ศักยภาพของไซยาโนแบคทีเรียในคลองแสนแสบในการผลิตไฟโคไซยานิน

สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ[1,2*] และกนกกานต์ นาคทอง[3]

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป และ [2]หน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วัฒนา กรุงเทพฯ 10110
[3]กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ โรงเรียนราษฎร์บูรณะ ทุ่งครุ กรุงเทพ 10110
[*]E-mail: surasakl@swu.ac.th

รับบทความ:13 สิงหาคม 2559 ยอมรับตีพิมพ์: 20 พฤศจิกายน 2559

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรองไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตไฟโคไซยานินที่แยกได้จากคลองแสนแสบ จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Anabeana* sp. *Nostoc* sp. *Spilurina* sp. *Tolypothrix* sp. และ *Oscillatoria* sp. SWU121 ในอาหาร BG_{11} เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยสกัดตัวอย่างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0 และวัดปริมาณไฟโคไซยานินด้วยเครื่องสเปกโทโฟโทมิเตอร์ พบว่า ไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria* sp. SWU121 เจริญเติบโตและให้ปริมาณไฟโคไซยานินสูงสุด รองลงมาคือ *Spilurina* sp. *Anabeana* sp. *Nostoc* sp. และ *Tolypothrix* sp. ตามลำดับ ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไฟโคไซยานินจาก *Oscillatoria* sp. SWU121 คือ เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG_{11} พีเอช 8.0 อุณหภูมิ 30°C ภายใต้แสงขาว เป็นระยะเวลา 30 วัน ให้ปริมาณไฟโคไซยานินสูงสุด 40 mg/L และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

คำสำคัญ: ไฟโคไซยานิน ไซยาโนแบคทีเรีย คลองแสนแสบ

Potential of Phycocyanin-Producing Cyanobacteria in Sansab Canal

Surasak Laloknam[1,2*] and Kanokgarn Naktong[3]

[1]Department of General Science and [2]Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning, Faculty of Sciences, Srinakharinwirot University, Wattana, Bangkok 10110, Thailand

[3]Department of Science, Ratburana School, Thung Khru, Bangkok 10140, Thailand

[*]E-mail: surasakl@swu.ac.th

Received: 13 August 2016 Accepted: 20 November 2016

Abstract

This research aimed to screen cyanobacteria producing phycocyanin of five cyanobacteria isolated from Sansab canal, *Anabeana* sp., *Nostoc* sp., *Spilurina* sp., *Tolypothrix* sp., and *Oscillatoria* sp. SWU121. All cyanobacteria were grown in BG_{11} medium for 30 days were extracted by phosphate buffer, pH 8.0. The phycocyanin contents were measured using spectrophotometer. The result showed that *Oscillatoria* sp. SWU121 had the highest phycocyanin contents, followed by *Spilurina* sp., *Anabeana* sp., *Nostoc* sp., and *Tolypothrix* sp., respectively. The optimal condition of *Oscillatoria* sp. SWU121 to produce phycocyanin was grown in BG_{11} medium pH 7.0, 30°C under white light for 30 days and shown yield 40 mg/L. Phycocyanin of *Oscillatoria* sp. SWU121 showed antioxidant activity.

Keywords: Phycocyanin, Cyanobacteria, Sansab canal

บทนำ

ไฟโคไซยานิน (phycocyanin) เป็นรงควัตถุที่ช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสง เช่นเดียวกับคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) และแคโรทีนอยด์ (carotenoid) เพื่อเปลี่ยนสารอนินทรีย์ ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำให้เป็นสารอินทรีย์ ได้แก่ สารชีวโมเลกุลประเภทคาร์โบไฮเดรต และเปลี่ยนเป็นสารชีวโมเลกุลชนิดอื่น ๆ โดยใช้กระบวนการเมแทบอลิซึมภายในสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ ไฟโคไซยานินมีหลายชนิด ได้แก่ อัลโลไฟโคไซยานิน (allophycocyanin) และไฟโคอีริทริน (phycoerythrin) ไฟโคไซยานินมีสมบัติในการดูดกลืนแสงและสามารถเรืองแสงได้จึงมีใช้แทนเอทิเดียมโบรไมด์ (EtBr) ในการย้อมเจล เพื่อดูดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอ ไฟโคไซยานินนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น สีผสมอาหาร และเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำ เช่น *Spirulina* sp. *Nostoc* sp. นอกจากนี้ไฟโคไซยานินยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น กำจัดอนุมูลไฮดรอกซิลและเพอร์ออกซิล (Johnson et al., 2014; Kumar et al., 2011; Romay et al.,

2003; Wim et al., 2007)

ไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้คล้ายพืช มีผนังเซลล์ และมีรูปร่างหลายแบบ ได้แก่ เซลล์เดียว โคโลนี และเส้นสาย ในไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดสามารถตรึงแก๊สไนโตรเจนในอากาศได้ (nitrogen-fixing cyanobacteria) จึงมีการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการเกษตร เป็นส่วนประกอบของปุ๋ย ไซยาโนแบคทีเรียมีความสามารถในการเจริญในสิ่งแวดล้อมที่มีความหลากหลายรวมถึงแหล่งน้ำเสีย จึงสามารถนำไซยาโนแบคทีเรียมาใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพของน้ำทางชีวภาพได้ (Donagh et al., 2008; Kovacs, 1992; Peerapornpisal et al., 2005, 2006, 2007; Pollution Control Department, 2009)

คลองแสนแสบ เป็นคลองที่นำมาใช้ประโยชน์สำหรับการคมนาคมเป็นเส้นทางเดินเรือท่าเรือผ่านฟ้าถึงท่าเรือวัดศรีบุญเรือง เนื่องจากคลองแสนแสบดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำหลายค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ไม่ดี เมื่อได้รับการตรวจสอบคุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ผลกระทบมาจากพัฒนาของกรุงเทพมหานครในฐานะที่เป็นเมืองหลวง เกิดอุตสาหกรรมและชุมชนแออัดมากมายริมฝั่งน้ำ สิ่งปฏิกูลรวมทั้งมวลน้ำทิ้งซึ่งมีทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ถูกทิ้งลงมาในน้ำ ซึ่งจุลินทรีย์ทำหน้าที่ย่อยสลายให้เป็นสารอาหาร ได้แก่ ไนเทรต แอมโมเนียม และฟอสเฟต ซึ่งเป็นสิ่งที่พืชน้ำและสาหร่ายนำไปใช้ในการเจริญ จนสามารถสังเกตเห็นได้เป็นตะไคร่น้ำเกาะอยู่ระหว่างสองฝั่งน้ำทางเดินเรือของคลองแสนแสบ (Areerachakul, 2012; Luechai, 2010; Srisawat, 2004; Moohamud, 2013; Sookboonpan and UPla, 2014; Suktalord et al., 2016)

ตะไคร่น้ำสองฝั่งคลองแสนแสบมีรายงานว่า ประกอบด้วยกลุ่มของสาหร่ายสีเขียว ไดอะตอม และไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งจัดเป็นแพลงก์ตอนพืช สามารถเจริญเติบโตได้ในแหล่งน้ำโดยไม่ต้องใช้อาหารเลี้ยง ประเด็นสำคัญ ไซยาโนแบคทีเรียเหล่านั้น เจริญเติบโตได้เร็ว กลุ่มเด่น ๆ ที่พบในคลองแสนแสบที่เป็นเส้นสาย ได้แก่ *Anabaena* sp. *Nostoc* sp. *Spilurina* sp. *Tolypothrix* sp. และ *Oscillatoria* sp. และสามารถคัดแยกได้ในห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และได้มีการศึกษาว่า มีฤทธิ์ของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส ที่ช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ และมีความสามารถในการทนเค็มด้วยการสะสมสารออสโมโพรเทคแทนต์ (Bualuang et al., 2013; Laloknam and Boonburapong, 2011; Kachensuwan et al. 2012; Laloknam et al. 2014)

ดังนั้น การศึกษานี้จึงนำความเป็นไปได้ในการนำสิ่งมีชีวิตสีเขียวที่เรียกว่า ตระไคร่น้ำ ซึ่งประกอบด้วยสิ่งมีชีวิตที่หลากหลายมาคัดแยกไซยาโนแบคทีเรียเพื่อผลิตไฟโคไซยานิน ซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ผลที่ศึกษาใช้เป็นแนวทางในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนที่ 1 การคัดแยกไซยาโนแบคทีเรียจากคลองแสนแสบบริเวณท่าเรือประสานมิตร โดยเก็บตัวอย่างน้ำบริเวณท่าเรือประสานมิตร นำเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG_{11} แล้วพิจารณารูปร่างสัณฐานของไซยาโนแบคทีเรียสามารถแยกได้ 5 ชนิดเด่นที่มีการเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG_{11} พีเอช 7.5 ภายใต้แสงขาวตลอด เวลาเป็นเวลา 15 วัน เพื่อให้ผลิตไฟโคไซยานิน จากนั้น

ตรวจสอบเบื้องต้นด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง พบไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญและผลิตไฟโคไซยานินได้ดี ได้แก่ *Anabaena* sp. *Nostoc* sp. *Spilurina* sp. *Tolypothrix* sp. และ *Oscillatoria* sp. SWU121

ขั้นตอนที่ 2 ติดตามการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียต่อการผลิตไฟโคไซยานิน โดยนำไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG_{11} ปรับให้อาหารมีพีเอช 7.5 และนำไปเลี้ยงภายใต้ภาวะแสงขาว 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง วัดการเจริญทุก 3 วัน ด้วยการชั่งน้ำหนักแห้งและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ตามวิธีของ Kanchitanurak et al (2012)

ขั้นตอนที่ 3 วัดปริมาณไฟโคไซยานินในไซยาโนแบคทีเรีย ตรวจสอบปริมาณรงควัตถุไฟโคไซยานินตามสมการของ Bennett and Bogorad (1973) โดยนำเซลล์สด 0.1 กรัมผสมกับ phosphate buffer pH 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปแช่แข็ง 2 ชั่วโมง แช่ในน้ำอุณหภูมิ 70°C นาน 30 นาที ทำให้เซลล์แตกโดยใช้คลื่นความถี่สูง นาน 30 นาที จากนั้นนำเซลล์ไปปั่นเหวี่ยง 6,000 rpm นาน 15 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 615 และ 652 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณไฟโคไซยานิน (PC) อัลโลไซโคไซยานิน (APC) และไฟโคอีริทิน (PE) หน่วยเป็น mg/mL ตามสมการที่ (1) – (3) ตามลำดับ

$$PC = \frac{A_{515} - 0.474(A_{652})}{5.34} \quad - - - (1)$$

$$APC = \frac{A_{652} - 0.208(A_{615})}{5.09} \quad - - - (2)$$

$$PC = \frac{A_{562} - 0.4849(APC)}{9.62} \quad - - - (3)$$

ขั้นตอนที่ 4 หาภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของออสซิลลาทอเรียต่อการผลิตไฟโคไซยานิน โดยเลี้ยงออสซิลลาทอเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG_{11} ที่ปรับค่าพีเอช 5 – 9 ที่อุณหภูมิ 25 30 และ 35°C ภายใต้แสงขาวตลอดเวลา เป็นเวลา 30 วัน

ขั้นตอนที่ 5 ติดตามฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS (2,2′-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) assay (Lo and Cheung, 2005) โดยนำสารละลาย 7 mM ABTS ซึ่งมีสมบัติคงตัว มากระตุ้นด้วยสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ออกไซด์ (potassium peroxide) ABTS จะเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระ $ABTS^{+\cdot}$ มีสีฟ้าอมเขียวที่สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เมื่อใส่สารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้อนุมูลอิสระ $ABTS^{+\cdot}$ เปลี่ยนเป็น ABTS ภายในเวลา 6 นาที ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง เปรียบเทียบอนุมูลอิสระมาตรฐานโทรลอกซ์ (trolox; 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในเมทานอล) แสดงผลเป็นความสามารถต้านอนุมูลอิสระเทียบกับโทรลอกซ์ (trolox equivalent antioxidant capacity; TEAC)

ผลการวิจัย

การคัดกรองไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตไฟโคไซยานินจากคลองแสนแสบ

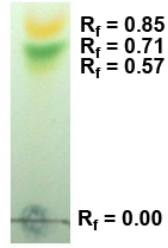
จากการเก็บตัวอย่างน้ำคลองแสนแสบบริเวณท่าเรือประสานมิตร และขูดตะไคร่น้ำบริเวณท่าเรือประสานมิตร และตรวจวัดคุณภาพน้ำบางพารามิเตอร์เพื่อเป็นแนวทางในเลี้ยงและผลิตไฟโคไซยานินของไซยาโนแบคทีเรีย (ตาราง 1) พบว่า ไซยาโนแบคทีเรียที่คัดแยกได้เจริญใน ช่วงพีเอช 5 – 9 และอุณหภูมิ 25 – 35°C เมื่อนำตัวอย่างน้ำและตะไคร่น้ำส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

พบว่า มีสิ่งมีชีวิตจำนวนมากทั้งโพรแคริโอตและยูแคริโอต โดยส่วนมากเป็นพวกแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ และตรวจพบไซยาโนแบคทีเรียที่เป็นเส้นสายเป็นจำนวนมาก

ตาราง 1 ค่าพารามิเตอร์ของคุณภาพน้ำคลองแสนแสบ

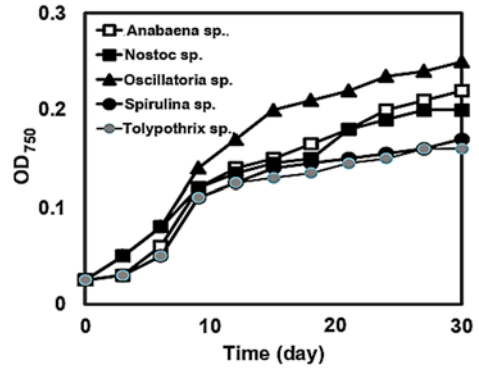
พารามิเตอร์	ปริมาณ
ค่าการนำไฟฟ้า (µs/cm)	480.0
ค่า DO (mg/L)	2.0
ค่า Chlorophyll a (mg/L)	120.0
ค่า PO_4^{3-}– P (mg/L)	8.2
ค่า NO_3^- – N (mg/L)	25.1
ค่า NH_4^+– N (mg/L)	22.3
ค่า BOD (mg/L)	30.1
พีเอช	7.0
อุณหภูมิ (°C)	28.0

นำตัวอย่างน้ำไปกระจาย (spread) บนอาหารวุ้นแข็ง BG_{11} เพื่อแยกไซยาโนแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ และตรวจสอบไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตไฟโคไซยานินเบื้องต้น โดยทำเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียให้แตกด้วยคลื่นความถี่สูง และนำสารสกัดหยาบมาทำโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (ภาพที่ 1) โดยใช้กระดาษที่เคลือบซิลิกาเป็นเฟสไม่เคลื่อนที่ และใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นตัวทำละลายผสมระหว่างปิโตรเลียมอีเทอร์ต่อแอซิโตนในอัตราส่วนโดยปริมาตร 7:3 พบว่า สารสกัดหยาบจากไซยาโนแบคทีเรียสามารถผลิตไฟโคไซยานินได้ เพราะให้แถบสีน้ำเงินที่มีค่า R_f = 0 และแถบสีอื่น ๆ ที่เป็นคลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์เอ และ แคโรทีนอยด์ ที่มีสีเหลือง สีเขียวและสีส้มค่า R_f เท่ากับ 0.57 0.71 และ 0.85 ซึ่งเป็นค่า R_f ที่ใกล้เคียงกับที่เคยมีรายงานไว้ (Jeffrey, 1972; Jeffrey and Humphrey, 1975)

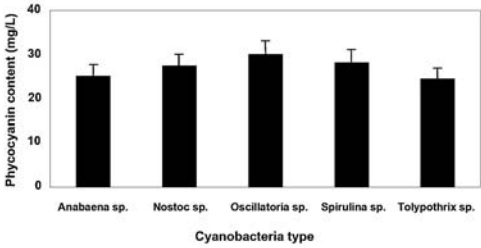


ภาพที่ 1 ลักษณะแถบสีของตัวอย่างไซยาโนแบคทีเรียที่วิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

จากการเก็บตัวอย่างตะไคร่น้ำและน้ำคลองแสนแสบสามารถแยกไซยาโนแบคทีเรียชนิดเส้นสายที่เจริญได้รวดเร็ว 5 ชนิด คือ *Anabaena* sp. *Nostoc* sp. *Spilurina* sp. *Tolypothrix* sp. และ *Oscillatoria* sp. SWU121 นำไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ไปเลี้ยงในอาหาร BG_{11} พีเอช 7.0 อุณหภูมิ ห้อง (30°C) ติดตามการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย เป็นเวลา 30 วัน และสกัดไฟโคไซยานินในวันที่ 14 (ระยะ mid-log phase) (ภาพที่ 2) พบว่า การเจริญของไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดใกล้เคียงกัน โดย *Oscillatoria* sp. SWU121 มีการเจริญดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ *Anabana* sp. *Nostoc* sp. *Spilurina* sp. และ *Tolypothrix* sp. ตามลำดับ เมื่อสกัดไฟโคไซยานินในวันที่ 30 พบว่า *Oscillatoria* sp. SWU121 ให้ปริมาณไฟโคไซยานินสูงสุด รองลงมาคือ *Spilurina* sp. *Anabaena* sp. *Nostoc* sp. และ *Tolypothrix* sp. ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือก *Oscillatoria* sp. SWU121 มาศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของ *Oscillatoria* sp. SWU121 ต่อการผลิตไฟโคไซยานินต่อไป

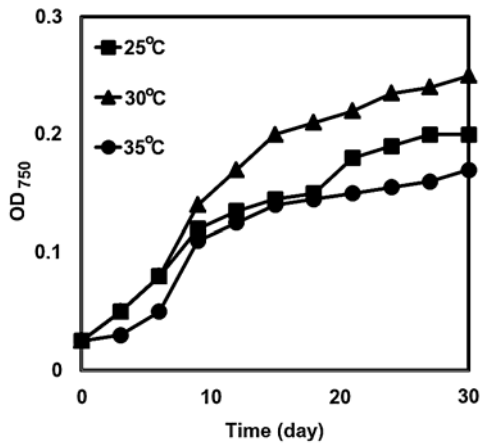


(ก)

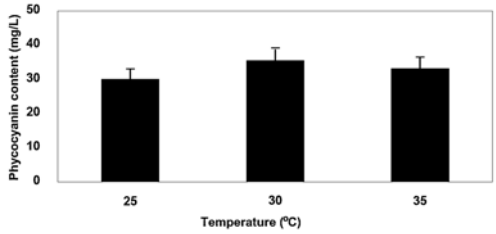


(ข)

ภาพที่ 2 การเจริญของไซยาโนแบคทีเรียที่แยกได้จากคลองแสนแสบ 5 ชนิด (ก) และปริมาณไฟโคไซยานินที่ผลิตได้ในวันที่ 14 (ข)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 3 การเจริญ (ก) และปริมาณไฟโคไซยานินของ *Oscillatoria* sp. SWU121 (ข) ภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน

ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญและการผลิตไฟโคไซยานินของ *Oscillatoria* sp. SWU 121

จากการเลี้ยง *Oscillatoria* sp. SWU121 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG_{11} ที่พีเอช 7.0 ภายใต้แสงขาวตลอดเวลา โดยปรับอุณหภูมิที่เลี้ยงเป็น 25 30 และ 35°C ติดตามการเจริญเป็นระยะเวลา 30 วัน สกัดไฟโคไซยานินในวันที่ 30 และหาปริมาณไฟโคไซยานิน (ภาพที่ 3) พบว่า ภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Oscillatoria* sp. SWU 121 คือ 30°C ซึ่งให้ปริมาณไฟโคไซยานินสูงสุด คือ 32 mg/L ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมินี้มาศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ผลของพีเอชต่อการเจริญและการผลิตไฟโคไซยานิน ของ *Oscillatoria* sp. SWU121

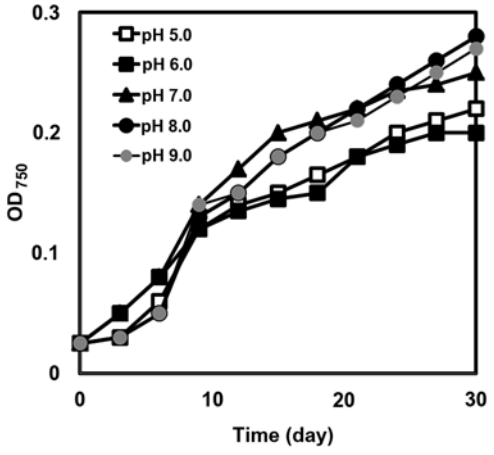
จากการเลี้ยง *Oscillatoria* sp. SWU121 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG_{11} ที่อุณหภูมิ 30°C ภายใต้แสงขาวตลอดเวลา และปรับพีเอชของ BG_{11} เป็น 5 – 9 ติดตามการเจริญและวัดปริมาณไฟโคไซยานิน (ภาพที่ 4) พบว่า *Oscillatoria* sp. SWU121 เจริญได้ดีในภาวะที่เป็นเบส คือ 8.0 และ 9.0 และให้ปริมาณไฟโคไซยานินสูงสุด 40 mg/L ที่พีเอช 8.0

เมื่อสกัดไฟโคไซยานินและตรวจสอบด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (ภาพที่ 5) พบว่าไฟโคไซยานินมีสีน้ำเงิน และมีค่า R_f = 0.00 เมื่อ

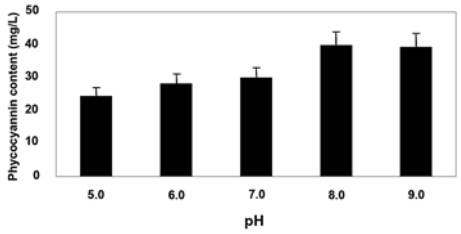
ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบสารสกัดหยาบไฟโคไซยานินจาก *Oscillatoria* sp. SWU121 ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay พบว่า มีค่า TEAC เท่ากับ 60.21 ไมโครโมลาร์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง



(ก)



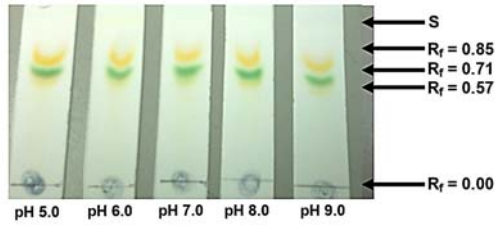
(ข)

ภาพที่ 4 การเจริญ (ก) และปริมาณไฟโคไซยานิน (ข) ของ *Oscillatoria* sp. SWU121 ภายใต้พีเอชที่แตกต่างกัน

อภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการคัดกรองไซยาโนแบคทีเรียจากคลองแสนแสบ เพื่อผลิตไฟโคไซยานิน พบว่า *Oscillatoria* sp. SWU121 เจริญดีและให้ปริมาณไฟโคไซยานินสูงสุด ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG_{11} จากนั้นหาภาวะที่เหมาะสมในการเจริญ พบว่า *Oscillatoria* sp. SWU121 เจริญได้ถึงระยะกลางแบบทวีคูณในวันที่ 14 โดยเจริญได้ดีที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอช 8.0 นอกจากนี้อาหารที่มีรายงานว่าไซยาโนแบคทีเรียเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชช่วง 6.5 – 9.0 (Ferrari et al., 2002; Laloknam et al., 2014) และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 30°C ซึ่งมีรายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ *Oscillatoria* sp. และ *Arthrospira platensis* ที่เลี้ยงอาหารในสูตรดัดแปลงจาก BG_{11} อยู่ในช่วง 28 – 30°C (Fuenmayer et al., 2009; Mohite and Wakte, 2011) เมื่อเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียในภาวะที่พีเอช แสง และอุณหภูมิที่เหมาะสม จะทำให้ได้ผลผลิตของไฟโคไซยานินในปริมาณสูงด้วย รวมถึงโปรตีนและคลอโรฟิลล์จะมีปริมาณสูงขึ้นด้วย (Alfredo et al., 2011; Duangsee, 2009; Ferrari et al., 2002; Fuenmayer et al., 2009; Mohite

(ก)



(ข)

ภาพที่ 5 สารสกัดไฟโคไซยานินที่พีเอชต่างกัน (ก) และผลการทำโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางที่พีเอชต่างกัน (ข)

and Wakte, 2011)

ไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria* sp. SWU 121 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยไฟโคไซยานินที่สร้างขึ้น และเคยรายงานพบเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสในออสซิลลาทอเรียชนิดนี้ สอดคล้องกับรายงานของ Pandeya and Pandeyb (2008) ที่พบว่า *Nostochopsis lobatus* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

นอกจากภาวะที่พีเอชและอุณหภูมิ มีผลต่อการเจริญและการผลิตไฟโคไซยานินแล้ว ยังมีรายงานว่าเมื่อเซลล์อยู่ในภาวะที่มีความเครียดจากเกลือ เซลล์จะรักษาสมดุลเพื่อให้อยู่รอด โดยมีผลต่อการเจริญของเซลล์และปริมาณรงควัตถุ มีรายงานไซยาโนแบคทีเรียเจริญได้ดีในภาวะที่ไม่มีเกลือยกเว้น *Arthrospira* sp. PCC 8005 เจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.25 โมลาร์ และมีผลต่อ *Oscillatoria subbrevis*, *Phormidium tenue*, *Phormidium* sp., *Lyngbya* sp. เลี้ยงในอาหาร ASN-III ที่มีเกลือ (Boonburapong et al., 2011; Kanchitanurak et al., 2012; Kumar et al., 2011) และเมื่อมีความเครียดจากเกลือเพิ่มขึ้น ปริมาณรงควัตถุคลอโรฟิลล์ ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอีริทรินลดลง ในทางตรงกันข้ามในอาหารที่มีความเครียดจากเกลือ 0.0 – 0.5 โมลาร์ จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นใน *Nostoc muscorum* (Kumar et al., 2011)

จากงานวิจัยสรุปได้ว่า การเจริญของ *Oscillatoria* sp. ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงและใช้สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหารนำมาสร้างส่วนประกอบของเซลล์ กระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น การสร้างพลังงาน เอนไซม์ รงควัตถุ นอกจากนี้ค่าพีเอชในอาหารมีผลต่อการเจริญของเซลล์โดยจะเจริญได้ดีในอาหารที่มีภาวะเบส เนื่องจากอาหารที่เป็นเบสมีผลต่อปริมาณการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนในอาหารที่เป็นกรดเซลล์จะพยายามขับ H^+ เพื่อรักษาสมดุลของเซลล์ ดังนั้นเซลล์จึงต้องใช้พลังงานจำนวนมากซึ่งมีผลต่อกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเจริญของเซลล์ การนำสารเข้า-ออกของเซลล์ กระบวนการต่าง ๆ ของเซลล์ รวมถึงการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์และอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมจะมีผลต่อการทำงานของเซลล์เช่นเดียวกับเซลล์เมื่ออยู่ในภาวะที่มีความเครียดจากเกลือโดยเซลล์จะพยายามรักษาดุลยภาพ ในภาวะที่แตกต่างกันของพีเอช อุณหภูมิ และความเครียดจากเกลือจะส่งผลต่อการเจริญและลดปริมาณรงควัตถุหลักที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสง นอกจากนี้เซลล์จะสร้างรงควัตถุแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเพื่อช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสงอีกด้วย โดยปกติ *Oscillatoria* sp. สามารถนำคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงได้

ข้อมูลเบื้องต้นนี้จึงเป็นแนวทางในการนำไฟโคไซยานินจาก *Oscillatoria* sp. SWU121 ไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมด้านต่าง ๆ เช่น เครื่องสำอาง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2559 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สัญญาเลขที่ 008/2559

เอกสารอ้างอิง

Areerachakul, S. (2012). **Comparison of Adaptive Neuro-fuzzy Inference System and Artificial Neural Network for Estimation of Bio-**

chemical Oxygen Demand Parameter in Surface Water: A Case Study of Saen Saep Canal. Bangkok: Suansunandha Rajabhat University. (In Thai)

Bennett, A., and Bogorad, L. (1973). Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. **Journal of Cell Biology** 58(2):419–35.

Boonburapong, B., Bualuang, A., Incharoensakdi, A., Nilapai, Y., Puangkwan, P., Boonprakobkul, A., and Laloknam, S. (2011). Effect of glycine, proline and glutamate on growth of cyanobacteria synechococcus PCC 7942, synechocystis PCC 6803 and *Aphanothece halophytica* under normal and salt stress conditions. **Journal of Research Unit on Science, Technology, and Environment for Learning** 2(1): 48–58. (in Thai)

Bualuang, A., Kongwithtaya, S., and Laloknam, S. (2013). Application of micro-alga**. Journal of Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning** 4(1): 72–79. (in Thai)

Danyuttasilp Y., and Laloknam, S. (2013). Increasing of oxygen contents in waste water from Saensab canal under laboratory room using filamentous cyanobacteria. **Advanced Sciences** 13(2): 24–34. (in Thai)

Deokboonpan P., and UPla P. (2014). **The Development of Bicycle System Alongside Urban Canal: The Case Study of Saen Saeb Canal. Practicality: The 2nd Thailand Bike and Walk Forum**. Retrieved from http://www.thaicyclingclub.org/sites/default/files/19_ephynphaa.pdf, June 27, 2014,

Donagh, M. E., Casco, M. E., and Maria, C. C. (2008). Plankton relationships under small water level fluctuations in a subtropical reservoir. **Aquatic Ecology** 43: 371–381.

Duangsee, R., Phoopat, N., and Ningsanond, S. (2009). Phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* and extract stability under various pH and temperature. **Journal of food and Agro-Industry** 2(4): 819–826.

Ferrari, S. G., Italiano, M. C., Silva. H. J. (2002). Effect of a cyanobacterial community on calcium carbonate precipitation in Puente del Inca (Mendoza, Argentina). **Acta Botanica Croatica** 61(1): 1–9.

Jeffrey, S. A. (1972). Preparation and some properties of crystalline chlorophyll c1 and c2 from marine algae. **Biochemica et Biophysica Acta** 279: 15–33.

Jeffrey, S. W., and Humphrey, G. F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants algae and natural phytoplankton. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen** 167: 191–194.

Johnson, E. M., Kumar, K., Das, D. (2014). Physicochemical parameters optimization, and purification of phycobiliproteins from the isolated *Nostoc* sp. **Bioresource Technology** 166: 541–547.

Kachensuwan, C., Kongwithtaya, S., Phornphisutthimas, S., and Laloknam, S. (2012). A Screening of cyanobacteria producing the peroxidase. **Journal of Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning** 3(1): 1–7. (in Thai)

Kanchitanurak P., Naktong K., Kachensuwan C., and Laloknam, S. (2012). Effect of salinity on growth and betaine content of filamentous cyanobacteria *Anabaena* sp., *Nostoc* sp. and *Spirulina* sp. **Journal of Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning** 3(2): 110–115. (in Thai)

Kovacs M. (1992). Biological indicators of environmental pollution. In M Kovacs (Ed.), **Biological Indicators in Environmental Protection**. New York: Ellis Horwood.

Kumar, M., Kulshreshtha, J., and Singh, G. P. (2011). Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensity and temperature. **Brazilian Journal of Microbiology** 42(3): 1128–1135.

Laloknam S., and Boonburapong B. (2011). Potential of cyanobacteria in Thailand**. Journal of Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning** 2(2): 149–154. (in Thai)

Laloknam, S., Bualuang, A., Boonburapong, B., Rai, V., Takabe, T. and Incharoensakdi, A. (2010). Salt stress induced glycine-betaine accumulation with amino and fatty acid changes in cyanobacterium *Aphanothece halophytica***. Asian Journal of Food and Agro-Industry** 3(1): 25–34.

Laloknam, S., Kanchitanurak, P., Boonburapong, B., Rai, V., Kongwitthaya, S. (2014). Inorganic and organic compounds of freshwater filamentous cyanobacteria under normal and salt stress conditions. **Journal of Chemistry and Chemical Engineering** 8: 1059–1067.

Lo, K. M., and Cheung, P. C, K. (2005). Anti-oxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. alba. **Food Chemistry** 89(4): 533–539.

Luechai, K. (2010). **Legal Measures for the Prevention and Control of Water Pollution in San Saeb Canal in Bangkok.** Master's Thesis in Natural Resource and Environmental Law. Bangkok: Faculty of Law, Thammasart University. (In Thai)

Mohite, Y. S., and Wakte, P. S. (2011). Assessment of Factors Influencing growth and c-phycocyanin production of *Arthrospira platensis* from meteoritic crater lake. **Jour-**

nal of Algal Biomass Utilization 2(2): 53–68.

Moohamud, R. (2013). **Islam and Sustainable Development: A Case Study of Masjid Kamalulislam Community, Khlong Saen Saep, Bangkok**. Master of Science Thesis in Environment Management Bangkok: School of Social and Environmental, National Institute of Development Administration. (in Thai)

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

Peerapornpisal Y. (2006). **Phycology**. 2nd ed. Chiang Mai: Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mal University. (in Thai)

Peerapornpisal, Y. (2005). **Freshwater Algae in Northern Thailand. The Biodiversity Research and Training Program (BRT)**. Chiang Mai: Chotana Print. (In Thai)

Peerapornpisal, Y., Chaiubol, C., Pekkoh, J., Kraibut, H., Chorum, M., Wannathong, P., Ngearnpat, N., Jusakul, K., Thammathiwat, A., Chuanunta, J., and Inthasotti, T. (2004). Monitoring of Water Quality in Ang Kaew Reservoir of Chiang Mai University Using Phytoplankton as Bioindicator from 1995–2002. **Chiang Mai Journal of Science** 31(1): 85–94.

Pollution control department. (2012). **Surface water standards**. Retrieved from http://www.pcd.go.th/info_serv/en_reg_std_water05.html, June 27, 2014.

Romay, C. H., González, R., Ledón, N., Remirez, D., and Rimbau, V. (2003). C-phycocyanin: A biliprotien with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. **Journal of Current Protein and Peptide Science** 4: 207–216.

Srisawat, N. (2004). **Expectation and Perception towards Service of Quality Passenger Boat on Khlong Saenseap**. Master's Project of Marketing. Srinakharinwirot University, Bangkok. (In Thai)

Suktalord, P., Pratsaphan, R., Rakchad, S., Petchpool, T., Kerdsombat, P., Laloknam, L. (2016). The use of alga as water quality indicator in Sansab canal. **Journal of Research Unit on Science Technology and Environment for Learning** 7(1): 15–27. (in Thai)

Vermaas, F. J. W., Timlin, J. A., Jones, H. D. T., Sinclair, M. B., Nieman, L. T., Hamad, S. W. , Melgaard, D. K., and Haaland, D. H. (2007). In *vivo* hyperspectral confocal fluorescence imaging to determine pigment localization and distribution in cyanobacterial cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 105(10): 4050–

4055.

Walter, A., Carvalho, J. C., Soccol, V. T, Faria, A. B. B., Ghiggi, V., and Soccol, C. R. (2011). Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 54(4): 675–682.