สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญและสารชักนำในการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. P48061

ตะวัน อารยะพูนพงศ์
มานน ธรรมาวาท

วพ.
ต258ผ
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 83978
วัน,เดือน,ปี 23 ก.ย. 2551

b 11983279
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Effect of carbon source on cell growth and inducer of carotenoid production by green microalgae *Chlorella* sp. P48061

**Tawan Arayapoonpong**

**Manon Tanmavad**

**A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the**

**Requirement for the Degree of Bachelor of Science**

**Department of Applied Biology**

**Faculty of Science**

**King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang**

**Academic Year 2007**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **โครงงานพิเศษเรื่อง** | ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญและสารชักนำในการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. P48061 |
| **นักศึกษา** | ตะวัน อารยะพูนพงศ์ รหัส 47050124 |
| | มานน ธรรมาวาท รหัส 47050150 |
| **สาขาวิชา** | เทคโนโลยีชีวภาพ |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยาประยุกต์ |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ผศ. วีนา ชูโชติ |

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้ทำโครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

| คณะกรรมการตรวจสอบ | | ลายมือชื่อ |
|---|---|---|
| ประธานกรรมการ | ดร. จิตติ ท่าไว | |
| กรรมการ | ผศ. วีนา ชูโชติ | |
| กรรมการ | ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ | |

.....

( รศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง )

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**โครงงานพิเศษเรื่อง** ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญและสารชักนำในการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. P48061

**นักศึกษา** ตะวัน อารยะพูนพงศ์ รหัส 47050124

มานน ธรรมาวาท รหัส 47050150

**สาขาวิชา** เทคโนโลยีชีวภาพ

**ภาควิชา** ชีววิทยาประยุกต์

**ปีการศึกษา** 2550

**อาจารย์ที่ปรึกษา** ผศ. วีนา ชูโชติ

## บทคัดย่อ

การทดลองนี้เป็นการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 โดยแปรผันความเข้มข้นของกลูโคส 4 ระดับคือ 0 10 20 และ 30 กรัมต่อลิตร พบว่ากลูโคสที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ทำให้เซลล์เจริญได้ดีที่สุด คือ $15.06 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเมื่อชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แบบต่อเนื่อง และให้แสงแบบวันเว้นวัน พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ สามารถชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุด คือ 5.5308 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ชักนำร่วมกับเฟอร์รัสซัลเฟต พบว่าการผลิตแคโรทีนอยด์ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 95 ดังนั้นสภาวะอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร กลูโคส 10 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ และให้แสงแบบวันเว้นวันสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุด เมื่อนำสภาวะการผลิตแคโรทีนอยด์นี้ไปเปรียบเทียบกับสภาวะอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอร์รัสซัลเฟต 8 2 และ 0.16 กรัมต่อลิตรตามลำดับ พบว่าในระดับฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ทั้งสองสภาวะที่ใช้เลี้ยงสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 95 แต่ในระดับขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร ที่มีอาหาร 5 ลิตรพบว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสและชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้มากกว่าคือ 5.5897 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Special Project Title** Effect of carbon source on cell growth and inducer of carotenoid production by green microalgae *Chlorella* sp. P48061

**Student** Tawan Arayapoonpong 47050124

Manon Tanmavad 47050150

**Program** Biotechnology

**Department** Applied Biology

**Academic Year** 2007

**Seminar Advisor** Asst. Prof. Weena Choochote

## ABSTRACT

The effect of glucose concentration on *Chlorella* sp. P48061 growth was investigated. From the study of various glucose concentration (0, 10, 20 and 30 g/l), it was found that 10 g/l concentration greatly increased the cell growth to $15.06 \times 10^7$ cell/ml. Furthermore, the addition of hydrogen peroxide to induce carotenoid production and the light exposure (24:24 hr light/dark cycle) were examined. The optimum hydrogen peroxide of 0.3 mM resulted in highest carotenoid production (5.5308 mg/l). In the other hand, the production of carotenoid was insignificantly reduced as ferrous sulfate was increased when hydrogen peroxide and ferrous sulfate were added together. Therefore, the conditions of the highest carotenoid production of the present study obtained from the cultivation in modified N-8 medium : potassium nitrate 4 g/l, glucose 10 g/l and pH 5.8 which induced carotenoid production with 0.3 mM hydrogen peroxide. These conditions would be compared with the cultivation in the same modified N-8 medium but absent of glucose that induced carotenoid production by three chemical inductions : 8 g/l sodium chloride, 2 g/l sodium acetate and 0.16 g/l ferrous sulfate condition in 250-ml flasks and 10-liter Carboy bottles.There was insignificant difference of carotenoid quantity in 250-ml flasks but in 10-liter Carboy bottles scale there were difference. The cultivation in modified N-8 medium, 10 g/l glucose and 0.3 mM hydrogen peroxide was more carotenoid production (5.5897 mg/l) in 10-liter carboy bottles.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ. วีนา ชูโชติ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้คำแนะนำการในการทำโครงงานพิเศษ และตรวจทานแก้ไขโครงงานจนสามารถดำเนินการสำเร็จได้ด้วยดี และขอขอบคุณ ดร. จิตติ ท่าไว ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ที่ให้คำปรึกษาโครงงานและแนะนำข้อผิดพลาดต่างๆ เพื่อใช้ในการแก้ไขโครงงาน

ขอขอบคุณ พี่พงศ์ธร เครือวณิชธรรม พี่เทอดศักดิ์ ขจรบุญ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือด้านอุปกรณ์ และสอนวิธีใช้เครื่องมือต่างๆ เป็นอย่างดี และสุดท้ายนี้ของขอบคุณเพื่อนๆ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ที่คอยเป็นกำลังใจและช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษจนสำเร็จได้ด้วยดี

นายตะวัน อารยะพูนพงศ์
นายมานน ธรรมาวาท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ก |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ข |
| กิตติกรรมประกาศ | ค |
| สารบัญ | ง |
| สารบัญตาราง | ฉ |
| สารบัญรูปภาพ | ซ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ | 1 |
| 1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ | 2 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 2 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ | 3 |
| 2.1 ลักษณะทั่วไปของ *Chlorella* sp. | 3 |
| 2.2 ลักษณะทั่วไปของแคโรทีนอยด์ | 4 |
| 2.3 แคโรทีนอยด์และการประยุกต์ใช้ | 4 |
| 2.4 การสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ | 6 |
| 2.5 การชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ | 9 |
| บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย | 13 |
| 3.1 เชื้อจุลินทรีย์ | 13 |
| 3.2 สารเคมี | 13 |
| 3.3 อุปกรณ์ | 13 |
| 3.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน | 13 |
| บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง | 17 |
| 4.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 | 17 |
| 4.2 ศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 | 20 |
| 4.2.1 การชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) | 20 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การชักนำด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) 23
4.3 เปรียบเทียบสภาวะ 2 สภาวะสำหรับการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ระหว่างอาหารสูตรในระดับฟลาสก์ 26
4.4 เปรียบเทียบสภาวะ 2 สภาวะสำหรับการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ระหว่างอาหารสูตร N-8ในระดับขวดเลี้ยง 30
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 34
ข้อเสนอแนะ 34
เอกสารอ้างอิง 35
ภาคผนวก ก 39
ภาคผนวก ข 41
ภาคผนวก ค 79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่


4.1 จำนวนเซลล์สูงสุดที่ความเข้มข้นของกลูโคส 0 10 20 และ 30 กรัมต่อลิตร 17

4.2 ความเข้มข้นสูงสุดของแคโรทีนอยด์ที่ถูกชักนำโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ 20

4.3 ความเข้มข้นสูงสุดของแคโรทีนอยด์ที่ถูกชักนำโดยเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ 24

4.4 เปรียบเทียบสภาวะการผลิตแคโรทีนอยด์ในระดับฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร 27

4.5 เปรียบเทียบสภาวะการผลิตแคโรทีนอยด์ในระดับขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร 31

ข.1 ผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 41

ข.2 แสดงความแตกต่างทางสถิติของจำนวนเซลล์สูงสุดที่เป็นผลจากกลูโคส 0 10 20 และ 30 กรัมต่อลิตร 49

ข.3 ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) 50

ข.4 แสดงความแตกต่างทางสถิติของปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่เป็นผลจากการชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ 58

ข.5 ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) 59

ข.6 แสดงความแตกต่างทางสถิติของปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่เป็นผลจากการชักนำด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับไฮโดรเจน-เปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ 67

ข.7 การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่องในระดับฟลาสก์ 68


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ข.8 การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดร-เจนเปอร์ออกไซด์และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในระดับฟลาสก์ 71

ข.9 แสดงความแตกต่างทางสถิติของปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่เป็นผลจากสภาวะการผลิตในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง กับอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตรพีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง ในระดับฟลาสก์ 73

ข.10 การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร 74

ข.11 การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร 76

ข.12 แสดงความแตกต่างทางสถิติของปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่เป็นผลจากสภาวะการผลิตในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง กับอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตและเฟอรัส-ซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง ในระดับขวดเลี้ยง 78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูปภาพ

หน้า


| รูปที่ | | |
|---|---|---|
| 2.1 | ประเภทของแคโรทีนอยด์ใน แบคทีเรีย (A) ในฟังไจ (B) ในพืชสีเขียว และสาหร่าย (C) | 7 |
| 2.2 | การสังเคราะห์ไอโซเพนทีนิลไพโรฟอสเฟตโดยวิถีมีวาโลเนต | 7 |
| 2.3 | การสังเคราะห์ไอโซเพนทีนิลไพโรฟอสเฟต และไดเมทิลแอลลิลไพโรฟอสเฟต (dimethylallyl pyrophosphate (DMAPP)) ผ่านวิถี 1-deoxyxylulose-5-phosphate | 8 |
| 2.4 | การสังเคราะห์ GGPP จาก IPP และ DMAPP | 8 |
| 2.5 | กระบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ จาก GGPP | 10 |
| 4.1 | จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 0 (◆) 10 (■) 20 (▲) และ 30 (×) กรัมต่อลิตร | 18 |
| 4.2 | น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 0 (◆) 10 (■) 20 (▲) และ 30 (×) กรัมต่อลิตร | 18 |
| 4.3 | ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 0 (◆) 10 (■) 20 (▲) และ 30 (×) กรัมต่อลิตร | 19 |
| 4.4 | ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 0 (◆) 10 (■) 20 (▲) และ 30 (×) กรัมต่อลิตร | 19 |
| 4.5 | จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง | 21 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูปภาพ (ต่อ)


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 4.6 | น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง | 21 |
| 4.7 | ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง | 22 |
| 4.8 | ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง | 22 |
| 4.9 | จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจน-เปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 และเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ในวันที่ 6 ของการทดลอง | 24 |
| 4.10 | น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 และเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ในวันที่ 6 ของการทดลอง | 25 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า


รูปที่

4.11 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 และเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ในวันที่ 6 ของการทดลอง 25

4.12 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในแต่ละวัน ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 และเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ในวันที่ 6 ของการทดลอง 26

4.13 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียม-คลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง (◆) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง (■) 28

4.14 น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียม-คลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง (◆) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง (■) 28


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

**หน้า**

**รูปที่**

4.15 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง ( ◆ ) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง ( ■ ) 29

4.16 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง ( ◆ ) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง ( ■ ) 29

4.17 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียม-คลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร( ◆ ) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพ-แทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร ( ■ ) 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า


รูปที่

4.18 น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร(◆) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (■) 32

4.19 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (◆) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (■) 32

4.20 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (◆) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคสเป็น 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (■) 33

ค.1 เซลล์ *Chlorella* sp. P48061 ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40X 79

ค.2 การเลี้ยง *Chlorella* sp. P48061 ภายในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร 79

ค.3 การแยกชั้นของแคโรทีนอยด์กับคลอโรฟิลล์ในกรวยแยก 80


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ

แคโรทีนอยด์เป็นสารที่มีมูลค่าสูง และเป็นที่ได้รับความสนใจมากชนิดหนึ่ง ในบรรดาสารที่ผลิตได้จากสิ่งมีชีวิต เช่น ในพืช สาหร่าย ยีสต์ และรา เนื่องจากคุณสมบัติการเป็นตัวต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และเป็นสารให้สี จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้หลากหลาย เช่น ใช้ในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อุตสาหกรรมสัตว์ปีก อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมทางยาเป็นต้น ดังนั้นจึงมีนักวิจัยหลายท่านได้ทำการทดลองเพื่อที่จะหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ และสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ให้ได้ในปริมาณมากที่สุด สภาวะส่วนใหญ่ที่ใช้ในการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ให้ได้ปริมาณมากนั้นจะใช้สภาวะความเครียดต่างๆ โดยเฉพาะความเครียดจากการให้แสงที่มากเกินพอ ซึ่งแสงนี้จะไปทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ในการทดลองนี้จึงได้ทำการทดลองผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. P48061 และการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์โดยใช้อนุมูลอิสระ (ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide, $H_2O_2$)) และสารเคมีที่ช่วยให้เกิดอนุมูลอิสระ (เฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate))

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061

1.2.2 ศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์โดยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และเฟอร์-รัสซัลเฟตของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061

1.2.3 เปรียบเทียบสภาวะการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ระหว่างอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องกับอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ**

หาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้สาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp P48061 สามารถเจริญเติบโตและผลิตแคโรทีนอยด์ได้ในฟลาสก์ และขวดเลี้ยงสาหร่ายขนาด 10 ลิตร

**1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

สามารถทราบสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแคโรทีนอยด์ให้ได้ปริมาณสูงสุด ที่อาจจะนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและหลักการ

## 2.1 ลักษณะทั่วไปของ *Chlorella* sp.

*Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยวที่ขนาดเล็กชนิดหนึ่ง ซึ่งคำว่า *Chlorella* มาจากภาษาลาติน 2 คำที่มีความหมายว่า "สีเขียว" และ "ขนาดเล็ก" นั้นก็หมายถึงการที่เป็นสาหร่ายที่มีปริมาณของคลอโรฟิลล์อยู่ภายในเซลล์สูง ซึ่งสูงที่สุดในบรรดาพืชสีเขียวที่รู้จักแล้วทั้งหมด รูปร่างกลมหรือรี และผนังเซลล์ค่อนข้างบาง คลอโรพลาสต์เป็นแบบแถบข้างเซลล์ และมีไพรีนอยด์ 1 อัน อยู่บนคลอโรพลาสต์ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศอย่างเดียว โดยการสร้างออโตสปอร์ มีจำนวน 4, 8 หรือ 16 ออโตสปอร์

สาหร่ายสกุลนี้พบทั่วไปทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม และอาจอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ เช่น พารามีเซียม ไฮดราและฟองน้ำ (กาญจนภาชน์, 2527)

*Chlorella* sp. สามารถจัดลำดับอนุกรมวิธานได้ดังนี้ (กาญจนภาชน์, 2527)

Kingdom Protista
Division Chlorophyta
Order Chlorellates
Family Chlorellaceae
Genus *Chlorella*

สาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. ประกอบด้วยสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ได้แก่ วิตามิน แร่ธาตุ เส้นใย กรดนิวคลีอิก กรดอะมิโน เอนไซม์ CGF (Chlorella Growth Factor) และสารที่เป็นประโยชน์อื่นๆ *Chlorella* ที่เจริญอยู่ในสภาวะที่มีแสงแดดเข้มข้น น้ำที่สะอาด และอากาศบริสุทธิ์ ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต จะทำให้สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว โดยจะแบ่งเซลล์ทุกๆ 24 ชั่วโมง

*Chlorella* มีคุณสมบัติหลายอย่างที่มีประโยชน์ต่ออวัยวะ และเนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บต่างๆ เช่น ช่วยในการส่งเสริมสุขภาพของตับ ทำให้ร่างกายที่สมดุลย์กลับไปอยู่ในสภาวะสมดุลย์ได้ เช่น อาการท้องผูก การหายใจติดขัด ช่วยในการเจริญเติบโต กระตุ้นกระบวนการบำบัดในร่างกายและการต้านทานโรคต่างๆ

*Chlorella* มีวิตามินและแร่ธาตุสูง ซึ่งประกอบด้วย วิตามินบีคอมเพล็กซ์ วิตามินอี ซี และแร่ธาตุต่างๆ รวมถึง แมกนีเซียม โพแทสเซียม เหล็ก และแคลเซียม ซึ่งเหมาะสำหรับทุกเพศทุกวัย ตั้งแต่วัยทารกจนกระทั่งถึงวัยผู้สูงอายุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Chlorella* ประกอบด้วยเอนไซม์ต่างๆ เช่น คลอโรฟิลเลส และเพปซิน ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย ซึ่งมีหน้าที่ต่างกันในร่างกาย ซึ่งมีชนิดของเอนไซม์ที่แตกต่างกันขึ้นกับความต้องการของร่างกาย โดยสาหร่ายที่นำมาใช้ต้องไม่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งหรือพาสเจอไรซ์ เพราะจะทำให้เอนไซม์สูญเสียประโยชน์ที่สำคัญไป

**2.2 ลักษณะทั่วไปของแคโรทีนอยด์**

แคโรทีนอยด์เป็นรงค์วัตถุชนิดหนึ่ง เป็นสารประกอบประเภทไขมัน ซึ่งประกอบไปด้วยสาร 2 ชนิด คือ แคโรทีน เป็นสารสีแดงหรือสีส้ม และแซนโทฟิลล์ เป็นสารสีเหลืองหรือสีน้ำตาล พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ ดังเช่นที่พบในสาหร่าย แบคทีเรีย ยีสต์ รา พืชสีเขียวและสัตว์ทะเลประเภท กุ้ง ปู และสัตว์อื่นๆ ที่มีเปลือกแข็ง สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ และอยู่ในกลุ่มของไอโซพรีนอยด์ (Isoprenoid) ที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 30, 40, 45 หรือ 50 อะตอม โดยมีแคโรทีนอยด์ที่ประกอบด้วยคาร์บอน 40 อะตอม เป็นแคโรทีนอยด์ที่พบมากที่สุดและมีประมาณ 600 ชนิด (Sandmann, 2001) ได้แก่ แอสตาแซนทิน (Astaxanthin) เบต้า-แคโรทีน (β-Carothin) ซีแซนทีน (Zeaxanthin) ลูทีน (Lutein) แคนตาแซนทีน (Canthaxanthin) แอลฟา-โทโคฟีรอล (α-Tocopherol) ไวโอลาแซนทีน (Violaxanthin) และนีโอแซนทิน (Neoxanthin) ซึ่งแคโรทีนอยด์ชนิด ลูทีน เบต้า-แคโรทีน ไวโอลาแซนทิน นีโอแซนทิน และซีแซนทิน เป็นแคโรทีนอยด์ที่พบมากที่สุดในคลอโรพลาสต์ของพืชและสาหร่ายหลายชนิด (Francis and Cunningham, 2002)

**2.3 แคโรทีนอยด์และการประยุกต์ใช้**

เนื่องจากแคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง เพิ่มการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ยับยั้งอนุมูลอิสระ และเป็นสารที่ให้สีสันสวยงาม จึงมีการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ ได้แก่

**ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร**

ใช้เป็นสีผสมอาหาร (Food colorant) โดยเฉพาะเบต้า-แคโรทีน โดยใช้ผสมในอาหารประเภทไขมันต่างๆ เช่น เนยแข็ง เนยเหลว มาร์การีน น้ำมันพืช ผลิตภัณฑ์มักกะโรนี และผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มประเภทน้ำส้ม และอาหารประเภทอื่น โดยใช้เบต้า-แคโรทีนที่ถูกปรับปรุง และสารสังเคราะห์ คือแคนตาแซนทีน (Canthaxanthin) และอะโป- แคโรทีนอยด์ (Apo-carotenoid) ซึ่งสามารถละลายได้ หรือกระจายตัวในน้ำได้ (Britton, 1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ใช้เป็นอาหารสัตว์**

ในการทำเป็นอาหารสัตว์จะใช้เซลล์เป็นอาหารได้โดยตรง ไม่จำเป็นต้องนำไปสกัดแยกแคโรทีนอยด์แต่ละชนิด เช่น ในสาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งนอกจากสัตว์จะมีสีเนื้อ หนัง ไข่ สวยงามแล้ว ยังได้รับโปรตีนและวิตามินอีกด้วย (Ninet และ Renaut, 1979) โดยทั่วไปอาหารสัตว์จะผสมแคโรทีนอยด์พวกแซนโธฟิลล์ (Xantrophyll) ที่เป็นผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์จากกระบวนการทางเคมีอินทรีย์ เช่น แคโรฟิลล์ เยลโล (Carophyll yellow) ซึ่งประกอบด้วยอะโป-แคโรทีโนอิคเอสเทอร์ (Apocarotenoic ester) ร้อยละ 10 ได้จากการสกัดแยกจากหญ้า แอลแฟลฟา และผลไม้รสเปรี้ยวบางชนิด แคโรฟิลล์ ออเรนจ์ (Carophyll orange) ซึ่งประกอบด้วยแคนตาแซน-ทีนร้อยละ 10 ที่ได้จากการสกัดแยกจากเห็ดชันเธอเรล กุ้ง และขนนกฟลามิงโก และแคโรฟิลล์ เรด (Carophyll red) ประกอบด้วยอะโปแคโรทีโนอิคเอสเทอร์ร้อยละ 5 และแคนตาแซนทีนร้อยละ 5 (ขรรชัย,2524)

**เป็นโปรวิตามิน เอ**

เบต้า-แคโรทีนเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์วิตามิน เอ ที่สำคัญที่สุดโดยโมเลกุลของเบต้า-แคโรทีนจะถูกตัดตรงกลางด้วยเอนไซม์เบต้า-แคโรทีน 15,15′-ออกซีจีเนส (β-Carotene 15,15′-oxygenase) กลายเป็น 2 โมเลกุลของเรตินัลดีไฮด์ ภายในลำไส้และตับของสัตว์ จากนั้นเปลี่ยนเป็นเรตินอล (Retinol) โดยเอนไซม์เรตินัลรีดักเตส (Retinal reductase)

**ใช้ในทางเภสัชกรรม**

จากการเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามิน เอ ของเบต้า-แคโรทีน จึงสามารถใช้ในการปรับสภาพและป้องกันการขาดวิตามิน เอ ได้ นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารป้องกันแสง (Light-protective agents) เพื่อปกป้องผิวหนังจากอาการคัน ไหม้ และเป็นผื่น ที่เกิดจากการรับแสงแดดของคนไข้ที่ป่วยเป็นโรคไวแสง (Photosensitivity diseases) (Frossberg และคณะ, 1959) มีหลักฐานเป็นที่แน่ชัดแล้วว่าอาหารที่มีแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบอยู่มากจะสามารถต่อต้านอาการของการเจ็บป่วยเรื้อรังได้ ได้แก่โรคจุดรับภาพเสื่อม (Age-related macular degeneration) (Landrum and Bone, 2001)

ในการผลิตยาจะใช้แคโรทีนอยด์ เช่น เบต้า-แคโรทีน และแคนธาแซนธินเป็นสีผสมในน้ำตาลที่เคลือบ (Sugar-coated) บนเม็ดยา ผสมลงในเจลาติน (Gelatin) ที่ใช้ทำแคปซูลหรือผสมในเม็ดยาจำพวก soft gel (Munzel และ Fuller, 1961)

**ใช้ในทางการแพทย์**

Jyonouchi และคณะ (1995) ศึกษาผลกระทบของแคโรทีนอยด์ต่อการสร้างอิมมูโนกลอบูลิน (Immunogloburin, Ig) โดยวิธีการสร้างเม็ดเลือด ตรวจสอบโดยสุ่มตัวอย่างเลือดจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มอาสาสมัครที่เป็นผู้ใหญ่ และทารก การเพาะเลี้ยงเซลล์มีการเติมแคโรทีนอยด์ลงไป ระดับอิมมูโนกลอบูลินของเซลล์ในหลอดที่เลี้ยงไว้จะถูกแยกเบต้า-แคโรทีน และแอสตาแซนทิน ซึ่งเบต้าแคโรทีนเป็นแคโรทีนอยด์ที่มีวิตามินเอ ส่วนแอสตาแซนทินเป็นแคโรทีนอยด์ที่ไม่มีวิตามินเอ เบต้าแคโรทีน และแอสตาแซนทินจะกระตุ้นการสร้างอิมมูโนกลอบูลินเอ็ม (Immunoglobulin M, IgM) เพื่อตอบสนองต่อ T-dependent polyclonal จากการศึกษาพบว่าการเลี้ยงโดยเติมแคโรทีนอยด์จะมีการสร้างอิมมูโนกลอบูลินเอ (IgA) เพื่อการตอบสนองต่อสารกระตุ้น T-dependent polyclonal เพิ่มมากขึ้น โดยมีอัตราการสร้างที่สูงกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่เติมแคโรทีนอยด์

**ใช้เป็นตัวป้องกันการออกซิเดชั่น**

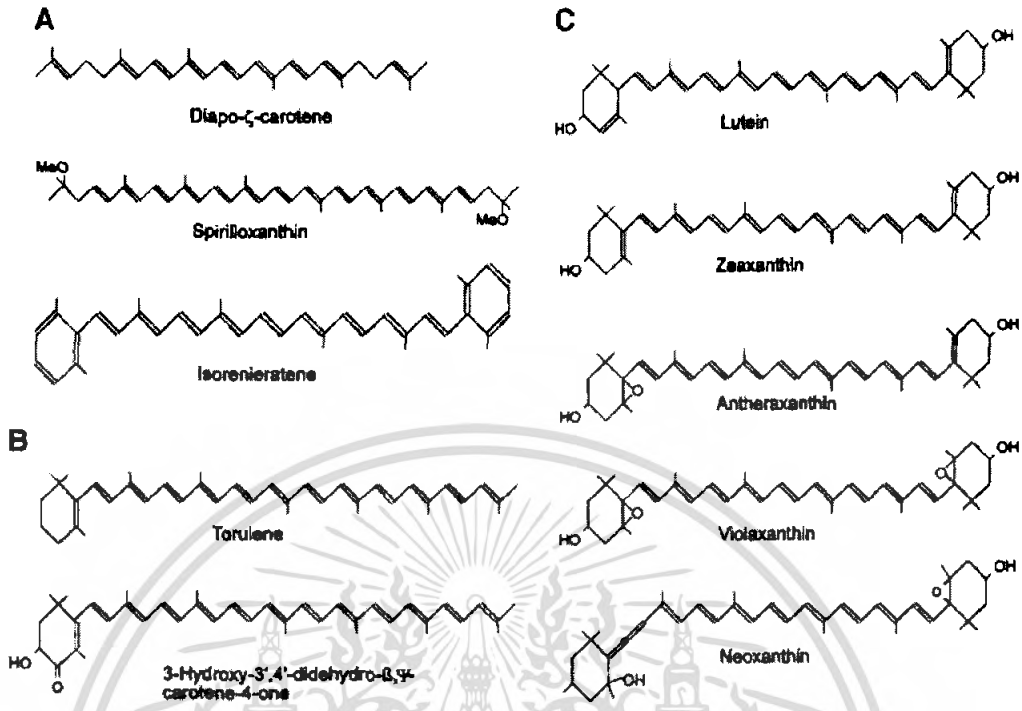
แคโรทีนอยด์ที่สะสมในเซลล์ จะต้านการเกิดออกซิเดชั่นที่มากเกินไปได้ (Kobayashi และคณะ, 1997) โดยสารนี้จะเข้ารับอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระทำให้เกิดสภาพเสถียร

**2.4 การสังเคราะห์แคโรทีนอยด์**

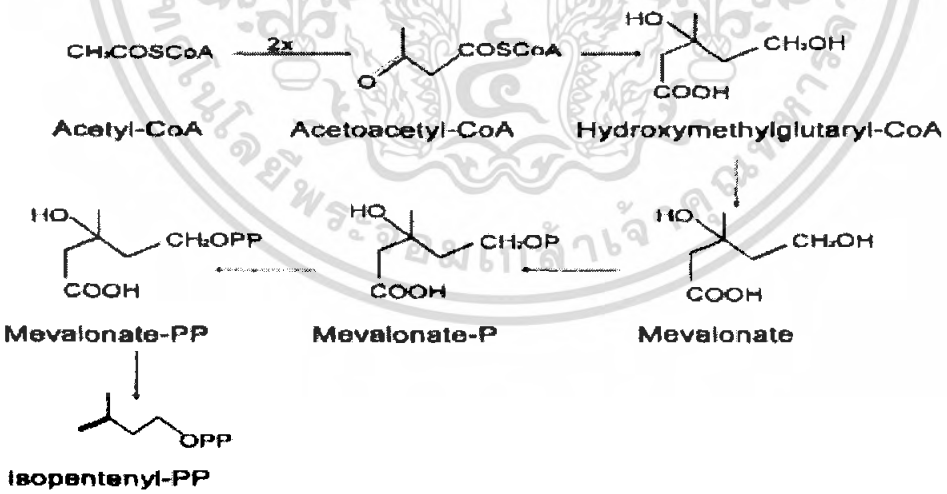
โดยปกติแล้วแคโรทีนอยด์สามารถผลิตได้จากสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย สาหร่าย ฟังไจ และพืชสีเขียว (Sandmann, 2001) ซึ่งแคโรทีนอยด์บางประเภท จะสามารถสังเคราะห์ได้ในสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกัน เนื่องจากกลไกที่ใช้สังเคราะห์สารนั้นแตกต่างกัน แสดงได้ดังรูปที่ 2.1

ในฟังไจแคโรทีนอยด์จะสังเคราะห์ได้โดยผ่านวิถีมีวาโลเนต (Mevalonate pathway) เพื่อให้ได้ไอโซเพนทีนิลไพโรฟอสเฟต (Prenyl pyrophosphates, IPP) ดังรูปที่ 2.2 โดยสาร IPP ที่ผลิตได้นี้ ฟังไจจะใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) ส่วนในแบคทีเรีย และในพลาสติดของพืชนั้น การผลิต IPP นั้น จะผลิตโดยผ่าน 1-deoxyxylulose-5-phosphate pathway ดังรูปที่ 2.3 จากนั้น IPP และ DMAPP จะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นจีรานิลจีรานิลไพโรฟอสเฟต (Geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP)) ดังแสดงในรูปที่ 2.4 เพื่อจะเข้าสู่ขั้นตอนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ต่อไป ดังรูปที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

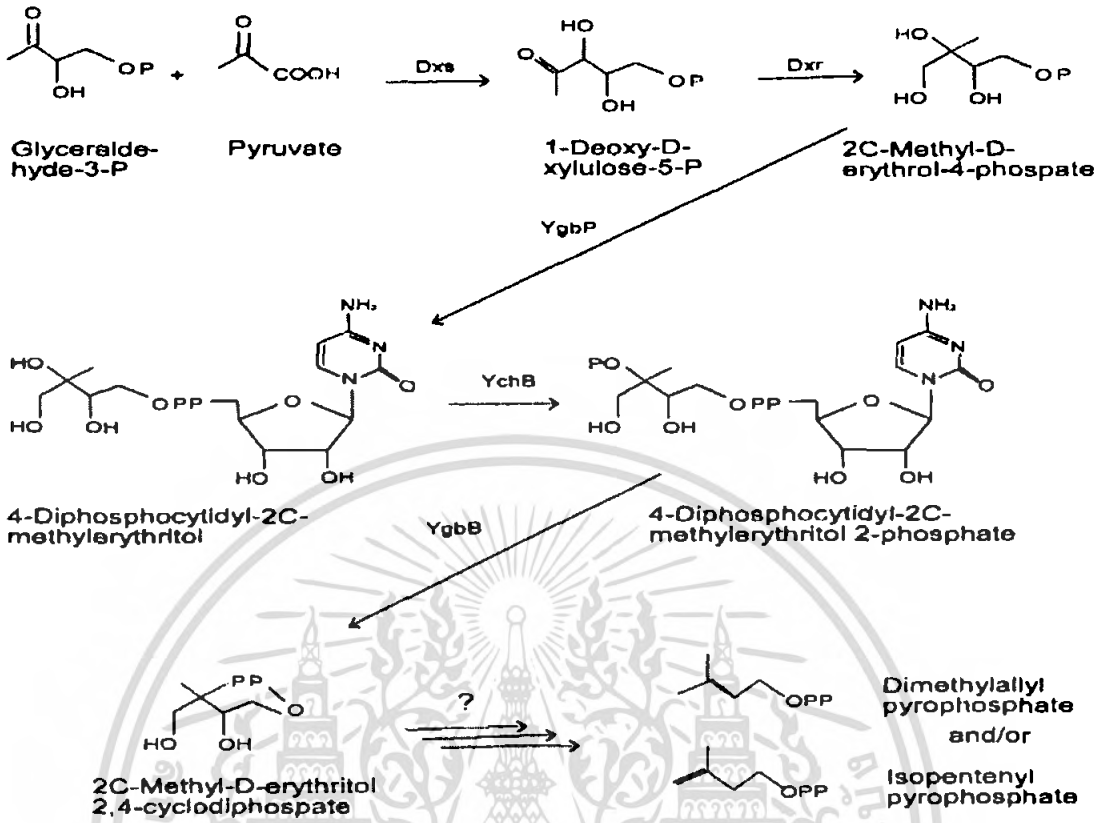



**รูปที่ 2.1** ประเภทของแคโรทีนอยด์ใน แบคทีเรีย (A) ในฟังไจ (B) ในพืชสีเขียวและสาหร่าย (C) (Sandmann, 2001)

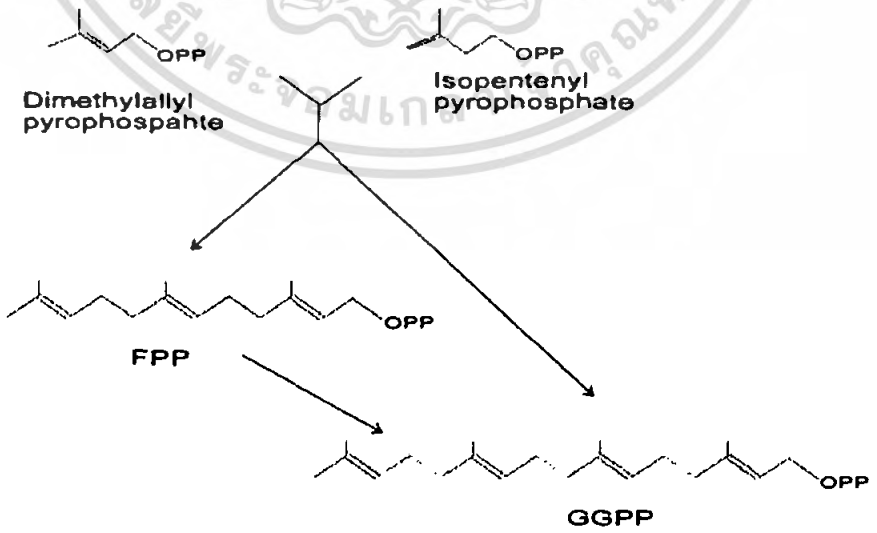



**รูปที่ 2.2** การสังเคราะห์ไอโซเพนทีนิลไพโรฟอสเฟตโดยวิถีมีวาโลเนต (Sandmann, 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.3** การสังเคราะห์ไอโซเพนทีนิลไพโรฟอสเฟต และไดเมทิลแอลลิลไพโรฟอสเฟต (Dimethylallyl pyrophosphate (DMAPP)) ผ่านวิถี 1-deoxyxylulose-5-phosphate (Sandmann, 2001)




**รูปที่ 2.4** การสังเคราะห์ GGPP จาก IPP และ DMAPP (Sandmann, 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.5 การชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์**

สภาวะที่มีผลต่อการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ในสิ่งมีชีวิตก็คือ สภาวะความเครียดทางสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีปัจจัยต่างๆ ที่สามารถทำให้เกิดสภาวะความเครียดทางสิ่งแวดล้อม ได้แก่

**2.5.1 สารอาหาร**

**2.5.1.1. ฟอสฟอรัส**

Blum และ Begin-Heick (1967) พบว่าถ้าในอาหารเพาะเลี้ยง *Euglena* sp. มีฟอสเฟตความเข้มข้นต่ำๆ จะกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้มากขึ้นถึง 3 เท่า

Dholokia และ Modi (1984) ใช้โปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยง *Blakeslea trispora* เพื่อศึกษาผลของสารต่อการสังเคราะห์เบต้า-แคโรทีน พบว่าที่ความเข้มข้นของฟอสเฟตสูงๆ เชื้อจะสามารถผลิตเบต้า-แคโรทีนได้เพิ่มขึ้น 4-5 เท่า แต่รูปแบบการสังเคราะห์จะไม่แตกต่างกัน เมื่อมีระดับฟอสเฟตสูงๆ และต่ำๆ

**2.5.1.2. ไนโตรเจน**

Rau (1976) พบว่าการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์จะเกิดขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่ขาดไนโตรเจน

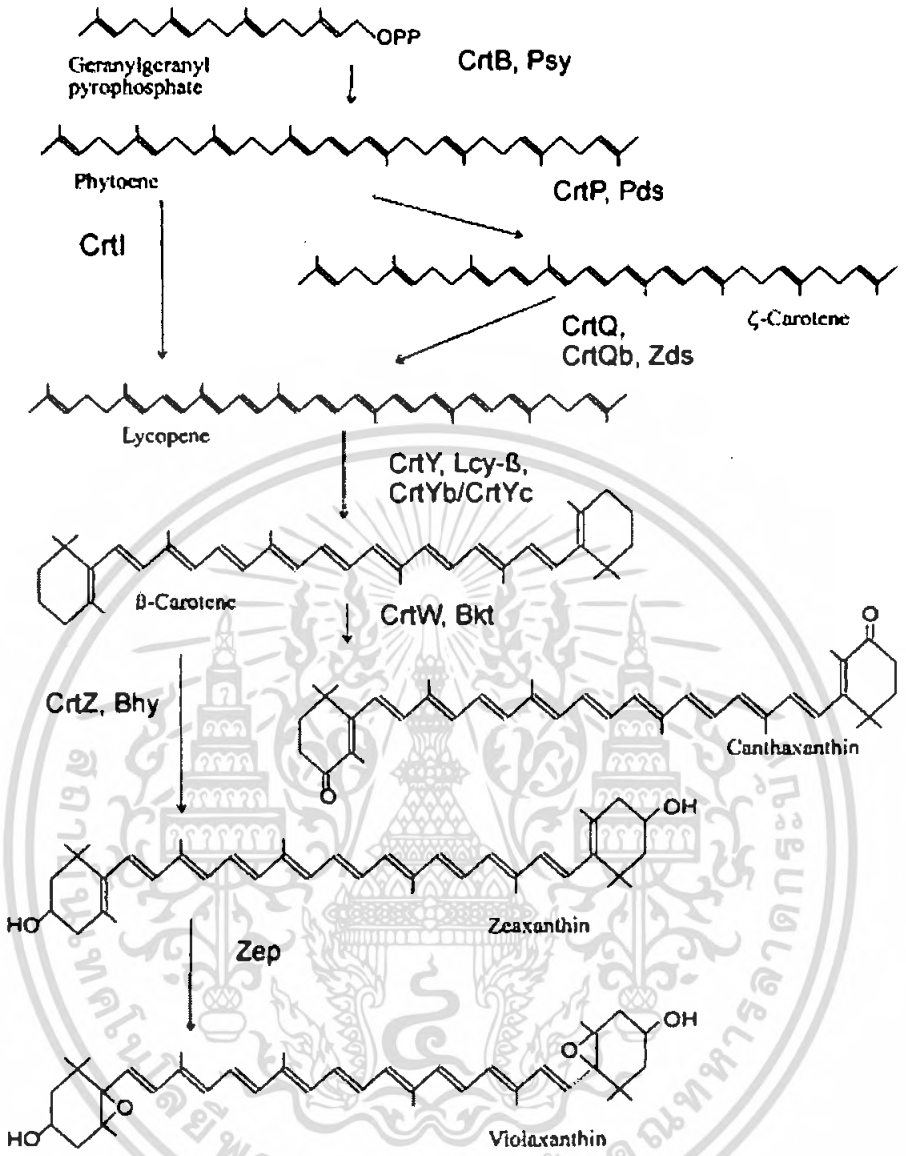
Withers และ Haxo (1978) รายงานว่าปริมาณเบต้า-แคโรทีนของสาหร่าย *Peridinium foliaceum* จะเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในระยะอัตราการเจริญเท่ากับอัตราการตาย (Stationary phase) มากกว่าระยะที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว (Log phase) เนื่องจากเกิดการขาดอาหารโดยเฉพาะไนเตรต เซลล์สาหร่ายจะเจริญเติบโตได้ และผลิตเบต้า-แคโรทีนได้ดี เมื่อระดับไนโตรเจนในอาหารต่ำถึง 1 มิลลิโมลาร์

De Laura และคณะ (1987) พบว่าเมื่อไซยาโนแบคทีเรีย (*Pseudoanabaena* sp. และ *Oscillatoria splendida*) ขาดไนโตรเจนจะทำให้สูญเสียไฟโคบิลิโปรตีน (Phycobiliproteins) ส่วนแคโรทีนอยด์มีปริมาณเพิ่มขึ้น

**2.5.1.3. ความเข้มแสง**

Orset และ Young (1999) พบว่าการสะสมเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้นจาก 50 เป็น 1250 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ในช่วงการเจริญของ *Dunaliella salina*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.5** กระบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ จาก GGPP (Sandmann, 2001)

Shaish และคณะ (1993) รายงานว่าการชักนำด้วยแสง นำไปสู่การสร้างการกระตุ้นโมเลกุลของออกซิเจน ซึ่งมีบทบาทในการกระตุ้นการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์

Steinbrenner และ Linden (2001) รายงานว่าการกระตุ้นการสังเคราะห์ไฟโตอีนและแคโรทีนอยด์ ใน *Haematococcus pluvialis* ซึ่งเจริญในความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้น ร่วมกับโซเดียมอะซิเตทและเฟอรัสไอออน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.5.1.4. อุณหภูมิ**

Orset และ Young (1999) พบว่าระดับของเบต้า-แคโรทีนจะถูกกระตุ้นเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ปริมาณความเข้มแสงที่สูงขึ้นร่วมกับอุณหภูมิที่ต่ำลง 19 องศาเซลเซียส ของ *Dunaliella* sp.

Simpson และคณะ (1964) พบว่าในยีสต์ *Rhodotorula glutinis* มีสัดส่วนของเบต้า-แคโรทีนสูงขึ้นที่อุณหภูมิต่ำลง ขณะที่โทลูอีนถูกผลิตมากขึ้นที่อุณหภูมิสูงขึ้น

Sakamoto และ Bryant (1998) รายงานว่าระดับแคโรทีนอยด์เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *Synechococcus* sp. ในอาหารที่มีอุณหภูมิต่ำ

**2.5.1.5. ไอออนของโลหะและเกลือ**

Kobayashi และคณะ (1992) ใช้เกลือเฟอรัสเติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* เพื่อพิสูจน์การผลิตแอสตาแซนทิน พบว่าเกิดการกระตุ้นการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์

Liu และ Lee (2000) ใช้เฟอรัสไอออนกระตุ้นสลับกับการใช้รังสีของแสงที่สูงในการลดความเข้มแสงสำหรับการเจริญของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. แสดงให้เห็นถึงการสะสมของแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

Mahattanatavee และ Kulprecha (1991) รายงานว่าผลของแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเมื่อเติมทองแดง สังกะสี และเฟอรัสไอออนในอาหารเพาะเลี้ยง *Rhodotorula glutinis*

**2.5.1.6. สารเคมี**

Daraseliya และ Daushvili (1982)รายงานว่าการเติมเอทานอล เมทานอลไอโซ - โพรนอล และเอทิลีนไกลคอล ลงในอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จะช่วยในการกระตุ้นการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์

Margalith และ Meydav (1968) รายงานว่า เอทานอลกระตุ้นเบต้า-แคโรทีน และโทลูอีนในยีสต์ *Rhodotorula glutinis*

Halliwell และ Gutteridge (1992) พบว่าการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะกระตุ้นการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์โดย *Chlorella zofinginsis* ในที่มืด และเกิดแอสตาแซนทินเพิ่มขึ้น

Ma และ Chen (2001) ได้ศึกษาพบว่าสาหร่าย *Chlorococcum* sp. มีการผลิตแอสตาแซนทินเพิ่มขึ้นในที่มืดเมื่อ เมื่อใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.1 มิลลิโมลาร์

สภาวะความเครียดที่มีผลชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดก็คือความเครียดที่เกิดจากการได้รับความเข้มแสงที่มากเกินพอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มแสงที่มากเกินพอสามารถชักนำให้เกิดโมเลกุลของออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (Reactive oxygen species, ROS) ซึ่งได้แก่ ซุปเปอร์ออกไซด์ที่มีประจุลบ (Superoxide anion radicals ($O_2^{-}\cdot$)) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide, $H_2O_2$) และไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (Hydroxyl radicals, OH·) (Oda และคณะ, 1998) สารเหล่านี้จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่รุนแรงกับองค์ประกอบของเซลล์ ทำให้เกิดสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น จึงมีการผลิตแคโรทีนอยด์เพื่อที่จะป้องกันเซลล์จากความเสียหาย (Shaish และคณะ, 1993; Rise และคณะ, 1994; Bar และคณะ, 1995) โดยไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว และซุปเปอร์ออกไซด์ที่มีประจุลบ เป็นโมเลกุลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่รุนแรงมากที่สุดในบรรดาอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ และโมเลกุลนี้สามารถเกิดขึ้นได้จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และโซเดียมไฮโปคลอไรด์ดังสมการ (Chen และ Ip, 2005b)

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{-} + \cdot OH \quad (1)$$

$$NaClO + H_2O \rightarrow HOCl + Na^{+} + OH^{-} \quad (2)$$

$$HOCl + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + Cl^{-} + \cdot OH \quad (3)$$

$$H_2O_2 + NaClO \rightarrow H_2O + NaCl + {}^{1}O_2 \quad (4)$$

จากการทดลองของ Chen และ Ip (2005b) พบว่า ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (ROS) มีผลต่อการเร่งการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์โดย *Chlorella zofingiensis* ในสภาวะที่ไม่ใช้แสงได้ โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เนื่องจาก เมื่อทำปฏิกิริยากับ เฟอร์รัสไอออนด้วยปฏิกิริยาเฟนตอน (Fenton reaction) แล้วจะทำให้เกิดไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวขึ้น (Halliwell และ Gutteridge, 1992; Kobayashi และคณะ, 1993) ดังสมการที่ 1 ซึ่งไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว จะมีผลต่อการเร่งการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ ส่วนโซเดียมไฮโปคลอไรด์จะต้องทำปฏิกิริยากับน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# วิธีการดำเนินการวิจัย

## 3.1 เชื้อจุลินทรีย์

*Chlorella* sp. P48061

## 3.2 สารเคมี

3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร N-8

3.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร N-8 ดัดแปลง

3.2.3 เฟอร์รัสซัลเฟต

3.2.4 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

3.2.5 น้ำตาลกลูโคส

## 3.3 อุปกรณ์

3.3.1 ขวดเลี้ยงสาหร่าย Nalgene

3.3.2 ปั๊มลม Hailea, ACO-318

3.3.3 หลอดฟลูออเรสเซ้นต์สีขาว Dai-Shida, 36 W T8/D

3.3.4 โถดูดความชื้น Duran

3.3.5 ตู้อบ Binder, FD 53

3.3.6 เครื่องปั่นเหวี่ยง Hermie, Z36HK

3.3.7 ฮีมาไซโตมิเตอร์ Neubauer improved, bright-line

3.3.8 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง Unico, UV-2800A

3.3.9 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง Eutech Instrument, pH 510

## 3.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

### 3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อ

เลี้ยงหัวเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร N-8 ในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ให้แสงแบบต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 3000 ลักซ์จนสามารถวัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรได้ 0.5 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.4.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของน้ำตาลกลูโคสต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061**

เตรียมอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร ปรับพีเอชเป็น 5.8 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่หัวเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 10 เปอร์เซ็นต์ แปรผันความเข้มข้นของกลูโคส 4 ความเข้มข้นคือ 0 10 20 และ 30 กรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที และให้แสงสว่างอย่างต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ เก็บตัวอย่างทุก 3 วัน หาค่าการเจริญโดยวัด OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์

**3.4.3 ศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061**

**3.4.3.1 การชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)**

เตรียมอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร และปรับพีเอชเป็น 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคสที่ทำให้เซลล์เจริญได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.2 ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ฟลาสก์ละ 200 มิลลิลิตร ใส่หัวเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 10 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที และมีแสงสว่างอย่างต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ เก็บตัวอย่างทุก 3 วันเพื่อหาค่าการเจริญโดยวัด OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์

เมื่อเซลล์เจริญถึงระยะคงที่ (stationary phase) จึงได้ปรับสภาวะการเลี้ยงเป็นให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง โดยมีช่วงเวลาให้แสง 24 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 24 ชั่วโมงสลับกัน จากนั้นจึงเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงในแต่ละฟลาสก์ โดยแปรผัน 4 ความเข้มข้น คือ 0, 0.1, 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลต่อลิตร โดยเติมทันทีที่งดให้แสงของแต่ละวัน ทำการทดลอง 4 ซ้ำ เก็บตัวอย่างทุก 3 วัน เพื่อหาค่าการเจริญโดยวัด OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์

**3.4.3.2 การชักนำด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)**

เตรียมอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร และปรับพีเอชเป็น 5.8 ซึ่งมีความเข้มข้นของกลูโคสที่ทำให้เซลล์เจริญเติบโตได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.2 ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ฟลาสก์ละ 200 มิลลิลิตร ใส่หัวเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 10 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที และมีแสงสว่างอย่างต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ เก็บตัวอย่างทุก 3 วันเพื่อหาค่าการเจริญโดยวัด OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเซลล์เจริญถึงระยะคงที่ (stationary phase) จึงได้ปรับสภาวะการเลี้ยงเป็นให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง โดยมีช่วงเวลาให้แสง 24 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 24 ชั่วโมงสลับกัน ทำการเติมเฟอร์รัสซัลเฟตลงในแต่ละฟลาสก์ โดยแปรผัน 4 ความเข้มข้น คือ 0, 0.1, 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลต่อลิตร โดยเติมทันทีที่งดให้แสงในครั้งแรก เพียงครั้งเดียว และเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้ได้ความเข้มข้นที่ชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.3.1 ในทุกฟลาสก์ โดยเติมทันทีที่งดให้แสงของแต่ละวัน โดยทำการทดลอง 4 ซ้ำ เก็บตัวอย่างทุก 3 วันเพื่อหาค่าการเจริญโดยวัด OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์

**3.4.4 เปรียบเทียบสภาวะ 2 สภาวะสำหรับการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ ในระดับฟลาสก์**

เตรียมอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร และปรับพีเอชเป็น 5.8 โดยไม่มีน้ำตาลกลูโคส และมีน้ำตาลกลูโคสที่ทำให้เซลล์เจริญเติบโตได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.2 ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรฟลาสก์ละ 200 มิลลิลิตร ใส่หัวเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที และให้แสงสว่างอย่างต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ เก็บตัวอย่างทุก 3 วันเพื่อหาค่าการเจริญโดยวัด OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์

เมื่อเซลล์เจริญถึงระยะคงที่ในอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ให้ทำการเลี้ยงในสภาวะที่มีการให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง โดยมีช่วงเวลาให้แสง 24 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 24 ชั่วโมงสลับกัน จากนั้นจึงเติมเฟอร์รัสซัลเฟตให้ได้ความเข้มข้นที่ชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.3.2 โดยเติมทันทีที่งดให้แสงในครั้งแรก เพียงครั้งเดียว และเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้ได้ความเข้มข้นที่ชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.3.1 ในทุกฟลาสก์ โดยเติมทันทีที่งดให้แสงของแต่ละครั้ง ในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลกลูโคสให้เติมโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอร์รัสซัลเฟต 8, 2 และ 0.16 กรัมต่อลิตรตามลำดับ และเลี้ยงในสภาวะที่มีการให้แสงแบบต่อเนื่อง ทำการทดลอง 4 ซ้ำ เก็บตัวอย่างทุก 3 วันเพื่อหาค่าการเจริญโดยวัด OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.4.5 เปรียบเทียบสภาวะ 2 สภาวะสำหรับการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ ในระดับขวดเลี้ยง**

เตรียมอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร และปรับพีเอชเป็น 5.8 โดยไม่มีน้ำตาลกลูโคส และมีน้ำตาลกลูโคสที่ทำให้เซลล์เจริญเดิบโตได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.2 ในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร ขวดละ 5 ลิตร ใส่หัวเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในสภาวะที่ให้อากาศ และมีแสงสว่างอย่างต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ เก็บตัวอย่างทุก 3 วันเพื่อหาค่าการเจริญโดยวัด OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์

เมื่อเซลล์เจริญถึงระยะคงที่ (stationary phase) ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ให้ทำการเลี้ยงในสภาวะที่มีการให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง โดยมีช่วงเวลาให้แสง 24 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 24 ชั่วโมงสลับกัน ทำการเติมเฟอร์รัสซัลเฟตให้ได้ความเข้มข้นที่ชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.3.2 โดยเติมทันทีที่งดให้แสงในครั้งแรก เพียงครั้งเดียว และเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้ได้ความเข้มข้นที่ชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.3.1 ในทุกฟลาสก์ โดยเติมทันทีที่งดให้แสงของแต่ละครั้ง ในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลกลูโคส ให้เติมโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอร์รัสซัลเฟต 8 2 และ 0.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเลี้ยงในสภาวะที่มีการให้แสงแบบต่อเนื่อง ทำการทดลอง 3 ซ้ำเก็บตัวอย่างทุก 3 วัน เพื่อหาค่าการเจริญโดยวัด OD ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์

**3.4.6 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ**

นำผลการทดลองที่ได้จากข้อ 3.4.2 3.4.2 3.4.3 3.4.4 3.4.5 มาวิเคราะห์ทางสถิติซึ่งแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ดังนั้นจึงต้องวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS 14 ในการวิเคราะห์ F-test และการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี ducan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# บทที่ 4
# ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

**4.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของกลูโคสต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061**

จากการทดลองหาการเจริญเติบโตของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลกลูโคส 4 ความเข้มข้น คือ 0 10 20 และ 30 กรัมต่อลิตร โดยทำการทดลองในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีอาหารฟลาสก์ละ 200 มิลลิลิตรเป็นเวลา 21 วัน พบว่าการเจริญของเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร จะมีอัตราการเจริญสูงสุดตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 6 ของการทดลอง (รูปที่ 4.1) และเจริญได้ดีที่สุดในวันที่ 21 ของการทดลอง คือ $15.06 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 20 30 และ 0 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งการเจริญของเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 10 และ 20 กรัมต่อลิตร แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.1) การที่จำนวนเซลล์ในอาหารที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 20 และ 30 กรัมต่อลิตร มีการเจริญได้น้อยกว่าเนื่องจากกลูโคสที่มีความเข้มข้นมากเกินไปจะทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ได้ ส่วนในอาหารที่ไม่เติมกลูโคสมีการเจริญเติบโตต่ำที่สุดเนื่องจากได้รับแหล่งคาร์บอนโดยการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เพียงอย่างเดียว ซึ่งจะช้ากว่าแหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคส จึงมีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่ามาก

**ตารางที่ 4.1** จำนวนเซลล์สูงสุดที่ความเข้มข้นของกลูโคส 0 10 20 และ 30 กรัมต่อลิตร

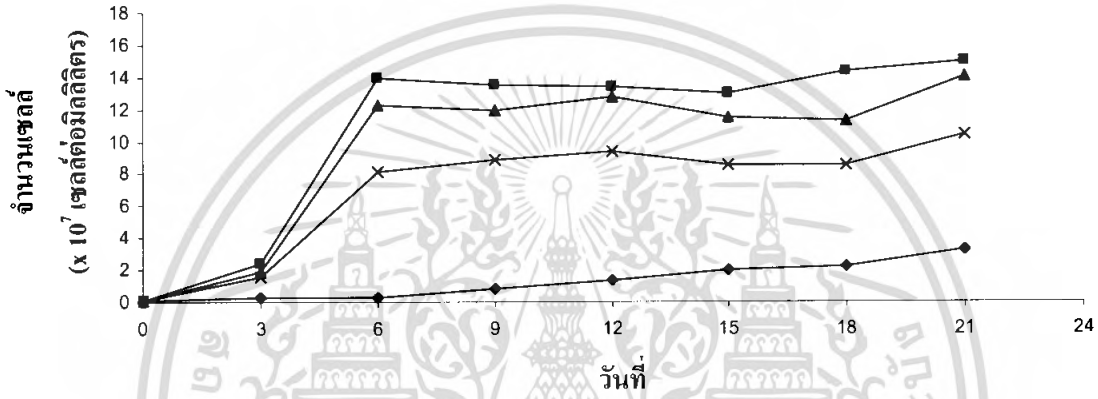
| ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อมิลลิลิตร) | วันที่จำนวนเซลล์สูงสุด | จำนวนเซลล์ ($\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) |
|---|---|---|
| 0 | 21 | $3.2768^c$ |
| 10 | 21 | $15.0600^a$ |
| 20 | 21 | $14.1000^a$ |
| 30 | 21 | $10.5000^b$ |

หมายเหตุ อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

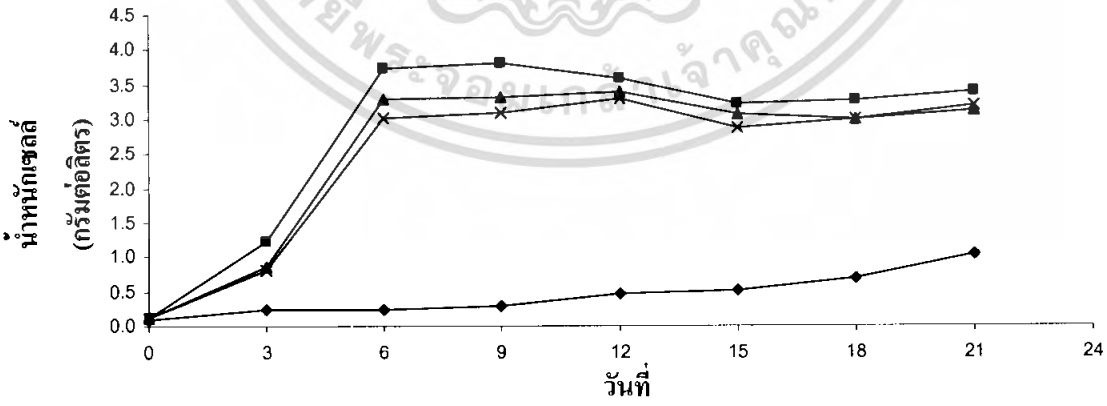
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
83978

เช่นเดียวกับการทดลองของ Chen และ Ip (2005a) ที่ทำการผลิตแอสตาแซนทินจากสาหร่าย *Chlorella zofingiensis* ในที่มืด โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าอัตราการเจริญจำเพาะจะลดลงถ้าความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มมากขึ้น

จากผลดังกล่าวจึงใช้กลูโคสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรเป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อใช้ในขั้นตอนการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ต่อไป

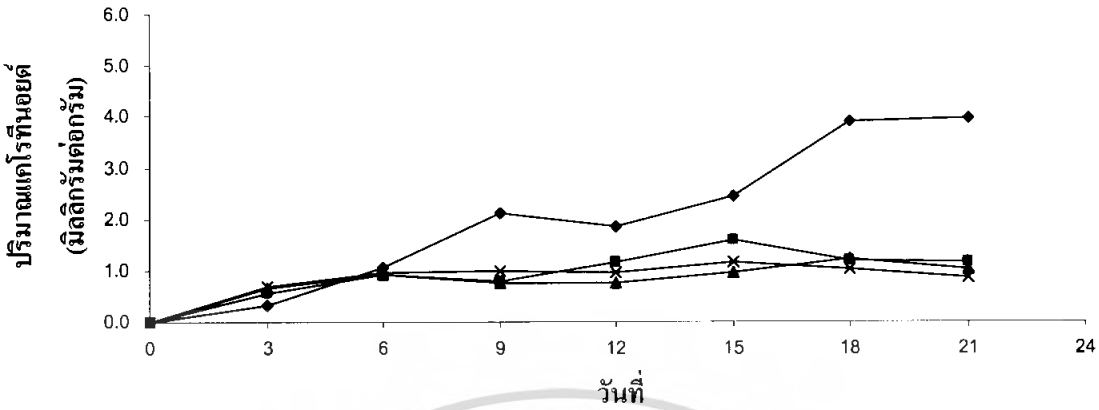



**รูปที่ 4.1** จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 0 (◆) 10 (■) 20 (▲) และ 30 (×) กรัมต่อลิตร

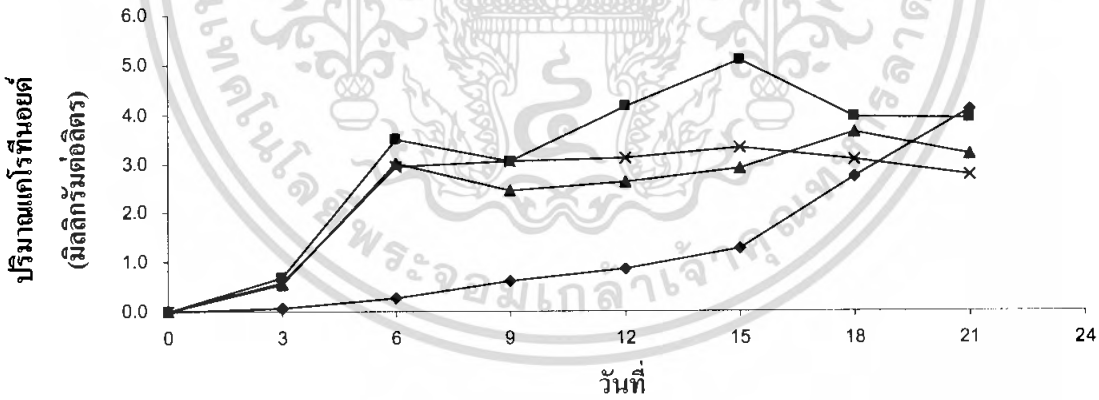



**รูปที่ 4.2** น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 0 (◆) 10 (■) 20 (▲) และ 30 (×) กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.3** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 0 (◆) 10 (■) 20 (▲) และ 30 (×) กรัมต่อลิตร




**รูปที่ 4.4** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 0 (◆) 10 (■) 20 (▲) และ 30 (×) กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.2 ศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061**

**4.2.1 การชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)**

จากการทดลองการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์โดยใช้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร และปรับพีเอชเป็น 5.8 ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยทำการชักนำแบบต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง โดยทำการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และให้แสงแบบวันเว้นวัน โดยวันที่ทำการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะเป็นวันที่งดให้แสง ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่ได้ในวันที่ 18 ของการทดลอง พบว่าการชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ สามารถชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุด คือ 5.5308 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.5436 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง รองลงมา คือ การชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.2 0 และ 0.1 คือ 5.1808 5.1423 และ 4.9192 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และ 3.5175 3.0675 และ 3.5175 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ (ตารางที่ ข.3) ซึ่งแตกต่างกันกับการชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0 และ 0.2 มิลลิโมลาร์ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.2) ดังนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีความสามารถในการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ ซึ่ง Ledford และ Niyoki (2005) กล่าวว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีความสามารถเป็นตัวส่งสัญญาณทำให้เกิดการตอบสนองต่อกระบวนการป้องกันของเซลล์ แต่ยังไม่แน่ชัดว่าสัญญาณนี้มีผลอย่างไรต่อการแสดงออกของยีน

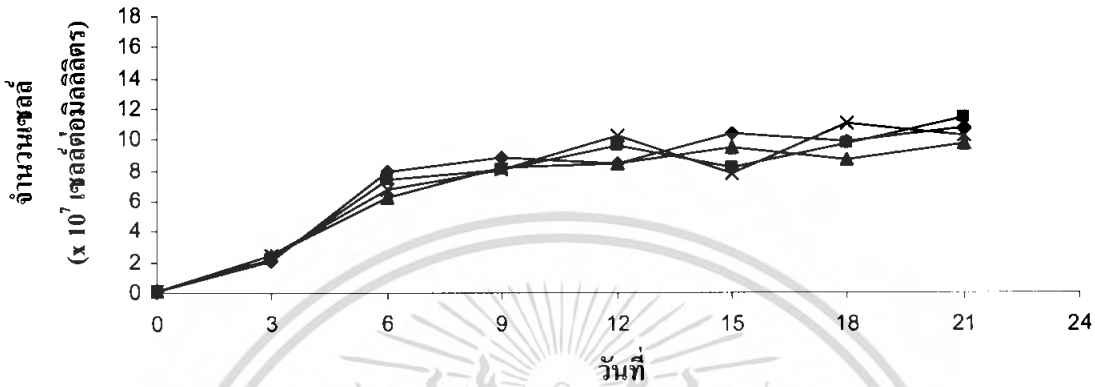
**ตารางที่ 4.2** ความเข้มข้นสูงสุดของแคโรทีนอยด์ที่ถูกชักนำโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์

| ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์ (มิลลิโมลาร์) | วันที่แคโรทีนอยด์เข้มข้นสูงสุด | ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) |
|---|---|---|
| 0 | 18 | $5.1423^{a\,b}$ |
| 0.1 | 18 | $4.9192^{b}$ |
| 0.2 | 18 | $5.1808^{a\,b}$ |
| 0.3 | 18 | $5.5308^{a}$ |

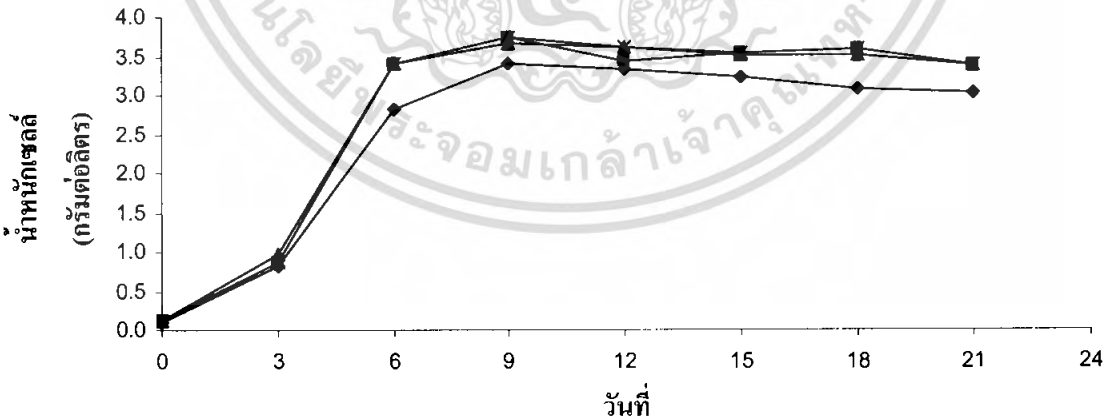
หมายเหตุ อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ จะถูกใช้ในการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ร่วมกับเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ในการทดลองต่อไป

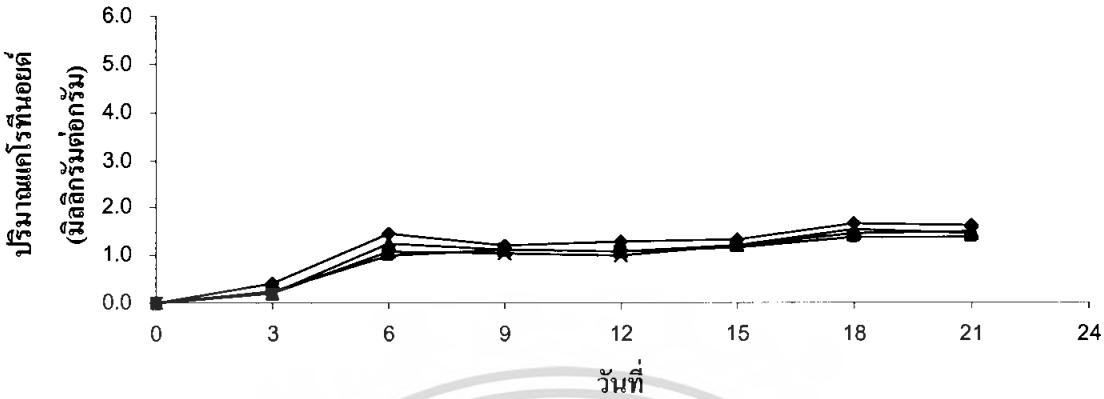



**รูปที่ 4.5** จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง

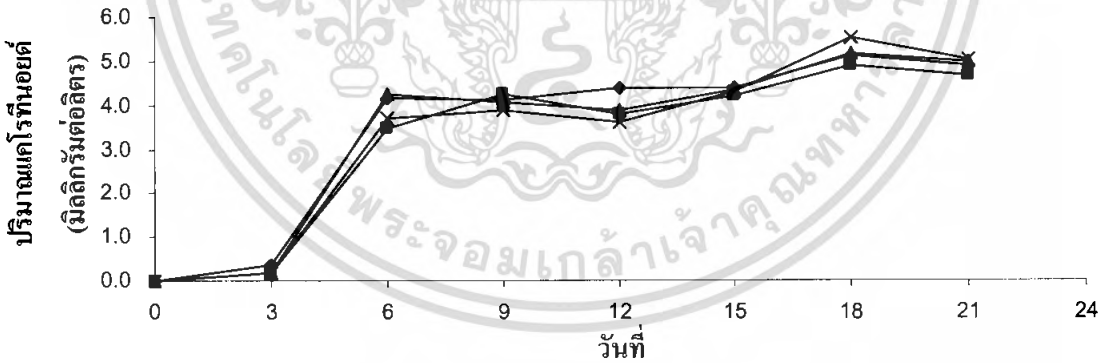



**รูปที่ 4.6** น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.7** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง




**รูปที่ 4.8** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.2.2 การชักนำด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)**

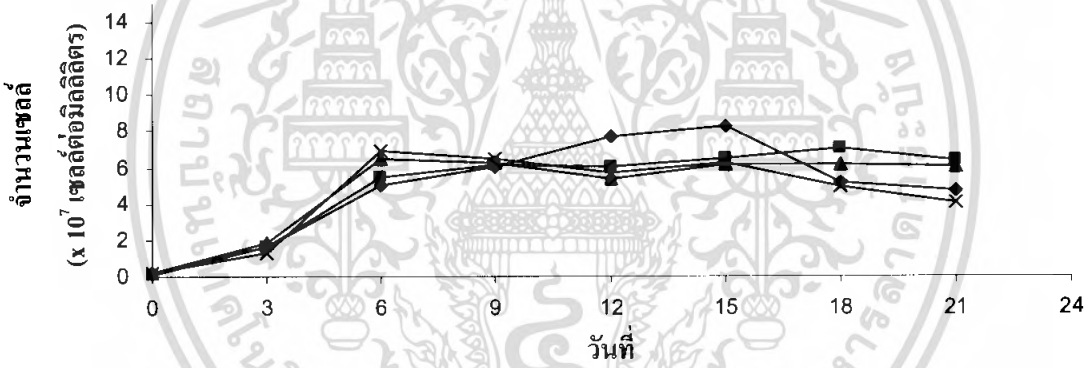
จากการทดลองเพื่อหาผลการผลิตแคโรทีนอยด์จากการชักนำโดยเฟอร์รัสซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ โดยชักนำร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง พบว่าการชักนำด้วยเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 มิลลิโมลาร์ ดีที่สุด คือ มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 3.945 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 95 กับการชักนำด้วยเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ดังนี้ 2.896 2.6846 และ 2.6904 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ซึ่งปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดจะมีแนวโน้มลดลง เมื่อความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีผลให้การเจริญเติบโตของเซลล์ลดลง (รูปที่ 4.9) จากผลการทดลองนี้แสดงว่า ปริมาณของเฟอร์รัสซัลเฟตในอาหารร่วมกับการให้แสงไม่มีผลต่อการชักนำให้เซลล์ผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น ซึ่งจากปฏิกิริยาเฟนตอน (Fenton reaction) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับเฟอร์รัสซัลเฟตสามารถทำปฏิกิริยากันได้ไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (hydroxyl radicals ($OH^{\cdot}$)) เกิดขึ้นซึ่งสามารถชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ จากการทดลองของ 1p และ Chen (2005b) ทำการผลิตแคโรทีนอยด์ในที่มืดซึ่งต้องใช้แหล่งคาร์บอนจากกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร เป็นการเจริญแบบไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ (heterotrophic culture) และชักนำการผลิต แคโรทีนอยด์โดยไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวความเข้มข้น 0 0.001 0.01 0.1 และ 1 มิลลิโมลาร์ ซึ่งได้จากการทำปฏิกิริยากันระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับเฟอร์รัสซัลเฟต ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดได้จากการชักนำที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์มีค่าเท่ากับ 12.58 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเหตุนี้เมื่อมาทำการชักนำด้วยเฟอร์รัสซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์จะทำให้เกิดปฏิกิริยาเฟนตอนได้ไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวที่มีความเข้มข้นมากกว่า 0.1 มิลลิโมลาร์จะทำให้ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ลดลง และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีความสามารถในการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์มากกว่าไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.3** ความเข้มข้นสูงสุดของแคโรทีนอยด์ที่ถูกชักนำโดยเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์

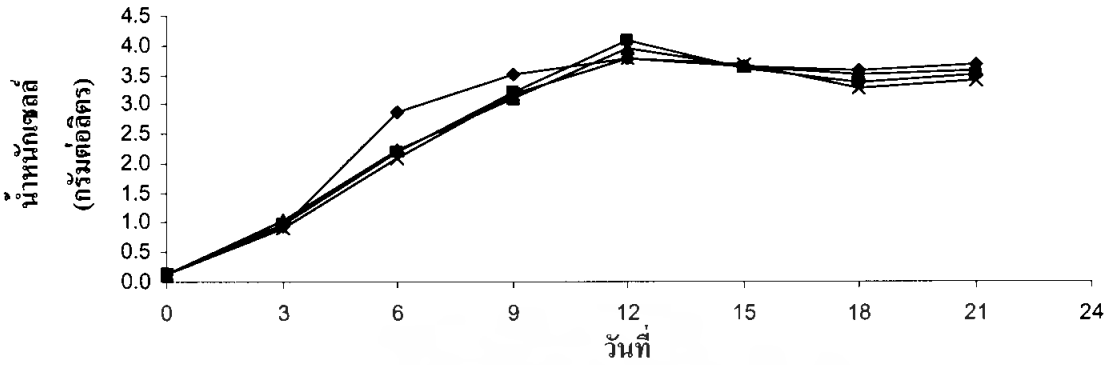
| ความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟต (มิลลิโมลาร์) | วันที่แคโรทีนอยด์เข้มข้นสูงสุด | ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) |
|---|---|---|
| 0 | 15 | 3.9450[a] |
| 0.1 | 12 | 2.8960[b] |
| 0.2 | 9 | 2.6846[b] |
| 0.3 | 12 | 2.6904[b] |

หมายเหตุ อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

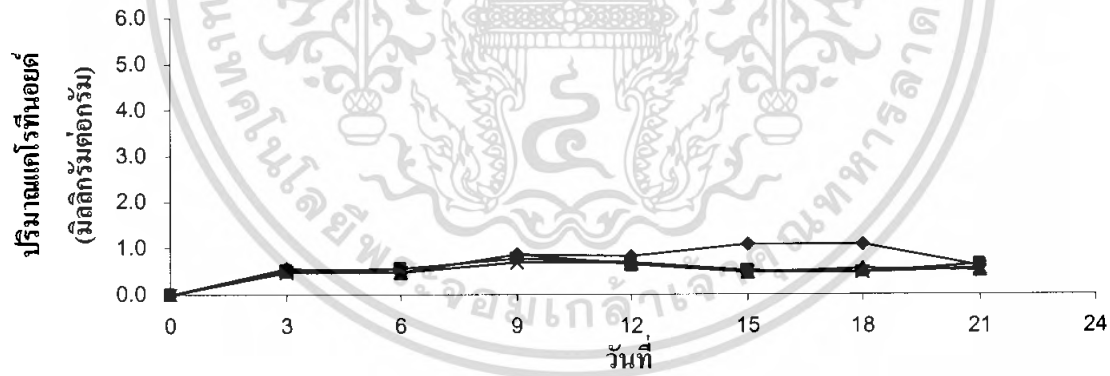



**รูปที่ 4.9** จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 และเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ในวันที่ 6 ของการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

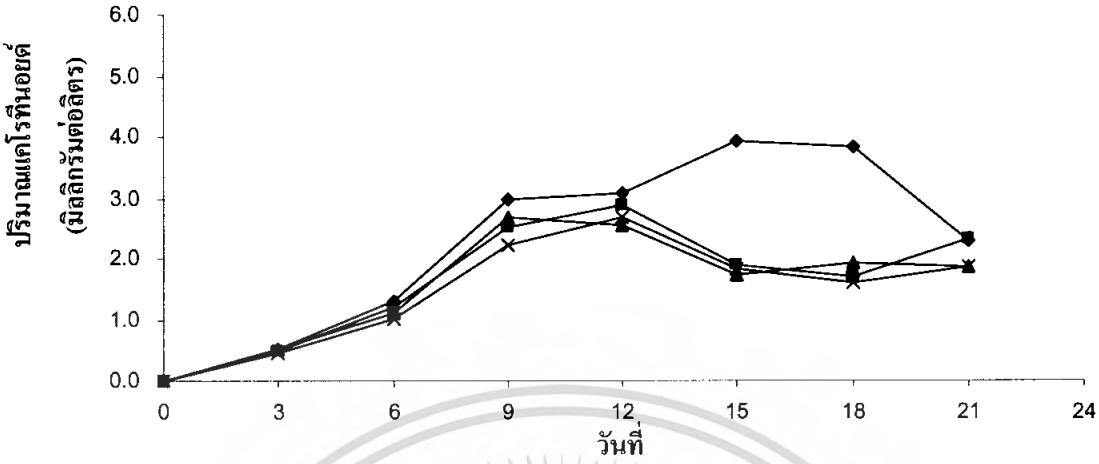



**รูปที่ 4.10** น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ตั้งแต่วันที่ 6 และเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ในวันที่ 6 ของการทดลอง




**รูปที่ 4.11** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 และเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ในวันที่ 6 ของการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.12** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในแต่ละวันในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยมีการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 และเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 (◆) 0.1 (■) 0.2 (▲) และ 0.3 (×) มิลลิโมลาร์ ในวันที่ 6 ของการทดลอง

### 4.3 เปรียบเทียบสภาวะ 2 สภาวะสำหรับการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ในระดับฟลาสก์

จากการทดลองเปรียบเทียบสภาวะการผลิตแคโรทีนอยด์ระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ปริมาตร 200 มิลลิลิตรที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟต ให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง โดยเริ่มชักนำในวันที่ 6 ของการทดลอง กับการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟต 8 2 และ 0.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำในวันที่ 15 ของการทดลอง ซึ่งจากการทดลองในระดับฟลาสก์พบว่าปริมาณของแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 5.5308 และ 5.3919 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งการทดลองของ Chen และ Ip (2005b) ที่ทำการทดลองผลิตแอสตาแซนทินจากสาหร่าย *Chlorella zofingiensis* ที่กลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และใช้ ไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว 0.1 มิลลิโมลาร์ ในการชักนำพบว่าการใช้ไฮดรอกซิลที่มีอิเล็กตรอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

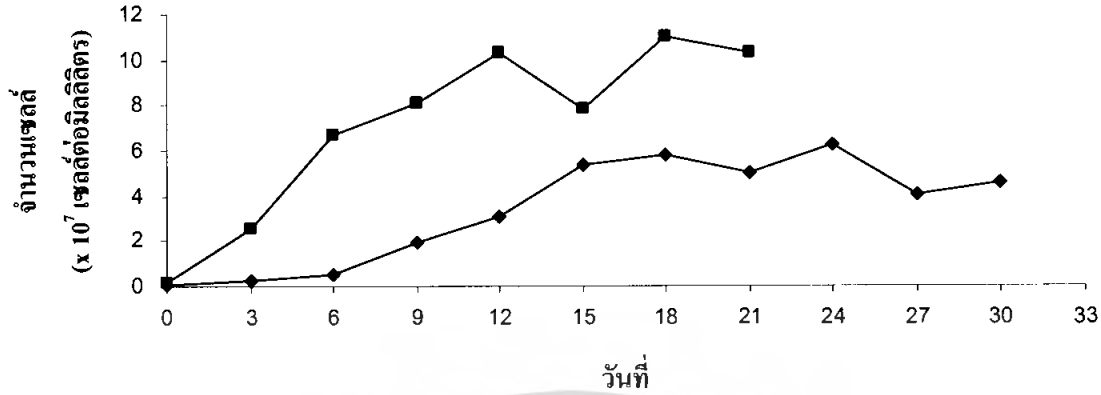
โดดเดี่ยว 0.1 มิลลิโมลาร์ สามารถเพิ่มผลการผลิตแอสตาแซนทินจาก 9.9 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 12.58 มิลลิกรัมต่อลิตร

**ตารางที่ 4.4** เปรียบเทียบสภาวะการผลิตแคโรทีนอยด์ในระดับฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

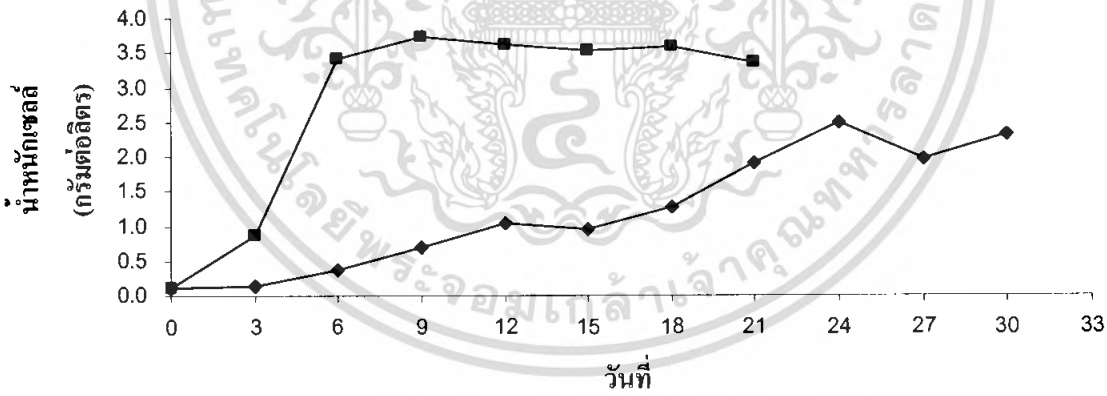
| สภาวะการผลิต | วันที่แคโรทีนอยด์เข้มข้นสูงสุด | ความเข้มข้นของแคโรที-นอยด์(มิลลิกรัมต่อลิตร) |
|---|---|---|
| อาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตรโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง | 18 | 5.5308[a] |
| อาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง | 27 | 5.3919[a] |

หมายเหตุ อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

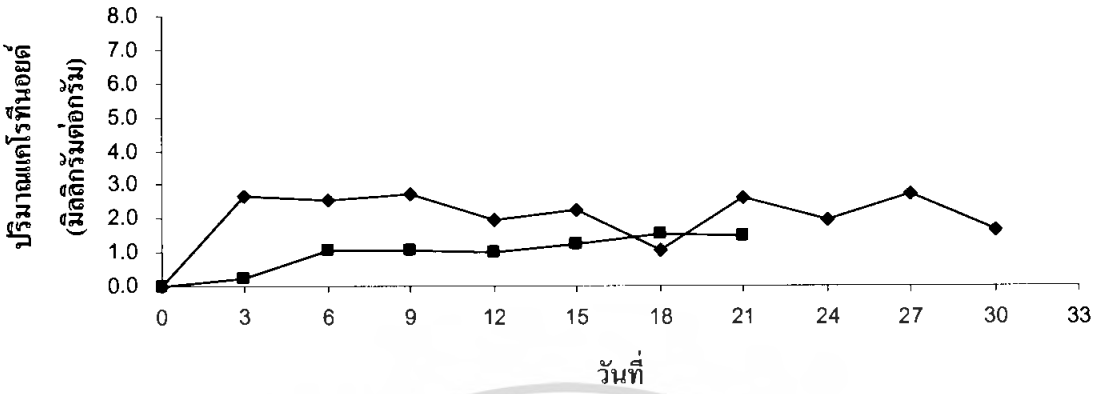



**รูปที่ 4.13** จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง (◆) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง (■)

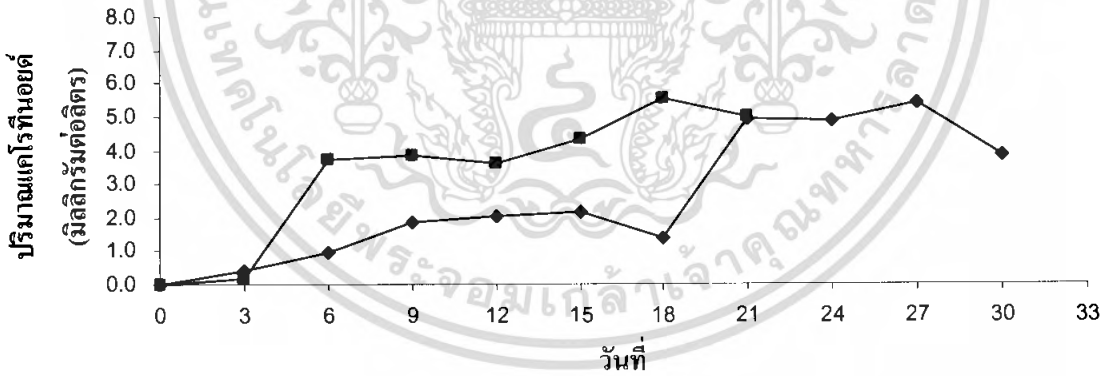



**รูปที่ 4.14** น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง (◆) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง (■)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.15** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง ( ◆ ) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง ( ■ )




**รูปที่ 4.16** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง ( ◆ ) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง ( ■ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.4 เปรียบเทียบสภาวะ 2 สภาวะสำหรับการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ในระดับขวดเลี้ยง**

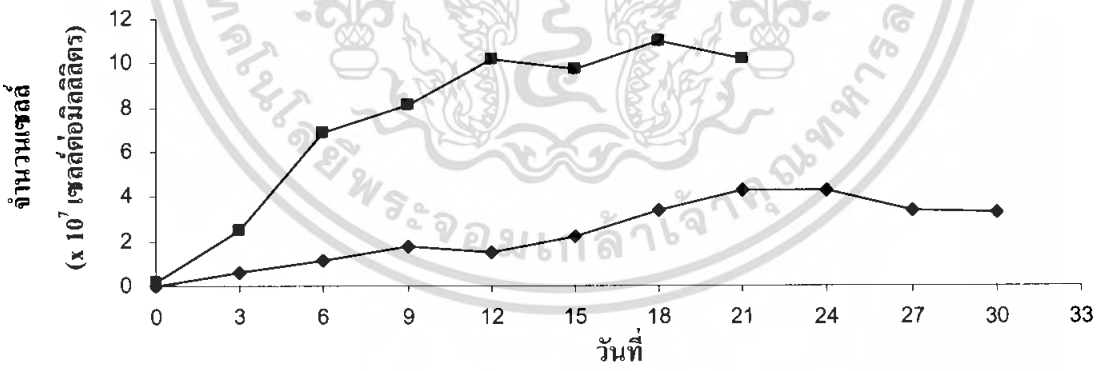
จากการทดลองเปรียบเทียบสภาวะการผลิตแคโรทีนอยด์ระหว่างการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ปริมาตร 5 ลิตร ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่องและชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องโดยชักนำในวันที่ 6 ของการทดลอง กับการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร ปรับพีเอช เป็น 5.8 ปริมาตร 5 ลิตร และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตตและเฟอรัสซัลเฟต 8 2 และ 0.16 กรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำในวันที่ 15 ของการทดลองในระดับขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร พบว่ามีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 5.5897 และ 4.0644 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การที่ปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดโดยสภาวะการเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ปริมาตร 5 ลิตร และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตด และเฟอรัสซัลเฟต 8 2 และ 0.16 กรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยให้แสงแบบต่อเนื่องมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับการผลิตในระดับฟลาสก์ เนื่องจากเซลล์ในขวดเลี้ยงมีโอกาสรับแสงได้น้อยกว่า เพราะมีการขยายขนาดการผลิตใหญ่ขึ้นทำให้ความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนลดลงดังรูปที่ 4.17 ในช่วงต้นของการเจริญจะมีอัตราการเจริญสูงกว่าเมื่อเทียบกับในฟลาสก์ แต่เมื่อเจริญถึงวันที่ 9 ของการเพาะเลี้ยง เซลล์จะมีความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้อัตราการเจริญลดลง เมื่อเทียบกับในฟลาสก์ (รูปที่ 4.13) เช่นเดียวกับการทดลองของ Lee และคณะ (2006) ได้ทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* UTEX 16 ในถังหมักที่มี 2 ชั้น แบบใช้แสงพบว่าเซลล์ที่อยู่ในถังชั้นนอกสามารถเจริญและผลิตแอสตาแซนทินได้ดีกว่าเซลล์ที่อยู่ในถังชั้นใน เนื่องจากแสงเข้าสู่ถังชั้นในได้น้อยกว่าถังชั้นนอก ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์โดยสภาวะการเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ปริมาตร 5 ลิตร ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าเล็กน้อยเมื่อเทียบกับสภาวะเดียวกันที่เลี้ยงในฟลาสก์ เนื่องจากเซลล์สามารถใช้แหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคสเพื่อใช้ในการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ได้ จึงไม่จำเป็นต้องใช้แสงในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5** เปรียบเทียบสภาวะการผลิตแคโรทีนอยด์ในระดับขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร

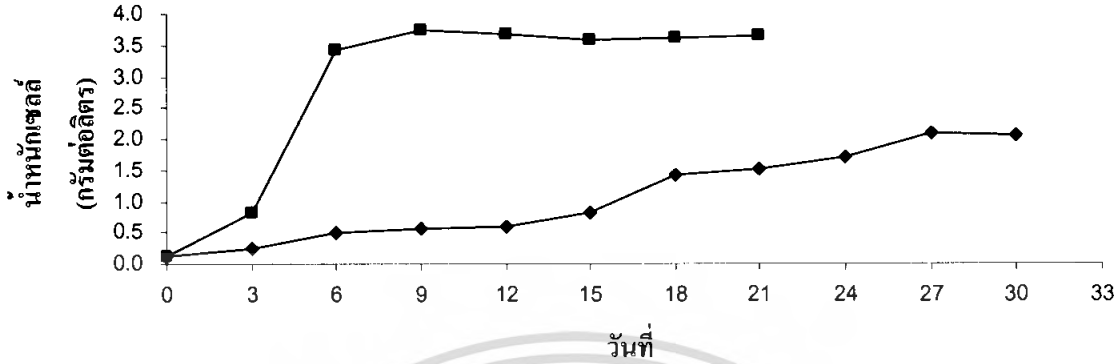
| สภาวะการผลิต | วันที่แคโรทีนอยด์เข้มข้นสูงสุด | ความเข้มข้นของแคโรทีน-นอยด์(มิลลิกรัมต่อลิตร) |
|---|---|---|
| อาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตรโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง | 18 | 5.5897[a] |
| อาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง | 24 | 4.0644[b] |

หมายเหตุ อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

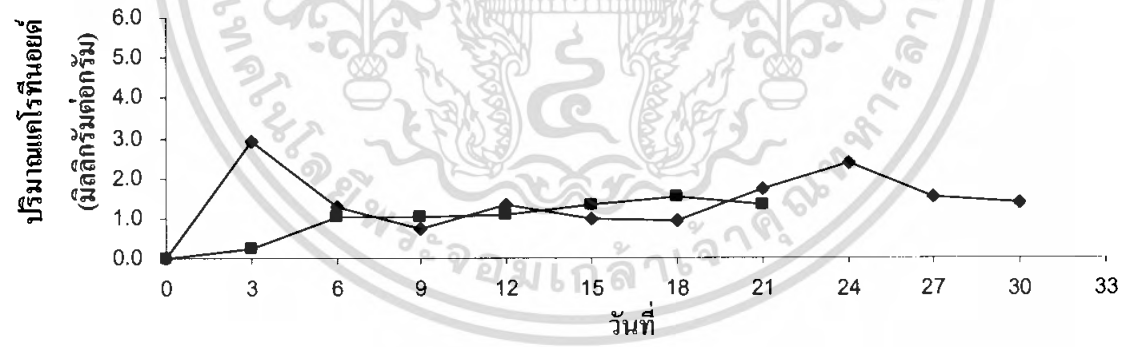



**รูปที่ 4.17** จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (♦) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (■)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

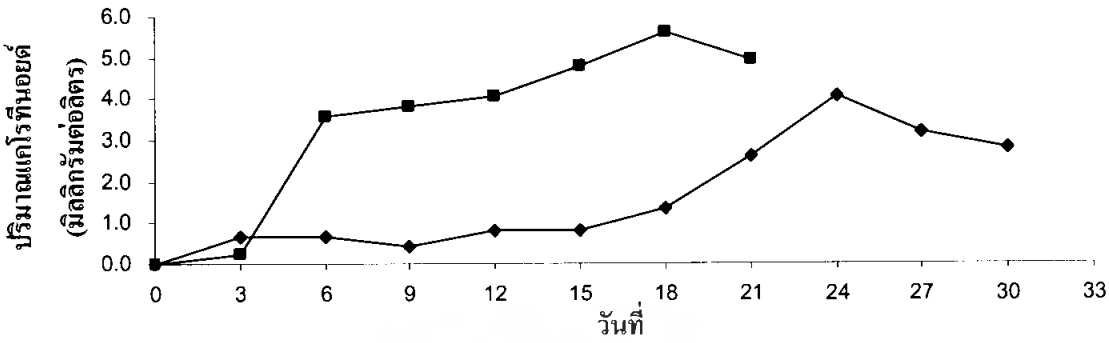



**รูปที่ 4.18** น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (◆) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (■)




**รูปที่ 4.19** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (◆) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร (■)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.20** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตในวันที่ 15 โดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร ( ◆ ) กับในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์ตั้งแต่วันที่ 6 โดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร ( ■ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการทดลอง

การทดลองนี้เป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญโดยการใช้แหล่งคาร์บอนของ *Chlorella* sp. P48061 และการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ด้วยสารเคมี โดยแหล่งคาร์บอนที่ใช้คือน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 กรัมต่อลิตร ซึ่งความเข้มข้นของกลูโคสที่สาหร่ายเจริญได้ดีที่สุดคือ 10 กรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนเซลล์สูงสุดคือ $15.06 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรและสารเคมีที่ใช้ชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์โดยทำการชักนำแบบต่อเนื่อง กับเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ซึ่งสารเคมีที่สามารถชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุดคือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ โดยผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 5.5308 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้ไปเปรียบเทียบกับการผลิตโดยใช้อาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟต 8 2 และ 0.16 กรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง ในระดับฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร พบว่าความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่เมื่อเปรียบเทียบกันในระดับขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร พบว่าความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้มีค่าเท่ากับ 5.5897 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ที่ผลิตโดยใช้อาหารสูตร N-8 ดัดแปลงปริมาณโพแทสเซียมไนเตรตเป็น 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟต 8 2 และ 0.16 กรัมต่อลิตรตามลำดับ คือผลิตได้ 4.0644 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

**ข้อเสนอแนะ**

1. ควรมีการทดลองหาความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงสุดที่สามารถชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุด เนื่องจาก การทดลองนี้ใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้นสูงสุดเพียง 0.3 มิลลิโมลาร์เท่านั้น และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มความสามารถในการผลิตแคโรทีนอยด์ได้มากขึ้นเมื่อใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นมากกว่า 0.3 มิลลิโมลาร์

2. เพื่อทราบถึงประสิทธิภาพในการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์โดยไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์ จึงควรทำการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตแคโรทีนอยด์ระหว่างการใช้แสงความเข้มสูงกับการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ควรมีการทดลองหาสารเคมีที่สามารถเหนี่ยวนำการผลิตแคโรทีนอยด์ที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น และไม่เป็นพิษต่อผู้บริโภค หรือสามารถแยกออกได้ง่ายในกระบวนการผลิต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง

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

เกริกเกียรติ ไพบูลย์ศิลป ศิริพงษ์ เรืองแป้น และเอกภพ ภาเรือง. 2543. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ขรรชัย คงอินทร์. 2524. ข่าวกองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์กรมปศุสัตว์.

Bar, E., Rise, M., Vishkautsan, M. and Arad, S. 1995. Pigments and structural changes in *Chlorella zofingiensis* upon light and nitrogen stress. Journal of Plant Physiology. 146 : 527–534.

Blum, J.J. and Begin-Heick, N. 1967. Metabolic changes during phosphate derivative in *Englena* in air and oxygen. Biochemical Journal. 105 : 821-829.

Britton, G. 1983. "Carotenoids." In the biochemistry of natural pigments, (Miller,L.P.) pp. 61-68, Van Nastrand : Reinhold Company.

Chen, F. and Ip, PF. 2005a. Production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingiensis* in the dark. Process Biochemistry. 40 : 733-738.

Chen, F. and Ip, PF. 2005b. Employment of reactive oxygen species to enhance astaxanthin formation in *Chlorella zogingiensis* in heterotrophic culture. Process Biochemistry. 40 : 3491-3496.

Daraseliya, GY. and Daushvili, LP. 1982. Effect of various carbon sources on the growth and carotenogenesis of *Mycobacterium rubrum* strain 44. Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya. 18 :191-196.

De Laura, C.I., Dubacq, P.J. and Thomas, C.J. 1987. The effects of nitrogen deficiency on pigments and lipids of cyanobacteria. Plant Physiology. 83 : 838-843.

Dholokia, J.N. and Modi, V.V. 1984. Regulation of carotenogenesis by inorganic phosphate in *Blakeslea trispora*. Journal of General Microbiology. 130 : 1043-2049.

Francis, X. and Cunningham, Jr. 2002. Regulation of carotenoid synthesis and accumulation in plants. Pure and Applied Chemistry. 74(8) : 1409-1417.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Frossberg, A., Lingen, C., Ernster, L. and Linberg, O. 1959. Modification of X-irriation syndrome for lycopene. Experimental Cell Rcscarch. 6 : 7.

Halliwell, B. and Gutteridge, MC. 1992. Biologically relevant metal ion-deperdent hydroxyl radical generation. An update. FEBS Letters. 307 : 108-112.

Jyonouchi, H., Sun, S. and Gross, M. 1995. Effect of carotenoid on vitro immunoglobulin production by human peripheral blood mononuclear cells. Nutrition and cancer. 23(2) : 171-183.

Kobayashi, M., Kakizono, T., Nishio, N. and Nagai, S. 1992. Effects of light intensity, light quality, and illumination cycle on astaxanthin formation in a green alga, *Haematococcus pluvialis.* Journal of Fermentation and Bioengineering. 74 : 61-63.

Kobayashi, M., Kakizono, T. and Nagai, S. 1993. Enhanced carotenoid biosynthesis by oxidative stress in acetate-induced cysts cell of a green unicellular alga, *Haematococcus pluvialis*. Applied and Environmental Microbiology. 59 : 867-873.

Kobayashi, M., Kakizono, T., Nishio, N., Nagai, S., Karimura, Y. and Tsugi, Y. 1997. Antioxidant role of astraxanthin in the green algae *Haematococcus pluvialis*. Applied Microbiology and Biotechnology. 48(3) : 351-358.

Landrum, J.T. and Bone, A.R. 2001. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. Archives of Biochemistry and Biophysics. 385 : 28–40.

Ledford, H.K. and Niyoki, K.K. 2005. Singlet oxygen and photo-oxidative stress management in plants and algae. Plant Cell and Environment. 28 : 1037-1045.

Lee, C.G., Suh, I.S., Joo, H.N. 2006. A novel double-layered photobioreactor for simultaneous *Haematococcus pluvialis* cell growth and astaxanthin accumulation. Journal of Biotechnology. 125 : 540-546.

Liu, B.H. and Lee, Y.K. 2000. Secondary carotenoids formation by the green alga *Chlorococcum* sp. Journal of Applied Phycology. 12 : 301-307.

Ma, Y.N. and Chen, F. 2001. Enhanced production of free trans-astaxanthin by oxidative stress in the cultures of the green microalga *Chlorococcum* sp. Process Biochemistry. 36 : 1175-1179.

Mahattanatavee, K. and Kulprecha, S. 1991. Production of β-carotene by *Rhodotorula* sp. Y1621. Microbial Utilization of Renewable Resources. 7 : 295-300.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Margalith, P. and Meydav, S. 1968. Carotenogenesis in the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*. Phytochemistry. 7 : 765–768.

Munzel, K. and Fuller, W. 1961. Coloration of fatty suppositories with carotenoid-dyes. Pharmaceutica Acta Helvetiae. 44, 108.

Ninet, L. and Renaut, J. 1979. Microbial Technology. Washington D.C. : Carnegie Institute of Washington Publication.

Oda, T., Nakamura, A. and Okamoto, T. 1998. Lectin-induced enhancement of superoxide anion production by red tide phytoplankton. Marine Biology. 131 : 383-390.

Orset, S.C., Young, A.J. 1999. Low-temperature-induced synthesis of β-carotene in the microalga *Dunaliella salina* (Chlorophyta). Journal of Phycology. 35 : 520-527.

Rau, W. 1976. Photoregulation of carotenoid biosynthesis in plants. Pure and Applied Chemistry. 57(5) : 77-784.

Rise, M., Cohen, E., Vishkautsan, M., Cojocaru, M., Gittlieb, HE. and Arad, SM. 1994. Accumulation of secondary carotenoids in *Chlorellazo fingiensis*. Journal of Plant Physiology. 144 : 287–292.

Sakamoto, T. *and* Bryant, D.A. 1998. Growth at low temperature causes nitrogen limitation in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002. Archives of Microbiology. 169 : 10-19.

Sandmann, G. 2001. Carotenoid biosynthesis and biotechnological application. Archives of Biochemistry and Biophysics. 385 : 4-12.

Shaish, A., Avron, M., Pick, U. and Ben-amotz, A. 1993. A reactive oxygen species involved in induction of β-carotene in *Dunaliella bardawil*. Planta. 190 : 363–368.

Simpson, K.L., Nakayama, T.O.M. and Chichester, C.O. 1964. Biosynthesis of yeast carotenoids. Journal of Bacteriology. 88 : 1688-1694.

Steinbrenner, J. and Linden, H. 2001. Regulation of two carotenoid biosynthesis genes coding for phytoene synthase and carotenoid hydroxylase during stress-induced astaxanthin formation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. Plant Physiology. 125 : 810-817.

Withers, N.W. and Haxo, F.T. 1978. Isolation and characterization of carotenoid-rich lipid globules from *Peridinium foliaceum*. Plant Physiology. 62 : 36-39.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก

# สูตรอาหารเลี้ยงสาหร่าย

**สูตรอาหาร N-8**

| | | |
|---|---|---|
| $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ | 260.0 | มิลลิกรัม |
| $KH_2PO_4$ | 740.0 | มิลลิกรัม |
| $CaCl_2$ | 10.0 | มิลลิกรัม |
| Fe EDTA | 10.0 | มิลลิกรัม |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 50.0 | มิลลิกรัม |
| $KNO_3$ | 1000.0 | มิลลิกรัม |
| Trace element mixture | 1.0 | มิลลิลิตร |

ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร โดยเติมน้ำไม่มีประจุ (deionized water) ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างให้เป็น 6.8 ด้วย NaOH หรือ HCl

* Trace element mixture สำหรับอาหาร N-8

| | | |
|---|---|---|
| $Al(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ | 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 |

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**สูตรอาหาร N-8 ดัดแปลง**

| | | |
|---|---|---|
| $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ | 260.0 | มิลลิกรัม |
| $KH_2PO_4$ | 740.0 | มิลลิกรัม |
| $CaCl_2$ | 10.0 | มิลลิกรัม |
| Fe EDTA | 10.0 | มิลลิกรัม |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 50.0 | มิลลิกรัม |
| $KNO_3$ | 4000.0 | มิลลิกรัม |
| Trace element mixture | 1.0 | มิลลิลิตร |

ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร โดยเติมน้ำไม่มีประจุ (deionized water) ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างให้เป็น 5.8 ด้วย NaOH หรือ HCl

* Trace element mixture สำหรับอาหาร N-8

| | | |
|---|---|---|
| $Al(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ | 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 |

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข

**ตารางที่ ข.1** ผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061

| วันที่ | ความเข้มข้นกลูโคส(g/l) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ (mg/l) | แคโรทีนอยด์ (mg/g) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 1 | 6.01 | 0.052 | 0.1250 | 0.0002 | 0.0017 | 0.1200 |
| | | 2 | 5.97 | 0.041 | 0.1100 | 0.0005 | 0.0050 | 0.1000 |
| | | 3 | 5.97 | 0.037 | 0.1150 | 0.0002 | 0.0020 | 0.1000 |
| | | 4 | 5.98 | 0.043 | 0.1120 | 0.0006 | 0.0055 | 0.1100 |
| | | เฉลี่ย | 5.98 | 0.043 | 0.1155 | 0.0004 | 0.0035 | 0.1075 |
| | 10 | 1 | 5.75 | 0.052 | 0.1050 | 0.0001 | 0.0008 | 0.1200 |
| | | 2 | 5.73 | 0.061 | 0.1100 | 0.0003 | 0.0021 | 0.1400 |
| | | 3 | 5.73 | 0.055 | 0.1000 | 0.0002 | 0.0017 | 0.1200 |
| | | 4 | 5.74 | 0.056 | 0.0990 | 0.0004 | 0.0036 | 0.1100 |
| | | เฉลี่ย | 5.74 | 0.056 | 0.1035 | 0.0003 | 0.0020 | 0.1225 |
| | 20 | 1 | 5.72 | 0.070 | 0.1200 | 0.0003 | 0.0021 | 0.1400 |
| | | 2 | 5.69 | 0.058 | 0.1100 | 0.0003 | 0.0025 | 0.1200 |
| | | 3 | 5.71 | 0.068 | 0.1250 | 0.0002 | 0.0020 | 0.1000 |
| | | 4 | 5.70 | 0.067 | 0.1130 | 0.0002 | 0.0017 | 0.1200 |
| | | เฉลี่ย | 5.71 | 0.066 | 0.1170 | 0.0003 | 0.0021 | 0.1200 |
| | 30 | 1 | 5.61 | 0.055 | 0.1200 | 0.0005 | 0.0042 | 0.1200 |
| | | 2 | 5.62 | 0.071 | 0.1150 | 0.0003 | 0.0021 | 0.1400 |
| | | 3 | 5.62 | 0.075 | 0.1550 | 0.0002 | 0.0020 | 0.1000 |
| | | 4 | 5.61 | 0.074 | 0.1190 | 0.0006 | 0.0050 | 0.1200 |
| | | เฉลี่ย | 5.62 | 0.069 | 0.1272 | 0.0004 | 0.0033 | 0.1200 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.1 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061

| วันที่ | ความเข้มข้นกลูโคส(g/l) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ (mg/l) | แคโรทีนอยด์ (mg/g) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 0 | 1 | 6.10 | 0.147 | 0.2800 | 0.0769 | 0.3204 | 0.2400 |
| | | 2 | 6.07 | 0.151 | 0.3200 | 0.0692 | 0.2473 | 0.2800 |
| | | 3 | 6.07 | 0.143 | 0.3250 | 0.0923 | 0.4013 | 0.2300 |
| | | 4 | 6.07 | 0.142 | 0.3300 | 0.0846 | 0.3524 | 0.2400 |
| | | เฉลี่ย | 6.08 | 0.146 | 0.3138 | 0.0808 | 0.3263 | 0.2475 |
| | 10 | 1 | 6.53 | 1.995 | 2.4300 | 0.7385 | 0.5769 | 1.2800 |
| | | 2 | 6.52 | 2.013 | 2.7300 | 0.6692 | 0.5397 | 1.2400 |
| | | 3 | 6.49 | 1.866 | 2.3400 | 0.6769 | 0.5835 | 1.1600 |
| | | 4 | 6.51 | 1.893 | 2.1300 | 0.6949 | 0.5649 | 1.2300 |
| | | เฉลี่ย | 6.51 | 1.942 | 2.4075 | 0.6949 | 0.5661 | 1.2275 |
| | 20 | 1 | 6.53 | 1.977 | 2.2350 | 0.5000 | 0.8333 | 0.6000 |
| | | 2 | 6.47 | 1.797 | 1.2600 | 0.6462 | 0.8284 | 0.7800 |
| | | 3 | 6.52 | 1.983 | 2.0550 | 0.5120 | 0.4339 | 1.1800 |
| | | 4 | 6.49 | 1.962 | 2.0700 | 0.5527 | 0.6427 | 0.8600 |
| | | เฉลี่ย | 6.50 | 1.930 | 1.9050 | 0.5527 | 0.6465 | 0.8550 |
| | 30 | 1 | 6.32 | 1.404 | 1.3650 | 0.6300 | 1.0161 | 0.6200 |
| | | 2 | 6.30 | 1.506 | 1.5600 | 0.6000 | 0.5660 | 1.0600 |
| | | 3 | 6.34 | 1.446 | 1.7250 | 0.4600 | 0.5610 | 0.8200 |
| | | 4 | 6.32 | 1.443 | 1.6860 | 0.6000 | 0.7595 | 0.7900 |
| | | เฉลี่ย | 6.32 | 1.450 | 1.5840 | 0.5725 | 0.6960 | 0.8225 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.1 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061

| วันที่ | ความเข้มข้นกลูโคส(g/l) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ (mg/l) | แคโรทีนอยด์ (mg/g) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 | 0 | 1 | 6.26 | 0.174 | 0.2400 | 0.2769 | 1.0651 | 0.2600 |
| | | 2 | 6.28 | 0.186 | 0.3900 | 0.2385 | 0.9936 | 0.2400 |
| | | 3 | 6.32 | 0.258 | 0.2400 | 0.2846 | 1.0947 | 0.2600 |
| | | 4 | 6.29 | 0.246 | 0.3000 | 0.2744 | 1.0974 | 0.2500 |
| | | เฉลี่ย | 6.29 | 0.216 | 0.2925 | 0.2686 | 1.0637 | 0.2525 |
| | 10 | 1 | 7.82 | 8.880 | 13.9800 | 3.3000 | 0.8462 | 3.9000 |
| | | 2 | 7.95 | 8.560 | 15.0500 | 3.6385 | 0.9834 | 3.7000 |
| | | 3 | 7.93 | 8.840 | 13.0000 | 3.5620 | 1.0210 | 3.4889 |
| | | 4 | 7.98 | 8.860 | 14.0000 | 3.5002 | 0.9068 | 3.8600 |
| | | เฉลี่ย | 7.92 | 8.785 | 14.0075 | 3.5002 | 0.9366 | 3.7372 |
| | 20 | 1 | 7.84 | 7.990 | 10.1500 | 3.0769 | 0.8962 | 3.4333 |
| | | 2 | 7.88 | 8.250 | 10.7000 | 3.0077 | 0.8566 | 3.5111 |
| | | 3 | 7.85 | 7.980 | 14.9000 | 2.9462 | 1.0957 | 2.6889 |
| | | 4 | 7.90 | 7.990 | 13.2800 | 3.0103 | 0.8504 | 3.5400 |
| | | เฉลี่ย | 6.09 | 8.053 | 12.2575 | 3.0103 | 0.9140 | 3.2933 |
| | 30 | 1 | 7.78 | 7.270 | 8.7000 | 3.2923 | 1.0288 | 3.2000 |
| | | 2 | 7.73 | 7.090 | 8.2000 | 2.6538 | 0.8561 | 3.1000 |
| | | 3 | 7.61 | 7.090 | 7.8000 | 2.9200 | 1.0069 | 2.9000 |
| | | 4 | 7.74 | 7.050 | 7.9000 | 2.9554 | 1.0191 | 2.9000 |
| | | เฉลี่ย | 7.72 | 7.125 | 8.1500 | 2.9554 | 0.9770 | 3.0250 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.1 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061

| วันที่ | ความเข้มข้นกลูโคส(g/l) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ (mg/l) | แคโรทีนอยด์ (mg/g) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9 | 0 | 1 | 6.36 | 0.393 | 0.7250 | 0.6154 | 2.0513 | 0.3000 |
| | | 2 | 6.34 | 0.424 | 0.9400 | 0.6231 | 2.3077 | 0.2700 |
| | | 3 | 6.43 | 0.537 | 0.9000 | 0.6385 | 1.9347 | 0.3300 |
| | | 4 | 6.39 | 0.531 | 0.9010 | 0.6256 | 2.2344 | 0.2800 |
| | | เฉลี่ย | 6.38 | 0.471 | 0.8665 | 0.6256 | 2.1208 | 0.2950 |
| | 10 | 1 | 8.36 | 8.720 | 14.7000 | 3.3846 | 0.8860 | 3.8200 |
| | | 2 | 8.41 | 9.120 | 11.0000 | 3.2231 | 0.8437 | 3.8200 |
| | | 3 | 8.49 | 7.960 | 14.6000 | 2.5846 | 0.6985 | 3.7000 |
| | | 4 | 8.42 | 8.260 | 13.8200 | 3.0641 | 0.7857 | 3.9000 |
| | | เฉลี่ย | 8.42 | 8.515 | 13.5300 | 3.0641 | 0.8042 | 3.8100 |
| | 20 | 1 | 8.26 | 8.460 | 11.8000 | 2.7846 | 0.8337 | 3.3400 |
| | | 2 | 8.21 | 8.560 | 13.1000 | 2.3154 | 0.6432 | 3.6000 |
| | | 3 | 8.23 | 8.380 | 10.9000 | 2.3231 | 0.8297 | 2.8000 |
| | | 4 | 8.24 | 8.460 | 11.9600 | 2.4744 | 0.7070 | 3.5000 |
| | | เฉลี่ย | 8.24 | 8.465 | 11.9400 | 2.4744 | 0.7475 | 3.3100 |
| | 30 | 1 | 8.16 | 6.780 | 7.9000 | 3.4769 | 1.0698 | 3.2500 |
| | | 2 | 8.14 | 7.360 | 8.9000 | 3.0000 | 0.9585 | 3.1300 |
| | | 3 | 8.04 | 7.980 | 9.2000 | 2.7231 | 0.9077 | 3.0000 |
| | | 4 | 8.12 | 7.880 | 9.4000 | 3.0667 | 1.0088 | 3.0400 |
| | | เฉลี่ย | 8.12 | 7.500 | 8.8500 | 3.0667 | 0.9877 | 3.1050 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.1 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061

| วันที่ | ความเข้มข้นกลูโคส(g/l) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 12 | 0 | 1 | 6.49 | 0.560 | 0.1145 | 0.8923 | 1.8590 | 0.4800 |
| | | 2 | 6.56 | 0.654 | 0.1310 | 0.8000 | 1.8182 | 0.4400 |
| | | 3 | 6.66 | 0.806 | 0.1675 | 0.8615 | 2.0513 | 0.4200 |
| | | 4 | 6.59 | 0.796 | 0.1434 | 0.8513 | 1.7735 | 0.4800 |
| | | เฉลี่ย | 6.58 | 0.704 | 0.1391 | 0.8513 | 1.8709 | 0.4550 |
| | 10 | 1 | 8.80 | 7.680 | 1.4700 | 3.6000 | 1.0997 | 3.2737 |
| | | 2 | 8.86 | 8.700 | 1.2500 | 4.1769 | 1.0962 | 3.8105 |
| | | 3 | 8.94 | 9.020 | 1.3300 | 4.7308 | 1.3141 | 3.6000 |
| | | 4 | 8.91 | 8.620 | 1.3374 | 4.1692 | 1.1238 | 3.7100 |
| | | เฉลี่ย | 8.88 | 8.505 | 1.3468 | 4.1692 | 1.1586 | 3.5986 |
| | 20 | 1 | 8.65 | 8.360 | 1.2700 | 2.8769 | 0.8282 | 3.4737 |
| | | 2 | 8.64 | 8.380 | 1.3400 | 2.5154 | 0.6694 | 3.7579 |
| | | 3 | 8.67 | 8.220 | 1.2500 | 2.5154 | 0.8818 | 2.8526 |
| | | 4 | 8.64 | 8.260 | 1.2698 | 2.6359 | 0.7561 | 3.4860 |
| | | เฉลี่ย | 8.65 | 8.305 | 1.2824 | 2.6359 | 0.7770 | 3.3926 |
| | 30 | 1 | 8.55 | 8.000 | 0.8700 | 3.4700 | 1.0600 | 3.2737 |
| | | 2 | 8.55 | 7.900 | 1.0700 | 3.1800 | 1.0104 | 3.1474 |
| | | 3 | 8.18 | 8.040 | 0.9000 | 2.7600 | 0.8298 | 3.3263 |
| | | 4 | 8.43 | 8.060 | 0.9200 | 3.1367 | 0.9137 | 3.4330 |
| | | เฉลี่ย | 8.43 | 8.000 | 0.9400 | 3.1367 | 0.9519 | 3.2951 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.1 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061

| วันที่ | ความเข้มข้นกลูโคส(g/l) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ (mg/l) | แคโรทีนอยด์ (mg/g) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 | 0 | 1 | 6.60 | 0.787 | 1.5300 | 1.3615 | 2.6696 | 0.5100 |
| | | 2 | 6.63 | 0.942 | 1.8900 | 0.7846 | 1.4530 | 0.5400 |
| | | 3 | 6.79 | 1.178 | 2.6850 | 1.6923 | 3.2544 | 0.5200 |
| | | 4 | 6.71 | 1.094 | 1.9900 | 1.2795 | 2.5088 | 0.5100 |
| | | เฉลี่ย | 6.68 | 1.000 | 2.0238 | 1.2795 | 2.4605 | 0.5200 |
| | 10 | 1 | 8.82 | 8.120 | 15.6000 | 4.3000 | 1.3942 | 3.0842 |
| | | 2 | 8.76 | 8.040 | 11.4000 | 5.1385 | 1.5901 | 3.2316 |
| | | 3 | 8.85 | 9.440 | 12.3000 | 5.9000 | 1.8080 | 3.2632 |
| | | 4 | 8.79 | 8.120 | 12.9800 | 5.1128 | 1.5675 | 3.2618 |
| | | เฉลี่ย | 8.81 | 8.430 | 13.0700 | 5.1128 | 1.5927 | 3.2102 |
| | 20 | 1 | 8.24 | 8.220 | 11.6000 | 3.1846 | 0.9985 | 3.1895 |
| | | 2 | 8.71 | 8.160 | 10.0000 | 2.7769 | 0.8706 | 3.1895 |
| | | 3 | 8.72 | 8.280 | 12.4000 | 2.8077 | 1.1497 | 2.4421 |
| | | 4 | 8.76 | 8.240 | 12.3600 | 2.9231 | 0.8444 | 3.4618 |
| | | เฉลี่ย | 8.61 | 8.225 | 11.5900 | 2.9231 | 0.9519 | 3.0707 |
| | 30 | 1 | 8.62 | 7.980 | 8.9000 | 3.6846 | 1.2546 | 2.9368 |
| | | 2 | 8.62 | 7.820 | 10.0000 | 3.3769 | 1.1794 | 2.8632 |
| | | 3 | 8.25 | 7.980 | 6.6000 | 2.9154 | 1.0071 | 2.8947 |
| | | 4 | 8.25 | 7.840 | 8.9200 | 3.3256 | 1.1786 | 2.8216 |
| | | เฉลี่ย | 8.44 | 7.905 | 8.6050 | 3.3256 | 1.1551 | 2.8791 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.1 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061

| วันที่ | ความเข้มข้นกลูโคส(g/l) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ (mg/l) | แคโรทีนอยด์ (mg/g) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 18 | 0 | 1 | 6.79 | 1.040 | 1.9300 | 1.9692 | 2.8959 | 0.6800 |
| | | 2 | 6.88 | 1.330 | 1.5900 | 2.7231 | 4.0045 | 0.6800 |
| | | 3 | 7.11 | 1.690 | 2.9200 | 3.4923 | 4.8504 | 0.7200 |
| | | 4 | 6.89 | 1.236 | 2.5200 | 2.7282 | 3.8425 | 0.7100 |
| | | เฉลี่ย | 6.92 | 1.324 | 2.2400 | 2.7282 | 3.9114 | 0.6975 |
| | 10 | 1 | 8.95 | 8.180 | 14.0000 | 3.4769 | 1.0764 | 3.2300 |
| | | 2 | 8.66 | 8.320 | 14.8000 | 3.5846 | 1.0543 | 3.4000 |
| | | 3 | 8.66 | 8.720 | 14.2000 | 4.7769 | 1.4789 | 3.2300 |
| | | 4 | 8.78 | 8.260 | 14.4000 | 3.9461 | 1.2332 | 3.2000 |
| | | เฉลี่ย | 8.76 | 8.370 | 14.3500 | 3.9461 | 1.2086 | 3.2650 |
| | 20 | 1 | 8.25 | 7.400 | 10.6000 | 3.3154 | 1.0592 | 3.1300 |
| | | 2 | 8.09 | 8.260 | 11.8000 | 3.7769 | 1.2424 | 3.0400 |
| | | 3 | 8.18 | 9.060 | 11.5000 | 3.8231 | 1.4704 | 2.6000 |
| | | 4 | 8.21 | 8.740 | 11.3000 | 3.6385 | 1.1195 | 3.2500 |
| | | เฉลี่ย | 8.18 | 8.365 | 11.3000 | 3.6385 | 1.2108 | 3.0050 |
| | 30 | 1 | 8.50 | 7.300 | 7.1000 | 3.1538 | 1.0513 | 3.0000 |
| | | 2 | 8.46 | 7.820 | 9.1000 | 3.1385 | 1.0324 | 3.0400 |
| | | 3 | 7.21 | 7.700 | 8.9000 | 2.9923 | 0.9560 | 3.1300 |
| | | 4 | 8.21 | 7.840 | 9.1200 | 3.0949 | 1.0821 | 2.8600 |
| | | เฉลี่ย | 8.10 | 7.665 | 8.5550 | 3.0949 | 1.0290 | 3.0075 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.1 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061

| วันที่ | ความเข้มข้นกลูโคส(g/l) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ (mg/l) | แคโรทีนอยด์ (mg/g) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 21 | 0 | 1 | 6.84 | 1.704 | 3.7050 | 3.2462 | 3.6888 | 0.8800 |
| | | 2 | 6.99 | 2.010 | 3.0900 | 4.2385 | 4.0754 | 1.0400 |
| | | 3 | 7.05 | 2.334 | 3.2250 | 4.7538 | 4.0981 | 1.1600 |
| | | 4 | 7.01 | 2.286 | 3.0870 | 4.0795 | 3.9607 | 1.0300 |
| | | เฉลี่ย | 6.97 | 2.084 | 3.2768 | 4.0795 | 3.9703 | 1.0275 |
| | 10 | 1 | 8.65 | 8.240 | 15.0000 | 4.2923 | 1.3326 | 3.2211 |
| | | 2 | 8.79 | 8.440 | 15.0000 | 3.0769 | 0.8939 | 3.4421 |
| | | 3 | 8.70 | 9.180 | 15.2000 | 4.3615 | 1.2518 | 3.4842 |
| | | 4 | 8.71 | 9.340 | 15.0400 | 3.9103 | 1.1259 | 3.4731 |
| | | เฉลี่ย | 8.71 | 8.800 | 15.0600 | 3.9103 | 1.1483 | 3.4051 |
| | 20 | 1 | 7.79 | 7.140 | 14.3000 | 3.2077 | 0.9862 | 3.2526 |
| | | 2 | 7.42 | 7.520 | 15.0000 | 3.2462 | 0.9916 | 3.2737 |
| | | 3 | 7.62 | 7.820 | 12.9000 | 3.1154 | 1.1516 | 2.7053 |
| | | 4 | 7.67 | 7.720 | 14.2000 | 3.1897 | 0.9925 | 3.2137 |
| | | เฉลี่ย | 7.63 | 7.550 | 14.1000 | 3.1897 | 1.0252 | 3.1113 |
| | 30 | 1 | 7.93 | 7.260 | 11.5000 | 2.6308 | 0.8114 | 3.2421 |
| | | 2 | 7.25 | 7.580 | 9.3000 | 2.9615 | 0.9224 | 3.2105 |
| | | 3 | 5.67 | 7.720 | 10.7000 | 2.6846 | 0.8335 | 3.2210 |
| | | 4 | 7.31 | 7.940 | 10.5000 | 2.7590 | 0.8803 | 3.1340 |
| | | เฉลี่ย | 7.04 | 7.625 | 10.5000 | 2.7590 | 0.8617 | 3.2019 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.2** แสดงความแตกต่างทางสถิติของจำนวนเซลล์สูงสุดที่เป็นผลจากกลูโคส 0 10 20 และ 30 กรัมต่อลิตร

**ANOVA**

Cell number

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 3.4E+016 | 3 | 1.143E+016 | 270.796 | .000 |
| Within Groups | 5.1E+014 | 12 | 4.220E+013 | | |
| Total | 3.5E+016 | 15 | | | |

**Cell number**

Duncan [a]

| | | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|
| Glucose concentration | N | 1 | 2 | 3 |
| 0 | 4 | 3E+007 | | |
| 30 | 4 | | 1E+008 | |
| 20 | 4 | | | 1E+008 |
| 10 | 4 | | | 2E+008 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | .059 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.3** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $H_2O_2$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 0 | 0 | 1 | 5.44 | 0.072 | 0.1870 | 0.0002 | 0.0018 | 0.1100 |
| | | 2 | 5.50 | 0.073 | 0.1650 | 0.0003 | 0.0025 | 0.1200 |
| | | 3 | 5.55 | 0.078 | 0.1850 | 0.0004 | 0.0033 | 0.1200 |
| | | 4 | 5.51 | 0.074 | 0.1810 | 0.0003 | 0.0027 | 0.1100 |
| | | เฉลี่ย | 5.50 | 0.074 | 0.1795 | 0.0003 | 0.0026 | 0.1150 |
| | 0.1 | 1 | 5.54 | 0.078 | 0.1870 | 0.0003 | 0.0025 | 0.1200 |
| | | 2 | 5.54 | 0.079 | 0.1250 | 0.0002 | 0.0015 | 0.1300 |
| | | 3 | 5.53 | 0.072 | 0.1590 | 0.0003 | 0.0021 | 0.1400 |
| | | 4 | 5.54 | 0.072 | 0.1610 | 0.0004 | 0.0033 | 0.1200 |
| | | เฉลี่ย | 5.54 | 0.075 | 0.1580 | 0.0003 | 0.0024 | 0.1275 |
| | 0.2 | 1 | 5.54 | 0.078 | 0.1050 | 0.0005 | 0.0042 | 0.1200 |
| | | 2 | 5.55 | 0.079 | 0.1400 | 0.0003 | 0.0023 | 0.1300 |
| | | 3 | 5.51 | 0.065 | 0.1400 | 0.0002 | 0.0014 | 0.1400 |
| | | 4 | 5.52 | 0.074 | 0.1250 | 0.0003 | 0.0025 | 0.1200 |
| | | เฉลี่ย | 5.53 | 0.074 | 0.1275 | 0.0003 | 0.0026 | 0.1275 |
| | 0.3 | 1 | 5.56 | 0.082 | 0.1450 | 0.0002 | 0.0017 | 0.1200 |
| | | 2 | 5.58 | 0.071 | 0.1250 | 0.0003 | 0.0023 | 0.1300 |
| | | 3 | 5.52 | 0.079 | 0.1800 | 0.0005 | 0.0036 | 0.1400 |
| | | 4 | 5.53 | 0.073 | 0.1250 | 0.0003 | 0.0025 | 0.1200 |
| | | เฉลี่ย | 5.55 | 0.076 | 0.1438 | 0.0003 | 0.0025 | 0.1275 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.3 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $H_2O_2$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ (x$10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 3 | 0 | 1 | 5.88 | 1.824 | 1.9200 | 0.3692 | 0.5128 | 0.7200 |
| | | 2 | 5.94 | 2.336 | 1.8400 | 0.3769 | 0.4434 | 0.8500 |
| | | 3 | 5.93 | 2.224 | 2.3600 | 0.3000 | 0.3947 | 0.7600 |
| | | 4 | 5.91 | 2.144 | 2.2000 | 0.3692 | 0.3928 | 0.9400 |
| | | เฉลี่ย | 5.92 | 2.132 | 2.0800 | 0.3538 | 0.4359 | 0.8175 |
| | 0.1 | 1 | 5.87 | 2.224 | 1.8000 | 0.2000 | 0.2273 | 0.8800 |
| | | 2 | 5.94 | 2.488 | 2.2400 | 0.1846 | 0.2098 | 0.8800 |
| | | 3 | 5.83 | 1.816 | 2.3200 | 0.2231 | 0.2656 | 0.8400 |
| | | 4 | 5.89 | 2.312 | 2.2800 | 0.2077 | 0.2308 | 0.9000 |
| | | เฉลี่ย | 5.88 | 2.210 | 2.1600 | 0.2038 | 0.2333 | 0.8750 |
| | 0.2 | 1 | 5.90 | 2.176 | 2.4000 | 0.2385 | 0.2710 | 0.8800 |
| | | 2 | 5.88 | 2.000 | 2.8000 | 0.1615 | 0.1836 | 0.8800 |
| | | 3 | 5.85 | 2.672 | 2.2400 | 0.1692 | 0.1692 | 1.0000 |
| | | 4 | 5.92 | 2.408 | 2.3600 | 0.2385 | 0.2074 | 1.1500 |
| | | เฉลี่ย | 5.89 | 2.314 | 2.4500 | 0.2019 | 0.2078 | 0.9775 |
| | 0.3 | 1 | 5.92 | 3.184 | 2.7200 | 0.2462 | 0.2797 | 0.8800 |
| | | 2 | 6.05 | 2.936 | 2.2800 | 0.1692 | 0.1923 | 0.8800 |
| | | 3 | 5.90 | 2.288 | 2.6000 | 0.1923 | 0.2599 | 0.7400 |
| | | 4 | 5.99 | 3.008 | 2.5200 | 0.1846 | 0.1810 | 1.0200 |
| | | เฉลี่ย | 5.97 | 2.854 | 2.5300 | 0.1981 | 0.2282 | 0.8800 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.3 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $H_2O_2$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ (x$10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 6 | 0 | 1 | 7.26 | 7.740 | 9.3000 | 3.8615 | 1.3742 | 2.8100 |
| | | 2 | 7.29 | 7.480 | 8.5000 | 4.0231 | 1.5239 | 2.6400 |
| | | 3 | 7.37 | 7.480 | 6.1000 | 4.3538 | 1.4610 | 2.9800 |
| | | 4 | 7.27 | 7.520 | 7.9000 | 4.3615 | 1.5521 | 2.8100 |
| | | เฉลี่ย | 7.30 | 7.555 | 7.9500 | 4.1500 | 1.4778 | 2.8100 |
| | 0.1 | 1 | 7.29 | 7.120 | 6.5000 | 3.6308 | 1.0433 | 3.4800 |
| | | 2 | 7.32 | 7.580 | 8.9000 | 3.2154 | 0.9513 | 3.3800 |
| | | 3 | 7.16 | 6.400 | 6.2000 | 3.7692 | 1.0618 | 3.5500 |
| | | 4 | 7.28 | 6.720 | 7.9000 | 3.2923 | 1.0193 | 3.2300 |
| | | เฉลี่ย | 7.26 | 6.955 | 7.3750 | 3.4769 | 1.0189 | 3.4100 |
| | 0.2 | 1 | 7.30 | 7.460 | 6.2000 | 4.3846 | 1.2599 | 3.4800 |
| | | 2 | 7.28 | 7.240 | 6.6000 | 3.1846 | 0.9422 | 3.3800 |
| | | 3 | 7.31 | 6.640 | 5.8000 | 5.0923 | 1.4345 | 3.5500 |
| | | 4 | 7.32 | 6.420 | 6.2000 | 4.4308 | 1.3718 | 3.2300 |
| | | เฉลี่ย | 7.30 | 6.940 | 6.2000 | 4.2731 | 1.2521 | 3.4100 |
| | 0.3 | 1 | 7.44 | 7.980 | 7.2000 | 3.2769 | 0.9416 | 3.4800 |
| | | 2 | 7.42 | 8.020 | 6.3000 | 4.5100 | 1.3343 | 3.3800 |
| | | 3 | 7.31 | 6.940 | 7.1000 | 3.3000 | 0.9296 | 3.5500 |
| | | 4 | 7.41 | 7.960 | 6.3600 | 3.7846 | 1.1717 | 3.2300 |
| | | เฉลี่ย | 7.40 | 7.725 | 6.7400 | 3.7179 | 1.0943 | 3.4100 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.3 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $H_2O_2$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 9 | 0 | 1 | 8.40 | 5.980 | 9.2000 | 4.1538 | 1.2981 | 3.2000 |
| | | 2 | 8.35 | 5.660 | 9.8000 | 4.3231 | 1.2943 | 3.3400 |
| | | 3 | 8.34 | 4.080 | 6.8000 | 3.9308 | 1.0740 | 3.6600 |
| | | 4 | 8.36 | 5.820 | 9.6000 | 4.0077 | 1.1787 | 3.4000 |
| | | เฉลี่ย | 8.36 | 5.385 | 8.8500 | 4.1038 | 1.2113 | 3.4000 |
| | 0.1 | 1 | 5.36 | 5.240 | 8.0000 | 4.2462 | 1.1174 | 3.8000 |
| | | 2 | 8.35 | 3.980 | 8.6000 | 4.0077 | 1.0329 | 3.8800 |
| | | 3 | 8.25 | 4.300 | 7.4000 | 4.3308 | 1.1642 | 3.7200 |
| | | 4 | 8.34 | 4.300 | 8.2000 | 4.4077 | 1.2416 | 3.5500 |
| | | เฉลี่ย | 7.58 | 4.455 | 8.0500 | 4.2481 | 1.1390 | 3.7375 |
| | 0.2 | 1 | 8.26 | 6.560 | 6.6000 | 4.1154 | 1.0830 | 3.8000 |
| | | 2 | 8.25 | 4.580 | 8.7000 | 3.9692 | 1.0230 | 3.8800 |
| | | 3 | 8.29 | 5.460 | 8.9000 | 4.1846 | 1.1249 | 3.7200 |
| | | 4 | 8.28 | 5.920 | 8.9000 | 4.0231 | 1.2191 | 3.3000 |
| | | เฉลี่ย | 8.27 | 5.630 | 8.2750 | 4.0731 | 1.1125 | 3.6750 |
| | 0.3 | 1 | 8.04 | 5.520 | 9.0000 | 4.0615 | 1.0688 | 3.8000 |
| | | 2 | 8.28 | 5.280 | 7.9000 | 3.9615 | 1.0210 | 3.8800 |
| | | 3 | 8.42 | 5.100 | 7.6000 | 3.5308 | 0.9491 | 3.7200 |
| | | 4 | 8.26 | 5.340 | 7.9000 | 3.9385 | 1.1094 | 3.5500 |
| | | เฉลี่ย | 8.25 | 5.310 | 8.1000 | 3.8731 | 1.0371 | 3.7375 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.3 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $H_2O_2$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 12 | 0 | 1 | 8.81 | 6.920 | 9.1000 | 4.1500 | 1.1823 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.81 | 7.480 | 7.2000 | 4.6667 | 1.3566 | 3.4400 |
| | | 3 | 8.83 | 7.140 | 9.3000 | 4.0900 | 1.2984 | 3.1500 |
| | | 4 | 8.84 | 7.520 | 8.4000 | 4.6667 | 1.4403 | 3.2400 |
| | | เฉลี่ย | 8.82 | 7.265 | 8.5000 | 4.3933 | 1.3194 | 3.3350 |
| | 0.1 | 1 | 8.79 | 7.180 | 8.8000 | 3.1966 | 0.9107 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.85 | 7.680 | 9.6000 | 3.9829 | 1.1003 | 3.6200 |
| | | 3 | 8.69 | 8.880 | 10.6000 | 3.6923 | 1.1722 | 3.1500 |
| | | 4 | 8.81 | 8.260 | 9.8000 | 4.3419 | 1.2405 | 3.5000 |
| | | เฉลี่ย | 8.79 | 8.000 | 9.7000 | 3.8034 | 1.1059 | 3.4450 |
| | 0.2 | 1 | 8.70 | 8.320 | 8.4000 | 3.9487 | 1.1250 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.60 | 8.440 | 8.2000 | 4.1026 | 1.1333 | 3.6200 |
| | | 3 | 8.76 | 8.220 | 8.8000 | 3.7949 | 0.9987 | 3.8000 |
| | | 4 | 8.71 | 8.240 | 8.6000 | 3.6410 | 1.0403 | 3.5000 |
| | | เฉลี่ย | 8.69 | 8.305 | 8.5000 | 3.8718 | 1.0743 | 3.6075 |
| | 0.3 | 1 | 8.77 | 8.860 | 9.4000 | 4.1709 | 1.1883 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.87 | 8.500 | 10.8000 | 3.5726 | 0.9869 | 3.6200 |
| | | 3 | 8.81 | 8.480 | 10.4000 | 3.3504 | 0.8748 | 3.8300 |
| | | 4 | 8.89 | 8.620 | 10.6000 | 3.4359 | 0.9817 | 3.5000 |
| | | เฉลี่ย | 8.84 | 8.615 | 10.3000 | 3.6325 | 1.0079 | 3.6150 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.3 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $H_2O_2$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 15 | 0 | 1 | 8.90 | 7.540 | 11.7000 | 4.0900 | 1.2623 | 3.2400 |
| | | 2 | 8.84 | 7.860 | 11.1000 | 4.6800 | 1.4054 | 3.3300 |
| | | 3 | 8.86 | 7.360 | 9.4000 | 4.2000 | 1.2613 | 3.3300 |
| | | 4 | 8.87 | 7.560 | 9.8000 | 4.6000 | 1.5033 | 3.0600 |
| | | เฉลี่ย | 8.87 | 7.580 | 10.5000 | 4.3925 | 1.3581 | 3.2400 |
| | 0.1 | 1 | 8.82 | 7.680 | 7.7000 | 3.9700 | 1.1311 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.75 | 7.060 | 9.0000 | 4.1700 | 1.1746 | 3.5500 |
| | | 3 | 8.75 | 7.180 | 8.1000 | 4.4300 | 1.2137 | 3.6500 |
| | | 4 | 8.86 | 7.120 | 8.3000 | 4.2800 | 1.2299 | 3.4800 |
| | | เฉลี่ย | 8.80 | 7.260 | 8.2750 | 4.2125 | 1.1873 | 3.5475 |
| | 0.2 | 1 | 8.86 | 7.660 | 8.4000 | 3.9200 | 1.1168 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.84 | 7.640 | 9.1000 | 4.4500 | 1.3485 | 3.3000 |
| | | 3 | 8.84 | 7.720 | 11.1000 | 4.6700 | 1.2387 | 3.7700 |
| | | 4 | 8.83 | 7.700 | 9.3400 | 4.3000 | 1.2356 | 3.4800 |
| | | เฉลี่ย | 8.84 | 7.680 | 9.4850 | 4.3350 | 1.2349 | 3.5150 |
| | 0.3 | 1 | 8.86 | 7.460 | 7.2000 | 4.4000 | 1.2536 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.81 | 7.500 | 9.3000 | 4.7200 | 1.3296 | 3.5500 |
| | | 3 | 8.90 | 7.340 | 7.2000 | 3.8700 | 1.0750 | 3.6000 |
| | | 4 | 8.79 | 7.560 | 7.8000 | 4.2400 | 1.2184 | 3.4800 |
| | | เฉลี่ย | 8.84 | 7.465 | 7.8750 | 4.3075 | 1.2191 | 3.5350 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.3 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $H_2O_2$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 18 | 0 | 1 | 8.56 | 5.300 | 9.2000 | 4.7538 | 1.5092 | 3.1500 |
| | | 2 | 8.50 | 5.860 | 10.2000 | 5.1385 | 1.6313 | 3.1500 |
| | | 3 | 8.50 | 5.440 | 10.1000 | 5.4154 | 1.8051 | 3.0000 |
| | | 4 | 8.51 | 5.680 | 10.0200 | 5.2615 | 1.7716 | 2.9700 |
| | | เฉลี่ย | 8.52 | 5.570 | 9.8800 | 5.1423 | 1.6793 | 3.0675 |
| | 0.1 | 1 | 8.47 | 5.840 | 9.9000 | 5.0308 | 1.4333 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.53 | 6.060 | 7.9000 | 5.0769 | 1.4025 | 3.6200 |
| | | 3 | 8.49 | 6.060 | 11.1000 | 4.7077 | 1.2723 | 3.7000 |
| | | 4 | 8.50 | 6.020 | 9.9800 | 4.8615 | 1.3890 | 3.5000 |
| | | เฉลี่ย | 8.50 | 5.995 | 9.7200 | 4.9192 | 1.3743 | 3.5825 |
| | 0.2 | 1 | 8.43 | 5.820 | 7.6000 | 4.5385 | 1.2930 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.39 | 6.020 | 8.7000 | 5.0154 | 1.3855 | 3.6200 |
| | | 3 | 8.44 | 5.960 | 9.5000 | 5.8923 | 1.5925 | 3.7000 |
| | | 4 | 8.41 | 5.980 | 9.0000 | 5.2769 | 1.6287 | 3.2400 |
| | | เฉลี่ย | 8.42 | 5.945 | 8.7000 | 5.1808 | 1.4749 | 3.5175 |
| | 0.3 | 1 | 8.60 | 6.460 | 10.2000 | 5.4923 | 1.5648 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.43 | 6.640 | 11.0000 | 5.3538 | 1.4790 | 3.6200 |
| | | 3 | 8.50 | 6.160 | 11.8000 | 5.9231 | 1.6008 | 3.7000 |
| | | 4 | 8.55 | 6.480 | 11.2000 | 5.3538 | 1.5297 | 3.5000 |
| | | เฉลี่ย | 8.52 | 6.435 | 11.0500 | 5.5308 | 1.5436 | 3.5825 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.3 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $H_2O_2$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ (x$10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 21 | 0 | 1 | 8.90 | 6.314 | 11.2000 | 3.8615 | 1.2457 | 3.1000 |
| | | 2 | 8.90 | 6.200 | 9.2000 | 5.0769 | 1.7628 | 2.8800 |
| | | 3 | 8.89 | 6.340 | 11.6000 | 5.5846 | 1.9391 | 2.8800 |
| | | 4 | 8.89 | 6.270 | 11.0600 | 5.0262 | 1.5513 | 3.2400 |
| | | เฉลี่ย | 8.89 | 6.281 | 10.7650 | 4.8873 | 1.6247 | 3.0250 |
| | 0.1 | 1 | 8.82 | 6.220 | 11.6000 | 4.3077 | 1.2273 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.86 | 6.080 | 11.3000 | 5.5077 | 1.5299 | 3.6000 |
| | | 3 | 8.83 | 6.180 | 11.3000 | 4.2462 | 1.3480 | 3.1500 |
| | | 4 | 8.85 | 6.120 | 11.5000 | 4.6262 | 1.4278 | 3.2400 |
| | | เฉลี่ย | 8.84 | 6.150 | 11.4250 | 4.6719 | 1.3832 | 3.3750 |
| | 0.2 | 1 | 8.80 | 6.060 | 8.9000 | 5.1769 | 1.4749 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.79 | 5.960 | 9.4000 | 4.4769 | 1.2436 | 3.6000 |
| | | 3 | 8.81 | 5.940 | 10.5000 | 5.2846 | 1.6777 | 3.1500 |
| | | 4 | 8.81 | 5.950 | 10.4000 | 5.0877 | 1.5703 | 3.2400 |
| | | เฉลี่ย | 8.80 | 5.978 | 9.8000 | 5.0065 | 1.4916 | 3.3750 |
| | 0.3 | 1 | 8.79 | 5.560 | 10.0000 | 4.6000 | 1.3105 | 3.5100 |
| | | 2 | 8.77 | 5.880 | 11.0000 | 5.6154 | 1.5598 | 3.6000 |
| | | 3 | 8.85 | 5.700 | 10.0000 | 4.6000 | 1.4603 | 3.1500 |
| | | 4 | 8.86 | 5.853 | 10.3200 | 5.2662 | 1.6254 | 3.2400 |
| | | เฉลี่ย | 8.82 | 5.748 | 10.3300 | 5.0204 | 1.4890 | 3.3750 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.4** แสดงความแตกต่างทางสถิติของปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่เป็นผลจากการชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์

**ANOVA**

Carotenoid (mg/l)

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .767 | 3 | .256 | 2.047 | .161 |
| Within Groups | 1.499 | 12 | .125 | | |
| Total | 2.266 | 15 | | | |

**Carotenoid (mg/l)**

Duncan[a]

| Hydrogenperoxide (mmol) | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| .1 | 4 | 4.919225 | |
| .0 | 4 | 5.142300 | 5.142300 |
| .2 | 4 | 5.180775 | 5.180775 |
| .3 | 4 | | 5.530750 |
| Sig. | | .339 | .164 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.5** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $FeSO_4$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 0 | 0 | 1 | 5.53 | 0.0700 | 0.1760 | 0.0006 | 0.0050 | 0.1200 |
| | | 2 | 5.54 | 0.0760 | 0.1690 | 0.0003 | 0.0020 | 0.1500 |
| | | 3 | 5.54 | 0.0710 | 0.1810 | 0.0004 | 0.0029 | 0.1400 |
| | | 4 | 5.56 | 0.0730 | 0.1760 | 0.0003 | 0.0023 | 0.1300 |
| | | เฉลี่ย | 5.54 | 0.0725 | 0.1755 | 0.0004 | 0.0030 | 0.1350 |
| | 0.1 | 1 | 5.51 | 0.0790 | 0.1870 | 0.0005 | 0.0038 | 0.1300 |
| | | 2 | 5.53 | 0.0800 | 0.1390 | 0.0004 | 0.0031 | 0.1300 |
| | | 3 | 5.53 | 0.0810 | 0.1500 | 0.0004 | 0.0033 | 0.1200 |
| | | 4 | 5.52 | 0.0760 | 0.1810 | 0.0003 | 0.0019 | 0.1600 |
| | | เฉลี่ย | 5.52 | 0.0790 | 0.1643 | 0.0004 | 0.0030 | 0.1350 |
| | 0.2 | 1 | 5.52 | 0.0730 | 0.1930 | 0.0005 | 0.0045 | 0.1100 |
| | | 2 | 5.54 | 0.0690 | 0.1870 | 0.0006 | 0.0046 | 0.1300 |
| | | 3 | 5.53 | 0.0710 | 0.1790 | 0.0002 | 0.0017 | 0.1200 |
| | | 4 | 5.56 | 0.0670 | 0.1810 | 0.0004 | 0.0031 | 0.1300 |
| | | เฉลี่ย | 5.54 | 0.0700 | 0.1850 | 0.0004 | 0.0035 | 0.1225 |
| | 0.3 | 1 | 5.51 | 0.0710 | 0.1760 | 0.0003 | 0.0025 | 0.1200 |
| | | 2 | 5.53 | 0.0720 | 0.1640 | 0.0002 | 0.0015 | 0.1300 |
| | | 3 | 5.53 | 0.0710 | 0.1720 | 0.0006 | 0.0043 | 0.1400 |
| | | 4 | 5.52 | 0.0730 | 0.1810 | 0.0005 | 0.0042 | 0.1200 |
| | | เฉลี่ย | 5.52 | 0.0718 | 0.1733 | 0.0004 | 0.0031 | 0.1275 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.5 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $FeSO_4$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 3 | 0 | 1 | 6.34 | 1.5480 | 1.9050 | 0.5923 | 0.6044 | 0.9800 |
| | | 2 | 6.24 | 1.0950 | 1.3800 | 0.4308 | 0.4895 | 0.8800 |
| | | 3 | 6.25 | 1.4040 | 1.5030 | 0.5154 | 0.5664 | 0.9100 |
| | | 4 | 6.31 | 1.4730 | 1.8300 | 0.5462 | 0.5517 | 0.9900 |
| | | เฉลี่ย | 6.29 | 1.3800 | 1.6545 | 0.5212 | 0.5530 | 0.9400 |
| | 0.1 | 1 | 6.18 | 0.9030 | 1.1100 | 0.4000 | 0.4000 | 1.0000 |
| | | 2 | 6.27 | 1.2390 | 1.9200 | 0.4769 | 0.7226 | 0.6600 |
| | | 3 | 6.31 | 1.2780 | 1.6500 | 0.5462 | 0.4514 | 1.2100 |
| | | 4 | 6.19 | 1.2360 | 1.7700 | 0.5692 | 0.5636 | 1.0100 |
| | | เฉลี่ย | 6.24 | 1.1640 | 1.6125 | 0.4981 | 0.5344 | 0.9700 |
| | 0.2 | 1 | 6.23 | 0.9990 | 2.0100 | 0.5385 | 0.4487 | 1.2000 |
| | | 2 | 6.24 | 1.0440 | 1.8450 | 0.4769 | 0.4867 | 0.9800 |
| | | 3 | 6.25 | 1.0140 | 2.0130 | 0.5462 | 0.5201 | 1.0500 |
| | | 4 | 6.21 | 1.0290 | 1.7700 | 0.5692 | 0.6056 | 0.9400 |
| | | เฉลี่ย | 6.23 | 1.0215 | 1.9095 | 0.5327 | 0.5153 | 1.0425 |
| | 0.3 | 1 | 6.15 | 0.7440 | 1.1400 | 0.4615 | 0.5367 | 0.8600 |
| | | 2 | 6.22 | 0.8610 | 1.4400 | 0.4538 | 0.4538 | 1.0000 |
| | | 3 | 6.21 | 0.8580 | 1.3500 | 0.4692 | 0.4939 | 0.9500 |
| | | 4 | 6.22 | 0.7770 | 1.5300 | 0.4077 | 0.4480 | 0.9100 |
| | | เฉลี่ย | 6.20 | 0.8100 | 1.3650 | 0.4481 | 0.4831 | 0.9300 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.5 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $FeSO_4$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 6 | 0 | 1 | 7.18 | 5.3800 | 5.9000 | 1.1923 | 0.4367 | 2.7300 |
| | | 2 | 7.12 | 5.7200 | 3.9000 | 1.4231 | 0.5213 | 2.7300 |
| | | 3 | 7.13 | 5.6800 | 5.9600 | 1.3269 | 0.4070 | 3.2600 |
| | | 4 | 7.15 | 5.6200 | 4.6200 | 1.3654 | 0.5001 | 2.7300 |
| | | เฉลี่ย | 7.15 | 5.6000 | 5.0950 | 1.3269 | 0.4663 | 2.8625 |
| | 0.1 | 1 | 7.08 | 4.9400 | 5.3000 | 1.2500 | 0.5625 | 2.2222 |
| | | 2 | 7.22 | 5.1800 | 5.5000 | 0.9615 | 0.4808 | 2.0000 |
| | | 3 | 7.12 | 4.9600 | 5.6200 | 1.3269 | 0.5971 | 2.2222 |
| | | 4 | 7.19 | 5.0200 | 5.4800 | 1.3462 | 0.5881 | 2.2889 |
| | | เฉลี่ย | 7.15 | 5.0250 | 5.4750 | 1.2212 | 0.5571 | 2.1833 |
| | 0.2 | 1 | 7.16 | 4.7600 | 7.3000 | 1.0000 | 0.4456 | 2.2444 |
| | | 2 | 7.14 | 4.9400 | 6.2000 | 1.0962 | 0.4933 | 2.2222 |
| | | 3 | 7.13 | 4.8800 | 6.2400 | 1.1731 | 0.5305 | 2.2111 |
| | | 4 | 7.15 | 4.7800 | 6.2800 | 1.1346 | 0.5007 | 2.2660 |
| | | เฉลี่ย | 7.15 | 4.8400 | 6.5050 | 1.1010 | 0.4925 | 2.2359 |
| | 0.3 | 1 | 7.12 | 5.0000 | 6.9000 | 1.0238 | 0.4749 | 2.1556 |
| | | 2 | 7.15 | 5.7600 | 6.7000 | 1.0115 | 0.4948 | 2.0444 |
| | | 3 | 7.13 | 5.9600 | 6.9000 | 1.0123 | 0.4967 | 2.0380 |
| | | 4 | 7.14 | 5.6200 | 7.1000 | 1.0307 | 0.4704 | 2.1910 |
| | | เฉลี่ย | 7.14 | 5.5850 | 6.9000 | 1.0196 | 0.4842 | 2.1073 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.5 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $FeSO_4$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 9 | 0 | 1 | 7.26 | 5.4600 | 6.8000 | 3.0615 | 0.9876 | 3.1000 |
| | | 2 | 7.25 | 6.4800 | 5.5000 | 2.6000 | 0.7172 | 3.6250 |
| | | 3 | 7.27 | 7.2800 | 5.9000 | 3.2308 | 0.8732 | 3.7000 |
| | | 4 | 7.24 | 7.4200 | 5.9800 | 3.0308 | 0.8169 | 3.7100 |
| | | เฉลี่ย | 7.26 | 6.6600 | 6.0450 | 2.9808 | 0.8487 | 3.5338 |
| | 0.1 | 1 | 7.26 | 5.5000 | 6.2000 | 2.2769 | 0.7060 | 3.2250 |
| | | 2 | 7.25 | 5.8200 | 6.2000 | 2.6462 | 0.8400 | 3.1500 |
| | | 3 | 7.24 | 5.8800 | 6.4000 | 2.7385 | 0.8426 | 3.2500 |
| | | 4 | 7.29 | 5.7000 | 6.0200 | 2.4000 | 0.7430 | 3.2300 |
| | | เฉลี่ย | 7.26 | 5.7250 | 6.2050 | 2.5154 | 0.7829 | 3.2138 |
| | 0.2 | 1 | 7.23 | 5.8200 | 6.4000 | 2.6769 | 0.8566 | 3.1250 |
| | | 2 | 7.23 | 5.8000 | 6.2000 | 2.6923 | 0.8685 | 3.1000 |
| | | 3 | 7.24 | 6.0200 | 6.4000 | 2.7077 | 0.8623 | 3.1400 |
| | | 4 | 7.25 | 5.9600 | 6.2400 | 2.6615 | 0.8503 | 3.1300 |
| | | เฉลี่ย | 7.24 | 5.9000 | 6.3100 | 2.6846 | 0.8594 | 3.1238 |
| | 0.3 | 1 | 7.22 | 6.1800 | 6.4000 | 2.1077 | 0.6587 | 3.2000 |
| | | 2 | 7.23 | 5.9600 | 6.8000 | 2.3385 | 0.7424 | 3.1500 |
| | | 3 | 7.24 | 5.9800 | 6.6000 | 2.2000 | 0.6832 | 3.2200 |
| | | 4 | 7.22 | 6.0200 | 6.4000 | 2.3231 | 0.7282 | 3.1900 |
| | | เฉลี่ย | 7.23 | 6.0350 | 6.5500 | 2.2423 | 0.7031 | 3.1900 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.5 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $FeSO_4$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 12 | 0 | 1 | 7.03 | 5.2800 | 7.5000 | 3.4000 | 0.8662 | 3.9250 |
| | | 2 | 7.05 | 5.9400 | 7.7000 | 3.1154 | 0.7837 | 3.9750 |
| | | 3 | 7.04 | 5.9600 | 7.8200 | 2.6538 | 0.7251 | 3.6600 |
| | | 4 | 7.03 | 5.5600 | 7.7800 | 3.1300 | 0.8817 | 3.5500 |
| | | เฉลี่ย | 7.04 | 5.6850 | 7.7000 | 3.0748 | 0.8142 | 3.7775 |
| | 0.1 | 1 | 6.97 | 5.7000 | 5.1000 | 3.0577 | 0.8209 | 3.7250 |
| | | 2 | 7.17 | 5.3200 | 6.2000 | 2.6154 | 0.5844 | 4.4750 |
| | | 3 | 6.99 | 5.5400 | 6.4000 | 2.4808 | 0.6176 | 4.0170 |
| | | 4 | 7.01 | 5.8200 | 6.6000 | 3.4300 | 0.8309 | 4.1280 |
| | | เฉลี่ย | 7.04 | 5.5950 | 6.0750 | 2.8960 | 0.7134 | 4.0863 |
| | 0.2 | 1 | 7.10 | 5.6200 | 4.9000 | 2.4231 | 0.6684 | 3.6250 |
| | | 2 | 7.07 | 5.5000 | 5.6000 | 2.6731 | 0.6683 | 4.0000 |
| | | 3 | 7.01 | 4.7800 | 5.4000 | 2.4808 | 0.5935 | 4.1800 |
| | | 4 | 7.11 | 5.6200 | 5.6000 | 2.6923 | 0.6681 | 4.0300 |
| | | เฉลี่ย | 7.07 | 5.3800 | 5.3750 | 2.5673 | 0.6496 | 3.9588 |
| | 0.3 | 1 | 7.00 | 5.8400 | 5.5000 | 2.5500 | 0.6497 | 3.9250 |
| | | 2 | 7.10 | 5.6600 | 5.8000 | 2.6923 | 0.7376 | 3.6500 |
| | | 3 | 7.01 | 5.1800 | 5.7200 | 2.6731 | 0.7072 | 3.7800 |
| | | 4 | 7.11 | 5.9800 | 5.8200 | 2.8462 | 0.7490 | 3.8000 |
| | | เฉลี่ย | 7.06 | 5.6650 | 5.7100 | 2.6904 | 0.7109 | 3.7888 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.5 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $FeSO_4$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 15 | 0 | 1 | 7.27 | 5.9000 | 8.4000 | 4.2900 | 1.1364 | 3.7750 |
| | | 2 | 7.35 | 6.3400 | 8.2000 | 3.7400 | 1.1508 | 3.2500 |
| | | 3 | 7.31 | 6.1200 | 8.2600 | 4.0700 | 1.1060 | 3.6800 |
| | | 4 | 7.33 | 6.3400 | 8.4000 | 3.6800 | 0.9534 | 3.8600 |
| | | เฉลี่ย | 7.32 | 6.1750 | 8.3150 | 3.9450 | 1.0866 | 3.6413 |
| | 0.1 | 1 | 7.24 | 6.2600 | 5.6000 | 1.6538 | 0.4531 | 3.6500 |
| | | 2 | 7.18 | 6.0200 | 7.0000 | 1.9615 | 0.5487 | 3.5750 |
| | | 3 | 7.28 | 6.1200 | 6.2000 | 1.9808 | 0.5487 | 3.6100 |
| | | 4 | 7.21 | 6.2200 | 7.2000 | 2.0385 | 0.5662 | 3.6000 |
| | | เฉลี่ย | 7.23 | 6.1550 | 6.5000 | 1.9087 | 0.5292 | 3.6088 |
| | 0.2 | 1 | 7.18 | 6.3200 | 5.5000 | 1.8654 | 0.5218 | 3.5750 |
| | | 2 | 7.07 | 6.2200 | 6.3000 | 1.4231 | 0.3846 | 3.7000 |
| | | 3 | 7.16 | 6.4200 | 6.5000 | 1.7500 | 0.4605 | 3.8000 |
| | | 4 | 7.09 | 6.2400 | 6.2200 | 1.8654 | 0.5182 | 3.6000 |
| | | เฉลี่ย | 7.13 | 6.3000 | 6.1300 | 1.7260 | 0.4713 | 3.6688 |
| | 0.3 | 1 | 7.16 | 6.4200 | 6.0000 | 1.8846 | 0.5199 | 3.6250 |
| | | 2 | 7.11 | 6.3400 | 6.5000 | 1.7500 | 0.4730 | 3.7000 |
| | | 3 | 7.12 | 6.4200 | 6.4200 | 1.9038 | 0.5010 | 3.8000 |
| | | 4 | 7.13 | 6.6800 | 6.3800 | 1.7500 | 0.4861 | 3.6000 |
| | | เฉลี่ย | 7.13 | 6.4650 | 6.3250 | 1.8221 | 0.4950 | 3.6813 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.5 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $FeSO_4$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 18 | 0 | 1 | 7.23 | 6.7800 | 4.3000 | 3.9600 | 1.0421 | 3.8000 |
| | | 2 | 7.27 | 6.7600 | 5.5000 | 4.1800 | 1.2204 | 3.4250 |
| | | 3 | 7.24 | 6.7800 | 5.3000 | 3.4000 | 0.9645 | 3.5250 |
| | | 4 | 7.26 | 6.6800 | 5.7000 | 3.8000 | 1.0556 | 3.6000 |
| | | เฉลี่ย | 7.25 | 6.7500 | 5.2000 | 3.8350 | 1.0707 | 3.5875 |
| | 0.1 | 1 | 7.23 | 7.2000 | 7.0000 | 1.5385 | 0.4459 | 3.4500 |
| | | 2 | 7.13 | 6.7200 | 6.8000 | 1.7885 | 0.5245 | 3.4100 |
| | | 3 | 7.13 | 6.9200 | 7.2000 | 1.7500 | 0.5303 | 3.3000 |
| | | 4 | 7.28 | 6.6200 | 7.4000 | 1.7115 | 0.4990 | 3.4300 |
| | | เฉลี่ย | 7.19 | 6.8650 | 7.1000 | 1.6971 | 0.4999 | 3.3975 |
| | 0.2 | 1 | 7.23 | 6.9000 | 5.9000 | 2.1154 | 0.6362 | 3.3250 |
| | | 2 | 7.15 | 7.0600 | 6.0000 | 1.7692 | 0.5321 | 3.3250 |
| | | 3 | 7.21 | 7.3600 | 6.2000 | 1.7885 | 0.4834 | 3.7000 |
| | | 4 | 7.19 | 7.4000 | 6.4000 | 2.1154 | 0.5780 | 3.6600 |
| | | เฉลี่ย | 7.20 | 7.1800 | 6.1250 | 1.9471 | 0.5574 | 3.5025 |
| | 0.3 | 1 | 7.16 | 6.9800 | 5.1000 | 1.7115 | 0.5186 | 3.3000 |
| | | 2 | 7.15 | 6.8000 | 4.9000 | 1.5577 | 0.4685 | 3.3250 |
| | | 3 | 7.16 | 6.8200 | 4.7800 | 1.5577 | 0.4690 | 3.3210 |
| | | 4 | 7.16 | 7.0000 | 5.0000 | 1.6538 | 0.5152 | 3.2100 |
| | | เฉลี่ย | 7.16 | 6.9000 | 4.9450 | 1.6202 | 0.4928 | 3.2890 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.5 (ต่อ)** ผลการทดลองศึกษาการชักนำการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Chlorella* sp. P48061 ด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

| วันที่ | ความเข้มข้น $FeSO_4$(mM) | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ ($x10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 21 | 0 | 1 | 6.94 | 5.1600 | 4.8000 | 1.7885 | 0.4586 | 3.9000 |
| | | 2 | 7.10 | 6.0000 | 4.4000 | 2.4423 | 0.7379 | 3.3100 |
| | | 3 | 7.01 | 5.9600 | 5.2000 | 2.6346 | 0.6933 | 3.8000 |
| | | 4 | 7.02 | 5.5600 | 4.4000 | 2.2885 | 0.6022 | 3.8000 |
| | | เฉลี่ย | 7.02 | 5.6700 | 4.7000 | 2.2885 | 0.6230 | 3.7025 |
| | 0.1 | 1 | 7.00 | 7.0400 | 6.2000 | 1.8654 | 0.5255 | 3.5500 |
| | | 2 | 7.10 | 6.7200 | 6.6800 | 2.3846 | 0.6813 | 3.5000 |
| | | 3 | 7.06 | 7.0000 | 6.3600 | 2.5192 | 0.7218 | 3.4900 |
| | | 4 | 7.08 | 6.9600 | 6.4000 | 2.4808 | 0.7068 | 3.5100 |
| | | เฉลี่ย | 7.06 | 6.9300 | 6.4100 | 2.3125 | 0.6588 | 3.5125 |
| | 0.2 | 1 | 6.99 | 6.0000 | 5.7400 | 1.9423 | 0.5630 | 3.4500 |
| | | 2 | 7.01 | 6.2000 | 6.2000 | 1.8077 | 0.5317 | 3.4000 |
| | | 3 | 7.03 | 6.0000 | 6.1600 | 1.8846 | 0.5094 | 3.7000 |
| | | 4 | 7.02 | 6.1600 | 6.3200 | 1.9038 | 0.4958 | 3.8400 |
| | | เฉลี่ย | 7.01 | 6.0900 | 6.1050 | 1.8846 | 0.5250 | 3.5975 |
| | 0.3 | 1 | 6.90 | 6.1200 | 3.8000 | 1.9038 | 0.5288 | 3.6000 |
| | | 2 | 6.94 | 5.8000 | 4.2000 | 1.8269 | 0.5656 | 3.2300 |
| | | 3 | 6.91 | 6.1200 | 4.0400 | 1.8462 | 0.5305 | 3.4800 |
| | | 4 | 6.96 | 6.2000 | 4.0800 | 1.9038 | 0.5600 | 3.4000 |
| | | เฉลี่ย | 6.93 | 6.0600 | 4.0300 | 1.8702 | 0.5462 | 3.4275 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.6** แสดงความแตกต่างทางสถิติของปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่เป็นผลจากการชักนำด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต 0 0.1 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิโมลาร์

**ANOVA**

Carotenoid (mg/l)

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 4.350 | 3 | 1.450 | 20.356 | .000 |
| Within Groups | .855 | 12 | .071 | | |
| Total | 5.205 | 15 | | | |

**Carotenoid (mg/l)**

Duncan[a]

| | | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| Ferrous sulfate (mmol) | N | 1 | 2 |
| .2 | 4 | 2.684600 | |
| .3 | 4 | 2.690400 | |
| .1 | 4 | 2.895975 | |
| .0 | 4 | | 3.945000 |
| Sig. | | .308 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.7** การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่องในระดับฟลาสก์

| วันที่ | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ (x $10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 0 | 1 | 5.87 | 0.051 | 0.0650 | 0.0002 | 0.0017 | 0.1200 |
| | 2 | 5.88 | 0.048 | 0.0750 | 0.0003 | 0.0023 | 0.1300 |
| | 3 | 5.87 | 0.049 | 0.0500 | 0.0002 | 0.0020 | 0.1000 |
| | 4 | 5.86 | 0.048 | 0.0700 | 0.0006 | 0.0055 | 0.1100 |
| | เฉลี่ย | 5.87 | 0.049 | 0.0650 | 0.0003 | 0.0028 | 0.1150 |
| 3 | 1 | 6.11 | 0.245 | 0.3400 | 0.4800 | 1.8462 | 0.2600 |
| | 2 | 6.10 | 0.213 | 0.2900 | 0.3300 | 2.5385 | 0.1300 |
| | 3 | 6.10 | 0.219 | 0.3000 | 0.4462 | 4.0559 | 0.1100 |
| | 4 | 6.07 | 0.203 | 0.2800 | 0.3846 | 3.2051 | 0.1200 |
| | เฉลี่ย | 6.10 | 0.220 | 0.3025 | 0.4102 | 2.6464 | 0.1550 |
| 6 | 1 | 6.35 | 0.409 | 0.5950 | 0.6308 | 1.3141 | 0.4800 |
| | 2 | 6.34 | 0.383 | 0.4650 | 0.7538 | 2.2172 | 0.3400 |
| | 3 | 6.35 | 0.388 | 0.5650 | 1.5100 | 4.0811 | 0.3700 |
| | 4 | 6.25 | 0.321 | 0.6400 | 1.0000 | 2.9412 | 0.3400 |
| | เฉลี่ย | 6.32 | 0.375 | 0.5663 | 0.9737 | 2.5455 | 0.3825 |
| 9 | 1 | 6.57 | 1.024 | 1.9900 | 1.7308 | 2.8846 | 0.6000 |
| | 2 | 6.63 | 1.064 | 1.7850 | 1.9038 | 3.3110 | 0.5750 |
| | 3 | 6.62 | 1.104 | 1.7950 | 2.1731 | 2.8974 | 0.7500 |
| | 4 | 6.62 | 1.096 | 2.1650 | 1.6154 | 2.0192 | 0.8000 |
| | เฉลี่ย | 6.61 | 1.072 | 1.9338 | 1.8558 | 2.7241 | 0.6813 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.7 (ต่อ)** การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่องในระดับฟลาสก์

| วันที่ | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ (x $10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 12 | 1 | 6.72 | 1.412 | 3.0400 | 1.3846 | 1.4201 | 0.9750 |
| | 2 | 6.74 | 1.432 | 2.9000 | 2.2885 | 2.1795 | 1.0500 |
| | 3 | 6.75 | 1.460 | 2.8400 | 2.2756 | 1.7848 | 1.2750 |
| | 4 | 6.75 | 1.472 | 3.4600 | 2.1998 | 2.3782 | 0.9250 |
| | เฉลี่ย | 6.74 | 1.444 | 3.0600 | 2.0371 | 1.9286 | 1.0563 |
| 15 | 1 | 6.93 | 2.448 | 5.6000 | 1.7500 | 1.6279 | 1.0750 |
| | 2 | 6.95 | 2.764 | 5.0400 | 1.9615 | 2.4519 | 0.8000 |
| | 3 | 7.06 | 2.552 | 5.3400 | 2.5000 | 2.5000 | 1.0000 |
| | 4 | 6.96 | 2.444 | 5.3800 | 2.4000 | 2.5263 | 0.9500 |
| | เฉลี่ย | 6.98 | 2.552 | 5.3400 | 2.1529 | 2.2514 | 0.9563 |
| 18 | 1 | 7.28 | 2.232 | 6.0600 | 1.3654 | 1.0923 | 1.2500 |
| | 2 | 7.50 | 2.484 | 5.0800 | 1.4231 | 1.2650 | 1.1250 |
| | 3 | 7.78 | 2.764 | 6.9000 | 1.4038 | 1.1699 | 1.2000 |
| | 4 | 7.58 | 2.520 | 5.1800 | 1.3846 | 0.8791 | 1.5750 |
| | เฉลี่ย | 7.54 | 2.500 | 5.8050 | 1.3942 | 1.0829 | 1.2875 |
| 21 | 1 | 9.13 | 3.165 | 4.9000 | 5.0385 | 2.2147 | 2.2750 |
| | 2 | 8.82 | 2.860 | 5.4250 | 5.0000 | 2.8571 | 1.7500 |
| | 3 | 8.88 | 3.005 | 5.1500 | 4.6000 | 2.4533 | 1.8750 |
| | 4 | 9.01 | 2.975 | 4.8000 | 5.0577 | 2.9320 | 1.7250 |
| | เฉลี่ย | 8.96 | 3.001 | 5.0688 | 4.9240 | 2.5831 | 1.9063 |
| 24 | 1 | 8.81 | 3.910 | 7.5000 | 4.9700 | 2.0286 | 2.4500 |
| | 2 | 8.62 | 2.760 | 5.4300 | 5.3000 | 2.2553 | 2.3500 |
| | 3 | 8.47 | 3.765 | 6.2750 | 4.4000 | 1.7426 | 2.5250 |
| | 4 | 8.52 | 3.745 | 5.9250 | 4.8600 | 1.8340 | 2.6500 |
| | เฉลี่ย | 8.61 | 3.545 | 6.2825 | 4.8825 | 1.9579 | 2.4938 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.7 (ต่อ)** การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่องในระดับฟลาสก์

| วันที่ | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ (x $10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 27 | 1 | 8.79 | 3.590 | 4.0000 | 5.5769 | 2.4786 | 2.2500 |
| | 2 | 8.68 | 2.340 | 3.3500 | 5.2600 | 2.6974 | 1.9500 |
| | 3 | 8.40 | 3.495 | 4.3000 | 5.4615 | 2.5701 | 2.1250 |
| | 4 | 8.33 | 3.540 | 4.6600 | 5.2692 | 3.4552 | 1.5250 |
| | เฉลี่ย | 8.55 | 3.241 | 4.0775 | 5.3919 | 2.7475 | 1.9625 |
| 30 | 1 | 8.95 | 3.495 | 4.1500 | 5.4038 | 2.4124 | 2.2400 |
| | 2 | 8.91 | 2.720 | 4.0500 | 3.4423 | 1.5471 | 2.2250 |
| | 3 | 8.85 | 3.805 | 5.6000 | 2.4808 | 1.0556 | 2.3500 |
| | 4 | 8.58 | 3.880 | 4.7250 | 4.1731 | 1.7209 | 2.4250 |
| | เฉลี่ย | 8.82 | 3.475 | 4.6312 | 3.8750 | 1.6775 | 2.3100 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.8** การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์-รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในระดับฟลาสก์

| วันที่ | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | (x $10^7$cell/ml) | (mg/l) | (mg/g) | |
| 0 | 1 | 5.56 | 0.082 | 0.1450 | 0.0002 | 0.0017 | 0.1200 |
| | 2 | 5.58 | 0.071 | 0.1250 | 0.0003 | 0.0023 | 0.1300 |
| | 3 | 5.52 | 0.079 | 0.1800 | 0.0005 | 0.0036 | 0.1400 |
| | 4 | 5.53 | 0.073 | 0.1250 | 0.0003 | 0.0025 | 0.1200 |
| | เฉลี่ย | 5.55 | 0.076 | 0.1438 | 0.0003 | 0.0025 | 0.1275 |
| 3 | 1 | 5.92 | 3.184 | 2.7200 | 0.2462 | 0.2797 | 0.8800 |
| | 2 | 6.05 | 2.936 | 2.2800 | 0.1692 | 0.1923 | 0.8800 |
| | 3 | 5.90 | 2.288 | 2.6000 | 0.1923 | 0.2599 | 0.7400 |
| | 4 | 5.99 | 3.008 | 2.5200 | 0.1846 | 0.1810 | 1.0200 |
| | เฉลี่ย | 5.97 | 2.854 | 2.5300 | 0.1981 | 0.2282 | 0.8800 |
| 6 | 1 | 7.44 | 7.980 | 7.2000 | 3.2769 | 0.9416 | 3.4800 |
| | 2 | 7.42 | 8.020 | 6.3000 | 4.5100 | 1.3343 | 3.3800 |
| | 3 | 7.31 | 6.940 | 7.1000 | 3.3000 | 0.9296 | 3.5500 |
| | 4 | 7.41 | 7.960 | 6.3600 | 3.7846 | 1.1717 | 3.2300 |
| | เฉลี่ย | 7.40 | 7.725 | 6.7400 | 3.7179 | 1.0943 | 3.4100 |
| 9 | 1 | 8.04 | 5.520 | 9.0000 | 4.0615 | 1.0688 | 3.8000 |
| | 2 | 8.28 | 5.280 | 7.9000 | 3.9615 | 1.0210 | 3.8800 |
| | 3 | 8.42 | 5.100 | 7.6000 | 3.5308 | 0.9491 | 3.7200 |
| | 4 | 8.26 | 5.340 | 7.9000 | 3.9385 | 1.1094 | 3.5500 |
| | เฉลี่ย | 8.25 | 5.310 | 8.1000 | 3.8731 | 1.0371 | 3.7375 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.8 (ต่อ)** การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์-รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในระดับฟลาสก์

| วันที่ | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | (x $10^7$cell/ml) | (mg/l) | (mg/g) | |
| 12 | 1 | 8.77 | 8.860 | 9.4000 | 4.1709 | 1.1883 | 3.5100 |
| | 2 | 8.87 | 8.500 | 10.8000 | 3.5726 | 0.9869 | 3.6200 |
| | 3 | 8.81 | 8.480 | 10.4000 | 3.3504 | 0.8748 | 3.8300 |
| | 4 | 8.89 | 8.620 | 10.6000 | 3.4359 | 0.9817 | 3.5000 |
| | เฉลี่ย | 8.84 | 8.615 | 10.3000 | 3.6325 | 1.0079 | 3.6150 |
| 15 | 1 | 8.86 | 7.460 | 7.2000 | 4.4000 | 1.2536 | 3.5100 |
| | 2 | 8.81 | 7.500 | 9.3000 | 4.7200 | 1.3296 | 3.5500 |
| | 3 | 8.90 | 7.340 | 7.2000 | 3.8700 | 1.0750 | 3.6000 |
| | 4 | 8.79 | 7.560 | 7.8000 | 4.2400 | 1.2184 | 3.4800 |
| | เฉลี่ย | 8.84 | 7.465 | 7.8750 | 4.3075 | 1.2191 | 3.5350 |
| 18 | 1 | 8.60 | 6.460 | 10.2000 | 5.4923 | 1.5648 | 3.5100 |
| | 2 | 8.43 | 6.640 | 11.0000 | 5.3538 | 1.4790 | 3.6200 |
| | 3 | 8.50 | 6.160 | 11.8000 | 5.9231 | 1.6008 | 3.7000 |
| | 4 | 8.55 | 6.480 | 11.2000 | 5.3538 | 1.5297 | 3.5000 |
| | เฉลี่ย | 8.52 | 6.435 | 11.0500 | 5.5308 | 1.5436 | 3.5825 |
| 21 | 1 | 8.79 | 5.560 | 10.0000 | 4.6000 | 1.3105 | 3.5100 |
| | 2 | 8.77 | 5.880 | 11.0000 | 5.6154 | 1.5598 | 3.6000 |
| | 3 | 8.85 | 5.700 | 10.0000 | 4.6000 | 1.4603 | 3.1500 |
| | 4 | 8.86 | 5.853 | 10.3200 | 5.2662 | 1.6254 | 3.2400 |
| | เฉลี่ย | 8.82 | 5.748 | 10.3300 | 5.0204 | 1.4890 | 3.3750 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.9** แสดงความแตกต่างทางสถิติของปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่เป็นผลจากสภาวะการผลิตในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง กับอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง ในระดับฟลาสก์

**ANOVA**

Carotenoid (mg/l)

| | Sum of Squares | *df* | *Mean Square* | *F* | *Sig.* |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .039 | 1 | .039 | .799 | .406 |
| Within Groups | .290 | 6 | .048 | | |
| Total | .328 | 7 | | | |

ระดับความเชื่อมั่น 95 %

$H_0$ : ปริมาณแคโรทีนอยด์ไม่แตกต่างกัน

$H_1$ : ปริมาณแคโรทีนอยด์แตกต่างกัน

ดังนั้นจากตาราง ANOVA

Sig = 0.406 ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.05 จึงปฏิเสธ $H_1$ หรือยอมรับ $H_0$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.10** การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร

| วันที่ | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ (x $10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 0 | 1 | 5.90 | 0.036 | 0.0550 | 0.0003 | 0.0030 | 0.1000 |
| | 2 | 5.92 | 0.026 | 0.0400 | 0.0002 | 0.0013 | 0.1600 |
| | 3 | 5.89 | 0.020 | 0.0300 | 0.0003 | 0.0019 | 0.1600 |
| | เฉลี่ย | 5.90 | 0.027 | 0.0417 | 0.0003 | 0.0019 | 0.1400 |
| 3 | 1 | 6.23 | 0.452 | 0.7250 | 0.8462 | 3.0220 | 0.2800 |
| | 2 | 6.34 | 0.309 | 0.6200 | 0.5692 | 2.5874 | 0.2200 |
| | 3 | 6.20 | 0.265 | 0.5750 | 0.6769 | 3.0769 | 0.2200 |
| | เฉลี่ย | 6.26 | 0.342 | 0.6400 | 0.6974 | 2.9060 | 0.2400 |
| 6 | 1 | 6.53 | 0.816 | 1.2450 | 0.7019 | 1.3370 | 0.5250 |
| | 2 | 6.52 | 0.746 | 1.1400 | 0.6827 | 1.2701 | 0.5375 |
| | 3 | 6.46 | 0.719 | 1.1000 | 0.6346 | 1.3360 | 0.4750 |
| | เฉลี่ย | 6.50 | 0.760 | 1.1617 | 0.6731 | 1.3133 | 0.5125 |
| 9 | 1 | 6.68 | 1.036 | 1.7600 | 0.4904 | 0.7846 | 0.6250 |
| | 2 | 6.62 | 0.960 | 1.7800 | 0.3462 | 0.5430 | 0.6375 |
| | 3 | 6.60 | 0.908 | 1.7400 | 0.4400 | 0.9778 | 0.4500 |
| | เฉลี่ย | 6.63 | 0.968 | 1.7600 | 0.4255 | 0.7454 | 0.5708 |
| 12 | 1 | 6.80 | 1.628 | 1.6400 | 1.0500 | 1.7143 | 0.6125 |
| | 2 | 6.82 | 1.676 | 1.3400 | 0.7019 | 1.1283 | 0.6221 |
| | 3 | 6.72 | 1.416 | 1.5800 | 0.6442 | 1.1713 | 0.5500 |
| | เฉลี่ย | 6.78 | 1.573 | 1.5200 | 0.7987 | 1.3427 | 0.5949 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.10 (ต่อ)** การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร

| วันที่ | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ (x $10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 15 | 1 | 6.83 | 1.800 | 2.3400 | 0.9200 | 1.1683 | 0.7875 |
| | 2 | 6.81 | 1.928 | 2.3200 | 0.7885 | 0.8524 | 0.9250 |
| | 3 | 6.70 | 1.256 | 2.1600 | 0.7115 | 0.9487 | 0.7500 |
| | เฉลี่ย | 6.78 | 1.661 | 2.2733 | 0.8067 | 0.9827 | 0.8208 |
| 18 | 1 | 6.99 | 2.820 | 3.0400 | 1.4423 | 0.9458 | 1.5250 |
| | 2 | 6.94 | 2.824 | 3.9100 | 1.2202 | 0.7509 | 1.6250 |
| | 3 | 6.82 | 2.068 | 3.3800 | 1.4603 | 1.2428 | 1.1750 |
| | เฉลี่ย | 6.92 | 2.571 | 3.4433 | 1.3743 | 0.9532 | 1.4417 |
| 21 | 1 | 7.17 | 2.468 | 4.7800 | 2.5038 | 1.5649 | 1.6000 |
| | 2 | 7.18 | 2.484 | 3.9800 | 2.9904 | 1.7386 | 1.7200 |
| | 3 | 7.00 | 1.832 | 4.2200 | 2.3500 | 1.9106 | 1.2300 |
| | เฉลี่ย | 7.12 | 2.261 | 4.3267 | 2.6147 | 1.7240 | 1.5167 |
| 24 | 1 | 8.90 | 3.605 | 4.2000 | 4.0673 | 2.2596 | 1.8000 |
| | 2 | 9.00 | 3.420 | 4.3750 | 4.3558 | 2.3077 | 1.8875 |
| | 3 | 8.78 | 2.610 | 4.2000 | 3.7700 | 2.5778 | 1.4625 |
| | เฉลี่ย | 8.89 | 3.212 | 4.2583 | 4.0644 | 2.3676 | 1.7167 |
| 27 | 1 | 8.44 | 3.935 | 3.5500 | 3.4400 | 1.6000 | 2.1500 |
| | 2 | 8.33 | 3.915 | 3.1000 | 3.0700 | 1.3721 | 2.2375 |
| | 3 | 8.57 | 2.675 | 3.6000 | 3.0000 | 1.6107 | 1.8625 |
| | เฉลี่ย | 8.45 | 3.508 | 3.4167 | 3.1700 | 1.5216 | 2.0833 |
| 30 | 1 | 8.04 | 4.020 | 3.4750 | 3.2308 | 1.4940 | 2.1625 |
| | 2 | 8.06 | 3.785 | 3.0500 | 2.5096 | 1.1673 | 2.1500 |
| | 3 | 8.22 | 2.685 | 3.4250 | 2.7200 | 1.4507 | 1.8750 |
| | เฉลี่ย | 8.11 | 3.497 | 3.3167 | 2.8201 | 1.3673 | 2.0625 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.11** การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์-รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร

| วันที่ | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ (x $10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 0 | 1 | 5.56 | 0.082 | 0.1450 | 0.0002 | 0.0017 | 0.1200 |
| | 2 | 5.58 | 0.071 | 0.1250 | 0.0003 | 0.0023 | 0.1300 |
| | 3 | 5.52 | 0.079 | 0.1800 | 0.0005 | 0.0036 | 0.1400 |
| | เฉลี่ย | 5.55 | 0.077 | 0.1500 | 0.0003 | 0.0025 | 0.1300 |
| 3 | 1 | 5.92 | 3.184 | 2.7200 | 0.2462 | 0.2797 | 0.8800 |
| | 2 | 6.05 | 2.936 | 2.2800 | 0.1692 | 0.1923 | 0.8800 |
| | 3 | 5.90 | 2.288 | 2.6000 | 0.2500 | 0.3378 | 0.7400 |
| | เฉลี่ย | 5.96 | 2.803 | 2.5333 | 0.2218 | 0.2700 | 0.8333 |
| 6 | 1 | 7.44 | 7.980 | 7.2000 | 3.2769 | 0.9389 | 3.4900 |
| | 2 | 7.42 | 8.020 | 6.3000 | 3.8700 | 1.1416 | 3.3900 |
| | 3 | 7.31 | 6.940 | 7.1000 | 3.5600 | 1.0319 | 3.4500 |
| | เฉลี่ย | 7.39 | 7.647 | 6.8667 | 3.5690 | 1.0375 | 3.4433 |
| 9 | 1 | 8.04 | 5.520 | 9.0000 | 4.0615 | 1.0831 | 3.7500 |
| | 2 | 8.28 | 5.280 | 7.9000 | 3.9000 | 1.0263 | 3.8000 |
| | 3 | 8.42 | 5.100 | 7.6000 | 3.5308 | 0.9491 | 3.7200 |
| | เฉลี่ย | 8.25 | 5.300 | 8.1667 | 3.8308 | 1.0195 | 3.7567 |
| 12 | 1 | 8.77 | 8.860 | 9.4000 | 4.1709 | 1.1749 | 3.5500 |
| | 2 | 8.87 | 8.500 | 10.8000 | 3.8700 | 1.0574 | 3.6600 |
| | 3 | 8.81 | 8.480 | 10.4000 | 4.1100 | 1.0675 | 3.8500 |
| | เฉลี่ย | 8.82 | 8.613 | 10.2000 | 4.0503 | 1.0999 | 3.6867 |
| 15 | 1 | 8.86 | 7.460 | 9.9000 | 4.7300 | 1.3175 | 3.5900 |
| | 2 | 8.81 | 7.500 | 9.3000 | 4.7200 | 1.3371 | 3.5300 |
| | 3 | 8.90 | 7.340 | 10.0000 | 4.8500 | 1.3361 | 3.6300 |
| | เฉลี่ย | 8.86 | 7.433 | 9.7333 | 4.7667 | 1.3302 | 3.5833 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.11 (ต่อ)** การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์-รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร

| วันที่ | ซ้ำ | pH | $OD_{560}$ | จำนวนเซลล์ (x $10^7$cell/ml) | แคโรทีนอยด์ | | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | (mg/l) | (mg/g) | |
| 18 | 1 | 8.60 | 6.460 | 10.7000 | 5.4923 | 1.5515 | 3.5400 |
| | 2 | 8.43 | 6.640 | 11.0000 | 5.3538 | 1.4749 | 3.6300 |
| | 3 | 8.50 | 6.160 | 11.4000 | 5.9231 | 1.5922 | 3.7200 |
| | เฉลี่ย | 8.51 | 6.420 | 11.0333 | 5.5897 | 1.5395 | 3.6300 |
| 21 | 1 | 8.79 | 5.560 | 10.0000 | 4.6000 | 1.3068 | 3.5200 |
| | 2 | 8.77 | 5.880 | 10.5000 | 5.6154 | 1.5177 | 3.7000 |
| | 3 | 8.85 | 5.700 | 10.0000 | 4.6000 | 1.2366 | 3.7200 |
| | เฉลี่ย | 8.80 | 5.713 | 10.1667 | 4.9385 | 1.3537 | 3.6467 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.12** แสดงความแตกต่างทางสถิติของปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่เป็นผลจากสภาวะการผลิตในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 ที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร โดยให้แสงแบบต่อเนื่อง และชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบไม่ต่อเนื่อง กับอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงโดยใช้ปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.8 และชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอรัสซัลเฟตโดยให้แสงแบบต่อเนื่อง ในระดับขวดเลี้ยง

**ANOVA**

Carotenoid (mg/l)

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 3.490 | 1 | 3.490 | 40.130 | .003 |
| Within Groups | .348 | 4 | .087 | | |
| Total | 3.838 | 5 | | | |

ระดับความเชื่อมั่น 95 %

$H_0$ : ปริมาณแคโรทีนอยด์ไม่แตกต่างกัน

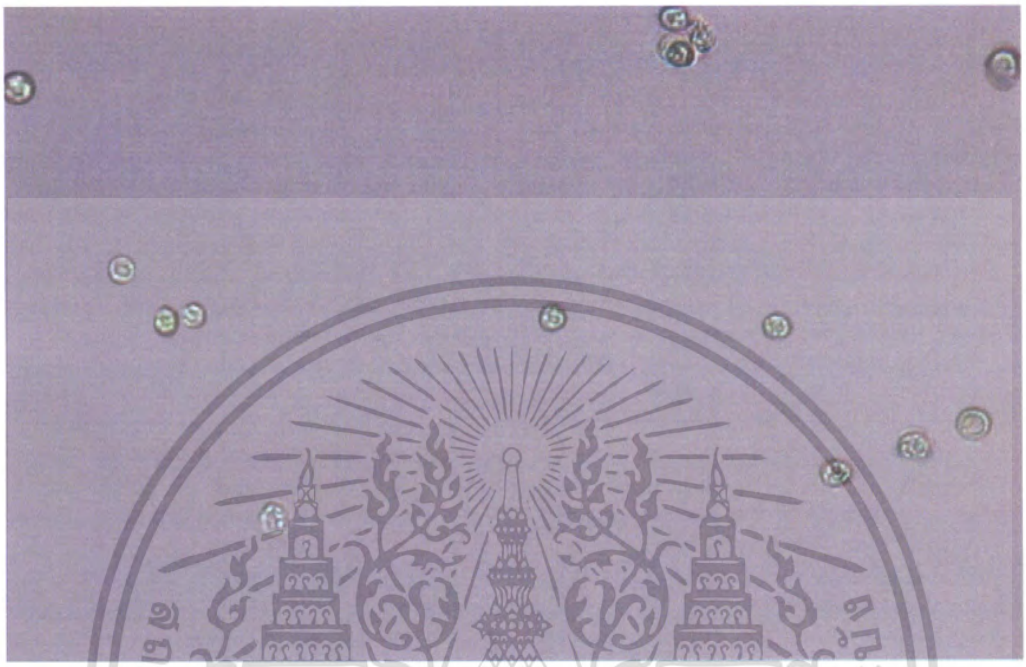
$H_1$ : ปริมาณแคโรทีนอยด์แตกต่างกัน

ดังนั้นจากตาราง ANOVA

Sig = 0.003 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 0.05 จึงปฏิเสธ $H_0$ หรือยอมรับ $H_1$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค



**รูปที่ ค.1** เซลล์ *Chlorella* sp. P48061 ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 X

**รูปที่ ค.2** การเลี้ยง *Chlorella* sp. P48061 ภายในขวดเลี้ยงขนาด 10 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**รูปที่ ค.3** การแยกชั้นของแคโรทีนอยด์กับคลอโรฟิลล์ในกรวยแยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้