

บทความวิจัย (Research Article)

ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอีริทรินในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร 4 ชนิด

อภิชญา ใจดวง รัฎฐมิ พรหมณะ*

Phycocyanin, Allophycocyanin and Phycoerythrin in *Spirulina platensis* Cultivated in 4 Culture Media

Apitchaya Jaidaung, Rattapoom Prommana*

Department of Environmental Science, School of Energy and Environment, University of Phayao, Phayao Province, 56000

* Correspondence to E-mail: smartrattapoom@yahoo.com

Naresuan Phayao J. 2019;12(2):46-49.

Received: 3 February 2019, Revised: 19 July 2019, Accepted: 27 August 2019

บทคัดย่อ

การศึกษามุ่งหมายกำหนดหาปริมาณไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอีริทริน ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร 4 ชนิด ได้แก่ Z, N, CH1 และ CL1 สาหร่ายแห้ง 1 กรัมเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Z มีปริมาณไฟโคไซยานินสูงสุด 100.14 มก. ส่วนสาหร่ายเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร N มีปริมาณอัลโลไฟโคไซยานินสูงสุดเท่ากับ 40.81 มก. อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารอื่น สำหรับไฟโคอีริทรินมีปริมาณค่อนข้างต่ำ และทุกสูตรอาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ: สาหร่ายสีเขียวกามน้ำเงิน ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน ไฟโคอีริทริน

Abstract

The study was aimed to determine phycocyanin, allophycocyanin and phycoerythrin, cultivated in 4 different culture media, including Z, N, CH1 and CL1. One gram of dry alga cultivated in medium Z gave significantly had highest phycocyanin of 100.14 mg. whereas the significantly highest allophycocyanin of 40.81 mg was obtained from medium N. Phycoerythrin was rather low with no significant difference in all the media.

Keywords: *Spirulina platensis*, phycocyanin, allophycocyanin, phycoerythrin

บทนำ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (*Spirulina platensis*) เป็นจุลินทรีย์มีประโยชน์ต่อสุขภาพใช้เป็นอาหารเสริมในคน [1,2] และสัตว์ [3] น้ำใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายสามารถใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ [4] นอกจากนี้ยังใช้ประโยชน์ด้านเครื่องสำอาง อาหารขบเคี้ยวอื่นๆ เป็นสาหร่ายอุดมด้วยโปรตีน ประกอบด้วย กรดอะมิโนหลายชนิด วิตามิน เกลือแร่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดไขมันไม่อิ่มตัวพหุหลายอัน [5]

phycobilliprotein ประกอบด้วย ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน อันเป็นโปรตีนเรืองแสงและละลายน้ำ [6] เป็นสารสีหรือรงควัตถุตามธรรมชาติ ไม่เป็นพิษ และไม่ก่อมะเร็ง [7] คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา ได้แก่ ต้านอนุมูลอิสระ [8] และอื่น ๆ ปัจจัยสิ่งแวดล้อมมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประกอบด้วย สารอาหาร ความเป็นกรดต่าง ความเค็ม อุณหภูมิ และปริมาณคาร์บอน [9] สภาพการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ อาจมีผลต่อระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย อาจเป็นเหตุเกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและสัดส่วนของรงควัตถุทั้ง 3 ชนิด [9]

การศึกษาจุดมุ่งหมายเพาะเลี้ยงสาหร่ายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินด้วยสูตรอาหารดัดแปลง 4 ชนิด และศึกษาปริมาณรงควัตถุ 3 ชนิด ได้แก่ ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน ในสาหร่ายเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารแตกต่างกัน

วัสดุและวิธีการ

ได้รับความอนุเคราะห์หัวเชื้อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่ เตรียม สูตรอาหาร Zarrouk ปรับปรุง [10] ปริมาตร 250 มล. ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 10 ปรับความเป็นกรดต่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพาะเลี้ยง ณ อุณหภูมิห้อง เติมหอากาศให้สาหร่ายหมุนเวียนขึ้นรับแสงไฟความสว่าง 3,000 ลักซ์ (lux) จนวัดค่า OD₅₆₀ มากกว่า หรือเท่ากับ 1

ใช้สูตรอาหาร Z, N, CH1 และ CL1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และปรับค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 10 สูตรอาหารประกอบด้วยสารอาหารดังนี้

สูตรอาหาร Z ประกอบด้วย NaHCO₃ เท่ากับ 16.8 กรัมต่อลิตร, K₂HPO₄ เท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตร, NaNO₃ เท่ากับ 2.5 กรัมต่อลิตร, K₂SO₄ เท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร, NaCl เท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร, MgSO₄·7H₂O เท่ากับ 0.2 กรัมต่อลิตร, CaCl₂ เท่ากับ 0.04 กรัมต่อลิตร, FeSO₄·2H₂O เท่ากับ 0.01 กรัมต่อลิตร, EDTA เท่ากับ 0.1 กรัมต่อลิตร, A₅ solution เท่ากับ 1.0 มิลลิลิตร

สูตรอาหาร N ประกอบด้วย NaHCO₃ เท่ากับ 8.5 กรัมต่อลิตร, K₂HPO₄ เท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตร, NaNO₃ เท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร

สูตรอาหาร CH1 ประกอบด้วย NaHCO₃ เท่ากับ 8.5 กรัมต่อลิตร, K₂HPO₄ เท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตร, NaNO₃ เท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร, NPK₁₆ - H เท่ากับ 0.6 กรัมต่อลิตร

สูตรอาหาร CL1 ประกอบด้วย NaHCO₃ เท่ากับ 8.5 กรัมต่อลิตร, K₂HPO₄ เท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตร, NaNO₃ เท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร, NPK₁₆ - L เท่ากับ 0.6 กรัมต่อลิตร

เติมหัวเชื้อสาหร่าย 6 ลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยงแต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 % (v/v) เพาะเลี้ยงในอุณหภูมิ และแสงสว่างเดียวกับการเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายให้แสงต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง นาน 18 วัน จึงเก็บเกี่ยวผลผลิตชีวมวล

เก็บเกี่ยวผลผลิตชีวมวล กรองด้วยผ้ากรองขนาดตาข่าย 60 ไมโครเมตร ล้างน้ำสะอาดและน้ำชีวมวลสาหร่ายกรองได้อบ ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน ตามวิธีการของ Siegelman [11] ใส่ตัวอย่าง 0.01 กรัม ในหลอดเซนทริฟิวส์ขนาด 15 มล. เติมหิวทาสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7) จำนวน 10 มล. แช่แข็ง ณ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ละลาย ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทำซ้ำ 3 รอบ จากนั้นปั่นเหวี่ยง 3,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำสารละลายส่วนบนวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562, 615 และ 652 นาโนเมตร [12]

แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ด้วยวิธี one-way ANOVA) ใช้ Duncan's multiple range Test (DMRT) ค่า $p < 0.05$ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการศึกษา

น้ำหนักแห้งของสาหร่ายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Z, N, CH1 และ CL1 แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 0.70 ± 0.08^a , 0.95 ± 0.06^b , 1.81 ± 0.14^c และ 1.73 ± 0.03^c กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สาหร่ายแห้ง 1 กรัม มีปริมาณไฟโคไซยานินในสาหร่ายเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Z สูงสุด 100.14 มก. แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารอื่น (70.80 ถึง 94.09 มก.) ส่วนอัลโลไฟโคไซยานินในสาหร่ายเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร N มีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 40.81 มิลลิกรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารอื่น (33.72 ถึง 34.17 มก.) สำหรับไฟโคอิริทรินมีปริมาณไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ในสาหร่ายเพาะเลี้ยงทุกสูตรอาหาร ตาราง 1

ตาราง 1 ปริมาณไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทรินในสาหร่ายเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารแตกต่างกัน

สูตรอาหาร	มิลลิกรัม ต่อ น้ำหนักแห้ง 1 กรัม		
	ไฟโคไซยานิน	อัลโลไฟโคไซยานิน	ไฟโคอิริทริน
Z	100.14 ± 0.24^d	34.17 ± 0.49^a	1.52 ± 0.26^a
N	70.80 ± 0.42^a	40.81 ± 0.05^b	1.15 ± 0.38^a
CH1	94.09 ± 0.31^c	33.72 ± 0.48^a	1.00 ± 0.28^a
CL1	91.81 ± 0.30^b	34.04 ± 0.30^a	1.02 ± 0.16^a

หมายเหตุ: ตัวอักษร a b c และ d แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ของไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน

วิจารณ์

สูตรอาหาร Z ให้ปริมาณไฟโคไซยานินสูงสุด ส่วนสูตรอาหาร N มีปริมาณอัลโลไฟโคไซยานินสูงสุด อย่างไรก็ตาม พบมีปริมาณไฟโคอิริทรินค่อนข้างต่ำมาก และไม่แตกต่างกันในชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารทั้ง 4 ชนิด อนุมาณได้ว่าองค์ประกอบสารเคมีเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่อไฟโคไซยานินและอัลโลไฟโคไซยานิน มีปริมาณแตกต่างกัน ขณะที่องค์ประกอบสารเคมีเติมลงไปในการเพาะเลี้ยง ไม่มีผลต่อปริมาณไฟโคอิริทริน หนึ่ง สาหร่ายสีแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดในสกุล *Anabaena* มักมีปริมาณไฟโคอิริทรินสูง [13]

นอกจากนี้ การศึกษาพบปริมาณไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน ปริมาณใกล้เคียงกับการศึกษาหนึ่งของประเทศสเปน มีปริมาณของไฟโคไซยานินระหว่าง 22 ถึง 167 มก. ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน [14] ส่วนปริมาณไฟโคไซยานินอาจลดลง หากเพาะเลี้ยงด้วยสารอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต เนื่องจาก

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถดึงไนโตรเจนอันเป็นโครงสร้างส่วนประกอบของไฟโคไซยานินใช้เพื่อการเจริญเติบโตทดแทน [15] สอดคล้องกับผลการศึกษามากที่สุดปริมาณไฟโคไซยานินมากที่สุดในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Z อันมีองค์ประกอบไนโตรเจนมากที่สุด เมื่อเทียบกับทุกสูตรอาหารเพาะเลี้ยง

ดังนั้น การเพิ่มปริมาณไฟโคไซยานินในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สามารถกระทำได้ด้วยการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตาม ควรพิจารณาปัจจัยอื่นนอกเหนือจากสารอาหารประกอบด้วย ความเป็นกรดต่าง ความเค็ม อุณหภูมิ และปริมาณคาร์บอน เพราะปัจจัยดังกล่าวอาจชนิดและปริมาณของรงควัตถุในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้นิพนธ์ขอขอบคุณโครงการส่งเสริมบุคลากรด้านวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและนวัตกรรมจากมหาวิทยาลัยและสถาบันวิจัยของภาครัฐ ไปปฏิบัติงานเพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันในภาคเอกชน (talent mobility) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

(สกอ.) และสำนักงานคณะกรรมการ นโยบายวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และนวัตกรรมแห่งชาติ (สวทน.) ผู้ให้การสนับสนุนทางการเงินและความสะดวกในการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. Dillon JC, Phuc AP, Dubacq JP. Nutritional value of the alga *Spirulina*. *World Rev Nutr Diet*. 1995;77:32-46.
2. Khan Z, Bhadouria P, Bisen PS. Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina*. *Curr Pharm Biotechnol*. 2005;6(5):373-379.
3. Wolfgang Beeker E. Microalgae for human and animal. In: Richmond A, Hu Q, editors. *Handbook of microalgae culture, biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell; 2003. p. 312-352.
4. Vaishampayan A, Sinha RP, Hader D, Dey T, Gupta AK, Bhan U, et al. Cyanobacterial biofertilizers in rice agriculture. *Bot Rev*. 2001;67(4):453-516.
5. Eriksen NT. Production of phycocyanin-a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2008;80(1):1-14.
6. Cohen Z. *Chemicals from Microalgae*. New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, 1999.
7. Chaneva G, Furnadzhieva S, Minkova K, Lukavsky J. Effect of light and temperature on the cyanobacterium *Arthronema africanum*: A prospective phycobiliprotein-producing strain. *J Appl Phycol*. 2007;19(5):537-544.
8. Miranda MS, Cintra RG, Barros SB, Mancini Filho J. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. *Braz J Med Biol Res* 1998;31(8):1075-1079.
9. Sharma G, Kumar M, Ali MI, Jasuja ND. Effect of carbon content, salinity and pH on *Spirulina platensis* for phycocyanin, allophycocyanin, and phycoerythrin accumulation. *J Microbial Biochem Technol*. 2014;6(4):202-206.
10. Simeunovic J, Beslin K, Svireev Z, Kovac D, Babic O (2013) Impact of nitrogen and drought on phycobiliprotein content in terrestrial cyanobacterial strains. *J Appl Phycol*. 2012;25(2):597-607
11. Zarrouk C. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina maxima*. Ph.D. Thesis, Universite de Paris, Paris. 1966.
12. Siegelman HW, Kycia JH. Algal biliproteins. In: Hellebust JA, Craigie JS, editors. *Handbook of Phycological Methods, Physiological and Biochemical Methods*. Cambridge: Cambridge University Press; 1978: p. 71-79.
13. Rodrigues B, Rivas J, Guerrero MG, Losada M. Nitrogen-Fixing Cyanobacterium with a High Phycoerythrin Content. *Appl Environ Microbiol*. 1989;55(3):758-760.
14. Lima GM, Teixeira PCN, Teixeira CMLL, Filócomo D, Lage CLS. Influence of spectral light quality on the pigment concentrations and biomass productivity of *Arthrospira platensis*. *Algal Res*. 2018;31:157-166.
15. Sarada R, Pillai MG, Ravishankar GA. Phycocyanin from *Spirulina* sp: Influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficiency of extraction methods and stability studies on phycocyanin. *Process Biochem*. 1999;34:795-801.