บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่ายสไปรูลิน่า

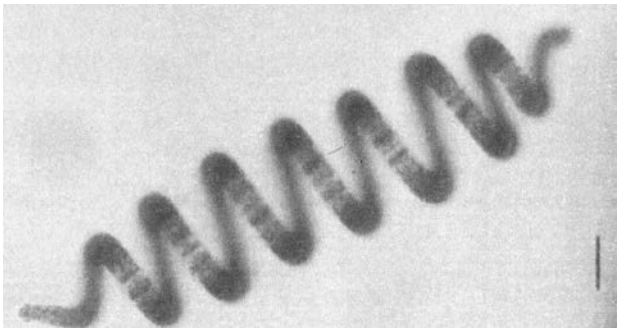
2.1.1 ลักษณะทางชีววิทยาของสไปรูลิน่า

สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina* sp.) หรือ อาร์โธรสไปร่า (*Arthrospira* sp.) เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินแบบเส้นสาย (Filamentous cyanobacteria) จัดเป็นสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) ที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ถูกค้นพบโดยนักวิทยาศาสตร์ชื่อ Turpin ในปี ค.ศ . 1827 โดยแยกได้จากตัวอย่างน้ำจืด (Ciferri, 1983) ปัจจุบันเปลี่ยนชื่อเป็น *Arthrospira* สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นสาหร่ายที่มีประวิติการบริโภคเป็นอาหารมาหลายศตวรรษ ซึ่งในสารบบการจำแนกสายพันธุ์นั้นถูกจัดไว้ดังนี้

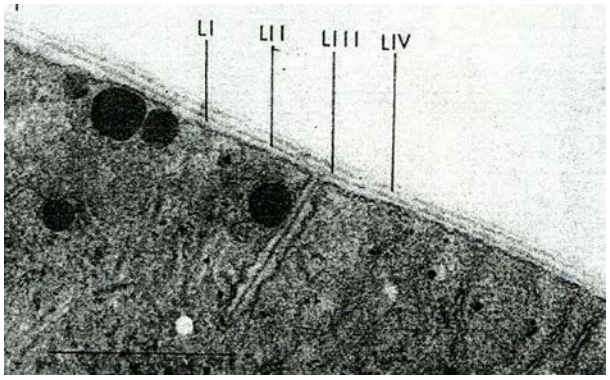
Division: *Cyanophyta*
Class: *Cyanophyceae*
Order: *Oscillatoriale*
Family: *Oscillatoriaceae*
Genus: *Spirulina*

สาหร่ายสไปรูลิน่าเซลล์มีลักษณะเป็นเส้นสายขดวนไปมาเหมือนสปริง (Trichome) ประกอบด้วยเซลล์ที่เป็นทรงกระบอกต่อกันไม่มีกิ่งก้าน และบิดตัวเป็นเกลียว และเคลื่อนที่ไปตามแนวแกน (ภาพที่ 2.1) แต่ละชนิดมีรูปร่างแตกต่างกันหรือแม้แต่ชนิดเดียวกันก็พบรูปร่างที่แตกต่างกัน (สมบูรณ์, 2538) เส้นใยที่มีลักษณะบิดตัวเป็นเกลียวของสไปรูลิน่า ประกอบด้วยเซลล์หนึ่งเซลล์หรือหลายเซลล์มาเรียงต่อกันเป็นเส้นตรงและหรือขดเป็นเกลียว โดยจะมีความยาวของเส้นใยแตกต่างกันไป (ปกติ 100-200 ไมโครเมตร) และมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6-12 ไมโครเมตร โดยสายพันธุ์ที่มีความสำคัญมากที่สุดคือ *S. platensis* และ *S. maxima*

สาหร่ายสไปรูลิน่ามีคลอโรฟิลล์ ไม่มีนิวเคลียส ไม่มีราก ไม่มีลำต้นและไม่มีใบที่แท้จริง โดยชนิดที่มีขนาดใหญ่ไซโตพลาสซึมจะมีแกรนูลที่มี gas vacuole สะสมอยู่จึงทำให้เซลล์ลอยตัวได้และเห็นผนังเซลล์อย่างชัดเจน โดยผนังเซลล์ของสไปรูลิน่าจะเป็นแบบเดียวกับแบคทีเรียแกรมลบซึ่งแบ่งออกเป็น 4 ชั้น ประกอบไปด้วย Layers I, II, III และ IV (ภาพที่ 2.2) โดยชั้นนอกสุด (layer IV) ประกอบด้วยลิโพพอลิแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharides: LPS) ซึ่งแต่ละโมเลกุลของ LPS จะเชื่อมต่อกันด้วยแคลเซียมและแมกนีเซียม ชั้น Layer III มีเส้นใยโปรตีน (Protein fibril) เป็นองค์ประกอบหลัก ชั้น Layer II เป็นชั้นที่แข็งแรงที่สุดประกอบไปด้วยโมเลกุลของเพพทิโดไกลแคน (Peptidoglycan) ส่วนชั้นในสุด Layer I จะมี β-1,2-glucan เป็นองค์ประกอบ (Van Eykelenburg, 1978)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะของ *Arthrospira maxima (*เส้นตรงมีขนาดเท่ากับ 20 ไมโครเมตร)
ที่มา: Vonshak (2002)



ภาพที่ 2.2 ผนังเซลล์ของ *S. platensis*
ที่มา: Van Eykelenburg (1977)

สาหร่ายสไปรูลิน่าต้องการแสงในการเจริญเติบโตส่วนใหญ่เป็นพวกโฟโตออโททรอฟ ที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลจากแหล่งภายนอกได้ เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในบริเวณน้ำตื้นโดยเฉพาะน้ำกร่อย หรือน้ำที่มีความเป็นเบส พบในธรรมชาติทั่วไปทั้งในดิน หนองน้ำ น้ำพุร้อน ทะเล และน้ำจืด โดยเฉพาะทะเลสาบที่น้ำมีความเป็นเบสของทวีปแอฟริกาและประเทศเม็กซิโก สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ *S. platensis* และ *S. maxima* (สินีนาฏ, 2550) มีรายงานว่า ทะเลสาบที่มีความเข้มข้นของเกลือมากกว่า 30 กรัมต่อลิตร จะพบสไปรูลิน่าเพียงชนิดเดียวเท่านั้น (Cifferi, 1983)

ปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่า เพื่อผลิตเป็นอาหารเสริมสำหรับมนุษย์และอาหารสัตว์ในระดับอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลาย นอกจากนี้มีการสกัดสารสีไฟโคไซยานิน ซึ่งเป็นรงควัตถุที่พบมากในสไปรูลิน่ามาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร การเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าทางการค้าจะเพาะเลี้ยงในบ่อเปิดรางคู่ที่ไม่มีการควบคุมสภาวะแวดล้อมใด ๆ และอาศัยแสงแดดเป็นแหล่งให้พลังงานโดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง มีการเติมแร่ธาตุอาหาร และมีการให้คาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิต ผลผลิตของสไปรูลิน่าทั่วโลกมีประมาณ 3,000 ตันต่อปี ปัจจุบัน อย./สหรัฐอเมริกาจัดให้สไปรูไรน่าเป็นอาหารที่ปลอดภัยต่อการบริโภค

ผลิตภัณฑ์สไปรูลิน่าตามท้องตลาดจำแนกตามการใช้ประโยชน์ ได้แก่ อาหารเสริมมนุษย์ แหล่งโปรตีนอาหารสัตว์ ผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพแมวและสุนัข ผลิตภัณฑ์เสริมสีนกสวยงาม ผลิตภัณฑ์บำรุงร่างกายม้าและวัว สีธรรมชาติของอาหารและเครื่องสำอาง เครื่องหมายเรืองแสงสำหรับการทดสอบทางการแพทย์ และเอนไซม์งานวิจัยทางพันธุศาสตร์ บริษัทที่ผลิตผลิตภัณฑ์ สไปรูลิน่าจำหน่าย อาทิ Spirulina-Mexicana/แม็กซิโก Nippon-Spirulina/ญี่ปุ่น Koor-Foods/อิสราเอล Cyanotech-Corporation/สหรัฐอเมริกา Far-East-Microalgae/ไต้หวัน Parry-Agro-Industries/อินเดีย Yunnan-Spirin/จีน เป็นต้น

2.1.2 คุณค่าทางโภชนาการและสารชีวโมเลกุลที่สำคัญจากสไปรูลิน่า

ความสนใจในการนำสาหร่ายสไปรูลิน่ามาใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพนั้น เริ่มจากการที่มนุษย์ทราบว่าสาหร่ายสไปรูลิน่ามีปริมาณโปรตีนในเซลล์สูง (50-70 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง) อีกทั้งยังประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด รวมถึงวิตามิน (โดยเฉพาะวิตามินบี12) แร่ธาตุ กรดไขมันจำเป็น (*y*-linolenic acid) และรงควัตถุต่างๆ อาทิไฟโคบิลิโปรตีน (Phycobiliproteins) และแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (Richmond, 1987) สำหรับองค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ ของสไปรูลิน่านั้นพบว่าจะขึ้นอยู่กับสปีชีส์และสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

2.1.2.1 โปรตีน

จากกการวิเคราะห์ปริมาณพบว่าสไปรูลิน่า เป็นแหล่งของอาหารจากธรรมชาติที่มีโปรตีนมากที่สุดประมาณ 50-70 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณมากกว่าเนื้อสัตว์และปลา (15-25 เปอร์เซ็นต์), นมผง (35 เปอร์เซ็นต์), ไข่ (12 เปอร์เซ็นต์), ถั่วเหลือง (35 เปอร์เซ็นต์) และธัญพืช (8-14 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนเช่นกัน พบว่าผนังเซลล์ของสไปรูลิน่า จะไม่มีเซลลูโลสจึงทำให้ย่อยได้ง่ายกว่ายีสต์ โดยโปรตีนที่ส่งผลต่อสุขภาพมากที่สุดคือ ไฟโคบิลิโปรตีน ได้แก่ ซี-ไฟโคไซยานิน (C-phycocyanin: C-PC) และอัลโลไฟโคไซยานิน (Allophycocyanin: APC) (สัดส่วนประมาณ 10:1) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างเป็นแบบเตตระไพร์รอล (Tetrapyrrole) โดยที่บิลิโปรตีน (Biliproteins) ทั้งสองชนิดประกอบไปด้วยหน่วยย่อยสองหน่วยคือ α และ β (21.5 และ 19 กิโลดาลตัน สำหรับซี-ไฟโคไซยานินและ 19.6 และ 17.7 กิโลดาลตัน สำหรับอัลโลไฟโคไซยานิน)

2.1.2.2 วิตามิน

สาหร่ายสไปรูลิน่ามีเบต้าแคโรทีนมากกว่าแครอทถึง 10 เท่า นอกจากนี้สไปรูลิน่า ยังอุดมด้วยวิตามินบี 12 มากกว่าตับดิบถึง 4 เท่า จึงถือว่าสไปรูลิน่า เป็นแหล่งของวิตามินบี 12 ที่ดี นอกจากนี้สไปรูลิน่า ยังประกอบด้วยวิตามินอีกหลายชนิด เช่น ไนอาซีน ไบโอติน กรดโฟลิก อินซิทอล และวิตามินอี ในปริมาณน้อย

2.1.2.3 ไขมันและกรดไขมัน

สาหร่ายสไปรูลิน่ามีไขมันประมาณ 4-7 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่าสไปรูลิน่า มีกรดไขมันจำเป็นซึ่งส่วนมากเป็น โอเมก้า-6 มีรายงานว่า *S. maxima* มีกรดแกมมาลิโนลีนิก (γ-linolenic acid: GLA) ประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ *S. platensis* มีมากกว่าถึง 49 เปอร์เซ็นต์ สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบ

ได้แก่ กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิก นอกจากนี้ยังมีกรดไขมันอิ่มตัวกรดปาลมิติกซึ่งพบว่ามีมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันที่มีอยู่ใน *S. maxima*

2.1.2.4 คาร์โบไฮเดรต

สไปรูลิน่ามีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบประมาณ 15-25 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งประกอบไปด้วยกลูโคส แรมโนส แมนโนส ไซโลส และกาแล็กโทส นอกจากนี้ สามารถแยกซัลเฟตพอลิแซ็กคาไรด์ (Sulfated polysaccharide) 0.5-2.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์น้ำหนักโมเลกุลสูงมีชื่อเรียกว่าสไปรูแลน (Spirulan) พอลิแซ็กคาไรด์ดังกล่าวประกอบด้วยน้ำตาลแรมโนส แมนโนส ฟรักโทส กาแลกโทส ไซโลส กลูโคส กรดกลูคูโรนิก และกรดกาแลกทูโรนิก ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านไวรัส

2.1.2.5 แร่ธาตุ

สไปรูลิน่าสามารถดูดซับแร่ธาตุต่าง ๆ ไว้ภายในเซลล์ขณะที่มีการเจริญเติบโต ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้สามารถดูดซึมได้ในร่างกายมนุษย์สไปรูลิน่า จะมีแร่ธาตุแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับการเจริญเติบโตและชนิดของแร่ธาตุที่มีอยู่ในน้ำ แร่ธาตุที่สำคัญที่พบในสไปรูลิน่า คือธาตุเหล็ก (0.58-1.8 กรัมต่อกิโลกรัม), แคลเซียม (1.3-14 กรัมต่อกิโลกรัม), ฟอสฟอรัส (6.7-9.0 กรัมต่อกิโลกรัม) และโพแทสเซียม (6.4-15.4 กรัมต่อกิโลกรัม) โดยเป็นที่ยอมรับกันว่าสไปรูลิน่า เป็นแหล่งของอาหารที่มีธาตุเหล็กในปริมาณสูงซึ่งมีปริมาณมากกว่าอาหารทั่ว ๆ ไปถึง 10 เท่า

2.1.2.6 รงควัตถุ

สีเข้มของสไปรูลิน่า เกิดจากรงควัตถุซึ่งสามารถดูดซับแสงแดดที่ช่วงความยาวคลื่นแตกต่างกัน รงควัตถุเหล่านี้ ได้แก่ แคโรทีนอยด์ที่ให้สีเหลืองส้มซึ่งมีประมาณ 0.37 เปอร์เซ็นต์ แบ่งเป็น แคโรทีนและแซนโทฟิล ส่วนคลอโรฟิลล์พบประมาณประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยรงควัตถุที่พบมากที่สุดคือ ไฟโคบิลิโปรตีน ได้แก่ ซี-ไฟโคไซยานิน และอัลโลไฟโคไซยานิน ซึ่งมีประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเซลล์ สำหรับกรดนิวคลีอิกพบว่ามี RNA ประมาณ 2.2-3.5 เปอร์เซ็นต์ และมี DNA ประมาณ 0.6-1 เปอร์เซ็นต์

จากความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าสไปรูลิน่ามีศักยภาพเป็นสารโภชนเภสัช (Nutraceuticals) เพราะประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุ ที่เป็นประโยชน์หลายชนิด ทำให้มีการศึกษาและพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าเพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยมีรายงานว่าสไปรูลิน่าและสารสกัดสไปรูลิน่า แสดงคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ส่งผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกัน การต้านทานไวรัส และการต้านมะเร็ง จากผลของสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่สำคัญ 3 ชนิด คือ ซี-ไฟโคไซยานิน ซัลเฟตพอลิแซ็กคาไรด์ และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (กรดแกมมาลิโนลีนิก: GLA) (Belay, 2002)

2.1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสไปรูลิน่า

2.1.3.1 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของสไปรูลิน่า อยู่ในช่วง 8.3-11.0 และพบว่าสาหร่ายจะอ่อนแอลงอย่างรวดเร็วเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างมีการเปลี่ยนแปลงอย่างกระทันหัน การเพาะเลี้ยงที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ ๆ จะเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจากสาหร่ายชนิดอื่น การรักษาค่าความเป็นกรด-ด่างให้เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่ามีความสำคัญ

ต่อการผลิตเชิงการค้ามาก ดังนั้นจึงต้องคำนึงปัจจัยที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง เช่น การแลกเปลี่ยนก๊าซระหว่างบรรยากาศภายนอกและในสารละลายที่ใช้เพาะเลี้ยงซึ่งจะขึ้นอยู่กับการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความดันของก๊าซที่แพร่ผ่านชั้น Richmond and Grobbelaar (1986) ศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง ที่มีต่อผลผลิตของสไปรูลิน่า ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 9-11 พบว่าอัตราการผลิตเซลล์จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อความเป็นกรด-ด่าง เพิ่มขึ้นจาก 9.0 ถึง 10.5 แต่เมื่อความเป็นกรด-ด่าง มากกว่า 10.5 ผลผลิตเซลล์จะลดลง Ogbonda *et al*., (2007) รายงานว่าค่าความเป็นกรด-ด่างมีผลต่อการสร้างมวลเซลล์ องค์ประกอบของกรดอะมิโน และปริมาณโปรตีนรวมของสไปรูลิน่าที่แยกจาก Oil-polluted flame pit โดยค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงคือ 9.0

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของสไปรูลิน่าอบแห้งของบริษัท Siam Algae Company (SAC)

องค์ประกอบ	ปริมาณต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม
องค์ประกอบทั่วไป	
ความชื้น	61.40 กรัม
โปรตีน	3.00 กรัม
ไขมัน	8.50 กรัม
เส้นใย	3 .00 กรัม
เถ้า	7.70 กรัม
ไนโตรเจนอิสระ	6.40 กรัม
Colorants	
ไฟโคไซยานิน	16.20 กรัม
แคโรทีนอยด์	477.00 มิลลิกรัม
คลอโรฟิลล์-*เอ*	1.20 กรัม
Vitamins	
โปรวิตามิน เอ	214.00 มิลลิกรัม
ไธอะมิน (V.B1)	1.98 มิลลิกรัม
ไรโบฟลาวิน (V.B2)	3.63 มิลลิกรัม
วิตามิน B6	0.59 มิลลิกรัม
วิตามิน B12	0.11 มิลลิกรัม
วิตามิน E	11.80 มิลลิกรัม
ไนอะซิน	13.20 มิลลิกรัม
กรดโฟลิก	42.00 ไมโครกรัม
กรดแพนโทธินิก	0.88 มิลลิกรัม
อินโนซิทอล	74.00 มิลลิกรัม
แร่ธาตุ	

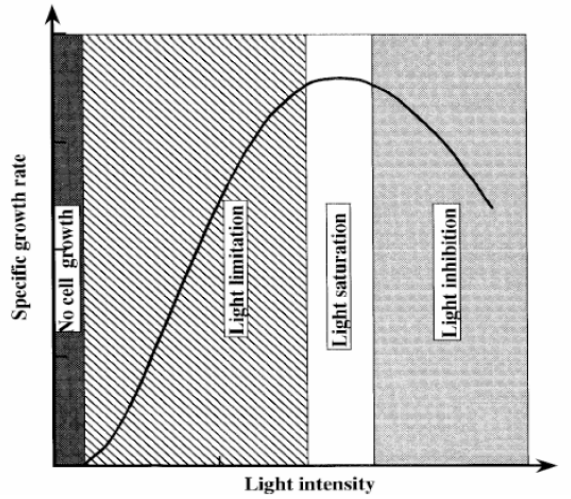
ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ฟอสฟอรัส	914.00 มิลลิกรัม
เหล็ก	57.40 มิลลิกรัม
แคลเซียม	171.00 มิลลิกรัม
โพแทสเซียม	1.77 กรัม
โซเดียม	1.05 กรัม
แมกนีเซียม	257.00 มิลลิกรัม

หมายเหตุ วิเคราะห์คุณภาพโดย Japan Food Research Laboratories
ที่มา: Shimamatsu (2004)

2.1.3.2 ความเข้มแสง (Light intensity)

ผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตจำพวกโฟโตออโททรอฟ สามารถอธิบายได้ดังภาพที่ 2.3 ในสภาวะที่มีความเข้มแสงน้อยมาก ๆ เซลล์จะไม่มีการเจริญเติบโต แต่เซลล์จะมีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้น และจะหยุดการเจริญเติบโตเมื่อความเข้มแสงมากถึงในระดับหนึ่ง (Ligh saturation) ณ สภาวะที่ความเข้มแสงเพิ่มขึ้นแล้วอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ลดลงคือจุดที่เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (Ligh inhibition) (Ogbanna and Tanaka, 2000) ในสภาวะที่มีการเจริญเติบโตของเซลล์อย่างหนาแน่นจะเกิดปัญหาเซลล์บดบังแสงกันเอง ทำให้เซลล์บางเซลล์ไม่ได้รับแสง การสังเคราะห์แสงจึงลดน้อยลงและอาจทำให้ตายในที่สุด อย่างไรก็ตามสามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้โดยใช้ระบบกวนผสมหรือหมุนวนเซลล์เพื่อให้ทุก ๆ เซลล์ได้รับแสงเท่า ๆ กัน



ภาพที่ 2.3 ผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตพวกโฟโตออโททรอฟ
ที่มา: Ogbanna and Tanaka (2000)

Richmond and Globbelaar (1986) ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อผลผลิตเซลล์ของสไปรูลิน่า ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบกลางแจ้ง พบว่าการเพาะเลี้ยงในบ่อที่มีความลึกน้อยจะช่วยเพิ่มความเข้มข้นและลดปริมาตรในการเพาะเลี้ยง จึงทำให้ใช้พลังงานในการปั๊มเพื่อกวนเซลล์สาหร่ายภายในบ่อลดลงและง่ายต่อการเก็บเกี่ยวเซลล์

Richmond (1987) ศึกษาผลของการส่องสว่างของแสงต่อการเจริญเติบโตของ สไปรูลิน่าที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส พบว่าในฤดูหนาวและต้นฤดูใบไม้ผลิอัตราการเจริญเติบโตจะช้าตั้งแต่ช่วงเช้าและจะคงที่จนกระทั่งใกล้ค่ำซึ่งเป็นช่วงที่ความเข้มแสงต่ำ ส่วนในฤดูร้อนพบว่าการเจริญเติบโตของสไปรูลิน่าจะดีกว่าและมีการเพิ่มผลผลิตอย่างรวดเร็วซึ่งจะเห็นได้ชัดในตอนเที่ยงและจะลดลงในตอนบ่าย

Feng *et al*., (1996) ศึกษาความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไฟโคไซยานิน ของ *S. platensis* โดยเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคส 2.5 กรัมต่อลิตร และควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส พบว่าการเพาะเลี้ยงในช่วงความเข้มแสง 2000 - 4000 ลักซ์ สาหร่ายจะมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.62 ต่อวัน เมื่อความเข้มแสงมากกว่า 4000 ลักซ์ เซลล์จะหยุดการเจริญเติบโต เมื่อพิจารณาปริมาณไฟโคไซยานินพบว่าไฟโคไซยานินจะลดลงเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีความเข้มแสงน้อย ๆ และพบว่าที่ความเข้มแสงเท่ากับ 4000 ลักซ์ สาหร่ายจะผลิตไฟโคไซยานินได้สูงสุด แสดงให้เห็นว่าความเข้มแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมของไฟโคไซยานิน

Madhyastha and Vatsala (2007) รายงานว่าคุณภาพแสงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ *S. fussiformis* เมื่อเพาะเลี้ยงในถังหมักแบบใช้แสงแบบต่อเนื่อง โดยใช้อาหาร Zarrouk's medium ในการเพาะเลี้ยง โดยที่การใช้แสงสีขาว สีฟ้า และสีเขียวจะมีอัตราการผลิตเซลล์สูงสุด (Maximum daily biomass productivity) เท่ากับ 0.8 0.75 และ 0.69 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Wang *et al*., (2007) ศึกษาคุณภาพแสงและความเข้มแสงในการเพาะเลี้ยง *S. platensis* แบบโฟโตออโททรอฟ พบว่าแสงสีแดงในปริมาณ 3000 ไมโครโมล โฟตอนต่อตารางเมตร วินาที (μmol photons/ m^2/s) จะให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.40 ต่อวัน แสงสีฟ้าจะมีประสิทธิภาพต่อการผลิตเซลล์น้อยที่สุด

2.1.3.3 ผลของอุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยหลักที่ควบคุมอัตราการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยจะส่งผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ ของเซลล์ องค์ประกอบของผนังเซลล์ และกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ โดยเฉพาะเอนไซม์ที่ควบคุมการผ่านสารเข้าออกของเซลล์ รวมถึงความต้องการสารอาหารและส่วนประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของสไปรูลิน่าจะอยู่ในช่วง 32-40 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นผลผลิตของเซลล์จะเพิ่มขึ้นในลักษณะเอ็กซ์โพเนนเชียลจนถึงจุดที่เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับใหญ่เมื่อความหนาแน่นของสาหร่ายเพิ่มขึ้น ผลของอุณหภูมิที่มีต่อสาหร่ายจะลดลง ทั้งนี้ในสภาวะที่ความหนาแน่นของสาหร่ายสูงปริมาณแสงจะจำกัด

Torzilla *et al*., (1991) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อเซลล์ของสไปรูลิน่า โดยเพาะเลี้ยงในถังหมักแบบใช้แสงระหว่างเดือนเมษายนถึงกันยายนของประเทศอิตาลี พบว่า อุณหภูมิมีผลต่อผลผลิตเซลล์และองค์ประกอบทางเคมีของสไปรูลิน่า การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณโปรตีนสูงแต่องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

Ogbonda *et al*., (2007) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเซลล์ของสไปรูลิน่าที่แยกได้จาก Oil-polluted flame pit พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงคือ 30 องศาเซลเซียส โดยจะให้เซลล์สูงสุดท่ากับ 4.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงนาน 35 วัน และพบว่าที่อุณหภูมิดังกล่าวจะให้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุดด้วย

Colla *et al*., (2007) ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการผลิตเซลล์และองค์ประกอบของเซลล์ (โปรตีน ไขมัน และสารประกอบฟีนอลิก) ของ *S. platensis* โดยใช้อาหาร Zarrouk's medium ในการเพาะเลี้ยง ผลการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จะไม่เป็นผลดีต่อการผลเซลล์ของสาหร่ายแต่จะส่งผลดีต่อปริมาณโปรตีน ไขมัน และสารประกอบฟีนอลิกของเซลล์ การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะได้เซลล์ของสาหร่ายสูงกว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แต่จะไม่ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณของโปรตีน ไขมัน และสารประกอบฟีนอลิก

2.1.3.4 ผลของการกวน

การกวนผสมด้วยความเร็วที่เหมาะสมจะช่วยป้องกันสาหร่ายนอนก้นทำให้ไม่เกิดการสะสมของสารอินทรีย์และการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งอาจปลดปล่อยสารเมแทบอไลท์ที่ไม่ต้องการสู่อาหารเพาะเลี้ยง การกวนผสมจะช่วยเพิ่มอัตราการถ่ายเทมวล (Mass transfer rates) ระหว่างเซลล์กับอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง รวมทั้งการใช้สารอาหารและการปลดปล่อยสารเมแทบอไลท์ต่าง ๆ สู่นอกเซลล์ นอกจากนี้ยังช่วยกระจายเซลล์และส่งผลให้เซลล์ได้รับพลังงานจากแสงอย่างทั่วถึง ดังนั้นการออกแบบการกวนให้มีประสิทธิภาพจึงมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตจากสาหร่าย การกวนในอัตราที่เร็วเกินไปจะทำให้เกิดฟองก๊าซทำให้การเผาผลาญอาหารมีประสิทธิภาพน้อยลง ในสภาวะที่ความหนาแน่นของเซลล์สูงหรือการเพาะเลี้ยงในบ่อขนาดใหญ่ช่วงกลางวัน ซึ่งเป็นสภาวะที่มีการสังเคราะห์แสงค่อนข้างมากจึงส่งผลให้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำสูงขึ้น ดังนั้นการกวนในอัตราเร็วที่สูงมากสามารถลดปริมาณออกซิเจนละลายน้ำลงได้ นอกจากนี้มีรายงานว่าการออกแบบการกวนแบบปั่นป่วนจะช่วยลดปัญหาเซลล์บดบังกันเองภายในบ่อเป็นผลให้แต่ละเซลล์ได้รับแสงอย่างเพียงพอและเกิดการสังเคราะห์แสงได้อย่างทั่วถึง (Tamiya, 1957)

Pierre *et al*., (2010) ศึกษาวิธีการกวนผสมที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ การกวนโดยใช้ระบบกวนแม่เหล็ก (Magnetic agitator) การหมุนวนโดยระบบปั๊ม (Recirculation) และการพ่นฟองอากาศ (Bubbling) ต่อการเจริญเติบโตของ *Arthrospira* โดยให้ความเข้มแสงเท่ากับ 600 ลักซ์ ผลการทดองพบว่าการกวนผสมโดยวิธีการพ่นฟองอากาศเข้าสู่ถังเพาะเลี้ยงสาหร่ายจะมีการเจริญเติบโตสูงที่สุดโดยมีผลผลิตเซลล์เท่ากับ 1.8 กรัมต่อลิตร

Ravelonandro *et al*., (2010) รายงานว่าเมื่อเพาะเลี้ยง *A. platensis* Toliara ที่แยกได้จากทะเลสาบทางตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศมาดากัสการ์ในถังหมักแบบ bubble columns ในระดับห้องปฏิบัติการ และมีการกวนจะทำให้ผลผลิตของเซลล์น้อยลงเนื่องจาสาหร่ายมีความอ่อนแอมาก และพบว่าในสภาวะที่ไม่มีการกวนเซลล์จะมีอัตราการเจริญเติบโตและมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าสภาวะที่มีการกวน

2.1.3.5 ผลของคาร์บอนไดออกไซด์

Ravelonandro *et al*., (2010) รายงานว่าเมื่อเพาะเลี้ยง *A. platensis* Toliara ที่แยกได้จากทะเลสาบทางตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศมาดากัสการ์ในถังหมักแบบ Bubble columns ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าคาร์บอนไดออกไซด์ที่เติมลงไป (0-2 เปอร์เซ็นต์, ปริมาตรต่อปริมาตร) มีผลต่อการเจริญเติบโตและปริมาณโปรตีนของสาหร่าย โดยที่การเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ จะช่วยปรับปรุงอัตราการผลิตประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ และพบว่ามีความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจะให้อัตราการผลิตเฉลี่ย 0.22±0.03 กรัมต่อลิตรต่อวัน โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยเท่ากับ 0.015±0.002 ต่อชั่วโมง และมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 53±2 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง

2.1.3.6 ผลของเกลือ

Ravelonandro *et al*., (2010) ศึกษาความเข้มข้นของเกลือ (13 - 35 กรัมต่อลิตร) ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณโปรตีนของ *A. platensis* Toliara ที่แยกได้จากทะเลสาบทางตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศมาดากัสการ์ในถังหมักแบบ Bubble columns ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าสาหร่ายจะมีอัตราการเจริญเติบโตและปริมาณโปรตีนสูงสุดในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำ ๆ

2.1.3.7 อายุของกล้าเชื้อและความเข้มข้นของกล้าเชื้อ

PelizerIn *et al*., (2003) รายงานว่าอายุของกล้าเชื้อสาหร่าย *S. platensis* และความเข้มข้นของกล้าเชื้อมีผลต่อผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย จากการทดลองเปรียบเทียบอายุของกล้าเชื้อแตกต่างกัน 4 ระดับคือ 3 6 10 และ 14 วัน และความเข้มข้นของกล้าเชื้อแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการเพาะเลี้ยง สไปรูลิน่าที่เพาะเลี้ยงในแทงค์ขนาดเล็ก พบว่า การใช้กล้าเชื้อที่มีอายุ 6 วัน ในปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมมากที่สุด

2.1.3.8 ผลของแหล่งไนโตรเจน

Colla *et al*., (2007) ศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมไนเทรต (0.625 1.25 1.875 และ 2.50 กรัมต่อลิตร) ต่อการผลิตเซลล์และปริมาณโปรตีน ไขมัน และสารประกอบฟีนอลิกของ *S. platensis* โดยใช้อาหารเหลว Zarrouk's medium ในการเพาะเลี้ยง ผลการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส การเติมโซเดียมไนเทรตเท่ากับ 1.875 หรือ 2.5 กรัมต่อลิตร จะให้ปริมาณโปรตีน ไขมัน และสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ส่วนการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าความเข้มข้นของโซเดียมไนเทรตไม่ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณของโปรตีน ไขมัน และสารประกอบฟีนอลิก และพบว่าความเข้มข้นของโซเดียมไนเทรตไม่ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์แม้จะเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิใดก็ตาม

2.1.3.9 ผลของสนามแม่เหล็ก

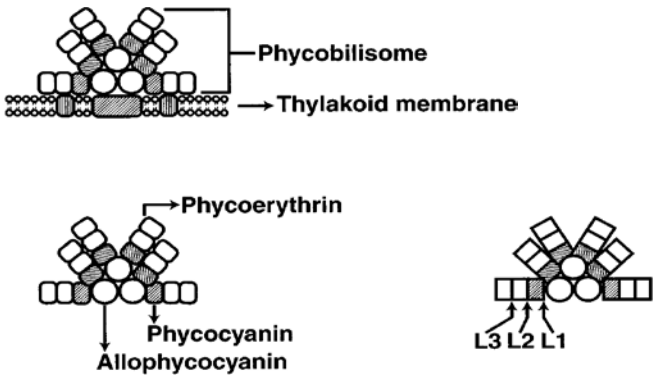
Ramraj and Murugesan (2009) ทดลองเพาะเลี้ยง *S. platensis* ในสนามแม่เหล็กที่มีความแรง 6000 Gauss พบว่าสนามแม่เหล็กมีผลต่อการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *S. platensis* โดยที่ขั้วใต้จะทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีขึ้น

2.2. ไฟโคบิลิโซม (Phycobilisomes: PBS)

2.2.1 ลักษณะทั่วไปของไฟโคบิลิโซม

ไฟโคบิลิโซม (Phycobilisomes: PBS) เป็นสารประกอบโปรตีนที่ทำหน้าเก็บเกี่ยวพลังงานจากแสงแดดแล้วถ่ายเทพลังงานดังกล่าวผ่านเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ (Thylakoid membrane) เข้าสู่ระบบการสังเคราะห์แสงของเซลล์ พบได้ในเซลล์พืชและไซยาโนแบคทีเรีย ประกอบด้วย 2 หน่วยย่อย คือ ไฟโคบิลิโปรตีน (Phycobilliprotein: PBPs) หรือบิลิโปรตีน (Biliprotein) และสายพอลิเพปไทด์ทีเป็นตัวเชื่อมโยง (Linker polypeptide) ดังแสดงในภาพที่ 2.4

บิลิโปรตีนของไซยาโนแบคทีเรียมี 3 ชนิดคือ ซี-ไฟโคไซยานิน (C-phycocyanin: C-PC: อักษร C หมายถึงไฟโคไซยานินที่มีแหล่งมาจากไซยาโนแบคทีเรีย หากมีแหล่งมาจากสาหร่ายสีแดงเรียก R-phycocyanin หรือ R-PC) ไฟโคอิริทริน (Phycoerythrin: PE) และอัลโลไฟโคไซยานิน (Allophycocyanin) ซึ่งพบว่าประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนทั้งหมดที่มีอยู่ใน สไปรูลิน่า คือ อัลโลไฟโคไซยานิน และ ซี-ไฟโคไซยานิน (Tiensai, 1998) โดยจะพบซี-ไฟโคไซยานินมากกว่าอัลโลไฟโคไซยานิน (Ciferri, 1983)



ภาพที่ 2.4 แบบจำลองการจัดเรียงตัวของไฟโคบิลิโซม บน: แสดงการเชื่อมต่อระหว่างไฟโคบิลิโซมกับเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ ล่างซ้าย: แสดงการจัดเรียงตัวของ 3 องค์ประกอบหลักในไฟโคบิลิโซม และ ล่างขวา: แสดงตำแหน่งที่อยู่ของ linker polypeptide

ที่มา: MacColl (1998)

2.2.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสมไฟโคบิลิไซมในไซยาโนแบคทีเรีย

การสะสมของไฟโคบิลิไซมในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียจะขึ้นอยู่กับปัจจัยแวดล้อมทางกายภาพและเคมีหลายประการ เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง คุณภาพแสง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ระยะเวลาที่ได้รับแสง ปริมาณไนโตรเจน เป็นต้น

2.2.2.1 อุณหภูมิ

Chaneva *et al*., (2007) รายงานว่าอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ แคโรทีน และ ไฟโคโปรตีนของสาหร่าย *Arthronema africanum* ซึ่งผลของอุณภูมิจะขึ้นอยู่กับความเข้มแสงที่เพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วย และสาหร่ายจะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 300 µmol photons/ m^2/s โดยใช้เวลาเพาะเลี้ยง 96 ชั่วโมง เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสูงขึ้นสาหร่ายจะมีการสะสมคลอโรฟิลล์น้อยลง และพบว่าการให้แสง 50 และ 100 µmol photons/ m^2/s ไม่มีผลต่อปริมาณแคโรทีนแม้อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเปลี่ยนแปลงไป สำหรับปริมาณไฟโคบิลิโปรตีน พบว่าจะมีปริมาณมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และมีความเข้มแสงเท่ากับ 150 µmol photons/ m^2/s โดยมีปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และอัลโลไฟโคไซยานิน เท่ากับ 23 เปอร์เซ็นต์ และ 12 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำมากๆ (<15 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิสูง (>47 องศาเซลเซียส) พบว่าปริมาณไฟโคบิลิโปรตีนจะลดลง

Chaiklahan *et al*., (2007) ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิและความเข้มแสงสูง ๆ ต่อ *S. platensis* strain C1 พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเบ็ดเสร็จที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และความเข้มแสงเท่ากับ 100 µmol photons/ m^2/s จะมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.0247 ต่อชั่วโมง และพบว่าหากเพิ่มอุณหูมิเป็น 43 องศาเซลเซียส อัตราการเจริญเติบโตจะลดลงเหลือ 0.008 ต่อชั่วโมง

2.2.2.2 ความเข้มแสงและคุณภาพแสง

Chaiklahan *et al*., (2007) ศึกษาผลกระทบของความเข้มแสงสูง ๆ ต่อ *S. platensis* strain C1 พบว่าการเพิ่มความเข้มแสงอย่างกะทันหันจาก 100 ไปเป็น 500 µmol photons/ m^2/s จะส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ ซึ่งจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสง (มีการปล่อยออกซิเจนออกมา) และปริมาณรงควัตถุ (คลอโรฟิลล์ และ ไฟโคไซยานิน) เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิสูงและความเข้มแสงมากจะทำให้ปริมาณโปรตีนลดลงในขณะที่คาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มมากขึ้น

Chaneva *et al*., (2007) รายงานว่าความเข้มแสง (50–300 µmol photons/ m^2/s) และอุณหภูมิ (15–50 องศาเซลเซียส) มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ แคโรทีน และ ไฟโคโปรตีนของสาหร่าย *Arthronema africanum* สาหร่ายจะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดที่ความเข้มแสง 300 µmol photons/ m^2/s และอุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาเพาะเลี้ยง 96 ชั่วโมง เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสูงขึ้นสาหร่ายจะมีการสะสมคลอโรฟิลล์น้อยลง และพบว่าการให้แสง 50 และ 100 µmol photons/ m^2/s ไม่ผลต่อปริมาณแคโรทีนแม้อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเปลี่ยนแปลงไป สำหรับปริมาณไฟโคบิลิโปรตีนพบว่าจะมีปริมาณมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีความเข้มแสงเท่ากับ 150 µmol photons/ m^2/s และอุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และ อัลโลไฟโคไซยานิน เท่ากับ 23 และ 12 เปอร์เซ็นต์

ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำมากๆ (<15 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิสูง (>47 องศาเซลเซียส) ปริมาณไฟโคบิลิโปรตีนจะลดลง

Madhyastha and Vatsala (2007) กล่าวว่าคุณภาพแสงส่งผลต่อการสะสมรงควัตถุที่สำคัญของ *S. fussiformis* เมื่อเพาะเลี้ยงในถังหมักแบบใช้แสงแบบต่อเนื่อง โดยใช้อาหาร Zarrouk's medium ในการเพาะเลี้ยง แสงสีขาวจะส่งผลต่อการสะสมคลอโรฟิลล์มากที่สุด (5.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของรงควัตถุอื่น ๆ (ซี-ไฟโคไซยานิน แคโรทีน และไฟโคอีริทริน) น้อยมาก แสงสีฟ้าจะกระตุ้นให้เกิดการสะสมคลอโรฟิลล์และซี-ไฟโคไซยานินเพิ่มขึ้นเท่ากับ 7 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสงสีเขียวจะส่งผลเสียต่อการสะสมรงควัตถุทุกชนิดยกเว้นซี-ไฟโคไซยานิน ซึ่งมีการสะสมสูงสุดเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 18 วัน) การใช้แสงสีเหลืองพบว่า อัตราการผลิตรงควัตถุทุกชนิดจะค่อย ๆ ลดลงตั้งแต่วันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนการใช้แสงสีแดงพบว่าไม่ส่งผลต่อค่าเฉลี่ยของอัตราการผลิตรงควัตถุทุกชนิดอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้น ซี-ไฟโคไซยานิน ที่มีแนวโน้มการผลิตเพิ่มมากขึ้น

Ortega *et al*., (2008) รายงานว่า คุณภาพของแสงมีผลต่อการสะสมของรงควัตถุต่าง ๆ ของสาหร่ายสีแดงบริโภคได้ *Halymenia floresii* โดยพบว่าแสงสีเขียวจะทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด แสงสีขาวและแสงสีเขียวจะกระตุ้นให้สาหร่ายมีการสะสมคลอโรฟิลล์ เอ, แคโรทีน และลูทีน แสงสีฟ้าจะกระตุ้นการสังเคราะห์ไฟโคไซยานินได้ดี และพบว่าแสงสีฟ้าและสีขาวจะกระตุ้นการสังเคราะห์ไฟโคอิริทริน

Hemlata (2009) รายงานว่าปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ มีผลต่อปริมาณไฟโคบิลิโปรตีน ที่ผลิตได้จากไซยาโนแบคทีเรีย *Anabaena* NCCU-9 โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความเข้มแสง 25 μmol photons/ m^2/s โดยใช้แสงสีขาว ค่าความเป็นกรด-ด่างและสัดส่วนของการให้แสงกับไม่ให้แสงเท่ากับ 16:8 ไม่มีแหล่งไนโตรเจน และมีโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 มิลลิโมล่าร์ จะมีการสะสมของไฟโคบิลิโปรตีนสูงที่สุด

2.2.2.3 ความเข้มข้นของไนโตรเจน

Abd El-Baky *et al*., (2008) รายงานว่าความเข้มของไนโตรเจนส่งผลต่อปริมาณของสารโภชนะบำบัด (Nutraceutical compounds) ในสาหร่าย *S. maxima* ซึ่งได้แก่ แคโรทีนทั้งหมด คลอโรฟิลล์ ไฟโคไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิก

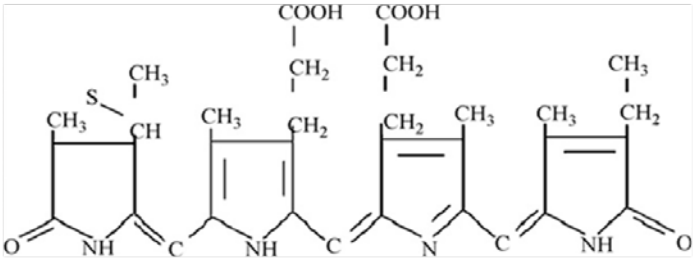
2.2.2.4 รังสียูวี

Gupta *et al*., (2008) รายงานว่ารังสียูวี บี (UV-B) ส่งผลต่อรงวัตถุโปรตีน และกรดไขมันที่เยื่อหุ้มไทลาคอยด์ของ *S. platensis* โดยรังสียูวี บี จะทำให้ผนังชั้นในบิดเบี้ยวไปและทำให้ คลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll a) ลดต่ำลง และส่งผลทำให้ไฟโคบิลิโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสงที่มีขนาด 47 กิโลดาลตัน และ 43 กิโลดาลตัน เปลี่ยนไปเป็น 94 กิโลดาลตัน และ 20 กิโลดาลตัน นอกจากนี้พบว่ารังสียูวียังมีผลทำให้กรดไขมันอิ่มตัวลดลงแต่กรดไขมันไม่อิ่มตัวเพิ่มมากขึ้น

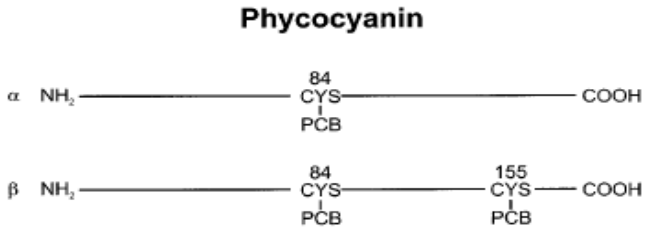
2.3. ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin)

2.3.1 โครงสร้างของซี-ไฟโคไซยานิน

ซี-ไฟโคไซยานินประกอบด้วยส่วนที่เป็นอะโพโปรตีน (Apoprotein) และส่วนของบิลิน (bilin) โดยที่บิลินจะเป็นสารประกอบเชิงซ้อนมีลักษณะเป็นวงแหวนไพร์รอล (Pyrrole ring) สี่วงเชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรง (Tetrapyrrole) ส่วนที่เป็นอะโพโปรตีนและบิลินจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไทโออีเทอร์ (Thioether bond) ระหว่างวงแหวนเอของบิลินกับกรดอะมิโนซีสเตอีน (Cysteine) ของอะโพโปรตีน (ภาพที่ 2.5) (Sanjiv *et al*., 2008) โมเลกุลของซี-ไฟโคไซยานินประกอบด้วยหน่วยย่อยแอลฟา (α-subunits) และบีตา (β-subunits) โดยปกติแต่ละโมเลกุลของซี-ไฟโคไซยานินจะรวมตัวกันในลักษณะของไตรเมอร์ ($\alpha_3\beta_3$) เฮกซะเมอร์($\alpha_6\beta_6$) หรือโอลิโกมอร์ (Oligomers) แบบอื่น ๆ โดยในแต่ละหน่วยย่อยแอลฟาและบีตาจะมีบิลินเกาะอยู่กับกรดอะมิโนซีสเตอีนบนอะโพโปรตีนของหน่วยย่อย 1 และ 2 หมู่ ตามลำดับที่ตำแหน่ง α_{84} ของหน่วยย่อยแอลฟา และที่ตำแหน่ง β_{84} และ β_{155} ของหน่วยย่อยบีต้า (MacColl, 1998; Eriksen, 2008) ดังแสดงในภาพที่ 2.6 จากการวิเคราะห์โดยใช้ SDS-PAGE พบว่าหน่วยย่อยอัลฟามีขนาดประมาณ 19.5 กิโลดาลตัน ส่วนหน่วยย่อยบีตามีขนาดประมาณ 21.5 kDa ซึ่งโดยปกติจะพบหน่วยย่อยทั้งสองในปริมาณที่เท่ากัน (Sanjiv *et al*., 2008)



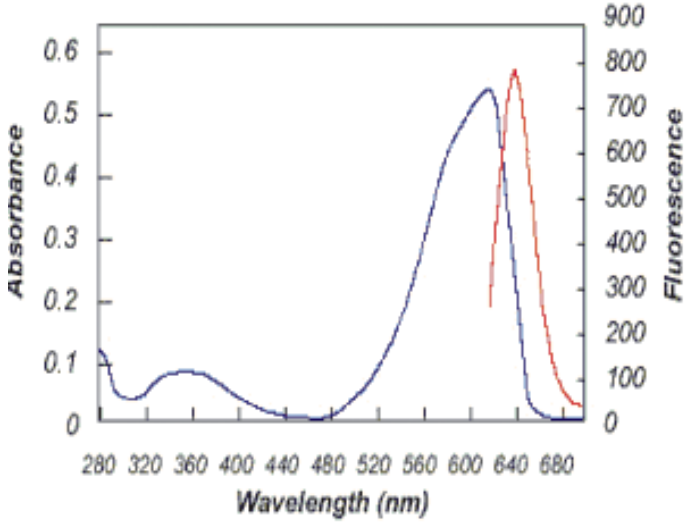
ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของซี-ไฟโคไซยานินจาก *S. platensis*.
ที่มา: Sanjiv *et al*., (2008)



ภาพที่ 2.6 ตำแหน่งการเกิดพันธะโควาเลนท์ระหว่างบิลินกับอะโพโปรตีนของซี-ไฟโคไซยานิน
ที่มา: MacColl (1998)

2.3.2 คุณสมบัติของซี-ไฟโคไซยานิน

ซี-ไฟโคไซยานินเป็นสารประกอบสีฟ้า เรืองแสงได้ ละลายน้ำได้ และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ คุณสมบัติเหล่านี้แตกต่างกันไปขึ้นกับสายพันธุ์ วิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย วิธีการสกัดซี-ไฟโคไซยานินออกจากเซลล์และกระบวนการหลังการสกัด ซี-ไฟโคไซยานินสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นระหว่าง 615-620 นาโนเมตร และมีการปลดปล่อยแสงที่ความยาวคลื่นประมาณ 650 นาโนเมตร (ภาพที่ 2.7) อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำหนักโมเลกุล ความสามารถในการดูดกลืนแสงของซี-ไฟโคไซยานินจะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นของโปรตีน และแหล่งที่มาของสาหร่าย (Sanjiv *et al*., 2008)



ภาพที่ 2.7 ช่วงความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและเรืองแสงของ ซี-ไฟโคไซยานิน
ที่มา: Kommareddy and Anderson (2004)

2.3.3 การสกัดซี-ไฟโคไซยานิน

ซี-ไฟโคไซยานินเป็นสารที่อยู่ภายในเซลล์ของสาหร่ายการสกัดสามารถใช้ได้ทั้งเซลล์สดและเซลล์แห้งแต่เซลล์สดจะให้ผลผลิตของซี-ไฟโคไซยานินมากกว่า Sarada *et al.,* (1999) กล่าวว่าการทำแห้งสไปรูลิน่าโดยวิธีการต่าง ๆ จะทำให้ซี-ไฟโคไซยานินสูญเสียไปประมาณ 45-50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เซลล์สด Doke (2005) รายงานว่าการอบแห้งเซลล์สาหร่ายที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 25 องศาเซลเวียส จะให้ผลผลิตของซี-ไฟโคไซยานิน มากที่สุดเท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อกรัม ในขณะที่เซลล์ที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเวียส ะให้ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน ต่ำกว่าเท่ากับ 16.5 มิลลิกรัมต่อกรัม (ตารางที่ 2.2)

การสกัดซี-ไฟโคไซยานินโดยใช้สาหร่ายแห้งจะสกัดโดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง7 หรือสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ (Eriksen, 2008) Alkinson *et al*., (1987) ได้แบ่งวิธีการทำให้เซลล์แตกเพื่อ

สกัดสารสำคัญที่อยู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ออกเป็น 3 วิธี คือ การใช้เอนไซม์ วิธีทางเคมี และวิธีทางฟิสิกส์ โดยราเชนทร์ (2552) ได้กล่าวว่าการทำให้ผนังเซลล์แตกเพื่อสกัดซี-ไฟโคไซยานินจากเซลล์สดของสไปรูลิน่า เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมสามารถทำได้โดยวิธีการทางกายภาพและการย่อยผนังเซลล์ด้วยสารเคมีและเอนไซม์ หรืออาจใช้วิธีการเหล่านี้ร่วมกัน โดยวิธีที่นิยมใช้และให้ผลดีในการปฏิบัติมี 3 วิธี คือการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลาย การใช้คลื่นอัตราโซนิกและการใช้ไลโซไซม์ ซึ่งแต่ละวิธีมีกลไกในการทำลายผนังเซลล์ดังนี้

ตารางที่ 2.2 เปรียบเทียบวิธีการทำแห้งเซลล์สาหร่ายเพื่อการสกัดซี-ไฟโคไซยานิน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลาเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7 (ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์)

Drying methods	Drying temperature	Phycocyanin conc. (mg/g)	Purity ratio (A620/A280)
Water bath	50 °C for 1 h	16.5±0.8	0.95±0.07
Sun dried	Ambient temperature was 35 ± 2°C for 1 h	64.8 ± 1.71	0.85±0.03
Air dried	By air current at 25 ± 2°C for 1 h	80.0±1.9	1.80±0.06

ที่มา : Doke (2005)

2.3.3.1 การแช่เยือกแข็งสลับกับการละลาย (Repeatedly freezing and thawing, RFT)

การทำให้ผนังเซลล์ของสไปรูลิน่าแตกโดยการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลาย เกิดจากผลึกน้ำแข็งและการขยายขนาดของผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นในระหว่างการแช่เยือกแข็งไปบาดผนังเซลล์แล้วทำให้ผนังเซลล์เกิดรูรั่วเป็นผลทำให้เอนไซม์และโปรตีนต่าง ๆ ภายในเซลล์แพร่ออกสู่ภายนอกเซลล์ โดยอัตราการแพร่จะขึ้นอยู่กับอัตราการละลายน้ำแข็งและความคงตัวของรูรั่วภายในเซลล์ โดยที่บริเวณผิวนอกจะมีอัตราการละลายน้ำแข็งสูงกว่าบริเวณด้านใน การละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้รูรั่วภายในเซลล์คงตัวได้นานกว่าการละลายโดยใช้อุณหภูมิสูง

2.3.3.2 การใช้คลื่นอัตราโซนิก

การใช้คลื่นอัตราโซนิกที่มีความยาวคลื่นเสียงสูงกว่า 20 กิโลเฮิร์ต จะทำให้เกิดแรงสั่นสะเทือนและเกิดเป็นฟองอากาศขนาดเล็กขึ้นในสารแขวนลอยของสาหร่ายและภายใน

เซลล์สาหร่าย เรียกปรากฏการณ์ดังกล่าวว่า “ Cavitation” เมื่อฟองอากาศถูกสร้างขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้นจนแตกสลาย ผลที่ตามมาคือจะเกิดคลื่นสะท้านอย่างรุนแรง ณ จุดต่าง ๆ ทั้งภายในเซลล์และนอกเซลล์ของสาหร่าย เป็นผลทำให้เกิดความแตกต่างของแรงเฉือน ณ จุดต่าง ๆ ซึ่งกระทำต่อเซลล์จึงทำให้ผนังเซลล์ฉีกขาดในที่สุด โดยประสิทธิภาพในการทำให้ผนังเซลล์แตกขึ้นอยู่กับความถี่ของคลื่นเสียงที่ใช้ อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้คลื่นอัตราโซนิกร่วมกับการใช้เม็ดทรายละเอียดจะให้ประสิทธิภาพในการทำลายผนังเซลล์ดีกว่าการใช้คลื่นอัตราโซนิกเพียงอย่างเดียว (Viskari and Colyer, 2003)

2.3.3.3 การใช้ไลโซไซม์

ไลโซไซม์จะย่อยสลายผนังเซลล์ชั้น LII ซึ่งเป็นชั้นที่มีความแข็งแรงมากที่สุดของผนังเซลล์สไปรูลิน่าโดยไลโซไซม์จะตัดพันธะ β-1,4-glucosidic ในโมเลกุลของเพพติโดไกลแคน (Hatti-Kaul and Mattiasson, 2003) อย่างไรก็ตามการจะทำลายผนังเซลล์ชั้นดังกล่าวได้นั้นจะต้องทำลายผนังเซลล์ชั้นนอกก่อนเพื่อเปิดทางให้ไลโซไซม์สามารถเข้าถึงชั้นของเพพติโดไกลแคนได้ เช่น การใช้สารลดแรงตึงผิว หรือสารกำจัดไอออน เป็นต้น

อย่างไรก็ตามพบว่า การทำให้เซลล์สไปรูลิน่าแตกเพื่อการสกัดซี-ไฟโคไซยานินนั้นสามารถสกัดได้โดยใช้หลาย ๆ วิธีร่วมกัน โดยซี-ไฟโคไซยานินจะละลายอยู่ในส่วนที่เป็นของเหลวซึ่งจะต้องผ่านขั้นตอนเพื่อทำให้บริสุทธิ์ต่อไป ตารางที่ 2.3 แสดงตัวอย่างการใช้วิธีทำให้เซลล์สาหร่ายแตกโดยใช้หลาย ๆ วิธีร่วมกัน ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพการทำให้ผนังเซลล์สาหร่ายแตกดีกว่าการใช้เพียงวิธีใดวิธีหนึ่ง

ตารางที่ 2.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนจากเซลล์ของสาหร่าย *Mycobacterium smegmatis* ด้วยวิธีต่าง ๆ กัน

วิธีทำให้เซลล์แตก	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (mg/mL) ต่อกรัมของสาหร่าย
Cell disrupter	18.7
French press	18.9
Bead beater	7.6
Bead beater plus lyzozyme	25.6
Sonication	6
Sonication plus lyzozyme	11.6
Lyzozyme	0.2

ที่มา: จาก Rezwan, Laneelle, Sander และ Daffe (2007)

Soundarapanadian and Vasanthi (2008) รายงานว่า *S. platensis* ที่มีอายุการเพาะเลี้ยงนาน 10 20 และ 30 วัน เมื่อนำมาสกัดซี-ไฟโคไซยานิน โดยวิธีต่างกัน 4 วิธี คือ Liquid nitrogen, Freezing and thawing, Sonication และ Lyzozyme methods จะให้ผลผลิตของซี-ไฟโคไซยานิน แตกต่างกัน ผลการทดลองพบว่าการใช้ Liquid nitrogen จะให้ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน สูงที่สุด โดยสายพันธุ์และอายุของสาหร่ายมีผลต่อปริมาณซี-ไฟโคไซยานินที่สกัดได้ด้วย สายพันธุ์ CS-1 ที่มีอายุในการเพาะเลี้ยง 30 วัน สามารถสกัดซี-ไฟโคไซยานินได้มากที่สุดเท่ากับ 110.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

2.3.4. สมบัติที่สำคัญของซี-ไฟโคไซยานิน

2.3.4.1 สมบัติการต้านออกซิเดชัน (Antioxidant Capacity)

1) สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ Peroxyl

Hirata *et al*., (2000) ศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของไฟโคไซยาโนบิลิน (องค์ประกอบของซี-ไฟโคไซยานิน) จาก *S. platensis* โดยการวัดการต้านออกซิเดชันของ Methyl linoleate ในระบบ Hydrophobic ความเข้มข้นของ ซี-ไฟโคไซยานินและไฟโคไซยาโนบิลิน ในปฏิกิริยาเท่ากันและปรับความเข้มข้นโดยใช้ ไฟโคไซยาโนบิลิน เป็นหลักประเมินสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระหลังจากการเติม AAPH พบว่าคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของซี-ไฟโคไซยานิน เหมือนกับไฟโคไซยาโนบิลิน เมื่อตรวจสอบผลกระทบจากกระบวนการให้ความร้อนที่มีต่อสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของซี-ไฟโคไซยานินโดยการทดสอบซี-ไฟโคไซยานินจากเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าแบบเซลล์เปียกและเซลล์แห้งที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันของทั้ง 2 ตัวอย่าง มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน

Romay *et al*., (1998) พบว่าซี-ไฟโคไซยานินมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่าง ๆ รวมถึงซุปเปอร์ออกไซด์ ไฮดรอกซิล และอัลคอกซิล เรดิคัล จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าไฟโคไซยาโนบิลิน เป็นสิ่งที่มีความสำคัญต่อสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ของซี-ไฟโคไซยานิน

2) สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ Alkoxyl

Romay *et al*., (1998) ทดลองวัดการต้านอนุมูลอิสระของซี-ไฟโคไซยานินต่ออนุมูลอิสระอัลคอคซิลและไฮดรอกซิล โดยวิธี Chemiluminescence assay พบว่าซี-ไฟโคไซยานินสามารยับยั้ง Chemiluminescence ในระบบ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับปริมาณของซี-ไฟโคไซยานิน เมื่อเปรียบเทียบกับ Trolox พบว่า Trolox ความเข้มข้น 0.1 ไมโครโมล มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระอัลคอคซิลได้ใกล้เคียงกับซี-ไฟโคไซยานินที่ระดับความเข้มข้น 2 ไมโครโมล

3) สมบัติของซี-ไฟโคไซยานินต่อการยับยั้งปฏิกิริยา Lipid peroxidation

ปฏิกิริยา Lipid peroxidation จะส่งผลเสียต่อเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันจำนวนมากที่ side chain เป็น Lipid peroxides ทำให้โครงสร้างและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลงไป

2.3.4.2 สมบัติการป้องกันการอักเสบ (Anti-inflammatory Capacity)

Romay *et al*., (1998) ศึกษาคุณสมบัติการป้องกันการอักเสบของซี-ไฟโคไซยานินในอุ้งเท้าของหนู (*in vivo* model) โดยฉีด Glucose oxidase เข้าไปในอุ้งเท้าของหนูเพื่อกระตุ้นให้เกิดการอักเสบและเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ขึ้นและเกิดเป็นอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลซึ่งจะส่งผลต่อความเสียหายของเนื้อเยื่อและทำให้เกิดการอักเสบในที่สุด ผลการทดลองพบว่าซี-ไฟโคไซยานินสามารถต่อต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (IC50 = 0.91 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และอนุมูลอิสระอัลคอคซิล (IC50= 76 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยมีความสามารถเทียบเท่ากับ 0.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของ Dimethyl sulphoxide (DMSO)

2.3.4.3 สมบัติการยับยั้งเซลล์มะเร็ง (Anticancer Capacity)

Hanaa and El-Baky (2003) ศึกษาสมบัติของซี-ไฟโคไซยานินในการยับยั้งเซลล์มะเร็งโดยการวัดการรอดชีวิต (% of viability) ของ Ehrlich Ascites Carcinoma Cells (EACC) พบว่าเซลล์ที่ให้ซี-ไฟโคไซยานินมีการรอดชีวิตลดลง เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจาก สไปรูลิน่าเพิ่มขึ้น

2.3.4.4 สมบัติการต้านแบคทีเรีย

Sabarinathan and Ganesan (2008) ทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sps. และ *Xanthomonas* ของซี-ไฟโคไซยานินและส่วนใสที่ได้จากอาหารเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *Westiellopsis* พบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zones varied) จะอยู่ในช่วง 1.3-13.2 มิลลิเมตร และ 2.2-13.1 มิลลิเมตร

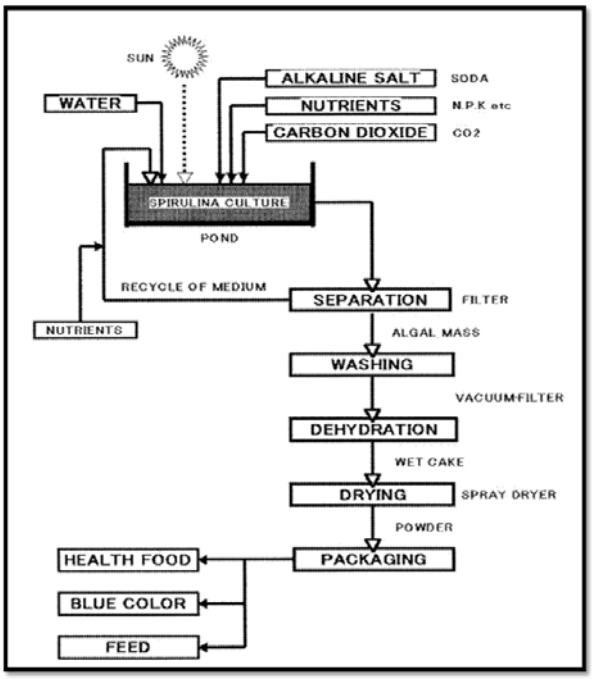
2.4 การเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าเพื่อการผลิตซี-ไฟโคไซยานิน

2.4.1. การเพาะเลี้ยงแบบโฟโตออโททรอฟ (Photoautotrophic cultivation)

การเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าทางการค้าในระยะแรกจะเลี้ยงสาหร่ายแบบ โฟโตออโททรอฟ (Photoautotrophic) ในบ่อเปิดกลางแจ้งที่ไม่มีการควบคุมสภาวะแวดล้อมใด ๆ จากการรวบรวมผลผลิตสไปรูลิน่าทั่วทั้งโลกพบว่าในแต่ละปีมีผลผลิตของสาหร่ายแห้งรวมมากกว่า 3,000 ตัน ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพและใช้ผสมในอาหารสัตว์ (Eriksen, 2008) ตัวอย่างของผู้ผลิตสาหร่ายสไปรูลิน่า ทางการค้าทั้งในอดีตและปัจจุบัน เช่น Spirulina Mexicana SA (เม็กซิโก), Cyanotech Corporation และ Earthrise farms (สหรัฐอเมริกา), Nippon Spirulina Co., Ltd (ญี่ปุ่น), Yunnan Spirin Co., Ltd และ Hainan DIC Microalgae Co.,Ltd (สาธารณรัฐประชาชนจีน) และ Parry Agro Industries Ltd. (อินเดีย) นอกจากนี้ยังมีการเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าทางการค้าโดยบริษัท Greek Company Algae A.C. ในระบบการเลี้ยงแบบ greenhouse production ponds ที่ Nigrita, Serres (Shimamatsu, 2004) ปัจจุบัน FDA ของสหรัฐอเมริกาได้จัดให้สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็น “generally recognized as safe” (GRAS) สำหรับการบริโภค (FDA GRAS Notice No.GRN 000127)

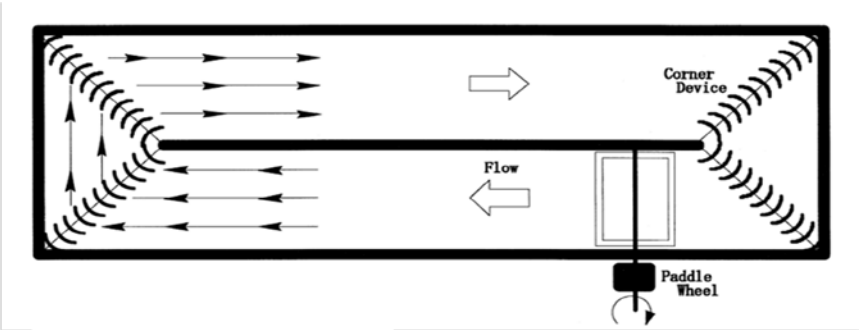
2.4.1.1 การเพาะเลี้ยงแบบกลางแจ้ง (Outdoor)

การเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าเพื่อผลิตซี-ไฟโคไซยานินทางการค้าส่วนใหญ่จะเพาะเลี้ยงแบบโฟโตออโททรอฟในลักษณะบ่อเปิดรางคู่ และนิยมเพาะเลี้ยงกันมากในประเทศที่มีภูมิอากาศร้อน แถบมหาสมุทรแปซิฟิก สาเหตุที่นิยมผลิตซี-ไฟโคไซยานินจากสไปรูลิน่าเพราะไฟโคไซยานินที่ผลิตได้มีคุณภาพสูง โดยอัตราการผลิตซี-ไฟโคไซยานินในสาหร่ายขนาดเล็กและ ไซยาโนแบคทีเรียสามารถพิจารณาได้จากอัตราการผลิตเซลล์ และอัตราจำเพาะการผลิตซี-ไฟโคไซยานิน จากการสืบค้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตซี-ไฟโคไซยานินโดย *A. platensis* ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดรางคู่พบว่า อัตราการผลิตเซลล์แห้งและอัตราการผลิตซี-ไฟโคไซยานินมีค่าอยู่ในช่วง 14–19.4 และ 0.82– 1.43 กรัมต่อตารางเมตร วัน ในขณะที่อัตราการผลิตเชิงปริมาตรมีค่าประมาณ 0.05–0.32 กรัมเซลล์ต่อลิตร วัน และ 3–24 มิลลิกรัมซี-ไฟโคไซยานินต่อลิตร วัน ตามลำดับ ตามลำดับ (Jiménez *et al*., 2003; Pushparaj *et al*., 1997) การเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดรางคู่จะอาศัยแสงแดดจากธรรมชาติ ดังนั้นความสูงของระดับของเหลวจึงไม่สูงมากนักส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 10-30 เซนติเมตร ซึ่งเป็นระดับความสูงที่การผสมโดยใช้ใบพัดดำเนินไปอย่างมีประสิทธิภาพ การเพาะเลี้ยงแบบกลางแจ้งนี้แสงจะทะลุผ่านได้ดีในระดับน้ำที่ไม่ลึกมาก เซลล์ที่อยู่บริเวณผิวหน้าจะได้รับแสงที่มีความเข้มสูง ๆ มากกว่าเซลล์ที่อยู่ด้านล่างทำให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงลดต่ำลง ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์ที่ได้รับแสงมากเกินไป จึงทำให้เซลล์อ่อนแอลงและตายในที่สุด (Grobbelaar, 2007)



ภาพที่ 2.8 แผนผังระบบการผลิตสาหร่ายสไปรูลิน่าทางการค้า
ที่มา : Shimamatsu (2004)

ภาพที่ 2.8 แสดงแผนผังระบบการผลิตสาหร่ายสไปรูลิน่าทางการค้า ส่วนภาพที่ 2.9 แสดงรูปทรงพื้นฐานและการออกแบบบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งมีลักษณะเป็นบ่อเปิดรูปทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าและมีระบบกังหันเพื่อควบคุมการหมุนวนของอาหารเหลวให้มีการผสมในอัตราเท่า ๆ กันในทุก ๆ ส่วนของบ่อเพาะเลี้ยงและป้องกันการตกตะกอนนอนก้นของเซลล์ เนื่องจากการหยุดนิ่งของอาหารเหลว (Shimamatsu, 2004)



ภาพที่ 2.9 การออกแบบบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการผลิตชีวมวลสาหร่ายสไปรูลิน่า
ที่มา : Shimamatsu (2004)

2.4.1.2 การเพาะเลี้ยงในถังหมักแบบใช้แสง (Photobioreactor cultivation)

การปรับปรุงการเพาะเลี้ยง *A. platensis* แบบโฟโตออโททรอฟเพื่อผลิตซี-ไฟโคไซยานินสามารถทำได้โดยการเพาะเลี้ยงในถังหมักแบบใช้แสง (Enclosed photobioreactors) การเพาะเลี้ยงแบบนี้ความสูงของระดับน้ำจะลดลงและความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายจะเพิ่มขึ้น ซึ่งจะช่วยแก้ปัญหาเซลล์สาหร่ายได้รับแสงไม่ทั่วถึงในสภาวะที่เซลล์มีความหนาแน่นมากเกินไป (Gittelson *et al*., 1996) และช่วยหมุนเวียนของเหลวระหว่างบริเวณที่ได้รับแสงและไม่ได้รับแสงเพื่อให้เซลล์สาหร่ายได้รับแสงอย่างทั่วถึงเหมือน ๆ กัน นอกจากนี้ยังช่วยลดระยะเวลาในการได้รับแสงของเซลล์ให้สั้นลงโดยเฉพาะในช่วงเวลาที่ความเข้มแสงมากเกินไป จึงทำให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นและการยับยั้งเนื่องจากแสงลดลง (Ugwu *et al*., 2008) ภาพที่ 2.10 แสดงถังหมักแบบให้แสง (Photobioreactors) ที่มีการออกแบบขึ้นสำหรับใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

ภาพที่ 2.10 ถังหมักแบบให้แสง (Photobioreactors) สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

Tredici *et al*., (1991), Zitelli *et al*., (1996) และ Carlozzi (2003) ทดลองเพาะเลี้ยง *A. platensis* ในถังหมักแบบใช้แสง พบว่าอัตราการผลิตเซลล์ต่อปริมาตรมีค่าสูงถึง 0.9-1.3 กรัมต่อลิตรต่อวัน ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดรางคู่ของนักวิจัยท่านอื่นที่เคยรายงานก่อนหน้านี้พบว่าจะมีค่ามากกว่า 5-20 เท่า (0.05-0.30 กรัมต่อลิตรต่อวัน) แต่ถ้าเปรียบเทียบกันระหว่างอัตราการผลิตต่อพื้นที่พบว่ามีความแตกต่างกันไม่มากนัก นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงในถังหมักยังช่วยเพิ่มอัตราการผลิตซี-ไฟโคไซยานินให้สูงขึ้นด้วยโดยอยู่ในช่วง 0.064-0.092 กรัมต่อลิตรต่อวัน (การเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดรางคู่อยู่ในช่วง 0.003-0.024 กรัมต่อลิตรต่อวัน)

Eriksen (2008) กล่าวว่าการเพาะเลี้ยงในถังหมักแบบใช้แสงมีข้อดีคือ สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดรางคู่ ซึ่งจะช่วยปรับปรุงอัตราการผลิต *A. platensis* ให้ดีขึ้นได้โดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อนและที่สำคัญการเพาะเลี้ยงในถังหมักสามารถรักษาสภาวะการเพาะเลี้ยงให้คงที่ได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดรางคู่ อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงในถังหมักยังมีข้อจำกัดในเรื่องการขยายขนาดการผลิตซึ่งทำได้ยากและต้องใช้ต้นทุนสูงในการดำเนินการ

2.4.2 การเพาะเลี้ยงแบบมิกโซทรอฟ (Mixotrophic cultivation)

A. platensis นอกจากจะเจริญเติบโตได้ในสภาวะโฟโตออโททรอฟที่มีการให้แสงเพียงอย่างเดียวแล้ว ยังสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีการให้แสงร่วมกับการเติมกลูโคส (Mixotrophically) Marquez *et al*., (1993) กล่าวว่าเมื่อเพาะเลี้ยง *A. platensis* แบบ mixotrophic พบว่าจะให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงแบบโฟโตออโททรอฟ และในสภาวะที่ไม่มีการให้แสงเฮทิโรทรอฟ (Heterotrophic) การเพาะเลี้ยงแบบมิกโซทรอฟจะช่วยให้ *A. platensis* เจริญเติบโตได้เร็วขึ้นและความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงแบบโฟโตออโททรอฟ

Chen and Zhang (1997) ได้พัฒนาการเพาะเลี้ยง *A. platensis* เพื่อการผลิตเซลล์และซี-ไฟโคไซยานิน โดยวิธีการหมักแบบครั้งคราวและใช้กลูโคสเป็นสับสเทรต พบว่าสามารถเพิ่มความเข้มข้นของเซลล์ได้ถึง 10 กรัมต่อลิตร ซึ่งวิธีการเพาะเลี้ยงแบบนี้จะไม่เกิดปัญหากลูโคสขัดขวางการเจริญเติบโตและการผลิตซี-ไฟโคไซยานินจึงทำให้อัตราการผลิตเซลล์และซี-ไฟโคไซยานินสูงขึ้น

Eriksen (2008) กล่าวว่าการเพาะเลี้ยง *A. platensis* แบบมิกโซทรอฟซึ่งมีการให้แสงจากหลอดไฟร่วมกับแหล่งคาร์บอนจะให้ผลผลิตของซี-ไฟโคไซยานินสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบ โฟโตออโททรอฟซึ่งได้รับพลังงานจากแสงอาทิตย์เพียงแหล่งเดียว

2.4.3 การเพาะเลี้ยงแบบเฮทิโรทรอฟ (Heterotrophic cultivation)

Arthrospira เกือบทุกสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ในที่มืด โดยอาศัยพลังงานจากกลูโคสและฟรักโทส จากรายงานวิจัยพบว่าการเพาะเลี้ยง *A. platensis* ในสภาวะดังกล่าวจะมีการผลิตซี-ไฟโคไซยานินได้น้อยมาก ดังการศึกษาของ Marquez *et al*., (1993) ที่พบว่าการเพาะเลี้ยง *A. platensis* แบ เฮทิโรทรอฟ จะให้อัตราการผลิตซี-ไฟโคไซยานิน เพียง 0.01 กรัมต่อลิตรต่อวัน

2.5 พอลิเมอร์นอกเซลล์ (Extracellular polymeric substance: EPSs)

จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตพอลิเมอร์ต่าง ๆ และขับออกมานอกเซลล์ได้ในระหว่างการเจริญเติบโต เป็นผลให้เซลล์สามารถรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนได้ เรียกพอลิเมอร์ที่ผลิตได้นี้ว่า พอลิเมอร์นอกเซลล์ (Extracellular polymeric substances: EPS) พอลิเมอร์นอกเซลล์จัดเป็นไบโอฟิล์มที่มีคุณสมบัติสำคัญหลายประการ สามารถนำไปใช้งานในระดับอุตสาหกรรมได้หลากหลาย โดยเฉพาะอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับเจล อัลมัลซิไฟเออร์ การดูดซับ การยึดเกาะ และการเกิดฟิล์ม นอกจากนี้พอลิเมอร์นอกเซลล์ยังสามารถยึดจับกับไอออนของโลหะหนักได้ดี เป็นผลให้มีการนำพอลิเมอร์นอกเซลล์ไปใช้ในการกำจัดไอออนของโลหะหนักในน้ำเสีย นอกจากนี้ยังแสดงคุณสมบัติทางชีวภาพที่ดีอีกหลายประการ เป็นต้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้พอลิเมอร์นอกเซลล์เป็นสารชีวภาพที่มีศักยภาพการผลิตเชิงอุตสาหกรรม (Ko, 2000)

ในระหว่างการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) โดยเฉพาะในช่วงท้าย ๆ ของระยะการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Late log phase) ไซยาโนแบคทีเรียจะมีการผลิตสารประกอบพอลิเมอร์ต่าง ๆ และขับออกสู่นอกเซลล์ ซึ่งพอลิเมอร์เหล่านี้ก็คือพอลิเมอร์นอกเซลล์ โดยที่การผลิตและการขับสารดังกล่าวสู่นอกเซลล์นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยแวดล้อมในระหว่างการเจริญเติบโตหลายประการ (Parikh and Madamwar, 2006) โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่าย สไปรูลิน่าภายใต้สภาวะการเจริญแบบโฟโตออโททรอฟ สาหร่ายจะมีการผลิตพอลิเมอร์นอกเซลล์มากที่สุดหลังจากที่เซลล์หยุดเจริญเติบโต ทั้งนี้เนื่องจากในระยะดังกล่าวความเข้มแสงที่มีมากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อเซลล์ สาหร่ายสไปรูลิน่าจะนำพลังงานที่มากเกินพอนี้ไปใช้ในการสังเคราะห์พอลิเมอร์ต่าง ๆ แล้วออกขับสู่ภายนอกเซลล์ ทั้งนี้เพื่อป้องกันเซลล์ไม่ให้ได้รับอันตรายจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมดังกล่าว (Guillaume Cogne and Gros Dussap, 2003)

จากการศึกษาองค์ประกอบของพอลิเมอร์นอกเซลล์ที่ผลิตได้จากสาหร่ายสไปรูลิน่าพบว่าจัดเป็นเฮทิโรพอลิแซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharides) เพราะประกอบด้วยสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่หลายประเภท ได้แก่ โปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ กรดยูโรนิก และสารประกอบอื่น ๆ ที่ยังไม่ทราบชนิด และมีประจุลบบนโมเลกุลเนื่องจากมีหมู่ซัลเฟตและกรดยูโรนิกเป็นองค์ประกอบ (Filali Mouhim *et al*., 1993) โดยพอลิเมอร์นอกเซลล์ที่ผลิตได้จากสาหร่าย *S. platensis* มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 81–98 กิโลดาลตัน (Philippis and Vincenzini, 1998) และมีแร่ธาตุ ที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ คาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และ ซัลเฟอร์ ในปริมาณ 30, 5.35, 7 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Trabelsi *et al*., 2009a) การวิเคราะห์องค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์พบว่าพอลิเมอร์นอกเซลล์ที่ผลิตได้จากสาหร่ายสไปรูลิน่าประกอบด้วยน้ำตาล 7 ชนิด ได้แก่ กาแล็กโทส (14.9 เปอร์เซ็นต์), ไซโลส (14.3 เปอร์เซ็นต์), กลูโคส (13.2 เปอร์เซ็นต์), ฟูโคส (13.2 เปอร์เซ็นต์), แรมโนส (3.7 เปอร์เซ็นต์), อะราบิโนส (1 เปอร์เซ็นต์) และแมนโนส (0.3 เปอร์เซ็นต์) และมีกรดยูโรนิกเป็นองค์ประกอบอีก 2 ชนิด ได้แก่ กรดกาแล็กทูโรนิก (13.5 เปอร์เซ็นต์) และกรดกลูคูโรนิก (0.9 เปอร์เซ็นต์) นอกจากนี้ยังมีหมูซัลเฟตเป็นองค์ประกอบของโมเลกุลด้วย เป็นผลให้

พอลิเมอร์นอกเซลล์มีประจุเป็นลบ และแสดงพฤติกรรมการไหลแบบ Non-newtonian, pseudoplastic ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้หลากหลาย

สารพอลิเมอร์นอกเซลล์ที่ผลิตได้จากไซยาโนแบคทีเรียสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย อาทิเช่น ด้านการเกษตร (ปรับปรุงความสามารถในการอุ้มน้ำของดิน), ด้านสิ่งแวดล้อม (ดูดซับโลหะหนักในน้ำเสีย), ด้านอุตสาหกรรมอาหาร (สารปรับปรุงเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหาร) และทางด้านการแพทย์ (ต้านแข็งตัวของเลือดและต้านไวรัส) เป็นต้น (Trabelsi *et al*., 2009a; Trabelsi *et al*., 2009b) จากรายงานทางวิทยาศาสตร์การแพทย์พบว่าซัลเฟตพอลิแซ็กคาไรด์ (Sulphated polysaccharides) ที่ผลิตได้จากสาหร่ายสไปรูลิน่ามีคุณสมบัติที่ดีทางด้านชีววิทยาหลายประการ อาทิ แสดงคุณสมบัติต้านแข็งตัวของเลือด (Anticoagulants) และต้านไวรัส (Antiviruses) บางชนิดได้ (Yim *et al*., 2003) นอกจากนี้มีรายงานว่า ส่วนสกัดเมทานอลจากสารพอลิเมอร์นอกเซลล์ของสาหร่าย *S. platensis* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermis* (Gram+) และ *Salmonella typhimurium* (Gram-) ได้ดีและมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระปานกลาง (TEAC = 0.027 mg/ml) (Rafika Challouf *et al*., 2011) จากความสำคัญดังกล่าวเป็นผลให้มีการผลิตพอลิเมอร์นอกเซลล์จากสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับอุตสาหกรรมมากขึ้น

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในระดับอุตสาหกรรมขึ้นอยู่กับปัจจัยแวดล้อมหลายประการ ปัจจัยที่สำคัญมากที่สุดคืออุณหภูมิและความเข้มแสง เพราะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับอัตราการสังเคราะห์แสงและการหายใจ อีกทั้งยังมีผลโดยตรงต่อการผลิตสารแมแทบอไลท์ต่าง ๆ ของสไปรูลิน่าด้วย จากรายงานวิจัยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของสไปรูลิน่ามีความแตกต่างจากสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตพอลิเมอร์นอกเซลล์ ดังรายงานวิจัยของ Trabelsi *et al*., 2009a) ที่รายงานว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ (30 องศาเซลเซียส) และความเข้มแสงสูง ๆ (180 µmol photons/ m^2/s) จะส่งเสริมให้สาหร่ายสไปรูลิน่าเจริญเติบโตได้ดี ในขณะที่การเพาะเลี้ยงที่ความเข้มสูง (> 180 µmol photons/ m^2/s) และอุณหภูมิสูง (35 องศาเซลเซียส) จะส่งเสริมให้สาหร่ายสไปรูลิน่ามีการผลิตพอลิเมอร์นอกเซลล์มากขึ้น ปัจจุบันมีการศึกษาการผลิตพอลิเมอร์นอกเซลล์โดยอาศัยเทคนิคต่าง ๆ เพื่อชักนำให้สไปรูลิน่ามีการผลิตพอลิเมอร์นอกเซลล์เพิ่มมากขึ้น อาทิการการสร้างสภาวะกดดัน (Abiotic stress) ที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงแบบสองขั้นตอน (Two-stage culture method) วิธีการเพาะเลี้ยงแบบนี้จะช่วยลดผลเสียต่าง ๆ อันเนื่องมาจากสภาวะแวดล้อมที่ใช้ในการกดดันที่มีต่อการผลิตพอลิเมอร์นอกเซลล์ ดังรายงานวิจัยของ Lee *et al*., 2012 ที่ศึกษาการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่าย *S. platensis* โดยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบสองขั้นตอนภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบโฟโตออโททรอฟ การเพาะเลี้ยงขั้นตอนแรก (First stage) จะเป็นขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ชีวมวลในปริมาณสูงภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต (96 µmol photons/ m^2/s, 28 องศาเซลเซียส) ส่วนขั้นตอนที่สอง (Second stage) จะเป็นขั้นตอนกระตุ้นให้สาหร่ายสไปรูลิน่ามีการผลิตพอลิเมอร์นอกเซลล์เพิ่มมากขึ้นภายใต้สภาวะกดดันที่เหมาะสม (192 µmol photons/ m^2/s, 35 องศาเซลเซียส, 3 วัน หรือเติมเกลือความ

เข้มข้น 0.75 โมลต่อลิตร NaCl, 2 วัน) นอกจากนี้พบว่าการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะมิกโซทรอฟที่มีการให้แสงร่วมกับกลูโคส สามารถชักนำให้สาหร่ายสไปรูลิน่ามีการผลิตพอลิเมอร์นอกเซลล์เพิ่มมากขึ้นได้ โดยพบว่าอิทธิพลที่มีผลต่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์นอกเซลล์ (EPS concentration) และผลได้ของพอลิเมอร์นอกเซลล์ (EPS yield) มากที่สุดคือความเข้มข้นของกลูโคส Trabelsi *et al*., 2012 รายงานว่าเมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าภายใต้ความเข้มแสง 150 µmol photons/ m^2/s และมีการเติมกลูโคสในอาหารเพาะเลี้ยงความเข้มข้น 2.4 กรัมต่อลิตร สาหร่ายสไปรูลิน่าจะมีการผลิตพอลิเมอร์นอกเซลล์สูงสุดเท่ากับ 369.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่การเพาะเลี้ยงภายใต้ความเข้มแสง 115 µmol photons/ m^2/s และมีการเติมกลูโคส 1.8 กรัมต่อลิตร จะให้ผลได้ของพอลิเมอร์นอกเซลล์สูงที่สุดเท่ากับ 364.3 มิลลิกรัมต่อกรัม

2.6 สีผสมอาหาร

2.6.1 ความสำคัญของสีผสมอาหาร

สีเป็นปัจจัยแรกที่ช่วยดึงดูดให้ผู้บริโภคอยากซื้อสินค้า เนื่องจากสีเป็นปัจจัยแรกที่กระทบประสาทสัมผัสของผู้บริโภค และเป็นคุณลักษณะที่แสดงคุณภาพของสินค้าต่าง ๆ ให้ปรากฏแก่ผู้บริโภค สีของอาหารจะเป็นคุณลักษณะที่ช่วยบอกคุณภาพของอาหารทั้งอาหารธรรมชาติและอาหารที่ผ่านการแปรรูปแล้ว นอกจากนี้ สียังบ่งบอกความแก่อ่อน ลักษณะเฉพาะของผักผลไม้ เนื้อสัตว์ และปลาชนิดต่าง ๆ เป็นต้น สำหรับอาหารที่ผ่านการแปรรูปแล้ว สีที่มีอยู่ตามธรรมชาติมักจะมีการเปลี่ยนแปลง ผู้ผลิตจึงได้พยายามใช้สีผสมอาหารต่าง ๆ ซึ่งอาจเป็นสีธรรมชาติหรือสีสังเคราะห์แต่งผลิตภัณฑ์อาหารให้มีสีใกล้เคียงกับอาหารธรรมชาติ ทั้งนี้เพื่อดึงดูดใจผู้บริโภค (ศิวาพร ศิวเวชช, 2529)

2.6.2 วัตถุประสงค์การใช้สีผสมอาหาร

2.6.2.1 เพื่อแต่งสีผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่มีสี ได้แก่ เครื่องดื่มหรือเครื่องดื่มผงลูกกวาด ไอศกรีม แยม เยลลี่ และอาหารว่าง เป็นต้น เพื่อให้มีสีเป็นที่ดึงดูดใจผู้บริโภค

2.6.2.2 เพื่อตกแต่งสีผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งอาจสูญเสีย หรือเปลี่ยนไปได้มากในระหว่าง กระบวนการผลิต หรือการเก็บรักษา

2.6.2.3 เพื่อแต่งสีผลิตภัณฑ์อาหารที่มีสีธรรมชาติแปรเปลี่ยนตามฤดูกาล และสภาพภูมิอากาศ

2.6.3 ประเภทของสีผสมอาหาร

2.6.3.1 สีอินทรีย์ คือสีที่ได้จากการสังเคราะห์หรือสีสังเคราะห์ (Certified color หรือ Synthetic colorant) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ดายส์ (Dyes) และเลคส์ (Lakes) ดายส์เป็นสีสังเคราะห์ที่ละลายน้ำได้ดี แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนเลคส์เป็นสีสังเคราะห์ที่กระจายตัวได้ในน้ำมัน มีความคงตัวต่อแสง ความร้อน และสารเคมีได้ดีกว่าสีประเภทดายส์

2.6.3.2 สีอนินทรีย์ คือสีที่ได้จากสิ่งไม่มีชีวิตในธรรมชาติ เช่น ผงถ่านที่ได้จากการเผาพืช (Vegetable charcoal) ไทเทเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide) เป็นต้น

2.6.3.3 สีธรรมชาติ (Uncertified color หรือ Natural pigment) คือสีที่สกัดได้จากพืชหรือสัตว์ที่บริโภคได้ เช่น แอนโทไซยานิน เบต้าคาโรทีน เป็นต้น

การใช้สีธรรมชาติมีข้อได้เปรียบจากสีสังเคราะห์ประการหนึ่ง คือได้รับการอนุญาตให้ใช้ได้ในผลิตภัณฑ์อาหารมากกว่าสีสังเคราะห์ โดยทั่วไปการใช้สีผสมในอาหารจะต้องได้รับการควบคุมให้ใช้ภายใต้ข้อกำหนด 3 ประการ ดังต่อไปนี้

1) ข้อกฎหมายประชาชาติ (National Legislation) ของสีผสมอาหารที่มีการอนุญาตให้ใช้ในอาหาร

2) การใช้สีผสมอาหารแต่ละประเทศจะมีการจำกัดโดยข้อกำหนดชนิดของอาหารที่สามารถเติมสีได้

3) ปริมาณการใช้สูงสุดของสีผสมอาหารที่เติมในอาหารต้องมีข้อกำหนดเฉพาะ

2.6.4 อันตรายจากสีสังเคราะห์

2.6.4.1 อันตรายจากสีเอง สีทุกชนิดถ้าใช้มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคไม่มากก็น้อย เนื่องจากเป็นสารแปลกปลอมเข้าไปในร่างกาย หากร่างกายขับถ่ายออกไม่ทันก็จะสะสมอยู่ในร่างกายแล้วอาจก่อให้เกิดอันตรายแก่ร่างกายได้ เช่น สีพวกโรห์ตามีน บี (Rhodamine B) เอารามีน (Auramine) มาลาไคท์ กรีน (Malachite green) และไวโอเลท บี เอ็น พี (Violet BNP) เป็นต้น อาจทำให้เกิดผื่นที่ผิวหนัง หน้าบวม อาเจียน ท้องเดิน อาการชา เพลีย และอ่อนแรงคล้ายเป็นอัมพาต การทำงานของระบบทางเดินอาหาร ไต และตับเสีย สีบางอย่างอาจทำให้เกิดมะเร็งที่ต่อมน้ำเหลืองและอวัยวะอื่น ๆ

2.6.4.2 อันตรายจากสารอื่น กระบวนการผลิตที่แยกเอาสารเจือปนออกไม่หมด สารดังกล่าวได้แก่ โลหะหนักต่าง ๆ เช่น โครเมียม แคดเมียม ปรอท ตะกั่ว สารหนู พลวง และเซลี

เนียม เป็นต้น โลหะหนักเหล่านี้จะเป็นอันตรายต่อร่างกายได้แม้ได้รับเพียงปริมาณเล็กน้อย อาการอาจเป็นทั้งอย่างฉับพลันและเรื้อรัง ซึ่งพิษของโลหะหนักนี้ถ้าเป็นมากอาจเป็นอันตรายแก่ชีวิตได้ นอกจากนั้นยังเป็นสาเหตุของมะเร็งที่อวัยวะอื่น ๆ อีกด้วย

กรอบแนวคิดในการวิจัย

ซี-ไฟโคไซยานิน (C-phycocyanin) เป็นสารประกอบโปรตีนที่พบที่พบมากในไซยาโนแบคทีเรียทำหน้าที่เก็บเกี่ยวพลังงานจากแสงแดดแล้วถ่ายเทพลังงานดังกล่าวผ่านเยื่อหุ้มไทลาคอยด์เข้าสู่ระบบการสังเคราะห์แสงของเซลล์ ซึ่งพบว่าประมาณ 50 % ของโปรตีนทั้งหมดที่มีอยู่ในสาหร่ายสไปรูลิน่าคือซี-ไฟโคไซยานิน การสะสมซี-ไฟโคไซยานินภายในเซลล์ขึ้นอยู่กับปัจจัยและสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่าย อาทิ สายพันธุ์สาหร่าย อุณหภูมิ ความเข้มแสง คุณภาพของแสง ระยะเวลาในการให้แสง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของเกลือ อัตราการเติมอากาศ อัตราการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณแหล่งไนโตรเจน อายุของกล้าเชื้อ ปริมาณกล้าเชื้อ เป็นต้น ซี-ไฟโคไซยานินเป็นสารประกอบที่มีสีฟ้า เรืองแสงได้ ละลายน้ำได้ และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ คุณสมบัติเหล่านี้แตกต่างกันไปขึ้นกับสายพันธุ์ วิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย วิธีการสกัดและกระบวนการหลังการสกัด ซี-ไฟโคไซยานินเป็นสารที่อยู่ภายในเซลล์ของสาหร่าย การสกัดหรือแยกออกมาจำเป็นต้องทำให้ผนังเซลล์แตกก่อน การสกัดซี-ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสามารถใช้ได้ทั้งเซลล์สดและเซลล์แห้งแต่เซลล์สดจะให้ผลผลิตของซี-ไฟโคไซยานินมากกว่าการใช้เซลล์แห้ง โดยกรรมวิธีการที่เหมาะสมในการทำแห้งซี-ไฟโคไซยานินเพื่อการผลิตผงสีสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) เพราะสามารถรักษาคุณภาพและคุณสมบัติต่าง ๆ ของซี-ไฟโคไซยานินไว้ได้มากที่สุด