. Commune* จากห้องเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง น้ำหนักสด 5 กรัม ใส่ลงในขวดน้ำเกลือซึ่งบรรจุอาหารสูตร Bold's basal ปริมาตร 1 ลิตร จำนวน 3 ขวด (3 ซ้ำ) โดยมีการให้ยูเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ 3 ความเข้มข้น คือ 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจนแทนการใช้ไซโตซิมไนเตรตเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายเห็บลาบ ทั้งนี้เนื่องจากพบว่ายูเรียนั้นมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบและมีราคาถูกกว่าไซโตซิมไนเตรตมาก จึงทำการศึกษาเพื่อเป็นทางเลือกในการผลิต *N. Commune* เป็นอุตสาหกรรม ทำการต่อเชื้อในตู้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลอดภัยเพื่อป้องกันการปนเปื้อนและเลี้ยงสาหร่ายเป็นเวลา 24 วัน และเลี้ยง *N. Commune* ในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์และออกซิเจนตลอดการทดลองและทำการวัดการเจริญเติบโตโดยวิธีการวัดน้ำหนักแห้งและปริมาณคลอโรฟิลล์ทุกๆ 3 วัน (รวม 8 ครั้ง)

ค. การวัดน้ำหนักแห้ง

ทำการวัดน้ำหนักแห้งเพื่อเป็นกรณีในการวัดการเจริญเติบโต โดยการตวงเซลล์สาหร่ายปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ลงใน appendoft tube แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาทีในเครื่องปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นรินน้ำส่วนด้านบนทิ้งแล้วนำเซลล์สาหร่ายที่ได้ใส่ลงในกระดาษฟอล์ยนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสาหร่ายออกจากตู้อบจึงนำไปใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนักโดยใช้เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักของสาหร่ายแห้งที่ได้ตลอดการทดลองมาเขียนกราฟการเจริญเติบโต

ง. การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

ในการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายจำเป็นต้องทำการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ควบคู่ไปกับน้ำหนักแห้งด้วยโดยการตวงเซลล์สาหร่ายปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ลงใน appendoft tube แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที ในเครื่องปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นรินน้ำส่วนด้านบนทิ้งแล้วทำให้เซลล์แตกด้วยการใส่ glass bead ลงไปใน appendoft tube แล้วปั่นด้วยเครื่อง vortex จนเซลล์แตกละเอียด เต็มเมทานอล 9 มิลลิลิตร เป็นตัวสกัดคลอโรฟิลล์ลงในหลอด แล้วนำ appendoft tube ไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เพื่อเร่งปฏิกิริยาการสกัดคลอโรฟิลล์ หลังจากนั้นนำ appendoft tube ออกจากอ่างควบคุมอุณหภูมิแล้วนำส่วนน้ำด้านบน (สีเขียว) ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665 นาโนเมตร จดบันทึกและนำข้อมูลมาเขียนกราฟต่อไป

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของ *N. Commune*

ทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของ *N. Commune* ด้วยวิธี Proximate analysis โดยกรองสาหร่ายด้วยผ้ากรองแล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนสาหร่ายแห้งแล้วนำสาหร่ายแห้งนั้นมาวิเคราะห์คุณค่าต่างๆ ดังนี้

1. ความชื้น (Moist)

1.1 อุปกรณ์

- 1.1.1 ตู้ออบ
- 1.1.2 ถ้วยกระเบื้อง
- 1.1.3 โถดูดความชื้น
- 1.1.4 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 1.1.5 คีมจับถ้วยกระเบื้อง

1.2 วิธีการ

1.2.1 เตรียมถ้วยกระเบื้องที่ล้างสะอาดแล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำออกจากเตาอบเข้าใส่โถดูดความชื้น ทิ้งให้เย็นและนำมาชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักที่แน่นอน

1.2.2 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 2 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนัก

1.2.3 นำตัวอย่างไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 วัน

1.2.4 นำตัวอย่างออกจากตู้อบแล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้นจนตัวอย่างเย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก

1.2.5 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น จากสูตร

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(A - B) \times 100}{W}$$

โดยที่ A = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและตัวอย่างก่อนเข้าอบ

B = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและตัวอย่างหลังเข้าอบ

W = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

2. เถ้าทั้งหมด (Ash)

2.1 อุปกรณ์

- 2.1.1 ถ้วยกระเบื้อง
- 2.1.2 โถดูดความชื้น
- 2.1.3 เตาเผา
- 2.1.4 ตู้อบ
- 2.1.5 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 2.1.6 hot plate
- 2.1.7 คีมจับถ้วยกระเบื้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.8 ฤงมือกันความร้อน

2.2 วิธีิการ

2.2.1 นำตัวอย่างที่ได้จากการวิเคราะห์ความชื้น มาเผาบน hot plate ในตู้ดูดควันจนหมดควัน แล้วนำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เผาจนได้เถ้าเป็นสีขาว ปกติใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง

2.2.2 เมื่อครบ 4 ชั่วโมง นำถ้วยกระเบื้องออกจากเตาเผา ไปทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

2.2.3 ชั่งน้ำหนักที่ได้หลังการเผาแล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้า จากสูตร

$$\text{เถ้า (\%)} = \frac{(A - B) \times 100}{W}$$

โดยที่ A = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและตัวอย่างก่อนเผา

B = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและตัวอย่างหลังเผา

W = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

3. แคลเซียม (Calcium)

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 ถ้วยเครื่องกระเบื้อง (Crucible)

3.1.2 hot plate

3.1.3 Muffle furnace

3.1.4 บิวเรต

3.1.5 แห้งแก้ว

3.1.6 Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.7 บีเปต ขนาด 20 มิลลิลิตร

3.1.8 ปีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.9 กระจกนาฬิกา

3.1.10 กระดาษกรองเบอร์ 40

3.2 สารเคมี

3.2.1 กรดไนตริกเข้มข้น (HNO₃)

3.2.2 กรดไฮโดรคลอริก 6 N (HCl)

3.2.3 กรดไฮโดรคลอริก 50 เปอร์เซ็นต์

3.2.4 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H₂SO₄)

3.2.5 สารละลาย NH₄OH เข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.2.6 แอมโมเนียมออกซาลेट 4 เปอร์เซ็นต์
- 3.2.7 โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.05 N (KMnO_4)
- 3.2.8 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เจือจาง
- 3.2.9 เมทิลเรด
- 3.2.10 ยูเรีย
- 3.2.11 แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2)

3.3 วิธีการ

3.3.1 นำตัวอย่างที่ได้จากการวิเคราะห์เข้ามาเติมกรดไนตริก ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเผาในเตาเผาจนได้เถ้าเป็นสีขาว

3.3.2 นำเถ้าที่เผาเรียบร้อยแล้วมาเติมกรดไฮโดรคลอริก 50 เปอร์เซ็นต์ 10 มิลลิลิตร แล้วไปตั้งบน hot plate เปิดไปอ่อนๆ ต้มเพื่อให้เถ้าละลายให้หมด

3.3.3 เมื่อเถ้าละลายเรียบร้อยแล้วถ่ายสารละลายลงใน Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3.3.4 ใช้ปิเปตดูดสารละลายออกมา 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ หยดเมทิลเรดลงในบีกเกอร์ 1 ถึง 2 หยด หลังจากนั้นทำให้เป็นกลางด้วย NH_4OH เข้มข้น จนสารละลายมีสีเหลืองอ่อนๆ

3.3.5 เติมกรดไฮโดรคลอริก 6 N ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ยูเรีย 5 กรัม และแอมโมเนียมออกซาลेट 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในบีกเกอร์

3.3.6 ปิดบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟิวส์ นำไปต้มจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีส้มหรือสีขาว ทิ้งไว้จนเย็นแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 40 ล้างตะกอนด้วยแอมโมเนียมเจือจางจนหมดออกซาลेट (ทดสอบโดยหยดแคลเซียมคลอไรด์จากน้ำล้างถ้ายังเกิดตะกอนแสดงว่าออกซาลेटยังไม่หมด)

3.3.7 นำบีกเกอร์ใบเดิมที่ใช้ตกตะกอน รองใต้กระดาษกรอง เจาะกระดาษกรองให้เป็นรู ล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดตะกอนแล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนใน hot plate ที่ 85 องศาเซลเซียส

3.3.8 นำมาไตเตรตกับ KMnO_4 0.05 N จนถึงจุดยุติจะได้สารละลายสีชมพูจางๆ ปรากฏอยู่นานไม่ต่ำกว่า 30 วินาที

3.3.9 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์แคลเซียม จากสูตร

$$\text{แคลเซียม (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{V \times 0.001 \times 100 \times 5}{W}$$

โดยที่ V = ปริมาตรของ KMnO_4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$W =$ น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

4. ฟอสฟอรัส (Phosphorus)

4.1 อุปกรณ์

- 4.1.1 Volumetric flask ขนาด 1 ลิตร และ 100 มิลลิลิตร
- 4.1.2 Volumetric pipette ขนาด 25 มิลลิลิตร
- 4.1.3 บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 4.1.4 Graduated pipette ขนาด 10 มิลลิลิตร
- 4.1.5 Graduated test tube ขนาด 10 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด
- 4.1.6 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง
- 4.1.7 หลอดวัดการดูดกลืนแสง

4.2 สารเคมี

- 4.2.1 Molybdovanadate reagent
 - 4.2.1.1 ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต 20 กรัม ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร (สารละลาย A)
 - 4.2.1.2 ละลายแอมโมเนียมเมตาวาเดท 1 กรัม ในน้ำกลั่นร้อน 125 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติม 225 มิลลิลิตร 70 เปอร์เซ็นต์ กรดเปอร์คลอริก (สารละลาย B)
 - 4.2.1.3 ค่อยๆริน สารละลาย A ลงในสารละลาย B ช้าๆคนให้เข้ากัน ปรับให้มีปริมาตร 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น
- 4.2.2 Phosphorus standard stock solution
ละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ที่บริสุทธิ์ละหนัก 0.4394 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร
- 4.2.3 กรดไฮโดรคลอริก 50 เปอร์เซ็นต์

4.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

4.3.1 ละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ที่บริสุทธิ์ละหนัก 0.4394 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร (1 มิลลิลิตรของสารละลายที่ทำให้เจือจางแล้วนี้ จะมีความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 0.10 มิลลิกรัม)

4.3.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานของโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตให้มีความเข้มข้นที่ 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 พีพีเอ็ม ตามลำดับแล้วเติม Molybdovanadate reagent 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3 เขียนกราฟมาตรฐานโดยให้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอยู่บนแกน X และค่าการดูดกลืนแสงอยู่บนแกน Y หาปริมาณของฟอสฟอรัสในสารละลายตัวอย่างได้โดยการอ่านค่าจากเส้นกราฟมาตรฐาน

4.4 วิธีการ

4.4.1 ถ่ายเถ้าที่ได้จากการเผาในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใช้กรดเกลือเจือจางและน้ำกลั่นร้อนช่วยล้างเถ้าในครุชชีเบิล เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ประมาณ 75 มิลลิลิตร

4.4.2 ต้มสารละลายดังกล่าวให้เดือดซ้ำบน hot plate ระเหยน้ำให้เหลือประมาณ 50 มิลลิลิตร ซึ่งใช้เวลาประมาณ 45 นาที ถึง 1 ชั่วโมง

4.4.3 กรองสารละลายใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใช้กระดาษกรองที่ไม่มีเถ้า ใช้น้ำกลั่นร้อนล้างตะกอนลงบนกระดาษกรอง

4.4.4 ทิ้งให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นลงในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายข้างต้น ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร

4.4.5 ใ้ปิเปตดูดสารละลายข้างต้นมา 2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร และเติม Molybdovanadate reagent 10 มิลลิลิตร

4.4.6 เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เพื่อให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร จุดบันทึกและนำมาคำนวณจากสูตร

$$\text{ฟอสฟอรัส (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{ความเข้มข้นของแร่ธาตุที่อ่านได้จากกราฟ} \times 25 \times 250 \times 100}{1000 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)}}$$

5. โปรตีนทั้งหมด (Crude Protein)

5.1 อุปกรณ์

5.1.1 ชุดเครื่องมือวิเคราะห์โปรตีน

5.1.1.1 เครื่องย่อยสาร (Digestion apparatus)

5.1.1.2 หลอดทดลองย่อยสาร (Kjeldahl tube) ขนาด 250 มิลลิลิตร

5.1.1.3 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

5.1.1.4 ที่วางหลอดย่อย (Insert rack)

5.1.2 เครื่องกลั่น

5.1.2.1 เครื่องกลั่น (Distillation apparatus) พร้อมทั้ง Cooling bath เพื่อหมุนเวียนน้ำเข้าสู่ Condenser

5.1.2.2 บิวเรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.2.3 ขาดัง

5.2 สารเคมี

5.2.1 กรดกำมะถันเข้มข้น (H_2SO_4 conc. 93 – 98 เปอร์เซ็นต์)

5.2.2 Catalyst mix. (ประกอบด้วย Potassium sulphate 100 กรัม และ Coppersulphate 10 กรัม)

5.2.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 เปอร์เซ็นต์

5.2.4 สารละลายกรดบอริก 4 เปอร์เซ็นต์

5.2.5 อินดิเคเตอร์ (Bromocresol green 5 ส่วน ผสมกับ Methyl red 1 ส่วน)

5.2.6 สารละลายมาตรฐานกำมะถัน 0.1 N ($0.1\text{ N } H_2SO_4$)

5.3 วิธีการ

5.3.1 การย่อย (Digestion)

5.3.1.1 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (เทคนิค 4 ตำแหน่ง) ประมาณ 0.5 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยสาร (Kjeldahl tube)

5.3.1.2 ใส่ Catalyst mix. 10 กรัม ลงในหลอดย่อยสารที่มีตัวอย่าง เดิมกรดกำมะถันเข้มข้น 25 มิลลิลิตร

5.3.1.3 นำตัวอย่างไปย่อยด้วยเครื่องย่อยที่อุณหภูมิ 350 ถึง 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงครึ่ง ถึง 2 ชั่วโมง จนกระทั่งสารละลายใสแล้วปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5.3.1.4 เมื่อสารละลายเย็นดีแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นลงไป 40 มิลลิลิตร แล้วนำเข้าเครื่องกลั่น

5.3.2 การกลั่น (Distillation)

5.3.2.1 เปิดเครื่องกลั่นให้พร้อมและเปิดวาล์วน้ำเครื่อง Cooling bath เพื่อให้ น้ำไหลไปหล่อเย็น condenser

5.3.2.2 นำหลอดย่อยไปวางต่อเข้ากับเครื่องกลั่น

5.3.2.3 เติมสารละลายกรดบอริก 4 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์ 2 -3 หยด จากนั้นนำไปวางต่อกับเครื่องกลั่น เพื่อเป็นตัวเก็บแอมโมเนียที่ได้จากการกลั่น

5.3.2.4 ตั้งโปรแกรมการทำงานโดยให้มีการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อย

5.3.2.5 ทำการกลั่นเป็นเวลา 4 นาที เพื่อไล่แอมโมเนียไปเก็บไว้ในสารละลายกรดบอริก หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปไตเตรตด้วยกรดซัลฟิวริก 0.1 N

5.3.3 การไตเตรต (Titration)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3.3.1 เติมกรดซัลฟิวริก 0.1 N ลงในบิวเรต

5.3.3.2 นำสารละลายในขวดรูปชมพู่ที่ได้จากการกลั่นมาไตเตรตจนได้จุดยุติเป็นสีชมพูและเปรียบเทียบกับ Blank

5.3.3.3 บันทึกปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ไตเตรตมาคำนวณหาปริมาณโปรตีน จากสูตร

$$N \text{ content (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(A - B) \times 1.4 \times N \text{ ของกรดซัลฟิวริก}}{W}$$

โดยที่ A = ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไตเตรตกับตัวอย่าง

B = ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไตเตรตกับ Blank

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

ค่า conversion factor ที่ใช้ในการทดลอง คือ 6.25 เนื่องจากโดยทั่วไปโปรตีน 100 กรัม มีไนโตรเจน 16 กรัม

$$\text{โปรตีนหยาบ (เปอร์เซ็นต์)} = N \times 6.25$$

6. ไขมัน

6.1 อุปกรณ์

6.1.1 เครื่องมือสกัดไขมันแบบ Soxhlet (soxlet apparatus)

6.1.2 ขวดกั้นกลม

6.1.3 Extraction thimble

6.1.4 ส้อมและกระดาษกรอง

6.1.5 โถดูดความชื้นและตุ๋น

6.2 สารเคมี

6.2.1 Petroleum ether

6.3 วิธีการ

6.3.1 นำขวดกั้นกลมที่สะอาดเข้าอบในตุ๋นที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำออกจากตุ๋น ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักให้ได้ น้ำหนักที่คงที่

6.3.2 ชั่งตัวอย่าง 1 กรัมห่อด้วยกระดาษกรอง แล้วใส่ลงใน Extraction thimble (ตัวอย่างและ Extraction thimble ที่ใช้ควรผ่านการอบไล่ความชื้นออกแล้ว) อุด thimble ด้วยส้อมที่ปราศจากไขมัน จากนั้นนำใส่ลงในชุด Soxhlet

6.3.3 เติม Petroleum ether ลงในขวดกั้นกลม 150 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.3.4 เปิด cooling bath โดยตั้งอุณหภูมิที่ 5 องศาเซลเซียส

6.3.5 เปิดเครื่องให้ความร้อน การสกัดใช้เวลาประมาณ 4 ถึง 6 ชั่วโมง จน Petroleum ether ระเหยออกจากขวดก้นกลมหมด

6.3.6 นำ Extraction thimble ออกจากชุด Soxlet และนำขวดก้นกลมที่มีไขมันอยู่เข้าอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก

6.3.7 คำนวณปริมาณไขมัน จากสูตร

$$\text{ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{น.น.ขวดก้นกลมและไขมันหลังอบ} - \text{น.น.ขวดก้นกลมก่อนสกัด} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้สกัด (กรัม)}}$$

7. คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

7.1 อุปกรณ์

7.1.1 หลอดทดลองขนาด 20 มิลลิลิตร

7.1.2 Vortex

7.1.3 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

7.2 สารเคมี

7.2.1 ฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์

7.2.2 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

7.3 วิธีการ

7.3.1 ใส่ตัวอย่างน้ำหนัก 0.001 ลงในหลอดทดลอง

7.3.2 เติมน้ำกลั่น มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมฟีนอล มิลลิลิตร

7.3.3 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง ประมาณ 30 นาที

7.3.4 นำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร

7.3.5 เตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 50, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เติมน้ำกลั่น 5 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตรและกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้จนเย็นที่อุณหภูมิห้อง นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เขียนกราฟมาตรฐานโดยให้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอยู่บนแนวแกน X และค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในแนวแกน Y หากคาร์โบไฮเดรตของสารละลายตัวอย่างได้โดยการอ่านค่าจากเส้นกราฟมาตรฐาน

7.3.6 คำนวณเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต จากสูตร

$$\text{คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{ความชันของกราฟ (146.15) x total value x OD}_{485} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}}$$

สมการที่ได้ $y = ax + b$

โดยที่ $y =$ ค่าการดูดกลืนแสง

$X =$ ความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรต

$$\text{การคำนวณเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต (X)} = \frac{y - b}{a}$$

8. เยื่อใย (Fiber)

$$\text{เยื่อใย} = 100 - (\text{โปรตีน} + \text{คาร์โบไฮเดรต} + \text{ไขมัน} + \text{เถ้า} + \text{แคลเซียม} + \text{ฟอสฟอรัส})$$

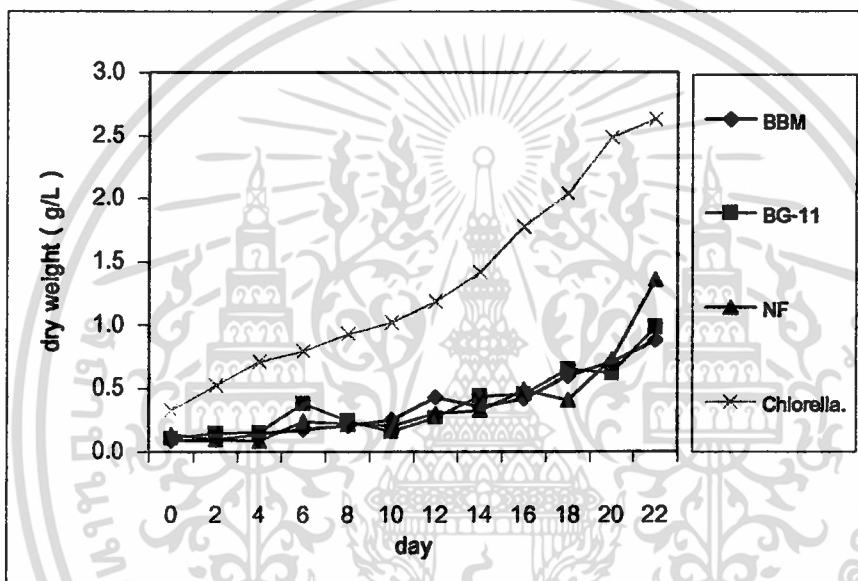
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

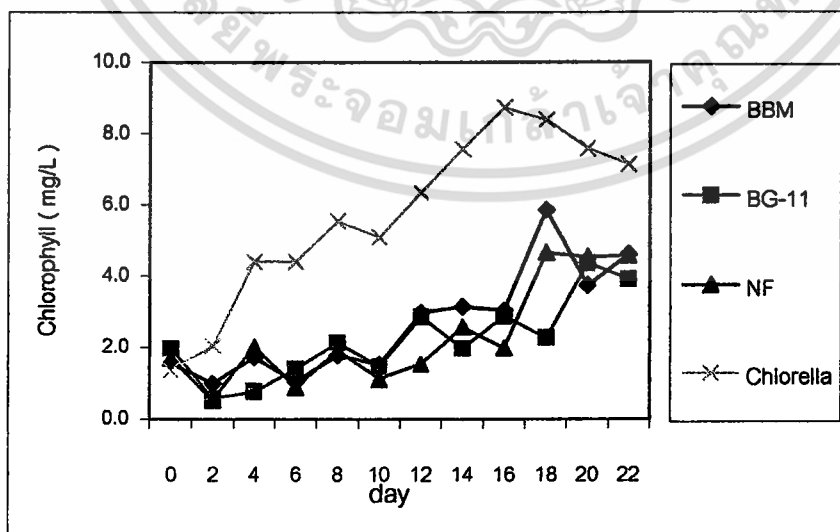
การเจริญเติบโตของ *Nostoc commune*

ตอนที่ 1 การเจริญเติบโตของ *Nostoc commune* ในอาหารสูตรต่างกัน

จากการทดลองเพาะเลี้ยง *N. commune* ในอาหารชนิดต่างๆกัน 4 สูตร ได้แก่ Bold's basal medium ,BG - 11, Nitrogen free medium และ Chlorella medium เป็นเวลา 22 วัน และวัดการเจริญเติบโตทุกๆ 2 วัน ทำการวัดการเจริญเติบโตโดยเก็บน้ำหนักสาหร่ายแห้งและวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ ผลการทดลองเป็นดังภาพที่ 2 และ 3



ภาพที่ 2 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ



ภาพที่ 3 กราฟแสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟเห็นได้ว่า *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร Chlorella medium มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดและให้ผลผลิตคิดเป็นน้ำหนักแห้งในวันสุดท้ายของการทดลองมากที่สุดเท่ากับ 2.63 ± 0.17 กรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11, Nitrogen free medium และ Bold's basal medium ที่ให้ผลผลิตคิดเป็นน้ำหนักแห้งในวันสุดท้ายเท่ากับ 1.36 ± 0.606 กรัมต่อลิตร, 0.98 ± 0.19 กรัมต่อลิตร และ 0.88 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์นั้นพบว่า *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร Chlorella medium นั้นมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากที่สุด เท่ากับ 7.13 ± 0.66 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ปริมาณของคลอโรฟิลล์ของ *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร Bold's basal medium, Nitrogen free medium และ BG-11 ให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เท่ากับ 4.61 ± 0.65 , 4.57 ± 1.25 และ 3.91 ± 0.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

จากผลการทดลองเป็นที่น่าสังเกตว่า *N. commune* สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร Nitrogen free medium ซึ่งไม่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบได้ถึงแม้ว่าไนโตรเจนจะเป็นธาตุอาหารสำคัญที่ขาดไม่ได้ในการเจริญเติบโต ทั้งนี้เป็นการพิสูจน์ได้ว่า *N. commune* ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีเฮเทอโรซิสต์สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้ Wanatabe (1951) อ้างโดย จันทนาและบพิตร (2514) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวกที่มีเฮเทอโรซิสต์ในอาหารผสมที่ไม่มีธาตุไนโตรเจนหลายสูตรพบว่าหลังจากเพาะเลี้ยง 2 เดือน สาหร่ายเหล่านั้นจะเจริญขึ้นได้อย่างเห็นได้ชัดและเมื่อนำไปวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณไนโตรเจนโดยวิธี micro kjeldahl พบว่า *Nostoc sp.* มีไนโตรเจนเพิ่มขึ้นจากเดิม 3.1 มิลลิกรัม Venkataraman (1959) อ้างโดย จันทนาและบพิตร (2514) สันนิษฐานว่า *Nostoc* สามารถปล่อยไนโตรเจนที่ตรึงได้จากบรรยากาศออกมาจากเซลล์ (Extracellular nitrogenous substance) Fogg (1956) อ้างโดย จันทนาและบพิตร (2514) พบว่าเมื่อนำ *Nostoc muscarum* มาเลี้ยงในอาหารผสมจะเกิดการขงกันไปใน 8 - 9 ชั่วโมงก่อนที่จะเริ่มมีขบวนการเมตาบอลิซึมตามปกติและหลังจากนั้นจะเริ่มตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศทันที (จันทนาและบพิตร, 2514)

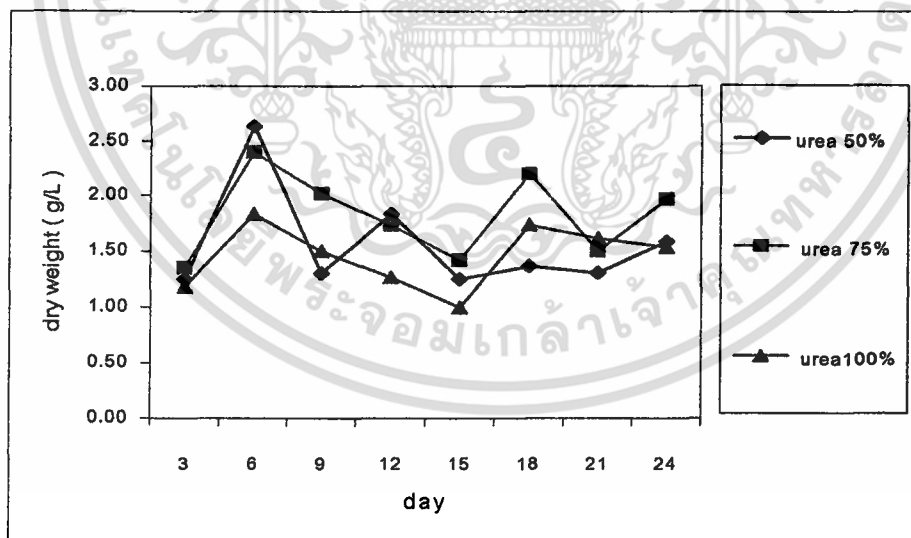
จากภาพที่ 2 นั้นแสดงให้เห็นว่า *N. commune* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร Chlorella medium ซึ่งมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าอาหารสูตร BG-11 ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากส่วนประกอบของธาตุอาหารในสูตรต่างๆพบว่า ในอาหารสูตร Chlorella medium มีโพแทสเซียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน 1.25 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ในอาหารสูตร BG-11 และ BBM มีโซเดียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน 1.5 และ 0.25 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ในส่วนของแหล่งโพแทสเซียมและฟอสฟอรัสนั้นในอาหารสูตร Chlorella medium มี K_2HPO_4 เป็นส่วนผสม 1.25 กรัมต่อลิตร เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่สูตร BG-11 และ NF มี 0.04 และ 0.6 กรัมต่อลิตรเท่านั้น และในสูตร BBM ใช้ K_2HPO_4 0.075 กรัมต่อลิตร, KH_2PO_4 0.175 กรัมต่อลิตรและโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.031 กรัมต่อลิตร จึงอาจเป็นไปได้ว่าปริมาณธาตุอาหารหลักในอาหารสูตร *Chlorella medium* นั้นมีมากกว่าในอาหารสูตรอื่นๆจึงทำให้ *N. commune* มีการเจริญเติบโตได้มากกว่าอย่างเห็นได้ชัด

สำหรับอาหารสูตร *Chlorella medium* นั้นถึงแม้ว่าจะทำให้การเจริญเติบโตของ *N. commune* ดีที่สุดแต่ระหว่างการเลี้ยงนั้นพบว่าเกิดปัญหาคืออาหารสูตร *Chlorella medium* นั้นเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Chlorella sp.* ซึ่งเป็นสาหร่ายที่มีขนาดเล็กและสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วมากทำให้การเลี้ยง *N. commune* ในอาหารผสมสูตรนี้เกิดการปนเปื้อนได้ง่ายและทำให้ *N. commune* ตายได้อย่างรวดเร็วจึงถือเป็นข้อเสียของการใช้อาหารสูตรดังกล่าวในการนำมาเพาะเลี้ยง *N. commune*

ตอนที่ 2 การเจริญเติบโตของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน

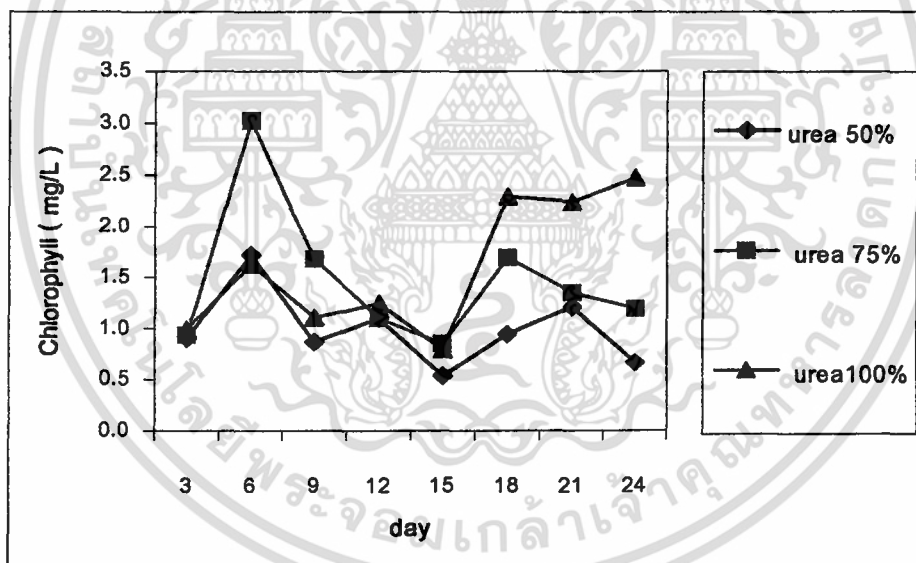
จากการทดลองเพาะเลี้ยง *N. commune* โดยใช้ยูเรียที่ความเข้มข้นต่างๆคือ ยูเรีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจนทดแทนการใช้โซเดียมไนเตรตในอาหารสูตร BBM เป็นเวลา 21 วัน และวัดการเจริญเติบโตทุกๆ 3 วัน ให้ผลการทดลองดังนี้



ภาพที่ 4 การเจริญเติบโตของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ยูเรียความเข้มข้นต่างๆเป็นแหล่งไนโตรเจน

จากภาพที่ 4 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของ *N. commune* ที่ความเข้มข้นของยูเรียทั้ง 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและในอาหารที่มีความเข้มข้นของยูเรีย 75 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์นั้นให้ผลการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด คือ มีปริมาณผลผลิตคิดเป็นน้ำหนักแห้งเฉลี่ยในวันสุดท้ายที่ทำการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 1.97 ± 0.47 กรัมต่อลิตร และ ที่ความเข้มข้นของยูเรีย 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณผลผลิตคิดเป็นน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 1.58 ± 0.19 และ 1.53 ± 1.4 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งน้ำหนักแห้งของ *N. commune* 1 กรัมได้มาจากน้ำหนักสด 95.24 กรัม ดังนั้นน้ำหนักสด 1 กิโลกรัมจะได้น้ำหนักแห้ง 10.50 กรัม จะเห็นได้ว่ายูเรีย 100 เปอร์เซ็นต์นั้นมีความเข้มข้นมากเกินไปจนเหมาะสมจึงทำให้ *N. commune* มีการเจริญเติบโตต่ำในขณะที่การเจริญเติบโตของ *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารที่มียูเรีย 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์มีค่ามากกว่า ทั้งนี้สอดคล้องกับเอกสารของ Danesi (2002) กล่าวว่ายูเรียสามารถเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียได้ซึ่งจะทำให้เป็นอันตรายต่อสาหร่ายขนาดเล็กหากในอาหารมีความเข้มข้นของยูเรียมากเกินไป และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Nguiragool (1973) ที่ทำการเลี้ยง *Spirulina platensis* โดยใช้ยูเรียความเข้มข้นต่างๆตั้งแต่ 4 – 50 มิลลิโมลต่อลิตร และวัดปริมาณคลอโรฟิลล์พบว่า *S. platensis* ที่เลี้ยงในยูเรียเข้มข้น 4 มิลลิโมลต่อลิตรมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากที่สุดในขณะที่ในยูเรียความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตรนั้นทำให้ *S. platensis* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้และตายในที่สุด



ภาพที่ 5 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงในอาหารที่มียูเรียความเข้มข้นต่างๆ เป็นแหล่งไนโตรเจน

ปริมาณคลอโรฟิลล์ของ *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของยูเรีย 100 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณมากที่สุดเท่ากับ 2.46 ± 0.72 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณคลอโรฟิลล์ของ *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของยูเรีย 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณ 1.19 ± 0.46 และ 0.66 ± 0.14 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าเมื่อยูเรียมีความเข้มข้นมากขึ้นก็จะทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์มีแนวโน้มมากขึ้นด้วย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *N. commune* จากการทดลองตอนที่ 1 และ 2 พบว่า *N. commune* ที่เลี้ยงโดยให้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนนั้นแนวโน้มการเจริญเติบโตที่ดีกว่าจากการใช้ไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Danesi (2002) และ Nguitragoon (1973) ที่พิสูจน์ว่าการให้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนในการเพาะเลี้ยงทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าการใช้ไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน

คุณค่าทางโภชนาการของ *Nostoc commune*

ตอนที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของ *Nostoc commune* ในอาหารสูตรต่างกันคือ BBM, BG-11, NF, Chlorella medium

จากการทดลองเลี้ยง *N. commune* ในอาหารสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนทั้ง 4 สูตรให้ผลการทดลองดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร

รายการ (ร้อยละ)	BBM	BG-11	NF	Chlorella medium
โปรตีน	36.18 ± 0.91 ^A	33.37 ± 0.78 ^B	26.40 ± 0.04 ^C	42.81 ± 0.17 ^D
ไขมัน	0.54 ± 0.00 ^A	0.53 ± 0.00 ^A	0.53 ± 0.00 ^A	2.00 ± 0.28 ^B
คาร์โบไฮเดรต	33.57 ± 3.54 ^{AB}	45.53 ± 2.89 ^B	31.02 ± 5.91 ^A	25.84 ± 1.00 ^A
เยื่อใย	16.09 ± 4.24 ^A	7.42 ± 2.22 ^{AB}	15.03 ± 1.36 ^A	5.45 ± 1.41 ^B
เถ้า	12.24 ± 0.18 ^A	11.67 ± 0.06 ^A	31.19 ± 0.08 ^B	19.94 ± 0.29 ^C
แคลเซียม	0.56 ± 0.10 ^A	1.13 ± 0.09 ^B	1.04 ± 0.18 ^A	0.16 ± 0.01 ^C
ฟอสฟอรัส	0.59 ± 0.03 ^A	0.34 ± 0.09 ^B	0.82 ± 0.04 ^C	3.79 ± 0.07 ^D

หมายเหตุ ตัวอักษร A, B, C, D ที่แตกต่างกันในแถวแนวนอนเดียวกันคือมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

หลังจากนำ *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆกัน 4 สูตรมาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ จากตารางที่ 2 พบว่า *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร Chlorella medium มีร้อยละของโปรตีนและไขมันสูงที่สุดและมีนัยสำคัญแตกต่างทางสถิติจากอาหารอีก 3 สูตรอย่างเห็นได้ชัดเจน คือ มีโปรตีนร้อยละ 42.81 ± 0.17 ในขณะที่ *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BBM , BG-11 และ NF มีโปรตีนเพียงร้อยละ 36.18 ± 0.91 , 33.37 ± 0.78 และ 26.40 ± 0.04 ตามลำดับ *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร Chlorella medium พบว่ามีไขมันร้อยละ 2.00 ± 0.28 ซึ่งมีนัยสำคัญแตกต่างจาก *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารอีก 3 สูตรอย่างเห็นได้ชัดเจนถึงเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกือบ 4 เท่า *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 พบว่าถ้าเพียงร้อยละ 11.67 ± 0.06 และ มีคาร์โบไฮเดรตถึงร้อยละ 45.53 ± 2.89 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ *N. commune* ที่เลี้ยงใน อาหารอีก 3 สูตรอย่างชัดเจน

ตอนที่2 คุณค่าทางโภชนาการของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ยูเรียเป็น แหล่งไนโตรเจน

จากการทดลองเลี้ยง *N. commune* ในอาหารสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร BBM โดยใช้ ยูเรียที่ความเข้มข้น 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งไนโตรเจนให้ผลการทดลองดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนาการของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ยูเรียเป็นแหล่ง ไนโตรเจน

รายการ (ร้อยละ)	ยูเรีย 50 เปอร์เซ็นต์	ยูเรีย 75 เปอร์เซ็นต์	ยูเรีย 100 เปอร์เซ็นต์
โปรตีน	50.69 ± 0.36 ^A	48.41 ± 0.91 ^B	49.50 ± 0.32 ^{AB}
ไขมัน	0.68 ± 0.07 ^A	0.72 ± 0.27 ^A	0.91 ± 0.02 ^A
คาร์โบไฮเดรต	14.82 ± 0.14 ^A	15.65 ± 0.53 ^A	16.97 ± 1.25 ^A
เยื่อใย	16.14 ± 0.48 ^A	15.23 ± 0.40 ^A	16.59 ± 1.38 ^A
ถั่ว	16.76 ± 0.14 ^A	19.17 ± 0.60 ^B	15.14 ± 0.38 ^C
แคลเซียม	0.22 ± 0.04 ^A	0.24 ± 0.03 ^A	0.24 ± 0.04 ^A
ฟอสฟอรัส	0.68 ± 0.01 ^A	0.58 ± 0.01 ^B	0.65 ± 0.01 ^A

หมายเหตุ ตัวอักษร A, B, C, D ที่แตกต่างกันในแถวแนวนอนเดียวกันคือมีความแตกต่างกันทาง สถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองจากตารางที่ 3 *N. commune* ที่เลี้ยงโดยใช้ยูเรียที่ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์มีร้อยละของถั่วสูงกว่าอีกทั้ง 2 กลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและแคลเซียมของทั้ง 3 กลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่ใน ส่วนของฟอสฟอรัสที่ยูเรีย 75 เปอร์เซ็นต์มีฟอสฟอรัสเพียงร้อยละ 0.55 ± 0.01 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า อีก 2 กลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตจากตารางที่ 2 และ 3 จะเห็นได้ว่า *N. commune* ที่เลี้ยงในอาหารที่มียูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนจะให้ร้อยละโปรตีนที่มีค่าสูงกว่าที่ เลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตรในการทดลองตอนที่ 1 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Nguitrageol (1973) ที่ทำการทดลองเลี้ยง *S. platensis* ในอาหารที่ใช้ไนเตรตและยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการพบว่าร้อยละของโปรตีนของ *S. platensis* ที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ยูเรียมีค่าเท่ากับร้อยละ 67.29 ± 11.10 ในขณะที่ร้อยละของโปรตีนของสายพันธุ์ดังกล่าวที่เลี้ยงโดยใช้ไนเตรตนั้นมีค่าเพียงร้อยละ 52.33 ± 6.42 ในส่วนของคาร์โบไฮเดรตนั้นสอดคล้องกับผลการทดลองของ Nguitrageol (1973) เช่นกันคือพบว่าคาร์โบไฮเดรตของ *Spirulina sp.* ที่เลี้ยงด้วยยูเรียมี่ค่าเพียงร้อยละ 5.91 ± 1.87 น้อยกว่าที่เลี้ยงด้วยไนเตรตซึ่งมีค่าถึงร้อยละ 20.72 ± 9.11 หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือสาหร่ายที่เลี้ยงโดยใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนนั้นจะมีร้อยละของคาร์โบไฮเดรตน้อยกว่าที่เลี้ยงโดยใช้ไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน

เมื่อเปรียบเทียบการทดลองในตอนที่ 1 และ 2 ทั้งด้านการเจริญเติบโตและด้านคุณค่าทางโภชนาการพบว่าการเลี้ยง *N. commune* ในอาหารที่ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนแทนที่โซเดียมไนเตรตในอาหารสูตร BBM นั้นมีความเหมาะสมมากที่สุดถึงแม้ว่าจากการทดลองน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเลี้ยง *N. commune* ด้วยยูเรียจะมีค่าน้อยกว่าจากการเลี้ยงในอาหารสูตร *Chlorella medium* แต่การใช้อาหารสูตร *Chlorella medium* นั้นพบว่าจะเกิดการปนเปื้อนได้ง่ายและเมื่อพิจารณาถึงคุณค่าทางอาหารแล้วพบว่าโปรตีนจากการเลี้ยงโดยใช้ยูเรียมี่ค่ามากกว่าอย่างเห็นได้ชัด

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบร้อยละโปรตีนของแหล่งโปรตีนชนิดต่างๆ

แหล่งโปรตีน	ร้อยละ	ที่มา
<i>Nostoc commune</i>	26 – 51	จากการศึกษาในครั้งนี้
<i>Spirulina sp.</i>	64 – 73	www.elixline.com/chart.html
<i>Chlorella</i>	40 – 50	www.elixline.com/chart.html
ข้าว	7	www.elixline.com/chart.html
ข้าวสาลี	6 – 10	www.elixline.com/chart.html
ไข่	18	www.elixline.com/chart.html
เนื้อวัว	18 – 20	www.elixline.com/chart.html
เนยถั่ว	25	www.elixline.com/chart.html
หางนมผง	35	www.elixline.com/chart.html
ถั่วเหลือง	40	www.elixline.com/chart.html
Brewers yeast	45	www.elixline.com/chart.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายเกลียวทอง *Spirulina maxima*

ประเภทของสารอาหาร	ร้อยละ
โปรตีน	70.00
วิตามิน,แร่ธาตุ, สารสีและอื่นๆ	2.80
Xanthophyll	0.15
Ceretene b	0.25
Chlorophyll a	0.80
คาร์โบไฮเดรต	18.00
ไขมัน	8.00
ส่วนที่ย่อยไม่ได้	1.50
กรดนิวคลีอิก	4.50

ที่มา : www.elixline.com/chart.html

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้รับจากสาหร่ายอัดเม็ดและแหล่งโปรตีนอื่นๆ

จ่ายด้วยเงิน 35 บาท	ปริมาณที่ได้รับ	โปรตีน (กรัม)
สาหร่ายอัดเม็ด	3 กรัม	1.8
เนื้อสัตว์	500 กรัม	100.0
นมสด	5*250 มิลลิลิตร	42.5
ไข่ไก่	17 ฟอง	10.0

ที่มา : www.dmsc.moph.go.th/webroot/ubon/food/seaweed.html

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบทางเคมีของสาหร่ายทะเล *Enteromorpha sp.*

กรัมต่อ 100 กรัม	1997	1998
เถ้า	36.38 ± 0.42	36.42 ± 0.65
ความชื้น	9.00 ± 0.74	6.70 ± 0.68
โปรตีน	9.45 ± 0.52	14.10 ± 0.85
ไขมัน	3.60 ± 0.73	2.20 ± 0.41
พลังงาน (กิโลจูลต่อกรัม)	6.24 ± 1.629	10.00 ± 3.51

ที่มา : Aguilera – Morales, M. (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 โปรตีน ไขมัน และไขมันของสาหร่ายบางชนิด (กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม)

สาหร่าย	โปรตีน	ไขมัน	ไขมัน
สาหร่ายอัดกระป๋อง			
<i>Himanthalia elongata</i>	10.95 ± 0.27	22.98 ± 0.60	0.93 ± 0.05
<i>Saccorhiza polyschides</i>	13.10 ± 0.12	26.58 ± 0.65	0.70 ± 0.09
สาหร่ายแห้ง			
<i>Himanthalia elongata</i>	5.46 ± 0.16	26.78 ± 0.24	0.97 ± 0.07
<i>Laminaria ochroleuca</i>	7.49 ± 0.12	29.47 ± 0.15	0.92 ± 0.01
<i>Undaria pinnatifida</i>	18.00 ± 1.46	31.24 ± 0.22	1.05 ± 0.01
<i>Porphyra</i> sp.	24.11 ± 1.03	19.07 ± 0.61	1.03 ± 0.04
<i>Palmaria</i> sp.	13.87 ± 0.28	34.00 ± 0.11	1.80 ± 0.14

ที่มา : Sánchez-Machodo, D.I. (2004)

ตารางที่ 9 ไขมัน คอลเลสเตอรอลและกรดไขมันของสาหร่ายทะเล *Enteromorpha* sp.

	<i>Enteromorpha</i> sp. (1997)	<i>Enteromorpha</i> sp. (1998)
ไขมัน (กรัมต่อน้ำหนักแห้ง100กรัม)	2.24	2.27
คอลเลสเตอรอล (กรัมต่อน้ำหนักแห้ง100กรัม)	0.11	0.08
กรดไขมัน (กรัมต่อ100กรัมของกรดไขมัน)		
LA	9.11	6.93
ALA	3.54	6.39
EPA	5.73	2.88
DHA	1.11	0.92
Total n – 3	10.38	10.19
Total n – 6	10.90	8.25

ที่มา : Aguilera – Morales, M. (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 กรดอะมิโนที่พบใน *Enteromorpha sp.* (กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน)

กรดอะมิโน	<i>Enteromorpha spp.</i> (1997)	<i>Enteromorpha sp.</i> (1998)	ตัวเลข
Asparagine	4.40	4.91	ไม่มีรายงาน
Serine	7.76	2.73	ไม่มีรายงาน
Glutamic acid	9.60	7.55	ไม่มีรายงาน
Histidine	1.33	3.14	ไม่มีรายงาน
Arginine	3.81	3.09	ไม่มีรายงาน
Threonine	4.38	3.69	4.60
Alanine	4.77	4.84	ไม่มีรายงาน
Proline	4.34	5.10	ไม่มีรายงาน
Cystine	4.29	4.20	ไม่มีรายงาน
Tyrosine	2.44	2.94	ไม่มีรายงาน
Valine	6.99	4.00	4.90
Methionine	2.45	2.83	1.00
Lysine	3.55	2.85	7.20
Isoleucine	3.52	2.91	4.90
Leucine	4.59	4.27	7.50
Phenylalanine	3.70	3.72	4.80
Tryptophan	-	-	1.10

ที่มา : Aguilera – Morales, M. (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 ปริมาณกรดอะมิโนชนิดจำเป็น (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) ที่พบในอาหารจำพวกสัตว์และพืชรวมทั้งในผลิตภัณฑ์

อาหาร	Arginine	Histidine	Isoleucine	leucine	lysine	methionine	phenylalanine	threonine	tryptophan	valine
สัตว์ (เนื้อ) :										
ไก่			1,089	1,472	1,590	502	800	794	205	1,018
วัว			852	1,435	1,573	478	778	812	198	886
ปลา			900	1,445	1,713	539	737	861	211	1,150
พืช :										
เมล็ดถั่วเหลือง	3,110	1,120	1,889	3,232	2,653	525	2,055	1,603	532	1,995
ปลายข้าว	570	190	390	780	270	320	1,150	380	100	530
เมล็ดข้าวโพด	400	250	340	1,170	250	390	810	320	90	460
หัวมันเทศ			48	71	45	22	51	50	22	59
เนื้อมะพร้าว			305	524	275	150	354	265	85	424
หญ้าขน	118	50	124	196	131	40	112	108	52	135
ผลิตภัณฑ์ :										
ไข่ (ทั้งฟอง)	650	260	550	910	690	340	580	520	140	670
นมวัว			219	430	248	86	239	153	50	255

ที่มา : Wilson และคณะ (1979) อ้างโดย เวียง เตื่อโพธิ์หัก (2543)

จากตารางที่ 4 เปรียบเทียบร้อยละโปรตีนของ *N. commune* กับแหล่งโปรตีนชนิดต่างๆ พบว่า *N. commune* ที่เลี้ยงที่ความเข้มข้นของยูเรีย 50 เปอร์เซ็นต์มีโปรตีนสูงที่สุดในการทดลอง เท่ากับร้อยละ 50.6949 ± 0.3624 มีค่าใกล้เคียงกับโปรตีนของ *Chlorella sp.* ซึ่งมีโปรตีนร้อยละ 40 – 50 และยังมีโปรตีนมากกว่าแหล่งโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์เช่นเนื้อวัว (ร้อยละ 18 – 20) ไข่ (ร้อยละ 18) และหางนมผง (ร้อยละ 35) นอกจากนี้โปรตีนจาก *N. commune* ยังมีค่ามากกว่าถั่วเหลืองซึ่งมีโปรตีนร้อยละ 40 อีกด้วย และเมื่อเปรียบเทียบโปรตีนของ *N. commune* จากธรรมชาติในตารางที่ 1 ซึ่งมีโปรตีน 20.26 กรัมต่อ 100 กรัม (อาภารัตน์, 2546) กับสาหร่ายในตารางที่ 8 พบว่า *N. commune* จากการธรรมชาติมีร้อยละโปรตีนมากกว่าโปรตีนจากสาหร่ายต่างๆ ในตารางที่ 8 ยกเว้นสกุล *Porphyra sp.* ซึ่งมีโปรตีน 24.11 ± 1.03 กรัมต่อ 100 กรัม

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายทะเล *Enteromorpha sp.* หรือ "Aonori" ซึ่งเป็นสาหร่ายทะเลที่นิยมรับประทานกันในประเทศจีน ญี่ปุ่น อเมริกา ฝรั่งเศสและชิลี โดยนำมาประกอบเป็นอาหารเช่น สลัด ซุป กุ๊ก และนำมาเป็นเครื่องปรุงรส (Aguilera – Morales, 2005) กับ *N. commune* จากธรรมชาติ (อาภารัตน์ 2546) พบว่า *N. commune* มีโปรตีนและความชื้นมากกว่า *Enteromorpha sp.* แต่มีเถ้าและไขมันน้อยกว่าอย่างเห็นได้ชัดและเมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้จากสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดแล้วพบว่า *N. commune* มีปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดน้อยกว่า *Enteromorpha sp.* และเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณกรดอะมิโนจากแหล่งอาหารชนิดต่างๆ ในตารางที่ 11 พบว่าปริมาณกรดอะมิโนของ *N. commune* จากธรรมชาติมีปริมาณน้อยกว่าจากเนื้อสัตว์ทั้งเนื้อวัว เนื้อไก่ เนื้อปลา และเมล็ดถั่วเหลืองยกเว้น Phenylalanine และ Threonine แต่มีปริมาณมากกว่าจากผลิตภัณฑ์จากสัตว์และพืชอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด

จากตารางเปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารของ *N. commune* กับสาหร่ายและแหล่งโปรตีนอื่นๆ ทั้งเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์กล่าวได้ว่า *N. commune* เป็นสาหร่ายที่ให้โปรตีนสูงมีกรดอะมิโนที่จำเป็นและคุณค่าทางโภชนาการสูงเหมาะสำหรับการส่งเสริมให้มีการรับประทานเพื่อสุขภาพเพราะมีงานวิจัยได้ศึกษาแล้วว่า *N. commune* มีความปลอดภัยที่จะนำมารับประทานเป็นอาหารได้ นอกจากนี้ *N. commune* จากการทดลองยังมีโปรตีนสูงกว่าสาหร่ายทะเลชนิดอื่นๆ หลายชนิดและมีโปรตีนสูงกว่าโปรตีนจากเนื้อสัตว์อีกด้วย ในประเทศไทยชาวบ้านอำเภอนาเชือก จังหวัดมหาสารคามได้นิยมรับประทาน *N. commune* กันเป็นอาหารจนเกรงว่าอาจเกิดการสูญพันธุ์ได้เนื่องจาก *Nostoc sp.* นั้นพบในบริเวณที่ค่อนข้างจำกัด มักพบได้เฉพาะบริเวณที่อกเขาที่มีอากาศเย็นเท่านั้น (Bhomiratana, 1977) ดังนั้นจึงควรมีการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยง *N. commune* ขึ้นเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนนอกจากการรับประทาน *N. commune* จากธรรมชาติ สำหรับเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงนั้นจากการทดลองพบว่า *N. commune* เจริญเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร Chlorella medium มากที่สุดแต่หากต้องการเพาะเลี้ยง *N. commune* ในอาหารสูตร Bold's basal medium ที่ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนมีความเหมาะสมกว่าเนื่องจากทำให้ได้ผลผลิตปริมาณมาก โปรตีนที่ได้มีค่าสูงและช่วยลดต้นทุนค่าสารเคมีเนื่องจากยูเรียมีราคาถูกกว่าอีกด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการเพาะเลี้ยง *Nostoc commune* ในอาหารสูตร Bold's basal medium, Nitrogen free medium, BG-11 และ Chlorella medium ปรากฏว่าอาหารสูตร Chlorella medium นั้นให้ปริมาณผลผลิตดีที่สุดคือ 2.63 ± 0.17 กรัมต่อลิตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากอีกทั้ง 3 สูตร นอกจากนี้ยังทำให้ *N. commune* มีร้อยละโปรตีนและไขมันมากที่สุดด้วยคือเท่ากับ 42.81 ± 0.17 และ 2.00 ± 0.29 ตามลำดับ แต่ในที่นี้ไม่แนะนำให้ใช้ Chlorella medium ในการเพาะเลี้ยง *N. commune* เนื่องจาก Chlorella medium นั้นเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Chlorella sp.* ซึ่งในการนำมาเลี้ยง *N. commune* นั้นพบปัญหาว่าเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย *Chlorella sp.* สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วจนทำให้ *N. commune* ตายในเวลาอันสั้น ในส่วนของการเพาะเลี้ยง *N. commune* โดยใช้ยูเรียที่ความเข้มข้นต่างๆเป็นแหล่งไนโตรเจนนั้น พบว่าที่ความเข้มข้นของยูเรีย 75 เปอร์เซ็นต์จะทำให้ได้ปริมาณผลผลิตมากที่สุดคือ 1.97 ± 0.57 กรัมต่อลิตร รองลงเป็นที่ความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งจะสังเกตได้ว่าที่ความเข้มข้นของยูเรีย 100 เปอร์เซ็นต์นั้นทำให้ *N. commune* มีการเจริญเติบโตลดลงซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของนักวิจัยอื่นๆที่ว่าที่ยูเรียความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้ผลผลิตของแพลงก์ตอนลดลง แต่จากการทดลองจะสังเกตได้ว่าที่ยูเรียความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์นั้นจะให้ร้อยละโปรตีนคาร์โบไฮเดรตและไขมันมากที่สุดแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ในการเพาะเลี้ยงเป็นขนาดใหญ่เพื่อการค้านั้นควรใช้ยูเรียทดแทนแหล่งไนโตรเจนในอาหารเนื่องจากจะช่วยลดต้นทุนการผลิตแล้วยังทำให้ได้ *N. commune* ในปริมาณมากกว่าการใช้ไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนและ *N. commune* ยังมีโปรตีนสูงอีกด้วย (48.41 ± 0.91 ถึง 50.69 ± 0.36) สาหร่าย *N. commune* เป็นสาหร่ายที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงเหมาะสำหรับการนำมาประกอบอาหารเพื่อสุขภาพและใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆได้และควรส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นอาหารแทนการเก็บจากธรรมชาติเนื่องจากสาหร่ายเห็ดลามีอยู่ในบริเวณจำกัดจึงเกรงว่าหากไม่มีการเพาะเลี้ยงเพื่อการบริโภคอาจทำให้เกิดการสูญพันธุ์ได้

เอกสารอ้างอิง

- จันทนา สุขปรีดาและบพิท จารุพันธ์. 2546. การศึกษาขนาดและการสร้าง heterocyst ของ *Anabaena* sp. เมื่อเลี้ยงในอาหารผสมที่มีและไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 25 – 36 น.
- นิติมา ศาลากิจ. 2546. คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Phormidium angustissima*, *Nostoc commune*, *Calothrix marchica* และ *Gloeocapsa* sp. ปรินญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 1 – 43 น.
- อาภารัตน์ มหาพันธ์ อุษา กลิ่นหอม มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์ เจษฎา ทิพยะสุขศรี และวัชรวิ กัลยาลัง. 2546. วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดดลาบ (*Nostoc commune*, Cyanophyta). 1 - 84 น.
- Aguilera – Morales, M., M. Casas – Valdez, S. Carrillo – Domínguez, B. González – Acosta และ F. Pérez – Gil. 2005. Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha* spp. As a potential food source. Journal of Food Composition and Analysis. 18 : 79 - 88
- Allen, M. B. 1952. Arch. Mikrobiol. 17 – 34 อ้างโดย Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae iin nitrogen Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.
- Allen, M. B. 1956. Scientific monthly. 83 : 100. อ้างโดย Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae iin nitrogen Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.
- Allen, M. M. และ Smith, A. J. 1969 nitrogen chlorosis in Blue green algae. อ้างโดย อาภารัตน์ มหาพันธ์ อุษา กลิ่นหอม มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์ เจษฎา ทิพยะสุขศรี และวัชรวิ กัลยาลัง. 2546. วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดดลาบ (*Nostoc commune*, Cyanophyta). 1 – 84 น.
- Allison, F. E. และ Hoover, S. R. 1935. Trans. 3rd Intern. Congr. Soil Sci. Moscow. 3 : 24 อ้างโดย Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae iin nitrogen Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Allison, F. E., Hoover S. R. และ Morris , H. J. 1937. Bot. Gaz. 98 : 433 อ้างโดย Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae iin nitrogen Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.
- Bhomiratana, A. 1977.6th report on the production and utilization of algae as a protein source in thailand. Algae Project. Kasetsart University Institute of Food Research and Product Development. 98 – 100 .
- Bortels, H. 1940. Arch. Mikrobiol. 11 : 155 อ้างโดย Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae iin nitrogen Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.
- Britstol, B.M. 1927 อ้างโดย Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae iin nitrogen Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.
- de Cano, M.S., de Mule´ M.C.Z., de Caire G.Z. และ de Halperin D.R. 1990. Inhibition of *Candida albicans* and *Stephylococcus aureus* by phenolic compound from the terrestrial cyanobacterium *Nostoc muscorum*. Journal of Applied Phycology. 2 : 79 – 81 อ้างโดย Takenaka,H., Y. Yamaguchi, S. Sakaki, K. Watarai, N. Tanaka, M. Hori, H. Seki, M. Tsuchida, A. Yamada, T. Nishimori และ T. Morinaga. 1998. Safety evaluation of *Nostoc Flagelliforme* (Nostocales, Cyanophyceae) as a potential food. Food and chemical Toxicology. 36 : 1073 – 1077.
- Ester, C. 1952. Nature. 170 : 755 อ้างโดย Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae iin nitrogen Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.
- Huang, A., Liu, Y., Paulsen, B. S. และ Klaveness, D. 1998. Studies on polysaccharide from three edible species of Noctoc (cyanobacteria) with different colony morphologies : comparison of monosaccharide composition and viscosities of polysaccharide from field colonies and suspension culture. J. Phycol. 34 : 962 – 968. อ้างโดย อภาภรณ์ มหาพันธ์ อูษา กลิ่นหอม มยุรี ตั้งธนาวุฒน์ เจษฎา ทิพยะสุขศรี และวัชร กัลยาลัง. 2546. วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดปลาบ (*Nostoc commune*, Cyanophyta). 1 – 84 น.
- Hori, K., Ishibashi, G. และ Okita, T. 1994. Hypocholesterolemic effect of blue - green alga. Ishikurage (*Nostoc commune*) in rat fed atherogenic diet. Plant Food Hum.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Nutr. 45 : 63 –70. อ้างโดย อภากรัตน์ มหาพันธ์ อูษา กลิ่นหอม มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์
 เฉษฐา ทิพย์สุศรี และวัชรีย์ กัลยาลัง. 2546. วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจาก
 สาหร่ายเห็ดดลาบ (*Nostoc commune*, Cyanophyta)1 – 84 น.
- Kabayashi, A., S. Kajiyama, K. Inawaka, H. Kanzaki, K.Z. Kawazu. 1994 . Naturforsch.
 49c : 464 – 470. อ้างโดย Kajiyama, S., H. Kanzaki, K. Kawazu และ A. Kobayashi.
 1998. Nostofungicide, an Antifungal Lipopeptide from the Field – grown
 Terrestrial Blue – green Alga *Nostoc commune*. Tetrahedron Letters. 39 : 3737 -
 3740
- Kaplan, D., Richmond , A. E., Dibinsky, Z. และ Aaronson, S. 1986. Algae Nutrition. 147 –
 1986. in Richmond, A. CRC Handbook of Microalgal Mass Culture. CRC Press.
 Florida. อ้างโดย อภากรัตน์ มหาพันธ์ อูษา กลิ่นหอม มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์ เฉษฐา ทิพย์
 สุศรี และวัชรีย์ กัลยาลัง. 2546. วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดดลาบ
 (*Nostoc commune*, Cyanophyta). 1 – 84 น.
- Danesi, E.D.G., C. De O. Rangel-Yagui, J.C.M. de Carvalho และ S. Soto. 2002. An
 investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production
 of chlorophyll by *Spirulina platensis*. Biomass&Bioenergy. 23 : 261-269
- Fay, P. 1973. The heterocyst. 238 – 259. in Carr, N. G. และ Whitton, B. A. The biology of
 Blue - Green Algae. Berkeley. University California Press. อ้างโดย อภากรัตน์ มหา
 พันธ์ อูษา กลิ่นหอม มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์ เฉษฐา ทิพย์สุศรี และวัชรีย์ กัลยาลัง. 2546.
 วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดดลาบ (*Nostoc commune*,
 Cyanophyta). 1 – 84 น.
- Fogg, G. E. 1956. Nitrogen fixation by photophotosynthesis organism. Ann. Rev. Plant
 Physiol. 7 : 51 –70 อ้างโดย จันทนา สุขปรีดาและบพิท จารุพันธ์. การศึกษานาถและ
 การสร้าง heterocyst ของ *Anabaena sp.* เมื่อเลี้ยงในอาหารผสมที่มีและไม่มีไนโตรเจน
 เป็นองค์ประกอบ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 25 –36 น.
- Fox, M.H. 1967. An introduction to the algae. 25 – 36
- Fritsch, F. E. 1922. T. Ecol. 10 : 220. อ้างโดย Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae
 iin nitrogen Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal
 Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.
- Fritsch, F. E. 1945. The structure and reproduction of the algae. 2 : 768. Cambridge
 university Press. อ้างโดย Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae iin nitrogen
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สวอนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.
- Kratz, W.A. และ Myers, J. 1955. Amer. T. Bot. 42 : 282 อ้างโดย Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae iin nitrogen Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.
- Kajiyama, S., H. Kanzaki, K. Kawazu และ A. Kobayashi. 1998. Nostofungicidine, an Antifungal Lipopeptide from the Field – grown Terrestrial Blue – green Alga *Nostoc commune*. Tetrahedron Letters. 39 : 3737 - 3740
- Lazaroff, N. และ Vishniac, W. 1962. J. Gen. Microbiol. 28 : 203 – 210. อ้างโดย Fox, M.H. 1967. An introduction to the algae. 25 – 36.
- Nguitragool, M. 1973. The selection and growth physiology of some filamentous Bluegreen algae. 6 – 44
- Rai, A. N., Rao, V. V. และ Singh, H. N. 1985. The biology of cyanobacterial (Blue - green algae) akinetes (spores). J. plant Sci. 8 : 97 – 111 อ้างโดย อภารัตน์ มหาพันธ์ อุษากลิ่นหอม มยุรี ตั้งธนาวัฒน์ เจษฎา ทิพยะสุขศรี และวัชร กัลยาลัง. 2546. วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดปลา (*Nostoc commune*, Cyanophyta). 1 – 84 น.
- Takenaka, H., Y. Yamaguchi, S. Sakaki, K. Watarai, N. Tanaka, M. Hori, H. Seki, M. Tsuchida, A. Yamada, T. Nishimori และ T. Morinaga. 1998. Safety evaluation of *Nostoc Flagelliforme* (Nostocales, Cyanophyceae) as a potential food. Food and chemical Toxicology. 36 : 1073 – 1077.
- Sánchez – Machado, D.I., J. López – Cervantes, J. López – Hernández และ P. Paseiro – Losada. 2004. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweed. Food Chemistry. 85 : 439 - 444
- Singh, R.N.1961. Role of Blue green algae iin nitrogen Economy of India. Indian Council of Agricultural Research. Pyarelal Sah at the time of India. New delhi. 11 – 175.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 อาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร Bold's basal

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)	ราคา (บาทต่อปริมาณ)
NaNO ₃	0.25	800	0.20000
MgSO ₄ *7H ₂ O	0.075	630	0.04725
NaCl	0.025	160	0.00400
K ₂ HPO ₄	0.075	1120	0.08400
KH ₂ PO ₄	0.175	770	0.13475
CaCl ₂ *2H ₂ O	0.025	630	0.01575
H ₃ BO ₃	0.0114	560	0.00638
EDTA	0.05	2400	0.12000
KOH	0.031	400	0.01240
FeSO ₄ *7H ₂ O	0.049	550	0.02695
Conc.H ₂ SO ₄	0.001	360	0.00014
Trace element solution		1	มิลลิลิตรต่อลิตร
ปรับปริมาตรน้ำด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร			
Trace element solution มีส่วนผสมดังนี้			
ธาตุอาหาร	ปริมาณ (มิลลิกรัม/ลิตร)	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)	ราคา (บาทต่อปริมาณ)
ZnSO ₄ *7H ₂ O	8.82	1230	0.01085
MnCl ₄ *4H ₂ O	1.44	925	0.00266
MoO ₃	0.71	1500	0.01065
CuSO ₄ *5H ₂ O	1.57	630	0.00099
Co(NO ₃) ₂ *6H ₂ O	0.49	12000	0.00588

รวมราคาสารเคมีในสูตรอาหารเท่ากับ

0.65166

บาทต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 อาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร BG-11

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)	ราคา (บาทต่อปริมาณ)
NaNO ₃	1.5	700	1.05000
K ₂ HPO ₄ *7H ₂ O	0.04	1120	0.04480
MgSO ₄ *7H ₂ O	0.075	630	0.04725
CaCl ₂ *2H ₂ O	0.036	630	0.02268
Citric acid (C ₆ H ₈ O ₁₀)	0.006	600	0.00360
Ferric ammonium citrate	0.006	4200	0.02520
Disodium magnesium EDTA	0.001	2400	0.00240
Na ₂ CO ₃	0.02	2360	0.04720

Trace metal mix A₅ + Co

1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ

1 ลิตร

หลังการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันแล้วปรับความเป็นกรดเป็นด่างให้เท่ากับ 7.4

Trace metal mix A₅ + Co มีส่วนประกอบดังนี้

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)	ราคา (บาทต่อปริมาณ)
H ₃ BO ₃	2.86	560	0.00160
MnCl ₂ *4H ₂ O	1.81	1850	0.00185
ZnSO ₄ *7H ₂ O	0.222	1230	0.00027
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	0.390	3750	0.00146
Co(NO ₃) ₂ *6H ₂ O	0.079	630	0.00005
CuSO ₄ *5H ₂ O	0.049	12000	0.00058

รวมราคาสารเคมีในสูตรอาหารเท่ากับ

1.24314

บาทต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 อาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร Nitrogen free

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)	ราคา (บาทต่อปริมาณ)
NaCl	7	160	0.00112
MgSO ₄ *7H ₂ O	380	630	0.23940
CaCl ₂	80	630	0.05040
K ₂ HPO ₄	600	1120	0.67200
Fe ₂ (SO ₃)*6H ₂ O	10	550	0.00550
EDTA	27	1550	0.04185
H ₃ BO ₃	3	560	0.00168
MnSO ₄ *4H ₂ O	2	860	0.00172
NaMoO ₄ *2H ₂ O	8	3750	0.03000
ZnSO ₄ *7H ₂ O	0.3	1230	0.00037
CuSO ₄ *5H ₂ O	0.08	630	0.03000
CoCl ₂	0.02	8150	0.00016
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ			1 ลิตร
หลังการฆ่าเชื้อในหม้อหนึ่งความดันแล้วปรับความเป็นกรดเป็นด่างให้เท่ากับ			7.5
รวมราคาสารเคมีในสูตรอาหารเท่ากับ			1.09460 บาทต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 สูตรอาหารเลี้ยงคลอเรลลา (Chlorella medium)

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)	ราคา (บาทต่อปริมาณ)
KNO_3	1.250	560	0.70000
K_2HPO_4	1.250	770	0.96250
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.000	630	0.63000
CaCl_2	0.084	630	0.05292
H_3BO_3	0.114	560	0.06384
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.050	550	0.02750
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.088	1230	0.10824
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.014	1850	0.02590
MoO_3	0.007	15000	0.10500
$\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.016	630	0.01008
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.005	12000	0.06000
EDTA	0.500	1470	0.73500
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ			1 ลิตร
หลังการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันแล้วปรับความเป็นกรดเป็นด่างให้เท่ากับ			6.8
รวมราคาสารเคมีในสูตรอาหารเท่ากับ		3.48098	บาทต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 น้ำหนักแห้งของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร (กรัมต่อลิตร)

วันที่	BBM	BG – 11	NF	Chlorella medium
0	0.0883	0.1033	0.1317	0.3233
2	0.0917	0.1416	0.0950	0.5233
4	0.1367	0.1483	0.0850	0.7083
6	0.1733	0.3766	0.2350	0.7917
8	0.2033	0.2416	0.2167	0.9317
10	0.2500	0.1550	0.2017	1.0217
12	0.4300	0.2700	0.2967	1.1867
14	0.3533	0.4383	0.3267	1.4183
16	0.4183	0.4516	0.4867	1.7733
18	0.5933	0.6483	0.4067	2.0350
20	0.7033	0.6133	0.725	2.4867
22	0.8783 ^A	0.9850 ^A	1.3567 ^A	2.6317 ^B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 6 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของ *Nostoc commune* ที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร
(ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

วันที่	BBM	BG - 11	NF	Chlorella medium
0	1.5370	1.9671	1.6740	1.3451
2	0.9639	0.5714	0.5271	2.0556
4	1.7078	0.7611	2.0261	4.4106
6	1.0247	1.3936	0.8834	4.4001
8	1.7668	2.1421	1.8993	5.5344
10	1.5075	1.4421	1.1069	5.0832
12	2.9728	2.8716	1.5264	6.3269
14	3.1477	1.9671	2.5764	7.5689
16	3.0402	2.8737	1.9924	8.7285
18	5.8359	2.2770	4.6552	8.3880
20	3.7486	4.3643	4.5245	7.5795
22	4.6067 ^{AB}	3.9089 ^A	4.5709 ^{AB}	7.1270 ^B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7 น้ำหนักแห้งของ *Nostoc commune* ในอาหารสูตร BBM ที่ใช้ยูเรียความเข้มข้น
ต่างๆ (กรัมต่อลิตร)

วันที่	ยูเรีย 50 เปอร์เซ็นต์	ยูเรีย 75 เปอร์เซ็นต์	ยูเรีย 100 เปอร์เซ็นต์
3	1.2500	1.3500	1.1833
6	2.6333	2.4000	1.8333
9	1.3000	2.0167	1.5000
12	1.8333	1.7333	1.2667
15	1.2500	1.4167	0.9967
18	1.3667	2.2000	1.7333
21	1.3000	1.5000	1.6167
24	1.5833 ^A	1.9667 ^A	1.5333 ^A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 8 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของ *Nostoc commune* ในอาหารสูตร BBM ที่ใช้ยูเรีย ความเข้มข้นต่างๆ (ไม่โครกรัมต่อมิลลิลิตร)

วันที่	ยูเรีย 50 เปอร์เซ็นต์	ยูเรีย 75 เปอร์เซ็นต์	ยูเรีย 100 เปอร์เซ็นต์
3	0.9003	0.9319	0.9888
6	1.7141	3.0234	1.6255
9	0.8665	1.6803	1.1048
12	1.1006	1.1006	1.2418
15	0.5355	0.8497	0.7927
18	0.9466	0.1972	2.2918
21	1.2060	1.3430	2.2412
24	0.6599 ^A	1.1870 ^{AB}	2.4646 ^B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้