

การเจริญเติบโตระดับขยายและการผลิตไฟโคไซยานินของสาหร่าย *Spirulina platensis*

TISTR 8666

LARGE SCALE GROWTH AND PHYCOCYANIN PRODUCTION OF *SPIRULINA*

PLATENSIS TISTR 8666

หวลจันทร ใจใส*, สายันท์ นันชนะ

Nuanjun Jaisai*, Sayan Nancha

ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

Biodiversity Research Centre, Thailand Institute of Scientific and Technological Research.

*Corresponding author, e-mail: Kobnuanun08@gmail.com

Received: 20 July 2022; Revised: 27 July 2023; Accepted: 10 August 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเจริญเติบโตสำหรับการผลิตไฟโคไซยานิน ระดับขยาย ปริมาตร 800 ลิตร กลางแจ้งของสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 การศึกษาพบว่า *Spirulina platensis* TISTR 8666 มีศักยภาพในการเจริญเติบโตระดับขยายกลางแจ้ง ซึ่งผลผลิตชีวมวลแห้งมากกว่า 0.60 กรัมต่อลิตร ที่เวลาเพาะเลี้ยง 14-28 วัน และมีปริมาณโปรตีนรวม 44.39 เปอร์เซ็นต์ กรดแอมิโนหลักของชีวมวล คือ กรดกลูตามิก แอสพาร์ติก และลิซีน มีปริมาณ 4487.70, 3012.71 และ 2655.52 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ชีวมวลสาหร่ายนี้ตรวจไม่พบการปนเปื้อนต่อเชื้อก่อโรค *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้ชีวมวลสาหร่ายตรวจพบปริมาณตะกั่ว และสารหนู น้อยกว่า 0.5 และ 0.31 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ชีวมวลสาหร่ายนี้เมื่อนำไปสกัดในอัตราส่วน 1:20 น้ำหนักต่อปริมาตร ด้วยตัวละลายโพแทสเซียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7.0 ให้ผลผลิตสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน 78 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความบริสุทธิ์เทียบเท่ากับไฟโคไซยานินเกรดอาหาร เนื่องจากอัตราส่วนความบริสุทธิ์ (A_{620}/A_{280}) มากกว่า 0.7 เมื่อทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน พบว่ามีปริมาณฟีนอลรวม เท่ากับ 1311.83 ± 1.31 มิลลิกรัมสมมูลแกลลิกแอซิดต่อ 100 กรัม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) เท่ากับความเข้มข้น 0.6532 และ 2.0290 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: สาหร่ายขนาดเล็ก; ไชยานแบคทีเรีย; สไปรูลินา; ไฟโคไซยานิน

Abstract

This research investigated the growth for phycocyanin production in the outdoor environment for 800 L of *Spirulina platensis* TISTR 8666. The results presented that a high yield of dried-weight biomass of *Spirulina*

platensis TISTR 8666 cultured 14-28 days can be obtained. The dry weight of biomass was more than 0.60 g/L and contained 44.39% of total protein. Main amino acid of this biomass was glutamic acid, aspartic acid and leucine, in the number of 4487.70 mg/100 g, 3012.71 mg/100 g and 2655.52 mg/100 g, respectively. This biomass could not be detected *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus*. Moreover this biomass presented lead and arsenic less than 0.5 mg/kg and 0.31±0.07 mg/kg, respectively. This biomass was taken for extraction using 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0). The proportion was 1:20 w/v that can be obtained phycocyanin 78%. This crude phycocyanin-extracted can be defined as phycocyanin food grade, due to the purity ratio (A_{620}/A_{280}) was more than 0.7. Bioactivity studies found that crude extract presented phenol compound content 1311.83±1.31 mgGAE. Antioxidant of DPPH and ABTS scavenging effected with IC_{50} of 0.6532 mg/mL and 2.0290 mg/mL, respectively.

Keywords: Microalgae; Cyanobacteria; Spirulina; Phycocyanin

บทนำ

สาหร่ายสไปรูลินา (*Spirulina platensis*) คือสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว เป็นสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก จัดอยู่ในดิวิชันไซยาโนไฟตา (Cyanophyta) หรือบางครั้งเรียกว่าไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) *Spirulina* spp. มีการผลิตไฟโคไซยานินในปริมาณที่สูง เนื่องด้วยไฟโคไซยานินเป็นรงควัตถุหลักของสาหร่ายสไปรูลินา โดยไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) คือรงควัตถุประกอบสีน้ำเงิน ละลายน้ำได้ดี จัดอยู่ในกลุ่มไฟโคบิลิโปรตีน (Phycobiliprotein, PBP) เชื่อมรวมอยู่กับไฟโคบิลิโปรตีนอื่น ๆ คือ ไฟโคอีริทริน (Phycoerythrin, PE) และอัลโลไฟโคไซยานิน (Allophycocyanin) รวมเรียกว่า ไฟโคไบลิโซม (Phycobilisomes) ซึ่งไฟโคไบลิโซมจะทำหน้าที่เก็บเกี่ยวพลังงานจากแสง แล้วถ่ายเทพลังงานดังกล่าวผ่านเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ (Thylakoid membrane) เข้าสู่ระบบสังเคราะห์แสงของเซลล์ โดยไฟโคไซยานินมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ทั้งนี้อาจพบไฟโคไซยานินได้ในสาหร่ายกลุ่มอื่น เช่น โรโดไฟตา (Rhodophyta) และคริปโตโมแนส (Cryptomonads) เป็นต้น

ปัจจุบันไฟโคไซยานินถูกนำมาใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์มีปริมาณค่อนข้างสูง ด้วยคุณสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไฟโคไซยานิน เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดการอักเสบ มีฤทธิ์ป้องกันมะเร็ง [1] และมีการนำมาใช้ประโยชน์ในการเป็นสารสีธรรมชาติที่เติมแต่ง หรือเป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น หมากฝรั่ง ไอศกรีม เครื่องดื่ม และลูกอม เป็นต้น และในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ได้แก่ ลิปสติก เครื่องสำอางเขียนหน้าตา (eyeliner) ประโยชน์ในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เนื่องจากมีปริมาณโปรตีน วิตามิน เกลือแร่ และกรดไขมันที่จำเป็นในปริมาณสูง นอกจากนี้ยังใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวเคมีในระบบภูมิคุ้มกันวิทยา เนื่องด้วยคุณสมบัติการเรืองแสงของไฟโคไซยานิน [2-5] ทั้งนี้ไฟโคไซยานินใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารกลุ่มหนึ่ง เป็นสารธรรมชาติที่จัดอยู่ในหมวดยอมรับเป็นสารปลอดภัยทั่วไป (Generally Recognized As Safe : GRAS) ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง และยา เพื่อจุดประสงค์ในการแต่งสี [5-7] และในปัจจุบันได้รับความสนใจที่จะนำมาใช้เสริมอาหารมากขึ้น การนำไฟโคไซยานินมาใช้จึงควรคำนึงถึง คือความปลอดภัย ซึ่งจะต้องผ่านกระบวนการประเมินความปลอดภัยทางด้านพิษวิทยา ผลในด้านการสะสม การเสริมฤทธิ์ มีข้อกำหนด และคุณลักษณะเฉพาะ ทั้งนี้ได้มีการศึกษาแล้วว่าปริมาณของไฟโคไซยานินที่มากที่สุดซึ่งได้รับทุกวันแล้วไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษหรือแสดงอาการเจ็บป่วยเชิงลบต่อร่างกาย (No-observed-adverse effect level : NOAEL) อยู่ที่ 5 กรัมต่อกิโลกรัม [8]

แม้ว่าการนำไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลินามาใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์มีปริมาณค่อนข้างสูง แต่ การใช้ประโยชน์จากไฟโคไซยานิน หรือการผลิตไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลินายังจำกัดอยู่เฉพาะในต่างประเทศเท่านั้น ในขณะที่เดียวกันสายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ภายในประเทศก็ยังคงเป็นสายพันธุ์จากต่างประเทศ อย่างไรก็ตามในประเทศไทย ปัจจุบันการใช้ประโยชน์ และการผลิตไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลินาพบยังไม่มากนัก ซึ่งมีแต่เพียงการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการมากกว่าระดับขยายกลางแจ้ง เนื่องจากการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่มีประสิทธิภาพลดลงในสภาวะเปลี่ยนไปสู่ระบบเปิดของระดับขยายกลางแจ้ง มีข้อจำกัดในเรื่องต้นทุนอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงที่มีราคาแพง แม้ว่าหลายการศึกษาได้มีการปรับเปลี่ยนสูตรอาหารเพาะเลี้ยง เพื่อหวังผลใช้เป็นแหล่งทดแทนในการลดต้นทุนอาหารเพาะเลี้ยง โดย ศิริพร ชูเชิด และคณะ (2553) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาในสูตรอาหารน้ำหมักต้นทุนต่ำ 6 ชนิด คือ น้ำหมักมูลสุกร น้ำหมักมูลไก่ น้ำหมักมูลวัว น้ำหมักฟางข้าว น้ำหมักมูลม้า และน้ำหมักมูลแกะ ชนิดละ 20 เปอร์เซ็นต์ ระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าจำนวนเซลล์เฉลี่ยและความหนาแน่นของเซลล์ (optical density : OD) เฉลี่ยของสาหร่ายสไปรูลินาที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารน้ำหมักแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ส่วนอัตราการเติบโตจำเพาะเฉลี่ยไม่มีความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [9] อีกทั้ง อรพรรณ พรหมธนพันธ์ และคณะ (2558) ได้รายงานว่ สาหร่าย *Spirulina platensis* ที่เพาะเลี้ยงระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยอาหารสูตรที่มีน้ำเสียสารอินทรีย์ทำให้สาหร่ายมีความสามารถเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) สูงกว่าอาหารเพาะเลี้ยงปราศจากน้ำเสียสารอินทรีย์ [10] แต่อาจยังมีการตั้งคำถามถึงสารอาหารสูตรธรรมชาติที่ใช้ทดแทนในแง่ของความปลอดภัย และด้านความรู้สึกของผู้บริโภค เบื้องต้นคณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรภายในประเทศสำหรับต่อยอดเชิงพาณิชย์ต่อไป ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษายพันธุ์สาหร่ายคัดเลือก *Spirulina platensis* TISTR 8666 ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย ถึงศักยภาพเจริญเติบโตและการผลิตไฟโคไซยานิน ด้วยสูตรอาหารดัดแปลง Zarrouk ซึ่งมีต้นทุนต่ำ ในระดับขยายกลางแจ้ง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตระดับขยายกลางแจ้ง 800 ลิตร ของสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 และการผลิตไฟโคไซยานิน เพื่อใช้ประโยชน์เป็นส่วนผสมมูลค่าสูง สำหรับต่อยอดเชิงพาณิชย์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาเจริญเติบโตของสาหร่ายในอ่างแบบลู่ (Race way pond) ปริมาตร 800 ลิตร ระดับขยายกลางแจ้ง

การศึกษากการเจริญเติบโตของสาหร่ายในอ่างลู่ ปริมาตร 800 ลิตร ระดับขยายกลางแจ้ง ครั้งนี้ สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้เป็นสายพันธุ์จากคลังเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่าย ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย โดยทำการเพาะเลี้ยง ณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ตำบลคลองห้า อำเภอลองหลวง จังหวัดปทุมธานี

ทั้งนี้ น้ำบาดาลที่ใช้สำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ โดยห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ ศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

ซึ่งคุณลักษณะ ประกอบด้วย ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ความกระด้างทั้งหมด ซัลเฟต คลอไรด์ และไนเตรด เท่ากับ 1,304.00 มิลลิกรัมต่อลิตร 376.00 มิลลิกรัมต่อลิตร 42.14 มิลลิกรัมต่อลิตร 532.82 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.71 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และตรวจไม่พบ เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี จากการทดสอบ 1 ซ้ำ

การเตรียมหัวเชื้อ

นำเซลล์สาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแผ่น (Flat plate photobioreactor; FPP) ขนาด 80 ลิตร โดยใช้ น้ำบาดาล ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Zarrouk [11] พ่นด้วยอากาศผ่านหัวทราย อัตราการไหล 18 ลิตรต่อนาที ทำการเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง เป็นระยะเวลา 14 วัน

การเพาะเลี้ยงและการเก็บเกี่ยว

นำหัวเชื้อ *Spirulina platensis* TISTR 8666 ที่ได้จากการเตรียมหัวเชื้อ ทำการเพาะเลี้ยงในอ่างแบบลู่ ขนาด 1,000 ลิตร ปริมาตรอาหาร 800 ลิตร เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลง Zarrouk ซึ่งใช้สารเคมีเกรดอุตสาหกรรม และเตรียมด้วยน้ำบาดาล ความเข้มข้นหัวเชื้อเริ่มต้นจากการวัดค่าความหนาแน่นของเซลล์ (Optical density, OD) ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Hitachi U-2900UV/VIS, Japan) ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร มีค่าเท่ากับ 0.2-0.3 เพาะเลี้ยงในน้ำหมวนด้วยระบบใบพัดที่มีความเร็ว 9 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน วัดผลการเจริญเติบโตของสาหร่ายทุก 7 วันของการเพาะเลี้ยง ด้วยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์สาหร่าย จากการกรองผ่านกระดาษกรองใยแก้ว (Macherey-nagel, Germany) แล้วนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน (Memmert UF55, Germany) อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักแห้งด้วยเครื่องชั่งวิเคราะห์ 4 ตำแหน่ง (Sartorius QUINTIX 224-1S, Germany) โดยคือน้ำหนักแห้งเป็นกรัมต่อลิตร รายงานผลการเจริญเติบโตของค่าเฉลี่ย น้ำหนักแห้ง $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดสอบ 3 ซ้ำ และวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของอาหารเพาะเลี้ยง เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในช่วงวันดังกล่าว

ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายทั้งหมด โดยกรองผ่านตาข่ายกรอง แพลงค์ตอน ขนาด 21 ไมโครเมตร ล้างเซลล์ด้วยน้ำประปา (500 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง) เซลล์ที่เก็บเกี่ยวได้นำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (CHRIST DELTA 2-24 LSC, Germany) เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร จุลินทรีย์ปนเปื้อน ปริมาณโลหะหนัก (ตะกั่ว และสารหนู) ในชีวมวลสาหร่ายแห้ง และการผลิตไฟโคไซยานิน รวมทั้งปริมาณฟีนอลรวมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีวิเคราะห์ DPPH และ ABTS จากสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน ที่ผลิตได้ ต่อไป

2. วิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร

นำชีวมวลสาหร่ายแห้ง *Spirulina platensis* TISTR 8666 จากการเพาะเลี้ยง ระดับขยายกลางแจ้งมาทำการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารด้วยวิธี In-house method based on official journal of the european communities, L257116 โดยบริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด กรุงเทพมหานคร

3. วิเคราะห์จุลินทรีย์ปนเปื้อน

ทำการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อน ในชีวมวลสาหร่ายแห้งที่ทำการเพาะเลี้ยงระดับขยายกลางแจ้ง ได้แก่ *Escherichia coli* ด้วยวิธี MOST Probable number (MPN) และสำหรับ *Clostridium perfringens* ด้วยวิธี FDA BAM Online, 2001 (Chapter 16) *Salmonella* spp. ด้วยวิธี ISO6579-1 : 2017/Amd.1 : 2020 และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี ISO 6888-3 : 2003/Cor.1 : 2004 โดยบริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด กรุงเทพมหานคร

4. วิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก (ตะกั่ว และสารหนู)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว และปริมาณสารหนู ในชีวมวลสาหร่ายแห้งจากการเพาะเลี้ยงระดับขยายกลางแจ้ง ตามวิธี In-house method base on AOAC 986.15 (2016) ด้วยการใช้อุปกรณ์ Inductively Coupled Plasma

- Optical Emission Spectrometer โดยห้องปฏิบัติการชีวเคมีและจุลชีววิทยา ศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

5. การผลิตไฟโคไซยานิน

นำชีวมวลสาหร่ายแห้ง *Spirulina platensis* TISTR 8666 มาสกัดด้วยตัวทำละลายโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7.0 ในอัตราส่วนสาหร่ายแห้งต่อตัวทำละลาย 1:20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตัดแปลงมาจากวิธีของ Soni *et al.*, (2006) นำมาทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องล้างความถี่สูง (Bandelin SONOREX, Germany) นาน 30 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ต่อด้วยขั้นตอนแช่แข็ง (-40 องศาเซลเซียส) และรอจนกระทั่งละลาย (7 องศาเซลเซียส) จำนวน 2 รอบ เพื่อให้เซลล์แตกและมีการปลดปล่อยไฟโคไซยานินออกมาอย่างสมบูรณ์ ทำการหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง (Thermo scientific Sorvall Lynx 6000, Germany) เก็บของเหลวส่วนใสสีน้ำเงินเหนือตะกอน [12] นำไปทำให้สารเข้มข้น ปริมาตรลดลง 2 เท่าจากปริมาตรเดิม ด้วยเครื่องกลั่นเหวี่ยงสารแบบหมุน (BHUCHI R-210/215, Switzerland) ที่สภาวะอ่างน้ำ 42 องศาเซลเซียส เครื่องทำความเย็นแบบวน ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส ความดัน 50 มิลลิบาร์ นาน 5 ชั่วโมง จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการทำให้แห้งโดยการระเหิดแบบแช่เยือกแข็ง ด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง สารสกัดหยาบไฟโคไซยานินที่ได้เก็บรักษาไว้ที่ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส (Thermo scientific, PLF276, Germany) เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS

การหาความบริสุทธิ์ไฟโคไซยานินของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 โดยนำสารละลายสกัดหยาบไฟโคไซยานิน อัตราส่วนสาหร่ายแห้งต่อตัวทำละลาย 1:20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากขั้นตอนการผลิตไฟโคไซยานิน ที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร (ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดของไฟโคไซยานิน) และค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดของโปรตีน) นำมาคำนวณความบริสุทธิ์ของไฟโคไซยานิน [13] จากการทดสอบ 2 ซ้ำ

อัตราส่วนความบริสุทธิ์ไฟโคไซยานิน (A_{620}/A_{280})

$$= \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง 620 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบไฟโคไซยานินในตัวทำละลาย}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสง 280 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบไฟโคไซยานินในตัวทำละลาย}} \quad (1)$$

เมื่อ ค่าอัตราส่วนความบริสุทธิ์ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.7 คือ เกรดอาหาร

เมื่อ ค่าอัตราส่วนความบริสุทธิ์ 0.7-3.9 คือ เกรดใช้ทำปฏิกิริยา

เมื่อ ค่าอัตราส่วนความบริสุทธิ์ มากกว่า 0.7 คือ เกรดวิเคราะห์

6. วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวมในสารสกัดหยาบไฟโคไซยานินด้วย Folin ciocalteu method ที่ดัดแปลงมาจาก Singleton และ Rossi (1965) โดยผสมสารละลายสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร กับน้ำกลั่น ปริมาตร 7,000 ไมโครลิตร และ Folin ciocalteu reagent (Merck, Germany) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ภายหลังตั้งทิ้งไว้ 2-8 นาที เติมน้ำกลั่น 20 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต (Merck, Germany) ปริมาตร 1,500 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Shimadzu UV-2450, Japan) คำนวณปริมาณฟีนอลรวม ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม (Gallic acid

equivalents, mgGAE.g-100 dry weight) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Sigma, USA) ช่วงความเข้มข้น 50-300 มิลลิกรัมต่อลิตร [14] ซึ่งมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9974

7. วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging capacity)

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน ดัดแปลงจากวิธีการของ Morais *et al.*, (2015) โดยผสมสารละลายสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน แต่ละความเข้มข้น ช่วง 0.2-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร กับสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในจานเพาะเลี้ยง 96 หลุม (Costar, flat bottom, Corning, China) ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาภาดหลุม (Microplate reader, TECAN infinite M200 PRO, USA) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (ทดสอบ 3 ซ้ำ) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Sigma, USA) ช่วงความเข้มข้น 0.002-0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging) และค่าความเข้มข้นที่สามารถจับกับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) [15] จากสมการที่ (2)

$$\% \text{ radical scavenging} = \frac{\text{Abs control} - \text{Abs sample}}{\text{Abs control}} \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ Abs control คือ ค่าการดูดกลืนแสง 517 นาโนเมตรของชุดควบคุม

และ Abs sample คือ ค่าการดูดกลืนแสง 517 นาโนเมตรของชุดทดสอบ

8. วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging capacity)

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน ดัดแปลงจากวิธีการของ Dudonne *et al.*, (2009) โดยผสมสารละลายสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน แต่ละความเข้มข้น ช่วง 0.50-2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร กับสารละลาย ABTS free radical ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงในจานเพาะเลี้ยง 96 หลุม วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาภาดหลุม โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ช่วงความเข้มข้น 0.002-0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Sigma, USA) ช่วงความเข้มข้น 0.005-0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในหน่วยเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) และค่า IC_{50} [16]

$$\% \text{ inhibition} = \left\{ 1 - \left(\frac{\text{Ab sample}}{\text{Ab control}} \right) \right\} \times 100 \quad (3)$$

เมื่อ Abs control คือ ค่าการดูดกลืนแสง 734 นาโนเมตรของชุดควบคุม

และ Abs sample คือ ค่าการดูดกลืนแสง 734 นาโนเมตรของชุดทดสอบ

ผลการวิจัย

1. การศึกษาเจริญเติบโตของสาหร่ายในอ่างแบบลู่ (Race way pond) ปริมาตร 800 ลิตร ระดับขยายกลางแจ้ง

จากผลการทดสอบศักยภาพในการเจริญเติบโตระดับขยายกลางแจ้ง ของสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 ความเข้มแสงอยู่ในช่วง 0-198,401.3 ลักซ์ โดยความเข้มแสงเฉลี่ยสูงสุดอยู่ระหว่างเวลา 10.00-16.00 น. อุณหภูมิอากาศและน้ำอยู่ในช่วง 25.2-39.8 และ 24.7-36.0 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งชีวมวลตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยงอยู่ในช่วง 0.22 ± 0.01 ถึง 0.67 ± 0.08 กรัมต่อลิตร โดยพบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งชีวมวล

สูงสุดวันที่ 21 และต่ำสุดในวันที่ 0 ของการเพาะเลี้ยง แต่อย่างไรก็ตามผลต่างระหว่างน้ำหนักแห้งชีวมวลสาหร่ายเฉลี่ยของการเพาะเลี้ยงวันที่ 21 และวันที่ 28 มีค่าเพียง 0.03 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตร เท่านั้น ดังตารางที่ 1 และค่า pH ของอาหารเพาะเลี้ยงวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยง คือ 8.86 ± 0.02 , 9.57 ± 0.00 , 9.77 ± 0.02 , 9.89 ± 0.01 และ 9.98 ± 0.01 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 น้ำหนักแห้งชีวมวลสาหร่าย เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรดัดแปลง Zarrouk ที่เตรียมด้วยน้ำบาดาลในอ่างแบบลู่ ปริมาตรเพาะเลี้ยง 800 ลิตร ระดับขยายกลางแจ้ง เป็นเวลา 28 วัน

สายพันธุ์สาหร่าย	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ¹				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
<i>Spirulina platensis</i> TISTR 8666	0.22 ± 0.01	0.35 ± 0.01	0.63 ± 0.01	0.67 ± 0.08	0.64 ± 0.02

¹: ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 3 ซ้ำ

2. ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร

สำหรับการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของชีวมวลสาหร่ายแห้ง พบว่าปริมาณความชื้น เถ้า คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน และใยอาหารทั้งหมด มีปริมาณเท่ากับ 5.24, 20.30, 26.21, 3.86, 44.39 และ 10.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับกลุ่มวิตามินที่พบ ประกอบด้วย วิตามินเอ 0.00572 เปอร์เซ็นต์ วิตามินบี 1 น้อยกว่า 0.00003 วิตามินบี 2 เท่ากับ 0.00054 เปอร์เซ็นต์ และวิตามินอี เท่ากับ 0.00103 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งในกลุ่มธาตุอาหาร ได้แก่ แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม แมงกานีส ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม โซเดียม และซิงค์ โดยพบว่าปริมาณแคลเซียม มีสูงสุด ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 คุณค่าทางอาหารของสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 ระดับขยายกลางแจ้ง

รายการ	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
ความชื้น (Moisture)	5.24
เถ้า (Ash)	20.30

ตารางที่ 2 (ต่อ)

คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)	26.21
ไขมัน (Fat)	3.86
โปรตีน (Protein)	44.39
ใยอาหารทั้งหมด (Total Dietary Fiber)	10.77
วิตามินเอ (Vitamin A)	0.00572
วิตามินบี 1 (Vitamin B1)	<0.00003
วิตามินบี 2 (Vitamin B2)	0.00054
วิตามินอี (Vitamin E)	0.00103
แคลเซียม (Calcium)	5.04051
เหล็ก (Iron)	0.20213
แมกนีเซียม (Magnesium)	0.48255
แมงกานีส (Manganese)	0.18378
ฟอสฟอรัส (Phosphorus)	0.04770
โพแทสเซียม (Potassium)	1.57164
โซเดียม (Sodium)	1.46240
ซิงค์ (Zinc)	0.00249

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดแอมิโนที่ทำการวิเคราะห์ พบว่าปริมาณสูงสุด 3 ลำดับแรกคือ กรดแอสพาร์ติก มีปริมาณสูงสุด เท่ากับ 7987.38 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม รองลงมา คือ กรดกลูตามิก มีปริมาณ 7321.94 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และ ลิวซีน มีปริมาณ 4743.62 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณกรดแอมิโนของชีวมวลสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 เพาะเลี้ยงระดับขยายกลางแจ้ง

ชนิดกรดแอมิโน	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)
กรดแอสพาร์ติก (Aspartic Acid)	7987.38
ไอโซลิวซีน (Isoleucine)	2946.50
ลิวซีน (Leucine)	4743.62
ไลซีน (Lysine)	2692.99
เมไทโอนีน (Methionine)	1064.60
ทรีโอนีน (Threonine)	2834.21
ทริปโตเฟน (Tryptophan)	543.19
วาลีน (Valine)	3378.94
อาร์จินีน (Arginine)	3630.09
ซิสทีน (Cystine)	306.43
ไกลซีน (Glycine)	2688.77
ไทโรซีน (Tyrosine)	2664.10

ตารางที่ 3 (ต่อ)

อะลานีน (Alanine)	4416.47
กรดกลูตามิก (Glutamic Acid)	7321.94
ฮิสทีดีน (Histidine)	981.26
โพรลีน (Proline)	1900.38
ซีรีน (Serine)	2860.58
ฟีนิลแอลานีน (Phenylalanine)	2594.48

3. ผลวิเคราะห์จุลินทรีย์ปนเปื้อน

จากผลการวิเคราะห์ตรวจไม่พบการปนเปื้อนจาก *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* ในชีวมวลสาหร่ายแห้งที่ทำการเพาะเลี้ยง

4. ผลวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก (ตะกั่ว และสารหนู)

ผลการตรวจวิเคราะห์หาการปนเปื้อนโลหะหนัก ด้วยการใช้เครื่อง Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometer (Optima 7300DV PerkinElmer, Germany) ได้แก่ ตะกั่ว และสารหนู พบว่าตะกั่วในชีวมวลสาหร่ายปริมาณตรวจพบน้อยกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อความสามารถต่ำสุดที่ตรวจพบด้วย ICP-OES มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณสารหนูตรวจพบ 0.31 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อความสามารถต่ำสุดที่ตรวจพบด้วย ICP-OES มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

5. ผลการผลิตไฟโคไซยานิน

จากการนำชีวมวลแห้งสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 ซึ่งเพาะเลี้ยงระดับขยายกลางแจ้งมาทำการสกัดเพื่อหาผลผลิตไฟโคไซยานิน อัตราส่วนการสกัด 1:2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากผลการทดสอบพบว่าผลผลิตไฟโคไซยานินสกัดหยาบที่ได้จากการใช้ชีวมวลสาหร่ายแห้ง จำนวน 40.05 ± 0.02 กรัม ผลผลิตไฟโคไซยานินสกัดหยาบที่ได้ภายหลังสกัดและทำแห้งด้วยวิธีการระเหิดแบบแช่เยือกแข็ง เท่ากับ 31.42 ± 0.06 กรัม และกากเซลล์ภายหลังการสกัดไฟโคไซยานินออก มีปริมาณเท่ากับ 9.32 ± 0.06 กรัม แสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 1 และเมื่อนำสารสกัดหยาบไฟโคไซยานินที่ได้ไปวัดอัตราส่วนความบริสุทธิ์ (A_{620}/A_{280}) มีค่าเท่ากับ 0.83 ± 0.05 ทั้งนี้อัตราส่วนความบริสุทธิ์ ซึ่งคือการนำผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร นำมาหารกับผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร พบว่าค่าอัตราส่วนความบริสุทธิ์ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.7 หมายถึง สารสกัดไฟโคไซยานินเกรดอาหาร ค่าช่วงระหว่าง 0.7-3.9 หมายถึง สารสกัดไฟโคไซยานินเกรดใช้ทำปฏิกิริยา และมากกว่า 4.0 หมายถึง สารสกัดไฟโคไซยานินเกรดวิเคราะห์ ซึ่งพออนุมานได้ว่าสารสกัดหยาบไฟโคไซยานินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 ระดับขยายในอ่างแบบลู่ ปริมาตร 800 ลิตร กลางแจ้ง มีความบริสุทธิ์ระดับเกรดอาหาร

ตารางที่ 4 ผลผลิตไฟโคไซยานินส จากการผลิตชีวมวลสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 เพาะเลี้ยงระดับขยายกลางแจ้ง

ชีวมวลสาหร่ายที่ใช้เริ่มต้น (กรัม±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ¹	ผลผลิตไฟโคไซยานินสกัดหยาบ (กรัม±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ¹	
	ไฟโคไซยานิน (กรัม)	กากเซลล์ (กรัม)
40.05±0.02	31.42±0.06	9.32±0.06

¹: ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 3 ซ้ำ



ภาพที่ 1 สารสกัดหยาบไฟโคไซยานินจากสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอ่างแบบลู่ 800 ลิตร กลางแจ้ง

6. ผลวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม

ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวมของสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน โดย Folin ciocalteu method เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน มีปริมาณรวมฟีนอล เท่ากับ 1311.83 ± 1.32 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อสาร 100 กรัม โดยสารฟีนอลรวมที่พบมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นโภชนาเภสัช และสามารถใช้อย่างมีประสิทธิภาพเป็นสารส่งเสริมสุขภาพ ช่วยป้องกันโรคภัยต่าง ๆ [17] ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดไฟโคไซยานินมีศักยภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระ

7. ผลวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ผลวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ซึ่งค่า R^2 คือ 0.9991 ค่า IC_{50} เท่ากับความเข้มข้น 0.0075 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายไฟโคไซยานิน ซึ่งค่า R^2 คือ 0.9969 ค่า IC_{50} ของสารสกัดไฟโคไซยานิน เท่ากับความเข้มข้น 0.6532 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

8. ผลวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS พบว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ซึ่งค่า R^2 คือ 0.9995 ค่า IC_{50} เท่ากับความเข้มข้น 0.0041 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารมาตรฐานโทรลอกซ์ ซึ่งค่า R^2 คือ 0.9996 ค่า IC_{50} เท่ากับความเข้มข้น 0.0192 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายไฟโคไซยานิน ซึ่งค่า R^2 คือ 0.9996 ค่า IC_{50} เท่ากับความเข้มข้น 2.0290 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาเจริญเติบโตของสาหร่ายในอ่างแบบลู่ ปริมาตร 800 ลิตร ระดับขยายกลางแจ้ง ของสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรดัดแปลง Zarrouk ซึ่งเตรียมด้วยสารเคมีเกรดอุตสาหกรรมในน้ำบาดาล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่าสามารถเจริญเติบโตได้ดี มีน้ำหนักชีวมวลแห้งสูงสุด เท่ากับ 0.67 ± 0.08 กรัมต่อลิตร วันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง อีกทั้งเมื่อพิจารณาคุณค่าทางอาหาร ยังพบว่ามีความโปรตีนสูงถึง 44.39 เปอร์เซ็นต์ และค่อนข้างสอดคล้องกับการศึกษาของ El-Sayed และ El-Sheekh (2018) ที่ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยง *Spirulina platensis* แบบต่อเนื่อง 3 อ่าง ปริมาตรรวม 75,000 ลิตร ด้วยอาหารสูตรดัดแปลง Zarrouk ใช้ urea และ corn steam liquor เป็นสารทดแทน มีการหมุนเวียนน้ำเพาะเลี้ยงนำกลับมาใช้ใหม่ เก็บผลผลิตทุก 48 ชั่วโมง พบว่าให้ชีวมวลสด 40 กิโลกรัมต่อวัน ซึ่งมีความชื้น 85 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 58-62 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 8-10 เปอร์เซ็นต์ กรดแอมิโนรวม 131.3 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยมี อาร์จินิน กรดกลูตามิก ลิวซีน และฟีนิลอะลานีน เป็นกรดแอมิโนหลัก ตามลำดับ [18] และ Lupatani *et al.*, (2016) รายงานว่าโปรตีนของ *Spirulina platensis* ที่ทำการศึกษามีปริมาณ 460-630 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง โดยขึ้นอยู่กับสภาวะการเพาะเลี้ยง ซึ่งสามารถเทียบเท่ากับโปรตีนจากเนื้อ และถั่วเหลือง [19] เช่นเดียวกับ Gabr *et al.*, (2020) ได้รายงานว่าองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *Spirulina platensis* ประกอบด้วยความชื้น 7.5 ± 0.685 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 49.72 ± 0.508 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรตรวม 10.3 ± 0.333 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 7.2 ± 0.105 เปอร์เซ็นต์ ฟีนอลรวม 51.20 ± 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [20] อย่างไรก็ตาม Saranraj และ Sivasakthi (2014) ได้รายงานว่าการได้รับโปรตีนจากการบริโภคสาหร่าย *Spirulina platensis* 1 กรัมเทียบเท่ากับการบริโภคผักถึง 1 กิโลกรัม รวมทั้งองค์ประกอบกรดแอมิโนของโปรตีนสาหร่าย *Spirulina platensis* คุณภาพดีที่สุดในพืชทุกชนิด และมากกว่าถั่วเหลือง [21] ชีวมวลที่ได้ครั้งนี้ไม่พบการปนเปื้อนจาก *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563 [22] รวมถึงสารปนเปื้อนกลุ่มโลหะหนัก ได้แก่ ตะกั่ว และสารหนู ตามเกณฑ์มาตรฐานสารปนเปื้อน ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 414) พ.ศ. 2563 [23]

เมื่อตรวจสอบผลผลิตของสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน โดยนำมาสกัดในอัตราส่วน 1:20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ผลผลิตสารสกัดหยาบไฟโคไซยานินที่ได้ เท่ากับ 31.42 ± 0.06 กรัม คิดเป็นผลผลิตสารสกัดหยาบไฟโคไซยานิน 78.45 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบคุณสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่ามีปริมาณฟีนอลรวม เท่ากับ 1311.83 ± 1.31 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อสาร 100 กรัม มีรายงานว่าที่ความเข้มข้นสารประกอบ ฟีนอล 202 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้นาน 180 นาที [24]

สำหรับศักยภาพออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) เท่ากับความเข้มข้น 0.6532 และ 2.0290 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Gabr *et al.*, (2020) ถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DDPH ไฟโคไซยานิน [20]

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *Spirulina platensis* TISTR 8666 มีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงในระดับขยายกลางแจ้ง ซึ่งเป็นสภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีปัจจัยภายนอกมากระทบต่อการเจริญเติบโต ดังเช่น แสง อุณหภูมิ และอื่น ๆ เป็นต้น และเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารดัดแปลง Zarrouk ซึ่งมีราคาต่ำกว่าสูตรมาตรฐานอาหาร Zarrouk ถึง 30 เท่า และยังคงไว้ซึ่งคุณค่าทางโภชนาการที่สูง ดังนั้นจึงมีประโยชน์อย่างยิ่งที่จะนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ สำหรับเป็นแหล่งโปรตีนทดแทน และส่วนผสมมูลค่าสูงในอุตสาหกรรมอาหารคน และ/หรือสัตว์ อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ไดโนนาคต ทั้งนี้ควรมีการปรับเปลี่ยนชนิดน้ำ

อื่น ๆ สำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงแทนน้ำตาล เพื่อลดความเสี่ยงจุลินทรีย์และสารปนเปื้อนที่ปนมากับแหล่งน้ำธรรมชาติ รวมถึงตรวจสอบความคงตัว และความปลอดภัยของสารสกัดไฟโคไซยานิน เพิ่มเติม สำหรับนำสารสกัดมาพัฒนาเป็นส่วนผสมผลิตภัณฑ์อาหารมนุษย์เพื่อผลต่อสุขภาพ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- [1] Bhaskar, S. U., Gopalaswamy, G., and Raghu, R. (2005). A simple method for efficient extraction and purification of c-phycocyanin from *Spirulina platensis* Geitler. *Indian Journal of Experimental Biology*, 43, 277-279.
- [2] Cherng, S. C., Cheng, S. N., Tarn, A., and Chou, T. C. (2007). Anti-inflammatory activity of c-phycocyanin in lipopolysaccharide-stimulated raw 264.7 macrophages. *The Journal of Life Sciences*, 81, 1431-1435.
- [3] Manconia, M., Pendás, J., Ledón, N., Moreira, T., Sinico, C., Saso, L., and Fadda, A. M. (2009). Phycocyanin liposomes for topical anti-inflammatory activity: In-vitro in-vivo studies. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61, 423-430.
- [4] Vo, T. S., Ryu, B. M., and Kim, S. K. (2013). Purification of novel anti-inflammatory peptides from enzymatic hydrolysate of the edible microalgal *Spirulina maxima*. *Journal of Functional Foods*, 5(3), 1336-1346.
- [5] Antelo, F. S., Anschau, A., Costa, J. A. V., and Kalil, S. J. (2010). Extraction and purification of c-phycocyanin from *spirulina platensis* in conventional and integrated aqueous two-phase systems. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21(5), 921-926.
- [6] Kim, S. K., Ravichandran, Y. D., Khan, S. B., and Kim, Y. T. (2008). Prospective of the cosmeceuticals derived from marine organisms. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13, 511-523. <https://doi.org/10.1007/s12257-008-0113-5>
- [7] Yoshida, A., Takagaki, Y., and Nishimune, T. (1996). Enzyme immunoassay for phycocyanin as the main component of spirulina color in foods. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 60(1), 57-60. <https://doi.org/10.1271/bbb.60.57>
- [8] Ou, Y., Lin, L., Pan, Q., Yang, X., and Cheng, X. (2012). Preventive effect of phycocyanin from *Spirulina platensis* on alloxaninjured mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34(3), 721-726. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.09.016>
- [9] Cherdchoo, S., Srinuansom, K., Pattanakaitcheewin, S., Promya, J., Montien-art, B., and Traichaiyaporn, S. (2010). Cultivation of *Spirulina platensis* in liquid fermentation medium of low cost diet. *Journal of Fisheries Technology Research*, 4(2), 26-33.
- [10] Phomtanaphun, A., Pinta, K., and Prommana, R. (2015). Effect of cultural media on antioxidative activity of *Spirulina platensis*. *Naresuan Phayao Journal Health Science, Science and Technology*, 8(3), 150-154.
- [11] Zarrouk, C. (1966). *Contribution a l'etude d'une cyanobacterie: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de Spirulina maxima (Setchell et Gardner) Geitler*. Doctor of Philosophy. France: University of Paris.

- [12] Soni, B., Kalavadia, B., Trivedi, U., and Madamwar, D. (2006). Extraction purification and characterization of phycocyanin from *Oscillatoria quadripunctulata*-Isolated from the rocky. *Process Biochemistry*, 41, 2017-2023.
- [13] Fernández-Rojas, B., Hernández-Juárez, J., and Pedraza-Chaverri, J. (2014). Nutraceutical properties of phycocyanin. *Journal of Functional Foods*, 11, 375-392.
- [14] Singleton, V. L., and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- [15] Morais, D. R., Rotta, E. M., Sargi, S. C., Schmidt, E. M., Bonafe, E. G., Eberlin, M. N., Sawaya, A. C. H. F., and Visentainer, J. V. (2015). Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI (-)-MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. *Food Research International*, 77(3), 392-399.
- [16] Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., and Mérillon, J. (2009). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768–1774.
- [17] Giada, M. L. R., and Filho, J. M. (2006). The Importance of Dietary Phenolic Compounds in The Promotion of Human Health. *Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde*, 12(4), 7-15.
- [18] El-sayed, A. E. B., and El-sheekh, M. M. (2018). Outdoor Cultivation of *Spirulina platensis* for Mass Production. *Notulae Scientia Biologicae*, 10(1), 38-44. <https://doi.org/10.15835/nsb10110177>
- [19] Lupatani, A. L., Colla, L. M., Canan, C., and Colla, E. (2016). Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97, 724-732.
- [20] Gabr, G. A., El-Sayed, S. M., and Hikal, M. S. (2020). Antioxidant Activities of Phycocyanin: A Bioactive Compound from *Spirulina platensis*. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32(2), 73-85.
- [21] Saranraj, P., and Sivasakthi, S. (2014). *Spirulina platensis*-Food for Future: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(1), 26-33.
- [22] Notification of the Ministry of Public Health No. 416 B.E. 2563 Issued by virtue of the Food Act B.E. 2522 Re : Prescribing the quality or standard, principles, conditions and methods of analysis for pathogenic microorganisms in foods. (2563). Published in the Government Gazette Volume 137, Special Part 237 Ngor Page 9.
- [23] Notification of the Ministry of Public Health No. 414 B.E. 2563 Issued by virtue of the Food Act B.E. 2522 Re : Standards for Contaminants in Food. (2563). Published in the Government Gazette Volume 137, Special Part 118 Ngor Page 17.
- [24] Souza, T. D., Prietto, L., Souza, M. M., and Furlong, E. B. (2015). Profile, antioxidant potential, and applicability of phenolic compounds extracted from *Spirulina platensis*. *African Journal of Biotechnology*, 14(41), 2903-2909.