

ผลของแสง LED ต่อชีวมวลและรงควัตถุของ *Spirulina platensis*



ณัฐกมล ชะโลมกลาง

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

กรกฎาคม 2566

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

ผลของแสง LED ต่อชีวมวลและรงควัตถุของ *Spirulina platensis*



ณัฐกมล ชะโลมกลาง

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

กรกฎาคม 2566

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

EFFECTS OF LED LIGHTING ON BIOMASS AND PIGMENTS OF *SPIRULINA PLATENSIS*



NATTHAKAMOL CHALOMKLANG

A Thesis Submitted to University of Phayao
in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Master of Science Degree in Environmental Science
July 2023

Copyright 2023 by University of Phayao

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของแสง LED ต่อชีวมวลและรงควัตถุของ *Spirulina platensis*

ของ ญัฐกมล ชะโลมกลาง

ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

ของมหาวิทยาลัยพะเยา

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ดร. ทัดพร คุณประดิษฐ์)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

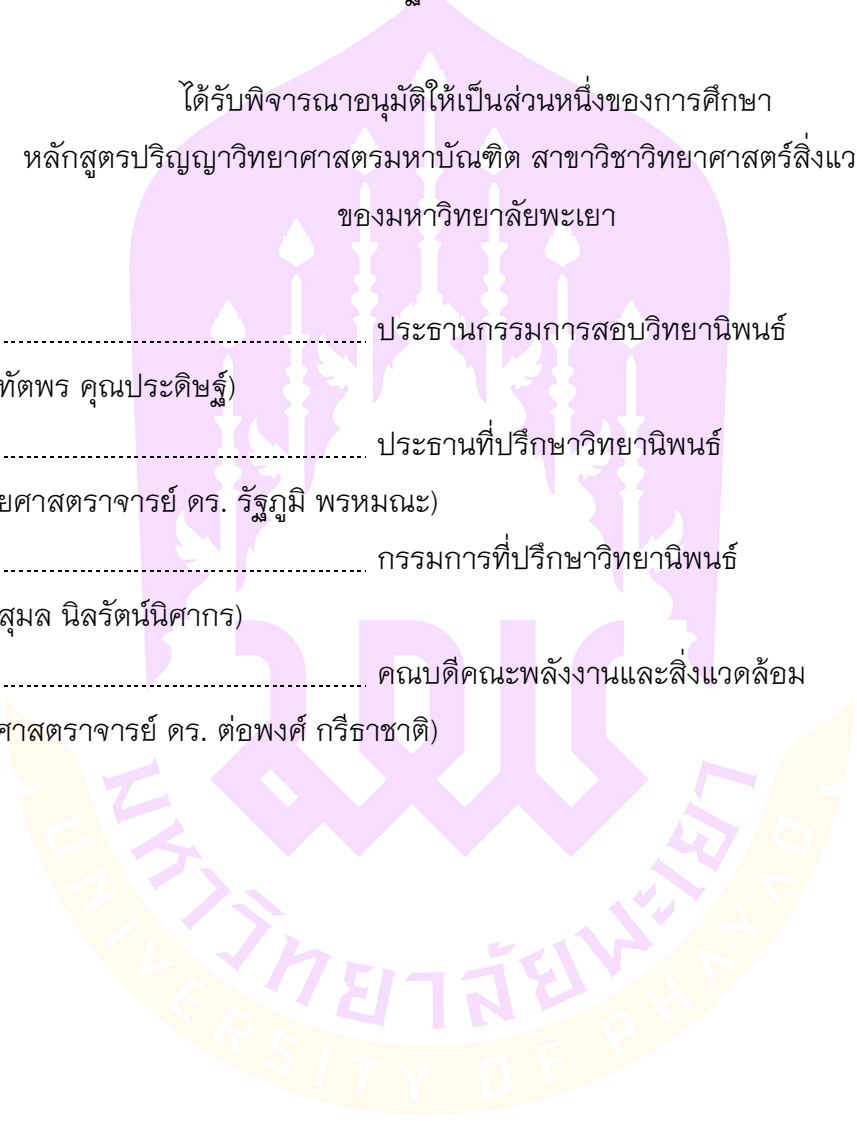
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิมลภูมิ พรหมณะ)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ดร. สุมล นิลรัตน์นิศากร)

..... คณบดีคณะพลังงานและสิ่งแวดล้อม

(รองศาสตราจารย์ ดร. ต่อพงศ์ กวีธาชาติ)



- เรื่อง:** ผลของแสง LED ต่อชีวมวลและรงควัตถุของ *Spirulina platensis*
- ผู้วิจัย:** ณัฐกมล ชะโลมกลาง, วิทยานิพนธ์: วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม), มหาวิทยาลัยพะเยา, 2566
- อาจารย์ที่ปรึกษา:** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัฐภูมิ พรหมณะ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.สุมล นิลรัตน์นิศากร
- คำสำคัญ:** สาหร่าย, *Spirulina platensis*, แสง LED

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลของการเจริญเติบโตของ *Spirulina platensis* เส้นสายเกลียวและเส้นสายตรง ภายใต้แสงจากหลอดแอลอีดีแสงสีแดงกับแสงสีน้ำเงินและแสงสีขาว ภายใต้สภาวะความเป็นกรด-เบส 10 โดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 21 วัน จากการทดลองพบว่าค่าดูดกลืนแสงของ *Spirulina platensis* เส้นสายเกลียวภายใต้แสงสีแดงมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในวันที่ 21 เท่ากับ 1.573 ± 0.005 ในขณะที่เส้นสายตรงภายใต้แสงสีแดงเท่ากับ 1.095 ± 0.003 ซึ่งมากกว่าเส้นสายเกลียวและเส้นสายตรงภายใต้แสงสีขาว 0.756 ± 0.008 และ 0.746 ± 0.011 ตามลำดับ ในขณะที่แสงสีน้ำเงินเส้นสายตรงและเส้นสายเกลียวมีการเจริญสูงสุดในวันที่ 21 มีค่าเฉลี่ย 0.467 ± 0.009 และ 0.356 ± 0.009 ตามลำดับ เมื่อนับจำนวนเส้นสายพบว่าภายใต้แสงสีแดงเส้นสายตรง มีจำนวนเส้นสายมากที่สุดในวันที่ 21 ซึ่งมีเส้นสาย 48 ± 4.933 ในขณะที่เส้นสายเกลียวซึ่งมีเส้นสาย 31 ± 3.055 ซึ่งมากกว่าเส้นสายตรงและเส้นสายเกลียวภายใต้แสงสีขาว 26 ± 2.646 และ 21 ± 2.646 ตามลำดับ ในขณะที่แสงสีน้ำเงินเส้นสายตรงและเส้นสายเกลียวมีการเจริญสูงสุดที่ 17 ± 2.517 และ 15 ± 1.528 ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุของ *Spirulina platensis* พบว่าแสงสีแดงทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณไฟโคไซยานินมากกว่าแสงสีน้ำเงินและแสงสีขาว ในขณะที่กลุ่มแคโรทีนอยด์จะพบว่ามีมากที่สุดในแสงสีน้ำเงิน สรุปได้ว่าการเพาะเลี้ยงภายใต้ LED แสงสีแดงมีประสิทธิภาพในการเพิ่มชีวมวล, คลอโรฟิลล์ และ ไฟโคไซยานิน ในขณะที่แสงสีน้ำเงินสามารถเพิ่มปริมาณแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นทางเลือกในการพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis*

Title: EFFECTS OF LED LIGHTING ON BIOMASS AND PIGMENTS OF *SPIRULINA PLATENSIS*
Author: NATTHAKAMOL CHALOMKLANG, Thesis: M.S. (Environmental Science), University of Phayao, 2023
Advisor: Assistant Professor Dr. Rattapoom Prommana Co–advisor Dr.SUMOL NILRATNISAKON
Keywords: Algae, *Spirulina platensis*, LED light

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the growth effect between the spiral type and the straight type of *Spirulina platensis* cultured under LED red light, LED blue light, and LED white light at pH 10 for 21 days. As a result, it was found that the absorbance of the spiral type of *Spirulina platensis* cultured under LED red light on day 21 was the highest at 1.573 ± 0.005 , while the straight type cultured under LED red light was 1.095 ± 0.003 , which was higher than that of the spiral type and straight type cultured under LED white light, which was 0.756 ± 0.008 and 0.746 ± 0.011 , respectively. The straight and spiral types cultured under LED blue light showed the highest growth on day 21, which were 0.467 ± 0.009 and 0.356 ± 0.009 , respectively. As the result of counting filament, it was found that under red light, the straight types had the highest number of types on day 21, which had 48 ± 4.933 while the spiral types had 31 ± 3.055 . which was higher than that of the spiral type and straight type cultured under LED white light, which were 26 ± 2.646 and 21 ± 2.646 The straight and spiral types cultured under LED blue light, which were 17 ± 2.517 and 15 ± 1.528 , respectively. According the result of pigment content analysis, it was found that red light produced more chlorophyll and phycocyanin than blue and white light. While carotenoids were found to be the most abundant in blue light. So It was concluded that cultivation under red light LEDs was effective in increasing biomass, chlorophyll, and phycocyanin, whereas blue light could increase the supply of alternative carotenoids which was an alternative for the development of the *Spirulina platensis* cultivation industry.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเล่มนี้เป็นส่วนหนึ่งของหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาสาขา
วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยพะเยา งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความ
ความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ รัฐภูมิ พรหมณะ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย และ
ดร. สุมล นิลรัตน์นิศากร ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ
ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี รวมถึงการสนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำวิจัย
และยังได้ให้ความรู้กับคำแนะนำสำหรับการทำงานที่เป็นประโยชน์ ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจ
จริงและความทุ่มเทของอาจารย์และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ และขอขอบคุณ
ดร. ทัดพร คุณประดิษฐ์ ที่ให้ความกรุณาเป็นประธานกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
พร้อมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัยฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ขอขอบคุณ
ห้องปฏิบัติการคณะพลังงานและสิ่งแวดล้อมและบุคลากรด้านวิทยาศาสตร์ที่ให้คำแนะนำในการ
ใช้เครื่องมือต่าง ๆ ในการปฏิบัติการคณะพลังงานและสิ่งแวดล้อม ตลอดจนอาจารย์ และ
เจ้าหน้าที่ประจำคณะพลังงานและสิ่งแวดล้อม และขอบคุณ นางสาว รุ่งทิภา อ่องใจงาม ที่ให้
คำแนะนำการแปลผลทางสถิติตลอดจนปรึกษาผลวิจัยจนลุล่วง เหนือสิ่งอื่นใดขอขอบคุณ
ครอบครัวและกัลยาณมิตรทุกท่านที่คอยอบรมสั่งสอน ดูแลเอาใจใส่ และคอยเป็นกำลังใจให้แก่
ผู้วิจัยตลอดมา งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเพราะได้รับการช่วยเหลือจากบุคคลต่าง ๆ
ประสบการณ์และอุปสรรคในการทำงานวิจัยครั้งนี้เป็นบทเรียนที่ดีสำหรับผู้วิจัยในการทำงาน
ต่อไปในอนาคต ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์ให้แก่ผู้สนใจ
สืบไป จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

ณัฐกมล ชะโลมกลาง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
สมมติฐานของการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
<i>Spirulina platensis</i>	4
ข้อมูลและลักษณะทั่วไป <i>Spirulina platensis</i>	5
วงจรชีวิตของสไปรูลิना.....	5
โครงสร้างและส่วนประกอบของ <i>Spirulina platensis</i>	6
ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย	7
การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Spirulina platensis</i> แบ่งได้ 5 ระยะ.....	7
คุณสมบัติพิเศษของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน.....	9
รงควัตถุที่พบในสไปรูลิना	9

ตัวรับแสง (Photoreceptor) ของไซยาโนแบคทีเรีย	14
การสังเคราะห์แสงของไซยาโนแบคทีเรีย	15
กระบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์	18
การสังเคราะห์ C-phycoyanin	20
ประโยชน์ของสาหร่ายสไปรูลิน่าที่มีต่อสุขภาพ	21
ความหมายของแสง	21
การค้นพบไดโอดเปล่งแสง (Light-Emitting Diode : LED).....	22
Light-Emitting Diode : LED	23
พลังงาน.....	25
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	33
วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี.....	33
การเตรียมสาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง	35
บทที่ 4 ผลการวิจัย	40
ผลการวิจัย	40
บทที่ 5 สรุปผล	51
สรุปผลวิจัย.....	51
ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป.....	51
อภิปรายผลการทดลอง	51
บรรณานุกรม	56
ภาคผนวก	61
ภาคผนวก ก แผนผังการวางแปลงเพาะเลี้ยงสาหร่าย <i>Spirulina platensis</i>	62
ภาคผนวก ข ระบบเพาะเลี้ยงโดยใช้แสง LED	63
ประวัติผู้วิจัย	70

สารบัญตาราง

หน้า

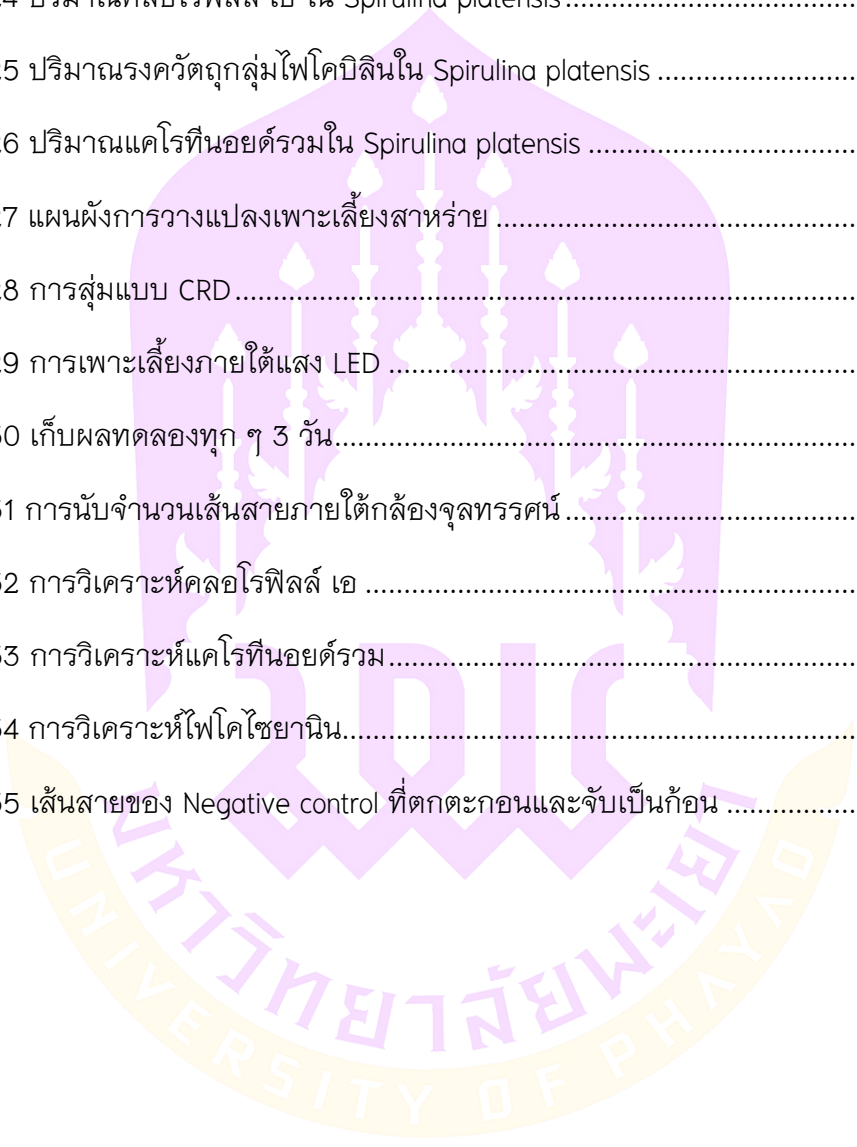
ตาราง 1 ลักษณะเส้นสาย Spirulina platensis ภายใต้แสง LED เป็นระยะเวลา 21 วัน.....	46
ตาราง 2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง White Light	47
ตาราง 3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Red Light.....	47
ตาราง 4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Blue Light	47



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพ 1 วงจรชีวิตของสไปรูลินา	6
ภาพ 2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Spirulina platensis</i>	8
ภาพ 3 ช่วงการดูดกลืนแสงของรงควัตถุ	10
ภาพ 4 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์ A และคลอโรฟิลล์ B	11
ภาพ 5 โครงสร้างแคโรทีนอยด์	12
ภาพ 6 โครงสร้างของไฟโคบิลิโซม	13
ภาพ 7 การเลือกการตอบสนองของแสงในไซยาโนแบคทีเรีย	14
ภาพ 8 Cyanobacterial Photosynthesis	16
ภาพ 9 ปฏิกิริยา Dark Reaction	17
ภาพ 10 carotenoid pathway	19
ภาพ 11 การสังเคราะห์ไฮโดรจี-ไฟโคไซยานิน	20
ภาพ 12 สเปกตรัมและสีของแสง	22
ภาพ 13 คุณสมบัติของไดโอดเปล่งแสงสีต่าง ๆ และวัสดุสารกึ่งตัวนำ	23
ภาพ 14 โครงสร้าง การทำงานและสัญลักษณ์ของไดโอดเปล่งแสง	24
ภาพ 15 สัดส่วนการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และการใช้ไฟฟ้าในประเทศไทย	25
ภาพ 16 ผังการวางแผนเพาะเลี้ยง <i>Spirulina platensis</i>	35
ภาพ 17 จำนวนตัวอย่างทดลอง	36
ภาพ 18 ค่าดูดกลืนแสงของ <i>Spirulina platensis</i> ในระยะเวลา 30 วัน ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร	41
ภาพ 19 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง White Light	42
ภาพ 20 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Red Light	43

ภาพ 21 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Blue Light.....	44
ภาพ 22 จำนวนเส้นสาย Spirulina platensis เป็นระยะเวลา 21 วัน ($\times 10^7$ เส้นสาย/ ลิตร).....	45
ภาพ 23 น้ำหนักแห้งทั้งหมด ณ วันที่ 21 ของ Spirulina platensis.....	48
ภาพ 24 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ใน Spirulina platensis.....	49
ภาพ 25 ปริมาณรงควัตถุกลุ่มไฟโคบิลินใน Spirulina platensis	49
ภาพ 26 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมใน Spirulina platensis	50
ภาพ 27 แผนผังการวางแผนเพาะเลี้ยงสาหร่าย	62
ภาพ 28 การสุ่มแบบ CRD.....	62
ภาพ 29 การเพาะเลี้ยงภายใต้แสง LED	63
ภาพ 30 เก็บผลทดลองทุก ๆ 3 วัน.....	64
ภาพ 31 การนับจำนวนเส้นสายภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	65
ภาพ 32 การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ	66
ภาพ 33 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์รวม.....	67
ภาพ 34 การวิเคราะห์ไฟโคไซยานิน.....	68
ภาพ 35 เส้นสายของ Negative control ที่ตกตะกอนและจับเป็นก้อน	69



บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันการใช้พลังงานในสาขาอุตสาหกรรมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศ พลังงานคือสิ่งสำคัญมากในชีวิตประจำวันของเราทุกคน มนุษย์พึ่งพาพลังงานเป็นอย่างมากในทุกด้าน ทั้งการให้แสงสว่าง, หุงต้ม, แชน้ำ, ขับรถ, คอมพิวเตอร์, โทรทัศน์, หรือการผลิตสินค้าต่าง ๆ ในช่วงปี 2562 มูลค่าการนำเข้าพลังงานคิดเป็น 1,053 พันล้านบาท ประเทศไทยมีสัดส่วนการนำเข้าต่อการใช้พลังงาน คิดเป็นร้อยละ 67 นอกจากนี้ในปี 2563 ยังมีการปล่อยก๊าซ CO₂ จากการใช้พลังงานการผลิตไฟฟ้าสูงถึง 40%, อุตสาหกรรม 29%, ในการใช้พลังงานปี 2563 อุตสาหกรรมใช้พลังงานมากถึง 44% (กระทรวงพลังงาน, 2563)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทางอุตสาหกรรมในปัจจุบันมีการเลี้ยงสาหร่ายเป็นวงกว้าง เนื่องจากรงควัตถุในสาหร่ายมีผลดีต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจำเป็นต้องใช้พลังงานไฟฟ้าในการให้ความสว่างเพื่อให้ได้ผลผลิต ส่วนใหญ่มักจะใช้หลอดไฟฟลูออโรเรสเซนต์ในภาคอุตสาหกรรม ซึ่งได้รับความนิยมสูงที่สุดในปัจจุบัน มีหลักการคือ ให้กระแสอิเล็กตรอน วิ่งชนไอโอดีนและก๊าซเฉื่อย ที่อยู่ภายในหลอด ทำให้เกิดแสง UV เมื่อแสง UV มากระทบสารเคลือบที่ข้างหลอด จึงทำให้เกิดการเรืองแสงออกมาแต่ต้องใช้งานร่วมกับบัลลาสต์ มีอายุการใช้งานอยู่ที่ 10,000-20,000 ชั่วโมง แต่เมื่อเทียบกับหลอดไฟ LED พบว่าหลอด LED มีอายุการใช้งานถึง 50,000 - 60,000 ชั่วโมง ประหยัดไฟมากกว่าถึง 50% และหลอดฟลูออโรเรสเซนต์นั้นมักจะมีปัญหาหลอดขาด ขั้วดำ ในขณะที่หลอด LED จะไม่พบปัญหานี้ที่สำคัญที่สุดหลอด led ไม่มีสารเคมีที่เคลือบอยู่ภายในตัวหลอดไฟ ลักษณะการทำงานคือ มีจุดเด่นหลักในการกำเนิดแสงสว่างจากกระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านสารกึ่งตัวนำ หรือก็คือการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนภายในสารกึ่งตัวนำและปล่อยแสงสว่างออกมาทันที พลังงานจากกระแสไฟฟ้าจึงสามารถเปลี่ยนเป็นแสงสว่างได้เต็มที่และที่สำคัญไม่มีการเผาไหม้หลอดสีของแสงที่เกิดจากรอยต่อจะขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุที่นำมาใช้ในการสร้าง LED ทั้งชนิดที่เป็นของเหลวและก๊าซ เช่น ใช้แกเลียมฟอสไฟด์ (gallium phosphide, GaP) ทำให้เกิดแสงสีแดง (นภัทร วัฒนเทพินทร์ และ ไชยยันต์ บุญมี, 2560) หลอด LED หรือไดโอดเปล่งแสง โครงสร้างประกอบไปด้วยสารกึ่งตัวนำสองชนิด (สารกึ่งตัวนำประจุลบชนิด N และสารกึ่งตัวนำประจุบวก

ชนิด P ประกอบเข้าด้วยกันและคายพลังงานออกมาในรูปคลื่นแสงเรียกว่า อิเล็กโตรลูมิเนสเซนส์ อุณหภูมิอยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิมากเกินไปจะทำให้แสงที่ปล่อยออกมามีลดลง (Changsinled, 2562)

ที่ผ่านมา มีรายงานผลการวิจัยอย่างกว้างขวางเกี่ยวกับ *Spirulina platensis* สามารถช่วยบำรุงและเสริมการรักษาโรคภัยไข้เจ็บต่าง ๆ นอกจากนี้ยังมีการใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำขนาดเล็กเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทดแทน เนื่องจากสาหร่ายมีความสามารถในการสร้างสารอาหารจากกระบวนการสังเคราะห์แสงมีโปรตีนอยู่ปริมาณสูงมากและมีสารอาหารที่มีอยู่มากมายในเซลล์สาหร่าย *Spirulina platensis* เป็นสาหร่ายกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะพื้นฐานวิธานน้อยมากและเป็นสิ่งมีชีวิตพวกแรกที่สามารถสังเคราะห์แสงสร้างออกซิเจนให้แก่บรรยากาศโลกโดยใช้คลอโรฟิลล์เอเป็นตัวรับพลังงานจากแสง สามารถอาศัยอยู่บนพื้นดิน น้ำจืด น้ำเค็ม และในสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ (สุมาลี, 2536) มีสารประกอบรงควัตถุธรรมชาติ ซึ่งจะไม่ค่อยพบในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญทางอุตสาหกรรม คือ ไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) ซึ่งเป็นสารสีที่พบได้ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และพบว่าใน *Spirulina platensis* มีไฟโคไซยานินอยู่ร้อยละ 14 มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบทำให้ละลายน้ำได้ดี มีโปรตีนอยู่ปริมาณสูงมากโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 50-70% ของน้ำหนักแห้ง และมีสารอาหารอยู่มากมายในเซลล์สาหร่าย (รชนิมุข, 2558)

ผู้วิจัยจึงได้ใช้ไฟ LED เพื่อศึกษาผลของการใช้แสง LED ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis* ภายใต้แสงสีน้ำเงิน, แสงสีแดง และแสงสีขาวที่ความยาวคลื่นต่างกันเพื่อดูอัตราการผลิตตรงควัตถุและชีวมวลภายใต้แสงสีต่าง ๆ นอกจากนี้ผู้วิจัยยังเล็งเห็นถึงปัญหาการใช้พลังงานในกระบวนการเพาะเลี้ยง เพื่อลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* และเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis*

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบผลของแสง LED สีน้ำเงิน, สีแดง และสีขาว ต่อชีวมวลและรงควัตถุของ *Spirulina platensis*

สมมติฐานของการวิจัย

แสงที่แตกต่างกันสามารถกระตุ้นการสร้างชีวมวลและรงควัตถุที่แตกต่างกัน

ขอบเขตของการวิจัย

1. ขอบเขตด้านเนื้อหา
 - 1.1 เพาะเลี้ยงห้วเชื้อ *Spirulina platensis* ในสูตรอาหาร Modified zarrouk medium
 - 1.2 เพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* โดยมีการกำหนดระยะเวลาในการให้แสง LED สีน้ำเงิน, สีแดง และสีขาว
 - 1.3 วิเคราะห์การเจริญเติบโตของ *Spirulina platensis*
 - 1.4 วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์รวม โฟโคไซยานิน
2. ขอบเขตด้านพื้นที่
 - 2.1 เพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* ในห้องปฏิบัติการคณะพลังงานและสิ่งแวดล้อม
 - 2.2 วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์รวม โฟโคไซยานิน ณ ห้องปฏิบัติการสาขาชีววิทยา คณะพลังงานและสิ่งแวดล้อม
3. ขอบเขตด้านเวลา
 - 3.1 เพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* ระยะแรกเป็นเวลา 30 วัน
 - 3.2 เพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* ระยะที่สองเป็นเวลา 21 วัน

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบแสงที่เหมาะสมต่อการผลิตและเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis*
2. เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis*
3. เพื่อลดต้นทุนในกระบวนการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis*
4. เพื่อได้แนวทางลดการใช้พลังงานไฟฟ้าจากการเลือกใช้หลอด LED ซึ่งมีการใช้พลังงานน้อยกว่าหลอดไฟทั่วไป

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Spirulina platensis

สาหร่ายสไปรูลิनाเป็นจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงที่มีการเจริญเติบโตโดยการแบ่งเซลล์ (binary fission) เท่านั้น เซลล์สาหร่ายสไปรูลิनाไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสและคลอโรพลาสต์ แต่มีผนังเซลล์ประกอบด้วยเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) และเยื่อพลาสมา (plasma membrane) ที่มีชั้นของเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) แทรกอยู่ระหว่างเยื่อทั้งสองและมีเยื่อไทลาคอยด์ (thylakoid membrane) ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสง และเป็นแหล่งที่พบรงควัตถุสังเคราะห์แสงต่าง ๆ

มีลักษณะเซลล์เป็นรูปทรงกระบอกหลายเซลล์ที่เรียงต่อกันจนเป็นเส้นสายไม่แตกแขนง เรียกว่า trichome ลักษณะรูปร่างจะเป็นเส้นสายบิดเป็นเกลียว ความกว้างของเกลียว (helix) ระยะระหว่างเกลียว (pitch) และความยาวของ trochome (length) จะมีลักษณะแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดของสาหร่าย แต่เมื่อสาหร่ายชนิดเดียวกันเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมต่างกัน ขนาดและรูปร่างก็อาจจะแตกต่างกัน เช่น ลักษณะที่บิดเป็นเกลียวอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเส้นตรง ส่วนใหญ่ชนิดที่พบโดยมากมีเม็ดอากาศ (gas vacuoles) เล็ก ๆ จำนวนมากอยู่ภายในเซลล์ซึ่งทำให้สาหร่ายสไปรูลิनाลอยตัวได้ดี เม็ดอากาศแต่ละเม็ดอยู่ภายในถุงซึ่งเป็นเยื่อบาง ๆ เยื่อนี้เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของโปรตีน สาหร่ายสไปรูลิनाจะเคลื่อนที่ได้แบบเลื่อนไถล (gliding) โดยมีการหมุนรอบ trichome สาหร่ายสไปรูลิनाเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) ที่ได้รับชื่อนี้เนื่องจากมีกลุ่มนี้มีสารสี (pigment) ที่สำคัญในกลุ่ม phycobillin ซึ่งเป็นสารสีที่ให้สีน้ำเงินหรือน้ำเงินแกมเขียว นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของรงควัตถุธรรมชาติ ซึ่งจะไม่ค่อยพบในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น โดยประกอบไปด้วยรงควัตถุธรรมชาติต่าง ๆ ได้แก่ beta-carotene, zeaxanthin, chlorophyll-a, xanthophyll, echinenone, myxoxanthophyll, canthaxanthin, diatoxanthin, 3'-hydroxyechinenone, beta-cryptoxanthin, oscillaxanthin, phycobiliproteins c-phycoyanin และ allophycocyanin เป็นต้น (สุมาลี, 2536) นอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโนจำเป็นต่อร่าง เช่น ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine) ช่วยให้ต่อมไทรอยด์นำไปใช้สร้างไทรอยด์ฮอร์โมนที่ควบคุมพลังงานพื้นฐานของร่างกาย และเป็นสารตั้งต้นของสารสื่อประสาท ฮิสทีดีน (Histidine) ใช้ในการผลิตฮิสตามีน (histamine) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่สำคัญมากในการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน ไอโซลิวซีน (Isoleucine) มีส่วนเกี่ยวข้องกับการกระบวนการ

เปลี่ยนแปลงพลังงานในกล้ามเนื้อ ลิวซีน (Leucine) เป็นส่วนประกอบสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนและซ่อมแซมกล้ามเนื้อ วาลีน (Valine) กระตุ้นการทำงานของระบบการควบคุมอารมณ์ ไลซีน (Lysine) เป็นโครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือด ที่มีหน้าที่สร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย เมไทโอนีน (Methionine) ทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมและการขจัดพิษ ทั้งยังจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ ทรีโอนีน (Threonine) ส่วนประกอบสำคัญของโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้าง เช่น คอแลลาเจน ทริปโตเฟน (Tryptophan) เกี่ยวข้องกับความรู้สึกง่วงซึมและการทำงานของส่วนต่าง ๆ ในร่างกาย (A. Raji, 2020)

ข้อมูลและลักษณะทั่วไป *Spirulina platensis*

สาหร่าย *Spirulina platensis* จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-Green Algae หรือ Cyanobacterium) เป็นสิ่งมีชีวิตประเภทโปรคาริโอต (Prokaryote) คือ ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (ยิวดี, 2546) สามารถจัดจำแนกตามหลักอนุกรมวิธานได้ดังนี้

Kingdom Monera

Division Cyanophyta

Class Cyanophyceae

Order Oscillatoriales

Family Oscillatoriaceae

Genus *Spirulina*

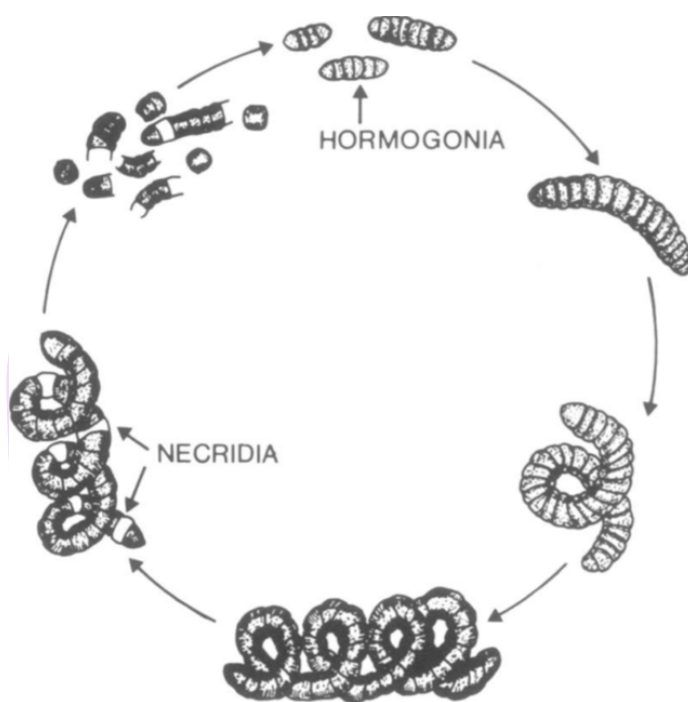
Species *Spirulina platensis*

ที่มา: Bold and Wynne, 1978; Venkataraman, 1983

วงจรชีวิตของสไปรูลินา

ในวงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลินา ไตรโคมแตกหักออกเป็นท่อนสั้น ๆ ขนาดประมาณ 2-4 เซลล์ที่มีลักษณะเหมือนกันเป็นส่วนใหญ่ เรียกว่า โฮโมโกเนีย (Homogonia) จากนั้นปลายทั้งสองด้านของโฮโมโกเนียค่อย ๆ ม้วนเป็นเกลียวเซลล์ของฮอริโมโกเนียเพิ่มจำนวนโดยวิธี Cell Fusion มีการแบ่งตัวเพิ่มความยาวหรือจำนวนเซลล์ของแต่ละโฮโมโกเนียจนเป็นไตรโคมที่สมบูรณ์ ลักษณะเซลล์ของโฮโมโกเนียจะมีสีซีดเพราะในไซโตพลาสซึมมีกรานูล (Granule) น้อยแต่เมื่อเจริญไปเป็นไตรโคมที่โตเต็มที่ ภายในไซโตพลาสซึมจะมีกรานูลเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์มีสีเขียวแกมน้ำเงินมากขึ้น ไตรโคมที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมีการสร้างเซลล์ที่มีลักษณะเฉพาะที่เรียกว่า

necridia ซึ่งเป็นตำแหน่งที่จะถูกย่อยทำให้ขาดเป็นท่อนสั้น ๆ ระหว่างที่เกิดการขาดเป็นท่อน ๆ จะทำให้ของเหลวในเซลล์ลดน้อยลง ซึ่งตัวเซลล์จะมีสีซีดกว่าปกติ (Ciferri O, 1983)



ภาพ 1 วงจรชีวิตของสไปรูลินา

ที่มา: Ciferri O, 1983

โครงสร้างและส่วนประกอบของ *Spirulina platensis*

ไซยาโนแบคทีเรีย หรือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae หรือ cyanobacteria) มีโครงสร้างของนิวเคลียสคล้ายคลึงกับนิวเคลียสของแบคทีเรีย แต่ต่างจากแบคทีเรียเพราะมีคลอโรฟิลล์เอ และมีการปล่อยออกซิเจนออกสู่สิ่งแวดล้อมจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง มีโครงสร้างสำคัญหลัก ๆ 3 ส่วน 1. ผนังเซลล์ สาหร่ายสไปรูลินาไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส และคลอโรพลาสต์ แต่มีผนังเซลล์ประกอบด้วยเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) และเยื่อพลาสมา (plasma membrane) ที่มีชั้นของเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) แทรกอยู่ระหว่างเยื่อทั้งสอง และมีเยื่อไทลาคอยด์ (thylakoid membrane) ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสงและเป็นแหล่งที่พบรงควัตถุสังเคราะห์แสงต่าง ๆ ประกอบด้วยสารจำพวกคาร์โบไฮเดรต ผนังเซลล์โดยทั่วไปจะมีผนังเซลล์ 2 ชั้น ชั้นนอกจะนุ่มเป็นสารพวก Pectin ชั้นในเป็นสารพวก

เซลล์โกลซึ่งทำให้เซลล์แข็งแรงคงรูปได้ ส่วนใหญ่ผนังเซลล์นอกสุดสำหรับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะมีสารเมือกหุ้มอยู่อีกชั้นหนึ่งซึ่งมีความหนาบางต่างกัน ประกอบด้วยกรดเพกติกและมิวโคโพลีแซ็กคาไรด์ 2. นิวเคลียส สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็น Prokaryote เหมือนแบคทีเรียซึ่งมีเซลล์เพียงเซลล์เดียว โครงสร้างภายในไม่มี Organelle นอกจากไรโบโซมขนาด 70s ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสถือว่าเป็นเซลล์ที่มีวิวัฒนาการต่ำ พบว่าไม่มีนิวเคลียสที่แท้จริงโดยเก็บดีเอ็นเอไว้ใน Nucleoid Region ถูกจัดไว้ในไฟลัมไซยาโนไฟตา (Phylum Cyanophyta) อาณาจักรมอเนอรา (Kingdom Monera) ตัวอย่างเช่น สไปรูลินา แอนาบีนา ออสซิลาทาเทเรียและนอสตอก 3. ไโซโทพลาสซึม ถัดจากผนังเซลล์เข้าไปเป็นเยื่อบาง ๆ เรียกว่าพลาสมาเมมเบรนหุ้มไซโทพลาสซึมไว้ ไโซโทพลาสซึมส่วนนอกจะอยู่ใกล้ผนังเซลล์มักจะพบสารสีกระจายอยู่มากในเซลล์ เรียกว่า โครโมพลาสซึมซึ่งประกอบด้วยไกลโคเจน, แก๊สแควคิโกล, ไรโบโซม และไขมันที่มีลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ ไโซโทพลาสซึมด้านในมีส่วนที่คล้ายนิวเคลียสเรียกเซนโทรพลาสซึม ซึ่งส่วนนี้ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไม่มีผนังหุ้มจึงไม่มีนิวเคลียสที่แท้จริงเหมือนสาหร่ายอื่น ๆ นักเซลล์วิทยาพบว่ามีการที่ทำหน้าที่คล้ายนิวเคลียสอยู่ภายในไซโทรพลาสซึม เพียงแต่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส สารที่ทำหน้าที่คล้ายนิวเคลียสคือ DNA – Deoxyribo Nucleic Acid (กาญจนภาชน์, 2527)

ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

เป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายจะนำไปใช้ในการสร้างองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ใช้ในการสร้างสารสี โปรตีน ผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ คาร์โบไฮเดรต (แป้ง) จึงจำเป็นต้องใช้ค่อนข้างมาก ได้แก่ ฟอสฟอรัส คาร์บอน แคลเซียม ไนโตรเจน ซัลเฟอร์ และโพแทสเซียม แมกนีเซียม เป็นต้น นอกจากนี้แล้วยังมีธาตุอาหารรองที่เป็นตัวกระตุ้นปฏิกิริยาเคมีทางอ้อมที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ซึ่งต้องการในปริมาณน้อยกว่ากลุ่มธาตุอาหารหลัก ได้แก่ เหล็ก, โบรอน, แมงกานีส, สังกะสี, ทองแดง, โมลิบดีนัม, ซีลีเนียม (จงกลและชจรเกียรติ, 2548)

การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis* แบ่งได้ 5 ระยะ

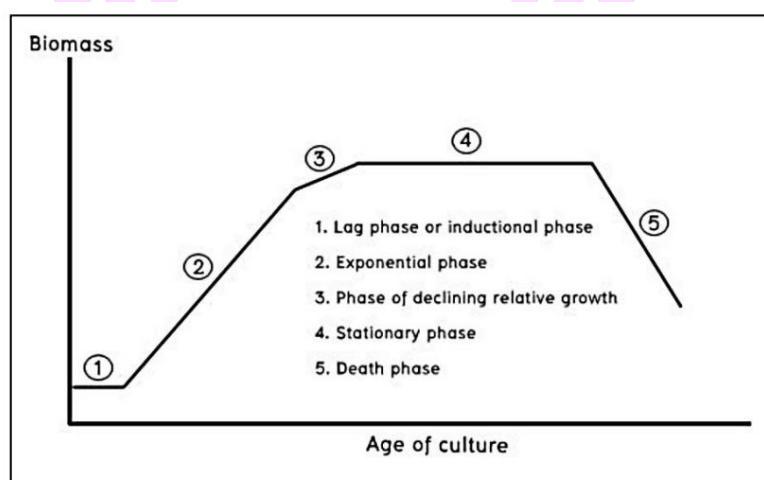
1. ระยะปรับตัว (Lag Phase) ระยะปรับตัวเป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม เช่น แสง อุณหภูมิ ธาตุอาหาร ระยะนี้จะไม่เกิดการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย ถ้าเซลล์สาหร่ายไม่สามารถปรับตัวได้เซลล์จะตาย สาหร่ายจะผ่านระยะนี้ไปได้เร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของเซลล์สาหร่าย และความอุดมสมบูรณ์ของอาหารที่ใช้เลี้ยง ถ้าสภาพทั้ง 2 อย่างนี้มีความเหมาะสมก็จะเข้าสู่ระยะ exponential phase

2. ระยะเวลาเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential Phase) ระยะเวลาเอกซ์โพเนนเชียลเป็นระยะที่สาหร่ายร่างกายเติบโต และขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณสารและสมบัติทางฟิสิกส์ เคมี ของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง การเจริญเติบโตของระยะนี้จะรวดเร็วในระยะแรกและจะค่อย ๆ ช้าลง

3. ระยะเวลาเสื่อม (Phase of Declining Relative Growth) ระยะเวลาเสื่อมเป็นช่วงที่สาหร่ายร่างกายเติบโตช้าลงเนื่องจากขาดแคลนอาหาร เช่น ไนโตรเจน คาร์บอน หรือออกซิเจน เพราะมีปริมาณของสาหร่ายหนาแน่นเกินไป

4. ระยะเวลาคงที่ (Stationary Phase) ระยะเวลาคงที่เป็นระยะที่สสารลดลง และเกิดสารพิษจากกระบวนการเมแทบอลิซึมหรือการสลายตัวของสาหร่ายเพิ่มขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายหยุดนิ่ง

5. ระยะเวลาตาย (Death Phase) ระยะเวลาตายเป็นระยะที่สาหร่ายหยุดการเจริญเติบโตเนื่องจากสสารหมดลงสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และเกิดของเสียจำนวนมาก สาหร่ายจะตายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (ลัดดา วงศ์รัตน์ , 2543)



ภาพ 2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis*

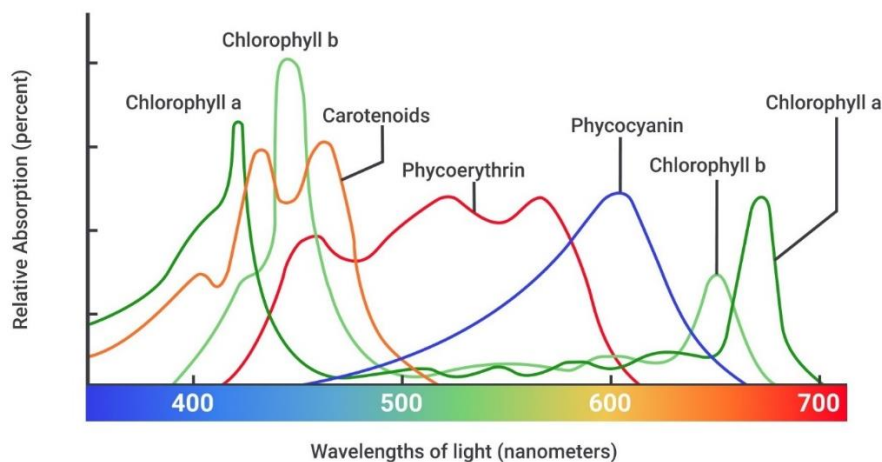
ที่มา: ลัดดา วงศ์รัตน์ , 2543

คุณสมบัติพิเศษของสารยาสีเขียวแกมน้ำเงิน

1. การเคลื่อนที่ของสารยาสีเขียวแกมน้ำเงินไม่มีหมวดก็สามารถเคลื่อนไหวได้ เป็นการเคลื่อนไหวแบบเลื่อนไหล บางครั้งมีการเคลื่อนแบบถอยหน้าถอยหลังของทั้งสายหรือเคลื่อนเฉพาะตรงปลายไปทางซ้ายและขวาหรือเคลื่อนแบบเป็นคลื่นหรือหมุนเป็นเกลียวแบบควง ส่วน 2. การเปลี่ยนสี สารยาสีเขียวแกมน้ำเงินมีความสามารถในการเปลี่ยนสีได้ ขึ้นอยู่กับความยาวคลื่นแสง (wave length) และความเข้มของแสง (intensity) ที่ได้รับ Gaidukov เป็นคนแรกที่ได้ตั้งสมมติฐานขึ้นเรียก Gaidukov phenomenon และได้ทดลองกับสารยาสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Oscillatoria* ปรากฏว่า ถ้านำมาเลี้ยงในที่ที่มีแสงสีต่างกันจะทำให้สีของสาหร่ายต่างกันไปด้วย เนื่องจากแสงสีต่างกันทำให้ปริมาณแสงที่เซลล์สร้างขึ้นมีมากน้อยต่างกันไป ถ้านำไปเลี้ยงในที่ที่มีความเข้มแสงมากสาหร่ายที่เลี้ยงไว้จะมีสีน้ำเงิน แต่ถ้าความเข้มของแสงน้อยจะเป็นสีแดง พบว่าสารยาสีเขียวแกมน้ำเงินที่ขึ้นในที่ลึกจะมีสีแดงหรือม่วง ส่วนพวกที่ขึ้นตามผิวน้ำหรือตามชายฝั่งจะมีสีน้ำเงินเข้ม สาเหตุอีกประการหนึ่งที่ทำให้สารยาสีเขียวแกมน้ำเงินเปลี่ยนสีคือการขาดไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และเหล็ก ทำให้สีเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือสีซีดลง 3. การตรึงไนโตรเจน การตรึงไนโตรเจนของสารยาสีเขียวแกมน้ำเงินเกิดขึ้นได้ทั้งในสภาวะที่อยู่เป็นอิสระหรือในสภาวะที่อยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น ปัจจุบันพบว่าสารยาสีเขียวแกมน้ำเงินทั้งชนิดที่มีเฮเทอโรซิสต์และชนิดที่ไม่มีเฮเทอโรซิสต์ก็สามารถตรึงไนโตรเจนได้ ผลที่ได้จากการตรึงไนโตรเจนคือแอมโมเนีย ซึ่งจะเปลี่ยนไปเป็นกรดอะมิโน (สมพรและคณะ, 2004; รชนิมุขและคณะ, 2015)

รงควัตถุที่พบในสไปรูลิना

สิ่งมีชีวิตที่มีกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง จะต้องมีการสังเคราะห์รงควัตถุที่มีความสามารถในการดูดกลืนพลังงานแสง แล้วนำพลังงานนั้นไปใช้ในการสร้างพันธะเคมี (chemical bond) ในโมเลกุลของสารอินทรีย์ โมเลกุลที่มีความสามารถในการดูดกลืนแสงนี้คือ รงควัตถุ (pigment) ซึ่งรงควัตถุแต่ละชนิดสามารถดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นต่างกัน (D.T Kukwa and M. Chetty, 2020)

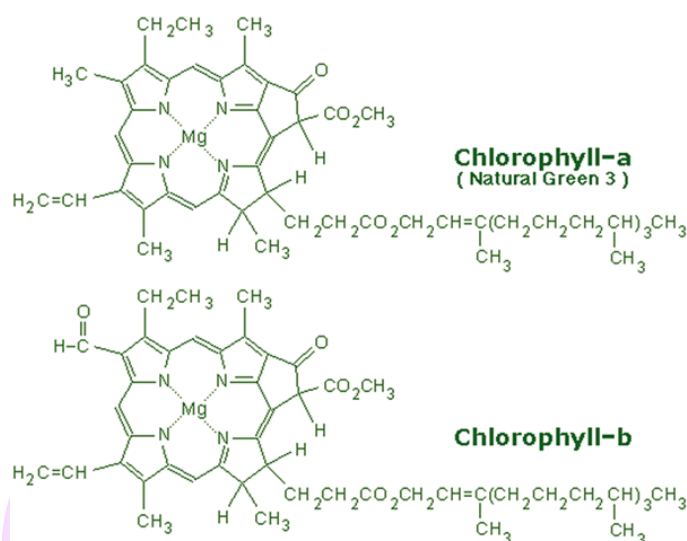


ภาพ 3 ช่วงการดูดกลืนแสงของรงควัตถุ

ที่มา: D.T Kukwa and M. Chetty, 2020

1. คลอโรฟิลล์

คลอโรฟิลล์มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์แสงทำหน้าที่ดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงของความยาวคลื่นโดยเฉพาะในช่วงแถบสีม่วงและสีน้ำเงิน คลอโรฟิลล์ เอ จัดว่าเป็น primary pigment ทำหน้าที่สังเคราะห์แสงโดยตรง ส่วนรงควัตถุชนิดอื่น ๆ ต้องรับแสงแล้วจึงส่งต่อให้คลอโรฟิลล์เอ เรียกว่าเป็น Accessory pigment ส่วนแบคทีเรียบางชนิด เช่น Green bacteria และ Purple bacteria จะมีรงควัตถุซึ่งเรียกว่า Bacteriochlorophyll คลอโรฟิลล์มีหลายชนิด ได้แก่ คลอโรฟิลล์เอ, คลอโรฟิลล์บี, คลอโรฟิลล์ซี, คลอโรฟิลล์ดี และคลอโรฟิลล์อี แต่ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะพบคลอโรฟิลล์เอเท่านั้น เกี่ยวข้องโดยตรงในปฏิกิริยาสังเคราะห์ด้วยแสงแบบใช้แสงซึ่งเปลี่ยนพลังงานแสงให้เป็นพลังงานเคมี คลอโรฟิลล์พบได้ในโกลาโคอยด์ การสังเคราะห์แสงของแบคทีเรียจะต่างจากการสังเคราะห์แสงของพืชชั้นสูง เพราะไม่ได้ใช้น้ำเป็นตัวให้อิเล็กตรอนและโปรตอน แต่ใช้ H_2S แทน และเมื่อสิ้นสุดการสังเคราะห์แสงจะไม่ได้ก๊าซออกซิเจนออกมา แต่จะได้สารอื่น เช่น กำมะถันแทน (Song Toan Pham Phu, 2014)



ภาพ 4 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์ A และคลอโรฟิลล์ B

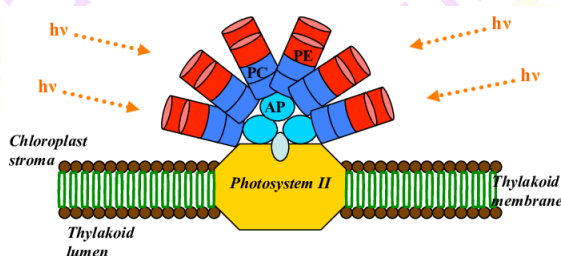
ที่มา: Song Toan Pham Phu, 2014

2. แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์ เป็นอนุพันธ์ของไขมันไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในตัวทำละลายไขมัน เช่น อะซิโตน (acetone) แอลกอฮอล์ (alcohol) ไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) และคลอโรฟอร์ม (chloroform) เป็นต้น สามารถจำแนกแคโรทีนอยด์เป็น 2 กลุ่ม คือ แคโรทีน เป็นโมเลกุลที่ประกอบไปด้วยสายกลุ่มไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) ทำให้เป็นสารไม่มีขั้วและละลายได้ในไขมัน ส่วนกลุ่มที่ 2 คือ แซนโทฟิล พบว่ามีอะตอมกลุ่มออกซิเจนอยู่ในโมเลกุลมากกว่ากลุ่มแคโรทีน จึงมีขั้วมากกว่าและสามารถละลายในไขมันได้น้อยกว่าแคโรทีนอยด์กลุ่มแรกมาก (Simpson, K.L, Tsou, I.S.T.C. and Chichester, C. O, 1989) แคโรทีนอยด์จะดูดกลืนพลังงานแสงเพื่อส่งต่อให้คลอโรฟิลล์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ปกป้องรังสีอุลตราไวโอเล็ตป้องกันพืชจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอันเนื่องมาจากแสงและป้องกันการทำลายเซลล์จากอนุมูลอิสระได้ (รุ่งเพ็ชร และ พัชร, 2561)

นอกจากนี้แคโรทีนอยด์ยังเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ ป้องกันเนื้องอกและมีความเกี่ยวข้องกับสุขภาพด้านอื่น ๆ ได้แก่ ลดความเสี่ยงเกี่ยวกับการเสื่อมของตาเนื่องจากสูงอายุและต่อกระจก ลดความเสี่ยงจากโรคมะเร็งบางชนิดและโรคหัวใจและหลอดเลือด แคโรทีนอยด์ที่สำคัญคือคือ astaxanthin ซึ่งนิยมใช้ astaxanthin เติมลงในอาหารของสัตว์ ทั้งสัตว์บกและสัตว์น้ำต่าง ๆ เพื่อให้สัตว์น้ำหรือสัตว์บก

ความยาวคลื่น 610 ถึง 660 นาโนเมตรและเมื่อเรืองแสงจะวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดได้ที่ช่วงความยาวคลื่น 636 ถึง 660 นาโนเมตร ไฟโคไซยานินสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามสัญลักษณ์หรือการเขียนชื่อของไฟโคไซยานิน เช่น C- หรือ R- เพื่อบอกถึงเหล่าที่มาของสารประกอบนั้นที่ค้นพบเป็นครั้งแรก โดยไฟโคไซยานินที่พบมากที่สุดคือ C-Phycocyanin ซึ่งเป็นไฟโคไซยานินที่พบในไซยาโนแบคทีเรีย ส่วน R-Phycocyanin เป็นไฟโคไซยานินที่พบในสาหร่ายสีแดงในคลาส Rhodophyceae ไฟโคไซยานินเป็นรงควัตถุหรือสารประกอบที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์และสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทุกชนิด สาหร่ายสีแดง และสาหร่ายสีทองบางชนิด อาทิเช่น *Spirulina sp.*, *Phormidium sp.*, *Lyngbya sp.*, *A. nidulans*, *fusiformis sp.*, *T. vulcanus*, *P. cruentum* ไฟโคไซยานินมีธาตุเหล็กและแมกนีเซียมจึงทำให้เห็นสาหร่ายสไปรูลิनाเป็นสีน้ำเงิน และพบว่าในสาหร่ายสไปรูลินามีไฟโคไซยานินอยู่ร้อยละ 14 สามารถแบ่งไฟโคไซยานินได้เป็น ซี- แอลโลไฟโคไซยานิน และ ซี-ไฟโคอิริทริน ไฟโคบิลินมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบทำให้ละลายน้ำได้ดี ไฟโคบิลินแต่ละชนิดจะอยู่รวมกับโปรตีน กลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเรียกว่า ไฟโคบิลิโปรตีน ซี-ไฟโคไซยานินจะอยู่รวมกับไฟโคบิลิโปรตีนชนิดอื่น ๆ (ที่สำคัญคือ ซี-แอลโลไฟโคไซยานิน) กลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น เรียกว่า ไฟโคบิลิโซม (phycobilisomes) ซึ่งจะเกาะอยู่บนผิวด้านนอกของไทลาคอยด์ (thylakoid) ภายในไทลาคอยด์มีคลอโรฟิลล์แอมเบอร์จอยู่ ไฟโคบิลิโซมทำหน้าที่รับพลังงานรังสีจากแสงแล้วส่งให้แก่คลอโรฟิลล์เอจากการที่ทำหน้าที่เป็นรงควัตถุประกอบ ทำให้ไฟโคบิลิโซมมีปริมาณลดลงเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ไฟโคไซยานินยังเป็นแหล่งสะสมไนโตรเจน ซึ่งจะทำหน้าที่ให้ธาตุไนโตรเจนแก่เซลล์สาหร่ายในยามที่ขาดแคลนธาตุอาหารไนโตรเจน (รชนิมุข, 2015)

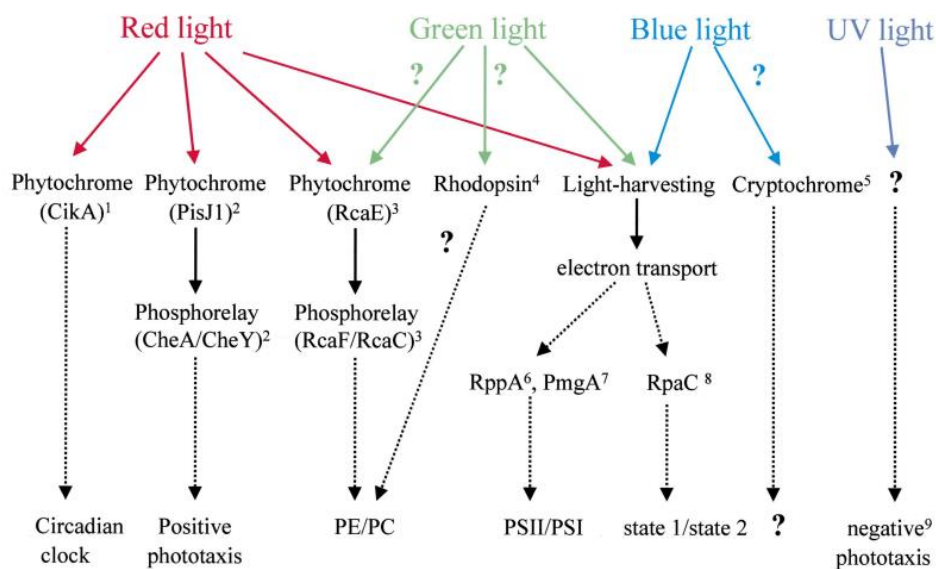


ภาพ 6 โครงสร้างของไฟโคบิลิโซม

ที่มา: Léa Vernès et al, 2015

ตัวรับแสง (Photoreceptor) ของไซยาโนแบคทีเรีย

Phytochrome เป็นระบบของรงควัตถุที่ตอบสนองต่อแสงสีแดงและไกลแดง ซึ่งพบทั่วไปในพืชชั้นสูงและสาหร่ายมีมวลประมาณ 120,000 ดัลตัน ประกอบด้วยโปรตีนที่มีกลุ่มพรอสทีติก (Prosthetic Group) 1 กลุ่ม ซึ่งเป็นเตตราไพโรลที่เป็นลูกโซ่เปิด (Open-chain tetrapyrrole type) ซึ่งเป็นส่วนที่ดูดแสงได้ส่วนของ Tetrapyrrole chromophore จะเกาะอยู่กับ Apoprotein ด้วย Covalent bond ไฟโตโครมนี้สามารถละลายน้ำได้ การสังเคราะห์ไฟโตโครมนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดนักว่าสังเคราะห์อย่างไร แต่ในเบื้องต้นคาดว่าเกิดจากการสังเคราะห์ Porphyrin ไฟโตโครมที่สามารถดูดแสงสีแดงได้ซึ่งแสงสีแดงสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดได้ดีที่สุด ส่วนแสงไกลแดงจะระงับการงอกของเมล็ด Phytochrome ที่ถูกกระตุ้นโดยแสงสีแดงจะส่งผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิด เช่น เพิ่มระดับของเอนไซม์ Phenylalanine Ammonia Lyase กลไกการทำงานขั้นต้นของไฟโตโครมคือการเปลี่ยนคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ และไฟโตโครมสามารถควบคุมระบบเอนไซม์ เช่น การที่ต้นอ่อนของข้าวโอ๊ตได้รับแสงสีแดงจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ADP ให้เป็น ATP และในเนื้อเยื่อชนิดอื่นจะมีการเปลี่ยนแปลงระดับของ NADP (Lisa B. Wiltbank and David M. Kehoe, 2019)



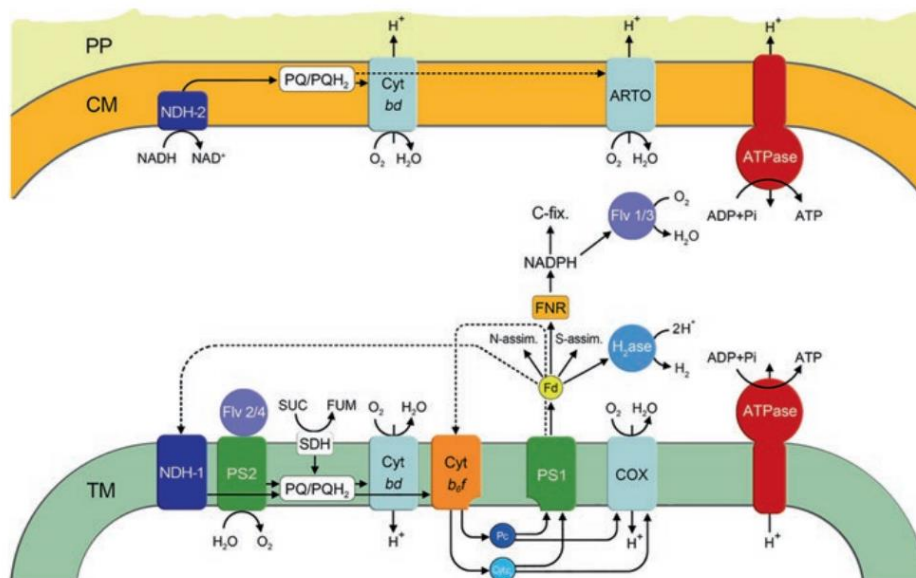
ภาพ 7 การเลือกการตอบสนองของแสงในไซยาโนแบคทีเรีย

ที่มา: C. W. Mullineaux, 2001

การสังเคราะห์แสงของไซยาโนแบคทีเรีย

การสังเคราะห์แสงของไซยาโนแบคทีเรียประกอบไปด้วย 1. แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 2. น้ำ 3. แสงสว่าง 4. รังควัตถุที่ทำหน้าที่ในการดูดกลืนพลังงานแสงสีต่าง ๆ เช่น คลอโรฟิลล์ เอ ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มี Mg, Fe และ Mn เป็นองค์ประกอบอยู่ภายในโมเลกุล สามารถพบคลอโรฟิลล์ได้ในพืชและสาหร่ายทุกชนิด

ไซยาโนแบคทีเรียทำหน้าที่เป็นผู้ผลิต (Autotroph) โดยการนำพลังงานแสงมาเปลี่ยนเป็นพลังงานเคมีในรูปของสารอาหารเก็บไว้ในเนื้อเยื่อ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน นอกจากนี้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของไซยาโนแบคทีเรียจะได้ผลผลิตเป็นสารอาหารแล้ว ยังได้แก๊สออกซิเจน แสงเป็นพลังงานควอนตัมที่เกิดจากอนุภาคโฟตอนของโมเลกุลของรังควัตถุ เช่น คลอโรฟิลล์ ควอนตัมในอนุภาคของโฟตอนทุกอนุภาคไม่สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงได้ อนุภาคโฟตอนที่อยู่สูงกว่าช่วงความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จะมีพลังงานควอนตัมไม่เพียงพอที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ส่วนโฟตอนที่อยู่ต่ำกว่าช่วงคลื่น 400 นาโนเมตร จะมีพลังงานควอนตัมสูงเกินไป มีส่วนทำให้เกิดการสลายตัวของรงควัตถุ ดังนั้นโฟตอนที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ 400-700 นาโนเมตร จะปล่อยพลังงานควอนตัมที่เหมาะสมในกระบวนการสังเคราะห์แสง เนื่องจากแสงมีลักษณะเป็นคลื่นและมีพลังงาน แสงจะมาในลักษณะเป็นควอนตัมหรือโฟตอน ซึ่งเป็นพลังงาน พลังงานแต่ละโฟตอนจะเป็นสัดส่วนผกผันกับความยาวคลื่นแสง ดังนั้นแสงสีม่วงและน้ำเงินจะมีพลังงานมากกว่าแสงสีแดงและสีส้ม ในการสังเคราะห์แสงต้องใช้แสงและน้ำ เมื่อแสงกระทบกับรงควัตถุในระบบ PSII จะมีโฟตอนยิงเข้ามาและเกิดการส่งต่อพลังงาน (Resonance energy transfer) ไปจนถึงตัวรับซึ่งเป็นคลอโรฟิลล์ เอ ทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกไป เมื่อขาดอิเล็กตรอน จะทำให้น้ำแตกตัวแล้วดึงอิเล็กตรอนจากการสลายโมเลกุลของน้ำ การที่น้ำแตกตัวเป็นออกซิเจนได้นี้เกิดโดยพลังงานแสงที่คลอโรฟิลล์ดูดแล้วส่งไปช่วยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่แยกโมเลกุลของน้ำ (Water Splitting enzyme) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแตกตัวของน้ำคือโปรตอน ซึ่งจะใช้เป็นตัวพาอิเล็กตรอนและนำไปสร้างสารให้พลังงานสูง เกิดการส่งผ่านอิเล็กตรอนทางพลาสโตควิโนน ไซโตโครมคอมเพล็กซ์และพลาสโตไซยานินไปยัง PS I เมื่อแสงส่องมายังระบบ PS I อิเล็กตรอนจึงหมดไป PS I จึงดึงอิเล็กตรอนที่ส่งมาจาก PS II ผ่านพลาสโตไซยานินมาใช้แทน PS I จะส่งอิเล็กตรอนผ่านรีดอกซิน ผ่าน enzyme NADP^+ รีดัสเตส ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการรีดักชันของ NADP ไปเป็น NADPH (S. Rexroth et al., 2017)



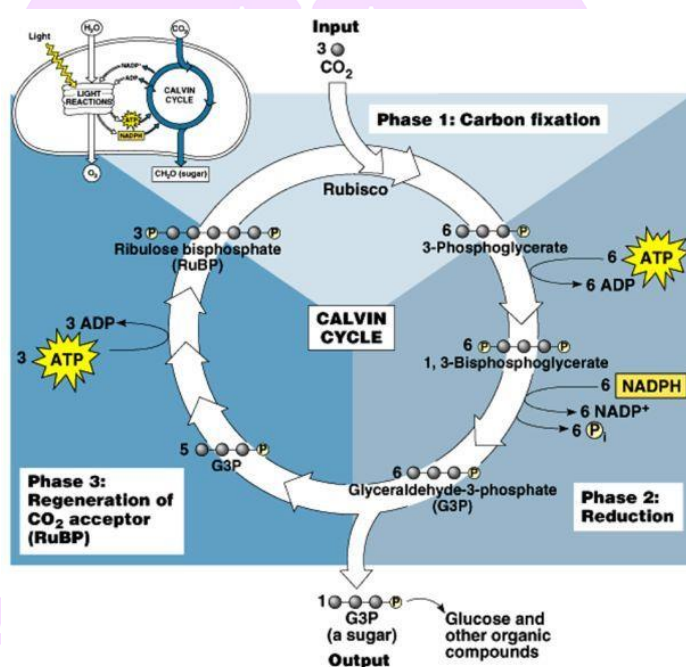
ภาพ 8 Cyanobacterial Photosynthesis

ที่มา: S. Rexroth et al., 2017

รงควัตถุใด ๆ สามารถดูดซับแสงได้ที่ละหนึ่งโฟตอน และหนึ่งโฟตอนนี้จะทำให้เกิดการ Excitation ของอีเล็กตรอนหนึ่งอีเล็กตรอน ซึ่งเป็นอีเล็กตรอนที่หมุนอยู่รอบ ๆ นิวเคลียส ในสภาพ Ground State อีเล็กตรอนในสภาพ Excitation นี้สามารถหลุดออกไปจากนิวเคลียสได้ รงควัตถุที่มีอีเล็กตรอนในสภาพ Excitation นั้นถือว่าอยู่ในสภาพ Excited State คลอโรฟิลล์และรงควัตถุอื่น ๆ อาจยังคงอยู่ในสภาพ Excited State เป็นระยะเวลาสั้น ๆ ประมาณ 10⁻⁹ ของหนึ่งวินาที เมื่ออีเล็กตรอนกลับเข้าสู่ Ground State พลังงานที่ได้จากการเคลื่อนที่ของอีเล็กตรอนพบว่าจะเสียไปในรูปของความร้อน ซึ่งเกิดจากการที่คลอโรฟิลล์ได้รับแสงน้ำเงิน ดังนั้นแสงสีน้ำเงินจึงใช้ในการสังเคราะห์แสงไม่ได้ดังเหตุผลข้างต้น แต่ถ้าคลอโรฟิลล์ได้รับแสงสีแดงจะทำให้คลอโรฟิลล์อยู่ในสภาพ Excited แล้วอีเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ไปถึงจุดศูนย์กลางของปฏิกิริยาซึ่งจุดศูนย์กลางของปฏิกิริยานี้อยู่ในไทลาคอยด์ (Thylakoids) ของคลอโรพลาสต์มีรงควัตถุที่เป็นคลอโรฟิลล์เอรวมกับโปรตีนบางชนิด แสงสีเขียวที่คลอโรฟิลล์ไม่ได้ดูดซับเอาไว้จะสะท้อนออกมาหรือผ่านไป ส่วนแคโรทีนอยด์จะดูดซับแสงสีน้ำเงินและม่วงและสะท้อนแสงสีเหลืองและแดงทำให้เห็นเป็นสีเหลือง (H geek, 2020)

การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็น 3-ฟอสโฟกลีเซอเรต (3-PGA) โดยใช้ ไรบูโลส-1,5-บิสฟอสเฟต (RuBP) รวมตัวกับคาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยตัวเร่ง รูบิสโค (RuBisCO) ได้เป็น

3-ฟอสโฟกลีเซอเรต 2 โมเลกุล การเปลี่ยน 3-ฟอสโฟกลีเซอเรต ไปเป็นกลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต (G3P) โดยใช้พลังงาน ATP และ $\text{NADPH} + \text{H}^+$ กลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต ที่ได้จะนำไปสร้างเป็นกลูโคสซึ่งจะเปลี่ยนเป็นแป้งในกรณีเป็นอาหารสะสมภายในเซลล์ หรือขนส่งไปยังเซลล์อื่นในรูปน้ำตาลซูโครส กลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต บางส่วนถูกนำไปจัดตัวใหม่กลายเป็นไรบูโลส-1,5-บิสฟอสเฟต (คาร์บอน 5 ตัว) เพื่อนำไปตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในรอบใหม่ ทั้งนี้กลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต 5 ตัว จะจัดตัวใหม่ได้เป็น ไรบูโลส-1,5-บิสฟอสเฟต 3 ตัว (H geek, 2020)

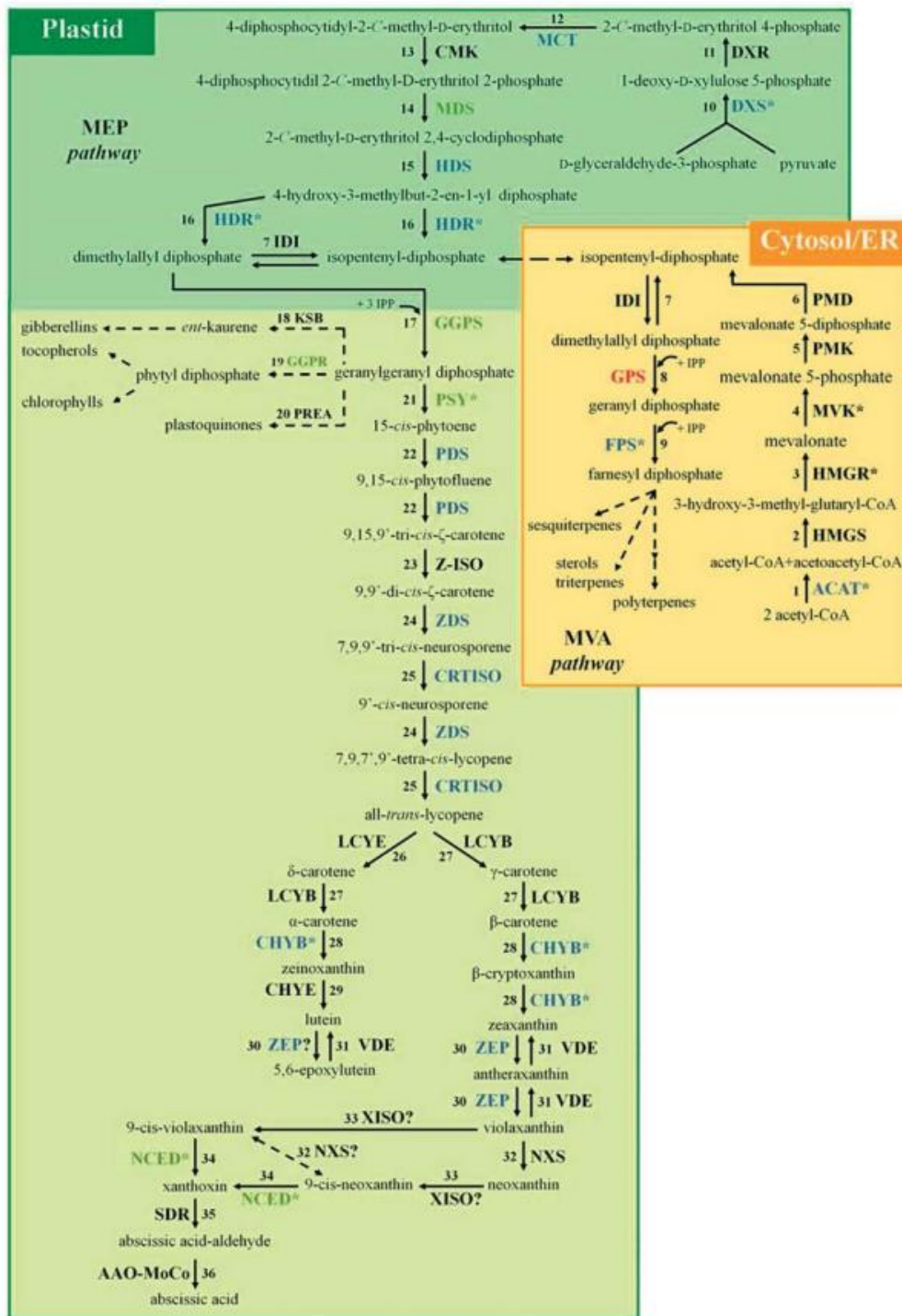


ภาพ 9 ปฏิกริยา Dark Reaction

ที่มา: H geek, 2020

กระบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์

วิถีการสังเคราะห์ Carotenoid (Carotenoid Biosynthesis Pathway) การสังเคราะห์สารกลุ่ม Carotenoid จะเริ่มจากการเปลี่ยนรูปของ acetyl Co-A เป็น 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) และเปลี่ยนไปเป็น Mevalonic Acid (MVA) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคาร์บอนจำนวน 6 อะตอมซึ่งเป็นสารตั้งต้นชนิดแรกในวิถีการสังเคราะห์สารกลุ่ม Terpenoid จากนั้น MVA จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น Isopentyl Pyrophosphate (IPP) โดยการทำงานของเอนไซม์ MVA Kinase ปฏิกริยา Isomerization ของ IPP เป็น Dimethylallyl Pyrophosphate (DMAPP) โดยการเติม IPP จำนวน 3 โมเลกุลใน DMAPP โดยการทำงานของเอนไซม์ Prenyl Transferase เพื่อให้ได้สาร Geranyl Geranyl Pyrophosphate (GGPP) ที่มีจำนวนคาร์บอน 20 อะตอมซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญของสารกลุ่ม Carotenoid การทำปฏิกริยาระหว่าง GGPP 2 โมเลกุลแบบ Head to Head โดยการทำงานของเอนไซม์ Phytoene Synthase ทำให้เกิดสารตัวกลาง Phytoene เป็นสารที่ไม่มีสีและจัดเป็น Carotenoid ชนิดแรกจากวิถีการสังเคราะห์และเมื่อเกิดปฏิกริยา Desaturation ในการเติมพันธะคู่แบบ Conjugated Double Bond ในโมเลกุลของ 15-*cis*-phytoene ในลำดับแรกเอนไซม์ phytoene desaturase (PDS) จะเปลี่ยน 15-*cis*-phytoene ไปเป็น 15,9'-*di-cis*-phytofluene และ 9,15,9'-*tri-cis*- ζ -carotene ตามลำดับ จากนั้นจะเกิดกระบวนการ isomerization โดยที่เอนไซม์ 15-*cis*- ζ -carotene isomerase (Z-ISO) จะเกิดเป็น 9,9'-*di-cis*- ζ -carotene แล้วจะเข้าสู่การ Desaturation อีก 2 ขั้นตอน ซึ่งจะถูกลดไฮโดรเจนโดยใช้เอนไซม์ ζ -carotene desaturase (ZDS) เกิดเป็น 7,9,9'-*tri-cis*-neurosporene และเกิด 7,9,7',9'-*tetra-cis*-lycopene ตามลำดับ สุดท้ายกิจกรรมของ *cis*-to-*trans* carotene isomerase (CRTISO) จะเปลี่ยนจาก 7,9,7',9'-*tetra-cis*-lycopene ให้เป็น all-*trans*-lycopene ตามด้วยการสังเคราะห์สารกลุ่ม Carotenoid ชนิดอื่น ๆ ทั้งชนิด Cyclic และ Acyclic Carotenoid โดยวิถีการสังเคราะห์ Carotenoid ซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ที่จำเพาะในแต่ละขั้นตอน เอนไซม์ Phytoene Synthase จัดเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการกำหนดและควบคุมวิถีการสังเคราะห์ Carotenoid (Grassi et al, 2013)

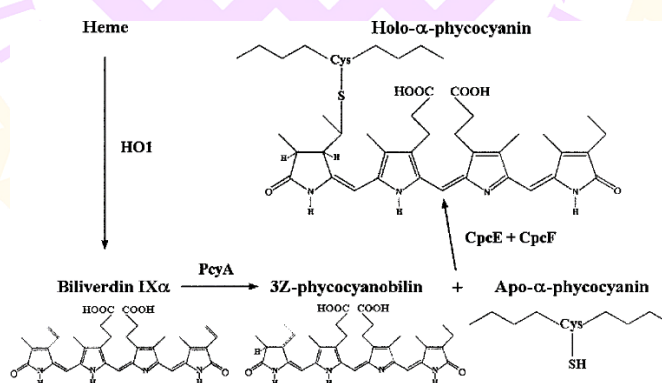


ภาพ 10 carotenoid pathway

ที่มา: Grassi et al., 2013

การสังเคราะห์ C-phycoyanin

การสังเคราะห์ซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยแอลฟาในไซยาโนแบคทีเรียเริ่มจาก การเปลี่ยน ฮีมให้เป็นวงแหวนเปิดที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 โดยใช้เอนไซม์ฮีโมออกซีจีเนส (hemeoxygenase: Hox1) และเฟอร์รีดอกซินออกซิไดรีดักเทส (ferredoxin oxidoreductase: PcyA) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาตามลำดับ ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 2 สังเคราะห์ได้จากยีน hox1 และ pcyA ตามลำดับ ทำให้ได้เป็นไฟโคไซยานโนบิลิน (3Z-phycoyanobilin) หรือโครโมฟอร์จากนั้นไฟโคไซยานโนบิลินจะถูกกระตุ้นให้เชื่อมกับอะโปโปรตีนซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยแอลฟาด้วยเอนไซม์ CpcE และ CpcF บิลินไลเอส (bilin lyase) ซึ่งสังเคราะห์ได้จากยีน cpcE และ cpcF ทำให้ได้เป็นโฮโลซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยแอลฟา ส่วนซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยเบตาก็มีปฏิกิริยาการสังเคราะห์ที่คล้ายกับซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยแอลฟา แต่จะต่างกันตรงที่ซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยเบตามี ตำแหน่งจับของไฟโคไซยานโนบิลิน 2 ตำแหน่ง อีกทั้งเอนไซม์บิลินไลเอสที่ใช้ในการเชื่อมต่อไฟโคไซยานโนบิลินกับอะโปโปรตีนซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยเบตามีหลายชนิด โดยมีการศึกษาก่อนหน้านี้ใน *Synechococcus* sp. PCC7002 พบว่าเอนไซม์บิลินไลเอสที่สามารถเชื่อมอะโปโปรตีนซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยเบตากับไฟโคไซยานโนบิลินเข้าด้วยกัน สามารถสังเคราะห์ได้จากกลุ่มของยีน cpcS, cpcU และ cpcT (Shen et al., 2006; Shen et al, 2008; Zhang et al., 2014) ยีนที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ซี-ไฟโคไซยานินในไซยาโนแบคทีเรียได้แก่ ยีน cpcA ทำหน้าที่สังเคราะห์อะโปโปรตีนหน่วยย่อยแอลฟาและยีน cpcB ทำหน้าที่สังเคราะห์อะโปโปรตีนหน่วยย่อยเบตา (Shen et al., 2006)



ภาพ 11 การสังเคราะห์โฮโลซี-ไฟโคไซยานิน

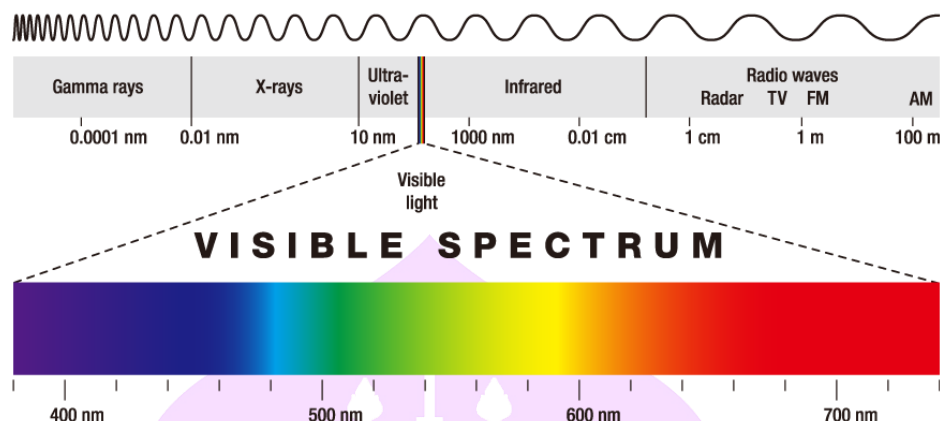
ที่มา: Aaron J et al., 2015

ประโยชน์ของสาหร่ายสไปรูลิน่าที่มีต่อสุขภาพ

ส่งผลดีต่อผู้ป่วยโรคเบาหวานประเภทที่ 2 และช่วยลดระดับไขมันในเลือด พบว่าผลการตรวจน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร 8 ชั่วโมง รวมถึงระดับคอเลสเตอรอลรวม (TG) และไขมันชนิดที่ไม่ดี (LDL) ลดต่ำลง และระดับไขมันชนิดที่ดี (HDL) เพิ่มสูงขึ้น ช่วยบรรเทาอาการโรคจุกอึกเสบจากภูมิแพ้ มีส่วนช่วยบรรเทาอาการน้ำมูกไหล จาม คัดหรือคันจมูก และช่วยเพิ่มระดับฮิโมโกลบินและอาจช่วยรักษาภาวะโลหิตจาง พบว่าปริมาณเฉลี่ยของฮิโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงเพิ่มสูงขึ้น โดยที่เพศหญิงอาจตอบสนองและเห็นผลได้เร็วกว่า อีกทั้งปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดแดงและความเข้มข้นเฉลี่ยของฮิโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงของอาสาสมัครเพศชายก็เพิ่มสูงขึ้นด้วยเช่นกัน การรับประทานสาหร่ายสไปรูลิน่าอาจส่งผลดีต่อผู้สูงอายุที่มีภาวะโลหิตจางและระบบภูมิคุ้มกันถดถอย ในปัจจุบันสาหร่าย *Spirulina platensis* นอกจากเป็นอาหารเสริมสุขภาพแล้วยังนิยมใช้สาหร่ายผงผสมในอาหารสัตว์ โปรตีนในสาหร่ายนี้มีสูงถึง 69.5-71% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งจะสูงกว่าโปรตีนในเนื้อและไข่ ในเนื้อสัตว์มีโปรตีน 18-20% และในไข่มีโปรตีน 10-25% และสูงกว่าถั่วเหลืองซึ่งมีโปรตีน 33-35% เท่านั้น นอกจากนี้จะมีโปรตีนสูงแล้วโปรตีนนี้ยังประกอบด้วยกรดอะมิโน (Essential amino acids) ที่ร่างกายต้องการครบถ้วน (Siangdung et al., 1996; เจียมจิตต์, 2531)

ความหมายของแสง

เมื่อปี พ.ศ.2209 เซอร์ไอแซก นิวตัน นักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษ ได้ทดลองเกี่ยวกับเรื่องแสง พบว่าถ้าให้แสงอาทิตย์ส่องผ่านปริซึม แสงจะเกิดการหักเหออกมาเป็นแสงสีต่าง ๆ 7 สี เรียกว่า “สเปกตรัม” เริ่มจากแสงที่มีความยาวคลื่นสั้นไปหาแสงสีที่มีความยาวคลื่นยาวได้ ดังนี้ คือ ม่วง คราม น้ำเงิน เขียว เหลือง แสด และแดง ที่สามารถมองเห็นได้ นอกจากนี้ยังมีรังสีอื่น ๆ ที่ไม่สามารถมองเห็นได้ ได้แก่ รังสีเหนือม่วงหรือรังสีอัลตราไวโอเล็ต เป็นรังสีที่มีความถี่สูงกว่าแสงสีม่วง และรังสีใต้แดงหรือรังสีอินฟราเรดเป็นรังสีที่มีความถี่ต่ำกว่าแสงสีแดง การที่มนุษย์เรามองเห็นสีต่าง ๆ บนวัตถุนั้น เป็นผลที่เกิดจากการผสมของแสงสีต่าง ๆ เช่น แสงขาวอาจเกิดจากการรวมกันของแสงเพียง 3 สี ได้แก่ แสงสีเขียว, แสงสีน้ำเงิน และแสงสีแดง หรือที่เรียกว่า “สีปฐมภูมิ” (Primary Colors) และหากนำแสงที่เกิดจากการผสมกันของสีปฐมภูมิ 2 สีมารวมกัน จึงเกิดเป็น “สีทุติยภูมิ” (Secondary Colors) ได้แก่ แสงสีคราม, แสงสีเหลืองและแสงสีม่วงแดง โดยที่สีทุติยภูมิแต่ละสีจะมีความแตกต่างกันในระดับความเข้มสีและความสว่างของแสง (Mehrangiz Ashiri et al, 2019)



ภาพ 12 สเปกตรัมและสีของแสง

ที่มา: Benq, 2018

การค้นพบไดโอดเปล่งแสง (Light-Emitting Diode : LED)

ปรากฏการณ์ Incandescence คือการที่วัตถุปล่อยแสงเมื่อถูกทำให้ร้อนมาก หลังจากนั้นก็มีการพบปรากฏการณ์ Electroluminescence คือการที่วัตถุปล่อยแสงเมื่อถูกกระตุ้นด้วยไฟฟ้าซึ่งการกำเนิดแสงที่ไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนพลังงานความร้อนให้เป็นพลังงานแสง ผู้ที่ค้นพบปรากฏการณ์ Electroluminescence เป็นคนแรกในช่วงปี ค.ศ. 1902-1907 คือนักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษชื่อ H. J. Round โดยสารประกอบที่เป็นตัวทำให้เกิดแสงคือซิลิกอนคาร์ไบด์ (SiC) ในปี ค.ศ. 1962 Nick Holonyack วิศวกรที่ปรึกษาของ General Electric Company ได้ประดิษฐ์ไฟ LED ที่มองเห็นได้ดวงแรกเป็น LED สีแดงจากสารกึ่งตัวนำชนิด gallium arsenide phosphide (GaAsP) และต่อมา N. Holonyack ได้รับการยกย่องให้เป็นบิดาแห่งไดโอดเปล่งแสง “father of the LEDs” ถัดไปในปี ค.ศ. 1972 M.G. Crawford ได้ค้นพบไดโอดเปล่งแสงสีเหลืองที่ทำจากสารกึ่งตัวนำชนิด GaAsP และเป็นผู้พัฒนาไดโอดเปล่งแสงสีแดงให้มีความสว่างที่มากกว่า Holonyack ถึง 10 เท่า ในปีเดียวกัน Herbert Maruska และ Jacques Pankove ได้ร่วมกันพัฒนาไดโอดเปล่งแสงสีม่วง (violet) ขึ้นเป็นครั้งแรกจากสารกึ่งตัวนำชนิด gallium nitride (GaN) ซึ่งผลการค้นพบนี้นำไปสู่การพัฒนาไดโอดเปล่งแสงสีน้ำเงินต่อไป ค.ศ. 1997 Shuji Nakamura นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นคือ ผู้ค้นพบไดโอดเปล่งแสงสีน้ำเงินเป็นคนแรก โดยการพัฒนาจาก สารกึ่งตัวนำชนิด indium gallium nitride (InGaN) และมีการผลิตในเชิงพาณิชย์ในช่วงเวลาประมาณปี ค.ศ. 1990 จนถึงปี ค.ศ. 2006 เขาได้ประดิษฐ์

ไดโอดเปล่งแสงสีเขียวย สีสาว และเลเซอร์ไดโอดสีน้ำเงิน (blue laser diode) สิ่งที่เขาค้นพบนำไปสู่เทคโนโลยีบลูเรย์ (blue ray) ในปัจจุบัน ในปี ค.ศ. 1998 ได้มีการพัฒนาไดโอดเปล่งแสงกำลังสูงเป็นครั้งแรกในเชิงพาณิชย์ได้ทำให้มีกำลังไฟฟ้าสูง ซึ่งมีอายุการใช้งานนานกว่า 10,000 ชั่วโมง ทำให้เกิดการแข่งขันเพื่อพัฒนาไดโอดเปล่งแสงกำลัง ค.ศ. 2012-2013 มีการพัฒนาไดโอดเปล่งแสงกำลังสูงชนิด Chip-On-Board (COB) และชนิด Multi Chip-On-Board (MCOB) มีพิทักต์กำลังไฟฟ้าสูง 200 วัตต์ต่อหนึ่งดวง ปัจจุบันผู้ใช้งานสามารถเลือกใช้ไดโอดเปล่งแสงได้ทุกสี และมีการนำมาใช้งานทดแทนแหล่งกำเนิดแสงแบบเดิม เช่น หลอดมิโซ้, หลอดฟลูออเรสเซนต์หรือหลอดฮาโลเจน (นภัทร วัจนเทพินทร์ และไชยย้งนต์ บุญมี, 2560)

Year	Color of Light	Wavelength range (nm)	Forward voltage drop (V)	Semiconductor material
1972	Ultraviolet	<400	3.1-4.4	(AlN), (AlGaIn), (AlGaInN)
1972	Violet	400-450	2.8-4.0	(InGaIn)
1993	Blue	450-500	2.5-3.7	(InGaIn), (SiC)
Mid-1990s	Green	500-570	1.9-4.0	(GaP), (AlGaInP), (AlGaP)
1972	Yellow	570-590	2.1-2.2	(GaAsP), (AlGaInP), (GaP)
Mid-1980s	Orange/amber	590-610	2.0-2.1	(GaAsP), (AlGaInP), (GaP)
Mid-1980s	Red	610-760	1.6-2.0	(AlGaAs), (GaAsP), (AlGaInP), (GaP)
Mid-1970s	Infrared	>760	<1.9	(GaAs), (AlGaAs)

ภาพ 13 คุณลักษณะของไดโอดเปล่งแสงสีต่าง ๆ และวัสดุสารกึ่งตัวนำ

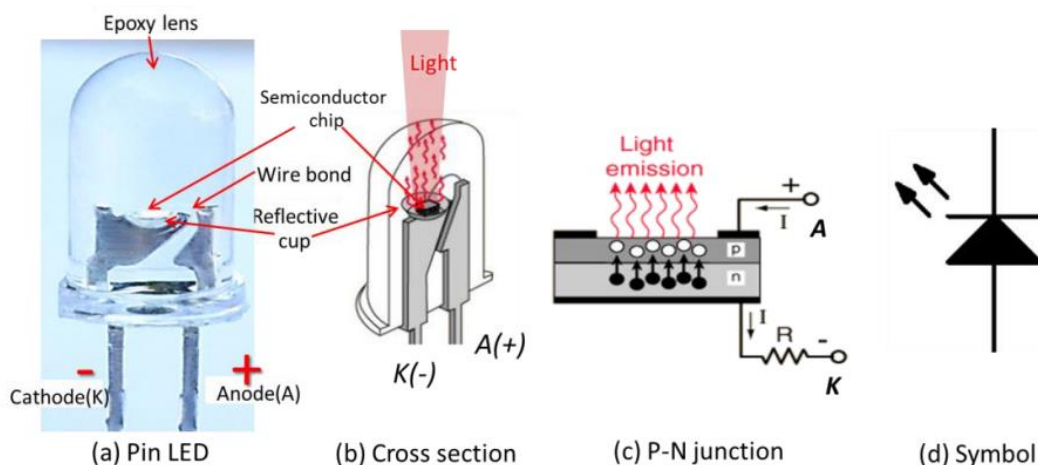
ที่มา: นภัทร วัจนเทพินทร์ และไชยย้งนต์ บุญมี, 2560

Light-Emitting Diode : LED

หลอดไฟ LED คือ หลอดที่ทำจากไดโอดแบบเปล่งแสงหรือสารกึ่งตัวนำไฟฟ้า ลักษณะการทำงานคือ มีจุดเด่นหลักในการกำเนิดแสงสว่างจากกระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านสารกึ่งตัวนำ หรือก็คือการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนภายในสารกึ่งตัวนำและปล่อยแสงสว่างออกมาทันที พลังงานจากกระแสไฟฟ้าจึงสามารถเปลี่ยนเป็นแสงสว่างได้เต็มที่และที่สำคัญไม่มีการเผาไหม้หลอด ตัวหลอดไฟมีหลายสี ทั้งสีแดง สีน้ำเงิน ขึ้นอยู่กับวัสดุที่ใช้ ต่อมาจึงมีหลอดไฟสีขาวสำหรับให้ความสว่างเป็นแสงสีขาว ทำให้เหมาะใช้ทั้งภายในบ้านและนอกบ้าน รวมถึงอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมรถยนต์ และอุตสาหกรรมการผลิต สีของแสงที่เกิดจาก

รอยต่อจะขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุที่นำมาใช้ในการสร้าง LED ทั้งชนิดที่เป็นของเหลวและก๊าซ เช่น ใช้แกเลียมฟอสไฟด์ (gallium phosphide, GaP) ทำให้เกิดแสงสีแดง ใช้แกเลียมอาร์สไนด์ฟอสไฟด์ (gallium arsenide phosphide, GaAsP) เกิดแสงสีเหลืองและเขียวการควบคุมปริมาณแสงสว่างจะควบคุมกระแสที่ไหลผ่านหลอด LED หากกระแสที่ไหลสูงเกินไปจะทำให้หลอดมีความสว่างมาก แต่หากป้อนกระแสสูงเกินไปจะทำให้บริเวณรอยต่อของสารกึ่งตัวนำเกิดความร้อนปริมาณมากจนทำให้โครงสร้างหลอดเสียหายไม่สามารถใช้งานได้อีก

หลอด LED หรือไดโอดเปล่งแสง ประกอบไปด้วยสารกึ่งตัวนำสองชนิด (สารกึ่งตัวนำประจุลบชนิด N และสารกึ่งตัวนำประจุบวกชนิด P) ประกอบเข้าด้วยกัน มีผิวข้างหนึ่งเรียบคล้ายกระจกเมื่อจ่ายไฟฟ้ากระแสตรงผ่านตัว LED โดยจ่ายไฟบวกให้ขาแอนโนด (A) จ่ายไฟลบให้ขาแคโทด (K) ทำให้อิเล็กตรอนที่สารกึ่งตัวนำประจุลบชนิด N มีพลังงานสูงขึ้น จนสามารถวิ่งข้ามรอยต่อจากสารชนิด N ไปรวมกับประจุบวกชนิด P เมื่อประจุบวกและประจุลบมาชนกันที่รอยต่อของสารกึ่งตัวนำทั้งสองชนิด ทำให้เกิดกระแสไหล เป็นผลให้ระดับพลังงานของอิเล็กตรอนเปลี่ยนไปและคายพลังงานออกมาในรูปคลื่นแสงเรียกว่า อิเล็กโตรลูมิเนสเซนส์ อุณหภูมิอยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิมากเกินไปจะทำให้แสงที่ปล่อยออกมาลดลง (Changsinled, 2562)

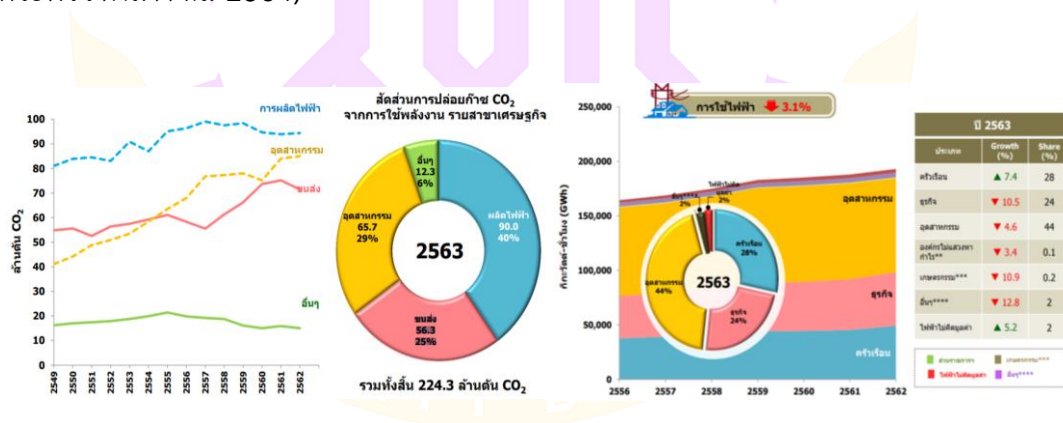


ภาพ 14 โครงสร้าง การทำงานและสัญลักษณ์ของไดโอดเปล่งแสง

ที่มา: นภัทร วัจนเทพินทร์ และไชยยงค์ บุญมี, 2560

พลังงาน

พลังงานเป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างมากในเศรษฐกิจและการดำรงชีวิตของมนุษย์มีความต้องการใช้พลังงานตลอดเวลา ไม่ว่าจะเป็นการใช้พลังงานเพื่อตอบสนองต่อความต้องการขั้นพื้นฐาน มนุษย์ยังใช้พลังงานเพื่อให้การดำรงชีวิตมีความสะดวกสบายและมีความทันสมัย เป็นปัจจัยที่ทำให้โลกมีการพัฒนาและขับเคลื่อนไปข้างหน้าได้ การจัดหากำลังการผลิตไฟฟ้าให้เพียงพอจึงเป็นภาระที่สำคัญของรัฐบาลของประเทศต้องวางแผนในการดำเนินงานอย่างรอบคอบ เนื่องจากมีผลกระทบต่อสภาพความเป็นอยู่ เศรษฐกิจ สังคม และความมั่นคงของประเทศโดยตรงการเติบโตอย่างรวดเร็วของเศรษฐกิจไทยนั้น ทำให้เราต้องมีการใช้ไฟฟ้าเพิ่มขึ้นอย่างมาก ซึ่งจะต้องมีการลงทุนปริมาณมหาศาลตามมาเพื่อรองรับความต้องการปี 2562 ในภาพรวมของการใช้พลังงานขั้นต้นของประเทศ เติบโตเพิ่มขึ้น 0.7% เป็นการเพิ่มขึ้นของการใช้น้ำมัน ก๊าซธรรมชาติ และพลังงานทดแทน สอดคล้องกับ GDP ของประเทศ ที่สำนักงานสภาพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ในปัจจุบันการใช้พลังงานในสาขาอุตสาหกรรมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศ มีแนวโน้มพบว่าการใช้ไฟฟ้าในสาขาอุตสาหกรรมเพียงสาขาเดียว สามารถทำให้เกิดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในบรรยากาศได้ถึง 270,000 ตันต่อปี ในปี 2563 ยังมีการปล่อยก๊าซ CO₂ จากการใช้พลังงานการผลิตไฟฟ้าสูงถึง 40%, สามารถจำแนกสัดส่วนในการใช้พลังงานปี 2563 ได้แก่ อุตสาหกรรม 44% (กระทรวงพลังงาน, 2564)



ภาพ 15 สัดส่วนการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และการใช้ไฟฟ้าในประเทศไทย

ที่มา: กระทรวงพลังงาน, 2564

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Samuel I. Beale and Nancy C. Chen (1983) ได้ทดสอบความสามารถของ N-methyl mesoporphyrin IX (NMMP) ในการสกัดกั้นการสังเคราะห์ heme เพื่อทดสอบว่าฮีมเป็นสารตั้งต้นของไฟโคไซยานิน (PC) ใน *Cyanidium caldwellii* เมื่อเซลล์เติบโตในความมืดบนเฮเทอโรโทรฟิกที่มีกลูโคสเป็นส่วนประกอบบนอาหาร heterotrophic medium ที่ 42°C อัตราการแบ่งตัวหรือการสังเคราะห์ Chl พบว่าไม่ได้รับผลกระทบจาก NMMP สูงถึง 3.0 micromolar และนานถึง 72 ชั่วโมง NMMP มีผลการยับยั้งต่อการสังเคราะห์ PC และ Chl ดูดซับอัตราส่วนที่สัมพันธ์กับค่าของเซลล์ควบคุม คือ 100%, 89%, 86% และ 50% ในเซลล์ที่เติบโตเป็นเวลา 48 ชั่วโมง NMMP ทำให้เกิดการสะสมของโปรโตพอร์ไฟรินภายในเซลล์และขัดขวางการสังเคราะห์ไฟโคไซยานิน

Eugenia J. Olguon (2001) ได้ศึกษาผลของความเข้มแสงน้อยและไนโตรเจนที่มีผลต่อสไปรูลิना ในการเพาะเลี้ยงแบบกลุ่มโดยใช้อาหารซึ่งมีน้ำทะเลที่เสริมด้วยที่ไม่ใช้ออกซิเจน จากนั้นน้ำเสียจากหมู มาทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้แสง (ต่ำกว่า) หรือ 144 Imol ได้พบว่าความเข้มข้นของสารชีวมวล (เป็นน้ำหนักแห้ง) หลังจากการเพาะเลี้ยง 12 วันคล้ายกันกับปริมาณโปรตีนของสารชีวมวลในตัวกลางเชิงซ้อนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เปอร์เซ็นต์กรด palmitoleic ของกรดไขมันรวมมีค่าสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดที่ความเข้มแสงสูงกว่าและกรดแกมมาลิโนเลนิก (GLA)

Luciane Maria Colla (2005) รัชศึกษาประเมินความเข้มข้นของอุณหภูมิและความเข้มข้นของไนโตรเจนในตัวกลางในการผลิตชีวมวล พบว่าที่ 35°C มีผลเสียต่อชีวมวล แต่มีผลในเชิงบวกต่อการผลิตโปรตีนไขมันและฟีนอลิก ใน Zarrouk ที่มีโซเดียม 1.875 หรือ 2.500 กรัม มวลชีวภาพและผลผลิตที่สูงขึ้นได้รับที่ 30°C มากกว่าที่ 35°C แต่ความเข้มข้นของไนโตรเจนดูเหมือนจะไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนไขมันหรือฟีนอลิก

Suphap (2009) ได้โคลนยีนและแสดงออกโปรตีน CpcA และ CpcB จาก *Anabaena siamensis* TISTR8012 โดยออกแบบไพรเมอร์จากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น 7 สายพันธุ์ เพื่อเพิ่มปริมาณยีน cpcA และ cpcB ด้วยปฏิกิริยา PCR ใช้พอลิเมอร์แล้วโคลนยีนเข้าสู่เวกเตอร์สำหรับผลิตโปรตีน จากนั้นผลิตโปรตีน CpcA และ CpcB ในแบคทีเรีย *E. coli* และทำให้รีคอมบิแนนท์โปรตีนบริสุทธิ์ด้วยโคบอลต์แอฟฟินิตีโครมาโทกราฟี (cobalt-affinity chromatography) ต่อมานำรีคอมบิแนนท์โปรตีนที่ได้มาทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ ABTS พบว่า รีคอมบิแนนท์โปรตีน CpcA และ CpcB มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS แต่น้อยกว่าไทโรลีน

Chaiklahan et al. (2010) ได้ทดสอบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* โดยใช้ น้ำเสียสุกรแบบกึ่งต่อเนื่อง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารในมวลลัตว์ชนิดต่าง ๆ จะเห็นว่ามวลสุกรและกากตะกอนของมวลสุกรจากบ่อหมักก๊าซชีวภาพ รวมทั้งมูลของไก่มีปริมาณธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง แมงกานีสและสังกะสีมากกว่ามูลโค ขณะที่มูลโคมีปริมาณธาตุโพแทสเซียมและโซเดียมมากกว่ามวลสุกรและพบว่าสาหร่ายสไปรูลิน่าสามารถบำบัดน้ำเสียจากสุกรได้

Giorgos Markou, Iordanis Chatzipavlidis and Dimitris Georgakakis (2012) พบว่าผลของความเข้มข้นของฟอสฟอรัสต่าง ๆ (10, 50, 250 และ 500 มก.) ต่อการผลิตมวลชีวภาพและองค์ประกอบของ *Arthrospira (Spirulina) platensis* ที่สัมพันธ์กับความเข้มแสง (24, 42 และ 60 $\mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$) ชีวภาพสูงสุดคือ $3,592 \pm 392 \text{ mg l}^{-1}$ และพบได้ที่ 250 $\text{mg l}^{-1} \text{K}_2\text{HPO}_4$ ที่ความเข้มแสง 60 $\mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$ หลังจาก 32 วันของการเพาะเลี้ยง ปริมาณโปรตีนไขมันและคลอโรฟิลล์ของชีวมวลแปรผันจาก 33.59 ถึง 60.57%, 5.34 ถึง 13.33% และ 0.78 ถึง 2.00% ตามลำดับ สิ่งที่สำคัญที่สุดคือข้อจำกัดของฟอสฟอรัส (10 $\text{mg l}^{-1} \text{K}_2\text{HPO}_4$) ทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้นอย่างมาก (59.64%)

Weiqi Fu et al. (2012) ในการศึกษาได้นำเสนอข้อมูล UPLC-UV-MS จาก *Dunaliella salina* พบว่าผลกระทบของไดโอดเปล่งแสงสีแดง (LED) การให้แสงสว่างกับอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตชีวมวลและระบุไฟตอนฟลักซ์ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญเติบโตของ *Dunaliella salina* พบว่าแคโรทีนอยด์ที่สำคัญเปลี่ยนขนานกับคลอโรฟิลล์บี และพบว่าแสงสีแดงเพียงอย่างเดียวในระดับสูงไม่สามารถควบคุมการสะสมของแคโรทีนอยด์ได้พบว่าแสง LED ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตควรจะมีแสงสีแดง (75 %) กับ LED สีน้ำเงิน (25 %)

Pleonsil et al. (2013) ได้โคลนยีนและผลิตอะโปโปรตีนซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยเบตา (apo-CpcB) จาก *Spirulina platensis* แล้วนำอะโปโปรตีนซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยเบตาที่ได้มาศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และการป้องกันความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในเม็ดเลือดแดง ซึ่งพบว่าอะโปโปรตีนซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยเบตาสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ได้ แต่น้อยกว่าซี-ไฟโคไซยานินจากธรรมชาติ

Sujatha kand and P. Nagarajan (2013) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนไม่เกิน 0.04 M เพิ่มปริมาณมวลชีวภาพโปรตีนไฟโคไซยานินและไขมันของสาหร่ายเกลียวทองในขณะที่แคโรทีนอยด์ทั้งหมดและปริมาณแคโรทีนรวมลดลง พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (3.124 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม) เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไนโตรเจนลดลง หากมีไนโตรเจน

สูงพบว่ามีโปรตีนและไฟโคไซยานินสูง ในขณะที่การลดลงของระดับไนโตรเจนนำไปสู่การลดลงของ phycoyanin, คลอโรฟิลล์

คัทติยา สุวรรณมณี (2558) ได้ศึกษาและเปรียบเทียบสมบัติการทนอุณหภูมิของซี-ไฟโคไซยานิน ที่สกัดจาก *Thermosynechococcus* sp. TUBT-T01 ซึ่งเป็นไซยาโนแบคทีเรียที่อาศัยในอุณหภูมิสูง กับ *S. cedrorum* TISTR 8589 ซึ่งเป็นไซยาโนแบคทีเรียที่อาศัยในอุณหภูมิปานกลาง พบว่าซี-ไฟโคไซยานิน จาก *Thermosynechococcus* sp. TUBT-T01 มีเสถียรภาพสูงสุดที่พีเอชเท่ากับ 5 และเมื่อ บ่มซี-ไฟโคไซยานินที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าซี-ไฟโคไซยานิน มีความเข้มข้นคงเหลือเท่ากับ 97.45 และ 90.04 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่ซี-ไฟโคไซยานินจาก *S. cedrorum* TISTR 8589 ซึ่งเป็นไซยาโนแบคทีเรียที่อาศัยในอุณหภูมิปานกลาง พบว่าซี-ไฟโคไซยานินมีความเข้มข้นคงเหลือเท่ากับ 74.54 เปอร์เซ็นต์ ซี-ไฟโคไซยานินจาก *Thermosynechococcus* sp. TUBT-T01 ยังคงเสถียรภาพได้ดีกว่าซี-ไฟโคไซยานินจาก *S. cedrorum* TISTR 8589 ในทุกค่า

Merve Esen and Raziye Ozturk Urek (2014) ได้ทดสอบในอาหารของ Zarrouk ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรดต่างกัน (10–180 mM) ความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรด 100 มิลลิโมลาร์ กระตุ้นการเจริญเติบโตรวมถึงการผลิตเม็ดสีและสารอื่น ๆ และกิจกรรมของเอนไซม์ กิจกรรมของเอนไซม์ที่สูงที่สุดพบในสูตรที่มีโซเดียมไนเตรด 100 mM และเหล็ก 50 μ M กิจกรรมของเอนไซม์สูงเหล่านี้อาจกระตุ้นการผลิตกรดอะมิโนสูง อาจส่งผลให้คุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้น

Merve Esen and Raziye Ozturk Urek (2014) พบว่าแอมโมเนียมไนเตรด 10 มิลลิกรัม สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตการผลิตรงควัตถุกลุ่มแคโรทีนอยด์ และกิจกรรมของเอนไซม์ในขณะที่แอมโมเนียมไนเตรด 30 และ 60 mM ทำให้เกิดการยับยั้ง และเมื่อลองใช้ความเข้มข้นของเหล็กต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *S. platensis* พบว่าระดับการเจริญเติบโตสูงสุดในอาหารที่มีธาตุเหล็กที่ 50 μ M และแอมโมเนียมไนเตรด 10 mM

Shoja et al. (2015) โคลนยีนและสังเคราะห์อะโปโปรตีนซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยเบตา (CpcB) จาก *Spirulina platensis* ใน *E. coli* แล้วเกิดการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนใน *E. coli* BL21 โดยใช้ IPTG ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลที่ได้พบว่า *E. coli* สามารถผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน CpcB ได้และอาจนำไปประยุกต์ในการผลิตโปรตีนซี-ไฟโคไซยานินในปริมาณมากได้ในอนาคต

Maryam Akbarnezhad (2016) พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* ในอาหาร Zarrouk ขนาดกลาง และมีความเข้มข้นของ Fe^{2+} เพิ่มขึ้นเป็น 10 และ 20 เท่าของอาหาร

Zarrouk ผลลัพธ์ชี้ให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในคลอโรฟิลล์เอ ในการทดลองที่มีความเข้มข้นของเหล็ก 20 เท่า แครโรทีนอยด์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ การเพิ่มความเข้มข้นของ Fe^{+2} ทำให้การลดลงของ phycobiliproteins

Monika Kula et al. (2016) การศึกษาอิทธิพลของแสงสีแดง (FRL), blue-red LED light (BRL) และ FRL(BRFRL) พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์และฟีนอลในเซลล์สาหร่ายขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของแสงและมีค่าสูงสุดภายใต้ BRL (16.7 ± 0.5 และ 9.1 ± 0.6 ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นเป็นบวก ($R = 0.902$ at $p < 0.00000001$) ระหว่างอัตราส่วนของความเข้มแสงเรืองแสงสัมพันธ์ของสารแขวนลอย *S. platensis* ที่ 450 นาโนเมตร กับสารแขวนลอยที่ 540 นาโนเมตร (F450/F540) *Spirulina platensis* Raman spectra แสดงให้เห็นว่าชีวมวลของสาหร่ายที่เติบโตภายใต้แสงสีขาวและ BRL มีความเข้มของแถบ phycobiliprotein ที่สูงกว่าการงอกของสาหร่ายภายใต้ BRFRL อย่างมีนัยสำคัญ

Lisa B. Wiltbank, David M. Kehoe (2016) พบว่าไซยาโนแบคทีเรียโอโครม มีความสามารถในการรับรู้สีของแสงที่หลากหลาย ในไซยาโนแบคทีเรีย *Fremyella diplosiphon* โดยไซยาโนแบคทีเรียโอโครม RcaE ตอบสนองต่อแสงสีแดงและสีเขียว นอกจากนี้ได้ระบุไซยาโนแบคทีเรียโอโครมชนิดใหม่ชื่อ DpxA ซึ่งตรวจพบได้มากที่สุด (การดูดซึมสูงสุด 494 นาโนเมตร) และสีเหลือง (การดูดซึมสูงสุด 568 นาโนเมตร) ให้แสงและยับยั้งการสะสมของโปรตีนหลักในการเก็บเกี่ยวด้วยแสงที่เรียกว่าไฟโคอีทรีน ซึ่งควบคุมโดย RcaE ระหว่างการปรับให้เข้ากับสี เช่นเดียวกับ RcaE DpxA เป็นโคเนสของระบบสององค์ประกอบ แม้ว่าเซลล์รับแสงทั้งสองนี้สามารถมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของ phycoerythrin ผ่านเส้นทางการส่งสัญญาณที่แตกต่างกัน การตอบสนองสูงสุดของ DpxA ต่อแสงสีน้ำเงินและสีเหลือง แสงช่วยแยกแยะสีอย่างละเอียดในบริเวณสเปกตรัมสีเขียว ซึ่งให้ความยาวคลื่นที่สำคัญสำหรับการเก็บเกี่ยวแสงสังเคราะห์ในไซยาโนแบคทีเรีย

สมเกียรติ จตุรงค์ล้ำเลิศ, จงกมล พรหมยะ และจตุรภัทร วาฤทธิ์ (2017) ศึกษาปัจจัยของแสงส่องสว่างจากหลอดแอลอีดีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสไปรูลินา ในสภาวะที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบโรงเรือนปิด การศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาในระบบโรงเรือนปิดที่มีการควบคุมจะมีอัตราการเติบโตดีกว่าการเพาะเลี้ยงระบบธรรมชาติโดยผลของชนิดสีของหลอดแอลอีดีเป็นแบบผสมสีแดงและน้ำเงินในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 ระยะเวลาในการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน และค่าความเข้มของฟลักซ์เท่ากับ $350 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ จากการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงเศรษฐศาสตร์เบื้องต้นของการพัฒนาระบบฟาร์มสาหร่ายอัจฉริยะโดยใช้แสงจากหลอดแอลอีดีในระบบเซลล์แสงอาทิตย์พบว่า มีจุดคุ้มทุนเท่ากับ 2.03 ปี

Deepak Kumar et al. (2018) ได้ศึกษาผลของรังสีที่สังเคราะห์แสง (PAR), อัลตราไวโอเลตเอ (UV-A) และรังสีอัลตราไวโอเลตบี (UVB) ต่อองค์ประกอบของเม็ดสีใน *Spirulina platensis* ภายใต้แสง (L) / ความมืด (D) ระยะเวลา 4/20, 8/16, 12/12, 16/8, 20/4 และ 24/24 ชั่วโมง การได้รับ PAR + UV-A (PA) และ PAR + UV-A + UV-B (PAB) พบว่า Chl a, โปรตีนทั้งหมด และ phycocyanin (PC) ลดลงมากกว่าสองเท่า แต่จะเพิ่มขึ้นในช่วงมืด แสงของ PAB เมื่อเปรียบเทียบกับ P และ PA ที่ความยาวคลื่นเดียวกันในความสามารถการผลิตอนุภาคอิสระถูกเร่งขึ้นสองเท่าในระยะแสง (24 ชั่วโมง L)

Ruijuan Ma et al. (2018) ได้ศึกษาผลของแสงสีน้ำเงินต่อแอสตาแซนธิน โดย *Haematococcus pluvialis* พบว่าแสงสีน้ำเงินช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการออกและชะลออัตราการใช้นิโตรเจนทำให้มีนัยสำคัญปริมาณแอสตาแซนธินที่สูงขึ้นและความสามารถในการสกัดได้ดีขึ้นเมื่อเทียบกับแสงสีขาวและสีแดงอัตราการงอก แสงสีน้ำเงินไม่เพียงแต่กระตุ้นการสังเคราะห์แอสตาแซนธินใน *H. pluvialis* และยังนำไปสู่การขาดไนโตรเจนเพื่อการสะสมแอสตาแซนทินเพิ่ม ยีนตัวรับแสงสีน้ำเงิน phot จะถูกควบคุมจนนำไปสู่การรวมตัวกันของยีนแอสตาแซนทินไปโอซินซินเนสที่สูงขึ้นทำให้มีปริมาณแอสตาแซนทินสูง

D.A. García-López et al. (2019) กระบวนการทางชีวภาพสำหรับการเพาะปลูกกลางแจ้งแบบสองเฟสสำหรับ *Arthrospira maxima* LJGR1 ร่วมกับการเหนี่ยวนำด้วยไฟโคไซยานินในสูตรอาหาร Zarrouk ชีวมวลถูกเก็บเกี่ยวและทำให้เข้มข้นโดยใช้ไฟ LED สีฟ้า (สภาวะควบคุม 24 ชั่วโมง) พบว่าผลผลิตชีวมวลสูงสุดพบได้ในวัฏจักรฤดูใบไม้ผลิและฤดูร้อน (13.63–18.97 gDWm⁻² d⁻¹); ในช่วงกลางฤดูใบไม้ร่วงและฤดูใบไม้ร่วงปลายฤดูใบไม้ร่วงพบว่าลดลง (9.93–7.76 gDWm⁻² d⁻¹) อย่างไรก็ตาม ในช่วงวัฏจักรที่มีสภาพการเจริญเติบโตที่ไม่เอื้ออำนวยจะไม่พบการเหนี่ยวนำไฟโคไซยานิน

Jelan Mofeed (2019) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อกระตุ้นการผลิต GLA โดย *Arthrospira platensis* โดยใช้เงื่อนไขการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันของอุณหภูมิและแสง ผลลัพธ์ที่ได้สะท้อนให้เห็นว่าการให้แสงสว่างต่อเนื่องนาน 24 ชั่วโมง (24L) ช่วยเพิ่มการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะอย่างยิ่ง GLA มากกว่า โดยให้ความมืด 12 ชั่วโมง: แสงสว่าง 12 ชั่วโมง (12D:12L) ในเวลาเดียวกัน อุณหภูมิต่ำ (24 องศาเซลเซียส) ช่วยเพิ่มผลผลิต GLA (29.98 mg.g⁻¹ น้ำหนักแห้ง) พบว่าค่า GLA สูงสุด (31.62 mg.g⁻¹) เมื่อได้รับภายใต้ต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส โดยการเพิ่ม 2 mM H₂O₂ จะสร้างกรดไขมันทั้งหมด 27.42%

Sivaprakasam Sivasankari et al. (2020) ได้ศึกษา LED สีแดงและยูเรียใช้เป็นแหล่งแสงและไนโตรเจนตามลำดับในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทองเพื่อเพิ่มคุณสมบัติการเรือง

แสงและความบริสุทธิ์ของไฟโคไซยานิน ไฟโคไซยานินที่สัมผัสแสงสีแดงแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่เด่นชัดต่อแบคทีเรีย กิจกรรรมการขับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของ C-PC (93.7%) สูงกว่าเพาะเลี้ยงใน WL (88.8%) ไฟโคไซยานินจากการเพาะเลี้ยง RL มีฤทธิ์ต้านการงอกของเมล็ด (64.1%) ด้านเซลล์มะเร็ง HeLa

Veerle M. Luimstra (2020) ในการศึกษาได้ตรวจสอบการเปลี่ยนจากแสงสีขาวเป็นแสงสีน้ำเงิน สีส้ม หรือสีแดงมีผลอย่างไรในไซยาโนแบคทีเรีย *Synechocystis* sp. PCC 6803. ในทั้งหมด 145 ยีนถูกควบคุมอย่างมีนัยสำคัญเพื่อตอบสนองต่อแสงสีน้ำเงินในขณะที่ยีนเพียงไม่กี่ยีนตอบสนองต่อแสงสีส้มและสีแดง โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีนที่เข้ารหัสโปรตีน D1 และ D2 ของ PSII, CP47 คลอโรฟิลล์จับกับโปรตีน PSII และยีนที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซม PSII ได้รับการควบคุมในแสงสีน้ำเงิน ในขณะที่ยีน photosystem I (PSI) ไม่ตอบสนองต่อแสงสีน้ำเงิน ดังนั้นแสงสีน้ำเงินจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงครั้งสำคัญใน transcriptome ของไซยาโนแบคทีเรีย

Wipawee Sritusnee et al. (2021) โคลนยีนที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ไฮโดรเจน-ไซไฟโคไซยานิน ได้แก่ ยีน hox1 และ pcyA จากไซยาโนแบคทีเรียกลุ่ม *Nostoc* ยีน cpcE และ cpcF จาก *Thermosynechococcus* sp. TUBT-T01 ได้โคลนและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน พบว่า ยีน hox1 ของ *Nostoc* sp. TUBT04 และ pcyA ของ *Nostoc* sp. TUBT01 มีความเหมือนกันกับยีน hox1 และ pcyA ของ *Nostoc* sp. NIES-4103 ที่ระดับ 97 เปอร์เซ็นต์และ 96 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่ยีน cpcE และ cpcF ของ *Thermosynechococcus* sp. TUBT-T01 มีความเหมือนกันกับยีน cpcE และ cpcF ของ *Thermosynechococcus* sp. CL1, *T. elongatus* PKUAC-SCTE542, *T. vulcanus* NIES-2134 และ *T. elongatus* BP-1 ที่ระดับ 90-92 เปอร์เซ็นต์

Shohreh Alipour et al. (2021) อนุภาค Selenium nanoparticles (SeNPs) เป็นสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่รู้จักกันดี มีการใช้วิธีการทางเคมีและชีวภาพที่หลากหลาย สำหรับการสังเคราะห์ SeNPs ในการศึกษา การสังเคราะห์ทางชีวภาพของ SeNPs โดยใช้ไซเดียมซีลีไนต์และ *Spirulina platensis* พบว่ารอบการให้แสง 12 ชั่วโมง มีดี 12 ชั่วโมงต่อเนื่องที่ pH 5 นำไปสู่การผลิตความเสถียร SeNPs ที่มีขนาด 145 ± 6 และ 171 ± 13 nm ตามลำดับ

L. Junique et al. (2021) พบว่าค่าที่เหมาะสม *Arthrospira (Spirulina) platensis* สำหรับอัตราการเจริญเติบโต คือ 14 ชั่วโมง / 10 Klux ; สำหรับอัตราการผลิต phycocyanin 11.8 h / 7.2 Klux ; สำหรับอัตราการผลิตคลอโรฟิลล์ 6.2 Klux / 12.6 ซม. ; สำหรับอัตราการผลิตแคโรทีน 6.6 Klux / 12.6 ซม.

N.U.F. Niangoran et al. (2021) เเพาะเลี้ยง *Spirulina (Arthrospira platensis)* ภายใต้แสง LED สีขาวที่มีความเข้มของแสงต่างกัน ที่มีความเข้มของแสงที่ 80 และ 160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ โดยให้ช่วงแสงต่างกัน โดยให้ในที่มีมืด/สว่าง (h:h) (24:0, 20:4 และ 16:8) ภายใต้ความเข้มของแสงที่ 160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ สไปรูลินา ผลิตสารชีวมวลและรงควัตถุ (ไฟโคไซยานิน คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์) เพิ่มขึ้น สำหรับชีวมวลพบว่าเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในช่วงการให้แสงที่ 24:0 มากที่สุด รองลงมาคือ 20:4 และ 16:8 h



บทที่ 3

วิธีการทดลอง

วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

1. ปีกเกอร์ (Beaker)
2. กระจกตวง (Cylinder)
3. ขวดรูปชมพู่ (Flask)
4. ชั้นตักสาร หลอดหยด แท่งแก้ว ปากคีบ
5. ปิเปต และจุกยาง
6. ไมโครปิเปต (Micropipette) และทิว (Tips)
7. บิวเรต (Burette) และขาตั้ง (Stand)
8. ผ้าขาวบาง (ตาข่ายขนาด 60 ไมครอน)
9. กรวยกรอง
10. สำลี
11. อะลูมิเนียมฟรอยด์
12. กระจกชั่งสาร
13. ขวด Polyethylene
14. สายออกซิเจน และปั๊มอากาศ
15. Hearnocytometer
16. สไลด์ (Slides) และกระจกปิดสไลด์ (Cover slides)
17. หลอดไฟ LED
18. น้ำกลั่น
19. หัวเชื้อสาหร่าย *S. platensis*

วัสดุสิ้นเปลือง

1. กระจกทึบ
2. สำลี
3. แผ่นฟลอยด์อะลูมิเนียม

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light compound microscope)
2. pH meter
3. เครื่องวัดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)
4. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. ชุดกรวยกรองสุญญากาศ (Separator Funnel)
7. เครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
8. เครื่องเขย่า (Shaker)
9. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
10. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
11. เครื่องปั่นตกตะกอน (Centrifuge)
12. เครื่องวัดความเข้มแสง (Lux meter)
13. ชุดวิเคราะห์ไนโตรเจนเจตาห์ล

สารเคมี

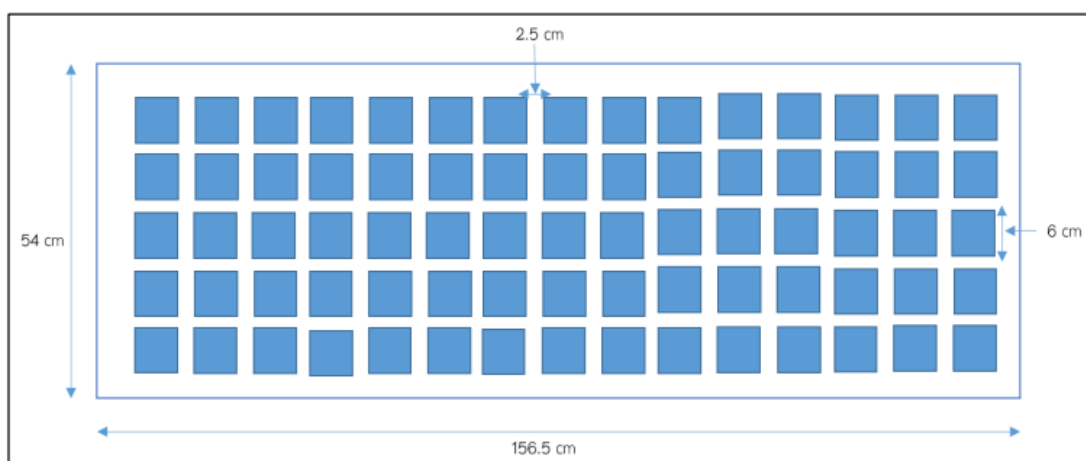
1. โซเดียมไบคาร์บอเนตหรือผงฟู (NaHCO_3)
2. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (K_2HPO_4)
3. โซเดียมไนเตรท (NaNO_3)
4. แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
5. เกลือแกง (NaCl)
6. แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
7. เฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO_4)
8. EDTA solution
 - 8.1 กรดบอริก (H_3BO_3)
 - 8.2 แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
 - 8.3 ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
 - 8.4 คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
 - 8.5 โมลิบดีนัมออกไซด์ (MoO_3)
9. 0.1 M KOH
10. 95% เอทานอล

11. ไดเอทิลอีเทอร์ (C₂H₅)₂O

การเตรียมสาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง

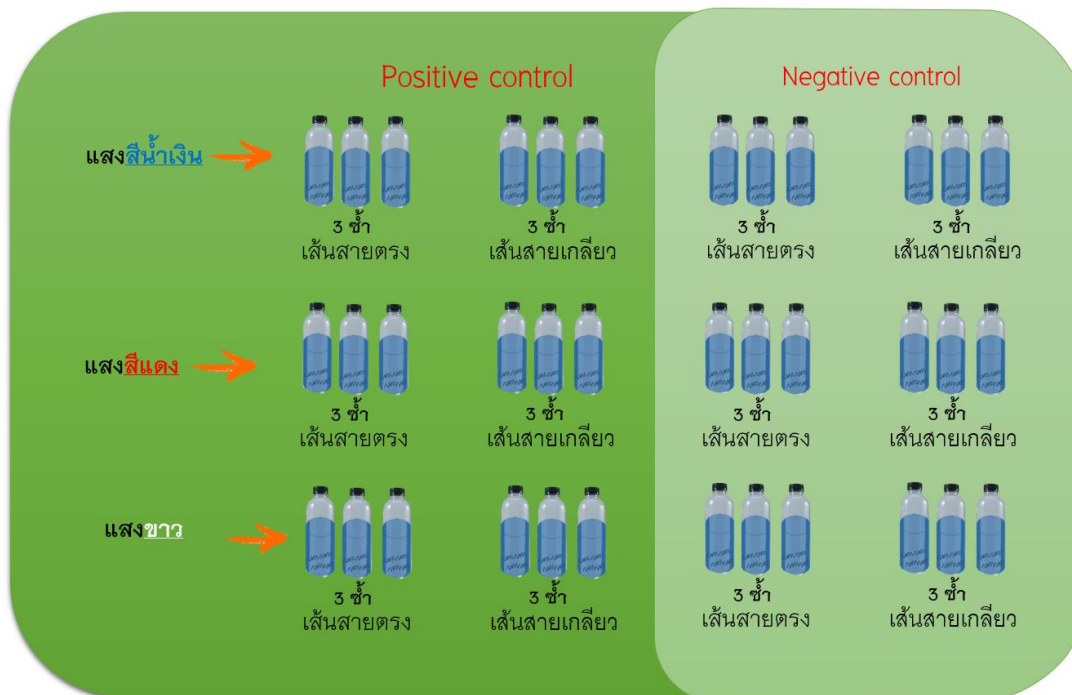
การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย *Spirulina platensis*

1. เพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* ชนิดเส้นสายเกลียวและเส้นสายตรงเพื่อทำให้หัวเชื้อบริสุทธิ์ เตรียมหัวเชื้อสาหร่าย *Spirulina platensis* ลงในอาหาร Modified Zarrouk medium ปริมาณ 250 มิลลิลิตร เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรเพาะเลี้ยง โดยปรับค่า pH ให้เท่ากับ 10 ด้วย NaOH เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง และเติมอากาศเพื่อให้สาหร่ายลอยตัวขึ้นมารับแสงไฟจากหลอดไฟสีขาวที่มีความสว่าง 3,000 ลักซ์ โดยให้แสงต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง เพาะเลี้ยงจนกระทั่งวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ให้ได้ค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 1 เพื่อหา growth curve เป็นระยะเวลา 30 วัน ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2565



ภาพ 16 แผงการวางแปลงเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis*

2. ขยายปริมาณหัวเชื้อเพิ่ม เป็น 1,500 มิลลิลิตร ทำการเพาะเลี้ยงจนกระทั่งวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ให้ได้ค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 1 อีกครั้ง จึงจะสามารถนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในการเพาะเลี้ยงในระยะที่สอง



ภาพ 17 จำนวนตัวอย่างทดลอง

3. ทำการเพาะเลี้ยงระยะที่สอง 21 วัน โดยเตรียมอาหารต่อ 1 ตัวอย่างปริมาตรทั้งหมด 5 ลิตร โดยใช้อาหาร Modified zarrouk medium เต็มหัวเชื้อ *Spirulina platensis* สายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ที่เกิด mutants ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวที่มีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 nm มากกว่าหรือเท่ากับ 1 ที่มีความเข้มข้น 10% ของปริมาตรเพาะเลี้ยง โดยปรับ pH ให้เป็น 10 โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงสีแดง (ระบบปิด), แสงสีน้ำเงิน (ระบบปิด) และแสงขาว (ระบบเปิด) โดยมีการเติมอากาศด้วย Air pump ตลอดเวลา

4. การวัดการเจริญของสาหร่าย

4.1. วัดค่า OD ที่ความยาวคลื่นที่ 560 nm

วัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 560 nm ลงไปแทน ปิดฝาให้สนิท อ่านค่า absorbance (A) ด้วยเครื่อง และบันทึกค่าที่ได้ใส่สมุด โดยจะทำการวัดค่า OD ทุก ๆ 3 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณชีวมวล โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเส้นสายโดยใช้ Haemocytometer และคำนวณอัตราจำเพาะของการเจริญเติบโต (Specific growth rate; μ) ดังสมการ จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์

ระหว่างจำนวนวัน ในการเพาะเลี้ยงและปริมาณชีวมวล เพื่อกำหนดให้วันที่ *Spirulina platensis* เข้าสู่ระยะ stationery เป็นวันเก็บเกี่ยวผลผลิต เพื่อนำไปวิเคราะห์สารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ

$$\mu \text{ (เส้นสายต่อลิตรต่อวัน)} = \frac{(\ln X_2 - \ln X_1)}{t_1 - t_2} \quad (1)$$

เมื่อ μ คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เส้นสายต่อลิตรต่อวัน)

X_1 คือ จำนวนเส้นสายในวันที่ t_1

X_2 คือ จำนวนเส้นสายในวันที่ t_2

4.2. การนับจำนวนเส้นสายโดยใช้ Hemacytometer

ในตารางตรงกลางมีพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ในตารางใหญ่สามารถแบ่งย่อยได้อีก 400 ตาราง เมื่อทำการหยดสารหยาบประมาณ 20 ไมโครลิตรลงบนตารางแล้วให้ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ และนำไปนับจำนวนเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยสุ่มพื้นที่นับสารหยาบ 5 จุดหรือจะสุ่มนับแบบแนวทแยงหรือแนวขนานก็ได้

4.3. การตรวจสอบ pH ให้มีค่าคงที่

ตรวจค่า pH ทุก ๆ 3 วันด้วยเครื่อง pH Meter

4.4. การเก็บน้ำหนักรักษา

เมื่อสิ้นสุดกระบวนการเพาะเลี้ยงแล้วจะทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตชีวมวลของ *Spirulina platensis* โดยการกรองผ่านผ้าขาวบางขนาด 60 ไมครอน นำเซลล์สารหยาบไปล้างด้วยน้ำกลั่นให้ สะอาด 2-3 ครั้ง เพื่อลดค่า pH ให้เป็นกลาง แล้วเก็บน้ำหนักรักษาเป็นน้ำหนักรักษาสิ่งมีชีวิตหลังจากที่ความชื้นถูกขจัดออกจนหมดสิ้นโดยใช้ความร้อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เพื่อเป็นการวัดการเติบโตที่ดีที่สุดเนื่องจากน้ำหนักรักษาเป็นน้ำหนักรักษาของมวลอินทรีย์ที่เกิดจากการเติบโตที่แท้จริง โดยระมัดระวังไม่ให้สารหยาบถูกเผาจนไหม้ เก็บรักษาไว้ให้ไม่ถูกความชื้นเพื่อนำไปวิเคราะห์รังควันต่อไป (Sornchal, 2013)

4.5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการทดลองแสดงค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนของข้อมูล 3 ซ้ำ (จำนวนเซลล์ ค่าความหนาแน่นของเซลล์ และประสิทธิภาพการเจริญเติบโตแต่ละทรีตเมนต์) (Mean \pm S.D.) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในการวิเคราะห์ข้อมูลทางเดียว (one-way ANOVA) หรือข้อมูลสองทาง (Two-way ANOVA) โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) เพื่อทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละชุดการทดลองที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม SPSS

5. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Wintermans and Demots, 1965)

ซังตัวอย่างสาหร่าย *Spirulina platensis* 0.1 กรัม ลงในหลอดเซนทริฟิวขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วเติม 95% เอทานอลปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แช่เย็นทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาปั่นตกตะกอนด้วยความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แยกสารละลายส่วนใส (supernatant) ลงในหลอดเซนทริฟิวหลอดใหม่ และนำไปปั่นให้ตกตะกอนอีกครั้งอีกครั้ง นำสารละลายที่สกัดได้มาวัดค่าการดูดกลืนด้วยแสงที่ความยาวคลื่น 750 665 และ 649 นาโนเมตร โดยใช้ 95% เอทานอลเป็น Blank คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์เอ จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{คลอโรฟิลล์เอ (ไมโครกรัมต่อลิตร)} = \frac{((13.7(A_{665}-A_{750})-(5.76(A_{649}-A_{750})))) \times v}{V \times l} \quad (2)$$

เมื่อ v คือ ปริมาตรที่สกัด (มิลลิลิตร)

V คือ ปริมาตรตัวอย่างที่กรอง (มิลลิลิตร)

และ l คือ ความกว้างของคิวเวต (เซนติเมตร)

6. การวิเคราะห์ปริมาณไฟโคไซยานิน (Siegelman, HW. and Kycia, JH, 1978)

ซังตัวอย่างสาหร่าย *Spirulina platensis* 0.01 กรัมลงในหลอดเซนทริฟิวขนาด 15 มิลลิลิตร เติมโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำมาละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำซ้ำอย่างน้อย 3 รอบ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 615 และ 652 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอีริทริน จากสมการต่อไปนี้

$$\text{ไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)} = \frac{(A_{615} - (0.474 \times A_{652}))}{5.34} \quad (3)$$

$$\text{อัลโลไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)} = \frac{(A_{652} - (0.208 \times A_{615}))}{5.09} \quad (4)$$

ไฟโคอีริทริน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

$$= \frac{(A_{562} - (2.41 \times \text{ไฟโคไซยานิน}) - (0.849 \times \text{อัลโลไฟโคไซยานิน}))}{9.62} \quad (5)$$

เมื่อ A562 คือ ค่าการดูดกลืนด้วยแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร

A615 คือ ค่าการดูดกลืนด้วยแสงที่ความยาวคลื่น 615 นาโนเมตร

A652 คือ ค่าการดูดกลืนด้วยแสงที่ความยาวคลื่น 652 นาโนเมตร

7. การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ (Sommer, 1992)

ซึ่งตัวอย่างสาหร่าย *Spirulina platensis* 0.2 กรัม ลงในหลอดเซนทริฟิวขนาด 15 มิลลิลิตร เติมน้ำ 95% เอทานอลปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ 60% โพแทสเซียม 0.5 มิลลิลิตร บ่มที่ 45-50 องศาเซลเซียส อ่างควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 10 นาที นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แยกสารละลายส่วนบนใส่ลงในหลอดเซนทริฟิวขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำ 95% เอทานอลและ 60% โพแทสเซียมลงในส่วนที่เป็นตะกอนเพื่อสกัดซ้ำอีกครั้ง จากนั้นเติมน้ำ 9% โซเดียมคลอไรด์ 10 มิลลิลิตร และไดเอทิลอีเทอร์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายแยกชั้น ปิดสารละลายส่วนบนลงในหลอดใหม่ เติมน้ำไดเอทิลอีเทอร์ปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนด้วยแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดจากสมการต่อไปนี้

$$\text{แคโรทีนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง)} = \frac{A_{450} \times 10}{260 \times W} \quad (6)$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนด้วยแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

10 คือ ปริมาตรไดเอทิลอีเทอร์ที่ใช้สกัด

260 คือ ค่าสัมประสิทธิ์ของแคโรทีนอยด์

W คือ น้ำหนักแห้ง (กรัม)

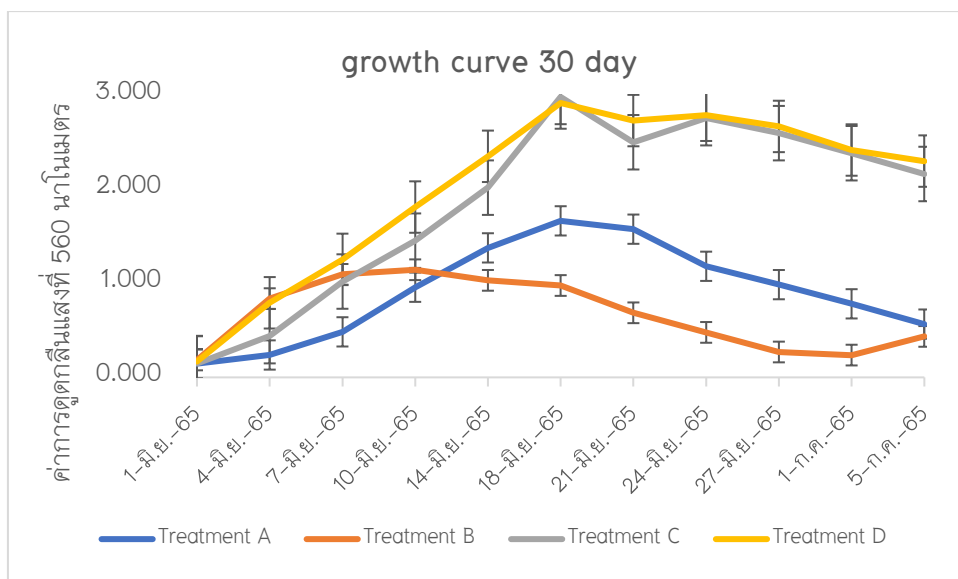
บทที่ 4

ผลการวิจัย

ผลการวิจัย

เพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* ชนิดเส้นสายเกลียวและเส้นสายตรงเพื่อทำให้หัวเชื้อบริสุทธิ์ โดยการเตรียมหัวเชื้อสำหรับ *Spirulina platensis* ลงในอาหาร Modified Zarrouk medium ปริมาณ 250 มิลลิลิตร เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรเพาะเลี้ยง โดยปรับค่า pH ให้เท่ากับ 10 ด้วย NaOH เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเพื่อหาอัตราการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดของ *Spirulina platensis*

พบว่าอัตราการเติบโตที่ดีที่สุดของสำหรับ *Spirulina platensis* อาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาวะการเพาะเลี้ยง ในงานวิจัยนี้ได้เพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* เส้นสายเกลียวและเส้นสายตรง จากการทดลองเมื่อนำสาหร่ายไปวัดค่าดูดกลืนด้วยแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร พบว่ามีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง โดยพบว่าทั้งเส้นสายเกลียวและเส้นสายตรงจะเจริญเติบโตได้ดีที่สุดและมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในอัตราคงที่เมื่อเทียบกับ Negative control แต่หลังจากวันที่ 21 พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจะลดลงช้า ๆ ซึ่งมีหลายปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการดูดซึมธาตุอาหารและการเจริญเติบโตของสาหร่าย

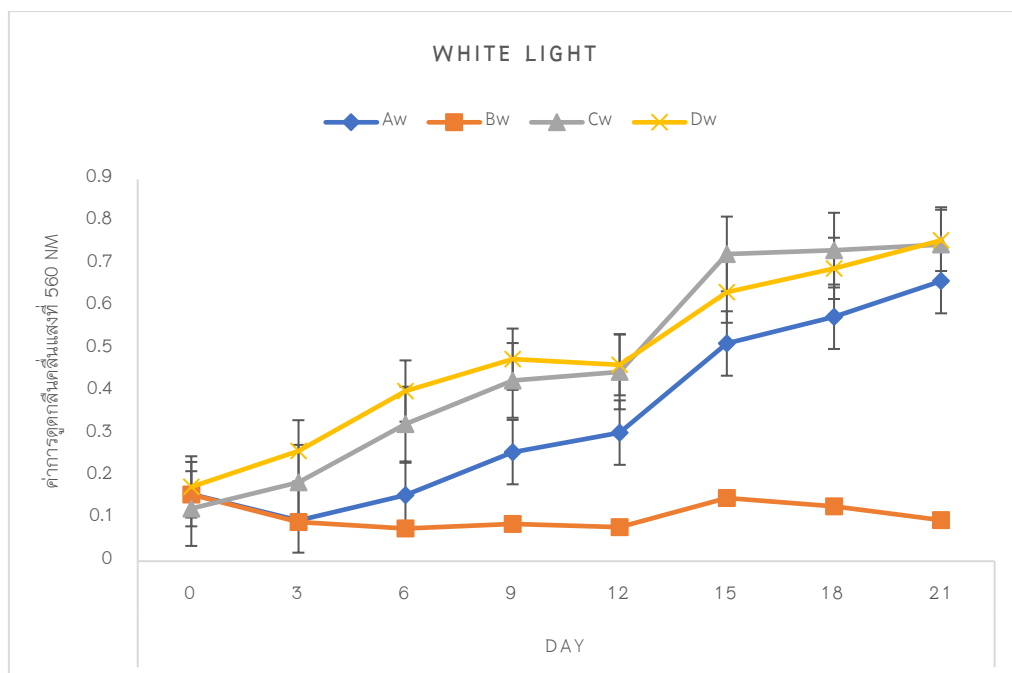


ภาพ 18 ค่าดูดกลืนแสงของ *Spirulina platensis* ในระยะเวลา 30 วัน ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

หมายเหตุ: A = Straight type negative control B = Spiral type negative control
C = Straight type positive control D = Spiral type positive control

เมื่อขยายหัวเชื้อเพียงพอแล้วภายใต้แสงสีขาวที่มีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 nm มากกว่าหรือเท่ากับ 1 และหา growth curve จากนั้นจึงนำไปเลี้ยงระยะที่สองภายใต้แสง LED สีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน

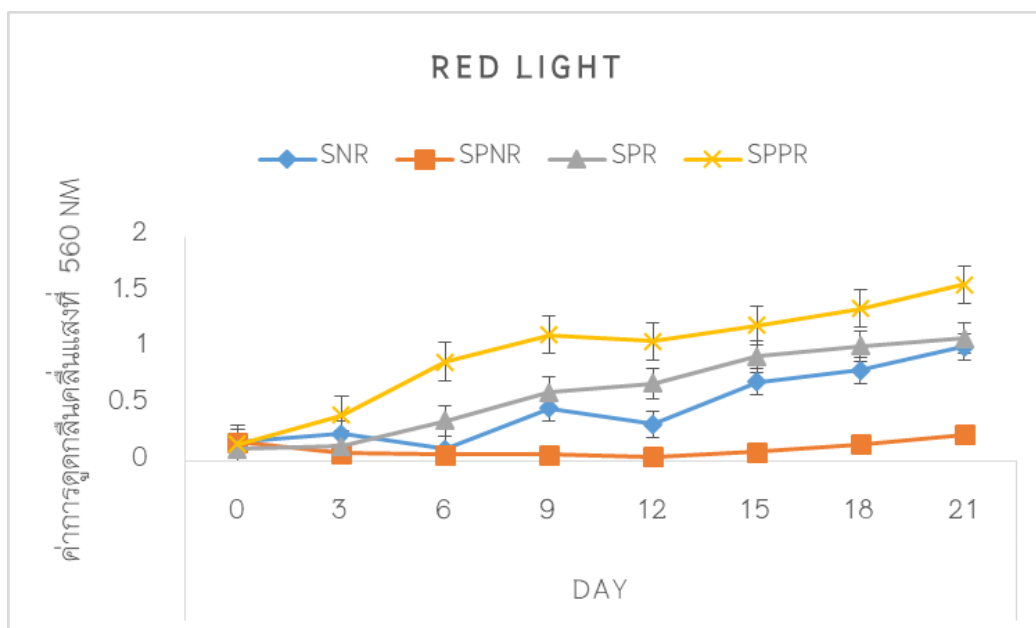
การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis* ภายใต้แสงสีขาว โดยทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่าในช่วงวันที่ 12-21 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Spirulina platensis* เส้นสายตรง SPW และ เส้นสายเกลียว SPPW มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชิงลบ ในสูตร SPPW (Spiral type positive control), SPW (Straight type positive control) และ SNW (Straight type negative control) มีการเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 21 มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 0.756 ± 0.008^c , 0.746 ± 0.011^c และ 0.660 ± 0.022^b ตามลำดับ



ภาพ 19 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง White Light

หมายเหตุ: SNW = Straight type negative control SPNW = Spiral type negative control
 SPW = Straight type positive control SPPW = Spiral type positive control

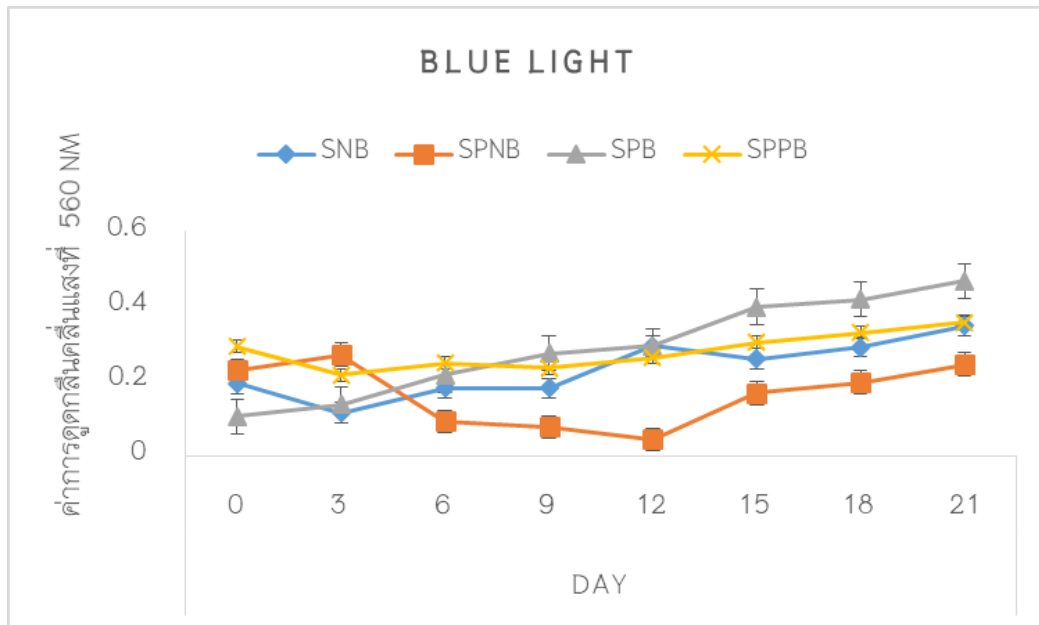
การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis* ภายใต้แสงสีแดงพบว่าอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าแสงสีขาวและมีความแตกต่างอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติในชุดทดลอง SPPR (Spiral type positive control) และ SPR (Straight type positive control) ในช่วงวันที่ 12-21 จากกราฟแสดงให้เห็นว่าเส้นเกลียว SPPR (Spiral type positive control) มีการเจริญสูงสุดในวันที่ 21 โดยมีค่าสูงสุดที่ 1.573 ± 0.005^d ในขณะที่ชุดการทดลองเส้นสายตรง SPR (Straight type positive control) พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตน้อยกว่า ซึ่งแตกต่างกับชุดควบคุมภายใต้แสงสีขาวที่เส้นสายเกลียวและเส้นสายตรงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ



ภาพ 20 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Red Light

หมายเหตุ: SNR = Straight type negative control SPNR = Spiral type negative control
 SPR = Straight type positive control SPPR = Spiral type positive control

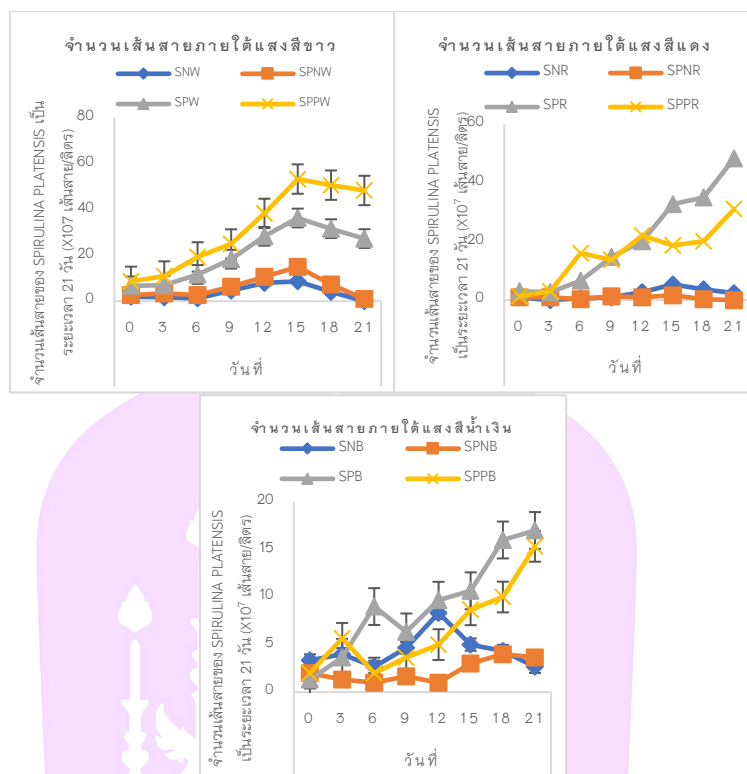
ในช่วงวันที่ 15-21 ภายใต้แสงสีน้ำเงินพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติในเส้นสายเกลียว SPB (Straight type positive control) และเส้นสายตรง SPPB (Spiral type positive control) อัตราการเจริญเติบโตของ *Spirulina platensis* พบว่าการเจริญเติบโตอย่างช้า ๆ ดังที่ พบว่า SPB (Straight type positive control) และ SPPB (Spiral type positive control) มีการเจริญสูงสุดในวันที่ 21 มีค่าเฉลี่ย 0.467 ± 0.009^d และ 0.356 ± 0.009^c ตามลำดับ



ภาพ 21 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Blue Light

หมายเหตุ: SNB = Straight type negative control SPNB = Spiral type negative control
 SPB = Straight type positive control SPPB = Spiral type positive control





ภาพ 22 จำนวนเส้นสาย *Spirulina platensis* เป็นระยะเวลา 21 วัน ($\times 10^7$ เส้นสาย/ ลิตร)

หมายเหตุ: SNW = Straight type negative control (white light) SPNW = Spiral type negative control (white light)
 SPW = Straight type positive control (white light) SPPW = Spiral type positive control (white light)
 SNR = Straight type negative control (red light) SPNR = Spiral type negative control (red light)
 SPR = Straight type positive control (red light) SPPR = Spiral type positive control (red light)
 SNB = Straight type negative control (blue light) SPNB = Spiral type negative control (blue light)
 SPB = Straight type positive control (blue light) SPPB = Spiral type positive control (blue light)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเส้นสาย *Spirulina platensis* ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง LED สีแดง, สีน้ำเงิน และ สีขาว พบว่าจำนวนเส้นสายของชุดควบคุมเชิงบวกมีการเจริญเติบโตมากที่สุด ภายใต้แสงสีแดง เมื่อนับจำนวนเส้นสายพบว่าภายใต้แสงสีแดงเส้นสายตรง SPR (Straight type positive control) มีจำนวนเส้นสายมากที่สุดในวันที่ 21 ซึ่งมีเส้นสาย 48 ± 4.933 ในขณะที่เส้นสายเกลียว SPPR (Spiral type positive control) ซึ่งมีเส้นสาย 31 ± 3.055 ซึ่งมากกว่าเส้นสายตรง SPW (Straight type positive control) และเส้นสายเกลียว SPW (Straight type positive control) และเส้นสายเกลียว SPPW (Spiral type positive control) ภายใต้แสงสีขาว 26 ± 2.646 และ 21 ± 2.646 ตามลำดับ ในขณะที่แสงสีน้ำเงินเส้นสายตรง SPB (Straight type

positive control) และเส้นสายเกลียว SPPB (Spiral type positive control) มีการเจริญสูงสุดที่ 17 ± 2.517 และ 15 ± 1.528 ตามลำดับ พบว่าเส้นสาย *Spirulina platensis* ทั้งเส้นเกลียวและเส้นตรงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และพบเส้นสายได้น้อยมากเมื่อเทียบกับชุดควบคุมเชิงบวก

ตาราง 1 ลักษณะเส้นสาย *Spirulina platensis* ภายใต้แสง LED เป็นระยะเวลา 21 วัน

Example	จำนวนวันเพาะเลี้ยง							
	0	3	6	9	12	15	18	21
SNW								
SPNW								
SPW								
SPPW								
SNR								
SPNR								
SPR								
SPPR								
SNB								
SPNB								
SPB								
SPPB								

ตาราง 2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง White Light

TM	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15	วันที่ 18	วันที่ 21
SNW	0.158±0.010 ^a	0.096±0.008 ^a	0.156±0.010 ^b	0.257±0.027 ^b	0.303±0.042 ^b	0.513±0.017 ^c	0.576±0.026 ^b	0.680±0.022 ^b
SPNW	0.157±0.014 ^a	0.092±0.006 ^a	0.077±0.008 ^a	0.088±0.010 ^a	0.080±0.004 ^a	0.149±0.008 ^a	0.129±0.009 ^a	0.097±0.008 ^a
SPW	0.124±0.011 ^a	0.186±0.008 ^b	0.323±0.025 ^c	0.426±0.012 ^c	0.446±0.010 ^c	0.724±0.012 ^d	0.733±0.012 ^d	0.746±0.011 ^c
SPPW	0.175±0.004 ^a	0.280±0.004 ^c	0.401±0.007 ^c	0.476±0.006 ^d	0.463±0.013 ^c	0.634±0.016 ^c	0.690±0.005 ^c	0.756±0.008 ^c

หมายเหตุ: * สำหรับอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กแสดงถึงผลที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

** ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตาราง 3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Red Light

TM	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15	วันที่ 18	วันที่ 21
SNR	0.172±0.003 ^a	0.244±0.006 ^c	0.113±0.005 ^a	0.476±0.010 ^b	0.329±0.013 ^b	0.707±0.004 ^b	0.812±0.052 ^b	1.019±0.014 ^b
SPNR	0.174±0.005 ^a	0.076±0.003 ^a	0.061±0.003 ^a	0.059±0.003 ^a	0.045±0.003 ^a	0.065±0.013 ^a	0.152±0.001 ^a	0.240±0.003 ^a
SPR	0.113±0.005 ^a	0.135±0.003 ^b	0.363±0.005 ^b	0.617±0.005 ^c	0.692±0.005 ^c	0.932±0.003 ^c	1.027±0.007 ^c	1.095±0.003 ^c
SPPR	0.155±0.004 ^a	0.412±0.006 ^d	0.888±0.072 ^d	1.126±0.006 ^d	1.067±0.024 ^d	1.209±0.005 ^d	1.361±0.004 ^d	1.573±0.005 ^d

หมายเหตุ: * สำหรับอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กแสดงถึงผลที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

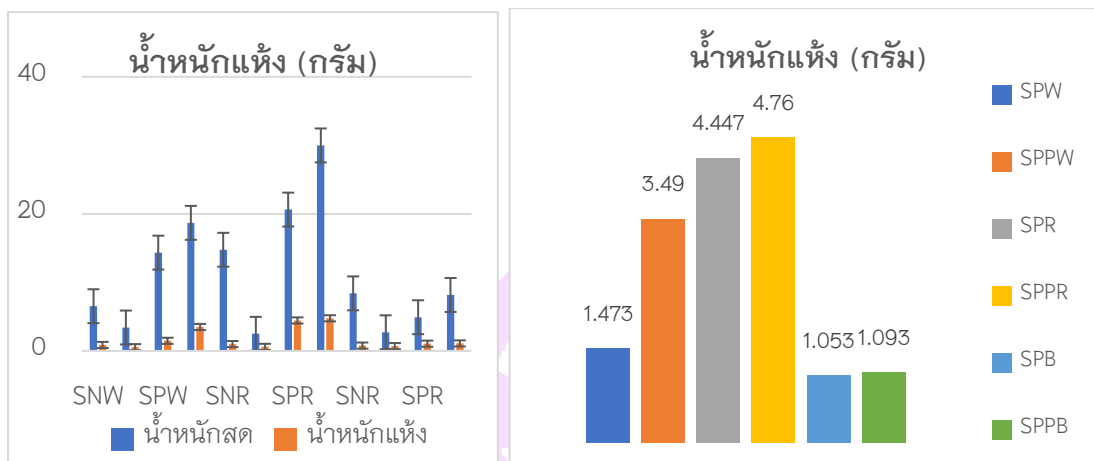
** ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตาราง 4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง Blue Light

TM	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15	วันที่ 18	วันที่ 21
SNB	0.194±0.005 ^a	0.116±0.004 ^a	0.182±0.004 ^b	0.181±0.004 ^b	0.294±0.007 ^c	0.259±0.020 ^b	0.291±0.009 ^b	0.348±0.006 ^b
SPNB	0.229±0.013 ^c	0.271±0.011 ^d	0.093±0.007 ^a	0.078±0.004 ^a	0.045±0.003 ^a	0.168±0.005 ^a	0.197±0.002 ^a	0.245±0.007 ^a
SPB	0.106±0.021 ^a	0.137±0.002 ^b	0.217±0.005 ^d	0.274±0.019 ^d	0.294±0.005 ^c	0.398±0.001 ^d	0.418±0.004 ^d	0.467±0.009 ^d
SPPB	0.292±0.006 ^d	0.217±0.006 ^c	0.248±0.033 ^d	0.235±0.012 ^c	0.263±0.005 ^b	0.304±0.007 ^c	0.330±0.006 ^c	0.356±0.009 ^c

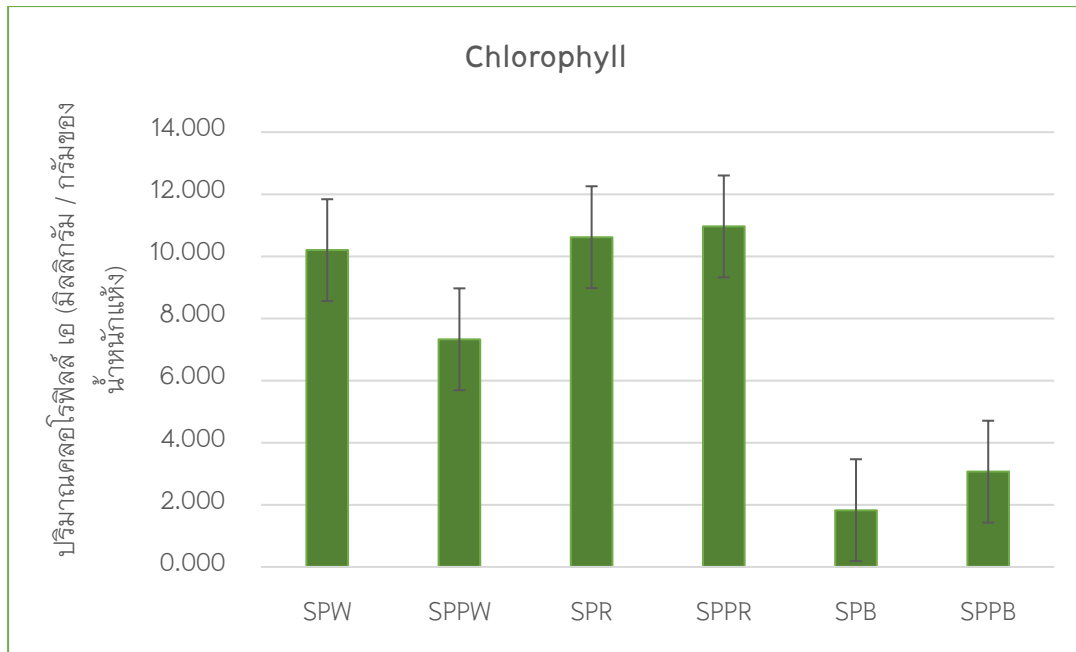
หมายเหตุ: * สำหรับอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กแสดงถึงผลที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

** ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

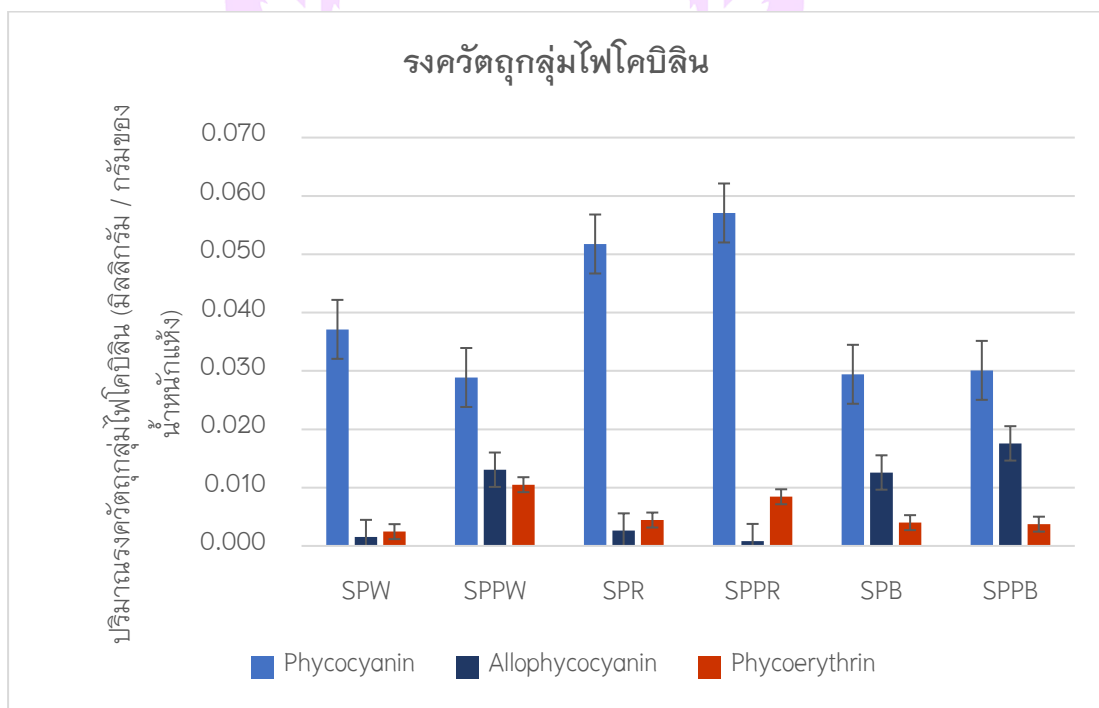


ภาพ 23 น้ำหนักแห้งทั้งหมด ณ วันที่ 21 ของ *Spirulina platensis*

เมื่อสิ้นสุดกระบวนการเพาะเลี้ยงและทำการเก็บน้ำหนักรักษาซึ่งเป็นน้ำหนักหลังจากที่ความชื้นถูกขจัดออกจนหมดสิ้นโดยใช้ความร้อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมงหรือจนกว่าตัวสารร้ายจะแห้งสนิท เพื่อเป็นการวัดการเติบโตที่ดีที่สุดเนื่องจากน้ำหนักรักษาเป็นน้ำหนักของมวลอินทรีย์ที่เกิดจากการเติบโตที่แท้จริง โดยระมัดระวังไม่ให้สารร้ายถูกเผาจนไหม้ จากการทดลองเพาะเลี้ยงภายใต้แสง LED สีแดง, สีขาว, และสีน้ำเงินพบว่า *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงภายใต้แสงสีแดง SPR (Straight type positive control) เส้นสายตรง และ SPPR (Spiral type positive control) เส้นสายเกลียวมีปริมาณน้ำหนักรักษามากที่สุด เมื่อเทียบกับแสงสีขาวและแสงสีน้ำเงิน โดย SPR (Straight type positive control) มีน้ำหนักรักษาอยู่ที่ 4.447 กรัม และ SPPR (Spiral type positive control) มีน้ำหนักรักษาอยู่ที่ 4.76 กรัม

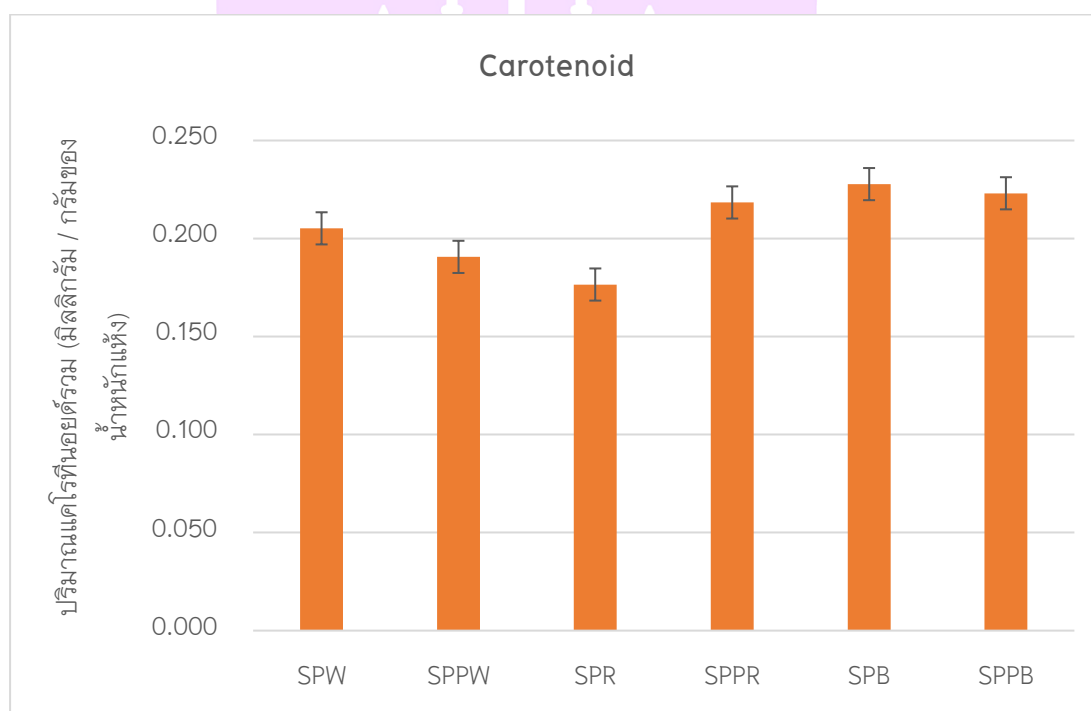


ภาพ 24 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ใน *Spirulina platensis*



ภาพ 25 ปริมาณรงควัตถุกลุ่มไฟโคบิลินใน *Spirulina platensis*

ความยาวของคลื่นแสงโดยแต่ละช่วงความยาวคลื่นจะมีสีต่างกัน แสงที่ใช้ในการทดลองนี้มีผลต่อการเจริญเติบโตและรงควัตถุของสาหร่ายได้อย่างชัดเจน แสงสีแดงและสีน้ำเงินเป็นแสงสองสีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการขับเคลื่อนกระบวนการสังเคราะห์แสง เมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุของ *Spirulina platensis* พบว่าคลอโรฟิลล์สูงที่สุด คือ SPPR (Spiral type positive control), SPR (Straight type positive control), SPW (Straight type positive control), SPPW (Spiral type positive control), SPPB (Spiral type positive control) และ SPB (Straight type positive control) ตามลำดับ และพบว่าในแสงสีแดงมีปริมาณไฟโคไซยานินสูงมากกว่าแสงสีขาวและน้ำเงิน ในขณะที่กลุ่มแคโรทีนอยด์จะพบว่ามีมากที่สุดในแสงสีน้ำเงิน



ภาพ 26 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมใน *Spirulina platensis*

บทที่ 5

สรุปผล

สรุปผลวิจัย

การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบผลของการเจริญเติบโตของ *Spirulina platensis* เส้นสายเกลียวและเส้นสายตรง ภายใต้แสงจากหลอด LED แสงสีแดง, แสงสีน้ำเงินและแสงสีขาว ภายใต้สภาวะความเป็นกรด-เบส 10 โดยเฉพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่าแสงสีแดงทำให้ปริมาณชีวมวล, คลอโรฟิลล์และไฟโคไซยานินมากกว่าภายใต้แสงสีน้ำเงินและแสงสีขาว ในขณะที่กลุ่มแคโรทีนอยด์จะพบว่ามีมากที่สุดในแสงสีน้ำเงิน สรุปได้ว่าการเพาะเลี้ยงภายใต้ LED แสงสีแดงมีประสิทธิภาพในการเพิ่มชีวมวล, คลอโรฟิลล์ และ ไฟโคไซยานิน ในขณะที่แสงสีน้ำเงินสามารถเพิ่มปริมาณแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นทางเลือกในการพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis*

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1. ศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ เช่น ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณความเข้มแสง ปริมาณสารอาหาร ระยะเวลาการให้แสง
2. ศึกษาปัจจัยที่มีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา
3. ศึกษาและทำความเข้าใจอย่างครอบคลุมเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงในการแสดงออกของยีนและระบบการรับแสงภายในเซลล์

อภิปรายผลการทดลอง

Spirulina platensis มีลักษณะเซลล์เป็นรูปทรงกระบอกหลายเซลล์ที่เรียงต่อกันจนเป็นเส้นสายไม่แตกแขนง ลักษณะรูปร่างจะเป็นเส้นสายบิดเป็นเกลียว ความกว้างของเกลียว ระยะระหว่างเกลียวและความยาวของ trochome จะมีลักษณะแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดของสาหร่าย แต่เมื่อสาหร่ายชนิดเดียวกันเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมต่างกัน ขนาดและรูปร่างก็อาจจะแตกต่างกัน เช่น ลักษณะที่บิดเป็นเกลียวอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเส้นตรง ลักษณะของเส้นสายที่เปลี่ยนแปลงไปอาจเป็นผลมาจาก pH ที่เปลี่ยนแปลง พบว่า pH ที่เปลี่ยนแปลงทำให้ลักษณะเส้นสายเปลี่ยนไปซึ่งอาจเกิดจากการขาดฟอสฟอรัส ถ้าสาหร่ายขาดฟอสฟอรัส

จะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโตทำให้ปริมาณ คลอโรฟิลล์เอ, อาร์เอ็นเอและดีเอ็นเอลดลงแต่ แป้งหรือคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น มีผลทำให้รูปร่างของเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (Venkataraman, 1983) นอกจากนี้ยังพบว่า *Spirulina platensis* เส้นตรงและเส้นเกลียว เมื่อวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE พบว่ามีอย่างน้อยสี่โปรตีนหรือหน่วยย่อยที่เกี่ยวข้องกับ *Spirulina platensis* โดยโปรตีนที่แสดงออกมีขนาด 21.9 kDa และ 20.3 kDa เป็นโปรตีนถูกแสดงออก อย่างมากในเส้นสายแบบเกลียว ในขณะที่โปรตีน 52.0 kDa และ 31.8 kDa ถูกพบสูงในเส้น สายตรง และเมื่อวิเคราะห์สารพันธุกรรมเพื่อหาพื้นที่อาจจะแตกต่างกันพบว่า *Spirulina platensis* เส้นสายตรงและเส้นสายเกลียวมีสารพันธุกรรมที่เหมือนกัน จึงสรุปได้ว่าการ เปลี่ยนแปลงลักษณะเส้นสายของสาหร่ายสามารถเกิดได้จากสภาพแวดล้อมที่เพาะเลี้ยง, สารอาหาร, pH เป็นต้น (Zhi Ping Wang and Ying Zhao, 2005)

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Spirulina platensis* เส้นสายตรง และเส้นสายเกลียวโดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายภายใต้แสง LED สีขาว, สีแดง และสีน้ำเงิน พบว่าชุด ทดลองภายใต้แสงสีแดง SPPR (Spiral type positive control) มีอัตราการเจริญเติบโตสูงมาก เมื่อเทียบกับแสงสีขาวและแสงสีน้ำเงิน ซึ่งพบว่าอัตราการใช้ไนโตรเจนนั้นแตกต่างกันไปในแต่ละ แสงความยาวคลื่นพบว่าแสงสีแดงเร่งการใช้ไนโตรเจนในมากกว่าแสงสีขาวและแสงสีน้ำเงินอย่าง มีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งผลลัพธ์นี้สรุปได้ว่าแสงสีแดงเร่งเผาผลาญการใช้ไนโตรเจนในขณะที่ แสงสีน้ำเงินชะลอการใช้ไนโตรเจน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าภายใต้แสงสีแดงสามารถเพิ่มการ เติบโตและชีวมวลของเซลล์ (Ruijuan, 2018)

ในขณะที่แสงสีน้ำเงินพบว่าอัตราการเจริญเติบโตนั้นค่อนข้างน้อยมากเมื่อ เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวและสีแดง แม้ไซยาโนแบคทีเรียจะดูดซับแสงสี น้ำเงินได้แต่ก็มีประสิทธิภาพน้อยกว่าการสังเคราะห์ด้วยแสงสีอื่น ๆ (Veerle M. Luimstra, 2020) ซึ่งมีหลายปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการดูดซึมธาตุอาหารและการเจริญเติบโตของ สาหร่าย เช่น แสง เป็นพลังงานที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดย พลังงานแสงทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ซึ่งเป็นวัตถุดิบ สำคัญในการสร้างน้ำตาลกลูโคสและแก๊สออกซิเจนและมีอิทธิพลทางอ้อมในการดูดซึม สารอาหารต่าง ๆ สาหร่ายแต่ละชนิดมีความเหมาะสมของปริมาณแสงแตกต่างกัน ปัจจัยที่ กำหนดความเข้มของแสง ได้แก่ ความขุ่น ความลึกของระดับน้ำและความหนาแน่นของ สาหร่าย (ยุวดี, 2546)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเส้นสาย *Spirulina platensis* ที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสง LED สี แดง, สีน้ำเงิน และ สีขาว พบว่าจำนวนเส้นสายของชุดควบคุมเชิงบวกมีการเจริญเติบโตมาก

ที่สุดภายใต้แสงสีแดง SPR (Straight type positive control), SPPR (Spiral type positive control) จะพบว่าค่าดูดกลืนแสงของ SPPR (Spiral type positive control) สูงกว่า SPR (Straight type positive control) และจำนวนเส้นสายไม่สัมพันธ์กับค่าดูดกลืนแสง เนื่องจากในวงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลินา ไตรโคมแตกสามารถหักออกเป็นท่อนสั้น ๆ ขนาดประมาณ 2-4 เซลล์ เรียกว่า Hormogonia จากนั้นปลายทั้งสองด้านของไฮโมโกเนียค่อย ๆ ม้วนเป็นเกลียวเซลล์ของฮอริโมโกเนียเพิ่มจำนวนโดยวิธี Cell Fusion มีการแบ่งตัวเพิ่มความยาวหรือจำนวนเซลล์ของแต่ละไฮโมโกเนียจนเป็นไตรโคมที่สมบูรณ์ ไตรโคมที่เจริญเติบโตเต็มที่ จะมีการสร้างเซลล์ที่มีลักษณะเฉพาะที่เรียกว่า Necridia ซึ่งเป็นตำแหน่งที่จะถูกย่อยทำให้ขาดเป็นท่อนสั้น ๆ จึงทำให้จำนวนเส้นสายที่เห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่นับได้คลาดเคลื่อนไป การวัดค่าการดูดกลืนแสงเป็นการวัดการเจริญโดยใช้ความยาวคลื่นแสงที่จำเพาะต่อวัตถุที่ศึกษา ในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้ความยาวคลื่นที่จำเพาะต่อรงควัตถุภายในเส้นสายของ *Spirulina platensis* ทั้งนี้อาจมีการรบกวนจากสารแขวนลอยที่ปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยง พบว่าสาหร่ายมีการตกตะกอนและจับเป็นก้อนจึงทำให้ค่าดูดกลืนแสงที่ได้สูงขึ้นอย่างผิดปกติ ค่าดูดกลืนแสงของ Negative control จึงสูงและไม่สัมพันธ์กับจำนวนเส้นสาย (Ciferri O, 1983)

เมื่อนำชีวมวลที่ได้จากกระบวนการเพาะเลี้ยงไปอบแห้งและนำไปวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุใน *Spirulina platensis* พบว่าปริมาณของคลอโรฟิลล์สูงที่สุด คือ SPPR (Spiral type positive control) และพบว่าในคลอโรฟิลล์มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์แสงทำหน้าที่ดูดกลืนแสงได้ดี คลอโรฟิลล์เอจัดว่าเป็น primary pigment ทำหน้าที่สังเคราะห์แสงโดยตรง ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะพบคลอโรฟิลล์เอเท่านั้นซึ่งเกี่ยวข้องโดยตรงในปฏิกิริยาสังเคราะห์ด้วยแสงแบบใช้แสงซึ่งเปลี่ยนพลังงานแสงให้เป็นพลังงานเคมี จากการทดลองพบว่าความเข้มแสงจากหลอด LED มีความเข้มแสงต่างกัน โดยในการทดลองในแสงสีขาวมีความเข้มแสงอยู่ที่ 4600 ลักซ์, แสงสีแดง 2700 ลักซ์ และแสงสีน้ำเงิน 590 ลักซ์ การเจริญเติบโตของสาหร่ายจึงค่อนข้างแตกต่างกันอย่างมาก เพราะ *Spirulina platensis* จะเจริญเติบโตได้ดีในช่วงความเข้มแสงที่ 2000-4000 ลักซ์ (รชนิมุข, 2015) จึงเป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ทำให้อัตราการเจริญเติบโตในแสงสีน้ำเงินค่อนข้างต่ำกว่าแสงสีขาวและแสงสีแดงมาก จึงไม่ใช่ความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* ปริมาณคลอโรฟิลล์เอจะผันแปรได้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ความเข้มแสง ปริมาณไนโตรเจนในอาหาร อายุเซลล์สาหร่ายและปัจจัยทางฟิสิกส์อื่น ๆ (N.U.F. Niangoran et al., 2021)

ในแสงสีแดงจะพบว่าปริมาณไฟโคไซยานินสูงที่สุดคือ SPPR (Spiral type positive control), SPPW (Spiral type positive control), SPR (Straight type positive control), SPW

(Straight type positive control), SPPB (Spiral type positive control), และ SPB (Straight type positive control) ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามากกว่าแสงสีขาวและน้ำเงิน ไฟโคไซยานิน คือไฟโคบิลิโปรตีนหนึ่ง ซึ่งเป็นรงควัตถุที่มีสีน้ำเงินหรือเป็นสารประกอบที่มีสีฟ้าเรืองแสงได้และสามารถละลายน้ำได้ โดยทั่วไป ไฟโคไซยานินจะให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ max) ในช่วงความยาวคลื่น 610 ถึง 660 นาโนเมตร และเมื่อเรืองแสงจะวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดได้ที่ช่วงความยาวคลื่น 636 ถึง 660 นาโนเมตร (รชนิมุข, 2015) จากแสง LED ทั้งหมดที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงพบว่าแสงสีแดงมีความยาวคลื่นที่ 660 นาโนเมตร เนื่องจากไฟโคไซยานินสามารถดูดกลืนแสงที่สีตรงข้ามได้จึงทำให้ปริมาณของไฟโคไซยานินมีปริมาณสูงสุด ซี-ไฟโคไซยานิน จะอยู่ร่วมกับไฟโคบิลิโปรตีนชนิดอื่น ๆ (ที่สำคัญคือ ซี-แอลไลไฟโคไซยานิน) กลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น เรียกว่า ไฟโคบิลิโซม ซึ่งจะเกาะอยู่บนผิวด้านนอกของไทลาคอยด์ (thylakoid) ภายในไทลาคอยด์มีคลอโรฟิลล์ เอ บรรจุอยู่ ไฟโคบิลิโซมทำหน้าที่รับพลังงานรังสีจากแสงแล้วส่งให้แก่คลอโรฟิลล์เอ ในขณะที่กลุ่มแคโรทีนอยด์จะพบว่ามีมากที่สุดแสงสีน้ำเงิน SPB (Straight type positive control) พบว่าภายใต้แสงสีน้ำเงิน ส่งเสริมการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในสาหร่ายขนาดเล็ก แสงสีน้ำเงินกระตุ้นการสะสมแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายขนาดเล็กหลายสายพันธุ์แต่กลไกระดับโมเลกุลยังไม่ชัดเจน (Zhongyi Zhang et al., 2022) แคโรทีนอยด์ เป็นอนุพันธ์ของไขมันไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในตัวทำละลายไขมัน เช่น อะซิโตน แอลกอฮอล์, ไดเอทิลอีเทอร์ และ คลอโรฟอร์ม เป็นต้น แคโรทีนอยด์ชนิดที่เป็นแคโรทีน จะละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น ปีโตรเลียมอีเทอร์และเฮกเซนขณะที่ชนิดที่เป็นแซนโทฟิลล์ จะละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น แอลกอฮอล์ แคโรทีนอยด์มีความคงทนต่อความเป็นกรดและด่างแต่ไวต่อแสงแดดและความร้อน ซึ่งจะเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเฉพาะสภาวะที่มีโลหะเปอร์ออกไซด์ปนอยู่ (Simpson, K.L, Tsou, I.S.T.C. and Chichester, C. O, 1989) ไชยาโนแบคทีเรียยังมีโปรตีนคอมเพล็กซ์ที่เรียกว่า Orange carotenoid protein (OCP) เป็นกลไกในการป้องกันแสง (F Pagels, V Vasconcelos and A C Guedes, 2021)

อย่างไรก็ดี ไชยาโนแบคทีเรียส่วนใหญ่มีตัวรับแสงที่ใช้ ได้แก่ ไชยาโนแบคทีเรียไฟโตโครม (Cphs) และไชยาโนแบคทีเรียโอโครม (CBCRs) จีโนมของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงและแบคทีเรียที่ไม่สังเคราะห์แสงจำนวนมากมีไฟโตโครมเรียกว่าไชยาโนแบคทีเรียโอโครม ซึ่งมีความสามารถในการรับรู้สีของแสงที่หลากหลายลักษณะเด่นที่ดีที่สุดอย่างหนึ่งคือการควบคุมองค์ประกอบสำหรับการสังเคราะห์แสงในไชยาโนแบคทีเรีย (Lisa B. Wiltbank and David M. Kehoe, 2019) ทำให้ไชยาโนแบคทีเรียสามารถตอบสนองต่อแสง UV-A แสงที่มองเห็นได้ และ

แสงสีแดง (Yvette Villafani et al., 2020 ; Nathan C Rockwell and J Clark Lagarias, 2017) และยังขาดความเข้าใจอย่างครอบคลุมเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงในการแสดงออกของยีนภายในเซลล์ ภายใต้แสงสีน้ำเงินพบว่า การเปลี่ยนและยีน ATP synthase หลายตัวถูกลดระดับลงชั่วคราว แสงสีน้ำเงินจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงครั้งสำคัญใน transcriptome ของไซยาโนแบคทีเรีย (Veerle M. Luimstra, 2020)

ดังนั้นการเพาะเลี้ยงภายใต้แสง LED สีแดง, สีน้ำเงิน และสีขาว พบว่าให้ผลผลิตที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนสามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* ทั้งนี้แต่ยังขาดความเข้าใจอย่างครอบคลุมเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงในการแสดงออกของยีนและระบบการรับแสงภายในเซลล์จึงต้องทำการศึกษาต่อไป รวมถึงศึกษาปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมอื่น เช่น ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณความเข้มแสง และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์



บรรณานุกรม

- กระทรวงพลังงาน. (2564). **ภาพรวมพลังงาน**. สืบค้นเมื่อ 19 เมษายน 2564, จาก [http:// www.eppo.go.th/images/EnergyStatistics/energyinformation/EnergyStatistics/00All.pdf](http://www.eppo.go.th/images/EnergyStatistics/energyinformation/EnergyStatistics/00All.pdf)
- กาญจนภาชน์ ลีวมนิมนต์. (2527). **สาหร่าย (Algae)**. กรุงเทพฯ: คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- คัทติยา สุวรรณมณี. (2558). **การผลิตและการศึกษาสมบัติทนอุณหภูมิจากไซยาโนแบคทีเรียที่แยกจากบ่อน้ำพุร้อน**. วิทยานิพนธ์. วท.ม., มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- จกมล พรมยะ และขจรเกียรติ แซ่ตัน. (2548). **การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิनाเพื่อสุขภาพ** (พิมพ์ครั้งที่ 1). เชียงใหม่: ภาคเทคโนโลยีการ ประมง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.
- เจียมจิตต์ บุญสม. (2531). **ความลับของสาหร่ายเกลียวทอง**. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- จิตดาภา สามสีทอง. (2561). **บทบาทและการออกฤทธิ์ของ Astaxanthin**. สืบค้นเมื่อ 25 กรกฎาคม 2562, จาก <http://www.wongkarnpat.com/upfilecpe/CPE239.pdf>
- นภัทร วัจนเทพินทร์ และไชยยันต์ บุญมี. (2560). Which Color of Light from the Light Emitting Diodes is Optimal for Plant Cultivation. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**, 25(1), 158–176.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. (2546). **สาหร่ายสไปรูลิना**. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- รุ่งเพชร ตั้งรัศมีประเสริฐ และพัชรี บุญศิริ. (2561). แคโรทีนอยด์และปัจจัยที่มีผลต่อการทำหน้าที่เป็นสารแอนติออกซิแดนส์ของแคโรทีนอยด์. **วารสารคลินิกอาหารและโภชนาการ (วคอก)** พ.ศ.2551, 2(2), 47–49.
- รชนิमुख หิรัญสังจาเลิศ, กนกนันท์ เอกบรรพต, มะลิวัลย์ คุตะโค และศรีภาพรรณ ธาระนาถ. (2015). ผลของความเข้มแสงต่อปริมาณซีไฟโคไซยานินในสาหร่าย *Arthrospira* sp. และ *Synechocystis* sp. **KHON KAEN AGR. J**, 43(1), 548–555.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. (2543). **คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- สมเกียรติ จตุรงค์ล้ำเลิศ, จงกล พรมยะ และจตุรภัทร วาฤทธิ์. (2560). แบบจำลองการทำนายอัตรา
การเติบโตของสาหร่ายสไปรูลินาโดยผลของแสงส่องสว่างจากหลอดแอลอีดีและการ
ประยุกต์. **Engng.J.CMU**, 24(1), 142–151.
- สมพร ชุณหสือชานนท์, เอกธิดา ไชยรินทร์ และชุตติมณฑท์ สติรพิพัฒน์กุล. (2004). การเจริญเติบโต
และการสร้าง akinete ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดที่ตรึงไนโตรเจนได้ Growth
performance and akinete formation of N₂- fixing Cyanobacteria. **วารสารเกษตร**,
20(3), 204–214.
- สุมาลี ดุลยอนุกิจ. (2536). **ผลของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการเจริญของสาหร่ายเกลียวทอง**.
เอกสารวิชาการฉบับที่ 145 กรุงเทพฯ: กรมประมง.
- Aaron J et al., (2015). Biosynthesis of a fluorescent cyanobacterial C-phycoyanin holo- α subunit in
a heterologous host. **PANS**, 98(19), 10560–10565.
- A. Raji et al., (2020). Dietary use of *Spirulina* (*Arthrospira*) and *Chlorella* instead of fish meal on
growth and digestibility of nutrients, amino acids and fatty acids by African
catfish. **Journal of Applied Phycology**, 32, 1763–1770.
- Benq. (2018). **แสงสำคัญอย่างไร**. สืบค้นเมื่อ 10 พฤศจิกายน 2564, จาก <https://www.benq.com/th-th/knowledge-center/knowledge/what-is-accurate-color.html>
- Bold, H. C. and M. J. Wynne. (1978). **Introduction to the Algae: Structure and Reproduction**.
America: Prentice-Hall Engle Wood Cliff.
- Chaiklahan et al., (2010). Cultivation of *Spirulina platensis* Using Pig Wastewater in a Semi-
Continuous Process. **J. Microbiol. Biotechnol.**, 20(3), 609–614.
- Changsinled. (2562). **What is LED Light?**. Retrieved September 1, 2022, from <https://www.changsinled.com/article>
- Ciferri O. (1983). *Spirulina*, the edible microorganism. **Microbiological Reviews**, 47, 551–578.
- C. W. Mullineaux, (2001). How do cyanobacteria sense and respond to light?. **MicroReview**.
Molecular Microbiology, 41(5), 965–971.
- D.A. García-López et al., (2019). A novel two-phase bioprocess for the production of *Arthrospira*
(*Spirulina*) *maxima* LJGR1 at pilot plant scale during different seasons and for
phycoyanin induction under controlled conditions. **Bioresource Technology**,
doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122548>. 2019, 1–45.

- Deepak Kumar et al., (2018). Composition and functional property of photosynthetic pigments under circadian rhythm in the cyanobacterium *Spirulina platensis*. **Protoplasma**, 2018, 885–898.
- D.T Kukwa and M. Chetty. (2020). Microalgae: The Multifaceted Biomass of the 21st Century. **Biotechnological Applications of Biomass**, IntechOpen 01–30.
- Eugenia J. Olguon et al., (2001). The effect of low light flux and nitrogen deficiency on the chemical composition of *Spirulina* sp. (*Arthrospira*) grown on digested pig waste. **Bioresource Technology**, 77 (2001) 19–24.
- F. Pagels, V. Vasconcelos and A.C. Guedes. (2021). Carotenoids from Cyanobacteria: Biotechnological Potential and Optimization Strategies. **Biomolecules**, 2021(11), 734–735.
- Giorgos Markou, Iordanis Chatzipavlidis and Dimitris Georgakakis. (2012). Effects of phosphorus concentration and light intensity on the biomass composition of *Arthrospira* (*Spirulina platensis*). **World J Microbiol Biotechnol**, 28, 2661–2670.
- Grassi et al., (2013). Comparative genomic reveals candidate carotenoid pathway regulators of ripening watermelon fruit. **BMC Gnomics**. 14, 781.
- H geek. (2020). **Light Independent or Dark Reactions**. Retrieved November 10, 2021, from <https://www.guyhowto.com/light-independent-or-dark-reactions>.
- Jelan Mofeed. (2019). Stimulating Gamma-Linolenic Acid Productivity by *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) Under Different Culture Conditions (Temperatures, Light Regime, and H₂O₂ stress). **Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.**, 11(1), 89–99.
- Johnson E.A. and Schroeder W.A. (1995). **Microbial carotenoids**. In **Advances biochemical engineering and biotechnology**. Springer-Verlag: Heidelberg.
- Kobayashi M. and Sakamoto Y. (1999). Singlet oxygen quenching ability of astaxanthin esters from the green algae *Haematococcus pluvialis*. **Biotechnol**. 21, 265–269.
- Léa Vernès et al., (2015). Phycocyanin from *Arthrospira platensis*. Production, Extraction and Analysis. **Current Biotechnology**, 2015(4), 481 – 491.
- Lisa B. Wiltbank and David M. Kehoe. (2019). **Diverse light responses of cyanobacteria mediated by phytochrome superfamily photoreceptors**. 1–14, Department

of Biology, Indiana University, USA: Bloomington.

- Lisa B. Wiltbank, David M. Kehoe. (2016). Two Cyanobacterial Photoreceptors Regulate Photosynthetic Light Harvesting by Sensing Teal, Green, Yellow, and Red Light. **mBio**, 2016(7), 1–6.
- L. Junique et al., (2021). Determination by response surface methodology of optimal protein and phycocyanin productivity conditions in *Arthrospira (Spirulina) platensis* under different combinations of photoperiod variation and lighting intensity. **Bioresource Technology**, 2021(15), 1–7.
- Luciane Maria Colla et al., (2005). Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, 98(2007), 1489–1493.
- Maryam Akbarnezhad et al., (2016). Bioaccumulation of Fe^{+2} and its effects on growth and pigment content of *spirulina (Arthrospira platensis)*. **AAEL Bioflux**, 2016, 9(2), 227–238.
- Merve Esen and Raziye Ozturk Urek. (2014). Ammonium nitrate and iron nutrition effects on some nitrogen assimilation enzymes and metabolites in *Spirulina platensis*. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology**, Inc. 2014, 1–12.
- Merve Esen and Raziye Ozturk Urek. (2014). Nitrate and iron nutrition effects on some nitrate assimilation enzymes and metabolites in *Spirulina platensis*. **Turkish Journal of Biology**, (2014)38, 690–700.
- Mehrangiz Ashiri et al., (2019). Visio-Vestibular Interaction in Humans: Changes in the Vestibular Response Following Visual Stimuli of Different Colors. **Journal of Medical and Biological Engineering**, 2019(39), 238–243.
- Monika Kula et al., (2016). Far-red dependent changes in the chemical composition of *Spirulina platensis*. **Eng. Life Sci.** 2016: 1–9.
- Nathan C Rockwell and J Clark Lagarias. (2017). Phytochrome diversification in cyanobacteria and eukaryotic algae. **Current Opinion in Plant Biology** 2017, 37, 87–93.
- N.U.F. Niangoran et al., (2021). Influence of light intensity and photoperiod on energy efficiency of biomass and pigment production of *Spirulina (Arthrospira platensis)*. **Oilseeds & fats Crops and Lipids**, 2021(28), 37.

- Pleonsil, P., Soogarun, S., & Suwanwong, Y. (2013). Anti-oxidant activity of holo- and apo-C-phycoyanin and their protective effects on human erythrocytes. **International Journal of Biological Macromolecules**, 60, 393–398.
- Ruijuan Ma et al., (2018). Blue light enhances astaxanthin biosynthesis metabolism and extraction efficiency in *Haematococcus pluviialis* by inducing haematocyst germination, **Algal Research**, Algal Research 35 (2018): 215–222.
- Samuel I. Beale and Nancy C. Chen. (1983). N-Methyl Mesoporphyrin IX Inhibits Phycocyanin, but Not Chlorophyll Synthesis in *Cyanidium caldarium*. **Plant Physiol.** (1983) 71, 263–268.
- Shen et al., (2008). Biogenesis of phycobiliproteins I. cpcS-I and cpcU mutants of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002 define a heterodimeric phycocyanobilin lyase specific for β -phycoyanin and allophycoyanin subunits. **Journal of Biological Chemistry**, 283(12), 7503–7512.
- Shen et al., (2006). Identification and characterization of a new class of bilin lyase: the cpcT gene encodes a bilin lyase responsible for attachment of phycocyanobilin to Cys-153 on the beta-subunit of phycocyanin in *Synechococcus* sp. PCC 7002. **Journal of Biological Chemistry**, 281(26), 17768–17778.
- Shohreh Alipour et al., (2021). Green Synthesis of Selenium Nanoparticles by Cyanobacterium *Spirulina platensis* (abdf2224): Cultivation Condition Quality Controls. **BioMed Research International**. 2021, 1–11.
- Shoja, Z., Rajabi Memari, H., & Roayaei Ardakani, M. (2015). Cloning and expression of beta subunit gene of phycocyanin from *Spirulina platensis* in *Escherichia coli*. **Journal of Microbiology**, 2015(8): 1–6.
- Siangdung, W., Bunnag, B. and Tanticharoen, M. (1996). Effect of temperature and NAD on D – 12 desaturase of *Spirulina platensis*. **Poster present at the 1st European Phycological Congress**. 1996, 11 – 18.
- Siegelman, H.W. and Kycia, J.H. (1978). Algal Biliproteins. In Hellebust, J. A. and Craigie, J. S. (Eds.). **Physiological and Biochemical Methods**. Cambridge University Press. pp 71–79.

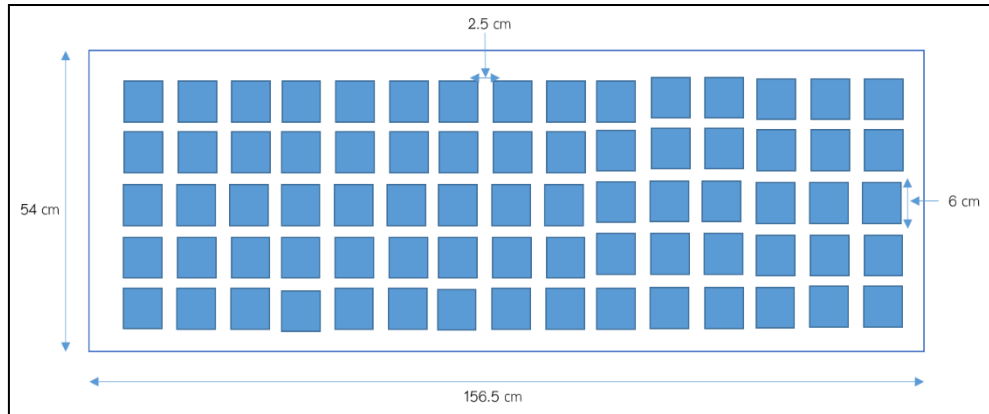
- Simpson, K. L., Tsou, I. S. T. C. and Chichester, C. O. (1989). Biochemical methodology for the assessment of carotene. **The International Vitamin A Consultative Group (IVACG)**. U.S.A.: Washington, D.C.,
- Sivaprakasam Sivasankari et al., (2020). Efficacy of red light for enhanced cell disruption and fluorescence intensity of phycocyanin. **Bioprocess and Biosystems Engineering**. 44, 141–150.
- SL Ellison. (2016). **Carotenoids: Physiology**. University of Wisconsin, Madison, WI, USA.
- Shornchai, P. and lamtham, S. (2013). **Using Spirulina maxima to manage the environment of Vermicelli Factory and produce bio-products from Spirulina maxima**. Seminar on Natural Resources Adaptation to the Global Climate Change 2 (233–239). Bangkok, Thailand.
- Sommer, T.R., Souza, F.M.L. and Morrissey, N.M. (1992). Pigmentation of adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using the green alga *Haematococcus pluvialis*. **Elsevier Science Publishers**. 106(1992), 63–74.
- Song Toan Pham Phu. (2014). **Research on the Correlation Between Chlorophyll-a and Organic Matter BOD, COD, Phosphorus, and Total Nitrogen in Stagnant Lake Basins**. The University of Da Nang, Vietnam.
- S. Rexroth et al., (2017). Cyanobacterial Photosynthesis: The Light Reactions. **Springer International Publishing AG 2017**. P.C. Hallenbeck (ed.), Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes.
- Sujatha kand and P. Nagarajan. (2013). Effect of different nitrogen concentrations on the biomass and biochemical constituents of *Spirulina platensis* [Geitler]. **Asian Journal of Bio Science**, 2013(2), 245–247.
- Suphap, W. (2009). **Cloning and expression of phycocyanin encoding gene from cyanobacteria**. (Master's thesis). Suranaree University, Faculty of Science, Department of Biotechnology.
- Veerle M. Luimstra. (2020). Blue light induces major changes in the gene expression profile of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. **Physiologia Plantarum**. 170, 10–26.

- Venkataraman, L.V. (1983). Bluegreen Alga: *Spirulina*. **Central Food Teecnological Research Insttute**, Mysore, India.
- Weiqi Fu et al., (2012). Enhancement of carotenoid biosynthesis in the green microalga *Dunaliella salina* with light-emitting diodes and adaptive laboratory evolution. **Appl Microbiol Biotechnol.** (2013)97, 2395–2403.
- Wintermans, J.F.G.M. and De Mots, A. (1965). Spectrophotometric Characteristics of Chlorophylla a and B and Their Pheophytins in Ethanol. **Journal of Biocheimica et Biophysica Acta.** 109, 448–453.
- Wipawee Sritusnee et al., (2021). Cloning and Analysis of Holo-C-Phycocyanin Alpha Subunit Synthesis Genes from *Nostoc* spp. and *Thermosynechococcus* sp. TUBT-T01. **BURAPHA SCIENCE JOURNAL**, 2021(1), 149–167.
- Yvette Villafani, Hee Wook Yang and Youn-Il Park. (2020). Color Sensing and Signal Transmission Diversity of Cyanobacterial Phytochromes and Cyanobacteriochromes. **Molecules and Cells.** Mol. Cells 2020; 43(6), 509–516.
- Zhang et al., (2014). Molecular cloning and expression analysis of a new bilin lyase: the cpcT gene encoding a bilin lyase responsible for attachment of phycocyanobilin to Cys-153 on the β -subunit of phycocyanin in *Arthrospira platensis* FACHB314. **Gene**, 544(2), 191–197.
- Zhi Ping Wang and Ying Zhao. (2005). Morphological reversion of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (Cyanophyta): from Linear to Helical. **Phycological Society of America.** 2005(41), 622–628.
- Zhongyi Zhang et al., (2022). Cryptochrome-mediated blue-light signal contributes to carotenoids biosynthesis in microalgae. **Front. Microbiol.** Sec. Microbiotechnology 13(2022), 1–10.



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก แผนผังการวางแปลงเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis*



ภาพ 27 แผนผังการวางแปลงเพาะเลี้ยงสาหร่าย

เพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* สายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ที่เกิด mutants ขนาดเล็ก เพื่อให้หัวเชื้อบริสุทธิ์ เตรียมหัวเชื้อสาหร่าย *Spirulina platensis* ลงในอาหาร Modified Zarrouk medium ปริมาณ 250 มิลลิลิตร เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรเพาะเลี้ยง โดยปรับค่า pH ให้เท่ากับ 10 ด้วย NaOH เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เพื่อหา Growth curve ที่ดีที่สุดในการเพาะเลี้ยง

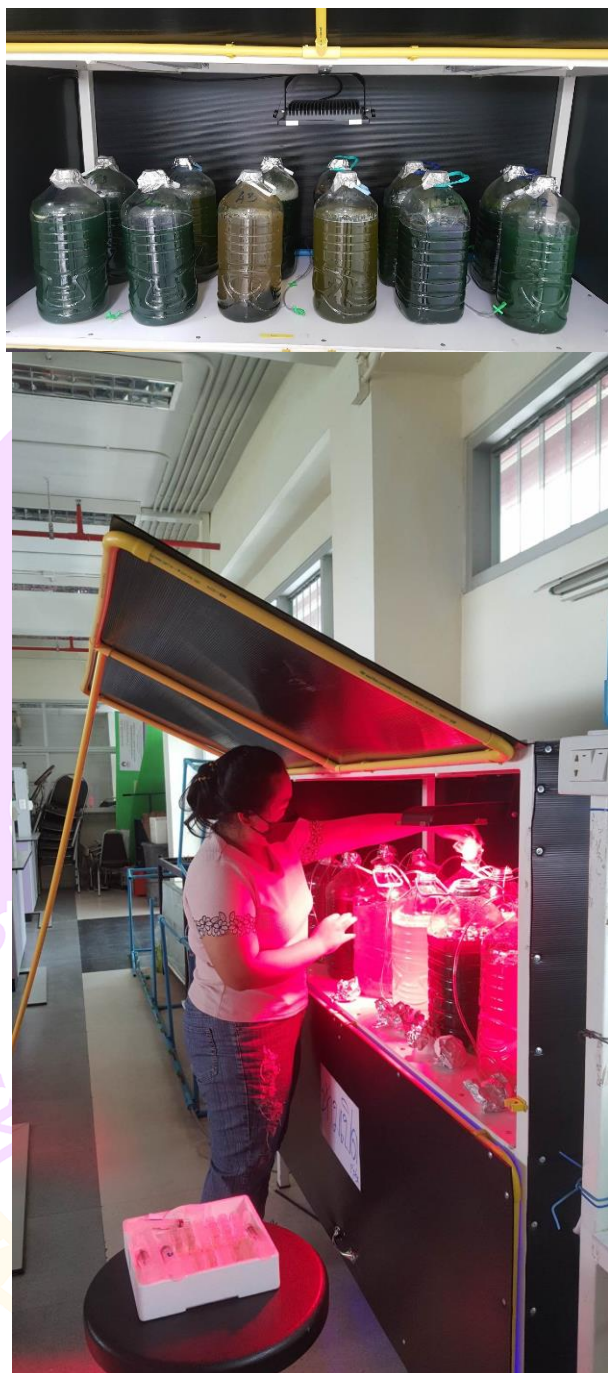


ภาพ 28 การสุ่มแบบ CRD

ภาคผนวก ข ระบบเพาะเลี้ยงโดยใช้แสง LED



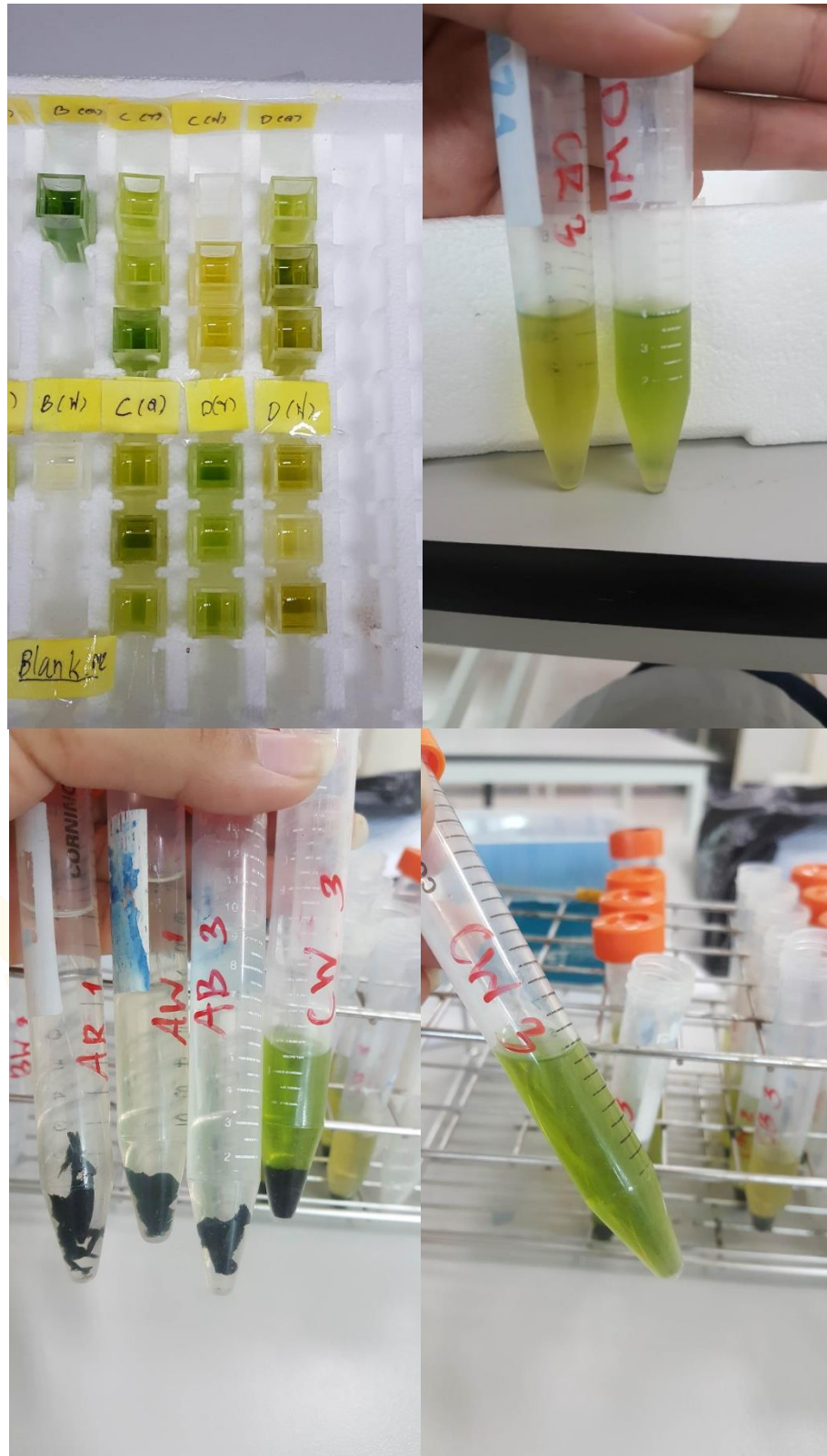
ภาพ 29 การเพาะเลี้ยงภายใต้แสง LED



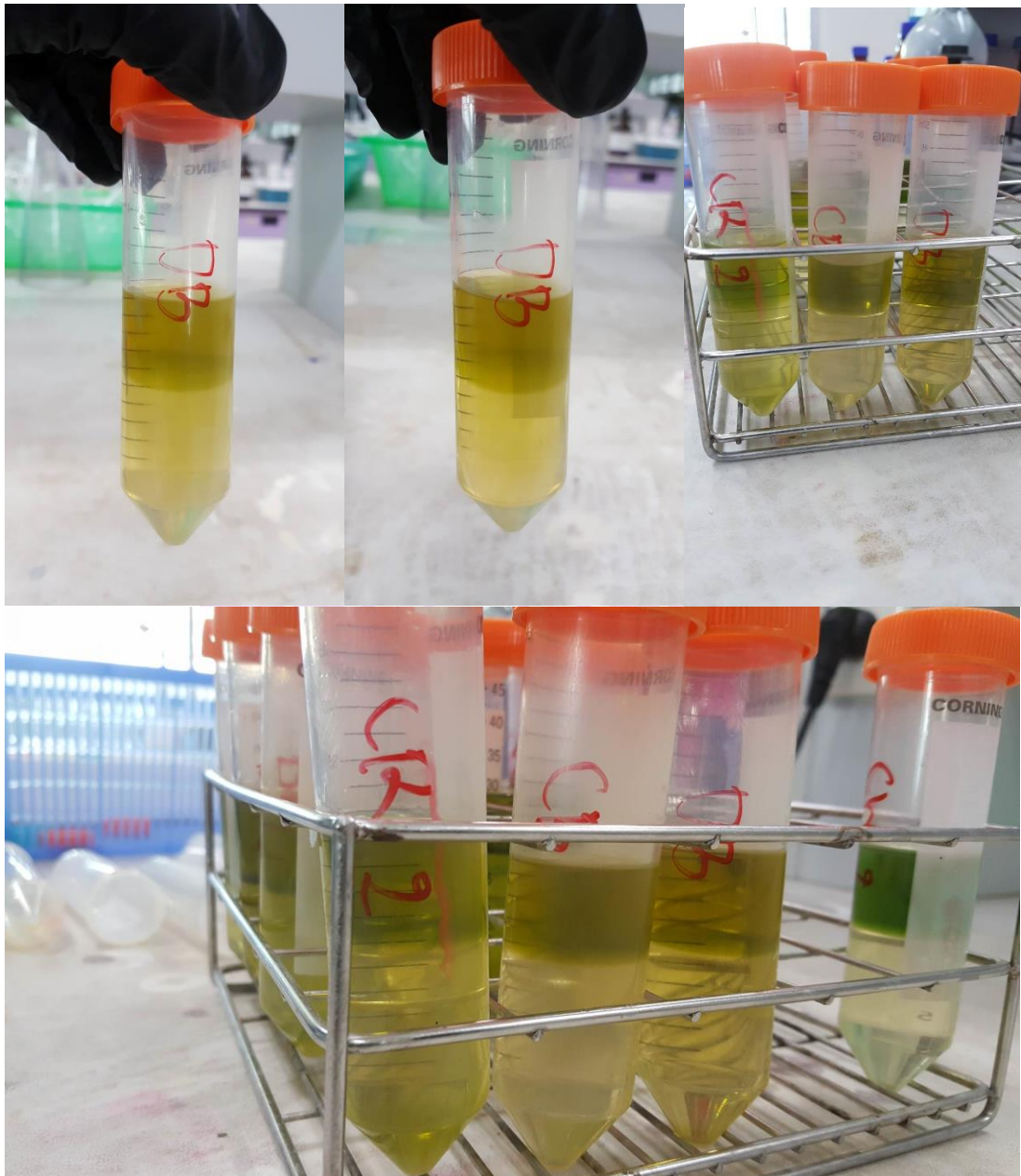
ภาพ 30 เก็บผลทดลองทุก ๆ 3 วัน



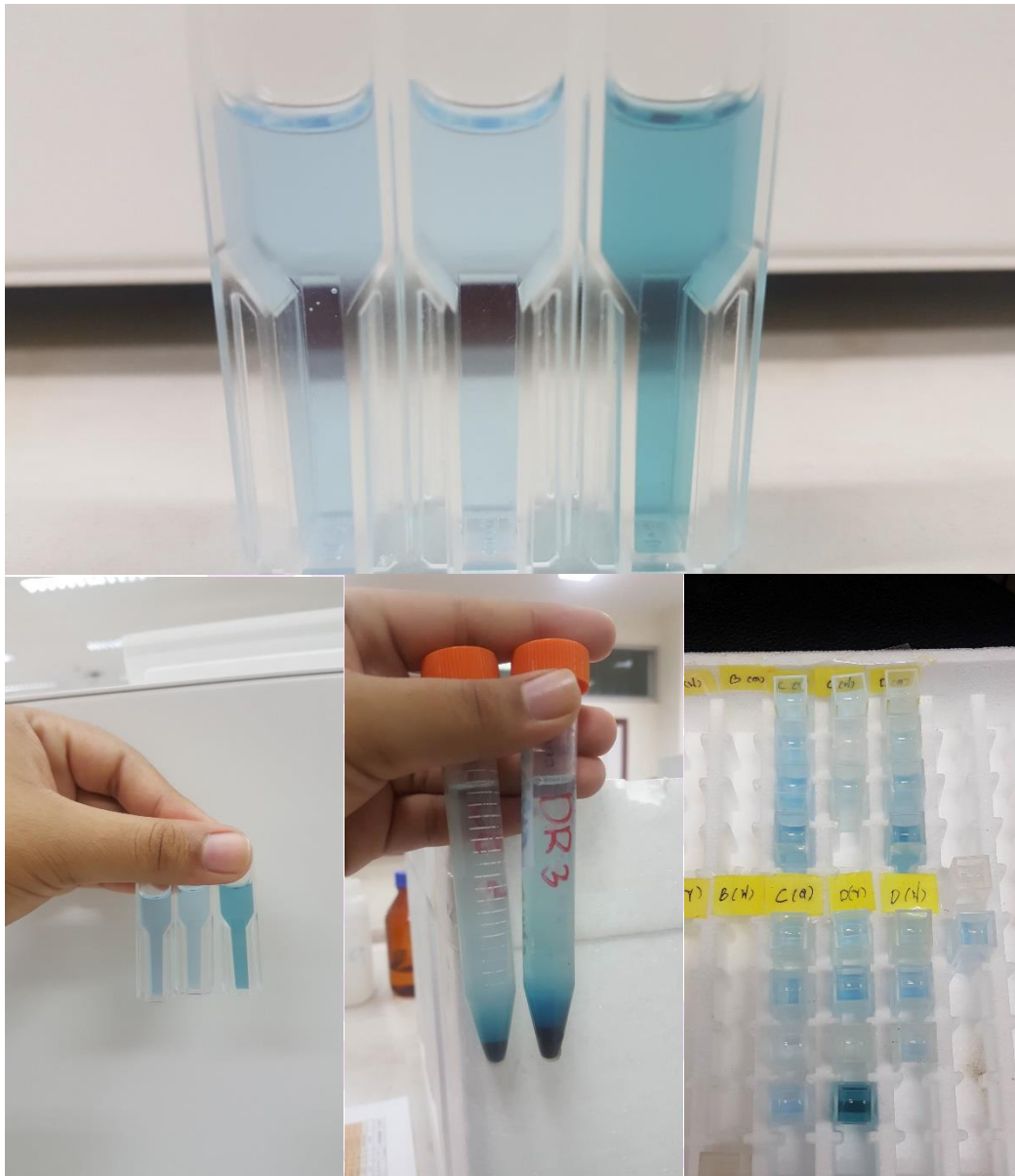
ภาพ 31 การนับจำนวนเส้นสายภายใต้กล้องจุลทรรศน์



ภาพ 32 การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ



ภาพ 33 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์รวม



ภาพ 34 การวิเคราะห์ไฟโคไซยานิน



ภาพ 35 เส้นสายของ Negative control ที่ตกตะกอนและจับเป็นก้อน

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	ณัฐกมล ชะโลมกลาง
วัน เดือน ปี เกิด	6 พฤษภาคม 2541
สถานที่เกิด	จังหวัดนครราชสีมา
วุฒิการศึกษา	พ.ศ.2562 วท.บ., (จุลชีววิทยา), มหาวิทยาลัยพะเยา, จังหวัดพะเยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	112 หมู่ 8 ตำบล วังซ่าน อ.แม่वंงก์ จังหวัด นครสวรรค์
ผลงานตีพิมพ์	ณัฐกมล ชะโลมกลาง และ รัฐภูมิ พรหมณะ. (25-27 มกราคม 2566). ผลของแสง LED ต่อชีวมวลและรงควัตถุของ <i>Spirulina platensis</i> ในการประชุมวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัยครั้งที่ 12, (หน้า 74 - 89). พะเยา: มหาวิทยาลัยพะเยา.
รางวัลที่ได้รับ	-

