สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนอุณหภูมิสูงในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic Condition เพื่อสกัดรงควัตถุต่างๆ

นางสาว ปาจรีย์ เมฆมานะ

นางสาว สิริพร ศรีรัตนวิเชียร

วท.
ว/5420
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....83753
วัน,เดือน,ปี.....15 ต.ค. 2551

b.....11977516
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The Study on Cultivation of Thermotorelant Cyanobacteria in Heterotrophic Condition and Their Pigments

Miss Pajaree Mekmana

Miss Siriporn Srirattanavichein

Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนอุณหภูมิสูงในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic Condition เพื่อสกัดรงควัตถุต่างๆ
ชื่อนักศึกษา	น.ส. ปาจรีย์ เมฆมานะ รหัส 47050516
	น.ส. สิริพร ศรีรัตนวิเชียร รหัส 47050902
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ คนึงกานต์ กลั่นบุศย์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการการตรวจสอบโครงงานพิเศษ	ลงลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ดร. จิดาภา ทิน้อย	
กรรมการ ดร. จิตติ ท่าไว	
กรรมการ อ. คนึงกานต์ กลั่นบุศย์	

.....

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การศึกษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนอุณหภูมิสูงในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic Condition เพื่อสกัดรงควัตถุต่างๆ

นักศึกษา น.ส. ปาจรีย์ เมฆมานะ รหัส 47050516

น.ส. สิริพร ศรีรัตนวิเชียร รหัส 47050902

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2550

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์คนึงกานต์ กลั่นบุศย์

บทคัดย่อ

จากการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมระหว่าง autotrophic และ heterotrophic condition โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและเลี้ยงในที่มืดหมด เป็นเวลา 30 วัน ต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 3 สายพันธุ์ คือ *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48 พบว่าในสภาวะ heterotrophic สาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถเจริญได้แต่ไม่ดีเท่ากับการเพาะเลี้ยงในสภาวะ autotrophic โดยใช้อาหาร BG-11 ในสภาวะที่มีแสงโดยพบว่า

Synechococcus sp. สายพันธุ์ DSK 72 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 1.188 ในวันที่ 9 และมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.274 ต่อวันและระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เท่ากับ 2.520 วัน ในช่วงวันที่ 0-9 พบว่ามีปริมาณคลอโรฟีลล์ เอ 1.574 มิลลิกรัมกรัมต่อลิตร มีปริมาณไฟโคไซยานิน 14.384 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.012 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์

Oscillatoria sp. สายพันธุ์ DSK 52 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตรและเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.322 มิลลิกรัมกรัมต่อลิตรในวันที่ 30 และมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.264 ต่อวัน และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เท่ากับ 2.622 วัน ในช่วงวันที่ 0-6 พบว่ามีปริมาณคลอโรฟีลล์ เอ 1.853 มิลลิกรัมกรัมต่อลิตร มีปริมาณไฟโคไซยานิน 7.615 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.013 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์

Phormidium sp. สายพันธุ์ DSK 48 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.507 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 15 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.346 ต่อวัน และระยะเวลาที่เซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เท่ากับ 2.002 วัน ในช่วงวันที่ 0-6 พบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ 1.763 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณไฟโคไซยานิน 16.076 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.025 มิลลิกรัมต่อกรัมของเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	The Study on Cultivation of Thermotorclant Cyanobacteria in Heterotrophic Condition and Their Pigments
Name	Miss Pajaree Mekmana
	Miss Siriporn Srirattanavichein
Department	Applied Biology
Program	Industrial Microbiology
Academic Year	2007
Special Project Advisor	Khanungkan Klanbut

Abstract

In this study, finded out the appropriatc cultivation in autotrophic and heterotrophic condition using glucose as carbon source in darkness for 30 day. Three genera of blue-green algae were cultivated ; *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 and *Phormidium* sp. DSK 48. They could grow in heterotrophic condition but not better than grew in autotrophic condition in BG-11 medium under illumination.

Synechococcus sp. DSK 72 was cultured in BG-11 medium supplemented with 0.02 g/l cycloheximine and 5 g/l glucose. The result found that the highest absorbance at 560 nm was 1.188 for cultivation time 9 day and Specific growth rate (μ_{max}) and Doubling time (t_d) were 0.275 day^{-1} and 2.520 day between 0-9 days, respectively . The Chlorophyll A, Phycocyanin, and Carotenoid contents were 1.574 mg/l, 14.384 mg/g (dry weight) and 0.012 mg/ g (cell), respectively

Oscillatoria sp. DSK 52 was cultured in BG-11 medium supplemented with 0.02 g/l cycloheximine and 1 g/l glucose. The result found that thc highest growth of dry weight was 0.322 mg/l for cultivation time 30 day and Specific growth rate (μ_{max}) and Doubling time (t_d) were 0.264 day^{-1} and 2.622 day between 0-6 days, respectively . The Chlorophyll A, Phycocyanin, and Carotenoid contents were 1.853 mg/l, 7.615 mg/g(dry weight) and 0.013 mg/ g (cell), respectively

Phormidium sp. DSK 48 was cultured in BG-11 medium supplemented with 0.02 g/l cycloheximine and 1 g/l glucose. The result found that the highest growth of dry weight was 0.507 mg/l for cultivation time 30 day and Specific growth rate (μ_{max}) and Doubling time (t_d) were 0.346 day^{-1} and 2.002day between 0-6 days, respectively .The Chlorophyll A, Phycocyanin,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

and Carotenoid contents were 1.785mg/L, 7.615 mg/dry weight and 0.025 mg/ g of cell, respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลงได้เพราะความช่วยเหลือจากบุคลากรหลายท่าน ผู้เขียนจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง โดยเฉพาะอาจารย์คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ ที่ได้ให้คำแนะนำ คำชี้แจง คำแก้ไข ตักเตือน ตลอดจนความเมตตาและให้กำลังใจ จนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร.จิดาภา ทิน้อย และ ดร.จิตติ ท่าไว ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำต่างๆในการแก้ไขและตรวจทานงานวิจัยให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ เจ้าหน้าที่ในห้องปฏิบัติการทุกท่าน โดยเฉพาะ คุณประสิทธิ์ คุณวิทยา คุณเอกภพ และพี่หมูที่ให้ความช่วยเหลือและให้ความสะดวกในเรื่องอุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ รวมทั้งสถานที่ในการปฏิบัติงาน ที่ทำให้เราทำงานได้อย่างสมบูรณ์และได้รับความสะดวกยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณห้องสมุดมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเฉพาะเจ้าหน้าที่ประจำห้องสมุดคณะประมง ที่ให้ความเอื้อเฟื้อและให้ความสะดวกแก่เราในการค้นคว้าหนังสือและเอกสารต่างๆ ซึ่งทำให้เราได้รับความสะดวก รวดเร็วในการค้นคว้ามากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณพี่กนกวรรณ การเจริญดี พี่กุลพัฒน์ คมกฤส และพี่สุมาลี ปานทอง ที่ได้ทำการเก็บรักษาพันธุ์ของสาหร่ายที่เรานำมาใช้ในการทดลอง ตลอดจนให้ความรู้และคำปรึกษาในการทำการทดลอง

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้ความดูแล ให้กำลังใจ และให้ความสนับสนุนทางด้านทุนสนับสนุนค่าเล่าเรียนและสนับสนุนการทำงานต่างๆ ซึ่งช่วยให้โครงงานพิเศษของเราลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณนายปิยะศักดิ์ คำเซ่ง ที่ให้ความช่วยเหลือในทุกๆด้านตลอดระยะเวลาของการทำการทดลอง

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณเพื่อนๆทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้ และขอบคุณสำหรับกำลังใจที่เพื่อนๆ ได้มอบให้ ซึ่งทำให้เราทำโครงงานพิเศษนี้ได้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

ปาจรีย์ เมฆมานะ

สิริพร ศรีรัตนวิเชียร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	5
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	32
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	55
เอกสารอ้างอิง	57
ภาคผนวก	60
ภาคผนวก ก	61
ภาคผนวก ข	69
ภาคผนวก ค	77
ประวัติผู้เขียน	81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การจัดกลุ่มสิ่งมีชีวิตตามการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่างๆ	7
2	ชนิดของสารอาหารที่สาหร่ายนำมาใช้ในรูปของแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน	18
3	สาหร่ายที่เขียวแกมน้ำเงินที่สามารถเจริญในห้องทดลองในที่มืดหมดโดยใช้สารอินทรีย์เป็นสับเสตรท	19
4	ค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุชนิดต่าง ๆ (นาโนเมตร) ของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48	51
5	ค่าปริมาณของรงควัตถุชนิดต่าง ๆ ของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72 *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48	51
6	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของ *Synechococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	70
7	ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Synechococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	71
8	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Synecococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	72
9	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
10	ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยง คือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	73
11	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	74
12	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	74
13	ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยง คือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	75
14	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1	แสดงองค์ประกอบของคลอโรพลาสต์	16
2	แสดงกระบวนการสังเคราะห์แสง	16
3	แสดงกระบวนการสังเคราะห์แสงทั้งในสภาวะที่มีกระบวนการที่ต้องใช้แสง (light-dependent reaction) และกระบวนการที่ไม่ต้องใช้แสง (light-independent reaction)	17
4	การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Synechococcus* sp. สายพันธุ์ DSK 72 *Oscillatoria* sp. สายพันธุ์ DSK 52 และ *Phormidium* sp. สายพันธุ์ DSK 48 ในขวดรูปชมพู่ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic condition โดยเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีแสง	29
5	*Synechococcus* sp. DSK 72	32
6	*Oscillatoria sp.* DSK 52	33
7	*Phormidium* sp. DSK 48	33
8	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของ *Synechococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	35
9	ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Synechococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucosc 5 กรัมต่อลิตร (5g)	36
10	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ของ *Synecococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
11	แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Synecococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	38
12	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	40
13	ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยง คือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	41
14	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	42
15	ค่า แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
16	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	45
17	ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	46
18	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	47
19	แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)	48
20	ปริมาณไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัม/น้ำหนักแห้ง(กรัม)) ของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48	52
21	ปริมาณของแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/เซลล์(กรัม)) ของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48	53
22	ปริมาณของคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิลิตร)/ลิตร ของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
23	ลักษณะของ *Synechococcus* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	78
24	ลักษณะของ *Phormidium* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	79
25	ลักษณะของ *Oscillatoria* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญ/ที่มาของโครงงานพิเศษ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหรือ Cyanobacteria เป็นพวก photoautotrophs ที่มีลักษณะคล้ายพืช สังเคราะห์ด้วยแสงให้ก๊าซออกซิเจน มีทั้งพวกที่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ และอยู่เป็นโคโลนี Cyanobacteria จะมีอยู่ทุกหนทุกแห่ง ในที่ๆมีความชื้น เป็นแหล่งผลิตอาหารที่สำคัญในระบบนิเวศน์ พวกที่มีลักษณะเป็นเส้นสายหลายชนิดจะมีเซลล์พิเศษที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ เช่น *Nostoc* และ *Anabaena*

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจัดเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีคุณค่าสูง ได้มีการนำเอนไซม์ สารปฏิชีวนะ กรดอะมิโน รงควัตถุและอื่นๆ มาใช้ในระดับอุตสาหกรรม เกษตรกรรม และทางด้านการแพทย์ เนื่องจากคุณสมบัติของการคงความสามารถในการทำงานที่อุณหภูมิสูง และเอนไซม์บางชนิดยังสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงได้ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญประการหนึ่งของเอนไซม์ที่มีจุดประสงค์ในการนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรม ทั้งนี้เพราะสามารถเพาะเลี้ยงและสกัดที่อุณหภูมิสูง โดยที่เอนไซม์ไม่เสียสภาพและไม่สูญเสียความสามารถในการทำงาน นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิสูงยังเป็นการประหยัดต้นทุนในการผลิต เพราะไม่ต้องใช้ระบบความเย็นควบคุมอุณหภูมิ (Cooling system) และอุณหภูมิสูงยังเป็นการป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้อีกด้วย

คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุสีเขียว ซึ่งเป็นตัวสำคัญในคลอโรฟิลล์มีหลายชนิด ได้แก่ คลอโรฟิลล์เอ บี ซี ดี และอี แต่คลอโรฟิลล์ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เป็นคลอโรฟิลล์ชนิดเอเท่านั้น คลอโรฟิลล์เอจัดเป็นรงควัตถุสังเคราะห์แสงขั้นต้น สามารถดูดแสงด้วยตัวเองส่วนคลอโรฟิลล์ชนิดอื่นๆ จัดเป็นรงควัตถุสังเคราะห์แสงขั้นสอง (รงควัตถุประกอบ) ซึ่งทำหน้าที่ดูดพลังงานรังสีจากแสงแล้วส่งต่อไปให้คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์เป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่งไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่พบในสาหร่ายโดยทั่วไปปกติมีประมาณ 0.5-1.5% ของน้ำหนักแห้ง และสามารถเพิ่มสูงได้ถึง 6% ในสาหร่ายที่เลี้ยงไว้ในที่มีแสงอ่อนๆ คลอโรฟิลล์มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบของโครงสร้าง จากสูตรโมเลกุลของคลอโรฟิลล์เอ คำนวณได้ว่า คลอโรฟิลล์เอมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณ 8.22% ของน้ำหนักโมเลกุล ในขณะที่โปรตีนมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบในปริมาณ 15.5-18% คลอโรฟิลล์เอ ดูดแสงได้ดีที่สุดที่ช่วงคลื่น 430 นาโนเมตร หรือแสงสีม่วง รองลงมาคือ แสงที่มีความยาวคลื่น 662 นาโนเมตร หรือ แสงสีแดง ส่วนคลอโรฟิลล์บี ดูดแสงได้ดีที่สุดที่ความยาวคลื่น 453 นาโนเมตร หรือแสงสีน้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาโรทีนอยด์เป็นสารสี สีเหลือง ส้ม แสด แดง และน้ำตาล สารสีประเภทนี้ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในไขมัน มีประมาณ 60 ชนิด แต่แบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ คาโรทีน และแซนโธฟิลล์ คาโรทีนอยด์มีความสำคัญต่อ กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง คือ ช่วยสังเคราะห์ด้วยแสง ในทางอ้อม คือดูดแสงได้ดีในช่วงความยาวคลื่น 400-500 นาโนเมตร แล้วถ่ายทอดพลังงานแสงที่ดูดได้ไปให้คลอโรฟิลล์ เอ นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันไม่ให้คลอโรฟิลล์ เอ ถูกทำลายเมื่อมีแสงมากเกินไปในกระบวนการโฟโตออกซิเดชั่น (photooxidation)

ไฟโคบิลิน เป็นสารสีสีน้ำเงิน (phycocyanin) และสารสีสีแดง (phycoerythrin) สารสีกลุ่มนี้รวมกับโปรตีน บางทีเรียกว่า phycobiliprotein พบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวกคริพโตโมแหนต ส่วนซี-ไฟโคไซยานิน เป็นรงควัตถุประกอบสีน้ำเงิน ซึ่งจัดอยู่ในพวกรงควัตถุประกอบประเภทไฟโคบิลิน (phycobilin) รงควัตถุประกอบประเภทนี้แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยได้อีกคือ ซี-แอลโลไฟโคไซยานิน (c-allophycocyanin) และ ซี-ไฟโคอิริทริน (c-phycoerythrin) (การมีอักษรซีนำหน้าเป็นการชี้ว่าเป็นรงควัตถุที่อยู่ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) ไฟโคบิลินมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบของโครงสร้าง ละลายได้ดีในน้ำ ไฟโคบิลินแต่ละชนิดจะอยู่รวมกับโปรตีนอย่างใกล้ชิดมาก กลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเรียกว่า ไฟโคบิลิโปรตีน รายงานของ Myers และ Kratz (1995) พบว่า ไฟโคไซยานินจะมีปริมาณมากขึ้นเมื่อมีแสงจำกัด นอกจากนี้ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ไฟโคไซยานินยังเป็นแหล่งสะสมไนโตรเจน ซึ่งจะทำหน้าที่ให้ธาตุไนโตรเจนแก่เซลล์สาหร่ายในยามที่ขาดแคลนธาตุอาหารไนโตรเจน

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยปกตินั้นต้องเลี้ยงในสภาวะแบบ autotrophic condition โดยใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน จำเป็นต้องมีการให้แสงในปริมาณมากซึ่งก่อให้เกิดความร้อนทำให้อุณหภูมิที่เหมาะสมของการเพาะเลี้ยงผันแปรไป ดังนั้นหากในสภาวะในการผลิตสามารถทนต่อสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ heterotrophic ที่ใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนได้ จะสามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิตได้ เนื่องจากไม่ต้องใช้ระบบความเย็นควบคุมอุณหภูมิ (cooling system) และลดค่าใช้จ่ายในการให้แสงไฟสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย จึงเป็นประโยชน์ต่อกระบวนการผลิตในระดับอุสาหกรรมเป็นอย่างมาก

ในการทดลองเลี้ยงสาหร่ายในแบบ facultative heterotrophic ในธรรมชาตินั้นมีความยุ่งยากซับซ้อนมาก เพราะว่ายากที่จะแยกแยะระหว่างที่สาหร่ายอยู่ในสภาวะ heterotrophic หรือระยะพักตัว และการที่จะดูออกว่าสาหร่ายอยู่ในสภาวะ heterotrophic ก็ต่างจากพวกแบคทีเรีย ฟังไจ หรือโปรโตซัว (Geigerand และ Osborne,1992) อย่างไรก็ตามความพยายามที่จะหาจำนวนสาหร่ายที่อยู่ในสภาวะ heterotrophic ในธรรมชาติ จะใช้วิธีดูความแตกต่างของ $^{14}CO_2$ และวิธี radiolabeled glucose uptake โดยใช้หลักการที่ว่าพวกแพลงก์ตอนพืชนั้นจะใช้แหล่งของสารเคมีอินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมก็ต่อเมื่อมีสภาวะของแสงที่จำกัดเท่านั้น สับเสตรทเหล่านี้จึงจะมีบทบาทสำคัญต่อสาหร่ายแต่ละชนิด (Amblard และคณะ,1992) แม้ว่าในสภาพ heterotrophic ยังไม่มีความเด่นชัดใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านการให้ข้อมูลการดูดซึมของกลูโคส : โมเลกุลคาร์บอนไดออกไซด์ที่สะสมโดยเซลล์ที่อาศัยอยู่ข้างบนจะมีนัยสำคัญที่ต่ำกว่าเซลล์ที่ถูกกักให้อยู่ข้างใน (1 : 25) และต่ำกว่าเซลล์ที่รวมตัวจับบริเวณผิวของพืชน้ำไหล

การเพาะเลี้ยงแบบเฮเทโรโทรฟิค (heterotrophic condition) เป็นการจำกัดให้สิ่งมีชีวิตสร้างอาหารด้วยตนเองไม่ได้ จำเป็นต้องอาศัยอาหารจากสภาพแวดล้อม หรือกินสิ่งมีชีวิตอื่นเป็นอาหาร ได้แก่ แพลงก์ตอนสัตว์ทั้งหลายรวมทั้งเห็ดรา ยีสต์ และแบคทีเรีย สาหร่ายพื้นท้องน้ำและ แพลงก์ตอนพืช ถูกจัดว่าเป็นพวกที่เรียกว่า photoautotrophic โดยใช้ความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนเป็นตัวจัด เป็นที่ยอมรับกันว่าในสาหร่ายนั้นมีองค์ประกอบที่จัดเป็นพวก autotrophic และสิ่งมีชีวิตอื่น เช่น แบคทีเรีย ฟังไจ โปรติสต์ และ พวกไมโอเฟานา (myofauna) อื่นๆ มีองค์ประกอบที่จัดเป็นพวก heterotrophic ซึ่งการแบ่งประเภทนี้ไม่ถูกต้องทีเดียวนักเพราะแบคทีเรียบางชนิดและพวกโปรติสต์ มีความสามารถที่จัดเป็นพวก autotrophic ได้ นอกจากนั้นยังมีสาหร่ายอีกจำนวนมากที่มีเมตาบอลิซึมเป็นพวก heterotrophic ได้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนอุณหภูมิสูงจากน้ำพุร้อน ในภาคเหนือตอนบนจำนวน 3 จีนัสคือ *Synecococcus* sp., *Oscillatoria* sp., *Phormidium* sp. สามารถเจริญได้ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ heterotrophic condition

2. ศึกษาอัตราการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนอุณหภูมิสูงจากน้ำพุร้อนดังกล่าวในสภาวะการเลี้ยงแบบ heterotrophic condition โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเปรียบเทียบกับแบบ autotrophic condition

3. เปรียบเทียบปริมาณรงควัตถุที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เพาะเลี้ยงแบบ autotrophic condition และ heterotrophic condition โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ขั้นตอนที่ 1 เตรียมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจากน้ำพุร้อนบริเวณภาคเหนือตอนบน

- การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ใช้อาหารสูตร BG-11 และอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร สำหรับเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะแบบ autotrophic

- การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ใช้อาหารสูตร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลกลูโคส 1 กรัมและ 5 กรัม สำหรับเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะแบบ heterotrophic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- นำตัวอย่างสาหร่ายของกนกวรรณและคณะ (2549) ที่คัดแยกเชื้อไว้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ ใส่ลงในอาหาร BG-11 นำไปบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสม จนสาหร่ายเจริญจึงทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะแบบ autotrophic และเพาะเลี้ยงในสภาวะแบบ heterotrophic

ขั้นตอนที่ 2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสภาวะแบบ autotrophic

- เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินด้วยอาหาร BG-11 และอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นระยะเวลา 30 วัน วัดค่าการดูดกลืนแสงหรือวัดอัตราการเจริญของสาหร่ายโดยการหาน้ำหนักแห้ง ทุกๆ 3 วัน

ขั้นตอนที่ 3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสภาวะแบบ heterotrophic

- เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินด้วยอาหาร BG-11 และ อาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลกลูโคส 1 กรัมและ 5 กรัม นำขวดรูปชมพู่ที่เพาะเลี้ยงมาทำการห่อกระดาษฟอยล์และแกะฟอยล์ออกทุกวันเพื่อให้แสง วันละ 5 นาที เป็นเวลา 30 วันและวัดค่าการดูดกลืนแสงหรือวัดอัตราการเจริญของสาหร่ายโดยการหาน้ำหนักแห้ง ทุกๆ 3 วัน

ขั้นตอนที่ 4 การวิเคราะห์หาปริมาณรงควัตถุ

- เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสภาวะแบบ heterotrophic ด้วยอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลกลูโคส 1 กรัมและ 5 กรัม นำขวดรูปชมพู่ที่เพาะเลี้ยงมาทำการห่อกระดาษฟอยล์และแกะฟอยล์ออกทุกวันเพื่อให้แสง วันละ 5 นาที เป็นเวลา 12 วัน เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณรงควัตถุต่างๆ ดังต่อไปนี้คือ

- การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ
- การตรวจหาปริมาณไฟโคไซยานิน
- การตรวจหาปริมาณแคโรทีนอยด์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อทราบถึงความสามารถการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนอุณหภูมิสูงจากน้ำพุร้อนในภาคเหนือตอนบนโดยสภาวะการเลี้ยงแบบ heterotrophic condition
2. เพื่อทราบถึงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนอุณหภูมิสูงจากน้ำพุร้อนในภาคเหนือตอนบนโดยสภาวะการเลี้ยงแบบ heterotrophic condition โดยใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานแทนการสังเคราะห์แสงซึ่งสามารถที่จะนำไปประยุกต์ใช้กับโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิต
3. สามารถนำรงควัตถุที่ได้จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนอุณหภูมิสูงจากน้ำพุร้อนในภาคเหนือตอนบนโดยสภาวะการเลี้ยงแบบ autotrophic condition และสภาวะการเลี้ยงแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

heterotrophic condition ซึ่งใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานแทนการสังเคราะห์แสง มาใช้ประโยชน์ทางด้านโภชนาการ อุตสาหกรรม การแพทย์และการเกษตรในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง เนื่องจากมีระบบนิเวศที่แตกต่างกันทั้งระบบนิเวศน์ทางบกและระบบนิเวศน์ทางน้ำรวมกันไม่ต่ำกว่า 15 ประเภท(อนิวรรต, 2541) เป็นที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตนานาชนิด ตั้งแต่สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กคือ จุลินทรีย์ ไปจนถึงพืช สัตว์ และมนุษย์ ในบรรดาสิ่งมีชีวิตเหล่านี้สาหร่ายจัดเป็นสิ่งมีชีวิตกลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญค่อนข้างมากมาตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบัน มีการนำมาใช้ในการศึกษาและการทดลอง ทางวิทยาศาสตร์ นอกจากนี้ในทางนิเวศวิทยาสาหร่ายบางชนิดยังช่วยเพิ่มสารอินทรีย์ให้แก่ดิน และยังเป็นตัวบ่งชี้สภาพมลภาวะของแหล่งน้ำต่างๆได้อีกด้วย

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีคลอโรฟิลล์ ทำให้สามารถสร้างอาหารเองได้โดยการสังเคราะห์แสง แต่ยังไม่มีราก ลำต้น และใบที่แท้จริง ไม่มีระบบท่อลำเลียง (vascular tissue) และไม่มีเอ็มบริโอ (embryo) สาหร่ายมีตั้งแต่ขนาดเล็ก (microalgae) ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เช่น *Chorella* spp. ไปจนถึงขนาดใหญ่ (macroalgae) เช่น *Macrocystis* spp. หรือ เคลพ์ (kelp) เป็นต้น และมีตั้งแต่เซลล์เดียว (unit) เป็นกลุ่มเซลล์ (colony) เซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นสาย (filament) ไปจนถึงหลายๆเซลล์ที่อยู่รวมกันเป็นแผ่น หรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง คือ มีส่วนคล้ายราก คล้ายลำต้น และคล้ายใบ หรือาจเรียกรวมหมดว่า ทัลลัส (thallus) เราสามารถพบสาหร่ายได้ทั่วไปทั้งบนบกและในน้ำ ไม่ว่าจะเป็นน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำเค็มสาหร่ายสามารถเจริญอยู่ได้ทั้งในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง บางชนิดอาจจะลอยเป็นอิสระอยู่ในน้ำ (เช่น สาหร่ายวงศ์เดสมิดิเอซี) บางชนิดเกาะอยู่กับสิ่งยึดเกาะ (substratum) หรือสิ่งมีชีวิตอื่นๆ

ความหลากหลายของสาหร่ายทั่วโลกคาดว่ามีอยู่ประมาณ 60000 ชนิด และรู้จักชื่อแล้วประมาณ 40000 ชนิด สาหร่ายมีการดำรงชีวิตอยู่ได้ในช่วงอุณหภูมิต่างๆกัน ตั้งแต่ -10 องศาเซลเซียส ไปจนถึงอุณหภูมิสูงกว่า 75 องศาเซลเซียส ยังไม่นับรวมถึง resting cell และ hypnozygotes ที่มีผนังหนาและอาจมีเมือก (mucilage) หุ้มด้วย ซึ่งสามารถทำให้ทนต่อความเย็นได้ถึง -35 องศาเซลเซียส ความสามารถของสาหร่ายที่ดำรงชีวิตอยู่ได้ในที่ที่มีอุณหภูมิสูง ซึ่งจัดเป็นสภาพแวดล้อมที่ไม่ปกติและกำลังเป็นที่สนใจกันอย่างมาก โดยเฉพาะในต่างประเทศมีการศึกษากันมากมายทั้งในแง่จำนวนและกระบวนการที่สามารถทำให้อยู่ได้

สำหรับประเทศไทยนั้นคาดว่ามีความหลากหลายของสาหร่ายประมาณ 20000 ชนิด และรู้จักชื่อแล้วประมาณ 4000 ชนิด ซึ่งการศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาสาหร่ายที่ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส ทำให้ระยะเวลาที่ผ่านมามีข้อมูลความหลากหลายของสาหร่ายในที่ที่มีอุณหภูมิสูงอยู่น้อยมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฉะนั้นการศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายที่เจริญในที่ที่มีอุณหภูมิสูง จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่ทำให้เราเข้าใจความหลากหลาย (diversity) และการแพร่กระจาย (distribution) ของสาหร่ายประเทศไทยเพิ่มขึ้น เป็นการสะดวกต่อการนำไปศึกษาในด้านอื่นๆ ได้อย่างถูกต้อง โดยเฉพาะในเชิงอุตสาหกรรม เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเซลล์และสกัดเอนไซม์จะสามารถทำได้ที่อุณหภูมิห้องโดยเอนไซม์ไม่สูญเสียความสามารถในการทำงาน (denature) เป็นการลดต้นทุนในการผลิต เพราะไม่ต้องใช้ระบบความเย็นควบคุมอุณหภูมิ อีกทั้งยังช่วยป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น (contamination) อีกด้วย

การจัดกลุ่มสิ่งมีชีวิตตามการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่างๆ

การจัดกลุ่มสิ่งมีชีวิตตามการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่างๆ แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มหลักๆ คือ กลุ่มที่เจริญในที่มีอุณหภูมิต่ำ (psychrophile) กลุ่มที่เจริญในที่ที่มีอุณหภูมิปานกลาง (mesophile) และกลุ่มที่เจริญในที่ที่มีอุณหภูมิสูง (thermophile) ซึ่งช่วงอุณหภูมิของการเจริญมีดังนี้

ตารางที่ 1 การจัดกลุ่มสิ่งมีชีวิตตามการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่างๆ

Group	Temperature		
	Minimum(^{o}C)	Optimum (^{o}C)	maximum(^{o}C)
Psychrophile	ต่ำกว่า 0	10-15	ต่ำกว่า 20
Mesophile	20	30-40	ต่ำกว่า 45
Thermophile	45	50-85	สูงเกิน 100

ที่มา : อังคณา (2544)

ในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่เจริญในที่ที่มีอุณหภูมิสูงอาจแบ่งเป็นกลุ่ม hyperthermophile ได้อีก ซึ่งสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้เจริญในที่ที่มีอุณหภูมิตั้งแต่ 80 องศาเซลเซียสขึ้นไป

สาหร่ายเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อสภาพแวดล้อมของโลกและความเป็นอยู่ของมนุษย์ เป็นส่วนหนึ่งของต้นทางห่วงโซ่อาหารในระบบนิเวศน์ เป็นตัวการในการรักษาสมดุลทางธรรมชาติ สามารถสร้างสารพิเศษบางชนิดที่มีประโยชน์และโทษต่อมนุษย์ ฉะนั้นจึงมีการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่าย เพื่อที่จะรวบรวมและจัดจำแนกให้เป็นระบบสามารถนำมาใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต การศึกษาค้นคว้าหาแหล่งอาหารโปรตีนแหล่งอื่นนอกเหนือจากโปรตีนจากเนื้อสัตว์และพืช ซึ่งนับวันการผลิตจะไม่เพียงพอกับการเพิ่มของประชากรโลก สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร โดยความร่วมมือระหว่างรัฐบาลไทย-เยอรมัน ได้เห็นความสำคัญของสาหร่ายเป็นแหล่งอาหารโปรตีนและสารเคมีที่มีมูลค่าสูง เพราะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนซึ่งเหมาะต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้ตลอดทั้งปีโดยอาศัยพลังงานจากแสงแดด จึงได้จัดตั้งหน่วยปฏิบัติการสาหร่ายขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2513 เพื่อศึกษาค้นคว้าทดลองและวิจัย การเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยทำการสำรวจรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายน้ำจืดจากแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศไทย แยกเชื้อสาหร่ายบริสุทธิ์และเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่ายในสภาพที่เป็นวุ้น ซึ่งในระยะแรกศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตของสาหร่ายในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ ในระยะต่อมาทดลองทำอาหารบางชนิดโดยการผสมสาหร่ายเพื่อทดสอบความนิยมของผู้บริโภค รวมทั้งการทดสอบความเป็นพิษของสาหร่ายด้วย

2.1 สาหร่าย (ไปรมา, 2546)

"สาหร่าย" หมายถึง พืชชั้นต่ำที่มีคลอโรฟิลล์ สามารถสังเคราะห์แสงได้ ไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้น ใบ ที่แท้จริง มีขนาดตั้งแต่เล็กมากประกอบด้วยเซลล์เดียว ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จนถึงขนาดใหญ่ยาวเป็นเมตรประกอบด้วยเซลล์จำนวนมาก อาจมีลักษณะเป็นเส้นสายหรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง โดยมีส่วนที่คล้ายราก ลำต้น และใบรวมเรียกว่า Thallus

2.2 เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (ไปรมา, 2546)

สายพันธุ์สาหร่ายที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในทางการค้า ควรเป็นสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ไม่มีสารพิษ ทนทานต่ออุณหภูมิสูง ถ้าเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ก็จะง่ายต่อการเก็บเกี่ยว เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายมี 3 ขั้นตอนที่สำคัญ คือ

1. การเพาะเลี้ยง (Algal cultivation) ตั้งแต่การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่ายในห้องควบคุม การเพาะเลี้ยงในอ่างขนาดใหญ่ การกวน การให้อากาศ และการใส่สารอาหาร
2. การเก็บเกี่ยว (Harvesting) โดยจะใช้เครื่องมือและวิธีการต่าง ๆ ตามแต่ชนิดของสาหร่าย เช่น เครื่องเหวี่ยง การตกตะกอน การกรอง
3. การทำแห้ง (Drying) โดยวิธีต่าง ๆ เช่น การตากแดด (Sun-drying) ใช้พลังงานแสงอาทิตย์ (Solar-drying) การอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum-drying) การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray-drying) การอบแห้งแบบระเหิด (Freeze-drying)

2.3 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย (ไปรมา, 2546)

2.3.1 ใช้เป็นอาหารมนุษย์ มนุษย์รู้จักนำสาหร่ายมาใช้เป็นอาหารนานนับพันปีแล้ว เช่น ชาวจีน ญี่ปุ่น ใช้สาหร่ายสีน้ำตาล (*Laminaria*) และสาหร่ายสีแดง (*Porphyra*) หรือที่เรียกว่า จีฉ่าย มาทำอาหารพวกแกงจืด ญี่ปุ่นผสม *Chlorella* sp. ลงในชา ซุป น้ำผลไม้ บะหมี่ และไอศครีม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับห้องปฏิบัติการสาหร่ายตามธรรมชาติ คัดแยกสายพันธุ์บริสุทธิ์ วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน 40-50% ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายในห้องควบคุมเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเลี้ยงในอ่างขนาดใหญ่เพื่อเข้าสู่อุตสาหกรรม ซึ่งผลงานวิจัยมีมากมาย เช่น การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโซเดียมไบคาร์บอเนตระดับต่าง ๆ กัน การคัดเลือกหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว *Spirulina* sp. เพื่อใช้เป็นอาหารมนุษย์ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายพันธุ์พื้นบ้านเพื่อหาปริมาณโปรตีนเปรียบเทียบกับพันธุ์ *Scenedesmus acutus* (Selection of Local Algal Strains Related to Protein Content Compared with *Scenedesmus acutus*) เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่ายจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด (Growth Comparison of Green Algae Cultivated in Two Different Media) สำหรับสาหร่ายเกลียวทอง เป็นที่รู้จักกันอย่างกว้างขวางในปัจจุบันในรูปของอาหารเสริมสุขภาพ เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นคือ มีปริมาณโปรตีนสูงถึง 60% และเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นกระจัดกระจายอยู่ในเซลล์อย่างได้สัดส่วน มีวิตามิน เกลือแร่ และสารให้สีธรรมชาติจำนวนมาก นอกจากนี้สาหร่ายเกลียวทองยังมีเซลล์ขนาดใหญ่ สามารถเก็บเกี่ยวได้ง่าย ผนังเซลล์บาง จึงถูกย่อยและดูดซึมได้เร็วกว่าสาหร่ายสีเขียวซึ่งมีผนังเซลล์หนา

2.3.2 ใช้เป็นอาหารสัตว์ สาหร่ายสามารถนำไปเลี้ยงสัตว์กระเพาะเดี่ยว เช่น หมู และสัตว์ปีกได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้สาหร่ายยังเป็นอาหารที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนที่กินพืชเป็นอาหาร เช่น ปลา กุ้งและแพลงตอนสัตว์ เช่น ไรแดง ไรน้ำเค็ม ในประเทศญี่ปุ่นใช้สาหร่ายเกลียวทองเลี้ยงปลาไหล ปลาเทร้า กุ้ง ปลาคาร์พสี เป็นต้น ทำให้เศรษฐกิจของอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาสวยงามได้พัฒนาก้าวไกลออกไปมาก ผลงานวิจัย เช่น การเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina* sp. จากน้ำทิ้งแหล่งชุมชนเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ การศึกษาปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาหร่าย *Chlorella* sp. สำหรับนำไปเลี้ยงพวกไดอะตอม แพลงตอนสัตว์ (*Lapadella benjamini*) ที่ระดับความหนาแน่นแตกต่างกัน การนำ *Chlorella* sp. ที่ได้จากการเลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานผลิตน้ำนมถั่วเหลืองมาเลี้ยงไรแดง ความเป็นไปได้ในการเลี้ยงหอยมุกน้ำจืด *Chamberlai hainesiana* ด้วยสาหร่ายชนิดต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ เป็นต้น

2.3.3 ใช้ในการกำจัดน้ำเสีย การใช้สาหร่ายในการกำจัดน้ำเสียร่วมกับแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียจะทำการย่อยสารประกอบอินทรีย์ต่าง ๆ ที่มีอยู่ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ให้เป็นสารประกอบอนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียม ไนเตรต คาร์บอนไดออกไซด์ และเกลือแร่ต่าง ๆ ในสภาพการเกิดที่มีอากาศ (aerobic) หรือไม่มีอากาศ (anaerobic) จากนั้นสาหร่ายจะใช้สารประกอบเหล่านี้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ สำหรับสาหร่ายที่ได้จากระบบกำจัดน้ำเสียนี้ อาจนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ ปุ๋ยพืชสด หรือใช้ในการทำแก๊สชีวภาพได้ งานวิจัยที่เกี่ยวข้องได้แก่ การศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis* ที่เพาะเลี้ยงในมูลหมูผสมมูลไก่ที่มีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมุนเวียนของสารอาหารแตกต่างกัน การผลิตสาหร่ายเกลียวทอง จากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง การเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทองจากน้ำทิ้งโรงงานน้ำอัดลม เป็นต้น

2.3.4 ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (Blue green algae) รู้จักกันแพร่หลายในแง่ของการใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ จากการวิจัยของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย พบว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในนาข้าวบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศให้เป็นสารประกอบไนโตรเจน เช่น แอมโมเนียม ทำให้ข้าวเจริญเติบโต ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ *Anabaena* sp. และ *Nostoc* sp. พันธุ์ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย พบในประเทศและให้ผลผลิตดี มีชื่อว่า *Anabaena siamensis*

2.3.5 ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง สาหร่ายประกอบด้วยสารเคมีบางชนิดที่ช่วยในการรักษาผิวหนัง ชนเผ่า Kanembu ที่อยู่รอบทะเลสาบชาด ได้ใช้สาหร่ายเกลียวทองรักษาโรคผิวหนังบางชนิด การศึกษาในประเทศญี่ปุ่นพบว่า เครื่องสำอางที่ผสมสาหร่ายและสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองช่วยให้ผิวพรรณดีขึ้นและลดริ้วรอย ส่วนในประเทศไทยก็ได้มีบริษัทหลายแห่งที่ใช้สาหร่ายเกลียวทองเป็นเครื่องสำอางในรูปครีมบำรุงผิว

2.3.6 ใช้ในอุตสาหกรรมยา นักวิทยาศาสตร์และนายแพทย์หลายท่านได้ทดลองใช้สาหร่ายเกลียวทองในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคเบาหวาน โรคกระเพาะ อีกทั้งยังช่วยลดความเครียดและความไม่สมดุลในร่างกาย ในประเทศฝรั่งเศส ได้ทดลองใช้ยาที่ผสมสาหร่ายเกลียวทองทาแผล ทำให้แผลแห้งเร็วขึ้น ธาตุแมกนีเซียมในคลอโรฟิลล์ยังมีบทบาทอย่างสำคัญในการรักษาบาดแผล มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อป้องกันการเกิดของแบคทีเรียและช่วยสร้างเซลล์ขึ้นมาใหม่ด้วย คลอโรฟิลล์ในสาหร่ายมีโครงสร้างเหมือนสารสีแดงในเลือด (hemo-globin) นักวิทยาศาสตร์จึงแนะนำให้ใช้คลอโรฟิลล์รักษาโรคโลหิตจาง นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดสารปฏิชีวนะซึ่งเป็นประโยชน์ต่อวงการแพทย์ ได้แก่ cyanophycin หรือ marinamycin ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ ได้ สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว *Scytonema* No.11 เป็นสาหร่ายที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย แยกได้จากดินนาจังหวัดพิษณุโลก พบว่า สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ Cyanobacterin ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นทั้ง algicide และ bacteriocide ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายและแบคทีเรียบางชนิดได้

2.3.7 ใช้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ สาหร่ายสีแดงพวก *Gelidium*, *Gracilaria* สามารถนำไปสกัดทำเป็นวุ้น เพื่อนำไปใช้ในการประกอบอาหาร และเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ สาหร่ายสีน้ำตาลพวก *Laminaria*, *Ascophyllum*, *Macrocystis* นำไปสกัดเป็น แอลจินหรือแอลจิเนต ซึ่งนำไปใช้ในการทำนม ขนมปัง ไอศครีม ขนมหวาน ลูกกวาด สบู่ แชมพูสระผม เป็นต้น

ปัจจุบันห้องปฏิบัติการสาหร่ายนอกจากจะพัฒนากรรมวิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นแหล่งอาหารโปรตีนแล้ว ยังได้นำสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพที่สามารถผลิตในทางการค้า เช่น *Chlorella, Scenedesmusbs, Spirulina, Dunaliella, Haematococcus* มาศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตสารอาหารหรือสารเคมีที่มีมูลค่าสูง รวมทั้งวิธีการสกัด การนำไปใช้ประโยชน์และการแปรรูปในด้านต่าง ๆ นอกจากนี้ห้องปฏิบัติการสาหร่ายยังให้บริการสายพันธุ์สาหร่าย ให้คำปรึกษา แนะนำด้านการเพาะเลี้ยงและการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายแก่นิสิต นักศึกษาและประชาชนที่สนใจทั่วไปด้วย

2.4 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Cyanobacteria)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae) เป็นโพรคาริโอต (Procaryote) เหมือนแบคทีเรีย โครงสร้างภายในไม่มีออร์แกนเนล นอกจากไรโบโซมขนาด 70 s ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ถือว่าเป็นเซลล์ที่มีวิวัฒนาการต่ำ มีขนาดเล็กมากต้องศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจัดเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีคุณค่าสูง ได้มีการนำเอนไซม์ สารปฏิชีวนะ กรดอะมิโน รงควัตถุและอื่นๆ มาใช้ในระดับอุตสาหกรรม เกษตรกรรม และทางด้านการแพทย์ เนื่องจากคุณสมบัติของการคงความสามารถในการทำงานที่อุณหภูมิสูง และเอนไซม์บางชนิดยังสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงได้ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญประการหนึ่งของเอนไซม์ที่มีจุดประสงค์ในการนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรม ทั้งนี้เพราะสามารถเพาะเลี้ยงและสกัดที่อุณหภูมิสูง โดยที่เอนไซม์ไม่เสียสภาพและไม่สูญเสียความสามารถในการทำงาน นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิสูงยังเป็นการประหยัดต้นทุนในการผลิต เพราะไม่ต้องใช้ระบบความเย็นควบคุมอุณหภูมิ (Cooling system) และอุณหภูมิสูงยังเป็นการป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้อีกด้วย ตัวอย่าง เช่น สไปรูไลนา แอนาบีนา ออสซิลลาทอเรีย นอสตอก นอกจากนี้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ไฟโคไซยานินยังเป็นแหล่งสะสมไนโตรเจน ซึ่งจะทำหน้าที่ให้ธาตุไนโตรเจนแก่เซลล์สาหร่ายในยามที่ขาดแคลนธาตุอาหารไนโตรเจน

2.5 ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

2.5.1 รงควัตถุของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประกอบด้วย

- คลอโรฟิลล์
- แคโรทินอยด์
- ไฟโคบิลิน

2.5.2 ลักษณะพิเศษ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีคุณสมบัติพิเศษที่ควรจะกล่าวถึง ดังต่อไปนี้

- การเคลื่อนที่
- การเปลี่ยนสี
- การตรึงไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- การอยู่รวมกันกับสิ่งมีชีวิตอื่น
- การก่อให้เกิดวอเตอร์บลูม
- ความสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงและต่ำมากๆได้

2.5.3 การสืบพันธุ์

- การแบ่งเซลล์
- การขาดออกเป็นท่อนๆ
- การสร้างฮอร์โมโกเนียมเทียม

2.5.4 การสร้างสปอร์

- เอนโดสปอร์
- เอกโซสปอร์
- แนนโนไซท์

2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จริญ (2547) และ นิติมา (2547) ได้กล่าวถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไว้ ดังนี้

2.6.1 ปัจจัยทางกายภาพ

ก. แสงสว่าง (Illumination) ช่วงแสงสว่างเป็นเรื่องที่จำเป็นมากในการเลี้ยงสาหร่าย โดยการใช้แสงที่ช่วงเวลาหนึ่งและหยุดการใช้แสงช่วงเวลาหลังจะทำให้การเลี้ยงได้ผลดีกว่าการให้แสงติดต่อกันตลอดเวลา แสงสว่างที่นิยมใช้คือ 12 ชั่วโมงให้แสง 12 ชั่วโมงหยุดการให้แสง หรือ 12 ชั่วโมงสว่างสลับกับ 8 ชั่วโมงมืด

แสงจากหลอดไฟธรรมดาจะให้ผลดีที่สุด รองลงมาคือ แสงแดดและแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ แต่แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์จะมีข้อดีที่ไม่ทำให้เกิดความร้อน

ข. อุณหภูมิ (Temperature) สาหร่ายทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ที่ระดับอุณหภูมิตั้งแต่ 15-25 °C ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 30 °C สาหร่ายจะตาย สำหรับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญได้ดีในช่วง 30-35 °C

ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในแหล่งน้ำ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีความเกี่ยวข้องกับความยาวเส้นสายของ *Oscillatoria tenuis* ในทุกฤดูกาล ซึ่งในช่วงฤดูใบไม้ผลิ จะมีค่าเฉลี่ยความยาวเส้นสายดีที่สุด และเมื่อค่าออกซิเจนสูงทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญเติบโตได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 ปัจจัยทางเคมี

ก. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยทั่วไปสาหร่ายส่วนมากจะเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นด่าง ส่วนสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะเจริญได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นกลางจนถึงสภาพเป็นด่าง หรือมีค่าของ pH ประมาณ 6.5-7.5

ข. ความเค็มเมื่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ได้รับความเข้มข้นของ NaCl จะมีผลกระทบทำให้เกิดการลดลงของน้ำหนักแห้งที่สะสม และทำให้คลอโรฟิลล์ลดลง จึงทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีการสังเคราะห์แสงน้อยลง ส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลง

ค. ไนโตรเจน สาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะสร้างสารประกอบคาร์บอน เช่น น้ำมันหรือแป้ง มาทดแทน สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนที่พืชนำไปใช้ได้แก่ ยูเรีย (urea) เอไมด์ (amide) กลูตามีน (glutamine) และแอสพาราจีน (asparagine) ซึ่งจัดว่าเป็นแหล่งไนโตรเจนชนิดดี ถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสง และปริมาณรงควัตถุ หรือสารสีของเซลล์ รวมทั้งทำให้กิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดลดลงด้วย

ง. ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เพราะมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการต่าง ๆของเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงาน และกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิค ถ้าสาหร่ายขาดฟอสฟอรัสจะมีผลต่อการเจริญเติบโต คือปริมาณโปรตีน รงควัตถุชนิดคลอโรฟิลล์เอ RNA และ DNA จะลดลง แต่แป้ง หรือคาร์โบไฮเดรตกลับเพิ่มขึ้นซึ่งมีผลทำให้รูปร่างเซลล์เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

จ. ซัลเฟอร์ เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อสาหร่ายทุกชนิด ซัลเฟอร์ที่สาหร่ายส่วนใหญ่ใช้อยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ ได้แก่ เกลือของโลหะ คือซัลเฟต ซัลไฟท์ และซัลไฟด์

ฉ. แคลเซียม เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

ช. โซเดียม โปแทสเซียม และคลอรีน โซเดียมเป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายบางชนิดต้องการ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต้องการโซเดียมในปริมาณมากกว่าสาหร่ายกลุ่มอื่นที่อยู่ในน้ำจืด โซเดียมเป็นธาตุอาหารที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิด โปแตสเซียมเป็นธาตุอาหารที่มีส่วนประกอบของเอนไซม์หลายชนิดอัตราส่วนของโซเดียมและโปแตสเซียมจะมีผลต่อการใช้คลอรีนของสาหร่าย

ซ. แมกนีเซียม แมกนีเซียมเป็นธาตุอาหารที่มีส่วนสำคัญยิ่งต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ โดยทั่วไปจะเป็นตัวกำหนดการทำงานของระบบเอนไซม์ไนโตรจีเนสและกลูตา-มีนซินเธเตส แมกนีเซียมซัลเฟต จะไปมีผลยับยั้งการเจริญของสาหร่ายถ้าใช้กับสาหร่ายโดยไม่มีสารประกอบพวกฟอสเฟต

ฌ. เหล็ก ในสภาพเป็นกรดเหล็กจะมีผลยับยั้งการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 การหายใจและประสิทธิภาพของการอยู่รอดในสภาวะ heterotrophic ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

ในสภาวะที่มีออกซิเจน สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะใช้แป้งในการเผาผลาญพลังงานโดยเซลล์ที่ใช้ในการหายใจ และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายชนิด เช่น *Microcystis* PCC7806 สามารถที่จะหมักคาร์โบไฮเดรตที่เก็บไว้ยามขาดออกซิเจนได้ (คนึงกานต์ 2547 อ้างถึง Moezelaar และ Stal, 1997) ยังมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอีกหลายชนิดที่สามารถเจริญได้ในสภาวะ heterotrophic ที่มืดหมดโดยใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานแทน ตัวอย่างเช่น *Nostoc* หลายสายพันธุ์เจริญได้ในที่มืดโดยใช้แหล่งน้ำตาลเช่น กลูโคส ฟรุกโตส ไรโบส หรือ ซูโครส (คนึงกานต์ 2547 อ้างถึง Dodds และคณะ, 1995) นอกจากนี้ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เป็นเส้นสายก็สามารถเจริญได้ในสภาวะนี้เช่นเดียวกัน (คนึงกานต์ 2547 อ้างถึง Khoja และ Whitton, 1975) อย่างไรก็ตามการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสภาวะนี้ก็มีแบบฉบับการเจริญที่ช้ากว่าในสภาวะ photoheterotrophic อาจเป็นเพราะในความจริงที่ว่าในวงจร Tricarboxyric acid ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินนั้นไม่สมบูรณ์ เนื่องจากขาดเอนไซม์ Succinyl-CoA synthetase และ Succinyl-CoA dehydrogenase (คนึงกานต์ 2547 อ้างถึง Smith, 1973) แต่ใน *Cyanothece* ATCC5114 ก็มีข้อยกเว้นสำหรับข้อนี้เพราะว่ามันสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในสภาวะที่มืดหมดโดยการเผาผลาญกลีเซอรอล (คนึงกานต์ 2547 อ้างถึง Schneegurt และคณะ, 1997) ความสามารถในการเจริญสภาวะนี้ในห้องปฏิบัติการ (ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดและไม่มีคู่แข่งใดๆ) ไม่มีความจำเป็นแต่อย่างใด เพราะในสภาพธรรมชาตินั้นสาหร่ายจะไม่ใช้สารประกอบอินทรีย์สภาวะ heterotrophic ที่จะเกิดขึ้นในธรรมชาตินั้นอาจรวมถึงการวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ที่เป็นสับสเตรทในสิ่งแวดล้อม ปัจจัยที่เกิดขึ้นพร้อมกันซึ่งสัมพันธ์กับการใช้คาร์บอน เช่น ปริมาณแสงสว่าง และปริมาณคาร์บอนที่เป็นสารอินทรีย์ที่ละลายอยู่ สาหร่ายจะมีระบบนี้ในสภาวะที่มีการแข่งขันกับแบคทีเรียอื่นๆในการใช้สารอินทรีย์ และถูกดูดซึมโดยเซลล์ และการวิเคราะห์สภาพทางกายภาพของตัวมันเองที่จะดูดซึมให้สารอินทรีย์ (คนึงกานต์ 2547 อ้างถึง Tuchman, 1996)

2.8 ความหมายของ Autotrophic และ Heterotrophic (คนึงกานต์ 2547 อ้างถึง Tuchman, 1996)

Autotrophic หมายถึง ลักษณะในการสร้างอาหารโดยอาศัยแสงเป็นพลังงานในการสร้าง ATP และสารประกอบอนินทรีย์ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ หรือไฮโดรเจนคาร์บอเนต ซึ่งจะถูกดูดซึมและผลิตออกมาเป็นสารอินทรีย์ ซึ่งจำเป็นในการสังเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์ และสร้างพลังงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Heterotrophic หมายถึง ลักษณะในการสร้างอาหารโดยไม่อาศัยแสง และการใช้สารประกอบอินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนเริ่มต้น

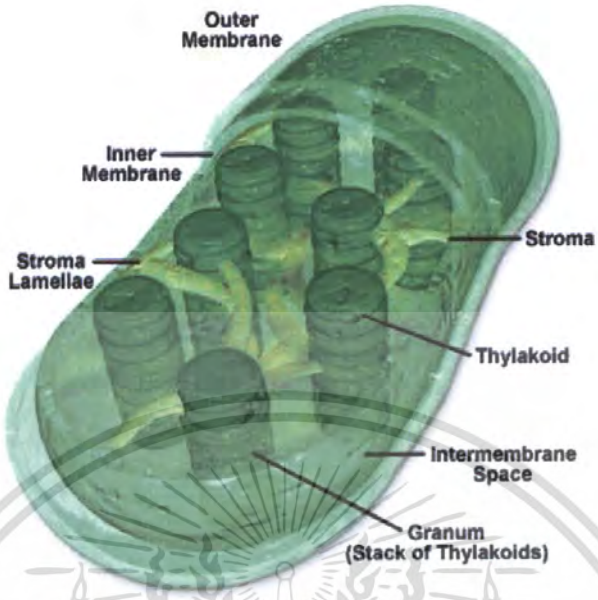
สาหร่ายมีลักษณะทางกายภาพที่จะมีกระบวนการเมตาบอลิซึมทั้งแบบ ออโตโทรฟิก และเฮทเทอโรโทรฟิก และแม้ว่าจะใช้เมตาบอลิซึมแบบ ออโตโทรฟิก บ่อยกว่าและมีประสิทธิภาพมากว่า แต่ในสภาวะที่มีแสงจำกัดนั้น ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับเมตาบอลิซึมแบบออโตโทรฟิก จึงมีมากกว่าการศึกษาในสภาพ เฮทเทอรโรโทรฟิก

ความแตกต่างระหว่างสภาพออโตโทรฟิก และเฮทเทอรโรโทรฟิก คือ พวกที่เป็นออโตโทรปจะได้แหล่งพลังงานเคมีจากการสังเคราะห์แสง ผ่านกระบวนการที่ต้องใช้แสง (light-dependent reaction) ซึ่งมีการรับพลังงานโฟตอนจากแสง แล้วผ่านกระบวนการทางชีวเคมีและชีวกายภาพ ทำให้เกิดออกซิเจน พลังงาน(ATP) และสารรีดักแตนท์ (NADPH) ขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการนี้จะถูกนำมาใช้ต่อในกระบวนการที่ไม่ต้องใช้แสง (light-dependent reaction) ในสภาพมืด ที่ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์ถูกตรึง

ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการนี้ ได้แก่พลังงานเคมี (ATP และสารอินทรีย์คาร์บอน) ซึ่งนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม ส่วนสารอินทรีย์คาร์บอนถูกนำไปใช้ในกระบวนการสร้างส่วนประกอบของเซลล์ เนื่องจากกระบวนการที่ต้องการแสงไม่สามารถเกิดขึ้นในสภาวะที่ไม่มีแสงได้ การกระจายตัวของสิ่งมีชีวิตพวกที่ถูกจำกัดในการสังเคราะห์แสงแบบสภาวะการสร้างโดยไม่อาศัยแสง และการใช้สารประกอบอินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมเป็นแหล่งอิเล็กตรอนเพื่อใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมซึ่งใช้พลังงานจากแสง (obligate photoautotrophic) นั้นถูกจำกัดในสภาพแวดล้อมที่มีแสงเท่านั้นถ้าถูกย้ายไปอยู่ในสภาพมืดในเวลาที่นานขึ้นอาจจะตายเนื่องจากใช้พลังงานที่เก็บสะสมไว้หมดหรือกระบวนการเมตาบอลิซึมไม่ทำงาน (dormant) และจะทำงานอีกครั้งเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม

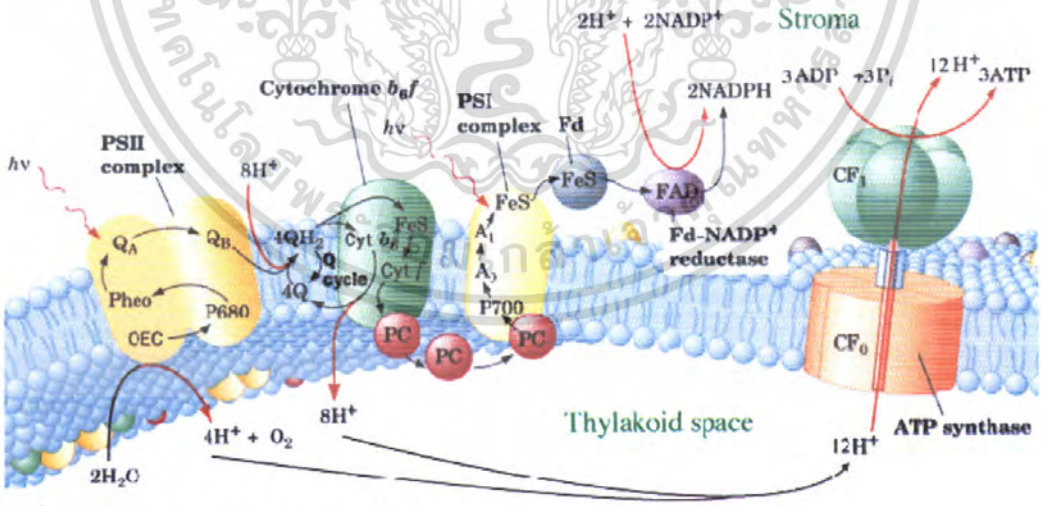
มีการศึกษาที่อธิบายกลไกกระบวนการที่เกิดในสภาวะที่มีแสงซึ่งทำงานโดยไม่ขึ้นกับกระบวนการในการที่เกิดในสภาวะไม่มีแสง ภายใต้สภาวะที่มีแสงสว่างในสาหร่ายเหมือนกับในพืชชั้นสูง เมื่อศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยาสังเคราะห์แสงพบว่ามีแสงสว่าง กระบวนการที่ต้องใช้แสง (light-dependent reaction) จะเกิดการกระตุ้นโดยอัตโนมัติและจะไม่หยุดการทำงานจนกระทั่งคุณภาพหรือปริมาณของแสงจะลดลงต่ำกว่าจุดที่กระตุ้นน้อยที่สุดที่จะทำให้รงควัตถุที่รับแสงเกิดปฏิกิริยา อย่างไรก็ตาม กระบวนการที่ไม่ต้องใช้แสง (light-dependent reaction) สามารถถูกลดการกระตุ้นในสภาวะที่มีแสงถ้าความเข้มข้นของสับสเตรทที่เป็นสารอินทรีย์คาร์บอนในสิ่งแวดล้อมเพียงพอให้เซลล์นำไปใช้ได้ (Sheen, 1990) ในสภาวะเช่นนี้วัฏจักรคาลวิน (calvin cycle) จะถูกขัดขวาง กระบวนการตรึงคาร์บอนก็จะหยุดทำงาน และสิ่งมีชีวิตก็จะใช้กลไกลที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของพลังงานมากขึ้น (active transport) จึงต้องการแหล่งของสารอินทรีย์คาร์บอนจากภายนอกมากขึ้นด้วย (รูปที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 แสดงองค์ประกอบของคลอโรพลาสต์

ที่มา http://www.allyncali16.tripod.com/id1.html

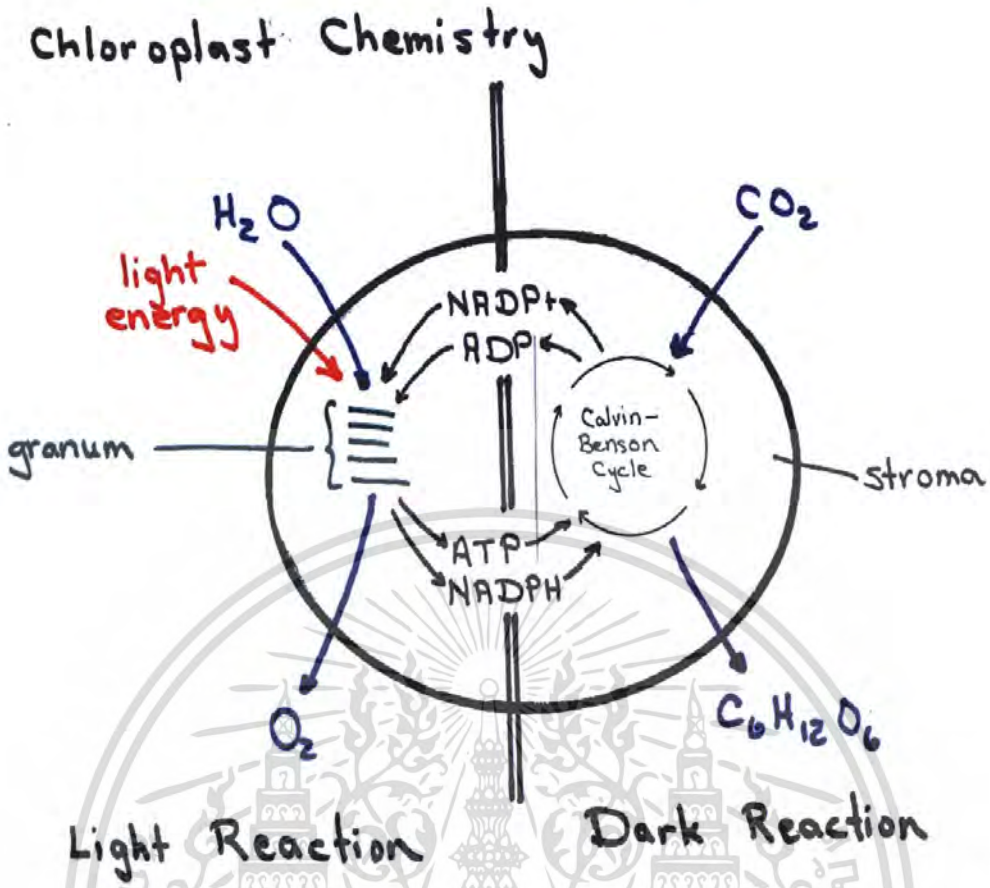


รูปที่ 2 แสดงกระบวนการสังเคราะห์แสง

ที่มา http://www.biochem.arizona.edu/.../Photosynthesis.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



รูปที่ 3 แสดงกระบวนการสังเคราะห์แสงทั้งในสภาวะที่มีกระบวนการที่ต้องใช้แสง (light-dependent reaction) และกระบวนการที่ไม่ต้องใช้แสง (light-independent reaction) ที่มา http://www.chesterfield.k12.sc.us/.../BiologyICP.html

จากรูปที่ 1 รูปที่ 2 และรูปที่ 3 ส่วนทัยลาคอยล์เมมเบรนในคลอโรพลาสต์ มีกระบวนการที่จะต้องใช้แสงซึ่งใช้พลังงานแสงอาทิตย์ในการสร้าง ATP และ NADPH ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานและพลังงานที่ใช้ในวัฏจักรคาลวินตามลำดับภายในสโตรมา (stroma) ของคลอโรพลาสต์กระบวนการที่ไม่ต้องใช้แสงที่จะดูดซึมคาร์บอนไดออกไซด์และสร้างน้ำตาลออกมา กระบวนการทั้งสองนี้สามารถเกิดอย่างต่อเนื่องในสภาวะที่มีแสง แต่กระบวนการที่ไม่ต้องใช้แสงการทำงานจะไม่ขึ้นกับการมีแหล่งของสารอินทรีย์คาร์บอน วัฏจักรคาลวินถูกขัดขวางและกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ก็หยุดทำงาน ในขณะที่ ATP และ NADPH ยังคงถูกสร้างโดยกระบวนการที่ต้องใช้แสง แหล่งของพลังงานนี้จะถูกใช้โดยกลไกอย่างอื่นภายในเซลล์ และ ATP บางตัวยังถูกใช้ในการกระตุ้นการขนส่งของ Deoxy carboxylic acid จากภายนอกเข้าสู่เซลล์

83753
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ชนิดของสารอาหารที่สาหร่ายนำมาใช้ในรูปของแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน

รูปแบบการใช้สารอาหาร	แหล่งพลังงาน	แหล่งคาร์บอน
Photolithotrophy (photoautotrophy)	แสงอาทิตย์	คาร์บอนไดออกไซด์
Photoorganotrophy (photoheterotrophy)	แสงอาทิตย์	คาร์บอนไดออกไซด์ และสารอินทรีย์คาร์บอน
Chemolithotrophy (chemoautotrophy)	การออกซิเดชันของสารประกอบอนินทรีย์	คาร์บอนไดออกไซด์
Chemoorganotrophy (chemoheterotrophy)	สารประกอบอนินทรีย์	สารอินทรีย์คาร์บอน

ที่มา: Tuchman (1996)

ตัวอย่างของ Facultative Heterotrophic ในสาหร่าย

มีหลายการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายพวกแพลงก์ตอนสาหร่ายพื้นท้องน้ำหลายสปีชีส์สามารถเจริญได้ที่ในอาหารที่เลี้ยงแบบ heterotrophic โดยการเติมแหล่งสารอินทรีย์ลงไปและเลี้ยงในที่มืดหมด (ตารางที่ 2)

การทดสอบการเจริญของสาหร่ายในที่มืดเพื่อที่จะเพิ่มปริมาณการเจริญแบบ heterotrophic ของสาหร่ายเนื่องจากการอยู่รอดของสาหร่ายในสภาพที่มืดหมดในธรรมชาติเป็นผลของสภาวะพักตัวไม่ใช่กลไกทาง heterotrophic อย่างไรก็ตามยังมีตัวอย่างของสาหร่ายที่เจริญในสภาพที่มีแสงเป็นระยะเวลานานแล้วเปลี่ยนเป็นมืดหมดในสภาพธรรมชาติ การงดใช้แสงนี้บางทีทำให้สาหร่ายทนทานขึ้นโดยเข้าสภาวะที่อยู่เฉยๆ ใช้กลไกทาง heterotrophic หรือทั้งสองอย่าง ตัวอย่างเช่น Wasmund (1989) ได้แสดงถึงความสามารถของสาหร่ายหลายสปีชีส์ รวมทั้ง *Scendesmus quadricanda, S. intermedius,Monoraphidium contortum, Oscillatoria limnetica, Lyngbya contorta, Merismopedia punctata, Fragilaria construens* และ *Nitzchia acicularis* การที่จะนำสาหร่ายกลับมาสู่สภาพที่สังเคราะห์แสงภายใต้สภาวะมีแสงปกติหลังจากถูกฝังใต้ photic zone ในน้ำทะเลที่ตื้นๆเพื่อยืดเวลาความสามารถนี้ไม่ได้เป็นลักษณะเฉพาะของสาหร่ายกลุ่มเดียว ซึ่งสปีชีส์ดังที่กล่าวดังกล่าวมาแล้วนั้นจัดอยู่ใน 3 ดิวิชั่นคือ *Chlorophyta, Cyanophyta* และ *Bacillariophyta* ในรูปของแพลงก์ตอนและสาหร่ายพื้นท้องน้ำ มีสาหร่ายหลายจีนัส ถูกพบว่ามีชีวิตรอดในพื้นดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใต้น้ำได้ยาวนานขึ้น โดย Kuehn และคณะ (1992) พบ *Chlorella, Navicula, Ankistrodesmus, Oscillatoria* และ *Stichococcus* จาก aphotic aquifer

ตารางที่ 3 สาหร่ายที่เขียวแกมน้ำเงินที่สามารถเจริญในห้องทดลองในที่มืดหมดโดยใช้สารอินทรีย์เป็นสับเสตรท

Taxon	Organic substrate	Source
Cyanobacteria		
Agemenellum quadruplicatum	Urea, allantoic acid	Oliverira and Huynh (1990)
Anabaena variabilis	Glucose, fructose, sucrose	Bastia et al.(1993)
Ankistrodesmus braunii	D-Glucose	Bollman and Robinson (1985)
Aphanocapsa (6 strain)	Glucose	Rippka (1972)
Aulosira prolifica	Glucose, fructose, sucrose	Bastia et al.(1993)
Calothrix parietina	Glucose, fructose, sucrose	Bastia et al.(1993)
Chlorogloea (1 strain)	Glucose	Rippka (1972)
Microchaeta uberrima	Glucose, fructose, sucrose	Bastia et al.(1993)
Nostoc sp.	Vanillic acid	Hussein et al. (1989)
N. commune	Glucose, fructose, sucrose	Bastia et al.(1993)
N. linckia	Glucose, fructose, sucrose	Bastia et al.(1993)
Rivularia sp.	Glucose, fructose, sucrose	Bastia et al.(1993)
Westiellopsis prolifica	Glucose, fructose, sucrose	Bastia et al.(1993)
Chrysophyceae		
Olisthodiscus lutes	Urea	Oliveira and Huynh (1990)
Poterioochromonas malhamensis	Glucose, glycerol, ethanol	Lewitus and Caron (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Taxon	Organic substrate	Source
Dinophyceae		
Amphidinium carterae	Urea, hypoxanthine	Oliveira and Huynh (1990)

ที่มา: Tuchman (1996)

2.9 การวัดน้ำหนักแห้ง (Dry weight measurement)

การวัดน้ำหนักแห้งเหมาะกับสาหร่ายที่ไม่ใช่เซลล์เดี่ยวที่นับจำนวนเซลล์ไม่ได้ ฉะนั้นจึงนิยมใช้กับสาหร่ายชนิดที่เป็นเส้น วิธีวัดควรจะวัดทุกวันแล้วนำผลมาพล็อตกราฟ เริ่มการวัดโดยเก็บตัวอย่างจากภาชนะเลี้ยง กรองสาหร่ายออกจากน้ำโดยการปั่นให้ตกตะกอนรินน้ำใสข้างบนออก นำตัวอย่างไปอบให้แห้ง อุณหภูมิที่ใช้อบแห้งประมาณ 70-110 °C นานประมาณ 10-12 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

2.10 การสกัดรงควัตถุ (Soni, 2006)

การเลือกวิธีการสกัดที่เหมาะสมเป็นสิ่งที่สำคัญมากสำหรับการที่จะเก็บเกี่ยวรงควัตถุได้มากที่สุด ซึ่งมีวิธีการตรวจสอบหลายๆวิธีการอย่างเช่น การทำให้เซลล์แตกโดยวิธีกลโดย waring blender sonication french press การใช้ไลโซไซม์ การแช่แข็งและการทำละลาย ออสโมซิส สำหรับการทำให้เซลล์แตกขั้นต้น การแช่แข็งและการทำละลายเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดซี-ไฟโคไซยานิน เมื่อเทียบกันกับวิธีอื่นๆที่กล่าวมา ในวิธีอื่นๆ โดยสังเกตเห็นข้อได้เปรียบอย่างเช่น การบดโดย waring blender ทำให้ขาดความสามารถที่จะทำให้นำมาสกัดอีกได้ sonication เป็นผลทำให้สีและการเรืองแสงของโปรตีนสูญเสียไป ผนังเซลล์หลายชั้นต้องการ lysozyme ความเข้มข้นสูงถึง 0.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) สำหรับการสกัดไฟโคบิลลิโปรตีนจากสายพันธุ์ที่เราคัดแยกมา และถึงแม้ว่าพีเอชของบัฟแฟอร์ที่ใช้ในกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ไม่ใช่พีเอชที่เหมาะสมสำหรับกิจกรรมการทำให้เกิดการแตกตัว ซูโครสซึ่งเป็นตัวกลางในการออสโมซิส แสดงให้เห็นถึงผลที่ใกล้เคียงกันกับการแช่งแข็งและการทำละลาย แต่มีความเสี่ยงที่จะเกิดการปนเปื้อนและการลดขนาดของโปรตีนเพิ่มขึ้น ข้อเสียของวิธีการสกัดแบบการแช่แข็งและทำละลายนั้นมีน้อยมากหรือแทบสังเกตเห็นไม่ได้เลย กลไกที่เป็นที่ยอมรับที่สุดเบื้องหลังความสำเร็จของการสกัดโดยการแช่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แข็งและทำละลายนั่นคือการที่ทำให้เซลล์บวมและแตกออกจากกันเกิดเป็นรูปร่างที่แหลมคมของผลึกน้ำแข็งในระหว่างกระบวนการแช่แข็งและหลังจากนั้นเกิดการหดตัวในช่วงที่ทำลายโครงสร้างในการที่ไม่มีด้นแบบแสดงให้เห็นสำหรับการสกัดไฟโคไซยานิน จากเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียที่ได้มากที่สุด ทำให้มีการศึกษาอุณหภูมิของการแช่แข็งและการทำละลายในหลายๆช่วงอุณหภูมิการสกัดไฟโคไซยานินที่ได้สูงที่สุดได้มาจากที่อุณหภูมิ -25 องศาเซลเซียสและ 4 องศาเซลเซียสสำหรับอุณหภูมิการแช่แข็งและการทำละลายตามลำดับ การแช่แข็งและการทำละลาย 4 รอบนั้นทำให้ได้ไฟโคบิลลิโปรตีนที่สกัดได้ในปริมาณที่สูงที่สุด ไม่มีสีในการสกัดที่สามารถเก็บเกี่ยวได้จากการทำแช่แข็งและการทำละลายต่อไป

2.11 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (อังคณา, 2544)

อังคณา (2544) อ้างถึงงานวิจัยทางด้านอนุกรมวิธานของสาหร่ายน้ำจืดที่ผ่านมา บางส่วนเป็นงานวิจัยทั่ว ๆ ไป ไม่เฉพาะเจาะจงกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง (Negoro, 1953 ; Cassie และ Freeman, 1980; Willen, 1992; Fumanti, Cavacini และ Alfinito, 1997; Izaguirre และ Pizarro, 1998; Unrein และ Vinocur, 1999; Danilov และ Ekelund 2000 และ Vardaka, Moustaka-Gouni และ Lanaras, 2000) ในขณะที่งานวิจัยบางส่วนเป็นงานวิจัยที่ศึกษาเฉพาะกลุ่มที่สนใจ (Hirano, 1952a; 1952b; 1952c; Yamaguchi และ Hirano, 1953a; 1953b; 1954; Etheredge และ Pridmore, 1984 ; Negoro, 1991 Negoro และ Aoki, 1991)

งานวิจัยเกี่ยวกับความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดที่ผ่านมา แม้จะทำให้เรารู้และเข้าใจความหลากหลายของสาหร่ายเพิ่มขึ้น แต่ก็เป็นการศึกษาที่อุณหภูมิต่ำและที่อุณหภูมิปกติ ส่วนสาหร่ายที่เจริญ ณ อุณหภูมิสูง มีผู้ศึกษาน้อยมาก ทำให้เราขาดแคลนข้อมูลในส่วนนี้ ซึ่งอาจเป็นข้อมูลสำคัญที่จะนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต เพราะในปัจจุบันเริ่มมีการศึกษาค้นคว้าเพื่อหาเอนไซม์ใหม่ ๆ จากสิ่งมีชีวิตที่เจริญ ณ อุณหภูมิสูงมาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม (Niehaus, Bertoldo, Kahier และ Antranikian, 1999)

ตั้งแต่อดีตเป็นต้นมามีผู้สนใจศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายที่เจริญ ณ อุณหภูมิสูงและมีการรายงานช่วงอุณหภูมิที่พบสาหร่ายเหล่านั้น รวมถึงอุณหภูมิสูงสุดที่สาหร่ายสามารถเจริญอยู่ได้ เพื่อเป็นข้อมูลใหม่ ๆ บันทึกไว้ตลอดมา ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการค้นพบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยในปี ค.ศ. 1903 Setchell พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในช่วงอุณหภูมิ 65-68 องศาเซลเซียสเป็นส่วนใหญ่ และพบน้อยมากที่อุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส ต่อมาในปี ค.ศ. 1914 Elenkin และ Copeland พบที่อุณหภูมิสูงถึง 85 องศาเซลเซียส

อย่างไรก็ตามในปี ค.ศ. 1923 Vouk ค้นพบว่านอกจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินแล้ว ไดอะตอมและสาหร่ายสีเขียวก็สามารถเจริญในที่อุณหภูมิสูงได้ด้วย แต่หลังจากรายงานการค้นพบของ Vouk แล้ว การศึกษาก็ยังคงดำเนินต่อไปในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเช่นเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมาในปี ค.ศ. 1928 Molish พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อุณหภูมิ 69 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นปี ค.ศ. 1936 Geitler และ Ruttner พบที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียสเป็นส่วนใหญ่ และพบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 3 ชนิด (Desikachary, 1959) จนกระทั่งปี คศ. 1966 Patrick และ Reimer รายงานว่ามีการพบไดอะตอมในน้ำพุร้อนของหมู่เกาะอินดิสตะวันออกที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นรายงานช่วงอุณหภูมิที่พบเพียงอย่างเดียว ไม่มีการรายงานชนิดที่พบ

หลังจากนั้นเริ่มมีการรายงานการศึกษาละเอียดขึ้น โดยรายงานชนิดที่พบควบคู่กับการรายงานอุณหภูมิด้วย ซึ่งการศึกษาก็ยังคงอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นส่วนใหญ่ ในปี ค.ศ. 1962 Yoneda ศึกษาสาหร่ายที่เจริญ ณ อุณหภูมิสูงในน้ำพุร้อน 3 แห่ง คือ น้ำพุร้อนโทยาโกะ (Toyako) น้ำพุร้อนคารุรุสุ (Karurusu) และน้ำพุร้อนมารุโคมะ (Marukoma) ตั้งอยู่ในเมืองอิบุริ (Iburi),ฮอกไกโด (Hokkaido) พบสาหร่ายทั้งหมด 38 ชนิด เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 21 ชนิด ไดอะตอม 16 ชนิดและสาหร่ายสีเขียว 1 ชนิด ซึ่งที่น้ำพุร้อนโทยาโกะมีสาหร่ายเจริญอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 46-49 องศาเซลเซียส มีค่า pH อยู่ในช่วง 7.2-7.4 พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 6 ชนิดเป็นชนิดที่พบได้ทั่วไปในที่ที่มีอุณหภูมิสูง และพบที่เป็นชนิดเด่น คือ *Mastigocladus laminosus* และ *Phormidium laminosum* ส่วนน้ำพุร้อนคารุรุสุมีสาหร่ายเจริญอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 30-52.5 องศาเซลเซียส มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.8-7.0 พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 15 ชนิด และไดอะตอม 11 ชนิด และที่อุณหภูมิ 52.5 องศาเซลเซียสพบสาหร่ายที่พบได้ทั่วไปในที่ที่มีอุณหภูมิสูง 3 ชนิด คือ *Synechococcus elongates* var. *amphigranulatus, Mastigocladus laminosus* และ *Phormidium laminosum* สำหรับน้ำพุร้อนมารุโคมะมีสาหร่ายเจริญอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 38.5-45 องศาเซลเซียส มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.8-6.9 พบสาหร่ายมีเขียวแกมน้ำเงิน 3 ชนิด ไดอะตอม 5 ชนิด และสาหร่ายสีเขียว 1 ชนิด คือ *Palmella mucosa*

ต่อมาในปี ค.ศ. 1972 Walter และคณะพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 1 ชนิด คือ *Phormidium sp.* บริเวณ Yellowstone National Park ในช่วงอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส จากนั้นในปี ค.ศ. 1977 Doemel และ rock พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดเซลล์เดียว 1 ชนิด คือ *Synechococcus lividus* บริเวณ Octopus Spring และ Ravine Spring ที่ Yellowstone National Park ในช่วงอุณหภูมิ 55-56 องศาเซลเซียส และในปี ค.ศ. 1991 Banderas-Tarabay และคณะได้ศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายในน้ำร้อนที่ EI Sol (High-mountain lake in Caldera of Nevado de Toluca Volcano) ประเทศเม็กซิโก พบสาหร่ายในหลายๆ กลุ่มด้วยกัน ได้แก่ เดสมิดส์ในสกุล *Closterium, Desmidium, Pleurotaenium* และ *Euastrum* , ไดโนแฟลกเจลเลต สกุล *Peridinium*, ไดอะตอม และสาหร่ายสีเขียวก้นท้องน้ำในสกุล *Nitella, Oedogonium* และ *Zygnema* ซึ่งพบเป็นจำนวนมาก โดยจะพบสาหร่ายเหล่านี้อยู่ในระดับความลึกไม่เกิน 14-15 เมตร

หลังจากนั้น ในปี ค.ศ. 1992 Jha ได้ศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายในน้ำร้อนที่ Rajgir Springs ประเทศอินเดีย ซึ่งมีลำธารน้ำพุร้อน 2 แห่งด้วยกัน คือ Suraj Kund และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chandrama Kund พบสาหร่าย 18 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และไดอะตอม สาหร่ายที่เป็นชนิดเด่นใน Suraj Kund คือ *Mastigocladus laminosus* และ *Phormidium* sp. ส่วนสาหร่ายที่เป็นชนิดเด่นใน Chandrama Kund คือ *Oscillatoria* sp. และ *Synechococcus* sp. สำหรับไดอะตอมพบเพียง 10% ของจำนวนชนิดทั้งหมดที่พบ

สำหรับในประเทศไทยนั้น กาญจนภาชน์ ได้รายงานไว้ในปี พ.ศ. 2527 (ค.ศ.1984) ว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถเจริญอยู่ได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 85.2 องศาเซลเซียส (ซึ่งสอดคล้องกับที่ Elenkin และ Copeland ได้รายงานไว้ในปี ค.ศ. 1914) แต่ไม่ได้กล่าวถึงสาหร่ายกลุ่มอื่นว่าสามารถเจริญในที่อุณหภูมิสูงได้หรือไม่

การศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายที่เจริญ ณ อุณหภูมิสูงในประเทศไทยนั้นมีอยู่น้อยมาก และเพิ่งเริ่มมีผู้สนใจศึกษาในช่วงเวลาไม่นานมานี้เอง ในปี พ.ศ. 2535 กาญจนา และสุทธิรักษ์ พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สกุล *Oscillatoria* ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส pH 7-8 ในบ่อน้ำร้อนหินดาด อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี และ *Mastigocladus, Synechococcus* และ *Calothrix* ที่อุณหภูมิ 49 องศาเซลเซียส pH 6-7 ในบ่อน้ำร้อนท่าไม้แดง จังหวัดกำแพงเพชร ต่อมาในปี พ.ศ. 2541 อังคณา และเยาวลักษณ์ ศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายในลำธารน้ำพุร้อนอุทยานแห่งชาติห้วยน้ำดัง จังหวัดเชียงใหม่ พบสาหร่าย 27 ชนิดใน 17 สกุล เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 17 ชนิด สาหร่ายสีเขียว 6 ชนิด และไดอะตอม 4 ชนิด ชนิดเด่น คือ *Oscillatoria* spp. และ *Lyngbya* spp. โดยสาหร่ายส่วนใหญ่เจริญอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส และพบสาหร่ายสีเขียวสกุล *Spirogyra* ที่อุณหภูมิถึง 70 องศาเซลเซียส ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนว่า *Spirogyra* สามารถเจริญที่อุณหภูมิสูงเช่นนี้ได้ นอกจากนี้ยังพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Oscillatoria* ที่อุณหภูมิสูงกว่า 90 องศาเซลเซียสอีกด้วย หลังจากนั้น ในปี พ.ศ. 2542 อุดมลักษณ์ และ ยุวดี ศึกษาสาหร่ายในน้ำพุร้อนสันกำแพง โป่งเดือด และน้ำพุร้อนเทพพนม จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีสาหร่ายจำนวน 76 ชนิด เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 47 ชนิด คริโซไฟต์ 20 ชนิด สาหร่ายสีเขียว 8 ชนิด ยูกลีโนไฟต์ 1 ชนิด ชนิดที่พบหนาแน่นที่สุด คือ *Oscillatoria* spp. ,*Chrococcus* spp. , *Rhopalodia constricta* และ *Anomoeoneis sphaerophora* สาหร่ายส่วนใหญ่เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 40-80 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ

3.1.1 สายพันธุ์ของสาหร่าย (ภาคผนวก ค)

3.1.1.1 *Synechococcus* sp. DSK 72 แยกได้จากน้ำพุร้อนดอยสะเก็ด อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ (กนกวรรณและคณะ, 2549)

3.1.1.2 *Oscillatoria* sp. DSK 52 แยกได้จากน้ำพุร้อนดอยสะเก็ด อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ (กนกวรรณและคณะ, 2549)

3.1.1.3 *Phormidium* sp. DSK 48 แยกได้จากน้ำพุร้อนดอยสะเก็ด อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ (กนกวรรณและคณะ, 2549)

3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

1) ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 150 มิลลิลิตร และ250 มิลลิลิตร
2) กระบอกตวง (measuring cylinder)
3) บีกเกอร์ (beaker)
4) แท่งแก้วคน (glass stirrer)
5) สไลด์และกระจกปิดสไลด์ (slide และ cover slip)
6) กระดาษกรอง Whatman No.541
7) ตะเกียงแอลกอฮอล์
8) จานเพาะเชื้อ (petri dish)
9) เข็มถ่ายเชื้อ (needle)
10) ห่วงถ่ายเชื้อ (loop)
11) สำลี
12) กระดาษกรอง GF/C
13) ปิเปต (pipette)
14) หลอดหยด (dropper)
15) ปากคีบ (forcep)
16) ไมโครปิเปต ขนาด 200 ไมโครลิตร (micropipette)
17) หลอดทดลองสำหรับปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube)
18) ชุดไตเตรชั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 เครื่องมือในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

1) กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบพร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ ยี่ห้อ Nikon, รุ่น ECLIPSE 80i
2) เครื่อง autoclave ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HA-300MZV
3) เครื่องเขย่า (shaker) แบบปรับอุณหภูมิและแสงสว่างได้ ยี่ห้อ Gallankamp, รุ่น Firstek OSI-501
4) ตู้ Laminar ยี่ห้อ M-TECH รุ่น LA-CLEANLINE BS-120
5) ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ยี่ห้อ contherm รุ่น 601 RHS
6) เครื่องชั่งน้ำหนักแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น LIBROR EB 4000H
7) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ยี่ห้อ Hach, รุ่น DC / 400V
8) เครื่องเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) ยี่ห้อ DRBI TAL SHAKER รุ่น OSI-501
9) อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
10) เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ยี่ห้อ EUTECH INSTUMENTS รุ่น pH 510
11) ตู้อบอุณหภูมิสูง ยี่ห้อ WTB binder, รุ่น FD53

วิธีการวิจัย

3.2 การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

1. อาหารสูตร BG-11 และอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ก) เตรียมใส่ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่อาหารปริมาตร 175 มิลลิลิตร และในขวดรูปชมพู่ขนาด 150 มิลลิลิตร ใส่อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร สำหรับเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะแบบ autotrophic

2. อาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลกลูโคส 1 กรัมและ 5 กรัม เตรียมใส่ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่อาหารปริมาตร 175 มิลลิลิตร และในขวดรูปชมพู่ ขนาด 150 มิลลิลิตร ใส่อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร สำหรับเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะแบบ heterotrophic (Kong, 2003)

3.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสภาวะแบบ autotrophic และในสภาวะแบบ heterotrophic

นำตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินของกนกวรรณและคณะ (2549) ที่เตรียมไว้ในอาหาร BG 11 ที่ปรับ pH เท่ากับ 9 แล้วไปทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ศึกษา คือ *Synechococcus* sp. DSK 72 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48 บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เพื่อเป็น Stock culture

3.3.1 *Synechococcus* sp. DSK 72

1. นำสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72 จาก Stock culture เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 และอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตรลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีปริมาตรอาหาร 175 มิลลิลิตร

2. นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน ทำเป็นเชื้อเริ่มต้น (starter)

3. นำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density : OD) ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer DR/400V แล้วนำเชื้อเริ่มต้นที่ได้เติมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีปริมาตรอาหาร 175 มิลลิลิตร ให้มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.1 โดยการคำนวณจากสูตร $M_1V_1 = M_2V_2$ จำนวน 3 ขวด เพื่อทำเป็น Start culture

4. นำ Start culture ในขวดรูปชมพู่แต่ละขวดมาเติมอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว โดยทดลองใน 4 ชุดการทดลอง จำนวน 2 ซ้ำ

ชุดการทดลองที่ 1 อาหาร BG-11 (autotrophic condition)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหาร BG-11 + cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร (Metcalf และคณะ, 2002) (autotrophic condition)

ชุดการทดลองที่3 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose1 กรัมต่อลิตร และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร (heterotrophic condition)

ชุดการทดลองที่4 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 5 กรัมต่อลิตร (Kong, 2003) และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร (heterotrophic condition)

โดยแต่ละชุดการทดลองเติมให้มีปริมาตรเท่ากับ 175 มิลลิลิตรลงในขวดรูปชมพู่ และปิดปากขวดด้วยจุกสำลี

5. นำเฉพาะชุดการทดลองที่ 3 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 1 กรัมต่อลิตร และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตรและชุดการทดลองที่ 4 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 5 กรัมต่อลิตร และcyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร นำฟลาสก์ห่อด้วยกระดาษฟอยล์ โดยเหลือส่วนจุกสำลีที่ปลายปากขวดไว้ มาเลี้ยงในที่มืดหมด คือในตู้บ่มปรับอุณหภูมิที่มีแสงแต่นำกล่องเจาะรูมาครอบฟลาสก์ที่เพาะเลี้ยงสาหร่ายไว้

6. นำสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72 ที่เตรียมได้ทั้งหมดมาเลี้ยงในตู้ปรับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน มีการเขย่าเพื่อให้อากาศ

7. สำหรับชุดการทดลองที่ 3 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 1 กรัมต่อลิตร และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 4 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 5 กรัมต่อลิตร และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร ทั้งหมดจะทำการนำออกมาแกะห่อฟอยล์ออกเพื่อให้แสงทุกวัน วันละ 5 นาที (Kong, 2003) เป็นเวลา 30 วัน

8. วัดการเจริญของสาหร่ายโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน โดยเก็บตัวอย่างครั้งละ 5 มิลลิลิตร และหาค่าลอการิทึมการเจริญจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร

9. บันทึกผลการทดลอง และ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ในช่วง log phase มาคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate : μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (doubling time : t_d) จากสูตร

$$\text{Specific growth rate } (\mu) = \frac{\ln (X_1 / X_2)}{T_1 - T_2}$$

$$\text{Doubling time} = \ln 2 / \mu = 0.693 / \mu$$

X_1 = ค่าการดูดกลืนแสงในวันสุดท้ายของช่วง log phase

X_2 = ค่าการดูดกลืนแสงวันแรกของช่วง log phase

T_1 = วันสุดท้ายของช่วง log phase

T_2 = วันแรกของช่วง log phase

3.3.2 *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48

1. ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินด้วยอาหาร BG-11 และ อาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีปริมาตรอาหาร 175 มิลลิลิตร

2. นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน ทำเป็นเชื้อเริ่มต้น (starter)

3. นำเชื้อเริ่มต้น ได้แก่ *Phormidium* sp. ที่เป็นเชื้อเริ่มต้นจำนวน 0.5 กรัม และ *Oscillatoria* sp. ที่เป็นเชื้อเริ่มต้นจำนวน 0.5 กรัม นำสาหร่ายแต่ละชนิดเติมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 150 มิลลิลิตร ที่มีปริมาตรอาหาร 50 มิลลิลิตร และทำซ้ำเป็นจำนวน 20 ฟลาสก์ต่อสาหร่าย 1 ชนิดเพื่อทำเป็น Start culture

4. นำ Start culture ในขวดรูปชมพู่แต่ละขวดเติมอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว โดยทดลองใน 4 ชุดการทดลอง จำนวน 2 ซ้ำ

ชุดการทดลองที่ 1 อาหาร BG-11 (autotrophic condition)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดการทดลองที่ 2 อาหาร BG-11 ที่เติม cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร(Metcalf และคณะ, 2002) (autotrophic condition)

ชุดการทดลองที่ 3 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 1 กรัมต่อลิตร และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร (heterotrophic condition)

ชุดการทดลองที่ 4 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 5 กรัมต่อลิตร (Kong, 2003) และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร (heterotrophic condition)

เตรียมอาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 1 กรัมต่อลิตร และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตรใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 150 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จำนวน 20 ขวด

5. นำเฉพาะชุดการทดลองที่ 3 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 1 กรัมต่อลิตร และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตรและชุดการทดลองที่ 4 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 5 กรัมต่อลิตร (Kong, 2003) และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร นำฟลาสก์มาห่อด้วยกระดาษฟอยล์ โดยเหลือส่วนจุกสำลีที่ปลายปากขวดไว้ มาเลี้ยงในที่มืดหมด คือในตู้บ่มปรับอุณหภูมิที่มีแสงแต่นำกล่องเจาะรูมาครอบฟลาสก์ที่เพาะเลี้ยงสาหร่ายไว้

6. นำสาหร่ายที่เตรียมได้ทั้งหมดมาเลี้ยงในตู้ปรับอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน มีการเขย่าเพื่อให้อากาศ

7. สำหรับชุดการทดลองที่ 3 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 1 กรัมต่อลิตร และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตรและชุดการทดลองที่ 4 อาหาร BG-11 ที่เติม Glucose 5 กรัมต่อลิตร (Kong, 2003) และ cyclohexamine 0.02 กรัมต่อลิตร ทั้งหมดจะนำออกมาแกะห่อฟอยล์ออกเพื่อให้แสงทุกวัน วันละ 5 นาที เป็นเวลา 30 วัน

8. วัดอัตราการเจริญของสาหร่ายโดยการหาน้ำหนักแห้ง โดยเก็บตัวอย่างครั้งละ 2 ฟลาสก์จากตัวอย่างสาหร่ายที่ทำไว้เป็นจำนวน 20 ฟลาสก์ แล้วนำไปกรองในชุดเครื่องกรองผ่านกระดาษ GF/C ที่อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2- 3 ชั่วโมงแล้วชั่งน้ำหนักกระดาษกรองไว้ก่อน หลังจากกรองสาหร่ายเสร็จ จึงนำกระดาษ GF/C ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส อีกครั้งเป็น เวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปใส่ในตู้ดูดความชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วชั่งน้ำหนักทั้งหมด หลังจากนั้นจึงนำมาคำนวณหาน้ำหนักแห้ง

9. เก็บตัวอย่างสาหร่ายทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน มาหาน้ำหนักเซลล์แห้งโดยเก็บจากสาหร่ายที่เลี้ยงในทั้ง 4 ชุดการทดลองมาจำนวนอย่างละ 2 ขวดต่อครั้ง และหาอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate : μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (doubling time : t_d) ดังข้อ 3.3.1

10. คำนวนหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (ภาคผนวก ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72 *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48 ในขวดรูปชมพู่ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic condition โดยเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีแสง

3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณรงควัตถุบางชนิด

3.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

(อัญชลี, 2546 อ้างถึง Beaker, 1994)

สารเคมี

Absolute methanol

วิธีการทดลอง

1. กรองสาหร่ายปริมาตร 5 มิลลิลิตร หรือ10 มิลลิกรัมของน้ำหนักแห้ง ผ่านกระดาษกรอง GF/C หรือนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที
2. นำกระดาษที่มีสาหร่ายที่เหวี่ยงได้มาเติม absolute methanol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
3. นำไปเหวี่ยงอีกครั้ง
4. แยกเอาสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 665 นาโนเมตร

การคำนวณ

ปริมาณคลอโลฟิลล์ เอ (μg/ml หรือ ml/l) = $(16.5 \times A_{665}) - (8.3 \times A_{650})$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การตรวจหาปริมาณไฟโคไซยานิน

ดัดแปลงจาก Miyakawa K. (อ้างโดย KMUTT, 2001)

สารเคมี

A : $Na_2HPO_4 . 7H_2O$ 1N

B : $NaH_2PO_4 . H_2O$ 1N

C: Phosphate buffer pH 7.0 ผสมกับสารละลาย A 57.7 มิลลิลิตร สารละลาย B 42.3 มิลลิลิตร และ ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

วิธีการทดลอง

1. ชั่งน้ำหนักแห้งของตัวอย่างสาหร่ายที่ทำ freeze-dry แล้ว 5 มิลลิลิตรหรือ10 มิลลิกรัมของน้ำหนักแห้ง กรองผ่าน GF/C
2. เติมบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตร
3. ผสมให้เข้ากันไปแช่แข็งที่ -76 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำให้ละลายที่ 37 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำร้อน 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำซ้ำประมาณ 5 รอบ
4. แล้วนำตัวอย่างที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา10 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 618 นาโนเมตร

การคำนวณ

$$\text{ไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัม)} = \frac{(A_{618}) \times 1000 \times \text{ปริมาตรฟอสเฟตบัฟเฟอร์}}{6500}$$

$$\text{ไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัม) /น้ำหนักแห้ง (กรัม)} = \frac{\text{ไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัม)} \times 1000}{\text{ตัวอย่าง (มิลลิกรัม)}}$$

3.4.3 การตรวจหาปริมาณแคโรทีนอยด์

ดัดแปลงจาก KMUTT (2001)

สารเคมี

1. ไดเอทิลอีเทอร์
2. absolute เอทานอล (C_2H_5OH)/ดัดแปลงใช้ 95% เอทานอล
3. 60% โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)
4. ไดโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Na_2SO_4.anhydrous)
5. 9% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. กรองสาหร่ายปริมาตร 10 ml ผ่านกระดาษกรอง (GF/C) 47 mm diameter)
2. นำกากเซลล์ที่กรองได้รวมทั้งกระดาษกรองใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยง
3. เติมเอทานอล (C_2 H_5OH) 10 ml และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 60% 1 ml และผสมให้เข้ากัน
4. สกัดในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 45-50^0 C เป็นเวลา 5 นาที
5. จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2000 g (3500 rpm) เป็นเวลา 10 นาที
6. แยกเอาสารละลายส่วนที่เขียวใสออกโดยค่อยๆรินใส่กรวยแยก
7. เติมเอทานอล 2 ml ลงในส่วนตะกอนเพื่อล้าง และทำซ้ำข้อ 5 และข้อ 6 เพื่อให้การสกัดสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และผสมสารละลายทั้งหมดเข้าด้วยกัน
8. เติมไดเอทิลอีเทอร์ 15 ml และ NaCl 20 ml แล้วเขย่า
9. ผสมให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้จนกระทั่งส่วนผสมแยกชั้นเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นสีเขียวด้านก้นกรวย และส่วนสีเหลืองด้านบนกรวยแยก
10. ค่อยๆปล่อยสารละลายส่วนที่เป็นสีเขียวออกอย่างช้าๆ
11. เติม NaCl ลงไปในส่วนที่เป็นสีเหลือง และทำซ้ำตามข้อ 9 อีก 2 ครั้ง จนกระทั่งส่วนผสมแยกชั้นเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นสีเหลืองและส่วนที่เป็นสีใส
12. แยกส่วนที่เป็นสีเหลืองออกและใส่ไดโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Na_2SO_4.anhydrous) เล็กน้อยเพื่อดูดน้ำ
13. ปรับปริมาตรของแคโรทีนอยด์ (สารละลายสีส้ม-เหลืองที่ละลายน้ำด้วยไดเอทิลอีเทอร์ให้เป็น 25 ml และผสมให้เข้ากัน
14. สารละลายที่ได้นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm

การคำนวณ

$$\text{มิลลิกรัมของแคโรทีนอยด์ต่อกรัมของเซลล์} = \frac{A_{450} \times 25 \times 100}{260 \times \text{มิลลิกรัมของน้ำหนักแห้ง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 การศึกษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนอุณหภูมิสูงในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic และ Heterotrophic Condition

การเขียนรหัสเชื้อของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่แยกได้

1. ชื่อวิทยาศาสตร์นำหน้า หมายถึง ชนิดของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินระดับจีนัส

- *Synechococcus* sp., *Oscillatoria* sp., *Phormidium* sp.

2. ตัวอักษรลำดับถัดมา หมายถึง สถานที่เก็บตัวอย่าง

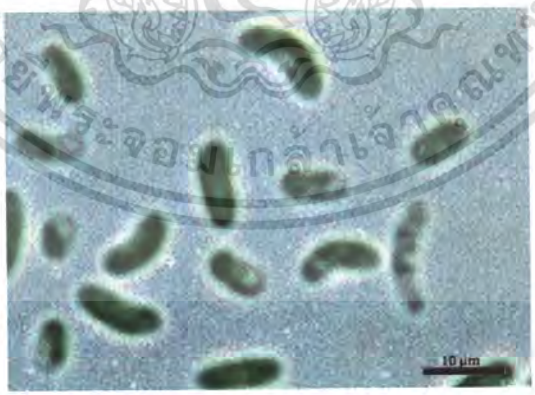
- โป่งน้ำร้อนดอยสะเก็ด (DSK)

3. ตัวเลขตัวหลัง หมายถึง อุณหภูมิขณะที่เก็บตัวอย่าง

เช่น *Synechococcus* sp. DSK 72 หมายถึง สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจีนัส *Synechococcus* sp. เก็บจากโป่งน้ำร้อนดอยสะเก็ดที่อุณหภูมิ 72 °C

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้ง 3 สายพันธุ์คือ

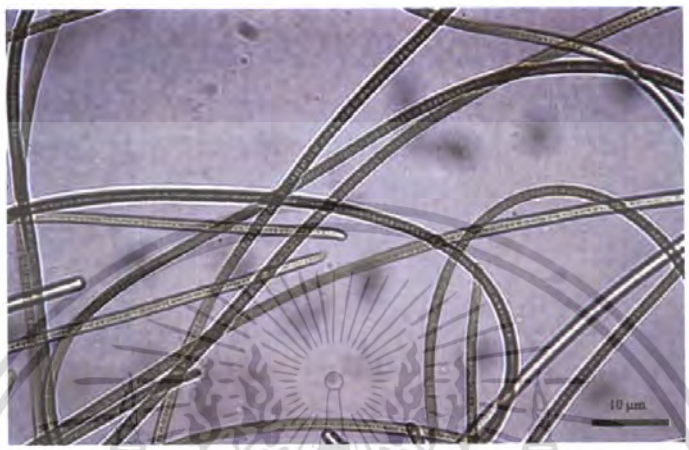
1. *Synechococcus* sp. DSK 72 (รูปที่ 6) แยกได้จากน้ำพุร้อนดอยสะเก็ด อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ ตัวอย่างสาหร่ายเก็บจากอุณหภูมิ 72 °C ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งสั้นๆ ตรง ปลายมน คล้ายกับทรงกระบอกสั้นๆ อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ ไม่มีชีทหุ้มเมื่อแบ่งเซลล์แล้วเซลล์อาจไม่หลุด แต่จะติดเป็นคู่ เซลล์มักมีขนาดใหญ่สีเขียวน้ำเงินสด เซลล์มีการแบ่งตัวแบบ binary fission เห็นเป็นเซลล์ที่มีลักษณะคอดเว้าบริเวณกลางเซลล์



รูปที่ 5 *Synechococcus* sp. DSK 72

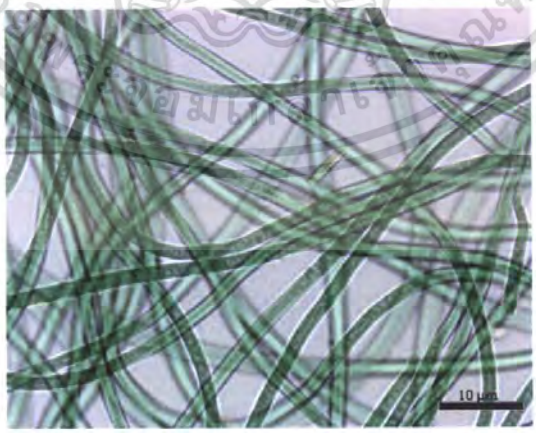
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. *Oscillatoria sp.* DSK 52 (รูปที่ 8) แยกได้จากน้ำพุร้อนดอยสะเก็ด อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ ตัวอย่างสาหร่ายเก็บจากอุณหภูมิ 52°C ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะเป็นเส้นสายเดี่ยวๆ หรืออาจอยู่รวมกันเป็นกลุ่มหนาแน่น ไม่มีชีทหุ้ม แต่ละสายไม่แตกแขนง trichome ประกอบด้วยเซลล์แถวเดียวเรียงต่อกันเป็นสาย และความกว้างของเซลล์สม่ำเสมอตลอดทั้งสาย แต่ละเซลล์มีความกว้างมากกว่าความยาว apical cell



รูปที่ 6 *Oscillatoria sp.* DSK 52

2. *Phormidium* sp. DSK 48 (รูปที่ 7) แยกได้จากน้ำพุร้อนดอยสะเก็ด อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ ตัวอย่างสาหร่ายเก็บจากอุณหภูมิ 48 °C ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะ trichome ประกอบด้วยเซลล์เรียงกันเป็นแถว มีชีทบางๆ ไม่มีสีหุ้ม มีสีเขียวแกมน้ำเงิน เซลล์รูปร่างทรงกระบอก มีรอยคอดระหว่างรอยต่อของแต่ละเซลล์ apical cell เส้นสายไม่ขดเป็นเกลียว มักอยู่รวมกันหลายๆ เส้น ปลายเซลล์จะโค้งมนหรือบางครั้งจะเรียวแหลม



รูปที่ 7 *Phormidium* sp. DSK 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้ง 3 สายพันธุ์คือ *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48 โดยทำการเพาะเลี้ยง 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองที่ 1 อาหาร BG-11 , ชุดการทดลองที่ 2 อาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร, ชุดการทดลองที่ 3 อาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร, ชุดการทดลองที่ 4 อาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ผลการทดลองที่ได้แบ่งตามลักษณะของสาหร่ายได้ดังนี้

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวๆ

***Synechococcus* sp. DSK 72**

เมื่อศึกษาหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72 วัดการเจริญของสาหร่ายโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน พบว่า สาหร่ายชนิดนี้มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในชุดการทดลองที่ 4 คืออาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 1.188 ในวันที่ 9 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.274 ต่อวันและค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 2.520 วัน ในช่วงวันที่ 0-9 โดยคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสง ที่มีค่าเท่ากับ 0.1 และ 1.188 ในช่วงวันที่ 0-9

รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 3 ในอาหาร BG-11ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 0.748 ในวันที่ 9 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.223 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 3.102 วัน ในช่วงวันที่ 0-9 โดยคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสง ที่มีค่าเท่ากับ 0.1 และ 0.748 ในช่วงวันที่ 0-9

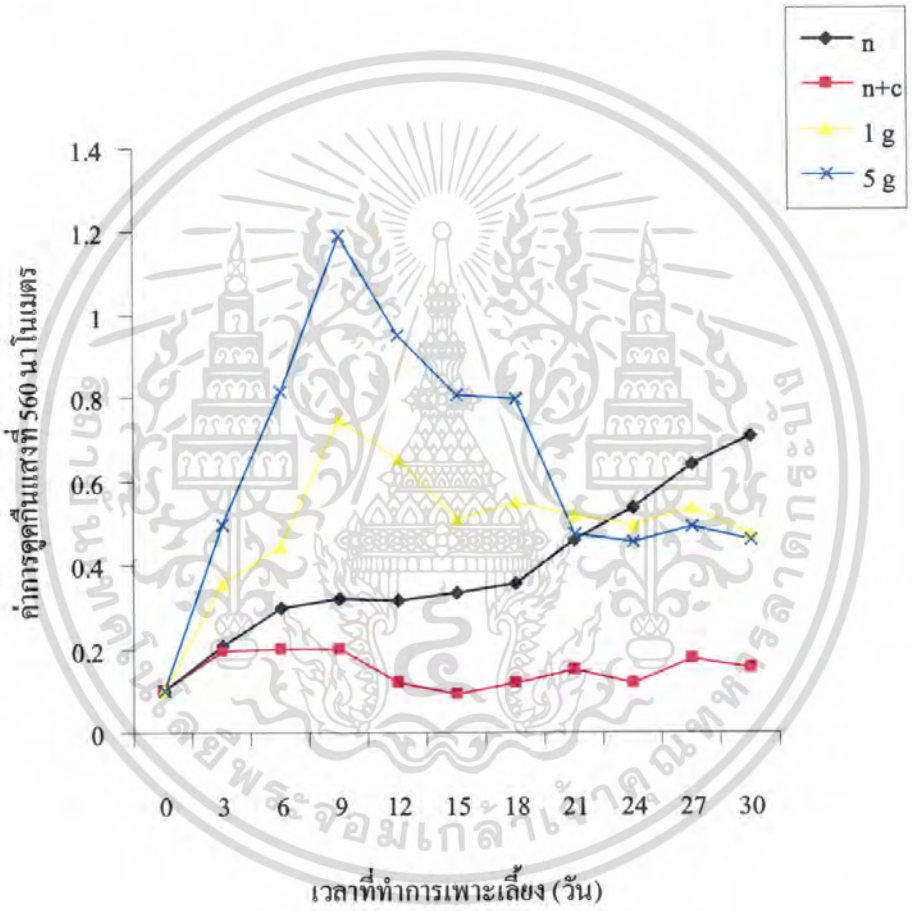
รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 2 ในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 0.199 ในวันที่ 9 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max})เท่ากับ 0.076 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 9.077 วัน ในช่วงวันที่ 0-9 โดยคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสง ที่มีค่าเท่ากับ 0.1 และ 0.199 ในช่วงวันที่ 0-9

รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 1 ในอาหาร BG-11 มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 0.709 ในวันที่ 30 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.050 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 13.810 วัน ในช่วงวันที่ 15-30 โดยคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสง ที่มีค่าเท่ากับ 0.334 และ 0.709 ในช่วงวันที่ 15-30 ดังรูปที่ 8, 9, 10 และ 11 ตารางที่ 6, 7 และ 8 (ภาคผนวก ข)

จากการศึกษาหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72 นั้น พบว่าสาหร่ายชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหาร BG-11 ที่เติม

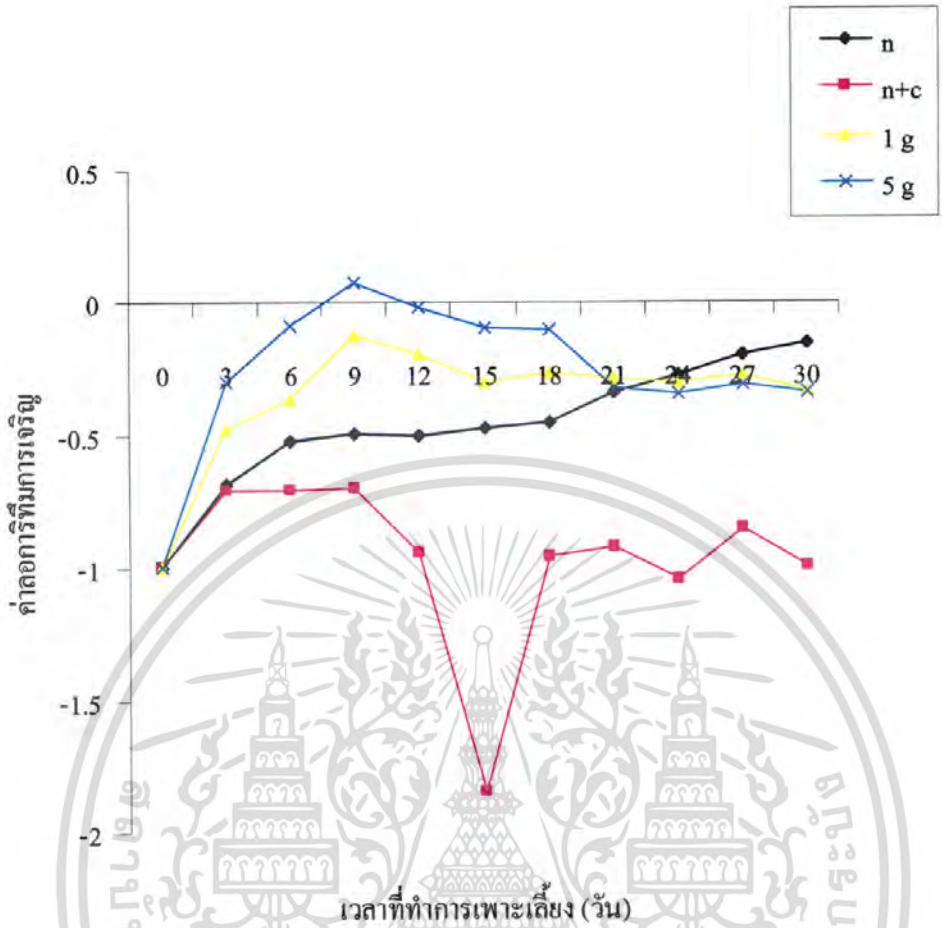
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร จากรูปที่ 10 และ 11 จะเห็นได้ว่าในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร นั้นจะมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) สูงที่สุดและมีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ต่ำที่สุด ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากความชันของกราฟลอการิทึมการเจริญในช่วงระยะ log phase ที่นำมาคำนวณหาค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร จะมีค่าความชันของกราฟที่สูงที่สุดทำให้ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่คำนวณออกมาได้มีค่าสูงที่สุดและส่งผลให้มีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ต่ำที่สุดเช่นเดียวกัน



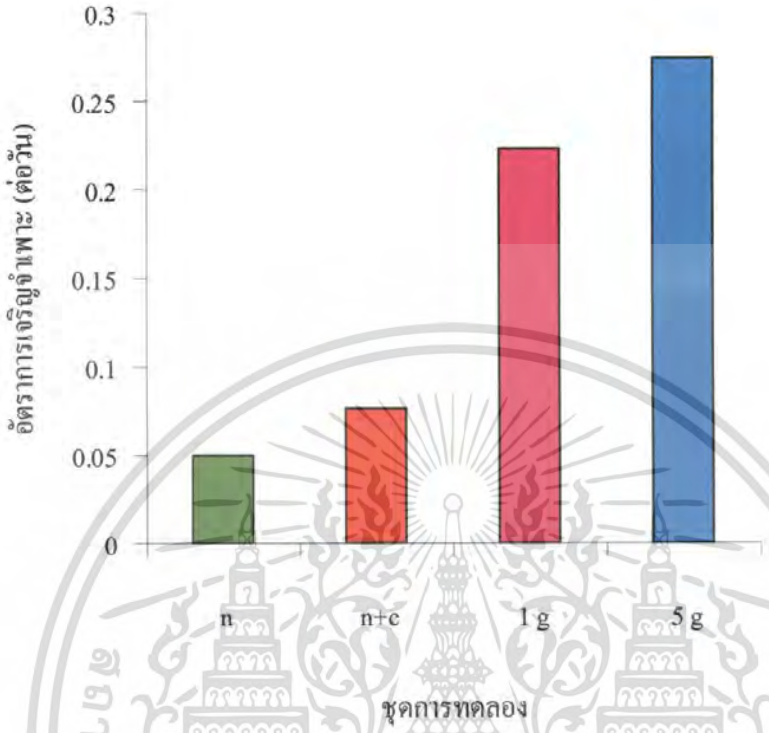
รูปที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของ *Synechococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



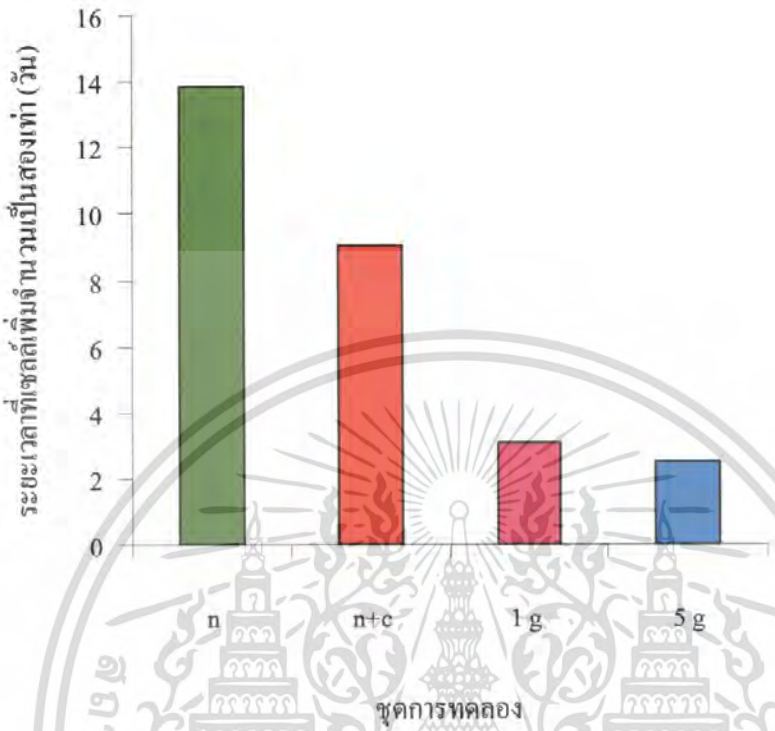
รูปที่ 9 ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Synechococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ของ *Synecococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 11 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Synecococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีลักษณะเป็นเส้นสาย

***Oscillatoria sp.* DSK 52**

เมื่อศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. DSK 52 วัดอัตราการเจริญของสาหร่ายโดยการหาน้ำหนักแห้งทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน พบว่า สาหร่ายชนิดนี้มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในชุดการทดลองที่ 3 คืออาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.322 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 30 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.264 ตต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 2.621 วัน ในช่วงวันที่ 0-6 โดยคำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.293 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงวันที่ 0-6

รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 4 ในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.818 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 30 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.217 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 3.183 วัน ในช่วงวันที่ 0-12 โดยคำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.818 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงวันที่ 0-12

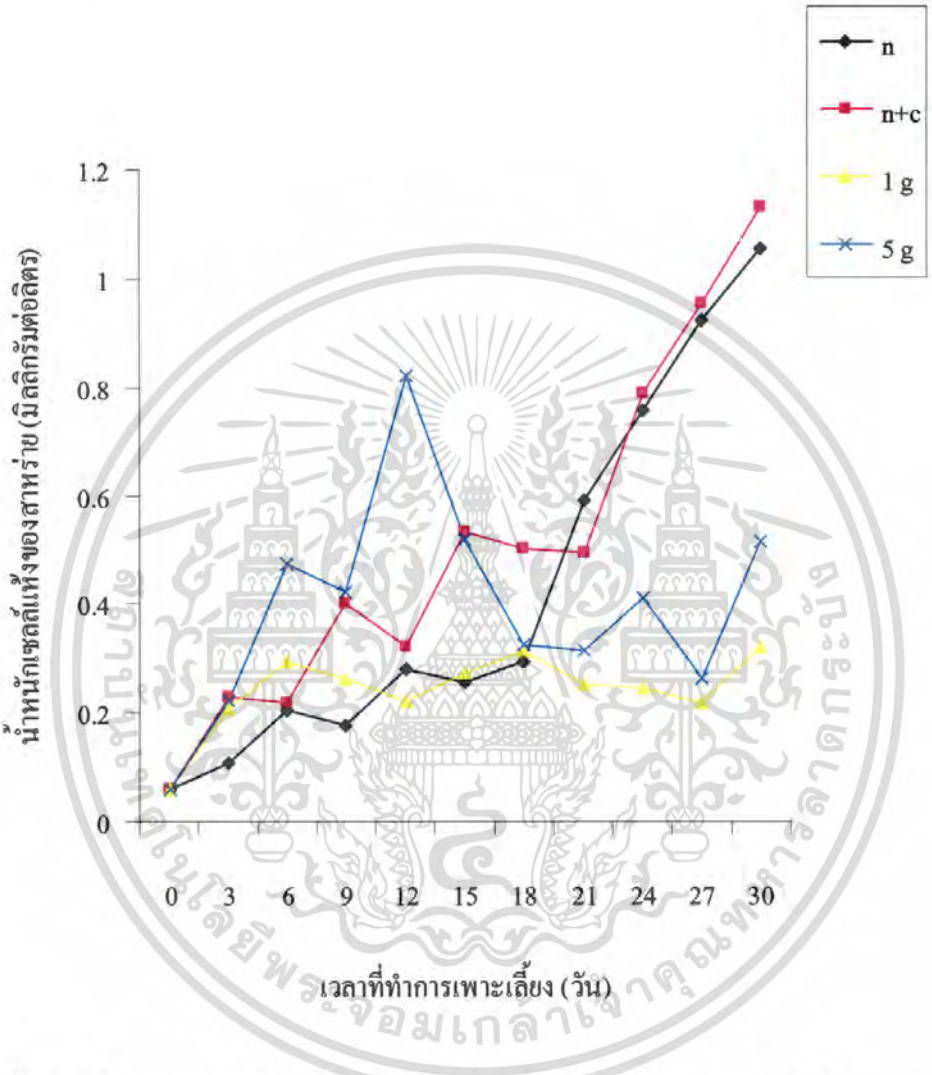
รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 1 ในอาหาร BG-11 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.056 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 30 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.106 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 6.486 วัน ในช่วงวันที่ 18-30 โดยคำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 0.293 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1.056 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงวันที่ 18-30

รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 2 ในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.132 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 30 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.091 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 7.540 วัน ในช่วงวันที่ 21-30 โดยคำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 0.495 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1.132 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงวันที่ 21-30 ดังรูปที่ 12, 13, 14 และ 15 ตารางที่ 9, 10, และ 11 (ภาคผนวก ข)

จากการศึกษาหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. DSK 52 นั้น พบว่าสาหร่ายชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร จากรูปที่ 14 และ 15 จะเห็นได้ว่าในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร นั้นจะมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) สูงที่สุดและมีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ต่ำที่สุด ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากความชันของกราฟลอการิทึมการเจริญในช่วงระยะ log phase ที่นำมาคำนวณหาค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสอง

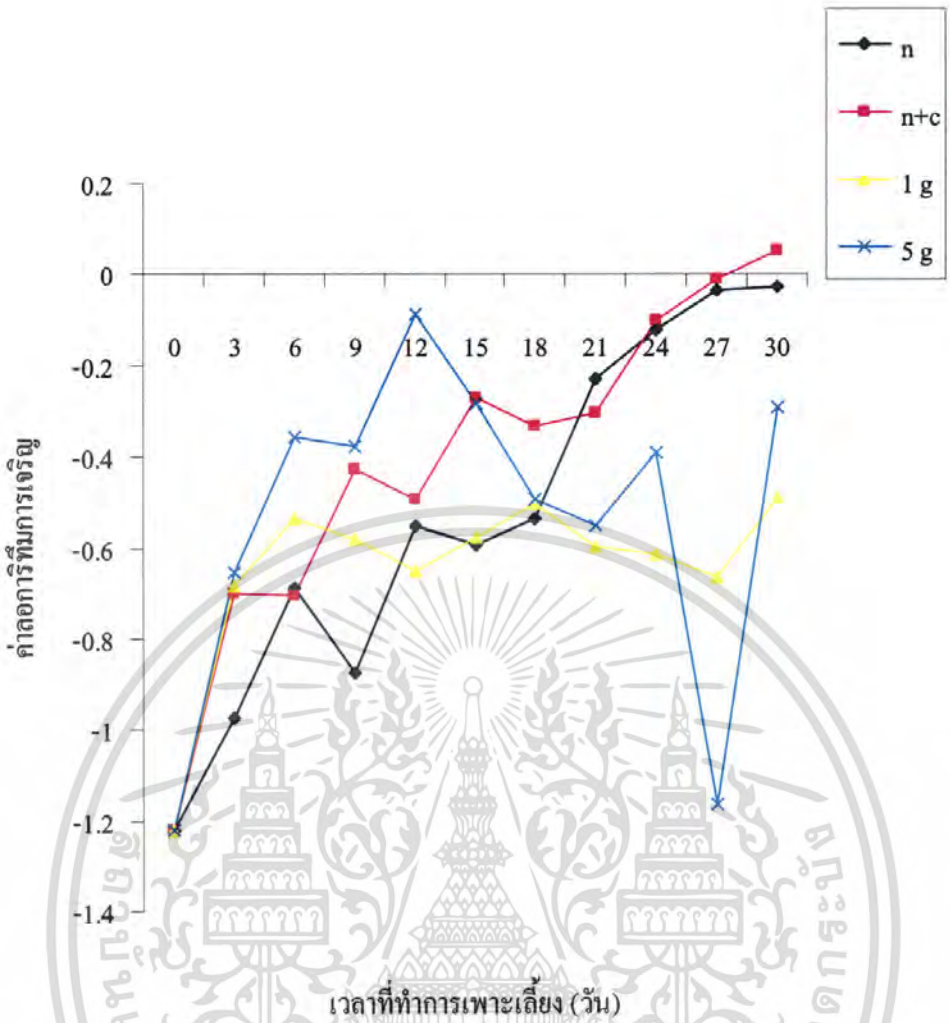
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่า (t_d) นั้นในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร จะมีค่าความชันของกราฟที่สูงที่สุดทำให้ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่คำนวณออกมาได้มีค่าสูงที่สุดและส่งผลให้มีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ต่ำที่สุดเช่นเดียวกัน



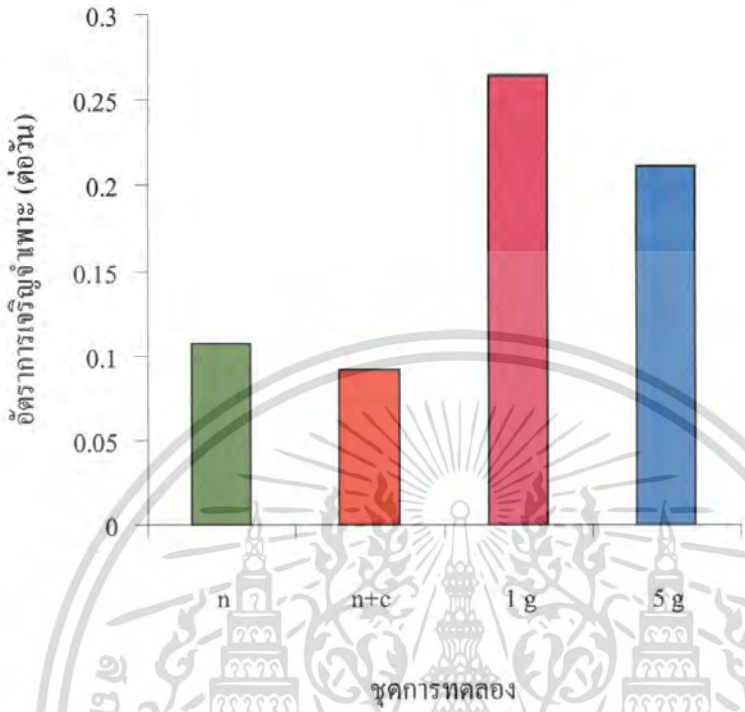
รูปที่ 12 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



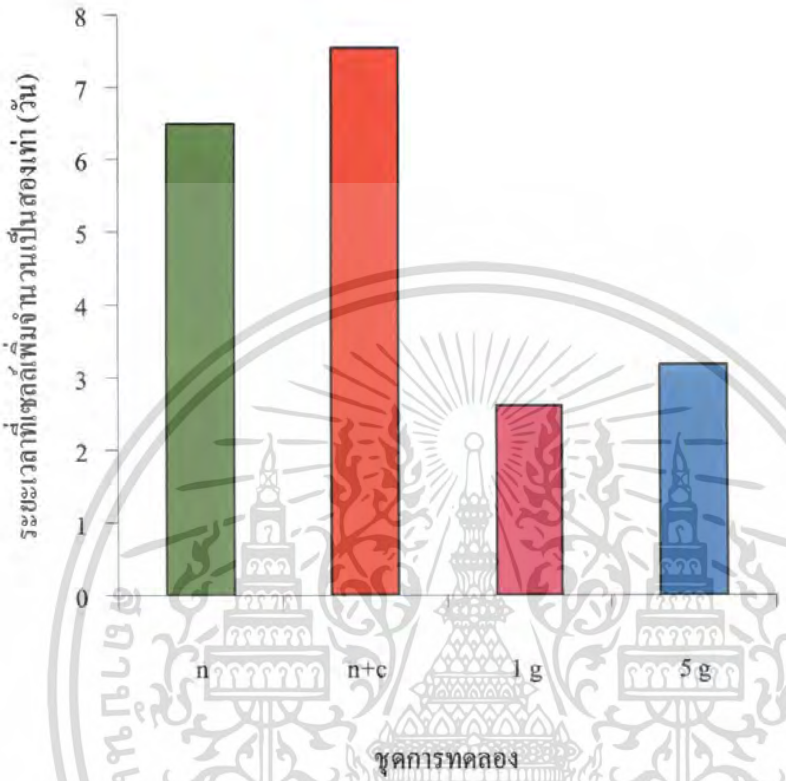
รูปที่ 13 ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 14 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 15 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_g) ของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

***Phormidium* sp. DSK 48**

เมื่อศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Phormidium* sp. DSK 48 วัดอัตราการเจริญของสาหร่ายโดยการหาน้ำหนักแห้งทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน พบว่า สาหร่ายชนิดนี้มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในชุดการทดลองที่ 3 อาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.507 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 15 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.346 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 2.001 วัน ในช่วงวันที่ 0-6 โดยคำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.479 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงวันที่ 0-6

รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 4 ในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.658 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 30 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.232 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 2.975 วัน ในช่วงวันที่ 0-9 โดยคำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.488 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงวันที่ 0-9

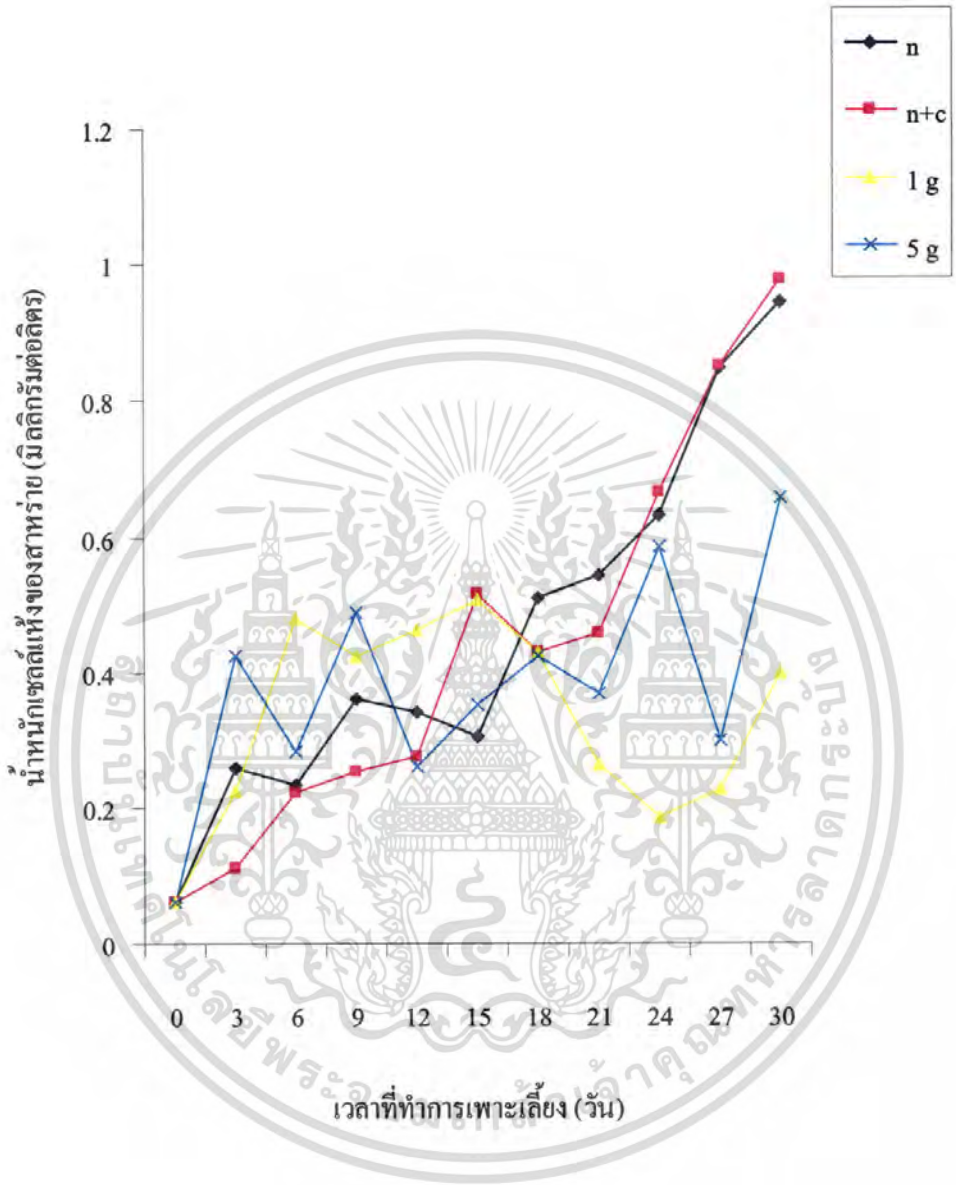
รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 1 ในอาหาร BG-11 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.944 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 30 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.0751 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 9.227 วัน ในช่วงวันที่ 15-30 โดยคำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 0.306 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.944 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงวันที่ 15-30

รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 2 ในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.979 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 30 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.042 ต่อวัน และค่า ระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 16.182 วัน ในช่วงวันที่ 15-30 โดยคำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 0.515 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.979 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงวันที่ 15-30 ดังรูปที่ 16, 17, 18 และ 19 ตารางที่ 12, 13, และ 14 (ภาคผนวก ข)

จากการศึกษาหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Phormidium* sp. DSK 48 นั้น พบว่าสาหร่ายชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร จากรูปที่ 18 และ 19 จะเห็นได้ว่าในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร นั้นจะมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) สูงที่สุดและมีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ต่ำที่สุด ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากความชันของกราฟลอการิทึมการเจริญในช่วงระยะ log phase ที่นำมาคำนวณหาค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร

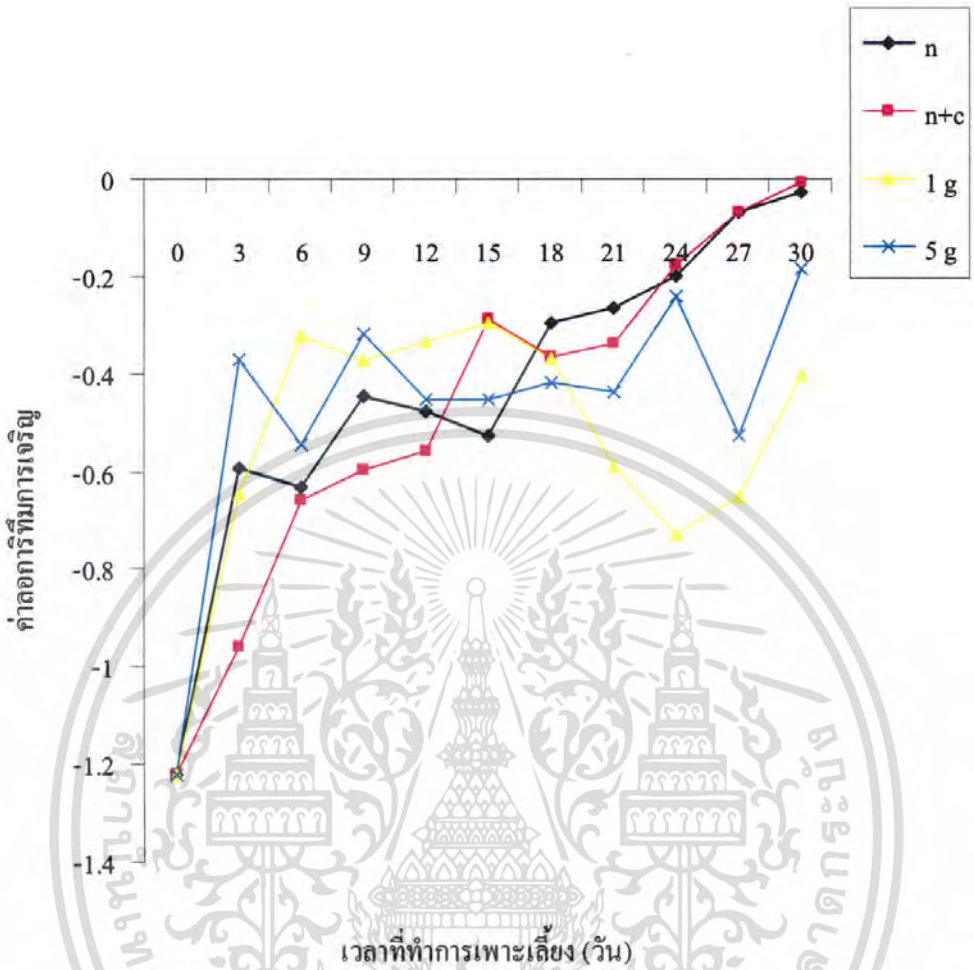
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะมีค่าความชันของกราฟที่สูงที่สุดทำให้ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่คำนวณออกมาได้มีค่าสูงที่สุดและส่งผลให้มีค่า ระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ต่ำที่สุดเช่นเดียวกัน



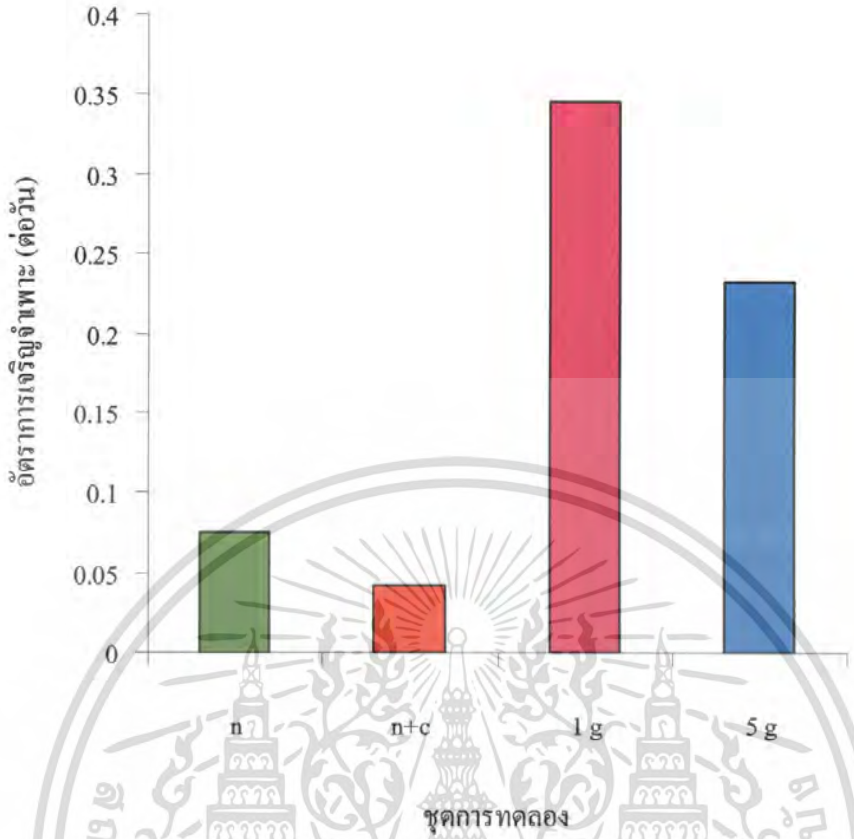
รูปที่16 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



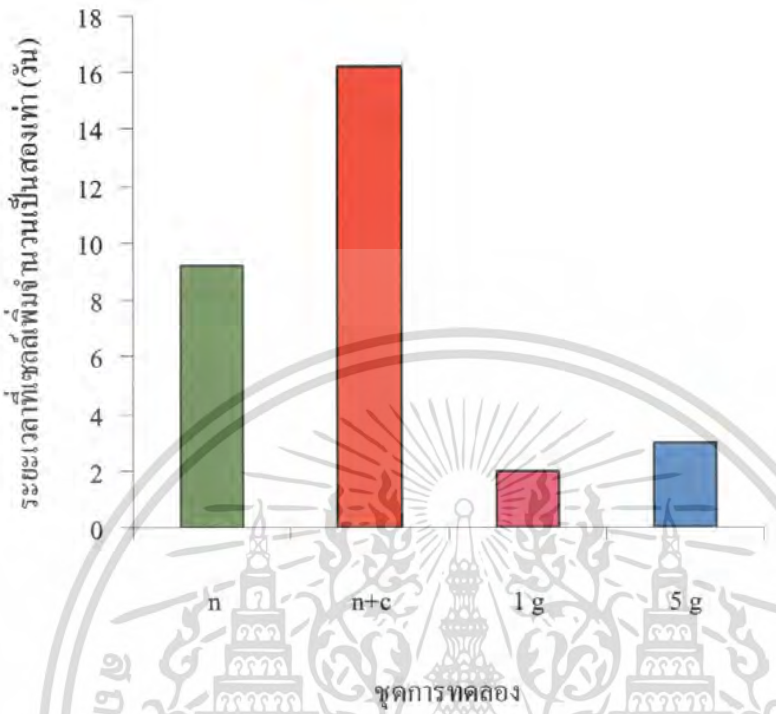
รูปที่ 17 ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 18 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 19 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญในอาหาร BG-11 , BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร, BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร, BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตรของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ จะเห็นได้ว่าในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic เนื่องจากช่วงของระยะ log phase ที่นำมาใช้ในการคำนวณในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic จะมีระยะที่สั้นกว่าแบบ Autotrophic ของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ จะเห็นได้ว่าในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic มีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) สูงกว่าในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic และในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic มีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) สูงกว่าในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic เหตุผลเนื่องมาจากค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ต่ำจะทำให้มีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ที่สูง โดยจะพบว่าสาหร่ายที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวคือ *Synechococcus* sp. DSK 72 มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร ส่วนสาหร่ายพวกที่เป็นเส้นสาย คือ *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48 มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร

นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายเหล่านี้สามารถเจริญได้ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic ที่มีการเติมแหล่งพลังงานคือ glucose 1 กรัมต่อลิตร และ glucose 5 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kong et al. (2003) ว่า *Synechocytis* sp. PCC6803 สามารถเจริญในสภาวะ Heterotrophic ได้ในสภาวะไม่มีแสง ในสูตรอาหาร BG-11 ที่เติมกลูโคส 5 มิลลิโมล และจากการทดลองการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสภาวะ Autotrophic เปรียบเทียบกับสภาวะ Heterotrophic ของเราพบว่านอกจากนี้ยังพบว่าสภาวะ Heterotrophic จะมีการเจริญสูงกว่าในสภาวะ Autotrophic ถึง 5 เท่า ในช่วงระยะ log phase ที่นำมาคำนวณ และนอกจากนี้ยังพบว่ามีงานวิจัยของ คนึงกานต์ (2547) กล่าวว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสภาวะ Autotrophic เปรียบเทียบกับสภาวะ Heterotrophic พบว่าสภาวะ Autotrophic จะมีการเจริญสูงกว่าในสภาวะ Heterotrophic ถึง 10 เท่า

เนื่องจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์นี้มีคุณสมบัติเป็น thermotolerant ซึ่งสาหร่ายบางจีนัสสามารถเจริญได้ถึงอุณหภูมิ 50 °C นับว่ามีประโยชน์อย่างยิ่ง ในการวิจัยและทางอุตสาหกรรมที่ต้องใช้อุณหภูมิสูงในกระบวนการผลิตเนื่องจากสามารถเพาะเลี้ยงและสกัดผลผลิตต่างๆได้ที่อุณหภูมิสูงโดยไม่เสียสภาพและไม่สูญเสียความสามารถในการทำงานของผลผลิต นอกจากนี้ยังเป็นการประหยัดต้นทุนและอุณหภูมิสูงยังป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นอีกด้วย (คนึงกานต์, 2547) และในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic สามารถนำมาเป็นแนวทางใหม่ในการเพาะเลี้ยงได้ เนื่องจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถเจริญได้ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังคงมีการผลิตรงควัตถุได้ด้วย ซึ่งเป็นการประหยัดต้นทุนเนื่องจากไม่ต้องให้แสงกับสาหร่ายตลอดเวลา

4.2 การสกัดรงควัตถุไฟโคไซยานิน, แคโรทีนอยด์, คลอโรฟีลล์ เอ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวๆ

***Synechococcus* sp. DSK 72**

จากการนำสาหร่ายมาทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Synechococcus* sp. DSK 72 คือในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่ามีปริมาณไฟโคไซยานิน 14.384 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง(กรัม) มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.011 มิลลิกรัมต่อเซลล์ (กรัม) และมีปริมาณคลอโรฟีลล์ เอ 1.587 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 20, 21 และ 22 ตามลำดับ ตารางที่ 5

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีลักษณะเป็นเส้นสาย

***Oscillatoria* sp. DSK 52**

จากการนำสาหร่ายมาทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 คือในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่ามีปริมาณไฟโคไซยานิน 7.615 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง(กรัม) มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.013 มิลลิกรัมต่อเซลล์ (กรัม) และมีปริมาณคลอโรฟีลล์ เอ 1.853 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังรูปที่ ดังรูปที่ 20, 21 และ 22 ตามลำดับ ตารางที่ 5

***Phormidium* sp. DSK 48**

จากการนำสาหร่ายมาทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Phormidium* sp. DSK 48 คือในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่ามีปริมาณไฟโคไซยานิน 16.076 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง(กรัม) มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.025 มิลลิกรัมต่อเซลล์ (กรัม) และมีปริมาณคลอโรฟีลล์ เอ 1.763 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 20, 21 และ 22 ตามลำดับ ตารางที่ 5

จากผลการทดลองศึกษาการสกัดรงควัตถุต่าง ๆ ของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่ามีปริมาณไฟโคไซยานินสูงที่สุดใน *Phormidium* sp. DSK 48, มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุดใน *Phormidium* sp. DSK 48 และ มีปริมาณคลอโรฟีลล์ เอสูงที่สุดใน *Oscillatoria* sp. DSK 52

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ อัญชลี (2546) พบว่าการสกัดรงควัตถุในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic ของ *Synecococcus lividus* ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 วัน เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลการทดลองของการสกัดรงวัตถุในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic พบว่ามีปริมาณไฟโคไซยานินในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic น้อยกว่าในสภาวะการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบ Heterotrophic เพียงเล็กน้อย และมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic สูงกว่าในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic ถึง 18 เท่า

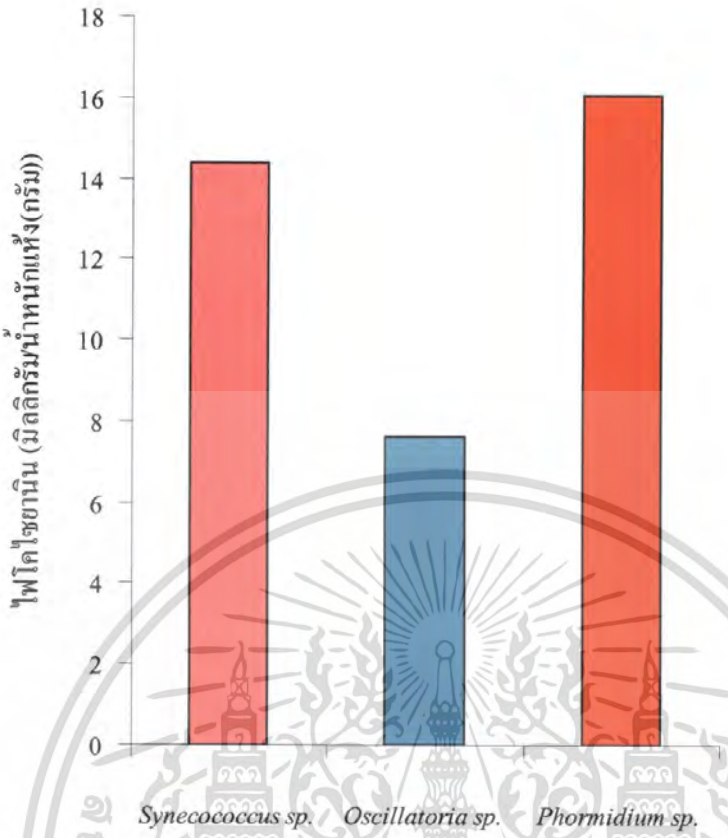
ตารางที่ 4 ค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุชนิดต่าง ๆ (นาโนเมตร) ของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48

ชนิดของสาหร่าย	ค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุชนิดต่าง ๆ (นาโนเมตร)		
	Phycocyanin (618 nm)	Carotenoid (450 nm)	Chlrophyll A (665 nm)
Synecococcus sp.	0.187	0.032	0.192
Oscillatoria sp.	0.099	0.021	0.226
Phormidium sp.	0.209	0.018	0.215

ตารางที่ 5 ปริมาณของรงควัตถุชนิดต่าง ๆ ของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48

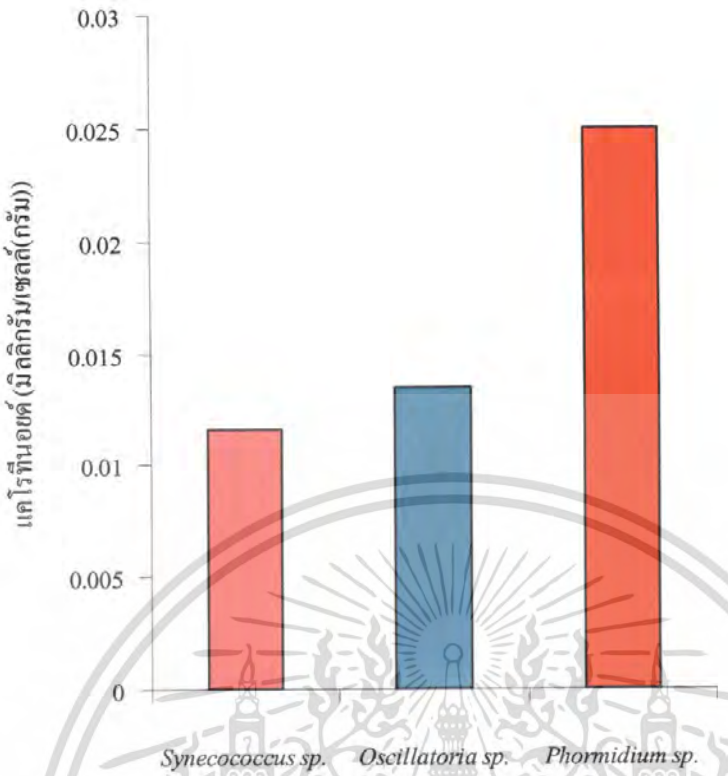
ชนิดของสาหร่าย	ปริมาณของรงควัตถุชนิดต่าง ๆ		
	Phycocyanin (mg/g(dry weight))	Carotenoid (mg/g(cell))	Chlrophyll A (ml/l)
Synecococcus sp.	14.384	0.011	1.574
Oscillatoria sp.	7.615	0.013	1.853
Phormidium sp.	16.076	0.025	1.763

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



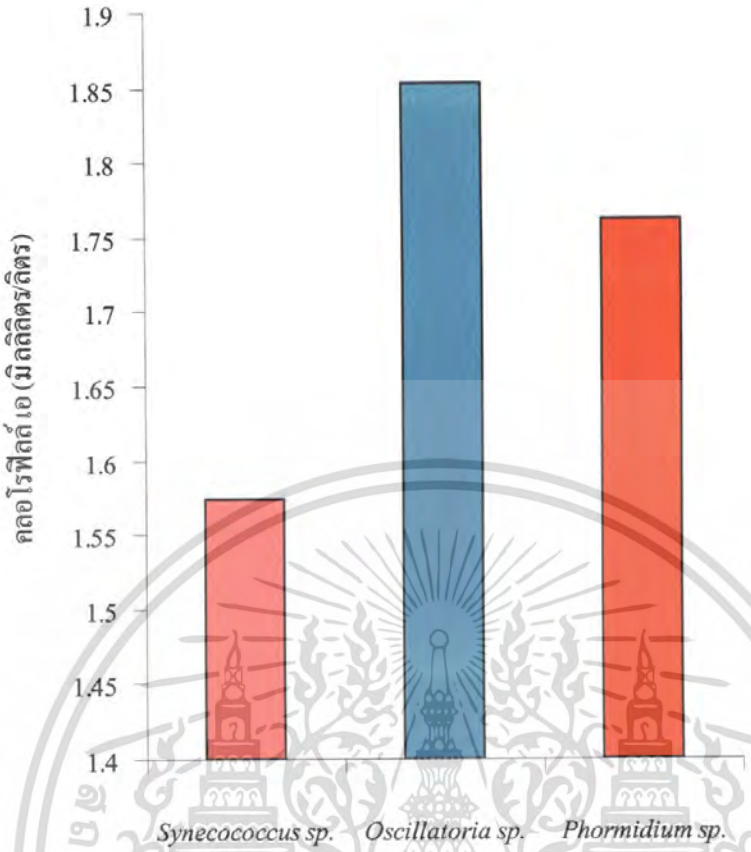
รูปที่ 20 ปริมาณไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัม/น้ำหนักแห้ง(กรัม)) ของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 21 ปริมาณของแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/เซลล์(กรัม)) ของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 22 ปริมาณของคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิลิตร)/ลิตร ของสาหร่าย *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจากน้ำพุร้อน ทนอุณหภูมิสูงในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic และ Heterotrophic โดยหาปริมาณการใช้น้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมเป็นแหล่งคาร์บอน ตรวจดูการเจริญของสาหร่ายและทำการสกัดรงควัตถุสามารถสรุปผลการวิจัยได้ดังนี้

1. จากการศึกษาในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic และ Heterotrophic โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้งหมด 3 จีนัส ดังนี้ คือ *Synechococcus* sp. DSK 72, *Oscillatoria* sp. DSK 52 และ *Phormidium* sp. DSK 48 ในอาหารทั้ง 4 ชุดการทดลองและทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 วัน เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าสาหร่ายทั้งสามสายพันธุ์ สามารถเจริญเติบโตในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic ได้ดีกว่าสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง เนื่องจากมีการเจริญในช่วง log phase ในช่วงวันแรก ๆ ของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นการเจริญจะต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic ถึง 5 เท่า

2. จากการศึกษาในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic Condition สำหรับ *Synechococcus* sp. DSK 72 พบว่าสาหร่ายชนิดนี้เจริญดีที่สุดในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 1.188 ในวันที่ 9 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.274 ต่อวันและค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 2.520 วัน ในช่วงวันที่ 0-9 โดยคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสง ที่มีค่าเท่ากับ 0.1 และ 1.188 ในช่วงวันที่ 0-9

3. จากการศึกษาในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic Condition สำหรับ *Oscillatoria* sp. DSK 52 สาหร่ายชนิดนี้มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.322 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 30 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.264 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 2.621 วัน ในช่วงวันที่ 0-6 โดยคำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.293 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงวันที่ 0-6

4. จากการศึกษาในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic Condition สำหรับ *Phormidium* sp. DSK 48 สาหร่ายชนิดนี้มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในอาหาร BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.507 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 15 และมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.346 ต่อวัน และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เท่ากับ 2.001 วัน ในช่วงวันที่ 0-6 โดยคำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.479 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงวันที่ 0-6

5. จากการศึกษาการสกัดรงควัตถุของ *Synechococcus* sp. DSK 72 พบว่ามีปริมาณคลอโรฟีลล์ เอ 1.593 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณไฟโคไซยานิน 14.384 มิลลิกรัม/น้ำหนักแห้ง (กรัม) และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.0115 มิลลิกรัม/ กรัมของเซลล์

6. จากการศึกษาการสกัดรงควัตถุของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 มีปริมาณคลอโรฟีลล์ เอ 1.8532 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณไฟโคไซยานิน 7.615 มิลลิกรัม/น้ำหนักแห้ง(กรัม) และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.013 มิลลิกรัม/ กรัมของเซลล์

7. จากการศึกษาการสกัดรงควัตถุของ *Phormidium* sp. DSK 48 พบว่ามีปริมาณคลอโรฟีลล์ เอ 1.763 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณไฟโคไซยานิน 16.076 มิลลิกรัม/น้ำหนักแห้ง (กรัม) และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.025 มิลลิกรัม/ กรัมของเซลล์

ข้อเสนอแนะ

1. สาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่แยกได้นั้นจัดเป็นพวก thermotolerant คือสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง จึงสามารถเพาะเลี้ยงและสกัดผลผลิตต่างๆที่ต้องการได้ที่อุณหภูมิสูงโดยไม่เสียสภาพและไม่สูญเสียความสามารถในการทำงานของผลผลิต นอกจากนี้ยังเป็นการประหยัดต้นทุนและที่อุณหภูมิสูงยังช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้อีกด้วย

2. สาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญที่เหมือนกันคือที่ pH 9 ซึ่งที่ pH ดังกล่าวนี้จะช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิดไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย ยีสต์ รา จึงเป็นการช่วยลดการปนเปื้อนในขณะเพาะเลี้ยงได้

3. สาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่นำมาทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic Condition ในอาหารที่มีการเติมแหล่งคาร์บอนคือ กลูโคสในปริมาณ 1 กรัม และ 5 กรัม ซึ่งอาจจะทำการทดลองเพิ่มเติมโดยเติมปริมาณกลูโคสที่แตกต่างออกไปเพื่อดูการเจริญของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ว่ามีผลแตกต่างกันหรือไม่

4. สาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่นำมาทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ Heterotrophic Condition ในอาหารที่มีการเติม cycloheximine จากผลการทดลองพบว่าการเจริญของสาหร่ายมีความแตกต่างกับอาหาร BG-11 เล็กน้อย อาจจะนำมาทำการคำนวณค่าสถิติต่อเพื่อตรวจสอบดูว่าค่าที่ได้แตกต่างกันนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนา ชาญสง่าเวช, สุทธิรักษ์ นิยมฤทธิ์ และศิริเพ็ญ เวชชการัณย์. 2532. การวินิจฉัยของแบคทีเรียสีน้ำเงินแกมเขียวประเภทที่เจริญ ณ อุณหภูมิสูงในบ่อน้ำพุร้อนทางภาคเหนือของประเทศไทย. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

กาญจนา ชาญสง่าเวช และสุทธิรักษ์ นิยมฤทธิ์. 2535. แบคทีเรียสีเขียวแกมน้ำเงินที่เจริญ ณ อุณหภูมิสูง. วารสารวิทยาศาสตร์. 2: 71-75.

กิตติ โพธิปัทมะ, ไพรินทร์ กปิลานนท์ และสมโภชน์ น้อยจินดา. 2538. การผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยวิธีการเพราะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินา (*Spirulina* sp.) แบบต่าง ๆ Carotenoid production by *Spirulina* sp. in Various Cultivation

กนกวรรณ การเจริญดี กุลพัฒน์ คมกฤสและสุมาลี ปานทอง. 2549. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจากน้ำพุร้อนบริเวณภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย.โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คนึงกานต์ กลั่นบุศย์. 2547. เอนไซม์ไฟเตสจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางสายพันธุ์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ชุลีพร วงศ์กา . 2547. รายวิชาเทคโนโลยีและสื่อสารการศึกษา 355201 สงวนลิขสิทธิ์ โดยคณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ปารัช ศิริฤดีภรณ์ และคณะ. 2549. การศึกษายีนไฮโดรจีเนสของไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายสีเขียว ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เลส. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วราภรณ์ ปานอยู่. 2545. การแยกและการหาลักษณะของการทนอุณหภูมิสูงของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจากน้ำพุร้อนบางแหล่งบริเวณภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุมาลี ดุลยอนุกิจ. 2544. ผลของระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในสูตรอาหาร Zarrouk ต่อการเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สระบุรี ชัยมงคล. 2523. จุลินทรีย์ในน้ำพุร้อนโป่งฮ่อม ตำบลออนหลวย อำเภอสันกำแพง จังหวัดเชียงใหม่. การค้นคว้าอิสระเชิงวิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การสอนชีววิทยา), มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อังคณา คณีกุล. 2544. ความหลากหลายของสาหร่ายทนร้อนในลำธารน้ำพุร้อนบางแห่งในจังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดเชียงราย และจังหวัดแม่ฮ่องสอน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อัญชลี เขื่อนเพชร. 2546. ผลของปัจจัยในการเพาะเลี้ยงบางประการต่อการผลิตไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทนร้อน *Synecococcus* spp. การค้นคว้าแบบอิสระ วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Badrish Soni, Beena Kalavadia, Ujjval Trivedi and Datta Madamwar. 2006. Extraction, purification and characterization of phycocyanin from *Oscillatoria quadripunctulata*—Isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat, India. *journal of Process Biochemistry*. 2017 : 1-7

Beaker E.W. 1994. Microalgea: Biotechnology and Microbiology, Greath Britain, Cambridge : University Press.

Dodds W.K., Gudder D.A. and Mollenhauer D. 1995. The ecology of *Nostoc*. *journal of Phycology*. 31 : 2-18.

Dubos RJ. 1937. Mechanism of the lysis of pneumococci by freezing and thawing, bile and other agents. *journal of Experimental*. 66 : 101–12.

Khoja T.M. and Whitton B.A. 1975. Heterotrpphic growth of filamentous blue-green aglae. *British Phycological journal*. 10 : 129-148.

Kong Xudong Xu and Zhengyu Hu. 2003. A TPR-family membrane protein gene is required for light-activated heterotrophic growth of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEMS Microbiology Letters*. 219 : 75-79.

Metcalf J.S., Lindsay J. Beattie K.A., Bermingham S., Saker M.L., Törökné A.K. and Codd G.A. 2002. Toxicity of cylindrospermopsin to the brine shrimp *Artemia salina* : comparison with protein synthesis inhibitiors and microcystins. *Toxicon*. 40 : 1115-1120

Moezelaar R. and Stal L.J. 1997. A comparison of fermentation in cyanobacterium *Microcystis* PCC7806 grow under the light/dark cycle and continuous light. *European journal of Phycological*. 32: 373-378.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Schneegurt M.A., Sherman D.M. and Sherman L.A. 1997. Growth, Phisiology and Ultrastructure of a dizotrophic cyanobacterium Cyanothece sp. Strain ATCC51142, in mixotrophic and chemoheterotrophic culture. *Journal of Phycological.* 33: 632-642.

Smith A.J. 1973. Sythesis of Metabolic Intermediates. *In* the biology of Blue-green Algae, edited by Carr N.G. and Whitton B.A. Berkley, CA : University of california Press.

Tuchman N.C. 1996. The Role of heterotrophy in Algae Ecology : Freshwater Benthic Ecosystems, edited by Stevenson R.J., Botywell M.I. and Lowe R.I. San Diego, CA : Academic Press.

Viskari PJ and Colyer CL. 2003. Rapid extraction of phycobiliproteins from cultured cyanobacteria samples. *Analytical Biochemistry* 319 : 263–71.

http:// www.allyncali16.tripod.com/id1.html (18/11/50)

http://www.biochem.arizona.edu/.../Photosynthesis.html (18/11/50)

http://www.chesterfield.k12.sc.us/.../BiologyICP.html (18/11/50)

http://www.ibvf.csic.es/Cultivos/Seccion_I.htm (12/12/50)

http://www.kensbiorefs.com/cellchem.html (12/12/50)

http://www.ku.ac.th/e-magazine/july46/agri/seaweed.html (1/2/51)

http://www.msds.pcd.go.th/searchName.asp?vID=947 (1/2/51)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

อาหาร BG-11 medium (วราภรณ์, 2545 อ้างถึง Stanier และคณะ, 1971 และ Rippka และคณะ, 1979)

การเตรียมอาหารสูตร BG-11 นี้จะเตรียมเป็น stock solution ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

Stock	**Stock solution**	**ml/Litre**
1. $NaNO_3$	150 g/L	10 ml
2. $K_2HPO_4.3H_2O$ หรือ *K_2HPO_4	40 g/L หรือ *30 g/L	1 ml
3. $MgSO_4.7H_2O$	75 g/L	1 ml
4. $CaCl_2.2H_2O$	36 g/L	1 ml
5. Citric acid	6 g/L	1 ml
6. Ferric ammonium citrate	6 g/L	1 ml
7. Na_2-EDTA.$2H_2O$	1 g/L	1 ml
8. Na_2CO_3	20 g/L	1 ml
9. *Trace-metal mix A5	ส่วนประกอบด้านล่าง	1 ml

***Trace-metal mix A5**

ส่วนประกอบ	**g/Litre**
1. H_3BO_3	2.86 g
2. $MnCl_2.4H_2O$	1.81 g
3. $ZnSO_4.7H_2O$	0.222 g
4. $Na_2MoO_4.2H_2O$ หรือ $Na_2MoO_4.5H_2O$	0.39 g
5. $CuSO_4.5H_2O$	0.079 g
6. $Co(NO_3)_2.6H_2O$	0.0494 g

การเตรียม Trace-metal ควรละลายส่วนประกอบแต่ละตัวก่อน จากนั้นจึงนำอาหารที่ทำการเตรียมได้ไปทำการปรับค่าพีเอช (pH) ให้มีค่าพีเอช (pH) เท่ากับ 9 โดยใช้สารละลาย NaOH 0.1 M ถ้าต้องการให้มีความเป็นด่างเพิ่มขึ้น หรือใช้สารละลาย Citric acid ถ้าต้องการให้มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น (สำหรับการเตรียมแข็งให้ใส่วุ้นลงไปปริมาตร 15 กรัมต่อลิตร)

(สำหรับการเตรียมอาหาร BG-11 medium ในการเพาะเลี้ยงแบบสภาวะ Heterotrophic จะมีการเติมกลูโคส 1 กรัมต่อลิตร และ 5 กรัมต่อลิตร เพิ่มลงในอาหาร BG-11 medium ด้วย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาน้ำหนักเซลล์แห้งสาหร่าย

(ดัดแปลงจาก KMUTT, 2001)

ขั้นตอน

1. อบกระดาษกรอง GF/C ในตู้อบอุณหภูมิสูงที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งน้ำหนักกระดาษคงที่ นำไปวางในเย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนักกระดาษกรองนั้น (A)
2. กรองสาหร่ายปริมาตร 20-25 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรอง GF/C ที่อบแห้งแล้วจากข้อ 1 หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำที่เป็นกรด pH เท่ากับ 4 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เพื่อล้างเกลือที่ปนมากับอาหารเลี้ยงสาหร่าย *Oscillatoria* sp. สายพันธุ์ DSK 52 *Synechococcus* sp. สายพันธุ์ DSK 72 และ *Phormidium* sp. สายพันธุ์ DSK 48
3. นำกระดาษกรอง GF/C ที่กรองสาหร่ายแล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ แล้วไปวางให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (B)
4. คำนวณน้ำหนัก

น้ำหนักกระดาษกรอง+น้ำหนักสาหร่าย = A
น้ำหนักกระดาษหนักกรอง = B

$$\text{น้ำเซลล์สาหร่ายแห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{\{(A) - (B)\} \times 1000}{\text{ปริมาตรสาหร่ายที่กรอง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตราย และเคมีภัณฑ์
Chemical Data Bank
เอกสารข้อมูลความปลอดภัยเคมีภัณฑ์ (MSDS)

ปรับปรุงข้อมูลครั้งสุดท้ายเมื่อ 27/8/2544
รหัส คพ. ที่:คพ/-

1. การชี้บ่งเคมีภัณฑ์ (Chemical Identification)

ชื่อเคมี IUPAC : 4-[2-(3,5-Dimethyl-2-oxocyclohexyl)-2-hydroxyethyl]-2,6-piperidinedione;
ชื่อเคมีทั่วไป : Cycloheximine
ชื่อพ้องอื่นๆ :
Cycloheximide; [1S-[1alpha(S*),3alpha,5beta]]-4-[2-(3,5-dimethyl-2-oxocyclohexyl)-2-hydroxyethyl]-2,6-
Piperidinedione; Actispray; Naramycin; 3-(2-(3,5-dimethyl-2-oxocyclohexyl)-2-hydroxyethyl)glutarimide; Beta-(2-
(3,5-dimethyl-2-oxocyclohexyl)-2-hydroxyethyl)glutarimide; Neocycloheximide; Acti-aid; Actidione pm; Actidione
tgf; Actidone; Hizarocin; Kaken; Naramycin a; U-4527; 3-((R)-2-((1S,3S,5S)-3,5-dimethyl-2-oxocyclohexyl)-2-
hydroxyethyl)glutarimide; Acti-dione BR; 2,6-Piperidinedione, 4-(2-(3,5-dimethyl-2-oxocyclohexyl)-2-
hydroxyethyl)-, (1S-(1alpha(S*),3alpha,5beta))-; Cicloheximide; CYCLOHEXIMIDE (ACTIDIONE);
สูตรโมเลกุล : สูตรโครงสร้าง :
รหัส IMO :
รหัส UN/ID NO. : 2811 **รหัส EC NO. :** -
รหัส CAS NO. : 66-81-9 **รหัส RTECS :** -
รหัส EUEINECS/ELINCS : 200-636-0 **ชื่อวงศ์ :** Amide

2. ชื่อผู้ผลิต/จำหน่าย (Manufacturer and Distributor)

ชื่อผู้ผลิต/นำเข้า : A DIVISION OF EM INDUSTRIES

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งข้อมูลอื่นๆ : P.O. BOX 70 480 DEMOCRAT ROAD, GIBBSTOWN, N.J. 08027

3. การใช้ประโยชน์ (Uses)

-

4. ค่ามาตรฐานและความเป็นพิษ (Standard and Toxicity)

LD50(มก./กก.) : 2 (หนู) **LC50(มก./ม3) :** - / - ชั่วโมง (-)

IDLH(ppm) : - **ADI(ppm) :** - **MAC(ppm) :** -

PEL-TWA(ppm) : - **PEL-STEL(ppm) :** - **PEL-C(ppm) :** -

TLV-TWA(ppm) : - **TLV-STEL(ppm) :** - **TLV-C(ppm) :** -

พรบ. ส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อม พ.ศ. 2535(ppm) : -

พรบ. โรงงาน พ.ศ. 2535 (ppm) : - **พรบ. ควบคุมยุทธภัณฑ์ พ.ศ. 2530 :** ชนิดที่ 1 ชนิดที่ 2 ชนิดที่ 3

พรบ. คุ้มครองแรงงาน พ.ศ. 2541 (ppm) เฉลี่ย 8 ชั่วโมง : - ระยะสั้น - ค่าสูงสุด - **สารเคมีอันตราย :**

พรบ. วัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 : ชนิดที่ 1 ชนิดที่ 2 ชนิดที่ 3 ชนิดที่ 4 **หน่วยงานที่รับผิดชอบ :** สำนักงานอาหารและยา

5. คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี (Physical and Chemical Properties)

สถานะ : ของแข็ง **สี :** น้ำตาลอ่อน-เหลือง **กลิ่น :** เกือบไม่มีกลิ่น **นน.โมเลกุล :** 281.35

จุดเดือด(0ซ.) : - **จุดหลอมเหลว/จุดเยือกแข็ง(0ซ.) :** 108 **ความถ่วงจำเพาะ(น้ำ=1) :** -

ความหนืด(mPa.sec) : - **ความดันไอ(มม.ปรอท) :** - ที่ - 0ซ. **ความหนาแน่นไอ(อากาศ=1) :** -

ความสามารถในการละลายน้ำที่(กรัม/100 มล.) : ละลายได้ ที่ - 0ซ. **ความเป็นกรด-ด่าง(pH) :** 4-5 ที่ 20 0ซ.

แฟคเตอร์แปลงหน่วย 1 ppm = 11.50 **มก./ม3 หรือ 1 มก./ม3** = 0.086 **ppm ที่** 25 **0ซ.**

ข้อมูลทางกายภาพและเคมีอื่น ๆ :

6. อันตรายต่อสุขภาพอนามัย (Health Effect)

สัมผัสทางหายใจ : - การหายใจเข้าไป จะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเยื่อเมือก และทางเดินหายใจส่วนบน คลื่นไส้ อาเจียน

สัมผัสทางผิวหนัง : - การสัมผัสถูกผิวหนัง จะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กินหรือกลืนเข้าไป : - การกลืนหรือกินเข้าไป จะเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง

สัมผัสถูกตา : - การสัมผัสถูกตา จะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อตา

การก่อมะเร็ง :

ความผิดปกติ,อื่น ๆ :

- สารนี้ไม่เป็นสารก่อมะเร็งตามรายชื่อของ IARC, NTP และ OSHA

7. ความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยา (Stability and Reaction)

- ความคงตัวของสาร สารนี้มีความเสถียร
- สารที่เข้ากันไม่ได้ : ไม่ได้ระบุ
- สภาวะที่ควรหลีกเลี่ยง : ไม่ได้แสดงไว้
- สารที่อันตรายที่เกิดจากการเผาไหม้และการสลายตัว : ไนโตรเจนออกไซด์ (NOx)
- อันตรายจากการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ : จะไม่เกิดขึ้น

8. การเกิดอัคคีภัยและการระเบิด (Fire and Explosion)

จุดวาบไฟ(0ซ.) : - จุดลุกติดไฟได้เอง(0ซ.) : - NFPA Code :

ค่า LEL % : - UEL % : - LFL % : - UFL % : -

- สารดับเพลิงให้ใช้น้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ ผงเคมีแห้ง หรือโฟมแอลกอฮอล์
- กรณีเกิดเพลิงไหม้ ให้สวมใส่อุปกรณ์ช่วยหายใจชนิดมีถังอากาศในตัว (SCBA) และชุดป้องกันสารเคมี
- การสลายตัวเนื่องจากความร้อนจะทำให้เกิดควันเป็นพิษสูง

9. การเก็บรักษา/สถานที่เก็บ/เคลื่อนย้าย/ขนส่ง (Storage and Handling)

- เก็บสารในภาชนะที่ปิดมิดชิด
- เก็บในอุณหภูมิ 5 - 30 องศาเซลเซียส
- ห้ามหายใจเอาฝุ่น หรือไอระเหยเข้าไป ห้ามให้เข้าตา สัมผัสผิวหนังหรือเสื้อผ้า
- ล้างทำความสะอาดให้ทั่วภายหลังจากการเคลื่อนย้าย
- ชื่อทางการขนส่ง : ของแข็งเป็นพิษ สารอินทรีย์ (CYCLOHEXIMIDE)
- รหัส UN : 2811
- ประเภทอันตราย : 6.1
- ประเภทการบรรจุหีบห่อ : กลุ่ม I

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. การกำจัดกรณีรั่วไหล (Leak and Spill)

- วิธีปฏิบัติเมื่อเกิดอุบัติเหตุสารเคมีรั่วไหล : ให้อพยพผู้ที่ไม่เกี่ยวข้องทั้งหมดออกจากพื้นที่ที่หกรั่วไหล
- บรรจุส่วนที่หกรั่วไหลแยกออกจากแหล่งสารเคมีนั้น ถ้าสามารถทำได้โดยปราศจากความเสี่ยงอันตราย
- เก็บและบรรจุสารสำหรับการนำไปกำจัดที่เหมาะสม
- สวมใส่อุปกรณ์ป้องกันให้เหมาะสม
- ขจัดแหล่งของการจุดติดไฟใด ๆ ออกไปจนกระทั่งพิจารณาแล้วว่าจะไม่เกิดการระเบิดและอันตรายจากอัคคีภัย
- การพิจารณาการกำจัด การกำจัดให้ปฏิบัติตามกฎระเบียบของกฎหมายการกำจัดสารเคมี
- ปฏิบัตามกฎหมาย และกฎระเบียบของทางราชการให้รายงานการรั่วไหลที่มีปริมาณเกินกว่าที่ต้องรายงานต่อหน่วยงานราชการ

11. อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล (PPD/PPE)

หน้ากากป้องกันการ
หายใจ
ถุงมือ
ชุดป้องกันสารเคมี
แว่นตานิรภัย
ข้อแนะนำการเลือกใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล(PPD/PPE) :

12. การปฐมพยาบาล (First Aid)

หายใจเข้าไป : - ถ้าหายใจเข้าไป ให้เคลื่อนย้ายผู้ป่วยออกไปที่ที่มีอากาศบริสุทธิ์ ถ้าผู้ป่วยหายใจให้ช่วยผายปอด ถ้าหายใจ
ติดขัดให้ออกซิเจนช่วย นำส่งไปพบแพทย์

กินหรือกลืนเข้าไป : - การกินหรือการกลืนเข้าไป และผู้ป่วยยังมีสติอยู่ให้ดื่มน้ำและกระตุ้นให้อาเจียนทันที โดยบุคคลากรทาง
การแพทย์ ห้ามไม่ให้สิ่งใดเข้าปากผู้ป่วยที่หมดสติ นำส่งไปพบแพทย์

สัมผัสถูกผิวหนัง : - ถ้าสัมผัสถูกผิวหนัง ให้ฉีดล้างออกให้หมดด้วยสบู่และน้ำ

สัมผัสถูกตา : - ถ้าสัมผัสถูกตา ให้ฉีดล้างตาทันทีเป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที

อื่น ๆ: - ในกรณีที่สารนี้เข้าไปในปริมาณมากให้รับการรักษาจากแพทย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Impacts)

- ห้ามทิ้งลงสู่ระบบน้ำ, น้ำเสีย หรือดิน
- ผลในการฆ่าอะมีบา มีผลในการฆ่าราและเป็นพิษต่อพืช

14. การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ (Sampling and Analytical)

NMAM NO. : - OSHA NO. : -

วิธีการเก็บตัวอย่าง : กระดาษกรอง หลอดเก็บตัวอย่าง อิมพิ้นเจอร์

วิธีการวิเคราะห์ : ชั่งน้ำหนัก สเปคโตโฟโตมิเตอร์ แก๊ซโครมาโตกราฟฟี อะตอมมิกแอบซอปชั่น

ข้อมูลอื่น ๆ :

15. การปฏิบัติกรณีฉุกเฉิน (Emergency Response)

- กรณีฉุกเฉินโปรดใช้บริการระบบให้บริการข้อมูลการระงับอุบัติภัยจากสารเคมีทางโทรศัพท์หรือสายด่วน AVERS ที่หมายเลข

โทรศัพท์ 1650

- ต้องการทราบรายละเอียดเพิ่มเติมโปรดติดต่อ กองจัดการสารอันตรายและกากของเสีย กรมควบคุมมลพิษ โทร 0 2298 2447 ,0 2298

2457

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของ *Synechococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

วัน	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร			
	n	n+c	1g	5g
0	0.1	0.1	0.1	0.1
3	0.205	0.1935	0.3565	0.4955
6	0.2985	0.1975	0.447	0.817
9	0.3185	0.199	0.748	1.188
12	0.3135	0.116	0.6505	0.951
15	0.334	0.0895	0.5075	0.8065
18	0.355	0.115	0.547	0.7955
21	0.46	0.148	0.5185	0.4735
24	0.5335	0.1185	0.4955	0.454
27	0.639	0.1735	0.535	0.4885
30	0.709	0.1535	0.4725	0.459

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Synechococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

วัน	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร			
	n	n+c	1g	5g
0	-1	-1	-1	-1
3	-0.6875	-0.7105	-0.4835	-0.3045
6	-0.5245	-0.704	-0.364	-0.09
9	-0.497	-0.701	-0.1265	0.0718
12	-0.5045	-0.94	-0.195	-0.0219
15	-0.476	-1.8435	-0.3	-0.0975
18	-0.453	-0.956	-0.2655	-0.102
21	-0.34	-0.924	-0.29	-0.327
24	-0.275	-1.039	-0.3045	-0.3475
27	-0.196	-0.849	-0.2765	-0.311
30	-0.1505	-0.995	-0.331	-0.3385

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Synecococcus* sp. DSK 72 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

ชุดการทดลอง	Range of date	specific growth rate	doubling time
n	15-30	0.050180	13.81028
n+c	0-9	0.076346	9.077096
1g	0-9	0.223381	3.102322
5g	0-9	0.274984	2.520146

ตารางที่ 9 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	n	n+c	1g	5g
0	0.06	0.06	0.06	0.06
3	0.106	0.227	0.206	0.22
6	0.205	0.218	0.293	0.474
9	0.177	0.402	0.263	0.423
12	0.28	0.32	0.222	0.818
15	0.255	0.533	0.272	0.518
18	0.293	0.5	0.313	0.325
21	0.593	0.495	0.252	0.316
24	0.756	0.79	0.244	0.411
27	0.924	0.956	0.217	0.2635
30	1.056	1.132	0.322	0.515

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	n	n+c	1g	5g
0	-1.221	-1.221	-1.221	-1.221
3	-0.974	-0.7005	-0.6865	-0.6575
6	-0.689	-0.7055	-0.5345	-0.3565
9	-0.876	-0.4295	-0.581	-0.3805
12	-0.5525	-0.4955	-0.6535	-0.0875
15	-0.5935	-0.273	-0.577	-0.2855
18	-0.5365	-0.332	-0.5045	-0.4955
21	-0.2295	-0.305	-0.5995	-0.5505
24	-0.121	-0.1025	-0.6125	-0.3895
27	-0.0353	-0.0116	-0.665	-1.165
30	-0.0263	0.05205	-0.4915	-0.2935

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Oscillatoria* sp. DSK 52 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

ชุดการทดลอง	Range of date	specific growth rate	doubling time
n	18-30	0.106839	6.486395
n+c	21-30	0.091909	7.540066
1g	0-6	0.264304	2.621980
5g	0-12	0.217554	3.183148

ตารางที่ 12 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	n	n+c	1g	5g
0	0.06	0.06	0.06	0.06
3	0.257	0.11	0.225	0.424
6	0.232	0.221	0.479	0.283
9	0.359	0.253	0.423	0.488
12	0.341	0.275	0.464	0.26
15	0.306	0.515	0.507	0.3515
18	0.509	0.43	0.429	0.423
21	0.544	0.457	0.263	0.369
24	0.631	0.665	0.187	0.584
27	0.849	0.85	0.226	0.298
30	0.944	0.979	0.398	0.658

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 ค่าลอการิทึมการเจริญของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximinc 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

วัน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	n	n+c	1g	5g
0	-1.221	-1.221	-1.221	-1.221
3	-0.594	-0.9595	-0.648	-0.37345
6	-0.634	-0.658	-0.3225	-0.5485
9	-0.446	-0.5995	-0.373	-0.3185
12	-0.4765	-0.561	-0.334	-0.455
15	-0.5275	-0.288	-0.298	-0.4544
18	-0.296	-0.3675	-0.3685	-0.4195
21	-0.265	-0.3405	-0.59	-0.44
24	-0.201	-0.177	-0.7285	-0.2445
27	-0.0705	-0.07	-0.653	-0.527
30	-0.02725	-0.00932	-0.4035	-0.186

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ของ *Phormidium* sp. DSK 48 ที่ใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 (n), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร (n+c), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 1 กรัมต่อลิตร (1g), BG-11 ที่เติม cycloheximine 0.02 กรัมต่อลิตร และเติม glucose 5 กรัมต่อลิตร (5g)

ชุดการทดลอง	Range of date	specific growth rate	doubling time
n	15-30	0.075102	9.227450
n+c	15-30	0.042824	16.182514
1g	0-6	0.346226	2.001582
5g	0-9	0.23288	2.975781

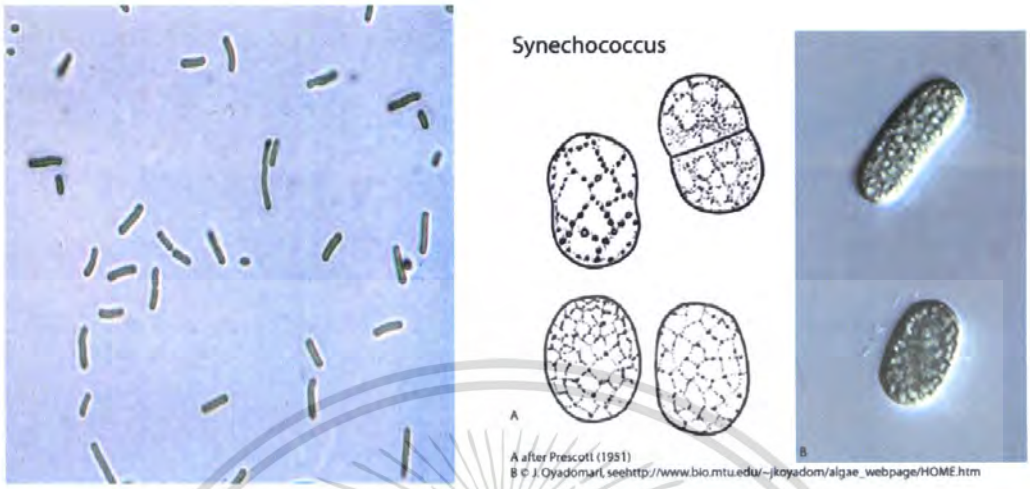
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้ง 3 สายพันธุ์ (กนกวรรณและคณะ, 2549)

1. *Synechococcus* sp.



รูปที่ 23 ลักษณะของ *Synechococcus* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Synechococcus sp. เซลล์มีรูปร่างแบบรูปไข่ เป็นแท่งสั้นๆตรง หรือโค้งเล็กน้อย อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ ไม่มีชีทหุ้มเมื่อแบ่งเซลล์แล้วเซลล์อาจไม่หลุด แต่จะติดเป็นคู่ ปลายเซลล์มน แบ่งตัวแบบแตกตัวเป็นสอง เซลล์มักมีขนาดใหญ่สีเขียวน้ำเงินสด

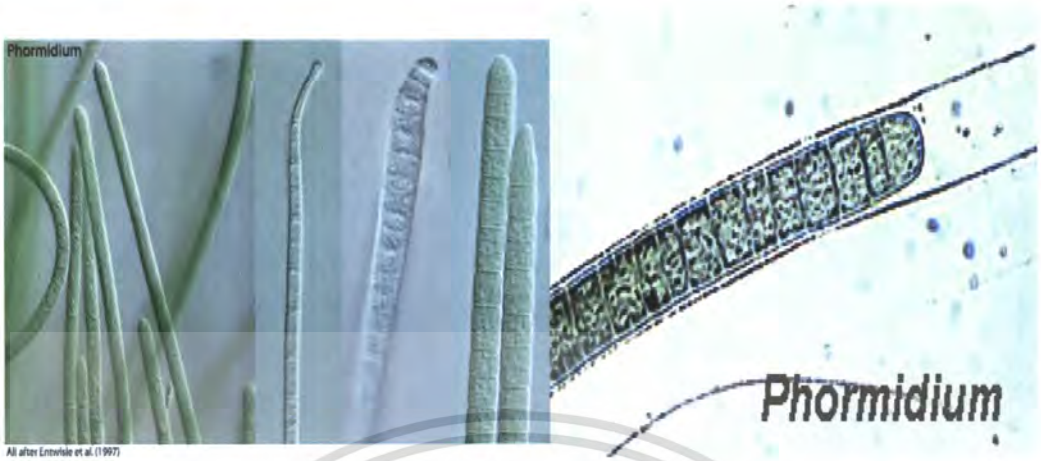
พบมากในน้ำพุร้อนและสามารถแยกมาให้บริสุทธิ์ได้ง่าย ในเซลล์ของสาหร่ายชนิดนี้มีสารมีประโยชน์หลายชนิด เช่น เอนไซม์ และสารเพิ่มภูมิคุ้มกันบางชนิด (วราภรณ์,2545)

<u>ลักษณะภายนอก</u>

- เซลล์เดี่ยว
- ไม่มีเกราะหุ้มเซลล์
- โครงสร้างอย่างละเอียดภายในเซลล์ เป็นแบบโปรคาริโอต ไม่มีนิวเคลียสไม่มีไมโตรคอนเดรีย ไม่มีคลอโรพลาส ไม่มีโกลจิบอดีฯลฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. *Phormidium* sp. (กนกวรรณและคณะ, 2549)



รูปที่ 24 ลักษณะของ *Phormidium* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Phormidium sp. เป็นเส้นสายที่มักอยู่รวมกันเป็นกลุ่มสายยาว เซลล์มีลักษณะเป็นเส้นตรงหรือโค้งเล็กน้อย หรือทรงกระบอกเรียงต่อกัน มีความยาวของเซลล์สม่ำเสมอตลอดสาย ยกเว้นตรงปลายกลมมนหรือเรียวแหลม เซลล์มีความกว้างน้อยกว่าความยาวมีรอยคอดบริเวณรอยต่อของเซลล์แต่ละเซลล์ บางชนิดอาจมีคาลิปตรา มีชีทหุ้มเส้นสายบางๆชีทไม่มีสี บางชนิดชีทโผล่ออกมานอกไตรโคม (อักษร, 2529)

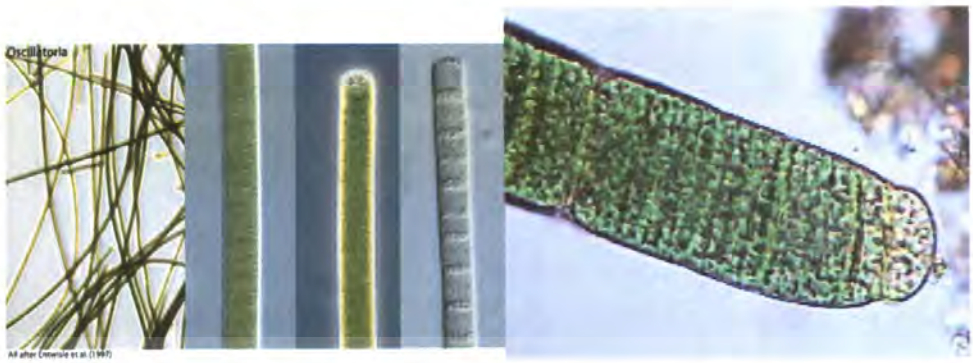
ส่วนมากจะพบ *Phormidium* sp. อยู่รวมกันหลายๆเส้น เกาะอยู่กับวัตถุในน้ำ ตามดิน หรือในน้ำนิ่งๆ ถ้าพบลอยตัวอยู่เป็นอิสระจะมีปลายด้านหนึ่งฉีกขาดเสมอ ถ้าพบในบ่อน้ำพุร้อนอุณหภูมิ 40-54 °C (นิติมา, 2547)

ลักษณะภายนอก

- มีหลายเซลล์เป็นเส้นสายยาว ตรง
- เซลล์มีความกว้างน้อยกว่าความยาว
- โครงสร้างอย่างละเอียดภายในเซลล์ เป็นแบบโปรคาริโอต ไม่มีนิวเคลียส ไม่มีไมโตรคอนเดรีย ไม่มีคลอโรพลาส ไม่มีโกลจิบอดี ฯลฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ***Oscillatoria* sp.** (กนกวรรณและคณะ, 2549)



รูปที่ 25 ลักษณะของ *Oscillatoria* sp ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Oscillatoria sp. อยู่ใน Order Oslcillatoriales มีลักษณะเป็นเส้นสายที่ไม่แตกแขนง รูปทรงกระบอก ไม่มีชีทหุ้มแต่อาจมีเยื่อบางๆหรือน้ำใสๆหุ้มอยู่ ในแต่ละ เซลล์มีความกว้างมากกว่าความยาว เส้นสายเรียงรวมกันเป็นกลุ่ม ในเส้นสายประกอบด้วยเซลล์ที่เรียงตัวต่อกันเป็นแถว เรียกว่า ทรัยโคม (trichome) แต่บางชนิดเซลล์ส่วนปลายๆ อาจจะเรียวลงหรือแคบลง ส่วนปลายสุด (apical cell) อาจมี คาลิปตรา (calypta) ซึ่งมีลักษณะคล้ายหมวกปีกหรือมีผนังเซลล์พองออก (นุชนรีและจันทร์มณี, 2543 และ เบญวรรณ, 2543)

ส่วนมากจะพบทั่วไปทุกแห่งทั้งในน้ำและในดิน บ่อน้ำ บึง ลำธาร ตามบริเวณเหล่านี้ *Oscillatoria* sp. จะมีสีเขียวคล้ำ บางรายงานพบในบ่อน้ำร้อน โดยจะเป็นแบบ thermal algae ซึ่งจะพบหลากหลายสี ในอเมริกา พบ *Oscillatoria prolifica* ในทะเลสาป มีสีแดง และมีบางชนิด *Oscillatoria formosa* มีสีน้ำเงิน (อักษร, 2529) สามารถเคลื่อนไหวได้แบบแกว่งไปแกว่งมาซ้ายขวา หรือแบบถอยหน้า-หลัง พบในน้ำหรือบริเวณที่เปียกชื้น เช่น ดิน ก้อนหิน (Smith, 1950; Desikackary, 1959; Prescott, 1978)

<u>ลักษณะภายนอก</u>

- มีลักษณะเป็นเส้นสายยาว ตรง ไม่แตกแขนง
- เซลล์มีความกว้างมากกว่าความยาว
- โครงสร้างอย่างละเอียดภายในเซลล์ เป็นแบบโปรคาริโอต ไม่มีนิวเคลียส ไม่มีไมโตรคอนเดรีย ไม่มีคลอโรพลาส ไม่มีโกลจิบอดี ฯลฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ น.ส.ปาจรีย์ เมฆมานะ

วัน เดือน ปีเกิด 12 ธันวาคม 2528

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนสายปัญญาในพระบรมราชินูปถัมภ์ สายวิทย์-คณิต ปีการศึกษา 2547

สถานที่ติดต่อได้ 4/143 หมู่บ้านสันติสุข (ซ. 10) เพชรเกษม 69 ถ.อินทาปัจ ต.หลักสอง อ. บางแค กทม. 10160

e-mail : udong_ramen@hotmail.com โทร. 087-67870121, 02-8086086

ชื่อ น.ส. สิริพร ศรีรัตนวิเชียร

วัน เดือน ปีเกิด 1 กุมภาพันธ์ 2529

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนสายปัญญาในพระบรมราชินูปถัมภ์ สายวิทย์-คณิต ปีการศึกษา 2547

สถานที่ติดต่อได้ 421 ซอย สลักหิน ถนน รองเมือง แขวง รองเมือง เขตปทุมวัน กทม. 103330

e-mail : fife_jnet@hotmail.com โทร 087-5030981, 02-6138464

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้