สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* CMU 2 โดยใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน

นางสาววันวิศาข์ ดีแท้

นางสาววิสุสตา สว่างแสนสุข

วศ.
ว436ก
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 83747
วัน,เดือน,ปี 15 ก.ย. 2551

b 11977486
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The Cultivation of *Spirulina platensis* CMU 2 by Soybean Waste as Nitrogen Source.

Miss Wanwisa Deetae

Miss Vissuta Sawngsansuk

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

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* CMU 2 โดยใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน

นักศึกษา วันวิศาข์ ดีแท้ รหัส 47050529
วิสุสตา สว่างแสนสุข รหัส 47050530

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ คนึงกานต์ กลั่นบุศย์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้ทำโครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	ผศ. วีนา ชูโชติ	
กรรมการ	ดร.จิดาภา ทิน้อย	
กรรมการ	อาจารย์คนึงกานต์ กลั่นบุศย์	

.....

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* CMU 2 โดยใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน
นักศึกษา	นางสาววันวิศาข์ ดีแท้
	นางสาววิสุสตา สว่างแสนสุข
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2550
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์คนึงกานต์ กลั่นบุศย์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาหาแหล่งไนโตรเจนใหม่ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* CMU 2 โดยการศึกษานี้จะนำกากถั่วเหลืองซึ่งเป็นของเหลือจากอุตสาหกรรมน้ำมันถั่วเหลือง และถั่วเหลืองเมล็ดเต็มซึ่งเป็นผลผลิตจากธรรมชาติมาใช้ จาก การเพาะเลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการโดยทำการเพาะเลี้ยงในโหลแก้วโดยมีปริมาณอาหาร Zarrouk 5 ลิตร ปรับค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของสาหร่ายเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 ปรับพีเอชเท่ากับ 10.3 มีการให้อากาศโดยใช้ เครื่องกวนอากาศ (Air pump) 24 ชั่วโมง การให้แสงนั้นใช้แสงจากธรรมชาติร่วมกับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน พบว่าสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่เจริญในอาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัม นั้นมีการเจริญที่ดีที่สุดคือมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 574 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคลอโรฟิลล์ 3.331 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟโคไซยานิน 16.136 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และพบแคโรทีนอยด์เท่ากับ 0.148 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลือง 3 กรัม นั้นมีการเจริญที่ดีรองลงมาคือพบว่า มีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 564 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคลอโรฟิลล์ 2.437 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟโคไซยานิน 13.167 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และพบแคโรทีนอยด์เท่ากับ 0.121 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title The Cultivation of *Spirulina platensis* CMU 2 by Soybean Waste as Nitrogen Source

Name Miss Wanwisa Deetae

Miss Vissuta Sawangsaensuk

Department Applied Biology

Program Industrial Microbiology

Academic Year 2007

Special Project Advisor Khanungkan Klanbut

Abstract

The purpose of this study is developing an efficience cultivation of *Spirulina platensis* CMU 2 for a novel nitrogen source, by using defatted soybean which is a waste from soybean oil industry and a natural product soybean. From cultivation in laboratory scale in wide mouthed glass jar with 5 liters Zarrouk medium, the inoculum at 560 nm. of *S. platensis* was 0.1, pH 10.3, used air pump for supply the oxygen in 24 hours, the light intensity combined with fluorescence light and the temperature was 30 $^{\circ}$C, then cultivated for 30 days. The result was *S. platensis* CMU 2 which grew in Zarrouk medium mixed with soybean 7 g. had the best growth ; the maximum yield dry weight cell of *S. platensis* is 574 mg./l, Chlorophyll 3.331 mg./l, Phycocyanin 16.136 mg./gdw. and Carotenoid 0.148 mg./gdw. And another one which grew in Zarrouk medium mixed with defatted soybean 3 g. had a dry cell weight 564 mg./l, Chlorophyll 2.437 mg./l, Phycocyanin 13.167 mg./gdw. and Caroteniod 0.121 mg./gdw.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัญฑิต สาขาจุลชีววิทยา อุตสาหกรรม ซึ่งสำเร็จได้ด้วยการช่วยเหลือ และการสนับสนุนจากบุคคลผู้มีอุปการคุณหลายท่าน

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ อาจารย์ที่ปรึกษา และดร. จิดาภา ทิน้อย กรรมการโครงงานพิเศษ ที่กรุณาเป็นอย่างยิ่งในการให้คำปรึกษาระหว่างการทำการค้นคว้าวิจัย ตลอดจนการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ที่สุด

ขอขอบพระคุณ ผศ. วีนา ชูโชติ ที่เป็นประธานกรรมการและกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษที่ช่วยในการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่าน ที่ให้การเอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ สำหรับใช้ในการทดลองและช่วยอำนวยความสะดวกในด้านต่าง ๆ ที่ทำให้โครงงานพิเศษนี้สามารถเสร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ บริษัท ธนากรผลิตน้ำมันพืช จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์กากถั่วเหลืองซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการทดลองของโครงงานพิเศษนี้

สุดท้ายขอขอบคุณครอบครัว เพื่อนๆ ที่ให้กำลังใจที่ให้การสนับสนุนในโครงงานพิเศษนี้ในทุก ๆด้าน และเป็นส่วนหนึ่งในความสำเร็จครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ

นางสาว วันวิศาข์ ดีแท้

นางสาว วิสุสตา สว่างแสนสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	3
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกสาหร่ายสไปรูลินา	5
2.2 สารเคมีที่สำคัญในสาหร่ายสไปรูลินา	8
2.3 การศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินา	18
2.4 ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินา	21
2.5 การเจริญเติบโตของสาหร่าย	30
2.6 คุณประโยชน์ของสาหร่ายสไปรูลินา	35
2.7 กากถั่วเหลือง	45
2.8 ถั่วเหลือง	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 อุปกรณ์ในการวิจัย	52
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย	53
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	
4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Spirulina platensis* CMU 2 ในสูตรอาหาร Zarrouk ปกติ	61
4.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ด้วยกากถั่วเหลือง (defatted soybean) และถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม (soybean) ในระดับห้องปฏิบัติการแบบ Batch culture	62
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในสาหร่าย	73
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผล	83
5.2 ข้อเสนอแนะ	84
เอกสารอ้างอิง	85
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	90
ภาคผนวก ข	92
ภาคผนวก ค	94
ภาคผนวก ง	96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	เปรียบเทียบส่วนประกอบทางเคมีของสาหร่าย *S. platensis* ที่เลี้ยงจากสถาบันต่างๆ โดยใช้สูตรอาหารแตกต่างกัน	36
2	ปริมาณโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลินาที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมบางประเภท และน้ำหมักพืชบางชนิด	40
3	เปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในสาหร่ายสไปรูลินากับสาหร่ายคลอเรลลา ถั่วเหลือง เนื้อวัว ปลาทู ปลาอินทรีย์ และปริมาณมาตรฐาน FAO	41
4	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสไปรูลินากับอาหารชนิดอื่นๆ	42
5	ปริมาณรงค์วัตถุต่างๆ ในสาหร่ายสไปรูลินาเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายคลอเรลลา	42
6	คุณค่าทางอาหารของถั่วเหลืองและกากถั่วเหลือง	46
7	ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตในถั่วเหลือง	50
8	องค์ประกอบกรดอะมิโนที่จำเป็นในถั่วเหลืองและข้าว	51
9	ค่า specific growth rate (μ) และค่า doubling time (t_d) ที่คำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของ *S. platensis* CMU2 ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ	65
10	แสดงปริมาณรงควัตถุของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารผสมกากถั่วเหลือง 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหารผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7) ซึ่งสกัดได้โดยใช้วิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงและสกัดโดยใช้การคำนวณ	81
11	คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองไร่ทิพย์ต่อ 100 กรัม (ถั่วเหลืองที่ไม่ได้สกัดน้ำมันออก: Soybean)	94
12	ผลวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (Defatted Soybean)	95
13	การเจริญของ *S. platensis* CMU 2 ในสภาวะต่างๆ โดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร	96
14	ค่าลอกาลิทึมการเจริญของ *S. platensis* CMU 2 ในสภาวะต่างๆ โดยใช้วิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร	98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
15	ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของ *S. platensis* CMU 2 ในสภาวะต่างๆ	100
16	การเจริญของ *S. platensis* CMU 2 ในสภาวะต่างๆโดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร	101
17	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate (μ)) และค่าระยะเวลาที่เซลล์แบ่งตัวเป็น 2 เท่า (doubling time (t_d))ที่คำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของ *S. platensis* CMU 2 ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ	101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ภาพวาดสาหร่ายสไปรูลินาชนิดต่าง ๆ	7
2	โครงสร้างคลอโรฟิลล์	13
3	วิถี (pathway) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของคลอโรฟิลล์	13
4	หน่วยย่อยแอลฟ่า และบีตาของซี-ไฟโคไซยานิน	15
5	การดูดกลืนแสงและการปลดปล่อยแสงของซี-ไฟโคไซยานิน	15
6	โครงสร้างของบีตา-แครอทีน	17
7	ช่วงการเจริญ 6 ช่วงในพวกสาหร่ายขนาดเล็ก	31
8	ภาพกากถั่วเหลือง	48
9	ภาพถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม	49
10	การเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* CMU 2 ในโหลแก้ว ที่มีการให้อากาศโดยใช้ Air pump และคลุมด้วยผ้าขาวบางเพื่อป้องการแมลงปนเปื้อน	55
11	การหาน้ำหนักเซลล์แห้งของ *S. platensis* CMU 2 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน บนกระดาษกรอง GF/C	56
12	การสกัดรงควัตถุ	60
13	แสดงการเจริญโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของ *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 (D3), 5 (D5) และ 7 (D7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 (S3), 5 (S5) และ 7 (S7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 (A0.56), 1.1 (A1.1) และ 1.7 (A1.7) มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
14	แสดงค่าลอการิทึมการเจริญของ *S. platensis* CMU 2 ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกากถั่วเหลือง 3 (D3), 5 (D5) และ 7 (D7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 (S3), 5 (S5) และ 7 (S7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 (A0.56), 1.1 (A1.1) และ 1.7 (A1.7) มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร	66
15	แสดงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเจริญของ *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม3, 5และ 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56, 1.1 และ 1.7 มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร	68
16	แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate (μ)) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 (D3), 5 (D5) และ 7 (D7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 (S3), 5 (S5) และ 7 (S7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 (A0.56), 1.1 (A1.1) และ 1.7 (A1.7) มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร	69
17	แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (Doubling time (t_d)) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 (D3), 5 (D5) และ 7 (D7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 (S3), 5 (S5) และ 7 (S7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 (A0.56), 1.1 (A1.1) และ 1.7 (A1.7) มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร	70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
18	ลักษณะเซลล์สาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัม (S7) ต่ออาหาร 5 ลิตร	73
19	ลักษณะเซลล์สาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารZarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัม (D3) ต่ออาหาร 5 ลิตร	74
20	ค่าการดูดกลืนแสงของ *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร(D3) และอาหารที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)	75
21	อัตราการเจริญจำเพาะ (Specific Growth Rate (μ) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัม ต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)	76
22	ระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (วัน) (Doubling Time (t_g)) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)	77
23	แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 665 nm และปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ผสมกากถั่วเหลือง 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหารที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
24	แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 618 nm และปริมาณไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ผสมกากถั่วเหลือง 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหารที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)	80
25	แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 nm และปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ผสมกากถั่วเหลือง 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหารที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)	81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

Spirulina platensis จัดเป็นแพลงก์ตอนพืช พบตามแหล่งน้ำที่มีความเป็นด่างสูงประมาณ พีเอช 11 และมีปริมาณคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนตสูงด้วย สาหร่ายชนิดนี้มีลักษณะเป็นเส้นสาย เซลล์เรียงกันเป็นทรงกระบอก มีการบิดเกลียวทางด้านซ้ายมือ (Luciane และคณะ, 2006) มีโปรตีนสูงถึง 60-70% โดยน้ำหนักแห้ง องค์ประกอบของโปรตีนมีกรดอะมิโนมากถึง 18 ชนิด มีวิตามินบี 12 มากกว่าตับถึง 250% มีเบต้าแคโรทีน ซึ่งเป็นต้นแบบวิตามินเอมากกว่าแครอท ประมาณ 20-25 เท่า มีธาตุเหล็กมากกว่าอาหารชนิดอื่นๆถึง 12 เท่า มีกรดไขมันแกมมาไลโนเลนิกที่ช่วยลดโคเรสเตอรอลมากกว่าน้ำมันพืชถึง 170 เท่า มีโปรตีนมากกว่าถั่วเหลืองถึง 2 เท่า มีคุณค่าทางโภชนาการมากกว่านมวัวถึง 14 เท่า เป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์ที่สุดของธาตุเหล็ก และกรดโฟลิกมากกว่าผักขม 68 เท่า มีคลอโรฟิลล์ช่วยลดอาการอักเสบของบาดแผล และเสริมสมรรถภาพของตับมากกว่าพืชชนิดใดๆ เป็นอาหารที่สามารถย่อยได้ง่ายถึง 85-90% เป็นอาหารจากธรรมชาติ 100% นอกจากนั้นยังมีประโยชน์เป็นอาหารสมอง ช่วยให้ความจำดีขึ้น ลดโคเลสเตอรอล ลดน้ำตาลในเลือด โดยเฉพาะในผู้ป่วยโรคเบาหวานและความดันสูง บำรุงผิวพรรณให้สดใส เปล่งปลั่ง และดูอ่อนเยาว์ ช่วยลดความเครียดและความไม่สมดุลของร่างกาย ลดกรดและช่วยเคลือบแผลในกระเพาะอาหาร ป้องกันเซลล์ตับไม่ให้ถูกทำลายจากพิษของแอลกอฮอล์ ป้องกันและรักษาอาการเมาค้าง ลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็ง ระงับการลุกลามของโรคตา อาทิเช่น ตามัว ต้อหิน ต้อกระจก เป็นอาหารเสริมสำหรับนักกีฬาเพื่อเพิ่มพละกำลังที่ต้องเสียพลังงานกับการออกกำลังกาย ช่วยรักษารูปร่างและทรวดทรงให้สมส่วน เป็นต้น ปัจจุบันนอกจากเพาะพันธุ์สาหร่ายสไปรูลินากันได้แล้วยังสามารถสกัดเป็นแคปซูลเพื่อการใช้งานได้รวดเร็วขึ้นทำให้คนไทยมีทางเลือกเพื่อสุขภาพกันอีกทางหนึ่ง

นอกจากนั้นสมศักดิ์ (2547) ได้กล่าวในสาหร่ายสไปรูลินายังมีสารสีซึ่งมีประโยชน์สำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ คือ ไฟโคไซยานิน ทำด้วยโปรตีน เป็นสีน้ำเงิน ประด้วยธาตุแมกนีเซียมกับธาตุเหล็ก ทำให้สาหร่ายสไปรูลินานั้นเห็นเป็นสีน้ำเงิน-เขียว ในสาหร่ายสไปรูลินานั้นมีไฟโคไซยานินเป็นองค์ประกอบถึงร้อยละ 14 โดยน้ำหนัก คุณสมบัติของไฟโคไซยานินที่โดดเด่นคือต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการอักเสบที่มีประสิทธิภาพ สิ่งที่วงการแพทย์กำลังวิจัยอยู่ขณะนี้คือ ศึกษาความสามารถที่จะป้องการหรือระงับการเติบโตของเซลล์มะเร็งในมนุษย์ได้เนื่องจาก ไฟโคไซยานินในสาหร่ายเป็นโปรตีน สาหร่ายจึงเป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ที่สำคัญมากที่สุด เพราะเอนไซม์ทุกชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างจากโปรตีน โดยเอนไซม์ที่ธรรมชาตินั้นพัฒนามาแล้วพบอยู่ในสาหร่าย สไปรูลินาถึง 2000 ชนิด และส่วนใหญ่ทำหน้าที่ต้านหรือทำลายอนุมูลอิสระ นอกจากนี้สมศักดิ์ (2547) ยังกล่าวอีกว่า ไฟโคไซยานินนั้นยังทำหน้าที่กระตุ้นให้เซลล์ตั้งต้น (Stem Cell) ในไขกระดูก ผลิตเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาวอย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นในสภาวะที่ไขกระดูกถูกสารพิษหรือรังสีเกิดการทำลายหรือเสื่อมสภาพลง ไฟโคไซยานินจะช่วยป้องกันและกระตุ้นให้กลับสู่สภาพเดิม โดยสามาถสร้างเม็ดเลือดแดงและขาวได้ใหม่ต่อไป นอกจากสารสีไฟโคไซยานินแล้วสาหร่ายสไปรูลินายังมีคลอโรฟิลล์ที่ประกอบไปด้วยธาตุแมกนีเซียมที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างภูมิต้านทานให้กับมนุษย์ มีการรายงานผลการวิจัยที่กล่าวถึงว่าคลอโรฟิลล์มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย สามารถหยุดโรคเหงือกอักเสบ ทำให้กลิ่นปากหายเหม็น ในยาอมบ้วนปากที่ขายในปัจจุบันจึงมักใส่คลอโรฟิลล์แต่คลอโรฟิลล์ไม่ได้ฆ่าเชื้อโรคแต่มันทำให้เชื้อจุลินทรีย์หยุดการแบ่งตัวไม่ให้เจริญเติบโตต่อไปได้อีก เนื่องจากสาหร่ายสไปรูลินานั้นมีประโยชน์มากมายดังที่ได้กล่าวมาแล้วนั้น จึงมีการเพาะเลี้ยงกันมากขึ้น

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคืออุณหภูมิ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายคือ 25-35 องศาเซลเซียส สาหร่ายไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส ประเทศไทยมีสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับเป็นแหล่งผลิตสาหร่ายเนื่องจากอุณหภูมิโดยเฉลี่ยประมาณ 32 - 35 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงที่เหมาะต่อการเจริญของสาหร่าย คือ 30 - 35 กิโลลักซ์ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายควรใช้สารตั้งต้นในปริมาณที่เหมาะสม แต่ถ้าใช้เชื้อมากเกินไป ทำให้สาหร่ายบดบังแสงสว่างกันเองปริมาณที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 225-250 มิลลิกรัมของน้ำหนักแห้งต่ออาหารที่เพาะเลี้ยง 1 ลิตร

แร่ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณมาก (Macronutrients หรือ Major Elements) ได้แก่ ธาตุคาร์บอน ไนโตรเจน ออกซิเจน ไฮโดรเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโปตัสเซียม

2. แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณน้อย (Micronutrients หรือ Minor Elements) แร่ธาตุเหล่านี้มีอยู่ 7 ชนิด ได้แก่ คลอรีน เหล็ก แมงกานิส โบรอน สังกะสี ทองแดง และโมลิบดินัม

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้นจะเลี้ยงในสูตรอาหาร Zarrouk ซึ่งมีสารเคมีที่มีราคาสูงเป็นการเพิ่มต้นทุนการเพาะเลี้ยง จึงมีการศึกษาและวิจัยเพื่อนำน้ำทิ้งจากโรงงานต่างๆ มาประยุกต์ใช้ในเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นการประหยัดต้นทุน เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตขนมจีน น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวและน้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ น้ำทิ้งจากการเลี้ยงสุกร และเนื่องจากแหล่งไนโตรเจนนั้นเป็นแร่ธาตุอาหารหลักซึ่งไนโตรเจนนั้นจะมีบทบาทต่อการสร้างองค์ประกอบของเซลล์สาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จึงมีการศึกษาเพื่อหาแหล่งวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีซึ่งมีราคาสูงในสูตรอาหารมาตรฐาน Zarrouk เพื่อเป็นการประหยัดต้นทุนการเพาะเลี้ยงโดยการนำของเหลือจากอุตสาหกรรมอื่นมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน มีการศึกษาการใช้ยูเรียร่วมกับแหล่งไนโตรเจนในอาหารหลักคือ KNO_3 และหรือ $NaNO_3$ เพื่อทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสม (Luis และคณะ, 2004) จะส่งผลดีกว่าการใช้แหล่งไนโตรเจนพื้นฐานจากอาหารในสูตรปกติอย่างเดียว มีการยอมรับว่าอัตราในการเติมของยูเรียลงไปในอาหารอย่างช้าๆในปริมาณที่เหมาะสมก็เพื่อจะยับยั้งการสะสมแอมโมเนียในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นที่รู้โดยทั่วกันว่าการสะสมแอมโมเนียในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของมวลชีวภาพหรือมวลเซลล์ของสาหร่าย *S. platensis* ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าในการใช้ยูเรียเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนจะช่วยลดต้นทุนของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับอุตสาหกรรม (Soletto และคณะ, 2005) แต่เนื่องจากการใช้น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมหรือน้ำทิ้งจากการปศุสัตว์ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาเพื่อการบริโภคของมนุษย์นั้นอาจทำให้ผู้บริโภคเกิดความไม่แน่ใจในคุณภาพจึงได้ศึกษาวิจัยเพื่อหาแหล่งไนโตรเจนที่มาจากของเหลือทิ้งโดยทำเพื่อเพาะเลี้ยงแล้วผู้บริโภคมั่นใจว่าไม่มีสารตกค้างสะอาดปลอดภัยและมีผลทำให้อัตราการผลิตเซลล์และสารที่ต้องการจากการเพาะเลี้ยงมีประสิทธิภาพที่ดีและมีต้นทุนต่ำ

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันถั่วเหลืองและถั่วเหลืองเมล็ดเต็มเพื่อนำมาพัฒนาเป็นแหล่งไนโตรเจนในการศึกษาอัตราการเจริญของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2
2. ศึกษาการสกัดปริมาณรงควัตถุชนิดต่างๆ จาก *S. platensis* CMU 2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็มและกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (Defatted Soybean) เป็นแหล่งไนโตรเจน

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 โดยนำสาหร่ายที่ได้รับจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาทำการเพาะเลี้ยงเพื่อให้เกิดการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมโดยเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk เป็นเวลา 30 วันโดยให้แสงจากธรรมชาติร่วมกับแสงจากหลอกฟลูออเรสเซนต์ ให้อากาศโดยใช้เครื่องกวนตลอด 24 ชั่วโมง เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิห้อง มีการปรับพีเอชให้อยู่ระหว่าง 9-11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นทำการเตรียมสาหร่ายเริ่มต้นโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ให้ได้เป็น 0.1 แล้วเติมลงในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (Defatted Soybean) ที่ความเข้มข้น 0.6, 1 และ 1.4 กรัมต่อลิตร ถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม (Soybean) ที่ความเข้มข้น 0.6, 1 และ1.4 กรัมต่อลิตร และ แอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.56, 1.1 และ 1.7 มิลลิโมลล่าร์ โดยทำการเพาะเลี้ยง 5 ลิตรต่อโหลเพาะเลี้ยง เพาะเลี้ยงภายใต้แสงธรรมชาติและจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ให้อากาศด้วยเครื่องกวนอากาศ (Air Pump) เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิห้อง ปรับค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 10.3 โดยจะทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลารวม 30 วัน โดยทุกๆ 3 วันจะทำการวัดการเจริญโดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร เมื่อครบ 30 วันแล้วทำการคัดเลือกสาหร่ายที่เจริญได้ดีที่สุดสองสภาวะ เพื่อนำมาเพาะเลี้ยงในขั้นตอนต่อไป

เมื่อเลือกสภาวะที่ดีที่สุดสองสภาวะได้แล้ว นำสาหร่ายนั้นมาเพาะเลี้ยงในสภาวะเดิมต่อไปอีก 30 วัน เมื่อครบเวลาจะทำการหาปริมาณน้ำหนักแห้งและสกัดรงควัตถุสามชนิดคือ คลอโรฟิลล์ เอ ไฟโคไซยานิน และ แคโรทีนอยด์ เพื่อเปรียบเทียบหาสภาวะที่ทำให้สาหร่ายสไปรูลินาเจริญได้ดีที่สุด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อเป็นการหาแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาถูกเพื่อลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงและมีความสะอาดปลอดภัยเมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาเพื่อการบริโภคของมนุษย์
2. เพื่อศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดรงควัตถุ จากการปรับปรุงสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
บทตรวจเอกสาร

ในอดีตมนุษย์รู้จักนำสาหร่ายสไปรูลินามาบริโภคดังมีหลักฐานยืนยันได้ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2370 (ศตวรรษที่ 19) ชาวเผ่าคาเนมบุในประเทศชาดเก็บสาหร่ายสไปรูลินาจากทะเลสาบชาดมาบริโภคในชีวิตประจำวัน และปัจจุบันความนิยมได้แพร่หลายมากขึ้น ภายหลังได้พัฒนาการเพาะเลี้ยงสไปรูลินาเป็นแบบขยายขนาด (Monoculture) โดยมีการควบคุมความสะอาดและป้องกันการปนเปื้อนเป็นอย่างดี อีกทั้งในกระบวนการเก็บเกี่ยวและอบแห้งยังให้ความสำคัญและระมัดระวังการสูญเสียคุณค่าสารอาหารของสาหร่ายเป็นอย่างดี อาจนำตัวเซลล์สาหร่ายมาอบแห้งแล้วบริโภคโดยตรงหรือสกัดเอาเฉพาะสารเคมีบางอย่างมาผลิตเป็นสินค้าในรูปแบบต่างๆกันอย่างเช่น สามารถสกัดสารสีมาผสมในอาหาร ไอศกรีม ลูกกวาด หรือแม้กระทั่งใช้เป็นสารติดตามตรวจสอบทางด้านภูมิคุ้มกัน เนื้อเยื่อวิทยาและจุลทรรศน์วิทยาได้ โดยสารสีที่สกัดได้จะมีราคาสูงยิ่งขึ้นถ้ามีความบริสุทธิ์สูง สาหร่ายสไปรูลินาชนิดที่ได้รับความสนใจมากคือ *Spirulina platensis* หรือ *Arthrospira platensis* เนื่องด้วยมีศักยภาพสูงที่จะใช้เป็นแหล่งโปรตีนและสารเคมีที่มีประโยชน์ต่างๆ ได้ดี อีกทั้งการเก็บเกี่ยวผลผลิตก็ทำได้ง่ายเนื่องจากตัวเซลล์ที่มีขนาดใหญ่กว่าสาหร่ายโปรตีนชนิดอื่นเช่น *Chlorella* spp. (ยุวดี และคณะ, 2545)

2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกสาหร่ายสไปรูลินา

ลักษณะทั่วไปและสัณฐานวิทยา

สาหร่ายสไปรูลินา *(Spirulina)* มีความหมายว่า "เกลียว"หรือ "เกลียวเล็ก" เนื่องจากมีเส้นสาย (Filament) ที่ขดกันเป็นเกลียว สาหร่ายชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae) เนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์แสง หรืออาจจะเรียกได้ว่าเป็นประเภทไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) เนื่องจากเป็นสิ่งมีชีวิตประเภทโปรแคริโอท (Prokaryote) คือ นิวเคลียสไม่มีเยื่อหุ้ม บางครั้งการที่มีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์แสง ทำให้หลายคนคิดว่าเป็นพืช ซึ่งโดยแท้จริงแล้วสาหร่ายชนิดนี้มีคุณสมบัติห่างไกลความเป็นพืชอยู่มาก สาหร่ายชนิดนี้มีกำเนิดขึ้นในยุคแรกๆ ของกำเนิดสิ่งมีชีวิตในโลกของเรา คือ ในยุคพรีแคมเบรียน (Precambrian) ซึ่งนับเป็นเวลาพันล้านปี อาจเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตประเภทที่สองรองจากแบคทีเรียซึ่งกำเนิดขึ้นในโลกของเราก่อนสิ่งมีชีวิตอื่น ในด้านรูปร่างโครงสร้างนั้นก็คงไม่เปลี่ยนไปจากในยุคที่กำเนิดมากนัก ยังมีเยื่อหุ้มเซลล์เป็นสารพวกโพลีแซคคาไรด์ สามารถย่อยง่าย ต่างกับพืชชั้นสูงหรือแม้กระทั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายสีเขียว เช่นสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* spp.) ใน Division Chlorophyta ซึ่งมีผนังเซลล์เป็นเซลลูโลสยากแก่การย่อย กับทั้งมีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเฉพาะปริมาณโปรตีนซึ่งมีถึงร้อยละ 60-70 ของน้ำหนักแห้ง ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าสาหร่ายชนิดนี้มีประโยชน์ต่อสัตว์น้ำรวมทั้งสัตว์บกอื่นๆ ที่มาบริโภค จนกระทั่งถึงมนุษย์ซึ่งสามารถใช้ภูมิปัญญานำสาหร่ายชนิดนี้มาเป็นอาหารเพื่อยังชีพได้อย่างมีคุณค่า คุณสมบัติที่เด่นอีกอย่างหนึ่งของสาหร่ายชนิดนี้คือจะพบในแหล่งน้ำธรรมชาติที่มีความเป็นด่างสูง โดยมีพีเอช 10-11 ซึ่งสิ่งมีชีวิตอื่นที่เจริญอยู่ได้ค่อนข้างยาก จึงเท่ากับว่าเกือบจะเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวในแหล่งน้ำที่พบสาหร่ายชนิดนี้ หรือถ้านำไปเพาะเลี้ยงก็จะมีการปนเปื้อนจากสิ่งมีชีวิตอื่นได้น้อย

สาหร่ายชนิดนี้ในประเทศไทยรู้จักกันในชื่อสาหร่ายเกลียวทอง สาหร่ายสไปรูลินานี้พบได้ในน้ำที่ค่อนข้างเสียและมีความเป็นด่างสูง โดยเฉพาะในบ่อบำบัดน้ำเสีย เช่นจะพบในบ่อน้ำเสียของนิคมอุตสาหกรรมต่างๆ โดยทั่วไปแล้วเจริญอยู่ได้ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม แต่ส่วนใหญ่จะพบในน้ำจืด อาจพบปะปนได้กับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดอื่น เช่น *Oscillatoria* spp. หรือ *Microcystis* spp. เป็นต้น สาหร่าย *Spirulina* มีอยู่ด้วยกันประมาณ 35 ชนิด (species) เช่น *S. platensis* , *S. major* , *S. prince* และ *S. subtillissima* เป็นต้น แต่ละชนิดก็มีความแตกต่างกันทั้งขนาดความยาวและลักษณะของเกลียว ดังแสดงในรูปที่ 1 แต่ชนิดที่ได้รับการคัดสรรแล้วว่ามีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพื่อนำมาเป็นอาหารมนุษย์หรือสัตว์คือ *S. platensis*

ลักษณะของสาหร่ายชนิดนี้เป็นเส้นสายประกอบไปด้วยเซลล์ที่เรียงกัน ไม่แตกแขนง เรียกเส้นสายนี้ว่า ทรัยโคม (Trichome) เส้นสายนี้บิดเป็นเกลียว ลักษณะของเกลียวแตกต่างกันไปตามสปีชีส์ ขนาดความยาวประมาณ 300-500 ไมโครเมตร ความกว้างประมาณ 8 ไมโครเมตร เดิมนักวิทยาศาสตร์จัดให้สาหร่ายชนิดนี้เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว เนื่องจากมองเห็นผนังเซลล์ของแต่ละเซลล์ที่มารวมกันเป็นเส้นสายไม่ชัด ต่อมาด้วยการใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงขึ้นสามารถเห็นชัดว่าทรัยโคมของสาหร่ายชนิดนี้ประกอบไปด้วยเซลล์หลายเซลล์ต่อกัน

ผนังเซลล์เป็นผนังหลายชั้น ประกอบด้วยสารมิวโคโปรตีนและเพคติน ชั้นนอกเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ มีแวคคิวโอล (Vacuole) ขนาดใหญ่ ทำให้ลอยน้ำได้ นิวเคลียสไม่มีเยื่อหุ้ม กรดนิวคลีอิกกระจายอยู่ทั่วเซลล์ ตัวเซลล์ไม่ได้ปกคลุมด้วยเยื่อเมือก (Mucous Membrane) เหมือนสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั่วไป ผิวของเซลล์ไม่มีจุลินทรีย์เกาะ มีความสามารถในการต้านทานจุลินทรีย์สูง และยังทนต่อรังสีอัลตราไวโอเลตสูง การเคลื่อนที่ของสาหร่ายชนิดนี้จะเป็นแบบควงสว่านและเป็นคลื่น

การสืบพันธุ์ของสาหร่ายชนิดนี้จะมีเฉพาะแบบไม่อาศัยเพศ โดยการขาดออกเป็นท่อน (Fragmentation) และท่อนที่ขาดนี้สามารถแบ่งเซลล์ใหม่ทำให้ทรัยโคมยืดยาวออกได้ เส้นสายของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายชนิดนี้อาจยาวบ้างสั้นบ้างขึ้นกับอายุและความอุดมสมบูรณ์ แม้แต่ความเป็นเกลียวบางครั้งก็ไม่คงที่อาจเป็นเกลียวบิดชัดเจนสวยงาม หรือบางครั้งจะคลายออกคล้ายเส้นตรง ขึ้นกับปัจจัยของการเพาะเลี้ยง อาจจะเป็นความอุดมสมบูรณ์ของอาหาร แสง อุณหภูมิ หรือ พีเอช (ยุวดี, 2544)

การจัดจำแนกสาหร่าย *Spirulina platensis*

ในแง่ของอนุกรมวิธานได้ยึดตามหลักของ Bold และ Wynne (1978) และ Venkataraman (1983) จัดไว้ดังนี้

Kingdom Monera

Division Cyanophyta

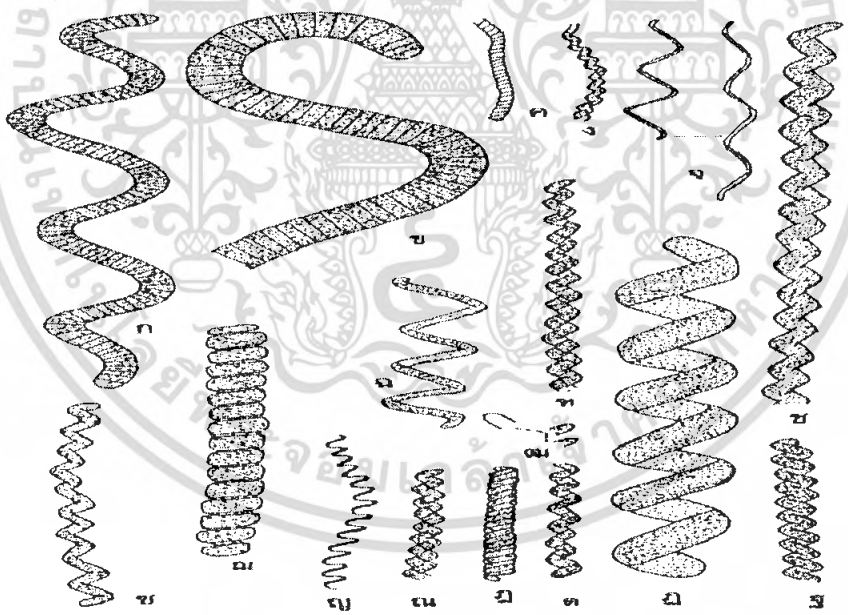
Class Cyanophyceae

Order Oscillatoriales

Family Oscillatoriaceae

Genus Spirulina

Species *Spirulina platensis* (ยุวดี, 2544)



รูปที่ 1 ภาพวาดสาหร่ายสไปรูลินาชนิดต่าง ๆ

ที่มา : ยุวดี (2544)

ก, ข *Spirulina platensis* ; ค, ฌ *S. subsaisa* ; ง, ซ *S. meneghinana* ; จ, ฉ *S. laxissima* ; ช *S. princes* ; ญ *S. subtilissima* ; ฎ *S. labyrinthitormis* ; ฏ, ฑ-ด *S. gigamtea* ; ฐ *S. major*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สารเคมีที่สำคัญในสาหร่ายสไปรูลินา

2.2.1 โปรตีน

สาหร่ายสไปรูลินามีสารเคมีที่สำคัญหลายชนิดเป็นองค์ประกอบโดยเฉพาะโปรตีนพบปริมาณสูงซึ่งแตกต่างจากจุลินทรีย์โดยทั่วไป การหาปริมาณโปรตีนในสาหร่ายนั้นมีหลายวิธีด้วยกัน งานวิจัยส่วนใหญ่มักหาปริมาณโปรตีนที่เป็นกากโปรตีน โดยใช้วิธีการย่อยเซลล์สาหร่ายด้วยกรดแล้วหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้จากการย่อยด้วยวิธีเจลดา (Kjedahl) แล้วคูณด้วยค่าคงที่ 6.25 แต่อย่างไรก็ตามปริมาณโปรตีนที่ได้จะมีค่าคลาดเคลื่อนได้มากกว่าความเป็นจริง เนื่องจากในเซลล์มีองค์ประกอบอื่นที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบด้วยเช่นกันแต่ไม่ได้เป็นโปรตีน เพื่อหลีกเลี่ยงและทำให้ค่าที่ได้ถูกต้องขึ้นต้องหักออกด้วย 1.4 จากปริมาณ กากโปรตีนไนไนโตรเจน (Crude Protein Nitrogen) และยังสามารถวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในสาหร่ายด้วยวิธีอื่นที่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบไนโตรเจนอื่นที่ไม่ใช่โปรตีนเช่นวิธีของ Lowry (Lowry O.H. และคณะ1951) และวิธีไบยูเรท

โปรตีนภายในเซลล์สาหร่ายอยู่ในรูปของไฟโคบิลิโปรตีนและกรดอะมิโนซึ่งไฟโคบิลิโปรตีนเป็นรงควัตถุสำคัญในสาหร่ายสีเขียมแกมน้ำเงินประกอบด้วย ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน ซึ่งมีประโยชน์และความสำคัญต่ออุตสาหกรรมหลายประเภทเช่น ในอุตสาหกรรมอาหารที่ใช้เป็นสีผสมอาหาร เครื่องสำอาง นอกจากนั้นยังมีความสำคัญใช้เป็นสารเรืองแสงในงานติดตามตรวจสอบทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยาและเนื้อเยื่อวิทยาจึงกล่าวได้ว่ามีความสำคัญต่อเศรษฐกิจเป็นอย่างยิ่ง

กรดอะมิโนที่พบในสาหร่ายสไปรูลินาที่จำเป็นและชนิดที่ไม่จำเป็นซึ่งร่างกายสามารถสร้างขึ้นได้ อย่างเช่นกรดอะมิโนที่จำเป็นซึ่งมีรายงานพบในสาหร่ายชนิดนี้คือ ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมทธิโอนิน ฟีนิลอะลานิน ทรีโอนีน ทริปโตแฟน และวาลีน ส่วนกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นที่พบมีดังนี้ อะลานีน อาร์จีนีน กรดแอสปาติค ซีสตีน กรดกลูตามิค ไกลซีน ฮิสตีดีน โพรลีน ซีรีน ไทโรซีน จากการนำสาหร่ายสไปรูลินาที่กลายพันธุ์มากระตุ้นเลี้ยงในอาหารที่มีกรดอะมิโนเทียมทำให้สาหร่ายสร้างกรดอะมิโนชนิดนั้นออกมามาก จึงคาดว่าการสร้างกรดอะมิโนอาจสามารถกระตุ้นให้สร้างปริมาณมากในสายพันธุ์ปกติได้ สำหรับปริมาณโปรตีนในสาหร่ายนั้นขึ้นอยู่กับแหล่งไนโตรเจนที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายรวมทั้งปริมาณที่ให้ต้องเพียงพอ ถ้ามีน้อยจะทำให้ปริมาณโปรตีนในเซลล์ลดลงได้ (ยุวดี และคณะ, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรตหรือแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบสำคัญหนึ่งของสิ่งมีชีวิตโดย คาร์โบไฮเดรตที่พบในสาหร่ายสไปรูลินาร้อยละ 13 เป็นโพลีแซคคาไรด์ คาร์โบไฮเดรตที่พบในสาหร่ายสไปรูลินา อยู่ในรูปต่างๆ ดังนี้

กรดโพลีไฮดรอกซีบิวทีริก (polyhydrooxybutyric acid: PBH) ซึ่งพบได้ในแบคทีเรียทั้งที่สามารถสังเคราะห์แสงได้และไม่ได้ โดยจะเก็บไว้เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนสำรองในสาหร่าย *S. platensis* พบกรดโพลีไฮดรอกซีบิวทีริก สูงถึงประมาณร้อยละ 6 ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยสาหร่ายจะสร้าง PBH ปริมาณต่ำภายใต้สภาวะการเจริญแบบมีแสงและใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศเป็นแหล่งคาร์บอน (Photoautotrophic) แต่เมื่อเจริญภายใต้สภาวะไม่มีแสงและใช้คาร์บอนจากสารอินทรีย์ (Mixotrophic) ในรูปแบบง่ายๆเช่นจากอะซีเตต (Acetate) มีผลทำให้ปริมาณกรดโพลีไฮดรอกซีบิวทีริก ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นมากขึ้นถึงร้อยละ 3

สิ่งมีชีวิตต่างชนิดสามารถสร้างสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ได้ในปริมาณและชนิดแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต โพลีแซคคาไรด์แบ่งได้ 3 กลุ่มตามตำแหน่งที่พบในเซลล์คือ กลุ่มแรกได้แก่ พวกที่มีโพลีแซคคาไรด์อยู่ในเซลล์ (Intercellular Polysaccharides) โพลีแซคคาไรด์ชนิดนี้อยู่ภายในเซลล์ หรือบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (Cytoplasmic Membrane) ซึ่งจะเป็นพวกแป้ง (Starch) หรือไกลโคเจน (Glycogen) กลุ่มที่สอง โพลีแซคคาไรด์เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ (Cell Wall Polysaccharides) และกลุ่มสุดท้ายคือ โพลีแซคคาไรด์อยู่ภายนอกเซลล์ (Extracellular Polysaccharides หรือ Exopolysaccharides (EPS)) พบอยู่ภายนอกเซลล์ใน 2 ลักษณะด้วยกันดังนี้คือ โพลีแซคคาไรด์ที่เป็นเมือก (Slime Polysaccharides) ไม่เกาะติดกับเซลล์ สังเกตเห็นโคโลนีมีลักษณะเป็นเมือกเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง และเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวเมือกจะกระจายแพร่ออกมาทำให้อาหารที่เลี้ยงมีความหนืดเพิ่มขึ้น และ โพลีแซคคาไรด์ที่เป็นแคปซูล (Capsular Polysaccharides) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ติดกับผนังเซลล์ โดยยึดกับผนังเซลล์ด้วยพันธะโควาเลนซ์ โพลีแซคคาไรด์ในสาหร่ายสไปรูลินามีประมาณร้อยละ 12-20 ซึ่งส่วนใหญ่สามารถละลายน้ำได้และมักละลายได้ดีที่พีเอช 8 แต่เมื่อพีเอชต่ำลงทำให้ความสามารถในการละลายลดลง และซัลเฟตโพลีแซคคาไรด์ในสไปรูลินามีชื่อเฉพาะว่า Calcium spirulan (Ca-SP) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล แรมนา (Rhamnose),ฟรุกโตส (Fructose), กรดกลูโรนิค (Glucuronic acid), กลูโคส (Glucose), กาแลคโตนิก (Galacturonic), ไรโบส (Ribose), แมนโนส (Mannose), ไซโลส (Xylose), แคลเซียม และซัลเฟต มีรายงานผลการศึกษาพบว่าสามารถยังยั้งการเพิ่มจำนวนไวรัสเช่น HSV-1, Human Cytomegalovirus, Measles virus, Mumps virus, Influenza A virus, และ HIV-1 (ยุวดี และคณะ, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 ลิปิด (Lipid)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีปริมาณลิปิดน้อย ในสาหร่ายสไปรูลินาพบปริมาณร้อยละ 6-13 ซึ่งครึ่งหนึ่งนั้นเป็นกรดไขมันโดยที่กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบมากคือไลโนลินิค (Linolenic acid) มีประมาณร้อยละ 35 ของปริมาณลิปิดทั้งหมด กระบวนการสังเคราะห์ลิปิดในสาหร่ายนั้นมีลักษณะคล้ายกับที่เกิดขึ้นในพืช โดยจะเกิดการสังเคราะห์ลิปิดเพิ่มมากขึ้นเมื่อกระบวนการสังเคราะห์แสงลดลง อย่างเช่นการสร้างเอซิวกลีเซอรอล ในสาหร่ายที่ให้น้ำมันมีอยู่ 2 ขั้นตอน ขั้นแรกคือการเจริญเติบโตที่รวดเร็วในภาวะกดดันด้วยปัจจัยอื่นเพื่อให้สาหร่ายสร้างลิปิดเพิ่มมากขึ้น ซึ่งทั้งสารอาหารและสภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงล้วนมีผลต่อปริมาณลิปิดและสัดส่วนของกรดไขมันด้วย เช่น สภาวะที่สาหร่ายขาดไนโตรเจนทำให้มีปริมาณลิปิดเพิ่มขึ้น และการเพิ่มขึ้นของแสงจะกระตุ้นการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Polyunsaturated fatty acid) (PUFA) สำหรับการสกัดลิปิดทั้งหมดทำได้โดยใช้สารละลายพวก Lipophilic organic solvent เช่น อีเธอร์, ปิโตรเลียมอีเธอร์, และคลอโรฟอร์ม (ยุวดี และคณะ, 2545)

2.2.4 กรดแกรมม่า- ลิโนลินิค (γ-linolenic acid) หรือ GLA

กรดแกรมม่า-ลิโนลินิคมีความสำคัญต่อร่างกายเนื่องจากเป็นกรดไขมันจำเป็นตัวหนึ่งที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน PGE 1 ซึ่งมีความสำคัญในการควบคุมกลไกของแรงดันโลหิต การสังเคราะห์โคเลสเตอรอลและการอักเสบบวมของเซลล์

สาหร่ายสไปรูลินาเป็นหนึ่งในจำนวนสิ่งมีชีวิตน้อยชนิดที่สามารถผลิต กรดแกรมม่า-ลิโนลินิค ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายได้ปริมาณสูงซึ่งสาหร่ายชนิดนี้เป็นแหล่งกรดแกรมม่า-ลิโนลินิคมากที่สุดประมาณร้อยละ 8-32 ของกรดไขมันทั้งหมดหรือร้อยละ 0.3-1.4 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง สำหรับการผลิต กรดแกรมม่า-ลิโนลินิค ของสาหร่ายสไปรูลินาขึ้นกับสภาวะแวดล้อมที่เจริญโดยผลิตได้ปริมาณสูงสุดที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส ในระยะการเจริญช่วงล็อคเฟสและเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้นปริมาณ กรดแกรมม่า-ลิโนลินิค เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และถ้าเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาภายใต้สภาวะมืดสลับกันสว่างทั้งในห้องปฏิบัติการและในที่กลางแจ้งทำให้ปริมาณกรดแกรมม่า-ลิโนลินิคในสาหร่ายเพิ่มขึ้นจาก ร้อยละ 1.2 เป็น 1.6 จึงกล่าวได้ว่าความเข้มแสง อุณหภูมิ และปริมาณสารอาหารมีผลต่อการเจริญ การสร้างกรดไขมัน รวมทั้งปริมาณรงควัตถุด้วย (ยุวดี และคณะ, 2545)

2.2.5 ซัลโฟลิปิด (Sulfolipid)

ซัลโฟลิปิดเป็นไขมันชนิดที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบเป็นไขมันในกลุ่ม Sulfoquinovosyl diacylglycerol (SQDG) ที่ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถยับยั้งไวรัส HIV ได้จากการวิจัยจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันวิจัย American National Cancer Institute (NCl) พบว่าซัลโฟลิปิดหรือ SQDG ชนิดนี้ในสาหร่ายสไปรูลินาสามารถต่อต้านไวรัสเอดส์ได้ (ยุวดี และคณะ, 2545)

2.2.6 รงควัตถุ (Pigment)

ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสไปรูลินาอาศัยรงควัตถุที่สำคัญคือ คลอโรฟิลล์เอ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิโปรตีนที่ประกอบด้วย ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน ช่วยดูดกลืนพลังงานแสงที่ช่วงความยาวคลื่นต่างๆ กัน มาใช้ในการสร้างอาหารของสาหร่าย นอกจากความสำคัญในกระบวนการดังกล่าวแล้ว รงควัตถุเหล่านี้ยังมีศักยภาพนำมาใช้เป็นสารสีธรรมชาติในกระบวนการผลิตอาหาร เครื่องดื่ม และเครื่องสำอางได้เป็นอย่างดี ความสามารถในการสร้างรงควัตถุจะขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมในการเจริญ ทั้งความเข้มแสง ชนิดและปริมาณสารอาหารรวมทั้งอุณหภูมิ พืชและสาหร่ายทุกชนิดจะมีคลอโรฟิลล์เอ เป็นรงควัตถุหลักในกระบวนการสังเคราะห์แสง ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะพบเฉพาะคลอโรฟิลล์เอเท่านั้น ในขณะที่สาหร่ายกลุ่มอื่นๆอาจพบคลอโรฟิลล์ที่แตกต่างกันออกไป ในสาหร่ายสไปรูลินาพบปริมาณตั้งแต่ร้อยละ 0.8-1.5 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ปัจจุบันมีรายงานการนำคลอโรฟิลล์จากสาหร่ายสไปรูลินามาเพิ่มสีสันในอาหาร ยาและอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (Danesi, 2002) สำหรับแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่สำคัญชนิดหนึ่งในการสังเคราะห์แสงมีสีเหลือง หรือส้มแดง แบ่งได้สองชนิดตามลักษณะโครงสร้างคือ แคโรทีน (Carotene) มีสีส้มเป็นสารจำพวกไฮโดรคาร์บอนที่ไม่มีออกซิเจนในโมเลกุลแยกย่อยได้อีก 3ชนิด ได้แก่ แอลฟา เบต้า และเอปซิลอน-แคโรทีน (α-,β-,ε-carotene)และอีกชนิดคือแซนโทฟิลล์หรือออกซีแคโรทีนมีสีเหลืองเป็นสารอนุพันธ์มีออกซิเจนในโมเลกุลของแคโรทีน แคโรทีนอยด์ชนิดที่พบในสาหร่ายสไปรูลินา คือ แซนโทฟิลล์ ในสาหร่ายสไปรูลินานั้นพบว่ามีแคโรทีนอยด์สูงถึง 6.9 กรัมต่อกิโลกรัม ประกอบด้วยมิกโซแซนโทฟิลล์ร้อยละ 37 แบต้าแคโรทีนร้อยละ 28 และซีแซนทินร้อยละ 17 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเบต้าแคโรทีนซึ่งเป็นโปรวิตามิน เอ (Provitamin a) กับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดอื่นๆแล้วในสาหร่ายสไปรูลินามีปริมาณสูง และพบในสัดส่วนที่สูง เบต้าแคโรทีนมีประโยชน์ช่วยในการมองเห็น และมีคุณสมบัติเป็นสารป้องกันอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ในร่างกายได้เป็นอย่างดี ส่วนแซนโทฟิลล์จะช่วยเพิ่มสีในไข่แดงของสัตว์ปีกให้มีสีเข้มขึ้น ดังนั้นการให้สัตว์กินสาหร่ายสไปรูลินารงควัตถุจึงช่วยเพิ่มสีของเนื้อและไข่ พร้อมทั้งคุณค่าทางสารอาหารของสัตว์ด้วย ตัวอย่างเช่น มีการทดลองผสมสาหร่ายสไปรูลินาให้กับนกกระทาพันธุ์ญี่ปุ่นมีผลช่วยให้สีของไข่แดงเข้มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และสาหร่ายสไปรูลินายังช่วยเพิ่มสีให้กับปลา เช่น ปลาทอง ปลาคาร์ป ให้มีสีสวยงาม

นอกจากรงควัตถุทั้งสองชนิดดังที่กล่าวมาแล้วในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินยังพบรงควัตถุในกลุ่มไฟโคบิลิโปรตีน ซึ่งประกอบด้วย ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

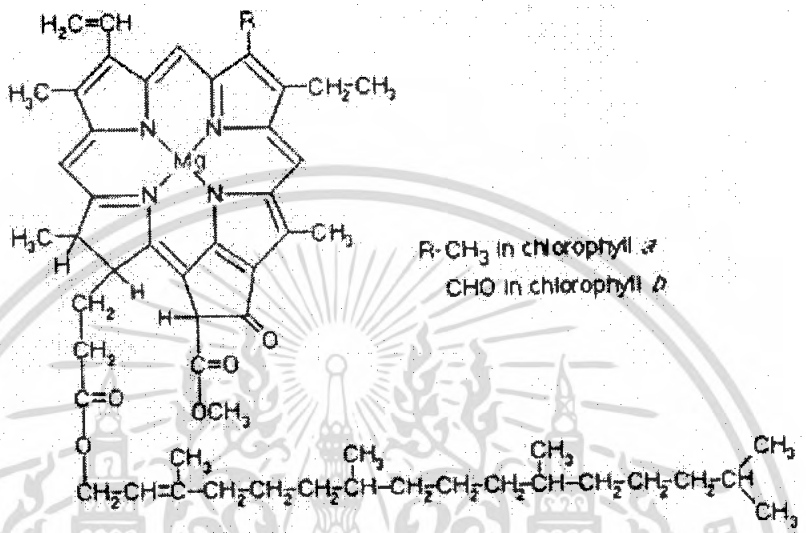
ซึ่งเป็นกลุ่มโปรตีนที่ละลายน้ำได้ดี ช่วยดูดกลืนแสงสีในช่วงคลื่น 500-600 นาโนเมตร ปัจจุบันโปรตีนชนิดนี้มีความสำคัญในทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะไฟโคไซยานินซึ่งมีสีฟ้าถูกนำมาใช้ผสมเป็นสารให้สีในอาหาร ยา และอุตสาหกรรมเครื่องสำอางเพื่อทดแทนสีสังเคราะห์ที่อาจมีผลข้างเคียง และด้วยลักษณะเป็นสารเรืองแสงไฟโคไซยานินที่มีความบริสุทธิ์สูงจึงสามารถใช้เป็นสารติดตามตรวจสอบในงานวิเคราะห์ทางด้านเนื้อเยื่อวิทยา ภูมิคุ้มกันวิทยาและจุลทรรศน์วิทยา นอกจากประโยชน์ดังกล่าวแล้ว ยังพบว่าไฟโคไซยานินมีคุณสมบัติเป็นต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ช่วยป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระจึงสามารถใช้ป้องกันโรคมะเร็งได้และมีรายงานการศึกษาจำนวนมากที่พบว่าไฟโคบิลิโปรตีนชนิดไฟโคไซยานิน และอัลโลไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสีเขียมแกมน้ำเงิน *Synechococcus* spp. สามารถใช้เป็นสารส่งเสริมการเจริญ (Growth promoting) ได้ โดยอัลโลไฟโคไซยานินให้ผลดีกว่า และสำหรับไฟโคไซยานินที่จำหน่ายในปัจจุบันซึ่งได้จากสาหร่ายสไปรูลินานั้นพบว่ามีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมการเจริญของเซลล์บางชนิด เช่น cell line ได้และไฟโคบิลิโปรตีนในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดอื่นอาจมีคุณสมบัติเช่นเดียวกันนี้ด้วย (ยุวดี และคณะ, 2545)

1. คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll)

คลอโรฟิลล์ คือรงควัตถุสีเขียวซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการสังเคราะห์แสง คลอโรฟิลล์มีหลายชนิดได้แก่ คลอโรฟิลล์เอ, บี, ซี, ดี, และอี แต่คลอโรฟิลล์ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เป็นคลอโรฟิลล์ชนิดเอเท่านั้น คลอโรฟิลล์เอจัดเป็นรงควัตถุสังเคราะห์แสงขั้นต้นสามารถดูดแสงด้วยตัวเอง ส่วนคลอโรฟิลล์ชนิดอื่นๆจัดเป็นรงควัตถุสังเคราะห์แสงขั้นสอง (รงควัตถุประกอบ) ซึ่งทำหน้าที่ดูดพลังงานรังสีจากแสงแล้วส่งต่อไปให้คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์เป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่ง ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่พบในสาหร่ายโดยทั่วไปปกติมีประมาณร้อยละ 0.5-1.5% ของน้ำหนักแห้ง และสามารถเพิ่มสูงได้ถึงร้อยละ 6 ในสาหร่ายที่เลี้ยงไว้ในที่มีแสงอ่อนๆ โดยคลอโรฟิลล์ประกอบด้วยธาตุแมกนีเซียมซึ่งมีบทบาทสำคัญในการลดภูมิต้านทานให้กับมนุษย์ เป็นสารที่ทำให้พืชทุกอย่างรวมทั้งสาหร่ายเกลียวทองมีสีเขียว การที่คลอโรฟิลล์ (ในพืช) มีโครงสร้างเป็นวแหวนไพโรว์ (Pyrole Ring) เหมือนกันกับฮีโมโกลบิน (ในคน) แตกต่างกันที่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบคือแมกนีเซียมและธาตุเหล็ก มีรายงานของการวิจัยว่า คลอโรฟิลล์มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียสามารถหยุดโรคเหงือกอักเสบ นอกจากนี้ยังมีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจคือ ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจดีขึ้น เพราะระยะการคลายตัวนานขึ้น คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุที่สาหร่ายเกลียวทองมีมากรองลงมาจากไฟโคไซยานิน ในกระบวนการแปรรูปอาหารคลอโรฟิลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง (Destruction) ทำให้เปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเขียวคล้ำหรือสีน้ำตาล (Dull olive-brown)

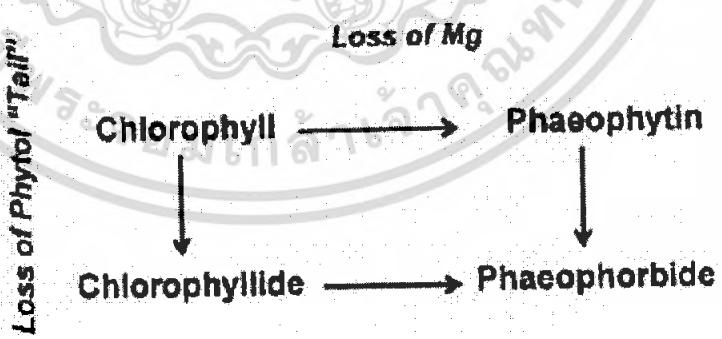
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปของฟีโอไพติน (Pheophytin) และฟีโอฟอร์ไบด์ (Pheophorbide) หรืออาจจะอยู่ในรูปของคลอโรฟิลล์ไรด์ (Chlorophyllide) ซึ่งยังคงเป็นสีเขียว (สินีนาฏ, 2550)



รูปที่ 2 โครงสร้างคลอโรฟิลล์

ที่มา : สินีนาฏ (2550)



รูปที่ 3 วิถี (pathway) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของคลอโรฟิลล์

ที่มา : สินีนาฏ (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ของคลอโรฟิลล์

มีรายงานผลการวิจัยที่กล่าวถึงว่าคลอโรฟิลล์มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Bacteriostatic) สามารถหยุดโรคเหงือกอักเสบ ทำให้กลิ่นปากหายเหม็น ในยาอมบ้วนปากที่มีขายในปัจจุบันนี้จึงมักมีการใช้คลอโรฟิลล์เป็นส่วนประกอบด้วย คลอโรฟิลล์ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรค (Bacteriocidal) แต่มันทำให้เชื้อจุลินทรีย์หยุดแบ่งตัวซึ่งก็ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้อีก และสีเขียวของคลอโรฟิลล์ ทำให้ยาอมบ้วนปากดูจะถูกสุขลักษณะที่ดี (สีฟ้า จะทำให้ผู้ใช้รู้สึกสะอาด สีแดงจะรู้สึกว่าแรงและอันตราย ส่วนสีเขียว จะรู้สึกมีอนามัยที่ดี) นอกจากนี้คลอโรฟิลล์ยังได้ใช้เป็นยาใส่แผลในสงครามโลกครั้งที่ 2 เพราะมีคุณสมบัติในการลดการเจริญเติบโตของเชื้อโรค และลดอาการอักเสบหรืออาการบวมต่างๆ คลอโรฟิลล์ช่วยการฟื้นตัวของเซลล์ตับที่อักเสบ และขยายหลอดเลือด ทำให้ระบบไหลเวียนของโลหิตในร่างกายดีขึ้น

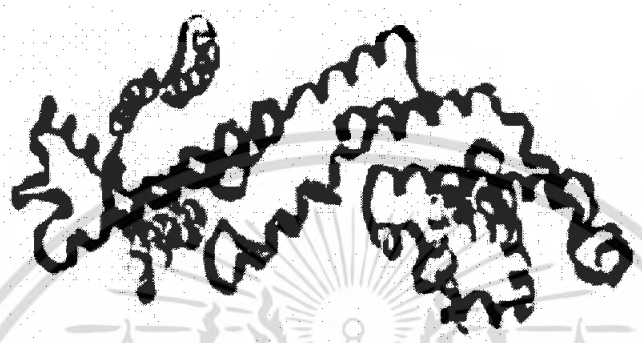
นักวิทยาศาสตร์ญี่ปุ่นได้แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายสไปรูลินามีส่วนช่วยในการรักษาโรคโลหิตจาง โดยอธิบายเหตุผลว่าเป็นเพราะคลอโรฟิลล์ได้เปลี่ยนเป็นโครงสร้างฮีโมโกลบินของเม็ดเลือดแดง เพราะโครงสร้างทางโมเลกุลทั้งสองอย่างเหมือนกัน คือ มีลักษณะที่เรียกว่า วงแหวนไพโรล ถ้าเพียงแต่แมกนีเซียมที่อยู่ในคลอโรฟิลล์เปลี่ยนที่อยู่ออกไป และยอมให้เหล็กเข้ามาแทนก็เป็นฮีโมโกลบิน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าเหล็กก็มีความอุดมสมบูรณ์อยู่แล้วในตัวของสาหร่ายทั้งยังมีกรดโฟลิกและวิตามินบี 12 เป็นตัวช่วยในการผลิตธาตุเหล็กอีกด้วย เหล็กจึงพร้อมจะเข้าไปแทนที่แมกนีเซียมในโครงสร้างวงแหวนไพโรลกลายเป็นฮีโมโกลบินของเม็ดเลือดแดงได้ทันที

2. ไฟโคไซยานิน (Phycocyanin)

ไฟโคไซยานิน เป็นโปรตีนสีน้ำเงิน (Blue) ประกอบด้วยธาตุแมกนีเซียม (Magnesium) กับธาตุเหล็ก (Iron) จึงทำให้สาหร่ายสไปรูลินาแลดูเป็นสีน้ำเงินเข้ม เมื่อรวมกับคลอโรฟิลล์ ซึ่งเป็นสีเขียว จึงทำให้สาหร่ายสไปรูลิน่าเห็นเป็น สีน้ำเงิน-เขียว ไฟโคไซยานินมีความเข้มข้นถึงร้อยละ 14 โดยน้ำหนักไฟโคไซยานินจะมีแต่ในสาหร่ายสไปรูลินาเท่านั้น สำหรับในสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella*) ซึ่งเคยเป็นสาหร่ายที่นิยมนำมาบริโภคจะไม่มี ไฟโคไซยานินจึงไม่มีสีน้ำเงินอยู่ด้วย จุดเด่นอันดับหนึ่งของไฟโคไซยานินนั้นคือ ไฟโคไซยานินเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) และป้องกันการอักเสบ (Anti-Inflammation) ที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้อีกสิ่งหนึ่งที่วงการแพทย์กำลังทำการศึกษาวิจัยอยู่นั้นคือ การศึกษาถึงความสามารถที่จะป้องกันหรือระงับการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในมนุษย์ได้หรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

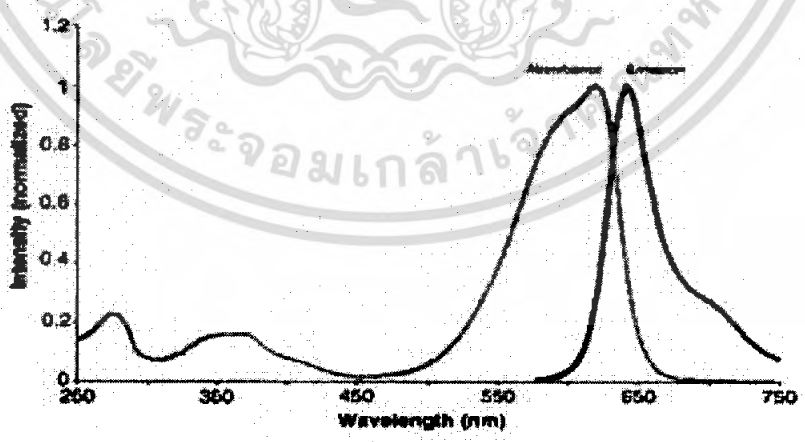
ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocayanin) เป็นไฟโคบิลลิโปรตีน (Phycobilliprotein) สีน้ำเงินที่ละลายน้ำได้ สกัดได้มาจากสาหร่ายเกลียวทอง โครงสร้างของซี-ไฟโคไซยานินประกอบด้วยหน่วยย่อยแอลฟา และบีตา มีน้ำหนักโมลเลกุล 20500 และ 23500 KDa ตามลำดับ (สินีนาฏ, 2550)



รูปที่ 4 หน่วยย่อยแอลฟา และบีตาของซี-ไฟโคไซยานิน

ที่มา : สินีนาฏ (2550)

สาหร่ายเกลียวทองมีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร และมีการปลดปล่อยแสงที่ความยาวคลื่น 647 นาโนเมตร (สินีนาฏ, 2550)



รูปที่ 5 การดูดกลืนแสงและการปลดปล่อยแสงของซี-ไฟโคไซยานิน

ที่มา : สินีนาฏ (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ของไฟโคไซยานิน

เนื่องจากไฟโคไซยานินในสาหร่ายเป็นโปรตีน สาหร่ายจึงเป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ที่สำคัญมากที่สุด เพราะเอนไซม์ทุกชนิดนั้นสร้างมาจากโปรตีน (Globular Protein) มีเอมไซม์ซึ่งธรรมชาติพัฒนามาให้แล้วอย่างดีอยู่ในสไปรูลินาถึง 2,000 ชนิด และส่วนใหญ่จะทำหน้าที่ต้านหรือทำลายอนุมูลอิสระ สำหรับอาหารเสริมนักการตลาดในปัจจุบันจะใช้วิธีสร้างตำแหน่งหรือจุดเด่น (Position) เพื่อให้มาเป็นจุดขายคือ การประชาสัมพันธ์ด้านคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายสไปรูลินาเป็นอันดับที่หนึ่ง และคุณสมบัติในการชะลอความแก่รองลงมา

นักวิทยาศาสตร์จีนได้รายงานผลการศึกษาไว้ว่าไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) เป็นสาระสำคัญที่ทำหน้าที่กระตุ้นให้เซลล์ตั้งต้น (Stem Cell) ในไขกระดูก ผลิตเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนั้นในสภาวะที่ไขกระดูกถูกสารพิษหรือรังสี (Radiation) ทำลายหรือเสื่อมสภาพลง ไฟโคไซยานินจะช่วยป้องกันและกระตุ้นเซลล์ตั้งต้นเพื่อให้กลับคืนสภาพเดิมมาสร้างเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวได้ใหม่ต่อไปอีก จากผลของคุณสมบัติดังกล่าวนี้กระทรวงสาธารณสุขรัสเซียจึงได้ใช้สาหร่ายสไปรูลินาซึ่งอุดมไปด้วยไฟโคไซยานิน ในการเป็นโภชนาบำบัดกับเด็กในเมืองเชอโนบิล (Chernobyl) ซึ่งได้รับอันตรายจากละอองกัมมันตภาพรังสีปนเปื้อน เพราะเครื่องปฏิกรณ์ปรมาณูรั่ว รังสีได้ทำลายไขกระดูกของเด็ก ทางการจึงทำการทดลองให้เด็กเหล่านี้กินสาหร่ายชนิดสไปรูลินา ขนาดน้ำหนัก 5 กรัม ต่อวันต่อคน เป็นอาหารเสริมทุกวัน พบว่าเพียง 6 สัปดาห์เด็กที่กินสาหร่ายจะมีสุขภาพดีขึ้น เมื่อเทียบกับเด็กที่ไม่ได้กินซึ่งเด็กในกลุ่มหลังนี้ไขกระดูกไม่ยอมฟื้นตัวกลับมาทำงาน (สินีนาฏ, 2550)

3. คาโรทีนอยด์ (Carotenoid)

การที่สาหร่ายสไปรูลิน่ามีสารสีส้มปนเหลืองอ่อนๆนั้น ทั้งนี้เนื่องมาจากสารคาโรทีนอยด์ซึ่งมีน้ำหนักรวม 47 มิลลิกรัม จากน้ำหนักสาหร่าย 10 กรัม โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มด้วยกันคือ

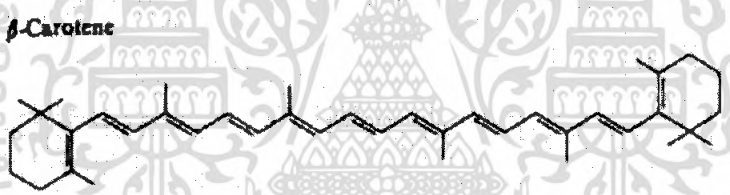
1. กลุ่มสีส้ม ได้แก่พวก คาโรทีน (Carotene) สารที่สำคัญสำหรับกลุ่มนี้คือ เบต้าคาโรทีน (Beta Carotene) ซึ่งได้กล่าวมาแล้วในตอนต้น นอกจากคาโรทีนชนิด เบต้า (Beta) ก็ยังมีชนิด แอลฟา (Alpha) และแกมมา (Gamma) ซึ่งไม่สำคัญโดยตัวของมันเอง แต่จะมีส่วนช่วยผลักดันให้เบต้าคาโรทีนมีประสิทธิภาพสูงมากขึ้น กลุ่มสีส้มนี้มีจำนวนถึงร้อยละ 54 ของน้ำหนักคาโรทีนอยด์หรือมีสารกลุ่มสีส้มประมาณ 25 มิลลิกรัม ในทุก 10 กรัม ของสาหร่ายสไปรูลินา

2. กลุ่มสีเหลือง ได้แก่พวก แซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) มีจำนวนร้อยละ 46 ของคาโรทีนอยด์หรือในสาหร่าย 10 กรัม จะพบสารสีเหลืองประเภทนี้อยู่ 22 มิลลิกรัม (สินีนาฏ, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บีตา-แคโรทีน (β-carotene) เป็นรงควัตถุที่ไม่สามารถสังเคราะห์ได้โดยสัตว์แต่สามารถสังเคราะห์ได้โดยพืชและจุลินทรีย์ โครงสร้างของบีตา-แคโรทีนประกอบด้วยไซโคลเฮกเซน (Cyclohexane) 2 ชนิด บีตา-แคโรทีนเป็นแหล่งวิตามินเอของมนุษย์ ร่างกายเราจะเปลี่ยนบีตา-แครอทีนเป็นวิตามินเอเมื่อต้องการสาหร่ายเกลียวทองเป็นอาหารที่มีบีตา-แคโรทีนสูง บีตา-แคโรทีนสามารถจับอนุมูลอิสระ Peroxyl โดยเฉพาะในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำ สมบัติการต้านออกซิเดชั่นของบีตา-แคโรทีขึ้นอยู่กับสมบัติในการจับ Singlet Oxygen และอนุมูลอิสระ Peroxyl ซึ่งขึ้นกับโครงสร้างของโมเลกุล และจำนวนพันธะคู่ของโมเลกุล นอกจากนี้บีตา-แคโรทีนยังลดความเป็นพิษของอนุมูลอิสระซึ่งทำลายเซลล์และนำไปสู่โรคมะเร็ง เนื่องจากสาหร่ายเกลียวทองมีบีตา-แครอทีนอยู่สูงจึงมีการนำเอามาทดสอบถึงผลในการต้านมะเร็งของบีตา-แคโรทีน และสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองที่มีต่อก้อนเนื้อร้ายในปากหนูพบว่าสามารถลดทั้งจำนวนและขนาดของก้อนเนื้อและทำให้ก้อนเนื้อนั้นหายไปได้ (สินีนาฏ, 2550)



รูปที่ 6 โครงสร้างของบีตา-แคโรทีน

ที่มา : สินีนาฏ (2550)

ประโยชน์ของคาโรทีนอยด์

คาโรทีนอยด์มีความสำคัญต่อมนุษย์ผู้บริโภคมันเข้าไป โดยเป็นตัวกระตุ้นภูมิต้านทานของร่างกาย และยังช่วยต้านอนุมูลอิสระอย่างมีคุณภาพ แต่การจะเกิดประสิทธิภาพที่ดีนั้นก็จะต้องเป็นสารคาโรทีนอยด์ที่ได้จากธรรมชาติ เพราะการที่มันจะทำงานให้ประสบความสำเร็จก็ต้องทำงานร่วมกันอย่างเป็นทีม โดยธรรมชาติจะสร้างความสมดุลของสารอาหารต่างๆเตรียมเอาไว้เพื่อให้มนุษย์และสัตว์ได้ใช้ ตั้งแต่แรกเริ่มของห่วงโซ่อาหาร (Food Chain) ที่ธรรมชาติทำเช่นนี้ก็เพื่อจะก่อให้เกิดความอยู่รอดของทั้งอาณาจักรมนุษย์ อาณาจักรพืช และอาณาจักรสัตว์รวมทั้งสิ่งแวดล้อมในโลกของเรา โดยธรรมชาติจะทำการคัดเลือกพันธุ์พืชหรือสัตว์ที่แข็งแรง ฉลาด หรือ ปรับตัวเองให้เข้ากับสถานการณ์ได้ พัฒนาอยู่ตลอดเวลา ให้สามารถมีชีวิตเพื่อแพร่พันธุ์ที่ดีกว่า เก่งกว่า สัตว์หรือสายพันธุ์พืชชนิดที่อ่อนแอก็จะถูกกำจัดออกไปตามกฎของธรรมชาติ (สินีนาฏ, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

83747

2.3 การศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินา

ปัจจุบันนี้คุณประโยชน์ของสาหร่ายสไปรูลินาเป็นที่รู้จักกันอย่างกว้างขวางขึ้นทำให้ประชาชนทั่วไปให้ความสนใจศึกษาและหันมาบริโภคสาหร่ายชนิดนี้กันมากขึ้น ซึ่งในประเทศไทยเราเองมีหลายบริษัทที่ผลิตสาหร่ายสไปรูลินาออกวางตลาดเผยแพร่คุณประโยชน์และคุณภาพสินค้าของตนเองทำให้การแข่งขันมีมากขึ้น แต่สินค้าก็ยังมีราคาสูงอยู่ ทำให้ดูเหมือนว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินานั้นมีความห่างไกลความจริงที่ประชาชนจะเพาะเลี้ยงได้เอง แต่ในประเทศอินเดียชาวบ้านมีบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาไว้รับประทานเองได้เอง ซึ่งความจริงแล้วสาหร่ายชนิดนี้สามารถเพาะเลี้ยงได้ไม่ยากจนเกินไปจากประเด็นสำคัญที่ว่าสาหร่ายสไปรูลินาเจริญได้ในแหล่งน้ำที่มีปริมาณสารอาหาร และความเป็นด่างสูงจึงสามารถนำมาเป็นแนวทางศึกษาการเพาะเลี้ยง การศึกษามีทั้งนำน้ำทิ้งจากโรงงานที่ไม่มีโลหะหนักหรือสารเป็นพิษ น้ำหมักมูลสัตว์และมูลสัตว์ ซึ่งมีสารอาหารสูงมาปรับปรุงใช้เพาะเลี้ยงเพื่อลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยง และมีทั้งการใช้อาหาร Zarrouk ซึ่งเป็นสารอาหารสูตรมาตรฐานที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูลินา โดยสูตรอาหารนี้ประกอบด้วยสารอาหารทั้ง Macronutrient และ Micronutrient ที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูลินา แต่การเพาะเลี้ยงแบบขยายขนาด ต้องใช้สารเคมีเหล่านี้ปริมาณมากซึ่งสารเคมีที่ใช้มีราคาแพงยิ่งเลี้ยงในปริมาณมากต้องใช้ต้นทุนการผลิตสูงมากขึ้นตามด้วย (ยุวดี และคณะ, 2545)

เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตให้ต่ำลง จึงมีความพยายามที่จะหาสูตรอาหารที่ราคาถูกและหาง่ายในท้องถิ่นมาทดแทน มีการนำวัสดุเหลือใช้ประเภทน้ำทิ้งจากแหล่งต่างๆมาทดแทนสารเคมีบางตัวที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงอันได้แก่ น้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง น้ำทิ้งจากโรงงานปลาป่น น้ำทิ้งจากแหล่งชุมชน น้ำกากมูลสัตว์ น้ำเวย์เต้าหู้ (กาญจนา, 2539) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ด้วยน้ำหมักมูลไก่ โดยใช้ปริมาตรสาหร่าย 4 ลิตร ที่อัตราการเจือจาง (Dilution Rate) 0.25 ต่อวัน (คลอโรฟิลล์ 5 มก.ต่อลิตร) ในสภาวะกลางแจ้งแบบกึ่งต่อเนื่อง ด้วยอาหารน้ำหมักมูลไก่ (COD 1,100 มก.ต่อลิตร) 2 สูตร โดยสูตรแรกเติม $NaHCO_3$ 5 กรัมต่อลิตร และปุ๋ย NPK (สูตร 16:16:16) 0.2 กรัมต่อลิตร และสูตรที่สองเติม $NaHCO_3$ 5 กรัมต่อลิตร, KNO_3 1.5 กรัมต่อลิตร และ K_2HPO_4 0.5 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับอาหารสูตร Zarrouk พบว่า การเลี้ยง *S. platensis* Z19/2 ในอาหารน้ำหมักมูลไก่ทั้ง 2 สูตรให้ผลผลิตใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 14 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน ขณะที่การเลี้ยงสาหร่ายนี้ด้วยอาหารสูตร Zarrouk ให้ผลผลิตประมาณ 18 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน เมื่อพิจารณาองค์ประกอบภายในเซลล์พบว่า *S. platensis* ที่เลี้ยงจากอาหารทุกสูตรมีกรดแกมมาลิโนลินิก คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไฟโคไซยานินปริมาณไม่แตกต่างกันเท่าใดนัก คือ ร้อยละ 1.0 23 50 และ 7.5 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แต่พบว่า การเลี้ยงในอาหารน้ำหมักมูลไก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งสองสูตรให้เซลล์ที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่าในอาหารสูตร Zarrouk ประมาณร้อยละ 20 นอกจากนี้การเพาะเลี้ยง *S. platensis* ในน้ำหมักมูลไก่ยังลดปริมาณออกซิเจนในการออกซิไดส์สารอินทีย์ในน้ำเสียให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ (Chemical oxygen demand) (COD) ถึงร้อยละ 62 อีกทั้งเมื่อเปรียบเทียบราคาอาหารต่อลิตรยังพบว่า การใช้อาหารน้ำหมักมูลไก่สูตรแรกและสูตรที่สอง มีราคาต้นทุนต่ำกว่าอาหารสูตร Zarrouk ร้อยละ 45 และ 30 ตามลำดับ (รัตนา และคณะ ปี 2540) มีการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาโดยใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำจากการใช้น้ำกากส่าเหล้าเป็นแหล่งของสารอาหารทดแทนร่วมกับการใช้สารเคมีบางชนิด จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* CMU2 ด้วยน้ำกากส่าเหล้าที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.04 และเติมสารอาหารพื้นฐานซึ่งประกอบด้วย $NaHCO_3$ 8.5, $NaNO_3$ 1.5, K_2HPO_4 0.5 และปุ๋ย N:P:K สูตร 16:16:16 0.6 กรัม/ลิตร สามารถเติบโตได้สูงสุดมีน้ำหนักเซลล์สาหร่ายแห้งเฉลี่ยสูงถึง 615 มิลลิกรัม/ลิตร และปริมาณรงควัตถุซึ่งประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ เอ มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 11.30 มิลลิกรัม/ลิตร แคโรทีนอยด์ และไฟโคไซยานิน มีค่าเฉลี่ย 0.36 และ 115.07 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อนำสาหร่าย *S. platensis* CMU2 มาเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในบ่อเพาะเลี้ยงน้ำวนด้วยปริมาตร 1,000 ลิตร ระดับน้ำในบ่อสูง 24 เซนติเมตร ด้วยสูตรข้างต้น สามารถเก็บเกี่ยวสาหร่ายได้ทั้งหมด 3 ครั้ง ให้ผลผลิตน้ำหนักเซลล์ สาหร่ายแห้งเฉลี่ยสูงสุดในครั้งที่ 1, 3 และ 2 คือ 326.82, 297.26 และ 280.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนสูงถึง ร้อยละ 57 ในการเก็บเกี่ยวครั้งที่ 3 ปริมาณรงควัตถุทั้งสามชนิด ได้แก่ คลอโรฟิลล์ เอ แคโรทีนอยด์ และไฟโคไซยานิน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในการเก็บเกี่ยวแต่ละครั้ง และเมื่อตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในการเก็บเกี่ยวแต่ละครั้งเช่นกัน การเพาะเลี้ยงครั้งนี้สามารถมีต้นทุนการผลิตต่ำ คือ การผลิตสาหร่ายน้ำหนักแห้ง 1 กรัม มีต้นทุนการผลิตเพียง 2.80 บาท (ยุวดี และปาวลี, 2550)

นอกจากนั้นมีการศึกษาวิจัยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาโดย Olguin (2000) กล่าวว่าผลการให้แสงที่มีปริมาณต่ำและสภาวะขาดแคลนไนโตรเจนในการเจริญโดยแหล่งไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของ *S. platensis* ในการทดลองเราจะทำการเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราว (Batch Fermentation) โดยการใช้ประโยชน์จากอาหารที่มีความซับซ้อนซึ่งประกอบด้วย แหล่งน้ำเสียที่ได้จากหมูโดยมีน้ำทะเลเป็นส่วนประกอบทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีการใช้อากาศ เราจะดำเนินการทดลองโดยการให้แสงที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 66 ลักซ์ หรือ 144 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรวินาที ความเข้มข้นของปริมาณเซลล์แห้งหลังจากทำการเพาะเลี้ยงผ่านไป 12 วันในอาหารเชิงซ้อน จากการสังเกตพบว่ามีลักษณะคุณสมบัติทางเคมีใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ (Zarrouk) โดยไม่ขึ้นกับค่าความเข้มข้นของแสง ซึ่งองค์ประกอบทางโปรตีนของมวล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์ในอาหารเชิงซ้อนจะมีค่าความสำคัญทางสถิติต่ำกว่า ($P<0.05$) เมื่อนำมาทำการเปรียบเทียบกับอาหาร Zarrouk สูตรปกติ โดยไม่มีการคำนึงถึงค่าของความเข้มแสงเช่นกัน อย่างไรก็ตามมวลเซลล์ที่ได้จากอาหารเชิงซ้อนในสภาวะที่ทำการกำหนดให้มีปริมาณการให้แสงต่ำจะอุดมไปด้วยไขมันซึ่งมีปริมาณไขมันรวมทั้งหมดเท่ากับ (ร้อยละ 28.6) ในทางกลับกันเมื่อเราทำการให้แสงที่ความเข้มข้นสูงขึ้นเปอร์เซ็นต์ของกรดปาล์มมิโตอิกจากปริมาณไขมันรวมทั้งหมดมีค่าความสำคัญทางสถิติเพิ่มมากขึ้น ($P<0.05$) และที่ความเข้มแสงที่ต่ำลงเปอร์เซ็นต์ของกรดแกรมมาลิโนลินิคที่ได้จากปริมาณกรดไขมันทั้งหมดที่สามารถสังเกตได้มีค่าเท่ากับ (ร้อยละ 28.13) เมื่อเราทำการเพิ่มระดับความเข้มของแสงให้มากขึ้นองค์ประกอบของโพลีแซคคาไรด์จะมีค่าความสำคัญทางสถิติสูงขึ้น ($P<0.05$) โดยจะมีค่าองค์ประกอบของโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมดประมาณร้อยละ 28.41

การศึกษาผลของการแทนที่ไนเตรตด้วยยูเรียโดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กโดยการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน และทำการเพาะเลี้ยงโดยกระบวนการหมักที่มีการเติมอาหารเป็นระยะ (Fed-Batch Culture) ขั้นตอนของการเติมยูเรียจะดำเนินการด้วย 4 ลักษณะที่แตกต่างกันได้แก่ สภาวะการให้อาหารที่ไม่สม่ำเสมอทุก 24 หรือ 48 ชั่วโมง การเติมยูเรียแบบต่อเนื่องโดยมีการเติมมวลยูเรียที่เพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ และการเติมแบบต่อเนื่องโดยการให้มวลการไหลที่มีค่าคงที่ และจะดำเนินการทดลองภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับคือที่ 27, 30 และ 33 องศาเซลเซียสและทำการให้แสงที่ค่าความเข้มแสงมีค่าคงที่ที่ 3.5 กิโลลักซ์ ผลของการทดลองแสดงถึงปัจจัยที่ดีจากอัตราการเจริญโดยการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนของ *S. platensis* แต่ไม่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์สุดท้ายที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์โดยผลการทดลองที่ดีที่สุดที่ได้รับคือการเติมยูเรียอย่างต่อเนื่องโดยมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นแบบทวีคูณที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Danesi, 2002) นอกจากนั้น Torre และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนเช่นกันโดยศึกษาพลังงานทางชีวภาพและอุณหพลศาสตร์บนอัตราการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีถึงประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสงโดยการใช้อุปกรณ์อย่างง่าย สมดุลของเอนเทราปีและพลังงานของ Gibbs จะถูกนำไปประยุกต์ใช้เพื่อทำให้ผลการทดลองที่ได้รับเกิดการแลกเปลี่ยนค่าที่หลากหลายภายในช่วงเวลารวมทั้งหมดจากอัตราการให้แหล่งไนโตรเจนที่ ($9 < t_T <15$ วัน) หรือภายในช่วงเวลาทั้งหมดโดยทำการเติมมวลของยูเรียต่อหนึ่งหน่วยของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นต่อปริมาตร ($280< m_T <750$ มิลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งค่าของโฟตอนจะเกี่ยวข้องกับการเจริญของสิ่งมีชีวิตที่เลี้ยงตนเองได้โดยอาศัยสารอนินทรีย์เป็นอาหารแล้วจึงทำการประเมินค่าสำหรับสภาวะที่ใช้ในการทดลองทุกๆสภาวะ ความก้าวหน้าที่เพิ่มขึ้นภายใต้ตัวแปรพลังงานทางชีวภาพระหว่างการเพาะเลี้ยงสามารถพิจารณาได้โดยประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสงที่ลดลงในขณะที่มีความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่เพิ่มขึ้น การประเมินค่าเปอร์เซ็นต์ส่วนประกอบของพลังงานที่แตกต่างกันมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าน้อยกว่า 1 ใน 3 ของพลังงานที่ถูกดูดซับโดยพลังงานของ Gibbs ซึ่งจะถูกตรึงด้วยระบบที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและมีค่าของพลังงานเพิ่มขึ้นจนถึงปริมาณความจุพลังงานเอนเทราปีของตัวมันเอง ในขณะที่พลังงานเพียง 6% เท่านั้นที่จะถูกนำกลับมาใช้เป็นพลังงาน ATP และพลังงานประมาณ 2 ใน 3 จะถูกปล่อยออกในรูปของพลังงานความร้อน (ยุวดี, 2544)

2.4 ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินา

2.4.1 แสงแดด

แสงมีผลกระทบโดยตรงต่อการเจริญและการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสำหรับสาหร่ายสไปรูลินาต่างสายพันธุ์ก็มีความคงทนต่อความเข้มแสงได้แตกต่างกัน

ความเข้มแสงที่แตกต่างกันมีผลต่อประสิทธิภาพในกระบวนการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูลินาอยู่ในช่วง 30-35 กิโลลักซ์ สำหรับการเพาะเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรมในระบบเปิดอาศัยแสงจากธรรมชาติโดยตรง ซึ่งความเข้มแสงในแต่ละฤดูมีความผันแปรค่อนข้างสูงขึ้นอยู่กับลักษณะภูมิประเทศที่แตกต่างกันด้วย ยุวดี (2544) กล่าวว่าประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อนปริมาณแสงมากตลอดปีเหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายชนิดนี้

อย่างไรก็ตามเมื่อสาหร่ายเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น ทำให้เกิดการบดบังแสงระหว่างเซลล์ขึ้น สาหร่ายที่อยู่ด้านล่างได้รับแสงน้อยปริมาณแสงที่ได้รับจึงมีข้อจำกัดส่งผลต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย ดังนั้นในการออกแบบระบบการเพาะเลี้ยงต้องคำนึงถึงการกระจายของแสงสู่อาหารที่เลี้ยงเพื่อให้เซลล์สาหร่ายได้รับแสงอย่างทั่วถึง ระดับความลึกของอาหารเลี้ยงในบ่อจึงมีความสำคัญ ความลึกของอาหารในบ่อควรอยู่ระหว่าง 15-30 เซนติเมตร ทั้งนี้ยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเซลล์ด้วย นอกจากนั้นยังขึ้นกับจุดประสงค์ว่าจะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อต้องการสารอะไรมากก็จำเป็นต้องจัดองค์ประกอบของการเพาะเลี้ยงเพื่อเอื้ออำนวยให้สามารถสร้างสารอย่างที่ต้องการได้ องค์ประกอบที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือการกวนซึ่งจะช่วยให้สาหร่ายได้รับแสงอย่างทั่วถึงอีกทางหนึ่ง

สำหรับความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสไปรูลินาอยู่ในช่วง 150-200 ไมโครโมล โฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ซึ่งเป็นแสงอาทิตย์ในช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร ประมาณร้อยละ 10-15 ค่านี้จะขึ้นอยู่กับสภาวะในการเจริญและอัตราส่วนระหว่างคลอโรฟิลล์และน้ำหนักเซลล์ ซึ่งสาหร่ายมีอัตราการเจริญสูงสุดเมื่อเจริญภายใต้ภาวะที่ความเข้มแสงอิ่มตัวแต่เมื่อความเข้มแสงสูงมากว่าความเข้มแสงอิ่มตัวของสาหร่ายทำให้เกิดปฏิกิริยาโฟโตออกซิเดชั่น (Photooxidation) ซึ่งทำให้ออกซิเจนของสาหร่ายนั้นเสื่อมเสียไป อัตราการสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสงของสาหร่ายลดลงทำให้ผลผลิตลดต่ำลงด้วย ซึ่งปัญหานี้สามารถเกิดขึ้นได้เมื่อเลี้ยงในที่กลางแจ้ง จากปัญหาดังกล่าวประกอบกับการเลี้ยงในที่กลางแจ้งประสบปัญหาจากสิ่งแวดล้อมภายนอกมาก จึงแก้ปัญหาโดยการเลี้ยงสาหร่ายระบบปิด เช่นเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อ (Tubular bioreactors) และถังปฏิกรณ์แบบเฟทเพลท (flat plate reactors) ซึ่งง่ายต่อการควบคุมอีกทั้งยังให้ผลผลิตปริมาณสูง และมีความปลอดภัยจากการปนเปื้อน แต่ข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงดังกล่าวคือใช้ต้นทุนสูง และสำหรับใน เครื่องปฏิกรณ์แบบท่อ นั้นมักประสบปัญหาการสะสมออกซิเจน และอุณหภูมิอาหารสูงเกิน จึงต้องควบคุมอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงในระบบดังกล่าวโดยใช้น้ำพ่นลงบนท่อเลี้ยงซึ่งมีผลให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้นได้อีก (ยุวดี และคณะ, 2545)

มีการศึกษาถึงอิทธิพลของแสงโดยการใช้ยูเรียเป็นเป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงโดยทำการเพาะเลี้ยงแบบกระบวนการหมักที่มีการเติมอาหารเป็นระยะ (fed-batch Fermentation) ว่ามีผลต่อการเจริญและการสร้างคลอโรฟิลล์อย่างไรผลจากการศึกษาพบว่าที่สภาวะที่ใช้ยูเรีย 500 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ความเข้มแสง 5600 ลักซ์ ทำให้เซลล์เจริญได้สูงที่สุด อัตราการผลิตคลอโรฟิลล์สูงที่สุดเมื่อใช้ยูเรีย 500 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ความเข้มแสง 3500 ลักซ์ (Carlota และคณะ, 2004)

2.4.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของสาหร่ายโดยตรงรวมไปถึงการสังเคราะห์แสงและการหายใจของสาหร่ายด้วย แหล่งที่พบการเจริญของสาหร่ายสไปรูลินามักมีอุณหภูมค่อนข้างสูง ซึ่งเป็นสภาพภูมิอากาศในเขตร้อน (Tropical) และ กึ่งเขตร้อน (Subtropical) โดยสามารถพบสาหร่ายสไปรูลินาในน้ำพุร้อนและสามารถทนอุณหภูมิในช่วง 33-35 องศาเซลเซียสได้ (Seshadri และคณะ, 1980) สไปรูลินาเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 15-50 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 32-42 องศาเซลเซียส แต่ถ้าอุณหภูมิสูงถึง 44 องศาเซลเซียส ทำให้สาหร่ายเกิดความเสียหายและเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 50 องศาเซลเซียส ทำให้สาหร่ายสไปรูลินาตายได้ ต่อมามีการศึกษาพบว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส หรือเกิน 37 องศาเซลเซียส นั้นไม่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายชนิดนี้ ซึ่งภายใต้อุณหภูมิสูงความเข้มแสงเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสไปรูลินาแต่เมื่ออุณหภูมิต่ำการเลี้ยงสาหร่ายโดยมีการบังแสงร้อยละ 25 ให้ผลผลิตสูงกว่าสภาวะกลางแจ้ง แสดงว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยหลักที่มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายและผลผลิตสูงกว่าสภาวะกลางแจ้ง ซึ่งในฤดูร้อนที่อุณหภูมิอยู่ในช่วง 30-35 องศาเซลเซียสทำให้เกิดการสูญเสียน้ำในอาหารไปประมาณ 10 ลิตรต่อตารางเมตร โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูลินาอยู่ในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส ดังนั้นในฤดูร้อนแสงเป็นปัจจัยจำกัดหลักและอุณหภูมิเป็นปัจจัยรอง และจากการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณผลผลิตสาหร่ายสไปรูลินาพบว่าภายใต้สภาวะกลางแจ้งในถังปฏิกรณ์แบบให้แสง (photobioreactors) ช่วงเดือนเมษายนถึงกันยายนในประเทศอิตาลี พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณผลผลิตและองค์ประกอบในตัวเซลล์สาหร่ายสไปรูลินาสูงมาก และระดับความเป็นกรด-ด่างเป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญและสามารถใช้ในการคัดแยกความแตกต่างสาหร่ายสไปรูลินาออกจากสาหร่ายชนิดอื่นได้ (ยุวดี และคณะ, 2545)

2.4.3 แหล่งคาร์บอน

สาหร่ายสามารถใช้แหล่งคาร์บอนคือก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศที่ละลายสู่น้ำหรือจากการเติมโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) ทั้งสองรูปแบบเมื่อละลายน้ำจะอยู่ในรูป H_2CO_3 HCO_3^{-1} หรือ CO_3^{-2} ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดด่าง (pH) ของอาหารด้วย จากการวิจัยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินากลางแจ้งสามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์แต่ในขั้นเริ่มแรกต้องเติมโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) ลงไปปริมาณหนึ่งก่อนเพื่อช่วยเป็นบัฟเฟอร์ในกับระบบและทำให้สาหร่ายเจริญได้ดีที่สำคัญยังช่วยลดต้นทุนการผลิตได้ร้อยละ 30 สำหรับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมสมควรอยู่ในช่วงประมาณ 4.5-8.5 กรัมต่อลิตร (ยุวดี และคณะ, 2545)

2.4.4 แหล่งไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของกรดอะมิโน โปรตีน โคเอมไซม์ กรดนิวคลีอิก คลอโรฟิลล์

ปริมาณไนโตรเจนในเซลล์สาหร่าย

ธาตุไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีปริมาณการใส่ในอาหารเลี้ยงสาหร่ายมากเป็นอันดับสองรองจากธาตุคาร์บอน (ไม่คำนึงถึงธาตุไฮโดรเจนและออกซิเจน ซึ่งสาหร่ายใช้เป็นปริมาณมากเช่นเดียวกัน แต่เนื่องจากสาหร่ายสามารถได้รับธาตุไฮโดรเจนและออกซิเจนจากในน้ำ) ธาตุไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญส่วนหนึ่งของน้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่าย ปริมาณไนโตรเจนภายในเซลล์สาหร่ายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งจะมีค่าผันแปรอยู่ในช่วง 1-10 โดยมีปริมาณน้อยในพวกไดอะตอม (Diatoms) ซึ่งมีซิลิกาที่ ผนังเซลล์เป็นปริมาณมาก และไนโตรเจนยังมีปริมาณน้อยในสาหร่ายที่ขาดแคลนไนโตรเจนในอาหาร ซึ่งสาหร่ายเหล่านี้มีการสะสมสารประกอบคาร์บอนเป็นปริมาณมาก ได้แก่ น้ำมัน (Oils) หรือโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharides) แต่อย่างไรก็ดีในช่วงการเจริญอย่างรวดเร็ว (Exponential phase) สาหร่ายมีปริมาณไนโตรเจนภายในเซลล์ประมาณร้อยละ 7-10 ของน้ำหนักแห้ง และมีคาร์บอนประมาณร้อยละ 50 ทั้งนี้ยกเว้นพวกไดอะตอม (สุมาลี, 2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปแบบของธาตุอาหารไนโตรเจน

แหล่งของธาตุไนโตรเจนสำหรับสาหร่ายโดยทั่วไปมีทั้งสารประกอบอนินทรีย์ และสารประกอบอินทรีย์ สาหร่ายบางชนิดในกลุ่มของโปรคาริโอทยังสามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศได้ แต่สาหร่ายเกลียวทองอยู่ในประเภทที่ไม่สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศได้จึงต้องมีการเติมแหล่งไนโตรเจนลงในอาหารสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนที่สาหร่ายโดยทั่วไปสามารถนำไปใช้ได้ ได้แก่ รูปไนเตรท (NO_3), ไนไตรท์ (NO_2) และ แอมโมเนียม (NH_4^+) ส่วนสารประกอบกรดอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ ยูเรีย, กลูตามิน, แอสพาราจิน และกรดอะมิโน เป็นต้น เมื่อสาหร่ายใช้ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมเป็นอาหาร ค่าพีเอชของน้ำเลี้ยงจะลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งทำให้เกิดผลข้างเคียงที่ไม่ดี สาหร่ายบางชนิดยังมีความไวต่อความเข้มข้นที่สูงของแอมโมเนียม และการเจริญของสาหร่ายเหล่านี้จะถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียม 1 มิลลิโมลาร์ (mM) ส่วนไนไตรท์จะต้องใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำ คือ ปริมาณ 1 มิลลิโมลาร์ (mM) เพราะความเข้มข้นที่สูงจะยับยั้งการเจริญของสาหร่าย

ธาตุไนโตรเจนที่สาหร่ายดูดซึมเข้าไปในเซลล์ในรูปของออกซิไดซ์ (Oxidized form) เช่น ไนเตรท, ไนไตรท์จะต้องถูกรีดิวซ์ให้เป็นแอมโมเนียมเสียก่อน แล้วจึงนำไปสร้างเป็นสารอินทรีย์ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์สาหร่าย เมื่อในอาหารมีทั้งแอมโมเนียมและไนเตรท สาหร่ายจะใช้แอมโมเนียมก่อนจนหมดจึงจะใช้ไนเตรท (สุมาลี, 2535)

ความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหาร

รายงานความเข้มข้นต่างๆของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงสาหร่ายจากการทดลองมีดังนี้คือ Chu (1943) ได้รายงานถึงช่วงความเข้มข้นของ NO_3 – N (ไนเตรท-ไนโตรเจน) ที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายพวกแพลงก์ตอน (Planktonic algae) ดังนี้คือ ช่วงความเข้มข้นที่เป็นระดับต่ำของช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม (Lower Limit) คือ 0.3-0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่ำจากระดับนี้อัตราการเจริญจะลดลงช่วงความเข้มข้นที่เป็นระดับสูงของช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม (Upper Limit) คือ 3.5-17 มิลลิกรัมต่อลิตร เลยจากระดับนี้จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโต ช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดคือ 0.9-3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นระดับต่ำสุดของ NO_3-N จำนวน 13.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิด *Coccochloris peniocystis* มีผลผลิตดีที่สุด โดยการทดลองเลี้ยงสาหร่ายในฟลาสต์ขนาด 500 มิลลิลิตร ให้แสงตลอดเวลาโดยมีความเข้มแสง 100 ฟุตแรงเทียน อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณไนโตรเจนต่อการเจริญของสาหร่ายเกลียวทอง โดยใช้ความเข้มแสงประมาณ 800 ลักซ์ (lux) อุณหภูมิ 22 °C ใช้โปแตสเซียมไนเตรท (KNO_3) เป็นแหล่งของไนโตรเจน โดยใส่โปแตสเซียมไนเตรทในช่วงร้อยละ 0.001 ถึง ร้อยละ 0.1 (0.01-1 กรัมต่อลิตร) ซึ่งจะมีปริมาณ NO_3-N ในช่วง 1.4-138.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (NO_3- N ในสูตรอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zarrouk มีปริมาณ 411.871 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อสาหร่ายเจริญถึงระยะคงที่ (Stationary phase) วิเคราะห์ข้อมูลได้ดังนี้คือ ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายอยู่ในช่วงร้อยละ 25.8-47.4 ของน้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์อยู่ในช่วงร้อยละ 0.17-0.5 ของน้ำหนักแห้ง น้ำหนักแห้งของสาหร่ายอยู่ในช่วง 65-235 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสรุปได้ว่าปริมาณมวลสาหร่าย โปรตีน และคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการใส่ไนโตรเจนเพิ่มขึ้น แต่พบว่าปริมาณและส่วนประกอบของกรดไขมัน (Fatty acids) และไขมัน (Lipids) ในสาหร่ายไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมีการผันแปรปริมาณไนโตรเจนเป็นระดับต่างๆ มีการทดลองเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*S. platensis*) โดยใช้โปแตสเซียมไนเตรทเป็นแหล่งของไนโตรเจนในปริมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร ซึ่งจะมีปริมาณ NO_3-N เท่ากับ 41.55 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสาหร่ายเกลียวทองมีการเจริญเป็นปกติได้มวลสาหร่าย 260 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่อลิตร มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 72% ของน้ำหนักแห้ง ความเข้มข้นของไนเตรทในอาหารน้อยกว่า 3 มิลลิโมล่าร์ (คิดเป็นปริมาณ NO_3-N น้อยกว่า 42 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะทำให้สาหร่ายเกลียวทองมีสีจาง (Chlorosis) ภายในเวลา 2-3 วัน (a few days) และความเป็นพิษของไนเตรทจะเกิดขึ้นเมื่อมีไนเตรทตั้งแต่ 90 มิลลิโมลาร์ขึ้นไป (คิดเป็น NO_3-N ปริมาณตั้งแต่ 1260 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป) และกล่าวว่าปริมาณไนเตรทที่สูง (ซึ่งอยู่ในช่วงที่ไม่เป็นพิษต่อสาหร่าย) จะช่วยเพิ่มผลผลิตและอัตราการเจริญของสาหร่ายเกลียวทองที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ขึ้นไป สาหร่ายพวกแพลงก์ตอนจะมีการเจริญไม่ดี เมื่อมีความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารต่ำกว่า 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (สุมาลี, 2535)

การสะสมไนโตรเจนภายในเซลล์สาหร่าย

ภายในเซลล์ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีสารประกอบที่สะสมไนโตรเจนที่สำคัญ 2 แห่ง ซึ่งจะให้ธาตุไนโตรเจนแก่สาหร่ายในยามขาดแคลนธาตุอาหารไนโตรเจน สารประกอบทั้งสองนี้ได้แก่ ไซยาโนไฟซิน (Cyanophycin) และไฟโคไซยานิน (ไฟโคไซยานินยังทำหน้าที่เป็นรงควัตถุประกอบด้วย) ไซยาโนไฟซินเป็นสารประกอบโพลีเปปไทด์ (Polypeptides) (น้ำหนักโมเลกุลยังไม่มากถึงขั้นเรียกเป็นโปรตีนพบว่าไซยาโนไฟซินในเซลล์ของสาหร่ายเกลียวทอง (*S. platensis*) มีปริมาณมากเมื่ออุณหภูมิต่ำ (15-17 องศาเซลเซียส) และความเข้มแสงต่ำ เนื่องจากในสภาพเช่นนี้อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะต่ำลง สาหร่ายจึงมีการใช้กรดอะมิโนเป็นปริมาณน้อย ไนโตรเจนภายในเซลล์จึงสะสมอยู่ที่ไซยาโนไฟซินมากขึ้น ทำให้ไซยาโนไฟซินมีปริมาณมากขึ้น แต่ในระหว่างที่สาหร่ายมีการเจริญที่เหมาะสม (Optimal growth) กรดอะมิโนในเซลล์สาหร่ายจะอยู่ที่ส่วนโปรตีนของเซลล์ ที่อุณหภูมิใกล้เคียงหรือมากกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของสาหร่ายเกลียวทอง สาหร่ายจะมีปริมาณไซยาโนไฟซินน้อยลงเพราะสาหร่ายมีอัตราเจริญสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฟโคไซยานินในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีการสะสมอยู่ภายในเซลล์ในช่วงการเจริญที่เรียกว่าระยะเติบโตอย่างรวดเร็ว (Log phase) มากกว่าช่วงการเจริญอื่นๆและหยุดการสะสมในช่วงการเจริญระยะคงที่ (Stationary phase) ซึ่งต่างจากการสะสมของสารอื่นๆภายในเซลล์ที่มักมี การสะสมในช่วงการเจริญช่วงสุดท้ายหรือระยะปลายของวงจรชีวิต ในสาหร่ายเกลียวทอง (*S. platensis*) ไฟโคไซยานินจะมีปริมาณมากที่สุด เมื่อเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนมากเกินพอ และพบว่าไฟโคไซยานินเป็นแหล่งของโปรตีนสะสม (Storage protein) ในเซลล์สาหร่ายเกลียวทอง โดยให้โปรตีนและไนโตรเจนแก่เซลล์ในยามขาดแคลนธาตุอาหารไนโตรเจน

การที่สาหร่ายโดยทั่วไปมีแหล่งสะสมไนโตรเจนภายในเซลล์ทำให้สาหร่ายที่อยู่อาหารที่มีความเข้มข้นของไนเตรทสูง สามารถสะสมไนโตรเจนได้มากกว่าสาหร่ายที่เจริญอยู่ในอาหารที่มีความเข้มข้นของไนเตรทต่ำกว่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Gerloff และ Skoog (1954) ที่พบว่าสาหร่าย *Microcystis aeruginosa* มีการใช้ไนโตรเจนอย่างฟุ่มเฟือย (Luxury Consumption) เมื่อมีไนโตรเจนมากขึ้นในอาหาร และปริมาณไนโตรเจนภายในเซลล์ได้เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 4 เป็นร้อยละ 7.7 ของน้ำหนักแห้ง โดยผลผลิตของสาหร่ายไม่ได้เพิ่มขึ้น (สุมาลี, 2535)

การขาดแคลนไนโตรเจนในอาหาร

โดยทั่วไปสาหร่ายจะตอบสนองต่อการขาดแคลนไนโตรเจนในอาหาร โดยการย่อยสลายโมเลกุลขนาดใหญ่ซึ่งประกอบด้วย ไนโตรเจนภายในเซลล์จำนวน 1 หรือมากกว่า 1 โมเลกุล เพื่อให้ได้ธาตุไนโตรเจนสำหรับการดำรงชีวิต ทำให้องค์ประกอบไนโตรเจนของเซลล์ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน และมีการสะสมสารประกอบคาร์บอนเช่น โพลีแซคคาไรด์ ไขมัน รงควัตถุที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์จะมีปริมาณลดลง อัตราการสังเคราะห์แสงต่ำลง ความสามารถในการดูดซึมสารประกอบไนโตรเจนจะมีมากขึ้น

มีการศึกษาความเป็นไปได้ของ ซี-ไฟโคไซยานิน ในการเป็นแหล่งไนโตรเจนภายในเซลล์ของสาหร่ายเกลียวทอง (*S. platensis*) โดยเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่มีไนโตรเจนจากการใส่โซเดียมไนเตรท 2 ระดับความเข้มข้นได้แก่ ความเข้มข้นของไนเตรทเท่ากับ 29.4 และ 3.7 มิลลิโมลาร์ พบว่าอัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง) อัตราผลผลิต (มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตรต่อชั่วโมง) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในสาหร่ายที่เจริญอยู่ในแต่ละระดับความเข้มข้นของไนเตรทมีค่าไม่แตกต่างกัน แต่ปริมาณ ซี-ไฟโคไซยานินในสาหร่ายที่เจริญอยู่ในอาหารที่มีความเข้มข้นของไนเตรทต่ำกว่ามีปริมาณลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน จึงสรุปได้ว่า ซี-ไฟโคไซยานินมีอยู่เป็นปริมาณมากในเซลล์สาหร่าย และมีการลดปริมาณลงเพื่อให้ธาตุไนโตรเจนแก่สาหร่ายซึ่งทำให้สาหร่ายยังคงมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราการเจริญสูงสุด เมื่ออยู่ในอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ นอกจากนี้ยังได้ทดลองเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทองในอาหารที่ไม่มี ไนโตรเจน โดยย้ายสาหร่ายซึ่งกำลังเจริญอยู่ในช่วง log phase ในอาหารที่มีไนโตรเจนตามปกติมายังอาหารที่ไม่มีไนโตรเจน และเริ่มนับเวลาเป็น 0 ชั่วโมง พบว่าในเวลา 48 ชั่วโมง สาหร่ายยังคงมีอัตราการเจริญ (จากค่าน้ำหนักแห้ง) เป็นปกติ และได้มวลสาหร่าย (น้ำหนักแห้ง) เพิ่มขึ้นอีก 1 รุ่นในชั่วโมงที่ 48 หลังจากนั้นอัตราการเจริญจึงมีค่าต่ำกว่าสาหร่ายในชุดควบคุม ส่วนปริมาณโปรตีน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) มีปริมาณคงที่ตลอดเวลา 72 ชั่วโมง (ในขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น) ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ ตั้งแต่เริ่มย้ายสาหร่ายมาอยู่ในอาหารที่ไม่มีไนโตรเจน และพร้อมกันนั้นกิจกรรมของเอมไซม์โปรติเอส (protease) ซึ่งทำหน้าที่ย่อยสลายซี-ไฟโคไซยานินก็มีการเพิ่มขึ้น

ในสภาวะที่ไม่มีธาตุอาหารไนโตรเจน การสังเคราะห์โปรตีนภายในเซลล์จะถูกยับยั้งซี-ไฟโคไซยานินจะเริ่มลดปริมาณลงทันที อัตราการเจริญของสาหร่าย (จากค่าน้ำหนักแห้ง) จะยังคงอยู่ในอัตราปกติจนกว่าซี-ไฟโคไซยานินจะมีปริมาณต่ำกว่าร้อยละ 50 ของซี-ไฟโคไซยานินทั้งหมดอัตราการเจริญจึงลดลง การเพิ่มจำนวนสาหร่าย *Microcystis* จะลดลงเมื่อไนโตรเจนภายในเซลล์มีน้อยกว่าร้อยละ 4 ของน้ำหนักแห้ง และปริมาณซี-ไฟโคไซยานินที่ลดลงไป จะช่วยรักษาปริมาณของโปรตีนที่ไม่ใช่โปรตีนในส่วนของซี-ไฟโคไซยานินให้มีปริมาณคงที่ (ถ้าไม่มีซี-ไฟโคไซยานิน ปริมาณโปรตีนของเซลล์จะลดลงแทนที่จะมีปริมาณคงที่ดังกล่าวเนื่องจากมีการใช้โปรตีนโดยเซลล์เพิ่มขึ้น) การวิเคราะห์ปริมาณสาหร่ายประกอบไนโตรเจนอื่นๆภายในเซลล์ขณะที่สาหร่ายอยู่ในอาหารที่ไม่มีไนโตรเจน โดยวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ เอไมด์ (Amides) และแอมโมเนีย พบว่าสารประกอบเหล่านี้มีปริมาณน้อย (ตั้งแต่สาหร่ายเริ่มถูกย้ายมาอยู่ในอาหารที่ไม่มีไนโตรเจน) และไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณอย่างมีนัยสำคัญ (ภายในเวลา 24 ชั่วโมงในอาหารที่ไม่มีไนโตรเจน) ปริมาณของกรดนิวคลีอิค (ร้อยละ 7-8 ของน้ำหนักแห้ง) ก็ยังคงมีปริมาณคงที่ด้วย จึงสรุปได้ว่าซี-ไฟโคไซยานินเป็นสารประกอบไนโตรเจนเพียงชนิดเดียวที่มีปริมาณลดลงในขณะขาดแคลนธาตุอาหารไนโตรเจน และอัตราการเจริญของสาหร่าย (จากค่าน้ำหนักแห้ง) ยังไม่ได้รับผลกระทบระยะเวลาที่อัตราการเจริญดังกล่าวจะเป็นปกติขึ้นอยู่กับปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน ภายในเซลล์สาหร่ายก่อนให้สาหร่ายอดธาตุอาหารไนโตรเจน

ข้อมูลการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายในระยะแรกของการขาดแคลนธาตุอาหารไนโตรเจน ยังพบในรายงานต่อไปนี้คือ Piorreck และ Pohl (1984) ได้ทำการทดลองในสาหร่ายสีเขียว 2 ชนิดคือ *Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus obliqus* และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 2 ชนิดคือ *Anacystis nidulans* และ *Microcystis aeruginosa* โดยเลี้ยงสาหร่ายเหล่านี้ลงในแต่ละอาหารที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นปริมาณน้อย ผลการทดลองพบว่าเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงนานขึ้นและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณของไนโตรเจนในอาหารลดลงมวลของสาหร่าย (มิลลิกรัมต่อลิตร) มีการเพิ่มขึ้นในขณะที่โปรตีนทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) และคลอโรฟิลล์ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) มีปริมาณลดลง ได้ศึกษาในสาหร่ายเกลียวทอง (*S. platensis*) พบว่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายยังคงมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างปกติเป็นเวลาอย่างน้อย 30-40 ชั่วโมง ภายหลังการย้ายสาหร่ายมาอยู่ในอาหารที่ไม่มีไนโตรเจน

การลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ในเซลล์ของสาหร่ายสีเขียว เนื่องจากการลดลงของธาตุอาหารไนโตรเจนจะแสดงถึงการลดลงอย่างรวดเร็วของส่วนคลอโรพลาสต์ทั้งหมดนั่นคือแสดงถึงการลดลงของโปรตีนของเซลล์เนื่องจากคลอโรพลาสต์เป็นส่วนที่มีโปรตีนสูง มีพบว่าเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ส่วนของคลอโรพลาสต์มีโปรตีนร้อยละ 40 ในขณะที่ส่วนที่เหลือทั้งหมดของเซลล์มีโปรตีนเพียงร้อยละ 27 ความเข้มข้นของไนเตรทที่มีปริมาณน้อยจนทำให้สาหร่ายเกลียวทองมีสีจาง (Chlorosis) และความเข้มข้นของไนเตรทที่มีปริมาณมากจนเป็นพิษต่อสาหร่ายจะไม่มีผลต่อเกลียวของสาหร่าย ระยะห่างระหว่างเกลียว และเส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียวสาหร่าย (สุมาลี, 2535)

การปล่อยสารประกอบไนโตรเจนออกจากเซลล์

สาหร่ายโดยทั่วไปไม่มีการปล่อยสารประกอบไนโตรเจนออกจากเซลล์ สารประกอบไนโตรเจนที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีการปล่อยออกมาส่วนมากจะอยู่ในรูปของโพลีเปปไทด์และส่วนน้อยเป็นพวกกรดอะมิโนอิสระ (สุมาลี, 2535)

2.4.4 ความเป็นกรดด่าง (pH)

สาหร่ายสไปรูลินาเจริญได้ดีในสภาวะที่มีความเป็นกรด-ด่างสูงจัดเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เป็น "Obligate alkaliphile" ระดับความเป็นกรด-ด่างของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงมีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยง โดยมีผลกระทบต่อการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และแร่ธาตุในอาหาร รวมทั้งผลกระทบโดยตรงและทางอ้อมต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ของสาหร่าย

นอกจากนั้นระดับความเป็นกรด-ด่างของอาหารที่ใช้เลี้ยงปริมาณการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และอุณหภูมิ โดยความเป็นกรด-ด่างที่สาหร่ายสไปรูลินาเจริญได้ดีอยู่ที่ 9-11 แต่เมื่อความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นสูงเกิน 0.5 แล้วมีผลกระทบทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดลง และเมื่อความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นถึง 1.5 อัตราการเจริญจะลดลงร้อยละ 20 ของความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม โดยความเป็นกรด-ด่างในโปรโตพลาสซึมจะต่ำกว่าความเป็นกรด-ด่างในอาหาร เช่น ความเป็นกรด-ด่างในโปรโตพลาสซึมเท่ากับ 8 แต่ในอาหารเท่ากับ 10 ซึ่งสิ่งมีชีวิตที่ชอบความเป็นด่างต้องการโซเดียมเพื่อรักษาระดับความเป็นกรด-ด่างให้ต่ำกว่าในอาหาร ดังนั้นการขาดโซเดียมมีผลทำให้เซลล์ถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็ว (ยุวดี และคณะ, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5 ปริมาณฝนและการระเหยน้ำ

ฤดูฝนเป็นฤดูที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูลินา เนื่องจากเมฆจะบดบังแสงแดดอีกทั้งยังมีปริมาณฝนมากทำให้น้ำเลี้ยงสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะกลางแจ้งเจือจางลงได้ ส่วนการระเหยของน้ำซึ่งเป็นผลมาจากอุณหภูมิและแสงแดดนั้นมักเกิดขึ้นรวดเร็วในฤดูร้อน มีผลทำให้สารอาหารมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเนื่องจากปริมาตรน้ำที่ถูกระเหยไปมากนั้นเอง ดังนั้นต้องควบคุมความเข้มสารอาหารในบ่อเพาะเลี้ยง โดยการตรวจความเข้มข้นของพีเอช และสารอาหารอย่างสม่ำเสมอ (ยุวดี และคณะ, 2545)

2.4.6 การกวน

การกวนเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นอย่างมากในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินา เนื่องจากช่วยทำให้สาหร่ายที่ถูกบดบังด้านล่างขึ้นมารับแสง และช่วยเพิ่มปริมาณการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศลงสู่อาหารเลี้ยงได้ดี (ยุวดี,2544) การกวนนอกจากจะช่วยให้สาหร่ายได้รับแสงอย่างทั่วถึงแล้ว ยังช่วยให้เกิดการหมุนเวียนของสารอาหารทำให้สาหร่ายได้สัมผัสกับธาตุอาหารอย่างทั่วถึง และลดการตกตะกอนของสาหร่าย ซึ่งทำให้สาหร่ายสไปรูลินาใช้สารอาหารและกิจกรรมของเซลล์ดำเนินไปอย่างมีประสิทธิภาพ ป้องกันการเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสงได้ด้วย (ยุวดี และคณะ, 2545) และ ยุวดี (2544) ได้กล่าวถึงวิธีการกวนที่อาจจะทำได้โดยใช้อุปกรณ์การกวนคล้ายแปรงที่สามารถกวนได้และได้ผลผลิตที่ดีเช่นกัน หรือพัฒนาระบบการกวนโดยมีมอร์เตอร์ควบคุมการหมุนของใบพัด ซึ่งอัตราเร็วและขนาดของใบพัดได้มีการคิดค้นให้มีความเหมาะสมต่อขนาดและรูปแบบบ่อ ระดับอาหาร รวมทั้งวัสดุและต้นทุนที่มีให้เหมาะสมและได้ผลผลิตสูงสุด

2.4.7 บ่อเพาะเลี้ยงและความสูงของระดับน้ำเลี้ยงที่ใช้เพาะเลี้ยง

ระบบของบ่อเพาะเลี้ยงนั้นต้องขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการเพาะเลี้ยง และความสะดวกในการเก็บเกี่ยว จากอดีตที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ทำให้มีสาหร่ายติดตามซอกปูนได้ จึงคิดค้นทำพื้นบ่อให้เรียบเสมอกันหรือบุพื้นด้วยพลาสติก บางงานวิจัยออกแบบบ่อซึ่งทำด้วยวัสดุ PVC ส่วนระดับความลึกของน้ำเลี้ยงควรรักษาระดับความลึกของน้ำเลี้ยงให้อยู่ระหว่าง 15-30 เซนติเมตร ซึ่งถ้าลึกมากเกินไปอาจเกิดการบดบังกันของสาหร่ายทำให้เกิดการสังเคราะห์แสงได้น้อย (ยุวดี และคณะ, 2545)

2.4.8 ความเข้มข้นเริ่มต้นของสาหร่ายที่นำมาเพาะเลี้ยง (Stater culture)

การทดลองส่วนใหญ่จะใช้สาหร่ายตั้งต้นที่เจริญเติบโตมีค่า OD ที่ 560 นาโนเมตร เท่ากับ 1 แล้วใช้สาหร่ายปริมาณร้อยละ 2-5 ของสารอาหารที่เตรียม (ยุวดี และคณะ, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.9 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นๆ

ต้องควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสมเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากสาหร่ายและจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และต้องป้องกันไม่ให้สิ่งปนเปื้อนอื่นๆเช่น แมลง เศษใบไม้ ฝุ่นผงตกลงในบ่อเพาะเลี้ยงเนื่องจากจะทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆมาปนเปื้อนได้ง่าย (ยุวดี และคณะ, 2545)

2.4.10 น้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหลังจากกรองสาหร่ายออกแล้ว

น้ำดังกล่าวสามารถนำกลับมาเพาะเลี้ยงได้อีกประมาณ 2-3 ครั้ง แต่ต้องเติมสารอาหารเพิ่มเติมลงไปให้เหมาะสม เนื่องจากสารอาหารจะลดลง และผลผลิตที่ได้จะลดลงไม่มากเท่ากับครั้งแรก (ยุวดี และคณะ, 2545)

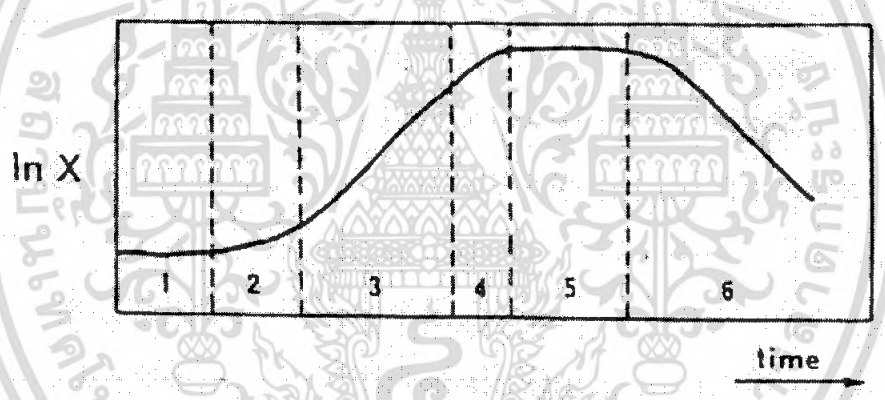
2.5 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

ช่วงการเจริญ (Growth phase) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิด (Closed system) ซึ่งเรียกว่าการเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราว (Batch Culture) เป็นการนำเชื้อสาหร่ายมาใส่ในอาหารใหม่ สาหร่ายจะมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่อัตราการเจริญจะลดลงจนกลายเป็นศูนย์ในที่สุด เนื่องจากสาหร่ายทนไม่ได้ต่อสารที่สาหร่ายปล่อยออกมาเป็นจำนวนมาก หรือเนื่องจากการมีแร่ธาตุอาหาร แสงสว่างไม่เพียงพอ สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์แบบง่ายๆโดยการแบ่งเซลล์จะมีช่วงการเจริญในการเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราว อยู่ 6 ช่วง เหมือนพวกแบคทีเรีย

1. Lag phase เป็นช่วงที่สาหร่ายมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ระยะนี้จะไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์
2. Acceleration phase ระยะนี้มวลสาหร่ายมีการเปลี่ยนแปลงเป็นลำดับดังนี้ RNA เป็นองค์ประกอบแรกที่มีปริมาณเพิ่มขึ้น ต่อมาโปรตีนมีปริมาณเพิ่มขึ้น แล้วน้ำหนักแห้งจึงมีการเพิ่มขึ้น จำนวนเซลล์มีการเพิ่มขึ้นเป็นอันดับสุดท้าย Logarithmic phase (Log phase, Exponential phase, Balanced phase) เป็นช่วงที่สาหร่ายมี การแบ่งเซลล์และเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว มีเมตาโบลิซึมสูง จึงมีอัตราการเจริญสูงสุด และเป็นอัตราการเจริญที่คงที่ Deceleration phase เป็นช่วงที่การเจริญของสาหร่ายเริ่มมีการเพิ่มขึ้นน้อยลง เนื่องจากมวลสาหร่ายมีความหนาแน่นมากขึ้น ทำให้เกิดการบังแสงกันเอง แต่ละเซลล์ได้รับแสงน้อยลง อัตราการสังเคราะห์แสงจึงลดลง ทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Stationary phase เป็นช่วงที่มวลหรือจำนวนสาหร่ายมีปริมาณคงที่ แต่องค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์บางอย่างอาจมีปริมาณเพิ่มขึ้น บางอย่างอาจมีปริมาณลดลง ช่วงการเจริญนี้จะเกิดการขาดแคลนแร่ธาตุที่สำคัญ การขาดแคลนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การยับยั้งการเจริญโดยสารที่สาหร่ายปล่อยออกมา การเปลี่ยนแปลง pH ในอาหาร การได้รับแสงไม่พอเพียงเนื่องจากความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย ในแบคทีเรียในช่วงนี้จะมีการใช้อาหารที่สะสมไว้ภายในเซลล์
4. Death phase มวลสาหร่ายเริ่มลดลงเนื่องจากอัตราส่วนของการหายใจต่อการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นจนมีค่ามากกว่า 1 หรือเนื่องจากมีการตายของเซลล์สาหร่าย



รูปที่ 7 ช่วงการเจริญ 6 ช่วงในพวกสาหร่ายขนาดเล็ก
ที่มา : สุมาลี (2535)

สาหร่ายเกลียวทองมีวงจรชีวิตที่สั้น คือประมาณ 1 วันภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ และประมาณ 3-5 วัน ภายใต้สภาวะธรรมชาติ ซึ่งขึ้นอยู่กับฤดูกาลและสภาวะอุตุนิยมวิทยา (สุมาลี, 2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กราฟแสดงช่วงการเจริญเติบโต

รูปแบบของช่วงการเจริญเติบโตต่างๆของแบคทีเรียสามารถเขียนเป็นกราฟได้โดยการใส่ค่า Logarithm ของจำนวนแบคทีเรียที่นับได้ในแต่ละช่วงการเจริญ โดยใส่ค่าบนแกน Y และใส่ระยะเวลาของแต่ละช่วงการเจริญบนแกน X เหตุที่ใช้ค่า Logarithm ของจำนวนแบคทีเรียมากกว่าใช้ค่าของจำนวนแบคทีเรียโดยตรง เนื่องจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรียมีลักษณะทางเรขาคณิต (Geometric) นั่นคือเป็นเลขยกกำลัง (Exponential) มากกว่าเป็นเลขธรรมดา (Arithmetic) เพราะแบคทีเรียมีการแบ่งตัวจาก 1 เซลล์เป็น 2 เซลล์ จาก 2 เซลล์เป็น 4 เซลล์ และต่อไปเรื่อยๆ ซึ่งรูปแบบการเพิ่มจำนวนเซลล์จะเป็นลักษณะ 2, 4, 8, 16, 32, 64... มากกว่าที่จะเป็นรูปแบบการเพิ่มขึ้นของเลขธรรมดา เช่น 1, 2, 3, 4, 5... ลักษณะเลขยกกำลังของ Logarithmic scale จะทำให้มองเห็นอัตราการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ได้อย่างเหมาะสมที่สุด ในทางเทคนิคค่า Natural logarithms (log ฐาน อี) ควรถูกนำมาใช้เพราะจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียมีการเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าใน 1 หน่วยเวลา แต่อย่างไรก็ดีค่า Common Logarithms (log ฐาน 10) ก็มีความสะดวกกว่าและให้รูปกราฟที่เหมือนกัน เนื่องจากสาหร่ายเกลียวทองมีการแบ่งตัวที่กึ่งกลางตรัยโครม (Trichome) เช่นเดียวกับการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรีย จึงได้ใช้ค่า logarithm ของมวลสาหร่ายในการแสดงเขียนกราฟแสดงช่วงการเจริญเติบโตของสาหร่าย (สุมาลี, 2535)

การวัดการเจริญเติบโต

การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายวัดได้หลายวิธีดังนี้ โดยวัดความขุ่นหรือความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย (Turbidity, Optical Density หรือ OD.) ชั่งน้ำหนักแห้งของสาหร่าย วัดปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคำนวณอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate) (สุมาลี, 2535)

ความหนาแน่นของเซลล์

ค่าความหนาแน่นของเซลล์เป็นข้อมูลที่เชื่อถือได้ และสามารถทำได้อย่างรวดเร็วใช้ในการกำหนดการเจริญเติบโตของสาหร่ายน้ำสาหร่ายจะต้องถูกทำให้กระจายเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenous) ก่อนทำการวัด และทำการวัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 450-650 นาโนเมตร (nm) (สุมาลี, 2535)

น้ำหนักแห้งของสาหร่าย

การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของสาหร่ายเป็นการวัดปริมาณมวลสาหร่ายโดยตรง ขั้นตอนในการทำมีข้อควรระวังดังนี้

1. การสุ่มตัวอย่าง ควรแกว่งสาหร่ายให้กระจายเป็นเนื้อเดียวกันก่อนเก็บตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การล้างเนื้อสาหร่าย เพื่อกำจัดพวกเกลือแร่หรืออนุภาคอื่นๆ ควรระวังไม่ให้สาหร่ายเกิดการช็อคเนื่องจากแรงดันออสโมติกของ media นั้นเปลี่ยนแปลงมากเกินไป
3. การทำแห้ง ตัวอย่างสาหร่ายควรได้รับความร้อนจนมีน้ำหนักแห้งคงที่ การให้ความร้อนน้อยเกินไปตัวอย่างจะไม่แห้งพอ การให้ความร้อนนานเกินไปตัวอย่างอาจมีน้ำหนักแห้งที่ผิดพลาดไป เนื่องจากเกิดกระบวนการออกซิเดชั่น

ปัจจัยที่ทำให้การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของสาหร่ายเกิดความผิดพลาดขึ้น ได้แก่

1. ปริมาณของน้ำตัวอย่างที่เก็บมาวิเคราะห์ ไม่ดีพอ ไม่เป็นตัวแทนที่ดีของตัวอย่าง
2. การสูญเสียเซลล์สาหร่ายระหว่างการแยกน้ำออกจากเนื้อสาหร่าย เนื่องจากเซลล์ที่มีถุงแก๊สจะลอยตัวเมื่อใช้วิธีการปั่นเหวี่ยง (Centrifugation) หรือเนื่องจากการแตกของเซลล์เมื่อทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น
3. การใช้วิธีการที่ไม่เหมาะสม ได้แก่ การให้ความร้อนน้อยเกินไปหรือมากเกินไป การทิ้งไว้ให้เย็นอย่างไม่พอเพียงก่อนการชั่งน้ำหนัก

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทองที่กลางแจ้ง ความเข้มข้นของมวลสาหร่ายเมื่อเริ่มต้นการเลี้ยงมีปริมาณ 250 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่อลิตร และความเข้มข้นสุดท้ายเมื่อจะเก็บเกี่ยวเนื้อสาหร่ายมีปริมาณ 900 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่อลิตร โดยใช้เวลาในการเลี้ยง 8-10 วัน (สุมาลี,2535)

อัตราการเจริญจำเพาะ

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบ ครั้งคราว (Batch Culture) ค่าที่ใช้ในการวัดอัตราการเพิ่มขึ้นของมวลสาหร่ายคือ อัตราการเจริญจำเพาะ (ดังนั้นค่าอัตราการเจริญจำเพาะจึงเป็นการแสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย) ในช่วงที่สาหร่ายมีการเจริญอย่างรวดเร็ว (Exponential phase) ค่าอัตราการเจริญจำเพาะจะมีค่าคงที่ ค่าอัตราการเจริญจำเพาะคำนวณจากสูตรต่อไปนี้ (Vonshak และ Tomaselli, 2000)

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย μ = อัตราการเจริญจำเพาะ

ln = natural logarithms หรือ log ฐาน อี

X_1, X_2 = ความเข้มข้นของมวลสาหร่าย อาจใช้ค่าน้ำหนักแห้ง คลอโรฟิลล์ หรือความหนาแน่นของเซลล์ (OD.) เป็นต้น

t_1, t_2 = เวลาที่วัดค่า X_1 , X_2 ตามลำดับ

ค่าอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายเกลียวทองมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (Maximum specific growth rate ; μ_{max}) มีค่าเท่ากับ 2 ต่อวัน ในขณะที่มีความเข้มแสง 4 กิโลลักซ์ (คิดว่าเป็นการเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ) สาหร่ายเกลียวทองมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (High specific growth rate) โดยมีค่าเท่ากับ 0.3 ต่อวัน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ ส่วนในสภาวะธรรมชาติในฤดูร้อนมีค่าเท่ากับ 0.2 ต่อวัน และในฤดูหนาวมีค่าเท่ากับ 0.1 ต่อวัน (สุมาลี, 2535)

ผลของฤดูกาลต่อการเจริญเติบโต

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทองที่กลางแจ้ง ฤดูร้อนเป็นช่วงที่มีความเหมาะสมที่สุด สาหร่ายจะมีอัตราการเจริญเติบโตสูง เนื่องจากมีความเข้มแสงและอุณหภูมิของอากาศสูง ในช่วงฤดูฝนน้ำฝนจะทำให้ความเข้มข้นของธาตุอาหารในบ่อเลี้ยงสาหร่ายลดลง และค่าพีเอช ของน้ำเลี้ยงมีการเปลี่ยนแปลงไป ทำให้อัตราการเจริญของสาหร่ายลดลงได้ และท้องฟ้าที่มืดครึ้มยังทำให้สาหร่ายมีอัตราการสังเคราะห์แสงต่ำลง สภาวะการเลี้ยงที่เปลี่ยนแปลงไปนี้อาจทำให้สิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่เจือปนอยู่ในบ่อสาหร่ายมีปริมาณมากขึ้นได้ ซึ่งอาจทำให้สาหร่ายที่ผลิตได้ไม่ปลอดภัยต่อการบริโภคชนิดส่วนใหญ่ของสิ่งเจือปนนอกจากพวกแบคทีเรียแล้วยังได้แก่ สาหร่ายชนิดอื่นเช่น *Chlorella* แพลงตอนสัตว์ ราและแมลง ในฤดูหนาวซึ่งความเข้มแสงและอุณหภูมิของอากาศลดลง มีผลให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ ซึ่งในสภาวะเช่นนี้ในประเทศอิสราเอลพบว่า สาหร่าย *Chlorella* จะเกิดปนเปื้อนหรือมีปริมาณมากขึ้นในบ่อเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (สุมาลี, 2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 คุณประโยชน์ของสาหร่ายสไปรูลินา

สาหร่ายสไปรูลินานั้นมีการกล่าวถึงกันอย่างกว้างขวางในรอบ 20 ปีที่ผ่านมา ในแง่เป็นอาหารคุณค่าสูงที่จะมาชดเชยแหล่งโปรตีนของประชากรโลก นอกจากนั้นยังมีองค์ประกอบที่มีประโยชน์ เช่น รงควัตถุ กรดไขมัน และสารที่มีสรรพคุณทางยาสามารถรักษาโรคต่างๆ และในขณะเดียวกัน ถ้าสาหร่ายชนิดนี้ซึ่งมีคุณสมบัติด้อยลงกว่าที่ควรจะเป็นอาหารมนุษย์ก็ยังสามารถนำมาเลี้ยงสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งการเจริญเติบโตรวดเร็วและได้ผลผลิตตามที่ตลาดต้องการ

คุณประโยชน์ทางด้านโภชนาการ

คุณค่าทางด้านโภชนาการจะเป็นส่วนสำคัญที่จะทำให้แน่ใจได้ว่าสาหร่ายชนิดนี้มีประโยชน์จริงหรือไม่ จะขอนำผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีด้านคุณค่าทางโภชนการของสาหร่ายชนิดนี้จากห้องปฏิบัติการของสหประชาชาติมาเปรียบเทียบกับสาหร่ายสไปรูลินา ที่เลี้ยงในประเทศไทยด้วยสูตรอาหาร Zarrouk ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐานในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้ จาก 3 บริษัทคือ จีดี-1 สาหร่ายเกลียวทองของบริษัทกรีนไดมอนด์จำกัด ลินากรีนของบริษัทสยามแอลจีจำกัด สไปลินของห้างหุ้นส่วนจำกัดสาหร่ายเกลียวทอง และที่เลี้ยงเพื่อเป็นอาหารสัตว์อีก 2 สูตรคือ เลี้ยงเลี้ยงด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังของบริษัทนีโอเทค ฟูด จำกัด และเลี้ยงด้วยน้ำกากส่าเหล้าของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ยุวดี, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบส่วนประกอบทางเคมีของสาหร่าย *S. platensis* ที่เลี้ยงจากสถาบันต่างๆ โดยใช้สูตรอาหารแตกต่างกัน

ที่มา : ยุวดี (2544)

สถาบันหรือบริษัทและสูตรอาหารเลี้ยงและองค์ประกอบ	ห้องปฏิบัติการสหประชาชาติ(ไม่ปรากฏสูตรอาหาร)	จีดี-1 บ. กรีนไดมอนด์ จำกัด (Zarrouk)	ลินากรีน บ. สยามแอลจีจำกัด (Zarrouk)	สไปลิน ห้างหุ้นส่วนจำกัด สาหร่ายเกลียวทอง (Zarrouk)	ภาค ชีววิทยา ม. เชียงใหม่ (น้ำกากส่าเหล้า 5%)	นีโอเทค ฟูด จำกัด (น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง)
ส่วนประกอบหลัก (กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)						
โปรตีน	71.0	63.35	56.7	65	68.63	52.5
คาร์โบไฮเดรต	-	22.97	-	-	12.99	-
ไขมัน	-	0.12	6.9	-	6.57	-
เถ้า	9.0	6.44	-	-	6.05	8.93
ความชื้น	7.0	4.95	-	-	5.76	8.15
เส้นใยอาหาร	0.9	1.92	2.4	-	7.38	-
พลังงาน (กิโลแคลอรี่ต่อกรัม)	-	3.66	-	-	5.31	-
แร่ธาตุ (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)						
แคลเซียม	131.5	75.09	10-400	250	1230.12	-
ฟอสฟอรัส	894.2	436.70	-	500	700.06	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สถาบันหรือบริษัทและสูตรอาหารเลี้ยงและองค์ประกอบ	ห้องปฏิบัติการสหประชาชาติ(ไม่ปรากฏสูตรอาหาร)	จีดี-1 บ. กรีนไดมอนด์ จำกัด (Zarrouk)	ลินากรีน บ. สยามแอลจีจำกัด (Zarrouk)	สไปลินห้างหุ้นส่วนจำกัดสาหร่ายเกลียวทอง (Zarrouk)	ภาควชีววิทยา ม. เชียงใหม่ (น้ำกากส่าเหล้า 5%)	นีโอเทคฟูด จำกัด (น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง)
แร่ธาตุ (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)						
โปรแตสเซียม	1540.0	1536.83	1000-1400	1200	510.04	-
แมกนีเซียม	191.5	216.97	200-300	150	390.04	-
โซเดียม	41.2	805.92	-	475	370.02	-
แมงกานีส	2.5	1.94	-	-	2.74	-
เหล็ก	58	36.85	50.100	40	24.95	-
สังกะสี	3.9	1.37	-	-	3.87	-
โครเมียม	-	-	-	-	0.12	-
โคบอลต์	-	-	-	-	-	-
ทองแดง	-	-	-	-	3.59	-
วิตามิน(มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)						
โปรวิตามินเอ (เบต้า-แคโรทีน)	190	51.38	100-200	155	40.27	-
วิตามินบี 1	5.5	0.34	1.5-4	3.5	0.20	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1(ต่อ)

สถาบันหรือบริษัทและสูตรอาหารเลี้ยงและองค์ประกอบ	ห้องปฏิบัติการสหประชาชาติ(ไม่ปรากฏสูตรอาหาร)	จีดี-1 บ. กรีนไดมอนด์ จำกัด (Zarrouk)	ลินากรีน บ. สยามแอลจีจำกัด (Zarrouk)	สไปลินห้างหุ้นส่วนจำกัดสาหร่ายเกลียวทอง (Zarrouk)	ภาควิชาชีววิทยา ม. เชียงใหม่ (น้ำกากส่าเหล้า 5%)	นีโอเทคฟูด จำกัด (น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง)
วิตามิน(มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)						
วิตามินบี 2	4.0	2.97	3-5	-	2.17	-
วิตามินบี 6	0.3	0.57	0.5-0.7	-	0.68	-
ไนอาซีน	-	-	10.5	0.6	0.69	-
วิตามินซี	-	21.03	-	-	-	-
กรดอะมิโนจำเป็น(กรัม/3.95100 กรัมน้ำหนักแห้ง)						
ไอโซลิวซีน	4.13	2.72	-	3.60	2.81	-
ลิวซีน	5.50	4.82	-	6.20	4.81	-
ไลซีน	4.00	2.59	-	2.95	2.07	-
เมทธิโอนิน	2.17	1.06	-	1.65	1.16	-
ฟีนิวอะลานีน	3.95	2.91	-	2.95	3.20	-
ทรีโอนีน	4.17	2.78	-	3.30	3.20	-
ทริปโตแฟน	1.13	0.74	-	1.30	0.81	-
วาลีน	6.00	2.99	-	4.30	2.81	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1(ต่อ)

สถาบันหรือบริษัทและสูตรอาหารเลี้ยงและองค์ประกอบ	ห้องปฏิบัติการสหประชาชาติ(ไม่ปรากฏสูตรอาหาร)	จีดี-1 บ. กรีนไดมอนด์ จำกัด (Zarrouk)	ลินากรีน บ. สยามแอลจีจำกัด (Zarrouk)	สไปลินห้างหุ้นส่วนจำกัดสาหร่ายเกลียวทอง (Zarrouk)	ภาควิชาชีววิทยา ม. เชียงใหม่ (น้ำกากส่าเหล้า 5%)	นีโอเทคฟูด จำกัด (น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง)
กรดอะมิโนจำเป็น(กรัม/3.95100 กรัมน้ำหนักแห้ง)						
อะลานีน	5.82	4.20	-	4.40	3.63	-
อาร์จินีน	5.98	3.79	-	3.95	4.17	-
กรดแอสปาติค	6.32	5.15	-	5.60	5.77	-
ซิสตีน	0.67	0.54	-	0.60	0.08	-
กรดกลูตามิค	8.94	7.79	-	8.40	8.74	-
ไกลซีน	3.46	2.66	-	3.00	2.36	-
ฮิสตริดีน	1.08	0.82	-	0.95	0.81	-
ไพลีน	2.97	2.16	-	2.35	1.82	-
ซีรีน	4.00	2.90	-	2.95	3.01	-
ไทโรซีน	4.60	2.35	-	2.95	2.16	-

นอกจากนี้ยังมีผลการวิจัยปริมาณโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลินาที่เลี้ยงด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและน้ำมันพืชบางชนิด ซึ่งเป็นงานวิจัยของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ปริมาณโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลินาที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมบางประเภทและน้ำหมักพืชบางชนิด

ที่มา : ยุวดี (2544)

น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมบางประเภท และน้ำหมักพืชผักบางชนิดที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินา	ปริมาณโปรตีน (กรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง)
น้ำกากส่าเหล้า	68.63
น้ำเวย์เต้าหู้	55.41
น้ำเวย์นม	54..54
น้ำหมักผักตบชวา	54.75
น้ำหมักผักตบชวาที่ผสมน้ำกากส่าเหล้า	56.65
น้ำทิ้งจากโรงงานทำกระดาษสา	54.00

ผลจากการทดลองที่แสดงมาจะเห็นว่า สาหร่ายชนิดนี้ล้วนมีโปรตีนสูงทั้งสิ้น ไม่ว่าจะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน Zarrouk หรือเลี้ยงด้วยของเสียหรือน้ำทิ้งต่างๆ อาจจะมีความแตกต่างกันไปบ้างตามคุณสมบัติของของเสียหรือน้ำทิ้งที่นำมาเลี้ยงนั้น นอกจากนั้นยังมี โปรวิตามินเอหรือเบต้า-แคโรทีนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวิตามินชนิดอื่นๆ ในด้านเกลือแร่จะมีแคลเซียม ฟอสฟอรัส และโปรตัสเซียมค่อนข้างสูงกว่าแร่ธาตุตัวอื่นๆ กรดอะมิโนในสาหร่ายชนิดนี้มีครบทุกชนิดและค่อนข้างสูง มีการนำกรดอะมิโนจากสาหร่ายสไปรูลินาไปเปรียบเทียบกับอาหารอื่นๆ เช่น ถั่วเหลือง เนื้อวัว ไข่ ปลาทู ปลาอินทรีย์ และปริมาณมาตรฐานของ FAO รวมทั้งสาหร่ายคลอเรลลา ซึ่งรู้กันโดยทั่วไปว่ามีโปรตีนสูงเช่นเดียวกับสาหร่ายสไปรูลินา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในสาหร่ายสไปรูลินากับสาหร่ายคลอเรลลา ถั่วเหลือง เนื้อวัว ปลาทู ปลาอินทรีย์ และปริมาณมาตรฐาน FAO
ที่มา : ยุวดี (2544)

กรดอะมิโน	สาหร่ายสไปรูลินา	สาหร่ายคลอเรลลา	ถั่วเหลือง	เนื้อวัว	ไข่	ปลาทู ปลาอินทรีย์	ปริมาณมาตรฐาน FAO
ไอโซลิวซีน	3.3-3.9	3.9	1.8	0.93	0.67	0.83	4.2
ลิวซีน	5.9-6.5	6.01	2.70	1.7	1.08	1.28	4.8
ไลซีน	2.6-3.3	3.6	2.58	1.76	0.89	1.95	4.2
เมทธีโอนีน	1.3-2.0	0.61	0.48	0.43	0.40	0.58	2.2
ซีสตีน	0.5-0.7	0.48	0.48	0.23	0.35	0.38	4.2
ฟีนิลอะลานิน	2.6-3.3	3.00	1.98	0.86	0.65	0.61	2.8
ไทโรซีน	2.6-3.3	2.53	1.38	0.68	0.49	0.61	-
ทรีโอนีน	3.0-3.6	2.30	1.62	0.86	0.59	0.99	2.8
ทริปโตแฟน	1.0-1.6	0.59	0.55	0.25	0.20	0.30	1.4
วาลีน	4.0-4.6	3.30	1.86	1.05	0.83	1.02	4.2

จะเห็นว่าโดยเฉลี่ยแล้วกรดอะมิโนในสาหร่ายสไปรูลินามีมากกว่าอาหารชนิดอื่นๆ และบางชนิดมีมากกว่าปริมาณมาตรฐานของ FAO และถ้าจะเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนกับอาหารทั่วไปที่ขึ้นชื่อว่ามีโปรตีนสูง เช่น เนื้อวัว ไข่ ข้าวสาลี ข้าวเจ้า ถั่วเหลือง ปลาทู ปลาอินทรีย์ และสาหร่ายคลอเรลลาแล้วจะเห็นได้ชัดเจนว่าปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสไปรูลินาจะสูงกว่าสาหร่ายคลอเรลลา ซึ่งเคยมีชื่อเสียงในด้านมีปริมาณโปรตีนสูงมาก่อน และสูงกว่าอาหารทุกชนิดที่อยู่ในกลุ่มให้โปรตีน ไม่ว่าจะเป็นเนื้อสัตว์ชนิดต่าง ๆ ไข่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งถั่วเหลือง ซึ่งถือว่าเป็นอาหารโปรตีนหลักที่รู้จักกันดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสไปรูลินากับอาหารชนิดอื่นๆ

ที่มา : ยุวดี (2544)

ชนิดของอาหาร	ปริมาณโปรตีน (กรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง)
สาหร่ายสไปรูลินา	69.5-71.0
สาหร่ายคลอเรลลา	40.0-56.0
เนื้อวัว	18.0-20.0
ไข่	10.0-25.0
ข้าวสาลี	6.0-10.0
ข้าวจ้าว	7.0
ถั่วเหลือง	33.0-35.0
ปลาทู ปลาอินทรีย์	20.0

ดังนั้นในแง่คุณค่าทางโภชนาการนั้นสาหร่ายชนิดนี้มีอยู่อย่างพร้อมสามารถบริโภคได้แม้เพียงชนิดเดียวก็สามารถให้คุณค่าสารอาหารครบถ้วนเพียงพอแก่ผู้บริโภคได้

ในแง่ของรงควัตถุหรือสารที่ให้สีสาหร่ายสไปรูลินามีมากและเป็นจุดเด่นอีกอย่างหนึ่งของสาหร่ายชนิดนี้

ตารางที่ 5 ปริมาณรงควัตถุต่างๆ ในสาหร่ายสไปรูลินาเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายคลอเรลลา

ที่มา : ยุวดี (2544)

รงควัตถุ (มก./100 กรัมน้ำหนักแห้ง)	สาหร่ายสไปรูลินา	สาหร่ายคลอเรลลา
คลอโรฟิลล์	1600	1400
แคโรทีนอยด์	400	200
แคโรทีน	170	-
แซนโทฟิลล์	100	-
คริพโตแซนทิน	55.6	-
อีคินีโนน	43.9	-
ซีแซนทิน	31.6	-
ไฟโคไซยานิน	18000	ไม่มี

เครื่องหมาย – หมายถึงไม่ได้ทำการวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางนี้จะเห็นว่าเมื่อพิจารณารงควัตถุในกลุ่มแคโรทีนอยด์ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแคโนทีนและแซนโทฟิลล์แล้ว สาหร่ายชนิดนี้จะมีสูงกว่าสาหร่ายคลอเรลลา เมื่อพิจารณาร่วมกับตารางที่ 1 จะพบว่าในสาหร่ายชนิดนี้มีโปรวิตามินเอหรือเบต้า-แคโรทีนสูงมาก โดยเฉพาะถ้าเลี้ยงในสูตรอาหาร Zarrouk และมีปัจจัยที่เหมาะสม ดังเช่นจะเห็นได้จากสาหร่ายสไปรูลินาจากบริษัทลิกากรีนและสไปลินจะมีปริมาณเบต้า-แคโรทีนสูงกว่ายี่ห้ออื่นที่นำมาเปรียบเทียบซึ่งโปรวิตามินเอหรือเบต้า-แคโรทีนนี้จะมีประโยชน์เมื่อเปลี่ยนเป็นวิตามินเอแล้ว กลุ่มรงควัตถุแคโรทีนอยด์นี้มีความสำคัญในแง่ของการเป็นสารให้สีตามธรรมชาติโดยให้สีส้มแดง สีแสดหรือสีชมพู ขึ้นอยู่กับว่าจะไปปรากฏในเนื้อเยื่อส่วนใดของสัตว์ที่เราให้กินสารชนิดนี้ เช่น ถ้าให้สาหร่ายนี้แก่ปลาสวยงาม ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นปลาทอง ปลาคาร์พ หรือปลาแฟนซีคาร์พ ก็จะทำให้ปลามีสีสวยสด สำหรับสัตว์ปีก เช่น เป็ด ไก่ หรือนก จะมีผลทำให้เนื้อของสัตว์เหล่านี้เป็นสีชมพู และไข่แดงมีสีแดงขึ้น ถ้าให้กับสุกรก็จะทำให้เนื้อของสุกรมีสีชมพูหรือแดงมากกว่าปกติ

จากตารางที่ 5 เมื่อพิจาณารงควัตถุอีกชนิดหนึ่งคือไฟโคไซยานิน ซึ่งเป็นรงควัตถุทีทำให้เกิดสีน้ำเงินม่วงหรือน้ำเงินเข้ม จึงสามารถนำมาผสมในแคปซูลยาที่ต้องการให้เกิดสีน้ำเงินหรือฟ้าหรือผสมในเครื่องสำอางเช่น ครีมหรือฝุ่นทาตา (Eye-Shadow Cream or Powder) ทำให้มีสีน้ำเงินเทา หรือ ดำ ซึ่งรงควัตถุเหล่านี้เป็นสีจากธรรมชาติให้ความปลอดภัยต่อผู้บริโภคหรือผู้ใช้มากกว่าสีสังเคราะห์ ทำให้รงควัตถุดังกล่าวมีราคาสูงและผลิตภัณฑ์ที่ทำจากรงควัตถุธรรมชาตินี้มีราคาแพง วัตถุดังกล่าวก็มีบริษัทซึ่งเคยเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาเพื่อเป็นอาหารเสริมของคนและยังทำการผลิตไฟโคไซยานินออกจำหน่ายด้วย เพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร นอกจากนั้นไฟโคไซยานิที่มีความบริสุทธิ์สูงใช้เป็นสารเรืองแสงเพื่อติดตามในงานวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันทางด้านเนื้อเยื่อและจุลทรรศน์วิทยา

ในระยะหลังๆคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายสไปรูลินาถูกพบมากขึ้น และงานวิจัยที่ลึกซึ้งเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงซึ่งต้องควบคุมปัจจัยบางอย่างเพื่อทำให้ได้ผลผลิตที่ต้องการก็ได้ถูกพัฒนามากขึ้นผลผลิตที่ต้องการอาจไม่ใช่โปรตีนเพียงอย่างในอดีต แต่อาจเป็นผลิตภัณฑ์อื่นซึ่งมีคุณค่าและราคมสูงกว่าโปรตีน เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัว ชนิด กรดไขมัน GLA หรือกรดแกมม่า-ลิโนลีนิค แล้วกรดไขมันชนิดนี้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน PGE1 ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวกับการควบคุมกลไกของแรงดันเลือด การสังเคราะห์คอเลสเทอรอล และการอักเสบบวมของเซลล์ การใช้กรดไขมันแกรมม่า-ลิโนลินิค ในทางยาช่วยบำบัดโรคต่างๆ เช่น โรคข้ออักเสบ โรคอ้วน โรคที่เกิดจากการขาดธาตุสังกะสี โรคพิษสุราเรื้อรัง โรคดื่นกลัวซึมเศร้า (Manic-depression) โรคจิตประสาทลืมตัว (Schizophrenia) ความเครียดก่อนการมีประจำเดือนในสตรี โรคหัวใจ และลดระดับ LDL (Low-Density Lipoprotein) ในผู้ที่มีคลอเลสเทอรอลสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดไขมันแกรมม่า-ลิโนลินิคนี้อาจพบอยู่บ้างในสัตว์พวกโปรโตซัวบางชนิด ราบางชนิด มอส ถั่วเหลือง เมล็ดทานตะวัน และดอกอีฟนิ่งพริมโรส และสาหร่ายสไปรูลินานี้เองที่สามารถผลิตกรดไขมันแกรมม่า-ลิโนลินิคได้สูงสุดคือ ผลิตได้ร้อยละ 8-32 ของกรดไขมันทั้งหมด หรือคิดเป็นร้อยละ 0.3-1.4 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง แต่การเพาะเลี้ยงควรอยู่ในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส เลี้ยงในที่มีความเข้มแสงสูง ช่วงของการเลี้ยงในระยะที่มีการเจริญสูงสุด (Exponential phase) จะมีกรดไขมันแกรมม่าลิโนลินิค สูงกว่าระยะคงที่ (Stationary phase) เป็นต้น

มหวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี มีบทบาทสูงในการพัฒนาการผลิตกรดไขมันแกรมม่าลิโนลินิคจากสาหร่ายสไปรูลินา งานทดลองนี้ได้กระทำมาหลายปี ตั้งแต่การเพิ่มหรือลดปัจจัยบางอย่างของการเพาะเลี้ยงจนกระทั่งถึงการนำเทคนิคพันธุวิศวกรรมมาใช้ ซึ่งถือได้ว่าเทคโนโลยีชั้นสูงเหล่านี้คงจะพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายสไปรูลินาให้ได้ผลที่ดีและยั่งยืนต่อไป (ยุวดี, 2544)

คุณประโยชน์ทางด้านการใช้เป็นตัวยา

ตามความเป็นจริงแล้ว เรารู้จักสาหร่ายสไปรูลินาในแง่ของการเป็นอาหารหรืออาหารเสริมมานานและแม้ปัจจุบันสาหร่ายชนิดนี้ก็ยังมีผลต่อความนิยมของผู้บริโภคทั่วไปในลักษณะอาหารเสริม แต่ก็มีผู้พยายามศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายชนิดนี้ในแง่การเป็นตัวยารักษาโรค ซึ่งก็มีมานานแล้วเช่นกัน จนถึงปัจจุบันนี้ก็มีการวิจัยทางด้านการใช้เป็นตัวยาหรือสารเพิ่มภูมิต้านทานให้ร่างกายต่อเนื่องมา ดังเช่น

ในหนังสือความลับของสาหร่ายเกลียวทอง : ผลทางการรักษาโรคที่นายแพทย์ชาว ญี่ปุ่นค้นพบ ซึ่งแปลจาก the Secrets of *Spirulina* : Medical Discover of Japanese Doctors โดยมี Dr. Christopher Hills เป็นบรรณาธิการ ได้เขียนไว้ตั้งแต่ปี 1980 ได้กล่าวถึงสรรพคุณทางการเป็นตัวยารักษาโรคต่างๆ ไว้มากเช่น สามารถรักษาโรคเบาหวาน อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ โรคตับอักเสบ โรคตับแข็ง โรคตับเรื้อรัง ต้อกระจก ต้อหิน โรคแผลในกระเพาะอาหาร โรคผมร่วง และลดความเครียด ซึ่งสามารถทำให้โรคเหล่านั้นหายขาดในบางราย และบางรายก็ช่วยให้อาการทุเลาลง

นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าช่วยลดระดับคอเลสเทอรอลในเลือด รวมทั้งสามารถใช้เป็นอาหารเสริมลดความอ้วนได้ มีรายงานบางเล่มจะบอกถึงชนิดของสารเคมีบางตัวในสาหร่ายสไปรูลินาที่ช่วยรักษาโรคต่างๆเช่น สารซัลโฟลิปิด ซึ่งเป็นกลุ่มไขมันที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ มีประสิทธิภาพในการต่อต้านไวรัส HIV นอกจากนั้นเบต้า-แคโรทีน ซึ่งมีมากในผักและผลไม้ที่มีสีส้มเหลืองหรือแดง รวมทั้งสาหร่ายสไปรูลินานี้ว่าถ้ารับประทานในระดับปกติหรือระดับสูงมีผลช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งในมนุษย์ หรือเป็นสารป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น ซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ (Free-radicals) อันเป็นเหตุทำให้เกิดโรคมะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รงควัตถุที่ชื่อไฟโคไซยานินนอกจากจะให้สีน้ำเงินหรือฟ้าในการผสมอาหาร ยา หรือเครื่องสำอางแล้วยังพบว่าการบริโภคอาหารที่มีไฟโคไซยานินเป็นองค์ประกอบเพียงเล็กน้อยทุกวันจะช่วยป้องกันและยังยั้งอาการของโรคมะเร็ง และจากการวิจัยพบว่าผู้ที่บริโภครงควัตถุชนิดนี้มีอัตราการรอดจากมะเร็งสูงกว่ากลุ่มที่ไม่บริโภค

คาร์โบไฮเดรทประเภทโพลีแซคคาไรด์ในสาหร่ายสไปรูลินา สามารถปรับปรุงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในหนูได้ในปี 1993 นักวิจัยชาวญี่ปุ่นพบว่าสารสกัดจากน้ำสาหร่ายสไปรูลินาที่มีโพลีแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบโดยทำให้บริสุทธิ์ด้วยเครื่องมือ HPLC จะได้ซัลเฟตโพลีแซคคาไรด์ (ยุวดี, 2544)

2.7 กากถั่วเหลือง

กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตอาหารสัตว์ เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญรองจากปลาป่น กากถั่วเหลืองเป็นของเหลือจากกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง และน้ำมันถั่วเหลือง ทั้งแบบอัดน้ำมันออกมาหรือแบบสกัดน้ำมันด้วยสารเคมี สำหรับกากถั่วเหลืองจากกระบวนการผลิตน้ำมันจะประกอบด้วยโปรตีนค่อนข้างสูงประมาณร้อยละ 42 ถึง 48 มีไขมันเพียงร้อยละ 1 ถึง 4 หากเป็นกากถั่วเหลืองที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองจะมีโปรตีนต่ำกว่า ดังนั้นการผ่านกระบวนการผลิตที่ต่างกันก็อาจส่งผลต่อคุณค่าทาอาหารที่มีอยู่ในกากถั่วเหลืองต่างกันด้วย (กมลกาญจน์, 2548)

กากถั่วเหลืองมี 2 ชนิด คือ

1. กากถั่วเหลืองที่มีเปลือกผสมอยู่ด้วย หรือที่เรียกกันในทางการค้าว่ากากถั่วเหลือง 44% จากการวิเคราะห์คุณภาพของกากถั่วเหลืองชนิดนี้ โดยกองอาหารสัตว์พบว่ามีโปรตีนประมาณ 47.6 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย (Crude fiber) ประมาณร้อยละ 6.6
2. กากถั่วเหลืองที่ไม่มีเปลือกผสมอยู่ มีแต่เนื้อในล้วนๆ หรือที่เรียกกันในทางการค้าว่ากากถั่วเหลืองร้อยละ 49 จากการวิเคราะห์พบว่ามีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 51.5 ส่วนเยื่อใยต่ำกว่าชนิดที่เปลือกผสมคือ มีประมาณร้อยละ 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงคุณค่าทางอาหารของถั่วเหลืองและกากถั่วเหลือง

ชนิดวัตถุดิบ	ร้อยละวัตถุแห้ง							
	ความชื้น (%)	โปรตีน	ไขมัน	กาก	เถ้า	คาร์โบไฮเดรท	แคลเซียม	ฟอสฟอรัส
เมล็ดถั่วเหลืองดิบ	10	31	17.7	4.9	9.9	33.5	0.23	0.55
กากถั่วเหลืองมีเปลือก	9.8	47.6	3.2	6.6	7.6	35.0	0.38	0.66
กากถั่วเหลืองไม่มีเปลือก	9.87	51.5	1.2	4.9	7.3	35.1	0.36	0.70
ถั่วเหลืองเอ็กซ์ทรูด	5.8	39.1	20.1	4.3	5.4	31.3	0.34	0.58

ที่มา : www.dld.go.th

ปัจจุบันมีกากถั่วเหลืองที่ได้จากขบวนการแยกน้ำมันออกที่นิยมใช้มี 3 วิธี คือ

1. วิธี Hydraulic process กากถั่วเหลืองที่ได้จะมีลักษณะเป็นแผ่นแข็ง มีน้ำมันเหลืออยู่ประมาณร้อยละ 7 – 8

2. วิธี Expeller process กากถั่วเหลืองที่ได้จะมีน้ำมันเหลืออยู่ประมาณร้อยละ 3 - 4 มีโปรตีนประมาณร้อยละ 44 – 45

3. วิธี Solvent extraction สกัดน้ำมันด้วยเคมี กากถั่วเหลืองที่ได้มีโปรตีนร้อยละ 44.3 และมีไขมันต่ำเพียงร้อยละ 0.5 - 1.0 จึงสามารถเก็บได้นานกว่าแบบอัดน้ำมัน (www.feedusers.com)

ลักษณะของกากถั่วเหลืองที่ไม่ควรนำมาใช้

1. มีความชื้นสูง กากถั่วเหลืองที่มีความชื้นสูงจะมีลักษณะจับกันเป็นก้อน มีขนาดไม่แน่นอน และเกิดเชื้อราได้ง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ดิบหรือไหม้ ซึ่งเป็นผลจากการให้ความร้อนในขบวนการเผาไหม้ กากถั่วเหลืองดิบ หรือสุกไม่ดีพอ จะมีสีซีด กลิ่นเหม็นเขียว จับตัวกันเป็นก้อน สาเหตุมาจาก

- ความร้อนที่ให้แก่เมล็ดถั่วเหลือง เพื่อการระเหยน้ำ และความร้อนที่เกิดจากแรงอัด เพื่อสกัดน้ำมันในขบวนการสกัดน้ำมันโดยใช้แรงอัด ต่ำกว่าอุณหภูมิที่กำหนด

- ความร้อนที่ใช้เพื่อระเหยตัวทำละลายออกจากกากถั่วเหลืองในขบวนการสกัดน้ำมัน โดยใช้ตัวทำละลายต่ำกว่าอุณหภูมิที่กำหนด

กากถั่วเหลืองประเภทนี้จะมีสาร Trypsin Inhibitor ค่อนข้างสูง และยังมีเอ็นไซม์ยูรีเอสเหลืออยู่ค่อนข้างสูง กากถั่วเหลืองที่เหมาะสำหรับใช้เลี้ยงสัตว์ ควรจะมีค่า Urease Index (pH) อยู่ในช่วง 0.02–0.2 ซึ่งจากการตรวจสอบตัวอย่างกากถั่วเหลือง โดยกองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์พบว่า ตัวอย่างกากถั่วเหลืองจำนวนร้อยละ 98 มีค่าพีเอช อยู่ในช่วง 0–0.25 ส่วนตัวอย่างกากถั่วเหลืองที่ค่อนข้างดิบมีค่าพีเอชสูงกว่า 0.25 มีเพียงร้อยละ 2 เท่านั้น กากถั่วเหลืองไหม้ จะสังเกตได้ว่ามีกลิ่นเหม็นไหม้ และมีรสขม เพราะความร้อนที่ใช้ในขบวนการผลิตสูงกว่าอุณหภูมิที่กำหนด กากถั่วเหลืองประเภทนี้จะมีคุณค่าทางอาหารลดต่ำลง เพราะการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหาร โดยเฉพาะกรดอะมิโนจำเป็น เช่น ไลซีน เมทไธโอนีน จะใช้ได้น้อยลง

3. กากถั่วเหลืองเก่า จะมีกลิ่นเหม็นหืน หรือเหม็นสาบ หรือมีแมลงขึ้น หรืออาจเกิดเชื้อรา ดังนั้น เกษตรกรที่ซื้อกากถั่วเหลืองมาเพื่อผสมอาหารสัตว์จะต้องระวัง ไม่เลือกซื้อกากถั่วเหลืองที่มีลักษณะดังกล่าว เพราะสัตว์ไม่ชอบกิน จะกินน้อยลงทำให้สัตว์ได้รับอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการ คุณค่าทางอาหารต่ำ โดยโปรตีนจะลดลงทั้งปริมาณ และคุณภาพ อาจมีสารอัลฟาทอกซิล (Aflatoxin) จากเชื้อรา หรืออาจปนเปื้อนเชื้อโรคติดต่อจากสัตว์

4. มีสิ่งปลอมปน ซึ่งบางครั้งจะสังเกตเห็นได้ยาก กากถั่วเหลืองประเภทนี้จะมีคุณค่าทางอาหารผิดปกติ เช่น ปลอมปนด้วยซังข้าวโพด หรือรำข้าว จะทำให้ปริมาณโปรตีนลดลงในขณะที่ค่าเถ้าอยู่ในระดับปกติ ถ้าปลอมปนด้วย ดิน หิน จะทำให้โปรตีนลดลง แต่ปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้น หรือถ้าปลอมปนด้วยกากถั่วเหลือง จะไม่ทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง แต่คุณภาพของโปรตีนจะลดลง (www.dld.go.th)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 8 กากถั่วเหลือง (Defatted Soybean)

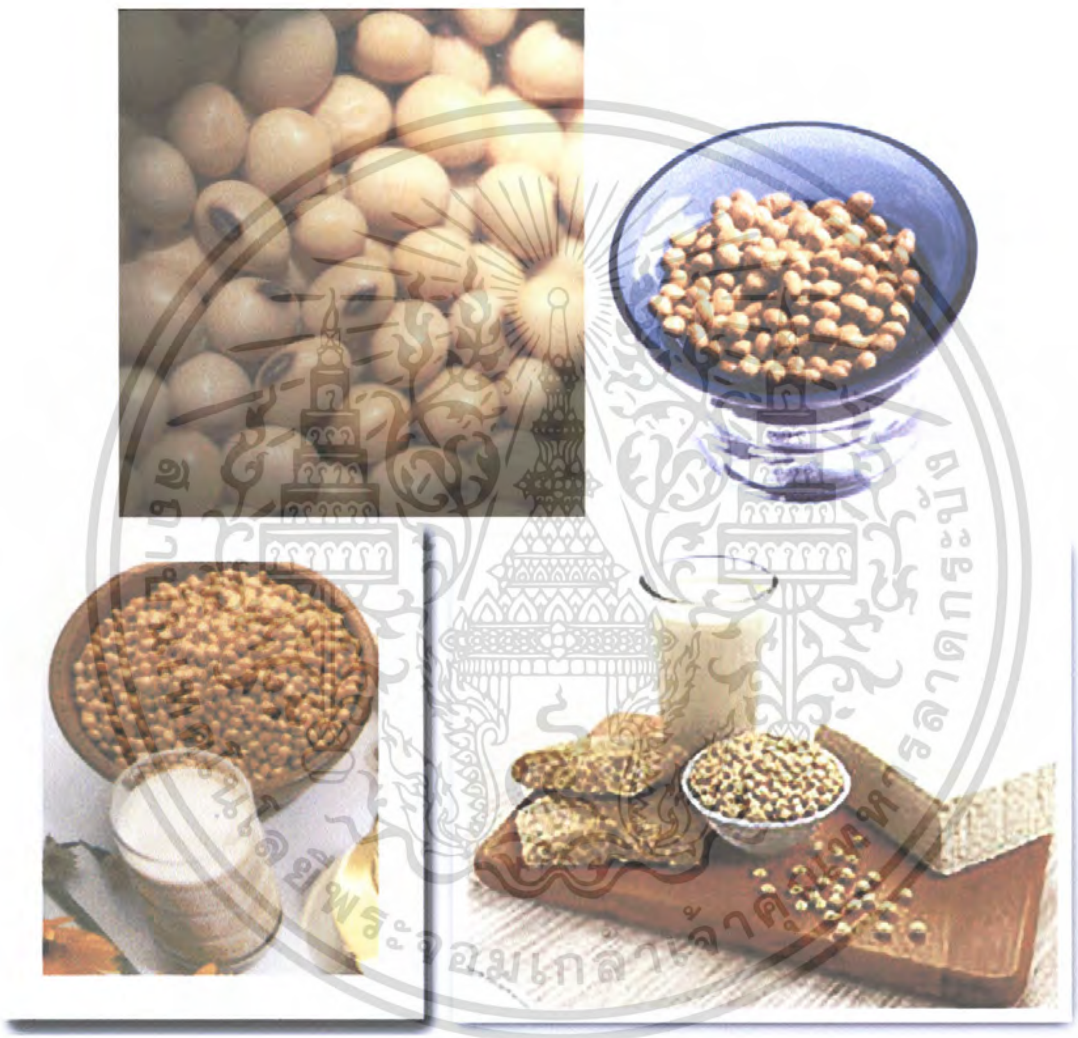
ที่มา:http://www.be2hand.com/scripts/shop.php?user=puijd&do=view&id=11684,
http://ssnet.doae.go.th/ssnet2/Library/library/html/detail/afood/afood22.htm,
http://203.130.156.84/WebTVO/soybeans_th.html

2.8 ถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Glycin max* (L) Merr ซึ่งเป็นพืชตระกูล Leguminosae มีชื่อภาษาอักฤษว่า Soja Bean หรือ Soybean เป็นพืชดั้งเดิมของคนในแถบเอเชียโดยมีการปลูกและนำมาใช้บริโภคเป็นอาหารพื้นเมืองนานาชนิด ถั่วเหลืองของไทยส่วนใหญ่ปลูกในภาคเหนือ และภาคกลางตอนบน นิยมเรียกในภาษาไทยโดยทั่วไป เช่น ถั่วพระเหลือง ถั่วแระ ถั่วเหลือง มะถั่วเน่า ถั่วหนัง (เหนือ) เป็นต้น ลักษณะของต้นถั่วเหลืองเป็นพืชล้มลุก สูงประมาณ 1-2 เมตร ลำต้นปกคลุมด้วยขนสีขาวหรือเทาขาว ใบเป็นใบประกอบแบบนิ้วมือ ใบประกอบด้วยใบย่อย 3ใบ รูปร่างคล้ายรูปไข่ปลา ใบค่อนข้างหนาผิวมันทั้งด้านบนและด้านล่าง ดอกเป็นช่อสีขาวหรือม่วงแดง ออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดอกเมื่ออายุประมาณ 25-30 วัน เก็บเกี่ยวอายุประมาณ 90-100 วัน ฝักแบนขาวติดเป็นกระจุกที่ข้อของต้นและกิ่งในฝักมีเมล็ด 3-5 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะเป็นรูปไข่หรือกลมผิวสีเหลืองมันตาค่อนข้างเล็กสีน้ำตาลอ่อน



รูปที่ 9 ถั่วเหลือง

ที่มา:http://jaideedee.com/Templates/Soypower.htm,http://www.doa.go.th/pl_data/SOYBEAN/4tech/tec03.html, http://www.phyathai-sriracha.com/indexaskdoctor_anyact.php?newid=17&ckid=1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง

1. ไขมัน

ถั่วเหลืองมีไขมันอยู่ประมาณร้อยละ 20 ขององค์ประกอบทั้งหมด ไขมันจากเมล็ดถั่วเหลืองมีคุณภาพสูงกว่าไขมันที่ได้จากสัตว์ เนื่องจากไขมันจากถั่วเหลืองมีกรดไขมันไม่อิ่มตัว คือโอเลอิค (Oleic acid) และลิโนลินิค (Lenoleic acid) ซึ่งมากกว่าร้อยละ 80 เป็นองค์ประกอบหลักของไขมันทั้งหมด (จงกช และคณะ, 2547)

2. คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตในถั่วเหลืองมีอยู่ประมาณร้อยละ 34 อย่างไรก็ตาม คาร์โบไฮเดรตในถั่วเหลืองมีความสำคัญด้านโภชนาการน้อยกว่าโปรตีนและไขมัน เนื่องจากคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่เป็นเพวกเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ซึ่งร่างกายนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยและองค์ประกอบอีกร้อยละ 10 ของคาร์โบไฮเดรตเป็นพวกไม่มีการรีดิวซ์ (non-Reducing Sugar) ได้แก่น้ำตาลซูโครส และสตาซิโอส (Stachyose) ซึ่ง สตาซิโอส เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ที่ร่ากายไม่สามารถย่อยสลายได้ (จงกช และคณะ, 2547)

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณของคาร์โบไฮเดรตในถั่วเหลือง

ที่มา : (จงกช และคณะ, 2547)

องค์ประกอบ	ร้อยละปริมาณเฉลี่ยที่พบในถั่วเหลือง
Cellulose	4
Hemicellulose	15
Starchyose	3.8
Refines	1.1
Sucrose	5.0
Orther sugar	5.1

3. โปรตีน

โปรตีนจากนมถั่วเหลืองมีกรดอะมิโนที่ร่างกายจำเป็นต้องนำไปใช้กระบวนการรักษาสมดุลของไนโตรเจนในร่างกาย กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายที่พบในถั่วเหลือง คือไอโซลิวซีน (Isoleucine) ไลซีน (Lysine) เมไทโอนีน (Methionine) ฟีนิลอะลานิน (Phenylalanine) ไทโอนิน (Threonine)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทริปโตเฟน (Tryptophan) และวาลีน (Valine) แต่ในนมถั่วเหลืองมีเมไทโอนิน ในปริมาณที่ต่ำกว่าและมีไลซีนในปริมาณสูงเมื่อเทียบกับข้าว (จงกช และคณะ, 2547)

ตารางที่ 8 แสดงองค์ประกอบกรดอะมิโนที่จำเป็นในถั่วเหลืองและข้าว

ที่มา : (จงกช และคณะ, 2547)

กรดอะมิโน	ถั่วเหลือง	ข้าว
ไอโซลิวซีน	5.1	4.1
ลิวซีน	7.7	8.2
ไลซีน	5.9	3.8
เมทธีโอนีน	1.6	3.4
ซีสตีน	1.3	-
ฟีนิลอะลานิน	5.0	6.0
ทรีโอนีน	4.3	4.3
ทริปโตแฟน	1.3	1.2
วาลีน	5.4	7.2
ฮิสติดีน	2.6	-

4. เกลือแร่

ถั่วเหลืองเป็นอาหารที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยแร่ธาตุ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก และโปรแตสเซียม สำหรับแคลเซียมนั้นเป็นแร่ธาตุที่สำคัญซึ่งมักจะขาดแคลนในอาหารที่มีราคาถูก ร่างกายของคนเราต้องการโปรแตสเซียมในการเสริมสร้างกล้ามเนื้อและทำให้กล้ามเนื้อแข็งแรง ฟอสฟอรัสช่วยในการบำรุงประสาทและสมอง แคลเซียมสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาของกระดูกในร่างกายและธาตุเหล็กสำคัญในการบำรุงโลหิต นอกจากนี้ถั่วเหลืองยังเป็นแหล่งของวิตามินต่างๆ ได้แก่ วิตามินเอ , บี1, บี2 และดี (จงกช และคณะ, 2547)

การนำถั่วเหลืองมาใช้ประโยชน์จะเลือกเมล็ดที่แก่จัด ทั้งนี้เพราะในเมล็ดถั่วเหลืองแก่จะมสารอาหารต่างๆ ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 35 โปรตีนร้อยละ 50 ไขมันร้อยละ 20 และในไขมันประกอบด้วยกรดไขมันต่างๆเช่น ลิโนเลอิกร้อยละ 50 โอเลอิกร้อยละ 30 ลิโนเลนิกร้อยละ 7 และปาล์มมิติก กับสเตียริกร้อยละ 14 (คำนวณจากน้ำหนักแห้ง) นอกจากนี้ยังประกอบด้วยแคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามิน A , B, B_1, B_2, B_6, B_{12}, D และ E (จงกช และคณะ, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์ในการวิจัย

3.1.1 สาหร่าย *Spirulina platensis* CMU 2 จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและวัดการเจริญของสาหร่าย

1 โถแก้วขนาดความจุ 9 ลิตร

2 สายยาง

3 หัวทราย

4 กระดาษกรอง GF/C

5 สไลด์ (Slide) และกระจกปิดสไลด์ (Cover slip)

6 ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 200 ไมโครลิตร

7 หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร

3.1.3 เครื่องมือที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและศึกษาผล

1 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope; Olympus)

2 ปั๊มลม (Air compressor; HAILEA ACO-318)

3 เครื่องวัดค่าความเข้มแสง (Luminance ;)

4 เครื่องชั่งน้ำหนัก (Scale and balance; Ohaus รุ่น AR2140)

5 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter ; Eatch instrument pH 510)

6 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง(Spectrophotometer ; HACH DR/4000V)

7 เครื่องเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge ; HERMLE รุ่น Z30HK)

8 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven; Binder รุ่น FD-53)

9 เครื่องแช่เยือกแข็ง (Freeze dry;)

10 อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (Water bath; Clifton NE2-22D)

11 เครื่องกรองแบบสุญญากาศ(Vaccum Filtation)

12 ตู้ดูดความชื้น (Desicator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 วัตถุดิบ

1. กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (Defatted soybean) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์มาจาก บริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด (ภาคพนวก ก)
2. ถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม (Soybean) ตราไร่ทิพย์ (ภาคผนวก ก)

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

1. <u>การเตรียมสาหร่ายตั้งต้นและศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา</u>

ถ่ายสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่แยกได้เป็นชนิดเดี่ยวลงในอาหารเหลว Zarrouk แล้วเพิ่มปริมาณสาหร่าย โดยขยายขนาดการเพาะเลี้ยงเป็นลำดับในอาหารดังกล่าวซึ่งปรับพีเอช เริ่มต้นเท่ากับ 9.5-10.5 ให้อากาศโดยใช้เครื่องกวนอากาศ (Air Pump) วางไว้ภายใต้แสงธรรมชาติร่วมกับสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ที่อุณหภูมิห้อง 30 องศาเซลเซียส เลี้ยงจนกระทั่งสาหร่าย *S. Platensis* CMU 2 เจริญอยู่ในช่วงกลางของระยะที่มีการเติบโตอย่างรวดเร็ว (Log phase) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยวิธีการทำ wet mount ทำการบันทึกภาพ แล้วเจือจางสาหร่ายให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1 โดยใช้วิธีการคำนวณ

จาก $M_1V_1 = M_2V_2$ โดยที่

M_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ของ *S. platensis* CMU 2 ที่เลี้ยงไว้เป็นสาหร่ายตั้งต้น

M_2 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ของ *S. platensis* CMU 2 ที่ต้องการคือ เท่ากับ 0.1

V_1 คือ ปริมาตรของ *S. platensis* CMU 2 ที่เลี้ยงไว้สำหรับเตรียมเป็นสาหร่ายตั้งต้น

V_2 คือ ปริมาตรของสาหร่ายตั้งต้นที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1

2. <u>อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง</u>

ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. Platensis* CMU 2 จากชุดการทดลองที่กำหนดสภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน โดยมีสภาวะของชุดการทดลองที่แตกต่างกันทั้งหมด 4 สภาวะ คือ

ชุดการทดลองที่ 1 อาหาร Zarrouk เป็นชุดควบคุม (ภาคผนวก ก)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร (D3) (ภาคผนวก ก)

ชุดการทดลองที่ 3 อาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 5 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร (D5) (ภาคผนวก ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดการทดลองที่ 4 อาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 7 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร (D7) (ภาคผนวก ก)

ชุดการทดลองที่ 5 อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร (S3) (ภาคผนวก ก)

ชุดการทดลองที่ 6 อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 5 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร (S5) (ภาคผนวก ก)

ชุดการทดลองที่ 7 อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร (S7) (ภาคผนวก ก)

ชุดการทดลองที่ 8 อาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 มิลลิโมลลาร์ (A0.56)

ชุดการทดลองที่ 9 อาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 1.1 มิลลิโมลลาร์ (A1.1)

ชุดการทดลองที่ 10 อาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 1.7 มิลลิโมลลาร์ (A1.7) (Soleto และคณะ, 2004)

ปรับค่าพีเอชทุกชุดการทดลองด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ให้มีค่าอยู่ในช่วง 9.5-10.5 ในการทดลองนี้ปรับค่าเป็น 10.3 จากนั้นเติมสาหร่ายตั้งต้นที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1 ลงในชุดการทดลองต่างๆ คลุมปากขวดโหลแก้วด้วยผ้าขาวบางเพื่อป้องกันแมลง และให้อากาศโดยใช้เครื่องกวนอากาศ วางไว้แบบสุ่มโดยให้แสงตามธรรมชาติร่วมกับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ตรวจวัดการเจริญในทุกชุดทดลอง ทุก 3 วัน เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (ภาคผนวก ข) และนำมาเขียนกราฟลอการิทึมการเจริญของ *S. platensis* CMU 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 10 การเพาะเลี้ยง *S. platensis* CMU 2 ในขวดโหลแก้ว ที่มีการให้อากาศโดยใช้เครื่องกวนอากาศ (Air pump) และคลุมด้วยผ้าขาวบางเพื่อป้องกันแมลง

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ในช่วง log phase โดยดูจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร มาคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate : μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (doubling time : t_d) จากสูตร (กนกวรรณและคณะ 2550 และสุมาลี 2535)

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

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

$$= 0.693 / \mu$$

X_1 = ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นของช่วง Log phase

X_2 = ค่าการดูดกลืนแสงในวันสุดท้ายของช่วง Log phase

T_1 = วันที่ทำการเพาะเลี้ยงเริ่มต้นของช่วง Log phase

T_2 = วันที่ทำการเพาะเลี้ยงสุดท้ายของช่วง Log phase

จากนั้นทำการเปรียบเทียบอัตราการเจริญจำเพาะและระยะเวลาที่เซลล์แบ่งตัวเป็น 2 เท่า เพื่อคัดเลือกชุดการทดลองให้ผลดีที่สุดสองชุดการทดลองเพื่อมาทำการเพาะเลี้ยงเพื่อสกัดรงควัตถุต่อไป

3. <u>การเพาะเลี้ยงเพื่อทำการสกัดรงควัตถุ</u>

จากการคัดเลือกชุดการทดลองสองชุดการทดลองที่มีอัตราการเจริญจำเพาะและระยะเวลาที่เซลล์แบ่งตัวเป็น 2 เท่าสูงที่สุด มาทำการเพาะเลี้ยงในขวดโหลแก้วโดยทำการเจือจางสาหร่ายที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คัดเลือกในแต่ละชุดการทดลองให้มีความเข้มข้นสาหร่ายเริ่มต้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรเท่ากับ 0.1 จากนั้นเติมสาหร่ายเริ่มต้นนี้ลงในอาหารในแต่ละชุดการทดลองที่คัดเลือกมาปรับพีเอชเริ่มต้นในการทดลองอยู่ในช่วง 9.5-10.5 ในการทดลองนี้ปรับเป็น 10.3 ให้อากาศโดยใช้เครื่องกวนอากาศ (Air Pump) และให้แสงโดยใช้แสงจากธรรมชาติร่วมกันแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ คลุมขวดโหลแก้วด้วยผ้าขาวบางเพื่อป้องกันแมลง ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วันโดยทำการวัดการเจริญโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ทุกๆ 3 วัน และเมื่อครบ 30 วัน ทำการหาน้ำหนักเซลล์แห้งดังรูปที่ 11 (ภาคผนวก ข)

รูปที่ 11 แสดงการหาน้ำหนักเซลล์แห้งของ *S. platensis* CMU 2 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน บนกระดาษกรอง GF/C

การตรวจวัดปริมาณรงควัตถุ

1. **ปริมาณไฟโคไซยานิน** โดยวิธีของ Miyakawa อ้างโดย KMUTT (2001)

สารเคมี

A: $Na_2HPO_4 . 7H_2O$ 1 N

B: $Na_2HPO_4 . H_2O$ 1 N

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

วิธีการ

1. กรองสาหร่าย 10 มิลลิลิตรผ่านกระดาษกรอง GF/C
2. เติมบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตร
3. ผสมให้เข้ากัน นำไปแช่แข็งที่ -76 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำให้ละลายที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำซ้ำประมาณ 5 รอบ
4. แล้วนำตัวอย่างที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 618 นาโนเมตร
6. การคำนวณ

$$\text{ไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัม)} = \frac{A_{618} \times 1000 \times 5}{6500}$$

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

2. **ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ** (Bennet และ Bogorad, 1973)

อุปกรณ์

1. GF/C
2. อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ
3. หลอดcentrifuge
4. เครื่องเหวี่ยงความเร็วสูง
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

สารเคมี

Absolute methanol

วิธีการ

1. กรองสาหร่ายปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรอง GF/C นำกระดาษที่มีสาหร่ายหรือสาหร่ายที่เหวี่ยงได้มาเติม absolute methanol ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
2. นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. แยกเอาสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 665 นาโนเมตร
4. การคำนวณ

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ($\mu g.ml^{-1}$ หรือ $mg.l^{-1}$) = A_{665} x Factor

หมายเหตุ ค่าคงที่ (Factor)

Spirulina and *Isochrysis*	13.9
Anabena	12.65
Porphyridium	13.2

3. **ปริมาณแคโรทีนอยด์** (KMUTT, 2001)

สารเคมี

1. ไดเอทธิลอีเทอร์
2. Absolute เอทธานอล (C_2H_5OH)
3. 60% โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)
4. ไดโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Na_2SO_4 anhydrous)
5. 9% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

วิธีการ

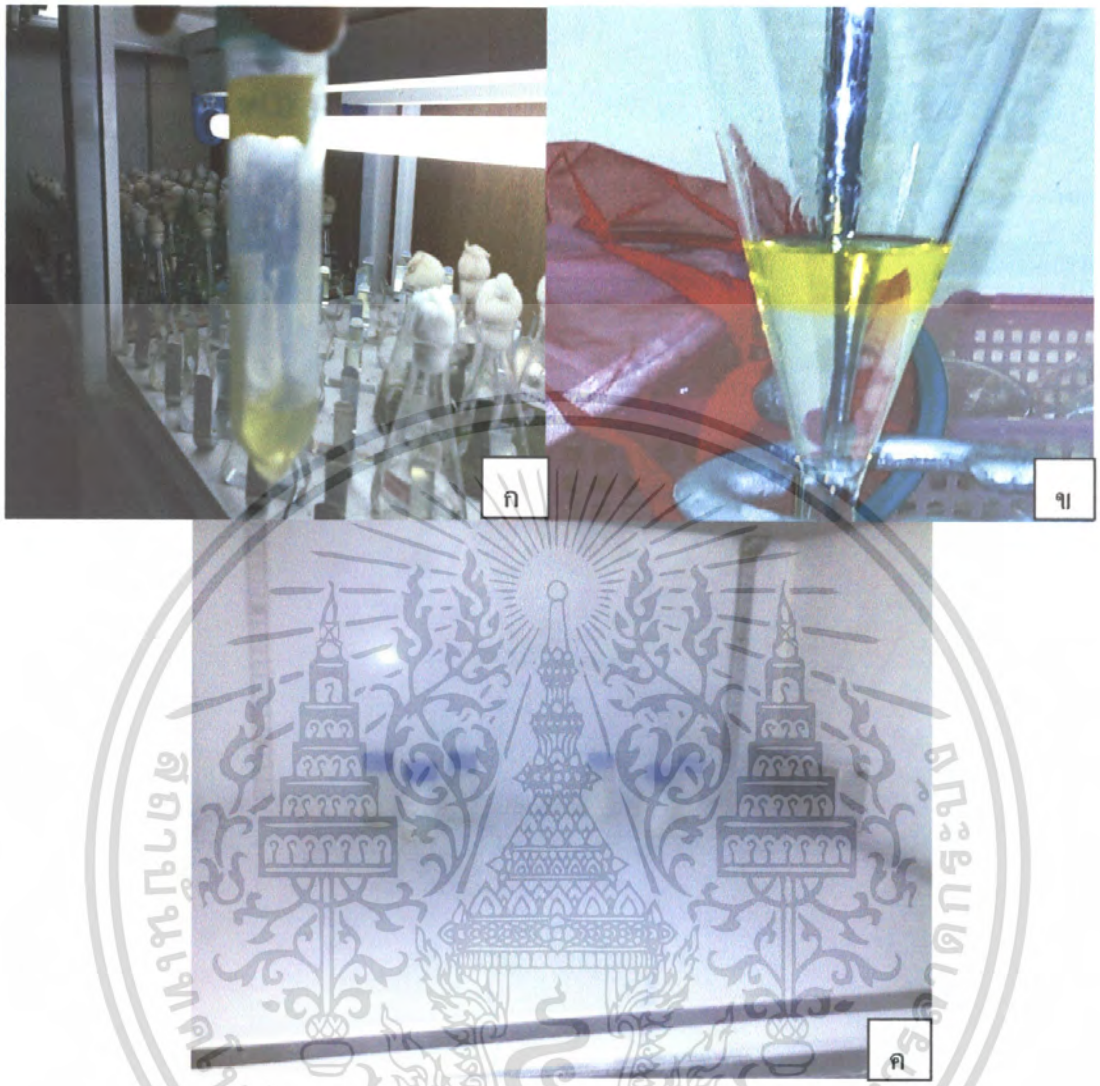
1. กรองสาหร่ายปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรอง (GF/C 47 Diameter)
2. นำกากเซลล์ที่กรองได้รวมทั้งกระดาษกรองใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยง
3. เติมเอทธานอล (C_2H_5OH) 10 มิลลิลิตร และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ร้อยละ 60 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน
4. สกัดสารในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
5. จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
6. แยกเอาสารละลายส่วนที่เขียวใสออกโดยค่อยๆรินใส่ในกรวยแยก
7. เติมเอทธานอล 2 มิลลิลิตร ลงในส่วนตะกอนเพื่อล้าง และทำซ้ำข้อ 5 และข้อ 6 เพื่อให้การสกัดสมบูรณ์ยิ่งขึ้นและผสมสารละลายทั้งหมดเข้าด้วยกัน
8. เติมไดอีเอทธิลอีเทอร์ 20 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 20 มิลลิลิตร แล้วเขย่า
9. ผสมให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้จนกระทั่งส่วนผสมแยกชั้นเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นสีเขียวด้านก้นกรวยแยกและส่วนที่เป็นสีเหลืองด้านบนกรวยแยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. ค่อยๆปล่อยสารละลายส่วนสีเขียวออกอย่างช้าๆ
11. เติม NaCl ลงไปในส่วนที่เป็นสีเหลืองและทำซ้ำตามข้อ 9 อีก 3 ครั้ง จนกระทั่งส่วนผสมแยกชั้นเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่เป็นสีเหลืองและส่วนที่เป็นสีใส
12. แยกส่วนที่เป็นสีเหลืองออกและใส่ แอมโมเนียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Na_2SO_4) เล็กน้อยเพื่อดูดน้ำ
13. ปรับปริมาตรของแคโรทีนอยด์ (สารละลายสีส้ม-เหลืองที่ละลายน้ำ) ด้วยไดเอทธิลอีเทอร์ให้เป็น 25 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน
14. สารละลายที่ได้นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร
15. การคำนวณ

$$\text{มิลลิกรัมของแคโรทีนอยด์/กรัมของเซลล์} = \frac{A_{450} \times 25 \times 100}{260 \times \text{mg ของน้ำหนักแห้ง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 12 การสกัดรงควัตถุ

(ก) แสดงคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ (ข) แสดงการแยกชั้นของแคโรทีนอยด์ในกรวยแยก

(ค) แสดงการแช่แข็งที่ -76 องศาเซลเซียส เพื่อทำการสกัดไฟโคไซยานิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Spirulina platensis* CMU 2 ในสูตรอาหาร Zarrouk ปกติ

สาหร่ายสไปรูลินา *(Spirulina)* สาหร่ายชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae) เนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์แสง หรืออาจจะเรียกได้ว่าเป็นแบคทีเรียประเภทไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) เนื่องจากเป็นสิ่งมีชีวิตประเภทโปรคารีโอท (Prokaryote) คือนิวเคลียสไม่มีเยื่อหุ้ม ลักษณะของสาหร่ายชนิดนี้เป็นเส้นสายประกอบไปด้วยเซลล์ที่เรียงกัน ไม่แตกแขนง เรียกเส้นสายนี้ว่า ทรัยโคม (Trichome) เส้นสายนี้บิดเป็นเกลียว ลักษณะของเกลียวแตกต่างกันไปตามสปีชีส์ ขนาดความยาวประมาณ 300-500 ไมโครเมตร ความกว้างประมาณ 8 ไมโครเมตร เดิมนักวิทยาศาสตร์จัดให้สาหร่ายชนิดนี้เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว เนื่องจากมองเห็นผนังเซลล์ของแต่ละเซลล์ที่มารวมกันเป็นเส้นสายไม่ชัด ต่อมาด้วยการใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงขึ้นสามารถเห็นชัดว่าทรัยโคมของสาหร่ายชนิดนี้ประกอบไปด้วยเซลล์หลายเซลล์ต่อกัน ผนังเซลล์เป็นผนังหลายชั้น ประกอบด้วยสารมิวโคโปรตีนและเพคติน ชั้นนอกเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ มีแวคคิวโอล (Vacuole) ขนาดใหญ่ ทำให้ลอยน้ำได้ นิวเคลียสไม่มีเยื่อหุ้ม กรดนิวคลีอิกกระจายอยู่ทั่วเซลล์ ตัวเซลล์ไม่ได้ปกคลุมด้วยเยื่อเมือก (Mucous Membrane) เหมือนสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั่วไป ผิวของเซลล์ไม่มีจุลินทรีย์เกาะ มีความสามารถในการต้านทานจุลินทรีย์สูง และยังทนต่อรังสีอัลตราไวโอเลตสูง การเคลื่อนที่ของสาหร่ายชนิดนี้จะเป็นแบบควงสว่านและเป็นคลื่น การสืบพันธุ์ของสาหร่ายชนิดนี้จะมีเฉพาะแบบไม่อาศัยเพศ โดยการขาดออกเป็นท่อน (Fragmentation) และท่อนที่ขาดนี้สามารถแบ่งเซลล์ใหม่ทำให้ทรัยโคมยืดยาวออกได้ เส้นสายของสาหร่ายชนิดนี้อาจยาวบ้างสั้นบ้างขึ้นกับอายุและความอุดมสมบูรณ์ แม้แต่ความเป็นเกลียวบางครั้งก็ไม่คงที่อาจเป็นเกลียวบิดชัดเจนสวยงาม หรือบางครั้งจะคลายออกคล้ายเส้นตรง ขึ้นกับปัจจัยของการเพาะเลี้ยง อาจจะเป็นความอุดมสมบูรณ์ของอาหาร แสง อุณหภูมิ หรือพีเอช (ยุวดี, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ด้วยกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (defatted soybean) และถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม (soybean) ในระดับห้องปฏิบัติการแบบ batch culture

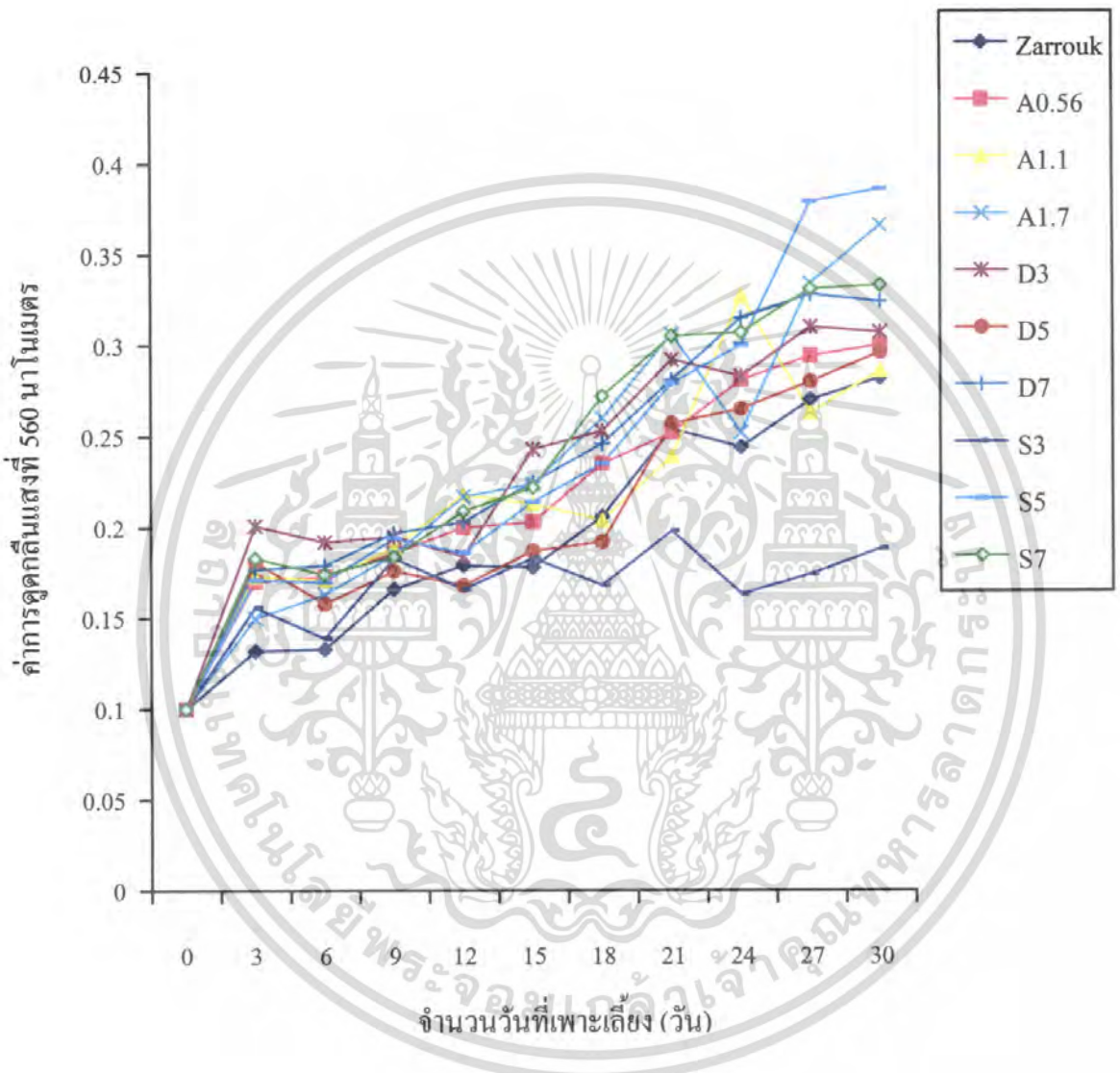
4.2.1 การวัดการเจริญด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร และการวิเคราะห์การเจริญด้วยอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate : μ) และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (Doubling time (t_d))

ผลการเจริญของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ถั่วเหลืองเมล็ดเต็มและแอมโมเนียมซัลเฟต ในปริมาณต่าง ๆ นั้น เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเราทำการวัดการเจริญโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร จากรูปที่ 13 ตารางที่ 12 (ภาคผนวก ง) แล้วคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะและค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ดังตารางที่ 9 รูปที่ 16 และ 17 จะเห็นว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีการผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร นั้นมีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 27 ของการทำการเพาะเลี้ยง คือ มีค่าเท่ากับ 0.31 มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดคือ 0.0592 ค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 11.7060 อันดับต่อมาเป็นสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 1.7 มิลลิโมลลาร์ สามารถวัดค่าการเจริญได้สูงที่วันที่ 30 ของการทดลอง คือได้ค่าเป็น 0.366 มีอัตราการเจริญจำเพาะอยู่ที่ 0.0533 และมีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 13.0019 สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เป็น 0.333 ในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงและมีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น 0.0531 ค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 13.0508 สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 5 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เป็น 0.386 ในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดคือ 0.0507 และมีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เป็น 13.6686 สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร นั้นสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงในวันที่ 27 ของการเพาะเลี้ยงได้เป็น 0.328 มีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น 0.0478 ค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 14.4979 สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 5 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เป็น 0.296 ในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดคือ 0.0449 และมีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เป็น 15.4343 สาหร่ายที่เจริญในอาหารสูตร Zarrouk สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เป็น 0.282 ในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงมีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น 0.0444 ค่า ระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า มีค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 15.6081 สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 มิลลิโมลลาร์ วัดค่าการดูดกลืนแสงในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงได้ค่าเป็น 0.30 มีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น 0.0430 ค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เป็นอันดับที่แปดมีค่าเท่ากับ 16.1163 สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 1.1 มิลลิโมลลาร์ ในวันที่ 24 ของการเพาะเลี้ยงสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้สูงเป็น 0.327 มีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น 0.0415 ค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า มีค่าเท่ากับ 16.6988 และสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร นั้นสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ค่าต่ำที่สุดคือสามารถวัดได้เป็น0.198 ในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง มีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น 0.0325 ค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เป็น 21.3231 เมื่อทราบอัตราการเจริญจำเพาะทำให้เราสามารถคัดเลือกสภาวะของอาหารเลี้ยงสาหร่าย เพื่อทำการศึกษาปริมาณรงควัตถุได้โดยเลือกสาหร่ายที่เจริญในอาหารที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และ สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร ส่วนสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 1.7 มิลลิโมลลาร์ ไม่ได้นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อศึกษารงควัตถุต่อไป เนื่องจากการทดลองนี้ต้องการศึกษาเพื่อที่จะหาแหล่งไนโตรเจนที่มาจากธรรมชาติหรือของเหลือจากอุตสาหกรรม เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินานั่นเอง โดยจากการทดลองดังกล่าวทำให้เราทราบความสามารถในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าของเซลล์ *S. platensis* CMU 2 ในสภาวะการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันโดยพบว่าสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมในอาหาร 5 ลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดซึ่งจะให้ค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าซึ่งมีค่าสอดคล้องกับอัตราการเจริญจำเพาะ อันดับถัดมาคือสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 1.7 มิลลิโมลล่าร์ มีอัตราการเจริญจำเพาะเป็นอันดับที่สองซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าพบว่า มีค่าสอดคล้องเป็นไปในทางเดียวกันเช่นกันอันดับที่สามคือสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อันดับที่สี่คือสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 5 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อันดับที่ห้าอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 5 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อันดับที่หกได้แก่อาหาร Zarrouk อันดับที่เจ็ดอาหาร Zarrouk ที่ผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 มิลลิโมลลาร์ อันดับที่แปดคืออาหาร Zarrouk ที่ผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 มิลลิโมลลาร์ อันดับที่เก้าคือ Zarrouk ที่ผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 1.1 มิลลิโมลล่าร์ อันดับสุดท้ายคือ สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร ซึ่งจากผลการทดลองและนำมาคำนวณพบว่าอัตราการเจริญจำเพาะและค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่ามีค่าเป็นไปในทิศทางที่สอดคล้องกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 13 แสดงการเจริญโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ของ *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 (D3), 5 (D5) และ 7 (D7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 (S3), 5 (S5) และ 7 (S7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 (A0.56), 1.1 (A1.1) และ 1.7 (A1.7) มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

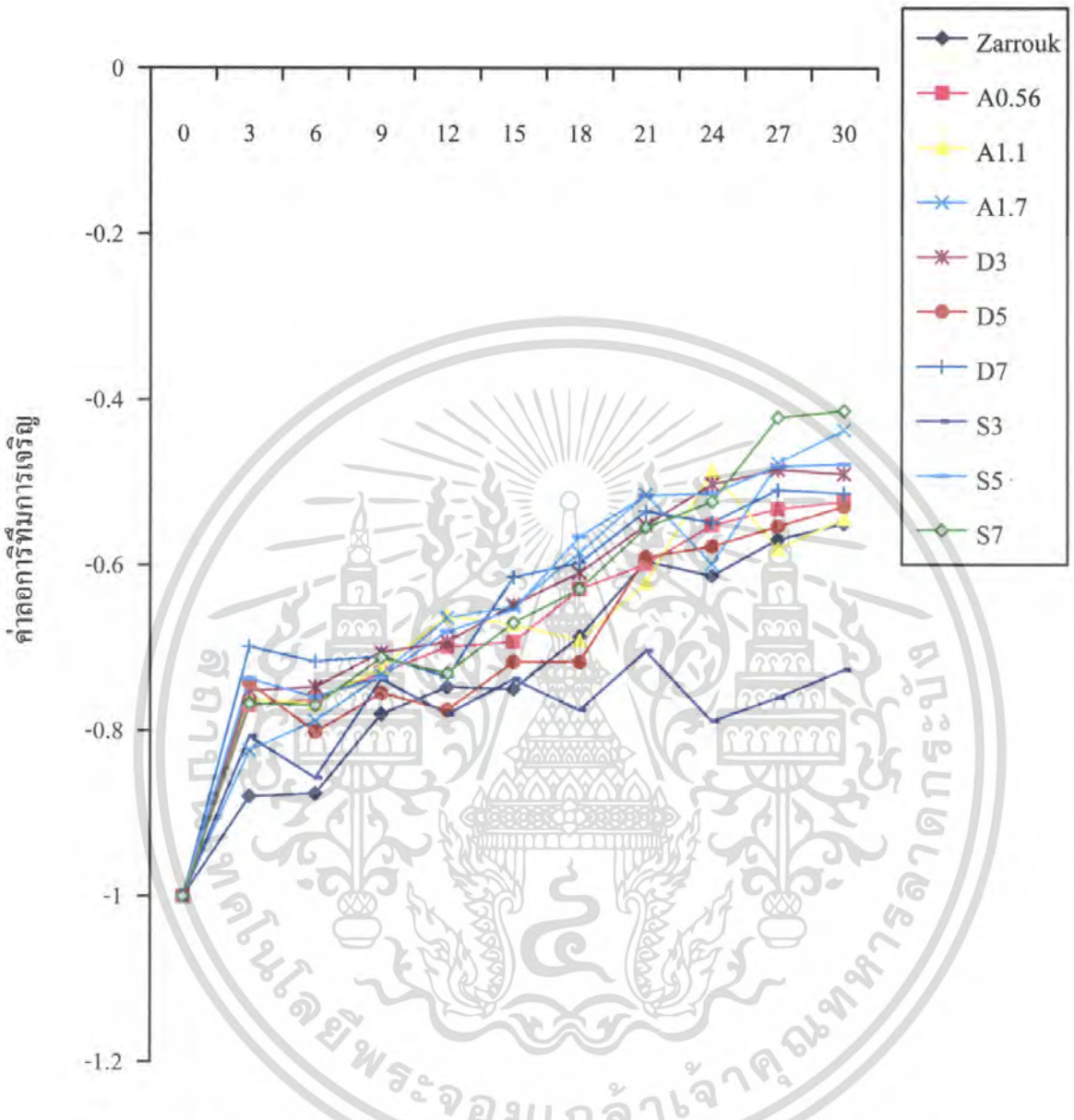
ตารางที่ 9 ค่า specific growth rate (μ) และค่า doubling time (t_d) ที่คำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของ *S. platensis* CMU2 ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ

สภาวะที่ทดสอบ	Range of date	μmax (day -1)	td (day)
Zarrouk	0 – 21	0.0444	15.6081
A0.56	0 – 24	0.0430	16.1163
A1.1	0 – 21	0.0415	16.6988
A1.7	0 – 21	0.0533	13.0019
D3	0 – 15	0.0592	11.7060
D5	0 – 21	0.0449	15.4343
D7	0 – 24	0.0478	14.4979
S3	0 – 21	0.0325	21.3231
S5	0 – 15	0.0507	13.6686
S7	0 – 21	0.0531	13.0508

4.2.2 การวิเคราะห์การเจริญด้วยการหาค่าลอการิทึม

จากรูปที่ 14 ตารางที่ 13 (ภาคผนวก ง) จะเห็นได้ว่าค่าลอการิทึมการเจริญของ สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตรนั้นให้ค่าลอการิทึมที่ดีที่สุด รองมาคือสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 1.7 มิลลิโมลลาร์ สาหร่ายที่เจริญในอาหารZarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 5 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 1.1 มิลลิโมลลาร์ สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 7 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 มิลลิโมลลาร์ สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 5 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร ถัดมาคือ สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk และสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร ซึ่งลักษณะเส้นกราฟนั้นเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



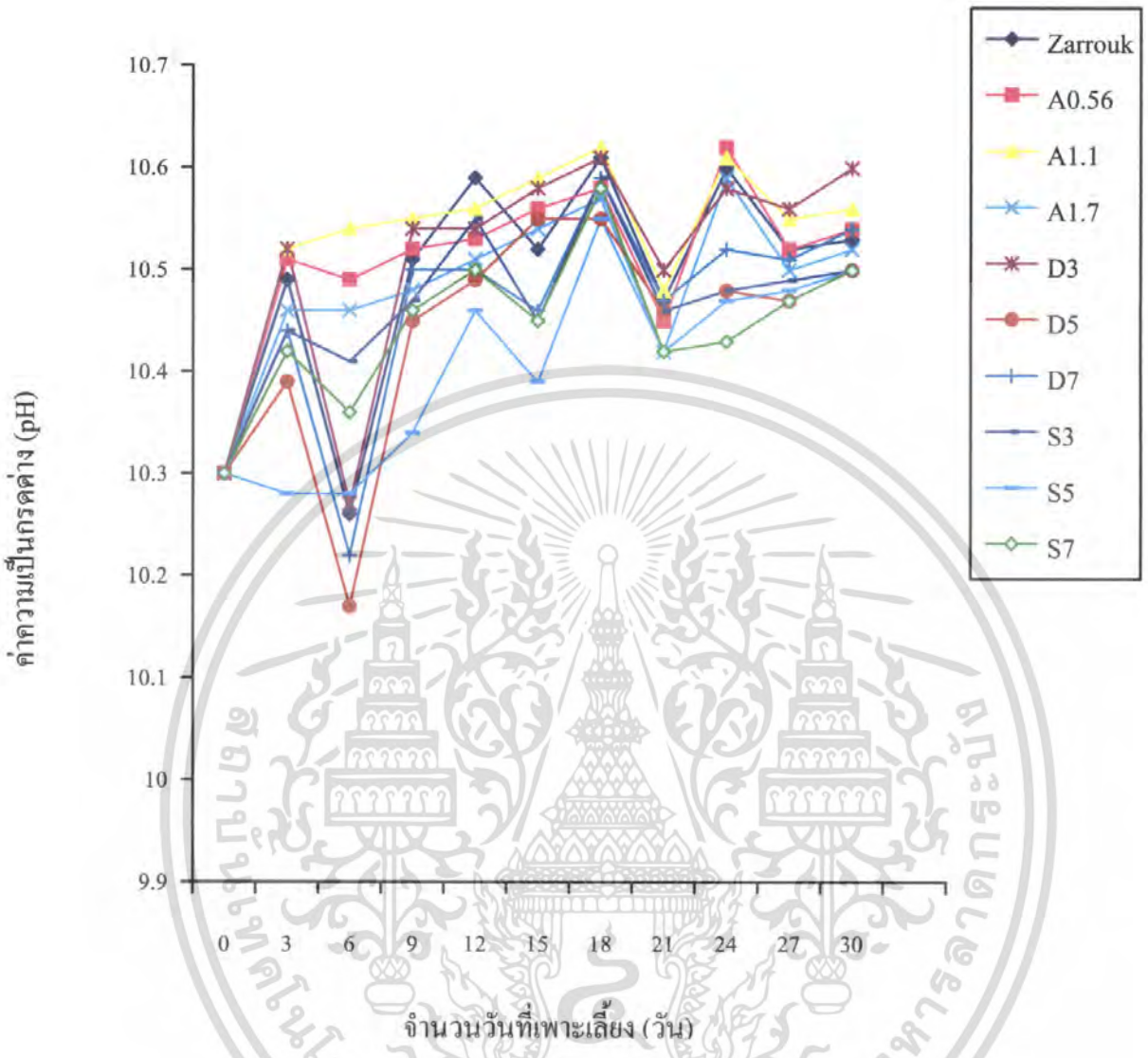
รูปที่ 14 แสดงค่าลอการิทึมการเจริญของ *S. platensis* CMU 2 ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 (D3), 5 (D5) และ 7 (D7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 (S3), 5 (S5) และ 7 (S7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 (A0.56), 1.1 (A1.1) และ 1.7 (A1.7) มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง (pH)

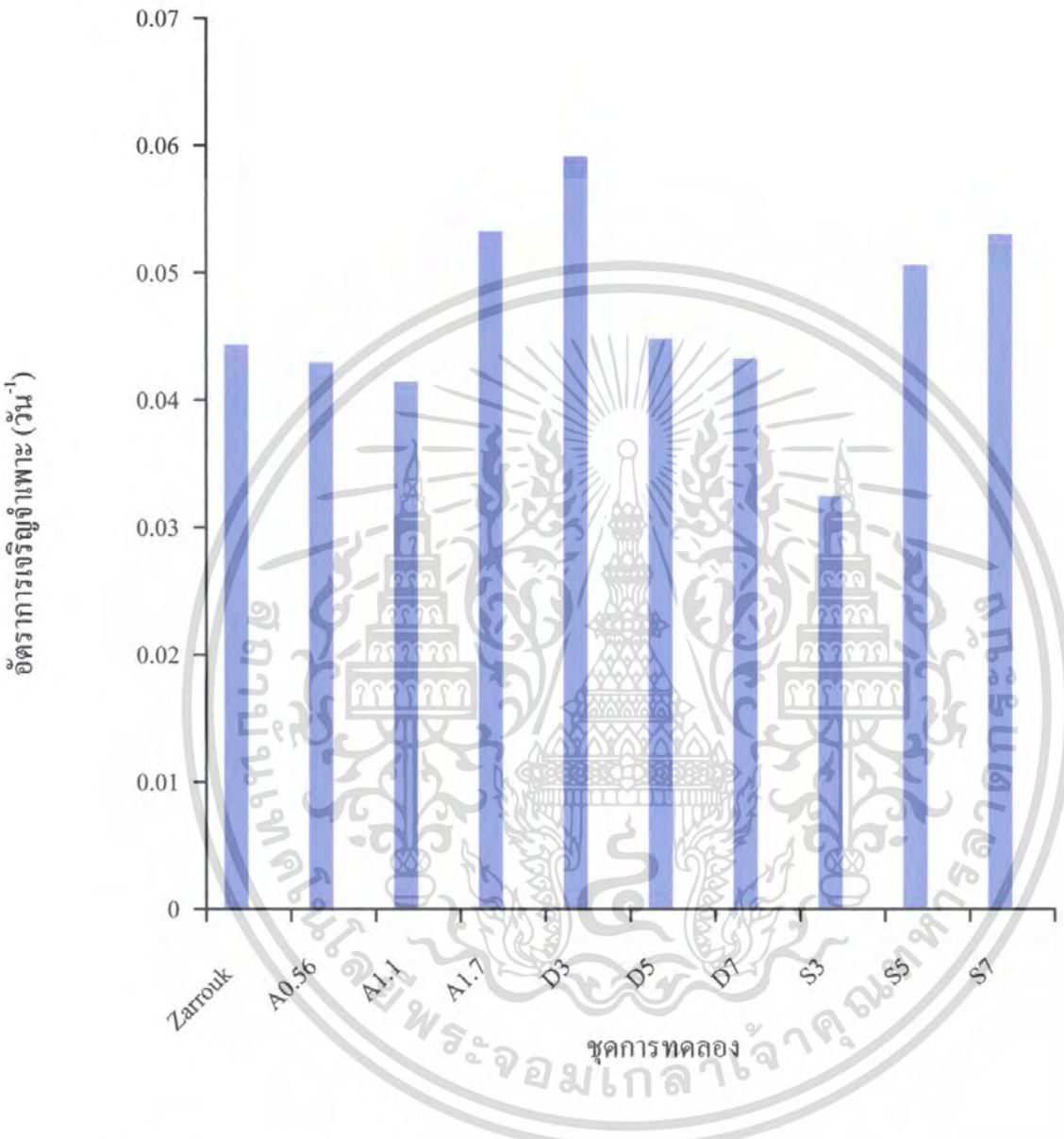
จากรูปที่ 15 ตารางที่ 14 (ภาคผนวก ง) แสดงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเจริญของ *S. platensis* CMU 2 ที่ ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56, 1.1 และ 1.7 มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร ซึ่งจากกราฟจะพบว่าสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตรให้ค่าความเป็นกรดด่างเมื่อทำการเพาะเลี้ยงจนครบ 30 วัน สูงที่สุด ต่อมาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 1.1 มิลลิโมลลาร์ ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงเป็นอันดับที่สอง การเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 มิลลิโมลลาร์ ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงเป็นอันดับที่สาม สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตรให้ค่าความเป็นกรดด่างสูงเป็นอันดับที่สี่ สาหร่ายที่เจริญในอาหารสูตร Zarrouk สามารถวัดการเจริญได้สูงเป็นอันดับที่ห้า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมแอมโมเนียมซัลเฟต 1.1 มิลลิโมลลาร์ ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงเป็นอันดับที่หก สำหรับอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตรและสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 5 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตรให้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เท่ากันในอันดับสุดท้าย ซึ่งค่าความเป็นกรดด่างที่วัดได้นั้นค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันมากในแต่ละชุดการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



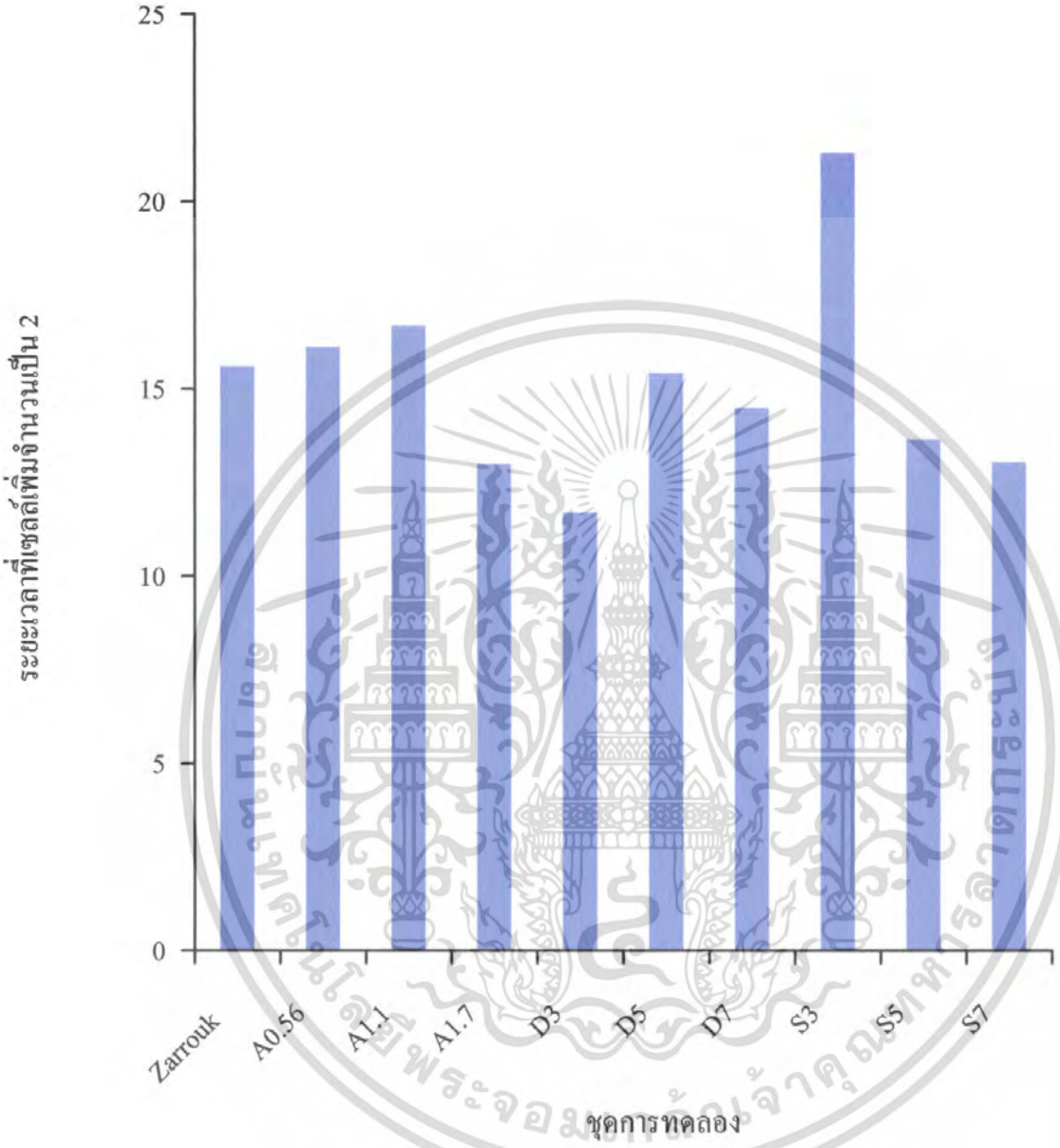
รูปที่ 15 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเจริญของ *S. platensis* CMU 2 ที่ ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3, 5และ 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56, 1.1 และ 1.7 มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 16 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate (μ)) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 (D3), 5 (D5) และ 7 (D7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 (S3), 5 (S5) และ 7 (S7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 (A0.56), 1.1 (A1.1) และ 1.7 (A1.7) มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 17 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (Doubling time (t_d)) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Zarrouk ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 (D3), 5 (D5) และ 7 (D7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อาหาร Zarrouk ผสมกับถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 (S3), 5 (S5) และ 7 (S7) กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และอาหาร Zarrouk ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 (A0.56), 1.1 (A1.1) และ 1.7 (A1.7) มิลลิโมลลาร์ต่ออาหาร 5 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาการเจริญข้างต้นของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ในสภาวะต่างๆที่ทำการเพาะเลี้ยงพบว่า สภาวะการเพาะเลี้ยงโดยใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมในอาหาร Zarrouk 5 ลิตร (D3) ให้ค่าการเจริญจำเพาะสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 0.0592และมีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่าเท่ากับ 11.7060 โดยจากการทดลองพบว่ากากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนจากธรรมชาติสามารถทำให้ค่าการเจริญจำเพาะมีค่าที่ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีคือ แอมโมเนียมซัลเฟต (NH_3SO_4) เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยมีค่าเท่ากับ 0.0533 และมีค่า ระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เท่ากับ 13.0019 และยังพบว่าการใช้ถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร (S7) นั้นให้ค่าการเจริญจำเพาะสูงใกล้เคียงกับการใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมในอาหาร Zarrouk 5 ลิตร โดยมีค่าเท่ากับ 0.0531 และมีค่า ระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เท่ากับ 13.0508

จากการศึกษางานวิจัยในลักษณะเดียวกันพบว่า จบเจน (2537) ได้ศึกษาการใช้น้ำกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ในการเพาะเลี้ยง *S. platensis* โดยทำการเพาะเลี้ยงในน้ำกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ผสมอาหาร Zarrouk' medium ในอัตราส่วน 1:0, 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 2:3, 3:1, 3:2 และ 0:1 ทำการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพูขนาด 250 มิลลิลิตร แต่ละขวดมีปริมาตรอาหาร 150 มิลลิลิตร ความหนาแน่นเริ่มต้นโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 nm เท่ากับ 0.6 มีการให้แสงโดยการใช้หลอดฟูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยทำการเพาะเลี้ยง 14 อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงอยู่ระหว่าง 26-28 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 8.0 จากการเพาะเลี้ยงผลปรากฏว่าอาหารที่มีการผสมน้ำกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 1:2 และ 1:3 นั้นมีการเจริญของสาหร่ายสูงที่สุดโดยเจริญสูงสุดในวันที่ 12 ของ การเพาะเลี้ยงโดยมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 1564.42 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1572.61 มิลลิกรัมต่อลิตร

นอกจากนั้นยังได้มีการศึกษาถึงแหล่งไนโตรเจนใหม่ๆในการเพาะเลี้ยงโดยจะใช้ของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ ซึ่งปล่อยทิ้งสารที่เป็นสารอินทรีย์ซึ่งสามารถนำมาเป็นแหล่งไนโตรเจนในการเจริญของสาหร่ายได้ โดยปิยสิทธิ์ (2536) ได้นำน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตแป้งทำขนมจีนมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย โดยมีปัจจัยของชนิดของน้ำทิ้งจากขั้นตอนการผลิตต่างๆซึ่งแบ่งได้เป็น น้ำทิ้งจาการแช่ข้าวสารเจ้า น้ำทิ้งจากการนอนน้ำแป้งและนำทิ้งจากการแช่ข้าวสารเจ้าผสมกับน้ำทิ้งจากการนอนน้ำแป้งในอัตราส่วน 1:1 และปัจจัยของระดับความเข้มข้นของน้ำทิ้งจากขั้นตอนการผลิตแป้งทำขนมจีน มี 5 ระดับคือ ร้อยละ 10, ร้อยละ20, ร้อยละ 30, ร้อยละ 40, และ ร้อยละ 50 ใช้การวัดค่าการดูดกลืนแสงเป็นตัววัดการเจริญ ทำการเพาะเลี้ยงภายในหลอดทดลองขนาด 80 มิลลิลิตร จำนวน 75 หลอดแต่ละหลอดมีอาหาร 30 มิลลิลิตร ความหนาแน่นเริ่มต้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.6 มีการให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดย์ไลท์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อ วัดความเข้มแสงได้เป็น 3,000 – 3,500 ลักซ์ อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงคือ 26 -28 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดเบสเริ่มต้นที่ 8.0 ผลจากการศึกษาพบว่า ชนิดของน้ำทิ้งจากขั้นตอนการผลิตแป้งทำขนมจีนและระดับความเข้มข้นต่างๆกัน มีอิทธิพลร่วมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งที่มีการผสมระหว่างน้ำทิ้งจากการแช่ข้าวสารเจ้าและน้ำทิ้งจากการนอนน้ำแป้งในอัตราส่วน 1:1 มีการเจริญมากที่สุด ส่วนน้ำทิ้งจากน้ำแช่ข้าวสารเจ้านั้นให้การเจริญต่ำที่สุด ส่วนระดับความเข้มข้นของน้ำทิ้งของน้ำทิ้งจากขั้นตอนการผลิตแป้งขนมจีนนั้นพบว่าที่ ร้อยละ 40 มีการเจริญสูงที่สุด และที่ ร้อยละ 10 นั้นให้การเจริญต่ำที่สุด

เสกสรร (2537) ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทองในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตขนมจีนผสมกับอาหารสูตร Zarrouk ดัดแปลง โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ผสมระหว่างอาหาร Zarrouk กับน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตขนมจีนความเข้มข้น ร้อยละ 40 ในอัตราส่วนดังนี้คือ 1:1, 2:1, 1:2, 3:1, 1:3, 2:3, 3:2, 0:1, 1:0 และอาหาร Zarrouk ปกติ โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรแต่ละขวดมีอาหาร 150 มิลลิลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน แล้วทำการวัดค่าการเจริญโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงทุกๆ 2 วัน ผลปรากฏว่า สาหร่ายที่เจริญในอาหารที่มีการผสมระหว่างอาหาร Zarrouk และน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ความเข้มข้น 40% นั้นที่อัตราส่วน 1:1, 2:3 และ 3:2 นั้นให้การเจริญสูงสุดในช่วงระยะเวลา 4 วัน 1:1, 1:3 และ 2:3 นั้นให้การเจริญมากที่สุดที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 6 วัน ที่อัตราความเข้มข้น1:3 และ 0:1 ให้การเจริญสูงสุดที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 8 วัน และที่อัตราส่วน 3:1, 1:0 และอาหาร Zarrouk ปกติให้การเจริญสูงสุดที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 10 วัน

วิเชียร (2539) ได้ทำการศึกษาการเจริญของสาหร่ายเกลียวทองที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวและเส้นขนมจีนผสมการอนินทรีย์บางชนิด โดยทำการศึกษาถึงชนิดของน้ำทิ้งระหว่างน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวและน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นขนมจีนและศึกษาชนิดของสารอนินทรีย์คือ กลุ่มโซเดียม ($NaHCO_3$ 8.4 กรัมต่อลิตร และ $NaNO_3$ 0.59 กรัมต่อลิตร) สารกลุ่มโปรแตสเซียม (K_2HPO_4 0.25 กรัมต่อลิตร และ K_2SO_4 0.25 กรัมต่อลิตร) และสารกลุ่มโปรแตสเซียมผสมกลุ่ม โซเดียมในอัตราส่วน 1:1 โดยเพาะเลี้ยงในอ่างพลาสติกขนาด 20 ลิตร ในสภาพกลางแจ้งเป็นเวลา 16 วัน ได้ผลการทดลองดังนี้คือสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวผสม สารอนินทรีย์กลุ่มโซเดียมและน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ผสมสารอนินทรีย์กลุ่มโปรแตสเซียม เป็นเวลา 8 วันนั้นให้การเจริญสูงที่สุด และเมื่อเลี้ยงต่อไปจนครบ 14 และ 16 วัน สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานเส้นก๋วยเตี๋ยวผสมสารอนินทรีย์ในกลุ่มโซเดียมพบว่ามีการเจริญเติบโตมากที่สุดคือน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 1117.50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1087.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการทดลองนี้ทำให้ทราบว่า สาหร่ายที่เจริญในน้ำทิ้งจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1087.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการทดลองนี้ทำให้ทราบว่า สาหร่ายที่เจริญในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวมีการเจริญที่ดีกว่าเจริญในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นขนมจีน และสารอนินทรีย์กลุ่มโซเดียมทำให้สาหร่ายมีการเจริญได้ดีกว่าสารอนินทรีย์กลุ่มโปรแตสเซียม

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในสาหร่าย

การเพาะเลี้ยงเพื่อศึกษาปริมาณรงควัตถุ คือ คลอโรฟิลล์ เอ แคโรทีนอยด์และไฟโคไซยานิน โดยทำการเพาะเลี้ยงในโหลแก้วใสขนาดความจุ 10 ลิตร อุณหภูมิการเพาะเลี้ยงอยู่ที่ 28 องศาเซลเซียส มีการให้แสงธรรมชาติ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่ 10.3 ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ระหว่างการเพาะเลี้ยงนั้นได้ทำการศึกษารูปร่างลักษณะของเซลล์สาหร่าย *S. platensis* CMU 2 โดยทำการส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์เป็นดังนี้

รูปที่ 18 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัม (S7) ต่ออาหาร 5 ลิตร

สาหร่ายมีลักษณะเป็นขดเกลียวท่อนสั้นๆไม่ยาวมากเป็นจำนวนมาก เนื่องมาจากมีการเกิดการขาดท่อน (Fragmentation) ลักษณะเกลียวนั้นเป็นเกลียวที่ไม่ขดแน่นมากดังเช่นในรูป สีที่พบเห็นเป็นสีเขียวเข้ม

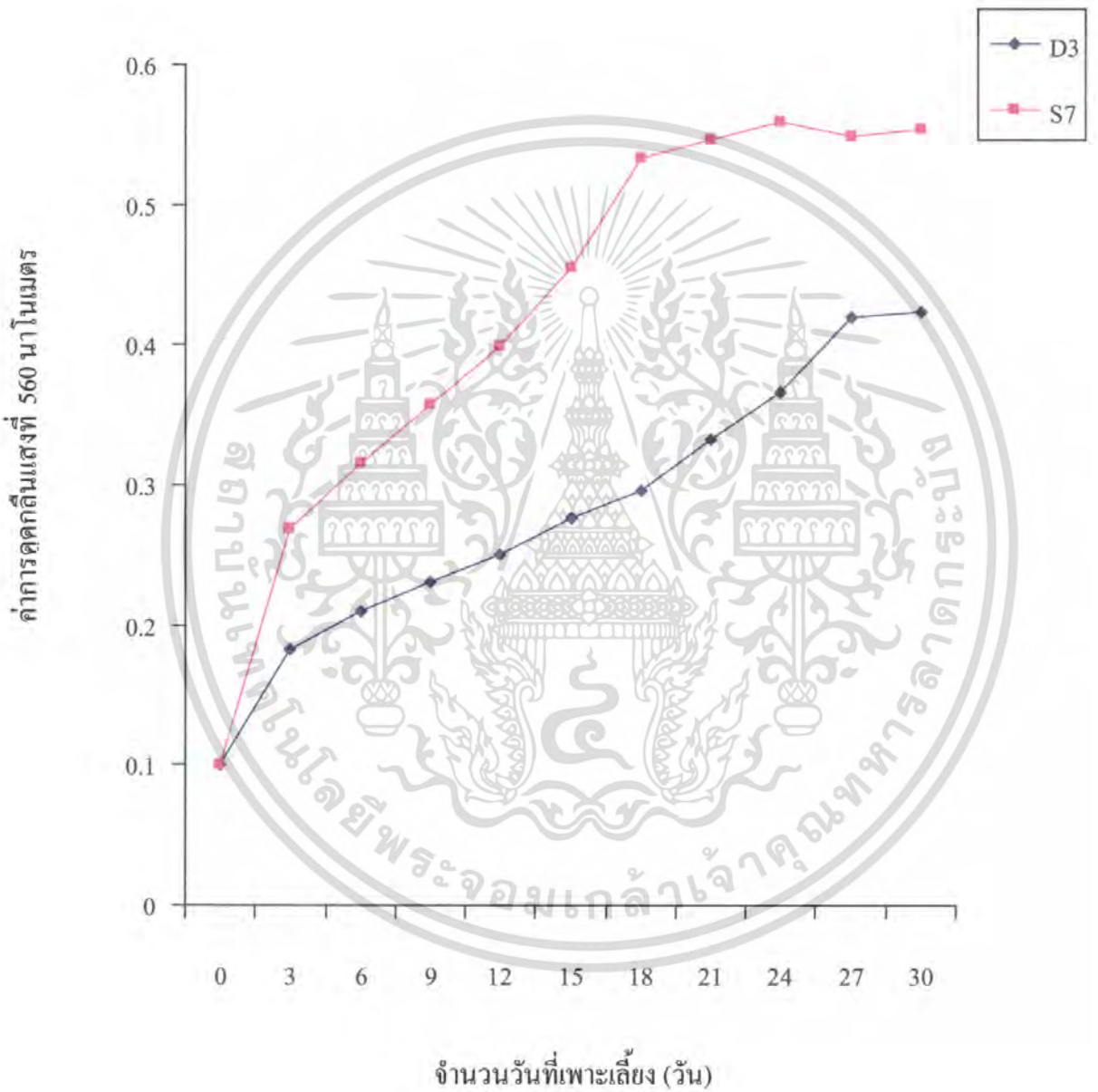
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 19 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัม (D3) ต่ออาหาร 5 ลิตร

สาหร่ายมีลักษณะเป็นเส้นขดเกลียวไม่แน่นมากเป็นเส้นสายที่ยาว ยาวกว่าสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร อย่างเห็นได้ชัด ลักษณะสีจะเห็นเป็น สีเขียวเข้ม ระหว่างทำการเพาะเลี้ยงจะทำการวัดการเจริญโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ทุกๆ 3 วันเป็นเวลาทั้งสิ้น 30 วัน จากการวัดการเจริญจะเห็นได้ว่า อาหาร Zarrouk ที่มีการผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตรนั้น ให้ผลการเจริญที่ดีกว่าอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากกากถั่วเหลืองนั้นได้มีการสกัดเอาโปรตีนออกไปจำนวนมาก จึงทำให้มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเซลล์เนื่องจากโปรตีนคือแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญเมื่อถูกสกัดออกไป ทำให้กากถั่วเหลืองที่จะใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญอาจจะไม่เพียงพอต่อการเจริญของเซลล์ แต่ถั่วเหลืองเมล็ดเต็มนั้นไม่ได้มีการสกัดโปรตีนออกไปเลย จึงทำให้ได้ไนโตรเจนมากพอที่จะนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายเอง และนอกจากนั้นจากการส่องใต้กล้องจุลทรรศน์จะเห็นได้ว่าสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร นั้นสาหร่ายมีการขาดท่อนเป็นจำนวนมากทั้งนี้เป็น เพราะมีปริมาณไนโตรเจนเพียงพอกับการขยายเซลล์ให้มากขึ้นทำให้ได้ปริมาณเซลล์ที่มากขึ้น เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงจึงทำให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงกว่า สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร และจากหลักการทำงานของเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectophotometer) นั้นเมื่อแสงที่ถูกปล่อยออกมากระทบกับเซลล์สาหร่ายที่มีลักษณะเป็นเส้นยาว เช่นเดียวกับสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร ทำให้แสงนั้นถูกหักเหกลับออกไปมากทำให้การอ่านค่าการดูดกลืนแสงได้ค่าน้อย แต่ทางกลับกันเมื่อแสงกระทบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

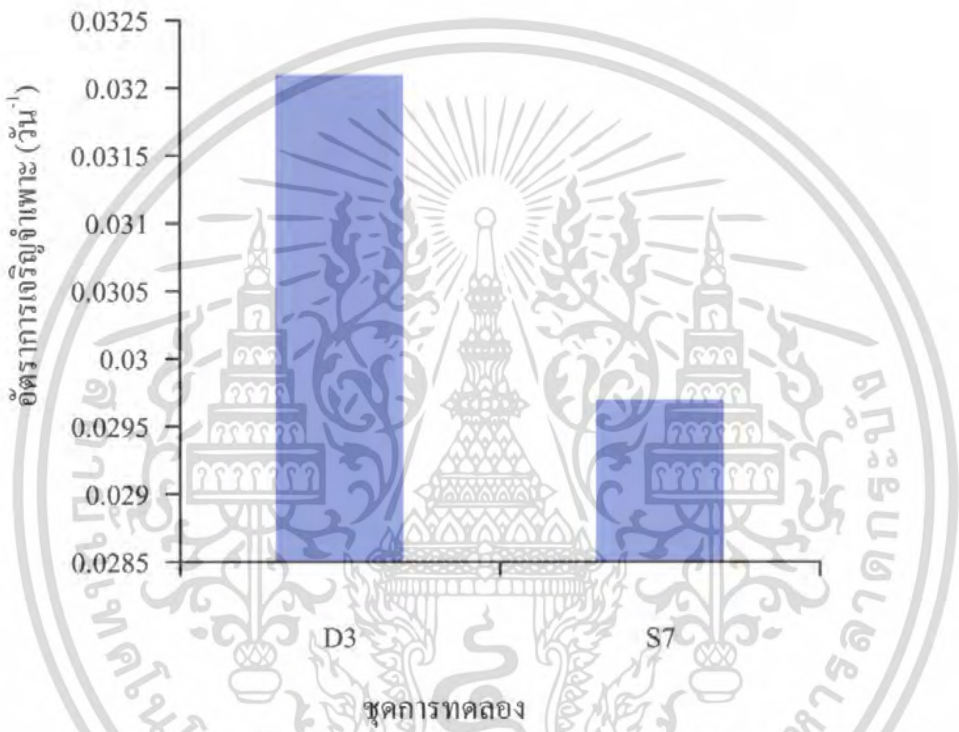
กับเซลล์สาหร่ายที่ลักษณะท่อนสั้นๆ เนื่องจากเกิดการแตกหักของตรัยโคม (Trichome) ดังเช่นในสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร ทำให้แสงเกิดการหักเหไม่มากนักทำให้เครื่องอ่านค่าการดูดกลืนแสงได้มาก



รูปที่ 20 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร(D3) และอาหารที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)

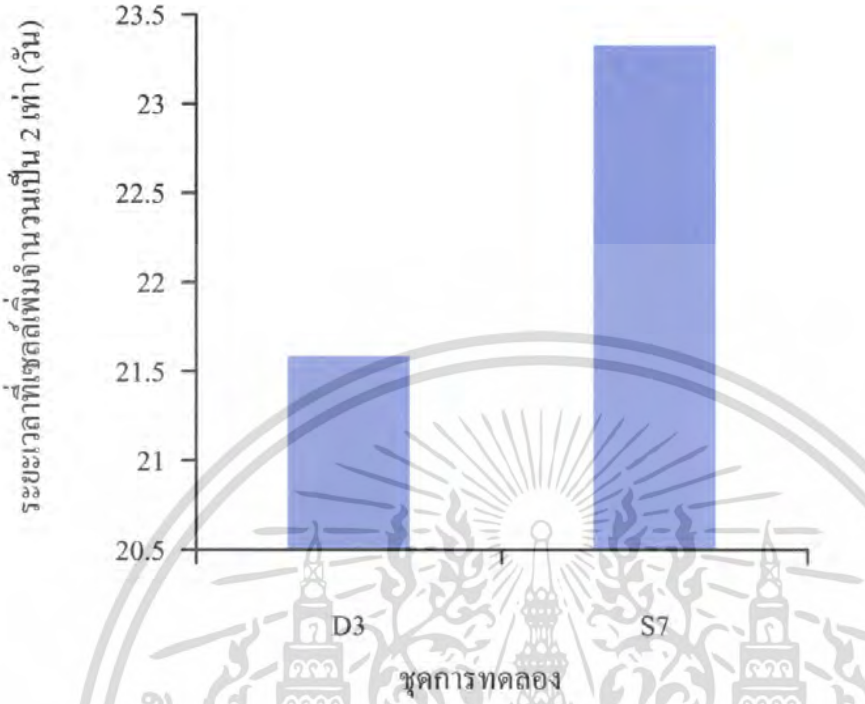
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 20 ตารางที่ 15 (ภาคผนวก ง) สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่มีการผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร นั้นมีการเจริญโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงได้สูงที่สุดคือ 0.554 ซึ่งสูงกว่าสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหร 5 ลิตร ซึ่งวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.424



รูปที่ 21 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific Growth Rate (μ)) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 22 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (วัน) (Doubling Time (t_d)) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)

จากรูปที่ 21 และรูปที่ 22 ตารางที่ 16 จะเห็นได้ว่าสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตรค่า Specific Growth Rate เป็น 0.0321 และมีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เป็น 21.5888 ส่วนสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตรนั้นทำให้สาหร่ายที่เจริญนั้นมีค่า Specific Growth Rate เป็น 0.0297 และมีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เป็น 23.3333 หลังจากทำการเพาะเลี้ยงจนครบ 30 วัน จึงได้เริ่มทำการสกัดเพื่อหาปริมาณรงควัตถุทั้งสามชนิด คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll)

จากการทำการศึกษาและทดลองนั้นหลังจากที่ได้เพาะเลี้ยงจนครบ 30 วันแล้วนำเซลล์มาสกัดนั้นได้ปริมาณคลอโรฟิลล์ดังนี้คือจากรูปที่ 23 ตารางที่ 10 สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร นั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ เอ ได้ 0.175 สามารถสกัดคลอโรฟิลล์ได้ 2.437 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตรนั้น สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.240 สกัดคลอโรฟิลล์ได้ปริมาณเท่ากับ 3.331 มิลลิกรัมต่อลิตร

รูปที่ 23 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 665 nm และปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ผสมกากถั่วเหลือง 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหารที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

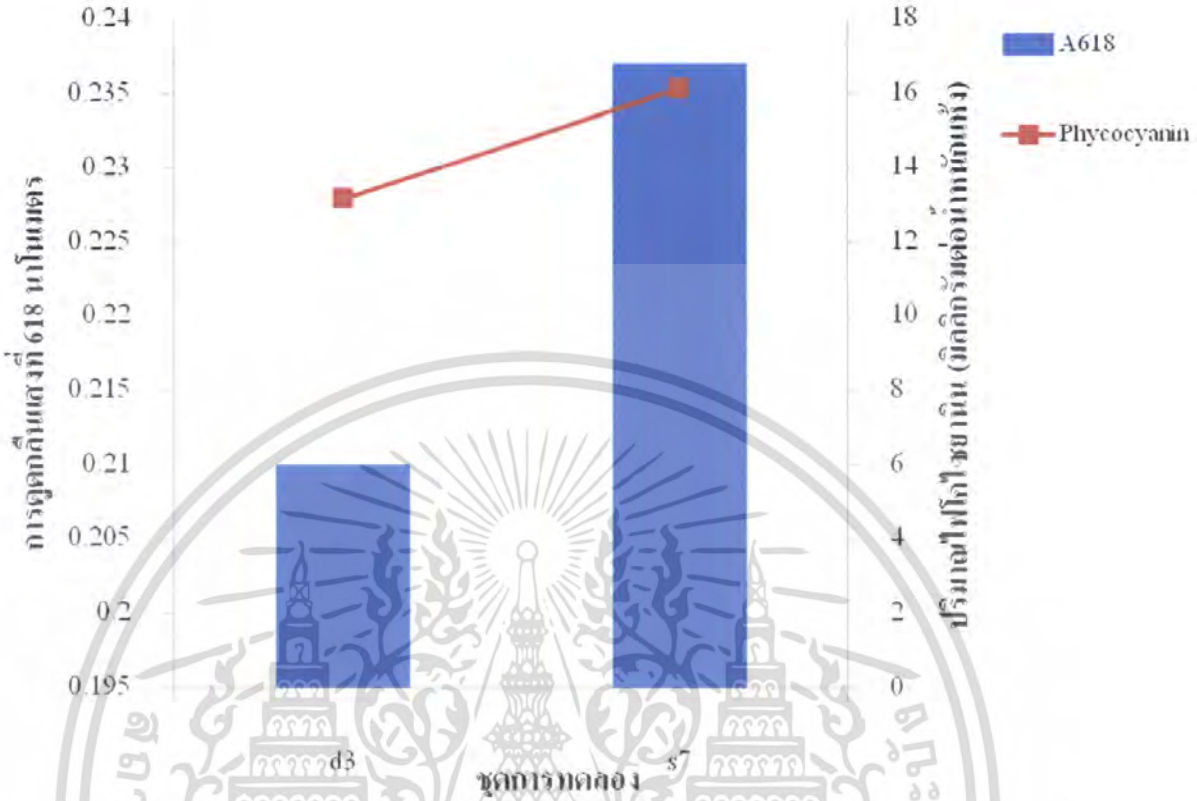
ผลของปริมาณคลอโรฟิลล์นั้นจะเห็นว่าทั้งสองชุดการทดลองนั้นให้ค่าที่ใกล้เคียงกันแต่ชุดการทดลองที่เป็นการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร นั้น จะให้ผลผลิตของคลอโรฟิลล์ที่สูงกว่าเล็กน้อย

1. ไฟโคไซยานิน (Phycocyanin)

จากการทำการศึกษาและทดลองนั้นหลังจากที่ได้เพาะเลี้ยงจนครบ 30 วันแล้วนำเซลล์มาสกัดนั้นได้ปริมาณไฟโคไซยานินดังนี้คือ จากรูปที่ 24 ตารางที่ 10 สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.210 สามารถสกัดไฟโคไซยานินได้เป็น 13.167 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนสาหร่ายที่อาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.237 สกัดไฟโคไซยานินได้ปริมาณเท่ากับ 16.136 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณไฟโคไซยานินที่สกัดได้นั้นในชุดอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร จะให้ปริมาณไฟโคไซยานินที่มากกว่าอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร เราทำการสกัดซ้ำเป็นจำนวน 3 ครั้งก็พบว่าทั้งสามครั้งนั้นให้ผลไปในแนวทางเดียวกันคือ อาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตรให้ผลการสกัดที่สูงกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร

มีการศึกษาพบว่าวิธีการสกัดไฟโคไซยานินในขณะที่เป็นเซลล์เปียก โดยการนำไปทำการแช่แข็งและการละลายเป็นวิธีที่ทำให้เราได้ปริมาณไฟโคไซยานินที่สูงที่สุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้สำหรับในการหาปริมาณไฟโคไซยานินด้วยวิธีหาจากน้ำหนักของเซลล์แห้ง เราอาจจะเสียปริมาณของไฟโคไซยานินบางส่วนไปกับความร้อน เนื่องจากไฟโคไซยานินเป็นสารประกอบจำพวกโปรตีนซึ่งอาจถูกทำลายได้เมื่อได้รับความร้อนในระดับหนึ่ง โดยการสูญเสียไฟโคไซยานินดังกล่าว อาจเกิดขึ้นจากการไวต่ออุณหภูมิสูงของไฟโคบิลิโซมที่เกาะอยู่บนชั้นของเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ (Sarada R., 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

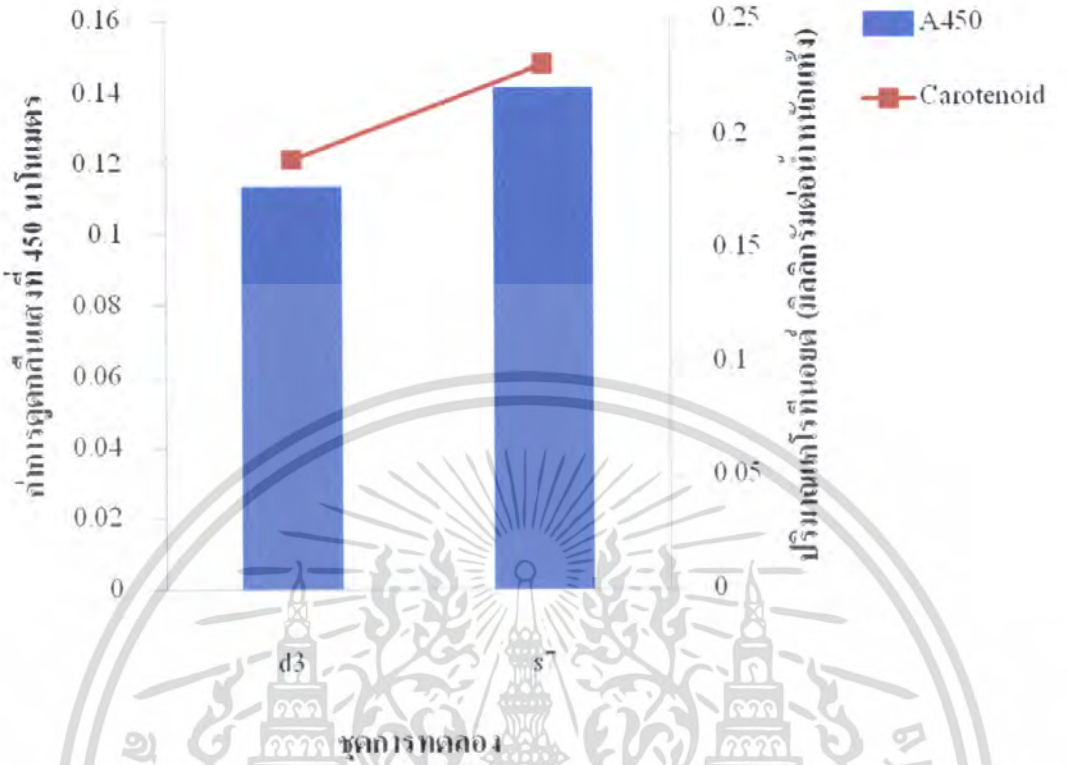


รูปที่ 24 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 618 nm และปริมาณไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ผสมกากถั่วเหลือง 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหารที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)

2. แคโรทีนอยด์ (Carotenoid)

จากการทำการศึกษาและทดลองนั้นหลังจากที่ได้เพาะเลี้ยงจนครบ 30 วันแล้วนำเซลล์มาสกัดนั้นได้ปริมาณแคโรทีนอยด์ดังนี้คือ จากรูปที่ 25 ตารางที่ 10 สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงของแคโรทีนอยด์ได้เป็น 0.177 สามารถสกัดแคโรทีนอยด์ได้ 0.121 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนในการเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เป็น 0.221 สกัดแคโรทีนอยด์ได้ปริมาณเท่ากับ 0.148 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จะเห็นว่าผลการสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้นั้นทั้งสองชุดการทดลองได้ปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 25 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 nm และปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง) ของสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ผสมกากถั่วเหลือง 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหารที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7)

ตารางที่ 10 ตารางแสดงปริมาณรงควัตถุของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารผสมกากถั่วเหลือง 3 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (D3) และอาหารผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร 5 ลิตร (S7) ซึ่งสกัดได้โดยใช้วิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงและสกัดโดยใช้การคำนวณ

ชนิดของรงควัตถุ	สภาวะทดสอบ			
	D3		S7	
	OD	รงควัตถุ	OD	รงควัตถุ
คลอโรฟิลล์ เอ	0.175	2.437(mg./l)	0.240	3.331(mg./l)
แคโรทีนอยด์	0.177	0.121(mg./gdw)	0.221	0.148(mg./gdw)
ไฟโคไซยานิน	0.210	13.167(mg./gdw)	0.237	16.136(mg./gdw)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเพื่อสกัดรงควัตถุได้แล้วจึงมีการศึกษางานวิจัยเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองและศึกษาการทดลองที่เกี่ยวข้องกับการสกัดรงควัตถุจากสาหร่าย *S. platensis* ของยุวดี (2545) พบว่า มีการศึกษาทำการเพาะเลี้ยงแบบไม่ต่อเนื่อง โดยใช้น้ำเสีย ร้อยละ 3 โดยเลี้ยงภายในบ่อเพาะเลี้ยงน้ำวน ซึ่งมีขนาดความจุประมาณ 2550 ลิตร ระดับน้ำในบ่อสูง 24 เซนติเมตร มีการกวนให้อากาศโดยมีการให้แสงธรรมชาติผ่านหลังคาพลาสติกโดยมีความเข้มแสงอยู่ที่ 6800 – 12000 ลักซ์ ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นเวลา 22 วัน จึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณรงควัตถุ คือ ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สามารถสกัดได้ 10.77 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณไฟโคไซยานินเป็น 53.55 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และปริมาณของแคโรทีนอยด์ได้เป็น 0.97 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งผลที่ของเราที่ได้นั้นมีค่าต่างจากงานศึกษาชิ้นนี้เนื่องจากการเพาะเลี้ยงของงานวิจัยชิ้นนี้นั้นเป็นการเพาะเลี้ยงในบ่อน้ำวนซึ่งมีอัตราการสัมผัสกับอากาศได้สูง นอกจากนั้นการที่ใช้ใบพัดเป็นตัวกวนให้อากาศนั้นทำให้สาหร่ายที่อยู่ทางด้านก้นบ่อสามารถวนขึ้นมาเพื่อรับอากาศและได้สัมผัสกับแสงอย่างทั่วถึงอีกด้วย นอกจากนั้นผลของความสูงของปริมาณอาหารในบ่อเลี้ยงก็มีผลต่อการเจริญกล่าวคือ การเพาะเลี้ยงของเราเป็นการเลี้ยงในโหลแก้วซึ่งปริมาณของอาหารนั้นจะสูงทำให้สายพ่นอากาศกวนน้ำจากทางด้านล่างขึ้นมาด้านบนได้ไม่ดีพอทำให้เซลล์ที่อยู่ด้านล่างนั้นไม่สามารถขึ้นมารับออกซิเจนได้อย่างเพียงพอ เรื่องของอุณหภูมิก็เป็นเรื่องหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเนื่องจากช่วงเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยงนั้นเป็นช่วงฤดูหนาว มีอากาศเย็นทำให้อุณหภูมิในห้องทดลองลดลงจากเดิม 30 องศาเซลเซียสลงลงเหลือประมาณ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สาหร่ายไม่เคยเจริญมาก่อนที่ทำการศึกษา จึงทำให้สาหร่ายเกิดการปรับตัวจึงส่งผลให้เกิดการผลิตรงควัตถุได้น้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลวิจัย

5.1.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* CMU 2 ด้วยกากถั่วเหลือง (defatted soybean) และถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม (soybean) ในระดับห้องปฏิบัติการแบบ batch culture

เมื่อนำสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 นำมาทำการเพาะเลี้ยงในขวดโหลแก้วโดยแบ่งเป็น 10 ชุดการทดลองนั้นสรุปได้ว่า สาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตรนั้นมีค่าการดูดกลืนแสงคือ 0.31 และเมื่อนำมาหาอัตราการเจริญจำเพาะและค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่าพบว่ามีอัตราการเจริญสูงที่สุดคือได้เท่ากับ 0.0592 และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า 11.7060 สาหร่ายที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เป็น 0.333 มีอัตราการเจริญจำเพาะและค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่าเป็น 0.0531 และ 13.0508 ตามลำดับ ซึ่งให้ผลที่สูงกว่าการเจริญของสาหร่ายในอาหาร Zarrouk ปกติซึ่งให้ผลโดยสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 0.282 มีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น 0.0444 ค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่ากับ 15.6081 แสดงให้เห็นว่าถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันแล้วนั้น ทำให้สาหร่ายมีการเจริญที่ดีขึ้นจากการใช้การเพาะเลี้ยงในอาหาร Zarrouk เพียงอย่างเดียว จากนั้นจึงทำการเพาะเลี้ยงเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ รงควัตถุจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีการผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร และ อาหารที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร

5.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในสาหร่าย

สาหร่าย *S. platensis* CMU 2 เมื่อนำมาทำการเพาะเลี้ยงในขวดโหลแก้วโดยใช้ถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบ batch culture ในระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้สาหร่ายเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 0.1 พีเอชเท่ากับ 10.3 มีการให้อากาศโดยใช้เครื่องกวนอากาศ 24 ชั่วโมง ใช้แสงจากธรรมชาติร่วมกับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้จริง 571 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณรงควัตถุคือ คลอโรฟิลล์ 3.331 มิลลิกรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิตร ไฟโคไซยานิน 16.136 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และพบแคโรทีนอยด์เท่ากับ 0.148 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนสาหร่าย *S. platensis* CMU 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยผสมสาหร่ายเริ่มต้นที่ 0.1 ลงในอาหารที่มีการผสมระหว่างกากถั่วเหลือง 3กรัมและอาหาร Zarrouk 5 ลิตร ทำการเพาะเลี้ยงในโหลแก้ว ปรับพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 10.3 มีการให้อากาศโดยใช้เครื่องกวนอากาศ 24 ชั่วโมง ใช้แสงจากธรรมชาติร่วมกับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงครบ 30 วัน สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้จริง 564 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคลอโรฟิลล์ 2.437 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟโคไซยานิน 13.167 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และพบแคโรทีนอยด์เท่ากับ 0.121 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

ลักษณะเซลล์ที่เจริญในอาหาร Zarrouk ที่ผสมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตรนั้น มีลักษณะเป็นท่อนที่สั้นกว่าทำให้เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงนั้นให้ค่าที่สูงกว่า สาหร่ายที่เจริญในอาหารที่ผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3 กรัมต่ออาหาร Zarrouk 5 ลิตร

5.2 ข้อเสนอแนะ

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าจากการทดลองนี้การนำถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วนไม่ได้มีการสูญเสียสารอาหารเช่น โปรตีนซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สามารถใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. platensis* ได้นั้นให้ผลการเจริญที่ดีกว่าการใช้กากถั่วเหลืองซึ่งผ่านกระบวนการนำน้ำมันออกไปทำให้เกิดการสูญเสียโปรตีน ซึ่งใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการเจริญของสาหร่ายทั้งในด้านของปริมาณเซลล์และรงควัตถุ ถึงแม้ผลการทดลองที่ออกมานั้นอาจไม่ดีเท่าการใช้แหล่งไนโตรเจนอื่น ๆ เช่น จากน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมหรือจากมูลสัตว์ ซึ่งอาจมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์หรือสารเคมีตกค้าง แต่การทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงการนำของจากธรรมชาติซึ่งไม่ใช่ของเสีย มาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนซึ่งเป็นทางเลือกที่น่าสนใจสำหรับผู้บริโภคที่จะมั่นใจในความสะอาดไม่ปนเปื้อนหรือมีสิ่งตกค้างจากการเพาะเลี้ยงด้วยน้ำทิ้งจากโรงงาน หรือมูลสัตว์ที่นำมาใช่ร่วมในการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ การเจริญดี, กุลพัฒน์ คมกฤส, สุมาลี ปานทอง. 2550. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจากน้ำพุร้อนบริเวณภาคเหนือของประเทศไทย. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กมลกาญจน์ จิญกาญจน์. 2548. การหาความไม่แน่นอนในการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารในกากถั่วเหลือง นม และผลิตภัณฑ์นม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา สุขาภิบาลอาหาร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กาญจนา พงษ์พิษณุ. 2539. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) ในน้ำทิ้งจากโรงงานขนมจีนในสภาพกลางแจ้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

จงกช เจริญมณีทรัพย์, วนิดา ชัยรัตน์, เสาวนีย์ แก้วทอง. 2547. การศึกษาการเจริญและการสกัดกรดโดยเชื้อ *Bifidobacterium lactis* Bb12, *Lactobacillus bugalicus* TISTR 451 และ *Streptococcus thermophilus* BCC 5366 ในนมสดพร่องมันเนยที่มีส่วนผสมของนมถั่วเหลืองและน้ำผึ้ง. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จบเจน ทาสีลา. 2537. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง *(Spirulina platensis)* ในน้ำกากถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกชีววิทยา. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ปาวลี ศรีสุขสมวงศ์ และยุวดี พีรพรพิศาล. 2550. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ด้วยน้ำกากส่าเหล้าในระบบบ่อเพาะเลี้ยงน้ำวน. การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 3 วันที่ 21-23 มีนาคม 2550 ณ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปิยสิทธ์ ศาสตร์พันธุ์. 2536. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเกลียวทอง *(Spirulina platensis)* ในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งทำขนมจีน. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต เอกวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

รัตนา ชัยกล้าหาญ, มารศรี เรืองจิตชัชวาล, บุษยา บุนนาค และมรกต ตันติเจริญ. 2540. การเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* ด้วยน้ำหมักมูลไก่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเชียร จารย์รัตน์. 2539. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวและเส้นขนมจีนผสมสารอนินทรีย์บางชนิด. วิทยานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2544. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินา เอกสารประกอบการฝึกอบรมในโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ระหว่างเดือนมิถุนายน - กันยายน 2544. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และมหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ยุวดี พีรพรพิศาล, อัญชลี เขื่อนเพชร, วีระพันธ์ เกียรติภักดี, ศักดา พรึงลำภู, สาคร พรหมขัติแก้ว. 2545. การศึกษาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ระดับนำร่องจากน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วจากระบบก๊าซชีวภาพฟาร์มเลี้ยงสุกร ปีที่ 2. รายงานการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมศักดิ์ วรคามิน. 2547. *Food of the future*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แพร่พิทยา

สุมาลี ดุลยอนุกิจ. 2535. ผลของระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในสูตรอาหาร Zarrouk ต่อการเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina* sp.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง). คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เสกสรร ถารัตน์. 2537. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) ในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตขนมจีนผสมกับอาหารสูตร Zarrouk ดัดแปลง. วิทยานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกชีววิทยา. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

Bennet J. and Bogorad L. 1973. Complementary chromatic adaptation in fialamentous blue-green alga. *Journal of cell biology*, 58 : 419-438.

Colla L.M., Reinehr C.O., Reichert Carolina and Costa J.A.V. 2005. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource technology*. 98: 1489-1493.

Danesi E.D.G., Rangel-Yagui C. De O., Carvalho J.C.M. and Sato S. 2002. Aninvestigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. *Biomass and Bioenergy*. 23: 261-269.

Eugenia J. Olguin, Sonia Galicia, Ofelia Angulo-Guerrero and Elizabeth Hernandez. 2000. The effect of low light flux and nitrogen deficiency on the chemical composition of *Spirulina* sp. (*Arthrospira*) grown on digest pig waste. *Bioresource Technology*. 23: 19-24.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

KMUTT.2001. Laboratory instruction:A workshop on mass cultivation of *Spirulina*, January 8-11, 2001. King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok.

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

Rangel-Yagui C.O., Danesi E.D.G., Monteiro de carvalho J.C. and Sato S. 2003. Chlophyll production from *Spirulina platensis* : cultivation with urea addition by fed-batch process. *Bioresource technology*. 92: 133-141.

Sanchez-Luna Luis D., Converti Attilio, Tonini G.C., Sato S. and Carvalho J.C.M. 2004. Continuous and pulse feedings of urea as a nitrogen source in fed-batch cultivation of *Spirulina platensis*. *Aquaculture engineering*. 31: 237-245.

Sarada R., Pillai M.G. and Ravishankar G.A., 1999. Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. *Process Biochemistry*. 34: 795-801.

Seshadri C.V., Thomas S., Manoharan R., Jeeji Bai N. and Raja G. 1980. Mono graph series on: Engineering of Photosynthetic systems.

Soletto D., Binaghi L., Lodi A., Carvalho J.C.M. and Converti A. 2004. Batch and fed-batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. *Aquaculture*. 243: 217-224.

Torre Paolo, Sassano C.E.N., Sato S., Attilio Converti, Luiz A. Gioielli and Carvalho J.C.M.. 2003. Fed-batch addition of urea for *Spirulina platensis* cultivation Thermodynamics and energy balances. *Enzyme and Microbial technology*. 33: 698-707.

Venkataraman L.V.1983. Bluegreen alga: *Spirurina*. Mysore: Central Food Technological Reseatch Institute.

Vonshak A. 1997. Appendics. In Vonshak,A. (Ed.), *Spirulina platensis* (*Arthrospira*) // Physiology, Cell-biology and Biotechnology. London: Taylor and Francis Ltd.

Vonshak A. and Tomaselli L. 2000. Arthrospira (Spirulina): Systematics and Ecophysiology. In whitton B.A. and potts M. (Eds.). The Ecology of Cyanobacteria their diversity in time and space. Nethherlands: Kluwer Academic Publishers.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http://203.130.156.84/WebTVO/soybeans_th.html

http://jaideedee.com/Templates/Soypower.htm

http://ssnet.doae.go.th/ssnet2/Library/library/html/detail/afood/afood22.htm,

http://www.be2hand.com/scripts/shop.php?user=puijd&do=view&id=11684,

http://www.dld.go.th/nutrition/Nutrition_Knowlage/ARTICLE/ArtileP.htm - 64k

http://www.doa.go.th/pl_data/SOYBEAN/4tech/tec03.html

http://www.feedusers.com/th/viewnews.php?ArtID=40

http://www.phyathai-sriracha.com/indexaskdoctor_anyact.php?newid=17&ckid=1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร Zarrouk's mediu	**กรัมต่อลิตร**
$NaHCO_3$	16.80
NaNO3	2.50
K_2HPO_4	0.50
K_2SO_4	1.00
$MgSO_4.7H_2O$	0.20
NaCl	1.00
$CaCl_2.2H_2O$	0.04
$FeSO_4.7H_2O$	0.01
EDTA	0.08
A_5 Solution	1.00 ml/l
B_6 Solution	1.00 ml/l

1. A_5 Solution (g/l):	H_3BO_4	2.86
	$MnCl_2.4H_2O$	1.08
	$ZnSO_4.7H_2O$	0.22
	MoO3	0.01
	$CuSO_4.5H_2O$	0.08
2. B_6 Solution (g/l):	NH_4VO_3	22.90
	$NiSO_4.7H_2O$	47.80
	Na_2WO_4	17.90
	$Ti(SO_4)_3$	40.00
	$CO(NO_3)_2.6H_2O$	4.40

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร แล้วปรับพีเอชเป็น 10 ± 1

หมายเหตุ ถ้าเป็นอาหารแข็งให้เติมวุ้น(Agar)ร้อยละ 1.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (Defatted soybean)

1. ชั่งน้ำหนักกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 3, 5 และ 7 กรัมต่อ 5 ลิตร แช่ไว้ในอาหารสูตร Zarrouk ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ประมาณ 30 นาที
2. นำมาปั่นด้วยเครื่องปั่น (bender)
3. กรองด้วยผ้าขาวบางใช้ส่วนที่เป็นของเหลวที่กรองได้ผสมลงในอาหารสูตร Zarrouk ในโถแก้วให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 5 ลิตร

การเตรียมถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม (Soybean)

1. ชั่งน้ำหนักเมล็ดถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3, 5 และ 7 กรัมต่อลิตร แช่ไว้ในอาหารสูตร Zarrouk ปริมาตร 10 ประมาณ 1 ชั่วโมง
2. นำมาปั่นด้วยเครื่องปั่น (bender)
3. กรองด้วยผ้าขาวบางใช้ส่วนที่เป็นของเหลวที่กรองได้ผสมลงในอาหารสูตร Zarrouk ในขวดโหลแก้วให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 5 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การตรวจวัดการเจริญของสาหร่าย

นับจำนวนเส้นสายแบบ Whole count (ยุวดี, 2545)

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปต ขนาด 20 ไมโครลิตร
2. กล้องจุลทรรศน์
3. สไลด์ และกระจกปิดสไลด์

วิธีการ

1. ปิเปตสาหร่ายในน้ำเลี้ยงที่ผสมกันดีแล้วมา 0.002 ml (20 ไมโครลิตร)
2. หยดลงบนสไลด์ นับจำนวนเส้นสายทั้งหมด

วัดค่าการดูดกลืนแสง

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
2. คิวเวต

วิธีการ

1. เปิดเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงตั้งค่าความยาวคลื่นไว้ที่ 560 nm
2. นำตัวอย่างสาหร่ายที่จะวัดค่าใส่ลงในคิวเวต
3. ทำการวัดและจดค่าการดูดกลืนแสง

การหาน้ำหนักเซลล์แห้งสาหร่าย (Vonshak, 1997)

วิธีการ

1. อบกระดาษกรอง GF/C ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งน้ำหนักกระดาษคงที่ นำไปวางให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนักกระดาษกรองนั้น (A)
2. กรองสาหร่ายปริมาตร 20-25 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรอง GF/C ที่อบแห้งแล้วจากข้อ 1 หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำที่เป็นกรดพีเอชเท่ากับ 4 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เพื่อล้างเกลือที่ปนมากับอาหารเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาออกไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. นำกระดาษกรอง GF/C ที่กรองสาหร่ายแล้วมาอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ แล้วนำกระดาษกรองไปวางให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (B)

คำนวณน้ำหนัก

น้ำหนักกระดาษกรอง+น้ำหนักสาหร่าย = A

น้ำหนักกระดาษกรอง = B

$$\text{น้ำหนักเซลล์สาหร่ายแห้ง (mg/l)} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{ปริมาตรสาหร่ายที่กรอง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตารางที่ 11 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองไร่ทิพย์ต่อ 100 กรัม (ถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม : Soybean)

พลังงาน	411 กิโลแคลลอรี่
ความชื้น	11.1 กรัม
โปรตีน	34.0 กรัม
ไขมัน	18.7 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	26.7 กรัม
เส้นใยอาหาร	4.7 กรัม
เถ้า	4.8 กรัม
แร่ธาตุ	
แคลเซี่ยม	245 มิลลิกรัม
เหล็ก	500 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	10.0 มิลลิกรัม
วิตามิน	
ไทเอมิน	0.73 มิลลิกรัม
ไรโบฟลาวิน	0.19 มิลลิกรัม
ไนอะซิน	1.5 มิลลิกรัม
วิตามิน ซี	14 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANALYSIS REPORT

จากกากถั่วเหลือง (Defatted soybean)

ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด

Analysis of : กากถั่วเหลืองเมล็ดนอก Sample No. TVOP 140/2007

Delivery : For Sample

Analysis Date : June 25, 2007

Test Method : According to A.O.C.S (American oil Chemists 'Society

ตารางที่ 12 ผลวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (Defatted Soybean)

Analysis		Result
1. Moisture	%	11.70
2. Oil Content	%	1.29
3. Protein	%	45.41
4. Urease Activity	ΔpH	0.08
5. Ash	%	6.86
6. Crude Fiber	%	6.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ตารางที่ 13 การเจริญของ *Spirulina platensis* CMU 2 ในสภาวะต่างๆโดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร

วัน	สภาวะที่ทดสอบ									
	Zarr.	A0.56	A1.1	A1.7	D 3	D 5	D 7	S 3	S 5	S 7
0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
3	0.132	0.17	0.173	0.15	0.201	0.181	0.177	0.156	0.171	0.183
6	0.133	0.173	0.171	0.163	0.192	0.158	0.179	0.139	0.17	0.174
9	0.166	0.186	0.189	0.185	0.195	0.176	0.197	0.183	0.194	0.184
12	0.179	0.2	0.218	0.217	0.184	0.168	0.203	0.166	0.186	0.209
15	0.178	0.203	0.213	0.224	0.243	0.187	0.225	0.183	0.214	0.222
18	0.206	0.235	0.204	0.26	0.253	0.192	0.246	0.168	0.235	0.272
21	0.254	0.252	0.239	0.306	0.292	0.257	0.281	0.198	0.279	0.305
24	0.244	0.281	0.327	0.252	0.283	0.265	0.315	0.163	0.3	0.307
27	0.27	0.294	0.263	0.334	0.31	0.28	0.328	0.174	0.379	0.331
30	0.282	0.3	0.286	0.366	0.307	0.296	0.324	0.188	0.386	0.333

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ Zarr. หมายถึง Zarrouk

A0.56 หมายถึง แอมโมเนียมซัลเฟต 0.56 mM

A1.1 หมายถึง แอมโมเนียมซัลเฟต 1.1 mM

A1.7 หมายถึง แอมโมเนียมซัลเฟต 1.7 mM

D3 หมายถึง ใช้กากถั่วเหลือง 3 กรัมต่อ 5 ลิตร

D5 หมายถึง ใช้กากถั่วเหลือง 5 กรัมต่อ 5 ลิตร

D7 หมายถึง ใช้กากถั่วเหลือง 7 กรัมต่อ 5 ลิตร

S3 หมายถึง ใช้ถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 3 กรัมต่อ 5 ลิตร

S5 หมายถึง ใช้ถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 5 กรัมต่อ 5 ลิตร

S7 หมายถึง ใช้ถั่วเหลืองเมล็ดเต็ม 7 กรัมต่อ 5 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 ค่าลอการิทึมการเจริญของ *S. platensis* CMU 2 ในสภาวะต่างๆ โดยใช้วิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร

วัน	สภาวะที่ทดสอบ									
	Zarr.	A0.56	A1.1	A1.7	D 3	D 5	D 7	S 3	S 5	S 7
0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	0.8794	0.7696	0.7620	0.8239	0.7520	0.7423	0.6968	0.8069	0.7374	0.7670
6	0.8761	0.7620	0.7670	0.7878	0.7471	0.8013	0.7167	0.8570	0.7595	0.7696
9	0.7799	0.7305	0.7235	0.7328	0.7055	0.7545	0.7100	0.7375	0.7352	0.7121
12	0.7471	0.6990	0.6615	0.6635	0.6925	0.7747	0.7352	0.7799	0.6799	0.7305
15	0.7496	0.6925	0.6716	0.6498	0.6478	0.7167	0.6144	0.7375	0.6536	0.6696
18	0.6861	0.6289	0.6904	0.5850	0.6091	0.7167	0.5969	0.7747	0.5654	0.6289
21	0.5952	0.5986	0.6216	0.5143	0.5513	0.5901	0.5346	0.7033	0.5157	0.5544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 (ต่อ)

วัน	สภาวะที่ทดสอบ									
	Zarr.	A0.56	A1.1	A1.7	D 3	D 5	D 7	S 3	S 5	S 7
24	0.6126	0.5513	0.4855	0.5986	0.5017	0.5768	0.5482	0.7878	0.5229	0.5129
27	0.5686	0.5317	0.5800	0.4763	0.4841	0.5528	0.5086	0.7595	0.4802	0.4214
30	0.5498	0.5229	0.5436	0.4365	0.4895	0.5287	0.5129	0.7258	0.4776	0.4134

หมายเหตุ ค่าที่แสดงผลในตารางเป็นค่าติดลบ (-)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของ *S. platensis* CMU 2 ในสภาวะต่างๆ

วัน	สภาวะที่ทดสอบ									
	Zarr.	A0.56	A1.1	A1.7	D 3	D 5	D 7	S 3	S 5	S 7
0	10.3	10.3	10.3	10.3	10.3	10.3	10.3	10.3	10.3	10.3
3	10.49	10.51	10.52	10.46	10.52	10.39	10.44	10.44	10.28	10.42
6	10.26	10.49	10.54	10.46	10.27	10.17	10.22	10.41	10.28	10.36
9	10.51	10.52	10.55	10.48	10.54	10.45	10.5	10.47	10.34	10.46
12	10.59	10.53	10.56	10.51	10.54	10.49	10.5	10.55	10.46	10.5
15	10.52	10.56	10.59	10.54	10.58	10.55	10.46	10.45	10.39	10.45
18	10.61	10.58	10.62	10.57	10.61	10.55	10.59	10.59	10.55	10.58
21	10.47	10.45	10.48	10.42	10.5	10.46	10.47	10.46	10.42	10.42
24	10.6	10.62	10.61	10.59	10.58	10.48	10.52	10.48	10.47	10.43
27	10.52	10.52	10.55	10.5	10.56	10.47	10.51	10.49	10.48	10.47
30	10.53	10.54	10.56	10.52	10.6	10.5	10.54	10.5	10.5	10.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 การเจริญของ *S. platensis* CMU 2 ในสภาวะต่างๆ โดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร

วันที่ทดลอง	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560นาโนเมตร		ค่าลอกาลิทึม	
	D3	S7	D3	S7
0	0.1	0.1	-1	-1
3	0.183	0.269	-0.738	-0.570
6	0.210	0.316	-0.678	-0.500
9	0.231	0.358	-0.636	-0.446
12	0.251	0.399	-0.600	-0.399
15	0.276	0.455	-0.559	-0.342
18	0.296	0.533	-0.529	-0.273
21	0.333	0.546	-0.478	-0.263
24	0.366	0.560	-0.437	-0.252
27	0.420	0.549	-0.377	-0.260
30	0.424	0.554	-0.373	-0.256

ตารางที่ 17 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate (μ)) และค่าระยะเวลาที่เซลล์แบ่งตัวเป็น 2 เท่า (doubling time (t_d)) ที่คำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของ *S. platensis* CMU 2 ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ

สภาวะที่ทดสอบ	Range of date	μ_{max} (day^{-1})	t_d (day)
D3	3 – 18	0.0321	21.5888
S7	3 – 27	0.0297	23.3333

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้