รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความหลากหลายของสาหร่ายที่เจริญในสภาพแวดล้อมวิกฤต เพื่อการเก็บรักษาสายพันธุ์และการจัดทำฐานข้อมูล

Diversity of Extremophilic Algae for Strain Preservation and Database Management

สุทธวรรณ สุพรรณ

สิริแข พงษ์สวัสดิ์

วันทนีย์ เขตต์กรณ์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

งบประมาณประจำปี 2562

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์นี้นี้สำเร็จลงได้อย่างดีคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ได้สนับสนุนงบประมาณประจำปี 2562 ในการทำโครงการวิจัย เรื่อง ความหลากหลายของสาหร่ายที่เจริญในสภาพแวดล้อมวิกฤต เพื่อการเก็บรักษาสายพันธุ์และการจัดทำฐานข้อมูลนี้

ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี ราชมงคลธัญบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการทดลอง อุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือต่างๆ ในการทำการทดลอง

คณะผู้จัดทำ

Abstract

A study on diversity and algal isolation from high Ultraviolet Radiation (UV) from Ayutthaya Historical Park, Phra Nakhon Si Ayutthaya Province and RMUTT Lotus Museum, Pathumthani Province were investigated. Ten genus, 7 family in 2 division of algae were found and the dominant genus were *Chroococcus* spp., *Scytonema* spp. and *Lyngbya* spp., respectively. Nine strain were isolated in laboratory and UV resistant test by spot test technique under UVA, UVB and UVC for 7 day (Light : Dark = 12:12 hr.) were done. Six strains were grown under UVA, UVB and UVC and only 1 strain was grown under UVC. Crude extract from 7 strains were measured amount of pigment, antioxidant and total phenolic compound under UVA, UVB and UVC for 7 day (Light : Dark = 12:12 hr.). Cyanobacteria NM01 Strain was highest amount of pigment when cultured under normal light. It was found that chlorophyll a, carotenoid, allo-phycocyanin and phycocyanin were 672 ±12.67 µg/ml, 24.69 ± 0.7050 mg/g, 0.053 ± 0.001 mg/mL and 0.218 ± 0.004 mg/mL, respectively. Beside that, cyanobacteria NM01 Strain was also highest amount of antioxidant at 78.09 ± 1.511 percent inhibition when cultured under normal light. For the amount of total phenolic compound, it was found cyanobacteria NM05 Strain was highest at 44.8 ± 0.214 mg/g when cultured under UVC.

Keywords : Biodiversity, Algal Isolation, Bioactive Compound, Ultraviolet Radiation

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายและการแยกคัดสาหร่ายที่อาศัยอยู่สิ่งแวดล้อมที่มีรังสีอัลตราไวโอเลต (UV) สูงจากอุทยานประวัติศาสตร์จังหวัดพระนครศรีอยุธยาและพิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี พบสาหร่ายทั้งหมด 10 จีนัส 7 แฟมิลี่ ใน 2 ดิวิชัน สาหร่ายชนิดเด่นได้แก่ *Chroococcus* spp., *Scytonema* spp. และ *Lyngbya* spp. ตามลำดับ และสามารถคัดแยกในห้องปฏิบัติการได้ 9 ไอโซเลต นำสาหร่ายทั้ง 9 สายพันธุ์ มาทดสอบความสามารถในการทน UV ด้วยวิธี Spot test แล้วบ่มในสภาวะที่รังสี UV ชนิดต่างๆ วางใต้ UVA, UVB และ UVC เป็นเวลา 7 วันให้แสง 12 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 12 ชั่วโมงพบว่ามี 6 สายพันธุ์ที่สามารถเจริญเติบโตใต้แสง UV ทั้ง 3 ชนิด และพบมี 1 สายพันธุ์ ที่สามารถเจริญเติบโตได้ภายใต้การฉาย UVC เพียงอย่างเดียว จากนั้นจึงนำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสายพันธุ์ดังกล่าวมาศึกษาปริมาณรงควัตถุ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลรวม หลังการเพาะเลี้ยงภายใต้รังสี UVA, UVB และ UVC เป็นเวลา 7 วันให้แสง 12 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายใต้ UV มีผลต่อปริมาณการผลิตรงควัตถุ พบว่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน NM01 มีปริมาณการผลิตรงควัตถุมากที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงใต้แสงไฟปกติ โดยมีปริมาณ คลอโรฟิลล์ *เอ* เท่ากับ 672 ±12.67 µg/ml ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 24.69 ± 0.7050 mg/g แอลโลไฟโคไซยานินเท่ากับ 0.053 ± 0.001 mg/mL และปริมาณไฟโคไซยานินเท่ากับ 0.218 ± 0.004 mg/mL ยังพบอีกว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสายพันธ์ NM01 มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดสำหรับการเพราะเลี้ยงใต้แสงไฟปกติ มีค่าเท่ากับ 78.09 ± 1.511 เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน NM05 มีปริมาณ Total phenolic compound สูงสุดสำหรับการเพาะเลี้ยงใต้รังสี UVC โดยมีค่าเท่ากับ 44.8 ± 0.214 mg/g

คำสำคัญ : ความหลากหลายทางชีวภาพ การคัดแยกสาหร่าย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ รังสีอัลตราไวโอเลต

สารบาญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
ABSTRACT	ข
บทคัดย่อ	ค
สารบาญ	ง
สารบาญภาพ	ฉ
สารบาญตาราง	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	4
2.1 อาณาจักรโปรติสตา (Kingdom Protista)	5
2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสาหร่าย	6
2.3 การจัดจำแนกสาหร่าย	8
2.4 ความสำคัญของสาหร่าย	11
2.5 ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria)	14
2.6 รังสีอัลตร้าไวโอเลต (Ultraviolet)	14
2.7 ภาวะโลกร้อน (Global Warming)	16
2.8 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	17
2.9 สารต้านอนุมูลอิสระ	18
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง	22
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และจุลินทรีย์	22
3.2 วิธีการทดลอง	25
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	35
4.1 ผลการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ	35
4.2 ผลการคัดแยกสาหร่ายที่อยู่ในสิ่งแวดล้อม UV สูง	40
4.3 ผลการระบุชนิดของสาหร่าย	44
4.4 ผลการคัดเลือกสาหร่ายที่ทนยูวีชนิดต่าง ๆ	47
4.5 ช่วงดูดกลืนรังสียูวีของสารสกัดสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงภายใต้รังสี UV	48

4.6 การวิเคราะห์สารสีหรือรงควัตถุ 49
4.7 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 55
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 59
เอกสารอ้างอิง 60
ภาคผนวก 63

สารบาญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แผนที่จุดเก็บตัวอย่างในเขตอุทยานประวัติศาสตร์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 25

ภาพที่ 2 พื้นที่เก็บตัวอย่างในเขตอุทยานประวัติศาสตร์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 26

ภาพที่ 3 พื้นที่เก็บตัวอย่างพิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี 28

ภาพที่ 4 สาหร่าย Division Cyanophyta ที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ 37

ภาพที่ 5 สาหร่าย Division Cyanophyta ที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ 38

ภาพที่ 6 สาหร่าย Division Chlorophyta ที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ 39

ภาพที่ 7 สัณฐานวิทยาของสาหร่ายที่คัดแยกได้ 41

ภาพที่ 8 สัณฐานวิทยาของสาหร่ายที่คัดแยกได้ 42

ภาพที่ 9 สัณฐานวิทยาของสาหร่ายที่คัดแยกได้ 43

ภาพที่ 10 จีโนมิคดีเอ็นเอที่สัดได้จากไซยาโนแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ที่ทดสอบและวิเคราะห์บนเจลอะกาโรส 0.8 เปอร์เซ็นต์ 44

ภาพที่ 11 การตรวจการเกิด Primer dimer และเกิด Hairpin loop ของลำดับนิวคลีโอไทด์ Primer ด้วยโปรแกรม Oligo Calc 45

ภาพที่ 12 ผลการเพิ่มปริมาณและการทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด Kit (PureLinkTM Genomic DNA Mini Kit) ของยีน *16*S rDNA จากไซยาโนแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ 46

ภาพที่ 13 การคัดเลือกสาหร่ายที่ทนยูวีชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิค spot test 47

ภาพที่ 14 ช่วงดูดกลืนรังสียูวีของสารสกัดสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงภายใต้รังสี UV ชนิดต่าง ๆ 48

ภาพที่ 15 ผลการสกัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ จากสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้การเลี้ยงใต้ UV ที่แตกต่างกัน วัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 630, 645, 665 และ750 นาโนเมตร 51

ภาพที่ 16 ผลการสกัดปริมาณแคโรทีนอยด์ จากสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้การเลี้ยงใต้ UV ที่แตกต่างกัน จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 560 นาโนเมตร 52

ภาพที่ 17 ผลการสกัด ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้การเลี้ยงใต้ UV ที่แตกต่างกัน จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 562, 615 และ 652 นาโนเมตร 53

ภาพที่ 18 ผลการสกัดแอลโลไฟโคไซยานินจากสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้การเลี้ยงใต้ UV ที่แตกต่างกัน จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 562, 615 และ 652 นาโนเมตร 54

ภาพที่ 19 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิค (mg/ml) ของการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH) 56
ภาพที่ 20 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ของสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้การเลี้ยงใต้ UV ที่แตกต่างกัน จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 517 นาโนเมตร 57
ภาพที่ 21 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิค (mg/ml) ของการวิเคราะห์ฟีนอลรวม (Total phenolic -compounds) 57
ภาพที่ 22 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ Total Phenolic compounds จากสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้รังสี UV ที่แตกต่างกัน จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 765 นาโนเมตร 58

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

สารบาญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 รายละเอียดของแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง	27
ตารางที่ 2 ชนิดของสาหร่ายที่พบในพื้นที่อุทยานประวัติศาสตร์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา และ พิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี	36
ตารางที่ 3 สาหร่ายที่คัดแยกได้ในห้องปฏิบัติการ	40
ตารางที่ 4 ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *16*S rRNAไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *16*S rRNA	45

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ความหลากหลายทางชีวภาพ (Biodiversity) นับได้ว่าเป็นสิ่งมหัศจรรย์อย่างหนึ่งที่ปรากฏขึ้นในโลก นับตั้งแต่ยุคกำเนิดโลกจนถึงปัจจุบัน การเปลี่ยนแปลงของกลุ่มสิ่งมีชีวิต ตลอดจนปัจจัยทางกายภาพที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของสิ่งมีชีวิต ยังคงมีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องไม่มีที่สิ้นสุด ซึ่งส่งผลให้ชนิดพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตบางชนิดที่อุบัติขึ้นบนโลกอาจสาบสูญไป และในทางตรงกันข้ามสิ่งมีชีวิตบางชนิดอาจมีการปรับตัวให้สามารถที่จะรักษาชนิดพันธุ์ของตนให้อยู่รอด และเพิ่มจำนวนมาสู่รุ่นลูกหลานจนถึงปัจจุบันได้ สำหรับประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศที่ตั้งอยู่ในระบบนิเวศป่าเขตร้อนชื้น อีกทั้งยังมีสภาพภูมิประเทศที่แตกต่างกันในแต่ละภูมิภาค ทำให้ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความสำคัญด้านความหลากหลายทางชีวภาพแห่งหนึ่งในภูมิภาคอาเซียนและทวีปเอเชีย แต่ปัญหาสำคัญที่ประเทศไทยและทุกประเทศทั่วโลกกำลังเผชิญอยู่ในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมา คือ มลพิษความร้อน (Thermal pollution) ที่นับวันจะทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากชั้นบรรยากาศของโลกถูกทำลายไปมาก จนทำให้รังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet, UV) จากดวงอาทิตย์ส่องลงมายังผิวโลกได้มากขึ้น เป็นสาเหตุให้อุณหภูมิของโลกสูงขึ้น จนกลายเป็นภาวะโลกร้อน (Global warming) ปริมาณรังสีจากดวงอาทิตย์ที่แผ่ลงมาบริเวณผิวโลก จัดเป็นมลสารสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตทั้งทางกายภาพและกระบวนการทางชีวเคมี อาทิเช่น การเจริญเติบโต พฤติกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งรังสียูวีจะส่งผลกระทบต่อสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต คือ ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ จนทำให้สิ่งมีชีวิตชนิดนั้นๆ อาจมีการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมไปจากเดิม หรืออาจถึงขั้นสูญพันธ์ได้

จากปัญหาสำคัญดังกล่าวที่เกิดขึ้นในทุกประเทศทั่วโลกรวมถึงประเทศไทย จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องหาแนวทางการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้น เช่น การศึกษาเพื่อให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงของความหลากหลายทางชีวภาพและการรักษาความหลากหลายทางชีวภาพให้คงอยู่อย่างยั่งยืน ซึ่งองค์ความรู้ที่เกิดขึ้นจากการศึกษาด้านความหลากหลายทางชีวภาพเหล่านี้ เช่น การปรับตัวด้านพฤติกรรมของสิ่งมีชีวิต การเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยา โครงสร้างและสรีรวิทยาของสิ่งมีชีวิต หรือแม้กระทั่งสารเมทาบอไลท์ที่สิ่งมีชีวิตสร้างขึ้นเพื่อการอยู่รอดของเผ่าพันธุ์ จะเป็นประโยชน์ต่อการที่มนุษย์สามารถนำไปใช้ในการควบคุมสมดุลของระบบนิเวศ เพื่อให้สิ่งมีชีวิต

ที่เราสามารถนำมาใช้ประโยชน์ เช่น จุลินทรีย์สามารถดำรงพันธุ์อยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป

จากการศึกษาด้านวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต องค์ประกอบในระบบนิเวศกลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญ คือ สาหร่าย (algae) เนื่องจากสาหร่ายเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตกลุ่มแรกๆ ที่ปรากฏขึ้นบนโลกที่สามารถสร้างอาหารเองได้ (autotroph) ซึ่งนอกจากจะทำหน้าที่สร้างอาหารให้กลุ่มผู้บริโภคแล้วยังมีบทบาทสำคัญต่อการหมุนเวียนของแร่ธาตุต่าง ๆ ในระบบนิเวศด้วย เช่น เป็นผู้ผลิต (producer) ในห่วงโซ่อาหาร รวมทั้งเป็นผู้ผลิตออกซิเจนให้แหล่งน้ำ สำหรับการดำรงชีวิตของสาหร่ายนั้นแบ่งเป็น 2 กลุ่มนั่นคือ สาหร่ายที่ล่องลอยตามกระแสน้ำ (planktonic algae) และสาหร่ายยึดเกาะ (benthic algae) ปัจจุบันมีการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ มากมาย อาทิเช่น การใช้ประโยชน์ในด้านการใช้เป็นดัชนีทางชีวภาพ เพื่อบ่งชี้คุณภาพน้ำบริเวณต่าง ๆ ยิ่งไปกว่านั้นสาหร่ายหลายชนิดในระบบนิเวศ ยังเป็นประโยชน์ต่อการนำมาประยุกต์ใช้ในด้านการผลิตอาหารเสริม การผลิตสารอุตสาหกรรม การเกษตร เช่น การนำมาทำปุ๋ยหมักชีวภาพ การแพทย์ เช่น การผลิตสารปฏิชีวนะ การเพิ่มปริมาณออกซิเจนในการบำบัดน้ำเสีย การใช้สาหร่ายผลิตพลังงานชนิดต่าง ๆ เป็นต้น เมื่อพิจารณาในแง่ของความหลากหลายทางด้านสาหร่ายของประเทศไทย เทียบกับในระดับโลก พบว่าประเทศไทยถูกกำหนดให้อยู่ในภูมิภาคที่เรียกว่า Indo-Malaysian North-Australian region โดยมีรายงานการค้นพบสาหร่ายจำนวนมากกว่า 4,700 ชนิด พบว่ามากกว่า 2,680 ชนิดเป็นแพลงก์ตอนพืชกลุ่มเดสมิด นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายมากกว่า 800 ชนิด พบได้เฉพาะในภูมิภาคนี้เท่านั้น (Vyverman, 1996) ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่า ยังมีสาหร่ายหลายชนิดที่ยังไม่มีการค้นพบและสามารถนำมาพัฒนาต่อยอดในด้านต่าง ๆ ในอนาคตได้ นอกจากนี้สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่มีการพัฒนากลไกที่ช่วยป้องกันเซลล์จากรังสียูวีได้ดี โดยเฉพาะรังสียูวีบีและยูวีเอ (UV-B and UV-A) ตัวอย่างเช่น การสร้างเมือก (sheath) มาห่อหุ้มเซลล์ การผลิตรงควัตถุ เช่น กลุ่มแคโรทีนอยด์และกลุ่มไฟโคบิลิโปรตีน สารประกอบฟีโนลิก กลไกในการซ่อมแซม DNA ทั้งทางตรงและทางอ้อม ตลอดจนการสังเคราะห์ทางชีวภาพของสารดูดซับ/ป้องกันรังสียูวี (UV-absorbing/screening compound) เช่น Mycosporine-like Amino Acids (MAAs) เป็นต้น โดยสารดูดซับ/ป้องกันรังสียูวี (UV-absorbing/screening compound) หรือ MAAs นี้ เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถปกป้องเซลล์ของมนุษย์ไม่ให้ถูกทำลายโดยรังสียูวีได้ โดยเฉพาะรังสียูวีบีและยูวีเอ (UV-B and UV-A)

โดยสาร MAAs สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิต เช่น เฮเทอโรโทฟิคแบคทีเรีย ไลเคน เชื้อรา สาหร่ายขนาดเล็กและสาหร่ายขนาดใหญ่

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงได้มุ่งเน้นถึงการศึกษาความหลากหลายและการคัดแยกสาหร่ายกลุ่มของสาหร่ายยึดเกาะ (benthic algae) ที่เจริญเติบโตได้ดีในบริเวณที่มีระดับความเข้มข้นของรังสีอัลตราไวโอเลตสูงเป็นระยะเวลานาน เพื่อการเก็บรักษาสายพันธ์และการจัดทำฐานข้อมูลของสาหร่ายที่เจริญในสภาพแวดล้อมวิกฤตมีระดับความเข้มข้นของรังสีอัลตราไวโอเลตสูง ซึ่งในประเทศไทยยังไม่เคยมีการรายงานการจัดทำฐานข้อมูลทางด้านนี้มาก่อน เพื่อการนำสายพันธุ์ของสาหร่ายที่ทนต่อรังสีอัลตราไวโอเลตและมีศักยภาพในการสร้างสารดูดซับรังสียูวี (UV screening) หรือการป้องกันรังสียูวี (UV Protecting) ในปริมาณมากมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพ.สธ.)

1.2.2 เพื่อศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายยึดเกาะที่เจริญในสภาพแวดล้อมวิกฤตจากระดับความเข้มข้นของรังสีอัลตราไวโอเลตสูง

1.2.3 เพื่อคัดแยกและเพาะเลี้ยงสาหร่ายในเก็บเป็น stock culture

1.2.4 เพื่อเก็บรักษาสายพันธุ์ของสาหร่ายที่คัดแยกได้

1.2.5 เพื่อจัดทำฐานข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของสาหร่ายที่เจริญในสภาพแวดล้อมวิกฤตจากระดับความเข้มข้นของรังสีอัลตราไวโอเลตสูง

บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

ในการศึกษาความหลายหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในประเทศไทยนั้น เริ่มครั้งแรกเมื่อราวร้อยปีที่ผ่านมา พบว่างานวิจัยส่วนใหญ่มักทำโดยนักวิจัยชาวต่างประเทศโดย Wongrat (1995) อ้างถึงการศึกษาสาหร่ายน้ำจืดรุ่นบุกเบิกของประเทศไทยจากรายงาน “Flora of Koh Chang” ของ West and G.S West ในปี ค.ศ. 1901 ที่เกาะช้างพบสาหร่าย ทั้งหมด 98 สกุล 418 ชนิด ต่อมา Hirano (1992) ได้รายงาน สาหร่ายทั้งหมด 27 จีนัส 663 สปีชีส์ และพบว่า 99 ชนิด พบเฉพาะในเขตร้อนชื้นนี้เท่านั้น โดยเก็บตัวอย่างทั้งหมดจากประเทศไทยและมาเลเซีย รายงานการศึกษาทางด้านนี้ในประเทศไทยยังมีมาอย่างต่อเนื่องทั้งนักวิจัยชาวต่างประเทศและนักวิจัยในประเทศไทย ซึ่งทำให้ได้องค์ความรู้ใหม่เพิ่มขึ้นและในหลายงานวิจัยยังได้ค้นพบสาหร่ายชนิดใหม่อีกด้วย แต่งานวิจัยด้านความหลากหลายของสาหร่ายจะเน้นการศึกษาสาหร่ายในระบบนิเวศทางน้ำเป็นส่วนใหญ่ โดยพบว่ามีรายงานน้อยมากที่ศึกษาเกี่ยวกับสาหร่ายที่เจริญในระบบนิเวศบนบก (terrestrial ecosystem) โดยเฉพาะอย่างยิ่งระบบนิเวศที่รุนแรง หรือ สุดขั้ว (extreme environment) ที่มีปริมาณรังสียูวีสูง โดยรายงานการศึกษาทางด้านนี้มีการศึกษาโดยนักวิจัยชาวต่างชาติ โดย Rath *et al*. (2012) ได้ทำการคัดแยกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Lyngbya aestuarii* จากทะเลสาบ Chilika lagoon ซึ่งมีความเค็มอยู่ในช่วง 3-28 ppt และนำมาศึกษาว่าความเค็มมีผลต่อการสร้างสารป้องกันแสงแดดหรือไม่ และจากการทดลองพบว่า สาหร่ายดังกล่าวจะมีปริมาณสารป้องกันแสงยูวีสูงสุดเมื่อมีความเค็มอยู่ที่ 56 ppt และพบว่าปริมาณสารป้องกันแสงยูวีต่ำสุดเมื่อมีความเค็มอยู่ต่ำกว่า 7 ppt นอกจากนี้ Rastogi and Incharoensakdi (2013) ได้ทำการกระตุ้นการสร้างสารป้องกันแสงแดดของสาหร่ายสีเขียว *Tetraspora* sp. โดยใช้รังสียูวี พบว่า ความเข้มข้นของสาร MAAs จะสูงขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาการได้รับรังสียูวี เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการป้องกันแสงยูวีบีในแบคทีเรีย *Escherichia coli* พบว่าแบคทีเรียดังกล่าวสามารถทนต่อรังสียูวีบีได้ จะเห็นได้ว่าสาร MAAs ในสาหร่ายสีเขียว *Tetraspora* sp. มีศักยภาพในการใช้เป็นสารป้องกันแสงยูวีได้ และ Rastogi *et al.* (2014) ได้ทำการคัดแยกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Gloeocapsa* sp. CU-2556 จากธรรมชาติซึ่งมีลักษณะการเจริญเป็นแผ่นฟิล์มปกคลุมรูปปั้นในเขตกรุงเทพมหานคร และนำมาศึกษาความคงตัวของสารป้องกันยูวีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดลองพบว่า

สาหร่ายดังกล่าว สามารถสร้างสาร ได้สาร MAA จำนวน 2 ชนิด คือ shinorine (UVkmax 333 nm) และอีกชนิดที่ไม่สามารถระบุได้ โดยได้ให้รหัสเป็น M-307 (UVkmax 307 nm) โดยพบว่าสาร MAA M-307 เป็นชนิดเด่นที่สาหร่ายชนิดนี้สร้างขึ้นมีความคงตัวสูงกว่า และยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าอีกด้วย

จะเห็นได้ว่า ประเทศไทยยังขาดองค์ความรู้เกี่ยวกับสาหร่ายยึดเกาะที่สามารถเจริญในสภาพแวดล้อมวิกฤตจากบริเวณที่มีระดับความเข้มข้นของรังสีอัลตราไวโอเลตสูง ซึ่งองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพในครั้งนี้จะนำมาซึ่งองค์ความรู้ใหม่ การเก็บรักษาสายพันธ์ การจัดการฐานข้อมูล และการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

2.1 อาณาจักรโปรติสตา (Kingdom Protista)

2.1.1 ความหมายของโปรติสต์ (Protist)

โปรติสต์ (Protist) ที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว จะเป็นเซลล์เดียวที่มีความสมบูรณ์พร้อมที่จะมีชีวิต (Complete organism) นั่นแสดงว่ามันมีกิจกรรมพื้นฐานในการดำรงชีวิต (Basic function) อย่างครบถ้วน โดยทั่วไปเมื่อกล่าวถึงสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรโปรติสตาแล้วจะหมายความถึงสิ่งมีชีวิตที่มีเซลล์แบบยูคาริโอติก เป็นองค์ประกอบ อาจเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ที่เซลล์ต่าง ๆ นั้นไม่ประกอบกันเป็นเนื้อเยื่อ สิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้อาจมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือไม่อาศัยเพศก็ได้ อย่างไรก็ตามการพัฒนาที่เกิดขึ้น ในลำดับถัดมานั้นจะไม่ถือว่าเป็นตัวอ่อน (Embryo) จัดสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ออกเป็น 3 กลุ่มย่อยตามรูปแบบชีวิต (Lifestyle) สรัญญาและอรัญ (2557) อ้างถึง Whitaker *et al*. (1990)

2.1.1.1 Zoo like protist

โปรติสต์ที่มีลักษณะคล้ายสัตว์ (Zoo like protist) หรือ โปรโตซัว (Protozoan)

2.1.1.2 Plant like protist

โปรติสต์ที่มีลักษณะคล้ายพืช (Plant like protist) หรือ สาหร่าย (Algae) แบ่งเป็น

- สาหร่ายเซลล์เดียว (Unicellular algae)
- สาหร่ายหลายเซลล์ (Multicellular algae)

2.1.1.3 Fungi like protist

โปรติสต์ที่มีลักษณะคล้ายรา (Fungi like protist) หรือ ราเมือก (Slime mold)

2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสาหร่าย

สาหร่าย (Algae) เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถสร้างอาหารได้ด้วยตนเองจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเช่นเดียวกับพืชทั่วไป มีขนาดเล็กตั้งแต่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าจนกระทั่งถึงขนาดใหญ่ที่มีความยาวหลายร้อยเมตร เช่น สาหร่ายทะเลหลายชนิด สาหร่ายมีรูปร่างหลายแบบอาจจะเป็นเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์มารวมกลุ่มกัน เรียกว่า กลุ่มเซลล์หรือโคโลนี มีทั้งที่เป็นเส้นสายแตกแขนง และไม่แตกแขนง เป็นทัลลัสที่คล้ายมีราก ลำต้น และใบคล้ายพืชชั้นสูงแต่ไม่มีระบบท่อลำเลียงเหมือนพืชชั้นสูงซึ่งทุกเซลล์ทำหน้าที่สังเคราะห์ด้วยแสงเพื่อการดำรงชีวิต (ยุวดี, 2558)

สาหร่ายในที่นี้ หมายถึง สิ่งมีชีวิตชั้นต่ำซึ่งตรงกับภาษาอังกฤษว่า Algae และภาษากรีกว่า Phykos เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Microalgae) ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์จนถึงขนาดใหญ่ที่มองเห็นด้วยตาเปล่า (Macroalgae) ซึ่งดูเหมือนมีราก ลำต้น และใบ ซึ่งเรียกว่า ทัลลัส (Thallus) ส่วนใหญ่จะมีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสง (ยุวดี, 2549)

2.2.1 ส่วนประกอบของเซลล์

เซลล์ของสาหร่ายก็เหมือนเซลล์ของพืชทั่วๆไป คือ ประกอบไปด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) ภายในเซลล์มีไซโทพลาซึม (Cytoplasm) ซึ่งประกอบไปด้วยออร์แกเนลล์ (Organelle) ชนิดต่างๆนิวเคลียส (Nucleus) และแฟลกเจลลัม (Flagellum) ส่วนประกอบของเซลล์สาหร่ายมีดังต่อไปนี้ (ยุวดี, 2549)

2.2.1.1 เยื่อหุ้มเซลล์

เป็นเยื่อหุ้มที่ห่อหุ้มเซลล์เอาไว้ มีโครงสร้างประกอบด้วยชั้นไขมันเรียงตัวกัน 2 ชั้น (Lipid bilayer) มีโครงสร้าง 2 ส่วน คือ ส่วนหัวและส่วนหาง โดยชั้นไขมันจะเอาส่วนหัว (Polar head) ซึ่งมีคุณสมบัติชอบน้ำ (Hydrophilic) หันออกด้านนอกเพื่อสัมผัสกับน้ำที่อยู่ภายนอกเซลล์ และเอาส่วนหาง (Tail) ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) หันเข้าด้านใน ระหว่างชั้นไขมัน 2 ชั้นจะมีโมเลกุลอื่นๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรตแทรกอยู่เป็นระยะ ๆ สำหรับหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ มีดังนี้

- ห่อหุ้มเซลล์และป้องกันอันตรายให้แก่เซลล์

- มีคุณสมบัติเป็นเยื่อเลือกผ่าน (Semipermeable membrane) โดยจะทำหน้าที่ควบคุมการเข้าออกของน้ำ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) สารอาหารและควบคุมการเข้าออกของไอออนของโลหะต่างๆ เช่น Na^+ K^+ เป็นต้น

- เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนที่อยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์

- มีคุณสมบัติเป็นตัวรับลิแกน (Ligand) ที่มาตามกระแสโลหิต เมื่อจะเข้าสู่เซลล์จะจับกับตัวรับ (Receptor) ที่มีความจำเพาะซึ่งอยู่ที่ผิวของเยื่อหุ้มเซลล์ แล้วเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองทางชีวเคมีภายในเซลล์

2.2.1.2 ไซโทพลาซึม (Cytoplasm)

เป็นส่วนที่อยู่ในเซลล์ทั้งหมดยกเว้นนิวเคลียส ไซโทพลาซึมเป็นของเหลว มีความโปร่งแสง ประกอบด้วยน้ำประมาณ 75 - 90 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็นสารชนิดอื่น เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรท ไขมัน และสารอนินทรีย์ที่อยู่ในรูปสารละลาย ส่วนสารอินทรีย์ มักอยู่ในรูปของคอลลอยด์ (Colloid) หน้าที่ของไซโทพลาสซึม มีดังต่อไปนี้

- เป็นบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาเคมีของเซลล์

- สลายวัตถุดิบเพื่อให้ได้พลังงานและสิ่งที่จำเป็นสำหรับเซลล์

- สังเคราะห์สารที่จำเป็นสำหรับเซลล์

- เป็นที่เก็บสะสมวัตถุดิบสำหรับเซลล์

- เกี่ยวข้องกับกระบวนการขับถ่ายของเสียของเซลล์

2.2.1.3 นิวเคลียส (Nucleus)

นิวเคลียส (Nucleus) ของสาหร่ายแบ่งออกเป็น 2 ประเภทอย่างเด่นชัด คือ พวกที่ยังไม่มีนิวเคลียสอย่างแท้จริง (Prokaryote) โดยนิวเคลียสไม่มีเยื่อหุ้ม ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ส่วนอีกประเภทหนึ่งคือมีนิวเคลียสแท้จริง (Eukaryote) ซึ่งจะพบในสาหร่ายทั่วไป โครงสร้างของนิวเคลียสประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 3 ส่วนคือ

- เยื่อหุ้มนิวเคลียส (Nuclear membrane) ซึ่งมีสารประกอบเป็นพวกฟอสโฟลิพิดเป็นองค์ประกอบสำคัญ

- นิวคลีโอลัส (Nucleolus) เป็นโครงสร้างที่ไม่มีเยื่อหุ้ม ประกอบด้วยเส้นใยเล็ก ๆ และโครงสร้างลักษณะเป็นเม็ด (Glanule) นิวคลีโอลัสเป็นแหล่งสะสมสารประกอบอินทรีย์พวก RNA และเป็นแหล่งสังเคราะห์ไรโบโซม (Ribosome)

- โครโมโซม (Chromosome) ซึ่งมีโครมาทิน (Chromatin) หรือโมเลกุลของ DNA ที่มีโปรตีนหุ้มอยู่โดยรอบ โครโมโซมของสาหร่ายมีขนาดเล็กและมีจำนวนตั้งแต่ 5-48 แท่ง หรือมากกว่า

2.2.1.4 แฟลกเจลลัม (Flagellum)

เป็นโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ของเซลล์ และเป็นลักษณะที่ใช้ในการจัดจำแนกสาหร่ายได้ด้วย แฟลกเจลลัมจะพบในเซลล์ปกติ (Vegetable cell) หรือเซลล์สืบพันธุ์ (Reproductive cell) ก็ได้ โดยทั่วไปสาหร่ายเกือบทุกชนิดจะมีแฟลกเจลลัม ยกเว้นสาหร่ายสีแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวนแฟลกเจลลัมในแต่ละเซลล์จะมี 1-2 เส้น หรือมากกว่านั้น ซึ่งแฟลกเจลลัมแต่ละเส้นอาจมีขนาดเท่ากันหรือไม่เท่ากันก็ได้ อาจอยู่ด้านหน้า ด้านข้าง หรือด้านหลังของเซลล์ก็ได้

2.2.1.5 รงควัตถุ (Pigment)

รงควัตถุที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ด้วยแสงแบ่งได้ 3 กลุ่มคือ คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) และไฟโคบิลิน (Phycobilin) รงควัตถุในสาหร่ายแต่ละชนิดมีผลทำให้สาหร่ายเหล่านั้นมีสีที่แตกต่างกันไป เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีน้ำตาล และสาหร่ายสีแดง เป็นต้น รงควัตถุเหล่านี้อาจกระจายอยู่ในไซโทพลาซึม เช่น ที่พบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรืออยู่ในพลาสมิดจำพวกคลอโรพลาสต์หรือโครโมพลาสต์ เช่นที่พบในสาหร่ายสีอื่น ๆ

2.3 การจัดจำแนกสาหร่าย

การจัดจำแนกกลุ่มของสาหร่ายใช้เกณฑ์การจำแนกที่แตกต่างกันออกไปโดยอาศัยเกณฑ์ดังต่อไปนี้ (ยุวดี, 2558)

2.3.1 พิจารณาตามลักษณะสำคัญ

2.3.1.1 รงควัตถุที่อยู่ในเซลล์

สาหร่ายทุกชนิดมีรงควัตถุหลัก คือ คลอโรฟิลล์ *เอ* ส่วนรงควัตถุรองจะแตกต่างกันไป เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและแดงมีรงควัตถุพวกไฟโคไซยานินและไฟโคเออริธรินเพิ่มขึ้น ในขณะที่สาหร่ายสีเขียวจะมีรงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ เป็นต้น รงควัตถุเหล่านี้ช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสง

2.3.1.2 องค์ประกอบของผนังเซลล์

องค์ประกอบของผนังเซลล์สาหร่ายแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป บางชนิดจะเป็นพวกเซลลูโลส เช่น ในพืชบางชนิดอาจมีสารบางอย่างสะสมอยู่ เช่น ซิลิกาในไดอะตอม อัลจิเนตในสาหร่ายสีน้ำตาล วุ้นในสาหร่ายสีแดง หรือแคลเซียมในสาหร่ายที่มีผนังเซลล์แข็ง เช่น ในสาหร่ายสีเขียวและสีแดงบางชนิด เป็นต้น

2.3.1.3 อาหารที่สะสมในเซลล์

สาหร่ายแต่ละกลุ่มมีอาหารที่สะสมในเซลล์ซึ่งส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ไม่เหมือนกัน เช่น พบแป้งพวกอะไมเลส และอะไมโลเพคตินในสาหร่ายสีเขียว ลามินารินในสาหร่ายสีน้ำตาลหรือน้ำมันในสาหร่ายยูกลีนอยด์ เป็นต้น

2.3.1.4 จำนวนและตำแหน่งของแฟลกเจลลัม

สาหร่ายหลายชนิดเคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลัม แต่สาหร่ายบางชนิดก็ไม่มีแฟลกเจลลัม จำนวนและตำแหน่งของแฟลกเจลลัมในเซลล์ใช้ในการจัดจำแนกสาหร่ายได้

2.3.2 แบ่งตามดิวิชัน (Division) (ยุวดี, 2549)

2.3.2.1 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae) หรือกลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) : Division Cyanophyta สาหร่ายกลุ่มนี้มีกำเนิดมาก่อนสาหร่ายกลุ่มอื่น ๆ และมีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียโดยเป็นพวกที่นิวเคลียสไม่มีเยื่อหุ้มหรือพวกโพรคาริโอต พบได้ทั่วไปในที่ที่มีความชื้น ในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ทั้งในน้ำที่มีคุณภาพดีและน้ำเสีย พบอยู่ทั้งในดินและผิวดิน แม้แต่ในหิมะหรือน้ำพุร้อน เรามักเรียกสาหร่ายประเภทนี้ว่า “ตะไคร่น้ำ” พวกที่ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืชในแหล่งน้ำจืดทั่วไป บางชนิดอาจเจริญและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารสูงหรือสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมแล้วสร้างสารพิษออกมา ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำบริเวณนั้น

2.3.2.2 สาหร่ายสีเขียว (Green algae) : Division Chlorophyta เป็นสาหร่ายที่พบเห็นในน้ำทั่วไป ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม มีรูปร่างหลากหลาย ตั้งแต่เซลล์เดี่ยว โคโลนีเป็นเส้นสาย เป็นทัลลัส ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืช แต่มีบางชนิดเป็นสาหร่ายยึดเกาะโดยจะเกาะกับหิน หินใต้น้ำ หรือพืชน้ำ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายขนาดใหญ่

2.3.2.3 สาหร่ายไฟ (Stoneworts) : Division Charophyta ลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง มีทัลลัสขนาดใหญ่คล้ายสาหร่ายหางกระรอก เจริญโดยยึดเกาะกับพื้นดินใต้ท้องน้ำ บางชนิดมีแคลเซียมเป็นส่วนประกอบในทัลลัสส่วนใหญ่เกือบทั้งหมดเป็นสาหร่ายน้ำจืด

2.3.2.4 สาหร่ายยูกลีนอยด์ (Euglenoids) : Division Euglenophyta ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืชทั้งหมด สามารถเจริญได้ในน้ำที่มีสารอินทรีย์สูงหรือน้ำคุณภาพไม่ดีได้มากกว่าสาหร่ายประเภทอื่น ๆ จึงเป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำที่ค่อนข้างสกปรกได้ชัดเจน ทุกชนิดมีแฟลกเจลลัมช่วยในการเคลื่อนที่บางครั้งจึงจัดอยู่ในพวกโพรโตซัว

2.3.2.5 สาหร่ายสีน้ำตาล (Brown algae) : Division Phaeophyta เป็นสาหร่ายที่มีทัลลัสขนาดใหญ่ ส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายทะเลโดยทั่วไปจะยึดเกาะอยู่กับพื้นทรายใต้ท้องทะเลหรืออาจจะหลุดลอยมากับกระแสน้ำ ในเขตอบอุ่นเป็นสาหร่ายเศรษฐกิจที่สามารถนำมาสกัดสารอัลจิเนตที่ใช้ในวงการอุตสาหกรรมที่สำคัญหลายประเภท

2.3.2.6 สาหร่ายคริสโซไฟต์ (Chrysophytes) : Division Chrysophyta ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืชทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม สาหร่ายในกลุ่มนี้มีอยู่ประเภทหนึ่งซึ่งมีสมาชิกมากที่สุด คือ ไดอะตอม นักสาหร่ายวิทยาในปัจจุบันจึงได้แยกออกเป็นดิวิชันใหม่ คือ Division Bacillariophyta มีลักษณะสำคัญ คือ เซลล์ประกอบด้วยฝา หรือฟรัสสตูล 2 ฝา ประกบกัน ส่วนใหญ่เป็นซิลิกามีลวดลายสวยงาม ซึ่งใช้ในการวินิจฉัยชนิดของไดอะตอม มีรงควัตถุสีน้ำตาลมากกว่าคลอโรฟิลล์จึงมองเห็นเป็นสีน้ำตาล รูปร่างของสาหร่ายประเภทนี้มีรูปทรงแบบเรขาคณิตชัดเจน พบทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม และดำรงชีวิตทั้งแบบเป็นแพลงก์ตอนพืชและสาหร่ายที่เกาะอยู่กับสิ่งยึดเกาะใต้พื้นท้องน้ำ

2.3.2.7 สาหร่ายไดโนแฟลกเจลเลต (Dinoflagellates) : Division Pyrrhophyta มีแฟลกเจลลัม 2 เส้นช่วยในการเคลื่อนที่ เซลล์มักมีเยื่อหุ้มเซลล์เป็นแผ่นธีกาคลุมอยู่มองคล้ายกระเบื้องโมเสก ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืชทั้งในน้ำจืด และน้ำเค็ม บางครั้งเจริญอย่างรวดเร็วใน

น้ำทะเล ทำให้ผิวหน้าน้ำทะเลเป็นสีแดงหรือสีน้ำตาล เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า ขี้ปลาวาฬ หรือ เรดไทด์ (Red tide) บางชนิดสร้างสารพิษที่มีผลต่อระบบประสาท

2.3.2.8 สาหร่ายคริปโตโมแนดส์ (Cryptomonads) : Division Cryptophyta เป็นกลุ่มสาหร่ายที่มีสมาชิกน้อยที่สุด มีแฟลกเจลลัม 2 เส้น ที่มีขนาดไม่เท่ากัน ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืชทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม

2.3.2.9 สาหร่ายสีแดง (Red algae) : Division Rhodophyta มีทัลลัสคล้ายพุ่มไม้ที่แตกแขนงเป็นฝอย เจริญอยู่บนผิวดิน ทราย หรือหิน พบในน้ำจืดและน้ำเค็มแต่ส่วนใหญ่จะพบในน้ำเค็ม เป็นสาหร่ายเศรษฐกิจที่สำคัญโดยนำมาสกัดวุ้นซึ่งนำมาใช้เป็นอาหารและใช้ในด้านอุตสาหกรรมหลายประเภท

2.4 ความสำคัญของสาหร่าย

ยุวดี (2558) กล่าวว่า สาหร่ายมีความสำคัญต่อมนุษย์ในด้านต่าง ๆ

2.4.1 ด้านระบบนิเวศแหล่งน้ำ

สาหร่ายดำรงชีวิตโดยการสังเคราะห์แสง ในกระบวนการสังเคราะห์แสงจะได้ออกซิเจน ซึ่งมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ สาหร่ายจึงมีอิทธิพลต่อคุณภาพน้ำอย่างยิ่ง นอกจากนี้ยังเป็นผู้ผลิตเบื้องต้นในแหล่งน้ำ จึงจัดเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตอื่นในน้ำซึ่งเท่ากับเป็นสิ่งมีชีวิตลำดับแรกในแหล่งน้ำ

2.4.2 ด้านลดก๊าซเลือนกระจก

ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงสาหร่ายจะใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นวัตถุดิบ ซึ่งก๊าซคาร์บอนไอออกไซด์เป็นก๊าซเลือนกระจกที่ส่งผลทำให้อุณหภูมิของโลกสูงขึ้น สาหร่ายจึงเป็นสิ่งมีชีวิตอีกชีวิตหนึ่งที่ช่วยลดภาวะโลกร้อนเช่นเดียวกับพืชทั่วไป

2.4.3 ด้านอาหาร

สาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ถูกใช้เป็นอาหารของสัตว์เลี้ยง เช่น วัว ควาย หรือสุกร และมนุษย์ก็ยังบริโภคสาหร่ายทะเลมาเป็นเวลานานที่นิยมมากคือ สาหร่ายสีแดง

สาหร่ายขนาดเล็ก เช่น *Clorella* spp. และ *Spirulina* spp. มีโปรตีนสูง โดยมี 60-70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง มีวิตามิน เกลือแร่ และกรดไขมันจำเป็นบางชนิด ที่มีผลในการป้องกันการเกิดโรคหรือรักษาโรคบางอย่าง สาหร่ายดังกล่าวจึงเป็นสาหร่ายเศรษฐกิจที่มีผู้นิยมรับประทานเป็นอาหารเสริมกันมาก โดยเฉพาะ *Spirulina* spp. ถ้ามีคุณภาพ รองลงไปจะนำมาเลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจหลายชนิด มีผลให้สัตว์โตเร็วและมีเบต้าแคโรทีนเป็นรงควัตถุสีส้มหรือแดง ซึ่งส่งผลให้สัตว์มีเนื้อสีแดง ไข่สีแดง ปลาบางชนิดมีสีสันสดใสมากขึ้น

2.4.4 ด้านอุตสาหกรรม

สาหร่ายทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่มีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรมหลายประเภท ดังนี้

- วุ้น (agar)

ได้มาจากการสกัดสารสาหร่ายสีแดง เช่น *Gelidium* spp. และ *Gracillaria* spp. ใช้ประกอบอาหารพวกขนมหวานหรือใช้ทำอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ ใช้เป็นสารที่ให้เกิดความนิ่มและข้นในพวกแยม กันสนิมในอาหารกระป๋อง ผสมเบียร์และไวน์ให้มีสีใส ใช้ในอุตสาหกรรมเวชภัณฑ์ เช่น ยาระบาย แคปซูลยา ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น ครีม โลชั่น ใช้ย้อมเส้นด้ายให้ทอง่ายขึ้น เคลือบกระดาษ ทำกาว หมึกพิมพ์ เป็นต้น

- คาร์ราจินีน (Carraginine)

ได้มาจากการสกัดสาหร่ายสีแดงเช่นเดียวกัน มีคุณสมบัติคล้ายวุ้น แต่ต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่า การใช้ประโยชน์เช่นเดียวกับวุ้น

- อัลจิเนต หรืออัลจิน (Alginate or Algin)

ได้มาจากการสกัดสาหร่ายสีน้ำตาลบางชนิด เช่น *Laminaria* spp. และ *Fucus* spp. เป็นต้น สารดังกล่าวเป็นสารที่ทำให้เกิดความเหนียวใช้ในอุตสาหกรรมที่ต้องการให้เกิดความคงรูปหรือความเหนียว เช่น ใส่ในอาหาร เครื่องสำอาง เวชภัณฑ์ สีทาบ้าน และอื่น ๆ

-ไดอะโตไมท์ หรือ ไดอะโตมาเซียสเอิร์ท (Diatomaite or Diatomaceous earth)

ได้มาจากไดอะตอมที่ตายแล้วทับถมกันกลายเป็นซากเหลือของผนังเซลล์ซึ่งเป็นซิลิกา นำมาใช้เป็นเครื่องกรองในโรงงานอุตสาหกรรม ชนวนกันความร้อนในอุปกรณ์ไฟฟ้า ใช้เป็นผงขัดเงาต่าง ๆ หรือส่วนประกอบของยาสีฟัน

2.4.5 ด้านการใช้เป็นพลังงานชีวภาพ

สาหร่ายขนาดเล็กที่ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืช มีกรดไขมันสูงถึงประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง บางชนิดสูงถึง 60-70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง จึงมีการศึกษาวิจัยเพื่อนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนเพื่อแก้ปัญหาการลดลงอย่างรวดเร็วจากน้ำมันและถ่านหิน

2.4.6 ด้านเกษตรกรรม

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศแล้วเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย ซึ่งสามารถใช้ใส่แทนปุ๋ยในนาข้าวหรือแหล่งเกษตรกรรมอื่นได้

2.4.7 ด้านการแพทย์

สาหร่ายหลายชนิดสามารถใช้ในการรักษาโรคได้และได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ด้านการแพทย์ ดังต่อไปนี้

- ยาสมุนไพร

ในประเทศจีนใช้สาหร่ายสีแดง *Digenia simplex* เป็นยาถ่ายพยาธิ และรักษาโรคตาลขโมย ใช้โซเดียมลามนารินซัลเฟต และ ฟิวคอยดิน ซึ่งเป็นสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาลเป็นยาให้เลือดแข็งตัว ใช้สาหร่ายสีน้ำตาล พวก *Sargassum* spp. รักษาโรคคอหอยพอก ใช้สาหร่ายสีแดง *Chondrus crispus* รักษาโรคท้องร่วง โรคทางเดินปัสสาวะ และโรคลำไส้อักเสบ

- ยาปฏิชีวนะ

สาหร่ายบางชนิดสามารถสร้างสารการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น สาร Chorellin จากสาหร่าย *Chlorella* spp. นอกจากนี้ยังมีสาหร่ายแดง สาหร่ายน้ำตาล และไดอะตอมบางชนิด ปัจจุบันมีการศึกษาสาระสำคัญในสาหร่ายหลายชนิดทั้งสาหร่ายน้ำจืดและสาหร่ายน้ำเค็ม เพื่อนำมาเป็นยารักษาโรค

2.4.8 ด้านบำบัดน้ำเสีย

ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียจะมีสารอินทรีย์ซึ่งมากับน้ำเสียจะถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายเป็นสารอนินทรีย์ ซึ่งสาหร่ายสามารถใช้สารอนินทรีย์เหล่านี้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม ทำให้น้ำเสียมีปริมาณสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ลดลง และในขณะเดียวกันแหล่งน้ำก็มีออกซิเจนเพิ่มขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายทำให้คุณภาพน้ำดีขึ้น

2.4.9 ด้านการใช้เป็นสิ่งมีชีวิตติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำ

เนื่องจากสาหร่ายหลายชนิดสามารถเจริญได้ในแหล่งน้ำต่างกัน เช่น *Euglena* spp. สามารถเจริญได้ดีในน้ำที่สารอินทรีย์สูงหรือน้ำที่คุณภาพไม่ดี ในขณะที่สาหร่ายสีเขียวกลุ่มเดสมิดส์ เช่น *Cosmarium* spp. เจริญได้ดีในที่มีสารอาหารน้อยหรือคุณภาพน้ำดี จึงจะนำไปสู่การใช้สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่ใช้ติดตามตรวจสอบสภาวะแวดล้อมทางน้ำได้อีกทางหนึ่ง

2.4.10 ด้านการใช้ไดอะตอมเป็นหลักฐานทางนิติเวชศาสตร์

การใช้ไดอะตอมในเนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยเฉพาะเนื้อเยื่อปอดของศพที่จมน้ำก็เป็นวิธีหนึ่งในงานนิติเวชศาสตร์เนื่องจากไดอะตอมไม่ย่อยสลายเพราะมีซิลิกาเป็นองค์ประกอบในกรณีที่ไม่สามารถทราบได้ว่าศพเสียชีวิตจากการจมน้ำ ถ้าพบไดอะตอมในเนื้อเยื่อปอดจำนวนมาก แต่ถ้าหากเสียชีวิตมาก่อนหน้านี้แล้วถูกทิ้งลงในแหล่งน้ำจะไม่พบไดอะตอมเลย

2.4.11 ด้านการผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อวงการอุตสาหกรรมหลายชนิด

ปัจจุบันมีการศึกษาสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายมากขึ้น เช่น เอนไซม์ หลายชนิด และบางชนิดมีความเป็นไปได้สูงในการนำไปใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรม สารพอลิเมอร์และรงควัตถุ จากสาหร่ายหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสามารถนำไปใช้ในวงการเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น

2.5 ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria)

ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) หรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae) อยู่ในดิวิชันไซยาโนไฟตา (Cyanophyta) และจัดเป็นสิ่งมีชีวิตประเภทโปรคาริโอต (Prokaryote) ไซยาโนแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์แสงและได้ออกซิเจนออกมาเป็นผลผลิตเนื่องจากมีรงควัตถุที่สำคัญคือ คลอโรฟิลล์ *เอ* แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิน ไซยาโนแบคทีเรียมีความสามารถในการปรับตัวสูงมาก เช่น สร้างเมือกห่อหุ้มเซลล์ และในเซลล์จะมีถุงลมเพื่อช่วยการลอยตัวหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะหแสง เป็นต้น จากการที่มีความหลากหลายทางสรีรวิทยา สัณฐานวิทยา และการพัฒนารูปร่างต่างๆ ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสิ่งแวดล้อมที่หลากหลาย ได้แก่ หิน ดิน ทะเลทราย น้ำพุร้อน น้ำจืด น้ำทะเล เป็นต้น (สรัญญาและอรัญ, 2557 อ้างถึง Mazel *et al*., 1990)

ไซยาโนแบคทีเรียสามารถจัดจำแนกตามสัณฐานวิทยาได้ 2 กลุ่ม คือ

2.5.1. ไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยว

ไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยวหรือเป็นโคโลนีที่ไม่เป็นเส้นสาย (Unicellular or non-filamentous form) อาจจะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ เช่น *Chroococcus* sp. หรืออาจจะอยู่รวมกันเป็นโคโลนีแบบพาลเมลลา เช่น *Eucapsis* sp., *Merismopedia* sp. และ *Anacystis* sp. เป็นต้น นอกจากนี้เซลล์ในกลุ่มนี้จะมีรูปร่างต่างๆ กัน เช่น กลม รูปไข่ ทรงกระบอกหรือรูปไข่แบบแหลมหัวแหลมท้าย

2.5.2. ไซยาโนแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นเส้นสาย (Filamentous form)

ยุวดี (2546) กล่าวว่าไซยาโนแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นเส้นสาย (Filamentous form) เซลล์จะเรียงต่อกันเป็นเส้นสายเรียกว่า ตรัยโคม (Trichome) เส้นสายนี้อาจจะตรงและเรียบไม่มีการแตกแขนง มีเซลล์ชนิดเดียวกันมาเรียงต่อกันเรียกว่า Homocystous form เช่น *Oscillatoria* sp. และ *Lyngbya* sp. เป็นต้น และอีกกลุ่มเส้นสายที่มีเซลล์ปกติและมีเซลล์เฮเทอโรซิสต์ที่ทาหน้าที่ในการตรึงไนโตรเจนมาเรียงสลับหรืออยู่ที่ปลายสุดของตรัยโคมเรียกว่า Heterocystous form เช่น *Nostoc* sp. และ *Anabaena* sp. เป็นต้น ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดเส้นสายนั้นอาจจะมีปลายโค้งงอหรือบิดเป็นเกลียว เช่น *Arthrospira* sp. และ *Spirulina* sp. เป็นต้น

2.6 รังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet)

2.6.1 รังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet) คือ

กุลธิดา (2558) กล่าวว่ารังสีอัลตราไวโอเลตหรือที่เรียกว่ารังสียูวี เป็นส่วนหนึ่งของรังสีดวงอาทิตย์ที่ส่องถึงพื้นโลกรังสีดวงอาทิตย์ (Solar Radiation) เป็นพลังงานในรูปคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

ที่แผ่รังสีออกจากดวงอาทิตย์ ประกอบไปด้วยแผ่นสเปคตรัมซึ่งสามารถแบ่งแถบสเปคตรัมออกเป็น 3 แถบกว้าง ๆ

สเปคตรัมของดวงอาทิตย์ช่วงอัลตราไวโอเลตมีบทบาทในกระบวนการทางชีววิทยาอย่างสำคัญหลายประการแต่มีอันตรายมากหากได้รับรังสีอัลตราไวโอเลตในปริมาณที่มากเกินไป เช่น ความสามารถในการปรับและป้องกันตัวของสิ่งมีชีวิตบางชนิดรวมถึงมนุษย์จะเสื่อมถอยลงและจะเป็นอันตรายขั้นรุนแรงต่อไปโดยเฉพาะผิวหนังและตา

2.6.2 ชนิดของรังสีอัลตราไวโอเลต

กุลธิดา (2558) รังสีดวงอาทิตย์ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ รังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet) รังสีช่วงแสงสว่าง (Visible) และรังสีอินฟราเรด (Irradiance) คุณสมบัติของรังสีแบ่งได้ตามช่วงคลื่นที่แตกต่างกันและแสดงในหน่วยนาโนเมตร ซึ่งพบว่าแถบสเปคตรัมของรังสีอัลตราไวโอเลต (Solar Ultraviolet Spectra) ประกอบด้วย 3 ส่วน โดยแถบสเปคตรัมของรังสีอัลตราไวโอเลต (Solar Ultraviolet Spectra) สามารถแบ่งได้ดังนี้

2.6.3 รังสี UV-C

ช่วงคลื่นอยู่ระหว่าง 100-280 นาโนเมตร เป็นช่วงคลื่นที่มีความเข้มสูงที่สุดของช่วงรังสีอัลตราไวโอเลตแต่เป็นช่วงที่ถูกดูดกลืนเกือบทั้งหมดโดยโอโซนและออกซิเจนในบรรยากาศ มิฉะนั้นโลกใบนี้อาจไม่มีสิ่งมีชีวิตเหลืออยู่ การใช้ประโยชน์จากรังสี UV-C เช่น แสงที่ปล่อยจากหลอดไฟที่ใช้สำหรับฆ่าเชื้อโรค (Germicidal lamp)

2.6.4 รังสี UV-B

ช่วงคลื่นอยู่ระหว่าง 280-315 นาโนเมตร เป็นช่วงคลื่นที่ดูดกลืนไว้ได้ส่วนใหญ่และส่องถึงพื้นโลกได้เพียงบางส่วนประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ซึ่งมีผลต่อการสร้างวิตามินดีของร่างกายในช่วงเวลาสั้น ๆ แต่เป็นช่วงคลื่นที่ทำอันตรายมากที่สุดต่อสิ่งมีชีวิต ทำให้ผิวหนังแดงไหม้ หากมีการสะสมในร่างกายมากจะทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับดวงตา เกิดโรคมะเร็งผิวหนัง และยังไปยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในระยะยาวอีกด้วย

2.6.5 รังสี UV-A

ช่วงคลื่นอยู่ระหว่าง 315-400 นาโนเมตร เป็นช่วงคลื่นที่โอโซนดูดกลืนไว้ได้ส่วนน้อยและส่องถึงพื้นโลกได้เป็นส่วนใหญ่เป็นช่วงคลื่นที่ร่างกายต้องการในการสังเคราะห์วิตามินดี และมีอันตรายไม่มาก ไม่ทำลายสิ่งมีชีวิต แต่หากร่างกายดูดซับไว้มากเกินไปจะทำให้ผิวหนังหยาบก้าน ทำให้ผิวหนังแดง และก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับดวงตา

2.6.6 ผลกระทบจากรังสียูวี

กุลธิดา (2558) สามารถแบ่งประเภทผลกระทบจากรังสียูวีได้ 3 ประเภท คือ

2.6.6.1 ผลกระทบต่อมนุษย์

รังสีอัลตราไวโอเลตมีทั้งประโยชน์และโทษต่อสุขภาพของมนุษย์ ประโยชน์ของรังสีอัลตราไวโอเลต คือ ช่วยสังเคราะห์วิตามิน D นอกจากนี้ยังพบอีกว่ารังสีอัลตราไวโอเลตก็มีโทษ ซึ่งสามารถแบ่งผลกระทบออกได้ 4 ข้อ คือ

- ผลกระทบต่อดวงตา

หากดวงตาได้รับรังสีอัลตราไวโอเลตโดยไม่มีอุปกรณ์ป้องกัน ก็จะเป็นอันตรายต่อดวงตา โดยผลกระทบระยะสั้นที่เกิดขึ้นคือ กระจกตาอักเสบ และผลกระทบระยะยาวเช่น ต้อเนื้อ ต้อลมหรือ ต้อกระจก

- ผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกัน

รังสียูวีสามารถเปลี่ยนแปลงระบบภูมิคุ้มกันบริเวณที่ได้รับรังสี โดยยับยั้งภูมิคุ้มกันและมีบทบาทในการก่อให้เกิดโรคมะเร็งทั้งชนิด Melanoma และ Non-Melanoma โรคติดเชื้อ Autoimmunity และภูมิแพ้

- มะเร็งผิวหนัง

รังสีอัลตราไวโอเลต มีความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม (genotoxic) โดยจะทำลาย DNA เป็นสาเหตุให้เกิดมะเร็งผิวหนัง มี 2 ประเภทคือ มะเร็งผิวหนังชนิด Non-Melanoma และมะเร็งผิวหนังชนิด Melanoma เป็นผลจาก neoplastic transformation ของ melanocytes ซึ่งเป็นเซลล์ที่ผลิตเม็ดสีในผิวหนังชั้นนอก

- การติดเชื้อ

รังสียูวี มีผลกระทบต่อเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย โดยการเปลี่ยนแปลงกลไกการป้องกันการติดเชื้อหรือโดยการกระตุ้นการติดเชื้อโดยตรง

2.6.6.2 ผลกระทบต่อพืช

ปริมาณรังสีอัลตราไวโอเลตที่เพิ่มขึ้นบนโลกนั้นส่งผลโดยตรงต่อพืช เช่น ไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช และส่งผลโดยอ้อม คือ ทำให้พืชมีลักษณะและการเติบโตผิดเพี้ยนไปและผลิตผลที่ได้ลดลง

2.6.6.3 ผลกระทบต่อวัสดุสิ่งก่อสร้าง

วัตถุบางอย่างถูกกะทบโดยรังสียูวีจากแสงแดด ทำให้วัสดุนั้นสีซีดจางลง เนื่องจากแสงแดดไปทำปฏิกิริยาเคมีกับวัสดุทำให้โครงสร้างเกิดการเปลี่ยนแปลงไป

2.7 ภาวะโลกร้อน (Global Warming)

ณัฐภพ และคณะ (2553) กล่าวว่าในปัจจุบันสภาวะภูมิอากาศของโลกมีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างมาก อันมีสาเหตุมาจากภาวะโลกร้อน (Global warming) โดย สังเกตได้จากการที่อุณหภูมิของ

โลกมีค่าสูงขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งสาเหตุของปัญหานี้เกิดจากก๊าซเรือนกระจก (Greenhouse gas) กล่าวคือ มลภาวะจากก๊าซที่มีคุณสมบัติในการดูดซับพลังงานความร้อนที่สะท้อนจากโลกกลับสู่ชั้นบรรยากาศ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน คลอโรฟลูออโรคาร์บอน เป็นต้น ก๊าซเหล่านั้นใช้ในกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรม บ้างเกิดจากไอเสียจากการเผาไหม้ หรือเมื่อภาคอุตสาหกรรมการผลิตไฟฟ้าหรือการกระทำ ที่มีลักษณะเป็นการ เผาเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น ถ่านหิน น้ำมัน ก๊าซธรรมชาติหรือสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เป็นต้น ก๊าซดังกล่าวมีความสามารถในการ กักเก็บความร้อนบางส่วนไว้ในโลก โดยไม่ปล่อยความร้อนสู่บรรยากาศ

ผลจากการที่อุณหภูมิเฉลี่ยของโลกร้อนขึ้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ (Climate Change) ซึ่งส่งผลต่อการ ดำรงอยู่ของสิ่งมีชีวิตทั้งมนุษย์สัตว์และพืช ทั้งทางตรงและทางอ้อม สำหรับประเทศไทยผลจากภาวะโลกร้อนดังกล่าวเห็นได้ชัดจาก สภาวะอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปเช่นค่าเฉลี่ยอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น การถอยร่นของชายฝั่งทะเล ปริมาณน้ำฝนและการแปรปรวนของฤดูกาล

2.7.1 ปัจจัยที่มีผลต่อภาวะโลกร้อน

ณัฐภพ และคณะ (2553) กล่าวว่าสาเหตุหลักของภาวะโลกร้อนเกิดจากการเพิ่มขึ้นของก๊าซเรือนกระจกที่ปกคลุมชั้นบรรยากาศของโลก ทำให้อุณหภูมิภายในโลกสูงขึ้น เป็นเหตุให้ฤดูกาลทั่วโลกเปลี่ยนไป และก๊าซที่เพิ่มขึ้นส่วนใหญ่เกิดจากการเผาผลาญเชื้อเพลิงฟอสซิลซึ่งมีคุณสมบัติเป็นก๊าซเรือนกระจก

ก๊าซเรือนกระจกมีทั้งข้อดีและข้อเสีย กล่าวคือ ถ้าในชั้นบรรยากาศโลกไม่มีก๊าซเรือนกระจกจะทำให้อุณหภูมิในตอนกลางวันร้อนจัด และในตอนกลางคืนหนาวจัด เนื่องจากก๊าซเรือนกระจก มีคุณสมบัติดูดซับคลื่นรังสีความร้อน ซึ่งมีความจำเป็นต่อการรักษาอุณหภูมิในบรรยากาศของโลกให้คงที่ โดยจะดูดคลื่นรังสีความร้อนไว้ในเวลากลางวัน แล้วค่อยๆ แผ่รังสีความร้อนออกมาในเวลากลางคืน ทำให้อุณหภูมิของโลกไม่เปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลัน แต่ในทางตรงกันข้ามหากมีก๊าซเรือนกระจกในปริมาณมากเกินไป จะทำให้แสงอาทิตย์ที่ส่องผ่านลงมายังผิวโลก ไม่สามารถสะท้อนกลับออกไปสู่ชั้นบรรยากาศได้ เนื่องจากถูกดูดซับความร้อนไว้และจะสะสมอยู่ในชั้นบรรยากาศในรูปของพลังงานความร้อน ซึ่งมีผลทำให้อุณหภูมิในชั้นบรรยากาศของโลกสูงขึ้นเรื่อย ๆ

2.8 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

มนุษย์ได้นำวัตถุดิบจากธรรมชาติมาใช้เป็นยารักษาโรคตั้งแต่สมัยดึกดำบรรพ์ และกว่าครึ่งศตวรรษที่เรามีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสิ่งมีชีวิตเหล่านี้สืบจนมาถึงปัจจุบัน ทำให้เราได้เรียนรู้และค้นพบสิ่งที่น่าสนใจมากมาย โดยเฉพาะในเรื่องของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ประเทศไทย เป็นดินแดนที่มีความหลากหลายในทรัพยากรธรรมชาติ ไม่ว่าจะเป็นพืชหรือสัตว์ หรือแม้กระทั่งสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ อย่างจุลินทรีย์ ในสิ่งมีชีวิตเหล่านี้นักวิทยาศาสตร์คาดว่าอาจมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์กับมนุษย์ จึงได้นำมาศึกษาวิจัยและพบว่าจุลินทรีย์เป็นแหล่งทรัพยากรที่น่าสนใจในด้านการค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในปัจจุบัน

วรรณฤดี (2552) กล่าวว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive Compounds) คือ สารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง เช่น มีฤทธิ์จำเพาะต่อเซลล์ของมะเร็งเต้านม มีฤทธิ์จำเพาะต่อเชื้อวัณโรคมีฤทธิ์จำเพาะต่อเชื้อมาลาเรีย เป็นต้น และสารนั้นจะต้องไม่มีผลทางลบต่อร่างกาย หรือ มีผลข้างเคียงน้อย เพราะเมื่อสารนั้นถูกนำมาแปรรูป ให้เป็นส่วนประกอบของยา ย่อมไม่ต้องการให้ยามีผลกับส่วนที่ดีของร่างกาย ยกเว้นเชื้อโรค หรือส่วนเกินที่เรา ต้องการขจัดเท่านั้น

สุริยา และ จิตรา (2560) กล่าวว่าสาเหตุของโรคเรื้อรังต่างๆ ปกติร่างกายมีกลไกในการป้องกันโดยอาศัยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกายแต่ยังไม่เพียงพอและมีขีดจำกัด ประกอบกับเมื่ออายุมากขึ้นร่างกายสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้น้อย จึงควรได้รับจากภายนอก โดยการรับประทานอาหารที่อุดมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นองค์ประกอบของสารอาหารที่มีความพิเศษ (Extra nutritional) ที่มีปริมาณน้อยในอาหาร มีการค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจำนวนมากซึ่งสารเหล่านี้มีโครงสร้างทางเคมีและหน้าที่แตกต่างกัน

2.9 สารต้านอนุมูลอิสระ

รัชนี และคณะ (2551) กล่าวว่าสารต้านอนุมูลอิสระ คือโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่น ๆ ได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ อาทิ ไธออล กรดแอสคอร์บิก และโพลีฟีนอล

ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นสิ่งสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต หากแต่ก็ยังเกิดโทษเช่นกัน ดังนั้นพืชและสัตว์จึงรักษาสมดุลด้วยระบบอันซับซ้อนของปฏิกิริยาโดยสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น กลูตาไธโอน วิตามินซี และวิตามินอี เช่นเดียวกับเอนไซม์อย่างตัวเร่งปฏิกิริยาและเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ รวมไปถึงเพอรอกซิเดสต่าง ๆ ระดับสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำหรือเอนไซม์ที่ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มากเกินไป จะยังผลให้เกิดภาวะออกซิเดชันที่มากเกินไป (oxidative stress) นำมาซึ่งการทำลายหรือสร้างความเสียหายแก่เซลล์ได้

อนุมูลอิสระเข้าไปทำลายเซลล์เมื่อร่างกายไม่สามารถผลิตหรือได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเพียงพอที่จะไปยับยั้งหรือไปจับอนุมูลอิสระได้ภายในเซลล์ของร่างกาย ผลคือทำให้เซลล์เกิดความเสียหายและนำไปสู่การเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง หัวใจและหลอดเลือด แก่ก่อนวัย ต้อกระจกและโรคอื่น ๆ เช่น อนุมูลอิสระไปทำลายผนังหลอดเลือดแดง และเมื่อไขมันไปสะสมอยู่บริเวณหลอดเลือดแดงที่ถูกทำลายจะทำให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดในที่สุดแต่หากได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเพียงพอ สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปป้องกันหรือแย่งที่จับกับอนุมูลอิสระ และนำอนุมูลอิสระเหล่านั้นไปทิ้งนอกเซลล์ ทำให้เซลล์ไม่ถูกทำลาย

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาทั้งในประเทศและนอกประเทศที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกสาหร่ายจากบริเวณสิ่งแวดล้อมที่มีรังสีอัลตราไวโอเลตสูง เช่น โบราณสถาน และการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

อักษร และ พูนพิไล (2526) ได้ทำการศึกษาสาหร่ายจากโบราณสถานที่แตกต่างกัน 2 ระดับ คือ วัดเขาสุวรรณคีรี เป็นตัวอย่างของกลุ่มโบราณสถานที่อยู่ในแนวเขาพนมเพลิงยอดเขาสุวรรณคีรี และ วัดช้างล้อม เป็นตัวอย่างของกลุ่มโบราณสถานที่อยู่ในที่ราบลุ่ม โดยใช้มีดและเสียมขูดบริเวณที่มีสีเขียวคล้ำและสีเทาซึ่งแสดงลักษณะการเจริญเติบโตของสาหร่ายและจุลินทรีย์บนเจดีย์และนำตัวอย่างมาเลี้ยงในอาหาร 2 ชนิด คือ Modified Bristal's Solution ซึ่งเป็นอาหารสำหรับสาหร่ายสีเขียว และ Specific Media Cultune อาหารสำหรับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อให้สาหร่ายเหล่านั้นคงมีชีวิตอยู่และสังเกตสีของสาหร่าย ลักษณะรูปร่างและวงจรชีวิต พบสาหร่าย Division Cyanophyta ซึ่งสาหร่ายที่พบจะเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินแทบทั้งนั้น สาหร่ายเหล่านี้มีความสามารถทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดี เนื่องจากมีเมือกหุ้มเซลล์สามารถเก็บความชุ่มชื้นไว้ นอกจากนี้มีคุณสมบัติพิเศษอีกคือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวก *Nostoc, Anabaena* และ *Aulosira* มีเซลล์พิเศษที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศมาเป็นสารประกอบไนโตรเจนได้

อภิรดี (2552) ศึกษาผลกระทบของเกลือโซเดียมคลอไรด์และซอร์บิทอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ (BG-11) ร่วมกับรังสีอัลตราไวโอเลต UV-A UV-B และ UV-C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ ปริมาณรงควัตถุภายในเซลล์ (คลอโรฟิลล์-เอ และแคโรทีนอยด์) และปริมาณพอลิเอมีนในไซยาโนแบคทีเรีย *Synechocystis* sp. PPC 6803 พบว่าใต้แสงปกติ อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 650 มิลลิโมลาร์ และซอร์บิทอลเข้มข้น 500 มิลลิโมลาร์ นั้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ของเซลล์ แต่เซลล์ที่เจริญเติบโตของเซลล์ภายใต้ความเครียดเนื่องจาก UV พบว่าการเจริญเติบโตของเซลล์ลดลงเล็กน้อยเมื่อได้รับ UVA แต่จะลดลงเพิ่มขึ้นภายใต้ภาวะความเครียดร่วมของเกลือหรือซอร์บิทอลที่มีความ

เข้มข้นสูงร่วมกับ UVA, UVB และ UVC ในขณะที่ปริมาณแคโรทีนอยด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นภายใต้ภาวะความเครียดจาก UVA, UVB และ UVC เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

พันธุ์ทิพย์ และคณะ (2555) ศึกษาสารสกัดจากสาหร่าย 16 ชนิด ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว 6 ชนิด สาหร่ายสีน้ำตาล 5 ชนิด และสาหร่ายสีแดง 5 ชนิด ทดสอบการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS พบว่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS พบได้ในสารสกัดจากสาหร่ายทั้งสามกลุ่มและปริมาณฟีนอลมีความสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดจากสาหร่ายมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารสกัดจากสาหร่ายที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และมีปริมาณ ฟีนอลสูง เป็นสาหร่ายที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อใช้ทดแทนสารสังเคราะห์ที่เป็นพิษต่อร่างกาย ซึ่งการที่สาหร่ายมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในทางนิเวศวิทยาเชื่อว่าสาหร่ายสร้างสารดังกล่าวเพื่อป้องกันรังสี UV

Zeeshan and Prasad (2009) ศึกษาการการเจริญเติบโตการสังเคราะห์ด้วยแสงเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระของ *Nostoc Muscorum*, *Plectonema Boryanum* และ *Aphanothece* sp. โดยการฉาย UVB พบว่า เมื่อได้รับ UVB 30 นาทีมีอัตราการเจริญเติบโต 32 เปอร์เซ็นต์, 88 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์ ใน *N. muscorum*, *P. boryanum* และ *Aphanothece* sp. ตามลำดับหลังจากการได้รับรังสี UVB 10 วัน ปริมาณเม็ดสีปริมาณออกซิเจนเซลล์ทั้งหมดการตรึงคาร์บอนและการสังเคราะห์แสงลดลงเมื่อปริมาณรังสี UVB เพิ่มขึ้น (15 และ 60 นาที) ผลกระทบของ UVB ใน *N. muscorum* นั้นมากกว่าใน *P. boryanum* และสังเกตเห็นผลกระทบน้อยที่สุดใน *Aphanothece* sp. และไฟโคไซยานินของไซยาโนแบคทีเรียได้รับผลกระทบอย่างรุนแรงจากการฉาย UVB มากที่สุดคือ ใน *N. muscorum* ตามด้วย *P. boryanum* และ *Aphanothece* sp.

Tao *et al*. (2010) ศึกษาผลของการฉายรังสี UVC ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเพื่อพัฒนาศักยภาพวิธีการป้องกันไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* และสาหร่ายสีเขียวน้ำจืดทั่วไป *Chlorella ellipsoidea*, *Chlorella Vulgaris* และ *Scenedesmus Quadricanda* นำสาหร่าย 20–200 มิลลิตรต่อตารางเซนติเมตร มาฉายรังสี UVC และบ่มในเวลา 9–15 วัน พบว่าการนำสาหร่าย 20–200 มิลลิลิตรต่อตารางเซนติเมตร มาฉายรังสี UVC สามารถยับยั้งการเติบโตของ *M. aeruginosa*. ได้ 3-13 วัน และการนำสาหร่าย 20 และ 50 มิลลิลิตรต่อตารางเซนติเมตร มาฉายรังสี UVC พบว่า *M. aeruginosa* ตายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ของเซลล์ทั้งหมด การนำสาหร่าย 100 และ 200 มิลลิลิตรต่อตารางเซนติเมตร ฉายรังสี UVC ทำให้เซลล์แตกตัวรุนแรงมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ของเซลล์ การนำประยุกต์ใช้การฉายรังสี UVC เพื่อใช้สำหรับควบคุมการบลูมของ *M. aeruginosa*

Borderie *et al*. (2011) ศึกษาผลของการฉายรังสี UVC ต่อสาหร่ายที่คัดแยกในถ้ำต่าง ๆ ในดอร์ดอญ (ตะวันตกเฉียงใต้ของฝรั่งเศส) ก่อนทำการฉาย UVC นำสารแขวนลอยเซลล์สาหร่าย

เพื่อประเมินความมีชีวิตของเซลล์สาหร่ายแล้วพบว่ามีการเจริญเติบโตจากนั้นทำการศึกษาการฉายรังสี UVC เซลล์สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3, 6, หรือ 9 ชั่วโมง ต่อจากนั้นนำสาหร่ายมาวัดโดยการถ่ายภาพมาโคร สรุปว่าการฉายรังสี UVC มีผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงและการเติบโตของเซลล์สาหร่าย

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และจุลินทรีย์

3.1.1 กระจกปิดสไลด์ (Cover Slide)

3.1.2 กระจกสไลด์ (Microscope Slides)

3.1.3 กล่องน้ำแข็ง (Ice box)

3.1.4 กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ (Compound Microscope) ยี่ห้อ Olympus รุ่น cx 21

3.1.5 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.6 ขวดสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Reagent bottle) ขนาด 500 – 2,000 มิลลิลิตร

3.1.7 ขวดแก้ว (Glass vial) ขนาด 10 มิลลิลิตร

3.1.8 เข็มเขี่ยเชื้อปลายแหลม (Needle)

3.1.9 เครื่องเขย่า (Incubator shaker) ยี่ห้อ N – BIOTEK รุ่น NB – 205 VL

3.1.10 เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer) ยี่ห้อ Scientific Industries

3.1.11 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Analytical balance) ยี่ห้อ OHAUS รุ่น Pioneer^{Tm}

3.1.12 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP2105

3.1.13 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ WiseSpin

3.1.14 เครื่องพีซีอาร์ (PCR Thermal Cycler) ยี่ห้อ BIO-RAD

3.1.15 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ (Real Time PCR) ยี่ห้อ Eppendorf

3.1.16 เครื่องฉายแสงยูวี (Gel document)

3.1.17 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (ยี่ห้อ Thermo scientific)

3.1.18 เครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า (Gel electrophoresis chamber)

3.1.19 จานเพาะเชื้อ (Plate)

3.1.20 ชุดทำความสะอาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PureLink^{TM} Genomic DNA Mini Kit)

3.1.21 ทิป (Tip) ยี่ห้อ LC ANALYTICAL

3.1.22 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)

3.1.23 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow) ยี่ห้อ ESCO รุ่น HB 2436

3.1.24 ตู้เย็น (Refrigerator)

3.1.25 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ WiseVen รุ่น Wisd

3.1.26 เตาอบไมโครเวฟ (Microwave)

3.1.27 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.28 ปิเปตดูดสาร (Pipette) ขนาด 1 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร

3.1.29 ถุงพลาสติก (Plastic bag)

3.1.30 ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 0.1-1000 ไมโครลิตร

3.1.31 หลอดทดลอง (Test tube)

3.1.32 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave – autosystem sterilizer) ยี่ห้อ N–BIOTEK รุ่น NB– 1100

3.1.33 หลอดพีซีอาร์ (PCR Tube) (ยี่ห้อ LCPremium)

3.1.34 หลอดไมโครทิวบ์ (Micro Tube)

3.1.35 ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.1.36 สารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน

3.1.37 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ยี่ห้อ dragonlab

3.1.38 แอลกอฮอล์ 40% (40% Ethyl Alcohol)

3.1.39 แอลกอฮอล์ 70% (70% Ethyl Alcohol)

3.1.40 แอลกอฮอล์ 95% (95% Ethyl Alcohol)

3.1.41 Absolute Ethanol

3.1.42 Ammonium ferric citrate green ($C_6H_8O_7$•xFe_3•yNH_3)

3.1.43 Agar

3.1.44 Agarose Gel

3.1.45 Boric acid (H_3BO_3)

3.1.46 10X Buffer of Taq DNA

3.1.47 Calcium chloride dihydrate ($Cacl_2$•$2H_2O$

3.1.48 Chlorofrom

3.1.49 Citric acid ($C_6H_8O_7$)

3.1.50 dNTP (Deoxy Nucleotide Triphosphate)

3.1.51 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity)

3.1.52 Dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4)

3.1.53 Distilled water (DI)

3.1.54 Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate ($EDTANa_2$)

3.1.55 Gel Loading Dye Blue (6X)

3.1.56 Glass bead

3.1.57 Gallic acid monohydrate

3.1.58 Folin-Ciocalteu' s reagent solution

3.1.59 Phenol

3.1.60 Isoamyl

3.1.61 Methanol

3.1.62 Magnesium Chloride (MgCl2)

3.1.63 Magnesium sulfate heptahydrate ($MgSo_4 \bullet 7H_2O$)

3.1.64 1X TAE Buffer

3.1.65 Trace metal solution

3.1.65.1 Boric acid (H_3BO_3)

3.1.65.2 Cobalt(II) Nitrate Hexahydrate ($Co\ (No_3)_2 \bullet 6H_2O$)

3.1.65.3 Copper(II) Sulfate Pentahydrate ($CuSo_4 \bullet 5H_2O$)

3.1.65.4 Manganese (II) chloride tetrahydrate ($MnCl_2 \bullet 4H_2O$)

3.1.65.5 Sodium molybdate dihydrate ($Na_2MoO_4 \bullet 2H_2O$)

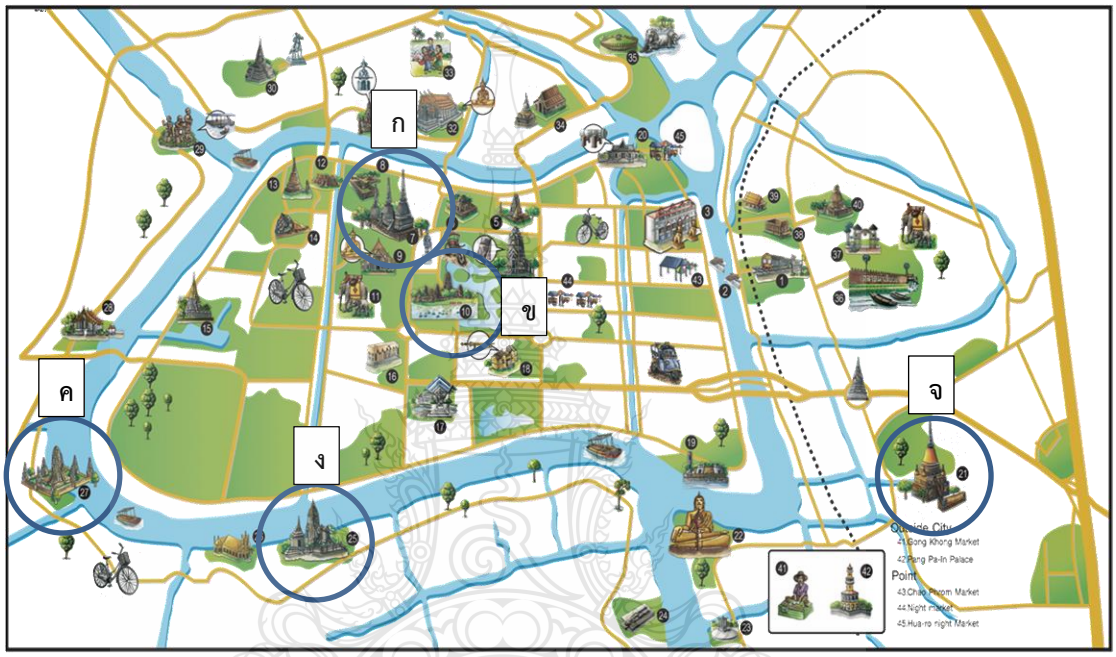
3.1.65.6 Zinc sulfate heptahydrate ($ZnSo_4 \bullet 7H_2O$)

3.1.66 Sodium carbonate (Na_2CO_3)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 จุดเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างที่บริเวณพื้นผิวต่าง ๆ เช่น พื้นปูน พื้นไม้ และ อิฐ ใช้อุปกรณ์เก็บตัวอย่างสาหร่าย (forceps) ใส่ลงในขวดเก็บตัวอย่าง หลังจากนั้น บันทึกสถานที่ เวลา และถ่ายภาพ



ภาพที่ 1 แผนที่จุดเก็บตัวอย่างในเขตอุทยานประวัติศาสตร์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ก. จุดเก็บตัวอย่างวัดพระศรีสรรเพชญ์

ข. จุดเก็บตัวอย่างวัดพระราม

ค. จุดเก็บตัวอย่างวัดไชยวัฒนาราม

ง. จุดเก็บตัวอย่างวัดใหญ่ชัยมงคล

จ. จุดเก็บตัวอย่างวัดพุทไธศวรรย์

ภาพที่ 2 พื้นที่เก็บตัวอย่างในเขตอุทยานประวัติศาสตร์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ฉ. จุดเก็บตัวอย่างวัดพระศรีสรรเพชญ์

ช. จุดเก็บตัวอย่างวัดพระราม

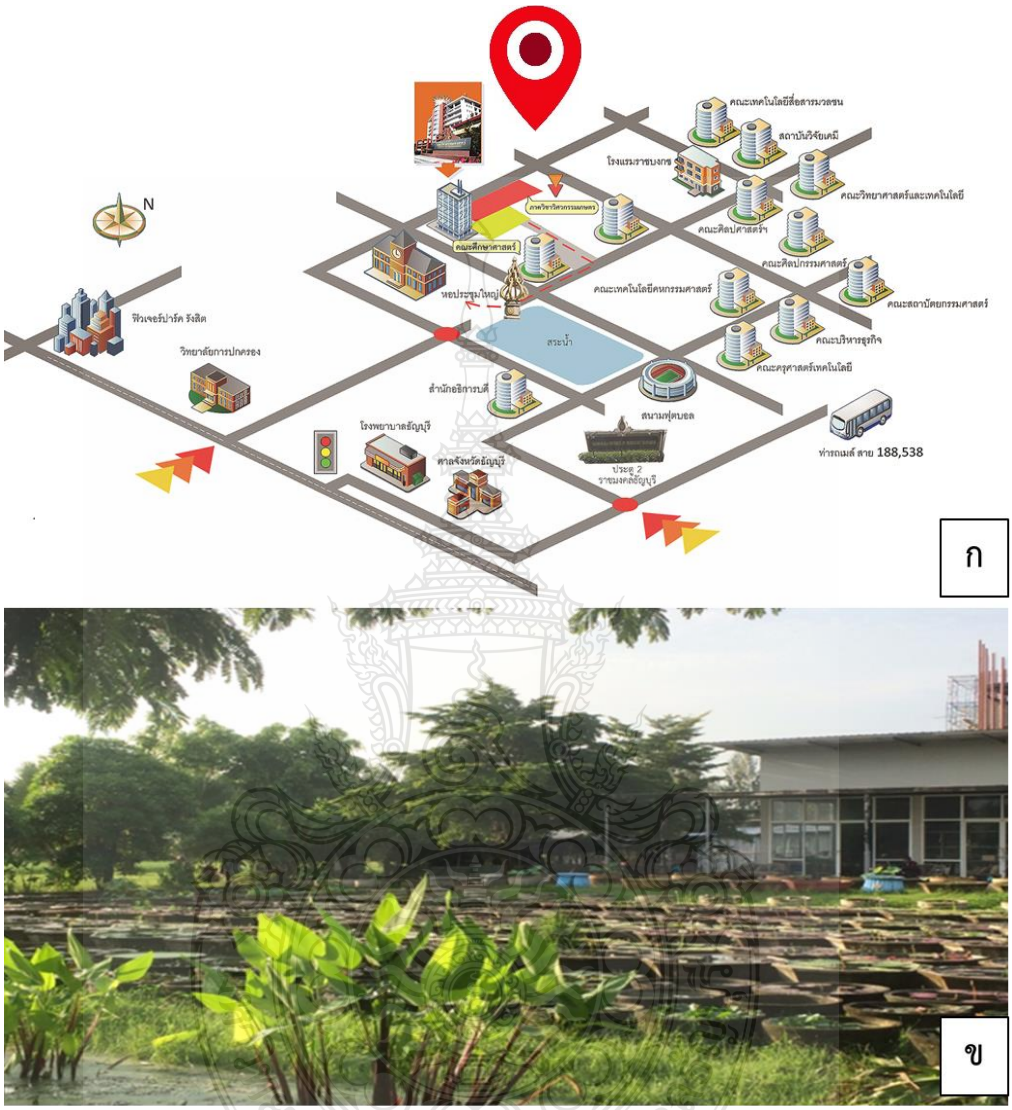
ซ. จุดเก็บตัวอย่างวัดไชยวัฒนาราม

ฌ. จุดเก็บตัวอย่างวัดใหญ่ชัยมงคล

ญ. จุดเก็บตัวอย่างวัดพุทไธศวรรย์

ตารางที่ 1 รายละเอียดของแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง

จุดเก็บตัวอย่าง	GPS	ความสูงจากระดับน้ำทะเล (เมตร)
วัดพระศรีสรรเพชร จ. พระนครศรีอยุธยา	14°21'21.3"N 100°33'31.3"E	6
วัดพระราม จ. พระนครศรีอยุธยา	14°21'14.5"N 100°33'42.4"E	6
วัดไชยวัฒนาราม จ. พระนครศรีอยุธยา	14°20'34.5"N 100°32'30.4"E	7
วัดวัดใหญ่ชัยมงคล จ. พระนครศรีอยุธยา	14°20'43.4"N 100°35'32.4"E	6
วัดพุธไธสวรรค์ จ. พระนครศรีอยุธยา	14°20'22.1"N 100°33'29.6"E	6
พิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จ. ปทุมธานี	14°01'56.4"N 100°43'47.7"E	3



ภาพที่ 3 พื้นที่เก็บตัวอย่างพิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ก. แผนที่ภายในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ข. พิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

3.2.2 ความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียว

3.2.2.1 การศึกษาด้านลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ทำสไลด์ด้วยวิธี wet mount และถ่ายรูปใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นระบุชนิดของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียวด้วยข้อมูลทางสัณฐานวิทยา

3.2.2.2 การศึกษาลักษณะโครงสร้างทางโมเลกุล

ทำการคัดแยกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียวชนิดต่าง ๆ ที่ได้นำมาเลี้ยง ในอาหาร BG11 Agar และ Chlorella Agar ตามชนิดที่ระบุจากการศึกษาด้านสัณฐานวิทยา ใช้เทคนิค streak plate บนอาหาร BG11 agar หรือ Chlorella agar ตามชนิดของสาหร่าย ด้วยวิธี Aseptic technique ในตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow) ยี่ห้อ ESCO รุ่น HB 2436 แล้วนำไปวางใต้ไฟที่อุณหภูมิห้อง Re-streak จนเป็นเชื้อบริสุทธิ์ เขี่ยโคโลนีเดี่ยวมาเลี้ยงใน ขวดแก้ว (Glass vail) ที่มีอาหาร BG11 Broth ด้วยวิธี Aseptic technique นำไปเขย่าที่เครื่องเขย่า (Incubator shaker) ยี่ห้อ N – BIOTEK รุ่น NB – 205 VL 160 rpm. จากนั้นทำสไลด์ด้วยวิธี wet mount และถ่ายรูปใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นระบุชนิดของสาหร่ายด้วยหนังสือคีย์

3.2.3 การคัดเลือกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียวที่ทนแสง UV ชนิดต่าง ๆ

นำสาหร่ายที่ทำการคัดแยกได้มาทดสอบการเจริญเติบโตภายใต้แสงยูวี โดยใช้เทคนิคการ Drop Plate ดูดสารละลายตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร BG11 agar หรือ Chlorella agar ตามชนิดของสาหร่าย ด้วยวิธี Aseptic technique ในตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow) ยี่ห้อ ESCO รุ่น HB 2436 วางใต้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) และวางใต้UV (UVA, UVB และ UVC) โดยให้แสง 12 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง บันทึกผลการเจริญเติบโตเป็นเวลา 7 วัน เก็บผลการทดลอง วันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7

3.2.4 ระบุชนิดของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียว

3.2.4.1 การระบุสายพันธุ์ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียวด้วยเทคนิคทางสัณฐานวิทยา

นำสาหร่ายที่คัดแยกไว้เป็นโคโลนีเดียวทั้งในจานเพาะเชื้อ (Plate) และขวดแก้วเล็ก (vail) มา wet mount และถ่ายรูปใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นระบุชนิดของสาหร่ายด้วยหนังสือที่เกี่ยงข้อง

3.2.4.2 การระบุสายพันธุ์ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียว

ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลการสกัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอจากสาหร่ายด้วยเทคนิค Glass bead การระบุสายพันธุ์ของสาหร่ายด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลด้วยวิธี Glassbead+Phenol : Chloroform : Isomylate เตรียมเซลล์สาหร่ายที่ต้องการตรวจนำไปสกัดดีเอ็นเอของสาหร่าย

ดังกล่าว เติม 1X TE Buffer ปริมาตร 400 ไมโครลิตร, Glass bead และ10 % SDS ปริมาตร 8 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติม Phenol ปริมาตร 400 ไมโครลิตรจากนั้นนำไป Vortex นาน 10 วินาที สลับกับวางบนน้ำแข็ง 10 วินาที นำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นดูดส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่ แล้วเติม Phenol : Chloroform : Isoamyl เท่ากับส่วนใส นำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่เติม Chloroform : Isoamyl เท่ากับส่วนใส นำไปปั่นเหวี่ยง 10000 rpm 11 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่เติม 3M NaAc (โซเดียมอะซิเตรต) 0.1 V และ Isopropanol (แช่เย็น) เท่ากับส่วนใส ดูดส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ข้ามคืน นำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทิ้งส่วนใสเติม 70% ethanol นำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทิ้งส่วนใสเติม1X TE Buffer ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การเพิ่มปริมาณยีน 16s RNA ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียวด้วยเทคนิค PCR (Polymerase chain reaction) โดยการออกแบบไพรเมอร์มีลำดับเบส ดังนี้

Primer-F 5’-AGAATCTGCCYYYWGRWBBGGGACA-3’

Primer-R 3’-GATTCCKMCTTCAKGCAGGCGAGTT-5’

จากนั้นนำจีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้เพิ่มปริมาณยีน 16s RNA ด้วยเทคนิค PCR เตรียมสารละลาย Master mix ปริมาตร 26 ไมโครลิตร เติม DNA บริสุทธิ์ (DNA Template) ที่สกัดได้ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยาด้วยเครื่อง PCR โดยมีสภาวะดังนี้ Initial denature 94 องศาเซลเซียส เวลา 3 นาที , Denature 94 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที, Annealing 67 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที , Extension 72 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที , Final extension 72 องศาเซลเซียส เวลา 10 วินาที , Hold 10 องศาเซลเซียส จากนั้นตรวจสอบยีน PCR produce ด้วยเทคนิค Gel electrophoresis นำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด Kit (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit) และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของยีนด้วยเทคนิค Gel electrophoresis อีกครั้ง จากนั้นเก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนส่งวิเคราะห์ลำดับเบส (DNA sequencing) เพื่อระบุสายพันธุ์และทำ Phylogenetic tree

3.2.5 การทดสอบช่วงที่ดูดกลืนแสงของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียว

3.2.5.1 วัดค่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่สภาวะแตกต่างกันภายใต้แสง UV

สาหร่ายที่ได้ทำการคัดเลือกสาหร่ายที่ทนแสง UV ชนิดต่างๆ จากข้อ (3.2.3) โดยมีทั้งหมด7 ไอโซเลต ได้แก่ *Phormidium* NM01, *Phormidium* NM02 , *Pseudanabaena* NM03, *Oscillatoria* NM04, *Lyngbya* NM05, *Chroococcidiopsis* NM06 และ *Chamydomonas* NM07

มาใส่ในขวดเพาะเชื้อ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ให้อากาศ จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงหลอดไฟปกติ, UVA, UVB และ UVC มีการให้แสง 12 ชั่วโมง ไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง ทำการทดลองทั้งหมด 7 วันและเก็บผลการทดลองทุกวันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 780 นาโนเมตร

3.2.5.2 วัดช่วงดูดกลืนแสงยูวีของสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงภายใต้แสง UV

เก็บสาหร่ายหลังการให้แสงชุดการเพาะเลี้ยงใต้ไฟฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม), ชุดการทดลองที่ให้ UVA, UVB, UVC ทุกวันที่ 0, 1, 3, 5, 7 วัน โดยเก็บเซลล์สาหร่ายปริมาตร 30 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง ใส่ 20% Methanol 1.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง และใส่ 100% Methanol 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็น เวลา 10 นาที เก็บส่วนใสนำไปบ่มที่อ่างควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร และกรองด้วยฟิลเตอร์ 0.2 ไมโครเมตร วัดค่าการดูดกลืนแสง UVA ในช่วง 320-400 นาโนเมตร, UVB ในช่วง 280-320 นาโนเมตร, UVC ในช่วง 180-280 นาโนเมตร

3.2.6 การวิเคราะห์สารสีหรือรงควัตถุ

3.2.6.1 การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ*

การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* ตามวิธีของ Wintermans and de Mots, (1965) และ Saijo, (1975) กรองตัวอย่างสาหร่าย 10 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรอง GF/C เติม 90% Methanol 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630, 645, 665 และ 750 นาโนเมตร และนำมาคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* ดังสมการ

$$\text{คลอโรฟิลล์ } เอ\ (\mu g/ml) = \frac{[11.6(A_{665}-A_{750}) - 1.31(A_{645}-A_{750}) - 0.14(A_{630}-A_{750})\ X \text{ ปริมาณ methanol (ml)}}{\text{ปริมาณน้ำตัวอย่างที่กรอง (L) x 1/ความกว้างของ cuvette}}$$

3.2.6.2 การหาปริมาณแคโรทีนอยด์

การหาปริมาณแคโรทีนอยด์ตามวิธีของ (KMUTT, 2001) นำตัวอย่างสาหร่ายมากรองตัวอย่างสาหร่าย 25 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรอง GF/C จากนั้นเติม absolute ethanol 10 มิลลิลิตร และ 60% KOH 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 45-50 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีและปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงเติม diethyl ether 20 มิลลิลิตร และ 9% NaCl 20 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งส่วนผสมแยกชั้นเป็น 2 ส่วน ทิ้งสารละลาย

ส่วนล่าง เก็บสารละลายสีเหลืองใสส่วนบน เติม Na_2SO_4anhydrous เล็กน้อย จากนั้นจึงปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 25 มิลลิลิตร ด้วย diethyl ether และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และนำมาคำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์ดังสมการ

$$\text{มิลลิกรัมของแคโรทีนอยด์ / กรัมของเซลล์ (mg/g)} = \frac{OD_{450} \times 25 \times 100}{260 \times \text{มิลลิกรัมของน้ำหนักแห้ง}}$$

3.2.6.3 การหาปริมาณไฟโคบิลิโปรตีน

การหาปริมาณไฟโคบิลิโปรตีน ตามวิธีของ Bennet and Bogorad (1973) นำตัวอย่างสาหร่ายมาเติม 10 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl buffer pH 8.0 ผสมให้เข้ากัน ทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่อง Sonicator ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือจนกระทั่งเซลล์แตกหมดจากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 6,000 กรัม 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 562, 615 และ 652 นาโนเมตร และนำมาคำนวณปริมาณไฟโคบิลิโปรตีนดังสมการ

$$\text{แอลโลไฟโคไซยานิน (mg/mL) [APC]} = \frac{A_{652} - 0.208\,(A_{615})}{5.09}$$

$$\text{ไฟโคไซยานิน (mg/mL) [PC]} = \frac{A_{615} - 0.474\,(A_{652})}{5.34}$$

3.2.7 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

3.2.7.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH) ตามวิธีของ (Shimada *et al*., 1992)

เตรียมสาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH) ความเข้มข้น12 x 10^{-6} โมล่าร์ โดยชั่ง 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH) 4.73 x 10^{-3} กรัม ละลายในขวดปรับปริมาตรด้วย Absolute Ethanol 100 มิลลิลิตร วัดค่าดูดกลืนแสง ที่ 517 นาโนเมตร

จากนั้นนำตัวอย่างสาหร่ายหยาบ ความเข้มข้น 1:10 มิลลิลิตร โดยชั่งสาหร่ายหยาบ 50 มิลลิกรัม ละลายใน 40% ethanol 50 มิลลิลิตร นำตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ทำความเข้มข้น 1, 0.5 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร

วัดค่า sample blank ในอัตราส่วน 1: 1 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร โดยใช้ตัวอย่างแต่ละตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ผสมกับ Absolute Ethanol 1 มิลลิลิตร นำมาคำนวณดังสมการ ดังนี้

สารสกัดสาหร่าย = ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย - ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH จากนั้นนำมาคำนวณ เปอร์เซ็นการต้านอนุมูลอิสระ ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นการต้านอนุมูลอิสระ} = \frac{A_{ctr} - A_{sample} \times 100}{A_{ctr}}$$

เมื่อ A_{ctr} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control (มีเฉพาะ DPPH)

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด

3.2.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม (Total phenolic compounds) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent ตามวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีการของ (Tsai *et al.,* 2005)

เตรียมสารละลายในการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม (Total phenolic - compounds) เตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid monohydrate ความเข้มข้น 1มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่ง Gallic acid monohydrate 50 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วย 40% Ethanol จนได้ 50 มิลลิลิตร เตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent solution อัตราส่วน 1: 10 โดยนำ Folin-Ciocalteu's reagent solution 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เตรียมสารละลาย 7.5% Sodium carbonate (Na_2CO_3) โดยชั่ง 18.75 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร 250 มิลลิลิตร

สร้างกราฟมาตรฐานของ Gallic acid monohydrate โดยนำสาร Gallic acid monohydrate เจือจางที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลาย Gallic acid monohydrate แต่ละความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu's ที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 7.5% Sodium carbonate (Na_2CO_3) และผสมสารละลาย Vortex mixer ในแต่ละความเข้มข้น นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสง 765 นาโนเมตร โดยใช้ Blank คือ 40% Ethanol 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ Folin-Ciocalteu's reagent solution 2.5 มิลลิลิตรผสมกับ 7.5% Sodium carbonate (Na_2CO_3) 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน Gallic acid monohydrate

การตรวจสอบปริมาณ Total phenolic compounds ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียว ได้แก่ *Phormidium* NM01, *Phormidium* NM02 , *Pseudanabaena* NM03, *Oscillatoria*NM04, *Lyngbya*NM05, *Chroococcidiopsis* NM06 และ *Chamydomonas* NM07 ด้วยการนำสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมาเจือจาง 40% Ethanol ด้วยความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาใส่ในหลอดทดลอง 0.5 มิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu's reagent solution 2.5 มิลลิลิตร เติม 7.5% Sodium carbonate 2.5 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารด้วยเครื่อง Vortex จากนั้นนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยใช้ Blank คือ 40% Ethanol 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ Folin-Ciocalteu's reagent solution 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับ 7.5% Sodium carbonate 2.5 มิลลิลิตร

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ

การศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายที่อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มี UV สูง จากโบราณสถานในเขตอุทยานประวัติศาสตร์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา และพิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรีส่วนใหญ่ความหลากหลายทางชีวภาพจะพบสาหร่ายทั้งหมด 10 จีนัส 7 แฟมิลี่ ใน 2 ดิวิชัน ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของอักษร และ พูนพิไล (2526) ได้ทำการศึกษาสาหร่ายจากโบราณสถานวัดเขาสุวรรณคีรี และ วัดช้างล้อม โดยนำตัวอย่างมาเลี้ยงในอาหาร 2 ชนิด คือ Modified Bristal's Solution ซึ่งเป็นอาหารสำหรับสาหร่ายสีเขียว และ Specific Media Cultune อาหารสำหรับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสังเกตสีของสาหร่าย ลักษณะรูปร่างและวงจรชีวิต พบสาหร่าย Division Cyanophyta ซึ่งสาหร่ายที่พบจะเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จุดเก็บตัวอย่างที่ 1 วัดพระศรีสรรเพชร พบ *Scytonema* sp. ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จุดเก็บตัวอย่างที่ 2 วัดพระราม พบ *Chroococcus* sp. ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และพบ *Scytonema* sp. เป็นสปีชีส์เด่น

จุดเก็บตัวอย่างที่ 3 วัดไชยวัฒนาราม พบ *Gloeocapsa* sp. และ *Chroococcus* sp. ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และ *Scytonema* sp. เป็นสปีชีส์เด่น

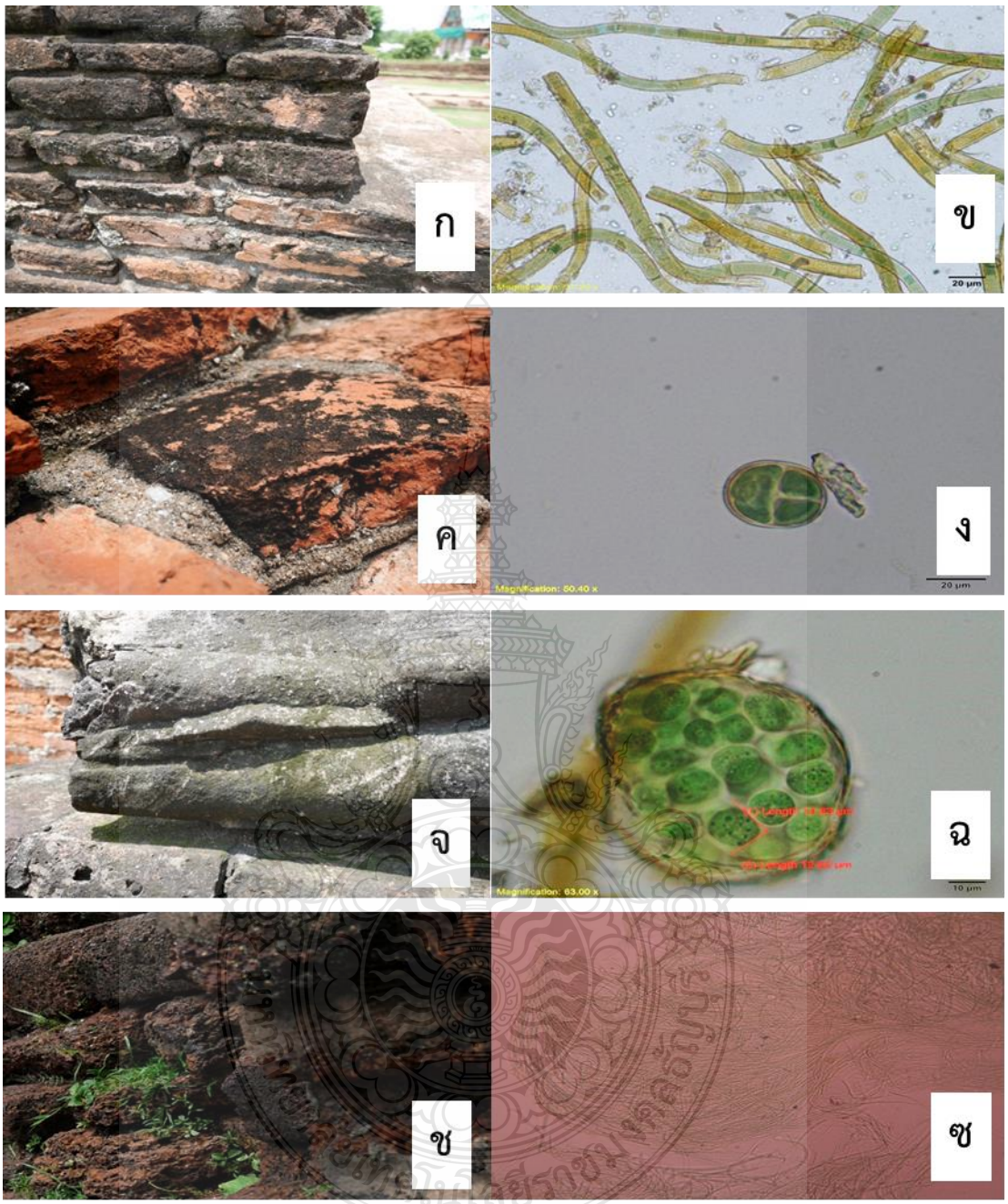
จุดเก็บตัวอย่างที่ 4 วัดพระศรีสรรเพชร พบ *Scytonema* sp. ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จุดเก็บตัวอย่างที่ 5 วัดพุธไธสวรรค์ พบ *Pseudanabaena* sp., *Lyngbya* sp., *Gloeocapsa* sp. และ *Oscillatoria* sp. ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จุดเก็บตัวอย่างที่ 6 พิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Chroococcidiopsis* sp. พบ *Chlorella* sp. และ *Chamydomonas* sp. ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียว

ตารางที่ 2 ชนิดของสาหร่ายที่พบในพื้นที่อุทยานประวัติศาสตร์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา และพิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี

สาหร่าย
Division Cyanophyta
Family Microcystidaceae
Gloeocapsa sp.
Chroococcus sp.
Family Oscillatorioideae
Oscillatoria sp.
Lyngbya sp.
Family Xenococcaceae
Choorcoccidiopsis sp.
Family Phormidiaceae
Pseudanabaena sp.
Phormidium sp.
Family Scytonemataceae
Scytonema sp.
Division Chlorophyta
Family Chlorellaceae
Chlorella sp.
Family Chlamydomonadaceae
Chlamydomonas sp.



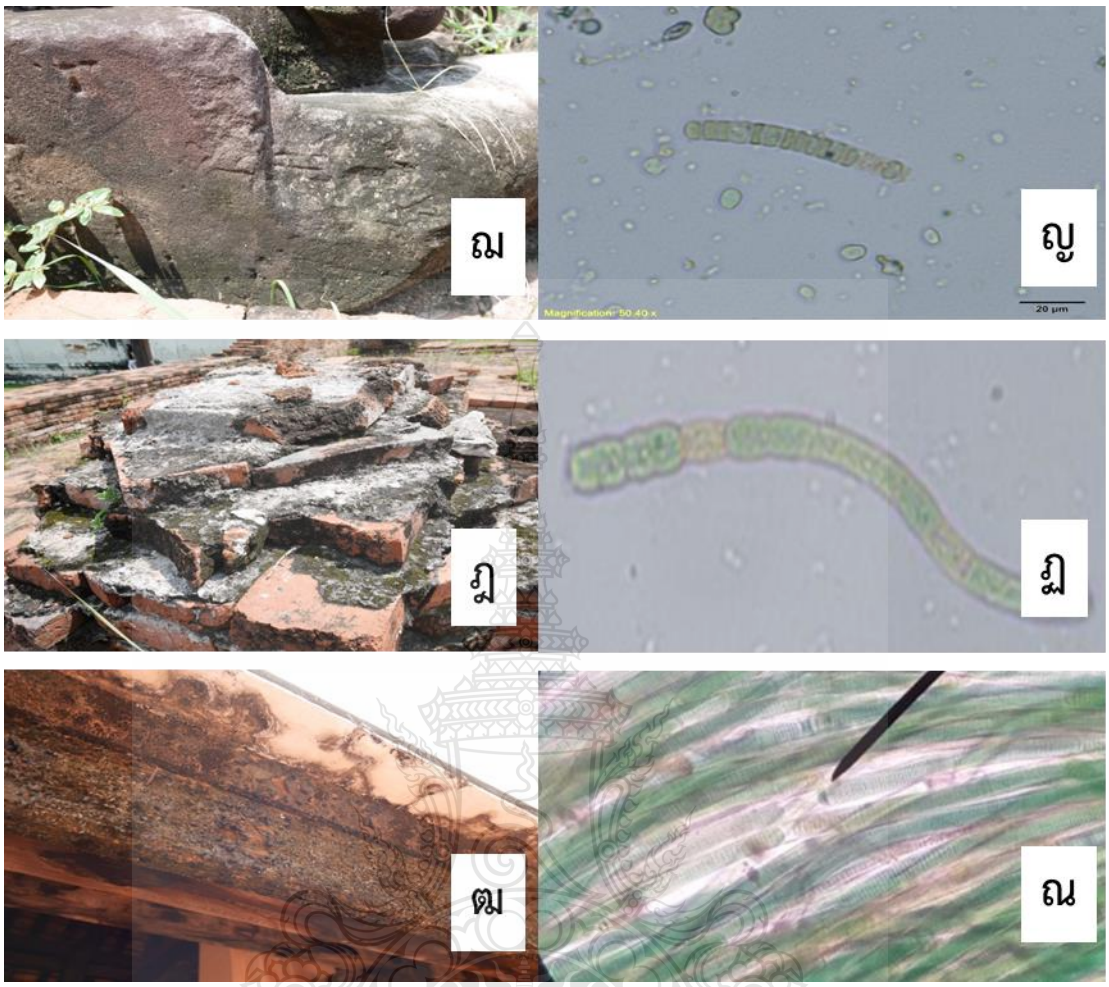
ภาพที่ 4 สาหร่าย Division Cyanophyta ที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ

(ก) - (ข) ลักษณะที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Scytonema* sp.

(ค) - (ง) ลักษณะที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Chroococcus* sp.

(จ) - (ฉ) ลักษณะที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Gloeocapsa* sp.

(ช) - (ซ) ลักษณะที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Phormidium* sp.

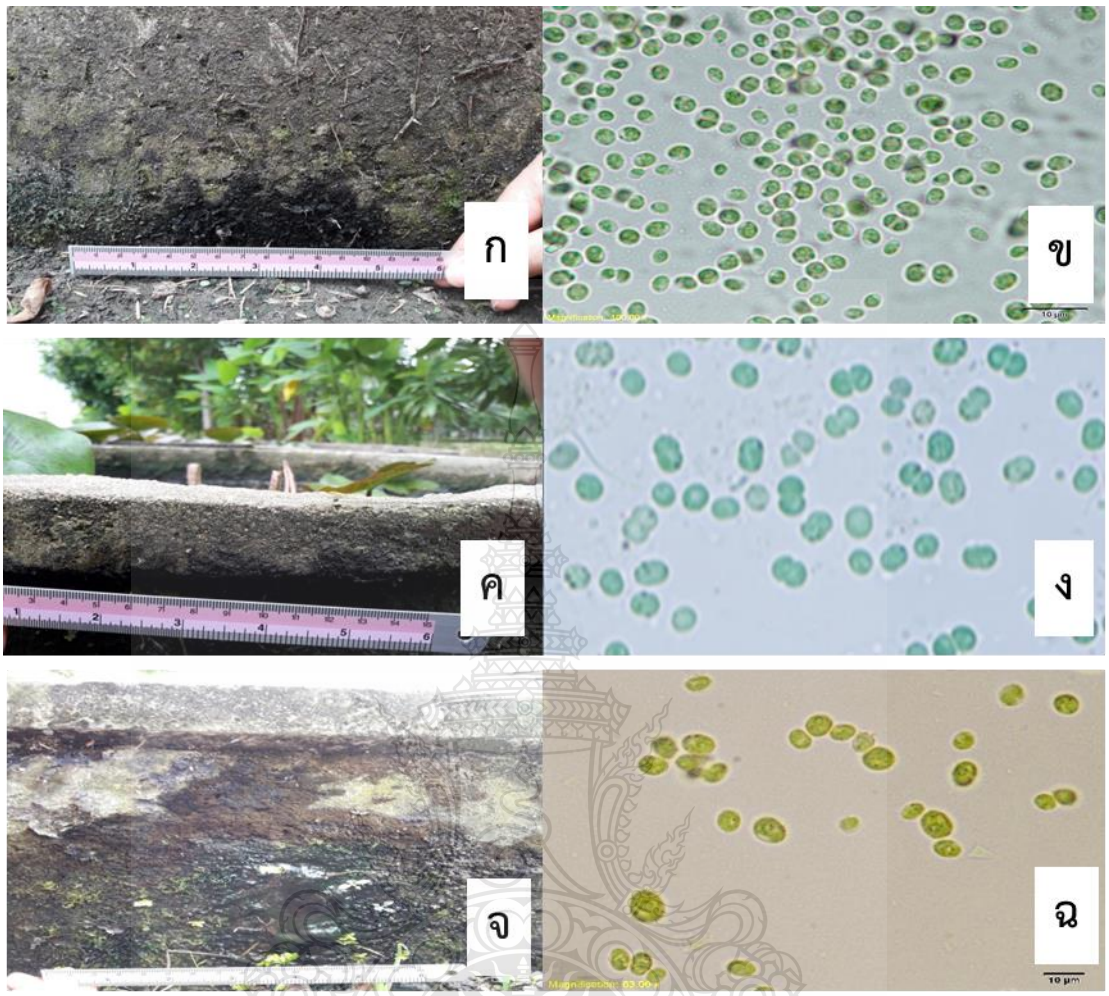


ภาพที่ 5 สาหร่าย Division Cyanophyta ที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ

(ณ) - (ญ) ลักษณะที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Pseudanabaena* sp.

(ฎ) - (ฏ) ลักษณะที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Lyngbya* sp.

(ฒ) - (ณ) ลักษณะที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Oscillatoria* sp.



ภาพที่ 6 สาหร่าย Division Chlorophyta ที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ

(ก) - (ข) ลักษณะที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Chlorella* sp.

(ค) - (ง) ลักษณะที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Chroococcidiopsis* sp.

(จ) - (ฉ) ลักษณะที่พบในธรรมชาติและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Chamydomonas* sp.

4.2 ผลการคัดแยกสาหร่ายที่อยู่ในสิ่งแวดล้อม UV สูง

ทำการคัดแยกตัวอย่างสาหร่ายที่อยู่ในสิ่งแวดล้อม UV สูง จากจุดเก็บตัวอย่างต่าง ๆ โดยสามารถคัดแยกได้ทั้งหมด 9 ไอโซเลต คือ *Phormidium* sp. (NM01), *Phormidium* sp. (NM02), *Pseudanabaena* sp. (NM03), *Oscillatoria* sp (NM04), *Lyngbya* sp. (NM05), *Chroococcidiopsis sp.* (NM06), *Chamydomonas sp.* (NM07), *Chlorella* sp. (NM08), *Chlorella* sp. (NM_09) โดยพบว่าเป็นสาหร่ายสีเขียวและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ดังแสดงในตารางที่ 3

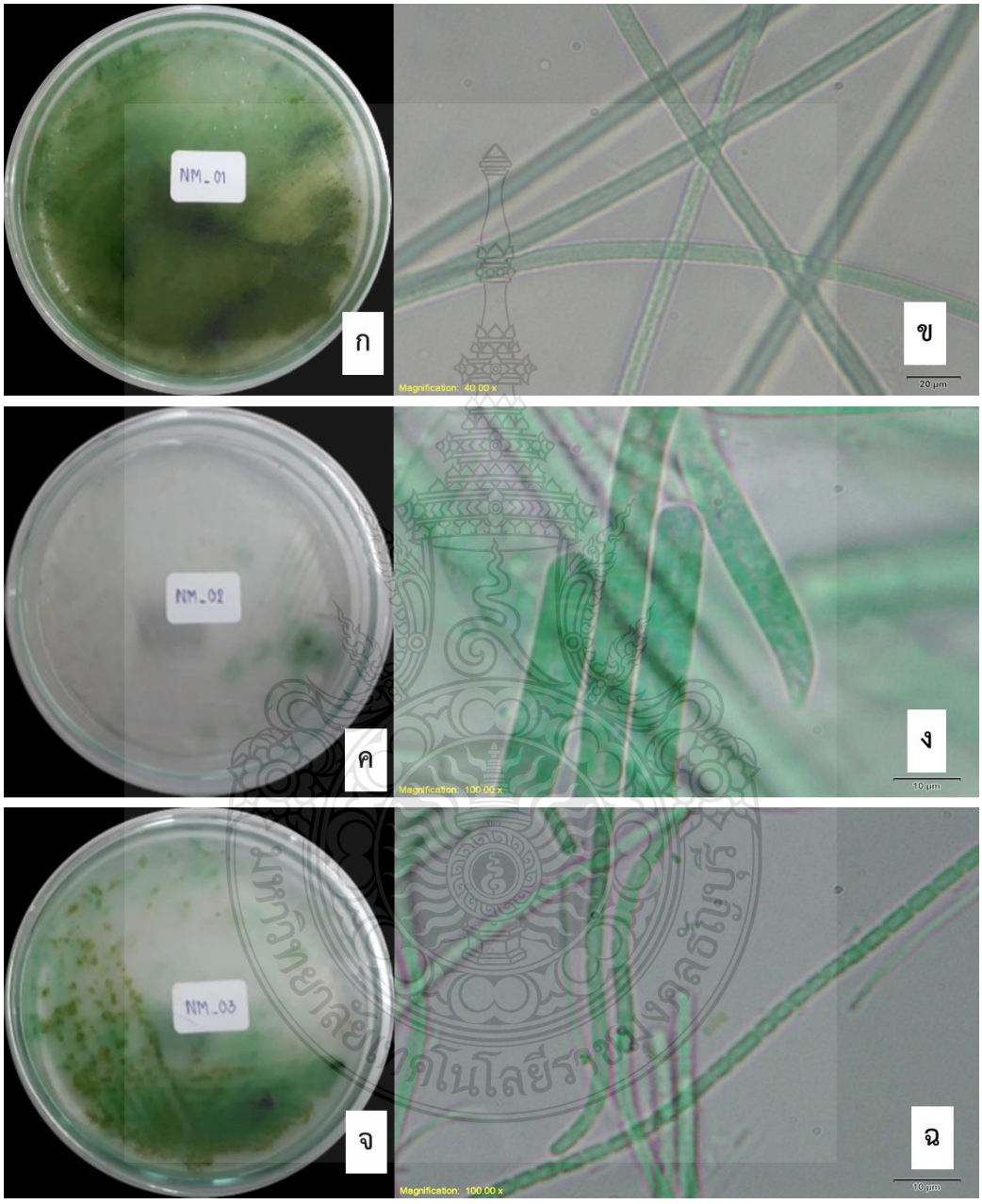
ตารางที่ 3 สาหร่ายที่คัดแยกได้ในห้องปฏิบัติการ

สาหร่าย
Division Cyanophyta
Family Oscillatorioideae
Oscillatoria sp.
Lyngbya sp.
Family Xenococcaceae
Choorcoccidiopsis sp.
Family Phormidiaceae
Pseudanabaena sp.
Phormidium sp.
Division Chlorophyta
Family Chlorellaceae
Chlorella sp.
Family Chlamydomonadaceae
Chlamydomonas sp.

4.2.1 การศึกษาสัณฐานวิทยา

เมื่อนำโคโลนีสาหร่ายบริสุทธิ์มาถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ พบว่าสัณฐานวิทยาของเซลล์พบว่าส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือเป็นเส้นสาย เซลล์มีรูปร่างแบบกลม ท่อน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสิริพร (2560) ทำการคัดแยกไซยาโนแบคทีเรียบนรากไม้ ทางภาคตะวันออกของประเทศไทย พบว่าไซยาโนแบคทีเรียที่จำแนกได้

อยู่ในรูปของเส้นสาย ไซยาโนแบคทีเรียที่พบจำนวนชนิดมากที่สุด 2 สกุล คือ *Oscillatoria* sp. ตามด้วย *Pseudanabaena* sp.

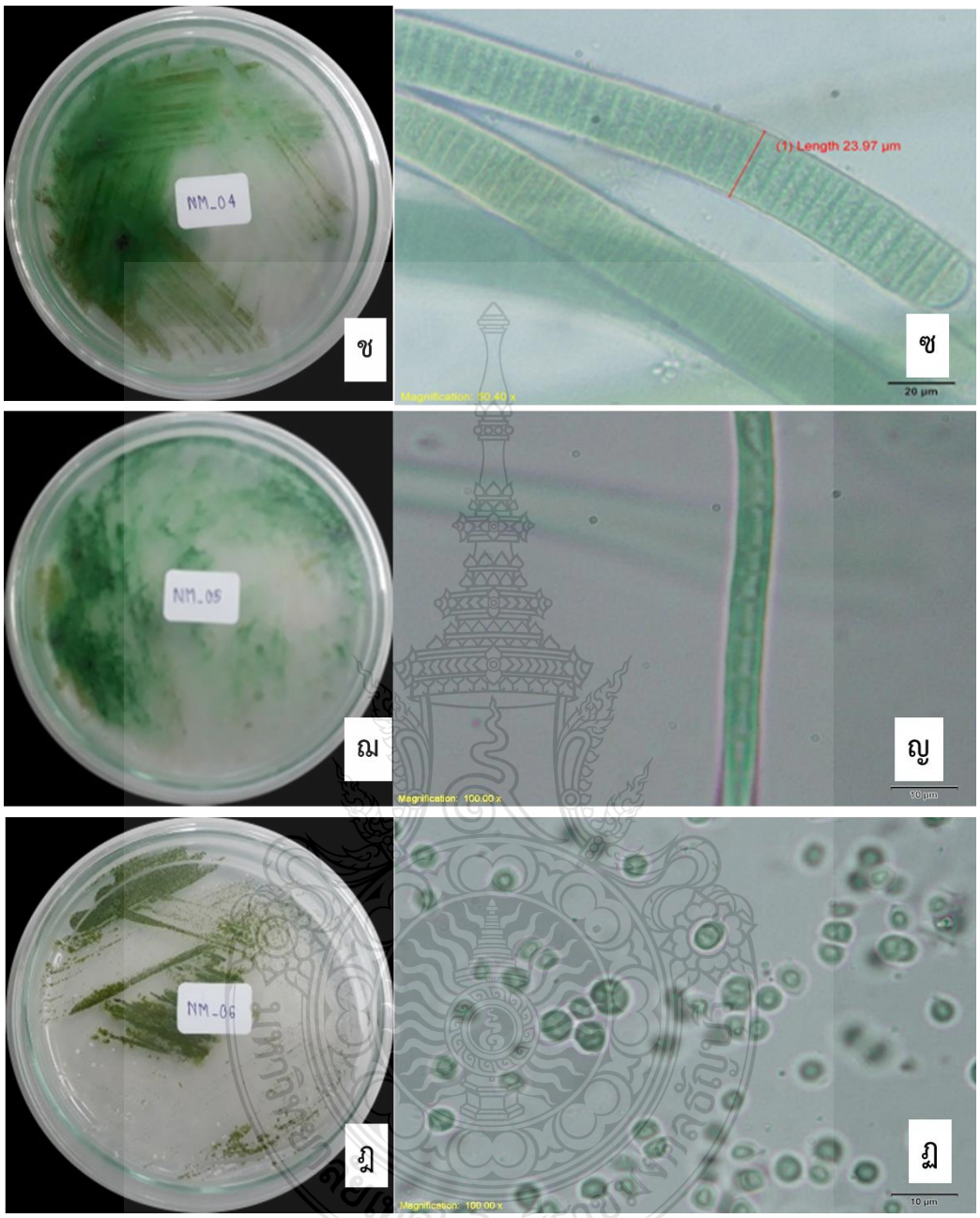


ภาพที่ 7 สัณฐานวิทยาของสาหร่ายที่คัดแยกได้

(ก) - (ข) แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Phormidium* sp. (NM01)

(ค) - (ง) แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Phormidium* sp. (NM02)

(จ) - (ฉ) แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Pseudanabaena* sp. (NM03)

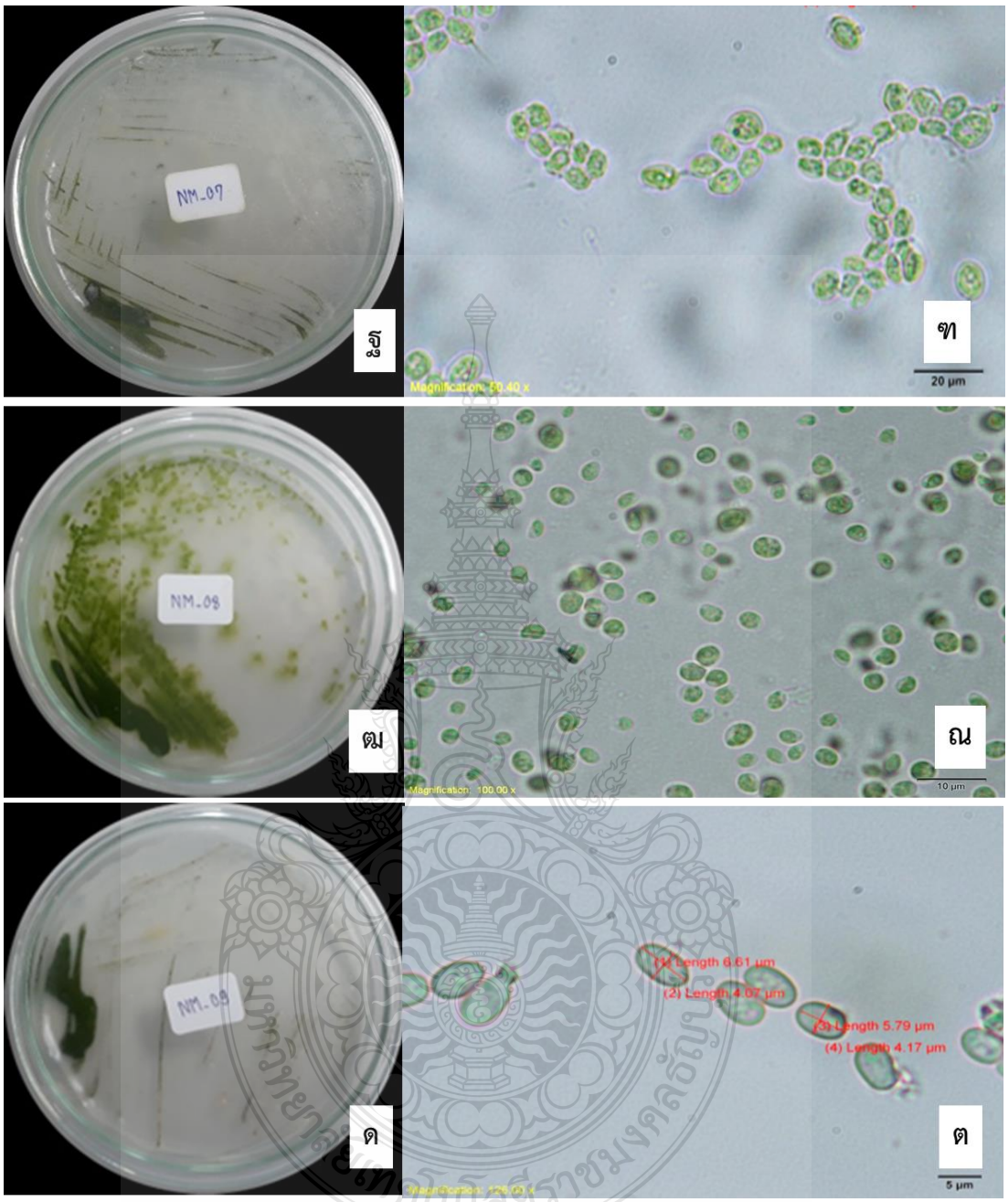


ภาพที่ 8 สัณฐานวิทยาของสาหร่ายที่คัดแยกได้

(ช) - (ซ) แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Oscillatoria* sp (NM04)

(ฌ) - (ญ) แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Lyngbya* sp (NM05)

(ฎ) - (ฏ) แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Chroococcidiopsis sp.* (NM06)



ภาพที่ 9 สัณฐานวิทยาของสาหร่ายที่คัดแยกได้

(ฐ) - (ฑ) แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Chamydomonas sp.* (NM_07)

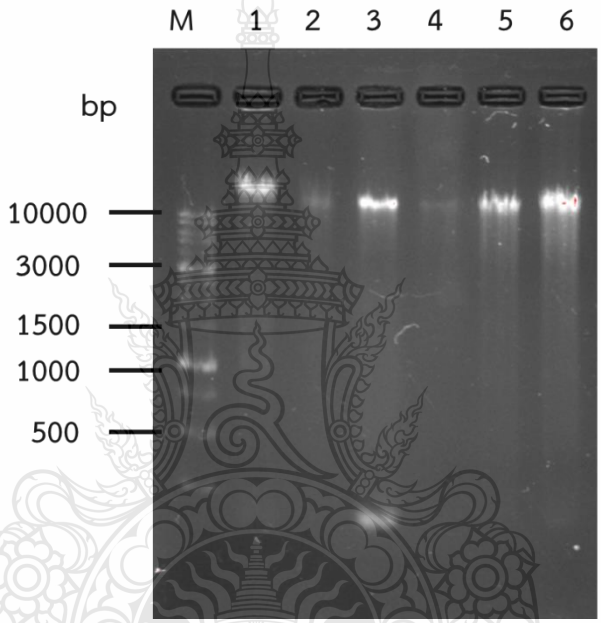
(ฒ) - (ณ) แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Chlorella* sp. (NM_08)

(ด) - (ต) แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *Chlorella* sp. (NM_09)

4.3 ผลการระบุชนิดของสาหร่าย

4.3.1 การสกัดจีโนมิคดีเอ็นเอ (DNA Extraction)

จากการสกัดจีโนมิคดีเอ็นเอจากไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ *Phormidium* sp., *Pseudanabaena* sp., *Oscillatoria* sp., *Lyngbya* sp.**,** *Chroococcidiopsis* sp. จีโนมิคดีเอ็นเอที่ได้นำมาตรวจสอบด้วยการโหลดบน 0.8 เปอร์เซ็นต์ เจลอะกาโรส พบว่าดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดที่ใหญ่กว่า 10 กิโลเบส ดังแสดงในภาพที่ 10 โดยจีโนมิคดีเอ็นเอนี้จะถูกนำมาใช้เป็นดีเอ็นเอแม่แบบสำหรับเทคนิคพีซีอาร์ในการทดลองลำดับต่อไป



ภาพที่ 10 จีโนมิคดีเอ็นเอที่สัดได้จากไซยาโนแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ที่ทดสอบและวิเคราะห์บนเจลอะกาโรส 0.8 เปอร์เซ็นต์

แถบที่ M คือดีเอ็นเอมาตรฐาน (GeneRuler 1 kb DNA ladder)

แถบที่ 1 คือจีโนมิคดีเอ็นเอของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Phormidium* sp.

แถบที่ 2 คือจีโนมิคดีเอ็นเอของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Phormidium* sp.

แถบที่ 3 คือจีโนมิคดีเอ็นเอของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Pseudanabaena* sp.

แถบที่ 4 คือจีโนมิคดีเอ็นเอของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Oscillatoria* sp.

แถบที่ 5 คือจีโนมิคดีเอ็นเอของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lyngbya* sp.

แถบที่ 6 คือจีโนมิคดีเอ็นเอของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Chroococcidiopsis* sp.

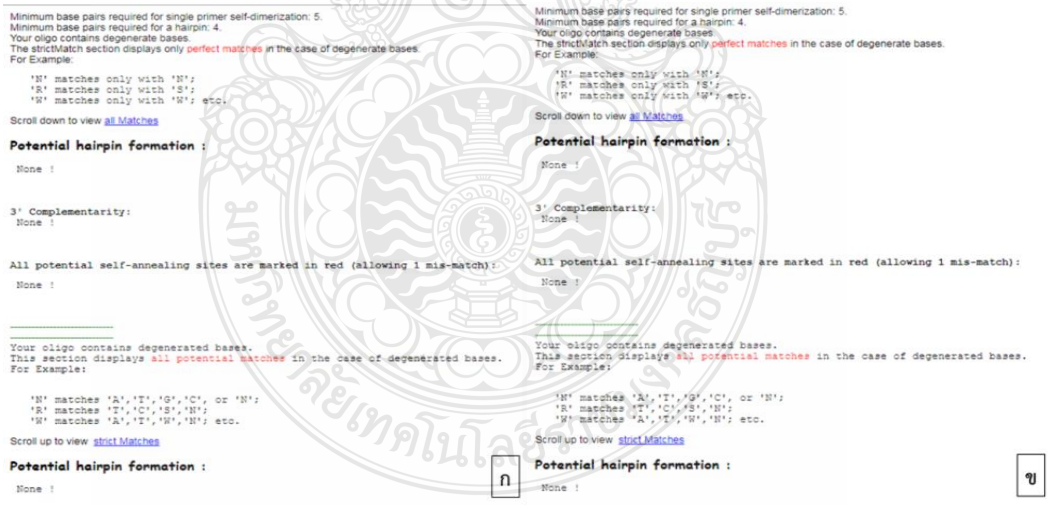
4.3.2 การคัดเลือกและออกแบบไพรเมอร์

จากการค้นหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16*S rRNA ของไซยาโนแบคทีเรีย ทั้ง 5 สายพันธุ์คือ *Phormidium* sp., *Pseudanabaena* sp., *Oscillatoria* sp., *Lyngbya* sp., *Chroococcidiopsis* sp.จากฐานข้อมูล NCBI โดยมีเลขรหัสฐานข้อมูลดังนี้ EU078511.1 (*Phormidium*), AB039018.1 (Pseudanabaena), AB039015.1 (Oscillatoria), AB039013.1 (Lyngbya), AB039005.1 (Chroococcidiopsis) จากนั้นนำข้อมูลมาทำการ Alignment และทำการคัดเลือก F-Primer และ R-Primer ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *16*S rRNA

ยีน	ลำดับไพรเมอร์	ขนาดของผลิตภัณฑ์ (bp)	อุณหภูมิ °C
*16*S rRNA	Primer-F 5'-AGAATCTGCCYYYWGRWBBGGGACA-3' Primer-R 3'-GATTCCKMCTTCAKGCAGGCGAGTT-5'	1260	67

จากนั้นนำมาตรวจการเกิด Primer dimer และการเกิด Hairpin loop ด้วยโปรแกรม Oligo Calc พบว่าไม่เกิดPrimer dimer และ Hairpin loop จึงสามารถนำมาใช้งานได้ ดังแสดงในภาพที่ 11



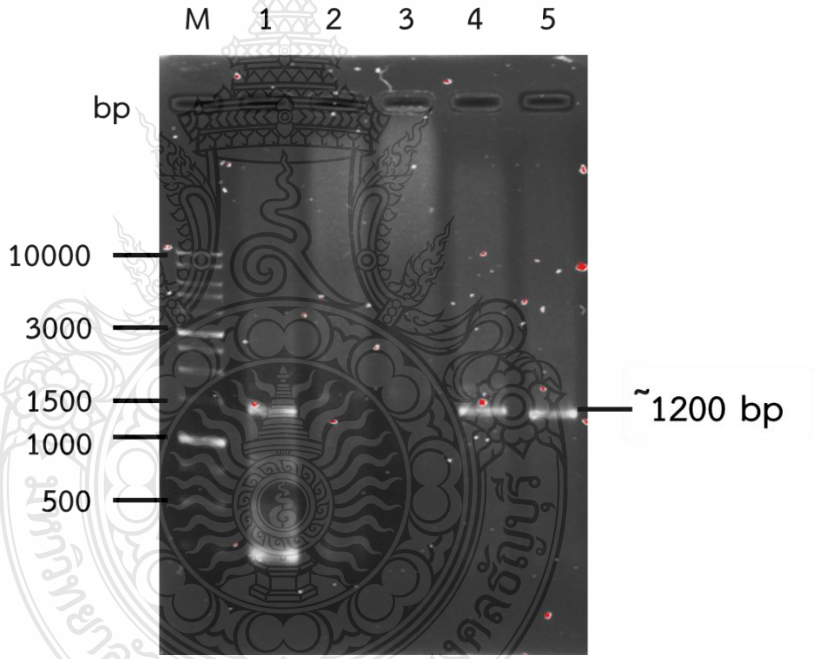
ภาพที่ 11 การตรวจการเกิด Primer dimer และเกิด Hairpin loop ของลำดับนิวคลีโอไทด์ Primer ด้วยโปรแกรม Oligo Calc

ก. การตรวจการเกิด Primer dimer และการเกิด Hairpin loop ของลำดับนิวคลีโอไทด์ Forward Primer ด้วยโปรแกรม Oligo Calc

ข. การตรวจการเกิด Primer dimer และการเกิด Hairpin loop ของลำดับนิวคลีโอไทด์ Forward Primer ด้วยโปรแกรม Oligo Calc

4.3.3 การเพิ่มปริมาณยีน *16*S rRNA ของไซยาโนแบคทีเรีย แบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

การเพิ่มปริมาณ 16S rRNA ของไซยาโนแบคทีเรีย แบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้จีโนมิคดีเอ็นเอที่สกัดได้จากข้อ 4.3.1 เป็น DNA template และใช้ไพรเมอร์ ที่จำเพาะที่ออกแบบในข้อ 4.3.2 เพื่อเพิ่มปริมาณยีน สภาวะที่ใช้ในการปฏิกิริยา PCR คือ 94 องศาเซลเซียส เวลา 3 นาที, 94 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที และ 72 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที เพิ่มประมาณทั้งหมด 30 รอบ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด Kit (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit) ก่อนนำไปตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณยีน 16S rDNA บนอะกาโรสเจล



ภาพที่ 12 ผลการเพิ่มปริมาณและการทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด Kit (PureLinkTM Genomic DNA Mini Kit) ของยีน *16*S rDNA จากไซยาโนแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์

แถบที่ M คือดีเอ็นเอมาตรฐาน (GeneRuler 1 kb DNA ladder)

แถบที่ 1 คือผลิตภัณฑ์ PCR ยีน *16*S rRNA จากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Phormidium* sp.

แถบที่ 2 คือผลิตภัณฑ์ PCR ยีน *16*S rRNA จากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Pseudanabaena* sp.

แถบที่ 3 คือผลิตภัณฑ์ PCR ยีน *16*S rRNA จากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Oscillatoria* sp.

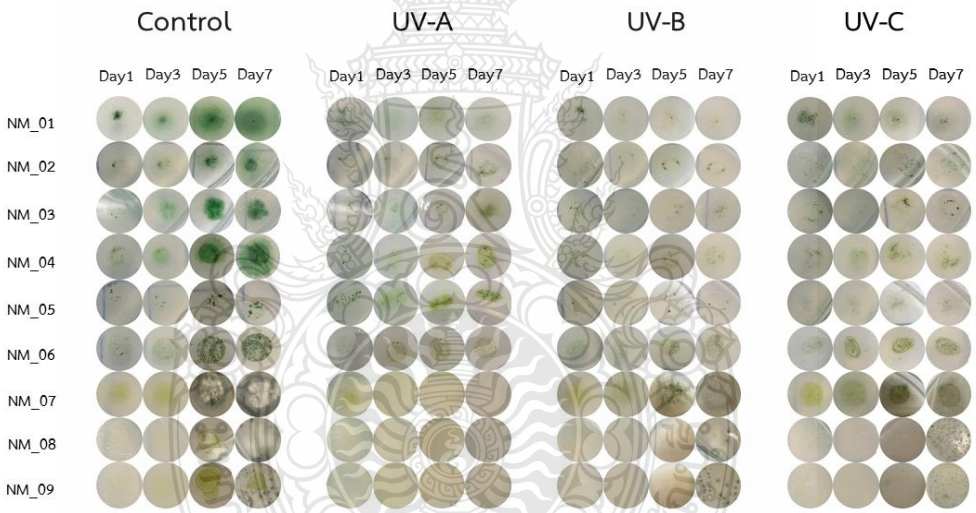
แถบที่ 4 คือผลิตภัณฑ์ PCR ยีน *16*S rRNA จากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lyngbya* sp.

แถบที่ 5 คือผลิตภัณฑ์ PCR ยีน *16*S rRNA จากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Chroococcidiopsis* sp.

จากภาพที่ 12 พบว่าสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาสามารถเพิ่มปริมาณยีน 16S rDNA จากไซยาโนแบคทีเรียแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ *Phormidium* sp., *Pseudanabaena* sp., *Oscillatoria* sp., *Lyngbya* sp.**,** *Chroococcidiopsis* sp. ได้ โดยผลิตภัณฑ์ PCR มีขนาดปริมาณ 1,200 bp หลังจากนั้นระบุสายพันธุ์ด้วยเทคนิค Bioinformatics โดยการทำ DNA sequencing

4.4 ผลการคัดเลือกสาหร่ายที่ทนยูวีชนิดต่างๆ

จากการนำตัวอย่างสาหร่ายที่ทำการคัดแยกได้ 9 ไอโซเลท มาทดสอบการทนยูวีชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิค spot test วางใต้หลอดไฟ UVA, UVB และUVC เป็นเวลา 7 วัน เก็บผลในวันที่ 1, 3, 5 และ 7 จากนั้นทำการคัดเลือกตัวอย่างสาหร่ายที่สามารถเจริญเติบโตได้ใน UV ทุกชนิด จากนั้นมาทำการขยายขนาดการเพาะเลี้ยงภายใต้ยูวีชนิดต่าง ๆ และวิเคราะห์ รงควัตถุ และสารต้านอนุมูลอิสระ ผลการศึกษาด้วยเทคนิค spot test แสดงในภาพที่ 13

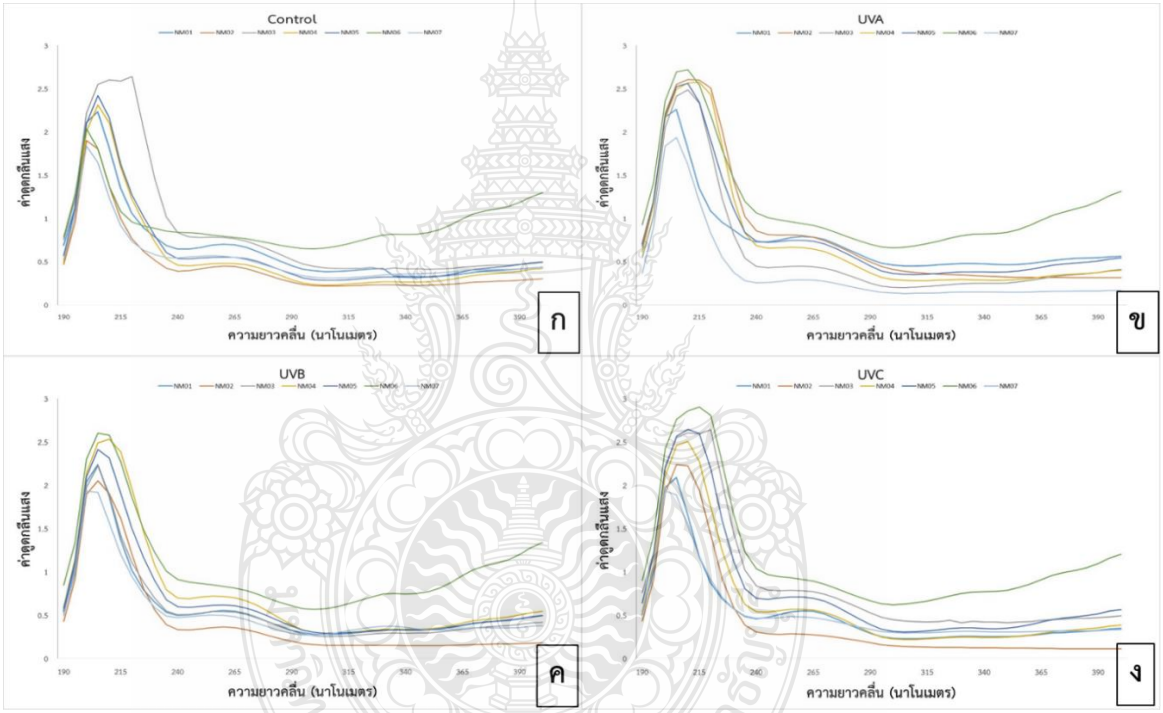


ภาพที่ 13 การคัดเลือกสาหร่ายที่ทนยูวีชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิค spot test

จากภาพที่ 13 คือผลการ spot test ของสาหร่ายทั้ง 9 สายพันธุ์ โดยการวางใต้หลอดไฟฟูออเรสเซนต์ ยูวีเอ ยูวีบี และยูวีซี ในวันที่ 7 พบว่าสาหร่ายที่สารถเจริญเติบโตได้ใน UV ทุกชนิด คือ NM01- NM06 และ สาหร่าย NM07 สามารถเจริญเติบโตได้ที่ UVC ซึ่งสาหร่ายที่สามารถเจริญเติบโตภายใต้การฉายแสง UV ทุกชนิด คือ UVA, UVB และ UVC ซึ่งเป็นรังสีที่สามารถได้รับจากดวงอาทิตย์ พบว่าเป็นไซยาโนแบคทีเรียทุกชนิด ทั้งนี้เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรียมีรงควัตถุหลายชนิด จึงสามารถนำรังสี UV ทุกความยาวคลื่น มาใช้สังเคราะห์ด้วยแสงได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ (มัลลิกา, 2558) ทำให้สามารถเจริญภายใต้การฉายรังสีทุกชนิด

4.5 ช่วงดูดกลืนรังสียูวีของสารสกัดสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงภายใต้รังสี UV

จากการนำสารสกัดจากสาหร่ายหลังการให้แสง UV เป็นเวลา 7 วัน วัดค่าการดูดกลืนแสง UVA (315-400 นาโนเมตร) UVB (280-315 นาโนเมตร) UVC (100-280 นาโนเมตร) พบว่าช่วงดูดกลืนรังสียูวีของสารสกัดสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงภายใต้รังสียูวี ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน พบว่าสารสกัดของสาหร่ายทั้ง 7 สายพันธุ์มีคุณสมบัติดูดซับ UVC ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 100-280 นาโนเมตร (ภาพที่ 14) กุลธิดา (2558) กล่าวว่า รังสี UVC ช่วงคลื่นอยู่ระหว่าง 100-280 นาโนเมตร เป็นช่วงคลื่นที่มีความเข้มสูงที่สุดของช่วงรังสีอัลตราไวโอเลต



ภาพที่ 14 ช่วงดูดกลืนรังสียูวีของสารสกัดสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงภายใต้รังสี UV ชนิดต่าง ๆ
ก แสดงช่วงดูดกลืนรังสี UV ของสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงภายใต้หลอดไฟฟูออเรสเซนต์
ข แสดงช่วงดูดกลืนรังสียูวีของสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงภายใต้ UVA
ค แสดงช่วงดูดกลืนรังสียูวีของสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงภายใต้ UVB
ง แสดงช่วงดูดกลืนรังสียูวีของสาหร่ายหลังการเพาะเลี้ยงภายใต้ UVC

4.6 การวิเคราะห์สารสีหรือรงควัตถุ

4.6.1 การหาปริมาณสารคลอโรฟิลล์ เอ

จากการนำสาหร่ายที่คัดแยกได้ ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย เป็นเวลา 7 วัน ให้แสง 12 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง

จากผลการทดลองการหาปริมาณสารคลอโรฟิลล์ เอ (ภาพที่ 15) ในสาหร่าย จากภาพที่ 15 แสดงให้เห็นว่า ยูวีมีผลต่อการสร้าง คลอโรฟิลล์ เอ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน NM01, NM02, NM03, NM04, NM05 และ NM06 เมื่อทำการเลี้ยงใต้ UVA, UVB และ UVC สามารถสร้างคลอโรฟิลล์ได้น้อยกว่าการเลี้ยงในสภาวะปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า สาหร่ายสีเขียว NM07 ที่เลี้ยงใต้หลอด UV (UVA, UVB และ UVC) สามารถผลิตคลอโรฟิลล์ *เอ* ได้มากกว่าชุดการเพาะเลี้ยงใต้ไฟหลอดไฟฟูออเรสเซต์ (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในชุดที่เลี้ยงใต้หลอด UVA มีการสร้างคลอโรฟิลล์ *เอ* ได้ 366.19 ± 13.33 µg/ml, UVB สามารถสร้างคลอโรฟิลล์ *เอ* ได้ 300.22 ± 25.81 µg/ml, UVC สามารถสร้างคลอโรฟิลล์ *เอ* ได้ 300.46 ± 29.35 µg/ml และ NM 06 ในชุดการเพาะเลี้ยงใต้ไฟหลอดไฟฟูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) สามารถผลิต คลอโรฟิลล์ *เอ* ได้ 672 ±12.67 µg/ml ซึ่งเป็นค่ามากที่สุดในการทดลอง

4.6.2 การหาปริมาณสารแคโรทีนอยด์

จากการนำสาหร่ายที่คัดแยกได้ ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย เป็นเวลา 7 วัน ให้แสง 12 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง

จากผลการทดลองการหาปริมาณสารสารแคโรทีนอยด์ ในสาหร่าย (ภาพที่ 16) แสดงให้เห็นว่า สาหร่ายชุด NM01, NM03, NM04 , NM05 เมื่อเลี้ยงใต้หลอด UV (UVA, UVB และ UVC) พบว่ายูวีทำให้ค่าแคโรทีนอยด์ลดลง เมื่อเทียบกับชุดการเพาะเลี้ยงใต้ไฟหลอดไฟฟูออเรสเซต์ (ชุดควบคุม) และ NM 07 เมื่อเลี้ยงใต้หลอด UV (UVA, UVB และ UVC) พบว่า ปริมาณแคโรทีนอยด์ไม่แตกต่างกับชุดการเพาะเลี้ยงใต้ไฟหลอดไฟฟูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ชุดการเพาะเลี้ยงใต้ไฟหลอดไฟฟูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) ของสาหร่าย ชุด NM02 และ NM06 ได้ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.34 ± 0.02 mg/g, 2.00 ± 0.23 mg/g ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงสาหร่าย ชุด NM02 ใต้หลอด UV (UVA, UVB และ UVC) ได้ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.95 ± 0.27 mg/g, 0.69 ± 0.14 mg/g, 0.83 ± 0.08 mg/g ตามลำดับ และสาหร่าย ชุด NM06 ใต้หลอดUV UV (UVA, UVB, UVC) ได้ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ 3.60 ± 0.63 mg/g, 1.70 ± 0.16 mg/g, 3.67 ± 0.59 mg/g ตามลำดับ แล้วพบว่า UV มีการกระตุ้นให้สร้างแคโรทีนอยด์มากกว่าชุดการเพาะเลี้ยงใต้ไฟหลอดไฟฟูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม)

4.6.3 การหาปริมาณสารไฟโคบิลลิโปรตีน

ซี-ไฟโคไซยานินเป็นองค์ประกอบหลักของไฟโคบิลิโปรตีนที่ถูกผลิตขึ้นจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประกอบด้วยรงควัตถุประกอบประเภทนี้แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยได้อีกสาร ไฟโคไซยานินเป็นกลุ่มก้อนสารใหญ่ๆ ประกอบด้วย ไฟโคไซยานิน, แอลโลไฟโคไซยานินเมื่อนำมาสกัดหาปริมาณสารไฟโคไซยานิน จะวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 562, 615 และ 652 นาโนเมตร และนำมาคำนวณหาปริมาณไฟโคบิลลิโปรตีน ดังแสดงผลต่อไปนี้

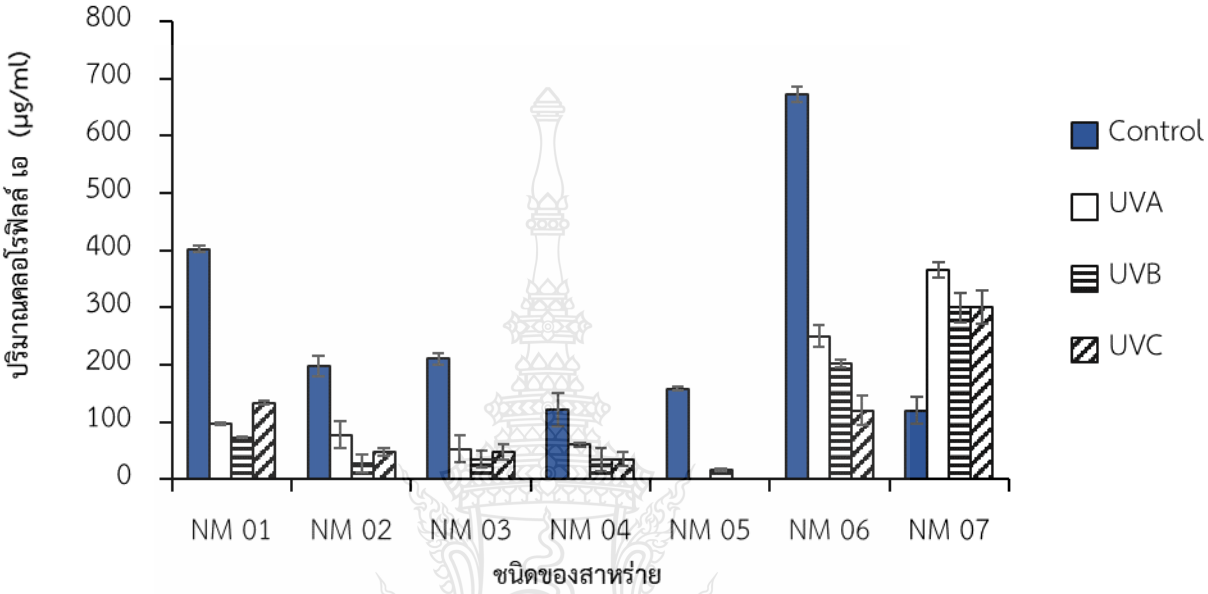
4.6.3.1. ไฟโคไซยานิน

จากผลการทดลองการหาปริมาณไฟโคไซยานิน และการคำนวณทางสถิติ (ภาพที่ 17) พบว่า สาหร่ายทุกชนิดเมื่อเลี้ยงใต้หลอด UV (UVA, UVB และ UVC) ไม่มีผลต่อการสร้างปริมาณไฟโคไซยานิน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.6.3.2. แอลโลไฟโคไซยานิน

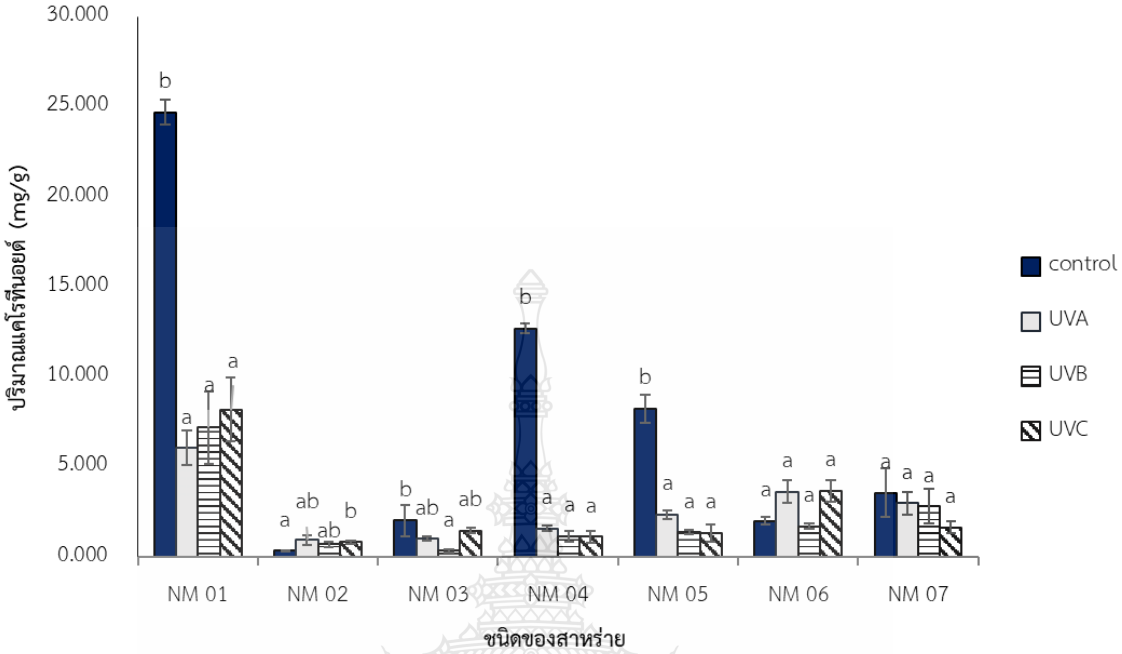
จากผลการทดลองการหาปริมาณแอลโลไฟโคไซยานิน (ภาพที่ 18) พบว่า สาหร่ายทั้ง 7 ชนิด มีผลต่อปริมาณ การสร้างสารสี แอลโลไฟโคไซยานิน แต่ใน NM06 กลับกระตุ้นให้สร้าง ปริมาณแอลโลไฟโคไซยานิน มากกว่าชุดที่เลี้ยงใต้หลอด UV (UVA, UVB, UVC) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในสาหร่ายชุด NM07 ไม่มีผลต่อการสร้างสารสี แอลโลไฟโคไซยานิน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้จะสังเกตได้ว่า หากเทียบเฉพาะชุดการเพาะเลี้ยงใต้ไฟหลอดไฟฟูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) พบว่า สาหร่าย NM01 ในการเพาะเลี้ยงใต้ไฟหลอดไฟฟูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) มีปริมาณการสร้างสารสี แอลโลไฟโคไซยานิน สูงที่สุด คือ 0.026 ± 0.005 mg/mL

จากการศึกษาการวิเคราะห์สารสีหรือรงควัตถุ เมื่อเลี้ยงใต้สภาวะ UV ที่แตกต่างกันพบว่า UV มีผลต่อการสร้างรงควัตถุของสาหร่าย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (ศุภราภรณ์, 2555) ที่ทำการศึกษาผลของรังสี UV ต่อปริมาณรงควัตถุภายในเซลล์ที่สัมพันธ์กับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในไซยาโนแบคทีเรีย *Synechocystis* sp. PCC 6803 พบว่า UVA, UVB และ UVC ที่ความเข้มของรังสี UV ซึ่งทำให้ปริมาณไฟโคไซยานิน แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ *เอ* เมื่อ ให้แสง UVA, UVB และ UVC จะยิ่งทำให้ปริมาณไฟโคไซยานิน แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ *เอ* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากรงควัตถุทั้ง 3 ชนิดนี้ อยู่ใกล้ไทลาคอยด์เมมเบรนส่งไปเป็นพลังงานถูกทำลาย ที่ทำหน้าที่ดูดพลังงานแสงที่เข้มข้นสูงเกินไปจะได้ปริมาณรงควัตถุที่น้อยลง



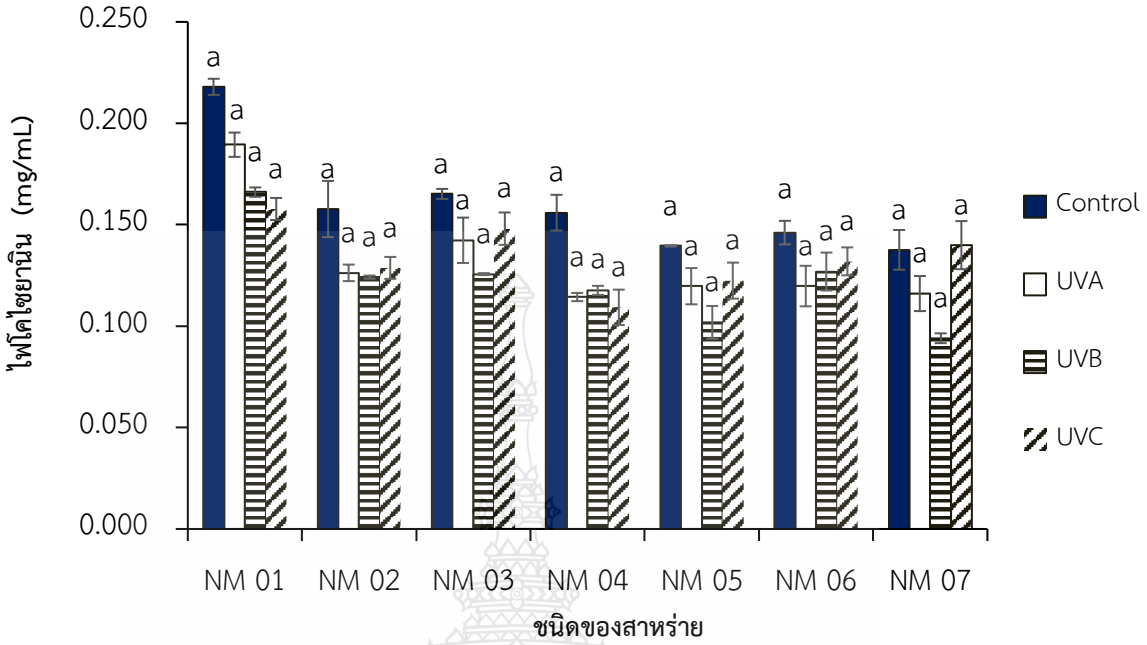
ภาพที่ 15 ผลการสกัดปริมาณคลอโรฟิลล์ *เอ* จากสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้การเลี้ยงใต้ UV ที่แตกต่างกัน วัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 630, 645, 665 และ750 นาโนเมตร

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงว่าข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



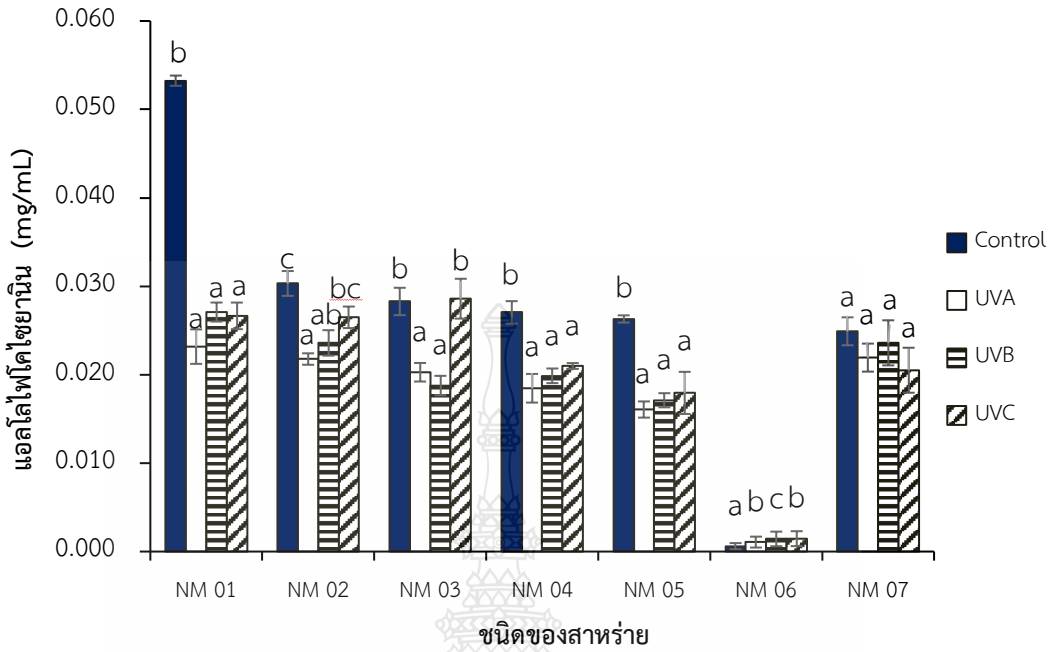
ภาพที่ 16 ผลการสกัดปริมาณแคโรทีนอยด์ จากสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้การเลี้ยงใต้ UV ที่แตกต่างกัน จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 560 นาโนเมตร

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงว่าข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 17 ผลการสกัด ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้การเลี้ยงใต้ UV ที่แตกต่างกัน จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 562, 615 และ 652 นาโนเมตร

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงว่าข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 18 ผลการสกัดแอลโลไฟโคไซยานินจากสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้การเลี้ยงใต้ UV ที่แตกต่างกัน จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 562, 615 และ 652 นาโนเมตร

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงว่าข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.7 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

4.7.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl - scavenging capacity (DPPH)

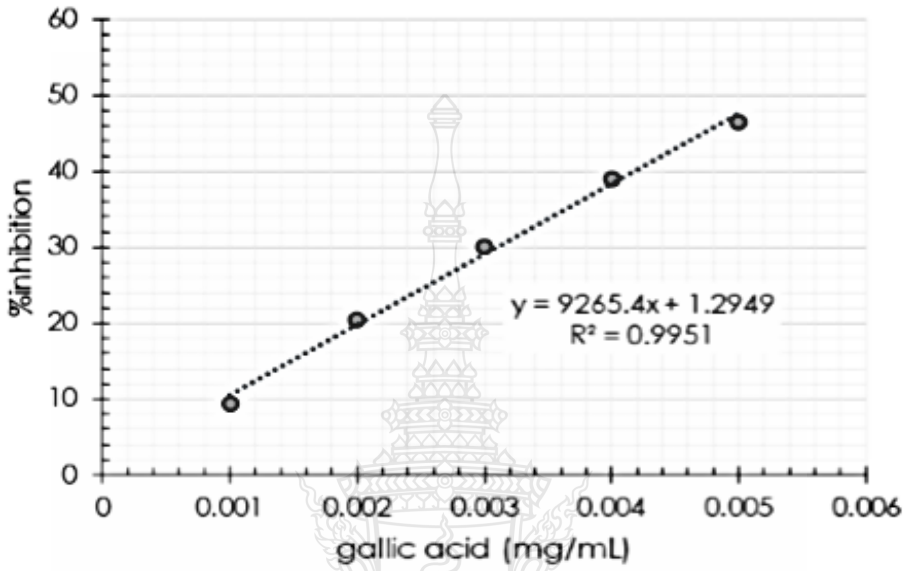
จากการทดลองพบว่า สาหร่ายทุกชนิดให้ค่า สารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) (ภาพที่ 20) ในทุกชุดการทดลองมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งพบว่า UV ไม่มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ NM04 และ NM05 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีผลกระตุ้นการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ NM01, NM03, NM06 เมื่อให้ UV พบว่าในชุด UVC มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงใต้ไฟฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) นอกจากนี้ สาหร่าย NM02 ในการทดลองการเพาะเลี้ยงใต้ไฟหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) และการเพาะเลี้ยงใต้ UV (UVA และ UVC) ไม่มีสารต้านนุมูลอิสระ แต่ใน UVB มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในสาหร่ายชนิด NM02 มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ คือ 19.920 ± 4.502 เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ

4.7.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ฟีนอลรวม (Total phenolic - compounds.)

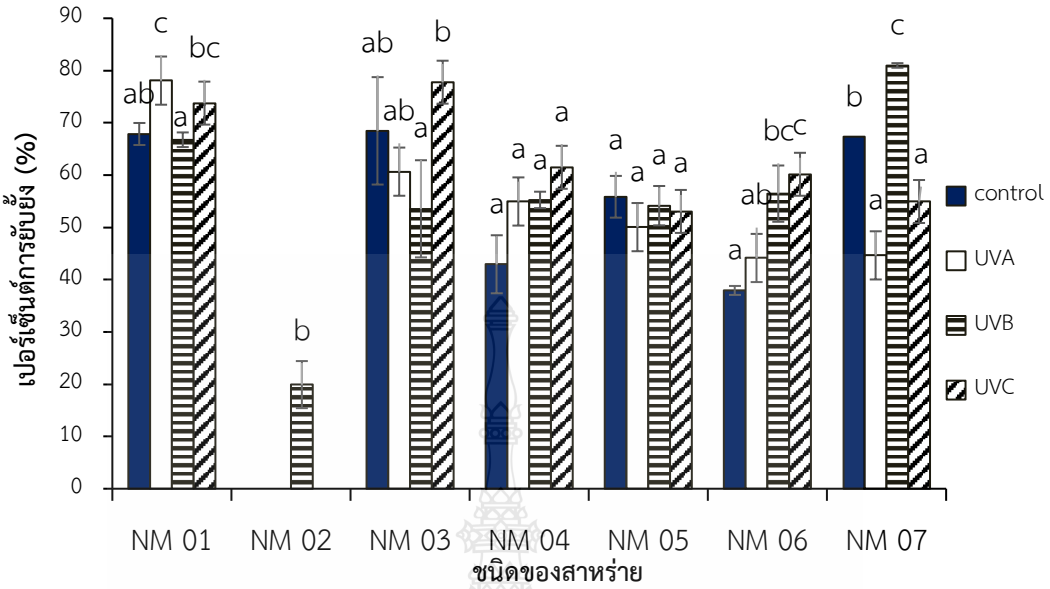
จากการทดลองการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ฟีนอลรวม (ภาพที่ 22) พบว่า สาหร่าย NM06, NM07 การให้ยูวีมีผลต่อปริมาณฟีนอลรวม ที่ภายใต้การเพาะเลี้ยง UVA พบว่า มีการกระตุ้นฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ฟีนอลรวม ให้ผลิตมากกว่าชุดการเพาะเลี้ยงใต้ไฟฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) มีนัยสำคัญทางสถิติ และ สาหร่าย NM05 ที่ที่ภายใต้การเพาะเลี้ยง UVB ไม่มีผลต่อปริมาณฟีนอลรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ สาหร่าย NM02, NM03 การให้เลี้ยงใต้หลอด UV (UVA, UVB และ UVC) ไม่มีผลต่อการสร้างปริมาณฟีนอลรวม

จากผลทดลองการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH) และวิธี ฟีนอลรวม (Total phenolic compounds.) สอดคล้องกับงานวัยของ พันธุ์ทิพย์ และคณะ (2555) กล่าวว่าการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS พบว่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS พบได้ในสารสกัดจากสาหร่ายทั้งสามกลุ่มและปริมาณฟีนอลมีความสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดจากสาหร่ายมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารสกัดจากสาหร่ายที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และมีปริมาณ ฟีนอลสูง เป็นสาหร่ายที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็น

สารต้านอนุมูลอิสระเพื่อใช้ทดแทนสารสังเคราะห์ที่เป็นพิษต่อร่างกาย ซึ่งการที่สาหร่ายมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ในทางนิเวศวิทยาเชื่อว่าสาหร่ายสร้างสารดังกล่าวเพื่อป้องกันรังสี UV

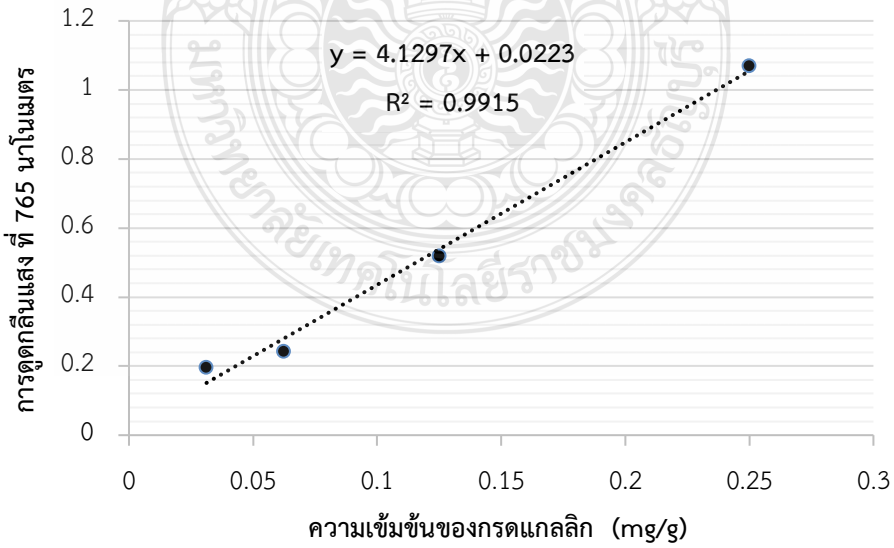


ภาพที่ 19 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิค (mg/ml) ของการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH)

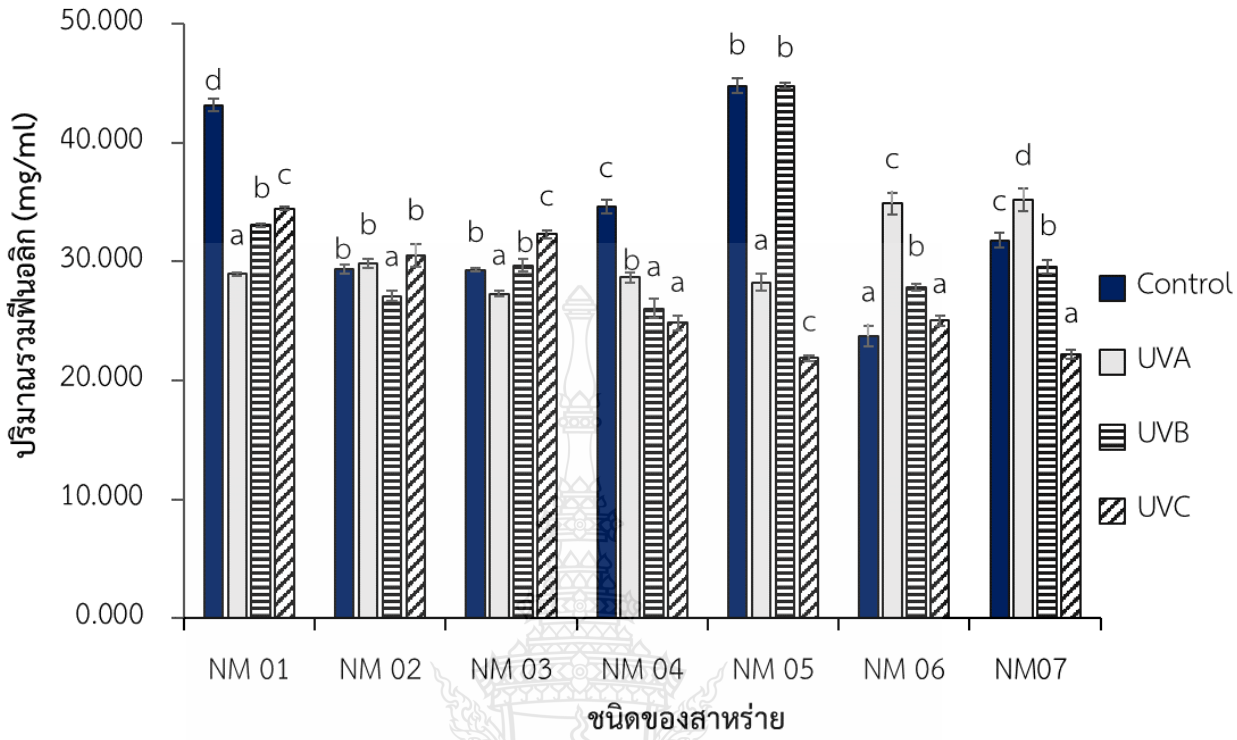


ภาพที่ 20 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ของสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้การเลี้ยงใต้ UV ที่แตกต่างกัน จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 517 นาโนเมตร

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงว่าข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 21 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิค (mg/ml) ของการวิเคราะห์ฟีนอลรวม (Total phenolic - compounds)



ภาพที่ 22 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ Total Phenolic compounds จากสาหร่ายแต่ละชนิดภายใต้รังสี UV ที่แตกต่างกัน จากการวัดค่าดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 765 นาโนเมตร

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงว่าข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาความหลากหลายและการแยกสาหร่ายที่อาศัยอยู่สิ่งแวดล้อมที่มีรังสีอัลตราไวโอเลตสูง ในเขตอุทยานประวัติศาสตร์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา และพิพิธภัณฑ์บัวมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี พบ 10 จีนัส 7 แฟมิลี่ ใน 2 ดิวิชัน สามารถคัดแยกในห้องปฏิบัติการได้ 9 ไอโซเลต ได้แก่ *Phormidium* sp. (NM01), *Phormidium* sp. (NM02, *Pseudanabaena* sp. (NM03, *Oscillatoria* sp. (NM04, *Lyngbya* sp. (NM05, *Chroococcidiopsis* sp. (NM06), *Chamydomonas* sp. (NM07), *Chlorella* sp. (NM08) และ *Chlorella* sp. (NM09) จากนั้นนำสาหร่ายทั้ง 9 สายพันธุ์ มาทดสอบความสามารถในการทน UV โดยนำสาหร่ายมาหยดลงบนอาหาร BG-11 และ Chlorella medium วางใต้ UV ชนิดต่าง ๆ UVA, UVB และ UVC เป็นเวลา 7 วันให้แสง 12 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 12 ชั่วโมงพบว่ามี 6 สายพันธุ์ที่สามารถเจริญเติบโตใต้แสง UV ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *Phormidium* sp. (NM01), *Phormidium* sp. (NM02), *Pseudanabaena* sp. (NM03), *Oscillatoria* sp. (NM04), *Lyngbya* sp. (NM05) และ *Chroococcidiopsis* sp. (NM06) และพบมี 1 สายพันธุ์ ที่สามารถเจริญเติบโตได้ภายใต้การฉาย UVC เพียงอย่างเดียว คือ *Chamydomonas* sp. (NM07) จากนั้นจึงนำสารสกัดสาหร่ายสายพันธุ์ดังกล่าวมาศึกษา ช่วงดูดกลืนรังสี UV ปริมาณสารสีหรือรงควัตถุ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลรวม หลังการเพาะเลี้ยงภายใต้รังสี UV เป็นเวลา 7 วันให้แสง 12 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดสาหร่ายทุกสายพันธุ์ในการเลี้ยงใต้ UV ทุกชนิดมีคุณสมบัติดูดซับรังสี UVC ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 100-280 นาโนเมตร การเพาะเลี้ยงสาหร่ายใต้ UV มีผลต่อปริมาณการผลิตรงควัตถุ พบว่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสายพันธุ์ NM01 มีปริมาณการผลิตรงควัตถุมากที่สุด ทั้งคลอโรฟิลล์ *เอ* แคโรทีนอยด์ แอลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคไซยานิน สำหรับการเพราะเลี้ยงใต้แสงไฟปกติ ยังพบอีกว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสายพันธุ์ NM01 มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดสำหรับการเพราะเลี้ยงใต้หลอดดไฟฟลูออเรสเซนต์ (ชุดควบคุม) และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสายพันธุ์ NM05 มีปริมาณปริมาณฟีนอลรวม สูงสุดสำหรับการเพาะเลี้ยงใต้รังสี UVC

เอกสารอ้างอิง

กุลธิดา เบญจมาลา. 2558. การศึกษาสมบัติการป้องกันยูวีและการต้านทานแบคทีเรียของผ้าฝ้ายที่ตกแต่งด้วยเซริซินจากน้ำลอกกาวไหม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสิ่งทอ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. ปทุมธานี.

จงกล พรมยะ ขจรเกียรติ์ แซ่ตัน และ อนุภาพ วรรณคนาพล. 2552. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในน้ำทิ้งจากโรงอาหารเพื่อเป็นอาหารในการอนุบาล และเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ฟแบบยั่งยืน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการประมง คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

ณัฐภพ นิ่มปิติวัน รุจิพรรณ สัมปันณา และ นราธิป โกวิท. 2553. ภาวะโลกร้อนกับสถานการณ์ด้านพลังงานของประเทศ. Executive Journal. 12(3). หน้า 105-109.

พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์ พลชา จิตรมิตรสัมพันธ์ ชัชรี แก้วสุรลิขิต และ อรรถวุฒิ กันทะวงศ์. 2555. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายทะเล. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51: สาขาสัตวแพทยศาสตร์ และ สาขาประมง 5-7 ก.พ. 2556 กรุงเทพฯ หน้า 414-421

มัลลิกา ศรีชมภู. 2558. อิทธิพลของรังสีดวงอาทิตย์ในฤดูหนาวต่อการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนแบบบ่อผึ่ง โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเพชรบุรี ประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ยุวดี พิรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา (Phycology). พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. หน้า 14-39.

ยุวดี พิรพรพิศาล. 2558. สาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทย (Freshwater Algae in Thailand). ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. หน้า 5-10.

รัชนี คงคาฉุยฉาย ริญ เจริญศิริ อภิชาติ วรรณวิจิตร และ ศิริพัฒน์ เรืองพยัคฆ์. 2551. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. โครงการบูรณาการเทคโนโลยีชีวภาพในการสร้างพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มมูลค่าและคุณค่าสูง. หน้า 1-3.

วรรณฤดี หิรัญรัตน์. 2552. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟต์. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ. 12(2). หน้า 91-93.

ศุภราภรณ์ กันทาสุวรรณ์. 2555. ผลของรังสีอัลตราไวโอเลตต่อปริมาณรงควัตถุและพอลิเอมีนที่เกี่ยวข้องกับระบบการสังเคราะห์ด้วยแสงในไซยาโนแบคทีเรีย *Synechocystis* sp. PCC 6803. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ และ อรัญ อินเจริญศักดิ์. 2557. การผลิตไบโอไฮโดรเจนของจุลสาหร่ายที่แยกได้จากนาข้าวของประเทศไทย. โครงงานวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

สิริพร สุดหา. 2560. ความหลากหลายของไซยาโนแบคทีเรียในระบบนิเวศป่าชายเลนทางภาคตะวันออกของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สุริยา ทุดปอ และ จิตรา สิงห์ทอง. 2560. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของแก่นตะวันที่มีอายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิยาลัยอุบลราชธานี. 19(3). หน้า 46.

อักษร ศรีเปล่ง และ พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์. 2526. การศึกษาชนิดและวงจรชีวิตสาหร่ายบนโบราณสถาน. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อภิรดี โพธิพงศา. 2552. การเปลี่ยนแปลงปริมาณพอลิเอมีนภายใต้ภาวะเครียดออสโมติกและรังสีอัลตราไวโอเลตในไซยาโนแบคทีเรีย *Synechocystis* sp. PCC 6803. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

Borderie, F., Laurence, A.-S., Naoufal, R., Faisl, B., Geneviève, O., Dominique, R., and Badr, A.-S. 2011. UV–C irradiation as a tool to eradicate algae in caves. International Biodeterioration & Biodegradation, 65: 579–584.

Rastogi, R.P. and Incharoensakdi, A. 2013. UV radiation-induced accumulation of photoprotective compounds in the green alga *Tetraspora* sp. CU2551. Plant Physiology and Biochemistry. 70: 7-13.

Rastogi, R.P. and Incharoensakdi, A. 2014. UV radiation-induced biosynthesis, stability and antioxidant activity of mycosporine-like amino acids (MAAs) in a unicellular cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. CU2556. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 130: 287–292.

Rath, J., Mandal, S. and Adhikary, S.P. 2012. Salinity induced synthesis of UV-screening compound scytonemin in the cyanobacterium *Lyngbya aestuarii*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 115: 5–8.

Ripka, R., Derueelles, J., Waterbury, J.B., Herdman, M., and Stainer, R.Y. 1979. Generic assignment, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. Journal of general microbiology. 111: 1-61.

Tao, Y., Zhang, X., Au, DW., Mao, X. and Yuan, K. 2010. The effects of sub-lethal UV-C irradiation on growth and cell integrity of cyanobacteria and green algae. Chemosphere. 78: 541–547.

Vyverman, W. 1996. The Indo-Malaysian North-Australian phycogeographical region revised. In Kristansen J. (ed.), Biogeography of freshwater algae. Hydrobiologia, 336, 107-120.

Wongrat, L. 1995. Freshwater algae in Thailand. In K. Lewmanomont, L. Wongrat, and C. Supanwanid (Eds), Algae in Thailand (pp. 146-199), Bangkok: Office of Environmental Policy and Planning.

Zeeshan, M. and Prasad, S. M. 2009. Differential response of growth, photosynthesis, antioxidant enzymes and lipid peroxidation to UV-B radiation in three cyanobacteria. South African Journal of Botany. 75: 466–474.

ภาคผนวก

สูตรอาหารที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย

1. สูตรอาหาร BG-11 (Blue-Green Medium) ดัดแปลงมาจาก Rippka *et al*. (1979)

สารเคมี	เตรียมสารละลาย 500 มิลลิลิตร
1.1) $NaNO_3$	75.0 กรัม
1.2) K_2HPO_4	2.0 กรัม
1.3) $MgSO_4.7H_2O$	3.75 กรัม
1.4) $CaCl_2.2H_2O$	1.80 กรัม
1.5) Citric acid	0.30 กรัม
1.6) Ammonium ferric citrate green	0.05 กรัม
1.7) $EDTANa_2$	0.05 กรัม
1.8) Na_2CO_3	1.00 กรัม
1.9) Trace metal solution:	เตรียมสารละลาย 1,000 มิลลิลิตร
- H_3BO_3	2.86 กรัม
- $MnCl_2.4H_2O$	1.81 กรัม
- $ZnSO_4.7H_2O$	0.22 กรัม
- $Na_2MoO4.2H_2O$	0.39 กรัม
- $CuSO_4.5H_2O$	0.08 กรัม
- Co $(NO_3)_2.6H_2O$	0.05 กรัม

หากเตรียมอาหาร 1 ลิตร ใช้สารเคมี 1.1 - 1.8 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และสารเคมีที่ 1.9 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เตรียมสารทั้งหมดดังปริมาตรที่กำหนดไว้ข้างต้น ตามปริมาตรที่ต้องการใช้ มาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่ 121.15 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15นาที หากต้องการเตรียมเป็นอาหารแข็ง ให้เติม Agar 7.5 กรัม

2. สูตรอาหาร Chlorella medium (จงกล, 2552)

สารเคมี	เตรียมสารละลาย 1,000 มิลลิลิตร
KNO_3	1.250 กรัม
KH_2PO_4	1.250 กรัม
$MgSO_4 .7H_2O$	1.000 กรัม
$CaCl_2$	0.084 กรัม
H_3BO_3	0.014 กรัม
$FeSO_4 .7H_2O$	0.050 กรัม
$ZnSO_4 .7H_2O$	0.088 กรัม
$MnCl_2 .4H_2O$	0.014 กรัม
MoO_3	0.007 กรัม
$CuSO_4 .5H_2O$	0.016 กรัม
$Co(NO_3)_2 .6H_2O$	0.005 กรัม
EDTA	0.500 กรัม

นำสารเคมีแต่ละชนิดมาละลายในน้ำกลั่นปริมาณ 1 ลิตร และปรับค่า pH ให้ได้เท่ากับ 6.8