การศึกษาผลของฮอร์โมนพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และชีวมวลของสาหร่าย *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* และ *CHLORELLA* SP.

THE EFFECT OF PHYTOHORMONES ON GROWTH AND BIOMASS OF *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* AND *CHLORELLA* SP.

ศุกลภัทร กสิกรรม
สกุลณัฐ ตะนนท์
อโรชา น้อยวิมล

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE EFFECT OF PHYTOHORMONES ON GROWTH AND BIOMASS OF *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* AND *CHLORELLA* SP.

Sukolapat Kasikum
Sakulnat Tanon
Arocha Noiwimon

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาผลของฮอร์โมนพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และชีวมวลของสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* และ *Chlorella* sp. The effect of phytohormones on growth and biomass of *Haematococcus pluvialis* and *Chlorella* sp.
ชื่อนักศึกษา	นางสาวศุกลภัทร กสิกรรม รหัสนักศึกษา 58050986 นางสาวสกุลณัฐ ตะนนท์ รหัสนักศึกษา 58050988 นางสาวอโรชา น้อยวิมล รหัสนักศึกษา 58051012
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วีนา ชูโชติ ประธานกรรมการ	
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการ	
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาผลของฮอร์โมนพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และชีวมวลของสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* และ *Chlorella* sp.
ชื่อนักศึกษา	นางสาวศุกลภัทร กสิกรรม รหัสนักศึกษา 58050986 นางสาวสกุลณัฐ ตะนนท์ รหัสนักศึกษา 58050988 นางสาวอโรชา น้อยวิมล รหัสนักศึกษา 58051012
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์

บทคัดย่อ

สาหร่าย *Haematococcus pluvialis* และ *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ทั้งในด้านอุตสาหกรรมอาหารเสริม เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมนพืชต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารที่ใส่ฮอร์โมน NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการวัดการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ น้ำหนักเซลล์แห้ง และขนาดเซลล์ จากผลการทดลองของสาหร่าย *H. pluvialis* พบว่า ฮอร์โมน NAA และ BA มีผลต่อในการยืดระยะการแบ่งเซลล์ของสาหร่ายจาก 2 วัน เป็น 4 วัน ภายใต้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA 5 และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้มีการสะสมของจำนวนเซลล์ในระยะคงที่เพิ่มขึ้นสูงสุด คือ 1.73 และ 1.19 เท่า ตามลำดับ ซึ่งมีผลสัมพันธ์กับชีวมวลของ *H. pluvialis* ที่เพิ่มขึ้นในระยะคงที่ถึง 1.8 เท่าในฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด แต่เมื่อทำการวัดขนาดเซลล์พบว่า มีขนาดเล็กลง 1.24 และ 1.14 เท่า ใน NAA และ BA ตามลำดับ ผลการทดลองในสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่า การใส่ฮอร์โมน NAA และ BA ไม่ส่งผลต่อการยืดระยะของการแบ่งเซลล์ แต่ที่ความเข้มข้น NAA 0.5 และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลทำให้จำนวนเซลล์ในระยะคงที่เพิ่มขึ้น 1.14 และ 1.21 เท่า ตามลำดับ เนื่องด้วยมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญจำเพาะในระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลเพิ่มขึ้น คือ 4.29 และ 4.80 ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งสัมพันธ์กับชีวมวลของ *Chlorella* sp. ที่พบว่า BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งในระยะคงที่เพิ่มขึ้น 2.01 เท่า ในขณะที่ขนาดเซลล์ไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการศึกษาผลของการใส่ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน พบว่า การใช้ฮอร์โมน 2 ชนิด ไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตมากไปกว่าการใช้ฮอร์โมนเพียงชนิดเดียว จากการศึกษาเบื้องต้นนี้ชี้ให้เห็นว่าการใส่ฮอร์โมนพืชออกซิน (NAA) หรือ ไซโตไคนิน (BA) มีผลช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด โดยเกี่ยวข้องกับระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลและการแบ่งเซลล์ จำนวนเซลล์สะสมในระยะคงที่ น้ำหนักเซลล์แห้ง และขนาดเซลล์ของสาหร่าย

คำสำคัญ : *Haematococcus pluvialis Chlorella* sp. NAA BA อัตราการเจริญเติบโต ชีวมวล ขนาดเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The effect of phytohormones on growth and biomass of *Haematococcus pluvialis* and *Chlorella* sp.		
Student	Miss Sukolapat	Kasikum	Student ID 58050986
	Miss Sakulnat	Tanon	Student ID 58050988
	Miss Arocha	Noiwimon	Student ID 58051012
Degree	Bachelor of Science (Industrial microbiology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang		
Academic Year	2018		
Advisor	Asst. Prof. Dr. Wipawee Dejtisakdi		

Abstract

Haematococcus pluvialis and *Chlorella* sp. are microalgae having a great potential in nutraceutical, cosmetics and aquacultural industry. In this study, we aimed to see if the effect of plant hormones (NAA and BA) would promote *H. pluvialis* and *Chlorella* sp. growth or not. The experiments were performed to determine their growths, specific growth rates, biomass including cell sizes under adding varies of hormone concentration at 0, 0.5, 1, 5 and 10 mg/L. For *H. pluvialis*, the results showed that NAA and BA were promoting its cell division by expanding the exponential phase from 2 days to 4 days with an unchanged the specific growth rates compared with a non-adding hormone culture. Moreover, *H. pluvialis* cultures adding NAA 5 and BA 0.5 mg/L showed an increase of cell accumulation up to 1.73 and 1.19 fold and biomass 1.8 fold at the stationary phase compared with the control experiment, whereas, cell size was significantly decrease 1.24 and 1.14 fold for NAA 5 and BA 0.5 mg/L, respectively. For *Chlorella* sp., the result showed that NAA and BA affected on increasing of *Chlorella* sp. specific growth rate up to 4.29 and 4.80 per day, respectively, compared with the non-adding hormone culture. This finding was related to an increase of *Chlorella* sp. biomass since BA 0.5 mg/L could enhance biomass up to 2.01 fold and its cell size still unchanged.

We finally set up the experiment to see if *Chlorella* sp. growth would change or not under both NAA and BA added. The result showed that adding both

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

hormones in the culture did not promote *Chlorella* sp. growth as good as a single hormone added. From this preliminary study, the results suggested that plant hormones (NAA and BA) could help to promote *H. pluvialis* and *Chlorella* sp. growths as shown in the increase of their cell division in the exponential phase including higher their cell and biomass accumulation.

Keywords : *Haematococcus pluvialis, Chlorella* sp., NAA, BA, Growth rate, Biomass, Cell size

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่คอยให้ความช่วยเหลือดูแล แนะแนวทางการแก้ปัญหาและข้อบกพร่องต่าง ๆ ตลอดการทำโครงงานพิเศษ รวมทั้งยังให้ความรู้แก่ผู้จัดทำ และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วีนา ชูโชติ ประธานกรรมการ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการ ที่มีความกรุณาให้คำแนะนำข้อมูลและข้อคิดเห็นทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาวิทยาทุกท่าน ที่มอบความรู้และทักษะการปฏิบัติงานต่างๆ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ได้เป็นอย่างดี และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ได้ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับอุปกรณ์ และเครื่องมือ รวมทั้งการให้คำแนะนำในการปฏิบัติการ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนและส่งเสริมการศึกษา คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจ ตลอดจนขอขอบคุณเพื่อน ๆ ที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้เสมอ จนทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ศุกลภัทร กสิกรรม
สกุลณัฐ ตะนนท์
อโรชา น้อยวิมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ซ

สารบัญรูป ..... ฏ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 สาหร่าย *Haematococcus pluvialis* 4

2.1.1 การจัดจำแนก 4

2.1.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา 4

2.1.3 แหล่งที่พบ 5

2.1.4 วงจรชีวิตของ *Haematococcus pluvialis* 5

2.1.5 รงควัตถุที่พบในสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* 6

2.1.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารแอสตาแซนทินของสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* 8

2.1.7 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* 9

2.2 สาหร่าย *Chlorella* sp. 10

2.2.1 การจัดจำแนก 10

2.2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา 10

2.2.3 แหล่งที่พบ 11

2.2.4 วงจรชีวิตของ *Chlorella* sp. 11

2.2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. 11

2.2.6 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Chlorella* sp. 15

2.3 การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก 17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ฮอร์โมนพืช 19
2.4.1 ออกซิน 19
2.4.2 ไซโตไคนิน 20
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 21
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 26
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 35
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 53
เอกสารอ้างอิง 55
ภาคผนวก 61
ภาคผนวก ก 62
ภาคผนวก ข 68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 กรดอะมิโนจำเป็นใน *Chlorella* sp. 15

2.2 องค์ประกอบภายในของน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. 16

4.1 รูปร่างลักษณะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG11 TAP และ BBM (กำลังขยายของภาพ 400 เท่า) 35

4.2 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 41

4.3 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 41

4.4 น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 42

4.5 ขนาดเซลล์เฉลี่ยของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 43

4.6 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 48

4.7 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 48

4.8 น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 49

4.9 ขนาดเซลล์เฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 49

4.10 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วนของ NAA:BA คือ 0:0, 1:1, 10:10, 0.5:0, 1:0 และ 0:0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 51

ก-1 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ไม่ใส่ฮอร์โมนพืช 62

ก-2 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 63

ก-3 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-4 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ไม่ใส่ฮอร์โมนพืช 65
ก-5 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 66
ก-6 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 67
ข-1.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร 68
ข-1.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 71
ข-1.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร 73
ข-1.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 75
ข-1.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 77
ข-1.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุด 79
ข-1.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร 80
ข-1.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 82
ข-1.9 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร 84
ข-1.10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 86
ข-1.11 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 88
ข-1.12 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุด 90
ข-2.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข-2.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 92
ข-3.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ฮอร์โมนพืช 93
ข-4.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของขนาดเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ฮอร์โมนพืช 95
ข-5.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร 97
ข-5.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 99
ข-5.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร 101
ข-5.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 103
ข-5.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 105
ข-5.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุด 107
ข-5.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร 108
ข-5.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 110
ข-5.9 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร 112
ข-5.10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 114
ข-5.11 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 116
ข-5.12 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุด 118
ข-6.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 119

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข-6.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA 120
ข-7.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ฮอร์โมนพืช 121
ข-8.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของขนาดเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ฮอร์โมนพืช 123
ข-9.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ไม่ใส่ฮอร์โมนพืช 125
ข-9.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วน 1:1 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร 127
ข-9.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วน 1:1 ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 129
ข-9.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุด 131
ข-10.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วน 1:1 ที่ความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 132

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 แสดงลักษณะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่มีรูปร่างแบบ Motile cell และ Non-Motile cell 4
2.2 แสดงวงจรชีวิตของ *H. pluvialis* 5
2.3 แสดงโครงสร้างของแอสตาแซนทิน 6
2.4 แสดง Carotenoid biosynthesis pathway 7
2.5 แสดงรูปร่างลักษณะของสาหร่าย *Chlorella* sp. 10
2.6 แสดงวงจรชีวิตของสาหร่าย *Chlorella* sp. 11
2.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างการสังเคราะห์แสงและความเข้มแสง 14
2.8 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Growth curve) 18
2.9 แสดงโครงสร้างของ IAA 19
2.10 แสดงโครงสร้างของ NAA และ 2.4-D 20
2.11 แสดงโครงสร้างของ Zeatin และ Isopentenyl adenine 20
2.12 แสดงโครงสร้างของ Kinetin และ BA 20
3.1 แสดงขั้นตอนการเตรียมอาหารวุ้นเอียง 30
3.2 ช่องตารางบน Hemacytometer 32
3.3 ความยาวช่องของ Ocular micrometer และ Stage micrometer 33
3.4 แสดงเซลล์สาหร่ายบน Ocular micrometer 33
3.5 ลักษณะของ Ocular micrometer และ Stage micrometer 34
4.1 กราฟมาตรฐานการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM เป็นระยะเวลา 15 วัน 36
4.2 กราฟมาตรฐานการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP เป็นระยะเวลา 7 วัน 36
4.3 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 38
4.4 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 38
4.5 ร้อยละของเซลล์ *H. pluvialis* ในระยะ Green stage และ Red stage ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ใส่ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 39
4.6 ร้อยละของเซลล์ *H. pluvialis* ในระยะ Green stage และ Red stage ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ใส่ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ไม่ใส่ฮอร์โมน วันที่ 0 และ วันที่ 10 (กำลังขยายของภาพ 400 เท่า) 43
4.8 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร วันที่ 0 และ วันที่ 10 (กำลังขยายของภาพ 400 เท่า) 44
4.9 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วันที่ 0 และ วันที่ 10 (กำลังขยายของภาพ 400 เท่า) 44
4.10 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 46
4.11 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 47
4.12 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วนของ NAA:BA คือ 1:1, 10:10, 0.5:0 และ 0:5 มิลลิกรัมต่อลิตร..... 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สาหร่ายเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อสิ่งแวดล้อม และระบบนิเวศของโลก เนื่องจากสาหร่ายสามารถสังเคราะห์แสงได้ และถือเป็นผู้ผลิตของห่วงโซ่อาหาร อีกทั้งยังสามารถสร้างสารที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์อย่างมากมาย ซึ่งในปัจจุบันมีการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ในทางการค้า เช่น อาหารคนและสัตว์ อุตสาหกรรมยา และอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เป็นต้น ดังนั้นจึงได้มีการนำสาหร่ายขนาดเล็กมาเป็นต้นแบบในการศึกษาวิจัยในด้านต่าง ๆ เช่น *Chlorella* spp. สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ วีนา (2556) รายงานว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A0505, *Chlorella* sp. B2, *C. ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 สามารถยับยั้ง การเจริญของแบคทีเรียได้ 4 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas fluorescens* นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาสาหร่าย *Haematococcus* sp. เพื่อเพิ่มการผลิตแอสตาแซนทิน เนื่องจากมีรายงานว่ามีฤทธิ์สูงกว่าวิตามินอี 100 เท่า ทำให้นิยมใช้ในการผลิตภัณฑ์อาหารเสริม และเครื่องสำอางหลายประเภท (Kaewpintong *et al.* 2007) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้เลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีประโยชน์ 2 ชนิด มาทำการศึกษา ได้แก่ *Chlorella* sp. และ *Haematococcus pluvialis*

Chlorella sp. จัดเป็นสาหร่ายเซลล์เดียว มีขนาดเล็ก ลักษณะเซลล์มีรูปร่างกลม ไม่มีแฟลกเจลลา มีการสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างออโตสปอร์ สาหร่ายชนิดนี้พบได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติทั่วไป ซึ่งส่วนใหญ่สาหร่าย *Chlorella* sp. จะถูกนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอาหารเสริมสุขภาพสำหรับมนุษย์ และเป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำเศรษฐกิจ เช่น ลูกกุ้ง ลูกปลา และหอยสองฝา (วีนา, 2556) อย่างไรก็ตามการผลิต *Chlorella* sp. ต้องอาศัยปัจจัยหลายอย่างเพื่อช่วยในการเจริญเติบโต เช่น ธาตุอาหาร แสง อุณหภูมิ และกรด-ด่าง เป็นต้น จึงได้มีการนำสาหร่ายชนิดนี้มาทำการศึกษาปัจจัยในการเพาะเลี้ยง และพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจ

Haematococcus sp. จัดเป็นสาหร่ายขนาดเล็กชนิดหนึ่งที่มีผู้นำมาวิจัยเป็นจำนวนมาก เนื่องจากสามารถผลิตสารแอสตาแซนทิน ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ประเภทแคโรทีนอยด์ ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) (Wan *et al.* 2014) ซึ่งมีส่วนช่วยในการป้องกันการถูกทำลายเซลล์จากอนุมูลอิสระ ที่ก่อให้เกิดริ้วรอยหรือฝ้า กระ ต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยบำรุงสายตาและลดอาการอ่อนล้าได้อีกด้วย (Cohen, 2013) จากข้อมูลเบื้องต้นแอสตาแซนทินจึงเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และถูกนำมาใช้ในด้านอาหารเสริม จากการศึกษาพบว่า *Haematococcus* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว มีระยะการเจริญ 2 ระยะ คือ Green stage และ Red stage โดยในระยะ Green stage เซลล์จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว แต่ปริมาณแอสตาแซนทินต่ำ และเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะกระตุ้น เช่น สภาวะความเข้มแสงสูง หรือสภาวะที่ความอุดมสมบูรณ์น้อย เป็นต้น เซลล์จะเจริญเป็นเซลล์ซิสต์ที่มีผนังหนา (สุริยัน, 2560) และทำให้เซลล์เข้าสู่ระยะ Red stage ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์มีการเจริญเติบโตช้า แต่มีการสะสมแอสตาแซนทินเป็นจำนวนมาก (Wan *et al.* 2014)

โดยในปัจจุบันได้มีการศึกษาค้นคว้าและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอุตสาหกรรม เพื่อเป็นการลดต้นทุนและเพิ่มผลผลิต เช่น การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย การเพิ่มสารอาหารหรือการตัดต่อยีน นอกจากนี้การใช้สารเคมียังเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการเร่งการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งฮอร์โมนพืช (Phytohormone) เป็นสารเคมีที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช และออกฤทธิ์ได้ในความเข้มข้นที่ต่ำ (Park *et al.* 2013) และได้มีงานวิจัยที่นำฮอร์โมนพืชมาใช้กับ *Chlorella* sp. และ *Scenedesmus* sp. อย่างมากมาย จากการศึกษาของ Dao *et al.* (2018) ที่ทำการศึกษา การเพิ่มการเจริญและการสะสมกรดไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus* sp. LX1 โดยใช้ออกซิน 2 ชนิด (IAA และ 2,4-D) พบว่าเมื่อทำการเพิ่มออกซินส่งผลให้มีการสังเคราะห์แสง และมีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น

งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาผลของการใช้ฮอร์โมนพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* และ *Chlorella* sp. โดยการวัดการเจริญเติบโต อัตราการเจริญจำเพาะ น้ำหนักเซลล์แห้ง และขนาดเซลล์ของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด โดยการใส่ NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาผลของการใช้ฮอร์โมนพืชที่มีต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* และ *Chlorella* sp.

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง *H. pluvialis* ทำการศึกษาโดยใช้อาหาร 3 สูตร ได้แก่ BG11 TAP และ BBM เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และสังเกตลักษณะของเซลล์

2) การศึกษาผลของฮอร์โมนพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และชีวมวลของสาหร่าย *H. pluvialis* และ *Chlorella* sp. ทำการศึกษาโดยใช้ฮอร์โมนพืช 2 กลุ่ม คือ ออกซิน และไซโตไคนิน ได้แก่ NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *H. pluvialis* เพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารสูตรที่เหมาะสม บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. เพาะเลี้ยงโดยใช้อาหาร TAP บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และวัดการเจริญเติบโต

3) การศึกษาการใช้ฮอร์โมนร่วมกันต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp. ทำการศึกษาโดยใช้ฮอร์โมนพืช NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วน 1:1 ที่ความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงโดยใช้อาหาร TAP บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และวัดการเจริญเติบโต

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ได้เรียนรู้วิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ
2) ทำให้ทราบถึงอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *H. pluvialis*
3) ทำให้ทราบผลของการใช้ฮอร์โมนพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* และ *Chlorella* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่าย *Haematococcus pluvialis*

2.1.1 การจัดจำแนก

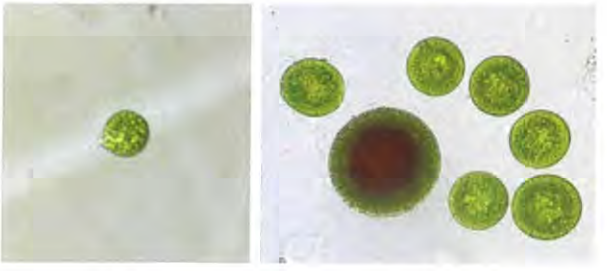
Flotow (1844) ได้มีการจัดจำแนกสาหร่าย *H. pluvialis* ไว้ดังนี้ Division Chlorophyta Class Chlorophyceae Order Chlamydomonadales Family Haematococcaceae Genus *Haematococcus* Species *H. pluvialis*

2.1.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่าย *H. pluvialis* สามารถแบ่งรูปร่างลักษณะของเซลล์ได้เป็น 2 แบบ ได้แก่

2.1.2.1 Motile cell เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างเป็นรูปไข่หรือวงรี มีไพรีนอยด์ สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลา 2 เส้น เซลล์มีขนาด 5 ไมโครเมตร บริเวณช่องเรียกว่า เพอริพลาสมิก มีลักษณะเป็นชั้นวุ้นซึ่งอยู่ระหว่างโปรโตพลาสและผนังเซลล์ ซึ่งเชื่อมกันด้วย พลาสโมเดสมาตา มีนิวเคลียสอยู่กลางเซลล์และมีอายสปอตอยู่ใกล้กับนิวเคลียสบนคลอโรพลาสต์

2.1.2.2 Non-Motile cell เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างกลม มีขนาดเซลล์ประมาณ 20-30 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ไม่ได้ ในตอนแรกเซลล์จะเป็นสีเขียวหรือเรียกว่า Aplanospore ซึ่งเป็นเซลล์ที่อยู่ในระยะพักตัว หลังจากนั้นจะเกิดการสะสมแอสตาแซนทินที่บริเวณกลางเซลล์ ทำให้กลางเซลล์มีสีแดงและมีสีเขียวล้อมรอบ หลังจากนั้นแอสตาแซนทินจะกระจายไปทั่วทั้งเซลล์และทำให้เซลล์มีสีแดงทั้งหมด



(ก) (ข)

รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่มีรูปร่างแบบ Motile cell (ก) และ Non-Motile cell (ข)

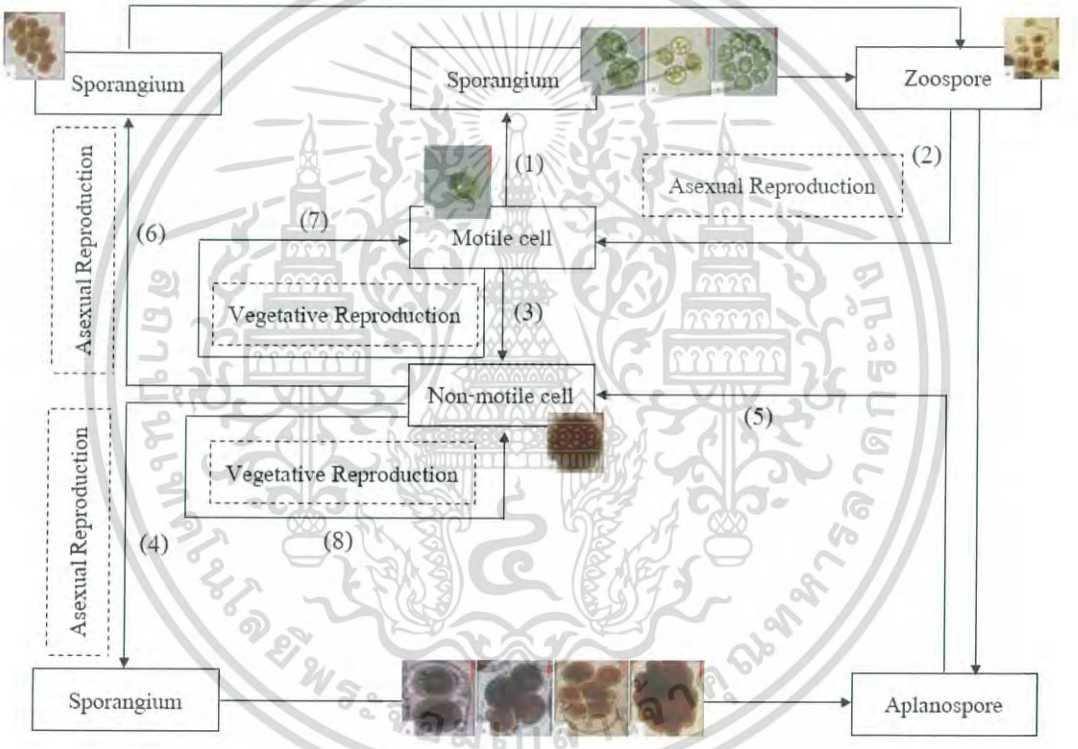
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 แหล่งที่พบ

พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำจืดขนาดเล็ก และมีการกระจายอย่างกว้างขวางในแหล่งที่อยู่อาศัยหลายแห่งทั่วโลก มักเกิดอยู่ในสระน้ำชั่วคราว หรือสระน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น นอกจากนี้ยังถูกพบในอีกหลากหลายสภาพแวดล้อม เช่น บริเวณน้ำกร่อยตามหินที่อยู่ชายทะเล ในน้ำที่มาจากหิมะละลายที่เกาะ Kalvoya ประเทศนอร์เวย์ น้ำพุแห้งในสาธารณรัฐบัลแกเรีย บ่อปลาในเมือง Bihor ประเทศโรมาเนีย และพื้นผิวดาดฟ้าของอาคาร KIOST ในกรุงโซล ประเทศเกาหลี (Shah *et al.* 2016)

2.1.4 วงจรชีวิตของ *Haematococcus pluvialis*

จากรายงานของ Chunhui *et al.* (2017) ได้มีการศึกษาวงจรชีวิตของ *H. pluvialis* และได้อธิบายไว้ ดังแสดงในรูปที่ 2.2 ดังนี้



รูปที่ 2.2 แสดงวงจรชีวิตของ *H. pluvialis*

ที่มา : Chunhui *et al.* (2017)

การสืบพันธุ์ของ *H. pluvialis* แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่

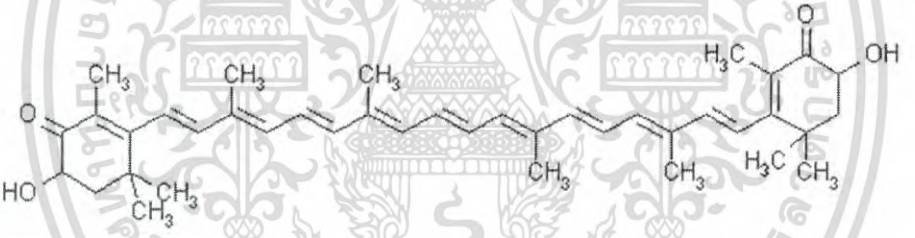
1. Asexual Reproduction สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งใน Motile cell และ Non-motile cell โดยการสร้างถุงที่เรียกว่า Sporangium ซึ่งภายใน Sporangium จะมีการแบ่งตัวเป็น 2 4 หรือ 8 เซลล์ ใน Motile cell และแบ่งตัว 4 หรือ 8 เซลล์ บางครั้งอาจได้ถึง 20-32 เซลล์ ใน Non-motile cell และเมื่อถึงสภาวะหนึ่งเซลล์จะถูกปลดปล่อยออกมาจากถุง Sporangium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Vegetative reproduction โดยทั่วไปวงจรชีวิตหลักของสาหร่าย *H. pluvialis* จะเป็นแบบ Asexual reproduction แต่มีเพียงบางกรณีเท่านั้นที่พบการสืบพันธุ์แบบ Vegetative reproduction ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อในถุง Sporangium แบ่งเซลล์ด้วยความเร็วที่ไม่เท่ากัน โดยเซลล์ลูกจะถูกปลดปล่อยในขณะที่การแบ่งตัวยังไม่เสร็จสมบูรณ์ หลังจากนั้นเซลล์ที่เหลือจะทำการแบ่งเซลล์ผ่านการแบ่งเซลล์โดยตรงหรือการแตกหน่อ ซึ่งจะสามารถแบ่งเซลล์ได้จำนวน 2^{n+1} เซลล์

2.1.5 รงควัตถุที่พบในสาหร่าย *Haematococcus pluvialis*

รงควัตถุที่สาหร่าย *H. pluvialis* สังเคราะห์ขึ้น และสะสมภายในเซลล์มีชื่อว่าแอสตาแซนทิน หรือ 3,3'-dihydroxy-β,β-carotene-4,4'-dione เป็นรงควัตถุสีแดงในกลุ่ม Ketocarotenoid หรือ Secondary carotenoid ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มวงแหวนที่ปลายทั้งสองด้านต่อกันด้วยพันธะคู่ หรือ Polyene system มีตำแหน่งของคาร์บอน 2 ตำแหน่งสมมาตรกัน โดยมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่ตำแหน่ง 3, 3' ของวงเบนซีนและหมู่คีโตน (=O) ที่ตำแหน่ง 4, 4' บนปลายทั้งสองข้างของโมเลกุล (วนิดา, 2558) (รูปที่ 2.3)



รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างของแอสตาแซนทิน

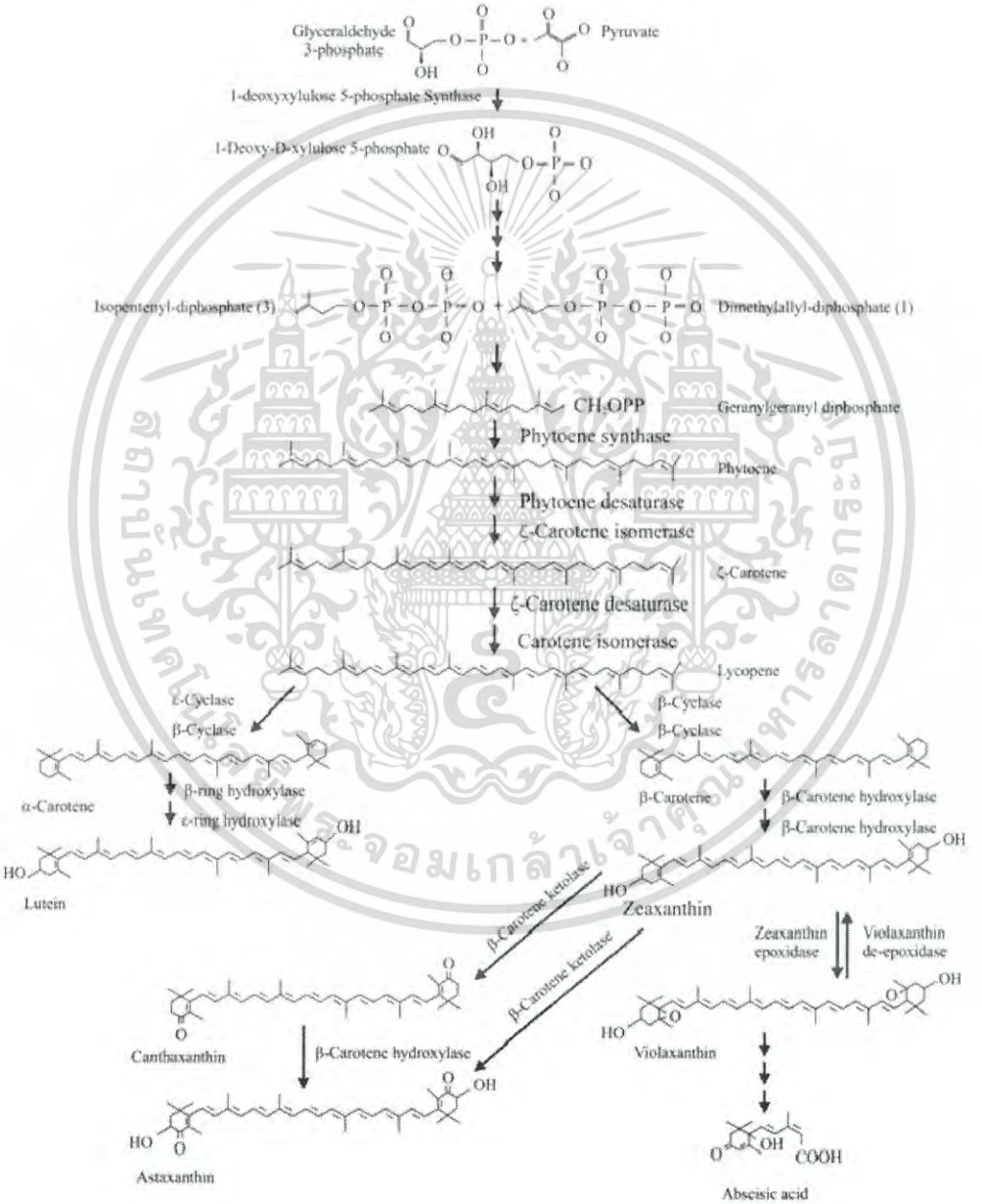
ที่มา : https://www.worldofmolecules.com/colors/astaxanthin.htm

สารแอสตาแซนทิน เป็นที่รู้จักกันในชื่อ King of antioxidants เนื่องจากเป็นสารที่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารต่อต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น ๆ ดังนั้น จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวาง และมีมูลค่าในตลาดมากกว่า 200 ล้านดอลลาร์ต่อปี ในทางการค้านิยมใช้แอสตาแซนทินที่สังเคราะห์ขึ้น แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสังเคราะห์กับสารที่ได้จากธรรมชาติ พบว่าแอสตาแซนทินที่ได้จากธรรมชาติสามารถเกิดการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่าถึง 20 เท่า และได้รับการพิสูจน์แล้วว่า ปลอดภัยกับมนุษย์ จึงถูกใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพมามากกว่า 15 ปี ดังนั้น แอสตาแซนทินที่ได้จากธรรมชาติจึงเป็นที่นิยมมากกว่า แอสตาแซนทินสังเคราะห์ในแง่ของประโยชน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และความปลอดภัย และจากการศึกษาพบว่าสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *H. pluvialis* เป็นแหล่งแอสตาแซนทินที่ได้จากธรรมชาติที่ดีที่สุด (Wan *et al.* 2014)

การสังเคราะห์สารแอสตาแซนทินในสาหร่าย *H. pluvialis* เกิดขึ้นโดยผ่านวิถี Carotenoid biosynthesis มีเอนไซม์ β-Carotene ketolase และ β-carotene hydroxylase ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แอสตาแซนทิน (วนิดา, 2558) ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดง Carotenoid biosynthesis pathway

ที่มา : http://lipidlibrary.aocs.org/Biochemistry/content.cfm?ItemNumber=40302

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารแอสตาแซนทินของสาหร่าย *Haematococcus pluvialis*

2.1.6.1 ธาตุอาหาร

Boussiba *et al.* (1999) พบว่าสาหร่าย *Haematococcus* ที่เพาะเลี้ยงโดยการจำกัดทั้งไนโตรเจนและฟอสเฟต ส่งผลให้มีการสะสมแอสตาแซนทินเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 4 และส่งผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงร้อยละ 50 และพบว่าการจำกัดไนโตรเจนเพียงอย่างเดียวมีการสะสมแอสตาแซนทินได้เร็วกว่าการจำกัดฟอสเฟสเพียงอย่างเดียว

Kang *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการเหนี่ยวนำการสร้างสารแอสตาแซนทินของสาหร่าย *H. pluvialis* โดยการเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรปิค (Heterotrophic) และโฟโตออโต้โทรปิค (Photoautotrophic) โดยมีการเสริมแหล่งคาร์บอน คือ การเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรปิคจะเสริมด้วยอะซีเตท ในขณะที่การเพาะเลี้ยงแบบโฟโตออโต้โทรปิคจะเสริมด้วยไบคาร์บอเนตและมีการจำกัดไนโตรเจน ผลการทดลองพบว่าเซลล์ที่เหนี่ยวนำโดยใช้ไบคาร์บอเนตได้ปริมาณแอสตาแซนทิน 77 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งสูงกว่าการใช้อะซีเตทถึง 3 เท่า

Imamoglu *et al.* (2007) ทำการศึกษาผลของอาหารเพาะเลี้ยงและความเข้มแสงที่มีผลต่อการเจริญของ *H. pluvialis* ในการเพาะเลี้ยงแบบ Batch พบว่าเมื่อใช้อาหาร RM medium ที่ความเข้มแสง 40 μmol photon m^{-2} s^{-1} มีความเข้มข้นเซลล์สูงสุดคือ 9.50 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีอัตราการเจริญ 0.20 ต่อวัน

Goksan *et al.* (2011) รายงานว่าเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็น $NaNO_3$ 1 กรัมต่อลิตร และ KNO_3 0.5 กรัมต่อลิตร ทำให้ *H. pluvialis* เจริญเติบโตได้ดีที่สุด (ได้ปริมาณเซลล์ 25.30 และ 26.30 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ)

2.1.6.2 ความเข้มแสง

Fabregas *et al.* (1998) ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยง *H. pluvialis* โดยให้ความเข้มแสงที่แตกต่างกันคือ 40 และ 230 μmol photon m^{-2} s^{-1} และเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีการจำกัดไนโตรเจนและแมกนีเซียม พบว่า ในสภาวะที่มีความเข้มแสงสูงและมีการจำกัดไนโตรเจน จะได้ความเข้มข้นแอสตาแซนทินสูงสุด 49.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มแสง 100 และ 170 μmol photon m^{-2} s^{-1} และเพิ่มความยาวของระยะทางที่แสงส่องผ่าน (Light path length ;LP) 17.50, 23.00 และ 27.50 เซนติเมตร พบว่าที่ความเข้มแสง 170 μmol photon m^{-2} s^{-1} ได้จำนวนเซลล์มากกว่า 100 μmol photon m^{-2} s^{-1}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และพบว่าการเพิ่มความยาวของระยะทางที่แสงส่องผ่านอาจเป็นอีกวิธีการหนึ่งในการเพาะเลี้ยง *H. pluvialis* เมื่อใช้ความเข้มแสงที่สูงกว่า 200 μmol photon m^{-2} s^{-1}

2.1.6.3 อุณหภูมิ

Fan *et al.* (1994) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *H. pluvialis* อยู่ระหว่าง 25 - 28 องศาเซลเซียส ซึ่งทำให้มีอัตราการเจริญ 0.05 ต่อชั่วโมง โดยพบว่า หากมีอุณหภูมิที่สูงกว่านี้ จะไม่เกิดการแบ่งเซลล์ แต่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์จะเพิ่มขึ้นจาก 5 ไมโครเมตรเป็น 25 ไมโครเมตร

Wan *et al.* (2014) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง *H. pluvialis* เพื่อให้ได้ชีวมวลและปริมาณแอสตาแซนทินมากที่สุด คือที่อุณหภูมิในตอนกลางวัน 28 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิในตอนกลางคืนต่ำกว่า 28 องศาเซลเซียส เมื่อนำไปประยุกต์ใช้กับการเพาะเลี้ยงในระบบเปิด สามารถเพิ่มผลได้ของชีวมวล 5 เท่า และเพิ่มปริมาณแอสตาแซนทิน 2.90 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเพาะเลี้ยงแบบเดิม

2.1.6.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

Sarada *et al.* (2002) ทำการศึกษาสภาวะเครียดที่มีผลต่อการผลิตแอสตาแซนทินของ *H. pluvialis* โดยใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 6.0 7.0 และ 8.0 พบว่า ที่ pH 7.0 ทำให้เกิดการสังเคราะห์แอสตาแซนทินได้ดีที่สุด

2.1.7 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Haematococcus pluvialis*

สาหร่าย *H. pluvialis* เป็นแหล่งของแอสตาแซนทินที่ได้จากธรรมชาติ ซึ่งมีการพิสูจน์แล้วว่าปลอดภัยต่อมนุษย์และมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระมากกว่าแอสตาแซนทินที่สังเคราะห์ขึ้นถึง 20 เท่า (Capelli *et al.* 2013) ดังนั้นในทางการค้าจึงมีการนำสาหร่ายชนิดนี้มาผลิตแอสตาแซนทินมากเนื่องจากปลอดภัย และได้น้ำหนักสุทธิของแอสตาแซนทินสูงประมาณร้อยละ 1.50-3.00 โดยน้ำหนักแห้ง

2.1.7.1 อุตสาหกรรมอาหารเสริมและเครื่องสำอาง

เนื่องจากสารแอสตาแซนทินที่ได้จาก *H. pluvialis* มีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระ และมีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการต่อต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า เบตาแคโรทีน ลูทีน ซีแซนทิน และแคนทาแซนทิน ประมาณ 10 เท่า และมีประสิทธิภาพสูงกว่าวิตามินอีประมาณ 500 เท่า (Naguib, 2000) ดังนั้นจึงได้มีการนำสารแอสตาแซนทินมาเป็นส่วนผสมในอาหารเสริมและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องสำอาง ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น ครีมบำรุงผิวหน้า กิฟฟารินแอสตาแซนทิน เอจ-ดีไฟอิ้ง ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมวิสทร้า เป็นต้น

2.1.7.2 อุตสาหกรรมยา

จากผลการวิจัยทางวิทยาศาสตร์พบว่า สารแอสตาแซนทินมีส่วนช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งในลำไส้ใหญ่ ระบบทางเดินอาหาร ระบบปัสสาวะ หรืออาจช่วยยับยั้งการเกิดเนื้องอกและกระตุ้นภูมิคุ้มกันในหนูได้ นอกจากนั้นยังพบว่ามีส่วนช่วยในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ LDL-cholesterol ซึ่งช่วยลดโอกาสการเกิดการอุดตันในระบบหลอดเลือดหัวใจได้อีกด้วย

2.2 สาหร่าย *Chlorella* sp.

2.2.1 การจัดจำแนก

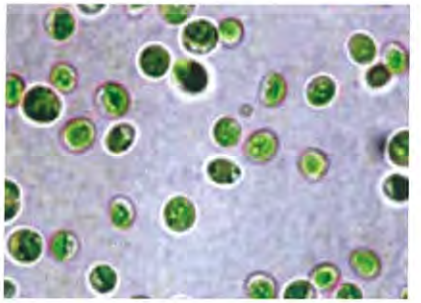
Beijerinck (1890) ได้มีการจัดจำแนกสาหร่าย *Chlorella* sp. ไว้ดังนี้

Division Chlorophyta Class Trebouxiophyceae Order Chlorellales

Family Chlorellaceae Genus *Chlorella* Species *Chlorella* sp.

2.2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว มีขนาดประมาณ 1-10 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นกลุ่มก้อน ลักษณะเซลล์มีรูปร่างหลายแบบ เช่น ทรงกลม รูปไข่ หรือรูปรี ไม่มีแฟลกเจลลา มีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วยหรือเป็นแถบข้าง ภายในมีรงควัตถุที่เป็นคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง พบไพรีนอยด์อยู่ในเม็ดคลอโรพลาสต์ ไม่มีรยางค์และคอนแทคไทล์แวคิวโอล ผนังเซลล์หนาและแข็ง มี 3 ชั้น ชั้นในสุดเป็นชั้นของเยื่อหุ้มเซลล์ ชั้นกลางเป็นชั้นที่หนาที่สุดประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ผนังเซลล์ชั้นนอกเป็นสารประกอบโพลีเมอร์ทำหน้าที่ดักจับโลหะหรือสารพิษต่าง ๆ (ธีรยุทธ, 2552) (รูปที่ 2.5)



รูปที่ 2.5 แสดงรูปร่างลักษณะของสาหร่าย *Chlorella* sp.
ที่มา : https://isolife.nl/products/algal-uniformly-13c/

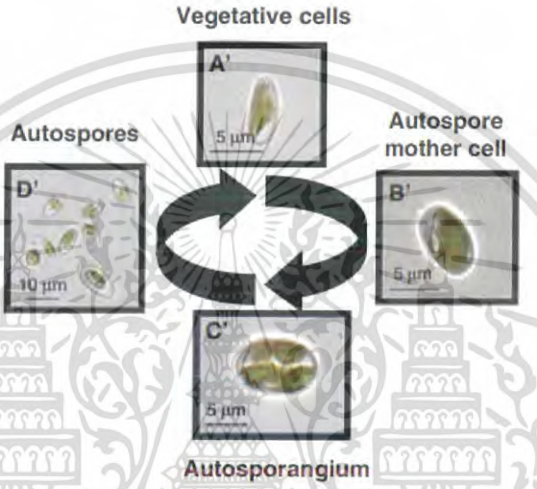
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 แหล่งที่พบ

สาหร่ายชนิดนี้พบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำเค็มและน้ำเสีย เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้ในแหล่งที่มีความเข้มข้นของสารอาหารในช่วงกว้าง (กานต์ธิดา, 2560)

2.2.4 วงจรชีวิตของ *Chlorella* sp.

วงจรชีวิตหรือการสืบพันธุ์ของ *Chlorella* sp. เป็นแบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออโตสปอร์ (Autospore) (รูปที่ 2.6) มีจำนวน 4 8 หรือ 16 ภายในเซลล์ที่เจริญเต็มวัย



รูปที่ 2.6 แสดงวงจรชีวิตของสาหร่าย *Chlorella* sp.

ที่มา : Zuppini *et al.* (2010)

2.2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp.

2.2.5.1 ธาตุอาหาร

ธาตุอาหารเป็นปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ทั้งในด้านปริมาณและชนิดของธาตุอาหาร (กิตติพงษ์, 2552) โดยทั่วไปธาตุอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายจะแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) และธาตุอาหารรอง (Micronutrients) (ฤทัยรัตน์, 2548)

ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) ได้แก่

1) แหล่งคาร์บอน ถือเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งจำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง และสังเคราะห์สารภายในเซลล์ สาหร่ายสามารถใช้คาร์บอนได้ทั้งในรูปของคาร์บอนอนินทรีย์ และคาร์บอนอินทรีย์ แหล่งคาร์บอนอนินทรีย์พบในรูปของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CO_2, H_2CO_3, HCO^{3-} และ CO_3^{-2} และ แหล่งคาร์บอนอินทรีย์ที่สำคัญคือ กลูโคส อะซิเทต เอทานอล อะลานีน แอสพาร์เทต ฟรักโทส กาแลคโทส ไพรูเวต และซักซิเนต (ธีรยุทธ, 2552)

Hongjin และ Guangce (2009) พบว่า *C. sorokiniana* มีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มแหล่งคาร์บอน และพบว่าการใช้โซเดียมอะซิเทตเป็นแหล่งคาร์บอน ได้ปริมาณไขมันและน้ำหนักเซลล์แห้งมากกว่าการใช้กลูโคส

Chinnasamy *et al.* (2009) พบว่าการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 6 ทำให้ *C. vulgaris* มีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น 60 เท่า และปริมาณชีวมวลเพิ่มขึ้น 20 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 0.04

2) แหล่งไนโตรเจน ซึ่งไนโตรเจนมีความสำคัญกับการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับเมทาบอลิซึมของสาหร่าย แหล่งไนโตรเจนที่สาหร่ายสามารถใช้ได้ เช่น แอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรท์ แต่พบว่าอัตราการเจริญของสาหร่ายสูง เมื่อใช้ไนเตรทหรือแอมโมเนีย ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายด้วย โดยทั่วไปพบว่าสาหร่ายจะใช้แอมโมเนียหมดก่อนแล้วจึงใช้ไนเตรท แต่สาหร่ายบางชนิดสามารถใช้ไนไตรท์ได้แต่ใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำ (ธีรยุทธ, 2552)

3) แหล่งฟอสฟอรัส ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์สาหร่าย เช่น กระบวนการเคลื่อนย้ายพลังงาน และกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกและเป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ต่าง ๆ เช่น กรดนิวคลีอิก ฟอสโฟลิปิด นอกจากนั้นฟอสฟอรัสยังทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ที่ทำให้ pH คงที่ โดยทั่วไปสาหร่ายจะใช้ฟอสฟอรัสในรูปของ $H_2PO_4^-$ และ HPO_4^{2-} ปริมาณฟอสฟอรัสที่ใช้จะขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย การขาดฟอสฟอรัสจะส่งผลเช่นเดียวกับการขาดไนโตรเจนคือ ทำให้ปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์ และ ดีเอ็นเอลดลงแต่ทำให้คาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น ในสาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถดูดซึมสารประกอบเมตาฟอสเฟตและโพลีฟอสเฟตได้มากเมื่อได้รับแสง เมื่ออยู่ในสภาพมืดจะดูดซึมสารสองชนิดนี้ได้น้อยลงแต่จะดูดซึมออโธฟอสเฟตได้มากขึ้น (ธีรยุทธ, 2552 ; กิตติพงษ์, 2552)

ธาตุอาหารรอง (Micronutrients)

เป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายใช้ในปริมาณน้อย แต่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งจะถูกนำไปใช้ในสารประกอบที่จำเป็น เช่น เอนไซม์ และวิตามินต่าง ๆ เป็นต้น (ฤทัยรัตน์, 2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) เหล็ก (Fe) เป็นธาตุอาหารที่ช่วยในการดูดซึมไนโตรเจน และเป็นองค์ประกอบของรงควัตถุ และเอนไซม์หลายชนิด เช่น เฟอริดอกซิน คะตะเลส อีกทั้งยังเป็นองค์ประกอบของไซโตโครมและพอไฟริน ถ้าสาหร่ายขาดธาตุเหล็กจะมีผลต่อสรีระและการเจริญเติบโตของสาหร่าย

2) แมงกานีส (Mn) เป็นธาตุที่สำคัญต่อสาหร่ายเซลล์เดียวหลายชนิด มีบทบาทที่สำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย

3) สังกะสี (Zn) เป็นธาตุที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยในอาหารเลี้ยงสาหร่ายหลายชนิดจะมีสังกะสีอยู่ในความเข้มข้น 0.01-0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมี EDTA เป็นคีเลเตอร์

4) ทองแดง (Cu) พบในเอนไซม์ในกระบวนการออกซิเดชัน และมีความสำคัญต่อกระบวนการหายใจระดับเซลล์ของสาหร่าย

2.2.5.2 แสง

แสงเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างมากในการเจริญเติบโต การหายใจ การสังเคราะห์รงควัตถุและรูปร่างลักษณะของสาหร่าย โดยเป็นปัจจัยที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) ซึ่งเป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่นำพลังงานแสงและสารประกอบอนินทรีย์แปลงเป็นอินทรียวัตถุภายในเซลล์สาหร่าย โดยพลังงานแสงจะแยกอิเล็กตรอนและโปรตอนจากโมเลกุลที่เป็นตัวให้เพื่อไปรีดิวซ์ CO_2 เป็นโมเลกุลอินทรีย์ โดยมีสมการเคมีดังนี้ (กิตติพงษ์, 2552)

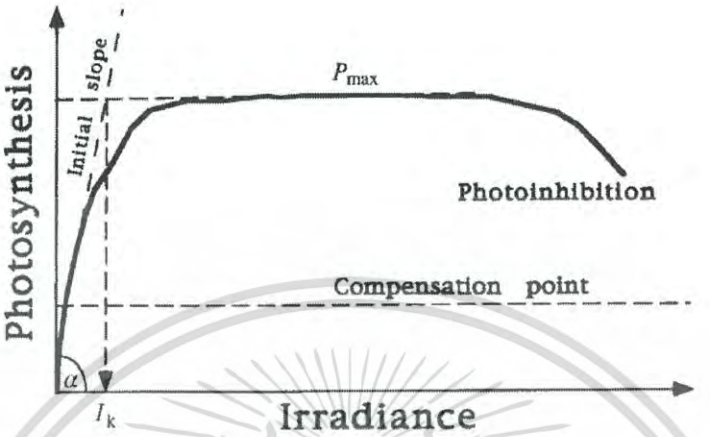
$$6CO_2 + 12H_2O \xrightarrow{\text{แสง}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + 6H_2O$$

ความเข้มแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย คือเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้นการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะเพิ่มขึ้นด้วย โดยจะเพิ่มการสังเคราะห์แสงและเร่งการทำงานของเซลล์ แต่หากความเข้มแสงสูงเกินไปจะมีผลต่อการยับยั้งการหายใจของเซลล์หรือเกิดกระบวนการ Photoinhibition ซึ่งจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่ายและระยะเวลาการได้รับแสง (ธีรยุทธ์, 2552)

จากรายงานของ Devlin และ Barker (1971) กล่าวว่า โดยทั่วไปเมื่อสาหร่ายได้รับความเข้มแสงมากขึ้นการสังเคราะห์แสงจะมากขึ้นจนกระทั่งถึงความเข้มแสงที่ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงไม่เพิ่มสูงขึ้นอีก เรียกว่า ความเข้มแสงอิ่มตัว (Light-saturation intensity) ณ ความเข้มแสงอิ่มตัว (P_{max}) ดังแสดงในรูปที่ 2.7 เป็นกราฟที่มีชื่อว่า Light saturation curve ซึ่งหากสาหร่ายได้รับความเข้มแสงที่สูงกว่าความเข้มแสงอิ่มตัวมากเกินไป อาจเกิด Photoinhibition ได้ และมีรายงานว่าความเข้มแสงอิ่มตัวจะแตกต่างกันในสาหร่ายแต่ละชนิด เช่น ในสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chlorella sp. มีระดับความเข้มแสงอิ่มตัวประมาณ 200 μmol m^{-2} s^{-1} หรือประมาณ 14,000 ลักซ์ นอกจากนี้ความเข้มแสงอิ่มตัวยังขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย (ฤทัยรัตน์, 2548)



รูปที่ 2.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างการสังเคราะห์แสงและความเข้มแสง

ที่มา : Vonshak (1997)

2.2.5.3 อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อสาหร่ายในด้านการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโต โดยเมื่ออุณหภูมิของสภาพแวดล้อมสูงขึ้นจะทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจนถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมจะมีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงสุด แต่หากอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้สาหร่ายมีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลง (ฤทัยรัตน์, 2548)

2.2.5.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ความเป็นกรด-ด่าง เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย โดยเป็นค่าที่บ่งบอกการละลายของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์หรือปริมาณไบคาร์บอเนตในอาหารเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างมีผลทั้งทางตรง และทางอ้อมในกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์สาหร่าย ในสาหร่ายแต่ละชนิดจะตอบสนองกับค่าความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกัน สำหรับ *Chlorella* sp. เติบโตได้ดีในค่าความเป็นกรด-ด่างช่วงกว้าง แต่จะเจริญได้ดีในค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีค่าเป็นกรดเล็กน้อยจนถึงกลาง (ธีรยุทธ, 2552)

Wang *et al.* (2010) ทำการศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญ และปริมาณไขมันต่อ *C. vulgaris* พบว่า *C. vulgaris* เจริญได้ดีที่ pH 6.5 และ 7.0 และเกิดการสะสมไขมันที่ pH 7.0-8.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย *Chlorella* sp.

ในปัจจุบันสาหร่าย *Chlorella* sp. ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในระดับอุตสาหกรรมเนื่องจากองค์ประกอบของสาหร่าย *Chlorella* sp. มีโปรตีนสูงซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารได้และภายในเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถสร้างสารที่มีประโยชน์อีกมากมาย เช่น ไขมัน รงควัตถุ และ สารปฏิชีวนะ เป็นต้น อีกทั้งยังมีการนำสาหร่ายชนิดนี้มาประยุกต์ใช้ในด้านสิ่งแวดล้อม เช่น การบำบัดน้ำเสีย เป็นต้น

2.2.6.1 แหล่งอาหาร

สาหร่าย *Chlorella* sp. มีปริมาณโปรตีนสูง จากตารางที่ 2.1 เซลล์สาหร่าย 100 กรัม มีปริมาณโปรตีนสูงถึง 60-69 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 60 และเป็นโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิด เช่น ลิวซีน ไลซีน และวาลีน เป็นต้น (ตารางที่ 2.1) ซึ่งพบว่าปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *Chlorella* sp. สูงกว่าโปรตีนจากผักและธัญพืชมาก นอกจากนั้นยังมีกรดไขมันที่อยู่ในรูปของไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งเป็นไขมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และมีวิตามิน และเกลือแร่ที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น วิตามินเอ วิตามินบี1 บี2 บี6 และ บี12 เป็นต้น (วิสัย, 2536) ดังนั้นจึงมีการนำชีวมวลของสาหร่าย *Chlorella* sp. มาใช้เป็นแหล่งอาหารของคน และสัตว์ เช่น ไรแดง หรือโรติเฟอร์ เป็นต้น

ตารางที่ 2.1 กรดอะมิโนจำเป็นใน *Chlorella* sp.

กรดอะมิโน	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Isoleucine	2230
Leucine	5070
Lysine	4900
Methionine	1300
Phenylalanine	2910
Threonine	2800
Tryptophan	1180
Valine	3230

ที่มา : Haresh (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบภายในของน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp.

องค์ประกอบ	ปริมาณต่อ 100 กรัม
เถ้า	5-7 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	10-20 กรัม
คลอโรฟิลล์	3-7 กรัม
พลังงาน	411 กิโลแคลอรี่
ไขมัน	5-15 กรัม
ไฟเบอร์	1-6 กรัม
ความชื้น	3-6 กรัม
โปรตีน	60-69 กรัม

ที่มา : Haresh (2009)

2.2.6.2 การผลิตน้ำมันและไขมัน

เนื่องจากสาหร่าย *Chlorella* sp. มีไขมันภายในน้ำหนักเซลล์แห้งร้อยละ 5-15 (ตารางที่ 2.2) จึงเป็นตัวเลือกที่จะนำมาใช้ในการผลิตน้ำมันหรือไบโอดีเซลได้ จากการศึกษาของ ภัทระ และคณะ (2555) ทำการศึกษาสายพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* spp. ที่มีปริมาณลิพิดสูงเพื่อผลิตไบโอดีเซล โดยคัดเลือกสายพันธุ์ *Chlorella* spp. 13 ตัวอย่างพบว่าสายพันธุ์ที่มีปริมาณลิพิดสูงสุด และเหมาะสมที่จะนำมาผลิตไบโอดีเซลมีปริมาณลิพิดสูงถึง 1.74 กรัมต่อลิตรคิดเป็นร้อยละ 26.07 โดยน้ำหนัก

2.2.6.3 ใช้บำบัดน้ำเสีย

ในน้ำเสียหรือน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมมักจะมีสารอาหาร หรือแร่ธาตุที่สาหร่ายขนาดเล็กสามารถใช้ในการเจริญเติบโตได้ โดยสาหร่ายจะใช้สารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสีย ในการสังเคราะห์แสงได้เป็นชีวมวลสาหร่าย และผลพลอยได้ คือ ออกซิเจน อีกทั้งสาหร่ายขนาดเล็กยังสามารถใช้ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในน้ำเสีย และมีคุณสมบัติพิเศษในการกำจัดโลหะหนักที่เกิดจากโรงงาน เช่น ตะกั่ว ปรอท แคทเมียม และสารหนู ได้อีกด้วย (กิตติพงษ์, 2552)

จากการศึกษาของ กิตติพงษ์ (2552) ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. จากน้ำทิ้งของโรงงานผลิตน้ำยางข้น พบว่าสัดส่วนการเจือจางน้ำทิ้งของโรงงานผลิตน้ำยางข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Chlorella* sp. อยู่ที่ร้อยละ 5 โดยปริมาตร และทำให้น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากการเพาะเลี้ยง และเก็บเกี่ยวเซลล์ออกมามีปริมาณซีโอดี และปริมาณทีเคเอ็นไนโตรเจน มีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานน้ำทิ้ง และสามารถนำน้ำกลับมาใช้ใหม่ หรือปล่อยลงสู่ธรรมชาติได้

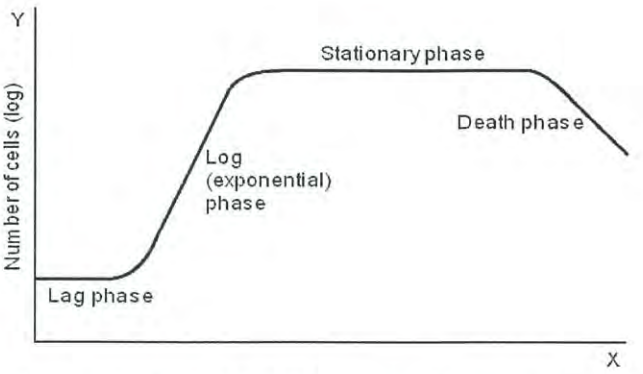
2.2.6.4 การผลิตรงควัตถุและสารปฏิชีวนะ

สาหร่าย *Chlorella* sp. มีรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง คือ คลอโรฟิลล์เอ และบี ซึ่งในปัจจุบันมีการนำมาใช้เป็นอาหารเสริมและมีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่าอาหารเสริมที่มีส่วนผสมของคลอโรฟิลล์มีฤทธิ์ยับยั้งเนื้องอกที่เต้านม ลดความเสี่ยงของมะเร็งตับ ช่วยกระตุ้นและเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเม็ดเลือดขาว ช่วยควบคุมกลิ่นตัว และกลิ่นอุจจาระ ช่วยให้รอยแผลที่เกิดจากการรักษาผู้ป่วยมะเร็งปอดด้วยวิธีฉายแสงหายเร็วยิ่งขึ้น อีกทั้งยังมีฤทธิ์ยับยั้งสารพิษชนิด PCDFs และ PCCDs ในน้ำมันรำข้าวที่ประเทศญี่ปุ่น แต่อย่างไรก็ตาม การได้รับคลอโรฟิลล์มากเกินไปอาจเกิดการสะสม และเกิดผลเสียต่อตับ และไตได้ (พนิดา, 2550) นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือไวรัสได้ จากการศึกษาของ วีนา (2556) ศึกษาผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* spp. 5 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A0505, *Chlorella* sp. B2, *C. ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ 4 ชนิด คือ *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus* และ *P. fluorescens* ในขณะที่ *C. vulgaris* TISTR 8261 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้ 3 ชนิด คือ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *B. cereus* แสดงให้เห็นว่า *Chlorella* sp. สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค

2.3 การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายขนาดเล็กที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว การเจริญเติบโตจะหมายถึงการเพิ่มจำนวนของเซลล์สาหร่ายที่เกิดจากการแบ่งเซลล์ ซึ่งสามารถวัดการเจริญ โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์ หรือชีวมวลต่อหนึ่งหน่วยเวลา หรือเรียกว่า อัตราการเจริญเติบโต (Growth rate) และเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์ในแต่ละครั้งเพื่อเพิ่มเป็นสอง 2 เท่า เรียกว่า Generation time (Doubling time) ซึ่งจะแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ และรูปแบบของการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะเป็นไปตามกราฟการเจริญเติบโต (Growth curve) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงระยะการเจริญเติบโต 4 ระยะ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Growth curve)

ที่มา : http://azkurs.org/laboratuvar-kilavuzu.html (2017)

1) ระยะ Lag phase เป็นระยะแรกที่เซลล์ทำการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ เช่นแสง อุณหภูมิ และสารอาหาร เป็นต้น

2) ระยะ Exponential phase (Log phase) ในระยะนี้จะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วแบบ Exponential และมีอัตราการเจริญมากที่สุด

3) ระยะ Stationary phase ในระยะนี้จำนวนเซลล์จะคงที่ นั่นคืออัตราการเกิดจะเท่ากับอัตราการตายของเซลล์ เนื่องจากมีจำนวนเซลล์มากและมีสารอาหารน้อยลง หรือมีการขับของเสียที่เป็นพิษจากกระบวนการเมทาบอลิซึม

4) ระยะ Death phase เป็นระยะที่อัตราการตายมากกว่าการเพิ่มจำนวน เซลล์ตายและลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากสารอาหารหมดลง และเกิดการสะสมของของเสียหรือสารพิษ

โดยทั่วไปในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบ Batch หรือในการเพาะเลี้ยงที่มีสารอาหารจำกัด สามารถอธิบายการเจริญเติบโตโดยใช้สมการของ Monod (Monod's equation) โดยอ้างอิงจาก Jacques Monod (Monod, 1949) อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์คือจำนวนเซลล์ ที่เปลี่ยนแปลงไปต่อเวลาที่เพิ่มขึ้น

ดังสมการ $dx/dt = \mu X$ ..... (1)

Integrate สมการที่ (1) ; $X_t = X_0 e^{\mu t}$ ..... (2)

ใส่ Natural logarithm ในสมการที่ (2) ; $\ln(X/X_0) = \mu t$ ..... (3)

เมื่อ X คือ จำนวนเซลล์ ณ เวลาใด ๆ

X_0 คือ จำนวนเซลล์เริ่มต้น

t คือ ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)

μ คือ อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อวัน)

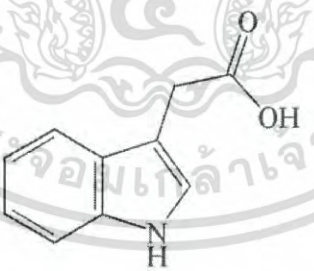
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ฮอร์โมนพืช

ในปัจจุบันได้มีการศึกษาค้นคว้า และพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอุตสาหกรรม เพื่อเป็นการลดต้นทุน และเพิ่มผลผลิต ซึ่งการใช้ฮอร์โมนพืช (Phytohormone) จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการเร่งการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยเป็นสารเคมีที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช และออกฤทธิ์ได้ในความเข้มข้นที่ต่ำ (Park *et al.* 2013) ซึ่งฮอร์โมนพืช (Phytohormones หรือ Plant hormones) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พืชสังเคราะห์ขึ้นในปริมาณที่ต่ำ และส่งผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช ทั้งในด้านการเจริญเติบโต และการพัฒนาของพืช โดยแบ่งเป็น 5 ประเภท ได้แก่ ออกซิน ไซโตไคนิน จิบเบอเรลลิน เอทิลิน และกรดแอบไซสิค (ศรีปาน และคณะ, 2556) ซึ่งในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาผลของฮอร์โมนพืช 2 ชนิด คือ ออกซินและไซโตไคนิน ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* และ *Chlorella* sp.

2.4.1 ออกซิน

ออกซิน (Auxin) เป็นสารที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์พืช (Enlargement) และกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญ ซึ่งนอกจากในพืชแล้ว แบคทีเรีย เชื้อรา และสาหร่ายบางชนิดก็สามารถสังเคราะห์ออกซินได้ โดยออกซินที่พบในธรรมชาติ คือ IAA (Indole-3-acetic acid) (รูปที่ 2.9) เมื่อออกซินถูกสังเคราะห์ขึ้นที่ปลายยอด และถูกส่งไปยังบริเวณต่าง ๆ (กนกวรรณ, 2554)



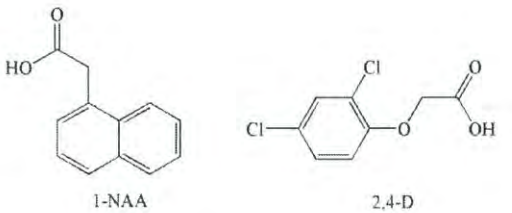
IAA

รูปที่ 2.9 แสดงโครงสร้างของ IAA
ที่มา : Hao และ Yang (2010)

ฮอร์โมนพืชที่ได้จากธรรมชาติมีปริมาณน้อยมาก โดยมีปริมาณเพียงพอที่จะควบคุมการเจริญเติบโตในต้นพืชนั้น ๆ เท่านั้น ดังนั้น การสกัดสารฮอร์โมนออกมาจากต้นพืชเพื่อนำไปใช้กับต้นอื่น ๆ จึงเป็นเรื่องที่ยากและไม่คุ้มค่า จึงมีการสังเคราะห์สารให้มีคุณสมบัติคล้ายกับฮอร์โมนธรรมชาติ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์แทน (พีรเดช, 2532) ออกซินสังเคราะห์ที่นิยมนำมาใช้กันมาก เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

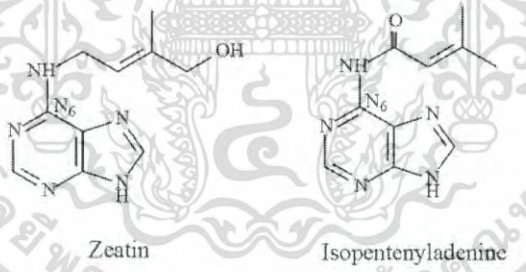
NAA (1-Naphthaleneacetic acid) และ 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) (รูปที่ 2.10) เป็นต้น



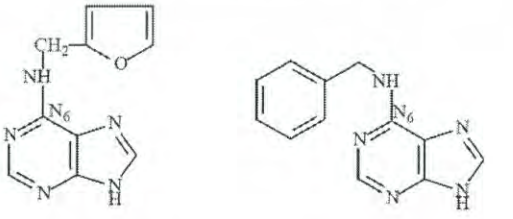
รูปที่ 2.10 แสดงโครงสร้างของ NAA และ 2.4-D
ที่มา : Hao และ Yang (2010)

2.4.2 ไซโตไคนิน

ไซโตไคนิน (Cytokinin) เป็นสารประกอบกลุ่ม Substituted adenine ที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ จะพบมากที่สุดบริเวณที่กำลังเจริญเติบโต และบริเวณที่มีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง ซึ่งแหล่งสำคัญที่สร้างไซโตไคนินคือปลายรากและถูกส่งไปยังส่วนต่าง ๆ ทางท่อลำเลียง ไซโตไคนินที่พบในธรรมชาติ ได้แก่ Zeatin และ Isopentenyl adenine (รูปที่ 2.11) และไซโตไคนินสังเคราะห์ เช่น Kinetin และ BA (6-benzylaminopurine) (รูปที่ 2.12)



รูปที่ 2.11 แสดงโครงสร้างของ Zeatin และ Isopentenyl adenine
ที่มา : Cassan *et al.* (2013)



รูปที่ 2.12 แสดงโครงสร้างของ Kinetin และ BA
ที่มา : Cassan *et al.* (2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งผลของไซโตไคนินที่มีต่อกระบวนการทางสรีรวิทยา และการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ส่งเสริมการแตกตาข้าง และแก้การข่มของตายอด (Apical dominance) ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ และสร้างอวัยวะต่าง ๆ เป็นต้น (ปรารถนา และคณะ, 2547)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Park *et al.* (2013) ทำการศึกษาการเสริมฮอร์โมนพืชเพื่อเพิ่มการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* เพื่อการผลิตไบโอดีเซล พบว่า ฮอร์โมนพืชทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ IAA, Gibberellic acid, Kinetin, 1-triacontanol และ Abscisic acid ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งทำให้การผลิตชีวมวลเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 54 เป็นร้อยละ 69 โดยเปรียบเทียบอาหาร TAP ที่ไม่ได้ใส่ฮอร์โมนพืช และพบว่าการใส่ฮอร์โมนพืชมีผลกับสัณฐานวิทยาของเซลล์ แต่ไม่มีผลต่อเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAMEs) หลังจากนั้นได้ทำการทดสอบผลของฮอร์โมนพืชเมื่อจำกัดไนโตรเจนในอาหารในช่วงเริ่มต้นของ Stationary phase พบว่า ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดหลังจากที่ใส่ฮอร์โมนพืชสูงกว่าอาหารที่ไม่ได้ใส่ฮอร์โมนพืช ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนพืชทำให้การเจริญของสาหร่ายเพิ่มขึ้น และการจำกัดไนโตรเจนในอาหาร เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถนำมาพัฒนาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพได้

Niczyporuk และ Bajguz (2014) ทำการศึกษาผลของออกซินธรรมชาติ ได้แก่ IAA, PAA และ IBA และออกซินสังเคราะห์ชนิด NAA ที่มีผลต่อการเจริญ และเมทาบอลิซึมของสาหร่าย *C. vulgaris* พบว่าฮอร์โมนพืชที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโต แสดงให้เห็นว่ามีจำนวนเซลล์ลดลง เมื่อใช้ IAA และ IBA ที่ 0.1 โมโครโมลาร์ หรือ NAA และ NAA 1 ไมโครโมลาร์ ทำให้การสร้างเม็ดสี โมโนแซคคาไรด์ และ โปรตีนที่ละลายน้ำได้ มีปริมาณเพิ่มขึ้น นอกจากนั้น ออกซินทุกชนิดกระตุ้นสารแอนติออกซิแดนประเภทที่ใช้เอนไซม์ (Ascorbate Peroxidase, Catalase, Superoxide dismutase) และไม่ใช้เอนไซม์ (Ascorbate, Glutathione) ได้อีกด้วย

Ozioko *et al.* (2015) ทำการศึกษาผลของฮอร์โมนพืช IAA, IBA, Gibelleric acid (GA_3) และ Kinetin ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง จำนวนเซลล์ ขนาดเซลล์ โปรตีน และปริมาณคลอโรฟิลล์ของ *C. sorokiniana* IAM-C212 พบว่า ฮอร์โมนที่ทำให้ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดคือ IAA 15 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชแต่ละชนิดที่ส่งผลต่อการขยาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดของเซลล์ คือ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ฮอร์โมนที่ทำให้ได้ปริมาณคลอโรฟิลล์สูงคือ IAA และ GA_3 ใช้ปริมาณ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบว่าฮอร์โมนทุกชนิดไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนภายในเซลล์

Jusoh *et al.* (2014) ศึกษาผลของออกซินชนิด IAA ต่อปริมาณน้ำมันองค์ประกอบของกรดไขมัน และยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกรดไขมันใน *C. vulgaris* พบว่ามีการสะสมน้ำมันสูงสุดภายใน 2 วัน ซึ่งเป็นน้ำมันที่มีกรดปาล์มมิติก (C16:0) และสเตียริก (C18:0) ในปริมาณที่สูง ในขณะที่กรดไลโนเลอิก (C18:2) และกรดเอ-ไลโนเลนิก (C18:3n3) ลดลง

Liu *et al.* (2016) รายงานว่า ออกซินชนิด IPA, IAA, IBA และ NAA มีผลต่อปริมาณไขมันและการผลิตไขมันของสาหร่าย *C. pyrenoidosa* และ *S. quadricauda* โดยพบว่า IPA 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ได้อัตราการเจริญสูงสุด และการใช้ออกซินทำให้ได้ปริมาณไขมันสูงกว่าคอนโทรล

Fabregas *et al.* (1998) ได้ทำการศึกษาการปรับสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *H. pluvialis* พบว่าเมื่อปรับองค์ประกอบของสารอาหาร โดยมีการใส่ธาตุเหล็ก (Fe) โคบอลล์ (Co) และ ทองแดง (Cu) และเพิ่มโครเมียม (Cr), แมงกานีส (Mn) 10 เท่า และแมกนีเซียม (Mg), แคลเซียม (Ca) 100 เท่า ทำให้ได้ความหนาแน่นของเซลล์ในระยะ Steady-state สูงที่สุด

Lu และ Xu (2015) ได้รายงานว่าฮอร์โมนพืชเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์และได้รายงานว่าฮอร์โมนพืชที่ได้รับจากภายนอกเซลล์ (Exogenous) เช่น ไซโตไคนินไปกระตุ้นวงจรชีวิตใน *Nannochloropsis oceanica* หรือ ปริมาณไขมันในสาหร่าย *H. pluvialis* ซึ่งออกซินส่งผลต่อการเพิ่มอัตราการเจริญในสาหร่าย *C. reinhardtii, C. vulgaris, C. sorokiniana, H. pluvialis* และ Diatom

Lee *et al.* (2019) ทำการศึกษาเพาะเลี้ยง *H. pluvialis* ร่วมกับแบคทีเรียที่สามารถสร้างออกซินได้ (Auxin-producing symbiotic bacterium) โดยสายพันธุ์ที่นำมาใช้คือสายพันธุ์ *Achromobacter* sp. CBA4603 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สังเคราะห์ออกซินได้มากกว่าสายพันธุ์อื่น เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงร่วมกับสาหร่าย *H. pluvialis* พบว่าส่งผลให้ *H. pluvialis* มีการเจริญเพิ่มขึ้นในทุกระยะ และยืดเวลาในระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลให้นานขึ้น แต่อย่างไรก็ตามมีการสะสมแอสตาแซนทินในปริมาณที่ต่ำซึ่งเป็นผลมาจากคุณสมบัติของออกซินที่เป็น Exogenous auxin

Liu *et al.* (2017) ที่ทำการศึกษาการใช้ฮอร์โมนพืช ABA (Abscisic acid) และ ฮอร์โมนพืชสังเคราะห์ (NAA และ 2,4-D) ที่มีผลในการเพิ่มชีวมวลและปริมาณไขมันในสาหร่าย *C. vulgaris* พบว่า NAA มีผลต่อการเจริญของเซลล์และการสังเคราะห์ไขมันดีที่สุด ซึ่งดีกว่า 2,4-D และ ABA 1.48 และ 2.24 เท่าตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Piotrowska และ Czerpak (2009) ทำการศึกษาผลของไซโตไคนิน 2 ชนิด คือ Adenine และ Phenylurea-type ที่มีผลต่อการตอบสนองของเซลล์สาหร่าย *C. vulgaris* ที่มีการเพาะเลี้ยงแบบ Light-dark พบว่าไซโตไคนินส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ โมโนแซคคาไรด์ และ ไกลโคเลท หรือไปมีผลกับ NADH-dependent hydroxypyruvate reducing enzyme activity (NADH-HPR) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึมของคาร์บอน โดยเซลล์ของ *C. vulgaris* ไวต่อฮอร์โมนไซโตไคนินจากมากไปน้อยคือ DPU > Z > Kin และ BA ตามลำดับ ในทั้งสภาวะแบบมีแสงและไม่มีแสง

ยงศักดิ์ และ อัญชลี (2557) ศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการชักนำยอดพรมมิโดยการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีจำนวนยอดพรมมิได้สูงสุด และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA (0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนพรมมิบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด ส่วนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 0.5 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของยอด และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากสูงสุดอยู่ที่ 18.3-24.3 ราก

Kadioglu (1992) ศึกษาผลของ Benzyladenine (BA) ต่อการสังเคราะห์สารสีและการสังเคราะห์ออกซิเจนในสาหร่าย *C. reinhardii* และ *Anacystis nidulans* ซึ่งเพาะเลี้ยงโดยการให้แสงตลอดเวลา การสังเคราะห์สารสีของสาหร่าย *C. reinhardii* ที่มีการใส่ BA มีการเพิ่มขึ้นไปจนถึงความเข้มข้นที่ 25 ไมโครโมลาร์ แต่มีการสังเคราะห์สารสีลดลงที่ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ และการสังเคราะห์ออกซิเจนของ *C. reinhardii* มีผลอย่างมากในการใส่ BA ที่ความเข้มข้น 25 และ 50 ไมโครโมลาร์ และใน *A. nidulans* ความเข้มข้นของ BA ที่ 5 และ 25 ไมโครโมลาร์ ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารสีและการสังเคราะห์ออกซิเจน ตามลำดับ

Nahidian *et al.* (2018) ได้ทำการศึกษาผลของสารอาหารต่อการเจริญและคุณสมบัติทางสรีรวิทยาของสาหร่าย *H. pluvialis* TMU1 ที่คัดแยกได้ใหม่ โดยศึกษาการผลของสารอาหารต่อ Vegetative cell ของสาหร่ายและใช้อาหาร 3 ชนิด ได้แก่ BBM BG11 และ 3NBBM โดยการเพาะเลี้ยงแบบแบทช์ พบว่า BBM เป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการเพาะเลี้ยง ซึ่งได้มีการศึกษาเพิ่มเติมในระดับของไนเตรท และฟอสเฟตที่เป็นธาตุอาหารหลัก และธาตุเหล็กกับโบรอนที่เป็นธาตุอาหารรอง พบว่า BBM ที่มีฟอสเฟต 3 เท่า ส่งผลทำให้ได้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและเพิ่มอัตราการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำเพาะถึงร้อยละ 86 และในอาหาร BBM ที่มีโบรอน 0.19 มิลลิโมลาร์ หรือธาตุเหล็ก 0.05 มิลลิโมลาร์ ทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญสูงกว่าอาหารที่มีธาตุเหล็กครึ่งหนึ่งหรือสองเท่า

Lv *et al.* (2019) ได้ทำการศึกษาการเพิ่มผลผลิตของน้ำหนักเซลล์แห้งใน *Dunaliella salina* โดยวิธีการใช้ฮอร์โมนพืชร่วมกัน โดยมีการศึกษาฮอร์โมนพืช 7 ชนิด ได้แก่ Myo-inositol (MI), 6 -benzylaminopurine (BA), Naphthyl acetic acid (NAA), Indoleacetic acid (IAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), Gibberellic acid (GA) และ Abscisic acid (ABA) พบว่าฮอร์โมนพืชทั้ง 7 ชนิดมีผลต่อการเจริญ การสังเคราะห์แสง การหายใจระดับเซลล์ และการสังเคราะห์เบต้าแคโรทีนที่ความเข้มข้นและเวลาที่แตกต่างกัน ผลการทดสอบทางสถิติพบว่า MI IAA และ ABA ส่งผลต่อการเพิ่มการเจริญมากกว่าฮอร์โมนอีก 4 ชนิด โดยความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 552, 0.14 และ 0.22 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และพบว่า น้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้น 19% เมื่อใช้ฮอร์โมนทั้ง 3 ชนิดในความเข้มข้นที่เหมาะสมร่วมกัน

Hunt *et al.* (2010) ศึกษาอิทธิพลของสารกระตุ้นทางชีวเคมีทั้ง 12 ชนิด เพื่อให้ทราบถึงผลต่อการเจริญและคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายสีเขียว ซึ่ง *C. sorokiniana*. *C. sorokiniana* มีการตอบสนองต่อฮอร์โมน NAA หลังจากนั้น จึงนำไปศึกษาโดยการเลี้ยงร่วมกัน เพื่อเปรียบเทียบ การผสมกันของฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน และที่ไม่ได้อยู่ในกลุ่มออกซิน พบว่าการผสมกันของ NAA กับฮอร์โมนชนิดอื่นในกลุ่มออกซิน ไม่มีผลในการส่งเสริมการเจริญ แต่การผสมกันของฮอร์โมนต่างกลุ่มกัน เช่น NAA 5 ppm + GA 310 ppm + ZT 1 ppm ส่งผลทำให้ชีวมวลเพิ่มขึ้นมากถึง 170 %

Umen และ Goodenough (2001) ได้ทำการศึกษาการควบคุมการแบ่งเซลล์โดยโปรตีนเรติโนบลาสโตมาในสาหร่าย *C. reinhardtii* โดยโปรตีนชนิดนี้เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งเซลล์มะเร็งในสัตว์ แต่ในพืชและสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กยังไม่มีหลักฐานหรือการระบุที่แน่ชัด และได้ทำการกลายพันธุ์ยีนที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนชนิดนี้คือ mat3 เพื่อสังเกตขนาดเซลล์ลูกที่เกิดขึ้น โดยควบคุมเซลล์เริ่มต้นภายใน cell cycle และเมื่อเซลล์มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว จะทำให้เกิดเซลล์ลูกที่มีขนาดเล็กมากยิ่งขึ้น และยังพบว่าโปรตีนชนิดนี้ในสาหร่าย *C. reinhardtii* มีหน้าที่ที่แตกต่างจากในเซลล์สัตว์

Du *et al.* (2017) ศึกษาการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 8 ชนิด ได้แก่กรดซาลิไซลิก (SA), 1-naphthaleneacetic acid (NAA), Gibberellic acid (GA3), 6-benzylaminopurine (6-BA), 2,4-epi-brassinolide (EBR), Ethephon (ETH), และ Spermidine (SPD) เพื่อใช้ตรวจสอบชีวมวลของสาหร่าย ไขมัน โปรตีนที่ละลายได้ แคโรทีนอยด์ และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAS) ของสาหร่าย *C. pyrenoidosa* ZF จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า NAA 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดการผลิตสารชีวมวลได้เร็วที่สุดโดยเพิ่มขึ้น 6.3 เท่า อีทีฟอน (ETH) 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดซึ่งผลิตได้ 3.5 เท่า NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ได้ปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคโรทีนอยด์มากที่สุดคือมีการผลิตสูงกว่า 3.6 เท่า GA3 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้การผลิตไขมันมีประสิทธิภาพ มากที่สุดได้ถึง 1.9 เท่า อีทีฟอน (ETH) 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดการผลิตกรดไขมันไลโนเลอิก 1.82 ± 0.23% NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดการผลิตกรดไลโนเลนิค 0.65 ± 0.01% GA_3 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดการผลิตกรดอะราชิโดนิก 2.53 ± 0.15% และกรดโดโคซาเฮกซีโนอิก 0.44 ± 0.05% ได้ทำการถอดรหัสยีนที่เกี่ยวข้องกับไขมัน 7 ชนิด ได้แก่ ACP, BC, FAD, FATA, KAS, MCTK และ SAD ด้วยวิธี Real-time RT-q-PCR โดย GA3 5 มิลลิกรัมต่อลิตรมีประสิทธิภาพมากที่สุด สำหรับการแสดงออกของยีนทั้ง 7 ชนิด โดยผลิต ACP 23 เท่า, BC 31 เท่า, FAD 25 เท่า, KAS 6 เท่า และ MCTK 12 เท่า ตามลำดับ

Kokkiligadda *et al.* (2017) ศึกษาผลของฮอร์โมนพืช BAP Kinetin GA_3 NAA และ IBA ต่อการผลิตชีวมวลและกรดไขมันจำเป็น โดยทดสอบในสาหร่าย *C. pyrenoidosa* พบว่า NAA และ BAP มีการเพิ่มขึ้นของชีวมวลจาก 0.29 เป็น 0.65 กรัมต่อลิตร และ 0.29 เป็น 0.37 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และกลุ่มไซโตไคนินได้แก่ BAP และ Kinetin มีการเพิ่มขึ้นของกรดแอลฟา-ไลโนเลนิกจาก 371.83 เป็น 1105.93 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 371.83 เป็น 1128.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สายพันธุ์สาหร่าย

1) *Haematococcus pluvialis* (UTEX 2505) สั่งซื้อจาก The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin, USA

2) *Chlorella* sp. ได้รับความอนุเคราะห์มาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงกมล เรือนงาม

3.2 อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี

1) อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่

1.1) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.2) บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

1.3) กระบอกตวง (Graduated cylinder) ขนาด 1000 มิลลิลิตร

1.4) ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 500 และ 1000 มิลลิลิตร

1.5) ขวดแก้ว (Duran) พร้อมฝาปิด ขนาด 1000 มิลลิลิตร

1.6) ปิเปต (Pipette) ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร

1.7) แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

2) เครื่องชั่งดิจิตอล ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Digital balance)

3) ช้อนตักสาร (Spatula)

4) ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)

5) เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

6) ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 200 ไมโครลิตร และ 1000 ไมโครลิตร

7) ทิป (Pipette tips) ขนาด 200 ไมโครลิตร (สีเหลือง) และ 1000 ไมโครลิตร (สีฟ้า)

8) กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)

9) สไลด์ (Slide)

10) กระจกปิดสไลด์ (Cover slip)

11) สไลด์นับเซลล์ ชนิดฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer)

12) Ocular micrometer และ Stage micrometer

13) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave)

14) ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

15) หลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent lamp)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16) ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow)

17) เครื่องเขย่า (Shaker)

18) วุ้น (Agar) สำหรับเตรียมอาหารแข็ง

19) ฮอร์โมนพืชชนิด NAA (1-Naphthaleneacetic acid) และ BA (6-benzylaminopurine)

20) น้ำกลั่น (Distilled water)

3.3 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

3.3.1 สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ

สูตรเตรียมอาหาร MES ปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	0.118
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.04
โซเดียมกลีเซอโรฟอสเฟต (Na_2glycerophosphate $\cdot 5H_2O$)	0.05
โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.05
MES	1.95
P-IV Metal Solution	6 มิลลิลิตร
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	0.0267
Vitamin B12	1 มิลลิลิตร
Biotin Vitamin Solution	1 มิลลิลิตร

สูตรเตรียมอาหาร BG11 ปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)
โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$)	1.500
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.040
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.075
แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	0.036
กรดซิตริก (Citric acid)	0.006
แอมโมเนียมเฟอร์ริคซิเตรท (Ferric ammonium citrate)	0.006
เอทิลีน ไดอะมีน เตตระอะซิติกแอซิด (EDTA)	0.001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	0.020
Trace metal mix A5	1
Trace metal mix A5	
- กรดบอริค (H_3BO_3)	2.86 กรัม
- แมงกานีสคลอไรด์เตตระไฮเดรต ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$)	1.44 กรัม
- ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.222 กรัม
- โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4 \cdot 2H_2O$)	0.39 กรัม
- คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)	0.079 กรัม
- โคบอลต์ไนเตรทเฮกซะไฮเดรต ($Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$)	0.0494 มิลลิกรัม

สูตรเตรียมอาหาร TAP ปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาณ (มิลลิลิตร)
1M Tris base	20
Phosphate buffer II	1
Solution A	10
Hutner's trace elements	1
Glacial acetic acid	1
Solution A	
- แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	40 กรัม
- แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	50 กรัม
- แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	25 กรัม
Phosphate buffer II	
- ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4)	108 กรัม
- โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	56 กรัม

สูตรเตรียมอาหาร BBM ปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)
โซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$)	0.25
แคลเซียมคลอไรด์ ไดไฮเดรต ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	0.025
แมกนีเซียมซัลเฟต เฮพตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.075
ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.075
โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.175

เอกสารนี้ใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	0.025
Trace element	1 มิลลิลิตร

Trace element

- EDTA stock 1 มิลลิลิตร
- Boron stock 1 มิลลิลิตร
- H-Fe stock 1 มิลลิลิตร
- H-H5 stock 1 มิลลิลิตร

หมายเหตุ : **EDTA stock**

EDTA 5 กรัม, KOH 3.1 กรัม เติมน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

H-Fe stock

$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.498 กรัม ละลายใน 0.1% H_2SO_4 100 มิลลิลิตร

Boron stock

H_3BO_3 1.142 กรัม เติมน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

H-H5 stock

ประกอบด้วย		
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.882 กรัม
	MoO_3	0.071 กรัม
	$Co(NO_3)_2 \cdot 7H_2O$	0.049 กรัม
	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0.144 กรัม
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.157 กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายใน 0.1% H_2SO_4 100 มิลลิลิตร

3.3.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 1 ลิตร

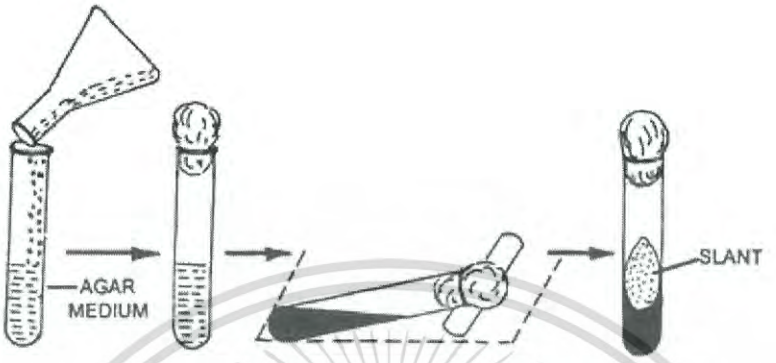
ชั่งสารเคมีในแต่ละสูตรอาหารดังข้อที่ 3.3.1 นำสารเคมีแต่ละชนิดไปละลายในน้ำกลั่น โดยละลายแยกชนิดกัน จากนั้นนำสารละลายแต่ละชนิดมาผสมกัน และปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร โดยการเติมน้ำกลั่น จากนั้นนำอาหารเหลวที่ได้ไปบรรจุในขวด Duran และนำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่ความดันไอ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และเก็บไว้ในที่สะอาดสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

การเตรียมอาหารวุ้นเอียงสำหรับเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

จากการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อดังข้อที่ 3.3.2 ทำการเติมวุ้นลงไปตามสูตรอาหาร ทำให้วุ้นละลายโดยการตั้งไฟหรืออุ่นในไมโครเวฟ และปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร โดยการเติมน้ำกลั่น จากนั้นใช้ปิเปตดูดอาหารใส่ในหลอดทดลอง ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วยจุกสำลี และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้

นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ ที่ความดันไอ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอให้อาหารเย็นลงเล็กน้อย จากนั้นเอียงหลอดอาหารดังรูปที่ 3.1 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นตัวลงจนแข็งและนำไปเก็บไว้ในที่สะอาดสำหรับใช้ในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการเตรียมอาหารวุ้นเอียง
ที่มา : http://www.biologydiscussion.com

3.3.3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis*

ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อเขี่ยสาหร่าย *H. pluvialis* จากหลอดอาหารแข็ง MES ลงในอาหารเหลว 3 ชนิด ได้แก่ BG11 TAP และ BBM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน และสังเกตรูปร่างลักษณะของเซลล์สาหร่าย *H. pluvialis*

3.3.4 การทำกราฟมาตรฐานการเจริญเติบโตของสาหร่าย

1) สาหร่าย *Haematococcus pluvialis*

ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อเขี่ยสาหร่ายจากหลอดอาหารแข็ง MES ลงในอาหารเหลวสูตรที่เหมาะสมปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทำการนับจำนวนเซลล์โดยใช้ Hemacytometer ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปทำกราฟมาตรฐานการเจริญเติบโต

2) สาหร่าย *Chlorella* sp.

ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อเขี่ยสาหร่ายจากหลอดอาหารแข็ง BG11 ลงในอาหารเหลว TAP 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทำการนับจำนวนเซลล์โดยใช้ Hemacytometer ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปทำกราฟมาตรฐานการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

1) สาหร่าย *Haematococcus pluvialis*

ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อเขี่ยสาหร่ายจากหลอดอาหารแข็ง MES ลงในอาหารเหลวสูตรที่เหมาะสมปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงจนถึงระยะคงที่ (Stationary phase) ตามกราฟมาตรฐานการเจริญเติบโตหรือมีจำนวนเซลล์ประมาณ $1x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

2) สาหร่าย *Chlorella* sp.

ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อเขี่ยสาหร่ายจากหลอดอาหารแข็ง BG11 ลงในอาหารเหลว TAP 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงจนถึงระยะคงที่ (Stationary phase) ตามกราฟมาตรฐานการเจริญเติบโต หรือมีจำนวนเซลล์ประมาณ $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

3.3.6 การศึกษาผลของฮอร์โมนพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและชีวมวลของสาหร่าย

1) สาหร่าย *Haematococcus pluvialis*

เตรียมอาหารเหลวสูตรที่เหมาะสมที่มีการใส่ฮอร์โมนพืช 2 ชนิด คือ NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการถ่ายเชื้อจากหัวเชื้อลงในอาหารเหลวโดยให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น (วันที่ 0) ประมาณ $1x10^3$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ นับจำนวนเซลล์โดยใช้ Hemacytometer ทุก ๆ 24 ชั่วโมง หาน้ำหนักเซลล์แห้ง และวัดขนาดเซลล์ ในแต่ละช่วงของการเจริญ

2) สาหร่าย *Chlorella* sp.

เตรียมอาหารเหลว TAP ที่มีการใส่ฮอร์โมนพืช 2 ชนิด คือ NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการถ่ายเชื้อจากหัวเชื้อลงในอาหารเหลวโดยให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น (วันที่ 0) ประมาณ $1x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้แสงตลอดเวลาที่ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ นับจำนวนเซลล์โดยใช้ Hemacytometer ทุก ๆ 24 ชั่วโมง หาน้ำหนักเซลล์แห้งและวัดขนาดเซลล์ในแต่ละช่วงของการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.7 การนับจำนวนเซลล์โดยใช้ Hemacytometer มีวิธีการดังนี้

1. หยดตัวอย่างสาหร่ายที่ต้องการนับจำนวนเซลล์ลงไปในช่องใส่ตัวอย่าง ช่องละ 10 ไมโครลิตร ของสไลด์ Hemacytometer ที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ ตัวอย่างสาหร่ายจะกระจายไปทั่วตารางสี่เหลี่ยม

2. วางสไลด์ทิ้งไว้ 1 นาที เพื่อให้เซลล์สาหร่ายจมลงสู่พื้นสไลด์

3. วางสไลด์ลงบนแท่นวางของกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ปรับกล้อง และเริ่มดูจากกำลังขยายต่ำไปสูง

4. นับเซลล์สาหร่ายบนช่องสี่เหลี่ยม โดยมีวิธีการนับ 2 วิธี คือ

1) ทำการนับเซลล์ใน 5 ช่อง (ช่อง 1, 2, 3, 4 และ 5) วิธีการคำนวณ คือ

ใน 1 ช่องมีปริมาตรของน้ำ คือ กว้าง x ยาว x ลึก = 1 mm. x 1 mm. x 0.1 mm.

= 0.1 cm. x 0.1 cm. x 0.01 cm.

= 0.0001 cm^3 หรือ 10^{-4} mL

ดังนั้น จำนวนเซลล์ต่อปริมาตร 1 มิลลิลิตร = $\frac{\text{ผลรวมเซลล์ 5 ช่อง}}{5} \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

2) ทำการนับเซลล์ในช่องที่ 3 (มีช่องเล็ก 25 ช่อง) วิธีการคำนวณ คือ

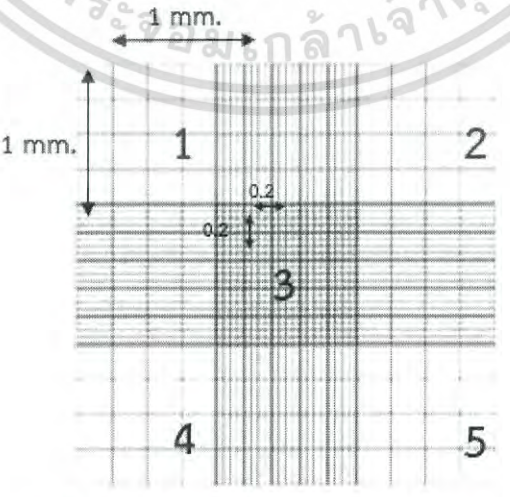
ใน 1 ช่องเล็กมีปริมาตรของน้ำ คือ กว้าง x ยาว x ลึก = 0.2 mm. x 0.2 mm. x 0.1 mm.

= 0.2 cm. x 0.2 cm. x 0.2 cm.

= 0.000004 cm^3 หรือ 4×10^{-6} mL

ดังนั้น จำนวนเซลล์ต่อปริมาตร 1 มิลลิลิตร = $\frac{\text{ผลรวมเซลล์ในช่องที่ 3}}{25} \times \frac{1}{4} \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

5. ทำการนับเซลล์สาหร่ายทั้งหมด 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.2 ช่องตารางบน Hemacytometer

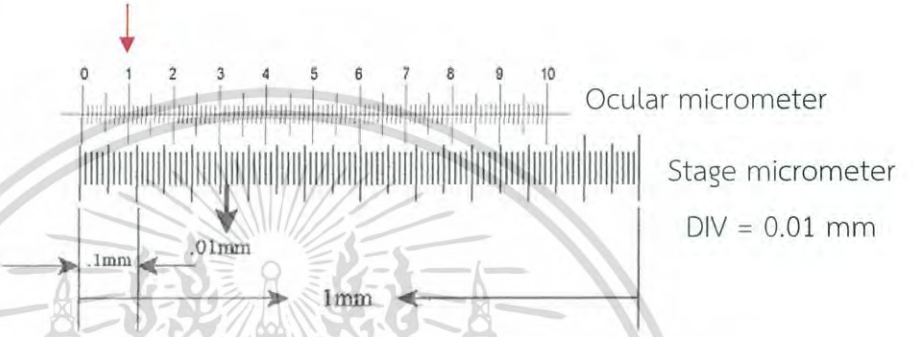
ที่มา : www.labsupply.co.nz

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.8 การวัดขนาดเซลล์โดยใช้ Ocular lens มีวิธีการดังนี้

1. นำ Ocular micrometer ใส่ลงในกระบอกเลนส์ตาของกล้องจุลทรรศน์

2. นำ Stage micrometer ไปวางบนที่วางสไลด์และส่องบนกล้องจุลทรรศน์เพื่อทำการ Calibration โดยทำการเลื่อนสเกลให้ขีดแรกของ Stage micrometer ตรงกับขีดแรกของ Ocular micrometer และมองหาขีดที่ทับกันพอดี และนำไปคำนวณหาความยาวช่องของ Ocular micrometer ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 ความยาวช่องของ Ocular micrometer และ Stage micrometer

วิธีการคำนวณ

สมมติให้ 10 ช่องของ Ocular micrometer ทับพอดีกับ 8 ช่องของ Stage micrometer

จาก Ocular micrometer 10 ช่อง = Stage micrometer 8 ช่อง (1 ช่อง=0.01 mm)

Ocular micrometer 10 ช่อง = 8 x 0.01 = 0.08 mm

ดังนั้น Ocular micrometer 1 ช่อง $= \frac{0.08}{10} = 0.008$ mm หรือ 8 µm

3. นำ Stage micrometer ออกจากที่วางสไลด์และใส่สไลด์ตัวอย่างที่ต้องการทำการวัดขนาดเซลล์

4. ส่องกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยายที่ต้องการและนำไปคำนวณค่าความยาวเซลล์

วิธีการคำนวณ สมมติให้เซลล์มีความยาว ดังรูปที่ 3.4

รูปที่ 3.4 แสดงเซลล์สาหร่ายบน Ocular micrometer

จาก Ocular micrometer 1 ช่อง = 8 µm

ดังนั้น เซลล์มีขนาด = 8 µm x 10 = 80 µm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก) (ข)

รูปที่ 3.5 ลักษณะของ Ocular micrometer (ก) และ Stage micrometer (ข)
ที่มา (ก) Ocular micrometer : https://www.microscopeworld.com/images/reticleA2.jpg
(ข) Stage micrometer : https://www.ebay.com

3.3.9 การวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง

เก็บตัวอย่างสารละลายเซลล์สาหร่ายปริมาตร 10 มิลลิลิตร กรองเซลล์โดยใช้ชุดกรองแบบสุญญากาศ จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปใส่เดซิเคเตอร์ 30 นาที และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.3.10 วิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ

การบันทึกผลการทดลอง ได้แก่ จำนวนเซลล์สะสม อัตราการเจริญจำเพาะ และน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยข้อมูลในการทดลองมีจำนวน 3 ซ้ำต่อหน่วยการทดลอง และขนาดเซลล์มีข้อมูลในการทดลองจำนวน 30 ซ้ำต่อหน่วยการทดลอง และนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้สถิติ One Way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างของชุดข้อมูลด้วยวิธี Duncan โดยใช้โปรแกรม SPSS (Statistics package for the social sciences) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

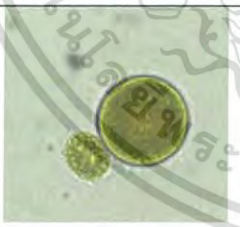
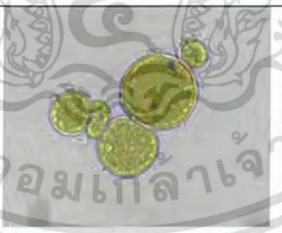
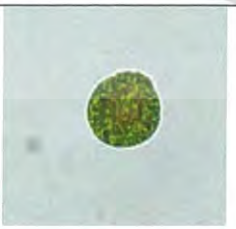
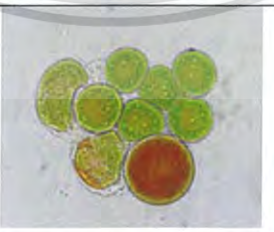
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis*

จากการทดลองเพื่อศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *H. pluvialis* โดยใช้สูตรอาหาร 3 ชนิด ได้แก่ BG11 TAP และ BBM และสังเกตรูปร่างลักษณะของเซลล์ พบว่าเซลล์สาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM มีเซลล์ส่วนใหญ่เป็นสีเขียว และมีขนาดใกล้เคียงกัน แต่ในอาหาร BG11 และ TAP เซลล์สาหร่ายบางเซลล์เริ่มเป็นสีแดง และมีลักษณะไม่สมบูรณ์ ดังตารางที่ 4.1 และเมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารทั้ง 3 ชนิด พบว่าอาหารสูตร BBM มีองค์ประกอบของฟอสเฟตและไนเตรตมากกว่าอาหารสูตร BG11 และ TAP ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ดังนั้นจึงเลือกอาหารสูตร BBM มาใช้ในการทดลองถัดไป

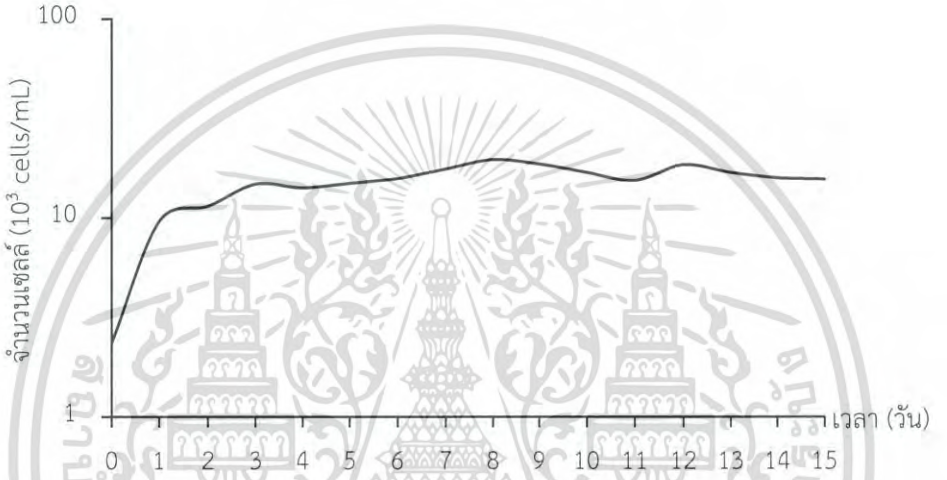
ตารางที่ 4.1 รูปร่างลักษณะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG11 TAP และ BBM (กำลังขยายของภาพ 400 เท่า)

สูตรอาหาร	ภาพเซลล์สาหร่ายใต้กล้องจุลทรรศน์		ลักษณะ
	วันที่ 3	วันที่ 5	
BG11			เซลล์รูปร่างกลม เซลล์ที่อยู่ในโคโลนีเดียวกันมีขนาดไม่เท่ากัน
TAP			เซลล์รูปร่างกลม บางเซลล์มีลักษณะไม่สมบูรณ์และบางเซลล์เริ่มเป็นสีแดง
BBM			เซลล์รูปร่างกลม เซลล์ที่อยู่ในโคโลนีเดียวกัน มีขนาดใกล้เคียงกัน

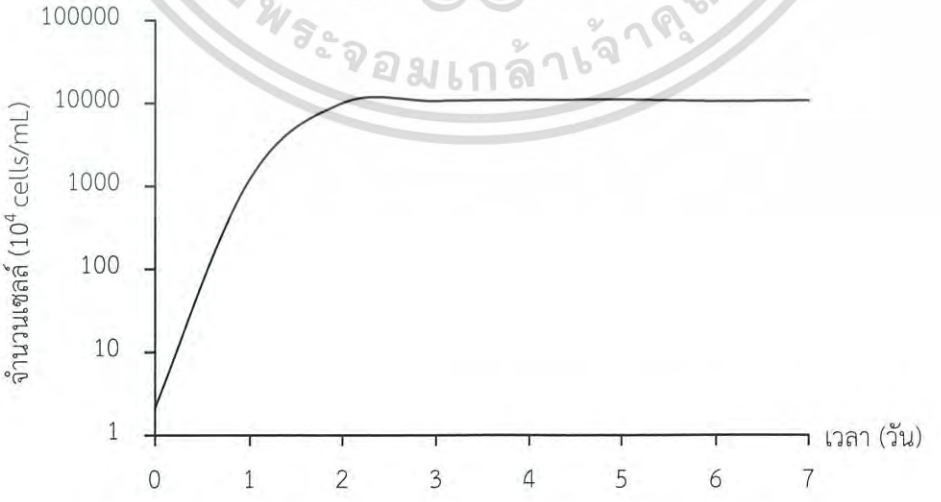
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 กราฟมาตรฐานการเจริญเติบโตของสาหร่าย

จากการทดลองการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *H. pluvialis* ในอาหาร BBM เป็นระยะเวลา 15 วัน และสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหาร TAP เป็นเวลา 7 วัน ตามลำดับ เพื่อศึกษาระยะการเจริญเติบโต พบว่า *H. pluvialis* มีช่วงของการเจริญในระยะเอ็กซ์โปเนนเชียล อยู่ในช่วง 2 วันแรกของการเจริญเติบโต หลังจากวันที่ 2 ถึงวันที่ 15 เป็นช่วงที่เซลล์อยู่ในระยะคงที่ (รูปที่ 4.1) ในขณะที่ *Chlorella* sp. มีช่วงของการเจริญในระยะเอ็กซ์โปเนนเชียล อยู่ในช่วง 2 วันแรกของการเจริญเติบโตเช่นกัน หลังจากวันที่ 2 ถึงวันที่ 7 เป็นช่วงที่เซลล์อยู่ในระยะคงที่ (รูปที่ 4.2)



รูปที่ 4.1 กราฟมาตรฐานการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM เป็นระยะเวลา 15 วัน



รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP เป็นระยะเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของฮอร์โมนพืชที่มีต่อการเจริญเติบโตและชีวมวลของสาหร่าย

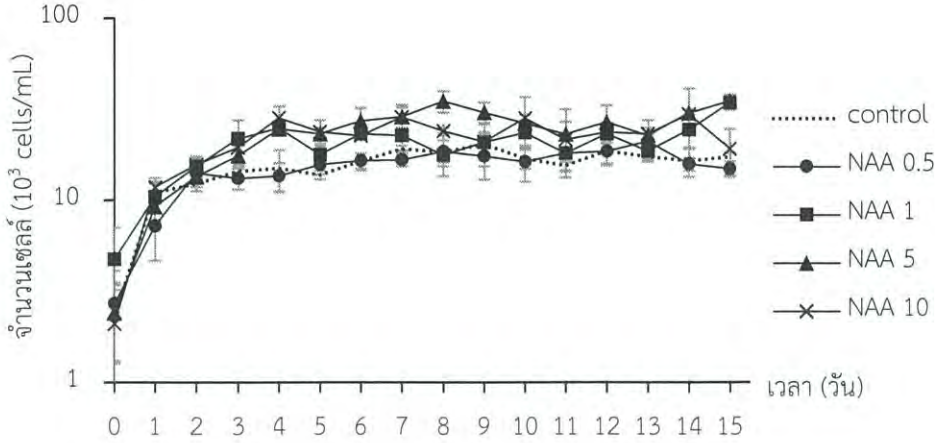
4.2.1 สาหร่าย *Haematococcus pluvialis*

1) การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Haematococcus pluvialis*

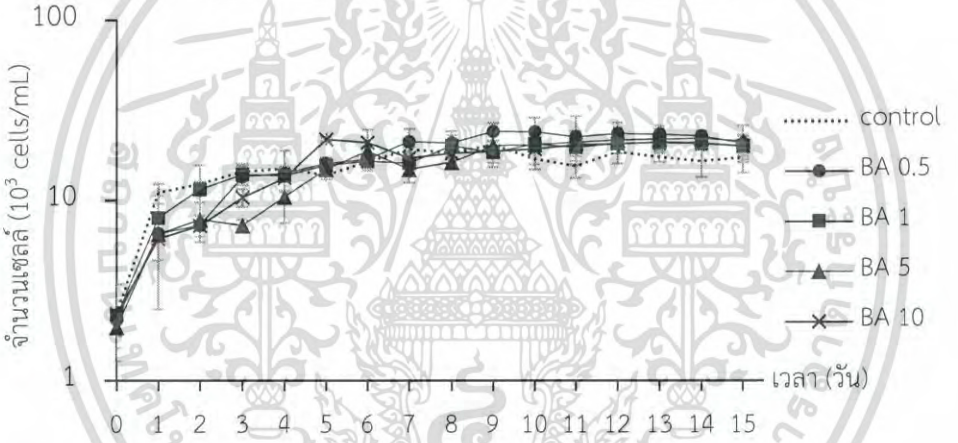
จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *H. pluvialis* ในอาหาร BBM ที่ใส่ฮอร์โมน NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายเริ่มต้นประมาณ $1x10^3$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 15 วัน ผลจากการใส่ฮอร์โมน NAA พบว่า ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ไม่ใส่และที่ใส่ฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลอยู่ในช่วง 2 วันแรกของการเจริญเติบโต และเข้าสู่ระยะคงที่หลังจากวันที่ 2 ในขณะที่สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA ความเข้มข้น 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลเพิ่มขึ้น 2 วัน โดยจะเข้าสู่ระยะคงที่หลังจากวันที่ 4 จากนั้นเมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์สะสมในระยะคงที่ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร กับที่ไม่ใส่ฮอร์โมน พบว่า มีจำนวนเซลล์สะสมสูงกว่า 1.04, 1.69, 1.73 และ 1.46 เท่า ตามลำดับ ต่อจำนวนเซลล์สะสมของสาหร่ายที่ไม่ใส่ฮอร์โมน ซึ่งสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตรมีจำนวนเซลล์สะสมสูงสุด เท่ากับ $3.50x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใส่ฮอร์โมนซึ่งมีค่าเท่ากับ $2.03x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

สำหรับสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ฮอร์โมน BA พบว่า ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ไม่ใส่และที่ใส่ฮอร์โมน BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีระยะมีระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลอยู่ในช่วง 2 วันแรกของการเจริญเติบโต จากนั้นจึงเข้าสู่ระยะคงที่หลังจากวันที่ 2 ส่วนสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ BA 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลเพิ่มขึ้น 1 วัน โดยจะเข้าสู่ระยะคงที่หลังจากวันที่ 3 และ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลเพิ่มขึ้น 3 วัน และเข้าสู่ระยะคงที่หลังจากวันที่ 5 จากนั้นเมื่อทำการเปรียบเทียบจำนวนเซลล์สะสมในระยะคงที่ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ BA 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า มีจำนวนเซลล์สะสมเพิ่มขึ้น 1.19, 1.02, 1.08 และ 1.08 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใส่ฮอร์โมน ซึ่งสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์สะสมสูงสุด เท่ากับ $2.41x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใส่ฮอร์โมนซึ่งมีค่าเท่ากับ $2.03x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองข้างต้น ชี้ให้เห็นว่า ฮอร์โมน NAA และ BA มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* ดังนั้นฮอร์โมน NAA ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงถูกเลือกเพื่อนำไปใช้ในการทดลองศึกษาหาน้ำหนักเซลล์แห้งและขนาดเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



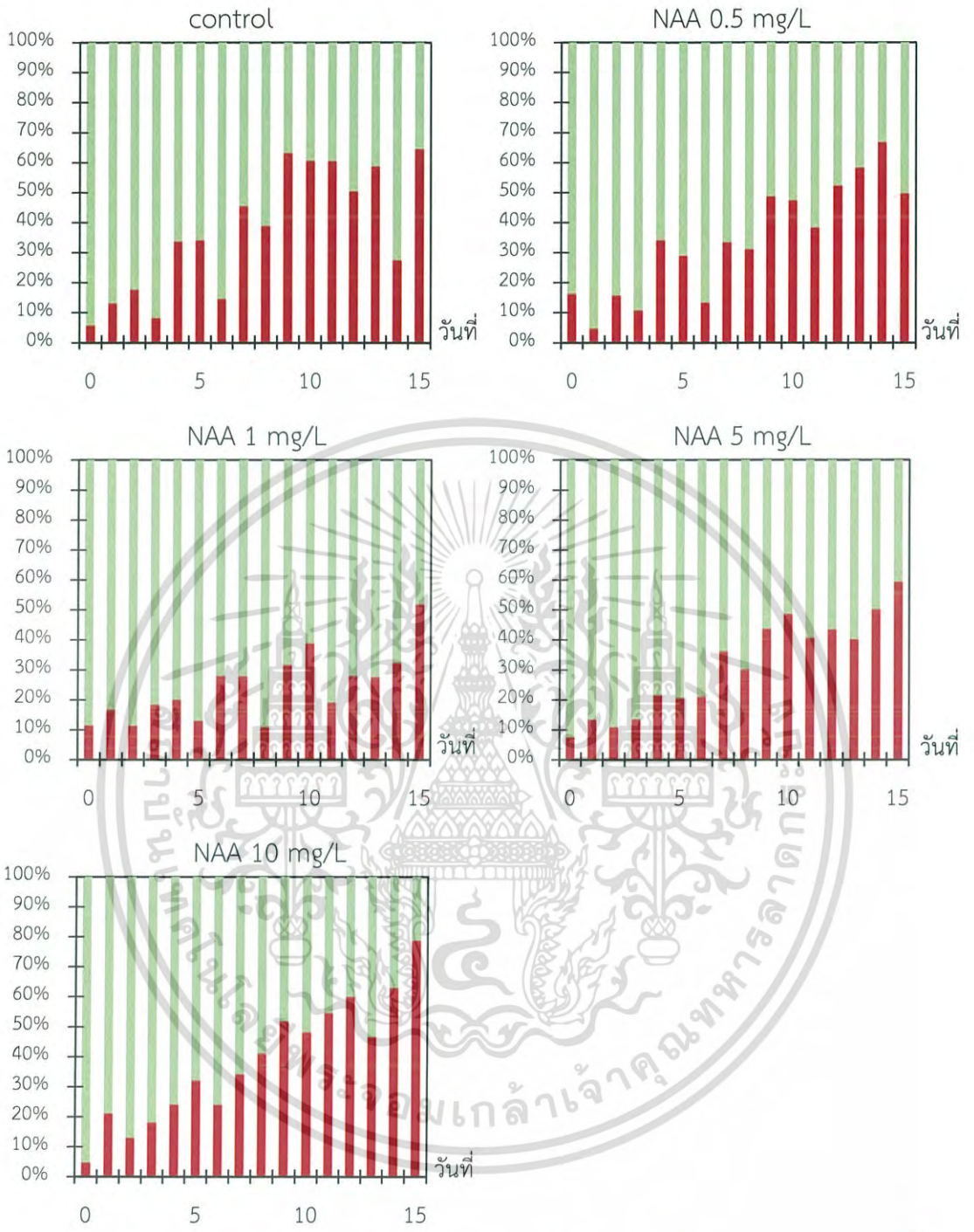
รูปที่ 4.3 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.4 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

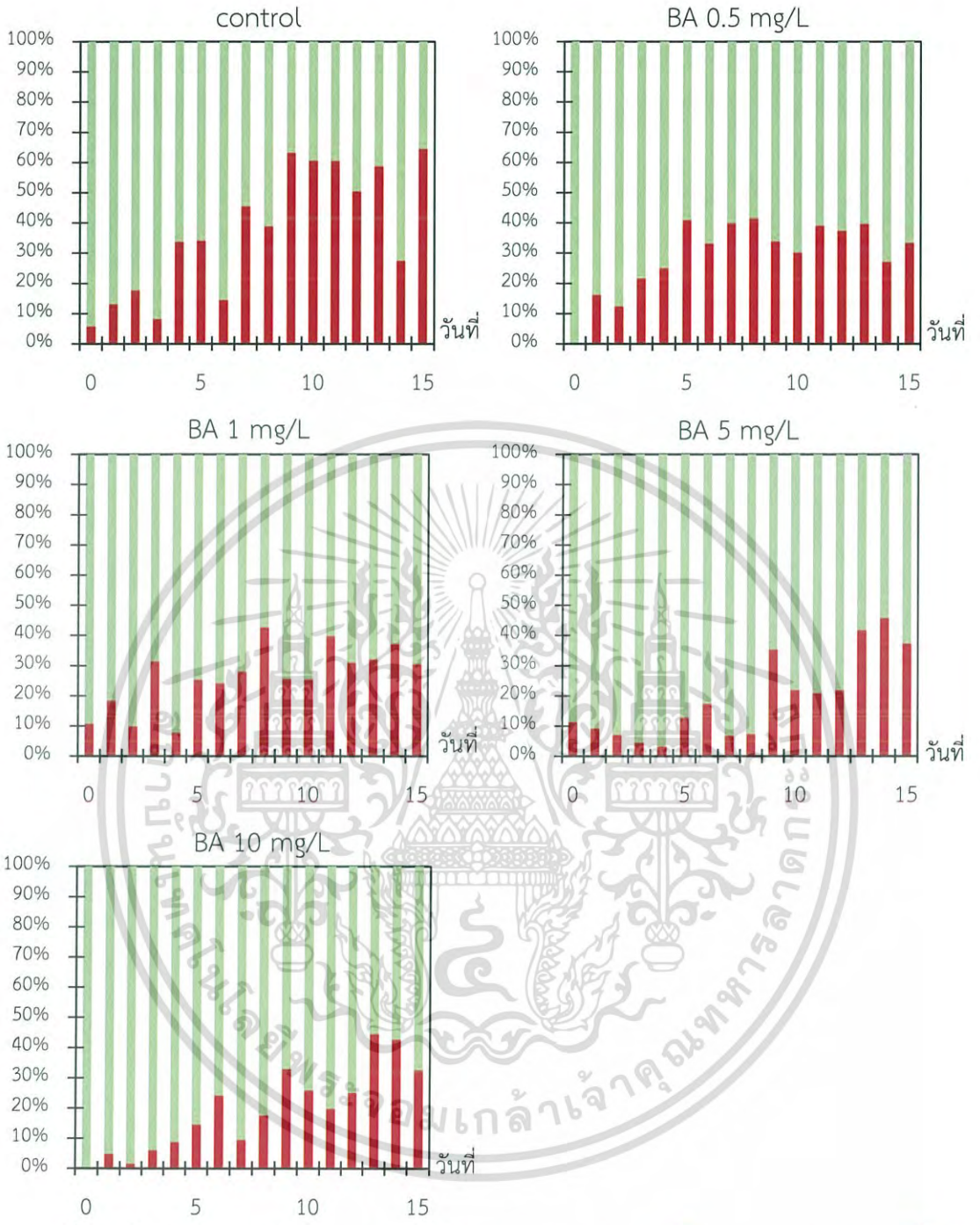
เนื่องจากสาหร่าย *H. pluvialis* มีการเจริญของเซลล์ 2 ระยะ คือ Green stage และ Red stage ซึ่งระยะ Green stage เป็นระยะที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์ จึงทำการคำนวณร้อยละของเซลล์ในระยะ Green stage ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมน เพื่อสังเกตแนวโน้มของการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย *H. pluvialis* พบว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมนในช่วงแรกเซลล์ส่วนใหญ่จะอยู่ในระยะ Green stage และเมื่อเปรียบเทียบเซลล์ในระยะคงที่ พบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA จะมีเซลล์ในระยะ Red stage เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ดังรูปที่ 4.5 ในขณะที่สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ BA มีเซลล์ในระยะ Red stage คงที่ ดังรูปที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา หรือนำไปเผยแพร่ต่อ ในเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ร้อยละของเซลล์ *H. pluvialis* ในระยะ Green stage ( ) และ Red stage ( )
ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ใส่ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ร้อยละของเซลล์ *H. pluvialis* ในระยะ Green stage ( ) และ Red stage ( ) ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

จากกราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่ใส่ NAA (รูปที่ 4.3) และ BA (รูปที่ 4.4) เมื่อนำค่าของจำนวนเซลล์ในระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลมาคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต เพื่อทราบถึงอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *H. pluvialis* พบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมน มีอัตราการเจริญจำเพาะในช่วงเอ็กซ์โปเนนเชียลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 4.2 และ 4.3

ตารางที่ 4.2 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของ NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อวัน)
0 (control)	$0.64^{a} \pm 0.22$
0.5	$0.57^{a} \pm 0.21$
1	$0.53^{a} \pm 0.15$
5	$0.68^{a} \pm 0.12$
10	$0.77^{a} \pm 0.13$

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.3 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อวัน)
0 (control)	$0.64^{a} \pm 0.22$
0.5	$0.62^{a} \pm 0.12$
1	$0.61^{a} \pm 0.10$
5	$0.43^{a} \pm 0.02$
10	$0.50^{a} \pm 0.05$

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) น้ำหนักเซลล์แห้ง

จากการศึกษาหาน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นหลังจากใส่ฮอร์โมนกับน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยทำการวัดน้ำหนักเซลล์แห้งในช่วงของการเจริญ 3 ระยะ ได้แก่ ระยะเอ็กซ์โปเนนเชียล (วันที่ 3) ระยะปลายเอ็กซ์โปเนนเชียล (วันที่ 6) และระยะคงที่ (วันที่ 10) พบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมนมีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญเติบโต ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลของจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นจากการทดลองที่ 1 และเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมนในวันที่ 10 พบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าของน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.09 ± 0.05 และ 0.09 ± 0.01 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้มากกว่าที่ไม่ใส่ฮอร์โมน (มีค่าเท่ากับ 0.05 ± 0.02 กรัมต่อลิตร) คิดเป็น 1.8 เท่า ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)		
	control	NAA 5 mg/L	BA 0.5 mg/L
3	$0.01^{b} \pm 0.01$	$0.02^{b} \pm 0.01$	$0.01^{b} \pm 0.01$
6	$0.01^{b} \pm 0.01$	$0.03^{b} \pm 0.01$	$0.05^{b} \pm 0.01$
10	$0.05^{b} \pm 0.02$	$0.09^{a} \pm 0.05$	$0.09^{a} \pm 0.01$

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

4) ขนาดเซลล์

จากการศึกษาหาขนาดเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อทราบถึงผลของฮอร์โมนที่มีต่อขนาดเซลล์ จึงทำการวัดขนาดของเซลล์สาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 3, 6 และ 10 เช่นเดียวกับการศึกษาหาน้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่า ในวันที่ 3, 6 และ 10 สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมนมีขนาดเซลล์เฉลี่ยเล็กลง และเมื่อเปรียบเทียบขนาดเซลล์เฉลี่ยทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมนในวันที่ 10 พบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดเซลล์เฉลี่ย 22.50 ± 3.41 และ 24.67 ± 7.30 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีขนาดเซลล์เฉลี่ยเล็กกว่าที่ไม่ใส่ฮอร์โมนที่มี

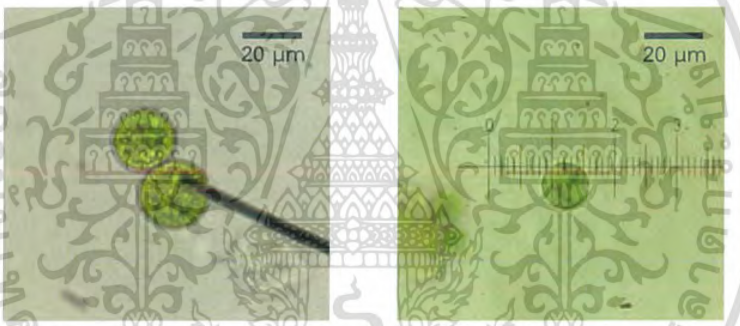
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ 28.00 ± 7.61 ไมโครเมตร คิดเป็น 1.24 และ 1.14 เท่า ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ขนาดเซลล์เฉลี่ยของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

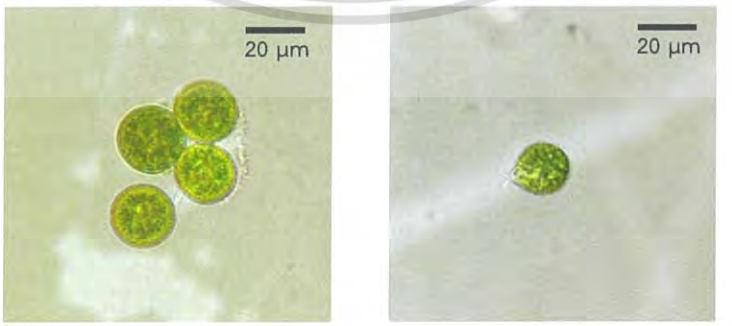
วันที่	ขนาดเซลล์ (ไมโครเมตร)		
	control	NAA 5 mg/L	BA 0.5 mg/L
3	$38.67^{a} \pm 12.52$	$37.50^{a} \pm 10.40$	$32.50^{b} \pm 13.82$
6	$24.67^{cd} \pm 6.29$	$25.33^{cd} \pm 9.73$	$24.17^{cd} \pm 6.31$
10	$28.00^{bc} \pm 7.61$	$22.50^{d} \pm 3.41$	$24.67^{cd} \pm 7.30$

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)



(ก) (ข)

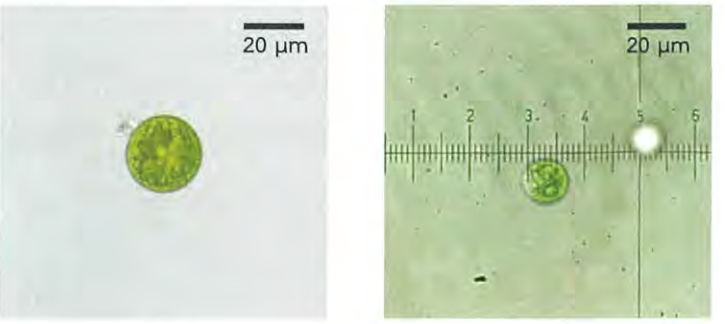
รูปที่ 4.7 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ไม่ใส่ฮอร์โมน วันที่ 0 (ก) และ วันที่ 10 (ข) (กำลังขยายของภาพ 400 เท่า)



(ก) (ข)

รูปที่ 4.8 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร วันที่ 0 (ก) และ วันที่ 10 (ข) (กำลังขยายของภาพ 400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) (ข)

รูปที่ 4.9 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วันที่ 0 (ก) และ 10 (ข) (กำลังขยายของภาพ 400 เท่า)

จากผลการศึกษาข้างต้น ได้มีการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *H. pluvialis* พบว่า อาหาร BBM ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nahidian *et al.* (2018) พบว่าอาหาร BBM ทำให้การเจริญของสาหร่าย *H. pluvialis* ดีที่สุด โดยเมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร BG11 พบว่าสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG11 มีการเจริญเติบโตช้ากว่าในอาหาร BBM ซึ่งสังเกตได้จากสัณฐานวิทยาของเซลล์ อีกทั้งเมื่อใช้อาหาร BBM เซลล์จะเข้าสู่ในระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลซึ่งมีการแบ่งเซลล์สูงสุดในวันที่ 5 ในขณะที่ในอาหาร BG11 ยังคงอยู่ในระยะปรับตัว และเมื่อคำนวณอัตราการเจริญพบว่าการใช้อาหาร BG11 มีอัตราการเจริญต่ำกว่าการใช้อาหาร BBM 11.6% และจากรายงานของ Fabregas *et al.* (2000) ที่ทำการศึกษาการปรับปรุงสูตรอาหาร BBM ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *H. pluvialis* ได้รายงานว่าธาตุแมกนีเซียม (Mg) แคลเซียม (Ca) ทองแดง (Cu) และ โครเมียม (Cr) ที่อยู่ในอาหาร BBM เป็นธาตุอาหารรองที่มีความสำคัญต่อความหนาแน่นเซลล์สูงสุดของสาหร่าย *H. pluvialis*

ในการศึกษาผลของการใช้ฮอร์โมนพืชที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย *H. pluvialis* จากงานวิจัยต่าง ๆ ที่ได้มีการศึกษาการนำฮอร์โมนพืชมาใช้กับสาหร่ายขนาดเล็ก เช่น *C. vulgaris* (Liu *et al.*, 2017), *C. pyrenoidosa* (Du *et al.*, 2017), *Scenedesmus* sp. (Dao *et al.*, 2018) และ *C. reinhardtii* (Park *et al.*, 2013) เพื่อใช้ในการเร่งการเจริญเติบโต ในการศึกษานี้จึงเลือกใช้ฮอร์โมนพืชที่ช่วยในการเร่งการเจริญของสาหร่าย คือ NAA และ BA โดยเป็นที่ทราบกันดีว่า NAA คือสารในกลุ่มออกซินที่ใช้ในการควบคุมการเจริญของพืช และยังส่งผลต่อการเจริญของสาหร่ายได้ (Du *et al.*, 2017) และ BA เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินที่มีการศึกษาแล้วว่าช่วยในการเพิ่มการแบ่งตัวของเซลล์ (Kokkiligadda *et al.*, 2017) เมื่อศึกษาผลของการใช้ฮอร์โมนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* พบว่า NAA และ BA ส่งผลให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์สะสมในสาหร่าย *H. pluvialis* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Du *et al.* (2017) ที่ได้ศึกษาการใช้ฮอร์โมนพืชใน *C. pyrenoidosa* พบว่า NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลทำให้จำนวนเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

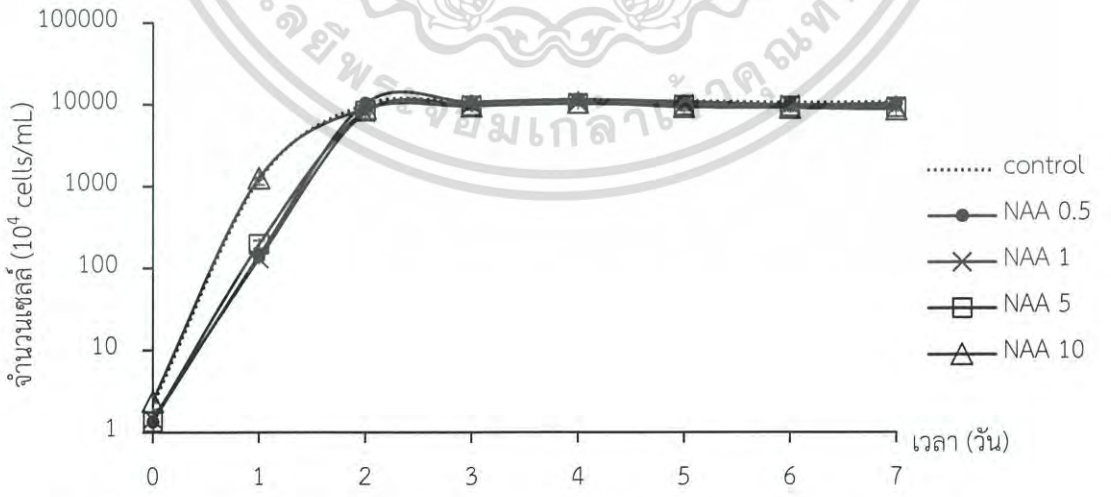
สะสมเพิ่มขึ้น และจากผลของอัตราการเจริญจำเพาะ พบว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมน มีอัตราการเจริญจำเพาะไม่แตกต่างกันแต่มีผลต่อระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลของการเจริญเติบโต โดยเมื่อใส่ฮอร์โมนนั้นมีผลทำให้ระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลนานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ozioko *et al.* (2015) ที่ได้ศึกษาผลของฮอร์โมนพืชต่อการเจริญของสาหร่าย *C. sorokiniana* ได้รายงานว่า NAA ส่งผลต่อการยืดระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลของสาหร่ายให้นานยิ่งขึ้น และจากผลการทดลองยังพบว่า NAA และ BA ให้น้ำหนักเซลล์แห้งมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kokkiligadda *et al.* (2017) ที่รายงานว่า NAA และ BA ทำให้ชีวมวลของสาหร่าย *C. pyrenoidosa* เพิ่มขึ้น อีกทั้งการใส่ฮอร์โมนพืชยังเป็นวิธีการเพิ่มชีวมวลที่มีราคาถูกกว่าการใช้แหล่งคาร์บอนชนิด อื่น ๆ อีกด้วย และจากผลการวัดขนาดเซลล์พบว่าฮอร์โมนทำให้มีขนาดเซลล์เฉลี่ยเล็กลงเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใส่ฮอร์โมน อาจเนื่องมาจากการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีความสัมพันธ์กับขนาดเซลล์เฉลี่ย โดยเมื่อเซลล์เกิดการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว จะส่งผลทำให้เกิดเซลล์ลูกที่มีขนาดเล็กมากขึ้น (Umen และ Goodenough., 2001) ดังนั้น NAA และ BA ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *H. pluvialis* โดยทำให้จำนวนเซลล์และน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้น และทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลง ซึ่งการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นจากการเติมฮอร์โมนพืชอาจเนื่องมาจากการสังเคราะห์องค์ประกอบหรือสารสีภายในเซลล์ โดยมีงานวิจัยของ Kadioglu (1992) ที่รายงานว่า BA มีผลต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *C. reinhardii* และ *A. nidulans* โดย BA ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครโมลาร์ หรือประมาณ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอเพิ่มขึ้นสูงสุด คิดเป็น 1.17 เท่าใน *C. reinhardii* และ 1.64 เท่า ใน *A. nidulans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 สาหร่าย *Chlorella* sp.

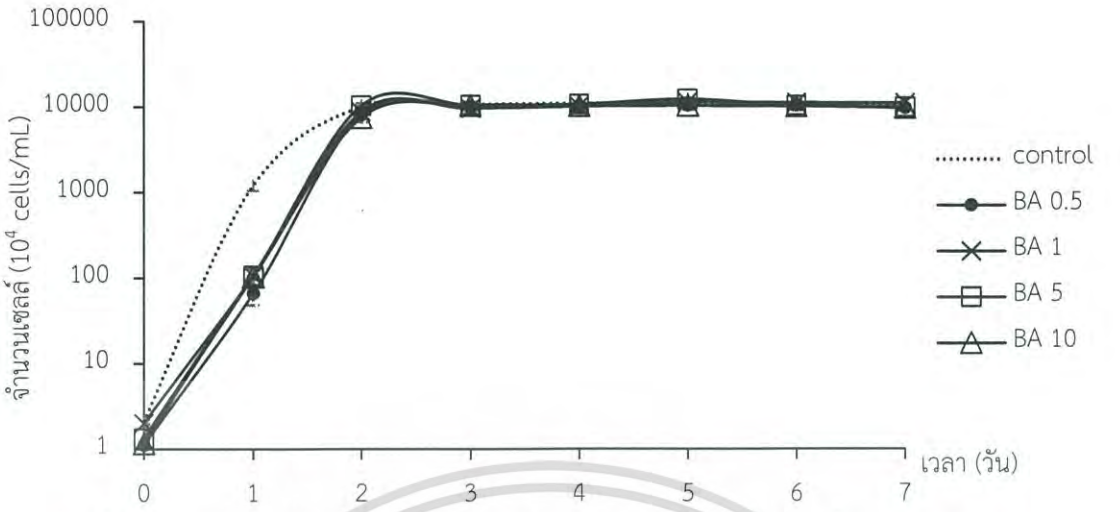
1) การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp.

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเซลล์สาหร่ายเริ่มต้นประมาณ $1x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน สำหรับสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA พบว่า ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมน มีระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลอยู่ในช่วง 2 วันแรกของการเจริญ และเข้าสู่ระยะคงที่หลังจากวันที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์สะสมในระยะคงที่ของสาหร่ายทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมน พบว่า มีจำนวนเซลล์สะสมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์สะสมสูงสุด เท่ากับ $1.15x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าที่ไม่ใส่ฮอร์โมน ที่มีค่าเท่ากับ $1.01x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็น 1.14 เท่า ในขณะที่สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ BA พบว่าระยะการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมน มีระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลอยู่ในช่วง 2 วันแรกของการเจริญ และเข้าสู่ระยะคงที่หลังจากวันที่ 2 และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์สะสมในระยะคงที่ของสาหร่ายทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมน พบว่า มีจำนวนเซลล์สะสมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์สะสมสูงสุดเท่ากับ $1.22x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าที่ไม่ใส่ฮอร์โมน ที่มีค่าเท่ากับ $1.01x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร คิดเป็น 1.21 เท่า จากผลการทดลองข้างต้นชี้ให้เห็นว่า ฮอร์โมน NAA และ BA มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์สะสม ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือก NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อนำไปใช้ในการทดลองศึกษาหาน้ำหนักเซลล์แห้งและขนาดเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อไป



รูปที่ 4.10 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

2) อัตราการเจริญจำเพาะ

จากกราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA (รูปที่ 4.10) และ BA (รูปที่ 4.11) เมื่อนำค่าของจำนวนเซลล์ในระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลมาคำนวณหาอัตราการเจริญ เพื่อทราบถึงอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่าสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 0.5, 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงกว่าเป็น 2.02, 1.93 และ 1.76 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใส่ฮอร์โมน โดยสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 4.29 ต่อวัน แต่สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะลดลง ดังตารางที่ 4.6 ในขณะที่สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ BA 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงกว่าเป็น 2.26, 2.08, 2.15 และ 2.01 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใส่ฮอร์โมน โดยสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 4.80 ต่อวัน ดังตารางที่ 4.7 จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนมีผลต่อการส่งเสริมอัตราการเจริญเติบโตในช่วงเอ็กซ์โปเนนเชียล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของ NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อวัน)
0 (control)	$2.12^{c} \pm 0.13$
0.5	$4.29^{a} \pm 0.09$
1	$4.10^{a} \pm 0.02$
5	$3.73^{b} \pm 0.21$
10	$1.95^{c} \pm 0.10$

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.7 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อวัน)
0 (control)	$2.12^{d} \pm 0.13$
0.5	$4.80^{a} \pm 0.11$
1	$4.42^{bc} \pm 0.11$
5	$4.56^{b} \pm 0.03$
10	$4.27^{c} \pm 0.02$

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

3) น้ำหนักเซลล์แห้ง

จากการศึกษาหาน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อทราบถึงความสัมพันธ์ของจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นหลังจากใส่ฮอร์โมนกับน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยทำการวัดน้ำหนักเซลล์แห้งในช่วงของการเจริญ 3 ระยะ ได้แก่ ระยะเอ็กซ์โปเนนเชียล (วันที่ 1) ระยะปลายเอ็กซ์โปเนนเชียล (วันที่ 2) และระยะคงที่ (วันที่ 5) พบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมนมีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญเติบโต ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลของจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นจากการทดลองที่ 1 และเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมนในวันที่ 5 พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งแห้งสูงสุด เท่ากับ 1.80 ± 0.87 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าที่ไม่ใส่ฮอร์โมนที่มีค่าเท่ากับ 0.90 ± 0.06 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 2.01 เท่า ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)		
	control	NAA 0.5 mg/L	BA 5 mg/L
1	$0.21^{d} \pm 0.03$	$0.22^{d} \pm 0.02$	$0.30^{cd} \pm 0.19$
2	$0.63^{bcd} \pm 0.03$	$0.57^{bcd} \pm 0.13$	$0.55^{bcd} \pm 0.03$
5	$0.90^{b} \pm 0.06$	$0.83^{bc} \pm 0.12$	$1.80^{a} \pm 0.87$

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

4) ขนาดเซลล์

จากการศึกษาหาขนาดเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อทราบถึงผลของฮอร์โมนที่มีต่อขนาดเซลล์ จึงทำการวัดขนาดเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 1, 2 และ 5 เช่นเดียวกับการศึกษาหาน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเปรียบเทียบขนาดเซลล์เฉลี่ยทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมน ในวันที่ 5 พบว่า มีขนาดเซลล์เฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ขนาดเซลล์เฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	ขนาดเซลล์ (ไมโครเมตร)		
	control	NAA 0.5 mg/L	BA 5 mg/L
1	$3.82^{a} \pm 0.73$	$3.80^{a} \pm 0.75$	$3.60^{a} \pm 0.50$
2	$3.67^{a} \pm 0.48$	$3.73^{a} \pm 0.46$	$3.62^{a} \pm 0.50$
5	$3.93^{a} \pm 0.59$	$3.63^{a} \pm 0.60$	$3.76^{a} \pm 0.52$

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

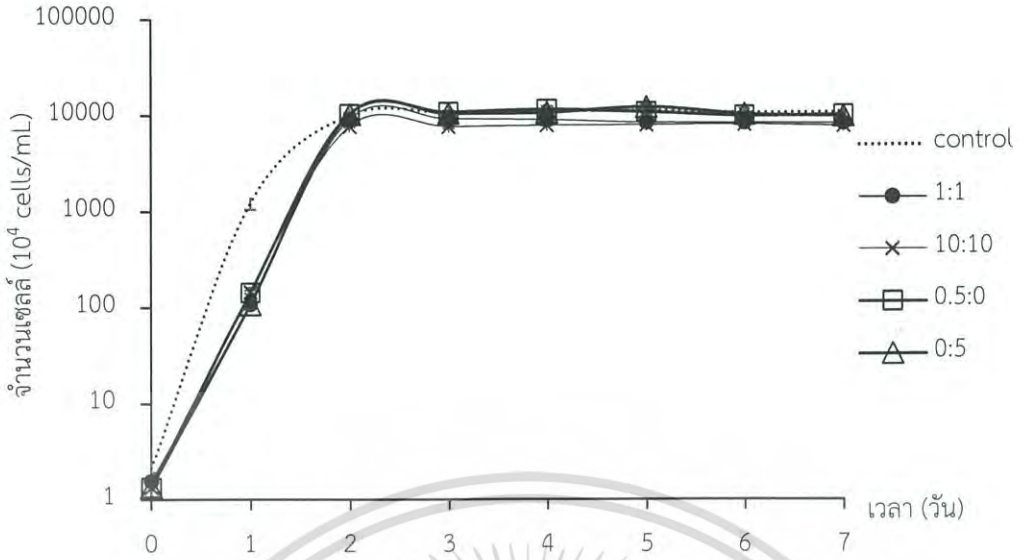
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) การใช้ฮอร์โมนพืชร่วมกัน

จากการศึกษาผลของฮอร์โมนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโต ในการทดลองนี้จึงนำฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด ใส่ลงในอาหารเลี้ยงสาหร่ายเพื่อศึกษาผลของการใช้ฮอร์โมนร่วมกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย โดยใช้ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วน 1:1 ที่ความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งไม่ใส่ฮอร์โมนและใส่ฮอร์โมนร่วมกัน มีระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลอยู่ในช่วง 2 วันแรกของการเจริญ และเข้าสู่ระยะคงที่หลังจากวันที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์สะสมในระยะคงที่ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งไม่ใส่ฮอร์โมนและใส่ฮอร์โมนร่วมกัน พบว่า มีจำนวนเซลล์สะสมลดลง โดยสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์สะสมเท่ากับ 9.13×10^7 และ 7.94×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าที่ไม่ใส่ฮอร์โมน ที่มีค่าเท่ากับ 1.01×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เมื่อนำมาค่าของจำนวนเซลล์ในช่วงเอ็กซ์โปเชียลมาคำนวณหาอัตราการเจริญเพื่อทราบถึงอัตราการเจริญจำเพาะ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ฮอร์โมนร่วมกัน ส่งผลต่ออัตราการเจริญจำเพาะเพิ่มขึ้น โดยสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 4.44 ต่อวัน ซึ่งมากกว่าที่ไม่ใส่ฮอร์โมนที่มีค่าเท่ากับ 2.12 ต่อวัน คิดเป็น 2.09 เท่า ดังตารางที่ 4.10 ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ฮอร์โมนเพียงชนิดเดียว พบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 4.80 ต่อวัน ซึ่งมากกว่าที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 1.08 เท่า จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้ฮอร์โมนพืชร่วมกันในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตเมื่อเทียบกับการใช้ฮอร์โมนเพียงชนิดเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 กราฟการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วนของ NAA:BA คือ 1:1, 10:10, 0.5:0 และ 0:5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.10 อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วนของ NAA:BA คือ 0:0, 1:1, 10:10, 0.5:0, 1:0 และ 0:0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของ NAA : BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อวัน)
0 : 0 (control)	$2.12^{d} \pm 0.13$
1 : 1	$4.44^{b} \pm 0.13$
10 : 10	$3.97^{c} \pm 0.06$
0.5 : 0	$4.29^{b} \pm 0.09$
1 : 0	$4.10^{c} \pm 0.02$
0 : 0.5	$4.80^{a} \pm 0.11$

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษาข้างต้น ผลของการใช้ฮอร์โมนพืชต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่า NAA และ BA ส่งผลให้มีจำนวนเซลล์สะสมมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Du *et al*. (2017) ที่ได้ศึกษาการใช้ฮอร์โมนพืชใน *C. pyrenoidosa* พบว่า NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลทำให้จำนวนเซลล์สะสมเพิ่มขึ้น และจากการทดลองพบว่า BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดการเพิ่มน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kokkiligadda *et al*. (2017) ที่กล่าวว่า BA ช่วยเพิ่มการแบ่งตัวของเซลล์สาหร่าย และเมื่อศึกษาผลของฮอร์โมนต่ออัตราการเจริญจำเพาะของ *Chlorella* sp. พบว่า NAA ในทุกความเข้มข้น ยกเว้นที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้อัตราการเจริญจำเพาะเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Du *et al*. (2017) พบว่าฮอร์โมนพืชมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *C. pyrenoidosa* เพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อใช้ฮอร์โมนในความเข้มข้นที่สูงเกินไปจะทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของสาหร่ายได้ (Lv *et al*., 2019) และผลของการใช้ฮอร์โมน NAA ร่วมกับ BA พบว่า ทำให้จำนวนเซลล์สะสมของสาหร่ายลดลง ซึ่งจากการทดลองนี้ยังไม่มีความสอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ในทางตรง ในขณะที่รายงานของ ยงศักดิ์ และ อัญชลี (2557) ที่ได้ทำการศึกษาผลของการใช้ฮอร์โมนออกซินร่วมกับไซโตไคนินในต้นพริมมิ พบว่าการใช้ฮอร์โมนร่วมกันส่งผลให้มีจำนวนยอดและจำนวนรากเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากเป็นพืชชั้นสูงที่มีความแตกต่างจากสาหร่ายขนาดเล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมนพืช NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด คือ *H. pluvialis* และ *Chlorella* sp. โดยวัดการเจริญเติบโต อัตราการเจริญจำเพาะ น้ำหนักเซลล์แห้ง และขนาดเซลล์ จากผลการทดลองสรุปได้ว่า

1) สาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ฮอร์โมน NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด ส่งผลต่อระยะการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย (ระยะเอ็กซ์โปเนนเชียล) โดยทำให้ระยะการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 2 วัน เป็น 4 วัน จึงเข้าสู่ระยะคงที่ การเปลี่ยนแปลงนี้ทำให้สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงภายใต้ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด มีจำนวนเซลล์สะสมเพิ่มขึ้นในระยะคงที่ คิดเป็น 1.73 และ 1.19 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับจำนวนเซลล์ของสาหร่ายในการเพาะเลี้ยงที่ไม่ใส่ฮอร์โมน

ผลการทดลองข้างต้นส่งผลทำให้สาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงโดยใช้ฮอร์โมน NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นเป็น 1.8 เท่า เมื่อเทียบกับสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงโดยไม่ใส่ฮอร์โมน และจากผลการวัดขนาดเซลล์พบว่า NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้ขนาดเซลล์เฉลี่ยเล็กลง คือ 22.50 และ 24.67 ไมโครเมตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงโดยไม่ใส่ฮอร์โมน คือ 28.00 ไมโครเมตร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากฮอร์โมนส่งผลทำให้เกิดการแบ่งเซลล์เพิ่มมากขึ้น (Umen และ Goodenough., 2001)

2) สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด ไม่ส่งผลต่อระยะการแบ่งเซลล์ คือ ช่วงระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงภายใต้การเสริมฮอร์โมนนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเทียบกับไม่ใส่ฮอร์โมนในการเพาะเลี้ยง แต่ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด ส่งผลต่อการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตในระยะการแบ่งเซลล์ ซึ่งทำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. มีจำนวนเซลล์สะสมเพิ่มขึ้นในระยะคงที่ 1.14 และ 1.21 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสาหร่ายที่ไม่ได้ใส่ฮอร์โมน

จากผลการทดลองของฮอร์โมนที่มีผลทำให้ได้จำนวนเซลล์สะสมสูงสุด มีความสอดคล้องกับน้ำหนักเซลล์แห้ง โดย BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด และจากผลการวัดขนาดเซลล์ พบว่าเมื่อเปรียบเทียบขนาดเซลล์ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้งที่ใส่และไม่ใส่ฮอร์โมนในวันที่ 5 มีขนาดเซลล์ไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ผลของการใช้ฮอร์โมน NAA และ BA ร่วมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่ความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สาหร่ายมีจำนวนเซลล์สะสมในระยะคงที่ลดลง 1.34 และ 1.54 เท่า ตามลำดับ และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในระยะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอ็กซ์โปเนนเชียลลดลง 1.08 และ 1.21 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงภายใต้ฮอร์โมนเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง

ข้อเสนอแนะ

1) ควรมีการศึกษาการใช้ฮอร์โมนพืชในสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม โดยทดลองที่ค่าความเข้มแสง อุณหภูมิ หรือ สูตรอาหารต่าง ๆ กัน เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดียิ่งขึ้น

2) ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับปริมาณของรงควัตถุสำคัญที่สะสมในเซลล์ของสาหร่าย เช่น คลอโรฟิลล์ และแอสตาแซนทิน เพื่อบ่งชี้ว่าฮอร์โมนที่ใส่เพิ่มเติมในการเพาะเลี้ยง ไม่ได้ส่งผลต่อการสะสมของการสะสมของรงควัตถุที่สำคัญเหล่านั้น

3) ควรศึกษาเปรียบเทียบการใช้ฮอร์โมนพืชที่ได้มาจากธรรมชาติเปรียบเทียบกับฮอร์โมนที่ได้จากการสังเคราะห์ เพื่อใช้เป็นตัวเลือกในการนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรม และถ้าเป็นไปได้ไม่ควรส่งผลกระทบต่อการนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านสุขภาพ เมื่อมีการใช้ฮอร์โมนพืชในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการผลิตสาร ๆ ต่างในสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ เสรีภาพ. 2554. **ออกซิน.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.phukhieo.ac.th/obec-media/2554/manual.

กานต์ธิดา แจ้งยุบล. 2560. "การเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8236 โดยใช้คอมโพสิตของอนุภาคแม่เหล็กและแป้งมันสาปะหลังประจุบวก." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

กิตติพงษ์ หลงสะ. 2552. "สมบัติของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำยางข้นเพื่อการเพาะเลี้ยงคลอเรลลาในระบบกึ่งของอนุภาคแม่เหล็กและแป้งมันสาปะหลังประจุบวก." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตเขตปัตตานี.

ธีรยุทธ บุญคง. (2552). "การใช้ประโยชน์น้ำทิ้งจากโรงงานปลาป่นเพาะเลี้ยงคลอเรลลาเป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงไรแดง." วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปรารถนา จันทร์ทา, พัชราพรรณ คงเพชรศักดิ์ และสุกานดา ดอกสันเทียะ. 2547. **ฮอร์โมนพืช.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://mylesson.swu.ac.th/syllabus/doc_4720040331150456.pdf.

พนิดา ใหญ่ธรรมสาร. 2550. "คลอโรฟิลล์มีประโยชน์จริงหรือ?." *จุลสารข้อมูลสมุนไพร.* 24(2) : 2-12.

พีรเดช ทองอำไพ. 2532. **สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.eto.ku.ac.th/ neweto/e-book/other/other37.pdf.

ภัทระ ทรวงสุรัตนกุล, ณัฐภาส ผู้พัฒน์, สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, วิรัตน์ วาณิชย์ศรีรัตนา และประมุข ภาระกูลสุขสถิตย์. 2555. "การคัดเลือกสาหร่าย *Chlorella* sp. สายพันธุ์ที่มีปริมาณลิพิดสูงเพื่อผลิตไบโอดีเซล." ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศรีปาน เชยกลิ่นเทศ, ธีระพัศธ์ ศิลปะสมบูรณ์, ภสุโชค หยกสหชาติ, ต่อวุฒิ จำมั่น, กรรณิกา โพธิ์สามต้น และ วิลาวัลย์ เรียนเวช. 2556. "การใช้ฮอร์โมนออกซินและบราสิโนสเตียรอยด์ต่อผลผลิตและ ปริมาณน้ำมันในผลปาล์มน้ำมันในภาคกลาง." คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล สุวรรณภูมิ

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และ อญัชลี จาละ. 2557. "อิทธิพลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดต้นพรมมิ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ." *Thai Journal of Science and Technology.* 3(1) : 7-14.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร. 2548. "ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนเมื่อเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วนิดา ปานอุทัย. 2558. "มหัศจรรย์สารสีแดงจากสาหร่ายฮีมาโตคอกคัส." *วารสารอาหาร.* 45(1) : 26-31.

วิสัย วงศ์สายปิ่น. 2536. **สาหร่ายเซลล์เดียว : สารอาหารจากแสงตะวัน**. กรุงเทพฯ : รวมทรรศน์.

วีนา ชูโชติ. 2556. "ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* spp. ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค." วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 22(2) : 102-114.

สุริยัน เต็งใหญ่. 2560. **Astaxanthin: Sources, extractions and commercial applications.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php? option=article_detail&subpage=article_detail&id=261

Beyerinck, M.W. 1890. "Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen." *Botanische Zeitung.* 47 : 725-785.

Boussiba, S. Bing, W. Yuan, J.P. Zarka, A. and Chen, F. 1999. "Changes in Pigments Profile in the Green Alga *Haeamtococcus pluvialis* Exposed to Environmental Stresses." *Biotechnology Letters.* 21 : 601-604.

Capelli, B. Bagchi, D. and Cysewski, G.R. 2013. "Synthetic astaxanthin is significantly inferior to algal-based astaxanthin as an antioxidant and may not be suitable as a human nutraceutical supplement." *Nutrafoods.* 12 : 145-152.

Cassan, F. Vanderleyden, J. and Spaepen, S. 2013. "Physiological and Agronomical Aspects of Phytohormone Production by Model Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Belonging to the Genus *Azospirillum*." *Journal of Plant Growth Regulation.* 33(2).

Chinnasamy, S. Ramakrishnan, B. Bhatnagar, A. and Das, K.C. 2009. "Biomass Production Potential of a Wastewater Alga *Chlorella vulgaris* ARC 1 under Elevated Levels of CO_2 and Temperature." *International Journal of Molecular Sciences.* 10 : 518-532.

Chunhui, Z. Jianguo, L. and Litao, Z. 2017. "Cell Cycles and Proliferation Patterns in *Haematococcus pluvialis*." *Chinese Journal of Oceanology and Limnology.* 35(5) : 1205-1211.

Cohen, S. 2013. **5 Reasons to Take Astaxanthin Every Day.** [Online]. Available : https://www.huffpost.com/entry/astaxanthin_b_2750910.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dao, G.H. Wu, G.X. Wang, X.X. Zhuang, L.L. Zhang, T.Y. and Hu, H.Y. 2018. "Enhanced Growth and Fatty Acid Accumulation of Microalgae *Scenedesmus* sp. LX1 by Two Types of Auxin." *Bioresource Technology*. 247 : 561-567.

Department of Molecular Biology and Genetics. 2017. **Laboratory manual**. Available : http://azkurs.org/laboratuvar-kilavuzu.html.

Devlin, R.M. and Barker, A.V. 1971. **Photosynthesis**. London : Van Nostrand Reinhold Inc.

Du, H. Ahmed, F. Lin, B. Li, Z. Huang, Y. Sun, G. Ding, H. Wang, C. Meng, C. and Gao, Z. 2017. "The Effects of Plant Growth Regulators on Cell Growth, Protein, Carotenoid, PUFAs and Lipid Production of *Chlorella pyrenoidosa* ZF Strain." *Energies*. 10 : 1-23.

Fabregas, J. Dominguez, A. Alvarez, D.G. Lamela, T. and Otero, A. 1998. "Induction of Astaxanthin Accumulation by Nitrogen and Magnesium Deficiencies in *Haematococcus pluvialis*." *Biotechnology Letters*. 20(6) : 623-626.

Fabregas, J. Dominguez, A. Regueiro, M. Maseda, A. and Otero, A. 2000. "Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga *Haematococcus pluvialis*." *Appl Microbiol Biotechnol*. 53 : 530-535.

Fan, L. Vonshak, A. and Boussiba, S. 1994. "Effect of Temperature and Irradiance on growth of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae)." *Journal of Phycology*. 30(5) : 829-833.

Flotow, J.V. 1884. "Beobachtungen über *Haematococcus pluvialis*." Verhandlungen der Kaiserlichen Leopoldinisch-Carolinischen Deutschen Akademie der Naturforscher. 12(2) : 413-606.

Goksan, T. and Ak, I. 2006. "Vegetative Growth of the Green Alga *Haematococcus pluvialis* Cultivated in Different Light-Path Lengths." *Asian Journal of Plant Sciences*. 5(3) : 455-460.

Goksan, T. Ak, I. and Kihc, C. 2011. "Growth Characteristics of the Alga *Haematococcus pluvialis* Flotow as Affected by Nitrogen Source, Vitamin, Light and Aeration." *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 11 : 377-383.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hao, G.F. and Yang, G.F. 2010. "The Role of Phe82 and Phe351 in Auxin-Induced Substrate Perception by TIR1 Ubiquitin Ligase: A Novel Insight from Molecular Dynamics Simulations." *Public Library of Science one*. 5(5) : 1-9.

Haresh, K.K. 2009. ***Chlorella* – The Most Exciting nutritional Discovery on Planet Earth**. [Online]. Available : https://www.terapiaclark.es/Docs/free_chlorella_report.pdf.

Hongjin, Q. and Guangce, W. 2009. "Effect of Carbon Source on Growth and Lipid Accumulation in *Chlorella sorokiniana* GXNN01." *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 27(4) : 762-768.

Hunt, R.W. Chinnasamy, S. Bhatnagar, A. and Das, K.C. 2010. "Effect of Biochemical Stimulants on Biomass Productivity and Metabolite Content of the Microalga, *Chlorella sorokiniana*." *Appl Biochem Biotechnol*. 162 : 2400–2414.

Imamoglu, E. Sukan, F.V. and Dalay, M.C. 2007. "Effect of Different Culture Media and Light Intensities on Growth of *Haematococcus pluvialis*." *International Journal of Natural and Engineering Sciences*. 1(3) : 5-9.

Kadioglu, A. 1992. "Effects of Benzyladenine on Photosynthetic Pigments and Oxygen Evolution in *Chlamydomonas reinhardii* and Anacystis nidulans." *Phyton (Horn, Austria)*. 32 : 111-118.

Kaewpintong, K. Shotipruk, A. Powtonsook S. and Pavasant P. 2007. "Photoautotrophic high-density cultivation of vegetative cells of *Haematococcus pluvialis* in airlift bioreactor." *Bioresource Technology*. 98 : 288-295.

Kang, C.D. Lee, J.S. Park, T.H. Sim S.J. 2005. "Comparison of Heterotrophic Induction on Astaxanthin Production by *Haematococcus pluvialis*." *Applied Microbial and Cell Physiology*. 68 : 237-241.

Kokkiligadda, S. Pandey, B. and Ronda, S.R. 2017. "Effect of plant growth regulators on production of alpha-linolenic acid from microalgae *Chlorella pyrenoidosa*." *Sādhanā*. 42 : 1821-1824.

Lee, C. Jeon, M.S. Kim, J.Y. Lee, S.H. Kim, D.G. Roh, S.W. and Choi, Y.E. 2019. "Effects of an Auxin-Producing Symbiotic Bacterium on Cell Growth of the Microalga *Haematococcus pluvialis*: Elevation of Cell Density and Prolongation of Exponential Stage." *Algal Research*. 41 : 1-8.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Liu, J. Qui, W. and Song, Y. 2016. "Stimulatory Effect of Auxins on the Growth and Lipid Productivity of *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus quadricauda.*" *Algal Research.* 18 : 273-280.

Liu, T. Wang, Liu, F. Wang, C. Wang, Z. and Li, Y. 2017. "The Boosted Biomass and Lipid Accumulation in *Chlorella vulgaris* by Supplementation of Synthetic Phytohormone Analogs." *Bioresource Technology.* 232 : 44-52.

Lu, Y. and Xu, J. 2015. "Phytohormones in Microalgae: a New Opportunity for Microalgal Biotechnology?" *Trends in Plant Science.* 20(5) : 273-282.

Lv, H. Wang, Q. Wang, S. Qi, B. He, J. Jia, S. 2019. "Enhancing biomass production of *Dunaliella salina* via optimized combinational application of phytohormones." *Aquaculture.* 503 : 146-155.

Monod J. 1949. "THE GROWTH OF BACTERIAL CULTURES." *Annu. Rev. Microbiol.* 3 : 371-394.

Naguib, Y.M.A. 2000. "Antioxidant Activities of Astaxanthin and Related Carotenoids." *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 48 : 1150-1154.

Nahidian, B. Ghanati, F. Shahbazi M. and Soltani N. 2018. "Effect of nutrients on the growth and physiological features of newly isolated *Haematococcus pluvialis* TMU1." Bioresource Technology. 255 : 229-237.

Niczyporuk, A.P. and Bajguz, A. 2014. "The Effect of Natural and Synthetic Auxins on the Growth, Metabolite Content and Antioxidant Response of Green Alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae)." *Plant Growth Regulation.* 73 : 57-66.

Ozioko, F.U. Chiejina, N.V. and Ogbonna, J.C. 2015. "Effect of Some Phytohormones on Growth Characteristics of *Chlorella sorokiniana* IAM-C212 under Photoautotrophic Conditions." *African Journal of Biotechnology.* 14(30) : 2367-2376.

Park, W.K. Yoo G. Moon, M. Kim, C.W. Choi, Y.E. and Yang, J.W. 2013. "Phytohormone Supplementation Significantly Increases Growth of *Chlamydomonas reinhardtii* Cultivated for Biodiesel Production." *Applied Biochemistry and Biotechnology.* 171 : 1128-1142.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Piotrowska, A. and Czerpak, R. 2009. "Cellular Response of Light/Dark-Grown Green Alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck (Chlorophyceae) to Exogenous Adenine- and Phenylurea-type Cytokinins." *Acta Physiologiae Plantarum.* 31 : 573-585.

Sarada, R. Tripathi, U. and Ravishankar, G.A. 2002. "Influence of Stress on Astaxanthin Production in *Haematococcus pluvialis* Grown under Different Culture Conditions." *Process Biochemistry.* 37 : 623-627.

Shah, M.R. Liang, Y. Cheng, J.J. and Daroch, M. 2016. "Astaxanthin-Producing Green Microalga *Haematococcus pluvialis*: From Single Cell to High Value Commercial Products." *frontiers in plants science*. 7 : 1-28.

Umen, J.G. and Goodenough, U.W. 2001. "Control of cell division by a retinoblastoma protein homolog in *Chlamydomonas*." *GENES & DEVELOPMENT.* 15 : 1652–1661.

Vonshak, A. 1997. **Spirulina platensis (Arthrospira) : Physiology, Cell-biology and biotechnology.** London : Taylor & Francis Ltd.

Wan, M. Zhang, J. Hou, D. Fan, J. Li, Y. Huang, J. and Wang, J. 2014. "The Effect of Temperature on Cell Growth and Astaxanthin Accumulation of *Haematococcus pluvialis* During a Light Dark Cyclic Cultivation." *Bioresource Technology*. 167 : 276-283.

Wang, C. Li, H. Wang, Q. Wei, P. 2010. "Effect of pH on Growth and Lipid Content of *Chlorella vulgaris* Cultured in Biogas Slurry." *Chinese Journal of Biotechnology.* 26(8) : 1074-1079.

Zuppini, A. Gerotto, C. and Baldan, B. 2010. "Programmed Cell Death and Adaptation : Two Different Types of Abiotic Stress Response in a Unicellular Chlorophyte." *Plant and Cell Physiology.* 51(6) : 884-895.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ก-1 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ไม่ใส่ฮอร์โมนพืช

วันที่	ซ้ำ	น้ำหนักกระดาษกรอง (กรัม)	น้ำหนัก กระดาษกรอง+เซลล์แห้ง (กรัม)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/10 มิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัม/ลิตร)
3	1	0.1530	0.1531	0.0001	0.01	0.0133
	2	0.1535	0.1537	0.0002	0.02	
	3	0.1934	0.1935	0.0001	0.01	
6	1	0.2305	0.2306	0.0001	0.01	0.0133
	2	0.2325	0.2327	0.0002	0.02	
	3	0.2279	0.2280	0.0001	0.01	
10	1	0.0931	0.0938	0.0007	0.07	0.0467
	2	0.0938	0.0942	0.0004	0.04	
	3	0.0921	0.0924	0.0003	0.03	

ตารางที่ ก-2 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	ซ้ำ	น้ำหนักกระดาษกรอง (กรัม)	น้ำหนัก กระดาษกรอง+เซลล์แห้ง (กรัม)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/10 มิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัม/ลิตร)
3	1	0.0949	0.0951	0.0002	0.02	0.0167
	2	0.0950	0.0952	0.0002	0.02	
	3	0.0951	0.0952	0.0001	0.01	
6	1	0.0940	0.0942	0.0002	0.02	0.0300
	2	0.0905	0.0909	0.0004	0.04	
	3	0.0915	0.0918	0.0003	0.03	
10	1	0.2272	0.2281	0.0009	0.09	0.0867
	2	0.2352	0.2356	0.0004	0.04	
	3	0.2295	0.2308	0.0013	0.13	

ตารางที่ ก-3 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	ซ้ำ	น้ำหนักกระดาษกรอง (กรัม)	น้ำหนัก กระดาษกรอง+เซลล์แห้ง (กรัม)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/10 มิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัม/ลิตร)
3	1	0.0932	0.0933	0.0001	0.01	0.0133
	2	0.0952	0.0953	0.0001	0.01	
	3	0.0954	0.0956	0.0002	0.02	
6	1	0.0930	0.0936	0.0006	0.06	0.0467
	2	0.0915	0.0919	0.0004	0.04	
	3	0.0919	0.0923	0.0004	0.04	
10	1	0.2009	0.2017	0.0008	0.08	0.0900
	2	0.2053	0.2062	0.0009	0.09	
	3	0.0947	0.0957	0.0010	0.10	

ตารางที่ ก-4 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ไม่ใส่ฮอร์โมนพืช

วันที่	ซ้ำ	น้ำหนักกระดาษกรอง (กรัม)	น้ำหนักกระดาษกรอง+เซลล์แห้ง (กรัม)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/10 มิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัม/ลิตร)
1	1	0.1485	0.1504	0.0019	0.19	0.2100
	2	0.1444	0.1469	0.0025	0.25	
	3	0.1506	0.1525	0.0019	0.19	
2	1	0.5608	0.5670	0.0062	0.62	0.6267
	2	0.6138	0.6204	0.0066	0.66	
	3	0.5724	0.5784	0.0060	0.60	
5	1	0.5348	0.5439	0.0091	0.91	0.8967
	2	0.5481	0.5564	0.0083	0.83	
	3	0.5347	0.5442	0.0095	0.95	

ตารางที่ ก-5 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	ซ้ำ	น้ำหนักกระดาษกรอง (กรัม)	น้ำหนัก กระดาษกรอง+เซลล์แห้ง (กรัม)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/10 มิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัม/ลิตร)
3	1	0.1496	0.1517	0.0021	0.21	0.2167
	2	0.1538	0.1558	0.0020	0.20	
	3	0.1466	0.1490	0.0024	0.24	
6	1	0.5938	0.6009	0.0071	0.71	0.5733
	2	0.5619	0.5675	0.0056	0.56	
	3	0.5694	0.5739	0.0045	0.45	
10	1	0.5520	0.5590	0.0070	0.70	0.8333
	2	0.5380	0.5468	0.0088	0.88	
	3	0.5251	0.5343	0.0092	0.92	

ตารางที่ ก-6 ผลน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	ซ้ำ	น้ำหนักกระดาษกรอง (กรัม)	น้ำหนัก กระดาษกรอง+เซลล์แห้ง (กรัม)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/10 มิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัม/ลิตร)
3	1	0.1444	0.1462	0.0018	0.18	0.3033
	2	0.1516	0.1537	0.0021	0.21	
	3	0.1496	0.1548	0.0052	0.52	
6	1	0.5892	0.5948	0.0056	0.56	0.5533
	2	0.5527	0.5585	0.0058	0.58	
	3	0.5141	0.5193	0.0052	0.52	
10	1	0.4876	0.5059	0.0183	1.83	1.8000
	2	0.4729	0.4994	0.0265	2.65	
	3	0.5067	0.5159	0.0092	0.92	

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข-1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

ตารางที่ ข-1.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	2343.3333	1068.09800	616.66667	-309.9692	4996.6359	1110.00	2960.00
1	3	11000.0000	1400.00000	808.29038	7522.2072	14477.7928	10000.00	12600.00
2	3	12300.0000	458.25757	264.57513	11161.6251	13438.3749	11900.00	12800.00
3	3	14433.3333	1474.22296	851.14302	10771.1605	18095.5062	13300.00	16100.00
4	3	14966.6667	3878.57362	2239.29552	5331.7557	24601.5777	12200.00	19400.00
5	3	13766.6667	709.45989	409.60686	12004.2706	15529.0627	13000.00	14400.00
6	3	16300.0000	1734.93516	1001.66528	11990.1821	20609.8179	14400.00	17800.00
7	3	19133.3333	776.74535	448.45413	17203.7909	21062.8757	18500.00	20000.00
8	3	18300.0000	2981.61030	1721.43351	10893.2694	25706.7306	15600.00	21500.00
9	3	20266.6667	2914.33240	1682.59060	13027.0636	27506.2697	17200.00	23000.00
10	3	16900.0000	2051.82845	1184.62371	11802.9756	21997.0244	14800.00	18900.00
11	3	15466.6667	2136.19600	1233.33333	10160.0616	20773.2717	13000.00	16700.00
12	3	18533.3333	2676.44042	1545.24360	11884.6867	25181.9799	16300.00	21500.00
13	3	17300.0000	1039.23048	600.00000	14718.4084	19881.5916	16700.00	18500.00
14	3	16433.3333	3008.87576	1737.17523	8958.8716	23907.7951	13300.00	19300.00
15	3	17233.3333	923.76043	533.33333	14938.5852	19528.0815	16700.00	18300.00

Total	48	15292.2917	4490.92335	648.20895	13988.2635	16596.3199	1110.00	23000.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	810012781.250	15	54000852.083	12.531	.000
Within Groups	137901666.667	32	4309427.083		
Total	947914447.917	47			

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0	3	2343.3333							
1	3		11000.0000						
2	3		12300.0000	12300.0000					
5	3		13766.6667	13766.6667	13766.6667				
3	3		14433.3333	14433.3333	14433.3333	14433.3333			
4	3			14966.6667	14966.6667	14966.6667	14966.6667		
11	3			15466.6667	15466.6667	15466.6667	15466.6667	15466.6667	
6	3				16300.0000	16300.0000	16300.0000	16300.0000	16300.0000
14	3				16433.3333	16433.3333	16433.3333	16433.3333	16433.3333
10	3				16900.0000	16900.0000	16900.0000	16900.0000	16900.0000
15	3				17233.3333	17233.3333	17233.3333	17233.3333	17233.3333
13	3				17300.0000	17300.0000	17300.0000	17300.0000	17300.0000
8	3					18300.0000	18300.0000	18300.0000	18300.0000
12	3						18533.3333	18533.3333	18533.3333
7	3							19133.3333	19133.3333
9	3								20266.6667
Sig.		1.000	.072	.104	.083	.058	.080	.072	.052

ตารางที่ ข-1.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	2713.3333	1400.79739	808.75075	-766.4403	6193.1070	1110.00	3700.00
1	3	7220.0000	2546.60558	1470.28342	893.8810	13546.1190	4440.00	9440.00
2	3	14066.6667	2814.84162	1625.14957	7074.2125	21059.1209	11100.00	16700.00
3	3	13200.0000	1732.05081	1000.00000	8897.3473	17502.6527	12200.00	15200.00
4	3	13566.6667	2402.77617	1387.24347	7597.8398	19535.4936	11100.00	15900.00
5	3	15666.6667	1861.00331	1074.45076	11043.6782	20289.6552	13700.00	17400.00
6	3	16400.0000	1571.62336	907.37717	12495.8711	20304.1289	15000.00	18100.00
7	3	16600.0000	1322.87566	763.76262	13313.7947	19886.2053	15600.00	18100.00
8	3	18466.6667	4933.89636	2848.58639	6210.1886	30723.1447	13900.00	23700.00
9	3	17433.3333	4461.31520	2575.74153	6350.8120	28515.8547	12800.00	21700.00
10	3	16233.3333	3617.08907	2088.32735	7247.9860	25218.6807	13900.00	20400.00
11	3	18133.3333	3763.42043	2172.81180	8784.4787	27482.1879	13900.00	21100.00
12	3	18466.6667	3007.21355	1736.21555	10996.3341	25936.9993	16300.00	21900.00
13	3	21066.6667	2040.42479	1178.03980	15997.9705	26135.3628	19300.00	23300.00
14	3	15766.6667	1305.11813	753.51030	12524.5735	19008.7598	14400.00	17000.00
15	3	14866.6667	1429.45211	825.29456	11315.7108	18417.6226	13300.00	16100.00
Total	48	14991.6667	4939.03959	712.88896	13557.5191	16425.8143	1110.00	23700.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	903975066.667	15	60265004.444	7.951	.000
Within Groups	242548200.000	32	7579631.250		
Total	1146523266.667	47			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	2713.3333		
1	3	7220.0000		
3	3		13200.0000	
4	3		13566.6667	
2	3		14066.6667	
15	3		14866.6667	
5	3		15666.6667	
14	3		15766.6667	15766.6667
10	3		16233.3333	16233.3333
6	3		16400.0000	16400.0000
7	3		16600.0000	16600.0000
9	3		17433.3333	17433.3333
11	3		18133.3333	18133.3333
8	3		18466.6667	18466.6667
12	3		18466.6667	18466.6667
13	3			21066.6667
Sig.		.054	.057	.051

ตารางที่ ข-1.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	4750.0000	2330.51496	1345.52344	-1039.3201	10539.3201	2590.00	7220.00
1	3	10440.0000	2792.63317	1612.32751	3502.7146	17377.2854	7220.00	12200.00
2	3	15333.3333	2030.59925	1172.36703	10289.0451	20377.6215	13000.00	16700.00
3	3	21733.3333	5776.10018	3334.83300	7384.7050	36081.9616	16300.00	27800.00
4	3	25000.0000	1915.72441	1106.04400	20241.0768	29758.9232	23700.00	27200.00
5	3	17766.6667	2571.64020	1484.73716	11378.3583	24154.9751	15900.00	20700.00
6	3	23100.0000	1252.99641	723.41781	19987.3844	26212.6156	21900.00	24400.00
7	3	22633.3333	3924.70806	2265.93125	12883.8180	32382.8486	19400.00	27000.00
8	3	17700.0000	1571.62336	907.37717	13795.8711	21604.1289	16300.00	19400.00
9	3	20800.0000	2787.47197	1609.34769	13875.5358	27724.4642	18500.00	23900.00
10	3	23500.0000	346.41016	200.00000	22639.4695	24360.5305	23300.00	23900.00
11	3	18066.6667	3775.35870	2179.70436	8688.1557	27445.1776	14800.00	22200.00
12	3	23133.3333	1137.24814	656.59052	20308.2523	25958.4143	22200.00	24400.00
13	3	18533.3333	1850.22521	1068.22802	13937.1191	23129.5476	16700.00	20400.00
14	3	24333.3333	5215.68148	3011.27511	11376.8623	37289.8044	18900.00	29300.00
15	3	34333.3333	3028.75112	1748.65027	26809.4985	41857.1682	32200.00	37800.00
Total	48	20072.2917	6914.75088	998.05832	18064.4573	22080.1260	2590.00	37800.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1959887447.917	15	130659163.194	14.550	.000
Within Groups	287360200.000	32	8980006.250		
Total	2247247647.917	47			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	3	4750.0000					
1	3		10440.0000				
2	3		15333.3333	15333.3333			
8	3			17700.0000	17700.0000		
5	3			17766.6667	17766.6667		
11	3			18066.6667	18066.6667		
13	3			18533.3333	18533.3333		
9	3			20800.0000	20800.0000	20800.0000	
3	3				21733.3333	21733.3333	
7	3				22633.3333	22633.3333	
6	3				23100.0000	23100.0000	
12	3				23133.3333	23133.3333	
10	3				23500.0000	23500.0000	
14	3					24333.3333	
4	3					25000.0000	
15	3						34333.3333
Sig.		1.000	.054	.056	.051	.149	1.000

ตารางที่ ข-1.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	2406.6667	1123.66958	648.75094	-384.6833	5198.0167	1670.00	3700.00
1	3	9213.3333	1410.57908	814.39821	5709.2607	12717.4060	7780.00	10600.00
2	3	13466.6667	1154.70054	666.66667	10598.2315	16335.1018	12800.00	14800.00
3	3	17566.6667	2345.91844	1354.41664	11739.0822	23394.2511	15000.00	19600.00
4	3	24633.3333	1960.44213	1131.86179	19763.3251	29503.3416	22800.00	26700.00
5	3	23100.0000	1732.05081	1000.00000	18797.3473	27402.6527	21100.00	24100.00
6	3	27166.6667	4760.60220	2748.53496	15340.6752	38992.6581	21700.00	30400.00
7	3	28633.3333	4705.67034	2716.82004	16943.8002	40322.8665	24400.00	33700.00
8	3	35000.0000	4728.63617	2730.07936	23253.4166	46746.5834	30600.00	40000.00
9	3	30300.0000	4150.90352	2396.52526	19988.5840	40611.4160	26100.00	34400.00
10	3	26433.3333	3008.87576	1737.17523	18958.8716	33907.7951	23300.00	29300.00
11	3	23033.3333	8480.76254	4896.37054	1965.9513	44100.7154	15000.00	31900.00
12	3	26700.0000	6331.66645	3655.58933	10971.2686	42428.7314	19400.00	30700.00
13	3	22666.6667	2335.23732	1348.24989	16865.6156	28467.7178	20600.00	25200.00
14	3	30066.6667	10965.55212	6330.96447	2826.7251	57306.6082	18300.00	40000.00
15	3	34933.3333	2802.37994	1617.95481	27971.8356	41894.8310	32200.00	37800.00
Total	48	23457.5000	9572.25679	1381.63626	20678.0064	26236.9936	1670.00	40000.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3594629300.000	15	239641953.333	10.772	.000
Within Groups	711891400.000	32	22246606.250		
Total	4306520700.000	47			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	3	2406.6667					
1	3	9213.3333	9213.3333				
2	3		13466.6667	13466.6667			
3	3			17566.6667	17566.6667		
13	3				22666.6667	22666.6667	
11	3				23033.3333	23033.3333	
5	3				23100.0000	23100.0000	
4	3				24633.3333	24633.3333	
10	3					26433.3333	
12	3					26700.0000	26700.0000
6	3						27166.6667
7	3						28633.3333
14	3						30066.6667
9	3						30300.0000
15	3						34933.3333
8	3						35000.0000
Sig.		.087	.278	.295	.110	.101	.063

ตารางที่ ข-1.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	2096.6667	1130.36867	652.61866	-711.3248	4904.6581	1110.00	3330.00
1	3	11800.0000	888.81944	513.16014	9592.0501	14007.9499	11100.00	12800.00
2	3	15633.3333	450.92498	260.34166	14513.1736	16753.4931	15200.00	16100.00
3	3	19466.6667	4042.68887	2334.04751	9424.0708	29509.2626	14800.00	21900.00
4	3	28266.6667	4539.08948	2620.64453	16990.9433	39542.3900	23300.00	32200.00
5	3	23633.3333	3787.25934	2186.57520	14225.2596	33041.4071	19400.00	26700.00
6	3	22600.0000	400.00000	230.94011	21606.3449	23593.6551	22200.00	23000.00
7	3	28500.0000	3604.16426	2080.86520	19546.7596	37453.2404	25000.00	32200.00
8	3	23933.3333	1171.89306	676.59277	21022.1896	26844.4771	22600.00	24800.00
9	3	21000.0000	5650.66368	3262.41220	6962.9733	35037.0267	16700.00	27400.00
10	3	28200.0000	8598.25564	4964.20521	6840.7489	49559.2511	22600.00	38100.00
11	3	21500.0000	5311.30869	3066.48550	8305.9778	34694.0222	15600.00	25900.00
12	3	23600.0000	2800.00000	1616.58075	16644.4144	30555.5856	20400.00	25600.00
13	3	23100.0000	4471.01778	2581.34332	11993.3761	34206.6239	18900.00	27800.00
14	3	29633.3333	1680.27775	970.10881	25459.2920	33807.3747	27800.00	31100.00
15	3	19133.3333	5451.91098	3147.66227	5590.0357	32676.6310	13300.00	24100.00
Total	48	21381.0417	7639.16873	1102.61903	19162.8583	23599.2250	1110.00	38100.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2217712114.583	15	147847474.306	9.011	.000
Within Groups	525062133.333	32	16408191.667		
Total	2742774247.917	47			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	3	2096.6667					
1	3		11800.0000				
2	3		15633.3333	15633.3333			
15	3			19133.3333	19133.3333		
3	3			19466.6667	19466.6667		
9	3			21000.0000	21000.0000	21000.0000	
11	3			21500.0000	21500.0000	21500.0000	
6	3			22600.0000	22600.0000	22600.0000	22600.0000
13	3			23100.0000	23100.0000	23100.0000	23100.0000
12	3				23600.0000	23600.0000	23600.0000
5	3				23633.3333	23633.3333	23633.3333
8	3				23933.3333	23933.3333	23933.3333
10	3					28200.0000	28200.0000
4	3					28266.6667	28266.6667
7	3					28500.0000	28500.0000
14	3						29633.3333
Sig.		1.000	.255	.057	.224	.062	.077

ตารางที่ ข-1.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุด

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
NAA 0	3	20266.6667	2914.33240	1682.59060	13027.0636	27506.2697	17200.00	23000.00
NAA 0.5	3	21066.6667	2040.42479	1178.03980	15997.9705	26135.3628	19300.00	23300.00
NAA 1	3	34333.3333	3028.75112	1748.65027	26809.4985	41857.1682	32200.00	37800.00
NAA 5	3	35000.0000	4728.63617	2730.07936	23253.4166	46746.5834	30600.00	40000.00
NAA 10	3	29633.3333	1680.27775	970.10881	25459.2920	33807.3747	27800.00	31100.00
Total	15	28060.0000	7035.29875	1816.50633	24163.9814	31956.0186	17200.00	40000.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	598909333.333	4	149727333.333	15.924	.000
Within Groups	94026666.667	10	9402666.667		
Total	692936000.000	14			

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
NAA 0	3	20266.6667	
NAA 0.5	3	21066.6667	
NAA 10	3		29633.3333
NAA 1	3		34333.3333
NAA 5	3		35000.0000
Sig.		.756	.067

ตารางที่ ข-1.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	2343.3333	1068.09800	616.66667	-309.9692	4996.6359	1110.00	2960.00
1	3	11000.0000	1400.00000	808.29038	7522.2072	14477.7928	10000.00	12600.00
2	3	12300.0000	458.25757	264.57513	11161.6251	13438.3749	11900.00	12800.00
3	3	14433.3333	1474.22296	851.14302	10771.1605	18095.5062	13300.00	16100.00
4	3	14966.6667	3878.57362	2239.29552	5331.7557	24601.5777	12200.00	19400.00
5	3	13766.6667	709.45989	409.60686	12004.2706	15529.0627	13000.00	14400.00
6	3	16300.0000	1734.93516	1001.66528	11990.1821	20609.8179	14400.00	17800.00
7	3	19133.3333	776.74535	448.45413	17203.7909	21062.8757	18500.00	20000.00
8	3	18300.0000	2981.61030	1721.43351	10893.2694	25706.7306	15600.00	21500.00
9	3	20266.6667	2914.33240	1682.59060	13027.0636	27506.2697	17200.00	23000.00
10	3	16900.0000	2051.82845	1184.62371	11802.9756	21997.0244	14800.00	18900.00
11	3	15466.6667	2136.19600	1233.33333	10160.0616	20773.2717	13000.00	16700.00
12	3	18533.3333	2676.44042	1545.24360	11884.6867	25181.9799	16300.00	21500.00
13	3	17300.0000	1039.23048	600.00000	14718.4084	19881.5916	16700.00	18500.00
14	3	16433.3333	3008.87576	1737.17523	8958.8716	23907.7951	13300.00	19300.00
15	3	17233.3333	923.76043	533.33333	14938.5852	19528.0815	16700.00	18300.00
Total	48	15292.2917	4490.92335	648.20895	13988.2635	16596.3199	1110.00	23000.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	810012781.250	15	54000852.083	12.531	.000
Within Groups	137901666.667	32	4309427.083		
Total	947914447.917	47			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0	3	2343.3333							
1	3		11000.0000						
2	3		12300.0000	12300.0000					
5	3		13766.6667	13766.6667	13766.6667				
3	3		14433.3333	14433.3333	14433.3333	14433.3333			
4	3			14966.6667	14966.6667	14966.6667	14966.6667		
11	3			15466.6667	15466.6667	15466.6667	15466.6667	15466.6667	
6	3				16300.0000	16300.0000	16300.0000	16300.0000	16300.0000
14	3				16433.3333	16433.3333	16433.3333	16433.3333	16433.3333
10	3				16900.0000	16900.0000	16900.0000	16900.0000	16900.0000
15	3								17233.3333
13	3								17300.0000
8	3								18300.0000
12	3								18533.3333
7	3								19133.3333
9	3								20266.6667
Sig.		1.000	.072	.104	.083	.058	.080	.072	.052

ตารางที่ ข-1.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	2160.0000	652.07362	376.47488	540.1593	3779.8407	1480.00	2780.00
1	3	6540.0000	4057.10488	2342.37059	-3538.4072	16618.4072	3330.00	11100.00
2	3	7223.3333	958.40145	553.33333	4842.5322	9604.1345	6670.00	8330.00
3	3	13500.0000	818.53528	472.58156	11466.6456	15533.3544	12800.00	14400.00
4	3	14066.6667	1327.90562	766.66667	10767.9662	17365.3671	13300.00	15600.00
5	3	15933.3333	1327.90562	766.66667	12634.6329	19232.0338	14400.00	16700.00
6	3	16866.6667	1137.24814	656.59052	14041.5857	19691.7477	15600.00	17800.00
7	3	21133.3333	3868.24680	2233.33333	11524.0756	30742.5911	18900.00	25600.00
8	3	20733.3333	3360.55551	1940.21763	12385.2507	29081.4160	17800.00	24400.00
9	3	24066.6667	2814.84162	1625.14957	17074.2125	31059.1209	21100.00	26700.00
10	3	23933.3333	4682.23593	2703.29018	12302.0145	35564.6522	19600.00	28900.00
11	3	22400.0000	6902.17357	3984.97177	5254.0503	39545.9497	15600.00	29400.00
12	3	23333.3333	1962.99092	1133.33333	18456.9936	28209.6731	22200.00	25600.00
13	3	23133.3333	2627.41952	1516.94137	16606.4614	29660.2052	21100.00	26100.00
14	3	22700.0000	1400.00000	808.29038	19222.2072	26177.7928	21100.00	23700.00
15	3	20566.6667	2542.30866	1467.80259	14251.2218	26882.1115	17800.00	22800.00
Total	48	17393.1250	7249.50568	1046.37601	15288.0880	19498.1620	1480.00	29400.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2177666297.917	15	145177753.194	15.886	.000
Within Groups	292434333.333	32	9138572.917		
Total	2470100631.250	47			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	2160.0000				
1	3	6540.0000				
2	3	7223.3333				
3	3		13500.0000			
4	3		14066.6667			
5	3		15933.3333	15933.3333		
6	3		16866.6667	16866.6667	16866.6667	
15	3			20566.6667	20566.6667	20566.6667
8	3			20733.3333	20733.3333	20733.3333
7	3			21133.3333	21133.3333	21133.3333
11	3				22400.0000	22400.0000
14	3					22700.0000
13	3					23133.3333
12	3					23333.3333
10	3					23933.3333
9	3					24066.6667
Sig.		.060	.223	.067	.052	.235

ตารางที่ ข-1.9 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	2283.3333	468.22359	270.32902	1120.2014	3446.4652	1850.00	2780.00
1	3	7963.3333	317.54265	183.33333	7174.5137	8752.1530	7780.00	8330.00
2	3	11456.6667	4181.70221	2414.30689	1068.7425	21844.5908	6670.00	14400.00
3	3	13900.0000	1700.00000	981.49546	9676.9659	18123.0341	12200.00	15600.00
4	3	13666.6667	635.08530	366.66667	12089.0273	15244.3060	13300.00	14400.00
5	3	15566.6667	1150.36226	664.16196	12709.0084	18424.3249	14400.00	16700.00
6	3	16433.3333	1517.67366	876.22930	12663.2230	20203.4437	14800.00	17800.00
7	3	16000.0000	3559.49435	2055.07502	7157.7259	24842.2741	11900.00	18300.00
8	3	20000.0000	2910.32644	1680.27775	12770.3483	27229.6517	17800.00	23300.00
9	3	18333.3333	3089.22860	1783.56696	10659.2641	26007.4026	15000.00	21100.00
10	3	20533.3333	981.49546	566.66667	18095.1635	22971.5032	19400.00	21100.00
11	3	19566.6667	3817.50355	2204.03670	10083.4621	29049.8712	16700.00	23900.00
12	3	20566.6667	4722.64050	2726.61777	8834.9773	32298.3560	15600.00	25000.00
13	3	20766.6667	288.67513	166.66667	20049.5579	21483.7755	20600.00	21100.00
14	3	20566.6667	1650.25251	952.77373	16467.2122	24666.1212	18900.00	22200.00
15	3	20000.0000	2553.42907	1474.22296	13656.9306	26343.0694	17800.00	22800.00
Total	48	16100.2083	5575.27196	804.72119	14481.3181	17719.0986	1850.00	25000.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1255778497.917	15	83718566.528	13.058	.000
Within Groups	205153400.000	32	6411043.750		
Total	1460931897.917	47			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	3	2283.3333					
1	3		7963.3333				
2	3		11456.6667	11456.6667			
4	3			13666.6667	13666.6667		
3	3			13900.0000	13900.0000		
5	3			15566.6667	15566.6667	15566.6667	
7	3			16000.0000	16000.0000	16000.0000	16000.0000
6	3				16433.3333	16433.3333	16433.3333
9	3				18333.3333	18333.3333	18333.3333
11	3					19566.6667	19566.6667
8	3					20000.0000	20000.0000
15	3					20000.0000	20000.0000
10	3						20533.3333
12	3						20566.6667
14	3						20566.6667
13	3						20766.6667
Sig.		1.000	.101	.056	.054	.070	.057

ตารางที่ ข-1.10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	1973.3333	213.61960	123.33333	1442.6728	2503.9938	1850.00	2220.00
1	3	6483.3333	323.31615	186.66667	5680.1715	7286.4952	6110.00	6670.00
2	3	7780.0000	1922.57640	1110.00000	3004.0555	12555.9445	6670.00	10000.00
3	3	7223.3333	555.00751	320.43373	5844.6183	8602.0484	6670.00	7780.00
4	3	10436.6667	2948.39504	1702.25667	3112.4473	17760.8860	7410.00	13300.00
5	3	14800.0000	1734.93516	1001.66528	10490.1821	19109.8179	13300.00	16700.00
6	3	18700.0000	818.53528	472.58156	16666.6456	20733.3544	17800.00	19400.00
7	3	14833.3333	2345.91844	1354.41664	9005.7489	20660.9178	12200.00	16700.00
8	3	16200.0000	556.77644	321.45503	14816.8907	17583.1093	15600.00	16700.00
9	3	20000.0000	1100.00000	635.08530	17267.4485	22732.5515	18900.00	21100.00
10	3	20366.6667	2289.83260	1322.03547	14678.4072	26054.9262	17800.00	22200.00
11	3	20933.3333	1955.33458	1128.91295	16076.0130	25790.6537	18900.00	22800.00
12	3	21500.0000	5483.61195	3165.96483	7877.9528	35122.0472	17800.00	27800.00
13	3	21833.3333	3074.62735	1775.13693	14195.5356	29471.1311	18300.00	23900.00
14	3	21966.6667	1738.77351	1003.88136	17647.3138	26286.0195	20000.00	23300.00
15	3	21300.0000	4491.10231	2592.93913	10143.4834	32456.5166	17200.00	26100.00
Total	48	15395.6250	6770.15035	977.18703	13429.7783	17361.4717	1850.00	27800.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1963573581.250	15	130904905.417	21.970	.000
Within Groups	190668400.000	32	5958387.500		
Total	2154241981.250	47			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	1973.3333				
1	3		6483.3333			
3	3		7223.3333			
2	3		7780.0000			
4	3		10436.6667			
5	3			14800.0000		
7	3			14833.3333		
8	3			16200.0000	16200.0000	
6	3			18700.0000	18700.0000	18700.0000
9	3				20000.0000	20000.0000
10	3				20366.6667	20366.6667
11	3					20933.3333
15	3					21300.0000
12	3					21500.0000
13	3					21833.3333
14	3					21966.6667
Sig.		1.000	.078	.082	.063	.168

ตารางที่ ข-1.11 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	2343.3333	213.61960	123.33333	1812.6728	2873.9938	2220.00	2590.00
1	3	6110.0000	1472.17526	849.96078	2452.9139	9767.0861	4440.00	7220.00
2	3	7223.3333	964.17495	556.66667	4828.1900	9618.4767	6110.00	7780.00
3	3	10380.0000	1176.94520	679.50963	7456.3060	13303.6940	9440.00	11700.00
4	3	13333.3333	1962.99092	1133.33333	8456.9936	18209.6731	12200.00	15600.00
5	3	21833.3333	635.08530	366.66667	20255.6940	23410.9727	21100.00	22200.00
6	3	20933.3333	3689.62509	2130.20604	11767.7965	30098.8702	17800.00	25000.00
7	3	17200.0000	3482.81495	2010.80415	8548.2080	25851.7920	14400.00	21100.00
8	3	18266.6667	1096.96551	633.33333	15541.6533	20991.6801	17000.00	18900.00
9	3	18733.3333	2627.41952	1516.94137	12206.4614	25260.2052	16700.00	21700.00
10	3	19266.6667	3536.00528	2041.51360	10482.7426	28050.5907	16700.00	23300.00
11	3	20366.6667	3863.07304	2230.34626	10770.2612	29963.0721	16700.00	24400.00
12	3	20566.6667	2409.01086	1390.84307	14582.3519	26550.9814	17800.00	22200.00
13	3	20966.6667	635.08530	366.66667	19389.0273	22544.3060	20600.00	21700.00
14	3	20733.3333	1270.17059	733.33333	17578.0547	23888.6120	20000.00	22200.00
15	3	20033.3333	5870.54796	3389.36244	5450.0838	34616.5829	13900.00	25600.00
Total	48	16143.1250	6495.29295	937.51478	14257.0885	18029.1615	2220.00	25600.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1758186164.583	15	117212410.972	16.693	.000
Within Groups	224688866.667	32	7021527.083		
Total	1982875031.250	47			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	2343.3333				
1	3	6110.0000	6110.0000			
2	3		7223.3333			
3	3		10380.0000	10380.0000		
4	3			13333.3333	13333.3333	
7	3				17200.0000	17200.0000
8	3					18266.6667
9	3					18733.3333
10	3					19266.6667
15	3					20033.3333
11	3					20366.6667
12	3					20566.6667
14	3					20733.3333
6	3					20933.3333
13	3					20966.6667
5	3					21833.3333
Sig.		.091	.070	.182	.083	.079

ตารางที่ ข-1.12 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุด

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
BA 0	3	20266.6667	2914.33240	1682.59060	13027.0636	27506.2697	17200.00	23000.00
BA0.5	3	24066.6667	2814.84162	1625.14957	17074.2125	31059.1209	21100.00	26700.00
BA1	3	20766.6667	288.67513	166.66667	20049.5579	21483.7755	20600.00	21100.00
BA5	3	21966.6667	1738.77351	1003.88136	17647.3138	26286.0195	20000.00	23300.00
BA10	3	21833.3333	635.08530	366.66667	20255.6940	23410.9727	21100.00	22200.00
Total	15	18195.3333	8386.35360	2165.34719	13551.1255	22839.5412	1110.00	26700.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	959484640.000	4	239871160.000	95.383	.000
Within Groups	25148333.333	10	2514833.333		
Total	984632973.333	14			

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
BA0	3	20266.6667		
BA1	3		20766.6667	
BA10	3		21833.3333	21833.3333
BA5	3		21966.6667	21966.6667
BA0.5	3			24066.6667
Sig.		1.000	.397	.130

ข-2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

ตารางที่ ข-2.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ NAA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	.6360	.22141	.12783	.0860	1.1860	.50	.89
NAA0.5	3	.5676	.20761	.11986	.0519	1.0833	.40	.80
NAA1	3	.5274	.14714	.08495	.1619	.8929	.36	.61
NAA5	3	.6826	.12002	.06930	.3844	.9807	.56	.79
NAA10	3	.7707	.12788	.07383	.4530	1.0883	.62	.86
Total	15	.6368	.16890	.04361	.5433	.7304	.36	.89

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.110	4	.028	.954	.473
Within Groups	.289	10	.029		
Total	.399	14			

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05
		1
NAA1	3	.5274
NAA0.5	3	.5676
0	3	.6360
NAA5	3	.6826
NAA10	3	.7707
Sig.		.138

ตารางที่ ข-2.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ BA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	.6360	.22141	.12783	.0860	1.1860	.50	.89
BA0.5	3	.6214	.12267	.07082	.3167	.9261	.52	.76
BA1	3	.6051	.09768	.05640	.3624	.8477	.49	.67
BA5	3	.4331	.01859	.01073	.3869	.4793	.42	.45
BA10	3	.4956	.05309	.03065	.3637	.6275	.45	.55
Total	15	.5582	.13335	.03443	.4844	.6321	.42	.89

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.095	4	.024	1.553	.260
Within Groups	.154	10	.015		
Total	.249	14			

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05
		1
BA5	3	.4331
BA10	3	.4956
BA1	3	.6051
BA0.5	3	.6214
0	3	.6360
Sig.		.095

ข-3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

ตารางที่ ข-3.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
controlวันที่3	3	.0133	.00577	.00333	-.0010	.0277	.01	.02
controlวันที่6	3	.0133	.00577	.00333	-.0010	.0277	.01	.02
controlวันที่10	3	.0467	.02082	.01202	-.0050	.0984	.03	.07
NAA5วันที่3	3	.0167	.00577	.00333	.0023	.0310	.01	.02
NAA5วันที่6	3	.0300	.01000	.00577	.0052	.0548	.02	.04
NAA5วันที่10	3	.0867	.04509	.02603	-.0253	.1987	.04	.13
BA0.5วันที่3	3	.0133	.00577	.00333	-.0010	.0277	.01	.02
BA0.5วันที่6	3	.0467	.01155	.00667	.0180	.0754	.04	.06
BA0.5วันที่10	3	.0900	.01000	.00577	.0652	.1148	.08	.10
Total	27	.0396	.03311	.00637	.0265	.0527	.01	.13

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.023	8	.003	8.679	.000
Within Groups	.006	18	.000		
Total	.028	26			

Duncan[a]

	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
controlวันที่3	3	.0133	
controlวันที่6	3	.0133	
BA0.5วันที่3	3	.0133	
NAA5วันที่3	3	.0167	
NAA5วันที่6	3	.0300	
controlวันที่10	3	.0467	
BA0.5วันที่6	3	.0467	
NAA5วันที่10	3		.0867
BA0.5วันที่10	3		.0900
Sig.		.061	.824

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ข-4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของขนาดเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

ตารางที่ ข-4.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของขนาดเซลล์ของสาหร่าย *H. pluvialis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BBM ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
controlวันที่3	30	38.6667	12.52125	2.28606	33.9912	43.3422	15.00	50.00
controlวันที่6	30	24.6667	6.28810	1.14805	22.3187	27.0147	20.00	40.00
controlวันที่10	30	28.0000	7.61124	1.38962	25.1579	30.8421	20.00	40.00
NAA5วันที่3	30	37.5000	10.40143	1.89903	33.6160	41.3840	20.00	70.00
NAA5วันที่6	30	25.3333	9.73204	1.77682	21.6993	28.9673	10.00	50.00
NAA5วันที่10	30	22.5000	3.41144	.62284	21.2261	23.7739	20.00	30.00
BA0.5วันที่3	30	32.5000	13.81840	2.52288	27.3401	37.6599	15.00	65.00
BA0.5วันที่6	30	24.1667	6.30863	1.15179	21.8110	26.5223	15.00	40.00
BA0.5วันที่10	30	24.6667	7.30297	1.33333	21.9397	27.3936	10.00	40.00
Total	270	28.6667	10.67777	.64983	27.3873	29.9461	10.00	70.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8836.667	8	1104.583	13.204	.000
Within Groups	21833.333	261	83.653		
Total	30670.000	269			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
NAA5วันที่10	30	22.5000			
BA0.5วันที่6	30	24.1667	24.1667		
controlวันที่6	30	24.6667	24.6667		
BA0.5วันที่10	30	24.6667	24.6667		
NAA5วันที่6	30	25.3333	25.3333		
controlวันที่10	30		28.0000	28.0000	
BA0.5วันที่3	30			32.5000	
NAA5วันที่3	30				37.5000
controlวันที่3	30				38.6667
Sig.		.294	.152	.058	.622

ข-5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

ตารางที่ ข-5.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	21100.0000	1905.25589	1100.00000	16367.0820	25832.9180	20000.00	23300.00
1	3	12000000.0000	1539480.43183	888819.44173	8175718.6028	15824281.3972	1.07E+7	1.37E+7
2	3	99766666.6667	1365039.68196	788106.02784	96375720.1147	103157613.2187	9.83E+7	1.01E+8
3	3	106666666.6667	3511884.58428	2027587.51010	97942661.7315	115390671.6018	1.03E+8	1.10E+8
4	3	109333333.3333	6506407.09865	3756475.88986	93170522.0916	125496144.5751	1.03E+8	1.16E+8
5	3	110000000.0000	13076696.83062	7549834.43527	77515684.2579	142484315.7421	1.01E+8	1.25E+8
6	3	105666666.6667	4509249.75282	2603416.55864	94465069.3040	116868264.0294	1.01E+8	1.10E+8
7	3	107333333.3333	4725815.62625	2728450.92396	95593756.5174	119072910.1493	1.02E+8	1.11E+8
Total	24	81348470.8333	44899822.00835	9165137.78852	62388938.7966	100308002.8701	20000.00	1.25E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4582272903617626 4.000	7	654610414802518 1.000	192.132	.000
Within Groups	545133340593333.400	16	34070833787083.336		
Total	4636786237676960 0.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	21100.0000		
1	3		12000000.0000	
2	3			99766666.6667
6	3			105666666.6667
3	3			106666666.6667
7	3			107333333.3333
4	3			109333333.3333
5	3			110000000.0000
Sig.		1.000	1.000	.072

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข-5.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	13300.0000	.00000	.00000	13300.0000	13300.0000	13300.00	13300.00
1	3	1426666.6667	177857.62096	102686.14534	984843.8431	1868489.4902	1.27E+6	1.62E+6
2	3	103000000.0000	3605551.27546	2081665.99947	94043314.1050	111956685.8950	9.90E+7	1.06E+8
3	3	107666666.6667	4041451.88433	2333333.33333	97627143.6306	117706189.7027	1.03E+8	1.10E+8
4	3	114666666.6667	9018499.50565	5206833.11727	92263471.9413	137069861.3920	1.06E+8	1.24E+8
5	3	108000000.0000	6928203.23028	4000000.00000	90789389.0810	125210610.9190	1.04E+8	1.16E+8
6	3	98500000.0000	16601505.95579	9584883.93253	57259572.9834	139740427.0166	8.49E+7	1.17E+8
7	3	101933333.3333	8649470.11865	4993773.90135	80446858.4249	123419808.2417	9.28E+7	1.10E+8
Total	24	79400829.1667	47105422.83661	9615354.17231	59509953.5812	99291704.7521	13300.00	1.24E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	50016936527502912.000	7	7145276646786130.000	112.276	.000
Within Groups	1018243266666666.600	16	63640204166666.664		
Total	51035179794169576.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	13300.0000		
1	3	1426666.6667		
6	3		98500000.0000	
7	3		101933333.3333	101933333.3333
2	3		103000000.0000	103000000.0000
3	3		107666666.6667	107666666.6667
5	3		108000000.0000	108000000.0000
4	3			114666666.6667
Sig.		.831	.206	.095

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข-5.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	14433.3333	1962.99092	1133.33333	9556.9936	19309.6731	13300.00	16700.00
1	3	1310000.0000	10000.00000	5773.50269	1285158.6229	1334841.3771	1.30E+6	1.32E+6
2	3	78833333.3333	1040832.99973	600925.21258	76247760.8271	81418905.8396	7.80E+7	8.00E+7
3	3	100200000.0000	6437390.77577	3716629.29727	84208634.8086	116191365.1914	9.42E+7	1.07E+8
4	3	105333333.3333	2081665.99947	1201850.42515	100162188.3208	110504478.3459	1.03E+8	1.07E+8
5	3	100666666.6667	1527525.23165	881917.10369	96872083.6331	104461249.7003	9.90E+7	1.02E+8
6	3	98866666.6667	2318045.15343	1338323.99333	93108323.2835	104625010.0498	9.64E+7	1.01E+8
7	3	94133333.3333	2900574.65571	1674647.55828	86927906.4453	101338760.2213	9.12E+7	9.70E+7
Total	24	72419720.8333	43046130.94708	8786754.68511	54242933.8831	90596507.7836	13300.00	1.07E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42492342417759584.000	7	6070334631108512.000	771.120	.000
Within Groups	125953541040000.020	16	7872096315000.001		
Total	42618295958799584.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	14433.3333				
1	3	1310000.0000				
2	3		78833333.3333			
7	3			94133333.3333		
6	3			98866666.6667	98866666.6667	
3	3				100200000.0000	
5	3				100666666.6667	100666666.6667
4	3					105333333.3333
Sig.		.580	1.000	.055	.468	.059

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข-5.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	13333.3333	3350.12438	1934.19521	5011.1630	21655.5036	10000.00	16700.00
1	3	1966666.6667	224796.20400	129786.14889	1408241.9388	2525091.3945	1.72E+6	2.16E+6
2	3	82700000.0000	7660287.20088	4422668.87750	63670791.6815	101729208.3185	7.43E+7	8.93E+7
3	3	95666666.6667	9108969.93811	5259066.24581	73038730.9282	118294602.4051	8.88E+7	1.06E+8
4	3	102100000.0000	5850640.99052	3377869.15081	87566202.0775	116633797.9225	9.63E+7	1.08E+8
5	3	96700000.0000	4635730.79460	2676440.42215	85184206.3116	108215793.6884	9.14E+7	1.00E+8
6	3	93733333.3333	4535783.65151	2618735.91219	82465822.1123	105000844.5544	8.86E+7	9.72E+7
7	3	91133333.3333	7637626.15826	4409585.51844	72160418.1653	110106248.5013	8.28E+7	9.78E+7
Total	24	70501666.6667	41622733.59236	8496204.91676	52925927.7059	88077405.6274	10000.00	1.08E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39293733800000000.000	7	5613390542857143.000	162.512	.000
Within Groups	552661089113333.400	16	34541318069583.336		
Total	39846394889113336.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	13333.3333		
1	3	1966666.6667		
2	3		82700000.0000	
7	3		91133333.3333	91133333.3333
6	3			93733333.3333
3	3			95666666.6667
5	3			96700000.0000
4	3			102100000.0000
Sig.		.689	.098	.054

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข-5.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	23866.6667	981.49546	566.66667	21428.4968	26304.8365	23300.00	25000.00
1	3	12600000.0000	264575.13111	152752.52317	11942758.9392	13257241.0608	1.24E+7	1.29E+7
2	3	89000000.0000	8227393.26883	4750087.71849	68562022.1115	109437977.8885	8.02E+7	9.65E+7
3	3	95800000.0000	5574943.94591	3218695.38789	81951071.5031	109648928.4969	9.12E+7	1.02E+8
4	3	106000000.0000	4000000.00000	2309401.07676	96063449.1530	115936550.8470	1.02E+8	1.10E+8
5	3	92866666.6667	8090323.43812	4670950.41483	72769189.1138	112964144.2195	8.66E+7	1.02E+8
6	3	90933333.3333	2203028.21891	1271918.93522	85460707.8547	96405958.8120	8.88E+7	9.32E+7
7	3	86366666.6667	3507610.77278	2025120.02388	77653278.4679	95080054.8655	8.30E+7	9.00E+7
Total	24	71698816.6667	39317373.21336	8025625.19994	55096546.0184	88301087.3149	23300.00	1.10E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35159784235246664.000	7	5022826319320952.000	203.508	.000
Within Groups	394900001926666.750	16	24681250120416.670		
Total	35554684237173332.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	23866.6667			
1	3		12600000.0000		
7	3			86366666.6667	
2	3			89000000.0000	
6	3			90933333.3333	
5	3			92866666.6667	
3	3			95800000.0000	
4	3				106000000.0000
Sig.		1.000	1.000	.051	1.000

ตารางที่ ข-5.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุด

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
NAA 0	3	110000000.0000	13076696.83062	7549834.43527	77515684.2579	142484315.7421	1.01E+8	1.25E+8
NAA 0.5	3	114666666.6667	9018499.50565	5206833.11727	92263471.9413	137069861.3920	1.06E+8	1.24E+8
NAA 1	3	105333333.3333	2081665.99947	1201850.42515	100162188.3208	110504478.3459	1.03E+8	1.07E+8
NAA 5	3	101333333.3333	7023769.16857	4055175.02020	83885323.4631	118781343.2036	9.40E+7	1.08E+8
NAA 10	3	106000000.0000	4000000.00000	2309401.07676	96063449.1530	115936550.8470	1.02E+8	1.10E+8
Total	15	107466666.6667	8245056.23880	2128864.36676	102900706.7125	112032626.6209	9.40E+7	1.25E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	307733333333333.800	4	76933333333333.450	1.195	.371
Within Groups	644000000000000.000	10	64400000000000.000		
Total	951733333333333.800	14			

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05
		1
NAA 5	3	101333333.3333
NAA 1	3	105333333.3333
NAA 10	3	106000000.0000
NAA 0	3	110000000.0000
NAA0.5	3	114666666.6667
Sig.		.091

ตารางที่ ข-5.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	21100.0000	1905.25589	1100.00000	16367.0820	25832.9180	20000.00	23300.00
1	3	12000000.0000	1539480.43183	888819.44173	8175718.6028	15824281.3972	1.07E+7	1.37E+7
2	3	99766666.6667	1365039.68196	788106.02784	96375720.1147	103157613.2187	9.83E+7	1.01E+8
3	3	106666666.6667	3511884.58428	2027587.51010	97942661.7315	115390671.6018	1.03E+8	1.10E+8
4	3	109333333.3333	6506407.09865	3756475.88986	93170522.0916	125496144.5751	1.03E+8	1.16E+8
5	3	110000000.0000	13076696.83062	7549834.43527	77515684.2579	142484315.7421	1.01E+8	1.25E+8
6	3	105666666.6667	4509249.75282	2603416.55864	94465069.3040	116868264.0294	1.01E+8	1.10E+8
7	3	107333333.3333	4725815.62625	2728450.92396	95593756.5174	119072910.1493	1.02E+8	1.11E+8
Total	24	81348470.8333	44899822.00835	9165137.78852	62388938.7966	100308002.8701	20000.00	1.25E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	45822729036176264.000	7	6546104148025181.000	192.132	.000
Within Groups	545133340593333.400	16	34070833787083.336		
Total	46367862376769600.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	21100.0000		
1	3		12000000.0000	
2	3			99766666.6667
6	3			105666666.6667
3	3			106666666.6667
7	3			107333333.3333
4	3			109333333.3333
5	3			110000000.0000
Sig.		1.000	1.000	.072

ตารางที่ ข-5.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	11100.0000	1905.25589	1100.00000	6367.0820	15832.9180	10000.00	13300.00
1	3	660000.0000	176705.97047	102021.23962	221038.0349	1098961.9651	460000.00	795000.00
2	3	80266666.6667	13804467.87578	7970013.24410	45974467.4258	114558865.9075	6.53E+7	9.25E+7
3	3	99300000.0000	5855766.38878	3380828.30088	84753469.8824	113846530.1176	9.33E+7	1.05E+8
4	3	101000000.0000	2000000.00000	1154700.53838	96031724.5765	105968275.4235	9.90E+7	1.03E+8
5	3	102400000.0000	6023288.13855	3477547.02820	87437322.7863	117362677.2137	9.72E+7	1.09E+8
6	3	104000000.0000	7810249.67591	4509249.75282	84598264.2419	123401735.7581	9.90E+7	1.13E+8
7	3	96133333.3333	6066575.09088	3502538.76178	81063125.3689	111203541.2978	9.15E+7	1.03E+8
Total	24	72971387.5000	43775265.09178	8935588.56916	54486714.2028	91456060.7972	10000.00	1.13E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43348362388092920.000	7	6192623198298989.000	136.489	.000
Within Groups	725935790593333.200	16	45370986912083.330		
Total	44074298178686256.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	11100.0000		
1	3	660000.0000		
2	3		80266666.6667	
7	3			96133333.3333
3	3			99300000.0000
4	3			101000000.0000
5	3			102400000.0000
6	3			104000000.0000
Sig.		.908	1.000	.214

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข-5.9 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	20000.0000	.00000	.00000	20000.0000	20000.0000	20000.00	20000.00
1	3	1058333.3333	88928.81048	51343.07267	837421.9216	1279244.7451	995000.00	1.16E+6
2	3	87533333.3333	4654388.61005	2687212.51692	75971191.0620	99095475.6047	8.30E+7	9.23E+7
3	3	95933333.3333	7422488.35185	4285375.64800	77494850.1035	114371816.5632	8.82E+7	1.03E+8
4	3	100600000.0000	11743508.84532	6780117.99307	71427506.8091	129772493.1909	9.21E+7	1.14E+8
5	3	112866666.6667	21887287.02542	12636631.05596	58495631.5589	167237701.7744	8.76E+7	1.26E+8
6	3	110766666.6667	21117843.95561	12192392.89247	58307034.1057	163226299.2276	9.63E+7	1.35E+8
7	3	109966666.6667	11415048.54713	6590481.35150	81610114.0893	138323219.2441	9.69E+7	1.18E+8
Total	24	77343125.0000	47197872.82911	9634225.44801	57413211.2065	97273038.7935	20000.00	1.35E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48695712440625000.000	7	6956530348660714.000	43.821	.000
Within Groups	2539989149999999.500	16	158749321874999.970		
Total	51235701590625000.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	20000.0000		
1	3	1058333.3333		
2	3		87533333.3333	
3	3		95933333.3333	95933333.3333
4	3		100600000.0000	100600000.0000
7	3		109966666.6667	109966666.6667
6	3		110766666.6667	110766666.6667
5	3			112866666.6667
Sig.		.921	.057	.156

ตารางที่ ข-5.10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	13333.3333	3350.12438	1934.19521	5011.1630	21655.5036	10000.00	16700.00
1	3	1073333.3333	32145.50254	18559.21454	993479.4782	1153187.1884	1.05E+6	1.11E+6
2	3	102666666.6667	577350.26919	333333.33333	101232449.0901	104100884.2432	1.02E+8	1.03E+8
3	3	104666666.6667	2516611.47842	1452966.31451	98415057.1873	110918276.1460	1.02E+8	1.07E+8
4	3	106666666.6667	7234178.13807	4176654.69538	88695971.9404	124637361.3930	1.02E+8	1.15E+8
5	3	121666666.6667	6429100.50733	3711842.90855	105695895.6438	137637437.6896	1.17E+8	1.29E+8
6	3	102433333.3333	4045161.71906	2335475.20741	92384594.5569	112482072.1098	9.93E+7	1.07E+8
7	3	98533333.3333	9187672.90087	5304505.42254	75709888.5971	121356778.0696	9.18E+7	1.09E+8
Total	24	79715000.0000	47333543.28398	9661919.06364	59727797.5977	99702202.4023	10000.00	1.29E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51128457266666688.000	7	7304065323809527.000	290.549	.000
Within Groups	402222089113333.300	16	25138880569583.332		
Total	51530679355780024.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	13333.3333		
1	3	1073333.3333		
7	3		98533333.3333	
6	3		102433333.3333	
2	3		102666666.6667	
3	3		104666666.6667	
4	3		106666666.6667	
5	3			121666666.6667
Sig.		.799	.090	1.000

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข-5.11 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	11666.6667	2886.75135	1666.66667	4495.5788	18837.7545	10000.00	15000.00
1	3	1033333.3333	11547.00538	6666.66667	1004648.9818	1062017.6849	1.02E+6	1.04E+6
2	3	74366666.6667	1401189.97047	808977.40663	70885917.8197	77847415.5136	7.28E+7	7.55E+7
3	3	104000000.0000	2000000.00000	1154700.53838	99031724.5765	108968275.4235	1.02E+8	1.06E+8
4	3	102000000.0000	1732050.80757	1000000.00000	97697347.2703	106302652.7297	1.01E+8	1.04E+8
5	3	102433333.3333	2713546.26519	1566666.66667	95692510.7234	109174155.9433	9.93E+7	1.04E+8
6	3	101133333.3333	2802379.94093	1617954.81327	94171835.6394	108094831.0273	9.84E+7	1.04E+8
7	3	96700000.0000	1212435.56530	700000.00000	93688143.0892	99711856.9108	9.54E+7	9.78E+7
Total	24	72709791.6667	43558487.77866	8891339.08541	54316655.4008	91102927.9325	10000.00	1.06E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43587562440625000.000	7	6226794634375000.000	1942.069	.000
Within Groups	51300283333333.330	16	3206267708333.333		
Total	43638862723958336.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	11666.6667			
1	3	1033333.3333			
2	3		74366666.6667		
7	3			96700000.0000	
6	3				101133333.3333
4	3				102000000.0000
5	3				102433333.3333
3	3				104000000.0000
Sig.		.495	1.000	1.000	.089

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข-5.12 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุด

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
BA 0	3	110000000.0000	13076696.83062	7549834.43527	77515684.2579	142484315.7421	1.01E+8	1.25E+8
BA0.5	3	104333333.3333	7505553.49947	4333333.33333	85688504.8378	122978161.8289	1.00E+8	1.13E+8
BA 1	3	112866666.6667	21887287.02542	12636631.05596	58495631.5589	167237701.7744	8.76E+7	1.26E+8
BA 5	3	121666666.6667	6429100.50733	3711842.90855	105695895.6438	137637437.6896	1.17E+8	1.29E+8
BA 10	3	104000000.0000	2000000.00000	1154700.53838	99031724.5765	108968275.4235	1.02E+8	1.06E+8
Total	15	110573333.3333	12351487.28272	3189140.30312	103733307.6653	117413359.0014	8.76E+7	1.29E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	632389333333333.900	4	158097333333333.470	1.052	.429
Within Groups	1503440000000000.000	10	150344000000000.000		
Total	2135829333333334.000	14			

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05
		1
BA 10	3	104000000.0000
BA 0.5	3	104333333.3333
BA 0	3	110000000.0000
BA 1	3	112866666.6667
BA 5	3	121666666.6667
Sig.		.136

ข-6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

ตารางที่ ข-6.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
NA 0	3	2.1232	.12911	.07454	1.8025	2.4439	1.99	2.24
NAA 0.5	3	4.2841	.09157	.05287	4.0566	4.5115	4.18	4.36
NAA 1	3	4.0973	.02062	.01190	4.0461	4.1485	4.08	4.12
NAA 5	3	3.7316	.21158	.12216	3.2060	4.2572	3.51	3.94
NAA 10	3	1.9522	.09668	.05582	1.7120	2.1923	1.86	2.05
Total	15	3.2377	1.03772	.26794	2.6630	3.8123	1.86	4.36

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.917	4	3.729	234.267	.000
Within Groups	.159	10	.016		
Total	15.076	14			

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
NAA 10	3	1.9522		
NA 0	3	2.1232		
NAA 5	3		3.7316	
NAA 1	3			4.0973
NAA 0.5	3			4.2841
Sig.		.128	1.000	.100

ตารางที่ ข-6.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ BA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
BA 0	3	2.1232	.12911	.07454	1.8025	2.4439	1.99	2.24
BA 0.5	3	4.8020	.10849	.06263	4.5325	5.0715	4.68	4.88
BA 1	3	4.4167	.10567	.06101	4.1542	4.6792	4.32	4.53
BA 5	3	4.5610	.02653	.01532	4.4951	4.6269	4.53	4.58
BA 10	3	4.2761	.02447	.01413	4.2154	4.3369	4.25	4.30
Total	15	4.0358	1.00898	.26052	3.4770	4.5946	1.99	4.88

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.171	4	3.543	433.024	.000
Within Groups	.082	10	.008		
Total	14.253	14			

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
control	3	2.1232			
BA 10	3		4.2761		
BA 1	3		4.4167	4.4167	
BA 5	3			4.5610	
BA 0.5	3				4.8020
Sig.		1.000	.086	.079	1.000

ข-7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

ตารางที่ ข-7.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
controlวันที่1	3	.2100	.03464	.02000	.1239	.2961	.19	.25
controlวันที่2	3	.6267	.03055	.01764	.5508	.7026	.60	.66
controlวันที่5	3	.8967	.06110	.03528	.7449	1.0484	.83	.95
NAA0.5วันที่1	3	.2167	.02082	.01202	.1650	.2684	.20	.24
NAA0.5วันที่2	3	.5733	.13051	.07535	.2491	.8975	.45	.71
NAA0.5วันที่5	3	.8333	.11719	.06766	.5422	1.1244	.70	.92
BA5วันที่1	3	.3033	.18824	.10868	-.1643	.7709	.18	.52
BA5วันที่2	3	.5533	.03055	.01764	.4774	.6292	.52	.58
BA5วันที่5	3	1.8000	.86539	.49963	-.3497	3.9497	.92	2.65
Total	27	.6681	.53488	.10294	.4566	.8797	.18	2.65

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.794	8	.724	7.926	.000
Within Groups	1.645	18	.091		
Total	7.439	26			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
controlวันที่1	3	.2100			
NAA0.5วันที่1	3	.2167			
BA5วันที่1	3	.3033	.3033		
BA5วันที่2	3	.5533	.5533	.5533	
NAA0.5วันที่2	3	.5733	.5733	.5733	
controlวันที่2	3	.6267	.6267	.6267	
NAA0.5วันที่5	3		.8333	.8333	
controlวันที่5	3			.8967	
BA5วันที่5	3				1.8000
Sig.		.150	.067	.226	1.000

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ข-8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของขนาดเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

ตารางที่ ข-8.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของขนาดเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ฮอร์โมนพืช

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
controlday1	30	3.8204	.72500	.13237	3.5497	4.0912	2.61	5.60
controlday2	30	3.6711	.48114	.08784	3.4915	3.8508	2.99	4.48
controlday5	30	3.9324	.58607	.10700	3.7136	4.1513	2.24	4.48
NAAday1	30	3.7956	.74720	.13642	3.5165	4.0746	2.24	5.97
NAAday2	30	3.7333	.45986	.08396	3.5616	3.9050	2.99	4.48
NAAday5	30	3.6338	.59583	.10878	3.4113	3.8563	2.61	4.48
BAday1	30	3.5964	.50454	.09212	3.4080	3.7848	2.61	4.48
BAday2	30	3.6213	.50136	.09154	3.4341	3.8085	2.61	4.48
BAday5	30	3.7582	.51817	.09460	3.5647	3.9517	2.61	4.48
Total	270	3.7292	.57808	.03518	3.6599	3.7985	2.24	5.97

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.899	8	.362	1.087	.372
Within Groups	86.995	261	.333		
Total	89.894	269			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05
		1
BAday1	30	3.5964
BAday2	30	3.6213
NAAday5	30	3.6338
controlday2	30	3.6711
NAAday2	30	3.7333
BAday5	30	3.7582
NAAday1	30	3.7956
controlday1	30	3.8204
controlday5	30	3.9324
Sig.		.057

ข-9 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ฮอร์โมนพืชร่วมกัน

ตารางที่ ข-9.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ไม่ใส่ฮอร์โมนพืช

วันที่	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	21100.0000	1905.25589	1100.00000	16367.0820	25832.9180	20000.00	23300.00
1	3	12000000.0000	1539480.43183	888819.44173	8175718.6028	15824281.3972	1.07E+7	1.37E+7
2	3	99766666.6667	1365039.68196	788106.02784	96375720.1147	103157613.2187	9.83E+7	1.01E+8
3	3	106666666.6667	3511884.58428	2027587.51010	97942661.7315	115390671.6018	1.03E+8	1.10E+8
4	3	109333333.3333	6506407.09865	3756475.88986	93170522.0916	125496144.5751	1.03E+8	1.16E+8
5	3	110000000.0000	13076696.83062	7549834.43527	77515684.2579	142484315.7421	1.01E+8	1.25E+8
6	3	105666666.6667	4509249.75282	2603416.55864	94465069.3040	116868264.0294	1.01E+8	1.10E+8
7	3	107333333.3333	4725815.62625	2728450.92396	95593756.5174	119072910.1493	1.02E+8	1.11E+8
Total	24	81348470.8333	44899822.00835	9165137.78852	62388938.7966	100308002.8701	20000.00	1.25E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	45822729036176264.000	7	6546104148025181.000	192.132	.000
Within Groups	545133340593333.400	16	34070833787083.336		
Total	46367862376769600.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	21100.0000		
1	3		12000000.0000	
2	3			99766666.6667
6	3			105666666.6667
3	3			106666666.6667
7	3			107333333.3333
4	3			109333333.3333
5	3			110000000.0000
Sig.		1.000	1.000	.072

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข-9.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วน 1:1 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	15566.6667	1962.99092	1133.33333	10690.3269	20443.0064	13300.00	16700.00
1	3	1069000.0000	126107.09734	72807.96660	755732.6038	1382267.3962	967000.00	1.21E+6
2	3	90533333.3333	1006644.59137	581186.52581	88032689.5416	93033977.1251	8.96E+7	9.16E+7
3	3	91266666.6667	4100406.48392	2367370.78728	81080692.2865	101452641.0469	8.88E+7	9.60E+7
4	3	89033333.3333	5314445.72212	3068296.66826	75831518.2980	102235148.3687	8.52E+7	9.51E+7
5	3	83333333.3333	305505.04633	176383.42074	82574416.7266	84092249.9401	8.30E+7	8.36E+7
6	3	82400000.0000	2705549.85169	1562049.93518	75679041.5824	89120958.4176	7.96E+7	8.50E+7
7	3	82666666.6667	2193931.02292	1266666.66667	77216639.8757	88116693.4577	8.02E+7	8.44E+7
Total	24	65039737.5000	38254554.67399	7808678.27406	48886255.7611	81193219.2389	13300.00	9.60E+7

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33541826778976252.000	7	4791689539853750.000	657.380	.000
Within Groups	116625147040000.000	16	7289071690000.000		
Total	33658451926016252.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	15566.6667		
1	3	1069000.0000		
6	3		82400000.0000	
7	3		82666666.6667	
5	3		83333333.3333	
4	3			89033333.3333
2	3			90533333.3333
3	3			91266666.6667
Sig.		.639	.694	.352

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข-9.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วน 1:1 ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	13333.3333	3350.12438	1934.19521	5011.1630	21655.5036	10000.00	16700.00
1	3	1440000.0000	55677.64363	32145.50254	1301689.0658	1578310.9342	1.38E+6	1.49E+6
2	3	76466666.6667	1890326.25050	1091380.36958	71770835.9403	81162497.3930	7.50E+7	7.86E+7
3	3	75866666.6667	3208322.51080	1852325.86526	67896751.7261	83836581.6072	7.28E+7	7.92E+7
4	3	77966666.6667	1450287.32785	837323.77914	74363953.2227	81569380.1107	7.65E+7	7.94E+7
5	3	78666666.6667	3177000.68199	1834242.19896	70774559.4623	86558773.8710	7.50E+7	8.06E+7
6	3	79400000.0000	3143246.72910	1814754.34518	71591742.2629	87208257.7371	7.66E+7	8.28E+7
7	3	77600000.0000	2946183.97253	1700980.10962	70281273.2881	84918726.7119	7.58E+7	8.10E+7
Total	24	58427500.0000	34105801.75417	6961817.63052	44025882.9763	72829117.0237	10000.00	8.28E+7

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26664478516666664.000	7	3809211216666666.500	682.862	.000
Within Groups	89252889113333.330	16	5578305569583.333		
Total	26753731405779996.000	23			

Duncan[a]

วันที่	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	13333.3333	
1	3	1440000.0000	
3	3		75866666.6667
2	3		76466666.6667
7	3		77600000.0000
4	3		77966666.6667
5	3		78666666.6667
6	3		79400000.0000
Sig.		.470	.121

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข-9.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ที่มีจำนวนเซลล์สูงสุด

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	110000000.0000	13076696.83062	7549834.43527	77515684.2579	142484315.7421	1.01E+8	1.25E+8
1:1	3	91266666.6667	4100406.48392	2367370.78728	81080692.2865	101452641.0469	8.88E+7	9.60E+7
10:10	3	79400000.0000	3143246.72910	1814754.34518	71591742.2629	87208257.7371	7.66E+7	8.28E+7
Total	9	93555555.5556	15097608.34628	5032536.11543	81950506.4628	105160604.6483	7.66E+7	1.25E+8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1428115555555555.500	2	714057777777777.800	10.836	.010
Within Groups	395386666666666.700	6	65897777777777.780		
Total	1823502222222222.200	8			

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
10:10	3	79400000.0000	
1:1	3	91266666.6667	
0	3		110000000.0000
Sig.		.124	1.000

ข-10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ฮอร์โมนพืชร่วมกัน

ตารางที่ ข-10.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่ใส่ NAA ร่วมกับ BA ในอัตราส่วน 1:1 ที่ความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	2.1233	.12583	.07265	1.8108	2.4359	1.99	2.24
1:1	3	4.4435	.12606	.07278	4.1303	4.7566	4.30	4.55
10:10	3	3.9725	.06332	.03656	3.8152	4.1298	3.92	4.04
NAA0.5	3	4.2867	.09452	.05457	4.0519	4.5215	4.18	4.36
NAA1	3	4.0967	.02082	.01202	4.0450	4.1484	4.08	4.12
BA0.5	3	4.8033	.10786	.06227	4.5354	5.0713	4.68	4.88
Total	18	3.9543	.88930	.20961	3.5121	4.3966	1.99	4.88

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.331	5	2.666	281.970	.000
Within Groups	.113	12	.009		
Total	13.444	17			

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
control	3	2.1233			
10:10	3		3.9725		
NAA1	3		4.0967		
NAA0.5	3			4.2867	
1:1	3			4.4435	
BA0.5	3				4.8033
Sig.		1.000	.144	.072	1.000