รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

ศักยภาพการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมในปลาสวยงาม

Potential of *Nostoc* and *Nostochopsis* Alga in Development to be Supplement in Ornamental Fish

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ: เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตเชิงพาณิชย์และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขัน

โดย

อุดมลักษณ์ สมพงษ์ และ ยุวดี พีรพรพิศาล

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2557

รหัสโครงการวิจัย มจ.1-56-057.5

รายงานผลการวิจัย

เรื่อง **ศักยภาพการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมในปลาสวยงาม**

Potential of *Nostoc* and *Nostochopsis* Alga in Development to be Supplement in Ornamental Fish

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย **ประจำปี 2556**

จำนวน 231,000 บาท

หัวหน้าโครงการ **นางสาวอุดมลักษณ์ สมพงษ์**

ผู้ร่วมโครงการ **นางยุวดี พีรพรพิศาล**

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

10 กันยายน 2557

สารบัญ

สารบัญตาราง

สารบัญภาพ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยความอนุเคราะห์และความร่วมมือจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้

และขอขอบคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ รวมทั้งนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาช่วยงาน คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้ให้การสนับสนุนอนุเคราะห์สถานที่ และอุปกรณ์การวิเคราะห์ รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จ

คณะผู้วิจัย

ศักยภาพการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมในปลาสวยงาม

Potential of *Nostoc* and *Nostochopsis* Alga in development to be supplement in ornamental fish

อุดมลักษณ์ สมพงษ์ [1] และยุวดี พีรพรพิศาล[2]

Udomluk Sompong [1] and Yuwadee Peerapornpisal[2]

[1]คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 50290

[2]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

บทคัดย่อ

สาหร่ายไข่หิน (*Nostoc*) และลอน (*Nostochopsis*) เป็นสาหร่ายที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ซึ่งเป็นทางเลือกในการใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหาร เพื่อใช้ในการอนุบาลและเลี้ยงปลาสวยงาม โดยทำการเก็บและคัดแยกพันธุ์สาหร่ายในเขตภาคเหนือ เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแตกต่างกัน ที่ความเข้มแสงประมาณ 2,000 ลักซ์ ให้อากาศตลอด 24 ชั่วโมง ทำการคัดแยกสาหร่ายใน BG-11 สูตรปรับปรุง หลังจากนั้นนำมาศึกษาอัตราการเจริญบนอาหาร BG11 ที่ผสมวุ้น 0.5-1.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสาหร่ายเจริญดีที่สุดบนอาหารวุ้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยสาหร่าย *Nostoc* sp. FT 1019 (N19) และ *Nostoc* sp. FT 1012 (N12) มีค่าการเจริญสูงที่สุด จากนั้นคัดเลือกสาหร่ายที่เจริญดีที่สุด 5 สายพันธุ์ เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร BG11 สูตรปรับปรุงที่ผสมโซเดียมอัลจิเนต (Na alginate) 0-0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสาหร่ายมีการเจริญบนอาหารที่ผสมโซเดียมอัลจิเนต 0.25-0.5เปอร์เซ็นต์ ดีที่สุด ($p<0.05$) N12 มีอัตราการเจริญสูงกว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้นประมาณ 50 เท่า ทำการคัดเลือกสาหร่าย 3 สายพันธุ์ เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร BG11 สูตรปรับปรุงที่ผสมโซเดียมอัลจิเนต 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสาหร่ายที่มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ N12 รองลงมาได้แก่ N19 และ *Nostochopsis* sp. FT 1018 (NC18) ทดสอบคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ รวมทั้งศึกษาการเจริญเติบโตในปลาสวยงามที่เลี้ยงโดยอาหารที่ผสมสาหร่ายเป็นขั้นตอนต่อไป

คำสำคัญ: สาหร่ายไข่หิน สาหร่ายลอน ปลาสวยงาม

Abstract

Nostoc and *Nostochopsis* are algae with a high nutritional value. They could be possibly be used as the raw material in feed supplement for rearing ornamental fish. Collecting and isolating algae were done in northern part of Thailand. Culturing was done in adjusted BG-11at a light intensity of 2,000 lux with continuous aeration. The growth rate in BG-11 medium (0.5-1.5% agar) was tested. The highest growth rate was detected in BG-11 with 1.5% agar. *Nostoc* sp. FT1019 (N19) and FT1012 (N12) displayed the highest growth rate for all strains. Five strains of high growth rate algae were selected and cultured in BG-11 broth media consisting of 0-0.5% sodium alginate. The highest growth rate were detected in algae cultured in BG-11media consisting of 0.25-0.5% Na alginate ($p<0.05$). The growth rate in broth medium was higher than the agar medium for 50 times. Then, the three best were selected for culturing in BG-11 medium with 0.5% Na alginate. The highest growth rate of all algae was N12, followed by N19 and *Nostochopsis* sp. FT1018 (NC18), respectively. The nutritional value of all 3 strains will be analyzed. Ornamental fish growth will be tested by coating each species of algae on commercial feed pellet and feed to ornamental fish.

Keywords: *Nostoc*, *Nostochopsis*, ornamental fish

คำนำ

ในปัจจุบันธุรกิจปลาสวยงามในประเทศไทยได้ขยายตัวเป็นธุรกิจส่งออกที่สามารถนำเงิน ตราเข้าประเทศปีละไม่ต่ำกว่า 200 ล้านบาท (50 ล้านเหรียญสหรัฐ) ตลาดส่งออกที่สำคัญคือ สหรัฐอเมริกา สิงคโปร์ กลุ่มประเทศสหภาพยุโรป และ ญี่ปุ่น สำหรับราคาจำหน่ายปลาสวยงามสำหรับเลี้ยงไว้ดูเล่นและเพื่อการประกวดนั้น ขึ้นอยู่กับชนิด สายพันธุ์ รูปร่าง สีสัน และการเคลื่อนไหว ซึ่งราคาจำหน่ายจะขึ้นอยู่กับสีสันของปลา ผู้ที่เลี้ยงปลาสวยงามจึงพยายามหาวิธีการต่างๆ ที่จะทำให้ปลาของตนนั้นมีสีสันสวยงาม ไม่ว่าจะเป็นการปรับปรุงพันธุ์ หรือการใช้อาหารทั้งอาหารสด และอาหารแห้ง (วิธีการเสริมคุณค่าทางอาหาร. ออนไลน์ [เข้าถึงได้จาก] http://www.ninekaow.com/scoops/?action=view&catID=0000001&pid=0000023 วันที่ 25 กรกฎาคม 2554) มีมากมายหลายบริษัทที่พยายามคิดค้นอาหารสำเร็จรูปปลาสวยงามต่างๆ ออกจำหน่ายในท้องตลาด ซึ่งส่วนใหญ่มีราคาแพงและวัตถุดิบส่วนใหญ่ก็ใช้วัตถุดิบสังเคราะห์ซึ่งไม่ได้มาจากธรรมชาติ ปัจจุบันมีการใช้สาหร่ายทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ในการเป็นอาหารสัตว์น้ำเนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง เช่น สาหร่ายสไปรูไลน่า ใช้เป็นอาหารเสริมหรือผสมในอาหารสำเร็จรูปเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สารอาหารที่มีอยู่มากมายในสาหร่าย เช่น รงควัตุคลอโรฟิลล์ในปริมาณสูง รวมทั้งสารจำเป็นอื่นๆ เช่น ไฟโคไซยานิน กรดไขมันแกมม่าไลโนนิค แคโรที-นอยด์ โปรตีน กรดอะมิโน และสารอาหารโมเลกุลเดียวอื่นๆ อีกมากมาย และกรดไขมันจำเป็นไม่อิ่มตัว (สำนักวิจัยและส่งเสริมการเกษตร “คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายน้ำจืด” ออนไลน์ [เข้าถึงได้จาก] http://www2.it.mju.ac.th/dbresearch/rae/index.php?วันที่ 25 กรกฎาคม 2554)

สาหร่าย *Nostoc* **หรือ** ไข่หิน ดอกหิน เห็ดหิน เห็ดลาบ เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีการเจริญเติบโตแบบเป็นเส้นสาย เส้นสายจะบิดงอและอยู่รวมกันเป็นจำนวนมาก โดยฝังตัวอยู่ในสารเมือกที่มีลักษณะเป็นวุ้นหนา มองดูคล้ายก้อนเยลลี่ (ยุวดี (2549) และ อาภารัตน์ (2550) ภายในเซลล์มีคลอโรฟิลล์ เอ รวมทั้งรงควัตถุสำคัญหลายชนิด เช่น แคโรทีน แซนโทฟิลล์ ไฟโคอิริทริน และไฟโคไซยานิน ผนังเซลล์หุ้มด้วยเมือกลักษณะคล้ายวุ้น จึงทำให้ลื่น (“สาหร่ายนอสตอก”. www.myfirstbrain.com) พบได้ทั้งในดิน บนดินหรือหินที่ชื้น มีเฮทเทอโรซิสต์เพื่อตรึงไนโตรเจนจากอากาศ การใช้ประโยชน์จาก *Nostoc* มีมากมาย เช่น ศูนย์จุลินทรีย์ (ศจล.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) พบว่ามีการบริโภคนอสตอคในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภูมิปัญญาไทยเชื่อว่าเป็นยาเย็นแก้ร้อนในและช่วยรักษาระบบกระเพาะอาหารและลำไส้ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพที่เหมาะสม จะมีการเปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกลม เนื้อแน่น มีสีเขียวแกมน้ำเงินมีประกายคล้ายไข่คาร์เวีย แต่ไม่มีกลิ่นและรส ซึ่งสามารถนำไปประกอบอาหารต่างๆ หลายประเภท (อาภารัตน์, 2550) *Nostoc* เป็นสาหร่ายที่อุดมไปด้วยโปรตีน

และสามารถเพิ่มปริมาณไนเตรตไนโตรเจนให้กับสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ทำให้สามารถใช้พืชนั้นเป็นปุ๋ยพืชสด หรือปุ๋ยชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในข้าว รวมทั้งนำไปเป็นอาหารสัตว์และอาหารปลาได้อีกด้วย และมีความสามารถในการผลิตยาปฏิชีวนะ ในปัจจุบัน วว. ได้ทำการศึกษาและผลิตสาหร่ายไข่หิน ซึ่งมีการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ พบว่า 100 กรัม ของสาหร่าย *Nostoc* มีโปรตีนไม่เกิน 33.78% ไขมัน 0.28% กากใย 51.19% วิตามิน A, B1, B2 แคลเซียม เหล็ก กรดอะมิโน โอนีน ไลซีน โพรลีน ไทโรซีน อะลานีน เป็นต้น (*Nostoc* Algae. ออนไลน์ [เข้าถึงได้จาก] www.21Food.com วันที่ 25 กรกฎาคม 2554)

สาหร่ายลอน *Nostochopsis* หรือ ไข่หิน ดอกหิน อองลอน เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ปัจจุบันพบเพียง 2 ชนิดคือ *Nostochopsis hansgrig* และ *N. lobatus* พบมากในลำน้ำน่าน ทัลลัสมีลักษณะเป็นก้อน ภายในมีเส้นสายจำนวนมากฝังอยู่ เมื่อยังอ่อนจะอยู่เป็นก้อนตัน เมื่ออายุมากขึ้นตรงกลางจะกลวง มีการแตกแขนงไปหลายทิศทาง แขนงสั้นๆประกอบด้วย 2-3 เซลล์ เซลล์มีเฮทเทอโรซิสต์ อยู่ตรงปลายแขนงสั้นๆ สาหร่ายชนิดนี้ขึ้นอยู่บนก้อนหินหรืออากาศเย็นที่มีน้ำไหลผ่าน เช่น ทางภาคเหนือของประเทศไทย ยุวดีและคณะ (2547) พบสาหร่ายชนิดนี้เจริญอย่างรวดเร็วเป็นปริมาณมากในแม่น้ำน่าน ช่วงฤดูแล้ง ตุลาคม – พฤษภาคม ของทุกปี โดยเจริญอยู่บนก้อนหิน นำมายำเป็นอาหาร และเชื่อว่าเป็นยาแก้โรคร้อนใน สาหร่ายชนิดนี้มีคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับสาหร่ายไก โดยมีปริมาณโปรตีนราว 20% ใกล้เคียงกับเนื้อปลา มีวิตามินและเกลือแร่หลายชนิด โดยเฉพาะซีลีเนียมซึ่งมีสารป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระอยู่ถึง 409.8 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง นอกจากนั้นมีแคลเซียมสูงมากถึง 12,378.9 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง (ยุวดี, 2549)

ในปัจจุบันมีการศึกษาพบว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ เช่น cyanophycin หรือ marinamycin ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคต่างๆ ได้ (ยุวดี, 2549) จากการวิจัยของ วว. พบว่าสาหร่าย *Anabaena siamensis* สามารถใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพได้ในนาข้าว *Scytonema* No.11 สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ Cyanobacterin ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นทั้ง algicide และ bacteriocide ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายและแบคทีเรียบางชนิดได้ นอกจากนี้สาหร่ายยังเป็นอาหารที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนที่กินพืชเป็นอาหารเช่น ปลา กุ้งและแพลงตอนสัตว์ เช่น ไรแดง ไรน้ำเค็ม มีการเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาจากน้ำทิ้งแหล่งชุมชนเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ ในประเทศญี่ปุ่นใช้สาหร่ายสไปรูลินาเลี้ยงปลาเทร้า กุ้ง ปลาคาร์พ เป็นต้น ทำให้เศรษฐกิจของอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาสวยงามได้พัฒนาก้าวไกลออกไปมาก (ไปรมา, 2546)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นคุณค่าและประโยชน์ที่มีอยู่ในสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* ซึ่งการใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่ของ *Nostoc* และ *Nostochopsis* ส่วนใหญ่เน้นไปในด้านของการเป็น

อาหารของมนุษย์ ส่วนการใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ ยังไม่เป็นที่นิยมแพร่หลายมากนักทั้งที่มีคุณค่าทางอาหารและสารสำคัญต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ผู้วิจัยจึงสนใจในการนำ *Nostoc* และ *Nostochopsis* มาเป็นอาหารปลาสวยงาม ในการปรับปรุงการเจริญเติบโต สีสัน โดยใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติ ทั้งในรูปแบบสดและแห้ง เพื่อการเพิ่มมูลค่าของผลผลิตและสามารถพัฒนางานวิจัยนี้ไปสู่การผลิตอาหารสัตว์น้ำสำเร็จรูปเชิงพาณิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. พัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Nostoc* และ *Nostochopsis* เพื่อขยายไปสู่การเพาะเลี้ยงขนาดใหญ่ต่อไป
2. วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของ *Nostoc* และ *Nostochopsis* ที่เก็บรวบรวมจากบางแหล่งในบริเวณภาคเหนือ เพื่อคัดเลือกชนิดที่เหมาะสมนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำ
3. ศึกษาผลการเจริญเติบโตของปลาสวยงามด้วยอาหารที่ผสมสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง รวมทั้งสายพันธุ์ *Nostoc* และ *Nostochopsis* ที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นอาหารปลาสวยงาม
2. ทราบผลการเจริญเติบโตของปลาสวยงามด้วยอาหารที่ผสมสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis*
3. เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสามารถนำเองานวิจัยนี้ไปใช้ประโยชน์ในผลิตอาหารปลาสวยงาม ให้มีคุณภาพที่เหมาะสม เพื่อการเพิ่มมูลค่าของผลผลิตปลาได้
4. ภาคเอกชนสามารถพัฒนางานวิจัยนี้ไปสู่การผลิตอาหารปลาสวยสำเร็จรูปเชิงพาณิชย์ต่อไป

ขอบเขตของโครงการวิจัย

<u>โครงการวิจัย</u>

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตเชิงพาณิชย์และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขัน

⇩

<u>งานวิจัยที่ 6</u>

ศักยภาพการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Nostoc *และ* Nostochopsis *เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมในปลาสวยงาม*

⇩

<u>ปัจจัยที่ทำการศึกษา</u>

1. ชนิดของสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* ที่แยกได้จากแหล่งน้ำภาคเหนือ
2. ผลของสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* ต่อการเจริญเติบโตและลักษณะของปลาสวยงาม
3. คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis*
4. คุณภาพเนื้อของปลาสวยงามที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis*

⇩

<u>ตัวชี้วัด</u>

1. นำเสนอระดับชาติหรือนานาชาติ จำนวน 1 เรื่อง
2. ตีพิมพ์ผลงานวิจัยระดับชาติหรือนานาชาติ จำนวน 1 เรื่อง

⇦

<u>เป้าประสงค์</u> องค์ความรู้ด้านการพัฒนาคุณภาพผลผลิตของปลาสวยงาม

<u>เพื่อ</u>

ถ่ายทอดองค์ความรู้สู่เกษตรกร

พัฒนาองค์ความรู้สู่ภาคอุตสาหกรรม

⇨

ผลิตนักศึกษาระดับปริญญาโท จำนวน 1 คน

⇩

✪ผลผลิตปลาที่ได้มี**<u>คุณภาพ</u>** เพื่อพัฒนาการ**<u>แข่งขัน</u>**และ**<u>ส่งออก</u>** ✪

การตรวจเอกสาร

ธุรกิจปลาสวยงามของประเทศไทยนั้น ได้ขยายตัวสู่ธุรกิจการส่งออกสามารถนำเงินตราเข้าประเทศในปี 2553 กว่า 600 ล้านบาท ซึ่งอันดันต้นๆ ของชนิดสัตว์น้ำที่ส่งออกได้แก่ ปลาทอง ปลาหางนกยูง ปลาน้ำผึ้ง ปลากัด ปลานีออน ปลาคาร์ฟ ปลาปอมปาร์ดัว ปลาหมอสี เป็นต้น ซึ่งตลาดปลาสวยงามในประเทศไทยนั้น มีอยู่หลายแห่งเกือบทุกภูมิภาคของประเทศ (กรมประมง, 2554 และสถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด กรมประมง, 2554) สีสันของปลาสวยงามเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ปลามีราคาจำหน่ายที่สูงขึ้น ผู้ที่เลี้ยงปลาสวยงามจึงพยายามหาวิธีการต่างๆ ที่จะทำให้ปลาของตนนั้นมีสีสันสวยงาม ซึ่งปลาไม่สามารถสร้างสีเองได้ ต้องได้รับจากอาหารที่ทานเข้าไปเท่านั้น (Lovell, 1934) อาหารเป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งผู้ประกอบการนำมาใช้เป็นกลยุทธ์ ในการทำให้ปลาของตนมีสีสันสวยงาม โดยใช้ทั้งรูปแบบสดและแห้ง มีมากมายหลายบริษัทที่พยายามคิดค้นอาหารสำเร็จรูปปลาสวยงามต่างๆ ออกจำหน่ายในท้องตลาด ซึ่งส่วนใหญ่มีราคาแพงและวัตถุดิบส่วนใหญ่ใช้วัตถุดิบสังเคราะห์ซึ่งไม่ได้มาจากธรรมชาติ สาหร่ายจึงเป็นตัวเลือกที่ดีทางหนึ่งในการนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสำเร็จรูปจากวัตถุดิบธรรมชาติ เพื่อใช้ในการอนุบาลและเลี้ยงปลาสวยงามวัยอ่อนและปลาสวยงามตัวเต็มวัย ปัจจุบันมีการใช้สาหร่ายทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ ใช้เป็นอาหารเสริมหรือผสมในอาหารสำเร็จรูป เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง

สาหร่ายนอสตอค (*Nostoc* sp.)

สาหร่ายนอสตอค (*Nostoc* sp.)หรือสาหร่ายไข่หิน ดอกหิน เห็ดหิน เห็ดลาบ เห็ดยาควร (ไทย) ; Star shot , Star jelly , Witches' butter , Fairies' butter (ยุโรป) ; Ishikurage (ญี่ปุ่น) ; Koxiaumi ,Fat tsai, Facai หรือ shi (จีน) (อาภารัตน์, 2550) มีลักษณะเป็นเส้นสาย โดยเส้นสายมีลักษณะบิดงอและอยู่รวมกันเป็นจำนวนมาก โดยฝังตัวอยู่ในสารเมือกที่มีลักษณะเป็นวุ้นหนา มองดูเป็นก้อน เซลล์มีลักษณะกลม หรือค่อนข้างกลม เฮเทอโรซีสต์และอะคีนีทจะอยู่ติดกัน หรือใกล้เคียงกัน และอยู่ในเส้นสาย สาหร่ายชนิดนี้มักพบอยู่ตามพื้นดินที่ชื้นแฉะหรือตามหน้าผาชื้นๆ นำมารับประทานได้ โดยเฉพาะ *Nostoc commune* Vaucher มีลักษณะเป็นก้อนกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 – 2 เซนติเมตร บางชนิดมีลักษณะเหมือนเส้นผม ทางใต้เรียกผักผม นำมารับประทานได้ สปีชีส์ที่พบ เช่น *N. azollae*, *N. caeruleum*, *N. carneum*, *N. comminutum*, *N. commune*, *N. ellipsosporum*, *N. flagelliforme* และ *N. linckia* เป็นต้น (“*Nostoc*”. http://en.wikipedia.org /wiki/Nostoc)

คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Nostoc*

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการในสาหร่าย *Nostoc* พบว่า 100 กรัม ของสาหร่าย *Nostoc* มีโปรตีนสูงถึง 33.78% ไขมัน 0.28% กากใย 51.19% วิตามิน A, B1, B2 แคลเซียม เหล็ก กรดอะมิโนชนิดต่างๆ เช่น เมทไธโอนีน ไลซีน โพรลีน ไทโรซีน และอะลานีน (*Nostoc* Algae, 2554) ภายในเซลล์มีคลอโรฟิลล์ เอ รวมทั้งรงควัตถุสำคัญหลายชนิด เช่น แคโรทีน แซนโทฟิลล์ ไฟโคอิริทริน และไฟโคไซยานิน ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ช่วยในการเพิ่มสีให้ปลาสวยงาม

สาหร่ายลอน (*Nostochopsis* sp.)

Nostochopsis มีชื่อสามัญ คือ สาหร่ายลอน หรือ อองลอน ทัลลัสเป็นก้อนเมือกภายในมีเส้นสายจำนวนมากฝังอยู่ เมื่อยังอ่อนเป็นก้อนตัน เมื่ออายุมากขึ้นตรงกลางจะกลวง มีการแตกแขนงของเส้นสายหลายทิศทาง แขนงสั้นๆประกอบด้วย 2-3 เซลล์ มีเฮเทอโรซีสต์เกิดปลายแขนงสั้นๆ ส่วนแขนงยาวประกอบด้วยเซลล์จำนวนมาก เซลล์ตรงส่วนปลายมีลักษณะยาว เฮเทอโรซีสต์บางอันเกิดบนเส้นสาย

สาหร่ายชนิดนี้ขึ้นอยู่บนก้อนกินหรืออากาศเย็นที่มีน้ำไหลผ่าน เช่น ทางภาคเหนือของไทย ที่จังหวัดเชียงใหม่ มีขนาด 10-15 มิลลิเมตร ชาวเชียงใหม่เรียก ดอกหิน หรือไข่หิน ที่จังหวัดน่าน พบเจริญอยู่บนก้อนหินใต้น้ำ สปีชีส์ที่พบ เช่น *Nostochopsis hansgirgii* Schmidle, *Nostochopsis lobata* Wood ex Bornet et Flahault, *Nostochopsis radians* Bharadwaja, *Nostochopsis transvaalensis* Welsh และ *Nostochopsis wichmannii* Weber van Bosse เป็นต้น (*Nostochopsis*. CyanoDB.cz a database of cyanobacterial genera)

คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายลอน

เมื่อทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ สาหร่ายลอนมีปริมาณโปรตีนราว 20% ใกล้เคียงกับเนื้อปลา มีวิตามินและเกลือแร่หลายชนิด โดยเฉพาะซีลีเนียมซึ่งมีสารป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระอยู่ถึง 409.8 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง นอกจากนั้นมีแคลเซียมสูงมากถึง 12,378.9 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง (ยุวดี, 2549)

รงควัตถุที่พบมากในสาหร่ายทั้งกลุ่มนี้ โดยเฉพาะกลุ่มแคโรทีนอยด์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (Astorg, 1997 และ Edge และคณะ, 1997) รงควัตถุอีกกลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญในการใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระก็คือสารกลุ่มไฟโคบิลิ

โปรตีน ซึ่งได้แก่ ไฟโคอิริทริน และไฟโคไซยานิน ซึ่งพบมากทั้งในสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* นอกจากนี้ยังเป็นตัวช่วยทำให้ภูมิต้านทานในร่างกายสูงขึ้น จากการทดลองของ Sekar และ Chandramohan (2008) พบว่าไฟโคไซยานินสามารถใช้เป็นสาร antioxidant, anti-inflammatory, neuroprotective และ hepatoprotective activity อีกทั้งยังสามารถลดระดับ tumor necrosis factor (TNF-α) ใน blood serum ของหนูทดลองที่ฉีด endotoxin

ในปัจจุบันเราสามารถพบสาหร่ายสองกลุ่มนี้ได้เพียงบางช่วงเท่านั้น ไม่พบตลอดทั้งปี สาหร่ายลอนพบได้ในแม่น้ำน่านในช่วงฤดูแล้ง ตั้งแต่เดือนตุลาคม – พฤษภาคม ของทุกปี ซึ่งชาวบ้านนิยมนำมารับประทานโดยนำมายำเป็นอาหาร และผู้มีอายุนิยมรับประทานเป็นยาแก้ร้อนใน (ยุวดี, 2551) ในปัจจุบันมีการเก็บจากธรรมชาติเท่านั้น ยังไม่มีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสองกลุ่มนี้ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสองกลุ่มนี้จึงมีความจำเป็นสำหรับงานวิจัยนี้เพื่อการเก็บเกี่ยวผลผลิตไปใช้ได้ตลอดทั้งปี รวมทั้งศึกษาการนำไปใช้เพาะ เลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

การใช้ประโยชน์ของสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis*

ยุวดี (2549) สาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* ส่วนใหญ่นำมาใช้ในการเป็นอาหารและยาของมนุษย์ เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง ในปัจจุบัน วว. ได้ทำการศึกษาและผลิตสาหร่ายไข่หิน ซึ่งมีการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ พบว่า 100 กรัม ของสาหร่าย *Nostoc* มีโปรตีนไม่เกิน 33.78% ไขมัน 0.28% กากใย 51.19% วิตามิน A, B1, B2 แคลเซียม เหล็ก กรดอะมิโน โอนีน ไลซีน โพรลีน ไทโรซีน อะลานีน เป็นต้น (*Nostoc* Algae. ออนไลน์ [เข้าถึงได้จาก] www.21Food.com วันที่ 25 กรกฎาคม 2554) *Nostochopsis* มีคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับสาหร่ายไก โดยมีปริมาณโปรตีนราว 20% ใกล้เคียงกับเนื้อปลา มีวิตามินและเกลือแร่หลายชนิด โดยเฉพาะซีลีเนียมซึ่งมีสารป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระอยู่ถึง 409.8 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง นอกจากนั้นมีแคลเซียมสูงมากถึง 12,378.9 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง

Watanabe (1951) ได้ทำการศึกษาชนิดกรดอะมิโนในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศได้ โดยสามารถคัดแยกสาหร่ายได้หลายสายพันธุ์ ได้แก่ *Nostoc* sp. (จากเกาะชวา อินโดนีเซีย), *Tolypothrix tenuis* (จากเกาะบอร์เนียว), *Calothrix brevissima* (จากเกาะ Palau), และ *Anabaenopsis* sp. (จากเกาะสุมาตรา) โดยเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีส่วนผสมของ K_2HPO_4, $MgSO_4{\cdot}7H_2O$, $CaCl_2$, $FeCl_3$ และ glucose ซึ่งไม่ผสมส่วนของสารประกอบไนโตรเจน กรดอะมิโนในเซลล์ของสาหร่าย รวมทั้งอาหารที่ใช้เลี้ยงถูกทดสอบด้วยวิธี paper-partition chromatography แม้ว่ากรดอะมิโนหลายชนิดจะถูกพบในเซลล์สาหร่าย แต่ในสารละลายภายนอกเซลล์ พบกรดอะมิโนในปริมาณน้อยหรือแทบไม่พบเลย มีเพียง *Calothrix*

brevissima เท่านั้นที่มีการหลั่งกรด aspartic, glutamic และ alanine ในสารละลายภายนอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง

Pandey และ Pandey (2008) ศึกษาการผลิต *Nostochopsis lobatus* แบบมวลชีวภาพ ปริมาณรงควัตถุและสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า *N. lobatus* สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระสูง (46.12 μM AEAC) ซึ่งหากทำการทดลองแบบ immobilized cell culturesสามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระสูงถึง 87.05 μM AEAC เมื่อทำการผสมฟอสฟอรัสและเหล็กลงไปเสริม พบว่าชีวมวล สี คุณค่าทางโภชนาการและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างมากที่ pH 7.8 เมื่อพิจารณาแยกกัน ปรากฏว่าฟอสฟอรัสจะเป็นอาหารเสริมที่ดีกว่าเหล็กในการผลิตชีวมวล คลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ แต่คุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณ phycocyanin, phycoerythrin และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในการเสริมด้วยเหล็กจะมีประสิทธิภาพมากกว่า จากการศึกษา *N. lobatus* บ่งชี้ว่าจะเป็น bioresource ที่มีแนวโน้มการผลิตที่เพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพ ที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ รงควัตถุและสารต้านอนุมูลอิสระ การศึกษายังชี้ให้เห็นว่าฟอสฟอรัสและเหล็กเป็นอาหารเสริมที่มีประสิทธิภาพในการพัฒนา การเลี้ยงเชิงพาณิชย์ต่อไป

Khatoon และคณะ (2010) ได้ทำการทดลองนำเอาสาหร่าย *Nostoc ellipsosporum* และ *Navicula minima* ที่ผสมกับไรแดง (*Daphnia*) เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงปลาทอง (*Carassius auratus*) เพื่อปรับปรุงด้านสีสันและการเจริญเติบโต โดยนำสาหร่ายผสมทั้งสองชนิดนั้นไปเลี้ยงปลาทองเป็นเวลา 10 วัน ผลปรากฏว่าชุดทดลองที่ให้สาหร่ายเสริมเป็นอาหาร มีการเจริญเติบโตดังนี้ Body weight Gain (3.52%±1.2), Specific growth rate (0.87±0.41), Protein efficiency ratio (0.074±0.05) และ Feed conversion ratio (0.024±0.03) เมื่อทำการวิเคราะห์คุณภาพของซาก (Carcass proximate composition) ของปลาทองพบว่า Moisture มีค่า 45.53%, Content Ash 58.0%, Total protein 7.66±0.03%, Total Lipid 15.64±0.011%, Glycogen 3.2±0.04% และปริมาณแคโรทีนอยด์ 1.8±0.15% โดยผลการทดลองมีค่าสูงกว่าชุดที่ไม่ผสมสาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญ

Mona และคณะ (2011) ศึกษาการใช้ *Nostoc linckia* ในการเป็นแหล่งพลังงานไฮโดรเจน ซึ่ง *N. linckia* สามารถกำจัด Co(II) ออกจากสารละลายได้ โดยการใช้ *N. linckia* ในรูป immobilized biomass บรรจุอยู่ใน hydrogen bioreactor ซึ่งในการทดลองจะใช้ *N. linckia* เป็น biosorbent ค่า metal removal (Co(II) สูงสุดถึง 97% ที่ pH 3.5 และอุณหภูมิ 25 °C ในสภาวะที่มี Co(II) 10 mg/L metal concentrations

Yang และคณะ (2011) ศึกษาความเป็นพิษของสาหร่าย *Nostoc commune* var. *sphaeroides* Kützing และ *Spirulina plantensis* ซึ่งนิยมใช้เป็นอาหารสุขภาพและสารสมุนไพร โดยศึกษาทั้งแบบ in vitro และ in vivo ผลการทดลองสรุปว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดไม่พบสารพิษ

microcystin (MC)-LA, MC-RR, MC-LW และ MC-LR เมื่อทดสอบโดยใช้เครื่อง LC/MS/MS จากการศึกษาในหนูทดลองที่ผสมสาหร่ายเป็นอาหารพบว่าน้ำหนักของหนูเพิ่มขึ้นตามปกติ ปริมาณ plasma alanine aminotransferase (ALT) และ aspartate aminotransferase อยู่ในระดับปกติและไม่เป็นพิษต่อตับเช่นกัน โดยสรุปแล้วทั้ง *Nostoc commune* และ *Spirulina plantensis* ไม่มีสารพิษ microcystin แม้จะมีการบริโภคสาหร่ายถึง 5% เป็นระยะเวลานาน โดยไม่มีผลข้างเคียง

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างสาหร่าย

1. ช้อน
2. กระปุกพลาสติค ขนาด 100 มล.

อุปกรณ์ในการคัดแยกสาหร่าย

1. ปากคีบ
2. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
3. ขวดแก้วขนาด 4 ออนซ์
4. หลอดทดลองขนาด 150 มล.
5. เหล็กเขี่ยเชื้อรูปวงกลม (Loop)
6. เข็มเขี่ยเชื้อ
7. กล้องจุลทรรศน์ (Nikon ECLIPSE E100)
8. แผ่นสไลด์
9. ตู้เขี่ยเชื้อ Lamina (Holten) รุ่น HVR 2448

อุปกรณ์ในการผลิต เก็บผลผลิต และอบสาหร่ายเพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ และอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Kobuta 5100)
2. เครื่องชั่งดิจิตอล ความละเอียด 4 ตำแหน่ง บริษัท Sartorius รุ่น AC2115
3. หลอดพลาสติกสำหรับปั่นเหวี่ยง
4. ขวดพลาสติกขนาด 1.5 ลิตร
5. ก้านลูกโป่งพลาสติก
6. สำลี
7. สายยาง
8. เครื่องให้อากาศ (Yamano AP-120)
9. ตู้บ่มเชื้อ (incubator) บริษัท WTB biner รุ่น 78532 Tuttlingen/germany

อุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงสาหร่ายและการเลี้ยงปลา

1. ขวดพลาสติกขนาด 1.5 ลิตร
2. ก้านลูกโป่งพลาสติก
3. สำลี

4. สายยาง
5. เครื่องให้อากาศ (Yamano AP-120)
6. ผ้าสำหรับกรองสาหร่าย 80 ไมครอน
7. ตู้บ่มเชื้อ (incubator) บริษัท WTB biner รุ่น 78532 Tuttlingen/germany
8. เครื่องปั่น
9. ตะแกรงล่อนสาหร่าย 150 ไมครอน
10. ตู้กระจกสำหรับเลี้ยงปลา ขนาด 12 × 24 × 15
11. ปั๊มน้ำ (Sonic AP 2500)

อุปกรณ์สำหรับการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและสีสันของปลา

1. เครื่องชั่งดิจิตอล ความละเอียด 4 ตำแหน่ง บริษัท Sartorius รุ่น AC2115
2. ไม้บรรทัด
3. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
4. เครื่องวัดสี (Koniki Minolta color reader CR-10)
6. ตู้แช่ Sanyo-20 องศาเซลเซียส
7. เครื่อง Ultrasonic Multi Cleaner W-113 ของ Honda
8. ตู้เย็น 4 องศเซลเซียส (Sumsung)
9. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Kobuta 5100)
10. เครื่องวัดปริมาณการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer รุ่น Spectro SC)
11. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath)
12. หลอดทดลอง
13. ชั้นวางหลอดทดลอง
14. หลอดพลาสติกสำหรับปั่นเหวี่ยง

วิธีการวิจัย

ขั้นตอนในการรวบรวม คัดแยก และคัดเลือกสายพันธุ์ *Nostoc* และ *Nostochopsis*

1. รวบรวมสายพันธุ์ *Nostoc* และ *Nostochopsis* จากแหล่งที่อยู่ต่างๆ จำนวน 5 แหล่งในบริเวณภาคเหนือ โดยเก็บตัวอย่างสาหร่ายที่เกาะอยู่บน Substrate ชนิดต่างๆ ด้วยช้อนหรือมีด ใส่ลงในกระป๋องพลาสติก เก็บรักษาในอุณหภูมิประมารณ 5-10 องศาเซลเซียส แล้วนำไปจำแนกชนิดสาหร่าย ในห้องปฏิบัติการโดยใช้กล้องจุลทรรศน์และถ่ายรูปเส้นสายของแต่ละสปีชีส์ ใช้ลักษณะ

ทางสัณฐานวิทยา ในการจัดจำแนกตามวิธีการ Desikachary (1959), Anagnostidis and Komarek (1990), Komarek and Anagnostidis (1989) and Castenholz (2001)

2. นำโคโลนีของสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* ที่ทำการจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้ว มาล้างด้วยน้ำกลั่น และฆ่าเชื้อด้วย Ethyl alcohol 10 % แล้วฆ่าเชื้อต่อด้วย Clorox 5 % แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วหลายๆครั้ง เขี่ยเชื้อบนอาหารวุ้นกึ่งแข็ง โดยวิธีการขีดเชื้อ (Streak plate) แล้วเพาะเลี้ยงจนได้เชื้อเดี่ยว (Uni-agal culture) ในอาหารวุ้น BG-11 สูตรปรับปรุง (ลภัสรดา, 2549)

3. นำไปเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียส วางบนชั้นที่มีหลอดไฟฟ้าฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสงประมาณ 2,000 ลักซ์ ให้แสงตลอดเวลา เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์

4. คัดเลือกสาหร่าย *Nostoc* 8 ไอโซเลท *และ Nostochopsis* 3 ไอโซเลท นำไปตรวจวิเคราะห์ไมโครซีสทิน ด้วยชุด The QuantiPlate TM Microcystin Kit (EP 022) (Envirologix™) นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 450 nm จากนั้นนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เพื่อหาปริมาณไมโครซีสทินในตัวอย่าง โดยตัวอย่างสาหร่ายที่ทำการคัดเลือกเพื่อใช้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป ต้องตรวจไม่พบสารพิษไมโครซีสทิน

5. คัดเลือกสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดของสาหร่าย *Nostoc* ที่มีปริมาณเมือกมาก เมือกปานกลาง และเมือกน้อยอย่างละ 2 ไอโซเลท และละคัดเลือกสาหร่าย *Nostochopsis* ที่มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด 1 ไอโซเลท เพื่อคัดเลือกสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตดีที่สุดไปหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตต่อไป โดย นำสาหร่ายทั้ง 7 ไอโซเลท ไปเลี้ยงบนอาหารวุ้น BG-11 สูตรปรับปรุง ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5% ทั้งหมด 21 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ บันทึกการเจริญเติบโตของสาหร่ายในวันที่ 14 โดยชั่งน้ำหนักแห้งตามวิธีการของ Oris (2003) นำน้ำหนักแห้งที่ได้มาคำนวณอัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (doubling time: t_d) ตามสูตร

$$\text{Specific growth rate } (\mu) = \frac{\ln (X_i/X_0)}{T_i - T_0}$$

$$\text{Doubling time : } t_d = 0.693/\mu$$

X_i = น้ำหนักเซลล์ในช่วงที่เพาะเลี้ยง X_0 = น้ำหนักจำนวนเซลล์เริ่มต้น

T_i = ช่วงสัปดาห์ที่ทำการเพาะเลี้ยง T_0 = สัปดาห์ที่เริ่มต้น

6. คัดเลือกสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดของสาหร่าย *Nostoc* ที่มีปริมาณเมือกมาก เมือกปานกลาง และเมือกน้อย และสาหร่ายที่มีอัตราการเจริญเติบโตบนอาหารวุ้นน้อยที่สุดอย่างละ 1 ไอโซเลท และคัดเลือกสาหร่าย *Nostochopsis* ที่มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด 1 ไอโซเลท นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงที่ผสมโซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) 0, 0.25 และ 0.5% ตามลำดับ เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่ายทั้งสองชนิด โดยแบ่งการทดลองทั้งหมด 15 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ บันทึกการเจริญเติบโตของสาหร่ายในวันที่ 16 โดยชั่งน้ำหนักแห้งตามวิธีการของ Oris (2003) นำน้ำหนักแห้งที่ได้มาคำนวณค่า μ และ t_d ตามสูตรข้างบน

การเพาะเลี้ยง *Nostoc* และ *Nostochopsis* ระดับห้องปฏิบัติการ การเก็บเกี่ยวผลผลิต การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณรงควัตถุ

1. นำสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดในข้อ 6 ของสาหร่าย *Nostoc* จำนวน 2 ไอโซเลท และสาหร่าย *Nostochopsis* จำนวน 1 ไอโซเลท มาเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงที่ผสม sodium alginate ในความเข้มข้นที่สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ระยะเวลา 21 วัน โดยแบ่งการทดลองทั้งหมด 3 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ บันทึกการเจริญเติบโตของสาหร่ายในวันที่ 21 โดยชั่งน้ำหนักแห้งตามวิธีการของ Oris (2003) นำน้ำหนักแห้งที่ได้มาคำนวณค่า μ และ t_d ตามสูตรข้างบน

2. ทำการขยายขนาดการเพาะเลี้ยงโดยใช้ ขวดพลาสติกขนาด 1.5 ลิตร บรรจุอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุง และอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงที่ผสม sodium alginate ในความเข้มข้นที่สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ในอัตราส่วน อาหาร 1 ลิตร ต่อปริมาณสาหร่ายสดเทียบเป็นน้ำหนักแห้ง 100 มิลลิกรัม ทำการเก็บเกี่ยวเมื่อครบระยะเวลา 21 วัน นำสาหร่ายสดทั้งสองชนิดไปทำการวิเคราะห์เพื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณรงควัตถุของสาหร่ายสดที่เลี้ยงในอาหารทั้งสองสูตร นำสาหร่ายสดส่วนที่เหลือไปอบด้วยตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 55 °C จนแห้ง นำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น หลังจากนั้นนำไปล่อนด้วยตะแกรงล่อนสาหร่ายขนาด 150 ไมครอน เพื่อนำไปวิเคราะห์เปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการและปริมาณรงควัตถุของสาหร่ายแห้งที่เลี้ยงในอาหารทั้งสองสูตร

3. ทดสอบคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* ที่เลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุง และอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงที่ผสม Sodium alginate ในความเข้มข้นที่สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการบางประการในสาหร่ายทั้ง 2 กลุ่ม ได้แก่ ความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย ตามวิธีการ AOAC.

1995 อ้างโดย นิวุฒิ, (2556) ค่าแคโรทีนอยด์ ตามวิธีการของ KMUTT (2001) ค่าไฟโคไซยานิน และไฟโคเออริธริน ตามวิธีการของ Lawrenz (2011) ตามวิธีการต่าง ดังนี้

3.1 การวิเคราะห์ความชื้น (AOAC, 1995 อ้างโดย นิวุฒิ, 2556)

การหาความชื้นในอาหารเป็นการหาค่าตัวอย่างเปียกแล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณกลับโดยวิธีที่ทำได้ง่ายที่สุดคือ การทำให้แห้ง ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้คำนวณหาปริมาณน้ำที่สูญเสียไปหลังจากที่ทำให้วัสดุแห้งแล้ว ตามสูตรดังนี้

$$\text{คำนวณหา \% ความชื้น} = \left(\frac{\text{ก} - \text{ข}}{\text{ค}}\right) \times 100$$

เมื่อ ก = น้ำหนักขวดชั่งรวมตัวอย่างก่อนอบแห้ง

ข = น้ำหนักขวดชั่งรวมตัวอย่างหลังอบแห้งจนได้น้ำหนักที่แน่นอน

ค = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

3.2 การวิเคราะห์เถ้า (AOAC, 1995 อ้างโดย นิวุฒิ, 2556)

ทำการวิเคราะห์โดยการใช้ความร้อนในการเผาผลาญสารอินทรีย์ให้หมดไป ให้คงเหลือแต่ปริมาณสารอนินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหารตามสูตรดังนี้

$$\text{คำนวณหา \% เถ้าทั้งหมด} = \left(\frac{\text{ก} - \text{ข}}{\text{ค}}\right) \times 100$$

เมื่อ ก = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องรวมตัวอย่างหลังเผา

ข = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องหลังเผา

ค = น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.3 การวิเคราะห์โปรตีน (AOAC, 1995 อ้างโดย นิวุฒิ, ม.ป.ป.)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่อยู่ในสารอาหารนั้นๆ ด้วยวิธีการวิเคราะห์ไนโตรเจน ทำได้โดยการเปลี่ยนไนโตรเจนที่มีในอาหารให้กลายเป็น $(NH_4)_2SO_4$ จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาไตเตรท ด้วยสารละลาย NaOH ที่ทำให้เป็นกลางด้วยปริมาณของที่ได้จากไนโตรเจนในอาหาร จากนั้นคำนวณหาปริมาณของไนโตรเจนได้ตามต้องการ ตามสูตรดังนี้

$$\text{คำนวณหา \% ไนโตรเจน} = \left(\frac{(\text{ข} - \text{ก}) \times 0.014 \times \text{ค}}{\text{ต}}\right) \times 100$$

เมื่อ ก = มิลลิลิตรของ NaOH มาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรทสารละลายจากตัวอย่าง

ข = มิลลิลิตรของ NaOH มาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรทสารละลายจากBlank

ค = ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH มาตรฐานที่ใช้

ต = น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์

ดังนั้น % โปรตีน = % ไนโตรเจน × 6.25

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 1995 อ้างโดย นิวุฒิ, 2556)

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (ether extract หรือ crude fat) ทำได้โดยการสกัดตัวอย่างอาหารโดยใช้ตัวทำละลายไขมันที่เป็นสารละลายประเภท organic solevent โดยใช้ชุดอุปกรณ์ที่เรียกว่า extraction apparatus ตามสูตรดังนี้

$$\text{คำนวณ \% ไขมัน} = \left(\frac{\text{ข} - \text{ก}}{\text{ต}}\right) \times 100$$

เมื่อ ก = น้ำหนักขวดก้นแบน

ข = น้ำหนักขวดก้นแบนหลังสกัดไขมันและอบแห้ง

ค = น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.5 การวิเคราะห์เยื่อใย (AOAC, 1995 อ้างโดย นิวุฒิ, 2556)

สามารถทำได้โดยการต้มตัวอย่างด้วยกรดซัลฟิวริก แล้วให้นำตัวอย่างไปกรองจนแห้งสนิท จากนั้นนำการตัวอย่างที่ได้มาไปต้มอีกครั้งด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ นำตัวอย่างมากรองอีกครั้งหนึ่งแล้วนำการที่ได้ไปอบ แล้วทำการชั่งน้ำหนักของตัวอย่างส่วนที่เหลือซึ่งน้ำหนักที่ได้นี้จะนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของเยื่อใย โดยส่วนที่หายไปนั่นคือ เยื่อใยหยาบ (crude fiber) ซึ่งประกอบด้วย hemicelluloses, cellulose และ lignin

3.6 การวิเคราะห์หาคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 1995 อ้างโดย นิวุฒิ, 2556)

การคำนวณหาคาร์โบไฮเดรตเป็น % ทำได้โดยการนำเอา 100 มาลบออกจาก % ความชื้นของตัวอย่าง % เถ้าของตัวอย่าง % โปรตีนของตัวอย่าง % ไขมันของตัวอย่าง % เยื่อใยของตัวอย่าง ค่าที่ได้ คือ ค่าของ % ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรก หรือ คาร์โบไฮเดรตนั่นเอง ตามสูตรดังนี้

%ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรกซ์ (คาร์โบไฮเดรต) = 100 – ช – ถ – ป – ข – ย

เมื่อ ช = % ความชื้นของตัวอย่าง

ถ = % เถ้าของตัวอย่าง

ป = % โปรตีนของตัวอย่าง

ข = % ไขมันของตัวอย่าง

ย = % เยื่อใยของตัวอย่าง

3.7 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ (KMUTT, 2001)

ทำการสกัดแคโรทีนอยด์ โดยการใช้เอทานอลและโพแทสเซียม ไฮดรอกไซด์ตามลำดับ แล้วนำเข้าไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ แล้วนำไปปั่นแยกเซลล์ แล้วเก็บสารละลายใส่กรวยแยก หลังจากนั้นเติมไดเอทธิลอีเทอร์และเกลือ เขย่าให้เข้ากันรอให้แยกชั้นทิ้งสารละลายส่วนล่าง เก็บสารละลายส่วนบนและเติม Na_2SO_4 anhydrous เล็กน้อยเพื่อดูดน้ำ แล้วปรับปริมาตรสารละลายเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยไดเอทธิลอีเทอร์ นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ จากสูตร

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/กรัมแห้งสาหร่าย)} = \frac{A_{250} \times 25 \times 1000}{260 \times \text{น้ำหนักแห้งของสาหร่าย (มิลลิกรัม)}}$$

เมื่อ A_{250} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm

3.8 การวิเคราะห์ไฟโคบิลิน (Lawrenz et al., 2011)

กรณีใช้ตัวอย่างแห้ง ชั่งตัวอย่างสาหร่าย ตัวอย่างละ 0.005 กรัม กรณีสาหร่ายสด นำสาหร่ายสดในปริมาณเทียบเท่าสาหร่ายแห้ง 0.005 กรัม เติมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ 0.1 M ต่อลิตร pH 6 ปริมาณ 10 มิลลิกรัม นำไป vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 rpm เวลา 10 นาที หลังจากนั้นเทสารส่วนใสทิ้ง นำสาหร่ายที่อยู่ก้นหลอด มาเติมด้วย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M ต่อลิตรที่ pH 6 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร นำไป vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปแช่แข็งที่ -20 °C จนแข็ง (ประมาณ 2 ชั่วโมง) หลังจากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง ทำซ้ำ 3 รอบ รอบที่ 3 นำไปแช่ในตู้เย็น 4 ° C ระยะเวลา 48 ชั่วโมง เริ่มจับเวลาเมื่อละลาย หลังจากนั้นนำไป sonicated บนน้ำแข็งระยะเวลา 10 นาที จับเวลาหลังแช่ในน้ำแข็งประมาณ 5 วินาที ที่ 8 W pulses หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใสไว้ นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 48 ชั่วโมง ที่ 545 nm สำหรับไฟโคเออริ- ธรินและ 620 nm สำหรับไฟโคไซยานิน และ 750 nm สำหรับไฟโคบิลิน จดบันทึกค่า ใช้คิวเวทแก้ววัด และใช้ phosphate buffer เป็น

blank นำสาหร่ายที่ก้นหลอดไปทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง บันทึกค่าที่ได้เป็น ค่าที่ 96 ชั่วโมง ทำการคำนวนปริมาณไฟโคบิลิน (c) (μgL^{-1}) จากสูตร

$$C = \frac{A}{\varepsilon d} \times MW \times \frac{Vsample}{Vbuffer} \times 10^6$$

เมื่อ **ε** และ MW สำหรับคำนวณค่าไฟโคเออริธริน มีค่า

ε ของไฟโคเออริธริน = 2.41×10^6 $Lmol^{-1}$ cm^{-1}

MW ของไฟโคเออริธริน = 240,000 $gmol^{-1}$

เมื่อ **ε** และ MW สำหรับคำนวณค่าไฟโคไซยานิน มีค่า

ε ของไฟโคไซยานิน = 1.9×10^6 $Lmol^{-1}$ cm^{-1}

MW ของไฟโคไซยานิน = 264,000 $gmol^{-1}$

d = ความกว้างของคิวเวท

Vsample = ปริมาตรของตัวอย่าง

Vbuffer = ปริมาตรของบัฟเฟอร์

ศึกษาอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุในเนื้อและหนังปลา และสีของปลาทองที่เลี้ยงโดยใช้สาหร่าย *Nostoc*, *Nostochopsis* และ *Spirulina* แห้งเคลือบอาหารสำเร็จรูป

นำสาหร่ายแห้งแต่ละชนิดไปเคลือบอาหารเม็ด แล้วไปเลี้ยงปลาทองออรันดา (*Carassius auratus*) น้ำหนักเริ่มต้น 1.99 ±0.17 กรัม ความยาวมาตรฐาน (standard length) 2.83 ± 0.15 เซนติเมตร โดยให้กินจนอิ่มวันละ 2 มื้อ เป็นเวลา 42 วัน วางแผนการทดลองแบบ CRD แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 11 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารปลาเคลือบไข่ขาว (negative control)

ชุดการทดลองที่ 2-4 อาหารผสมสาหร่าย *Nostoc* ไอโซเลท 1

ชุดการทดลองที่ 5-7 อาหารผสมสาหร่าย *Nostoc* ไอโซเลท 2

ชุดการทดลองที่ 8-10 อาหารผสมสาหร่าย *Nostochopsis*

ชุดการทดลองที่ 11 อาหารผสมสาหร่าย *Spirulina* 5% (positive control)

โดยชุดการทดลอง 2-10ใช้สาหร่ายแห้งของแต่ละไอโซเลท อัตราส่วน 5, 7.5 และ 10% ของน้ำหนักอาหาร

1. ทำการชั่งน้ำหนักของปลาเริ่มต้น ในชุดควบคุมและชุดที่ผสมสาหร่าย เมื่อสิ้นสุดการทดลองวิเคราะห์วัดค่าการการเจริญเติบโต และลักษณะรูปร่างของปลา ตามวิธีการของ Khatoon et al., (2010) ดังนี้

Body weight gain (BWG percentage) = [(Final body weight (g) - Initial body weight (g))/ Initial body weight (g)] x 100

Specific growth rate (SGR) = [(ln Final body weight (g) -ln Initial body weight (g)) / Number of days] x 100

Feed conversion ratio (FCR) = Dry feed fed (g) / Live body weight gain (g)

2. ทำการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ ไฟโคเออริธริน และไฟโคไซยานิน ในเนื้อและหนังปลาตามวิธีการข้อ 2.2.3.7 และข้อ 2.2.3.8

3. ทำการอ่านค่าสีของหนังปลาด้วยเครื่องวัดสี (Koniki Minolta color reader CR-10) โดยจดบันทึกค่า สีแดง (A)สีเหลือง (B)ความสว่าง (L) ของปลาทองเมื่ออายุครบ 42 วัน

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way analysis of variance) ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ผลการวิจัย

การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่าย *Nostoc* (ไข่หิน) และสาหร่าย *Nostochopsis* (ลอน) ในการเป็นอาหารสัตว์น้ำ โดยทำการเก็บรวบรวม คัดแยก และคัดเลือกสายพันธุ์จากธรรมชาติมา เพาะเลี้ยงระดับห้องปฏิบัติการ

การรวบรวม คัดแยก และคัดเลือกสายพันธุ์ *Nostoc* และ *Nostochopsis*

การเก็บรวบรวม และคัดแยกสายพันธุ์

ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งที่อยู่ต่างๆ จำนวน 5 แหล่งในบริเวณภาคเหนือ ในเขตจังหวัดเชียงใหม่ลำพูน และพะเยา (ภาพ 1) สามารถคัดแยกสาหร่ายได้ทั้งหมด 19 ไอโซเลท แบ่งเป็นสาหร่าย *Nostoc* 16 ไอโซเลท และสาหร่าย *Nostochopsis* 3 ไอโซเลท นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ภาพ 1 การเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากองค์การสวนพฤกษศาสตร์ “สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิตต์” อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

การทดสอบการสร้างสารพิษ

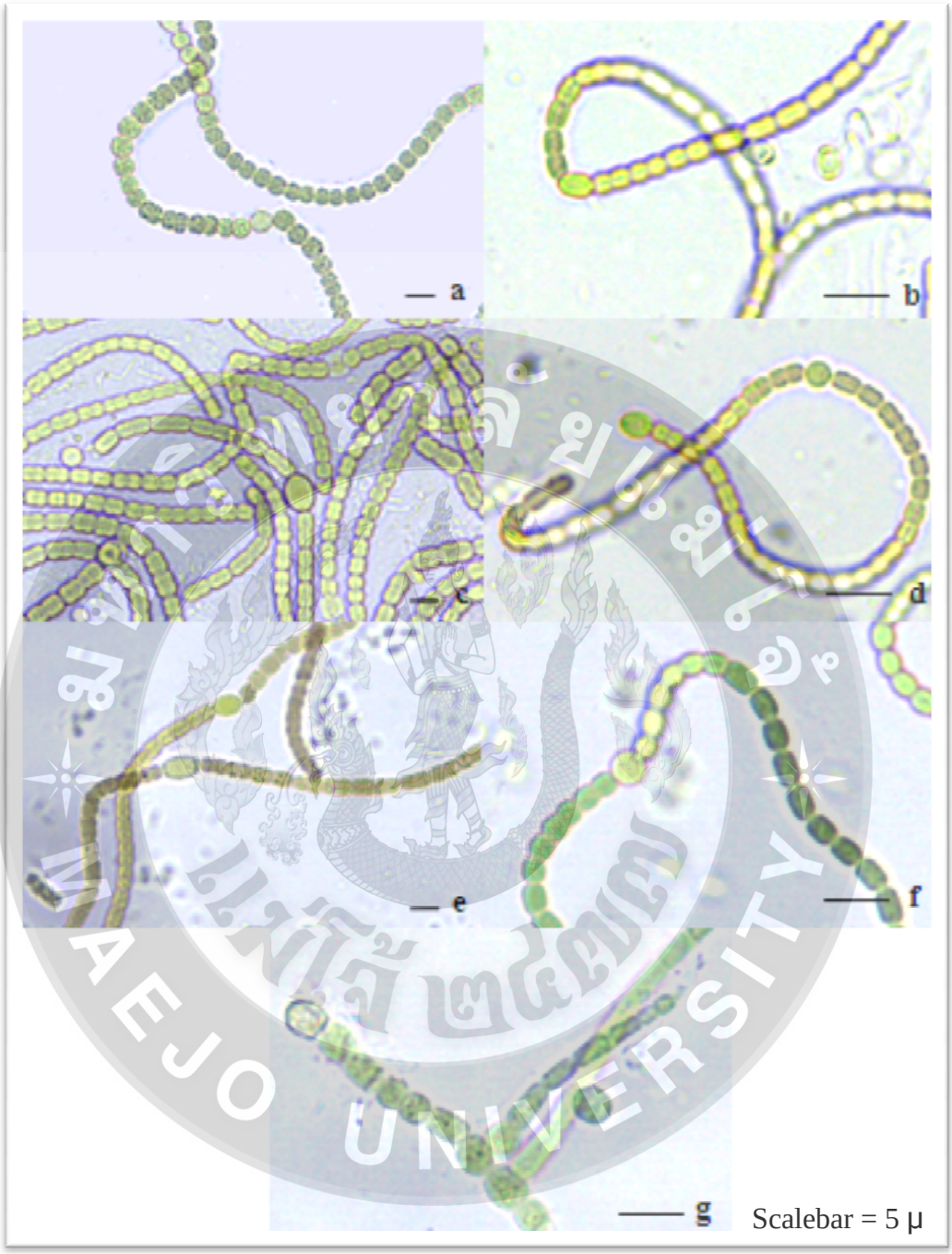
คัดเลือกสาหร่าย *Nostoc* 6 ไอโซเลท *และ Nostochopsis* 3 ไอโซเลท นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษไมโครซีสทิน ด้วยชุด The QuantiPlate TM Microcystin Kit (EP 022) พบว่าตรวจไม่พบปริมาณสารพิษไมโครซีสทิน ในสาหร่าย *Nostoc* ทุกไอโซเลท และ *Nostochopsis* 1ไอโซเลท (ตาราง 1)

ตาราง 1 ค่าความเข้มข้นของไมโครซีสทินในสาหร่าย

ชนิดของสาหร่าย	ความเข้มข้นของสารพิษไมโครซีสทิน (ppb)
Nostoc sp. FT1002 (*N*02)	N.D.
Nostoc sp. FT1004 (*N*04)	N.D.
Nostoc sp. FT1011 (*N*11)	N.D.
Nostoc sp. FT1012 (*N*12)	N.D.
Nostoc sp. FT1014 (*N*14)	N.D.
Nostoc sp. FT1019 (*N*19)	N.D.
Nostochopsis sp. FT1018 (*N*C18)	N.D.
Nostochopsis sp. FT1020 (*N*C20)	>2.5
Nostochopsis sp. FT1021 (*N*C21)	>2.5

หมายเหตุ N.D. ตรวจไม่พบสารพิษไมโครซีสทิน

คัดเลือกสาหร่ายที่ตรวจไม่พบสารพิษไมโครซีสทินที่มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดของสาหร่าย *Nostoc* ที่มีปริมาณเมือกมาก เมือกปานกลาง และเมือกน้อยอย่างละ 2 ไอโซเลท และคัดเลือกสาหร่าย *Nostochopsis* ที่มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด 1 ไอโซเลท (ภาพ 2 ตาราง 2) เพื่อคัดเลือกสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตดีที่สุดไปหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตต่อไป โดย นำสาหร่ายทั้ง 7 ไอโซเลท ไปเลี้ยงบนอาหารวุ้น BG-11 สูตรปรับปรุง ที่ความเข้มข้นของ agar 0.5, 1.0 และ 1.5% ทั้งหมด 21 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ บันทึกการเจริญเติบโตของสาหร่ายในวันที่ 14 โดยชั่งน้ำหนักแห้งตามวิธีการของ Oris (2003) นำน้ำหนักแห้งที่ได้มาคำนวณค่า μ และt_d ได้ผลการทดลอง ดังนี้



ภาพ 2 เซลล์สาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารวุ้น BG-11 สูตรปรับปรุง agar 1.5%
a; *N*02, b; *N*04, c; *N*11, d; *N*12, e; *N*14, f; *N*19, g; *N*18

ตาราง 2 ลักษณะของสาหร่ายไข่หินและสาหร่ายลอน

ชนิดของสาหร่าย	ลักษณะภายนอก	ลักษณะเซลล์ภายใต้กล้อง
*N*02	เป็นวุ้นบางสีน้ำตาลเข้มเกาะตัวแบบหลวมอยู่ในน้ำ	เซลล์มีลักษณะทรงกลม เรียงต่อกันเป็นเส้นสาย เซลล์มีขนาด 2.84 µm ขนาดเฮทเทอโรซีสต์ 3.45 µm
*N*04	เป็นวุ้นสีน้ำตาล เกาะตัวอยู่อย่างหนาแน่นบนขอบอ่าง	เซลล์มีลักษณะทรงรี เรียงต่อกันเป็นเส้นสาย เซลล์มีขนาด 1.97×1.51 µm ขนาดเฮทเทอโรซีสต์ 2.79 ×2.00 µm
*N*11	เป็นวุ้นบางสีน้ำตาลเกาะตัวแบบหลวมอยู่ในน้ำ	เซลล์มีลักษณะทรงรี เรียงต่อกันเป็นเส้นสาย เซลล์มีขนาด 4.12×2.70 µm ขนาดเฮทเทอโรซีสต์ 6.75×4.62 µm
*N*12	เป็นเมือกบางสีเขียว	เซลล์มีลักษณะทรงรี เรียงต่อกันเป็นเส้นสาย เซลล์มีขนาด 1.79× 1.50 µm ขนาดเฮทเทอโรซีสต์ 2.68×2.05 µm
*N*14	เป็นวุ้นสีน้ำตาลบางเกาะตัวอย่างหนาแน่น	เซลล์มีลักษณะทรงรี เรียงต่อกันเป็นเส้นสาย เซลล์มีขนาด 2.24×2.06 µm ขนาดเฮทเทอโรซีสต์ 4.64×3.57 µm
*N*19	เป็นวุ้นสีเขียวบางๆ เกาะตัวแบบหลวมอยู่บนสนามหญ้าที่มีน้ำขัง	เซลล์มีลักษณะทรงรี เรียงต่อกันเป็นเส้นสาย เซลล์มีขนาด 2.26×1.99 µm ขนาดเฮทเทอโรซีสต์ 2.98×2.68 µm
*N*18	เป็นเมือกบางสีเขียว	เซลล์มีลักษณะทรงรี เรียงต่อกันเป็นเส้นสาย เซลล์มีขนาด 2.15×-3.06 µm มีการแตกแขนงแบบแม้จริง ขนาดเฮทเทอโรซีสต์ 3.56×2.66 µm อยู่กลางเส้นสาย

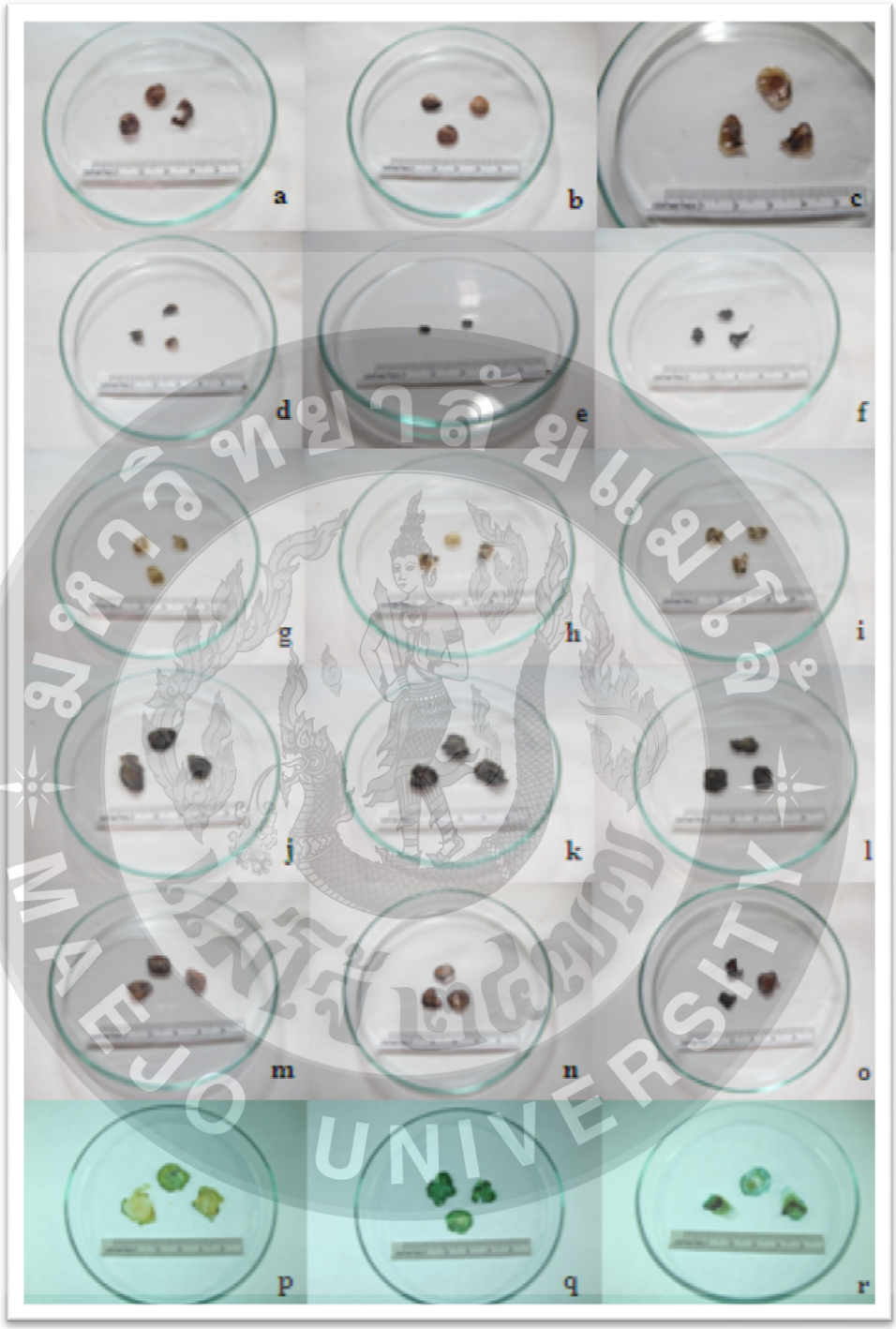
การคัดเลือกพันธุ์สาหร่ายโดยเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้น BG-11 สูตรปรับปรุง ผสม agar0.5, 1 และ 1.5 %

ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Nostoc* และ *Nostochopsis* ในอาหารวุ้น BG-11 สูตรปรับปรุง ผสม agar 0.5, 1.0 และ 1.5% เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่า สาหร่ายที่มีค่า μ สูงที่สุด และค่า t_d น้อยที่สุด คือ *N*19 ในอาหารวุ้น BG-11 ผสม agar 0.5, 1.0 และ 1.5% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วน *NC*18 ไม่สามารถศึกษาการเจริญเติบโตบนอาหารแข็งได้ เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรีย ทำให้สาหร่ายตาย (ตาราง 3 ภาพ 3)

ตาราง 3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) และระยะเวลาที่เซลล์เจริญเติบโตเป็นสองเท่า (t_d) ของสาหร่าย *Nostoc* ในอาหารวุ้น BG 11 สูตรปรับปรุงความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5% เป็นระยะเวลา 14 วัน (Mean±SE)

ชนิดสาหร่าย	μ			t_d		
	0.5%	**1.0%**	**1.5%**	**0.5%**	**1.0%**	**1.5%**
*N*02	$0.13±0.03^{a\,A}$	$0.28±0.03^{aB}$	$0.49±0.01^{aC}$	$6.17±1.81^{bB}$	$2.48±0.22^{dA}$	$1.42±0.03^{eA}$
*N*04	$0.81±0.04^{c}$	$0.70±0.04^{c}$	$0.84±0.06^{c}$	$0.87±0.04^{a}$	$1.0±0.06^{bc}$	$0.84±0.06^{bc}$
*N*11	$0.36±0.02^{bA}$	$0.55±0.04^{bB}$	$0.61±0.07^{abB}$	$1.92±0.13^{aB}$	$1.28±0.10^{cA}$	$1.17±0.16^{dA}$
*N*12	$0.90±0.04^{cA}$	$0.10±0.01^{dB}$	$1.01±0.02^{dB}$	$0.77±0.03^{a}$	$0.70±0.01^{ab}$	$0.69±0.01^{ab}$
*N*14	$0.40±0.10^{bA}$	$0.60±0.02^{bcAB}$	$0.73±0.00^{bcB}$	$1.93±0.47^{a}$	$1.15±0.03^{c}$	$0.96±0.00^{cd}$
*N*19	$1.06±0.02^{dA}$	$1.17±0.05^{eA}$	$1.20±0.03^{eA}$	$0.66±0.01^{a}$	$0.59±0.03^{a}$	$0.58±0.02^{a}$

หมายเหตุ พยัญชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในแต่ละชนิดของสาหร่าย (แนวตั้ง)
พยัญชนะยกกำลังพิมพ์ใหญ่ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในแต่ละ% agar (แนวนอน)



ภาพ 3 สาหร่ายแห้งในอาหารวุ้น BG-11 สูตรปรับปรุง ผสม agar 0.5, 1.0 และ 1.5 %
*N*02 (a-c); a) 0.5%, b) 1.0%, c) 1.5% *N*04 (d-f); d) 0.5%, e) 1.0%, f) 1.5%
*N*11 (g-i); g) 0.5%, h) 1.0%, i) 1.5% *N*12 (j-l); j) 0.5%, k) 1.0%, l) 1.5%
*N*14 (m-o); m) 0.5%, n) 1.0%, o) 1.5% *N*19 (p-r); p) 0.5%, q) 1.0%, r) 1.5%

ทำการคัดเลือกสาหร่าย *Nostoc* จำนวน 4ไอโซเลท ได้แก่ *N*02, *N*12, *N*14, และ *N*19 และ *Nostochopsis* 1 ไอโซเลท คือ *NC*18นำไปเลี้ยงในอาหาร BG-11 สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate ความเข้มข้น 0, 0.25 และ 0.5% เพื่อหาสาหร่ายที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด ได้ผลการทดลอง ดังนี้

การเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุง ผสม Sodium alginate ความเข้มข้น 0, 0.25 และ 0.25%

นำสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* ที่ผ่านการคัดเลือก ทั้ง 5 ไอโซเลท มาเลี้ยงในอาหารเหลวผสม sodium alginate ความเข้มข้น 0, 0.25 และ 0.5% ตามลำดับ ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ บันทึกการเจริญเติบโตของสาหร่ายใน 16 วัน โดยชั่งน้ำหนักแห้งตามวิธีการของ Oris (2003) นำน้ำหนักแห้งที่ได้มาคำนวณค่า μ และt_d พบว่า *Nostoc* มีค่า μ สูงที่สุด และ t_d น้อยที่สุด คือ *N*12 ที่ sodium alginate 0.25 และ 0.5% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตาราง 4, ภาพ 4)

ตาราง 4 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และระยะเวลาที่เซลล์เจริญเติบโตเป็นสองเท่าของสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis* ในอาหารเหลวผสม sodium alginate ความเข้มข้น 0, 0.25 และ 0.5% ระยะเวลา 16 วัน (Mean±SE)

ชนิดสาหร่าย	μ			t_d		
	0%	0.25%	0.5%	0%	0.25%	0.5%
*N*02	1.21 ± 0.06^{bA}	1.89 ± 0.10^{cdB}	1.77 ± 0.04^{cB}	0.57 ± 0.03^{aB}	0.37 ± 0.02^{aA}	0.39 ± 0.01^{aA}
*N*12	1.16 ± 0.03^{bA}	1.96 ± 0.05^{dB}	1.93 ± 0.02^{dB}	0.60 ± 0.02^{aB}	0.35 ± 0.01^{aA}	0.36 ± 0.00^{aA}
*N*14	0.28 ± 0.03^{aA}	0.40 ± 0.02^{aB}	0.51 ± 0.01^{aC}	2.52 ± 0.23^{bB}	1.73 ± 0.07^{bA}	1.37 ± 0.04^{cA}
*N*19	1.28 ± 0.02^{bA}	1.76 ± 0.01^{cB}	1.75 ± 0.07^{cB}	0.54 ± 0.01^{aB}	0.39 ± 0.00^{aA}	0.40 ± 0.01^{aA}
*NC*18	1.29 ± 0.05^{b}	1.34 ± 0.06^{b}	1.41 ± 0.04^{b}	0.54 ± 0.02^{a}	0.52 ± 0.03^{a}	0.49 ± 0.01^{b}

หมายเหตุ พยัญชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแต่ละชนิดของสาหร่าย (แนวตั้ง)

พยัญชนะยกกำลังพิมพ์ใหญ่ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้นของอาหารเหลว (แนวนอน)

ภาพ 4 สาหร่ายแห้งในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate 0, 0.25 และ 0.5%
*N*02 (a-c); a) 0%, b) 0.25%, c) 0.5% *N*12 (d-f); d) 0%, e) 0.25%, f) 0.5%
*N*14 (g-i); g) 0%, h) 0.25%, i) 0.5% *N*19 (j-l); j) 0%, k) 0.25%, l) 0.5%
*NC*18 (m-o); m) 0%, n) 0.25%, o) 0.5%

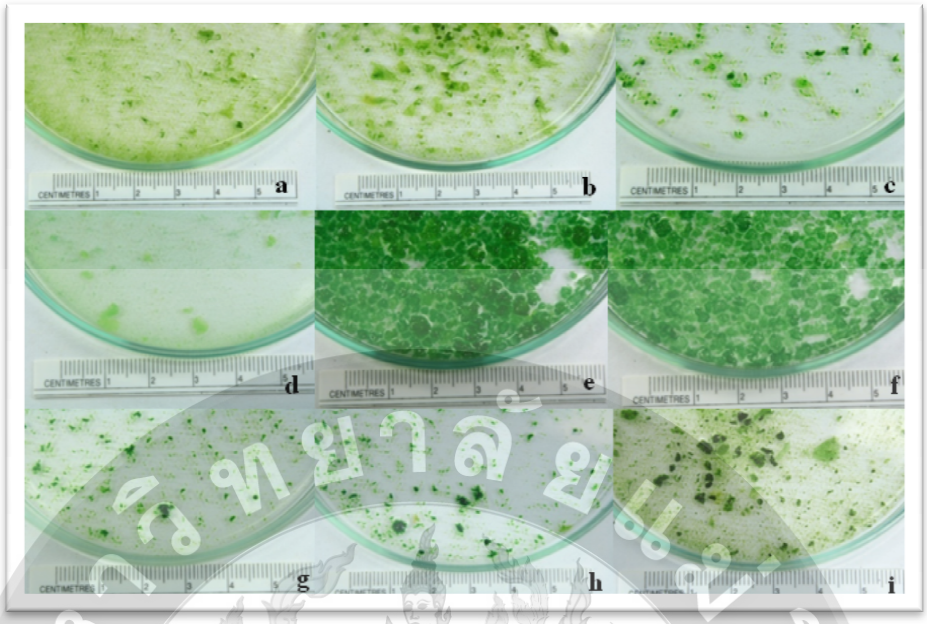
ทำการคัดเลือกสาหร่าย *Nostoc* 2 ไอโซเลท (*N*12 และ *N*19) และ *Nostochopsis* 1 ไอโซเลท (*NC*18) (สาหร่าย *N*02 และ *N*14 เนื่องจากเซลล์มีขนาดเล็กไม่สามารถทำการเก็บผลผลิตได้ด้วยการกรอง) ที่มีการเจริญเติบโตดีที่สุด มาทำเพิ่มปริมาณการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุง และอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate ความเข้มข้น 0.5% และทดสอบในขั้นตอนต่อไป

การเพาะเลี้ยงระดับห้องปฏิบัติการ การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณรงควัตถุของสาหร่าย *Nostoc* และ *Nostochopsis*

นำสาหร่ายทั้งสามไอโซเลทมาเพิ่มปริมาณการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุง และอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate ความเข้มข้น 0.5% ระยะเวลา 21 วัน ในขวดพลาสติกขนาด 1.5 ลิตร (ภาพ 5) บรรจุอาหารเหลว 1 ลิตร (ปริมาณสาหร่ายสดเริ่มต้นมีค่าเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 100 มิลลิกรัม) เก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อสาหร่ายอายุครบ 21 วัน นำสาหร่ายสดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุ และนำสาหร่ายที่เหลือไปอบในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 55 ° C เป็นเวลา 3 วัน ทำการชั่งน้ำหนักแห้ง นำน้ำหนักแห้งที่ได้มาคำนวณค่า μ และt_d ของสาหร่าย นำสาหร่ายที่เหลือไปปั่นด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียดแล้วนำมาล่อนผ่านตะแกรง ขนาด 150 ไมครอน (ภาพ 4, 6) แล้วนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและปริมาณรงควัตถุของสาหร่ายแห้ง

การเจริญเติบโตของสาหร่ายในอาหาร BG-11 สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate 0.5%

ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Nostoc* และ *Nostochopsis* ในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate ความเข้มข้น 0.5% เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่าสาหร่าย *N*12 และ *N*19 มีค่า μ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) แต่มีค่า μ สูงกว่า *NC*18 เช่นเดียวกับสาหร่าย *N*12 และ *N*19 มีค่า t_d ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) แต่มีค่าต่ำกว่า *NC*18 (ตาราง 5 ภาพ 4)



ภาพ 5 สาหร่ายสดในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate 0, 0.25 และ 0.5 % *N*12 (a-c); a) 0%, b) 0.25%, c) 0.5% *N*19 (d-f); d) 0%, e) 0.25%, f) 0.5% *NC*18 (g-i); g) 0%, h) 0.25%, i) 0.5%

ภาพ 6 ตัวอย่างสาหร่ายแห้งละเอียด ; a) *N*12, b) *N*19, c) *N*18, d) 0.25%, c) *Spirulina*

ตาราง 5 ค่าอัตราการเจริญเติบโต และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าของสาหร่ายในอาหารเหลว BG-11สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate 0.5% ระยะเวลา 21วัน (Mean±SE)

ชนิดสาหร่าย	μ	t_d
*N*12	0.97±0.02[b]	0.72±0.02[a]
*N*19	0.95±0.01[b]	0.73±0.01[a]
*NC*18	0.77±0.02[a]	0.90±0.02[b]

หมายเหตุ พยัญชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในสาหร่ายแต่ละชนิด (แนวตั้ง)

ปริมาณรงควัตถุและคุณค่าทางโภชนาการในสาหร่ายสดและแห้งในสูตรอาหารแต่ละชนิด

ปริมาณรงควัตถุในสาหร่ายสดและแห้ง

นำสาหร่ายสดและแห้งมาวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ ไฟโคเออริธริน และไฟโคไซยานิน ปรับปรุงตามวิธีการของ KMUTT (2001) และ Lawrenz et al.(2011) พบว่า ปริมาณรงควัตถุของสาหร่ายสดในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงเปรียบเทียบกับในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate 0.5% ระยะเวลา 21 วัน พบว่า

สาหร่ายสดมีปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *N*12 ใน BG-11 สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate 0.5% ให้ค่าสูงกว่าใน BG-11 สูตรปรับปรุง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนใน *N*19 และ *NC*18 มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ค่าไฟโคเออริธรินและค่าไฟโคไซยานินของสาหร่ายทั้งสามไอโซเลทมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ในอาหารทั้งสองสูตร (ตาราง6)

สาหร่ายแห้งมีปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *N*12 และ *NC*18 มีค่าสูงกว่า *N*19 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ค่าไฟโคไซยานิน *N*12 มีค่าสูงกว่า *N*19 และ *NC*18 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนค่าไฟโคเออริธรินไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น (P>0.05) (ตาราง 6)

ตาราง 6 ปริมาณรงควัตถุของสาหร่ายสดและแห้งในอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงและอาหารเหลว BG-11 สูตรปรับปรุงผสม sodium alginate 0.5% เป็นระยะเวลา 21 วัน (Mean±SE)

ปริมาณรงควัตถุ	Carotenoid (µg/g dryweight)		Phycoerythrin (µg/l)		Phycocyanin (µg/l)	
	สาหร่ายสด	สาหร่ายแห้ง	สาหร่ายสด	สาหร่ายแห้ง	สาหร่ายสด	สาหร่ายแห้ง
*N*12 BG-11	98.70±0.80[b]	68.40±1.50[b]	4215.77±567.26	1261.41±295.04[a]	1713.68±719.01[a]	2223.16±212.25[b]
*N*12 BG-11 Sodium alginate 0.5%	122.30±5.10[c]	203.50±7.00[d]	6771.78±1216.95	3419.09±661.40[b]	3010.53±865.25[a]	2501.05±367.62[b]
*N*19BG-11	28.70±1.80[a]	13.60±0.90[a]	5643.15±661.40	597.51±99.59[a]	5835.79±1211.32[ab]	787.37±245.08[a]
*N*19 BG-11 Sodium alginate 0.5%	36.20±1.80[a]	131.40±11.20[c]	2854.77±201.92	597.51±57.50[a]	2362.11±240.66[a]	555.79±138.95[a]
*NC*18 BG-11	152.70±4.30[d]	63.70±3.80[b]	6240.66±1265.33	962.65±165.97[a]	7642.11±1485.72[b]	833.68±160.44[a]
*NC*18 BG-11 Sodium alginate0.5%	141.20±9.10[d]	185.80±19.50[d]	7136.93±1827.54	1526.97±87.83[a]	8058.95±2309.76[b]	1204.21±46.32[a]

หมายเหตุ พยัญชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในสาหร่ายแต่ละชนิด (แนวตั้ง)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไข่หิน (*Nostoc*) และสาหร่ายลอน (*Nostochopsis*) สำหรับการทดลองนี้คือ อาหารสูตร BG–11 สูตรปรับปรุง (ที่ไม่เติม $NaNO_3$) ที่ผสม sodium alginate 0.5% เนื่องจากทำให้สาหร่ายมีการจับตัวกันเป็นก้อนง่ายต่อการเก็บผลผลิตและให้ปริมาณสาหร่ายมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ สอดคล้องกับ Pandey et al. (2008) ได้ทำการเลี้ยง *Nostochopsis lobatus* ในอาหาร nitrogen-free BG–11 ที่มีการเพิ่ม ฟอสฟอรัส เหล็ก และฟอสฟอรัสร่วมกับเหล็ก เปรียบเทียบการเลี้ยงแบบตรึงเซลล์ด้วย sodium alginate 5% และไม่ตรึงเซลล์ พบว่า การเลี้ยงแบบตรึงเซลล์ด้วย sodium alginate 5% สาหร่ายมีปริมาณแคโรทีนอยด์ ไฟโคไซยานินและไฟโคเออริธรินสูงกว่าแบบไม่ตรึงเซลล์ในอาหาร BG–11 ทั้งสี่สูตร ปริมาณรงควัตถุในสาหร่าย NC18 และ N12 มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด N12 ปริมาณไฟโคเออริธริน และปริมาณไฟโคไซยานินสูงที่สุด

ในด้านการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย ทั้งในส่วนปริมาณโปรตีน เยื่อใย ไขมัน ความชื้น และคาร์โบไฮเดรต และเมื่อผสมสาหร่ายลงในอาหารเม็ดสำเร็จรูป รวมทั้งปัจจัยที่เกี่ยวข้องในด้านการเจริญเติบโต ค่า FCR, BWG และ SGR รวมทั้งสีสันของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารเคลือบสาหร่าย จะรายงานผลการทดลองที่ได้ในครั้งต่อไป

ในงานทดลองนี้ การใช้สาหร่ายไข่หินและสาหร่ายลอน จะช่วยเพิ่มสีสันให้แก่ปลาสวยงาม ทั้งยังอาจเพิ่มภูมิคุ้มกันบางประเภทได้อีกด้วย และยังมีต้นทุนการผลิตสาหร่ายต่อกรัมน้ำหนักแห้งน้อย จึงมีความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจมาก จะเป็นการเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันได้เป็นอย่างดีให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาสวยงามได้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2554. ตลาดปลาสวยงามในประเทศไทย. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://www.fisheries.go.th/aquaorna/market_fish_buetiful.html (25 กรกฎาคม 2554)

กรมประมง สำนักบริหารจัดการด้านการประมง. ส่วนควบคุมการค้าสัตว์น้ำและปัจจัยการผลิต 2556. สถิติการนำเข้า-ส่งออกสัตว์น้ำสวยงามประเภทต่างๆ ผ่านด่านตรวจสัตว์น้ำประจำปี 2553 และปี 2554. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://www.fishquarantine.org/?name=stat25 (25 กรกฎาคม 2556).

นิวุฒิ หวังชัย. 2556. **โภชนศาสตร์สัตว์น้ำ**. เชียงใหม่: คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่. 226 น.

ไปรมา ยงมานิตชัย. 2546. สาหร่ายกับสาระที่น่ารู้. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://www.ku.ac.th/ http://www.ku.ac.th/e-magazine/july46/ agri/seaweed.html (18 กรกฎาคม 2544).

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. **สาหร่ายวิทยา** . เชียงใหม่. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 546 น.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2551. **บทความปริทรรศน์ : งานวิจัยสาหร่ายน้ำจืดที่กินได้ในภาคเหนือของประเทศไทย, Edible Freshwater Macroalgae in Northern Thailand research**.; วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. 2(1): 178-189.

ลภัสรดา มุ่งหมาย. 2549. **การเพาะเลี้ยงและการหาลักษณะเฉพาะเชิงโมเลกุลด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีของสาหร่ายกินได้บางชนิดจากแม่น้ำน่าน**. เชียงใหม่ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. 95 น.

วิกิพีเดีย. 2556. ปลาทอง. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www th.wikipedia.org/wiki/ (26 มิถุนายน 2556)

วิกิพีเดีย. 2556. *Nostoc*. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://www.en.wikipedia.org/wiki/Nostoc (20 กรกฎาคม 2556)

สยามคาร์ฟ. 2552. การเกิดสีของปลาแฟนซีคาร์ฟ, [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://www siamcarp.com/board/index.php?topic=2132.0 (23 กรกฎาคม 2556)

สาหร่ายนอสตอก. 2556. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา https://www.myfirstbrain.com/student_view.aspx?ID=41939 (18 กรกฎาคม 2544).

อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2550. **นอสตอคสู่ไข่หิน ภูมิปัญญาสู่สากล**. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 22(2): 55-57.

Anagnostidis, K. and Komárek, J. 1990. **Modern approach to the classification system of cyanophytes Stigonematales**. Journal Algological Studies 59(12): 1-73.

Astorg, P. 1997. **Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research**. Trends in Food Science & Technology. 8(12): 406-413.

Castenholz, R.W. 2001. **Phylum BX. Cyanobacteria. In Bergey's Manual of Systematic**. Journal Bacteriology. 443(18): 473–487.

Desikachary, T.V. 1959. **Cyanophyta**. ICAR Monographs. New Delhi. 686 p.

Edge, R., McGarvey, J.D. and Truscott, G.T. 1997. **The carotenoids as anti-oxidants — a review**. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 41(3): 189-200.

Khatoon, N., Sengupta, P., Homechaudhuri, S. and Pal, R. 2010. **Evaluation of Algae Based Feed in Goldfish (*Carassius auratus*) Nutrition**. Proceedings of the Zoological Society. 63(2): 109-114.

KMUTT. 2001. **A workshop on mass cultivation of *Spirulina***. Bangkok King Monkut's University of Technology Thonburi Bangkok Thailand. 14 – 15.

Komarek, J. and Anagnostidis, K. 1989. **Modern Approach to the Classification of the Cyanophytes 4 Nostocales**. Journal Archiv fuer Hydrobiol Supplementband. 82(9): 247- 345 p.

Lawrenz Evelyn, Fedewa, J. Erin, and Richarson, L. Tammi. 2011. **Extraction protocols for the quantification of phycobilins in aqueous phytoplankton extracts**. Journal of Applied Phycology. 23:865–871.

Lovell, T. 1934. **Nutrition and Feeding of Fish**. United States of America. 260 p.

Mona, S., Anubha, K. and Kaushik, P. C. 2011. **Sequestration of Co (II) from aqueous solution using immobilized biomass of *Nostoc linckia* waste from a hydrogen bioreactor**. Journal Desalination 276(1-3): 408–415.

Oris, J. T. 2003 Poppulations, Communities and Species Interaction. [online]. Availiable http://www.zoology.muohio.eduloris/ZOO121/notes/Envs2003_07.htm (15 March 2011)

Pandey, U. and Pandey, J. 2008. **Enhanced production of high-quality biomass, δ-aminolevulinic acid, bilipigments, and antioxidant capacity of a food alga *Nostochopsis lobatus***. Applied biochemistry and biotechnology. 150(2), 221-231.

Sekar, S. and Chandramohan, M. 2008. **Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization**. J Appl Phycol. 20:113–136.

The on-line database cyanobacteria genera. 2556. *Nostoc*. [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://www.cyanodb.cz/*Nostoc* (25 มิถุนายน 2556)

Watanabe, A. 1951. **Production in cultural solution of some amino acids by the atmospheric nitrogen-fixing blue-green algae**. Archives of Biochemistry and Biophysics. 30(1): 50-55.

Yang, Y., Park, Y., Cassada, D.A., Snow, D and Rogers, D.G. 2011. **In vitro and In vivo safety assessment of edible blue-green algae, *Nostoc commune* var. *sphaeroides* Kutzing and *Spirulina platensis***. Journal Food and Chemical Toxicology. 49(7): 1560-1564.