การคัดแยกสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่ผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์และฤทธิ์ทางชีวภาพ

SCREENING OF FRESH WATER MICROALGAE FOR SULFATE POLYSACCHARIDE PRODUCTION AND BIOACTIVITIES

กัญญาณัท ศรีเทียน
จิตชาดา เมฆวะทัต
ชลาลัย พูนพอกสิน

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

การคัดแยกสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่ผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์และฤทธิ์ทางชีวภาพ

SCREENING OF FRESH WATER MICROALGAE FOR SULFATE POLYSACCHARIDE PRODUCTION AND BIOACTIVITIES

กัญญาณัท ศรีเทียน

จิตชาดา เมฆวะทัต

ชลาลัย พูนพอกสิน

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SCREENING OF FRESH WATER MICROALGAE FOR SULFATE POLYSACCHARIDE PRODUCTION AND BIOACTIVITIES

KANYANAT SRITHAIN
JITCHADA MAKVATUA
CHALALAI POONPOKSIN

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 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวโครงงานพิเศษ	การคัดแยกสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่ผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์และฤทธิ์ทางชีวภาพ Screening of Fresh Water Microalgae for Sulfate Polysaccharide Production and Bioactivities			
ชื่อนักศึกษา	กัญญาณัท	ศรีเทียน	รหัสนักศึกษา	56050963
	จิตชาดา	เมฆวะทัต	รหัสนักศึกษา	56050967
	ชลาลัย	พูนพอกสิน	รหัสนักศึกษา	56050976
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)			
ภาควิชา	ชีววิทยา			
ปีการศึกษา	2559			
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. วีนา ชูโชติ			

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร. ดวงกมล เรือนงาม กรรมการ	
ผศ. วีนา ชูโชติ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

T149513

หัวโครงงานพิเศษ การคัดแยกสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่ผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์และฤทธิ์ทางชีวภาพ

ชื่อนักศึกษา
กัญญาณัท ศรีเทียน รหัสนักศึกษา 56050963
จิตชาดา เมฆวะทัต รหัสนักศึกษา 56050967
ชลาลัย พูนพอกสิน รหัสนักศึกษา 56050976

ปริญญา วิทยาศาตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา ชีววิทยา
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา 2559
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. วีนา ชูโชติ

บทคัดย่อ

การคัดแยกสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่สามารถผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาร์ไรด์ 20 สายพันธุ์ ด้วยอาหารสูตร N-8 ปริมาตร 120 มิลลิลิตร ในฟลากส์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่า *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 สามารถผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ได้สูงสุด จึงคัดเลือกสาหร่าย 3 สายพันธุ์ นี้มาศึกษาการเจริญและการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ โดยเพาะเลี้ยงในระดับถังขนาด 6 ลิตร ด้วยอาหารสูตร N-8 ปริมาตร 4 ลิตร ให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง (35 องศาเซลเซียส) และให้อากาศอย่างต่อเนื่อง พบว่า *Chlamydomonas* sp. P2-59 มีการเจริญและผลิตซัลเฟตได้ดีที่สุด เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 8 ของการทดลอง โดยมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูงสุดเท่ากับ 3.582±0.57 กรัมต่อลิตร และ 41.69±3.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า *Scenedesmus* sp. M10 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชได้สูงสุดร้อยละ 47.194±0.19 และการทดสอบฤทธิ์ในการเป็นสารต้านมะเร็ง พบว่า สารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ และ เซลล์ไตของลิง

คำสำคัญ : ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ สาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก การต้านอนุมูลอิสระ การต้านมะเร็ง น้ำตาลทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Screening of Fresh Water Microalgae for Sulfate Polysaccharide Production and Bioactivities			
Students	Kanyanat	Srithain	Student ID	56050963
	Jitchada	Makvatut	Student ID	56050967
	Chalalai	Poonpoksin	Student ID	56050976
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)			
Department	Biology			
Faculty	Science			
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)			
Academic Year	2016			
Advisor	Asst.Prof. Weena Choochote			

Abstract

Twenty strains of freshwater microalgae were screened for sulfate polysaccharide (SPs). They were grown in 120 ml of N-8 medium at 30°C for 18 days. The results show that three isolates including *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 and *Selenastrum* sp. F15 were cultured in a 6-liter bottle contanining of 4 L N-8 medium at 35°C for 12 days. The algae were continuously exposed to light with fluorescent lamp (intensity at 5,000 lux) with aerobic condition. Among these three isolates, *Chlamydomonas* sp. P2-59 produced the highest amount of SPs and total sugar, 3.582±0.57 g/L and 41.69 g/L respectively. The bioactivities including antioxidant and anticancer of crude extracts from the three isolates were investigated. An extract from *Scenedesmus* sp. M10 had antioxidant at 47.194 %. However, none of these extracts from the three algae had anticancer activity against the MCF-7, HT-29 and Vero cell.

Keywords : Sulfate polysaccharide , Fresh water microalgae , Antioxidant , Anticancer , Total sugar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ ได้จัดทำตามหลักสูตรวิทยาศาตรบัณฑิต ซึ่งได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ทางคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ. วีนา ชูโชติ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ให้คำแนะนำและให้ความรู้ในการค้นคว้าและดำเนินงานวิจัย อีกทั้งให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆเพื่อให้โครงงานพิเศษเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. จิตติ ท่าไว และ ผศ.ดร. ดวงกมล เรือนงาม ที่ได้ให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ และอำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆสำหรับการทดลองในโครงงานพิเศษนี้

สุดท้ายนี้ขอบพระคุณบิดา มารดาที่ให้การสนับสนุนและให้กำลังใจในการทำโครงงานพิเศษ พี่นักศึกษาปริญญาโท เพื่อนๆทุกคนที่ให้ความร่วมมือ และช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

กัญญาณัท ศรีเทียน

จิตชาดา เมฆวะทัต

ชลาลัย พูนพอกสิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ญ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 สาหร่าย	3
2.2 สาหร่ายสีเขียว	3
2.2.1 สาหร่าย *Chlorella* sp.	4
2.2.2 สาหร่าย *Scenedesmus* sp.	5
2.2.3 สาหร่าย *Chlamydomonas* sp.	6
2.2.4 สาหร่าย *Chlorococcum* sp.	7
2.2.5 สาหร่าย *Selenastrum* sp.	8
2.3 ส่วนประกอบของเซลล์สาหร่าย	9
2.4 ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย	10
2.5 อาหารและสารอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย	11
2.5.1 ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย	11
2.5.2 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย	11
2.6 พอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย	12
2.6.1 แป้ง	12
2.6.2 เซลลูโลส (Cellose)	13
2.6.3 สารเมือก (พอลิแซคคาไรด์)	13
2.6.4 ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ (Sulfated Polysaccharide)	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมสารพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 14
2.7.1 แหล่งอาหาร 14
2.7.2 รูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 14
2.7.3 ความเข้มแสง 15
2.7.4 ค่าพีเอช 15
2.8 การสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ 15
2.8.1 วิธีการสกัดพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายสไปรูลิน่า 15
2.8.2 วิธีการสกัดพอลิแซคคาไรด์ที่ปล่อยออกนอกเซลล์ 15
2.9 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ 16
2.9.1 อนุมูลอิสระ 16
2.9.2 สารต้านอนุมูลอิสระ 17
2.9.3 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ 18
2.10 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม 18
2.10.1 วิธีตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ 19
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 20
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง
3.1 สารเคมี 22
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ 22
3.3 สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง 23
3.4 วิธีการดำเนินงาน 25
3.4.1 คัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย 25
3.4.2 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่ผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูง 26
3.4.3 การศึกษาการเจริญของสาหร่ายที่คัดเลือกจากปริมาณการผลิต ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูงจำนวน 3 สายพันธุ์ 27
3.4.4 การสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ 28
3.4.5 การศึกษาซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ 28
3.4.6 การศึกษาองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย 29
3.4.7 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของซัลเฟตของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ 29
3.4.7.1 การทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช 29
3.4.7.2 การทดสอบการเป็นสารต้านมะเร็งด้วยวิธี MTT 30
3.4.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 คัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย 31

4.2 การศึกษาการเจริญและการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก 36

4.2.1 วัดการเจริญของสาหร่าย 36

4.2.2 ศึกษาการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก 43

4.3 การศึกษาการเจริญและการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่คัดเลือกจำนวน 3 สายพันธุ์ 43

4.3.1 การวัดการเจริญของสาหร่าย 43

4.3.2 ศึกษาการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก 48

4.3.3 ศึกษาองค์ประกอบซัลเฟตในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ด้วยเทคนิคฟลูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟลาเรดสเปคโตมิเตอร์ 51

4.4 วิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่าย 53

4.5 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 54

4.5.1 การทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช 54

4.5.2 การทดสอบการเป้นสารต้านมะเร็ง 56

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง 58

5.2 ข้อเสนอแนะ 59

เอกสารอ้างอิง

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ภาคผนวก ข

ภาคผนวก ค

ภาคผนวก ง

ภาคผนวก จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ลักษณะเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 20 สายพันธุ์ 31

4.2 การเจริญเติบโต ปริมาณน้ำตาล และปริมาณซัลเฟตพอลิแคคาไรด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก 20 สายพันธุ์ 37

4.3 แสดงการเจริญของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59 *Scenedesmus* sp. M.10 และ *Selenastrum* sp. F15 ที่เพาะเลี้ยงในถังขนาด 6 ลิตร ในวันที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ 46

4.4 องค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ที่ระยะการเจริญคงที่ 53

4.5 ความสัมพันธ์ของสารสกัดจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่ใช้กับร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช 55

4.6 แสดงผลการความเป็นพิษของสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ในรูปสารละลายต่อเซลล์มะเร็งลำไส้, เซลล์มะเร็งเต้านม และเซลล์ไตของลิง 57

ค-1 อัตราส่วนการเจือจางสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 81

ง 1 แสดงระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย 20 สายพันธุ์ 83

ง 1-1 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55 83

ง 1-2 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. A 84

ง 1-3 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. B 85

ง 1-4 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. G 86

ง 1-5 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. U 87

ง 1-6 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 88

ง 1-7 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 89

ง 1-8 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* N.11-59 90

ง 1-9 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59 91

ง 1-10 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P 92

ง 1-11 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. C 93

ง 1-12 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. W53 94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ง 1-13 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. F9 95
ง 1-14 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. F14 96
ง 1-15 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M10 97
ง 1-16 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M12 98
ง 1-17 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M14 99
ง 1-18 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. PA55 100
ง 1-19 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. AB1 101
ง 1-20 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Selenastrum* sp. F15 102
ง 2 ผลการศึกษาการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 20 สายพันธุ์ 103
ง 2-1 แสดงความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์
ของสาหร่าย 20 สายพันธุ์ที่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ 103
ง 2-2 แสดงปริมาณซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์
ของสาหร่าย 20 สายพันธุ์ที่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ 105
ง 3 ผลการศึกษาระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่ผลิต 107
ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูงในระดับถังขนาด 6 ลิตร 107
ง 3-1 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59 107
ง 3-2 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M10 108
ง 3-3 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Selenastrum* sp. F15 109
ง 4 ผลการศึกษาการผลิตซัลเฟตพอแซคคาไดร์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ 110
ง 4-1 แสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณซัลเฟตของสาหร่าย
Selenastrum sp. F15 , *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ
Scenedesmus sp. M1011 110
ง 5 ผลการศึกษาองค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่มีการผลิต
ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูง 111
ง 5-1 ร้อยละของไขมันภายในเซลล์สาหร่าย *Selenastrum* sp. F15,
Chlamydomonas sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10 111
ง 5-2 ร้อยละของโปรตีนภายในเซลล์สาหร่าย *Selenastrum* sp. F15,
Chlamydomonas sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10 112
ง 5-3 ร้อยละของความชื้นภายในเซลล์สาหร่าย *Selenastrum* sp. F15,
Chlamydomonas sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10 113

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ง 5-4 ร้อยละของปริมาณเถ้าภายในเซลล์สาหร่าย *Selenastrum* sp. F.15, *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10 114

ง 5-5 ร้อยละของคาร์โบไฮเดรตภายในเซลล์สาหร่าย *Selenastrum* sp. F15, *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10 115

จ-1 ผลการวิเคราะห์สถิติการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 116

จ-1.1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) จากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 116

จ-1.2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณซัลเฟต (กรัมต่อลิตร) จากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ 120

จ-2 ผลการวิเคราะห์สถิติของอัตราการเจริญจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 124

จ-2.1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ของ 3 สายพันธุ์ ที่ระยะการเจริญคงที่ 124

จ-2.2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่ระยะการเจริญคงที่ 126

จ-2.3 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนเซลล์ ($x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่ระยะการเจริญคงที่ 128

จ-3 ผลการวิเคราะห์การผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ 130

จ-3.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ 130

จ-3.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ 132

จ-4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติขององค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่ายจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ 134

จ-4.1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณร้อยละเถ้าสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 134

จ-4.2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณร้อยละไขมันสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 136

จ-4.3 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณร้อยละโปรตีนสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 138

จ-4.4 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณร้อยละความชื้นสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 140

จ-4.5 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณร้อยละคาร์โบไฮเดรตสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 142

จ-5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช จากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 144

จ-5.1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 144

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlorella* sp.	4
2.2 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Scenedesmus* sp.	5
2.3 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlamydomonas* sp.	6
2.4 แสดงลักษณะเซลล์ที่ไม่มีแฟลกเจลลาของ *Chlamydomonas* sp.	7
2.5 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlorococcum* sp.	8
2.6 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Selenastrum* sp.	9
2.7 แสดงเส้นโค้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย	10
2.8 แสดงโครงสร้างของ อะไมโลสที่เป็นหน่วยย่อยของแป้ง	12
2.9 แสดงโครงสร้างของเซลลูโลส	13
2.10 แสดงปฏิกิริยาระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช	18
2.11 แสดงโครงสร้างที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของสาร MTT	19
4.1 (ก) กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของสาหร่าย 10 สายพันธุ์	40
(ข) กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของสาหร่าย 10 สายพันธุ์	40
4.2 (ก) กราฟแสดงจำนวนเซลล์แห้งของสาหร่าย 10 สายพันธุ์	41
(ข) กราฟแสดงจำนวนเซลล์แห้งของสาหร่าย 10 สายพันธุ์	41
4.3 (ก) กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย 10 สายพันธุ์	42
(ข) กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย 10 สายพันธุ์	42
4.4 กราฟแสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณซัลเฟตที่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ ของสาหร่ายขนาดเล็ก 20 สายพันธุ์	44
4.5 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ในถังขนาด 6 ลิตร	46
4.6 กราฟแสดงจำนวนเซลล์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ในถังขนาด 6 ลิตร	47
4.7 กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ในถังขนาด 6 ลิตร	47
4.8 แสดงการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 3 สายพันธุ์ในถังขนาด 6 ลิตร โดยให้อากาศอย่างต่อเนื่องในวันที่ 0 ของการเพาะเลี้ยง	49
4.9 แสดงสาหร่ายที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	49
4.10 (ก) ส่วนใส (น้ำเลี้ยงสาหร่าย) ที่ได้จากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ในถังขนาด 6 ลิตรในช่วงที่เซลล์เข้าระยะการเจริญคงที่	50
(ข) แสดงสารสกัดจากน้ำเลี้ยงสาหร่ายที่ได้จากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ในถังขนาด 6 ลิตรในวันที่เซลล์เข้า สู่ระยะการเจริญคงที่	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.11 แสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณซัลเฟตในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ 50
4.12 (ก) แสดงช่วงคลื่นของหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของอาหาร N-8 (control) 52
(ข) แสดงช่วงคลื่นของหมู่ซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสารสกัดสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2 52
(ค) แสดงช่วงคลื่นของหมู่ซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสารสกัดสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M10 52
(ง) แสดงช่วงคลื่นของหมู่ซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบของซัลเฟตพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดสาหร่าย *Selenastrum* sp. F15 52
4.13 แสดงร้อยละขององค์ประกอบต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 53
4.14 แสดงร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 55
ข-1 แสดงลักษณะของ hemacytometer 71
ข-2 แสดงตารางนับจำนวนเซลล์จากภาพจริง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า 72
ข-3 แสดงตารางนับจำนวนเซลล์จากภาพจริง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า 72
ค-1 แสดงกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของน้ำตาลกูโคสที่ความเข้มข้น 0 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สาหร่ายขนาดเล็กมีความสามารถในการสร้างสารที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์และสังเคราะห์แสงได้ จึงได้รับความสนใจในการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ สาหร่ายขนาดเล็กบางสายพันธุ์มีการสะสมคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วย มอนอแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์ และพอลิแซคคาไรด์ปริมาณสูงถึงร้อยละ 50 ของน้ำหนักแห้ง (Ho และคณะ, 2010) โดยภายในเซลล์สาหร่ายนั้นนอกจากจะมีองค์ประกอบพื้นฐานเป็นแป้ง โปรตีน ไขมัน ยังมีการผลิตสารที่มีประโยชน์และมีมูลค่าสูง เช่นสารสีที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่น คลอโรฟิลล์ (สีเขียว) แคโรทีนอยด์ (สีเหลืองส้ม) และสารไฟโคไซยานิน (สีแดง) ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (อาภารัตน์, 2552) รวมไปถึงการสร้างสารที่มีความสารถในการละลายน้ำและปลดปล่อยออกมานอกเซลล์เช่น แคลเซียมสไปรูแลน ที่สกัดได้จาก *Spirulina platensis* ที่เป็นสารประเภทซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่มีความสามารถในการยับยั้งการแบ่งอนุภาคของไวรัสและเกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการทำงานในกลไกการแข็งตัวของเลือด (Hayakawa และคณะ,1997)

ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดหนึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อน และมีส่วนประกอบของสารโมเลกุลขนาดใหญ่ที่แตกต่างกัน สารดังกล่าวเป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุลบพบมากในธรรมชาติ โดยส่วนใหญ่พบในสาหร่ายทะเล Daisy และคณะ (2015) รายงานว่าสาหร่ายทะเลในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีน้ำตาล และสาหร่ายสีแดงมีพอลิแซคคาไรด์และไกลโคโปรตีนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เมื่อไม่นานมานี้ได้มีความสนใจมากขึ้นเกี่ยวกับกลไกการทำงานของระบบการป้องกันทางชีวภาพของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่ได้จากสาหร่ายทะเล ซึ่งซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่ได้จากสาหร่ายต่างชนิดกันจะมีชื่อเรียกและโครงสร้างที่แตกต่างกัน เช่น อัลแวน (Ulvan) จากสาหร่ายสีเขียว กาแลกแตน (Galactan) และ คาราจีแนน (Carrageenan) จากสาหร่ายสีแดง ฟลูคอยแดน (Fucoidan) จากสาหร่ายสีน้ำตาล (Seema, 2012) นอกจากนี้ยังสามารถพบซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ได้ในสาหร่ายขนาดเล็ก เช่น *Spirulina platenis* ที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การต้านอนุมูลอิสระ การต้านมะเร็ง การส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ต้านการอักเสบ การต้านการแข็งตัวของเลือด การต้านไวรัส การต้านโปรโตซัว การต้านแบคทีเรียและลดระดับไขมันในเลือด ซึ่งคุณสมบัติต่างๆข้างต้นสามารถนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอางได้ (Baky และคณะ, 2013)

ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นการคัดเลือกสายพันธุ์ของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่มีความสามารถในการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ เพื่อการนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านต่างๆต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารซัลเฟต-พอลิแซคคาไรด์ได้

1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

คัดแยกตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำต่างๆที่สนใจและทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ ให้เพียงพอต่อการสกัด ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์และทำการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในการเป็นสารต้านมะเร็งและสารต้านอนุมูลอิสระ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถแยกสายพันธุ์สาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารซัลเฟต-พอลิแซคคาไรด์ได้

1.4.2 ทราบถึงประสิทธิภาพในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่ได้จากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
เอกสารและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่าย

สาหร่ายเป็นกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติ จัดเป็นพืชชั้นต่ำ ไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้น และใบที่แท้จริง สาหร่ายดำรงชีวิตอยู่ได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นแพลงก์ตอนล่องลอยอยู่ในมวลน้ำหรือยึดติดกับพื้นทะเลหรือวัสดุอื่นๆ นอกจากนี้ยังอาจดำรงชีวิตอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในลักษณะความสัมพันธ์แบบพึ่งพา เช่น ไลเคน เป็นดำรงชีวิตของสาหร่ายร่วมกับรา เป็นต้น (สรวิศ, 2549)

ชาวจีนเป็นชนชาติแรกที่รู้จักนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ในการนำมาประกอบเป็นอาหาร และยังมีประเทศอื่นๆ ที่นิยมนำสาหร่ายมาใช้เป็นอาหารกันมาก เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี ฟิลิปปินส์ นอกจากนี้สาหร่ายยังมีประโยชน์ด้านอื่นๆ เช่น ยา อาหารสัตว์ ปุ๋ย และอุตสาหกรรม ในปัจจุบันจะเห็นได้ว่าสาหร่ายและผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายได้เข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันของคนไทยมากขึ้น โดยเฉพาะด้านอาหาร ไม่ว่าจะเป็นอาหารจีน อาหารญี่ปุ่น วุ้น คาร์ราจีแนน หรือแม้กระทั่งการนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยต่างๆที่ให้ความสำคัญกับสาหร่าย ไม่ว่าจะเป็นงานวิจัยด้านความหลากหลายและนิเวศวิทยาหรือด้านอาหาร ซึ่งนำสาหร่ายมาพัฒนาไปสู่การผลิตในอุตสาหกรรม (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2558)

2.2 สาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายสีเขียวเป็นกลุ่มของสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ที่เป็นยูคาริโอต (Eukaryotes) (Jeffrey และคณะ, 2004) โดยสาหร่ายสีเขียวมักจะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืดมากกว่าน้ำกร่อย หรือน้ำทะเล (ลัดดา ,2543) สามารถดำรงชีวิตได้ด้วยตัวเองโดยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Den, 1984) มีส่วนประกอบของรงควัตถุ กลุ่มคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีน นอกจากนี้สาหร่ายสีเขียวบางชนิดสามารถสร้างแอสตาแซนธิน (Astaxanthin) ซึ่งเป็นรงควัตถุสีแดงเข้ม คล้ายสีของทับทิมโดยพบว่าแอสตาแซนธิน มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของออกซิเจนโมเลกุลเดี่ยวหรือแสดงการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารเบต้าแคโรทีน สารโคเอนไซม์คิวเทน สารคาทีชิน วิตามินอี และวิตามินซี (สุภัจฉรา, 2556) มีคลอโรพลาสต์รูปร่างหลากหลาย เช่น มีรูปร่างแบบเกลียว พบได้ใน *Spirogyra* sp. หรือมีรูปร่างแบบเกือกม้า หรือรูปตัวยู พบได้ใน *Chlorella* sp. เป็นต้น (ลัดดา, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 สาหร่าย *Chlorella* sp.

อนุกรมวิธาน

Division Chlorophyta

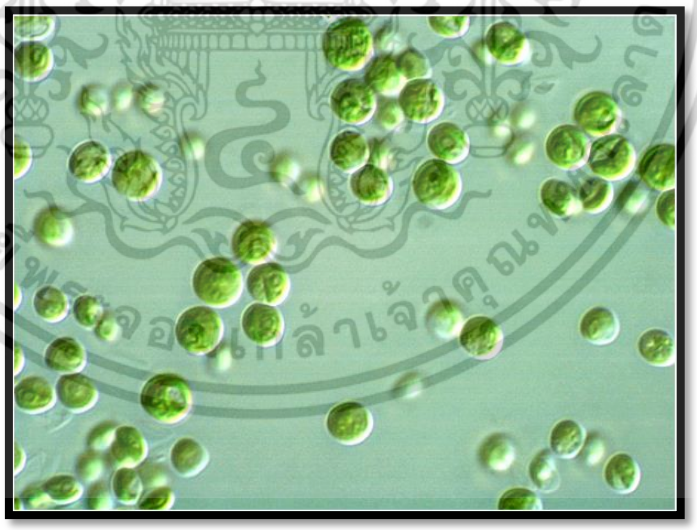
Class Chlorophyceae

Order Chlorococcales

Family Oocystaceae

Genus *Chlorella*

Chlorella เป็นสาหร่ายเป็นสาหร่ายเซลล์เดี่ยวที่มีขนาดเล็ก 2.5-3.5 ไมโครเมตร สาหร่ายชนิดนี้มีลักษณะเซลล์ส่วนใหญ่เป็นทรงกลม ไม่มีแฟลกเจลลา (นริศรา, 2557) มีคลอโรพลาสต์รูปถ้วยหรือเป็นแผ่นอยู่ริมเซลล์ ไม่พบไพรีนอยด์ (ลัดดา, 2543) การสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออโตสปอร์ (Autospore) จำนวน 4 8 หรือ 16 สาหร่ายชนิดนี้พบทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม เจริญเติบโตง่ายและมีโปรตีนสูงร้อยละ 40-50 (ธิดา, 2542) สาหร่ายคลอเรลลามีความสำคัญต่อระบบนิเวศในด้านการเป็นผู้ผลิตลำดับแรกของห่วงโซ่อาหาร ส่วนใหญ่มีการนำสาหร่ายคลอเรลลา มาเป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพสำหรับมนุษย์และเป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำเศรษฐกิจ เช่น ลูกกุ้ง ลูกปลา และหอยสองฝา นอกจากนั้นยังใช้เป็นอาหารของไรแดงและแพลงก์ตอนสัตว์ เนื่องจากสาหร่ายคลอเรลลามีคุณค่าทางอาหารสูง ผลิตโปรตีน วิตามิน สารเคมีอื่นๆ และไม่ทำให้น้ำเสีย (วีนา, 2558)



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlorella* sp.
ที่มา : http://healthbenefitsofeating.com/se...its-chlorella/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 สาหร่าย *Scenedesmus* sp.

อนุกรมวิธาน

Division Chlorophyta

Class Chlorophyceae

Order Chlorococcales

Family Scenedesmaceae

Genus *Scenedesmus*

Scenedesmus เป็นสาหร่ายสีเขียวที่ประกอบด้วยเซลล์เป็นทวีคูณของ 2 ส่วนใหญ่ที่พบมีจำนวน 2-4 เซลล์ เรียงต่อกันด้านข้าง แต่ละเซลล์มีรูปร่างไข่หรือรียาว หัวท้ายแหลมหรือมน บางชนิดเซลล์ที่อยู่ริมสุดทั้งสองข้างจะมีหนามยื่นออกมา มีคลอโรพลาสต์ เป็นแถบตามความยาวของเซลล์ มีไพรีนอยด์ 1 อัน สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออโตสปอร์ และสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยการสร้างไอโซแกมีท (Isogamete) (วีนา, 2558) สัณฐานวิทยาของเซลล์สามารถเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะแวดล้อมที่เซลล์กำลังเจริญเติบโต หากมีฟอสเฟตและความเข้มข้นของเกลือต่ำ เซลล์จะลดการเจริญเติบโตเป็นเซลล์เดียว นอกจากนี้ยังจัดเป็นแพลงก์ตอนในน้ำจืดและเป็นสกุลที่ทำให้เกิดการบลูมของน้ำได้ (วันเพ็ญ, 2549)

รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Scenedesmus* sp.

ที่มา : http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Scenedesmus/quadricauda/sp_01.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 สาหร่าย *Chlamydomonas* sp.

อนุกรมวิธาน

Division Chlorophyta

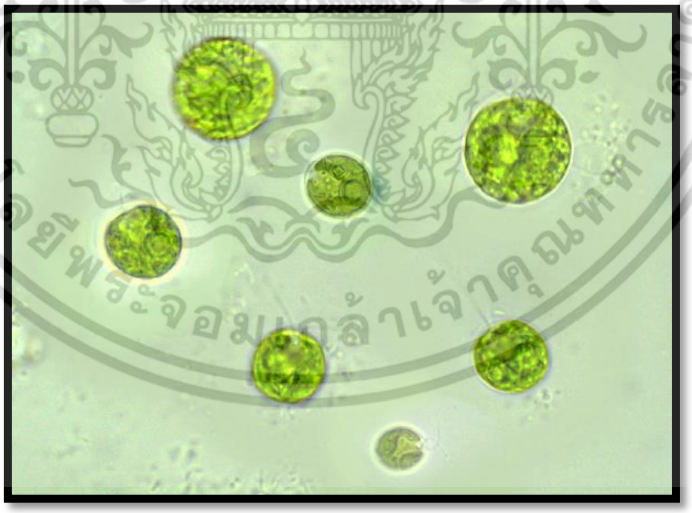
Class Chlorophyceae

Order Volvocales

Family Chlamydomonadaceae

Genus *Chlamydomonas*

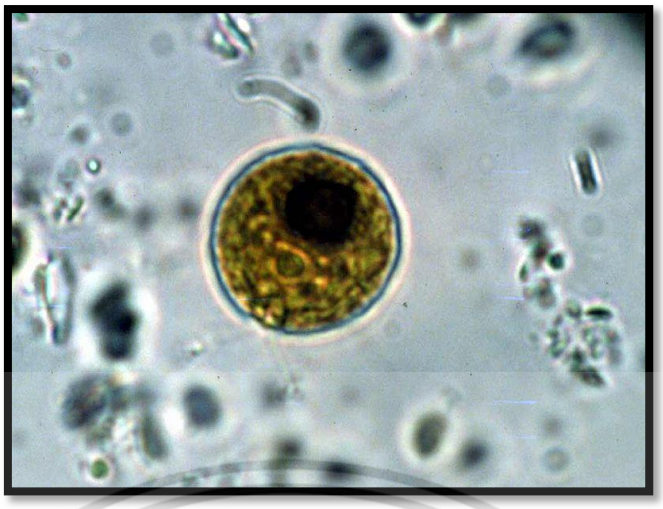
Chlamydomonas เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวที่มีขนาดยาว ประมาณ 10 ไมโครเมตร และกว้างประมาณ 3 ไมโครเมตร มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ 1 อัน ซึ่งกินเนื้อที่ประมาณร้อยละ 40 ของเซลล์ (Rochaix, 1995) ลักษณะของเซลล์เป็นเซลล์เดี่ยวทรงกลม เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา 2 เส้น ส่วนโคนของแฟลกเจลลามีคอนแทรกไทล์แวคิวโอล (Contractile vacuole) อาจพบมากกว่า 2 อัน หรือไม่พบเลยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ คลอโรพลาสต์อาจเป็นรูปถ้วย หรือรูปตัว “H” เป็นแถบข้างเซลล์ มีไพรีนอยด์ 1 อัน หรือมากกว่าอยู่บนคลอโรพลาสต์ มักพบอายสปอต (eye spot) อยู่บนคลอโรพลาสต์และส่วนใหญ่อยู่ปลายบนสุดของเซลล์ เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมจะสร้างแคโรทีนอยด์ เป็นสาหร่ายที่มักพบมากในแหล่งน้ำจืดในประเทศไทย พบได้เล็กน้อยในน้ำทะเล สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างซูโอสปอร์ (Zoospore) ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะสร้างแกมีท (Lewmanomont และคณะ, 1995)



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlamydomonas* sp.

ที่มา : http://cfb.unh.edu/phycokey/Choices/Chlorophyceae/unicells/flagellated/CHLAMYDOMONAS/Chlamydomonas_Image_page.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะเซลล์ที่ไม่มีแฟลกเจลลาของ *Chlamydomonas* sp.
ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Chlamydomonas#
/media/File:Chlamydomonas_EPA.jpg

2.2.4 สาหร่าย *Chlorococcum* sp.

อนุกรมวิธาน

Division Chlorophyta
Class Chlorophyceae
Order Chlorococcales
Family Chlorococcaceae
Genus *Chlorococcum*

Chlorococcum เป็นสาหร่ายเซลล์เดี่ยว ไม่เคลื่อนที่ มีลักษณะเป็นรูปทรงกลม หรือบางเซลล์อาจมีลักษณะรียาวขึ้นอยู่กับขนาดของเซลล์ คลอโรพลาสต์อาจเป็นรูปถ้วยเกือบเต็มเซลล์ มักพบเป็นเซลล์เดี่ยวหรือบางครั้งอาจอยู่กันเป็นกลุ่มจนกลายเป็นไบโอฟิล์ม (Biofilm) บางๆ อาศัยอยู่ในที่เปียกชื้นและในน้ำ แต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์รูปถ้วยและมีไพรีนอยด์ 1 อัน มักอาศัยตามแหล่งน้ำจืด สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างซูโอสปอร์ หรืออะพลาโนสปอร์ (Aplanospore) และสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างไอโซแกมีท ในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการค้นพบที่แน่ชัด (ลัดดา, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlorococcum* sp.
ที่มา : http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Chlorococcum/sp_10.jpg

2.2.5 สาหร่าย *Selenastrum sp.*

อนุกรมวิธาน

Division Chlorophyta
Class Chlorophyceae
Order Sphaeropleales
Family Selenastraceae
Genus *Selenastrum*

Selenastrum sp. มีลักษณะเซลล์ยาวเรียว โค้ง หัวท้ายแหลม ลักษณะคล้ายรูปพระจันทร์เสี้ยว อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม 4-16 เซลล์ *Selenastrum* เป็นสาหร่ายที่มีรูปแบบการเรียงตัวของเซลล์ไม่แน่นอน โดยแต่ละเซลล์จะมีคอลโรพลาสต์ 1 อัน และไพรีนอยด์ มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างแกมีทแล้วมีการรวมตัวกันแบบไอโซแกมมี สาหร่ายในสกุลนี้จะยับยั้งการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชในบ่อ ในทะเลสาบ หรือในแหล่งน้ำที่มีอาหารสมบูรณ์ มีความไวต่อสารพิษมาก จึงใช้เป็นตัวทดสอบคุณภาพน้ำ (ลัดดา, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Selenastrum* sp.
ที่มา : http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta
/Selenastrum/gracile/gracile11.jpg

2.3 ส่วนประกอบของเซลล์สาหร่ายสีเขียว ประกอบด้วยโครงสร้าง 3 ส่วนที่สำคัญ ได้แก่

2.3.1 ผนังเซลล์ ประกอบด้วยสารจำพวกคาร์โบไฮเดรตบางชนิดเป็นพวกซิลิเกต บางชนิดประกอบด้วยโปรตีน ซึ่งมีหินปูน เหล็ก หรือไคตินหุ้มอยู่ สาหร่ายโดยทั่วไปจะมีผนังเซลล์ 2 ชั้น โดยผนังชั้นนอกจะเป็นสารพวกเพกติน มีลักษณะอ่อนนุ่ม เป็นเมือก ส่วนผนังชั้นในเป็นสารพวกเซลลูโลส ทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงกับเซลล์ทำให้เซลล์คงรูปอยู่ได้

2.3.2 นิวเคลียส เป็นส่วนที่สำคัญที่สุดของเซลล์ ซึ่งสาหร่ายสาหร่ายสีเขียวจัดเป็นยูคาริโอตจะมีนิวเคลียสที่แท้จริง คือ ดีเอ็นเอจะถูกเก็บไว้ในออร์แกแนลล์ที่หุ้มด้วยเยื่อเมมเบรน ทำให้โครโมโซมซึ่งมีอยู่เป็นจำนวนมากอยู่ภายในนิวเคลียส

2.3.3 ไซโตพลาสซึม ประกอบด้วยน้ำ สารประกอบเคมีที่จำเป็นและออร์แกเนลล์ต่างๆ เช่น พลาสมิด (Plasmid) ซึ่งเป็นแหล่งรวมของรงควัตถุต่างๆในเซลล์ หากพลาสมิดมีคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) จะให้สีเขียวเรียกคลอโรพลาสต์ (Chloroplast) แต่ถ้ามีแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) จะให้สีเหลือง ส้ม แดง เรียกโครโมพลาสต์ (Chromoplast) ไพรีนอยด์ (Pyrenoid) ทำหน้าที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์แป้ง สติกมา (Stigma) พบในเซลล์ที่เคลื่อนไหวได้ แวคิวโอล (Vacuole) ทำหน้าที่ขับน้ำและของเสียออกจากเซลล์ (กาญจนภาชน์, 2527)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย

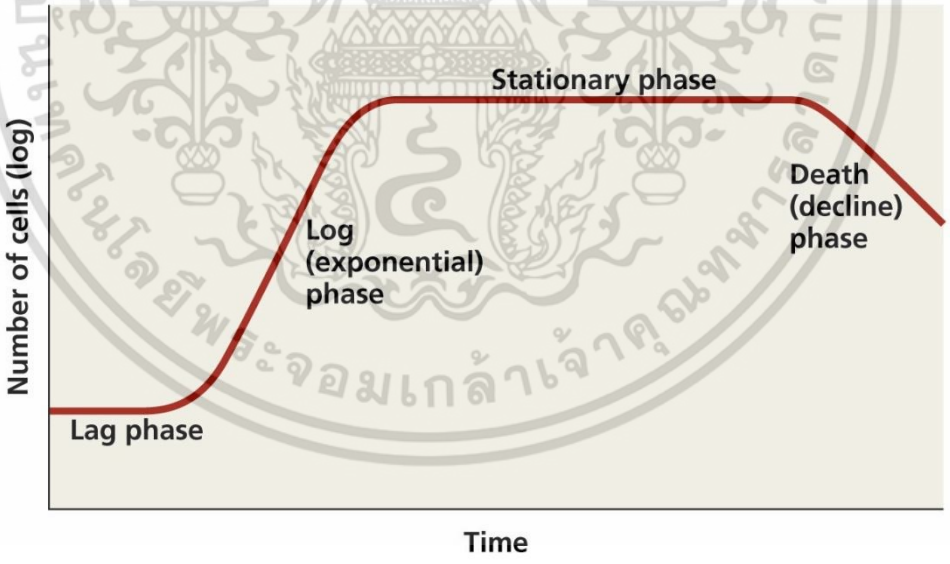
การเจริญของสาหร่ายจะมีลักษณะกราฟโค้งรูปตัว “S” (Sigmoid curve) ซึ่งเรียกว่า เส้นโค้งการเจริญเติบโต (Growth curve) โดยเส้นกราฟหรือเส้นโค้งการเจริญเติบโตแบ่งออกได้ 4 ระยะ คือ

ระยะปรับตัว (Lag phase) เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ซึ่งช่วงนี้เซลล์ยังไม่มีการแบ่งตัว ไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่น้ำหนักเซลล์อาจเปลี่ยนแปลงได้

ระยะแบ่งตัวทวีคูณ (Exponential phase หรือ Log phase) เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายมีการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว ซึ่งกระบวนการสังเคราะห์ต่างๆ ภายในเซลล์แต่ละเซลล์เหมือนกันและสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด

ระยะคงที่ (Stationary phase) เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายมีจำนวนคงที่ โดยมีอัตราการเจริญเท่ากับอัตราการตาย เนื่องจากแหล่งสารอาหารมีปริมาณลดลง ทำให้เซลล์สาหร่ายเจริญช้าและปริมาณของเสียสะสมจะจำกัดการเจริญของเซลล์สาหร่าย

ระยะตาย (Death phase) เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายมีอัตราการตายสูงกว่าอัตราการเจริญเนื่องจากปริมาณสารอาหารที่สาหร่ายจำเป็นต้องใช้ในการเจริญหมดลง และปริมาณของเสียสะสมในเซลล์สาหร่ายเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเซลล์สาหร่ายแต่ละสายพันธุ์จะเข้าสู่ระยะนี้ใช้เวลาแตกต่างกัน (ขจรเกียรติ, 2552)



รูปที่ 2.7 แสดงเส้นโค้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย

ที่มา :http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%206/0620_MicrobialGrowth_L.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 อาหารและสารอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อใช้ประโยชน์เป็นอาหารลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน อาหารมนุษย์ ตลอดจนใช้ในอุตสาหกรรมสกัดสารเคมีหรือสารปฏิชีวนะต่างๆ ที่ผลิตจากสาหร่ายนั้นมีอย่างกว้างขวาง โดยปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย คือ อาหารหรือสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้จำเป็นจะต้องทราบว่าสาหร่ายชนิดที่เพาะเลี้ยงมีความต้องการธาตุอาหารแต่ละชนิดมากน้อยเพียงใด ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่าย (ขจรเกียรติ, 2552)

2.5.1 ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย (อาภารัตน์, 2549) แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

2.5.1.1 ธาตุอาหารหลัก (Macronutrient) ประกอบด้วยธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการใช้ในปริมาณมากเพื่อการเจริญเติบโต ได้แก่ คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ โซเดียม โปแตสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม

2.5.1.2 ธาตุอาหารรอง (Micronutrient หรือ Trace metals) ประกอบด้วยธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการใช้ในปริมาณค่อนข้างน้อย ซึ่งเมื่อเติมลงในอาหารจะช่วยให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีขึ้น แต่ถ้าไม่มีการเติมลงไปในอาหารการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะช้าลงกว่าเล็กน้อย โดยปกติสูตรอาหารที่ดีและเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายควรประกอบด้วยธาตุอาหารทั้ง 2 ประเภทซึ่งส่วนใหญ่สารเคมีที่มีส่วนประกอบของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

2.5.2 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

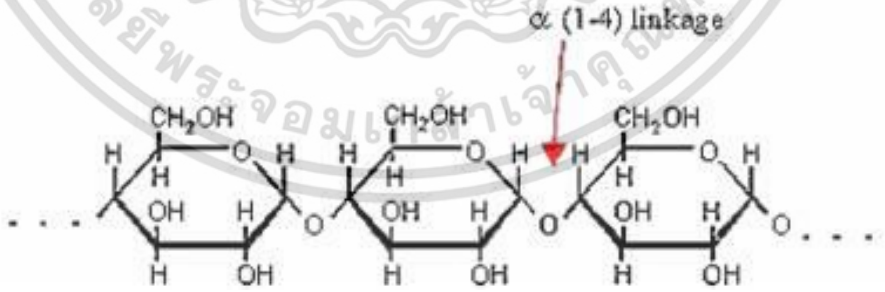
โดยทั่วไปมี 2 ลักษณะ คือ อาหารเหลว (Liquid media: broth) และอาหารแข็งหรืออาหารวุ้น (Solid or agar media) เตรียมได้จากการเติมวุ้น (Bacto-agar) ลงไปในอาหารเหลวประมาณร้อยละ 1 – 1.5 นอกจากนี้ยังมีอาหารลักษณะอื่นๆ ได้แก่ Semisolid media คือ อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว เตรียมได้โดยเติมวุ้นปริมาณน้อยๆ ประมาณร้อยละ 0.5 ลงไปในอาหารเหลว Differential media คือ อาหารที่ใช้เพาะเชื้อสาหร่ายแล้วเห็นความแตกต่างของเชื้อที่ขึ้นได้ชัดเจน Selective media คือ อาหารที่คัดเลือกชนิดสาหร่ายซึ่งจะมีเพียงสาหร่ายบางชนิดเท่านั้นที่ขึ้นได้ Enrichment media คือ อาหารที่ส่งเสริมหรือเกื้อหนุนให้สาหร่ายบางชนิดเจริญดีกว่าสาหร่ายชนิดอื่นๆทำให้สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ของสาหร่ายชนิดที่ต้องการได้ Complete media คือ อาหารที่นำมาจากธรรมชาติโดยไม่รู้สัดส่วนที่แน่นอน เช่น น้ำเสียจากบ่อบำบัด น้ำซุปมันฝรั่ง และ Synthetic media คือ อาหารสังเคราะห์ที่ทราบชนิดและปริมาณขององค์ประกอบที่แน่นอน (ขจรเกียรติ, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 พอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย

พอลิแซคคาไรด์ในสาหร่ายนั้นประกอบด้วย พอลิแซคคาไรด์ที่สะสมภายในเซลล์ (Storage polysaccharide) เช่น แป้ง พอลิแซคคาไรด์ที่เป็นโครงสร้างเซลล์ (Cellenvelope polysaccharide) เช่น เซลลูโลส ไซแลน แพคติน ซิลิกา เป็นต้น และพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตออกมานอกเซลล์ (Extracellular polysaccharide) เช่น ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ (Bertocchi และคณะ,1990) โดยสาหร่ายแต่ละสายพันธ์จะมีปริมาณพอลิแซคคาไรด์แตกต่างกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างของเซลล์ และปัจจัยแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง ซึ่งพอลิแซคคาไรด์ที่พบได้ทั่วไปในสาหร่ายมี ดังนี้

2.6.1 แป้ง (Starch) เป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่ายซึ่งสาหร่ายส่วนใหญ่อาหารที่สะสมคือแป้ง แป้งมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า กลูโคแซน (Glucosan) หรือ กลูแคน (Glucan) เนื่องจากประกอบด้วยสายพอลิเมอร์ของกลูโคสเพียงชนิดเดียว โดยโครงสร้างของแป้ง ประกอบด้วย อะไมโลส (Amylose) และอะไมโลเพกทิน (Amylopectin) ซึ่งอะไมโลส เป็นสายของกลูโคสที่เชื่อมต่อด้วยพันธะไกลโคไซด์ชนิด ∝1—4 เพียงอย่างเดียวจึงมีลักษณะโครงสร้างเป็นเส้นตรง มีประมาณร้อยละ 15 – 20 ส่วนอะไมโลเพกทิน เป็นสายของกลูโคสที่เชื่อมต่อด้วยพันธะไกลโคไซด์ชนิด ∝1—4 ที่เป็นสายหลัก และพันธะไกลโคไซด์ชนิด ∝1—6 ที่เป็นสายแตกแขนงออกมา โดยจะพบพันธะ ∝1—6 ทุกๆ 30 หน่วยของกลูโคส มีประมาณร้อยละ 80 – 85 (พจน์ และคณะ, 2555) นอกจากนี้สาหร่ายสีแดงที่มีแหล่งพลังงานสะสมเป็นแป้ง เรียกว่า แป้งฟรอริเดียน (Floridean Starch) ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 15 หน่วยมาเชื่อมต่อกัน และในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีอาหารสะสมเป็นแป้งเช่นเดียวกันเรียกว่า ไซยาโนไฟเซียน (Cyanophycean starch) สำหรับสาหร่ายสีเขียวมีอาหารสะสมเป็นแป้ง (true starch) หรือ พาราไมลอน (paramylon) ซึ่งเป็นแป้งที่พบในพืชชั้นสูง อยู่ในไซโตพลาส์ซึมหรือคลอโรพลาสต์ (ลัดดา,2544)

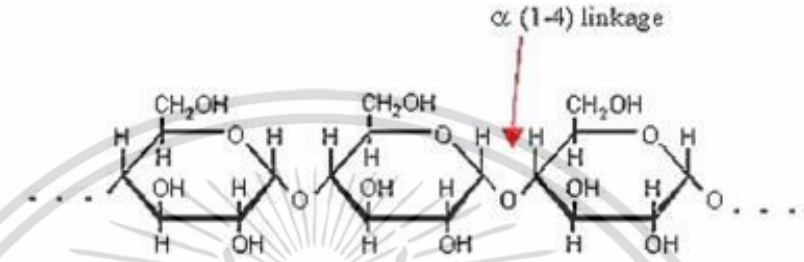


รูปที่ 2.8 แสดงโครงสร้างของ อะไมโลสที่เป็นหน่วยย่อยของแป้ง

ที่มา : http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap2/chap2_intro.files/image002.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 เซลลูโลส (Cellulose) เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของสาหร่ายส่วนใหญ่ มีคุณสมบัติไม่สามารถละลายน้ำได้ เซลลูโลสประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 1,000 – 1,500 โมเลกุล มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ชนิด $\beta 1 \rightarrow 4$ ซึ่งเซลลูโลสมีความแข็งแรงมาก และยากต่อการเข้าทำปฏิกิริยา เนื่องจากมีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxy group) ทำให้เกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสภายในและระหว่างเซลลูโลส รวมทั้งการมีโครงสร้างแบบเบต้า (β) ซึ่งส่งผลให้เซลลูโลสมีโครงสร้างที่ซับซ้อนยิ่งขึ้น (พจน์ และคณะ, 2555)



รูปที่ 2.9 แสดงโครงสร้างของเซลลูโลส

ที่มา: http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap2/chap2_intro.files/image006.jpg

2.6.3 สารเมือก (Mucilage) เป็นสารที่ผลิตออกมาเพื่อห่อหุ้มผนังเซลล์ เช่นสาหร่ายสีน้ำตาลมีสารเมือกเป็นกรดอัลจินิก (Alginic acid) พบในสาหร่ายสกุล *Agorum*, *Ascophyllum Laminaria Fucus* และ*Macrocystis* (นงลักษณ์ และปรีชา, 2553) ในสาหร่ายสีแดงมีสารเมือกเป็นวุ้น (Agar) พบในสาหร่ายมีแดงสกุล *Gelidium*, *Gracilaria* และคาร์ราจีแนน พบในสาหร่ายสีแดงหลายชนิดเช่น *Chondrus*, *Gigartino*, *Eucheuma* และจากการศึกษาของ Watanabe และคณะ (2013) พบว่าเมื่อนำน้ำหมักที่ได้หลังจากการเพาะเลี้ยง *Chlorella sorokiniana* ย่อยด้วยโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ และอีดีทีเอ (Ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) เมื่อนำมาตรวจสอบองค์ประกอบของสารเมือกด้วยวิธีโครมาโทรกราฟีแบบเหลวสมรรถนะสูง (High-performance anion-exchange chromatography, HPLC) พบน้ำตาลหลากหลายชนิดได้แก่ ซูโคส ไซลิทอล อินโนซิทอล กรดกาแลกทูโรนิก ไรโบส แมนโนส อะราบิโนส กาแลกโทส แรมโนส และฟรุคโทส นอกจากนี้ยังพบแมกนีเซียมและโปรตีนจากเมือกอีกด้วย

2.6.4 ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์

ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ หรือ พอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตออกมาภายนอกเซลล์ (ESP) สามารถพบได้ทั่วไปได้ในธรรมชาติ ซึ่งสามารถพบทั้งใน คน สัตว์ และพืช แต่ส่วนใหญ่มักพบในสาหร่ายทะเล เช่น ฟูคอยแดน เฮพาริน (heparin) และคาร์ราจีแนน เป็นต้น โครงสร้างของ ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ส่วนใหญ่ ประกอบด้วย หมู่คาร์บอกซิลและหมู่ซัลเฟต ซึ่งถือเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อกระบวนการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (สุวรรณี, 2557) เช่น ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่พบในสาหร่ายทะเลสายพันธุ์ *Gyrodinium impudicum* KG03 ออกฤทธิ์ในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและต้านไวรัส (Yim และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะ, 2004; Yim และคณะ, 2005) ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ในสาหร่ายสีแดง *Porphyidium* sp. ออกฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Matsi และคณะ, 2003) และต้านสารอนุมูลอิสระ (Spitz และคณะ, 2005) และยังพบว่า ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ ที่สกัดได้จาก *Spirulina platensis* สามารถยับยั้งการจำลองตัวของอนุภาคไวรัสได้ (Hayakawa และคณะ, 1997)

2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย

2.7.1 แหล่งสารอาหาร

ธาตุไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเนื่องจากเป็นองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ กรดอะมิโน และสารสี โดยเฉพาะคลอโรฟิลล์ สาหร่ายจะใช้ไนโตรเจนทั้งในรูปของอนินทรีย์ไนโตรเจน คือแอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท แต่ส่วนมากสาหร่ายจะใช้แอมโมเนียเพราะสามารถนำไปใช้ได้ทันที ส่วนในรูปอินทรีย์ไนโตรเจนคือ ยูเรียเอไมด์ กรดอะมิโน เป็นต้น ในเซลล์สาหร่ายมีปริมาณของไนโตรเจน ประมาณร้อยละ 7-10 ของน้ำหนักแห้งซึ่งการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในสภาวะที่ขาดแคลนไนโตรเจน จะส่งผลต่อการสะสมไขมัน หรือคาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่สูงขึ้น เพราะปริมาณไนโตรเจนมีไม่เพียงพอต่อความต้องการของสาหร่าย จึงทำให้โปรตีน หรือเพปไทด์ที่สะสมอยู่ภายในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นไขมัน หรือคาร์โบไฮเดรต (Ho และคณะ, 2012; Yazdi และคณะ, 2011)

2.7.2 รูปแบบการเพาะเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์นั้นจำเป็นต้องพิจารณาปัจจัยต่างๆ ให้มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยง โดยปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย คือ คุณภาพและปริมาณของสารอาหาร แสง อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง รวมถึงการกวนผสมเพื่อป้องกันการตกตะกอนของสาหร่ายด้วย (Barsanti และ Gualtieri, 2006) ซึ่งรูปแบบการเพาะเลี้ยงโดยทั่วไปแบ่งได้ดังนี้

2.7.2.1 การเพาะเลี้ยงในระบบปิด โดยการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบท่อ ข้อได้เปรียบของการเพาะเลี้ยงในระบบปิด คือ สะอาด ใช้พื้นที่น้อยควบคุมสภาพแวดล้อมได้ง่าย ทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพและปริมาณสูง สำหรับข้อจำกัดของระบบนี้คือ ใช้งบประมาณมาก การขยายขนาดการเพาะเลี้ยงทำได้ยาก และในระบบดังกล่าวนี้จะใช้เครื่องกำเนิดแสงรูปแบบต่างๆเพื่อให้สาหร่ายใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ทำให้เสียค่าใช้จ่ายสูง (Borowitzka, 1999)

2.7.2.2 การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด เช่น การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อที่มีใบพัดกวนผสม หรือการเพาะเลี้ยงการเพาะเลี้ยงในบ่อที่ทำให้เกิดการหมุนวนของน้ำอยู่ตลอดเวลาข้อได้เปรียบของระบบนี้คือ ใช้งบประมาณในการเพาะเลี้ยงต่ำ เพราะสามารถใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์ในการสังเคราะห์แสงได้โดยตรง สามารถเพาะเลี้ยงได้ในปริมาณมาก ส่วนข้อจำกัด คือ การควบคุมสภาพแวดล้อมทำได้ยากและอัตราการปนเปื้อนสูง (Borowitzka, 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.3 ความเข้มแสง

ความเข้มแสงมีผลต่อการสะสมพอลิแซคคาไรด์เพราะแสงมีความสำคัญต่อปฏิกิริยาในการสังเคราะห์แสง ที่สาหร่ายใช้สำหรับตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ หากเพิ่มความเข้มแสงให้อยู่ในช่วง 30 - 400 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที สามารถเพิ่มปริมารการสะสมคาร์โบไฮเดรตได้ (Carvalho และคณะ, 2009)

2.7.4 ค่าพีเอช

ค่าความเป็นกรดด่างมีผลต่อเมตาบอลิซึมภายในเซลล์และการเจริญเติบโตของเซลล์ ซึ่งค่าที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณสำหรับสะสมคาร์โบไฮเดรตสำหรับแต่ละสายพันธุ์จะมีความต่างกัน (Khalil และคณะ, 2010) โดยค่าพีเอช ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายอยู่ในช่วง 7-9 โดยมีพีเอช ที่เหมาะสมอยู่ที่ 8.2-8.7 (จิรพันธ์, 2555)

2.8 การสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์

2.8.1 วิธีการสกัดพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายสไปรูลิน่า (Chaiklahan และคณะ, 2013)

ปัจจัยเกี่ยวข้องที่สำคัญคืออัตราส่วนระหว่างสาหร่ายแห้งต่อน้ำ อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัด ซึ่งการสกัดพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายสไปรูลิน่าจะต้องสกัดแยกส่วนที่เป็นไขมัน ออกจากสาหร่ายแห้งก่อนโดยใช้เอทานอล ในการสกัดโดยใช้อัตราส่วนระหว่างสาหร่ายแห้งและเอทานอลเท่ากับ 1:5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และใช้อุณหภูมิในการสกัดเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงนำกากสาหร่ายที่เหลือจากการสกัดไขมันออกแล้วไปใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดพอลิแซคคา-ไรด์ต่อไป ในขั้นตอนของการสกัดพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายสไปรูลิน่า จะผสมสาหร่ายแห้งกับน้ำในอัตราส่วนที่เหมาะสม และในระหว่างการสกัดจะกวนผสมให้ของผสมเข้ากันอย่างต่อเนื่องด้วยแท่งกวนแม่เหล็กที่ความเร็วประมาณ 400 รอบต่อนาที ซึ่งพบว่าการสกัดภายใต้อุณหภูมิและระยะเวลาที่แตกต่างกันก็จะให้ประสิทธิภาพของการสกัดพอลิแซคคาไรด์แตกต่างกันด้วยอย่างไรก็ตามพบว่าสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการสกัดพอลิแซคคาไรด์แล้วสามารถนำมาสกัดซ้ำได้อีก โดยวิธีการสกัดซ้ำห้องปฏิบัติการจะใช้วิธีสกัดชนิดไหลข้ามแบบหลายขั้นตอน (Multistage cross-current extraction) โดยขั้นตอนแรกจะสกัดแบบร้อนหลังกระบวนการสกัดเสร็จสิ้นแยกส่วนที่เป็นกากออกจากส่วนใสโดยการปั่นเหวี่ยง (4,800 x g นาน 10 นาที) ส่วนกากนั้นจำนำไปสกัดซ้ำจนครบ 4 ครั้ง ภายใต้
การสกัดแบบร้อนเช่นเดิม

2.8.2 วิธีการสกัดพอลิแซคคาไรด์ที่ปล่อยออกนอกเซลล์ (Released polysaccharide)

นำสาหร่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำให้เข้มข้นโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนมีปริมาตรลดลง 10 เท่า และนำไปตกตะกอนด้วยเอทานอลเย็นปริมาตร 3 เท่า บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งเพื่อให้ตะกอนตกอย่างสมบูรณ์ (จิรพันธ์, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นภัสสร และคณะ (2553) รายงานว่า ปริมาณพอลิแซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่ามากที่สุดเท่ากับร้อยละ 35.8 และมากกว่าปริมาณพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยด่าง ที่ความเข้มข้นและอุณหภูมิสูง รวมทั้งมีปริมาณสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำที่ได้พอลิแซคคาไรด์มากที่สุดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส สกัดนาน 4 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับร้อยละ 30.1 ส่วนปริมาณน้ำตาล (Total sugar) มีค่าสูงที่สุดเมื่อสกัดด้วยด่างความเข้มข้น 0.3 นอร์มัล อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และที่ความเข้มข้นเท่ากัน อุณหภูมิในการสกัดสูงทำให้ปริมาณน้ำตาลสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิต่ำแต่การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัดนาน 2 ชั่วโมง มีค่าสูงสุดและสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัด 0 และ 4 ชั่วโมง

จากการศึกษาของ ดาริกา และคณะ (2555) ในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำการสกัดพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง โดยใช้เทคนิคพื้นผิวตอบสนองที่มีการวางแผนการทดลองแบบบอกซ์เบห์นเคน เพื่อศึกษาผลของปัจจัย 3 ปัจจัย คือ อัตราส่วนระหว่างสาหร่ายกับน้ำ ระยะเวลาในการสกัด และจำนวนรอบในการสกัดต่อปริมาณพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้ จากการทดลองพบว่าปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย มีผลต่อปริมาณพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้ ข้อมูลจากการทดลองที่ได้มีความเหมาะสมกับสมการควอดราติก เนื่องจากให้ค่าสัมประสิทธิของการตัดสินใจสูง (R_2 = 0.9140) เมื่อนำสมการทางคณิตศาสตร์ที่ได้มาสร้างกราฟพื้นผิวผลตอบ สามมิติของปริมาณพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้และกราฟโครงร่างเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ จำนวนรอบในการสกัด 3 รอบ อัตราส่วนระหว่างสาหร่ายต่อนาที 1:35 และระยะเวลาในการสกัดที่ 60 นาที โดยสภาวะดังกล่าวสามารถสกัดพอลิแซคคาไรด์ได้เท่ากับ 63.23 กรัมต่อ 100 กรัมสาหร่าย

2.9 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

2.9.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free radicals) หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมทาบอลิซึม (Metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระ (บุหรัน , 2556) อนุมูลอิสระแรงสูงที่สำคัญต่อร่างกาย ได้แก่ อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical) หรืออนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน (Superoxide anion radical) ที่พบในเซลล์ทั่วไปของสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่เกิดขึ้นระหว่างการขนส่งอิเล็กตรอนจากโมเลกุลของออกซิเจนไปยังโมเลกุลของน้ำภายในไมโตคอนเดรีย อนุมูลชนิดนี้จะไม่ทำลายเซลล์โดยตรงแต่จะทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์ โดยมีเหล็ก (Fe^{2+}) และคอปเปอร์ (Cu^{2+}) เร่งปฏิกิริยาจนได้เป็นอนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical) ซึ่งเป็นสารออกซิไดซ์ที่มีความว่องไวสูง สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารต่างๆที่อยู่รอบข้างได้ทันทีที่ถูกสร้างขึ้น อนุมูลอิสระเหล่านี้มักเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่และร่างกายของมนุษย์จะมีระบบในการขจัดอนุมูลอิสระเหล่านี้ออกไป ถ้ามีสารเหล่านี้มากเกินไป ระบบต่อต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกายจะลดลงและอาจก่อให้เกิดอันตรายแก่ร่างกายได้ (จันทนา และอนงค์, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นอันตรายต่อไขมันโปรตีน สารพันธุกรรมดีเอ็นเอ และคาร์โบไฮเดรต ทำให้เพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด ได้แก่ โรคหลอดเลือดตีบ และแข็งตัว โรคมะเร็งบางชนิด โรคความจำเสื่อม โรคไขข้ออักเสบ (จันทนา และอนงค์, 2555) โรคชรา โรคเกี่ยวกับสายตา (บุหรัน, 2556) โรคภูมิแพ้ (Allergies) โรคความดันโลหิต โรคเหงือก ความผิดปกติของปอดและระบบประสาท โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ โรคเกี่ยวกับความผิดปกติของผิวหนัง และโรคลำไส้อักเสบ เป็นต้น (Ames และคณะ, 1996) เป็นต้น โดยสารอนุมูลอิสระเหล่านี้ซึ่งรวมเรียกว่า reactive oxygen species (ROS) โดย ROS เป็นกลุ่มสารที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) กับโมเลกุลต่างๆ ภายในเซลล์ร่างกาย (ดวงกมล, 2557ข) โดยอนุมูลอิสระ ที่สำคัญที่สุดที่เกิดในเซลล์ที่ใช้ออกซิเจน ได้แก่ อนุพันธุ์ของออกซิเจน (Oxygen radical) เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) โลหะทรานซิชัน (Transition metals) อนุพันธุ์ของคาร์บอเนต (Carbonate radical, CO_3) อนุพันธุ์ของไนเตรท (Nitrate radical, NO_3) อนุพันธุ์ของเมททิว (Methyl radical, CH_3) อนุพันธุ์ของซุปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical, O_2) เป็นต้น (Halliwell, 1999)

2.9.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ พบมากในพืชผักและผลไม้บางชนิด (บุหรัน, 2556) หรืออาจพบได้ในสาหร่ายและยีสต์ เช่น สารแอสตาแซนธิน (ดวงกมล, 2557ก) เป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ (จันทนา และอนงค์, 2555) โดยสารต้านอนุมูลอิสระ ที่รู้จักกันดี ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอ ลูทีน (Lutein) และพฤกษเคมีต่างๆ (Phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (Polypheols) ไอโซฟลาโวน (Isoflavone) เบต้าแคโรทีน คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นต้น (ดวงกมล, 2557) สารต้านอนุมูลอิสระที่กล่าวมามีโครงสร้างเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน เช่น วิตามินอี มีโครงสร้างที่ละลายในไขมันได้ดี ดังนั้นจึงสามารถเข้าไปออกฤทธิ์ที่เมมเบรนได้ วิตามินอีจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรงสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ (จันทนา และอนงค์, 2555) มีรายงานกล่าวว่าสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง แซนโธน (Xanthones) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้งในหลอดทดลอง และในสัตว์ทดลอง (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

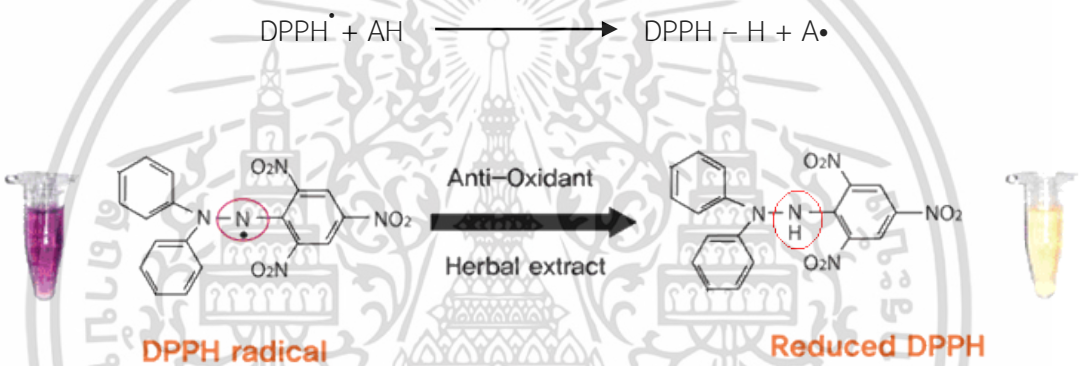
สารต้านอนุมูลอิสระพบได้จาก 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants) มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (Singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระเสริมฤทธิ์และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น (บุหรัน, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.3 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้คือ

2.9.3.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยให้ สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับดีพีพีเอช (1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl) เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วง (พันธุ์ทิพย์ และคณะ, 2556) และเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว โดยวิธีนี้เป็นวิธีการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ง่ายและ โดยดีพีพีเอช (มีสีม่วงเข้ม) จะเข้าทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนดอาจประมาณ 30 นาที ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันกับความเข้มข้นของดีพีพีเอช ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของดีพีพีเอช (สีอ่อนลง) บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ (ดวงกมล, 2557) ดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.10 แสดงปฏิกิริยาระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระ DPPH
ที่มา : http://radio.cuci.udg.mx/bch/EN/Antioxid.html

2.9.3.2 การฟอกสีอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical cation decolorization assay) เป็นการทดสอบโดย ABTS (2,2 /-Azino-bis-(3-ethylbenzothia zoline-6-sulfonic acid diammonium salt) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (บุหรัน, 2556) จะถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุบวกด้วยการเติมโปแทส-เซียมเปอร์ซัลเฟต เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นไม่มีสี (พันธุ์ทิพย์ และคณะ, 2556)

2.10 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

การทดสอบความเป็นพิษของสารที่มีต่อร่างกายของคนและสัตว์ (in vivo) ย่อมมีความซับซ้อนมากกว่าการทดสอบกับเซลล์เพาะเลี้ยงนอกร่างกายคนและสัตว์ (vitro) การประเมินผลของสารประกอบต่างๆ เช่น ยา เครื่องสำอาง อาหารเสริม สารเคมีกำจัดศัตรูพืช และสารเคมีที่ใช้ใน

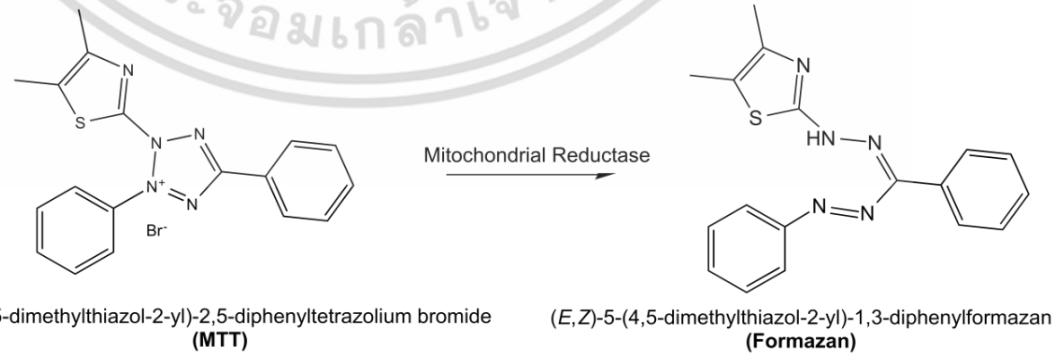
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรงงานอุตสาหกรรมต้องมีการคัดกรองโดยทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงของคนและสัตว์ก่อนที่จะทำการทดสอบในร่างกายของคนและสัตว์ต่อไป เช่น การทดสอบสารเคมีรักษาโรคมะเร็ง (cancer chemotherapy) การศึกษาสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) สารที่ก่อให้เกิดความพิการ (teratogenicity) และความเป็นพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) (Wilson,1986)

2.10.1 วิธีการตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม (Buckberry, 2005)

1) การตรวจสอบเซลล์มีชีวิตโดยพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการยอมให้สารบางชนิดผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane permeability) หรือการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมทาบอลิซึม
2) การตรวจสอบการรอดตายแบบ long term survival โดยศึกษาจากความสามารถในการเพิ่มจำนวนโคลน (clone)
3) การตรวจสอบการรอดตายของเซลล์โดยพิจารณาจากการกลายพันธุ์หรือการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็ง

สำหรับการตรวจสอบความเป็นพิษโดยพิจารณาการย้อมสีเซลล์ด้วย exclude vital dyes ได้แก่ eosin nigrosin และ trypan blue หรือย้อมสีด้วย include vital dyes ได้แก่ neutral red และ diacetyl fluorescein หรือการใช้ isotopes เช่น ^{51}Cr เป็นต้น นอกจากนี้การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยดูจากการเปลี่ยนแปลงทางกระบวนการเมทาบอลิซึม เช่นการตรวจการทำงานของเอนไซม์นิยมใช้ MTT (3-4,5-dimethylthiazol-2-yl-2,5 diphenyltetrazolium bromide) เป็น Tetrazole ที่มีสีเหลือง ละลายน้ำได้สามารถเข้าไปในไมโทคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิต และจะถูกรีดิวซ์โดย succinate dehydrogenase ให้อยู่ในรูปฟอร์มาซาน ซึ่งเป็นผลึกสีม่วงที่ไม่ละลายน้ำอยู่ภายในเซลล์ที่มีชีวิต ดังนั้นต้องทำการละลายผลึกฟอร์มาซานด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) หรือส่วนผสมระหว่าง sodium dedocyl sulfate (SDS) กับกรดไฮโดรลอริก (HCl) และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร (อุ่นเรือนและสุพัตรา ,2555)



รูปที่ : 2.11 แสดงโครงสร้างที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของสาร MTT

ที่มา : https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/de/MTT_reaction.png

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ดวงกมล (2557ก) ศึกษาการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่ผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ประสิทธิภาพสูง รายงานว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Scenedesmus armatus* ด้วยวิธีการเขย่าและชุด soxhlet ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 85.33 และ 25.72 ตามลำดับ

วสันต์ และคณะ (2557) รายงานว่า สารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนและสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสาหร่ายทุ่น มีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชมากที่สุดเท่ากับ 118.24 ± 9.76 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 121.33 ± 4.89 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

อนุชา และคณะ (2559) รายงานว่า ปริมาณสารสกัดพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่าย *Gracilaria salicornia* ด้วยวิธีการสกัดร้อนให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าการสกัดเย็น โดยมีปริมาณสารสกัดมากที่สุด (ร้อยละ 17.77±0.92) ส่วนองค์ประกอบทางเคมีในพอลิแซคคาไรด์พบว่า วิธีการสกัดเย็นให้ปริมาณซัลเฟตสูงกว่าการสกัดร้อน โดยมีปริมาณสูงสุดร้อยละ11.60±0.98

Baky และคณะ (2013) รายงานว่า ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้จาก *Spirulina platensis* มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) และเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ร้อยละ 86.99 และ 88.51 ตามลำดับ

Li และคณะ (2011) รายงานว่าพอลิแซคคาไรด์จาก *Nostoc commune* มีคุณสมบัติในการดูดซับความชื้นได้ดีและมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสามารถยับยั้งซูเปอร์ออกไซด์ไอออนและอนุพันธุ์ของไฮดรอกซิลในหลอดทดลองได้สูงถึงร้อยละ 65 และ 51 ตามลำดับ

Majdoub และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายสีเขียว *Arthrospria platensis* พบว่ามีคุณสมบัติในการต้านการแข็งตัวของเลือดถึงร้อยละ 50

Mao และคณะ (2006) รายงานว่า ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตกตะกอนด้วยเอทานอลจากสาหร่ายสีเขียว *Ulva conglobate* ที่มีองค์ประกอบหลักของพอลิแซคคาไรด์คือ แรมโนส และมีคุณสมบัติในการต้านการแข็งตัวของเลือดได้เล็กน้อยเมื่อเทียบยากับต้านการแข็งตัวของเลือดอย่างเฮพาริน โดยซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จะไปยับยั้งการทำงานของทรอมบินโดยตรงและป้องกันการทำงานของเฮพารินโคเฟคเตอร์ทู

Mohsen และคณะ (2007) รายงานว่า สารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำ (SP) ที่แยกได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล *Surgussum latifolium* แยกองค์ประกอบต่างๆด้วยโครมาโตกราฟีแลกเปลี่ยนไอออนและเจลฟิลเตชันโครมาโตรกราฟี ซึ่งจะได้ส่วนประกอบออกมา 3 ชนิดคือ SP-I,SP-II,SP-III ซึ่งมีหน่วยย่อยเป็นกรด กลูโคโรนิก แมนโนส กลูโคส ไซโลสและฟูโคสที่มี น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ (3.2, 1.0, 6.0, 2.2, 2.0), (4.0, 1.0, 5.6, 1.4, 1.8) และ (5.1, 1.0, 4.7, 1.7, 2.2) ตามลำดับ และนำสารสกัดทั้งสามชนิดนี้ไปวิเคราะห์ต่อด้วยอินฟราเรดสเปกตรัมและจีซีเอ็มเอสสเปกตรัม ซึ่งผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ได้พบว่าในส่วนของ SP-III สามารถต้านไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคเริมได้โดยการมีฤทธิ์ในการต้านไวรัสนี้จะขึ้นอยู่กับการกระจายตัวและน้ำหนักโมเลกุลของซัลเฟตที่มีอยู่ในโครงสร้าง

Nattayaporn และคณะ (2007) รายงานว่า สารสกัดที่ละลายน้ำจาก *Spirulina platensis* และนำมาตกตะกอนด้วยซีทีเอบี ซึ่งสารสกัดที่สกัดได้จากน้ำร้อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งไวรัส ที่ก่อให้เกิดโรคเริมด้วยค่าปริมาณสารสกัดที่ทำให้ไวรัสลดลงครึ่งหนึ่ง เท่ากับ 21.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบหลักของพอลิแซคคาไรด์ คือ แรมโนส ซึ่งปริมาณแคลเซียมไอออนและซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จะมีผลในการต้านไวรัส

Rizk และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ จากสาหร่ายสีเขียว *Ulva fasciata* พบว่า ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ UFP (*Ulva fasciata* polysaccharides) ช่วยบรรเทาอาการอักเสบช่วยลดไขมันในตับและช่วยลดการเกิดอาการไตวาย (Renal dysfunction) ซึ่งนำไปสู่ภาวะไขมันในเลือดสูง (Hypercholesterolemia) และโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของร่างกาย เช่น โรคอ้วน (Obesity) และโรคหัวใจ (Heart disease)

Daisy และคณะ (2015) รายงานว่า ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ พบมากในสาหร่ายทะเลได้แก่ สาหร่ายสีแดง (Rhodophyta) สาหร่ายสีน้ำตาล (Phaeophyta) และสาหร่ายสีเขียว (Rhodophyta)

Schaeffer and Krylov (2000) รายงานว่าพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายหลายชนิดมีคุณสมบัติในการต้าน HIV โดยส่วนมากจะพบในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่สร้างโดยสาหร่ายทะเล ในกลุ่มสาหร่ายสีน้ำตาลสาหร่ายสีแดง และในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย

Shao และคณะ (2013) รายงานว่า ซัลเฟตประเภทเฮทเทอโรพอลิแซคคาไรด์ ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียว *Ulva* spp. หรือเรียกว่า Ulvans ส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำตาลแรมโนส ไซโลส กลูโคส นอกจากนี้ยังประกอบด้วย กรดยูโรนิก และซัลเฟต ปริมาณมาก ซึ่งซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์เหล่านี้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ลดไขมัน (Antihyperlipidemic) ต้านไวรัส ต้านมะเร็งต้านการอักเสบ

Wang และคณะ (2014) ได้รวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวกับการสร้างซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายสีเขียวได้แก่ *Caulerpa, Ulva, Enteromorpha, Monostroma, Codium,* และสาหร่ายสีเขียวสกุลอื่นๆ ได้แก่ *Capsosiphon*, *Chaetomorpha*, *Bryopsis* และ *Halimeda* พบว่า *Ulva* มีการสร้างซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ได้สูงถึงร้อยละ 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

3.1 สารเคมี

1. อาหารสูตร N8 สูตรอาหารแข็ง (ภาคผนวก ก-1)
2. อาหารสูตร N8 สูตรอาหารเหลว (ภาคผนวก ก-2)
3. ฟีนอล (Phenol) ความเข้มข้นร้อยละ 5
4. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Sulfuric acid)
5. แบเรียมคลอไรด์ (Barium chloride)
6. เอทานอลิกดีพีพีเอช
7. แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride)
8. สารละลาย MTT
9. สารละลายไดเมททิวซัลฟรอกไซด์ (Dimethyl Sulfoxide:DMSO)
10. สารละลายโซเดียมโดดีซีลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate:SDS)
11. คลอโรฟอร์ม (Chloroform)
12. เมทานอล (Methanol) ความเข้มข้นร้อยละ 95
13. กรดบอริก (Boric acid)
14. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)
15. โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate)
16. คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper II sulfate)

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Bright field miroscope) ; Olympus : CH-30
2. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Bright field miroscope) ; Nikon : H550S
3. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยมสองตำแหน่ง ; Adventure : AR2140
4. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยมสี่ตำแหน่ง ; Adventure : AR2140
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge); Hermle : Z326HK
6. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงขนาดเล็ก (Microcentrifuge) ; Eppendorf : 5415R
7. เครื่องเขย่า (Opbital shaker) ; Gallenkamp
8. เครื่องเขย่า (Opbital shaker); Plantform shaker : innova 2000
9. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ; Ultrabasic : UB-10
10. เครื่องย่อยโปรตีน (Gerhardt) : KJELDATHERM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. เครื่องกลั่นโปรตีน (Gerhardt) : Vapodest 30s
12. เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporators) ; Heidolph
13. เครื่องวัดแสง (Lux meter) ; 1010BS
14. เครื่องผสมสาร (Vortex) ; Kurzzeit : G560E
15. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง SYNERGY : HTX ; muti-mode reader
17. ตู้ปลอดเชื้อแบบไบโอฮาซาด; M-Tech : Cleanline BS-120
18. ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ (Hot air oven) ; BINDER : ED/FD
19. ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ; Contherm : thermotec 2000
20. ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ; Astell Hearson
21. ตู้ดูดควัน (Fume Hood) ; Astercair : Astec
22. เตาอบไมโครเวฟ (Microwave) ; Sumsung : m1913
23. โถดูดความชื้น (Desiccator) ; Glaswerkwertim Duran : GL32 DN300
24. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ; Toomy : ES-315
25. ขวดน้ำพลาสติกขนาด 1,000 และ 6,000 มิลลิลิตร
26. ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemacytometer) ชนิด Improved neubauer ; BOECO Germany
27. เตาเผาอุณหภูมิสูง (Furnaces) ; Fisher Scientific : FT01/137
28. เครื่องฟลูเรียทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Fourier Transfor Infrared) ; Nicolet : 6700

3.3 สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 สายพันธุ์สาหร่ายที่คัดแยกได้จากปหล่งน้ำธรรมชาติ

ลำดับ	สายพันธุ์สาหร่าย	รหัส	แหล่งที่มา
1	*Chlamydomonas* sp.	P2-59	บ่อปลาแปลงทดลองคณะเกษตร สจล. เก็บตัวอย่างวันที่ 19/08/59
2	*Chlorella* sp.	N11-59	บ่อเลี้ยงปลาในบ้านเลขที่ 7/1 ม.9 เขตหนองจอก กรุงเทพฯ เก็บตัวอย่างวันที่ 10/08/59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 สายพันธุ์สาหร่ายจากห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.

ลำดับ	สายพันธุ์สาหร่าย	รหัส	แหล่งที่มา
1	*Chlorella* sp.	VB55	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
2	*Chlorella* sp.	A	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
3	*Chlorella* sp.	B	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
4	*Chlorella* sp.	G	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
5	*Chlorella* sp.	U	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
6	*Chlorella* sp.	3	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
7	*Chlorella* sp.	5	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
8	*Chlamydomonas* sp.	P	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
9	*Scenedesmus* sp.	C	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
10	*Scenedesmus* sp.	W53	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
11	*Scenedesmus* sp.	F9	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
12	*Scenedesmus* sp.	F14	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
13	*Scenedesmus* sp.	M10	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
14	*Scenedesmus* sp.	M12	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
15	*Scenedesmus* sp.	M14	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 (ต่อ) สายพันธุ์สาหร่ายจากห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.

16	*Scenedesmus* sp.	PA55	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
17	*Chlorococcum* sp.	AB1	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.
18	*Selenastrum* sp.	F15	หัวเชื้อในห้องปฏิบัติการสาหร่าย ภาควิชาชีววิทยา สจล.

3.4 วิธีการดำเนินงาน

3.4.1 คัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย

3.4.1.1 สาหร่ายที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ

คัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยนำตัวอย่างน้ำที่ได้มาคัดแยกด้วยวิธี spread plate บนจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารแข็งสูตร N-8 ให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำโคโลนีของสาหร่ายที่มีลักษณะแตกต่างกันมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี cross streak บนจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารแข็งสูตร N-8 จนได้เชื้อสาหร่ายที่บริสุทธิ์ โดยสาหร่ายที่แยกได้มีจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Chlorella* sp. N11-59 นำสาหร่ายที่แยกได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ มาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า เพื่อศึกษารูปร่าง ลักษณะ ชนิดของสาหร่าย จากนั้นนำเชื้อสาหร่ายที่บริสุทธิ์ถ่ายลงในหลอดอาหารเอียง นำไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.4.1.2 สาหร่ายจากห้องปฏิบัติการสาหร่าย

นำสาหร่ายจากห้องปฏิบัติการจำนวน 18 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. B, *Chlorella* sp. G, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chalmydomonas* sp. P, *Scenedesmus* sp. C, *Scenedesmus* sp. W53, *Scenedesmus* sp. F9, *Scenedesmus* sp. F14, *Scenedesmus* sp. M10, *Scenedesmus* sp. M12, *Scenedesmus* sp. M14, *Scenedesmus* sp. PA55, *Chlorococcum* sp. AB1 และ *Selenastrum* sp. F15 ที่เก็บในตู้เย็นออกมาให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 1 ถึง 2 วัน เพื่อให้สาหร่ายมีการปรับตัว จากนั้นนำสาหร่ายที่มีการปรับตัวมาเพิ่มจำนวนเชื้อลงในหลอดอาหารเอียงสูตร N-8 ภายใต้การให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 4 ถึง 7 วัน ตามความเหมาะสมของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ จากนั้นนำไปใช้ในการทดลองและการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่สามารถผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูง

3.4.2.1 วัดการเจริญของสาหร่าย

ตอนที่ 1 เตรียมหัวเชื้อ

เตรียมอาหารเหลวสูตร N-8 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเย็นแล้วให้ถ่ายเชื้อสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์จากหลอดอาหารเอียงลงในอาหารเหลว N-8 ที่เตรียมไว้ จำนวน 1-2 ลูป ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique) นำไปสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ในอาหารเหลวมาเพาะเลี้ยงในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสงเท่ากับ 1800 ลักซ์ เป็นเวลา 3-5 วัน ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.3-0.5

ตอนที่ 2 การวัดการเจริญของสาหร่าย

เตรียมอาหารเหลวสูตร N-8 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 120 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที นำหัวเชื้อที่เตรียมได้จากตอนที่ 1 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหาร) ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร 150 มิลลิลิตร โดยเลี้ยงที่สภาวะแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสงเท่ากับ 1800 ลักซ์ โดยทำการทดลองกับสาหร่ายทั้ง 20 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 3 ซ้ำและทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวัดการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ทุกๆ 2 วัน ดังนี้ วัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (ภาคผนวก ข-1) นับจำนวนเซลล์ (ภาคผนวก ข-2) และหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (dry cell weight) (ภาคผนวก ข-3) พร้อมกับหาอัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate) ของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ (ภาคผนวก ข-4) จนกระทั่งเซลล์สาหร่ายทุกสายพันธุ์เข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่

3.4.2.2 การตรวจสอบการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 20 สายพันธุ์

ตอนที่ 1 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) ของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ ด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริก โดยใช้กลูโคสเป็นสารมาตรฐาน (Dubois และคณะ, 1956)

นำเซลล์สาหร่ายที่เข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ทั้ง 20 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Chlorella* sp. N11-59, *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. B, *Chlorella* sp. G, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chalmydomonas* sp. P, *Scenedesmus* sp. C, *Scenedesmus* sp. W53, *Scenedesmus* sp. F9, *Scenedesmus* sp. F14, *Scenedesmus* sp. M10, *Scenedesmus* sp. M12, *Scenedesmus* sp. M14, *Scenedesmus* sp. PA55, *Chlorococcum* sp. AB1 และ *Selenastrum* sp. F15 ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเวลา 20 นาที นำสารสกัดส่วนใส (exopolysaccharide) ที่ได้ไปทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้ไปตรวจสอบการเป็นสารประเภทซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ โดยวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ด้วยวิธีด้วยฟีนอลซัลฟูริก (ภาคผนวก ข-5.1) ในอัตราส่วน สารสกัด 1 มิลลิลิตร : ฟีนอล 1 มิลลิลิตร : กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด แสดงในตารางที่ ง 2-1 (ภาคผนวก ง) โดยคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานกลูโคส แสดงในรูปที่ ค-1 (ภาคผนวก ค)

ตอนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟต ด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยแบเรียมคลอไรด์ ($BaCl_2$)

นำสารสกัดส่วนใส ที่ทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแล้ววิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟต (ภาคผนวก ข-5.2) โดยตกตะกอนด้วยแบเรียมคลอไรด์ (ความเข้มข้นร้อยละ 4) ที่อัตราส่วน 1 : 1 จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที รินส่วนใสทิ้ง นำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักตะกอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักตะกอนที่แน่นอน (ณัฐวุฒิ, 2555) ที่ทำการทดลองการการปริมาณของซัลเฟตโดยให้ตกตะกอนในรูปของแบเรียมซัลเฟต โดยใช้สารละลายแบเรียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 4 แสดงในตารางที่ ง 2-2 (ภาคผนวก ง)

ตอนที่ 3 คัดเลือกสาหร่ายที่มีการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูง 3 สายพันธุ์

นำผลการวิเคราะห์จากตอนที่ 1 และ 2 ของสาหร่ายทั้ง 20 สายพันธุ์ มาทำกราฟแสดงการเปรียบเทียบระหว่างปริมาณน้ำตาลและปริมาณซัลเฟต โดยทำการคัดเลือกสาหร่ายที่มีปริมาณน้ำตาล และปริมาณซัลเฟต สูงที่สุด 3 สายพันธุ์ เพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3.4.3 การศึกษาการเจริญของสาหร่ายที่คัดเลือกจากปริมาณการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูง จำนวน 3 สายพันธุ์

3.4.3.1 วัดการเจริญของสาหร่าย

ตอนที่ 1 เตรียมหัวเชื้อ

เตรียมอาหารเหลวสูตร N-8 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเย็นแล้วให้ถ่ายเชื้อสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์จากหลอดอาหารเอียงลงในอาหารเหลว N-8 ที่เตรียมไว้ จำนวน 1-2 ลูป ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำไปสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ในอาหารเหลวมาเพาะเลี้ยงในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสงเท่ากับ 1800 ลักซ์ ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.3-0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 2 วัดการเจริญของสาหร่าย

เตรียมอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 600 มิลลิลิตรในขวดแก้วขนาด 700 มิลลิลิตร จำนวน 60 ขวด นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดันสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำอาหารเทใส่ถังขนาด 6 ลิตรที่เจาะฝาขวดและต่อสายยางเพื่อให้อากาศ โดยใส่อาหารเหลวถังละ 4 ลิตร (สายพันธุ์ละ 3 ซ้ำ) แต่ละถังใส่หัวเชื้อสาหร่าย 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ปริมาตร 400 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหาร) จากนั้นนำถังต่อเข้ากับอุปกรณ์ให้อากาศ ในสภาวะการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส ให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ที่ความเข้มแสงเท่ากับ 5000 ลักซ์ และทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวัดการเจริญของสาร่ายแต่ละสายพันธุ์ทุกๆ 2 วัน ดังนี้ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ หาน้ำหนักเซลล์แห้ง หาปริมาณซัลเฟต และวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมด จนกระทั่งเซลล์สาหร่ายทุกสายพันธุ์เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่

3.4.4 การสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์

นำเซลล์สาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ ปิดเครื่องให้อากาศและตั้งทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้สาหร่ายปลดปล่อยสารประเภทพอลิแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำออกมานอกเซลล์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำสารสกัดส่วนใสที่ได้ไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะได้สารสกัดในรูปของของเหลวข้นหนืดสีเหลือง (สารสกัดลดลงจากเดิม 10 เท่า) (จิรพันธ์, 2555) นำสารสกัดที่ได้ตั้งทิ้งไว้ในเดซิเคเตอร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อระเหยน้ำส่วนเกินและเพื่อให้สารสกัดมีน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.4.5 การศึกษาซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์

ตอนที่ 1 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล (Total sugar) ด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริก โดยใช้กลูโคสเป็นสารมาตรฐาน (Dubois และคณะ, 1956)

นำสารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Selenastrum* sp. F15, *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10 ไปตรวจสอบการเป็นสารประเภทพอลิแซคคาไรด์ โดยวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ด้วยวิธีด้วยฟีนอลซัลฟูริก โดยนำสารสกัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมฟีนอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร (3 ซ้ำ) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารสกัด โดยคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานกลูโคส แสดงในรูปที่ ค-1 (ภาคผนวก ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟตด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยแบเรียมคลอไรด์

นำสารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Selenastrum* sp. F15, *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10 ตกตะกอนด้วยแบเรียมคลอไรด์ (ความเข้มข้นร้อยละ 4) ที่อัตราส่วน 1 : 1 จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที รินส่วนใสทิ้ง นำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักตะกอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักตะกอนที่แน่นอน ดัดแปลงตามวิธีของ ณัฐวุฒิ (2555) ที่ทำการทดลองการหาปริมาณของซัลเฟตโดยให้ตกตะกอนในรูปของแบเรียมซัลเฟต โดยใช้สารละลายแบเรียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 4

ตอนที่ 3 วิเคราะห์องค์ประกอบซัลเฟตในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ด้วยเทคนิคฟลูเรียทราน-ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

นำสารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบหรือหมู่ฟังก์ชั่นที่มีอยู่ในโมเลกุลสารสกัดที่ต้องการตรวจสอบด้วยเครื่องฟลูเรียทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (ภาคผนวก ข-14)

3.4.6 การศึกษาองค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย

นำเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีในข้อที่ 3.4.4 มาทำให้แห้งด้วยการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในตู้อบลมร้อน จากนั้นนำไปทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ บันทึกน้ำหนักเซลล์แห้งทั้งหมดที่ได้ จากนั้นนำเซลล์แห้งดังกล่าวไปใช้ในการวิเคราะห์วิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่ายด้วยวิธีการต่างๆดังนี้ การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณเถ้า ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณความชื้น และปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ภาคผนวก ข-7-13)

3.4.7 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์

3.4.7.1 การทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระจะใช้ด้วยวิธีดีพีพีเอช

การทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระจะใช้วิธีดีพีพีเอช หรือความสามารถในการจับอนุมูลอิสระของอนุภาคของสารดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) โดยจะไปเจือจางสีของสารดีพีพีเอช (DPPH) ที่เตรียมให้มีความเข้มข้น 0.35 มิลลิโมลาร์ ในเอทานอล 95% ในที่มืด (ภาคผนวก ค-4) นำสารละลาย 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เก็บไว้ในที่มืด 30 นาที วัดการดูดกลืนสีที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การจับอนุมูลอิสระตามวิธีของ Kumar และคณะ (2008) ดังนี้

$$\textbf{\% Scavenging capacity (\%SC)} = [\, A_0 - (A - A_b) / A_0 \,] \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ $A_0 = A_{517}$ ของ DPPH ที่ไม่เติมตัวอย่างสารสกัด

$A = A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดที่เติม DPPH

$A_b = A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดที่ไม่เติม DPPH

3.4.7.2 การทดสอบการเป็นสารต้านมะเร็งด้วย MTT assay (อุ่นเรือน และสุพัตรา, 2555)

การต้านมะเร็งด้วยวิธี MTT assay ที่ทำการทดสอบกับเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) เตรียม stock สารสกัดที่ใช้ทดสอบโดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย (ประมาณ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, 5-10 มิลลิลิตร เตรียมสารละลาย MTT ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม ใน PBS 10 มิลลิลิตร และเก็บในตู้แช่แข็ง เช่นเดียวกับสารสกัดที่เตรียมได้ในข้างต้น ปลูกเซลล์มะเร็งเต้านม (ประมาณ $1x10^5$) ลงในจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดอาหารออกจากจานเพาะเชื้อแต่ละหลุม และเติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มไว้อีก 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาใส่สารละลาย MTT ลงในแต่ละหลุมทดสอบ จากนั้นบ่มต่อเป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดสารละลาย MTT ทิ้งและละลายผลึกฟอร์มาซานด้วย DMSO : SDS และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร (ภาคผนวก ข-15)

3.4.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยใช้แผนการทดลองเป็นแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Ducan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS/PC version 11 และ Microsoft windows excel 2013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

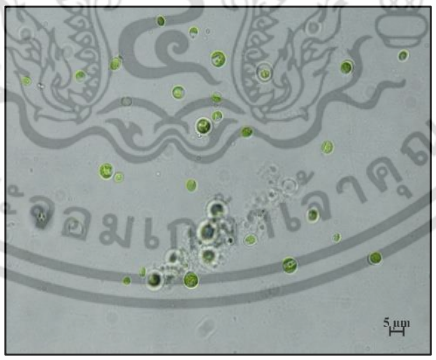
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 คัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย

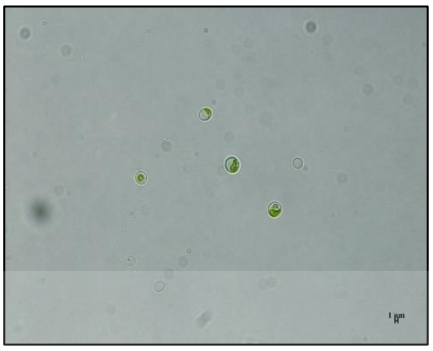
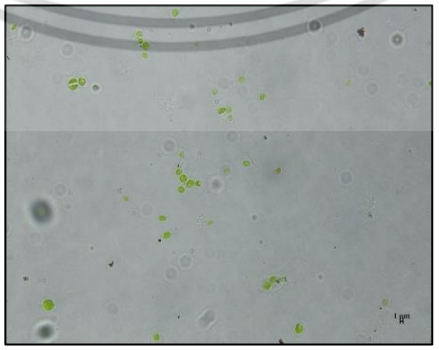
จากการคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติด้วยวิธี spread plate จากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี cross streak บนจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารสูตร N-8 ได้สายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก 2 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. N11-59 และ *Chlamydomonas* sp. P2-59 และสาหร่ายจากห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จำนวน 18 สายพันธุ์คือ *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. B, *Chlorella* sp. G, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 5, *Chlamydomonas* sp. P, *Scenedesmus* sp. C, *Scenedesmus* sp. W53, *Scenedesmus* sp. F14, *Scenedesmus* sp. PA55, *Chlorococcum* sp. AB1, *Chlorella* sp. 3, *Scenedesmus* sp. F9, *Scenedesmus* sp. M10, *Scenedesmus* sp. M12, *Scenedesmus* sp. M14 และ *Selenastrum* sp. F15 พบว่าสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะดังนี้

ตารางที่ 4.1 ลักษณะเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 20 สายพันธุ์

ลำดับ	สายพันธุ์สาหร่าย	ภาพเซลล์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	ลักษณะเซลล์
1	*Chlorella* sp. VB55		เซลล์มีสีเขียว ลักษณะเซลล์กลมและวงรี อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ มีคลอโรพลาสต์รูปถ้วย ไม่มีแฟลกเจลลา ในช่วงวันที่ 4-6 ของการเลี้ยงเซลล์มีการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว

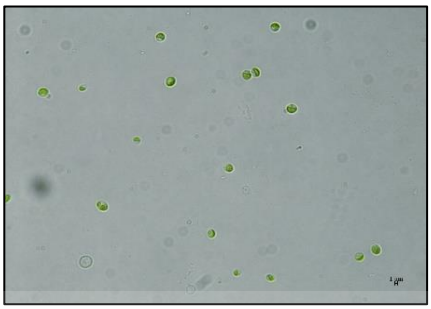
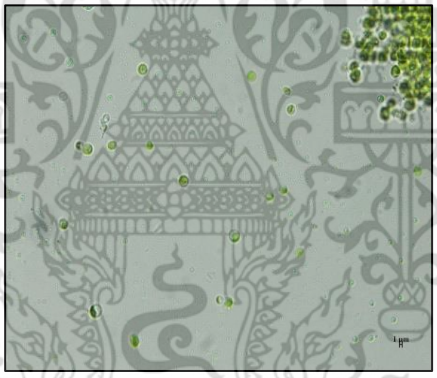
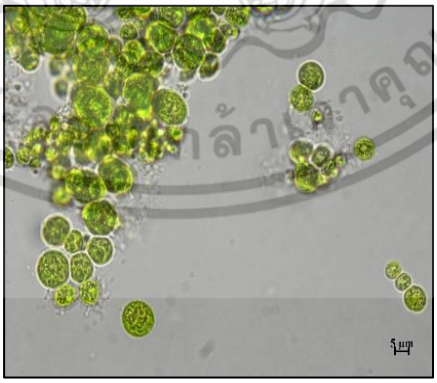
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ) ลักษณะเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 20 สายพันธุ์

2	*Chlorella* sp. A		เซลล์สีเขียว ลักษณะเซลล์กลม อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ ในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงพบเซลล์เกาะกันเป็นกลุ่มได้บ้าง พบคลอโร-พลาสต์รูปถ้วย
3	*Chlorella* sp. B		เซลล์สีเขียว ลักษณะเซลล์กลม อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยงเป็นต้นไปพบเซลล์เจริญเกาะกันเป็นกลุ่มได้บ้างเล็กน้อย มีคลอโร- พลาสต์รูปถ้วย
4	*Chlorella* sp. G		เซลล์มีสีเขียว ลักษณะเซลล์กลมและวงรี อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆหรือกระจัดกระจาย ในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงเซลล์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว พบเมือกใสรอบเซลล์ชัดเจน คลอโรพลาสต์รูปถ้วย
5	*Chlorella* sp. U		เซลล์มีสีเขียว ลักษณะเซลล์กลม อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรือเป็นกระจุกไม่สม่ำเสมอ เซลล์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง มีคลอโร-พลาสต์รูปถ้วย

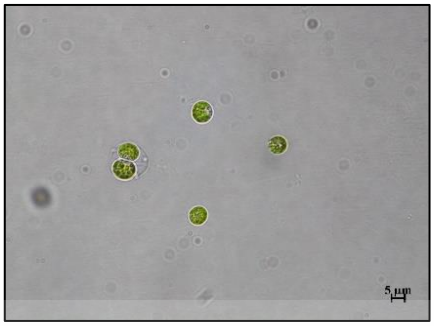
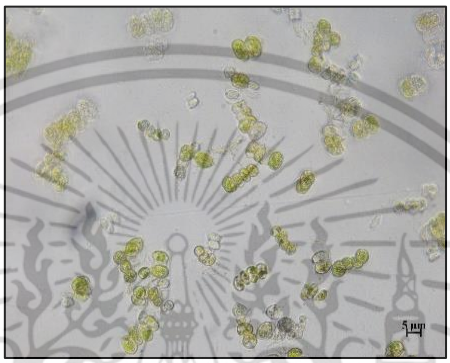
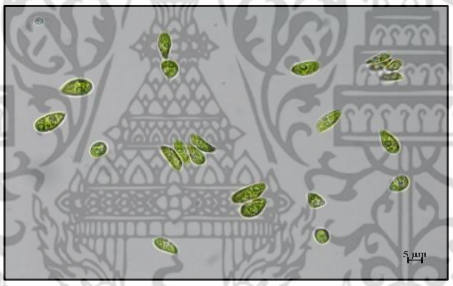
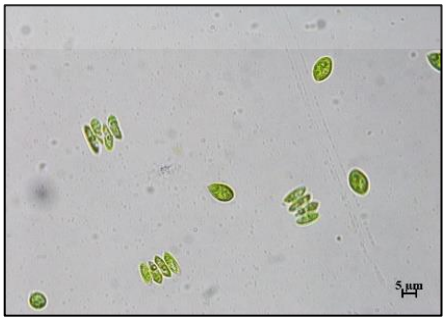
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ) ลักษณะเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 20 สายพันธุ์

6	*Chlorella* sp. 3		เซลล์มีสีเขียวลักษณะเซลล์กลม เป็นวงรี อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ เซลล์เพิ่มจำนวนอย่างรดเร็วในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง มีคลอโรพลาสต์รูปถ้วย
7	*Chlorella* sp. 5		เซลล์มีสีเขียว ลักษณะเซลล์กลมๆ อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรือเป็นกระจุกไม่สม่ำเสมอ เซลล์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง เห็นเมือกหุ้มบริเวณรอบเซลล์ชัดเจน มีคลอโรพลาสต์รูปถ้วย
8	*Chlorella* sp. N11-59		เซลล์มีสีเขียว ลักษณะเซลล์กลมๆ อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ พบเป็นกระจุกไม่สม่ำเสมอได้บ้าง คลอโรพลาสต์รูปถ้วยได้ชัดเจน
9	*Chlamydomonas* sp. P2-59		ลักษณะเซลล์เป็นเซลล์เดี่ยวๆ และมักพบอยู่รวมกันเป็นกระจุก มีรูปร่างทรงกลมหรือวงรี มีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วย มีไพรีนอยด์ 1 อันเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา 2 เส้น

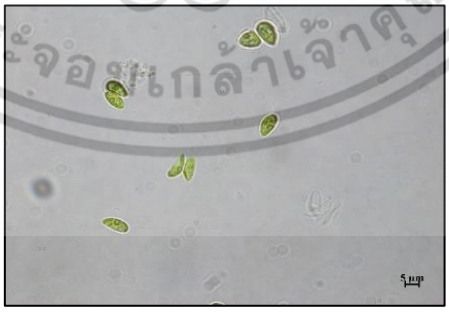
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ) ลักษณะเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 20 สายพันธุ์

10	*Chlamydomonas* sp. P		ลักษณะเซลล์เป็นเซลล์เดี่ยวๆ ทรงกลม เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา 2 เส้น มีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วย มีไพรีนอยด์ 1 อัน
11	*Scenedesmus* sp. C		มีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์จำนวน 4 เซลล์ เรียงต่อกันทางด้านข้าง แต่ละเซลล์มีรูปร่างรูปกระสวย ปลายค่อนข้างมน มีไพรีนอยด์ 1 อันมีคลอโรพลาสต์เป็นแถบตามความยาวของเซลล์
12	*Scenedesmus* sp. W53		เซลล์มีลักษณะกลมมนเรียงต่อกันด้านข้าง มีไพรีนอยด์และนิวเคลียส จะพบคลอโรพลาสต์เป็นแผ่นเต็มเซลล์
13	*Scenedesmus* sp. F9		เซลล์รูปกระสวย หัวท้ายแหลม มักอยู่ติดกัน 4 เซลล์ พบคลอโรพลาสต์ไม่เป็นแผ่นเต็มเซลล์ ตั้งแต่วันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง เป็นต้นไปเซลล์มักแยกเป็นเซลล์เดี่ยวๆลักษณะกลมมน
14	*Scenedesmus* sp. F14		เซลล์มีลักษณะกลมรี หรือวงกลม เรียงต่อกันประมาณ 4 เซลล์ มีไพรินอยด์และนิวเคลียสอยู่ในเซลล์

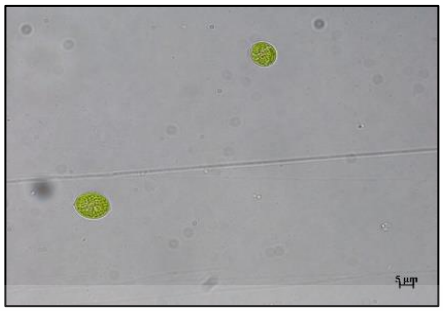
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ) ลักษณะเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 20 สายพันธุ์

15	*Scenedesmus* sp. M10		เซลล์มีสีเขียว เซลล์อยู่กันเป็นโคโลนีมีเซลล์เรียงชิดติดกันจำนวน 4 มีรูปร่างคล้ายกระสวยหรือพระจันทร์ครึ่งซีก จะพบเป็นเซลล์เดี่ยวๆในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงเป็นต้นไป คลอโรพลาสต์มีลักษณะคล้ายรูปจานแบน
16	*Scenedesmus* sp. M12		เซลล์มีลักษณะรูปร่างคล้ายกระสวยปลายมน พบเป็นเซลล์เดี่ยวๆในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงเป็นต้นไป บางครั้งพบคลอโรพลาสต์ไม่เป็นแผ่นเต็มเซลล์
17	*Scenedesmus* sp. M14		มีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์จำนวน 4 8 หรือ 16 เซลล์ เรียงต่อกันทางด้านข้าง แต่ละเซลล์มีรูปร่างกลมรีหรือรูปไข่ มีไพรีนอยด์ 1 อัน ไม่พบการแบ่งเซลล์เป็น 1 ตลอดระยะเวลาของการเพาะเลี้ยง
18	*Scenedesmus* sp. PA55		มีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์จำนวน 2 เซลล์ เรียงต่อกันทางด้านข้าง แต่ละเซลล์มีรูปร่างเป็นรูปวงรี มีไพรีนอยด์ 1 อัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ) ลักษณะเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 20 สายพันธุ์

19	*Chlorococcum* sp. AB1		เป็นสาหร่ายเซลล์เดี่ยว ไม่เคลื่อนที่ ลักษณะเซลล์เป็นรูปทรงกลม แต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์รูปถ้วยเกือบเต็มเซลล์ และมีไพรีนอยด์ 1 อัน
20	*Selenastrum sp.* F15		ลักษณะเซลล์คล้ายรูปพระจันทร์เสี้ยว กระจายตัวเป็นเซลล์เดี่ยว โดยแต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์หนึ่งอัน และไพรี-นอยด์

4.2 ศึกษาการเจริญและการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

4.2.1 วัดการเจริญของสาหร่าย

เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 20 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. N11-59, *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. B, *Chlorella* sp. G, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chalmydomonas* sp. P, *Scenedesmus* sp. C, *Scenedesmus* sp. W53, *Scenedesmus* sp. F9, *Scenedesmus* sp. F14, *Scenedesmus* sp. M10, *Scenedesmus* sp. M12, *Scenedesmus* sp. M14, *Scenedesmus* sp. PA55, *Chlorococcum* sp. AB1 และ *Selenastrum* sp. F15 ในอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 120 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 องศาเซลเซียส ให้แสงอย่างต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสงเท่ากับ 1800 ลักซ์ ในเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ดังแสดงในรูปที่ 4.1 จากนั้นเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ทุกๆ 2 วันของการเพาะเลี้ยงเพื่อวัดการเจริญด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ และน้ำหนักเซลล์แห้ง จนกระทั่งเซลล์ของสาหร่ายอยู่ในระยะการเจริญเติบโตคงที่ (Stationary phase) (ภาคผนวก ง) พบว่าสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีอัตราการเจริญแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2-4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 การเจริญเติบโต ปริมาณน้ำตาล และปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก 20 สายพันธุ์

สายพันธุ์สาหร่าย	วันที่เข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะต่อวัน	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)
Chlorella sp. VB55	8	0.640±0.01	1.71±0.01	$5.85\pm0.04 \times 10^{7}$	0.27	2.185 ± 0.00^{c}	12.20 ± 0.45^{i}
Chlorella sp. A	12	0.655±0.01	1.74±0.04	$5.72\pm0.14 \times 10^{7}$	0.22	0.107 ± 0.00^{h}	7.10 ± 0.36^{m}
Chlorella sp. B	12	0.621±0.00	1.61±0.16	$4.20\pm0.16 \times 10^{7}$	0.19	0.099 ± 0.01^{h}	5.60 ± 0.61^{n}
Chlorella sp. G	14	0.618±0.00	1.75±0.66	$4.17\pm0.10 \times 10^{7}$	0.18	0.558 ± 0.01^{hgfe}	13.80 ± 0.25^{h}
Chlorella sp. U	10	0.577±0.01	1.48±0.02	$3.85\pm0.09 \times 10^{7}$	0.21	0.167 ± 0.00^{hg}	7.90 ± 0.36^{l}
Chlorella sp. 3	14	0.722±0.00	1.68±0.23	$8.15\pm0.04 \times 10^{7}$	0.23	0.255 ± 0.01^{hgf}	9.00 ± 0.80^{k}
Chlorella sp. 5	8	0.618±0.01	1.19±0.11	$5.17\pm0.02 \times 10^{7}$	0.25	0.546 ± 0.01^{hgfe}	16.90 ± 0.17^{f}
Chlorella sp. N11-59	10	0.387±0.00	1.78±0.03	$5.45\pm0.33 \times 10^{7}$	0.29	0.270 ± 0.01^{hgf}	18.40 ± 0.53^{d}
Chlamydomonas sp. P2-59	12	0.447±0.00	1.94±0.04	$0.29\pm0.05 \times 10^{7}$	0.16	4.565 ± 0.18^{a}	24.10 ± 0.26^{a}
Chlamydomonas sp. P	12	0.584±0.00	1.65±0.04	$0.23\pm0.04 \times 10^{7}$	0.10	0.542 ± 0.01^{hgfe}	13.80 ± 0.17^{h}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.2 (ต่อ) การเจริญเติบโต ปริมาณน้ำตาล และปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก 20 สายพันธุ์

สายพันธุ์สาหร่าย	วันที่เข้าสู่ระยะกาเจริญเติบโตคงที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะต่อวัน	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)
Scenedesmus sp. C	10	0.487±0.00	1.71±0.05	0.27±0.10 x10^{7}	0.18	0.224±0.01 ^{hgf}	8.00±0.56 ^{l}
Scenedesmus sp. W53	10	0.602±0.01	1.72±0.02	0.32±0.20 x10^{7}	0.19	0.675±0.03 ^{fe}	14.20±0.44 ^{h}
Scenedesmus sp. F9	14	0.864±0.00	1.90±0.12	0.88±0.28 x10^{7}	0.29	0.552±0.03 ^{hgfe}	11.30±0.38 ^{j}
Scenedesmus sp. F14	14	0.689±0.05	1.92±0.10	0.58±0.41x10^{7}	0.17	0.638±0.01 ^{gfe}	18.00±0.10 ^{ed}
Scenedesmus sp. M10	12	0.744±0.00	1.86±0.04	0.46±0.24x10^{7}	0.21	4.253±0.12 ^{a}	22.30±0.44 ^{b}
Scenedesmus sp. M12	12	0.623±0.00	1.80±0.22	0.60±0.30 x10^{7}	0.19	0.886±0.09 ^{e}	15.40±0.46 ^{e}
Scenedesmus sp. M14	12	0.609±0.00	1.82±0.10	0.36±0.10 x10^{7}	0.20	2.547±0.01 ^{c}	17.60±0.36 ^{g}
Scenedesmus sp. PA55	12	0.595±0.00	1.85±0.04	0.45±0.08 x10^{7}	0.20	0.552±0.03 ^{hgfe}	15.00±0.46 ^{g}
Chlorococcum sp. AB1	16	0.827±0.00	1.88±0.09	0.50±0.41 x10^{7}	0.17	2.150±1.00 ^{d}	10.80±0.17 ^{j}
Selenastrum sp. F15	12	0.663±0.00	2.21±0.05	1.54±0.05 x10^{7}	0.17	3.521±0.04 ^{b}	20.50±0.17 ^{c}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$)

จากผลการทดลองข้างต้นจะพบว่า *Chlamydomonas* sp. P และ *Chlamydomonas* sp. P2-59 จะเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 12 ของการเลี้ยง ซึ่งจะสอดคล้องกับงานวิจัยของ จิรพันธ์ (2555) ที่ศึกษาแหล่งของแสงต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas debaryana* Chr-WD3 พบว่าในสภาวะการให้แสงไฟด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสงเฉลี่ยประมาณ 3000 ลักซ์ อุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 30 องศา *Chlamydomonas debaryana* Chr-WD3 จะเริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโต จะเริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ในวันที่ 12-14 ซึ่งจะช้ากว่าการการเพาะเลี้ยงในระบบให้แสงแดดที่ความเข้มแสงเฉลี่ยประมาณ 67,000 ลักซ์ อุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 36.5 องศาเซลเซียส

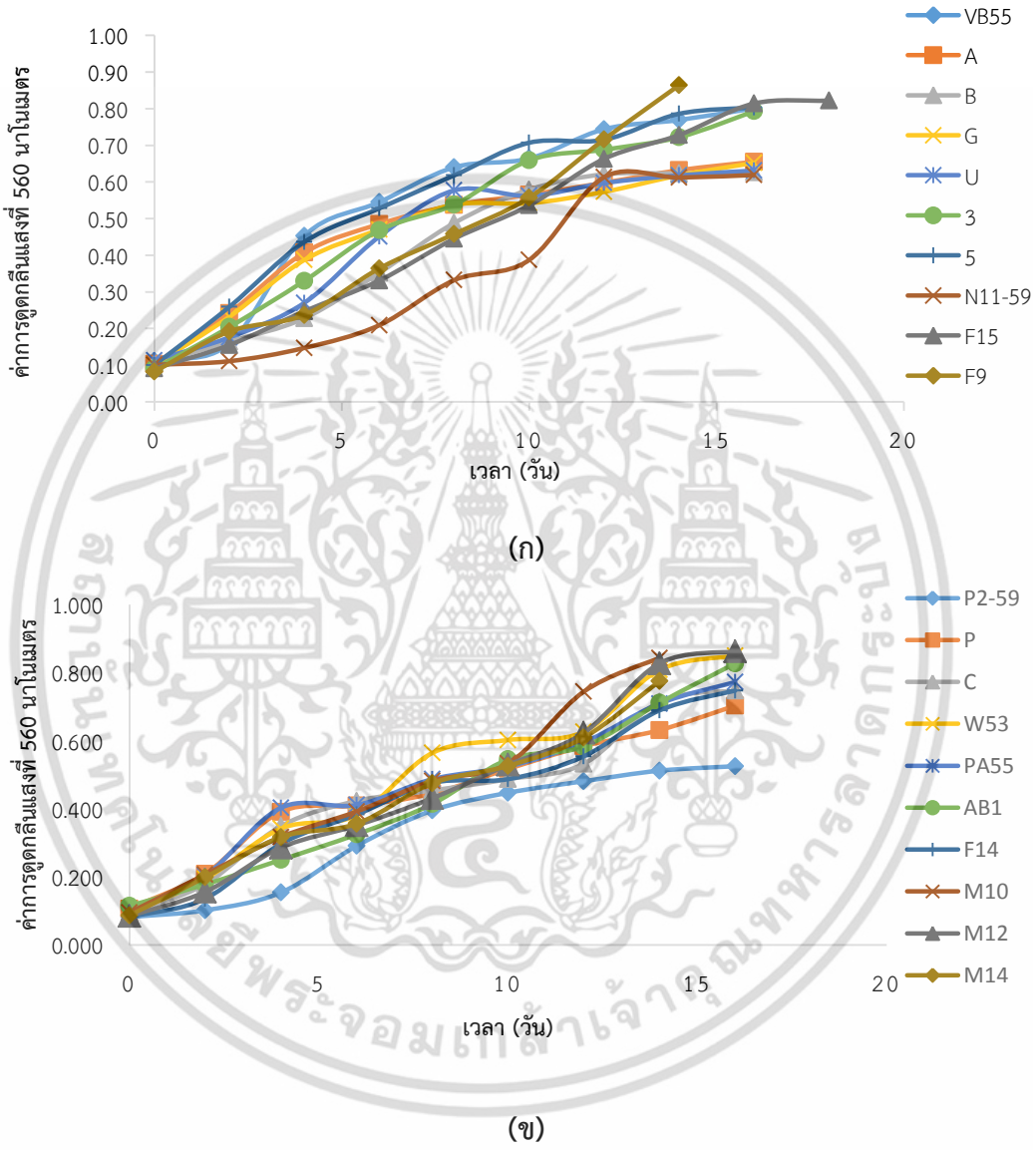
Praveenkumar และคณะ (2012) ศึกษาการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. BUM11008 ด้วยอาหารสูตร Cho10 พบว่า *Chlorella* sp. BUM11008 จะเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงเป็นต้นไป และความเข้มข้นสูงสุดของมวลชีวภาพเป็น 2.6±0.06 กรัมต่อลิตรในวันที่ 16 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่ง *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. B, *Chlorella* sp. G, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3 และ *Chlorella* sp. N11-59 จะเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ใกล้เคียงกันกับ *Chlorella* sp. BUM11008 ส่วน *Chlorella* sp. VB55 และ *Chlorella* sp. 5 จะเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่เร็วกว่า

Chaichalerm และคณะ (2011) ศึกษาการเจริญของสาหร่ายน้ำจืดที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 6 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้ในประเทศไทยด้วยอาหารสูตรต่างกัน 4 สูตร คือ N8, BG11, 3NBBM และ Kuhl พบว่า *Chlorococcum humicola* เป็นสายพันธุ์สาหร่ายที่เจริญได้ดีที่สุด และ *C. humicola* จะเริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 12 ถึง 14 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีการเจริญใกล้เคียงกับสาหร่าย *Chlorococcum* sp. AB1

ประกาศิต และอนุพนธ์ (2555) ศึกษาการผลิตไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomanas* sp. W55 , *Chlorella* sp. VB55 และ *Scenedesmus* sp. PA55 พบว่า *Scenedesmus* sp. PA55 ผลิตไขมันได้สูงสุด คือ ร้อยละ 34.37 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีการเจริญใกล้เคียงกับการเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ของ *Scenedesmus* sp. C, *Scenedesmus* sp. W53, *Scenedesmus* sp. F9, *Scenedesmus* sp. F14, *Scenedesmus* sp. M10, *Scenedesmus* sp. M12, *Scenedesmus* sp. M14 และ *Scenedesmus* sp. PA55 โดย *Scenedesmus* sp. ทุกสายพันธุ์ที่กล่าวมาข้างต้นจะเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่เร็วกว่าเนื่องจากอัตราการเป่าอากาศและปริมาณแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่ให้อย่างต่อเนื่อง รวมไปถึงอุณหภูมิที่ใช้ในสภาวะการเลี้ยงที่สูงกว่า เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Violeta คณะ (2011) ที่ศึกษาการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ในฟลากส์ด้วยอาหารเหลวสูตร BG-11 ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ 8 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 5-6 วัน โดยเขย่าด้วยมือวันละสองครั้ง วัดการเจริญด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร พบว่า *Scenedesmus* sp. มีการเจริญสูงสุดในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งมีค่าการเจริญสูงสุดในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.275

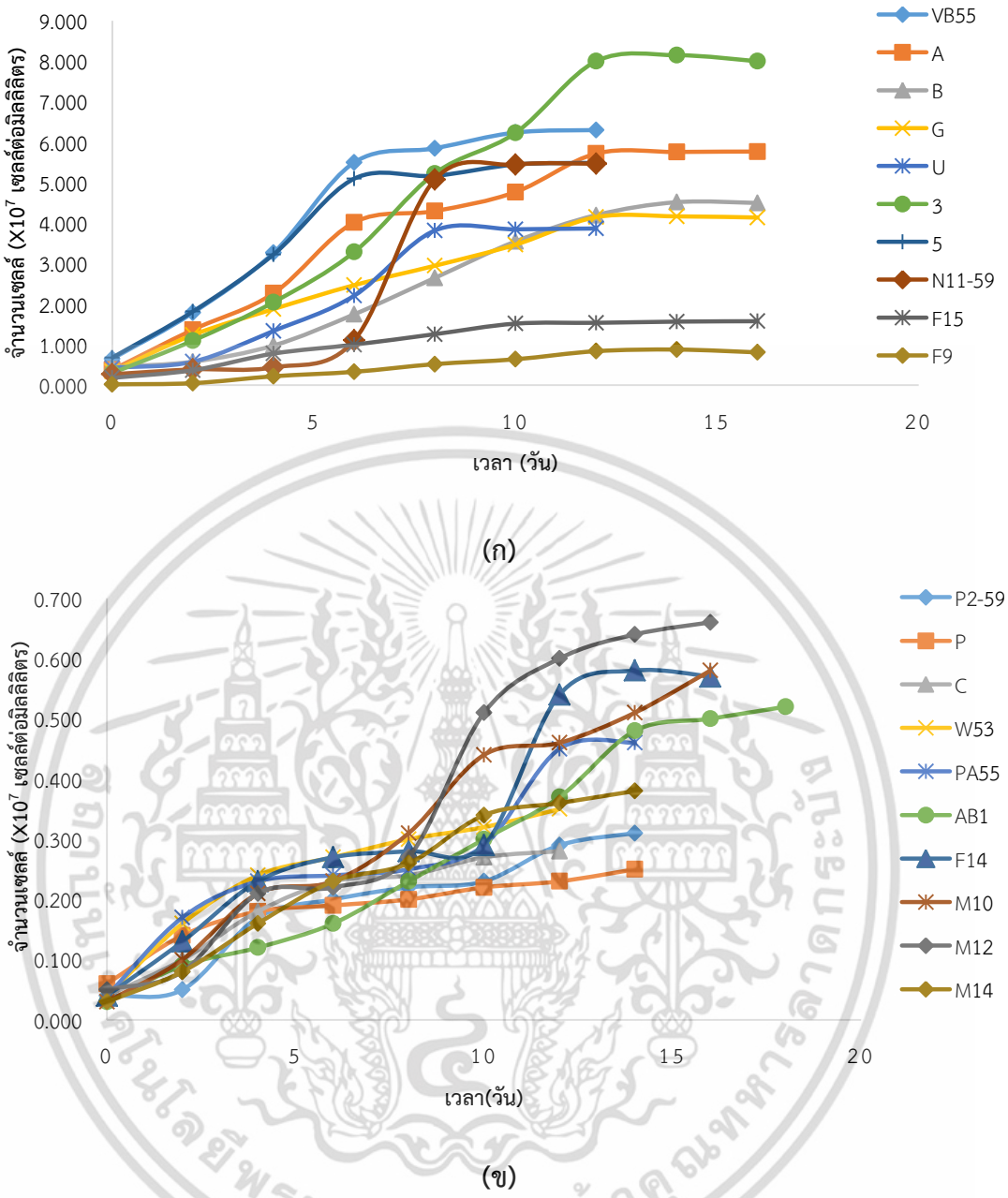
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ng Ching และคณะ (2011) ศึกษาการเจริญของสาหร่าย *Selenastrum carpricornutum* และการผลิตไขมัน โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 0.1169 ต่อวันและมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.89 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีความใกล้เคียงกันกับสาหร่ายสายพันธุ์ *Selenastrum* sp. F15 ที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 12 มีค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.663 น้ำหนักแห้ง 2.21±0.05 กรัมต่อลิตร จำนวนเซลล์ 1.54±0.05 x10^{7} และอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.17



รูปที่ 4.1 **(ก)** กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย 10 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. B, *Chlorella* sp. G, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. N11-59, *Selenastrum sp.* F15 และ *Scenedesmus* sp. F9 **(ข)** กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย 10 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Chlamydomonas* sp. P, *Scenedesmus* sp. C, *Scenedesmus* sp. W53, *Scenedesmus* sp. PA55, *Chlorococcum* sp. AB1, *Scenedesmus* sp. F14, *Scenedesmus* sp. M10, *Scenedesmus* sp. M12 และ *Scenedesmus* sp. M14

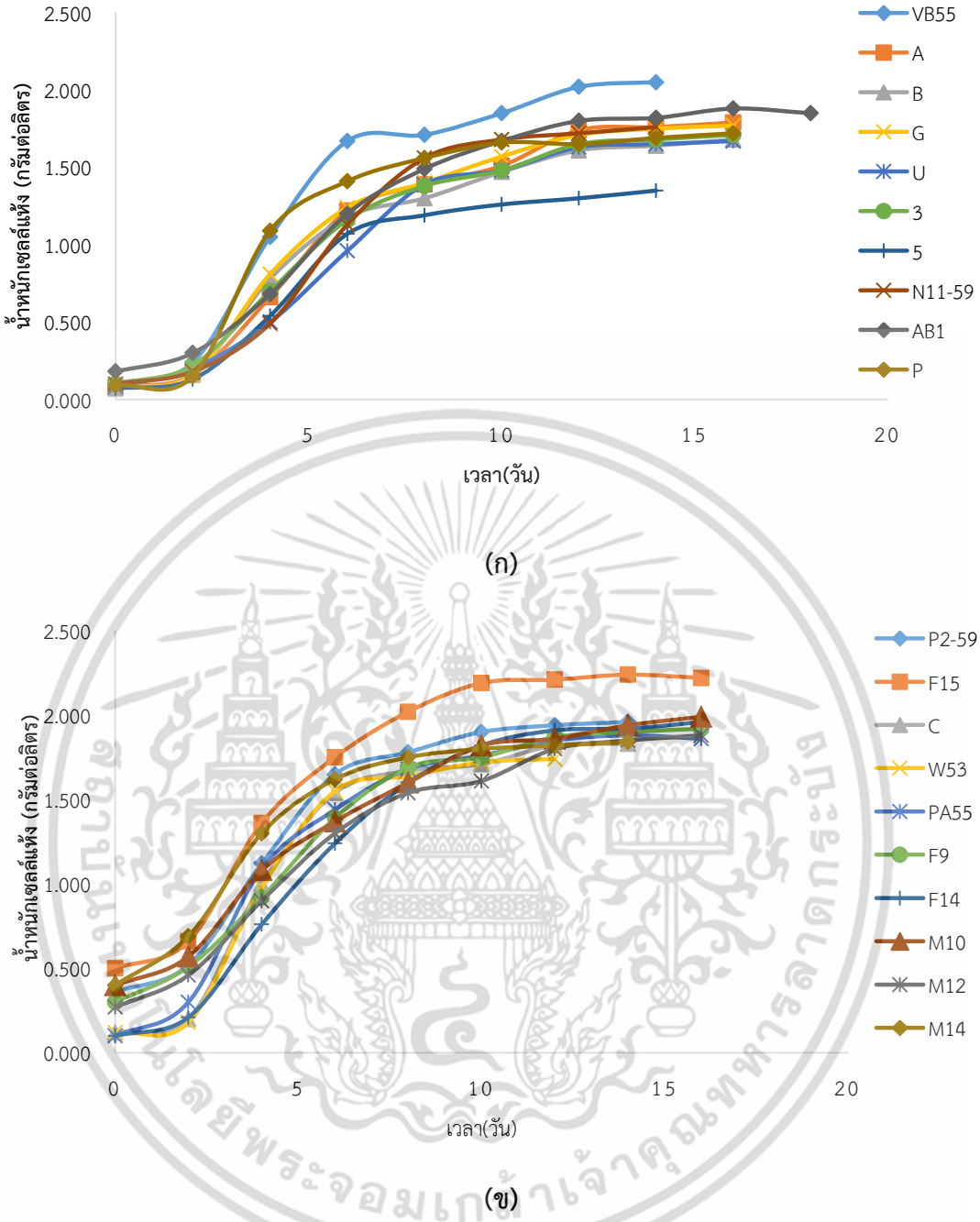
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 **(ก)** กราฟแสดงจำนวนเซลล์ของสาหร่าย 10 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. B, *Chlorella* sp. G, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. N11-59, *Selenastrum sp.* F15 และ *Scenedesmus* sp. F9

(ข) กราฟแสดงจำนวนเซลล์ของสาหร่าย 10 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Chlamydomonas* sp. P, Selenastrum *sp.* F15, *Scenedesmus* sp. C, *Scenedesmus* sp. W53, *Scenedesmus* sp. PA55, *Chlorococcum* sp. AB1, *Scenedesmus* sp. F9, *Scenedesmus* sp. F14, *Scenedesmus* sp. M10, *Scenedesmus* sp. M12 และ *Scenedesmus* sp. M14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 **(ก)** กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย 10 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. B, *Chlorella* sp. G, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. N11-59, *Chlorococcum* sp. AB1 และ *Chlamydomonas* sp. P

(ข) กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย 10 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Selenastrum sp.* F15, *Scenedesmus* sp. C, *Scenedesmus* sp. W53, *Scenedesmus* sp. PA55, *Scenedesmus* sp. F9, *Scenedesmus* sp. F14, *Scenedesmus* sp. M10, *Scenedesmus* sp. M12 และ *Scenedesmus* sp. M14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ศึกษาการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก

นำสาหร่ายทั้ง 20 สายพันธุ์ที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และนำสารสกัดส่วนใสที่ได้ไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริก และปริมาณวิเคราะห์ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์โดยการตกตะกอนด้วยแบเรียมคลอไรด์ พบว่าสาหร่ายที่มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณซัลเฟตสูงที่สุดคือ *Chlamydomonas* sp. P2-59 มีปริมาณน้ำตาลเท่ากับ 4.565±0.18 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณซัลเฟตเท่ากับ 24.1±0.06 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือสาหร่าย *Senedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ปริมาณน้ำตาลเท่ากับ 4.253±0.12 และ 3.521±0.04 กรัมต่อลิตร มีปริมาณซัลเฟต เท่ากับ 22.3±0.44 และ 20.5±0.17 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.5)

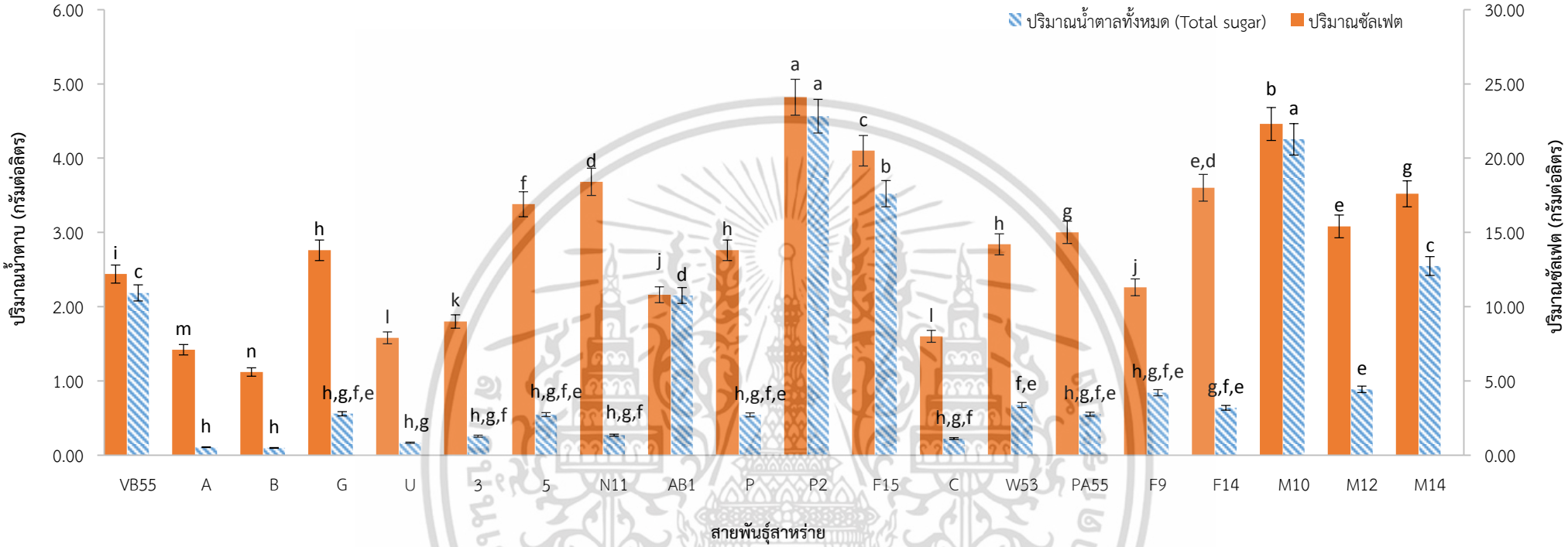
ผลการทดลองที่ได้ข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ จิรพันธ์ (2555) ศึกษาโมโนแซคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซคคาไรด์ที่สะสมภายในเซลล์ พบว่าส่วนใหญ่เป็นกลูโคส และสาหร่าย *Chlamydomonas debaryana* Chr- WD3 สามารถผลิตพอลิแซคคาไรด์ได้สูงที่สุดถึง 61.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และได้ทำการทดสอบพอลิแซคคาไรด์ด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริก โดยรายงานว่าถ้าสารสกัดที่ได้ทำปฏิกิริยากับสารฟีนอลและกรดซัลฟิวริกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือสีน้ำตาล ซึ่งสามารถบอกได้ว่าสารสกัดที่ได้นั้นเป็นสารประเภทน้ำตาล และจากงานวิจัยของ Majdoub และคณะ (2009) ที่กล่าวไว้ว่า วิธีการสกัด การเตรียมตัวอย่าง ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงรวมไปถึงสภาวะต่างๆที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง มีผลต่อโมเลกุลของน้ำตาลและปริมาณซัลเฟตที่พบในสารสกัด ในทางตรงกันข้ามองค์ประกอบของน้ำตาลที่ต่างกันของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแต่ละชนิด จะมีผลต่อการสร้างชนิดของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่แตกต่างกัน

4.3 การศึกษาการเจริญและการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่คัดเลือกจำนวน 3 สายพันธุ์

4.3.1 การวัดการเจริญของสาหร่าย

เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ที่มีการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูง คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ในอาหารเหลวสูตร N8 ปริมาตร 4 ลิตร ในถังขนาด 6 ลิตร ที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส ให้แสงต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ให้อากาศอย่างต่อเนื่อง จากนั้นเก็บตัวอย่างสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ทุกๆ 2 วันของการเพาะเลี้ยงเพื่อวัดการเจริญ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ และหาน้ำหนักแห้ง จนเซลล์สาหร่ายเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ จากผลการทดลองพบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



หมายเหตุ : ตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$)

รูปที่ 4.4 กราฟแสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) และปริมาณซัลเฟต (กรัมต่อลิตร) ที่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ของ *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. B, *Chlorella* sp. G, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. N11-59, *Chlamydomonas* sp. P, *Scenedesmus* sp. C, *Scenedesmus* sp. W53, *Scenedesmus* sp. F14, *Scenedesmus* sp. PA55, *Chlorococcum* sp. AB1, *Chlorella* sp. 3, *Scenedesmus* sp. F9, *Scenedesmus* sp. M10, *Scenedesmus* sp. M12, *Scenedesmus* sp. M14, *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Selenastrum* sp. F15

สาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59 เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งเป็นวันที่มีการเจริญสูงสุด มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 0.733±0.01 จำนวนเซลล์เท่ากับ 0.40±0.25x10^{7} เซลล์ต่อมิลลิลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.63±0.04 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.16 ต่อวัน ปริมาณน้ำตาล และปริมาณซัลเฟตเท่ากับ 3.582±0.57 และ 41.69±3.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3, รูปที่ 4.5-4.9)

สาหร่าย *Scenedesmus* sp. M.10 เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งเป็นวันที่มีการเจริญสูงสุด มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 0.776±0.03 จำนวนเซลล์เท่ากับ 0.48±0.08x10^{7} เซลล์ต่อมิลลิลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.95±0.10 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.27 ต่อวัน มีปริมาณน้ำตาลและปริมาณซัลเฟต เท่ากับ 2.251±0.18 และ 39.66±0.28 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3, รูปที่ 4.5-4.9)

สาหร่าย *Selenastrum* sp. F15 เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งเป็นวันที่มีการเจริญสูงสุด มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 1.196±0.11 จำนวนเซลล์เท่ากับ 1.79±0.03x107 เซลล์ต่อมิลลิลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.08±0.47 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.34 ต่อวัน มีปริมาณน้ำตาลและปริมาณซัลเฟต เท่ากับ 2.217±0.11 และ 39.02±0.48 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3, รูปที่ 4.5-4.9)

จากผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า *Selenastrum* sp. F15 เจริญเติบโตได้ดีสุดด้วยอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.34 ต่อวัน รองลงมาคือ *Scenedesmus* sp. M.10 และ *Chlamydomonas* sp. P2-59 ด้วยอัตราตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.27 และ 0.16 ต่อวัน ตามลำดับ จากสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายข้างต้น เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Violeta และคณะ (2011) ที่ทำศึกษาการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ในอาหารเหลวสูตร BG-11 ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีการให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่ 8 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 5-6 วัน เขย่าด้วยมือวันละสองครั้ง วัดการเจริญด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร พบว่า *Scenedesmus* sp. มีการเจริญสูงสุดในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงและมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.275 ซึ่ง *Selenastrum* sp. F15, *Scenedesmus* sp. M.10 และ *Chlamydomonas* sp. P2-59 จะเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่เร็วกว่าและมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 มากกว่าเนื่องจากมีการให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์อย่างต่อเนื่องด้วยความเข้มแสงถึง 5000 ลักซ์ และรวมไปถึงอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงที่สูงกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของจิรพันธ์ (2555) ที่ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของสาหร่าย โดยจากกราฟเจริญของ *Chlamydomonas debaryana* Chr-WD3 พบว่าการเพาะเลี้ยงในระบบให้แสงแดดที่มีความเข้มแสงเฉลี่ยประมาณ 67,000 ลักซ์ และอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 36.5 องศาเซลเซียสจะทำให้สาหร่ายมีการเจริญมากกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบแสงไฟที่มีความเข้มข้นแสงเฉลี่ย 3000 ลักซ์และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับค่าน้ำหนักเซลล์แห้งของ *Chlamydomonas* sp. P2 ที่สูงที่สุดแต่มีจำนวนเซลล์น้อยที่สุด เนื่องจาก *Chlamydomonas* sp. P2-59 มีเซลล์ขนาดใหญ่กว่า *Selenastrum* sp. F15 และ *Scenedesmus* sp. M.10 ทำให้มีน้ำหนักแห้งมากกว่า นอกจากนี้เซลล์ของ *Chlamydomonas* sp. P2-59 ยังชอบจับกันเป็นกลุ่ม

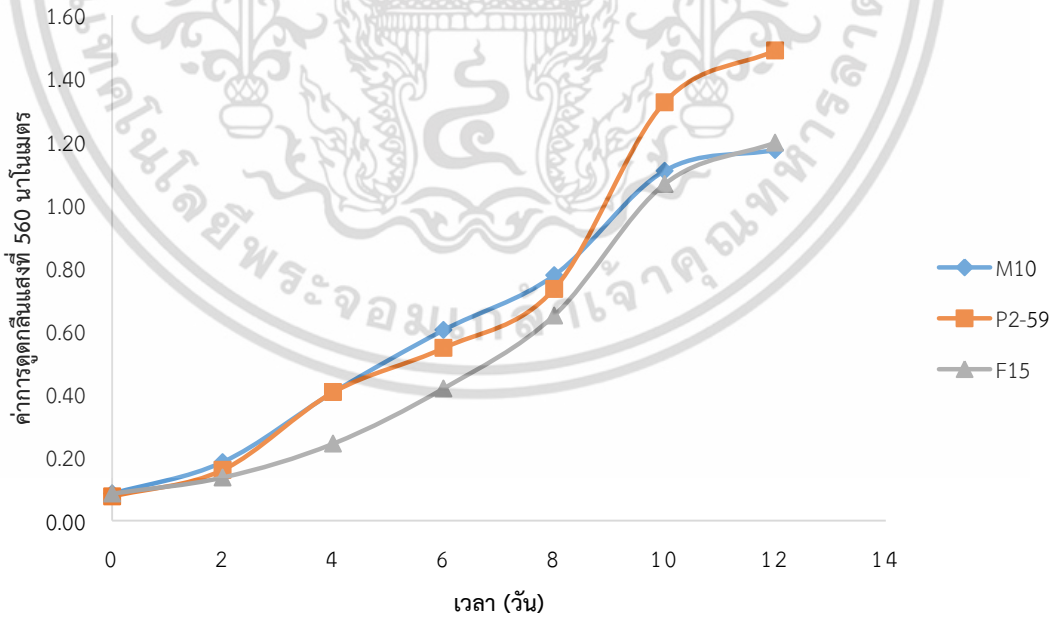
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก้อนซึ่งยากต่อการนับ ทำให้ในบริเวณที่เซลล์จับกันหนาแน่นผลที่ได้จากการนับจำนวนเซลล์จึงน้อยกว่าความเป็นจริง

ตารางที่ 4.3 แสดงการเจริญของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59 *Scenedesmus* sp. M.10 และ *Selenastrum* sp. F15 ที่เพาะเลี้ยงในถังขนาด 6 ลิตร ในวันที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 8 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง

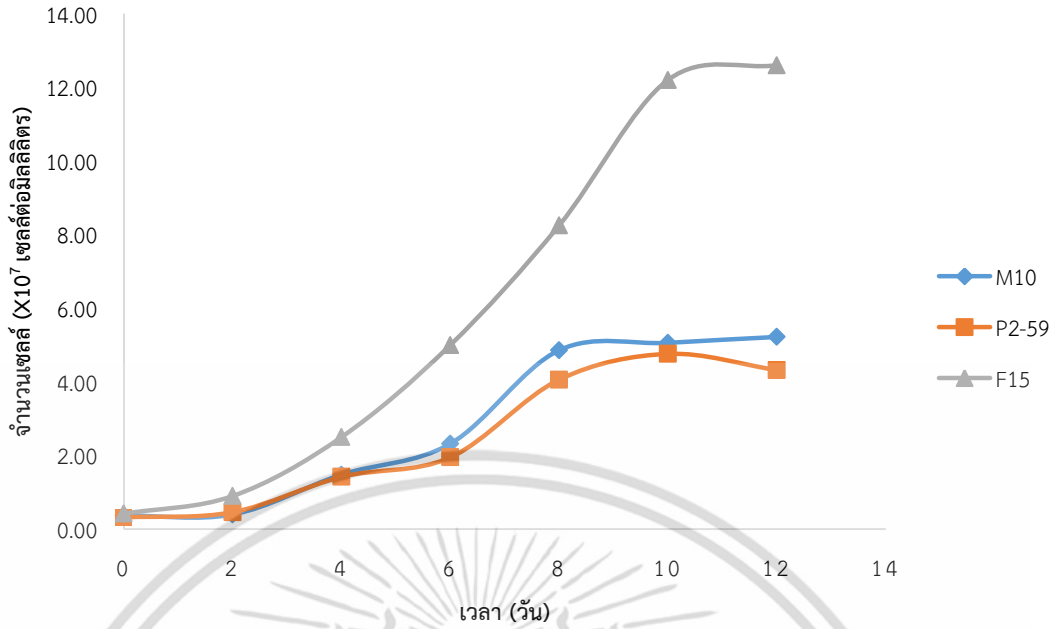
รายละเอียดของข้อมูล	รหัสสายพันธุ์สาหร่าย		
	P2-59	M10	F15
วันที่เข้าระยะการเจริญเติบโตคงที่	8 วัน	8 วัน	12 วัน
ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)	0.733±0.06 ^{b}	0.776±0.05 ^{b}	1.196±0.11 ^{a}
จำนวนเซลล์ (x 10^{7} เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	0.40±0.25 ^{b}	0.48±0.08 ^{b}	1.79±0.03 ^{a}
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	1.63±0.05 ^{b}	0.95±0.12 ^{c}	2.61±2.17 ^{a}
อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อวัน)	0.16	0.27	0.34
ปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ (กรัมต่อลิตร)	41.69±3.74 ^{a}	39.66±0.28 ^{a}	39.02±0.48 ^{a}
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	3.582±0.57 ^{a}	2.251±0.18 ^{b}	2.178±0.11 ^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p>0.05)

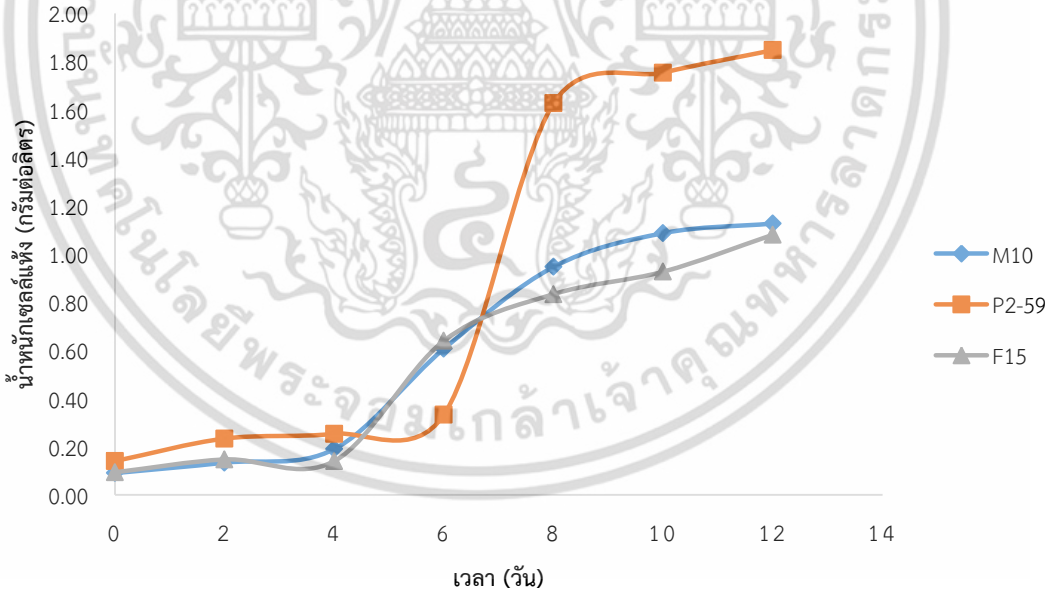


รูปที่ 4.5 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ คือ *Scenedesmus* sp. M10, *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Selenastrum* sp. F15 ในถังขนาด 6 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงจำนวนเซลล์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ คือ *Scenedesmus* sp. M10, *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Selenastrum* sp. F15 ในถังขนาด 6 ลิตร



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ คือ *Scenedesmus* sp. M10, *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Selenastrum* sp. F15 ในถังขนาด 6 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ศึกษาการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก

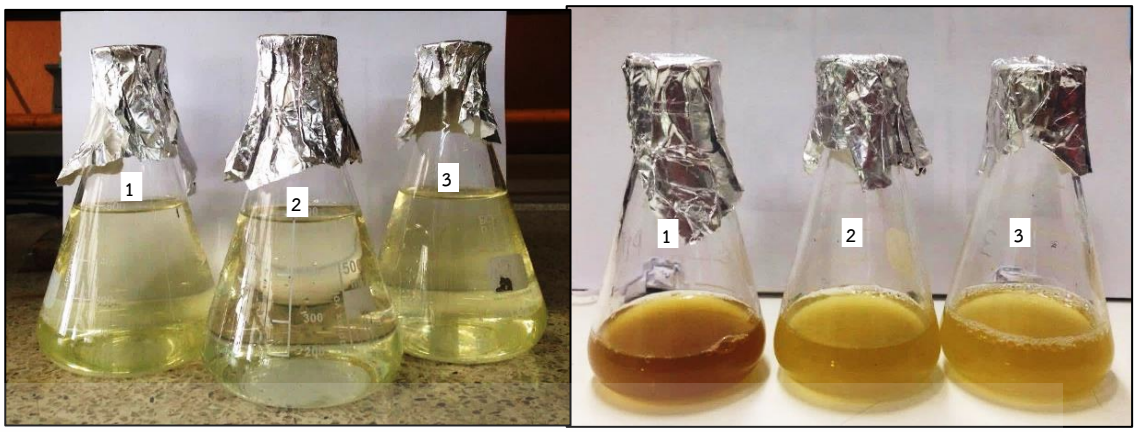
ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือกที่มีการการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูง คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร N8 ปริมาตร 4 ลิตร ในถังขนาด 6 ลิตร ที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส ให้แสงต่อเนื่องด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ที่ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ ให้อากาศอย่างต่อเนื่อง (รูปที่ 4.10) ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆสองวันเพื่อวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริกและหาปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์โดยการตกตะกอนด้วยแบเรียมคลอไรด์ เมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 8 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง ทำการปิดเครื่องให้อากาศและตั้งทิ้งไว้หนึ่งคืน ทำการเก็บตัวอย่างโดยการปั่นเหวี่ยง นำตะกอนเซลล์ที่ได้ไปทำให้แห้งโดยวิธีการอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 4.11) เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของสาหร่ายต่อไป และนำสารสกัดส่วนใสไปทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (รูปที่ 4.12) เมื่อศึกษาการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสารสกัดโดยการหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริก และปริมาณซัลเฟตโดยตกตะกอนด้วยแบรียมคลอไรด์ พบว่า *Chlamydomonas* sp. P2-59 มีปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยมีน้ำตาลทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 3.582±0.57 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์เท่ากับ 41.60±3.74 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 โดยมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 2.251±0.18 และ 2.217±0.11 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีปริมาณซัลเฟตเท่ากับ 39.66±0.28 และ 39.02±0.48 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.13) ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Shao และคณะ (2013) ที่รายงานว่าซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียว *Ulva fasciata* (UFP) สาหร่ายสีแดง *Gloiopeltis furcata* (GFP) และสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum henslouianum* (SHP) ที่มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสัมพันธ์กับปริมาณซัลเฟตที่ได้ ส่วนปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากสารสกัดสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ได้นั้นมีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Miranda และคณะ (2012) ที่รายงานว่าปริมาณชีวมวลของ *Scenedesmus obliquus* ที่ถูกปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 2 นอร์มัล โดยใช้ปริมาณชีวมวลที่มีความเข้มข้น 20 – 500 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณชีวมวลที่มีความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 560 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองดังกล่าวข้างต้น อาจเป็นไปได้ว่าการปรับสภาพชีวมวลด้วยกรดมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายผนังเซลล์ได้มากกว่าการทำให้เซลล์แตกโดยการปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิต่ำ รวมถึงการที่กรดมีเข้มข้นสูงในการปรับสภาพเซลล์ จะทำให้ได้ผลผลิตน้ำตาลในปริมาณที่สูงกว่า โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nguyen และคณะ (2009) ที่รายงานถึงการใช้ซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 3.0 ในการย่อยสลาย ชีวมวลสาหร่ายที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าผลผลิตน้ำตาลกลูโคสมีปริมาณสูงถึงร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.8 แสดงการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ในถังขนาด 6 ลิตร โดยให้อากาศอย่างต่อเนื่องในวันที่ 0 ของการเพาะเลี้ยง

รูปที่ 4.9 ผงสาหร่ายแห้งที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

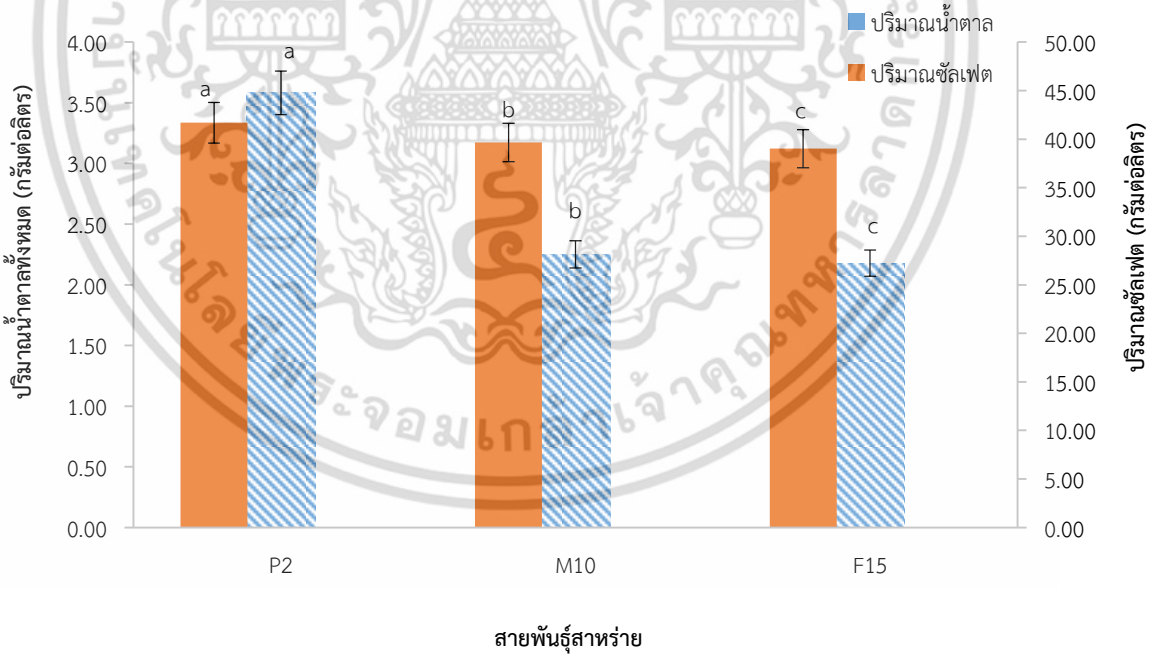
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) **(ข)**

รูปที่ 4.10 (ก) ส่วนใส (น้ำเลี้ยงสาหร่าย) ที่ได้จาก (1) *Chlamydomonas* sp. P2-59, (2) *Scenedesmus* sp. M10 และ (3) *Selenastrum* sp. F15 ในถังขนาด 6 ลิตรในช่วงที่เซลล์เข้าระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 8 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง

(ข) แสดงสารสกัดจากน้ำเลี้ยงสาหร่าย ที่ได้จาก (1) *Chlamydomonas* sp. P2-59, (2) *Scenedesmus* sp. M10 และ (3) *Selenastrum* sp. F15 ในถังขนาด 6 ลิตรในวันที่เซลล์เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 8 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง



หมายเหตุ : ตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p>0.05)

รูปที่ 4.11 แสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ในวันที่ 8 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นวันที่สาหร่ายเริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

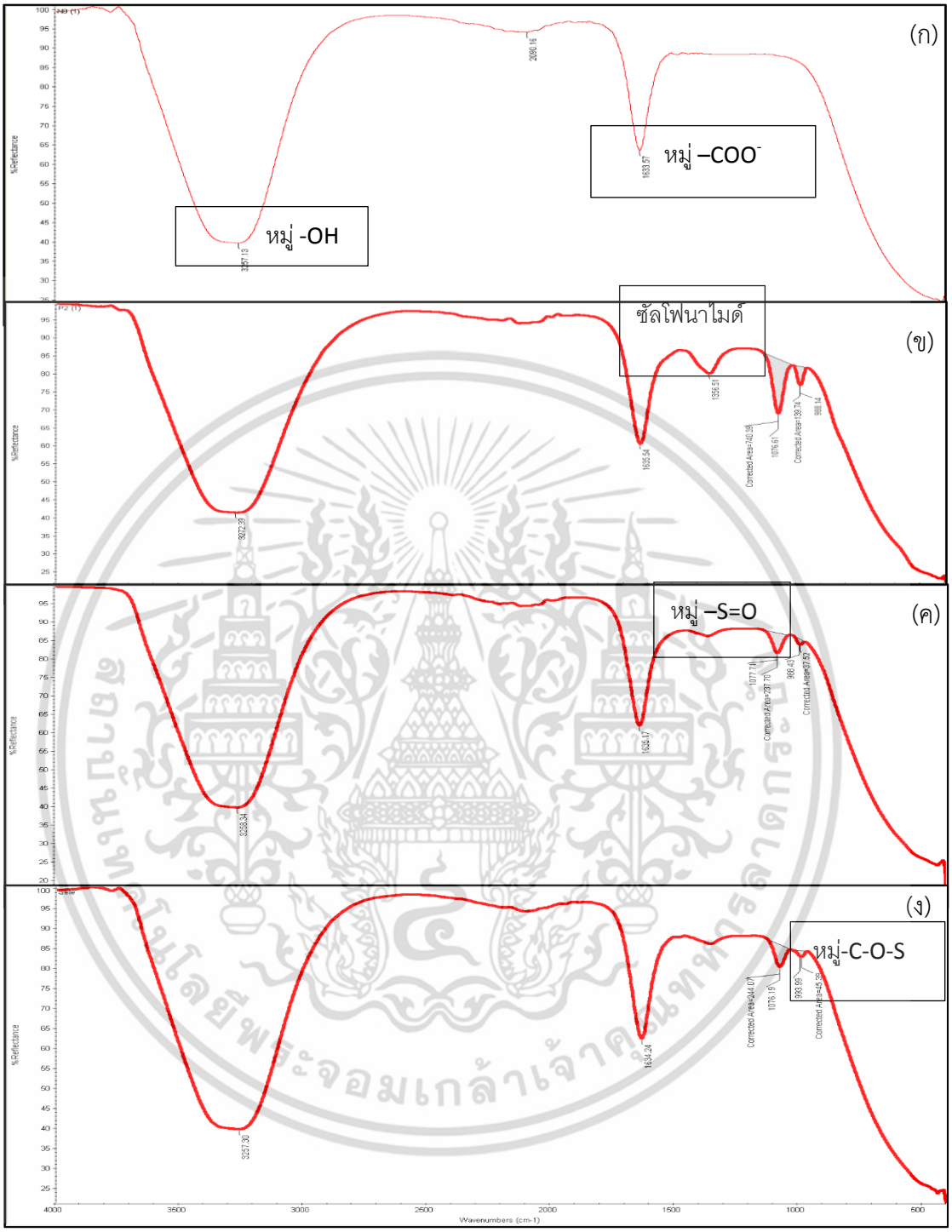
4.3.3 ศึกษาองค์ประกอบซัลเฟตในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ด้วยเทคนิคฟลูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟลา-เรดสเปคโตมิเตอร์

จากผลการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของซัลเฟตพอลิแซ็กคาไรด์ จากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ด้วยเครื่องฟลูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟลาเรดสเปคโตมิเตอร์ (Nicolet 6700) โดยทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงสาหร่าย N-8 (รูปที่ 4.15 [ก]) เปรียบเทียบกับสารสกัดจากอาหารเลี้ยงสาหร่ายในวันที่ 8 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นวันที่สาหร่ายเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ พบว่า

สารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59 จะพบหมู่ฟังก์ชันของซัลเฟตในรูปของ ซัลเฟอร์ออกไซด์ (S=O) และหมู่คาร์บอนิลซัลไฟด์ (C-O-S) ในช่วงความถี่ 1076 และ 988 ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร (cm^{-1}) ตามลำดับ ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร ทำการหาปริมาณของหมู่ฟังก์ชันซัลเฟตที่พบด้วยการคำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟจะมีค่าเป็น740.39 และ 139.74 ตามลำดับ (รูปที่ 4.15 [ข]) สารสกัดจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M10 จะพบหมู่ฟังก์ชันของซัลเฟตในรูปของ ซัลเฟอร์ออกไซด์ และหมู่คาร์บอนิลซัลไฟด์ ในช่วงความถี่ 1077 และ 988 ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร ตามลำดับ และมีปริมาณของหมู่ฟังก์ชันซัลเฟตที่พบเท่ากับ 273.70 และ 37.52 ตามลำดับ (รูปที่ 4.15 [ค]) สารสกัดจากสาหร่าย *Selenastrum* sp. F15 จะพบหมู่ฟังก์ชันของซัลเฟตในรูปของ ซัลเฟอร์ออกไซด์ และหมู่คาร์บอนิลซัลไฟด์ ในช่วงความถี่ 1076 และ 994 ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร ตามลำดับ และมีปริมาณของหมู่ฟังก์ชันซัลเฟตที่พบเท่ากับ 244.07 และ 45.39 ตามลำดับ (รูปที่ 4.15 [ง])

โดยในช่วงความถี่ 3250-3275 จะเป็นหมู่ไฮดรอกซิล (OH) และในช่วงความถี่ 1630-1635 จะเป็นหมู่คาร์บอกซิล (COO) โดยเมื่อเทียบกับอาหาร N-8 องค์ประกอบของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่ได้จากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์จะพบยอดพีคในช่วงคลื่นดังกล่าวข้างต้น แต่ไม่พบองค์ประกอบของหมู่ซัลเฟตในตัวอย่างอาหาร N-8 ผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นช่วงคลื่นที่พบหมู่ซัลเฟอร์ออกไซด์และคาร์บอนิลซัลไฟด์ของสารสกัดจากน้ำเลี้ยงสาหร่ายทั้งสามสายพันธุ์คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ใกล้เคียงกับช่วงคลื่นของการวิเคราะห์องค์หมู่ซัลเฟตจากหลายๆงานวิจัย โดยงานวิจัยของ อนุชา และคณะ (2559) ที่รายงานว่าหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของ ซัลเฟตพอลิแซ็กคาไรด์ที่วิเคราะห์โดยเครื่องฟลูเรียทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี KBr pellets ทำการวิเคราะห์ช่วงคลื่น 600 – 4,000 ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร และงานวิจัยของ ของ Yang และคณะ (2007), Mao และคณะ (2006), Baky และคณะ (2013) ที่อธิบายการสั่นสะเทือนแบบสมมาตรของหมู่คาร์บอนิลซัลไฟด์ในช่วง 857 ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร ที่มีความสอดคล้องกันกับหมู่โคบอลท์ซัลไฟด์ (C-O-SO_3) ในช่วง 819 ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร และจากการวิเคราะห์โมเลกุลของซัลเฟตจากสารสกัดฟูโคอิแดนท์ที่แยกโมเลกุลของซัลเฟตโดยการใช้อุณหภูมิสูงด้วยเครื่องฟลูเรียทรานฟอร์มสเปรคโตมิเตอร์ ซึ่งจะพบหมู่ฟังก์ชั่นของ ซัลเฟอร์ออกไซด์ และหมู่คาร์บอนิลซัลไฟด์ ในช่วงความถี่ 1240 และ 840 ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร ตามลำดับ (Minoru และคณะ, 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 (ก) แสดงช่วงคลื่นของหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของอาหาร N-8 (control)

(ข) แสดงช่วงคลื่นของหมู่ซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสารสกัดสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59

(ค) แสดงช่วงคลื่นของหมู่ซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสารสกัดสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M10

(ง) แสดงช่วงคลื่นของหมู่ซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบของซัลเฟตพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดสาหร่าย *Selenastrum* sp. F15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

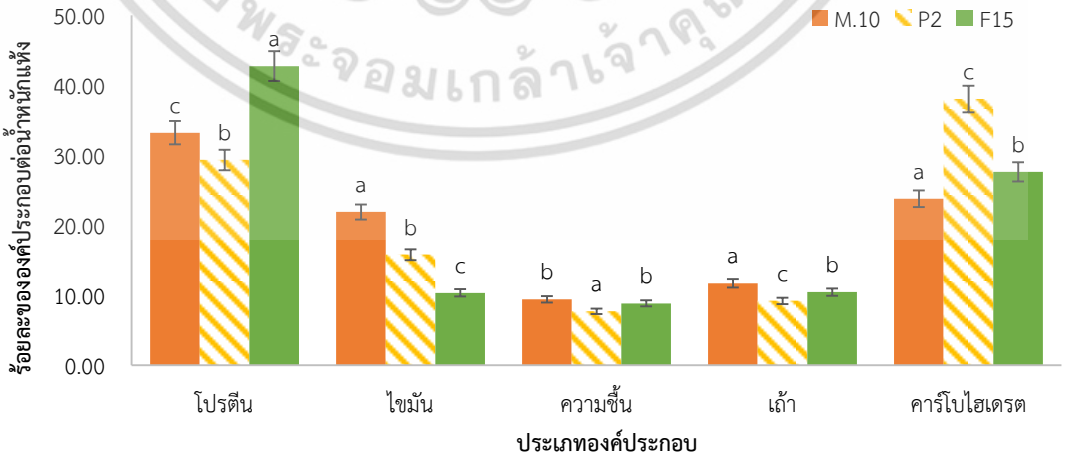
4.4 วิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย

นำเซลล์แห้งของสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ที่เซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่โดยนำไปปั่นเหวี่ยง และนำตะกอนเซลล์ที่ได้ไปทำให้แห้งโดยวิธีการอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเซลล์แห้งดังกล่าวไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบภายในเซลล์ได้แก่ปริมาณเถ้า (ภาคผนวก ข-8) ปริมาณโปรตีน (ภาคผนวก ข-9) ปริมาณไขมัน (ภาคผนวก ข-10) ปริมาณความชื้น (ภาคผนวก ข-11) และปริมาณคาร์โบไฮเดรต พบว่า สาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 มีปริมาณไขมันร้อยละ 15.77 ± 0.39 21.89 ± 0.28 และ 10.35 ± 0.06 ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนร้อยละ 29.33 ± 0.22, 33.23 ± 0.20 และ 42.75 ± 0.11 ตามลำดับ ปริมาณความชื้นร้อยละ 7.69 ± 0.21 9.42 ± 0.20 และ 8.84 ± 0.11 ตามลำดับ ปริมาณเถ้าร้อยละ 9.17 ± 0.04 11.70 ± 0.06 และ 10.45 ± 0.04 ตามลำดับ และมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละเท่ากับ 38.04 ± 0.20 23.79 ±0.54 และ 27.62 ± 0.21 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4, รูปที่ 4.19)

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 วันที่เซลล์เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 8 และ 12 ของการทดลอง

สายพันธุ์สาหร่าย	ร้อยละไขมัน	ร้อยละโปรตีน	ร้อยละความชื้น	ร้อยละเถ้า	ร้อยละคาร์โบไฮเดรต
P2-59	15.77±0.39 ^{b}	29.33±0.22 ^{b}	7.69±0.21 ^{a}	9.17±0.04 ^{c}	38.04±0.20 ^{c}
M10	21.89±0.28 ^{a}	33.23±0.26 ^{c}	9.42±0.20 ^{b}	11.70±0.06 ^{a}	23.79±0.54 ^{a}
F15	10.35±0.06 ^{c}	42.75±0.13 ^{a}	8.84±0.11 ^{b}	10.45±0.04 ^{b}	27.62±0.21 ^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p>0.05)



รูปที่ 4.13 แสดงร้อยละขององค์ประกอบต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่า *Scenedesmus* sp. M10 มีปริมาณ ความชื้น เถ้าและไขมันสูงสุด โดยไขมันดังกล่าวนี้สามารถนำไปสกัดเป็นน้ำมันจากสาหร่ายได้ *Chlamydomonas* sp. P2-59 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุด และ *Selenastrum* sp. F15 มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดซึ่งสามารถนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมได้

จากผลการทดลองปริมาณไขมันที่ได้จาก *Scenedesmus* sp. M10 ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ ประกาศิต และอนุพนธ์ (2555) ที่ศึกษาการผลิตไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomanas* sp. W55, *Chlorella* sp. VB55 และ *Scenedesmus* sp. PA55 โดยพบว่า *Scenedesmus* sp. PA55 คือสายพันธุ์ที่ผลิตไขมันได้สูงสุด คือ ร้อยละ 34.37 และปริมาณโปรตีนร้อยละ 18.96 ปริมาณความชื้นร้อยละ 93.16 และปริมาณเถ้าร้อยละ 3.12 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Miao และ Wu (2004) ที่เปรียบเทียบการผลิตไขมัน *Chlorella photothecoides* โดยการเพาะเลี้ยงแบบใช้แสงและมีคาร์บอนเป็นแหล่งพลังงาน พบว่าสาหร่ายที่ ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้คาร์บอนเป็นแหล่งพลังงานจะมีปริมาณไขมันสูง และมีปริมาณโปรตีนน้อย ตรงข้ามกับสาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน จะมีปริมาณไขมันน้อย และมีปริมาณโปรตีนสูง ผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าปริมาณไขมันที่สูงจะแปรผันตรงกับปริมาณสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (ปริมาณเถ้า) และแปรผกผันกับปริมาณโปรตีน โดยสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M10 จะปริมาณเถ้าและไขมันสูง ตรงข้ามกับ *Selenastrum* sp. F15 ที่มีปริมาณโปรตีนสูงแต่มีปริมาณไขมันต่ำ

พิจักษ์และคณะ (2554) ได้ทำการสกัดไขมันจาก *Chlorella* sp. โดยใช้เครื่องสกัดน้ำมันช็อกเลต ซึ่งมีปริมาณไขมันอยู่ร้อยละ 25 ซึ่งปริมาณที่ได้น้อยกว่าผลการวิจัยข้างต้น อาจเป็นเพราะใช้สาหร่ายแห้งในการสกัดน้อย ทำให้ปริมาณไขมันที่สกัดได้น้อยตามไปด้วย นอกจากนี้การทำแห้งสาหร่ายด้วยความร้อนอาจมีผลทำให้องค์ประกอบภายในของสาหร่ายสูญเสียไปด้วย จากรายงานของลักขณา และคณะ (2540) ที่พบว่าสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีการแช่แข็งจะมีปริมาณโปรตีน ปริมาณคาร์โบไฮเดรต และปริมาณเถ้า ร้อยละ 50.13, 15.26 และ 7.06 ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณมากกว่าเมื่อเทียบกับปริมาณที่ได้จากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ทำการทดลอง

4.5 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.5.1 การทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

ในการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ของสารสกัดซัลเฟตพอลิ-แซคคาไรด์ที่ได้จากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยผลการทดลองพบว่าสารละลายสีม่วงของอนุมูลอิสระดีพีพีเอช เมื่อทำปฏิกิริยากับสารสกัดจากสาหร่าย สีของสารละลายผสมเปลี่ยนไปเป็นสีส้มอมเหลืองมากขึ้น หรือมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรลดลง และเมื่อนำค่าการดูกลืนแสงมาคำนวณเป็นร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช จากผลการทดลอง (ตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.20) ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 พบว่า *Scenedesmus* sp. M10 มีปริมาณซัลเฟตค่อนข้างต่ำ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุดที่ร้อยละ 47.194±0.19 ซึ่งมากกว่า *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Selenastrum* sp. F15 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดย *Chlamydomonas* sp. P2-59 ที่มีปริมาณซัลเฟตสูงสุด มีฤทธิ์การต้าน

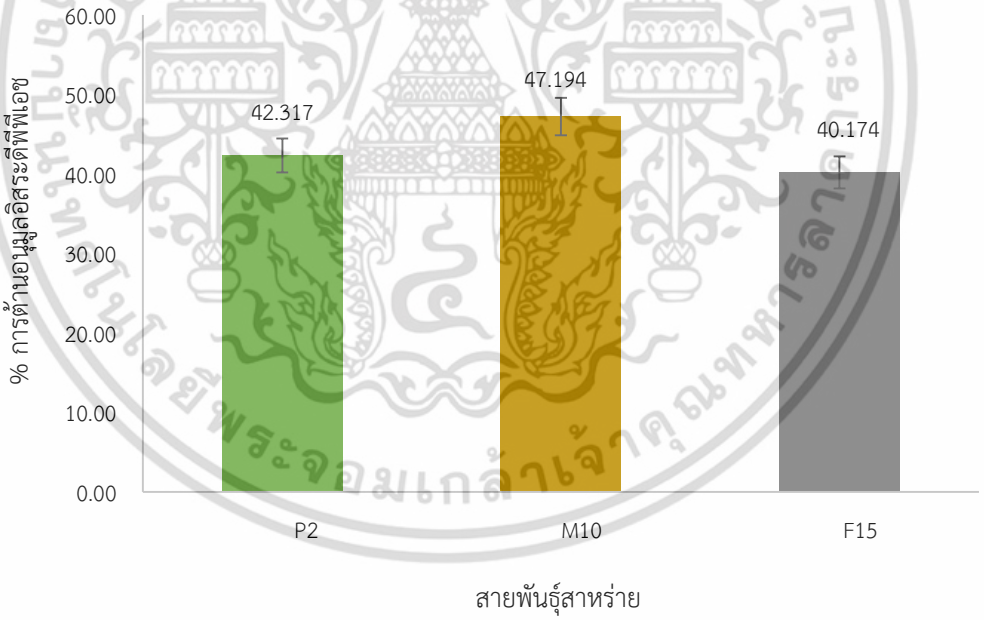
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุมูลอิสระร้อยละ 42.317±0.68 ส่วน *Selenastrum* sp. F15 มีปริมาณซัลเฟตต่ำสุด มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ต่ำที่สุดที่ร้อยละ 40.174±0.11

ตารางที่ 4.5 ความสัมพันธ์ของสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ใช้กับร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (% Scavenging activity on DPPH radical)

สายพันธุ์สาหร่าย	% การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช
Chlamydomonas sp. P2-59	42.317^{b} ± 0.68
Scenedesmus sp. M10	47.194^{a} ± 0.19
Selenastrum sp. F15	40.174^{c} ± 0.11

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p>0.05)



หมายเหตุ : ตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p>0.05)

รูปที่ 4.14 แสดงร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลอง *Scenedesmus* sp. M10 ปริมาณซัลเฟตค่อนข้างต่ำ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุด และ *Selenastrum* sp. F15 ปริมาณซัลเฟตต่ำสุด มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ต่ำที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shao และคณะ (2013) ที่รายงานว่า ซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จาก *Ulva fasciata* มีปริมาณซัลเฟตค่อนข้างต่ำ แสดงผลการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีเยี่ยม ส่วนซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จาก *Sargassum henslouianum* มีปริมาณซัลเฟตต่ำที่สุด มีอัตราการต้านอนุมูลอิสระต่ำสุด ซึ่งผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของพอลิแซคคาไรด์ทั้งสามชนิดในหลอดทดลอง อาจจะเกี่ยวข้องกับปริมาณซัลเฟตและปริมาณกรดยูโรนิก (Uronic acid) ที่พบในองค์ประกอบของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่ได้ สรุปได้ว่าพอลิแซคคาไรด์จะสามารถแสดงผลการต้านอนุมูลอิสระได้ดีในการทดสอบการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เมื่อปริมาณซัลเฟตและปริมาณกรดยูโรนิกอยู่ในระดับที่สูงมากทั้งคู่เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอาจเกี่ยวข้องกับปริมาณของฟีนอลิก โดยงานวิจัยของ จันทนาและอนงค์ (2555) รายงานว่า กิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกในสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของพันธุ์ทิพย์และคณะ (2556) ที่รายงานว่า ปริมาณฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช และ เอบีทีเอชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ ศิริลักษณ์ และคณะ (2557) เกี่ยวกับความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเกิดจากสารประกอบฟีนอลิกที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัดนั้นๆ

4.5.2 การทดสอบการเป็นสารต้านมะเร็ง

ผลการทดสอบการเป็นสารต้านมะเร็งของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ด้วยการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นกับเซลล์ไลน์ได้แก่เซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29), เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์ไตของลิง (Vero) โดยพบว่าสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ ไม่มีฤทธิ์ต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไลน์ทั้งสามชนิดเบื้องต้น (ตารางที่ 4.6) โดยมีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ อ้างอิงการจำแนกระดับความเป็นพิษต่อเซลล์จาก Geran และคณะ (1972) และ Srisawat และคณะ (2013) จากผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุวรรณี (2557) รายงานว่า สารทดสอบไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้อาจเกี่ยวเนื่องกับองค์ประกอบอื่นๆของสารสกัดที่อาจมีผลต่อการออกฤทธิ์ของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่ได้ โดยจากงานวิจัยของ Shao และคณะ (2013) รายงานว่า กรดยูโรนิกอาจมีผลต้านเซลล์มะเร็งและมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน ผลการศึกษาดังกล่าวนี้ชี้ให้เห็นว่า คุณสมบัติในการต้านมะเร็งของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ อาจจะเกี่ยวข้องกับปริมาณซัลเฟตและปริมาณกรดยูโรนิก (Uronic acid) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Baky และคณะ (2013) ที่รายงานว่าผลของการมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งของสารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์เกี่ยวของกับหมู่ซัลเฟตและยูโรนิคที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดนั้น และอาจเกี่ยวเนื่องกับน้ำหนักของโมเลกุลและปริมาณของซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบในพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้ ดังผลงานวิจัยของ Yang และคณะ (2007) ที่กล่าวไว้ว่าประสิทธิภาพในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ ขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุล ปริมาณ และตำแหน่งของซัลเฟต รวมไปถึงองค์ประกอบของหมู่คาร์บอกซิลที่พบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ในรูปสารละลายต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29), เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์ไตของลิง (Vero)

ลำดับ	รายละเอียดของสาร	ร้อยละความเป็นพิษ (เมื่อเวลาผ่านไป 24 ช.ม.)		
		เซลล์มะเร็งลำไส้	เซลล์มะเร็งเต้านม	เซลล์ไตของลิง
1	*Chlamydomonas* sp. P2-59	-0.536	2.123	-2.824
2	*Scenedesmus* sp. M10	-3.438	-6.562	-8.290
3	*Selenastrum* sp. F15	-1.739	6.135	-1.613
4	อาหาร N8	-10.103	2.582	-4.122

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 ผลการเจริญและการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 20 สายพันธุ์ในการเลี้ยงระดับฟลากส์ พบว่า *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 เป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ได้ดีที่สุด ด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยแบเรียมคลอไรด์ พบปริมาณซัลเฟต 24.10±0.26, 22.30±0.44 และ 20.50±0.17 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริกพบปริมาณน้ำตาล 4.565±0.18, 4.253±0.12 และ 3.251±0. 04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 จะเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 12 โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรเท่ากับ 0.447±0.00, 0.774±0.00 และ 0.663±0.00 ตามลำดับ จำนวนเซลล์เท่ากับ $2.91\pm0.05\times10^{6}$, $4.63\pm0.24\times10^{6}$ และ $1.54\pm0.05\times10^{7}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ น้ำหนักแห้งเท่ากับ 1.94±0.04, 1.60±0.02 และ 2.21±0.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ อัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.16, 0.21 และ 0.17 ตามลำดับ

5.1.2 ผลการเจริญและการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์พบว่าในการเลี้ยงระดับถังขนาด 6 ลิตร *Chlamydomonas* sp. P2-59 มีการเจริญและผลิตซัลเฟตได้ดีที่สุด เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 8 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรเท่ากับ 0.733±0.06 จำนวนเซลล์ $4.76\pm0.18\times10^{6}$ อัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.16 โดยพบว่าที่ระยะการเจริญคงที่มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูงเท่ากับ 3.582±0.57 กรัมต่อลิตร และ 41.69±3.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

5.1.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบซัลเฟตที่พบในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟลาเรดสเปคโตมิเตอร์ พบว่าสารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59 พบหมู่ฟังก์ชันของซัลเฟตในรูปซัลเฟอร์ออกไซด์ในช่วงความถี่ 1076 ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร หาปริมาณของหมู่ฟังก์ชันซัลเฟตด้วยการคำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟจะมีค่าเท่ากับ 740.39 และพบหมู่ฟังก์ชันซัลเฟตในรูปคาร์บอนิลซัลไฟด์ในช่วงความถี่ 988 ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร ปริมาณของคาร์บอนิลซัลไฟด์ที่พบเท่ากับ 139.74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.4 จากการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่ายที่เลี้ยงในระดับถัง 6 ลิตร พบว่าสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดร้อยละ 38.04±0.20 *Selenastrum* sp. F15 มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดร้อยละ 42.75±0.13 ส่วน *Scenedesmus* sp. M10 มีปริมาณความชื้น เถ้า และไขมันสูงที่สุดร้อยละ 9.42±0.20, 11.70±0.06 และ 21.89±0.28 ตามลำดับ

5.15 จากการศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M10 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดร้อยละ 47.194±0.19 สำหรับการทดสอบการเป็นสารต้านมะเร็งด้วยวิธีการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นกับเซลล์ไลน์ได้แก่เซลล์มะเร็งลำไส้, เซลล์มะเร็งเต้านม และเซลล์ไตของลิง พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไลน์ทั้งสามชนิด

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การสกัดสารโพลีแซคคาไรด์ที่ปล่อยออกมานอกเซลล์ให้มีความบริสุทธิ์และความเข้มข้นสูง ควรหาวิธีการที่มีความจำเพาะจงและนำซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดไปทำให้บริสุทธิ์ก่อนการนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

5.2.2 ควรควบคุมสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้คงที่ตลอดการเพาะเลี้ยงและเหมาะสมต่อสายพันธุ์สาหร่ายที่นำมาทดลอง

5.2.3 การทำแห้งเซลล์สาหร่ายควรเป็นวิธีการแช่เยือกแข็งเซลล์แทนการอบด้วยความร้อน เนื่องจากความร้อนอาจส่งผลให้เซลล์แห้งของสาหร่ายเสื่อมสภาพได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. **สาหร่าย**. กรุงเทพฯ : คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ขนิษฐา ใช่เจริญ วิไลลักษณ์ จำรูญ และสาธิต โกวิทวที. 2547. “ปริมาณโปรตีนในสาหร่าย 4 ชนิด *Chlorella* sp., *Kirchneriella* sp., *Navicula* sp. และ *Coccomyxa* sp. ที่ระยะเวลาการเลี้ยงต่างๆ”. ใน : เอกสารการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 ; 3-6 กุมภาพันธ์ 2547. กรุงเทพมหานคร. หน้า 224-229

จิรพันธ์ เปรมสุริยา. 2555. “การคัดเลือกและจัดจำแนกสายพันธุ์จุลสาหร่ายน้ำจืดและการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโพลีแซคคาไรด์”. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาตร์.

จันทนา ไพรบูรณ์ และอนงค์ จีรภัทร์. 2555. “ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลบางชนิดประเทศไทย.” โครงการทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2555, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชิโนรส ศรีศิริ, ยิ่งยศ ลับภู, ประสงค์ วงศ์วิชา และ กันยรัตน์ โหละสุต. 2551. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมันของสาหร่ายท้องถิ่นเซลล์เดียว. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ณัฐวุฒิ เชิงชั้น. 2555. “การหาปริมาณของซัลเฟตโดยให้ตกตะกอนในรูปของแบเรียมซัลเฟต”. เอกสารประกอบการสอนปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ 1, กรุงเทพมหานคร : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ดวงกมล เรือนงาม. 2557ก. “การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่ผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ประสิทธิภาพสูง.” ภาควีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าทหารลาดกระบัง.

ดวงกมล เรือนงาม. 2557ข. “การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ.” วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 23 (2): 121-124.

ดาริกา อวะภาค, นพรัตน์ มะเห และดลฤดี พิชัยรัตน์. 2555. “การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพอลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง โดยใช้วิธีพ่นผิวตอบสนอง”. KKU Science Journal. 41 (2).

ธิดา เพชรมณี. 2542. “คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน”. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. จังหวัดสงขลา.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2553. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นภัสสร เพียสระ, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, อรพิน เกิดชูชื่น และ โศรดา วัลภา. 2553. การเปรียบเทียบพอลีแซคคาไรด์ของ *Enteromorph intestinalis* โดยการสกัดด้วยด่างและน้ำร้อน หน้า 667.

นริศรา สุวรรณโชติ. 2557. “การศึกษาผลของปริมาณไนเตรตต่อการเจริญเติบโตของคลอเรลลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(*Chlorella vulgaris)*". ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. "อนุมูลอิสระสารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ." วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 21 (3): 1-12.

ประกาศิต สีเที่ยงธรรม และอนุพันธ์ เดชจบ. 2555. "การคัดเลือกและการศึกษาการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็กที่มีการผลิตไขมันสูง". โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง : กรุงเทพมหานคร.

ปริญญา มูลสิน และอมรรัตน์ วงษ์กลม. 2556. "การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากสาหร่ายเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์เครื่องสาอาง." สาขาวิชาชีววิทยาและสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี.

พจน์ ศรีบุญลือ, พัชรี บุญศิริ, ชฎามาศ พินิจสุนทร และเปรมใจ อารีจิตรานุสรณ์. 2555. **ตำราชีวเคมี**. ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 6. ขอนแก่น : ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิจักษ์ ภัทรสุปรีดิ์, ชัชวาล ทองวุฒิศักดิ์ และ ปานจิตร ศรีสุรา. 2554. การผลิตน้ำมันและจำหน่ายน้ำมันไบโอดีเซลจากสาหร่ายคอลเรลล่า. โครงการทางธุรกิจ. หลักสูตรบริหารธุรกิจมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์, พลชา จิตรมิตรสัมพันธ์, ชัชรี แก้วสุรลิขิต และอรรถวุฒิ กันทะวงศ์. 2556. "ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายทะเล." ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลักขนา เหล่าไพบูรณ์, พัฒนา เหล่าไพบูรณ์ และวิลัศนา โพธิ์ศรี. 2540. "ผลของวิธีทำแห้งต่อปริมาณองค์ประกอบต่างๆในสาหร่ายเกลียวทอง". วารสารมหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2 (2)

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. "แพลงก์ตอนพืช". ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. "คู่มือเลี้ยงแพลงก์ตอน". สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544. "แพลงก์ตอนพืช". ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร.

ลินจง สุขลำภู. 2555. "การวัดคุณลักษณะของอาหารด้วยวิธีทางตรง: การวัดด้วยวิธีทางเคมี". เอกสารประกอบการสอนเรื่องการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์, กรุงเทพมหานคร : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. วิทยาสาหร่าย (Phycology). กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์. 517.

วีนา ชูโชติ. 2556. **ปฏิบัติการสาหร่ายวิทยา.** กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วีนา ชูโชติ. 2556. "ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค". วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 22 (2): เดือนกรกฎาคม-ธันวาคม

วสันต์ สุมินทิลี่, ปนิดา บรรจงสินศิริ, จันทนา ไพรบูรณ์ และวรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์. 2557.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

“กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lintillifera*) สาหร่ายทุ่น (*Sargassum oligocystum*) และสาหร่ายเขากวาง (*Gracilaria changii*)”. วารสารเทคโนโลยีการอาหารมหาวิทยาลัยสยาม. 9 : 73.

วงศ์เทวัญ แสนไชย, สมเกียรติ จตุรงค์ลำเลิศ, ชนวัฒน์ นิทัศน์วิจิตร, และ จตุรภัทร วาฤทธิ์. 2559. “การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายเตาโดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคร่วม”. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 40 : 388-395.

ศิริลักษณ์ อิ่มจงใจรัก,จักรกฤษณ์ เตชะอภัยคุณ, ภัทรา ผาสอน,รัตติยา แววนุกูล, ณัฏฐา เลาหกุล สรวิศ เผ่าทองศุข. 2549. **วิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก**. คู่มือการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง เทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ณ สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลศูนย์ฝึกนิสิตเกาะสีชัง สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วันที่ 27 – 31 มีนาคม 2549.

สุวรรณี ทองมาลี, 2557. การใช้วิธีทางเคมีในการลดขนาดและเติมหมู่ซัลเฟตในอัลจิเนตพอลิเมอร์เพื่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร.

สุภัจฉรา นพจินดา. 2556. “สาหร่ายกับประโยชน์ด้านสุขภาพและการชะลอวัย.” วารสารพยาบาลทหารบก. : 88-94.

สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2558. “สาหร่าย”

อนุชา อินทนา, จันทนา ไพรบูรณ์, Yoshihiko Akakabe และ อนงค์ จีรภัทร์. 2559. “การผันแปรตามฤดูกาลของปริมาณและองค์ประกอบทางเคมีของซัลเฟตพอลิแซ็กคาไรด์ในสาหร่าย *Gracilaria Salicornia* (Gracialariaceae Rhodophyta)”. ประมวลบทความการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5: 1-3 มิถุนายน 2559. กรุงเทพมหานคร

อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2549. การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก. คู่มือการอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่องเทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ณ สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลศูนย์ฝึกนิสิตเกาะสีชังสถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วันที่ 27 – 31 มีนาคม 2549. หน้า 28 –35.

อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2552. สาหร่ายคำตอบสุดท้ายของพลังงาน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : เซเว่นพริ้นติ้งกรุ๊ปจำกัด.

อุ่นเรือน เพชราวัลย์ และสุพัตรา โพธิ์เอี่ยม. 2555. เอกสารประกอบการสอนการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์สถาบันเทคโนโลยี-พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen,T.M., 1996, “Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging”. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 90 : 7915-7922.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Baky, A.E., Hanaa H., El Baz KF and EL- Latife SA. 2013. “Induction nitrogen concentration and its biological evaluation**”.** Aquaculture and Research Development. 5 (1) : 1-8

Barsanti, L. and Gualtieri, P. 2006. Algae : Anatomy, Biochemistry and Biotechnology. New York : Taylor and Francis group.

Borowitzka, M.A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. Journal of Biotechnology. 70 : 313-312.

Buckberry, L.D. 2005. Cytotoxicity testing using cell lines in animal cell biotechnology. Methods and Protocols. (ed. N. Jerkins). Replika Press Pvt.Ltd., India. 239-252.

Carvalho, A.P., Monteiro, C.M and Malcata, F.X. 2009. “Simultaneous effect of irradiance and temperature on biochemical composition of the microalga *Povlova lutheri*”. Journal of Applied Phycology. 21: 543-552

Chaichalerm S., Pokethitiyook, P., Yuan, W., Meetam, M., Sritong, K., Pugkaew W., Kungvansaichol, K., Kruatrachue, M. and Damrongphol, P. 2011. Culture of microalgal strains isolated from natural habitats in Thailand in various enriched media. Applied Energy. 89 : 296-302.

Chaiklahan, R, Chirasuwan, N., Triratana, P., Loha, V., Tia, S., and Bunnag, B. 2013. “Polysaccharide extraction from *Spirulina* sp. and its antioxidant capacity”. International Journal of Biological Macromolecules. 58 : 73-78.

Claudia Bertocchi, Luciano Navarini and Attilio Cesàro. 1990. “Polysaccharides from cyanobacteria”. Carbohydrate Polymers. 12 (2) : 127-153

Daisy, Mayyada El-Sayed and Dalia Rifaat. 2015. “Evaluation of the antioxidant activity of enzymatically-hydrolyzed sulfated polysaccharides extracted from red algae; *Pterocladia capillacea”*. LWT - Food Science and Technology. 63: 1236-1244

Den, C. 1984. “Seaweeds of the British Isles”. *Natural history museum*. 20: 192

Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F.1956 “Colourimeteric method for determination of sugars and related substances”. Analytical Chemistry. 28 : 350-356.

Ellefson, W. 1993. “Method of analysis for nutrition labeling”. Journal of AOAC International. 1(8).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Geran, R.I., Greenberg, N.H. , Macdonald, M.M., Schumacher, A.M. and Abbott ,B.J. 1972. Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems Cancer Chemoth Rep, 3 (1972), pp. 1-102.

Halliwell, B., 1999, "Antioxidant defense mechanism: From the beginning to the end, Soc. Free Radic". Biol. Med. 31: 261-272.

Hayakawa Y, Hayashi T, Hayashi K, Ozawa T and Niiya K. 1997. Calcium spirulan as an inducer of tissue type plasminogen activator in human fetal lung fibroblasts. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research. 1335 : 241-247.

Ho, S.H., Chen, W.M. and Chang, J.S. 2010. *Scenedesmus obliquus* CNW-N as a potential candidate for CO_2 mitigation and biodiesel production. Bioresource Technology. 101 : 8725-8730.

Ho, S.H., Chen, C.Y. and Chang, J.S. 2012. "Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO_2 fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. Bioresource Technology". 113 : 244-252.

Jeffrey, D., Palmer, Douglas, E., Soltis and Mark W. Chase. 2004. "The plant tree of life: an overview and some point of view". American Journal of Botany. 91 (10): 1437–1445.

Khalil, Z.I., Asker, M.M.S., Sayed, S.E0 and Kobbia, I.A. 2010. "Effect of pH on growth and biochemical responses of *Dunaliella bardawil* and *Chlorella ellipsoidea*". World Journal Microbiol Biotechnology. 7 : 1225-1231.

Kumar, S. P., Ganesan, R., Rao, S. P.V. 2008. "Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty – An edible seaweed. Food chemistry. 107, 289-295

Kuo-shii Jiang. And George A. Barber. 1975. "Polysaccharide from cell walls of *Chlamydomonas reinhardtii*". Phytochemistry. 14 (11): 2459-2461

Leppard, G.G. 1995. The characterization of algal and microbial mucilages and their aggregates in aquatic ecosystems. The Science of the Total Environment. 165 : 103-131.

Lewmanomont, K., Wongrat, L., Supanwanid, C. 1995. "Algae in Thailand". 1 st ed. Bangkok: Integrated Promotion Technology Co., Ltd.

Li, H., Xu, J., Liu, Y., Ai, S., Qin, F., Li, Z., Zhang, H. and Huang. Z. 2011. "Antioxidant and moisture retention activities of the polysaccharide from *Nostoc commune*". Carbohydrate Polymers. 83 (4) : 1821-1827.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Majdoub, H., Ben Mansour, M., Chaubet, F., Roudesli, M.S. and Maaroufi, R.M. 2009. "Anticoagulant activity of a sulfated polysaccharide from the green alga *Arthrospira platensis*". Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects. 1790 : 1377–1381.

Matsi, M.S., Mizzuddin, N., Arad, S. and Marenus, K. 2003. "Sulfated polysaccharides from red microalgae have anti-inflammatory properties in vitro and in vivo". Applied Biochemistry and Biotechnology. 104 (1) : 13-22

Mao W, Zang X, Li Y and Zhang H. 2006. "Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva Conglobata* and their anticoagulant activity". Journal of Applied Phycology. 18 : 9-14

Miranda, J.R, Passarinho, P.C and Gouveia, L. 2012. Pre-treatment optimization of *Scenedesmus obiquus* microalga for bioethanol production. Bioresource Technology, 104, 342-348

Mohsen, M.S. Asker, Sahera F.Mohamed, F.M. Ali and Osama H. El-sayed. 2007. "Chemical structure and antiviral activity of water-soluble sulfate polysaccharides from *Surgassum latifolium*". Journal of Applied Science Research. 3(10) : 1178-1185

Mata, T.M., Martins, A.A. and Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications : a review. Journal of Renewable and Sustainable Energy Reviews. 14 : 217-232.

Miao, X. and Wu, Q. 2004. High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. Journal of Biotechnology. 110 : 85-93.

Minoru, M., Takatori, M., Hayashi, T., Mori, D., Takashima, O., Yoshida, S., Sato, K., Kawamoto, H., Tamura, J.I., Izawa, H., Ifuka, S. and Saimoto. H. 2014. Depolymerization of sulfated polysaccharides under hydrothermal condition. Journal of Carbohydrate Research. 384 : 56-60

Nattayaporn Chirasuwan, Rattana Chalklahan, Marasri Ruengjitchatchawalya, Boosya Bunnagand Morakot Tanticharoen.2007 "Anti HSV-1 Activity of *Spirulina platensis* polysaccharide". Kasetsart J. (Nat.Sci.) 41 : 311-318.

Ng Ching, Yin, Yaakob, Z. Ali, E; Aung, M.M. and Ng Sheng, W. 2011. Characterization of various microalgae for biodiesel fuel production. Journal of Materials Science and Engineering. 1 : 80-86.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nguyen, M.T., Choi, S.P., Lee, J., Lee, J.H. and Sim, S.J. 2009. Hydrothermal acid pretreatment of *Chlamydomonas reinharardtii* biomass for ethanol production. Journal of Microbiology and Biotechnology ; 19 (2), 61-166.

Parveenkumar, R., Shameera, S., Mahalakshmi, G., Akbarsha, M. and Thajuddin, N. 2012. Influence of nutrient deprivations on lipid accumulation in a dominant indigenous microalga *Chlorella* sp. BUM11008 : Evaluation for biodiesel production. Biomass and Bioenergy. 37 : 60-66.

Rizk, M.Z., El-Sherbiny, M., Ibrahim H. Borai, Magda K. Ezz, Hanan F. Aly, Azza A. Matloub, Abd El Razik Farrag and Gandha I. Fouad. 2016. "Sulphated polysaccahrides (SPS) from the green alga *Ulva fasciata* extract modulates liver and kidney function in high fat diet-induced hypercholesterolemic rats". International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 8 (6) : 43-55.

Rochaix, J.D. 1995. *Chlamydomonas reinhardtii* as the photosynthetic yeast. Annual Review of Genetics. 1995. 29:209-30.

Schaeffer, D.J and Krylov, V.S. 2000. "Anti-HIV activity of extracts and compounds from algae and Cyanobacteria". Ecotoxicology and Environment Safty. 45 (3) : 208-227.

Shao, P., Chen, X. and Peilong Sun. 2013. "In vitro antioxidant and antitumor activities of different sulfated polysaccharides isolated from three algae". International Journal of Biological Macromolecules. 62 : 155– 161.

Seema,P. 2012. "Therapeutic importance of sulfated polysaccharides from seaweeds: updating the recent findings". 3 Biotech. 2 : 171–185.

Se-Kwon Kim and Yong-Xin Li. 2011. "Medicinal benefits of sulfated polysaccharides from sea vegetable". Advances in food and Nutrition Research. 64 : 391-402.

Spitz, T.T., Bergman, M., Moppes, D.V., Grossman, S. and Arad, S. 2005. "Antioxidant activity of the polysaccharide of the red microalga *Porphyridium* sp." Journal of Applied Phycology, 17 : 215-222.

Srisawat U, Reynolds GP, Zhang ZJ, Zhang XR, Arranz B, San L, Dalton CF. 2013 Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C/T polymorphism is associated with antipsychotic-induced weight gain in first-episode schizophrenia. International Journal Neuropsychopharmacol: 1–6.

Violeta, M., Vaida, A., Virginija, S. and Jurate, K. 2011. Cultivation of microalgae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chlorella sp. and *Scenedesmus* sp. as a potentional biofuel feedstock. Enviromental Research. Engineering and Management. 3(57) : 21-27.

Wang, L., Wang, X., Wu, H. and Liu, R. 2014. "Overview on biological activities and molecular characteristics of sulfated polysaccharides from marine green algae in recent years". Marine Drugs. 12 : 4984–5020.

Watanabe, M.M. and Tanabe, Y. 2013. Biology and industrial potential of *Botryococcus braunii*. In A. Richmond, and Q. Hu (Eds.). Handbook of microalgal culture applied phycology and biotechnology. (2nd ed., p.369-387). Australia : Blackwell publishing.

Wilson, A.P. 1986. Cytotoxicity and viability assays. in animal cell culture. a Practical Approach (ed. R.l. Freshney). IRI Press Limited, Oxford, 183-216.

Yang D, Wang Q, Ke L, Jiang J and Ying T. 2007. Antioxidant activities of various extracts of lotus (Nelumbo Nuficera Gaertn) Rhizome. Asia Pac J Clin Nutr 16: 158-163.

Yazdi, H.R., Christy, A.D., Carver, S.M., Yu, Z., Dehority, B.A. and tuovinen, O.H. 2011."Effect of external resistance on bacterial diversity and metabolism in cellulose-fed microbial fule cells. Bioresource technology." 102 : 278-283.

Yim, J.H., Kim, S.J., Ahn, S.H., Lee, C.K., Rhie, K.t. and Lee, H.K. 2004. "Antiviral effects of sulfated exopolysaccharide from the marine microalga *Gyrodinium impudicum* strain KG03."Marine Biotecnology. 6 : 17-25.

Yim, J.H., Son, E., Pyo, S. and Lee, H.K. 2005. "Novel sulfated polysaccharide derived from red-tide microalga *Gyrodinium impudicum* strain KG03 with immunostimulating." Marine Tecnology.7 : 311-3

ขจรเกียรติ์ ศรีนวลสม. 2552 **การวัดมวลชีวภาพและการเจริญเติบโตของสาหร่าย**. [Online]. Available :http://fishtech.mju.ac.th (04 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://healthbenefitsofeating.com/se...its-chlorella/ (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Scenedesmus/quadricauda/sp_01.jpg (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://cfb.unh.edu/phycokey/Choices/Chlorophyceae/unicells/flagellated/CHLAMYDOMONAS/Chlamydomonas_Image_page.html (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : https://en.wikipedia.org/wiki/Chlamydomonas#/media/File:Chlamydomonas_EPA.jpg (4 เมษายน 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online].Available : http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Chlorococcum/sp_10.jpg (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Selenastrum/gracile/gracile11.jpg (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%206/06-20_MicrobialGrowth_L.jpg20_MicrobialGrowth_L.jpg (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap2/chap2_intro.files/image002.jpg (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap2/chap2_intro.files/image006.jpg (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/de/MTT_reaction.png (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://www.psscientific.com/shop/microscopes/hemacytometers/hausserbright-linemetallizedhemacytometer.aspx (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://www.fisheries.go.th/cf-chan/plankton/hema/hema.htm (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://www.fisheries.go.th/cf-chan/plankton/hema/hema.htm (4 เมษายน 2560)

[Online].Available : http://radio.cuci.udg.mx/bch/EN/Antioxid.html (4 เมษายน 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ก-1 อาหารสูตร N-8 สูตรอาหารเหลว

$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	0.26 กรัม
KH_2PO_4	0.74 กรัม
$CaCl_2$	0.01 กรัม
FeEDTA	0.01 กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.05 กรัม
KNO_3	1.00 กรัม
Trace element mixture*	1.00 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

*** Trace element mixture**

$Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$	3.58 กรัม
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	12.98 กรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	1.83 กรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	3.20 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ปรับค่า pH เป็น 6.8 แล้วนำไปนึ่งค่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ก-2 อาหารสูตร N-8 สูตรอาหารแข็ง

อาหารเหลว N-8	100 มิลลิลิตร
วุ้น (agar)	1.5 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
วิธีการทดลอง

ข-1 การวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) (ชุตินันท์และคณะ, 2552)

1. เก็บตัวอย่างสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในคิวเวทท์ (Cuvette)
2. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร
3. บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของตัวอย่าง และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (แกนX) กับค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย (แกน Y) เพื่อวัดการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์

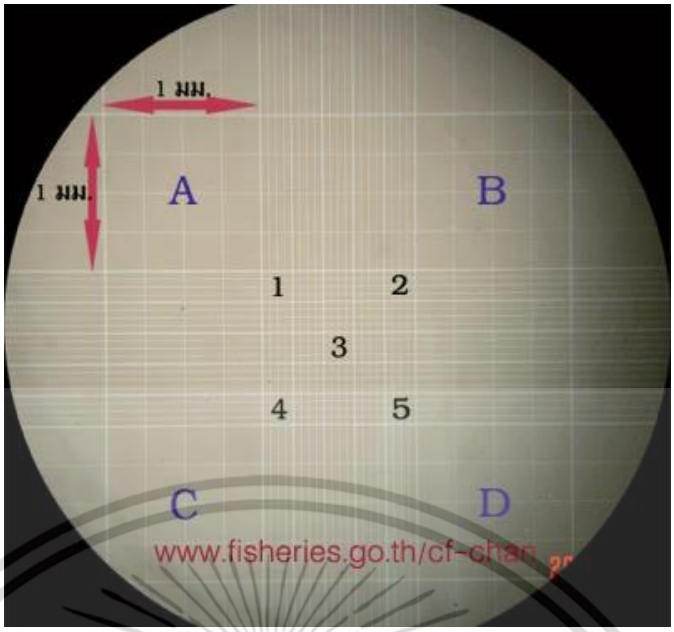
ข-2 การนับจำนวนเซลล์ (cell counting : hemacytometer) (ขจรเกียรติ์, 2552)

1. เก็บตัวอย่างสาหร่ายที่ต้องการนับเซลล์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง (Load port) ของฮีมาไซโตมิเตอร์ (hemacytometer)
2. วางสไลด์ทิ้งไว้ 1 นาทีเพื่อให้สาหร่ายจมสู่พื้นสไลด์
3. ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเริ่มจากกำลังขยายต่ำสุดไปยังกำลังขยายสูงสุด
4. นับเซลล์สาหร่ายบนช่องสี่เหลี่ยมตรงกลาง (25 ช่องใหญ่ ภายในมีตารางขนาดเล็กจำนวน 16 ช่อง)
5. บันทึกจำนวนเซลล์ของตัวอย่างสาหร่าย นำค่าที่ไปคำนวณปริมาณเซลล์ จากสูตร ปริมาณเซลล์สาหร่าย (cell / ml) = จำนวนเซลล์เฉลี่ย x 1/4 x 10^6
6. นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (แกน X) กับจำนวนเซลล์ของสาหร่าย (แกน Y) เพื่อวัดการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์

รูปที่ ข-1 แสดงลักษณะของ hemacytometer

ที่มา : http://www.psscientific.com/shop/microscopes/hemacytometers/hausserbright-linemetallizedhemacytometer.aspx

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข-2 แสดงตารางนับจำนวนเซลล์จากภาพจริง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า
ที่มา : http://www.fisheries.go.th/cf-chan/plankton/hema/hema.htm

รูปที่ ข-3 แสดงตารางนับจำนวนเซลล์จากภาพจริง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า
ที่มา : http://www.fisheries.go.th/cf-chan/plankton/hema/hema.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข-3 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (dry cell weight) (ดวงกมล, 2557)

1. เก็บตัวอย่างเซลล์สาหร่ายปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวส์ (ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสและบันทึกน้ำหนักหลอดด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งแล้ว) โดยเก็บตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
2. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที รินส่วนใสทิ้ง เติมน้ำกลั่นแล้วปั่นเหวี่ยงอีก 1 ครั้ง เพื่อเป็นการล้างเซลล์
3. นำตะกอนเซลล์ที่ได้ไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วใส่ในโถดูดความชื้น (desiccator) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักหลอดที่มีเซลล์แห้งของสาหร่ายด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รายงานผลเป็นน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (กรัมต่อลิตร) จากสูตร

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) = น้ำหนักหลอดที่มีเซลล์แห้งของสาหร่าย – น้ำหนักหลอดเริ่มต้น

4. นำค่าน้ำหนักเซลล์ที่ได้ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (แกนX) กับน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย (แกน Y) เพื่อวัดการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์

ข-4 อัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate, μ) (ชิโนรส และคณะ, 2551)

นำจำนวนเซลล์ในช่วงการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Log phase) มาคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะ โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ } (\mu) = \frac{\ln (N/N_0)}{t}$$

เมื่อ μ คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (วัน$^{-1}$)

N คือ ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายวันสุดท้าย (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

N_0 คือ ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายวันแรก (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

t คือ เวลา (วัน)

ข-5 การศึกษาการผลิตซัลเฟตพอแซคคาไรด์ของสาหร่าย

ข-5.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) ด้วยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก (Dubois และคณะ, 1956)

1. เซลล์สาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
2. นำส่วนใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็ว ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาทีในตู้ดูดควัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นำสารละลายที่ได้มาเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10-20 นาที
5. จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร นำค่าการดูกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด โดยคำนวณจากกราฟเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานกลูโคส (รูปที่ ค-1)
6. บันทึกผลที่ได้ของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ เพื่อคัดเลือกสาหร่ายที่มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลสูงที่สุด 3 สายพันธุ์

ข-5.2 การวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบของซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์โดยตกตะกอนด้วยแบเรียมคลอไรด์ (ณัฐวุฒิและคณะ, 2555)

1. เก็บเซลล์สาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
2. นำส่วนใสที่ได้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมแบเรียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
3. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที รินส่วนใสทิ้ง
4. นำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักตะกอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักตะกอนที่แน่นอน
5. คำนวณน้ำหนักของซัลเฟต จากสูตร

   ตะกอนซัลเฟต (g/L) = น้ำหนักหลอด+ตะกอน – น้ำหนักหลอดเปล่า
6. บันทึกผลที่ได้ของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ เพื่อคัดเลือกสาหร่ายที่มีปริมาณซัลเฟตสูงที่สุด 3 สายพันธุ์

ข-5.3 คัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูงที่สุด

นำค่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) ที่ได้จากข้อ ข-5.1 และค่าปริมาณซัลเฟต (กรัมต่อลิตร) จาก ข-5.2 มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างตัวอย่างสายพันธุ์สาหร่ายที่ศึกษา (แกน x) กับปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณซัลเฟต (แกน Y) โดยพิจารณาสายพันธุ์สาหร่ายที่มีปริมาณน้ำตาลและปริมาณซัลเฟตที่ดีที่สุด เพื่อคัดเลือกสาหร่ายที่มีการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูงที่สุด 3 สายพันธุ์

ข-6 การสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่าย (จิรพันธ์, 2555 และ วงศ์เทวัญ และคณะ, 2559)

1. เก็บเซลล์สาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
2. นำส่วนใสที่ได้ไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. นำตัวอย่างสารสกัดที่ได้ ตั้งทิ้งไว้ในเดซิเคเตอร์ (เพื่อระเหยน้ำที่เหลืออยู่ในสารสกัด) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือจนได้น้ำหนักสารสกัดที่แน่นอน
4. ชั่งน้ำหนักสารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ที่ได้

ข-7 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริก (Dubois และคณะ, 1956)

ทำการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริก โดยให้กลูโคสนั้นเป็นสารมาตรฐานโดยใช้น้ำกลั่นเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆในช่วง (0-100ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ระดับความเจือจางต่างๆลงในหลอดทดลอง (หลอดละ 1 มิลลิลิตร) จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล (ร้อยละ 5) ปริมาตร1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองแต่ละหลอดของสารละลายกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนที่ได้ไปสร้างเป็นกราฟมาตรฐานกลูโคสเพื่อเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำตาลที่ได้จากสารสกัด สำหรับสารสกัดก็ทำวิธีเช่นเดียวกันข้างต้นแต่เปลี่ยนจากกลูโคสเป็นสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด (mg/L) = A_{490} x อัตราการเจือจาง/ความชันของกราฟมาตรฐาน

ข-8 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ลินจง, 2555)

นำครูซิเบิล (Crucible) ไปเผาที่105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงนำไปวางให้เย็นในเดซิเคเตอร์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง ชั่งสาหร่ายแห้ง 1 กรัม ใส่ครูซิเบิล (Crucible) นำไปเผาโดยใช้เครื่องให้ความร้อน (Hot plate) เผาจนกระทั่งควันดำหมด จากนั้นนำไปเผาที่เตาเผาอีกครั้งด้วยอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งตัวอย่างเป็นผงสีขาวหรือสีเทา นำไปวางให้เย็นใน
เดซิเคเตอร์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง จากนั้นคำนวณปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\textbf{ร้อยละเถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักครูซิเบิล+ เถ้า (g)} - \text{น้ำหนักครูซิเบิลเปล่า (g)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}} \times 100$$

ข-9 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000)

ตอนที่ 1 เตรียมสารตัวอย่าง

โดยชั่งสาหร่ายแห้ง 1 ใส่ลงในหลอดย่อยสาร (Digestion tube) เติมตัวเร่งปฏิกิริยา(โพแทสเซียมซัลเฟต และคอปเปอร์ซัลเฟต ในอัตราส่วน 9:1) 5 กรัม จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

ตอนที่ 2 การย่อยสาร

นำหลอดย่อยสารเข้าเครื่องย่อยสาร (Block digestor) ที่อุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียสแล้วสวมเครื่องดักจับไอกรดบริเวณส่วนบนของหลอดย่อยสาร เปิดสวิสช์เครื่องดักจับไอกรดเป็นเวลา 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องย่อยจะทำการย่อยเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำหลอดย่อยสารมาวางไว้ให้เย็น ปิดสวิสต์เครื่องย่อยสาร แต่เปิดเครื่องดักจับอกรดไว้เพื่อดักจับไอกรดที่เหลืออยู่

ตอนที่ 3 การกลั่น

เติมน้ำกลั่นลงในหลอดย่อยสารปริมาตร 20 มิลลิลิตร เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ลงขวดรูปชมพู่แล้วหยดอินดิเคเตอร์ (เมทิลเรด 0.1 กรัม และโบรโมคลีซอลกรีน 0.1 กรัม ในเอทานอล 100 มิลลิลิตร) 2 หยด ให้สารละลายมีสีชมพูอ่อนนำหลอดย่อยสารประกอบเข้ากับเครื่องกลั่น พร้อมวางขวดรูปชมพู่บริเวณ Plateform ให้แท่งแก้วจุ่มลงในกรดบอริก เครื่องกลั่นจะเริ่มทำการกลั่นเป็นเวลา 4 นาที จากนั้นนำขวดรูปชมพู่และหลอดย่อยสารออกจากเครื่อง

ตอนที่ 4 การไทเทรต

นำสารละลายสีเขียวในขวดรูปชมพู่ไทเทรตด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนสารละลายมีสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตและนำมาใช้คำนวณค่าจากสูตร

$$\textbf{ปริมาณโปรตีน} = \frac{(\text{ปริมาตร HCl ที่ไทเทรตตัวอย่าง} - \text{ปริมาตร HCl ที่ไทเทรตแบลงค์}) \times 0.1 \times 1.4 \times 6.25}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}}$$

ข-10 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (ลินจง, 2555)

อบขวดรูปชมพู่สำหรับสกัดไขมันที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสในตู้อบลมร้อน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นชั่งน้ำหนักของขวดรูปชมพู่และบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างสาหร่าย 2-3 กรัมห่อด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (จดน้ำหนักที่แน่นอน) แล้วใส่ในทิมเบิล เติมปิโตเลียมอีเทอร์ลงในขวดรูปชมพู่สำหรับสกัดไขมัน 150 มิลลิลิตร จากนั้นนำทิมเบิลที่มีตัวอย่างใส่ลงในส่วนของหลอดสกัดและต่อขวดรูปชมพู่ ที่มีปิโตเลียมอีเทอร์เข้ากับหลอดสกัดและตัวควบแน่น สกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นแยกขวดรูปชมพู่ ออกจากเครื่องสกัดและใช้คีมคีบทิมเบิลออกจากขวดรูปชมพู่ นำขวดรูปชมพู่ไประเหยปิโตเลียมีเทอร์ออก และอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสจนกว่าตัวทำละลายจะระเหยหมด ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักมาคำนวณหาไขมันจากสูตร

$$\textbf{ร้อยละของปริมาณไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน (g)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}} \times 100$$

ข-11 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Ellefson,1993)

อบถ้วยอลูมิเนียม (Moisture can) ในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 – 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 – 12 ชั่วโมง นำไปวางให้เย็นในเดซิเคเตอร์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างสาหร่าย 1 กรัม เกลี่ยให้ทั่วอบที่ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยเปิดฝาขณะอบ นำไปวางให้เย็นในเดซิเคเตอร์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ได้แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณตามสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\textbf{ร้อยละความชื้น} = \frac{W_1 - W_2}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}} \times 100$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักถ้วย + ฝา และตัวอย่างก่อนอบ (g)

W_2 คือ น้ำหนักถ้วย+ฝา และตัวอย่างหลังอบ (g)

3.4.5.6 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (เบญจพร และคณะ, 2555)

ปริมาณร้อยละคาร์โบไฮเดรตคำนวณได้จากสูตรต่อไปนี้

ร้อยละคาร์โบไฮเดรต = 100 – (ร้อยละความชื้น + ร้อยละเถ้า + ร้อยละโปรตีน + ร้อยละไขมัน)

ข-12 การหาปริมาณของซัลเฟตโดยให้ตกตะกอนในรูปแบเรียมซัลเฟต (ณัฐวุฒิและคณะ, 2555)

<u>หลักการ</u>

สารละลายเคมีที่ใช้ในการตกตะกอนซัลเฟตไอออน คือ สารละลายแบเรียมคลอไรด์ สารละลายที่จะหาปริมาณของซัลเฟต ควรมีความเป็นกรดประมาณ 0.05 M กรดไฮดรอคลอริก เพื่อป้องกันการตกตะกอนร่วมของแบเรียมคาร์บอเนต แบเรียมซัลเฟต และแบเรียมไฮดรอกไซด์ ถ้าหากว่าสารละลายนั้นมีหมู่คาร์บอเนต ฟอสเฟต และไฮดรอกไซด์ละลายปนอยู่ปฏิกิริยาการตกตะกอนของแบเรียมซัลเฟตเป็นดังนี้

$$Ba^{2+}(aq) + SO_4^{2-}(aq) \longrightarrow BaSO_4(S)$$

เนื่องจากตะกอนขาวของ $BaSO_4$ เป็นตะกอนที่ละเอียดจึงจำเป็นต้องกรองตะกอนของแบเรียมซัล- เฟตบนกระดาษกรองวอทแมน (whatman) เบอร์ 42 ซึ่งเป็นกระดาษกรองเนื้อละเอียดเผาแล้วมีขี้เถ้าน้อยหรือเกือบไม่มีเลย (ashless filter paper) ตะกอนที่ได้นำมาล้างออกด้วยน้ำกลั่นร้อน เนื่องจากน้ำที่อยุ่ในโครงสร้างผลึกแบเรียมซัลเฟตถูกยึดแน่น ยากที่จะระเหยออกมาได้จึงจำเป็นต้องเอาตะกอนแบเรียมซัลเฟตมาเผาที่อุณหภูมิสูง จนกระทั่งตะกอนของแบเรียมซัลเฟตมีสีแดงในเปลวไฟ แล้วนำตะกอนที่ได้ไปชั่งหาน้ำหนัก

แบเรียมซัเฟตมีการละลายประมาณ3.0 mg/l. ที่ 20 °C แต่การละลายของสารนี้อาจจะเพิ่มขึ้นถ้าสารละลายเป็นกรด ทั้งนี้เพราะจะทำให้เกิดไอออนไฮโดรเจนซัลเฟต (hydrogensulfate, HSO_4^-) ขึ้น

$$SO_4^{2-}(aq) + H_3O^+(aq) \longrightarrow HSO_4^-(aq) + H_2O$$

การละลายของแบเรียมซัลเฟตที่ 20 °ใน 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 M กรดไฉโดรคลอริกจะมีค่าเท่ากับ 10, 47, 87 และ 101 mg/l ตามลำดับ ดังนั้น จึงควรทำในสารละลายที่มีความเข้มข้นของกรดเท่ากับ 0.05 M HCl ด้วยสาเหตุดังกล่าวที่กล่าวมาข้างตน

<u>สารเคมีที่ใช้</u>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น
2. สารละลายแบเรียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 เตรียมได้โดยละลายแบเรียมคลอไรด์ ($BaCl_2 . 2H_2O$) หนัก 5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 ml

<u>การทดลอง</u>

ตัวอย่างของสารที่จะหาซัลเฟตควรมี S ประมาณ 0.05 – 0.06 กรัม

1. ใช้ครูซิเบิลพอซิเลนชนิดที่มีเบ้ากรอง (filtering crucible) ที่ผ่านการเผาแล้ว 1 ใบ ทำเครื่องหมายแตกต่างกันออกเพื่อป้องกันการสับสน
2. นำสารละลายตัวอย่าง 25.0 ml มาใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 ml เติมน้ำกลั่นปริมาตร 200 ml แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 20 หยด
3. นำสารละลายที่ได้มาต้มจนเดือด เพื่อเพิ่มแรงขับเคลื่อน ทำให้เกิดการทำปฏิกิริยาของสาร แล้วเอาไฟออก นำสารละลายมาเติม 15 ml ของสารละลายแบเรียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 ทีละหยด พร้อมทั้งคนสารละลายอยู่สม่ำเสมอ ตั้งตัวอย่างสารละลายทิ้งไว้ให้ตะกอนตกนอนก้น เพื่อทดสอบแบเรียมซัลเฟตตกตะกอนสมบรูณ์หรือไม่
4. ทำการย่อยตะกอน (digestion) โดยใช้กระจกนาฬิกาปิดปากบีกเกอร์ของสารละลาย แล้วนำมาอุ่นในน้ำเดือดบนอ่างอังน้ำ (water bath) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้ตะกอนละลายและตกผลึกใหม่เมื่อเย็น
5. นำสารละลายพร้อมตะกอนในบีกเกอร์ไปกรองผ่านครูซิเบิลเบ้ากรอง ล้างตะกอนบนครูซิเบิลด้วนน้ำกลั่นที่ร้อน จนกระทั่งสารละลายที่ได้จากการล้างไม่มีคลอไรด์ไอออน
6. นำเอาครูซิเบิลเบ้ากรองที่มีตะกอนแบเรียมซัลเฟต ไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 700 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
7. คำนวณหาน้ำหนักร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตรของซัลเฟต (%W/V SO_4^{2-}) ในสารตัวอย่าง และหาเฉลี่ยและความเที่ยงของผลการวิเคราะห์

<u>หมายเหตุ :</u>

1. การทำให้แบเรียมซัลเฟตตกตะกอนควรหยดสารละลายแบเรียมคลอไรด์ทีละหยดและช้า ๆ ลงไปในสารละลายที่ร้อน และจะต้องคนสารละลายเสมอ ก็เพื่อจะป้องกันการตกตะกอนร่วม (coprecipitation) ของแบเรียมคลอไรด์
2. การทดสอบว่าตะกอนแบเรียมซัลเฟต จะตกอย่างสมบรูณ์หรือไม่ทำได้โดยตั้งสารละลายไว้ให้ตกตะกอนนอนก้น จะได้สารละลายเหนือตะกอนใส และค่อย ๆ หยด 2-3 หยดของสารละลายแบเรียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ลงไปในสารละลายโดยไม่ให้กระทบกระเทือน ถ้าไม่เกิดตะกอนขุ่นขาวเพิ่มขึ้นเนื่องจากการหยดของสารละลายแบเรียมคลอไรด์ แสดงว่าตกตพกอนสมบรูณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การล้างตะกอนแบเรียมซัลเฟต ควรใช้น้ำร้อน เนื่องจากการละลายของแบเรียมซัลเฟตในน้ำร้อนมีค่าน้อยกว่าในน้ำเย็น

ข-14 การใช้เครื่อง FTIR Spectrometer (Nicolet 6700)

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นของแข็งและของเหลวด้วยเทคนิคการสะท้อนแสงแบบ Attenuated Total Reflection (ATR) เทคนิคนี้เป็นการวิเคราะห์สารตัวอย่างโดยใช้เทคนิคการสะท้อนผ่านตัวกลางที่เป็นเพชร ด้วยจำนวนสะท้อนเพียงครั้งเดียว เทคนิคนี้เรียกว่า Attenuated Total Reflection (ATR) เหมาะกับตัวอย่างที่เป็นของแข็ง ของเหลว และของแข็งกึ่งของเหลว เช่น ยา เส้นใย พอลิเมอร์ เจล และสารละลายตัวอย่างที่เป็นกรดและเบสที่มีค่าพีเอชในช่วง 1-14

1. เริ่มจากการเปิดฝาแล้วใช้มือหมุนสกรูที่ล็อกฝาออกแล้วนำฝาครอบ Sample compartment และ Transmittance Holder ออกไปแล้วนำอุปกรณ์มาใส่ใน Sample compartment แทน แล้วใส่สกรูล็อค
2. เมื่อทำการประกอบอุปกรณ์ลงไปเรียบร้อยแล้ว จากนั้นทำตามขั้นตอนดังนี้
   - เปิดโปรแกรม OMNIC
   - โปรแกรมจะทำการตรวจสอบอุปกรณ์อุปกรณ์ว่าอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์หรือไม่ แล้วทำการตั้งค่าใน experiment setup หรือ experiment title
   - ทำการ Collect background โดยไม่ต้องมีตัวอย่างอยู่ จะได้ background
   - ทำการ Collect sample โดยนำตัวอย่างที่เป็นของแข็งมาวางบนเพชร โดยให้ครอบคลุมพื้นที่สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่าง เลื่อนตัวกดเพื่อทำการกดตัวอย่างให้แนบกับเพชรโดยหยุนที่ปุ่มด้านบนในลักษณะทวนเข็ม กรณีที่ใช้ตัวกดเป็นแบบ Lightening viewer จะสามารถเห็นตัวอย่างขณะที่ทำการกดตัวอย่าง โดยจะเห็นภาพขยาย 8.5 เท่าของขนาดจริง
   - กรณีตัวอย่างเป็นของเหลวไม่ต้องใช้ตัวกด ถ้าสารตัวอย่างระเหยง่ายให้ปิดฝาที่มีให้มากับอุปกรณ์

ข-15 การวิเคราะห์ผลการยับยั้งของเซลล์ไลน์ คือ เซลล์มะเร็งเต้านม (HT-29) เซลล์มะเร็งลำไส้ (MCF-7) เซลล์ไตของลิง (Vero) (Primary screening) (อุ่นเรือนและสุพัตรา, 2555)

<u>วิธีการละลายตัวอย่าง</u>

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างใส่ในขวดแก้วที่ปราศจากเชื้อเพื่อเตรียมเป็นสต็อค
2. ทำการละลายตัวอย่างเพื่อเตรียมเป็นสต๊อคความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเติมสารละลาย PBS (Phosphate buffer saline, pH 7.4) ให้มีปริมาณทั้งหมดเท่ากับ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร กรองสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นกรองสารขนาด 0.45 ไมโครเมตร เก็บเป็นสต็อค เพื่อเจือจางให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับใช้ทดสอบต่อไป

<u>วิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์</u>

1. ปลูกเซลล์ HT-29, MCF-7 และ Vero จำนวน 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ลงใน 96-well plate ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มเซลล์ในตู้บ่ม อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 นาน 24 ชั่วโมง

ตัวอย่างที่ 1 *Selenastrum* sp. F15	ปริมาตร 1 ม.ล	น้ำหนัก 1.0011 กรัม
ตัวอย่างที่ 2 *Chlamydomonas* sp. P2-59	ปริมาตร 1 ม.ล	น้ำหนัก 0.9718 กรัม
ตัวอย่างที่ 3 *Scenedesmus* sp. M10	ปริมาตร 1 ม.ล	น้ำหนัก 0.9716 กรัม
ตัวอย่างที่ 4 อาหาร N8	ปริมาตร 1 ม.ล	น้ำหนัก 0.9375 กรัม

2. หลังจากบ่มเซลล์ครบ 24 ชั่วโมง เติมสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร
3. ทำการบ่มเซลล์ในตัวอย่างสารละลายตัวอย่างนาน 20 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 ม.กต่อม.ล, 10 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปบ่มในตู้บ่ม อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เมื่อบ่มเซลล์ใน MTT ครบ 4 ชั่วโมง ดูดสารละลาย MTT ทิ้ง และเติมสารละลายสำหรับละลายผลึก Formazan ในที่นี้ใช้ 100% DMSO: 10% SDS อัตราส่วน 9:1 ปริมาตร 150 µl/well
4. นำไปวัดค่า OD ที่ wavelength 570 nm ตั้งโปรแกรมเขย่า 5 นาทีก่อนวัดค่า OD
5. คำนวณค่า % Cytotoxicity ของสารแต่ละชนิด โดยใช้สูตร ต่อไปนี้

$$\% \text{ Cytotoxicity} = \left\{\frac{A-B}{A}\right\} \times 100$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารละลายตัวอย่างแต่ละชนิด ความเข้มข้น 1000 µg/ml

โดยค่า A และ B จะต้องนำค่าการดูดกลืนแสงของ Blank (ในที่นี้ คือหลุมที่เติมสารละลาย 100% DMSO: 10% SDS) มาหักลบออกก่อน จากนั้นจึงนำไปคำนวณจากสูตรข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารละลาย

ค-1 การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

ตอนที่ 1 ชั่งสารละลายกลูโคส 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสที่มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตอนที่ 2 เตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตสารละลายเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายกลูโคสให้อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80, และ100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ดังตาราง ค-1

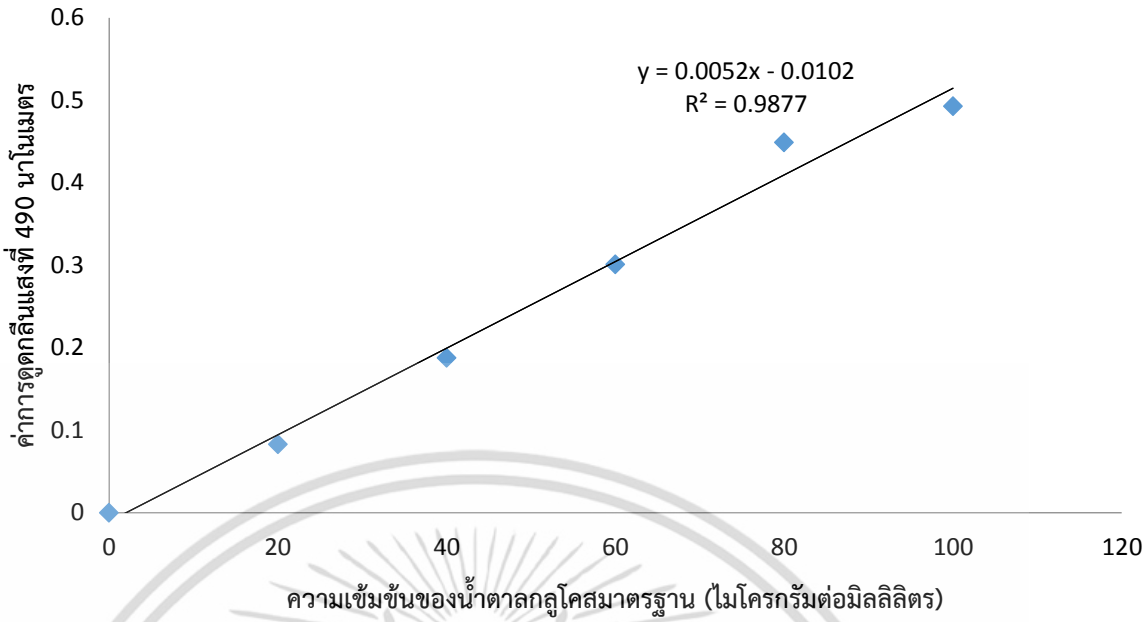
ตาราง ค-1 อัตราส่วนการเจือจางสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆเพื่อเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

หลอดที่	สารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 µg/ml (ml)	ปริมาตรน้ำกลั่น (ml)	ความเข้มข้นสารลพลายมาตรฐานกลูโคส (µg/ml)
1	0	5.0	0
2	1.0	4.0	20
3	2.0	3.0	40
4	3.0	2.0	60
5	4.0	1.0	80
6	5.0	0	100

ค-2 การสร้างกราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคส

นำสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80, และ100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เตรียมได้จากตาราง ค-1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงไปอย่างรวดเร็ว ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาทีในตู้ดูดควัน นำสารละลายที่ได้มาเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10-20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร นำไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นกลูโคส (แกน X) และค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) ดังรูปที่ ค-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค-1 แสดงกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของน้ำตาลกูโคส ที่ความเข้มข้น 0 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ค-3 การเตรียมสารละลายแบเรียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 4

ชั่งสารแบเรียมคลอไรด์ ($BaCl_2$) 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรในขวดปรับริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

ค-4 การเตรียมสารละลาย DPPH

ตอนที่ 1 สารละลายสารละลายดีพีพีเอชความเข้มข้น 0.35 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งสารดีพีพีเอช 0.0138 กรัม และละลายในเอทานอล จากนั้นปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรให้ครบ 100 ม.ล

ตอนที่ 2 นำสารสกัดตัวอย่างสาหร่ายที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมด้วยสารละลายดีพีพีเอชปริมาตร 1 ม.ล ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร จากนั้นทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณหาร้อยละประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ดังสมการ

$$\textbf{ร้อยละประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ} = \frac{A_0 - (A - A_b)}{A_0} \times 100$$

โดยที่ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ผสม DPPH

A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ปราศจากตัวอย่างสารสกัด

A_b คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ปราศจาก DPPH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ตารางแสดงผลการทดลอง

ตารางที่ ง 1 แสดงระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย 20 สายพันธุ์

ตารางที่ ง 1-1 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.113	0.110	0.112	**0.111± 0.00**	0.70×10^7	0.65×10^7	0.60×10^7	**$0.65 \pm 0.39 \times 10^7$**	0.08	0.12	0.10	**0.10 ± 0.02**
2	0.150	0.159	0.168	**0.159± 0.01**	1.71×10^7	1.79×10^7	1.88×10^7	**$1.79 \pm 0.07 \times 10^7$**	0.16	0.30	0.26	**0.24 ± 0.06**
4	0.440	0.464	0.456	**0.453± 0.01**	3.46×10^7	3.27×10^7	3.09×10^7	**$3.27 \pm 0.15 \times 10^7$**	1.10	1.10	0.95	**1.05 ± 0.07**
6	0.533	0.551	0.552	**0.545± 0.01**	5.40×10^7	5.50×10^7	5.60×10^7	**$5.50 \pm 0.08 \times 10^7$**	1.72	1.69	1.60	**1.67 ± 0.05**
8	0.649	0.627	0.645	**0.640± 0.01**	5.80×10^7	5.88×10^7	5.87×10^7	**$5.85 \pm 0.04 \times 10^7$**	1.70	1.72	1.72	**1.71 ± 0.01**
10	0.646	0.649	0.698	**0.664± 0.02**	6.30×10^7	6.19×10^7	6.23×10^7	**$6.24 \pm 0.05 \times 10^7$**	1.76	1.90	1.90	**1.85 ± 0.07**
12	0.735	0.747	0.750	**0.744± 0.01**	6.33×10^7	6.27×10^7	6.30×10^7	**$6.30 \pm 0.02 \times 10^7$**	2.1	2.00	1.97	**2.02 ± 0.06**
14	0.785	0.754	0.768	**0.769± 0.01**	6.10×10^7	5.72×10^7	5.35×10^7	**$5.72 \pm 0.31 \times 10^7$**	2.16	1.89	2.10	**2.05 ± 0.12**
16	0.808	0.806	0.809	**0.807± 0.00**	4.05×10^7	4.15×10^7	4.25×10^7	**$4.15 \pm 0.08 \times 10^7$**	2.20	2.00	2.00	**2.07 ± 0.09**

ตารางที่ ง 1-2 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. A

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.103	0.101	0.105	**0.103±0.00**	0.41×10^7	0.38×10^7	0.35×10^7	**$0.38\pm0.22 \times 10^7$**	0.08	0.10	0.06	**0.08±0.02**
2	0.242	0.234	0.250	**0.242±0.01**	1.33×10^7	1.37×10^7	1.41×10^7	**$1.37\pm0.03 \times 10^7$**	0.12	0.16	0.20	**0.16±0.03**
4	0.412	0.408	0.401	**0.407±0.00**	2.31×10^7	2.27×10^7	2.24×10^7	**$2.27\pm0.03 \times 10^7$**	0.64	0.64	0.70	**0.66±0.03**
6	0.476	0.467	0.513	**0.485±0.02**	4.27×10^7	3.89×10^7	3.90×10^7	**$4.02\pm0.18 \times 10^7$**	1.22	1.24	1.20	**1.22±0.02**
8	0.550	0.572	0.573	**0.565±0.01**	4.50×10^7	4.15×10^7	4.25×10^7	**$4.30\pm0.15 \times 10^7$**	1.36	1.42	1.40	**1.39±0.02**
10	0.587	0.611	0.597	**0.598±0.01**	4.90×10^7	4.71×10^7	4.72×10^7	**$4.77\pm0.09 \times 10^7$**	1.48	1.50	1.56	**1.51±0.03**
12	0.656	0.646	0.665	**0.655±0.01**	5.55×10^7	5.72×10^7	5.90×10^7	**$5.72\pm0.14 \times 10^7$**	1.80	1.70	1.72	**1.74±0.04**
14	0.612	0.632	0.652	**0.632±0.02**	5.68×10^7	5.77×10^7	5.83×10^7	**$5.76\pm0.06 \times 10^7$**	1.72	1.80	1.76	**1.76±0.03**
16	0.519	0.556	0.538	**0.537±0.02**	5.61×10^7	5.82×10^7	5.89×10^7	**$5.77\pm0.12 \times 10^7$**	1.78	2.00	1.60	**1.79±0.16**

ตารางที่ ง 1-3 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. B

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.107	0.108	0.100	**0.105 ±0.00**	0.39×10^7	0.45×10^7	0.50×10^7	**$0.45 \pm 0.45 \times 10^7$**	0.04	0.08	0.08	**0.07 ±0.03**
2	0.161	0.166	0.165	**0.164 ±0.00**	0.52×10^7	0.58×10^7	0.63×10^7	**$0.58 \pm 0.45 \times 10^7$**	0.12	0.18	0.18	**0.16 ±0.02**
4	0.222	0.227	0.236	**0.228 ±0.01**	0.99×10^7	0.98×10^7	0.98×10^7	**$0.98 \pm 0.06 \times 10^7$**	0.76	0.80	0.78	**0.78 ±0.04**
6	0.353	0.346	0.357	**0.352 ±0.00**	1.74×10^7	1.77×10^7	1.75×10^7	**$1.75 \pm 0.01 \times 10^7$**	1.12	1.20	1.22	**1.18 ±0.13**
8	0.489	0.499	0.477	**0.488 ±0.01**	2.67×10^7	2.65×10^7	2.64×10^7	**$2.65 \pm 0.01 \times 10^7$**	1.40	1.38	1.12	**1.30 ±0.05**
10	0.573	0.590	0.574	**0.579 ±0.01**	3.70×10^7	3.72×10^7	3.75×10^7	**$3.55 \pm 0.02 \times 10^7$**	1.54	1.42	1.26	**1.47 ±0.07**
12	0.618	0.625	0.621	**0.621 ±0.00**	4.00×10^7	4.20×10^7	4.40×10^7	**$4.20 \pm 0.16 \times 10^7$**	1.68	1.52	1.62	**1.61 ±0.16**
14	0.634	0.633	0.613	**0.623 ±0.01**	4.40×10^7	4.00×10^7	4.20×10^7	**$4.52 \pm 0.16 \times 10^7$**	1.86	1.50	1.56	**1.64 ±0.14**
16	0.556	0.586	0.557	**0.626 ±0.01**	4.57×10^7	4.47×10^7	4.46×10^7	**$4.50 \pm 0.05 \times 10^7$**	1.88	1.56	1.60	**1.68 ±0.02**

ตารางที่ ง 1-4 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. G

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.101	0.103	0.101	**0.101±0.00**	0.39×10^7	0.34×10^7	0.29×10^7	**$0.34 \pm 0.39 \times 10^7$**	0.04	0.08	0.12	**0.08±0.03**
2	0.229	0.210	0.258	**0.232±0.02**	1.09×10^7	1.25×10^7	1.40×10^7	**$1.24 \pm 0.13 \times 10^7$**	0.16	0.24	0.08	**0.16±0.07**
4	0.410	0.374	0.379	**0.387±0.02**	1.72×10^7	1.88×10^7	2.04×10^7	**$1.88 \pm 0.13 \times 10^7$**	0.88	0.70	0.86	**0.81±0.08**
6	0.464	0.468	0.478	**0.470±0.01**	2.55×10^7	2.47×10^7	2.39×10^7	**$2.47 \pm 0.07 \times 10^7$**	1.40	1.04	1.28	**1.24±0.15**
8	0.526	0.536	0.553	**0.538±0.01**	2.75×10^7	2.95×10^7	3.16×10^7	**$2.95 \pm 0.17 \times 10^7$**	1.56	1.32	1.32	**1.40±0.11**
10	0.532	0.553	0.563	**0.542±0.01**	3.40×10^7	3.47×10^7	3.55×10^7	**$3.47 \pm 0.06 \times 10^7$**	1.60	1.54	1.56	**1.57±0.02**
12	0.569	0.585	0.567	**0.573±0.01**	3.90×10^7	4.15×10^7	4.40×10^7	**$4.15 \pm 0.20 \times 10^7$**	1.64	1.80	1.68	**1.71±0.07**
14	0.615	0.620	0.619	**0.618±0.00**	4.03×10^7	4.20×10^7	4.28×10^7	**$4.17 \pm 0.10 \times 10^7$**	2.02	2.40	0.84	**1.75±0.66**
16	0.650	0.652	0.654	**0.652±0.00**	4.53×10^7	4.93×10^7	4.96×10^7	**$4.14 \pm 0.20 \times 10^7$**	1.86	1.90	1.55	**1.77±0.16**

ตารางที่ ง 1-5 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. U

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.119	0.110	0.111	**0.113±0.00**	0.44×10^7	0.43×10^7	0.41×10^7	**$0.43 \pm 0.12 \times 10^7$**	0.12	0.06	0.06	**0.08 ±0.03**
2	0.171	0.174	0.184	**0.176±0.01**	0.53×10^7	0.57×10^7	0.63×10^7	**$0.58 \pm 0.41 \times 10^7$**	0.22	0.18	0.20	**0.20 ±0.02**
4	0.268	0.273	0.270	**0.270±0.00**	1.35×10^7	1.33×10^7	1.36×10^7	**$1.34 \pm 0.01 \times 10^7$**	0.52	0.48	0.50	**0.50 ±0.02**
6	0.443	0.448	0.464	**0.451±0.01**	2.17×10^7	2.21×10^7	2.26×10^7	**$2.21 \pm 0.04 \times 10^7$**	1.02	0.86	1.00	**0.96 ±0.07**
8	0.552	0.556	0.578	**0.562±0.01**	3.70×10^7	3.92×10^7	3.84×10^7	**$3.82 \pm 0.09 \times 10^7$**	1.34	1.40	1.42	**1.39 ±0.03**
10	0.568	0.583	0.582	**0.577±0.01**	3.78×10^7	3.97×10^7	3.80×10^7	**$3.85 \pm 0.09 \times 10^7$**	1.46	1.48	1.50	**1.48 ±0.02**
12	0.608	0.592	0.591	**0.597±0.01**	3.94×10^7	3.85×10^7	3.82×10^7	**$3.87 \pm 0.05 \times 10^7$**	1.61	1.60	1.68	**1.63 ±0.04**
14	0.616	0.627	0.612	**0.618±0.01**	3.25×10^7	3.12×10^7	3.00×10^7	**$3.12 \pm 0.10 \times 10^7$**	1.74	1.52	1.70	**1.65 ±0.10**
16	0.626	0.638	0.630	**0.631±0.00**	2.40×10^7	2.10×10^7	1.80×10^7	**$2.10 \pm 0.24 \times 10^7$**	1.88	1.48	1.66	**1.67 ±0.16**

ตารางที่ ง 1-6 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. 3

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.092	0.090	0.089	**0.090±0.00**	0.32×10^7	0.30×10^7	0.29×10^7	**$0.30\pm0.14 \times 10^7$**	0.10	0.08	0.12	**0.10±0.02**
2	0.202	0.202	0.209	**0.204±0.00**	1.16×10^7	1.03×10^7	1.13×10^7	**$1.01\pm0.06 \times 10^7$**	0.18	0.22	0.26	**0.22±0.03**
4	0.329	0.329	0.334	**0.330±0.00**	2.10×10^7	2.01×10^7	2.05×10^7	**$2.05\pm0.04 \times 10^7$**	0.64	0.74	0.73	**0.70±0.04**
6	0.470	0.467	0.469	**0.468±0.00**	3.27×10^7	3.53×10^7	3.08×10^7	**$3.29\pm0.18 \times 10^7$**	1.16	1.10	1.22	**1.16±0.05**
8	0.542	0.532	0.541	**0.538±0.00**	5.65×10^7	6.30×10^7	6.30×10^7	**$5.23\pm0.31 \times 10^7$**	1.32	1.14	1.68	**1.38±0.22**
10	0.655	0.656	0.668	**0.659±0.01**	6.45×10^7	6.80×10^7	6.35×10^7	**$6.23\pm0.19 \times 10^7$**	1.40	1.52	1.52	**1.48±0.06**
12	0.689	0.688	0.687	**0.688±0.00**	7.75×10^7	7.95×10^7	8.30×10^7	**$8.10\pm0.23 \times 10^7$**	1.56	1.66	1.72	**1.65±0.07**
14	0.721	0.724	0.723	**0.722±0.00**	8.19×10^7	8.10×10^7	8.16×10^7	**$8.15\pm0.04 \times 10^7$**	1.82	1.35	1.86	**1.68±0.23**
16	0.797	0.788	0.795	**0.793±0.00**	8.00×10^7	8.07×10^7	8.17×10^7	**$8.00\pm0.07 \times 10^7$**	1.80	1.48	1.86	**1.71±0.17**

ตารางที่ ง 1-7 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. 5

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.103	0.099	0.100	**0.100±0.00**	0.70×10^7	0.68×10^7	0.67×10^7	**$0.68\pm0.12 \times 10^7$**	0.04	0.04	0.12	**0.07±0.04**
2	0.261	0.240	0.277	**0.259±0.02**	1.78×10^7	1.82×10^7	1.86×10^7	**$1.82\pm0.03 \times 10^7$**	0.08	0.16	0.16	**0.13±0.04**
4	0.433	0.437	0.439	**0.436±0.00**	3.25×10^7	3.23×10^7	3.21×10^7	**$3.23\pm0.02 \times 10^7$**	0.48	0.52	0.62	**0.54±0.06**
6	0.489	0.565	0.532	**0.528±0.03**	5.17×10^7	5.18×10^7	4.95×10^7	**$5.10\pm0.11 \times 10^7$**	1.02	0.98	1.20	**1.07±0.10**
8	0.623	0.611	0.622	**0.618±0.01**	5.20×10^7	5.17×10^7	5.14×10^7	**$5.17\pm0.02 \times 10^7$**	1.20	1.04	1.32	**1.19±0.11**
10	0.724	0.676	0.721	**0.707±0.02**	5.79×10^7	5.25×10^7	5.31×10^7	**$5.45\pm0.24 \times 10^7$**	1.26	1.20	1.32	**1.26±0.05**
12	0.720	0.710	0.715	**0.715±0.00**	5.81×10^7	5.30×10^7	5.36×10^7	**$5.49\pm0.23 \times 10^7$**	1.34	1.32	1.24	**1.30±0.04**
14	0.781	0.785	0.792	**0.786±0.00**	6.10×10^7	6.02×10^7	5.95×10^7	**$6.02\pm0.06 \times 10^7$**	1.40	1.26	1.40	**1.35±0.07**
16	0.802	0.806	0.802	**0.803±0.00**	3.25×10^7	3.37×10^7	3.50×10^7	**$3.37\pm0.10 \times 10^7$**	1.44	0.92	1.82	**1.39±0.37**

ตารางที่ ง 1-8 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. N.11-59

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.101	0.097	0.105	**0.101±0.00**	0.27×10^7	0.28×10^7	0.27×10^7	**$0.27\pm0.04 \times 10^7$**	0.16	0.08	0.08	**0.10±0.04**
2	0.125	0.101	0.109	**0.111±0.01**	0.37×10^7	0.40×10^7	0.39×10^7	**$0.39\pm0.11 \times 10^7$**	0.12	0.22	0.20	**0.18±0.04**
4	0.141	0.151	0.149	**0.147±0.00**	0.40×10^7	0.44×10^7	0.47×10^7	**$0.44\pm0.29 \times 10^7$**	0.52	0.44	0.50	**0.49±0.03**
6	0.206	0.212	0.209	**0.209±0.00**	1.13×10^7	1.11×10^7	1.09×10^7	**$1.11\pm0.02 \times 10^7$**	1.18	1.10	1.12	**1.13±0.03**
8	0.324	0.329	0.343	**0.332±0.01**	4.90×10^7	5.05×10^7	5.30×10^7	**$5.08\pm0.16 \times 10^7$**	1.52	1.58	1.58	**1.56±0.03**
10	0.392	0.385	0.386	**0.387±0.00**	5.75×10^7	5.62×10^7	5.00×10^7	**$5.45\pm0.33 \times 10^7$**	1. 74	1.80	1.80	**1.78±0.03**
12	0.532	0.533	0.535	**0.533±0.00**	5.92×10^7	5.25×10^7	5.24×10^7	**$5.47\pm0.32 \times 10^7$**	1.60	1.68	1.76	**1.68±0.07**
14	0.605	0.617	0.616	**0.612±0.01**	5.75×10^7	5.62×10^7	5.00×10^7	**$5.45\pm0.33 \times 10^7$**	1.64	1.88	1.64	**1.72±0.11**
16	0.618	0.618	0.621	**0.619±0.00**	3.45×10^7	3.37×10^7	3.35×10^7	**$3.39\pm0.04 \times 10^7$**	2.20	1.88	1.58	**1.89±0.11**

ตารางที่ ง 1-9 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.082	0.081	0.084	**0.082±0.00**	0.05×10^7	0.05×10^7	0.03×10^7	**$0.04±0.71 \times 10^7$**	0.34	0.34	0.40	**0.36±0.03**
2	0.108	0.101	0.099	**0.102±0.00**	0.06×10^7	0.04×10^7	0.05×10^7	**$0.05±0.62 \times 10^7$**	0.5	0.5	0.56	**0.52±0.03**
4	0.153	0.157	0.153	**0.154±0.00**	0.17×10^7	0.16×10^7	0.19×10^7	**$0.17±0.14 \times 10^7$**	1.14	1.02	1.20	**1.12±0.07**
6	0.190	0.195	0.189	**0.191±0.00**	0.17×10^7	0.28×10^7	0.16×10^7	**$0.20±0.56 \times 10^7$**	1.94	1.44	1.56	**1.65±0.21**
8	0.191	0.198	0.196	**0.195±0.00**	0.22×10^7	0.21×10^7	0.25×10^7	**$0.22±0.15 \times 10^7$**	1.88	1.56	1.90	**1.78±0.16**
10	0.263	0.300	0.281	**0.281±0.02**	0.21×10^7	0.25×10^7	0.23×10^7	**$0.23±0.16 \times 10^7$**	2.00	1.72	1.98	**1.90±0.13**
12	0.446	0.446	0.449	**0.447±0.00**	0.29×10^7	0.29×10^7	0.28×10^7	**$0.29±0.05 \times 10^7$**	1.9	1.92	2.00	**1.94±0.04**
14	0.481	0.482	0.480	**0.481±0.00**	0.30×10^7	0.33×10^7	0.29×10^7	**$0.31±0.18 \times 10^7$**	2.1	1.76	2.02	**1.96±0.15**

ตารางที่ ง 1-10 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.110	0.102	0.110	**0.107±0.00**	0.06×10^7	0.05×10^7	0.07×10^7	**$0.06 \pm 0.51 \times 10^7$**	0.08	0.10	0.08	**0.09±0.01**
2	0.206	0.212	0.209	**0.209±0.00**	0.13×10^7	0.14×10^7	0.14×10^7	**$0.14 \pm 0.04 \times 10^7$**	0.16	0.20	0.18	**0.15±0.02**
4	0.453	0.369	0.353	**0.391±0.04**	0.19×10^7	0.18×10^7	0.18×10^7	**$0.18 \pm 0.04 \times 10^7$**	1.12	1.16	1.00	**1.09±0.07**
6	0.407	0.409	0.413	**0.409±0.00**	0.19×10^7	0.19×10^7	0.18×10^7	**$0.19 \pm 0.02 \times 10^7$**	1.40	1.40	1.44	**1.41±0.02**
8	0.445	0.446	0.444	**0.445±0.00**	0.21×10^7	0.19×10^7	0.20×10^7	**$0.20 \pm 0.07 \times 10^7$**	1.56	1.52	1.60	**1.56±0.03**
10	0.516	0.533	0.502	**0.517±0.01**	0.22×10^7	0.23×10^7	0.22×10^7	**$0.22 \pm 0.07 \times 10^7$**	1.63	1.56	1.80	**1.66±0.10**
12	0.580	0.583	0.590	**0.584±0.00**	0.23×10^7	0.22×10^7	0.23×10^7	**$0.23 \pm 0.04 \times 10^7$**	1.62	1.62	1.70	**1.65±0.04**
14	0.640	0.623	0.631	**0.631±0.01**	0.27×10^7	0.23×10^7	0.24×10^7	**$0.25 \pm 0.16 \times 10^7$**	1.70	1.68	1.70	**1.69±0.01**
16	0.696	0.698	0.715	**0.703±0.01**	0.19×10^7	0.16×10^7	0.13×10^7	**$0.16 \pm 0.25 \times 10^7$**	1.72	1.70	1.74	**1.73±0.02**

ตารางที่ ง 1-11 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. C

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.096	0.095	0.092	**0.094±0.00**	0.04×10^7	0.04×10^7	0.05×10^7	**$0.04\pm0.41 \times 10^7$**	0.12	0.10	0.14	**0.12±0.02**
2	0.168	0.173	0.196	**0.179±0.01**	0.10×10^7	0.11×10^7	0.10×10^7	**$0.10\pm0.07 \times 10^7$**	0.20	0.18	0.22	**0.20±0.02**
4	0.352	0.349	0.361	**0.349±0.01**	0.18×10^7	0.18×10^7	0.17×10^7	**$0.18\pm0.04 \times 10^7$**	1.00	0.98	1.02	**1.00±0.02**
6	0.428	0.409	0.434	**0.423±0.01**	0.24×10^7	0.23×10^7	0.23×10^7	**$0.23\pm0.04 \times 10^7$**	1.62	1.60	1.40	**1.54±0.10**
8	0.462	0.446	0.456	**0.454±0.01**	0.26×10^7	0.24×10^7	0.22×10^7	**$0.24\pm0.16 \times 10^7$**	1.60	1.68	1.72	**1.67±0.05**
10	0.492	0.489	0.481	**0.487±0.00**	0.26×10^7	0.27×10^7	0.28×10^7	**$0.27\pm0.10 \times 10^7$**	2.65	1.70	2.77	**1.71±0.05**
12	0.531	0.537	0.530	**0.532±0.00**	0.28×10^7	0.27×10^7	0.27×10^7	**$0.27\pm0.03 \times 10^7$**	2.79	1.86	2.80	**1.82±0.03**
14	0.688	0.737	0.718	**0.714±0.02**	0.22×10^7	0.25×10^7	0.27×10^7	**$0.25\pm0.20 \times 10^7$**	1.80	2.00	1.69	**1.83±0.13**
16	0.755	0.770	0.716	**0.747±0.02**	0.18×10^7	0.19×10^7	0.21×10^7	**$0.19\pm0.10 \times 10^7$**	2.10	1.70	1.76	**1.85±0.18**

ตารางที่ ง 1-12 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. W53

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.094	0.094	0.090	**0.092±0.00**	0.04×10^7	0.05×10^7	0.04×10^7	**$0.04 \pm 0.24 \times 10^7$**	0.18	0.08	0.10	**0.12±0.04**
2	0.187	0.202	0.193	**0.194±0.01**	0.18×10^7	0.15×10^7	0.14×10^7	**$0.16 \pm 0.19 \times 10^7$**	0.16	0.18	0.21	**0.18±0.02**
4	0.340	0.346	0.341	**0.342±0.00**	0.24×10^7	0.24×10^7	0.26×10^7	**$0.24 \pm 0.08 \times 10^7$**	0.95	1.00	1.00	**0.98±0.02**
6	0.410	0.384	0.350	**0.381±0.02**	0.27×10^7	0.27×10^7	0.28×10^7	**$0.27 \pm 0.03 \times 10^7$**	1.52	1.60	1.54	**1.55±0.03**
8	0.566	0.584	0.543	**0.564±0.02**	0.30×10^7	0.29×10^7	0.30×10^7	**$0.30 \pm 0.06 \times 10^7$**	1.67	1.70	1.55	**1.64±0.06**
10	0.607	0.610	0.591	**0.602±0.01**	0.35×10^7	0.32×10^7	0.30×10^7	**$0.32 \pm 0.20 \times 10^7$**	1.70	1.74	1.72	**1.72±0.02**
12	0.624	0.625	0.630	**0.626±0.00**	0.35×10^7	0.34×10^7	0.36×10^7	**$0.35 \pm 0.06 \times 10^7$**	1.75	1.71	1.76	**1.74±0.02**
14	0.808	0.801	0.817	**0.808±0.01**	0.34×10^7	0.32×10^7	0.29×10^7	**$0.31 \pm 0.21 \times 10^7$**	1.98	2.01	1.92	**1.97±0.04**
16	0.854	0.850	0.845	**0.849±0.00**	0.31×10^7	0.27×10^7	0.25×10^7	**$0.28 \pm 0.23 \times 10^7$**	2.02	1.88	2.08	**1.99±0.08**

ตารางที่ ง 1-13 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. F9

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.085	0.083	0.080	**0.082±0.00**	0.03×10^7	0.02×10^7	0.01×10^7	**$0.02\pm0.62 \times 10^7$**	0.25	0.30	0.35	**0.30±0.04**
2	0.195	0.190	0.192	**0.192±0.00**	0.05×10^7	0.06×10^7	0.05×10^7	**$0.05\pm0.41 \times 10^7$**	0.50	0.55	0.48	**0.51±0.03**
4	0.235	0.237	0.240	**0.237±0.00**	0.23×10^7	0.28×10^7	0.16×10^7	**$0.22\pm0.51 \times 10^7$**	0.80	0.86	1.10	**0.92±0.13**
6	0.367	0.361	0.364	**0.364±0.00**	0.33×10^7	0.32×10^7	0.33×10^7	**$0.33\pm0.04 \times 10^7$**	1.38	1.40	1.40	**1.39±0.01**
8	0.445	0.469	0.462	**0.458±0.01**	0.49×10^7	0.53×10^7	0.54×10^7	**$0.52\pm0.21 \times 10^7$**	1.68	1.72	1.68	**1.69±0.02**
10	0.557	0.557	0.559	**0.557±0.00**	0.66×10^7	0.69×10^7	0.56×10^7	**$0.64\pm0.55 \times 10^7$**	1.88	1.68	1.70	**1.75±0.09**
12	0.712	0.722	0.714	**0.716±0.00**	0.81×10^7	0.91×10^7	0.82×10^7	**$0.84\pm0.44 \times 10^7$**	1.90	1.86	1.88	**1.88±0.02**
14	0.829	0.839	0.838	**0.864±0.00**	0.90×10^7	0.91×10^7	0.85×10^7	**$0.88\pm0.28 \times 10^7$**	1.95	1.74	2.02	**1.90±0.12**
16	1.415	1.405	1.420	**1.413±0.01**	0.79×10^7	0.80×10^7	0.84×10^7	**$0.81\pm0.21 \times 10^7$**	1.80	1.92	2.04	**1.92±0.10**

ตารางที่ ง 1-14 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. F14

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.085	0.085	0.076	**0.082±**0.00	0.04×10^7	0.04×10^7	0.05×10^7	**$0.04 \pm 0.31 \times 10^7$**	0.10	0.12	0.08	**0.10±**0.02
2	0.153	0.127	0.129	**0.136±**0.01	0.13×10^7	0.13×10^7	0.13×10^7	**$0.13 \pm 0.03 \times 10^7$**	0.18	0.22	0.24	**0.21±**0.02
4	0.289	0.285	0.309	**0.297±**0.01	0.27×10^7	0.20×10^7	0.22×10^7	**$0.23 \pm 0.31 \times 10^7$**	0.79	0.6	0.9	**0.76±**0.12
6	0.367	0.388	0.395	**0.383±**0.01	0.28×10^7	0.26×10^7	0.26×10^7	**$0.27 \pm 0.06 \times 10^7$**	1.2	1.34	1.18	**1.24±**0.07
8	0.479	0.470	0.481	**0.476±**0.00	0.27×10^7	0.29×10^7	0.27×10^7	**$0.28 \pm 0.09 \times 10^7$**	1.6	1.58	1.62	**1.60±**0.02
10	0.492	0.489	0.481	**0.487±**0.00	0.28×10^7	0.29×10^7	0.30×10^7	**$0.29 \pm 0.10 \times 10^7$**	1.82	1.77	1.88	**1.82±**0.04
12	0.554	0.548	0.542	**0.544±**0.00	0.58×10^7	0.54×10^7	0.49×10^7	**$0.54 \pm 0.35 \times 10^7$**	1.88	1.98	1.86	**1.91±**0.05
14	0.792	0.689	0.700	**0.689±**0.05	0.64×10^7	0.56×10^7	0.54×10^7	**$0.58 \pm 0.41 \times 10^7$**	1.92	2.04	1.79	**1.92±**0.10
16	0.687	0.746	0.808	**0.747±**0.05	0.51×10^7	0.57×10^7	0.62×10^7	**$0.57 \pm 0.47 \times 10^7$**	1.98	2.00	1.90	**1.96±**0.04

ตารางที่ ง 1-15 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M10

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.096	0.098	0.092	**0.095±0.00**	0.04×10^7	0.03×10^7	0.03×10^7	**$0.03\pm0.62 \times 10^7$**	0.4	0.36	0.44	**0.40±0.03**
2	0.208	0.210	0.205	**0.207±0.00**	0.12×10^7	0.09×10^7	0.10×10^7	**$0.10\pm3.95 \times 10^7$**	0.56	0.64	0.50	**0.57±0.06**
4	0.316	0.318	0.317	**0.317±0.00**	0.21×10^7	0.21×10^7	0.21×10^7	**$0.21\pm0.03 \times 10^7$**	1.02	1.18	1.04	**1.08±0.07**
6	0.388	0.392	0.396	**0.392±0.00**	0.22×10^7	0.24×10^7	0.22×10^7	**$0.23\pm0.10 \times 10^7$**	1.38	1.34	1.40	**1.37±0.02**
8	0.479	0.485	0.484	**0.482±0.00**	0.28×10^7	0.26×10^7	0.24×10^7	**$0.26\pm0.16 \times 10^7$**	1.6	1.63	1.58	**1.60±0.02**
10	0.531	0.533	0.537	**0.533±0.00**	0.28×10^7	0.34×10^7	0.30×10^7	**$0.31\pm0.25 \times 10^7$**	1.78	1.80	1.88	**1.82±0.04**
12	0.744	0.748	0.741	**0.744±0.00**	0.45×10^7	0.46×10^7	0.41×10^7	**$0.46\pm0.24 \times 10^7$**	1.88	1.80	1.90	**1.86±0.04**
14	0.857	0.853	0.821	**0.843±0.02**	0.59×10^7	0.53×10^7	0.55×10^7	**$0.55\pm0.26 \times 10^7$**	1.98	2.02	1.82	**1.94±0.09**
16	1.355	1.380	1.370	**1.368±0.01**	0.58×10^7	0.56×10^7	0.58×10^7	**$0.57\pm0.12 \times 10^7$**	2.02	2.04	1.90	**1.99±0.06**

ตารางที่ ง 1-16 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M12

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.088	0.083	0.086	**0.085±0.00**	0.04×10^7	0.06×10^7	0.05×10^7	**$0.05\pm0.82 \times 10^7$**	0.3	0.24	0.26	**0.27±0.02**
2	0158	0.159	0.152	**0.156±0.00**	0.09×10^7	0.07×10^7	0.08×10^7	**$0.08\pm1.08 \times 10^7$**	0.66	0.66	0.06	**0.46±0.28**
4	0.270	0.291	0.297	**0.286±0.01**	0.23×10^7	0.22×10^7	0.19×10^7	**$0.21\pm0.19 \times 10^7$**	0.75	0.80	1.14	**0.90±0.17**
6	0.349	0.356	0.349	**0.351±0.00**	0.23×10^7	0.22×10^7	0.23×10^7	**$0.22\pm0.06 \times 10^7$**	1.33	1.22	1.35	**1.30±0.06**
8	0.421	0.429	0.444	**0.431±0.01**	0.28×10^7	0.28×10^7	0.25×10^7	**$0.28\pm0.08 \times 10^7$**	1.58	1.52	1.52	**1.54±0.03**
10	0.523	0.528	0.536	**0.529±0.01**	0.48×10^7	0.49×10^7	0.56×10^7	**$0.51\pm0.39 \times 10^7$**	1.65	1.61	1.58	**1.61±0.03**
12	0.622	0.624	0.624	**0.623±0.00**	0.59×10^7	0.64×10^7	0.57×10^7	**$0.60\pm0.30 \times 10^7$**	1.90	1.50	2.00	**1.80±0.22**
14	0.829	0.827	0.827	**0.827±0.00**	0.62×10^7	0.67×10^7	0.64×10^7	**$0.64\pm0.18 \times 10^7$**	1.88	1.68	2.00	**1.85±0.13**
16	0.862	0.861	0.863	**0.862±0.00**	0.66×10^7	0.67×10^7	0.65×10^7	**$0.66\pm0.09 \times 10^7$**	1.82	1.78	2.04	**1.88±0.11**

ตารางที่ ง 1-17 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M14

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.092	0.083	0.087	**0.087±**0.00	0.02×10^7	0.04×10^7	0.04×10^7	**$0.03 \pm 0.85 \times 10^7$**	0.36	0.48	0.36	**0.4±**0.06
2	0.207	0.194	0.197	**0.199±**0.01	0.08×10^7	0.09×10^7	0.07×10^7	**$0.08 \pm 0.82 \times 10^7$**	0.72	0.60	0.76	**0.69±**0.07
4	0.324	0.303	0.326	**0.317±**0.01	0.17×10^7	0.14×10^7	0.16×10^7	**$0.16 \pm 0.15 \times 10^7$**	1.28	1.31	1.30	**1.30±**0.01
6	0.369	0.355	0.345	**0.356±**0.01	0.24×10^7	0.23×10^7	0.23×10^7	**$0.23 \pm 0.04 \times 10^7$**	1.68	1.66	1.52	**1.62±**0.07
8	0.485	0.474	0.467	**0.475±**0.01	0.23×10^7	0.31×10^7	0.24×10^7	**$0.26 \pm 0.36 \times 10^7$**	1.88	1.70	1.67	**1.75±**0.09
10	0.530	0.526	0.522	**0.526±**0.00	0.32×10^7	0.36×10^7	0.36×10^7	**$0.34 \pm 0.20 \times 10^7$**	1.90	1.68	1.82	**1.8±**0.09
12	0.604	0.614	0.609	**0.609±**0.00	0.37×10^7	0.35×10^7	0.38×10^7	**$0.36 \pm 0.10 \times 10^7$**	1.96	1.72	1.78	**1.82±**0.10
14	0.775	0.778	0.772	**0.775±**0.00	0.39×10^7	0.37×10^7	0.38×10^7	**$0.38 \pm 0.11 \times 10^7$**	2.02	1.60	1.90	**1.84±**0.18

ตารางที่ ง 1-18 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. PA55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.093	0.093	0.092	**0.092±0.00**	0.04×10^7	0.03×10^7	0.04×10^7	**$0.04\pm0.41 \times 10^7$**	0.10	0.12	0.08	**0.10±0.02**
2	0.202	0.206	0.201	**0.203±0.00**	0.15×10^7	0.17×10^7	0.19×10^7	**$0.17\pm0.14 \times 10^7$**	0.3	0.32	0.28	**0.3±0.02**
4	0.408	0.423	0.378	**0.403±0.02**	0.24×10^7	0.23×10^7	0.22×10^7	**$0.23\pm0.08 \times 10^7$**	1.04	1.08	1.16	**1.09±0.05**
6	0.406	0.403	0.426	**0.411±0.01**	0.26×10^7	0.23×10^7	0.23×10^7	**$0.24\pm0.16 \times 10^7$**	1.42	1.45	1.45	**1.44±0.01**
8	0.487	0.492	0.483	**0.487±0.00**	0.27×10^7	0.24×10^7	0.24×10^7	**$0.25\pm0.13 \times 10^7$**	1.7	1.69	1.66	**1.68±0.02**
10	0.520	0.529	0.523	**0.524±0.00**	0.27×10^7	0.29×10^7	0.31×10^7	**$0.29\pm0.14 \times 10^7$**	1.78	1.78	1.71	**1.76±0.03**
12	0.596	0.590	0.600	**0.595±0.00**	0.47×10^7	0.45×10^7	0.45×10^7	**$0.45\pm0.08 \times 10^7$**	1.88	1.88	1.80	**1.85±0.04**
14	0.705	0.710	0.714	**0.709±0.00**	0.46×10^7	0.45×10^7	0.47×10^7	**$0.46\pm0.07 \times 10^7$**	1.90	1.88	1.86	**1.88±0.02**
16	0.774	0.773	0.769	**0.772±0.00**					1.82	1.86	1.90	**1.86±0.03**

ตารางที่ ง 1-19 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. AB1

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.116	0.118	0.112	**0.115±0.00**	0.03×10^7	0.03×10^7	0.02×10^7	**$0.03\pm0.41 \times 10^7$**	0.20	0.14	0.20	**0.18±0.03**
2	0.170	0.178	0.188	**0.178±0.01**	0.10×10^7	0.09×10^7	0.10×10^7	**$0.09\pm3.76 \times 10^7$**	0.32	0.30	0.28	**0.30±0.02**
4	0.247	0.247	0.256	**0.250±0.00**	0.12×10^7	0.10×10^7	0.15×10^7	**$0.12\pm0.21 \times 10^7$**	0.70	0.66	0.68	**0.68±0.02**
6	0.319	0.323	0.334	**0.325±0.01**	0.17×10^7	0.17×10^7	0.15×10^7	**$0.16\pm0.09 \times 10^7$**	1.18	1.18	1.24	**1.20±0.03**
8	0.415	0.411	0.418	**0.414±0.00**	0.24×10^7	0.22×10^7	0.24×10^7	**$0.23\pm0.09 \times 10^7$**	1.42	1.45	1.60	**1.49±0.08**
10	0.548	0.538	0.551	**0.545±0.01**	0.29×10^7	0.28×10^7	0.35×10^7	**$0.30\pm0.30 \times 10^7$**	1.80	1.36	1.85	**1.67±0.22**
12	0.588	0.581	0.580	**0.583±0.00**	0.38×10^7	0.35×10^7	0.40×10^7	**$0.37\pm0.22 \times 10^7$**	1.90	1.62	1.88	**1.80±0.13**
14	0.701	0.716	0.716	**0.711±0.01**	0.48×10^7	0.50×10^7	0.44×10^7	**$0.48\pm0.23 \times 10^7$**	1.98	1.68	1.80	**1.82±0.12**
16	0.826	0.829	0.827	**0.827±0.00**	0.50×10^7	0.51×10^7	0.51×10^7	**$0.50\pm0.41 \times 10^7$**	2.01	1.80	1.84	**1.88±0.09**
18	1.265	1.275	1.290	**1.276±0.01**	0.52×10^7	0.51×10^7	0.52×10^7	**$0.52\pm0.76 \times 10^6$**	2.01	1.80	1.74	**1.85±0.12**

ตารางที่ ง 1-20 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Selenastrum* sp. F15

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.090	0.093	0.091	**0.091±0.00**	0.19×10^7	0.18×10^7	0.18×10^7	**$0.18\pm0.04 \times 10^7$**	0.72	0.08	0.70	**0.50±0.30**
2	0.154	0.155	0.156	**0.155±0.00**	0.38×10^7	0.41×10^7	0.34×10^7	**$0.37\pm0.31 \times 10^7$**	0.86	0.54	0.58	**0.66±0.14**
4	0.246	0.245	0.250	**0.247±0.00**	0.62×10^7	0.60×10^7	0.60×10^7	**$060\pm0.11 \times 10^7$**	1.40	1.34	1.34	**1.36±0.03**
6	0.333	0.329	0.331	**0.331±0.00**	0.78×10^7	0.74×10^7	0.83×10^7	**$0.78\pm0.39 \times 10^7$**	1.8	1.84	1.60	**1.75±0.10**
8	0.444	0.447	0.444	**0.445±0.00**	0.91×10^7	0.10×10^7	0.10×10^7	**$0.12\pm3.82 \times 10^7$**	1.98	1.98	2.10	**2.02±0.06**
10	0.539	0.532	0.539	**0.536±0.00**	1.30×10^7	1.27×10^7	1.21×10^7	**$1.52\pm0.04 \times 10^7$**	2.18	2.14	2.24	**2.19±0.04**
12	0.663	0.666	0.661	**0.663±0.00**	1.50×10^7	1.47×10^7	1.58×10^7	**$1.54\pm0.05 \times 10^7$**	2.16	2.18	2.28	**2.21±0.05**
14	0.728	0.729	0.727	**0.728±0.00**	1.61×10^7	1.50×10^7	1.64×10^7	**$1.57\pm0.06 \times 10^7$**	2.26	2.28	2.18	**2.24±0.04**
16	0.815	0.816	0.813	**0.814±0.00**	1.56×10^7	1.74×10^7	1.43×10^7	**$1.58\pm0.13 \times 10^7$**	2.18	2.20	2.28	**2.22±0.04**

ตารางที่ ง 2 ผลการศึกษาการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 20 สายพันธุ์

ตารางที่ ง 2-1 แสดงความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 20 สายพันธุ์ที่ระยะการเจริญเติบโตคงที่

ลำดับ	สายพันธุ์สาหร่าย	วันที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ (วัน)	อัตราการเจือจาง (เท่า)	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)			
				1	2	3	เฉลี่ย
1	*Chlorella* sp. VB55	16	1	2.180	2.180	2.179	**2.185 ±0.00**
2	*Chlorella* sp. A	16	1	0.107	0.106	0.109	**0.107 ±0.00**
3	*Chlorella* sp. B	16	1	0.090	0.102	0.105	**0.099 ±0.01**
4	*Chlorella* sp. G	16	1	0.550	0.556	0.568	**0.558 ±0.01**
5	*Chlorella* sp. U	16	1	0.168	0.170	0.163	**0.167 ±0.00**
6	*Chlorella* sp. 3	18	1	0.254	0.250	0.261	**0.255 ±0.01**
7	*Chlorella* sp. 5	16	5	0.540	0.544	0.554	**0.546 ±0.01**
8	*Chlorella* sp. N11-59	16	1	0.271	0.279	0.260	**0.270 ±0.01**
9	*Chlamydomonas* sp. P2-59	14	35	4.761	4.610	4.324	**4.565 ±0.22**
10	*Chlamydomonas* sp. P	16	5	0.540	0.549	0.537	**0.542 ±0.01**
11	*Scenedesmus* sp. C	16	5	0.231	0.229	0.212	**0.224 ±0.01**
12	*Scenedesmus* sp. W53	16	1	0.649	0.709	0.667	**0.675 ±0.03**
13	*Scenedesmus* sp. F9	14	2	0.550	0.549	0.557	**0.552 ±0.00**

ตารางที่ ง 2-1 (ต่อ) แสดงความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 20 สายพันธุ์ที่ระยะการเจริญเติบโตคงที่

ลำดับ	สายพันธุ์สายหร่าย	วันที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ (วัน)	อัตราการเจือจาง (เท่า)	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)			
				1	2	3	เฉลี่ย
14	*Scenedesmus* sp. F14	16	2	0.631	0.637	0.646	**0.638 ±0.01**
15	*Scenedesmus* sp. M10	14	40	4.418	4.132	4.209	**4.253 ±0.15**
16	*Scenedesmus* sp. M12	14	5	0.880	0.798	0.980	**0.886 ±0.09**
17	*Scenedesmus* sp. M14	14	5	2.540	2.551	2.550	**2.547 ±0.01**
18	*Scenedesmus* sp. PA55	16	1	0.559	0.520	0.577	**0.552 ±0.03**
19	*Chlorococcum* sp. AB1	14	15	2.089	0.219	2.171	**2.150 ±1.10**
20	*Selenastrum* sp. F15	16	100	3.573	3.488	3.502	**3.521 ±0.04**

หมายเหตุ ใช้อาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร N8 เป็นตัวควบคุม (Control)

ตารางที่ ง 2-2 แสดงปริมาณซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 20 สายพันธุ์ที่ระยะการเจริญเติบโตคงที่

ลำดับ	สายพันธุ์สายหร่าย	วันที่เข้าระยะการเจริญคงที่ (วัน)	ปริมาณของตะกอนซัลเฟต (กรัมต่อมิลลิลิตร)			ปริมาณซัลเฟตในสารสกัด (กรัมต่อลิตร)
			1	2	3	
1	*Chlorella* sp. VB55	16	12.72	12.00	11.88	**12.20 ±0.45**
2	*Chlorella* sp. A	16	6.80	7.00	7.50	**7.10 ±0.36**
3	*Chlorella* sp. B	16	4.90	5.90	6.00	**5.60 ±0.61**
4	*Chlorella* sp. G	16	13.50	14.00	13.80	**13.80 ±0.25**
5	*Chlorella* sp. U	16	7.50	8.00	8.20	**7.90 ±0.36**
6	*Chlorella* sp. 3	18	8.20	9.00	9.80	**9.00 ±0.80**
7	*Chlorella* sp. 5	16	17.00	17.00	16.70	**16.90 ±0.17**
8	*Chlorella* sp. N11-59	16	18.20	18.00	19.00	**18.40 ±0.53**
9	*Chlamydomonas* sp. P2-59	14	24.00	23.90	24.40	**24.10 ±0.26**
10	*Chlamydomonas* sp. P	16	13.70	14.00	13.70	**13.80 ±0.17**
11	*Scenedesmus* sp. C	16	7.90	7.50	8.60	**8.00 ±0.56**
12	*Scenedesmus* sp. W53	16	14.00	13.90	14.70	**14.20 ±0.44**
13	*Scenedesmus* sp. F9	14	11.00	11.20	11.70	**11.30 ±0.38**
14	*Scenedesmus* sp. F14	16	17.90	18.00	18.10	**18.00 ±0.10**
15	*Scenedesmus* sp. M10	14	22.50	21.80	22.60	**22.30 ±0.44**

ตารางที่ ง 2-2 (ต่อ) แสดงปริมาณซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบในซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 20 สายพันธุ์ที่ระยะการเจริญเติบโตคงที่

ลำดับ	สายพันธุ์สายหร่าย	วันที่เข้าระยะการเจริญคงที่ (วัน)	ปริมาณของตะกอนซัลเฟต (กรัมต่อมิลลิลิตร)			ปริมาณซัลเฟตในสารสกัด (กรัมต่อลิตร)
16	*Scenedesmus* sp. M12	14	15.00	15.30	15.90	**15.40 ±0.46**
17	*Scenedesmus* sp. M14	14	17.50	17.30	18.00	**17.60 ±0.36**
18	*Scenedesmus* sp. PA55	16	14.50	15.40	15.10	**15.00 ±0.46**
19	*Chlorococcum* sp. AB1	14	10.70	11.00	10.70	**10.80 ±0.17**
20	*Selenastrum* sp. F15	16	20.30	20.60	20.60	**20.50 ±0.17**

หมายเหตุ ใช้อาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร N8 เป็นตัวควบคุม (Control)

ตารางที่ ง 3 ผลการศึกษาระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่ผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูง ในระดับถัง 6 ลิตร

ตารางที่ ง 3-1 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.077	0.077	0.076	**0.076±0.00**	0.04×10^7	0.03×10^7	0.03×10^7	**$0.03\pm0.47\times10^7$**	0.14	0.20	0.08	**0.14±0.05**
2	0.176	0.156	0.148	**0.16±0.01**	0.05×10^7	0.04×10^7	0.04×10^7	**$0.04\pm0.31\times10^7$**	0.48	0.20	0.02	**0.23±0.19**
4	0.361	0.430	0.428	**0.406±0.03**	0.14×10^7	0.14×10^7	0.13×10^7	**$0.14\pm0.04\times10^7$**	0.18	0.52	0.06	**0.25±0.19**
6	0.529	0.531	0.550	**0.546±0.01**	0.19×10^7	0.19×10^7	0.19×10^7	**$0.19\pm0.00\times10^7$**	0.22	0.56	0.22	**0.33±0.16**
8	0.739	0.709	0.713	**0.733±0.06**	0.43×10^7	0.38×10^7	0.41×10^7	**$0.40\pm0.25\times10^7$**	1.68	1.62	1.58	**1.63±0.05**
10	1.608	1.132	1.232	**1.324±0.20**	0.45×10^7	0.50×10^7	0.47×10^7	**$0.47\pm0.18\times10^7$**	1.74	1.86	1.66	**1.75±0.08**
12	1.786	1.199	1.479	**1.488±0.24**	0.42×10^7	0.42×10^7	0.44×10^7	**$0.43\pm0.09\times10^7$**	1.86	1.78	1.90	**1.85±0.05**
14												
16												
18												
20												

ตารางที่ ง 3-2 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. M10

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.082	0.088	0.085	**0.085±0.00**	0.04×10^7	0.03×10^7	0.03×10^7	**$0.03 \pm 0.20 \times 10^7$**	0.18	0.08	0.01	**0.09±0.07**
2	0.185	0.188	0.182	**0.185±0.00**	0.04×10^7	0.03×10^7	0.04×10^7	**$0.04 \pm 0.31 \times 10^7$**	0.16	0.04	0.20	**0.13±0.07**
4	0.361	0.430	0.428	**0.406±0.03**	0.14×10^7	0.15×10^7	0.15×10^7	**$0.14 \pm 0.06 \times 10^7$**	0.34	0.01	0.22	**0.19±0.14**
6	0.614	0.656	0.541	**0.603±0.05**	0.21×10^7	0.24×10^7	0.24×10^7	**$0.23 \pm 0.12 \times 10^7$**	0.62	0.56	0.64	**0.61±0.03**
8	0.751	0.817	0.760	**0.776±0.05**	0.48×10^7	0.49×10^7	0.48×10^7	**$0.48 \pm 0.08 \times 10^7$**	0.90	0.86	1.08	**0.95±0.12**
10	1.009	1.287	1.027	**1.107±0.13**	0.51×10^7	0.52×10^7	0.48×10^7	**$0.50 \pm 0.13 \times 10^7$**	0.94	1.34	0.98	**1.09±0.18**
12	1.154	1.293	1.074	**1.173±0.09**	0.49×10^7	0.51×10^7	0.56×10^7	**$0.52 \pm 0.29 \times 10^7$**	1.14	1.16	1.08	**1.13±0.03**
14	1.705	1.301	1.105	**1.203±0.25**	0.36×10^7	0.43×10^7	0.34×10^7	**$0.38 \pm 0.39 \times 10^7$**				
16												
18												
20												

ตารางที่ ง 3-3 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Selenastrum* sp. F15

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.086	0.085	0.086	**0.085±0.00**	0.06×10^7	0.04×10^7	0.02×10^7	**$0.04 \pm 1.65 \times 10^7$**	0.10	0.06	0.12	**0.09±0.02**
2	0.181	0.127	0.101	**0.136±0.03**	0.11×10^7	0.07×10^7	0.08×10^7	**$0.09 \pm 3.28 \times 10^7$**	0.14	0.14	0.16	**0.15±0.01**
4	0.291	0.248	0.191	**0.243±0.04**	0.27×10^7	0.23×10^7	0.24×10^7	**$0.25 \pm 0.15 \times 10^7$**	0.10	0.06	0.26	**0.14±0.09**
6	0.459	0.452	0.344	**0.418±0.05**	0.63×10^7	0.45×10^7	0.50×10^7	**$0.50 \pm 0.74 \times 10^7$**	0.54	0.74	0.64	**0.64±0.08**
8	0.685	0.682	0.580	**0.649±0.05**	0.87×10^7	0.86×10^7	0.82×10^7	**$0.82 \pm 0.24 \times 10^7$**	0.98	0.68	0.84	**0.83±0.12**
10	1.172	1.059	0.964	**1.065±0.09**	1.52×10^7	0.97×10^7	1.22×10^7	**$1.22 \pm 3.95 \times 10^7$**	1.32	0.78	0.68	**0.93±0.28**
12	1.345	1.161	1.083	**1.196±0.11**	1.80×10^7	1.75×10^7	1.82×10^7	**$1.79 \pm 0.03 \times 10^7$**	1.68	1.02	0.54	**1.08±0.47**
14	1.612	1.306	1.095	**1.337±0.21**	2.15×10^7	2.10×10^7	2.60×10^7	**$2.28 \pm 0.22 \times 10^7$**	2.56	2.8	2.46	**2.61±0.14**
16	1.725	1.610	1.429	**1.588±0.12**	2.90×10^7	2.20×10^7	2.00×10^7	**$2.36 \pm 0.39 \times 10^7$**	2.7	2.66	2.68	**2.68±0.02**
18	1.901	1.832	1.522	**1.751±0.16**	4.90×10^7	3.25×10^7	2.90×10^7	**$3.68 \pm 0.87 \times 10^7$**	2.28	2.24	2.8	**2.44±0.26**
20												

ตารางที่ ง 4 ผลการศึกษาการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์

ตารางที่ ง 4-1 แสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ในวันที่ 8 และ 12 ของการทดลอง

สายพันธุ์สาหร่าย	**วันที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ (วัน)**	**ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)**					**ปริมาณซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)**			
		อัตราการเจือจาง (เท่า)	**1**	**2**	**3**	**เฉลี่ย**	**1**	**2**	**3**	**เฉลี่ย**
Chlamydomonas sp. P2-59	8	50	4.242	3.281	3.223	**3.582±0.57**[a]	41.36	38.12	45.58	**41.69±3.74**[a]
Scenedesmus sp. M10	8	20	2.243	2.443	2.066	**2.251±0.18**[b]	39.7600	39.3400	39.8800	**39.66±0.28**[a]
Selenastrum sp. F15	12	50	2.069	2.300	2.165	**2.175±0.11**[b]	38.8600	39.5600	38.6400	**39.02±0.48**[a]

ตารางที่ ง 5 ผลการศึกษาองค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่มีการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์สูง

ตารางที่ ง 5-1 ร้อยละของไขมันภายในเซลล์สาหร่าย *Selenastrum* sp. F15 , *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10

รหัสสายพันธุ์สาหร่าย	ครั้งที่	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักของไขมันที่สกัดได้ (กรัม)		น้ำหนักของไขมัน (กรัม)	ร้อยละของไขมัน (ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ร้อยละของไขมันเฉลี่ย (ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)
			ก่อนชั่ง	หลังชั่ง			
F15	1	2.1290	104.2834	104.5031	0.2197	10.31	10.34
	2	2.1197	95.0897	95.3107	0.2210	10.42	
	3	2.1276	104.2596	104.4791	0.2195	10.31	
P2-59	1	2.0531	104.2974	104.6153	0.3179	15.68	15.77
	2	2.0498	104.2896	104.6217	0.3321	16.20	
	3	2.0529	95.0931	95.4099	0.3168	15.43	
M10	1	2.0296	95.0734	95.5224	0.4490	22.12	21.89
	2	2.0287	95.0657	95.5036	0.4379	21.58	
	3	2.0290	95.0710	95.5169	0.4459	21.97	

ตารางที่ ง 5-2 ร้อยละของโปรตีนภายในเซลล์สาหร่าย *Selenastrum* sp. F15 , *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10

รหัสสายพันธุ์สาหร่าย	ครั้งที่	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	ปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรต แบลงค์ (มิลลิลิตร)	ร้อยละของไนโตรเจน	ร้อยละของโปรตีน	ร้อยละของโปรตีนเฉลี่ย
F15	1	1.0069	49.7	0.3	6.82	42.62	42.74
	2	1.0057	49.5	0.3	6.84	42.75	
	3	1.0074	49.7	0.3	6.86	42.87	
P2-59	1	1.0102	34.2	0.3	4.69	29.31	29.33
	2	1.0087	33.9	0.3	4.66	29.13	
	3	1.0092	34.4	0.3	4.73	29.56	
M10	1	1.0050	38.2	0.3	38.2	33.00	33.21
	2	1.0073	38.5	0.3	38.5	33.13	
	3	1.0024	38.7	0.3	38.7	33.5	

ตารางที่ ง 5-3 ร้อยละของความชื้นภายในเซลล์สาหร่าย *Selenastrum* sp. F15 , *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10

รหัสสายพันธุ์สาหร่าย	ครั้งที่	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (กรัม)	น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิดและตัวอย่าง (กรัม)		น้ำหนักที่หายไป	ร้อยละความชื้นของสาหร่าย	ร้อยละความชื้นของสาหร่ายเฉลี่ย
				ก่อนชั่ง	หลังชั่ง			
F15	1	1.0133	14.3688	15.3821	15.2930	0.0891	8.79	8.83
	2	1.0559	14.2187	15.2746	15.1821	0.0925	8.76	
	3	1.0398	14.2377	15.2775	15.1843	0.0932	8.96	
P2-59	1	1.1762	14.3917	15.5679	15.4745	0.0794	7.94	7.69
	2	1.1894	16.6330	17.8224	17.7326	0.0898	7.56	
	3	1.1857	16.4753	17.6646	17.5711	0.0899	7.58	
M10	1	1.1496	14.1508	15.3004	15.1948	0.1056	9.19	9.41
	2	1.1554	14.1566	15.3126	15.2033	0.1097	9.49	
	3	1.1550	14.1543	15.3093	15.1987	0.1106	9.57	

ตารางที่ ง 5-4 ร้อยละของปริมาณเถ้าภายในเซลล์สาหร่าย *Selenastrum* sp. F.15 , *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10

รหัสสายพันธุ์สาหร่าย	ครั้งที่	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักครูซิเบิลก่อนเผา	น้ำหนักครูซิเบิลหลังเผา	น้ำหนักที่หายไป	ร้อยละของเถ้า	ร้อยละของเถ้าเฉลี่ย
F15	1	1.0254	23.1351	23.2421	0.1070	10.43	10.45
	2	0.9425	26.3494	26.4484	0.0990	10.50	
	3	1.0198	23.1426	23.2489	0.1063	10.42	
P2-59	1	1.0137	24.2260	24.3193	0.0933	9.20	9.17
	2	1.0357	25.9744	26.0689	0.0945	9.12	
	3	1.0296	25.9834	26.0781	0.0947	9.19	
M10	1	1.0045	25.4835	25.6012	0.1177	11.70	11.69
	2	1.0032	24.5168	24.6338	0.1170	11.66	
	3	1.0039	24.4937	24.6120	0.1183	11.78	

ตารางที่ ง 5-5 ร้อยละของคาร์โบไฮเดรตภายในเซลล์สาหร่าย *Selenastrum* sp. F15 , *Chlamydomonas* sp. P2-59 และ *Scenedesmus* sp. M10

รหัสสายพันธุ์สาหร่าย	ครั้งที่	ร้อยละของความชื้น	ร้อยละของเถ้า	ร้อยละของโปรตีน	ร้อยละของไขมัน	ร้อยละของคาร์โบไฮเดรต	ร้อยละของคาร์โบไฮเดรตเฉลี่ย
F15	1	8.79	10.43	42.62	10.31	27.85	27.62
	2	8.76	10.50	42.75	10.42	27.57	
	3	8.96	10.42	42.87	10.31	27.44	
P2-59	1	7.94	9.20	29.31	15.68	37.87	38.04
	2	7.56	9.12	29.13	16.20	37.99	
	3	7.58	9.19	29.56	15.43	38.26	
M10	1	9.19	11.71	33.00	22.12	23.98	23.78
	2	9.49	11.60	33.13	21.58	24.20	
	3	9.57	11.78	33.50	21.97	23.18	

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จ-1 ผลการวิเคราะห์สถิติการผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายทั้ง 20 สายพันธุ์

ผลการตรวจสอบสารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ ของสาหร่ายทั้ง 20 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Chlorella* sp. N11-59, *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. B, *Chlorella* sp. G, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chalmydomonas* sp. P, *Scenedesmus* sp. C, *Scenedesmus* sp. W53, *Scenedesmus* sp. F9, *Scenedesmus* sp. F14, *Scenedesmus* sp. M10, *Scenedesmus* sp. M12, *Scenedesmus* sp. M14, *Scenedesmus* sp. PA55, *Chlorococcum* sp. AB1 และ *Selenastrum* sp. F15 โดยตรวจสอบปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) และปริมาณซัลเฟต ที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด

ตารางที่ จ-1.1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) (กรัมต่อลิตร) จากสาหร่ายทั้ง 20 สายพันธุ์

Descriptives

ตัวอย่างสายพันธุ์สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
VB55	3	2.17967	.000577	.000333	2.17823	2.18110	2.179	2.180
A	3	.10733	.001528	.000882	.10354	.11113	.106	.109
B	3	.09900	.007937	.004583	.07928	.11872	.090	.105
G	3	.55800	.009165	.005292	.53523	.58077	.550	.568
U	3	.16700	.003606	.002082	.15804	.17596	.163	.170

Descriptives (ต่อ)

ตัวอย่างสายพันธุ์สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
3	3	.25500	.005568	.003215	.24117	.26883	.250	.261
5	3	.54600	.007211	.004163	.52809	.56391	.540	.554
N11-59	3	.27000	.009539	.005508	.24630	.29370	.260	.279
P2-59	3	4.56500	.221948	.128142	4.01365	5.11635	4.324	4.761
P	3	.54200	.006245	.003606	.52649	.55751	.537	.549
C	3	.22400	.010440	.006028	.19806	.24994	.212	.231
W53	3	.67500	.030790	.017776	.59851	.75149	.649	.709
F9	3	.55200	.004359	.002517	.54117	.56283	.549	.557
F14	3	.63800	.007550	.004359	.61925	.65675	.631	.646
M10	3	4.25300	.147990	.085442	3.88537	4.62063	4.132	4.418
M14	3	2.54700	.006083	.003512	2.53189	2.56211	2.540	2.551
M12	3	.88600	.091148	.052624	.65958	1.11242	.798	.980
PA55	3	.55200	.029138	.016823	.47962	.62438	.520	.577
AB1	3	1.49300	1.104078	.637440	-1.24968	4.23568	.219	2.171
F15	3	3.52100	.045574	.026312	3.40779	3.63421	3.488	3.573
Total	60	1.23150	1.403258	.181160	.86900	1.59400	.090	4.761

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	113.573	19	5.978	91.755	.000
Within Groups	2.606	40	.065		
Total	116.179	59			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
B	3	.09900							
A	3	.10733							
U	3	.16700	.16700						
C	3	.22400	.22400	.22400					
3	3	.25500	.25500	.25500					
N11-59	3	.27000	.27000	.27000					
P	3	.54200	.54200	.54200	.54200				
5	3	.54600	.54600	.54600	.54600				
F9	3	.55200	.55200	.55200	.55200				

Duncan[a] (ต่อ)

sample	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
PA55	3	.55200	.55200	.55200	.55200				
G	3	.55800	.55800	.55800	.55800				
F14	3		.63800	.63800	.63800				
W53	3			.67500	.67500				
M12	3				.88600				
AB1	3					1.49300			
VB55	3						2.17967		
M14	3						2.54700		
F15	3							3.52100	
M10	3								4.25300
P2-59	3								4.56500
Sig.		.070	.062	.073	.165	1.000	.086	1.000	.142

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-1.2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณซัลเฟต (กรัมต่อลิตร) จากสาหร่ายทั้ง 20 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
VB55	3	12.20000	.454313	.262298	11.07142	13.32858	11.880	12.720
A	3	7.10000	.360555	.208167	6.20433	7.99567	6.800	7.500
B	3	5.60000	.608276	.351188	4.08896	7.11104	4.900	6.000
G	3	13.76667	.251661	.145297	13.14151	14.39183	13.500	14.000
U	3	7.90000	.360555	.208167	7.00433	8.79567	7.500	8.200
3	3	9.00000	.800000	.461880	7.01269	10.98731	8.200	9.800
5	3	16.90000	.173205	.100000	16.46973	17.33027	16.700	17.000
N11-59	3	18.40000	.529150	.305505	17.08552	19.71448	18.000	19.000
P2-59	3	24.10000	.264575	.152753	23.44276	24.75724	23.900	24.400
P	3	13.80000	.173205	.100000	13.36973	14.23027	13.700	14.000
C	3	8.00000	.556776	.321455	6.61689	9.38311	7.500	8.600
W53	3	14.20000	.435890	.251661	13.11719	15.28281	13.900	14.700
F9	3	11.30000	.360555	.208167	10.40433	12.19567	11.000	11.700
F14	3	18.00000	.100000	.057735	17.75159	18.24841	17.900	18.100

Descriptives (ต่อ)

สายพันธุ์สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	22.30000	.435890	.251661	21.21719	23.38281	21.800	22.600
M14	3	15.40000	.458258	.264575	14.26163	16.53837	15.000	15.900
M12	3	17.60000	.360555	.208167	16.70433	18.49567	17.300	18.000
PA55	3	15.00000	.458258	.264575	13.86163	16.13837	14.500	15.400
AB1	3	10.80000	.173205	.100000	10.36973	11.23027	10.700	11.000
F15	3	20.50000	.173205	.100000	20.06973	20.93027	20.300	20.600
Total	60	14.09333	5.103389	.658845	12.77499	15.41168	4.900	24.400

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1529.851	19	80.518	475.073	.000
Within Groups	6.779	40	.169		
Total	1536.630	59			

Duncan[a]

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
B	3	5.60000													
A	3		7.10000												
U	3			7.90000											
C	3			8.00000											
3	3				9.00000										
AB1	3					10.80000									
F9	3					11.30000									
VB55	3						12.20000								
G	3							13.76667							
P	3							13.80000							
W53	3							14.20000							
PA55	3								15.00000						
M14	3								15.40000						

Duncan[a] (ต่อ)

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5	3									16.90000					
M12	3										17.60000				
F14	3										18.00000	18.00000			
N11	3											18.40000			
F15	3												20.50000		
M10	3													22.30000	
P2	3														24.10000
Sig.		1.000	1.000	.768	1.000	.145	1.000	.232	.241	1.000	.241	.241	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

จ-2 ผลการวิเคราะห์สถิติของอัตราการเจริญจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์

ผลอัตราการเจริญของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร น้ำหนักเซลล์แห้ง และจำนวนเซลล์ ที่ระยะการเจริญเติบโตคงที่

ตารางที่ จ-2.1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ระยะการเจริญคงที่

Descriptives

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	.76400	.051118	.029513	.63702	.89098	.715	.817
P2	3	.72033	.016289	.009404	.67987	.76080	.709	.739
F15	3	1.33767	.259951	.150083	.69191	1.98342	1.095	1.612
Total	9	.94067	.326536	.108845	.68967	1.19166	.709	1.612

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.712	2	.356	15.161	.005
Within Groups	.141	6	.023		
Total	.853	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P2	3	.72033	
M10	3	.76400	
F15	3		1.33767
Sig.		.739	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-2.2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่ระยะการเจริญคงที่

Descriptives

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	.9467	.11719	.06766	.6556	1.2378	.86	1.08
P2	3	1.6267	.05033	.02906	1.5016	1.7517	1.58	1.68
F15	3	2.6067	.17474	.10088	2.1726	3.0407	2.46	2.80
Total	9	1.7267	.73075	.24358	1.1650	2.2884	.86	2.80

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.178	2	2.089	133.923	.000
Within Groups	.094	6	.016		
Total	4.272	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
M10	3	.9467
P2	3	
F15	3	
Sig.		1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-2.3 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนเซลล์ ($x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่ระยะการเจริญคงที่

Descriptive

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	4.86667	.076376	.044096	4.67694	5.05640	4.800	4.950
P2	3	4.06667	.251661	.145297	3.44151	4.69183	3.800	4.300
F15	3	22.83333	2.753785	1.589899	15.99255	29.67412	21.000	26.000
Total	9	10.58889	9.293371	3.097790	3.44537	17.73241	3.800	26.000

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	675.629	2	337.814	132.433	.000
Within Groups	15.305	6	2.551		
Total	690.934	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P2	3	4.06667	
M10	3	4.86667	
F15	3		22.83333
Sig.		.562	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

จ-3 ผลการวิเคราะห์การผลิตซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์

ผลการตรวจสอบสารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์ ของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 โดยตรวจสอบปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณซัลเฟต ที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด

ตารางที่ จ-3.1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	2.25067	.188617	.108898	1.78212	2.71922	2.066	2.443
P2	3	3.58200	.572312	.330424	2.16030	5.00370	3.223	4.242
F15	3	2.17800	.116047	.067000	1.88972	2.46628	2.069	2.300
Total	9	2.67022	.750176	.250059	2.09359	3.24686	2.066	4.242

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.749	2	1.874	14.933	.005
Within Groups	.753	6	.126		
Total	4.502	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
F15	3	2.17800	
M10	3	2.25067	
P2	3		3.58200
Sig.		.810	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-3.2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณซัลเฟต (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย 3 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	39.6600	.28355	.16371	38.9556	40.3644	39.34	39.88
P2	3	41.6867	3.74071	2.15970	32.3942	50.9791	38.12	45.58
F15	3	39.0200	.48042	.27737	37.8266	40.2134	38.64	39.56
Total	9	40.1222	2.24266	.74755	38.3984	41.8461	38.12	45.58

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.628	2	5.814	1.219	.359
Within Groups	28.608	6	4.768		
Total	40.236	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
F15	3	39.0200
M10	3	39.6600
P2	3	41.6867
Sig.		.198

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

จ-4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติขององค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่าย จากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์

ผลวิเคราะห์ทางสถิติขององค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59, *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 โดยหาปริมาณร้อยละเถ้า ร้อยละโปรตีน ร้อยละไขมัน ร้อยละความชื้น และร้อยละคาร์โบไฮเดรต

ตารางที่ จ-4.1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณร้อยละเถ้าของสาหร่าย 3 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	11.71333	.061101	.035277	11.56155	11.86512	11.660	11.780
P2	3	9.17000	.043589	.025166	9.06172	9.27828	9.120	9.200
F15	3	10.45000	.043589	.025166	10.34172	10.55828	10.420	10.500
Total	9	10.44444	1.102158	.367386	9.59725	11.29164	9.120	11.780

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.703	2	4.851	1932.004	.000
Within Groups	.015	6	.003		
Total	9.718	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P2	3	9.17000		
F15	3		10.45000	
M10	3			11.71333
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-4.2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณร้อยละไขมันของสาหร่าย 3 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	21.8900	.27875	.16093	21.1976	22.5824	21.58	22.12
P2	3	15.7700	.39281	.22679	14.7942	16.7458	15.43	16.20
F15	3	10.3467	.06351	.03667	10.1889	10.5044	10.31	10.42
Total	9	16.0022	5.00734	1.66911	12.1532	19.8512	10.31	22.12

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	200.115	2	100.058	1271.741	.000
Within Groups	.472	6	.079		
Total	200.588	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
F15	3	10.3467		
P2	3		15.7700	
M10	3			21.8900
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-4.3 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณร้อยละโปรตีนของสาหร่าย 3 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	33.2100	.25942	.14978	32.5656	33.8544	33.00	33.50
P2	3	29.3333	.21595	.12468	28.7969	29.8698	29.13	29.56
F15	3	42.7467	.12503	.07219	42.4361	43.0573	42.62	42.87
Total	9	35.0967	5.98073	1.99358	30.4995	39.6939	29.13	42.87

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	285.894	2	142.947	3309.810	.000
Within Groups	.259	6	.043		
Total	286.153	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P2	3	29.3333		
M10	3		33.2100	
F15	3			42.7467
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-4.4 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณร้อยละความชื้นของสาหร่าย 3 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	9.4167	.20033	.11566	8.9190	9.9143	9.19	9.57
P2	3	7.6933	.21385	.12347	7.1621	8.2246	7.56	7.94
F15	3	8.8367	.10786	.06227	8.5687	9.1046	8.76	8.96
Total	9	8.6489	.77528	.25843	8.0530	9.2448	7.56	9.57

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.613	2	2.307	70.977	.000
Within Groups	.195	6	.033		
Total	4.808	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P2	3	7.6933		
F15	3		8.8367	
M10	3			9.4167
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-4.5 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณร้อยละคาร์โบไฮเดรตของสาหร่าย 3 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	23.7867	.53678	.30991	22.4532	25.1201	23.18	24.20
P2	3	38.0400	.19975	.11533	37.5438	38.5362	37.87	38.26
F15	3	27.6200	.20952	.12097	27.0995	28.1405	27.44	27.85
Total	9	29.8156	6.39504	2.13168	24.8999	34.7312	23.18	38.26

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	326.428	2	163.214	1316.479	.000
Within Groups	.744	6	.124		
Total	327.172	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
M10	3	23.7867		
F15	3		27.6200	
P2	3			38.0400
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

จ-5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการหาความสามาถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของสารสกัดซัลเฟตพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp. P2-59 *Scenedesmus* sp. M10 และ *Selenastrum* sp. F15 ที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5 1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ตารางที่ จ-5.1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สายพันธุ์	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M10	3	47.19367	.192513	.111148	46.71544	47.67190	46.979	47.351
P2	3	42.31667	.677963	.391422	40.63251	44.00082	41.540	42.790
F15	3	40.17400	.109000	.062931	39.90323	40.44477	40.065	40.283
Total	9	43.22811	3.135862	1.045287	40.81767	45.63855	40.065	47.351

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	77.652	2	38.826	229.027	.000
Within Groups	1.017	6	.170		
Total	78.669	8			

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
F15	3	40.17400		
P2	3		42.31667	
M10	3			47.19367
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000