หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตไฟโคไซยานินทนร้อนโดยไซยาโนแบคทีเรียจากน้ำพุร้อนในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย	
ชื่อผู้เขียน	นางสาว อรณิช กระแสสินทร์	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)	
คณะกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชยากร ภูมาศ	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จีรพร เพกเกาะ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

ไฟโคไซยานิน เป็นรงควัตถุสีน้ำเงินที่พบในไซยาโนแบคทีเรีย สาหร่ายสีแดงและกลุ่มคริปโตโมแนดส์ มีการนำไฟโคไซยานินมาประยุกต์ใช้งานอย่างแพร่หลายในหลายผลิตภัณฑ์ แต่ไฟโคไซยานินที่จำหน่ายทางการค้าในปัจจุบันไม่ทนอุณหภูมิสูง งานวิจัยนี้จึงมุ่งหาไซยาโนแบคทีเรียน้ำพุร้อนที่ผลิตไฟโคไซยานินทนร้อน ไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ *Calothix* sp. NUP, *Chroococcidiopsis* sp. SK40, *Cyanosarcina* sp. SG40, *Leptolyngbya* sp. PD45 และ *Pseuanabaena* sp. TP8 ซึ่งได้รับจากห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ (AARL) และตัวอย่างที่เก็บจากน้ำพุร้อนในภาคเหนือ ได้แก่ น้ำพุร้อนท่าปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน น้ำพุร้อนแม่จัน จังหวัดเชียงราย น้ำพุร้อนสันกำแพง และน้ำพุร้อนเทพพนม จังหวัดเชียงใหม่ และน้ำพุร้อนแจ้ซ้อน จังหวัดลำปาง คัดเลือกตัวอย่างที่มีปริมาณไฟโคไซยานินเริ่มต้นสูงสุด 10 ตัวอย่าง เพื่อทดสอบคุณสมบัติทนร้อน พบว่าตัวอย่างจากน้ำพุร้อนแจ้ซ้อน ที่อุณหภูมิ 61°C ทนอุณหภูมิสูงที่สุด คือ มีปริมาณร้อยละของไฟโคไซยานินคงเหลือ 67.78% หลังการบ่มที่อุณหภูมิ 70°C นาน 1 ชั่วโมง จากการศึกษาประชากรไซยาโนแบคทีเรียในตัวอย่าง พบว่ามีสายพันธุ์เด่น คือ *Phormidium* sp., *Thermosynechococcus* sp., *Leptolyngbya* sp. และ *Cyanosarcina* sp. ทำการคัดแยกไซยาโนแบคทีเรียได้ 1 ชนิด คือ *Thermosynechococcus elongatus* AARLT012 เพาะเลี้ยงในอาหาร BG II pH 8.2 ที่อุณหภูมิ 50°C นาน 45 วัน มีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.108 ต่อวัน จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวและสกัดไฟโคไซยานินจากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าวและทำบริสุทธิ์บางส่วนด้วยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต Q-sepharose™ fast flow column chromatography และ Sephadex-75 gel filtration chromatography พบว่ามีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 6 เท่า จากการทดสอบ *in vitro* digestibility พบว่าหลังผ่านการย่อยด้วย น้ำลาย น้ำย่อยในกระเพาะอาหาร และน้ำย่อยจากผนังลำไส้เล็ก มีปริมาณไฟ-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โคไซยานินเหลือร้อยละ 43.04, 23.06 และ 11.62% ตามลำดับ และการทดสอบกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่ามีสารสกัดจาก *T. elongatus* AARLT012 มีค่า GAE เท่ากับ 0.038 mg gallic acid/ mg สารสกัด

การศึกษาครั้งนี้ สามารถคัดแยกและเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียจากน้ำพุร้อนได้ 1 สายพันธุ์ คือ *T. elongatus* AARLT012 สามารถทำบริสุทธิ์บางส่วนได้ด้วยการตกตะกอนแอมโมเนียมซัลเฟต Q-sepharose™ fast flow column chromatography และ Sephadex-75 gel filtration chromatography จากการทดสอบคุณสมบัติทนร้อนพบว่า สามารถทนร้อนได้มากกว่ารายงานที่ผ่านมา และจากการทดสอบ *in vitro* digestion พบว่า ปริมาณไฟโคไซยานิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงหลังผ่านการย่อยในขั้นสุดท้าย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Thermostable Phycocyanin Production by Cyanobacteria from the Hot Spring in the Northern Part of Thailand	
Author	Miss Oranit Kraseasintra	
Degree	Master of Science (Applied Microbiology)	
Advisory Committee	Assistant Professor Dr. Chayakorn Pumas	Advisor
	Assistant Professor Dr. Jeeraporn Pekkoh	Co-advisor

ABSTRACT

Phycocyanin is a blue pigment found in cyanobacteria, red algae and cryptomonads It has been widely applied in many products. However, the commercial phycocyanin is not thermo stable. The aim of this study is to identify hot spring cyanobacteria that can produce thermostable phycocyanin. The samples in this study included five cyanobacteria obtained from the Applied Algal Rearch Laboratory (AARL) and are identified as *Calothix* sp. NUP, *Chroococcidiopsis* sp. SK40, *Cyanosarcina* sp. SG40, *Leptolyngbya* sp. PD45 and *Pseuanabaena* sp. TP8 and cyanobacterial mats were collected from some hot springs in the northern part of Thailand, including Tha Pai Hot Spring in Mae Hong Son Province, Mae Chan Hot Spring in Chiang Rai Province, Sankampeang Hot Spring and Thep Phanom Hot Spring in Chiang Mai Province, Chae Son Hot Spring located in Lampang Province. Ten of the highest levels of phycocyanin content were selected for thermal stability testing. The samples collected from the Chae Son Hot Spring at a temperature of 61°C could be sustained after 1 hour of 70°C incubation with %phycocyanin recorded at 67.78%. The community composition revealed that the dominant species were *Phormidium* sp., *Thermosynechococcus* sp, *Leptolyngbya* sp. and *Cyanosacina* sp. *Thermosynechococcus elongatus* AARLT012 that was the only species that could be successfully cultured**.** The growth rate of *T. elongatus* AARLT012 that was cultured in BG II medium at a pH of 8.2 and at a temperature of 50°C for 45 days was recorded at 0.108 per day. The phycocyanin obtained from this strain was extracted and purifiled by ammonium sulfate precipitation, Q-sepharose™ fast flow column chromatography and Sephadex-75 gel filtration chromatography. After purification, the

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

purification fold increasd by 6 fold. *In vitro* digestibility by saliva juice, gastric juice and duodenum showed that the remaining %phycocyanin levels were 43.04%, 23.06% and 11.62% respectively. The DPPH radical scavenging test showed that the GAE of phycocyanin extracted from *T. elongatus* AARLT012 was recorded at 0.038 mg gallic acid/ mg extract.

In this study, *T. elongatus* AARLT012 was able to be isolated and successfully cultured and was purified by ammonium sulfate precipitation, Q-sepharose™ fast flow column chromatography and Sephadex-75 gel filtration chromatography. The thermostability test in this study revealed that the phycocyanin extract obtained from this strain produced higher yields than the previous studies. The *in vitro* digestion test revealed that the phycocyanin and antioxidant activity levels decreased after final digestion.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved