ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีแดงต่อ สาหร่าย *Chlorococcum sp.*
Study on suitable indicator to enhance astaxanthin production in *Chlorococcum sp.*

ชื่อนักศึกษา นางสาวหทัยรัตน์ ฤทธิ์วิชัย
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร. อัจฉรี เรืองเดช
ชื่ออาจารย์ที่ป

ได้รับพิจารณา

อาจารย์ที่ปรึก

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 28 เดือน ธ.ค. พ.ศ. 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

23033

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีแดงต่อ สาหร่าย *Chlorococcum sp.*

Study on suitable indicator to enhance astaxanthin production in *Chlorococcum sp.*

ตท.หมู่.....
เลขทะเบียน 99413
วัน.เดือน.ปี.....

.b.....
.i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีแดงต่อสาหร่าย *Chlorococcum sp.*

Study on suitable indicator to enhance astaxanthin production in *Chlorococcum sp.*

ปัจจุบันตลาดปลาสวยงามกำลังเติบโตดีในหลายประเทศ และทำให้ปลาที่มีสีสวยเป็นที่นิยมกัน ดังนั้นจึงมีการศึกษาถึงอาหารที่ทำให้ปลามีสีสวย พบว่าสารสีที่สามารถทำให้ปลาสีสวยได้นั้นคือ สาร astaxanthin ซึ่งสารสีนี้ ถูกสร้างขึ้นโดยสาหร่าย *Chlorococcum* ที่เกิดความเครียด หรืออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ดังนั้น ปัญหาพิเศษฉบับนี้ จึงมีการศึกษาถึงสภาพต่างๆที่จะ axanthin ขึ้นมาได้ โดยเบื้องต้ ารเลี้ยงสาหร่าย *Chlorococcum* myers medium พบว่า สาหร่าย Cramer-myers medium และเ) แต่ไม่เกิน 1500 Lux และ มากก ; ใส่ hydrogen peroxide (H_2O_2 odium chloride (NaCl) จำนว พบว่าสาหร่าย *Chlorococcum* ใส่อาหารกลูโคส ในวันที่ 1 ของก การดรอป พบว่า สาหร่ายมีสีส้มเขี สีเขียวเข้มขุ่น ใส่ อาหารกลูโคสใน กลูโคสในวันที่ 5 ของการดรอป พบว่า สาหร่ายมีสีเขียวเข้มใส ส่วนสาหร่ายที่ไม่มีการใส่อาหารกลูโคส พบว่า สาหร่ายมีสีเขียวเข้มใส และทำการจำแนกชนิดของรงควัตถุในสาหร่ายโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ได้ค่า Rf ของสาหร่ายที่มีสีแดง คือ แถบสีแดง มีค่า Rf ที่ 0.341, แถบสีเทาอ่อนจางมาก มีค่า Rf ที่ 0.882 สาหร่ายที่มีสีเขียว คือ แถบสีเขียว มีค่า Rf ที่ 0.847, แถบสีเขียวแกมน้ำเงิน มีค่า Rf ที่ 0.858

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *Chlorococcum* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร Cramer-myers medium และสภาวะที่สามารถทำให้สาหร่าย *Chlorococcum* สร้างสารสีแดงขึ้นมาได้คือ สภาวะที่เติมอาหารกลูโคสเข้าไปหลังจากการดรอปของสาหร่าย 1 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์อัจฉรี เรืองเดช เป็นอย่างสูงที่ได้ให้ความกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือ ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ทุกท่าน เป็นอย่างสูงที่ได้อบรมสั่งสอนวิชาความรู้ต่างๆแก่ข้าพเจ้า และเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือจนข้าพเจ้าสำเร็จการศึกษา

ขอขอบคุณ เพื่อนๆในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกคนที่ช่วยเหลือ ร่วมทุกข์ร่วมสุขมาโดยตลอด คอยเป็นกำลังใจ ให้คำแนะนำดีๆ และคอยให้ความบันเทิงคลายความเครียด

ท้ายสุดนี้ [redacted] ให้คำปรึกษาช่วยเหลือแนะนำและ

[redacted]ัยรัตน์ ฤทธิ์วิชัย

เมษายน 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	12
ผลการทดลองและวิจารณ์	18
สรุป	34
เอกสารอ้างอิง	37
ภาคผนวก	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงถึงส่วนประกอบของ Carotenoid ในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum*	10
2	องค์ประกอบของสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Chlorococcum sp.*	19
3	ค่า Rf แสดงการแยกสารสีที่เป็นองค์ประกอบของสาหร่าย *Chlorococcum* ในสภาพที่มีสีต่างกัน โดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของ *Chlorococcum* sp.	2
2	ช่วงการเจริญ 6 ช่วงในพวกสาหร่ายขนาดเล็ก	4
3	จำนวน hoemogonia ที่น้อยและ filament ที่มีชีวิตอยู่ มีสารสีที่จับกับเซลล์น้อยลง	5
4	น้ำหนักแห้ง, คลอโรฟิลล์ ของ Anabaena azollae ที่เจริญเติบโตในสารอาหารที่มีและไม่มี 20มิลลิโมล NaCl	8
5	โครงสร้	8
6	แสดงเม็ โคส	9
7	แสดงเม็	10
8	การเจริ	20
9	ช่วงควา	20
10	ช่วงควา	21
11	ช่วงควา	21
12	ช่วงควา	22
13	ให้แสง L	23
14	ให้แสง L	24
15	ให้แสง L	24
16	สาหร่าย ามเข้มข้น	25
17	ใส่ในน้ำเค็ม 100 ppt ใน 5 ขวด [illegible]	26
18	ใส่ Sodium chloride (NaCl) จำนวน 2 ความเข้มข้น คือ NaCl 1% และ NaCl 1.5% เป็นเวลา 2 อาทิตย์	27
19	ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 1 ของการดรอป	30
20	ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 2 ของการดรอป	30
21	ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 3 ของการดรอป	31
22	ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 4 ของการดรอป	31
23	ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 5 ของการดรอป	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
24	สาหร่ายที่ไม่มีการใส่อาหารกลูโคส	32
25	ภาพแสดงการแยกสารสีที่เป็นองค์ประกอบของสาหร่าย *Chlorococcum* ในสภาพที่มีสีต่างกัน โดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)	33

ภาพผนวกที่		หน้า
1	สมการ	40
2	สมการ	40
3	สมการ	41
4	สมการ	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

Chlorococcum เป็นสาหร่ายขนาดเล็กชนิดหนึ่ง ซึ่งในปัจจุบันได้มีการศึกษา และมีผู้สนใจเกี่ยวกับรูปร่างลักษณะของ *Chlorococcum* และการใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Chlorococcum* มากขึ้น เนื่องจากสาหร่าย *Chlorococcum* มีความน่าสนใจหลายด้าน และยังรวมทั้งการเปลี่ยนสารสีภายในตัวเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเป็นสารสีแดง หรือที่เรียกว่าสาร astaxanthin เนื่องจากสาหร่าย *Chlorococcum* สร้างขึ้นมาเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมนี้ สามารถนำไปเป็นประโยชน์ในการเพิ่มสีสันในปลาหลายชนิดได้ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการศึกษาทางด้านต่างๆของสาหร่าย *Chlorococcum* มากมายเพื่อที่จะเพิ่มจำนวนของสาหร่าย *Chlorococcum* นี้ให้มากขึ้น

ในการทำ ...ให้สาหร่าย *Chlorococcum* ...สูตร และดูการเปลี่ยนแปลงสาร ...*occum* ในความเข้มแสง, แสง UV ...ve stress) เพื่อให้ได้สภาพแ ...staxanthin ให้ได้มากที่สุด เพื่อที่เ ...

วัตถุประสงค์

1. ศึก ...บโตได้ดีที่สุด
2. เพื่อ ...สง, แสง UV

สภาวะเครียดเนื่อ ...

ประโยชน์ที่คาด...

1. ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อขยายสาหร่าย *Chlorococcum* ให้ได้จำนวนมาก
2. ทราบวิธีการทำให้สาหร่าย *Chlorococcum* สร้างสารสีแดง (astaxanthin) เพื่อนำไปใช้เร่งสีของปลาสวยงามต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

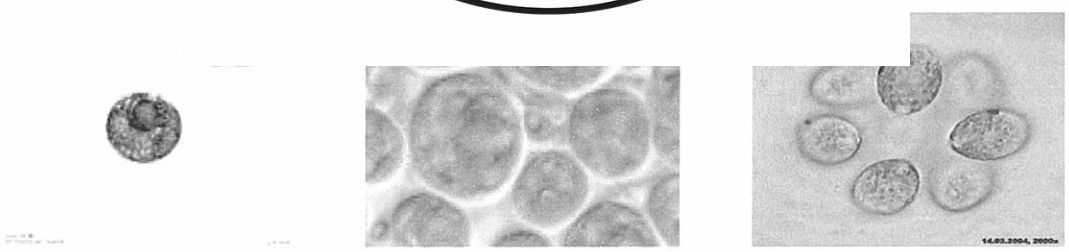
การตรวจเอกสาร

ลักษณะของ *Chlorococcum* sp.

Chlorococcum sp. เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว เซลล์จะมีลักษณะเป็นทรงกลมหรือเป็นรูปไข่เล็กน้อย ขนาดของเซลล์จะไม่คงที่ เซลล์อาจจะเป็นเซลล์เดี่ยวๆหรือรวมกันอยู่อย่างไม่เป็นระเบียบ บางครั้งมีลักษณะเป็นฝ้าเมื่อมีความเปียกชื้นหรือมีน้ำท่วมหรือแช่บริเวณผิวหน้าเมือกจะมีลักษณะบาง และ เห็นไม่เด่นชัด เซลล์เดี่ยวๆแต่ละเซลล์ จะมีรูปร่างเป็นรูปถ้วย คลอโรพลาสต์จะถูกหุ้มด้วยไพรีนอยด์ เซลล์เดี่ยวๆทั้งโครงสร้างที่เห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูง และข้อมูลที่แสดงรายละเอียดของโมเลกุลจะแสดงให้เห็นว่า *Chlorococcum* sp. มีหลายสายพันธุ์ การศึกษาโครงสร้างและส่วนประกอบของคลอโรพลาสต์ และผนังเซลล์ของ ซูโอสปอล์จะมีคว[illegible] วชนิดอื่นๆ เช่น สาหร่ายสีเขียวเ[illegible]

Chl[illegible]นที่ประกอบด้วย ความอุดมสมบูร[illegible]สภาวะที่มีอากาศ สายพันธุ์ที่เหมือน[illegible]ทะเลแคริบเบียน การ[illegible]วเคลียส จะแบ่ง ระหว่างซูโอสปอ[illegible]ากแหล่งกำเนิดที่ ผนังเซลล์หนวดท[illegible]กไทล์แวคิวโอลล์ ก่อนจะมีการพัฒ[illegible]ปเป็นเวลาหลาย วัน เซลล์ในรูป[illegible]เขาดน้ำไซโกตจะ ถูกกั้นอย่างหนา[illegible]แบบอาศัยเพศ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ภาควิชาเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



ภาพที่ 1 ลักษณะของ *Chlorococcum* sp.

ที่มา : http://silicasecchidish.conncoll edu/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตของสาหร่าย

สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์แบบง่ายๆโดยการแบ่งเซลล์ (cell division) จะมีช่วงการเจริญในการเลี้ยงแบบ batch culture อยู่ 6 ช่วง ดังนี้

1. Lag phase

เป็นระยะที่สาหร่ายมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ระยะนี้จะไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ (ทิฆัมพร, 2527)

2. Acceleration phase

ระยะนี้มวลสาหร่ายจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นลำดับดังนี้ RNA เป็นองค์ประกอบแรกที่มีปริมาณเพิ่มขึ้น ต่อมาปริมาณโปรตีน และน้ำหนักแห้งมีการเพิ่มขึ้น จำนวนเซลล์มีการเพิ่มขึ้นเป็นอันดับสุดท้าย (Vonshak and Maske, 1982)

3. Exp

เป็น ...งตาบอลิซึม สูงสุด จึงมีอัต... 27; ทวี, 2529; Vonshak and M...

4. Dece

เป็นช่ ...ากมวลสาหร่ายมี ความหนาแน่นม... ยลง อัตราการ สังเคราะห์แสงจึง...

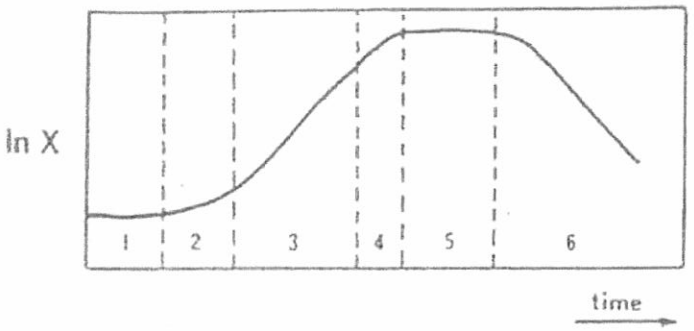
5. Stati

เป็น... ...กอบต่างๆภายใน เซลล์บางอย่างอ... ...จริญเติบโตนี้เกิด จากการขาดแคล... ...์ การยับยั้งการ เจริญเติมโตที่สา... ...บแสงไม่เพียงพอ เนื่องจากความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย(Vonshak and Maske, 1982)

6. Death phase

มวลสาหร่ายเริ่มลดลงเนื่องจาก อัตราส่วนของการหายใจต่อการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น จนมีค่ามากกว่า 1 หรือ เนื่องจาก มีการตายของเซลล์สาหร่าย(Vonshak and Maske, 1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ช่วงการเจริญ 6 ช่วงในพวกสาหร่ายขนาดเล็ก
ที่มา : Vonshak

ปัจจัยที่มีผลต่อ

1. **ธาตุ**

ชนิด ในพืชชั้นต่ำนั้น
เป็นชนิดเดียวกับ 1950; Prescott,
1968) Kaplan เจริญเติบโตของ
สาหร่ายโดยแบ่ง าร ซึ่ง สัมพันธ์
(2529) กล่าวว่า เพชเท่าๆกัน ใน
สาหร่ายก็น่าจะเ

แร่ธ ajor element)
เป็นแร่ธาตุที่เป็น นจึงเป็นแร่ธาตุที่
ต้องการเป็นปริม จน ฟอสฟอรัส
แคลเซี่ยม แมกนีเซี่ยม ซัลเฟอร์ และโปตัสเซี่ยม สัมพันธ์ (2529) รายงานว่า แหล่งของธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ได้มาจากคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และ ก๊าซออกซิเจน ตามลำดับ ทั้งคาร์บอน ไฮโดรเจน และ ออกซิเจน เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสารหลักภายในพืช ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน

แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณน้อย (micronutrients หรือ minor element) คือ ต้องการเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรหรือต่ำกว่านี้ แร่ธาตุเหล่านี้เป็นส่วนประกอบของโมเลกุลที่สำคัญ เช่น growth factors หรือ เอนไซม์ หรือเป็นตัวกระตุ้นเอนไซม์ สัมพันธ์ (2529) กล่าวว่าแร่ธาตุเหล่านี้มีอยู่ 7 ชนิด ได้แก่ คลอรีน เหล็ก แมงกานีส โบรอน สังกะสี ทองแดง และ โมลิบนัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธาตุไนโตรเจน

เป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารสีของสาหร่าย (Smith *et al.*, 1999) ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของกรดอะมิโน โปรตีน โคเอนไซม์ กรดนิวคลีอิค คลอโรฟิลล์ (สัมพันธ์, 2529) ซึ่งการขาดไนโตรเจนก่อให้เกิดผลกระทบต่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Saha *et al.*, 2003) คือทำให้ความสามารถในการสังเคราะห์แสงลดลง เพราะสูญเสีย Rubisco isoenzyme การลดลงของสารสีที่สำคัญที่เป็นส่วนประกอบในการสังเคราะห์แสง (ภาพที่3) การสังเคราะห์ lipids และ fatty acids ลดลง การแก้ไขการสังเคราะห์ protein ที่สำคัญถึงการควบคุม three polypeptide และการสังเคราะห์ two polypeptide ใหม่ การเพิ่มการสังเคราะห์ glutamine และการลด nitrate reductase ในปฏิกิริยา

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาพที่ 3 จำนว เบ
เซลล์

ที่มา : Saha *et*

ธาตุฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งมีความจำเป็นสำหรับการเจริญเป็นปกติในเซลล์สาหร่ายโดยทั่วไป ฟอสฟอรัสมีบทบาทสำคัญในขบวนการหลายอย่างของเซลล์โดยเฉพาะเกี่ยวกับการสร้างพลังงานและการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค โดยฟอสฟอรัสที่สาหร่ายใช้จะอยู่ในรูปของเกลือฟอสเฟต ปริมาณฟอสฟอรัสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Dunaliella salina* และ *Dunaliella viridis* จะอยู่ในช่วง 0.002-0.50 กรัม/ลิตร และถ้าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเกิน 5 กรัม/ลิตร จะยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Borowitzka และคณะ, 1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์บอน

สาหร่ายต้องการสารอนินทรีย์คาร์บอนในการเจริญเติบโต ในแหล่งน้ำจืด ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายอยู่ในน้ำจะเพียงพอต่อความต้องการของพืช แต่ในแหล่งน้ำเค็มหรือบริเวณที่มีความเค็มสูง ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จะละลายอยู่ในน้ำน้อย ดังนั้นคาร์บอนจะเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโต

คลอไรด์และซัลเฟต

เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เพราะซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นได้แก่ เมไทโอนีน , ซีสตีน และ ซีสเตอีน วิตามินต่างๆ และซัลโฟลิปิด

โซเดียมและโพ

โซ สาหร่ายบางชนิด
เท่านั้น แต่ถ้ามี นี้โพแทสเซียมยัง
ช่วยในการเปลี่ยน หร่ายสีเขียวแกม
น้ำเงินได้ด้วย ารถใช้แทนกันได้
สำหรับโพแทสเซี ด เนื่องจากโพ
แทสเซี่ยมเป็นอง สเซี่ยมการเจริญ
เติบโตและการสัง

แมกนีเซียมและ

แม ชนิด เพราะเป็น
องค์ประกอบของ ทต่อกระบวนการ
เมตาบอลิซึม บทบาทของแคลเซี่ยมต่อสรีรวิทยา และ การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินยังไม่เป็นที่แน่ชัดนัก ซึ่งแคลเซียมอาจใช้ในรูปของสารประกอบร่วมกับตัวอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหล็ก

เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึม เพราะเป็นองค์ประกอบของไซโตโครมต่างๆ และนอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญต่อการดูดซึมไนโตรเจน และกระบวนการสังเคราะห์แสง เนื่องจากมีผลต่อการสังเคราะห์รงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง ได้แก่ ซี-ไฟโคไซยานิน และคลอโรฟิลล์ เอ (Oquist, 1971) และเฟอร์ริดอกซิน (ferredoxin) ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสงระบบที่หนึ่ง

2. **แสง**

ความเข้มของแสงเป็นปัจจัยที่ทำให้สีของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเปลี่ยนไป คือ ถ้าเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ความเข้มของแสงมากสีของเส้นสายจะเป็นสีน้ำเงิน แต่ถ้าความเข้มแสงน้อยจะเ แตกต่างกัน และการได้รับปริมาณ ยวแกมน้ำเงิน

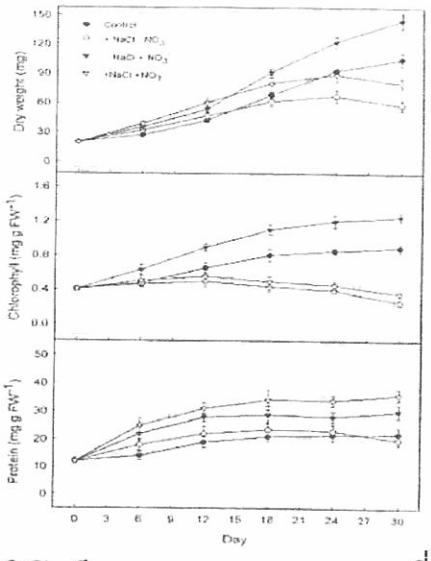
3. **อุณ**

อุณ องเซลล์สาหร่าย
สีเขียวแกมน้ำเงิน ดการเพิ่มจำนวน
ของสาหร่ายสีเขี อุณหภูมิ 35-45
องศาเซลเซียส (A

4. **ความ**

เมื่อ ทบทำให้เกิดการ
ลดลงของน้ำหนัก ขียวแกมน้ำเงินมี
การสังเคราะห์แส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 น้ำหนักแห้ง คลอโรฟิลล์ และ Anabaena azollae ที่เจริญเติบโตใน
สาร
ที่มา : Rai and

สารสีที่พบในส

Ast วัตถุที่อยู่ในกลุ่ม
carotenoid เป็น ดยที่ carotenoid
แบ่งออกเป็น 2 ป carotene และ
ประเภทที่ 2 คือ ารออกซิไดซ์ B-
carotene ไปเป็น ใน astaxanthin
ตามลำดับ (Don

astaxanthin

ภาพที่ 5 โครงสร้างของ astaxanthin

ที่มา : Renstrom และคณะ (1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบของ Carotenoid ในสาหร่ายสีเขียว *Chlorococcum*

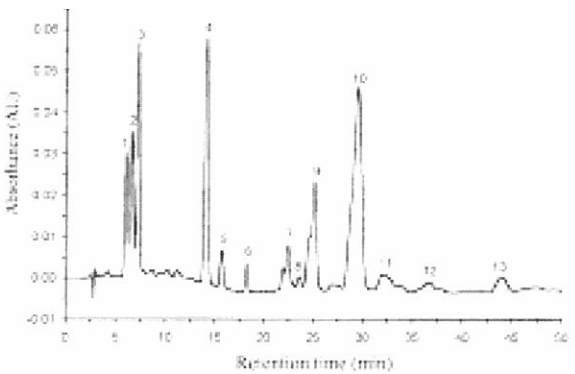
ส่วนประกอบของ Carotenoid ในสาหร่ายสีเขียว *Chlorococcum* ได้มีการทำโดยใช้เครื่อง HPLC (High – performance ligvid chromatography) ซึ่งพบว่ามี astaxanthin, Adonixanthin, Lutein, Canthaxanthin, B-carotene และCis-isomers บางตัวของ Ketocarotenoides เป็นส่วนประกอบอยู่

เซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* สามารถที่จะผลิต Ketocarotenoides-ester ได้จำนวนมาก ซึ่งเหมือนกับสาหร่าย Haematococcus pluvialis ester ของ astaxanthin, Adonixanthin และ Canthaxanthin อิสระเป็น Carotenoid หลักในเซลล์สาหร่าย *Chlorococcum* ในขณะที่ astaxanthin เพียงอย่างเดียวเป็น Carotenoid หลักในสาหร่าย Haematococcus pluvialis

เซลล์ขอ ...ากB-carotene ผ่านทาง Cantha ...าพการเพาะเลี้ยง (Jian-Ping Yuar

การสังเคราะห์ ...าย

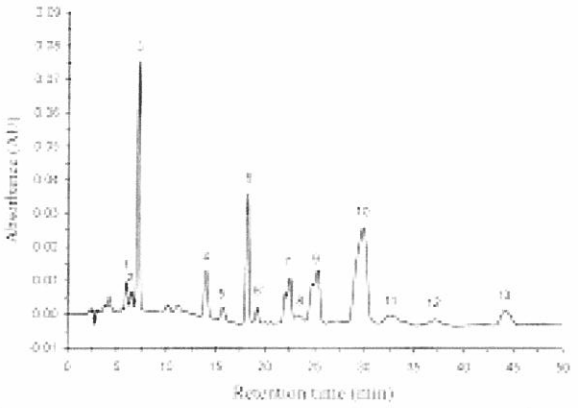
ส่วนประ ...ะสกัดจาก เซลล์ของสาหร่าย *Ch* ...rmance ligvid chromatograph ...เลี้ยงแล้วที่มีการเติมกับไม่เติมกลู ...ของ Carotenoid และ Chlorophy ...d ในเซลล์ของสาหร่าย *Chloroc*



ภาพที่ 6 แสดงเม็ดสีที่สกัดจากเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* ที่มีการเติมกลูโคส

ที่มา : Jian-Ping Yuan (2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 แสดงเม็ดสีที่สกัดจากเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* ที่ไม่เติมกลูโคส

ที่มา : Jian-Ping Yuan (2002)

ตารางที่ 1 แสด *ɔcoccum*

ที่มา : Jian-Ping

ประโยชน์ของรงควตถุ คลอเรพลล, เพเคบลเบรตน และ astaxanthin

1. ใช้ผสมในอาหารสัตว์

นิยมใช้ astaxanthin เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อที่จะทำให้สัตว์น้ำมีสีสันสวยงามและขายได้ในราคาสูง (Johnson and Scrroeder, 1995) สำหรับอุตสาหกรรม สัตว์ปีกได้มีการใช้ astaxanthin ผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์พบว่าสามารถทำให้ไข่แดงมีสีเหลืองมากขึ้น (Maeusich and Bauemfeind, 1989) และมีการใช้ไฟโคไซยานินซึ่งมีโปรตีนสูงเป็นอาหารของสัตว์น้ำ (Herrera และคณะ, 1989) และไซยานินยังสามารถใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของลูกกุ้งได้อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. **ใช้ผสมในอาหารมนุษย์**

ได้มีการใช้ astaxanthin ทาผิวของปูอัดทำให้ปูอัดมีสีแดงน่ารับประทาน และยังได้มีการนำไฟโคไซยานินมาใช้เป็นสีผสมอาหารในไอศกรีมและในเครื่องสำอาง และที่ประเทศแม็กซิโกได้มีการใช้คลอโรฟิลล์เติมลงในนมในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับให้เด็กทารกและเด็กขาดอาหารดื่ม (เจียมจิตต์ บุญสม, 2535)

3. **ใช้ในทางการแพทย์**

มีการค้นพบว่า astaxanthin จากสาหร่ายมีคุณสมบัติในการเป็น antioxidant ที่สูงมาก (Kobayashi and Sakamoto, 1999) มีสมบัติเป็น strong antioxidant ที่สูงกว่า carotenoid อื่นๆ (Terao, 1989) ซึ่งสามารถป้องกันการเกิดโรคมะเร็งและเนื้องอกได้ เนื่องจากการเกิดโรคมะเร็ง ...ะเร็ง ดังนั้นการที่ astaxanthin ...ได้ดี (Palozza and Krinsky, ...ระตุ้นการทำงานของตับให้ดียิ่งขึ้น ...ให้การขับถ่ายดีขึ้น เพราะคลอโรฟิลล์ ...มาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวะ การเป็น ...อบภูมิคุ้มกันโรค การใช้กล้องจุลทรรศน์ ...ไซยานินที่มีความบริสุทธิ์สูง มีคุณ ...งภูมิคุ้มกันวิทยาทางด้านเนื้อเยื่อ ... 100 ไมโครกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สาหร่าย *Chlorococcum*
2. สูตรปุ๋ย modified Kuhl medium
3. สูตรปุ๋ย Cramer-myers medium
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. เครื่องวัดความยาวคลื่น (Spectrophotometer)
6. กล้องจุลทรรศน์
7. counter
8. สไล
9. หม้อ
10. เครื่
11. กระ
12. สำลี
13. ผ้าก
14. เครื่
15. ตะเ
16. ตู้เขี่
17. pH
18. ตู้อบ
19. เครื่
20. เครื่
21. หลอดไฟ UV-A, UV-B, UV-C
22. กระดาษกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องแก้ว

1. หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร
2. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. ขวดน้ำเกลือขนาด 1,000 มิลลิลิตร
4. บีกเกอร์ขนาด 25, 50, 500, 1,000 มิลลิลิตร
5. กระบอกตวงขนาด 10, 100 มิลลิลิตร
6. กรวย
7. ขวดเก็บสาร
8. แท่งแก้วคนสาร
9. กระบอกน้ำกลั่น
10. ช้อน
11. หลอ
12. Plat
13. กระ
14. Loo
15. แท่ง
16. Dro
17. ปิเป
18. จุกย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. กลูโคส
3. น้ำทะเล 100 ppt
4. แอลกอฮอล์ 95%
5. เฮกเซน
6. อะซีโตน
7. NaCl
8. H_2O_2
9. KNO_3
10. NaH
11. Na_2
12. MgS
13. H_3B
14. ZnS
15. MnS
16. CuS
17. (NH
18. EDT
19. CaC
20. gluc
21. (NH
22. K H_2PO_4
23. $Fe_2(SO_4)_3.7H_2O$
24. $MnCl_2.4H_2O$
25. $CoSO_4.7H_2O$
26. $Na_2MoO_4.2H_2O$
27. Vitamin B1
28. Vitamin B12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลอง มี 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorococcum* ในอาหาร 2 สูตร คือสูตร modified Kuhl medium และสูตร Cramer-myers medium

ชุดการทดลองที่ 2 หาวิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดง โดยใช้ความเข้มแสง

ชุดการทดลองที่ 3 หาวิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดง โดยใช้ความยาวแสงในช่วง UV ที่ต่างกัน

ชุดการทดลองที่ 4 หาวิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดง โดยใช้สภาวะเครียดเนื่องจากใช้สารออกซิไดซ์ (oxidative stress)

ชุดการท ,หล่งอาหาร

วิธีการทดลอง

1. เปรีย modified Kuhl medium และ การเปลี่ยนสีของสาหร่ายและวัดค่

1.1 า ารประมง คือ สาหร่าย *Chloro* modified Kuhl medium และ มาเลี้ยงใส่หลอดทดลอง นำสาหร่ เริ่มต้นที่ 15.436 เซลล์ต่อซีซี ให้อยู่ ด 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 30วัน เพื่อ *rococcum*เจริญเติบโตได้ดีที่สุดโ

ภาควิชาเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2.หาวิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดงโดยใช้ความเข้มแสงและทำการศึกษาโดยการสังเกตการเปลี่ยนสีของสาหร่ายทุกวัน

2.1 นำสาหร่าย *Chlorococcum* มาให้แสง 3 ช่วงความเข้มแสง คือ ต่ำกว่า 1000 Lux, มากกว่า 1000 แต่ไม่เกิน 1500 Lux และ มากกว่า 1500 แต่ไม่เกิน 2000 Lux ตลอด 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 อาทิตย์

2.2 นำสาหร่าย *Chlorococcum* มาเทใส่ plate และให้แสงมากกว่า 7000 Lux เป็นเวลา 2 อาทิตย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. หาวิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดง โดยใช้แสง UV และทำการศึกษาโดยการสังเกตการเปลี่ยนสีของสาหร่ายทุกวัน

3.1 นำสาหร่าย *Chlorococcum* ที่เลี้ยงใน plate จำนวนเซลล์ 20.549 เซลล์ต่อซีซี มาให้แสง UV-A, UV-B และ UV-C วันละ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน

4. หาวิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดง โดยใช้สภาวะเครียดเนื่องจากใช้สารออกซิไดซ์(oxidative stress) และทำการศึกษาโดยการสังเกตการเปลี่ยนสีของสาหร่ายทุกวัน

4.1 นำสาหร่าย *Chlorococcum* มาใส่ hydrogen peroxide (H_2O_2) จำนวน 5 ความเข้มข้น คือ H_2O_2 0.5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9.5 มิลลิลิตร, H_2O_2 1.0 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9 มิลลิลิตร, H_2O_2 1.5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8.5 มิลลิลิตร, H_2O_2 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8 มิลลิลิตร และ H_2O_2 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 7.5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 อาทิตย์

4.2 ริมาณที่แตกต่าง
กัน คือ น้ำเค็ม รต่อสาหร่าย 8
มิลลิลิตร, น้ำเค็ม รต่อสาหร่าย 6
มิลลิลิตร และน้ำ

4.3 จำนวน 2 ความ
เข้มข้น คือ NaC

5. หาวิธี ทำการศึกษาการ
เปลี่ยนสีของส Thin Layer
Chromatograph

5.1 ติบโตได้ดีที่สุด
คืออาหารสูตร C ให้ได้จำนวนมาก
เพื่อนำสาหร่าย ยอยู่ในช่วงที่อ่อน
แอและกำลังต้องการอาหารดงนนเมอ เลอาหารเขาเบลาหรายจะสามารถดูดซมอาหารได้ดี มาทำการทดลองเลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคส เพื่อเปรียบเทียบว่า ใส่กลูโคสในวันใดของการดรอป จึงจะสามารถทำให้สาหร่าย *Chlorococcum* สร้างสารสีแดง หรือ astaxanthin ได้มากที่สุด

5.2 เลี้ยงสาหร่าย *Chlorococcum* ในอาหารกลูโคสโดยที่ เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตเติบที่และเริ่มดรอป ก็จะเทอาหาร Cramer-myers medium ออกและใส่อาหารที่มีกลูโคส คือ อาหาร modified Kuhl medium เข้าไปแทนในปริมาณเท่ากับปริมาณที่เทออก ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง และอยู่ในเครื่องเขย่า ตลอด 24 ชั่วโมง ทำการวัดการเจริญเติบโตและสี ทุกวัน โดยจะทำในวันที่ 1, 2, 3, 4 และในวันที่ 5 ของการดรอป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การบันทึกข้อมูล

วิเคราะห์ปริมาณสารสีของสาหร่ายโดยนำขวดรูปชมพู่ที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Chlorococcum* ในอาหารกลูโคสที่ต่างวันกัน มาวัดค่า Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 480 nm และ 680 nm, สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสาหร่ายในเบื้องต้นและนำไปแยกสารสีที่พบโดยใช้ Thin Layer Chromatography (TLC)

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. วัดค่าความยาวคลื่น (Spectrophotometer) เทียบกับจำนวนเซลล์
2. จำแนกชนิดของรงควัตถุในสาหร่ายโดยวิธีThin Layer Chromatography (TLC)

สถานที่ทำการข

ภาควิชา[illegible] ...หารลาดกระบัง

ระยะเวลาในกา

เดือนมิถุ

99413

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorococcum* ในอาหาร 2 สูตร คือสูตร modified Kuhl medium และสูตร Cramer-myers medium

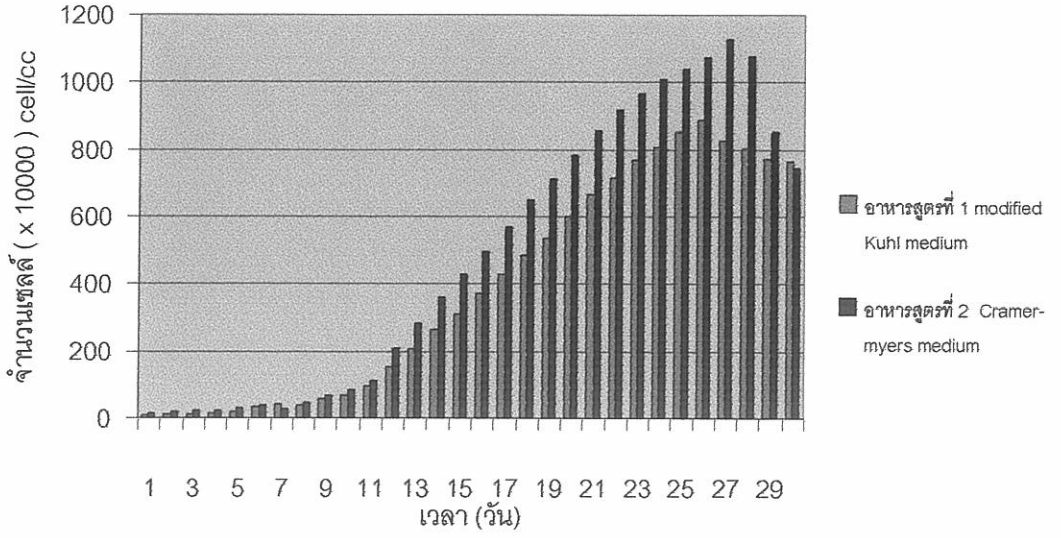
การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorococcum sp.* โดยใช้สาหร่าย รหัส 8438 *Chlorococcum humicola Naegeli* มาเลี้ยงในอาหาร 2 สูตร คือสูตร modified Kuhl medium และสูตร Cramer-myers medium ในห้องสาหร่ายภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง ระหว่างเดือนมิถุนายน 2548 ถึงเดือนเมษายน 2549 พบว่า สาหร่าย *Chlorococcum* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร Cramer-myers medium เนื่องจากมีองค์ประกอบของสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) โดยการเจริญเติบโตของสาหร่าย (ที่เท่ากัน (ภาพที่ 8) โดยจะสังเกต nyers medium มีการเจริญเติบโ edium ผลการทดลองสอดคล้อ *orococcum* ใน อาหารสูตร The nyers medium ซึ่งไม่มีกลูโคส โ บนเทือกเขาที่ย่อ งกงมาเลี้ยงในอา และนำมาอบที่ อุณหภูมิ 20 อง และนำสาหร่าย *Chlorococcum* การนำสาหร่าย *Chlorococcum* าร The basal medium ในอุณ ละนำมา streak ลง plate เพื่อให้ าร The basal medium ด้วย พบว่า สาหร่าย *Chlorococcum* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร The basal medium ที่ไม่ได้เติมกลูโคส มีการเจริญเติบโต ได้ดีกว่า อาหารสูตร The basal medium ที่มีการเติมกลูโคสเข้าไป เนื่องจากมีการศึกษาพบว่า กลูโคส สามารถเพิ่มปริมาณของสารสีคือ Ketocarotenoids ให้แก่สาหร่ายได้แต่จะทำให้จำนวนเซลล์ของสาหร่ายลดจำนวนลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Chlorococcum sp.*

ส่วนประกอบ	Modified Kuhl medium (g/l)	Cramer-myers medium (g/l)
KNO_3	1011.1	-
$NaH_2PO_4.H_2O$	0.621	-
$Na_2HPO_4.2H_2O$	0.089	-
$MgSO_4.7H_2O$	0.2465	0.2
H_3BO_3	0.061	-
$ZnSO_4.7H_2O$	287	0.4
$MnSO_4.H_2O$	169	-
$CuSO_4.5H_2O$	2.5	0.02
$(NH_4)MO_7O_{24}.4$		.
EDTA		8
$CaCl_2.2H_2($		)2
Glucose		.
$(NH_4)_2SO_4$		0
$K H_2PO_4$		0
$Fe_2 (SO_4)_3.7H$		0
$MnCl_2.4H_2($		8
$CoSO_4.7H_2($		5
$Na_2 MoO_4.2H$		2
Vitamin B'		1
Vitamin B1		)05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 การเ

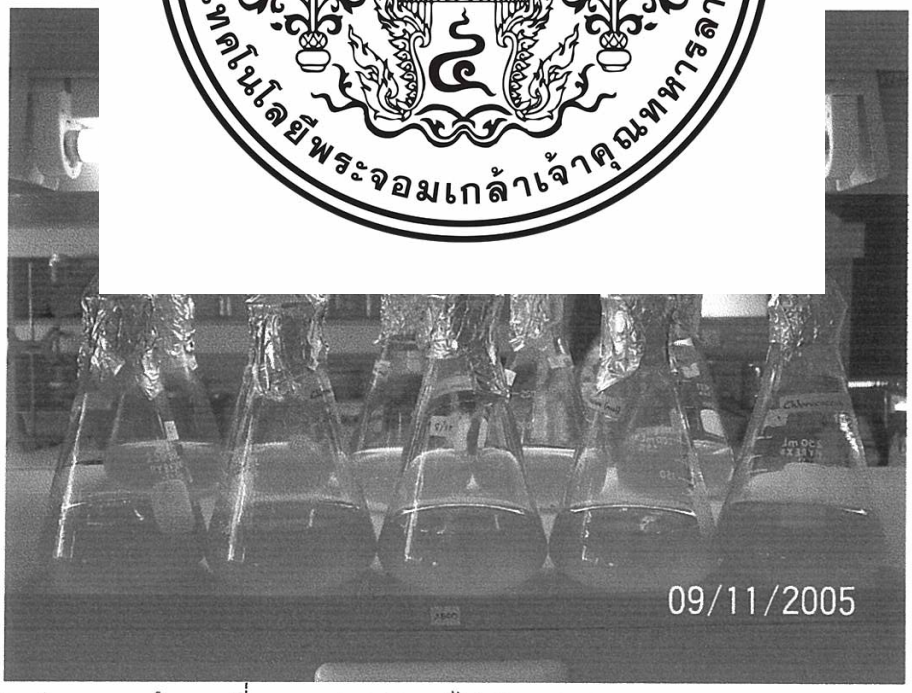
2. หาวิธี

2.1 ,ข้มแสง คือ ต่ำ

กว่า 1000 Lux ะ มากกว่า 1500

แต่ไม่เกิน 2000 พบว่าไม่มีการ

เปลี่ยนแปลงใดๆ



ภาพที่ 9 ช่วงความเข้มแสงที่ มากกว่า 500 แต่ไม่เกิน 1000 Lux

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 10 ช่วงความเ

ภาพที่ 11 ช่วงความเข้มแสงที่ มากกว่า 1500 แต่ไม่เกิน 2000 Lux

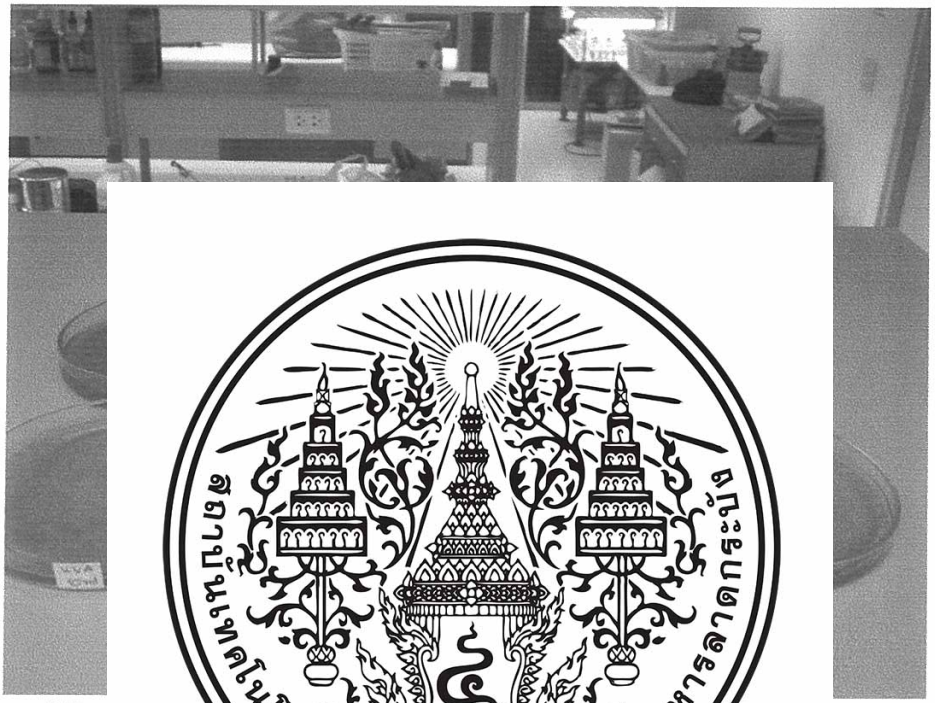
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 นำสาหร่าย *Chlorococcum* มาเทใส่ plate และให้แสงมากกว่า 7000 Lux เป็นเวลา 2 อาทิตย์ พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ ดังการเปรียบเทียบสีของสาหร่าย (ภาพที่ 12) ผลการทดลองสอดคล้องกับ Marcel Janssen และคณะ (1999) ได้มีการทดลองอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* และ *Chlorella sorokiniana* ภายใต้การให้แสงที่ความเข้ม 240-630 μ mol m^{-2} s^{-1} เป็นเวลา 13 – 87 วินาที และไม่ให้แสง เป็นเวลา 13 – 87 วินาที และเปรียบเทียบโดยการให้แสงอย่างต่อเนื่อง โดยเทียบการให้แสงอย่างต่อเนื่องกับ การให้แสงที่ไม่ต่อเนื่อง พบว่า สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่ลดลง นอกจากนี้ Ikuko Iwasaki และคณะ (1998) ได้ทดลองเรื่องผลกระทบของปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ที่สูงมากๆต่อการกระจายพลังงานระหว่างแสง 2 แบบ กับสาหร่าย *Chlorococcum* โดยมีการให้แสง fluorescence ที่ 77 K พบว่า ทันทีที่สาหร่าย *Chlorococcum* ได้รับแสง จะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไ ในตามระดับแสงที่ให้กับสาหร่าย สาหร่ายไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ

ภาพที่ 12 ช่วงความเข้มแสงที่มากกว่า 7000 Lux

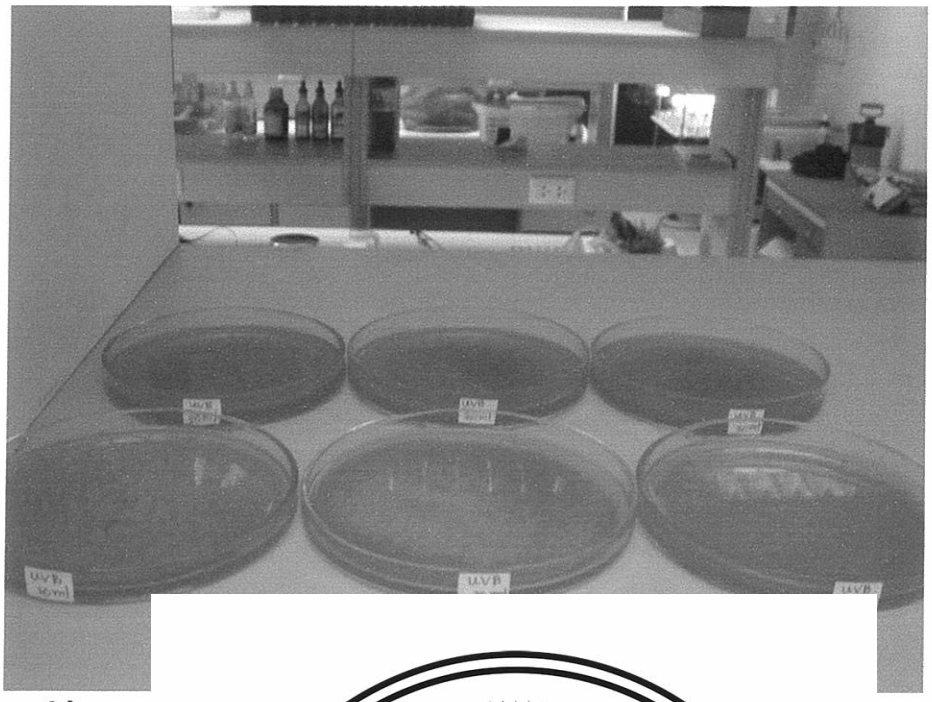
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. หาวิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดง โดยใช้แสง UV โดยนำสาหร่าย *Chlorococcum* มาให้แสง UV-A (ภาพที่ 13), UV-B(ภาพที่ 14) และ UV-C (ภาพที่ 15) วันละ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน พบว่าสีของสาหร่ายไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ ผลการทดลองสอดคล้องกับ Carl W. Grobe และคณะ (1998) ได้มีการศึกษาผลของแสง Solar ultraviolet-B (UV-B) ต่อสีของสาหร่าย โดยการให้แสง UV-B เป็นเวลา 90 วัน พบว่า มี chlorophyll a และ carotenoids สูงขึ้นในเซลล์ของสาหร่าย แต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก

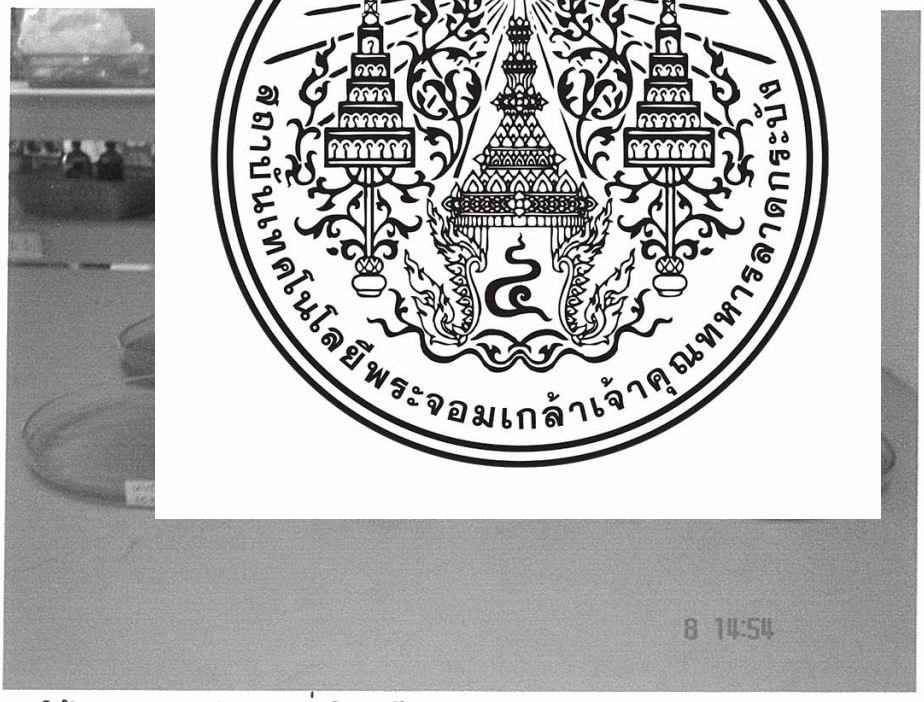


ภาพที่ 13 ให้แส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 14 ให้แสง U



ภาพที่ 15 ให้แสง UV-C วันละ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

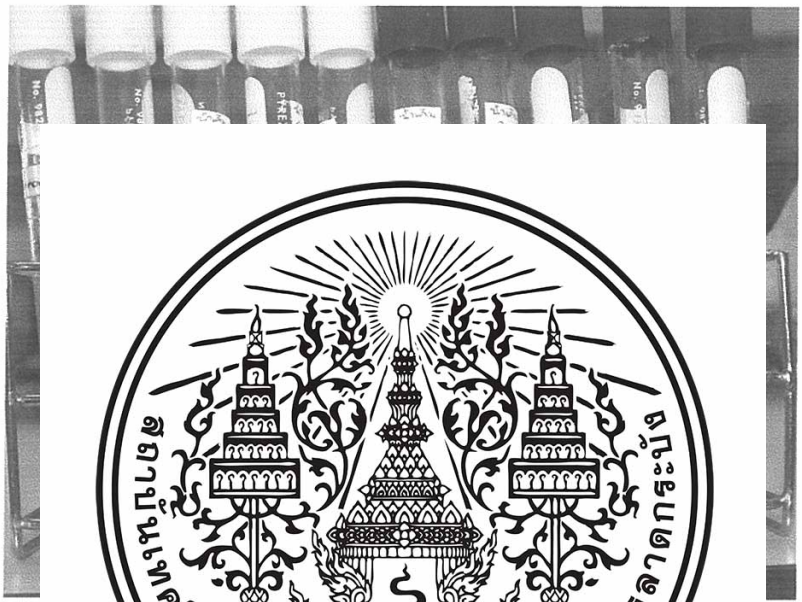
4. วิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดง โดยใช้สภาวะเครียดเนื่องจากใช้สารออกซิไดซ์ (oxidative stress)

4.1 นำสาหร่าย *Chlorococcum* มาใส่ hydrogen peroxide (H_2O_2) จำนวน 5 ความเข้มข้น คือ H_2O_2 0.5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9.5 มิลลิลิตร, H_2O_2 1.0 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9 มิลลิลิตร, H_2O_2 1.5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8.5 มิลลิลิตร, H_2O_2 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8 มิลลิลิตร และ H_2O_2 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 7.5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 อาทิตย์ พบว่าความเข้มข้น H_2O_2 0.5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9.5 มิลลิลิตร, H_2O_2 1.0 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9 มิลลิลิตร ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ส่วน ความเข้มข้น H_2O_2 1.5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8.5 มิลลิลิตร, H_2O_2 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8 มิลลิลิตร และ H_2O_2 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 7.5 มิลลิลิตร ทำให้สาหร่ายตาย (ภาพที่ 16) ผลการทดลองสอดคล้องกับ Raymond Yin-Nin Ma และคณะ (2001) ได้มีการศึกษาการเลี้ (H_2O_2) จะทำให้สารสีแดง astax เพิ่มสะสมสูงขึ้น จากการเพิ่มปริม อเพิ่ม hydrogen peroxide (H_2O_2 เพิ่มขึ้น โดยจะได้น้ำหนัก astax eroxide (H_2O_2) จะเพิ่ม 1.034 ม rogen peroxide (H_2O_2) 0.1 มิลลิ น้ำหนักแห้ง เป็น 5.724 มก./น้ำหน

ภาพที่ 16 สาหร่าย *Chlorococcum* ที่ใส่ hydrogen peroxide (H_2O_2) จำนวน5ความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

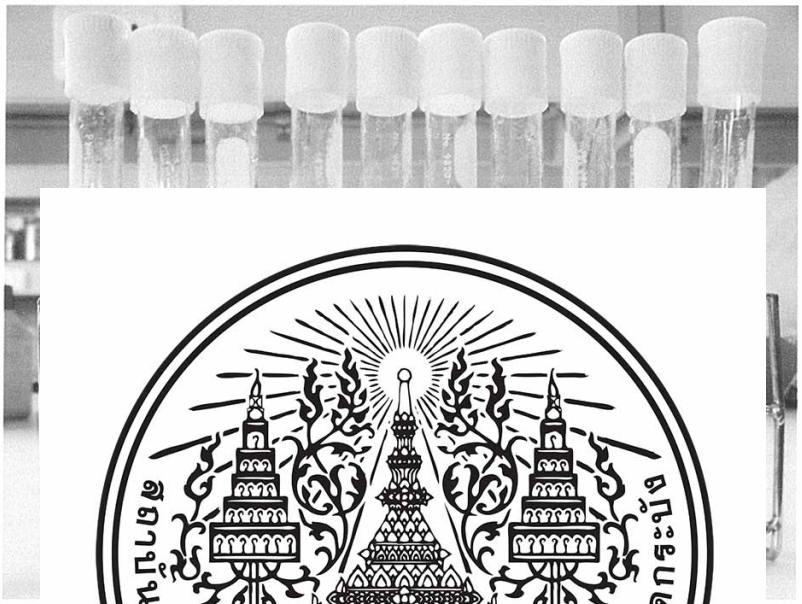
4.2 นำสาหร่าย *Chlorococcum* มาใส่ในน้ำเค็ม 100 ppt ใน 5 ปริมาณที่แตกต่างกัน คือ น้ำเค็ม 1 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9 มิลลิลิตร, น้ำเค็ม 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8 มิลลิลิตร, น้ำเค็ม 3 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 7 มิลลิลิตร, น้ำเค็ม 4 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 6 มิลลิลิตร และน้ำเค็ม 5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 อาทิตย์ พบว่าสาหร่าย *Chlorococcum* ที่ใส่ในน้ำเค็ม 100 ppt ในปริมาณที่แตกต่างกันจะมีสีที่ค่อยๆอ่อนลงตามลำดับ จากน้ำเค็ม 1 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9 มิลลิลิตร จะมีสีที่เข้มที่สุด และน้ำเค็ม 5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 5 มิลลิลิตร จะมีสีที่อ่อนที่สุด แต่ยังเป็นสีเขียวอยู่ (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 ใส่ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 นำสาหร่าย *Chlorococcum* มาใส่ Sodium chloride (NaCl) จำนวน 2 ความเข้มข้น คือ NaCl 1% และ NaCl 1.5% เป็นเวลา 2 อาทิตย์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง คือสาหร่ายค่อยๆตายลง สังเกตได้จากสีที่ซีดลง (ภาพที่ 18) ผลการทดลองสอดคล้องกับ (Rai ana Rai, 2003) เมื่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้รับความเข้มของ NaCl จะมีผลกระทบทำให้เกิดการลดลงของน้ำหนักแห้งที่สะสม และทำให้คลอโรฟิลล์ลดลง จึงทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีการสังเคราะห์แสงน้อยลง ส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลง



ภาพที่ 18 ใส่ S[illegible] % และ NaC[illegible]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

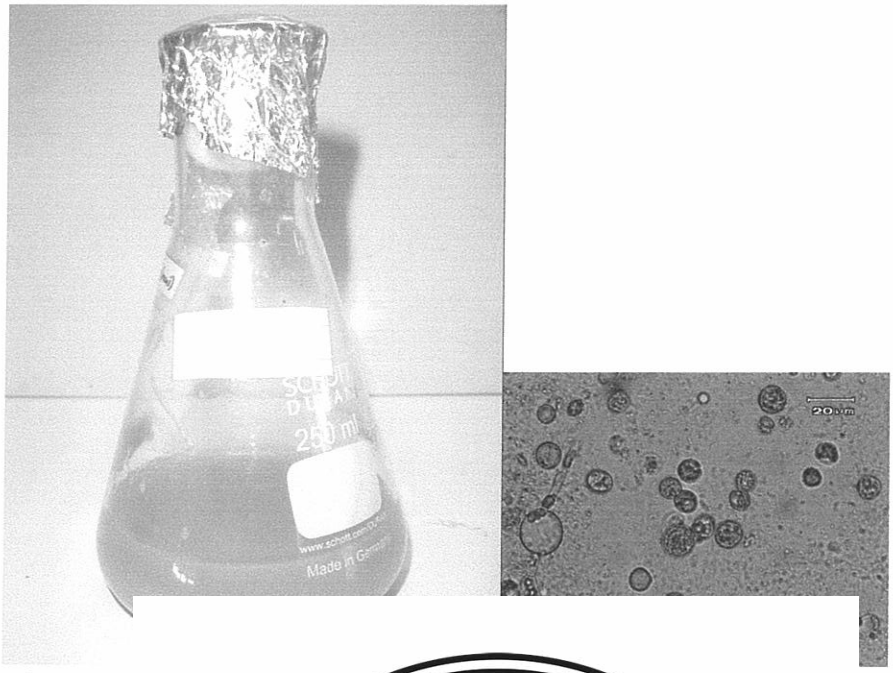
5. หาวิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดง โดยใช้แหล่งอาหาร

เลี้ยงสาหร่าย *Chlorococcum* ในอาหาร Cramer-myers medium เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตเต็มที่และเริ่มดรอป ก็จะเทอาหาร Cramer-myers medium ออกและใส่อาหารที่มีกลูโคส คือ อาหาร modified Kuhl medium เข้าไปแทนในปริมาณเท่ากับปริมาณที่เทออก ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง และอยู่ในเครื่องเขย่า ตลอด 24 ชั่วโมง ทำการวัดการเจริญเติบโตและสี ทุกวัน โดยจะทำในวันที่ 1, 2, 3, 4 และในวันที่ 5 ของการดรอป พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสีของสาหร่าย ตามวันที่ใส่อาหารกลูโคสในวันที่สาหร่ายดรอปต่างกัน คือ ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 1 ของการดรอป พบว่า สาหร่ายมีสีส้ม (ภาพที่ 19) ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 2 ของการดรอป พบว่า สาหร่ายมีสีส้มเขียว (ภาพที่ 20) ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 3 ของการดรอป พบว่า สาหร่ายมีสีเขียวเข้มขุ่น (ภาพที่ 21) ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 4 ของการดรอป พบว่า สาหร่ายมีสีเขียว บว่า สาหร่ายมีสีเขียวเข้มใส (ภา ายมีสีเขียวเข้มใส (ภาพที่ 24) และ 1-0.09 เทียบกับจำนวนเซลล์ (ภ .1-0.9 เทียบกับจำนวนเซลล์ (ภา 1-0.09 เทียบกับจำนวนเซลล์ (ภ .1-0.9 เทียบกับจำนวนเซลล์ (ภา วิธี Thin Layer Chromatograph โดยตัวดูดซับเป็นของแข็งพวกซิลิก นทางผ่านตัวดูดซับในเวลาที่ต่าง ปรากฏเป็นแถบต่างๆกันบนแผ่น ค์ประกอบที่มีในตัวอย่าง โดยค่ ระยะทางจากจุดกำเนิดถึงจุดที่ตัวพาเคลื่อนสุด สารสีในสาหร่ายสามารถแยกได้โดยใช้ Thin Layer Chromatography รงควัตถุสีเขียว เช่น คลอโรฟิลล์ ที่เป็นตัวรับแสงหลักในพืช รงควัตถุสีเหลืองพวกแคโรทีนอยด์เป็นตัวป้องกัน และร่วมในกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยมีการเปรียบเทียบสาหร่ายที่มีสีแดงกับสาหร่ายที่มีสีเขียว (ภาพที่ 25) และการวัดค่า Rf ที่ได้สีต่างกัน (ตารางที่ 3)ผลการทดลองสอดคล้องกับ Jian-Ping Yuan และคณะ (2002) ได้ศึกษาผลกระทบของ กลูโคสในส่วนประกอบของ carotenoids และ chlorophylls พบว่า ส่วนประกอบของ carotenoids ในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* ภายใต้การเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน มีผลที่เด่นชัดมาก โดยส่วนประกอบของ carotenoids สัมพันธ์กับการเติมแหล่งคาร์บอนเข้าไป และให้แสงสว่างเข้าไปซึ่งผลนี้ได้แสดงถึงส่วนประกอบของcarotenoidsในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* ที่เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ไม่มีคาร์บอน จะมี carotenoids สูงกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี กลูโคส 0.3 % เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มี คาร์บอน จะมีความแตกต่างในส่วนประกอบของ astaxanthin และ adonixanthin ในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* เล็กน้อยแต่ส่วนประกอบของ adonixanthin จะสูงกว่า astaxanthin เมื่อมีกลูโคส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (basal medium) เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตของเม็ดสีภายใต้การให้แสง เมื่อไม่มีแสง lutein และ ß-carotene เป็นเม็ดสีหลัก และมี ketocarotenoides ปริมาณเล็กน้อยเท่านั้นที่ถูกผลิตขึ้นในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* แต่ถ้ามีการให้แสงก็จะทำให้มี ketocarotenoides ปริมาณมาก สะสมอยู่ สำหรับ carotenoids และ chlorophylls ในการสกัดเม็ดสีและการสกัดที่ทำให้สลายตัวได้แอลกอฮอล์ จากเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* ได้ชี้ถึงความเข้มข้นของกลูโคสในอาหารที่ใช้เลี้ยง ที่สามารถมีผลต่อการสร้าง carotenoids และ chlorophylls ส่วนประกอบของ astaxanthin และ adonixanthin (น้ำหนักแห้ง) ไ ยเฉพาะอย่างยิ่ง สำหรับ astaxar canthaxanthin, ß -carotene แล ของกลูโคส ซึ่ง ผลนี้ได้ชี้ถึงควา โคสเพิ่มขึ้นส่วน ประกอบของ lute เมื่อกลูโคสได้ถูก เติมลงไปในอาห ส่วนประกอบของ carotenoids แล เสต่อผลผลิตของ canthaxanthin ไ

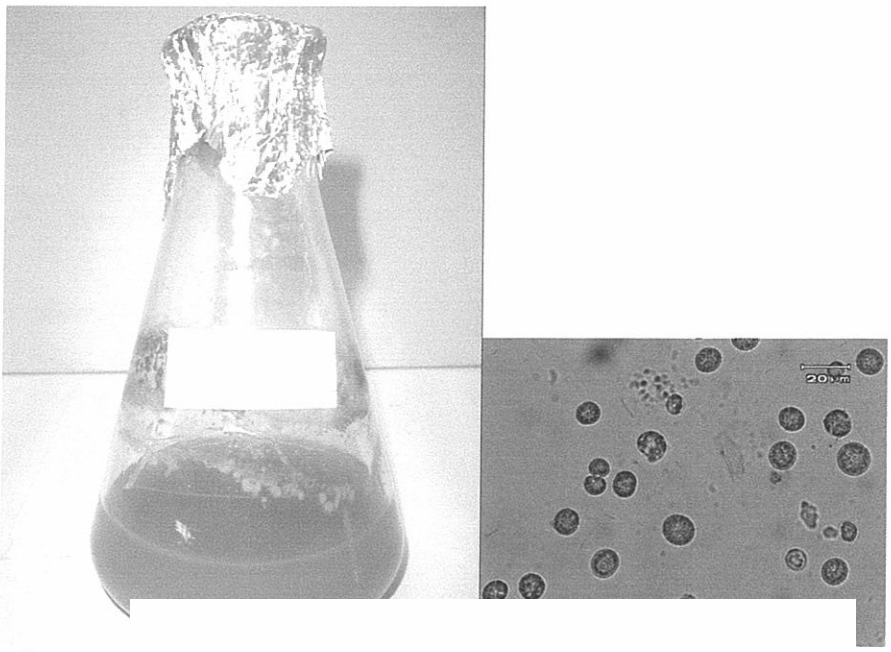
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 19 ใส่อาหาร

ภาพที่ 20 ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 2 ของการดรอป

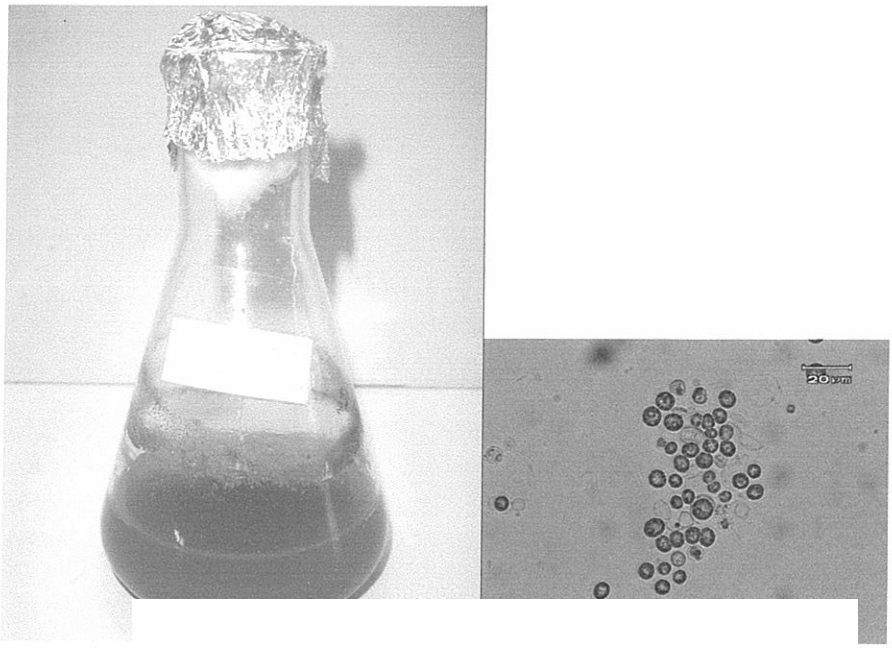
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 21 ใส่อาหาร

ภาพที่ 22 ใส่อาหารกลูโคสในวันที่ 4 ของการดรอป

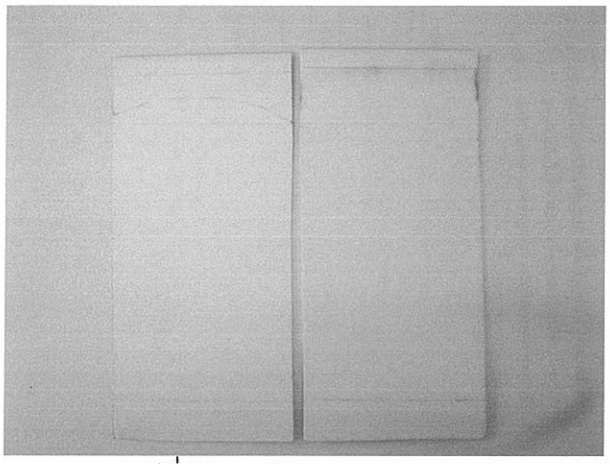
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 23 ใส่อาหาร

ภาพที่ 24 สาหร่ายที่ไม่มีการใส่อาหารกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 25 ภาพแสดงการแยกสารสีที่เป็นองค์ประกอบของสาหร่าย *Chlorococcum* ใน สภาพที่มีสีต่างกัน โดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)

ตารางที่ 3 ค่า *coccum* ใน

สภ	
รงควั	ı Rf
สาหร่ายธ	847
	858
สาหร่ายเ	341
	882

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาสูตรอาหารที่สามารถทำให้สาหร่าย Chlorococcum เจริญเติบโตได้ดีที่สุด และเพื่อหาวิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดง โดยใช้ความเข้มแสง , แสง UVแหล่งอาหาร และ สภาวะเครียดเนื่องจากใช้สารออกซิไดซ์ (oxidative stress) ของสาหร่าย *Chlorococcumsp.* โดยใช้สาหร่าย รหัส 8438 *Chlorococcum humicola Naegeli* ในห้องสาหร่ายภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง ระหว่างเดือนมิถุนายน 2548 ถึงเดือนเมษายน 2549

1. พบว่า สาหร่าย *Chlorococcum* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร Cramer-myers medium เนื่องจากมีองค์ประกอบของสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายที่แตกต่างกัน ซึ่งสูตรอาหาร Cramer-myers medium นี้ ไม่มีกลูโคส ที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีใน สูตรอาหารที่ไม่มีกลูโคส เนื่องจาก กลูโคสเป็นแหล่งของคาร์บอน ซึ่งสาหร่ายไม่ต้องการปริมาณ คาร์บอนที่มากเกิ เก่สาหร่ายได้ แต่ จะทำให้จำนวนเ

2. วิธีก การที่นำสาหร่าย *Chlorococcum* กว่า 1000 แต่ไม่ เกิน 1500 Lux แ เวลา 2 อาทิตย์ พบว่าไม่มีการเปล เสงที่แตกต่างกัน เนื่องจากสาหร่าย ได้รับแสง จะมี ปริมาณคาร์บอน ะดับแสงที่ให้กับ สาหร่าย *Chloro* สาหร่ายไม่มีการ เปลี่ยนแปลงใดๆ

3. วิธี โดยนำสาหร่าย *Chlorococcum* วัน พบว่าสีของ สาหร่ายไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ เนื่องจากผลของแสง Solar ultraviolet-B (UV-B) ต่อสีของสาหร่าย เมื่อให้แสง UV-B เป็นเวลา 90 วัน พบว่า มี chlorophyll a และ carotenoids สูงขึ้นในเซลล์ของสาหร่าย แต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. วิธีการที่ส่งเสริมให้สาหร่ายสร้างสารสีแดง โดยใช้สภาวะเครียดเนื่องจากใช้สารออกซิไดซ์ (oxidative stress) พบว่าเมื่อนำสาหร่าย *Chlorococcum* มาใส่ hydrogen peroxide (H_2O_2) พบว่าความเข้มข้น H_2O_2 0.5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9.5 มิลลิลิตร, H_2O_2 1.0 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9 มิลลิลิตร, H_2O_2 1.5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8.5 มิลลิลิตร, H_2O_2 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8 มิลลิลิตร และ H_2O_2 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 7.5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 อาทิตย์ พบว่าความเข้มข้น H_2O_2 0.5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9.5 มิลลิลิตร, H_2O_2 1.0 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 9 มิลลิลิตร ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ส่วน ความเข้มข้น H_2O_2 1.5 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8.5 มิลลิลิตร, H_2O_2 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 8 มิลลิลิตร และ H_2O_2 2 มิลลิลิตรต่อสาหร่าย 7.5 มิลลิลิตร ทำให้สาหร่ายตาย และเมื่อนำสาหร่าย *Chlorococcum* มาใส่ในน้ำเค็ม 100 ppt พบว่าสาหร่าย *Chlorococcum* ที่ใส่ในน้ำเค็ม 100 ppt ในปริมาณที่แตกต่างกันจะมีสีที่ค่อยๆอ่อนลงตามลำดับ จากน้ำเค็ [illegible] และน้ำเค็ม 5 มิลลิลิตรต่อสาห [illegible] และนำสาหร่าย *Chlorococcum* [illegible] NaCl 1% และ NaCl 1.5% เป็ [illegible] สีซีดลง เนื่องจากเกิดการตายของเ

5. วิธีก [illegible] ารเปลี่ยนแปลงสีของสาหร่าย พบ [illegible] ายมีสีส้ม ใส่อาหารกลูโคสในว [illegible] กลูโคสในวันที่ 3 ของการดรอป พ [illegible] การดรอป พบว่าสาหร่ายมีสีเขียวเ [illegible] ายมีสีเขียวเข้มใส ส่วนสาหร่ายที่ไม่ [illegible] าการจำแนกชนิดของรงควัตถุในสา [illegible] ของสาหร่ายที่มีสีแดง คือ แถบสีแดง มีค่า Rf ที่ 0.847, แถบสีเขียวแกมน้ำเงิน มีค่า Rf ที่ 0.858 สาหร่ายที่มีสีเขียว คือ แถบสีเขียว มีค่า Rf ที่ 0.847, แถบสีเขียวแกมน้ำเงิน มีค่า Rf ที่ 0.858

เนื่องจากในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* ที่เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีคาร์บอน จะมี carotenoids สูงกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี กลูโคส 0.3 % เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มี คาร์บอน จะมีความแตกต่างในส่วนประกอบของ astaxanthin และ adonixanthin ในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* เล็กน้อยแต่ส่วนประกอบของ adonixanthin จะสูงกว่า astaxanthin เมื่อมีกลูโคส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (basal medium) เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตของเม็ดสีภายใต้การให้แสง เมื่อไม่มีแสง lutein และ ß-carotene เป็นเม็ดสีหลัก และมี ketocarotenoides ปริมาณเล็กน้อยเท่านั้นที่ถูกผลิตขึ้นในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* แต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้ามีการให้แสงก็จะทำให้มี ketocarotenoides ปริมาณมาก สะสมอยู่ สำหรับ carotenoids และ chlorophylls ในการสกัดเม็ดสีและการสกัดที่ทำให้สลายตัวได้แอลกอฮอล์ จากเซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* ได้ชี้ถึงความเข้มข้นของกลูโคสในอาหารที่ใช้เลี้ยง ที่สามารถมีผลต่อการสร้าง carotenoids และ chlorophylls ส่วนประกอบของ astaxanthin และ adonixanthin (น้ำหนักแห้ง) ได้ลดลงไปตามการเพิ่มขึ้นของกลูโคส ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับ astaxanthin ได้แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของ lutein, canthaxanthin, ß -carotene และ chlorophylls ตามลำดับ ไปตามการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของกลูโคส ซึ่งผลนี้ได้ชี้ถึงความเข้มข้นของน้ำหนักแห้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มขึ้น ส่วนประกอบของ lutein, ß -carotene, chlorophylls a และ chlorophylls b จะลดลงเมื่อกลูโคสได้ถูกเติมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อความเข้มข้นของกลูโคสมีมากเกิน 0.2% ส่วนประกอบของ carotenoids และ เสต่อผลผลิตของ canthaxanthin ไ

จากผลก จริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร *Chlorococcum* สร้างสารสีแดงขึ้น งสาหร่าย 1 วัน

1. ควรม
2. ควรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ขนิษฐา สุขเสริม. 2532. อิทธิพลของความเข้มแสงและคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโตและสารประกอบบางชนิดภายในใบหางจระเข้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 343 น.

ทวี จิตไมตรี. 2529. แบคทีเรียวิทยาทั่วไป และ ปฏิบัติการสำหรับวิศวกรสิ่งแวดล้อม. โรงพิมพ์เอส.ดี.เพลส., กรุงเทพฯ. 401 น.

ทิฆัมพร กุยยานนท์. 2527. Nutrition,growth and reproduction. 55-69.ในทิฆัมพร กุยยานนท์ อัญชลี ตัตตะวะศาสตร์ และวีระพงศ์ ลุลิตานนท์ (บรรณาธิการ). แบคทีเรียวิทยา ตอนที่ 1. คณะเ[illegible]

สัมพันธ์ คัมภิรา[illegible] ทพฯ. 330 น.

เจียมจิตต์ บุญ[illegible] รรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุ[illegible]

Alam, M. G. M[illegible] 001. Effect of environm[illegible] population in a closeed[illegible]

Borowitzka, L. J[illegible] A. Borowitzka, L. J. [illegible]. Cambridge Universit[illegible]

Donkin, P.. 1976. Ketocarotenoid biosynthesis by Haematococcus lacustis. Phytochemistry. 15 : 711-715.

Grobe, C. W. and T. M. Murphy. 1998. Solar ultraviolet-B radiation effects on growth and pigment composition of the intertidal alga *Ulva expansa* (Setch.) S. & G. (Chlorophyta)., Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 225 : 39-51.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Herrera, A., S. Boussiba., V. Napoleone and A. Hohlberg. 1989. Recovery of c-phycococyanin from cyanobacterium Spirulina maxima . J. Appl. Phycol. 1 : 325-331.

Iwasaki, I., Q. Hu., N. Kurano., S. Miyachi. 1998. Effect of extremely high-CO_2 stress on energy distribution between photosystem I and photosystem II in a 'high- CO_2' tolerant green alga, *Chlorococcum littorale* and the intolerant green alga *Stichococcus bacillaris* ., Jounal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 44 : 184-190.

Janssen M., T. C. Kuijpers., B. Veldhoen., M. B. Ternbach., J. Tramper., L. R. Mur., R. H. Wijffels. *i* and *Chlorella* *sorokini* s., Journal of Biotechi

Johnson, E. . ł.), Advances Biochen /erlag, Berlin. Heidelb

Kaplan, D., A. l nutrition, pp. 147-198 s Cuiture. CRC Press, Ir

Kobayashi, M.. sters from the green al 269.

Ma, R. Y. N. and F. Chen. 2001. Enhanced production of free *trans*-astaxanthin by oxidative stress in the cultures of the green microalg *Chlorococcum sp.*, Process Biochemistry. 36:1175-1179.

Oquist, G.. 1971. Change in pigment composition and photosynthesis induce by iron-de-ficiency in the blue-green alga Anacystic nidulans. Phycol. Plant. 25 : 188.

Palozza, P. and N.I. Krinsky. 1992. Antioxidant effects of carotenoid in vivo and in vitro : an overview. Method Enzymol. 213 : 403-420.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Prescott, G.W.. 1968. The algae. Houghton Mifflin Company, Boston. 436 p.

Rai A.K. and V. Rai. 2003. Effect of NaCl on growth, nitrate uptake and reduction and nitrogenase activity of Azolla pinnata-Anabaena azolla. Plant Science. 164 : 61-69.

Richmond, A.. 1983. C-phycocyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis*. Arch. Microbial. 125 : 143-147.

Saha S.K., L. Uma and G. Subramanian. 2003. Nitrogen stress induced changes in the marine cyanobacterium *Oscillatoria willei* BDU 130511. FEMS Microbiology Ecology. 45 : 263-272

Smith, G. M.. 19 Graw-Hill Book Compar

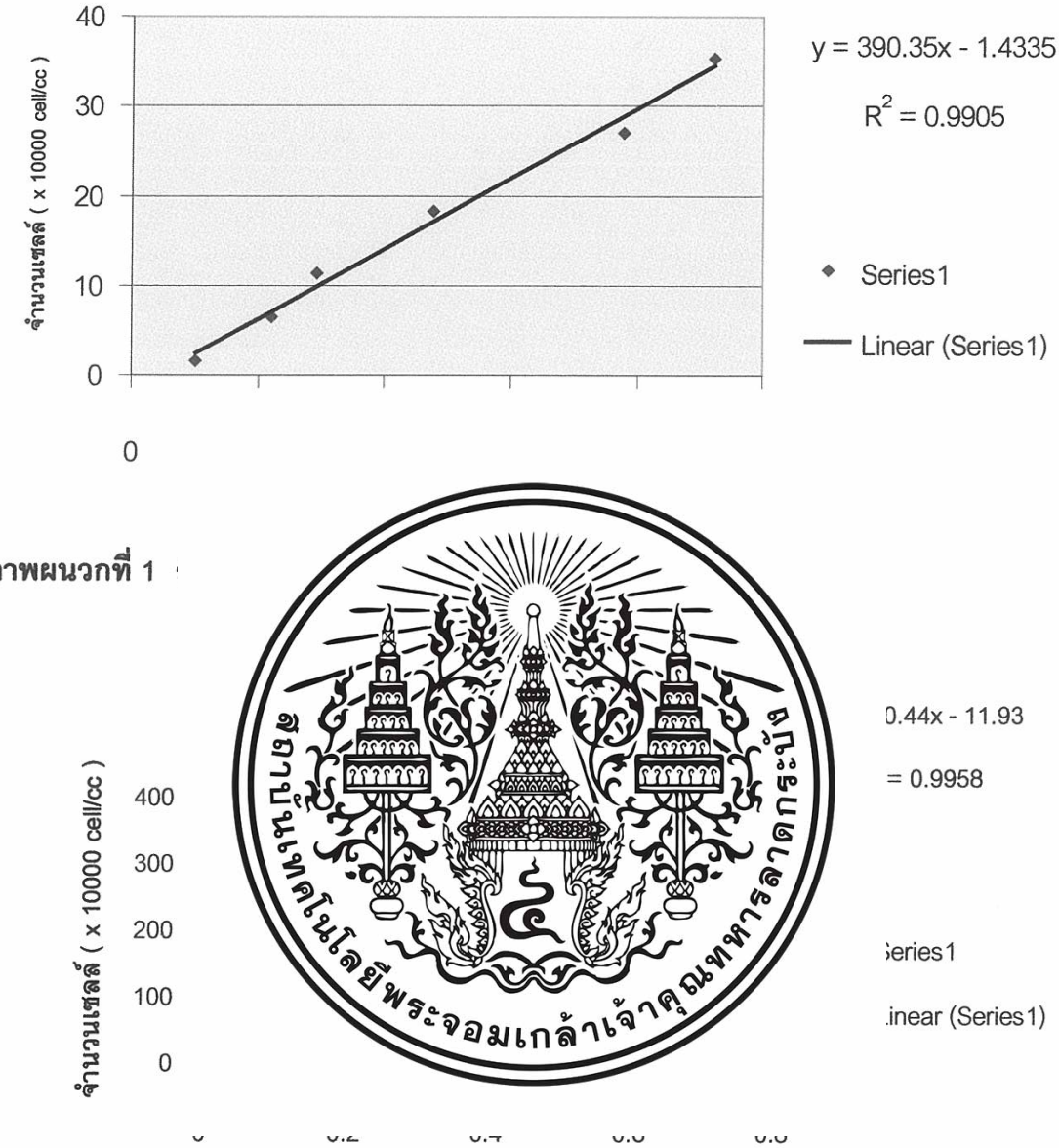
Tendencia, E. A system which makes i aculture. 218 : 115-119

Vonshak, A. anc s production, 66-67. I oductively and Photosy

Yuan, J. P., F. (n in the green microalg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

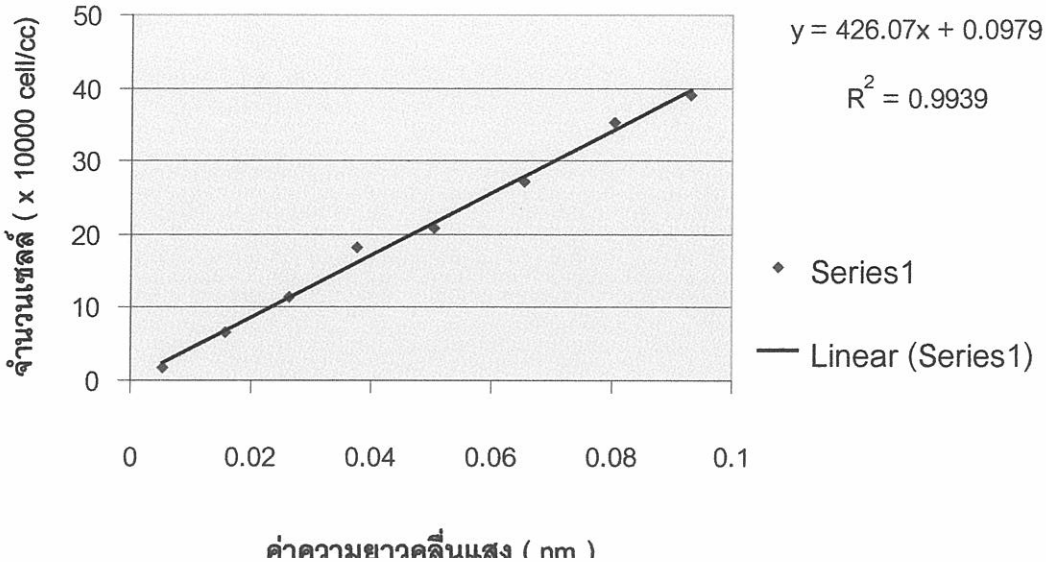
ภาคผนวก



ภาพผนวกที่ 1

ภาพผนวกที่ 2 สมการอ้างอิงที่ความยาวคลื่น 480 nm (abs ที่ 0.1 – 0.9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 3

ภาพผนวกที่ 4 สมการอ้างอิงที่ความยาวคลื่น 680 nm (abs ที่ 0.1 – 0.9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้