การเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
จากสาหร่าย *Nostoc commune*

จิตตนันท์ แก้วมณีสุข

ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2564

การเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
จากสาหร่าย *Nostoc commune*

จิตตนันท์ แก้วมณีสุข

ดุษฎีนิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

จากสาหร่าย *Nostoc commune*

จิตตนันท์ แก้วมณีสุข

ดุษฎีนิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

พิจารณาเห็นชอบโดย อาจารย์ที่ปรึกษา

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

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.มงคล ถิรบุญยานนท์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

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

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน
อธิการบดี มหาวิทยาลัยแม่โจ้
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง การเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร จากสาหร่าย *Nostoc commune*
ชื่อผู้เขียน นางสาวจิตตนันท์ แก้วมณีสุข
ชื่อปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช

บทคัดย่อ

การคัดแยกสาหร่าย *Nostoc commune* MTR สายพันธุ์บริสุทธิ์จากแม่น้ำแม่แตง ตำบลสันมหาพน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และทำการเปรียบเทียบยืนยันสายพันธุ์กับ TISTR 8160 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ฯ และการทำลำดับเบส (เหมือนกันร้อยละ 99) พร้อมการยืนยันชนิดคู่กับคู่มือวินิจฉัยของ Desikachary (1959) ทำการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารปรับปรุง BG-11 และควบคุมความปลอดภัยของการปนเปื้อนโซเดียมไนเตรต โดยการทดลองการเติมและไม่เติมโซเดียมไนเตรต จากคุณสมบัติความสามารถตรึงไนโตรเจนได้ของสาหร่ายชนิดนี้ ทำการเพาะเลี้ยงในระบบปิดภายใต้แสงเทียม LED สีแดงที่ความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 μmol $m^{-2}s^{-1}$ พบว่าทุกการทดลอง ปริมาณโซเดียมไนเตรตมีค่าไม่เกินค่ามาตรฐาน 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าอยู่ในช่วง 124.8 ถึง 882 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากภาพถ่าย SEM พบว่าการทดลองที่ไม่เติมโซเดียมไนเตรต มีปริมาณ Heterocyst มากกว่าชุดการทดลองที่เติมโซเดียมไนเตรต ซึ่งเกิดขึ้นจากภาวะการขาดไนโตรเจน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า การไม่เติมโซเดียมไนเตรต ที่ความเข้มแสง 120 μmol $m^{-2}s^{-1}$ มีปริมาณน้ำหนักแห้งสูงสุด คือ 2.01 ± 1.28 กรัม รองลงมาคือ ความเข้มแสง 100 และ 90 μmol $m^{-2}s^{-1}$ มีปริมาณน้ำหนักแห้ง 1.48 ± 1.06 และ 1.53 ± 1.15 กรัม ตามลำดับ และการเติมโซเดียมไนเตรตทำให้ปริมาณโปรตีน ไฟโคไซยานิน แคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์ *เอ* สูงกว่าการ ไม่เติมโซเดียมไนเตรต โดยมีปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ความเข้มแสง 20 μmol $m^{-2}s^{-1}$ มีค่า 529.41 ± 14.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณร้อยละไฟโคไซยานินบริสุทธิ์สูงสุดที่ 10 μmol m^{-2} s^{-1} มีค่า 3.147 ± 0.16 ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่ความเข้มแสง 10 μmol$^{-2}s^{-1}$ มีปริมาณ 1.04 ± 0.19 รองลงมา 20 μmol $m^{-2}s^{-1}$ 1.03 ± 0.02 และ 30 μmol $m^{-2}s^{-1}$ 0.95 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ความเข้มแสงที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายคือ 30 μmol m^{-2} s^{-1} ในด้านผลผลิต คุณค่าทางโภชนาการ และอัตราการใช้พลังงานไฟฟ้า ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย *N. commune* MTR จำนวน 3 ชนิด คือ คาร์เวียร์ เยลลี่ และผงโรยข้าว จากการสำรวจ

ความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่าง 100 คน พบว่า ผู้บริโภคมีความพึงพอใจผลิตภัณฑ์เยลลี่มากที่สุดร้อยละ 4.33 รองลงมาคาเวียร์สาหร่ายร้อยละ 4.15 และผงโรยข้าวร้อยละ 3.88 ตามลำดับ

คำสำคัญ : Nostoc commune, คุณค่าทางโภชนาการ, ความเข้มแสง, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Title CULTIVATION AND DEVELOPMENT FOOD PRODUCTS FROM *Nostoc commune* ALGAE

Author Miss Jittanan Kaewmaneesuk

Degree Doctor of Philosophy in Agricultural Interdisciplinary

Advisory Committee Chairperson Assistant Professor Dr. Chalinda Ariyadet

ABSTRACT

Nostoc commune MTR was isolated from Maetaeng District, Chiangmai and purify in axenic culture than compare to TISTR 8160 standard species and genome sequencing (with 99% Similarity) from Thailand Institute of Science and Technology Research (TISTR). Taxonomy identification with Desikachary (1959). Culture media was Modified BG-11 and to protect over $NaNO_3$ concentration by Design an additive and without $NaNO_3$ experiment, clause the ability of Nitrogen Fixing algae of it. The light source was using Red light LED intensity at 10, 20, 30, 90, 100 and 120 µmol/m^{-2}/s^{-1}. The resulted have shown that all the experiments have not exceeds the standard value of 3,000 g.L^{-1} with the ranged of 124.8 to 882 g.L^{-1}. The sample with no $NaNO_3$ under SEM have more of Heterocyst than the $NaNO_3$ adding sample. After 21 days culture, The result of 21 days culture have shown that the maximum % Dry weights at 120 µmol $m^{-2}s^{-1}$, 100 µmol $m^{-2}s^{-1}$ and 90 µmol $m^{-2}s^{-1}$ without $NaNO_3$ with the value of 2.01 ± 1.28 g.L^{-1} , 1.48±1.06 g.L^{-1} and 1.53 ± 1.15 g.L^{-1} respectively. Cultured with the addition $NaNO_3$ could be increased protein content, phycocyanin, carotenoid and chlorophyll a than cultured without $NaNO_3$. Protein content have shown the highest value at 20 µmol $m^{-2}s^{-1}$ with 529.41 ± 14.10 mg.L^{-1}. Phycoyanain was high present at10 µmol $m^{-2}s^{-1}$, 20 µmol $m^{-2}s^{-1}$ and 30 µmol $m^{-2}s^{-1}$ with the value of 3.147±0.16 mg.L^{-1}, 1.03 ± 0.02 mg.$L^{-1}$and 0.95 ± 0.04 mg.L^{-1} respectively. The conclusion LED Red light at 30 µmol $m^{-2}s^{-1}$ were optimal for cultured *N. commune* MTR in terms of biomass as dry weight, nutrition value and the rate of electricity usage. The satisfying from 100 sample population of 3 products from *N. commune* such as caviar, jelly and furikaki the

resulted shown that the most satisfying were jelly at 4.33 percentage, caviar at 4.15 percentage and furikaki 3.88 percentage respectively.

Keywords : Nostoc commune, Nutrition value, Light intensity, Bioactive compouds

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช ประธานกรรมการที่ปรึกษาดุษฎีนิพนธ์ ครูที่ทำให้ข้าพเจ้าเข้าใจถึงจิตวิญญาณของความเป็นครู ครูผู้ที่ให้มากกว่าความรู้ให้มากกว่าโอกาส

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มงคล ถิรบุญยานนท์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ จตุรงค์ล้ำเลิศกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อดิศักดิ์ จูมวงษ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.สยาม อรุณศรีมรกต ที่ช่วยแนะนำในการเขียนดุษฎีนิพนธ์ได้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ธีรนุช เจริญกิจและ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และการใช้เครื่อง Spectrophotometer งานวิจัยสำเร็จไปด้วยดี

ขอขอบคุณหัวหน้าประทุม ชัยเลิศ เกษตรอำเภอแม่แตง ที่อนุมัติให้ลาศึกษาต่อ

ขอขอบคุณคุณทิวา จามรี ที่ออกแบบประดิษฐ์อุปกรณ์เพาะเลี้ยงสาหร่ายให้อย่างสมบูรณ์แบบ ขอบคุณคุณจันทิมา ชินราด คุณปานชนก นิ่มทับทิม คุณจินตนา สงฤทธิ์ คุณพัชรพิงค์พิมพ์ ณ เชียงใหม่ คุณอำพล สอนสระเกษ ที่ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จอย่างงดงาม

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่สนับสนุนทุนเพื่อใช้ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณกรมส่งเสริมการเกษตร ที่ให้โอกาสในการลาศึกษาต่อเพื่อเพิ่มเติมความรู้

ท้ายสุดนี้ขอขอบคุณกำลังใจครอบครัว พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคนที่ให้กำลังใจกันเสมอมา

จิตตนันท์ แก้วมณีสุข

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ช
สารบัญ ..... ซ
สารบัญตาราง ..... ญ
สารบัญภาพ ..... ฏ
บทที่ 1 บทนำ 1
ความสำคัญของปัญหา 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
ขอบเขตของการวิจัย 3
นิยามศัพท์เฉพาะ 3
บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร 4
สาหร่าย 4
การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย 4
สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green Algae) 6
สาหร่ายในสกุล *Nostoc* 10
ปัจจัยที่มีผลคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Nostoc* 13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 15
การเก็บและการคัดแยกตัวอย่างสาหร่าย *N. commune* จากแหล่งธรรมชาติ 15
การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการสาหร่าย *N. commune* 19

การทดลองศึกษาผลของปัจจัยการเพาะเลี้ยงต่อการเจริญ ของสาหร่าย *N. commune* 21
การตรวจความปลอดภัยด้านจุลินทรีย์ในสาหร่าย *N. commune* 22
การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย *N. commune* 28
การสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภค 31
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 31
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ 32
การเก็บและการคัดแยกตัวอย่างสาหร่าย *N. commune* จากแหล่งธรรมชาติ 32
วิธีการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการสาหร่าย *N. commune* 43
การทดลองศึกษาผลของปัจจัยการเพาะเลี้ยงต่อการเจริญ ของสาหร่าย *N. commune* 45
การตรวจความปลอดภัยด้านจุลินทรีย์ในสาหร่าย *N. commune* 58
การตรวจการเป็นพิษในสาหร่าย *N. commune* 60
การเปรียบเทียบอัตราการสิ้นเปลืองไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย N. *commune* MTR โดยการให้แสง LED สีแดงปริมาณความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 μmol $m^{-2}s^{-1}$ 69
การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย *N. commune* MTR 71
ผลการสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหาร จากสาหร่าย *N. commune* MTR 72
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 85
บรรณานุกรม 87
ภาคผนวก 91
ภาคผนวก ก แบบสอบถาม 92
ภาคผนวก ข นำเสนอผลผลงานวิชาการ 99
ประวัติผู้วิจัย 124

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ปริมาณสารไฟโคไซยานินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง 46

ตารางที่ 2 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง 47

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง 49

ตารางที่ 4 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณเปอร์เซ็นต์สารไฟโคไซยานินและเปอร์เซ็นต์สารไฟโคไซยานินบริสุทธิ์ 51

ตารางที่ 5 ค่าปริมาณโปรตีนในสาหร่าย N. *commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ 53

ตารางที่ 6 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ 54

ตารางที่ 7 ปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ 56

ตารางที่ 8 ปริมาณคลอโรฟิลล์ *บี* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ 57

ตารางที่ 9 มาตรฐานสำหรับการบริโภคกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 58

ตารางที่ 10 ผลการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนในสาหร่าย *N. commune* 59

ตารางที่ 11 ปริมาณไนเตรต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ 62

ตารางที่ 12 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง 68

ตารางที่ 13 จำนวนและค่าร้อยละของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่าย นอสตอค จำแนกตามข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม 73

ตารางที่ 14 จำนวนและค่าร้อยละของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจบริโภคสาหร่ายบ่อยแค่ไหน..... 75

ตารางที่ 15 จำนวนและค่าร้อยละของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจเคยรู้จักผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายประเภทใดมาก่อนบ้าง..... 76

ตารางที่ 16 จำนวนและค่าร้อยละของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นแบบใด..... 76

ตารางที่ 17 จำนวนและค่าร้อยละของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจต่อสารที่มีประโยชน์ในสาหร่าย นอสตอคในระดับใด..... 77

ตารางที่ 18 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์คาเวียร์จากสาหร่าย นอสตอค..... 78

ตารางที่ 19 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านประสาทสัมผัสและอรรถรสที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค..... 79

ตารางที่ 20 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านบรรจุภัณฑ์ที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค..... 80

ตารางที่ 21 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านผลิตภัณฑ์ที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค..... 80

ตารางที่ 22 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านประสาทสัมผัสและอรรถรสที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค..... 81

ตารางที่ 23 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านบรรจุภัณฑ์ที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค..... 82

ตารางที่ 24 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านผลิตภัณฑ์ที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค..... 82

ตารางที่ 25 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านประสาทสัมผัสและอรรถรสที่มีต่อเยลลี่จากสาหร่ายนอสตอค..... 83

ตารางที่ 26 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านบรรจุภัณฑ์ที่มีต่อเยลลี่จากสาหร่ายนอสตอค..... 84

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 การดูดกลืนแสงของรงควัตถุในแต่ละช่วงคลื่นแสง 8

ภาพที่ 2 สาหร่าย *N. commune* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 40X 11

ภาพที่ 3 ภาพแผนที่อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ 15

ภาพที่ 4 สาหร่าย *Nostoc* ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 40X 16

ภาพที่ 5 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีแดงและแสงสีขาว 18

ภาพที่ 6 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีแดงและแสงสีขาว 18

ภาพที่ 7 ผลิตภัณฑ์เยลลี่สาหร่าย *N. commune* 29

ภาพที่ 8 ผลิตภัณฑ์คาเวียร์สาหร่าย *N. commune* 30

ภาพที่ 9 ผลิตภัณฑ์ผงโรยข้าวสาหร่าย *N. commune* 30

ภาพที่ 10 แม่น้ำแม่แตงและบริเวณที่เก็บตัวอย่างสาหร่าย *Nostoc* พิกัด 47Q 494162 2114333 32

ภาพที่ 11 สาหร่าย *N. commune* ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ลักษณะคล้ายถังเบียร์ 40X 32

ภาพที่ 12 สาหร่ายสีแดง *Batrachospermum* sp. ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ 40X 33

ภาพที่ 13 สาหร่ายสีเขียว *Chaetophora* sp. ในธรรมชาติ และภาพถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ 40X 33

ภาพที่ 14 สาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ 40X 34

ภาพที่ 15 การคัดแยกสายพันธุ์เพื่อให้สายพันธุ์ *N. commune* บริสุทธิ์ โดยวิธีการ Pick up cell technique 34

ภาพที่ 16 สาหร่าย *N. commune* เลี้ยงบนอาหารวุ้นกึ่งแข็ง BG 11 สูตรปรับปรุง 35

ภาพที่ 17 สาหร่าย *N. commune* TISTR 8160 ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย (วว.) และ *N. commune* แม่น้ำแม่แตง ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ 40X 35

ภาพที่ 18 ระยะการพัฒนาของสาหร่าย *N. commume* 36

ภาพที่ 19 การจัดเรียงลำดับเบสของสาหร่าย *N. commune* 37

ภาพที่ 20 การจัดเรียงลำดับเบสของสาหร่าย *N. commune* 38

ภาพที่ 21 รายงานผลการทดสอบลำดับเบสสาหร่าย N. *commune*..... 40

ภาพที่ 22 ลักษณะสัณฐานวิทยาของสาหร่าย N. *commune* (Desikachary, 1959)..... 41

ภาพที่ 23 ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง (กรัม/วัน/ลิตร)..... 42

ภาพที่ 24 การวิเคราะห์โปรตีน..... 43

ภาพที่ 25 การวิเคราะห์ไฟโคไซยานินบริสุทธิ์ 44

ภาพที่ 26 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์..... 44

ภาพที่ 27 การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ *เอ* และ *บี* 44

ภาพที่ 28 แสดงค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัม) เปรียบเทียบการเลี้ยงในแสงสีแดงและแสงสีขาว ของสาหร่าย *N. commune* ในอาหารชนิดต่าง ๆ..... 45

ภาพที่ 29 เปอร์เซ็นต์สารไฟโคไซยานินบริสุทธิ์จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง..... 46

ภาพที่ 30 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาว และแสงสีแดง 47

ภาพที่ 31 ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง 49

ภาพที่ 32 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณสารไฟโคไซยานิน 51

ภาพที่ 33 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณโปรตีน..... 52

ภาพที่ 34 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์..... 54

ภาพที่ 35 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* 55

ภาพที่ 36 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ *บี* 57

ภาพที่ 37 แบคทีเรียที่พบในตัวอย่าง *N. commune* แสงสีแดง (ก) แบคทีเรียที่พบในตัวอย่าง *N. commune* แสงสีขาว (ข) 59

ภาพที่ 38 ภาพการตรวจวิเคราะห์โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Total coliform) และ Total fecal coliforms bacteria *(E. coli)* 59

ภาพที่ 39 ยีสต์และราที่พบในตัวอย่าง *N. commune* แสงสีแดง 60

ภาพที่ 40 ปริมาณไนเตรตจากเติมและไม่เติม $NaNO_3$ ภายใต้สภาวะแสงสีแดง 61

ภาพที่ 41 สาหร่าย *N. commune* MTR สดเลี้ยงด้วยอาหารเติม $NaNo_3$ (ก) และ ไม่เติม $NaNo_3$ (ข) มีเนื้อสัมผัสที่แตกต่างกัน 63

ภาพที่ 42 สาหร่าย *N. commune* MTR (ก) แห้งเลี้ยงด้วยอาหารเติม $NaNO_3$ และ (ข) ผลผลิตแห้งเลี้ยงด้วยอาหารไม่เติม $NaNO_3$ 63

ภาพที่ 43 สาหร่าย *N. commune* MTR ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด 64

ภาพที่ 44 สาหร่าย *N. commune* MTR เลี้ยงด้วยอาหารไม่เติม $NaNO_3$ ทำให้มีการสร้าง heterocyst จำนวนมากซึ่งเป็นเซลล์พิเศษที่ภายในมีเอนไซม์ nitrogenase เป็นเอนไซม์ที่มีไว้เพื่อตรึงไนโตรเจนแล้วเปลี่ยนเป็น NH_3 หรือ NH_4^+ 64

ภาพที่ 45 สาหร่าย *N. commune* MTR เลี้ยงด้วยอาหารเติม $NaNO_3$ 65

ภาพที่ 46 สาหร่าย *N. commune* MTR เลี้ยงด้วยอาหารเติม $NaNO_3$ และไม่เติม $NaNO_3$ มีการสร้าง heterocyst ที่แตกต่างกัน ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ 40X 65

ภาพที่ 47 ปริมาณแสงจากหลอดแสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณน้ำหนักสด 67

ภาพที่ 48 ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* MTR ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง 68

ภาพที่ 49 ผลิตภัณฑ์ เยลลี่ คาเวียร์ และผงโรยข้าว จากสาหร่าย *N. commune* 71

ภาพที่ 50 การสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ จากสาหร่าย *N. commune* MTR ... 72

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

การเลือกบริโภคอาหารของผู้บริโภคในปัจจุบันเน้นให้ความสำคัญต่อการบริโภคโดยคำนึงถึงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารมากขึ้นเพื่อให้การบริโภคอาหารเป็นแนวทางในการป้องกันและดูแลสุขภาพมากกว่าการรักษาด้วยยาที่มีราคาแพงและอาจส่งผลข้างเคียงต่อร่างกาย อีกทั้งประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพทางด้านพืช สัตว์ โดยเฉพาะสาหร่ายที่มีความหลายหลากทั้งในน้ำจืด และน้ำเค็ม การศึกษาที่มีการนำสิ่งมีชีวิตมาเพื่อตอบสนองเรื่องนี้จึงเพิ่มมากขึ้น การวิจัยเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและเพิ่มความบริสุทธิ์จึงเป็นแนวทางที่ให้ประโยชน์ต่อการนำผลผลิตไปใช้อย่างสูงสุด สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายและมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง อีกทั้งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีการเจริญเติบโตเร็วและสามารถควบคุมปัจจัยได้ทั้งในระบบเปิดและระบบปิด มีการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ในหลากหลายด้าน ด้านพลังงานทดแทน เช่น *Botryococus, Chlorella, Spirogyra* และ *Spirulina* ด้านการเกษตร เช่น นำมาผลิตปุ๋ยเพื่อลดต้นทุนในการผลิต เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ และผลิตเป็นอาหารปลา ด้านสิ่งแวดล้อม ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำเพื่อให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้น เช่น สาหร่ายไส้ไก่ (Ulva) ด้านการผลิตเครื่องสำอาง เช่น เป็นส่วนผสมในครีมบำรุงผิว ด้านอาหารนอกจากการรับประทานสดและการแปรรูป เช่น เป็นอาหารว่างที่นิยมบริโภค ที่ผลิตในประเทศและนำเข้าจากจีน ญี่ปุ่น และเกาหลี ทั้งสาหร่ายทะเล และสาหร่ายน้ำจืด สาหร่ายสีน้ำตาล (Laminaria) และสาหร่ายสีแดง (Porphyra) หรือที่นิยมเรียกว่าจีฉ่าย มาทำอาหารพวกแกงจืด ในส่วนของอุตสาหกรรมอาหารนั้นนำคุณสมบัติของสารกลุ่มไฟโคบิลิโปรตีน นำมาใช้ผลิตเป็นสีผสมในอาหาร เช่น ไอศครีม ลูกอม นมเปรี้ยว เครื่องดื่มต่าง ๆ ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ พบว่า สาหร่ายทะเลเป็นแหล่งโปรตีน ไอโอดีนและใยอาหารที่ดี สำหรับสาหร่ายน้ำจืดนิยมนำมาอัดเม็ดบรรจุขวดมีราคาค่อนข้างแพง คุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญในสาหร่ายน้ำจืด คือ โปรตีน วิตามิน เกลือแร่ โดยเฉพาะเบต้าแคโรทีน แต่สาหร่ายน้ำจืดจะไม่เป็นแหล่งของไอโอดีน (นุชนาถุ และคณะ, 2555) โดยสามารถนำมาใช้ได้โดยตรง หรือการสกัดและแปรรูปที่ได้มาจากธรรมชาติ

สาหร่าย *Nostoc commune* เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีคุณค่าทางโภชนาการประกอบด้วย คลอโรฟิลล์ *เอ* วิตามิน ไฟโคไซยานิน ไฟโคอิริธริน แคโรทีนอยด์ รวมถึงกรดอะมิโนที่จำเป็น

ดังนั้นการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทั้งทางด้านการเกษตรใช้เป็นแหล่งเพิ่มไนโตรเจนให้กับดิน เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ อีกทั้งสามารถผลิตเป็นอาหารที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง มีโปรตีน 20.84 กรัม (กรัม/100 กรัม) วิตามินบี 1 0.43 แคลเซียม 1.54 เหล็ก 0.37 มีวิตามินเอ จากการเพาะเลี้ยงสูงถึง 21.40 ไมโครกรัม/100 กรัม ซึ่งมากกว่าในธรรมชาติมาก (2.31) เท่า กรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid) ถึง 17 ชนิด (อาภารัตน์ และคณะ, 2548)

การบริโภคสาหร่าย *N. commune* ชาวบ้านนิยมเก็บไปทำลาบจึงได้ชื่อประจำท้องถิ่นว่า “เห็ดลาบ” เป็นในรูปผลิตภัณฑ์อาหารคาว อย่างไรก็ตามสาหร่ายเห็ดลาบมีคุณสมบัติที่ดีกว่าสาหร่ายหลายชนิดที่นำมาบริโภค คือ ไม่มีกลิ่นคาว ทำให้ชาวบ้านนิยมเก็บไปบริโภคเป็นประจำทุกปีในฤดูฝน เพื่อก่อให้เกิดการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากสาหร่ายเห็ดลาบอย่างยั่งยืน ทางศูนย์จุลินทรีย์ (ศจล) วว. จึงร่วมกับคณะวิทยาศาสตร์ มมส. ทำการวิจัยและพัฒนาต่อยอดภูมิปัญญาท้องถิ่น โดยได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (BRT) (สกว. – ศช.) ในการศึกษาข้อมูลพื้นฐานสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดลาบ และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร (อาภารัตน์ และคณะ, 2548) แต่มีข้อเสียคือ เมื่อเป็นอาหารคาวจะเก็บรักษาได้ไม่นาน ต้องรับประทานสด ดังนั้นทางเลือกในการแก้ปัญหาดังกล่าว อาจใช้แนวทางการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอื่น ๆ งานวิจัยนี้จึงศึกษาข้อมูลและแนวทางที่จะใช้สาหร่ายชนิดนี้มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือก เช่น คาเวียร์ ผงโรยข้าว และเยลลี่ โดยใช้สูตรการเตรียมผลิตภัณฑ์ดั้งเดิม และเพิ่มสาหร่าย *N. commune* และดำเนินออกแบบสอบถามความพึงพอใจ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับการต่อยอดต่อไป

ด้านการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* มีการควบคุมปัจจัยการผลิตอย่างมีประสิทธิภาพ เช่น ชนิดของแสง สูตรอาหาร อุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส ที่เหมาะสม นอกจากจะควบคุมความปลอดภัยจากการปนเปื้อนแล้ว ยังสามารถเพิ่มคุณค่าของสารสำคัญในสาหร่ายให้เพิ่มขึ้น เพื่อสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารปลอดภัยต่อไป เนื่องจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ทีมีคุณภาพและนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารในประเทศไทยยังมีไม่มากนัก จึงเป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณภาพต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดแยกสาหร่าย *N. commune* สายพันธุ์บริสุทธิ์จากธรรมชาติ
2. เพื่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการภายใต้สภาวะการควบคุมปัจจัยในระบบปิด
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สาหร่ายเสริม *N. commune*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สายพันธุ์สาหร่าย *N. commune* ที่บริสุทธิ์จากแหล่งธรรมชาติ
2. ได้สูตรอาหารและสภาวะเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ที่มีการเพิ่มคุณค่า
3. ได้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย *N. commune* ที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภค

ขอบเขตของการวิจัย

1. ใช้สายพันธุ์สาหร่าย *N. commune* จากแหล่งธรรมชาติ ในพื้นที่ ตำบลสันมหาพน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่
2. การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในการผลิตภัณฑ์อาหาร จากสาหร่าย *N. commune* โดยการเพาะเลี้ยงในระบบปิด

นิยามศัพท์เฉพาะ

การศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยได้กำหนดความหมายของคำบางที่ใช้ในงานวิจัย ดังต่อไปนี้

1. การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ หมายถึง การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเพิ่มสารประกอบสำคัญในสาหร่าย *N. commune* เช่น ไฟโคยานิน (phycocyanin) โดยการใช้ความแตกต่างของชนิดของแสง ความเข้มข้นของแสง เป็นตัวควบคุมปัจจัยการเพิ่มขึ้นของสารประกอบสำคัญ
2. อาหารปลอดภัย หมายถึง การตรวจสอบมาตรฐานความปลอดภัยของสาหร่ายและผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย *N. commune* ตามมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
3. ระบบปิด หมายถึง ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมปัจจัย เช่น อาหาร อุณหภูมิ แสง ความเป็นกรด-เบส ค่า pH เพื่อป้องกันการปนเปื้อน

บทที่ 2
ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

การวิจัยครั้งนี้มุ่งศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ อาทิ เช่น โปรตีน ไฟโคไซยานิน โพลิแซคาไรด์ โดยการใช้ปัจจัยของแสง ในการเพิ่มสารสำคัญในสาหร่าย เพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเป็นการเพิ่มมูลคุณค่าให้กับสาหร่าย ดังนั้นผู้ทำการวิจัยจึงศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

1. สาหร่าย
2. การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย
3. สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue - green Algae)
4. สาหร่ายในสกุล *Nostoc*
5. คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Nostoc*
6. ปัจจัยที่มีผลคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Nostoc*

สาหร่าย

สาหร่าย หมายถึง สิ่งมีชีวิตชั้นต่ำลักษณะคล้ายพืช ตรงกับภาษาอังกฤษว่า algae และภาษาละตินว่า phykos เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดตั้งแต่เล็กมาก ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า จนถึงขนาดใหญ่ที่มองเห็นด้วยตาเปล่า โดยมีส่วนที่คล้าย ราก ลำต้น และใบ รวมเรียกว่า ทัลลัส (Thallus) ซึ่งส่วนใหญ่จะมีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์แสง (ยุวดี, 2549)

การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย

การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย มีจัดจำแนกหมวดหมู่สาหร่ายจากนักวิทยาศาสตร์หลายคนที่แตกต่างกันออกไปเรียบเรียงจาก กาญจนภาชน์ (2527 อ้างใน ยุวดี, 2549) โดยการจัดสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่ ได้เริ่มมาตั้งแต่ ค.ศ. 1754 โดย Linnaeus ได้เริ่มตั้งชื่อสาหร่ายตามวิธีการตั้งชื่อสาหร่ายตามวิธีการตั้งชื่อทางวิทยาศาสตร์ ดังนี้

ปี ค.ศ. 1754 Carl Linnaeus ได้จัดสาหร่ายไว้ใน Class Cryptogamia Order Algae ซึ่งเป็นคนแรกที่ตั้งชื่อพืชชั้นต่ำ ชนิดนี้ว่า Algae

ปี ค.ศ. 1978 Antonie de Jussieu ได้จำแนกพืชออกเป็น 3 Subdivision คือ Acotyledon, Monocotyledon และ Dicolyledon และ จัดสาหร่ายไว้ใน Subdivision Acotyledon หมายถึง พืชที่ไม่มีใบเลี้ยง

ปี ค.ศ. 1838 F.J.A.N Unger ได้รวมสาหร่าย ไลเคน (lichen) และเห็ดรา (fungi) เข้าด้วยกันใน Division Thallophyta ซึ่งหมายถึง พืชที่ไม่ส่วนของลำต้น ใบ อย่างชัดเจน ส่วนที่คล้ายใบและลำต้นรวม เรียกว่า ทัลลัส (Thallus) และ ไซโกท (Zygote) ยังไม่มีการพัฒนาเป็น เอ็มบริโอ (embryo) ซึ่งเป็นการจัดที่คล้ายคลึงกับ August Wilhelem Eichler ในปี ค.ศ. 1883

ตามระบบระบบของ Copeland ได้จำแนกสิ่งมีชีวิตออกเป็น 4 อาณาจักร คือ อาณาจักรมอนเนอรา (Kingdom Monera) อาณาจักรโปรติสตา (Kingdom Protista) อาณาจักรไมตาไฟตา (Kingdom Mataphyta) และอาณาจักรเมตาซัว (Kingdom Metazoa) สาหร่ายจะจัดอยู่ใน 2 อาณาจักรแรก คือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue - green Algae) จัดอยู่ในอาณาจักรมอนเนอรา (Kingdom Monera) ได้แก่ สิ่งมีชีวิตพวกโพรแคริโอต (morphous) ส่วนสาหร่ายอื่น ๆ ทั้งหมดจัดในอาณาจักรโปรติสตา (Kingdom Protista) ได้แก่ สิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอต (eukaryote) สิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ส่วนมากเป็นเซลล์เดี่ยว ที่สามารถทำหน้าที่ได้อย่างครบถ้วน บงชนิดมีหลายเซลล์แต่จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่ทำหน้าที่เฉพาะอย่าง

ส่วนระบบของ Whittaker ได้แบ่งอาณาจักรสิ่งมีชีวิตออกเป็น 5 อาณาจักร ได้แก่ อาณาจักรมอเนอรา (Kingdom Monera) อาณาจักรโปรติสตา (Kingdom Protista) อาณาจักรฟังไจ (Kingdom Fungi) อาณาจักรพืช (Kingdom Plantae) และอาณาจักรสัตว์ (Kingdom Animalia) โดยจัดสาหร่ายไว้ในอาณาจักรต่าง ๆ ดังนี้

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จัดอยู่ในอาณาจักรโมเนอราเช่นเดิม

สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง (Yellow Green Algae) สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง (Golden Algae) ไดอะตอม (Diatoms) ไดโนแฟลเจลเลต (Dinoflagellates) ยูกลีนอยด์ (Euglenoids) และคริพโตโมแนดส์ (Cryptomonads) จัดอยู่ในอาณาจักรโปรติสตา

สาหร่ายสีเขียว (Green Algae) สาหร่ายไฟ (Stoneworts) สาหร่ายสีน้ำตาล (Brown Algae) และสาหร่ายสีแดง (Red Algae) อยู่ในอาณาจักรพืช

ปี ค.ศ. 1985 Bold and Wynne จำแนกสาหร่ายทั้งหมดออกเป็น 9 Division ดังนี้

1. Division Cyanophyta	ได้แก่ พวกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
2. Division Chlorophyta	ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว
3. Division Charophyta	ได้แก่ สาหร่ายไฟ
4. Division Euglenophyta	ได้แก่ สาหร่ายยูกลีนอยด์
5. Division Phaeophyta	ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาล

6. Division Chrysophyta	ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง และไดอะตอม
7. Division Pyrrhophyta	ได้แก่ สาหร่ายสีไดโนแฟลเจลเลต
8. Division Cryptophyta	ได้แก่ สาหร่ายสีคริพโตโมแนดส์
9. Division Rhodophyta	ได้แก่ สาหร่ายสีแดง

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green Algae)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เป็นสิ่งมีชีวิตพวกแรกที่เกิดขึ้นบนโลกเมื่อ 4,500 ล้านปี ตั้งแต่มหายุคพรีแคมเบรียน ส่วนสาหร่ายสีเขียวพบในยุคแคมเบรียน เมื่อ 600 ล้านปีมาแล้ว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue - green algae) นอกจากนี้ยังมีชื่อสามัญอีกชื่อว่า Cyanobacteria (Carr and Whitton, 1973) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นพืชชั้นต่ำ ที่เรียกว่า โปรคาริโอต (prokaryotic cell) ซึ่งจัดรวมอยู่ในพวกเดียวกับแบคทีเรีย แต่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีคลอโรฟิลล์ *a* จึงสามารถสังเคราะห์แสงได้ และมีออกซิเจนซึ่งเกิดขึ้นจากการสังเคราะห์แสงด้วย ซึ่งคุณสมบัตินี้ไม่พบในพวกแบคทีเรีย สาหร่ายกลุ่มนี้ไม่มีการสืบพันธุ์แบบมีเพศ สามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศได้ เปลี่ยนสีของเซลล์ได้ สามารถขึ้นได้ทั่วทุกแห่งในโลก ทั้งน้ำจืด น้ำทะเล น้ำพุร้อน เป็นสาหร่ายที่มีจำนวนชนิดมากที่สุดถึง 7,500 สปีชีส์หรืออาจมากกว่านี้ (Chapman and Chapman, 1975) ส่วนใหญ่เป็นพวกที่อยู่ในน้ำจืด และพบในน้ำทะเลและน้ำกร่อยบ้าง สาหร่ายพวกนี้มีความสามารถทนต่อสภาวะแห้งแล้ง ซึ่งไม่มีพืชอื่นเจริญได้เลย แม้แต่ดินในทะเลทราย สาหร่ายพวกนี้ก็สามารถเจริญได้ สำหรับในน้ำทั่วไปนั้นสาหร่ายสามารถเจริญได้ในน้ำที่มีสภาพเป็นกลางหรือด่างเล็กน้อย ในน้ำที่ pH 4.5 จะไม่มีสาหร่ายชนิดนี้อยู่ (กาญจนภาชน์, 2527)

ลักษณะทั่วไป (ยุวดี, 2549; ลัดดา, 2542)

1. รงควัตถุ สารสีสำหรับการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประกอบด้วย

1.1 คลอโรฟิลล์ *a* (Chlorophyll *a*) เป็นสารสีเขียว จัดเป็นสารสีสำหรับสังเคราะห์แสงเบื้องต้น (primary photosynthetic pigment) สามารถดูดแสงได้ด้วยตนเอง มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ เป็นรงควัตถุหลักในคลอโรพลาสต์รวมอยู่กับโปรตีนกับไขมันของเยื่อคลอโรพลาสต์ มีคุณสมบัติในการดูดแสงสีแดงและน้ำเงิน สะท้อนแสงสีเขียว

1.2 แคโรทีนอยด์ (carotenoids) เป็นสารสีประกอบ (accessory pigments) มีสีเหลืองและสีส้ม แคโรทีนอยด์ จะดูดซึมแสงสีน้ำเงินและสีเขียวในช่วงความยาวคลื่น 400 – 550

นาโนเมตร และสะท้อนแสงสีเหลืองและแดงให้ผ่านออกมา จึงเห็นเป็นสีเหลือง ส้ม หรือแดง แคโรทีนอยด์ อยู่ในเนื้อเยื่อคลอโรพลาสต์กับคลอโรฟิลล์ ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประกอบด้วย

1.3 เบตา - แคโรทีน (β-carotene) มีสีส้ม เป็นสารสีจำพวกไฮโดรคาร์บอน ที่ไม่มีออกซิเจน

1.4 แซนโธฟิลล์ (xanthophyll) มีสีเหลือง เรียกว่า แคโรตินอล (carotenol) หรือออกซิแคโรทีน (oxycarotene) ซึ่งเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีออกซิเจนเพิ่มเข้ามา โดยเป็นหมู่ไฮดรอกซิลล์ (-OH) ได้แก่ มิกโซแซนธิน (myxoxanthin) และ มิกโซแซนโทฟิลล์ (myxoxanthophyll)

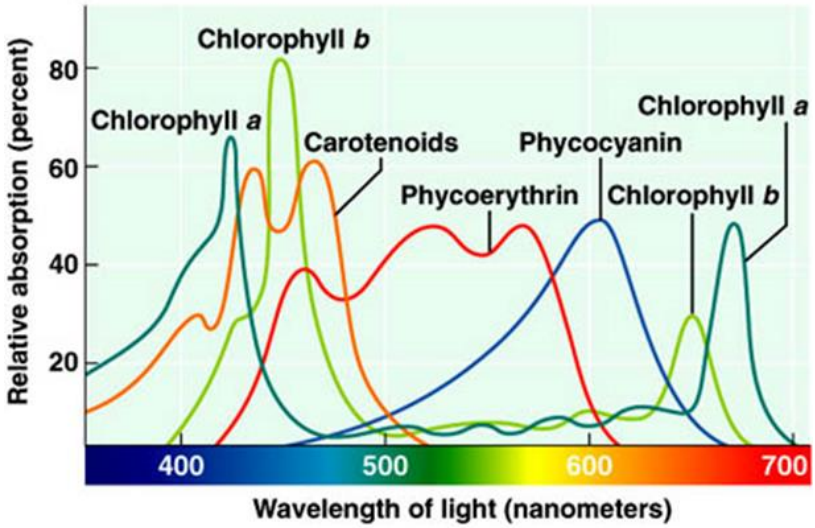
1.5 ไฟโคบิโลโปรตีน (phycobiloprotiens) เป็นสารประกอบเชิงซ้อน รวมอยู่กับโปรตีน พบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีแดงเท่านั้น ไฟโคบิโลโปรตีน มี 3 ชนิด ประกอบด้วย

1.5.1 ซี - ไฟโคไซยานิน (c-phycocyanin) และ อัลโลไฟโคไซยานิน (allophycocyanin) เป็นรงควัตถุสีน้ำเงิน ดูดแสงช่วงคลื่นที่ยาวกว่ารงควัตถุสีแดง

1.5.2 ซี - ไฟโคอิริธริน (c-phycoerythrin) มีสีแดง โดยดูดกลืนแสงสีเขียวเหลือง ซึ่งคลอโรฟิลล์ไม่ดูด

ไฟโคบิโลโปรตีน เป็นสารสี ที่ทำหน้าที่ถ่ายทอดพลังงานรังสีให้แก่ คลอโรฟิลล์ *a* โดยไฟโคอิริธรินทำหน้าที่เป็นตัวรับแสงแล้วส่งต่อไปให้ ไฟโคไซยานินแล้วส่งต่อไปให้คลอโรฟิลล์ *a*

การที่สาหร่ายชนิดนี้มีทั้งคลอโรฟิลล์ และซี - ไฟโคไซยานิน จึงทำให้มองเห็นเป็นสีเขียวแกมน้ำเงิน ถ้าสาหร่ายชนิดไหนมีซี - ไฟโคอิริธรินมาก อาจมองเห็นเป็นสีแดงปนอยู่ด้วย สัดส่วนของรงควัตถุแตกต่างกันไปในแต่ละชนิด ทำให้สาหร่ายชนิดนี้มีสีที่แตกต่างกันออกไป เช่น มีตั้งแต่สีเขียวไปจนถึงดำหรือแดง และสีที่เป็นกึ่งกลางของสีเหล่านี้



ภาพที่ 1 การดูดกลืนแสงของรงควัตถุในแต่ละช่วงคลื่นแสง

ที่มา: Mallery et al. (2007)

ลักษณะพิเศษ (ยุวดี, 2549)

1. การเคลื่อนที่ (movement of motility) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นสาหร่ายที่เคลื่อนที่ได้โดยไม่ต้องอาศัยแฟลเจลลัม ส่วนมากอยู่ใน Family Oscillatoriaceae แต่สาหร่ายพวกอื่น ๆ เช่น *Oscillatoria*, *Trichodesmium*, *Spirulina*, *Arthrospira*, *Microcoleus*, *Aphanizomenon* และ *Cylindrospermum* พวกเซลล์เดี่ยวที่เคลื่อนที่ได้ เช่น *Synechococcus, Gloeotheca, Chroococcus* และ *Microcystis*

2. การเปลี่ยนสี (chromatic adaptation) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีความพิเศษที่ต่างจากสาหร่ายชนิดอื่นคือ ความสามารถเปลี่ยนสีได้ การเปลี่ยนสีขึ้นอยู่กับความยาวคลื่นแสง (wavelength) และความเข้มของแสง (intensity) Gaidukov ได้ตั้งสมมุติฐานเรียกว่า “Gaidukov phenomenon” อธิบายว่า สาหร่ายสามารถเปลี่ยนสีได้เมื่อเลี้ยงในที่มีแสงสีต่าง ๆ กัน ทำให้สาหร่ายสร้างรงควัตถุที่ต่างกันและมีปริมาณมากน้อยต่างกัน Gaidukov ได้ใช้ *Oscillatoria* ทดลองโดยให้แสงสีเขียว สาหร่ายชนิดนี้จะมีสีแดง เพราะสีเขียวไปกระตุ้นการสร้างรงควัตถุสีแดงพวกไฟโคอิริธริน ถ้าเลี้ยงในแสงสีแดงจะทำให้สาหร่ายมีสีน้ำเงินมากขึ้น เพราะแสงสีแดงกระตุ้นให้สร้างไฟโคไซยานิน ซึ่งเป็นรงควัตถุสีน้ำเงิน การทดลองให้ความเข้มข้นของแสงต่างกัน พบว่าถ้าให้ความเข้มของแสงสูง สาหร่ายจะมีสีน้ำเงิน ถ้าความเข้มข้นของแสงต่ำจะเป็นสีแดง ซึ่งตรงกับความเป็นจริงตาม

ธรรมชาติที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ขึ้นในระดับน้ำลึก ๆ จะมีสีแดงหรือสีม่วง ส่วนที่ขึ้นอยู่ผิวหน้าน้ำ หรือผิวดินจะมีสีน้ำเงินเข้ม

3. การตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้พวกเซลล์เดี่ยว ได้แก่ *Gloeocapsa* ถ้าเป็นโคโลนี ได้แก่ *Aphanothece* ถ้าเป็นพวกเส้นสาย ได้แก่ *Nostoc, Anabaena, Microcoleus, Cylindrospermum, Anabaenopsis, Calothrix, Mastigocladus, Cylindrospermopsis* และ *Tolypothrix* การตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายพวกนี้ต้องอยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจน แต่ *Synechococcus* บางสปีชีส์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนในสภาวะที่ไม่มีไนโตรเจน

4. การอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น (symbiosis) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินแบบพึ่งพาอาศัยกันหรืออาจได้ประโยชน์เพียงฝ่ายเดียวก็ได้ เช่น พวกไบรโอไฟต์ จะพบ *Nostoc* และ *Anabaena* บางชนิดอยู่กับแหนแดง (Azolla) หรือ อาจพบ *Nostoc* ในปรง (cycads) ซึ่งเป็นพวก จิมโนสเปอร์ม ในไลเคน (Lichen) พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายชนิด เช่น *Rivularia* และ *Dichothrix* เป็นต้น

5. การก่อให้เกิดวอเตอร์บลูม (water bloom) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่ทำให้เกิดวอเตอร์บลูมมักเป็นพวกแพลงก์ตอนพืช พวกเซลล์เดียว เช่น *Mycrocystis* พวกเส้นสาย เช่น *Anabaenopsis*, *Anabaena, Aphanizomenon*, *Nostoc*, Nodularia, Spirulina, Oscillatoria, *Gloeotrichia* เป็นต้น

6. ความสามารถในการทนต่อสภาพอุณหภูมิสูงและต่ำมาก ๆ ได้ เนื่องจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีชีททหนา และโมเลกุลของโปรตีนภายในโปรโตพลาสซึมจับตัวกันแน่น จึงช่วยให้สาหร่ายชนิดนี้มีความทนทานต่ออุณหภูมิที่สูงหรือต่ำกว่าปกติได้ ซึ่งในบริเวณอุณหภูมิต่ำ เช่นบริเวณขั้วโลกในทะเลสาบ บริเวณทวีปแอนตาร์คติก พบ *Phormidium* ในทวีปแอนตาร์คติกพบ *Calothrix* และ *Rivularia* ในสภาพที่เป็นน้ำเค็ม ส่วนในน้ำจืดพบ *Gloeocapsa* และ *Nostoc* ส่วนในที่อุณหภูมิ 71 - 91 องศาเซลเซียส พบ *Anacystis*

ความต้องการธาตุอาหาร (ยุวดี, 2549)

ธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการในการเจริญเติบโตคล้ายกับพืชชั้นสูง แต่มีความต้องการธาตุอาหารบางตัวที่แตกต่างไปจากพืช

ธาตุอาหารที่ต้องการปริมาณมาก (macronutrient elements) เช่น คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และซัลเฟอร์

ธาตุอาหารที่ต้องการปริมาณน้อย (micronutrient elements) เช่น เหล็ก คลอไรด์ แมงกานีส โบรอน ทองแดง โมลิบดินัม และสังกะสี

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น *Anabaena, Anacystis, Nostoc* ต้องการโซเดียมในการเจริญเติบโต นอกจากนี้สาหร่ายยังต้องการสารอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น วิตามิน บี1 วิตามิน บี12 และไบโอติน เป็นต้น

สาหร่ายในสกุล *Nostoc*

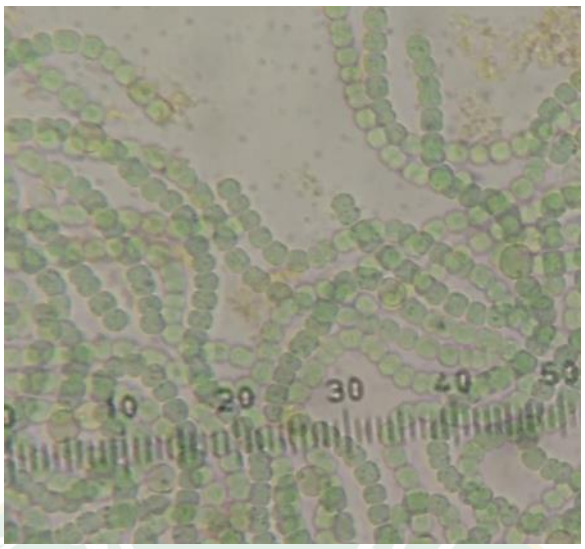
อนุกรมวิธานของสาหร่ายในสกุล *Nostoc* ตามวิธีการจำแนกของ Desikachary (1959)

Division : Cyanophyta
Order : Nostocales
Family : Nostocaceae
Genus : *Nostoc*

อนุกรมวิธาน สาหร่าย *Nostoc commune* Voucher (Desikachary, 1959)

Division : Cyanophyta
Order : Nostocales
Family : Nostocaceae
Genus : *Nostoc*
Species: *commune*

สาหร่าย *N. commune* Vouche จัดเป็นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (blue - green algae, cyanobacterium) ที่มีทัลลัส (thallus) ห่อหุ้มด้วยเจล (Gelatinous Sheet) รูปร่างกลมในระยะแรก จากนั้นขยายเป็นแผ่นลักษณะเป็นลูกคลื่น มีเส้นผ่าศูนย์กลางหลายขนาด มีสีน้ำเงินแกมเขียว สีเขียวมะกอก หรือสีน้ำตาล มีเมือกหุ้ม เส้นสายมีความยืดหยุ่น พันกันยุ่งเหยิง มีลักษณะเป็นโคโลนีและมีเมือกห่อหุ้มขณะยังอ่อน (colony mucilaginous or gelatinous globuse or morphous when young.) เมื่อแก่จะมีลักษณะกลม (Globus or hollow) เซลล์กว้าง 4.5 - 6 ไมครอน รูปร่างเซลล์คล้ายถังเบียร์ (barrel – shape) (Desikachary, 1959)



ภาพที่ 2 สาหร่าย *N. commune* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 40X

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

1. การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Nostoc*

การใช้เป็นอาหารสาหร่ายชนิดนี้มีลักษณะเป็นแผ่นวุ้นแบนบางคล้ายเห็ดหูหนูสีเขียวที่ขึ้นบนดินและชาวบ้านนิยมเก็บไปทำลาบ จึงได้ชื่อประจำท้องถิ่นว่า “เห็ดลาบ” นอสตอค (*Nostoc commune* ; “ไข่หิน”, “ดอกหิน”, “เห็ดลาบ” (ไทย), “Koxianmi” (จีน) “Ishikurage” (ญี่ปุ่น); N. flagelliforme; “Fat tsai”, “Facai”, “Shi” (จีน) ; *Nostoc* spp., “Star shot”, “Star jelly”, “Witches’ butter”, “Fairies’ butter” (ยุโรป) เป็นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่มีการเจริญเติบโตแบบเป็นเส้นสายมีเมือกห่อหุ้ม บางชนิดดูคล้ายก้อนเยลลี่ ชนิดที่นิยมบริโภคมาก คือ *Nostoc commune* มีการบริโภคในหลายประเทศทั่วโลก เช่น โบลิเวีย เอควาดอร์ ฟิจิ อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น เมกซิโก มองโกเลีย และจีน โดยชาวจีนนิยมนำมาทำเป็นขนมหวาน ส่วน *Nostoc flagelliforme* เป็นอาหารที่มีราคาแพงซึ่งชาวจีนนิยมบริโภคเพื่อความเป็นสิริมงคลในวันขึ้นปีใหม่สำหรับประเทศไทยในอดีตเคยมีการบริโภคนอสตอคโดยรู้จักกันในชื่อ “ไข่หิน” หรือ “ดอกหิน” แล้ว ยังมีสาหร่ายที่มีลักษณะเป็นเยลลี่คล้ายนอสตอค แต่เมื่อดูใต้กล้องจุลทรรศน์จะพบว่าเป็นเส้นสายที่มีการแตกแขนง ชาวบ้านในจังหวัดน่านนิยมนำมาบริโภคเพื่อแก้อาการร้อนใน โดยเรียกสาหร่ายชนิดนี้ว่า “ลอน” (*Nostochopsis* sp.) ส่วน “เห็ดลาบ” เป็นสาหร่าย *N. commune* ที่บริโภคได้ของประเทศที่เพิ่งมีการเปิดตัวโดยพบในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าดูนลำพันซึ่งเป็นป่าที่มีระบบนิเวศที่มีลักษณะเฉพาะตัวของอำเภอนาเชือก จังหวัดมหาสารคาม โดยการสำรวจของ ดร. อุษา กลิ่นหอม คณะ

วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พบว่าประชาชนในพื้นที่เก็บเห็ดลาบซึ่งเจริญเติบโตได้รวดเร็วในช่วงฤดูฝนมาบริโภค ส่วนชื่อ “เห็ดลาบ” นั้น ได้มาจากลักษณะของสาหร่ายที่เป็นแผ่นวุ้นสีเขียวคล้ายเห็ดหูหนู และการที่ชาวบ้านนิยมนำมาบริโภคโดยการทำเป็นลาบ วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่าย “เห็ดลาบ” (*N. commune*, Cyanophyta) (อาภารัตน์ และคณะ, 2548)

การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Nostoc* ในประเทศจีนมีการนำสาหร่าย *Nostoc* มาใช้เป็นเวลานานมาก บางชนิดยังใช้เป็นยารักษาโรคเกาต์และมะเร็ง (Chu and Tsang, 1988) นอกจากนี้แล้ว (Huang *et al.*, 1998) รายงานว่า สาหร่าย *Nostoc sphearoides* Kützing ในประเทศจีนมีการใช้เป็นอาหารและใช้เป็นยาอย่างยาวนาน และในตำราแพทย์แผนจีนนำ *Nostoc commune* และ *Nostoc sphearoides* มาใช้เป็นยารักษาโรคตาบอดกลางคืน แผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก และใช้รักษาอาการเจ็บป่วยที่ไม่รุนแรงอีกด้วย

Chu and Tsang (1988 อ้างใน เจษฎา และคณะ, 2555) ได้รายงานการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในประเทศจีน พบว่า มีการนำ *N. commune* Vaucher เป็นอาหารมามากกว่า 400 ปี ในมณฑลเจียงซี และ กัวดอง รับประทานสาหร่ายในการป้องกันและรักษาสุขภาพ ในมณฑลซานซี กานสู และเฮเบ รับประทาน *Nostoc* เป็นอาหารสุขภาพ ส่วนสาหร่าย *Nostoc flagelliforme* นั้นมีกระจายอยู่ตามพื้นที่แห้งแล้งที่เป็นดินทราย ในเขตมณฑลกานสูนิเนียงซี ควิงไซ่ และมองโกเลีย

มีรายงานการวิจัยของ Sinha and Hader (1996) จากการใช้ประโยชน์ในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินโดยเฉพาะในนาข้าว โดยพบว่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น สาหร่าย *Nostoc* สามารถเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้ดีในพื้นที่แห้งแล้ง และกึ่งแห้งแล้งจะเป็นสาหร่ายที่มีเมือกหนาห่อหุ้ม ซึ่งเมือกจะมีความสำคัญในการก่อให้เกิดโครงสร้างของอนุภาคดินที่ดี รวมทั้งช่วยรักษาความชื้นในดินได้เป็นระยะเวลานาน นอกจากนี้ Sinha *et al.* (1995) ยังพบว่า สาหร่าย *Nostoc commune* เป็นสาหร่ายที่มีความทนทานต่อรังสีอัลตร้าไวโอเลตสูงกว่า สาหร่ายชนิดอื่นที่ไม่มีเมือกหุ้ม เช่น *Anabaena* sp.

2. คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย Nostoc

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ พบว่า สาหร่าย *N. commune* 100 กรัม ประกอบด้วย โปรตีน ประมาณ 20 % ไขมัน 1.56 % วิตามิน A, B1, B2 แคลเซียม เหล็ก กรดอะมิโนครบถ้วน (อาภารัตน์ และคณะ, 2548)

จากรายงานวิจัยของ ศรีประภา และคณะ (2557) ทำการคัดเลือกและนำสาหร่ายในพื้นที่ภาคเหนือ นำมาเพาะเลี้ยง พบว่า สาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* มีปริมาณโปรตีน 16.81 - 26.05 % คาร์โบไฮเดรต 32.40 - 65.55 %

จากรายงานการวิจัยของ Dai (1972) พบว่า สาหร่าย *Nostoc flagelliforme* ในประเทศจีน มีปริมาณ โปรตีน 21.3 % คาร์โบไฮเดรต 56 %

จากงานวิจัยของ Yang *et al.* (2011) ได้ศึกษาความเป็นพิษของสาหร่าย *N. commune* var. *sphearoides* Kutzing และ *Spirulina platensis* โดยศึกษาทั้งแบบ *in vitro* และ *in vivo* ผลการศึกษา ไม่พบสารพิษ microcystin ในสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด

ปัจจัยที่มีผลคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Nostoc*

จากงานศึกษาของ Ma *et al.* (2015) จากความเข้มข้นของแสงและคุณภาพของแสงที่มีต่อไฟโคบิลิโปรตีนในสาหร่าย *N. sphearoides* Kützing พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยแสงสีขาว ความเข้มแสง 90 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที หรือ แสงสีฟ้าความเข้มแสง 30 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที มีความเหมาะสมที่สุดที่ทำให้มีไฟโคบิลิโปรตีนเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ Han et al. (2014) พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Nostoc flagelliforme* ในช่วงคลื่นแสงสีแดงและแสงสีฟ้าทำให้ extracellular polysaccharide และ capsular polysaccharide เพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ Pandey and Pandey (2008)) ศึกษาการเลี้ยงสาหร่าย *Nostochopsis labutus* แบบมวลชีวภาพ พบว่า *Nostochopsis labutus* สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระสูง (46.12 µM AEAC) เมื่อทำการทดลองแบบ immobilized cell cultures สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระสูงถึง (46.12 µM AEAC) หากผสมฟอสฟอรัสและเหล็กลงไปไปเสริม พบว่า สี คุณค่าทางโภชนาการและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นมากที่ pH 7.8 ซึ่งการเสริมฟอสฟอรัสทำให้มี คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และการเจริญเติบโตของสาหร่ายดีกว่า ในขณะที่การเสริมเหล็กทำให้คุณค่าทางโภชนาการ ไฟโคไซยานิน ไฟโคอิริธริน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น

นอกจากนี้ ศรีประภา และคณะ (2557) ศึกษาปริมาณรงควัตถุในสาหร่าย *Nostoc* สดและแห้ง พบว่า โดยการเลี้ยงใน BG - 11 ที่ผสม Sodium alginate 5 % มีปริมาณแคโรทีนอยด์ สูงกว่าเลี้ยงโดยไม่ผสม Sodium alginate 5 %

นอกจากนี้ Das and Sarma (2015) ทำการศึกษาสูตรอาหาร BG - 11 สูตรดัดแปลง พบว่า สูตรอาหาร BG - 11 สูตรดัดแปลง ที่มีการเพิ่ม $NaNO_3$ 2.5 กรัม/ลิตร K_2HPO_4 0.08 กรัม/ลิตร $MgSO_4.7H_2O$ 0.095 กรัม/ลิตร และ NH_4Cl 0.015 กรัม/ลิตร ทำให้ชีวมวลและคลอโรฟิลล์ *เอ* เพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ เจษฎา และคณะ (2555) ทำการศึกษาพบว่า สาหร่ายเห็ดลาบหรือ *N. commune* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสูตรอาหาร BG -11 ดัดแปลง ซึ่งประกอบด้วย $K_2HPO_4.3H_20$ 20 มิลลิกรัม/ลิตร Na_2CO_3 20 มิลลิกรัม/ลิตร NaCl 200 มิลลิกรัม/ลิตร ยูเรีย 200 มิลลิกรัม/ลิตร รวมกับสารเคมีอื่น และ Trace metal mix A5 ตามสูตรพื้นฐาน ค่าความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 7.5 ค่าความเข้มแสงเท่ากับ 20 ไมโครไอสไตน์/ตารางเมตร/วินาที และปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 100 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)/ลิตร โดยมีชีวมวลเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 7.91 เท่าหลังจากทำการเพาะเลี้ยง 20 วัน

2.1 ปัจจัยแสงต่อการเจริญของสาหร่าย *N. commune* ปัจจุบันแสง LED ได้รับความนิยมมากขึ้นในการใช้เป็นแหล่งพลังงานและพบว่ามีประสิทธิภาพในการเจริญของพืชในระบบกึ่งปิด (Sakhonwasee *et al.*, 2017) การควบคุมความเข้มแสงและชนิดแสงที่เหมาะสมเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการเพาะเลี้ยงพวกสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สังเคราะห์ด้วยแสงได้ (Ugwu *et al.*, 2008)

2.2 ผลิตภัณฑ์เสริมสาหร่าย *N. commune* ด้วยคุณสมบัติที่ดีต่าง ๆ ของสาหร่ายเห็ดลาบดังกล่าวข้างต้นศูนย์จุลินทรีย์ วว. จึงได้ร่วมกับฝ่ายเทคโนโลยีอาหาร วว. และ มมส. ทำการต่อยอดภูมิปัญญาท้องถิ่นโดยพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดลาบทั้งอาหารคาว หวาน ขบเคี้ยว และเครื่องดื่ม อาหารคาว ได้แก่ ผงโรยข้าว (Thai daning, furikake), ลาบ, ซุปใส, ซุปเต้าหู้ และสาหร่ายแผ่นดองเปรี้ยว-เค็ม อาหารหวาน ได้แก่ วุ้นสาหร่าย (รสชาเขียว รสกะทิ) และเจลลี่สาหร่ายผลไม้ อาหารขบเคี้ยว ได้แก่ ทองแผ่นสาหร่าย (รสหวาน รสเค็ม) คุ้กกี้ ข้าวเกรียบ บิสกิต และสาหร่ายแผ่นปรุงรส เครื่องดื่ม ได้แก่ น้ำข้าวผสมสาหร่ายรสผลไม้ (สับปะรด กระเจี๊ยบ มะนาว) และน้ำมะนาวสูตรเห็ดลาบ นอกจากนี้ ศูนย์จุลินทรีย์ วว. ได้ประสบความสำเร็จในการอนุรักษ์สาหร่ายเห็ดลาบในระยะยาวโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -85 องศาเซลเซียส โดยใช้ไดเมทิลฟอกไซด์ 3 % เป็นสารป้องกันเซลล์ซึ่งจะทำให้สาหร่ายเห็ดลาบไม่สูญพันธุ์ในอนาคต และขณะนี้ วว. ร่วมกับ มมส. อยู่ในระหว่างการวิจัยพัฒนาเทคนิคเพื่อผลิตสาหร่ายเห็ดลาบเชิงการค้าต่อไป (อาภารัตน์ และคณะ, 2548)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บและการคัดแยกตัวอย่างสาหร่าย *N. commune* จากแหล่งธรรมชาติ

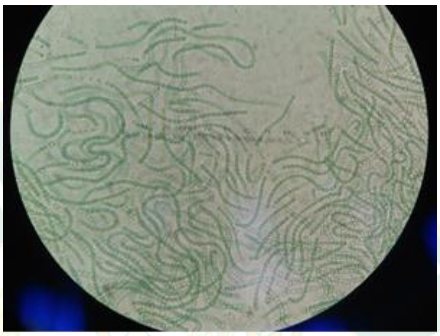
1. พื้นที่เก็บตัวอย่าง ได้สำรวจแหล่งที่มีการเจริญของสาหร่าย N. *commune* ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ พบมีการเจริญที่แม่น้ำแม่แตง อำเภอแม่แตง โดยมีลักษณะภูมิประเทศแม่น้ำแม่แตงมีความยาว 135 กิโลเมตร ต้นน้ำมาจากดอยบุกป่าแฝกขุนแม่แตงในอำเภอเวียงแหง ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ต้นน้ำชั้น 1 A ที่มีความลาดชันค่อนข้างสูง มีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลางอยู่ระหว่าง 705 – 1,760 เมตร ไหลผ่านอำเภอแม่แตงลงสู่แม่น้ำปิงฝั่งขวาที่ตำบลสันมหาพน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง แม่น้ำที่ไหลผ่านบริเวณเก็บตัวอย่างเฉลี่ย pH 8.3 ตลอดปี

2. การแยกเชื้อบริสุทธิ์ การเก็บและการคัดแยกตัวอย่างสาหร่าย N. *commune* โดยการเก็บตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติ บริเวณแม่น้ำแม่แตง ตำบลสันมหาพน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

ภาพที่ 3 ภาพแผนที่อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

ที่มา: กรมพัฒนาที่ดิน (2558)

การเก็บตัวอย่างสาหร่ายบริเวณริมตลิ่งที่มีความชื้นแฉะ เก็บใส่กระปุกพลาสติก เก็บรักษาในอุณหภูมิ 5 - 10 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูรูปร่างลักษณะ และขนาดของเซลล์สาหร่าย นำมาเปรียบเทียบกับตัวอย่างสาหร่าย *N. commune* TISTR 8160 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (วว.) และใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกตามวิธีการ (Desikachary, 1959)



ภาพที่ 4 สาหร่าย *Nostoc* ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 40X

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

1. คัดแยกสายพันธุ์เพื่อให้สายพันธุ์ *N. commune* บริสุทธิ์ โดยวิธีการ Pick up cell Technique โดยนำตัวอย่างสาหร่าย ล้างด้วยน้ำกลั่น ล้างด้วย Ethyl alcohol 10% และ Clorox 5 % และล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง ดูเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้หลอดหยดดูดเซลล์สาหร่ายมา 1 เส้นสาย (trichrome) นำมาเลี้ยงด้วยอาหาร BG-11 สูตรปรับปรุงในขวดไวออล ขนาด 20 มิลลิลิตร ภายใต้แสงสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสงประมาณ 40 µmol m-2s-1 ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส

2. คัดแยกเดี่ยว (single colony isolation) โดยเมื่อสาหร่ายเจริญ นำมาเขี่ยเชื้อบนอาหารวุ้นกึ่งแข็ง BG 11สูตรปรับปรุง โดยวิธีการขีดเชื้อ (Streak plate) เพื่อให้ได้เชื้อโคโลนีเดี่ยว และเก็บรักษาเป็น stock นำมาเปรียบเทียบกับตัวอย่างสาหร่าย *N. commune* TISTR 8160 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (วว.) ในระดับจีนัสใช้วิธีการเทียบลำดับเบสกับฐานข้อมูล พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Nostoc* sp. ในฐานข้อมูล 99% โดยสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกระดับชนิดตามวิธีการ (Desikachary, 1959)

3. การเพิ่มมวลสาหร่าย โดยการเพาะเลี้ยงเพิ่มมวลในระบบปิด ดังนี้

3.1 อาหารเพาะเลี้ยง ใช้สูตรดัดแปลง BG-11 สูตรดัดแปลง (Stanier *et al.*, 1971) ดังนี้

นำโคโลนีสาหร่าย N. commune มาเพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมปัจจัย เปรียบเทียบการเจริญเติบโต ระหว่างแสงสีขาว และแสงสีแดง 4 ทรีทเมนต์ 3 ซ้ำ โดยใช้อาหาร BG-11 สูตรดัดแปลง (Stanier *et al*., 1971) เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต และการไม่เติมอาหารไนโตรเจนเปรียบเทียบกับการเติม เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้ตรึงไนโตรเจนได้ การทดลองดังนี้

stock (1) $NaNO_3$ 25 g per litre

(2) K2HPO4 8.0 g per litre

(3) MgSO4.7H2O 9.5 g per litre

(4) CaCl2.2H2O 3.6 g per litre

(5) Citric acid 0.6 g per per litre

(6) Ammonium ferric citrate 0.6 g per litre

(7) EDTANa2 0.1 g per litre

(8) Na2CO3 2 g per litre

(9) NH4Cl. 1.5 g per litre

(10) Trace metal solution: per litre

H3BO3 2.86 g

MnCl2.4H2O 1.81 g

ZnSO4.7H2O 0.22 g

Na2MoO4.2H2O 0.39 g

CuSO4.5H2O 0.08 g

Co(NO3)2.6H2O 0.05 g

การเตรียม Medium per litre นำ stock แต่ละตัวมาผสมและปรับด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร ปรับ pH 7.1 ด้วย 1M NaOH หรือ HCl. อาหารแข็งใช้ เติมวุ้น 15.0 g per litre of Bacteriological Agar (Oxoid L11)*. Autoclave at 15 psi นาน 15 นาที. สัดส่วน stock ที่ใช้คือ

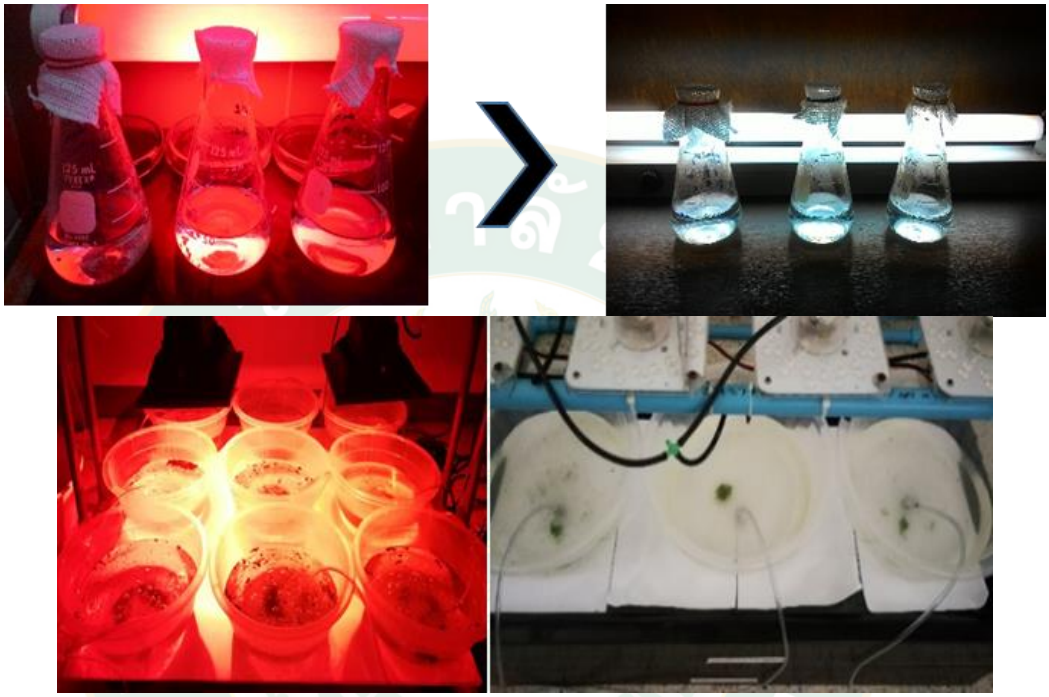
Stock solution 1 100.0 ml

Stock solutions 2- 8 อย่างละ 10.0 ml

Stock solution 9 จำนวน 1.0 ml

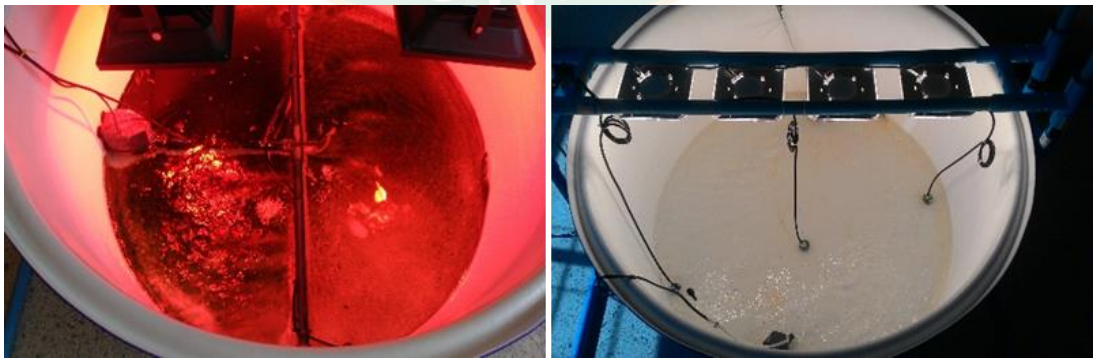
3.2 แสงและปัจจัยอื่น ๆ การเพิ่มมวล สาหร่าย *N. commune* มาเพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมปัจจัย เช่น แสง โดยเลือกใช้แสงสีแดงซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่สาร ไฟโครไซยานินต้องการ (ภาพ

ที่ 5) เทียบกับแสงรวมหรือแสงสีขาว แหล่งแสงสีขาว และแสงสีแดง ใช้จากหลอดไฟหลอดLED แสงสีขาว 6,500 Lux. แสงสีแดง ขนาด 840 Lux. ความเป็นกรด-เบส pH อุณหภูมิ อาหาร BG-11 สูตรปรับปรุง จำนวน 30 ลิตร ในอ่างพลาสติกขนาด 280 ลิตร และทำการเก็บเกี่ยว แล้วนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ



ภาพที่ 5 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีแดงและแสงสีขาว

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)



ภาพที่ 6 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีแดงและแสงสีขาว

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

3.3 การเจริญเติบโต วัดค่าการเจริญเติบโตในรูปน้ำหนักแห้ง โดยวิธีเก็บตัวอย่างกรองด้วยตาข่ายแพลงก์ตอนขนาดตา 18 ไมครอน นำตัวอย่างสดชั่งน้ำหนัก แล้วนำไปอบด้วยเครื่องอบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (°C) จนน้ำหนักคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง ชั่งน้ำหนักแห้งที่ได้

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการสาหร่าย *N. commune*

1. โปรตีน

การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Lowry's Method (Lowry et al., 1951) ใช้ตัวอย่างสาหร่าย *Nostoc commune* 1 ml. เติม 0.1N NaoH ให้ความร้อน 100 °C ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ ห้อง ใช้ 1 ml. เติมสารประกอบ reagent 2% Na2CO3 1% CuSO4 และ 2% Sodium potassium tartrate 1 ml. ทิ้งไว้ 10 นาที เติม Folin เขย่าและทิ้งไว้ 30-60 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 nm. เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน

2. ไฟโคไซยานิน (Boussiba and Richmond, 1979)

การสกัด Phycocyanin(Phycocycyaninextraction technologies) การสกัดไฟโคไซยานินโดยการนำสาหร่าย 40 มิลลิกรัม หลังการเพาะเลี้ยง 25 วัน เติม phosphate buffer pH 7 จำนวน 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ในตู้เย็น 24 ชั่วโมง Centrifugation ที่ 35000 rmp. 10 องศาเซลเซียส 5 นาที ไฟโคไซยานิน จะตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอด ใช้ Spectrophotometrically ความยาวคลื่นที่ 620 นาโนเมตร ใช้ buffer เป็น blank คำนวณค่าโดยแทนค่าในสูตร

$$\text{สูตรคำนวณ \% pure C - Phycocyanin} = \frac{A620x(10)(100)}{7.3x\ (mg.sample.)\ x\ (\%dry\ weight)}$$

หมายเหตุ 7.3 (Pure) หรือ 3.39 (Crude) คือ ค่าคงที่ CPC ที่ 620 nm, 10 เป็นค่าปริมาตรทั้งหมด

100 คือค่าหา ผลของปริมาณ Phycocyanin 100

สูตรคำนวณ % Crude Phycocyanin factor 3.39

3. แคโรทีนอยด์ การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ (KMUTT, 2001)

1. ใส่สาหร่าย *N. commune* แห้งปริมาณ 0.02 กรัม ลงในปีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติม 90 % ethanol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติม 60 % KOH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อตรึงเซลล์สาหร่าย จากนั้นนำไปทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องความถี่สูง 5 นาที

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

4. เทสารละลายสีเขียวที่ได้ลงใน Kjeldal Flask เติม Diethyl ether ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และ 9 % NaCl ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นสีเหลืองและสีใส โดยที่สารละลายสีใสจะอยู่ชั้นล่าง

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

6. นำสารละลายสีเหลืองใส่ลงในปีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย Diethyl ether จนได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Sodium sulphate anhydrous เพื่อเป็นการกำจัดน้ำที่เหลือ แล้วเทลงหลอดทดลองที่หุ้มด้วยกระดาษฟลอยด์ เพื่อป้องกันการถูกทำลายด้วยแสง

7. นำสารละลายสีเหลืองที่สกัดได้ไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร แล้วบันทึกผล

8. คำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์จากสูตร KMUTT (2001)

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์} = \frac{\text{A450 x 25 x1000} \quad \text{มิลลิกรัม/กรัมแห้งสาหร่าย}}{\text{260x น้ำหนักแห้งของสาหร่าย (มิลลิกรัม)}}$$

4. คลอโรฟิลล์ การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ *เอ* และ *บี* โดยวิธี (สัณห์, 2551)

ใช้สาหร่าย *N. commune* ปริมาณ 10 มิลลิกรัม นำมาสกัดด้วยอะซิโตนปริมาตร 20 มิลลิลิตร จนเนื้อเยื่อของสาหร่ายเปลี่ยนสีเป็นสีขาวใส จากนั้นนำมากรองกากออก และปรับปริมาตรของสารละลายด้วยอะซิโตนให้เป็น 30 มิลลิลิตร เทใส่ภาชนะบรรจุสารละลาย และจากนั้นหุ้มภาชนะบรรจุสารละลายคลอโรฟิลล์ด้วยกระดาษฟรอยด์เพื่อป้องกันการสูญเสียคลอโรฟิลล์จากการโดนแสง นำสารละลายคลอโรฟิลล์ที่สกัดด้วยอะซิโตน ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวช่วงคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* (*a*) และคลอโรฟิลล์ *บี* (*b*) จากสูตร สัณห์ (2551)

$$\text{คลอโรฟิลล์เอ } (a) = [12.7(OD663)-2.69(OD645)] \times \frac{V}{1{,}000\ xm}$$

$$\text{คลอโรฟิลล์บี } (b) = [22.9\ (OD645)-4.68(OD663)] \times \frac{V}{1{,}000\ xm}$$

V = ปริมาตรของสารละลายที่ตรวจวัดคลอโรฟิลล์

m = น้ำหนักตัวอย่าง

OD = ค่าการดูดกลืนแสง

การทดลองศึกษาผลของปัจจัยการเพาะเลี้ยงต่อการเจริญของสาหร่าย *N. commune*

1. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงต่อการเจริญของสาหร่าย *N. commune*
2. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงต่อการเจริญของสาหร่าย *N. commune* ในสภาวะที่มีการเติมสารอาหารไนโตรเจนและไม่เติม
    1) ปริมาณน้ำหนักสด
    2) ปริมาณน้ำหนักแห้ง
3. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงต่อสารไฟโคไซยานินในสาหร่าย *N. commune*
4. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงต่อโปรตีนในสาหร่าย *N. commune* ในสภาวะที่มีการเติมสารอาหารไนโตรเจนต่าง ๆ
5. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่าย *N.commune* ในสภาวะที่มีการเติมสารอาหารไนโตรเจนและไม่เติม
6. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงต่อคลอโรฟิลล์ *เอ* ในสาหร่าย *N. commune* ในสภาวะที่มีการเติมสารอาหารไนโตรเจนและไม่เติม
7. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงต่อคลอโรฟิลล์ *บี* ในสาหร่าย *N. commune* ในสภาวะที่มีการเติมสารอาหารไนโตรเจนและไม่เติม
8. การทดลองการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้การควบคุมแสงร่วมกับสารอาหารไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ

การตรวจความปลอดภัยด้านจุลินทรีย์ในสาหร่าย *N. commune*

ตามเกณฑ์มาตรฐานจุลินทรีย์ในอาหาร ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ก่อนและหลังนำสาหร่ายมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียรวม (Total plate count) การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราวม (Total Yeast and mold) การวิเคราะห์โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Total coliform) และ Total Fecal coliforms bacteria (*E.coli*)

1. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียรวม (Total plate count)

อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) ยี่ห้อ Merck

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปต 100 – 1000 ไมโครลิตร
2. เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (Minishaker ; Kika รุ่น MS- 1)
3. เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Colony Counter; Funke Gerber รุ่น 311530)
4. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave ; Tomy รุ่น SS-325)
5. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven รุ่น 500)
6. เครื่องอังไอน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath; Memmert รุ่น WB 22)
7. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 2 ตำแหน่ง (Balance ; Metler Toledo รุ่น PG 2002 - S)
8. ขวดลูกชมพู่ (Flask) ขนาด 250 และ 500 ml
9. หลอดทดลอง (Test tube)
10. จานเลี้ยงเชื้อ (Pettridish)
11. Pipette ขนาด 1, 5 และ 10 ml
12. ห่วงถ่ายเชื้อ (Loop)
13. เข็มเขี่ย (Needle)
14. กระบอกตวง (cylinder)
15. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
16. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
17. ถุงพลาสติก
18. เครื่องรีดถุงพลาสติก
19. เครื่อง Fruit hardness tester

สารเคมี

1. แอลกอฮอล์ 70 % และ 95 %

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่ง Plate count agar 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร บรรจุใสในขวด Duran ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

วิธีการวิเคราะห์

เตรียมสารละลายตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยใช้ช้อนสแตนเลสที่ฆ่าเชื้อแล้วตักใส่ถุงพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วสำหรับใช้ Stomacher เติม ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที จะได้ dilution 1: 10 จากนั้นทำการเจือจางความเข้มข้น 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} , 10^{-5} และ 10^{-6} ปิเปตสารละลายเจือจาง Dilution 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} , 10^{-5} และ 10^{-6} อย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่จานเลี้ยงเชื้อ Dilution ละ 3 จาน เท Plate Count Agar (ที่อุณภูมิ 40 – 45 องศาเซลเซียส) ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณจานละ 15 - 20 มิลลิลิตร pour plate แล้วตั้งทิ้งให้เย็น นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส นาน 2 - 3 วัน ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์แล้วรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อ 1 กรัม

2. วิธีวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราวม (Total Yeasts and Mold)

อาหารเลี้ยงเชื้อ Dichloran 18 % glycerol (DG18) ยี่ห้อ Merck

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปต 100 – 1000 ไมโครลิตร
2. เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (Minishaker ; Kika รุ่น MS- 1)
3. เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Colony Counter; Funke Gerber รุ่น 311530)
4. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave ; Tomy รุ่น SS-325)
5. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven รุ่น 500)
6. เครื่องอังไอน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath; Memmert รุ่น WB 22)
7. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 2 ตำแหน่ง (Balance ; Metler Toledo รุ่น PG 2002 - S)
8. ขวดลูกชมพู่ (Flask) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
9. หลอดทดลอง (Test tube)

10. จานเลี้ยงเชื้อ (Pettridish)
11. Pipette ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
12. ห่วงถ่ายเชื้อ (Loop)
13. เข็มเขี่ย (Needle)
14. กระบอกตวง (cylinder)
15. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
16. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
17. ถุงพลาสติก
18. เครื่องรีดถุงพลาสติก
19. เครื่อง Fruit hardness tester

สารเคมี

1. แอลกอฮอล์ 70 % และ 95 %

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่ง Dichloran 18 % glycerol (DG18) 31.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร บรรจุใสในขวด Duran ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

วิธีการวิเคราะห์

เตรียมสารละลายตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยใช้ช้อนสแตนเลสที่ฆ่าเชื้อแล้วตักใส่ถุงพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วสำหรับใช้ Stomacher เติม ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที จะได้ dilution 1 : 10^{-1} จากนั้นทำการเจือจางความเข้มข้น 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} และ 10^{-6}

ปิเปตสารละลายเจือจาง Dilution 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} , 10^{-5} และ 10^{-6} อย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่จานเลี้ยงเชื้อ Dilution ละ 3 จาน เท Dichloran 18 % glycerol (DG18) (ที่อุณหภูมิ 40 – 45 องศาเซลเซียส) ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณจานละ 15 - 20 มิลลิลิตร pour plate แล้วตั้งทิ้งให้เย็น

นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส นาน 2 - 3 วัน ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์แล้วรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อ 1 กรัม

3. วิธีวิเคราะห์โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Total coliform) และTotal fecal coliforms bacteria (*E. coli*)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Lauryl Tryptose Broth
2. EC brothLevine's Eosin-Methylene Blue
3. Tryptone broth
4. MR-VP medium
5. Kovac's reagent
6. Brilliant Green Lactose Bile Broth
7. Nutrient agar slant

อุปกรณ์

1.ไมโครปิเปต 100 – 1000 ไมโครลิตร
2.เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (Minishaker ; Kika รุ่น MS- 1)
3. เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Colony Counter; Funke Gerber รุ่น 311530)
4.หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave ; Tomy รุ่น SS-325)
5. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven รุ่น 500)
6. เครื่องอังไอน้ำควบคุมอุณภูมิ (Water Bath; Memmert รุ่น WB 22)
7. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 2 ตำแหน่ง (Balance ; Metler Toledo รุ่น PG 2002 - S)
8. ขวดลูกชมพู่ (Flask) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
9. หลอดทดลอง (Test tube)
10.จานเลี้ยงเชื้อ (Pettridish)
11. Pipette ขนาด 1 ,5 และ 10 มิลลิลิตร
12. ห่วงถ่ายเชื้อ (Loop)
13. เข็มเขี่ย (Needle)
14. กระบอกตวง (cylinder)
15. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
16. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
17. ถุงพลาสติก
18. เครื่องรีดถุงพลาสติก
19. เครื่อง Fruit Hardness Tester

สารเคมี

1.แอลกอฮอล์ 70 % และ 95 %

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมสารละลายตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยใช้ช้อนสแตนเลสที่ฆ่าเชื้อแล้วตักใส่ถุงพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วสำหรับใช้ Stomacher เติม ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที จะได้ dilution 1 : 10^{-1} จากนั้นทำการเจือจางความเข้มข้น 10^{-2} และ 10^{-3}

2. วิธีทดสอบ Coliforms fecal coliforms โดยวิธี Most probable number (MPN) เจือจางตัวอย่างให้มีระดับความเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} จากนั้นให้ทำ 3 - tube MPN โดยใช้ series 3:3:3

3. MPN-Presumptive test for coliforms fecal coliforms and *Escherichia coli* ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ในแต่ละระดับความเจือจางของ 3 tube MPN อย่างละ 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LST ที่มีหลอดดักก๊าซคว่ำอยู่ ความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร รวม 9 หลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เริ่มคัดหลอดที่เกิดแก๊สที่เวลา 24 ± 2 ชั่วโมง เลือกหลอดที่เกิดแก๊ส และบันทึกผลลงในแบบฟอร์ม

4. MPN –Confirmed test for coliforms

ถ่ายเชื้อจากหลอด LST ที่เกิดแก๊สลงในอาหาร BGLB หลอดละ 1 Loop นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง เลือกหลอดที่เกิดแก๊สนำไปอ่านค่าจากตาราง MPN 3:3:3 หน่วยเป็น MPN/g ตัวอย่าง

5. MPN-Confirmed test for fecal coliforms and Escheichia coli

ถ่ายเชื้อจากหลอด LST ถ่ายเชื้อจากหลอด LST ที่เกิดแก๊สลงในอาหาร EC หลอดละ 1 Loop นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.2องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง เริ่มคัดเลือกหลอดที่เกิดแก๊สที่เวลา 24 ± 2 ชั่วโมง ถ้าให้ผล negative (ไม่เกิดแก๊ส) ให้บ่มต่อจนครบเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง คัดเลือกหลอด EC broth ที่เกิดแก๊สใจหลอดดักแก๊ส นำไปอ่านค่าจากตาราง MPN 3:3:3 หน่วยเป็น MPN/g ตัวอย่าง

6. MPN-complete test for *Escheichia coli*

ใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก EC broth ที่เกิดแก๊สมา streak บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB – agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1องสาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *E. coli* บนอาหาร EMB - agar จะมีสีม่วงหรือดำ ตรงกลางโคโลนีมีสีดำอาจมีหรือไม่มีลักษณะ

มันวาวคล้ายโลหะ (Metallic sheen) เลือกโคโลนีลักษณะดังกล่าวมา streak บน PCA slant จำนวน 5 โคโลนี นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีต่อไป

4. การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

1. ทดสอบการสร้าง Indole ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ใส่ในหลอด Tryptone broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทดสอบการสร้าง Indole โดยหยดสารทดสอบ Kovac' s reagent 0.2 - 0.3 มิลลิลิตร หากเชื้อสามารถสร้าง Indole ได้จะเกิดวงแหวนสีแดงอ่านผลเป็นบวก ส่วนผลลบจะไม่เกิดวงแหวนสีแดง

2. การทดสอบ Voges - Proskaure (VP) ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ใส่ในหลอด MR-VP medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง ดูดมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเปล่าขนาด 13 X 100 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำมาหยดสาร α-naphtol 0.6 มิลลิลิตร, 40 % KOH 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและเติมผง creatine เล็กน้อยเขย่าให้ผสมกัน อ่านผลภายใน 2 ชั่วโมง หากเกิดสีชมพูแดงอ่านผลเป็นบวกและไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอ่านผลเป็นลบ

3. การทดสอบ Methyl red (MR) หลังจากทดสอบ VP แล้วให้บ่ม MR-VP medium ต่อไปอีกให้ครบ 48 ± 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาทดสอบ Methyl Red โดยค่อย ๆ หยดสารทดสอบ Methyl red 5 หยด หากสีของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดงอ่านผลเป็นบวก แต่ถ้าเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่านผลเป็นลบ

4. การทดสอบการใช้ Citrate ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ลงใน Koser's citrate broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ± 2 ชั่วโมง หากอาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นอ่านผลเป็นบวก ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนแปลง อ่านผลเป็นลบ *E. coli* จะให้ผลลบเสมอ

5. การทดสอบการสร้างแก๊สจากน้ำตาล Lactose ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ลงในหลอด LST นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง ถ้าเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊สอ่านผลเป็นบวกคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *E. Coli*

5. การตรวจการเป็นพิษในสาหร่าย N. commune

1. การตรวจวิเคราะห์ไมโครซิสติน การตรวจวิเคราะห์ไมโครซิสตินด้วยชุด The Quantiplate TM Microcystin Kit (EP 022)

2. การตรวจปริมาณไนเตรทสะสมในสาหร่าย N. *commune* เนื่องจากมีรายงานพบว่าในตัวอย่างพืชที่มีการใช้ไนเตรท อาจตรวจพบปริมาณตกค้างในปริมาณมากจนทำให้เกิดอันตราย

ไม่ควรมีเกินค่ามาตรฐานปริมาณ $NaNO_3$ ที่เติมไปเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย ไม่เกินค่ามาตรฐาน EU ที่ให้ค่ามาตรฐานของไนเตรท ที่ 199 - 2,500 ppm. และปนเปื้อนในอาหารไม่เกิน 2,500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สำหรับประเทศไทยจากประกาศกระทรวงสาธารสุข ฉบับที่ 281 พ.ศ. 2547 กำหนดให้ค่ามาตรฐานสารตกค้างของไนเตรตไม่เกิน 3,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (สำนักคณะกรรมการอาหารและยา, 2556) ดังนั้นจึงทำการตรวจสอบการตกค้างในสาหร่าย N. commune ด้วยการทดลองศึกษาปริมาณไนเตรทในสภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีแดง ในสภาวะที่มีการเติมสารอาหารไนโตรเจนที่เติมโซเดียมไนเตรท $NaNO_3$ และไม่เติม $NaNO_3$

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย *N. commune*

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย *N. commune* เช่น เยลลี่ คาเวียร์ สำหรับอาหารหวานและผงโรยข้าว สำหรับโรยหน้าอาหาร หรือปรุงรสอาหาร ทำให้ผู้บริโภคได้ผลิตภัณฑ์เสริมรสชาติน่ารับประทานและมีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้

1. เยลลี่

ใช้สาหร่าย 1 กรัม นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 C° 30 นาที นำมาบดให้เป็นผง

วัตถุดิบและอุปกรณ์ในการทำเยลลี่สาหร่าย

1. น้ำเปล่า 200 มิลลิลิตร
2. เจลาตินผง 15 กรัม
3. น้ำตาลทราย 230 กรัม
4. กลิ่นสังเคราะห์
5. สีผสมอาหาร สีชมพูและสีแดง
6. พิมพ์ซิลิโคน

ขั้นตอนการทำเยลลี่

1. นำเจลาตินผงใส่ลงในน้ำเปล่า 50 มิลลิลิตร แล้วพักไว้
2. นำน้ำเปล่า 150 มิลลิลิตร เทใส่หม้อ ตามด้วยน้ำตาลทราย คนให้เข้ากันแล้วนำไปตั้งไฟจนเดือด
3. เมื่อส่วนผสมเดือดแล้วปล่อยให้เดือดต่ออีก 5 นาที
4. ครบ 5 นาที แล้วนำไปเทใส่ในเจลาตินที่แช่น้ำไว้ คนให้เข้ากัน
5. เติมกลิ่นสตรอเบอร์รี่ลงไปและสีผสมอาหารลงไป

6. นำไปหยอดใส่พิมพ์จนหมด แล้วนำแช่ตู้เย็นจนเยลลี่ตัวประมาณ 10-20 นาที แกะออกจากพิมพ์ (http://www.foodtravel.tv/recipe)

ภาพที่ 7 ผลิตภัณฑ์เยลลี่สาหร่าย *N. commune*

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)

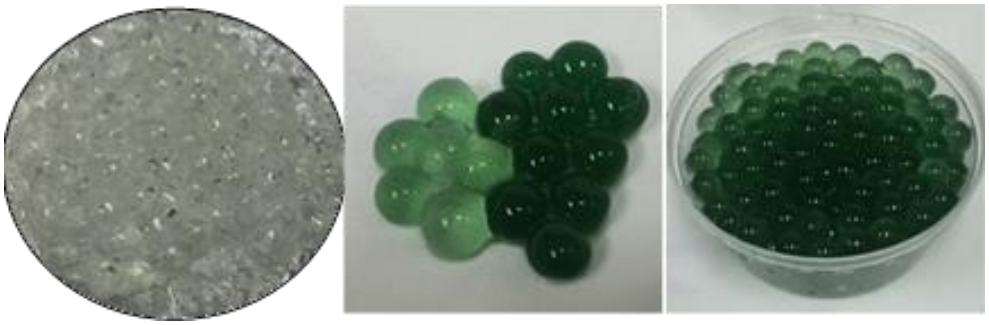
2. คาเวียร์

1. เตรียมเจล 5 % โดยสารละลาย Sodium alginate 2.5 กรัม ในน้ำสะอาด 500 มิลลิลิตร คนละลายให้เข้ากัน

2. นำสาหร่ายไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที นำมาบดให้ละเอียด เตรียมผงสาหร่าย 1 กรัม ผสมกับ Sodium alginate 5%

3. เตรียมสารละลาย $CaCl_2$ 5% โดยละลาย $CaCl_2$ 2.5 กรัม ในน้ำสะอาด 500 มิลลิลิตร คนให้ละลายเข้ากัน

4. ใช้หลอดดูดส่วนสาหร่ายกับ Sodium alginate 5% ค่อย ๆ หยดลงในสารละลาย $CaCl_2$ 5% ที่เตรียมไว้ ของเหลวจะเริ่มสร้างผิวเป็นชั้น ๆ และเปลี่ยนเป็น sphere ภายในระยะเวลาไม่กี่วินาที เนื่องจากคุณสมบัติของโซเดียมอัลจิเนต เมื่อมีแคลเซียมอิออนรวมอยู่ด้วยทำให้เกิดเจลในน้ำเย็น และจะได้ลูกกลม ๆ หรือ คาเวียร์ ในที่สุดอัตราส่วนที่นิยมในการผสม sodium alginate อยู่ที่ประมาณ 0.5% – 1% ต่อปริมาณของเหลว ใช้กระชอนตักคาเวียร์แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด 2-3 ครั้ง ตักใส่ภาชนะ



ภาพที่ 8 ผลิตภัณฑ์คาเวียร์สาหร่าย *N. commune*

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)

3. ผงโรยข้าว

ตั้งเตาอบที่ 135 องศาเซลเซียส โปรแกรมไฟล่างไฟบน บดสาหร่าย 1 กรัมเป็นผงเล็ก ๆ ใส่งาขาว 40 กรัมและงาดำ 20 ใส่วาซาบิ 1 ช้อนชา เติมลงไปคลุกเคล้าให้เครื่องปรุงรสกระจายทั่วดี นำไปตั้งไฟใช้ไฟอ่อนคนให้เข้ากัน 10 นาทีจนงาขาขาวและงาดำสุกโรยเกลือป่น 0.5 กรัม พักให้เย็นลงก่อน ใส่ในขวดหรือภาชนะสุญญากาศ ใช้โรยข้าวหรืออาหารชนิดต่าง ๆ (https://www.pholfoodmafia.com/recipe/homemade-furikake)

ภาพที่ 9 ผลิตภัณฑ์ผงโรยข้าวสาหร่าย *N. commune*

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)

การสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภค

การสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภค จากผลิตภัณฑ์โดยการทำแบบสำรวจความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ 100 ราย

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โดยการใช้สูตรคำนวณทางสถิติดยใช้โปรแกรม SAS (Statistic Analysis Software) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย และการเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าต่าง ๆ จากการทดลองทำการเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ เช่น คลอโรฟิลล์ *เอ* โปรตีน ไฟโคไซยานิน แคโรทีนอยด์ เป็นต้น

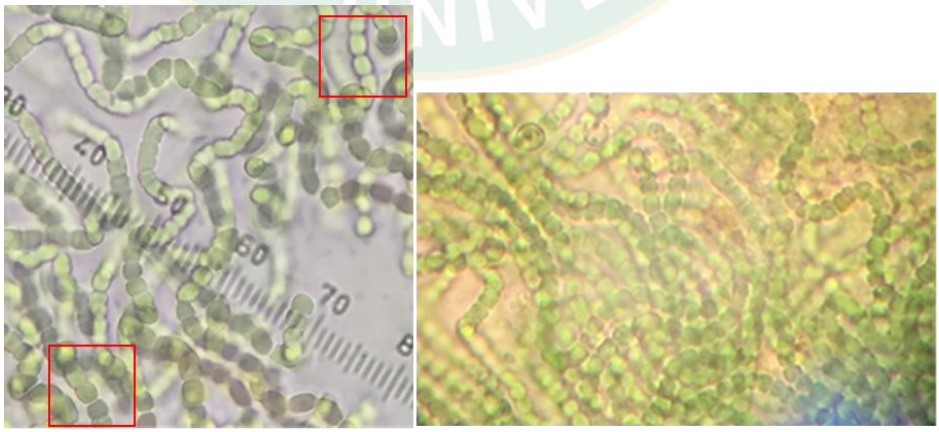
บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

การเก็บและการคัดแยกตัวอย่างสาหร่าย *N. commune* จากแหล่งธรรมชาติ

1. พื้นที่เก็บตัวอย่าง สำรวจพบสาหร่าย *N. commune* จากธรรมชาติในพื้นที่ตำบลสันมหาพน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ บริเวณแม่น้ำแม่แตง ทำการเก็บและการคัดแยกตัวอย่างสาหร่าย *N. commune* โดยเก็บตัวอย่างสาหร่ายบริเวณริมตลิ่งที่มีความชื้นแฉะ (ภาพที่ 10) เก็บใส่กระปุกพลาสติก เก็บรักษาในอุณหภูมิ 5-10 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูรูปร่างลักษณะ และขนาดของเซลล์สาหร่าย ดังภาพที่ 11

ภาพที่ 10 แม่น้ำแม่แตงและบริเวณที่เก็บตัวอย่างสาหร่าย *Nostoc* พิกัด 47Q 494162 2114333

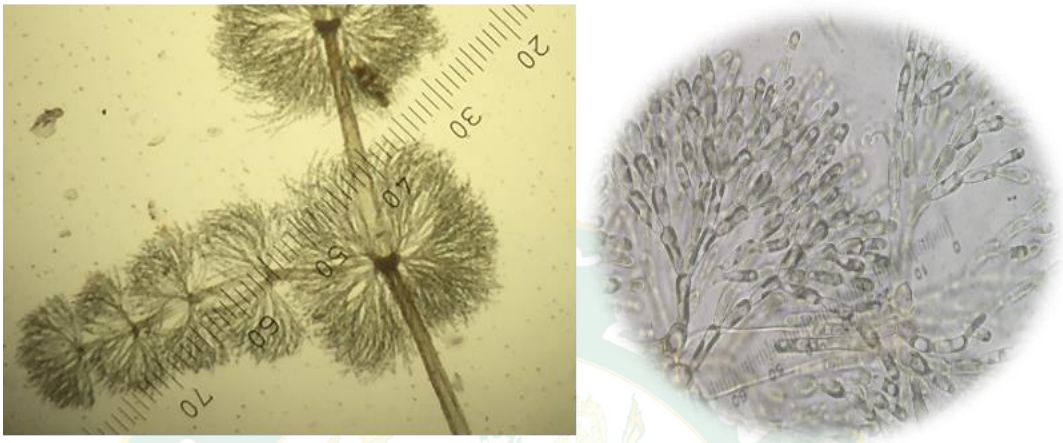
ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)



ภาพที่ 11 สาหร่าย *N. commune* ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ลักษณะคล้ายถังเบียร์ 40X

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)

นอกจากนี้แล้วในบริเวณเดียวกันยังพบสาหร่ายชนิดต่าง ๆ เช่น สาหร่ายสีแดงน้ำจืด ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดถึงความสะอาดของแม่น้ำแม่แตง สาหร่ายสีเขียว *Chaetophora* sp. และ *Chlorella* sp. แสดงถึงความหลายหลากทางชีวภาพของสาหร่ายในแม่น้ำแม่แตง

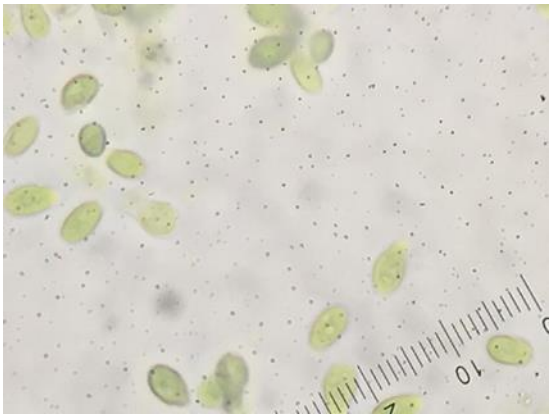


ภาพที่ 12 สาหร่ายสีแดง *Batrachospermum* sp.
ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ 40X

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)

ภาพที่ 13 สาหร่ายสีเขียว *Chaetophora* sp. ในธรรมชาติ
และภาพถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ 40X

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)



ภาพที่ 14 สาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ 40X

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)

2. การแยกเชื้อบริสุทธิ์ ดังนี้

2.1 คัดแยกสายพันธุ์เพื่อให้ได้สายพันธุ์ *N. commune* บริสุทธิ์ โดยวิธีการ Pick up cell Technique โดยนำตัวอย่างสาหร่ายล้างด้วยน้ำกลั่น ล้างด้วย Ethyl alcohol 10% และ Clorox 5 % และล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง ดูเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้หลอดหยดดูดเซลล์สาหร่ายมา 1 เส้นสาย (trichrome) นำมาเลี้ยงด้วยอาหาร BG-11 สูตรปรับปรุงในขวดไวออล ขนาด 20 มิลลิลิตร ภายใต้แสงสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 40 μmol m^{-2} s^{-1} ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 15)

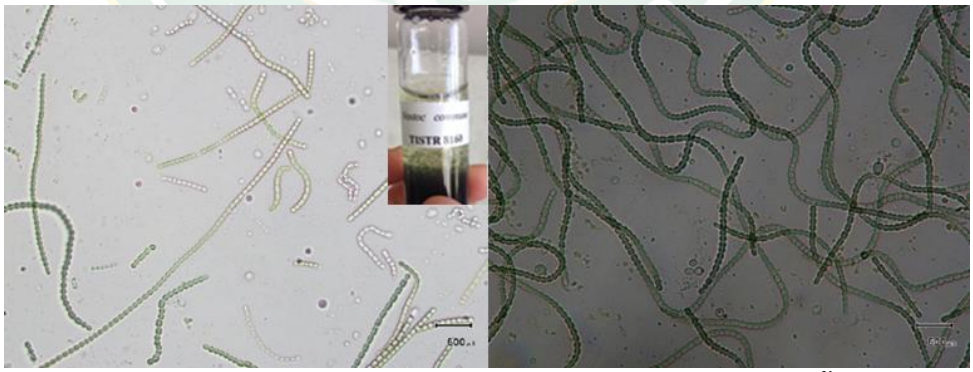
ภาพที่ 15 การคัดแยกสายพันธุ์เพื่อให้สายพันธุ์ *N. commune* บริสุทธิ์ โดยวิธีการ Pick up cell technique

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)

2.2 คัดแยกเดี่ยว (Single colony isolation) เมื่อสาหร่ายเจริญ นำมาเขี่ยเชื้อบนอาหารวุ้นกึ่งแข็ง BG 11สูตรปรับปรุง โดยวิธีการขีดเชื้อ (Streak plate) เพื่อให้ได้เชื้อโคโลนีเดี่ยวและเก็บรักษาเป็น stock นำมาเปรียบเทียบกับตัวอย่างสาหร่าย *N. commune* TISTR 8160 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (วว.) ในระดับจีนัสใช้วิธีการเทียบลำดับเบสกับฐานข้อมูลโดยสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกระดับชนิดตามวิธีการ (Desikachary, 1959) พบว่า ตัวอย่างเป็นสาหร่าย *N. commune* โดยใช้วิธีการเทียบลำดับเบสกับฐานข้อมูลนำไปบลาสกับฐานข้อมูล NCBI พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Nostoc* sp. ในฐานข้อมูล 99% จากสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และวินิจฉัยชนิดจากคู่มือของ Desikachary (1959) ยืนยันเป็นชนิด *N. commune* (ภาพที่ 16-18)

ภาพที่ 16 สาหร่าย *N. commune* เลี้ยงบนอาหารวุ้นกึ่งแข็ง BG 11 สูตรปรับปรุง

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)

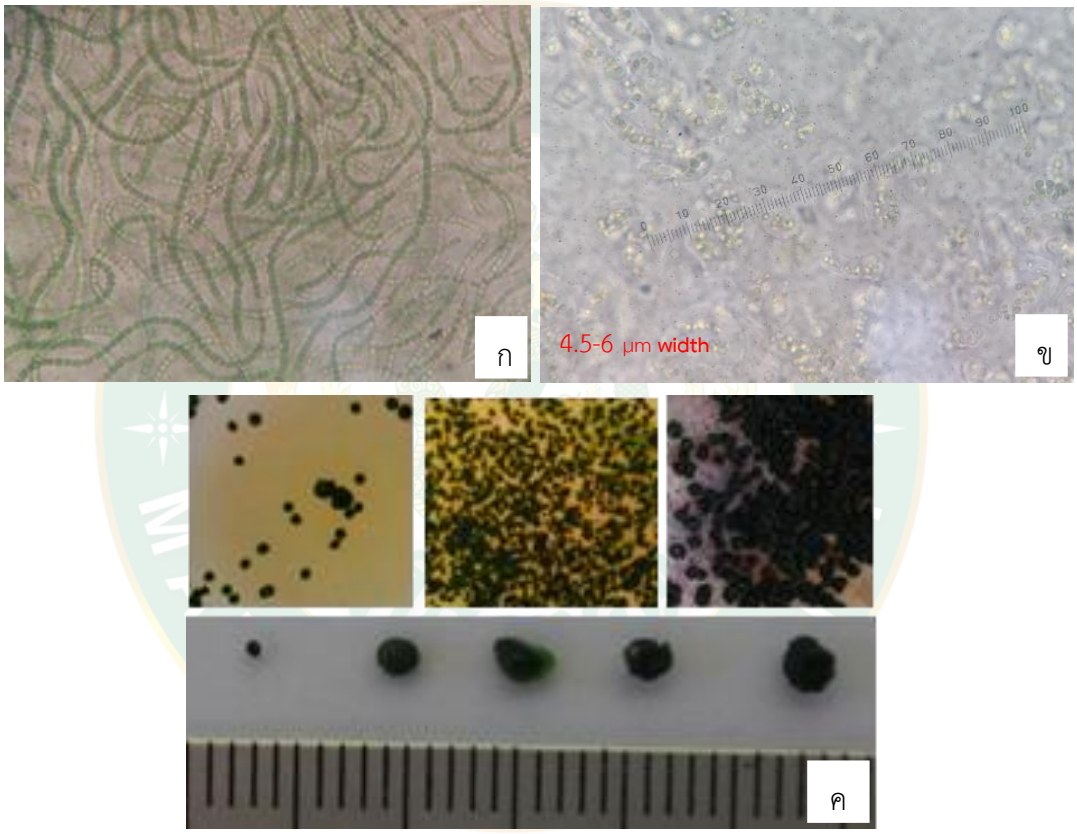


***N. commune* : TISTR 8160** ***N. commune*: MTR แม่น้ำแม่แตง**

ภาพที่ 17 สาหร่าย *N. commune* TISTR 8160 ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และ *N. commune* แม่น้ำแม่แตง ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ 40X

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)

สาหร่าย *N. commune* Vouche จัดเป็นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (blue-green algae, cyanobacterium) ที่มีทัลลัส (thallus) ห่อหุ้มด้วยเจล (Gelatinous Sheet) รูปร่างกลมในระยะแรก จากนั้นขยายเป็นแผ่นลักษณะเป็นลูกคลื่น มีเส้นผ่าศูนย์กลางหลายขนาด มีสีน้ำเงินแกมเขียว สีเขียวมะกอก หรือสีน้ำตาล มีเมือกหุ้ม เส้นสายมีความยืดหยุ่น พันกันยุ่งเหยิง มีลักษณะเป็นโคโลนีและมีเมือกห่อหุ้มขณะยังอ่อน (colony mucilaginous or gelatinous globuse or morphous when young.) เมื่อแก่จะมีลักษณะกลม (Globus or hollow) เซลล์กว้าง 4.5-6 ไมครอน รูปร่างเซลล์คล้ายถังเบียร์ (barrel – shape) (Desikachary, 1959)



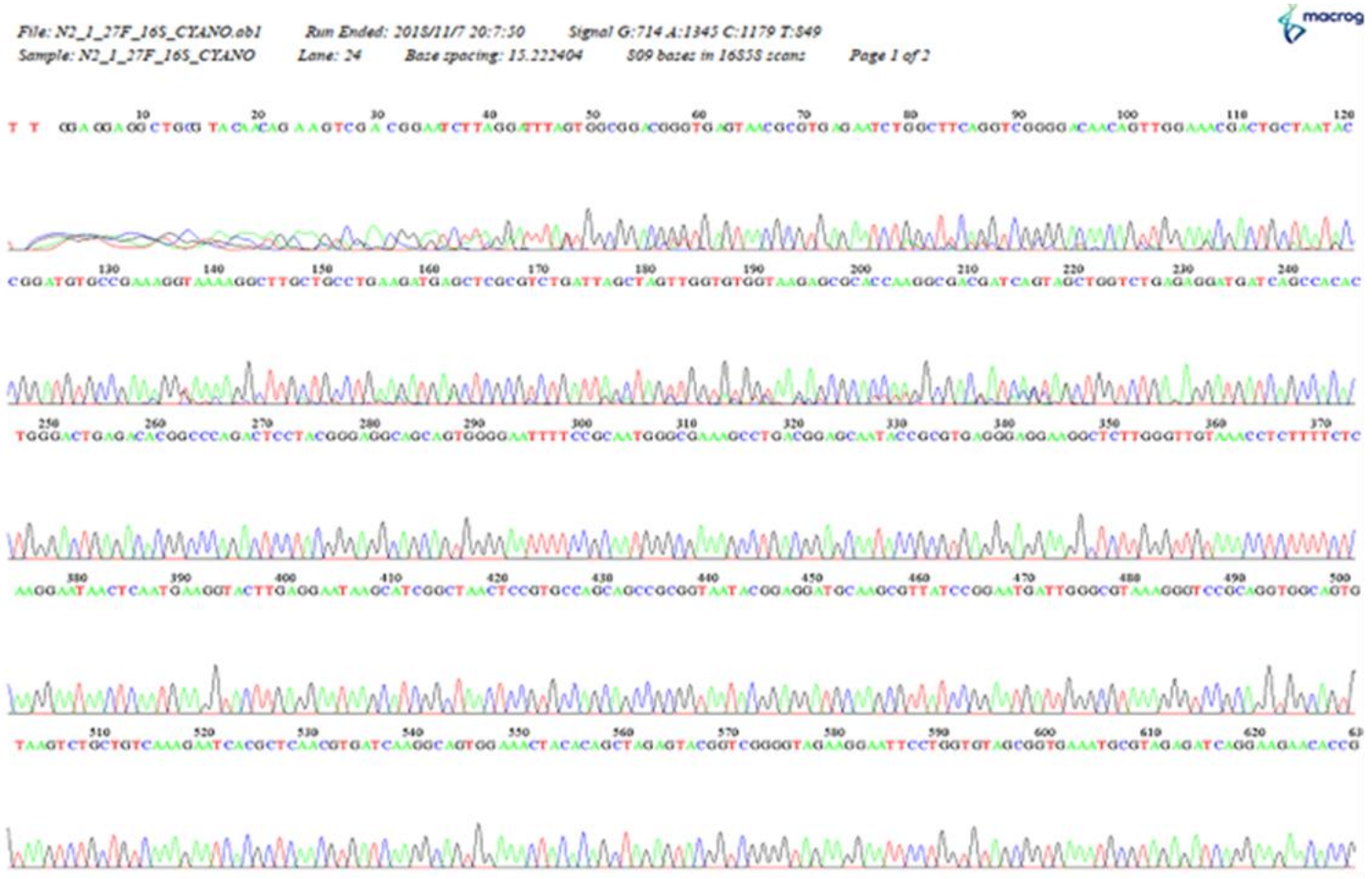
ภาพที่ 18 ระยะการพัฒนาของสาหร่าย *N. commume*
(ก) filament ระยะเส้นสาย 40X
(ข) sheath began to invaginate ระยะมีเมือกหุ้ม 40X และ
(ค) single colony โคโลนีเดี่ยว

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2560)

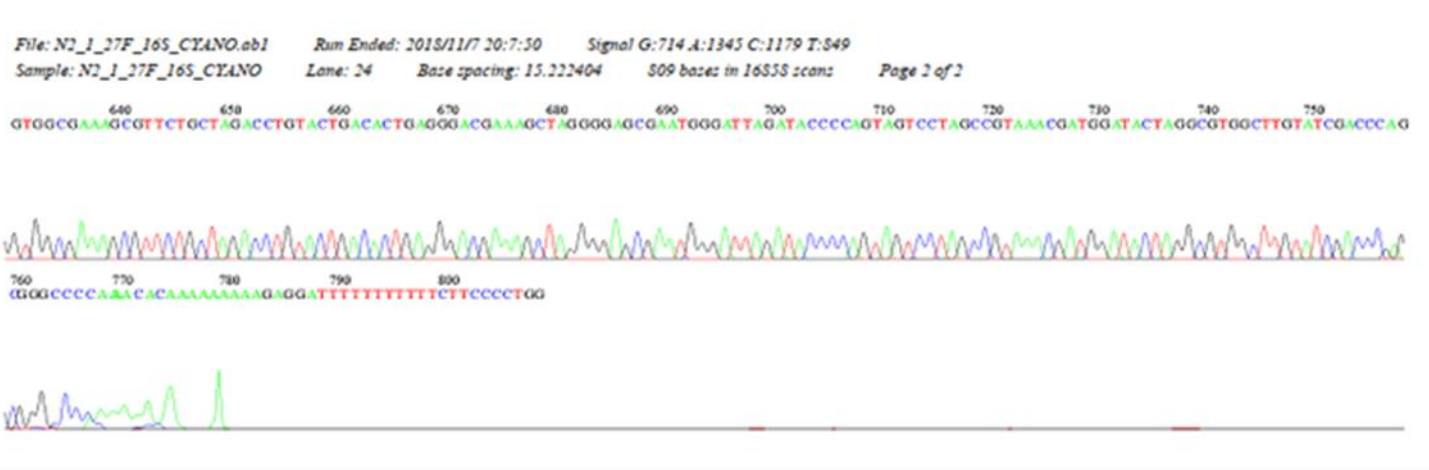
2.3 ผลการเปรียบเทียบลำดับเบสกับฐานข้อมูลจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) พบว่าสายพันธุ์ *Nostoc* sp. มีค่าความคล้ายคลึง 99 เปอร์เซ็นต์ ไพรเมอร์ 16S rRNA (ภาพที่ 19-21) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของเกศินี (2558) ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของรูปแบบของ 16S-rRNA intergenic spacer region (ISR) ที่แยกได้จาก Acinetobacter baumannii สายพันธุ์ดื้อยาและไม่ดื้อยาด้วยวิธีพีซีอาร์ จำนวน 15 ไอโซเลท พบว่า *A. baumannii* ทั้ง 15 ไอโซเลท มีความคล้ายคลึงกับกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *A. baumannii* ATCC 17978 คือ 98% และจากแผนภูมิต้นไม้วิวัฒนาการพบว่า *A. baumannii* สายพันธุ์ดื้อยาและไม่ดื้อยา มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกัน 98-99% ดังนั้น การศึกษารูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ของ ISR ด้วยวิธีพีซีอาร์ อาจจะสามารถนำไปจำแนก *A. baumannii* จากสิ่งส่งตรวจในระดับสปีชีย์ได้

```
>181106-034_I07_N2_1_27F_16S_CYANO.ab1  809
TTGGAGGAGGCTGCGTACAACAGAAGTCGACGGAATCTTAGGATTTAGTG
GCGGACGGGTGAGTAACGCGTGAGAATCTGGCTTCAGGTCGGGGACAACA
GTTGGAAACGACTGCTAATACCGGATGTGCCGAAAGGTAAAAGGCTTGCT
GCCTGAAGATGAGCTCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTGTGGTAAGAGCGC
ACCAAGGCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGG
GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTC
CGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATACCGCGTGAGGGAGGAAGGCT
CTTGGGTTGTAAACCTCTTTTCTCAAGGAATAACTCAATGAAGGTACTTG
AGGAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGG
ATGCAAGCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGGGTCCGCAGGTGGCAG
TGTAAGTCTGCTGTCAAAGAATCACGCTCAACGTGATCAAGGCAGTGGAA
ACTACACAGCTAGAGTACGGTCGGGGTAGAAGGAATTCCTGGTGTAGCGG
TGAAATGCGTAGAGATCAGGAAGAACACCGGTGGCGAAAGCGTTCTGCTA
GACCTGTACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGGGATTAG
ATACCCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGATACTAGGCGTGGCTTGTA
TCGACCCAGCGGGCCCCAAAACACAAAAAAAAAGAGGATTTTTTTTTTTC
TTCCCCTGG
```

ภาพที่ 19 การจัดเรียงลำดับเบสของสาหร่าย *N. commune*



ภาพที่ 20 การจัดเรียงลำดับเบสของสาหร่าย *N. commune*


File: N2_1_27F_16S_CYANO.ab1 Run Ended: 2018/11/7 20:7:50 Signal G:714 A:1345 C:1179 T:849
Sample: N2_1_27F_16S_CYANO Lane: 24 Base spacing: 15.222404 809 bases in 16858 scans Page 2 of 2

ภาพที่ 20 (ต่อ)

รายงานผลที่ A-2562/004 ที่ ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ

รายงานผลการทดสอบและวิเคราะห์

ให้แก่

นางสาวจิตตนันท์ แก้วมณีสุข นักศึกษาสาขาวิทยาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

การทดสอบ / วิเคราะห์ เปรียบเทียบลำดับเบสกับฐานข้อมูล

วิธีทดสอบ / วิเคราะห์ สกัดดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณยีน ส่งหาลำดับเบสและเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล

ภาวะการทดสอบ / วิเคราะห์ : อุณหภูมิ -

วันที่ทดสอบ / วิเคราะห์ 29 ตุลาคม 2561

ผลการทดสอบ / วิเคราะห์

หมายเลข	สายพันธุ์	ค่าความคล้ายคลึง (เปอร์เซ็นต์)	ไพรเมอร์
1	*Nostoc* sp.	99	16S rRNA
2	*Nostoc* sp.	99	16s rRNA

ผู้ทดสอบ / วิเคราะห์

นางสาวปกฉัตร กุศลกรรมบถ

ผู้ตรวจสอบ .....

(นายโสภณ สิริศรัทธา)

ผู้รับรอง .....

(นางสาวภูษิตา วรรณิสสร)
นักวิจัยอาวุโส
รักษาการในตำแหน่ง
ผู้อำนวยการศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ
วันที่ ๒๐ พ.ย. ๖๑

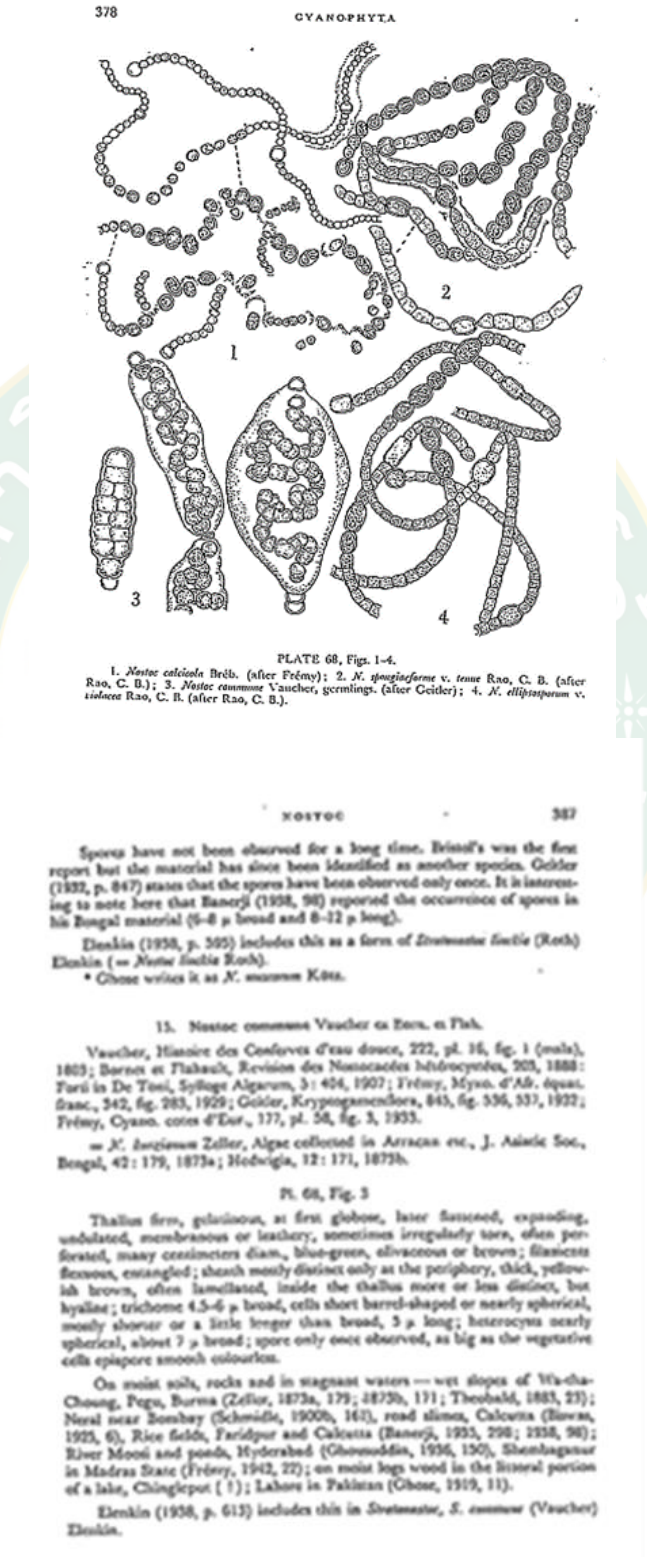
ผลการทดสอบ หรือ วิเคราะห์นี้ รับรองผลเฉพาะตัวอย่าง หรือ รายการที่ได้ระบุไว้เท่านั้น การแก้ไขรายงานนี้ถือเป็นความผิดทางกฎหมาย
การนำรายงานนี้ไปโฆษณา คัดถ่ายหรือการนำผลบางส่วน ไปเผยแพร่ต่อสาธารณะต้องได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากผู้ว่าการ วว.

แก้ไขครั้งที่ : 3 แบบฟอร์มประกาศใช้วันที่ 24 มกราคม 2560 FM-BRC-WI-10-02 (ไทย)

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย(วว.)
๓๕ หมู่ ๓ เทคโนธานี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ๑๒๑๒๐
โทร. (๖๖) ๐ ๒๕๗๗ ๙๐๐๐ โทรสาร ๐ ๒๕๗๗ ๙๐๐๙
E - Mail : tistr.or.th Website : www.tistr.or.th
วิสัยทัศน์ : เป็นองค์กรชั้นนำระดับอาเซียนในด้านวิจัย พัฒนา และบริการด้านวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและนวัตกรรม

ภาพที่ 21 รายงานผลการทดสอบลำดับเบสสาหร่าย N. *commune*

การวินิจฉัยโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกระดับชนิดตามวิธีการ (Desikachary, 1959)



378 CYANOPHYTA

PLATE 68, Figs. 1–4.

1. *Nostoc calcicola* Bréb. (after Frémy); 2. *N. spongiaeforme* v. *tenue* Rao, C. B. (after Rao, C. B.); 3. *Nostoc commune* Vaucher, germlings. (after Geitler); 4. *N. ellipsosporum* v. *violacea* Rao, C. B. (after Rao, C. B.).

NOSTOC 387

Spores have not been observed for a long time. Bristol's was the first report but the material has since been identified as another species. Geitler (1932, p. 847) states that the spores have been observed only once. It is interesting to note here that Banerji (1938, 98) reported the occurrence of spores in his Bengal material (5–8 μ broad and 8–12 μ long).

Elenkin (1938, p. 395) includes this as a form of *Stratonostoc linckia* (Roth) Elenkin (= *Nostoc linckia* Roth).

* Ghose writes it as *N. muscorum* Kütz.

13. Nostoc commune Vaucher ex Born. et Flah.

Vaucher, Histoire des Conferves d'eau douce, 222, pl. 16, fig. 1 (male), 1803; Bornet et Flahault, Revision des Nostocacées hétérocystées, 203, 1888; Forti in De Toni, Sylloge Algarum, 3: 404, 1907; Frémy, Myxo. d'Alt. équat. franc., 542, fig. 283, 1929; Geitler, Kryptogamenflora, 843, fig. 536, 537, 1932; Frémy, Cyano. cotes d'Eur., 177, pl. 58, fig. 3, 1933.

= *N. linckianum* Zeller, Algae collected in Arracan etc., J. Asiatic Soc., Bengal, 42: 179, 1873a; Hedwigia, 12: 171, 1873b.

Pl. 68, Fig. 3

Thallus firm, gelatinous, at first globose, later flattened, expanding, undulated, membranous or leathery, sometimes irregularly torn, often perforated, many centimeters diam., blue-green, olivaceous or brown; filaments flexuous, entangled; sheath mostly distinct only at the periphery, thick, yellowish brown, often lamellated, inside the thallus more or less distinct, but hyaline; trichome 4.5–6 μ broad, cells short barrel-shaped or nearly spherical, mostly shorter or a little longer than broad, 3 μ long; heterocysts nearly spherical, about 7 μ broad; spore only once observed, as big as the vegetative cells epispore smooth colourless.

On moist soils, rocks and in stagnant waters — wet slopes of Wa-cha-Chaung, Pegu, Burma (Zeller, 1873a, 179; 1873b, 171; Theobald, 1883, 23); Neral near Bombay (Schmidle, 1900b, 161), road slimes, Calcutta (Biswas, 1925, 6), Rice fields, Faridpur and Calcutta (Banerji, 1933, 298; 1938, 98); River Moosi and ponds, Hyderabad (Ghousuddin, 1936, 150), Shembaganur in Madras State (Frémy, 1942, 22); on moist logs wood in the littoral portion of a lake, Chinglepat (?); Lahore in Pakistan (Ghose, 1919, 11).

Elenkin (1938, p. 615) includes this in *Stratonostoc*, *S. commune* (Vaucher) Elenkin.

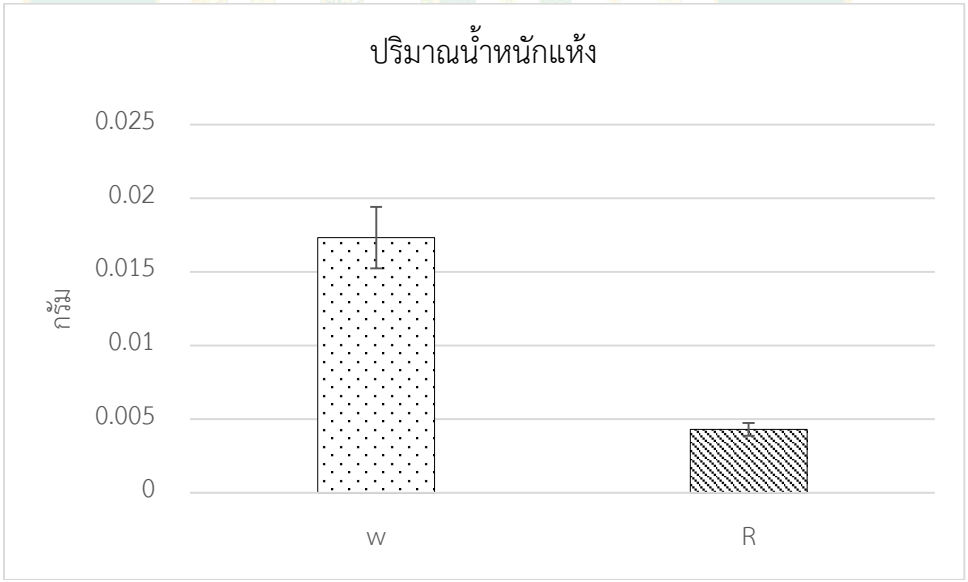
ภาพที่ 22 ลักษณะสัณฐานวิทยาของสาหร่าย N. *commune* (Desikachary, 1959)

3. การเพิ่มมวลสาหร่าย การเพาะเลี้ยงใช้สูตรดัดแปลง BG-11 (Stanier *et al*., 1971) ในรูปอาหารแข็ง ในภาชนะพลาสติกขนาด 300 มิลลิลิตร โดยการทดสอบปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญบางประการ ดังนี้

3.1 ปัจจัยแสง ผลการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่ายภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดงจากหลอดหลอดฟลูออเรสเซนต์ โดยจัดชุดทดลองการเลี้ยงภายใต้การควบคุมแสงสีขาวขนาด 90 μmol m^{-2} s^{-1} และแสงสีแดงขนาด 30 μmol m^{-2} s^{-1} ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตโดยการชั่งน้ำหนักแห้งเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต ผลการทดลอง ดังนี้

ปริมาณน้ำหนักแห้ง

ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดภายใต้แสงสีขาว (W) และแสงสีแดง (R) พบว่า จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวมีปริมาณน้ำหนักแห้งสูงที่สุด คือ 0.0173 ± 0.0021 (กรัม/วัน/ลิตร) เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง (ภาพที่ 23)

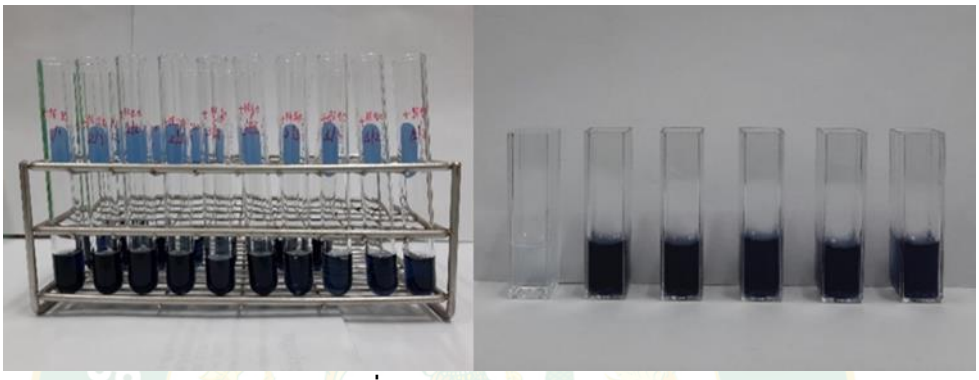


ภาพที่ 23 ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง (กรัม/วัน/ลิตร)

วิธีการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการสาหร่าย *N. commune*

1. โปรตีน การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Lowry's method (Lowry *et al.*, 1951)

ใช้ตัวอย่างสาหร่าย *N. commune* 1 mg เติม 0.1N NaOH ให้ความร้อน 100 °C ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ใช้ 1 ml. เติมสารประกอบ reagent 2% Na_2CO_3 1% $CuSO_4$ และ 2% Sodium potassium tartrate 1 ml. ทิ้งไว้ 10 นาที เติม Folin เขย่าและทิ้งไว้ 30-60 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 nm. เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน ผลดังภาพที่ 24

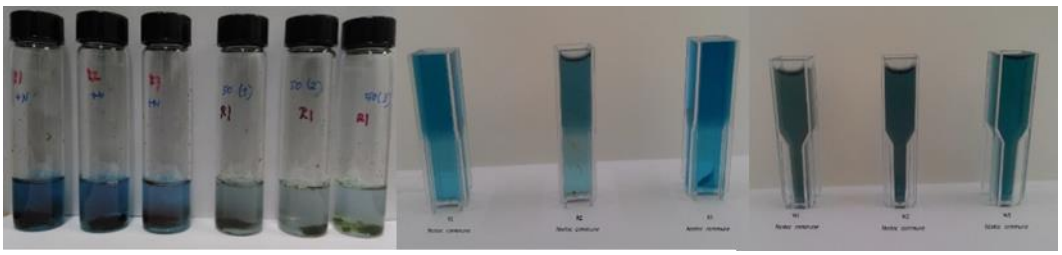


ภาพที่ 24 การวิเคราะห์โปรตีน

ที่มา: ภาพโดย นส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

2. ไฟโคไซยานิน การวิเคราะห์ไฟโคไซยานินบริสุทธ์โดยวิธี Boussiba and Richmond (1979) โดยการสกัด Phycocyanin (Phycocycyaninextraction technologies) การสกัดไฟโคไซยานิน โดยการนำสาหร่าย 40 mg หลังการเพาะเลี้ยง 25 วัน เติม phosphate buffer pH 7 จำนวน 10 ml. ทิ้งไว้ในตู้เย็น 24 ชั่วโมง Centrifugation ที่ 35000 rmp 10 °C 5 นาที ไฟโคไซยานิน จะตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอด ใช้ Spectrophotometrically ความยาวคลื่นที่ 620 นาโนเมตร ใช้ buffer เป็น blank คำนวณค่าโดยแทนค่าในสูตร ผลดังภาพที่ 25

$$\text{สูตรคำนวณ \% pure C - Phycocyanin} = \frac{A620x(10)(100)}{7.3x\ (\text{mg sample.})\ x\ (\%\text{dry weight})}$$



ภาพที่ 25 การวิเคราะห์ไฟโคไซยานินบริสุทธิ์

ที่มา: ภาพโดย นส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

3. แคโรทีนอยด์ การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ (KMUTT, 2001)

ภาพที่ 26 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์

ที่มา: ภาพโดย นส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

4. คลอโรฟิลล์ การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ *เอ* และ *บี* โดยวิธี สัณห์ (2551)

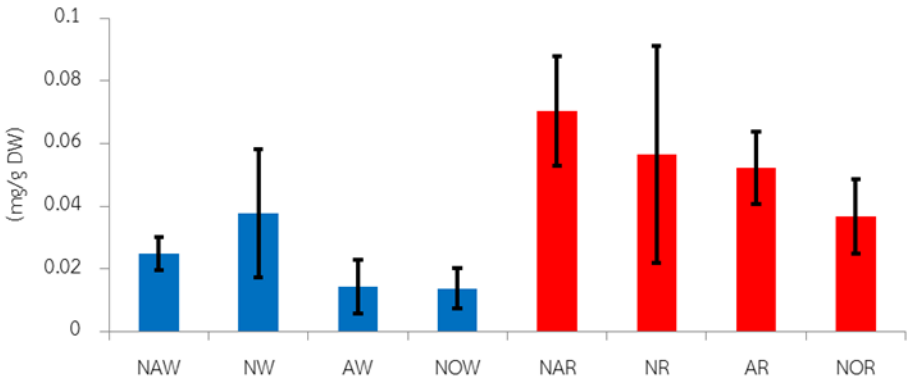
ภาพที่ 27 การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ *เอ* และ *บี*

ที่มา: ภาพโดย นส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

การทดลองศึกษาผลของปัจจัยการเพาะเลี้ยงต่อการเจริญ
ของสาหร่าย *N. commune*

1. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงสีขาวและแสงสีแดงต่อการเจริญของสาหร่าย *N. commune* ในสภาวะที่มีการเติมสารอาหารไนโตรเจน ($NaNo_3$) และไม่เติม

การทดลองเปรียบเทียบการเลี้ยงในแสงสีแดงและแสงสีขาวของสาหร่าย *N.commune* ในอาหารชนิดต่าง ๆ พบค่าน้ำเฉลี่ยหนักแห้งของสาหร่ายในสภาวะแสงสีแดงมีค่าสูงกว่าในสภาวะแสงสีขาวและมีค่าสูงสุดในอาหารที่เติม $NaNo_3$ และ sodium alginate มีค่า 0.070333 ± 0.017474 และต่ำสุดในแสงสีขาวที่เติม $NaNo_3$ มีค่า 0.014333 ± 0.008622 มิลลิกรัม/กรัม

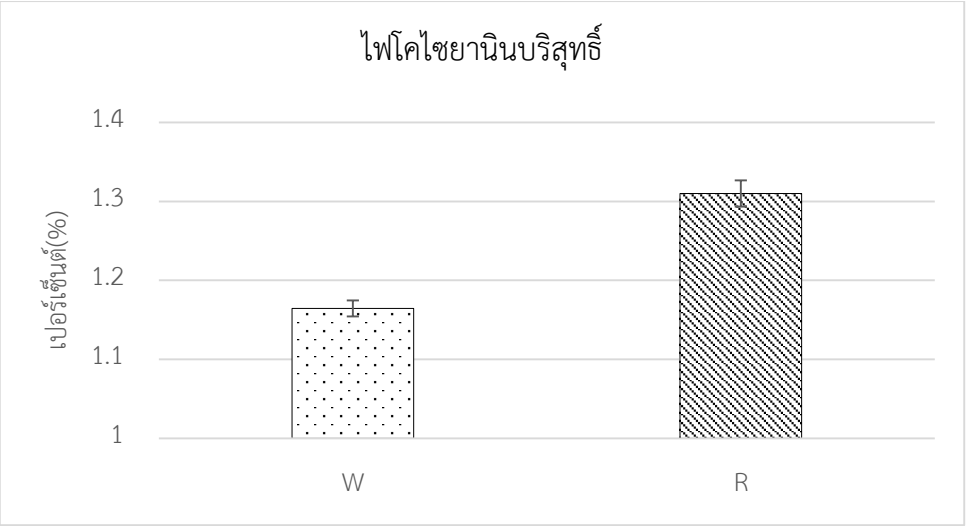


ภาพที่ 28 แสดงค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัม) เปรียบเทียบการเลี้ยงในแสงสีแดงและแสงสีขาวของสาหร่าย *N. commune* ในอาหารชนิดต่าง ๆ

2. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงสีขาวและแสงสีแดงต่อสารไฟโคไซยานินในสาหร่าย *N. commune*

ปริมาณไฟโคไซยานินบริสุทธิ์

การศึกษาปริมาณสารไฟโคไซยานินบริสุทธิ์จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง โดยวิธีสร้างสีและวัดค่าด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Saranraj *et al.*, 2013) พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดง ส่งผลให้มีปริมาณร้อยละสารไฟโคไซยานินบริสุทธิ์ คือ ร้อยละ 1.31 ± 0.02 ซึ่งมีค่าสูงกว่าแสงสีขาว (ร้อยละ 2.51 ± 0.02) สอดคล้องกับ Colla *et al.* (2007) ที่พบว่า แสงสีแดงมีผลทำให้ปริมาณไฟโคไซยานินลดลง 16% แต่ความบริสุทธิ์กลับเพิ่มขึ้นถึง 33% เมื่อเทียบกับแสงสีขาว (ภาพที่ 29 ตารางที่ 1)



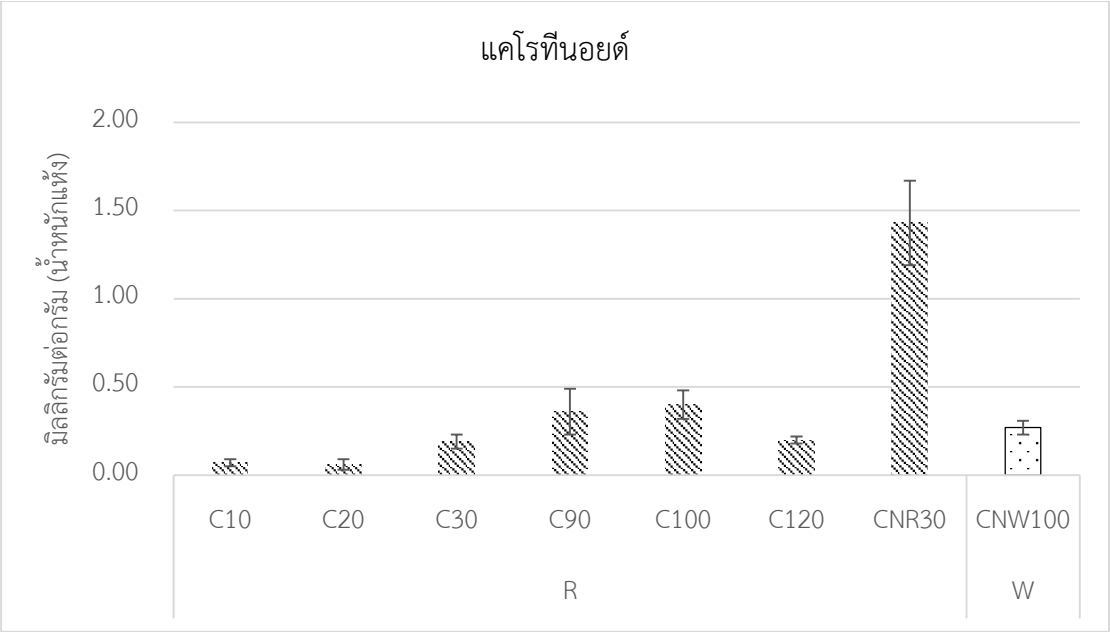
ภาพที่ 29 เปอร์เซ็นต์สารไฟโคไซยานินบริสุทธิ์จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง

ตารางที่ 1 ปริมาณสารไฟโคไซยานินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง

แสงจากหลอดแสง LED	NC Dry weight(g./day/Lit)	%Pure Phycocyanin	%Crude Phycocyanin
แสงสีขาว	0.0173 ± 0.0021	2.51 ± 0.02	1.16 ± 0.01
แสงสีแดง	0.0043 ± 0.0004	2.82 ± 0.04	1.31 ± 0.02

3. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงสีขาวและแสงสีแดงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่าย *N. commune* ในสภาวะที่มีการเติมและไม่เติม $NaNO_3$

การศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีแดง (เนื่องจากผลการศึกษาการเจริญของแสงสีแดงดีกว่าแสงสีขาว และได้มีการยืนยันผลในแสงสีขาวที่ 100 µmol m^{-2} s^{-1}ด้วย) พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดง 30 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 1.428 ± 0.24 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีอื่น ๆ และผลทดสอบยืนยันผลเปรียบเทียบแสงสีขาวและแสงสีแดง 100 µmol $m^{-2}s^{-1}$ พบว่า แสงสีขาว (0.270 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม) มีค่าแคโรทีนอยด์ต่ำกว่าในแสงสีแดง (0.397 ± 0.08 มิลลิกรัมต่อกรัม) (ภาพที่ 30; ตารางที่ 2)



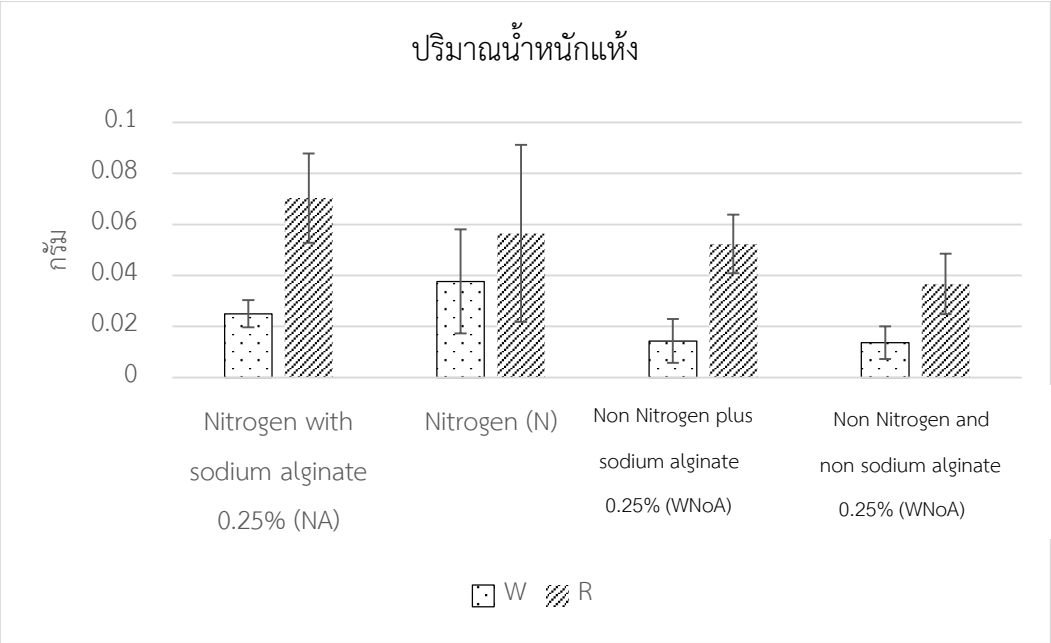
ภาพที่ 30 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาว และแสงสีแดง

ตารางที่ 2 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง

ปริมาณความเข้มแสง $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$	**ปริมาณแคโรทีนอยด์ มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)**
C10	$0.070^{d} \pm 0.02$
C20	$0.056^{d} \pm 0.03$
C30	$0.185^{cd} \pm 0.04$
C90	$0.357^{bc} \pm 0.13$
C100	$0.397^{b} \pm 0.08$
C120	$0.195^{cd} \pm 0.02$
CNR30	$1.428^{a} \pm 0.24$
CNW100	$0.270^{bc} \pm 0.04$

4. การทดลองการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดงร่วมกับสารอาหารไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดงร่วมกับ Nitrogen with sodium alginate (NA), Nitrogen (N), Non Nitrogen plus sodium alginate (WNoA) และ Non Nitrogen and non sodium alginate (WNo)

ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดงร่วมกับ Nitrogen with sodium alginate 0.25% (NA), Nitrogen (N), non nitrogen plus sodium alginate 0.25% (WNoA), และ non nitrogen and non sodium alginate 0.25% (WNo) พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีแดงร่วมกับ Nitrogen with sodium alginate 0.25% (NA) ส่งผลให้มีปริมาณน้ำหนักแห้งสูงที่สุด คือ 0.070 ± 0.017 กรัม รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีแดงร่วมกับ Nitrogen (N) และ non nitrogen plus sodium alginate 0.25% (WNoA) ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักแห้ง 0.049 ± 0.035 และ 0.052 ± 0.012 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวร่วมกับ Nitrogen with sodium alginate 0.25% (NA), Nitrogen (N), non nitrogen plus sodium alginate 0.25% (WNoA) และ non nitrogen and non sodium alginate 0.25% (WNo) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยอุดมลักษณ์ และยุวดี (2557) พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไข่หิน (*Nostoc*) และลอน (*Nostochopsis*) ในอาหารเหลวสูตร BG11 สูตรปรับปรุงที่ผสมโซเดียมอัลจิเนต (Na alginate) 0.25-0.5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญดีที่สุด (ภาพที่ 31; ตารางที่ 3)



ภาพที่ 31 ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง

	แสงสีขาว	**แสงสีแดง**
Nitrogen with sodium alginate 0.25% (NA)	$0.025^{bc} \pm 0.005$	$0.070^{a} \pm 0.017$
Nitrogen (N)	$0.037^{bc} \pm 0.020$	$0.049^{ab} \pm 0.035$
non nitrogen plus sodium alginate 0.25% (WNoA)	$0.014^{c} \pm 0.009$	$0.052^{ab} \pm 0.012$
non nitrogen and non sodium alginate 0.25% (WNo)	$0.013^{c} \pm 0.006$	$0.036^{bc} \pm 0.012$

5. การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสง LED สีแดงต่อคุณค่าทางโภชนาการสาหร่าย *N.commune*

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการสาหร่าย *N. commune*

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการสาหร่าย *N. commune* โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณสารไฟโคไซยานิน ปริมาณโปรตีน ปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll *เอ* และ *บี*) และปริมาณไนเตรต

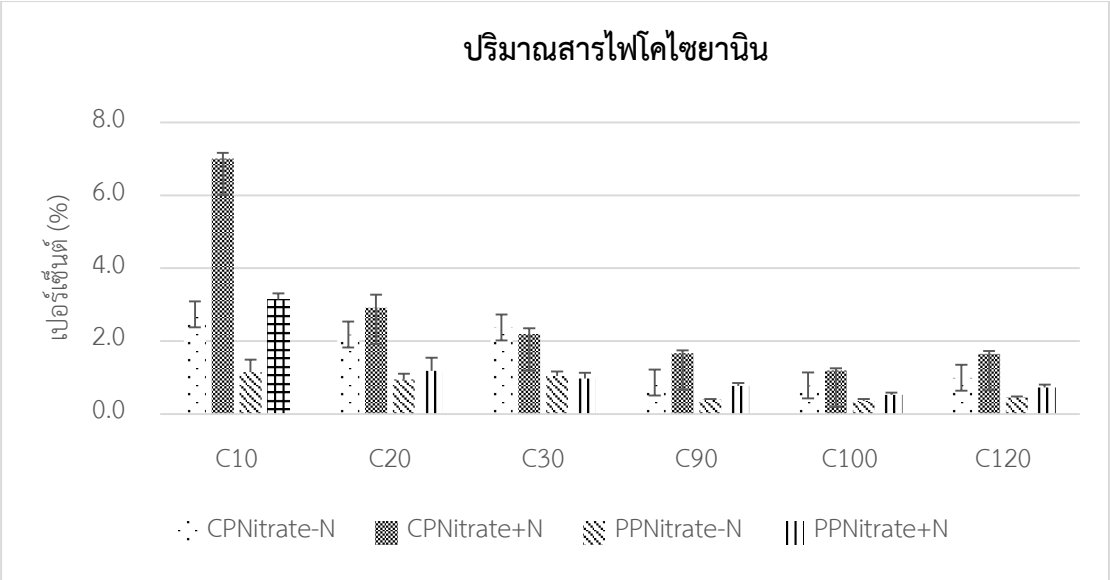
ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารไฟโคไซยานินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

สารไฟโคไซยานิน

การศึกษาปริมาณสารไฟโคไซยานินจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงปริมาณความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ120 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ เป็นระยะเวลา 21 วัน โดยวิธีสร้างสีและวัดค่าด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Saranraj *et al*., 2013) พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณร้อยละของสารไฟโคไซยานินสูงที่สุด คือ ร้อยละ 7.004 ± 0.22 (ภาพที่ 32; ตารางที่ 4)

สารไฟโคไซยานินบริสุทธิ์

การศึกษาปริมาณสารไฟโคไซยานินบริสุทธิ์จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงอย่างเดียว (เนื่องจากผลการศึกษาการเจริญของแสงสีแดงดีกว่าแสงสีขาว) ในปริมาณความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ เป็นระยะเวลา 21 วัน โดยวิธีสร้างสีและวัดค่าด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Saranraj *et al*., 2013) พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณเปอร์เซ็นต์สารไฟโคไซยานินบริสุทธิ์สูงที่สุด คือ ร้อยละ 3.147 ± 0.16 (ภาพที่ 32; ตารางที่ 4)



ภาพที่ 32 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณสารไฟโคไซยานิน

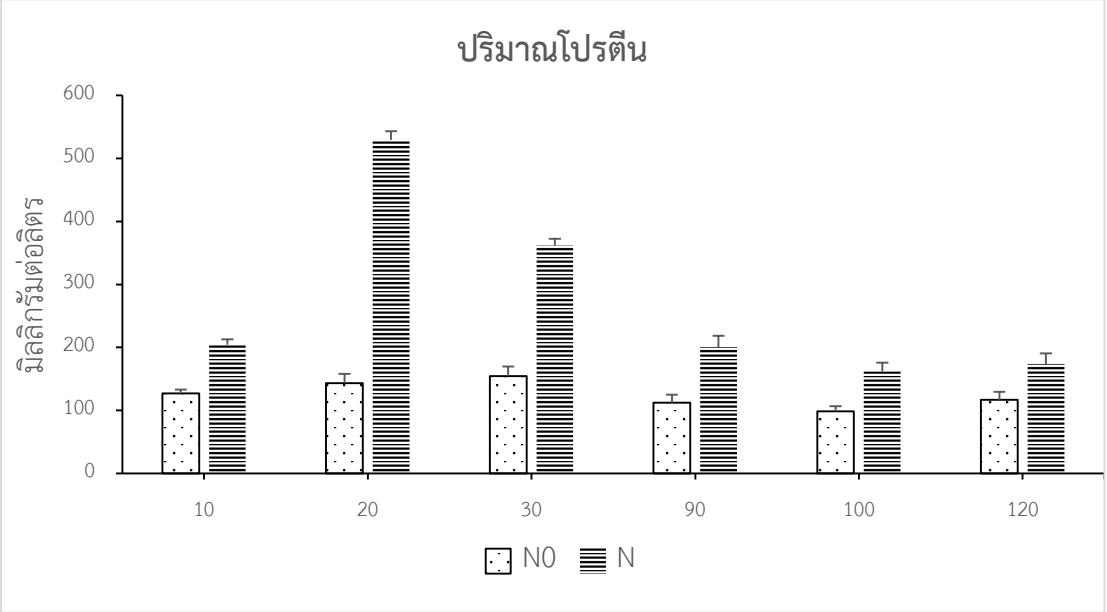
ตารางที่ 4 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณเปอร์เซ็นต์สารไฟโคไซยานินและเปอร์เซ็นต์สารไฟโคไซยานินบริสุทธิ์

ปริมาณความเข้มแสง	% crude C-phycoyanin		% pure C-phycoyanin	
µmol m^{-2} s^{-1}	CPNitrate-N	CPNitrate+N	PPNitrate-N	PPNitrate+N
C10	2.732 ± 0.34	7.004 ± 0.22	1.152 ± 0.34	3.147 ± 0.16
C20	2.179 ± 0.15	2.918 ± 0.21	0.946 ± 0.16	1.183 ± 0.36
C30	2.374 ± 0.08	2.196 ± 0.22	1.046 ± 0.12	0.973 ± 0.16
C90	0.865 ± 0.01	1.667 ± 0.17	0.394 ± 0.02	0.769 ± 0.08
C100	0.782 ± 0.09	1.194 ± 0.04	0.355 ± 0.05	0.528 ± 0.06
C120	0.994 ± 0.05	1.651 ± 0.05	0.455 ± 0.03	0.728 ± 0.08

หมายเหตุ ตัวอักษรในแถวแนวนอนเดียวกันที่เหมือนกัน ไมมีความแตกตางกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

การศึกษาปริมาณปริมาณโปรตีนจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดง อย่างเดียว (เนื่องจากผลการศึกษาการเจริญของแสงสีแดงดีกว่าแสงสีขาว) ในปริมาณความเข้มแสงสีแดงเท่ากับ 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 20 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสูงที่สุด คือ 529.41 ± 14.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพที่ 33; ตารางที่ 5)



ภาพที่ 33 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณโปรตีน

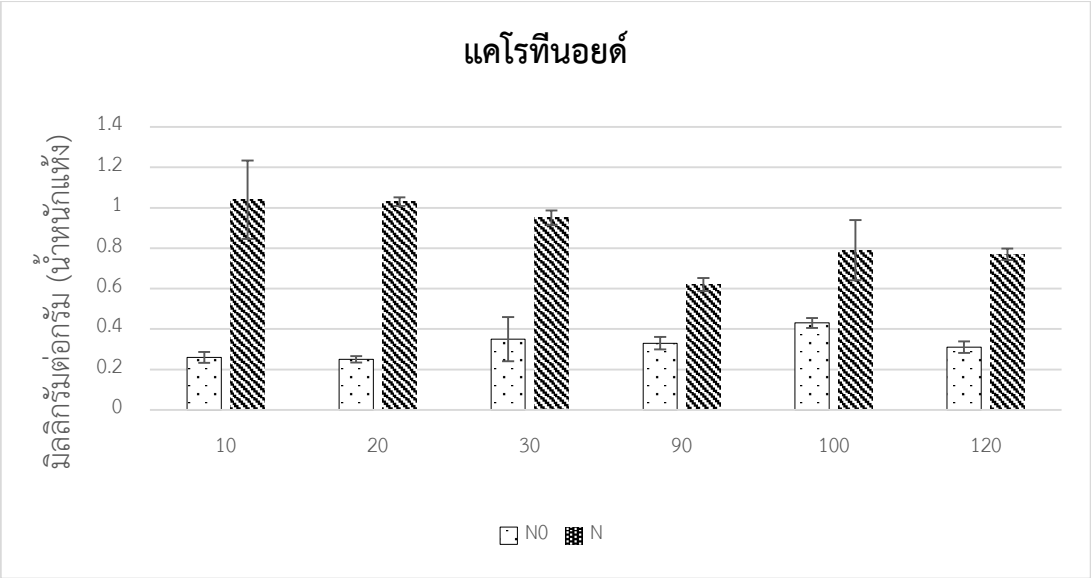
ตารางที่ 5 ค่าปริมาณโปรตีนในสาหร่าย N. *commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

ปริมาณความเข้มแสง $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$	**ไม่มี** $NaNO_3$ **(มิลลิกรัมต่อลิตร)**	**มี** $NaNO_3$ **(มิลลิกรัมต่อลิตร)**
C10	$126.81^{fg} \pm 6.21$	$204.31^{c} \pm 8.40$
C20	$143.38^{ef} \pm 14.74$	$529.41^{a} \pm 14.10$
C30	$154.46^{de} \pm 15.23$	$361.96^{b} \pm 10.79$
C90	$112.11^{gh} \pm 12.77$	$200.59^{c} \pm 17.80$
C100	$98.77^{h} \pm 7.68$	$162.25^{de} \pm 13.68$
C120	$116.91^{hg} \pm 12.79$	$173.92^{e} \pm 16.62$

หมายเหตุ ตัวอักษรในแถวแนวนอนเดียวกันที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

การศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงอย่างเดียว (เนื่องจากผลการศึกษาการเจริญของแสงสีแดงดีกว่าแสงสีขาว) ในปริมาณความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10, 20 และ 30 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 1.04 ± 0.19, 1.03 ± 0.02 และ 0.95 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพที่ 34; ตารางที่ 6)



ภาพที่ 34 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์

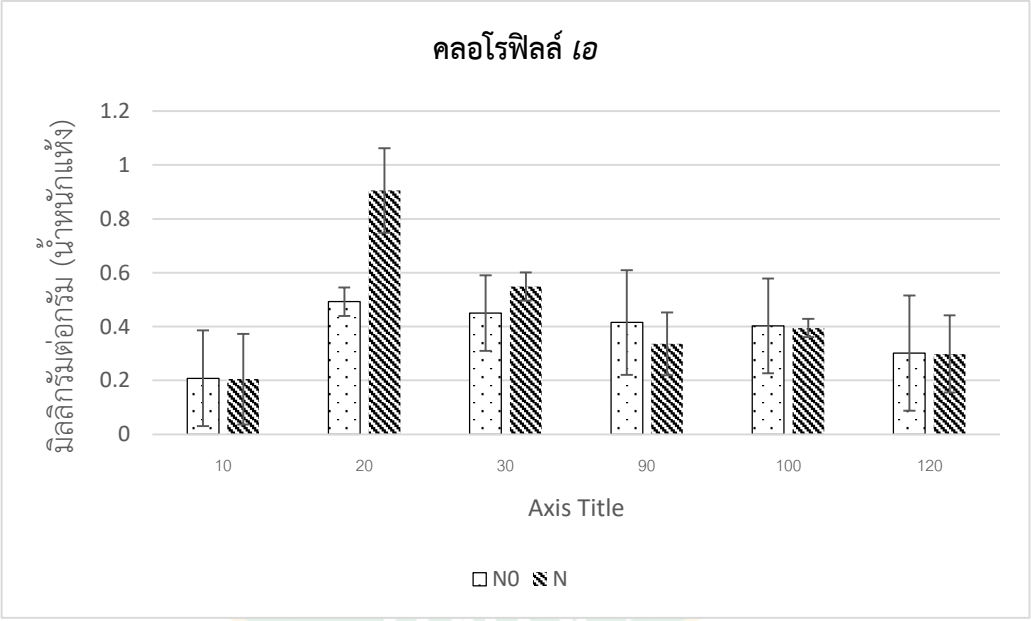
ตารางที่ 6 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

ปริมาณความเข้มแสง $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$	ไม่มี $NaNO_3$ มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)	มี $NaNO_3$ มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)
C10	$0.26^{e} \pm 0.03$	$1.04^{a} \pm 0.19$
C20	$0.25^{e} \pm 0.02$	$1.03^{a} \pm 0.02$
C30	$0.35^{de} \pm 0.11$	$0.95^{a} \pm 0.04$
C90	$0.33^{de} \pm 0.03$	$0.62^{c} \pm 0.03$
C100	$0.43^{d} \pm 0.02$	$0.79^{b} \pm 0.15$
C120	$0.31^{de} \pm 0.03$	$0.77^{b} \pm 0.03$

หมายเหตุ ตัวอักษรในแถวแนวนอนเดียวกันที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงต่อคลอโรฟิลล์ *เอ* ในสาหร่าย *N. commune* ในสภาวะที่มีการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดง อย่างเดียว (เนื่องจากผลการศึกษาการเจริญของแสงสีแดงดีกว่าแสงสีขาว) ในปริมาณความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติมและไม่เติม $NaNO_3$ เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 20 μmol m^{-2} s^{-1} ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* สูงที่สุด คือ 0.91 ± 0.16 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพที่ 35; ตารางที่ 7)



ภาพที่ 35 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ*

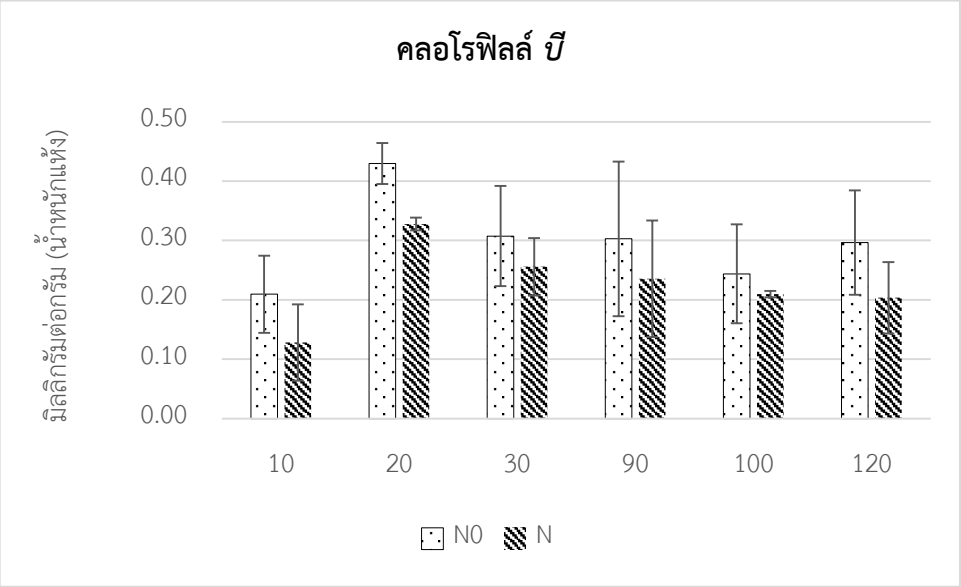
ตารางที่ 7 ปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

ปริมาณความเข้มแสง $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$	**ไม่เติม $NaNO_3$ (มิลลิกรัมต่อลิตร)**	**เติม $NaNO_3$ (มิลลิกรัมต่อลิตร)**
C10	$0.21^{c} \pm 0.18$	$0.20^{c} \pm 0.17$
C20	$0.49^{b} \pm 0.05$	$0.91^{a} \pm 0.16$
C30	$0.45^{bc} \pm 0.14$	$0.55^{b} \pm 0.05$
C90	$0.42^{bc} \pm 0.19$	$0.34^{bc} \pm 0.12$
C100	$0.40^{bc} \pm 0.18$	$0.39^{bc} \pm 0.03$
C120	$0.30^{bc} \pm 0.21$	$0.30^{bc} \pm 0.14$

หมายเหตุ ตัวอักษรในแถวแนวนอนเดียวกันที่เหมือนกัน ไมมีความแตกตางกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองศึกษาผลของปัจจัยแสงต่อคลอโรฟิลล์ *บี* ในสาหร่าย *N. commune* ในสภาวะที่มีการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ *บี* จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงอย่างเดียว (เนื่องจากผลการศึกษาการเจริญของแสงสีแดงดีกว่าแสงสีขาว) ในปริมาณความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 20 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ *บี*สูงที่สุด คือ 0.43 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10 100 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติม $NaNO_3$ และการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10, 30, 90 และ 120 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ การพบปริมาณคลอโรฟิลล์ *บี* ซึ่งสาหร่าย *N. commune* เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่จะไม่มีคลอโรฟิลล์ *บี* จากตรวจผลปริมาณคลอโรฟิลล์ *บี* เนื่องจากเป็นค่ารบกวนจาก Protein complex เช่น ไฟโคไซยานินในสาหร่าย เมื่อตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นแสงที่ 470- 650 นาโนเมตร จากการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ ในช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ทำให้ตรวจพบปริมาณปริมาณคลอโรฟิลล์ *บี* ในปริมาณที่น้อย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Rusckowski and Zilinskas, 1980) (ภาพที่ 36; ตารางที่ 8)



ภาพที่ 36 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ *บี*

ตารางที่ 8 ปริมาณคลอโรฟิลล์ *บี* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

ปริมาณความเข้มแสง $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$	**ไม่เติม $NaNO_3$ (มิลลิกรัมต่อลิตร)**	**เติม $NaNO_3$ (มิลลิกรัมต่อลิตร)**
C10	$0.21^{bc} \pm 0.07$	$0.13^{c} \pm 0.06$
C20	$0.43^{a} \pm 0.03$	$0.33^{ab} \pm 0.01$
C30	$0.31^{ab} \pm 0.08$	$0.26^{bc} \pm 0.05$
C90	$0.30^{ab} \pm 0.13$	$0.24^{bc} \pm 0.10$
C100	$0.24^{bc} \pm 0.08$	$0.21^{bc} \pm 0.01$
C120	$0.30^{ab} \pm 0.09$	$0.20^{bc} \pm 0.06$

หมายเหตุ ตัวอักษรในแถวแนวนอนเดียวกันที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การตรวจความปลอดภัยด้านจุลินทรีย์ในสาหร่าย *N. commune*

สาหร่าย *N. commune* ที่ได้เพาะเลี้ยงในการควบคุมระบบแบบสภาวะปิดได้มีการตรวจสอบความปลอดภัยด้วยการนำไปวิเคราะห์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ Total bacteria และ Coliform bacteria ในตัวอย่างและอาหารจากสาหร่ายนอสตอค เนื่องจากสาหร่ายนอสตอคเป็นสาหร่ายที่สามารถรับประทานได้โดยตรงหรือนำไปแปรรูปในลักษณะต่าง ๆ จึงจำเป็นต้องมีการนำสาหร่ายไปตรวจวัดหาดัชนีของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในสาหร่ายก่อนที่จะนำไปบริโภค โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้กำหนดมาตรฐานสำหรับการบริโภค โดยสาหร่ายถูกจัดให้เป็นอาหารพร้อมบริโภค (ตารางที่ 9)

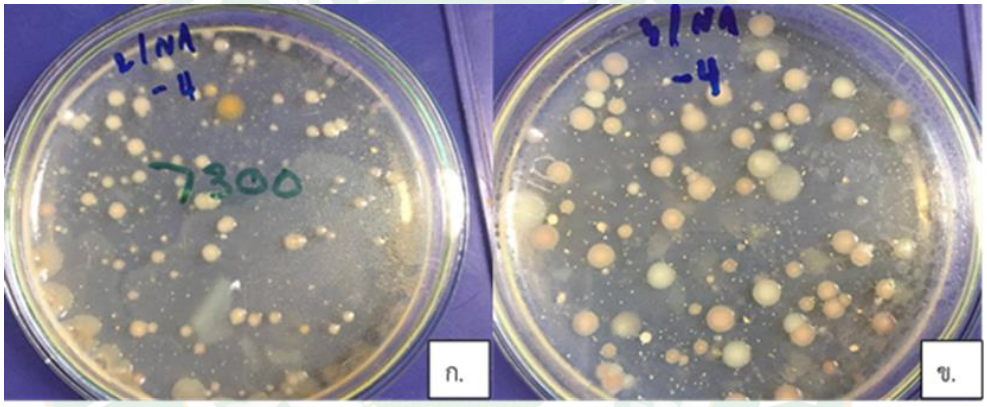
ตารางที่ 9 มาตรฐานสำหรับการบริโภคกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

	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

จากการนำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในระบบปฏิบัติการไปตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ ยีสต์ และรา พบว่า การเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง และ การเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว พบว่า การเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง มีจำนวน Total bacteria 1.57×10^8 CFU/ml Total Coliform น้อยกว่า 3.0 Total Yeast and Mold 1.88×10^7 (CFU/ml) และไม่พบการปนเปื้อนของ E.coli (ตารางที่ 11) ในส่วนของการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว พบว่ามีจำนวน Total bacteria 1.03×10^8 CFU/ml Total Coliform มากกว่า 1,100 Total Yeast and Mold 2.18×10^6 (CFU/ml) และไม่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ผลการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนในสาหร่าย *N. commune*

สาหร่ายนอสตอค	Total bacteria (CFU/ml)	Total Coliform	Total Yeast and Mold (CFU/ml)	(*E.coli*)
แสงสีแดง	$1.57x10^8$	<3.0	$1.88 x10^7$	ไม่พบ
แสงสีขาว	$1.03 x10^8$	>1,100	$2.18 x10^6$	ไม่พบ
ค่ามาตรฐานกำหนดไม่เกิน	$< 1 x 10^6$	< 100	< 500 ในรา $< 1 x 10^6$ ในยีสต์	



ภาพที่ 37 แบคทีเรียที่พบในตัวอย่าง *N. commune* แสงสีแดง (ก) แบคทีเรียที่พบในตัวอย่าง *N. commune* แสงสีขาว (ข)

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

ภาพที่ 38 ภาพการตรวจวิเคราะห์โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Total coliform) และ Total fecal coliforms bacteria *(E. coli)*

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

ภาพที่ 39 ยีสต์และราที่พบในตัวอย่าง *N. commune* แสงสีแดง

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

ในการนำสาหร่าย *N. commune* ไปทำผลิตภัณฑ์อาหารจะมีการนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 C° เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทำผลิตภัณฑ์เพื่อความปลอดภัยอีกครั้งหนึ่ง

การตรวจการเป็นพิษในสาหร่าย *N. commune*

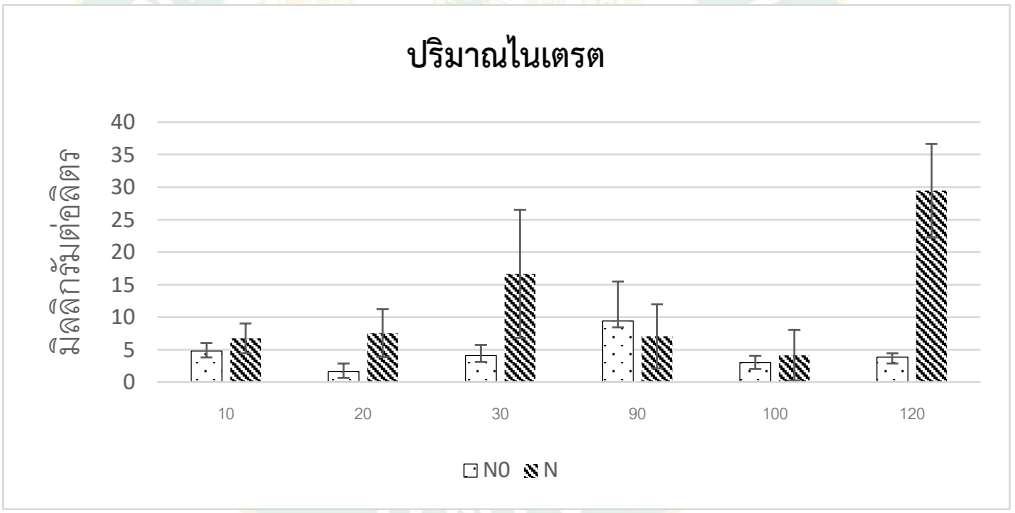
1. การตรวจวิเคราะห์ไมโครซิสติน

การตรวจวิเคราะห์ไมโครซิสตินด้วยชุด The Quantiplate TM Microcystin Kit (EP 022) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Nostoc* ภายใต้การควบคุมปัจจัย ไม่ทำให้เกิดไมโครซิสติน และจากนำตัวอย่างสาหร่ายมาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กทุกระยะในการเลี้ยงสาหร่ายไม่พบไมโครซิสติน จึงไม่ได้มีการตรวจวิเคราะห์ไมโครซิสติน แหล่งน้ำนิ่งสงบ อุณหภูมิ 15 – 30 องศาเซลเซียส pH 6-9 และแหล่งน้ำมีการปนเปื้อนของสารอาหารจำพวกไนเตรต และฟอสเฟต ปริมาณมาก ซึ่งในการทดลองเลี้ยงสาหร่ายมีการควบคุมปัจจัยในการเพาะเลี้ยง เช่น การให้ออกซิเจนในอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย การเปลี่ยนอาหารเลี้ยงสาหร่ายทุก 7 วัน และจากนั้นนำตัวอย่างสาหร่ายมาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกระยะในการเลี้ยงสาหร่ายไม่พบไมโครซิสติน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของศรีประภา และคณะ (2557) ว่าตรวจไม่พบสารพิษไมโครซิสตินในสาหร่าย *Nostoc* sp. ทุกไอโซเลทที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

2. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนเตรตตกค้างในสาหร่าย

2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

การศึกษาปริมาณไนเตรตจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงอย่างเดียว (เนื่องจากผลการศึกษาการเจริญของแสงสีแดงดีกว่าแสงสีขาว) ในปริมาณความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 μmol m^{-2} s^{-1} ร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 120 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณไนเตรตสูงที่สุด คือ 29.4 ± 47.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในกรรมวิธีอื่น ๆ และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการเติม $NaNO_3$ ปริมาณ 25 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณ $NaNO_3$ ที่เติมไปเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย ไม่เกินค่ามาตรฐาน EU ที่ให้ค่ามาตรฐานของไนเตรท ที่ 199 - 2,500 ppm. และปนเปื้อนในอาหารไม่เกิน 2,500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สำหรับประเทศไทยจากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 281 พ.ศ. 2547 กำหนดให้ค่ามาตรฐานสารตกค้างของไนเตรตไม่เกิน 3,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ภาพที่ 41; ตารางที่ 11)



ภาพที่ 40 ปริมาณไนเตรตจากเติมและไม่เติม $NaNO_3$ ภายใต้สภาวะแสงสีแดง

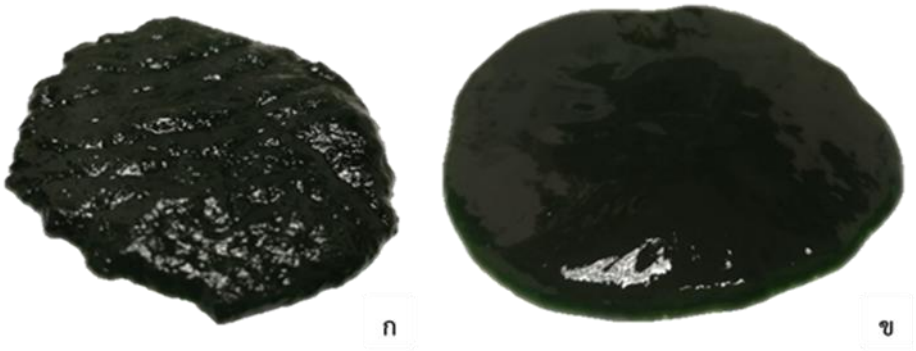
ตารางที่ 11 ปริมาณไนเตรต ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$

ปริมาณความเข้มแสง $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$	**ไม่เติม $NaNO_3$ (มิลลิกรัมต่อลิตร)**	**เติม $NaNO_3$ (มิลลิกรัมต่อลิตร)**
C10	$4.79^{bc} \pm 1.23$	$6.74^{bc} \pm 2.30$
C20	$1.64^{c} \pm 1.24$	$7.55^{bc} \pm 3.71$
C30	$4.09^{bc} \pm 1.64$	$15.04^{b} \pm 12.62$
C90	$9.44^{bc} \pm 6.04$	$7.05^{bc} \pm 4.92$
C100	$3.03^{bc} \pm 1.04$	$4.16^{bc} \pm 3.90$
C120	$3.84^{bc} \pm 0.58$	$29.4^{a} \pm 47.20$

หมายเหตุ ตัวอักษรในแถวแนวนอนเดียวกันที่เหมือนกัน ไมมีความแตกตางกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

อิทธิพลของแสงจากหลอด LED สีแดง ร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อสาหร่าย *N. commune*

เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้มี heterocyst ซึ่งเกี่ยวข้องกับความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ เพื่อทราบผลของการเติมและไม่เติมสารอาหารไนโตรเจนต่อ heterocyst จึงได้นำสาหร่ายไปศึกษาลักษณะปรากฏและด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน แบบส่องกราด (Scanning electron microscope : SEM) พบว่า มีส่งผลต่อการสร้าง heterocyst ที่แตกต่างกันแล้ว ในส่วนของลักษณะผิวสัมผัสผลผลิตสดแตกต่างกันด้วย โดยการเลี้ยงสาหร่ายด้วยการเติม $NaNo_3$ จะมีสีเขียวเข้มลักษณะเนื้อสัมผัสหยาบ ส่วนการเลี้ยงด้วยการไม่เติม $NaNO_3$ มีการสร้าง heterocyst จำนวนมาก มีสีเขียวสด ลักษณะเนื้อสัมผัส นุ่ม คล้ายเยลลี่ (ภาพที่ 41)



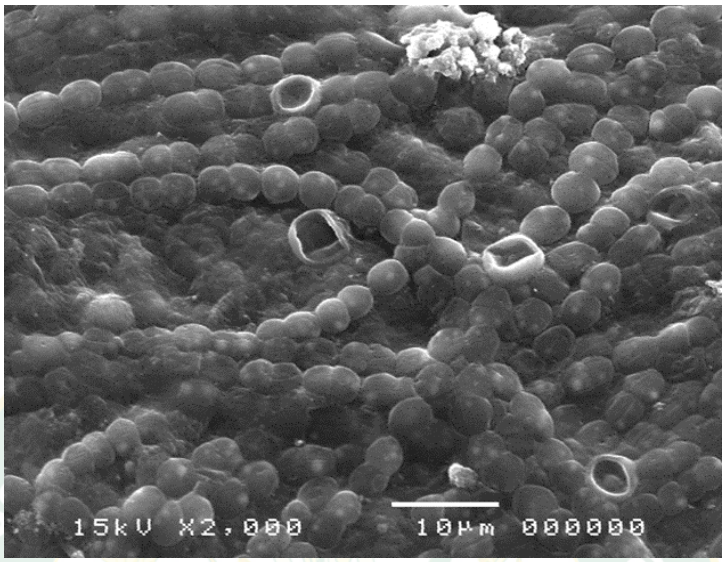
ภาพที่ 41 สาหร่าย *N. commune* MTR สดเลี้ยงด้วยอาหารเติม $NaNo_3$ (ก) และ ไม่เติม $NaNo_3$ (ข) มีเนื้อสัมผัสที่แตกต่างกัน

การเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ด้วยการเติมและไม่เติม $NaNO_3$ ในส่วนของผลผลิตแห้ง ลักษณะที่ต่างกันคือลักษณะผิวสัมผัสของสาหร่าย

ภาพที่ 42 สาหร่าย *N. commune* MTR (ก) แห้งเลี้ยงด้วยอาหารเติม $NaNO_3$ และ (ข) ผลผลิตแห้งเลี้ยงด้วยอาหารไม่เติม $NaNO_3$

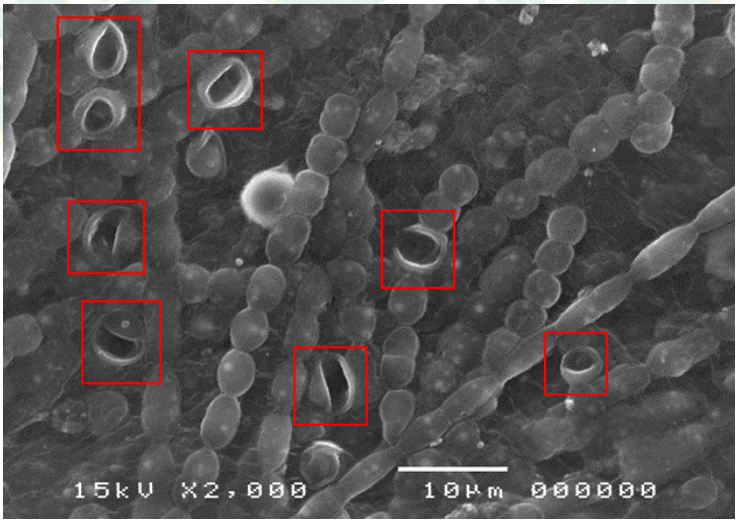
การถ่ายภาพตัวอย่างแห้งสาหร่าย *N. commune* MTR แม่น้ำแม่แตง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน แบบส่องกราด (Scanning electron microscope : SEM) แสดงให้เห็นความแตกต่างระหว่างการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่เติม $NaNO_3$ และไม่เติม $NaNO_3$ พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เติม $NaNO_3$ ทำให้มีการสร้างเฮเทอโรซิสต์ (heterocyst) จำนวนมากเพื่อใช้ในการตรึงไนโตรเจน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของกันต์กนิษฐ์ และคณะ (2555) ที่ศึกษาการปรากฏของเซลล์เฮเทอโรซิสต์ของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Nostoc* sp. TUBT01 และ TUBT02 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ 3 กรัมต่อลิตร พบว่าไม่มีการปรากฏของเซลล์เฮเทอโรซิสต์เลย เนื่องจากในสภาวะที่มีไนโตรเจนเพียงพอไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่ต้องสร้างเซลล์เฮเทอโรซิสต์เพื่อใช้ในการตรึงไนโตรเจน แต่ในสูตรอาหารที่ไม่มีไนโตรเจนไซยาโนแบคทีเรียจะสร้างเซลล์

เฮเทอโรซิสต์เพื่อช่วยในการตรึงไนโตรเจน และนำไปใช้ในการเจริญเติบโต ซึ่งอาจเป็นผลให้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมากกว่า (ภาพที่ 43-45)

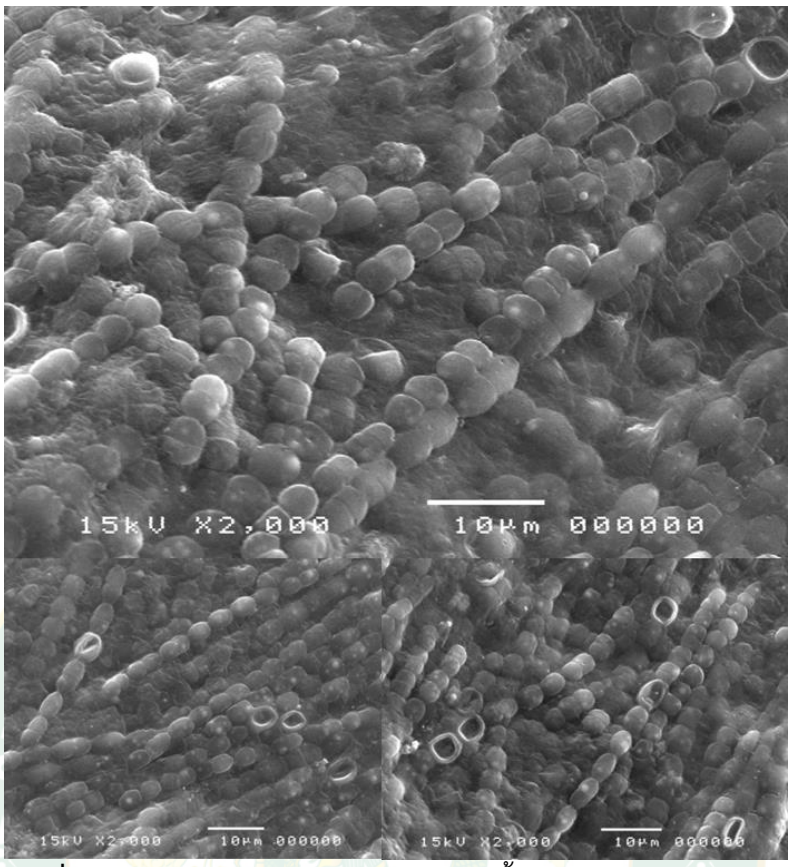


ภาพที่ 43 สาหร่าย *N. commune* MTR ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

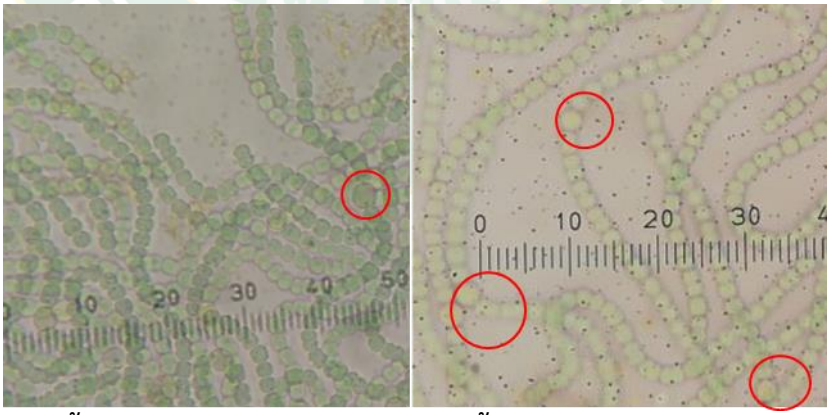


ภาพที่ 44 สาหร่าย *N. commune* MTR เลี้ยงด้วยอาหารไม่เติม $NaNO_3$ ทำให้มีการสร้าง heterocyst จำนวนมากซึ่งเป็นเซลล์พิเศษที่ภายในมีเอนไซม์ nitrogenase เป็นเอนไซม์ที่มีไว้เพื่อตรึงไนโตรเจนแล้วเปลี่ยนเป็น NH_3 หรือ NH_4^+



ภาพที่ 45 สาหร่าย *N. commune* MTR เลี้ยงด้วยอาหารเติม $NaNO_3$

ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)



เลี้ยงด้วยอาหารเติม $NaNO_3$ **เลี้ยงด้วยอาหารไม่เติม $NaNO_3$**

ภาพที่ 46 สาหร่าย *N. commune* MTR เลี้ยงด้วยอาหารเติม $NaNO_3$ และไม่เติม $NaNO_3$ มีการสร้าง heterocyst ที่แตกต่างกัน ถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์ 40X

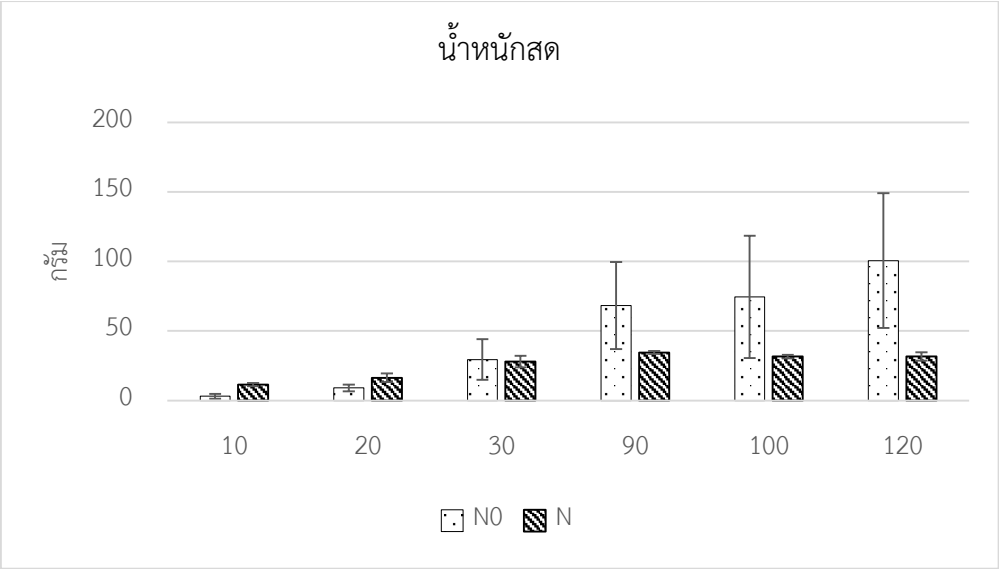
ที่มา: ภาพโดย น.ส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

อิทธิพลของปริมาณความเข้มแสงจากหลอด LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *N. commune* MTR

เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่าย *N. commune* MTR ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง โดยจัดชุดทดลองการเลี้ยงด้วยสูตรอาหารปรับปรุงจาก BG - 11 สูตรดัดแปลง (Stanier *et al*., 1971) ในรูปอาหารแข็ง ในภาชนะพลาสติกขนาด 300 มิลิลิตร ภายใต้การควบคุมแสงสีขาว ขนาด 40 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที และแสงสีแดงขนาด 30 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที จำนวน 3 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน เก็บเกี่ยวผลผลิตโดยการใช้ช้อนขูดบริเวณผิว หาน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง โดยการอบสาหร่ายที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ดังนี้ นำสาหร่าย มาเลี้ยงภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง 2 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ โดยใช้สูตรอาหารข้างต้น ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโต โดยการชั่งน้ำหนักแห้งเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต

ปริมาณน้ำหนักสด

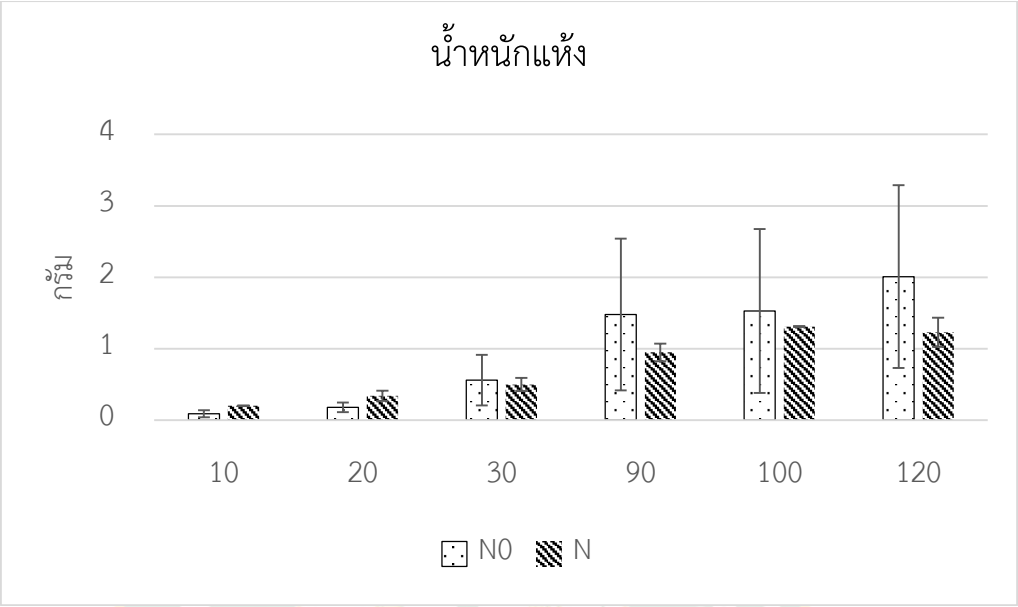
ในการนำสาหร่าย *N. commune* MTR มาเพาะเลี้ยงในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงอย่างเดียว (เนื่องจากผลการศึกษาการเจริญของแสงสีแดงดีกว่าแสงสีขาว) ในปริมาณความเข้มแสง 10, 20 30, 90, 100 และ 120 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* MTR ในระบบปิดโดยการให้แสง LED ในปริมาณความเข้มแสง 120 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณน้ำหนักสดสูงสุด คือ 100.55 ± 48.47 กรัม รองลงมา การให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 100 และ 90 µmol m^{-2} s^{-1} ร่วมกับการไม่เติม $NaNO_3$ มีปริมาณน้ำหนักสด 74.48 ± 43.90 และ 68.31 ± 31.26 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10, 20 และ 30 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติม $NaNO_3$ และ 10, 20, 30, 90 100 และ 120 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการและเติม $NaNO_3$ สอดคล้องกับงานวิจัยของกันต์กนิษฐ และคณะ (2555) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Nostoc* sp. ในสูตรอาหารที่ไม่มีไนโตรเจน ไซยาโนแบคทีเรียจะสร้างเซลล์เฮเทอโรซิสต์เพื่อช่วยในการตรึงไนโตรเจน และนำไปใช้ในการเจริญเติบโต ซึ่งอาจเป็นผลให้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมากกว่าและสอดคล้องกับรายงานการวิจัย (Hense and Beckmann, 2006) ที่รายงานว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดจะสร้างแฮเทอโรซิสต์เพื่อตรึงไนโตรเจนจากอากาศและนำไปใช้ในการเจริญเติบโตสภาวะที่ขาดไนโตรเจน (ภาพที่ 47)



ภาพที่ 47 ปริมาณแสงจากหลอดแสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณน้ำหนักสด

ปริมาณน้ำหนักแห้ง

ในการนำสาหร่าย *N. commune* MTR มาเพาะเลี้ยงในระบบปิดโดยการให้แสง LED ในปริมาณความเข้มแสงสีแดงอย่างเดียว (เนื่องจากผลการศึกษาการเจริญของแสงสีแดงดีกว่าแสงสีขาว ในปริมาณความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 µmol m^{-2} s^{-1} ร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* MTR ในระบบปิดโดยการให้แสง LED ในปริมาณความเข้มแสง 120 µmol m^{-2} s^{-1} ร่วมกับการไม่เติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณน้ำหนักแห้งสูงที่สุด คือ 2.01 ± 1.28 กรัม รองลงมา การให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 100 และ 90 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติม $NaNO_3$ มีปริมาณน้ำหนักแห้ง 1.48 ± 1.06 และ 1.53 ± 1.15 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10, 20 และ 30 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติม $NaNO_3$ และ 10, 20, 30 และ 100 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการและเติม $NaNO_3$ (ภาพที่ 48; ตารางที่ 12)



ภาพที่ 48 ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* MTR ภายใต้แสงสีขาวและแสงสีแดง

ตารางที่ 12 ปริมาณแสงจากหลอดแสง LED แสงสีแดงร่วมการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ต่อปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง

ปริมาณความเข้มแสง $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$	น้ำหนักสด (กรัม)		น้ำหนักแห้ง (กรัม)	
	ไม่เติม $NaNO_3$	เติม $NaNO_3$	ไม่เติม $NaNO_3$	เติม $NaNO_3$
C10	3.06^{c}±1.77	11.33^{c}±1.12	0.09^{d}±0.05	0.20^{cd}±0.00
C20	9.02^{c}±2.50	16.30^{c}±3.07	0.18^{cd}±0.07	0.34^{cd}±0.07
C30	29.45^{bc}±14.60	27.94^{bc}±4.19	0.56^{bcd}±0.35	0.50^{cd}±0.09
C90	68.31^{ab}±31.26	34.50^{bc}±1.07	1.48^{ab}±1.06	0.95^{abcd}±0.12
C100	74.48^{a}±43.90	31.61^{bc}±1.24	1.53^{ab}±1.15	1.31^{bc}±0.01
C120	100.55^{a}±48.47	31.74^{bc}±3.03	2.01^{a}±1.28	1.23^{abcd}±0.20

หมายเหตุ ตัวอักษรในแถวแนวนอนเดียวกันที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การเปรียบเทียบอัตราการสิ้นเปลืองไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย N. *commune* MTR โดยการให้แสง LED สีแดงปริมาณความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 μmol $m^{-2}s^{-1}$

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการให้แสงหลอด LED สีแดง

การเพาะเลี้ยงด้วยการให้แสงความเข้มแสง 10, 20, 30 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ใช้หลอดไฟ LED ขนาด 50 วัตต์ จำนวน 1 หลอด เปิดไฟ 12 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยง 21 วัน ค่าไฟฟ้า 4.5 บาทต่อหน่วย จะมีอัตราสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้า ดังนี้

50w X12h X 21d/1,000 = 12.6 หน่วย

50w X 12h X4.5 บาท /1,000 = 2.7 บาท / 12 ชั่วโมง

= 2.7 /12h = 0.23 บาท/ชั่วโมง

การเพาะเลี้ยงด้วยการให้แสงความเข้มแสง 90 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ใช้หลอดไฟ LED ขนาด 45 วัตต์ จำนวน 2 หลอด เปิดไฟ 12 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยง 21 วัน ค่าไฟฟ้า 4.5 บาทต่อหน่วย จะมีอัตราสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้า ดังนี้

45w X 2 X 12h X 21d/1,000 = 22.68 หน่วย

45w X 2 X 12h X4.5 บาท /1,000 = 4.86 บาท / 12 ชั่วโมง

= 4.86/12h = 0.41 บาท/ชั่วโมง

การเพาะเลี้ยงด้วยการให้แสงความเข้มแสง 90 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ใช้หลอดไฟ LED ขนาด 45 วัตต์ จำนวน 3 หลอด เปิดไฟ 12 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยง 21 วัน ค่าไฟฟ้า 4.5 บาทต่อหน่วย จะมีอัตราสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้า ดังนี้

45w X 3 X 12h X 21d/1,000 = 34.02 หน่วย

45w X 3 X 12h X4.5 บาท /1,000 = 7.29 บาท / 12 ชั่วโมง

= 7.29/12h = 0.61 บาท/ชั่วโมง

การเพาะเลี้ยงด้วยการให้แสงความเข้มแสง 90 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ใช้หลอดไฟ LED ขนาด 45 วัตต์ จำนวน 4 หลอด เปิดไฟ 12 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยง 21 วัน ค่าไฟฟ้า 4.5 บาทต่อหน่วย จะมีอัตราสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้า ดังนี้

45w X 4 X 12h X 21d/1,000 = 45.36 หน่วย

45w X4 X 12h X4.5 บาท /1,000 = 9.72บาท / 12 ชั่วโมง

= 9.72 /12h = 0.81 บาท/ชั่วโมง

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการให้แสงหลอด หลอด LED สีขาว

การเพาะเลี้ยงด้วยการให้แสงสีขาว ใช้หลอดไฟ LED ขนาด 19 วัตต์ จำนวน 4 หลอด เปิดไฟ 12 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยง 21 วัน ค่าไฟฟ้า 4.5 บาทต่อหน่วย จะมีอัตราสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้า ดังนี้

19w X12h X 21d/1,000 = 4.78 หน่วย

19w X 12h X4.5 บาท /1,000 = 1.03 บาท / 12 ชั่วโมง

= 1.03 /12h = 0.09 บาท/ชั่วโมง

อัตราการสิ้นเปลืองไฟฟ้าในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* โดยการเติมอากาศ ใช้ปั๊มเติมอากาศ ขนาด 5 วัตต์ มีอัตราการใช้ไฟฟ้า ดังนี้

5w X24h X 21d/1,000 = 2.52 หน่วย

2.52 X4.5 บาท = 11.34 บาท/ 21 วัน

= 0.54 บาท/วัน

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย *N. commune* MTR

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย *N. commune* MTR เช่น เยลลี่ คาเวียร์ สำหรับอาหารหวาน และผงโรยข้าว สำหรับโรยหน้าอาหาร หรือปรุงรสอาหาร ทำให้ผู้บริโภคได้ผลิตภัณฑ์เสริมรสชาติน่ารับประทานและมีประโยชน์ต่อร่างกาย

ภาพที่ 49 ผลิตภัณฑ์ เยลลี่ คาเวียร์ และผงโรยข้าว จากสาหร่าย *N. commune*

ที่มา: ภาพโดย นส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

ผลการสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหาร
จากสาหร่าย *N. commune* MTR

การสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภค จากผลิตภัณฑ์ 3 ชนิด โดยการทำแบบสำรวจความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ 100 ราย

ภาพที่ 50 การสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภคผลิตภัณฑ์
จากสาหร่าย *N. commune* MTR

ที่มา: ภาพโดย นส.จิตตนันท์ แก้วมณีสุข (2561)

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้บริโภคที่ทดสอบความพึงพอใจที่มีต่อสาหร่ายนอสตอค

จากการศึกษาข้อมูทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถามที่ได้มีการจำแนกตัวแปร ได้แก่ เพศ อายุ สถานภาพ ระดับการศึกษาและอาชีพ มีผลการศึกษาดังต่อไปนี้

1. เพศ

จากการศึกษาพบว่า ผู้บริโภคที่ทดสอบความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค ส่วนใหญ่ร้อยละ 69.0 เป็นผู้หญิงและอีกร้อยละ 31.0 เป็นผู้ชาย (ตารางที่ 13)

2. อายุ

จากการศึกษาพบว่า ผู้บริโภคที่ทดสอบความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค ส่วนใหญ่อยู่ในช่วงอายุ 11 ถึง 20 ปี คิดเป็นร้อยละ 37.0 รองลงมาอยู่ในช่วงอายุ 21 ถึง 30 ปี คิดเป็นร้อยละ 32.0 ในช่วงอายุ 41 ถึง 50 ปี คิดเป็นร้อยละ 12.0 ในช่วงอายุ 31 ถึง 40 ปี คิดเป็นร้อยละ 9.0 ในช่วงอายุ 51 ถึง 60 ปี คิดเป็นร้อยละ 9.0 ตามลำดับ และผู้บริโภคที่ทดสอบ

ความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอคน้อยที่สุดอยู่ในช่วงอายุ 61 ปีขึ้นไป คิดเป็น ร้อยละ 2.0 (ตารางที่ 13)

3. สถานภาพ

จากการศึกษาพบว่า ผู้บริโภคที่ทดสอบความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอคส่วนใหญ่มีสถานภาพโสด คิดเป็นร้อยละ 77 รองลงมาคือสถานภาพสมรสคิดเป็นร้อยละ 21 และร้อยละ 2.0 มีสถานภาพอื่น ๆ คือ หย่าร้าง (ตารางที่ 13)

4. ระดับการศึกษา

จากการศึกษาพบว่า ผู้บริโภคที่ทดสอบความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอคส่วนใหญ่จบการศึกษาระดับปริญญาตรีขึ้นไป คิดเป็นร้อยละ 77.0 รองลงมา คือ จบการศึกษาระดับ ปวส. / ปวช. คิดเป็นร้อยละ 11.0 ระดับมัธยมศึกษา คิดเป็นร้อยละ 9.0 และจบการศึกษาต่ำกว่ามัธยมศึกษา คิดเป็นร้อยละ 3.0 (ตารางที่ 13)

5. อาชีพ

จากการศึกษาพบว่า ผู้บริโภคที่ทดสอบความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอคส่วนใหญ่ประกอบอาชีพนักเรียน / นักศึกษา คิดเป็นร้อยละ 54.0 รองลงมา ข้าราชการ / พนักงานรัฐวิสาหกิจ คิดเป็นร้อยละ 16.0 ประกอบอาชีพธุรกิจส่วนตัว คิดเป็นร้อยละ 11.0 พนักงานบริษัท คิดเป็นร้อยละ 9.0 ประกอบอาชีพอื่น ๆ คิดเป็นร้อยละ 7.0 และพ่อบ้าน / แม่บ้าน คิดเป็นร้อยละ 3.0 (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 13 จำนวนและค่าร้อยละของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค จำแนกตามข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม	**ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)**	
	จำนวน	**ร้อยละ**
เพศ		
ชาย	31	31.0
หญิง	69	69.0
รวม	**100**	**100.0**

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม	ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)	
	จำนวน	ร้อยละ
อายุ		
11-20 ปี	37	37.0
21-30 ปี	32	32.0
31-40 ปี	9	9.0
41-50 ปี	12	12.0
51-60 ปี	8	8.0
61 ปีขึ้นไป	2	2.0
รวม	**100**	**100.0**
สถานภาพ		
โสด	77	77.0
สมรส	21	21.0
อื่น ๆ	2	2.0
รวม	**100**	**100.0**
ระดับการศึกษา		
ต่ำกว่ามัธยมศึกษา	3	3.0
มัธยมศึกษา	9	9.0
ปวส. / ปวช.	11	11.0
ปริญญาตรีขึ้นไป	77	77.0
รวม	**100**	**100.0**
อาชีพ		
นักเรียน / นักศึกษา	54	54.0
ข้าราชการ / พนักงานรัฐวิสาหกิจ	16	16.0
พ่อบ้าน / แม่บ้าน	3	3.0
พนักงานบริษัท	9	9.0
ประกอบอาชีพธุรกิจส่วนตัว	11	11.0
อื่น ๆ	7	7.0
รวม	**100**	**100.0**

ตอนที่ 2 พฤติกรรมการบริโภคสาหร่ายของผู้ทดสอบความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค

จากการศึกษาพฤติกรรมการบริโภคสาหร่ายของผู้ทดสอบความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอคได้แบ่งคำถามออกเป็นข้อ ๆ ดังนี้

1. ผู้ทดสอบความพึงพอใจบริโภคสาหร่ายบ่อยแค่ไหน

จากการทดสอบความพึงพอใจบริโภคสาหร่ายบ่อยแค่ไหน พบว่า ผู้ทดสอบความพึงพอใจร้อยละ 49.0 บริโภคสาหร่ายอาทิตย์ละครั้ง รองลงมาผู้ทดสอบความพึงพอใจร้อยละ 39.0 บริโภคสาหร่ายมากกว่าอาทิตย์ละครั้ง ทดสอบความพึงพอใจร้อยละ 8.0 บริโภคสาหร่าย 2-3 วันครั้ง และผู้ทดสอบความพึงพอใจร้อยละ 4.0 บริโภคสาหร่ายทุกวัน (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 จำนวนและค่าร้อยละของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจบริโภคสาหร่ายบ่อยแค่ไหน

พฤติกรรมการบริโภค	ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)	
	จำนวน	ร้อยละ
ผู้ทดสอบความพึงพอใจบริโภคสาหร่ายบ่อยแค่ไหน		
ทุกวัน	4	4.0
อาทิตย์ละครั้ง	49	49.0
2-3 วันครั้ง	8	8.0
มากกว่าอาทิตย์ละครั้ง	39	39.0
รวม	**100**	**100.0**

2. ผู้ทดสอบความพึงพอใจเคยรู้จักผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายประเภทใดมาก่อนบ้าง

จากการทดสอบความพึงพอใจเคยรู้จักผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายประเภทใดมาก่อนบ้าง พบว่า ทดสอบความพึงพอใจร้อยละ 80.0 เคยรู้จักผลิตภัณฑ์สาหร่ายแผ่นมาก่อน รองลงมาคือ ร้อยละ 17.0 เคยรู้จักผลิตภัณฑ์สาหร่ายปรุงรส ร้อยละ 2.0 เคยรู้จักผลิตภัณฑ์เยลลี่สาหร่าย และผู้ทดสอบความพึงพอใจเคยรู้จักผลิตภัณฑ์ผงโรยข้าวจากสาหร่ายน้อยที่สุด คือ ร้อยละ 1.0 (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 จำนวนและค่าร้อยละของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจเคยรู้จักผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายประเภทใดมาก่อนบ้าง

พฤติกรรมการบริโภค	ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)	
	จำนวน	ร้อยละ
ผู้ทดสอบความพึงพอใจเคยรู้จักผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายประเภทใดมาก่อนบ้าง		
สาหร่ายแผ่น	80	80.0
สาหร่ายปรุงรส	17	17.0
ผงโรยข้าว	1	1.0
เยลลี่สาหร่าย	2	2.0
อื่น ๆ	0	0.0
รวม	**100**	**100.0**

3. ผู้ทดสอบความพึงพอใจต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นแบบใด

จากการทดสอบความพึงพอใจต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นแบบใด พบว่า ทดสอบความพึงพอใจร้อยละ 49.0 ต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นอาหารหวาน รองลงมา ร้อยละ 42.0 ต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นอาหารคาว และผู้ทดสอบความพึงพอใจน้อยที่สุดต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นอาหารอื่น ๆ ร้อยละ 9.0 (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 จำนวนและค่าร้อยละของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นแบบใด

พฤติกรรมการบริโภค	ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)	
	จำนวน	ร้อยละ
ผู้ทดสอบความพึงพอใจต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นแบบใด		
อาหารหวาน	49	49.0
อาหารคาว	42	42.0
อื่น ๆ	9	9.0
รวม	**100**	**100.0**

4. ผู้ทดสอบความพึงพอใจมีความพึงพอใจต่อสารที่มีประโยชน์ในสาหร่ายนอสตอคในระดับใด (สาหร่ายนอสตอค ประกอบด้วย โปรตีน 1.00 mg/L^{-1} แคโรทีนอยด์ 0.40 mg.G^{-1} และ % ไฟโคซายานินบริสุทธิ์ 3.14 %)

จากการทดสอบความพึงพอใจต่อสารที่มีประโยชน์ในสาหร่ายนอสตอคในระดับใด พบว่า ผู้ทดสอบความพึงพอใจร้อยละ 55.0 มีความพึงพอใจต่อสารที่มีประโยชน์ในสาหร่ายนอสตอคในระดับมาก รองลงมาผู้ทดสอบความพึงพอใจร้อยละ 22.0 มีความพึงพอใจต่อสารที่มีประโยชน์ในสาหร่ายนอสตอคในระดับมากที่สุดและปานกลาง และผู้ทดสอบความพึงพอใจร้อยละ 1.0 มีความพึงพอใจต่อสารที่มีประโยชน์ในสาหร่ายนอสตอคในระดับน้อย นอกจากนี้ไม่พบมีความพึงพอใจต่อสารที่มีประโยชน์ในสาหร่ายนอสตอคในระดับน้อยที่สุด (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 จำนวนและค่าร้อยละของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจต่อสารที่มีประโยชน์ในสาหร่ายนอสตอคในระดับใด

พฤติกรรมการบริโภค	ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)	
	จำนวน	ร้อยละ
ความพึงพอใจต่อสารที่มีประโยชน์ในสาหร่ายนอสตอคในระดับใด		
มากที่สุด	22	22.0
มาก	55	55.0
ปานกลาง	22	22.0
น้อย	1	1.0
น้อยที่สุด	0	0.0
รวม	**100**	**100.0**

ตอนที่ 3 ความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค

จากการศึกษาความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค โดยมีผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค คือ 1) ผลิตภัณฑ์คาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค 2) ผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค และ 3) เยลลี่จากสาหร่ายนอสตอค ที่ได้มีการกำหนดระดับคะแนนความชอบไว้ ซึ่งมีการแบ่งประเภทของความพึงพอใจในด้านต่าง ๆ ทั้งหมด 3 ด้าน ได้แก่ 1) ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส 2) ด้านบรรจุภัณฑ์ และ 3) ด้านผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีผลความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค ดังนี้

1. ความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์คาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค

จากการศึกษาความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์คาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอคซึ่งผลรวมของความพึงพอใจเฉลี่ยในด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส ด้านบรรจุภัณฑ์และด้านผลิตภัณฑ์มีค่า 4.00 และมีระดับความคิดเห็นอยู่ในระดับมาก (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์คาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค

ความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์	**ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)**		
อาหารจากสาหร่ายนอสตอค	$\bar{x}$	**S.D.**	**ระดับความคิดเห็น**
ผลิตภัณฑ์คาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค			
1.ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส	4.15	.723	มาก
2. ด้านบรรจุภัณฑ์	3.95	.797	มาก
3. ด้านผลิตภัณฑ์	3.91	.767	มาก
รวม	**4.00**	**.762**	**มาก**

1.1 ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส

จากการศึกษาความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอคในด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส พบว่า ผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมากที่สุด คือ ผลิตภัณฑ์แปลกใหม่น่าสนใจโดยมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.38 ซึ่งค่าเฉลี่ยความพึงพอใจสูงที่สุด และความพึงพอใจมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก ได้แก่ รสสัมผัส ความแน่น ความนุ่มมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.20 รสชาติมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.17 ลักษณะของผลิตภัณฑ์มีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.09 สีสันมีความน่ารับประทานมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.08 และกลิ่นมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.00 ตามลำดับ ซึ่งการสำรวจความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอคในด้านประสาทสัมผัสและอรรถรสแสดงให้เห็นว่า ความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่อยู่ในระดับมากและมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.15 (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านประสาทสัมผัสและอรรถรสที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค

ความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค	ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)		
	$\bar{x}$	S.D.	ระดับความคิดเห็น
ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส			
รสชาติ	4.17	.570	มาก
กลิ่น	4.00	.765	มาก
สีสันมีความน่ารับประทาน	4.08	.761	มาก
รสสัมผัส ความแน่น ความนุ่ม	4.20	.725	มาก
ลักษณะของผลิตภัณฑ์	4.09	.793	มาก
ผลิตภัณฑ์แปลกใหม่ น่าสนใจ	4.38	.722	มากที่สุด
รวม	**4.15**	**.723**	**มาก**

1.2 ด้านบรรจุภัณฑ์

จากการศึกษาความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอคในด้านบรรจุภัณฑ์ พบว่า ผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก คือ บรรจุภัณฑ์สวยงาม/ดูดี มีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.00 และ ความเหมาะสมบรรจุภัณฑ์ มีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.89 ตามลำดับ ซึ่งการสำรวจความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอคในด้านด้านบรรจุภัณฑ์แสดงให้เห็นว่า ความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่อยู่ในระดับมากและมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.95 (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 20 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านบรรจุภัณฑ์ที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค

ความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค	ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)		
	$\bar{x}$	S.D.	ระดับความคิดเห็น
ด้านบรรจุภัณฑ์			
ความเหมาะสมบรรจุภัณฑ์	3.89	.764	มาก
บรรจุภัณฑ์สวยงาม/ดูดี	4.00	.829	มาก
รวม	**3.95**	**.797**	**มาก**

1.3 ด้านผลิตภัณฑ์

จากการศึกษาความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอคในด้านผลิตภัณฑ์ พบว่า ผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจในความปลอดภัยในการผลิตผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับมากและมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.91 (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านผลิตภัณฑ์ที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค

ความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค	ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)		
	$\bar{x}$	S.D.	ระดับความคิดเห็น
ด้านผลิตภัณฑ์			
ความปลอดภัยในการผลิตผลิตภัณฑ์	3.91	.767	มาก
รวม	**3.91**	**.767**	**มาก**

2. ความพึงพอใจที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค

จากการศึกษาความพึงพอใจเฉลี่ยที่มีต่อผลิตภัณฑ์ผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอคซึ่งผลรวมของความพึงพอใจเฉลี่ยในด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส ด้านบรรจุภัณฑ์และด้านผลิตภัณฑ์มีค่า 3.89 และมีระดับความคิดเห็นอยู่ในระดับมาก

2.1 ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส

จากการศึกษาความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอคในด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส พบว่า ผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจอยู่ในระดับ

มาก คือ ผลิตภัณฑ์แปลกใหม่ น่าสนใจ มีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจสูงที่สุด 3.97 รองลงมาคือสีสันมีความน่ารับประทานมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.96 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ มีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.89 รสสัมผัส ความแน่น ความนุ่มมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.83 รสชาติค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.81 และกลิ่นมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจน้อยที่สุด 3.79 ตามลำดับ ซึ่งการสำรวจความพึงพอใจที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอคในด้านประสาทสัมผัสและอรรถรสแสดงให้เห็นว่า ความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่อยู่ในระดับมากและมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.88 (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านประสาทสัมผัสและอรรถรสที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค

ความพึงพอใจที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค	**ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)**		
	$\bar{x}$	**S.D.**	**ระดับความคิดเห็น**
ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส			
รสชาติ	3.81	.813	มาก
กลิ่น	3.79	.868	มาก
สีสันมีความน่ารับประทาน	3.96	.920	มาก
รสสัมผัส ความแน่น ความนุ่ม	3.83	.877	มาก
ลักษณะของผลิตภัณฑ์	3.89	.803	มาก
ผลิตภัณฑ์แปลกใหม่ น่าสนใจ	3.97	.870	มาก
รวม	**3.88**	**.859**	**มาก**

2.2 ด้านบรรจุภัณฑ์

จากการศึกษาความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอคในด้านบรรจุภัณฑ์ พบว่า ผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก คือ บรรจุภัณฑ์สวยงาม/ดูดี มีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.99 และ ความเหมาะสมบรรจุภัณฑ์ มีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.85 ตามลำดับ ซึ่งการสำรวจความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอคในด้านด้านบรรจุภัณฑ์แสดงให้เห็นว่า ความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่อยู่ในระดับมากและมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.92 (ตารางที่ 23)

ตารางที่ 23 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านบรรจุภัณฑ์ที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค

ความพึงพอใจที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค	ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)		
	$\bar{x}$	S.D.	ระดับความคิดเห็น
ด้านบรรจุภัณฑ์			
ความเหมาะสมบรรจุภัณฑ์	3.85	.796	มาก
บรรจุภัณฑ์สวยงาม/ดูดี	3.99	.847	มาก
รวม	**3.92**	**.822**	**มาก**

2.3 ด้านผลิตภัณฑ์

จากการศึกษาความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอคในด้านผลิตภัณฑ์ พบว่า ผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจในความปลอดภัยในการผลิตผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับมากและมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 3.88 (ตารางที่ 24)

ตารางที่ 24 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านผลิตภัณฑ์ที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค

ความพึงพอใจที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอค	ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)		
	$\bar{x}$	S.D.	ระดับความคิดเห็น
ด้านผลิตภัณฑ์			
ความปลอดภัยในการผลิตผลิตภัณฑ์	3.88	.832	มาก
รวม	**3.88**	**.832**	**มาก**

3. ความพึงพอใจที่มีต่อเยลลี่จากสาหร่ายนอสตอค

จากการศึกษาความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอคในด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส พบว่า ผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจมีค่า 4.29 และมีระดับความคิดเห็นอยู่ในระดับมากที่สุด

3.1 ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส

จากการศึกษาความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่มีต่อเยลลี่จากสาหร่ายนอสตอคในด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส พบว่า ผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมากที่สุด

คือ สีสันมีความน่ารับประทานที่มีค่าความพึงพอใจมากที่สุด 4.44 รองลงมารสสัมผัส ความแน่น ความนุ่มมีค่าความพึงพอใจ 4.41 รสชาติมีค่าความพึงพอใจ 4.40 และกลิ่นมีค่าความพึงพอใจ 4.31 ในส่วนของผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก คือ ลักษณะของผลิตภัณฑ์มีค่าความพึงพอใจ 4.25 และผลิตภัณฑ์แปลกใหม่ น่าสนใจมีค่าความพึงพอใจน้อยที่สุด 4.18 ซึ่งจากการสำรวจความพึงพอใจที่มีต่อเยลลี่จากสาหร่ายนอสตอคในด้านประสาทสัมผัสและอรรถรสแสดงให้เห็นว่า ความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่อยู่ในระดับมากที่สุดและมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.33 (ตารางที่ 25)

ตารางที่ 25 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านประสาทสัมผัสและอรรถรสที่มีต่อเยลลี่จากสาหร่ายนอสตอค

ความพึงพอใจที่มีต่อเยลลี่จาก	**ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)**		
สาหร่ายนอสตอค	$\bar{x}$	**S.D.**	**ระดับความคิดเห็น**
ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส			
รสชาติ	4.40	.696	มากที่สุด
กลิ่น	4.31	.720	มากที่สุด
สีสันมีความน่ารับประทาน	4.44	.641	มากที่สุด
รสสัมผัส ความแน่น ความนุ่ม	4.41	.668	มากที่สุด
ลักษณะของผลิตภัณฑ์	4.25	.702	มาก
ผลิตภัณฑ์แปลกใหม่ น่าสนใจ	4.18	.757	มาก
รวม	**4.33**	**.697**	**มากที่สุด**

3.2 ด้านบรรจุภัณฑ์

จากการศึกษาความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอคในด้านบรรจุภัณฑ์ พบว่า ผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมากที่สุด คือ ความเหมาะสมบรรจุภัณฑ์ มีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจมากที่สุด 4.40 และ ผู้สำรวจความพึงพอใจมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก คือ บรรจุภัณฑ์สวยงาม/ดูดี มีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.20 ตามลำดับ ซึ่งการสำรวจความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอคในด้านด้านบรรจุภัณฑ์แสดงให้เห็นว่าความพึงพอใจของผู้สำรวจความพึงพอใจที่อยู่ในระดับมากและมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ 4.30 (ตารางที่ 26)

ตารางที่ 26 ระดับความคิดเห็นของผู้ให้ข้อมูลความพึงพอใจด้านบรรจุภัณฑ์ที่มีต่อเยลลี่จากสาหร่ายนอสตอค

ความพึงพอใจที่มีต่อเยลลี่จากสาหร่ายนอสตอค	**ผู้ชิมผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค (n=100)**		
	$\bar{x}$	**S.D.**	**ระดับความคิดเห็น**
ด้านบรรจุภัณฑ์			
ความเหมาะสมบรรจุภัณฑ์	4.40	.696	มากที่สุด
บรรจุภัณฑ์สวยงาม/ดูดี	4.20	.739	มาก
รวม	**4.30**	**0.718**	**มาก**

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

การเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งธรรมชาติในแม่น้ำแม่แตง ในพื้นที่ตำบลสันมหาพน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และนำตัวอย่างสาหร่ายคัดแยกสาหร่ายเพื่อให้ได้ *N. commune* ซึ่งในระดับจีนัสใช้วิธีการเทียบลำดับเบสกับฐานข้อมูลนำไปบลาสกับฐานข้อมูล NCBI พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Nostoc* sp. ในฐานข้อมูล 99% โดยสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว. และใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกระดับชนิดตามวิธีการ (Desikachary, 1959) ยืนยันเป็นชนิดสาหร่าย *N. commune* และใช้ชื่อสาหร่ายในงานวิจัยครั้งนี้ว่า *N. commune* MTR

จากการทดลองการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* MTR ภายใต้การควบคุมปัจจัยและการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10, 20, 30, 90, 100 และ 120 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติมและเติม $NaNO_3$ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.5 -9 อุณหภูมิ 25 -28 องศาเซลเซียส พบว่า การให้แสง LED ในปริมาณความเข้มแสง 120 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการไม่เติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณน้ำหนักแห้งสูงที่สุด คือ 2.01±1.28 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง และการเลี้ยงภายใต้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ไม่เติม $NaNO_3$ มีปริมาณน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด คือ 0.09 ± 0.05 กรัม แต่ปริมาณสารไฟโคไซยานิน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10 μmol μmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณเปอร์เซ็นต์สาร ไฟโคไซยานินบริสุทธิสูงที่สุด คือ 3.147 ± 0.16 ปริมาณโปรตีน พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 20 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณโปรตีนในสาหร่ายสูงที่สุด คือ 529.41 ± 14.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์ พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบปิดโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 10 20 และ 30 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 1.04 ± 0.19, 1.03 ± 0.02 และ 0.95 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสง 20 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* สูงที่สุด คือ 0.91 ± 0.16 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการเติม $NaNO_3$ ปริมาณ 25 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณ $NaNO_3$ ที่เติมลงไปมีค่าต่ำสุดที่ 124.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในปริมาณความเข้มแสงที่ 90 μmol $m^{-2}s^{-1}$ และสูงสุด 882 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ปริมาณความเข้มแสงที่ 120 μmol m^{-2} s^{-1} มีไม่เกินค่ามาตรฐาน ที่กำหนดไว้ ที่ให้ค่ามาตรฐานสารตกค้างของไนเตรตไม่เกิน 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

จากการทดลองเพื่อให้มีต้นทุนในการเพาะเลี้ยงต่ำและมีความเหมาะสมมีการเลือกใช้ความเข้มแสงที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย *N. commune* คือ การเพาะเลี้ยงโดยการให้แสงสีแดง ความเข้มแสงที่ 30 µmol $m^{-2}s^{-1}$ เนื่องจากจากผลการทดลองปริมาณคุณค่าทางโภชนาการเช่น แคโรทีนอยด์ ไม่แตกต่างจากความเข้มแสงที่ 10 และ 20 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ปริมาณโปรตีนและปริมาณสารไฟโคไซยานิน น้อยกว่าความเข้มแสงที่ 10 µmol $m^{-2}s^{-1}$ เล็กน้อย และมีปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* น้อยกว่าความเข้มแสง 20 µmol $m^{-2}s^{-1}$ เล็กน้อย ในขณะที่มีอัตราการสิ้นเปลืองไฟฟ้าที่เท่ากันแต่มีผลผลิตน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากกว่า อีกทั้งสามารถจัดหาติดตั้งอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงขนาดใหญ่ได้ง่ายและสะดวกมากกว่า

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ 3 ชนิด คือ คาร์เวียร์ เยลลี่ และผงโรยข้าวจากสาหร่าย *N. commune* พบว่าจากการทดสอบความพึงพอใจผู้บริโภคจำนวน 100 ราย พบว่า ผู้บริโภคร้อยละ 49.0 ต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นอาหารหวาน รองลงมา ร้อยละ 42.0 ต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นอาหารคาว และพบว่าเยลลี่สาหร่ายผู้บริโภคมีความพึงพอใจมากที่สุดร้อยละ 4.33 รองลงมาคาเวียร์สาหร่ายร้อยละ 4.15 และผงโรยข้าวร้อยละ 3.88 ตามลำดับ จากการทำการทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภคทำให้ทราบถึงความต้องการของผู้บริโภค เพื่อใช้เป็นแนวทางในการต่อยอดพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *N. commune* ควรเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส เพราะสาหร่ายเจริญเติบโตได้ดี หากเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียสจะทำให้สาหร่ายเติบโตช้า

2. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการเติม $NaNO_3$ ทำให้มีปริมาณสารสำคัญ เช่น ไฟโคไซยานิน โปรตีน แคโรทีนอยด์ และ คลอโรฟิลล์ *เอ* เพิ่มขึ้น

3. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการให้แสง LED สีแดงในปริมาณความเข้มแสงต่ำ 10 และ 20 µmol/m^{-2}/s^{-1} ร่วมกับการเติม $NaNO_3$ ส่งผลให้มีปริมาณ ไฟโคไซยานิน โปรตีน แคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์ *เอ* สูง

4. การลดการปนเปื้อนจากสาหร่ายสีเขียวพวก *Chlorella* sp. โดยปิดการให้แสง ปิดให้มืดทำให้เกิดสภาวะไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว

บรรณานุกรม

กรมพัฒนาที่ดิน. 2558. **ข้อมูลสารสนเทศทรัพยากรดินรายจังหวัด**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://gisinfo.ldd.go.th/cd_land_map.html?land_type=LAND_USAGE&province_id=050&amphur_id=05006&tambol_id=0500601 (20 กรกฎาคม 2563).

กันต์กนิษฐ์ เสือเปลี่ยว, ญาวดี แก้วสุกใส, กัญญาลักษณ์ สังข์ประไพ, นริศรา คล้ายหิรัญ, เทพปัญญา เจริญรัตน์ & สุเปญญา จิตตพันธ์. 2555. ผลของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน ซึ่งคัดแยกจากพื้นที่เกษตรอินทรีย์. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**, 20(3), 195-201.

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. **สาหร่าย**. กรุงเทพฯ: คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เกศินี จีรวัฒนนุกูล. 2558. **การใช้ดีเอ็นเอบริเวณยีน 16S-23S RRNA INTERGENIC SPACER REGION (ISR) ในการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อ *Acinetobacter baumannii*.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยบูรพา.

เจษฎา ทิพยะสุขศรี, อุษา กลิ่นหอม และ อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2555. **การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดลาบ (NOSTOC COMMUNE VOUCHER) ในระดับห้องปฏิบัติการ และการผลิตชีวมวลกลางแจ้ง**. มหาสารคาม: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

นุชนาถ รังคดิลก, สุมลธา หนูคาบแก้ว และ จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์. 2555. **เรื่องน่ารู้ของผลิตภัณฑ์สาหร่าย..ที่ไม่ควรมองข้าม**. กรุงเทพฯ: ห้องปฏิบัติการเภสัชวิทยา สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ (CRI).

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. **สาหร่ายวิทยา Phycology**. พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. **แพลงก์ตอนพืช**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศรีประภา บุตรดามา, สุดาพร ตงศิริ, จงกล พรมยะ และ อุดมลักษณ์ สมพงษ์. 2557. สภาวะที่เหมาะสมและคุณค่าทางโภชนาการในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไข่หินและสาหร่ายลอนในการใช้เป็นอาหารเลี้ยงปลาสวยงาม. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง**, 8(1), 60-73.

สัณห์ ละอองศรี. 2551. การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบชาสด. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**, 39(ฉบับพิเศษ 3), 178-181.

สำนักคณะกรรมการอาหารและยา. 2556. **พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 พร้อมกฎกระทรวงและประกาศกระทรวงสาธารณสุข. (ฉบับปรับปรุง 2556)**. กรุงเทพฯ: สำนักคณะกรรมการอาหารและยา.

อาภารัตน์ มหาขันธ์, อุษา กลิ่นหอม, มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์, เจษฎา ทิพยะสุขศรี, วัชรี กัลยาลัง, วิวัธน์ ปฐมโยธิน, พรภัทรา ศรีนรคุตร, ปุณณภา บุญยะภักดิ์, เกศรา แซ่โค้ว, สุวรรณา ศรีสวัสดิ์, วัลลภา อรุณไพโรจน์ และ เสียงทอง นุตาลัย. 2548. **การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจาก "สาหร่ายเห็ดลาบ" (Nostoc commune, Cyanophyta)**. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

อุดมลักษณ์ สมพงษ์ และ ยุวดี พีรพรพิศาล. 2557. **ศักยภาพการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Nostoc และ Nostochopsis เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมในปลาสวยงาม**. เชียงใหม่: คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

Boussiba, S. & Richmond, A. E. 1979. Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga Spirulina platensis. **Archives of Microbiology**, 120(2), 155-159.

Carr, N. G. & Whitton, B. A. 1973. **The biology of blue-green algae**. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Chapman, J. V. & Chapman, D. J. 1975. **The Algae**. London: Palgrave Macmillan UK.

Chu, H.-J. & Tsang, C. T. 1988. Research and Utilization of Cyanobacteria in China: A Report. **Arch Hydrobiology Supply**, 5(80), 573-584.

Colla, L. M., Oliveira Reinehr, C., Reichert, C. & Costa, J. A. V. 2007. Production of biomass and nutraceutical compounds by Spirulina platensis under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, 98(7), 1489-1493.

Dai, Z. J. 1972. Briefing of Nostoc Flagelliforme. **Ningxia Agr. Sci. and Tech**, 12(21.

Das, K. & Sarma, D. 2015. Optimization of culture media for the growth of Anabaena spiroides and Nostoc punctiformae of Jorhat district , Assam. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)**, 10(2 Ver.III), 37-41.

Desikachary, T. V. 1959. **Cyanophyta. Botany Department, University of Madras**. New Delhi: Indian Council of Agricultural.

Han, P.-p., Sun, Y., Jia, S.-r., Zhong, C. & Tan, Z.-l. 2014. Effects of light wavelengths on extracellular and capsular polysaccharide production by Nostoc flagelliforme. **Carbohydrate Polymers**, 105, 145-151.

Hense, I. & Beckmann, A. 2006. Towards a model of cyanobacteria life cycle—effects of growing and resting stages on bloom formation of N2-fixing species. **Ecological Modelling**, 195(3), 205-218.

Huang, Z., Liu, Y., Paulsen, B. S. & Klaveness, D. 1998. Studies on Polysaccharides from three Edible Species of Nostoc (Cyanobacteria) with Different Colony Morphologies: Comparison of Monosaccharide Compositions and Viscosities of Polysaccharides from Field Colonies and Suspension Culture. **Journal of Phycology**, 34(6), 962-968.

KMUTT. 2001. **Laboratory instruction: A workshop on mass cultivation of *Spilulina platensis***. Thonburi, Bangkok, Thailand: King Monkut's University of Technology.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**, 193(1), 265-275.

Ma, R., Fan, L., Bi, Y. & Hu, Z. 2015. Effects of light intensity and quality on phycobiliprotein accumulation in the cyanobacterium Nostoc sphaeroides Kützing. **Biotechnology letters**, 37(8), 1663-1669.

Mallery, R. P., Kewley, L., Rich, R. M., Salim, S., Charlot, S., Tremonti, C., Seibert, M., Small, T., Wyder, T., Barlow, T. A., Forster, K., Friedman, P. G., Martin, C. D., Morrissey, P., Neff, S. G., Schiminovich, D., Bianchi, L., Donas, J., Heckman, T. M., Lee, Y. W., Madore, B. F., Milliard, B., Szalay, A. S., Welsh, B. Y. & Yi, S. 2007. Nitrogen Production in Starburst Galaxies Detected by *GALEX*. **The Astrophysical Journal Supplement Series**, 173(2), 482-493.

Pandey, U. & Pandey, J. 2008. Enhanced production of biomass, pigments and antioxidant capacity of a nutritionally important cyanobacterium Nostochopsis lobatus. **Bioresource Technology**, 99(10), 4520-4523.

Rusckowski, M. & Zilinskas, B. A. 1980. Chlorophyll-Protein Complexes of the Cyanophyte, Nostoc sp. **Plant Physiology**, 65(2), 392.

Sakhonwasee, S., Tummachai, K. & Nimnoy, N. 2017. Influences of LED Light Quality and Intensity on Stomatal Behavior of Three Petunia Cultivars Grown in a Semi-closed System. **Environment Control in Biology**, 55(2), 93-103.

Saranraj, P. D., Stella, G. U. & Sivasathi, 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.

Sinha, R. P. & Hader, D. P. 1996. Photobiology and Ecophysiology of rice Field Cyanobacteria. **Photochem and Photobiol**, 64(6), 887-896.

Sinha, R. P., Hader, D. P., Kumar, H. D. & Kumar, A. 1995. Effects of UV-B irradiation on growth, survival, pigmentation and nitrogen metabolism enzymes in Cyanobacteria. **Acta Protozoologica**, 34(3), 187-192.

Stanier, R. Y., Kunisawa, R., Mandel, M. & Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (*Order Chroococcales*). **Bacteriological Reviews**, 35(2), 171-205.

Ugwu, C. U., Aoyagi, H. & Uchiyama, H. 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, 99(10), 4021-4028.

Yang, Y., Park, Y., Cassada, D. A., Snow, D. D., Rogers, D. G. & Lee, J. 2011. In vitro and in vivo safety assessment of edible blue-green algae, Nostoc commune var. sphaeroides Kützing and Spirulina plantensis. **Food Chem Toxicol**, 49(7), 1560-1564.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบสอบถาม

แบบสอบถาม

ความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค

คำชี้แจง

แบบสอบถามฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของดุษฎีนิพนธ์เรื่อง "การเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่าย *Nostoc commune*" ในระดับการศึกษาปริญญาเอก สาขาสหวิทยาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค ในด้านรสสัมผัส ผลิตภัณฑ์ และด้านบรรจุภัณฑ์ ผลการวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยได้นำสาหร่ายนอสตอคจากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการในระบบกึ่งปิด ที่มีการควบคุมคุณภาพ เพื่อให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ดังนั้นผู้วิจัยจึงใคร่ขอความอนุเคราะห์จากท่าน โปรดตอบแบบสอบถามตามความพึงพอใจของท่านอย่างรอบคอบให้ครบทุกข้อ โดยจะนำไปใช้เพื่อสรุปผลการวิจัยเท่านั้น ขอขอบพระคุณในความร่วมมือของท่านเป็นอย่างสูง

แบบสอบถามประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

ส่วนที่ 2 ความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายนอสตอค

ส่วนที่ 3 ข้อเสนอแนะจากผู้ตอบแบบสอบถาม

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

<u>คำชี้แจง</u> กรุณาทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องว่างที่ตรงกับความจริงมากที่สุด

1. เพศ
   - ☐ ชาย ☐ หญิง
2. อายุ ..... ปี (ถ้ามากกว่า 6 เดือน ให้นับเป็น 1 ปี)
3. สถานภาพ
   - ☐ โสด ☐ แต่งงาน ☐ อื่น ๆ โปรดระบุ.....
4. ประวัติการศึกษา
   - ☐ ต่ำกว่ามัธยมศึกษา ☐ ปวส. / ปวช.
   - ☐ มัธยมศึกษา ☐ ปริญญาตรีขึ้นไป
5. อาชีพ
   - ☐ นักเรียน / นักศึกษา ☐ พนักงานบริษัท
   - ☐ ข้าราชการ / พนักงานรัฐวิสาหกิจ ☐ ประกอบอาชีพธุรกิจส่วนตัว
   - ☐ พ่อบ้าน / แม่บ้าน ☐ อื่น ๆ โปรดระบุ.....
6. ท่านบริโภคสาหร่ายบ่อยแค่ไหน
   - ☐ ทุกวัน ☐ 2-3 วันครั้ง
   - ☐ อาทิตย์ละครั้ง ☐ มากกว่าอาทิตย์ละครั้ง
7. ท่านเคยรู้จักผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายประเภทใดมาก่อนบ้าง
   - ☐ สาหร่ายแผ่น ☐ สาหร่ายปรุงรส ☐ ผงโรยข้าว
   - ☐ เยลลี่สาหร่าย ☐ อื่น ๆ โปรดระบุ.....
8. ท่านต้องการให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเป็นแบบใด
   - ☐ อาหารหวาน ☐ อาหารคาว
   - ☐ อื่น ๆ โปรดระบุ.....
9. ท่านพึงพอใจต่อสารที่มีประโยชน์ในสาหร่ายนอสตอคในระดับใด
   - ☐ มากที่สุด ☐ มาก ☐ ปานกลาง ☐ น้อย ☐ น้อยที่สุด
10. ท่านชอบผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอคชนิดใดมากที่สุด
    - ☐ คาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค ☐ ผงโรยข้าว ☐ เยลลี่จากสาหร่ายนอสตอค

ส่วนที่ 2 ความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายนอสตอค

สาหร่ายนอสตอค ประกอบด้วย โปรตีน 1.00 $mg.L^{-1}$ แคโรทีนอยด์ 0.40 $mg.G^{-1}$
และ %ไฟโคซายานินบริสุทธิ์ 3.14%

คำชี้แจง กรุณาทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องว่างที่ตรงกับความจริงมากที่สุด

ความพึงพอใจที่มีต่อคาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค	ระดับความพึงพอใจ i				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
	5	4	3	2	1
ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส					
1. รสชาติ					
2. กลิ่น					
3. สีสันมีความน่ารับประทาน					
4. รสสัมผัส ความแน่น ความนุ่ม					
5. ลักษณะของผลิตภัณฑ์					
6. ผลิตภัณฑ์แปลกใหม่ น่าสนใจ					
ด้านบรรจุภัณฑ์					
1. ความเหมาะสมบรรจุภัณฑ์					
2. บรรจุภัณฑ์สวยงาม/ดูดี					
ด้านผลิตภัณฑ์					
1. ความปลอดภัยในการผลิตผลิตภัณฑ์					

ท่านต้องการให้มีการปรับปรุงคุณภาพด้านใดต่อผลิตภัณฑ์คาเวียร์จากสาหร่ายนอสตอค

.....

.....

.....

.....

4

ความพึงพอใจที่มีต่อผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอก	ระดับความพึงพอใจ i				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
	5	4	3	2	1
ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส					
1. รสชาติ					
2. กลิ่น					
3. สีสันมีความน่ารับประทาน					
4. รสสัมผัส ความแน่น ความนุ่ม					
5. ลักษณะของผลิตภัณฑ์					
6. ผลิตภัณฑ์แปลกใหม่ น่าสนใจ					
ด้านบรรจุภัณฑ์					
1. ความเหมาะสมบรรจุภัณฑ์					
2. บรรจุภัณฑ์สวยงาม/ดูดี					
ด้านผลิตภัณฑ์					
1. ความปลอดภัยในการผลิตผลิตภัณฑ์					

ท่านต้องการให้มีการปรับปรุงคุณภาพด้านใดต่อผลิตภัณฑ์ผงโรยข้าวจากสาหร่ายนอสตอก

.....

.....

.....

.....

5

ความพึงพอใจที่มีต่อเยลลี่จากสาหร่ายนอสตอค	ระดับความพึงพอใจ i				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
	5	4	3	2	1
ด้านประสาทสัมผัสและอรรถรส					
1. รสชาติ					
2. กลิ่น					
3. สีสันมีความน่ารับประทาน					
4. รสสัมผัส ความแน่น ความนุ่ม					
5. ลักษณะของผลิตภัณฑ์					
6. ผลิตภัณฑ์แปลกใหม่ น่าสนใจ					
ด้านบรรจุภัณฑ์					
1. ความเหมาะสมบรรจุภัณฑ์					
2. บรรจุภัณฑ์สวยงาม/ดูดี					
ด้านผลิตภัณฑ์					
1. ความปลอดภัยในการผลิตผลิตภัณฑ์					

ท่านต้องการให้มีการปรับปรุงคุณภาพด้านใดต่อผลิตภัณฑ์เยลลี่จากสาหร่ายนอสตอค

.....

.....

.....

.....

6

ส่วนที่ 3 ข้อเสนอแนะจากผู้ตอบแบบสอบถาม

.....

.....

.....

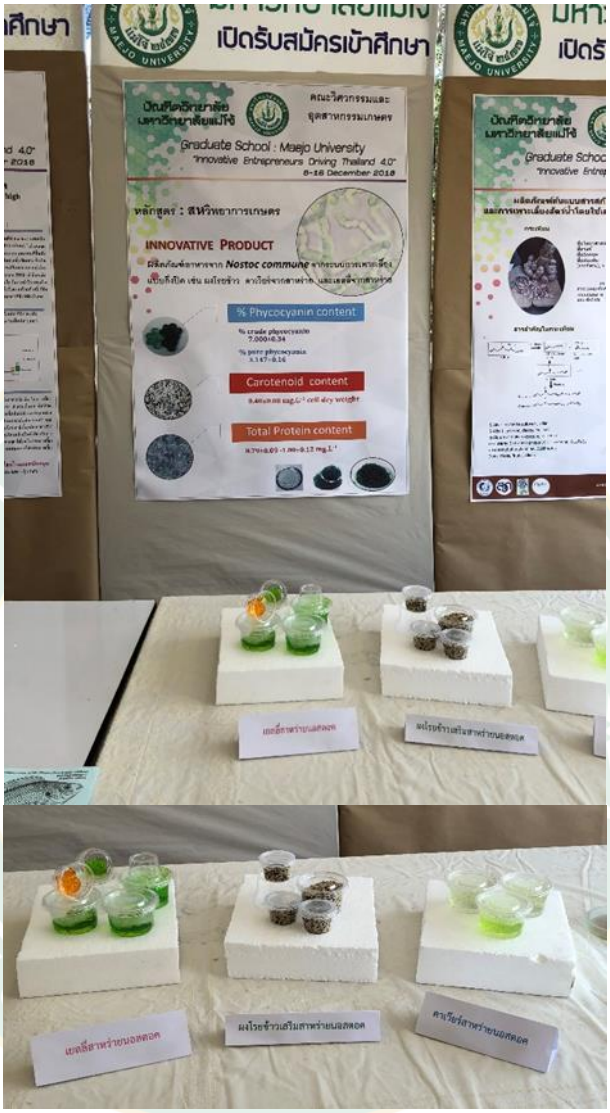
.....

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่กรุณาเสียสละเวลาในการตอบแบบสอบถามอย่างครบถ้วน

ภาคผนวก ข

นำเสนอผลผลงานวิชาการ

โปสเตอร์นำเสนองานร่วมกับบัณฑิตวิทยาลัยวันที่ 7-9 ธันวาคม 2561



Journal of Fundamental and Applied Sciences

ISSN 1112-9867

Available online at http://www.jfas.info

Research Article

Special Issue

INFLUENCE OF LED RED-LIGHT INTENSITY ON PHYCOCYANIN ACCUMULATION IN THE CYANOBACTERIUM *NOSTOC COMMUNE* VAUCHER

J. Kaewmaneesuk[1], C. Ariyadet[1,*], M. Thirabunyanon[1], S. Jaturonglumlert[2], W. Daengprok[3]

[1]Program in Agricultural Interdisciplinary, Maejo University, Chiangmai, Thailand

[2]Faculty Engineering and Agro-Industry, Maejo University, Chiangmai, Thailand

[3]Div. of Food Technology, Fac. of Engineering and Agro-Industry, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

Published online: 24 February 2018

ABSTRACT

To assess the effects of light intensity on the phycocyanin of Nitrogen-fixing cyanobacteria *Nostoc commune* Vaucher, which was isolated from Maetang District, Chiangmai Province, Thailand. The algae was cultivated in laboratory under different red light LED (LD) intensity of, 10, 20, 30, 100 and 120 µmol m^{-2} s^{-1}. The medium using BG 11 modified without N source. Results Biomass as fresh weight and dry weight, %Dry weights, protein, and Phycocyanin contents were fluctuation in difference light intensity. The highest biomass as fresh weight have shown in LD 30 with the value of 9.24 $g.L^{-1}$ and the lowest was at LD10 with the value of 2.56 $g.L^{-1}$ and as dry weight was maximum at LD120 with 0.21 $g.L^{-1}$ and minimum was 0.07 $g.L^{-1}$ at LD10. %Dry weights was found the maximum value at LD120 with 3.51% and lowest at LD 30 with the value of 1.8%. Protein content have shown the highest value at LD30 with 1.8%. Protein was high present at LD10 with the value of 1.00±0.12 $mg.L^{-1}$ and low value at LD100 with 0.79±0.09 $mg.L^{-1}$. The Red light intensity of 30 µmol m^{-2} s^{-1} was resulted in phycocyanin higher values than other intensities with the value of 0.32±0.09 $mg.L^{-1}$ and lowest concentration at LD120 with the value of 0.17±0.01 $mg.L^{-1}$. Conclusion LED Red light at 30 µmol m^{-2} s^{-1} were optimal for phycocyanin accumulation in *Nostoc commune* Vaucher.

Keywords: Light intensity, Phycocyanin, *Nostoc commune* Vaucher

Author Correspondence, e-mail: chalinda.bio@gmail.com

doi: http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v10i3s.39

Journal of Fundamental and Applied Sciences is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License. Libraries Resource Directory. We are listed under Research Associations category.

INTRODUCTION

Nowadays, light emitting diodes (LED) has been increasingly used as a source of artificial light in controlled environmental system due to its energy-efficiency. LED light quality and intensity have an effect to the growth of plant in semi-closed system. (Sakhonwasri et al. 2017).

Blue-green algae occupy an anomalous position in the biological world. They are treated by botanists as a division (or class) of algae because they are photoautotrophs that use water as an electron donor and contain the two photopigments (chlorophyll a and β-carotene) that are the chemical hallmarks of plant photosynthesis (Stanier et al.,1971). *Nostoc commune* is an blue green algae and edible fresh water cyanobacterium and its a nitrogen fixing blue green algae of the Division Cyanophyta . *Nostoc commune* contain rich a, amino acids, fatty acids, flavonoids polysaccharide, vitamins, and many kinds of minerals (Diao et al.,2014, Li and Liu,2003) It has been widely used as food in northeast of Thailand. The control and optimization of light intensity and light wavelength is regarded as one of the most important parameters for the culture of photosynthetic microorganisms (Ugwu et al., 2008). For last decade cyanobacteria have been receiving increasing interest due to their potential to produce a diverse range of chemicals and biologically active compounds, such as vitamins, carotenoid pigments, proteins, lipids and polysaccharides (Zhang et al., 1999). For exploration of these potentials of cyanobacteria it should be cultivated in commercial way. Globally researchers are trying to produce microalgae/ cyanobacteria commercially (Belay 1997; Ben-Amotz 2004). Yet very little or primary information is available on detailed design criteria and innovation, location selection, scaling considerations, or constrains involved in large scale cultivation. *Nostoc commune* is blue-algae which human use for organic food source and contains high proteins with well-balanced amino acids. It is also rich in carbohydrates, vitamins, minerals, phenolic, pigments (chlorophyll, carotenoids and phycobilins) and poly-unsaturated fatty acids (Miranda et al. 1998; Anupama 2000). *Nostoc commune* algae could be used for high value food. This algae is a nitrogen fixing ,so it's have high nutritional value, such as 20.84 gram / 100 g of protein, 0.43 grams of vitamin B 1, 1.54 grams of calcium, 0.37 iron, and 21.40 micrograms / 100g of vitamin A. and 17 essential amino acids. *Nostoc* is an edible blue green algae used for health food and herbal medicine due to its nutritional values and antioxidant properties (Yi and Zuiun. 2014). *Nostoc* has been used as a source of proteins, vitamin and unsaturated fatty acids for human and animals (Gao. 1998). However, wild type N. *commune* has been decreasing in quantity as a result of ever-growing market demand and environmental pollution. Therefore, artificial culture of N. *commune* is important

as it can bring great social and economic benefits. (Yi Diao and Zujun Yang.2014). C-phycocyanin (C-PC) could be extracted from cyanobacteria such as *Spirulina platensis*, which has been widely used in commercial applications in the food and cosmetic industry as a natural blue dye (Romay et al., 2003), anti-inflammatory (Romay et al.,2003; Reddy et al., 2003; Bhat and Madyastha, 2001) and antioxidant (Estrada et al., 2001; Bhat and Madyastha, 2000). Some papers report C-PC extraction from cyanobacterium. Estrada et al., 2001) and also studied the optimization of extraction from dried biomass. The extraction using ultrasonic bath in the presence of glass pearls in the biomass proved to be more efficient method, 56% higher than using freezing and thawing, and presented a extraction yield of 43.75 $mg.g^{-1}$ and a C-phycocyanin concentration of 0.21 $mg.mL^{-1}$. (Moraes et al.2011)

The previous study was comparing the light quantity between red light and white condition. The result was shown that the red light was exhibit the higher phycocyanin content than white light. In this study to find out the quality of red light intensity by adjust the treatment of light between the previous red light intensity. To find more the influence of red light intensity on phycocyanin accumulation

MATERIAL AND METHODS

A. Microorganism and culture medium:

The *Nostoc commune* stain was isolated from natural Mae Taeng clean and shallow river. Located in Chiang Mai province. The sample was carried out to Program in Agricultural Interdisciplinary Lab, Maejo University. The colony was washed with distilled water and follow with Ethyl alcohol 10% Clorox 5% and then washing with distilled water done in 3 times replicated. The pure colony was transfer to culture in BG 11 modified (Das Karabi et al. (2014), Slant agar media to growth under white light condition as the stock. This medium was also used to mass production. All the reagents used were of commercial grade. The collected algal samples and isolated the samples by pick cell technique and transferred in BG-11 modified medium in vials bottle at 28±2 °C under light intensity (2000 lux) and photoperiod of 12:12 hour for 2 mouths. Then transferred samples were spread on algal broth agar plates and incubated at the above mentioned condition. After the single colonies grown were picked out and transferred to BG-11 modified medium in 250 ml. conical flask and shaken manually for 2 to 3 times in a day. The isolated microalgae were identified with standard manual for algae (Desikachary, 1959) and confirmed species to Standard species from TISTR 8160 from Thailand Institute of Scientific and Technological Research (Fig.1).

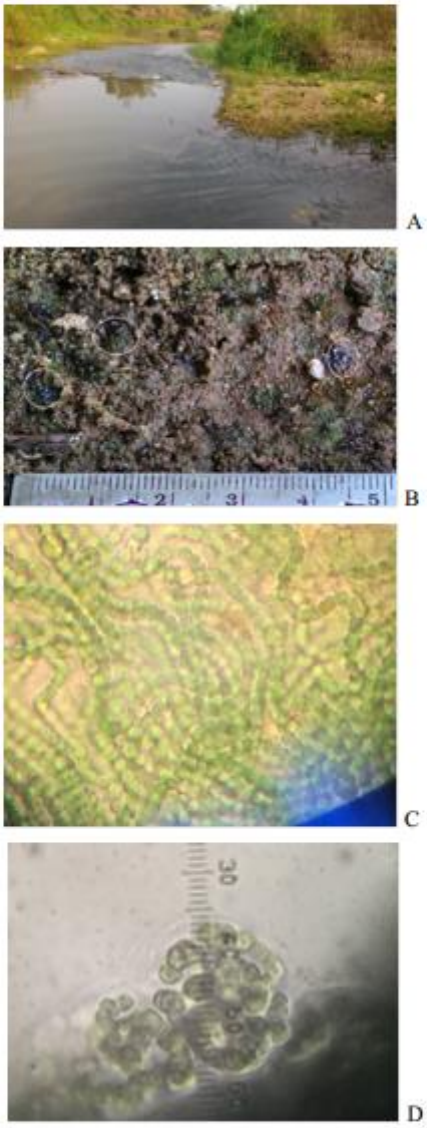


Fig.1. The study site (A) and *Nostoc commune* algae from Mae Taeng River (B, C) and Standard *Nostoc commune* species TISTR 8160(D)

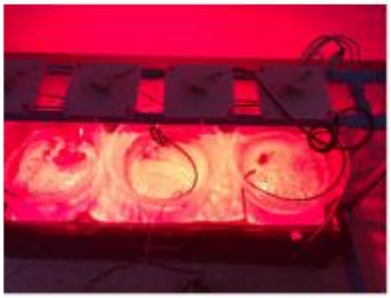


Fig.2. Culture of *Nostoc commune* in LED Red-light condition

B. Cultivation condition

C. The cyanobacterium *Nostoc commune* was grown 3 litre media in 5 litre plastic bowl under 5 levels of irradiance, 10. 20, 30, 100 and 120 µmol m^{-2} s^{-1}, with illumination provided by Red light LED lamps. The irradiance was measured on the surface of the media using light meter. The pH was measured using a 7.5 pH meter. Temperature was adjusted the air condition to 25 $\pm$ 2 °C (Manigandam.2014). CO^2 was used to increase the source for photosynthesis and the source for mass production. (Manigandam, 2014) and pH sensor was to adjust pH of the optimum algae growth condition under CO_2 adjustment. Coincide with controlling the light source by use LED Red-light as the irradiance source. Light 12:12 Turn off switch was used to control the growth.

D. Biomass measurements

21 days after culturing of *Nostoc commune*. The samples were yield to find biomass as the term of fresh weight dry weight and %dry weight. Collected though the 100 µm. mesh net weight the fresh sample and then to keep dry by heat in oven-dried of 60 °C for 1 hour or dry weights were determined when the specimens were at constant weights after continuous drying, and the dry matter content was calculated as a ratio of dry to fresh weight, expressed as percentage. The biomass and % dry weight were used to calculated the pure phycocyanin content of *Nostoc commune* Vaucher

E. Determination of total protein

Protein Estimation by Lowry's Method (Lowry et al., 1951) One ml. of algae cell suspension from 5 different LED Red-light condition harvested and was washed twice and suspended in sterile water. 0.1N NaOH was added and the cell suspensions were heated at 100°C to lyses cells. The hydrolysate was cooled to room temperature and 1 ml. of freshly mixed complex forming reagent (2.8598 g. NaOH, 14.3084 g. Na_2CO_3 for 500 ml. 1.4232 g. $CuSO_4.5H_2O$ for

100 ml. and 2% Sodium potassium tartrate for 100 ml.) was added. The solution was allowed to stand at room temperature for 10 minutes. One ml of folin reagent was added and vortexed and the mixer were allowed to stand at room temperature for 30-60 minutes. The absorbance was read at 750 nm. Standard curve of absorbance was plotted as a function of initial protein concentration and use it to determine the unknown protein concentration.

F. Estimative of C-phycocyanin determination

Phycocyanin was extracted from the dry biomass of algae by using Low temperature method, this is a spectrophotometry method adapted to extracted and quantify a relatively pure C-Phycocyanin fraction (Boussiba and Richmond. 1979). By weigh accurately 40 mg. *Nostoc commune* powder into a 10 ml. centrifuge tube, than add 10 ml. of 100 mM phosphate buffer (100 mM phosphate buffer contains 10.64g. K_2HPO_4 and 5.29g. KH_2PO_4 per liter, pH7). Next vortex to mix well. Store the solution in refrigerator overnight and vortex to mix well again. Take the sample to centrifuge at 100 ℃ at 3500 RPM and the supernatant used to verify the extraction yield. Read absorbency of each replicate at 620 nm. Using phosphate buffer as blank. Average absorbency readings for dilution replicates. Calculated percent C-Phycocyanin as follow equation.

Derivation of pure C-Phycocyanin:

$$\%\text{pure CPC} = \frac{A620 \times (10) \times (100)}{7.3 \times (\text{sample}) \times (\%\text{dry wt.})}$$

(Where 7.3 is Extraction coefficient of CPC at 620 nm. And 10 is total volume, 100 represents 100%)

G. Analytical procedures and Statistical analysis

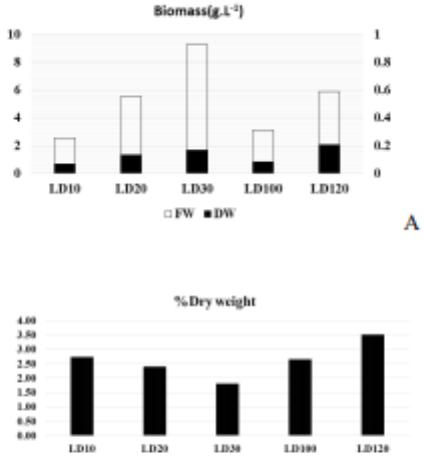
To validate the results reproducibility each treatments was done in triplicate. Statically of compare mean between treatments was done. All analyses were performed considering a level of 95% of confidence ($p<0.05$). The difference relation of biomass, protein and phycocyanin between different light intensities

RESULT AND DISCUSSION

1) *Nostoc commune* Biomass

The results biomass as fresh weight have shown the highest at LD30 µmol m^{-2} s^{-1} with the value of 9.24 $g.L^{-1}$ and the lowest value was 2.56 $g.L^{-1}$ at LD10. biomass as dry weight have shown the highest at LD120 µmol m^{-2} s^{-1} with the value of 0.21 $g.L^{-1}$ and the lowest value was 0.07 $g.L^{-1}$ at LD10. (Fig.3A).

The %dry weight was shown the maximum value at LD120 with 3.51% and the minimum value at LD30 with 1.8 %. (Fig.3B).

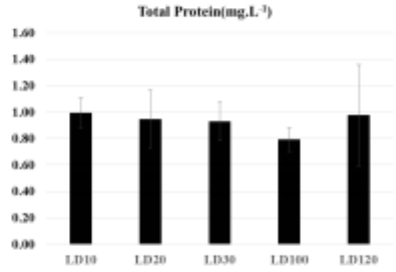


LD= LED Red-light at 10, 20, 30, 100 and 120 µmol m^{-2} s^{-1}

A =Biomass B=%Dry weight

Fig.3. Biomass and %dry weight of *Nostoc commune* at difference light intensity

2) Total protein content



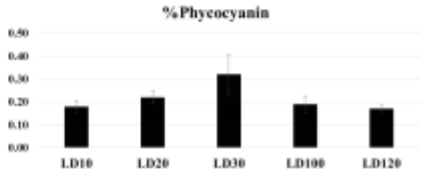
LD= LED Red-light at 10, 20, 30, 100 and 120 µmol m^{-2} s^{-1}

Fig.4. Total Protein content of *Nostoc commune* at difference light intensity

The results of total protein have shown the highest concentration at LD10 µmol m^{-2} s^{-1} with the value of 1.00±0.12 mg.L^{-1} and the lowest value was 0.79±0.09 g.L^{-1} at LD100. (Fig.4).

3) C-Phycocyanin production

The pure C-phycocyanin concentration was present higher than others at LD30 with the value of 0.32±0.09 % and most lower at LD120 with the value of 0.17±0.01%. The phycocyanin content was significant difference ($p>0.05$) between LD20 and LD120 condition (Fig 5).



LD= LED Red-light at 10, 20, 30, 100 and 120 µmol m^{-2} s^{-1}

Fig.5. C-Phycocyanin content of *Nostoc commune* at difference light intensity

CONCLUSION

The Smart culture for *Nostoc commune* in closed system, under red light controlling in this research have shown the results of the idea to plant factory or make a large scale of *Nostoc commune* production and food safety and C-phycocyanin seem to be increase in the optimum of the red light LED intensity. In this study red light LED intensity 30 µmol m^{-2} s^{-1} have an idea for plant of this algae for the purpose of increasing C-phycocyanin concen- tration and also the high yield of freshweight.

ACKNOWLEDGMENT

The authors wish to thanks the office of Agricultural Research and Extension Maejo Univesity for National Research Council of Thailand (NRCT) 2016 Research scholarship. We are grateful to the editor and the anonymous referees for their expert assistance and comments on this manuscript. This work was supported by Agricultural Interdisciplinary program and Maejo graduated school for support to join the conferences and also thanks to committee of the 4th International conference on aquaculture, agri-business industry and agrotourism, Osaka, Japan.

REFERENCES

Anupama, P. R. 2000. Value-added food: Single cell protein. Biotechnology Advances, 18, 459–479.

Belay A., 1997. Mass culture of *Spirulina* outdoors

the Earthrise experience. In: Vonshak A (ed) *Spirulina platensis* (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology. Taylor & Francis, London, pp 131–158.

Ben-Amotz A. 2004 Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products – major industrial species. In: Richmond A (ed) Handbook of microalgal culture biotechnology and applied phycology. Blackwell, Oxford, pp 273–280.

Bhat Vadiraja B. and Madyastha, K.M. 2001. Scavenging of Peroxynitrite by Phycocyanin and Phycocyanobilin from *Spirulina platensis*: Protection against Oxidative Damage to DNA. Elsevier. Vol. 285, Issue 2, Pages 262-266.

Boussiba S. and Richmond A. 1979.Isolation and purification of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. Arch. Microbial. 120: 155-159,

Das Karabi, Gajen Dr.and Sarma Chandra. 2014. Optimization of culture media for the growth of *Anabaena*. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS) e-

ISSN: 2278-3008, p-ISSN: 2319-7676. Volume 10, Issue 2 Ver. III (Mar -Apr. 2015), PP37-41.www.iosrjournals.org. *Nostoc spiroides* and *Nostoc punctiformae* of Jorhat district, Assam Desikachary, T.V. 1959. Cyanophyta. Botany Department, University of Madras., Publisher. New Delhi: Indian Council of Agricultural.

Diao Yi and Yang Zujun.2014. Evaluation of morphological variation and biomass growth of *Nostoc commune* under laboratory conditions Journal of Environmental Biology, Vol. 35, 485-489.

Estrada, J.E.; Bescós, P.; Villar Del Fresno, A.M. 2001, Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. Il Farmaco, 56, 497-500.

Gao, K., 1998. Chinese studies on the edible blue-green algae *Nostoc flagelliforme*. areview. J.Appl. phycol.10, 37-39

Li, D.H. and Y.D. Liu. 2003. The past decade's researches on Nostoc commune Vaucher in China-a review. Acta Hydrobiol. Sini., 27, 408-412.

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

Manigandam M. 2014. Mass Cultivation and Determination of Biochemical Composition of *Spirulina platensis* in three Different Medium. 2014. Int J Pharm Bio Sci. July; 5(3): (B) Lo847 – 854.

Moraes, Luisa Sala C. C., Cerveira G. P. and Kalil S. J. Brazilian. 2011. Journal of Chemical Engineering, C-PHYCOCYANIN EXTRACTION FROM *Spirulina platensis*. WET BIOMASS, No. 01, pp. 45 - 49, January - March, Vol. 28.

Miranda, M. S., Cintra, R. G., Barros, S. B. M., & Filho, J. M. (1998). Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. Brazilian. Journal of Medical and Biological Research, 31, 1075–1079

Reddy C.M., Bhat V.B., Kiranmai, G., Reddy M.N., Reddanna. P.,and Madyastha K.M., 2003. Biochem. Biophys. Res. Commun., 277, 599-603.

Romay Ch y, Ledón N., González, R.2003. C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. Current Protein and Peptide Science, 2003, Vol. 4, No. 3:207-216.

Sakhonwasee S., Tummachai K. and Nimlawan N.

2017. Influences of LED Light Quality and Intensity on Stomatal Behavior of Three Petunia Cultivars Grown in a Semi-closed System. Environ. Control Biol., 55 (2), 93-103.

Stanier R. Y., Kunisawa R., Mandel M., and Cohen –Bazire G. 1971. Purification and Properties of Unicellular Blue-Green Algae (Order Chroococcales). Bacterological reviews,

June 1971, p. 171-205 Copyright © 1971 American Society for Microbiology. Vol. 35, No. 2 Printed in U.S.A.

Stanier RY,and Van Niel CB.1941. The Main Outlines of Bacterial Classification. J Bacteriol. 1941 Oct; 42(4):437–466. [PMC free article] [PubMed]

Ugwu, C.U., Aoyagi, H & Uchiyama, H. 2008. Photo bioreactors for mass cultivation of algae. Bioresource Technology, 99, 4021-4028.

Zhang, X.-W., Zhang, Y. M. and Chen, F. 1999. Application of mathematical models to the determination optimal glucose concentration and light intensity for mixotrophic culture of *Spirulina platensis*. Process Biochem. 34: 477– 481.

How to cite this article:
Kaewmaneesuk J, Ariyadet C, Thirabunyanon M, Jaturonglumlert S, Daengprok W. Influence of led red-light intensity on phycocyanin accumulation in the cyanobacterium *nostoc commune* vaucher. J. Fundam. Appl. Sci., 2018, *10(3S), 457-467.*

DETERMINATION OF SOME BENEFICIAL HEALTH CHEMICAL COMPOSITION AND NITRATE RESIDUAL IN NOSTOC COMMUNE UNDER RED LIGHT CONDITION AT CLOSED SYSTEM

[1]JITTANAN KAEWMANEESUK, [2] CHALINDA ARIYADET, [3]MONGKOL THIRABUNYANON, [4]SOMKIAT JATURONGLUMLERT, [5]WICHITTRA DAENGPROK, [6]ADISAK JOOMWONG

[1,2,4,5]Program in Agricultural Interdisciplinary, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University, Chiangmai, Thailand..
[3,6]Division of Biotech, Faculty of Science, Maejo University, Chiangmai, Thailand.
E-mail: jittananka@gmail.com

Abstract - The edible blue green algae, Nostoc commune Vaucher was used to determine some beneficial health chemical composition (Carotenoid and Phycocynin) and Nitrate residual. The effect condition was using BG-11 with (+N) and without (-N) $NaNO_3$ in 3 litre media with 5 litre plastic bowl container under 5 levels of irradiance, 10, 20, 30, 90, 100 and 120 µmol $/m^{-2}/s^{-1}$, with illumination provided by Red light LED lamps. 21 days culturing. The samples were yield to find biomass as the term of fresh weight, dry weight and %dry weight. The results biomass as fresh weight have shown the highest at C120+N or 120 µmol $/m^{-2}/s^{-1}$ with the value of 47.392 $g.L^{-1}$ and the lowest value was 1.580 $g.L^{-1}$ at C10+N. Dry weight have shown the highest at C120+N have the value of 1.099 $g.L^{-1}$ and the lowest value was 0.067 $g.L^{-1}$ at C10-N. The %dry weight was shown the maximum value at C100-N (4.277%) and the minimum value at C10-N was record of 1.595%. The results carotenoids content in Nostoc commune in BG-11 media -N have increase apparel to the Red- light ingredient from C10-N to C100-N and then lower at C120-N. The carotenoids content have shown the highest at C100-N with the value of 0.4±0.08 $mg.G^{-1}$ and the lowest value was 0.07±0.02 $mg.G^{-1}$ at C10-N. The result of carotenoids content was decrease at C120-N with the value of 0.2±0.02 $mg.G^{-1}$. The Phycocyanin value of Nostoc commune in form of %Crude C-Phycocyanin, %Pure C-Phycocyanin were the highest value at C10 and the lowest at C100 for all condition. The Nitrate value of Nostoc commune using BG-11 with $NaNO_3$ (+N) and without $NaNO_3$ (-N) media under Red-light condition were shown the highest value at C30-N (37.818 µg.20mL^{-1}) and the lowest at C30+N, C90+N and C120-N with the value of zero. This can be exploited to enhance the nutritional content of the Nostoc commune and safety food from nitrate contamination.

Index terms - Beneficial health chemical composition, Nitrate residual, Nostoc commune, red light, closed system

I. INTRODUCTION

Cyanobacteria are a group of Gram negative photoautotrophic microorganisms capable of oxygenic photosynthesis [1]. These ancient organisms [2,3,4] have minimal nutrient requirements. They are capable of fixing CO_2 and utilizing light as an energy source and water as an electron donor [5]. In addition, many strains possess the ability to fix atmospheric nitrogen [1,5]. It have been proven to be an extremely valuable source of natural drugs and agents for developing not only medicines, but also functional foods for disease prevention and health promotion [6,7] and antioxidant [8,9]. Nostoc commune contain rich an amino acids, fatty acids, flavonoids polysaccharide, vitamins, and many kinds of minerals [10,11]. It is also rich in carbohydrates, vitamins, minerals, phenolic, pigments (chlorophyll, carotenoids and phycobilins) and poly-unsaturated fatty acids [12,13]. Carotenoids have also the ability to stimulate the immune-system, thus being potentially involved in more than 60 life-threatening diseases—including various form of cancer, coronary heart diseases, premature ageing and arthritis [14]. Carotenoid production appears to be one of the most successful case studies of blue biotechnology. The rising market demand for pigments from natural sources has promoted large-scale cultivation of microalgae for synthesis of such compounds, so significant decreases in production costs are expected in coming years.[15]. The control and optimization of light intensity and light wavelength is regarded as one of the most important parameters for the culture of photosynthetic microorganisms [16]. In the past years, nitrate level in foods has increased. Basically, potential reduce from nitrate to nitrite is known as harmful factors on human and animals. In fact, nitrite is able to reacts Amino Acids in toxic form and converts to carcinogenic nitrosamine. In addition, nitrite is known as Methemoglobinemia (Anoxia) factor in children. Nitrite and nitrate in water drinking and foods are environmental factor to lead upper gastrointestinal cancer [17,18,19]. Nitrosamine is derived from nitrate and it seems as one of the factors and causes of gastrointestinal cancer in adults and Methemoglobinemia (blue baby syndrome). 80% of nitrate enters to the body through vegetables and fruits [20]. However, wild type N. commune has been decreasing in quantity as a result of ever-growing market demand and environmental pollution. Therefore, artificial culture of N. commune is important as it can bring great social and economic benefits. [10]. Nowadays, light emitting diodes (LED) has been increasingly used as a source of artificial light in controlled environmental system due to its energy-efficiency. LED light quality and intensity have an effect to the growth of plant in semi-closed system. [21].

The previous of our study was compare the light quantity between red light and white light condition. The result was shown that the red light was exhibit the higher phycocyanin content than white light. [22]. In this study to investigated the quality of red light intensity by adjust the treatment of light between the previous red light intensity. To find out the influence of red light intensity on beneficial health chemical composition like phycocyanin and carotenoid accumulation and Nitrate residual in this stain.

II. CULTIVATION OF NOSTOC COMMUNE

The Nostoc commune stain was isolated from natural Mae Taeng clean and shallow-river. Located in Chiang Mai province. The culture media was using BG-11 with (+N) and without (-N) $NaNO_3$ and was cultured in 3 litre media in 5 litre plastic bowl under 5 levels of irradiance, 10, 20, 30, 90, 100 and 120 µmol $/m^{-2}/s^{-1}$, with illumination provided by Red light LED lamps (Figure.1). The irradiance was measured on the surface of the media using light meter. The pH was measured using a 7.5 pH meter. Temperature was adjusted the air condition to 25 + 2 ˚C [23]. CO_2 was used to increase the source for photosynthesis and the source for mass production. (Manigandam, 2014) Light 12:12 Turn off switch was used to control the growth.

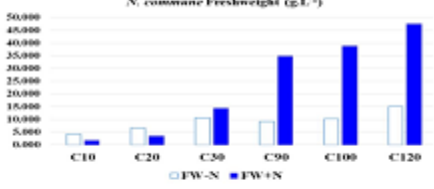
Biomass measurements

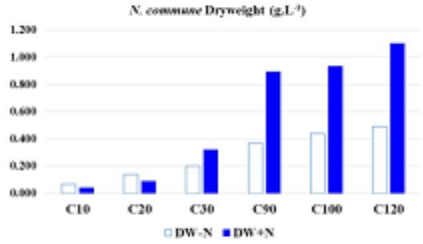
21 days after culturing,Nostoc commune. were yield to find biomass as the term of fresh weight dry weight and %dry weight. The results biomass as fresh weight have shown the highest at C120+N or 120 µmol $/m^{-2}/s^{-1}$ with the value of 47.392 $g.L^{-1}$ and the lowest value was 1.580 $g.L^{-1}$ at C10+N. Biomass as dry weight have shown the highest at C120+N have the value of 1.099 $g.L^{-1}$ and the lowest value was 0.067 $g.L^{-1}$ at C10-N. (Table 1, Figure.2).

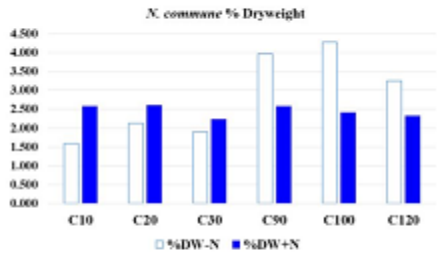
The %dry weight was shown the maximum value at C100-N was record of 4.277% and the minimum value at C10-N was record of 1.595% (Table 1,Figure2).

Table 1 Nostoc commune Biomass

Treatment	Biomass ($g.L^{-1}$) Freshweight-N		Dryweight-N		%Dryweight-N	
N. commune	FW-N	FW+N	DW-N	DW+N	%DW-N	%DW+N
C10	4.200	1.580	0.067	0.041	1.595	2.574
C20	6.592	3.402	0.140	0.088	2.124	2.597
C30	10.620	14.355	0.201	0.320	1.893	2.229
C90	9.215	34.761	0.366	0.894	3.975	2.571
C100	10.232	38.784	0.438	0.934	4.277	2.409
C120	15.050	47.392	0.490	1.099	3.258	2.320







C= LED Red-light at 10, 20, 30, 100 and 120 µmol m^{-2} s^{-1}

Figure 2 Biomass and %dry weight of Nostoc commune at difference light intensity

III. BENEFICIAL HEALTH CHEMICAL COMPOSITION

1. Carotenoid content

Carotenoid production appears to be one of the most successful case studies of blue biotechnology. The rising market demand for pigments from natural sources has promoted large-scale cultivation of microalgae for synthesis of such compounds, so significant decreases in production costs are expected in coming years [15]. In these study we point to the safety Nitrate residue in culture product, so the determination of Nitrate was done only the media without $NaNO_3$ (-N) in media of BG-11

2. Determination of Carotenoids content

The carotenoids content was analytical performed with spectrophotometer at the wavelength of 450 nm. for carotenoid follow [24] method.

3. Carotenoids content in Nostoc commune

The results carotenoids content in Nostoc commune in BG-11 media without (-N) have increase apparel to the Red- light ingredient from C10-N to C100-N and then lower at C120-N (Figure 4). The carotenoids content have shown the highest at C100-N or 100 µmol m^{-2} s^{-1} with the value of 0.4±0.08 $mg.G^{-1}$ and the lowest value was 0.07±0.02 $mg.G^{-1}$ at C10-N. The result of carotenoids content was decrease at C120-N with the value of 0.2±0.02 $mg.G^{-1}$ (Table 2, Figure 4).

Table 2 The carotenoids value of Nostoc commune

Treatment	Carotenoid
N. commune	(mg.G^{-1} cell dry weight)
C10-N	0.07±0.02
C20-N	0.06±0.03
C30-N	0.19±0.04
C90-N	0.36±0.13
C100-N	0.4±0.08
C120-N	0.2±0.02

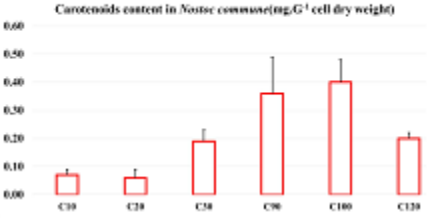


Figure 4. Comparison of Carotenoid at difference Red-light intensity in Nostoc commune

2. Phycocyanin content

C-phycocyanin (C-PC) could be extracted from cyanobacteria such as Spirulina platensis, which has been widely used in commercial applications in the food and cosmetic industry as a natural blue dye [25], anti-inflammatory [9,25,261] and antioxidant [8,9]. Some papers report C-PC extraction from cyanobacterium [9].

1. Determination of C-Phycocyanin content

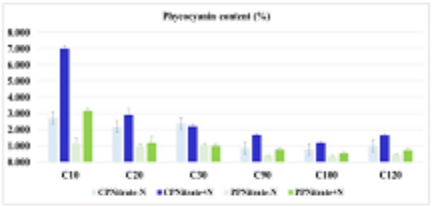
Phycocyanin was extracted from the dry biomass of algae by using Low temperature method, this is a spectrophotometry method adapted to extracted and quantify a relatively pure C-Phycocyanin fraction [27]. Calculated percent C-Phycocyanin using equation. The pure C-phycocyanin concentration was present higher than others at LD30 with the value of 0.32±0.09 % and most lower at C120 with the value of 0.17±0.01%.

2. C-Phycocyanin content in Nostoc commune

Table 3 The Phycocyanin value of Nostoc commune

	Phycocyanin content (%)			
Treatment	% crude C-phycocyanin		% pure C-phycocyanin	
N. commune	CPNitrate-N	CPNitrate+N	PPNitrate-N	PPNitrate+N
C10	2.732±0.34	7.004±0.22	1.152±0.34	3.147±0.16
C20	2.179±0.15	2.918±0.21	0.946±0.16	1.183±0.36
C30	2.374±0.08	2.196±0.22	1.046±0.12	0.973±0.16
C90	0.865±0.01	1.667±0.17	0.394±0.02	0.769±0.08
C100	0.782±0.09	1.194±0.04	0.355±0.05	0.528±0.06
C120	0.994±0.05	1.651±0.05	0.455±0.03	0.728±0.08

The Phycocyanin value of Nostoc commune in form of %Crude C-Phycocyanin, %Pure C-Phycocyanin were the highest value at C10 and lowest at C100 for condition. (Table 3,Figure 5). Those seen to be low light intensity was suitable to induce the high Phycocyanin content.



C= LED Red-light at 10, 20, 30, 100 and 120 µmol /m^{-2} /s^{-1}

Figure 5 Comparison of C-Phycocyanin at difference Red-light intensity

3. Nitrate residual

Standard limit for nitrate value in vegetables, standard limit per weight kilogram is less than 3.65 Milligram [28] (Tabatabaei et al 2005)I

1. Determination of Nitrate residual

The nitrate concentration was determine using Salicylic Acid method [29].

2. Nitrate residual in Nostoc commune

The Nitrate value of Nostoc commune using BG-11 with $NaNO_3$ (+N) and without $NaNO_3$ (-N) media under Red-light condition were shown the highest value at C30-N (37.818 µg.20mL^{-1}) and the lowest at C30 +N, C90+N and C120-N with the value of zero.(Table 4,Figure 7). The results was the effect of the media with nitrate concentration which could be interfere the nitrate residue in organism. (Figure 8). The consumption of nitrates is assumed to be the primary contributor in increasing the pH since pH increase did not occur in BG-N medium. [Kevin J. Horn. 2008]. Nostoc commune where heterocyst had formed indicating nitrogen fixation had become the source of nitrogen. Cultures of Nostoc commune that went to 61 days in the same medium were at pH 9.5-10 indicating that this range is the maximum pH induced by cell growth. The data also suggest that the primary factor in increasing the pH was the consumption of nitrate [30]. The nitrate content in Nostoc commune was low at all treatments,

Table 4 The Nitrate value of Nostoc commune

Treatment	Nitrate concentration(µg.20mL^{-1})	
N. commune	Nitrate-N	Nitrate+N
C10	20.909	4.909
C20	13.091	24.545
C30	37.818	0.000
C90	16.182	0.000
C100	16.727	13.455
C120	0.000	0.000

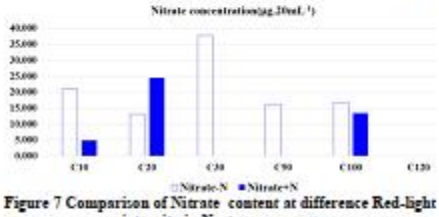


Figure 7 Comparison of Nitrate content at difference Red-light intensity in Nostoc commune

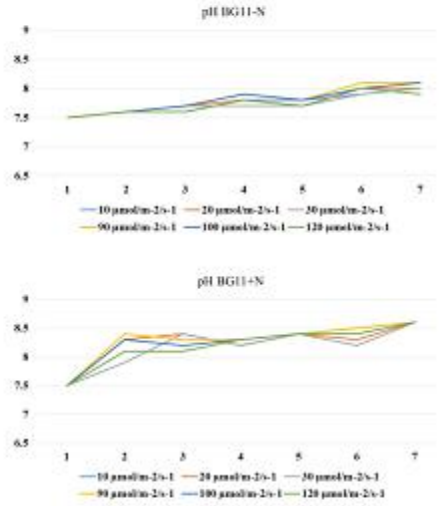


Figure 8 pH value in media with Nitrate and without Nitrate at difference Red-light intensity in Nostoc commune

CONCLUSION

The use of red-light condition and BG-11 media with (+N) and without (-N) $NaNO_3$ could be effect on the growth of Nostoc commune and the exhibit of chemical content. The optimum condition for biomass was 120 µmol $/m^{-2}/s^{-1}$ with the BG-11 media with $NaNo_3$ and Carotenoid was 120 µmol $/m^{-2}/s^{-1}$ with the BG-11 media without $NaNo_3$. The Phycocyanin was shown high concentration in low light intensity. The results of Nitrate residue was an effect from the media with nitrate concentration which also alternate the high pH in media. This study could be the idea to increase the some beneficial health chemical composition, such as Carotenoid and phycocyanin content and reduce nitrate residual in Nostoc commune to have the valuable food.

ACKNOWLEDGMENT

The authors wish to thanks the office of Agricultural Research and Extension Maejo Univesity for National Research Council of Thailand (NRCT) 2016 Research scholarship. We are grateful to the editor and the anonymous referees for their expert assistance and comments on this manuscript. This work was supported by Agricultural Interdisciplinary program and Maejo graduated school for support to join the conferences and also thanks to committee of the 483rd International Conference on Science, Technology, Engineering and Management (ICSTEM)

REFERENCES

[1] A Whitton. M Potts. The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space: Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands, 2000.

[2] J. W. Schopf. 1993. Microfossils of the Early Archean Apex chert: new evidence of the antiquity of life. Science 260. 640-646.

[3] J. W Schopf. 2000. Fossil Evidence for Ancient Cyanobacteria. In: Whitton. B. A., Potts. M. (Eds.). The Ecology of Cyanobacteria. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp. 13-35.

[4] J. W. Schopf. 2006. Fossil evidence of Archaean life. Phil. Trans. Royal Soc. Lond. B. Biol. Sci. 361. 869-885.

[5] L. J. Stal. 2003. Nitrogen Cycling in Marine Cyanobacteria Mats. In: Krumbein. W. E., Paterson. D. M., Zavarzin. G. A. (Eds.). Fossil and Recent Biofilms: A Natural History of Life on Earth. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp. 119-139.

[6] R. Singh. S. Tiwari. A. Rai. T. Mohapatra.2011. Cyanobacteria: an emerging source for drug discovery. J Antibiot (Tokyo). 2011: 64:401–412.

[7] A. Olafsdottir. GE. Thorlacius. S. Omarsdottir. ES. Olafsdottir. A. Vikingsson. J. Freysdottir and I. A. Hardardottir. 2014. heteroglycan from the cyanobacterium Nostoc commune modulates LPS-induced inflammatory cytokine secretion by THP-1 monocytes through phosphorylation of ERK1/2 and Akt. Phytomedicine. 2014: 21:1451–1457.

[8] J.E. Estrada. P.Bescos.: A.M. Villar Del Fresno. 2001. Antioxidant activity of different fractions of Spirulina platensis protean extract. Il Farmaco. 56. 497-500.

[9] B. Bhat Vadiraja. and K.M Madyastha. 2001. Scavenging of Peroxynitrite by Phycocyanin and Phycocyanobilin from Spirulina platensis: Protection against Oxidative Damage to DNA. Elsevier. Vol. 285. Issue 2. Pages 262-266.

[10] Yi Diao and Zujun Yang.2014. Evaluation of morphological variation and biomass growth of Nostoc commune under laboratory conditions Journal of Environmeural Biology. Vol. 35. 485-489.

[11] Li. D.H. and Y.D. Liu. 2003. The past decade's researches on Nostoc commune Vaucher in China-a review. Acta Hydrobiol. Sini.. 27. 408-412.

[12] M. S.Miranda. R. G.Cintra. S. B. M. Barros and J. M. Filho. (1998). Antioxidant activity of the microalga Spirulina maxima. Brazilian. Journal of Medical and Biological Research. 31. 1075–1079

[13] P. R. Arupama. 2000. Value-added food: Single cell protein. Biotechnology Advances. 18. 459–479.

[14] . M. Mojaat. J. Pruvost. A. Foucault and J. Legrand. 2008. Effect of organic carbon sources and Fe2+ ions on growth and β-carotene accumulation by Dunaliella salina. Biochem. Eng. J. 2008. 39. 177–184.

[15] C. G. Ana. M. Amaro Helena and X. M. Francisco. 2011. Microalgae as Sources of Carotenoids Mar. 625-644; doi:10.3390/md9040625.

[16] C.U. Ugwu. H Aoyagi and H.Uchiyama. 2008. Photo bioreactors for mass cultivation of algae. Bioresource Technology. 99. 4021-4028.

[17] Pirsaheb. M. Rahimian. S. Pasdar. A. (2012). Nitrite and Nitrate Values in Vegetable and Cucurbit In Kermanshah. Scientist Monthly Journal Of Medical Science University. 16th Year. First Number. P.P 76-83

[18] M. Raghimi, M. M. Ramezani and S. M. Seyed Khademi. 2008. Source Of Nitrate Contamination In Groundwater In 2005 At Gorgan, Gorgan University, Journal Of Medical Sciences, No. 4, Pp. 34-39

[19] H. Noorafkan and D. S Hasani (2009). Accumulation of Nitrate in Vegetables and Factors That Increase and Decrease, Conference And Exhibition of Environmental Engineering, Tehran University. Pp.1-5

[20] F. A. Sayed and E. Razvane 2014. Measuring nitrate and nitrite concentrations in vegetables, fruits in Shiraz.J. Appl. Sci. Environ. Manage. September 2014

[21] S.Sakhonwasee, K.Tummachai and N. Nimlawan. 2017. Influences of LED Light Quality and Intensity on Stomatal Behavior of Three Petunia Cultivars Grown in a Semi-closed System. Environ. Control Biol., 55 (2). 93-103.

[22] J. Kaewmaneesuk, C. Ariyadet, M. Thirabunyanon, S. Jaturonglumlert, W. Dnongprok. Influence of led red-light intensity on phycocyanin accumulation in the cyanobacterium Nostoc commune vaucher. J. Fundam. Appl. Sci., 2018, 10(3S), 457-467.

[23] M. Manigandam 2014. Mass Cultivation and Determination of Biochemical Composition of Spirulina platensis in three Different Medium. 2014. Int J Pharm Bio Sci. July; 5(3): (B) Lo847 – 854.

[24] KMUTT. 2001. Laboratory instruction: A workshop on mass cultivation of Spirulina, 8 – 11 January, 2001. King Mookut's University of Technology, Thonburi, Bangkok, Thailand. pp 14 – 15.

[25] Ch. Y. Romay, N. Ledon and R. Gonzalez, 2003. C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. Current Protein and Peptide Science, 2003, Vol. 4, No. 3:207-216.

[26] C.M. Reddy, V.B. Bha, G. Kiranmai, M.N Reddy, P. Reddanna and K.M. Madyastha. 2003. Biochem. Biophys. Res. Commun., 277, 599-603.

[27] S. Boussiba and A. Richmond. 1979. Isolation and purification of phycocyanins from the blue-green alga Spirulina platensis. Arch. Microbial. 120: 155-159.

[28] J. Tabatabaei, M.Nazari Deljoo, R. Rostami, F. Azarmi, F. Fakhrzad, S. Pahnaei, Sh. Ashtari. And S.M. Pour. 2005. Evaluating the Nitrate Concentration In Leafy Vegetables, Cucurbit And Fruits, Tabriz City.

[29] D.A. Cataldo,M.H. Haroon,L.E. Schrader and V.L. Yongs.1975. Rapid colormetric determination of nitrate in plant tissue by Nitration of salicyric acid. Soil science and plant analysis 6(1) 71-80.

[29] J. H.. Kevin. 2008. The Effect of Nitrates, pH, and Dissolved Inorganic Carbon Concentrations on the Extracellular Polysaccharide of Three Strains of Cyanobacteria Belonging to the Family Nostocaceae. Thesis Master of Science in Life Sciences in Biochemistry. Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University.

★★★

Effect of Different Light Sources on Nostoc Commune Biomass

Jittanan Kaewmaneesuk[1],
Chalinda Ariyadet[1],
Mongkol Thirabunyanon[1],
Somkiat Jaturonglumlert[2]
[1]*Program in Agricultural Interdisciplinary,*
[2]*Faculty Engineering and Ago-Industry, Maejo University, Thailand*

Abstract

In this study to assess the effects of light sources on the growth of Nitrogen-fixing cyanobacteria Nostoc commune which was isolated from Maetang District, Chiangmai Province, Thailand. The algae was cultivated in laboratory under different light sources, White light and Red light. The light intensity of white light was 30 µmol m^{-2} s^{-1} and 16 µmol m^{-2} s^{-1} for red light. The medium using BG 11 modified with and without sodium alginate (0.25%). The result of 30 days culture have shown that the highest growth was at red light with 0.070 g. DW in BG 11 modified medium with adding sodium alginate. Follow with BG 11 medium without sodium alginate at 0.056 g. DW and white light in BG 11 modified without sodium alginate at 0.037 g. DW and white light with sodium alginate at 0.025 g. DW expletively.

Keywords: Nostoc commune, Light and Biomass

Introduction

Blue-green algae occupy an anomalous position in the biological world. They are treated by botanists as a division (or class) of algae because they are photoautotrophs that use water as an electron donor and contain the two photopigments (chlorophyll a and β-carotene) that are the chemical hallmarks of plant photosynthesis (Sanier et al.,1971). *Nostoc commune* is an blue green algae and edible fresh water cyanobacterium and its a nitrogen fixing blue green algae of the Division Cyanophyta. *Nostoc commune* contain rich, amino acids, fatty acids, flavonoids polysaccharide, vitamins, and many kinds of minerals (Diao et al.,2012, Li et al.,2003) It has been widely used as food in northeast of Thailand. The control and optimization of light intensity and light wavelength is regarded as one of the most important parameters for the culture of photosynthetic microorganisms (Ugwa et al., 2008). For last decade cyanobacteria have been receiving increasing interest due to their potential to produce a diverse range of chemicals and biologically active compounds, such as vitamins, carotenoid pigments, proteins, lipids and polysaccharides (Zhang et al., 1999). For exploration of these potentials of cyanobacteria it should be cultivated in commercial way. Globally researchers are trying to produce microalgae/cyanobacteria commercially (Belay 1997; Ben-Amotz 2004). Yet very little or primary information is available on detailed design criteria and inovation, location selection, scaling considerations, or constrains innvolved in large scale cultivation. *Nostoc commune* is blue-algae which human use for organic food source and contains high proteins with well-balanced amino acids. It is also rich in carbohydrates, vitamins, minerals, phenolics, pigments (chlorophyll, carotenoids and phycobilins) and poly-unsaturated fatty acids (Miranda et al. 1998; Anupama 2000). *Nostoc commune* algae could be used for high value food. This algae is a nitrogen fixing ,so it contains have high nutritional value, such as 20.84 gram / 100 g of protein, 0.43 grams of vitamin B 1, 1.54 grams of calcium, 0.37 iron, and 21.40 micrograms / 100g of vitamin A. and 17 essential amino acids. *Nostoc* is an edible blue green algae used for health food and herbal medicine due to its nutritional values and antioxidant properties (Yi and Zuiun. 2014). *Nostoc* has been used as a source of proteins, vitamin and unsaturated fatty acids for human and animals (Gao. 1998). However, wild type N. *commune* has been decreasing in quantity as a result of ever-

growing market demand and environmental pollution. Therefore, artificial culture of N. *commune* is important as it can bring great social and economic benefits. (Yi Diao and Zujun Yang.2014). C-phycocyanin (C-PC) could be extracted from cyanobacteria such as *Spirulina platensis*, which has been widely used in commercial applications in the food and cosmetic industry as a natural blue dye (Romay et al., 2003), anti-inflammatory (Romay et al.,2000; Reddy et al., 2003; Bhat and Madyastha, 2001) and antioxidant (Estrada et al., 2001; Bhat and Madyastha, 2000). Some papers report C-PC extraction from cyanobacterium. Estrada et al., 2001) and also studied the optimization of extraction from dried biomass. The extraction using ultrasonic bath in the presence of glass pearls in the biomass proved to be more efficient method, 56% higher than using freezing and thawing, and presented a extraction yield of 43.75 $mg.g^{-1}$ and a C-phycocyanin concentration of 0.21 $mg.mL^{-1}$. (Moraes et al.2011)

The aim of this work was to investigate the production and purify of phycocyanin by *Nostoc commune* compare between white and red spectra of light. The purpose was along with the property of it containing β-carotene pigment as *Spirulina*. The dependent variables evaluated were the amount of phycocyanin obtained and its purity.

Materials and Methods

Isolation and Identification: The *Nostoc commune* stain was isolated from natural Mae Taeng clean and Shallow River. Located in Chiang Mai province. The sample was carried out to Program in Agricultural Interdisciplinary Lab, Maejo University. The colony was washed with distilled water and follow with Ethyl alcohol 10% Clorox 5% and then washing with distilled water done in 3 times replicated. The pure colony was transfer to culture in BG 11 modified, Slant agar media to growth under white light condition as the stock. This medium was also used to mass production. All the reagents used were of commercial grade. The collected algal samples and isolated the samples by picking up of single cells technique and transferred in BG-11 medium in vials bottle at 28±2 °C under light intensity (2000 lux) and photoperiod of 12:12 hour for 2 mouths. Then transferred samples were spread on algal broth agar plates and incubated at the above mentioned condition. After the single colonies grown were picked up and transferred to BG-11 medium in 250 ml conical flask and shaken manually for 2 to 3 times in a day. The isolated microalgae were identified with standard manual for algae (Desikachary, 1959) and confirm species to Standard species from TISTR 8160 (Fig.1).

Figure 2. The study site (A) and Nostoc commune algae from Mae Taeng River (B, C) and Standard Nostoc commune species TISTR 8160 (D).

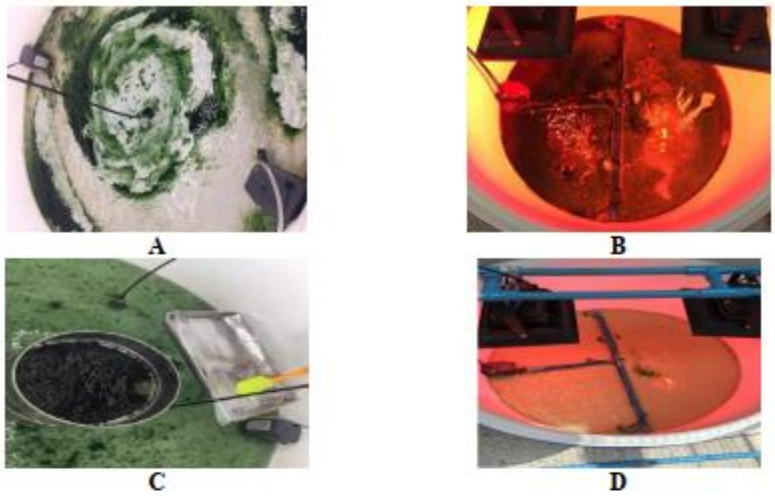


Figure 2. Biomass culture of Nostoc commune in Culture tank at White light (A), Red light (B), Collect by 50 um sieve (C), D, Red light condition, Effect of circulation velocity(D)

Biomass Growth

1) *Culture Media:* Media was using modified BG11 5 (BlueGreen Medium) Das Karabi et al. (2014) and combination with 0.25% sodium alginate (Pandey and Pandey .2008) and was filled in media for increased Phycocycanin and Phycoerythrin. The original formula adjusted pH value to 7.5 and light intensity was 20 microns / square meter. /Second Encourage algae mushroom to grow well. The review of this media was record of the biomass was increased by an average of 7.91 times after culturing for 20 days (Jadesada Thipayasooksri et al. 2555). Alginate 0.25% was filled in media for increased Phycocycanin and Phycoerythrin.

2) *Culture condition* CO_2 : was used to increase the source for photosynthesis and the source for mass production. (Manigandam.2014) and pH sensor was to adjust pH of the optimum algae growth condition under CO_2 adjustment. Coincide with controlling the light source by use white light (6500 Lux) and red light (840 Lux).White light and Red light 12/12 Turn off switch was used to control the growth. Temperature 25 $\pm$ 2 °C (Manigandam.2014), (Fig.2).

3) *Technique collecting and chemical analyses*: The sample was collect at 28 Day's cultivar, biomass was collected by using 50 µm sieves and dried at low temperature (60°C) than mortar to power particle by hand grinder. Collect the *Nostoc commune* for measure the biomass and some chemical content. The chemical was determination phycocyanin and protein content. Protein Estimation by Lowry's Method (Lowry et al., 1951). To validate Phycocyanin was extracted from the dry biomass of algae by using low temperature method, this is a spectrophotometry method adapted to extract and quantify a relatively pure c-phycocyanin fraction (Boussiba nad Richmond. 1979).

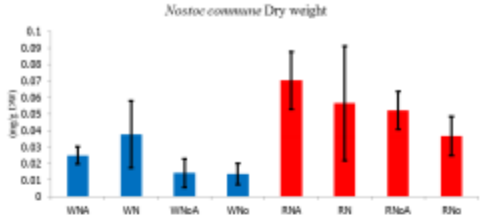


Figure 3. Nostoc commune biomass.

White light (W) condition plus Nitrogen with sodium alginate 0.25% (NA), Nitrogen (N), without Nitrogen plus sodium alginate 0.25% (WNoA), without Nitrogen and sodium alginate 0.25% (WNo)

4) Biomass: The results have shown the high biomass concentration at Red light then White light condition. The maximum Dry weight value was Nitrogen with sodium alginate 0.25% (NA) media with the value of 0.07 mg/g DW. (Fig.3).

C-phycocyanin content

Phycocyanin was extracted from the dry biomass of algae by using low temperature method, this is a spectrophotometry method adapted to extract and quantify a relatively pure c-phycocyanin fraction (Boussiba nad Richmond. 1979). By weigh accurately 40 mg. *Spirulina* powder into a 10 ml. centrifuge tube, than add 10 ml. of 100 mM phosphate buffer (100 mM phosphate buffer contains 10.64 g.K_2HPO_4 and 5.29 KH_2PO_4 per liter, pH7). Next vortex to mix well. Store the solution in refrigerator overnight and vortex to mix well again. Take the sample to centrifuge at 10^0C at 3500 RPM. read absorbency of each replicate at 620 nm. using phosphate buffer as blank. Average absorbency readings for dilution replicates and calculate percent C-Phycocyanin as follow equation.

Derivation of pure C-Phycocyanin:

$$\%\text{ pure CPC(\%crude)} = \frac{A620x(10)x(100)}{7.3(3.39)\text{ x (mg.sample).x(\%dry wt.)}}$$

Where 7.3 is Extraction coefficient of pure or crude of CPC at 620 nm.

10 is total volume

100 represents 100%

After extraction, the samples were centrifuged and the supernatant used to verify the extraction yield.

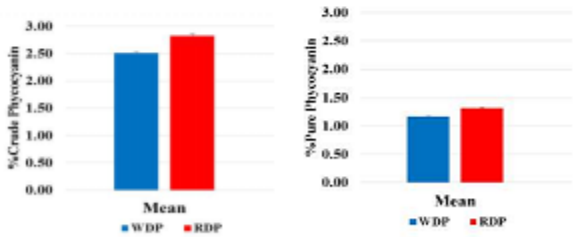


Figure 4. Phycocyanin content in Nostoc commune under White light and Red light condition

The extract of phycocyanin which was extracted from Nostoc commune powder was cultivated in two different light sources, white and red light lamps. The Crude phycocyanin content was shown higher in red light (2.823%) than in white light (2.51%). The pure phycocyanin content in red light was also higher than white light condition with the value of 1.31% and 1.16% respectively (Fig.4).

Analytical procedures and Statistical analysis

To validate the results reproducibility, each treatments was done in triplicate. Statically of compare mean between treatments was done. All analyses were performed considering a level of 95% of confidence ($p<0.05$). The difference relation of Dry weight between white light and red light was $p>0.05$, and %Pure Phycocyanin was $p<0.05$.

Results and Discussions

1) Biomass Production. The high biomass of Nostoc commune have shown at Red light condition with the value of 140 µg/day/100 liter Dry weight.

2) Chemical content. Phycocyanin under red light condition have the higher phycocyanin content than white light condition with the value of 1.923% and 1.624% respectively. Protein content have shown the high value in Red light condition with the value of 75.56+3,3 mg/g Dry weight

3) Food safety. In white light condition, green algae could be survive alongwith protozoa. Cause of the ability to absorb the wave length of chlorophyll a in their cells. Red light have only blue green algae Phormidium ambiguum that have found. All of contamination organism have no toxic to human in record. Coinside with the the resulted have shown the low contamination of bacteria in these system cultivation and have the lower in Red light condition which could be confirmed that it clean for making safety powder and food production (Fig.6 and Table 1).

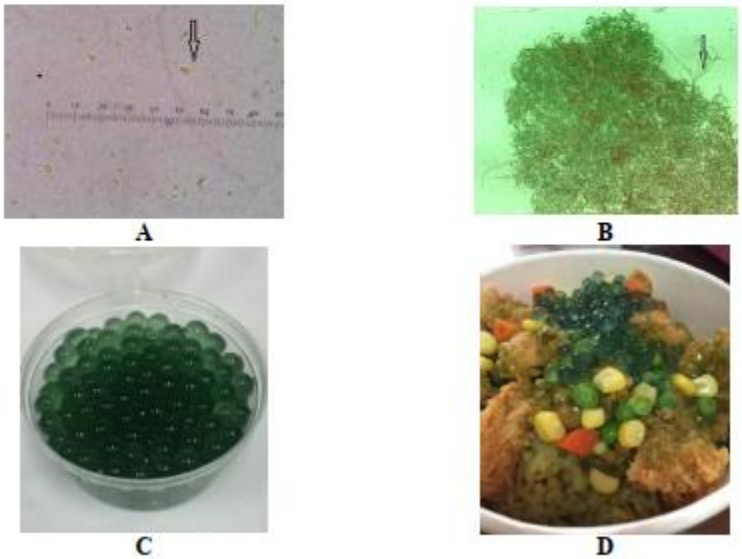


Figure 6. The result of cultivar Nostoc commune A, Green algae contaminate B, Phormidium ambiguum C, Safety food production (Spheroid- jelly food or algae Caviar)

Table 1. The total fecal coliforms and total coliform of Nostoc commune powder

Samples	Total fecal coliforms bacteria (*E.coli*)	Total Coliform MPN/กรัม
N. *commune* + Red light	ND	<3.0
N. *commune* + White light	ND	>1,100

Notation: ND mean Non Detectable
Standard of Food safety is $<1x10^6$

Conclusion

The Smart culture for Nostoc commune in closed system, under Read Light controlling in this research have shown the results of the idea to plant factory or make a large scale of Nostoc commune production and food safety.

Acknowledgment

The authors wish to thanks the Office of Agricultural Research and Extension Maejo University f and National Research Council of Thailand (NRCT) 2016 for Research scholarship and also thanks to committee of the 13th International Conference "ASIAN Community Knowledge Networks for the Economy, Society, Culture, and Environmental Stability" at University of Miyazaki, Japan for announce this presentation. Finally thanks to Agricultural Interdisciplinary program and Maejo graduated school for support to join the conferences.

Bibliography

Bhat Vadiraja B. , K.M. Madyastha. 2001. Scavenging of Peroxynitrite by Phycocyanin and Phycocyanobilin from Spirulina platensis: Protection against Oxidative Damage to DNA. Elsevier. Vol. 285, Issue 2, Pages 262-266.

Anupama, P. R. (2000). Value-added food: Single cell protein. Biotechnology Advances, 18, 459–479.

Belay A., 1997. Mass culture of *Spirulina* outdoors – the Earthrise experience. In: Vonshak A (ed) *Spirulina platensis* (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology. Taylor & Francis, London, pp 131–158.

Ben-Amotz A. 2004 Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products – major industrial species. In: Richmond A (ed) Handbook of microalgal culture biotechnology and applied phycology. Blackwell, Oxford, pp 273–280.

Boussiba S. and Richmond A. 1979.Isolation and purification of phycocyanins from the blue-green alga Spirulina platensis., Arch. Microbial. 120: 155-159,

Das Karabi, Gajen Dr.and Sarma Chandra. 2014. Optimization of culture media for the growth of *Anabaena*. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS) e-ISSN: 2278-3008, p-ISSN:2319-7676. Volume 10, Issue 2 Ver. III (Mar - Apr. 2015), PP 37-41.*www.iosrjournals.org* .spiroides and Nostoc punctiformae of Jorhat district, Assam

Diao Y i and Yang Zujun.2014. Evaluation of morphological variation and biomass growth of *Nostoc commune* under laboratory condition sJournal of Environmental Biology, Vol. 35, 485-489.

Estrada, J.E.; Bescós, P.; Villar Del Fresno, A.M. 2001, Antioxidant activity of different fractions of Spirulina platensis protean extract. Il Farmaco, 56, 497-500.

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

Manigandam M. 2014. Mass Cultivation and Determination of Biochemical Composition of Spirulina platensis in three Different Medium. 2014. Int J Pharm Bio Sci July; 5(3): (B) Lo847 – 854.

Moraes,Luisa Sala C. C., Cerveira G. P. and Kalil S. J. Brazilian. 2011. Journal of Chemical Engineering, C-PHYCOCYANIN EXTRACTION FROM *Spirulina platensis*. WET BIOMASS, No. 01, pp. 45 - 49, January - March, Vol. 28.

Miranda, M. S., Cintra, R. G., Barros, S. B. M., & Filho, J. M. (1998). Antioxidant activity of the microalga Spirulina maxima. Brazilian. Journal of Medical and Biological Research, 31, 1075–1079

Pande , U and Pandey , J .2008. Enchanced production of biomass, pigments and antioxidant capacity of a nutritionally important cyanobacterium *Nostochopsis lobatus*. Bioresource technology. 99(10): 4250-4523

Reddy C.M., Bhat V.B., Kiranmai, G., Reddy M.N., Reddanna. P.,and Madyastha K.M., 2003. Biochem. Biophys. Res. Commun., 277, 599-603.

Romay Ch y, Ledón N., González, R.2003. C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. Current Protein and Peptide Science, 2003, Vol. 4, No. 3:207-216.

Stanier R. Y. , Kunisawa R. , Mandel M. , and Cohen –Bazire G. 1971. Purification and Properties of Unicellular Blue-Green Algae (Order Chroococcales). Bacterological reviews, , June 1971, p. 171-205 Copyright © 1971 American Society for Microbiology. Vol. 35, No. 2 Printed in U.S.A.

Stanier RY,and Van Niel CB.1941. The Main Outlines of Bacterial Classification. J Bacteriol. 1941 Oct;42(4):437–466. [PMC free article] [PubMed]

Zhang, X.-W., Zhang, Y. M. and Chen, F. 1999. Application of mathematical models to the determination optimal glucose concentration and light intensity for mixotrophic culture of *Spirulina platensis*. Process Biochem. 34: 477– 481.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวจิตตนันท์ แก้วมณีสุข

เกิดเมื่อ 29 ตุลาคม พ.ศ. 2519

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2544 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาส่งเสริมการเกษตร
คณะธุรกิจการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2541 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาส่งเสริมการเกษตร
คณะธุรกิจการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ประวัติการทำงาน

พ.ศ. 2545 - 2550 นักวิชาการ
ศึกษาพิพิธภัณฑ์ประวัติธรรมชาติวิทยา
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

พ.ศ. 2550 – 2553 นักวิชาการส่งเสริมการเกษตรปฏิบัติการ
สำนักงานเกษตรอำเภอมายอ จังหวัดปัตตานี
กรมส่งเสริมการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

พ.ศ. 2553 – 2556 นักวิชาการส่งเสริมการเกษตรชำนาญการ
สำนักงานเกษตรอำเภอมายอ จังหวัดปัตตานี
กรมส่งเสริมการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

พ.ศ. 2556 – ปัจจุบัน นักวิชาการส่งเสริมการเกษตรชำนาญการ
สำนักงานเกษตรอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่
กรมส่งเสริมการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์