

5. *Microspora* sp. 1

6. *Microspora* sp. 2

สาหร่ายลอนประกอบด้วยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินใน Division Cyanophyta 2 สปีชีส์ ดังนี้ (ภาพที่ 28)

1. *Nostochopsis hansgrig* Schmidle

2. *Nostochopsis lobatus* Wood em Guitler

ซึ่งแต่ละสปีชีส์มีรายละเอียดที่สำคัญดังนี้

1. *Cladophora glomerata* Kützting

ลักษณะเส้นสายและแหล่งที่พบ: ลักษณะเส้นสายจะแตกแขนง เป็นพุ่มหนา มีโหนดฟาสต์ขนาดใหญ่ ยึดติดกับสิ่งยึดเกาะ สีของเซลล์จะเป็นสีเขียวเข้ม การเจริญจะเกาะติดกับสิ่งยึดเกาะ ที่มีลักษณะแข็ง เช่นก้อนหิน ขอบเจริญในแหล่งน้ำที่ไหลค่อนข้างเร็ว มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำสูง สามารถพบสาหร่ายชนิดนี้ได้ทั่วไปทั้งในน้ำใส และน้ำขุ่นเล็กน้อย คุณภาพน้ำดีจนถึงปานกลาง

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: เส้นสายแตกแขนง เป็นแบบ 2 ง่าม (dichotomous branching) เซลล์จะมีลักษณะทรงกระบอก มีความยาวมากกว่าความกว้าง คลอโรพลาสต์เป็นแบบร่างแหชัดเจน ผนังเซลล์ค่อนข้างหนา

2. *Cladophora* sp.

ลักษณะเส้นสายและแหล่งที่พบ: ลักษณะเป็นเส้นสายแตกแขนง เจริญเป็นพุ่มเล็ก ๆ เส้นสายไม่แตกแขนงมากนัก มีไรซอยต์ยึดติดกับพื้น สีของเซลล์จะมีสีเขียวออกเหลือง พุ่มไม่ค่อยชัดเจนเหมือน *C. glomerata* ลักษณะหงิกงอ เจริญอยู่ได้ทั้งสภาพที่น้ำไหลเร็วและน้ำนิ่ง ในน้ำใสและค่อนข้างขุ่น คุณภาพน้ำดีจนถึงปานกลาง

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: เส้นสายแตกแขนงไม่มาก ถ้ามีการแตกแขนงจะเป็นแบบ 2 ง่าม เช่นเดียวกับสปีชีส์แรก เซลล์มีความกว้างมากกว่าความยาว คลอโรพลาสต์ในเซลล์ไม่หนาแน่นนัก พบเป็นแบบร่างแหและเป็นเกล็ดกระจายอยู่ทั่วไป ผนังเซลล์ค่อนข้างหนา

3. *Microspora floccosa* (Vaucher) Thuret

ลักษณะเส้นสายและแหล่งที่พบ: เป็นเส้นสายยาว ค่อนข้างใหญ่ ไม่แตกแขนง เมื่อจับดูจะมีลักษณะคล้ายวุ้นเส้น เกาะติดกับสิ่งยึดเกาะ ที่เป็นของแข็ง เช่นก้อนหิน พื้นน้ำ กรวด รวมถึงวัสดุต่าง ๆ เจริญเกาะติดกับพื้นท้องน้ำ โดยใช้โหนดฟาสต์ พบในแหล่งน้ำที่ไหลค่อนข้างแรงและไม่ขุ่นมาก

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: เป็นสาหร่ายที่มีลักษณะเส้นสายไม่แตกแขนง เซลล์แต่ละเซลล์มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก ผนังเซลล์แต่ละเซลล์มักจะหนา มีลักษณะเป็นตัว H ผนังเซลล์ หนาประมาณ 2 μm เชื่อมต่อกันตลอดทั้งทาลัส คลอโรพลาสต์เต็มเซลล์ ไม่มีไพร์นอยด์

4. *Microspora pachyderma* (Will) Lagerheim

ลักษณะเส้นสายและแหล่งที่พบ: เจริญเป็นสายไม่ยาวมากนักและไม่แตกแขนง เมื่อจับดูจะมีลักษณะคล้ายเส้นผมสีเขียว เกาะติดกับ สิ่งยึดเกาะ ที่เป็นของแข็ง เช่นก้อนหิน พืชน้ำ รวมถึงวัสดุต่าง ๆ พบในแหล่งน้ำไหล ที่ไม่ขุ่นมากนัก เจริญเกาะติดกับพื้นท้องน้ำโดยใช้โหนดฟาสต์

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: เป็นเส้นสายไม่แตกแขนง ผนังเซลล์ไม่หนา เซลล์กว้าง 5-10 μm เซลล์แต่ละเซลล์มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก ผนังเซลล์มีลักษณะเป็นรูปตัว H เรียงต่อกันโดยเซลล์จะหนาบริเวณกลางเซลล์ และค่อย ๆ เรียวลงในช่วงปลายเซลล์ ซึ่งจะมองเห็นเป็นรูป ตัว H ต่อกันอย่างชัดเจน

5. *Microspora* sp. 1

ลักษณะเส้นสายและแหล่งที่พบ: เป็นเส้นสายละเอียด สีเขียวอ่อน ไม่แตกแขนง เส้นสายไม่ยาวมากนัก จับดูจะลื่นคล้ายกับ *Spirogyra* sp. เกาะติดกับสิ่งยึดเกาะที่เป็นของแข็ง เช่น ก้อนหิน แต่ไม่พบในแหล่งน้ำที่มีความเร็วกระแสน้ำสูง เจริญเกาะติดกับพื้นท้องน้ำโดยใช้ไฮลด์ฟาสต์

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: เป็นสาหร่ายที่มีลักษณะเป็นเส้นสายไม่แตกแขนง เซลล์แต่ละเซลล์เป็นรูปทรงกระบอก ผนังเซลล์ไม่หนา มีลักษณะต่อกัน คลอโรพลาสต์เป็นร่างแหอยู่ไม่เต็มเซลล์ พบไฟรีโนยด์กระจายจำนวนน้อย

6. *Microspora* sp. 2

ลักษณะเส้นสายและแหล่งที่พบ: เป็นเส้นสายละเอียด สีเขียวอ่อน ไม่แตกแขนง จับดูจะไม่ลื่น เส้นสายอาจจะยาวหรือสั้น ลักษณะหึงงอเล็กน้อย ไม่เหยียดตรง เกาะติดกับสิ่งยึดเกาะที่เป็นก้อนหินขนาดเล็ก พบในแหล่งน้ำที่ค่อนข้างนิ่งหรือไหลเอื่อย

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: เป็นสาหร่ายที่มีลักษณะเป็นเส้นสายไม่แตกแขนง ผนังเซลล์หนาไม่เท่ากันในแต่ละช่วงของเซลล์ ทำให้ลักษณะของทลัสต์คงอไปมา คลอโรพลาสต์เป็นร่างแหอยู่ไม่เต็มเซลล์ พบไฟรีโนยด์กระจายจำนวนน้อย

7. *Nostochopsis hansgrig* Schmidle

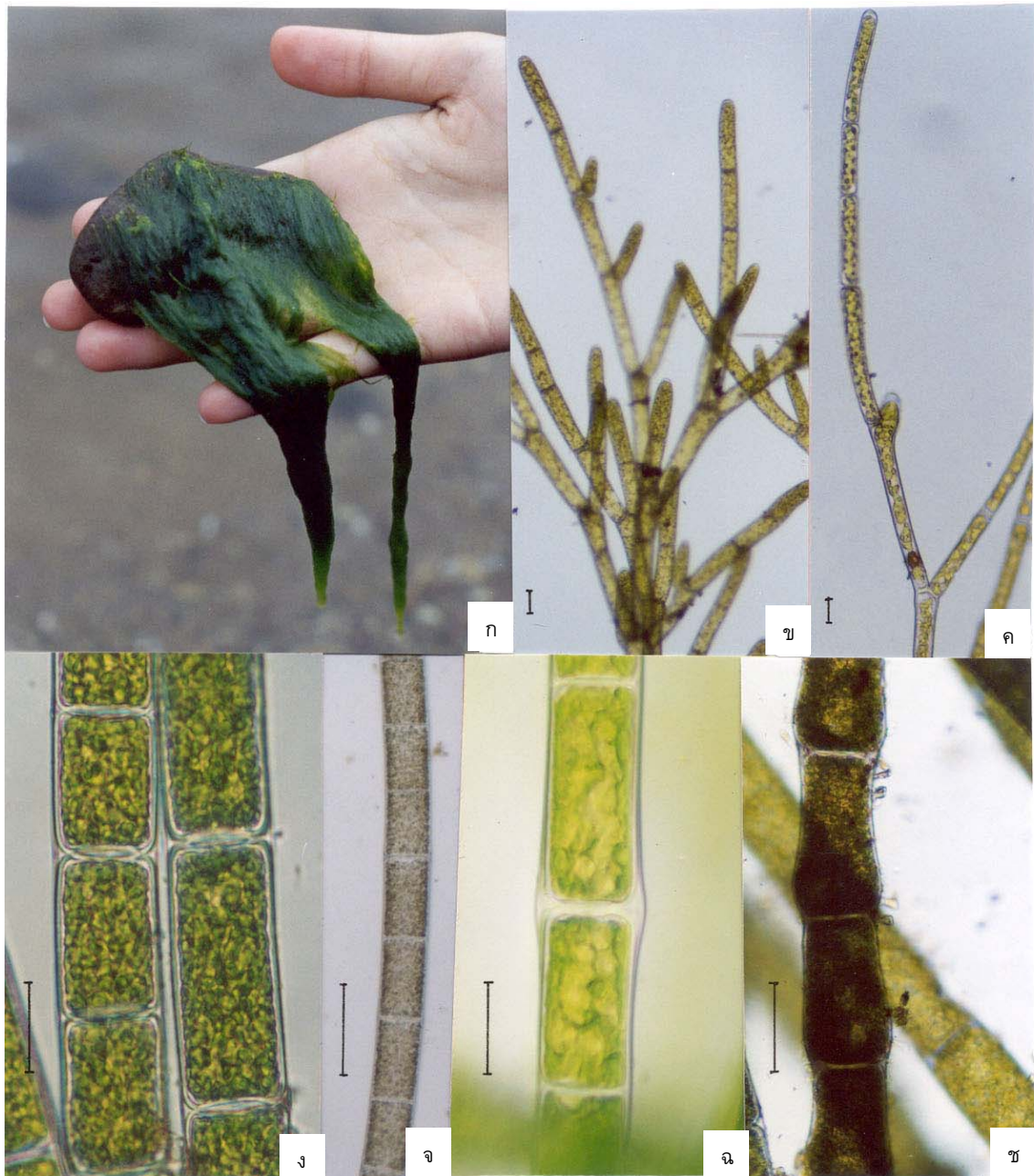
ลักษณะโคโลนีและแหล่งที่พบ: ลักษณะคล้ายก้อนวุ้นค่อนข้างกลม สีเหลืองใส มีจุดสีขาวเล็กกระจายในเนื้อวุ้น ขนาดของโคโลนีเล็กกว่า 0.5 ซม.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: เส้นสายฝังตัวในเมือก มีการแตกกิ่งแบบแท้จริง เส้นสายสีเขียวอ่อน กว้าง 3.9-5.4 μm ยาว 4.7-7.7 μm กิ่งสาขากว้าง 3.1-5.4 μm ยาว 4.7-10.8 μm พบเฮเทอโรซิสต์ทั้งแบบอยู่ระหว่างเส้นสายหลัก ซึ่งคือ intercalary heterocyst แยกออกจากเส้นสายหลักเรียกว่า lateral heterocyst และอยู่บริเวณปลายกิ่งสาขาเรียกว่า pedicellate heterocyst เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 5.4-6.2 μm

8. *Nostochopsis lobatus* Wood em Gutlier

ลักษณะโคโลนีและแหล่งที่พบ: ลักษณะคล้ายก้อนวุ้นกลมสีเขียวเข้มเมื่ออายุน้อย ก้อนสีเขียวเข้มกลวง เมื่อโตขึ้นเส้นผ่าศูนย์กลางอาจมากถึง 10 ซม. ขึ้นกับสภาพแวดล้อม พบมากในบริเวณน้ำไหลมากกว่าน้ำนิ่ง

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา: เส้นสายสีเขียวแกมน้ำเงินหรือเหลือง ฝังอยู่ในเมือก ค่อนข้างหนาแน่น เซลล์ยาวมากกว่ากว้าง กว้าง 4-6 μm ยาว 4-10 μm มีการแตกกิ่งก้านแบบแท้จริง (true branching) ค่อนข้างหนาแน่น เฮเทอโรซิสต์เหลืองใส รูปร่างเกือบกลม หรือรี ขนาด (4)6-9 μm ตำแหน่งที่พบมาก ได้แก่ ตำแหน่งที่ติดกับเส้นสายที่เป็นเส้นหลัก (lateral heterocyst) และพบบ้างที่ปลายสุดของกิ่ง (pedicellate heterocyst) sheath ใส บาง สังเกตได้ง่ายที่ตำแหน่งโคนของเส้นกิ่งบริเวณที่ต่อกับเส้นหลัก



Scale bar = 20 μ m

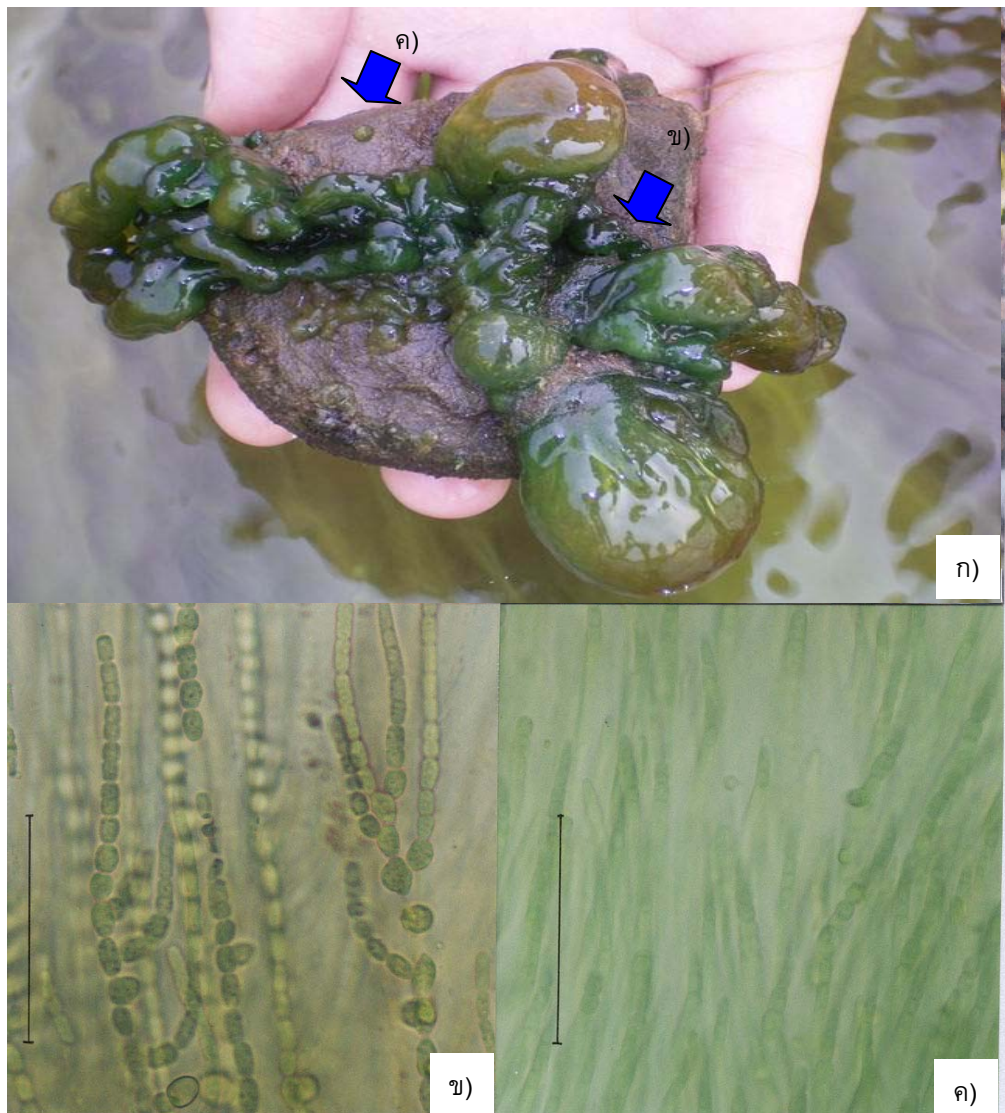
ภาพที่ 27 สาหร่ายไถในลำน้ำนาน

ก) สาหร่ายไถในสภาพธรรมชาติ ข) – ช) สาหร่ายไถศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ข) *Cladophora glomerata* Kützting ค) *Cladophora* sp. 1

ง) *Microspora floccosa* (Vaucher) Thuret จ) *M. pachyderma* (Will) Lagerheim

ฉ) *Microspora* sp. 1 ช) *Microspora* sp. 2



Scale bar = 20 μm

ภาพที่ 28 สาหร่ายลอนในลำน้ำน่าน

ก) สาหร่ายลอนในสภาพธรรมชาติ ข) – ค) สาหร่ายไคศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ข) *Nostochopsis lobatus* Wood em Guitler

ค) *N. hansgrig* Schmidle

4.2.2.2 การศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในการใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำ

ในการศึกษารั้วนี้พบว่าสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ที่สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำ คือ สาหร่ายไวก และสาหร่ายลอน ทั้ง 8 สปีชีส์ดังกล่าวมาแล้ว สามารถบ่งชี้ของคุณภาพน้ำปานกลาง (mesotrophic status) เนื่องจากพบเป็นสปีชีส์เด่นในลำน้ำน่านซึ่งมีคุณภาพปานกลาง นอกจากนั้นในงานวิจัยนี้ยังพบว่าสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ที่มีรายงานว่าบ่งบอกคุณภาพน้ำดี เช่น *Chamaesiphon* spp. และ *Calothrix* spp. (Palmer, 1977; Wetzel, 2001) ซึ่งในงานวิจัยนี้พบบ้างแต่ไม่มากนักจนเป็นสปีชีส์เด่น ในช่วงที่น้ำมีคุณภาพดี เช่นเดียวกับการพบ *Oscillatoria* spp., *Phormidium* spp. และ *Stigeoclonium* spp. ซึ่งมีรายงานจาก Palmer และ Wetzel เช่นกันว่ามักพบในน้ำที่มีคุณภาพไม่ดี ซึ่งในงานวิจัยนี้ก็พบในจุดเก็บตัวอย่างและช่วงเวลาที่มีน้ำมีคุณภาพไม่ดีขึ้น แต่สาหร่ายดังกล่าวพบในลักษณะที่ไม่ใช่สปีชีส์เด่น ดังนั้นข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นเพียงข้อมูลเสริมงานวิจัยที่มีรายงานมาก่อน

4.2.2.3 ศึกษาการแพร่กระจายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในลำน้ำน่าน

วิธีการวิจัย

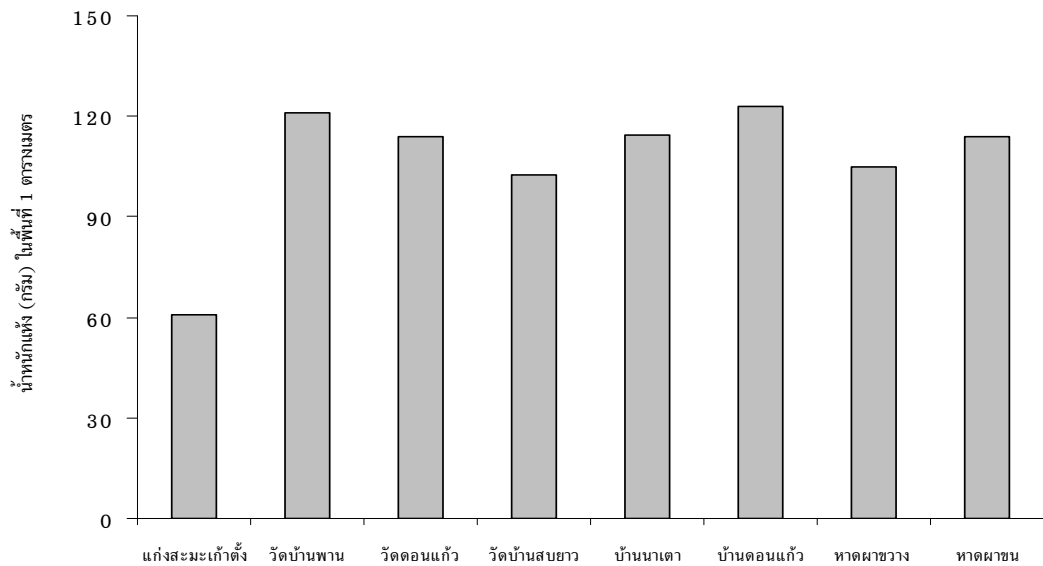
เนื่องจากการศึกษาในเรื่องความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในลำน้ำน่านในครั้งนี้สามารถทำให้สามารถตัดสินใจได้ว่าสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในลำน้ำแห่งนี้สมควรจะนำไปทำการศึกษาวิจัยต่อก็คือสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอนเท่านั้น เช่นเดียวกับภูมิปัญญาชาวบ้านที่มีมาก่อน ดังนั้นจึงสมควรที่จะศึกษาถึงการแพร่กระจายของสาหร่าย 2 จินส์นี้ ว่ามีมากในช่วงใดและบริเวณใดของลำน้ำน่าน การศึกษาการแพร่กระจายนี้ได้จากความหนาแน่นของสาหร่ายแต่ละชนิดจากน้ำหนักแห้งต่อหน่วยพื้นที่ที่ศึกษา ทำการหาความหนาแน่นหรือปริมาณสาหร่ายไวกและลอนในลำน้ำน่านโดยใช้ quadrat และอุปกรณ์เสริมส่วนประกอบและวิธีการใช้เครื่องมือแสดงในภาคผนวก

บันทึกข้อมูลทั้งหมดลงในตารางบันทึกข้อมูล แล้วหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสาหร่ายไวก และสาหร่ายลอนในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง โดยคิดจากน้ำหนักแห้งในพื้นที่ 1 ตารางเมตร

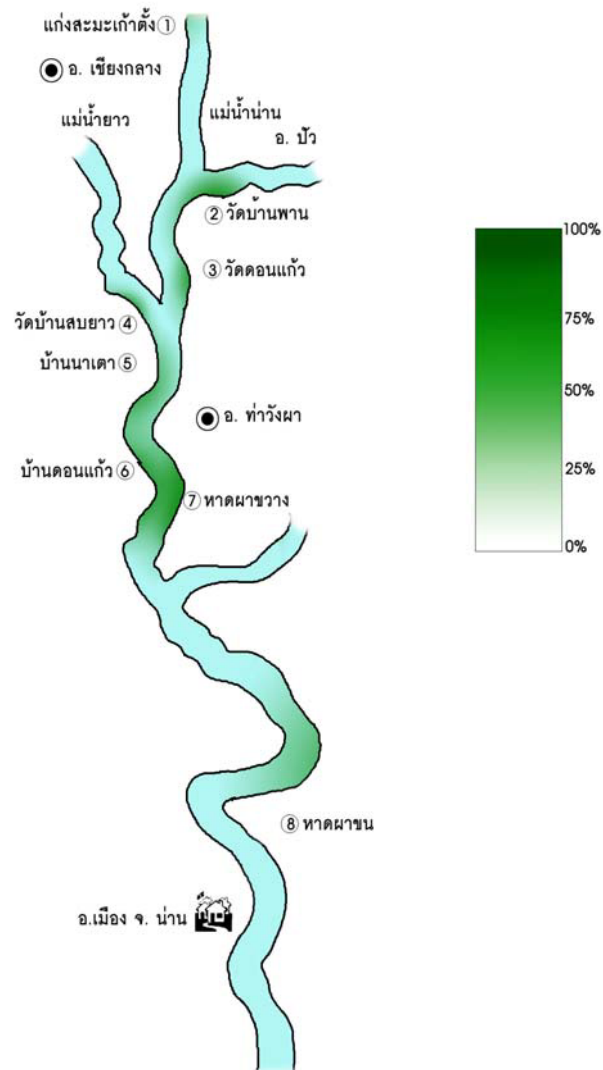
ผลการวิจัย

จากการศึกษาในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2546 ซึ่งทำการศึกษาจาก 8 จุดสำรวจ พบการแพร่กระจายของสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอน ดังนี้

จากการสำรวจจุดเก็บตัวอย่าง 8 จุด ในลำน้ำน่านระหว่างวันที่ 25-28 กุมภาพันธ์ 2546 ซึ่งเป็นช่วงที่พบสาหร่ายไวกมากที่สุด พบว่าแต่ละจุดเก็บตัวอย่างมีความหนาแน่นของสาหร่ายไวกไม่ต่างกันมากนัก โดยพบว่าที่บ้านดอนแก้ว (จุดเก็บตัวอย่างที่ 6) อำเภอท่าวังผา มีความหนาแน่นของสาหร่ายไวกมากที่สุด 77.77% คิดเป็นน้ำหนักแห้ง 122.75 กรัม รองลงมาคือ วัดบ้านพาน ตำบลแงะ อำเภอปัว (จุดเก็บตัวอย่างที่ 2) ซึ่งมีความหนาแน่นของสาหร่ายไวกใกล้เคียงกัน คือ 76.66% หรือน้ำหนักแห้ง 121.0 กรัม อันดับ 3 บ้านนาเตา อำเภอท่าวังผา (จุดเก็บตัวอย่างที่ 5) 72.44% หรือ 114.25 กรัม อันดับ 4 มี 2 จุดเก็บตัวอย่างคือ วัดดอนแก้ว อำเภอท่าวังผา (จุดเก็บตัวอย่างที่ 3) และหาดผาขน อำเภอเมือง (จุดเก็บตัวอย่างที่ 8) 72.22% หรือ 114.0 กรัม อันดับ 5 หาดผาขวาง อำเภอท่าวังผา (จุดเก็บตัวอย่างที่ 7) 66.39% หรือ 104.5 กรัม อันดับ 6 วัดบ้านสบยาว อำเภอท่าวังผา (จุดเก็บตัวอย่างที่ 4) 64.99% หรือ 102.5 กรัม อันดับ 7 แก่งสะมะเ้าตั้ง อำเภอเชียงกลาง (จุดเก็บตัวอย่างที่ 1) 38.47% หรือ 60.75 กรัม ทั้งนี้เปอร์เซ็นต์และน้ำหนักโดยเฉลี่ยคิดในพื้นที่ 1 ตารางเมตร (ภาพที่ 29 และ 30)

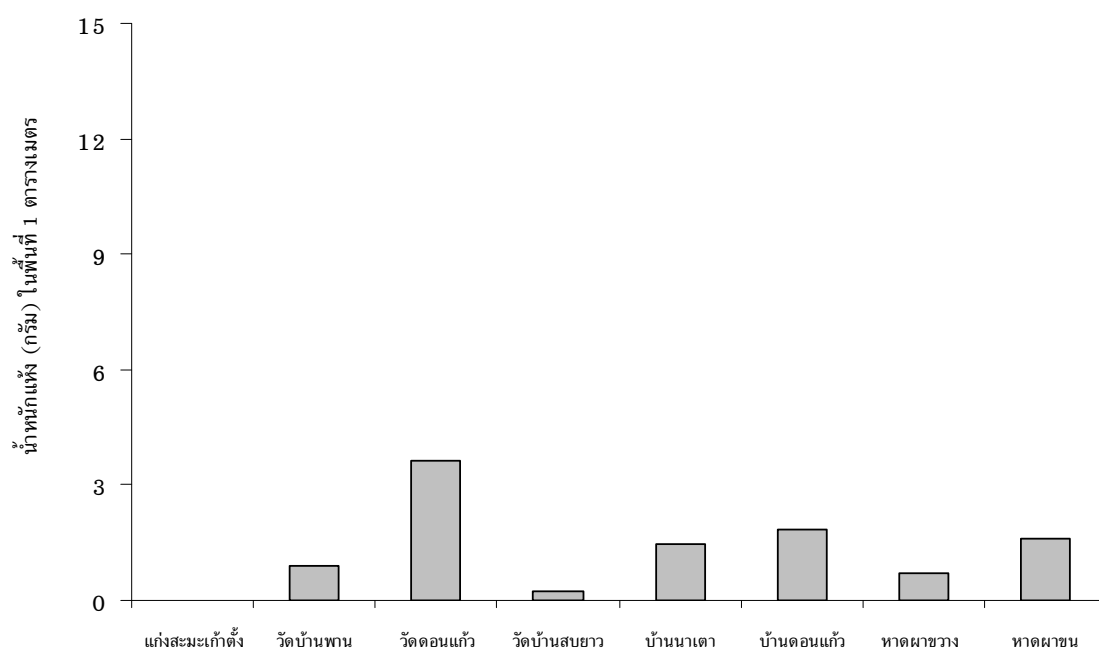


ภาพที่ 29 ความหนาแน่นของสารห่วยไค คิดเป็นน้ำหนักแห้ง (กรัม) ในพื้นที่ 1 ตารางเมตร ในจุดเก็บตัวอย่าง 8 จุดในลำน้ำน่าน กุมภาพันธ์ 2546

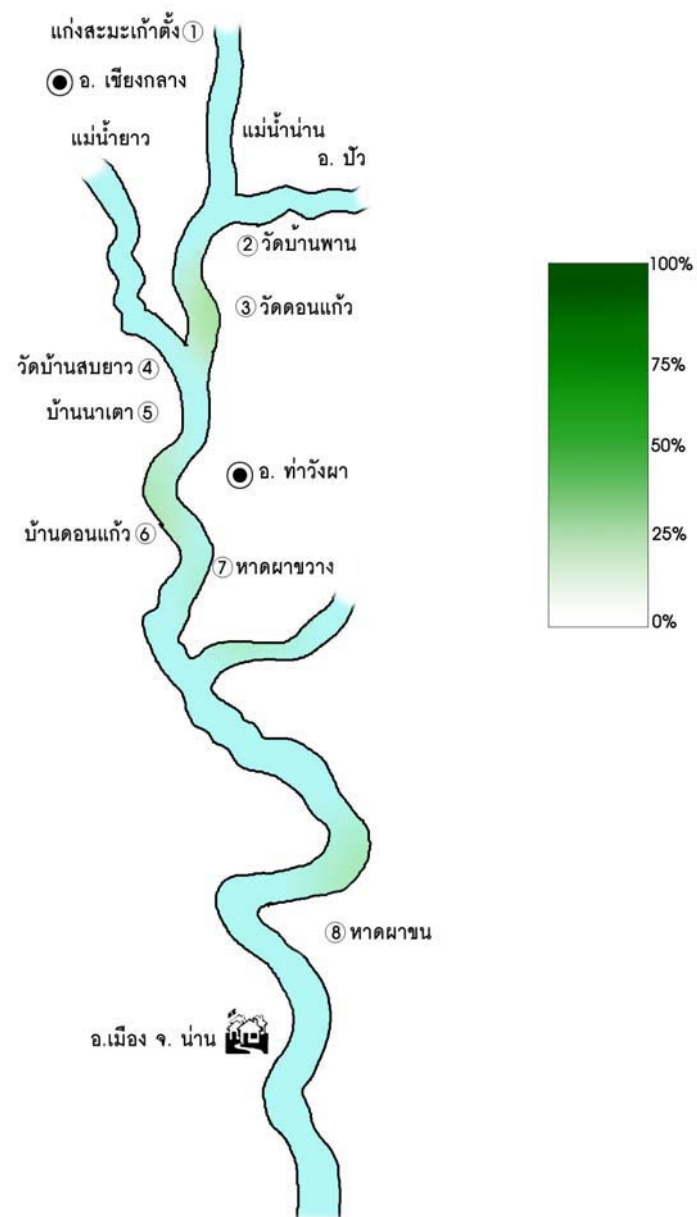


ภาพที่ 30 แผนที่ลำน้ำน่านแสดงการกระจายของสารห่วยไค กุมภาพันธ์ 2546

สำหรับสาหร่ายลอนจะพบมากที่สุดในจุดเก็บตัวอย่างวัดดอนแก้ว อำเภอปัว (จุดเก็บตัวอย่างที่ 3) โดยพบ 8.53% หรือ 3.65 กรัม รองลงมาจะมีปริมาณน้อยลงไปมาก คือ บ้านดอนแก้ว อำเภอท่าวังผา (จุดเก็บตัวอย่างที่ 6) 2.92% หรือ 1.83 กรัม ที่พบเป็นอันดับ 3 คือ หาดผาชน อำเภอเมือง (จุดเก็บตัวอย่างที่ 8) 2.50% หรือ 1.60 กรัม อันดับ 4 บ้านนาเตา อำเภอท่าวังผา (จุดเก็บตัวอย่างที่ 5) 2.33% หรือ 1.45 กรัม อันดับ 5 วัดบ้านพาน อำเภอปัว (จุดเก็บตัวอย่างที่ 2) 1.39% หรือ 0.875 กรัม อันดับ 6 หาดผาขวาง (จุดเก็บตัวอย่างที่ 7) อำเภอท่าวังผา 1.11% หรือ 0.70 กรัม อันดับ 7 วัดบ้านสบยาว อำเภอท่าวังผา (จุดเก็บตัวอย่างที่ 4) 0.42% หรือ 0.25 กรัม และอันดับสุดท้ายคือ อันดับ 8 แก่งสะมะเ้าตั้ง อำเภอเชียงกลาง ซึ่งไม่พบสาหร่ายลอนเลย เปอร์เซ็นต์และน้ำหนักโดยเฉลี่ย คิดในพื้นที่ 1 ตารางเมตร (ภาพที่ 31 และ 32)



ภาพที่ 31 ความหนาแน่นของสาหร่ายลอน คิดเป็นน้ำหนักแห้ง (กรัม) ในพื้นที่ 1 ตารางเมตร ในจุดเก็บตัวอย่าง 8 จุดในลำน้ำน่าน กุมภาพันธ์ 2546



ภาพที่ 32 แผนที่ลำน้ำนันแสดงการกระจายของสาหร่ายลอน กุมภาพันธ์ 2546

4.2.3 ศึกษาการเพาะเลี้ยงและการเก็บรวบรวมสารพันธุกรรมนอกถิ่นกำเนิดของสาหร่าย น้ำจืดขนาดใหญ่ชนิดที่นำมาเป็นอาหารและยา ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและภาคสนาม

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอน ซึ่งเป็นสาหร่ายที่ใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารและยาจากภูมิปัญญาชาวบ้าน นับว่าเป็นส่วนของงานวิจัยที่สำคัญยิ่ง เนื่องจากจะเป็นผลดีต่อชุมชนที่ประกอบอาชีพจากผลิตภัณฑ์ การแปรรูปอาหารที่ใช้สาหร่ายเหล่านี้เพื่อที่จะได้มีวัตถุดิบไว้ใช้ตลอดปี และจะเป็นผลดีต่อการนำมาใช้เป็นสารสกัดทางชีวภาพ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และการใช้เป็นตัวยา เนื่องจากว่าคุณภาพของสาหร่ายเหล่านี้ควรจะมาจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงจากสายพันธุ์เดียวกัน เพื่อให้ได้ผลผลิตที่สม่ำเสมอ จากการศึกษาทางนิเวศวิทยาของสาหร่ายไวกและลอนในลำน้ำน่าน ทำให้ทราบว่าปัจจัยที่สำคัญของการเจริญคือ แสง และ กระแสน้ำ ส่วนสารอาหารมีผลไม่มากนัก สามารถเจริญได้ในน้ำที่มีสารอาหารน้อยถึงปานกลาง จึงได้นำปัจจัยเหล่านี้มาใช้ในการเพาะเลี้ยงโดยการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ให้มีแสงที่ความเข้มสูง 3,000 ลักส์ มีการกวนให้น้ำไหลโดยใช้หัวทรายและ air pump ส่วนการเลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยง ใช้บ่อเพาะเลี้ยงแบบน้ำวน (race way pond) การใช้ใบพัดให้น้ำเกิดการเคลื่อนที่ ส่วนสารอาหารใช้ทั้งความเข้มข้นเต็มสูตร และลดความเข้มข้นลงจากสูตรที่ใช้เพาะเลี้ยงทั่วไป

งานวิจัยดังกล่าว แยกออกเป็น 4 ส่วนย่อยดังนี้

4.2.3.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในระดับห้องปฏิบัติการ

4.2.3.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในภาคสนาม ณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4.2.3.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในบ่อเพาะเลี้ยง ณ ลำน้ำน่าน จังหวัดน่าน

4.2.3.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอนเพื่อเก็บรวบรวมสารพันธุกรรมนอกถิ่นกำเนิดให้เป็นการถาวร

4.2.3.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในระดับห้องปฏิบัติการ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในห้องปฏิบัติการ ความเข้มแสง 3,000 ลักส์ โดยใช้ขวดรูปชมพู่และ/หรือ โหลแก้วขนาดต่างๆ เพาะเลี้ยงในสภาพที่คล้ายธรรมชาติ ใช้แสงไฟจากตู้เพาะเลี้ยง อุณหภูมิเป็นไปตามธรรมชาติ โดยเฉลี่ย $25^{\circ}\text{C} \pm 10$ ทำการเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายซึ่งสภาพค่อนข้างปลอดภัยจากสิ่งมีชีวิตอื่น

รายละเอียดของการเพาะเลี้ยง มีดังนี้

1. เพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในระดับห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 1

เป็นการศึกษาเบื้องต้น เพื่อดูว่าโอกาสของการเจริญของสาหร่ายไวกในอาหาร 2 สูตร จะมีความเป็นไปได้หรือไม่

สูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง มี 2 สูตร ดังนี้

1.1 สูตรอาหาร JM (ภาคผนวก)

1.2 สูตรอาหาร Soil Water Medium (ภาคผนวก)

2. เพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในระดับห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 2

จากการเพาะเลี้ยงในครั้งที่ 1 มีแนวโน้มว่าสูตรอาหาร JM สามารถเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้ พร้อมกันนั้นก็ค้นคว้าได้สูตรอาหารใหม่สำหรับการเลี้ยงสาหร่ายไวกอีก 2 สูตร คือ สูตร C และสูตร CB จาก National Institute for Environmental Studies เมือง Tsukuba ประเทศญี่ปุ่น (NIES, 1997) นอกจากนั้นยังได้ลองใช้

ปุ๋ยวิทยาศาสตร์ N:P:K สูตร 16:16:16 ซึ่งมีรายงานว่าสามารถใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในนาุ้งได้ จึงนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้

การทดลองครั้งนี้ใช้สูตรอาหาร 4 สูตร ดังนี้

- 2.1 สูตรอาหาร C (ภาคผนวก)
- 2.2 สูตรอาหาร CB (ภาคผนวก)
- 2.3 สูตรอาหาร JM
- 2.4 สูตรอาหาร N:P:K =16:16:16

การวิจัยในครั้งนี้จะแปรผันความเข้มข้นของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง โดยใช้ความเข้มข้น 3 ความเข้มข้น คือใช้เต็มสูตร ใช้ครึ่งหนึ่งของสูตร (0.5 เท่า) และใช้หนึ่งในสี่ของสูตร (0.25 เท่า) โดยอาหารที่ใช้เลี้ยงมีปริมาตร 5 ลิตร รายละเอียดแสดงในตารางที่ 83

ตารางที่ 83 สูตรอาหารทั้ง 4 สูตร แสดงความเข้มข้นในแต่ละ dilution

	อาหารสูตร C, CB, JM (ลิตร) หรือ N:P:K (กรัม)	น้ำกลั่น (ลิตร)
อาหารสูตร C		
Dilution 1 (เต็มสูตร)	5	-
Dilution 2 (0.5 เท่า)	2.5	2.5
Dilution 3 (0.25 เท่า)	1.25	3.75
อาหารสูตร CB		
Dilution 1 (เต็มสูตร)	5	-
Dilution 2 (0.5 เท่า)	2.5	2.5
Dilution 3 (0.25 เท่า)	1.25	3.75
อาหารสูตร JM		
Dilution 1 (เต็มสูตร)	2.5	2.5
Dilution 2 (0.5 เท่า)	1.25	3.75
Dilution 3 (0.25 เท่า)	0.625	4.375
อาหารสูตร N:P:K		
Dilution 1 (เต็มสูตร)	5	5
Dilution 2 (0.5 เท่า)	2.5	5
Dilution 3 (0.25 เท่า)	1.5	5

ในแต่ละ dilution จะเตรียมการทดลอง 2 ซ้ำ จากนั้นทำการทดลองดังนี้

1. นำสาหร่ายไคที่เกาะติดกับก้อนหินใส่ลงในโหลแก้วโดยตัดเส้นสายของสาหร่ายไคให้มีความยาวโดยวัดจากก้อนหินให้ได้ประมาณ 1 เซนติเมตรเพื่อให้สามารถวัดการเจริญของสาหร่ายไคได้จากเส้นสายที่ยาวขึ้น
2. ทำการต่อ air pump ลงในโหลแก้วเพื่อให้ออกซิเจนแก่สาหร่ายไค
3. ปิดปากโหลแก้วด้วยผ้าขาวบางเพื่อป้องกันการรบกวนของแมลง
4. อุณหภูมิที่ทำการทดลองเท่ากับ 22.0 °C
5. ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์

ผลการทดลอง

4.2.3.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในระดับห้องปฏิบัติการ

1. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในระดับห้องปฏิบัติการครั้งที่ 1

1.1 สูตรอาหาร JM ผลปรากฏว่าในอาทิตย์แรกเส้นสายของสาหร่ายไวกจะเน่าตายไปและงอกขึ้นมาในอาทิตย์ต่อไป การทดลองในครั้งนี้ไม่ได้ทำการวัดความยาว แต่ต้องการเป็น preliminary culture เท่านั้น การทดลองครั้งนี้มีแนวโน้มว่าอาหารสูตร JM น่าจะได้รับผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยง

1.2 สูตรอาหาร Soil water medium ผลปรากฏว่าสาหร่ายไวกไม่สามารถเจริญได้และตายไปในที่สุด อาจเป็นเพราะว่าในอาหาร Soil water medium มีแต่แร่ธาตุ แต่ไม่มีวิตามิน ซึ่งสาหร่ายไวกจำเป็นต้องใช้ในการเจริญ ในขณะที่สูตรอาหาร JM มีวิตามินอย่างเพียงพอ สอดคล้องกับ Whitton (2005, ติดต่อบุคคล) ซึ่งกล่าวว่าการเจริญของสาหร่ายขนาดใหญ่ใน artificial culture วิตามินจะมีความสำคัญกว่าแร่ธาตุ

2. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในระดับห้องปฏิบัติการครั้งที่ 2

ใช้สูตรอาหาร 4 สูตร คือ สูตรอาหาร C, CB, JM และ N:P:K จากการทดลองทำการตัดเส้นสายของสาหร่ายไวกให้เหลือความยาวจากก้อนหินที่ยึดเกาะประมาณ 1 เซนติเมตร ทำการวัดความยาวของเส้นสายทุก 1 สัปดาห์ พบว่าความยาวของเส้นสายสาหร่ายไวกเพิ่มขึ้น แสดงในภาพที่ 33 ตารางที่ 84 และตารางที่ 85

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายไวกในอาหารเหลวแล้วทำการวัดความยาวทุก 1 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ การเจริญของสาหร่ายไวกไม่ดีขึ้น เนื่องจากสาหร่ายเกิดการตายขึ้น อันอาจมีสาเหตุมาจากสภาวะที่เลี้ยงไม่เหมาะสม การให้อากาศน้อยเกินไป เพราะขวดมีขนาดเล็ก การเลี้ยงในสภาพที่ให้อาหารเหลวในขวดขนาดเล็กนี้จึงไม่ประสบความสำเร็จ

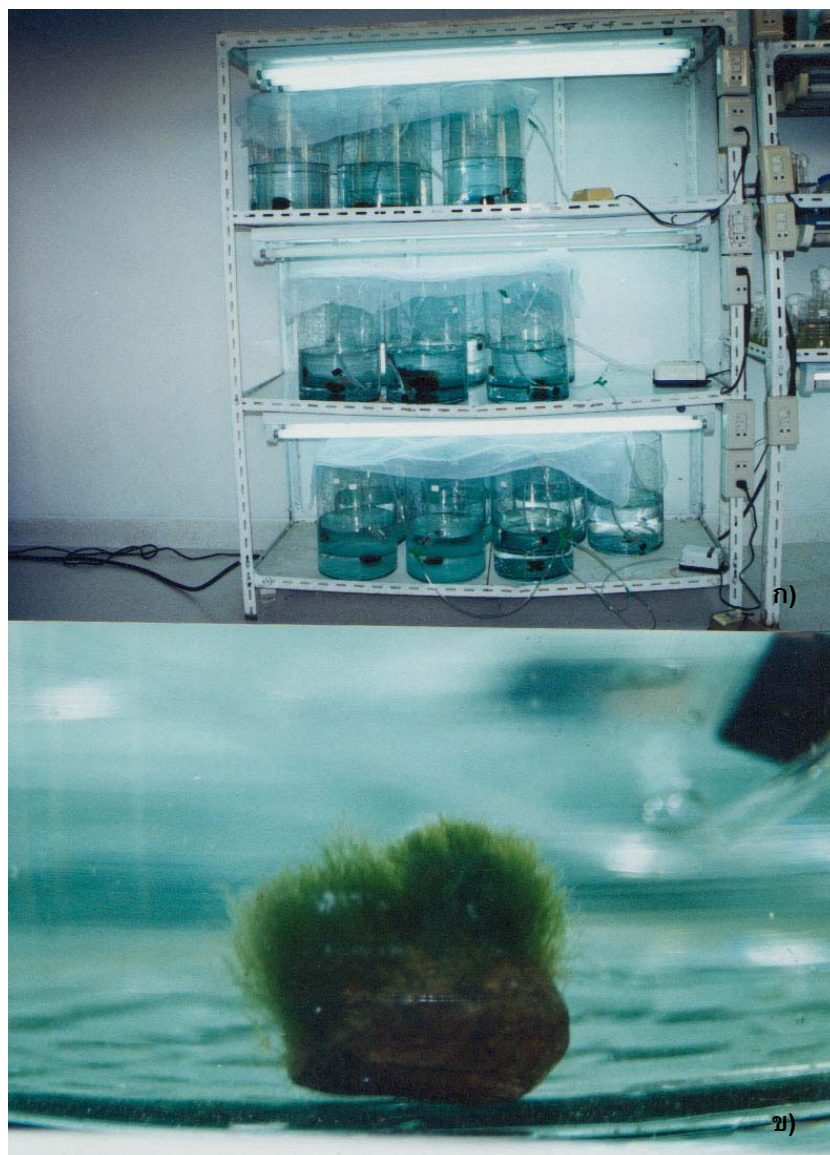
หมายเหตุ: เมื่อทำการเพาะเลี้ยงหลายๆ สภาวะ จึงทราบว่าเมื่อนำมาเพาะเลี้ยง สาหร่ายไวกมักจะเน่าตาย ไม่ค่อยงอกจากเส้นสายเดิม แต่จะงอกจากชูโอสปอร์ หรือไซโกสปอร์ที่เกิดจากเส้นสายเดิม หรือติดมากับก้อนหินนั้นก่อนนำมาเลี้ยง

ตารางที่ 84 การเจริญของสาหร่ายไวกที่เลี้ยงโดยอาหารทั้ง 4 สูตร แต่ละสูตรประกอบด้วย 3 dilution

อาหาร	ความยาวเริ่มต้น (เซนติเมตร)	สัปดาห์ที่ 1 (เซนติเมตร)	สัปดาห์ที่ 2 (เซนติเมตร)	สัปดาห์ที่ 3 (เซนติเมตร)	สัปดาห์ที่ 4 (เซนติเมตร)
C dilution 1	1.0	1.3	0.1	0.2	0.8
dilution 2	1.0	1.8	0.4	0.4	1.0
dilution 3	1.0	1.7	0.2	0.3	0.9
CB dilution 1	1.0	1.2	0.2	0.2	-
dilution 2	1.0	1.4	0.3	0.3	-
dilution 3	1.0	1.0	0.2	0.3	0.3
JM dilution 1	1.0	1.0	0.1	0.1	0.3
dilution 2	1.0	1.2	0.1	0.1	0.4
dilution 3	1.0	1.0	0.1	0.1	0.3
NPK dilution 1	1.0	1.0	0.1	-	-
dilution 2	1.0	1.0	0.1	-	-
dilution 3	1.0	1.0	0.1	-	-

หมายเหตุ: ความยาวในสัปดาห์ที่ 1 นั้น คือความยาวจากเส้นสายเดิม แต่ระหว่างสัปดาห์ที่ 1-2 สาหร่ายทั้งหมดจะเน่าตายลง และเกิดการงอกขึ้นมาใหม่จากก้อนหิน จึงเป็นความยาวเริ่มต้นในสัปดาห์ที่ 2 และอาจจะมีการเจริญหรือไม่เจริญในสัปดาห์ที่ 3 และ 4

จากการทดลองพบว่าอาหารสูตร C สามารถเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคได้ดีที่สุด รองลงมาคืออาหารสูตร JM อาหารสูตร CB ความเข้มข้นต่ำสามารถเลี้ยงได้ ในขณะที่อาหารสูตร N:P:K ไม่สามารถเลี้ยงได้ ทั้งนี้เหตุผลอาจจะคล้ายคลึงกับที่กล่าวมาแล้วคือ ในอาหารทั้ง 3 สูตรที่เลี้ยงได้มีเกลือแร่และวิตามินครบถ้วน ในขณะที่อาหารสูตร N:P:K ไม่มีวิตามินเลย ส่วนอาหารสูตร CB ความเข้มข้นสูงไม่สามารถเลี้ยงได้เนื่องจากมีการเติมสาร Bicine ลงไปด้วย มีผลทำให้ pH สูงขึ้นถึง 9 จึงทำให้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายไค เป็นที่น่าสังเกตว่าในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคในระดับห้องปฏิบัติการทั้ง 2 ครั้ง เส้นสายของสาหร่ายไคจะเน่าตายลงในสัปดาห์ที่ 1 แล้วจึงมีเส้นสายใหม่เจริญขึ้นมาในสัปดาห์ที่ 2 ซึ่งคาดว่าจะเจริญมาจากซูโอสปอร์หรือไซโกสปอร์ที่เกิดจากเส้นสายเดิมหรือติดมากับหินซึ่งเป็นสิ่งยึดเกาะ อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยเลียนแบบธรรมชาติและไม่ปลอดเชื้อ ไม่ประสบความสำเร็จมากนัก เนื่องจากการปนเปื้อนของสาหร่ายประเภทแพลงก์ตอนพืชซึ่งสามารถเจริญในอาหารที่เพาะเลี้ยงได้ดีกว่าสาหร่ายไค



ภาพที่ 33 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคในระดับห้องปฏิบัติการ

ก) ชั้นเพาะเลี้ยงสาหร่ายไค

ข) สาหร่ายไคบางส่วนนอกจากเส้นสายเดิม และบางส่วนนอกจากสปอร์

ตารางที่ 85 ลักษณะของเส้นสายสำหรับไก่ที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร แต่ละสูตรประกอบด้วย 3 dilution โดยสังเกตด้วยตาเปล่าและดูใต้กล้องจุลทรรศน์

อาหาร	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
C dilution 1	เกิดการงอกของสำหรับขึ้นใหม่จากเส้นเดิม, ลักษณะของเส้นสำหรับเส้นเก่ามีการแตกขาดมากและรังควาญสีซีดจางลง	สำหรับนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสำหรับไก่เจริญขึ้นมาใหม่เกิดเป็นกระจุกบนก้อนหิน	สำหรับมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย	สำหรับมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย
dilution 2	เกิดการงอกของสำหรับขึ้นใหม่จากเส้นเดิม, ลักษณะของเส้นสำหรับเส้นเก่ามีการแตกขาด	สำหรับนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสำหรับไก่เจริญขึ้นมาใหม่เกิดเป็นกระจุกบนก้อนหิน	สำหรับมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย	สำหรับมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย
dilution 3	เกิดการงอกของสำหรับขึ้นใหม่จากเส้นเดิม, ลักษณะของเส้นสำหรับเส้นเก่ามีการแตกขาดแต่ไม่มาก	สำหรับนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสำหรับไก่เจริญขึ้นมาใหม่เกิดเป็นกระจุกบนก้อนหิน	สำหรับมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย	สำหรับมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย
CB dilution 1	เกิดการงอกของสำหรับขึ้นใหม่จากเส้นเดิม, ลักษณะของเส้นสำหรับเส้นเก่ามีการแตกขาดมากและรังควาญสีซีดจางลง	สำหรับนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสำหรับไก่เจริญขึ้นมาใหม่	สำหรับมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย	สำหรับเกิดการเน่าตาย
dilution 2	เกิดการงอกของสำหรับขึ้นใหม่จากเส้นเดิม, ลักษณะของเส้นสำหรับเส้นเก่ามีการแตกขาดและรังควาญสีซีดจางลง	สำหรับนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสำหรับไก่เจริญขึ้นมาใหม่	สำหรับมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย	สำหรับเกิดการเน่าตาย
dilution 3	เกิดการงอกของสำหรับขึ้นใหม่จากเส้นเดิม, ลักษณะของเส้นสำหรับเส้นเก่ามีการแตกขาด	สำหรับนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสำหรับไก่เจริญขึ้นมาใหม่	สำหรับมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย	สำหรับมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย
JM dilution 1	เกิดการงอกของสำหรับขึ้นใหม่จากเส้นเดิม, ลักษณะของเส้นสำหรับเส้นเก่ามีการแตกขาดและรังควาญสีซีดจางลง	สำหรับนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสำหรับไก่เจริญขึ้นมาใหม่	ความยาวของสำหรับไม่เพิ่มขึ้นและสำหรับยังคงสภาพสมบูรณ์	ความยาวของสำหรับไม่เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 85 (ต่อ)

dilution 2	เกิดการงอกของสาหร่ายขึ้นใหม่จากเส้นเดิม, ลักษณะของเส้นสาหร่ายเส้นเก่ามีการแตกขาดและแรงควัตุลีสีดจางลง	สาหร่ายนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสาหร่ายไगेเจริญขึ้นมาใหม่	ความยาวของสาหร่ายไม่เพิ่มขึ้นและสาหร่ายยังคงสภาพสมบูรณ์	สาหร่ายมีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย
dilution 3	เกิดการงอกของสาหร่ายขึ้นใหม่จากเส้นเดิม, ลักษณะของเส้นสาหร่ายเส้นเก่ามีการแตกขาดและแรงควัตุลีสีดจางลง	สาหร่ายนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสาหร่ายไगेเจริญขึ้นมาใหม่	ความยาวของสาหร่ายไม่เพิ่มขึ้นและสาหร่ายยังคงสภาพสมบูรณ์	ความยาวของสาหร่ายไม่เพิ่มขึ้น
NPK dilution 1	ลักษณะของเส้นสาหร่ายมีการแตกขาดปล่อยแรงควัตุล่ออกมา, สาหร่ายเริ่มนำและหลุดออกจากก้อนหิน	สาหร่ายนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสาหร่ายไगेเจริญขึ้นมาใหม่	สาหร่ายเกิดการเน่าตาย	-
dilution 2	ลักษณะของเส้นสาหร่ายมีการแตกขาดปล่อยแรงควัตุล่ออกมา, สาหร่ายเริ่มนำ	สาหร่ายนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสาหร่ายไगेเจริญขึ้นมาใหม่	สาหร่ายเกิดการเน่าตาย	-
dilution 3	ลักษณะของเส้นสาหร่ายมีการแตกขาดปล่อยแรงควัตุล่ออกมา	สาหร่ายนำและหลุดออกจากก้อนหินและมีสาหร่ายไगेเจริญขึ้นมาใหม่	สาหร่ายเกิดการเน่าตาย	-

4.2.3.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในภาคสนาม ณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสาหร่ายไวกในภาคสนามนั้น ขั้นแรกจะรอผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกจากห้องปฏิบัติการแล้วจึงเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมนำมาเพาะเลี้ยงในภาคสนามต่อไป แต่ผลการทดลองระดับห้องปฏิบัติการไม่ได้ผลตามที่คาดหวังไว้ คณะวิจัยจึงคาดว่าองค์ประกอบทางกายภาพและเคมีในโหลแก้วอาจมีการเปลี่ยนแปลงเร็ว โดยเฉพาะในเรื่องของอุณหภูมิ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยงแบบน้ำวน ของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งเป็นบ่อที่มีความยาว 3 เมตร กว้าง 1 เมตร สูง 0.6 เมตร มีความจุประมาณ 2,200 ลิตร และมีใบพัดหมุนด้วยความเร็ว 18 รอบต่อนาที ซึ่งเป็นการเลียนแบบธรรมชาติคล้ายลักษณะน้ำไหลในแม่น้ำ สำหรับสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการถึงแม้ว่าสูตรอาหาร C และ JM จะให้ผลดีกว่าสูตรอาหารอื่น แต่ผลที่ได้ยังถือว่าน้อยเกินไป ประกอบกับต้นทุนของสูตรอาหารสองสูตรดังกล่าวมีราคาสูง คณะวิจัยจึงนำสูตรอาหารดังกล่าวไปใช้เฉพาะกับการเพาะเลี้ยงเพื่อเก็บสารพันธุกรรม นอกถิ่นกำเนิด

ส่วนสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงในภาคสนาม ในครั้งนี้ใช้สูตรอาหาร AARL-CMU1 ซึ่งพัฒนาโดยห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (Applied Algal Research Laboratory) ซึ่งเคยใช้ได้ผลมาแล้ว จากการเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการนี้ พร้อมกันนั้นได้นำ Soil water medium มาใช้อีกครั้ง ซึ่งแม้ว่าจะให้ผลจากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการไม่ดัดนัก แต่เป็นสูตรอาหารที่มีต้นทุนต่ำกว่าสูตรอาหารอื่นๆ และหวังว่าจะได้ trace elements และวิตามินจาก Soil water medium ซึ่งในสูตรอาหาร AARL-CMU1 ไม่มี

สูตรอาหาร AARL-CMU1 (ห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่)

NaHCO ₃	8.5	กรัมต่อลิตร
NaNO ₃	1.5	กรัมต่อลิตร
K ₂ HPO ₄	0.5	กรัมต่อลิตร
ปุ๋ย N:P:K สูตร 16:16:16	0.6	กรัมต่อลิตร

ในการเพาะเลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยงแบบน้ำวนนี้มีการทดลอง 2 ลักษณะ คือ

1. การเพาะเลี้ยงแบบธรรมชาติโดยใช้สาหร่ายไวกที่เจริญอยู่บนก้อนหินมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เตรียมขึ้นมา
2. การเพาะเลี้ยงแบบกระตุ้นสาหร่ายไวกให้สร้างซูโอสปอร์ โดยนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 12 °C (Lee, 1999)

1. การเพาะเลี้ยงแบบธรรมชาติ ใช้อาหาร 2 สูตร คือ สูตรอาหาร AARL-CMU1 ซึ่งลดความเข้มข้นลง 10 เท่า สลับกับอาหารสูตร Soil water medium

ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่ายไวก 3 แบบดังนี้คือ

1. นำสาหร่ายไวกในสภาพธรรมชาติ (เกาะกับก้อนหิน) มาเลี้ยงในบ่อ
2. ใช้ตาข่ายในลอนหุ้มสาหร่ายไวกให้ติดกับหิน
3. ปลอ่ยสาหร่ายไวกให้ลอยตามกระแสน้ำ

2. การเพาะเลี้ยงแบบกระตุ้นให้สร้างซูโอสปอร์ เป็นการกระตุ้นโดยใช้แสงและอุณหภูมิ เพื่อให้เกิดการสร้างซูโอสปอร์ ซึ่งได้แนวคิดมาจาก Lee (1999) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงทำการทดลองโดยนำสาหร่ายไวกและน้ำตัวอย่างที่เก็บมาจากลำน้ำน่าน บ่มไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 12 °C ในที่มืด 16 ชั่วโมง แล้วนำไปไว้ในที่มีแสงอุณหภูมิห้อง 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึงนำมาเลี้ยงในบ่อน้ำวนโดยใช้สูตรอาหาร AARL-CMU1 ซึ่งลด

ความเข้มข้นลง 10 เท่า เนื่องจากการใช้ สูตรอาหาร AARL-CMU1 มีความเข้มข้นสูงเกินไปกว่าความต้องการของ สาหร่ายโกดังได้กล่าวมาแล้ว

ภายในบ่อน้ำวนมีก้อนหินวางเรียงที่พื้นบ่อเพื่อใช้เป็นสิ่งยึดเกาะของสปอร์ ทำการเพาะเลี้ยงแบบ semi-continuous culture เติบโตอาหารเฉลี่ย 3-4 วันต่อครั้ง pH ให้อยู่ในช่วง 7 ± 1.0 ระดับน้ำสูง 20 เซนติเมตร ความเร็ว กระแสน้ำ 0.12 m.s^{-1} อุณหภูมิอากาศ $25.0 \pm 5.0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ความเข้มแสง $9,000 \pm 3,000$ ลักส์ ในเวลากลางวัน

การบันทึกผล

สังเกตการเจริญของสาหร่ายโก ทุก 2 สัปดาห์ โดยทำการวัดความหนาแน่น และความยาวของเส้นสาย สาหร่ายโก รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ ที่เกิดขึ้น

การศึกษาความหนาแน่นของสาหร่ายโกที่เจริญบนก้อนหิน

ทำการหาความหนาแน่นของสาหร่ายโก โดยใช้แผ่นพลาสติกทำเป็น quadrat ขนาด 4×4 เซนติเมตร ขนาดตารางย่อย 1×1 เซนติเมตร ทาบแผ่นพลาสติกดังกล่าวบนก้อนหินด้านที่ไม่ได้สัมผัสกับพื้นบ่อ จากนั้น คำนวณความหนาแน่นของสาหร่ายโกซึ่งขึ้นในพื้นที่ quadrat เป็นเปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

1. การเพาะเลี้ยงแบบธรรมดา

ใช้สูตรอาหาร AARL-CMU1 สลับกับ Soil water medium เพาะเลี้ยงสาหร่ายโกใน 3 สภาพ คือแบบที่เกาะกับก้อนหิน แบบที่ใช้ตาข่ายในลอนหุ้มสาหร่ายโกให้ติดกับหิน และแบบปล่อยให้สาหร่ายโกลอย ตามกระแสน้ำ (ภาพที่ 34 และ 35) มีผลการทดลองดังนี้

สัปดาห์ที่ 1 (วันที่ 1- 7)

หลังจากที่ใช้สูตรอาหาร AARL-CMU1 เป็นอาหารเลี้ยงนั้นได้ทำการตรวจวัด pH ของน้ำพบว่า pH อยู่ในช่วง 7-8 อุณหภูมิปล่อยให้ไปตามธรรมชาติ น้ำที่ใช้เลี้ยงในบ่อเริ่มมีสีเขียวขึ้นเนื่องจากมีแพลงก์ตอน ฟิชนิดอื่นเจริญขึ้นมาแต่น้ำยังใสอยู่

สาหร่ายโกที่ทำการเลี้ยงทั้งสามแบบเมื่อดูด้วยตาเปล่าพบว่ายังคงมีสีเขียวสดปกติดอยู่แต่เมื่อนำไปตรวจดู ด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าคลอโรพลาสต์เริ่มสลายไปซึ่งสาหร่ายโกพวกที่ลอยอิสระตามน้ำสลายไปมากที่สุด รองลงมาคือพวกที่เกาะติดหิน ส่วนพวกที่ถูกหุ้มด้วยตาข่ายในลอนพบว่าคลอโรพลาสต์สลายน้อยที่สุด

สัปดาห์ที่ 2 (วันที่ 8-14)

น้ำในบ่อมีสีเขียวเข้มขึ้นเนื่องจากแพลงก์ตอนฟิชนิดอื่นเจริญมาก จึงได้ทำการถ่ายน้ำเก่าออกครึ่งหนึ่ง แล้วเติมน้ำใหม่ให้มีปริมาณเท่าเดิม เติมน้ำ Soil water medium ในสัดส่วนที่เติมน้ำลงไป

การเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายโกที่ทำการเลี้ยงทั้งสามแบบ เมื่อดูด้วยตาเปล่าพบว่าสียังคงเขียวปกติ แต่ เมื่อนำมาตรวจดูได้กล้อง พบว่าสาหร่ายโกที่เลี้ยงไว้ทั้งสามแบบคลอโรพลาสต์เริ่มสลายมากขึ้น เส้นสายเริ่มตาย โดยพวกที่ลอยตามน้ำพบว่าคลอโรพลาสต์สลายมากที่สุด ส่วนพวกที่ใช้ตาข่ายในลอนหุ้มสาหร่ายโกให้ติดกับก้อน หินคลอโรพลาสต์สลายน้อยที่สุด

สัปดาห์ที่ 3 (วันที่ 15-21)

น้ำมีสีเขียวเนื่องจากการเจริญของแพลงก์ตอนฟิชนิดอื่น จึงถ่ายน้ำออกครึ่งหนึ่งแล้วเติมน้ำอาหารลงไป ใน สัดส่วนที่เติมน้ำ

การเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายโกเมื่อดูด้วยตาเปล่าพบว่าพวกที่ลอยปกติตายหมด ส่วนพวกที่เกาะตาม หินพบว่ามีสีเขียวเล็กน้อย ส่วนพวกที่ถูกหุ้มด้วยตาข่ายในลอนสียังคงเขียวอยู่ เมื่อนำมาตรวจดูได้กล้องพบว่า

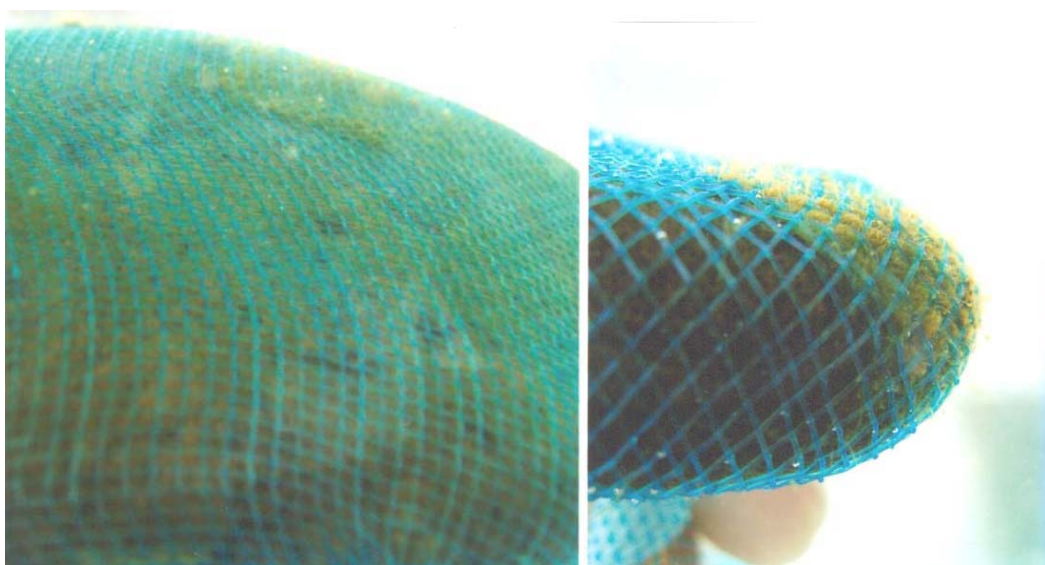
พวกที่เกาะอยู่บนหินคลอโรพลาสต์สลายไปแทบจะทุกเซลล์ พวกที่ถูกหุ้มด้วยตาข่ายไนลอน คลอโรพลาสต์สลายไปบ้างแต่ก็พบว่ายังมีอยู่และเส้นสายที่อยู่ในสภาพสมบูรณ์ยังมีปรากฏให้เห็น

สัปดาห์ที่ 4 (วันที่ 22-28)

ได้ทำการถ่ายเทน้ำออกครึ่งหนึ่งแล้วเติมน้ำใหม่ให้มีปริมาณเท่าเดิมส่วน แล้วเติมสารอาหาร Soil water medium ลงไปในสัดส่วนที่เติมน้ำ

การเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายไก่อื่อดูด้วยตาเปล่าพบว่าพวกที่เกาะตามหิน เส้นสายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่อนำมาตรวจดูใต้กล้องพบว่าคลอโรพลาสต์สลายไปหมด ส่วนพวกที่ถูกหุ้มด้วยตาข่ายไนลอนเริ่มมีเส้นสายงอกออกมาจนสังเกตเห็นได้ยาวประมาณ 1-2 มิลลิเมตร

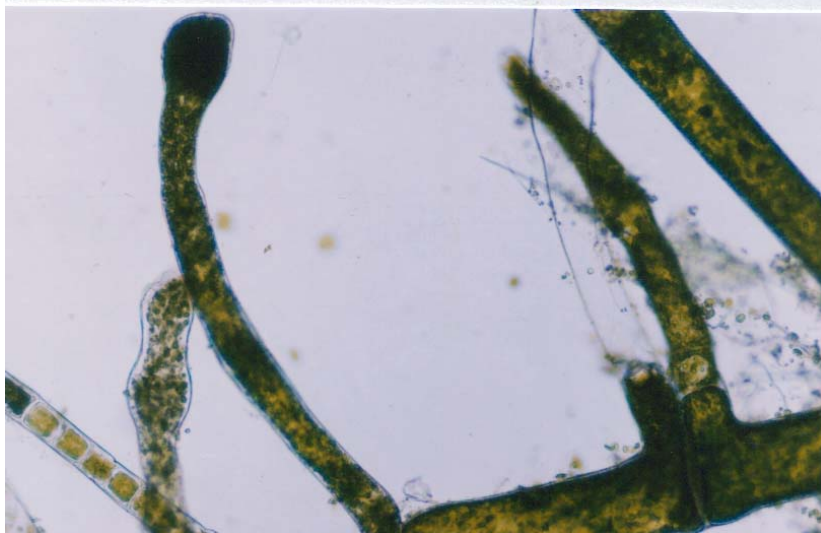
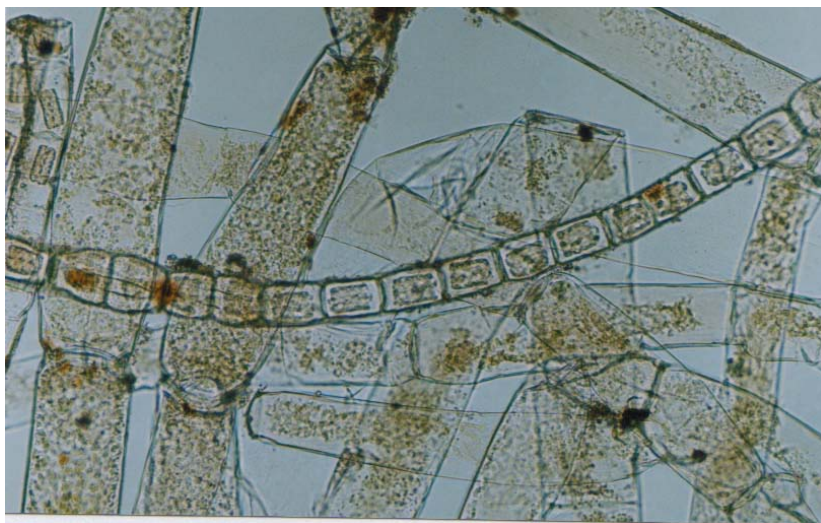
การเพาะเลี้ยงโดยใช้บ่อน้ำวนสามารถเพาะเลี้ยงสาหร่ายไก่อได้แต่ต้องนำสาหร่ายไก่อไปติดกับก้อนหินซึ่งจะใช้ตาข่ายไนลอนหุ้มเอาไว้ วิธีการนี้จะเจริญดีกว่าวิธีอื่น ๆ อาจเนื่องมาจากเมื่อสาหร่ายไก่อถูกยึดติดกับหินนั้นจะค่อย ๆ สร้างไฮลด์ฟาสต์ยึดเกาะกับก้อนหิน และลักษณะที่มีตาข่ายไนลอนหุ้มไว้นี้จะช่วยไม่ให้ทลัสส์สัมผัสกับน้ำที่ไหลตลอดเวลาซึ่งถือได้ว่าเป็นสิ่งแวดล้อมใหม่ ถึงแม้สาหร่ายจะเคยเจริญในน้ำไหลก่อนที่จะนำมาทดลอง แต่การเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากลำน้ำนานมาเลี้ยงที่เชียงใหม่ใช้เวลาในการเดินทางนาน ถึงแม้จะพยายามเก็บตัวอย่างอย่างดี แต่สาหร่ายก็บอบช้ำไปบ้าง เมื่อมาสัมผัสกับน้ำไหลโดยตรงจึงอาจเกิดอาการช็อค จึงทำให้สาหร่ายที่เลี้ยงโดยวิธีห่อหุ้มด้วยตาข่ายกลับเจริญได้ดีกว่าที่ปล่อยไปตามธรรมชาติ



ภาพที่ 34 สาหร่ายไก่อที่ถูกหุ้มด้วยตาข่ายไนลอน

(ซ้าย) เมื่อเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์

(ขวา) เมื่อเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์จะมีเส้นสายงอกออกมาจากหิน



ภาพที่ 35 ลักษณะเส้นสายของสาหร่ายไถที่เพาะเลี้ยงในบ่อน้ำวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์
 (บน) สาหร่ายไถที่เกาะก้อนหิน คลอโรพลาสต์บางส่วนยังติดอยู่
 (กลาง) สาหร่ายที่ลอยตามกระแสน้ำ คลอโรพลาสต์สลายไปเกือบหมด
 (ล่าง) สาหร่ายไถที่หุ้มด้วยตาข่ายไนลอน ยังมีคลอโรพลาสต์เห็นชัด

2. การเพาะเลี้ยงแบบกระตุ้นให้สร้างซีสปอร์

จากการที่ได้นำสาหร่ายไถไปทำการกระตุ้นให้เกิดการสร้างซีสปอร์จากนั้นนำไปเลี้ยงในบ่อน้ำวน โดยใช้สูตรอาหาร AARL-CMU1 โดยมีก้อนหินวางที่พื้นบ่อ จากการสังเกตผลการทดลองในระยะเวลา 7 เดือน ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 86 ภาพที่ 36

ตารางที่ 86 ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไถในภาศสนาแบบกระตุ้นให้สร้างซีสปอร์ ณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สัปดาห์ที่	ความหนาแน่นของสาหร่ายไถ (%)	ความยาวของเส้นสายของสาหร่ายไถ (เซนติเมตร)	การสังเกตการเจริญด้วยตาเปล่า
เม.ย. 47	2	20	เริ่มเห็นการงอกของสาหร่ายไถเป็นเส้นเล็กๆ บนก้อนหิน
	4	30	
พ.ค. 47	6	35	สาหร่ายมีความยาวเพิ่มขึ้น เริ่มสังเกตเห็นความแตกต่างของสาหร่ายไถทั้งสองชนิด โดย <i>Microspora</i> spp. จะเป็นเส้นสายเล็กๆ ไม่แตกแขนง แตกต่างจาก <i>Cladophora</i> spp. ที่เป็นเส้นสายหยาบ มีการแตกแขนง
	8	38	
มิ.ย. 47	10	40	มีการขาดหลุดของสาหร่ายไถ <i>Microspora</i> spp. และไปเกาะติดกับตาข่ายในลอนที่หุ้มก้อนหินบางก้อนไว้ แล้วเส้นสายมีความยาวขึ้น ส่วนสาหร่ายไถ <i>Cladophora</i> spp. ไม่มีการเจริญเพิ่มขึ้น
	12	40	
ก.ค. 47	14	40	
	16	38	
ส.ค. 47	18	37	สาหร่ายไถ <i>Microspora</i> spp. เส้นสายมีความยาวขึ้นอย่างชัดเจน สาหร่ายบางส่วนมีเส้นสายยาวกว่า 30 เซนติเมตร
	20	30	
ก.ย. 47	22	33	
	24	35	
ต.ค. 47	26	33	
	28	35	
พ.ย. 47	30	35	สาหร่ายไถ <i>Microspora</i> spp. เจริญช้าลง มีบางส่วนเริ่มตาย
	32	33	
ธ.ค. 47	30	30	สาหร่ายไถ <i>Microspora</i> spp. ส่วนใหญ่เริ่มตายลง มีเส้นสายใหม่เริ่มเจริญขึ้นจากก้อนหิน
	32	30	

ในช่วงเวลาทำการเพาะเลี้ยงพบว่าเมื่อผ่านไปสองสัปดาห์ก็สังเกตเห็นการเจริญขึ้นในบ่อเพาะเลี้ยง ทำให้ต้องมีการเปลี่ยนถ่ายอาหารเพาะเลี้ยงเป็นประจำ ทำให้น้ำมีความใส สาหร่ายได้รับแสงมากขึ้น แต่กลับพบว่าสาหร่ายไถบางส่วนตาย จึงอาจทำให้การเจริญของสาหร่ายไถไม่เพิ่มขึ้นมากเท่าที่ควร

ในเดือนที่ 1 (เมษายน 2547) พบว่าสาหร่ายไถ *Cladophora* spp. และ *Microspora* spp. มีการยึดเกาะกับก้อนหินและมีการงอกออกมาเล็กน้อย ยังไม่สามารถจำแนกสาหร่ายทั้งสองชนิดจากการมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ เนื่องจากเส้นสายมีขนาดเล็กมาก

ในเดือนที่ 2 (พฤษภาคม 2547) พบว่าสาหร่ายไถ *Cladophora* spp. และ *Microspora* spp. มีความยาวใกล้เคียงกัน คือประมาณ 1 เซนติเมตร สามารถจำแนกสาหร่ายทั้งสองชนิดจากการมองเห็นด้วยตาเปล่า

นอกจากนี้ยังสังเกตพบว่าสาหร่าย *Microspora* spp. บางส่วนเกิดการขาดหลุดเป็นท่อนๆ ในระหว่างที่ทำการถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อเก่า และเติมอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ และสาหร่ายที่ขาดหลุดเหล่านี้ได้ลอยไปติดกับก้อนหินที่มีตาข่ายในลอนหุ้มไว้ ซึ่งเป็นก้อนหินที่เคยใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไกลบ่อน้ำวนในรายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 3 แต่ไม่ประสบความสำเร็จ และยังคงวางไว้ที่พื้นบ่อน้ำวน เส้นสายของสาหร่ายไกล *Microspora* spp. ที่เกิดการขาดหลุดไป และได้งอกเป็นกระจุกติดกับตาข่ายในลอนที่หุ้มก้อนหิน ไม่ได้งอกโดยตรงจากพื้นที่ผิวบนก้อนหิน ทำให้ยากต่อการวัดความยาว และรายงานผล

ในเดือนที่ 3 (มิถุนายน 2547) พบว่าสาหร่ายไกล *Cladophora* spp. มีการเจริญบนก้อนหินหนาแน่นขึ้น แต่มีความยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่สาหร่ายไกล *Microspora* spp. ที่เกิดการขาดหลุดและไปเกาะกับก้อนหินที่มีตาข่ายในลอนหุ้มไว้ มีการงอกของเส้นสายเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน

ในช่วงเดือนที่ 4 (กรกฎาคม 2547) การเจริญของสาหร่ายคงที่ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก เนื่องจากในช่วงเดือนนี้เป็นฤดูฝน และมีฝนตกหนักต่อเนื่องอยู่เสมอ ทำให้ปริมาณแสงในช่วงวันสั้น การเจริญของสาหร่ายไกล *Cladophora* spp. หยุดชะงักลง แต่สาหร่ายไกล *Microspora* spp. มีการเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

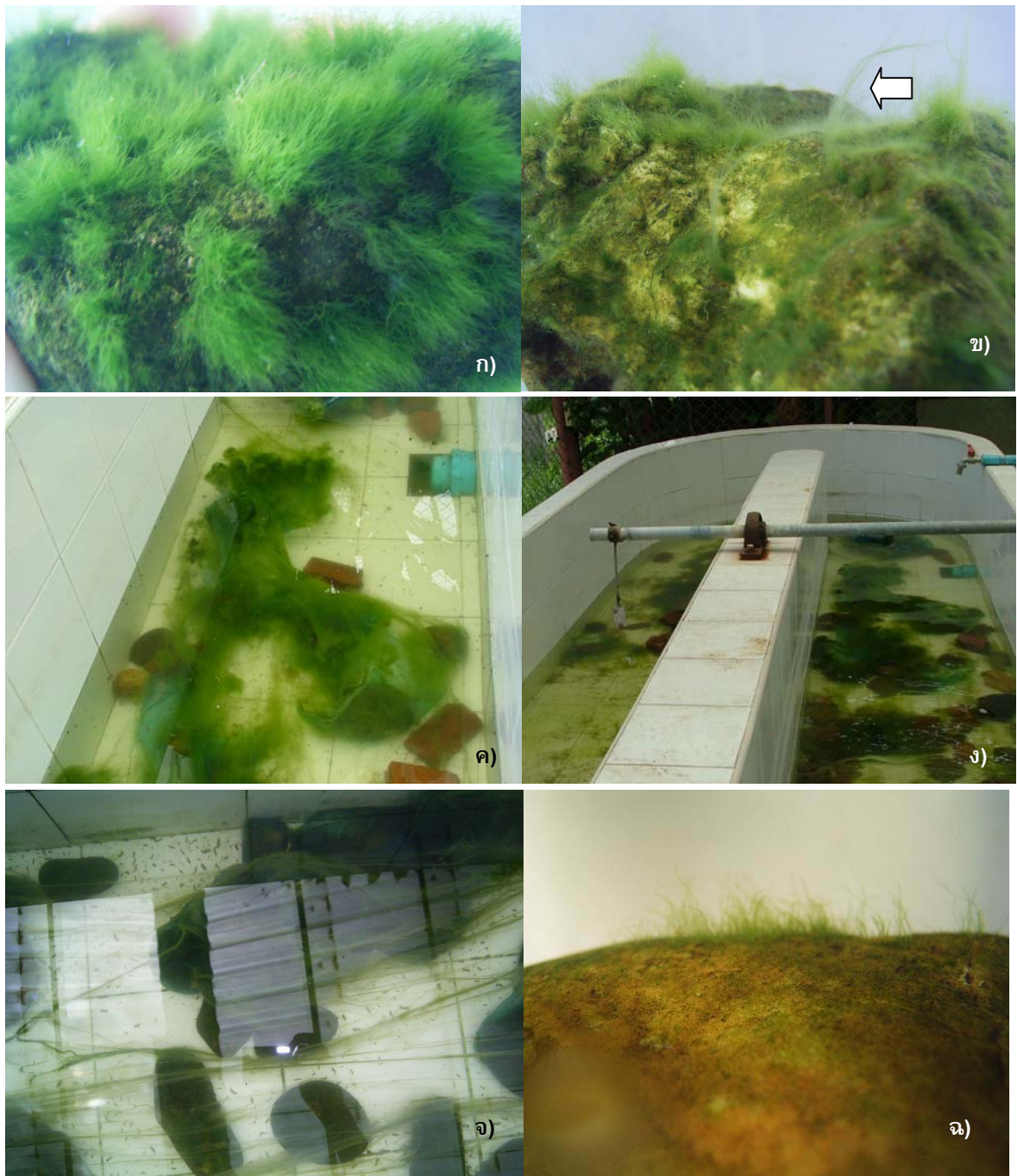
ในช่วงเดือนที่ 5-6 (สิงหาคมถึงกันยายน 2547) ฝนเริ่มตกทั้งช่วง ปริมาณแสงในช่วงกลางวันเริ่มเข้าสู่ภาวะปกติ สาหร่ายไกล *Microspora* spp. มีความยาวเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน จนถึงปลายเดือนกันยายนเข้าสู่เดือนตุลาคม (เดือนที่ 7) อุณหภูมิน้ำ และอุณหภูมิอากาศลดลง สาหร่ายไกล *Microspora* spp. มีความยาวกว่า 30 เซนติเมตร และความยาวของเส้นสายเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนกระทั่งเข้าสู่เดือนที่ 8 และเดือนที่ 9 (พฤศจิกายนถึงธันวาคม 2547) สาหร่ายส่วนใหญ่เริ่มตายลง แต่ก็ยังพบว่ามีเส้นสายสาหร่ายไกล *Microspora* spp. เส้นสั้นๆ งอกจากก้อนหินที่วางเรียงไว้ที่พื้นบ่อเพาะเลี้ยง และสังเกตได้ว่าเส้นสายมีการเจริญอย่างช้าๆ เหมือนในช่วงเดือนที่ 1-3 ของการทดลอง คล้ายกับการเริ่มวงจรชีวิตใหม่ โดยเส้นสายเดิมสร้างซูโอสปอร์ หรือไซโกสปอร์ แล้วงอกเป็นเส้นสายใหม่

4.2.3.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไกลในบ่อเพาะเลี้ยง ณ ลำน้ำน่าน จังหวัดน่าน

จากแนวความคิดที่ว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไกลเป็นงานวิจัยที่มีความสำคัญมาก สำหรับโครงการวิจัยเรื่องนี้ และสมควรที่จะนำองค์ความรู้ดังกล่าวนี้ถ่ายทอดให้กับชุมชนริมลำน้ำน่านที่มีอาชีพจำหน่ายผลิตภัณฑ์อาหารที่แปรรูปจากสาหร่ายไกล คณะผู้วิจัยจึงได้เสนอโครงการสร้างบ่อเพาะเลี้ยงแบบน้ำวนเพื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายไกลบริเวณริมลำน้ำน่านไปยัง สกว. ซึ่งได้สร้างขึ้นที่โรงเรียนบ้านหนองบัว โดยผู้อำนวยการโรงเรียนอนุมิตินำมาสร้างขึ้นในเวลาต่อมา

ลักษณะของบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายไกล (ภาพที่ 37) มีรายละเอียด ดังนี้

1. พัฒนาจากบ่อเพาะเลี้ยงต้นแบบที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เป็นบ่อน้ำวนที่มีความยาว 3 เมตร กว้าง 1 เมตร สูง 0.6 เมตร มีความจุประมาณ 2,200 ลิตร มุมทั้งสี่โค้งเพื่อให้กระแสไหลเวียนไปได้โดยไม่ปะทะกับมุมของบ่อ
2. ภายในบ่อมีใบพัดติดกับมอเตอร์ เพื่อให้น้ำไหลเวียน สามารถควบคุมความเร็วกระแสได้
3. หลังคาเป็นกระเบื้องใส เพื่อรับแสง และป้องกันน้ำฝนซึ่งจะทำให้องค์ประกอบทางกายภาพและเคมีในบ่อเพาะเลี้ยงเปลี่ยนแปลงไป
4. มีท่อน้ำเข้าซึ่งสูบน้ำมาจากลำน้ำน่านเข้าสู่บ่อเพาะเลี้ยง
5. มีท่อระบายน้ำออกจากบ่อเพาะเลี้ยง
6. มีจำนวน 3 บ่อ เพื่อสามารถทำการทดลองซ้ำในเวลาเดียวกัน



ภาพที่ 36 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไถในภาคสนาม ณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

- ก) สาหร่ายไถ *Cladophora* spp.
- ข) สาหร่ายไถ *Microspora* spp. (สรชี) และ *Cladophora* spp.
- ค), ง) สาหร่ายไถที่เจริญในบ่อน้ำวน ในเดือนที่ 6 มีเส้นสายยาวกว่า 30 เซนติเมตร
- จ) สาหร่ายไถ *Microspora* spp. บางส่วนเริ่มตายลง
- ฉ) เส้นสายสาหร่ายไถ *Microspora* spp. ที่ออกมาใหม่เมื่อบางส่วนตายลง



ภาพที่ 37 บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายไค ณ โรงเรียนบ้านหนองบัว ตำบลท่าวังผา อำเภوتاวังผา จังหวัดน่าน

วิธีการเพาะเลี้ยง

บ่อที่ 1 นำก้อนหินขนาด $6 \times 6 \times 2$ ซม. ซึ่งเป็นก้อนหินที่มาจากโรงโม่หินและไม่มีสารเคมีของสาหร่ายไคมาเรียงไว้ที่พื้นบ่อ จากนั้นได้ทำการสูบน้ำจากแม่น้ำน่านซึ่งคาดว่าจะมีสปอร์ของสาหร่ายไคลอยมา พักน้ำไว้ในบ่อเพาะเลี้ยงประมาณ 2 วันเพื่อให้สปอร์ของสาหร่ายไคได้เกาะติดอยู่บนก้อนหินแล้วจึงปล่อยน้ำทิ้ง ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยคาดว่าจะได้จำนวนสปอร์ของสาหร่ายไคมากพอ แล้วจึงปล่อยให้สปอร์งอกโดยเปิดใบพัดให้น้ำวนในบ่อเพาะเลี้ยง น้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงใช้น้ำจากแม่น้ำน่านโดยตรง

บ่อที่ 2 นำก้อนหินจากแม่น้ำน่านที่มีสาหร่ายไคเจริญยาวประมาณ 12 ± 2 เซนติเมตร ขึ้นมาเรียงไว้ที่พื้นบ่อ แล้วปล่อยให้เจริญตามธรรมชาติโดยใช้น้ำจากแม่น้ำน่าน โดยไม่เติมสารอาหารใดๆ เพิ่มเติม เปลี่ยนน้ำในกรณีที่น้ำขุ่นและเติมน้ำในกรณีที่น้ำแห้ง โดยเฉลี่ย 7 วันต่อครั้ง

บ่อที่ 3 นำก้อนหินจากแม่น้ำน่านที่มีสาหร่ายไคเจริญตัดให้เหลือความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร เพื่อให้ศึกษาความยาวที่อาจงอกออกมาได้ชัดเจนแล้วนำมาเรียงไว้ที่พื้นบ่อ จากนั้นปล่อยให้เจริญในบ่อน้ำวน โดยเปลี่ยนน้ำเมื่อน้ำขุ่น และเติมน้ำเมื่อน้ำแห้ง

ปล่อยให้เจริญตามธรรมชาติ บันทึกผลการเจริญทุก 7 วัน ความเข้มแสงอยู่ในช่วง $10,000 \pm 2,000$ lux ในเวลากลางวัน อุณหภูมิน้ำอยู่ในช่วง 25.0 ± 5.0 °C ความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วง 7 ± 1.0 อุณหภูมิอากาศอยู่ในช่วง 27.0 ± 3.0 °C ในเวลากลางวัน

ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคในบ่อเพาะเลี้ยงที่ลำน้ำน่าน จังหวัดน่าน

เนื่องจากการสร้างบ่อสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคในลำน้ำน่านได้แล้วเสร็จในราวปลายเดือนเมษายน จึงได้เริ่มต้นทำการทดลองในเดือนพฤษภาคม คณะวิจัยจึงได้ผลการวิจัยเพียงส่วนหนึ่ง แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าระยะเวลาการวิจัยตามโครงการจะสิ้นสุดลง แต่คณะวิจัยยังมีความตั้งใจที่จะติดตามผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคในบ่อเพาะเลี้ยงที่ลำน้ำน่านต่อไปจนกว่าจะได้ผลการวิจัยที่เป็นที่น่าพอใจ ผลการวิจัยในช่วงเวลาที่ผ่านมาแสดงในตารางที่ 87 ภาพที่ 38

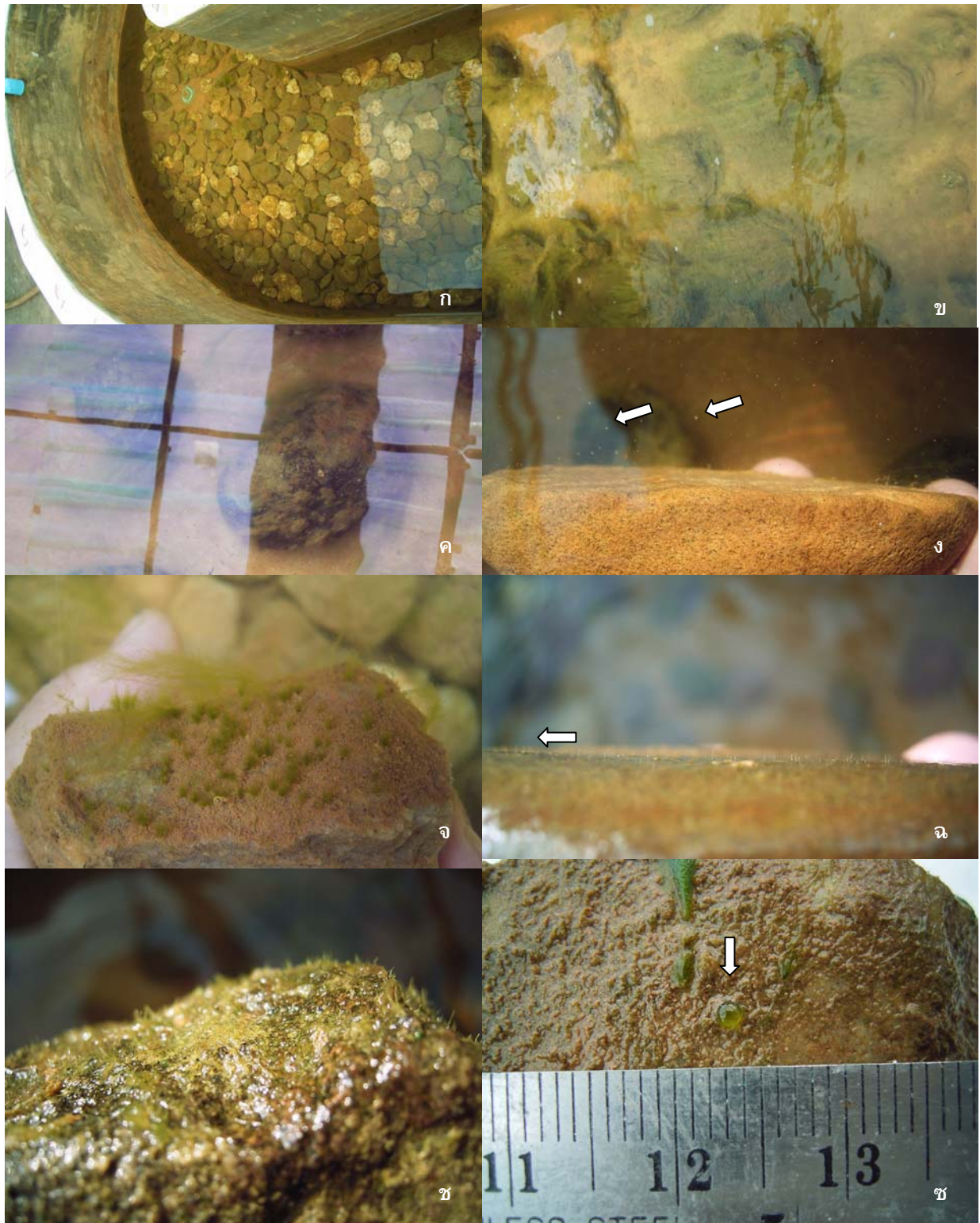
ตารางที่ 87 ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไถ่ในบ่อเพาะเลี้ยงที่ลำน้ำน่าน จังหวัดน่าน

สัปดาห์ที่	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 3
พ.ค. 48			
2	ไม่มีการเปลี่ยนแปลง	สีของสาหร่ายเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียว เป็นสีเหลืองในสัปดาห์ที่ 2 ของการวิจัย	สีของสาหร่ายเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียว เป็นสีเหลืองในสัปดาห์ที่ 2 ของการวิจัย
4	สาหร่ายมีการออกเป็นเส้นสายสั้นๆ	เส้นสายของสาหร่ายไถ่ส่วนใหญ่มีสีเหลือง และเริ่มมีการหลุดเป็นท่อนสั้นๆ แต่ส่วนใหญ่ยังเป็นเส้นสายยาว	สาหร่ายไถ่ส่วนใหญ่เปลี่ยนเป็นสีเหลือง เส้นสายเริ่มขาดหลุดจากก้อนหิน
มิ.ย. 48			
6	เริ่มสังเกตเห็นเส้นสายของสาหร่ายที่งอกออกมาได้แต่ยังไม่ชัดเจนนัก	สาหร่ายหลุดจากก้อนหินและตกตะกอนที่พื้นบ่อ	สาหร่ายหลุดจากก้อนหินและตกตะกอนที่พื้นบ่อ
8	ที่ก้อนหินพบเส้นสายสาหร่ายไถ่ยาวประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ส่วนก้อนหินบางก้อนโดยเฉพาะบริเวณขอบบ่อมีสาหร่ายเจริญยาวประมาณ 3-4 เซนติเมตร เมื่อนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเป็นสาหร่ายจีนัส <i>Draparnaldia</i> sp.	เส้นสายส่วนใหญ่ของสาหร่ายหลุดลอย และตกตะกอนที่พื้นบ่อ	เส้นสายส่วนใหญ่ของสาหร่ายหลุดลอย และตกตะกอนที่พื้นบ่อ
ก.ค. 48			
10	สาหร่ายไถ่ไม่มีการเจริญเพิ่มขึ้น และพบ	สาหร่ายไถ่ตายและเริ่มสังเกตเห็น	ก้อนหินบางส่วนมีการงอกใหม่ของ
12	การเจริญของสาหร่ายลอย <i>Nostochopsis</i> sp.	ก้อนหินบางส่วนมีสาหร่ายไถ่งอกขึ้นมาใหม่	สาหร่ายไถ่เป็นเส้นสายสั้นๆ ยาวประมาณ 4-5 มิลลิเมตร
ส.ค.-ก.ย. 48			
13-20	เนื่องจากมีฝนตกหนักในช่วงกลางเดือนสิงหาคม จนถึงกันยายน บ่อเพาะเลี้ยงถูกน้ำท่วม ทำให้ไม่สามารถบันทึกผลการทดลองได้ จึงต้องหยุดการวิจัยชั่วคราว		
ต.ค. 48			
22	ถ่ายน้ำออก โดยไม่มีการเคลื่อนย้ายก้อนหินเดิม จากนั้นทำการสูบน้ำจากแม่น้ำน่านเข้าสู่บ่อเพาะเลี้ยงทั้ง 3 บ่อ		
24	มีการเจริญของแพลงก์ตอนพืชเล็กน้อย	สังเกตเห็นก้อนหินบางส่วนมีสาหร่ายไถ่งอกขึ้นมาใหม่	
พ.ย. 48			
26	ไม่มีการเจริญของสาหร่ายไถ่	สาหร่ายไถ่มีความยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร	
28		สาหร่ายไถ่มีความยาวประมาณ 8-10 เซนติเมตร	

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไถ่ทั้งในห้องปฏิบัติการและในภาคสนามพบว่า การเลี้ยงในภาคสนามประสบความสำเร็จดีกว่า ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากระบบนิเวศในบ่อเลี้ยงสาหร่ายในภาคสนามมีขนาดใหญ่กว่าโหลแก้วที่ใช้เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จึงไม่ไว (sensitive) ต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพเท่าในโหลแก้ว หรืออาจจะพูดได้ว่าบ่อเลี้ยงสาหร่ายที่มีขนาดใหญ่มีความคล้ายคลึงสภาพธรรมชาติมากกว่าโหลแก้ว

ในด้านสูตรอาหาร พบว่าน้ำจากลำน้ำน่านเพียงอย่างเดียวก็มีสารอาหารพอจะเลี้ยงสาหร่ายไถ่ได้ เนื่องจากมีสารอาหารรวมถึง trace elements ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญของสาหร่ายไถ่อยู่พอเพียง แต่ถ้าจะให้สาหร่ายโตเร็วยิ่งขึ้นควรเติมสารอาหารราคาถูก เช่น สูตร AARL-CMU1 ลงไปเพียง 1 ใน 10 ของสูตรก็จะเร่งให้สาหร่ายเจริญได้เร็วขึ้น แต่ถ้าเป็นสาหร่ายไถ่ที่เจริญในลำน้ำอื่นก็มีแนวโน้มสามารถนำน้ำจากลำน้ำนั้นมาเลี้ยงได้เช่นเดียวกัน



ภาพที่ 38 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในบ่อเพาะเลี้ยงที่ลำนานาน

- | | |
|---|---|
| ก) บ่อเพาะเลี้ยงที่ 1 | ข) สาหร่ายไวกที่เส้นสายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองในบ่อเพาะเลี้ยงที่ 2 |
| ค) สาหร่ายไวกที่เส้นสายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองในบ่อเพาะเลี้ยงที่ 3 | ง) สาหร่ายที่หลุดลอยจากก้อนหิน (ศรีษี) |
| จ) สาหร่าย <i>Draparnaldia</i> sp. ที่งอกในบ่อเพาะเลี้ยง | ฉ) สาหร่ายไวกที่เจริญในบ่อเพาะเลี้ยงที่ 2 |
| ช) สาหร่ายไวกที่เจริญในบ่อเพาะเลี้ยงที่ 3 | ซ) สาหร่ายลอนที่เจริญในบ่อเพาะเลี้ยงที่ 1 |

สำหรับก้อนหินที่เป็นสิ่งยึดเกาะ ซึ่งซูโอสปอร์หรือไซโกสปอร์จะยึดเกาะอยู่นั้น ถ้าเป็นก้อนหินจากแหล่งน้ำที่มีสาหร่ายไคเจริญอยู่แล้วย่อมมีโอกาสที่ซูโอสปอร์และไซโกสปอร์จะสามารถงอกออกมาได้เร็ว เมื่อนำมาเลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยง แต่ถ้าจะใช้ก้อนหินจากที่อื่นซึ่งไม่มีเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายเหล่านี้เจริญอยู่ก็สามารถใช้เป็นสิ่งยึดเกาะได้ โดยการใส่ลงในบ่อเพาะเลี้ยงแล้ว เมื่อระบายน้ำจากแหล่งน้ำที่มีสาหร่ายไคเจริญอยู่ลงมา สปอร์ของสาหร่ายไคที่ปะปนมากับน้ำจากลำน้ำนั้นก็ยึดเกาะกับก้อนหินแล้วงอกเส้นสายออกมาใหม่แต่ต้องใช้เวลาานกว่าก้อนหินที่อยู่ในแหล่งน้ำนั้นอยู่แล้ว

สาหร่ายไคซึ่งมีอยู่ 2 จินส์คือ *Cladophora* spp. และ *Microspora* spp. พบว่าการเพาะเลี้ยง *Microspora* spp. ประสบความสำเร็จมากกว่า *Cladophora* spp. อาจจะเป็นเพราะว่า *Microspora* spp. เป็นเส้นสายที่ไม่แตกแขนงในขณะที่ *Cladophora* spp. เป็นเส้นสายที่แตกแขนงจึงใช้เวลานานกว่าในการแตกแขนงและเพิ่มจำนวนเซลล์เพื่อให้เส้นสายยืดยาวออกไป ในขณะที่ *Microspora* spp. ไม่ต้องใช้เวลาในการแตกแขนง เพียงแต่แบ่งเซลล์เพื่อให้เส้นสายยืดยาวออกไปเท่านั้น เราจึงพบว่าแม้ในธรรมชาติเอง สาหร่ายไคก็ประกอบไปด้วย *Microspora* spp. มากกว่า *Cladophora* spp. ราว 2 ใน 3 ส่วน

4.2.3.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคและสาหร่ายลอนเพื่อเก็บรวบรวมสารพันธุกรรมนอกถิ่นกำเนิดให้เป็นการถาวร

งานส่วนนี้เป็นงานที่เพิ่มเติมจากโครงร่างเดิม เนื่องจากทางสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) มีความต้องการให้คณะวิจัยพยายามเก็บรวบรวมสารพันธุกรรมนอกถิ่นกำเนิดของสาหร่ายไคและสาหร่ายลอนไว้เป็นการถาวร เพื่ออาจนำไปใช้ในโอกาสข้างหน้า ถ้าเกิดปรากฏการณ์ที่ทำให้สาหร่ายเหล่านี้สูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย หรืออาจนำไปศึกษาชีวโมเลกุล หรือศาสตร์ด้านอื่นๆที่จำเป็นต้องใช้สาหร่ายที่มีความบริสุทธิ์สูง

สูตรอาหาร การศึกษาครั้งนี้ สำหรับสาหร่ายไคใช้อาหาร 4 สูตร (ภาคผนวก) ได้แก่ สูตรอาหาร JM, BG-11, C และ CB

ส่วนสาหร่ายลอนจะใช้อาหารเพียงชนิดเดียวคือ BG-11 เนื่องจากเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคและลอนเพื่อเก็บสารพันธุกรรม มีวิธีการที่แตกต่างกันดังนี้คือ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคครั้งนี้จะแยกเลี้ยงระหว่าง *Cladophora glomerata* Kützinger และ *Microspora* sp. เนื่องจากเป็นการทดลองในลักษณะ microenvironment จึงสามารถแยกเส้นสายของสาหร่ายทั้ง 2 จินส์ได้

1. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไค

วิธีการ

เตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายไค 4 สูตร โดยเตรียมอาหารที่ความเข้มข้นต่างๆ ทั้งในอาหารเหลวและอาหารกึ่งแข็ง

การเตรียมอาหารเหลว

เตรียมอาหารทั้ง 4 สูตรให้มีความเข้มข้นเป็น 3 dilution ดังนี้

	อาหารสูตร JM, BG-11, C และ CB	น้ำกลั่น
Dilution 1 (เต็มสูตร)	100%	-
Dilution 2 (0.5 เท่า)	50%	50%
Dilution 3 (0.25 เท่า)	25%	75%

จากนั้นใส่อาหารแต่ละ dilution ลงในขวดฝาเกลียวขนาด 30 ml ปริมาตรขวดละ 10 ml ในแต่ละ dilution เตรียมการทดลอง 10 ข้าง นำไปนิ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ 1.5 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการทดลองต่อดังนี้

1. นำสาหร่ายไคแช่ใน 10 % ethyl alcohol เป็นเวลา 1 นาทีแล้วล้างน้ำกลั่นหลายๆครั้ง เพื่อฆ่าเชื้อและสิ่งสกปรกที่ติดมากับเส้นสาหร่าย (ในขั้นตอนนี้จะทำในตู้ laminar flow)

2. นำสาหร่ายไวก 1 เส้น ใส่ลงไปในเลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร ที่ dilution ที่ 1, 2 และ 3 รวม 12 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 10 ข้ว ปิดฝาขวดให้แน่น และวัดความยาวของเส้นสาหร่ายไวก ทำการจดบันทึก (ในขั้นตอนนี้จะทำในตู้ laminar flow)

3. นำไปวางบนเครื่องเขย่า ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 °C แสงจากหลอดไฟฟ้าฟลูออเรสเซนต์ความเข้มแสงประมาณ 2,000 ลักซ์ 10 ชั่วโมงต่อวัน ให้เหมือนกับอยู่ในสภาพธรรมชาติ ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 2 สัปดาห์ โดยบันทึกผลทุกสัปดาห์

การบันทึกผล

บันทึกการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสาหร่ายไวก โดยดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการชั่งน้ำหนักแห้งของสาหร่ายไวก

การเตรียมอาหารแข็ง

เตรียมอาหารทั้ง 4 สูตรให้มีความเข้มข้นเป็น 3 dilution เหมือนกับเตรียมอาหารเหลว จากนั้นเติมวุ้น(agar) 7 % ลงในอาหารทั้ง 4 สูตร นำไปต้มจนวุ้นใส เทลงในขวดขนาด 4 ออนซ์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ 1.5 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ในแต่ละ dilution จะเตรียมการทดลอง 10 ข้ว จากนั้นทำการทดลองดังนี้ (กิตติศักดิ์, 2546)

1. นำสาหร่ายไวกแช่ใน 10% ethyl alcohol เป็นเวลา 1 นาที แล้วล้างน้ำกลั่นหลายๆครั้ง เพื่อฆ่าเชื้อและสิ่งสกปรกที่ติดมากับเส้นสาหร่ายออกให้หมด (ในขั้นตอนนี้จะทำในตู้ laminar flow)

2. นำสาหร่ายไวก 1 เส้น วางใส่ลงไปในเลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร ที่ dilution ที่ 1, 2 และ 3 รวม 12 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 10 ข้ว ปิดฝาขวดให้แน่น และวัดความยาวของเส้นสาหร่ายไวก ทำการจดบันทึก (ในขั้นตอนนี้จะทำในตู้ laminar flow)

3. เลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 °C นำไปวางบนชั้นที่มีหลอดไฟฟ้าฟลูออเรสเซนต์ความเข้มแสงประมาณ 2,000 ลักซ์ 10 ชั่วโมงต่อวัน ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 2 สัปดาห์ โดยบันทึกผลทุกสัปดาห์

การบันทึกผล

บันทึกการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสาหร่ายไวก โดยดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการชั่งน้ำหนักแห้งของสาหร่ายไวก

2. วิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายลอน

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายลอนโดยใช้อาหารเหลวและอาหารกึ่งแข็ง BG-11 ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 1, 0.5 และ 0.25 เท่า

	อาหารสูตร BG-11	น้ำกลั่น
Dilution 1 (เต็มสูตร)	100%	-
Dilution 2 (0.5 เท่า)	50%	50%
Dilution 3 (0.25 เท่า)	25%	75%

จากนั้นใส่อาหารแต่ละ dilution ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 30 ml ปริมาตรขวดละ 50 ml ในแต่ละ dilution เตรียมการทดลอง 10 ข้ว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ 1.5 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการทดลองต่อไปนี้

1. นำสาหร่ายลอนแช่ใน 10 % ethyl alcohol เป็นเวลา 1 นาทีแล้วล้างน้ำกลั่นหลายๆครั้ง เพื่อฆ่าเชื้อและสิ่งสกปรกที่ติดมากับ สาหร่าย (ในขั้นตอนนี้จะทำในตู้ laminar flow)

2. นำสาหร่ายลอนประมาณ 0.1 กรัม ใส่ลงไปเลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร ที่ dilution ที่ 1, 2 และ 3 รวม 3 ชุด การทดลอง ชุดการทดลองละ 10 ข้ำ ปิดฝาขวดให้แน่น

3. นำไปวางบนเครื่องเขย่า ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 °C แสงจากหลอดไฟฟ้าฟลูออเรสเซนต์ความเข้มแสงประมาณ 2,000 ลักซ์ 10 ชั่วโมงต่อวัน ให้เหมือนกับอยู่ในสภาพธรรมชาติ ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 2 สัปดาห์ โดยบันทึกผลทุกสัปดาห์

วัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายลอนโดยการชั่งน้ำหนัก

การบันทึกผล

บันทึกการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสาหร่ายลอน โดยดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการชั่งน้ำหนักแห้งของสาหร่ายลอน ทุก 2 สัปดาห์ โดยนำสาหร่ายลอนอบในตู้อุณหภูมิประมาณ 50 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

การเตรียมอาหารแข็ง

เตรียมอาหารทั้ง 4 สูตรให้มีความเข้มข้นเป็น 3 dilution เหมือนกับเตรียมอาหารเหลว

จากนั้นเติมวัน 7 % ลงในอาหารทั้ง 4 สูตร นำไปต้มจนวันใส เทลงในขวดขนาด 4 ออนซ์ นำไปนิ่งฆ่าเชื้อในหม้อน้ำความดันไอน้ำ 1.5 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ในแต่ละ dilution จะเตรียมการทดลอง 10 ข้ำ จากนั้นทำการทดลองดังนี้ (กิตติศักดิ์, 2546)

1. นำสาหร่ายลอนแช่ใน 10% ethyl alcohol เป็นเวลา 1 นาที แล้วล้างน้ำกลั่นหลายๆครั้ง เพื่อฆ่าเชื้อและสิ่งสกปรกที่ติดมากับเส้นสาหร่ายออกให้หมด (ในขั้นตอนนี้จะทำในตู้ laminar flow)

2. นำสาหร่ายลอนประมาณ 0.1 กรัมวางใส่ลงไปเลี้ยงในอาหารทั้ง 4 สูตร ที่ dilution ที่ 1, 2 และ 3 รวม 12 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 10 ข้ำ ปิดฝาขวดให้แน่น

3. เลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 °C นำไปวางบนชั้นที่มีหลอดไฟฟ้าฟลูออเรสเซนต์ความเข้มแสงประมาณ 2,000 ลักซ์ 10 ชั่วโมงต่อวัน ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 2 สัปดาห์ โดยบันทึกผลทุกสัปดาห์

การบันทึกผล

บันทึกการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสาหร่ายลอน โดยดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการชั่งน้ำหนักแห้งของสาหร่ายลอน ทุก 2 สัปดาห์ โดยอบในตู้อุณหภูมิประมาณ 50 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ผลการทดลอง

1. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไก่อ

1.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไก่อในอาหารเหลว

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายไก่อในอาหารเหลวแล้วทำการวัดความยาวทุก 1 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ การเจริญของสาหร่ายไก่อไม่ค่อยดีนัก ต้องทำการลงเชื้อสาหร่ายใหม่ทุกสัปดาห์เนื่องจากสาหร่ายเกิดการตายขึ้น อันอาจมีสาเหตุมาจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมเนื่องจากออกซิเจนไม่เพียงพอเพราะขวดมีขนาดเล็กเกินไป และสาหร่ายไก่อต้องการสิ่งยึดเกาะ แต่ในอาหารเหลวนี้อาจไม่มีสิ่งยึดเกาะ ดังนั้นการเลี้ยงในสภาพที่ให้อาหารเหลวในขวดขนาดเล็กนี้จึงไม่ประสบความสำเร็จ

1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไก่อในอาหารแข็ง

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายไก่อในอาหารแข็ง พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงสาหร่ายไก่อได้ 2 สปีชีส์ คือ *Cladophora glomerata* และ *Microspora* sp. พบว่า *Cladophora glomerata* สามารถเจริญได้ดีในอาหารแข็ง สูตร JM ความเข้มข้น 0.5 เท่าได้ดีกว่าอาหารแข็งสูตรอื่นๆ ส่วน *Microspora* sp. สามารถเจริญได้ดีในอาหาร

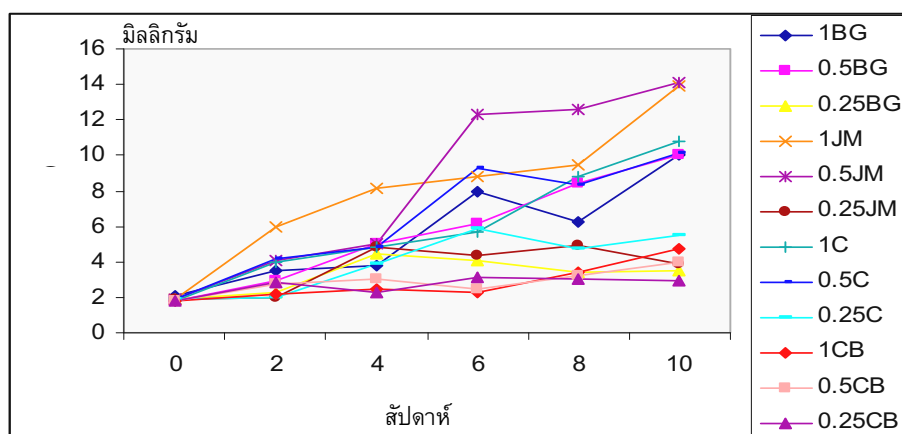
เชื้อสูตร JM ความเข้มข้น 0.5 เท่าได้ดีกว่าอาหารเชื้อสูตรอื่นๆ เปรียบเทียบโดยการชั่งน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 88 – 89 ภาพที่ 39 และ 40

ตารางที่ 88 การเจริญของสาหร่ายไก่อ *Cladophora glomerata* ในอาหารแข็งความเข้มข้นต่างๆ คิดเป็นน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม)

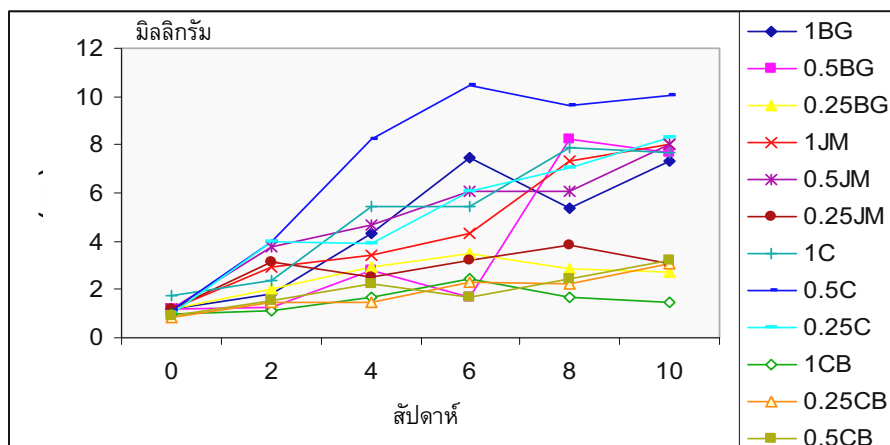
สัปดาห์ที่	สูตรอาหาร											
	BG ความเข้มข้น (เท่า)			JM ความเข้มข้น (เท่า)			C ความเข้มข้น (เท่า)			CB ความเข้มข้น (เท่า)		
	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25
0	2.05	1.8	1.9	1.9	1.9	1.9	1.8	1.9	1.9	1.8	1.8	1.8
2	3.55	2.9	2.3	6	4.05	2	4	4.15	1.95	2.2	2.7	2.8
4	3.75	5.05	4.45	8.1	5	4.8	4.8	4.8	3.9	2.45	3	2.25
6	7.91	6.15	4.05	8.8	12.3	4.4	5.65	9.25	5.9	2.25	2.45	3.1
8	6.25	8.45	3.45	9.45	12.6	4.9	8.85	8.3	4.7	3.45	3.25	3
10	10	10	3.55	13.95	14.15	3.9	10.8	10.15	5.5	4.75	4	2.9

ตารางที่ 89 การเจริญของสาหร่ายไก่อ *Microspora* sp. ในอาหารแข็งความเข้มข้นต่างๆ คิดเป็นน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม)

สูตรอาหาร	BG ความเข้มข้น (เท่า)			JM ความเข้มข้น (เท่า)			C ความเข้มข้น (เท่า)			CB ความเข้มข้น (เท่า)		
	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25
0	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.75	1.15	1	1	0.9	0.805
2	1.8	1.25	2	2.9	3.75	3.15	2.4	3.95	4	1.1	1.55	1.5
4	4.3	2.8	2.95	3.45	4.65	2.5	5.41	8.2	3.9	1.65	2.2	1.45
6	7.5	1.65	3.5	4.3	6.05	3.2	5.42	10.45	6.1	2.45	1.65	2.3
8	5.35	8.25	2.85	7.3	6.05	3.85	7.85	9.6	7.05	1.65	2.45	2.2
10	7.35	7.7	2.75	8.05	8.05	3.1	7.65	10.05	8.3	1.45	3.2	3.1



ภาพที่ 39 การเจริญของสาหร่ายไก่อ *Cladophora glomerata* ในสูตรอาหารความเข้มข้นต่างๆ คิดเป็นน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม)



ภาพที่ 40 กราฟแสดงการเจริญของสาหร่ายไวก *Microspora* sp. ในสูตรอาหารความเข้มข้นต่างๆ คิดเป็นน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม)

2. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายลอน

2.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายลอนในอาหารเหลว

จากการทดลองพบว่าสาหร่ายลอนสามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลวสูตร BG-11 ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เท่า ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 90 โดยลักษณะการเจริญจะฟอร์มตัวเป็นเมือกก่อนกลม

ตารางที่ 90 การเจริญของสาหร่ายลอน *Nostochopsis lobatus* ในอาหารแข็งสูตรอาหาร BG ความเข้มข้นต่างๆ คิดเป็นน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม)

สัปดาห์ที่	ความเข้มข้น (เท่า)		
	1	0.5	0.25
0	2.05	2.33	1.9
2	2.67	2.9	2.3
4	4.56	5.05	3.11
6	6.23	6.15	3.76
8	6.77	8.45	4.23
10	7.86	11.14	5.05

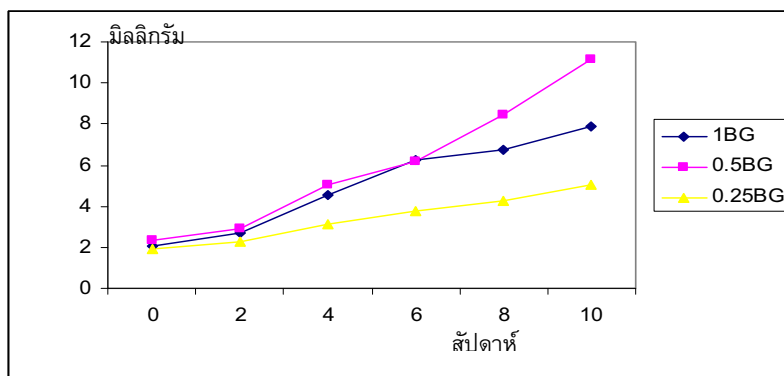
4.2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายลอนในอาหารแข็ง

จากการทดลองพบว่าสาหร่ายลอนสามารถเจริญได้ดีในอาหารแข็งสูตร BG-11 ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เท่า ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 41 เช่นเดียวกับในอาหารเหลว โดยลักษณะการเจริญจะฟอร์มตัวเป็นเมือกและสร้างเมือกมากกว่าการเลี้ยงในอาหารเหลว

การทดสอบการรอดชีวิตของสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอนที่เก็บรักษาด้วยวิธี Lyophilization

การทดสอบการรอดชีวิตของสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอน โดยการเก็บรักษาสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอน ด้วยวิธี Lyophilization (Jennings, 1989) และตรวจสอบความสามารถในการรอดชีวิต ทุก 2 เดือน เป็นเวลา 1 ปี โดยนำสาหร่ายมาเลี้ยงในอาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุดคือในสาหร่ายไวก *Cladophora glomerata* เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร JM ความเข้มข้น 0.5 เท่า *Microspora* sp. เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร C ความเข้มข้น 0.5 เท่า และสาหร่ายลอน *Nostochopsis lobatus* เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร BG-11 ความเข้มข้น 0.5 เท่า ภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 °C นำไปวางบนชั้นที่มีหลอดไฟฟ้าฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสงประมาณ 2,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน จากการ

ทดสอบการรอดชีวิตของสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอนที่เก็บรักษาด้วย Lyophilization สาหร่ายไวกและลอนยังสามารถเจริญได้ในอาหารสูตรที่เหมาะสมเมื่อเก็บรักษาด้วยวิธี Lyophilization แล้ว 6 เดือน

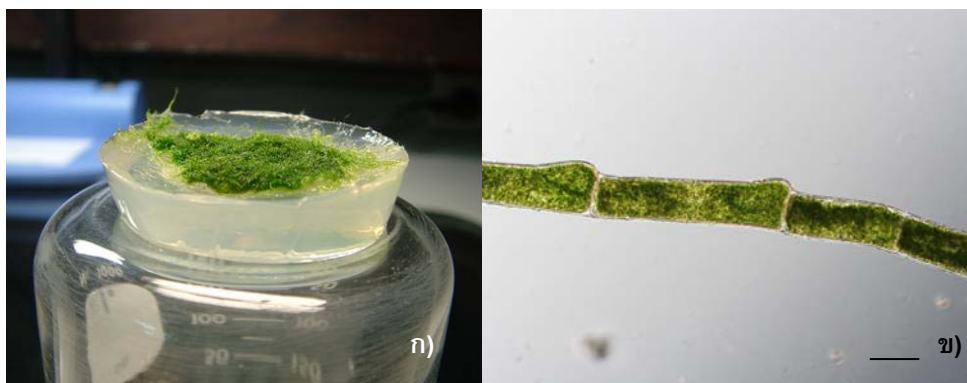


ภาพที่ 41 กราฟแสดงการเจริญของสาหร่ายลอน *Nostochopsis lobatus* ในสูตรอาหารความเข้มข้นต่างๆ คิดเป็นน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม)

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอนเพื่อเก็บรวบรวมสารพันธุกรรมนอกถิ่นกำเนิดให้เป็นการถาวรพบว่าประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี โดยเฉพาะในอาหารแข็ง ในสาหร่ายไวก *Cladophora glomerata* สามารถเจริญได้ดีในสูตรอาหาร JM ความเข้มข้น 0.5 เท่า (ภาพที่ 42 และ 43) รองลงมาคือ JM ความเข้มข้น 1 เท่า และสูตรอาหาร C ความเข้มข้น 0.5 เท่า โดยพบที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ระหว่าง JM ความเข้มข้น 0.5 เท่า กับอาหารสูตรอื่นๆ ส่วนการเจริญของ *Microspora* sp. พบว่าสามารถเจริญได้ดีในสูตรอาหาร C ความเข้มข้น 0.5 เท่า (ภาพที่ 44) รองลงมาคือ JM ความเข้มข้น 0.5 เท่า, BG-11 และ C ความเข้มข้น 1 เท่า โดยพบที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ระหว่าง C และ JM ความเข้มข้น 0.5 เท่ากับอาหารสูตรอื่นๆ และพบว่าทั้ง *Cladophora glomerata* และ *Microspora* sp. จะเจริญได้น้อยมากในอาหารสูตร CB ทั้ง 3 ความเข้มข้นคือ 1, 0.5 และ 0.25 เท่า เนื่องมาจากค่า pH ที่สูงเกินไป และที่ความเข้มข้น 0.25 เท่าของอาหารทั้ง 4 สูตร การเจริญของ *Cladophora glomerata* และ *Microspora* sp. พบว่ามีการเจริญน้อยเช่นกัน เพราะสารอาหารถูกเจือจางลงมากเกินไป ทำให้สารอาหารไม่เพียงพอต่อการเจริญ ส่วนสาหร่ายลอน *Nostochopsis lobatus* เจริญได้ดีในสูตรอาหาร BG-11 ทั้งใน ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เท่า (ภาพที่ 45) โดยใน ความเข้มข้น 1 เท่า เจริญได้รวดเร็วกว่า แต่ใน ความเข้มข้น 0.5 เท่าเจริญช้ากว่าก็จริงแต่ยังคงความมีชีวิตได้นานกว่า สังเกตได้จากความเขียวของสาหร่ายลอนใน สูตรอาหาร BG-11 ความเข้มข้น 0.5 เท่า จะเขียวนานกว่า ความเข้มข้น 1 เท่า ในการเจริญ สาหร่ายลอนฟอร์มตัวเป็นเมือกคล้ายในธรรมชาติ

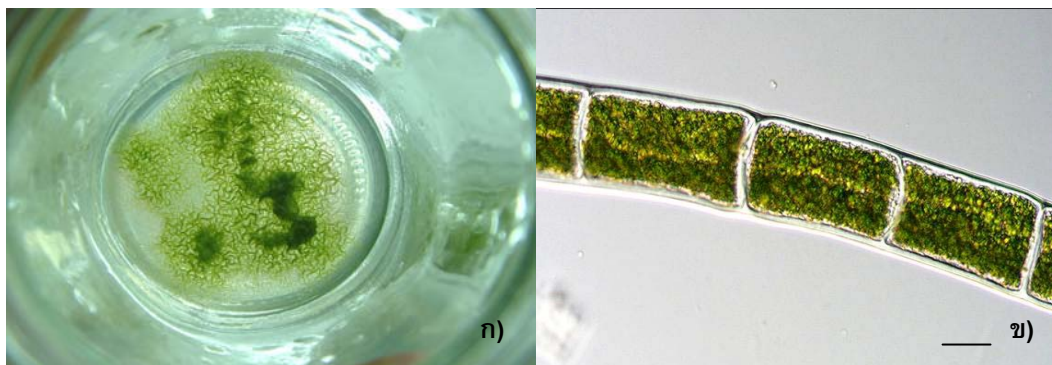


ภาพที่ 42 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารแข็งสูตรต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ



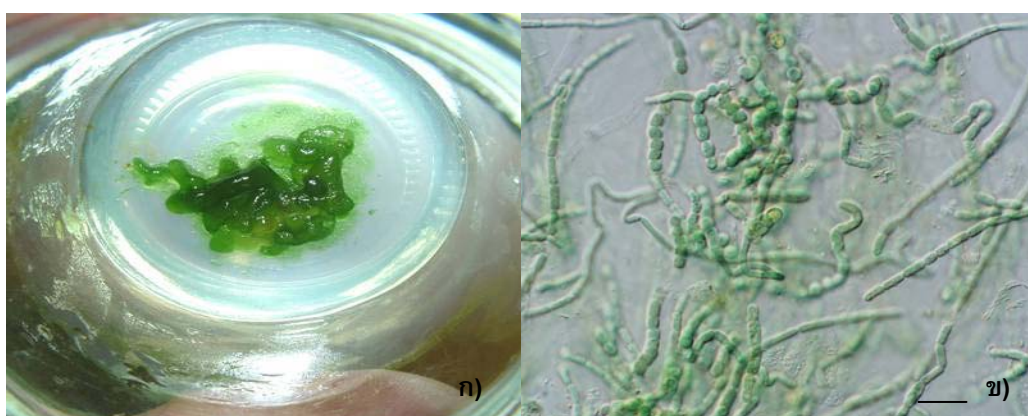
Scale bar = 10 μ m

ภาพที่ 43 ก) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไถ่ *Cladophora glomerata* ในอาหารแข็งสูตร JM 0.5 เท่า
ข) เส้นสายของสาหร่ายไถ่ *Cladophora glomerata* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์



Scale bar = 10 μ m

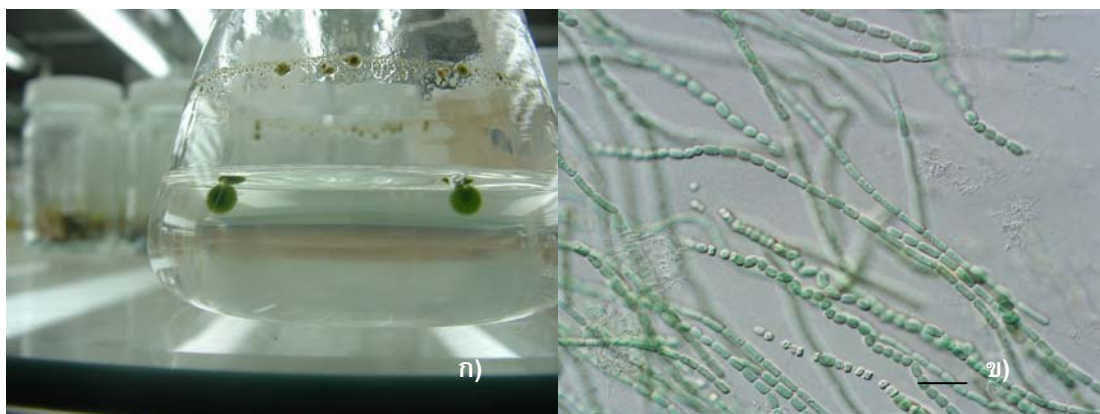
ภาพที่ 44 ก) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไถ่ *Microspora* sp. ในอาหารแข็งสูตร C 0.5 เท่า
ข) เส้นสายของสาหร่ายไถ่ *Microspora* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์



Scale bar = 10 μ m

ภาพที่ 45 ก) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายลอน *Nostochopsis lobatus* ในอาหารกึ่งแข็งสูตร BG-11
ความเข้มข้น 0.5 เท่า
ข) เส้นสายของสาหร่ายลอน *Nostochopsis lobatus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ในอาหารเหล่านั้นพบว่าสาหร่ายลอนสามารถเจริญได้ในสูตรอาหาร BG-11 ทั้งในความเข้มข้น 0.5 และ 1 เท่า โดยฟอร์มเป็นเมือกคล้ายกับในธรรมชาติ (ภาพที่ 46) และเนื่องจากว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายลอนในอาหารเหลวทำใน ฟลาสขนาดเล็ก จึงทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตและฟอร์มตัวเป็นก้อนข้นๆ ซึ่ง Lui (2005, ดัดต่อส่วนตัว) ได้แนะนำว่าควรใช้ bioreactor ขนาดใหญ่ ความจุราว 10 ลิตร ให้อากาศอย่างสม่ำเสมอ และเลี้ยงแบบปราศจากเชื้อจะสามารถเลี้ยง *Nostochopsis* sp. จนสามารถฟอร์มโคโลนีเป็นวัฒนธรรมชนิดได้ ส่วนสาหร่ายไก่อเจริญได้ไม่ดีในสูตรอาหารทุกสูตร ซึ่งอาจเป็นเพราะสาหร่ายไก่อต้องการ สิ่งยึดเกาะในการยึดเกาะ ซึ่งในอาหารเหลวไม่มีสิ่งยึดเกาะใดๆ สาหร่ายไก่อจึงเจริญได้ไม่ดี



Scale bar = 10 μ m

ภาพที่ 46 ก) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายลอน *Nostochopsis lobatus* ในอาหารกึ่งแข็งสูตร BG-11 ความเข้มข้น 0.5 เท่า
ข) เส้นสายของสาหร่ายลอน *Nostochopsis lobatus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การเปลี่ยนอาหารใหม่นั้นพบว่าระยะเวลานานสุดที่ควรเปลี่ยนคือ 1 เดือน แต่การเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์จะช่วยให้สาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอนคงความมีชีวิตที่ดีมาก คณะวิจัยมั่นใจว่าสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอนที่ได้ทำการเก็บสารพันธุกรรมไว้นี้จะสามารถนำไปศึกษาต่อไปได้ทั้งทางด้านพันธุกรรม ชีววิทยาโมเลกุล รวมถึงการขยายพันธุ์เพื่อให้เกิดการเจริญต่อไปคล้ายธรรมชาติ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอนในงานวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จพอสมควร โดยเฉพาะในระดับห้องปฏิบัติการและการเพาะเลี้ยงเพื่อเก็บสารพันธุกรรมนอกถิ่นกำเนิด แต่การเลี้ยงเลียนแบบธรรมชาติเพื่อให้ได้ปริมาณในการนำมาใช้แปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารในช่วงที่ไม่มีสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอนในลำน้ำนั้น ยังได้สาหร่ายน้อยและใช้เวลานานเกินไป จึงยังไม่สมควรที่จะเผยแพร่สู่ชุมชน อย่างไรก็ตามสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงได้มีปริมาณมากพอสำหรับการศึกษาทางด้านการใช้เป็นตัวยา การสกัดสารชีวภาพ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือการศึกษาทางด้านชีวโมเลกุล คณะวิจัยได้รับองค์ความรู้สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอนมากพอสมควร และมีแนวคิดว่าจะมีการศึกษาต่อยอดในเรื่องนี้ต่อไป เพื่อให้ได้รับความสำเร็จมากกว่างานวิจัยนี้ ความรู้พื้นฐานจากงานวิจัยนี้จะเป็นรากฐานในการศึกษาให้ประสบความสำเร็จต่อไป ทั้งนี้เพื่อให้บรรลุจุดประสงค์ที่จะให้ชุมชนมีสาหร่ายใช้เพื่อการแปรรูปอาหารหรือการใช้เป็นตัวยาในอนาคตในช่วงเวลาที่ไม่ได้มีสาหร่ายในลำน้ำเดิม

4.3 ศักยภาพของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในการนำมาเป็นตัวยารักษาโรค และการผลิตสารชีวภาพ

4.3.1 ศึกษาการใช้สาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในการนำมาเป็นตัวยารักษาโรคจากภูมิปัญญาชาวบ้าน

จากการสัมภาษณ์และสอบถามผู้นำชุมชนและชาวบ้านทั่วไปได้ทราบว่า มีเฉพาะสาหร่ายลอน หรือองลอน หรือดอกหินที่ชาวบ้านนำมารับประทานแก้ร้อนในหรือแก้ไข้ วิธีรับประทานก็ทำได้ไม่ยากโดยการเก็บสาหร่ายลอนมาจากธรรมชาติล้างน้ำให้สะอาดแล้วใส่เกลือลงไปเล็กน้อยคนให้เข้ากันแล้วดื่ม ซึ่งความเป็นเมือกหรือวุ้นของสาหร่ายประเภทนี้จะทำให้สามารถกลืนได้ง่าย

มีการกล่าวถึงสาหร่ายไถว่าช่วยให้โรคกระเพาะอาหารทุเลาลงได้มาก โดยนายสุธี สนิทพจน์ ผู้อำนวยการโรงเรียนหนองบัวพิทยาคม ได้กล่าวถึงเรื่องนี้ว่าตนเองเป็นโรคกระเพาะอาหารมานาน เมื่อย้ายมาเป็นผู้อำนวยการโรงเรียนดังกล่าว ได้มีโอกาสรับประทานสาหร่ายไถ เกือบทุกวันในฤดูที่ไถเจริญในลำน้ำนาน โดยทานไถสด ในรูปแบบต่างๆ เช่น ยำไถ และห่อหนึ่งไถ มีความรู้สึกโรคกระเพาะอาหารดีขึ้นอย่างมากโดยไม่ต้องใช้ยาแผนปัจจุบัน (สุธี, 2544; ติดต่อบุคคล)

4.3.2 ศึกษาฤทธิ์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและสารสกัดทางชีวภาพจากสาหร่ายไถและสาหร่ายลอน

4.3.2.1 ศึกษาฤทธิ์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากสาหร่ายไถและสาหร่ายลอน

ทำการตรวจสอบสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสาหร่ายไถและสาหร่ายลอน โดยตรวจสอบสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งระบบภูมิคุ้มกันสารน้ำ (Humoral Mediated Immunity; HMI or antibody) และระบบภูมิคุ้มกันฟั้งเซลล์ (Cell Mediated Immunity; CMI or mainly lymphocytes) โดยใช้ crude extract จาก methanol โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. หลักการและวิธีการตรวจสอบสารมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน

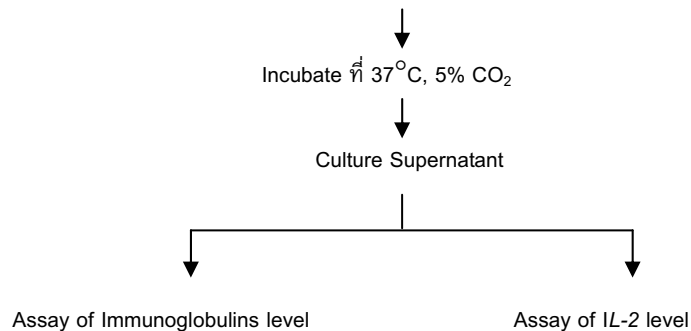
นำ crude extract จาก methanol มาผสมกับ human peripheral blood mononuclear leukocytes (human PBML) โดยใช้ความเข้มข้นขนาดต่าง ๆ ของ crude extract เติมสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในระดับ suboptimal concentration ทำการอบเซลล์ดังกล่าวที่ 37°C, 5% CO₂ incubator ในระยะเวลาที่กำหนด นำสารละลายที่ได้มาตรวจหาระดับ immunoglobulins ถ้าเป็นภูมิคุ้มกันระบบ HMI หรือตรวจหาระดับ IL-2 ถ้าเป็นภูมิคุ้มกันระบบ CMI

1.1 การเตรียม Crude methanol extract



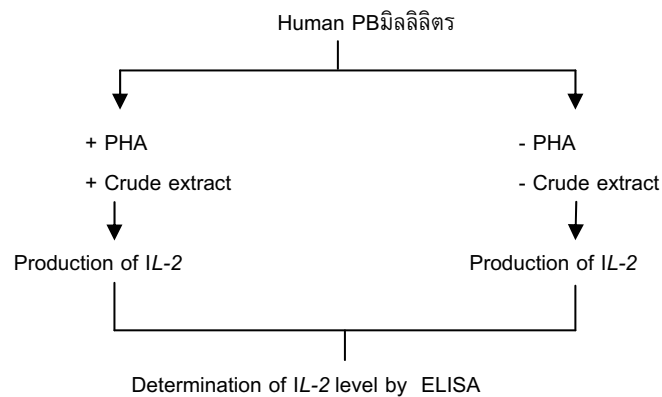
1.2 การตรวจสอบฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน

Human PB มิลลิลิตร + Crude extract ในความเข้มข้นต่าง ๆ + Sub-optimal dose ของตัวกระตุ้น



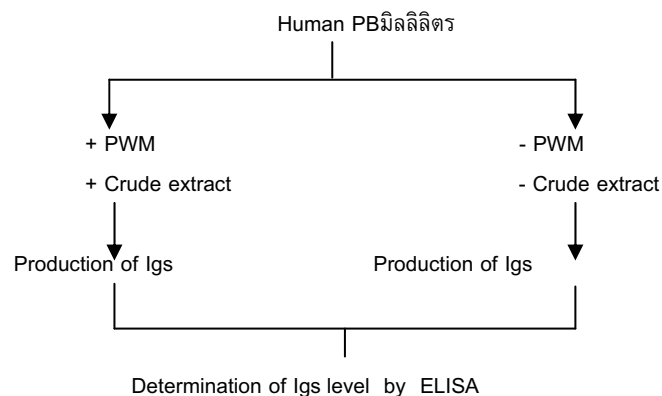
2. การตรวจสอบฤทธิ์กระตุ้นระบบ CMI

ใช้ระดับของ interleukin 2 (IL-2) เป็นตัวบ่งบอกถึงภาวะการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิด CMI ทำโดยใช้ human PB มิลลิลิตร ผสมกับ crude extract ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ และ suboptimal dose ของ PHA หลังจากบ่มที่ 37 °C, 5% CO₂ นาน 24 ชั่วโมง นำมาปั่นแยก culture supernatant นำไป assay หาระดับ IL-2 โดยวิธี ELISA



3. การตรวจสอบฤทธิ์กระตุ้นระบบ HMI

ใช้ระดับของ immunoglobulins (Igs) เป็นตัวบ่งบอกถึงภาวะการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิด HMI ทำโดยใช้ human PB มิลลิลิตร ผสมกับ crude extract ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กับ suboptimal dose ของ PWM หลังจากบ่มที่ 37 °C, 5% CO₂ นาน 7 วัน นำมาปั่นแยก culture supernatant เพื่อนำไป assay หาระดับ Igs โดยวิธี ELISA



ผลการวิจัย

จากการศึกษาการสกัดสารจากสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอนเพื่อใช้เป็นสารเพิ่มภูมิคุ้มกัน ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งระบบ HMI และ CMI ของคน โดยใช้สาหร่ายไวก สาหร่ายลอน และสาหร่ายทะเลบางชนิด ได้ผลดังนี้

- ในสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอนไม่พบว่ามีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งชนิด HMI และ CMI
- ในสาหร่ายทะเล *Sargassum* (สาหร่ายทุ่น) นำไปศึกษา 8 ชนิด มี 1 ชนิดที่ crude extract มีฤทธิ์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของคนในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งสมควรที่จะมีการศึกษาต่อไป

ดังนั้นงานวิจัยทางด้านการสกัดสารจากสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอนในโครงการนี้จึงต้องยุติเพียงเท่านี้ เนื่องจากไม่พบฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันดังกล่าว ส่วนในสาหร่าย *Sargassum* spp. นั้นไม่ได้อยู่ในโครงการวิจัยนี้เป็นเพียงตัวอย่างที่ลองนำมาศึกษาเปรียบเทียบ ดูฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันเท่านั้น

4.3.2.2 ศึกษาสารสกัดทางชีวภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่

ในการศึกษาสารสกัดทางชีวภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายไวกและ/หรือสาหร่ายลอน ประกอบไปกับการศึกษาดังต่อไปนี้

1. รงควัตถุ
2. สารฟีนอลิกหรือสารเพิ่มภูมิคุ้มกัน
3. สารปฏิชีวนะ
4. สารกลุ่ม Catechin
5. สารต้านอนุมูลอิสระ

1. รงควัตถุ

ทำการวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุพวก คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิโปรตีน ซึ่งประกอบไปด้วย ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคเออร์ทริน ในสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอน โดยมีรายละเอียดดังนี้

1.1 การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ (Becker, 1994)

นำสาหร่ายไวกและลอนที่อบแห้งมาบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักแห้งประมาณ 0.5 กรัม นำสาหร่ายที่บดได้ มาเติมเมทานอล 90% v/v ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นปล่อยให้สารละลายให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วย 90% v/v เมทานอล หลังจากนั้นนำไปปั่นแยกกากเซลล์ด้วยความเร็ว 3500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 และ 665 nm แล้วคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ ดังสูตรต่อไปนี้

$$\begin{aligned}\text{คลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัม.ลิตร}^{-1}\text{)} &= (16.5 \times A_{665}) - (8.3 \times A_{650}) \\ \text{คลอโรฟิลล์ บี (มิลลิกรัม.ลิตร}^{-1}\text{)} &= (33.8 \times A_{650}) - (12.5 \times A_{665}) \\ \text{คลอโรฟิลล์ รวม (มิลลิกรัม.ลิตร}^{-1}\text{)} &= (4.0 \times A_{665}) - (25.5 \times A_{650})\end{aligned}$$

1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ (Kmitt, 1996)

เติม 95% v/v เมทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีสาหร่ายแห้งบด ที่ทราบน้ำหนักแห้ง และเติม 60% โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร เพื่อตรึงเซลล์สาหร่าย หลังจากนั้นนำไปทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นความถี่สูงนาน 5 นาที นำหลอดทดลองไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้รงควัตถุถูกสกัดออกมาจากเซลล์ จากนั้นทิ้งสารละลายให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วปั่นแยกกากเซลล์ด้วยความเร็ว

3,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เก็บสารละลายที่ได้ไว้ นำกากเซลล์ที่ยังมีสีเขียวอยู่มาเติม 95% v/v เมทานอล อีก 5 มิลลิลิตร (แล้วทำซ้ำขั้นตอนแรกอีก) รวมสารละลายที่ได้ (supernatant) ในกรวยแยก แล้วเติมไดเอทิล อีเทอร์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และ 9% โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นสีเขียว และเหลือง ปลอยชั้นสีเขียวยของคลอโรฟิลล์ทิ้ง เหลือชั้นสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ไว้ เติม 9% โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้นสีขาวและสีเหลือง ปลอยชั้นสีขาวทิ้ง เก็บสารละลายสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ ลงในกระบอกตวงปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรแคโรทีนอยด์เป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยไดเอทิล อีเทอร์ เติสารละลายที่ได้ในหลอดทดลองซึ่งมีไดโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัสอยู่เพื่อกำจัดน้ำ แล้วนำไปวัดที่ความยาวคลื่น 450 nm คำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม.กรัม}^{-1}\text{ น้ำหนักเซลล์แห้ง)} = \frac{A_{450} \times 25 \times 1000}{260 \times \text{มิลลิกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง}}$$

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณไฟโคบิลิโปรตีน (Becker, 1994)

นำสาหร่ายลอนแห้งที่บดละเอียด ซึ่งน้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม เติม 0.15 M โซเดียม คลอไรด์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วทำให้เซลล์แตกเพื่อสกัดไฟโคบิลิโปรตีนออกจากเซลล์ โดยนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 24 ชั่วโมง แล้วปลอยสารละลายให้อยู่ในอุณหภูมิห้อง (freeze-thaw method) หลังจากนั้นนำเซลล์สาหร่ายที่ทำให้แตกแล้วให้แตกดีขึ้นด้วยคลื่นความถี่สูงนาน 5 นาที ซึ่งจะทำให้ไฟโคบิลิโปรตีนถูกสกัดออกมาปริมาณมากขึ้น บั่นแยกกากเซลล์โดยใช้ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เก็บสาหร่ายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 565, 620 และ 650 nm คำนวณหาปริมาณรงควัตถุตามสูตร

$$\begin{aligned} \text{ไฟโคไซยานิน (PC)} &= \frac{A_{620} - 0.7 \times A_{650}}{7.38 \times 10^{-3}} \\ \text{อัลโลไฟโคไซยานิน (APC)} &= \frac{A_{650} - 0.19 \times A_{620}}{5.65 \times 10^{-3}} \\ \text{ไฟโคเออร์ทริน (PE)} &= \frac{A_{565} - 2.8 \times \text{PC (g)} - 1.34 \times \text{APC (g)}}{12.7 \times 10^{-3}} \end{aligned}$$

หมายเหตุ: การหาปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ทำทั้งในสาหร่ายไวกและลอน แต่ปริมาณไฟโคบิลิโปรตีนทำเฉพาะสาหร่ายลอนเพราะสาหร่ายไวกไม่มีรงควัตถุชนิดนี้

ผลการวิจัย

จากการศึกษารงควัตถุ 5 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์เอ และบี แคโรทีนอยด์ ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน พบปริมาณรงควัตถุทั้งหมดดังแสดงในตารางที่ 91

ตารางที่ 91 ปริมาณรงควัตถุในสาหร่ายไวกและลอนจากลำน้ำน่าน (พฤศจิกายน 2544-ธันวาคม 2545)

ปริมาณรงควัตถุ (มิลลิกรัม.กรัม ⁻¹ น้ำหนักเซลล์แห้ง)	สาหร่ายไวก	สาหร่ายลอน
คลอโรฟิลล์เอ	3.75	0.17
คลอโรฟิลล์บี	18.45	1.36
แคโรทีนอยด์	1.84	1.36
ไฟโคไซยานิน	ไม่มี	25.07
อัลโลไฟโคไซยานิน	ไม่มี	35.00
ไฟโคเออร์ทริน	ไม่มี	16.70

จากการศึกษาปริมาณรงควัตถุจากสาหร่ายไคและลอนที่ผ่านมา พบว่าปริมาณไฟโคไซยานินและอัลโลไฟโคไซยานินในสาหร่ายลอนให้ปริมาณที่มากพอสมควร คือ ในไฟโคไซยานินให้ถึง 25.07 มิลลิกรัม.กรัม⁻¹ น้ำหนักเซลล์แห้ง และอัลโลไฟโคไซยานินให้ถึง 35 มิลลิกรัม.กรัม⁻¹ น้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมากกว่ารงควัตถุชนิดดังกล่าวซึ่งสกัดจากสาหร่ายทนร้อน *Synechococcus* ซึ่งให้ไฟโคไซยานิน 9.91 มิลลิกรัม.กรัม⁻¹ น้ำหนักเซลล์แห้ง และอัลโลไฟโคไซยานิน มิลลิกรัม.กรัม⁻¹ น้ำหนักเซลล์แห้ง และเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายสไปรูลินา พบว่าสาหร่ายลอนมีไฟโคไซยานิน 25.07 มิลลิกรัม.กรัม⁻¹ น้ำหนักเซลล์แห้ง โดยสาหร่าย สไปรูลินาให้ไฟโคไซยานิน 79.52 มิลลิกรัม.กรัม⁻¹ น้ำหนักเซลล์แห้ง (ข้อมูลรงควัตถุของสาหร่าย *Synechococcus* sp. และสาหร่ายสไปรูลินาจากห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่) แต่เมื่อพิจารณาปริมาณและการเจริญของสาหร่ายลอนแล้วนับว่าน่าสนใจมาก โดยสาหร่ายชนิดนี้เจริญได้เองตามธรรมชาติและมีปริมาณมากมายในแต่ละฤดูกาล ไม่ต้องเพาะเลี้ยงโดยใช้สูตรอาหารต่าง ๆ ดังนั้นการจะนำสาหร่ายลอนมาเป็นประโยชน์ทางด้านรงควัตถุน่าจะเป็นไปได้สูง อีกทั้งรงควัตถุประเภทไฟโคไซยานินและอัลโลไฟโคไซยานินนี้ ประเทศเรามีความต้องการสูงโดยนำมาใช้เป็นสีผสมอาหาร ผสมแคปซูลยา นำมาทำเป็นเครื่องสำอางและนำมาใช้ในงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์คือ ใช้เป็นสารเรืองแสงเพื่อติดตามในงานวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันทางด้านเนื้อเยื่อและจุลทรรศน์วิทยา ซึ่งในปัจจุบันประเทศไทยต้องสั่งซื้อรงควัตถุประเภทนี้จากต่างประเทศ โดยเฉพาะจากประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นจำนวนเงินถึงหลายล้านบาทในแต่ละปี ดังนั้นการประยุกต์เอารงควัตถุจากสาหร่ายชนิดนี้มาเป็นประโยชน์จึงเป็นเรื่องน่าสนใจอย่างยิ่ง ทางคณะผู้วิจัยได้ติดต่ออาจารย์ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง คืออาจารย์สมชัย อวเกียรติ ให้มาช่วยวิจัยร่วมกันโดยจะทำการศึกษารงควัตถุดังกล่าวให้ละเอียดอีกครั้ง โดยใช้เครื่องมือที่มีความแม่นยำมากขึ้นและถ้าเป็นไปได้จะพยายามใช้เทคนิคที่ชาวบ้านทั่วไปสามารถทำได้โดยไม่ยากนัก เพื่อจะเป็นผลประโยชน์ต่อชาวบ้านในลุ่มน้ำน่านโดยตรง

สมชัย (2546, ติดต่อบุคคล) ได้สกัดรงควัตถุพวกไฟโคไซยานินและไฟโคเออร์ทรินจากสาหร่ายลอนซึ่งเป็น 2 ชนิดที่น่าสนใจด้วยวิธีสกัดด้วยแอลกอฮอล์ แล้วตกตะกอนรงควัตถุด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว ซึ่งเคยใช้ได้ผลในสาหร่ายสไปรูลินา แต่ในการวิจัยครั้งนี้ไม่ประสบผลสำเร็จในการสกัดมากนัก เนื่องจากเมือกที่หุ้มโคโลนีของสาหร่ายลอนหนามาก ต้องใช้เวลามากเพื่อนำเอาพวกเมือกหุ้มออกจากโคโลนีของสาหร่าย แม้จะใช้สาหร่ายสดหรือสาหร่ายแห้งก็ตาม คณะผู้วิจัยได้พิจารณาร่วมกันแล้วว่าในเรื่องของรงควัตถุนี้ ยากที่จะนำมาสกัดใช้ประโยชน์ทั้งในห้องปฏิบัติการและโดยเฉพาะในชุมชน ซึ่งคาดว่าจะต้องใช้อุปกรณ์หรือเครื่องมือที่ต้องใช้ความชำนาญและมีราคาแพงจึงจะสามารถทำได้ ซึ่งก็คงเป็นการลงทุนที่ไม่คุ้มค่า จึงได้ยุติการถ่ายทอดในเรื่องของการสกัดรงควัตถุสู่ชุมชน อย่างไรก็ตามผู้วิจัยได้นำมาศึกษาในระยะหนึ่ง จนสามารถสกัดรงควัตถุทั้งสองได้ปริมาณมากพอสมควร ดังแสดงในภาพที่ 47 ซึ่งนับว่าได้รงควัตถุปริมาณมากมีสีสดใส ในอนาคตถ้าสามารถแยกสารร่วนออกจากสาหร่ายลอนได้ง่ายขึ้น ก็สมควรถ่ายทอดสู่ชุมชนนั้นต่อไป



ภาพที่ 47 รงควัตถุจากสาหร่ายลอน

ก. ไฟโคเออร์ทริน

ข. ไฟโคไซยานิน

2. สารพรีไบโอติก และ/หรือ สารเพิ่มภูมิคุ้มกัน

การศึกษาสารพรีไบโอติก และ/หรือ สารเพิ่มภูมิคุ้มกันในสาหร่ายลอนเป็นงานวิจัยล่าสุดของโครงการวิจัยนี้ ผลการวิจัยจึงยังไม่เสร็จเรียบร้อย แต่สามารถเห็นแนวทางที่จะนำไปใช้ประโยชน์โดยอาจสามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์แปรรูปจากทรัพยากรท้องถิ่นที่มีอยู่มาก เป็นการใช้ความหลากหลายทางชีวภาพ ของท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์สูงขึ้น

การวิจัยในโครงการนี้ ใช้สาหร่ายในลำน้ำนาน และมีสมมติฐานว่าสารวุ้นของสาหร่ายลอนน่าจะเป็นพวกโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งประกอบไปด้วยโมโนแซคคาไรด์หลายชนิด ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นโพลิแซคคาไรด์ โดยการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ธรรมชาติ ซึ่งโพลิแซคคาไรด์บางชนิดสามารถเป็นสารพรีไบโอติก และ/หรือ สารเพิ่มภูมิคุ้มกันในมนุษย์ได้ ซึ่งถือว่าการประยุกต์ใช้ในด้านเภสัชโภชนาการ ในการศึกษาวิจัยมีรายละเอียด ดังนี้

2.1 ทดลองสกัดแยกสารวุ้นและทดสอบสมบัติทางประการของสารวุ้น ซึ่งทำได้ดังนี้

2.2.1 การสกัดสารวุ้น ทำได้โดยการต้มสาหร่ายลอนสดให้เดือด ประมาณ 30 นาที

ทดสอบสมบัติทางประการของสารวุ้น ดังนี้

- ทดสอบเชิงคุณภาพโปรตีนโดยใช้สารละลายนินไฮดรินและไบยูเรต
 - การทดสอบนินไฮดริน
 - การทดสอบไบยูเรต
- ทดสอบโดยใช้สารละลายไอโอดีน
- ทดสอบการตกตะกอนโดยใช้ 95% Ethanol, สารละลาย 3M NaCl, KCl, $MgCl_2$, $CaCl_2$ และ $MgSO_4$
- ทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์โดยไฮโดรไลส์สารวุ้นด้วยวิธีฟลักซ์ใน 3 M HCl เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สะเทินด้วย NaOH ให้ pH เป็นกลาง ทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้สารละลายเบเนดิกต์และสารละลายเฟห์ลิง

2.2 ตรวจสอบชนิดขององค์ประกอบโมโนแซคคาไรด์

โดยวิธี TLC โดยใช้สารละลายชะ ประกอบด้วย n- butanol: acetic: H₂O อัตราส่วน 3 :1 :1 ทดสอบปฏิกิริยาโดยใช้ 3,5 - dinitrosalicylate ฉีดพ่นเปรียบเทียบกับ น้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ 5 ชนิด คือ ฟรุคโทส กลูโคส แกล็กโทส แมนโนสและไซโลส

ผลการวิจัย

1. ทดสอบสกัดแยกสารวุ้นและทดสอบสมบัติบางประการของสารวุ้น

เมื่อต้มสหารวุ้นจนสลดตามวิธีการจะได้สารวุ้นมีลักษณะคล้ายแป้งเปียกจากนั้นกรองเศษเซลล์และตะกอนทิ้งไป แล้วทำการทดสอบสมบัติบางประการของสารวุ้น ได้ผลดังนี้

1. ทดสอบเชิงคุณภาพโปรตีนโดยสารละลายนินไฮดรินและไบยูเรต ปรากฏว่าเมื่อทดสอบด้วยนินไฮดริน สารละลายไม่เปลี่ยนเป็นสีม่วง แสดงว่าไม่มีกรดอะมิโนอิสระ และเมื่อทดสอบ ไบยูเรต สารละลายไม่เปลี่ยนเป็นสีม่วงแสดงว่าไม่มีเปปไทด์หรือโปรตีน

2. ทดสอบแป้งโดยใช้สารละลายไอโอดีน ปรากฏว่าไม่เปลี่ยนสีเป็นสีม่วงหรือสีน้ำเงิน แสดงว่าไม่มีแป้ง

3. ทดสอบการตกตะกอนโดยใช้ 95% เอทานอล สารละลาย 3M NaCl, KCl, MgCl₂ CaCl₂ และ MgSO₄ พบว่า สารวุ้นตกตะกอนเฉพาะเมื่อทดสอบกับ KCl

4. ทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า เกิดตะกอนสีน้ำตาลแดง แสดงว่ามีน้ำตาลรีดิวซ์ สรุปได้ว่าสารวุ้นเป็นสารประกอบโพลีแซคคาไรด์

2. ตรวจสอบชนิดขององค์ประกอบโมโนแซคคาไรด์ ตามวิธีในข้อ 2 พบว่า สารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลส์สารวุ้นจากสหารวุ้น ไม่แยกเป็นจุดเด่นชัดและเกิดหางยาว (tailing) แต่น้ำตาลที่เป็นสารมาตรฐานเคลื่อนที่ไปได้ดี (ค่า R_f ของน้ำตาลมาตรฐานทุกชนิดประมาณ 0.8-0.9) การที่สารสกัดเคลื่อนที่ไปได้ไม่ดี อาจเนื่องมาจากในสารละลายมีเกลือ NaCl ที่เกิดจากปฏิกิริยาการสะเทินกรด

3. งานวิจัยที่จะทำต่อไป

ทดสอบแยกเกลือ (desalting) โดยใช้วิธี gel filtration แล้วตรวจสอบชนิดของโมโนแซคคาไรด์องค์ประกอบโดยใช้วิธี TLC และ HPLC และทดสอบย่อยโพลีแซคคาไรด์บางส่วนโดยเอนไซม์ เพื่อให้ได้โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดโมเลกุลตามต้องการ

ในการวิจัยเรื่องนี้มีแบบแผนการทดลอง (research design) ดังต่อไปนี้

1. โดยการย่อยสลายโพลีแซคคาไรด์ให้สมบูรณ์ แยกบริสุทธิ์สารละลายโมโนแซคคาไรด์แล้ววิเคราะห์ชนิดและปริมาณโมโนแซคคาไรด์ด้วย HPCL

2. วิเคราะห์โครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์โดยวิธี O- methyl และ/หรือ Periodic acid

3. ศึกษาวิธีการผลิตโอลิโกแซคคาไรด์จำเพาะ โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ และ/หรือ การหมักโดยใช้จุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากแหล่งท้องถิ่น

4. วิเคราะห์ชนิดโอลิโกแซคคาไรด์ และประเมินศักยภาพของโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดต่างๆ ใน การเป็นสารพรีไบโอติก โดยการหมักกับโพรไบโอติกที่คัดแยกได้ และ/ หรือ การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ทดลอง เพื่อการศึกษาศักยภาพของความสามารถในการเป็นสารพรีไบโอติก และ/หรือ

ในการศึกษาช่วงที่ผ่านมาพบว่าสารวุ้นเป็นพวกโพลีแซคคาไรด์และใกล้จะทราบถึงชนิดของโมโนแซคคาไรด์แล้ว ขั้นตอนต่อไปคือการพัฒนาให้เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ โดยการใชเอนไซม์ และ/หรือ การหมักโดยใช้จุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากท้องถิ่นตามธรรมชาติ จนได้โอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งอาจจะเป็นสารพรีไบโอติก และ/หรือ

สารเพิ่มภูมิคุ้มกันในสิ่งมีชีวิต ถ้าพบว่าสารรุ่นจากสาหร่ายลอนสามารถมีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติก และ/หรือ สารเพิ่มภูมิคุ้มกันก็จะมีคุณค่าอย่างยิ่งที่จะนำสารรุ่นจากสาหร่ายลอนมาใช้ประโยชน์ต่อไป

3. สารปฏิชีวนะ

ทำการศึกษาทั้งในสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอน โดยทดสอบกับ แบคทีเรีย 5 ชนิด ซึ่งมีทั้ง ก่อโรคและไม่ก่อโรค และยีสต์ก่อโรค 1 ชนิด โดยมีรายละเอียดดังนี้

การเพาะเลี้ยงและเตรียมแบคทีเรียทดสอบ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบมี 5 ชนิด คือ

1.1 *Bacillus subtilis* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรค พบได้ทั่วไป

1.2 *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียก่อโรคเกิดโรคท้องร่วง

1.3 *Klebsiella pneumoniae* เป็นแบคทีเรียก่อโรคก่อให้เกิดโรคปอดบวม

1.4 *Micrococcus luteus* เป็นแบคทีเรียไม่ก่อโรค

1.5 *Proteus vulgaris* เป็นแบคทีเรียไม่ก่อโรค

ใช้หัวถ่ายเชื้อซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 3 มิลลิเมตร และแบคทีเรียทดสอบแต่ละ ชนิดมาเลี้ยงในอาหาร nutrient broth (NB) ปริมาตร 50 มิลลิเมตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิประมาณ 37 °C ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัดค่าความขุ่น (OD = optical density) ด้วยเครื่อง spectrophotometer UV 1600 ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 650 nm ปรับให้ค่า OD เท่ากับ 0.8-1.0 จากนั้นดูดเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิเมตร ใส่ในจานเพาะเชื้อที่เทอาหาร nutrient agar (NA) ไว้แล้ว ใช้ spreader เกลี่ยเชื้อทดสอบให้ทั่ว

2. การเพาะเลี้ยงและเตรียมยีสต์ทดสอบ

ยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบมี 1 ชนิด คือ *Candida albicans* เป็นยีสต์ที่ก่อโรคทางเพศสัมพันธ์ ใช้หัวและเชื้อถ่ายเชื้อ *Candida albicans* แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 50 มิลลิเมตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิประมาณ 37 °C ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัดค่าความขุ่น (OD) ด้วยเครื่อง spectrophotometer UV 1600 ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 650 nm ปรับให้ค่า OD เท่ากับ 0.8-1.0 จากนั้นดูดเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิเมตร ใส่ในจานเพาะเชื้อที่เทอาหาร potato dextrose broth (PDB) ไว้แล้ว ใช้ spreader เกลี่ยเชื้อทดสอบให้ทั่ว

3. การสกัดสารปฏิชีวนะจากสาหร่ายไวกและลอน

นำสาหร่ายไวกและลอนแห้ง มาบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักอย่างละ 1 กรัม ใส่ในสารสกัด 99.8% เมทานอล ปริมาตร 20 มิลลิเมตร และทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่อง sonicator นำมาปั่นแยกเซลล์ที่ความเร็วรอบ เท่ากับ 6,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 20 นาที แยกส่วนที่เป็นกากเซลล์ทิ้ง เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวด universal ดูดสารละลายใสส่วนบนมาระเหยตัวสกัดเมทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน ที่ อุณหภูมิ 55-60 °C จนสารละลายเกือบแห้ง เก็บไว้ในขวด universal ปราศจากเชื้อเพื่อนำไปทดสอบต่อไป

4. การทดสอบเบื้องต้นในการผลิตสารปฏิชีวนะ โดยวิธี disc diffusion method

นำแผ่น paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ชุบสารสกัดที่ได้จากข้อ 4.3 จากนั้น ใช้ปากคีบคีบไปวางบนจานอาหารที่เพาะเชื้อทดสอบไว้แล้ว จานละ 3 แผ่น และมีแผ่นควบคุม 2 แผ่น คือ น้ำกลั่น ปราศจากเชื้อและ 99.8% methanol นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 12-18 ชั่วโมง ตรวจสอบการผลิตสาร

ปฏิกิริยาโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (clear zone) ที่เกิดรอบแผ่น paper disc เปรียบเทียบกับแผ่นควบคุม

ผลการวิจัย

ผลการทดลองพบว่า สารสกัดที่ได้จากสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอนไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 6 ชนิดได้ จึงสรุปได้ว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดไม่ได้สร้างสารปฏิชีวนะเพื่อต่อต้านกับจุลินทรีย์ ทั้งที่ก่อโรคและไม่ก่อโรค ซึ่งก็คล้ายสาหร่ายส่วนใหญ่ที่ไม่สร้างสารปฏิชีวนะ อาจจะเนื่องมาจากสาหร่ายดังกล่าวสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ด้วยตัวเอง ไม่ต้องแก่งแย่งกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ จึงไม่สร้างสารที่มีฤทธิ์ทำลายสิ่งมีชีวิตอื่น ซึ่งโดยความเป็นจริงช่วงที่สาหร่ายทั้งสองประเภทเจริญอยู่ในท้องน้ำก็มีการเจริญในลักษณะที่เป็นชนิดเด่นอย่างชัดเจน

4. สารกลุ่ม Catechin

สารกลุ่ม Catechin เป็นสารที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย คณะผู้วิจัยได้รับการเชิญชวนจากภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตภัณฑการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ซึ่งทำการวิจัยในสารกลุ่ม Catechin โดยคาดหวังว่าในสาหร่ายไก่อจะมีสารกลุ่มนี้ และอาจนำไปเป็นอาหารเสริมในอาหารเลี้ยงกุ้งปกติ โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ใช้สารมาตรฐาน Catechin จากบริษัท Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ โดยใช้ปริมาณสาร Catechin เริ่มต้น 230 ppm ตรวจวัดด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Hewlett-Packard 1100 Series ใช้คอลัมน์ Hypersil ODS 5 μm ความยาว 4.0 x 250 มิลลิเมตร ใช้ UV detector ที่ 210 nm

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาพบว่าไม่พบสารกลุ่ม Catechin ในสาหร่ายไก่อ เหตุผลคล้ายกับสารปฏิชีวนะดังกล่าวมาแล้ว

5. สารต้านอนุมูลอิสระ

จากงานวิจัยที่ผ่านมาทำให้ทราบว่าสาหร่ายไก่อมีรงควัตถุประเภทเบต้าแคโรทีนในปริมาณมาก และยังมีซีลีเนียมซึ่งทั้งสองเป็นสารต้านอนุมูลอิสระดังเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้ว คณะผู้วิจัย จึงมีแนวความคิดที่จะศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระโดยตรงในสาหร่ายไก่อ ซึ่งต้องการเปรียบเทียบกับสาหร่ายสไปรูลินาซึ่งเชื่อกันว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระมากอยู่แล้ว ดังมีรายละเอียดดังนี้

วิธีการศึกษา

ใช้วิธีการตรวจสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH method [DPPH= 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (nitrogen-center radicals)] ซึ่งมีวิธีการดังนี้

1. นำสาหร่ายบด 1 มิลลิกรัม ใส่ eppendorf เติมด้วย antioxidant solution 200 μL
2. เติม 100 mM Tris-HCl buffer pH 7.4 ปริมาณ 800 μL
3. เติม 500 μM DPPH ใน ethanol (ความเข้มข้นสุดท้าย 250 μM) แล้วเขย่า
4. บ่มในสภาวะไร้แสง ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที
5. นำไปอ่านผลที่ความยาวคลื่น 517 nm

หมายเหตุ: สาหร่ายไก่อที่นำมาศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระครั้งนี้ ได้นำมาจากลำน้ำน่าน

เมื่อเดือนมีนาคม พ.ศ. 2547

ผลการวิจัย

พบว่าค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายไก่อและสาหร่ายสไปรูลินาอยู่ในปริมาณสูง โดยเมื่อคิดในหน่วย TEAC [Trolox Equivalent Antioxidant Activity หรือปริมาณของ trolox (μmole)] ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับสารสกัด 1 mg หรือ ต่อ น้ำหนักแห้งของสารสกัด หรือตัวอย่าง (ซึ่งในที่นี้คือ น้ำหนักแห้งของสาหร่ายไก่อและสาหร่ายสไปรูลินา) โดยผลการศึกษามีดังนี้

TEAC ของสาหร่ายไก่อ เท่ากับ 49.04 ไมโครโมลของ trolox /1 มิลลิกรัมของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายไก่อ

TEAC ของสาหร่ายสไปรูลินา เท่ากับ 50.04 ไมโครโมลของ trolox /1 มิลลิกรัมของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย สไปรูลินา

นับได้ว่าสาหร่ายสไปรูลินามีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสาหร่ายไก่อเล็กน้อย

เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับตารางที่ 92 ซึ่งเป็นค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผักและผลไม้ต่างๆ พบว่าสาหร่ายไก่อและสาหร่ายสไปรูลินามีค่าสูงกว่ามาก ในตารางที่ 92 หน่วยของ TEAC คิดจากผักและผลไม้ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ในขณะที่การศึกษาในโครงการนี้คิดจากสาหร่ายไก่อ และสาหร่ายสไปรูลินาเพียง 1 มิลลิกรัม น้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 92 ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผักและผลไม้

Scientific and common name		TEAC ($\mu\text{mole trolox /100 g DW}$)
<i>Actinada chinensis</i>	Kiwi fruit	48.9
<i>Allium jistulosum</i>	Spring onion	43.4
<i>Allium sativum</i>	Garlic	55.0
<i>Brassica oleracea</i>	Broccoli	101.4
<i>Citrus sinensis</i>	Orange	67.2
<i>Curcumis sativus</i>	Cucumber	28.7
<i>Daucus carota</i>	Carrot	38.7
<i>Lactuca sativa</i>	Chinese lettuce	128.4
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Tomato	149.4
<i>Malus pumila</i>	Fuji apple	92.7
<i>Malus pumila</i>	Washington red apple	133.2
<i>Pyrus communis</i>	Pear	21.5
<i>Solanum melongena</i>	Egg-plant	166.9
<i>Spinacia oleracca</i>	Spinach	1617.

จึงนับได้ว่าสาหร่ายไก่อ และสาหร่ายสไปรูลินามีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าผักและผลไม้ต่างๆ ไป ไม่ว่าจะเป็นผักโขม (spinach) มะเขือ (egg-plant) ผักกาดขาว (chinese lettuce) บรอกคอลลี (broccoli) หรือแม้แต่แครอท เมื่อคิดจากการบริโภคจากน้ำหนักแห้งเท่าๆ กัน ถือได้ว่าเป็นองค์ความรู้ใหม่ที่สมควรเผยแพร่ให้ชุมชนได้รับทราบกัน เพื่อว่าประชาชนจะได้หันมานิยมบริโภคสาหร่ายไก่อมากขึ้น อย่างไรก็ตาม การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายไก่อในครั้งนี้ได้กระทำเพียง 1 model ซึ่งความน่าเชื่อถืออาจน้อยเกินไปทางคณะวิจัย มีจุดประสงค์ที่จะทำการวิจัยต่อยอดในเรื่องสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอนต่อไปอีกโดยใช้ตัวอย่างหลากหลายขึ้น และศึกษามากกว่า 1 ฤดูกาล คาดว่าจะได้ผลที่น่าเชื่อถือขึ้น

4.3.3 การทดสอบความเป็นพิษและฤทธิ์ทางยาของสาหร่ายไก่อ

4.3.3.1 การศึกษาความเป็นพิษของสาหร่ายไก่อ

โดยความเป็นจริงแล้ว การที่สาหร่ายไก่อเป็นอาหารพื้นบ้านของชุมชนบริเวณริมลำน้ำน่านและแม่น้ำโขง เป็นระยะเวลาอันยาวนาน ก็น่าจะเชื่อได้ว่าสาหร่ายดังกล่าวไม่มีพิษภัยแต่อย่างใด อย่างไรก็ตามโครงการนี้ก็จะพิสูจน์ด้วยหลักการทางวิทยาศาสตร์เพื่อที่จะนำไปประชาสัมพันธ์ให้ผู้บริโภคทราบอย่างแน่ชัดว่าสาหร่ายดังกล่าวไม่มีความเป็นพิษแต่อย่างใด ได้ศึกษาความเป็นพิษโดยการทดลองกับหนูขาว และหาค่า Lethal dose 50 (LD₅₀) ของสาหร่ายไก่อ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95% จากสาหร่ายไก่อ

นำสาหร่ายไก่อตากแห้งที่บดบั่นแล้วหนัก 200 กรัมมาหมักด้วยแอลกอฮอล์ 95% ปริมาณ 2 ลิตร นาน 1 สัปดาห์ แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองได้สารสีเขียวเข้ม นำสารที่สกัดได้นี้ไปทำการระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบหมุน (Rotary evaporator) โดยใช้อุณหภูมิ 60 °C ความดัน 100-200 มิลลิบาร์ จนกระทั่งได้สารสกัดขุ่นหนืด หลังจากนั้นนำสารสกัดดังกล่าวไปผสมกับ maltodextrin ในอัตราส่วน 1:2 ในโถร่อน ทำการผสมสารดังกล่าวให้เข้ากันแล้วนำไปอบในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 50 °C จนสารสกัดแห้ง นำไปบดด้วยโถร่อนอีกครั้งแล้วชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักละเอียด 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักที่ได้เก็บไว้เพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณที่จะใช้ในการละลายน้ำเพื่อป้อนให้แก่สัตว์ทดลอง สารสกัดที่ได้นี้จะทำการเก็บรักษาไว้ในขวดสีชาที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันแสงแดดและความชื้น

วิธีป้อนสารให้กับหนู

การป้อนน้ำกลั่นและสารสกัดจะใช้เข็มสำหรับป้อนต่อเข้ากับกระบอกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร ดูดสารขึ้นมา 0.5 มิลลิลิตร ใช้ฉีดยาและนิ้วชี้ของมือซ้ายรวบบริเวณต้นคอของหนูไว้ ส่วนนิ้วที่เหลือให้รวบหนังบริเวณด้านหลังพร้อมกับพุงและบังคับหนูให้อยู่นิ่ง ซึ่งจะทำให้หนูอยู่ในลักษณะอ้าปากเล็กน้อย ทำการสอดเข็มเข้าไปทางมุมปากด้านซ้ายซึ่งเป็นหลอดอาหาร โดยสอดให้ลึกพอประมาณแล้วจึงกดปลายกระบอกฉีดยาเพื่อป้อนสารเข้าไปอย่างรวดเร็วและต้องระมัดระวังไม่ให้สอดเข็มผิดเข้าไปในหลอดลมซึ่งอาจทำให้หนูสำลักจนตายได้

2. การตรวจสอบผลของสารสกัด จากสาหร่ายไก่อที่มีต่อร่างกายของหนู

หนูที่ใช้สำหรับทดสอบการได้รับสารสกัดสาหร่ายไก่อติดต่อกันเป็นเวลา 60 วัน แบ่งหนูเพศผู้ออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัว เพื่อทำการป้อนสารสกัดดังนี้

กลุ่ม 1 เป็นกลุ่มควบคุม ป้อนน้ำกลั่นปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร/ตัว/วัน

กลุ่ม 2 ป้อนสารสกัดสาหร่ายไก่อขนาด 0.5 กรัม/กิโลกรัม/วัน ซึ่งเป็นปริมาณเท่ากับปริมาณที่คนหนัก 60 กิโลกรัมกินต่อวัน

กลุ่ม 3 ป้อนสารสกัดสาหร่ายไก่อขนาด 1.0 กรัม/กิโลกรัม/วัน ซึ่งเป็นปริมาณ 2 เท่าของปริมาณที่คนหนัก 60 กิโลกรัมกินต่อวัน

ส่วนหนูเพศเมียแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัวแล้วทำการป้อนสารในปริมาณเดียวกัน

เมื่อครบกำหนด 60 วันของการให้สารสกัด นำหนูออกมาผ่าตัดเพื่อบันทึกผลดังนี้

สับหนูด้วย chloroform ผ่าตัดเพื่อทำการเจาะเลือดจากหัวใจส่วน ventricle ซ้าย ให้ได้ปริมาณมากที่สุด โดยแบ่งเลือดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกจะใช้ในการตรวจหาปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit) ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Total white blood cell count) และปริมาณเม็ดเลือดขาวแยกชนิด (Differential cell

count) ซึ่งจะทำให้ EDTA ปริมาณเล็กน้อย เขย่าให้เข้ากับเลือดเพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C รอการส่งตรวจที่ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ส่วนเลือดส่วนที่ 2 ไม่ต้องใส่ EDTA ทั้งไว้ให้เลือดแข็งตัว ซึ่งเลือดส่วนนี้จะใช้ในการตรวจสอบการทำงานของตับและไต โดยจะทำการส่งตรวจที่ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่เช่นกัน โดยตรวจหาค่าดังนี้

1. Blood urea nitrogen (BUN)
2. Creatinine (Cre)
3. alanine aminotransferease (ALT)
4. aspartate aminotransferase (AST)

3. การใช้สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้การทดสอบ parametric แบบ t-test และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และการทดสอบ non-parametric แบบ Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance test ในโปรแกรม SPSS For windows version 6.0 ในการแสดงผลจะแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ standard deviation)

ผลการวิจัย

4.3.3.1 การศึกษาความเป็นพิษของสาหร่ายไก่อ

ในเรื่องการศึกษาความเป็นพิษนั้น ได้ทำการศึกษาในสาหร่ายไก่อชนิดเดียว ไม่ได้ศึกษาในสาหร่ายลอน เนื่องจากว่าในความเป็นจริงแล้ว ชาวบ้านรับประทานสาหร่ายไก่อมากกว่าสาหร่ายลอนหลายเท่า และนอกจากนั้นผลิตภัณฑ์ที่ออกจำหน่ายก็ใช้สาหร่ายไก่อเป็นวัตถุดิบทั้งหมด ดังนั้นโดยภาพรวมจะเห็นว่าเกือบ 100% ที่ชาวบ้านใช้สาหร่ายไก่อเป็นอาหาร ผลการศึกษาความเป็นพิษจากสาหร่ายไก่อมีรายละเอียดดังนี้:-

1. การให้สารสกัดสาหร่ายไก่อติดต่อกันเป็นระยะเวลา 60 วัน

1.1 ผลต่อน้ำหนักตัว

จากการชั่งน้ำหนักตัวหนูทุกสัปดาห์ตลอดระยะเวลาของการทดลองพบว่าน้ำหนักตัวของหนูเพศเมียในกลุ่มควบคุมไม่ต่างจากหนูเพศเมียในกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่ม (ตารางที่ 93) โดยคิดที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ $p \leq 0.05$ ส่วนในหนูเพศผู้พบว่าในสัปดาห์ที่ 5 หนูในกลุ่มควบคุมมีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายไก่อปริมาณ 1.0 g/kg ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ $p \leq 0.05$ แต่ในครั้งสุดท้ายที่ทำการชั่งน้ำหนักพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของน้ำหนักในทั้งสามกลุ่ม โดยมีแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักไปในทิศทางเดียวกัน (ตารางที่ 93)

ตารางที่ 93 น้ำหนักตัว (กรัม) ของหนูที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายไกปริมาณ 0.5 กรัม/กิโลกรัมและ 1.0 กรัม/กิโลกรัม ต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน 60 วันเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Mean $\pm$ SD)

เพศ	สัปดาห์ที่บันทึก	กลุ่มควบคุม	สารสกัดสาหร่ายไก 0.5 g/kg	สารสกัดสาหร่ายไก 1.0 g/kg
เมีย	1	169.00 $\pm$ 18.655 ^a	166.00 $\pm$ 13.928 ^a	163.60 $\pm$ 7.536 ^a
	2	189.40 $\pm$ 18.460 ^a	187.00 $\pm$ 12.980 ^a	181.00 $\pm$ 6.403 ^a
	3	203.80 $\pm$ 23.274 ^a	206.20 $\pm$ 15.990 ^a	190.20 $\pm$ 7.190 ^a
	4	211.80 $\pm$ 20.413 ^a	213.80 $\pm$ 14.532 ^a	201.60 $\pm$ 9.208 ^a
	5	225.00 $\pm$ 22.271 ^a	228.80 $\pm$ 7.852 ^a	217.60 $\pm$ 9.099 ^a
	6	235.20 $\pm$ 26.892 ^a	234.80 $\pm$ 19.980 ^a	232.00 $\pm$ 7.615 ^a
	7	244.40 $\pm$ 26.130 ^a	240.60 $\pm$ 17.458 ^a	233.60 $\pm$ 8.173 ^a
	8	242.80 $\pm$ 24.913 ^a	245.80 $\pm$ 16.589 ^a	232.40 $\pm$ 7.829 ^a
	9	251.40 $\pm$ 25.422 ^a	249.00 $\pm$ 19.078 ^a	236.60 $\pm$ 5.683 ^a
	10	252.60 $\pm$ 28.649 ^a	251.00 $\pm$ 19.261 ^a	242.60 $\pm$ 6.024 ^a
ผู้	1	202.50 $\pm$ 15.524 ^a	227.00 $\pm$ 12.490 ^a	221.00 $\pm$ 17.397 ^a
	2	262.25 $\pm$ 13.598 ^a	267.00 $\pm$ 14.899 ^a	261.00 $\pm$ 16.062 ^a
	3	283.50 $\pm$ 16.542 ^a	292.00 $\pm$ 14.899 ^a	291.75 $\pm$ 12.919 ^a
	4	306.00 $\pm$ 18.672 ^a	322.25 $\pm$ 12.0934 ^a	322.75 $\pm$ 11.5289 ^a
	5	331.75 $\pm$ 25.721 ^a	344.75 $\pm$ 9.979 ^{a,b}	367.50 $\pm$ 17.311 ^b
	6	347.25 $\pm$ 27.657 ^a	365.00 $\pm$ 8.981 ^a	362.25 $\pm$ 37.295 ^a
	7	359.50 $\pm$ 33.768 ^a	375.75 $\pm$ 17.764 ^a	379.00 $\pm$ 38.453 ^a
	8	368.25 $\pm$ 34.702 ^a	393.25 $\pm$ 11.644 ^a	373.75 $\pm$ 39.635 ^a
	9	386.00 $\pm$ 42.669 ^a	392.50 $\pm$ 24.637 ^a	387.75 $\pm$ 41.516 ^a
	10	401.50 $\pm$ 44.215 ^a	400.75 $\pm$ 22.911 ^a	403.00 $\pm$ 42.724 ^a

อักษรที่เห็นต่างกันในแนวนอนหมายถึงค่าที่แสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ $p \leq 0.05$

1.2 ผลทางโลหิตวิทยา

1.2.1 ผลต่อจำนวนเม็ดเลือดแดงอัดแน่น จำนวนเม็ดเลือดขาวโดยรวมและจำนวนเม็ดเลือดขาวแยกชนิด

จากตารางที่ 94 พบว่าในหนูเพศเมียมีจำนวนเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของกลุ่มทดลองไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ $p \leq 0.05$ ส่วนในหนูเพศผู้พบว่าจำนวนเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายไกปริมาณ 1.0 g/kg มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายไกปริมาณ 0.5 g/kg แต่ถึงอย่างไรก็เป็นค่าที่อยู่ในช่วงมาตรฐาน

1.2.2 ผลต่อจำนวนเม็ดเลือดขาวโดยรวมและจำนวนเม็ดเลือดขาวแยกชนิด

จากตารางที่ 94 พบว่าทั้งในหนูเพศเมียและเพศผู้มีจำนวนเม็ดเลือดขาวโดยรวมและจำนวนเม็ดเลือดขาวแยกชนิดในกลุ่มทดลองไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ $p \leq 0.05$

ตารางที่ 94 จำนวนเม็ดเลือดแดงอัดแน่น, จำนวนเม็ดเลือดขาวโดยรวมและจำนวนเม็ดเลือดขาวแยกชนิดของหนูที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายไcoxขนาด 0.5 กรัม/กิโลกรัมและ1.0 กรัม/กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลานาน 60 วันเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Mean $\pm$ SD)

เพศ	กลุ่ม	เม็ดเลือดแดงอัดแน่น(%)	Total white blood cell count (cell/mm ³)	ชนิดเม็ดเลือดขาว (%)				
				neutrophil	eosinophil	basophil	lymphocyte	monocyte
เมีย	ควบคุม	43.00 $\pm$ 1.73 ^a	3266.67 $\pm$ 153.81 ^a	8.40 $\pm$ 4.28 ^a	1.80 $\pm$ 0.45 ^a	0.20 $\pm$ 0.45 ^a	87.20 $\pm$ 4.55 ^a	2.40 $\pm$ 0.55 ^a
	0.5 g/kg	40.80 $\pm$ 3.96 ^a	2300.00 $\pm$ 916.52 ^a	15.00 $\pm$ 8.37 ^a	2.20 $\pm$ 1.30 ^a	0.20 $\pm$ 0.45 ^a	80.80 $\pm$ 8.47 ^a	2.20 $\pm$ 1.64 ^a
	1.0 g/kg.	42.00 $\pm$ 3.08 ^a	3333.33 $\pm$ 1184.62 ^a	11.80 $\pm$ 9.12 ^a	1.60 $\pm$ 0.89 ^a	0.40 $\pm$ 0.55 ^a	80.80 $\pm$ 8.47 ^a	2.40 $\pm$ 1.95 ^a
ผู้	ควบคุม	46.00 $\pm$ 2.16 ^a	5033.33 $\pm$ 1300.50 ^a	11.75 $\pm$ 3.10 ^a	0.75 $\pm$ 0.50 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	85.50 $\pm$ 3.11 ^a	2.00 $\pm$ 0.45 ^a
	0.5 g/kg	43.50 $\pm$ 1.29 ^{a,b}	5300.00 $\pm$ 500.00 ^a	11.25 $\pm$ 5.85 ^a	1.25 $\pm$ 0.50 ^a	1.25 $\pm$ 2.50 ^a	84.25 $\pm$ 5.56 ^a	2.00 $\pm$ 3.37 ^a
	1.0 g/kg	40.75 $\pm$ 3.86 ^b	2800.00 $\pm$ 916.51 ^a	13.25 $\pm$ 2.36 ^a	0.75 $\pm$ 0.50 ^a	1.25 $\pm$ 2.50 ^a	81.75 $\pm$ 5.85 ^a	3.00 $\pm$ 2.71 ^a

อักษรที่เห็นต่างกันในแนวนอนหมายถึงค่าที่แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ $p \leq 0.05$

1.3 ผลต่อการทำงานของตับและไต

จากตารางที่ 95 ซึ่งเป็นผลการตรวจค่า AST และ ALT เพื่อทดสอบการทำงานของตับ และค่า BUN และ creatinine เพื่อทดสอบการทำงานของไตพบว่าทั้งในหนูเพศเมียและหนูเพศผู้ของกลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายไcoxปริมาณ 0.5 g/kg และ 1.0 g/kg มีค่าต่างๆเหล่านี้ไม่แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมโดยทดสอบที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ $p \leq 0.05$

ตารางที่ 95 ผลการตรวจทางชีวเคมีของซีรัมของหนูที่ได้รับสกัดสาหร่ายไcoxติดต่อกันเป็นเวลานานติดต่อกัน 60 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Mean $\pm$ SD)

เพศ	กลุ่ม	ผลทางเคมีเทคนิค			
		AST(IU/L)	ALT(IU/L)	BUN(mg/dl)	Creatinine(mg/dl)
เมีย	ควบคุม	169.00 $\pm$ 59.189 ^a	39.00 $\pm$ 9.695 ^a	35.20 $\pm$ 5.704 ^a	0.70 $\pm$ 0.071 ^a
	0.5 g/kg	165.00 $\pm$ 46.138 ^a	40.00 $\pm$ 9.557 ^a	34.60 $\pm$ 3.787 ^a	0.70 $\pm$ 0.100 ^a
	0.1 g/kg	186.00 $\pm$ 46.804 ^a	39.00 $\pm$ 5.620 ^a	32.80 $\pm$ 11.732 ^a	0.72 $\pm$ 0.178 ^a
ผู้	ควบคุม	137.00 $\pm$ 28.355 ^a	32.50 $\pm$ 4.950 ^a	29.00 $\pm$ 2.000 ^a	0.60 $\pm$ 0.081 ^a
	0.5 g/kg	121.00 $\pm$ 32.078 ^a	33.50 $\pm$ 3.536 ^a	27.67 $\pm$ 3.055 ^a	0.58 $\pm$ 0.050 ^a
	1.0 g/kg	116.00 $\pm$ 23.643 ^a	32.50 $\pm$ 0.707 ^a	25.67 $\pm$ 3.786 ^a	0.60 $\pm$ 0.082 ^a

อักษรที่เห็นต่างกันในแนวนอนหมายถึงค่าที่แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ $p \leq 0.05$

สรุปผลการทดลอง

การให้สารสกัดสาหร่ายไวกปริมาณ 1.0 กรัม/กิโลกรัมและ 0.5 กรัม/กิโลกรัม ต่อเนื้อ กุ้งทุกตัว เป็นเวลา 60 วัน ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษใดๆในหนูขาวทั้งสองเพศ ถึงแม้ว่าปริมาณของเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของหนูเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายไวกปริมาณ 1.0 กรัม/กิโลกรัมมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ $p \leq 0.05$ แต่ค่านี้ก็อยู่ในช่วงของค่ามาตรฐาน

จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า การบริโภคสาหร่ายสาหร่ายไวกจะไม่มีพิษภัยแต่อย่างใด ถึงแม้จะบริโภคเป็นปริมาณมากในแต่ละวัน หรือบริโภคติดต่อกันทุกวัน ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีความเหมาะสมที่จะเผยแพร่หรือประชาสัมพันธ์ให้กับชุมชนและบุคคลทั่วไปได้รับทราบต่อไป เพื่อให้เกิดความมั่นใจในการบริโภคสาหร่ายไวก

4.3.3.2 การทดสอบฤทธิ์ทางยาของสาหร่ายไวก

สาหร่ายไวก ในการทดสอบใช้สาหร่ายไวก *Cladophora glomerata* ในรูปส่วนสกัดอัลกอฮอล์ ซึ่งเตรียมโดยนำไวกแห้งมาหมักในอัลกอฮอล์เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำมารองและระเหยเอาอัลกอฮอล์ออกแล้วทำให้แห้ง คิดเป็น % yield เท่ากับ 10.33

หมายเหตุ: สาหร่ายไวกที่นำมาทดสอบเก็บมาจากลำน้ำยาว ซึ่งเป็นแม่น้ำสาขาของลำน้ำน่าน

โดยเก็บช่วงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2548

สัตว์ทดลอง หนูขาว และ หนูถีบจักร สั่งซื้อจาก สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล จัดส่งโดยทางเครื่องบิน หนูตะเภาหาซื้อที่จังหวัดเชียงใหม่ อาหารสัตว์ทดลองสั่งซื้อจาก บริษัทเพอร์เฟคคอมพาเนียน กรุงเทพมหานคร

แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 5-6 กลุ่มๆละ 6-8 ตัว ได้แก่ กลุ่มได้รับยามาตรฐาน 1-2 กลุ่ม กลุ่มทดลอง 3 กลุ่ม ได้รับสารทดสอบ 2-3 ขนาด และกลุ่มควบคุมได้รับสารที่เป็นตัวทำละลาย (vehicle) ของสารทดสอบ

แบ่งการศึกษาออกเป็น 6 ส่วนดังนี้

4.3.3.2.1 การทดสอบฤทธิ์ด้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร

ศึกษาฤทธิ์ของสาหร่ายไวกในการต้านการให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร ทำให้เกิดความเครียดโดยการขังกรงและแช่น้ำ (Takagi *et al.*, 1963) ประเมินแผลในกระเพาะอาหารโดยการวัดความยาวของแผลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10 เท่า คำนวณหา ulcer index และ % ยับยั้งการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร

4.3.3.2.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ

ศึกษาฤทธิ์ของสาหร่ายไวกในการยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ โดยทดสอบฤทธิ์ในการต้านการหดตัวของลำไส้เล็กของหนูตะเภาที่แยกออกจากตัว ซึ่งการหดเกร็งกระตุ้นโดย acetylcholine (Blattner *et al.*, 1987)

4.3.3.2.3 การทดสอบฤทธิ์ขยายหลอดลม

ศึกษาฤทธิ์ขยายหลอดลมของสาหร่ายไวก โดยทดสอบฤทธิ์ในการต้านการหดตัวของหลอดลมของหนูตะเภาที่แยกออกจากตัว ซึ่งการหดเกร็งกระตุ้นโดย histamine (Castillo and De beer, 1947)

4.3.3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ระงับปวด

ศึกษาฤทธิ์ระงับปวดของสารห่วยไกโดยใช้การทดลอง writhing response โดยวัดผลระดับความเจ็บปวดของหนูถีบจักรที่เกิดจากการฉีด acetic acid เข้าช่องท้อง (Koster *et al.*, 1959)

4.3.3.2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ

ศึกษาฤทธิ์การต้านการอักเสบของสารห่วยไก ทำโดยการวัดผลระดับการบวมของหูหนู ซึ่งการบวมกระตุ้นโดยสาร ethyl phenylpropiolate (Brattsand *et al.*, 1982)

4.3.3.2.6 การทดสอบผลต่อความดันโลหิต

ศึกษาฤทธิ์ของสารห่วยไกต่อความดันโลหิต โดยศึกษาผลของสารห่วยไกเมื่อให้ทางหลอดเลือดดำ ต่อความดันโลหิตและการเต้นของหัวใจของหนูขาวที่สลบ (Mc. Loed, 1970)

การวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ ANOVA และ Newman-Keul Test หรือ Mann Whitney Test เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มสัตว์ทดลอง

ผลการวิจัย

4.3.3.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร

ผลการทดลองพบว่า สารห่วยไกมีฤทธิ์ต้านการเกิดแผลกระเพาะอาหารของหนูขาวที่ถูกกระตุ้นให้เกิดแผลด้วยความเครียดจากการขังกรงและแช่น้ำ ดังแสดงในตารางที่ 96 ภาพที่ 48 สารห่วยไกขนาด 100 และ 500 มก./กก. มีผลยับยั้งการเกิดแผล 27.4 และ 58.5% ตามลำดับ ส่วน Cimetidine (เป็นยาในกลุ่ม H₂-antagonist ใช้รักษาโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ โดยไปมีผลต่อการยับยั้งการหลั่งกรดและน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร) ซึ่งใช้เป็นยามาตรฐานมีผลยับยั้งการเกิดแผล 72.4%

ตารางที่ 96 ผลของไกในการต้านการเกิดแผลกระเพาะอาหารของหนูขาวที่ถูกกระตุ้นให้เกิดแผลโดยความเครียดจากการขังกรงและแช่น้ำ (อุณหภูมิ 22± 2 °C นาน 5 ชม.)

กลุ่ม	ความยาวของแผลในกระเพาะอาหาร (มม.)	%การยับยั้งการเกิดแผล
ควบคุม(น้ำกลั่น)	16.4 ± 3.3	-
Cimetidine 100 มก/กก.	3.7 ± 1.0***	72.4
ไก 100 มก/กก.	11.9 ± 1.1	27.4
500 มก/กก.	6.8 ± 1.5**	58.5

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M)

** : มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.01

***: มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.001



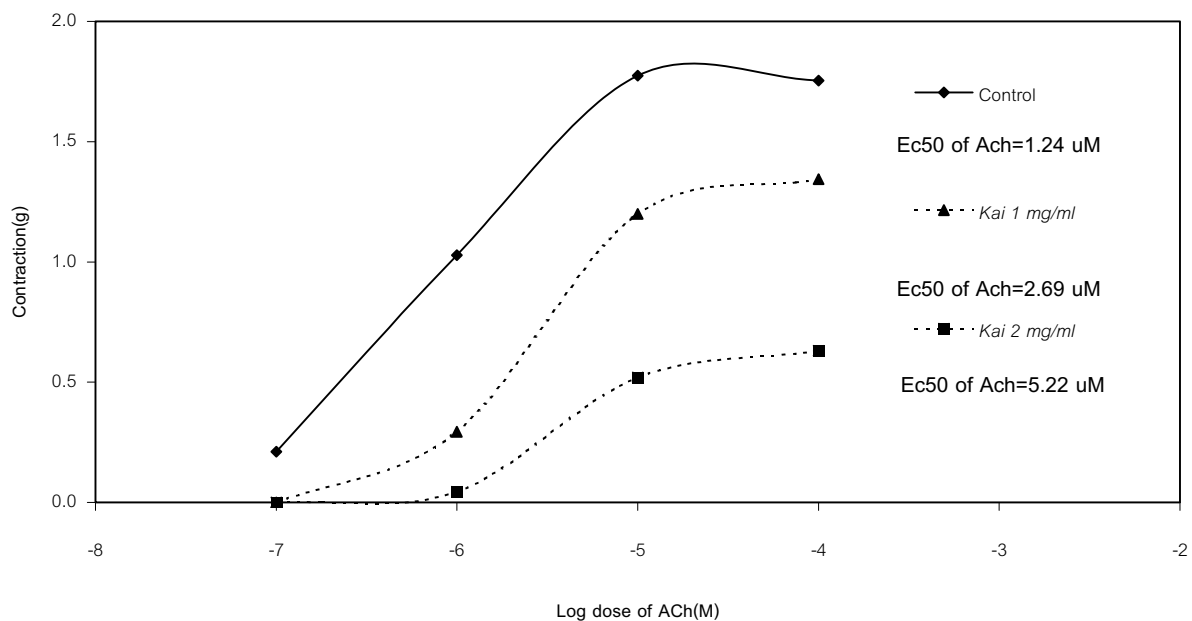
กระเพาะหนูกลุ่มควบคุม

กระเพาะหนูกลุ่มที่ได้รับไก
(500 มก/กก.)

ภาพที่ 48 ตัวอย่างแผลกระเพาะอาหารของหนูขาวที่ถูกกระตุ้นให้เกิดแผลโดยความเครียดจากการ ขังกรงและแช่น้ำในหนูกลุ่มควบคุมและหนูกลุ่มที่ได้รับไก 500 มก/กก

4.3.3.2.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารห่วยไกมีฤทธิ์ต้านการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ เมื่อทดสอบกับลำไส้เล็กของหนูตะเภาที่แยกออกจากตัว ซึ่งการหดเกร็งกระตุ้นโดย Acetylcholine (ACh) ดังแสดงใน ภาพที่ 49 เห็นได้จากในสภาวะที่มีสารห่วยไกจะต้องใช้ความเข้มข้นของ ACh ในขนาดสูงขึ้นเพื่อกระตุ้นให้เกิด การหดตัวของลำไส้เล็ก โดยพิจารณาจากค่า EC_{50} (ขนาดความเข้มข้นของ ACh ที่กระตุ้นการหดตัวของลำไส้เล็ก ได้ 50%) จากผลการทดลอง ค่า EC_{50} ของ ACh เมื่อไม่มีสารห่วยไกมีค่าเป็น 1.24 ไมโครโมลาร์ ส่วนในสภาวะที่ มีสารห่วยไกขนาด 1 และ 2 มก./มล. ค่า EC_{50} ของ ACh เพิ่มขึ้นเป็น 2.69 และ 5.22 ไมโครโมลาร์ตามลำดับ



ภาพที่ 49 แสดงผลของไกในขนาด 1 และ 2 มก./มล. ในการต้านการหดเกร็งของลำไส้เล็กของหนูตะเภาที่ แยกออกจากตัว ซึ่งการหดเกร็งกระตุ้นโดย acetylcholine

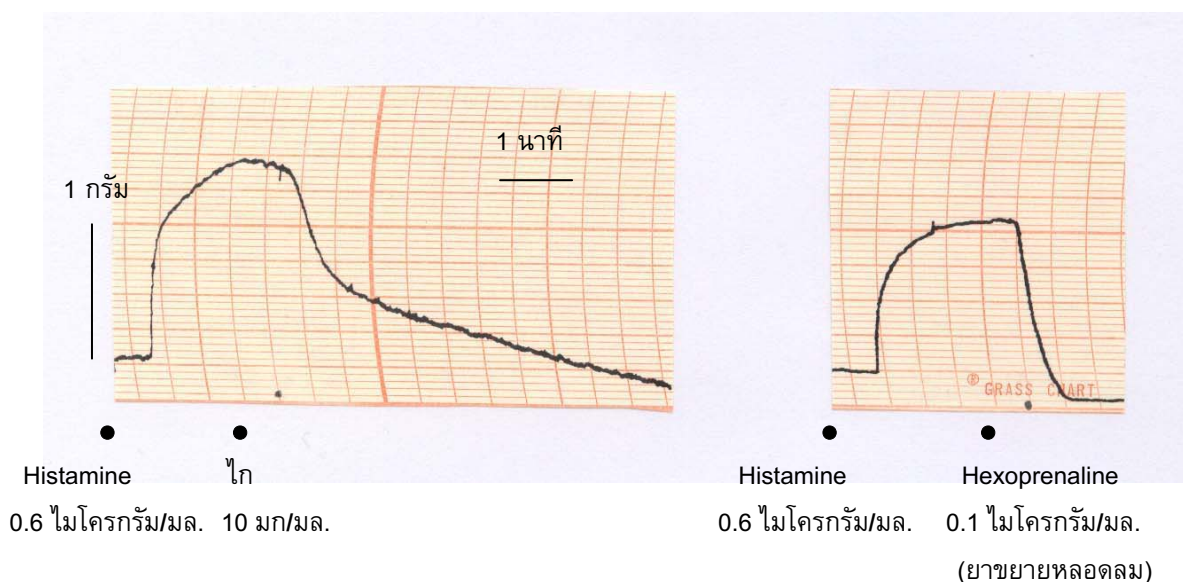
4.3.3.2.3 การทดสอบฤทธิ์ขยายหลอดลม

ผลการทดลองพบว่า สำหรับไก่สามารถต้านทานการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาที่แยกออกจากตัว ซึ่งการหดตัวกระตุ้นโดยสาร Histamine ดังแสดงในตารางที่ 97 ภาพที่ 50 ไก่ขนาดความเข้มข้น 1.25, 2.50, 5.0 และ 10 มก/กก. สามารถต้านการหดตัวของหลอดลม ได้ 5.42, 14.99, 50.86 และ 100% ตามลำดับ

ตารางที่ 97 ผลของสารไก่ต่อการต้านการหดตัวของหลอดลมของหนูตะเภาที่ถูกแยกออกจากตัวซึ่งการหดเกร็งกระตุ้นโดย histamine

ความเข้มข้นของไก่(มก/มล.)	% ยับยั้งการหดเกร็ง
1.25	5.42 ± 2.20
2.50	14.99 ± 2.46
5.00	50.86 ± 8.06
10.00	100 ± 0

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M)



ภาพที่ 50 แสดงผลของไก่ต่อการต้านการหดตัวของหลอดลมของหนูตะเภาที่ถูกแยกออกจากตัวซึ่งการหดเกร็งกระตุ้นโดย histamine

4.3.3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ระงับปวด

ผลการทดลองพบว่าสำหรับไก่มีฤทธิ์ระงับปวด โดยที่สามารถลดจำนวนครั้งของการบิดตัวของหนูถีบจักร จากการฉีด Acetic acid ได้ สำหรับไก่ขนาด 100 และ 500 มก./กก. สามารถยับยั้งความเจ็บปวดได้ 34.7 และ 84.5% ตามลำดับ ส่วน Aspirin (เป็นยาระงับปวดลดไข้ ชนิด non-narcotic) ซึ่งใช้เป็นยามาตรฐาน ยับยั้งได้ 72.6% ดังแสดงผลในตารางที่ 98

ตารางที่ 98 ผลของไเกในการยับยั้งความเจ็บปวดของหนูถีบจักรจากการฉีด acetic acid

กลุ่ม	จำนวนครั้งของการบิดตัว (No. of writhes)	%ยับยั้งความเจ็บปวด
ควบคุม	27.7 ± 2.0	-
Aspirin		
150 มก./กก.	7.6 ± 2.1***	72.6
ไเก		
100 มก./กก.	18.1 ± 2.4**	34.7
500 มก./กก.	4.3 ± 1.2***	84.5

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M)

** : มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.01

***: มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.001

4.3.3.2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ

ผลการทดลองพบว่าสารห่วยไเกมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยสามารถยับยั้งการบวมของหูหนูขาว ซึ่งกระตุ้นโดยสาร Ethyl phenylpropionate ดังแสดงในตารางที่ 99 ผลของไเกในขนาด 3 มก./หู ใกล้เคียงกับยา มาตรฐาน Phenylbutazone (เป็นยาในกลุ่ม NSAID ใช้รักษาการปวด บวม และอักเสบ) ในขนาด 1 มก./หู

ตารางที่ 99 ผลของไเกในการยับยั้งการบวมของหูหนู ซึ่งการบวมกระตุ้นโดยสาร Ethyl phenylpropionate

กลุ่ม	% ยับยั้งการบวมของหูหนู			
	15 นาที	30 นาที	1 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง
ควบคุม(Acetone)	-	-	-	-
Phenylbutazone				
1 มก./หู	83	72	63	60
ไเก				
3 มก./หู	87	79	50	56

4.3.3.2.6 การทดสอบผลต่อความดันโลหิต

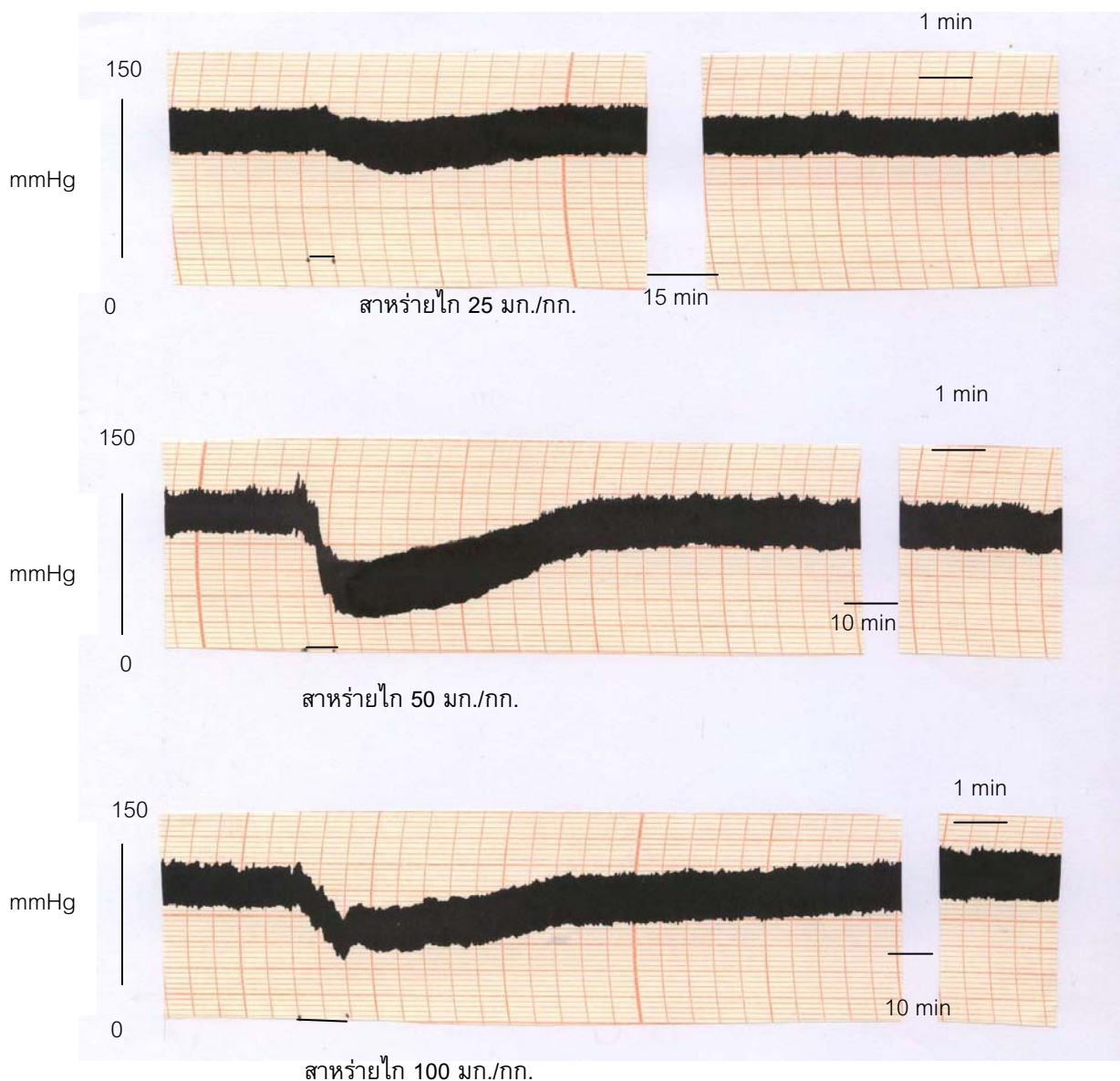
ผลการทดลองพบว่าสารห่วยไเกมีฤทธิ์ลดความดันโลหิต เมื่อทดสอบในหนูขาวที่สลบด้วยยา Pentobarbital พบว่าไเกขนาด 25, 50 และ 100 มก./กก. สามารถลดความดันโลหิต ได้ 26, 15, 45.00 และ 63.78% ตามลำดับ ดังแสดงผลในตารางที่ 100 ภาพที่ 51

ตารางที่ 100 ผลของไเกต่อการลดความดันโลหิตในหนูขาวที่สลบด้วยยา pentobarbital

ขนาดของไเก(มก./กก.)	%การลดลงของความดันโลหิต
25	26.15 ± 6.64
50	45.00 ± 5.91
100	63.78 ± 5.15

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M)

Data are expressed as mean ± S.E.M. n = 8



ภาพที่ 51 แสดงผลการลดความดันโลหิตของสารร้ายไก่ในหนูขาวที่สลบ pentobarbital

วิจารณ์ผลการทดลอง

สารร้ายไก่มีฤทธิ์ด้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ขยายหลอดลม ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ด้านการอักเสบ ระงับปวดและลดความดันโลหิต

การทดสอบเพื่อตรวจหาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ใช้ในรายงานนี้เป็นเพียงการทดสอบเบื้องต้น ดังนั้นจะต้องมีการศึกษาต่อไปในเชิงลึกเพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์มาสนับสนุน

โรคแผลในกระเพาะอาหารเป็นโรคเรื้อรัง ซึ่งสาเหตุเกิดจากความไม่สมดุลระหว่าง aggressive factors และ defensive factors ซึ่งมีส่วนในการ maintain mucosal integrity และกลไกป้องกันของกระเพาะอาหารเอง ในการตรวจสอบเบื้องต้นได้ใช้การทดลองในหนูขาวโดยการกระตุ้นให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารด้วยความเครียดจากการขังกรงและแซ่หน้า พบว่าสารร้ายไก่มีฤทธิ์ด้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร การทดสอบฤทธิ์ด้านการเกิด

แผลกระเพาะอาหารมีการทดลองที่กระตุ้นให้เกิดแผลโดยวิธีการต่างๆ กัน เช่น การทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดแผลกระเพาะอาหารที่กระตุ้นโดยยา NSAID โดยการให้สาร ethanol และ กรดเกลือ การประเมินผลในการยับยั้งการหลั่งกรด การประเมินผลในการป้องกันเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารถูกทำลาย การตรวจหาฤทธิ์เป็น H_2 antagonist ซึ่งสามารถนำมาใช้เพื่ออธิบายฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ได้

การทดสอบฤทธิ์ระงับการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ใช้การทดสอบในลำไส้เล็กที่แยกออกจากตัวของหนูตะเภา พบว่าสารหว่ายไกมีฤทธิ์ต้านการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นยาสำหรับบรรเทาอาการปวดของอวัยวะภายใน เช่น การปวดท้อง เป็นที่น่าสนใจว่าสารหว่ายไไกอาจจะมีฤทธิ์ระงับการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะอื่นๆ เช่น มดลูก หลอดเลือด (ฤทธิ์ขยายหลอดเลือด) และหลอดลม

สารหว่ายไไกสามารถต้านทานการหดตัวของหลอดลมหนูตะเภาที่แยกออกจากตัว ซึ่งกระตุ้นโดยสาร histamine แสดงให้เห็นว่าสารหว่ายไไกมีฤทธิ์ขยายหลอดลม ควรจะต้องมีการศึกษาต่อไป โดยทำการทดสอบฤทธิ์ต้านการหดตัวของหลอดลมซึ่งกระตุ้นให้เกิดโดยสารอื่นๆ เช่น Acetylcholine, Prostaglandin, Leukotriene ฯลฯ เนื่องจากสารเหล่านี้มีผลทำให้หลอดลมตีบหรือหดตัว และเป็นหลักฐานสนับสนุนการใช้ประโยชน์ในการนำมาใช้เป็นยาขยายหลอดลมสำหรับรักษาโรคหอบหืด

การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบในรายงานนี้เป็นการทดสอบที่ไบฮูหนูขาวซึ่งเป็นการให้ยาเฉพาะที่ และเป็นการทดลองเพื่อคัดกรองฤทธิ์ ในการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบควรจะต้องมีการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบเฉียบพลันและฤทธิ์ต้านการอักเสบแบบเรื้อรัง การใช้สารกระตุ้นให้เกิดการอักเสบเช่น carrageenin และ arachidonic acid จะสามารถบอกกลไกการออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้ง arachidonic acid metabolism ทางด้าน cyclooxygenase หรือ lipoxygenase pathway

การทดสอบฤทธิ์ระงับปวด โดยใช้การทดลอง writhing response เป็นการทดสอบเบื้องต้น ควรจะต้องมีการทดสอบเพิ่มเติมในการทดลองอื่น เพื่อที่จะสามารถแยกได้ว่า ฤทธิ์ระงับปวดนั้นเป็นการออกฤทธิ์คล้ายกับยากลุ่ม NSAIDs หรือออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางคล้ายยากลุ่ม opioids

การทดสอบฤทธิ์ลดความดันโลหิตของไไก ควรจะต้องมีการศึกษาหัวใจเพิ่มเติม โดยทำการทดสอบฤทธิ์ต่อหัวใจและหลอดเลือดแดง เพื่อหากลไกการออกฤทธิ์ และศึกษาฤทธิ์ลดความดันโลหิตในหนูที่อยู่ในภาวะความดันโลหิตสูง

เนื่องจากการศึกษาการทดสอบฤทธิ์ทางยาของสารหว่ายไไกนี้เป็นการศึกษาในช่วงสุดท้ายของโครงการวิจัย ซึ่งทางคณะวิจัยได้พยายามหาทีมวิจัยซึ่งมีความสามารถทางด้านการศึกษาฤทธิ์ทางยาทดแทนการศึกษาทางด้านการใช้เป็นภูมิคุ้มกัน ซึ่งไม่ประสบผลสำเร็จตามที่กล่าวมาในข้อ 4.3.2 ดังนั้นในช่วงเวลาที่จำกัดจึงทำให้การศึกษาฤทธิ์ทางการใช้เป็นตัวยายังไม่สมบูรณ์ ยังเป็นเพียง Preliminary test ซึ่งเชื่อถือได้ และนับว่าเป็นความโชคดีที่ได้พบฤทธิ์ทางยาหลายประการจากสารหว่ายไไก ส่วนสารหว่ายลอนยังไม่ได้ทำการศึกษา ทางคณะวิจัยจึงมีแนวความคิดที่จะศึกษาฤทธิ์ทางยาทางสารหว่ายไไก และสารหว่ายลอน รวมทั้งความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่อไปอีก เพื่อให้มีความสมบูรณ์และเชื่อถือได้ ซึ่งถ้าผลการวิจัยได้รับการสนับสนุนจนกระทั่งได้รับผลสำเร็จสมบูรณ์ทุกด้าน ย่อมจะส่งผลดีทั้งการใช้ทรัพยากรธรรมชาติมาเป็นตัวยารักษาโรค และผลดีต่อผู้ผลิตผลิตภัณฑ์จากสารหว่ายไไกออกจำหน่าย รวมถึงผู้บริโภคผลิตภัณฑ์เหล่านั้นและชุมชนที่บริโภคสารหว่ายไไกเป็นอาหารจากภูมิปัญญาชาวบ้านอย่างแท้จริง

เอกสารอ้างอิง

- กาญจนภาณุ ลิ้มโนมนต์. 2527. สหรัย. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กิตติศักดิ์ โชติเดชานรงค์. 2546. การขยายพันธุ์ต้นหนอนตายหายาก (*Stemona* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2537. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ. 2537). กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ.
- คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร . 2546. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จจินต์ ศิวศิลป์. 2525. สหรัยวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- จิตพัต แยมแพ. 2541. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซูบไซกิ้งสำเร็จรูปโดยกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- เจียมจิตต์ บุญสม. 2532. ความลับของสหรัยเกลียวทอง: ผลทางการรักษาโรคที่นายแพทย์ชาวญี่ปุ่นค้นพบ. งานแปลฉบับที่ 105 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- ทนาวุฒิ ปริญญาพัฒนบุตร. 2547. ไก่ซูบแปงทอด. อาหาร 34(1): 46 – 48.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. 2540. สหรัยตอนที่ 1: ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสหรัย สหรัยสีเขียวกวนน้ำเงิน และ สหรัยสีเขียว. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. 2542. เรื่องดีๆ ของสหรัย. จดหมายข่าวนานาชาติ. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ปีที่ 4 ฉบับที่ 1 หน้า 13-15.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. 2545. สหรัยวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สรวิศ เผ่าทองสุข. 2543. สหรัย: ศักยภาพการวิจัยและพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์จากสหรัยในประเทศไทย. เอกสารเผยแพร่ชุดโครงการ “อุตสาหกรรมสัตว์น้ำ” สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ชุดที่ 2.
- อาภารัตน์ มหามันท์. 2540. สายพันธุ์จุลสหรัย ณ ศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ วท. วิทยาศาสตร์ สำหรับเยาวชน สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เล่มที่ 10 สิงหาคม 2540. หน้า 131-134.
- AOAC. 2000. Official Method of Analysis. 17th ed. The Association of Official Analytical Chemist, Gaithersburg.Maryland, U.S.A.
- APHA, AWWA, WPCE. 1992. Standard method for examination of water and waste water. Washington DC., American Public Health Association.
- Becker, E.W. 1994. Microalgae: Biotechnology & Microbiology. Great Britain. Cambridge University Press.
- Brattsand R, Thalen A, Roempke K, Kallstrom L, Gruvstad E. Influence of 16 α , 17 α -acetal substitution and steroid nucleus fluorination on the topical to systemic activity ratio of glucocorticoids. J steroid Biochem 1982; 16(6): 779-786.
- Bushuk, W. and Wrigley, E. W. 1974. Protein: Composition, Structure and function. In Wheat: production and utilization. Nglett. G.E (editor). The AVI Publishing Company, Inc. Westport. Connecticut. P. 119 – 145.
- Castillo, J.C. and De Beer E.J. The tracheal chain, a preparation for the study of antispasmodics with particular reference to bronchodilator drugs. J pharmacology and experimental therapeutics 1947; 90: 104-109.

- Desikachary T.V. 1959. Cyanophyta. Indian Council of Agricultural Research, New Dehi.
- Dey B., Lerher D. L., Lusso P., Boyd M.R., Elder J.H., Berger E. A. 2000. Multiple Antiviral of Cyanovirin-N: Blocking of Human Immunodeficiency Virus Type 1 gp 120 Interaction with CD4 and Coreceptor and Inhibition of Diverse Envelope Viruses. *Journal of Virology*, 74, 4502-4509.
- Entwisle T. J. 1989. Macroalgae in Yarra River basin: Flora and distribution. *Proc. R. Soc. Victoria*. 101: 1-79
- Fish S.A., Codd G.A. 1994. Bioactive Compound Production by Thermophilic and Thermotolerant Cyanobacteria (Blue-Green Algae). *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 10, 338-341.
- Haynes J.D. 1975. Botany: An introduction to Plant Kingdom. New York, John Wiley & Sons, Inc.
- Hoffmann L. 1988. Criteria for classification of blue-green algae (cyanobacteria) at the genus and at the species level. *Arch. Hydrobiol.*, 80, (1-4): 50-53.
- Huber-Pestalozzi G. 1983. Das Phytoplankton des Süßwassers: Chlorophyceae Grünalgen Ordnung Chlorococcales. 7. Teil. 1. Hälfte. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.
- Jenning T.A. 1989. The value of lyophilization data. *Parenteral Science and Technology*, 43, 150-161.
- John D.M., Whitton B.A., Brook A.J. 2002. The Freshwater Algal Flora of the British Isles. Cambridge University Press. United Kingdom.
- Katrien M.J., Van L., Ralf H., Margaret B., Henk A.S., Alphons G.J.V. 2000. Fermentation of Plant Cell Wall Derived Polysaccharides and Their Corresponding Oligosaccharides by Intestinal Bacteria. *J. Agri. Food. Chem.*, 48: 1644-1652.
- Kmitt. 1996. Laboratory document, A regional workshop on mass cultivation of microalgal. King Mongkut's Institute of technology thonburi, Bangkok.
- Knorr, D. 1998. Technology Aspects Related to Microorganisms in Functional Foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 9: 295-306.
- Komarek J. and Anagnostidis K. 1989. Modern approach to the classification system of cyanophytes.4-Nostocales. *Arch. Hydrobiol.*, 82, 247-345.
- Koster R, Anderson M, De Beer E.J. Acetic acid for analgesic screening. *Fed Proc* 1959; 18: 412.
- Lee R.E. 1999. Phycology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lorraine L.J., Vollenweider R.A. 1981. Summary report, the OECD cooperative programme on eutrophication. National Water Research Institute, Burlington.
- NIES. 1997. NIES-Collection: List of strains Microalgae and Protozoa. National Institute for Environmental Studies Environment Agency. Japan.
- Patterson G.M.L., Moore R., Cameli S., Smith C., Kimura L.H. 1996. Scytophycin Compounds, Composition and Method for their Production and Use. *Journal of Biotechnology Advance*, 14: 580-581.
- Peerapornpisal Y., C. Chaiubol, H. Kraibut, M. Chorum, P. Wannathong. N. Ngernpat, K. Jusakul, A. Thammathiwat, J. Chuananta and T. Inthasotti. 2003. The Monitoring of Water Quality in Ang Kaew Reservoir of Chiang Mai University by Using Phytoplankton as Bioindicator from 1995-2002. *Chiang Mai Journal of Science*, 2004; 31(1): 85-94.

- Peerapornpisal Y., Proengkarn S., Kasantikul K. 1997. Nutritional Value and Cultivation of *Spirogyra* spp. Proceeding on 2nd Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference and 2nd Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology, 7-10 May 1997, Phuket Arcadia Hotel & Resort, Karon Beach, Phuket, p. 157-162.
- Precott G.W. 1970. How to know the freshwater algae. Iowa, W.M.C. Brown Company Publishers Dubuque.
- Rippka R., Duruelles J., Waterbury J.B., Herdmann M., and Stainer R.Y. 1979. Generic assignment, strain history and properties of pure cultures of cyanobacteria. Gen. Microbiol., 1, 1-61.
- Takagi, T., Kasuya, Y., and Watanabe, K. Studies on the drug for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats. Chem Pharm Bull (Tokyo) 1963; 12: 465-472.
- Tanticharoen M., Ruengjitchatchawalya M. 2001. High Value Chemicals from *Spirulina*. Proceeding on the Workshop on Mass Cultivation of *Spirulina*, 8-11 January 2001, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, Thailand, p. (4-1)-(4-12).
- Vercellotti J.R., Salyers A.A., Bullard W.S., Wilkins T.D. 1997. Breakdown of Mucin and Plant Polysaccharides in the Human Colon. Can. J. Biochem., 55: 1190 -1196.
- Voragen, A.G.J. 1998. Technological Aspects of Functional Food-Related Carbohydrates. Trends Food Sci. Technol., 9: 328-335
- Wetzel R.E. 1983. Limnology. Philadelphia, Saunders College Publishing.

ภาคผนวก

- ตารางสรุปผลการดำเนินงาน
- อุปกรณ์สำหรับศึกษาสาหร่ายในระบบนิเวศน้ำไหล
- สูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายไคและสาหร่ายลอน

รายละเอียดผลการดำเนินงานของโครงการตามแผนงานโดยสรุป

ตารางสรุปรายงานตามแผนงาน กิจกรรมและผลการดำเนินงาน

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ได้ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
1. ศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ทางด้านรูปร่าง โครงสร้างโดยมุ่งเน้นชนิดที่สามารถนำมาเป็นอาหารและยา รวมถึงนิเวศวิทยา การแพร่กระจายฤดูกาลของการเจริญของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ชนิดนั้นๆ ในลำน้ำน่าน	1. สํารวจความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในลำน้ำน่านในจุดเก็บตัวอย่างที่กำหนดไว้ รวมทั้งศึกษากุณภาพน้ำทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ 2 ปี เพื่อหาชนิดที่มีศักยภาพในการใช้เป็นอาหารและยา รวมถึงการปรากฏของสาหร่ายชนิดนั้นๆ ตามจุดต่างๆ	1. ได้ดำเนินการสำรวจความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในลำน้ำน่านในจุดเก็บตัวอย่างที่กำหนดไว้ ได้ศึกษากุณภาพน้ำทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพที่เกี่ยวข้อง เป็นเวลา 2 ปี	1. ได้พบว่าในลำน้ำน่านมีความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ถึง 56 สปีชีส์ นับว่ามีความหลากหลายชนิดที่มาก แต่ชนิดที่มีความหนาแน่นและมีศักยภาพในการนำมาเป็นอาหารและยาได้มี 3 ชนิด คือ <i>Cladophora</i> spp. และ <i>Microspora</i> spp. ซึ่งคือสาหร่ายไก่อ <i>Nostochopsis</i> spp. ซึ่งคือสาหร่ายลอน สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดพบในลำน้ำน่านมากในช่วงฤดูแล้ง ตั้งแต่พฤศจิกายนถึงเมษายน เมื่อถึงฤดูฝนความขุ่นของน้ำมีมาก ปริมาณแสงส่องผ่านลงไปใต้น้ำน้อย ทำให้ไม่สามารถเจริญได้ คุณภาพน้ำที่สาหร่ายทั้ง 3 ชนิด เจริญได้อยู่ในช่วงตีสี่ถึงปานกลาง และสิ่งยั่วยุเกาะที่สำคัญคือก้อนหิน บริเวณพื้นท้องน้ำ
2. ศึกษาศักยภาพของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในการนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารในรูปแบบต่างๆ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีความหลากหลายมากขึ้น ปรับปรุงผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายน้ำจืดให้เป็นที่ยอมรับมากขึ้น เพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการที่เพิ่มขึ้น เพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการของเกษตรกรและผู้บริโภค	2.1 สํารวจการนำสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในลำน้ำน่านและลำน้ำสาขาเข้ามาเป็นอาหารและยาด้วยภูมิปัญญาชาวบ้าน	2.1 ได้สัมภาษณ์บุคคลในชุมชนริมแม่น้ำน่านและแม่น้ำสาขาผู้ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับความเป็นอยู่ของประชากรในบริเวณดังกล่าวเกี่ยวกับการนำสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่มาเป็นอาหารและยา	2.1 ประชากรแถบลำน้ำน่านนิยมนำสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอนมาประกอบอาหารพื้นบ้านมาเป็นเวลานาน ไม่สามารถทราบถึงจุดเริ่มต้นได้แน่ชัด อาหารพื้นบ้านได้แก่ ยำ ไก่ ย่า ลอน ไก่ และห่อหนึ่งไก่ ต่อมามีการพัฒนาเป็นอาหารประเภทอื่นจำหน่ายภายในหมู่บ้านและภายในจังหวัด มีการใช้สาหร่ายลอนเป็นยาแก้อ่อนใน และมีผู้บอกเล่าว่าบริโภคสาหร่ายไก่อแล้วช่วยให้โรคกระเพาะอาหารทุเลาลง
2.2 ปรับปรุงอาหารจากสาหร่ายไก่อให้เป็นอาหารประเภทต่างๆ เพื่อให้มีความหลากหลายมากขึ้นทั้งมีรสชาติดีและการปรุงแต่งที่ถูกต้องผู้บริโภค	2.2 ปรับปรุงอาหารจากสาหร่ายไก่อให้เป็นอาหารประเภทต่างๆ เพื่อให้มีความหลากหลายมากขึ้นทั้งมีรสชาติดีและการปรุงแต่งที่ถูกต้องผู้บริโภค	2.2 ได้มีหน่วยงาน 4 แห่งคือ ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาลิขิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตน่านและสถาบันคั้นควาและพัฒนาผลิตภัณฑ์ อ า ห า ร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ร่วมกันแปรรูปอาหารประเภทต่างๆ	2.2 จากการปรุงอาหารต่างๆ ของหน่วยงาน 3 แห่ง ได้ผลิตภัณฑ์เป็นขนมอบ ขนมอบกรอบ ขนมไทย อาหารสำเร็จรูป อาหารว่าง น้ำพริก และเส้นมะหมี รวม 24 ผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ที่ทำที่บ้านนำไปใช้แปรรูปเพื่อการจำหน่ายแล้วคือ ขนมอบกรอบ ขนมไทย อาหารว่าง น้ำพริก และเส้นมะหมี ซึ่งผลิตภัณฑ์สุดท้ายนี้จะมีการศึกษาสูตรบสูตรอาหารที่ได้ถ้ามีวัตถุดิบเพียงพอและมีการสนับสนุนจากภาครัฐอย่างจริงจัง

ตารางสรุป (ต่อ)

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ได้ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
	2.3 ปรับปรุงผลิตภัณฑ์อาหารของภูมิปัญญาชาวบ้านซึ่งเป็นที่ยอมรับกันคือไก่ไข่ให้มีความห็นน้อยลงเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน และยืดอายุความกรอมของไก่แผ่นให้นานขึ้น	2.3 ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนากลไกผลิตภัณฑ์คณะอุตสาหกรรมเกษตร ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์ไก่ไข่และไก่แผ่นให้มีคุณภาพดีขึ้น	2.3 สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ไก่ไข่ และไก่แผ่นให้มีคุณภาพดีขึ้น โดยลดความชื้นของสาหร่ายไก่อเมื่อนำมาผลิต พัฒนาการบรรจุภัณฑ์โดยใช้ถุงพลาสติกที่มีคุณภาพในการลดการรั่วไหลของอากาศได้ดีขึ้น รวมถึงการใช้สารดูดความชื้น
3. ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ชนิดที่นำมาเป็นอาหารเพื่อให้ผู้บริโภคและผู้ผลิตรู้จักคุณค่าเหล่านี้ อันจะนำมาซึ่งความมั่นใจ ในการบริโภค รวมถึงความเป็นพิษว่ามีหรือไม่ ซึ่งมี ความสำคัญในการส่งเสริมเพื่อใช้เป็นอาหาร และยาต่อไป	3.1 ทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญของสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอน	3.1 ได้ส่งตัวอย่างสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอน จากลำน้ำน่านและแม่น้ำโขง ไปวิเคราะห์ที่โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	3.1 ได้ทราบถึงคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญของสาหร่ายไก่อ และสาหร่ายลอน โดยพบว่าสาหร่ายทั้ง 2 ประเภท มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกับปลาน้ำจืด มีวิตามินหลายชนิด โดยเฉพาะกลุ่มวิตามินบี มีเกลือแร่หลายชนิด ที่มีมากคือแคลเซียม ในสาหร่ายลอน และซีลีเนียมในสาหร่ายไก่อ ซึ่งถือว่าเป็นคุณลักษณะพิเศษของสาหร่ายทั้งสองที่ควรจะประชาสัมพันธ์ให้ผู้บริโภคได้รับรู้ทีเดียว
	3.2 ทำการศึกษาความเป็นพิษในสาหร่ายไก่อ	3.2 ได้ทำการวิเคราะห์ความเป็นพิษในสาหร่ายไก่อที่หน่วยวิจัยพิษวิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	3.2 จากการศึกษาความเป็นพิษ ไม่พบความเป็นพิษในสาหร่ายไก่อ ค่า LD ₅₀ สูงกว่า 25 กรัมต่อกิโลกรัม จึงสามารถรับประทานได้อย่างปลอดภัย
4. ศึกษาศักยภาพในการนำสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่มาเป็นตัวยารักษาโรคโดยอิงภูมิปัญญาชาวบ้าน และความก้าวหน้าทางเภสัชวิทยาทั้งการศึกษาในห้องปฏิบัติการ และแนวโน้มนำมาใช้ในการพัฒนาเป็นตัวยาลดไปในอนาคต	4. ศึกษาศักยภาพในการเป็นตัวยารักษาโรคจากสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอนโดยศึกษาทั้งทางด้านกรเพิ่มสารเพิ่ม Immune System และการเป็นตัวยารักษาโรคอื่น ๆ	4.1 ได้ทำการศึกษาสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอน ทางด้านการเพิ่มสารเพิ่ม Immune System ที่ภาควิชา จุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 4.2 ได้ทำการศึกษาความสามารถในการเป็นตัวยารักษาโรคทางด้านเภสัชวิทยาจากสาหร่ายไก่อที่สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ศูนย์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	4.1 โดยวิธีการจากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไม่พบสารเพิ่ม Immune System ในสาหร่ายไก่อและสาหร่ายลอน แต่กลับพบในสาหร่ายทะเลบางประเภท 4.2 ผลการศึกษาจากสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ศูนย์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่าสาหร่ายไก่อมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร การหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ขยายหลอดลม ต้านการอักเสบ ระงับปวด และลดความดันโลหิต ซึ่งนับว่าเป็นสารเรื้อรังที่ดีมาก ขณะนี้กำลังศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ด้านอื่นๆ เพิ่มเติม อย่างไรก็ตามการศึกษาในช่วงนี้ยังเป็น Preliminary test อยู่ จึงสมควรทำการวิจัยต่อยอดต่อไปให้ถึง mechanism

ตารางสรุป (ต่อ)

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ได้ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ และศักยภาพในการนำมาเป็นตัวอย่างแท้จริง
5. ศึกษาสารสกัดทางชีวภาพ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่เพื่อนำสารที่มีแนวโน้มว่าสามารถจะนำมาพัฒนาใช้ให้เกิดประโยชน์ และทำการศึกษาวิจัยต่อยอดออกไป	5.1 ทางด้านสารสกัดทางชีวภาพทำการวิเคราะห์ปริมาณ รงควัตถุในสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอน และศึกษาสารโพลีแซคคาไรด์ในสาหร่ายลอน 5.2 ทางด้านสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทำการศึกษาความเป็นปฏิกิริยาระหว่างสารและสาร Catechin ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียบางชนิด	5.1 ได้ทำการวิเคราะห์รงควัตถุหลายชนิดคือ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายไวก คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฟโคไซยานิน และไฟโคเออร์ทรินในสาหร่ายลอน และศึกษาสารโพลีแซคคาไรด์ในสาหร่ายลอน 5.2 ได้ทำการศึกษาความเป็นปฏิกิริยาระหว่างสาร Catechin ในสาหร่ายไวก	5.1 พบปริมาณรงควัตถุทุกชนิดที่ศึกษาเต็มปริมาณปานกลาง ไม่มากทำสาหร่าย <i>Spirulina</i> แต่พบสารโพลีแซคคาไรด์ปริมาณมากในสาหร่ายลอน ซึ่งอาจจะเปลี่ยนรูปเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่เป็นสารเพิ่ม Immune System ขณะนี้ยังเป็น Preliminary test อยู่เช่นกัน 5.2 ไม่พบปฏิกิริยาระหว่างสารในสาหร่ายทั้งสองประเภท และไม่พบสาร Catechin ในสาหร่ายไวก
6. ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อเก็บรวบรวมสารพันธุกรรมนอกถิ่นกำเนิดของสาหร่ายเหล่านี้ และเพาะเลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ผลผลิตนอกฤดูกาล อันจะมีผลให้สามารถเก็บเกี่ยวสาหร่ายได้ตลอดปี	6.1 ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวก และสาหร่ายลอนในห้องปฏิบัติการ โดยใช้อาหารหลายสูตร และเพาะเลี้ยงทั้งอาหารเหลวและอาหารแข็ง 6.2 ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม โดยใช้สูตรอาหารหลายชนิด เลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยงของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และบ่อเพาะเลี้ยงที่สร้างขึ้นโดยทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่โรงเรียนวัดหนองบัว ซึ่งตั้งอยู่ใกล้ริมแม่น้ำน่าน จังหวัดน่าน	6.1 ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกและสาหร่ายลอนในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหารหลายสูตร และเพาะเลี้ยงทั้งอาหารเหลวและอาหารแข็ง 6.2 ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไวกทั้งในห้องปฏิบัติการและภาคสนามโดยใช้สูตรอาหารหลายชนิด เลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยงของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และบ่อเพาะเลี้ยงที่สร้างขึ้นโดยทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่โรงเรียนวัดหนองบัว ซึ่งตั้งอยู่ใกล้ริมแม่น้ำน่าน จังหวัดน่าน	6.1 สามารถเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 2 ประเภท ทั้งในอาหารเหลวและอาหารแข็งได้อย่างเป็นที่น่าสนใจ จึงสามารถเก็บรวบรวมสารพันธุกรรมของสาหร่ายทั้งสองประเภทได้ และเมื่อทำการตรวจสอบความสามารถในการเจริญหลังจากเพาะเลี้ยงและเก็บหัวเชื้อไว้ทุก ๆ 1 เดือน เป็นเวลา 12 ครั้ง ปรากฏว่าสาหร่ายสามารถเจริญได้ 6.2 สาหร่ายไวกสามารถเจริญในบ่อเพาะเลี้ยงได้พอสมควร โดยเฉพาะในจีนัส <i>Microspora</i> spp จะเจริญดีกว่า <i>Cladophora</i> spp. สาหร่ายจะเจริญจากซูโอสปอร์หรือไซโกสปอร์ ซึ่งยี่ดติดกับสิ่งยึดเกาะ ซึ่งคือก้อนหินมากกว่าการที่เส้นสายเดิมจะงอกยาวออกมา แต่อัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันธรรมชาติ

ตารางสรุป (ต่อ)

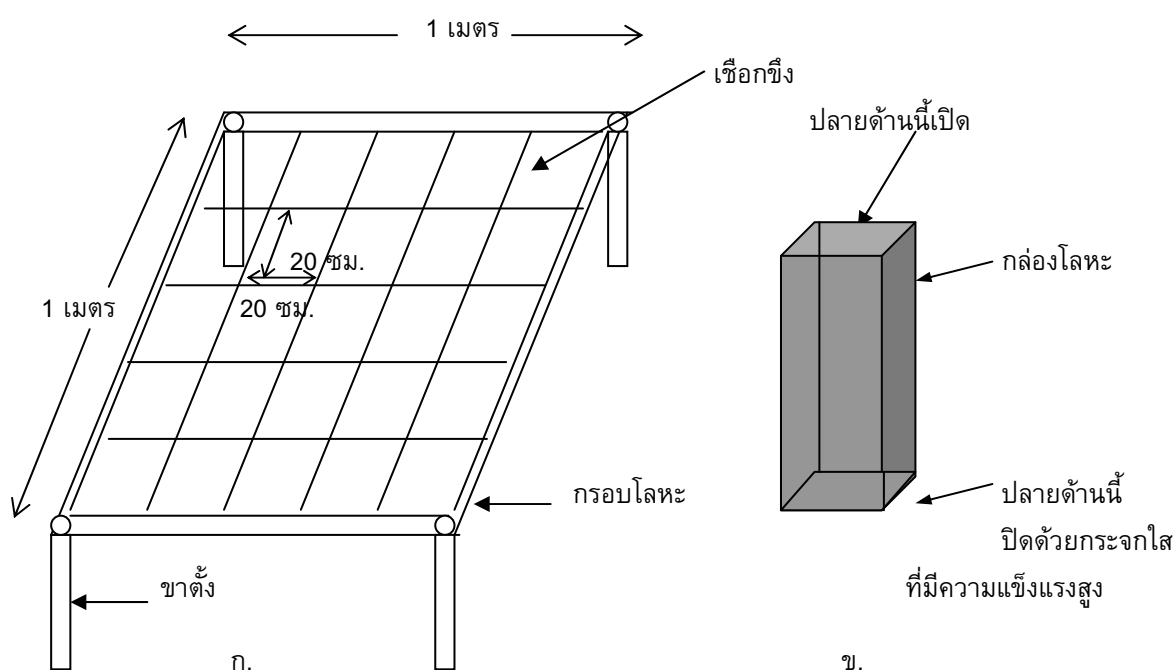
วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ได้ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
7. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยสู่ชุมชนซึ่งมีอาชีพจำหน่ายผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ และถ่ายทอดสู่แวดวงวิชาการ โดยการพัฒนาผลงานและร่วมประชุมในการประชุมวิชาการระดับชาติและระดับนานาชาติ รวมถึงสื่อต่างๆ	7.1 ถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยสู่ชุมชนที่ประกอบอาชีพจำหน่ายผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่	7.1 ได้ถ่ายทอดองค์ความรู้เกี่ยวกับ การปรับปรุงสาหร่ายเป็นอาหารชนิดต่างๆ และความรู้ความเข้าใจในเรื่องราวของสาหร่ายไปในทุกๆ ด้านสู่ชุมชน จำนวน 4 ครั้ง	7.1 ได้ถ่ายทอดองค์ความรู้ทางด้านการปรับปรุงอาหารจากสาหร่ายไปจำนวน 14 ชนิด และให้ความรู้เกี่ยวกับสาหร่ายไปในทุกด้านที่ทำการวิจัย โดยเฉพาะคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไกและสาหร่ายลอน การมีศักยภาพใช้เป็นการวางแผนเพื่อจัดทำโครงการเกี่ยวกับสาหร่ายไกในจังหวัดน่านและเชียงราย โดยได้ทำการอบรมเชิงปฏิบัติการรวม 4 ครั้ง ให้กับกลุ่มสตรีสหกรณ์หนองบัว กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรบ้านหนองบัว ตำบลป่าคา อำเภอท่าวังผา จังหวัดน่าน และกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรกรบ้านหาดไคร้ ตำบลเวียง อำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย
	7.2 ช่วยชุมชนทางด้านการวิชาการ เพื่อให้มีความรู้ความเข้าใจในเรื่องราวของสาหร่ายไก และช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณค่าสูงขึ้น	7.2 ได้ช่วยชุมชนที่ประกอบอาชีพทางการจำหน่ายผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายไกทางด้านการออกแบบผลิตภัณฑ์ การทำเอกสารพับ และการทำโปสเตอร์เพื่อการประชาสัมพันธ์	7.2 ได้ออกแบบผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายไกให้แก่ชุมชนกลุ่มแม่บ้านในข้อ 7.1 รวม 24 ผลิตภัณฑ์ ได้จัดทำเอกสารพับและโปสเตอร์ให้กับกลุ่มสตรีและแม่บ้านดังกล่าว โดยเป็นเอกสารพับจำนวน 4,500 แผ่น และโปสเตอร์จำนวน 12 แผ่น ซึ่งได้มอบให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องและมีประสงค์ที่จะนำไปเพื่อการประชาสัมพันธ์
	7.3 ตีพิมพ์ผลงานวิจัย เพื่อเป็นการประชาสัมพันธ์ให้ทราบถึงเรื่องราวที่ได้ทำการวิจัย	7.3 ได้ตีพิมพ์ผลงานวิจัย	7.3 ได้ตีพิมพ์ผลงานการวิจัยในวารสารวิชาการในประเทศ รวม 4 ครั้ง วารสารวิชาการนานาชาติ 2 ครั้ง และตีพิมพ์หนังสือ "สาหร่ายไก: ความรู้ทั่วไปและการแปรรูปอาหาร" จำนวน 1,000 เล่ม
	7.4 เสนอผลงานในที่ประชุมทางวิชาการทางด้านสาหร่ายหรือเทคโนโลยีชีวภาพอื่นๆ ในประเทศและนานาชาติ	7.4 ได้เสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการทางด้านสาหร่ายและเทคโนโลยีชีวภาพทั้งในประเทศและนานาชาติ	7.4 เสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการในประเทศ 9 ครั้ง และนานาชาติ 3 ครั้ง
	7.5 ให้สัมภาษณ์สื่อต่างๆ ที่มีความสนใจเกี่ยวกับสาหร่ายที่ทำการวิจัย เพื่อให้องค์ความรู้ทางด้านนี้เปิดกว้างขึ้น	7.5 ได้ให้สัมภาษณ์หนังสือพิมพ์ นิตยสาร วิทยุ และโทรทัศน์ เกี่ยวกับความรู้จากงานวิจัยในเรื่องนี้	7.5 ได้เขียนบทความลงในวารสาร นิตยสาร และจดหมายข่าว รวม 5 ครั้ง ให้สัมภาษณ์หนังสือพิมพ์ 1 ครั้ง และสัมภาษณ์ทางสถานีวิทยุ รวม 3 ครั้ง ออกรายการโทรทัศน์ 2 ครั้ง

การศึกษาการแพร่กระจายของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในลำน้ำน่าน

คณะผู้วิจัยได้พยายามหาวิธีการที่จะหาความหนาแน่นหรือปริมาณสาหร่ายไวกและลอนในลำน้ำน่านออกมาเป็นรูปธรรม ให้ได้เป็นตัวเลข ซึ่งอาจจะเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อหน่วยพื้นที่ หรือ น้ำหนักแห้งต่อหน่วยพื้นที่ จึงได้กำหนดรูปแบบของอุปกรณ์ที่จะใช้ศึกษา ร่วมกับ Prof. Dr. Eugen Rott แห่งมหาวิทยาลัย อินสบรุคส์ ประเทศออสเตรีย ซึ่งมีประสบการณ์ในการศึกษาสาหร่ายขนาดใหญ่ในลำน้ำต่าง ๆ ในเขตบ่อน้ำมาพอสมควร ในที่สุดได้เครื่องมือที่สามารถหาความหนาแน่นของสาหร่ายขนาดใหญ่ในน้ำไหลได้อย่างมีประสิทธิภาพ เครื่องมือประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วนคือ

ส่วนที่ 1 ส่วนที่เป็น Quadrate ประกอบด้วยกรอบโลหะเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 1 เมตร ภายในกรอบโลหะนี้แบ่งความยาวตามแนวขวาง 5 ช่อง ช่องละ 20 เซนติเมตร ความยาวตามแนว ยาว 5 ช่อง ช่องละ 20 เซนติเมตร นำเชือกที่มีความแข็งแรงมาผูกซึ่งในแต่ละช่องทั้งแนวขวางและแนวยาว จะได้ Quadrate เล็กๆ จำนวน 25 ช่อง มีพื้นที่ช่องละ 400 ตารางเซนติเมตร ที่มุมของ Quadrate ใหญ่ ทั้ง 4 มุม จะมีขายื่นออกมา เพื่อไว้ตั้งในบริเวณที่จะศึกษาในลำน้ำได้ (ภาพที่ 52 และ 53)

ส่วนที่ 2 ส่วนที่เป็นอุปกรณ์เสริม สำหรับศึกษาสาหร่ายขนาดใหญ่ในน้ำ ประกอบด้วยกล่องโลหะ สี่เหลี่ยม ความสูง 30 เซนติเมตร ความกว้าง 20 เซนติเมตร และความยาว 20 เซนติเมตร ปลายด้านหนึ่งเปิด อีกด้านหนึ่งปิดด้วยกระจกใสเรียบที่มีความแข็งแรงสูง



ภาพที่ 52 Quadrate กรอบโลหะพร้อมขาตั้ง และอุปกรณ์เสริมสำหรับศึกษาสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่

ก. Quadrate กรอบโลหะพร้อมขาตั้ง

ข. อุปกรณ์เสริม กล่องโลหะสี่เหลี่ยมปลายเปิด ปลายด้านหนึ่ง ปิดด้วยกระจกใส (ออกแบบโดย ดร. ทัดพร คุณประดิษฐ์ อดีตนักศึกษาปริญญาเอก ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ออกแบบในนามห้องปฏิบัติการวิจัย สาหร่ายประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปัจจุบันเป็นอาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่)



ก.

ข.

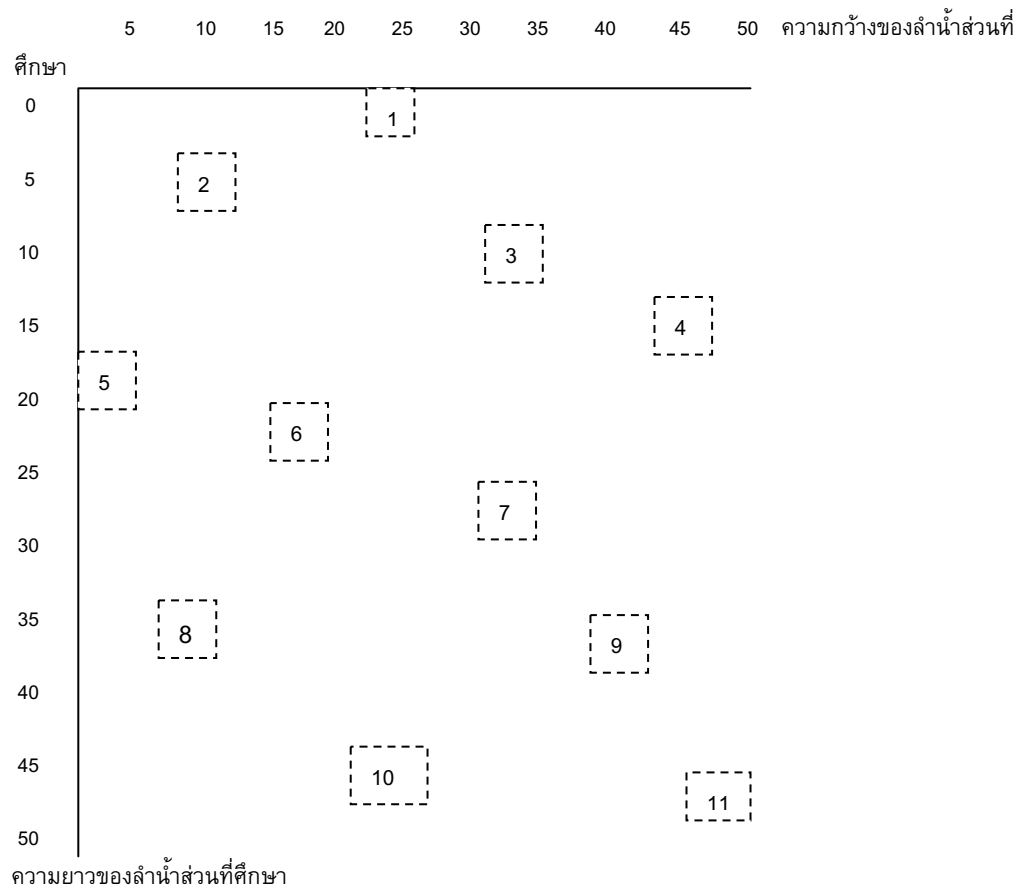
ภาพที่ 53 รูปถ่าย Quadrate กรอบโลหะพร้อมขาตั้งและอุปกรณ์เสริมสำหรับศึกษาสาหร่ายขนาดใหญ่

ก. Quadrate กรอบโลหะพร้อมขาตั้ง

ข. อุปกรณ์เสริม กล่องโลหะสี่เหลี่ยมปลายเปิด ปลายด้านหนึ่งปิดด้วยกระจกลใส

วิธีการศึกษา

ในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง กำหนดพื้นที่ที่จะศึกษาความหนาแน่นของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่โดยให้ความยาวของลำน้ำ 50 เมตรและความกว้างของลำน้ำ 50 เมตร และสุ่มศึกษาตามความยาวของลำน้ำทุก 5 เมตร (ภาพที่ 54) เริ่มต้นที่ 0 เมตร โดยจับสลากความกว้างของลำน้ำทุก 5 เมตร (5, 10, 15,.....,50) สมมติว่าจับได้ 25 จากนั้นนำ Quadrate โลหะที่ทำไว้ไปศึกษาในเมตรที่ 25 ตามความกว้างลำน้ำ เป็นครั้งที่ 1 เมื่อเสร็จเรียบร้อยแล้ว จะเริ่มจุดที่ 5 เมตร ตามความยาวของลำน้ำ แล้วจับสลาก สมมติว่าได้ 10 ก็นำ Quadrate โลหะที่ทำไว้ไปศึกษาในเมตรที่ 10 ตามความกว้างลำน้ำเป็นครั้งที่ 2 ทำเช่นนี้ เรื่อยไป จนครบ 11 ครั้ง (ในภาพกรอบสี่เหลี่ยมเส้นประเป็นการสมมติ) แล้วนำค่าความหนาแน่นที่คิดเป็น % ของสาหร่ายแต่ละชนิดมาเฉลี่ยและคิดเป็นน้ำหนักแห้งต่อไป



ภาพที่ 54 พื้นที่ที่จะศึกษาความหนาแน่นของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่และการสุมเก็บตัวอย่างในพื้นที่นี้

วิธีการใช้ Quadrate โลหะ

เมื่อสุมจุดศึกษาได้แล้ว เอา Quadrate ตั้งลงในน้ำ ขาทั้งสี่ของ Quadrate จะยึดกับก้อนหินในน้ำทำให้ไม่ลอยไปตามน้ำ จากนั้นสุมอย่างมีระเบียบโดยเลือกช่อง Quadrate เล็กตามแนวทแยงเป็นเครื่องหมายคุณ ดังภาพที่ 55 โดยเริ่มจากช่อง 1, 2,..... เรื่อยไปจนครบ 9 ช่อง

1				6
	2		7	
		3		
	8		4	
9				5

ก.

ภาพที่ 70 วิธีการใช้ Quadrate โลหะ

ก. การเลือกสุม Quadrate เล็ก อย่างเป็นระเบียบจำนวน 9 ช่อง ใน Quadrate โลหะ



ข.



ค.

ภาพที่ 55 (ต่อ) วิธีการใช้ Quadrata โลหะ

- ข. การวาง Quadrata และกล่องโลหะลงในบริเวณที่จะศึกษาสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในลำน้ำนาน
- ค. เมื่อมองจากด้านบนของกล่องโลหะผ่านลงไปบนกระจกจะมองเห็นสาหร่ายขนาดใหญ่ชัดเจนจนสามารถบอกเป็นเปอร์เซ็นต์ของสาหร่ายแต่ละชนิดที่พบในช่องสี่เหลี่ยมนี้ได้

เมื่อจะศึกษาให้เอากล่องโลหะปลายเปิดสวมลงไปบนช่อง Quadrata เล็กที่เลือกแล้ว จะสวมกันได้พอดี โดยเอาด้านปลายเปิดที่มีกระจกใสติดอยู่ กดลงไปบนน้ำ ดัชนีความหักเหของกระจกใสจะทำให้เห็นสาหร่ายน้ำ

จิตขนาดใหญ่ที่เจริญอยู่ในน้ำได้อย่างชัดเจน ไม่มีลักษณะเคลื่อนไปตามกระแสน้ำเหมือนใช้ดาเปล่า ซึ่งจะทำให้สามารถศึกษาสาหร่ายได้นานเท่าที่ต้องการ (ในการศึกษาด้วยวิธีการดังกล่าวนี้ ผู้ศึกษาควรระวังจักสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่มาก่อนว่าชนิดใดมีลักษณะทลัสเป็นเช่นใด แต่ถ้ายังไม่แน่ใจก็ให้เก็บตัวอย่างใส่กล่องพลาสติกมาศึกษาด้านอนุกรมวิธานในห้องปฏิบัติการต่อไป) วิธีหาความหนาแน่นของสาหร่ายขนาดใหญ่ทำได้ดังนี้ ประเมินความมากน้อยของชนิดที่ศึกษาเป็นเปอร์เซ็นต์โดยคิดว่าในช่อง Quadrate เล็กทั้งช่อง มีพื้นที่ 100% สมมติว่ามองเห็นสาหร่ายไวก 7 ส่วน ใน 10 ส่วน และมองเห็นสาหร่ายลอนเป็น 1 ส่วน ใน 10 ส่วนของ Quadrate เล็ก ก็ให้ความหนาแน่นของสาหร่ายไวกเป็น 70% ของสาหร่ายลอนเป็น 10%

ส่วนการคือน้ำหนักแห้ง ทำได้โดยเลือกช่อง Quadrate เล็กที่พบสาหร่ายไวกเต็มช่อง โดยคิดเป็น 100% แล้วค่อยๆ ดึงทลัสของสาหร่ายไวกทั้งหมดมาห่าน้ำหนักแห้งในห้องปฏิบัติการ เมื่อดำน้ำหนักแห้งสุดท้ายแล้วคิดเป็น 100% ดังนั้นจึงสามารถเทียบกลับจากเปอร์เซ็นต์สาหร่ายไวกที่พบในลำน้ำมาเป็นน้ำหนักแห้งได้ ส่วนสาหร่ายลอนก็ทำเช่นเดียวกัน

บันทึกข้อมูลทั้งหมดลงในตารางบันทึกข้อมูล แล้วหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสาหร่ายไวก และสาหร่ายลอนในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง โดยคิดจากน้ำหนักแห้งในพื้นที่ 1 ตารางเมตร