

ชื่อวิทยานิพนธ์	การเพิ่มการผลิตคาโรทีนอยด์และคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไถ (<i>Cladophora</i> sp.) โดยการเพาะเลี้ยงแบบหมวมวล	
ผู้เขียน	นายทวิศักดิ์ ขวัญไตรรงค์	
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ความหลากหลายทางชีวภาพและชีววิทยาชาติพันธุ์)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. ศิริเพ็ญ ตรีไชยาพร	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	ผศ. ดร. จ่านงค์ อุทัยบุตร	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	ดร. อำนาจ โรจนไพบุลย์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	Prof. Dr. Richard L. Deming	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การเพิ่มการผลิตคาโรทีนอยด์และคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไถ (*Cladophora* sp.) โดยการเพาะเลี้ยงแบบหมวมวลด้วยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไถในบ่อซีเมนต์ระบบน้ำวนโดยใช้น้ำทิ้งจากโรงอาหารที่มีการเติมไคโปแทสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (K_2HPO_4) ความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดการทดลองที่ 1, 2, 3, และ 4) โดยทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติม K_2HPO_4 หลังเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์พบว่า ปริมาณคาโรทีนอยด์รวม แคลโรทีน แซนโทฟิลล์ เบต้า-แคโรทีน ลูทีน และซีแซนธินของสาหร่ายไถมีความแตกต่างกันระหว่างการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีค่าสูงสุด (1,728.95, 102.90, 1,626.06, 96.59, 473.28 และ 171.75 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) ในชุดการทดลองที่ 4 ซึ่งเติม K_2HPO_4 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าต่ำสุดในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติม K_2HPO_4

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไถพบว่ามีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามินเอ และฟอสฟอรัสแตกต่างกันระหว่างการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยค่าสูงสุดของโปรตีน (17.69%) วิตามินเอ (1.61 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) และฟอสฟอรัส (111.79 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) พบในชุดการทดลองที่ 4 และมีค่าต่ำสุดในชุดควบคุม แต่คาร์โบไฮเดรตมีค่าสูงสุด (60.98%) ในชุดควบคุม และมีค่าต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 4 ส่วนปริมาณไขมัน เยื่อใย ถั่ว

ความชื้น วิตามินบี1 วิตามินบี2 วิตามินซี วิตามินอี แคลเซียม เหล็ก โปแทสเซียม แมกนีเซียม และสังกะสีไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

การเจริญเติบโตของสาหร่ายไคพบว่า มีมวลชีวภาพสูงสุด (4,239 กรัมต่อตารางเมตร น้ำหนักเปียก) ในชุดการทดลองที่ 1 (เติม K_2HPO_4 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อเพาะเลี้ยง 10 สัปดาห์ ส่วนอัตราการผลิตมวลชีวภาพมีค่าสูงสุด (283.67 กรัมต่อตารางเมตรต่อสัปดาห์) ในชุดควบคุม แต่ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า มวลชีวภาพและอัตราการผลิตมวลชีวภาพของสาหร่ายไคไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนการวิเคราะห์คุณภาพน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคพบว่า ค่าความนำไฟฟ้าและออร์โธฟอสเฟตฟอสฟอรัสมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยมีค่าสูงสุดในชุดการทดลองที่ 4 ส่วนความเร็ว น้ำ อุณหภูมิอากาศ อุณหภูมิ น้ำ ความเข้มแสง pH ของแข็งที่แขวนลอยในน้ำ ความกระด้าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ บีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรทไนโตรเจน ไนไตรท์ ไนโตรเจน และเจลดาคัลไนโตรเจนไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่ายไคพบว่า main axis กว้าง 50-80 ไมโครเมตร ยาว 450-1980 ไมโครเมตร ส่วน branch cell กว้าง 40-60 ไมโครเมตร ยาว 490-1,800 ไมโครเมตร โดยขนาดเซลล์ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนลักษณะของผนังเซลล์ที่ดูจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่า ผนังเซลล์ขรุขระ และมีโครงสร้างของ nipple-like และ ridges ที่ผนังเซลล์

การศึกษาทางอนุชีววิทยาของสาหร่ายไคโดยดูจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค random amplified polymorphic DNA (RAPD) มี 3 ไพร์เมอร์ที่แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ได้แก่ ไพร์เมอร์ OPA04, OPA09 และ OPN03 โดยแสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 3 แถบที่ 400-1,200, 500-1,150 และ 450-1,000 base pair ตามลำดับ ส่วนลำดับดีเอ็นเอของยีนในตำแหน่ง ribosomal internal transcribed spacer region (ITS1) พบว่า สาหร่ายไคมีลำดับเบสทั้งหมด 400 base pair เมื่อเปรียบเทียบกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอและลำดับดีเอ็นเอของสาหร่ายไคที่เพาะเลี้ยงกับสาหร่ายไคชนิด *Cladophora glomerata* พบว่ามีลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่แตกต่างกันและมีลำดับดีเอ็นเอแตกต่างกัน 79%

การศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าฟอสเฟตฟอสฟอรัสมีแนวโน้มที่ช่วยเพิ่มการผลิตคาร์บอนออกไซด์ โปรตีน วิตามินเอ และฟอสฟอรัสของสาหร่ายไค แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มมวลชีวภาพในภาวะที่มีฟอสฟอรัสเพียงพอ ส่วนการศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยาและอนุชีววิทยาพบว่าสาหร่ายไคที่เพาะเลี้ยงเป็นชนิดใหม่

Thesis Title Enhancement of Carotenoid Production and Nutritional Value of an Alga Kai (*Cladophora* sp.) under Mass Culture

Author Mr. Taweesak Khuantrairong

Degree Doctor of Philosophy (Biodiversity and Ethnobiology)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Siripen Traichaiyaporn	Advisor
Asst. Prof. Dr. Jammong Uthaibutra	Co-advisor
Dr. Amnat Rojanapaibul	Co-advisor
Prof. Dr. Richard L. Deming	Co-advisor

ABSTRACT

Enhancement of carotenoid production and nutritional value of an alga, Kai (*Cladophora* sp.) under mass cultivation was investigated. The alga was cultured in cement raceway ponds by using canteen wastewater with the addition of di-potassium hydrogen orthophosphate (K_2HPO_4) at the concentrations of 5, 10, 15 and 20 mg L⁻¹ (treatment 1, 2, 3 and 4, respectively) with 3 replications compared to the control without adding K_2HPO_4 . After 12 weeks of cultivation, total carotenoid, carotene, xanthophyll, β -carotene, lutein and zeaxanthin values were significantly different among the treatments ($p < 0.05$). The highest values (1,728.95, 102.90, 1,626.06, 96.59, 473.28 and 171.75, respectively) were observed in treatment 4 which K_2HPO_4 20 mg L⁻¹ was added, whereas the lowest value was in the control group without adding K_2HPO_4 .

Analysis of nutritional values of Kai showed that protein, carbohydrate, vitamin A and phosphorus values were significantly different among the treatments ($p < 0.05$). The highest value of protein (17.69%), vitamin A (1.61 mg 100g⁻¹) and phosphorus (111.79 mg 100g⁻¹) was observed in treatment 4, whereas the lowest value was in the control group. In contrast, the highest carbohydrate value (60.98%) was

observed in the control group, whereas the lowest value was in the treatment 4. On the other hand, fat, fiber, ash, moisture, vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin C, vitamin E, Ca, Fe, K, Mg and Zn values were not significantly different among the treatments ($p>0.05$).

The growth of Kai in culture indicated that the highest biomass (4,239 g m⁻² wet weight) was in treatment 1 (addition of K₂HPO₄ 5 mg L⁻¹) after culturing for 10 weeks. Whereas, the highest biomass production rate (283.67 g m⁻² week⁻¹) was observed in the control group. However, statistical analysis showed that biomass production and biomass production rate were not significantly different among the treatments ($p>0.05$). Analyses of water quality during the cultivation of Kai showed that the EC and PO₄-P values were significantly different among the treatments ($p<0.05$), the highest value was in treatment 4. Whereas, water velocity, air temperature, water temperature, light intensity, pH, suspended solid, hardness, DO, BOD, NH₃-N, NO₃-N, NO₂-N and TKN were not significantly different among the treatments ($p>0.05$).

Morphological studies of Kai indicated that the main axis was 50-80 µm wide and 450-1,980 µm long while the branch cell was 40-60 µm wide and 490-1,800 µm long. The cell size was not significantly different among the treatments ($p>0.05$). Observation of cell wall with SEM revealed that the cell wall was rough with nipple-like and ridge structures.

Molecular study of Kai using DNA fingerprint profiles was performed by the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. Three primers, OPA04, OPA09 and OPN03 displayed three polymorphic bands with the fragment size ranged from 400-1,200, 500-1,150 and 450-1,000 base pairs (bp), respectively. Alignment of the ribosomal internal transcribed spacer region (ITS1) showed 400 bp. Comparison of DNA fingerprint profiles and DNA sequences of the cultured species with *Cladophora glomerata* indicated different DNA fingerprint profiles and 79% difference in the DNA sequences.

This study also indicated that phosphate-phosphorus had tendency to enhance the production of carotenoid, protein, vitamin A and phosphorus of this alga, but had no effect on the increase in biomass production when phosphorus was sufficient. Morphological and molecular studies indicated that the cultured species was a new species.