บทที่ 2
การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อนุกรมวิธานของสาหร่ายดูนาลิเอลลา

สาหร่ายดูนาลิเอลลา (*Dunaliella salina*) เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียวมีแฟลกเจลลาสองเส้นไม่มีผนังเซลล์จัดอยู่ในวงศ์ (family) Polyblepharidaceae ภายในลำดับ (order) Volvocales (Oltmanns, 1922) ต่อมา Ettl (1983) ได้จัดให้สกุล (genus) ของดูนาลิเอลลาไว้ในลำดับ (order) Dunaliellales ซึ่งแยกออกมาจากชั้น (class) Chlorophyceae โดยประกอบไปด้วย 4 วงศ์ ได้แก่ Dunaliellaceae, Asteromonadaceae, Dangeardiellaceae, และ Raciborskiellaceae อย่างไรก็ตาม Ettl (1983) ได้จัดสกุลของดูนาลิเอลลาส่วนใหญ่เอาไว้ในวงศ์ Dunaliellaceae และ Asteromonadaceae ซึ่งปัจจุบันมีเพียง 2 สกุล ในลำดับ Dunaliellales ที่มีความสัมพันธ์กันอย่างชัดเจน คือ *Dunaliella* และ *Asteromonas* โดยใช้ผนังเซลล์เป็นเกณฑ์หลักในการจำแนก ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษของสาหร่ายดูนาลิเอลลาที่เหมือนกับสาหร่ายที่อยู่ในลำดับ Chlamydomonadales อย่างไรก็ตามในปัจจุบันสามารถจัดจำแนกสาหร่ายดูนาลิเอลลาและสาหร่าย *Chlamydomonas* ออกจากกันได้อย่างชัดเจนแล้ว โดยอาศัยความแตกต่างที่สำคัญขององค์ประกอบ เช่นแฟลกเจลลาและการจัดระเบียบของอวัยวะต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น ดิคทีโอโซม หรือ ไมโตคอนเดรีย (Melkonian and Preisig, 1984 และ Marano et al., 1985) แผนผังอนุกรมวิธานของสาหร่ายดูนาลิเอลลาแสดงดังรูปที่ 2.1 รายละเอียดการจัดจำแนกชนิดของสาหร่ายดูนาลิเอลลาแสดงไว้ในภาคผนวก ก

ดูนาลิเอลลาบางชนิดมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก เช่น *D. media* และ *D. terricola* แต่ก็สามารถจำแนกได้โดยอาศัยความแตกต่างบางประการของเซลล์ ได้แก่ขนาดและลักษณะความป้านของเซลล์ โดยปลายด้านที่ไม่มีแฟลกเจลลาของเซลล์ *D. media* จะมีขนาดใหญ่ และปลายด้านที่ไม่มีแฟลกเจลลาจะแหลมกว่า *D. terricola* (Avron and Ben-Amotz, 1992) รูปร่างของสาหร่ายดูนาลิเอลลาแต่ละชนิดแสดงดังรูปที่ 2.2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Taxonomy

Division Chlorophyta

Class Choloprophyceae

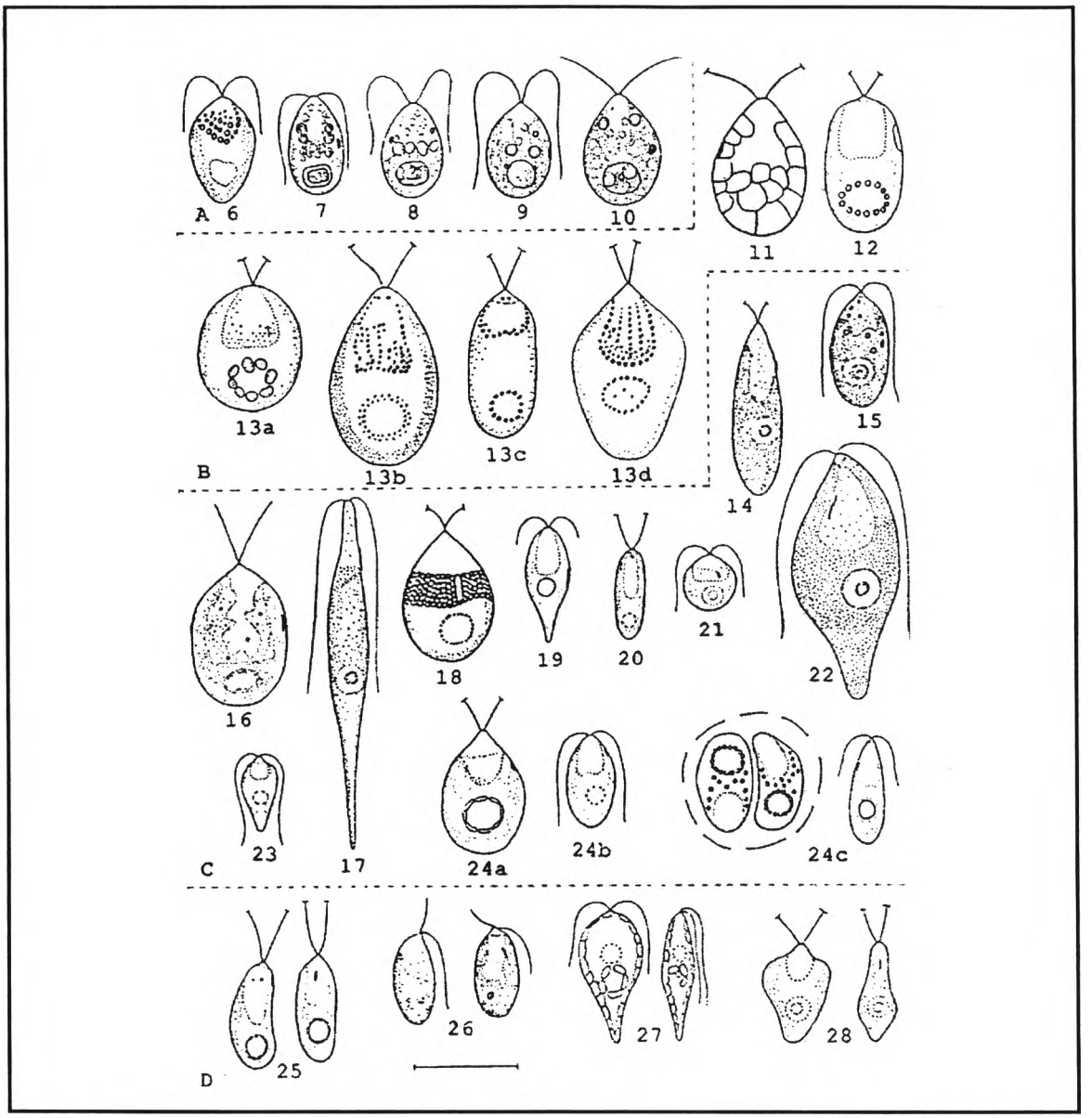
Order Volvocales

Family Polyblepharidaceae

Genus Dunaliella

Dunaliella salina (Dunal) Teodoresco

รูปที่ 2.1 แผนผังแสดงอนุกรมวิธานของสาหร่ายดูนาลิเอลลา *(Dunaliella salina)*
ที่มา : อ้างตาม Sorawit Powtongsook (1993)



รูปที่ 2.2 ลักษณะของสาร่ายดูนาลิเอลลาชนิดต่าง ๆ

ภาพที่ 6 ถึง 28 เป็น Sections และ subgenus ของสาหร่ายดูนาลิเอลลา ดังนี้ A คือ sectio *Tertiolectae;* B คือ sectio *Dunaliella;* C คือ sectio *Viridis;* D คือ sectio *Peirceinae.* โดยที่ *6* คือ *D.maritima*, *7* คือ *D. polymorpha*, *8* คือ *D. primolecta*, *9* คือ *D. quartolecta*, *10* คือ *D. tertiolecta*, *11* คือ *D. parva*, *12* คือ *D. pseudosalina*, *13a* คือ *D. salina* spp. *Salina* fo. *salina*, *13b* คือ *D. salina* spp. *salina* fo. *magna*, *13c* คือ *D. salina* spp. *salina* fo. *oblonga*, *13d* คือ *D. salina* spp. *salina sibirica*, *14* คือ *D. bass-beckingii*, *15* คือ *D. bioculata*, *16* คือ *D. carpatica*, *17* คือ *D. gracilis*, *18* คือ *D. granulata*, *19* คือ *D. media*, *20* คือ *D. minuta*, *21* คือ *D. minutissima*, *22* คือ *D. ruineniana*, *23* คือ *D. terricola*, *24a* คือ *D. viridis* var. *viridis* fo. *viridis*, *24b* คือ *D. viridis* var. *viridis* fo. *euchlora*, *24c* คือ *D. viridis* var. *palmelloides* (ซ้าย: ระยะ palmelloid stage; ขวา: ระยะ flagellated stage), *25* คือ *D. asymetrica*, *26* คือ *D. jacobae*, *27* คือ *D. peircei*, *28* คือ *D. turcomanica.* มาตรส่วนแบบแท่ง (Scale bar): 10 ไมครอน (μm.)

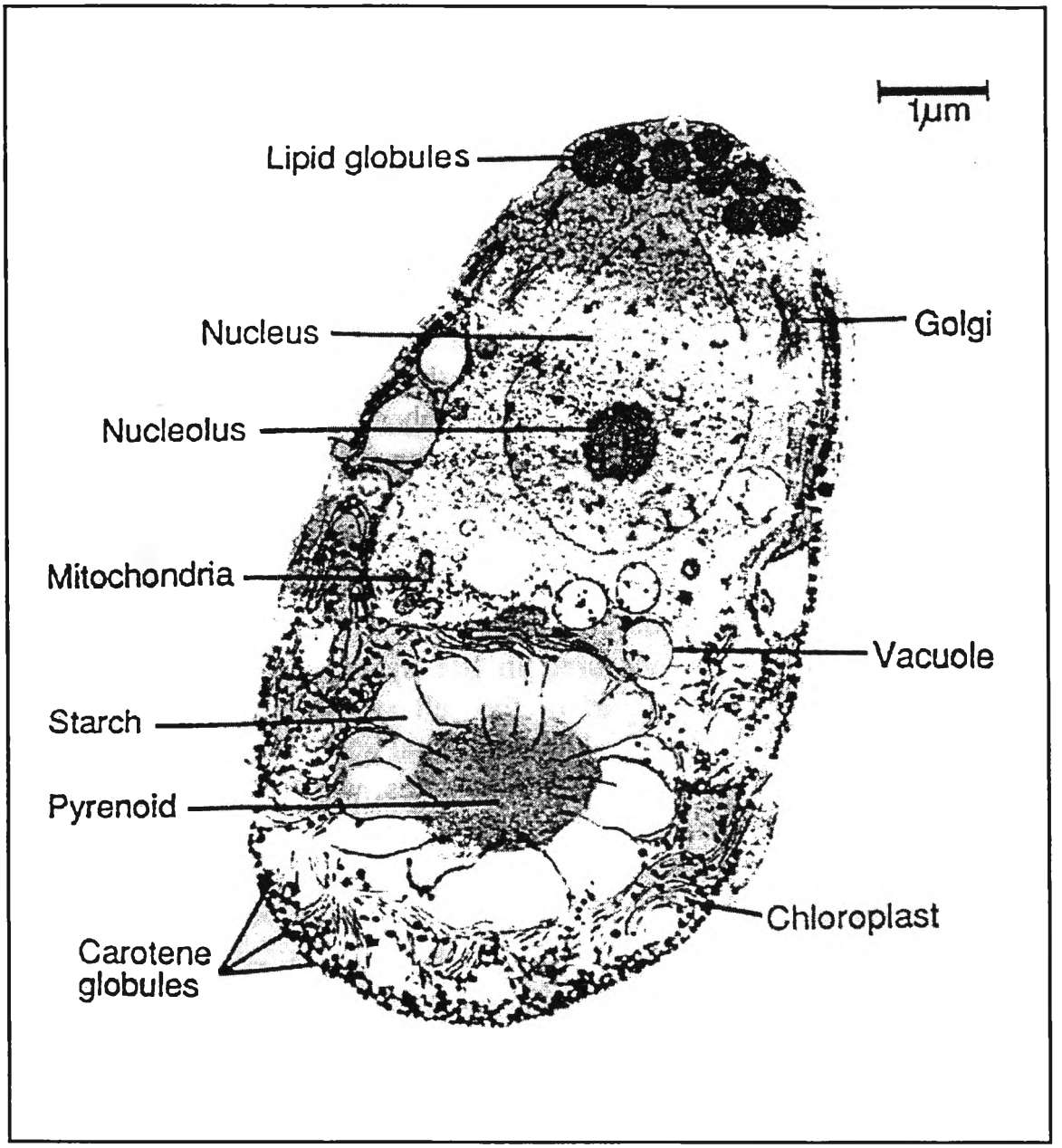
ที่มา : Avron and Ben-Amotz (1992)

สันฐานวิทยา

Marano (1976), Riisgard (1981) และ Einspahr et al. (1988) ศึกษารูปร่างเซลล์ของสาหร่ายดูนาลิเอลลาพบว่ามีลักษณะต่าง ๆ เช่น รูปทรงไข่ (ellipsoid) ทรงกระบอกเกือบกลม มีสมมาตรของเซลล์เป็นแบบรัศมี สาหร่ายดูนาลิเอลลาอาจมีการเปลี่ยนรูปร่างเซลล์ โดยจะเปลี่ยนเป็นทรงกลมเมื่อเจริญอยู่ในภาวะไม่เหมาะสม ขนาดของเซลล์อาจเปลี่ยนผันแปรไปตามระดับของภาวะการเจริญและความเข้มแสง สาหร่ายดูนาลิเอลลาเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแสดงดังรูปที่ 2.3 องค์ประกอบโดยทั่วไปของเซลล์สาหร่ายดูนาลิเอลลา เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน พบว่ามีผนังเซลล์ที่บางมาก และมีเกราะ (coat) หุ้มเซลล์เป็นเมือกที่มีความเหนียวและยืดหยุ่นเป็นพิเศษเฉพาะตัว เกราะหุ้มเซลล์นี้สามารถมองเห็นได้เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยจะต้องย้อมเซลล์ด้วยหมึกอินเดีย (Indian ink) ซึ่งจะเห็นเป็นส่วนของเส้นบาง ๆ ดูนาลิเอลลามีเยื่อใย (fibrils) ความยาวประมาณ 25-200 นาโนเมตร และพบว่าเป็นสารจำพวกไกลโคโปรเตอิด (glycoproteid) ที่พบมากในธรรมชาติ (Avron and Ben-Amotz, 1992)

ดูนาลิเอลลามีเฟลกเจลลา (flagella) 2 เส้น ความยาวเท่ากัน การตีน้ำของแฟลกเจลลาเป็นแบบเคลื่อนที่พร้อมกัน และไปในทิศทางเดียวกัน โครงสร้างของเฟลกเจลลามีความสลับซับซ้อน ตำแหน่งแฟลกเจลลาตั้งอยู่บนฐานเซลล์ด้านที่แหลมกว่า โดยเฟลกเจลลาทั้งสองเส้นทำมุมปกติระหว่าง 90 องศา ถึง 130 องศา โดยประมาณ (Avron and Ben-Amotz, 1992)

เม็ดคลอโรพลาส (chloroplast) พบกระจายอยู่ทั่วไปในเซลล์ มีรูปทรงคล้ายระฆัง ภายในคลอโรพลาสมีไพเรนอยด์ (pyrenoid) ในเซลล์สาหร่ายที่มีชีวิตผิวของคลอโรพลาสจะมีลักษณะเป็นรอยย่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเซลล์ที่มีอายุมาก ๆ (Vladimirova, 1978, Hoshaw and Maluf, 1981 และ Pfeifhofer and Belton, 1975) ในดูลาลิเอลลาบางชนิด เช่น *D. salina* คลอโรพลาสอาจมีการสะสมเบตาแคโรทีน (beta-carotene) ได้ในปริมาณสูงมาก โดยจะเก็บไว้ภายในเม็ดน้ำมัน (oily globules) ในที่ว่างระหว่างไธลาคอยด์ (interthylakoid spaces) จึงทำให้เซลล์ของสาหร่ายมีสีส้ม-แดง เม็ดของเบตาแคโรทีนที่สาหร่ายดูนาลิเอลลาสะสมประกอบไปด้วยไลปิด (neutral lipids) โดยจะเป็นเบตาแคโรทีนมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และรูปแบบการเกิดสีส้ม-แดงโดยส่วนใหญ่อาจหายไปได้เมื่อเจริญอยู่ภายใต้ภาวะความเข้มแสงต่ำ (Ben-Amotz et al., 1982)



รูปที่ 2.3 รูปร่างสาหร่ายดูนาลิเอลลา (*Dunaliella salina*) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน
ที่มา : Avron and Ben-Amotz (1992)

จุดตา (eyespot หรือ stigma) ของสาหร่ายดูนาลิเอลลาประกอบด้วยแถบของเม็ดไลปิดหนึ่งหรือสองแถว จำนวนของแถบเม็ดไลปิดนี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในเซลล์ที่มีอายุมาก เม็ดไลปิดแต่ละหน่วยมีขนาดค่อนข้างที่จะแตกต่างกัน ในสาหร่ายดูนาลิเอลลาจะพบเม็ดจุดตาอยู่ชิดติดกับไธลาคอยด์ (thylakoids) (Avron and Ben-Amotz, 1992)

นิวเคลียสของดูนาลิเอลลาจะอยู่ค่อนไปทางปลายด้านแหลมของเซลล์ ถูกปกคลุมด้วยคลอโรพลาส ภายในประกอบด้วยเม็ดเล็กๆ (granules) จำนวนมาก การศึกษาโครงสร้างอย่างละเอียด (ultrastructure) แสดงให้เห็นว่านิวเคลียสของสาหร่ายชนิดนี้มีเยื่อหุ้มเป็นรูพรุนและมีนิวคลีโอลัสที่เห็นเด่นชัดหนึ่งอัน ซึ่งจะถูกล้อมรอบด้วยกลุ่มของเฮเทอโรโครมาติน (heterochromatin) (Avron and Ben-Amotz, 1992)

ไมโตคอนเดรีย (mitochondria) สามารถพบได้ในส่วนต่างๆ ของเซลล์ โดยปกติไมโตคอนเดรียจะปรากฏอยู่บริเวณตอนกลางเซลล์สาหร่าย กระจายอยู่โดยรอบระหว่างคลอโรพลาสกับพลาสมาเลมมา (plasmalemma) หรือรอบๆ นิวเคลียส โครงสร้างของไมโตคอนเดรียอาจมีรูปร่างเป็นแบบร่างแห (reticulum) จำนวนและขนาดของไมโตคอนเดรีย อาจผันแปรไปตามขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของเซลล์ในแต่ละระยะ (Klut et al., 1989)

Werz และ Kellner (1970) พบว่า ดิคทีโอโซม (dictyosomes) หรือ กอลไจ บอดี (golgi bodies) มีประมาณ 2 ถึง 4 อัน โดยแต่ละอันประกอบด้วยซิสเทอนี (cisternae) 10 ถึง 15 ชิ้น ดิคทีโอโซมอยู่ระหว่างปลายด้านบนของนิวเคลียสกับบริเวณกลางเซลล์ มีรูปแบบการวางตัวไปในทิศทางเดียวกับพลาสมาเลมมา โดยสัมพันธ์กับเกลียวของเอนโดพลาสมิค เรติคูลัม (endoplasmic reticulum, ER) ที่เห็นเด่นชัด

เอนโดพลาสมิค เรติคูลัม (endoplasmic reticulum) อยู่ด้านล่างของพลาสมาเลมมาเหนืออวัยวะทุกๆ ส่วนของเซลล์ นอกจากนี้เกลียวของเอนโดพลาสมิค เรติคูลัมยังทำหน้าที่เชื่อมเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear envelope) ให้ติดอยู่กับส่วนฐานของแฟลกเจลลา (Melkonian and Preisig, 1984.) ในภาวะที่ความดันออสโมติกสูง (hyperosmotic stress) อาจมีเอนโดพลาสมิค เรติคูลัมเพิ่มขึ้น และพบว่าเอนโดพลาสมิค เรติคูลัม ทำหน้าที่เป็นแหล่งสำรองสารเยื่อหุ้มในปริมาณที่มากเกินพอสำหรับใช้ในภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมบางประการ (Einspahr et al., 1988)

แวคิวโอล (vacuoles) ที่พบในดูนาลิเอลลามีลักษณะเป็นเมล็ดที่มีเยื่อหุ้มอยู่ โดยจะทำหน้าที่เป็นแหล่งสำหรับเก็บไลปิดขนาดใหญ่ ขณะที่เม็ดไลปิดขนาดเล็กจะพบกระจายอยู่ในบริเวณต่างๆ ภายในในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเซลล์ช่วงที่มีการเจริญแบบคงที่ (stationary growth phase) (Eyden, 1975 และ Hoshaw and Maluf, 1981) Bochem and Sprey (1979) ได้ทำการวิเคราะห์แวคิวโอลของสาหร่าย *D. salina* ด้วยวิธี laser microscope mass analysis และ energy dispersire x-ray analysis พบว่ามี ซิลิคอน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ และคลอไรด์ อยู่ในปริมาณที่สูง

การสืบพันธุ์ (reproduction) ของดูนาลิเอลลา แบ่งออกเป็นสองแบบได้แก่ การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ พบว่าเกิดขึ้นได้สองกรณี ได้แก่ ในภาวะที่มีการเคลื่อนที่ (motile state) โดยจะมีการแบ่งตัวตามแนวยาวหรือแนวตั้ง ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษของพวก Chlorophyceae (Lerche, 1937, Lebbe, 1925 และ Hamburger, 1905) อีกกรณีเกิดขึ้นในภาวะพักแบบไม่อาศัยเพศ (asexual cysts) ซึ่งเกิดขึ้นภายใต้สภาพแวดล้อมที่รุนแรง เช่น การขาดอาหารอย่างรุนแรง หรือสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้ง (Loeblich, 1969 และ Margulis et al., 1980) โดยขั้นตอนดังกล่าวสาหร่ายจะไม่มีการเคลื่อนที่ รูปทรงเกือบกลม ผนังเซลล์หนาและอาจมีผิวขรุขระไม่เรียบ เซลล์จะถูกห่อหุ้มเอาไว้ด้วยเมือกซึ่งเป็นสารชนิดเจลาติน (Masjuk, 1973a และ 1973b)

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของดูนาลิเอลลาเกิดจากการที่เซลล์สืบพันธุ์สองเซลล์ (isogamy) เกิดการหลอมเข้าด้วยกัน (gametic fusion) ซึ่งเกิดขึ้นคล้ายกับที่พบในสาหร่าย *Chlamydomonas* โดยเซลล์สืบพันธุ์ (gametes) จะมีขนาดเท่ากัน มีลักษณะทางโครงสร้างเหมือนกัน และเป็นเซลล์ที่เจริญมาจากสาหร่ายชนิดเดียวกัน เซลล์ที่มีสีเขียวหรือสีแดงของไข่ที่ได้รับการผสมแล้วหรือไซโกต (zygote) จะถูกล้อมรอบด้วยผนังที่หนาและเรียบ ภายหลังจากระยะฟักตัว นิวเคลียสของเซลล์ไข่ที่ผสมแล้วจะแบ่งออกเป็น 32 เซลล์ และจะถูกปล่อยออกมาผ่านผนังเซลล์ของเซลล์แม่ (Lerche, 1937)

ปริมาตรเซลล์ของ *D. salina* Teod. และ *D. bardawil* จะมากกว่าดูนาลิเอลลาสายพันธุ์อื่น โดยเมื่อเปรียบเทียบปริมาตรเซลล์ที่โตเต็มที่ของ *D. salina* Teod. และ *D. bardawil* กับดูนาลิเอลลาชนิดอื่น พบว่ามีขนาดประมาณ 300 ถึง 1,000 ไมโครลิตร และ 30 ถึง 150 ไมโครลิตร ตามลำดับ ภายใต้ภาวะการเจริญที่ไม่เหมาะสม รูปร่างเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายไข่ของสาหร่ายดูนาลิเอลลาจะเปลี่ยนเป็นทรงกลมสีแดงปริมาตรเซลล์ประมาณ 2,000 ไมโครลิตร และแฟลกเจลลาจะหลุดไป (Borowitzka and Borowitzka, 1988a และ Ben-Amotz and Avron, 1990)

สาหร่ายดูนาลิเอลลาสามารถสะสมเบตาแคโรทีน (beta-carotene) ไว้ในเซลล์ได้สูงมากกว่าสิ่งมีชีวิตทุกชนิดคือประมาณ 10-14% ของน้ำหนักแห้ง (Borowitzka and Borowitzka, 1988b และ Cifuentes et al., 1992)

การแพร่กระจาย

สาหร่ายดูนาลิเอลลาที่สะสมเบตาแคโรทีนในปริมาณสูง พบแพร่กระจายอยู่อย่างกว้างขวางในน้ำเค็มตั้งแต่ 10% ของเกลือแกง (โซเดียมคลอไรด์, NaCl) และพบว่าเป็นชนิดที่พบโดดเด่นที่สุดในถิ่นอาศัยที่มีความเค็มสูงจัด ตัวอย่างสถานที่ที่พบดูนาลิเอลลา (*D. salina*) ในธรรมชาติได้แก่ Great Salt Lake ในรัฐ Utah ประเทศสหรัฐอเมริกา Pink Lake ในประเทศออสเตรเลีย และแอ่งน้ำเค็มทั้งหลายตามแนวชายฝั่ง หรือในนาเกลือที่มีปริมาณแสงส่องสว่างสูงทั่วโลก การเกิดสีส้ม-แดงของน้ำในบริเวณต่าง ๆ ที่กล่าวมา เกิดจากการสะสมสารเบตาแคโรทีนของสาหร่ายดูนาลิเอลลาที่อาศัยอยู่บริเวณนั้น สาหร่ายดูนาลิเอลลาในธรรมชาติมีแนวโน้มเคลื่อนที่เข้าหาแสง (phototactical) และพบหนาแน่นบนบริเวณผิวหน้าของแอ่งน้ำที่มีเกลือละลายอยู่ในความเข้มข้นสูง ซึ่งเกิดจากการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็ว เป็นสาเหตุของการเกิดฟิล์ม (films) สีส้มที่พบเห็นอยู่ทั่วไป (Masjuk, 1973a, 1973b และ Borowitzka and Borowitzta, 1988a)

แคโรทีนอยด์ (carotenoids) และเบตาแคโรทีน (beta-carotene)

แคโรทีนอยด์เป็นสารอะลิฟาติก (aliphatic), อะลิฟาติก-อะลิไซคลิก (aliphatic-alicyclic) หรือ อะโรมาติก (aromatic) โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วย กลุ่มไอโซปรีนคาร์บอน 5 ตัว (5 carbon isoprene groups) โดยทั่วไปจะอยู่ในรูปกลุ่มไอโซปรีน 8 โมเลกุลมาเชื่อมติดกัน มีกลุ่มเมธิล (methyl groups) 2 กลุ่ม อยู่ติดกับศูนย์กลางของโมเลกุลในตำแหน่งที่ 1 และ 6 และกลุ่มเมธิลอื่นที่เหลืออยู่ในตำแหน่งที่ 1 และ 5 ลำดับชุดของคาร์บอน-คาร์บอนพันธะคู่ (C-C double bonds) ประกอบอยู่ในระบบโครโมโฟริก (chromophoric) (Avron and Ben-Amotz, 1992)

แคโรทีนอยด์แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ แคโรทีน (carotenes) และ แซนโธฟิลล์ (xanthophylls) แคโรทีนเป็นไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbons) ที่มีเพียงไฮโดรเจนและคาร์บอน ขณะที่แซนโธฟิล หรือ ออกซีแคโรทีนอยด์ (oxycarotenoids) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไฮโดรคาร์บอนที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบร่วมอยู่ด้วย แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่พบในพืชและสัตว์หลายชนิด แคโรทีนตัวแรกที่ได้รับการจำแนกพบในปีศตวรรษที่ 19 โดยแยกได้จากแครอท ต่อมาแยกได้จากใบของพืชใบเขียว (Avron and Ben-Amotz, 1992)

พืชที่มีสีเหลือง-เขียวทุกชนิดและอาหารที่มีสีส้ม-เหลือง มักจะประกอบด้วยแคโรทีนอยด์อยู่ภายในสีเหล่านั้น แคโรทีนอยด์มีการแพร่กระจายอยู่ทั่วไปอย่างกว้างขวางในธรรมชาติ มีบทบาทสำคัญในการเป็นสารต้นตอของวิตามินเอ (provitamin A) ซึ่งทำหน้าที่ในการดูดซึมพลังงานแสง ช่วยในการลดลงของคลอโรฟิลล์ 3 ชุด และออกซิเจน 1 ชุด ป้องกันการเกิดออกซิเดชัน (antioxidation activity) ช่วยในการขนส่งออกซิเจน และการเกิดสีในอวัยวะต่าง ๆ จำนวนมาก (Avron and Ben-Amotz, 1992)

แคโรทีนอยด์ที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีโดยทั่วไป ได้แก่ เบตาแคโรทีน ซึ่งได้รับการพัฒนาขึ้นจากการสังเคราะห์สารเบตาไอโอโนน (betaionone) เบตาแคโรทีนมีสูตรทางเคมีคือ $C_{40}H_{56}$ มีน้ำหนักโมเลกุล 536.9 มีคาร์บอน-คาร์บอนพันธะคู่ จำนวน 11 พันธะ และมีลักษณะเป็นผลึกรูปปริซึมหกเหลี่ยมสีม่วงแดง (violet-red) เมื่ออยู่ในรูปสารละลายไขมันจะมีสีแตกต่างกันไปตั้งแต่สีเหลืองอ่อนไปจนถึงสีส้ม ผลึกบริสุทธิ์ของเบตาแคโรทีนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีการทางเคมีจะมีรูปแบบ stereogeometry เป็น all-*trans* เบตาแคโรทีน (all-*trans* beta-carotene) (Bauernfeind, 1981 และ Isler, 1971)

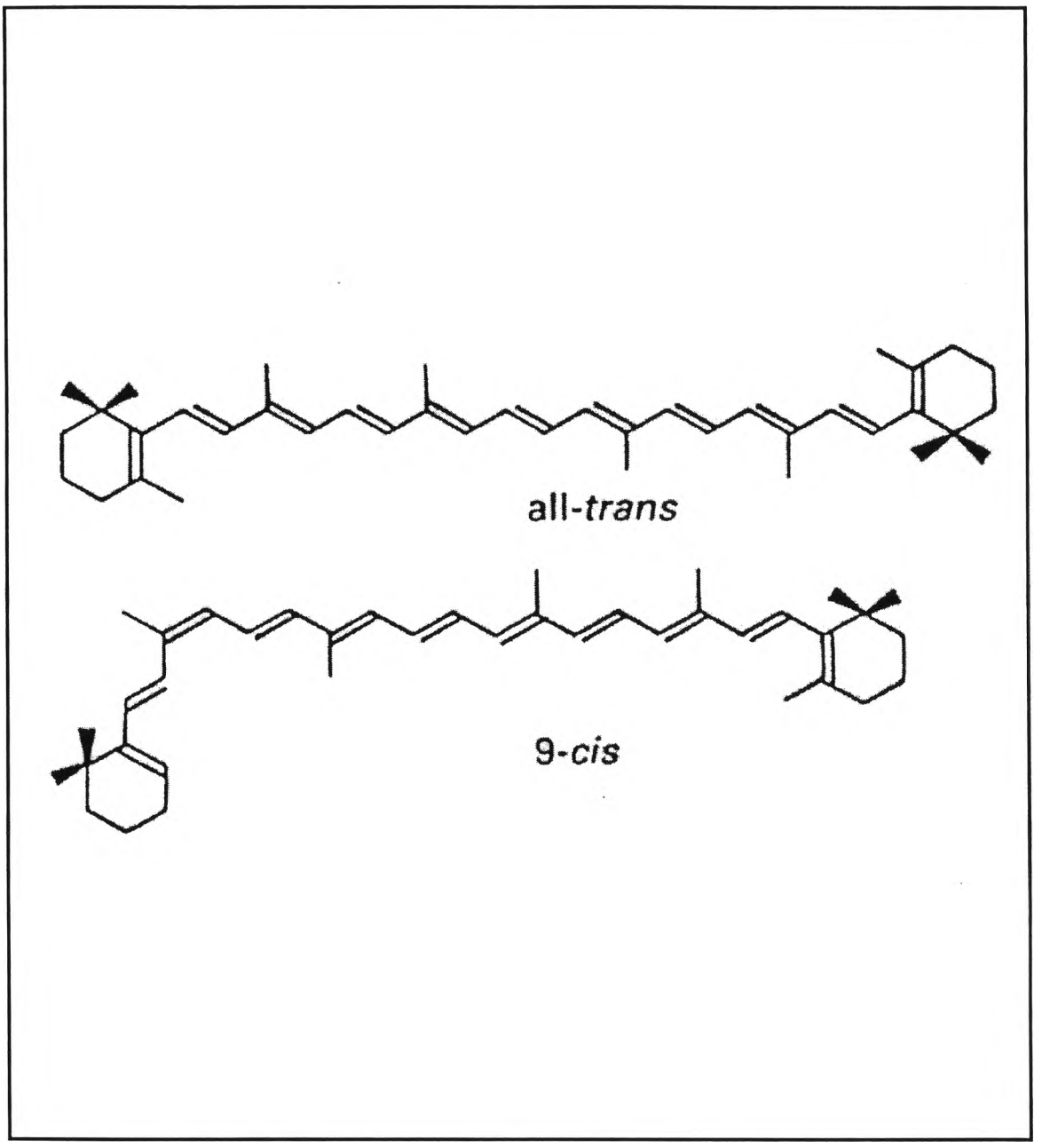
ปริมาณของเบตาแคโรทีนในพืชแตกต่างกันไปอยู่ในช่วง 0.01 ถึง 10 มิลกรัมต่อ 100 กรัม พืชที่มีเบตาแคโรทีนสะสมอยู่ในปริมาณสูง ส่วนใหญ่ได้แก่ ผักชีฝรั่ง ผักขม และบร็อคโคลี ผลไม้ที่มีสีส้ม-เหลือง เช่น ส้มจีน มะม่วง พีช และปาล์มแดง และผักได้แก่ แครอท มะเขือเทศ หวาน และฟักทอง มีจุลินทรีย์บางชนิดที่มีการสะสมเบตาแคโรทีนในปริมาณสูง เช่น เชื้อรา *Phycomyces blakesleanus* และยีสต์ *Rhodotorula* ซึ่งสะสมเบตาแคโรทีนในปริมาณ 5 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง (หน่วยเป็นกรัม) ตามลำดับ (Avron and Ben-Amotz, 1992)

ลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของเบตาแคโรทีน (stereoisomers of beta-carotene)

เบตาแคโรทีนที่ผลิตได้จากสาหร่ายดูนาลิเอลลาหรือพืชต่าง ๆ ประกอบด้วย stereoisomer ที่สำคัญ 2 ชนิด คือ 9-*cis* beta-carotene และ all-*trans* beta-carotene (Ben-Amotz et al., 1982, 1988 และ Shaish et al., 1990) สัดส่วนของ 9-*cis* beta-carotene ของดูนาลิเอลลาสูงเกือบ 50% ของเบตาแคโรทีนทั้งหมดในเซลล์สาหร่าย ทั้งนี้ยังขึ้นอยู่กับปริมาณของการดูดซึมแสงของเซลล์ระหว่างวัฏจักรการแบ่งเซลล์ในแต่ละครั้ง โดยเมื่อสาหร่ายดูนาลิเอลลาเจริญอยู่ในภาวะความเข้มแสงที่สูงขึ้น และอัตราการเจริญที่ต่ำลง จะพบว่าสัดส่วนของ 9-*cis* ต่อ all-*trans* beta-carotene จะสูงขึ้น (Ben-Amotz and Avron, 1990, Ben-Amotz et al., 1987 และ 1988) ความสัมพันธ์ของ 9-*cis* beta-carotene และความเข้มแสงเป็นลักษณะทั่วไปที่พบในส่วนต่าง ๆ ของพืชชั้นสูงหลาย ๆ ชนิด สูตรโครงสร้างของเบตาแคโรทีนแสดงดังรูปที่ 2.4

ในขณะที่เบตาแคโรทีนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีการทางเคมีมากกว่า 99% จะเป็นชนิด all-*trans* beta-carotene เบตาแคโรทีนชนิดที่พบในดูนาลิเอลลา (*D. bardawil*) พบว่ามีการสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อของไก่และหนูทดลองในปริมาณที่สูงกว่า all-*trans* beta-carotene ซึ่งผลิตจากการสังเคราะห์ทางเคมี (Ben-Amotz et al. 1989a อ้างโดย Ben-Amotz et al., 1990)

คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของ 9-*cis* beta-carotene แตกต่างไปจาก all-*trans* beta-carotene ตรงที่ all-*trans* beta-carotene ละลายได้ยากในตัวทำละลายที่เป็นน้ำมันและตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvents) และมีแนวโน้มจะตกผลึกได้ง่าย ขณะที่ 9-*cis* beta-carotene สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (hydrophobic solvents) และมีแนวโน้มที่จะตกผลึกได้ยาก และโดยปกติสามารถเก็บรักษาไว้ได้ในรูปของน้ำมัน (Ben-Amotz and Avron, 1990)



รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างของเบตาแคโรทีนทั้งชนิด all-*trans* และ 9-*cis* beta-carotene
ที่มา : Avron and Ben-Amotz (1992)

ขบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ (Caroteneogenesis)

ภายใต้ภาวะปกติที่ไม่มีการสะสมแคโรทีนอยด์ สาหร่ายดูนาลิเอลลาทั้ง *D. salina* Teod. และ *D. bardawil* จะมีสีเขียวและมีปริมาณเบตาแคโรทีนเพียง 0.3% โดยประมาณ คล้ายคลึงกับในพืชและสาหร่ายชนิดอื่น ๆ แต่เมื่อดูนาลิเอลลาเจริญอยู่ในภาวะที่เหมาะสมจะเกิดการสะสมเบตาแคโรทีนได้มากกว่า 10% ของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย ซึ่งเป็นปริมาณที่สูง อัตราการสังเคราะห์เบตาแคโรทีนขึ้นอยู่กับพารามิเตอร์ (parameters) ในการเจริญทางกายภาพ ได้แก่ ความเข้มแสง ความเค็มของเกลือ อุณหภูมิ และประสิทธิภาพของสารอาหาร (Ben-Amotz et al., 1982., Loeblich, 1982 และ Semenenko and Abdullaev, 1980)

โดยส่วนใหญ่พารามิเตอร์ที่ทำให้การเจริญลดลงจะชักนำให้เกิดการสะสมเบตาแคโรทีนภายใต้อาหารเลี้ยงที่มีความเข้มแสงสูง พารามิเตอร์ดังกล่าวคือความเค็ม โดยดูนาลิเอลลาที่เจริญในอาหารเลี้ยงที่มีเกลือแกง (NaCl) เข้มข้นมากกว่า 4 M จะมีสีส้ม ขบวนการสร้างแคโรทีนจะเกิดขึ้นที่อัตราการเจริญช้า ภายใต้อุณหภูมิต่ำหรือสูง ชัลเฟต หรือไนเตรตต่ำหรือไม่มีเลย และพารามิเตอร์อื่น ๆ ที่ไปยับยั้งการเจริญ ปริมาณของเบตาแคโรทีนที่สะสมภายใต้ภาวะเครียดเหล่านี้พบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณของแสงที่สาหร่ายดูดซึมไว้ระหว่างวัฏจักรการแบ่งเซลล์แต่ละครั้ง ความเข้มแสงที่สูงขึ้น และอัตราการเจริญที่ลดลงของสาหร่ายขณะที่ปริมาณเบตาแคโรทีนภายในเซลล์สูงขึ้น (Ben-Amotz et al., 1982, 1987 และ Ben-Amotz and Avron, 1990)

สิ่งที่น่าสนใจเป็นพิเศษคือผลกระทบจากภาวะขาดแคลนไนโตรเจน กล่าวคือ การเจริญภายใต้ภาวะไนโตรเจนที่จำกัดและความเข้มแสงต่ำจะทำให้เซลล์ของดูนาลิเอลลามีปริมาณของโปรตีนและคลอโรฟิลล์ต่ำกว่าเซลล์ของดูนาลิเอลลาชนิดเดียวกันที่ทำการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่มีสารอาหารมากเพียงพอ ขณะที่ปริมาณเบตาแคโรทีนต่อเซลล์ที่สูงมากเมื่อให้เซลล์เจริญภายใต้ภาวะจำกัดไนโตรเจน และความเข้มแสงสูงในช่วงเวลาสั้นประมาณ 1 ถึง 2 วัน (Avron and Ben-Amotz, 1992)

ผลกระทบของคุณภาพแสงต่อขบวนการสร้างแคโรทีน (Ben-Amotz and Avron, 1989b) ชี้ให้เห็นว่า ขบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพ (biosynthesis) และการสะสมของสารเบตาแคโรทีนใน *D. bardawil* ไม่ขึ้นกับคุณภาพของแสง แสงจะถูกดูดซึมโดยคลอโรฟิลล์ในสาหร่าย ซึ่งจะเพียงพอสำหรับขั้นตอนปฐมภูมิของขบวนการสร้างแคโรทีน

การสังเคราะห์เบตาแคโรทีนทางชีวภาพ

ขบวนการสังเคราะห์เบตาแคโรทีนทางชีวภาพ โดยทั่วไปสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่ (Avron and Ben-Amotz, 1992)

ขั้นที่ 1 การสร้าง geranylgeranyl pyrophosphate (GGDP) จาก mevalonic acid

ขั้นที่ 2 การควบแน่น (condensation) จาก GGDP ไปเป็นไฟโตอีน (phytoene)

ขั้นที่ 3 การลดความอิ่มตัว (desaturation) จากไฟโตอีนไปเป็นไลโคพีน (lycopene) และ

ขั้นที่ 4 การเกิดเป็นวง (cyclization) ไลโดพีนไปเป็นเบตาแคโรทีน

ขั้นตอนการสังเคราะห์เบตาแคโรทีนทางชีวภาพในสาหร่ายดูนาลิเอลลาแสดงดังรูปที่ 2.5

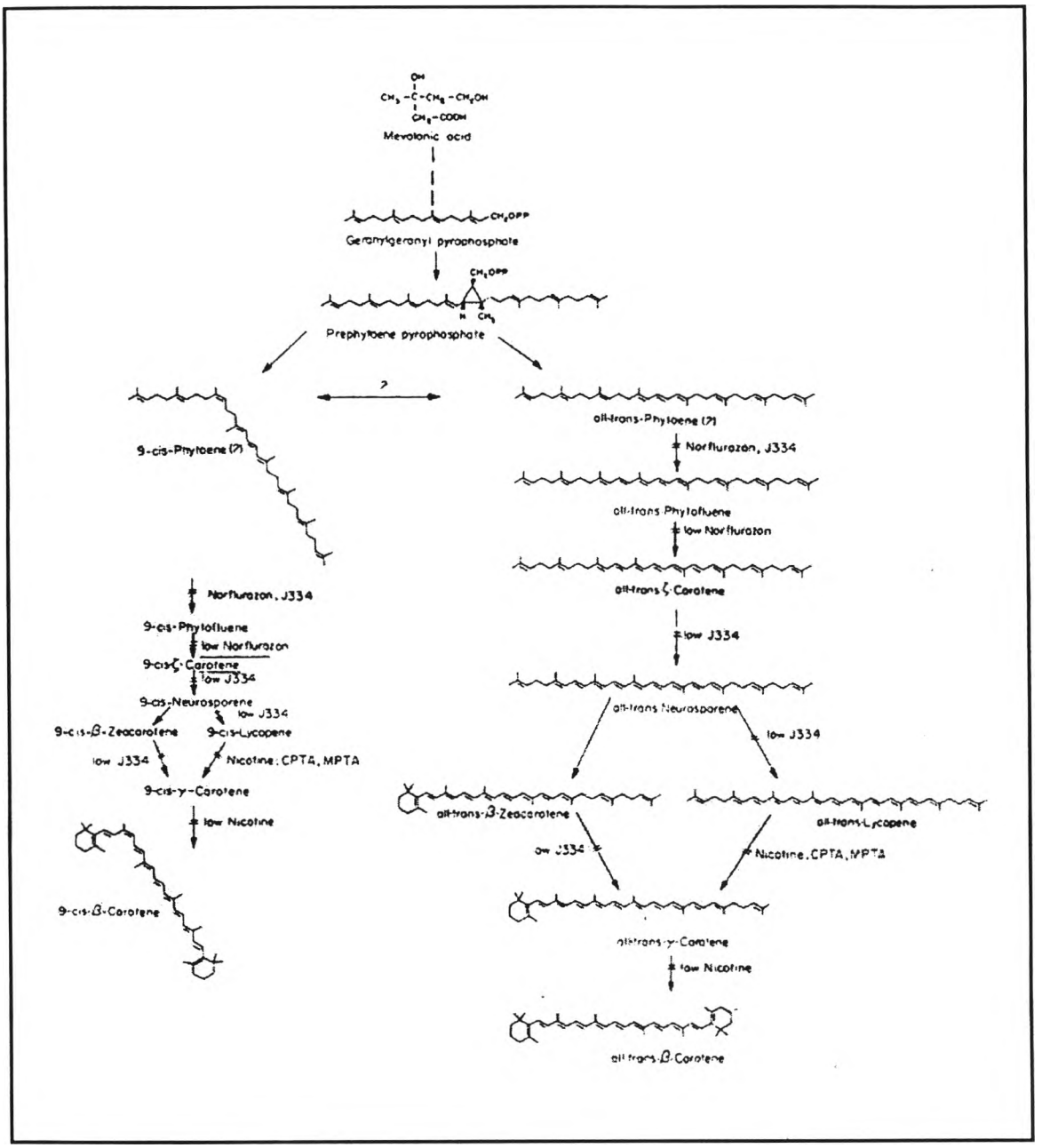
หน้าที่ของเบตาแคโรทีน

สาเหตุในการสังเคราะห์เบตาแคโรทีนและหน้าที่ของเบตาแคโรทีนในสาหร่ายดูนาลิเอลลา ได้แก่ (Ben-Amotz et al., 1982, Borowitzka and Borowitzka, 1988b, Ben-Amotz et al., 1989b และ Ben-Amotz and Avron, 1989a)

1. เป็นแหล่งเก็บสะสมคาร์บอน เบตาแคโรทีน และผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่เกิดจากการสังเคราะห์แสงเพื่อนำมาใช้ในภาวะการเจริญที่จำกัดในภายหลัง

2. ป้องกันออกซิเจนโมเลกุลเดี่ยว (Singlet oxygen quencher) เบตาแคโรทีนมีหน้าที่ปกป้องคลอโรฟิลล์จากการกระตุ้นของออกซิเจนโมเลกุลเดี่ยว และป้องกันความเสียหายของคลอโรฟิลล์จากการถูกกระตุ้นอื่นใดที่อาจเกิดขึ้น

3. ปกป้องเซลล์จากการทำลายของรังสีที่มีความเข้มแสงสูงภายใต้ภาวะการเจริญที่จำกัด โดยจะทำหน้าที่เหมือนตัวกรองดูดซับรังสีที่มากเกินไป โดยพบว่าสามารถป้องกันแสงที่มีความเข้มสูง ซึ่งมีการแผ่รังสีของแสงในช่วงแสงสีน้ำเงิน และมีการป้องกันแสงที่มีความเข้มต่ำ ซึ่งมีการแผ่รังสีของแสงในช่วงของแสงสีแดง สาหร่ายดูนาลิเอลลา *D. bardawil* ที่ไม่สามารถสะสมและไม่มีสารเบตาแคโรทีนสะสมอยู่ภายในเซลล์ พบว่ามีการป้องกันแสงระดับต่ำและจะตายเมื่อได้รับการแผ่รังสีที่รุนแรง ขณะที่ *D. bardawil* ที่มีการสะสมเบตาแคโรทีนในปริมาณสูงจะมีชีวิตรอดและเจริญอยู่ได้ (Borowitzka and Borowitzka, 1988b, Ben-Amotz and Avron, 1989a และ 1990) ดังนั้นหน้าที่ของเบตาแคโรทีนในสาหร่ายดูนาลิเอลลาจึงได้แก่การป้องกันแสงซึ่งอาศัยคุณสมบัติการดูดซึมแสงตามธรรมชาติของเม็ดน้ำมันที่อยู่โดยรอบคลอโรพลาสที่มีรูปทรงคล้ายถ้วย ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวสามารถป้องกันอันตรายจากแสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ



รูปที่ 2.5 ผังแนวทาง (pathway) ขั้นตอนการสังเคราะห์เบตาแคโรทีนทั้งชนิด all-*trans* และ 9-*cis* ในสาหร่ายดูนาลิเอลลา

ที่มา : Avron and Ben-Amotz (1992)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลา

เนื่องจากเบตาแคโรทีนเป็นสารที่มีสีส้ม-เหลือง สามารถนำมาใช้เป็นสารให้สีในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น มาการีน (magarine) และเครื่องดื่มอีกหลายๆ ชนิด (Borowitzka and Borowitzka, 1990) หรือใช้เป็นสารต้นตอวิตามินเอในอาหารสัตว์ (Ben-Amotz et al., 1986) เช่น การใช้สาหร่ายดูนาลิเอลลาแห้งหรือเบตาแคโรทีนที่สกัดจากดูนาลิเอลลาผสมลงไปในอาหารสำหรับไก่ที่ขาดวิตามินเอ พบว่าทำให้ไข่แดงมีสีเข้มขึ้น อีกทั้งยังพบว่าเป็นแหล่งวิตามินเอที่ดี และทำให้ไก่มีสุขภาพดีไม่ขาดวิตามินเออีกด้วย หรือแม้แต่ใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดในเครื่องสำอางหลายชนิด (Ben-Amotz and Avron, 1990)

นอกจากนี้ยังพบว่าเบตาแคโรทีนเป็นสารที่มีบทบาทในการป้องกันมะเร็งได้ โดยสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ (free radicals) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง และได้มีการศึกษาทางการแพทย์พบว่าเบตาแคโรทีนมีผลในการป้องกันและต่อต้านมะเร็งได้ จึงมีการพัฒนานำเบตาแคโรทีน โดยเฉพาะจากดูนาลิเอลลามาประยุกต์ใช้ในรูปของผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพด้วย (Petro et al., 1981) เช่นผลงานของ Mokady et al. (1989) ที่ให้หนูทดลองกินอาหารที่มีส่วนผสมของ *D. bardawil* ซึ่งผลที่ได้ไม่ปรากฏความเป็นพิษในหนู และได้สรุปว่าการนำสาหร่ายดูนาลิเอลลามาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารปลอดภัยต่อการนำมาบริโภคของมนุษย์ จึงได้มีการผลิตเบตาแคโรทีนจากสาหร่ายดูนาลิเอลลาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ ขึ้นอย่างจริงจัง

ปัจจุบันเบตาแคโรทีนถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากในทางการค้า โดยพบว่า 99% ของผลิตภัณฑ์เบตาแคโรทีนที่วางขายอยู่ตามที่ต่างๆ ทั่วโลก จะเป็นเบตาแคโรทีนชนิดที่ผลิตได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี (all-*trans* beta-carotene) ซึ่งมีราคาประมาณกิโลกรัมละ 500-600 เหรียญสหรัฐ มูลค่าการซื้อขายทั่วโลกประมาณปีละ 200 ล้านเหรียญสหรัฐ ขณะที่เบตาแคโรทีนที่ผลิตได้จากดูนาลิเอลลา (9-*cis* beta-carotene) มีราคาและมูลค่าการซื้อขายสูงกว่าถึง 2 เท่าตัว (Ben-Amota and Avron, 1990 และ Borowitzka, 1993) อย่างไรก็ตามเนื่องจากทัศนคติในการบริโภคของผู้คนส่วนใหญ่ซึ่งนิยมเลือกใช้สินค้าอุปโภคบริโภคที่ผลิตจากธรรมชาติ ทำให้ความต้องการเบตาแคโรทีนจากธรรมชาติได้รับความสนใจมากขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์เบตาแคโรทีนจากสาหร่ายดูนาลิเอลลาได้รับการพัฒนาขึ้นในรูปแบบต่างๆ และมีความต้องการสูงมากในตลาดโลก (Borowitzka and Borowitzka, 1990 และ Cifuentes et al., 1992)

ปัจจุบันขนาดของตลาดผลิตภัณฑ์เบตาแคโรทีนจากสาหร่ายดูนาลิเอลลายังคงยากต่อการคาดการณ์ อย่างไรก็ตามปริมาณการผลิตและความต้องการยังคงเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ อย่างต่อเนื่องทั่วโลก (Vonshak, 1990)

การเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลามีจุดประสงค์ในการผลิตเบตาแคโรทีนและกลีเซอรอล รวมทั้งสารอาหารประเภทโปรตีน ซึ่งโดยทั่วไปในดูนาลิเอลลามีโปรตีนอยู่ประมาณ 33% สามารถนำมาใช้เป็นอาหารหรือผสมกับอาหารได้ (Ben-Amotz and Avron, 1980)

การผลิตเบตาแคโรทีนจากดูนาลิเอลลาเพื่อการค้า

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลาเพื่อการผลิตเบตาแคโรทีนทางการค้าพบว่ามีอยู่ 2 ประเภทใหญ่ ๆ ซึ่งโดยปกติที่กระทำกันได้แก่การเพาะเลี้ยงแบบเข้ม (intensive cultivation) โดยการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญและผลผลิตของเซลล์ การจำกัดการเจริญของสาหร่ายโดยควบคุมปริมาณแหล่งไนโตรเจน เพื่อให้สาหร่ายดูนาลิเอลลามีการเจริญอย่างต่อเนื่อง การเพาะเลี้ยงอีกประเภทหนึ่งได้แก่ การเพาะเลี้ยงแบบใช้พื้นที่กว้าง (extensive cultivation) โดยปล่อยให้สาหร่ายดูนาลิเอลลามีการเจริญอย่างช้า ๆ ในน้ำทะเลที่มีความเค็มสูงจัดจนเกือบจะอิ่มตัว (Borowitzka and Borowitzka, 1988a และ Ben-Amotz and Avron, 1989a)

นิศาชล แสนละมุล (2540) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลา *(D. salina)* ในน้ำเกลือสินเธาว์ โดยได้ทำการเลี้ยงสาหร่ายทั้งแบบใช้พื้นที่กว้าง ระบบเลี้ยงแบบใช้อากาศผ่านท่อ PVC เพื่อให้น้ำเลี้ยงหมุนเวียน และระบบการเลี้ยงแบบเข้มในบ่อแบบ raceway รูปวงรี พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลาในน้ำนาเกลือสินเธาว์เพื่อผลผลิตเบตาแคโรทีนให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่า

พิศมัย เจนวนิชปัญจกุล (2537) รายงานว่าเบตาแคโรทีนธรรมชาติที่ผลิตขึ้นจำหน่ายส่วนใหญ่ผลิตได้จากสาหร่าย 2 ชนิด คือ *D. salina* และ *D. bardawil* ในประเทศสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย และอิสราเอล โดยมีบริษัทผู้ผลิตแคโรทีนจากสาหร่ายดังนี้

- Microbion Resources (San Diego California)
- Cyanotech (Woodinville, Washington)
- Salt Research Institute (Tianjn, China)
- Betatene (Victoria, Anstralia)
- Western Biotechnology (Bayswater, Anstralia)
- Nature Beta Technology (Haifa, Israel)

เทคโนโลยีทางชีวภาพกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลาเพื่อการผลิตเบตาแคโรทีน

ปัจจุบันความต้องการเบตาแคโรทีนที่มีคุณภาพสูงเพื่อนำมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคภัยไข้เจ็บ รวมทั้งสินค้าผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของเบตาแคโรทีน จากดูนาลิเอลลามีเพิ่มสูงขึ้น (Avron and Ben-Amotz, 1992) ทำให้มีการศึกษาค้นคว้าจำนวนมาก ที่พยายามนำเทคนิคต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเทคโนโลยีทางชีวภาพมาใช้เพื่อการผลิตที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นการพัฒนาสายพันธุ์สาหร่ายดูนาลิเอลลาให้สามารถสะสมเบตาแคโรทีนในปริมาณที่สูงขึ้น โดยเทคนิคการกลายพันธุ์ (Mutation) การพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงดูนาลิเอลลาเพื่อลดต้นทุนการผลิต เทคนิคในการเก็บเกี่ยวผลผลิตดูนาลิเอลลา และการออกแบบเครื่องมือหรืออุปกรณ์ต่าง ๆ เพื่อคุณภาพที่ดีขึ้นของเบตาแคโรทีน เป็นต้น

การผลิตและการคัดเลือกสายพันธุ์กลาย (mutants) ของสาหร่าย *D. bardawil* เพื่อสะสมเบตาแคโรทีนปริมาณสูง โดยใช้เทคนิคการชักนำด้วยแสงอัตราไวโอเลต (ultra violet, UV) (Shaish et al., 1991) โดยการให้แสงสีน้ำเงินเข้ม เซลล์ที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในแสงสีน้ำเงินเข้มแสดงว่าเป็นสายพันธุ์กลายที่มีการสะสมเบตาแคโรทีนได้ในปริมาณที่สูง ผลผลิตเบตาแคโรทีนของสายพันธุ์กลายดังกล่าวจะสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ตามธรรมชาติ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลาแบบมหมวลมักประสบปัญหาสำคัญทางด้านเทคนิคคือการเก็บเกี่ยวผลผลิต (Vanshak, 1990, Ben-Amotz and Avron, 1989a และ Borowitzka and Borowitzka, 1988a) เนื่องจากเซลล์ของดูนาลิเอลลามีขนาดเล็กไม่เกิน 20 ไมครอน การเก็บเกี่ยวผลผลิตสาหร่ายโดยวิธีการกรองที่มีประสิทธิภาพจะต้องใช้ถุงกรองที่มีรูขนาดเล็กประมาณ 1 ไมครอน อย่างไรก็ตามถุงกรองสาหร่ายจะอุดตันอย่างรวดเร็ว โดยเกิดเป็นแผ่นเมือกทำให้ประสิทธิภาพในการกรองลดลง ต้องล้างน้ำสวนทางกับด้านที่กรองอยู่บ่อย ๆ และมักจะทำให้เซลล์สาหร่ายแตกและจะปลดปล่อยกลีเซอรอลและสารอินทรีย์ที่อยู่ภายในเซลล์ออกมาภายนอกปนกับอาหารเลี้ยงสาหร่าย (Naghavi and Malone, 1986 อ้างโดย Ben-Amotz and Avron, 1989a)

การเก็บเกี่ยวผลผลิตสาหร่ายดูนาลิเอลลามีหลายวิธี เช่น การกรองโดยใช้ความดันสูงผ่านตัวกรองที่เป็นทราย, เยื่อใยเซลลูโลส, diatomaceous earth, การใช้คุณสมบัติการลอยตัวโดยอาศัยความเค็มในชั้นของน้ำเค็มคงที่หรือเคลื่อนที่, การตกตะกอนโดยอัลคาไลน์, การใช้การตอบสนองต่อแสงและ gyrotactic ของสาหร่าย (Borowitzka and Borowitzka, 1988a)

การเก็บเกี่ยวที่นิยมนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรมกันมากได้แก่ วิธีปั่นเหวี่ยงและวิธีการตกตะกอนด้วยสารเคมีบางอย่าง เช่น สารส้ม (aluminium sulphate หรือ alum) (Cordero et al., 1990), ไคโตแซน (Chitosan) (Promjaroen et al., 1992), เฟอรัสและเฟอรัสซัลเฟต (ferrous และ feric sulphate), เฟอริกคลอไรด์ (ferric chloride), ปูนขาว (lime) เป็นต้น (Ben-Amotz and Avron, 1989a) อย่างไรก็ตามสาหร่ายที่ได้จากการตกตะกอนนี้ไม่สามารถนำมาใช้เพื่อการบริโภคได้ เว้นแต่จะใช้สารตกตะกอนที่ปลอดภัยหรือกำจัดสารตกตะกอนที่เป็นอันตรายออกจากสาหร่ายให้หมดก่อนที่จะนำมาใช้ประโยชน์ ปัจจุบันการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยงได้ถูกนำมาใช้กับระบบการผลิตสาหร่ายดูนาลิเอลลาเพื่อการค้าในประเทศอิสราเอลและจีน วิธีการนี้จะทำให้อาหารปลอดภัยแต่ต้องใช้พลังงานและต้นทุนการผลิตสูง

การพัฒนาเทคนิคในการเพาะเลี้ยงดูนาลิเอลลาเพื่อคุณภาพเบตาแคโรทีน โดยส่วนมากจะเป็นการเพาะเลี้ยงระบบปิด หรือกึ่งปิด เช่น การออกแบบบ่อเลี้ยงกลางแจ้งแบบ raceway เพื่อเพาะเลี้ยงแบบมหมวล (Richmond, 1987) และเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (bioreactor)

เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพถูกนำมาใช้เพื่อทำการผลิตสาหร่ายและจุลินทรีย์บางชนิดที่ใช้แสงในกระบวนการสังเคราะห์แสงและสะสมสารเคมีหรือสารอาหารบางอย่างมาเป็นเวลานานหลายปี ซึ่งผลผลิตที่ได้ในรูปของสารเคมีจะมีคุณภาพสูงมาก เนื่องจากสามารถควบคุมองค์ประกอบต่าง ๆ ในระบบได้อย่างดี การเพาะเลี้ยงด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเป็นการนำเทคโนโลยี เครื่องมือที่ทันสมัยและเทคนิคต่าง ๆ มาใช้ในการควบคุมระบบเพื่อให้ได้ผลผลิตสูง โดยส่วนใหญ่จะพบว่ามีลักษณะเป็นวัสดุทรงกระบอกใส ปัจจุบันเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพได้รับการออกแบบหลายชนิดเพื่อให้เข้ากับลักษณะของสิ่งมีชีวิตที่นำมาเพาะเลี้ยง เช่นแบบท่อตรงแนวดิ่ง ท่อม้วน หรือท่อวางเอียงทำมุมกับพื้นระดับ เป็นต้น เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแต่ละชนิดจะถูกออกแบบให้สามารถรับแสงทั้งจากดวงอาทิตย์หรือแสงไฟได้อย่างเต็มที่ และมีการหมุนเวียนที่เหมาะสม (Lee, 1986)

ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดต่างด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเป็นจำนวนมาก เช่น สาหร่ายเกลียวทอง *(Spirulina)*, สาหร่ายคลอเรลลา *(Chlorella)* เป็นต้น (Vonshak, 1987; Walach et al., 1987 และ Lee and Low, 1992) ซึ่งแสดงว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลาด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพจึงน่าจะมีความเป็นไปได้สูง อย่างไรก็ตามหากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายดูนาลิเอลลาด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพสามารถกระทำได้จริงอย่างได้ผลดี อาจจะทำให้ผลผลิตสาหร่ายที่ได้มีเบตาแคโรทีนที่คุณภาพดี ปริมาณสูง เนื่องจากสามารถควบคุมองค์ประกอบต่าง ๆ ในระบบการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ