ความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวที่ผลิตสารสีแคโรทีนอยด์จากน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู

BIODIVERSITY OF GREEN MICROALGAE (CHLOROPHYCEAE) STRAINS PRODUCING CAROTENOIDS FROM KRA-TING AND PALA-U WATERFALLS

พงศ์ธร เครือวณิชธรรม
PONGTORN KRUAWANISHTHAM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2550

ความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวที่ผลิตสารสีแคโรทีนอยด์จากน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู

BIODIVERSITY OF GREEN MICROALGAE (CHLOROPHYCEAE) STRAINS PRODUCING CAROTENOIDS FROM KRA-TING AND PALA-U WATERFALLS

พงศ์ธร เครือวณิชธรรม

PONGTORN KRUAWANISHTHAM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

BIODIVERSITY OF GREEN MICROALGAE (CHLOROPHYCEAE) STRAINS PRODUCING CAROTENOIDS FROM KRA-TING AND PALA-U WATERFALLS

PONGTORN KRUAWANISHTHAM

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2007

COPYRIGHT 2007

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวที่ผลิตสารสีแคโรทีนอยด์จากน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู
นักศึกษา	นายพงศ์ธร เครือวณิชธรรม
รหัสประจำตัว	45064570
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2550
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.วีนา ชูโชติ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.อรไท สุขเจริญ

บทคัดย่อ

ศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวจากน้ำตกกระทิง อุทยานแห่งชาติเขาคิชฌกูฏ จังหวัดจันทบุรี และน้ำตกป่าละอู อุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยทำการเก็บตัวอย่างดินและน้ำมาคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวด้วยอาหารสูตร N-8 เพื่อรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวสำหรับการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพในการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ โดยรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวได้ 5 สกุล ได้แก่ *Chlorella*, *Chlorococcum*, *Monoraphidium*, *Oocystis* และ *Scenedesmus* จำนวนทั้งสิ้น 72 ไอโซเลท สายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพในการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์สูงสุด 3 ไอโซเลท คือ *Chlorella* sp. P48061, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. K46032 โดยมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.137 4.098 และ 4.011 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ พบว่าปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ คือ อาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท 4 กรัมต่อลิตร ปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรท 1 กรัมต่อลิตร และพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 5.8 ถึง 7.8 ซึ่งส่งผลให้สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. K46032 ผลิตสารสีแคโรทีนอยด์สูงขึ้น ดังนี้ 4.866 4.681 และ 4.668 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นำสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่ผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ได้สูงสุดมาศึกษาปัจจัยที่ชักนำให้ผลิตสารสีแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น โดยการใช้โซเดียมคลอไรด์ร่วมกับโซเดียมอะซีเตตและเฟอรัสซัลเฟต ปรากฏว่าการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 8 กรัมต่อลิตร ร่วมกับโซเดียมอะซีเตต 2 กรัมต่อลิตร และเฟอรัสซัลเฟต 0.16 กรัมต่อลิตร ทำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นสูงที่สุด เท่ากับ 13.16 มิลลิกรัมต่อลิตร

Thesis Title	Biodiversity of green microalgae (Chlorophyceae) strains producing carotenoids from Kra-Ting and Pala-U waterfalls
Student	Mr. Pongtorn Kruawanishtham
Student ID.	45064570
Degree	Master of Science
Program	Biotechnology
Year	2007
Thesis Advisor	Asst. Prof. Weena Choochote
Thesis Co-Advisor	Assoc. Prof. Oratai Sukcharoen

ABSTRACT

Biodiversity of green microalgae (Chlorophyceae) from Kra-Ting waterfall, Khao Kitchakut National Park, Chanthaburi province and Pala-U waterfall, Kaeng Krachan National Park, Prachuap Khiri Khan province was studied. Soils and water from these locations were sampled and microalgae that have a potential of carotenoid production were selected. 72 isolates of green microalgae from 5 genera, i.e., *Chlorella*, *Chlorococcum*, *Monoraphidium*, *Oocystis* and *Scenedesmus* were collected. Three green microalgae with the highest production of carotenoid were *Chlorella* sp. P48061, *Chlorella* sp. P47072 and *Chlorella* sp. K46032 with the carotenoid production of 4.137, 4.098 and 4.011 mg/L, respectively. After selection, optimal factors for growth and carotenoid production were studied. Modified N-8 medium consisted of 4 g/L KNO_3, 1 g/L KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$ and the initial pH of 5.8-7-8 was found to be suitable for the growth of these microalgae. *Chlorella* sp. P48061, *Chlorella* sp. P47072 and *Chlorella* sp. K46032 grown in this medium produced carotenoid of 4.866, 4.681 and 4.668 mg/L, respectively. *Chlorella* sp. P48061 producing highest carotenoid was selected to study factors for stimulating carotenoid production. It was found that the mixture of 8 g/L sodium chloride, 2 g/L sodium acetate and 0.16 g/L ferrous sulfate in the optimized medium resulted in the highest carotenoid of 13.16 mg/L.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ.วีนา ชูโชติ เป็นอย่างยิ่งที่ได้ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งการตรวจทานแก้ไขให้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ.อรไท สุขเจริญ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมเป็นอย่างสูง ที่ได้ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในเรื่องการทำวิจัยและเขียนวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ประธานคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ รศ. ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง และ ดร.สุริยา สาสนรักกิจ กรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ที่สละเวลาอันมีค่าเพื่อเป็นกรรมการในการสอบ และช่วยให้คำแนะนำตลอดจนตรวจทานแก้ไขในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ คุณพิชพันธ์ พงษ์สกุล คุณจงกมล จริยกุล คุณเทอดศักดิ์ ขจรบุญ คุณศุภมาศ สุขโสม และเพื่อน พี่ น้องในภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่องและให้กำลังใจตลอดมา

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ธุรการ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน และอำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์และสารเคมี

ที่สำคัญขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ด้วยความเคารพรักยิ่ง สำหรับคำแนะนำ ความรัก กำลังใจ และทุนทรัพย์ในการศึกษาและการทำวิทยานิพนธ์ สิ่งที่ท่านมอบให้มากเกินจะเขียนได้และจะไม่สำเร็จหากขาดกำลังใจและความรักจากน้องหนิง น้องบี น้องบีม และญาติๆ ทุกท่าน

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้แด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

พงศ์ธร เครือวณิชธรรม

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ II

กิตติกรรมประกาศ III

สารบัญ IV

สารบัญตาราง VII

สารบัญรูป XII

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของวิทยานิพนธ์ 1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา 2

1.3 สมมติฐานของการศึกษา 2

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย 2

1.5 ขอบเขตการวิจัย 3

1.6 ขั้นตอนของการศึกษา 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 แคโรทีนอยด์ (carotenoid) 4

2.1.1 ชนิดและโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ 5

2.1.2 กลไกการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ทางชีวภาพ 9

2.2 สิ่งมีชีวิตที่เป็นแหล่งผลิตแคโรทีนอยด์ 13

2.2.1 พืช 13

2.2.2 สาหร่าย 15

2.2.3 แบคทีเรีย 15

2.2.4 ฟังไจ 19

2.3 สาหร่ายสีเขียว 19

2.3.1 ลักษณะทั่วไป 19

2.3.2 การจำแนกหมวดหมู่ 20

2.4 ความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายสีเขียวในประเทศไทย 20

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย 21
2.5.1 ไนโตรเจน 21
2.5.2 ฟอสฟอรัส 21
2.5.3 พีเอช 21
2.5.4 โซเดียมคลอไรด์ 22
2.5.5 โซเดียมอะซีเตต 22
2.5.6 เฟอรัสซัลเฟต 23

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 24
3.1 อุปกรณ์ สารเคมี และจุลินทรีย์ 24
3.2 วิธีการวิจัย 25

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 30
4.1 การศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวที่คัดแยกได้โดยอาหารสูตร N-8 จากน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู 30
4.2 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ 31
4.3 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 72
4.3.1 ผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท 72
4.3.2 ผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรท 78
4.3.3 ผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหาร 84
4.4 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น 90
4.4.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์ 90
4.4.2 ผลของโซเดียมอะซีเตต 93
4.4.3 ผลของเฟอรัสซัลเฟต 96

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 99

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บรรณานุกรม 101

ภาคผนวก ก 105
ภาคผนวก ข 106
ภาคผนวก ค 107
ภาคผนวก ง 131
ภาคผนวก จ 155

ประวัติผู้เขียน 158

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 แสดงชื่อเรียกของแคโรทีนตามหมู่อะตอมที่ปลายโมเลกุล 5

2.2 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ในพืชผลทางการเกษตรบางชนิด 14

2.3 แสดงชนิดแคโรทีนอยด์ที่สำคัญซึ่งพบในสาหร่ายแต่ละคลาส 16

4.1 แสดงค่าอุณหภูมิและค่าค่าพีเอชของน้ำที่จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 10 จุด บริเวณน้ำตกกระทิงวันที่ 8 เดือนกันยายน พ.ศ. 2546 และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายที่คัดแยกได้ 32

4.2 แสดงค่าอุณหภูมิและค่าค่าพีเอชของน้ำที่จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 10 จุด บริเวณน้ำตกกระทิงในวันที่ 14 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2548 และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายที่คัดแยกได้ 33

4.3 แสดงค่าอุณหภูมิและค่าค่าพีเอชของน้ำที่จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 10 จุด บริเวณน้ำตกป่าละอูในวันที่ 16 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2547 และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายที่คัดแยกได้ 34

4.4 แสดงค่าอุณหภูมิและค่าค่าพีเอชของน้ำที่จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 10 จุด บริเวณน้ำตกป่าละอูในวันที่ 16 เดือนมกราคม พ.ศ. 2548 และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายที่คัดแยกได้ 35

4.5 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท 74

4.6 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรท 80

4.7 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหาร 86

4.8 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น 91

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.9 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของโซเดียมอะซีเตตต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น 94

4.10 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของเฟอรัสซัลเฟตต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น 97

ค.1ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย*Chlorella* sp. K46032 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 107

ค.2 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 109

ค.3 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 111

ค.4 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 113

ค.5 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 115

ค.6 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 117

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ค.7 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในการศึกษาผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 119
ค.8 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในการศึกษาผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 121
ค.9 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 123
ค.10 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 125
ค.11 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 127
ค.12 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของการชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟตต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ 129
ง.1 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 131
ง.2 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 132
ง.3 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 133
ง.4 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 134
ง.5 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 135

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ง.6 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 136

ง.7 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 137

ง.8 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 138

ง.9 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 139

ง.10 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 140

ง.11 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 141

ง.12 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 142

ง.13 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 143

ง.14 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 144

ง.15 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 145

ง.16 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 146

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ง.17 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหาร
ต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 147

ง.18 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหาร
ต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 148

ง.19 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ต่อ
การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 149

ง.20 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ต่อ
การผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 150

ง.21 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตต่อ
การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 151

ง.22 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตต่อ
การผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 152

ง.23 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟตต่อ
การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 153

ง.24 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟตต่อ
การผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 154

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 แสดงโครงสร้างไอโซพรีน 4
2.2 แสดงสายยาวของโพลีอีนที่เกิดจากไอโซพรีน 8 โมเลกุลเชื่อมต่อกัน 4
2.3ก. แสดงการเชื่อมต่อกันแบบ head-to-tail ของไอโซพรีน 4
2.3ข. แสดงการเชื่อมต่อกันแบบ tail-to-tail ของไอโซพรีน 4
2.4 แสดงโครงสร้างหลักของแคโรทีนอยด์และตำแหน่งอะตอมของคาร์บอน 5
2.5ก. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ acyclic 6
2.5ข. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ cyclohexene 6
2.5ค. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ cyclohexene 6
2.5ง. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ methylenecyclohexane 6
2.5จ. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ cyclopentane 6
2.5ฉ. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ aryl 6
2.5ช. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ aryl 6
2.6 แสดงโครงสร้างของ zeaxanthin 6
2.7 แสดงโครงสร้างของ spirilloxanthin 6
2.8 แสดงโครงสร้างของ myxoxanthophyll 7
2.9ก. แสดงโครงสร้างของ torularhodin 7
2.9ข. แสดงโครงสร้างของ echinenone 7
2.9ค. แสดงโครงสร้างของ torularhodin aldehyde 7
2.9ง. แสดงโครงสร้างของ anthreaxanthin 7
2.10 แสดงโครงสร้างของ eschsholtzxanthin 8
2.11 แสดงโครงสร้างของ semi-β-carotenone 8
2.12 แสดงโครงสร้างของ β-citraurin 8
2.13 แสดงโครงสร้างของ peridinin 9
2.14 แสดงโครงสร้างของ decaprenoxanthin 9
2.15 แสดงขั้นตอนการสังเคราะห์ไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตจากกรดเมวาโลนิค 10
2.16 แสดงกลไกการสังเคราะห์สายเจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต 11
2.17 แสดงการเปลี่ยนแปลงของไฟโตอีนให้เป็นไลโคพีนจากชุดปฏิกิริยาดีแซทูเรชั่น 12
2.18 แสดงการเกิดสารประกอบแคโรทีนอยด์แบบ 2 วง คือ α-carotene β-และ ε-carotene 12

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.19 แสดงกลไกปฏิกิริยาไซคลิเซชั่น	13
2.20 แสดงกลไกปฏิกิริยาไฮดรอกซีเลชั่น	13
2.21 แสดงโครงสร้างของ diaponeurosporene	15
2.22 แสดงโครงสร้างของ spheroidenone	15
4.1 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	36
4.2 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46012 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	36
4.3 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46021 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	37
4.4 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46022 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	37
4.5 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	38
4.6 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	38
4.7 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46041 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	39
4.8 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46042 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	39
4.9 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	40
4.10 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46052 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	40
4.11 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46061 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	41
4.12 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorococcum* sp. K46062 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	41
4.13 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	42
4.14 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	42
4.15 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46091 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	43
4.16 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46101 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	43
4.17 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	44
4.18 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48012 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	44
4.19 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48021 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	45
4.20 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48022 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	45
4.21 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48023 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	46
4.22 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	46
4.23 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48032 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	47
4.24 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48033 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	47

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.25 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Oocystis* sp. K48041 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 48

4.26 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48042 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 48

4.27 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 49

4.28 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48052 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 49

4.29 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48061 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 50

4.30 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48062 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 50

4.31 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 51

4.32 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48072 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 51

4.33 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 52

4.34 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48082 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 52

4.35 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48091 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 53

4.36 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48092 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 53

4.37 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48101 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 54

4.38 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48102 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 54

4.39 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 55

4.40 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47012 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 55

4.41 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47013 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 56

4.42 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47021 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 56

4.43 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47022 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 57

4.44 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 57

4.45 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47032 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 58

4.46 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47041 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 58

4.47 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47042 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 59

4.48 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 59

4.49 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47052 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 60

4.50 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47053 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 60

4.51 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47061 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 61

4.52 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47062 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 61

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.53 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47063 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 62

4.54 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 62

4.55 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 63

4.56 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 63

4.57 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47091 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 64

4.58 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47101 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 64

4.59 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 65

4.60 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48012 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 65

4.61 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48021 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 66

4.62 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Monoraphidium* sp. P48022 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 66

4.63 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48023 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 67

4.64 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 67

4.65 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48041 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 68

4.66 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 68

4.67 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 69

4.68 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 69

4.69 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 70

4.70 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48091 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 70

4.71 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48092 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 71

4.72 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48101 ที่กำลังขยาย 400 เท่า 71

4.73 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 75

4.74 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 75

4.75 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 76

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.76 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 76

4.77 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 77

4.78 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 77

4.79 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 81

4.80 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 81

4.81 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 82

4.82 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 82

4.83 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 83

4.84 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 83

4.85 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8 87

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.86 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8 87

4.87 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8 88

4.88 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8 88

4.89 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8 89

4.90 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8 89

4.91 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0 2 4 8 16 และ 32 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0 92

4.92 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0 2 4 8 16 และ 32 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0 92

4.93 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตความเข้มข้น 0 1 2 4 8 และ 16 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0 95

4.94 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตความเข้มข้น 0 1 2 4 8 และ 16 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0 95

4.95 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 0.00 0.01 0.02 0.04 0.08 และ 0.16 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0 98

4.96 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลงที่ชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 0.00 0.01 0.02 0.04 0.08 และ 0.16 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0 98

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

ข.1 แสดงลักษณะตารางของ haemacytometer 106
จ.1 เปรียบเทียบสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ก่อนและหลังการชักนำ 156
จ.2 เปรียบเทียบสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 หลังการชักนำกับสารสีแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้ 156
จ.3 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ก่อนการชักนำ ที่กำลังขยาย 400 เท่า 157
จ.4 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 หลังการชักนำ ที่กำลังขยาย 400 เท่า 157

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของวิทยานิพนธ์

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตมากมายและกระจายอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติ โดยนักวิทยาศาสตร์หลายท่านคาดคะเนว่าน่าจะมีสิ่งมีชีวิตอีกเป็นจำนวนมากที่ยังไม่ได้นำมาศึกษาค้นคว้าข้อมูลกันอย่างจริงจัง (สถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย. 2545) โดยเฉพาะในกลุ่มของจุลินทรีย์น่าจะมีอีกหลายชนิดที่มีคุณค่าสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ก่อประโยชน์ต่อเศรษฐกิจของประเทศ

หนึ่งในผลิตภัณฑ์จากสิ่งมีชีวิตที่มีการนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์นั่นคือ แคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นกลุ่มสารสีที่ให้สีเหลืองจนถึงสีแดง โดยพบว่ามีการใช้สารสีแคโรทีนอยด์ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง เพื่อเป็นสารให้สีในผลิตภัณฑ์ เช่น เนยแข็ง มาการีน ผลิตภัณฑ์จากไข่ ไอศครีม เครื่องดื่ม เป็นต้น (บุษบา ยงสมิทธ์. 2540; Veiga-Crespo และคณะ. 2005) นอกจากนี้มีการนำสารสีแคโรทีนอยด์ไปใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ เช่น อาหารสัตว์น้ำทั้งสัตว์น้ำที่เลี้ยงเพื่อความสวยงาม และสัตว์น้ำสำหรับการบริโภค เพื่อให้สัตว์น้ำที่ได้รับสารสีแคโรทีนอยด์ในรูปอาหารมีสีสันตามความต้องการของตลาด สำหรับอาหารสัตว์ปีกจะช่วยเพิ่มสีในไข่แดง อีกทั้งสารสีแคโรทีนอยด์ยังมีประโยชน์ในด้านสุขภาพ เช่น เบต้า-แคโรทีน ซึ่งเป็นสารสีในกลุ่มสารสีแคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามิน เอ ซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญและการเปลี่ยนสภาพเซลล์เยื่อบุผิวให้ปกติ เป็นต้น ทั้งนี้มีการนำสารสีแคโรทีนอยด์ที่สกัดจากธรรมชาติบางชนิดมาใช้บริโภคเป็นอาหารเสริมเพื่อต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการขยายตัวของเนื้องอก ป้องกันมะเร็ง ใช้ในการบำรุงสายตา รวมถึงการลดความเสี่ยงของการเกิดจอประสาทตาเสื่อม (Age-related Macular Degeneration) และป้องกันการเกิดต้อกระจก (บุษบา ยงสมิทธ์. 2540 ; Krinsky และคณะ. 2004)

ปัจจุบันการผลิตแคโรทีนอยด์โดยกระบวนการทางชีวภาพที่มีศักยภาพ คือ การผลิตจากพืชและจุลินทรีย์ โดยพืชใช้ระยะเวลาการผลิตที่นานกว่าจุลินทรีย์มาก แต่ทว่าการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์จากจุลินทรีย์ยังมีข้อจำกัด เช่น สาหร่าย *Haematococcus* sp. ซึ่งสภาวะเพาะเลี้ยงเหมาะที่อุณหภูมิต่ำ 20 ถึง 25 องศาเซลเซียส จึงเป็นปัญหาสำหรับการผลิตในระดับอุตสาหกรรมที่ต้องเลี้ยงแบบระบบเปิด ซึ่งไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ (Margalith. 1999) ด้วยเหตุดังกล่าว วิทยานิพนธ์นี้จึงมุ่งแสวงหาสายพันธุ์สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงได้ง่ายและมีศักยภาพในการผลิตแคโรทีนอยด์มาทดแทน

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียว (Chlorophyceae) ที่คัดแยกได้โดยอาหารสูตร N-8 จากบริเวณน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู

1.2.2 เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีเขียวที่คัดแยกได้

1.2.3 เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสีเขียวที่คัดเลือกได้

1.2.4 เพื่อศึกษาปัจจัยที่ชักนำให้สาหร่ายสีเขียวผลิตสารสีแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

สาหร่ายสีเขียวในธรรมชาติมีศักยภาพในการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมน่าจะมีอัตราการเจริญที่ดีและสามารถผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ได้ในปริมาณสูง และหากนำมาชักนำด้วยปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ จะสามารถผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ได้มากขึ้น

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย

Wongrat (1999) ได้ศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดไฟลัมคลอโรไฟตา (Chlorophyta) และโครโมไฟตา (Chromophyta) ในเขต 8 จังหวัดภาคกลาง ได้แก่ ชัยนาท นครสวรรค์ พระนครศรีอยุธยา ลพบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี อ่างทอง และอุทัยธานี พบสาหร่ายทั้งหมด 264 ชนิด โดยไฟลัมคลอโรไฟตาเป็นกลุ่มที่มีจำนวนชนิดมากที่สุด คือ 140 ชนิด ซึ่งเป็นหนึ่งในข้อมูลที่บ่งชี้ถึงความหลากหลายทางชีวภาพสำหรับในประเทศไทย ผนวกกับงานวิจัยของ Gouveia และคณะ (1996) ที่ศึกษาถึงการสร้างสารสีแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris* รวมทั้งงานวิจัยของ Del Campo และคณะ (2000) ที่คัดแยกสาหร่าย *Muriellopsis* sp. ได้จากบึง Emporda ใน Cataluna ประเทศสเปน *Muriellopsis* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวที่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและสามารถผลิตลูทีนได้ถึง 29.8 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้สาหร่ายสีเขียวที่ผลิตแคโรทีนอยด์ซึ่งรู้จักกันดี ได้แก่ *Haematococcus* sp. และ *Dunaliella* sp. ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายที่เป็นแหล่งผลิตแคโรทีนอยด์สำคัญๆ นั้นเป็นสาหร่ายสีเขียว เมื่อนำข้อมูลเกี่ยวกับความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวในประเทศไทยประกอบกับข้อบ่งชี้ถึงสาหร่ายสีเขียวที่เป็นผู้ผลิตแคโรทีนอยด์ที่สำคัญ จึงมีแนวคิดเกี่ยวกับการค้นหาสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพในการผลิตแคโรทีนอยด์

1.5 ขอบเขตการวิจัย

1.5.1 ศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวที่คัดแยกได้โดยอาหารสูตร N-8 จากบริเวณน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู

1.5.2 คัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพในการสร้างสารสีแคโรทีนอยด์สูงสุด 3 ไอโซเลท จากสาหร่ายสีเขียวที่คัดแยกได้

1.5.3 นำสาหร่ายสีเขียวที่คัดเลือกได้มาศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ โดยปัจจัยที่ศึกษาคือ ผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท ผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรท และผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหาร

1.5.4 ศึกษาปัจจัยที่ชักนำให้สาหร่ายสีเขียวผลิตสารสีแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น โดยปัจจัยที่ศึกษาคือ ผลของโซเดียมคลอไรด์ ผลของโซเดียมอะซีเตต และผลของเฟอรัสซัลเฟต

1.6 ขั้นตอนของการศึกษา

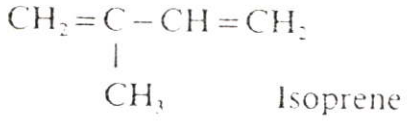
ศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวที่คัดแยกได้โดยอาหารสูตร N-8 จากบริเวณน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู นำมาคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพในการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์สูงสุด 3 ไอโซเลท เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ โดยแปรผันธาตุอาหารและความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหาร จากนั้นนำสายพันธุ์สาหร่ายที่ผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดมาศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ผลิตสารสีแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

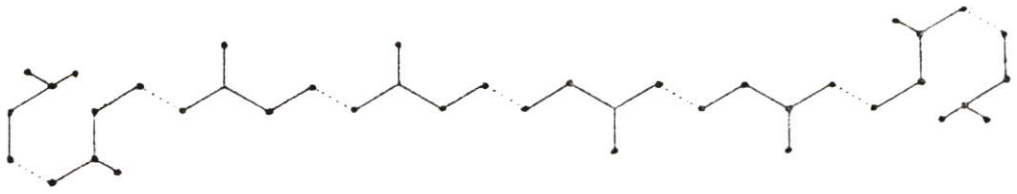
2.1 แคโรทีนอยด์ (carotenoid)

แคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มสารสีที่มีการกระจายตัวมากที่สุดในธรรมชาติ สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลากหลายทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ต่างๆ โดยสมาชิกในกลุ่มสารสีนี้มีมากกว่า 600 ชนิด (Fraser and Bramley. 2004) พบตั้งแต่สีเหลืองจนถึงสีแดง

แคโรทีนอยด์มีโครงสร้างหลักเป็นไอโซพรีนอยด์โพลีอีน (isoprenoid polyenes) เกิดจากไอโซพรีน (isoprene) ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 5 อะตอม มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.1 มาเชื่อมต่อกัน 8 โมเลกุล ได้เป็นสายยาวของโพลีอีน (รูปที่ 2.2) โดยไอโซพรีนแต่ละโมเลกุลเชื่อมต่อกันแบบ head-to-tail (รูปที่ 2.3ก.) ยกเว้นบริเวณจุดศูนย์กลางของโมเลกุลแคโรทีนอยด์ที่เป็นการเชื่อมต่อกันแบบ tail-to-tail (รูปที่ 2.3ข.) ด้วยเหตุนี้ทั้งสองด้านของจุดศูนย์กลางจึงมีความสมมาตรกัน (Gross. 1991)



รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างไอโซพรีน (Gross. 1991)



รูปที่ 2.2 แสดงสายยาวของโพลีอีนที่เกิดจากไอโซพรีน 8 โมเลกุลเชื่อมต่อกัน (Gross. 1991)

รูปที่ 2.3ก. แสดงการเชื่อมต่อกันแบบ head-to-tail ของไอโซพรีน (Gross. 1991)

2.3ข. แสดงการเชื่อมต่อกันแบบ tail-to-tail ของไอโซพรีน (Gross. 1991)

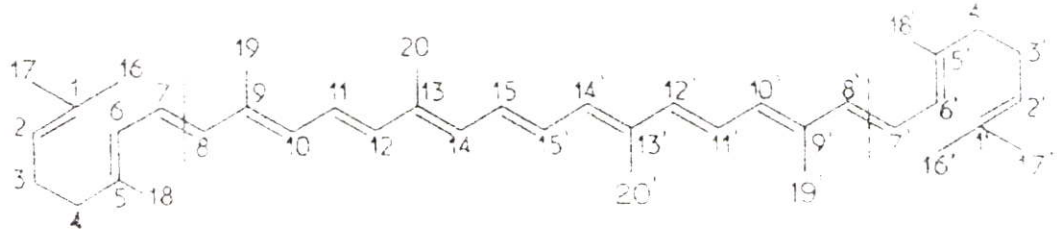
2.1.1 ชนิดและโครงสร้างของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์ทุกชนิดมีโครงสร้างต้นกำเนิดร่วมกันจากสาย lycopene ซึ่งมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{40}H_{56}$ โดยการเปลี่ยนแปลงเป็นแคโรทีนอยด์หลากหลายชนิดเกิดจากปฏิกิริยาต่างๆ กันต่อสาย lycopene ดังนี้ hydrogenation, dehydrogenation, cyclization, insertion of oxygen in various forms, double bond migration, methyl migration, chain elongation และ chain shortening (Goodwin. 1980)

จากลักษณะโครงสร้างของแคโรทีนอยด์แต่ละชนิด สามารถแบ่งแคโรทีนอยด์ออกเป็น 7 ชนิด ดังนี้

2.1.1.1 แคโรทีนอยด์ไฮโดรคาร์บอน (carotenoid hydrocarbons)

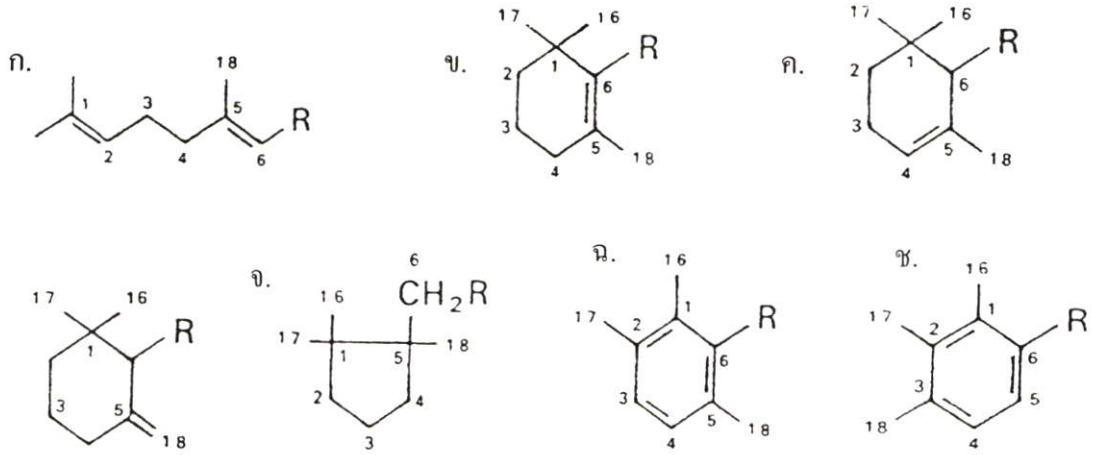
แคโรทีนอยด์ไฮโดรคาร์บอนหรือในชื่อที่รู้จักทั่วไปว่า แคโรทีน (carotenes) เป็นกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีส่วนประกอบเป็นคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น โดยมีโครงสร้างหลักดังรูปที่ 2.4 ทั้งนี้ชื่อเรียกแคโรทีนแต่ละชนิดกำหนดตามหมู่อะตอมที่ปลายโมเลกุล โดยหมู่อะตอมที่ปลายโมเลกุลเป็นตัวกำหนดคำนำหน้าชื่อแคโรทีนแต่ละชนิด ดังตารางที่ 2.1 (Goodwin. 1980)



รูปที่ 2.4 แสดงโครงสร้างหลักของแคโรทีนอยด์และตำแหน่งอะตอมของคาร์บอน (Gross. 1991)

ตารางที่ 2.1 แสดงชื่อเรียกของแคโรทีนตามหมู่อะตอมที่ปลายโมเลกุล (Goodwin. 1980)

ชนิดหมู่อะตอม	คำนำหน้าชื่อ	โครงสร้างหมู่อะตอม
acyclic	ψ (psi)	รูปที่ 2.5ก.
cyclohexene	β, ε (beta, epsilon)	รูปที่ 2.5ข. และ 2.5ค.
methylenecyclohexane	γ (gamma)	รูปที่ 2.5ง.
cyclopentene	κ (kappa)	รูปที่ 2.5จ.
aryl	ϕ, χ (phi, chi)	รูปที่ 2.5ฉ. และ 2.5ช.



รูปที่ **2.5ก.** แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ acyclic

2.5ข. และ 2.5ค. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ cyclohexene (Goodwin. 1980)

2.5ง. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ methylenecyclohexane (Goodwin. 1980)

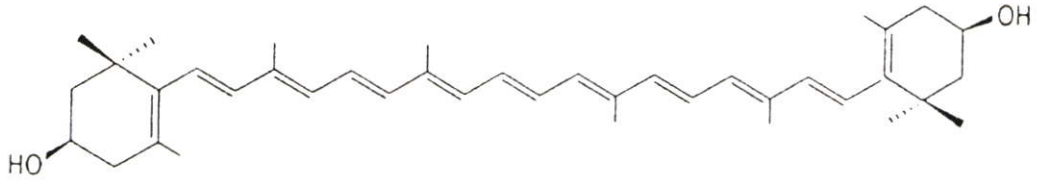
2.5จ. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ cyclopentane (Goodwin. 1980)

2.5ฉ. และ 2.5ช. แสดงโครงสร้างหมู่อะตอมแบบ aryl (Goodwin. 1980)

2.1.1.2 ออกซิจีเนทแคโรทีนอยด์ (oxygenated carotenoid)

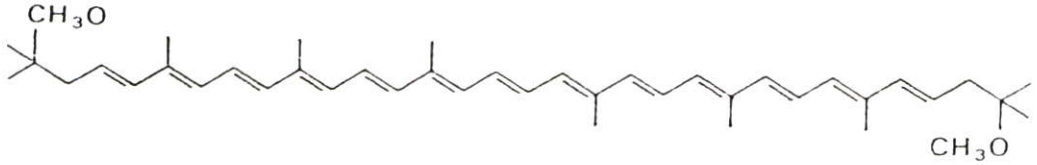
ออกซิจีเนทแคโรทีนอยด์หรือในชื่อที่รู้จักทั่วไปว่า แซนโทฟิลล์ (xanthophylls) เป็นกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีออกซิเจนประกอบอยู่ภายในโมเลกุล ทั้งนี้หมู่อะตอมที่มีออกซิเจนเป็นส่วนประกอบมีหลายกลุ่ม โดยสามารถจัดลำดับความถี่ของการพบจากมากไปน้อยได้ดังนี้ (Goodwin. 1980)

กลุ่มแรก คือ หมู่ไฮดรอกซี (hydroxy) ได้แก่ zeaxanthin (รูปที่ 2.6)



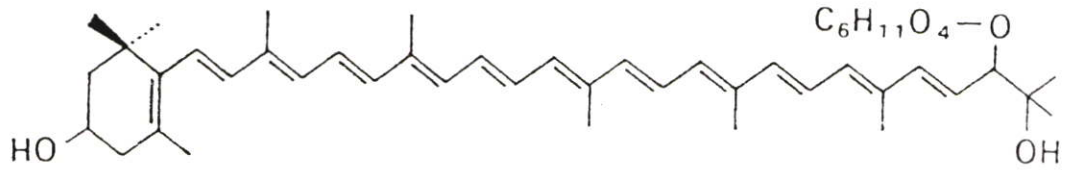
รูปที่ 2.6 แสดงโครงสร้างของ zeaxanthin (Goodwin. 1980)

กลุ่มสอง คือ หมู่เมทอกซี (methoxy) ได้แก่ spirilloxanthin (รูปที่ 2.7)



รูปที่ 2.7 แสดงโครงสร้างของ spirilloxanthin (Goodwin. 1980)

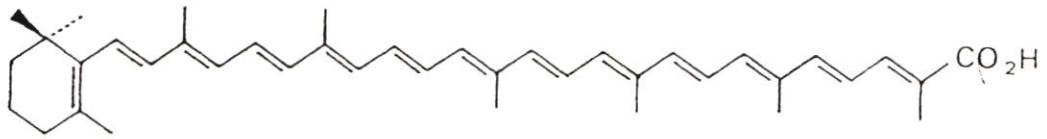
กลุ่มสาม คือ หมู่ไกลโคซีลอกซี (glycosyloxy) ได้แก่ myxoxanthophyll (รูปที่ 2.8)



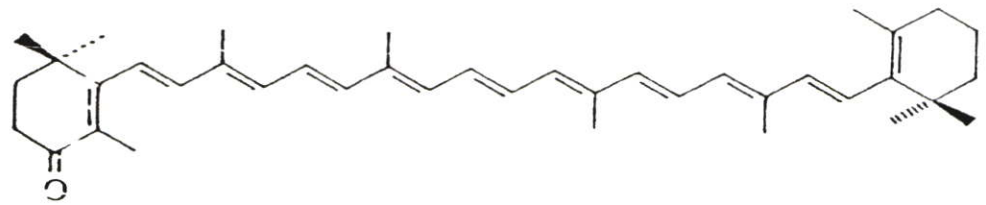
รูปที่ 2.8 แสดงโครงสร้างของ myxoxanthophyll (Goodwin. 1980)

กลุ่มสี่ คือ หมู่คาร์บอกซี (carboxy) ได้แก่ torularhodin (รูปที่ 2.9ก.) หมู่ออกโซ (oxo) ได้แก่echinenone (รูปที่ 2.9ข.) หมู่อัลดีไฮด์ (aldehyde) ได้แก่ torularhodin aldehyde (รูปที่ 2.9ค.) และหมู่อีพอกซี (epoxy) ได้แก่ anthreaxanthin (รูปที่ 2.9ง.)

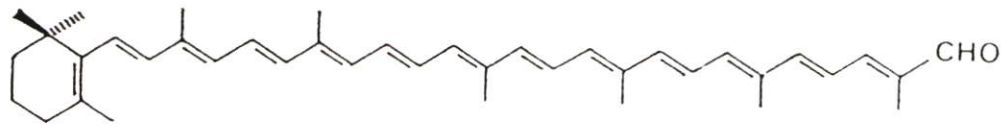
ก.



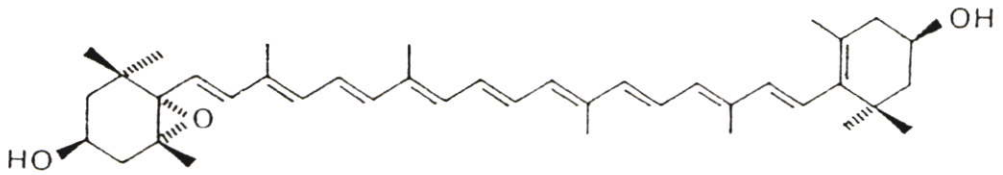
ข.



ค.



ง.



รูปที่ 2.9ก. แสดงโครงสร้างของ torularhodin (Goodwin. 1980)

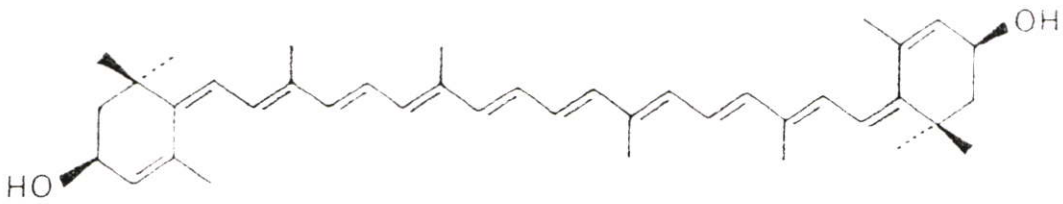
2.9ข. แสดงโครงสร้างของ echinenone (Goodwin. 1980)

2.9ค. แสดงโครงสร้างของ torularhodin aldehyde (Goodwin. 1980)

2.9ง. แสดงโครงสร้างของ anthreaxanthin (Goodwin. 1980)

2.1.1.3 retro-carotenoids

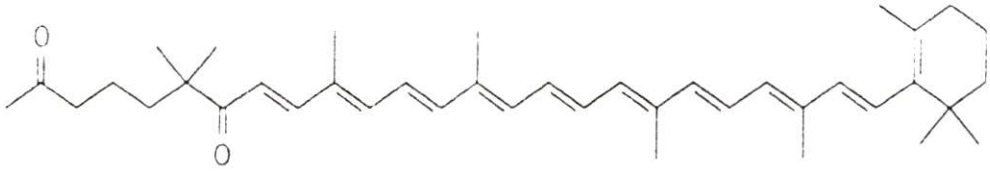
รีโทร-แคโรทีนอยด์ คือ แคโรทีนอยด์ที่เกิดจากการเคลื่อนย้ายพันธะภายในโมเลกุล ได้แก่ eschsholtzxanthin (รูปที่ 2.10) (Goodwin. 1980)



รูปที่ 2.10 แสดงโครงสร้างของ eschsholtzxanthin (Goodwin. 1980)

2.1.1.4 seco-carotenoids

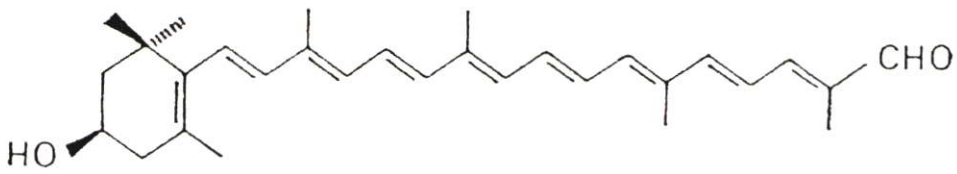
เซโค-แคโรทีนอยด์ คือ แคโรทีนอยด์ที่เกิดจากการแตกพันธะระหว่างอะตอมคาร์บอนภายในหมู่อะตอมที่มีโครงสร้างเป็นวงของส่วนปลายโมเลกุลแคโรทีนอยด์ ได้แก่ semi-β-carotenone (รูปที่ 2.11) (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.11 แสดงโครงสร้างของ semi-β-carotenone (Young และ Britton. 1993)

2.1.1.5 apo-carotenoids

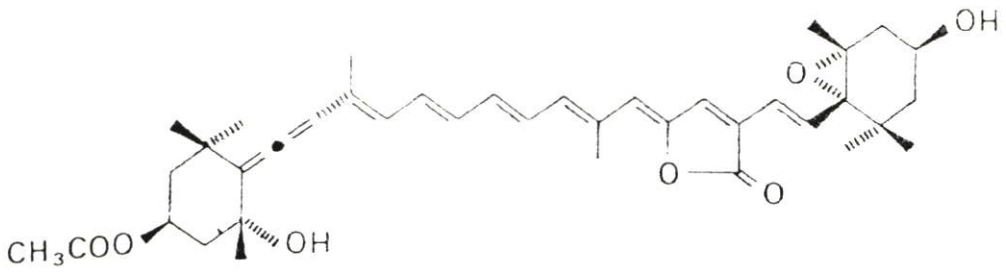
อะโป-แคโรทีนอยด์ คือ แคโรทีนอยด์ที่มีโครงสร้างหลักสั้นลงจากการกำจัดคาร์บอนในส่วนของหมู่อะตอมที่ปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุลแคโรทีนอยด์ ได้แก่ β-citraurin (รูปที่ 2.12) (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.12 แสดงโครงสร้างของ β-citraurin (Goodwin. 1980)

2.1.1.6 nor-carotenoids

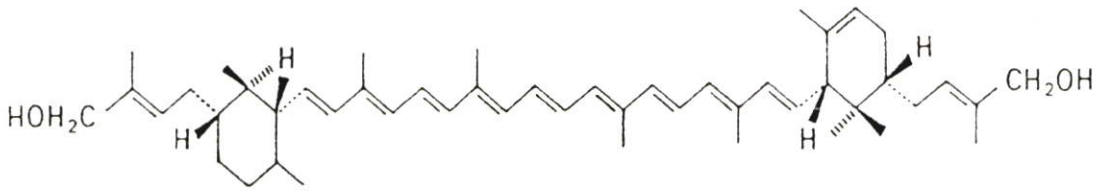
นอร์-แคโรทีนอยด์ คือ แคโรทีนอยด์ที่เกิดจากการกำจัดอะตอมคาร์บอนจำนวนหนึ่งอะตอมหรือมากกว่านั้นออกจากโครงสร้างหลัก โดยบริเวณที่เกิดการกำจัดอะตอมคาร์บอนต้องไม่อยู่ในส่วนของหมู่อะตอมที่ปลายด้านใดด้านหนึ่งของโมเลกุลแคโรทีนอยด์ ได้แก่ peridinin (รูปที่ 2.13) (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.13 แสดงโครงสร้างของ peridinin (Goodwin. 1980)

2.1.1.7 higher carotenoids

ไฮเออร์แคโรทีนอยด์ คือ แคโรทีนอยด์ที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอนเท่ากับ 45 หรือ 50 อะตอม โดยโมเลกุลแคโรทีนอยด์ที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอน 45 อะตอม เรียกอีกชื่อว่า monosubstituted C_{40} carotenoids และโมเลกุลแคโรทีนอยด์ที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอน 50 อะตอม เรียกอีกชื่อว่า disubstituted C_{40} carotenoids ตัวอย่างไฮเออร์แคโรทีนอยด์ ได้แก่ decaprenoxanthin (รูปที่ 2.14) (Goodwin. 1980)



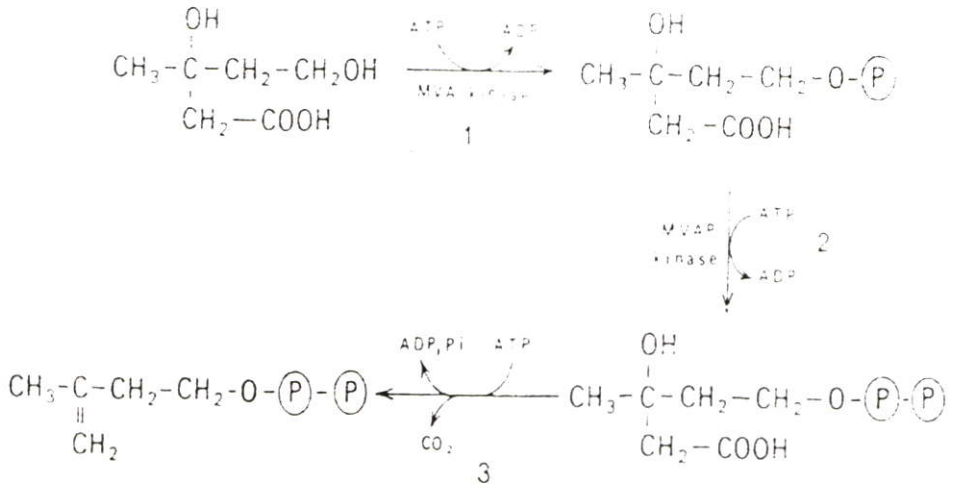
รูปที่ 2.14 แสดงโครงสร้างของ decaprenoxanthin (Goodwin. 1980)

2.1.2 กลไกการสังเคราะห์แคทีโรทีนอยด์ทางชีวภาพ

2.1.2.1 ระยะเริ่มต้น : ที่มาของสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไอโซพรีนอยด์

การศึกษาของ Young และ Britton (1993) พบว่าคลอโรพลาสต์ที่ยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ในใบของต้นอ่อน เมื่อมีการสังเคราะห์แสงสามารถตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเปลี่ยนเป็นเบต้า-แคโรทีน และไอโซพรีนอยด์ตัวอื่นๆ โดยกลไกการสังเคราะห์ทั้งหมดเกิด

ภายในคลอโรพลาสต์ แต่ในกรณีของใบแก่ที่มีคลอโรพลาสต์พัฒนาสมบูรณ์และมีกิจกรรมการสังเคราะห์แสงสูงสุด จะไม่สามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเปลี่ยนเป็นเบต้า-แคโรทีน และไอโซพรีนอยด์ได้ ดังนั้นการสังเคราะห์ไอโซพรีนอยด์จึงมีการนำเข้าสารตั้งต้นจากภายนอกคลอโรพลาสต์ โดยสารตั้งต้นคือไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟต (isopentenyl diphosphate, C_5) ทั้งนี้สารไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตมีการสังเคราะห์ผ่านสารตัวกลาง คือ ไพรูเวท (pyruvate) อะซีทิล-โคเอนไซม์เอ (acetyl-coenzyme A) และกรดเมวาโลนิค (mevalonic acid) โดยขั้นตอนการสังเคราะห์ไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตจากกรดเมวาโลนิค แสดงดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 แสดงขั้นตอนการสังเคราะห์ไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตจากกรดเมวาโลนิค (Goodwin. 1980)

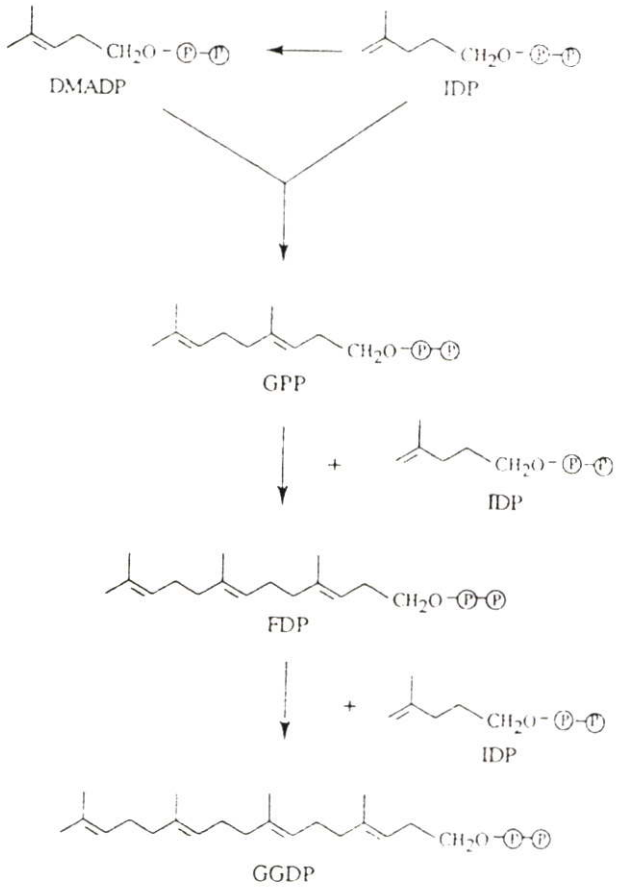
2.1.2.2 การสังเคราะห์สารตั้งต้นเจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต (geranylgeranyl diphosphate, C_{20})

กลไกการสังเคราะห์ไอโซพรีนอยด์ หรือ เจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต แสดงดังรูปที่ 2.16 โดยเริ่มจากปฏิกิริยาไอโซเมอร์ไรเซชั่น (isomerization) ของไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตเปลี่ยนเป็นไดเมทิลแอลลิลไดฟอสเฟต (dimethylallyl diphosphate) จากนั้นเกิดการรวมโมเลกุลของไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟต กับไดเมทิลแอลลิลไดฟอสเฟตอย่างละ 1 โมเลกุล เข้าด้วยกันโดยผ่านเอนไซม์เพรนิลทรานเฟอเรส (prenyl transferase) ได้เป็นเจรานิลไดฟอสเฟต (geranyl diphosphate, C_{10}) ในระยะต่อมามีการรวมโมเลกุลไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตเข้าไปอีก 2 โมเลกุล โดยในการรวมไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตโมเลกุลแรกจะได้ฟาร์เนซิลไดฟอสเฟต (farnesyl diphosphate, C_{15}) และเมื่อรวมไอโซเพนเทนิลไดฟอสเฟตโมเลกุลที่สอง จึงได้เป็นเจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต (Goodwin. 1980)

2.1.2.3 การสังเคราะห์ไฟโตอีน (phytoene)

การสังเคราะห์ไฟโตอีนเป็นปฏิกิริยาที่จำเพาะเจาะจงกับกระบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ โดยไฟโตอีนซึ่งเป็นสายไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนคาร์บอน 40 อะตอม สามารถ

สังเคราะห์ได้จากการรวมเจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต 2 โมเลกุล โดยปฏิกิริยานี้ดำเนินผ่านสารตัวกลางพรีไฟโตอีนไดฟอสเฟต (prephytoene diphosphate) (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.16 แสดงกลไกการสังเคราะห์สารเจรานิลเจรานิลไดฟอสเฟต (Young และ Britton. 1993)

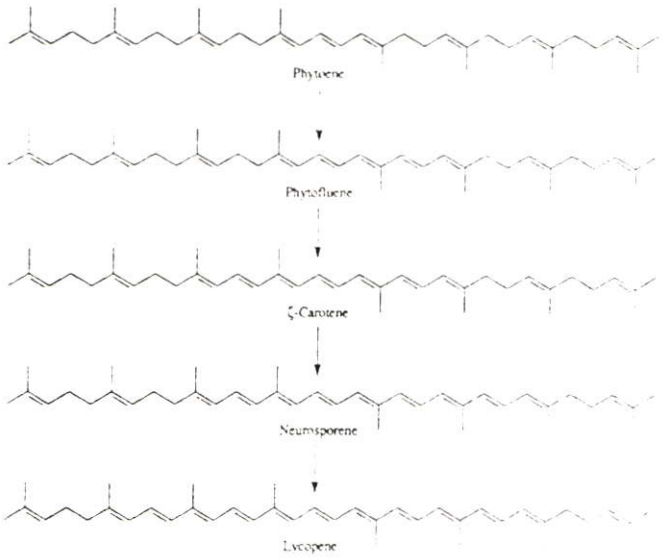
2.1.2.4 ปฏิกิริยาดีแซทูเรชั่น (desaturation)

การเปลี่ยนไฟโตอีนซึ่งเป็นสารไร้สีให้เป็นไลโคพีน (ไลโคพีนเป็นสารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์) เกิดผ่านกลไกชุดปฏิกิริยาดีแซทูเรชั่น โดยการกำจัดอะตอมของไฮโดรเจนทุก 2 อะตอม ก่อให้เกิดพันธะคู่ขึ้นใหม่ 1 พันธะ ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของไฟโตอีนจากชุดปฏิกิริยาดีแซทูเรชั่น แสดงดังรูปที่ 2.17 (Young และ Britton. 1993)

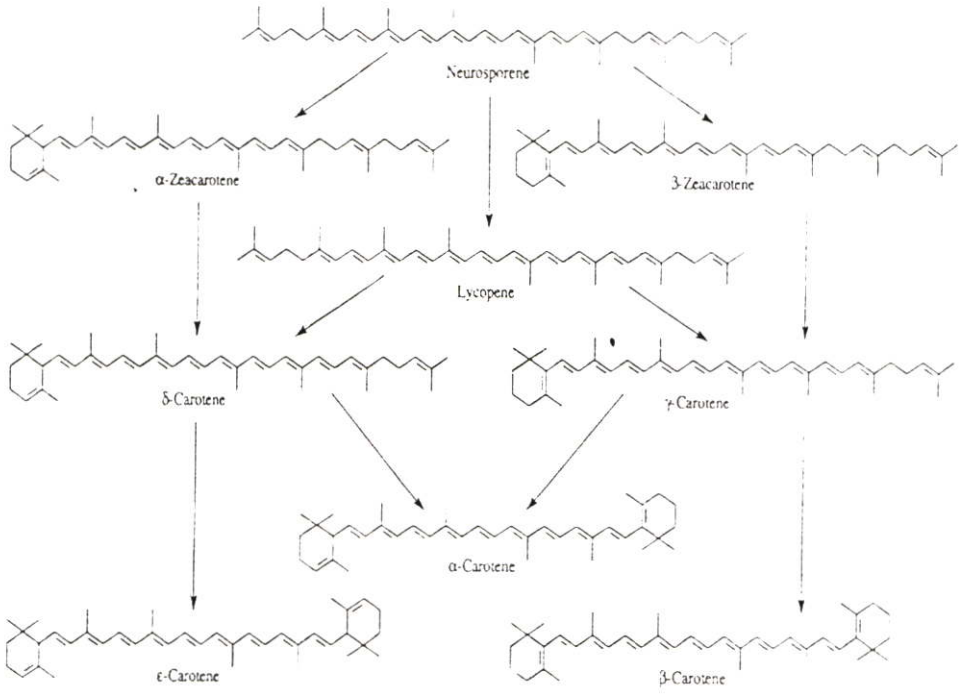
2.1.2.5 ปฏิกิริยาไซคลิเซชั่น (cyclisation)

การเกิดสารประกอบแคโรทีนอยด์แบบ 2 วง คือ α-carotene β-carotene และ ε-carotene แสดงดังรูปที่ 2.18 ยังเป็นปฏิกิริยาที่มีการถกเถียงเกี่ยวกับสารตัวกลางตัวแรกสำหรับการเปลี่ยนเป็นสารประกอบแคโรทีนอยด์แบบวง ระหว่าง neuroporene หรือ lycopene โดยปฏิกิริยาไซคลิเซชั่นเริ่มจากโปรตอนกระทบกับอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของกลุ่มอะตอมที่ปลายโมเลกุลเป็นโซ่ตรงซึ่งวางโครงสร้างเหมาะสม จากนั้นจึงเกิดการสูญเสียโปรตอนจากอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 6

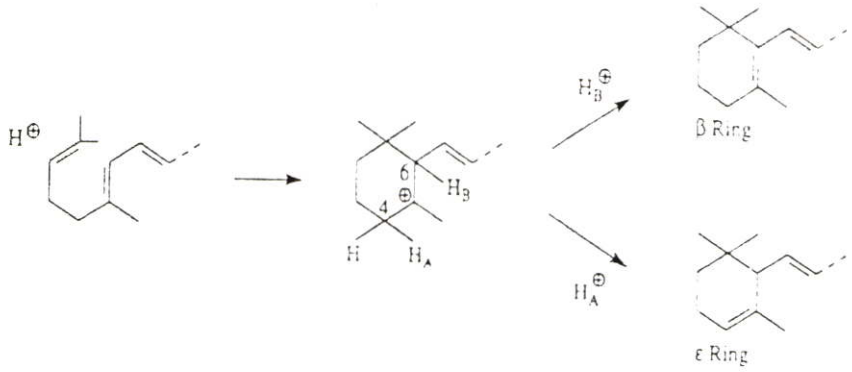
หรืออะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 เพื่อกลายเป็น β-carotene ในกรณีที่เกิดการสูญเสียโปรตอนจากอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 หรือ ε-caroteneในกรณีที่เกิดการสูญเสียโปรตอนจากอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ดังรูปที่ 2.19 (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.17 แสดงการเปลี่ยนแปลงของไฟโตอีนให้เป็นไลโคพีนจากชุดปฏิกิริยาดีแซทูเรชั่น (Young และ Britton. 1993)



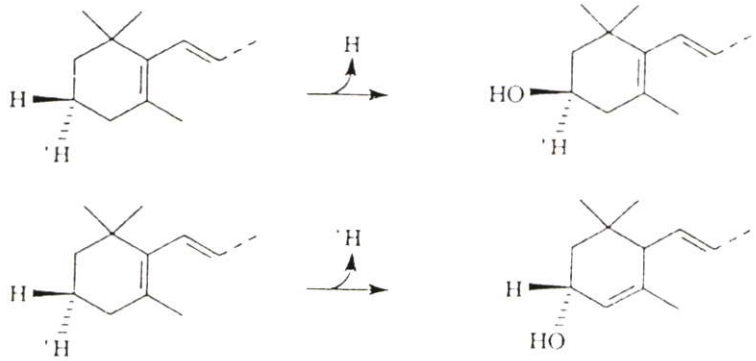
รูปที่ 2.18 แสดงการเกิดสารประกอบแคโรทีนอยด์แบบ 2 วง คือ α-carotene β-carotene และ ε-carotene (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.19 แสดงกลไกปฏิกิริยาไซคลิเซชั่น (Young และ Britton. 1993)

2.1.2.6 ปฏิกิริยาไฮดรอกซีเลชั่น (hydroxylation)

แคโรทีนอยด์ที่มีอะตอมออกซิเจนในโครงสร้างโมเลกุล พบว่าปฏิกิริยานี้จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในกลุ่มแซนโทฟิลล์ โดยปฏิกิริยาที่มีการศึกษามากที่สุด คือ การนำกลุ่มไฮดรอกซีเข้าทำปฏิกิริยาที่อะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของวงไฮโดรคาร์บอนแบบเบต้าหรือเอปซิลอน กลายเป็นแซนโทฟิลล์ คือ zeaxanthin หรือ lutein ตามลำดับ ดังรูปที่ 2.20 (Young และ Britton. 1993)



รูปที่ 2.20 แสดงกลไกปฏิกิริยาไฮดรอกซีเลชั่น (Young และ Britton. 1993)

2.2 สิ่งมีชีวิตที่เป็นแหล่งผลิตแคโรทีนอยด์

2.2.1 พืช

แคโรทีนอยด์พบได้ในทุกส่วนของพืช ทั้งจากราก ใบ ยอด เมล็ด ผล และดอก ทั้งนี้ในผักและผลไม้ที่มนุษย์นิยมบริโภคสามารถจำแนกชนิดของแคโรทีนอยด์ได้ประมาณ 60 ชนิด (Fraser และ Bramley. 2004) ได้แก่ ไลโคพีน แอลฟา-แคโรทีน เบต้า-แคโรทีน ลูทีน ซีแซนทิน เป็นต้น โดยปริมาณแคโรทีนอยด์ในพืชผลทางการเกษตรบางชนิดแสดงไว้ในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ในพืชผลทางการเกษตรบางชนิด (Fraser and Bramley. 2004)

ชนิด	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด)					
	total	zeaxanthin	lutein	α-carotene	β-carotene	lycopene
กะหล่ำดาว (brussel sprout)	1163	-	610	-	553	-
ถั่วเขียว (green bean)	940	-	494	70	376	-
ถั่วปากอ้า (broad bean)	767	-	506	-	261	-
บร็อคโคลี่ (broccoli)	2533	-	1614	-	919	-
กะหล่ำปลีเขียว (green cabbage)	139	-	80	-	59	-
ผักสลัดแก้ว (lettuce)	201	-	110	-	91	-
ผักชีฝรั่ง (parsley)	10335	-	5812	-	4523	-
ถั่วลันเตา (pea)	2091	-	1633	-	458	-
ผักขม (spinach)	9890	-	5869	-	4021	-
ผักสลัดน้ำ (watercress)	16632	-	10713	-	5919	-
แอปปริคอต (apricot)	2196	31	101	37	1766	-
กล้วย (banana)	126	4	33	50	39	-
แครอท : พ.ค. (carrot : May)	11427	-	170	2660	8597	-
แครอท : ก.ย. (carrot : Sept)	14693	-	283	3610	10800	-
ส้ม (orange)	211	50	64	Nd	14	-
พริกไทย (pepper)	2784	1608	503	167	416	-
พีช (peach)	309	42	78	Tr	103	-
ข้าวโพดหวาน (sweet corn)	1978	437	522	60	59	-
มะเขือเทศ (tomato)	3454	-	78	-	439	2937

หมายเหตุ Nd คือ ไม่มีข้อมูล

Tr คือ การพบแคโรทีนอยด์ปริมาณน้อยมาก

2.2.2 สาหร่าย

สาหร่ายทุกคลาส (class) ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติในการสร้างแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 2.3 (Cohen. 1999) ทั้งนี้แคโรทีนอยด์ที่สาหร่ายทุกคลาสสามารถสังเคราะห์ได้ คือ เบต้า-แคโรทีน

2.2.3 แบคทีเรีย

แบคทีเรียที่มีแคโรทีนอยด์สามารถแบ่งได้ 2 กลุ่มคือ

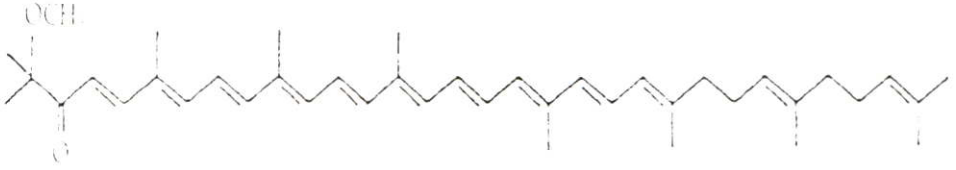
2.2.3.1 แบคทีเรียไม่สังเคราะห์แสง (Non-photosynthetic bacteria)

ใน chemo-organotrophic bacteria สามารถพบแคโรทีนอยด์ได้หลายกลุ่ม คือ C_{50} C_{40} และC_{30} ตัวอย่างแบคทีเรีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecium* และ *Pseudomonas rhodos* โดยแคโรทีนอยด์ที่พบ คือ ไดอะโปแคโรทีนอยด์ (diapocarotenoids, C30) เช่น diaponeurosporene ซึ่งแสดงโครงสร้างดังรูปที่ 2.21 ทั้งนี้แคโรทีนอยด์ที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอน 30 อะตอม พบเฉพาะในแบคทีเรีย chemo-organotrophic bacteria เท่านั้น (Margalith. 1992)

รูปที่ 2.21 แสดงโครงสร้างของ diaponeurosporene (Margalith. 1992)

2.2.3.2 แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (photosynthetic bacteria)

ตัวอย่างแบคทีเรียในกลุ่มนี้ ได้แก่ purple bacteria ซึ่งสามารถสังเคราะห์ spirilloxanthin หรือ spheroidenone แสดงโครงสร้างดังรูปที่ 2.22 หรืออาจสังเคราะห์ได้ทั้งสองชนิด (Margalith. 1992)



รูปที่ 2.22 แสดงโครงสร้างของ spheroidenone (Margalith. 1992)

ตารางที่ 2.3 แสดงชนิดแคโรทีนอยด์ที่สำคัญซึ่งพบในสาหร่ายแต่ละคลาส (Cohen. 1999)

คลาสสาหร่าย	แคโรทีนอยด์																				
	β,β-carotene	β,ε-carotene	zeaxanthin	lutein	violaxanthin	diadinoxanthin	diatoxanthin	alloxanthin	heteroxanthin	pyrrhoxanthin	peridinin	neoxanthin	vaucheriaxanthin	fucoxanthin	echinenone	canthaxanthin	astaxanthin	siphonaxanthin	siphonein	prasinoxanthin	myxoxanthophyll	oscillaxanthin
Nst1	+		+												+	+					+	+
Nst2	+	±	+																			
Bng	+	+[a]	+	+[a]																		
Crp	+	+	±					+														
Din1	+					+	+			±	+						±					
Din2	+	±				+	+							+								
Din3	+	?	?	?	?							?								±		
Crs1	+	±	±		±							±		+								
Crs2	+	±				+	+							+								
Syn	?	?	?		?	?	?					?		?								
Pel	+	?				+	+							+								

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

คลาส สาหร่าย	เม็ดสีที่ละลายน้ำได้																							
	β,β-carotene	β,ε-carotene	zeaxanthin	lutein	violaxanthin	diadinoxanthin	diatoxanthin	alloxanthin	heteroxanthin	pyrrhoxanthin	peridinin	neoxanthin	vaucheriaxanthin	fucoxanthin	echinenone	canthaxanthin	astaxanthin	siphonaxanthin	siphonein	prasinoxanthin	myxoxanthophyll	oscillaxanthin
Fuc	+	±	±	+	±							±		+								
Dia	+					+	+					±		+								
Trb	+					+	+		+			?	±									
Eus	+		±		+							±	+									
Prm	+	±				+	+							+								
Glu	+		+																			
Prs1	+	+	±	+	+							+										
Prs2	+	+	±	+	+							+							+			
Prs3	+	+	+	±	+							+					±			+		
Ped	+	+	±	+	+							+										
Cha	+	±	±	+	+							+										

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

คลาสสาหร่าย	แคโรทีนอยด์																				
	β,β-carotene	β,ε-carotene	zeaxanthin	lutein	violaxanthin	diadinoxanthin	diatoxanthin	alloxanthin	heteroxanthin	pyrrhoxanthin	peridinin	neoxanthin	vaucheriaxanthin	fucoxanthin	echinenone	canthaxanthin	astaxanthin	siphonaxanthin	siphonein	prasinoxanthin	myxoxanthophyll	oscillaxanthin
Chl	+	+	±	+	+							+			±	±	±	±	±			
Eug1	+	+				+	+		±			±							±			
Eug2	+	+				+	+					±							+			
Clc	+		+	+	+							+										

หมายเหตุ + คือ การพบแคโรทีนอยด์ +[a] คือ การพบแคโรทีนอยด์เฉพาะในสาหร่ายขนาดใหญ่ ± คือ การพบแคโรทีนอยด์ปริมาณน้อยหรือพบเพียงบางชนิดสาหร่าย ? คือ ไม่มีข้อมูล Nst1 คือ Nostocophyceae Type1, Nst2 คือ Nostocophyceae Type2, Bng คือ Bangiophyceae, Crp คือ Cryptophyceae, Din1 คือ Dinophyceae Type1, Din2 คือ Dinophyceae Type2, Din3 คือ Dinophyceae Type3, Crs1 คือ Chrysophyceae Type1, Crs2 คือ Chrysophyceae Type2, Syn คือ Synurophyceae, Pel คือ Pelagophyceae, Fuc คือ Fucophyceae, Dia คือ Diatomophyceae, Trb คือ Tribophyceae, Eus คือ Eustigmatophyceae, Prm คือ Prymnesiophyceae, Glu คือ Glaucocystophyceae, Prs1 คือ Prasinophyceae Type1, Prs2 คือ Prasinophyceae Type2, Prs3 คือ Prasinophyceae Type3, Cha คือ Charophyceae, Chl คือ Chlorophyceae, Eug1 คือ Euglenophyceae Type1, Eug2 คือ Euglenophyceae Type2 และ Clc คือ Chlorarachniophyceae

2.2.4 ฟังไจ (fungi)

ฟังไจที่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้มีหลายชนิด โดยการผลิตแคโรทีนอยด์จากฟังไจที่พบบ่อยครั้งได้จากราและยีสต์ ทั้งนี้ราซึ่งมีการสร้างสารสีในเส้นใยและก้านชูสปอร์ ได้แก่ *Phycomyces blakesleeanus*, *Mucor mucedo* และ *Blakeslea trispora* สำหรับยีสต์ที่นิยมใช้ในการผลิตแคโรทีนอยด์ ได้แก่ *Phaffia rhodozyma* และ *Rhodotorula glutinis* (Margalith. 1992)

2.3 สาหร่ายสีเขียว (green algae)

2.3.1 ลักษณะทั่วไป

2.3.1.1 ผนังเซลล์

สาหร่ายสีเขียวมีทั้งกลุ่มที่ไม่มีผนังเซลล์และกลุ่มที่มีผนังเซลล์ โดยกลุ่มที่ไม่มีผนังเซลล์หุ้มอาจหุ้มด้วยเยื่อหุ้มเซลล์เพลลิเคิล (pellicle) เพริพลาสต์ (periplast) หรือหุ้มด้วยเกล็ด (ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544) และกลุ่มที่มีผนังเซลล์จะมีผนังเซลล์ที่สมบูรณ์คล้ายพืชชั้นสูง ประกอบไปด้วยสารพวกเซลลูโลสที่มีลักษณะเป็นไมโครไฟบริลประสานกันไปมาครอบคลุมเซลล์ นอกจากนั้นยังมีสารพวกที่ไม่เป็นรูปร่าง (amorphous material) หลายชนิดที่ทำหน้าที่เป็นเมทริกซ์ (matrix) หรือสารที่เป็นพื้นปะปนอยู่ อาจมีสปอโรพอลเลนิน (sporopollenin) ซึ่งเป็นรงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ (polymerized carotenoid material) ปะปนอยู่มากน้อยต่างกัน ทั้งนี้การสร้างผนังเซลล์ของสาหร่ายอาศัยกอลไจบอดีส์ (golgi bodies) ซึ่งเป็นออร์แกเนลล์ที่ผลิตสารองค์ประกอบของผนังเซลล์เช่นเดียวกับพืชชั้นสูง (ยุวดี พีรพรพิศาล. 2546)

2.3.1.2 คลอโรพลาสต์ (ยุวดี พีรพรพิศาล. 2546 ; ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544)

ลักษณะทั่วไปของคลอโรพลาสต์ของสาหร่ายสีเขียวคล้ายกับพืชชั้นสูง คือ มีเยื่อหุ้มสองชั้น ชั้นนอกและชั้นใน ทั้งนี้เยื่อหุ้มชั้นในมีการม้วนตัว ทำให้เกิดระบบเยื่อที่ซับซ้อนอยู่ภายใน โดยมีเยื่อที่มีลักษณะเป็นถุงกลมแบน เรียกว่า ไทลาคอยด์ (thylakoid) ซึ่งเยื่อภายในไทลาคอยด์ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และรงควัตถุที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสง ได้แก่ รงควัตถุหลักประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ เอ และ บี และรงควัตถุประกอบ ได้แก่ แคโรทีน (เบตา หรือแกมมา) และแซนโธฟิลล์ สาหร่ายสีเขียวมีไทลาคอยด์จำนวน 2-6 อัน เรียงซ้อนกันอยู่เป็นตั้งๆ แต่ละตั้งเรียกว่า กรานัม (granum) พหูพจน์เรียก กรานา (grana) กรานาจะเรียงตัวเป็นชั้นๆ เรียกว่าลาเมลลา (lamellae) หรือกรานาลาเมลลา ระหว่างกรานัมจะมีเยื่อเชื่อมต่อกันเรียกว่า สโตรมาลาเมลลา (stroma lamellae) ส่วนบริเวณที่ไม่มีเยื่อภายในคลอโรพลาสต์เรียกว่า สโตรมา (stroma) หรือเมทริกซ์ ซึ่งในส่วนของสโตรมาจะมีดีเอ็นเอ ไรโบโซม และเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์

2.3.1.3 รูปร่าง (ยุวดี พีรพรพิศาล. 2546 ; ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544)

สาหร่ายสีเขียวเป็นดิวิชั่นที่มีรูปร่างหลากหลาย คือ มีทั้งเซลล์เดียว โคโลนี เส้นสาย หลอดหรือท่อต่อกันตลอด และแบบทัลลัสที่เป็นเนื้อเยื่อพาเรนไคมา พวกที่เป็นเซลล์เดียวและพวกที่เป็นโคโลนีทั้งที่เคลื่อนที่ได้และเคลื่อนที่ไม่ได้มักพบเป็นแพลงก์ตอนพืชในน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่ โดยชนิดที่มีหนวดส่วนใหญ่มีรูปร่างกลมรีรูปกระสวย ส่วนพวกที่เป็นเส้นสายมักพบในน้ำจืดและมีบ้างที่พบในน้ำทะเล สำหรับพวกที่เป็นหลอดหรือท่อต่อกันตลอดและพวกที่มีลักษณะเป็นทัลลัสทั้งเล็กและใหญ่มักพบในทะเลเป็นส่วนใหญ่

2.3.2 การจำแนกหมวดหมู่

การจำแนกหมวดหมู่ของสาหร่ายสีเขียวมีหลายระบบ เช่น Whitford และ Schumacher (1969) ได้จัดจำแนกดิวิชันนี้ออกเป็น1 คลาส 10 ออร์เดอร์ Round (1973) ได้จัดจำแนกออกเป็น 4 คลาส 21 ออร์เดอร์ Bold และ Wynne (1978) ได้จัดจำแนกออกเป็น1 คลาส 15 ออร์เดอร์ Prescott (1978) ได้จัดจำแนกออกเป็น 1 คลาส 13 ออร์เดอร์ และIrvine และ John (1984) ได้จัดจำแนกออกเป็น 5 คลาส 14 ออร์เดอร์ เป็นต้น

2.4 ความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายสีเขียวในประเทศไทย

คฑาวุธ ปานบุญ (2542) ศึกษาความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชในจังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งเก็บตัวอย่างน้ำทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 1 ปี (เดือนมกราคม ถึงเดือนธันวาคม) จากแหล่งน้ำ 25 สถานี แบ่งเป็นแม่น้ำตอนบน 6 สถานี แม่น้ำตอนล่าง 5 สถานี แหล่งน้ำตามธรรมชาติ 5 สถานี และแหล่งน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น 9 สถานี พบแพลงก์ตอนพืช 92 สกุล โดยสกุลที่พบทุกสถานีเป็นสาหร่ายในคลาส Cyanophyceae คือ *Oscillatoria* และสกุลที่พบเกือบทุกสถานีในคลาส Cyanophyceae ได้แก่ *Microcystis*, *Anabaena* และ *Spirulina* คลาส Chlorophyceae ได้แก่ *Eudorina*, *Pediastrum* และ *Scenedesmus* คลาส Bacillariophyceae ได้แก่ *Synedra* และ *Suriella* คลาส Euglenophyceae ได้แก่ *Trachelomonas* คลาส Dinophyceae ได้แก่ *Peridinium* และ *Cerutium*

อาภารัตน์ มหาขันธ์ และคณะ (2542) ในการสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่างๆ ในธรรมชาติ โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำจืดที่สะอาด 300 ตัวอย่าง ในพื้นที่กรุงเทพมหานครและปริมณฑล รวมทั้งสิ้น 6 จังหวัด 23 เขต/อำเภอ ได้แก่ กรุงเทพมหานคร 12 เขต จำนวน 149 ตัวอย่าง นครปฐม 2 อำเภอ จำนวน 32 ตัวอย่าง นนทบุรี 3 อำเภอ จำนวน 52 ตัวอย่าง ปทุมธานี 2 อำเภอ จำนวน 50 ตัวอย่าง สมุทรปราการ 2 อำเภอ จำนวน 7 ตัวอย่าง และสมุทรสาคร 2 อำเภอ จำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าสาหร่ายที่มีความถี่ในการแพร่กระจายสูงกว่าร้อยละ 20.0 ของตัวอย่าง พบ 4 สกุล คือ สาหร่ายสีเขียวสกุล *Chlorella* มีการแพร่กระจายในตัวอย่างที่สำรวจมากที่สุดถึง 104 ตัวอย่าง หรือคิดเป็นร้อยละ 34.7 รองลงไปได้แก่ สาหร่ายสีเขียว

แกมน้ำเงินสกุล *Phormidium*, สาหร่ายสีเขียวสกุล *Scenedesmus* และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* พบการแพร่กระจายคิดเป็นร้อยละ 25.0 23.7 และ 22.7 ตามลำดับ

2.5 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย

2.5.1 ไนโตรเจน

Harker และคณะ (1996) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ในอาหารซึ่งมีปริมาณไนเตรทต่างกันคือ 0.0 0.75 1.5 3.0 และ 6.0 มิลลิโมลาร์ จากการทดลองพบว่าสาหร่ายมีปริมาณเซลล์สูงสุดในอาหารที่มีปริมาณไนเตรทเท่ากับ 3.0 มิลลิโมลาร์ (0.25 กรัมต่อลิตร) แต่การสะสมแอสตาแซนทินภายในเซลล์สูงสุดพบในอาหารที่ปริมาณไนเตรท เท่ากับ 0.0 มิลลิโมลาร์ โดยมีปริมาณแอสตาแซนทิน เท่ากับ 300 พิโคกรัมต่อเซลล์ ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงดำเนินการเสร็จสิ้นภายใน 30 วัน

Del Campo และคณะ (2000) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Muriellopsis* sp. ในอาหารซึ่งมีปริมาณไนเตรทต่างกันคือ 10 20 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ จากการทดลองพบว่าสาหร่ายสะสมลูทีนสูงสุดในอาหารที่มีปริมาณไนเตรท 20 มิลลิโมลาร์ (1.7 กรัมต่อลิตร) โดยมีปริมาณลูทีนเท่ากับ 23 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับในอาหารที่มีปริมาณไนเตรท 30 และ 40 มิลลิโมลาร์

2.5.2 ฟอสฟอรัส

Borowitzka และคณะ (1991) เพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ตั้งแต่ 0.001 ถึง 0.2 กรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่าสาหร่ายมีการเจริญใกล้เคียงกันในทุกความเข้มข้น แต่จะมีการสะสมแอสตาแซนทินดีที่สุดที่ความเข้มข้นไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัมต่อลิตร โดยที่ความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อลิตร ไม่พบการสร้างแอสตาแซนทิน

Harker และคณะ (1996) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ในอาหารที่มีปริมาณฟอสเฟตต่างกันคือ 0.85 1.7 และ 3.4 มิลลิโมลาร์ จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของฟอสเฟตเท่ากับ 3.4 มิลลิโมลาร์ (0.462 กรัมต่อลิตร) สาหร่ายมีปริมาณเซลล์สูงสุด แต่การผลิตแอสตาแซนทินสูงสุดพบที่ความเข้มข้นฟอสเฟต เท่ากับ 0.85 มิลลิโมลาร์ (0.116 กรัมต่อลิตร) ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงดำเนินการเสร็จสิ้นภายใน 30 วัน

2.5.3 พีเอช

Del Campo และคณะ (2000) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Muriellopsis* sp. ในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นต่างกันคือ 6 6.5 7 8 และ 9 จากการทดลองพบว่าสาหร่ายมีการเจริญสูงสุดที่ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 แต่ที่ค่าพีเอชเริ่มต้นเป็น 9 และ 6 ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญกลับให้ปริมาณลูทีนต่อเซลล์สูงกว่าถึง 7 และ 5 เท่า ตามลำดับ

2.5.4 โซเดียมคลอไรด์

Gouveia และคณะ (1996) รายงานว่าการชักนำสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ด้วยโซเดียมคลอไรด์ 30 กรัมต่อลิตร เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสีภายในเซลล์ พบว่าในวันที่ 5 ของการชักนำมีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดสูงสุด แต่ปริมาณแคนทาแซนทินและแอสตาแซนทินสูงสุดในวันที่ 22 ของการชักนำ

Harker และคณะ (1996) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* จนได้จำนวนเซลล์เพียงพอ จากนั้นนำสาหร่ายมาเพาะเลี้ยงต่อในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใส่สาหร่ายขวดละ 50 มิลลิลิตร ทำการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ ปริมาณต่างกันคือ 0.0 40 70 และ 100 มิลลิโมลาร์ จากการทดลองพบว่าสาหร่ายมีการเจริญสูงสุดที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0.0 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่การสะสมแอสตาแซนทินมีปริมาณสูงสุดที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 100 มิลลิโมลาร์ (5.85 กรัมต่อลิตร) ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ดำเนินการเสร็จสิ้นภายใน 30 วัน

Del Campo และคณะ (2000) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Muriellopsis* sp. ในอาหารที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่างกันคือ 2 35 70 100 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ จากการทดลองพบว่าสาหร่ายสะสมลูทีนสูงสุดในอาหารที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 35 มิลลิโมลาร์ (2.05 กรัมต่อลิตร) โดยมีปริมาณลูทีนเท่ากับ 31.7 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณลูทีนจะเริ่มลดลงในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์มากกว่า 100 มิลลิโมลาร์ (5.85 กรัมต่อลิตร)

2.5.5 โซเดียมอะซีเตต

Borowitzka และคณะ (1991) เพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* เปรียบเทียบระหว่างอาหารที่เติมโซเดียมอะซีเตต 0.1 กรัมต่อลิตร และไม่เติมโซเดียมอะซีเตต พบว่าการเติมโซเดียมอะซีเตตจะส่งผลให้อัตราการเจริญเพิ่มขึ้นอีกทั้งชักนำให้เกิดการสะสมแอสตาแซนทิน

Kobayashi และคณะ (1991) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของโซเดียมอะซีเตตต่างกันคือ 15 30 45 และ 60 มิลลิโมลาร์ พบว่าการเติมโซเดียมอะซีเตตมากกว่า 30 มิลลิโมลาร์ (2.5 กรัมต่อลิตร) จะมีผลในการยับยั้งการเจริญ แต่จะกระตุ้นการสะสมแอสตาแซนทินเพิ่มขึ้น

Kobayashi และคณะ (2001) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* เป็นระยะเวลา 4 วัน จากนั้นชักนำให้ผลิตแอสตาแซนทินโดยเติมโซเดียมอะซีเตต 45 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่างเดียว เปรียบเทียบกับอาหารที่เติมโซเดียมอะซีเตต 45 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเฟอรัสซัลเฟต 450 ไมโครโมลาร์ ปรากฏว่าการเติมโซเดียมอะซีเตตเพียงอย่างเดียวทำให้สาหร่ายเข้าสู่ระยะซีสต์เต็มวัยเร็วกว่าการไม่เติมโซเดียมอะซีเตต โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ประมาณ 20 ไมโครเมตร ขณะที่อาหารซึ่งเติมโซเดียมอะซีเตตร่วมกับเฟอรัสซัลเฟตทำให้จำนวนเซลล์สาหร่ายที่เข้าสู่ระยะซีสต์เต็มวัยมี

จำนวนมากขึ้น และมีเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ใหญ่กว่าการเลี้ยงในอาหารที่เติมโซเดียมอะซีเตตเพียงอย่างเดียว

Orosa และคณะ (2005) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ในอาหารซึ่งมีความเข้มข้นของโซเดียมอะซีเตตต่างกันคือ ร้อยละ 0 0.25 0.5 1 และ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากการทดลองพบว่าสาหร่ายมีการผลิตแอสตาแซนทินสูงสุดในอาหารซึ่งมีปริมาณโซเดียมอะซีเตตร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

2.5.6 เฟอรัสซัลเฟต

Kobayashi และคณะ (1991) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* เป็นระยะเวลา 4 วัน จากนั้นทดลองชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตต 45 มิลลิโมลาร์ (3.69 กรัมต่อลิตร) ร่วมกับเฟอรัสซัลเฟต โดยแปรผันความเข้มข้นของเฟอรัสซัลเฟตเป็น 0 150 300 450 และ 600 ไมโครโมลาร์ พบว่าการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตต 45 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเฟอรัสซัลเฟต 450 ไมโครโมลาร์ (0.125 กรัมต่อลิตร) ให้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแอสตาแซนทินสูงสุด โดยที่ความเข้มข้นเฟอรัสซัลเฟต 600 ไมโครโมลาร์ (0.167 กรัมต่อลิตร) กลับให้ปริมาณแอสตาแซนทินต่ำที่สุด

Estevez และคณะ (2001) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในอาหารซึ่งมีความเข้มข้นของเหล็ก (Fe EDTA) ต่างกันคือ 5 90 และ 500 ไมโครโมลาร์ จากการทดลองพบว่าสาหร่ายสะสมเบต้าแคโรทีนสูงสุดในอาหารซึ่งความเข้มข้นของเหล็กเท่ากับ 90 ไมโครโมลาร์ (0.033 กรัมต่อลิตร)

Ip และ Chen (2005) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella zofingiensis* ในสูตรอาหารที่มีปริมาณเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร และทดลองชักนำให้ผลิตแอสตาแซนธินทำโดยเปรียบเทียบชนิดของสารชักนำ 3 ชนิด คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 0.1 มิลลิโมลาร์ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaClO) 1 มิลลิโมลาร์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.001 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5 มิลลิโมลาร์ ปรากฏว่าการชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.1 มิลลิโมลาร์ ได้ผลดีที่สุดคือผลิตแอสตาแซนทิน 12.58 มิลลิกรัมต่อลิตร

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ สารเคมี และจุลินทรีย์

3.1.1 อุปกรณ์

กล้องจุลทรรศน์ ของ Olympus รุ่น CH-2

เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ของ Denver Instrument รุ่น Model 215

เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (incubator shaker) ของ Gallenkamp รุ่น IOI400.XX2.C

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ของ Hach รุ่น DR/4000 V

เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ของ Shimadzu รุ่น Libror EB-4000 H

เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง ของ Sartorius Analytic รุ่น A 200 S

เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (centrifuge) ของ Sanyo รุ่น Falcon 6/300

เครื่องทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียง (sonicator) ของ Sonics vibra cell รุ่น VCX 500

ตู้ถ่ายเชื้อ (laminar air flow) ของ Issco รุ่น BVT 123

ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ของ WTB Binder รุ่น ED53

ไมโครปิเปตต์ ของ Eppendorf รุ่น 500-5000 µL

หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ของ Hirayama รุ่น HA-300 MIV

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (waterbath) ของ Clifton รุ่น NE2-22D

เฮมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer) ชนิด improved neubauer ของ Boeco

เครื่องแก้วชนิดต่างๆ

3.1.2 สารเคมี

สารเคมีที่เกี่ยวข้องในสูตรอาหาร N-8

สารเคมีที่ใช้ในการชักนำให้สาหร่ายสร้างแคโรทีนอยด์

สารเคมีที่ใช้ในการสกัดและวิเคราะห์แคโรทีนอยด์

3.13 จุลินทรีย์

สาหร่ายสีเขียว (Chlorophyceae) ที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำบริเวณน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู จำนวน 72 ไอโซเลท

3.2 วิธีการวิจัย

3.2.1 การเก็บตัวอย่างเพื่อการคัดแยกสาหร่าย

3.2.1.1 พื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง

พื้นที่ในการเก็บตัวอย่างแบ่งเป็น 2 สถานที่ คือ แหล่งน้ำบริเวณน้ำตกกระทิง อุทยานแห่งชาติเขาคิชฌกูฏ เขตจังหวัดจันทบุรี และแหล่งน้ำบริเวณน้ำตกป่าละอู อุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน เขตจังหวัดประจวบคีรีขันธ์

3.2.1.2 การเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างแบ่งเป็นสถานที่ละ 2 ครั้ง คือ บริเวณน้ำตกกระทิง ทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 8 เดือนกันยายน พ.ศ. 2546 และวันที่ 14 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2548 สำหรับบริเวณน้ำตกป่าละอู ทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 16 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2547 และวันที่ 16 เดือนมกราคม พ.ศ. 2548 โดยแต่ละครั้งทำการเก็บตัวอย่างสถานที่ละ 10 จุด ทั้งนี้ในแต่ละจุดทำการบันทึกค่าอุณหภูมิและค่าพีเอชของแหล่งน้ำในจุดนั้นๆ ไว้ จากนั้นเก็บตัวอย่างดินและน้ำในบริเวณนั้น เพื่อนำมาคัดแยกสาหร่ายต่อไป

3.2.2 การคัดแยกและการจัดจำแนกสาหร่าย

นำตัวอย่างดินและน้ำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณสาหร่าย โดยเติมอาหารเหลวสูตร N-8 (ภาคผนวก ก) ในอัตราส่วนตัวอย่าง 1 ส่วน ต่ออาหาร 4 ส่วน เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง โดยให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซ็นต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง และให้อากาศโดยเขย่าเป็นครั้งคราว เพาะเลี้ยงประมาณ 3 สัปดาห์ จึงนำไปคัดแยก

3.2.2.1 การคัดแยกสาหร่ายและการทำให้บริสุทธิ์

นำตัวอย่างที่ผ่านการเพาะเลี้ยงมาสเปรด (spread) บนอาหารแข็งสูตร N-8 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง โดยให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซ็นต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง เมื่อสาหร่ายเจริญจนเห็นโคโลนีชัดเจน นำไปคัดแยกต่อโดยการใช้ลวดเขี่ยเชื้อแยกเอาโคโลนีเดี่ยวๆ ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งจานใหม่ ทำการคัดแยกซ้ำจนโคโลนีสาหร่ายที่ได้มีลักษณะเหมือนกันและไม่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นๆ จากนั้นถ่ายลงเลี้ยงในหลอดอาหารวุ้นเอียง (slant) เพื่อเก็บไว้ใช้งานต่อไป

3.2.2.2 การจัดจำแนกสาหร่าย

การจัดจำแนกทำโดยถ่ายสาหร่ายจากหลอดอาหารวุ้นเอียงลงเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร N-8 โดยให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซ็นต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง และให้อากาศโดยเขย่าเป็นครั้งคราว เมื่อสาหร่ายเจริญจึงนำมาสังเกตรูปร่างลักษณะผ่านกล้องจุลทรรศน์และจัดจำแนกสาหร่าย

3.2.3 การเตรียมสาหร่ายตั้งต้น

ถ่ายเซลล์สาหร่ายจากหลอดอาหารวุ้นเอียงลงในอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซ็นต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมเป็นเซลล์ตั้งต้นต่อไป

3.2.4 การคัดเลือกสาหร่ายที่มีศักยภาพในการผลิตแคโรทีนอยด์

นำสาหร่ายที่คัดแยกได้มาเพาะเลี้ยงไอโซเลทละ 3 ซ้ำ ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทั้งนี้เตรียมเซลล์ตั้งต้นให้มีค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร เท่ากับ 0.3 โดยใส่สาหร่ายตั้งต้นร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหาร ให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซ็นต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จนสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงจึงทำการเก็บตัวอย่าง เพื่อวัดค่าการเจริญและปริมาณแคโรทีนอยด์ หลังจากนั้นคัดเลือกสาหร่ายที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 3 ไอโซเลท เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2.5 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

3.2.5.1 ผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3)

นำสาหร่ายที่ผ่านการคัดเลือกมาเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลวสูตร N-8 ดัดแปลง ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยแปรผันความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท เท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เตรียมเซลล์ตั้งต้นให้มีค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร เท่ากับ 0.3 ใช้เซลล์ตั้งต้นร้อยละ 20 ของปริมาตรอาหาร ให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซ็นต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 วัน เป็นระยะเวลา 14 วัน เพื่อวัดค่าการเจริญ การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารและปริมาณแคโรทีนอยด์ ทั้งนี้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทที่เหมาะสมจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.5.2 ผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรท ($Na_2HPO_4.2H_2O$)

นำสาหร่ายที่ผ่านการคัดเลือกมาเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลวสูตร N-8 ดัดแปลงซึ่งมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทที่เหมาะสม ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยแปรผันความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทตามอัตราส่วนสูตรอาหาร N-8 เท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และเก็บผลวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.2.5.1

ทั้งนี้ค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทที่เหมาะสมจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.5.3 ผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหาร

นำสาหร่ายที่ผ่านการคัดเลือกมาเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลวสูตร N-8 ดัดแปลงซึ่งมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทและความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทที่เหมาะสมปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยแปรผันพีเอชเริ่มต้นของอาหารเป็น 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล ในการปรับค่าพีเอช ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และเก็บผลวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.2.5.1 โดยค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสมจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป ทั้งนี้เมื่อจบการทดลองในขั้นตอนนี้จะทำการคัดเลือกสาหร่ายที่มีการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.6 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

นำสาหร่ายที่ผ่านการคัดเลือกมาเพาะเลี้ยงโดยสูตรอาหารที่เหมาะสมซึ่งได้จากข้อ 3.2.5 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บรรจุอาหารเหลว 100 มิลลิลิตร เตรียมเซลล์ตั้งต้นให้มีค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร เท่ากับ 0.3 ใช้เซลล์ตั้งต้นร้อยละ 20 ของปริมาตรอาหาร ให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซ็นต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 วันเพื่อวัดค่าการเจริญ การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารและปริมาณแคโรทีนอยด์ จนกระทั่งสาหร่ายมีการเจริญคงที่จึงเติมสารชักนำ ดังนี้

3.2.6.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

นำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงจนมีค่าการเจริญคงที่มาเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์โดยแปรผันความเข้มข้นสำหรับชักนำเป็น 0.0 2.0 4.0 8.0 16.0 และ 32.0 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ โดยเพาะเลี้ยงต่ออีก 14 วัน ในสภาวะตามข้อ 3.2.6 เก็บตัวอย่างทุก 2 วัน เพื่อวัดค่าการเจริญ การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารและวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ ทั้งนี้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมจะนำไปใช้ร่วมกับสารชักนำในการทดลองต่อไป

3.2.6.2 ผลของโซเดียมอะซีเตต (sodium acetate)

นำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงจนมีค่าการเจริญคงที่มาเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นที่เหมาะสม และทำการเติมโซเดียมอะซีเตต โดยแปรผันความเข้มข้นสำหรับชักนำเป็น 0.0 1.0 2.0 4.0 8.0 และ 16.0 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และเก็บผล

วิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.2.6.1 ทั้งนี้ความเข้มข้นของโซเดียมอะซีเตตที่เหมาะสมจะนำไปใช้ร่วมกับสารชักนำในการทดลองต่อไป

3.2.6.3 ผลของเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

นำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงจนมีค่าการเจริญคงที่มาเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมอะซีเตตความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นทำการเติมเฟอรัสซัลเฟต โดยแปรผันความเข้มข้นสำหรับชักนำเป็น 0 0.01 0.02 0.04 0.08 และ 0.16 กรัมต่อลิตรทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และเก็บผลวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.2.6.1

3.2.7 การวัดค่าการเจริญของสาหร่าย

3.2.8.1 การนับจำนวนเซลล์

นับจำนวนเซลล์สาหร่ายโดยใช้เฮมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer) ชนิด improved neubauer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า จากนั้นคำนวณหาจำนวนเซลล์โดยดัดแปลงจากวิธีการของยุวดี พีรพรพิศาล และฉมาภรณ์ นิวาศะบุตร (2546) (ภาคผนวก ข)

3.2.8.2 การวัดค่าความขุ่น

วัดค่าความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

3.2.8.3 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

นำเซลล์สาหร่าย 5 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วรินส่วนใสทิ้ง ทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ (ลัดดา วงศ์รัตน์. 2540)

3.2.9 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ ดัดแปลงจาก กนกอร (2543) Gross (1991) และ Jeffrey และคณะ (1997)

นำเซลล์สาหร่าย 15 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วรินส่วนใสทิ้ง ทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง เติมเอทานอล (ethanol) ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง เพื่อสกัดแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์ แล้วนำมาเติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้นร้อยละ 60 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปแยกเซลล์ออกโดยปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสมาใส่ลงในกรวยแยก แล้วเติมไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) ความเข้มข้นร้อยละ 99.8 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าแล้วรอจนแยกชั้น ไขชั้นสีเขียวชั้นล่างออก จากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ซ้ำลงไปจนกระทั่งสารละลายชั้นล่างใส นำชั้นสีเหลืองที่ได้มาปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยไดเอทิล

อีเทอร์ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 445 นาโนเมตร แล้วนำค่ามาคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ ดังสมการ

$$\text{ไมโครกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์} = \frac{OD_{445} \times V \times 10^6}{2550 \times 100 \times G}$$

เมื่อ OD_{445} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแคโรทีนอยด์ที่ความยาวคลื่น 445 นาโนเมตร

V = ปริมาตรของสารละลายแคโรทีนอยด์ หน่วยเป็นมิลลิลิตร

G = น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่ายปริมาตรเท่ากับที่นำมาสกัดแคโรทีนอยด์ หน่วยเป็นกรัม

3.2.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการศึกษาครั้งนี้ทุกการทดลองใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยนำข้อมูลปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายในแต่ละการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 11.5 for Windows และการเปรียบเทียบความแตกต่างรายคู่ด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) คำนวณที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวที่คัดแยกได้โดยอาหารสูตร N-8 จากน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู

จากการบันทึกค่าอุณหภูมิ และค่าพีเอชของแหล่งน้ำในบริเวณที่เก็บตัวอย่างน้ำ พบว่าแหล่งน้ำบริเวณน้ำตกกระทิงในวันที่ 8 เดือนกันยายน พ.ศ. 2546 มีค่าอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 20.5 ถึง 32.5 องศาเซลเซียส และค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 5.89 ถึง 7.42 โดยในวันที่ 14 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2548 มีค่าอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 20 ถึง 33 องศาเซลเซียส และค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 5.68 ถึง 7.53 สำหรับแหล่งน้ำบริเวณน้ำตกป่าละอูในวันที่ 16 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2547 มีค่าอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 21.5 ถึง 28 องศาเซลเซียส และค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 6.12 ถึง 7.44 โดยในวันที่ 16 เดือนมกราคม พ.ศ. 2548 มีค่าอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 20.5 ถึง 23 องศาเซลเซียส และค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 6.40 ถึง 7.93 ทั้งนี้เมื่อคัดแยกสาหร่ายสีเขียวด้วยอาหารสูตร N-8 สามารถคัดแยกสาหร่ายได้ 5 สกุล ได้แก่ *Chlorella*, *Chlorococcum*, *Monoraphidium*, *Oocystis* และ *Scenedesmus* จำนวนทั้งสิ้น 72 ไอโซเลท แบ่งเป็นสาหร่ายที่คัดแยกได้จากบริเวณน้ำตกกระทิงในวันที่ 8 เดือนกันยายน พ.ศ. 2546 จำนวน 16 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.1) และวันที่ 14 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2548 จำนวน 22 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.2) สำหรับการคัดแยกสาหร่ายบริเวณน้ำตกป่าละอูในวันที่ 16 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2547 คัดแยกได้จำนวน 20 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.3) และวันที่ 16 เดือนมกราคม พ.ศ. 2548 ได้จำนวน 14 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.4) ทั้งนี้สาหร่ายสกุลที่คัดแยกได้มากที่สุด คือ สาหร่ายสกุล *Scenedesmus* จำนวน 35 ไอโซเลท

การศึกษาของ คฑาวุธ ปานบุญ (2542) ในการศึกษาความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชในจังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งเก็บตัวอย่างน้ำทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 1 ปี (เดือนมกราคม ถึงเดือนธันวาคม) จากแหล่งน้ำ 25 สถานี แบ่งเป็นแม่น้ำตอนบน 6 สถานี แม่น้ำตอนล่าง 5 สถานี แหล่งน้ำตามธรรมชาติ 5 สถานี และแหล่งน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น 9 สถานี พบแพลงก์ตอนพืช 92 สกุล โดยสกุลที่พบทุกสถานีเป็นสาหร่ายในคลาส Cyanophyceae คือ *Oscillatoria* และสกุลที่พบเกือบทุกสถานีอยู่ในคลาส Cyanophyceae ได้แก่ *Microcystis*, *Anabaena* และ *Spirulina* คลาส Chlorophyceae ได้แก่ *Eudorina*, *Pediastrum* และ *Scenedesmus* คลาส Bacillariophyceae ได้แก่ *Synedra* และ *Suriella* คลาส Euglenophyceae ได้แก่ *Trachelomonas* คลาส Dinophyceae ได้แก่ *Peridinium* และ *Cerutium* คล้ายคลึงกับการศึกษาในครั้งนี้ที่คัดแยกสาหร่ายสีเขียว พบว่าสาหร่ายที่คัดแยกได้ทั้งหมดจัดอยู่ในคลาส Chlorophyceae ที่พบมากที่สุดคือ สาหร่ายสกุล *Scenedesmus* และรองลงมาคือ สกุล *Chlorella* ซึ่งอาจเป็นเป็นไปได้ว่าสาหร่ายทั้งสองสกุลเป็นสาหร่ายที่มีการปรับตัวได้ดี

และมีการแพร่กระจายอยู่สูงในแหล่งน้ำต่างๆ จึงส่งผลให้การคัดแยกสาหร่ายครั้งนี้พบทั้งสองสกุลมากที่สุด เช่นเดียวกับการศึกษาของ อาภารัตน์ มหาขันธ์ และคณะ (2542) ในการสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่างๆ ในธรรมชาติ โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำจืดที่สะอาด 300 ตัวอย่าง ในพื้นที่กรุงเทพมหานครและปริมณฑล รวมทั้งสิ้น 6 จังหวัด 23 เขต/อำเภอ ได้แก่ กรุงเทพมหานคร 12 เขต จำนวน 149 ตัวอย่าง นครปฐม 2 อำเภอ จำนวน 32 ตัวอย่าง นนทบุรี 3 อำเภอ จำนวน 52 ตัวอย่าง ปทุมธานี 2 อำเภอ จำนวน 50 ตัวอย่าง สมุทรปราการ 2 อำเภอ จำนวน 7 ตัวอย่าง และสมุทรสาคร 2 อำเภอ จำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าสาหร่ายที่มีความถี่ในการแพร่กระจายสูงกว่าร้อยละ 20.0 ของตัวอย่าง พบ 4 สกุล คือ สาหร่ายสีเขียวสกุล *Chlorella* มีการแพร่กระจายในตัวอย่างที่สำรวจมากที่สุดถึง 104 ตัวอย่าง หรือคิดเป็นร้อยละ 34.7 รองลงไปได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Phormidium* สาหร่ายสีเขียวสกุล *Scenedesmus* และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* พบการแพร่กระจายคิดเป็นร้อยละ 25.0 23.7 และ 22.7 ตามลำดับ

4.2 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์

ทำการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพในการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีเขียวที่คัดแยกได้จากน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอูจำนวน 72 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.1 ถึง 4.4) โดยเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทั้งนี้เตรียมเซลล์ตั้งต้นให้มีค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร เท่ากับ 0.3 โดยใส่เซลล์ตั้งต้นร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหาร ให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซ็นต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน สามารถคัดเลือกสาหร่ายสีเขียวที่ผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด 3 ไอโซเลท คือ *Chlorella* sp. P48061, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. K46032 โดยมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.137 4.098 และ 4.011 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

การที่สาหร่ายสกุล *Chlorella* มีผลผลิตสารสีแคโรทีนอยด์มากอาจเนื่องมาจากสาหร่ายสกุลนี้มีการเจริญเติบโตที่ดี ดังเช่น ประภาศิริ ศรีบุญเรือง (2547) ศึกษาคัดเลือกสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ โดยคัดเลือกจากสาหร่าย 5 ชนิด คือ *Chaetoceros* sp., *Chlorella* sp. TISTR 8261, *Dunaliella* sp., *Scenedesmus* sp. และ *Spirulina* sp. TISTR 8250 พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8261 เป็นสาหร่ายที่สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุด และเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสมสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 4.78 มิลลิกรัมต่อลิตร

ทั้งนี้ในระดับอุตสาหกรรมแล้วสามารถเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus* sp. เพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ในรูปแอสตาแซนทินได้เท่ากับร้อยละ 6 ถึง 8 ของน้ำหนักแห้ง แต่การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus* sp. ให้ได้ปริมาณมากมีข้อจำกัดเนื่องจากสาหร่าย *Haematococcus* sp. มีอัตราการเจริญเติบโตช้า ต้องใช้อุณหภูมิต่ำในการเจริญและไม่สามารถทนต่อแสงความเข้มสูงได้ อีกทั้งสภาวะที่

ใช้ในการเจริญและสภาวะสำหรับผลิตแอสตาแซนทินมีความแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิงก่อให้เกิดความยุ่งยากในการควบคุมการผลิต (Cohen. 1999)

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าอุณหภูมิและค่าพีเอชของน้ำที่จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 10 จุด บริเวณน้ำตกกระทิงในวันที่ 8 เดือนกันยายน พ.ศ. 2546 และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายที่คัดแยกได้

จุดเก็บตัวอย่าง	อุณหภูมิของน้ำ (องศาเซลเซียส)	ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำ	สาหร่ายที่คัดแยกได้	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	รูปแสดงลักษณะเซลล์
1.	20.5	7.42	*Chlorella* sp. K46011 *Scenedesmus* sp. K46012	2.702 2.676	รูปที่ 4.1 รูปที่ 4.2
2.	23	7.19	*Scenedesmus* sp. K46021 *Scenedesmus* sp. K46022	3.346 3.590	รูปที่ 4.3 รูปที่ 4.4
3.	23.5	6.13	*Scenedesmus* sp. K46031 *Chlorella* sp. K46032	3.372 4.011	รูปที่ 4.5 รูปที่ 4.6
4.	22.5	6.07	*Scenedesmus* sp. K46041 *Chlorella* sp. K46042	3.583 2.329	รูปที่ 4.7 รูปที่ 4.8
5.	26	7.05	*Scenedesmus* sp. K46051 *Chlorella* sp. K46052	3.205 2.347	รูปที่ 4.9 รูปที่ 4.10
6.	24.5	7.12	*Scenedesmus* sp. K46061 *Chlorococcum* sp. K46062	3.578 3.591	รูปที่ 4.11 รูปที่ 4.12
7.	30.5	5.89	*Scenedesmus* sp. K46071	2.930	รูปที่ 4.13
8.	29.5	6.21	*Chlorella* sp. K46081	2.512	รูปที่ 4.14
9.	31.5	6.53	*Scenedesmus* sp. K46091	3.409	รูปที่ 4.15
10.	32.5	6.37	*Chlorella* sp. K46101	2.486	รูปที่ 4.16

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าอุณหภูมิและค่าพีเอชของน้ำที่จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 10 จุด บริเวณน้ำตกกระทิงใน วันที่ 14 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2548 และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายที่คัดแยกได้

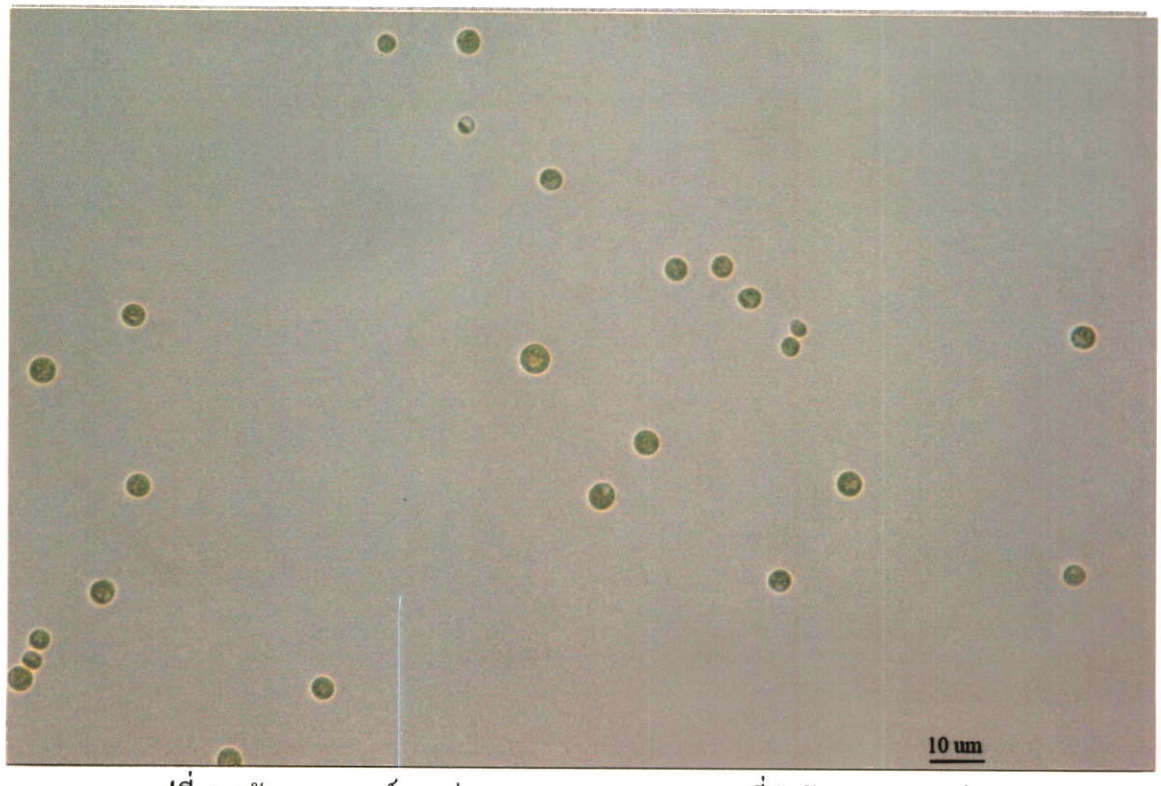
จุดเก็บตัวอย่าง	อุณหภูมิของน้ำ (องศาเซลเซียส)	ค่าพีเอชของน้ำ	สาหร่ายที่คัดแยกได้	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	รูปแสดงลักษณะเซลล์
1.	20	7.53	*Chlorella* sp. K48011 *Scenedesmus* sp. K48012	3.483 2.811	รูปที่ 4.17 รูปที่ 4.18
2.	27	5.98	*Scenedesmus* sp. K48021 *Chlorella* sp. K48022 *Scenedesmus* sp. K48023	2.869 3.609 2.594	รูปที่ 4.19 รูปที่ 4.20 รูปที่ 4.21
3.	25	7.23	*Scenedesmus* sp. K48031 *Scenedesmus* sp. K48032 *Scenedesmus* sp. K48033	0.898 2.759 1.713	รูปที่ 4.22 รูปที่ 4.23 รูปที่ 4.24
4.	25.5	7.2	*Oocystis* sp. K48041 *Scenedesmus* sp. K48042	0.751 3.431	รูปที่ 4.25 รูปที่ 4.26
5.	25.5	5.68	*Chlorella* sp. K48051 *Scenedesmus* sp. K48052	2.662 3.604	รูปที่ 4.27 รูปที่ 4.28
6.	26	6.89	*Scenedesmus* sp. K48061 *Chlorella* sp. K48062	1.870 3.849	รูปที่ 4.29 รูปที่ 4.30
7.	31.5	5.68	*Chlorella* sp. K48071 *Scenedesmus* sp. K48072	2.733 3.485	รูปที่ 4.31 รูปที่ 4.32
8.	31.5	6.15	*Chlorella* sp. K48081 *Scenedesmus* sp. K48082	3.481 3.094	รูปที่ 4.33 รูปที่ 4.34
9.	32	6.27	*Scenedesmus* sp. K48091 *Scenedesmus* sp. K48092	3.123 2.330	รูปที่ 4.35 รูปที่ 4.36
10.	33	6.4	*Scenedesmus* sp. K48101 *Chlorella* sp. K48102	3.716 3.470	รูปที่ 4.37 รูปที่ 4.38

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าอุณหภูมิและค่าพีเอชของน้ำที่จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 10 จุด บริเวณน้ำตกป่าละอูใน วันที่ 16 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2547 และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายที่คัดแยกได้

จุดเก็บตัวอย่าง	อุณหภูมิของน้ำ (องศาเซลเซียส)	ค่าพีเอชของน้ำ	สาหร่ายที่คัดแยกได้	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	รูปแสดงลักษณะเซลล์
1.	24	6.54	*Chlorella* sp. P47011 *Chlorella* sp. P47012 *Scenedesmus* sp. P47013	3.231 3.272 2.292	รูปที่ 4.39 รูปที่ 4.40 รูปที่ 4.41
2.	24	6.43	*Chlorella* sp. P47021 *Scenedesmus* sp. P47022	3.372 3.429	รูปที่ 4.42 รูปที่ 4.43
3.	28	6.36	*Chlorella* sp. P47031 *Scenedesmus* sp. P47032	3.859 3.334	รูปที่ 4.44 รูปที่ 4.45
4.	23.5	6.68	*Chlorella* sp. P47041 *Chlorella* sp. P47042	3.799 3.451	รูปที่ 4.46 รูปที่ 4.47
5.	23	6.81	*Chlorella* sp. P47051 *Chlorella* sp. P47052 *Scenedesmus* sp. P47053	3.653 3.509 2.259	รูปที่ 4.48 รูปที่ 4.49 รูปที่ 4.50
6.	23	6.72	*Scenedesmus* sp. P47061 *Chlorella* sp. P47062 *Chlorella* sp. P47063	3.506 3.567 2.646	รูปที่ 4.51 รูปที่ 4.52 รูปที่ 4.53
7.	22.5	6.12	*Chlorella* sp. P47071 *Chlorella* sp. P47072	3.783 4.098	รูปที่ 4.54 รูปที่ 4.55
8.	22	7.44	*Chlorella* sp. P47081	3.475	รูปที่ 4.56
9.	21.5	7.17	*Chlorella* sp. P47091	3.395	รูปที่ 4.57
10.	27	7.39	*Chlorella* sp. P47101	3.672	รูปที่ 4.58

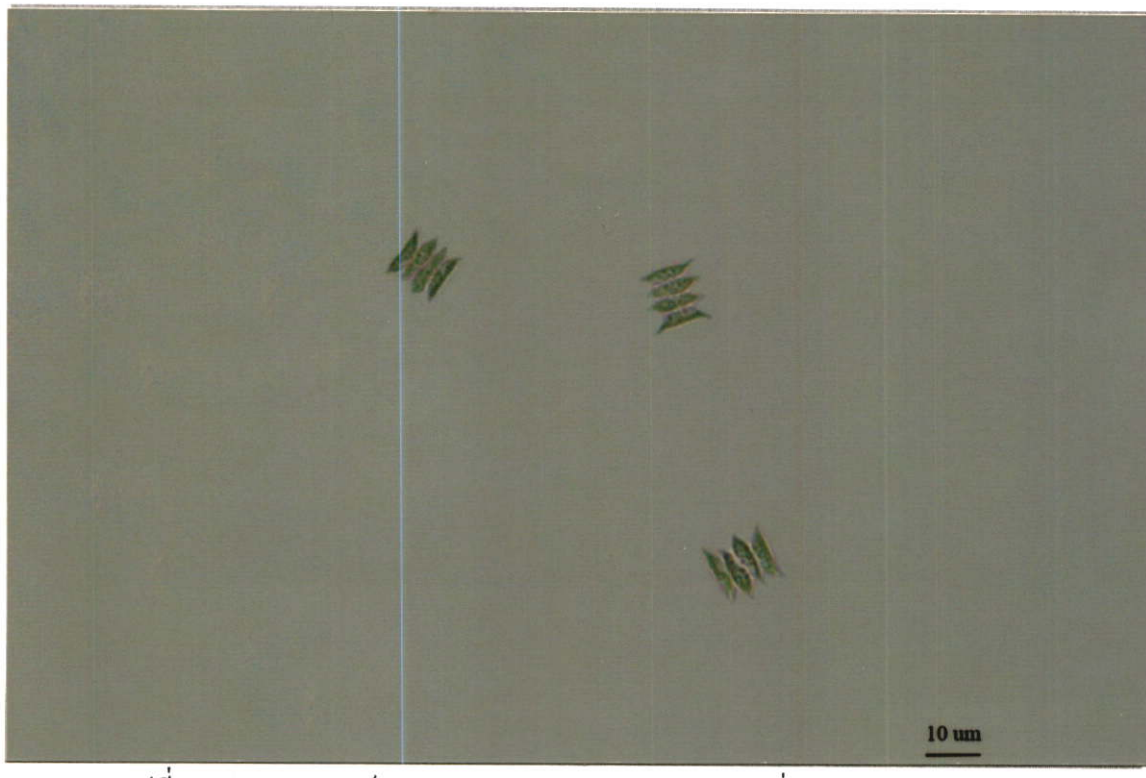
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าอุณหภูมิและค่าพีเอชของน้ำที่จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 10 จุด บริเวณน้ำตกป่าละอูใน วันที่ 16 เดือนมกราคม พ.ศ. 2548 และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายที่คัดแยกได้

จุดเก็บตัวอย่าง	อุณหภูมิของน้ำ (องศาเซลเซียส)	ค่าพีเอชของน้ำ	สาหร่ายที่คัดแยกได้	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	รูปแสดงลักษณะเซลล์
1.	21	6.86	*Chlorella* sp. P48011 *Scenedesmus* sp. P48012	3.486 3.136	รูปที่ 4.59 รูปที่ 4.60
2.	22	6.62	*Chlorella* sp. P48021 *Monoraphidium* sp. 48022 *Scenedesmus* sp. P48023	3.590 3.261 3.439	รูปที่ 4.61 รูปที่ 4.62 รูปที่ 4.63
3.	23	6.40	*Scenedesmus* sp. P48031	3.170	รูปที่ 4.64
4.	20.5	7.90	*Chlorella* sp. P48041	1.523	รูปที่ 4.65
5.	21	7.92	*Scenedesmus* sp. P48051	3.802	รูปที่ 4.66
6.	20.5	7.5	*Chlorella* sp. P48061	4.137	รูปที่ 4.67
7.	20.5	7.93	*Scenedesmus* sp. P48071	1.300	รูปที่ 4.68
8.	22	7.35	*Scenedesmus* sp. P48081	2.579	รูปที่ 4.69
9.	21	7.02	*Scenedesmus* sp. P48091 *Chlorella* sp. P48092	2.477 3.415	รูปที่ 4.70 รูปที่ 4.71
10.	21	6.97	*Chlorella* sp. P48101	2.890	รูปที่ 4.72

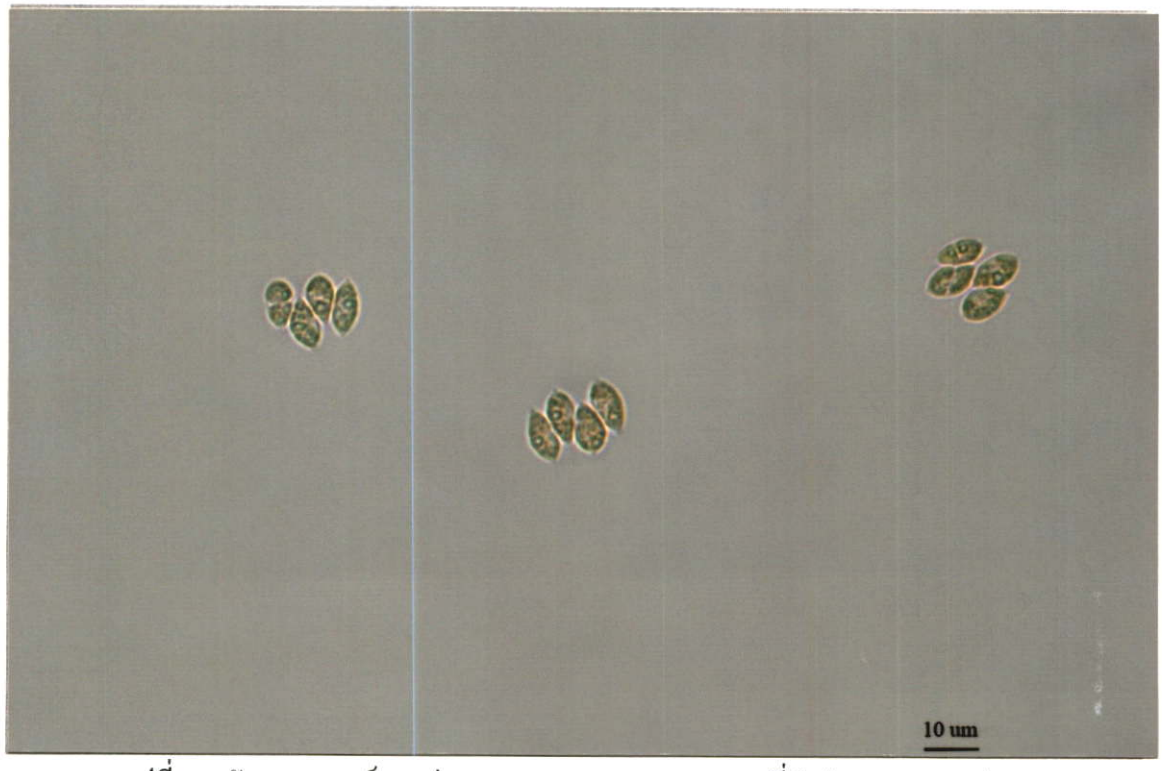


รูปที่ 4.1 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

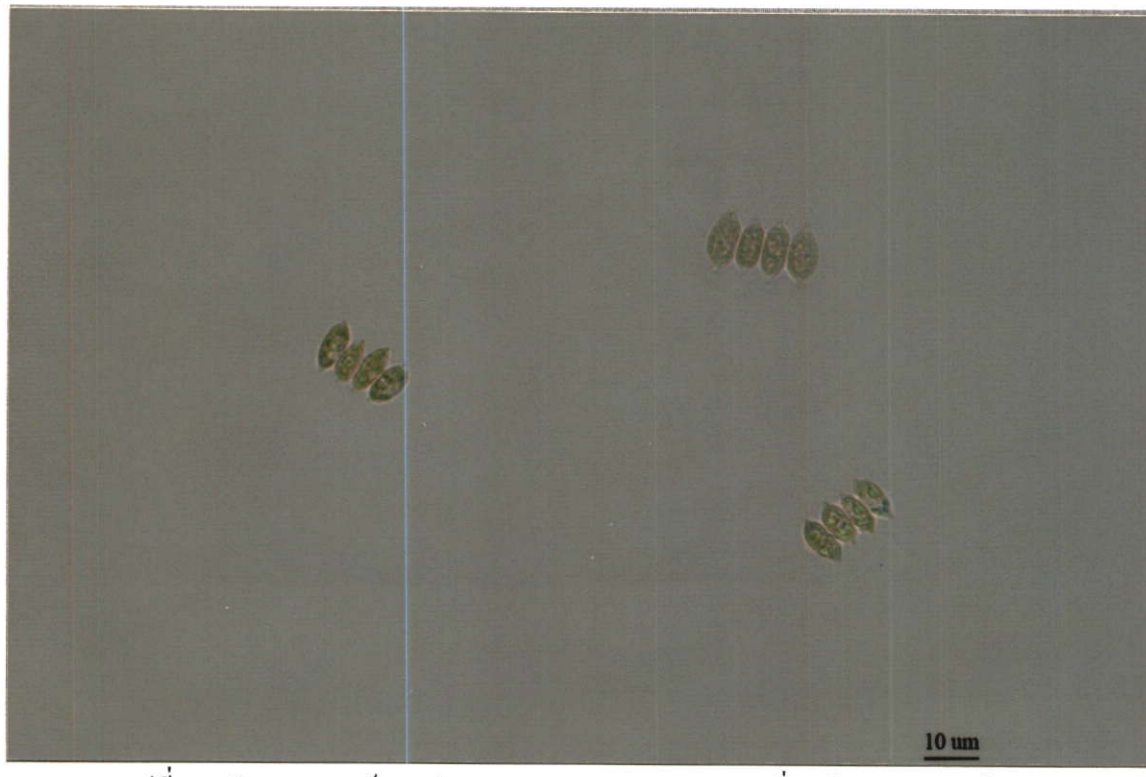
รูปที่ 4.2 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46012 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



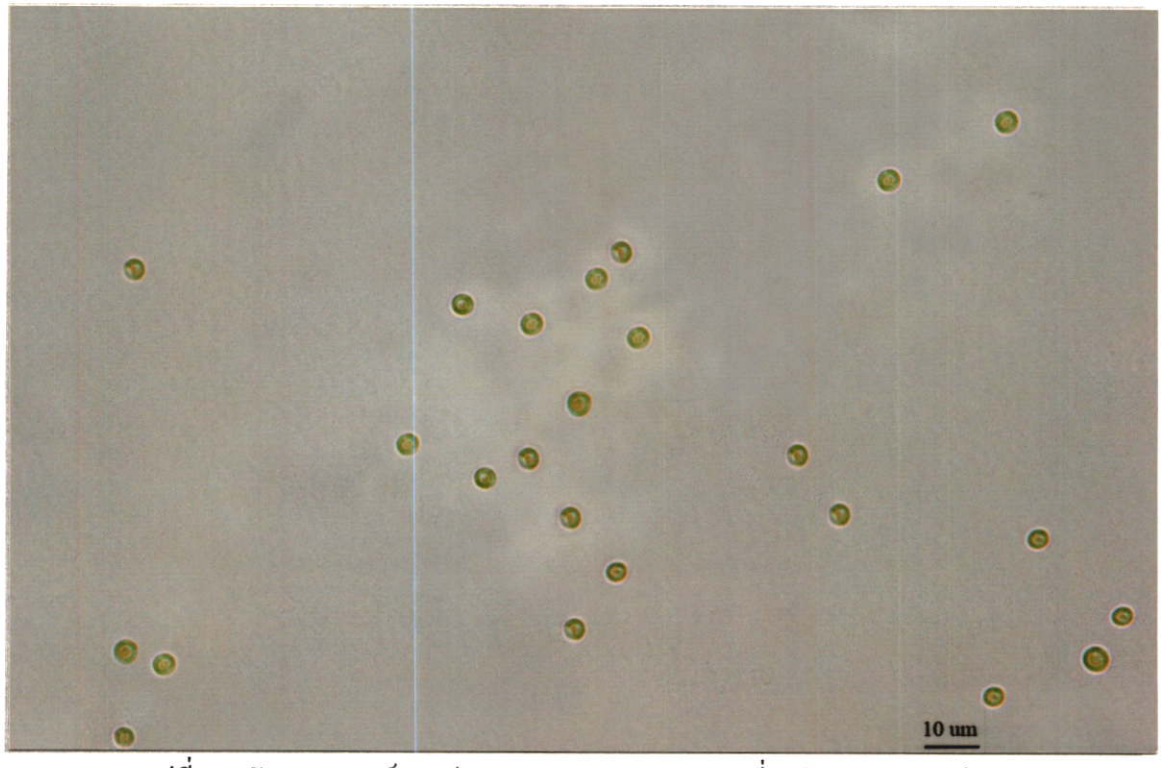
รูปที่ 4.3 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46021 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.4 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46022 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

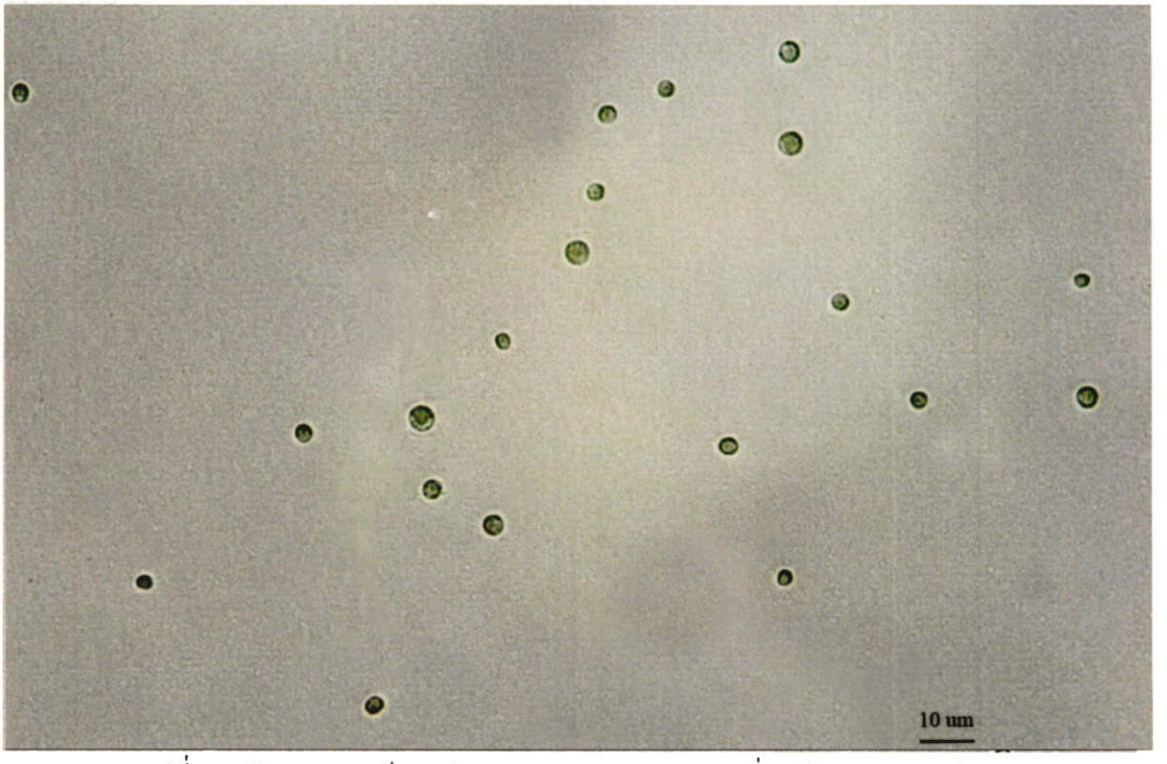


รูปที่ 4.5 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



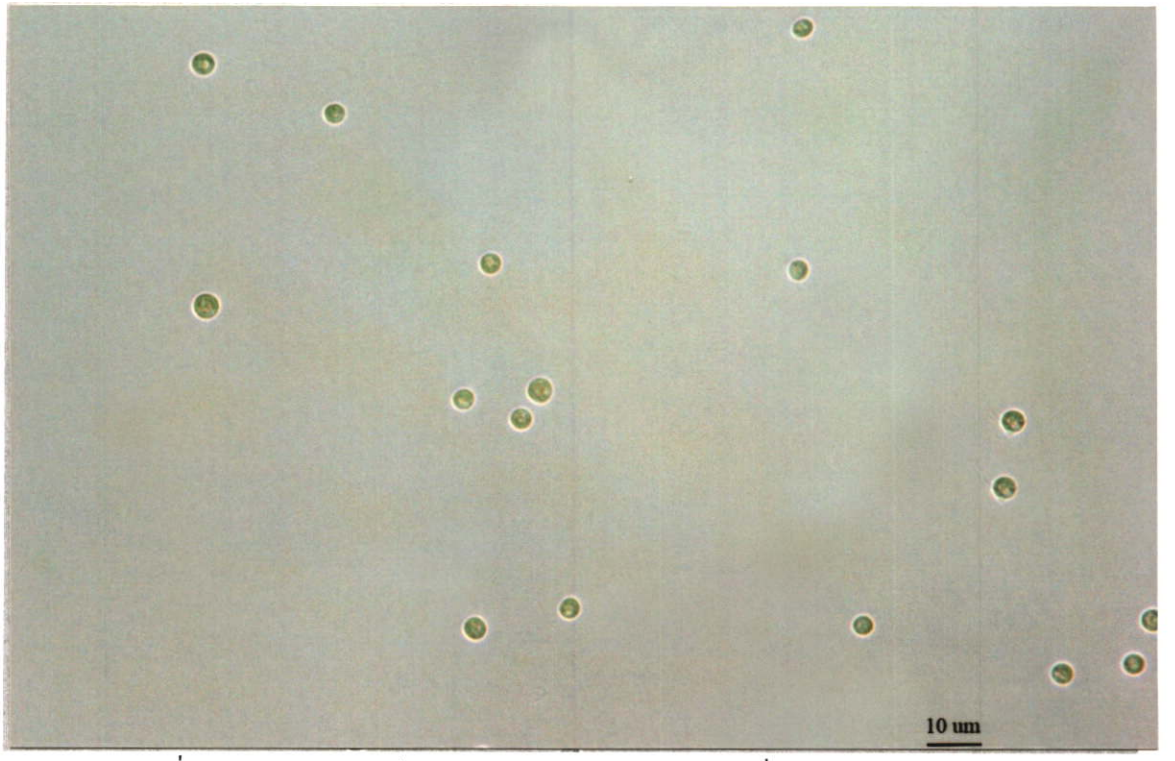
รูปที่ 4.6 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 4.7 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46041 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

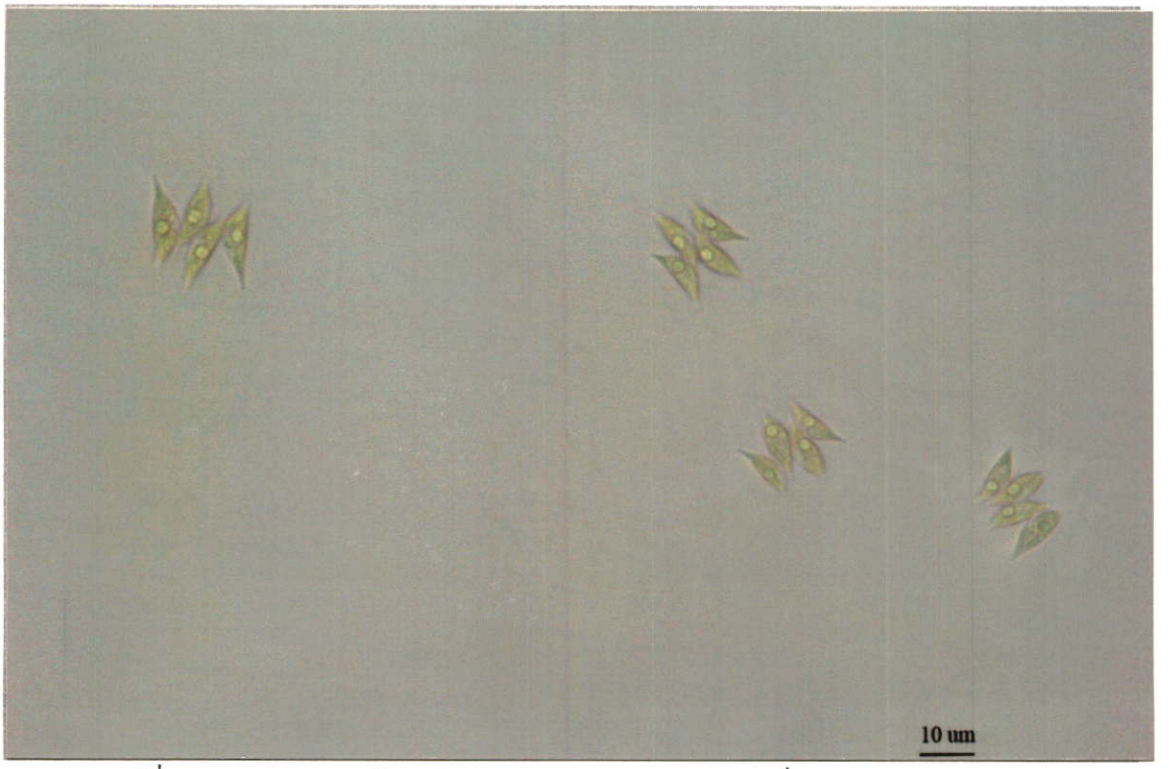


รูปที่ 4.8 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46042 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

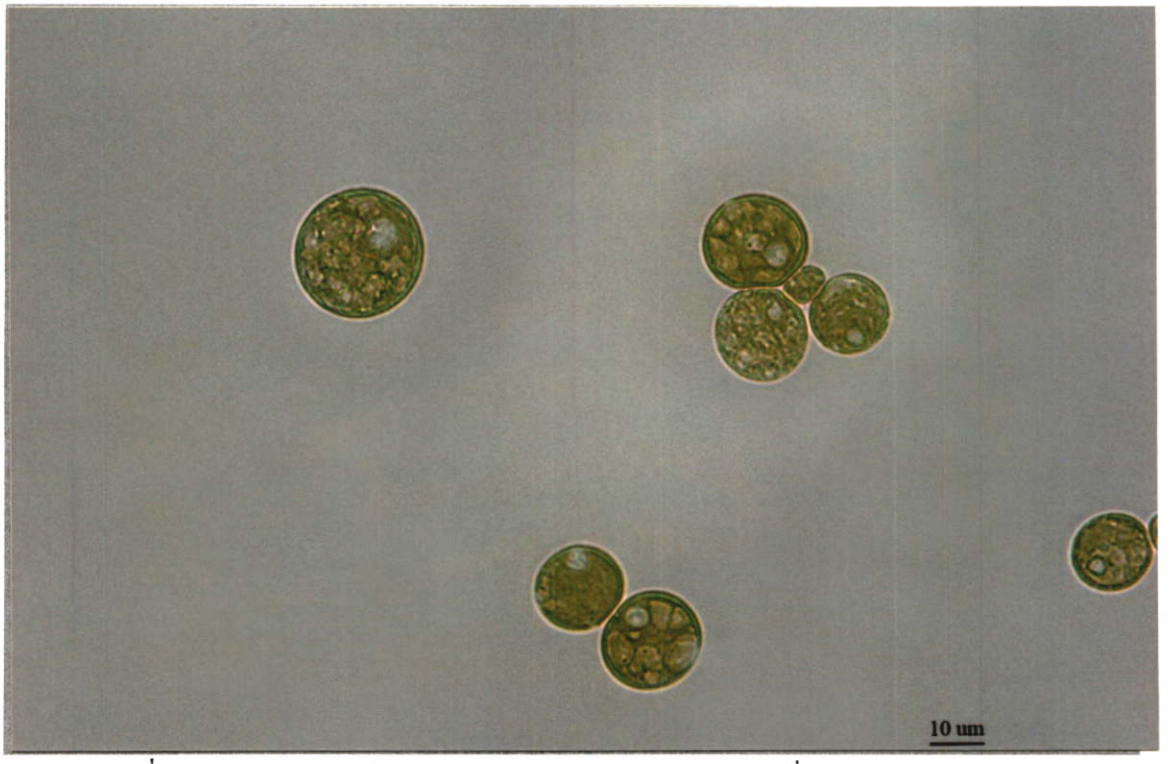
รูปที่ 4.9 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.10 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46052 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

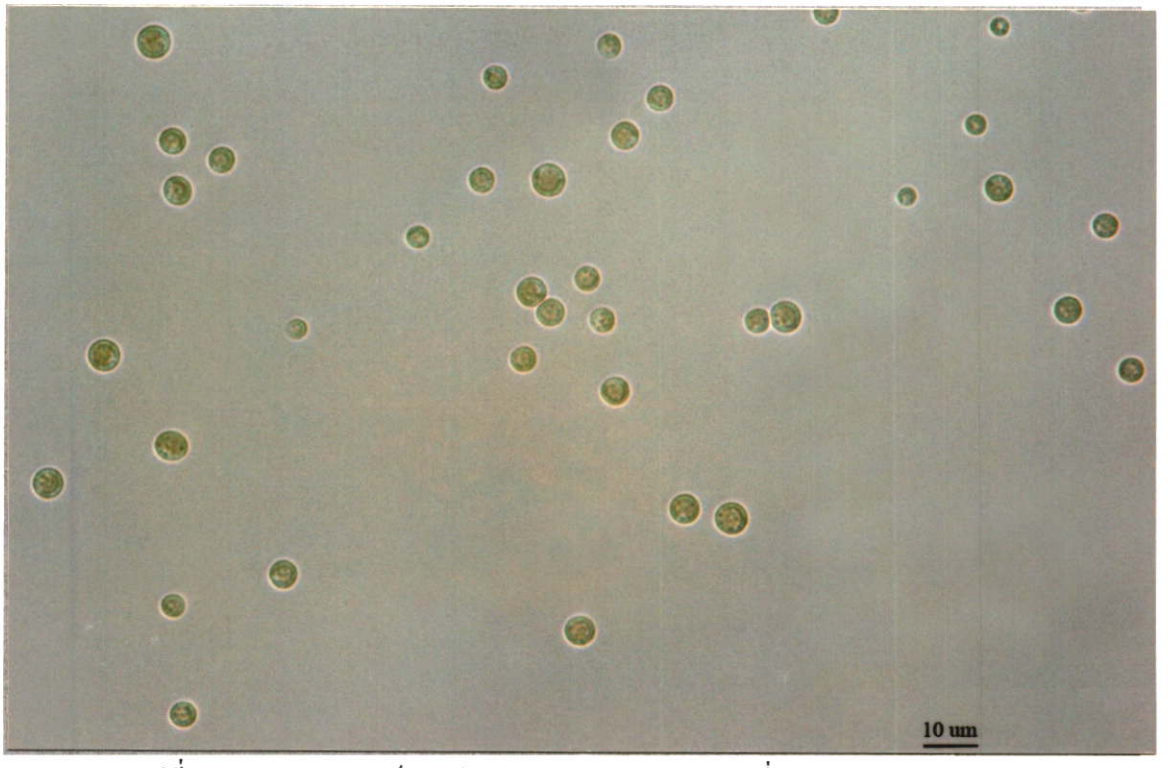


รูปที่ 4.11 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46061 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

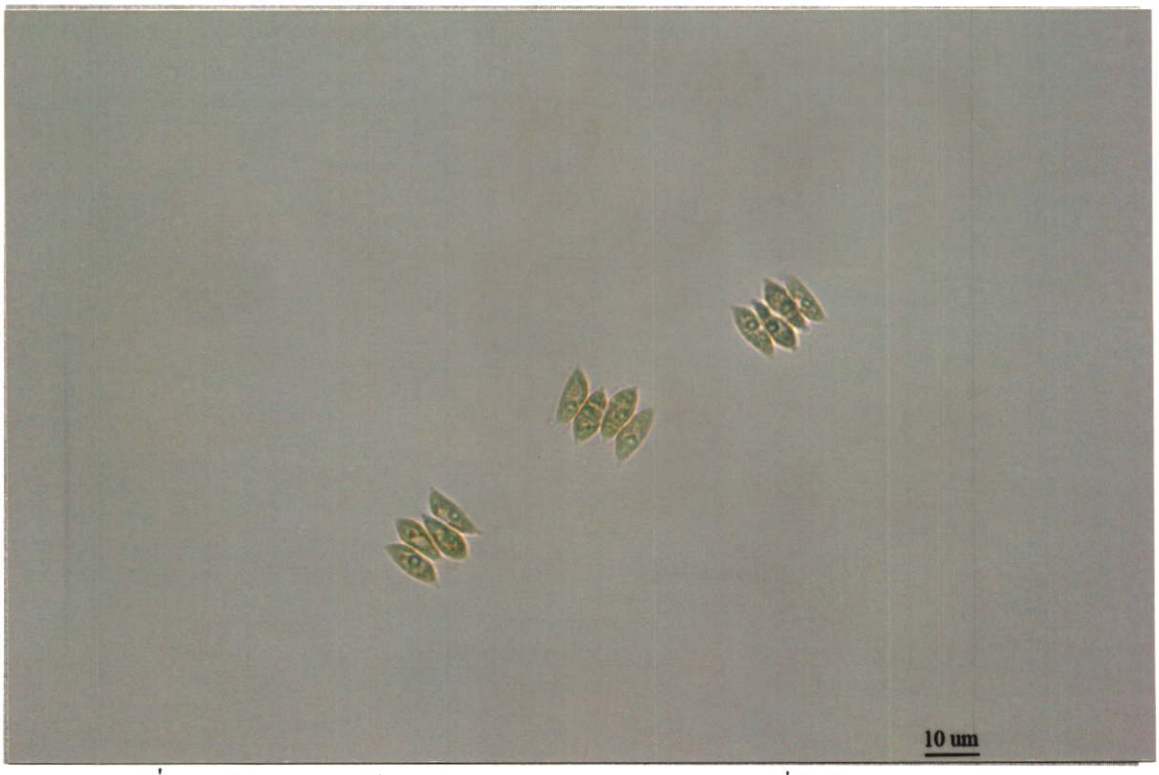


รูปที่ 4.12 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorococcum* sp. K46062 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

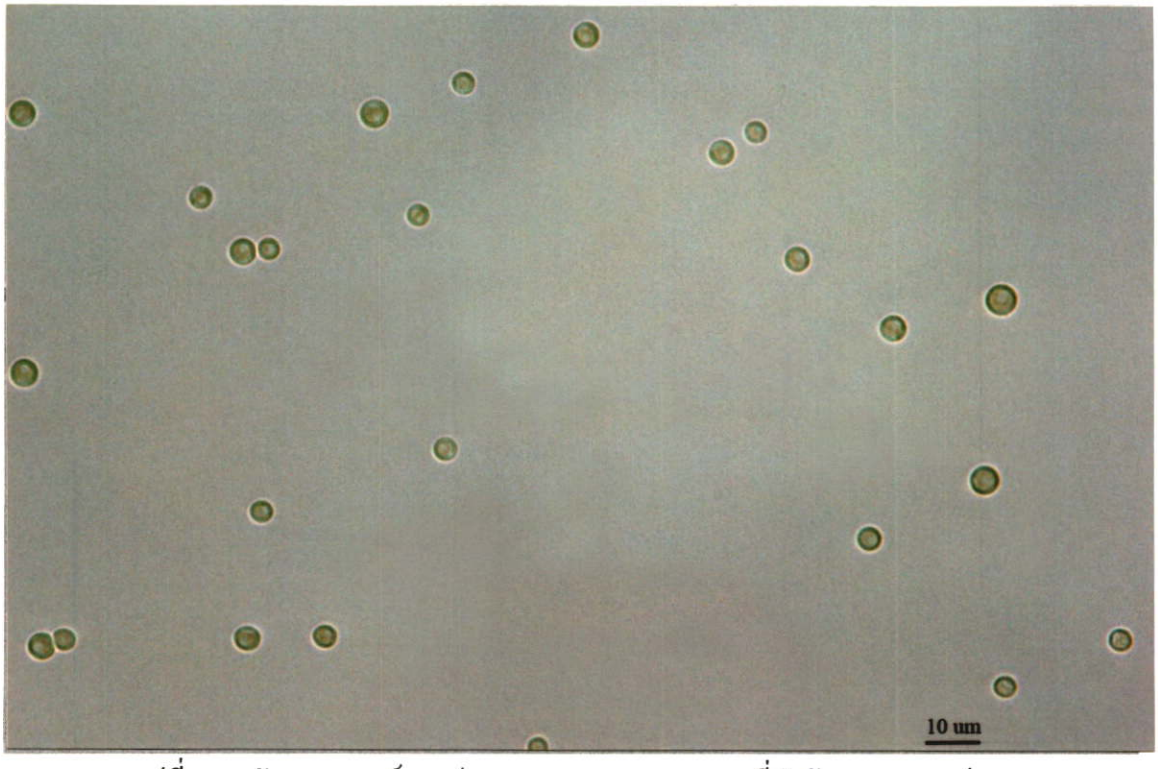
รูปที่ 4.13 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



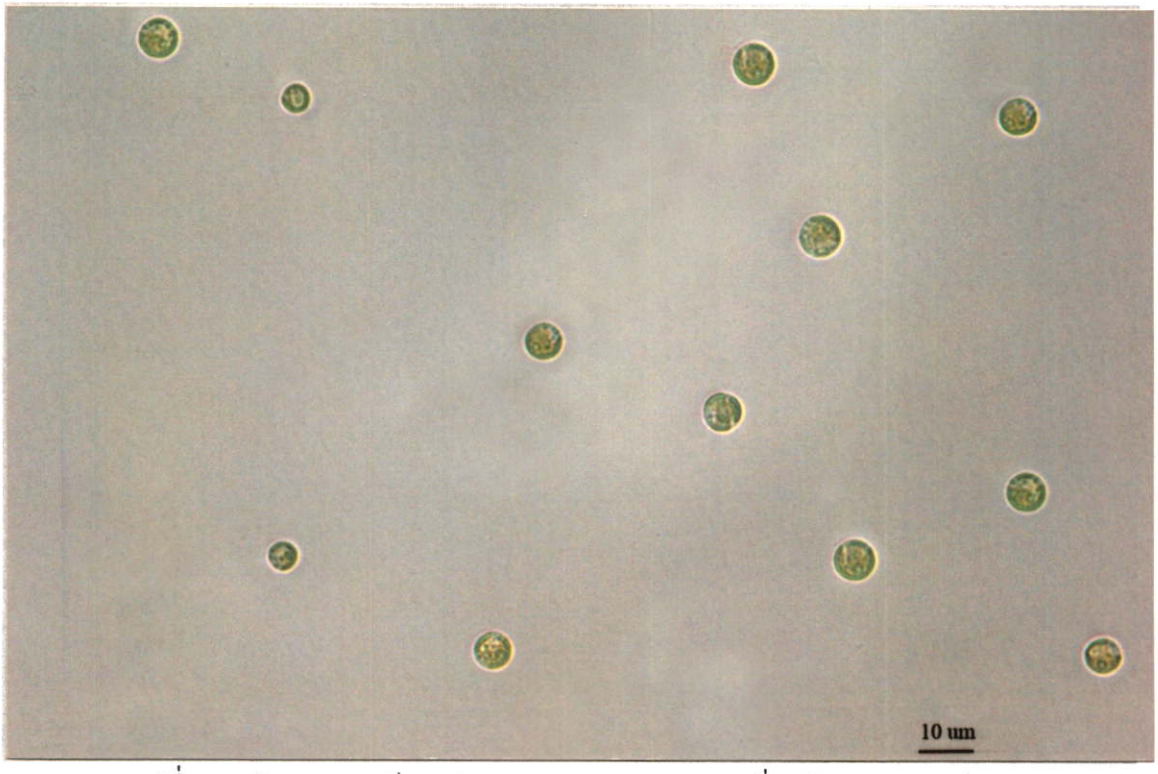
รูปที่ 4.14 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



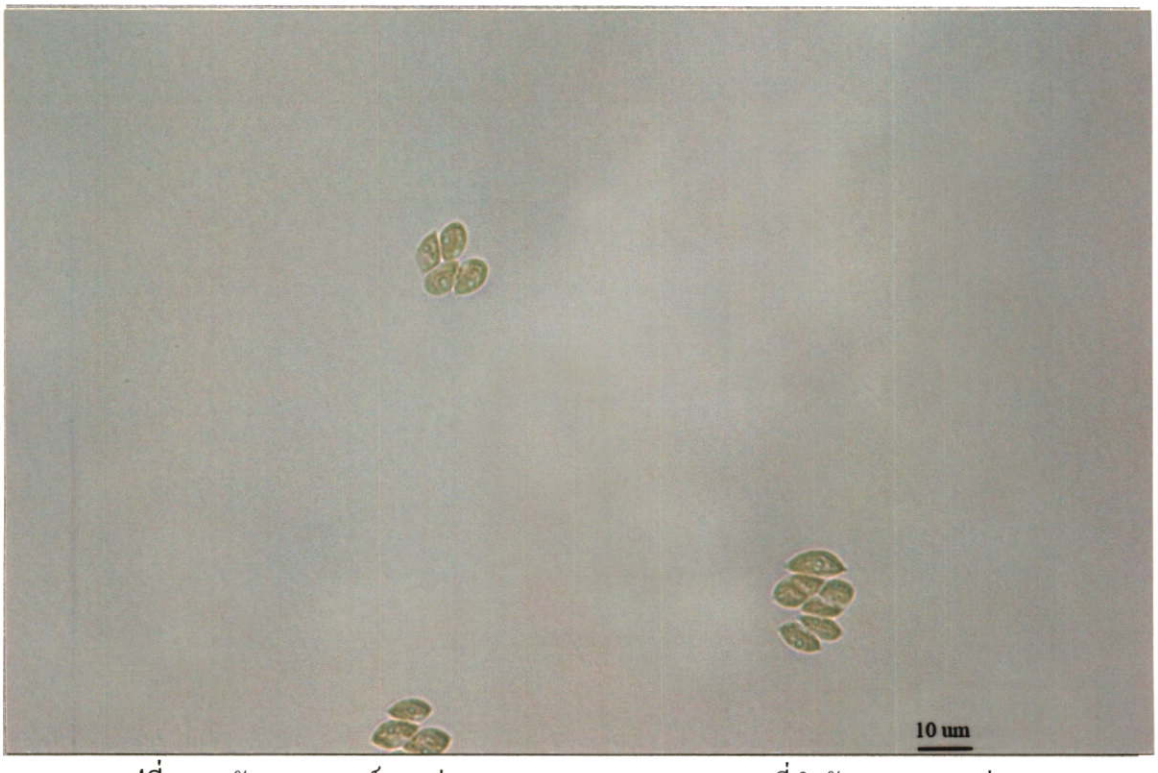
รูปที่ 4.15 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46091 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



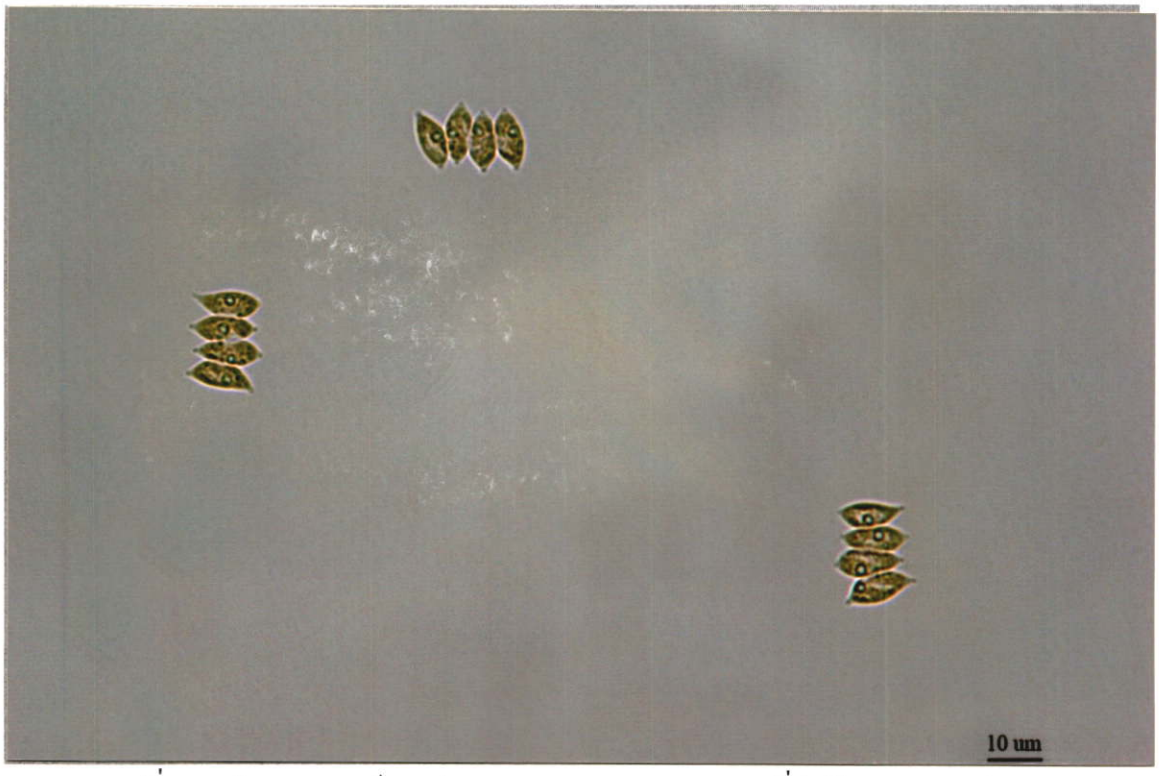
รูปที่ 4.16 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46101 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



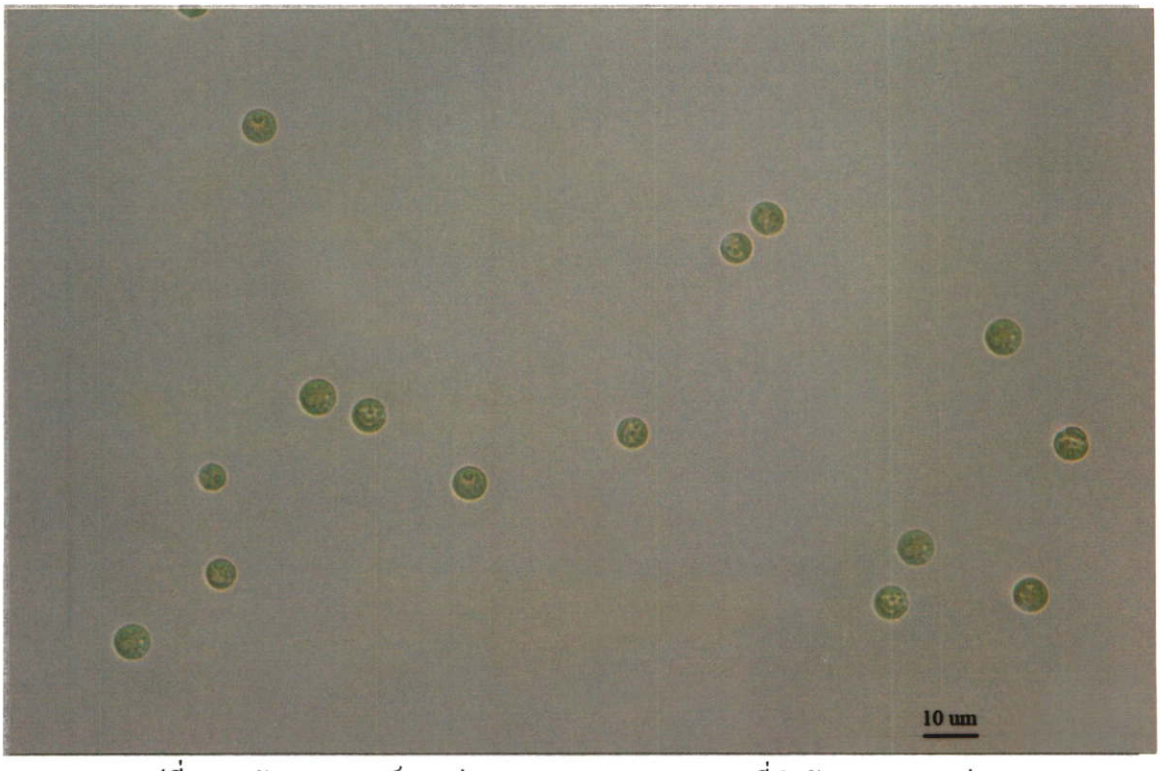
รูปที่ 4.17 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



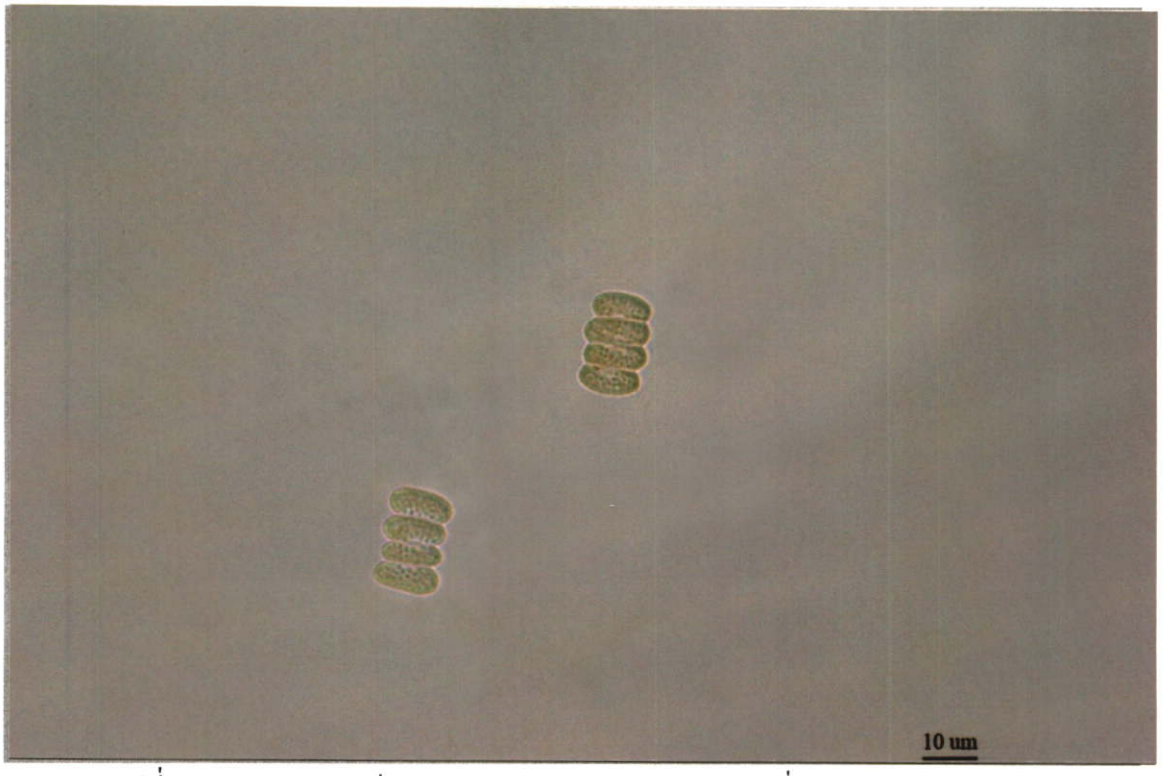
รูปที่ 4.18 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48012 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



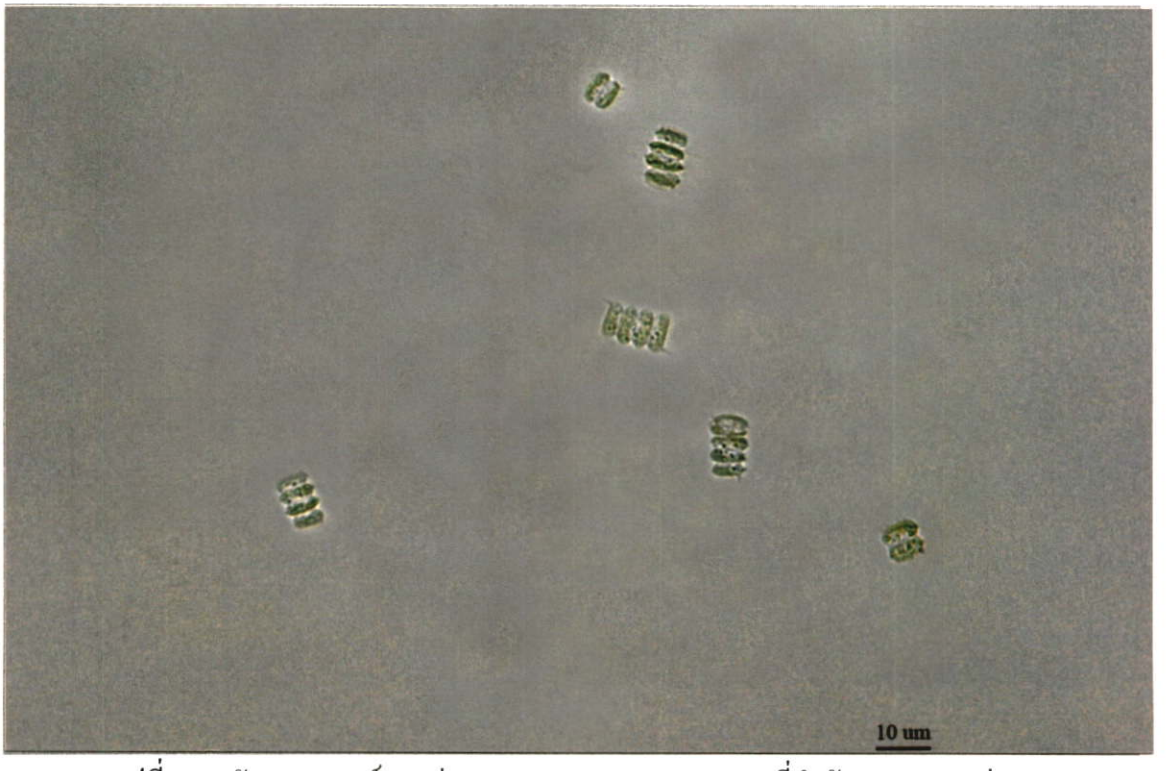
รูปที่ 4.19 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48021 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.20 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48022 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

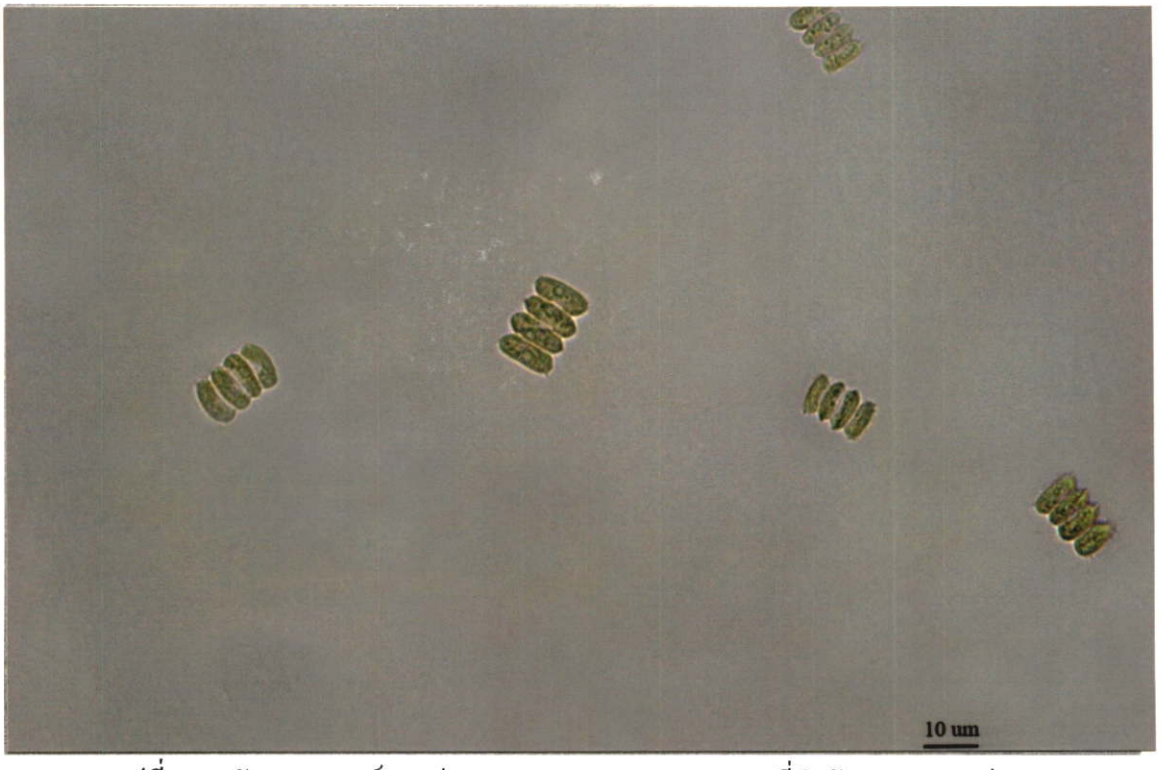


รูปที่ 4.21 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48023 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

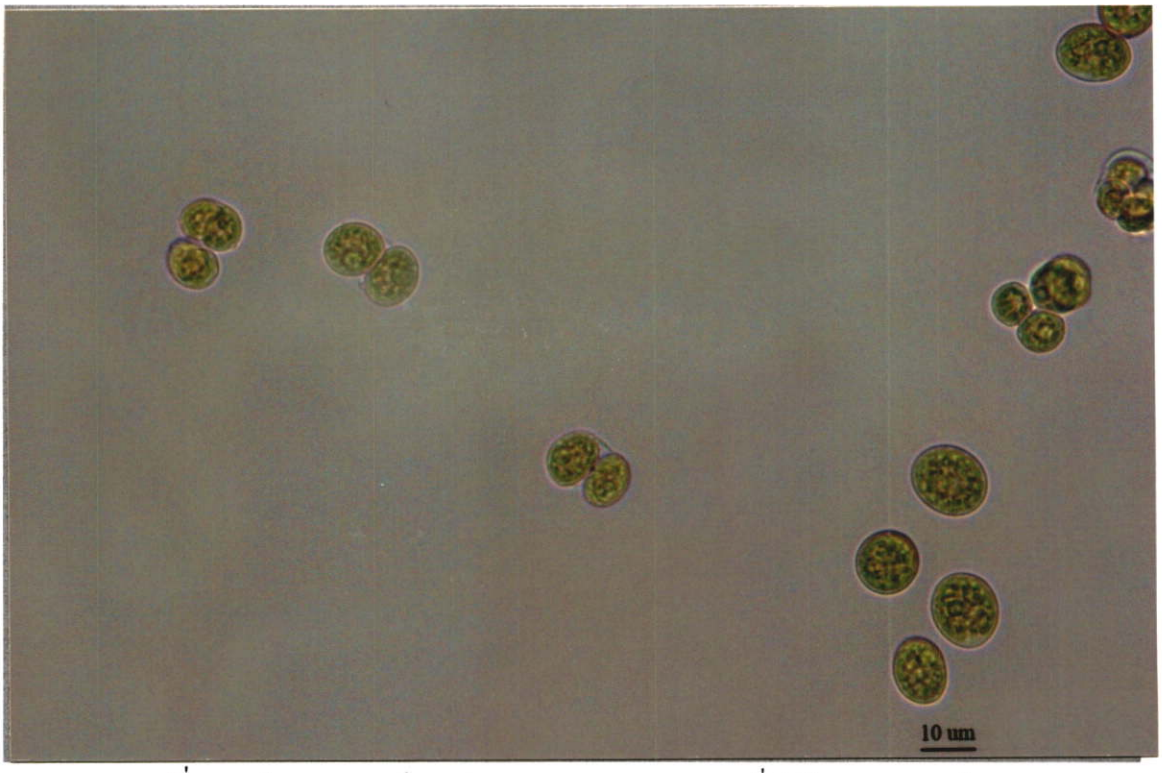


รูปที่ 4.22 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 4.23 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48032 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

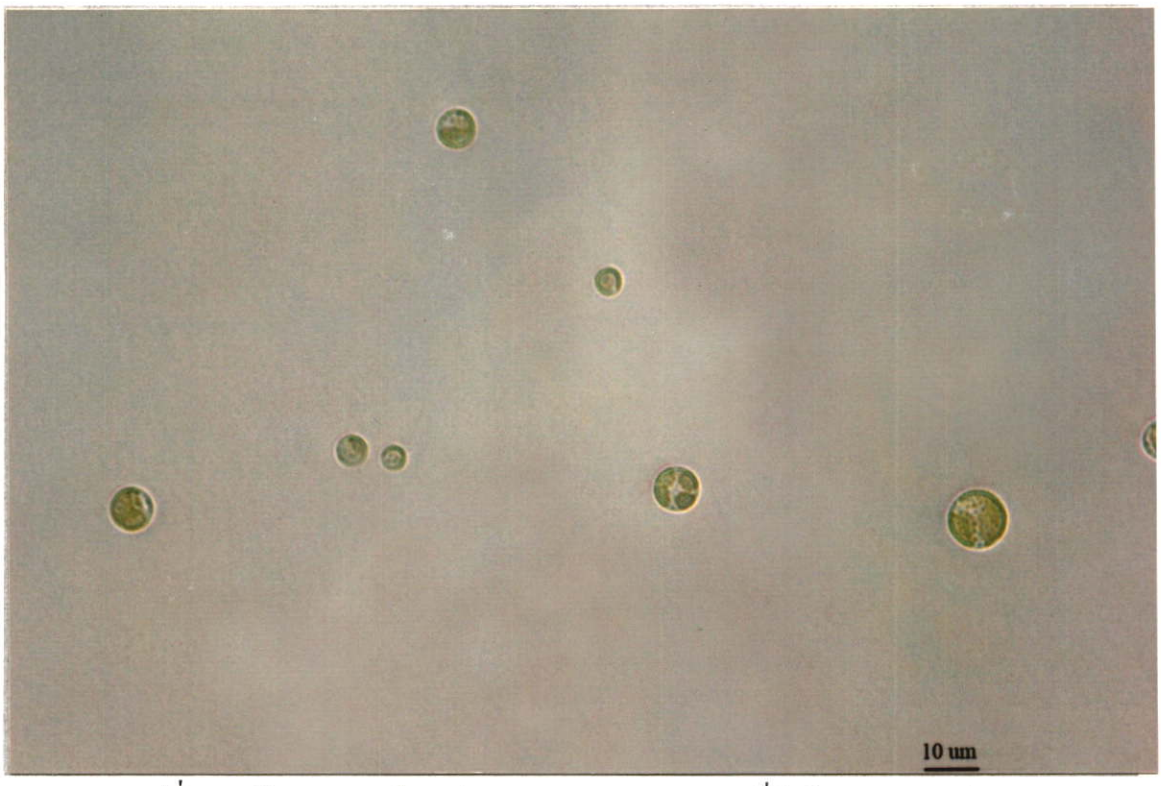


รูปที่ 4.24 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48033 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



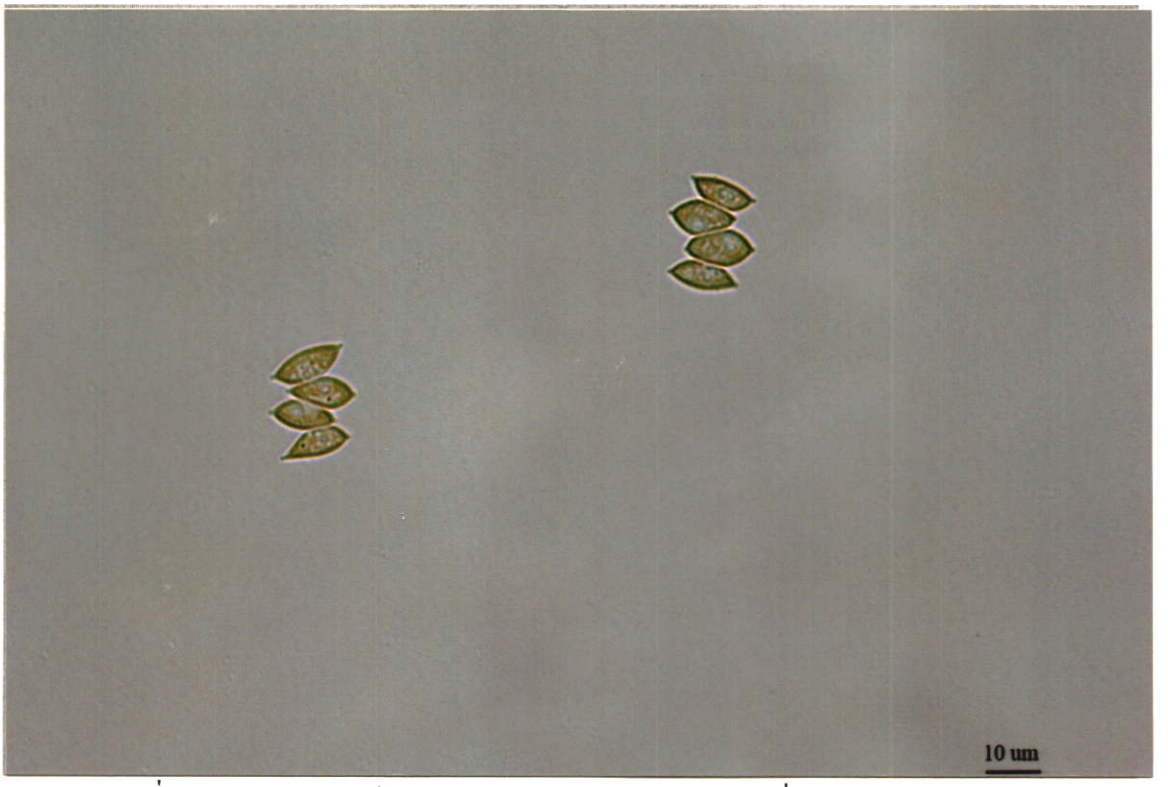
รูปที่ 4.25 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Oocystis* sp. K48041 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 4.26 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48042 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

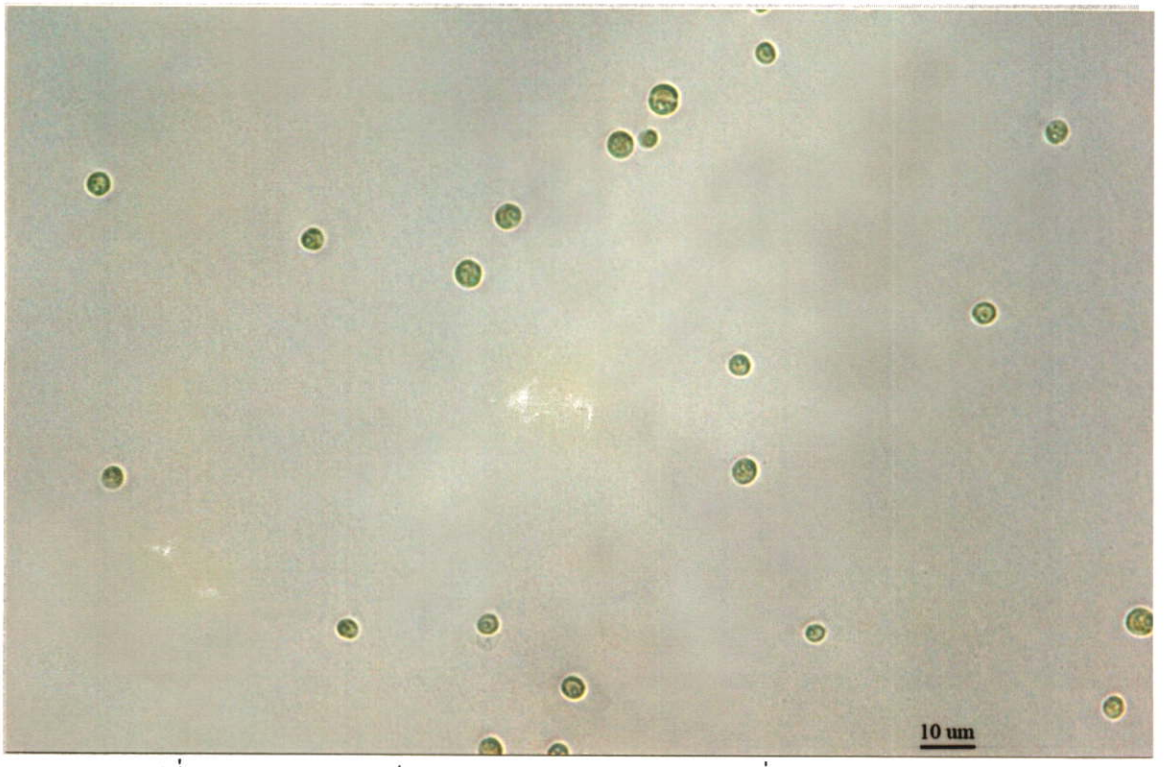


รูปที่ 4.27 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

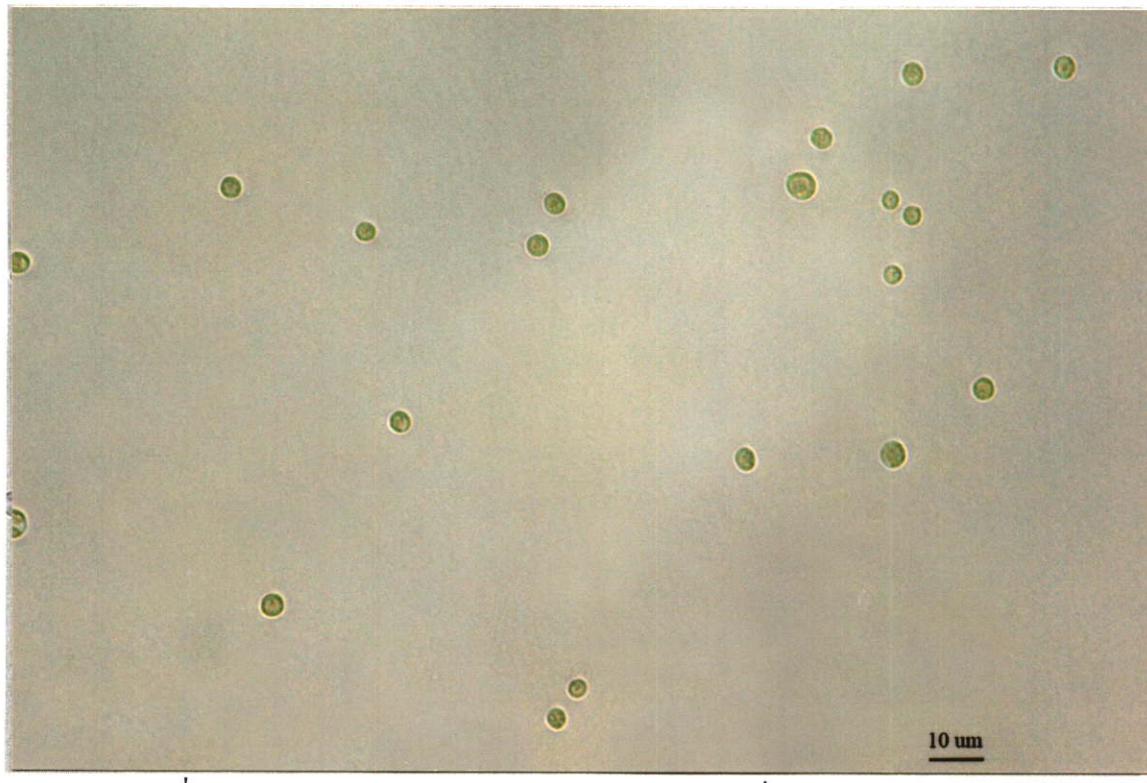
รูปที่ 4.28 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48052 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.29 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48061 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

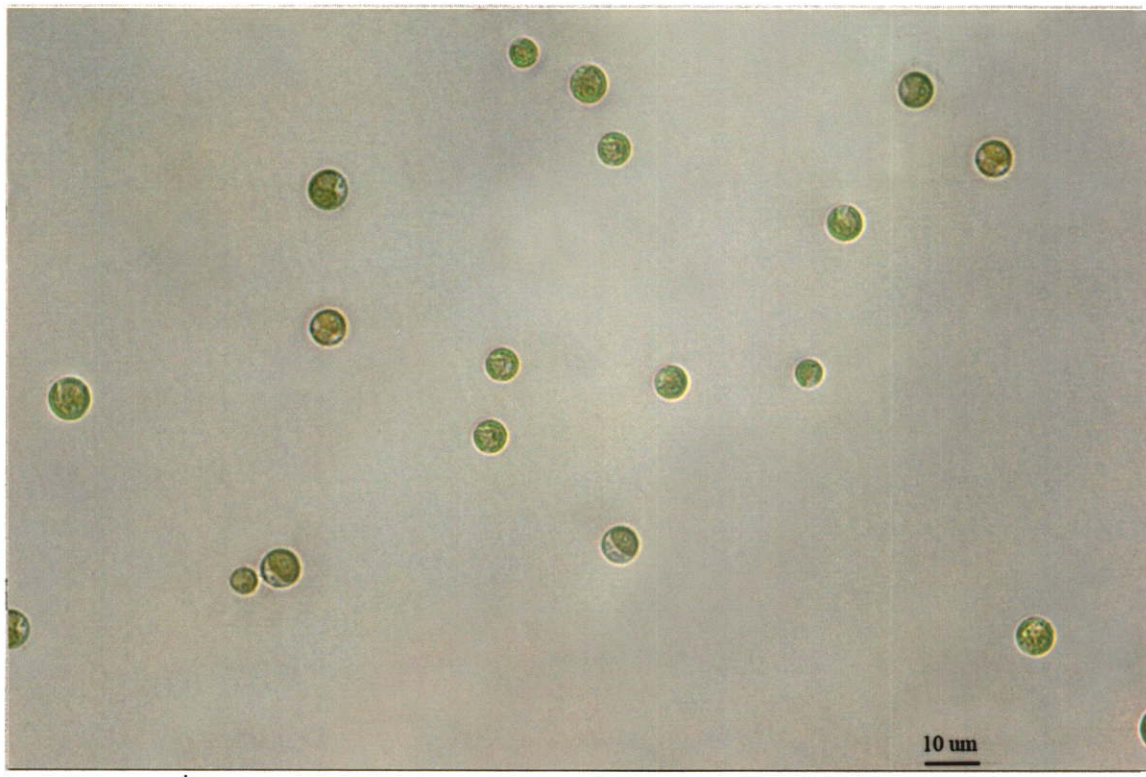


รูปที่ 4.30 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48062 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.31 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp K48071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 4.32 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48072 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



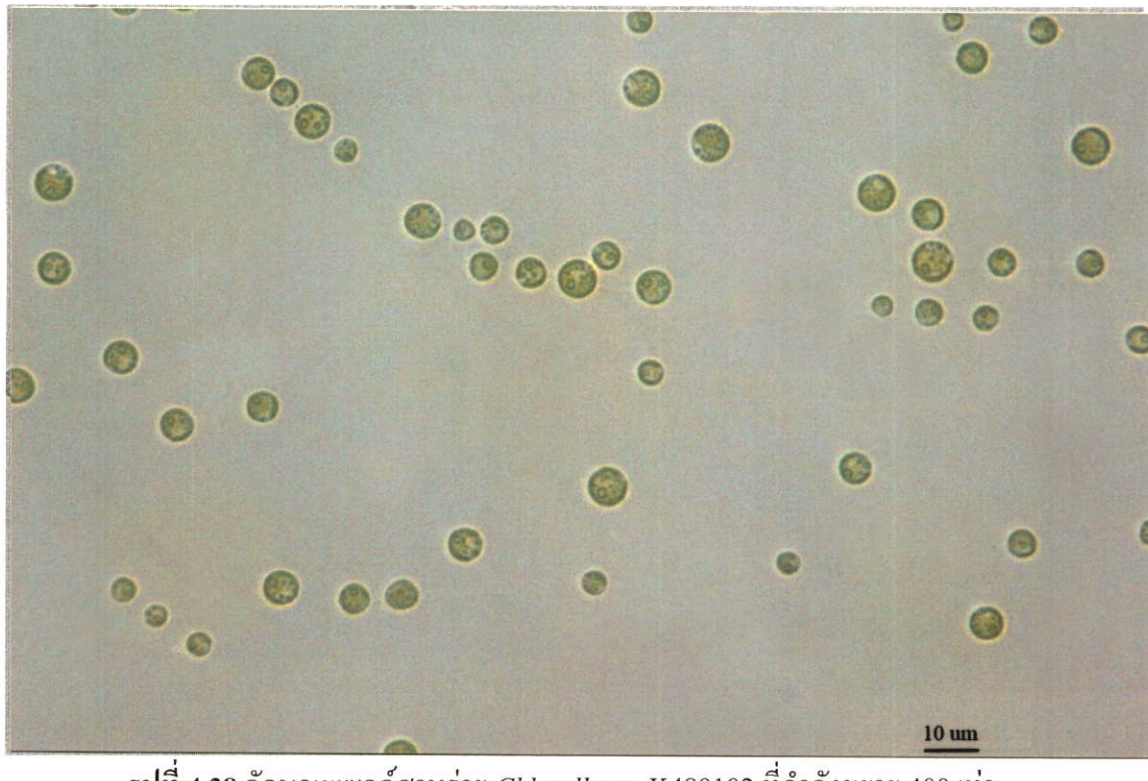
รูปที่ 4.33 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48081ที่กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 4.34 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48082 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

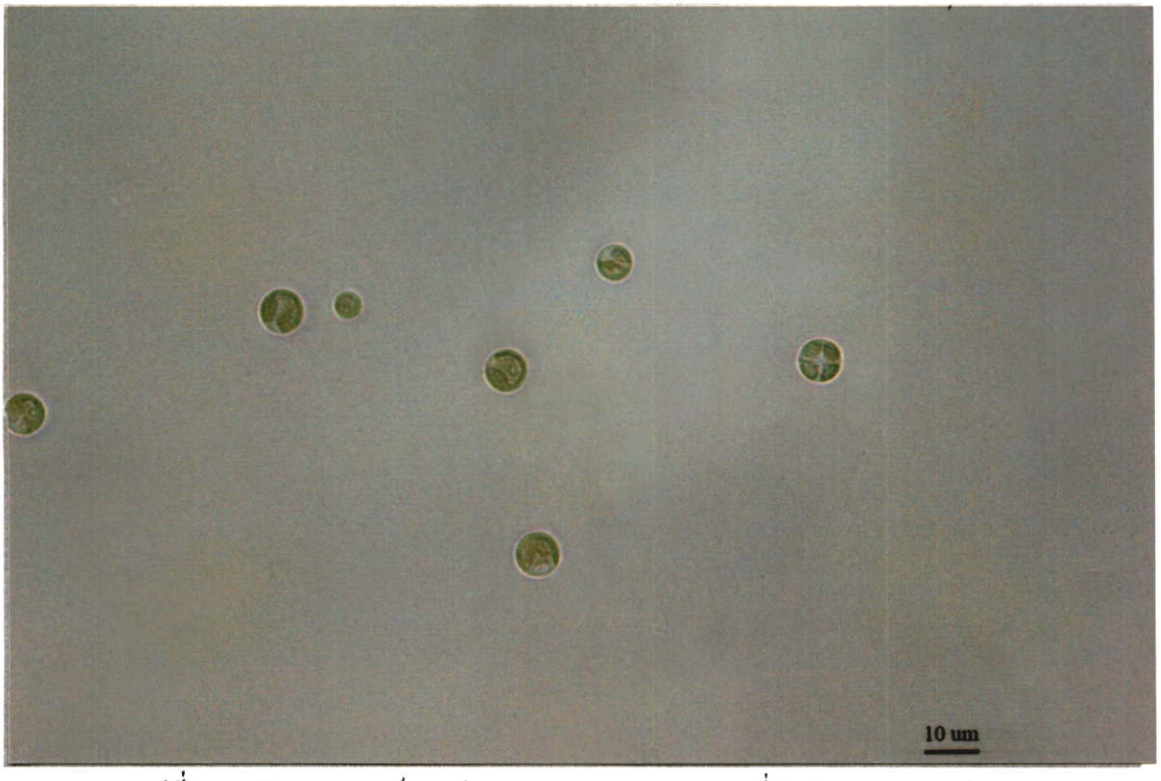
รูปที่ 4.35 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48091 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 4.36 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48092 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

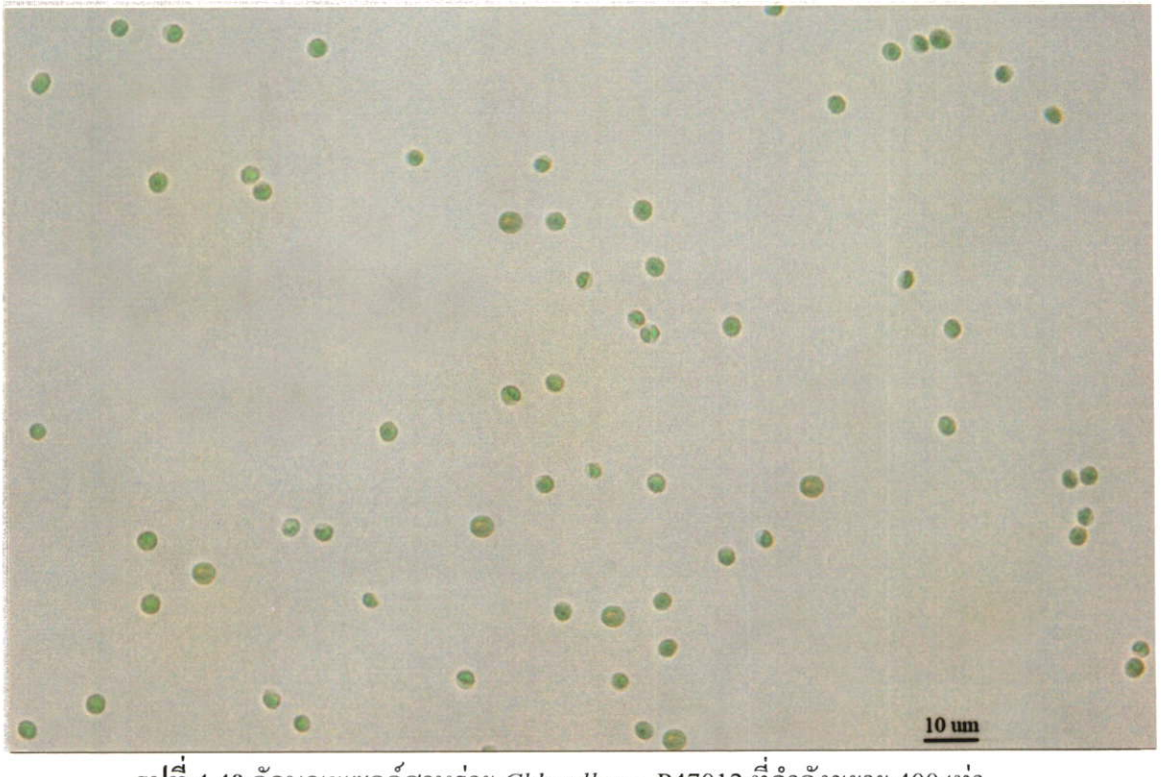
รูปที่ 4.37 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48101 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



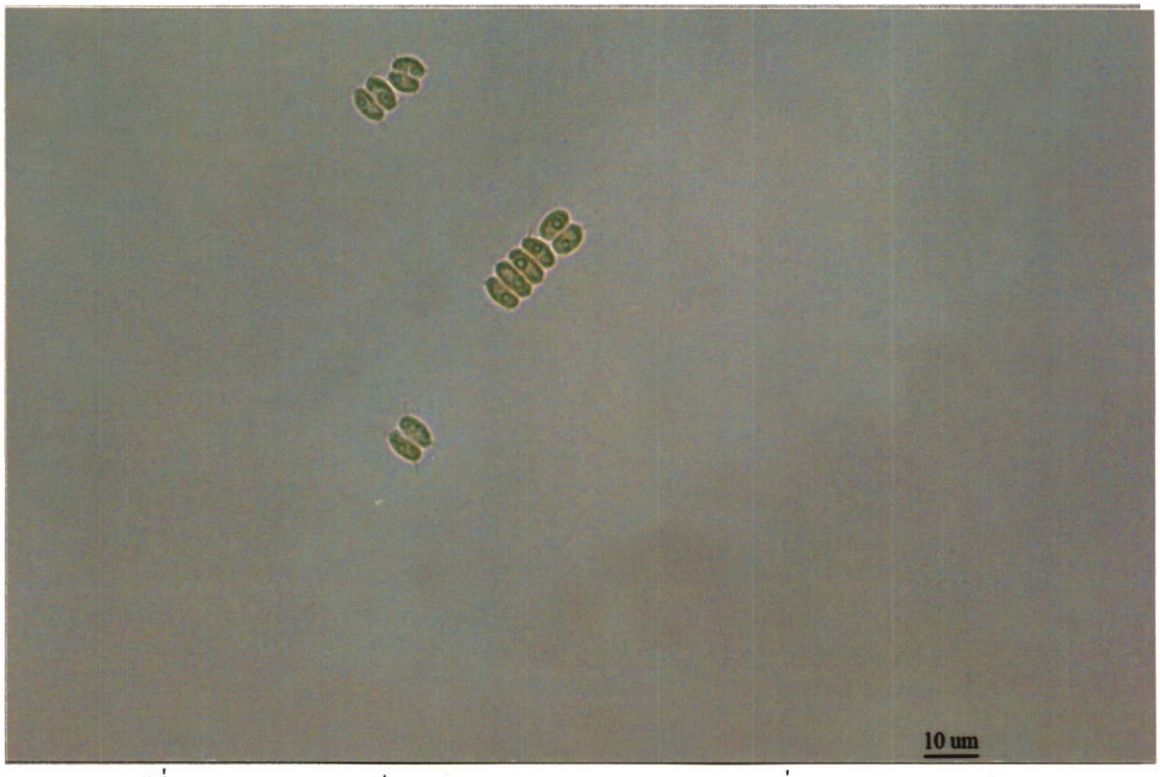
รูปที่ 4.38 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K480102 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



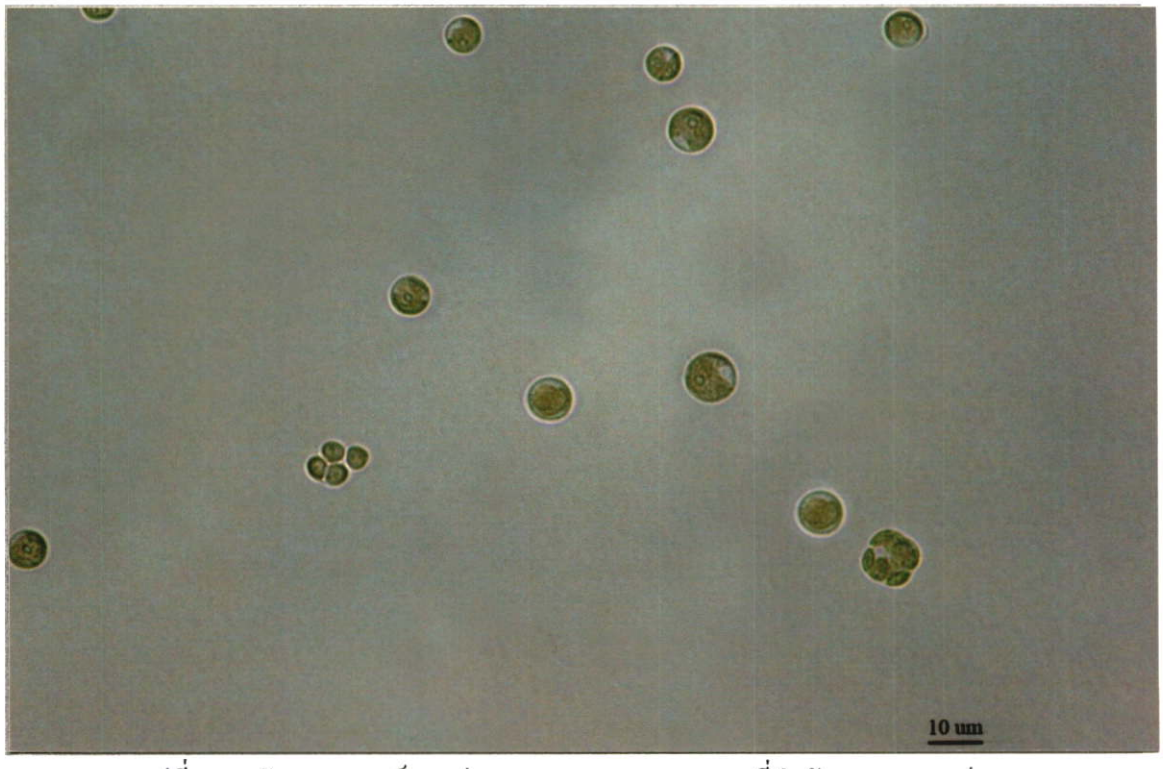
รูปที่ 4.39 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



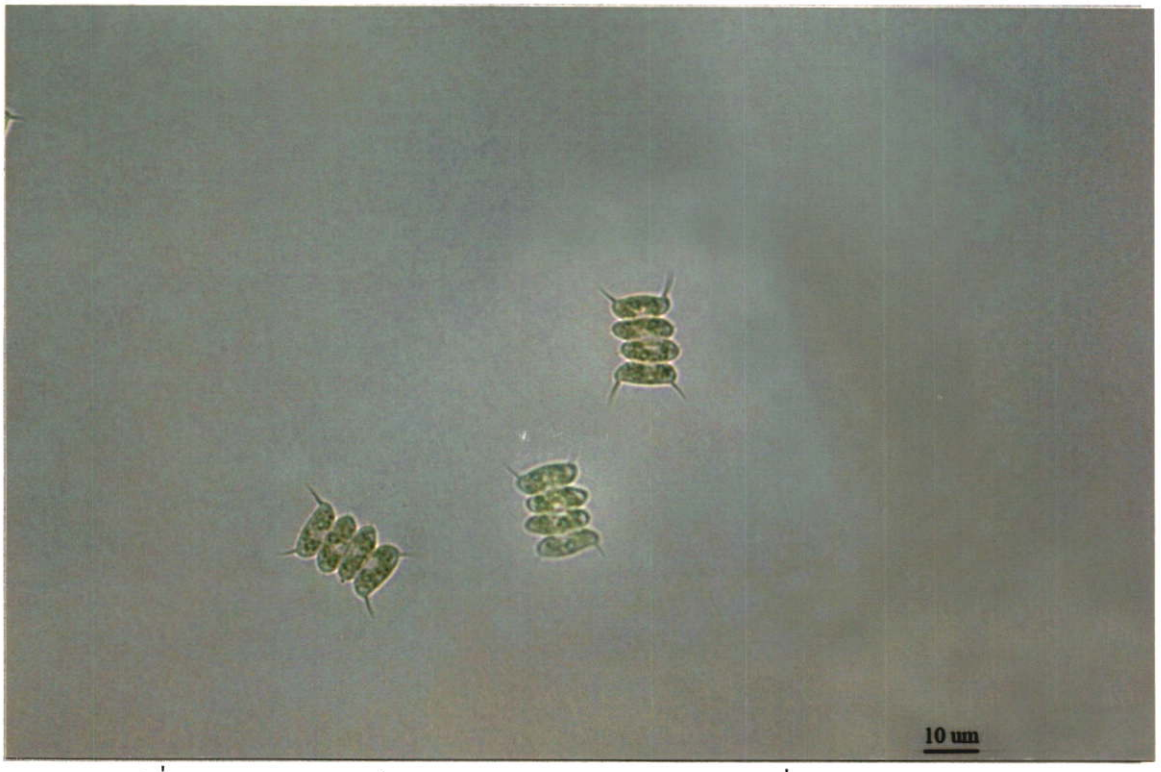
รูปที่ 4.40 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47012 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



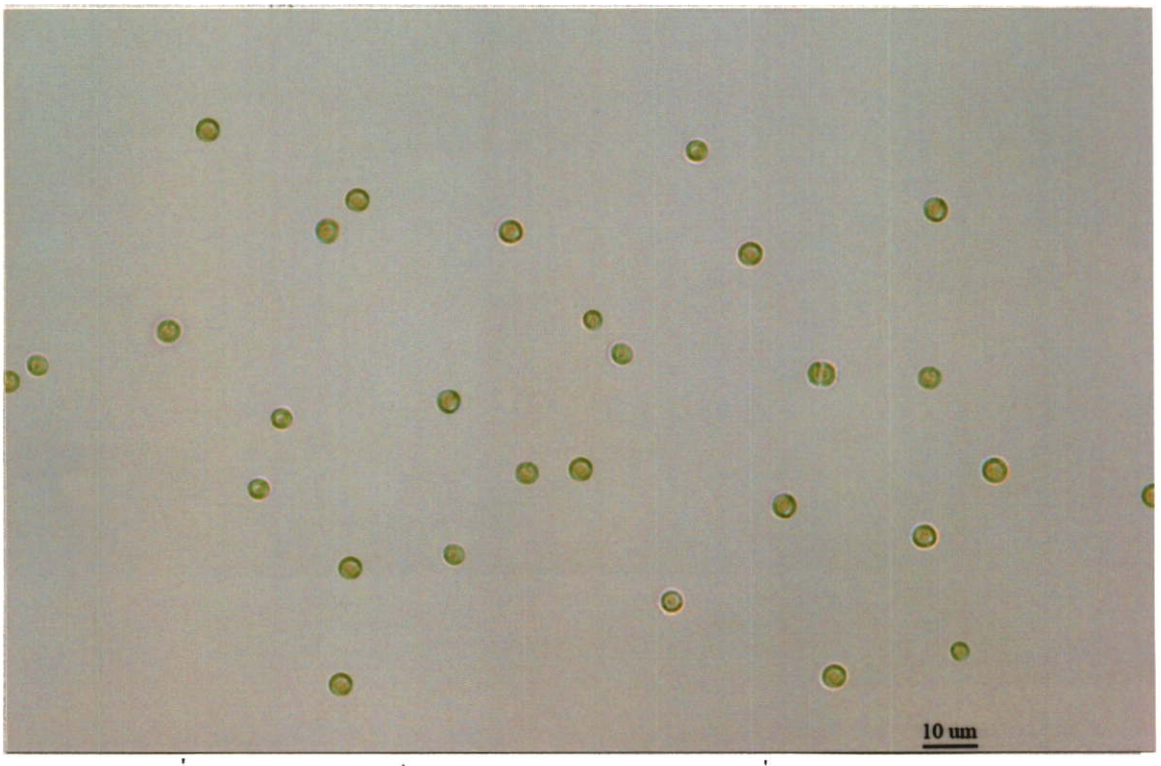
รูปที่ 4.41 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47013 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.42 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47021 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

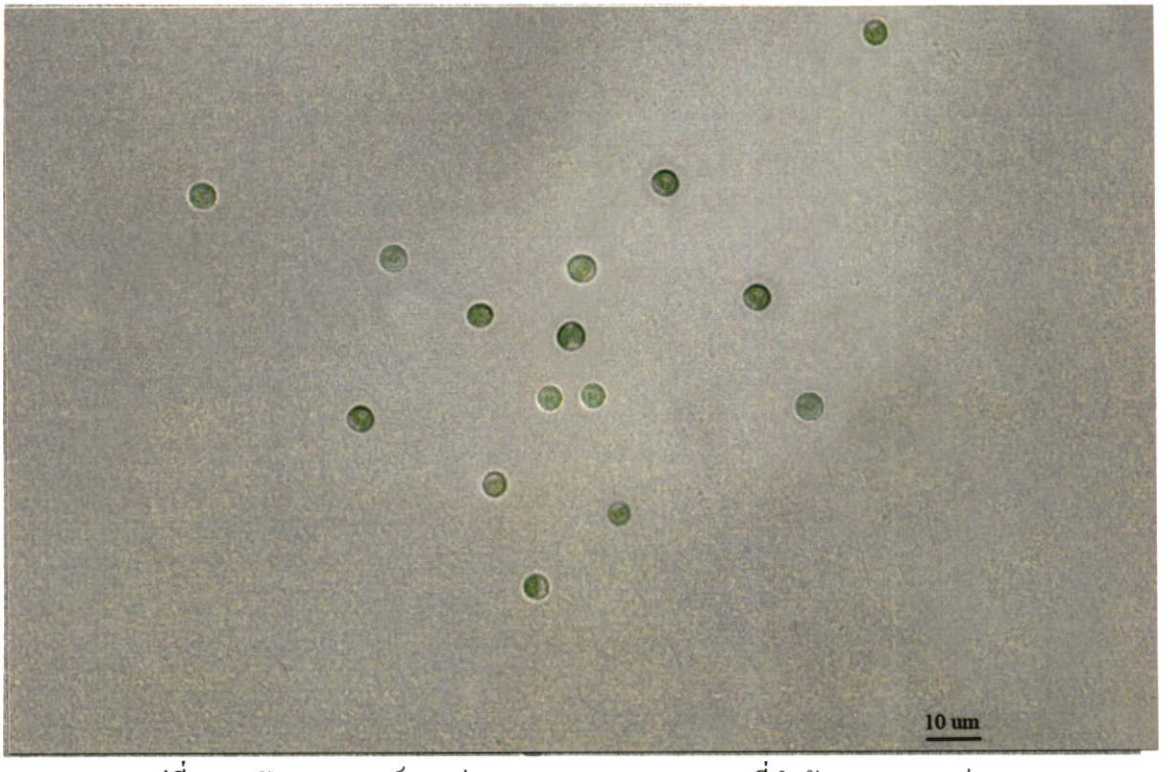


รูปที่ 4.43 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47022 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

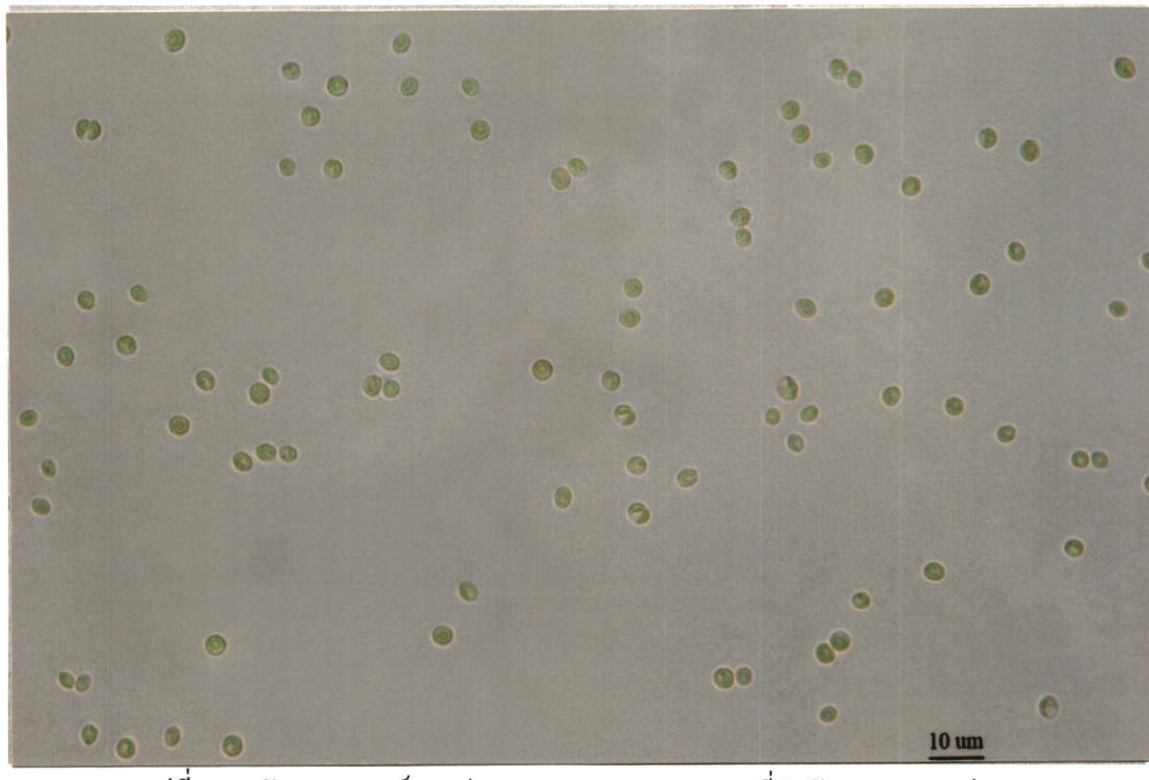


รูปที่ 4.44 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

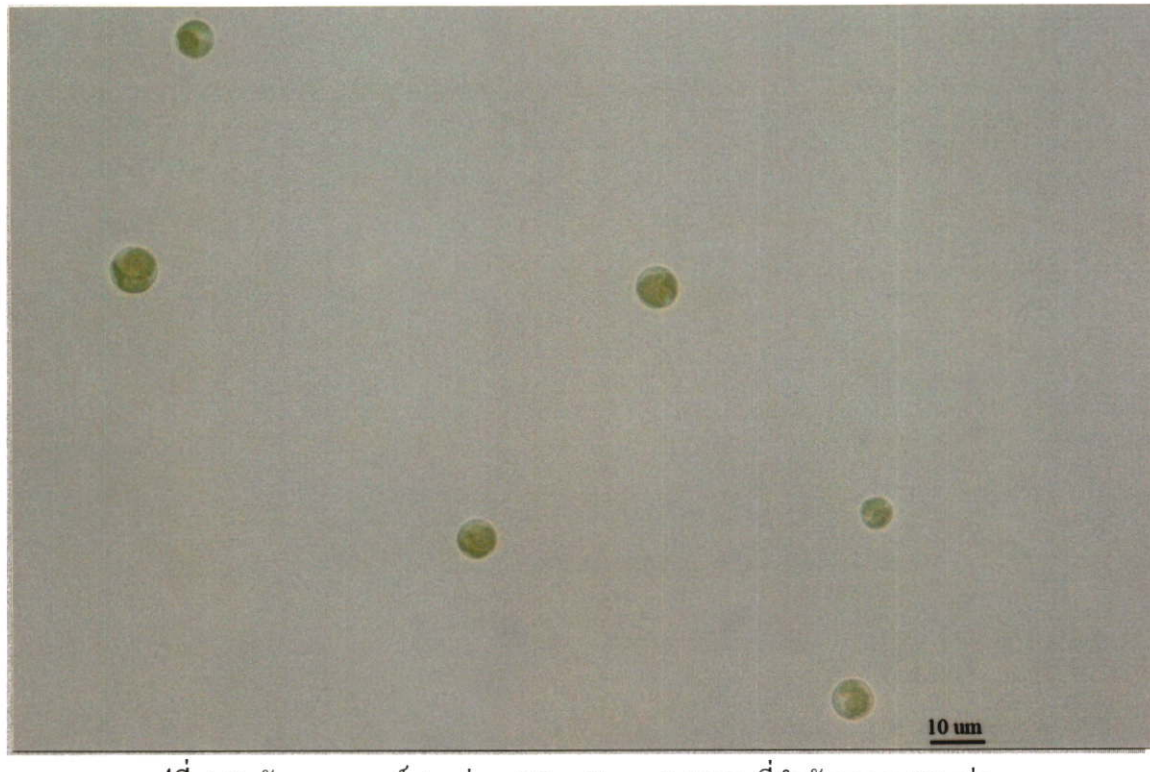
รูปที่ 4.45 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47032 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



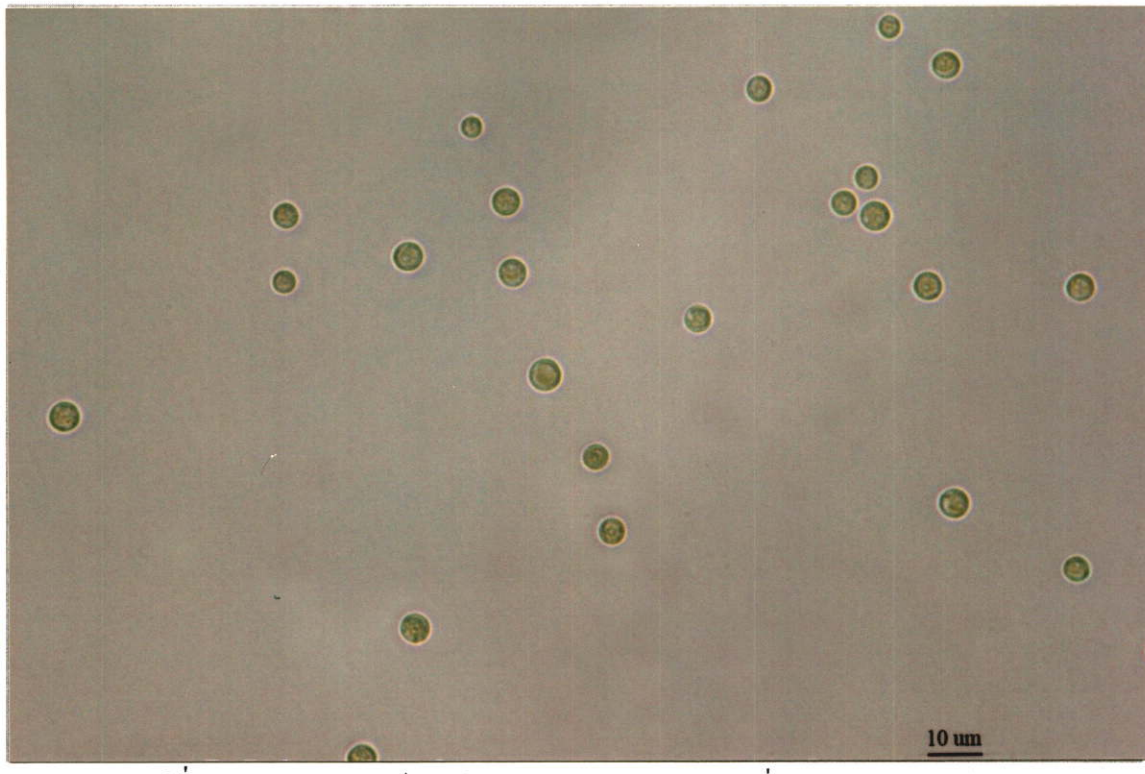
รูปที่ 4.46 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47041 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



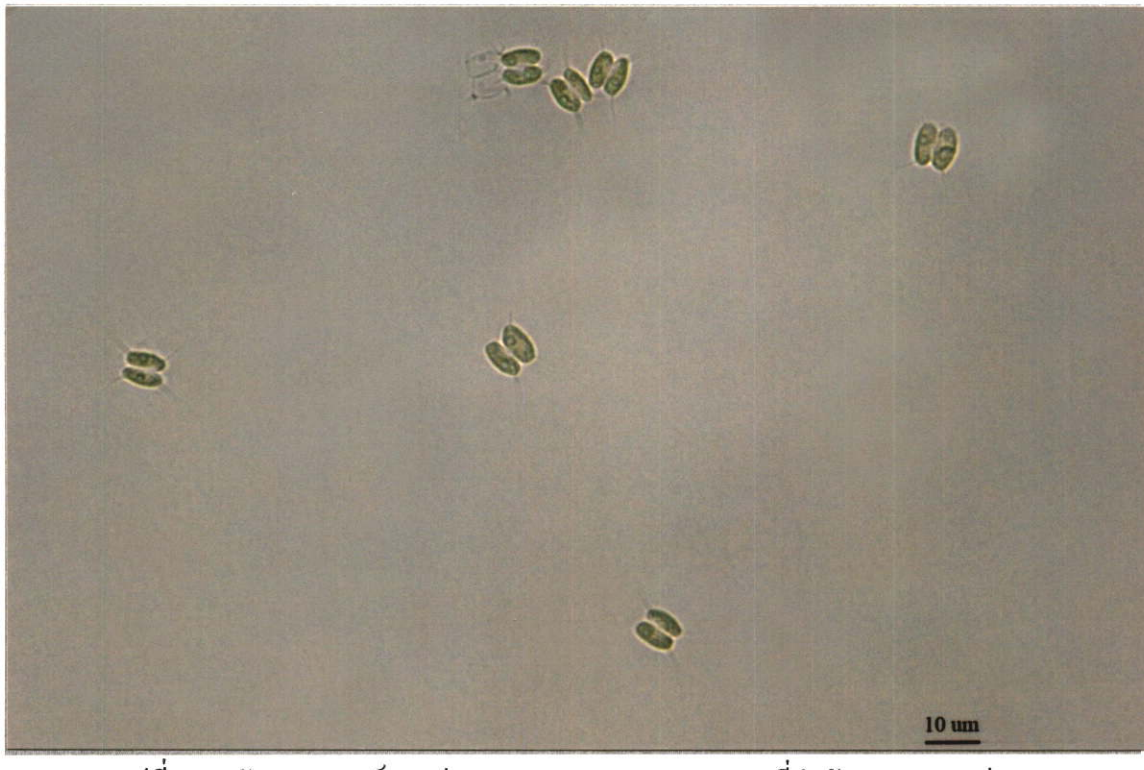
รูปที่ 4.47 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47042 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



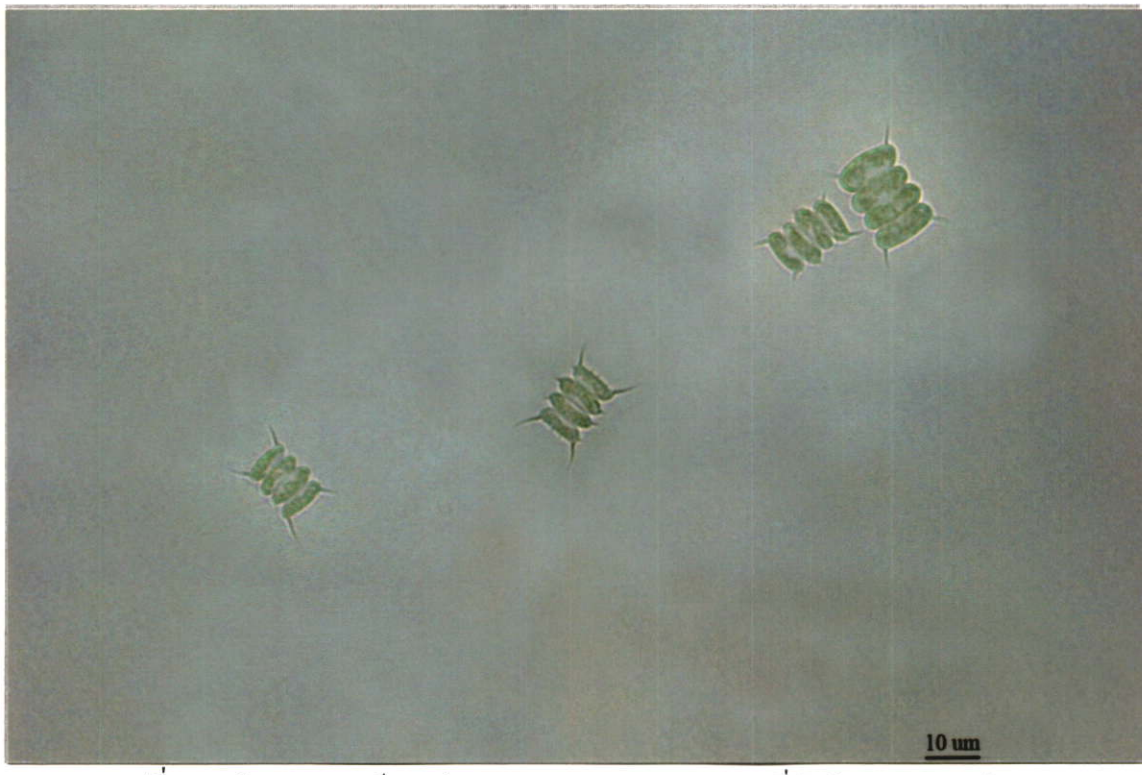
รูปที่ 4.48 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



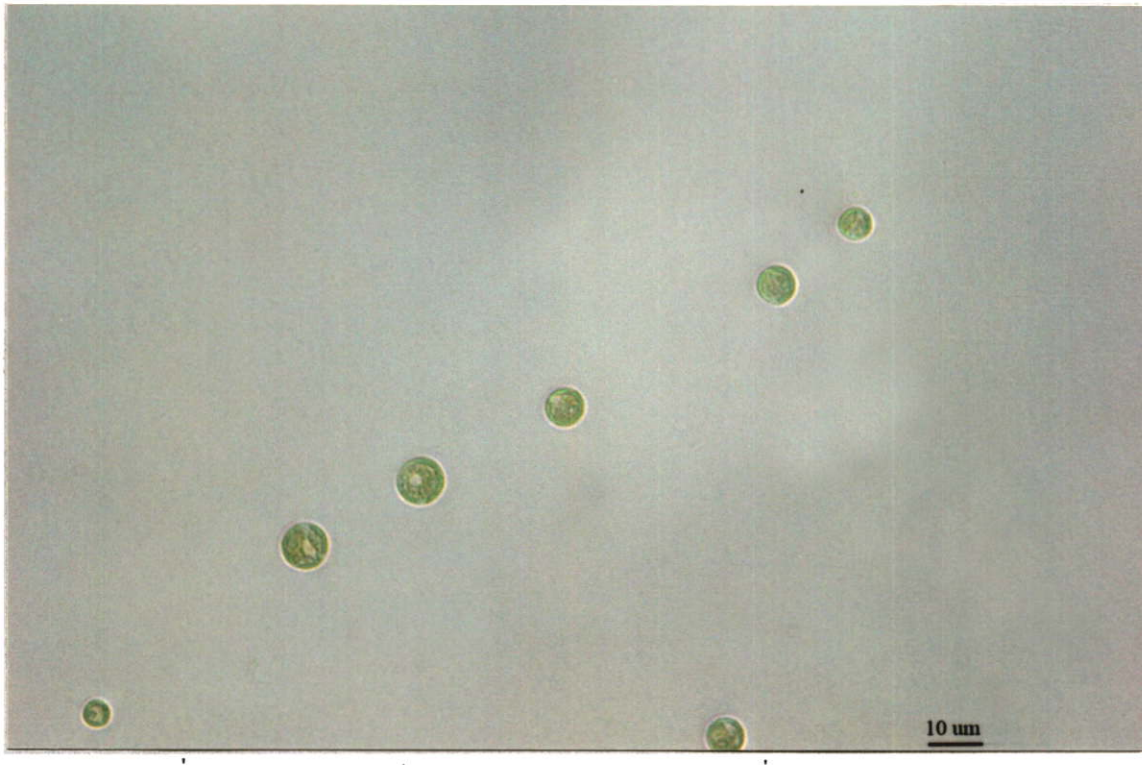
รูปที่ 4.49 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47052 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



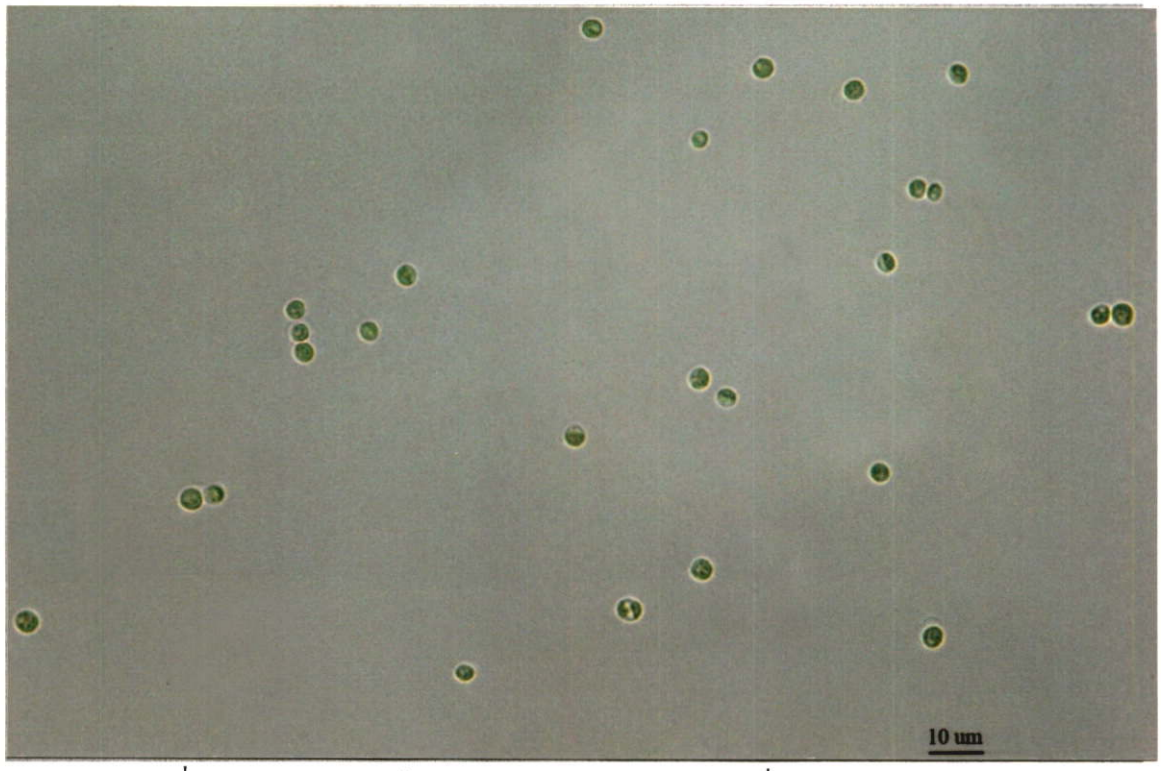
รูปที่ 4.50 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47053 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.51 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47061 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

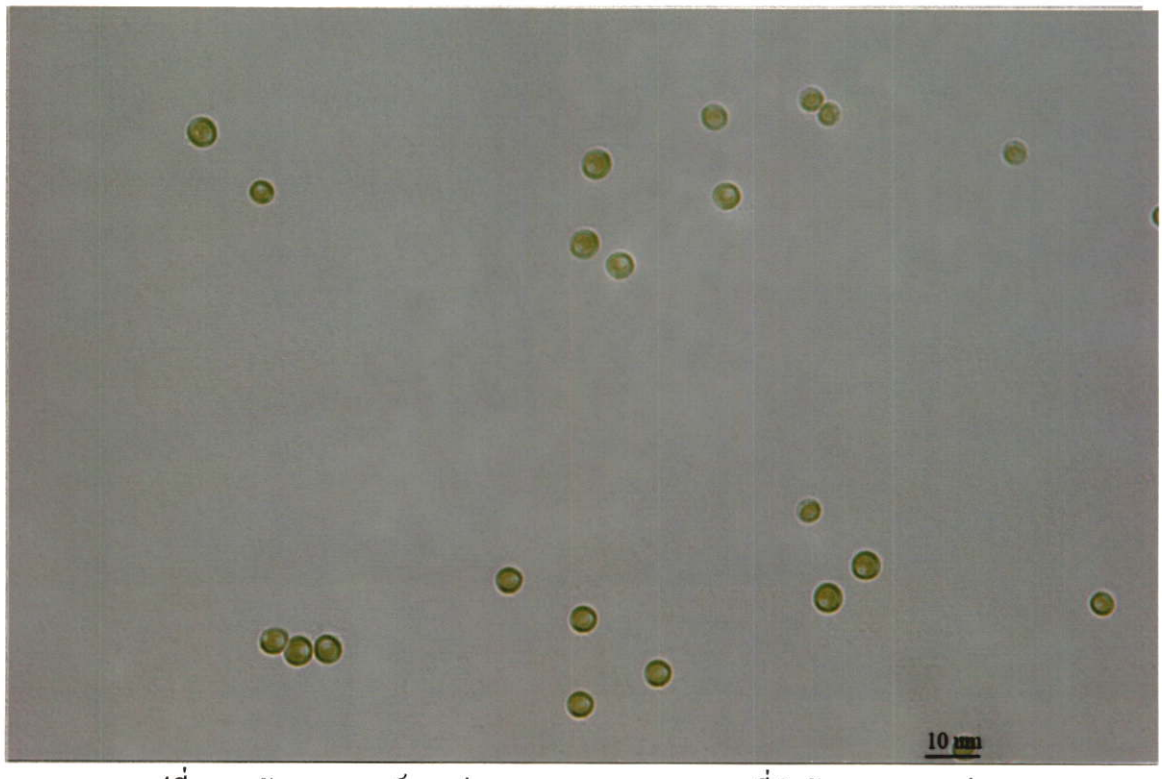


รูปที่ 4.52 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47062 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

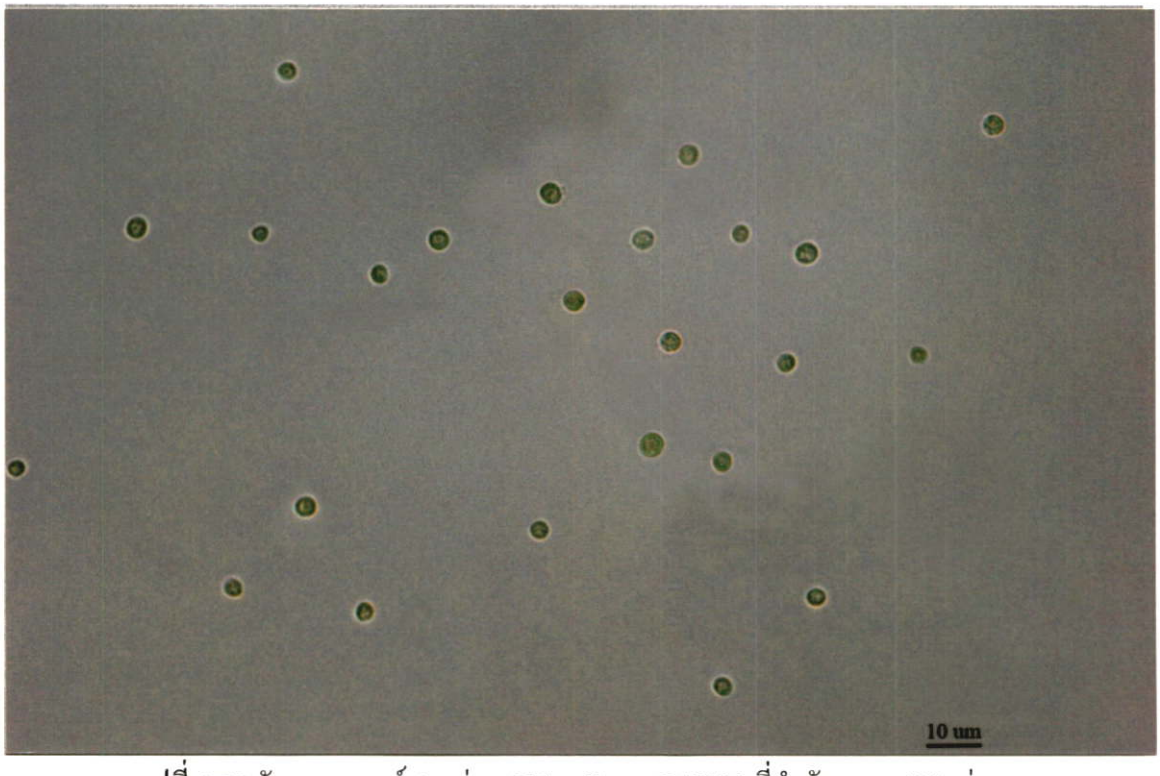


รูปที่ 4.53 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47063 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

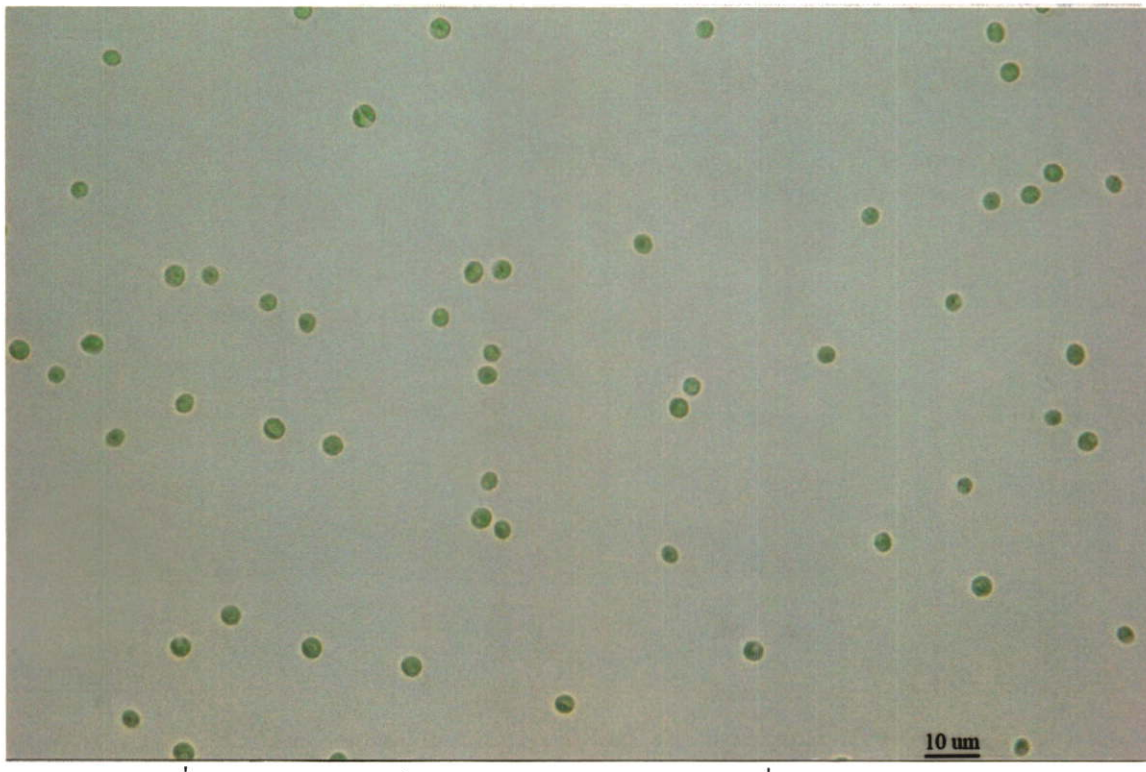
รูปที่ 4.54 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



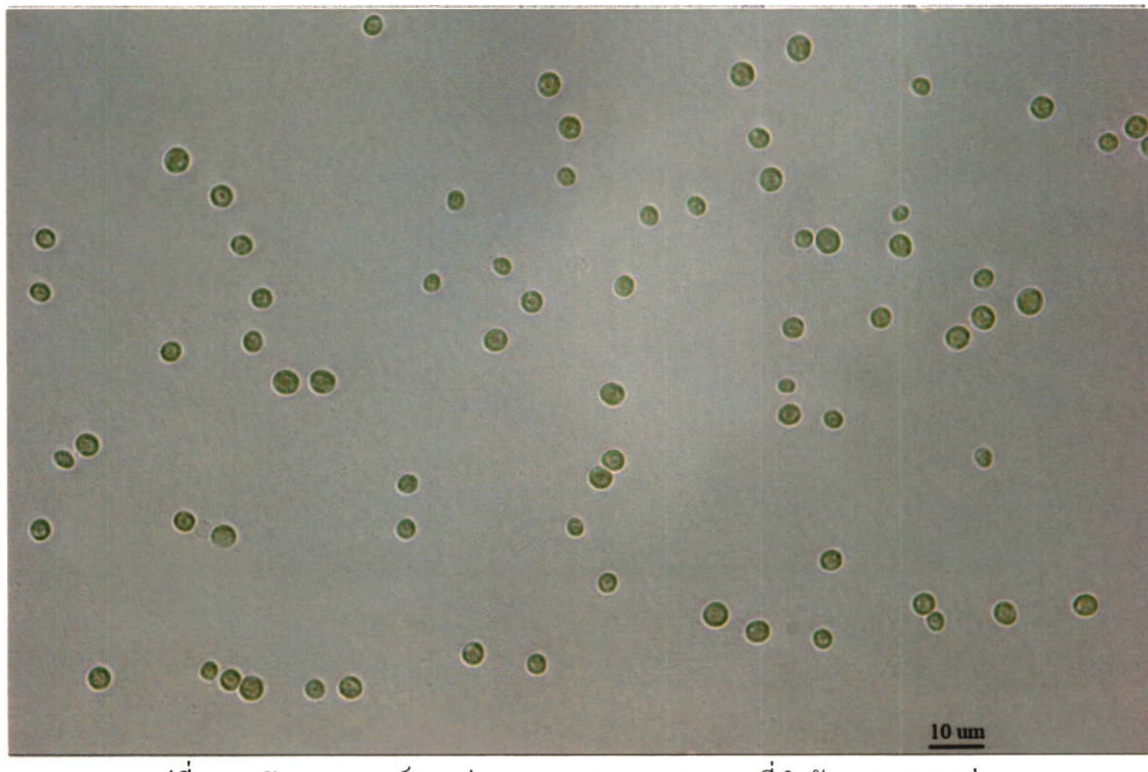
รูปที่ 4.55 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



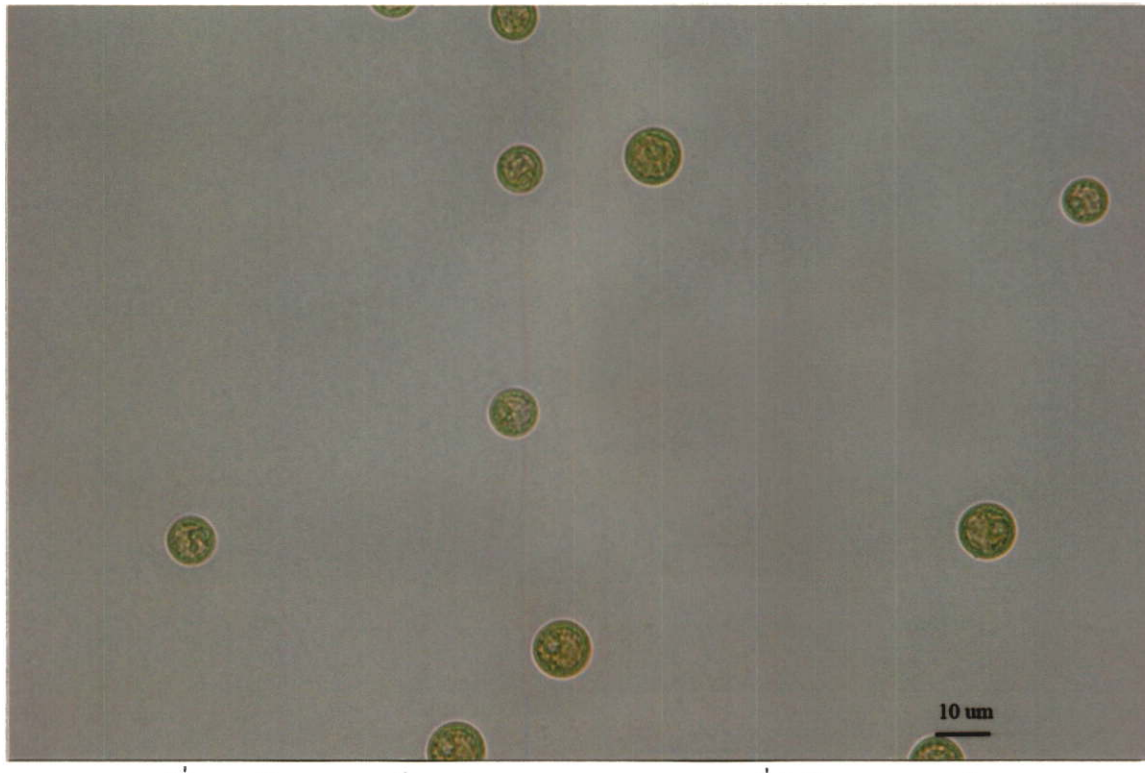
รูปที่ 4.56 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.57 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47091 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

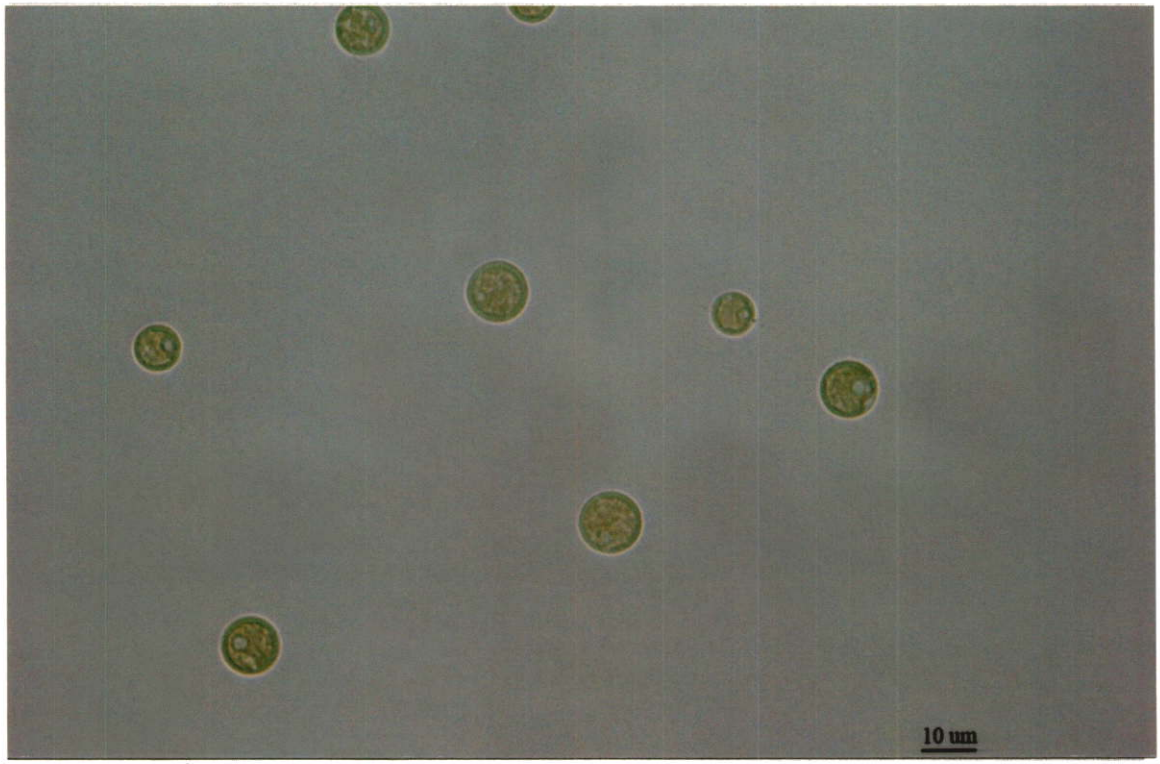


รูปที่ 4.58 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47101 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

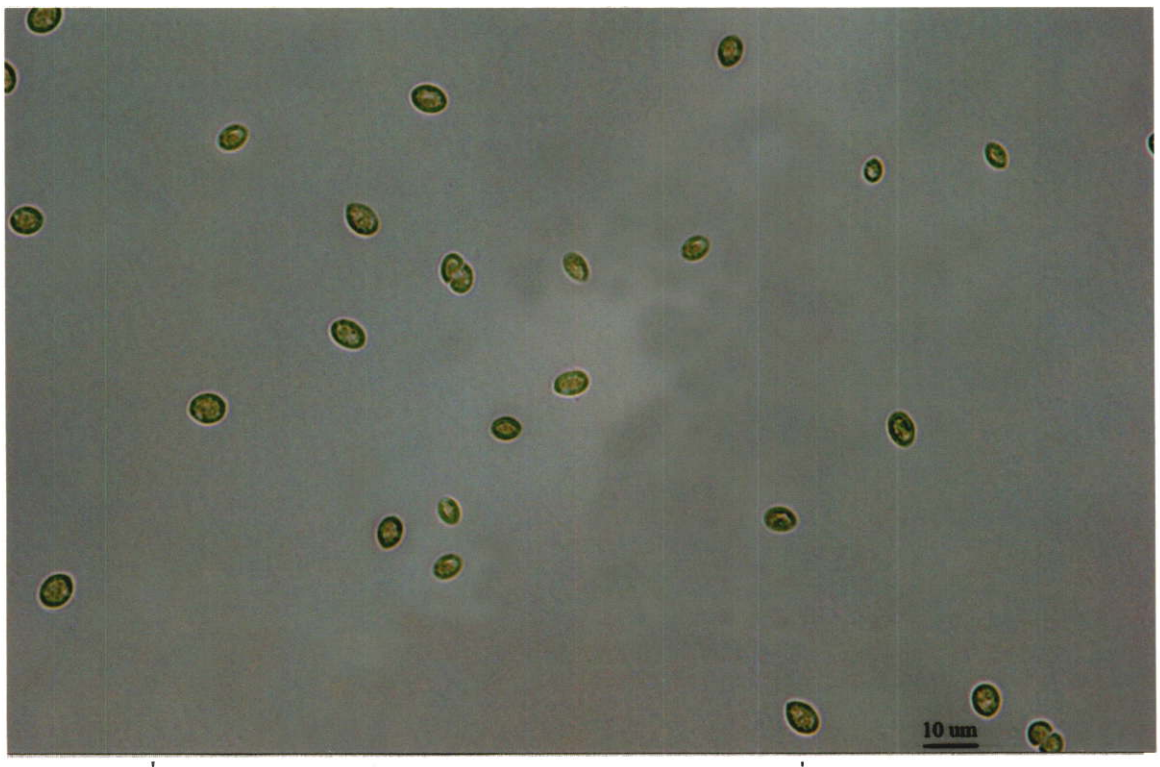


รูปที่ 4.59 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

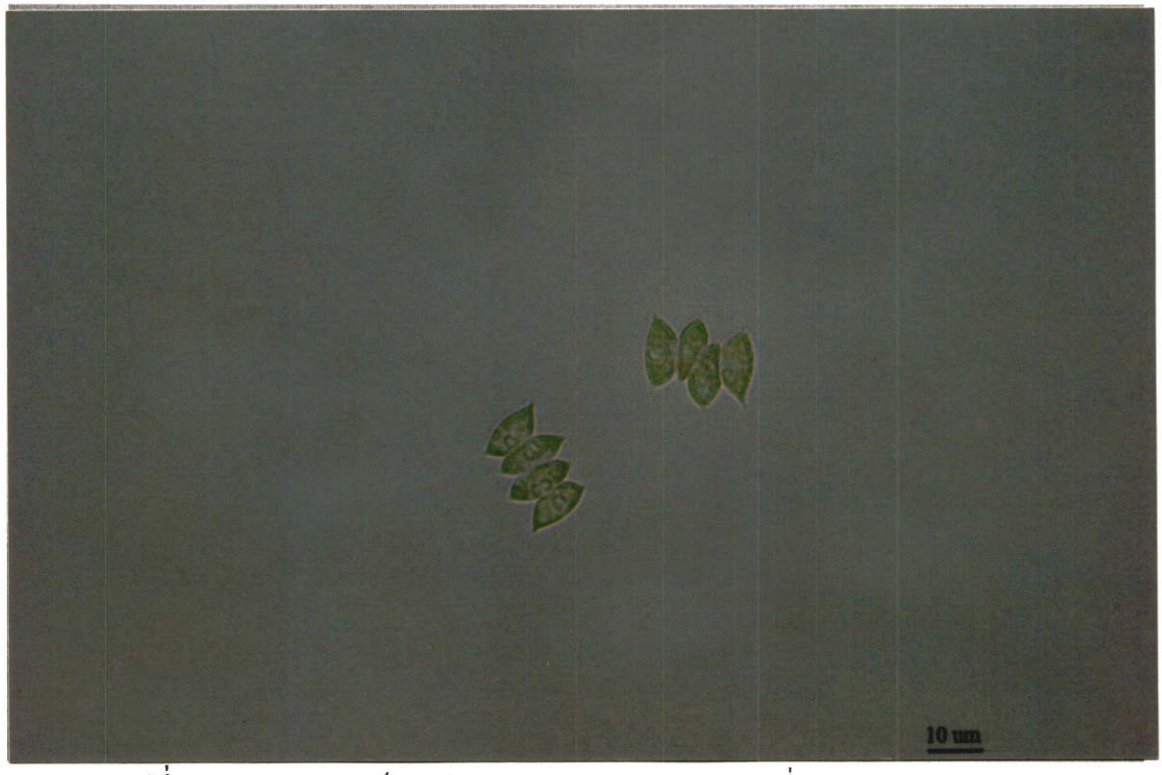
รูปที่ 4.60 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48012 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



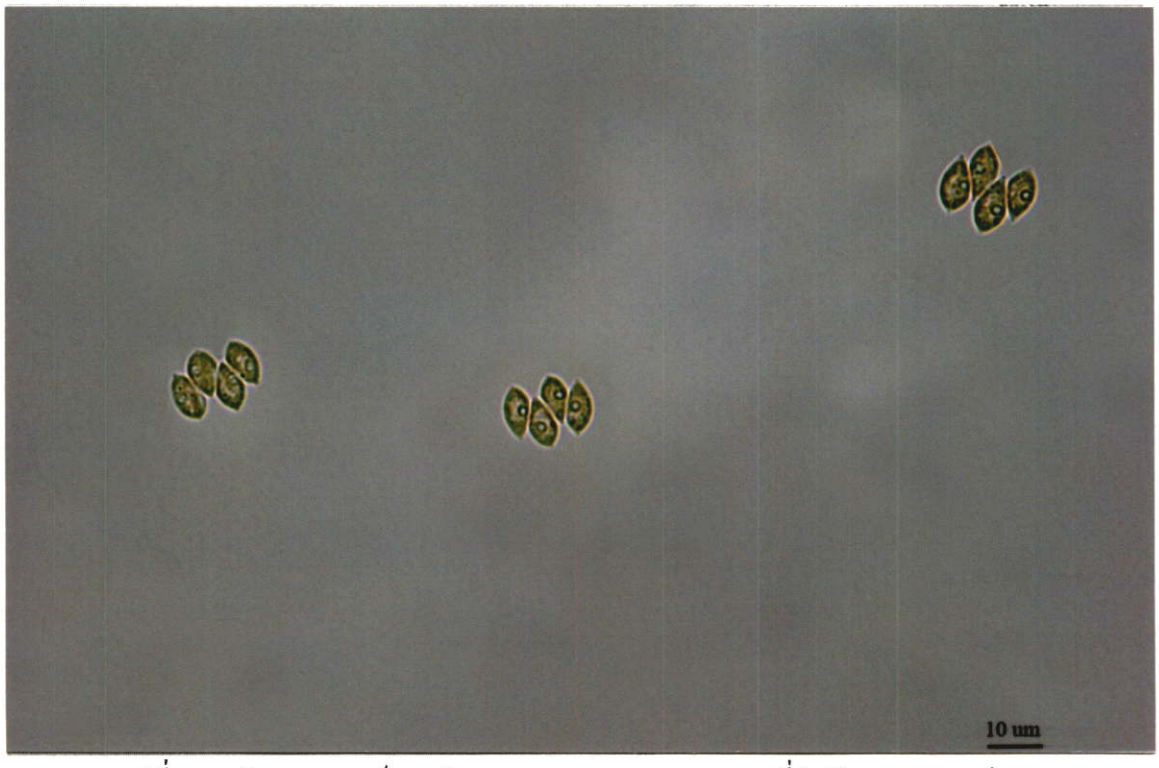
รูปที่ 4.61 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48021 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



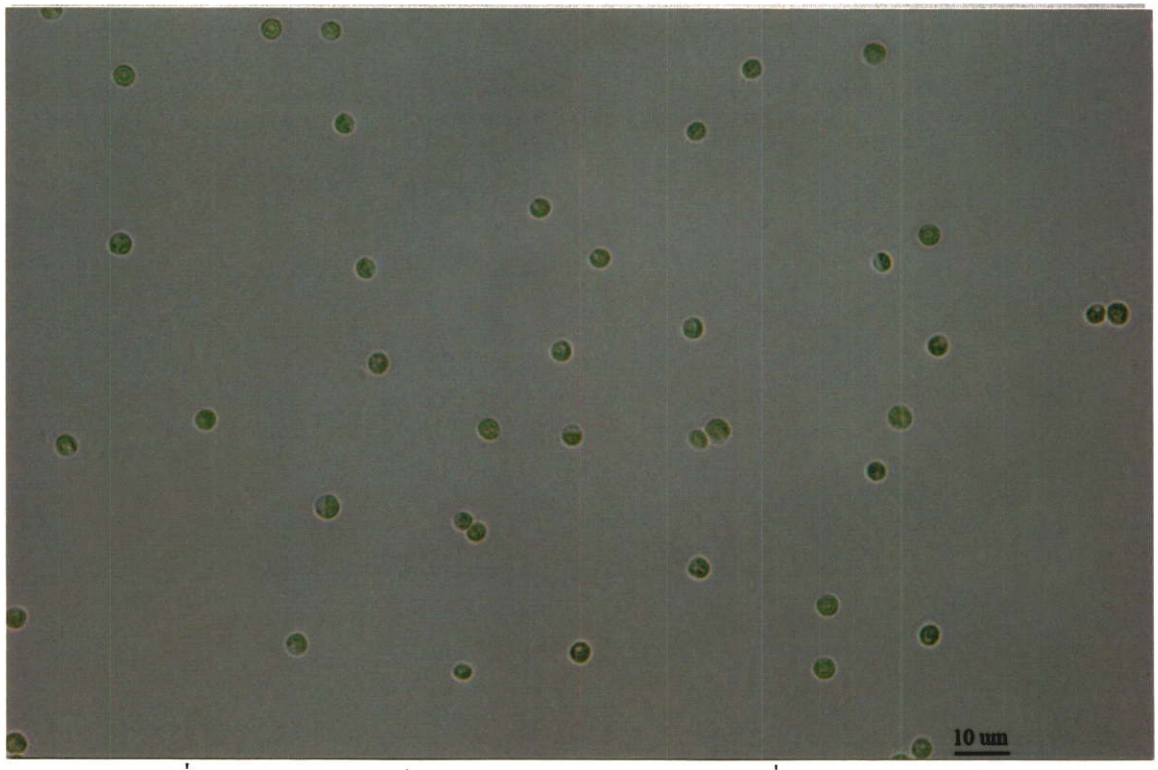
รูปที่ 4.62 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Monoraphidium* sp. P48022 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.63 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48023 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

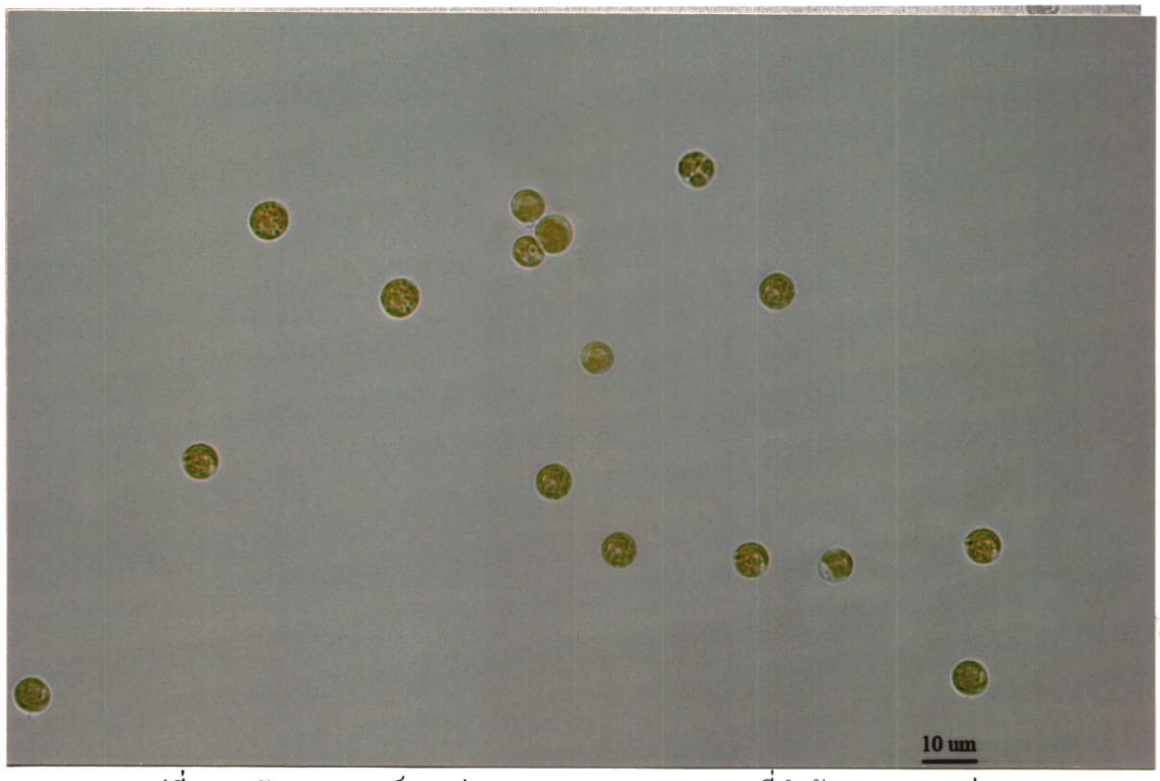


รูปที่ 4.64 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.65 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48041 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 4.66 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

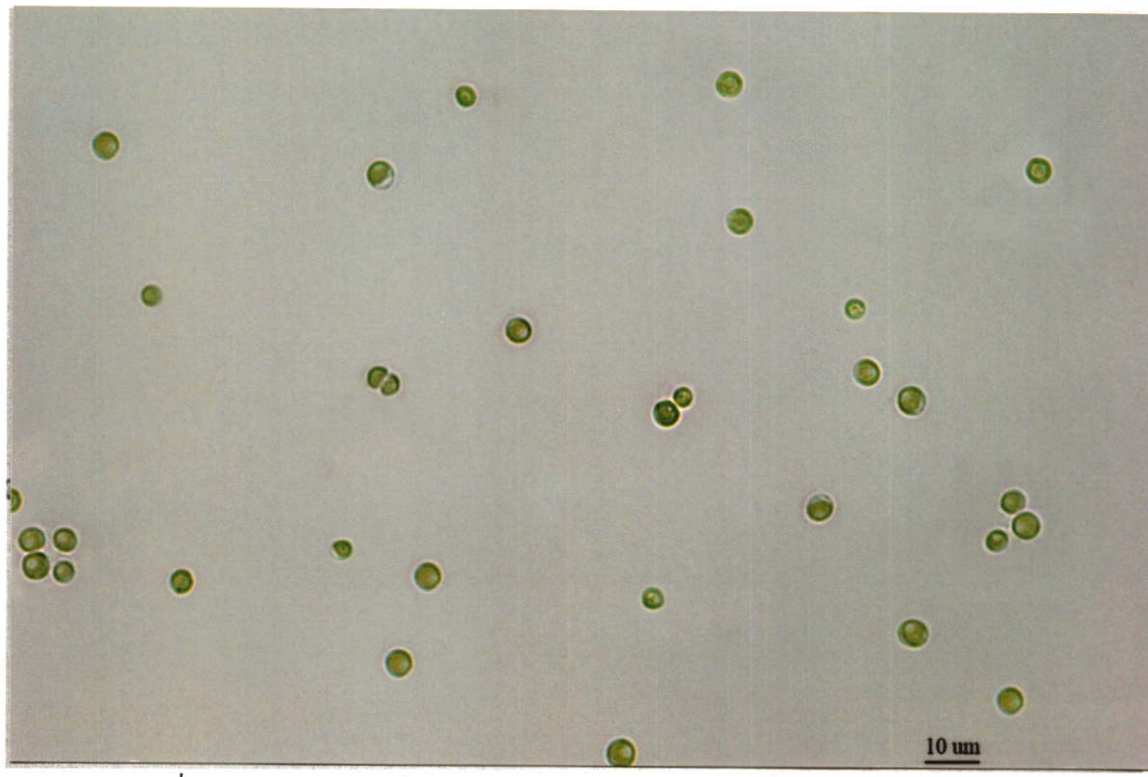


รูปที่ 4.67 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

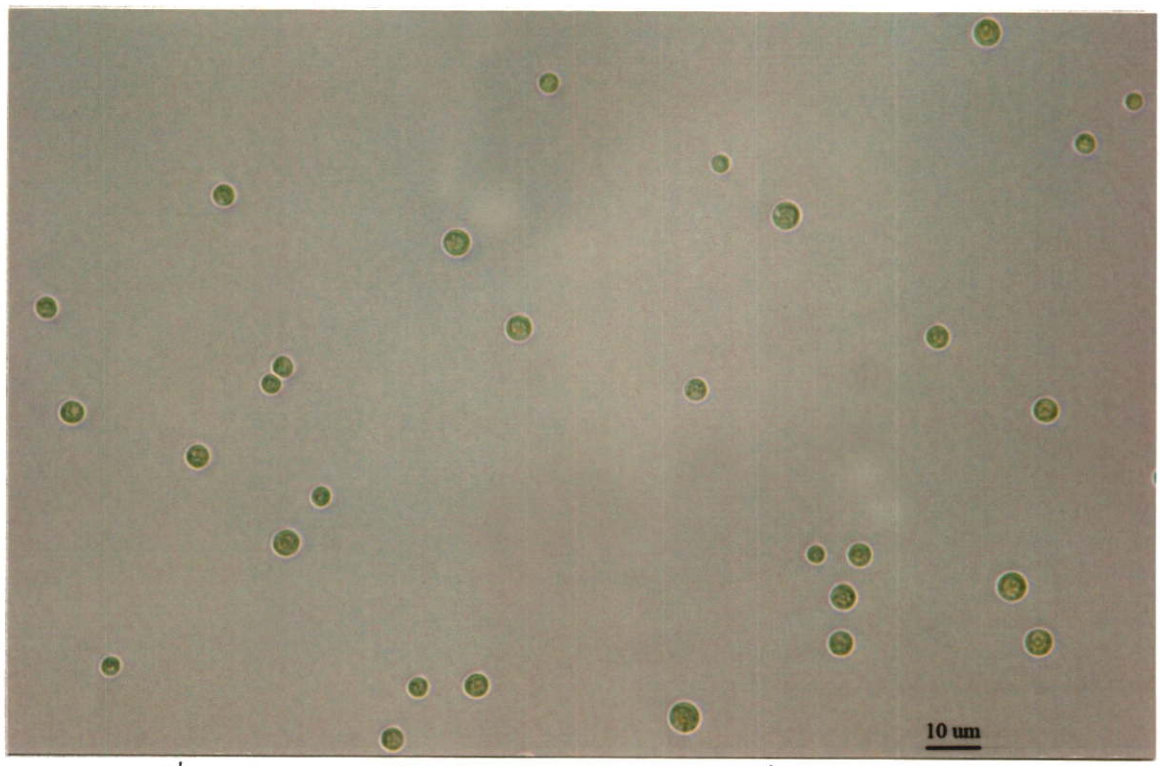
รูปที่ 4.68 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 4.69 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 4.70 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48091 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.71 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48092 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.72 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48101 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

4.3 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

นำสาหร่ายที่ผ่านการคัดเลือก 3 ไอโซเลท คือ *Chlorella* sp. P48061, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. K46032 มาศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์โดยเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลวสูตร N-8 ดัดแปลง ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เตรียมเซลล์ตั้งต้นให้มีค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร เท่ากับ 0.3 ใช้เซลล์ตั้งต้นร้อยละ 20 ของปริมาตรอาหาร ให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซ็นต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 วัน เป็นระยะเวลา 14 วัน โดยปัจจัยที่ศึกษา คือ ผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท ผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรท และผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหาร ทั้งนี้การวิเคราะห์ทางสถิติจะเปรียบเทียบเฉพาะผลของปัจจัยนั้นๆ ในสาหร่ายแต่ละไอโซเลท โดยหลังการทดลองผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหาร จะคัดเลือกสาหร่ายที่มีการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดเพียงไอโซเลทเดียว เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

4.3.1 ผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท

จากการทดลองแปรผันความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทในอาหารเป็น 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดในอาหารที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท 4.0 เท่าของสูตร N-8 คือ มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.817 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.73) และปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.581 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.74) หรือ 5.607 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีโพแทสเซียมไนเตรทความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.5)

Chlorella sp. P47072 มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดในอาหารที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท 4.0 เท่าของสูตร N-8 คือ มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.734 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.75) และปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.576 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.76) หรือ 6.234 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีโพแทสเซียมไนเตรทความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.5)

Chlorella sp. P48061 มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดในอาหารที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท 4.0 เท่าของสูตร N-8 คือ มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.546 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.77) และปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.635 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.78) หรือ 8.489 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีโพแทสเซียมไนเตรทความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.5)

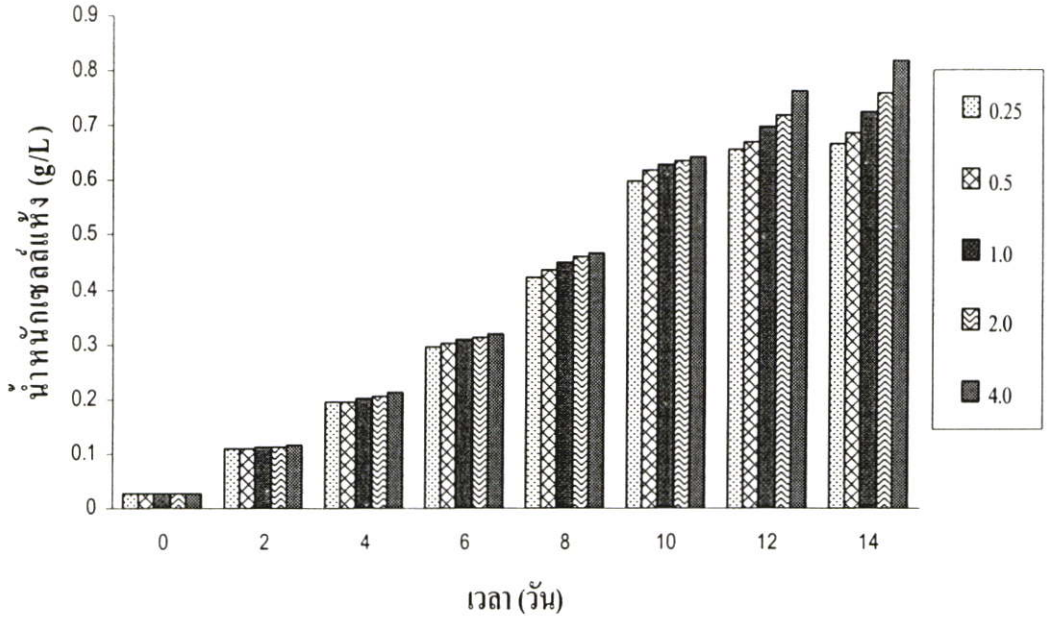
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท 4 เท่าของสูตร N-8 ทำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด ปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ในช่วง 4.576 ถึง 4.635 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 5.607 ถึง 8.489 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดคือ 4.635 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 8.489 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาหร่ายมีการเจริญสูงจึงทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์มีปริมาณสูงขึ้นด้วย สอดคล้องกับรายงานของ Cohen (1999) ว่าปริมาณไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ดังเช่น ประภาศิริ (2547) รายงานว่าเมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8261 ด้วยอาหารสูตร N-8 ที่แปรผันปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทเป็น 0.5 1 และ 2 เท่าของสูตรอาหาร พบว่า *Chlorella* sp. TISTR 8261 เจริญเติบโตและผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด เมื่อมีปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร เช่นเดียวกับ Del Campo และคณะ (2000) ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Muriellopsis* sp. ในอาหารซึ่งมีปริมาณไนเตรทต่างกันคือ 10 20 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าสาหร่ายสะสมแคโรทีนอยด์สูงสุดในอาหารซึ่งมีปริมาณไนเตรท 20 มิลลิโมลาร์ (1.7 กรัมต่อลิตร) ผลิตแคโรทีนอยด์ได้เท่ากับ 23 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับระดับปริมาณไนเตรท 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ แต่ในกรณีของสาหร่าย *Haematococcus* sp. กลับพบว่าการสะสมแอสตาแซนทินภายในเซลล์มีปริมาณสูงที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนต่ำ ดังรายงานของ Borowitzka และคณะ (1991) ซึ่งทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท ตั้งแต่ 0.01 ถึง 1.0 กรัมต่อลิตร พบว่าสาหร่ายเจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท 0.5 ถึง 1.0 กรัมต่อลิตร แต่ที่ความเข้มข้นต่ำสุด คือ 0.01 กรัมต่อลิตร จะชักนำให้สาหร่ายสร้างแอสตาแซนทิน สอดคล้องกับรายงานของ Harker และคณะ (1996) ซึ่งได้ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ในอาหารซึ่งมีปริมาณไนเตรทต่างกันคือ 0.0 0.75 1.5 3.0 และ 6.0 มิลลิโมลาร์ พบว่าสาหร่ายมีจำนวนเซลล์สูงสุดในอาหารที่มีปริมาณไนเตรทเท่ากับ 3.0 มิลลิโมลาร์ (0.25 กรัมต่อลิตร) แต่การสะสมแอสตาแซนทินภายในเซลล์สูงสุดพบในอาหารที่ปริมาณไนเตรท เท่ากับ 0.0 มิลลิโมลาร์ โดยมีปริมาณแอสตาแซนทิน เท่ากับ 300 พิโคกรัมต่อเซลล์

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท

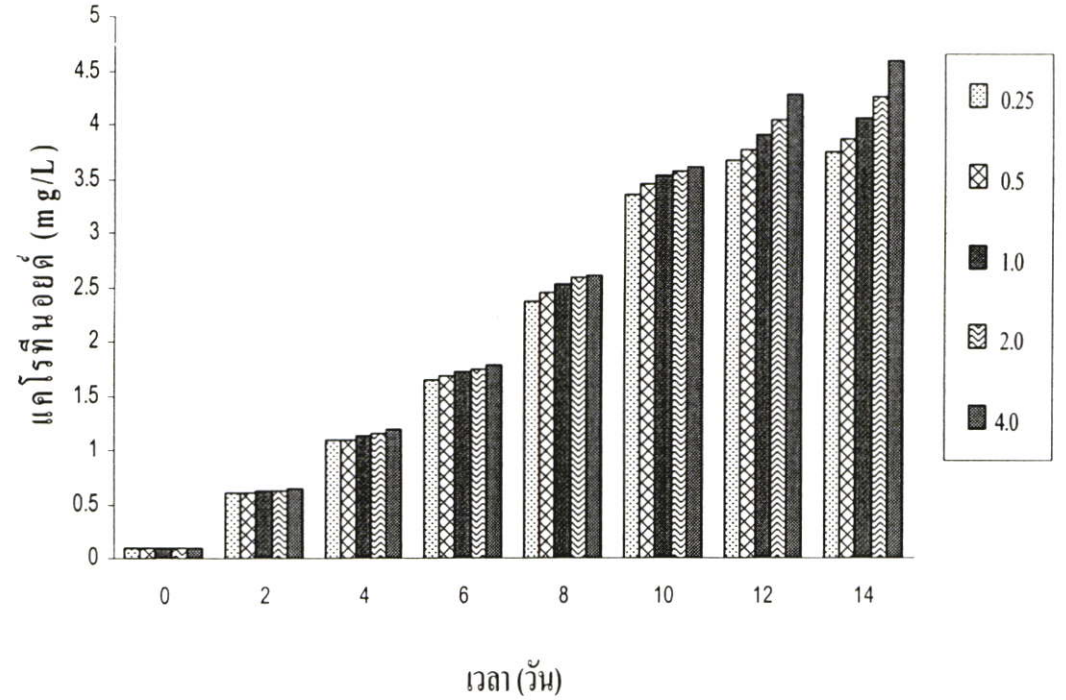
สาหร่าย	ความเข้มข้นของ KNO_3 (เท่าของสูตร N-8)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อกรัม)
Chlorella sp. K46032	0.25	0.667^{d}	3.740^{c}	5.607
	0.5	0.687^{cd}	3.853^{d}	5.608
	1.0	0.725^{bc}	4.067^{c}	5.610
	2.0	0.758^{b}	4.254^{b}	5.612
	4.0	0.817^{a}	4.581^{a}	5.607
Chlorella sp. P47072	0.25	0.594^{d}	3.702^{c}	6.232
	0.5	0.620^{cd}	3.867^{d}	6.237
	1.0	0.654^{bc}	4.076^{c}	6.232
	2.0	0.685^{b}	4.274^{b}	6.239
	4.0	0.734^{a}	4.576^{a}	6.234
Chlorella sp. P48061	0.25	0.436^{e}	3.696^{c}	8.477
	0.5	0.463^{d}	3.927^{d}	8.482
	1.0	0.487^{c}	4.131^{c}	8.483
	2.0	0.521^{b}	4.418^{b}	8.480
	4.0	0.546^{a}	4.635^{a}	8.489

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

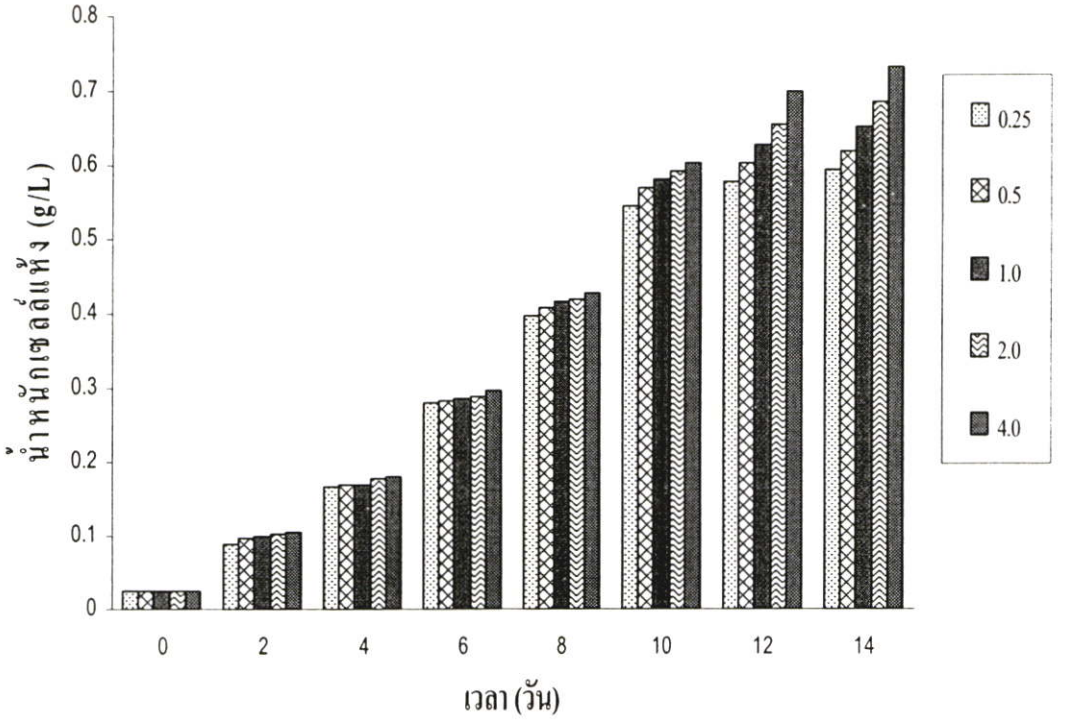
อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



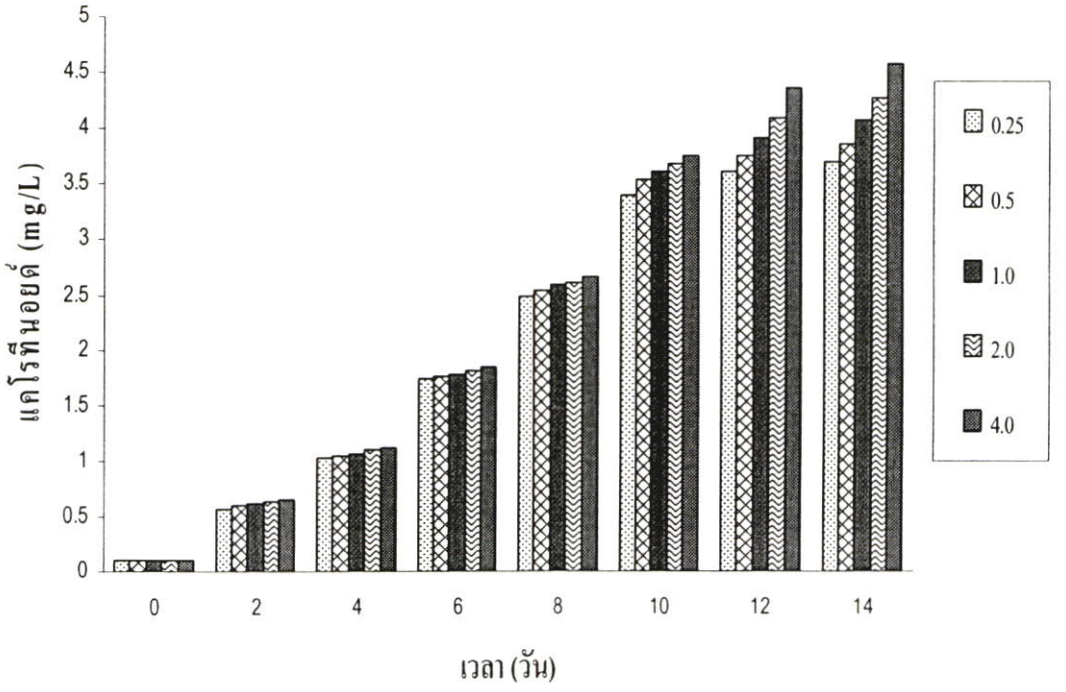
รูปที่ 4.73 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



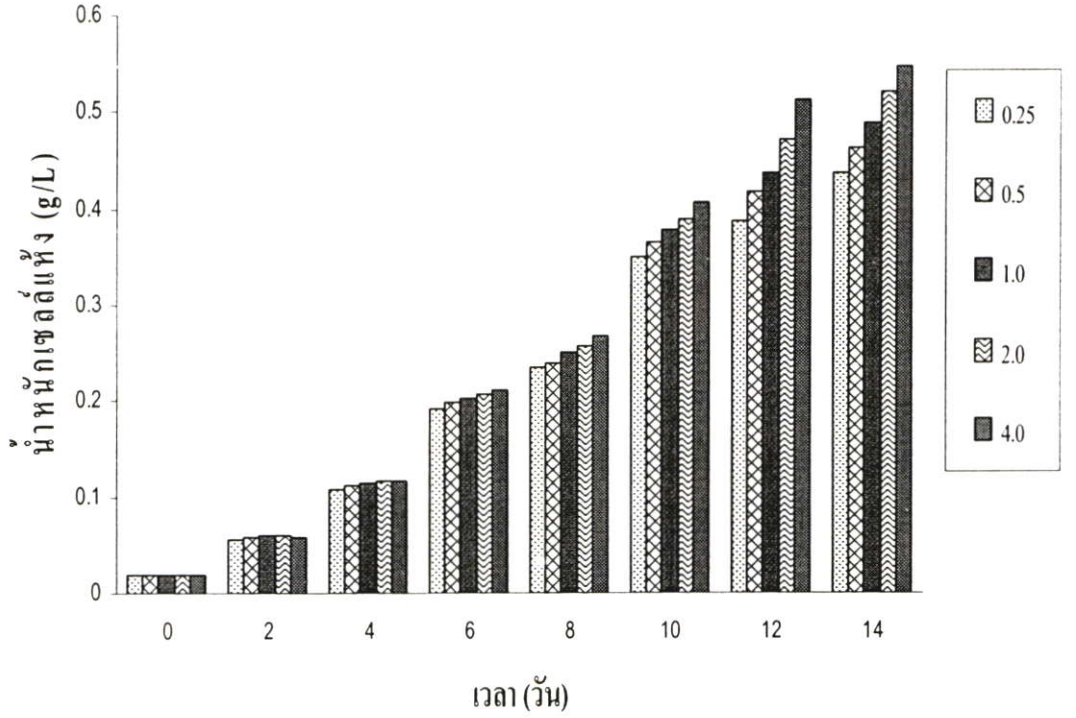
รูปที่ 4.74 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



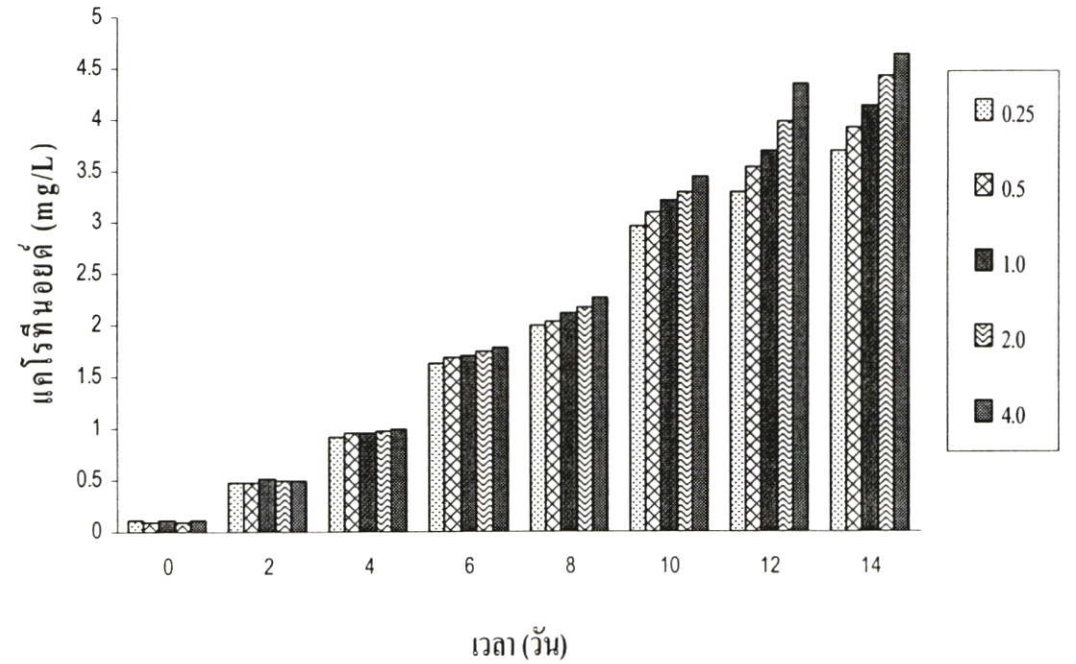
รูปที่ 4.75 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



รูปที่ 4.76 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



รูปที่ 4.77 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



รูปที่ 4.78 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8

4.3.2 ผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรท

นำสาหร่ายทั้ง 3 ไอโซเลท คือ *Chlorella* sp. P48061, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. K46032 มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรN-8 ดัดแปลง ที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์เป็น 4 เท่าของสูตร N-8 และแปรผันความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเป็น 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตรN-8 จากการทดลองพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 1.0 เท่าของสูตร N-8 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.823 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.79) และปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.616 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.80) หรือ 5.609 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.6)

Chlorella sp. P47072 มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 1.0 เท่าของสูตร N-8 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.737 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.81) และปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.596 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.82) หรือ 6.236 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.6) ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ความเข้มข้น 1.0 เท่าของสูตร N-8 มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.6)

Chlorella sp. P48061 มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดในอาหารที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทตามเท่ากับ 1.0 เท่าของสูตร N-8 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.550 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.83) และปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.666 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.84) หรือ 8.484 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

(ตารางที่ 4.6) ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ความเข้มข้น 1.0 เท่าของสูตร N-8 มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.6)

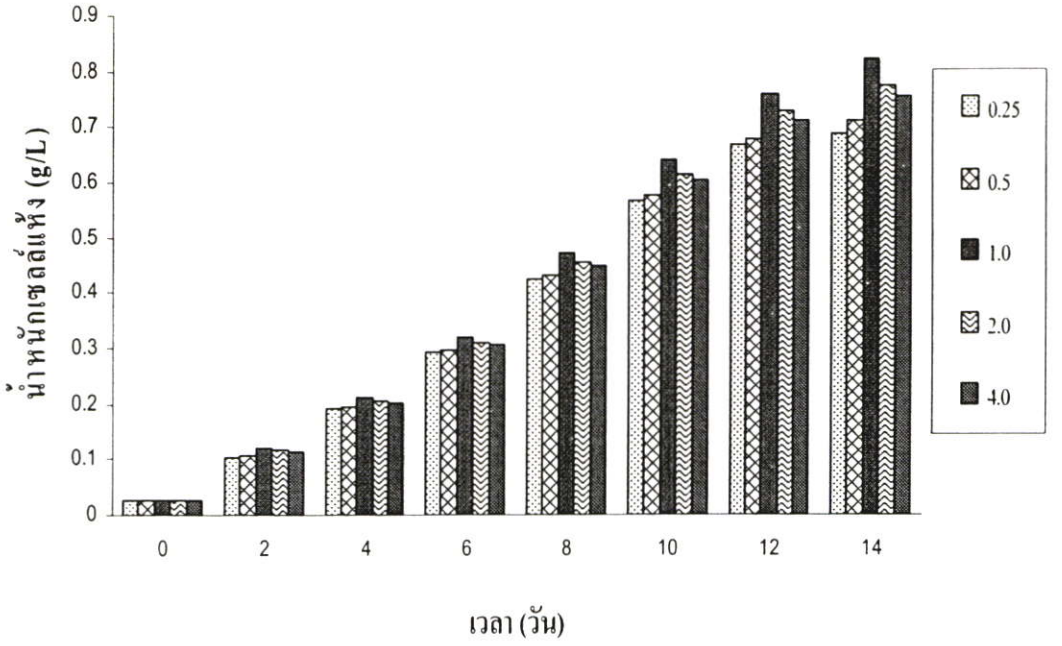
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรท 1 กรัมต่อลิตร ทำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด ปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ในช่วง 4.596 ถึง 4.666 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 5.609 ถึง 8.484 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดคือ 4.666 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 8.484 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ทั้งนี้ฟอสฟอรัสจัดเป็นแร่ธาตุหลักที่สำคัญต่อการเจริญของสาหร่ายและพืช มีหน้าที่เป็นตัวขนถ่ายอิเล็คตรอนและเป็นส่วนประกอบสำคัญในกรดนิวคลีอิค สำหรับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่เหมาะสมในอาหารเพาะเลี้ยงขึ้นอยู่กับความสามารถในการทนทานของสาหร่ายแต่ละชนิด (Becker, 1994) โดยการศึกษาของ Borowitzka และคณะ (1991) ซึ่งทดลองเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ตั้งแต่ 0.001 ถึง 0.2 กรัมต่อลิตร พบว่าสาหร่ายมีการเจริญใกล้เคียงกันในทุกความเข้มข้น แต่จะเกิดการสะสมแอสตาแซนทินดีที่สุดที่ความเข้มข้นไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัมต่อลิตร โดยที่ความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อลิตร ไม่พบการสร้างแอสตาแซนทิน ต่างกับการศึกษาของ Harker และคณะ (1996) ซึ่งทดลองเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* ในอาหารที่มีฟอสเฟต 0.85 1.7 และ 3.4 มิลลิโมลาร์ พบว่าที่ความเข้มข้นของฟอสเฟตเท่ากับ 3.4 มิลลิโมลาร์ (0.462 กรัมต่อลิตร) มีการเจริญสูงสุด แต่การผลิตแอสตาแซนทินสูงสุดพบที่ความเข้มข้นฟอสเฟต เท่ากับ 0.85 มิลลิโมลาร์ (0.116 กรัมต่อลิตร)

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรท

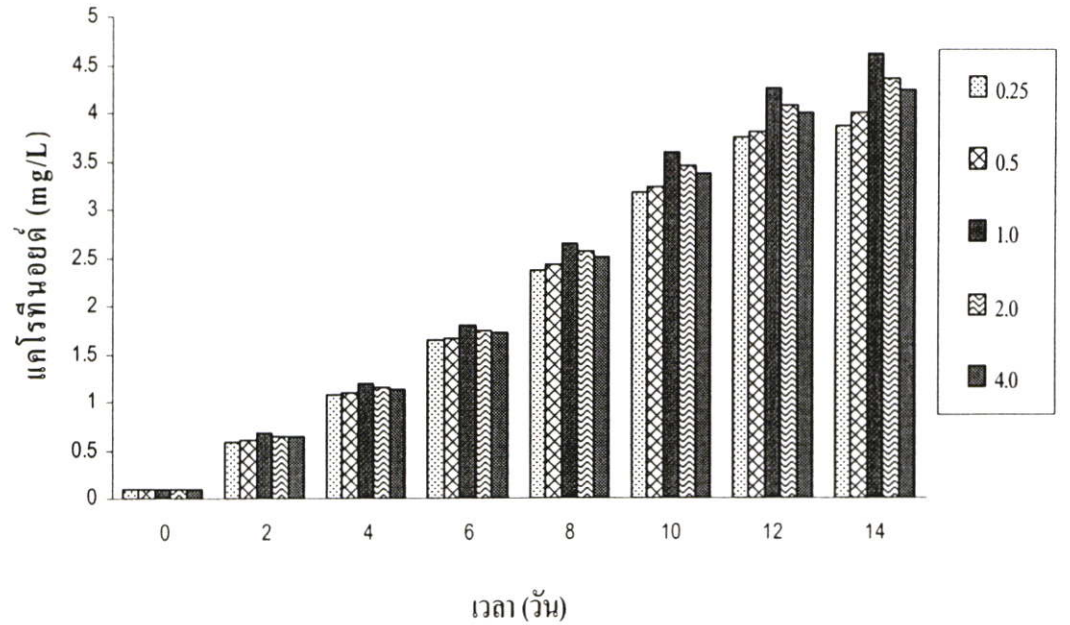
สาหร่าย	ความเข้มข้นของ KH_2PO_4 รวมกับ $Na_2HPO_4.2H_2O$ (เท่าของสูตร N-8)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อกรัม)
Chlorella sp. K46032	0.25	0.688^{d}	3.862^{d}	5.613
	0.5	0.712^{cd}	3.992^{c}	5.607
	1.0	0.823^{a}	4.616^{a}	5.609
	2.0	0.776^{b}	4.353^{b}	5.610
	4.0	0.756^{bc}	4.240^{b}	5.608
Chlorella sp. P47072	0.25	0.674^{c}	4.202^{d}	6.234
	0.5	0.698^{bc}	4.351^{c}	6.234
	1.0	0.737^{a}	4.596^{a}	6.236
	2.0	0.718^{ab}	4.477^{b}	6.235
	4.0	0.716^{ab}	4.466^{b}	6.237
Chlorella sp. P48061	0.25	0.534^{c}	4.535^{d}	8.493
	0.5	0.539^{bc}	4.574^{c}	8.486
	1.0	0.550^{a}	4.666^{a}	8.484
	2.0	0.546^{a}	4.635^{b}	8.489
	4.0	0.544^{ab}	4.619^{b}	8.491

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง

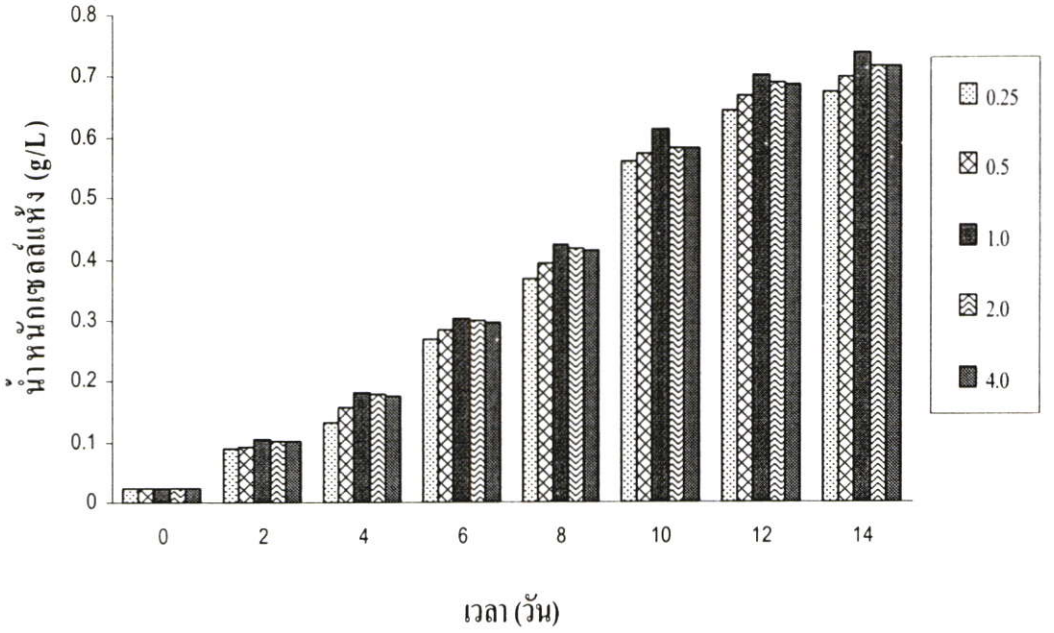
อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



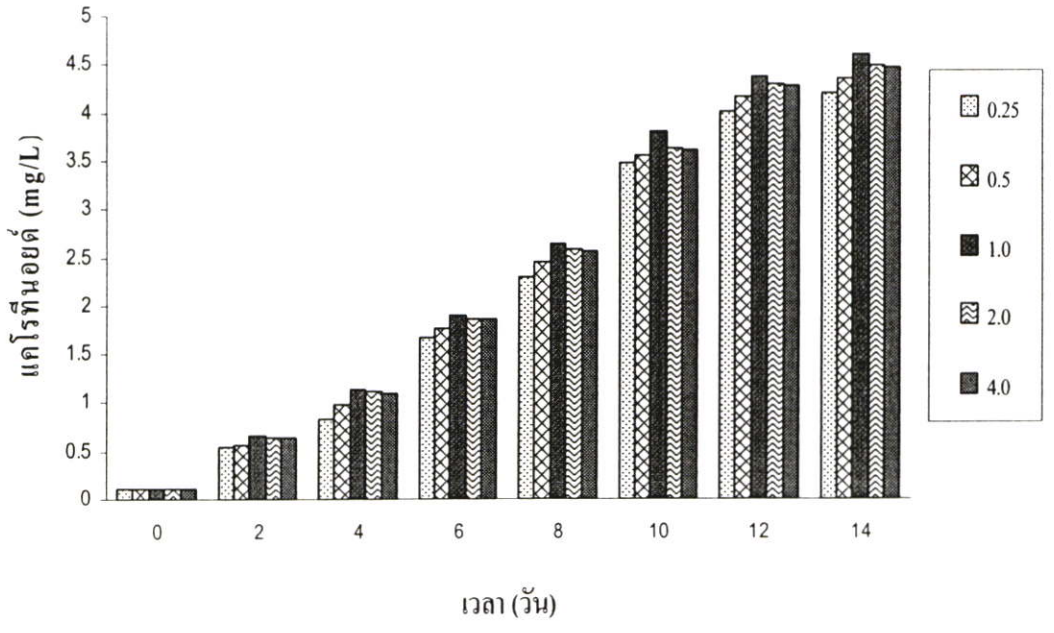
รูปที่ 4.79 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



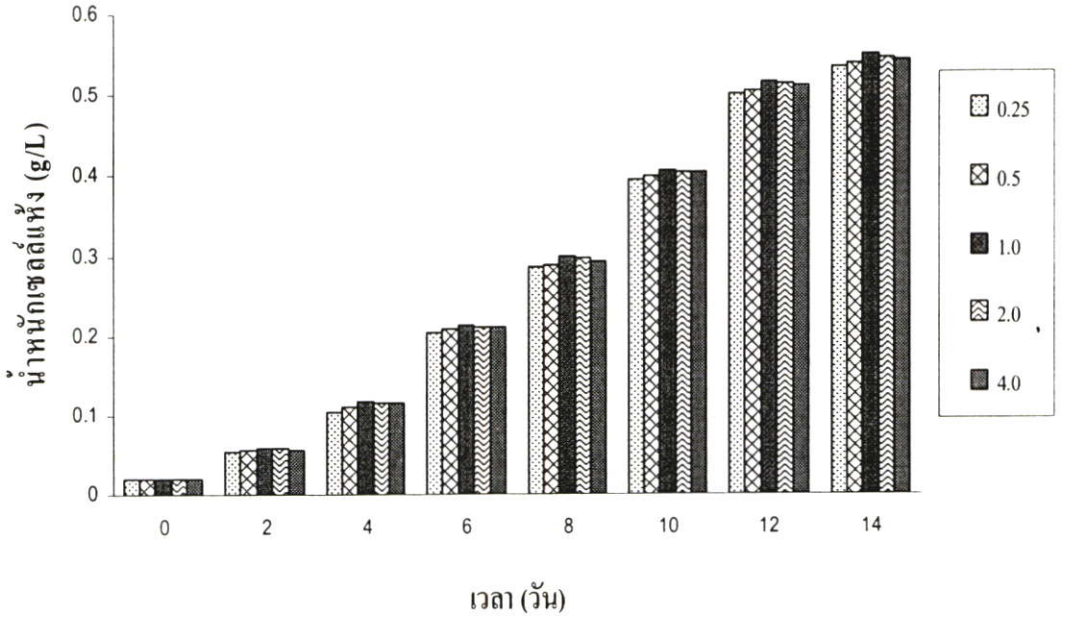
รูปที่ 4.80 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



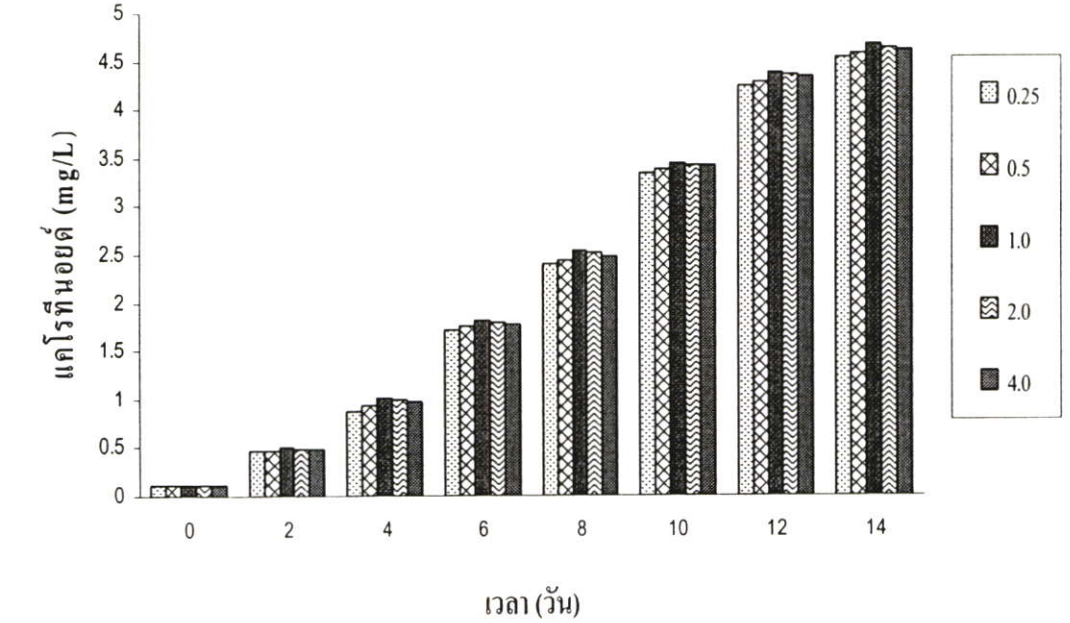
รูปที่ 4.81 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



รูปที่ 4.82 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



รูปที่ 4.83 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



รูปที่ 4.84 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8

4.3.3 ผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหาร

นำสาหร่ายทั้ง 3 ไอโซเลท คือ *Chlorella* sp. P48061, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. K46032 มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท และความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทเหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์เป็น 4 และ 1 เท่าของสูตร N-8 ตามลำดับ โดยแปรผันพีเอชเริ่มต้นของอาหารเป็น 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8 พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 มีการเจริญสูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารมีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.8 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.820 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.85) ซึ่งมากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.7) ในขณะที่การผลิตแคโรทีนอยด์สุงสุดคือที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 7.8 ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 4.668 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.86) หรือ 5.864 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.8 (ตารางที่ 4.7)

Chlorella sp. P47072 มีการเจริญสูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารมีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.8 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.736 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.87) ซึ่งแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7.8 (ตารางที่ 4.7) ในขณะที่การผลิตแคโรทีนอยด์สุงสุดคือที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 7.8 ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 4.681 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.88) หรือ 6.457 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง มากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.7)

Chlorella sp. P48061 มีการเจริญสูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารมีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.8 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.554 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.89) ซึ่งแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.8 (ตารางที่ 4.7) ในขณะที่การผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดคือที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 5.8 โดยผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 4.866 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.90) หรือ 8.978 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.7)

ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารในช่วง 5.8 ถึง 7.8 ทำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด ปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ในช่วง 4.668 ถึง 4.866 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 5.864 ถึง 8.978 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุดคือ 4.866 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 8.978 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ทั้งนี้การที่สาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีในอาหารที่มี

พีเอชเริ่มต้นตั้งแต่ 5.8 ถึง 7.8 เนื่องจากสาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายที่มีการปรับตัวได้ดี ดังที่ อาภารัตน์ มหาขันธ์ และคณะ (2542) รายงานการสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่างๆ ในธรรมชาติ โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำจืดที่สะอาด 300 ตัวอย่าง ในพื้นที่กรุงเทพมหานครและปริมณฑล โดยแหล่งน้ำตัวอย่างมีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 5.0 ถึง 9.0 ซึ่งสาหร่ายสกุล *Chlorella* sp. มีการแพร่กระจายในแหล่งน้ำที่สำรวจมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 34.7 ของแหล่งน้ำตัวอย่างทั้งหมด อีกทั้งเมื่อค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับสูตรอาหารของสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงมีค่าพีเอชเริ่มต้นอยู่ที่ 6.0 ถึง 6.8 ตัวอย่างเช่น การศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มค่าเปลี่ยนถ่ายพลังงานความร้อนของสาหร่าย *Chlorella* sp. ของ Illman และคณะ (2000) ใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Watanabe ที่ปรับค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเป็น 6.0 เช่นเดียวกับ Ugwu และคณะ (2005) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากแสงและอัตราการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Chlorella sorokiniana* โดยเลี้ยงในอาหารที่มีการปรับค่าพีเอชเริ่มต้นเป็น 6.0 นอกจากนี้การศึกษาของ Shi และคณะ (1999) ศึกษาการผลิตชีวมวลและลูทีนจากสาหร่าย *Chlorella protothecoides* ที่มีการควบคุมค่าพีเอชในถังปฏิกรณ์ให้คงที่ที่ 6.6±0.1 และ Gouveia และคณะ (1996) ศึกษาเรื่องการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสีใน *Chlorella vulgaris* โดยเลี้ยงในอาหารตามสูตรของ Vonshak และ Maske ที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 6.8 เป็นต้น จากตัวอย่างข้างต้นสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบว่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเพาะเลี้ยงที่ทำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีการเจริญสูงสุด คือ พีเอช 6.8 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ในช่วง 0.554 ถึง 0.820 กรัมต่อลิตร

สำหรับพีเอชของอาหารที่ให้การผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดของสาหร่ายทั้ง 3 ไอโซเลท ซึ่งไม่สัมพันธ์กับการเจริญนั้นสอดคล้องกับรายงานของ Del Campo และคณะ (2000) ซึ่งทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Muriellopsis* sp. ในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นต่างกันคือ 6 6.5 7 8 และ 9 พบว่าสาหร่ายมีการเจริญสูงสุดที่ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 แต่ที่ค่าพีเอชเริ่มต้นเป็น 9 และ 6 ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญกลับให้ปริมาณลูทีนต่อเซลล์สูงกว่าถึง 7 และ 5 เท่า ตามลำดับ

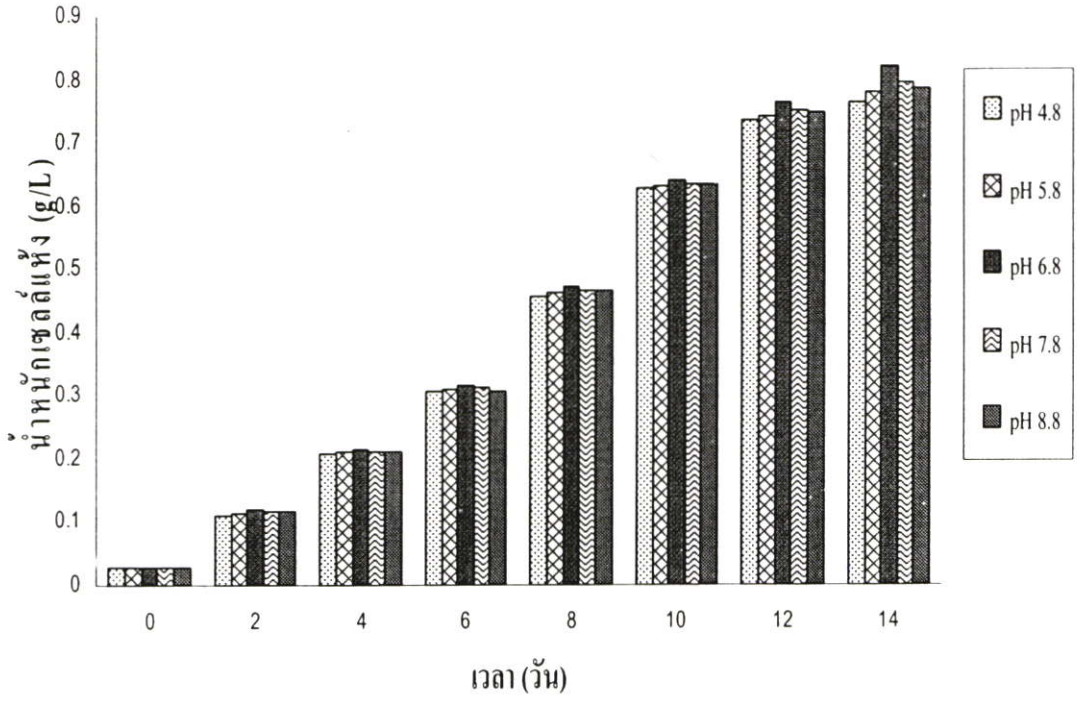
จากการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าสาหร่ายที่ผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุด คือ *Chlorella* sp. P48061 ซึ่งจะนำไปศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหาร

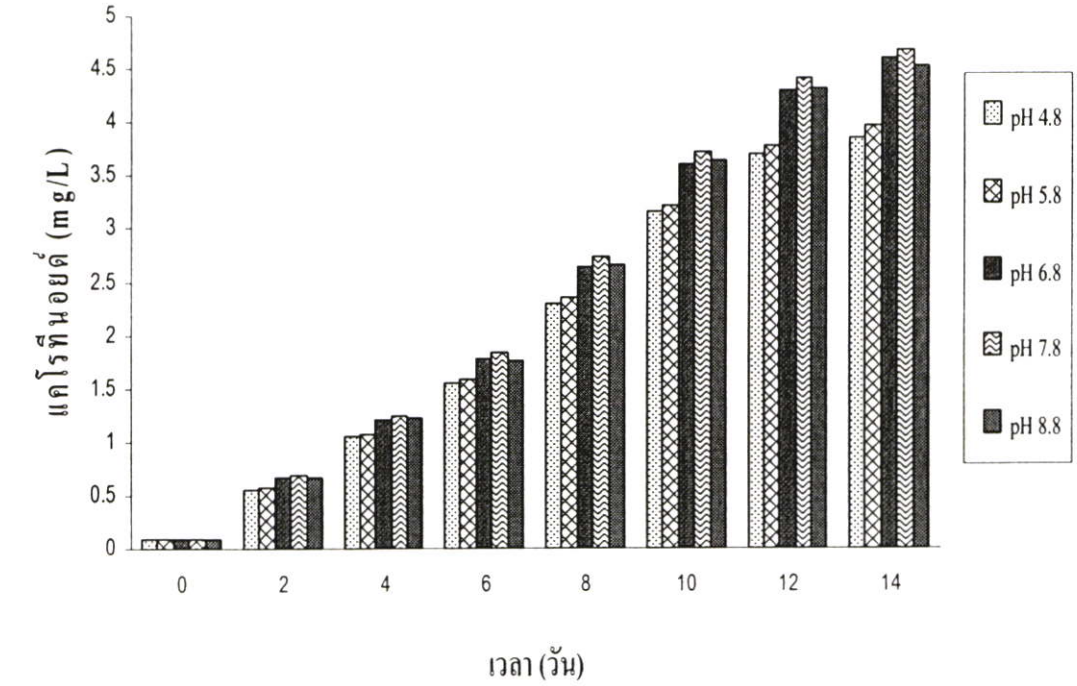
สาหร่าย	ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหาร	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อกรัม)
Chlorella sp. K46032	4.8	0.763^{c}	3.849^{d}	5.045
	5.8	0.779^{bc}	3.968^{c}	5.094
	6.8	0.820^{a}	4.598^{ab}	5.607
	7.8	0.796^{b}	4.668^{a}	5.864
	8.8	0.787^{b}	4.526^{b}	5.751
Chlorella sp. P47072	4.8	0.701^{c}	4.512^{d}	6.437
	5.8	0.720^{b}	4.547^{c}	6.315
	6.8	0.736^{a}	4.588^{b}	6.234
	7.8	0.725^{ab}	4.681^{a}	6.457
	8.8	0.714^{bc}	4.579^{b}	6.413
Chlorella sp. P48061	4.8	0.522^{c}	4.722^{b}	9.046
	5.8	0.542^{ab}	4.866^{a}	8.978
	6.8	0.554^{a}	4.699^{b}	8.482
	7.8	0.540^{b}	4.328^{c}	8.015
	8.8	0.525^{c}	4.306^{c}	8.202

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

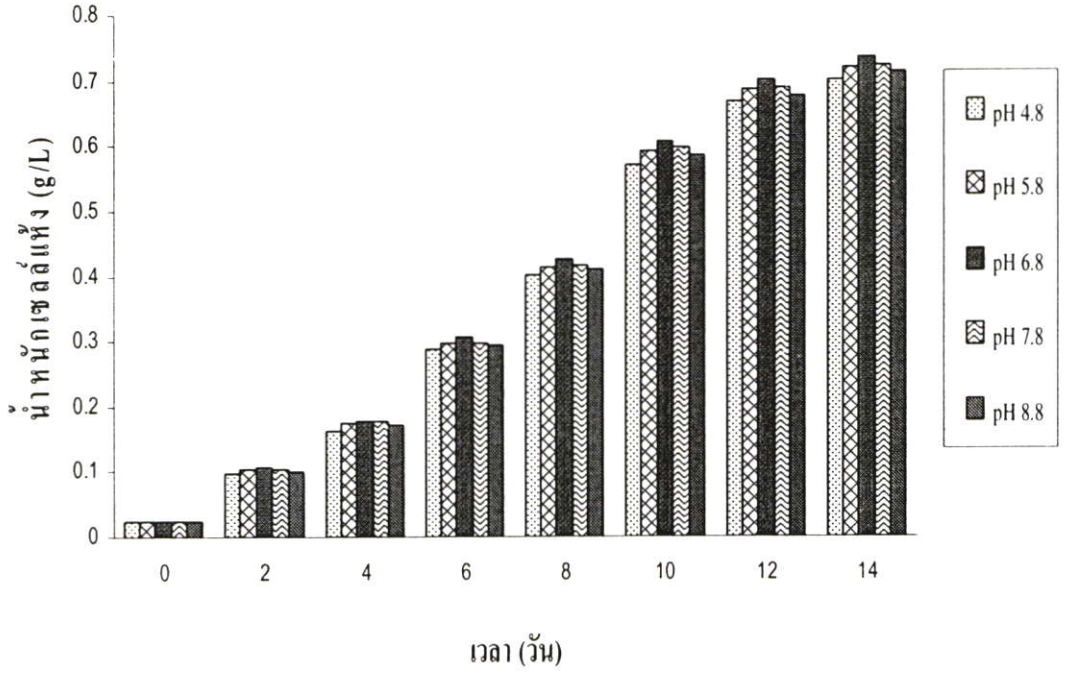
อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



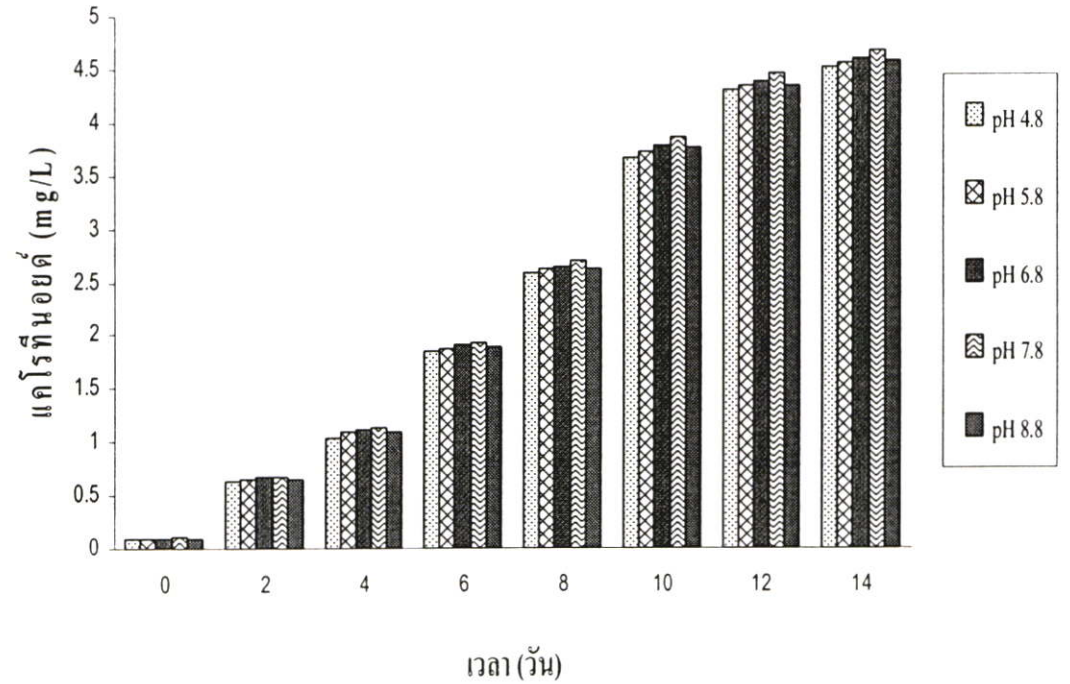
รูปที่ 4.85 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8



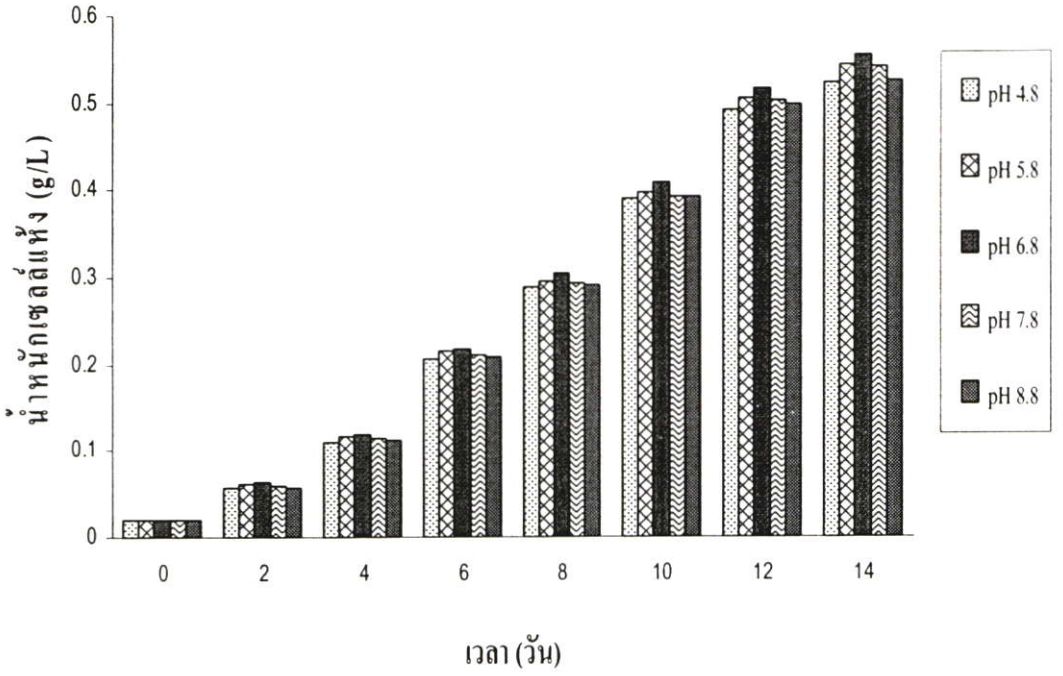
รูปที่ 4.86 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8



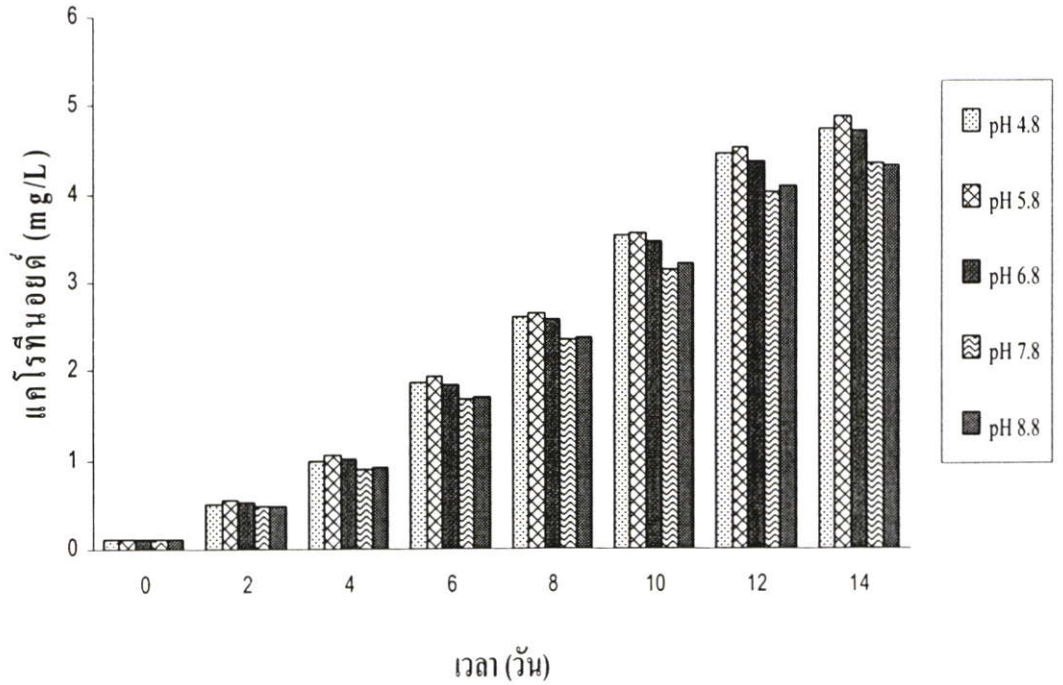
รูปที่ 4.87 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8



รูปที่ 4.88 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8



รูปที่ 4.89 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8



รูปที่ 4.90 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8

4.4 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

ปัจจัยที่เหมาะสมจากผลการทดลองตามข้อ 4.3 คือ อาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท 4 เท่าของสูตร N-8 ปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรท 1 เท่าของสูตร N-8 และพีเอชเริ่มต้นของอาหาร เท่ากับ 5.8 ใช้สูตรอาหารนี้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 จนกระทั่งการเจริญคงที่ประมาณวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง จึงชักนำให้การเพาะเลี้ยงอยู่ในสภาวะเครียดโดยการเติมโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซีเตต และเฟอรัสซัลเฟต ซึ่งปรากฏผลดังนี้

4.4.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์

จากการแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สำหรับชักนำเป็น 0.0 2.0 4.0 8.0 16.0 และ 32.0 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 8.0 กรัมต่อลิตร สาหร่ายมีการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด เท่ากับ 10.270 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 13.567 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง รองลงมาคือโซเดียมคลอไรด์ 16.0 32.0 4.0 2.0 และ 0.0 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 10.150 10.090 7.820 6.550 และ 5.170 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.91) โดยที่ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 16.0 และ 32.0 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 10 และ 8 ของการชักนำ ตามลำดับ ซึ่งต่างจากการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ปริมาณ 0.0 ถึง 8.0 กรัมต่อลิตร จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 14 ของการชักนำ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่ชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 8.0 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าสาหร่ายที่ชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.8) สำหรับน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดได้จากการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 4.0 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือโซเดียมคลอไรด์ 2.0 0.0 8.0 16.0 และ 32.0 กรัมต่อลิตร โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังนี้คือ 0.828 0.808 0.789 0.757 0.711 และ 0.665 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.92) ซึ่งน้ำหนักเซลล์แห้งของการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 2.0 และ 4.0 กรัมต่อลิตร มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.8)

การที่สาหร่ายสร้างแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นจากการเติมโซเดียมคลอไรด์อาจเนื่องมาจากสภาวะเครียดจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมที่มีค่าความเค็มเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับรายงานของ Gouveia และคณะ (1996) ซึ่งทดลองทำการชักนำสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ด้วยโซเดียมคลอไรด์ 30 กรัมต่อลิตร เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสีภายในเซลล์ พบว่าในวันที่ 5 ของการชักนำมีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดสูงสุด แต่ปริมาณแคนทาแซนทินและแอสตาแซนทินสูงสุดในวันที่ 22 ของการชักนำ สอดคล้องกับการศึกษาของ Harker และคณะ (1996) ที่ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* จนได้จำนวนเซลล์มากพอ จากนั้นทำการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ ปริมาณต่างกันคือ 0.0 40 70 และ 100 มิลลิโมลาร์ พบว่า

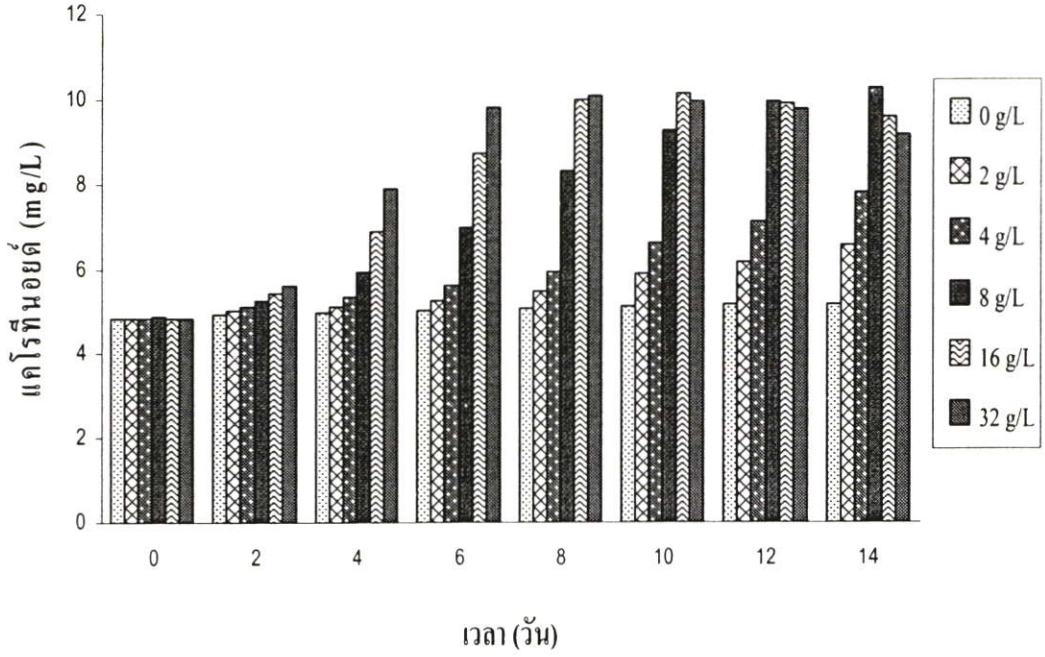
สาหร่ายมีการเจริญโดยมีจำนวนเซลล์สูงสุดที่ปริมาณโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0.0 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่การสะสมแอสตาแซนทิน พบสูงสุดที่ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 100 มิลลิโมลาร์ (5.85 กรัมต่อลิตร) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่สูงเกินไปอาจมีผลทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลงได้ ซึ่งมีผลจากอัตราการตายของเซลล์ที่เพิ่มขึ้น (Cohen. 1999) ดังการศึกษาของ Del Campo และคณะ (2000) ที่ทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Muriellopsis* sp. ในอาหารที่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่างกันคือ 2 35 70 100 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ พบว่าสาหร่ายสะสมลูทีนสูงสุด ในอาหารซึ่งมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 35 มิลลิโมลาร์ (2.05 กรัมต่อลิตร) โดยมีปริมาณลูทีนเท่ากับ 31.7 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณลูทีนจะเริ่มลดลงในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์มากกว่า 100 มิลลิโมลาร์ (5.85 กรัมต่อลิตร)

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

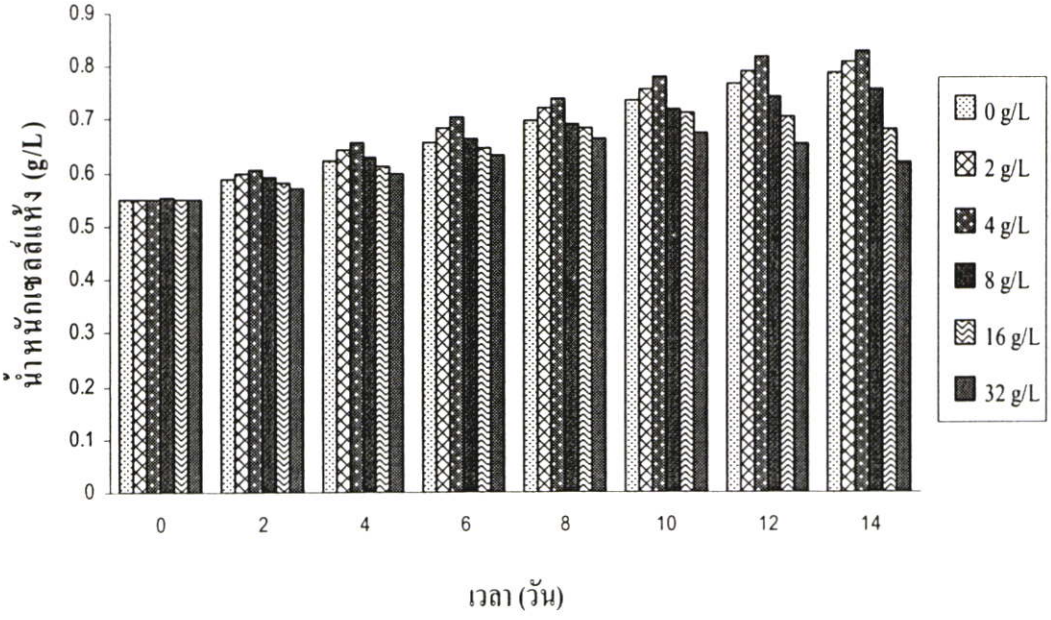
ชนิดสารชักนำ	ความเข้มข้นของสารชักนำ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อกรัม)
โซเดียมคลอไรด์	0.0	0.789[b]	5.170[c]	6.553
	2.0	0.808[ab]	6.550[d]	8.106
	4.0	0.828[a]	7.820[c]	9.444
	8.0	0.757[c]	10.270[a]	13.567
	16.0	0.711[d]	10.150[b]	14.276
	32.0	0.665[c]	10.090[b]	15.173

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.91 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่ชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0 2 4 8 16 และ 32 กรัมต่อลิตร โดยนับวันวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0



รูปที่ 4.92 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่ชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0 2 4 8 16 และ 32 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0

4.4.2 ผลของโซเดียมอะซีเตต

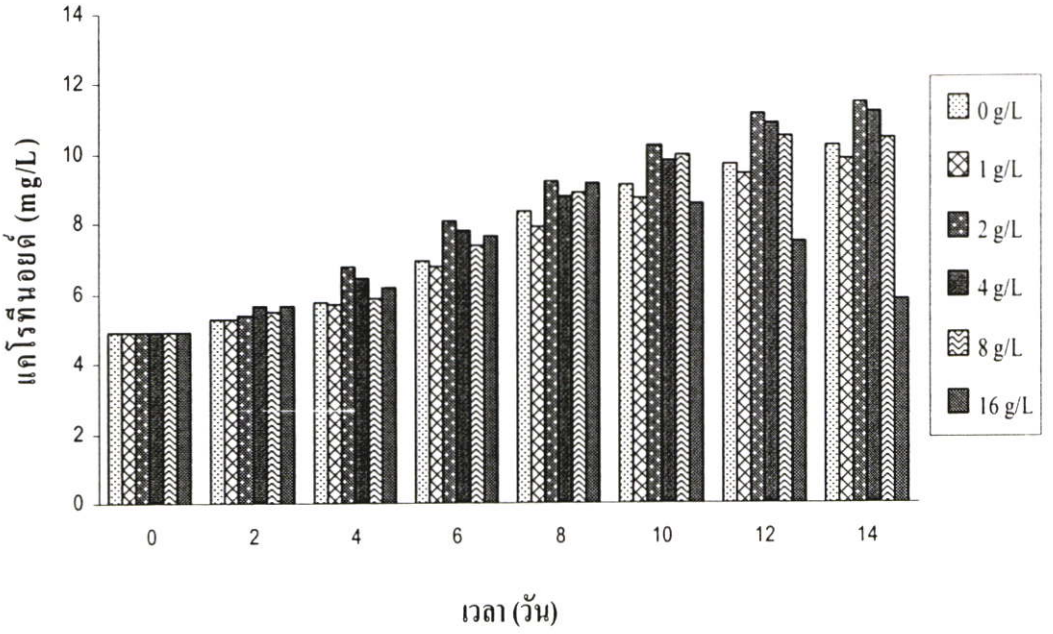
นำปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่ชักนำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด คือ 8.0 กรัมต่อลิตร มาใช้ชักนำร่วมกับโซเดียมอะซีเตต โดยแปรผันความเข้มข้นโซเดียมอะซีเตตเป็น 0.0 1.0 2.0 4.0 8.0 และ 16.0 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 8.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับโซเดียมอะซีเตต 2.0 กรัมต่อลิตร สาหร่ายสามารถผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด 11.45 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 12.104 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง รองลงมาคือโซเดียมอะซีเตต 4.0 8.0 0.0 1.0 และ 16.0 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 11.180 10.470 10.230 9.830 และ 9.120 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.93) โดยที่ความเข้มข้นโซเดียมอะซีเตต 8.0 และ 16.0 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 12 และ 8 ของการชักนำ ตามลำดับ ซึ่งต่างจากการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตปริมาณ 0.0 ถึง 4.0 กรัมต่อลิตร จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 14 ของการชักนำ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่ชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตต 2.0 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าสาหร่ายที่ชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตที่ความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.9) สำหรับน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดได้จากการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตต 1.0 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือโซเดียมอะซีเตต 2.0 4.0 8.0 0.0 และ 16.0 กรัมต่อลิตร โดยให้น้ำหนักเซลล์แห้ง ดังนี้ 0.959 0.946 0.909 0.857 0.796 และ 0.766 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.94) ซึ่งน้ำหนักเซลล์แห้งของการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตต 1.0 และ 2.0 กรัมต่อลิตร มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.9) สอดคล้องกับการศึกษาของ Borowitzka และคณะ (1991) ซึ่งทดลองเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* เปรียบเทียบระหว่างอาหารที่เติมโซเดียมอะซีเตต 0.1 กรัมต่อลิตร และไม่เติมโซเดียมอะซีเตต พบว่าการเติมโซเดียมอะซีเตตจะส่งผลให้อัตราการเจริญเพิ่มขึ้นอีกทั้งชักนำให้เกิดการสะสมแอสตาแซนทิน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Kobayashi และคณะ (1991) ซึ่งเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ในอาหารที่มีปริมาณโซเดียมอะซีเตตต่างกันคือ 15 30 45 และ 60 มิลลิโมลาร์ พบว่าการเติมโซเดียมอะซีเตตที่มากกว่า 30 มิลลิโมลาร์ (2.5 กรัมต่อลิตร) จะมีผลในการยับยั้งการเจริญ แต่เกิดการกระตุ้นการสะสมแอสตาแซนทินเพิ่มขึ้น ในขณะที่ Orosa และคณะ (2005) ซึ่งทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ในอาหารที่มีปริมาณโซเดียมอะซีเตตต่างกันคือ ร้อยละ 0 0.25 0.5 1 และ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่าสาหร่ายมีการผลิตแอสตาแซนทินสูงสุดในอาหารซึ่งมีปริมาณโซเดียมอะซีเตตสูงถึงร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของโซเดียมอะซีเตตต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

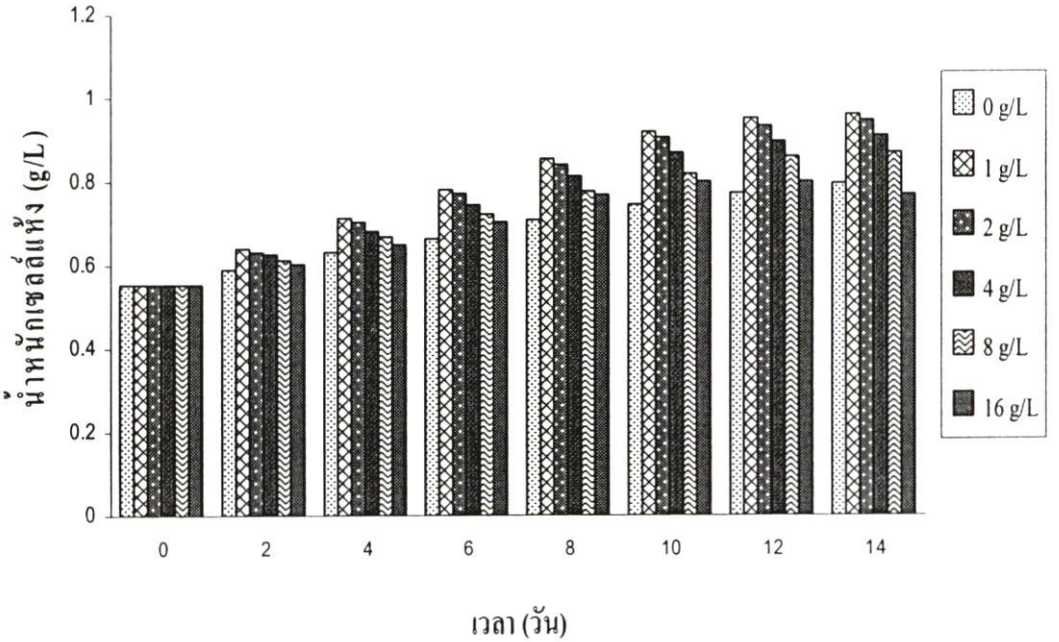
ชนิดสารชักนำ	ความเข้มข้นของสารชักนำ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อกรัม)
โซเดียมอะซีเตต	0.0	0.796[c]	10.230[d]	12.852
	1.0	0.959[a]	9.830[e]	10.250
	2.0	0.946[a]	11.450[a]	12.104
	4.0	0.909[b]	11.180[b]	12.299
	8.0	0.857[c]	10.470[c]	12.217
	16.0	0.766[d]	9.120[f]	11.906

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.93 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่ชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตความเข้มข้น 0 1 2 4 8 และ 16 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0



รูปที่ 4.94 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่ชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตความเข้มข้น 0 1 2 4 8 และ 16 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0

4.4.3 ผลของเฟอรัสซัลเฟต

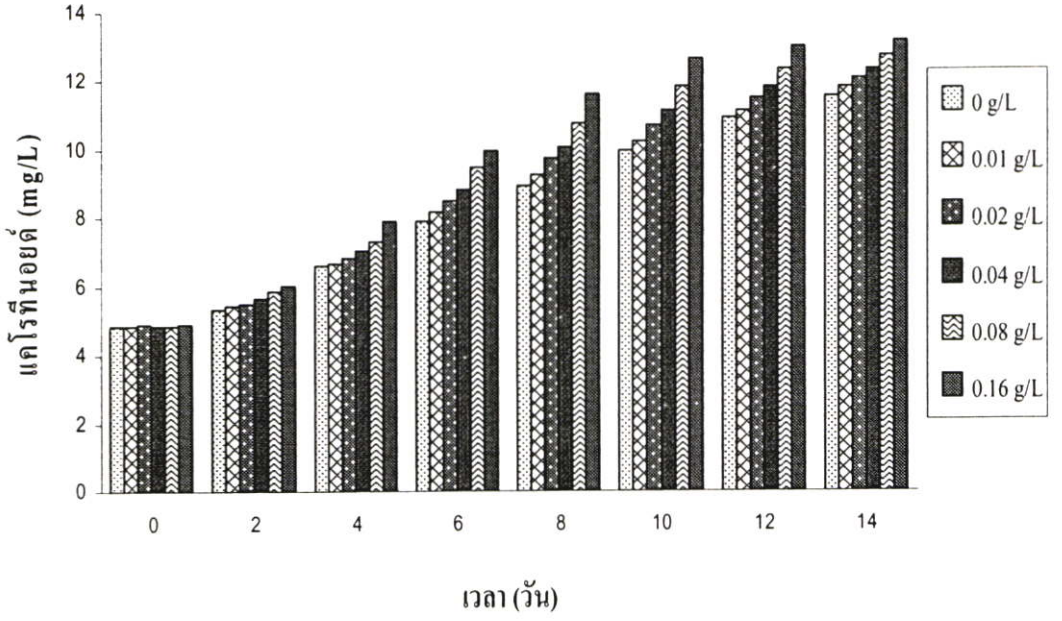
นำปริมาณโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมอะซีเตตที่ชักนำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด คือ 8.0 และ 2.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มาใช้ชักนำร่วมกับเฟอรัสซัลเฟต โดยแปรผันความเข้มข้นของเฟอรัสซัลเฟตเป็น 0.00 0.01 0.02 0.04 0.08 และ 0.16 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 8.0 กรัมต่อลิตร และโซเดียมอะซีเตต 2.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับเฟอรัสซัลเฟต 0.16 กรัมต่อลิตร มีการผลิตแคโรทีนอยด์และน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด รองลงมาคือ เฟอรัสซัลเฟต 0.08 0.04 0.02 0.01 และ 0.00 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 13.160 12.740 12.340 12.080 11.820 และ 11.530 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 12.062 12.297 12.365 12.466 12.455 และ 12.279 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ (รูปที่ 4.95) และน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.091 1.036 0.998 0.969 0.949 และ 0.939 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.96) เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่ชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟต 0.16 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าสาหร่ายที่ชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.10) ซึ่งจากผลการศึกษาของ Kobayashi และคณะ (1991) ที่เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* เป็นระยะเวลา 4 วัน จากนั้นทดลองชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตต 45 มิลลิโมลาร์ (3.69 กรัมต่อลิตร) ร่วมกับเฟอรัสซัลเฟต โดยแปรผันความเข้มข้นของเฟอรัสซัลเฟตเป็น 0 150 300 450 และ 600 ไมโครโมลาร์ พบว่าการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตต 45 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเฟอรัสซัลเฟต 450 ไมโครโมลาร์ (0.125 กรัมต่อลิตร) ให้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแอสตาแซนทินสูงสุด โดยที่ความเข้มข้นเฟอรัสซัลเฟต 600 ไมโครโมลาร์ (0.167 กรัมต่อลิตร) กลับให้ปริมาณแอสตาแซนทินต่ำที่สุด ในขณะที่การทดลองของ Estevez และคณะ (2001) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในอาหารซึ่งมีปริมาณเหล็ก (Fe EDTA) ต่างกันคือ 5 90 และ 500 ไมโครโมลาร์ พบว่าสาหร่ายสะสมเบต้าแคโรทีนสูงสุดในอาหารซึ่งมีปริมาณเหล็กเท่ากับ 90 ไมโครโมลาร์ (0.033 กรัมต่อลิตร)

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของเฟอรัสซัลเฟตต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

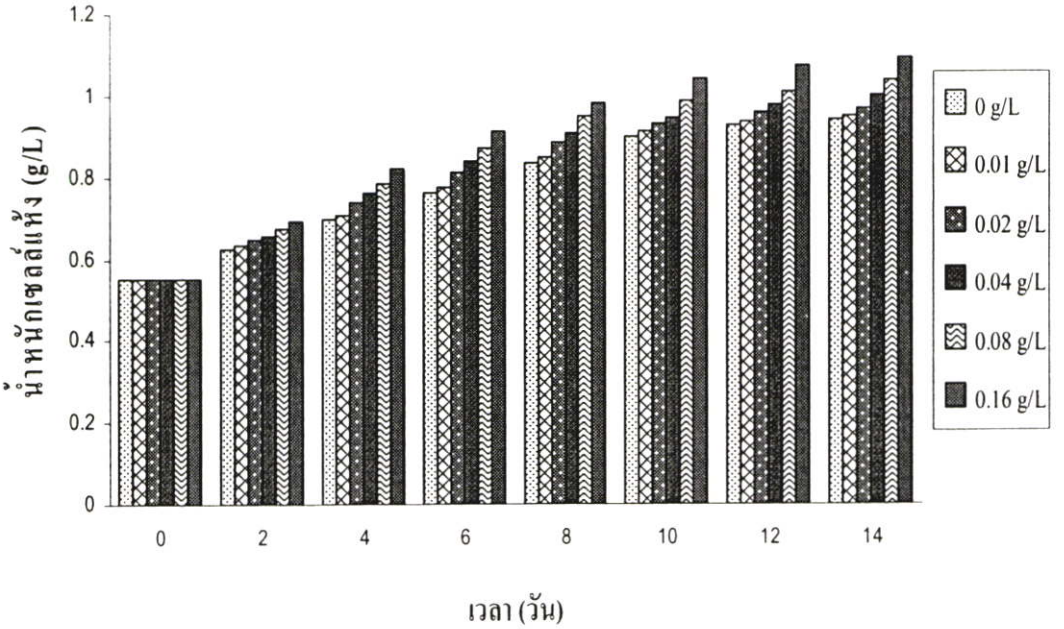
ชนิดสารชักนำ	ความเข้มข้นของสารชักนำ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อกรัม)
เฟอรัสซัลเฟต	0.00	0.939^{d}	11.530^{f}	12.279
	0.01	0.949^{d}	11.820^{e}	12.455
	0.02	0.969^{cd}	12.080^{d}	12.466
	0.04	0.998^{c}	12.340^{c}	12.365
	0.08	1.036^{b}	12.740^{b}	12.297
	0.16	1.091^{a}	13.160^{a}	12.062

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.95 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่ชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 0.00 0.01 0.02 0.04 0.08 และ 0.16 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0



รูปที่ 4.96 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่ชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 0.00 0.01 0.02 0.04 0.08 และ 0.16 กรัมต่อลิตร โดยนับวันที่เติมสารชักนำเป็นวันที่ 0

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 การศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวที่คัดแยกได้โดยอาหารสูตร N-8 จากน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู

จากการเก็บตัวอย่างเพื่อคัดแยกสาหร่ายสีเขียว สามารถคัดแยกสาหร่ายได้ 5 สกุล ได้แก่ *Chlorella*, *Chlorococcum*, *Monoraphidium*, *Oocystis* และ *Scenedesmus* จำนวนทั้งสิ้น 72 ไอโซเลท แบ่งเป็นสาหร่ายที่คัดแยกได้จากบริเวณน้ำตกกระทิงในวันที่ 8 เดือนกันยายน พ.ศ. 2546 จำนวน 16 ไอโซเลท และวันที่ 14 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2548 จำนวน 22 ไอโซเลท สำหรับการคัดแยกสาหร่ายบริเวณน้ำตกป่าละอูในวันที่ 16 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2547 คัดแยกได้จำนวน 21 ไอโซเลท และวันที่ 16 เดือนมกราคม พ.ศ. 2548 ได้จำนวน 13 ไอโซเลท ทั้งนี้สาหร่ายสกุลที่คัดแยกได้มากที่สุด คือ สาหร่ายสกุล *Scenedesmus* จำนวน 35 ไอโซเลท

5.2 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์

สาหร่ายสีเขียวจากน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอูที่ผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด 3 ไอโซเลท คือ *Chlorella* sp. P48061, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. K46032 โดยมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.137 4.098 และ 4.011 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

5.3 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

5.3.1 *Chlorella* sp. K46032

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ คือ สูตรอาหาร N-8 ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท 4.0 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทตามอัตราส่วนสูตรอาหาร N-8 เท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร และพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 7.8 โดยเมื่อเพาะเลี้ยง *Chlorella* sp. K46032 เป็นระยะเวลา 14 วัน มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.796 กรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.668 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 5.864 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง

5.3.2 *Chlorella* sp. P47072

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ คือ สูตรอาหาร N-8 ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท 4.0 กรัมต่อลิต ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทตามอัตราส่วนสูตรอาหาร N-8 เท่ากับ

1.0 กรัมต่อลิตร และพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 7.8 โดยเมื่อเพาะเลี้ยง *Chlorella* sp. P47072 เป็นระยะเวลา 14 วัน มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.725 กรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.681 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 6.457 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง

5.3.3 *Chlorella* sp. P48061

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ คือ สูตรอาหาร N-8 ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท 4.0 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทตามอัตราส่วนสูตรอาหาร N-8 เท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร และพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 5.8 โดยเมื่อเพาะเลี้ยง *Chlorella* sp. P48061 เป็นระยะเวลา 14 วัน มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.542 กรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์ 4.866 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 8.978 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสาหร่ายทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่าสาหร่ายที่ให้ผลผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด คือ สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 4.866 มิลลิกรัมต่อลิตร

5.4 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

การชักนำด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ 8.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับโซเดียมอะซีเตต 2.0 กรัมต่อลิตร และเฟอรัสซัลเฟต 0.16 กรัมต่อลิตร ทำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้เพิ่มขึ้นโดยผลิตได้ 13.160 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 12.062 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมากกว่าสภาวะที่ไม่มีการเติมสารชักนำ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่ชักนำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น เช่น การชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หรือโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaClO) เป็นต้น
2. ควรมีการศึกษาความเป็นไปได้ในการขยายขนาดของการเพาะเลี้ยง
3. ควรมีการศึกษาการนำไปใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงปลากินพืช

บรรณานุกรม

กนกอร จารุจารีต. 2543. "ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียเพื่อผลิตแคโรทีนอยด์." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คฑาวุธ ปานบุญ. 2542. "ความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชในจังหวัดกาญจนบุรี." หน้า 66-71. ใน **การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 3**. กรุงเทพฯ : Work Press Printing.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2540. **จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประภาศิริ ศรีบุญเรือง. 2547. "การคัดเลือกสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2546. **สาหร่ายวิทยา**. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ยุวดี พีรพรพิศาล และฉมาภรณ์ นิวาศะบุตร. 2546. **คู่มือปฏิบัติการสาหร่ายวิทยา**. พิมพ์ครั้งที่ 5. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2540. **คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544. **แพลงก์ตอนพืช**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย. 2545. **ความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.

อาภารัตน์ มหาขันธ์, วรนุชสุดา เฉลิมศิริ, วัชรี กัลยาลัง, มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์ และ วัลลภา อรุณไพโรจน์. 2542. "การสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่างๆ ในธรรมชาติ : สาหร่ายในแหล่งน้ำจืดเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล." หน้า 93-98. ใน **การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 3**. กรุงเทพฯ : Work Press Printing.

Atthasampunna, P. 1995. **TISTR Culture collection list of cultures**. 5th ed. Bangkok : Thailand Institute of Scientific and Technological Research.

Becker, E.W. 1994. **Microalgae : biotechnology and microbiology**. Cambridge : Cambridge University Press.

Bold, H.C. and Wynne, M.J. 1978. **Introduction to the algae structure and reproduction**. New Delhi : Prentice Hall of India Private Limited.

Borowitzka, M.A., Huisman, J.M. and Osborn, A. 1991. "Culture of the astaxanthin-producing green alga *Haematococcus pluvialis* 1. Effects of nutrients on growth and cell type." **Journal of Applied Phycology**. 3 : 295-304.

Cohen, Z. 1999. **Chemicals from microalgae**. Padstow : T.J. International.

Del Campo, J.A., Moreno, J., Herminia, R., Vargas, M.A., Rivas, J. and Guerrero, M.G. 2000. "Carotenoid content of Chlorophycean microalgae : factors determining lutein accumulation in *Muriellopsis* sp. (Chlorophyta)." **Journal of Biotechnology**. 76 : 51-59.

Estevez, M.S., Malanga, G. and Puntarulo, S. 2001. "Iron-dependent oxidative stress in *Chlorella vulgaris*." **Plant Science**. 161 : 9-17.

Fraser, P.D. and Bramley, P.M. 2004. "The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids." **Progress in Lipid Research**. 43 : 228-265.

Goodwin, T.W. 1980. **The biochemistry of the carotenoids. Vol. I : Plants**. 2nd ed. Suffolk : Richard Clay (The Chaucer Press) Ltd.

Gouveia, L., Veloso, V., Reis, A., Fernandes, H., Novais, J. and Empis, J. 1996. "Evolution of pigment composition in *Chlorella vulgaris*." **Bioresource Technology**. 57 : 157-163.

Gross, J. 1991. **Pigments in Vegetables : Chlorophylls and carotenoids**. New York : Van Nostrand Reinhold.

Harker, M., Tsavalos, A.J., and Young, A.J. 1996. "Factors responsible for astaxanthin formation in the Chlorophyte *Haematococcus pluvialis*." **Bioresource Technology**. 55 : 207-214.

Illman, A.M., Scragg, A.H. and Shales, S.W. 2000. "Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium." **Enzyme and Microbial Technology**. 27 : 631-635.

Ip, P.F. and Chen, F. 2005. "Employment of reactive oxygen species to enhance astaxanthin formation in *Chlorella zofingiensis* in heterotrophic culture." **Process Biochemistry**. 40(11) : 3491-3496.

Irvine, D.E.G. and John, D.M. 1984. **Systematics of the green algae**. London : Acadamic Press.

Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C. and Wright, S.W. 1997. **Phytoplankton pigments in oceanography** : Guidelines to Modern Methods. Mayenne : Imprimerie Jouve.

Kobayashi, M., Kakizono, T. and Nagai, S. 1991. "Astaxanthin production by green alga, *Haematococcus pluvialis* accompanied with morphological changes in acetate media." **Journal of Fermentation and Bioengineering**. 71 : 335-339.

Kobayashi, M., Katsuragi, T. and Tani, Y. 2001. "Enlarged and astaxanthin-accumulating cyst cells of the green alga *Haematococcus pluvialis*." **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 92(6) : 565-568.

Krinsky, N.I., Mayne, S.T. and Sies, H. 2004. **Carotenoids in health and disease**. New York : Marcel Dekker, Inc.

Margalith, P.Z. 1992. **Pigment microbiology**. 1st ed. Cambridge : Cambridge University Press.

Margalith, P.Z. 1999. "Production of ketocarotenoids by microalgae." **Applied Microbiology and Biotechnology**. 51 : 431-438.

Orosa, M., Franqueira, D. Cid, A. and Abalde, J. 2005. "Analysis and enhancement of astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*." **Bioresource Technology**. 96 : 373-378.

Prescott, G.W. 1978. **How to know the freshwater algae**. 3rd ed. Dubuque : Wm.C. Brown.

Round, F.E. 1973. **The biology of the algae**. London : Edward Arnold (Publishers) Ltd.

Shi, X.M., Liu, H.J. Zhang, X.W. and Chen, F. 1999. "Production of biomass and lutein by *Chlorella protothecoides* at various glucose concentrations in heterotrophic cultures." **Process Biochemistry**. 34(4) : 341-347.

Ugwu, C.U., Ogbonna, J.C. and Tanaka, H. 2005. "Characterization of light utilization and biomass yields of *Chlorella sorokiniana* in inclined outdoor tubular photobioreactors equipped with static mixers." **Process Biochemistry**. 40(11) : 3406-3411.

Veiga-Crespo, P., Blasco, L., Rosa dos Santos, F., Poza, M. and Villa, T.G. 2005. "Influence of culture conditions of *Gordonia jacobaea* MV-26 on canthaxanthin production." **International Microbiology**. 8 : 55-58.

Whitford, L.A. and Schumacher, G.J. 1969. **A manual of the fresh-water algae in North Carolina**. North Carolina : The North Carolina Agricultural Experiment Station.

Wongrat, L. 1999. "Diversity of freshwater phytoplankton in Thailand (Chlorophyta and Chromophyta)." 39-45. in Baimai, V., Kumhom, R., Chomphuvises, N., Mekruangrussamee, S., Srisawang, j., Budhisakollert, U., Rodrungruang, R., Aiemkul, K., Piyottip, S., Treesucon, U., Kitthawee, S. and Milne, J. **Research reports on biodiversity in Thailand**. Bangkok : Work Press Printing.

Young, A. and Britton, G. 1993. **Carotenoids in photosynthesis**. London : Chapman and Hall.

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหาร สูตร N-8

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารสังเคราะห์สูตร N-8 (Atthasampunna. 1995) มีส่วนประกอบดังนี้

$Na_2HPO_4 . 2H_2O$	260.0	มิลลิกรัม
KH_2PO_4	740.0	มิลลิกรัม
$CaCl_2$	10.0	มิลลิกรัม
Fe EDTA	10.0	มิลลิกรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	50.0	มิลลิกรัม
KNO_3	1,000.0	มิลลิกรัม
Trace element mixture*	1.0	มิลลิลิตร
Distilled water to	1.0	ลิตร

*** Trace element mixture for N-8 medium**

$Al_2(SO_4)_3 . 18H_2O$	3.58	กรัม
$MnCl_2 . 4H_2O$	12.98	กรัม
$CuSO_4 . 5H_2O$	1.83	กรัม
$ZnSO_4 . 7H_2O$	3.20	กรัม
Distilled water to	1.0	ลิตร

ปรับค่าพีเอชของอาหารเป็น 6.8 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

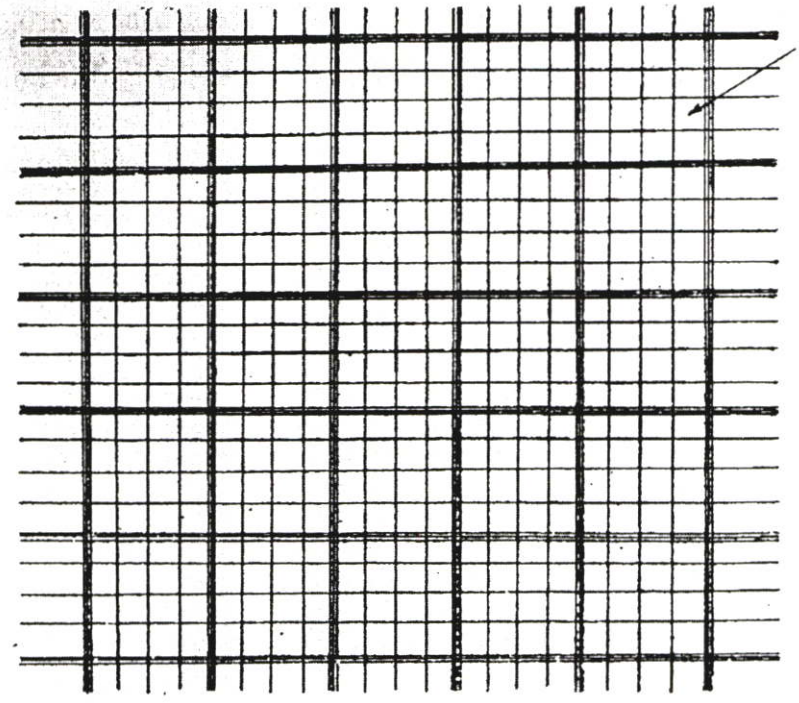
การนับจำนวนเซลล์

การนับจำนวนเซลล์สาหร่ายโดยใช้ haemacytometer ชนิด improved neubauer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า คำนวณหาจำนวนเซลล์โดยดัดแปลงจากวิธีการของยุวดี พีรพรพิศาล และฉมาภรณ์ นิวาศะบุตร (2546) ดังสมการ

$$\text{จำนวนเซลล์ใน 1 มิลลิลิตร} = \frac{N \times 400 \times 10^{3}}{5 \times 16 \times D}$$

เมื่อ N = จำนวนนับของเซลล์สาหร่ายใน 5 ตารางใหญ่ ของ haemacytometer ดังรูปที่ ข.1

D = ความลึกของ haemacytometer มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร



รูปที่ ข.1 แสดงลักษณะตารางของ haemacytometer (ยุวดี พีรพรพิศาล และฉมาภรณ์ นิวาศะบุตร. 2546)

ภาคผนวก ค

ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ค.1 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท ต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KNO_3 (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	0.25	0.055	23.00	0.028	6.86	0.103
	0.5	0.053	22.15	0.027	6.84	0.099
	1.0	0.054	22.60	0.028	6.85	0.101
	2.0	0.054	22.60	0.028	6.84	0.100
	4.0	0.053	22.15	0.028	6.83	0.099
2 วัน	0.25	0.211	88.25	0.109	6.91	0.609
	0.5	0.213	89.10	0.110	6.94	0.615
	1.0	0.218	91.20	0.112	6.88	0.630
	2.0	0.22	92.00	0.113	6.89	0.635
	4.0	0.224	93.70	0.115	6.88	0.647
4 วัน	0.25	0.378	158.10	0.195	7.25	1.092
	0.5	0.383	160.20	0.197	7.24	1.106
	1.0	0.395	165.20	0.203	7.29	1.141
	2.0	0.402	168.15	0.207	7.30	1.161
	4.0	0.412	172.30	0.212	7.32	1.190
6 วัน	0.25	0.572	239.25	0.295	7.38	1.652
	0.5	0.584	244.25	0.301	7.32	1.687
	1.0	0.599	250.55	0.308	7.39	1.730
	2.0	0.607	253.90	0.313	7.42	1.753
	4.0	0.618	258.50	0.318	7.46	1.785

ตารางที่ ค.1 (ต่อ)

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KNO_3 (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	0.25	0.823	344.25	0.424	7.44	2.377
	0.5	0.848	354.70	0.437	7.41	2.449
	1.0	0.874	365.55	0.450	7.46	2.524
	2.0	0.895	374.35	0.461	7.54	2.585
	4.0	0.905	378.55	0.466	7.58	2.614
10 วัน	0.25	1.164	486.85	0.599	7.70	3.362
	0.5	1.198	501.10	0.617	7.71	3.460
	1.0	1.221	510.70	0.629	7.79	3.527
	2.0	1.235	516.55	0.636	7.81	3.567
	4.0	1.249	522.40	0.643	7.88	3.607
12 วัน	0.25	1.271	531.60	0.654	8.34	3.671
	0.5	1.302	544.55	0.670	8.41	3.761
	1.0	1.352	565.50	0.696	8.60	3.905
	2.0	1.397	584.30	0.719	8.71	4.035
	4.0	1.482	619.85	0.763	8.74	4.280
14 วัน	0.25	1.295	541.65	0.667	9.12	3.740
	0.5	1.334	557.95	0.687	9.17	3.853
	1.0	1.408	588.90	0.725	9.26	4.067
	2.0	1.473	616.10	0.758	9.44	4.254
	4.0	1.586	663.35	0.817	9.63	4.581

ตารางที่ ค.2 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KNO_3 (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	0.25	0.056	18.20	0.025	6.86	0.105
	0.5	0.058	18.85	0.026	6.88	0.108
	1.0	0.057	18.50	0.025	6.87	0.107
	2.0	0.058	18.85	0.026	6.89	0.108
	4.0	0.056	18.20	0.025	6.85	0.105
2 วัน	0.25	0.204	66.25	0.090	6.90	0.561
	0.5	0.218	70.80	0.096	6.93	0.600
	1.0	0.225	73.05	0.099	6.87	0.619
	2.0	0.234	76.00	0.103	6.89	0.644
	4.0	0.237	76.95	0.105	6.92	0.652
4 วัน	0.25	0.378	122.75	0.167	7.14	1.040
	0.5	0.383	124.35	0.169	7.18	1.053
	1.0	0.385	125.00	0.170	7.25	1.059
	2.0	0.4	129.90	0.176	7.31	1.100
	4.0	0.407	132.15	0.180	7.37	1.119
6 วัน	0.25	0.633	205.55	0.279	7.24	1.741
	0.5	0.642	208.45	0.283	7.28	1.766
	1.0	0.649	210.75	0.286	7.30	1.785
	2.0	0.658	213.65	0.290	7.42	1.810
	4.0	0.675	219.20	0.298	7.43	1.856

ตารางที่ ค.2 (ต่อ)

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KNO_3 (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ (× 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	0.25	0.903	293.20	0.398	7.31	2.484
	0.5	0.926	300.70	0.408	7.39	2.547
	1.0	0.945	306.85	0.417	7.44	2.599
	2.0	0.954	309.75	0.421	7.50	2.624
	4.0	0.969	314.65	0.427	7.54	2.665
10 วัน	0.25	1.234	400.70	0.544	7.47	3.394
	0.5	1.289	418.55	0.569	7.54	3.545
	1.0	1.314	426.65	0.580	7.57	3.614
	2.0	1.341	435.45	0.592	7.69	3.688
	4.0	1.367	443.90	0.603	7.98	3.760
12 วัน	0.25	1.311	425.70	0.578	8.32	3.606
	0.5	1.367	443.90	0.603	8.44	3.760
	1.0	1.425	462.70	0.629	8.59	3.919
	2.0	1.486	482.50	0.655	8.64	4.087
	4.0	1.585	514.65	0.699	8.83	4.359
14 วัน	0.25	1.346	437.05	0.594	9.18	3.702
	0.5	1.406	456.55	0.620	9.29	3.867
	1.0	1.482	481.20	0.654	9.35	4.076
	2.0	1.554	504.60	0.685	9.41	4.274
	4.0	1.664	540.30	0.734	9.52	4.576

ตารางที่ ค.3 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KNO_3 (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	0.25	0.06	10.60	0.020	6.81	0.107
	0.5	0.059	10.45	0.019	6.79	0.104
	1.0	0.06	10.60	0.020	6.80	0.109
	2.0	0.059	10.45	0.019	6.78	0.105
	4.0	0.061	10.80	0.020	6.82	0.112
2 วัน	0.25	0.171	30.25	0.056	6.89	0.477
	0.5	0.175	30.95	0.057	6.88	0.488
	1.0	0.183	32.35	0.060	6.88	0.510
	2.0	0.181	32.00	0.059	6.86	0.505
	4.0	0.179	31.65	0.059	6.91	0.499
4 วัน	0.25	0.329	58.15	0.108	7.11	0.917
	0.5	0.342	60.45	0.112	7.17	0.953
	1.0	0.348	61.55	0.114	7.19	0.970
	2.0	0.352	62.25	0.116	7.21	0.981
	4.0	0.356	62.95	0.117	7.26	0.992
6 วัน	0.25	0.585	103.45	0.192	7.21	1.631
	0.5	0.604	106.80	0.198	7.22	1.684
	1.0	0.615	108.75	0.202	7.26	1.714
	2.0	0.629	111.20	0.207	7.35	1.753
	4.0	0.643	113.70	0.211	7.41	1.792

ตารางที่ ค.3 (ต่อ)

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KNO_3 (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	0.25	0.715	126.40	0.235	7.31	1.993
	0.5	0.732	129.40	0.240	7.35	2.040
	1.0	0.761	134.55	0.250	7.37	2.121
	2.0	0.783	138.45	0.257	7.44	2.182
	4.0	0.817	144.45	0.268	7.61	2.277
10 วัน	0.25	1.064	188.10	0.350	7.39	2.966
	0.5	1.11	196.25	0.365	7.45	3.094
	1.0	1.151	203.50	0.378	7.53	3.208
	2.0	1.18	208.60	0.388	7.61	3.289
	4.0	1.232	217.80	0.405	7.86	3.434
12 วัน	0.25	1.777	208.10	0.387	8.17	3.281
	0.5	1.267	224.00	0.416	8.21	3.532
	1.0	1.325	234.25	0.435	8.34	3.693
	2.0	1.431	253.00	0.470	8.44	3.989
	4.0	1.558	275.45	0.512	8.73	4.343
14 วัน	0.25	1.326	234.45	0.436	9.23	3.696
	0.5	1.409	249.10	0.463	9.35	3.927
	1.0	1.482	262.00	0.487	9.42	4.131
	2.0	1.585	280.25	0.521	9.54	4.418
	4.0	1.663	294.00	0.546	9.68	4.635

ตารางที่ ค.4 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KH_2PO_4 รวมกับ $Na_2HPO_4.2H_2O$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	0.25	0.055	23.00	0.028	6.84	0.102
	0.5	0.053	22.15	0.027	6.82	0.099
	1.0	0.055	23.00	0.028	6.83	0.102
	2.0	0.054	22.60	0.028	6.81	0.100
	4.0	0.053	22.15	0.027	6.79	0.099
2 วัน	0.25	0.205	85.75	0.106	6.93	0.592
	0.5	0.212	88.65	0.109	6.89	0.612
	1.0	0.235	98.30	0.121	6.88	0.679
	2.0	0.226	94.55	0.116	6.84	0.653
	4.0	0.221	92.45	0.114	6.80	0.638
4 วัน	0.25	0.375	156.85	0.193	7.39	1.083
	0.5	0.382	159.80	0.197	7.28	1.103
	1.0	0.413	172.75	0.213	7.15	1.193
	2.0	0.401	167.70	0.206	6.86	1.158
	4.0	0.395	165.20	0.203	6.81	1.141
6 วัน	0.25	0.568	237.55	0.292	7.52	1.641
	0.5	0.577	241.35	0.297	7.42	1.667
	1.0	0.622	260.15	0.320	7.29	1.797
	2.0	0.603	252.20	0.310	6.89	1.742
	4.0	0.596	249.30	0.307	6.82	1.721

ตารางที่ ค.4 (ต่อ)

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KH_2PO_4 รวมกับ $Na_2HPO_4.2H_2O$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	0.25	0.823	344.25	0.424	8.15	2.377
	0.5	0.841	351.75	0.433	7.89	2.429
	1.0	0.914	382.30	0.471	7.35	2.640
	2.0	0.886	370.60	0.456	6.97	2.559
	4.0	0.871	364.30	0.448	6.85	2.516
10 วัน	0.25	1.102	460.90	0.567	8.94	3.183
	0.5	1.121	468.85	0.577	8.76	3.238
	1.0	1.242	519.50	0.640	7.74	3.587
	2.0	1.194	499.40	0.615	7.12	3.449
	4.0	1.171	489.80	0.603	6.91	3.382
12 วัน	0.25	1.294	541.25	0.666	10.05	3.737
	0.5	1.318	551.25	0.679	9.63	3.807
	1.0	1.476	617.35	0.760	8.59	4.263
	2.0	1.412	590.60	0.727	7.21	4.078
	4.0	1.383	578.45	0.712	7.03	3.995
14 วัน	0.25	1.337	559.20	0.688	10.54	3.862
	0.5	1.382	578.05	0.712	10.37	3.992
	1.0	1.598	668.40	0.823	9.79	4.616
	2.0	1.507	630.30	0.776	7.49	4.353
	4.0	1.468	614.00	0.756	7.15	4.240

ตารางที่ ค.5 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KH_2PO_4 รวมกับ $Na_2HPO_4.2H_2O$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	0.25	0.056	18.20	0.025	6.85	0.105
	0.5	0.058	18.80	0.026	6.87	0.108
	1.0	0.057	18.50	0.025	6.86	0.107
	2.0	0.056	18.20	0.025	6.84	0.105
	4.0	0.057	18.50	0.025	6.83	0.107
2 วัน	0.25	0.201	65.25	0.089	6.93	0.553
	0.5	0.209	67.85	0.092	6.91	0.575
	1.0	0.241	78.25	0.106	6.89	0.663
	2.0	0.234	76.00	0.103	6.86	0.644
	4.0	0.232	75.35	0.102	6.84	0.638
4 วัน	0.25	0.303	98.40	0.134	7.49	0.833
	0.5	0.356	115.60	0.157	7.36	0.979
	1.0	0.412	133.80	0.182	7.22	1.133
	2.0	0.405	131.50	0.179	7.89	1.114
	4.0	0.398	129.25	0.176	6.86	1.095
6 วัน	0.25	0.609	197.75	0.269	7.82	1.675
	0.5	0.644	209.10	0.284	7.56	1.771
	1.0	0.688	223.40	0.303	7.35	1.892
	2.0	0.677	219.85	0.299	6.91	1.862
	4.0	0.674	218.85	0.297	6.87	1.854

ตารางที่ ค.5 (ต่อ)

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KH_2PO_4 รวมกับ $Na_2HPO_4.2H_2O$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	0.25	0.835	271.15	0.368	8.37	2.297
	0.5	0.889	288.65	0.392	8.10	2.445
	1.0	0.961	312.05	0.424	7.42	2.643
	2.0	0.942	305.90	0.416	6.95	2.591
	4.0	0.935	303.60	0.412	6.91	2.572
10 วัน	0.25	1.264	410.45	0.558	9.15	3.476
	0.5	1.293	419.85	0.570	8.95	3.556
	1.0	1.384	449.40	0.610	7.68	3.806
	2.0	1.317	427.65	0.581	7.01	3.622
	4.0	1.315	427.00	0.580	6.95	3.617
12 วัน	0.25	1.457	473.10	0.643	9.93	4.007
	0.5	1.511	490.65	0.667	9.76	4.156
	1.0	1.589	515.95	0.701	8.37	4.370
	2.0	1.561	506.85	0.689	7.19	4.293
	4.0	1.557	505.55	0.687	6.99	4.282
14 วัน	0.25	1.528	496.15	0.674	10.49	4.202
	0.5	1.582	513.70	0.698	10.24	4.351
	1.0	1.671	542.60	0.737	9.75	4.596
	2.0	1.628	528.65	0.718	7.53	4.477
	4.0	1.624	527.35	0.716	7.16	4.466

ตารางที่ ค.6 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KH_2PO_4 รวมกับ $Na_2HPO_4.2H_2O$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	0.25	0.06	10.60	0.020	6.82	0.108
	0.5	0.06	10.60	0.020	6.81	0.109
	1.0	0.062	10.95	0.020	6.83	0.115
	2.0	0.061	10.80	0.020	6.81	0.112
	4.0	0.062	10.95	0.020	6.82	0.114
2 วัน	0.25	0.168	29.70	0.055	6.93	0.468
	0.5	0.17	30.05	0.056	6.89	0.474
	1.0	0.182	32.20	0.060	6.92	0.507
	2.0	0.176	31.10	0.058	6.86	0.491
	4.0	0.175	30.95	0.057	6.83	0.488
4 วัน	0.25	0.315	55.70	0.103	7.26	0.878
	0.5	0.339	59.95	0.111	7.17	0.945
	1.0	0.361	63.80	0.119	7.13	1.006
	2.0	0.354	62.60	0.116	6.90	0.987
	4.0	0.349	61.70	0.115	6.85	0.973
6 วัน	0.25	0.617	109.10	0.203	7.41	1.720
	0.5	0.633	111.90	0.208	7.36	1.764
	1.0	0.651	115.10	0.214	7.28	1.815
	2.0	0.644	113.85	0.212	6.95	1.795
	4.0	0.641	113.35	0.211	6.88	1.787

ตารางที่ ค.6 (ต่อ)

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น KH_2PO_4 รวมกับ $Na_2HPO_4.2H_2O$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	0.25	0.865	152.95	0.284	7.97	2.411
	0.5	0.874	154.50	0.287	7.88	2.436
	1.0	0.912	161.25	0.300	7.65	2.542
	2.0	0.902	159.45	0.296	7.03	2.514
	4.0	0.887	156.80	0.291	6.91	2.472
10 วัน	0.25	1.199	212.00	0.394	8.57	3.342
	0.5	1.212	214.30	0.398	8.34	3.378
	1.0	1.236	218.50	0.406	7.92	3.445
	2.0	1.229	217.30	0.404	7.14	3.426
	4.0	1.226	216.75	0.403	6.94	3.417
12 วัน	0.25	1.524	269.45	0.501	9.49	4.248
	0.5	1.537	271.75	0.505	9.51	4.284
	1.0	1.569	277.40	0.515	8.83	4.373
	2.0	1.562	276.15	0.513	7.37	4.354
	4.0	1.558	275.45	0.512	7.15	4.343
14 วัน	0.25	1.627	287.65	0.534	9.59	4.535
	0.5	1.641	290.15	0.539	9.84	4.574
	1.0	1.674	295.95	0.550	9.92	4.666
	2.0	1.663	294.00	0.546	7.52	4.635
	4.0	1.657	292.95	0.544	7.28	4.619

ตารางที่ ค.7 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในการศึกษาผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	พีเอชเริ่มต้น	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	4.8	0.054	22.65	0.029	5.43	0.100
	5.8	0.054	22.60	0.028	5.84	0.100
	6.8	0.053	22.25	0.027	6.83	0.099
	7.8	0.055	23.00	0.029	7.81	0.102
	8.8	0.053	22.15	0.026	8.84	0.098
2 วัน	4.8	0.213	89.10	0.1100	6.02	0.553
	5.8	0.221	92.45	0.114	6.31	0.580
	6.8	0.231	96.60	0.119	6.94	0.667
	7.8	0.228	95.35	0.117	8.24	0.688
	8.8	0.226	94.55	0.116	9.11	0.669
4 วัน	4.8	0.405	169.40	0.209	6.25	1.052
	5.8	0.411	171.90	0.212	6.45	1.078
	6.8	0.419	175.25	0.216	7.21	1.210
	7.8	0.415	173.60	0.214	8.75	1.253
	8.8	0.412	172.30	0.212	9.38	1.220
6 วัน	4.8	0.594	248.45	0.306	6.38	1.543
	5.8	0.603	252.20	0.310	6.61	1.581
	6.8	0.615	257.25	0.317	7.35	1.776
	7.8	0.611	255.55	0.315	9.11	1.845
	8.8	0.598	250.10	0.308	9.59	1.771

ตารางที่ ค.7 (ต่อ)

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	พีเอชเริ่มต้น	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	4.8	0.887	371.00	0.457	6.64	2.303
	5.8	0.896	374.75	0.461	6.82	2.350
	6.8	0.915	382.70	0.471	7.73	2.643
	7.8	0.907	379.35	0.467	9.68	2.738
	8.8	0.902	377.25	0.464	9.73	2.672
10 วัน	4.8	1.216	508.60	0.626	6.76	3.158
	5.8	1.224	511.95	0.630	6.89	3.210
	6.8	1.245	520.75	0.641	8.19	3.596
	7.8	1.234	516.15	0.635	9.80	3.726
	8.8	1.228	513.60	0.632	9.87	3.637
12วัน	4.8	1.425	596.00	0.734	6.91	3.701
	5.8	1.441	602.70	0.742	6.97	3.779
	6.8	1.484	620.70	0.764	8.69	4.286
	7.8	1.461	611.10	0.752	9.88	4.411
	8.8	1.452	607.30	0.748	9.93	4.301
14 วัน	4.8	1.482	619.85	0.763	7.02	3.849
	5.8	1.513	632.85	0.779	7.13	3.968
	6.8	1.592	665.85	0.820	9.81	4.598
	7.8	1.546	646.65	0.796	10.13	4.668
	8.8	1.528	639.10	0.787	10.04	4.526

ตารางที่ ค.8 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในการศึกษาผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	พีเอชเริ่มต้น	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	4.8	0.055	17.75	0.024	5.11	0.102
	5.8	0.056	18.30	0.025	5.87	0.105
	6.8	0.056	18.20	0.025	6.84	0.105
	7.8	0.058	18.85	0.026	7.78	0.107
	8.8	0.055	17.85	0.025	8.74	0.103
2 วัน	4.8	0.225	73.05	0.099	5.89	0.639
	5.8	0.235	76.30	0.104	6.23	0.655
	6.8	0.245	79.55	0.108	6.96	0.674
	7.8	0.239	77.60	0.105	8.27	0.681
	8.8	0.229	74.35	0.101	9.18	0.648
4 วัน	4.8	0.368	119.50	0.162	6.15	1.045
	5.8	0.395	128.25	0.174	6.38	1.101
	6.8	0.405	131.50	0.179	7.41	1.114
	7.8	0.403	130.85	0.178	8.81	1.148
	8.8	0.389	126.30	0.172	9.41	1.101
6 วัน	4.8	0.651	211.40	0.287	6.46	1.849
	5.8	0.671	217.90	0.296	6.58	1.870
	6.8	0.692	224.70	0.305	7.53	1.903
	7.8	0.675	219.20	0.298	9.23	1.923
	8.8	0.668	216.90	0.295	9.58	1.891

ตารางที่ ค.8 (ต่อ)

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	พีเอชเริ่มต้น	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	4.8	0.908	294.85	0.401	6.74	2.578
	5.8	0.94	305.25	0.415	6.85	2.619
	6.8	0.965	313.35	0.426	7.73	2.654
	7.8	0.948	307.85	0.418	9.71	2.701
	8.8	0.931	302.30	0.411	9.79	2.635
10 วัน	4.8	1.294	420.15	0.571	6.86	3.674
	5.8	1.338	434.45	0.590	7.01	3.728
	6.8	1.375	446.50	0.607	8.01	3.782
	7.8	1.355	440.00	0.598	9.83	3.860
	8.8	1.329	431.55	0.586	9.88	3.761
12วัน	4.8	1.514	491.60	0.668	6.99	4.299
	5.8	1.557	505.55	0.687	7.14	4.338
	6.8	1.594	517.60	0.703	8.69	4.384
	7.8	1.564	507.85	0.690	9.91	4.456
	8.8	1.536	498.75	0.678	9.98	4.347
14 วัน	4.8	1.589	515.95	0.701	7.09	4.512
	5.8	1.632	529.95	0.720	7.28	4.547
	6.8	1.668	541.60	0.736	9.88	4.588
	7.8	1.643	533.50	0.725	10.21	4.681
	8.8	1.618	525.40	0.714	10.18	4.579

ตารางที่ ค.9 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	พีเอชเริ่มต้น	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	4.8	0.061	10.80	0.020	5.23	0.111
	5.8	0.061	10.90	0.021	5.81	0.112
	6.8	0.06	10.60	0.019	6.84	0.108
	7.8	0.062	10.95	0.021	7.75	0.114
	8.8	0.061	10.85	0.020	8.63	0.111
2 วัน	4.8	0.174	30.75	0.057	6.05	0.517
	5.8	0.188	33.25	0.062	6.17	0.554
	6.8	0.192	33.95	0.063	6.92	0.535
	7.8	0.062	32.20	0.060	8.21	0.479
	8.8	0.091	31.10	0.058	9.07	0.474
4 วัน	4.8	0.355	59.25	0.110	6.31	0.996
	5.8	0.359	63.45	0.118	6.34	1.058
	6.8	0.365	64.55	0.120	7.22	1.017
	7.8	0.346	61.15	0.114	8.64	0.911
	8.8	0.34	60.10	0.112	9.45	0.916
6 วัน	4.8	0.628	111.05	0.206	6.46	1.867
	5.8	0.655	115.80	0.215	6.55	1.931
	6.8	0.663	117.20	0.218	7.38	1.848
	7.8	0.641	113.35	0.211	9.07	1.688
	8.8	0.632	111.75	0.208	9.62	1.703

ตารางที่ ค.9 (ต่อ)

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	พีเอชเริ่มต้น	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	4.8	0.876	154.90	0.288	6.61	2.605
	5.8	0.902	159.45	0.296	6.67	2.659
	6.8	0.925	163.55	0.304	7.73	2.578
	7.8	0.894	158.05	0.294	9.54	2.354
	8.8	0.884	156.30	0.290	9.83	2.382
10 วัน	4.8	1.187	209.85	0.390	6.74	3.530
	5.8	1.203	212.70	0.395	6.88	3.546
	6.8	1.24	219.25	0.407	7.99	3.456
	7.8	1.195	211.30	0.393	9.78	3.147
	8.8	1.189	210.20	0.391	9.89	3.204
12วัน	4.8	1.495	264.30	0.491	6.95	4.445
	5.8	1.532	270.85	0.503	7.17	4.515
	6.8	1.567	277.05	0.515	8.69	4.368
	7.8	1.527	270.00	0.502	9.89	4.021
	8.8	1.514	267.70	0.497	9.97	4.080
14 วัน	4.8	1.588	280.75	0.522	7.08	4.722
	5.8	1.651	291.90	0.542	7.43	4.866
	6.8	1.686	298.10	0.554	9.83	4.699
	7.8	1.644	290.65	0.540	10.17	4.328
	8.8	1.598	282.55	0.525	10.11	4.306

ตารางที่ ค.10 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่ชักนำ	ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	0.0	1.682	297.85	0.551	7.51	4.859
	2.0	1.681	296.20	0.551	7.48	4.856
	4.0	1.682	298.15	0.552	7.49	4.858
	8.0	1.683	299.45	0.553	7.50	4.862
	16.0	1.681	295.85	0.552	7.49	4.857
	32.0	1.682	296.40	0.552	7.50	4.858
2 วัน	0.0	1.710	300.60	0.588	7.99	4.940
	2.0	1.682	294.00	0.599	7.87	5.010
	4.0	1.679	289.20	0.605	7.78	5.100
	8.0	1.674	283.00	0.593	7.68	5.260
	16.0	1.671	278.60	0.583	7.54	5.410
	32.0	1.666	270.40	0.574	7.49	5.630
4 วัน	0.0	1.726	303.45	0.622	8.53	4.986
	2.0	1.683	291.70	0.643	8.45	5.102
	4.0	1.680	285.50	0.656	8.32	5.340
	8.0	1.669	275.00	0.629	8.21	5.941
	16.0	1.665	264.00	0.613	8.13	6.912
	32.0	1.658	253.50	0.598	8.08	7.910
6 วัน	0.0	1.737	305.35	0.654	8.98	5.018
	2.0	1.683	290.00	0.685	8.93	5.230
	4.0	1.678	280.50	0.704	8.89	5.632
	8.0	1.667	265.40	0.665	8.78	6.992
	16.0	1.659	252.90	0.645	8.65	8.720
	32.0	1.653	239.10	0.632	8.56	9.830

ตารางที่ ค.10 (ต่อ)

จำนวนวันที่ชักนำ	ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	0.0	1.752	306.65	0.697	10.3	5.062
	2.0	1.682	287.40	0.723	10.27	5.470
	4.0	1.677	276.10	0.739	9.32	5.911
	8.0	1.664	253.50	0.693	9.12	8.292
	16.0	1.655	240.90	0.685	8.96	9.990
	32.0	1.649	216.50	0.665	8.88	10.090
10 วัน	0.0	1.762	308.35	0.735	9.66	5.090
	2.0	1.681	286.70	0.756	9.54	5.880
	4.0	1.677	267.30	0.781	9.03	6.600
	8.0	1.663	244.10	0.720	8.95	9.263
	16.0	1.652	229.70	0.711	8.78	10.150
	32.0	1.642	200.80	0.675	8.65	9.941
12 วัน	0.0	1.773	309.40	0.766	9.05	5.150
	2.0	1.680	284.80	0.790	8.98	6.169
	4.0	1.675	258.50	0.817	8.72	7.138
	8.0	1.662	231.00	0.741	8.38	9.942
	16.0	1.648	202.70	0.704	8.43	9.902
	32.0	1.638	182.60	0.654	8.27	9.761
14 วัน	0.0	1.780	310.60	0.789	8.42	5.170
	2.0	1.680	283.60	0.808	8.30	6.550
	4.0	1.675	248.50	0.828	8.27	7.820
	8.0	1.661	220.15	0.757	8.17	10.270
	16.0	1.645	182.00	0.681	8.11	9.598
	32.0	1.633	166.90	0.620	7.99	9.157

ตารางที่ ค.11 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่ชักนำ	ความเข้มข้นของโซเดียมอะซีเตต (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	0.0	1.689	268.65	0.555	7.65	4.898
	1.0	1.692	299.15	0.556	7.64	4.907
	2.0	1.689	298.15	0.555	7.66	4.898
	4.0	1.692	300.20	0.556	7.64	4.907
	8.0	1.690	298.75	0.555	7.67	4.901
	16.0	1.690	298.55	0.555	7.68	4.901
2 วัน	0.0	1.676	284.60	0.593	7.79	5.310
	1.0	1.683	291.60	0.643	7.88	5.300
	2.0	1.685	287.05	0.633	7.94	5.420
	4.0	1.687	282.10	0.626	7.95	5.690
	8.0	1.672	280.15	0.614	8.01	5.500
	16.0	1.667	277.50	0.604	7.97	5.640
4 วัน	0.0	1.670	274.15	0.633	8.33	5.790
	1.0	1.682	284.75	0.715	8.41	5.720
	2.0	1.686	277.20	0.703	8.56	6.780
	4.0	1.672	271.30	0.680	8.69	6.490
	8.0	1.664	267.15	0.667	8.32	5.870
	16.0	1.655	261.15	0.648	8.27	6.220
6 วัน	0.0	1.666	261.90	0.664	8.75	6.930
	1.0	1.683	276.60	0.783	8.86	6.800
	2.0	1.687	269.25	0.772	8.99	8.090
	4.0	1.669	258.65	0.747	8.78	7.810
	8.0	1.661	257.65	0.722	8.48	7.400
	16.0	1.648	247.40	0.703	8.39	7.620

ตารางที่ ค.11 (ต่อ)

จำนวนวันที่ชักนำ	ความเข้มข้นของโซเดียมอะซีเตต (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	0.0	1.665	252.35	0.708	9.21	8.310
	1.0	1.684	269.45	0.856	9.42	7.910
	2.0	1.694	261.60	0.841	9.54	9.200
	4.0	1.668	249.25	0.815	9.12	8.790
	8.0	1.659	246.90	0.778	8.76	8.880
	16.0	1.641	234.05	0.776	8.62	9.120
10 วัน	0.0	1.664	241.60	0.745	8.99	9.080
	1.0	1.681	257.50	0.918	9.38	8.710
	2.0	1.693	252.35	0.905	9.21	10.180
	4.0	1.668	238.35	0.867	8.97	9.770
	8.0	1.632	234.95	0.820	8.43	9.930
	16.0	1.662	218.30	0.799	8.11	8.550
12 วัน	0.0	1.662	230.05	0.775	8.45	9.680
	1.0	1.679	245.25	0.949	9.22	9.400
	2.0	1.691	239.30	0.932	9.15	11.100
	4.0	1.667	224.85	0.895	8.85	10.830
	8.0	1.653	218.45	0.857	8.33	10.470
	16.0	1.625	193.05	0.801	8.02	7.500
14 วัน	0.0	1.662	219.30	0.796	8.33	10.230
	1.0	1.678	232.15	0.959	9.17	9.830
	2.0	1.87	228.60	0.946	9.04	11.450
	4.0	1.666	213.90	0.909	8.72	11.180
	8.0	1.646	200.35	0.870	8.21	10.400
	16.0	1.619	172.75	0.766	7.89	5.809

ตารางที่ ค.12 ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ จำนวนเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของการชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟตต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จำนวนวันที่ชักนำ	ความเข้มข้นของเฟอรัสซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0 วัน	0.0	1.683	297.90	0.553	7.48	4.882
	0.01	1.684	298.55	0.553	7.47	4.885
	0.02	1.685	299.15	0.554	7.46	4.891
	0.04	1.685	300.15	0.553	7.45	4.888
	0.08	1.683	299.25	0.553	7.45	4.882
	0.16	1.686	297.55	0.554	7.50	4.891
2 วัน	0.0	1.674	287.00	0.625	7.75	5.370
	0.01	1.678	288.75	0.635	7.81	5.450
	0.02	1.681	289.95	0.650	7.81	5.530
	0.04	1.683	291.10	0.659	7.91	5.660
	0.08	1.686	292.25	0.675	7.98	5.870
	0.16	1.688	294.15	0.694	8.02	6.030
4 วัน	0.0	1.673	274.90	0.697	8.39	6.630
	0.01	1.679	277.60	0.709	8.65	6.680
	0.02	1.681	279.20	0.738	8.78	6.840
	0.04	1.683	282.05	0.760	8.87	7.040
	0.08	1.688	284.90	0.784	8.96	7.340
	0.16	1.691	290.20	0.821	9.03	7.920
6 วัน	0.0	1.674	265.50	0.764	8.86	7.920
	0.01	1.679	269.00	0.775	8.94	8.180
	0.02	1.682	270.60	0.814	9.01	8.470
	0.04	1.684	273.95	0.838	9.16	8.820
	0.08	1.689	278.05	0.873	9.33	9.450
	0.16	1.692	285.80	0.914	9.46	9.950

ตารางที่ ค.12 (ต่อ)

จำนวนวันที่ชักนำ	ความเข้มข้นของเฟอรัสซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์	จำนวนเซลล์ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าพีเอช	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
8 วัน	0.0	1.675	255.40	0.837	9.41	8.950
	0.01	1.680	259.60	0.850	9.51	9.260
	0.02	1.682	262.15	0.884	9.55	9.710
	0.04	1.685	264.80	0.906	9.63	10.050
	0.08	1.690	270.60	0.947	9.69	10.740
	0.16	1.694	281.20	0.980	9.75	11.580
10 วัน	0.0	1.675	246.85	0.898	9.25	9.920
	0.01	1.680	251.95	0.912	9.56	10.180
	0.02	1.682	254.40	0.930	9.62	10.680
	0.04	1.686	256.10	0.944	9.70	11.110
	0.08	1.691	262.10	0.984	9.82	11.800
	0.16	1.696	276.60	1.040	9.86	12.600
12 วัน	0.0	1.676	236.60	0.926	9.09	10.920
	0.01	1.681	242.00	0.936	9.63	11.110
	0.02	1.684	245.80	0.958	9.66	11.470
	0.04	1.687	246.85	0.978	9.73	11.800
	0.08	1.693	257.50	1.010	9.84	12.370
	0.16	1.698	273.30	1.071	9.89	12.970
14 วัน	0.0	1.676	227.25	0.939	8.98	11.530
	0.01	1.681	232.30	0.949	9.68	11.820
	0.02	1.684	234.15	0.969	9.71	12.080
	0.04	1.687	238.55	0.998	9.76	12.340
	0.08	1.693	252.20	1.036	9.81	12.740
	0.16	1.699	271.10	1.091	9.72	13.160

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ง.1 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.258E-02	4	1.064E-02	19.249	.000
Intercept	8.011	1	8.011	14486.491	.000
KNO_3	4.258E-02	4	1.064E-02	19.249	.000
Error	5.530E-03	10	5.530E-04		
Total	8.059	15			
Corrected Total	4.811E-02	14			

a R Squared = .885 (Adjusted R Squared = .839)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

KNO_3	N	Subset			
		1	2	3	4
.250	3	.66700			
.500	3	.68700	.68700		
1.000	3		.72500	.72500	
2.000	3			.75800	
4.000	3				.81700
Sig.		.322	.076	.116	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 5.530E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.2 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.340	4	.335	162.880	.000
Intercept	252.027	1	252.027	122509.729	.000
KNO_3	1.340	4	.335	162.880	.000
Error	2.057E-02	10	2.057E-03		
Total	253.388	15			
Corrected Total	1.361	14			

a R Squared = .985 (Adjusted R Squared = .979)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

KNO_3	N	Subset				
		1	2	3	4	5
.250	3	3.74000				
.500	3		3.85300			
1.000	3			4.06700		
2.000	3				4.25400	
4.000	3					4.58100
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 2.057E-03.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.3 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.618E-02	4	9.044E-03	20.072	.000
Intercept	6.483	1	6.483	14386.643	.000
KNO_3	3.618E-02	4	9.044E-03	20.072	.000
Error	4.506E-03	10	4.506E-04		
Total	6.523	15			
Corrected Total	4.068E-02	14			

a R Squared = .889 (Adjusted R Squared = .845)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

KNO_3	N	Subset			
		1	2	3	4
.250	3	.59400			
.500	3	.62000	.62000		
1.000	3		.65400	.65400	
2.000	3			.68500	
4.000	3				.73400
Sig.		.164	.078	.104	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 4.506E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.4 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.410	4	.353	117.733	.000
Intercept	252.027	1	252.027	84154.873	.000
KNO_3	1.410	4	.353	117.733	.000
Error	2.995E-02	10	2.995E-03		
Total	253.467	15			
Corrected Total	1.440	14			

a R Squared = .979 (Adjusted R Squared = .971)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

KNO_3	N	Subset				
		1	2	3	4	5
.250	3	3.70200				
.500	3		3.86700			
1.000	3			4.07600		
2.000	3				4.27400	
4.000	3					4.57600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 2.995E-03.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.5 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.325E-02	4	5.812E-03	37.113	.000
Intercept	3.610	1	3.610	23054.441	.000
KNO_3	2.325E-02	4	5.812E-03	37.113	.000
Error	1.566E-03	10	1.566E-04		
Total	3.635	15			
Corrected Total	2.481E-02	14			

a R Squared = .937 (Adjusted R Squared = .912)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

KNO_3	N	Subset				
		1	2	3	4	5
.250	3	.43600				
.500	3		.46300			
1.000	3			.48700		
2.000	3				.52100	
4.000	3					.54600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1.566E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.6 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.688	4	.422	420.692	.000
Intercept	259.759	1	259.759	258981.804	.000
KNO_3	1.688	4	.422	420.692	.000
Error	1.003E-02	10	1.003E-03		
Total	261.457	15			
Corrected Total	1.698	14			

a R Squared = .994 (Adjusted R Squared = .992)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

KNO_3	N	Subset				
		1	2	3	4	5
.250	3	3.69600				
.500	3		3.92700			
1.000	3			4.13100		
2.000	3				4.41800	
4.000	3					4.63500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1.003E-03.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.7 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.397E-02	4	8.493E-03	13.928	.000
Intercept	8.460	1	8.460	13873.426	.000
KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	3.397E-02	4	8.493E-03	13.928	.000
Error	6.098E-03	10	6.098E-04		
Total	8.500	15			
Corrected Total	4.007E-02	14			

a R Squared = .848 (Adjusted R Squared = .787)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	N	Subset			
		1	2	3	4
.250	3	.68800			
.500	3	.71200	.71200		
4.000	3		.75600	.75600	
2.000	3			.77600	
1.000	3				.82300
Sig.		.261	.054	.345	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 6.098E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.8 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.064	4	.266	58.939	.000
Intercept	266.190	1	266.190	58962.030	.000
KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	1.064	4	.266	58.939	.000
Error	4.515E-02	10	4.515E-03		
Total	267.299	15			
Corrected Total	1.109	14			

a R Squared = .959 (Adjusted R Squared = .943)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	N	Subset			
		1	2	3	4
.250	3	3.86200			
.500	3		3.99200		
4.000	3			4.24000	
2.000	3			4.35300	
1.000	3				4.61600
Sig.		1.000	1.000	.066	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 4.515E-03.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.9 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6.778E-03	4	1.694E-03	8.282	.003
Intercept	7.532	1	7.532	36811.874	.000
KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	6.778E-03	4	1.694E-03	8.282	.003
Error	2.046E-03	10	2.046E-04		
Total	7.541	15			
Corrected Total	8.824E-03	14			

a R Squared = .768 (Adjusted R Squared = .675)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	N	Subset		
		1	2	3
.250	3	.67400		
.500	3	.69800	.69800	
4.000	3		.71600	.71600
2.000	3		.71800	.71800
1.000	3			.73700
Sig.		.067	.133	.116

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 2.046E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.10 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.266	4	6.646E-02	38.711	.000
Intercept	292.834	1	292.834	170569.594	.000
KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	.266	4	6.646E-02	38.711	.000
Error	1.717E-02	10	1.717E-03		
Total	293.117	15			
Corrected Total	.283	14			

a R Squared = .939 (Adjusted R Squared = .915)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	N	Subset			
		1	2	3	4
.250	3	4.20200			
.500	3		4.35100		
4.000	3			4.46600	
2.000	3			4.47700	
1.000	3				4.59600
Sig.		1.000	1.000	.752	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1.717E-03.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.11 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.656E-04	4	1.164E-04	8.818	.003
Intercept	4.416	1	4.416	334562.227	.000
KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	4.656E-04	4	1.164E-04	8.818	.003
Error	1.320E-04	10	1.320E-05		
Total	4.417	15			
Corrected Total	5.976E-04	14			

a R Squared = .779 (Adjusted R Squared = .691)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	N	Subset		
		1	2	3
.250	3	.53400		
.500	3	.53900	.53900	
4.000	3		.54400	.54400
2.000	3			.54600
1.000	3			.55000
Sig.		.123	.123	.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1.320E-05.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.12 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.202E-02	4	8.006E-03	76.540	.000
Intercept	318.201	1	318.201	3042073.658	.000
KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	3.202E-02	4	8.006E-03	76.540	.000
Error	1.046E-03	10	1.046E-04		
Total	318.234	15			
Corrected Total	3.307E-02	14			

a R Squared = .968 (Adjusted R Squared = .956)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

KH_2PO_4 and $Na_2HPO_4.2H_2O$	N	Subset			
		1	2	3	4
.250	3	4.53500			
.500	3		4.57400		
4.000	3			4.61900	
2.000	3			4.63500	
1.000	3				4.66600
Sig.		1.000	1.000	.084	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1.046E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.13 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.370E-03	4	1.343E-03	16.656	.000
Intercept	9.338	1	9.338	115853.784	.000
pH	5.370E-03	4	1.342E-03	16.656	.000
Error	8.060E-04	10	8.060E-05		
Total	9.344	15			
Corrected Total	6.176E-03	14			

a R Squared = .869 (Adjusted R Squared = .817)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

pH	N	Subset		
		1	2	3
4.800	3	.76300		
5.800	3	.77900	.77900	
8.800	3		.78700	
7.800	3		.79600	
6.800	3			.82000
Sig.		.054	.051	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 8.060E-05.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.14 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.760	4	.440	275.222	.000
Intercept	280.169	1	280.169	175281.111	.000
pH	1.760	4	.440	275.222	.000
Error	1.598E-02	10	1.598E-03		
Total	281.945	15			
Corrected Total	1.776	14			

a R Squared = .991 (Adjusted R Squared = .987)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

pH	N	Subset			
		1	2	3	4
4.800	3	3.84900			
5.800	3		3.96800		
8.800	3			4.52600	
6.800	3			4.59800	4.59800
7.800	3				4.66800
Sig.		1.000	1.000	.052	.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1.598E-03.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.15 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.024E-03	4	5.061E-04	7.509	.005
Intercept	7.759	1	7.759	115114.682	.000
pH	2.024E-03	4	5.061E-04	7.509	.005
Error	6.740E-04	10	6.740E-05		
Total	7.761	15			
Corrected Total	2.698E-03	14			

a R Squared = .750 (Adjusted R Squared = .650)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

pH	N	Subset		
		1	2	3
4.800	3	.70100		
8.800	3	.71400	.71400	
5.800	3		.72000	
7.800	3		.72500	.72500
6.800	3			.73600
Sig.		.081	.148	.132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 6.740E-05.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.16 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.791E-02	4	1.198E-02	52.576	.000
Intercept	314.838	1	314.838	1382082.482	.000
pH	4.791E-02	4	1.198E-02	52.576	.000
Error	2.278E-03	10	2.278E-04		
Total	314.889	15			
Corrected Total	5.019E-02	14			

a R Squared = .955 (Adjusted R Squared = .936)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

pH	N	Subset			
		1	2	3	4
4.800	3	4.51200			
5.800	3		4.54700		
8.800	3			4.57900	
6.800	3			4.58800	
7.800	3				4.68100
Sig.		1.000	1.000	.482	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 2.278E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.17 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.074E-03	4	5.184E-04	10.205	.001
Intercept	4.319	1	4.319	85021.524	.000
pH	2.074E-03	4	5.184E-04	10.205	.001
Error	5.080E-04	10	5.080E-05		
Total	4.322	15			
Corrected Total	2.582E-03	14			

a R Squared = .803 (Adjusted R Squared = .725)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

pH	N	Subset		
		1	2	3
4.800	3	.52200		
8.800	3	.52500		
7.800	3		.54000	
5.800	3		.54200	.54200
6.800	3			.55400
Sig.		.617	.738	.066

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 5.080E-05.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.18 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.764	4	.191	1135.313	.000
Intercept	315.223	1	315.223	1874098.363	.000
pH	.764	4	.191	1135.313	.000
Error	1.682E-03	10	1.682E-04		
Total	315.989	15			
Corrected Total	.766	14			

a R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

pH	N	Subset		
		1	2	3
8.800	3	4.30600		
7.800	3	4.32800		
6.800	3		4.69900	
4.800	3		4.72200	
5.800	3			4.86600
Sig.		.064	.055	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1.682E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.19 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.761E-02	5	1.152E-02	43.452	.000
Intercept	10.388	1	10.388	39174.162	.000
NaCl	5.761E-02	5	1.152E-02	43.452	.000
Error	3.182E-03	12	2.652E-04		
Total	10.448	18			
Corrected Total	6.079E-02	17			

a R Squared = .948 (Adjusted R Squared = .926)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

NaCl	N	Subset				
		1	2	3	4	5
32.000	3	.66500				
16.000	3		.71100			
8.000	3			.75700		
.000	3				.78900	
2.000	3				.80800	.80800
4.000	3					.82800
Sig.		1.000	1.000	1.000	.179	.158

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 2.652E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.20 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	70.761	5	14.152	9393.007	.000
Intercept	1252.501	1	1252.501	831306.139	.000
NaCl	70.761	5	14.152	9393.007	.000
Error	1.808E-02	12	1.507E-03		
Total	1323.280	18			
Corrected Total	70.779	17			

a R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

NaCl	N	Subset				
		1	2	3	4	5
.000	3	5.17000				
2.000	3		6.55000			
4.000	3			7.82000		
32.000	3				10.09000	
16.000	3				10.15000	
8.000	3					10.27000
Sig.		1.000	1.000	1.000	.083	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1.507E-03.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.21 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9.495E-02	5	1.899E-02	158.474	.000
Intercept	13.692	1	13.692	114259.898	.000
Acetate	9.495E-02	5	1.899E-02	158.474	.000
Error	1.438E-03	12	1.198E-04		
Total	13.789	18			
Corrected Total	9.639E-02	17			

a R Squared = .985 (Adjusted R Squared = .979)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

Acetate	N	Subset				
		1	2	3	4	5
16.000	3	.76600				
.000	3		.79600			
8.000	3			.85700		
4.000	3				.90900	
2.000	3					.94600
1.000	3					.95900
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.171

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 1.198E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.22 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตตต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	11.117	5	2.223	290.224	.000
Intercept	1939.399	1	1939.399	253157.733	.000
Acetate	11.117	5	2.223	290.224	.000
Error	9.193E-02	12	7.661E-03		
Total	1950.608	18			
Corrected Total	11.209	17			

a R Squared = .992 (Adjusted R Squared = .988)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

Acetate	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
16.000	3	9.12000					
1.000	3		9.83000				
.000	3			10.23000			
8.000	3				10.47000		
4.000	3					11.18000	
2.000	3						11.45000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 7.661E-03.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.23 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยเฟอรัสซัลเฟตต่อการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้ง

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.043E-02	5	1.009E-02	23.976	.000
Intercept	17.892	1	17.892	42532.873	.000
Fe	5.043E-02	5	1.009E-02	23.976	.000
Error	5.048E-03	12	4.207E-04		
Total	17.948	18			
Corrected Total	5.548E-02	17			

a R Squared = .909 (Adjusted R Squared = .871)

น้ำหนักเซลล์แห้ง

Duncan

Fe	N	Subset			
		1	2	3	4
.000	3	.93900			
.010	3	.94900			
.020	3	.96900	.96900		
.040	3		.99800		
.080	3			1.03600	
.160	3				1.09100
Sig.		.113	.109	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 4.207E-04.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

ตารางที่ ง.24 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการชักนำด้วยโซเดียมอะซีเตทต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061

Anova

Dependent Variable: ปริมาณแคโรทีนอยด์

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.411	5	1.082	365.632	.000
Intercept	2713.634	1	2713.634	916820.018	.000
Fe	5.411	5	1.082	365.632	.000
Error	3.552E-02	12	2.960E-03		
Total	2719.081	18			
Corrected Total	5.447	17			

a R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .991)

ปริมาณแคโรทีนอยด์

Duncan

Fe	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
.000	3	11.53000					
.010	3		11.82000				
.020	3			12.08000			
.040	3				12.34000		
.080	3					12.74000	
.160	3						13.16000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

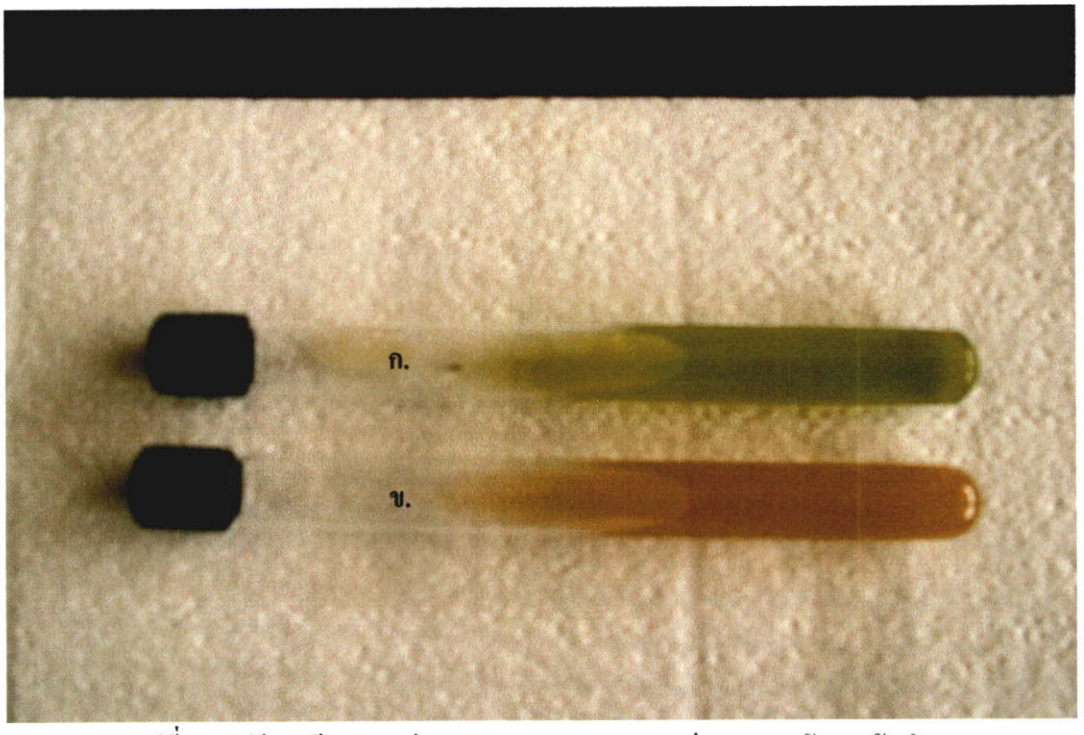
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 2.960E-03.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

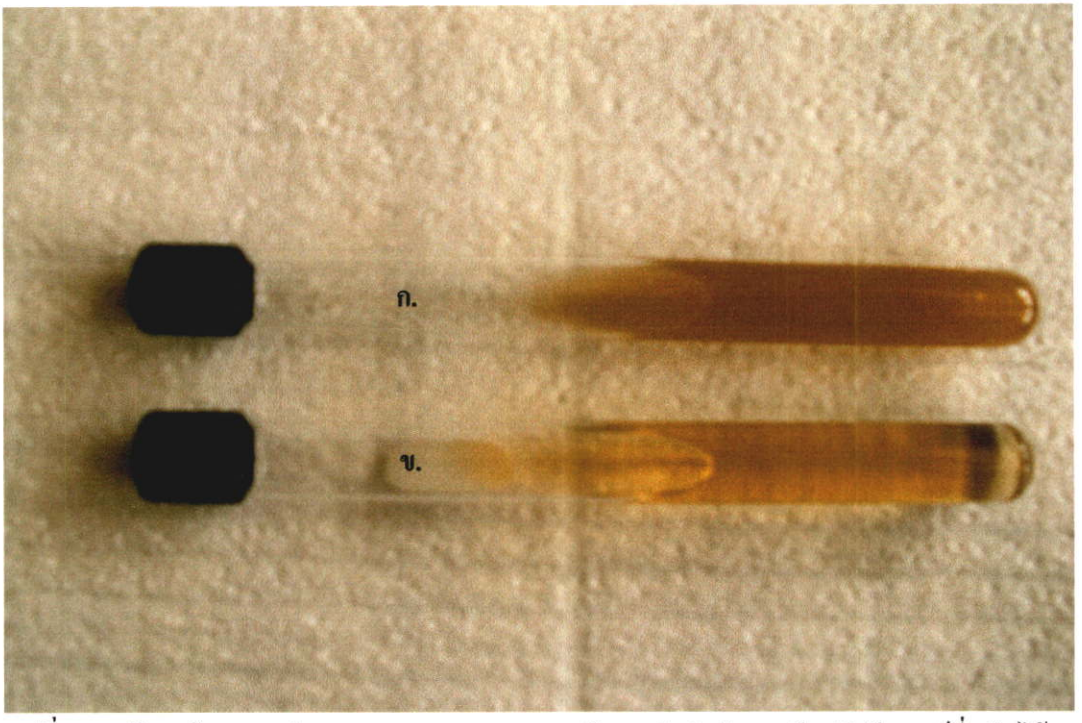
ภาคผนวก จ

รูปประกอบ



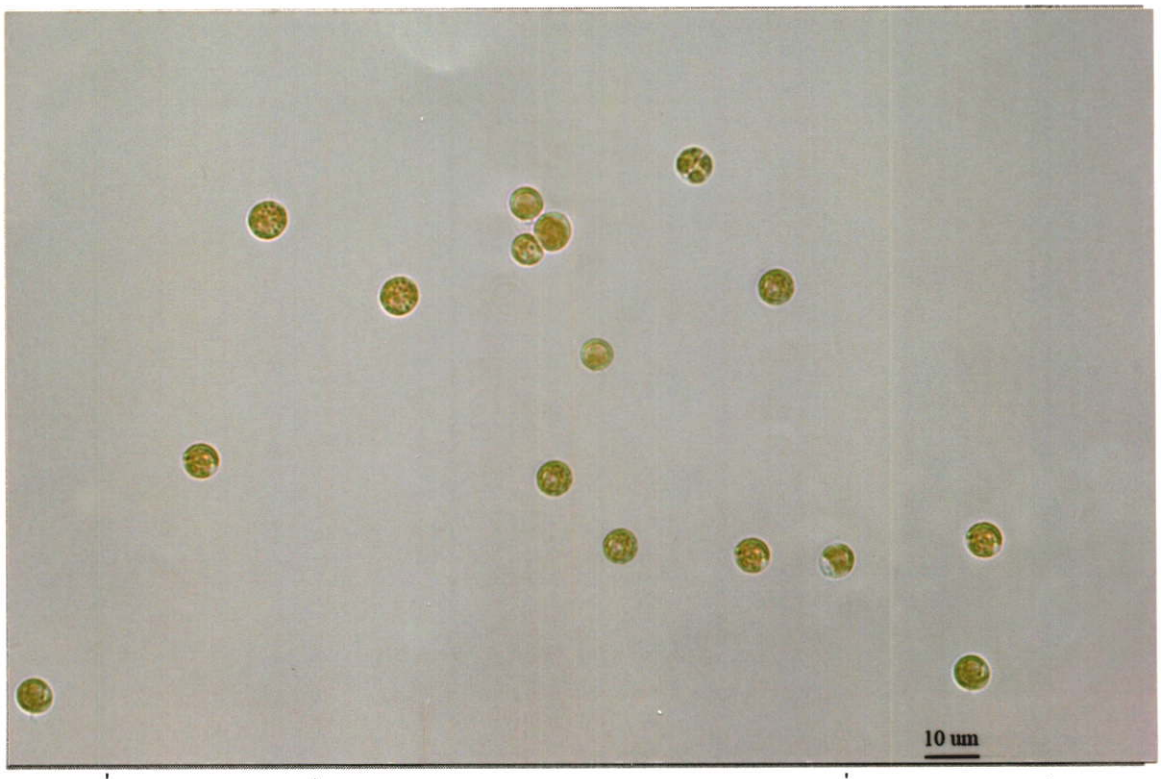
รูปที่ จ.1 เปรียบเทียบสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ก่อนและหลังการชักนำ

ก. คือ สาหร่ายก่อนการชักนำ ข. คือ สาหร่ายหลังการชักนำ

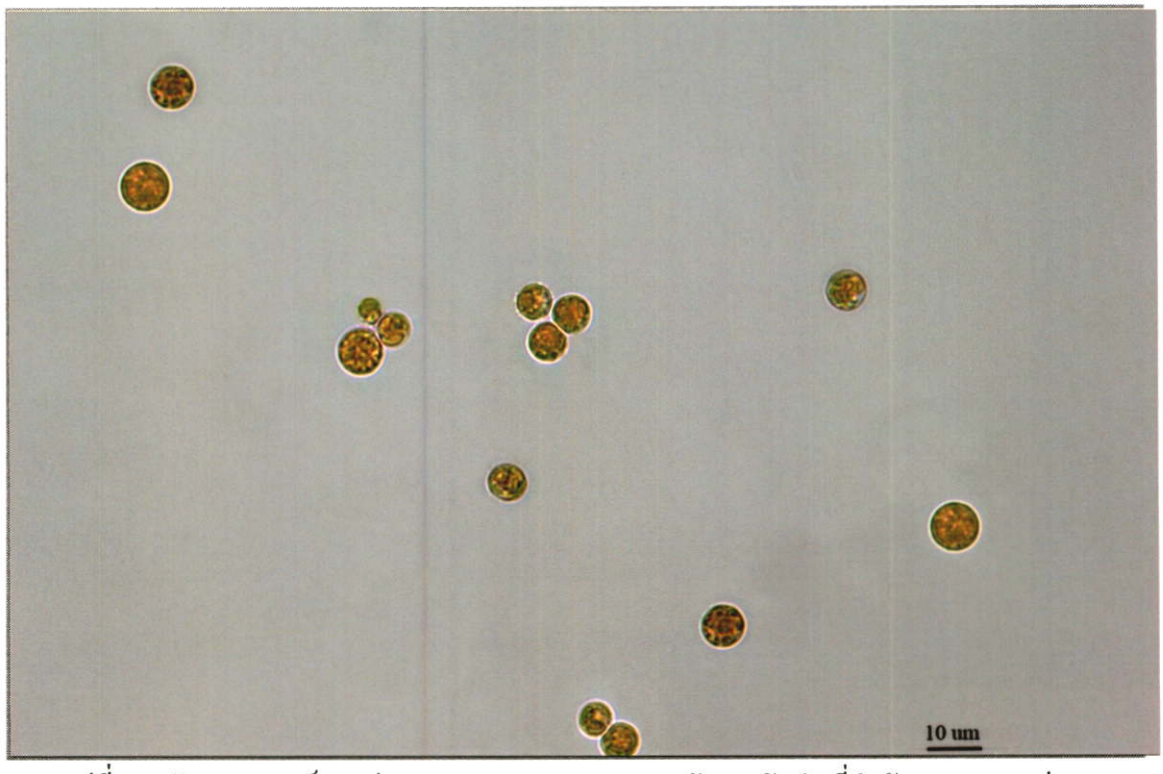


รูปที่ จ.2 เปรียบเทียบสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 หลังการชักนำกับสารสีแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้

ก. คือ สาหร่ายหลังการชักนำ ข. คือ สารสีแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้



รูปที่ จ.3 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ก่อนการชักนำ ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ จ.4 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 หลังการชักนำ ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายพงศ์ธร เครือวณิชธรรม
วัน เดือน ปีเกิด	8 กันยายน 2523
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2544 และเข้าศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2545