บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรท และความเข้มแสง ต่อการเติบโต ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ปริมาณแคโรทีนอยด์และปริมาณเบต้าแคโรทีนของสาหร่าย *Chlorosarcinopsis* sp.

เลี้ยงสาหร่าย *Chlorosarcinopsis* sp.ที่ความเข้มแสง 60, 120 และ 180 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรท 0, 0.1 และ 0.2 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสาหร่ายมีการเติบโต ปริมาณแคโรทีนอยด์และปริมาณเบต้าแคโรทีนสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่ความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรท 0.1 กรัมต่อลิตร ความเข้มแสง 120 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยมีจำนวนเซลล์เท่ากับ $138x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.165 ต่อวัน ระยะเวลาการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่า เท่ากับ 4.2 วัน มีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1.77 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณเบต้าแคโรทีนเท่ากับ 0.133 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ มีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่ความเข้มข้นของ โปแตสเซียมไนเตรท 0.2 กรัมต่อลิตร ความเข้มแสง 120 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที มีปริมาณเท่ากับ 2.09 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยพบว่าการเติบโตปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณเบต้าแคโรทีน และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่ระดับความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรทแต่ละกลุ่มแตกต่างกัน($P<0.05$) แต่การเติบโตปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณเบต้าแคโรทีนและปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่ระดับความเข้มแสงแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) โดยที่ไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่างความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรท และระดับความเข้มแสงต่อการเติบโต ปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณเบต้าแคโรทีนและปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ($P>0.05$) (ตารางภาคผนวก ง ที่ 1,3,5,8) โดยเมื่อความเข้มแสงสูงขึ้น การเติบโตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับ Rise *et al.*(1994) ที่ศึกษาการเติบโตในสาหร่าย *Chlorella zofingiensis* พบว่า สาหร่ายจะมีจำนวนเซลล์สูงสุดเมื่อเลี้ยงที่ความเข้มแสงสูง (150 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) ความเข้มข้นของ โปแตสเซียมไนเตรท 0.5 กรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนเซลล์เท่ากับ $30x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับการศึกษาของ Campo *et* al.(2000) พบว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่าย *Muriellaopsis* sp. ที่ความเข้มแสง 184, 460 และ1265 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ความเข้มข้นของโซเดียมไนเต

รท 1.7 กรัมต่อลิตร สาหร่ายจะมีจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ $6.4x10^{10}$เซลล์ต่อลิตร โดยพบว่าเมื่อความเข้มแสงสูงขึ้นและความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทลดลง สาหร่ายจะมีการเติบโตเพิ่มขึ้น นอกจาก นี้สรวิศ เผ่าทองสุข และคณะ (2538) พบว่าความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง *Dunaliella salina* จะอยู่ในช่วง 70-203 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที อย่างไรก็ตามแสงเป็นแหล่งให้พลังงานสำหรับกระบวนการสังเคราะห์แสงที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสาหร่าย และเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้นอัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายก็จะสูงขึ้นตามไปด้วยแต่ถ้าเพิ่มความเข้มแสงมากเกินไปก็จะทำให้สาหร่ายหยุดการเติบโต (Fabregas *et al* . ,2001; Chen *et al* .,1996 ; Fan *et al* .,1994)

ผลของความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์และปริมาณเบต้าแคโรทีนของสาหร่าย *Chlorosarcinopsis* sp. ส่วนใหญ่มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ โปแตสเซียมไนเตรทลดลง ให้ผลสอดคล้องกับการเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* พบว่าเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทลดลง สาหร่ายจะสะสมแอสต้าแซนทีน (Harker *et al*.,1996) และเบต้าแคโรทีนสูงขึ้น (Orasa *et al*., 2005 ; Ben-Amotz and Avorn ,1983) ส่วนความเข้มแสง พบว่าเมื่อความเข้มแสงสูงขึ้นปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากแคโรทีนอยด์ ทำหน้าที่ป้องกันเซลล์จากการถูกทำลายโดยแสงที่มีความเข้มแสงสูง (Wang *et al*. ,2003) ให้ผลเช่นเดียวกับ การเพาะเลี้ยง *H. pluvialis* ที่ความเข้มแสงสูง พบว่าสาหร่ายจะสะสมแอสต้าแซนทีนเพิ่มขึ้น (Fan *et al*., 1994) ส่วนเบต้าแคโรทีน พบว่าเมื่อความเข้มแสงสูงขึ้นสาหร่าย *Chlorosarcinopsis* sp. ส่วนใหญ่มีปริมาณเบต้าแคโรทีนลดลง เช่นเดียวกับการเลี้ยงสาหร่าย *D. salina* (Orset and Young ,1999)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่าย *Chlorosarcinopsis* sp.มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรทสูงขึ้น ทำนองเดียวกับสาหร่ายสีเขียว *C. zofingiensis* พบว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่ายที่ความเข้มข้นของไนเตรท 0, 0.14, 0.27, 0.55 และ 1.1 กรัมต่อลิตร ที่ความเข้มแสง 90 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที สาหร่ายจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดเมื่อเลี้ยงที่ความเข้มข้นไนเตรทสูงสุด (1.1 กรัมต่อลิตร) โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 0.9 มิลลิกรัมต่อกรัม (Fung *et al*., 2004) และการเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ที่ความเข้มแสง 60 และ 24 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยมีโปแตสเซียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน สาหร่ายจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มแสงลดลง (Danesi *et al*., 2004)

เลี้ยงสาหร่าย *Chlorosarcinopsis* sp. ที่ระดับความเข้มแสง 60, 120 และ 180 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ในอาหารที่ไม่มีแหล่งไนเตรทสาหร่ายจะมีการเติบโต ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ แคโรทีนอยด์ และเบต้าแคโรทีนลดลง ซึ่งโดยทั่วไปสาหร่ายจะตอบสนองต่อการ

ขาดแคลนไนโตรเจนในอาหารโดยการย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ ที่ประกอบด้วยไนโตรเจนในเซลล์ เพื่อให้ได้ธาตุไนโตรเจนสำหรับการดำรงชีวิต ทำให้องค์ประกอบไนโตรเจนของเซลล์ลดลงอย่างเห็นได้ชัด และมีการสะสมสารประกอบคาร์บอน เช่น โพลีแซคคาไรด์ และไขมัน เพิ่มขึ้น ส่วนรงควัตถุในการสังเคราะห์แสงก็จะลดลง ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงต่ำลงด้วย (Richmond, 1986) เซลล์ของสาหร่ายมีสีซีด คล้ายคลึงกับการเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* ภายใต้สภาวะความเข้มข้นไนโตรเจนต่ำและความเข้มแสงสูงเป็นผลให้สาหร่ายหยุดการเติบโต รวมทั้งสูญเสียความสามารถในการดูดซึมธาตุคาร์บอน (Zhekisheva *et al*., 2002; Orasa *et al*., 2005) และเมื่อสาหร่ายขาดไนโตรเจนมีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงอย่างมาก(Piorreck and Pohl , 1983)

2. ผลของอุณหภูมิต่อการเติบโต ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ปริมาณแคโรทีนอยด์ และปริมาณเบต้าแคโรทีนของสาหร่าย *Chlorosarcinopsis* sp.

โดยทำการทดลองในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร NS III ที่ระดับความเข้มแสง 120 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที และความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรท 0.1 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการเติบโตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ระดับอุณหภูมิต่างกันการเติบโตไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) (ตารางภาคผนวก ง ที่ 10) โดยสาหร่ายมีจำนวนเซลล์สูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีจำนวนเซลล์เท่ากับ $148x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเลี้ยง 16 วัน มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.08 ต่อวัน ระยะเวลาการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่า เท่ากับ 8.66 วัน เช่นเดียวกับการเลี้ยงสาหร่าย *Muriellaopsis* sp. ที่อุณหภูมิ 20, 24 และ 28 องศาเซลเซียส พบว่าสาหร่ายจะมีการเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยจะมีจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ $6.2x10^{10}$ เซลล์ต่อลิตร เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (Campo *et al.* ,2000) ทำนองเดียวกับการศึกษาของ Richmond (1986) ซึ่งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความเข้มแสงที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus bijugates* พบว่าสาหร่ายเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิสูง 37 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 100-150 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที Sosik *et al*.(1994) รายงานว่าอุณหภูมิมีผลต่ออัตราการเติบโตและการสังเคราะห์ด้วยแสงของแพลงค์ตอนพืช ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์ด้วยแสงของแพลงค์ตอนพืชอยู่ระหว่าง 30–35 องศาเซลเซียส และหยุดชะงักเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 50 องศาเซลเซียส (สัมพันธ์ คัมภิรานนท์ และ วรวรรณ ลิ่มทอง, 2526) ส่วน Kasai and Ichimura (1990) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย *Closterium ehenbergii* อยู่ในช่วง 20-30 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Becker (1984) รายงานว่าที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายเกลียวทอง

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในสาหร่าย*Chlorosarcinopsis* sp.พบว่าสาหร่าย จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดเท่ากับ 2.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าที่ระดับอุณหภูมิต่างกัน ค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ไม่แตกต่างกัน (P>0.05) (ตารางภาคผนวก ง ที่ 10) เช่นเดียวกับการเลี้ยงสาหร่าย *H. pluvialis* ที่อุณหภูมิ 20 ,25, 30และ 33 องศาเซลเซียส สาหร่ายจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดเท่ากับ 80 พิโคกรัมต่อเซลล์ที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส (Tjahjono *et al*.,1994)

สาหร่ายจะมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 1.77 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าที่ระดับอุณหภูมิต่างกัน ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์แตกต่างกัน โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะแตกต่างกับเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส และ 35 องศาเซลเซียส (P<0.05) (ตารางภาคผนวก ง ที่ 11) โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะลดลง ส่วนปริมาณเบต้าแคโรทีนพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเบต้า แคโรทีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยพบว่าที่ระดับอุณหภูมิต่างกัน ค่าปริมาณเบต้าแคโรทีนแตกต่างกัน โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะแตกต่างกับเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส และ35 องศาเซลเซียส (P<0.05) (ตารางภาคผนวก ง ที่ 12) โดยเบต้าแคโรทีนมีค่ามากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.543 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 236.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Tjahjono *et al*. (1994) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *H. pluvialis* NIES-144 โดยเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นจาก 20 องศาเซลเซียส เป็น 30 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสงระหว่าง 68-125 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ทำให้สามารถผลิตแอสต้าแซนทีน ซึ่งเป็นsecondary carotenoid ได้เพิ่มสูงขึ้นถึง 19 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายในระยะเวลา 10 วัน ทำนองเดียวกับ Rise *et al*. (1994) ได้ศึกษาการสะสมแอสต้าแซนทีนในสาหร่าย *Chlorella emersonii* พบว่าการเติบโตภายใต้ความเข้มแสงสูง 300 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที และขาดแหล่งไนโตรเจน จะทำให้สาหร่ายมีการสะสมแอสต้าแซนทีนมากที่สุดเท่ากับ 0.78 พิโคกรัมต่อเซลล์

จากการทดลองสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย*Chlorosarcinopsis* sp. เพื่อผลิตเบต้าแคโรทีน คือ สภาวะความเข้มแสงสูง(120 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) อุณหภูมิสูง(30°C)และความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรทต่ำ(0.1กรัม/ลิตร) พบว่าสาหร่าย *Chlorosarcinopsis* sp. มีปริมาณเบต้าแคโรทีน 0.543 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *D. salina* สามารถผลิตเบต้าแคโรทีนได้ 12 %เบต้าแคโรทีนต่อน้ำหนักแห้งที่ปราศจากเถ้า ทั้งนี้อาจเนื่องจากส่วนใหญ่สาหร่ายสีเขียว เช่น *Chlorella zofingiensis*,

C. emersonii, H. pluvialis , *Ermosphera viridis* และ *Scenedesmus* จะมีปริมาณแอสต้าแซนทีนมากกว่าเบต้าแคโรทีน ซึ่งเบต้าแคโรทีนเป็น primary carotenoid สามารถเปลี่ยนเป็นแอสต้าแซนทีน ซึ่งเป็น secondary carotenoid ได้จึงทำให้พบเบต้าแคโรทีนในปริมาณน้อย (Margalith,1999) นอกจากนี้ Fung *et al.*(2004) รายงานว่า เมื่อปริมาณคลอโรฟิลล์และ primary carotenoid ไม่เพียงพอสำหรับการป้องกันขบวนการโฟโตออกซิเดชั่นทำให้สาหร่ายสังเคราะห์ secondary carotenoid ในเซลล์เพิ่มขึ้น จากการศึกษาของ Zhekisheva *et al.* (2002) ศึกษาการสะสมแอสต้าแซนทีนในสาหร่าย *H. pluvialis* ภายใต้สภาวะความเข้มข้นไนโตรเจนต่ำและความเข้มแสงสูง พบว่า แอสต้าแซนทีนมีหน้าที่ป้องกันเซลล์จากการทำลายโดยแสง และจากการคำนวณอัตราส่วนโดยโมลของ Nitrogen : Phosphorus ในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร NS III จะมีอัตราส่วนเท่ากับ 1.47 : 1 ซึ่งตามทฤษฎีสาหร่ายต้องการอัตราส่วนโดยอะตอมของ Nitrogen : Phosphorus เท่ากับ 16 : 1 (Stumm and Morgan,1996) แสดงว่า ในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร NS III มีฟอสฟอรัสมากเกินพอ ดังนั้นการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในอาหารย่อมเพิ่มการเติบโตของสาหร่าย การที่สาหร่ายไม่สามารถเติบโตได้มากขึ้นแม้จะเพิ่มไนโตรเจน แสดงว่ามีปัจจัยอื่นอีกที่จำกัดการเติบโตของสาหร่ายในการทดลองนี้