

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทนเค็ม
Aphanothece halophytica

FACTORS AFFECTING CAROTENOID CONTENT OF UNICELLULAR
HALOTOLERANT CYANOBACTERIUM *Aphanothece halophytica*



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาเอกสารนี้อ้างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ปีการศึกษา 2559

FACTORS AFFECTING CAROTENOID CONTENT OF UNICELLULAR
HALOTOLERANT CYANOBACTERIUM *Aphanothece halophytica*



NAREESA DAMNADEE
SUKANYA SO-AUDON
KOREENA SARAHA

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่หรือนำไปใช้
ACADEMIC YEAR 2016
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดียวทนเค็ม
Aphanothece halophytica

ชื่อนักศึกษา นางสาวนารีชา ดำนาคี รหัส 56050852
 นางสาวสุกัญญา โสอูตร รหัส 56050932
 นางสาวกอรินา สาแรหะ รหัส 56051429

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต
 สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
 ปีการศึกษา 2559
 อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรัญญา พันธุ์พุกษ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการ	
ผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พุกษ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาดูงานนี้ เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ต่อแหล่งอื่นและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทนเค็ม <i>Aphanothece halophytica</i>			
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนารีชา	ตำนานดี	รหัส	56050852
	นางสาวสุกัญญา	โสอุตร	รหัส	56050932
	นางสาวอรินา	สาแรหะ	รหัส	56051429
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต			
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ			
ปีการศึกษา	2559			
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรัญญา พันธุ์ฤกษ์			

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุสีส้มเหลืองที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหลายชนิด แคโรทีนอยด์สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กหลายชนิดรวมไปถึงไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่าย สีเขียวแกมน้ำเงิน โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทนเค็ม *Aphanothece halophytica* โดยนำ *A. halophytica* เพาะเลี้ยงในอาหาร BG₁₁ ที่เสริมด้วย Turk Island salt solution เป็นเวลา 14 วัน และบ่มในอาหารที่แปรผันความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมไนเตรท ภายใต้สภาวะที่มีพีเอชเริ่มต้น 6 ถึง 9 และอุณหภูมิระหว่าง 25 ถึง 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปสกัดและวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ จากการศึกษาพบว่า สภาวะเหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *A. halophytica* คือ โซเดียมคลอไรด์ 0.5 โมลาร์ โซเดียมไนเตรท 0 มิลลิโมลาร์ ที่พีเอชเริ่มต้น 7 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้ *A. halophytica* มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 1.242 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง

คำสำคัญ : แคโรทีนอยด์, ไซยาโนแบคทีเรียทนเค็ม, *Aphanothece halophytica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Factors affecting carotenoid content of unicellular halotolerant cyanobacterium <i>Aphanothece halophytica</i>		
Students	Nareesa	Damnadee	56050852
	Sukanya	So-audon	56050932
	Koreena	Saraeha	56051429
Degree	Bachelor of Science		
Major Program	Biotechnology		
Academic Year	2016		
Advisor	Assist.Prof.Dr.Saranya Phunpruch		

ABSTRACT

Carotenoid is an orange-yellow pigment used in many food industries nowadays. Carotenoid can be found in various kinds of microorganisms including cyanobacteria or blue green algae. This senior project aimed to investigate factors affecting carotenoid content in unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. *A. halophytica* was cultivated in BG₁₁ medium supplemented with Turk Island salt solution for 14 days. Cells were incubated in medium containing various NaCl and NaNO₃ concentrations under initial pH from 6 to 9 and temperature between 25 and 50 °C for 24 h before carotenoid extraction and measurement. The result showed that optimum conditions for H₂ production by *A. halophytica* were 0.5 M NaCl, 0 mM NaNO₃, initial pH at 7 and incubation temperature at 35 °C. Under these optimum conditions, *A. halophytica* gave the highest carotenoid content at 1.242 mg/g dry cell weight.

Keywords: Carotenoid, Halotolerant cyanobacteria, *Aphanothece halophytica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ในการจัดทำโครงการพิเศษนี้ ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สร้อยญา พันธุ์พุกษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่คอยให้คำแนะนำ และช่วยเหลือให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี พร้อมทั้งขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ ประธานกรรมการโครงการพิเศษและ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการโครงการพิเศษ ที่กรุณาสละเวลา ตรวจสอบและให้คำแนะนำต่างๆ ในการแก้ไขโครงการพิเศษนี้จนสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณรุ่นพี่ปริญญาเอกและปริญญาโทที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ระดับโมเลกุล 407 ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษาให้ความรู้และคำแนะนำในงานวิจัย ให้การช่วยเหลือดูแล และสอนเทคนิคต่างๆที่ใช้ในการทดลองตลอดจนการทำโครงการพิเศษนี้ ขอขอบคุณพี่นักวิทยาศาสตร์ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาทดลอง สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ตลอดจนทุกคนที่มีส่วนร่วมสนับสนุนให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ทางคณะผู้จัดทำ หวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงการพิเศษฉบับนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้ที่มีความสนใจศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรีย หรือนำไปประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆ เพื่อนำไปศึกษาและพัฒนาต่อไป หากโครงการพิเศษฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใดทางคณะผู้จัดทำ ขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

นารีชา
สุกัญญา
กอรินา

ตำนานดี
โสสุดร
สาแรหะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 แคลโรทีนอยด์	3
2.1.1 โครงสร้างทางเคมีและชนิดของแคลโรทีนอยด์	3
2.1.2 การสังเคราะห์แคลโรทีนอยด์	6
2.1.3 แหล่งของแคลโรทีนอยด์	7
2.1.4 คุณสมบัติของแคลโรทีนอยด์	8
2.1.5 หน้าที่ของแคลโรทีนอยด์	9
2.1.6 การเก็บรักษาแคลโรทีนอยด์	10
2.1.7 ประโยชน์ของแคลโรทีนอยด์	10
2.2 ไฮยาโนแบคทีเรีย	11
2.2.1 สันฐานวิทยา	12
2.2.2 สารสีและกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง	13
2.3 ไฮยาโนแบคทีเรีย <i>Aphanothece halophytica</i>	14
2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแคลโรทีนอยด์ของไฮยาโนแบคทีเรีย	15
2.4.1 อุณหภูมิ	15
2.4.2 แสง	15
2.4.3 ไนเตรท	15
2.4.4 ความเค็ม	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในโครงการพิเศษ	17
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG ₁₁	17
3.3 สารเคมี	17
3.4 อุปกรณ์	18
3.5 วิธีการทดลอง	18
3.5.1 การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย <i>Aphanothece halophytica</i>	18
3.5.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรีย <i>Aphanothece halophytica</i>	19
3.5.3 การสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ด้วยวิธีของ KMUTT (2001)	19
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายการทดลอง	
4.1 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่แปรผันความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์	21
4.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่แปรผันความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท	22
4.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่แปรผันอุณหภูมิ	23
4.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่แปรผันค่าพีเอชเริ่มต้น	24
4.5 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่เหมาะสม	25
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย	26
5.2 ข้อเสนอแนะ	26
เอกสารอ้างอิง	
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	31
ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการสกัดแคโรทีนอยด์	33
ภาคผนวก ค ข้อมูลการทดลอง	34
ภาคผนวก ง ตารางสถิติ	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	แคโรทีนอยด์ที่พบในสาหร่าย	8
ค-1	ผลการสกัดแคโรทีนอยด์ใน <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่แปรผัน ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์	34
ค-2	ผลการสกัดแคโรทีนอยด์ใน <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่แปรผัน ความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท	35
ค-3	ผลการสกัดแคโรทีนอยด์ใน <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่แปรผัน อุณหภูมิ	36
ค-4	ผลการสกัดแคโรทีนอยด์ใน <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่แปรผัน ค่าพีเอชเริ่มต้น	37



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของลูทีนและซีแซนทีน	4
2.2 โครงสร้างของแอสต้าแซนทีน	4
2.3 โครงสร้างของไลโคพีน	5
2.4 โครงสร้างของเบต้าแคโรทีน	5
2.5 ขั้นตอนการสังเคราะห์ไลโคพีน	
2.6 โครงสร้างภายในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรีย	11
2.7 โครงสร้างส่วนที่เป็นเฮเทอโรซิสต์ (Heterocysts) และอะคีนีท (Akinete) ของไซยาโนแบคทีเรีย	13
2.8 ลักษณะของไซยาโนแบคทีเรีย <i>Aphanothece halophytica</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	14
4.1 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกัน	21
4.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทแตกต่างกัน	22
4.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่มีอุณหภูมิแตกต่างกัน	23
4.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน	24
4.5 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก <i>Aphanothece halophytica</i> ในสภาวะที่เหมาะสม	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการพิเศษ

แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นรงควัตถุที่มีความสำคัญหลายประการ อาทิ เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ช่วยในการพัฒนาการของตัวอ่อน พัฒนาระบบการสืบพันธุ์ ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน รวมถึงเป็นสารที่ทำให้เกิดสีในสิ่งมีชีวิต แคโรทีนอยด์จะพบมากในผักและผลไม้ ซึ่งจะไม่แสดงสีให้เห็น เนื่องจากถูกสีเขียวของคลอโรฟิลล์บดบังไว้ แต่เมื่อผักและผลไม้แก่ตัวลง คลอโรฟิลล์จะสลายตัวไป สารสีแคโรทีนอยด์จึงจะปรากฏให้เห็นเด่นชัด เช่น สีเหลือง สีส้ม สีแดง เป็นต้น แคโรทีนอยด์เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว (Unsaturated hydrocarbon) ประกอบด้วยคาร์บอน 40 อะตอม ที่เชื่อมติดกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ที่เป็นพันธะคู่สายยาว มีคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตและแสงสีขาวยได้ดี ทำให้สารแคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติเป็นสารสีในสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ แคโรทีนอยด์ยังมีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถปกป้องเซลล์จากการทำลายของแสงแดดได้

แคโรทีนอยด์สามารถจำแนกออกเป็น 2 กลุ่มคือ Hydrogenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยสายไฮโดรคาร์บอน ทำให้เป็นสายไม่มีขั้วและละลายได้ในไขมัน เช่น เบต้าแคโรทีน และไลโคพีน เป็นต้น ส่วนกลุ่มที่สองคือ Oxygenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแซนโทฟิลล์ ซึ่งมีอะตอมของออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล จึงมีขั้วมากกว่าและสามารถละลายในไขมันได้น้อยกว่ากลุ่มแคโรทีนอยด์ สีของแคโรทีนอยด์จะเปลี่ยนแปลงไปตามจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุล หากแคโรทีนอยด์มีจำนวนพันธะคู่มาก จะให้สีแดงเข้ม หากมีจำนวนพันธะคู่ย่อย จะให้สีจาง จำนวนพันธะคู่ของแคโรทีนอยด์ที่น้อยที่สุดจะมีจำนวน 7 คู่ ให้สีออกเหลือง และหากมีพันธะคู่ในรูปของ cis จะยิ่งให้สีจางลง ส่วนพันธะคู่ในรูป trans จะให้สีเข้มขึ้น ทั้งนี้ แคโรทีนอยด์ส่วนมากมักพบอยู่ในรูปของ trans ที่โมเลกุลมักรวมกันเป็นกลุ่ม ทำให้มีคุณสมบัติในการละลายและดูดซึมได้น้อยกว่าในรูปของ cis ในปัจจุบัน ได้มีการนำแคโรทีนอยด์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อุตสาหกรรมอาหาร แคโรทีนอยด์ถูกนำมาใช้ในอาหารประเภทไขมัน เนยแข็ง เนยเหลว น้ำมัน เป็นต้น นอกจากนี้แคโรทีนอยด์ยังนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์เพื่อให้สัตว์มีสีของเนื้อ หนัง ไข่ สวยงาม รวมทั้งได้รับโปรตีนและวิตามินด้วย อีกทั้งยังมีประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรมโดยการนำมาเป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ ช่วยต่อต้านมะเร็งและป้องกันการขาดวิตามินเอได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และสงวนสิทธิ์ในสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิด เช่น พืช แบคทีเรีย รา สัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และสัตว์บางชนิด ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะได้แคโรทีนอยด์จากการรับประทานอาหารเข้าไป

ในธรรมชาติจะมีแคโรทีนอยด์ประมาณ 700 ชนิดด้วยกัน แต่มีเพียง 20 ชนิดที่พบในร่างกายของมนุษย์ นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอีกด้วย

ไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจัดอยู่ในโดเมนแบคทีเรีย (Bacteria) อาณาจักรยูแบคทีเรีย (Eubacteria) และอยู่ในไฟลัมไซยาโนไฟตา (Cyanophyta) มีความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ ซึ่งมีรงควัตถุกระจายตัวอยู่บริเวณไซโตพลาสซึม จึงทำให้มองเห็นเซลล์เป็นสีเขียวแกมน้ำเงิน นอกจากนี้ ยังพบว่าไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดมีความสามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศได้ ไซยาโนแบคทีเรียสามารถพบอยู่ในน้ำจืด น้ำทะเลและน้ำกร่อย แม้กระทั่งน้ำพุร้อนหรือหิมะ ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดยังสามารถเจริญในที่ที่มีความเค็มสูงๆ ได้ เช่น *Aphanothece halophytica*

Aphanothece halophytica เป็นไซยาโนแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว มีรูปร่างเป็นทรงกระบอกสั้นๆ มีสีเขียวเข้มสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความเค็มของเกลือสูงตั้งแต่ 0.25 ถึง 3.0 โมลาร์ และสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีค่าพีเอชถึง 11 (Laloknam และคณะ, 2550)

ในการทดลองนี้ สนใจศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทนเค็ม *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่แปรผันความเข้มข้นของเกลือ ความเข้มข้นของไนโตรเจน พีเอชและอุณหภูมิ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทนเค็ม *Aphanothece halophytica*

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทนเค็ม *Aphanotece halophytica* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ BG₁₁ ที่เสริมด้วย Turk Island salt solution โดยปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของเกลือ ความเข้มข้นของไนโตรเจน อุณหภูมิ และพีเอชเริ่มต้นของอาหาร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทนเค็ม *Aphanothece halophytica* ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์มีบทบาทที่สำคัญคือ เป็นรงควัตถุหรือเม็ดสีที่ทำให้เกิดสีต่างๆ มีสีแดง สีส้ม หรือสีเหลือง ในพืชแคโรทีนอยด์จะทำหน้าที่ช่วยในสังเคราะห์แสง และป้องกันเซลล์จากการทำลายของแสง มีลักษณะเด่นในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถปกป้องเซลล์จากการทำลายของแสงแดดได้ และให้วิตามินเอ (Vitamin A) สูง แคโรทีนอยด์ที่พบในธรรมชาติมีประมาณ 700 ชนิด แต่มีเพียง 50 ชนิดเท่านั้นที่พบเป็นอาหารของมนุษย์ ส่วนที่พบในร่างกายของคนเรามีเพียง 20 ชนิด เท่านั้น (<http://www.wormsteps.com/carotene-and-carotenoids>)

2.1.1 โครงสร้างทางเคมีและชนิดของแคโรทีนอยด์

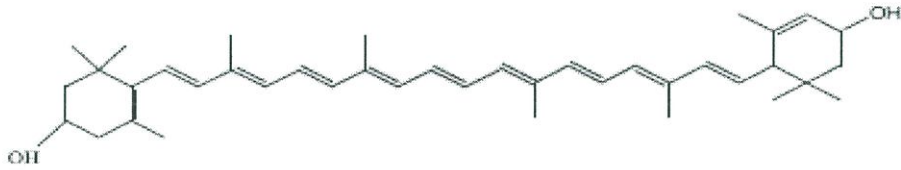
โครงสร้างของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (Isoprene unit) 8 หน่วย ที่เกิดพันธะโควาเลนต์ ทำให้เกิดคอนจูเกชันของพันธะคู่เป็นสายยาว (Extensive conjugated double bond) ระบบคอนจูเกชันทำให้แคโรทีนอยด์สามารถดูดกลืนพลังงานแสงอัลตราไวโอเล็ต แสงสีขาวย และทำให้แคโรทีนอยด์มีสีและมีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โมเลกุลของแคโรทีนอยด์ที่เป็นเส้นตรง เช่น ไลโคพีน (Lycopene) หรือโมเลกุลที่เป็นวงแหวน (Ring) อยู่ที่ปลายโซ่ เช่น เบต้า-แคโรทีน แคโรทีนอยด์สามารถจำแนกเป็น 2 กลุ่ม คือ Hydrogenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแคโรทีนที่โมเลกุลประกอบด้วยสายไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon) ทำให้เป็นสารไม่มีขั้ว และละลายได้ในไขมัน เช่น เบต้าแคโรทีน และไลโคพีน เป็นต้น ส่วนกลุ่มที่ 2 คือ Oxygenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแซนโทฟิลล์นั้นมีอะตอมของออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล จึงมีขั้วมากกว่า และละลายในไขมันได้น้อยกว่าแคโรทีนอยด์ แคโรทีนอยด์ในกลุ่มนี้ได้แก่ ลูทีน ซีอาแซนทิน และแอสต้าแซนทิน (วีรศักดิ์, 2548) แคโรทีนอยด์ที่มีมากและมีประโยชน์ในอุตสาหกรรม ได้แก่

2.1.1.1 ลูทีนและซีอาแซนทิน

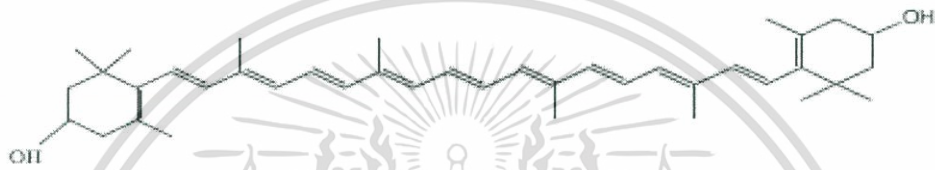
ลูทีน (Lutein) และซีอาแซนทิน (Zeaxanthin) เป็นสารสีหรือรงควัตถุในกลุ่มแซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) พบได้ในพืชบางชนิด สาหร่าย และแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้ ลูทีนเป็นรงควัตถุสีเหลือง พบได้มากในผักโขม บร็อคโคลี่ คენัว ลูทีนและซีอาแซนทินเป็นสารประกอบที่มีคาร์บอน 40 อะตอม และมีวงของคาร์บอนอยู่ที่ปลายทั้งสองข้างของสาย สารทั้งสองชนิดจัดว่าเป็นไอโซเมอร์กันโดยมีความแตกต่างระหว่างสารทั้งสองชนิดอยู่ที่ตำแหน่งของพันธะคู่ในวงของคาร์บอนที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่วางไว้สำหรับ การใช้งานเพื่อการศึกษานานาชาติไปจนกว่าจะมีการแจ้งใช้ประโยชน์อื่นใด
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลายสาย สารทั้งสองชนิดนี้มีคุณสมบัติของการละลายในไขมัน ทำหน้าที่ในการรวบรวมพลังงานจากแสงเพื่อให้พืชใช้ในการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ ยังมีหน้าที่ป้องกันเซลล์พืชจากแสงสีม่วง โครงสร้างของลูทีนและซีอาแซนทินแสดงดังรูปที่ 2.2



(ก)



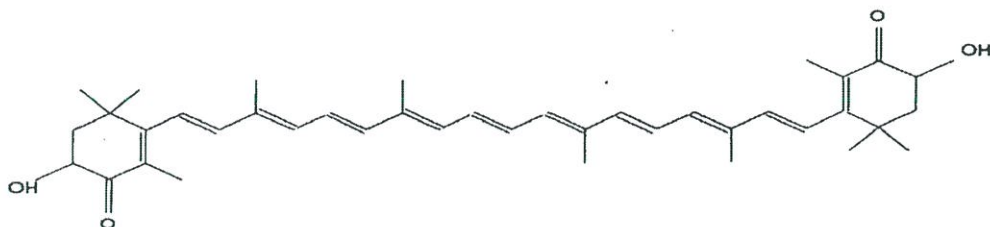
(ข)

รูปที่ 2.1 โครงสร้างของลูทีน (ก) และโครงสร้างซีอาแซนทิน (ข)

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1228/carotenoid->

2.1.1.2 แอสต้าแซนทิน

แอสต้าแซนทิน (Astaxanthin) เป็นสารสีธรรมชาติ แอสต้าแซนทินมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง ยับยั้งการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของเซลล์เนื้อร้ายบางชนิด สำหรับการผลิตแอสต้าแซนทินจะใช้สาหร่ายสีเขียว ยีสต์ และผลพลอยได้ของผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมซึ่งอยู่ในน้ำเป็นวัตถุดิบหลัก ในปัจจุบัน มีการใช้แอสต้าแซนทินแพร่หลายมากขึ้น โดยเฉพาะอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์และเพิ่มสีให้กับเนื้อหรือไข่ เนื่องจากสิ่งมีชีวิตชั้นสูง (สัตว์และพืช) ไม่สามารถสังเคราะห์แอสต้าแซนทินได้ ต้องได้รับจากอาหารที่รับประทานเข้าไปเท่านั้น (Shan และคณะ, 2008) โครงสร้างของแอสต้าแซนทินแสดงดังรูปที่ 2.2



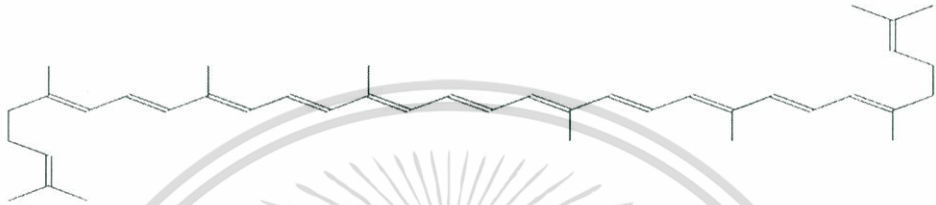
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของแอสต้าแซนทิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ที่มา : Manabu และ Keiichi, 2007

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดเบี่ยงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1.3 ไลโคพีน

ไลโคพีน (Lycopen) เป็นเม็ดสีแคโรทีนอยด์สีแดงสด เป็นสารที่พบในพืชพวกมะเขือเทศและผลไม้สีแดงอื่นๆ โครงสร้างทางเคมีที่มีพันธะคู่มาก ทำให้ง่ายต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระหรือ Free radical ที่เป็นสารอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งทรวงอก มะเร็งปอด มะเร็งต่อมลูกหมาก ไลโคพีนยังสามารถลดปัญหาการอุดตันของเส้นเลือดแดง เนื่องจากไลโคพีนไปช่วยเพิ่มปริมาณไลโคพีนชนิด LDL โครงสร้างของไลโคพีนแสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของไลโคพีน

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1228/carotenoid->

2.1.1.4 เบต้าแคโรทีน (β -carotene)

เบต้าแคโรทีนเป็นชื่อเรียกทางเคมีของสารชนิดหนึ่ง ที่ถูกค้นพบในพืชหลายชนิด และพบมากในพืชที่มีสีเหลือง และสีส้ม เช่น หัวแครอท หัวผักกาดแดง มะเขือเทศ โครงสร้างทางเคมีที่มีขนาดใหญ่มาก ซึ่งเมื่อเรารับประทานเข้าไปในร่างกาย มันจะทำหน้าที่เปลี่ยนโมเลกุลของเบต้าแคโรทีน ดังกล่าวให้กลายเป็นวิตามิน เอ เบต้าแคโรทีน 1 โมเลกุล จะสามารถให้วิตามิน เอ 2 โมเลกุล เบต้าแคโรทีนมีประโยชน์มากมาย เช่นต่อต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงต่อภาวะมะเร็ง และบำรุงสุขภาพของดวงตา ฯลฯ โครงสร้างของเบต้าแคโรทีนแสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของเบต้าแคโรทีน

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1228/carotenoid->

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 การสังเคราะห์แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นสารสีธรรมชาติกลุ่มใหญ่ เกิดจากการรวมตัวกันของไอโซพรีน 8 หน่วย เรียกว่า “ไฟโตอิน” (Phytoene) การเกิดไฟโตอิน แบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ ปฏิกิริยาฟอร์มเมชัน (Formation) เป็นการเกิดขึ้นเองของไอโซเพนเทนนิล ไพโรฟอสเฟต (Isopentenyl pyrophosphate) ปฏิกิริยาคอนเวอร์ชัน (Conversion) เป็นการรวมไอโซเพนเทนนิลไพโรฟอสเฟต เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็นเจอร์รานิลเจอร์รานิลไพโรฟอสเฟต (Geranylgeranyl pyrophosphate) ปฏิกิริยาคอนเดนเซชัน (Condensation) เป็นการรวมโมเลกุลของเจอร์รานิลเจอร์รานิลไพโรฟอสเฟต 2 โมเลกุล เกิดเป็นไฟโตอิน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของไลโคพีน (รูปที่ 2.5) ไลโคพีนเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ เกิดปฏิกิริยาไซโคลเซชัน (Cyclization) ที่ปลายโมเลกุล เกิดเป็นโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ จากนั้นโมเลกุลถูกเปลี่ยนเป็นแคโรทีนอยด์ที่มีลักษณะเฉพาะต่างๆ กัน เช่น กระบวนการเปลี่ยนแคโรทีนอยด์เป็นแซนโทฟิลล์ จากการเติมออกซิเจนเข้าไปในโมเลกุล (Camera และ Moneger, 1981)



รูปที่ 2.5 ขั้นตอนการสังเคราะห์ไลโคพีน

ที่มา : http://2012.igem.org/Team:Paris-Saclay/Project/Project_Description

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 แหล่งของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นเม็ดสีที่มีการกระจายตัวในธรรมชาติมากที่สุด พบได้ทั้งใน พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ แต่สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ขึ้นได้เอง ดังนั้น จึงต้องได้รับจากแหล่งแคโรทีนอยด์อื่นๆ

2.1.3.1 สัตว์

แคโรทีนอยด์ทำให้เกิดสีในสัตว์ได้ ยกเว้นในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทำให้เนื้อปลาหรือสีของปลาสวยงาม ทำให้ขนนกมีสีเหลืองถึงสีแดง และยังพบในแมลง สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ฯลฯ

2.1.3.2 พืช

ในคลอโรพลาสต์ เนื้อเยื่อพืชที่มีสีเขียวจะประกอบด้วยแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ เช่น เบต้า-แคโรทีน ลูทีน ไวโอลาแซนทิน และนีโอแซนทิน เป็นต้น นอกจากนี้ ยังพบเม็ดสีในแคโรทีนอยด์อยู่ในโครโมพลาสต์ (Chromoplast) ทำให้เกิดสีในดอกไม้และผลไม้ ตามปกติ จะไม่พบแคโรทีนอยด์ในรากพืช แต่พบว่าเบต้าแคโรทีน และแอลฟา-แคโรทีนปริมาณมากในหัวแครอท

2.1.3.3 แบคทีเรีย

แคโรทีนอยด์ที่พบในแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแซนโทฟิลล์มากกว่าแคโรทีน (Ciegler, 1965) โดยสามารถพบที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่ไม่สังเคราะห์แสง (Non-photosynthetic bacteria) บางสายพันธุ์ และพบได้มากในแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (photosynthetic bacteria) เนื่องจากแคโรทีนอยด์มีส่วนสำคัญในการสังเคราะห์แสง

2.1.3.4 รา

โดยส่วนใหญ่ ราจะไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้ ราที่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้ส่วนใหญ่เป็นราชั้นต่ำ (Low fungi) โดยสังเคราะห์ขึ้นที่ไมซีเลียม (Mycelium) มักจะสะสมแคโรทีน แต่สะสมแซนโทฟิลล์น้อย สำหรับเห็ด พบแคโรทีนอยด์จะพบในเห็ดชั้นเทอเรลลา (chanterella) ส่วนในยีสต์ จะพบในยีสต์สีแดงสกุล *Rhodotorula* (Goodwin, 1962)

2.1.3.4 สาหร่าย

ในสาหร่ายทุกดิวิชัน (division) จะพบเบต้าแคโรทีน ยกเว้นในดิวิชันคริปโตไฟตา (Cryptophyta) ที่สร้างแอลฟา-แคโรทีน สำหรับแซนโทฟิลล์นั้นจะแตกต่างกันออกไปในแต่ละดิวิชัน แคโรทีนอยด์ที่พบในสาหร่ายสามารถพบได้ดังตารางที่ 2.1 (Nakayama, 1962)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แคโรทีนอยด์ที่พบในสาหร่ายชนิดต่างๆ (ที่มา: Nakayama, 1962)

DIVISION	Type to carotenoids
Bacillariophyta	β -carotene, ϵ -carotene, Fucoxanthin, Diatoxanthin, Diadinoxanthin
Chlorophyta	α -carotene, β -carotene, γ -carotene, ϵ -carotene, Lutein, Zeaxanthin, Violaxanthin, Neoxanthin, Astaxanthin, Siphonaxanthin
Chrysophyta	α -carotene, β -carotene, Lutein, Fucoxanthin, Diatoxanthin, Diadinoxanthin
Cyanophyta	β -carotene, Lutein, Myxoxanthin, Myxaxanthophyll, Aphanizophyll, Flavacin, Echinenone
Cryptophyta	α -carotene, β -carotene, Zeaxanthin
Euglenophyta	β -carotene, γ -carotene, Lutein, Neoxanthin, Astaxanthin, Echinenone, Cryptaxanthin, Euglenanone, Hydroxyechinenone
Phrrophyta	β -carotene, Diadinoxanthin, Sulcataxanthin, Dincoxanthin
Phaeophyta	β -carotene, Lutein, Violaxanthin, Fucoxanthin, Diatoxanthin
Rhodophyta	α -carotene, β -carotene, Lutein, Violaxanthin, Neoxanthin, Taraxanthin
Xanthophyta	α -carotene, Lutein, Violaxanthin, Neoxanthin

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) จะสร้างเบต้า-แคโรทีน และอนุพันธ์ชนิดอื่นๆ เช่น Hydroxy และ Keto-derivatives ได้ นอกจากนี้หลายสายพันธุ์สามารถผลิตมิกโซแซนโทฟิลล์ (Myxoxanthophyll) ได้ด้วย

2.1.4 คุณสมบัติของแคโรทีนอยด์

2.1.4.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

แคโรทีนอยด์เป็นไขมัน ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ การสกัดแคโรทีนอยด์ออกจากเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิตทำได้โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น อะซีโตน แอลกอฮอล์ และสารละลายไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสมของตัวทำละลายทั้งสองชนิด (Humbeck 1990; Miki และคณะ, 1986) แคโรทีนอยด์ทุกชนิดเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง และสามารถทำให้เป็นผลึกได้โดยใช้ตัวทำละลายผสมที่เหมาะสม

2.1.4.2 ความคงตัว

แคโรทีนอยด์ที่สกัดออกมาแล้วไวต่อ แสงสว่าง ความร้อนและกรด โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไอโซเมอร์ (Cis-trans isomerization) นอกจากนี้ ยังไวต่อต่าง ซึ่งทำให้เกิดการออกซิไดซ์ภายในโมเลกุล (Autooxidation) และไวต่อออกซิเจนในอากาศ จะทำให้เกิดการออกซิไดซ์ที่บริเวณพันธะคู่ (Oxidization bleaching)

2.1.4.3 การดูดกลืนแสง

แคโรทีนอยด์ดูดกลืนแสงในช่วงที่ตามองเห็น และความสามารถในการดูดกลืนแสงจะเปลี่ยนไปตามชนิดของตัวทำละลาย เช่นสามารถดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร ในไดเอทิลอีเทอร์

2.1.5 หน้าที่ของแคโรทีนอยด์

2.1.5.1 การสังเคราะห์แสง

แคโรทีนอยด์เป็นเม็ดสีที่ทำหน้าที่รับพลังงานแสง แล้วส่งต่อไปยังคลอโรฟิลล์ เอ ในระบบแสงหนึ่ง (Photosystem I) ในแบคทีเรีย แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ และรงควัตถุอื่นๆ จะรวมตัวกันอยู่ในโครมาโตพอร์ (Chromatophore) บนเยื่อเซลล์ ส่วนในพืชสีเขียวทั่วไปและสาหร่าย แคโรทีนอยด์จะอยู่ในคลอโรพลาสต์ที่บริเวณแผ่นไทลาคอยด์ (Thylakoid) แคโรทีนอยด์จะทำหน้าที่ดูดกลืนแสงในช่วงที่คลอโรฟิลล์ไม่มีประสิทธิภาพ (Moore และคณะ, 1982)

2.1.5.2 การป้องกันแสง

เซลล์ของพืชชั้นสูง แบคทีเรีย และรา จะถูกทำลายด้วยแสงได้ง่ายขึ้น เมื่อมีสารที่ไวต่อแสง (Photosensitizing agent) รวมอยู่ด้วย สารเหล่านี้ ได้แก่ ฮีม และโปรตีนที่ประกอบด้วยฮีม เช่น ไซโตโครม (Cytochrome) แคโรทีนอยด์ทำหน้าที่เป็นตัวป้องกัน (Protective agent) โดยไปประจันโมเลกุลของออกซิเจนที่ถูกกระตุ้นโดยแสงได้ จึงสามารถป้องกันอันตรายแก่เซลล์ที่เกิดจากความไวต่อแสงได้ (Krinsky, 1971; Will III และคณะ, 1984)

2.1.5.3 การรับแสง (Photoreception)

กระบวนการมองเห็นภาพขึ้นอยู่กับเม็ดสีที่ไวต่อแสง (Photosensitive pigments) คือ โรดอปซิน (Rhodopsin) ซึ่งอยู่ที่เรตินาของดวงตา โรดอปซินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างออปซิน (Opsin) กับ 11-ซิส-เรตินัลดีไฮด์ (11-cis-retinaldehyde) หรือ 11-ซิสดีไฮโดรเรตินัลดีไฮด์ (11-cis-dehydroretinaldehyde) โดยสารประกอบทั้งสองเป็นไอโซเมอร์ของวิตามิน เอ ซึ่งได้มาจากเบต้า-แคโรทีน ถ้าขาดวิตามิน เอ ปริมาณโรดอปซินในเรตินาจะลดลง ทำให้เกิดภาวะมองไม่เห็นในที่มืดหรือสลัว (สิรินทร์ และคณะ, 2523)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5.4 ทำให้เกิดสีในเนื้อเยื่อต่างๆ

แคโรทีนอยด์ที่สามารถทำให้เกิดสีในเนื้อเยื่อต่างๆ ในสิ่งมีชีวิตทั้งที่สามารถสังเคราะห์ แคโรทีนอยด์ขึ้นได้เองและสังเคราะห์ไม่ได้ สีที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากแคโรทีนอยด์เพียงอย่างเดียว หรือ เป็นสีจากสารประกอบเชิงซ้อนของแคโรทีนอยด์กับรงควัตถุชนิดอื่นๆ เมื่อสัตว์ได้รับแคโรทีนอยด์ใน ปริมาณมากจะเกิดการสะสมที่ผิวหนัง เช่น ปลาเทราท์ (Trout) จะสะสมลูทีนที่บริเวณผิวหนัง ไข่ ตับ และเนื้อ (Peterson และคณะ, 1996) ส่วนไก่จะสะสมลูทีนไว้ที่ผิวหนังจนทำให้มีสีเหลืองเข้ม (Soeder, 1978)

2.1.6 การเก็บรักษาแคโรทีนอยด์

ในกระบวนการสกัด การทำให้บริสุทธิ์ และการเก็บรักษา จำเป็นต้องรู้ถึงวิธีป้องกัน ไม่ให้แคโรทีนอยด์สลายตัวไปจากปฏิกิริยาต่างๆ โดยเฉพาะจากออกซิเจน Bauernfeind (1981) กล่าวถึงการป้องกันแคโรทีนอยด์จากแสงสว่าง ความร้อน และออกซิเจน จากการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างของพันธะคู่ และการออกซิไดซ์ของสายคาร์บอนอะตอม โดยการเติมสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น Butylated hydroxyanisole (BHA) หรือ Butylated hydroxytoluene (BHT) นอกจากนี้ ใช้อนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตและระหว่างเก็บรักษา จะเป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียของ แคโรทีนอยด์ได้ การให้แคโรทีนอยด์สัมผัสกับออกซิเจนหรืออะซิโตน ก็ทำให้แคโรทีนอยด์เสถียรภาพ เรื่อยยิ่งขึ้น และยังพบว่าหากมีการเอาน้ำออกจากอาหารจะทำให้เก็บได้นาน 12 สัปดาห์ และสูญเสีย แซนโทฟิลล์ไปร้อยละ 52-71 หากใช้กระบวนการแช่แข็งจะสูญเสียเพียงร้อยละ 38 การเติมสารต้าน อนุมูลอิสระบางชนิด เช่น Ethoxyquin และเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศจะทำให้ลดการสูญเสีย ของแคโรทีนอยด์ได้มากขึ้น

2.1.7 ประโยชน์ของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์นับเป็นรงควัตถุที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง ได้แก่

2.1.7.1 ใช้เป็นสีผสมอาหาร

สารแคโรทีนอยด์เป็นสารให้สีเหลืองจากธรรมชาติ ใช้เป็นสีผสมอาหารในอาหาร สำหรับบริโภค เช่น เนยเทียม เครื่องดื่ม ลูกอม ขนมอบ ชุป น้ำมันพืช เนื้อ นม และไข่ เป็นต้น

2.1.7.2 ใช้เป็นอาหารสัตว์

แคโรทีนอยด์จำพวกแอสต้าแซนทีนที่สกัดมาจากแหล่งธรรมชาติ ใช้กันอย่าง แพร่หลายในการผลิตปลาแซลมอน เพื่อกระตุ้นให้เนื้อปลาที่เลี้ยงมีสีชมพูเหมือนปลาแซลมอนที่พบใน ธรรมชาติ และยังมีการใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่น เช่น เพื่อกระตุ้นการผสมพันธุ์ การวางไข่ เพิ่มคุณภาพ ของไข่ ตลอดจนเพิ่มอัตราการรอดในสัตว์น้ำ (ทิพย์วรรณ และคณะ, 2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

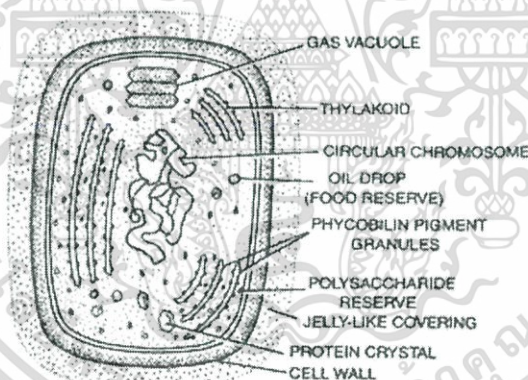
2.1.7.3 ใช้ในทางเภสัชกรรม

เบต้าแคโรทีน เป็นสารตั้งต้นของวิตามิน เอ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการรักษาสุขภาพ ช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายของเราให้แข็งแรงยิ่งขึ้น โดยปกติแล้ว ร่างกายของมนุษย์นั้นสามารถเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนไปเป็นวิตามินเอได้ตามต้องการ นอกจากนี้ ยังทำหน้าที่เสมือนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ลดความเสี่ยงต่อภาวะมะเร็ง โดยอนุมูลอิสระมีผลทำให้เกิดมะเร็งเนื้อร้าย การลดปริมาณอนุมูลอิสระเท่ากับลดความเสี่ยงมะเร็ง ทั้งยังพบว่าเบต้าแคโรทีนให้ผลกระตุ้นเซลล์ภูมิคุ้มกันในร่างกายที่ชื่อ T-helper ให้ทำงานได้ดีขึ้น

ไลโคพีน ป้องกันผิวหนังไม่ได้รับอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ดีกว่าเบต้าแคโรทีน พบปริมาณมากในผิวหนัง อ้นทะ ต่อมหมวกไต และต่อมลูกหมาก ป้องกันอวัยวะดังกล่าวจากการเกิดมะเร็ง ลดปริมาณไขมันชนิด LDL ในเลือด

2.2 ไชยาโนแบคทีเรีย

ไชยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) เดิมเรียกว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae) เป็นสิ่งมีชีวิตพวกโปรคาริโอตที่มีคลอโรพิลล์ เอ ไฟโคบิลิโปรตีน มีการสะสมอาหารในรูปไกลโคเจน ผนังเซลล์เป็นสารอะมีโน นักวิทยาศาสตร์บางท่าน เรียกว่า แบคทีเรียสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือไชยาโนแบคทีเรีย (วันเพ็ญ, 2549) โครงสร้างภายในของไชยาโนแบคทีเรียแสดงดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 โครงสร้างภายในเซลล์ของไชยาโนแบคทีเรีย

ที่มา : <http://www.biologydiscussion.com/bacteria/cyanobacteria/cyanobacteria-occurrence-morphology-and-cell-structure/52036>

ไชยาโนแบคทีเรียมีการสังเคราะห์ด้วยแสงคล้ายพืชชั้นสูง เป็นสิ่งมีชีวิตพวกแรกที่ทำให้ก๊าซออกซิเจนค่อยๆ ปรากฏขึ้นมาในบรรยากาศโลกยุคดั้งเดิม ไชยาโนแบคทีเรียมีลักษณะพิเศษที่ควรได้รับความสนใจอย่างยิ่ง เพราะมีความสำคัญต่อระบบนิเวศ โดยเฉพาะวัฏจักรคาร์บอนและไนโตรเจนของโลก ไชยาโนแบคทีเรียเป็นกลุ่มโปรคาริโอตแกรมลบที่มีจำนวนมากที่สุด นักวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือสงวนเพื่อการค้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้หรือเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จัดแยกคุณสมบัติทั้งระดับสกุลและชนิด รวมทั้งศึกษาโครงสร้างและนิเวศวิทยาของสาหร่ายดั่งนี้ (วันเพ็ญ, 2549)

2.2.1 สันฐานวิทยา

ลักษณะทางสันฐานวิทยาของไซยาโนแบคทีเรียที่ง่ายที่สุดคือ เป็นพวกเซลล์เดี่ยวที่อยู่อย่างอิสระและมีชั้นเมือกห่อหุ้ม บางชนิดมีขนาดเล็กมาก มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์เพียง 0.5-1.0 ไมโครเมตร บางชนิดมีขนาดใหญ่มาก จัดเป็นโปรคาริโอตที่ใหญ่ที่สุด เช่น *Oscillatoria princeps* มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ 60 ไมโครเมตรขึ้นไป ซึ่งเป็นพวกหลายเซลล์ที่มีการเรียงตัวเป็นสายในขณะที่บางชนิดเป็นเซลล์เดี่ยว เช่น *Chroococcus* แต่จะปรากฏรวมกันเป็นกลุ่มขนาดใหญ่ เป็นการรวมกลุ่มอย่างง่าย ๆ และสร้างสารเมือก (Mucilaginous matrix) ห่อหุ้ม เช่น *Microcystis* พวกที่เซลล์เรียงตัวเป็นสายยาวที่มีทั้งไม่แตกแขนง เช่น *Oscillatoria*, *Lyngbya* และเป็นสายที่แตกแขนง เช่น *Hapalosiphon* ผนังเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียคล้ายกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ แต่ไซยาโนแบคทีเรียจะมีการสร้างสารเมือกมาห่อหุ้มผนังเซลล์ชั้นนอก ซึ่งเป็นชั้นที่ช่วยให้เซลล์หลายๆ เซลล์ยึดติดกันเป็นรูปร่างกลมหรือเป็นสาย

ไซยาโนแบคทีเรียมีชั้นเมือกที่หุ้มเซลล์หรือเปลือกหุ้มเซลล์ ซึ่งบางชนิดจะทำให้เห็นสารสีภายในเซลล์ที่อยู่ลึกลงไป สีของชั้นที่ล้อมรอบเซลล์มีความแตกต่างกันตามชนิดของไซยาโนแบคทีเรีย ได้แก่ สีทอง สีเหลือง สีน้ำตาล สีแดง สีเขียวมรกต สีน้ำเงิน สีม่วง และสีน้ำเงินดำ อย่างไรก็ตาม นักวิทยาศาสตร์ยังเรียกว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน แต่ความจริงมีไซยาโนแบคทีเรียเพียงครั้งเดียวของทั้งหมดเท่านั้นที่มีสีเขียวแกมน้ำเงิน

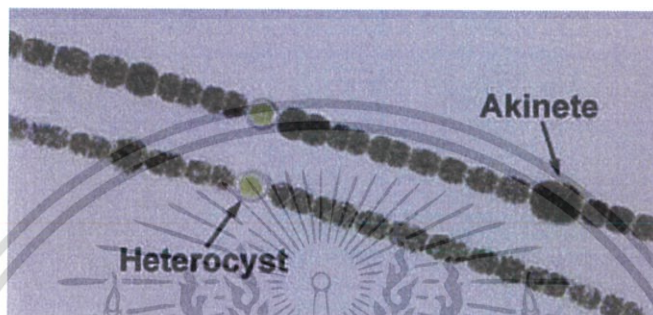
ไซยาโนแบคทีเรียคล้ายคลึงกับพืชและสาหร่ายคือ มีคลอโรฟิลล์เอ และระหว่างการสังเคราะห์ด้วยแสงมีการแตกตัวของน้ำและปลดปล่อยออกซิเจนออกมา ทำให้บรรยากาศของโลกเมื่อประมาณ 2.5 พันล้านปีก่อนมีการสะสมออกซิเจน ซึ่งเป็นผลมาจากกิจกรรมการสังเคราะห์ด้วยแสงของไซยาโนแบคทีเรีย (วันเพ็ญ, 2549)

ไซยาโนแบคทีเรียมีโครงสร้างแตกต่างกันมากกว่าแบคทีเรีย โดยมีเซลล์พิเศษ เช่น เฮเทอโรซิสต์ (Heterocyst) และอะคิเน็ต (Akinete) พวกที่มีวิวัฒนาการหลังจากพวกเซลล์เดี่ยวเป็นลักษณะเซลล์เรียงแถวเดียว เรียกว่า ไตรโคม (Trichome) เมื่อไตรโคมมีเมือกห่อหุ้มชั้นนอกเป็นชีท (Sheath) เรียกโครงสร้างนี้ว่าสาย (Filament) โดยอาจจะพบมากกว่า 1 ไตรโคมในแต่ละสาย ส่วนพวกที่มีวิวัฒนาการเชิงซ้อน สายจะมีการแตกแขนง แบ่งได้ 2 แบบ คือ แตกแขนงเป็นเซลล์เดี่ยวเรียงเป็นแถว เรียกว่า ยูนิเซอริเอท (Uniseriate) และแตกแขนงประกอบด้วยเซลล์มากกว่า 1 แถว เรียกว่า มัลติเซอริเอท (Multiseriate) (วันเพ็ญ, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 สารสีและกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง

สารสีหลักในการสังเคราะห์ด้วยแสงของไซยาโนแบคทีเรีย คือ คลอโรฟิลล์ เอ ที่อยู่ในเยื่อไทลาคอยด์ โมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เอ ที่รับแสงในช่วงคลื่นที่ยาว คือ คลอโรฟิลล์ เอ 700 หรือระบบแสงหนึ่ง (Photosystem I) และคลอโรฟิลล์ เอ ที่รับแสงในช่วงคลื่นสั้น คือ คลอโรฟิลล์ เอ 680 หรือระบบแสงสอง (Photosystem II) ซึ่งมีความสำคัญในการผลิตก๊าซออกซิเจนและยังมีสารเสริมในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง คือ แคโรทีนอยด์ และสารสีที่มีลักษณะเฉพาะ ไซยาโนแบคทีเรีย คือ ไฟโคบิลิน (วันเพ็ญ, 2549)



รูปที่ 2.7 โครงสร้างส่วนที่เป็นเฮเทอโรซิสต์ (Heterocyst) และอะคิเน็ต (Akinete) ของไซยาโนแบคทีเรีย

ที่มา : <https://www.studyblue.com/notes/note/n/lab-fina/deck/4587581>

แคโรทีนอยด์สำคัญที่พบในไซยาโนแบคทีเรียคือ เบต้า-แคโรทีน แคโรทีนที่พบในไซยาโนแบคทีเรียเท่านั้นคือ ฟลาวิน (Flavicin) และมีแซนโทฟิลล์ 2 ชนิดเท่านั้นที่พบในไซยาโนแบคทีเรีย คือ มิกโซแซนทิน (Myxoxanthin) และมิกโซแซนโทฟิลล์ Myxoxanthophyll) นอกจากนี้ ยังมีออสซิลลาแซนทิน (Oscillaxanthin) ซีอาแซนทิน (Zeaxanthin) ลูทีน (Lutein) อะฟานิโซฟิลล์ (Aphanizophyll) และอะฟานิซิน (Aphanicin) (วันเพ็ญ, 2549)

ส่วนไฟโคบิลินจะเป็นสารสีจำพวกโปรตีนที่ละลายน้ำได้หรือไฟโคบิลินโปรตีน จะอยู่รวมกันเป็นโมเลกุลใหญ่ หรือไฟโคบิลิโซม (Phycobilisome) ยึดอยู่กับเยื่อไทลาคอยด์ ไซยาโนแบคทีเรียมีไฟโคบิลิโปรตีน 4 ชนิด คือ (วันเพ็ญ, 2549)

1. ซี-ไฟโคไซยานิน (C-phycoyanin) ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 620 นาโนเมตรได้สูงที่สุด
2. แอลโลไฟโคไซยานิน (Allophycoyanin) ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 568 นาโนเมตรได้สูงที่สุด
3. ซี-ไฟโคอีริทริน (C-phycoerythrin) ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 565 นาโนเมตรได้สูงที่สุด
4. ไฟโคอีริโทรไซยานิน (Phycoerythrocyanin) ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 568 นาโนเมตรได้สูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ไชยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica*

ไชยาโนแบคทีเรียที่จำแนกอยู่ใน

Kingdom: Eubacteria

Phylum: Cyanobacteria

Class: Cyanophyceae

Subclass: Oscillatoriophycidae

Order: Chroococcales

Family: Aphanothecaceae

Genus: *Aphanothece*

Aphanothece halophytica เซลล์มีรูปร่างเป็นรูปทรงกระบอกสั้นๆ (รูปที่ 2.8) อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม มีสีเขียวเข้ม มีซีทโทอ์ท่มทรงกลมคล้าย *Nostoc* และเซลล์แต่ละเซลล์จะคล้าย *Gleothece* ด้วย ซึ่งต้องสังเกตว่า *Gleothece* ไม่มีซีทหุ้ม แต่ *Aphanothece* จะมีการสร้างซีทรวมเป็นกลุ่ม (วันเพ็ญ, 2549) ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 ลักษณะของไชยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Aphanothece halophytica เป็นไชยาโนแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความเค็มของเกลือ โซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ 0.25 โมลาร์ ถึง 3.0 โมลาร์ และสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีค่าพีเอชถึง 11 (สุรศักดิ์ และคณะ, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรีย

2.4.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีบทบาทสำคัญในการสะสมแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็ก เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นส่งผลให้เกิดการสะสมแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นในไซยาโนแบคทีเรียเนื่องจากเกิดสภาวะเครียดของโฟโตออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้น (Tripathi และคณะ, 2002)

2.4.2 แสง

แสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่ต้องควบคุมเพราะมีความสำคัญมากต่อการผลิตแคโรทีนอยด์และปริมาณชีวมวล (Cordero และคณะ, 2011) Del Campo และคณะ, (2004) พบว่า เมื่อความเข้มของแสงเพิ่มขึ้น ปริมาณของแอสต้าแซนทีนใน *Haematococcus pluvialis* เพิ่มขึ้นเป็นสามเท่า และนอกจากนั้นยังพบว่าปริมาณเบต้าแคโรทีนยังเพิ่มขึ้นใน *Dunaliella salina* ถึง 3.1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อมีการเปลี่ยนความเข้มของแสงจาก 100 เป็น 1,000 ไมโครโมลโฟตรอนต่อตารางเมตรต่อวินาที (Lamers และคณะ, 2010)

2.4.3 ไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตไขมันเท่านั้นและการผลิตแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสีเขียว การจำกัดปริมาณไนโตรเจนจะส่งผลให้มีการผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น แต่ทำให้ค่าผลได้ของชีวมวลลดลงหรือมีอัตราการเจริญลดลง (Cordero และคณะ, 2011)

2.4.4 ความเค็ม

ความเค็มมีผลที่แตกต่างกันออกไปตามสายพันธุ์และถิ่นที่อยู่ ซึ่งผลของความเค็มต่อการเจริญของเซลล์และการเกิดแคโรทีนอยด์นั้นมีความซับซ้อน สาหร่ายขนาดเล็กหลายสายพันธุ์สามารถทนต่อความเค็มได้ดี ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการสังเคราะห์กลีเซอรอล (Pick, 2002) Borowitzka และคณะ, 1991 พบว่า *Haematococcus pluvialis* และ *Chlorella zofingiensis* มีปริมาณของแอสต้าแซนทีนเพิ่มมากขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะเครียดจากความเค็ม

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กนกนอร์ (2543) ศึกษาการแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเป็น 0, 1 และ 10 กรัมต่อลิตร พบว่า *Calothrix* sp. ANCG 14 มีการเจริญแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ และมีการผลิตแคโรทีนอยด์แตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยมีการเจริญสูงสุดที่ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร และผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดที่ความเข้มข้น 0 กรัมต่อลิตร โดยผลิตได้ 3.18 กรัมต่อลิตร

Lilly และคณะ (1960) ทดลองเพาะเลี้ยง *Choanephora cucurbitarum* ที่ระดับพีเอชต่างๆ พบว่าการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้มากที่สุดที่พีเอช 7

Makarewicz และ McKell (1985) ทำการทดลองพบว่าไซเดียมคลอไรด์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Anacystis nidulans* แต่ทำให้ *Anacystis siamensis* มีการเจริญเติบโตลดลง

ไม่ว่ากรรรมใด ๆ ฟังสน ออกพิงห้ามมิเหตุดับแสงเนือหาและต้องอ งงถึงเงาของเอ็กสารทุคครั้งห้มีการนำเบใช้

อาจเป็นเพราะเซลล์ของ *Anacystis siamensis* มีขนาดเล็ก โซเดียมคลอไรด์ที่เติมลงไปทำให้เซลล์แตกบางส่วน

สร้อยญา (2537) รายงานว่า *Spirulina* จะผลิตเบต้าแคโรทีนได้สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในโครงการพิเศษ

ไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica*

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG₁₁ ที่เสริมด้วย Turk Island salt solution (ภาคผนวก ก)

3.3 สารเคมี

1. กรดซิตริก (Citric acid (C₆H₈O₇))
2. กรดบอริก (H₃BO₄)
3. คอปเปอร์ (II) ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต (CuSO₄.5H₂O)
4. แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต (CaCl₂.2H₂O)
5. โคบอลท์ไนเตรทเฮกซะไฮเดรต (Co(NO₃).6H₂O)
6. ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (ZnSO₄.7H₂O)
7. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
8. โซเดียมคาร์บอเนต (Na₂CO₃)
9. โซเดียมซัลเฟตแอนไฮไดรัส (Sodium sulphate anhydrous)
10. โซเดียมไนเตรท (NaNO₃)
11. โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต (NaMoO₄.2H₂O)
12. โซเดียมเอทิลีนไดอามีนเตตราซีเตต (Na₂EDTA)
13. ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl ether)
14. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)
15. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)
16. โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH₂PO₄)
17. เฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FeNH₄)
18. แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต (MgCl₂.6H₂O)
19. แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (MgSO₄.7H₂O)
20. แมงกานีส (II) คลอไรด์เตตระไฮเดรต (MnCl₂.4H₂O)
21. เอทานอล (Ethanol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 อุปกรณ์

1. กรวยแยก (Separating funnel) ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 250 มิลลิลิตร และ 100 มิลลิลิตร
3. คิวเวตต์ (Starna scientific)
4. เครื่องแก้ว เช่น ฟลาสก์, ปีกเกอร์, กระบอกตวง, จานเพาะเชื้อ ฯลฯ
5. เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Shaker incubator) (Gallempkamp T490811, UK)
6. เครื่องเขย่าสาร (Vortex) (Model K-550-GB Scientific Industries, Inc, USA)
7. เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic processor) (Vibra cell)
8. เครื่องชั่งน้ำหนักสถิตตำแหน่ง (Balance) (BSA2245-CW ของ Sartorius, Germany)
9. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) (Mettler-Toledo Group, Switzerland)
10. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centifuge) (UN.vet SAL-320R Hettich, UK)
11. ตู้ดูดควัน (Hood) (Science technology)
12. ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow) (International scientific supply HS123, Thailand)
13. ตู้อบลมร้อน (Oven) (Mammert, Germany)
14. ไมโครปิเปต (Micropipette) (Labnet, USA)
15. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) (UV-1800 SHIMADZU, Japan)
16. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (Autoclave) (Tommy kogyo co., Ltd., Japan)
17. หลอดปั่นเหวี่ยง (Centifuge tube) (Bioassey)
18. อ่างน้ำร้อน (Water bath) (CBN 28-30 Heto, Netherland)

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothace halophytica*

เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียในอาหาร BG₁₁ ที่เสริมด้วย Turk Island salt solution นำฟลาสก์ไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7-14 วัน นำเซลล์ที่เตรียมไว้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วปรับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร เริ่มต้นให้ได้ประมาณ 0.1 จากนั้น นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำเซลล์ที่ได้ไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica*

3.5.2.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์

เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ในอาหารเหลว BG₁₁ ที่เสริมด้วย Turk Island salt solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่แปรผันความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เป็น 0, 0.5, 1, 2 และ 3 โมลาร์ นำฟลาสก์ไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.5.2.2 ผลของโซเดียมไนเตรท

เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ในอาหารเหลว BG₁₁ ที่เสริมด้วย Turk Island salt solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่แปรผันความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทเป็น 0, 2.2, 4.4, 8.8 และ 17.6 มิลลิโมลาร์ นำฟลาสก์ไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.5.2.3 ผลของอุณหภูมิ

เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ในอาหารเหลว BG₁₁ ที่เสริมด้วย Turk Island salt solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่แปรผันอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงเป็น 25, 30, 35, 40 และ 50 องศาเซลเซียส นำฟลาสก์ไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.5.2.4 ผลของพีเอชเริ่มต้น

เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* ในอาหารเหลว BG₁₁ ที่เสริมด้วย Turk Island salt solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยแปรผันพีเอชเริ่มต้นของอาหารเพาะเลี้ยงเป็น 6, 7, 8 และ 9 นำฟลาสก์ไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.5.3 การสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์

การสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ทำโดยตามวิธีของ KMUTT (2001) โดยนำเซลล์แขวนลอยสาหร่ายมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำเซลล์ที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน นำเซลล์ที่แห้งแล้วมาบดให้ละเอียด ไปชั่งให้ได้ตามน้ำหนักที่ต้องการ ใส่สาหร่ายแห้งปริมาณ 0.02 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมหาทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมหาแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 60 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้น นำไปทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic) นาน 5 นาที นำไปแช่ในอ่างน้ำร้อน (Water bath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อทำการสกัดเอารงควัตถุออกจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์ แล้วปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปปั่นแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายสีเหลืองที่ได้ใส่ในหลอดทดลอง หุ้มด้วยกระดาษฟลอยด์เพื่อป้องกันการถูกแสง เติสารละลายสีเหลืองที่ได้ลงกรวยแยก เติมีไดเอทิลอีเทอร์ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 9 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นสีเหลืองและสีใส โดยที่สารละลายสีใสจะอยู่ชั้นล่าง ไชกรวยแยกเอาสารละลายสีใสทิ้งไป เหลือแต่ชั้นสีเหลืองของแคโรทีนอยด์แล้ว เติสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 9 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นสีใสและสีเหลือง จากนั้น เปิดก๊อกรวยแยกเอาสารละลายสีใสที่อยู่ชั้นล่างทิ้งไป นำสารละลายสีเหลืองใส่ลงในปิเปตอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยไดเอทิลอีเทอร์ จนได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้น เติมีโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Sodium sulphate anhydrous) เพื่อกำจัดน้ำที่เหลือ เเทงหลอดทดลองที่หุ้มด้วยกระดาษฟลอยด์เพื่อป้องกันการถูกแสง นำสารละลายสีเหลืองที่สกัดได้ไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร แล้วบันทึกผล คำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์ด้วยสูตรของ KMUTT ดังนี้

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g cell dry weight)} = \frac{A_{450} \times 25 \times 1000}{260 \times \text{mg cell dry}}$$

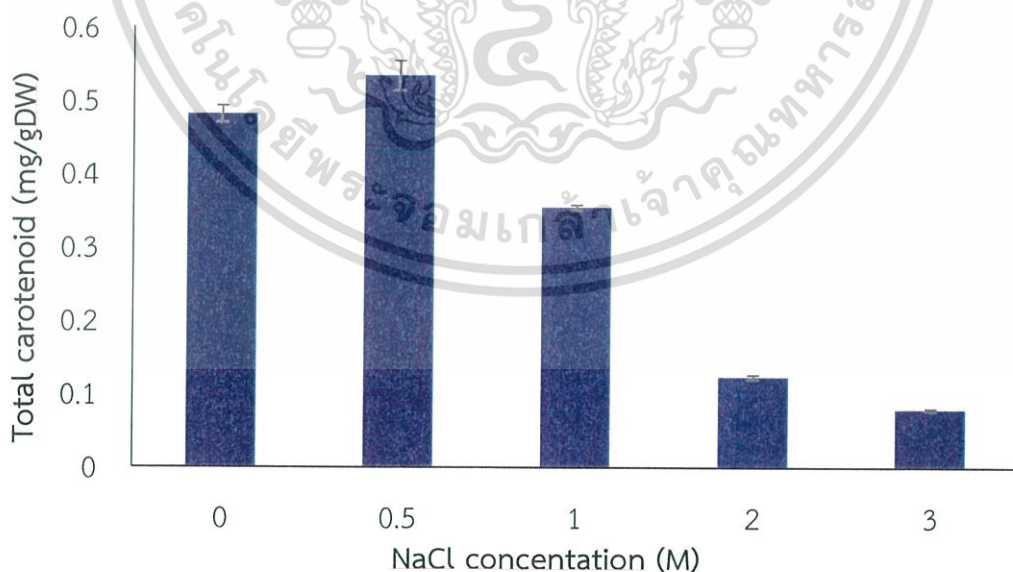
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายการทดลอง

4.1 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Aphanothece halophytica* ในสถานะที่แปรผันความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ในไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* โดยการแปรผันความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 โมลาร์ และทำการเพาะเลี้ยงโดยเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0.5 โมลาร์ เซลล์มีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุดคือ 0.533 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่ 4.1) เซลล์ที่อยู่ในอาหารที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ 1, 2 และ 3 โมลาร์ ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง และน้อยกว่าเซลล์ที่อยู่ในอาหารที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0 โมลาร์ เนื่องจากความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0.5 โมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *A. halophytica* ส่วนในอาหารที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 1, 2, และ 3 โมลาร์ เป็นสถานะที่มีความเข้มข้นเกลือสูง จึงทำให้เซลล์บางเซลล์ไม่สามารถทนต่อแรงดันออสโมติกได้และตายไป ส่งผลให้ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์น้อย ส่วนในสถานะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0 โมลาร์ เป็นสถานะที่ทำให้เกิดความเครียด เซลล์มีการเจริญได้น้อยและมีการผลิตแคโรทีนอยด์ออกมาในปริมาณพอดู



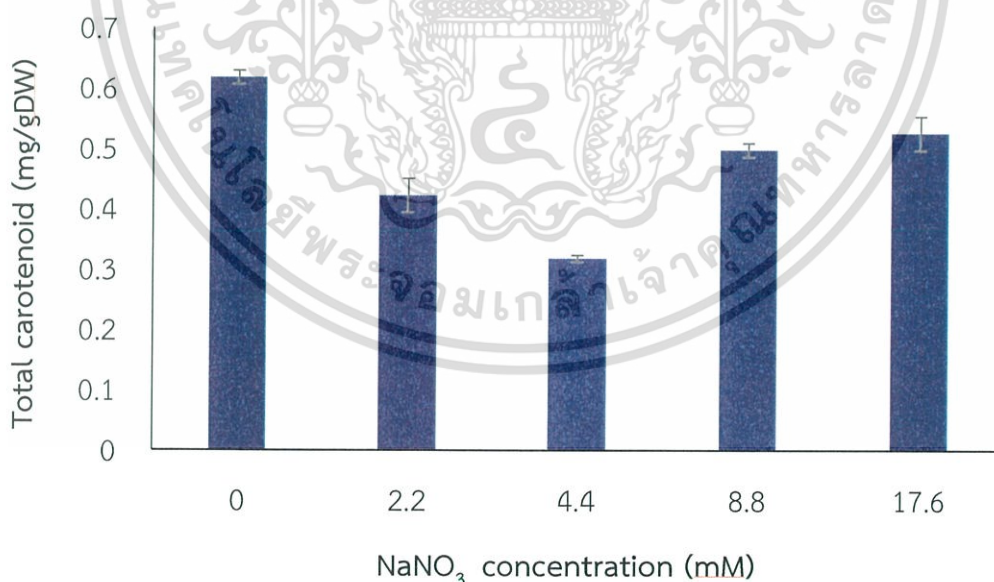
รูปที่ 4.1 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก *Aphanothece halophytica* ในสถานะที่มีความเข้มข้น

ของโซเดียมคลอไรด์ต่างกัน รับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองของ Makarewicz และ McKell (1985) พบว่าโซเดียมคลอไรด์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Anacystis nidulans* แต่ในกรณี *A.siamensis* เมื่อเติมโซเดียมคลอไรด์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงจะทำให้การเจริญลดลง อาจเป็นเพราะเซลล์ของ *A.siamensis* มีขนาดเล็ก โซเดียมคลอไรด์ที่เติมลงไปแทนที่จะส่งเสริมการเจริญกลับทำให้เซลล์แตกบางส่วนจึงลดลง

4.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Aphanothece halophytica* ในสถานะที่แปรผันความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ในไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* โดยแปรผันความเข้มข้นของเกลือโซเดียมไนเตรท 0, 2.2, 4.4, 8.8 และ 17.6 มิลลิโมลาร์ พบว่าในสถานะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทเท่ากับ 0 มิลลิโมลาร์ เซลล์มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุดเท่ากับ 0.617 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่ 4.2) เนื่องจากการขาดโซเดียมไนเตรททำให้เซลล์เกิดความเครียด—เซลล์จึงมีการผลิตแคโรทีนอยด์ออกมาในปริมาณมาก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของกนกอร (2543) ที่ทำการทดลองแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทในอาหารเป็น 0, 1.5 และ 3 กรัมต่อลิตร พบว่า *Calothrix* sp. ANCG14 มีการเจริญไม่แตกต่างกัน แต่การผลิตแคโรทีนอยด์แตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยมีการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดได้เท่ากับ 2.96 กรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมไนเตรท (0 กรัมต่อลิตร)

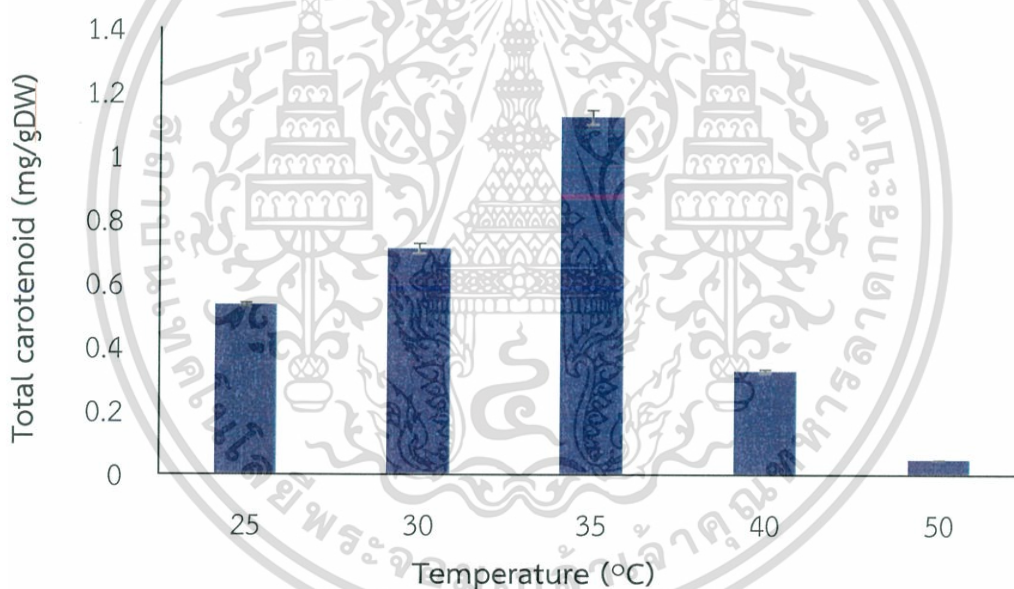


รูปที่ 4.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก *Aphanothece halophytica* ในสถานะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Aphanothece halophytica* ในสถานะที่มีการแปรผันอุณหภูมิ

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ในไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* โดยแปรผันอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 25, 30, 35, 40 และ 50 องศาเซลเซียสพบว่า ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เซลล์มีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 1.122 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่ 4.3) แต่ที่อุณหภูมิที่ต่ำกว่าและสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส เซลล์จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง เนื่องจากที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การผลิตแคโรทีนอยด์ของ *A. halophytica* ส่วนที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ค่อนข้างสูง ทำให้เซลล์บางเซลล์ไม่สามารถทนได้แล้วตายไป ส่งผลให้ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์น้อยลง ในขณะที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับสภาวะปกติ เซลล์สามารถเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ได้อยู่ แต่น้อยกว่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส



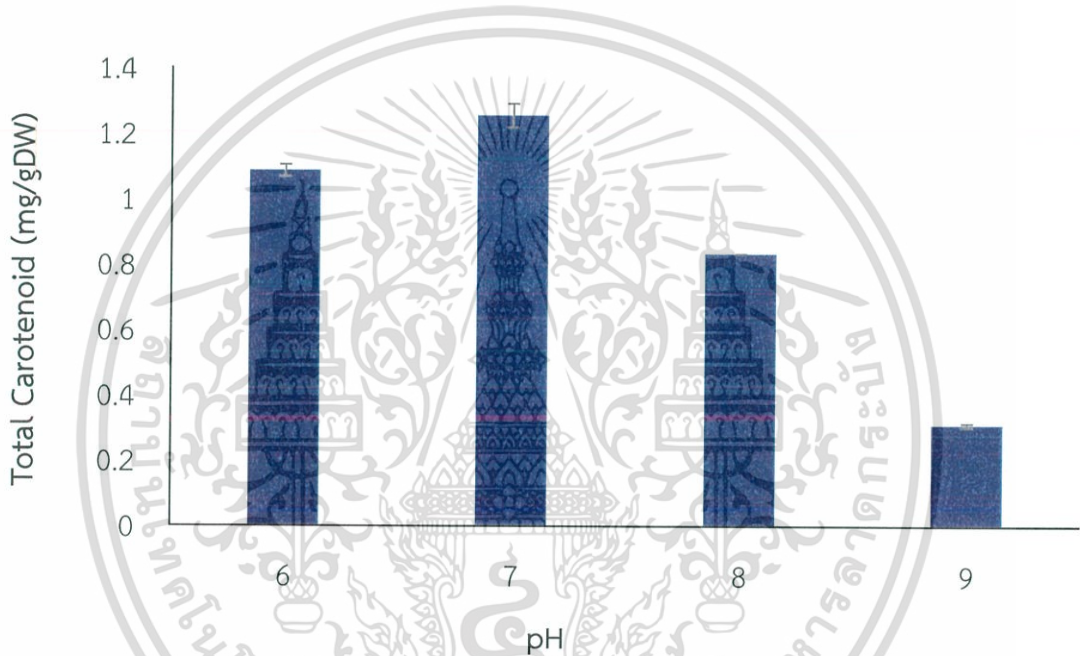
รูปที่ 4.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก *Aphanothece halophytica* ในสถานะที่มีอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

จากการทดลองของ Zarrouk (1966) พบว่าที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Spirulina* อยู่ระหว่าง 35-45 องศาเซลเซียส และ Allen และ stainer (1968) พบว่าที่อุณหภูมิ 35-45 องศาเซลเซียส จะมีไซยาโนแบคทีเรียแพร่กระจายอยู่มากที่สุด สอดคล้องกับสร้อยญา (2537) ที่รายงานว่า *Spirulina* จะผลิตเบต้าแคโรทีนได้สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ 25-35 องศาเซลเซียส และพบว่า สอดคล้องกับการทดลองของ กนกอร (2543) ที่พบว่า *Calothrix* sp. ANCG14 มีการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดเมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งผลิตได้ 2.49 กรัมต่อลิตร

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่มีค่าพีเอช เริ่มต้นที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ในไซยาโนแบคทีเรีย *A. halophytica* โดยแปรผันค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6, 7, 8 และ 9 ของอาหารเพาะเลี้ยง พบว่าในสภาวะที่มีค่าพีเอช เริ่มต้นเท่ากับ 7 เซลล์มีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 1.254 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนัก เซลล์แห้ง (รูปที่ 4.4) แต่ในสภาวะที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นมากกว่าหรือน้อยกว่า 7 พบว่าปริมาณ แคโรทีนอยด์ที่ได้ลดลง เนื่องจากที่พีเอชเท่ากับ 7 เป็นสภาวะที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของเซลล์ ทำให้ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์มาก ในขณะที่ค่าพีเอชอื่นๆ ก็ยังสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้แต่ผลิตได้น้อยลง

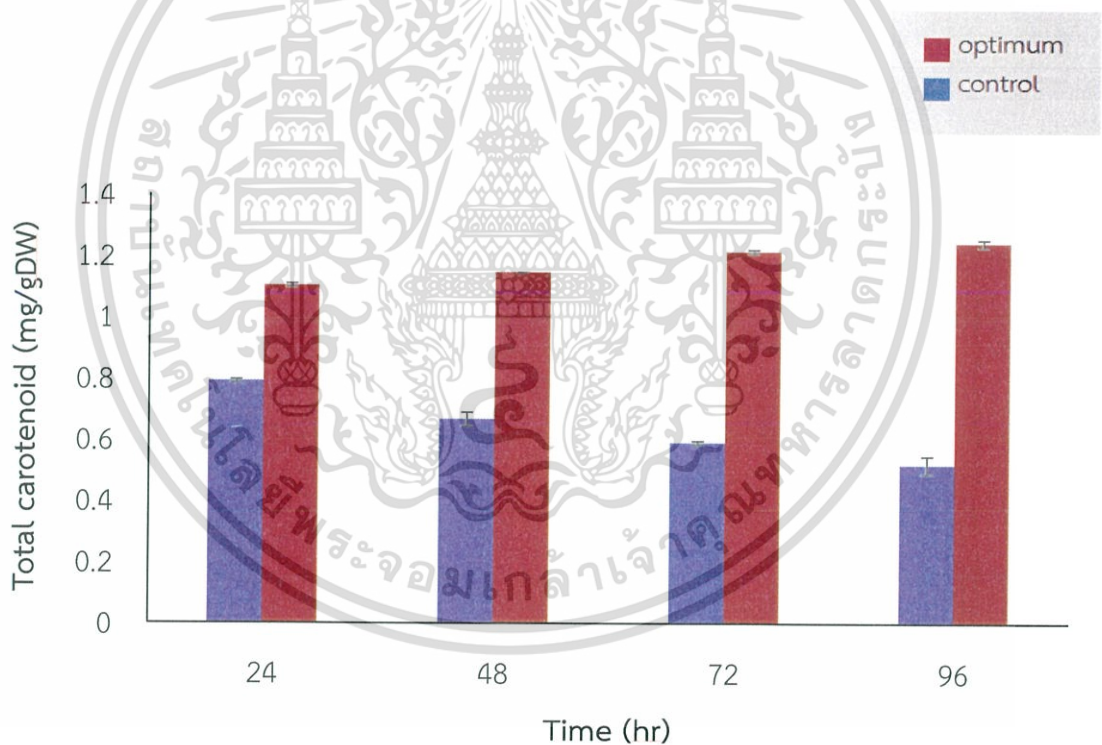


รูปที่ 4.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่มีค่าพีเอช เริ่มต้นแตกต่างกัน

จากผลการทดลองจะเห็นว่าเป็นไปตามที่ Lilly และคณะ (1960) พบว่า *Choanephora cucurbitarum* สังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้ดีที่ระดับพีเอชของอาหารประมาณ 7 และ Ripпка และคณะ (1979) กล่าวว่า ไซยาโนแบคทีเรียเจริญได้ในสภาพพีเอชเป็นกลางถึงเป็นด่าง (พีเอช 7-10)

4.5 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่เหมาะสม เทียบกับสภาวะปกติ

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวทวนเค็ม *A. halophytica* พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *A. halophytica* คือที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมไนเตรท 0.5 โมลาร์ ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0 มิลลิโมลาร์ พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นำสภาวะเหล่านี้มารวมกันและทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง เทียบกับชุดควบคุม ที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0 โมลาร์ ความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท 17.6 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่าที่สภาวะ optimum เซลล์มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่ 1.242 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์เพียง 0.516 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่ 4.5) จึงกล่าวได้ว่าความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์หรือความเค็มเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *A. halophytica* มากที่สุด



รูปที่ 4.5 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการผลการทดลอง

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของไซยาแบคทีเรีย *A. halophytica* พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.5 โมลาร์ ความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท 0 มิลลิโมลาร์ พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมมารวมกันและทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าเซลล์ *A. halophytica* มีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1.242 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเทียบกับสภาวะควบคุมที่ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์เพียง 0.517 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงระดับใหญ่ เพื่อใช้ประโยชน์ได้จริงระดับในอุตสาหกรรม

5.2.2 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับปัจจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้องต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของไซยาโนแบคทีเรีย เช่น ความเข้มแสง เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกอก จารุจารีต. 2543. “ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียเพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. วิทยาสาร่าย. กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์

สร้อยญา พันธุ์พุกษ์. 2537. “สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลีนาเพื่อผลิต เบต้าแคโรทีน.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สิรินทร์ วิโมกข์สันต์, เจมส์ เอ โอลสัน, ยงยุทธ ยุทธวงศ์, สุวิทย์ เพียรกิจกรรม, สกล พันธุ์ยิ้ม และมนตรี จุฬาวัดนทล. 2523. *ชีวเคมี ฉบับปรับปรุงใหม่*. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยมหิดล.

Allen, M.M, Stainer, R.Y. 1968. “Selective isolation of blue-green algae from water and soil.” *J.Gen. Microbiol.* 51 : 203-209.

Camara, B., Moneger, R. 1981. “Carotenoids biosynthesis. Invitroconversion of antheraxanthin to capsanthin by a chromoplast enriched fraction of capsicum fruits.” *Biochem. Biophy. Res. Comm.* 99 : 1117.

Ciegler, A. 1965. “Microbial Carotenogenesis.” *Adv. Appl. Microbiol.* 7 : 1-29.

Cordero BF, Couso J, León R, Rodríguez H, Vargas MA. 2011. “ Enhancement of carotenoids biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* by nuclear transformation using a phytoene synthase gene isolated from *Chlorella zofingiensis*.” *Appl Microbiol Biotechnol.* 91(2):341-51.

Goedheer, J.C. 1969. “Energy transfer from carotenoids to chlorophyll in blue-green, red and green algae and greening bean leaves.” *Biochem. Biophys. Acta.* 172 : 252-265.

Goodwin, T.W., Willmer, J.S. 1962. “Studies in carotenogenesis4. Nitrogen metabolism and carotene synthesis in *Phycomyces blakesleanus*.” *Biochem.J.* 51 : 213-217.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- Goodwin, T.W., Willmer, J.S. 1962. "Studies in carotenogenesis4. Nitrogen metabolism and carotene synthesis in *Phycomyces blakesleeanus*." *Biochem.J.* 51 : 213-217.
- Humbeck, K. 1990. "Light-dependent carotenoid biosynthesis in mutant C-6D of *Scenedesmus obliquus*." *Photochem. Photobiol.* 51 : 113-118.
- KMUTT. 1996. Laboratory document : A regional workshop on mass cultivation of microalgae. Bangkok : King mongkut's Institute of technology Thonburi.
- Krinsky, N.I. 1971. *Carotenoids*. Basil : Birkhaeuser.
- Lilly, V.G., Barnett, H.L., Krause, R.F. 1960. "The production of carotene by *Choanephora cucurbitarum*." *W.Va.Agric.Expt.Sta.Bull.* 441T.
- Makarewicz, J.C., McKellan, D.A. 1985. "Growth response of *Anacystis nidulans* to sodium and phosphate availability. *Hydrobiol.*" 121 : 129-137.
- MiKi, W., Yamakuchi, K., Konosu, S. 1986. "Carotenoid composition of *Spirulina maxima*." *Bull. Jun. Sci. Fish.* 52 : 1225-1227.
- Moore, A.L., Joy, A., Tom, R., Gust, D., Moore, T.A. 1982. "Photoprotection by carotenoids during photosynthesis : Motional dependence of intramolecular energy transfer." *Science.* 216 : 982-984.
- Nakayama, T.O.M. 1962. *Physiology and Biochemistry of Algae*. New York : Academic Press.
- Peterson, A.H.m1996. *Genome Mapping in Plants*. Texas A&M University.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

Rippka, R.J., Deruelles, B., Waterbury, Herdman, M., Stainer, R.Y. 1979. "Generic assignment strain historie and properties of pure culture of cyanobacteria." *J.Gen.Microbiol.* 11 : 1-61.

Surasak Laloknam, Kimihiro Tanaka and Teruhiro Takaba. 2007 "Halotolerant Cyanobacterium *Aphanothece halophytica* Cantains a Betaine Transporter Active at Alkaline pH and High Salinity" *Appl Environ Microbiol.*72(9):618-6026

Soeder, C.J. 1978. *Biochemical Aspects of New Protein Food and Biochemical Aspects of Single-cell Protein.* Copenhagen : Pergamoon Press.

Will III, O.H., Ruddat, M., Garber, E.D., Kezdy, F.J. 1984. "Characterization of carotene accumulation in *Ustilago violacea* using high-performance liquid chromatograpraphy." *Current Microbiol.* 10 : 57-64.

Tripathi U., Sarada R., Ravishankar G. 2002. "Effect of culture conditions on growth of green alga *Haematococcus pluvialis* and astaxanthin production." *Acta Physiol. Plant.* 24, 323-329.

Zarrouk, C. 1966. "Contribution a le tude dual cyanophyceae. Influence de divers facteurs physiques sur la croissance et al photosynthesis de *Spirulina maxima*." Ph.D dissertation : Paris.

[Online].Available: <http://www.wormsteps.com/carotene-and-carotenoids>

[Online].Available: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1228/carotenoid>

[Online].Available: http://2012.igem.org/Team:ParisSaclay/Project/Project_Description

[Online].Available: http://www.elip-online.com/doctors49/food_color001.html

[Online].Available: <http://momochiji.exteen.com/20080920/beta-carotene-anti-oxidant>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

[Online].Available:<http://www.biologydiscussion.com/bacteria/cyanobacteria/cyanobacteria-occurrence-morphology-and-cell-structure/52036>

[Online].Available: <https://www.studyblue.com/notes/note/n/labfinal/deck/4587581>

[Online].Available:http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=40562



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG₁₁ส่วนประกอบอาหาร BG₁₁ 100 เท่า

ความเข้มข้น

โซเดียมไนเตรท (NaNO ₃)	149.55	กรัม/ลิตร
แมกนีเซียมซัลเฟต (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	7.48	กรัม/ลิตร
แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl ₂ ·2H ₂ O)	3.6	กรัม/ลิตร
กรดซิตริก (Citric acid (C ₆ H ₈ O ₇))	0.6	กรัม/ลิตร
โซเดียมอีดีทีเอ (Na ₂ EDTA)	0.104	กรัม/ลิตร

ส่วนประกอบ Trace metal mix 1000 เท่า

กรดบอริก (H ₃ BO ₄)	2.86	กรัม/ลิตร
แมงกานีส(II)คลอไรด์ (MnCl ₂ ·4H ₂ O)	1.81	กรัม/ลิตร
ซิงค์ซัลเฟต (ZnSO ₄ ·7H ₂ O)	0.222	กรัม/ลิตร
โซเดียมโมลิบเดต (NaMoO ₄ ·2H ₂ O)	0.39	กรัม/ลิตร
คอปเปอร์(II)ซัลเฟต (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	0.079	กรัม/ลิตร
โคบอลท์ไนเตรท (Co(NO ₃) ₆ ·6H ₂ O)	0.0494	กรัม/ลิตร

ส่วนประกอบสาร 3 ตัว

โซเดียมคาร์บอเนต (Na ₂ CO ₃)	2	กรัม/100 มิลลิลิตร
โซเดียมคาร์บอเนต (Na ₂ CO ₃ ·10H ₂ O)	5.4	กรัม/100 มิลลิลิตร
โพแทสเซียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH ₂ PO ₄)	3.05	กรัม/100 มิลลิลิตร
โพแทสเซียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH ₂ PO ₄ ·3H ₂ O)	4	กรัม/100 มิลลิลิตร
เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FeNH ₄ Citric)	0.6	กรัม/100 มิลลิลิตร

ส่วนประกอบสาร Stock A

โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	6.66	กรัม/ลิตร
แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl ₂ ·6H ₂ O)	55	กรัม/ลิตร
แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl ₂ ·2H ₂ O)	14.66	กรัม/ลิตร

ส่วนประกอบสาร Stock B

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)

74.8 กรัม/ลิตร

ส่วนประกอบเกลือ

โซเดียมคลอไรด์

28.16 กรัม/ลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการสกัดโครทินอยด์

การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 9 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ซังโซเดียมคลอไรด์	90	กรัม
ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น	1000	มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายเอทานอล 90 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร)

เอทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ (Absolute ethanol)	90	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น	100	มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 60 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ซังโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	60	กรัม
ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น	100	มิลลิลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ข้อมูลการทดลอง

ตารางที่ ค-1 ผลการสกัดแคโรทีนอยด์ใน *Aphanothece halophytica* ในสถานะที่มี NaCl ที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น NaCl (M)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg)	ค่า OD ที่ 450 nm	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gCDW)	ปริมาณแคโรทีนอยด์เฉลี่ย (mg/gCDW)
0 M	12	0.061	0.489	0.481
		0.059	0.473	
0.5 M	12	0.057	0.548	0.534
		0.054	0.519	
1 M	12	0.073	0.351	0.354
		0.074	0.356	
2 M	12	0.026	0.125	0.123
		0.025	0.121	
3 M	12	0.017	0.041	0.040
		0.016	0.039	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-2 ผลการสกัดแคโรทีนอยด์ใน *Aphanothece halophytica* ในสถานะที่มี NaNO_3 ที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น NaNO_3 (mM)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg)	ค่า OD ที่ 450 nm	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gCDW)	ปริมาณแคโรทีนอยด์เฉลี่ย(mg/gCDW)
0 mM	12	0.078	0.625	0.617
		0.076	0.609	
0.22 mM	12	0.050	0.401	0.421
		0.055	0.441	
0.44 mM	12	0.040	0.321	0.317
		0.039	0.313	
0.88 mM	12	0.063	0.505	0.497
		0.061	0.489	
1.76 mM	12	0.068	0.545	0.525
		0.063	0.505	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-3 ผลการสกัดแคโรทีนอยด์ใน *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่มีอุณหภูมิแตกต่างกัน

อุณหภูมิ (°C)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg)	ค่า OD ที่ 450 nm	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gCDW)	ปริมาณแคโรทีนอยด์เฉลี่ย (mg/gCDW)
25	12	0.068	0.545	0.533
		0.065	0.521	
30	12	0.088	0.705	0.709
		0.089	0.713	
35	12	0.138	1.106	1.122
		0.142	1.138	
40	12	0.040	0.321	0.325
		0.041	0.329	
50	12	0.006	0.048	0.048
		0.006	0.048	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-4 ผลการสกัดแคโรทีนอยด์ใน *Aphanothece halophytica* ในสถานะที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน

พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง(mg)	ค่า OD ที่ 450 nm	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gCDW)	ปริมาณแคโรทีนอยด์เฉลี่ย (mg/gCDW)
6	12	0.136	1.099	1.086
		0.134	1.073	
7	12	0.156	1.205	1.254
		0.157	1.258	
8	12	0.104	0.833	0.833
		0.104	0.833	
9	12	0.038	0.304	0.309
		0.039	0.313	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ตารางสถิติ

ตารางที่ ง-1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแคโรทีนอยด์ในไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกัน

Descriptive

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.0	2	.48100	.011314	.008000	.37935	.58265	.473	.489
.5	2	.53350	.020506	.014500	.34926	.71774	.519	.548
1.0	2	.35350	.003536	.002500	.32173	.38527	.351	.356
2.0	2	.12300	.002828	.002000	.09759	.14841	.121	.125
3.0	2	.04000	.001414	.001000	.02729	.05271	.039	.041
Total	10	.30620	.205030	.064836	.15953	.45287	.039	.548

ANOVA

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.378	4	.094	826.980	.000
Within Groups	.001	5	.000		
Total	.378	9			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)

Duncan^a

ความเข้มข้น NaCl (M)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
3.0	2	.04000				
2.0	2		.12300			
1.0	2			.35350		
.0	2				.48100	
.5	2					.53350
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-2 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแคโรทีนอยด์ในไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรดแตกต่างกัน

Descriptives

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					.00	2		
.22	2	.42100	.028284	.020000	.16688	.67512	.401	.441
.44	2	.31700	.005657	.004000	.26618	.36782	.313	.321
.88	2	.49700	.011314	.008000	.39535	.59865	.489	.505
1.76	2	.52500	.028284	.020000	.27088	.77912	.505	.545
Total	10	.47540	.107467	.033984	.39852	.55228	.313	.625

ANOVA

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.102	4	.026	67.568	.000
Within Groups	.002	5	.000		
Total	.104	9			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)

Duncan^a

ความเข้มข้น NaNO ₃ (mM)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
.44	2	.31700			
.22	2		.42100		
.88	2			.49700	
1.76	2			.52500	
.00	2				.61700
Sig.		1.000	1.000	.209	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแคโรทีนอยด์ในไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของพีเอชแตกต่างกัน

Descriptives

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
6	2	1.08600	.018385	.013000	.92082	1.25118	1.073	1.099
7	2	1.23150	.037477	.026500	.89479	1.56821	1.205	1.258
8	2	.83300	.000000	.000000	.83300	.83300	.833	.833
9	2	.30850	.006364	.004500	.25132	.36568	.304	.313
Total	8	.86475	.375983	.132930	.55042	1.17908	.304	1.258

ANOVA

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.988	3	.329	738.649	.000
Within Groups	.002	4	.000		
Total	.990	7			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)

Duncan^a

pH	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
9	2	.30850			
8	2		.83300		
6	2			1.08600	
7	2				1.23150
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแคโรทีนอยด์ในไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

Descriptives

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
25	2	.70900	.005657	.004000	.65818	.75982	.705	.713
30	2	.53300	.016971	.012000	.38053	.68547	.521	.545
35	2	1.12200	.022627	.016000	.91870	1.32530	1.106	1.138
40	2	.32500	.005657	.004000	.27418	.37582	.321	.329
50	2	.04800	.000000	.000000	.04800	.04800	.048	.048
Total	10	.54740	.381745	.120718	.27432	.82048	.048	1.138

ANOVA

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.311	4	.328	1896.265	.000
Within Groups	.001	5	.000		
Total	1.312	9			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)

Duncan^a

อุณหภูมิ (°C)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
50	2	.04800				
40	2		.32500			
30	2			.53300		
25	2				.70900	
35	2					1.12200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแคโรทีนอยด์ในไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica* ในสภาวะควบคุม

Descriptives

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					24	2		
48	2	.668550	.0276479	.0195500	.420144	.916956	.6490	.6881
72	2	.588900	.0056569	.0040000	.538075	.639725	.5849	.5929
96	2	.516850	.0283550	.0200500	.262091	.771609	.4968	.5369
Total	8	.640900	.1091469	.0385893	.549651	.732149	.4968	.7933

ANOVA

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.082	3	.027	66.780	.001
Within Groups	.002	4	.000		
Total	.083	7			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ปริมาณแคโรทีนอยด์ mg/gDW

Duncan^a

สภาวะปกติ (hr)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
96	2	.516850			
72	2		.588900		
48	2			.668550	
24	2				.789300
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแคโรทีนอยด์ในไซยาโนแบคทีเรีย *Aphanothece halophytica* ในสภาวะที่เหมาะสม

Descriptives

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					24	2		
48	2	1.145800	.0000000	.0000000	1.145800	1.145800	1.1458	1.1458
72	2	1.213900	.0056569	.0040000	1.163075	1.264725	1.2099	1.2179
96	2	1.242000	.0113137	.0080000	1.140350	1.343650	1.2340	1.2500
Total	8	1.175875	.0592959	.0209643	1.126302	1.225448	1.0978	1.2500

ANOVA

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.024	3	.008	169.584	.000
Within Groups	.000	4	.000		
Total	.025	7			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/gDW)

Duncan^a

optimind(hr)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
24	2	1.101800			
48	2		1.145800		
72	2			1.213900	
96	2				1.242000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้