การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อเพิ่มสารไฟโคไซยานินโดยการทดสอบในอาร์ทีเมีย

จตุพล มีสวัสดิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อเพิ่มสารไฟโคไซยานินโดยการทดสอบในอาร์ทีเมีย

จตุพล มีสวัสดิ์

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช)
วันที่ 23 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2561

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ จตุรงค์ล้ำเลิศ)
วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2561

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อดิศักดิ์ จูมวงษ์)
วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2561

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช)
วันที่ 23 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2561

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2561

ชื่อเรื่อง	การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อเพิ่มสารไฟโคไซยานินโดยการทดสอบในอาร์ทีเมีย
ชื่อผู้เขียน	นายจตุพล มีสวัสดิ์
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช

บทคัดย่อ

การทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อเพิ่มสารไฟโคไซยานิน โดยเลือกใช้อาหารสูตรปรับปรุงจาก Zarrouk's medium แบบ Fertilizer medium (FM) เลือกใช้ปุ๋ย N-P-K (Total N-P_2O_5-K_2O) ซึ่งหาได้ง่าย มีต้นทุนต่ำ และมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงแทน Single super phosphate และ Muriate of potash ที่หายากและราคาสูงกว่า โดยการเพาะเลี้ยงใช้อุปกรณ์ที่มีขายทั่วไป ทำให้มีต้นทุนต่ำกว่า อุปกรณ์ไฟฟ้าที่มีค่ากำลังไฟจำเพาะ โดยใช้แสงสีแดง (7.5 klux.) เปรียบเทียบกับแสงสีขาว (13.5 klux) ซึ่งมีกำลังไฟมากกว่า ในระบบห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์ผลหลังการเลี้ยง 12 วัน พบว่าการให้แสงสีแดงมีปริมาณสารไฟโคไซยานิน 1.36±0.27 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งมากกว่าการให้แสงสีขาว1.17±0.09 มิลลิกรัมต่อกรัม และปริมาณโปรตีนยังมีค่าสูงกว่าเช่นกัน โดยภายใต้แสงสีแดงมีค่า 71.81±18.79 มิลลิกรัมต่อลิตร และในแสงสีขาว 12.76±1.58 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากการทดสอบคุณภาพของสาหร่ายสไปรูลิน่าในอาร์ทีเมีย เป็นเวลา 15 วัน พบว่ามีขนาด ความเข้มของสี และปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติที่เสริมด้วยสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้แสงสีแดงดีกว่าและที่มีค่ามากกว่าที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมด้วยสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้แสงสีขาว โดยมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.53±0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม และ0.37±0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งสามารถเพิ่มมวลชีวภาพในแสงสีแดงได้โดยการเพิ่มความเข้มแสง นอกจากนี้ยังพบว่ามีปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ต่ำ ดังนั้นสามารถพัฒนาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าโดยการเลือกใช้เทคนิคดังกล่าวเพื่อเพิ่มปริมาณและความเข้มข้นของไฟโคไซยานิน ในการเพิ่มมูลค่าและความปลอดภัย และยังใช้เป็นอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้อย่างดี

Title	TECHNIQUE CULTURE *SPIRULINA PLATENSIS* FOR INCREASE PHYCOCYANIN BY TESTING IN *ARTEMIA*
Author	Mr. Jatupol Meesawat
Degree	Master of Science in Agricultural Interdisiplinary
Advisor Committee chairperson	Assistant Professor Dr. Chalinda Ariyadet

ABSTARCT

This study aim to evaluate the culture technique for *Spirulina platensis* to increase phycocyanin content. The medium used was Fertilizer Medium (FM) modified from Zarrouk's medium which is easily found at low cost. N-P-K fertilizer (Total N-P_2O_5-K_2O) was used in place of super phosphate and Muriate of potash whish are and expensive. Different light sources were selected to control the product intensity. Red light (7.5 klux.) was used to compare with the white light (13.5 klux), which has higher light intensity. After 12 days of cultivation period under the laboratory system, the phycocyanin content under red light condition was higher than that under white light condition with the value of 1.36±0.27 mg / l and 1.17±0.09mg / l respectively at the 95% confidence level of significance. The protein content was also higher in the red light than that in the white light condition with the value of 71.81 ± 18.79 mg / l. and 12.76 ± 1.58 mg / l respectively. Quality test of the alga for 15 days indicated that in *Artemia*, Red light product was better than white light. The carotenoid content was higher in *Artemia* fed with the alga grown the red light (0.53 ± 0.04 mg/g.) than that under white light (0.37 ± 0.04 mg/g.). The biomass in the red light could be increasing the light intensity. It was also found that microbial contamination was low. Therefore *Spirulina platensis* could be developed by using this technique to increase the content of phycocyanin for value added and safety of the product. It can be used also as food supplement for the aquaculture.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณท่าน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความรู้ ให้คำปรึกษา และให้คำแนะนำ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จสมบูรณ์ลงด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ จตุรงค์ล้ำเลิศ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อดิศักดิ์ จูมวงษ์ กรรมการที่ปรึกษา ที่ช่วยแนะนำแนวทางที่เป็นประโยชน์ในการดำเนินงานวิจัย พร้อมทั้งตรวจสอบแก้ไขจนกระทั่งสำเร็จเป็นวิทยานิพนธ์อย่างสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการใช้เครื่อง Spectrophotometer ขอขอบคุณ สาขาพืชผัก ที่อนุเคราะห์สถานที่ และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี พีรพรพิศาล ที่สละเวลามาเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำในการเขียนวิทยานิพนธ์ และขอขอบพระคุณคณาจารย์และบุคลากร คณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความรู้ตลอดจนให้คำปรึกษาเกี่ยวกับงานวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่คอยสนับสนุนทั้งด้านกำลังทรัพย์ กำลังใจที่ดีเสมอมา ขอขอบพระคุณญาติผู้ใหญ่ทุกท่านในครอบครัว รุ่นพี่ รุ่นน้อง เพื่อน ที่ช่วยเหลือในสิ่งต่างๆ และคอยเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา ขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

จตุพล มีสวัสดิ์

พฤษภาคม 2561

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
สารบัญตาราง	(8)
สารบัญภาพ	(9)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
ขอบเขตงานวิจัย	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร	4
ความรู้เกี่ยวกับสาหร่าย	4
การเลือกใช้เทคโนโลยีในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า	9
คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไฟโคไซยานิน	15
การทดสอบประสิทธิภาพของสาหร่ายสไปรูลิน่าในอาร์ทีเมีย	16
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	21
เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี	21
วิธีการทดลอง	22
แผนการทดลองเปรียบเทียบอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายจากแสงสีแดงกับแสงสีขาว	26
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	27
ผลของการเจริญเติบโตของสาหร่ายสไปรูลิน่า	27
ผลของปริมาณสารไฟโคไซยานินที่ได้จากการให้แสงสีขาวและแสงสีแดงในสาหร่ายสไปรูลิน่า	35
ผลของปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีแดงและแสงสีขาว	37
ผลของปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีแดงและแสงสีขาว	38

หน้า

การวิเคราะห์สารปนเปื้อนในสาหร่ายสไปรูลิน่า 39

การนำสาหร่ายสไปรูลิน่าไปทดสอบในอาร์ทีเมีย 41

การวิเคราะห์ต้นทุนในการผลิต 45

บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 47

สรุปผล 47

ข้อเสนอแนะ 47

บรรณานุกรม 49

ภาคผนวก 54

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ 55

ภาคผนวก ข ประวัติผู้วิจัย 63

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	อาหารสูตรปรับปรุง Fertilizer medium (FM)	10
2	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของสาหร่ายสไปรูลิน่าเทียบกับอาหารชนิดอื่น	15
3	คุณค่าทางอาหารของอาร์ทีเมีย	18
4	อาหารสูตรปรับปรุง Fertilizer medium (FM)	23
5	การเปรียบเทียบการทดลองในภาชนะขนาด 5 ลิตร	24
6	การเปรียบเทียบผลการทดลองค่า OD ในภาชนะขนาด 500 ml. ในสภาวะแสงสีขาวและแสงสีแดง	29
7	การเปรียบเทียบผลการทดลองค่า OD ในภาชนะขนาด 500 ml.ในสภาวะแสงสีแดง	30
8	ค่ามวลชีวภาพของสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีขาว	33
9	ค่ามวลชีวภาพของสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีแดง	33
10	ตารางเปรียบเทียบค่ามวลชีวภาพและปริมาณไฟโคไซยานินในสาหร่ายสไปรูลิน่า	36
11	ค่าปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในแสงสีแดงและแสงสีขาว	37
12	ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในแสงสีแดงและแสงสีขาว	38
13	มาตรฐานสำหรับการบริโภคกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	39
14	ผลการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนในสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาวะการเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและแสงสีแดง	40
15	เปรียบเทียบค่ามวลชีวภาพของอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ (ART.C) กับที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาวะแสงสีขาว (ART.W) และแสงสีแดง (ART.R)	43
16	ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาร์ทีเมียที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสไปรูลิน่าจากแสงสีแดงและแสงสีขาว	45

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สาหร่ายสไปรูลิน่า กำลังขยาย 40X	7
2	วงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า	8
3	ความยาวคลื่นแสงและค่าการดูดกลืนแสงของเม็ดสี	11
4	โครงสร้างของไฟโคไซยานิน	14
5	ลักษณะของอาร์ทีเมียเพศผู้	19
6	ลักษณะของอาร์ทีเมียเพศเมีย	19
7	วงศ์ชีวิตของอาร์ทีเมีย	20
8	สาหร่ายสไปรูลิน่าภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการเพาะเลี้ยงปรับตัว	28
9	ชุดการทดลองการเปรียบเทียบแสงสีขาวและแสงสีแดง	28
10	ค่า OD การเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าด้วยสูตรอาหารปรับปรุง FM	31
11	เปรียบเทียบค่าน้ำหนักสดของสาหร่ายที่กรองด้วยกระดาษ what man 10%Wet weight	34
12	เปรียบเทียบค่าน้ำหนักสาหร่ายสดที่กรองด้วย planktonnet	34
13	เปรียบเทียบค่าน้ำหนักสาหร่ายแห้งที่ให้แสงสีแดงและแสงสีขาว	34
14	สารสกัดไฟโคไซยานินในสาหร่ายสไปรูลิน่า	35
15	เปรียบเทียบปริมาณร้อยละไฟโคไซยานินในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในแสงสีขาว และแสงสีแดง	36
16	ปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในสภาวะแสงสีแดงและแสงสีขาว	37
17	ปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในสภาวะแสงสีแดงและแสงสีขาว	38
18	แบคทีเรียที่พบในตัวอย่างสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีแดงและแสงสีขาว	40
19	โคลิฟอร์มแบคทีเรียในสาหร่ายสไปรูลิน่า	41
20	ยีสต์ และราที่พบในตัวอย่างสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีขาวและแสงสีแดง	41
21	อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ (C) กับที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาวะแสงสีขาว (W) และแสงสีแดง (R)	42
22	ภาพถ่ายอาร์ทีเมียที่กำลังขยาย 40X	44

ภาพที่		หน้า
23	กราฟเปรียบการเจริญของอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ (ART.C) กับที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาวะแสงสีขาว (ART.W) และแสงสีแดง (ART.R)	44
24	กราฟแสดงค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาร์ทีเมียที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสไปรูลิน่าจากแสงสีแดงและแสงสีขาว	45

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในปัจจุบันมีหลายวิธีและมีการศึกษากันมาก เนื่องจากสาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายทางชีวภาพมากและมีการนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่น ใช้เป็นอาหาร การแปรรูป และการสกัดสารมาใช้ประโยชน์ เนื่องด้วยมีองค์ประกอบที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องด้วยการเพาะเลี้ยงให้ผลผลิตเร็วและใช้พื้นที่น้อย ควบคุมการเลี้ยงง่าย บางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนได้ ทำให้มีคุณสมบัติในการทดแทนปุ๋ยไนโตรเจนเคมีที่มีราคาแพง สามารถเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนโปรตีนจากสัตว์ สาหร่ายยังมีองค์ประกอบที่ให้ประโยชน์ทั้งแร่ธาตุอะมิโนและอื่นๆ สามารถเพาะเลี้ยงได้ทั้งในระบบเปิดและระบบปิด การเลี้ยงมีปัจจัยหลักคือ อาหาร ภาชนะเลี้ยง แสง และวิธีการเก็บเกี่ยวผลผลิตผล งานวิจัยที่ศึกษาปัจจัยเดี่ยวมีมากและผลสำเร็จมีมากมาย การเลือกใช้เทคโนโลยีในระบบการผลิตสาหร่ายเพื่อให้ควบคุมผลผลิตตามต้องการคุณภาพสูง ความบริสุทธิ์ ลดค่าใช้จ่ายจึงเป็นงานวิจัยที่มีประโยชน์ในเชิงบูรณาการโดยสาหร่ายที่เป็นสายพันธุ์เด่น คือ สาหร่ายสไปรูลิน่า *(Spirulina platensis)* สาหร่ายชนิดนี้ปัจจุบันมีความก้าวหน้าทางการวิจัยสามารถสร้างองค์ความรู้ และการนำผลไปใช้ประโยชน์ได้จริงมากมาย สาหร่ายสไปรูลิน่า ยังสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายและมีการสร้างมวลได้อย่างรวดเร็ว ไม่มีสารพิษปนเปื้อน มีองค์ประกอบในเซลล์ที่มีประโยชน์และสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคนและสัตว์รวมถึงพืชด้วย เป็นแหล่งโปรตีนสูง และยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ไฟโคไซยานิน นอกจากนี้ยังมีสารอาหารอื่น ๆ มากมาย ทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง มีวิตามิน อะมิโนเกือบทุกตัว มีสารต่อต้านเชื้อโรค มีผลงานวิจัยการเพาะเลี้ยงในระบบและรูปแบบต่างๆ มากมาย การประยุกต์และคัดเลือก เพื่อให้ได้ตามวัตถุประสงค์ และการนำไปใช้ประโยชน์ให้ได้ผลสำเร็จ การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีแสง การเก็บเกี่ยวและสูตรอาหาร ในระบบห้องควบคุมการผลิตสาหร่ายสไปรูลิน่า เพื่อจุดประสงค์ให้ได้ผลผลิตบริสุทธิ์ และการควบคุมการผลิตสารบางชนิด เช่น ไฟโคไซยานินเพื่อเป็นแนวทางในการสร้างระบบการผลิตสาหร่ายในระบบอัจฉริยะหรือเกษตรแม่นยำได้

การเพาะเลี้ยงในปัจจุบันมีการพัฒนาไปมาก จนสามารถกำหนดผลผลิตได้ โดยควบคุมปัจจัยการผลิตและใช้เทคโนโลยีเพื่อการเก็บเกี่ยวผลผลิต และสารสกัด แต่ก็ขึ้นกับวัตถุประสงค์การนำไปใช้งาน การเพาะเลี้ยงจึงมีหลายรูปแบบทั้งระบบเปิดและระบบปิด โดยทั่วไปรูปแบบที่มีรายงานว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าที่มีประสิทธิภาพสูงพบว่า ภาชนะหรือบ่อเลี้ยงมีทั้งบ่อพลาสติก บ่อปูน

และอุปกรณ์ที่ผลิตมาโดยเฉพาะ การให้อากาศเพื่อหมุนเวียน และการให้ออกซิเจน อาจใช้คนเขย่าหรืออุปกรณ์ใช้ไฟฟ้า การควบคุมค่า pH ให้อยู่ในช่วง 10±1 อุณหภูมิ 25°C±2 ให้แสงสลับ 12/12 ชั่วโมง ใช้อาหารมาตรฐาน Zarrouk's medium หรือ สูตรปรับปรุงเติมปุ๋ยหรือ สารอาหารทดแทนอื่น (Manigandam, 2014) การเจริญเติบโตของสาหร่ายสไปรูลิน่าต้องอาศัยแสงสว่างในการสังเคราะห์แสง ปริมาณแสงที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในระบบเปิด คือ 30-40 klux สำหรับงานวิจัยระดับปฏิบัติการอาจจะใช้แสงจากฟลูออเรสเซนต์ สำหรับการทดลองเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่าความเข้มแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายในช่วงความเข้มแสงที่ 20-30 klux (Chaiklahan et al., 2011)

นอกจากการใช้สาหร่ายชนิดนี้เพื่อการบริโภคโดยตรง หรือเพื่อประโยชน์ด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่างๆ เช่น เป็นส่วนผสมของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงปลาสวยงาม ซึ่งสามารถเพิ่มสีให้ปลาสวยงามต่างๆ ได้ ปัจจุบันยังมีการสกัดสารที่พบในสาหร่ายสไปรูลิน่ามาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์หรืออุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่นสารไฟโคไซยานิน และสารแคโรทีนอยด์ Stanley and Jones (1976) การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้สารเหล่านี้ให้มีความบริสุทธิมากขึ้น จะมีผลทำให้ต้นทุนต่ำลง และราคาสูงขึ้น เพราะมีขั้นตอนการสกัดสารมีความยุ่งยาก และใช้ต้นทุนสูง

อาร์ทีเมีย *(Artemia spp.)* ไรสีน้ำตาล หรือไรน้ำเค็ม (Brine shrimp) จัดเป็นสัตว์น้ำเค็มชนิดหนึ่งในกลุ่มครัสเตเชียน (crustacean) ตัวเต็มวัยมีขนาด 8-12 มิลลิเมตร (Criel and Macrae, 2002) เช่นเดียวกับพวกกุ้ง กั้ง และปูแต่อาร์ทีเมียไม่มีเปลือกแข็งหุ้มตัว มีขนาดเล็ก และมีคุณค่าทางอาหารสูง จึงเหมาะแก่การเป็นอาหารของสัตว์น้ำหลายชนิด เช่น ปลา กุ้ง (Treece, 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาร์ทีเมียที่อยู่ในรูปไข่ (cyst) สามารถเก็บรักษาให้คงสภาพมีชีวิตอยู่ได้นานหลายปี เมื่อต้องการใช้เพียงแต่นำมาฟักในระยะเวลาอันสั้นก็จะได้ตัวอ่อนของอาร์ทีเมียนำไปเป็นอาหารสัตว์น้ำได้ทันทีทำให้สะดวกในการใช้และการจัดการ (Van Stappen, 1996) การทดสอบประสิทธิภาพหรือคุณภาพของสาหร่ายจากการเพาะเลี้ยงโดยการเลือกใช้แสง การออกแบบการทดลองเป็นขั้นตอนที่ทำให้ทราบถึงความสำเร็จ และยืนยันได้ว่าประสิทธิภาพของเทคนิควิธีการเลือกได้ การใช้สัตว์ทดลองอาร์ทีเมียเพื่อทดสอบผลการวิจัยใช้เทคนิคด้านอาหาร และการใช้แสงสามารถทำได้ง่ายขั้นตอนไม่ซับซ้อนใช้เวลาในการทดลองไม่นานจนเกินไปและสามารถวิเคราะห์ผลได้เร็ว

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จะศึกษาการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อเพิ่มสารไฟโคไซยานิน โดยการทดสอบในอาร์ทีเมียและการศึกษาสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงอาร์ทีเมียจึงเป็นอีกด้านหนึ่งในการพัฒนาศักยภาพในการเลี้ยงอาร์ทีเมียให้ประสบผลสำเร็จ เป็นทางเลือกงานวิจัยที่ศึกษาคัดเลือกสาหร่ายที่มีศักยภาพในการใช้เป็นอาหารของอาร์ทีเมีย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. การใช้เทคนิคในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า
2. เพื่อนำสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เพาะเลี้ยงได้ไปทดสอบผลในอาร์ทีเมีย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถควบคุมการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในระบบห้องปฏิบัติการได้ด้วยการใช้เทคโนโลยีต่างๆ
2. สามารถใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าที่เพาะเลี้ยงได้จากระบบห้องปฏิบัติการไปทดสอบผลในอาร์ทีเมียได้

ขอบเขตงานวิจัย

1. ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสไปรูลิน่า
2. ศึกษาเทคโนโลยีการใช้แสงในการผลิตสาหร่ายสไปรูลิน่า
3. ศึกษาการเพิ่มปริมาณของสารไฟโคไซยานิน ปริมาณโปรตีน ปริมาณแคโรทีนอยด์
4. ศึกษาผลการทดสอบสาหร่ายไปรูลิน่าเป็นอาหารของอาร์ทีเมีย

บทที่ 2
ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

การวิจัยครั้งนี้มุ่งศึกษาการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อเพิ่มสารไฟโคไซยานิน โดยการทดสอบในอาร์ทีเมีย ดังนั้นผู้ทำการวิจัยจึงศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

1. ความรู้เกี่ยวกับสาหร่าย
2. การเลือกใช้เทคโนโลยีในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า
3. คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไฟโคไซยานิน
4. การทดสอบประสิทธิภาพของสาหร่ายสไปรูลิน่าในอาร์ทีเมีย *(Artemia* spp.)

ความรู้เกี่ยวกับสาหร่าย

สาหร่ายจัดเป็นพืชชั้นต่ำที่ไม่มีดอก ไม่มีราก ลำต้นและใบที่แท้จริงแต่มีส่วนที่คล้ายราก คล้ายลำต้นและคล้ายใบรวมเรียกว่าทัลลัส (Thallus) สาหร่ายมีความแตกต่างกันมากในทางขนาด โครงสร้าง ประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์จนถึงขนาดใหญ่ สาหร่ายมีทั้งสีเขียว แดง น้ำตาล น้ำเงิน ม่วง และสีเขียวแกมน้ำเงิน นับว่ามีความหลากหลายทางชีวภาพเป็นอย่างยิ่ง สาหร่ายมีบทบาทต่อความเป็นอยู่ของมนุษย์หลายด้านได้แก่ ด้านอาหาร เป็นอาหารของมนุษย์ เป็นอาหารของสัตว์สาหร่ายมีหน้าที่เป็นผู้ผลิตเบื้องต้น โดยเป็นอาหารโดยตรงกับสิ่งมีชีวิตในน้ำและเป็นอาหารของแพลงก์ตอนสัตว์ โดยแพลงก์ตอนพืชเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีคลอโรฟิลล์ สามารถสังเคราะห์ด้วยแสง โดยใช้พลังงานแสง เพื่อเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนที่มาจากน้ำหรือแหล่งน้ำหรือแหล่งไฮโดรเจนอื่นๆ (Graham and Wilcox, 2000) ให้เป็นสารและเกิดก๊าซออกซิเจนเป็นผลให้สิ่งมีชีวิตในน้ำเพื่อใช้ในการดำรงชีวิตและการย่อยสลายสารของสารอินทรีย์ของแบคทีเรีย การดึงสารอาหารไปใช้ของแพลงก์ตอนพืช ทำให้น้ำมีปริมาณของสารอนินทรีย์ลดลง ส่งผลให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้น แพลงก์ตอนพืชมีความสำคัญในห่วงโซ่อาหารในระบบนิเวศแหล่งน้ำ โดยแพลงก์ตอนพืชเป็นผู้ผลิตชั้นต้นในแหล่งน้ำ เป็นอาหารธรรมชาติของปลา และสัตว์น้ำอื่นๆ ตั้งแต่ระยะตัวอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย ถึงแม้จะมีสัตว์น้ำบางชนิดอาศัยสัตว์น้ำที่มีขนาดเล็กกว่าเป็นอาหาร แต่เมื่อศึกษาตามลำดับขั้นขึ้นไปจะพบว่า สัตว์น้ำส่วนใหญ่จะต้องอาศัยแพลงก์ตอนพืชเหล่านี้เป็นอาหารในระยะหนึ่งในการดำรงชีวิต (Codd, 2000)

1. การจำแนกสาหร่าย

สาหร่ายสามารถแบ่งเป็นกลุ่มได้หลายกลุ่ม นักสาหร่ายวิทยามีวิธีการแบ่งกลุ่มสาหร่ายที่แตกต่างกันโดยอาศัยคุณสมบัติของสาหร่ายบางประการในการจำแนก (ยุวดี, 2549) ดังนี้

2. รงควัตถุภายในเซลล์

สาหร่ายทุกชนิดมีรงควัตถุหลักคือคลอโรฟิลล์เอ ส่วนรงควัตถุรองจะแตกต่างกัน เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และสาหร่ายสีแดงมีรงควัตถุพวกไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) และไฟโคอิริทริน (Phycoerythrin) เพิ่มขึ้น ขณะที่สาหร่ายสีเขียวจะมีรงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เป็นต้น รงควัตถุเหล่านี้ช่วยในการสังเคราะห์แสง

3. องค์ประกอบของผนังเซลล์

สาหร่ายแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของผนังเซลล์แตกต่างกันบางชนิดเป็นพวกเซลลูโลสบางชนิดมีสารบางอย่างที่สะสมอยู่ เช่น ซิลิกาในไดอะตอม วุ่นในสาหร่ายสีแดง หรือแคลเซียมในสาหร่ายที่มีผนังแข็งได้แก่สาหร่ายสีแดงและสีเขียวบางชนิด

4. อาหารที่สะสมในเซลล์สาหร่าย

ส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เช่น พบแป้งพวกอะไมเลสและอะไมโลเพคตินในสาหร่ายสีเขียว ลามินารินในสาหร่ายสีน้ำตาล เป็นต้น

5. การจำแนกชนิดของสาหร่าย

นักสาหร่ายวิทยาแบ่งกลุ่มสาหร่ายออกเป็น Division (ดิวิชัน) โดย Bold and Wyne (1978) แบ่งสาหร่ายเป็น 9 Division ดังนี้

1. Division Cyanophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae)
2. Division Chlorophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีเขียว (Green algae)
3. Division Charophyta ได้แก่ สาหร่ายไฟ (Stoneworts)
4. Division Euglenophyta ได้แก่ Euglenoids
5. Division Phaeophyta ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาล (Brown algae)
6. Division Chrysophyta ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง (Golden algae) สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง
7. Division Pyrrhophyta ได้แก่ Dinoflagellates
8. Division Cryptophyta ได้แก่ Cryptomonads

9. Division Rhodophyta ได้แก่ สาหร่ายสีแดง (Red algae)

6. ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina platensis*)

สาหร่ายสไปรูลิน่า (ภาพที่ 1) เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินขนาดเล็กสังเคราะห์ด้วยแสง ประกอบด้วยเซลล์รูปทรงกระบอกหลายเซลล์เรียงต่อกนเป็นเส้นสายที่ไม่แตกแขนง เรียกวา trichome เส้นสายจะบิดเป็นเกลียวตามลักษณะของสกุล (genus) ความสูงของเกลียว (helix) 43-57 ไมโครเมตร ระยะกว้างเกลียว 26-36 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียว 6-8 ไมโครเมตร ปลายสายมน สุชาติ และคณะ (2531) ได้กล่าวว่า อย่างไรก็ตามสาหร่ายชนิดเดียวกันอาจมีรูปร่างที่ต่างกันเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน เช่น อุณหภูมิ แสง ความเป็นกรด-ด่าง ยกตัวอย่างเช่น สาหร่ายสไปรูลิน่า ที่เจริญเติบโตในแสงสีที่ต่างกันพบว่าสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีขาวจะมีปริมาณชีวมวลที่มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการให้แสงสีแดง สาหร่ายสไปรูลิน่า ตัวเซลล์นั้นไม่มีเยื่อเมือก (mucous membrane) ปกคลุมเหมือนกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั่วๆ ไป และผิวของเซลล์ไม่มีจุลินทรีย์มาเกาะ รวมทั้งมีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ที่จะทำอันตรายต่อเซลล์ได้สูง เนื่องจากสาหร่ายสไปรูลิน่าบางสายพันธุ์มีความสามารถในการทนความร้อนได้สูงจึงทำให้สามารถป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรย์หลายชนิด ส่วนองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายสไปรูลิน่า พบว่ามีปริมาณสาร ไฟโคไซยานิน ซึ่งเป็นสารรงควัตถุชนิดหนึ่งในปริมาณที่สูง Trainor (1978) ไฟโคไซยานิน เป็นเม็ดสีที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง ละลายในน้ำ นอกจากประสิทธิภาพที่เหนือกว่าแหล่งอาหารและพบในที่อื่นๆ

ไฟโคไซยานินยังมีผลการควบคุม plaque ในหลอดเลือดแดง (ateries) อีกด้วย ไม่เป็นพิษและมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ไวรัส สร้างภูมิคุ้มกันและยังทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพ ปัจจัยแวดล้อมบางประการเช่นความร้อนและความเค็มมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของสาหร่ายสไปรูลิน่า Ali and Saleh (2012) มูลค่าสารสีไฟโคไซยานินขึ้นกับความบริสุทธิ์ ในระดับ food grade ราคาประมาณ 0.13 ดอลลาร์สหรัฐต่อกรัม ถ้าระดับ analytical grade จะมีราคาสูงถึง 25 ดอลลาร์สหรัฐต่อกรัม ทั้งนี้ต้องอาศัยกระบวนการพัฒนาการเลี้ยง การสกัด การคงรูปของสารประกอบ Borowitzka (1999) ซึ่งสาหร่ายชนิดนี้ผนังเซลล์ย่อยสลายง่าย Jensen and Knutsen (1993) และพบว่าเยื่อหุ้มเซลล์ไม่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ ทำให้ดูดซับไปใช้ได้ง่ายในคน ช่วยให้การสกัดด้วยสารเคมีหรือการใช้เทคโนโลยีอื่นๆ ทำได้สะดวก เราสามารถสกัดไฟโคไซยานิน ได้สูงและสูญเสียน้อยจากสาหร่ายสไปรูลิน่าได้อย่างรวดเร็ว ที่อุณหภูมิต่ำด้วยความดันสูง (high-pressure process) (Yong, 2013)

ภาพที่ 1 สาหร่ายสไปรูลิน่า กำลังขยาย 40X

สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสไปรูลิน่ามีอนุกรมวิธาน ดังนี้ (Bold and Wynne, 1978; Venkataraman and Becker, 1983)

Kingdom Monera

Division Cyanophyta

Class Cyanophyceae

Order Oscillatoriales

Family Oscillatoriaceae

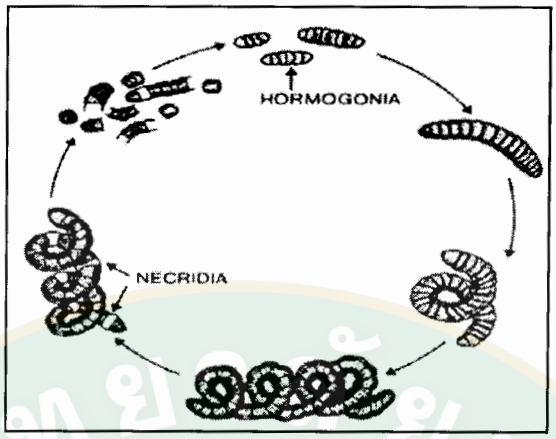
Genus *Spirulina*

Species *Spirulina platensis*

สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ค้นพบแล้วมีประมาณ 35 ชนิด ชนิดที่มีรายงานการทดลองและใช้ประโยชน์มากที่สุดคือ *S. platensis* และ *S. maxima* (Ciferri, 1983)

7. วงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า

วงจรชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า Richmond (1986) เริ่มจากไตรโคม (Trichrome) ที่โตเต็มที่เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์พิเศษที่เรียกว่านิครีเดีย (Necredia) หลังจากนั้น นิครีเดียแตกออกเป็นชิ้นส่วนเล็กๆ หลายสายแต่ละสายประกอบด้วย 2-4 เซลล์ เรียกแต่ละสายว่าฮอร์โมโกเนีย (Hormogonia) จากนั้นปลายทั้งสองด้านของฮอร์โมโกเนียค่อยๆม้วนเป็นเกลียว เซลล์ของฮอร์โมโกเนียเพิ่มจำนวนโดยวิธี Cell Fusion และเจริญต่อไปเป็นไตรโคมลักษณะเซลล์ของฮอร์โมโกเนียมีสีซีดเพราะในไซโตพลาสซึม มีกรานูล (Granule) น้อยแต่เมื่อเจริญไปเป็นไตรโคมที่โตเต็มที่ภายในไซโตพลาสซึมจะมีกรานูลเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์มีสีเขียวแกมน้ำเงินมากขึ้น (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 วงชีวิตของสาหร่ายสไปรูลิน่า

ที่มา: Ali and Saleh (2012)

การสืบพันธุ์ของสาหร่ายสไปรูลิน่าจะเป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยจะมีการแบ่งตัวที่กึ่งกลางของไตรโครม Humm and Wicks (1980) ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบ binary fission ที่พบได้ในแบคทีเรีย (ยุวดี, 2549)

รงควัตถุสำคัญที่พบในสาหร่ายสไปรูลิน่า ได้แก่ คลอโรฟิลล์เอ แบต้า-แคโรทีน ไฟโคไซยานิน ในการทดลองใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นอาหารสัตว์ พบว่าสามารถช่วยเพิ่มสารสี คือ สีของเกล็ดปลาสวยงาม สีของเนื้อสัตว์ สีของไข่แดงในสัตว์ปีก Reed et al. (1985)

8. คุณประโยชน์ของสาหร่ายสไปรูลิน่า

สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินถือเป็นอาหารที่ยอดเยี่ยมมีองค์ประกอบทางเคมีได้แก่โปรตีน (55% -70%) คาร์โบไฮเดรต (15% -25%) กรดไขมันที่จำเป็น (18%) วิตามินแร่ธาตุและมีแคโรทีน คลอโรฟิลล์และ ไฟโคไซยานิน Saxena (1983) (ภาพที่ 3) มีคาร์โบไฮเดรตอยู่ประมาณร้อยละ 12-20 นอกจากนี้สาหร่ายสไปรูลิน่ายังเป็นแหล่งที่มีศักยภาพในการผลิตสารเคมีสำคัญซึ่งไม่ค่อยพบในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นโดยประกอบด้วย (Reed et al., 1985) ได้กล่าวไว้ว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายพันธะ (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) โดยเฉพาะกรดแกมม่า-ลิโนเลนิค หรือ GLA (g –linolenic acid,18:3 w 6) รงควัตถุธรรมชาติ เช่น ไฟโคไซยานิน (phycocyanin) และคาโรทีนอยด์ชนิด (myxoxanthophyll), (zeaxanthi) และสารพวกโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) เป็นต้น

ประโยชน์ทางด้านการแพทย์ สาหร่ายสไปรูลิน่ามีคุณค่าทางสารอาหารสูงกว่าสาหร่ายชนิดอื่น ทำให้สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นที่นิยมโดยทั่วไปเป็นทั้งอาหารและยาที่สามารถรักษาโรคต่างๆได้ เช่น โรคเบาหวาน โรคความดัน โรคตับ เป็นต้น (เจียมจิตต์, 2531)

ใช้เป็นอาหารสำหรับมนุษย์ เนื่องจากสาหร่ายสไปรูลิน่ามีคุณค่าทางโภชนาการสูงซึ่งมีโปรตีนสูงถึง 70-80 เปอร์เซ็นต์ และมีวิตามินบี นอกจากนี้ยังมีสารไฟโคไซยานินซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และช่วยเสริมภูมิคุ้มกันในมนุษย์

ใช้เป็นอาหารสัตว์ สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นถือว่าเป็นโปรตีนที่สำคัญในการ ทำให้สัตว์มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีแล้วยังพบอีกว่า ในสาหร่ายสไปรูลิน่ามีสารแคโรทีนอยด์ซึ่งสามารถนำไปเป็นส่วนผสมของอาหารเลี้ยงปลาสวยงามได้ เนื่องจากสารแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายจะช่วยเร่งสีผิวของปลาให้มีสีที่เข้มขึ้น (Stanley and Jones, 1976)

การเลือกใช้เทคโนโลยีในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า

1. การเลือกใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า

การเพาะเลี้ยงในปัจจุบันมีการพัฒนาไปมาก จนสามารถกำหนดผลผลิตได้ โดยควบคุมปัจจัยการผลิตและใช้เทคโนโลยีเพื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตและสารสกัด แต่ก็ขึ้นกับวัตถุประสงค์การนำไปใช้งาน ดังนั้นการเพาะเลี้ยงจึงมีหลายรูปแบบทั้งระบบเปิดและระบบปิด โดยทั่วๆ ไป มีการจัดการดังนี้ ภาชนะหรือบ่อเลี้ยงมีทั้งบ่อพลาสติก บ่อปูนและอุปกรณ์ที่ผลิตมาโดยเฉพาะ การให้อากาศเพื่อหมุนเวียนและให้ออกซิเจน รวมไปถึงการให้ความสำคัญในการเลือกใช้สูตรอาหารในการเพาะเลี้ยง อาหารที่นิยมใช้คือ Zarrouk's medium หรือสูตรปรับปรุงเติมปุ๋ยหรือสารอาหารทดแทนอื่น (Manigandam, 2014) โดยวิธีการของ Bharat et al. (2011) ได้ผลดีและมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงดังนี้ โดยเลือกใช้อาหารใช้สูตรปรับปรุง Fertilizer medium (FM) Bharat et al. (2011) แสดงในตารางที่ 1 ดังนี้

ตารางที่ 1 อาหารสูตรปรับปรุง Fertilizer medium (FM)

องค์ประกอบ (Ingredient)	FM (g/L)	FM ปรับปรุง (g/L)	หมายเหตุ
ปุ๋ย N-P-K (Total N-P_2O_5-K_2O)		1.25	สูตรปรับปรุง
$NaHCO_3$	8.0	8.0	
$NaNO_3$	2.5	2.5	เติมหลังการนึ่งฆ่าเชื้อ
NaCl	0.5	0.5	
$MgSO_4.H_2O$	0.15	0.15	
$CaCl_2.2H_2O$	0.04	0.04	
Single super phosphate	1.25		ใช้ปุ๋ยแทน
Muriate of potash	0.98		ใช้ปุ๋ยแทน
Distilled water	1000	1000	

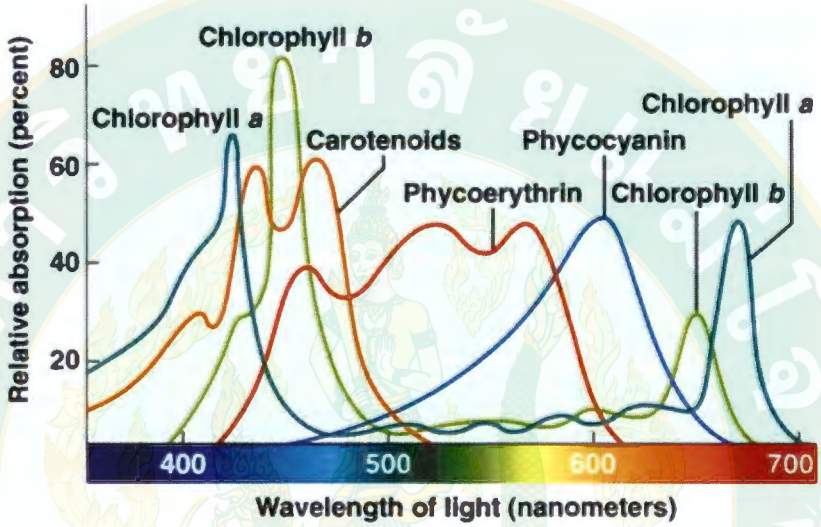
การเติมเกลือในอาหารเพาะเลี้ยงเล็กน้อยช่วยยับยั้งการเจริญตัวอย่างของยุง การเตรียมอาหาร ปลอดเชื้อ โดยนำส่วนผสมไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน (Autoclaving) แล้วค่อยเติม $NaNO_3$ ลงไป และปรับค่า pH อยู่ในช่วง 8.5-10 (Manigandam, 2014)

2. การเลือกใช้แสงที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า

แสงมีผลโดยตรงต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในพืชทุกชนิด เป็นส่วนหนึ่งในการสร้างพลังงาน และเป็นแหล่งสารประกอบขั้นต้นเพื่อนำมาสังเคราะห์เป็นสารประกอบอินทรีย์ในพืช แสงยังมีหน้าที่ควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในระดับต่างๆ ในรูปการเปลี่ยนแปลงด้านโครงสร้าง เช่น การงอกของเมล็ด การออกดอก เป็นต้น

การเจริญเติบโตของสาหร่ายก็คล้ายกับพืชทั่วๆไป คือต้องอาศัยแสงสว่างเพื่อช่วยในกระบวนการสังเคราะห์แสง ความเข้มแสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ถ้าความเข้มของแสงสูง ความสามารถในการใช้พลังงานแสงของสาหร่ายจะลดลง ความเข้มแสงที่เหมาะต่อการเจริญของสาหร่ายไปรูลินาเมื่อเพาะเลี้ยงสภาพกลางแจ้งคือ 35-45 klux (Venkataraman and Becker, 1983) ปริมาณไฟโคไซยานินในสาหร่ายสไปรูลิน่า ถูกควบคุมโดยปัจจัยแวดล้อมบางประการ Colla et al. (2007) พบว่า แสงสีแดงมีผลทำให้ปริมาณไฟโคไซยานิน ลดลง 16% แต่ความบริสุทธิ์กลับเพิ่มขึ้นถึง 33% เมื่อเทียบแสงธรรมดาสีขาว Alfredo Walter et al. (2011) ปริมาณไฟ

โคไซยานินตามธรรมชาติของสาหร่าย สีเขียวแกมน้ำเงินแต่ละชนิดมีปริมาณไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่ กับสายพันธุ์ อายุของสาหร่าย ความเข้มแสง คุณภาพแสง และเงื่อนไขการเจริญเติบโต Ajayan et al. (2012) การสังเคราะห์เม็ดสีกลุ่มไฟโคบิลิโปรตีนของสาหร่ายจะตอบสนองได้ ดีต่อการเหนี่ยวนำทางสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะคุณภาพแสง (Chorus and Bartram, 1999) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินดูดกลืนแสงได้ดีที่สุดที่ความยาวคลื่น 550-620 นาโนเมตร (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ความยาวคลื่นแสงและค่าการดูดกลืนแสงของเม็ดสี

ที่มา: Mallery (2007)

3. อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายคือ 25-35 องศาเซลเซียสและ การเจริญจะลดลงถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และสูงกว่า 37 องศาเซลเซียส (Venkataraman and Becker, 1983) สาหร่ายไปรูลินาไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส (Manigandam, 2014) ประเทศไทยมีสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมมากสำหรับเป็นแหล่งผลิตสาหร่ายสไปรูไลนา เนื่องจากมีอุณหภูมิอากาศที่เหมาะสม ค่าอุณหภูมิของอากาศโดยเฉลี่ยประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส

4. ความเป็นกรด-ด่าง

สาหร่ายสไปรูลิน่าสามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาวะเป็นด่างสูงอยู่ในช่วง pH 8-11 จากสูตรอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายของ Zarrouk ได้ระบุไว้ว่าในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ปรับค่า pH ที่ 8-10 เพราะถ้ามากกว่าหรือน้อยไปการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะลดลง (Venkataraman and

Becker, 1983) ค่าความเป็น กรด-ด่างของอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีผลต่อกระบวนการต่างๆทางชีววิทยาของเซลล์ (Ciferri and Tiboni, 1985) มีความสัมพันธ์กับการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Venkataraman and Becker, 1983) หรือปริมาณของไบคาร์บอเนต (สุมนทิพย์, 2529) ซึ่งจะส่งผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อ กระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์สาหร่าย (Becker and Venkataraman, 1982) เนื่องจากค่าความเป็น กรด–ด่างจะมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง รวมทั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ

5. ธาตุอาหารและแหล่งคาร์บอน

แร่ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามปริมาณของแร่ธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการ

แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณมาก (macronutrients หรือ major elements) ได้แก่ ธาตุคาร์บอน ไนโตรเจน ออกซิเจน ไฮโดรเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโปตัสเซียม แหล่งของธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ได้มาจากคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และ ก๊าซออกซิเจน ตามลำดับ ทั้งคาร์บอน ไฮโดรเจน และ ออกซิเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสารหลักภายในพืชได้แกโปรตีนคาร์โบไฮเดรทและไขมัน

แร่ธาตุที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณน้อย (micronutrients หรือ minor elements) คือ ต้องการเป็นปริมาณมิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ต่ำกว่านี้ แร่ธาตุเหล่านี้มีอยู่ 7 ชนิด ได้แก่ คลอรีน เหล็ก แมงกานิส โบรอน สังกะสี ทองแดง และโมลิบดินัม

ไนโตรเจน เป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและ น้ำหนักแห้งของสาหร่าย ไนโตรเจนมีหน้าที่เกี่ยวกับเมทาบอลิซึมภายในเซลล์ การขาดไนโตรเจนในสาหร่ายสไปรูลิน่าทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และอาร์เอ็นเอ (RNA) ลดลง แต่จะมีคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น (Hosakul, 1972; Denesi, 2002) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสาหร่ายสไปรูลิน่าเจริญได้ดีเมื่อมีการ เติมโซเดียมไนเตรทลงในอาหาร 2.5 กรัมต่อลิตร (พิมพรรณ และ อารักษ์, 2531; สุมาลี, 2535; Kaplan, 1986)

ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่มีบทบาทในกระบวนการต่างๆภายในเซลล์ เช่นการเคลื่อนย้ายพลังงานและการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) ในสาหร่ายสไปรูลิน่าจะมีฟอสฟอรัสอยู่ 0.69 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง (เจียมจิตต์, 2531; Richmond, 1986) ในแหล่งน้ำธรรมชาติพบฟอสฟอรัสในรูปอนินทรีย์ฟอตเฟต สาหร่ายสไปรูลิน่าสามารถใช้ฟอสฟอรัสของ สารอินทรีย์ฟอสเฟตได้ดีกว่าอนินทรีย์ฟอสเฟต (Baldia et al., 1994) การขาดฟอสฟอรัสของสาหร่ายมีผลใกล้เคียงกับการขาดไนโตรเจนคือ ทำให้ปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์เอ และอาร์เอ็นเอ (RNA) ของสาหร่ายลดลง แต่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น

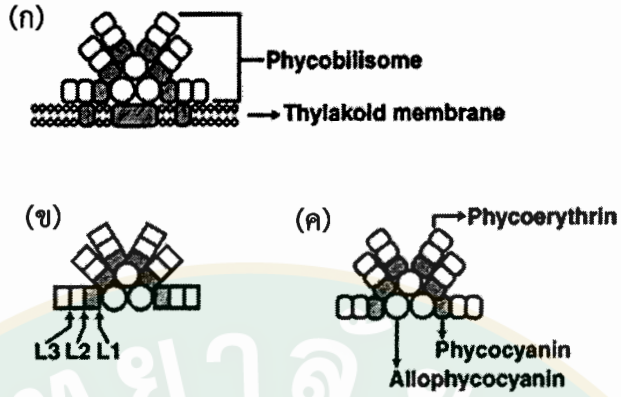
คาร์บอน เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญของสาหร่าย ในสาหร่ายมีปริมาณคาร์บอนประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (เจียมจิตต์, 2531) การเติมสารอาหารอื่นลงไปในอาหารที่ เพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่ามากขึ้นจะไม่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย หากปริมาณคาร์บอนในอาหารมีอยู่อย่างจำกัด Becker and Venkataraman (1982) สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า ในปัจจุบันพบว่าโซเดียมไบคาร์บอเนตมีความจำเป็นต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูลิน่ามากกว่าโซเดียมไนเตรท ทั้งนี้เพราะโซเดียมไบคาร์บอเนตจะทำหน้าที่เป็นแหล่งให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และในขณะเดียวกันยังเป็นตัวป้องกันไม่ให้ระดับความเป็นกรด–ด่าง เปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว (Nakamura, 1982; Richmond, 1986)

โพเทสเซียม เป็นแร่ธาตุที่สำคัญที่ช่วยในการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายถ้าปริมาณโพเทสเซียมลดลงจะทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายลดลงด้วยแต่การหายใจจะเพิ่มขึ้น

การระเหยของน้ำ เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดปัญหาในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาพกลางแจ้ง โดยเฉพาะในฤดูร้อนซึ่งมีอุณหภูมิสูง (Venkataraman and Becker, 1983) ทำให้มีการสูญเสียน้ำเนื่องจาการระเหยของน้ำทำให้ปริมาณสารอาหารลดลง ความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้น ซึ่งจะมีผลกระทบต่อการ

6. สารสกัด Phycocyanin

ไฟโคไบลิโซม (Phycobilisomes :PBS) เป็นสารประกอบโปรตีนที่ทำหน้าที่เก็บเกี่ยวพลังงานจากแสงแดดแล้วถ่ายเทพลังงานดังกล่าวผ่านเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ (Thylakoid membrane) เข้าสู่ระบบการสังเคราะห์แสงของเซลล์ซึ่งพบได้ในเซลล์พืชและสาหร่ายในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย โมเลกุลของไฟโคไบลิโซม ประกอบด้วย ไบลิโปรตีน และสายพอลิเพปไทด์ (MacColl, 1998) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 โครงสร้างของไฟโคไซยานิน

หมายเหตุ ก. แสดงการเชื่อมต่อระหว่างไฟโคบิลิโซมกับเยื่อหุ้มไทลาคอยด์
ข. แสดงตำแหน่งที่อยู่ของสายพอลิเพปไทด์ที่เป็นตัวเชื่อมโยง
ค. แสดงการจัดเรียงตัวของ 3 องค์ประกอบหลักในไฟโคบิลิโซม

ที่มา: MacColl (1998)

ไบลิโปรตีนของไซยาโนแบคทีเรีย แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ไฟโคไซยานิน ไฟโคอิริธินและอัลโลไฟโคไซยานิน สำหรับในสาหร่ายสไปรูลิน่า พบเฉพาะไฟโคไซยานินและอัลโลไฟโคไซยานิน (Padyana et al., 2001)

ไฟโคไซยานิน เป็นรงควัตถุสีน้ำเงินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของไฟโคบิลิโปรตีนที่ ผลิตจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จากการศึกษาพบว่าไฟโคไซยานินมีประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมและเภสัชกรรม ด้วยคุณสมบัติของ รงควัตถุที่ทำให้เกิดสีในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (วันเพ็ญ, 2549) มีการนำรงควัตถุที่สาหร่ายผลิต ไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม เพื่อผลิตเป็นสารสีจากธรรมชาติแทนการใช้สารแต่งสีสังเคราะห์โดยใช้ผสมในยา เครื่องสำอางค์ ลิปสติก และอาหารบางชนิด นอกจาก คุณสมบัติที่ให้สีแล้ว ไฟโคไซยานินยังมีคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Patel et al., 2005) สารต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และช่วยป้องกันเซลล์สมองถูกทำลาย (neuroprotective) (Romay et al., 2003)

โดยทั่วไปไฟโคไซยานินมีค่าดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วงความยาวคลื่นที่ 612 ถึง 620 นาโนเมตร (Adir and Lerner, 2003; MacColl 1998)

คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไฟโคไซยานิน

ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิน่า มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิล และอนุมูลเปอร์ออกซิล โดยมีไฟโคไซยาโนไบลินทำหน้าที่ในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและกำจัดอนุมูลอิสระ (Bhat and Madyastha, 2000) Zhou et al. (2005) พบว่า ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิน่าจะสร้างอนุมูลไฮดรอกซิลในสภาวะที่มีแสง แต่จะกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิลในสภาวะที่ไม่มีแสง การทำให้ไฟโคไซยานินเสียสภาพทางธรรมชาติโดยใช้สารเคมี จะทำให้ความสามารถในการสร้างอนุมูลดังกล่าวหมดไป (Bhat ans Madyastha, 2000)

1. โปรตีน-กรดอะมิโน

สาหร่ายสไปรูลิน่า มีโปรตีนร้อยละ 55–60 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งเป็นแหล่งวิตามิน แร่ธาตุ มีกรดไขมันชนิดไลโนลิอิก (linoleic) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำ (Nakamura, 1982) และมีส่วนประกอบของ แคโรทีนอยด์ (carotenoid) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดสีเหลือง ส้ม แดง คุณภาพของโปรตีนขึ้นอยู่กับความสมดุลในปริมาณของกรดอะมิโนจำเป็นและความยากง่ายในการย่อย จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนในสาหร่ายสไปรูลิน่าพบว่า อยู่ในเกณฑ์ที่สมดุลทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายสไปรูลิน่าเทียบกับอาหารชนิดอื่น จะเห็นได้ว่าสาหร่ายสไปรูลิน่าชนิดนี้มีองค์ประกอบของโปรตีนที่สูงกว่าทั้งสาหร่ายด้วยกันและพืช สัตว์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของสาหร่ายสไปรูลิน่าเทียบกับอาหารชนิดอื่น

ชนิดของอาหาร	ปริมาณโปรตีน (กรัม / 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)
สาหร่ายสไปรูลิน่า	69.5-71
สาหร่ายคลอเรลลา	40-56
เนื้อวัว	18-20
ไข่	10-15
ข้าวสาลี	6-10
ข้าวเจ้า	7
ถั่วเหลือง	33-35
ปลาทู ปลาอินทรีย์	20

2. แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์ (carotenoids) เป็นสารสีประกอบที่มีสารสีเหลืองและสีส้มแคโรทีนอยด์ จะดูดซึมแสงสีน้ำเงินและ แสงสีเขียวในช่วงความยาวคลื่นที่ 400-550 นาโนเมตร และสะท้อนสารสีแดงและสารสีเหลืองให้ผ่านออกมา จึงเห็นเป็นสีเหลือง ส้ม หรือแดง แคโรทีนอยด์อยู่ในเนื้อเยื่อคลอโรพลาสต์กับคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประกอบด้วย เบตา-แคโรทีน (β-carotene) มีสีส้มเป็นสารสีจำพวกไฮโดรคาร์บอน ที่ไม่มีออกซิเจน แซนโธฟิลล์ (xanthophylls) มีสารสีเหลืองเรียกว่าแคโรตินอล หรือ ออกซิแคทีน ซึ่งเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีออกซิเจนเพิ่มเข้ามา สาหร่ายสไปรูลิน่ามีความเข้มข้นของเบต้า-แคโรทีนสูง ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (Belay et al., 1993) ช่วยบำรุงสายตา ช่วยลดการเกิดมะเร็งในปอด ป้องกันไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมที่ทำให้เกิดมะเร็ง ช่วยเพิ่มภูมิต้านทาน (กรีนไดมอนด์, 2544) เมื่อนำไปทดลองใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงปลาสวยงามพบว่า เบต้า-แคโรทีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่าช่วยเร่งสีผิวของปลาสวยงามให้เข้มขึ้น (Stanley and Jones, 1976)

3. ไขมัน

ไขมันในสาหร่ายสไปรูลิน่าส่วนใหญ่ เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวซึ่งมีประมาณร้อยละ 80 โดยเฉพาะกรดลิโนเลนิก มีประมาณร้อยละ 35 เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย (Venkataraman, 1983)

การทดสอบประสิทธิภาพของสาหร่ายสไปรูลิน่าในอาร์ทีเมีย

สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีความสำคัญในทางการค้า เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูงคือ มีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 50-70 ของน้ำหนักแห้ง มีไขมันต่ำและ ยังเป็นแหล่งของวิตามินหลายชนิด นอกจากนี้สาหร่ายสไปรูลิน่ายัง มีรงควัตถุที่สำคัญคือ คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฟโคไซยานิน ทำให้มีการนำสาหร่ายสไปรูลิน่ามาใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับ อาหารสัตว์ อาหารเพื่อเร่งสีในการเลี้ยงกุ้งอ่อน อาหารในการเลี้ยงปลาประเภทปลาสวยงาม (Vonshak, 1990)

1. อาร์ทีเมีย

อาร์ทีเมีย หรือไรสีน้ำตาล (Brine shimp) เป็นสัตว์น้ำเค็มขนาดเล็ก ที่เป็น Marine zooplankton จัดเป็นสัตว์น้ำเค็มชนิดหนึ่งในกลุ่มครัสเตเชียน (crustacean) จัดอยู่ในประเภทเดียวกับกุ้ง กั้ง และปู มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Artemia salina* Linn. (Van Stappen, 2002) เจริญ

ได้ดีในความเค็ม 70-170 ppt. ช่องปาก 20-60 ไมโครเมตร. สาหร่ายสไปรูลิมีขนาด 1-12 ไมโครเมตร. ซึ่งสามารถกินสาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นอาหารได้

อาหารมีชีวิตที่ใช้กันแพร่หลายในการเลี้ยงและเพาะพันธุ์ปลาคืออาร์ทีเมียเนื่องจากเลี้ยงง่ายและหาซื้อได้ทั่วไป (Planas et. al., 2008; Wong and Benzie, 2003; Woods and Valentino, 2003) อาร์ทีเมียกินอาหารโดยการกรองและไม่เลือกชนิดอาหารเช่น สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก แพลงก์ตอนพืชขนาดเล็ก แบคทีเรีย เป็นต้น ซึ่งแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็กเป็นอาหารหลักที่ใช้เลี้ยงอาร์ทีเมียอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายอบแห้งมีการเจริญเติบโตดีถ้าคุณภาพน้ำเหมาะสมต่อการเลี้ยง (Dhont and Lavens, 1996; Lavens and Sorgeloos, 1987)

2. ชีววิทยาของอาร์ทีเมีย

อาร์ทีเมียจัดว่าเป็นอาหารธรรมชาติที่สำคัญที่สุดต่อธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะมีคุณสมบัติที่พิเศษกว่าอาหารธรรมชาติชนิดอื่นๆ คือ ตัวอ่อนมีขนาดเล็กมีความยาวประมาณ 0.4 – 0.5 มิลลิเมตร เหมาะสำหรับใช้อนุบาลลูกสัตว์น้ำแทบทุกชนิดเมื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัยจะค่อนข้างมีขนาดใหญ่มีความยาวประมาณ 0.8 – 1.2 เซนติเมตร เหมาะที่จะใช้เป็นอาหารเลี้ยงปลาสวยงาม มีโปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรตสูง (ตารางที่ 3) นอกจากนั้นไรที่สมบูรณ์เพศแล้วยังสามารถแพร่ขยายพันธุ์ทั้งในแบบออกลูกเป็นตัว คือให้ตัวอ่อนออกมาเลย หรือแพร่พันธุ์แบบออกลูกเป็นไข่ โดยไข่ที่ปล่อยออกมาจะมีตัวอ่อนอยู่ภายใน ฟองละ 1 ตัว เป็นไข่ที่สามารถนำมาเก็บรักษาไว้ได้เป็นระยะเวลานาน เมื่อใดที่ต้องการตัวอ่อนจึงนำมาดำเนินการฟักก็จะได้ตัวอ่อนตามต้องการและมีความแน่นอน ที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือ อาร์ทีเมียยังสามารถดำรงชีวิตอยู่ในความเค็ม ระดับต่างๆที่กว้างมาก มีการเจริญเติบโตรวดเร็วและไม่ค่อยมีปัญหาเรื่องโรคทำให้ดำเนินการเพาะเลี้ยงได้ง่าย ปัจจุบันได้มีการเลี้ยงอาร์ทีเมียกันบ้างแล้วในนาเกลือตามจังหวัดแถบชายทะเลซึ่งส่วนใหญ่จะเลี้ยงเพื่อการรวบรวมอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย สำหรับจำหน่ายในสภาพสดเพื่อนำไปเป็นอาหารสัตว์น้ำต่างๆ โดยเฉพาะอาหารของปลาสวยงาม อาร์ทีเมียมีอนุกรมวิธานดังนี้

Phylum Arthropoda

Class Crustacea Order Anostraca

Family Artemiidae

Genus Artemia Leach 1819

Common name Artemia Brine shrimp

Thai common name ไรสีน้ำตาล ไรน้ำเค็ม

ตารางที่ 3 คุณค่าทางอาหารของอาร์ทีเมีย

คุณค่าทางอาหาร	ตัวอ่อน	ตัวเต็มวัย
โปรตีน (%)	52.2±8.8	56.4±5.6
ไขมัน (%)	18.9±4.5	11.8±5.0
คาร์โบไฮเดรต (%)	14.8±4.8	12.1±4.4
เถ้า (%)	9.7±4.6	17.4±6.3

ที่มา: อนันต์ และคณะ (2536)

3. ลักษณะของอาร์ทีเมีย

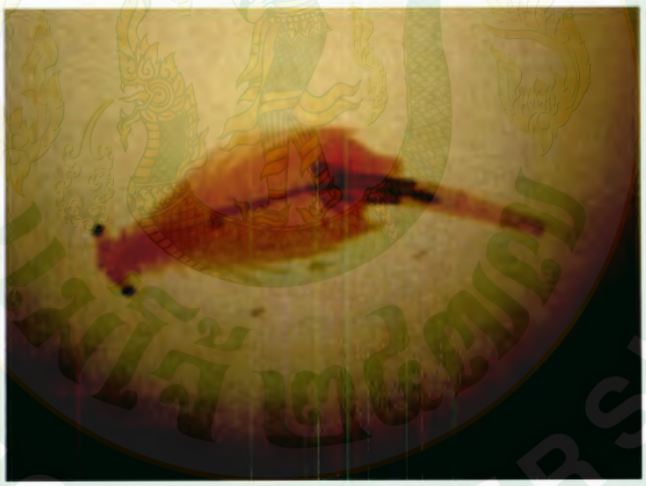
อาร์ทีเมียเป็นสัตว์ที่ไม่มีเปลือกแข็งหุ้มลำตัว ลำตัวแบน เรียว ยาว ลำตัวแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว (head) แบ่งออกเป็น 6 ปล้อง ปล้องแรกเป็นตาเดี่ยว ตารวม มีก้านตา 1 คู่ และริมฝีปาก ปล้องที่ 2 เป็นหนวดคู่แรกช่วยรับความรู้สึก ปล้องที่ 3 หนวดคู่ที่ 2 ใช้ในการว่ายน้ำและกรองรวบรวมอาหาร ปล้องที่ 4 เป็นกราม ช่วยพัดโบกอาหาร ปล้องที่ 5 เป็นฟันคู่แรก และปล้องที่ 6 เป็นฟันคู่ที่ 2 ส่วนอก (thorax) แบ่งออกได้เป็น 11 ปล้อง แต่ละปล้องประกอบด้วยระยางค์ 1 คู่ ใช้ในการว่ายน้ำ หายใจ และเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่ทั้งในการเคลื่อนที่ หายใจ กรองรวบรวมอาหาร ส่วนท้อง (abdomen) แบ่งออกได้ 8 ปล้อง ปล้องแรกเป็นอวัยวะเพศ ปล้องที่ 2-7 ไม่มีระยางค์ และปล้องที่ 8 มีแพนหาง 1 คู่โดยปกติอาร์ทีเมียขนาดโตเต็มวัย เพศผู้จะมีขนาดเล็กกว่าเพศเมีย หนวดคู่ที่ 2 ในเพศผู้จะมีขนาดใหญ่คล้ายตะขอไว้สำหรับจับเพศเมีย (ภาพที่ 5) ส่วนในเพศเมียหนวดคู่ที่ 2 จะมีขนาดเล็กลงเปลี่ยนมาทำหน้าที่รับความรู้สึก และบริเวณปล้องแรกของส่วนท้องในเพศผู้ จะมีอวัยวะเพศผู้อยู่ 1 คู่ สำหรับเพศเมีย (ภาพที่ 6)

4. การสืบพันธุ์

อาร์ทีเมียสืบพันธุ์ได้ทั้ง 2 แบบคือ แบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ออกลูกได้ทั้งแบบเป็นตัวและเป็นไข่ซึ่งขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ในสภาพแวดล้อม ปกติอาร์ทีเมียจะออกลูกเป็นตัว

ภาพที่ 5 ลักษณะของอาร์ทีเมียเพศผู้

ที่มา: Pechenik (1985)



ภาพที่ 6 ลักษณะของอาร์ทีเมียเพศเมีย

ที่มา: Pechenik (1985)

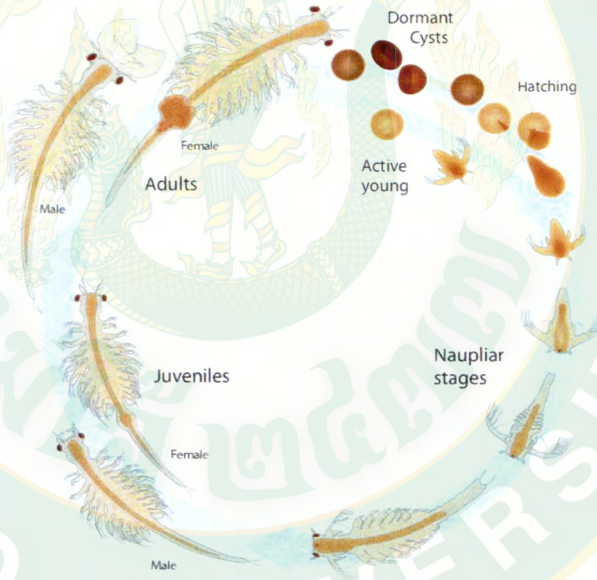
5. ไข่อาร์ทีเมีย

ไข่อาร์ทีเมียต่างจากไข่ของสัตว์ทั่วไปไม่ได้มีเซลล์เดียวอย่างไข่ของสัตว์ทั่วไป โดยเซลล์ได้พัฒนาแบ่งตัว จนเป็นตัวอ่อนซึ่งมีเซลล์ประมาณ 3-4 พันเซลล์แล้วหยุดการเจริญเติบโตชั่วคราว และสร้างเปลือกแข็งขึ้นมาหุ้มเพื่อป้องกันตัวอ่อนไว้เปลือกจะมีรูพรุนให้น้ำและอากาศผ่านได้ และช่วย

พยุงให้ไข่ลอยน้ำ เปลือกไข่มีสีน้ำตาลเพราะมีสารพวกฮีมาติน (haematine) ขนาดของไข่ประมาณ 200-300 ไมโครเมตร ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาวะแวดล้อม (ลัดดา, 2540)

6. วงจรชีวิตของอาร์ทีเมีย

วงจรชีวิตของอาร์ทีเมีย (ภาพที่ 7) พบว่า อาร์ทีเมียที่ฟักเป็นตัวหรือที่ฟักเป็นไข่เรียกว่า อินสตาร์ (Instar) รูปร่างคล้ายรูปไข่ มีความยาว 400-500 ไมครอน หรือ 0.40-0.52 มิลลิเมตร มีสีส้มของไข่แดงตัวอ่อนระยะแรกประมาณ 12 ชั่วโมง ตัวอ่อนจะเจริญเติบโตและลอกคราบประมาณ 15 ครั้ง ตัวอ่อนจะเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะไปจากเดิมเป็นระยะอินสตาร์ต่อๆ ไป ในเวลา 7-15 วัน จะเป็นอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย (adult) มีขนาด 7-15 มิลลิเมตร(อนันต์ และคณะ 2536) และเริ่มมีการสืบพันธุ์โดยการจับคู่ผสมพันธุ์จะให้ลูก 2 แบบ คือ เป็นตัวอ่อน (nauplii) หรือเป็นไข่ (Cysts) ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม



ภาพที่ 7 วงศ์ชีวิตของอาร์ทีเมีย

ที่มา: อนันต์ และคณะ (2536)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในการทดลองนี้ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในระดับห้องปฏิบัติการโดยการคัดเลือกสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงและแสงสีขาว เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและปริมาณสารประกอบทางเคมีที่สำคัญของสาหร่ายสไปรูลิน่า เมื่อได้ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญแล้วจึงนำไปสู่กระบวนการทดสอบโดยการนำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงได้ไปทดสอบในไรน้ำเค็ม *(Artemia* spp*)* โดยมีรายละเอียดขั้นตอนและวิธีการวิจัยดังต่อไปนี้

เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
2. เครื่องชั่งวิเคราะห์ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3. เครื่องชั่งวิเคราะห์ทศนิยม 3 ตำแหน่ง
4. ตู้อบลมร้อน
5. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ
6. เครื่องไมโครเวฟ
7. กระดาษกรอง Whatman
8. ที่วางหลอดทดลอง (rack)
9. ไม้บรรทัด
10. สำลี
11. ช้อนตักสาร
12. ถังขนาด 5 ลิตร
13. กล้องจุลทรรศน์
14. จุกยาง
15. หลอดไฟ
16. ผ้ากรอง
17. หลอดทดลอง
18. ขวดรูปชมพู่

2. สารเคมี

1. ปุ๋ย N-P-K (Total N-P_2O_5-K_2O)
2. $NaHCO_3$
3. $NaNO_3$
4. $MgSO_4.H_2O$
5. $CaCl_2.2H_2O$
6. NaCl

วิธีการทดลอง

1. สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง

การทดลองใช้สาหร่ายสไปรูลิน่า จากคณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัด เชียงใหม่ นำมาเพาะเลี้ยงในภาชนะขนาด 1 ลิตร ด้วยอาหารสูตรปรับปรุงเพื่อปรับสภาวะแวดล้อมของสาหร่าย

2. การเลือกใช้สูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าได้รับความสนใจและมีการพัฒนาไปมากจนสามารถกำหนดผลผลิตและคุณภาพของสาหร่ายได้โดยการควบคุมปัจจัยการผลิตควบคู่กับการนำเทคโนโลยีมาช่วยในระบบการผลิตเพื่อให้มีคุณภาพ แต่ก็ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์การนำไปใช้งานด้วย ดังนั้นการเพาะเลี้ยงจึงมีหลายรูปแบบทั้งระบบปิดและระบบเปิดสำหรับอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายจะใช้อาหารสูตรปรับปรุง Fertilizer medium (FM) อาหารมาตรฐาน Zarrouk's medium (ตารางที่ 4) โดยใช้ปุ๋ยเคมีแทนสารเคมีบางตัวเช่น Single super phosphate Muriate of potash ซึ่งสามารถลดต้นทุนได้

ตารางที่ 4 อาหารสูตรปรับปรุง Fertilizer medium

องค์ประกอบ (Ingredient)	FM (g/l)	FM ปรับปรุง (g/l)	หมายเหตุ
ปุ๋ย N-P-K (Total N-P_2O_5-K_2O)		1.25	สูตรปรับปรุง
$NaHCO_3$	8.0	8.0	
$NaNO_3$	2.5	2.5	เติมหลังการนึ่งฆ่าเชื้อ
NaCl	0.5	0.5	
$MgSO_4.H_2O$	0.15	0.15	
$CaCl_2.2H_2O$	0.04	0.04	
Single super phosphate	1.25		N-P-K
Muriate of potash	0.98		N-P-K
Distilled water (ml)	1000		1000

3. การเลือกใช้เทคนิคการให้แสง

ในการทดลองการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าได้ทำการเพิ่มปัจจัยเรื่องการใช้แสง โดยการเลือกใช้แสงสีแดงและแสงสีขาวเพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติของแสงที่สามารถเพิ่มสารประกอบทางเคมีที่สำคัญในสาหร่ายสไปรูลิน่าให้ได้ผลตามวัตถุประสงค์ของการทำวิจัยโดย (Colla et al., 2007) ได้กล่าวไว้ว่า การให้แสงให้สลับ 12/12 ปริมาณไฟโคไซยานินในสาหร่ายสไปรูลิน่า ถูกควบคุมโดยปัจจัยแวดล้อมบางประการ (Colla et al., 2007) พบว่า แสงสีแดงมีผลทำให้ปริมาณไฟโคไซยานินลดลง 16% แต่ความบริสุทธิ์กลับเพิ่มขึ้นถึง 33% เมื่อเทียบแสงธรรมดาสีขาว (Alfredo et al., 2011) อุณหภูมิ 25±2 $^{\circ}C$ (Manigandam, 2014) pH 8.5-9 (Manigandam, 2014)

การเลือกใช้แสงในการทดลองระดับห้องปฏิบัติการทำการทดลองโดยใช้แสงสีแดง (7.5 klux) และแสงสีขาว (13.5 klux) ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจะให้แสงสลับ 12/12 ชั่วโมง การทดลองจะให้แสงในช่วงกลางคืน ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นเวลา 12 วัน (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบการทดลองในภาชนะขนาด 5 ลิตร

การทดลอง	ปริมาตรสาหร่าย/กรัม	ภาชนะขนาด (l)	แสง	สูตรอาหาร
Treatment 1 (TW1)	3	5	สีขาว	ปุ๋ยและสารอาหาร
Treatment 2 (TW2)	3	5	สีขาว	ปุ๋ยและสารอาหาร
Treatment 3 (TW3)	3	5	สีขาว	ปุ๋ยและสารอาหาร
Treatment 1 (TR1)	3	5	สีแดง	ปุ๋ยและสารอาหาร
Treatment 2 (TR2)	3	5	สีแดง	ปุ๋ยและสารอาหาร
Treatment 3 (TR3)	3	5	สีแดง	ปุ๋ยและสารอาหาร

4. การสกัดไฟโคไซยานิน (Phycocyanin extraction technologies)

การสกัดสารประกอบไฟโคไซยานินจากเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่า จะต้องทำลายผนังเซลล์ให้แตกเพื่อให้สามารถแยกไฟโคไซยานินออกมาได้เนื่องจากไฟโคบิลิโซมจะเกาะอยู่กับเยื่อไทลาคอยด์ที่กระจายอยู่ภายในเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่า (Vonshak and Tomaselli, 2000)

การสกัดไฟโคไซยานินโดยนำสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยง 12 วัน เติม phosphate buffer ทิ้งไว้ 20 นาที pH 6.8 สัดส่วน 1:3 แช่แข็ง และนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ 5000 rpm 45 นาที. ไฟโคไซยานินจะตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอดปิดด้วย aluminium foil กันแสง เก็บที่ 40^{0}C เพื่อขั้นตอนต่อไป โดยใช้ สเปคโตโฟโตมิเตอร์ความยาวคลื่นที่ 615 nm และ 652 nm (Saranraj et al., 2013) การคำนวณปริมาณสารไฟโคไซยานิน (mg/g dry weigth) = $\frac{OD620\times10\times100}{7.3\times\text{น้ำหนักสาหร่าย}\times\text{เปอร์เซ็นน้ำหนักแห้ง}}$

5. การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี (Lowry et al., 1951)

ใช้ *Spirulina platensis* 1 ml. ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ เติม 0.1N NaOH ให้ความร้อน 100°C ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ใช้ 1ml สดเติมสารประกอบ reagent 2% Na_2CO_3, 1% $CuSO_4$, และ 2% Sodium potassium tartarate 1 ml. ทิ้งไว้ 10 นาที เติม folin เขย่า และทิ้งไว้ 30-60 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 nm. เปรียบกับค่ามาตรฐาน

6. การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยวิธีของ KMUTT (2001)

1. ใส่สาหร่ายสไปรูลิน่าแห้งปริมาณ 0.02 g ลงในบีกเกอร์ ขนาด 50 ml

2. เติม 90% ethanol ปริมาตร 10 ml เติม 60% KOH ปริมาตร 1 ml เพื่อตรึงเซลล์สาหร่ายจากนั้นนำไปทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่อง ความถี่สูงนาน 5 นาที

3. นำไปแช่ใน water bath อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อทำการสกัดเอารงควัตถุออกจากเซลล์ แล้วปล่อยให้เย็นในอุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปปั่นแยกเซลล์ด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายสีเหลืองที่ได้ใส่ในหลอดทดลอง หุ้มด้วยกระดาษฟลอยด์ เพื่อป้องกันการถูกละลายจากแสง

4. เทสารละลายสีเขียวที่ได้ลงใน Kjeldahl flask เติม Diethyl Ether ปริมาตร 15 ml และ 9% NaCl ปริมาตร15 ml เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นสีเหลืองและสีใส โดยที่สารละลายสีใสจะอยู่ชั้นล่าง

5. ใช้ปิเปตดูดเอาสารละลายสีใสทิ้งไป เหลือแต่ชั้นสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ แล้วเติม 9% NaCl ปริมาตร 15 ml เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นสีใสและสีเหลือง จากนั้นใช้ปิเปตดูดเอาสารละลายสีใสที่อยู่ชั้นล่างทิ้งไป

6. นำสารละลายสีเหลืองใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 ml แล้วปรับปริมาตรด้วย Diethyl Ether จนได้ปริมาตร 25 ml จากนั้นเติม Sodium sulphate anhydrous เพื่อเป็นการกำจัดน้ำที่เหลือแล้วเทลงหลอดทดลองที่หุ้มด้วยกระดาษฟลอยด์เพื่อป้องกันการถูกทำลายด้วยแสง

7. นำสารละลายสีเหลืองที่สกัดได้ ไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm แล้วบันทึกผล

8. คำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์จากสูตรของ KMUTT (2001)

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

7. การเลี้ยงเพื่อสร้างมวลสาหร่าย

เลี้ยงในภาชนะไฟเบอร์กลาสขนาด 300 ลิตร โดยใช้แสงสีขาวและแสงสีแดงเพื่อนำสาหร่ายที่ได้มาทดสอบกับอาร์ทีเมียเก็บผลผลิตโดยการกรองและอบแห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส 2-3 ชั่วโมง

8. การทดสอบประสิทธิภาพของสาหร่ายสไปรูลิน่าโดยทดสอบในอาร์ทีเมีย

อาร์ทีเมียจัดว่าเป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อนที่นิยมใช้กันในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเช่น การเพาะเลี้ยงกุ้ง การเลี้ยงปลาสวยงาม มีผู้สนใจหันมาเพาะเลี้ยงอาร์ทีเมีย (Biomass culture) เพื่อผลิต

อาร์ทีเมียสดจำหน่ายเป็นอาหารสัตว์น้ำโดยตรง และนำมาทำการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น อาร์ทีเมียแช่แข็ง อาร์ทีเมียผง อาร์ทีเมียแผ่น หรือใช้เป็นวัตถุดิบผลิตอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนสูง สำหรับวงการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วไปโดยในงานวิจัยครั้งนี้ได้วางแผนการทดลองคือนำสาหร่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากการให้แสงสีขาวและแสงสีแดงมาผสมกับอาหารที่จะใช้เลี้ยงอาร์ทีเมียมาบดให้เข้ากันทำการเพาะเลี้ยง 15 วันบันทึกผล ทุกๆ 3 วันโดยสังเกตุอัตราการเจริญเติบโต ลักษณะสี ขนาด และวัดค่าโปรตีนเพื่อเปรียบเทียบอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายจากแสงสีแดง และสาหร่ายจากแสงสีขาว โดยมีอาหารทั่วไปเป็นตัวควบคุม (Control)

แผนการทดลองเปรียบเทียบอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย
จากแสงสีแดงกับแสงสีขาว

เพาะเลี้ยงอาร์ทีเมียจากไข่ ในภาชนะ 1 ลิตรโดยใช้อาร์ทีเมีย 1 กรัมต่อลิตร ความเค็ม 25 ppt. (เกลือ 25 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร) pH 8-9 แต่ละการทดลองมี 3 ซ้ำ เป็นเวลา 15 วัน ให้อาหารสาหร่ายผงบดละเอียดอัตรา 0.02 กรัมต่ออาหารบดละเอียด 10 กรัมให้อาหารปริมาณ 1.5 กรัมทุกๆ วัน วันละ 3 ครั้ง ศึกษาอัตราการเจริญเติบโต ความเข้มของสี ปริมาณแคโรทีนอยด์

9. การวิเคราะห์ผล

ใช้สถิติเปรียบเทียบผลจากค่าเฉลี่ย (Compare Test, T-test) เช่น น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ปริมาณสารไฟโคไซยานิน ปริมาณโปรตีน ปริมาณแคโรทีนอยด์ เปรียบเทียบต้นทุนและผลผลิตในการเพาะเลี้ยงแบบระดับปฏิบัติการ โดยมีการเปรียบเทียบดังนี้

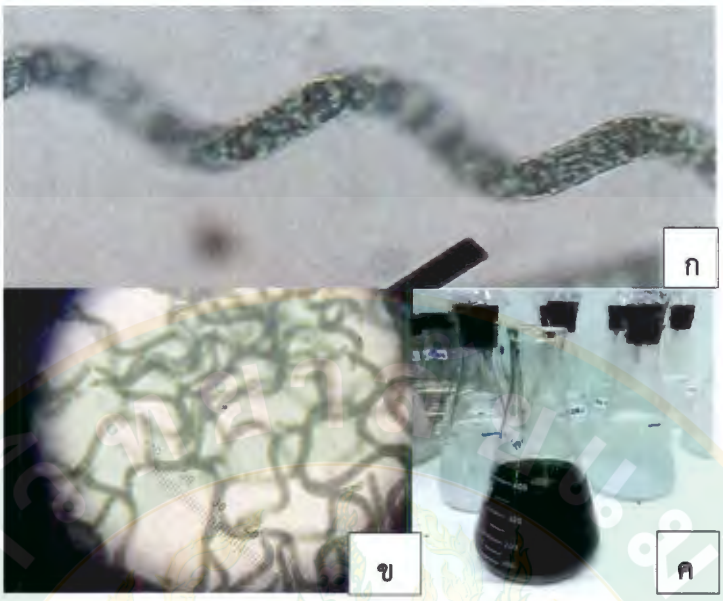
1. เปรียบเทียบปริมาณสารไฟโคไซยานินจากการให้แสงสีแดงและแสงสีขาว
2. เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนจากการให้แสงสีแดงและแสงสีขาว
3. เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์จากการให้แสงสีแดงและแสงสีขาว
4. เปรียบเทียบต้นทุนและผลผลิตในการเพาะเลี้ยงแบบระดับปฏิบัติการ

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลการทดลองจากการเลือกใช้สูตรอาหาร Zarrouk's ปรับปรุง แบบ Fertilizer medium (FM) ของ Bharat et al.(2011) และเทคนิคการให้แสงสีขาวและแสงสีแดง เพื่อเปรียบเทียบการเจริญและการสร้างผลผลิตของสาร ไฟโคไซยานิน ในสาหร่ายสไปรูลิน่า และการทดสอบประสิทธิภาพสาหร่ายที่เลี้ยงในอาร์ทีเมียตามแบบการทดลอง ได้ผลดังนี้

ผลของการเจริญเติบโตของสาหร่ายสไปรูลิน่า

นำสาหร่ายสไปรูลิน่ามาจาก คณะวิศวะกรรมและอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัด เชียงใหม่ นำไปตรวจวินิจฉัยชนิดตามหนังสือคู่มือ Deasikachary ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อยืนยันชนิดสาหร่ายที่จะนำมาทดลอง พบว่าสาหร่ายตัวอย่างที่นำมาเป็นชนิด *Spirulina platensis* โดยมีลักษณะเป็นเกลียว สีเขียวแกมน้ำเงิน ความกว้างของเส้นสายขนาด 7.5 um. (ภาพที่ 8) ขั้นตอนต่อไปเป็นการเพาะเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในอาหารสูตรที่ใช้ในการทดลองคือ แบบ Fertilizer medium (FM) ของ Bharat et al. (2011) ใน Flask ขนาด 500 ml. เพื่อกระตุ้นให้สาหร่ายปรับตัว นำตัวอย่างสาหร่ายไปวัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 560 nm ทุกวัน จนค่าการดูดกลืนแสงมีค่าประมาณ 1 (ภาพที่ 8) จากนั้นนำสาหร่ายไปทดลองในขั้นตอนการเปรียบเทียบชนิดแสงสีขาวที่มีความเข้มแสง 7.5 klux.และแสงสีแดง มีความเข้มแสง 13.5 klux (ภาพที่ 9) โดยการเติมหัวเชื้อสาหร่ายที่ปรับตัวแล้ว 10 ml วัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 560 nm ทุกวัน จนค่าการดูดกลืนแสงมีค่าประมาณ 1 ซึ่งใช้เวลาเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 วัน แสดงผลในตารางที่ 6 ตารางที่ 7 และภาพที่



ภาพที่ 8 สาหร่ายสไปรูลิน่าภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการเพาะเลี้ยงปรับตัว

หมายเหตุ ก. ภาพถ่ายของสาหร่ายสไปรูลิน่าภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย X40

ข. ภาพถ่ายของสาหร่ายสไปรูลิน่าภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย X20

ค. หัวเชื้อสาหร่ายสไปรูลิน่า

(ก) (ข)

ภาพที่ 9 ชุดการทดลองการเปรียบเทียบแสงสีขาวและแสงสีแดง

หมายเหตุ ก. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าระยะเริ่มต้น

ข. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าระยะที่มีค่า OD ประมาณ 1

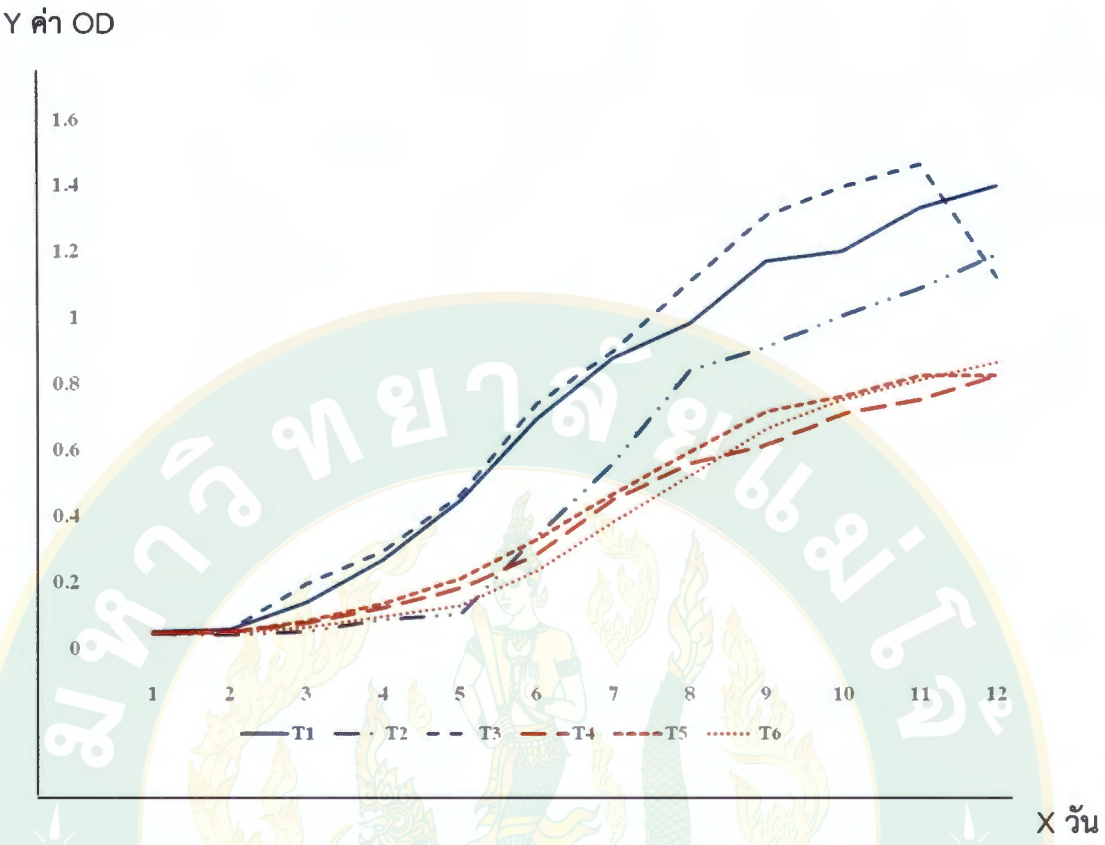
ตารางที่ 6 ผลการทดลองค่า OD ในภาชนะขนาด 500 ml..ในสภาวะแสงสีขาว

OD/Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
W1	0.05	0.06	0.14	0.27	0.45	0.70	0.88	0.99	1.17	1.20	1.33	1.40
W2	0.05	0.04	0.05	0.09	0.10	0.34	0.56	0.84	0.91	1.01	1.09	1.19
W3	0.05	0.06	0.20	0.30	0.47	0.74	0.90	1.11	1.31	1.39	1.46	1.12
Mean W	0.05±0.00	0.50±0.01	0.13±0.07	0.22±0.11	0.34±0.2	0.59±0.22	0.78±0.19	0.98±0.13	1.13±0.20	1.20±0.19	1.29±0.19	1.24±0.14

ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบผลการทดลองค่า OD ในภาชนะขนาด 500 ml. ในสภาวะแสงสีแดง

OD/Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
R1	0.05	0.05	0.08	0.13	0.18	0.29	0.45	0.56	0.62	0.71	0.76	0.83
R2	0.05	0.05	0.09	0.14	0.21	0.33	0.47	0.60	0.72	0.76	0.83	0.83
R3	0.05	0.05	0.07	0.10	0.13	0.24	0.38	0.53	0.67	0.76	0.82	0.87
Mean R	0.05±0.00	0.05±0.00	0.08±0.01	0.12±0.02	0.18±0.04	0.28±0.05	0.44±0.05	0.56±0.04	0.67±0.05	0.74±0.03	0.80±0.04	0.84±0.02

จากตารางแสดงให้เห็นถึงผลของการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าจากการเลือกใช้สูตรอาหารของ Zarrouk's ปรับปรุง แบบ Fertilizer medium (FM) ของ Bharat et al. (2011) ที่ให้แสงสีขาว 13.5 klux (ตารางที่ 6) และให้แสงสีแดง 7.5 klux (ตารางที่ 7) ชุดการทดลองที่ให้แสงสีขาว (W1, W2, W3) ได้ทำการเติมหัวเชื้อสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อ อาหารเพาะเลี้ยง 500 มิลลิลิตร วัดค่า OD วันแรกได้ 0.05 ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 วัน มีการวัดค่า OD ทุกๆ วัน เก็บผลผลิตในวันที่ 12 ได้ค่า OD ที่ประมาณ 1 ส่วนชุดการทดลองที่ให้แสงสีแดง (R1, R2, R3) ที่ใช้สูตรอาหารและเติมหัวเชื้อสาหร่ายในปริมาณที่เท่ากันกับชุดการทดลองในแสงสีขาวเพาะเลี้ยง 12 วัน มีการวัดค่า OD ทุกวัน และเก็บผลผลิตในวันที่ 12 เหมือนกับชุดการทดลองในแสงสีขาว ค่า OD ที่ได้ประมาณ 0.8



ภาพที่ 10 ค่า OD การเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าด้วยสูตรอาหารปรับปรุง FM

ผลการทดลองเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าสายพันธุ์นี้ จากการเลือกใช้สูตรอาหาร Zarrouk's ปรับปรุง แบบ Fertilizer medium (FM) ของ Bharat et al. (2011) และเทคนิคการให้แสงจากหลอด LED สีขาวและสีแดง เพื่อเปรียบเทียบการเจริญจากค่า OD โดยใช้แสงสีขาว 13.5 klux และแสงสีแดงจากไฟ 7.3 klux พบว่าค่า OD ในชุดแสงสีขาว (T1, T2, T3) มีอัตราการเจริญที่ดีกว่าแสงสีแดง (T4, T5, T6) ค่า OD หรือการเจริญของสาหร่ายสูงสุดที่ OD ประมาณ 1 ในช่วงวันที่ 12 ค่าแสดงถึงมวลชีวภาพ ของสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ใช้แสงต่างกัน คือ แสงสีขาวและแสงสีแดง พบว่าให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ Eriksen (2008) ว่าความเข้มแสงมีผลต่อการเจริญ โดยการทดลองนี้แสงสีขาวมีความเข้มกว่าแสงสีแดงประมาณ 2 เท่า คือ 13.5 klux และ 7.3 klux ในแสงสีแดง และค่า OD ในการทดลองนี้สีขาวมีค่าสูงกว่าสีแดงในปริมาณใกล้เคียง 2 เท่าเช่นกัน แสดงถึงความเข้มแสงมีผลต่อการเจริญของสาหร่ายชนิดนี้ โดยแสดงผลดังนี้ ค่าน้ำหนักจริง (ใช้กรองด้วยกระดาษ GF/C) หรือ 100%Wet weight ของสาหร่ายที่ให้แสงสีขาว และแสงสีแดง 17.67±0.22 กรัม 15.29±0.81 กรัม ค่าน้ำหนักแห้ง (Dry weight) 1.07±0.25 กรัม 0.58±0.03 กรัม ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง (Dry weight) 6.06±1.34 %: 3.80±0.37% ค่าน้ำหนักจากการกรองด้วย plankton ขนาด 18 um. (Wet weight net) มีค่า 11.67±1.34 กรัม: 6.67±0.98 กรัม ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักจากการกรองด้วย

plankton ขนาด 18 um. ต่อน้ำหนักจริงหรือกรองด้วยกระดาษ GF/C(%Net weight) มีค่า 66.13±8.46% 43.69±4.41% (ตารางที่ 8 และตารางที่ 9) โดยแยกแสดงค่าต่าง ๆ ในภาพที่ 11 (ค่าน้ำหนักสดของสาหร่ายที่กรองด้วยกระดาษกรอง) ภาพที่ 12 (ค่าน้ำหนักสาหร่ายสดที่กรองด้วย planktonnet) และภาพที่ 13 (ค่าน้ำหนักสาหร่ายแห้งที่ให้แสงสีขาวและแสงสีแดง)

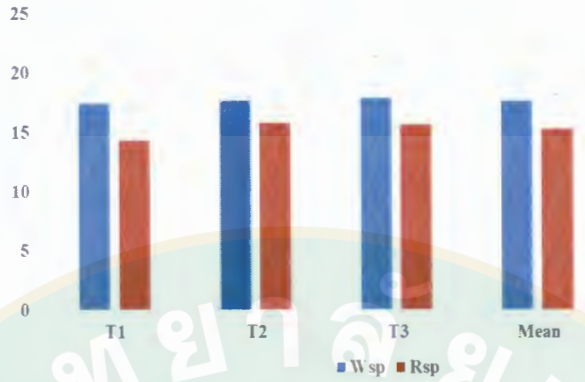
จากผลการเจริญของสาหร่ายจะแสดงค่าการเจริญสูงสุดในวันที่ 12 และมีแนวโน้มจะคงที่และลดลงต่อไป เนื่องจากการทดลองมีการให้อาหารตอนเริ่มต้นเพียงครั้งเดียว เพื่อศึกษาผลของอาหารสูตรที่เลือกในการให้ค่าการเจริญเท่าไร ภายใต้การให้แสงที่ต่างกัน ซึ่งพบว่าสูตรอาหาร Zarrouk's ปรับปรุง แบบ Fertilizer medium (FM) ของ Bharat et al. (2011) สามารถให้ผลผลิตใน 12 วัน มีค่าน้ำหนักสด 11.67±1.34 กรัมในแสงสีขาว และ 6.67±0.98 กรัม ในแสงสีแดง หรือแสงสีขาวมีค่ามากกว่าประมาณเกือบ 2 เท่า แต่น้ำหนักแห้งกลับมีค่ามากว่า คือ 17.67±0.22 กรัมในแสงสีขาว และ15.29±0.81 กรัมในแสงสีแดง ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 8 ค่ามวลชีวภาพของสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีขาว

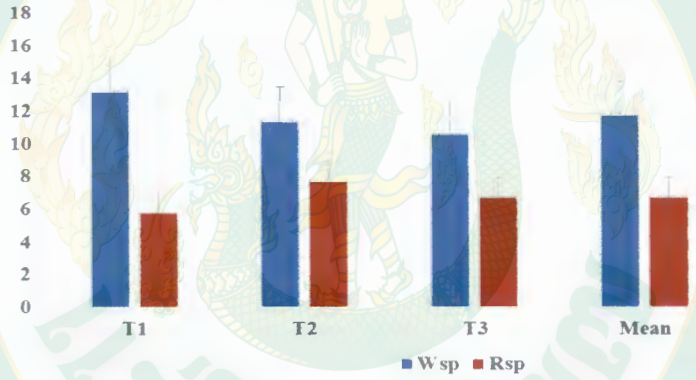
Biomass (กรัม)	กระดาษกรอง (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง (กรัม)	แพลงล์ตอนเน็ต (กรัม)	น้ำหนักแห้งที่กรองด้วยแพลงล์ตอนเน็ต (กรัม)
W1	17.44	0.82	4.70	13.15	75.42
W2	17.70	1.08	6.10	11.34	64.07
W3	17.88	1.32	7.38	10.53	58.89
Mean W	17.67±0.22	1.07±0.25	6.06±1.34	11.67±1.34	66.13±8.46

ตารางที่ 9 ค่ามวลชีวภาพของสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีแดง

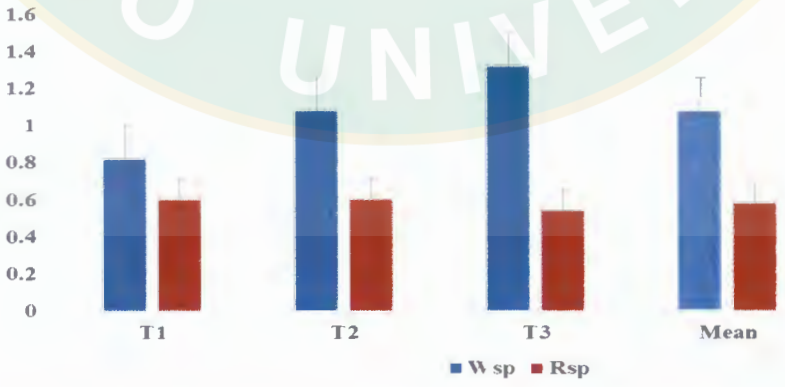
Biomass (กรัม)	กระดาษกรอง (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง (กรัม)	แพลงล์ตอนเน็ต (กรัม)	น้ำหนักแห้งที่กรองด้วยแพลงล์ตอนเน็ต (กรัม)
R1	14.36	0.60	4.18	5.72	39.86
R2	15.82	0.60	3.79	7.67	48.51
R3	15.68	0.54	3.44	6.70	42.70
Mean R	15.29±0.81	0.58±0.03	3.80±0.37	6.70±0.98	43.69±4.41



ภาพที่ 11 เปรียบเทียบค่าน้ำหนักสดของสาหร่ายที่กรองด้วยกระดาษ what man 100%Wet weight



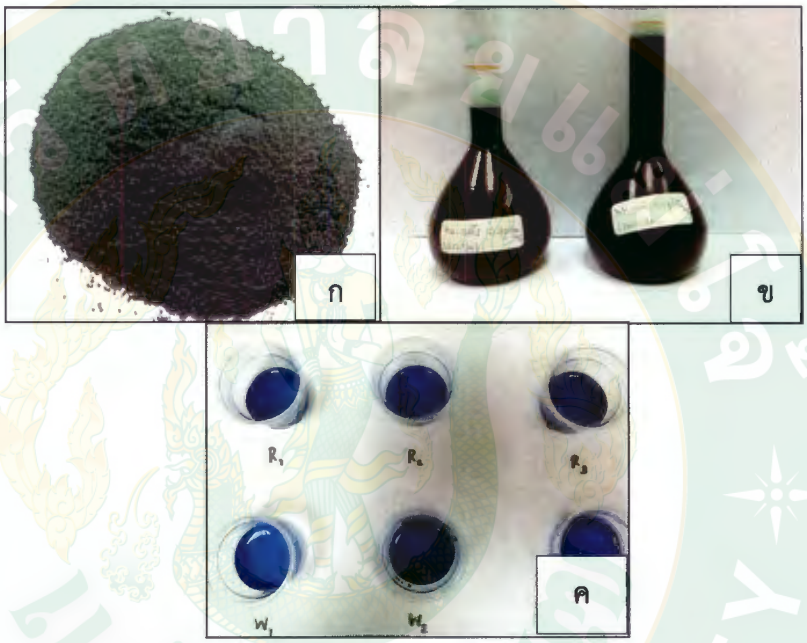
ภาพที่ 12 เปรียบเทียบค่าน้ำหนักสาหร่ายสดที่กรองด้วย plankton net



ภาพที่ 13 เปรียบเทียบค่าน้ำหนักสาหร่ายแห้งที่ให้แสงสีขาวและแสงสีแดง

ผลของปริมาณสารไฟโคไซยานินที่ได้จากการให้แสงสีขาว
และแสงสีแดงในสาหร่ายสไปรูลิน่า

การศึกษาปริมาณสารไฟโคไซยานินที่ได้จากการให้แสงสีขาวและแสงสีแดงในสาหร่ายสไปรูลิน่าโดยวิธี สร้างสีและวัดค่าด้วย สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Saranraj et al., 2013) ผลของการวิเคราะห์แสดงในภาพที่ 14 และค่าการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 10 และภาพที่ 15



ภาพที่ 14 สารสกัด ไฟโคไซยานิน ในสาหร่ายสไปรูลิน่า

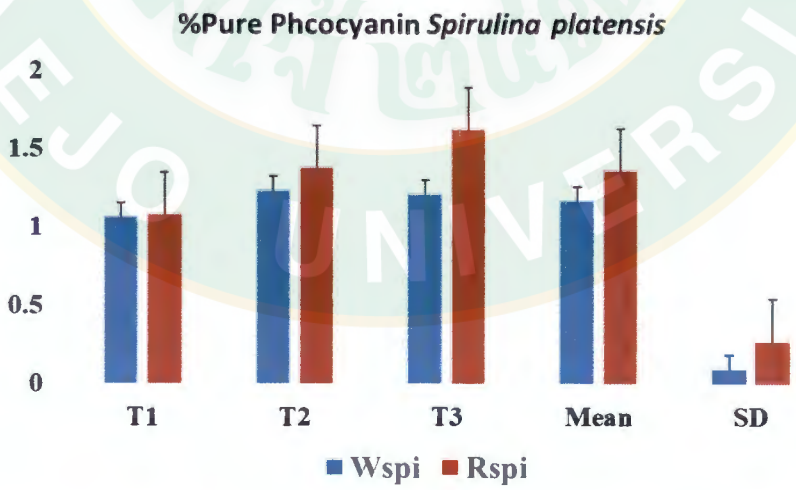
หมายเหตุ ก. สาหร่ายสไปรูลิน่าผง
ข. ไฟโคไซยานินก่อนกรอง
ค. สารสกัดไฟโคไซยานิน

ปริมาณสารไฟโคไซยานินที่ได้จากการเลี้ยงในแสงสีขาวมีค่าร้อยละ 1.17±0.09 ไฟโคไซยานิน ในแสงสีแดงมีค่าร้อยละ 1.36±0.27 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันและไม่พบความแตกต่างทางสถิติ สามารถอธิบายได้ในแนวเดียวกับค่าการเจริญ หรือค่า OD ข้างต้นที่กล่าวมาแล้ว คือ แสงสีขาวมีความเข้มกว่าแสงสีแดงประมาณ 2 เท่า คือ 13.5 klux และ 7.3 klux ในแสงสีแดง แต่ผลของไฟโคไซยานินในการทดลองกลับมีค่าใกล้เคียงกันในแสงทั้ง 2 ชนิด แสดงให้เห็นว่าความเข้มแสงมีผลต่อการเจริญของสาหร่าย แต่ชนิดของแสงกลับมีผลต่อปริมาณไฟโคไซยานินแตกต่างออกไป โดยแสงสีแดงมีประสิทธิภาพต่อการสร้างสารไฟโคไซยานินได้ดีกว่า ถึงแม้ความเข้มแสงจะน้อยกว่าแสงสีขาวถึง

เกือบ 2 เท่า สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Alfredo et al. (2011) ว่าชนิดแสงที่ต่างกันมีผลต่อการสร้างสารไฟโคไซยานินต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อต้นทุนลดลงเมื่อใช้แสงสีแดงในการสร้างผลิตภัณฑ์ไฟโคไซยานิน เนื่องจากความบริสุทธิ์ของสารไฟโคไซยานินในสาหร่ายมีผลต่อราคา เพราะค่าใช้จ่ายในการสกัดมีราคามูลค่าสารสี ไฟโคไซยานิน ขึ้นกับความบริสุทธิ์ ในระดับ food grade ราคาประมาณ 0.13 ดอลลาร์สหรัฐต่อกรัม ถ้าระดับ analytical grade จะมีราคาสูงถึง 25 ดอลลาร์สหรัฐต่อกรัม ทั้งนี้ต้องอาศัยกระบวนการพัฒนาการเลี้ยง การสกัด การคงรูปของสารประกอบ (Borowitzka, 1999)

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบค่ามวลชีวภาพและปริมาณไฟโคไซยานินในสาหร่ายสไปรูลิน่า

การทดลองใน flask/OD/Day	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	%Dry weight	OD (Phycocyanin)	%pureCPC	Mean pureCPC
TW1	4.99	0.32	6.412	1.995	1.07	
TW2				2.312	1.23	
TW3				2.258	1.21	1.36±0.27
TR1	0.498	0.027	5.42	1.707	1.08	
TR2				2.177	1.38	
TR3				2.561	1.62	1.17±0.09



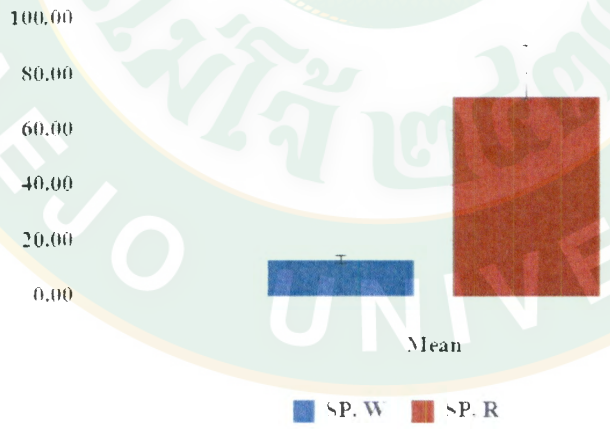
ภาพที่ 15 เปรียบเทียบปริมาณร้อยละไฟโคไซยานินในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในแสงสีขาวและแสงสีแดง

ผลของปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีแดงและแสงสีขาว

ค่าปริมาณโปรตีนที่พบในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงสภาวะแวดล้อมที่ควบคุมปัจจัยแสงในระบบปิด มีค่าสูง โดยในแสงสีแดงให้ปริมาณ โปรตีนสูงกว่าแสงสีขาว คือ 71.81±18.79 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 12.76±1.58 มิลลิกรัมต่อลิตร ในแสงสีขาว โดยมีค่าแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

ตารางที่ 11 ค่าปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในแสงสีแดงและแสงสีขาว

Protein	แสงสีขาว (W) mg/g	แสงสีแดง (R) mg/g
R1	10.69	43.22
R2	13.96	64.06
R3	11.43	77.12
R4	14.06	83.75
R5	13.64	90.91
Mean	12.76±1.58	71.81±18.8



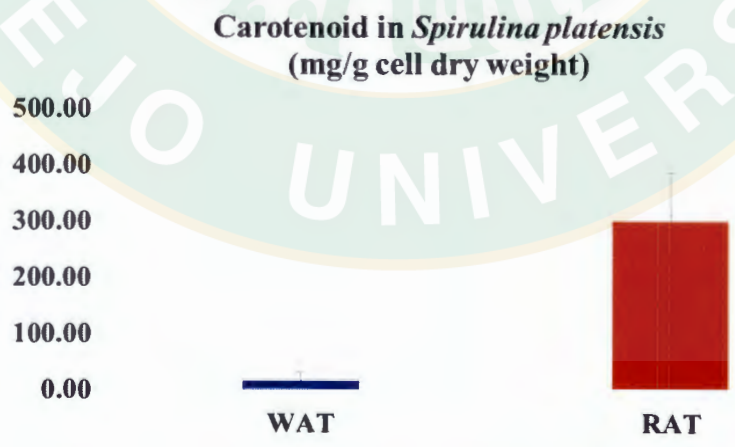
ภาพที่ 16 ปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในสภาวะแสงสีแดงและแสงสีขาว

ผลของปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีแดงและแสงสีขาว

การวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ด้วยวิธีของ KMUTT (2001) โดยนำสาหร่าย สไปรูลิน่าที่เพาะเลี้ยงในห้องระดับปฏิบัติการระบบปิดโดยการเปรียบเทียบระหว่างการให้แสงสีแดงและแสงสีขาวมาวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ได้ผลการทดลองดังนี้ ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ที่พบในสาหร่ายสไปรูลิน่า (ตางรางที่ 12 และภาพที่ 17) ที่เลี้ยงสภาวะแวดล้อมที่ควบคุมปัจจัยแสงในระบบปิด มีค่าสูง โดยในแสงสีแดงให้ปริมาณ แคโรทีนอยด์สูงกว่าแสงสีขาว คือ 298.08±86.67 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) และ 16.03±12.1 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ในแสงสีขาว โดยมีค่าแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

ตาราง 12 ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในแสงสีแดงและแสงสีขาว

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g น้ำหนักแห้ง)	แสงสีขาว (W)	แสงสีแดง (R)
Tr1	4.81	394.23
Tr2	28.85	225.96
Tr3	14.42	274.04
Mean	16.03±12.1	298.08±86.67



ภาพที่ 17 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เลี้ยงในสภาวะแสงสีแดงและแสงสีขาว

การวิเคราะห์สารปนเปื้อนในสาหร่ายสไปรูลิน่า

สาหร่ายที่ได้เพาะเลี้ยงในการควบคุมระบบสภาวะปิดได้มีการตรวจสอบความปลอดภัยด้วยการนำไปวิเคราะห์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ Total bacteria และ Coliform bacteria ในตัวอย่าง และอาหารจากสาหร่ายสไปรูลิน่า เนื่องจากสาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นสาหร่ายที่สามารถรับประทานได้โดยตรง หรือนำไปแปรรูปในลักษณะต่างๆ จึงจำเป็นที่จะต้องนำสาหร่ายไปตรวจวัดหาดัชนีของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในสาหร่ายก่อนที่จะนำไปบริโภค โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้กำหนดมาตรฐานสำหรับการบริโภค โดยสาหร่ายถูกจัดให้เป็นอาหารพร้อมบริโภค

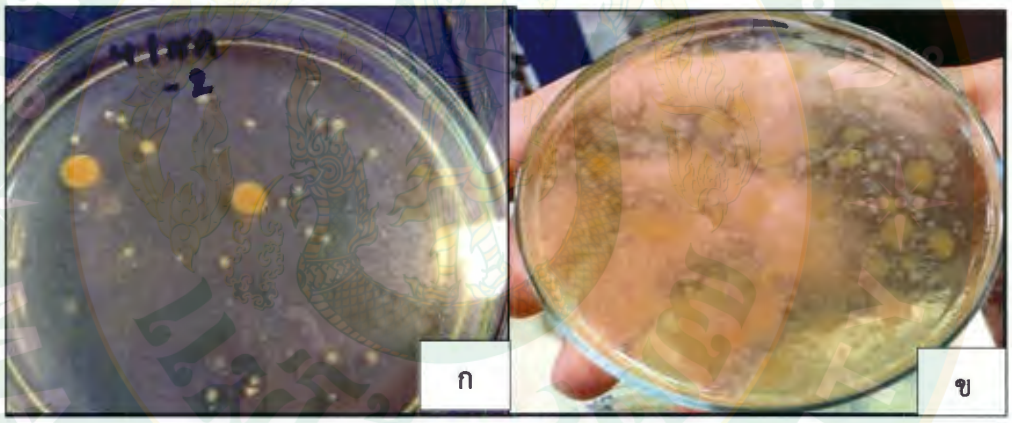
ตารางที่ 13 มาตรฐานสำหรับการบริโภคกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

	จำนวนที่พบ
จำนวนจุลินทรีย์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^6
จำนวนยีสต์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
จำนวนรา CFU/กรัม	น้อยกว่า 500
Escherichia coli MPN/กรัม	น้อยกว่า 100
Staphylococcus aureus CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
Salmonella spp. /25 กรัม	ไม่พบ
Listeria monocytogenes /25 กรัม	ไม่พบ

จากการนำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงนะบบปฏิบัติการได้ไปตรวจหา จำนวนจุลินทรีย์ ยีสต์ และรา พบว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในแสงสีขาว และแสงสีแดง พบว่าในแสงสีขาวมีจำนวน Total bacteria น้อยกว่า 30 cfu/g ยีสต์ และราน้อยกว่า 25 cfu/g (ภาพที่ 20 (ข)) ส่วน Coliform bacteria (ภาพที่ 19) และ*E.coli* ไม่พบการปนเปื้อน (ตารางที่ 14) ส่วนสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในแสงสีแดง พบว่า Total bacteria มีการปนเปื้อนของแบคทีเรีย เท่ากับ 3.27×10^4 ซึ่งน้อยกว่าค่ามาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ได้กำหนดไว้ (ตารางที่ 13) ยีสต์ และรา พบน้อยกว่า 25 cfu/g ส่วน Coliform bacteria (ภาพที่ 19) และE.coli ไม่พบการปนเปื้อน

ตารางที่ 14 ผลการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนในสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาวะการเลี้ยงด้วยแสงสีขาวและแสงสีแดง

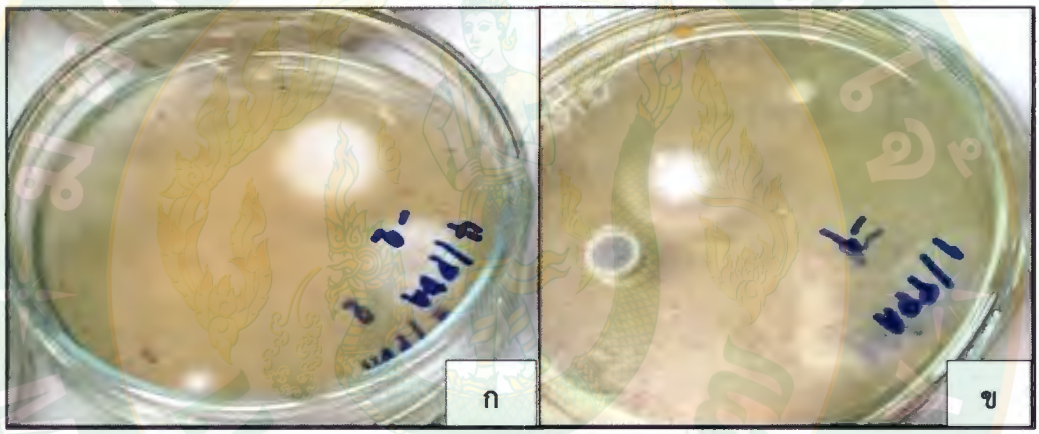
สาหร่ายสไปรูลิน่า	Total bacteria (cfu/g)	Coliform bacteria	Total Yeasts and Mold (cfu/g)	*E.coli*
สภาวะแสงสีขาว	น้อยกว่า30	ไม่พบ	น้อยกว่า25	ไม่พบ
สภาวะแสงสีแดง	3.27×10^4	ไม่พบ	น้อยกว่า25	ไม่พบ
ค่ามาตรกำหนดไม่เกิน***	$<1 \times 10^6$	<100	<500ในรา $<1 \times 10^6$ในยีสต์	<100



ภาพที่ 18 แบคทีเรียที่พบในตัวอย่างสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ให้แสงสีแดงและแสงสีขาว

หมายเหตุ ก. แบคทีเรียที่พบในแสงสีแดง
ข. แบคทีเรียที่พบในแสงสีขาว

ภาพที่ 19 โคลิฟอร์มแบคทีเรีย



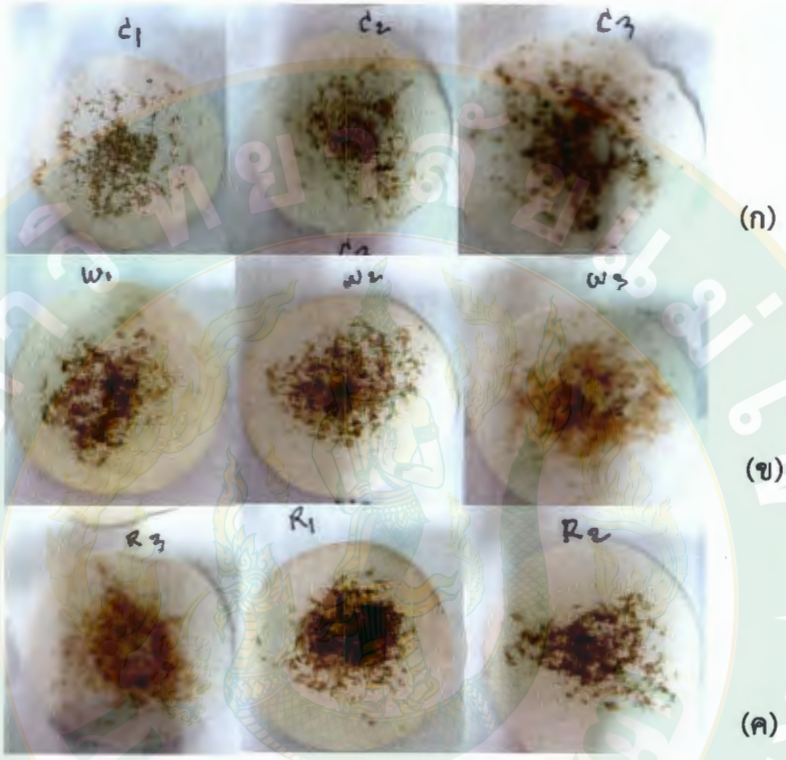
ภาพที่ 20 ยีสต์และราที่พบในตัวอย่างสาหร่ายสไปรูลิน่า
ที่ให้แสงสีขาวและแสงสีแดง

หมายเหตุ ก. แสงสีแดง
ข. แสงสีขาว

การนำสาหร่ายสไปรูลิน่าไปทดสอบในอาร์ทีเมีย

อาร์ทีเมีย *(Artemia)* หรือ ไรน้ำเค็ม (Brine shrimp) ที่ให้อาหารผสมสาหร่ายและไม่ผสมให้ผลการเจริญเติบโตแตกต่างกัน โดยกลุ่มที่ให้อาหารไม่ผสมสาหร่ายพบว่ามีสีที่อ่อนกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เสริมสาหร่าย เช่นเดียวกับน้ำหนักแห้งที่มีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมด้วยสาหร่าย ดังนั้นกลุ่มที่เสริมด้วยสาหร่ายที่ให้แสงสีแดงให้ผลดีที่สุด ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ที่พบในอาร์ทีเมีย ที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติเสริมสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะแสงสีแดง มีค่าสูงกว่าทั้งในกลุ่มแสงสีขาวและกลุ่มควบคุม โดยใน

แสงสีแดงให้ปริมาณ แคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 0.13±0.11 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 0.07±0.1 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 0.06±0.06 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยมีค่าแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99 (ภาพที่ 21, 23, 24 และตารางที่ 14, 15)



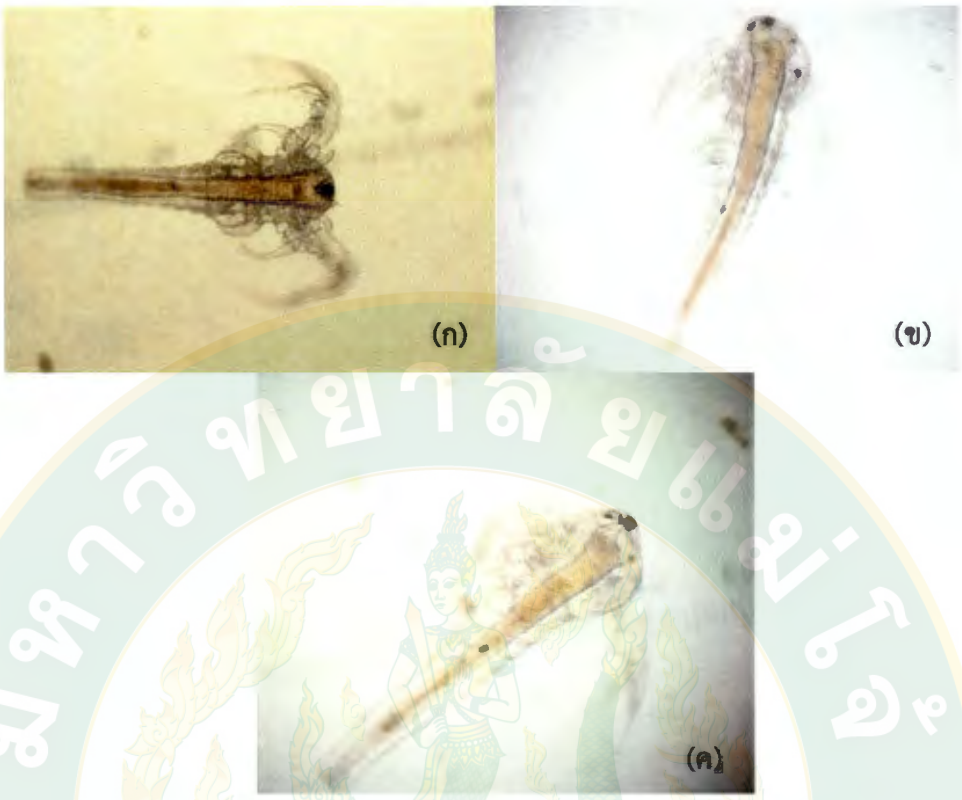
ภาพที่ 21 อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ (C) กับที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาวะแสงสีขาว (W) และแสงสีแดง (R)

หมายเหตุ ก. อาร์ทีเมียที่ให้อาหารไม่เสริมสาหร่าย
ข. อาร์ทีเมียที่ให้อาหารที่เสริมด้วยสาหร่ายจากแสงสีขาว
ค. อาร์ทีเมียที่ให้อาหารที่เสริมด้วยสาหร่ายจากแสงสีแดง

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบค่ามวลชีวภาพของอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ (ART.C) กับที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาวะแสงสีขาว (ART.W) และแสงสีแดง (ART.R)

สาหร่าย	น้ำหนักแห้ง (g.)	ค่าเฉลี่ย
ART.C1	0.01	
ART.C2	0.04	
ART.C3	0.14	0.06±0.06
ART.W1	0.01	
ART.W2	0.02	
ART.W3	0.18	0.07±0.1
ART.R1	0.03	
ART.R2	0.12	
ART.R3	0.25	0.13±0.11

จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าโดยการใช้อาหารสูตรอาหาร Zarrouk's ปรับปรุง แบบ Fertilizer medium (FM) ของ Bharat et al. (2011) และได้เพิ่มปัจจัยเรื่องการใช้แสงมาช่วยในการทดลองโดยการเลือกใช้แสงสีแดง และแสงสีขาวเพื่อเปรียบเทียบ ผลการเจริญเติบโต ปริมาณสารไฟโคไซยานิน ปริมาณโปรตีน ที่ได้จากสาหร่ายสไปรูลิน่า โดยในการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ได้ข้างต้นไปทดสอบประสิทธิภาพของสาหร่ายด้วยการนำมาทดสอบในอาร์ทีเมีย พบว่า อาร์ทีเมียกลุ่มที่ให้อาหารที่เสริมด้วยสาหร่ายมีขนาดใหญ่กว่าอาร์ทีเมียที่ให้อาหารปกติ (ภาพที่ 22) ค่ามวลชีวภาพ หรือน้ำหนักแห้งจะสังเกตได้ว่า อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติมีน้ำหนังแห้งเฉลี่ยร้อยละ 0.06±0.06 มิลลิกรัมต่อกรัม อาร์ที.มียที่ให้อาหารเสริมด้วยสาหร่ายจากแสงสีขาวมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยร้อยละ0.07±0.1 มิลลิกรัมต่อกรัม และอาร์ทีเมียที่ให้อาหารเสริมด้วยสาหร่ายจากแสงสีแดงมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยร้อยละ 0.13±0.11 มิลลิกรัมต่อกรัม (ตารางที่ 14) ส่วนอัตราการเจริญเติบโตจะเห็นได้ว่าอาร์ทีเมียที่ให้อาหารจากการให้อาหารที่เสริมด้วยสาหร่ายจากแสงสีแดงมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าการให้อาหารที่ไม่เสริมสาหร่าย และดีกว่าอาหารที่เสริมด้วยสาหร่ายจากแสงสีขาว (ภาพที่ 23)

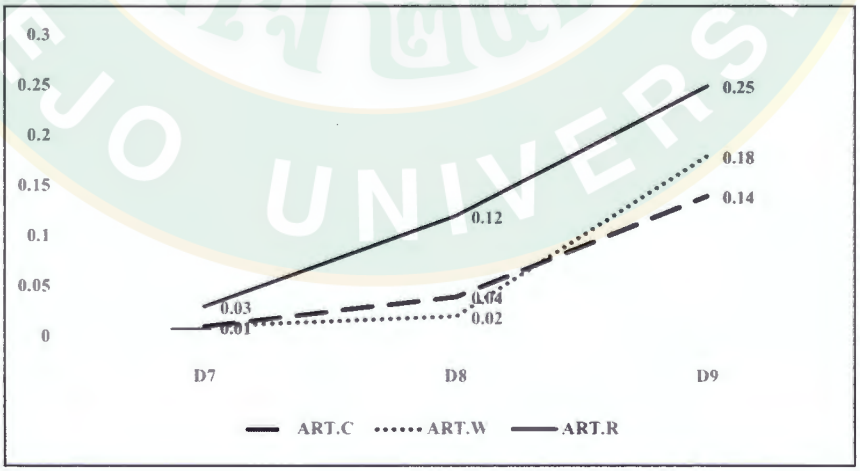


ภาพที่ 22 อาร์ทีเมียที่กำลังขยาย 40X

หมายเหตุ ก. อาร์ทีเมียที่ให้อาหารไม่เสริมสาหร่าย

ข. อาร์ทีเมียที่ให้อาหารที่เสริมด้วยสาหร่ายจากแสงสีขาว

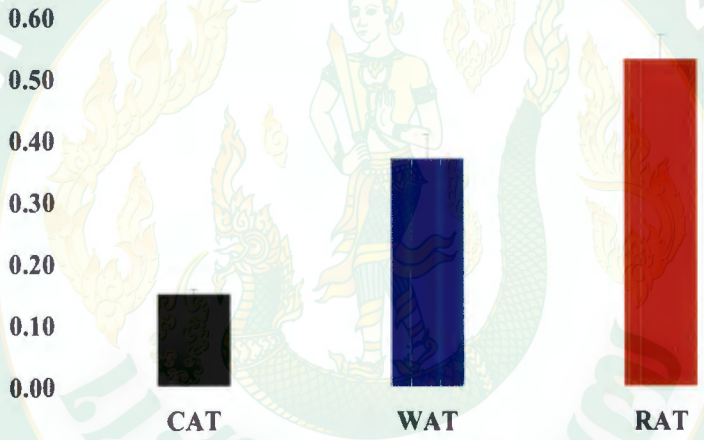
ค. อาร์ทีเมียที่ให้อาหารที่เสริมด้วยสาหร่ายจากแสงสีแดง



ภาพที่ 23 เปรียบการเจริญของอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ (ART.C) กับที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาวะแสงสีขาว (ART.W) และแสงสีแดง (ART.R)

ตารางที่ 16 ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาร์ทีเมียที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสไปรูลิน่าจากแสงสีแดงและแสงสีขาว

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g น้ำหนักแห้ง)	อาหารไม่ผสมสาหร่าย	อาหารผสมสาหร่ายจากแสงสีขาว	อาหารผสมสาหร่ายจากแสงสีแดง
Tr1	0.14	0.36	0.50
Tr2	0.16	0.41	0.58
Tr3	0.15	0.34	0.52
Mean	0.15±0.01	0.37±0.04	0.53±0.06



ภาพที่ 24 ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาร์ทีเมียที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสไปรูลิน่าจากแสงสีแดงและแสงสีขาว

การวิเคราะห์ต้นทุนในการผลิต

การวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบการเลี้ยงด้วยเทคโนโลยีต่าง ๆ และการเปรียบผลผลิตและต้นทุนการผลิต พบว่าต้นทุนการเลี้ยงด้านอาหารและแสง ในสาหร่ายที่ใช้อาหารปรับปรุง และให้ไฟสีแดงมีราคาถูกกว่าที่ใช้อาหารปกติและให้แสงสีขาวโดยมีการวิเคราะห์หาทุนการผลิตการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าดังนี้

การเลือกใช้แสงสีแดง และแสงสีขาวในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่ามีการคำควณต้นทุนการผลิตเพื่อเปรียบเทียบราคาในแต่ละการทดลองดังนี้

การเพาะเลี้ยงด้วยการให้แสงสีขาวใช้หลอด LED ขนาด 40 วัตต์ จำนวน 2 หลอด เปิดใช้เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน จะใช้ไฟวันละ 40×2/1,000×12=0.96 หน่วย ในการเพาะเลี้ยงได้ทำการเพาะเลี้ยง 12 วัน ใช้ไฟไป 12×0.96=11.52 หน่วย คิดเป็นเงิน 0.712 บาทต่อการเพาะเลี้ยง 12 วัน

การเพาะเลี้ยงด้วยการให้แสงสีแดงใช้หลอด LED ขนาด 20 วัตต์ จำนวน 2 หลอด เปิดใช้เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน จะใช้ไฟวันละ 20×2/1,000×12=0.48 หน่วย ในการเพาะเลี้ยงได้ทำการเพาะเลี้ยง 12 วัน ใช้ไฟไป 12×0.48=5.76 หน่วย คิดเป็นเงิน 0.289 บาทต่อการเพาะเลี้ยง 12 วัน

ตารางที่ 16 ตารางเปรียบเทียบต้นทุนอาหารแบบทั่วไป

องค์ประกอบ (Ingredient)	**ราคา/kg**	**FM (g/l)**	**ทุน (g/l)**	**FM ปรับปรุง (g/l)**	**ทุน (g/l)**
ปุ๋ย N-P-K (Total N-P_2O_5-K_2O)	25	-	-	1.25	0.03
$NaHCO_3$	400	8	3.2	8	3.2
$NaNO_3$	300	2.5	0.75	2.5	0.75
NaCl	100	0.5	0.05	0.5	0.05
$MgSO_4.H_2O$	30	0.15	0.0045	0.15	0.0045
$CaCl_2.2H_2O$	500	0.04	0.04	0.04	0.224
Single super phosphate	**20**	1.25	0.025		
Muriate of potash	**20**	0.98	0.0196		
Distilled water	-	1000	-	1000	-
ค่าไฟ/ชั่วโมง (ต่อ 12 ชม) *4 บาท/หน่วย	0.048	สีขาว 40 watt13.5kLux	0.712	สีแดง 20 watt7.5 kLux	0.289
ราคาต้นทุนต่อลิตร			11.4891		10.2185

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผล

จากการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า *(spirulina platensis)* โดยการเลือกใช้สูตรอาหารของ Fertilizer medium (FM) (Bharat et al., 2011) แทนอาหารนิยมของ Zarrouk's medium ในระดับปฏิบัติการ โดยควบคุมปัจจัยเรื่องการใช้แสง ในการทดลองจะใช้แสงสีแดงความเข้มแสง 7.5 klux และแสงสีขาวที่ความเข้มแสง 13.5 klux ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ 9-10.5 อุณหภูมิระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณสารประกอบไฟโคไซยานิน ปริมาณโปรตีน และปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสไปรูลิน่า พบว่าสาหร่ายสไปรูลิน่าเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะการให้แสงสีขาวมากกว่าการให้แสงสีแดงที่ 17.67$\pm$0.22 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง และ15.29$\pm$0.81 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แต่ค่าปริมาณสารไฟโคไซยานิน ค่าปริมาณโปรตีน และค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ จะพบได้มากกว่าจากการให้แสงสีแดงที่ 54.3$\pm$10.8 , 71.81$\pm$18.79 และ298.08$\pm$86.67 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ส่วนการนำสาหร่ายสไปรูลิน่าไปทดสอบในอาร์ทีเมียโดยการนำสาหร่ายสไปรูลิน่าผงบดละเอียดน้ำหนัก 0.02 กรัม มาผสมกับอาหารปลาที่ไม่มีสาหร่ายเป็นส่วนประกอบน้ำหนัก 10 กรัม ทำการเพาะเลี้ยงอาร์ทีเมีย 15 วันให้อาหารอาร์ทีเมียวันละ 3 ครั้งๆ 1 กรัม โดยแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลองคือ อาหารที่ไม่ผสมสาหร่าย อาหารที่ผสมสาหร่ายจากการให้แสงสีขาว และอาหารที่ผสมสาหร่ายจากการให้แสงสีแดง พบว่า กลุ่มที่ให้อาหารที่ไม่ผสมสาหร่ายจะมีสีอ่อนกว่ากลุ่มที่ให้อาหารผสมสาหร่าย และจากการให้สาหร่ายที่ได้จากแสงสีแดงและแสงสีขาว พบว่า อัตราการเจริญเติบโต สี น้ำหนักแห้ง อาร์ทีเมียที่ให้อาหารจากแสงสีแดงจะมีค่าดังกล่าวมากกว่าแสงสีขาว ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาร์ทีเมียที่ให้อาหารผสมสาหร่ายจากแสงสีแดงและแสงสีขาว พบว่าอาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่ายที่ได้จากแสงสีแดงมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าอาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่ายที่ได้จากแสงสีขาว

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าด้วยการเลือกใช้อาหารปรับปรุงสูตรมาตรฐานและการใช้แสงสีขาวและแสงสีแดง เพื่อเพิ่มปริมาณสารไฟโคไซยานิน และทำการทดสอบคุณภาพสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาร์ทีเมีย มีความเห็นดังนี้

1. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าควรเพาะเลี้ยงในฤดูร้อน เพราะสาหร่ายจะเจริญได้ดีและให้ผลผลิตสูง ถ้าอากาศหนาวสาหร่ายจะเจริญเติบโตได้ไม่ดี

2. การใช้อาหารสูตรปรับปรุง Fertilizer medium (FM) ของ Bharat et al.(2011) ซึ่งใช้ปุ๋ย N-P-K (Total N-P_2O_5-K_2O) แทนสารเคมีบางตัวเช่น Single super phosphate และ Muriate of potash ควรรอให้ปุ๋ยละลายให้หมดก่อนกรองเอาตะกอนออก

3. ควรเพิ่มขนาดปริมาณการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญตามวัตถุประสงค์ของผู้ที่คิดจะผลิตสาหร่าย

บรรณานุกรม

กรีนไดมอนด์ จำกัด. 2544. **สาหร่ายเกลียวทอง.** เชียงใหม่: กรีนไดมอนด์.

เจียมจิตต์ บุญสม. 2531. **ความลับของสาหร่ายเกลียวทอง**. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

พิมพรรณ ตันสกุล และ อารักษ์ จันทศิลป์. 2531. การเพาะเลี้ยง *Spirulina spp.* ในน้ำทิ้งจากโรงงานยางพารา. **วารสารสงขลานครินทร์**, 10, 149-155.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. **สาหร่ายวิทยา.** เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. **คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. **วิทยาสาหร่าย**. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

สุชาติ อิงธรรมจิตร์, ชัยประดิษฐ์ แก้วปาคำ, บรรจง โคกกระเทียม, เฉลิมวรรณ คงสงวนชัย และเจียมจิตต์ บุญสม. 2531. **การทดสอบเบื้องต้นโดยการใช้น้ำจากกองปลาสดเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina spp.*)**. รายงานการประชุมวิชาการประมง. 16-18 กันยายน. กรุงเทพฯ: สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ.

สุมนทิพย์ บุนนาค. 2529. สาหร่ายเกลียวทอง. **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น**, 14(3), 153-159.

อนันต์ ตันสุตะพานิช, นภดล ภูวภานิช, ธนัญช์ สังกร ธนกิจ และ ธงชัย เพิ่มงาม. 2536. **การเพาะเลี้ยง และการใช้ประโยชน์จากอาร์ทีเมีย**. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

Adir, N. & Lerner, N. 2003. The crystal structure of a novel unmethylated form of C-Phycocyanin, a possible connector between cores and rods in phycobilisomes. **J. Bio Chem**, 278(28), 25926-25932.

Ajayan, K. V., Selvaraju, M. & Thirugnanamoorthy, K. 2012. Enrichment of chlorophyll and phycobiliproteins in Spirulina platensis by the use of reflector light and nitrogen sources: An in-vitro study. **Biomass and Bioenergy**, 47, 436-441.

Ali, S. K. & Saleh, A. M. 2012. *Spirulina* - an overview, Review article. **Int J Pharm Pharm Sci.**, 4(3), 9-15.

Baldia, S. F., Fukami, K., Nishijima, T. & Hata, Y. 1994. Growth responses of *Spirulina platensis* to some physiology – chemical factors and the kinetics of phosphorus utilization. **Fisheries Science**, 61(2), 331 – 335.

Becker, E. W. & Venkataraman, L. V. 1982. **Biotechnology and Exploitation of Algae: The Indian Approach**. Eschborn: German Agency for Technical Cooperation (GTZ) Postfach.

Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K. & Shimamatsu, H. 1993. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. **Journal of Applied Phycology**, 5, 235-241.

Bold, H. C. & Wynne, M. J. 1978. Structure & Reproduction. **Introduction to the Algae**. Eaglewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall.

Bharat, G., Abhishek, N. & Beena, P. 2011. Cultivation of *Spirulina species* in different **J. Algal Biomass Utilization**, 2(3), 15– 26.

Bhat, V. B. & Madyastha, K. M. 2000. A potent peroxyl radical scavenger in vivo and in vitro Biochemical and Biophysical Research Communications. **C- Phycocyanin**, 275, 20-25.

_____. 2001. Protection against oxidative damage to DNA.Biochemical and Biophysical Research Communications. **Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis***, 285, 262–266.

Borowitzka, M. A. 1999. Pharmaceuticals and agrochemicals. In Cohen, Z. (eds). **Chemicals from Microalgae**. London: Francis & Taylor.

Chaiklahan, R., Chirasuwan, N., Loha, V., Tia, S. & Bunnag, B. 2011. Separation and purification of phycocyanin from Spirulina sp. using a membrane process. **Bioresource Technology**, 102, 7159-7164.

Ciferri, O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. **Microbiol. Rev.**, 47, 551-578.

Ciferri, O. & Tiboni, O. 1985. The biochemistry and industrial potential of *Spirulina*. **Annual Review of Microbiology**, 39, 503-526.

Chorus, I. & Bartram, J. 1999. **Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Public Health Significance, Monitoring and Management**. Geneva: World Health Organization.

Codd, G. A. 2000. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality and the prioritization of eutrophication control. **Ecological Engineering**, 16, 51-60.

Colla, L. M., Reinehr, C. O., Reichert, C. & Costa, J. A. V. 2007. Production of biomass and nutraceutical compounds by Spirulina platensis under different temperature and nitrogen regimes. **Biores. Technol**, 98, 1489-1493.

Criel, G. R. J. & Macrae, T. H. 2002. Artemia morphology and structure. In Abatzopoulos, T. J. et al. Artemia: basic and applied biology. **Biology of Aquatic Organisms, 1**, 1-37.

Dhont, J. & Lavens, P. 1996. Tank production and use of grown *Artemia*. In Larvens, P. & Sorgeloos, P. (eds.). Manualin the production and use of live food for aquaculture. **FAO fisheries technical paper**, 361, 137-163.

Graham, L. E. & Wilcox, L. W. 2000. **Introduction to the Algae**. Upper Saddle River, New Jersy: Prentice-Hall.

Hosakul, K. 1972. **The Selection and Growth Characteristics of some Local Microalgae Tolerating High Temperature**. Master Thesis. Kasetsart University Bangkok.

Humm, H. J. & Wicks. S. R. 1980. **Introduction and Guide to the Marine Blue-green Algae**. New York: A Wiley-Interscience Publication.

Jensen, S. & Knutsen, G. 1993. Influence of light and temperature on photoinibition of photosynthesis in *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Phycology**, 5, 495-504.

KMUTT. 2001. **Laboratory Instruction: A workshop on mass cultivation of *Spirulina***. Bangkok: King Monkut's University of Technology, Thonburi.

Lavens, P. & Sorgeloos, P. 1987. The cryptobiotic state of Artemia cysts, its diapause deactivation and hatching: a review. pp. 27-63. In Sorgeloos, P. et al. (Ed.). Artemia Research and its Applications: 3. Ecology, culturing, use in aquaculture. **Proceedings of the Second International Symposium on the brine shrimp Artemia**. Wetteren: Universa Press.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, 193, 267–275.

Maccoll, R. 1998. Cyanobacterial phycobilisomes. **J. structural biology**, 124, 311–334.

Mallery, R. P., Kewley, L., Rich, R. M., Salim, S., Charlot, S., Tremonti, C., Seibert, M., Small, T. & Wyder, T. 2007. Nitrogen Production in Starburst Galaxies Detected by GALEX. **The Astrophysical Journal Supplement Series**, 173, 482.

Manigandam, M. 2014. Mass Cultivation and Determination of Biochemical Composition of *Spirulina platensis* in three Different Medium. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, 5(3), 847–854.

Nakamura, H. 1982. ***Spirulina:* Food for Hungry World**. Boulder Creek, California: University of the Trees Press.

Padyana, A. K., Bhat, V. B., Madyastha, K. M., Rajashankar, K. R. & Ramakumar, S. 2001. Crystal structure of a light-harvesting protein C-Phycocyanin from *Spirulina platensis*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 282, 893–898.

Patel, A., Mishra, S., Pawar, R. & Ghosh, P. K. 2005. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. **Protein Expression and Purification**, 40, 248–255.

Pechenik. 1985. **Biology of the Invertebrates**. Massachusetts: PWS Publishers.

Planas, M., Chamorro, A., Quintas, P. & Vilar, A. 2008. Establishment and maintenance of threatened long-snouted seahorse, Hippocampus guttulatus, broodstock in captivity. **Aquaculture**, 283(1–4), 19 - 28.

Reed, R. H., Warr, S. R. C., Richardson, D. L. & Moore, D. J. 1985. Blue-green algae (cyanobacteria): prospects and perspectives. **Plant and Soil**, 89, 97-106.

Richmond, A. 1986. **Handbook of Microalgal Mass Culture**. Florida: CRC Press.

Romay, C. H., Ledón, N. & González, R. 2003. C-Phycocyanin: Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. **Current Protein & Peptide Science**, 4, 3, 207.

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

Saranraj, P. D., Stella, G. U. & Sivasakthi, S. 2013. Effective Recycling of Lignite Fly Ash for the Laboratory Cultivation of Blue Green Algae *Spirulina platensis*. **International Journal of Microbiological Research**, 4 (3), 219-226.

Saxena, P. N. 1983. Cultivation of *Spirulina* in Sewage for poultry feed. **Experientia**, 39, 1077-1083.

Stanley, J. G. & Jones, J. B. 1976. Feeding algae to fish. **Aquaculture,** 7(3), 219–223.

Trainor, F. R. 1978. **Introductory Phycology**. New York: University of Connecticutt.

Treece, G. D. 2000. **Artemia production for marine larval fish culture.** Mississippi, U.S.A.: Southern Regional Aquaculture Center.

Van Stappen, G. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. **FAO Fisheries Technical,** 361, 79-106

_____. 2002. Chapter IV Zoogeography. In Abatzo poulos, T. J., Beardmore, J. A. Clegg, J. S. and Sorgeloos, P. (eds.). **Artemia: Basic and Applied Biology**. Dordrecht, Netherland: Kluwer Academic Publishers.

Venkataraman, L. V. & Becker, E. W. 1983. **Biotechnology and Exploitation of Algae: The Indian approach**. Eschborn: German Agency for Technical Cooperation.

Vonshak, A. 1990. Recent advances in micro algal biotechnology. **Biotechnology Advances,** 8, 709-727.

Vonshak, A. & Tomaselli, L. 2000. Artbrospira (Spirulina): Systematics and eco-physiology. In Whitton, B. A. & Potts, M. (eds.). **The Ecology of Cyanobacteria**. Netherland: Kluwer Academiuc publishers.

Walter, A., De Carvalho, J. C., Soccol, V. T., De Faris, A. B. B., Ghiggi, V.. & Soccol, C. R. 2011. Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra. **Braz. Arch. Boil. Technol.**, 54(4), 675-682.

Wong, J. M. & Benzie, J. A. H. 2003. The effects of temperature, Artemia enrichment, stocking densities and light on the growth of juvenile seahorses, Hippocampus whitei from Australia. **Aquaculture**, 228, 107-121.

Yong, C. S. 2013. Stable Isolation of Phycocyanin from *Spirulina platensis* Associated with High-Pressure Extraction Process. **Int J Mol Sci.**, 14(1), 1778–1787.

Zhou, Z. P., Liu, L. N., Chen, X. L., Wang, J. X., Chen, M., Zhang, Y. Z. & Zhou, B.-C. 2005. Factors that effect antioxidant activity of C-Phycocyanin from Spirulina platensis. **J. Food Biochemistry,** 29(3), 313-322.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

สถิติเปรียบเทียบค่าไฟโคไซยานินในสาหร่ายสไปรูลิน่า

Group Statistics

	phycocyanin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
W	W	3	1.1700	.08718	.05033
	R	3	1.3600	.27055	.15620
R	W	0[a]	.	.	.
	R	0[a]	.	.	.

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
W	Equal variances assumed	1.976	.233	-1.158	4	.311	-.19000	.16411	-.64565	.26565
	Equal variances not assumed			-1.158	2.411	.349	-.19000	.16411	-.79246	.41246

สถิติเปรียบเทียบค่าโปรตีนในสาหร่ายสไปรูลิน่า

Group Statistics

	Trt	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
protein	SP.W	5	12.7560	1.57782	.70562
	SP.R	5	71.8120	18.79508	8.40542

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
protein	Equal variances assumed	9.731	.014	-7.001	8	.000	-59.05600	8.43498	-78.50710	-39.60490
	Equal variances not assumed			-7.001	4.056	.002	-59.05600	8.43498	-82.34746	-35.76454

สถิติเปรียบเทียบค่าแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสไปรูลิน่า

Group Statistics

Trt		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
carotenoid	SW	3	.0033	.00252	.00145
	SR	3	.0620	.01803	.01041

MAEJO UNIVERSITY

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
carotenio d	Equal variances assumed	6.685	.061	-5.582	4	.005	-.05867	.01051	-.08785	-.02949
	Equal variances not assumed			-5.582	2.078	.028	-.05867	.01051	-.10230	-.01504

MAEJO UNIVERSITY

สถิติเปรียบเทียบค่าแคโรทีนอยด์ในอาร์ทีเมีย

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
carotenioda	Equal variances assumed	.116	.761	-5.137	4	.007	-.16338	.03180	-.25182	-.07506
	Equal variances not assumed			-5.137	3.020	.007	-.16338	.03180	-.25233	-.07433

ภาคผนวก ข

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นายจตุพล มีสวัสดิ์	
เกิดเมื่อ	7 กุมภาพันธ์ 2533	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2557	ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จังหวัดนครศรีธรรมราช
	พ.ศ. 2553	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนมัธยมศึกษา จุฬาภรณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช
อีเมลล์	Jatupol.coke@gmail.com	