

สภาวะการเลี้ยง *Scenedesmus* sp. ที่เหมาะสม

OPTIMUM CONDITION FOR SCENEDESMUS SP.  
CULTIVATION

กิตติวรา ทอมประทุม  
ชญามุก ศิลาบุญศักดิ์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

สภาวะการเลี้ยง *Scenedesmus* sp. ที่เหมาะสม

OPTIMUM CONDITION FOR *SCENEDESMUS* SP.  
CULTIVATION

กิตติวรา หอมประทุม  
ชญามุก ศีลาบุญศักดิ์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560



OPTIMUM CONDITION FOR *SCENEDESMUS* SP.  
CULTIVATION

KITTIWARA HOMPRATHUM  
CHAYAMUK SILABOONSAK

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)  
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2017

หัวข้อโครงการพิเศษ	สภาวะการเลี้ยง <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เหมาะสม Optimum Condition for <i>Scenedesmus</i> sp. Cultivation
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกิตติวรา หอมประทุม รหัสนักศึกษา 57050670 นางสาวชญามุก ศิลาบุญศักดิ์ รหัสนักศึกษา 57050676
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.วีณา ชูโชติ ประธานกรรมการ	
ดร.วิภาวี เดชดีศักดิ์ กรรมการ	
ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ที่ปรึกษา	ดวงกมล เรือนงาม

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	สภาวะการเลี้ยง <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เหมาะสม
ชื่อนักศึกษา	Optimum Condition for <i>Scenedesmus</i> sp. Cultivation นางสาวกิตติวรา หอมประทุม รหัสนักศึกษา 57050670 นางสาวชญามุก ศิลาบุญศักดิ์ รหัสนักศึกษา 57050676
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม

### บทคัดย่อ

ในปัจจุบันผู้คนใช้ชีวิตอย่างเร่งรีบและเกิดความเครียดได้ง่าย เป็นสาเหตุที่ทำให้ร่างกายถูกทำลายด้วยสารอนุมูลอิสระ ก่อให้เกิดการเสื่อมถอยของร่างกาย พบว่าในสาหร่าย *Scenedesmus* sp. มีสารต้านอนุมูลอิสระที่หลากหลาย และสามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสาหร่าย *Scenedesmus* sp. เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถพบได้ในแหล่งน้ำทั่วไปตามธรรมชาติของประเทศไทย ปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่าย ซึ่งงานวิจัยนี้ได้เห็นถึงความสำคัญดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง *Scenedesmus* sp. ที่มีลักษณะการเจริญเติบโตสูงสุด เพื่อผลิตสารต้านอนุมูลอิสระให้ได้ในปริมาณมาก โดยใช้สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง แสงสีน้ำเงิน แสงสีส้มขาว จากหลอดแอลอีดี และในที่มืด (control) (800, 1362.5, 4975 และ 0 ลักซ์ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังศึกษาความเข้มข้นของไนเตรท ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ความเข้มข้นที่ศึกษาคือ 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร จากการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตและศึกษาสารสำคัญใน *Scenedesmus* sp. ได้แก่ คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี แคโรทีนอยด์ ลูทีน ฟลาโวนอยด์ ทั้งหมด และฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแตกต่างกัน โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน และทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน จากการศึกษาพบว่า แสงสีแดงมีผลผลิตภาพการผลิตสารได้ปริมาณสูงสุด ได้แก่ คลอโรฟิลล์เอและบี ( $2.79 \pm 0.38$  และ  $5.32 \pm 0.73$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ) แคโรทีนอยด์ ( $10.79 \pm 1.60$  มิลลิกรัมต่อลิตร) ลูทีน ( $0.28 \pm 0.03$  ไมโครกรัมต่อกรัม) และที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีการผลิตสารสำคัญสูงสุด คลอโรฟิลล์เอและบี ( $2.76 \pm 0.19$  และ  $5.26 \pm 0.35$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) แคโรทีนอยด์ ( $10.66 \pm 0.29$  มิลลิกรัมต่อลิตร) ลูทีน ( $0.15 \pm 0.01$  ไมโครกรัมต่อกรัม)

คำสำคัญ : สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม, ไนเตรท, สารต้านอนุมูลอิสระ, สาหร่าย *Scenedesmus* sp., แสงสี

Title	Optimum Condition for <i>Scenedesmus</i> sp. Cultivation
Students	Miss Kittiwara Homprathum Student ID 57050670 Miss Chayamuk Silaboonsak Student ID 57050676
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Assist.Prof.Dr. Duangkamol Ruen-ngam

### Abstract

*Scenedesmus* sp. is a microalgae that can be found in the natural water in Thailand. It is the role of oil production, photosynthesis and various types of antioxidant production. Therefore, nowadays many researches focus on the importance of antioxidant production of algal. This study has the purpose of optimum conditions for *Scenedesmus* sp., which has the maximum growth and produced antioxidants. By using the condition of light colors including red, blue and warm white from LEDs lamp and darkness (800, 1362.5, 4975 and 0 lux, respectively). In addition, we also study the condition of nitrate concentrations, which is an important factor for the growth characteristics. The concentrations studied were 0, 0.75, 1.5, 2.25 and 3 g/L. Study on the growth characteristics and important substances in *Scenedesmus* sp. include chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid, lutein, flavonoids and phenolics by using measurement absorptions with different wavelengths. The cultivation is done for 30 days and is collected every 2 days. The study found that the condition of red light produces the highest important substances include chlorophyll a and chlorophyll b ( $2.79 \pm 0.38$  and  $5.32 \pm 0.73$   $\mu\text{g/mL}$ , respectively), carotenoid ( $10.79 \pm 1.60$  mg/L) and lutein ( $0.28 \pm 0.03$   $\mu\text{g/g}$ ). The study also found the condition of nitrate concentration at 0.75 g/L produces the highest important substances include chlorophyll a and chlorophyll b ( $2.76 \pm 0.19$  and  $5.26 \pm 0.35$   $\mu\text{g/mL}$ , respectively), carotenoid ( $10.66 \pm 0.29$  mg/L) and lutein ( $0.15 \pm 0.01$   $\mu\text{g/g}$ ).

**Keywords :** Optimum cultivation, Nitrate, Antioxidants, *Scenedesmus* sp., Light

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการพิเศษในเรื่องสภาวะการเลี้ยง *Scenedesmus* sp. ที่เหมาะสม ซึ่งจะสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีไม่ได้ หากไม่ได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลต่อไปนี้

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร.ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้ความรู้ คำปรึกษาและคำแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตรวจสอบแก้ไขปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆ ให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้นด้วยความเอาใจใส่อย่างดีเสมอมา ตลอดจนให้กำลังใจมาโดยตลอด ระยะเวลาในการทำโครงการพิเศษ อีกทั้งให้ความกรุณาในการให้คำแนะนำเพื่อแก้ไขปรับปรุง ข้อบกพร่องให้ถูกต้อง และมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ ประสาทวิชา ความรู้ และประสบการณ์ให้กับผู้จัดทำ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว เป็นอย่างสูงที่มีส่วนช่วยเป็น กำลังใจ และสนับสนุนให้การทำโครงการพิเศษ นี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณ เพื่อนๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจในการทำโครงการพิเศษครั้งนี้

กิตติวิรา หอมประทุม

ชญามุก ศิลาบุญศักดิ์

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป .....	ฉ
<b>บทที่ 1 บทนำ .....</b>	<b>1</b>
1.1    ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2    วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3    ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....</b>	<b>4</b>
2.1 <i>Scenedesmus</i> sp. ....	4
2.1.1    ลักษณะของ <i>Scenedesmus</i> sp.....	4
2.1.2    รงควัตถุที่พบใน <i>Scenedesmus</i> sp.....	4
2.2    การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก .....	5
2.2.1    ระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	5
2.2.2    รูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก.....	6
2.2.3    สภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่าย.....	6
2.2.4    ระยะเวลาของการเลี้ยง .....	6
2.3    ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	7
2.3.1    แสง (Light).....	7

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.3.2	ธาตุอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก ..... 9
2.3.3	คาร์บอนไดออกไซด์..... 12
2.3.4	ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)..... 12
2.3.5	อุณหภูมิ (Temperature)..... 12
2.3.6	ออกซิเจน (oxygen)..... 12
2.4	การวัดการเจริญเติบโตและชีวมวล (Growth and biomass measurements)..... 13
2.4.1	การนับเซลล์ (Cell counts)..... 13
2.4.2	การหาความหนาแน่นโดยอาศัยแสง (Optical Density; OD) ..... 13
2.4.3	การวัดน้ำหนักแห้ง (Dry weight measurement)..... 13
2.4.4	การเก็บเกี่ยว ..... 13
2.5	สารอนุมูลอิสระ ..... 15
2.5.1	การเกิดสารอนุมูลอิสระ ..... 15
2.6	สารต้านอนุมูลอิสระ..... 17
2.6.1	กลไกการต้านอนุมูลอิสระ..... 18
2.6.2	สารต้านอนุมูลอิสระที่พบใน <i>Scenedesmus</i> sp. .... 18
2.7	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... 26
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย .....35</b>	
3.1	หัวข้อสาหร่าย ..... 35
3.2	อุปกรณ์และสารเคมี ..... 35
3.2.1	อุปกรณ์ ..... 35
3.2.2	สารเคมี ..... 37

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.3	แผนผังการทดลอง ..... 38
3.4	วิธีการทดลอง ..... 39
3.4.1	การติดตั้งระบบและสภาวะการเพาะเลี้ยงภายในห้องปฏิบัติการ..... 39
3.4.2	การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย..... 39
3.4.3	การเตรียมหัวเชื้อบริสุทธิ์และการขยายขนาดการเพาะเลี้ยง..... 40
3.4.4	การเก็บตัวอย่าง และการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ ..... 41
3.4.5	การเก็บเซลล์สาหร่ายในรูปผงจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ..... 41
3.5	การวิเคราะห์ผล..... 42
3.5.1	การวัดการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย..... 42
3.5.2	การวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ..... 43
3.5.3	การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH..... 47
3.6	การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ..... 49
<b>บทที่ 4</b>	<b>ผลการวิจัยและการอภิปราย ..... 52</b>
4.1	การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีแสงสีต่างๆ ..... 52
4.1.1	การเจริญเติบโตของเซลล์ สาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. .... 52
4.1.2	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากเซลล์สาหร่าย ..... 57
4.2	การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแสงสีแดง ที่มีไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ..... 65
4.2.2	การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย ..... 65
4.2.2	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากเซลล์สาหร่าย ..... 71
4.3	ผลของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ..... 79
4.4	ผลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ..... 79

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	84
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	84
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	84
เอกสารอ้างอิง .....	85
ภาคผนวก.....	87
ภาคผนวก ก.....	88
ภาคผนวก ข.....	90
ภาคผนวก ค.....	91
ภาคผนวก ง .....	92
ภาคผนวก จ.....	93
ภาคผนวก ฉ.....	94
ภาคผนวก ช.....	97
ภาคผนวก ซ.....	100
ภาคผนวก ฌ.....	101
ภาคผนวก ญ.....	103
ภาคผนวก ด.....	106
ภาคผนวก ต.....	108
ภาคผนวก ถ.....	111
ภาคผนวก ท.....	113
ภาคผนวก ฑ .....	116
ภาคผนวก น.....	118
ภาคผนวก บ.....	138

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1	21
ตารางที่ 2.2	22
ตารางที่ 2.3	27
ตารางที่ 3.1	49
ตารางที่ 3.2	49
ตารางที่ 4.1	53
ตารางที่ 4.2	53
ตารางที่ 4.3	54
ตารางที่ 4.4	55
ตารางที่ 4.5	66
ตารางที่ 4.6	67
ตารางที่ 4.7	68
ตารางที่ 4.8	69
ตารางที่ 4.9	79

## สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.10	ลักษณะของ <i>Scenedesmus almatius</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่าในการเพาะเลี้ยงที่สภาวะแสงสีต่างๆ.....	80
ตารางที่ 4.11	ลักษณะของ <i>Scenedesmus almatius</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ในการเพาะเลี้ยงที่สภาวะแสงสีแดงร่วมกับไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	81
ตารางที่ ก1	ปริมาณสารอาหารหลักต่างๆ ของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 .....	88
ตารางที่ ก2	ปริมาณสารอาหารรองต่างๆ ของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 .....	89
ตารางที่ ฉ1	ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานเคอเวอซิติน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานเคอเวอซิตินที่ความเข้มข้นต่างๆ .....	102
ตารางที่ ญ1	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ของสารละลายเคอเวอซิติน ที่ความเข้มข้นต่างๆ .....	104
ตารางที่ ด1	ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ .....	107
ตารางที่ ต1	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ .....	109
ตารางที่ ถ1	ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	112
ตารางที่ ท1	ค่า % Inhibition ของสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ .....	114
ตารางที่ น1	ค่าจำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อ 1 ช่อง และปริมาณเซลล์ต่อมิลลิลิตร .....	119
ตารางที่ น2	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร และค่าน้ำหนักตัวอย่างเฉลี่ย ..	120
ตารางที่ น3	ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจากสารสกัดและน้ำหมัก .....	121
ตารางที่ น4	ปริมาณของคลอโรฟิลล์บีจากสารสกัดและน้ำหมัก.....	122
ตารางที่ น5	ปริมาณของลูทีน.....	123
ตารางที่ น6	ปริมาณของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดและน้ำหมัก.....	124
ตารางที่ น7	ปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัดและน้ำหมัก.....	125
ตารางที่ น8	ปริมาณของฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดและน้ำหมัก.....	126

## สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ น9    แสดงปริมาณร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) จากสารสกัดและน้ำหมัก .....	127
ตารางที่ น10   ค่าจำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อ 1 ช่อง และปริมาณเซลล์ต่อมิลลิลิตร.....	129
ตารางที่ น11   ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร และน้ำหนักเซลล์แห้ง .....	130
ตารางที่ น12   ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจากสารสกัดและน้ำหมัก.....	131
ตารางที่ น13   ปริมาณของคลอโรฟิลล์บีจากสารสกัดและน้ำหมัก.....	132
ตารางที่ น14   ปริมาณของลูทีน.....	133
ตารางที่ น15   ปริมาณของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดและน้ำหมัก.....	134
ตารางที่ น16   ปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัดและน้ำหมัก.....	135
ตารางที่ น17   ปริมาณของฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดและน้ำหมัก.....	136
ตารางที่ น18   แสดงปริมาณร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) จากสารสกัดและน้ำหมัก.....	137
ตารางที่ บ1.1   การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	139
ตารางที่ บ1.2   ANOVA ของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	140
ตารางที่ บ1.3   ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	140
ตารางที่ บ2.1   การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	141
ตารางที่ บ2.2   ANOVA ของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	142
ตารางที่ บ2.3   ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	142
ตารางที่ บ3.1   การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	143
ตารางที่ บ3.2   ANOVA ของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	144





## สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ บ13.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของพืชนอกจากน้ำหมัก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	163
ตารางที่ บ13.2 ANOVA ของค่า Productivity ของพืชนอกจากน้ำหมักภายใต้สภาวะการ เพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	164
ตารางที่ บ13.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของพืชนอกจากน้ำหมัก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ.....	164
ตารางที่ บ14.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	165
ตารางที่ บ14.2 ANOVA ของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะการ เพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	166
ตารางที่ บ14.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้ สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	166
ตารางที่ บ15.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่น เซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	167
ตารางที่ บ15.2 ANOVA ของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ภายใต้สภาวะ การเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	168
ตารางที่ บ15.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	168
ตารางที่ บ16.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จาก สารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	169
ตารางที่ บ16.2 ANOVA ของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะ การเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	170
ตารางที่ บ16.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จาก สารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	170
ตารางที่ บ17.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จาก น้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	171
ตารางที่ บ17.2 ANOVA ของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะ การเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ.....	172





## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 ลักษณะของ <i>Scenedesmus</i> sp. ....	23
รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของแคโรทีนอยด์.....	23
รูปที่ 2.3 ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก.....	24
รูปที่ 2.4 ปฏิกริยาแสงที่เกี่ยวข้องกับระบบแสง.....	24
รูปที่ 2.5 การดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี.....	25
รูปที่ 2.6 แสดงอัตราการสังเคราะห์แสงของพืชในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ.....	25
รูปที่ 3.1 ระบบเพาะเลี้ยงแบบใช้แสงสีต่างๆ.....	50
รูปที่ 3.2 ระบบเพาะเลี้ยงสำหรับอาหารเพาะเลี้ยง BG-11 สูตรดัดแปลง.....	50
รูปที่ 3.3 อาหารเพาะเลี้ยง BG-11 สูตรดัดแปลงต่างๆ.....	51
รูปที่ 4.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	56
รูปที่ 4.2 ความหนาแน่นมวลชีวภาพของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	56
รูปที่ 4.3 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)....	57
รูปที่ 4.4 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	60
รูปที่ 4.5 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	60
รูปที่ 4.6 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	61

## สารบัญรูป(ต่อ)

### หน้า

รูปที่ 4.7 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	61
รูปที่ 4.8 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	62
รูปที่ 4.9 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	62
รูปที่ 4.10 ปริมาณลูทีนจากสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	63
รูปที่ 4.11 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	63
รูปที่ 4.12 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	64
รูปที่ 4.13 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	64
รูปที่ 4.14 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มีด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	65
รูปที่ 4.15 การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรทต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร.....	70



## สารบัญญรูป(ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.29 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	82
รูปที่ 4.30 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์).....	82
รูปที่ 4.31 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ จากสารสกัดของสาหร่าย ที่ความเข้มข้นไนเตรท ต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร.....	83
รูปที่ 4.32 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่ความเข้มข้นไนเตรท ต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร.....	83
รูปที่ ก1 การนำอาหารเพาะเลี้ยงมาฆ่าเชื้อผ่านความร้อนขึ้นด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ.....	89
รูปที่ ก2 อาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายสูตร BG-11 ชนิดแข็งแบบเอียง.....	89
รูปที่ ข1 การเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายเพื่อคัดเลือกเชื้อสาหร่ายบริสุทธิ์บนจานเพาะเลี้ยง.....	90
รูปที่ ข2 การเพาะเลี้ยงเชื้อสาหร่ายบริสุทธิ์บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 ชนิดแข็งแบบเอียง.....	90
รูปที่ ค1 การเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายในหลอดทดลองที่มีอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 ชนิดเหลว.....	91
รูปที่ ค2 การเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายในฟลาสก์ที่มีอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 ชนิดเหลว.....	91
รูปที่ ง1 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการเก็บตัวอย่างและสำหรับแยกตัวอย่างเซลล์ออกจากน้ำหมัก.....	92
รูปที่ ง2 ตัวอย่างเซลล์สาหร่ายที่แยกออกจากน้ำหมัก.....	92
รูปที่ จ1 สารผสมระหว่างเซลล์สาหร่ายกับสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 .....	93
รูปที่ จ2 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยการเขย่าบนเครื่องเขย่าแบบวน.....	93
รูปที่ ฉ1 การนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนทริฟิวจ์.....	94
รูปที่ ฉ2 การนำตัวอย่างเหลวบนกระดาษกรอง.....	94
รูปที่ ฉ3 ตัวอย่างเซลล์สาหร่ายหลังจากแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส.....	95
รูปที่ ฉ4 การนำเซลล์สาหร่ายนำเข้าเครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ.....	95

## สารบัญญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ ฉ5 ตัวอย่างเซลล์สำหรับยาล้างหลังจากนำเข้าเครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ.....	96
รูปที่ ซ1 ช่องตารางของสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์.....	97
รูปที่ ซ2 ขนาดความกว้าง, ยาว และลึก ของสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์.....	98
รูปที่ ซ1 การนำเซลล์สำหรับยาล้างเข้าเครื่องอบลมร้อน.....	100
รูปที่ ญ1 สารละลายเคอวอซิทินที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาในหลอดทดลอง.....	104
รูปที่ ญ2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานเคอวอซิทิน .....	105
รูปที่ ต1 สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาในหลอดทดลอง.....	109
รูปที่ ต2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก.....	110
รูปที่ ท1 การทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์กับสารละลาย DPPH และ สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 บนไมโครเวลเพลท.....	114
รูปที่ ท2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) กับความเข้มข้นของสารละลายโทรลอกซ์.....	115

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันคนใช้ชีวิตอย่างเร่งรีบ ทำให้ยากที่จะดูแลตัวเอง ความเครียดที่เกิดขึ้น การรับประทานอาหารสำเร็จรูปที่เสี่ยงปนเปื้อนสารเคมี และมลพิษที่ได้รับในแต่ละวัน จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้ร่างกายถูกทำลายด้วยสารอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิดการเสื่อมถอยของร่างกาย ปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่าย ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระมีคุณสมบัติชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระหรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระไม่ให้ดำเนินต่อไป พบว่าในสาหร่ายมีสารต้านอนุมูลอิสระที่หลากหลาย นอกจากนี้สาหร่ายเป็นที่รู้จักกันดีในฐานะผู้ผลิตแคโรทีนอยด์ หน้าที่หลักของแคโรทีนอยด์คือการดูดซับแสงในการสังเคราะห์แสง และแคโรทีนอยด์บางชนิดที่มีอยู่ในเซลล์สร้างขึ้นเพื่อป้องกันความเสียหายจากการออกซิเดชัน ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นตัวต่อต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ได้รับความสนใจที่จะนำมาใช้ในการเพิ่มสีหรือปรุงแต่งผลิตภัณฑ์อาหาร และในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์หรือผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ (Guedes และคณะ, 2011) ภายใต้สภาวะที่ก่อให้เกิดความเครียดต่อเซลล์ ได้แก่ การได้รับแสงปริมาณมาก การลดปริมาณสารอาหารให้ต่ำกว่าความต้องการของเซลล์ ปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิที่สูงหรือต่ำ กระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์สาหร่ายจะถูกเปลี่ยนแปลงและกิจกรรมของการสังเคราะห์แสงอาจลดลง อาจมีผลต่อการเกิดสารอนุมูลอิสระ (Faraloni และ Torzillo, 2017) ในการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถผลิตได้จาก 2 กระบวนการ คือ การสังเคราะห์ทางเคมีและการสกัดจากสิ่งมีชีวิต แต่ผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้ความสนใจกับสารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติมากกว่าการสังเคราะห์ทางเคมีที่อาจก่อให้เกิดการตกค้างของสารเคมีต่างๆ ดังนั้นการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายมีความน่าสนใจมากกว่าการผลิตจากสิ่งมีชีวิตอื่น (Borowitzka และคณะ, 1990) สาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus* sp. เป็นแหล่งสำคัญในการผลิตแคโรทีนอยด์ จึงได้รับความสนใจในการนำมาศึกษาและมีแนวโน้มว่าจะเป็นแหล่งทางเลือกที่ใช้แทนการผลิตแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรือง ถึงแม้ดอกดาวเรืองจะมีความสำคัญต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ในเชิงพาณิชย์ อย่างไรก็ตามการปลูกดอกดาวเรืองใช้เวลานานในการเพาะปลูกและยังใช้แรงงานในการเก็บเกี่ยวดอกดาวเรือง (Piccaglia และคณะ, 1998)

มีงานวิจัยได้ศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus incrasatulus* โดยทำการเพาะเลี้ยงแบบ Batch และ Fed-batch ภายใต้การดัดแปลงความเข้มข้นของไนโตรเจนต่างๆ เพื่อดูการสะสมของแคโรทีนอยด์ และประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง พบว่าการเพาะเลี้ยงแบบ Fed-

batch มีผลทำให้ แคโรทีนอยด์และลูทีนเพิ่มสูงขึ้น (Ceron-garcia และคณะ, 2010) จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Nannochloropsis* ภายใต้สภาวะที่มีความเข้มแสงแตกต่างกันจากหลอด LEDs พบว่าแสงสีแดงจากหลอด LEDs มีผลทำให้ผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น (Ruijuan และคณะ, 2018) แต่มีงานวิจัยกล่าวว่าการเพิ่มขึ้นของ แคโรทีนอยด์ที่มากเกินไปมีผลทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าการเป็นประโยชน์ นอกเหนือจากสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบต่างๆ เพื่อให้ได้แคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น วิธีการและประสิทธิภาพในการสกัดก็มีผลต่อการสกัดแคโรทีนอยด์ให้ได้ค่าผลได้สูง (Larsen และ Christensen, 2005)

การศึกษาในครั้งนี้ มุ่งเน้นศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus* sp. ที่เหมาะสม เพื่อหาสารสำคัญที่อยู่ในสาหร่าย เช่น แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์เอ และบี ลูทีน ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฟีนอลิกทั้งหมด ให้ได้ปริมาณมาก ภายใต้เงื่อนไขที่กำหนด เพื่อให้ได้สภาวะที่ทำให้การผลิตสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น โดยการดัดแปลงสูตรอาหารจากสูตรอาหาร BG-11 และการให้ความเข้มแสงกับปริมาณแสงที่ให้แตกต่างกัน

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ เพื่อดูอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* sp.
- 2) ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ เพื่อหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสาหร่าย *Scenedesmus* sp.
- 3) ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงภายใต้อาหารที่มีไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ เพื่อดูอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* sp.
- 4) ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงภายใต้อาหารที่มีไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ เพื่อหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ที่ได้จากสาหร่าย *Scenedesmus* sp.

### 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน ด้วยอาหารสูตร BG-11 ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 5$  องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นร้อยละ  $65 \pm 5$  บนเครื่องเขย่าแบบวนที่มีความเร็ว  $122 \pm 2$  รอบต่อนาที
- 2) ใช้สภาวะแสงที่แตกต่างกัน ได้แก่ แสงสีแดง แสงสีน้ำเงิน แสงสีส้มขาว แสงสีขาว และในที่มืด จากสภาวะแสงที่ดีที่สุด นำมาเลี้ยงต่อในสภาวะความเข้มข้นไนเตรทแตกต่างกัน ได้แก่ 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร
- 3) การเลี้ยงทั้งสองสภาวะได้ศึกษาปริมาณ แคโรทีนอยด์ (Pribyl และคณะ, 2015) ลูทีน (Wang และคณะ, 2006) คลอโรฟิลล์ เอ กับบี (Wellburn, 1994) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Rice-Evans และคณะ) และฟีนอลิกทั้งหมด (Rice-Evans และคณะ) เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุด

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบสภาวะที่ส่งผลให้ *Scenedesmus* sp. สามารถเพิ่มปริมาณการเจริญเติบโต ปริมาณ แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์เอ และบี ปริมาณลูทีน ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 *Scenedesmus* sp.

อนุกรมวิธาน

Division Chlorophyta

Class Chlorophyceae

Order Chlorococcales

Family Scenedesmaceae

Genus *Scenedesmus*

#### 2.1.1 ลักษณะของ *Scenedesmus* sp.

เป็นโคโลนีที่ประกอบด้วยเซลล์จำนวน 2,4,8 หรือ 16 เซลล์ มาเรียงต่อกันด้านข้างตามความยาวของเซลล์ แต่ละเซลล์มีลักษณะเป็นรูปไข่ หรือทรงกระบอก หรือพระจันทร์ครึ่งซีก เซลล์ที่อยู่ด้านริมสุดทั้งสองด้านอาจมีหนาม (spine) ยื่นออกมา (ดังรูปที่ 2.1) บางชนิดก็ไม่มีคลอโรพลาสต์เป็นแผ่นเต็มเซลล์ มีไพรินอยด์และนิวเคลียสเซลล์ละ 1 อัน เท่ากับจำนวนเซลล์ปกติของ *Scenedesmus* ชนิดนั้น เมื่อแก่ก็จะหลุดออกมาจากผนังเซลล์ของแม่จับกันเป็นโคโลนีใหม่ ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยการสร้างแกมีทที่มีแฟลเจลลัม 2 เส้น แล้วมีการรวมกันแบบไอโซแกมี เป็นสาหร่ายที่มีชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืช ในน้ำจืด หรืออาจพบในดินบ้าง ถ้านำมาเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงสาหร่ายมักจะจับกันเป็นโคโลนี แต่มักจะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว (ยิวตี, 2549)

#### 2.1.2 รงควัตถุที่พบใน *Scenedesmus* sp.

คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุสีเขียวที่สำคัญในพืชและสาหร่ายสีเขียว คลอโรฟิลล์เป็นส่วนที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชโดยทำหน้าที่ดูดพลังงานจากแสงแดดเพื่อสร้างคาร์โบไฮเดรตจากคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ แต่จะไม่คงตัวต่อ ความร้อน เมื่อได้รับความร้อนจะทำให้สีเขียวเปลี่ยนเป็นสีอื่นๆ (จริงแท้, 2549) ซึ่งคลอโรฟิลล์ที่พบในพืชมี 2 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี โครงสร้างของคลอโรฟิลล์จะมีลักษณะคล้ายกับโครงสร้างของฮีมในเม็ดเลือดแดง โดยมีอะตอมกลางเป็น

เหล็ก (Fe) แต่ในคลอโรฟิลล์จะมีอะตอมกลางเป็นแมกนีเซียม (Mg) คลอโรฟิลล์แต่ละชนิดจะมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป เช่น คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี มีโครงสร้างที่แตกต่างกันเพียงตำแหน่งวงแหวนไพโรล วงที่สองของคลอโรฟิลล์ เอ จะแทนที่ด้วยหมู่เมทิล (-CH<sub>3</sub>) ส่วนคลอโรฟิลล์ บี เป็นหมู่อัลดีไฮด์ (-CHO) (นิธิยา, 2549) ซึ่งโครงสร้างที่แตกต่างกัน จะทำให้คุณสมบัติแตกต่างโดยเฉพาะความสามารถในการละลาย โดยที่หมู่เมทิลในโครงสร้างของ คลอโรฟิลล์เอจะทำให้โมเลกุลมีขั้ว ดังนั้นจึงละลายได้ดีในสารละลายที่มีขั้ว

แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นรงควัตถุสีเหลือง ส้ม หรือแดง แคโรทีนอยด์ถูกจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบไฮโดรคาร์บอนและอนุพันธ์ของไฮโดรคาร์บอน มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ โครงสร้างของแคโรทีนอยด์จะประกอบไปด้วยหน่วยย่อยของไอโซพรีน (Isoprene) เชื่อมต่อกัน 8 หน่วยย่อย (ดังรูปที่ 2.2) ที่สังเคราะห์จากสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์แสง แคโรทีนอยด์แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มแคโรทีน (Carotene) และกลุ่มออกซีแคโรทีนอยด์ (Oxycarotenoid) หรือกลุ่มแซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) แคโรทีนอยด์ที่มักพบใน *Scenedesmus* sp. ในกลุ่มแคโรทีน ได้แก่ เบต้าแคโรทีน, แอลฟาแคโรทีน, โลโคปิน ส่วนในกลุ่มแซนโทฟิลล์ ได้แก่ ลูทีน, ซีแซนทิน และแอสตาแซนทิน (ยุวดี, 2549)

## 2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

### 2.2.1 ระยะเวลาต่างๆ ของการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก (จกกล, 2546)

การศึกษาระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กนั้น มีประโยชน์ในการตรวจสอบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้ผู้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายควรเข้าใจลักษณะการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ 5 ระยะ ดังรูปที่ 2.3

- 1) ระยะปรับตัว (Lag phase)
- 2) ระยะเอ็กโปเนนเชียล (Exponential phase)
- 3) ระยะเฉื่อย (Retardation phase or phase of declining relative growth)
- 4) ระยะคงที่ (Stationary phase)
- 5) ระยะตาย (Death phase)

### 2.2.2 รูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก มี 2 รูปแบบ ได้แก่

การเพาะเลี้ยงในบ่อเปิดหรือการเพาะเลี้ยงในระบบเปิด (Open-system) และการเพาะเลี้ยงโดยใช้ถังปฏิกรณ์หรือการเพาะเลี้ยงในระบบปิด (Close-system bioreactors) ซึ่งมีหลาย ลักษณะ เช่น แบบแนวตั้ง แนวราบ และทรง กระบอก เป็นต้น โดยข้อดีและข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงในรูปแบบต่างๆ นี้ สรุปได้ดังตารางที่ 2.1 โดยจากตารางที่ 2.1 จะเห็นว่ารูปแบบของการเพาะเลี้ยงแต่ละรูปแบบมีข้อดีและข้อจำกัดที่แตกต่างกัน จึงต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ในการเพาะเลี้ยง ชนิดของสาหร่าย และสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มผลผลิตชีวมวล

### 2.2.3 สภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่าย สามารถแบ่งออกได้ 3 สภาวะ ได้แก่

แบบที่ 1 ออโตโทรฟิก (Autotrophic cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ใช้แสงและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากธรรมชาติเป็นหลัก ในการเจริญเติบโตและสังเคราะห์สาร ชีวมวลต่างๆ หรือ คือการใช้อนินทรีย์คาร์บอนเป็นแหล่งพลังงาน แบบที่ 2 เฮเทอโรโทรฟิก (Heterotrophic cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดย ใช้สารประกอบอินทรีย์ เช่น กลูโคส ซูโครส หรือน้ำตาล เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ซึ่งจะเพาะเลี้ยงในที่ที่ไม่มีแสงหรือในที่มืดตลอดเวลา และแบบที่ 3 มิกโซโทรฟิก (Mixotrophic cultivation) เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้ สารประกอบอินทรีย์คาร์บอนและแสง เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน โดยแสงที่ใช้ อาจเป็นแสงจาก ธรรมชาติหรือจากหลอดไฟ ภายในระยะที่เหมาะสม

### 2.2.4 ระยะเวลาของการเลี้ยง แบ่งเป็น 2 ประเภท

การเลี้ยงระยะยาว (Long term culture) วัตถุประสงค์ซึ่งการเลี้ยงเพื่อเก็บหัวเชื้อ (Stock culture) สำหรับใช้ครั้งต่อไป ดังนั้นสารอาหารควรเป็นชนิดที่สามารถเลี้ยงให้คุณภาพดีได้นาน ตั้งแต่ 3 เดือนถึง 1 ปี โดยไม่ต้องมีการถ่ายเชื้อ (Subculture) สำหรับรูปปัจจัยที่ควรคำนึงถึงคือรูปแบบของอาหารที่เหมาะสม ในการเลี้ยงระยะยาวอาหารที่เหมาะสมคือ อาหารวุ้น (Solid หรือ Agar media) อีกปัจจัยคืออุณหภูมิ ควรต่ำกว่า 5 ถึง 8 องศาเซลเซียส ส่วนการเลี้ยงระยะสั้น (Short term culture) เป็นประเภทการเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาหรือทำเป็นอุตสาหกรรมระยะสั้น นิยมใช้อาหารเหลวมากกว่าอาหารแข็ง

## 2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตหรือการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่าย เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการเพาะเลี้ยงระดับใหญ่ขึ้น ซึ่งจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่ายชนิดต่างๆ โดยปัจจัยที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ แสง ธาตุอาหาร คาร์บอนไดออกไซด์ ค่าความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ และ ออกซิเจน (Junying, Junfeng และ Baoning, 2013) โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

### 2.3.1 แสง (Light)

ความเข้ม ความยาวคลื่น และความถี่ของแสง มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงและการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยความสามารถในการดูดซับแสงในช่วงความยาวคลื่นสูงสุดของสาหร่าย (680 นาโนเมตร หรือ 700 นาโนเมตร) จะแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ของสาหร่ายแต่ละชนิด โดยทั่วไปในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กจะใช้แสงสว่างจากธรรมชาติ เนื่องจากสเปกตรัมของแสงธรรมชาติมีประโยชน์ต่อสาหร่ายมากกว่าแสงประดิษฐ์ (เช่น แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์)

แสงที่มองเห็นได้ (Visible light) แสงขาวที่จริงแล้วยังประกอบด้วยแสงสีที่รวมกันเรียกว่า สเปกตรัม (Spectrum) ประกอบด้วยเจ็ดสีได้แก่ ม่วง คราม น้ำเงิน เขียว เหลือง ส้ม แดง โดยสีม่วงจะมีพลังงานมากที่สุด (ความยาวคลื่นสั้น) และพลังงานจะลดลงเรื่อยๆ ตามลำดับ จนกระทั่งสีแดงที่มีพลังงานต่ำสุด (ความยาวคลื่นยาว) ปรากฏการณ์การเกิดสเปกตรัมของแสงขาว ความยาวคลื่นที่ต่างกันจะหักเหด้วยมุมที่ไม่เท่ากัน เราจึงมองเห็นสีแสงขาวแยกสเปกตรัมเป็นสีต่างๆ ได้เมื่อนำฉากไปรับ สเปกตรัมของแสงขาว (Colors of visible light) คลื่นแสงที่ตาของมนุษย์สามารถมองเห็นได้อยู่ในช่วงประมาณ 400 ถึง 800 นาโนเมตร แสงที่ตามองเห็นจะเป็นสีผสม (complementary) หรือสีที่อยู่ตรงข้ามของสีที่ถูกดูดกลืนเมื่อเทียบตามตารางที่ 2.2

รงควัตถุ เช่น แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ เอ บี และอื่นๆ ในคลอโรพลาสต์ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์แสง จะสะสมอยู่ที่เยื่อหุ้มไทลาคอยด์ที่เป็นส่วนของระบบแสง โดยรงควัตถุที่เรียงตัวอยู่รอบๆ จะทำหน้าที่ดูดซับพลังงานจากแหล่งแสงแล้วส่งต่อไปเรื่อยๆ ซึ่งเรียกรงควัตถุที่เรียงรอบนอกนี้ว่า แอนเทนนาคอมเพล็กซ์ (Antenna complexes หรือ Light-

Harvesting complexes; LHC) รงควัตถุที่เรียงตัวอยู่รอบนอกจะถ่ายเทพลังงานไปยังรงควัตถุที่อยู่ด้านใน พลังงานจะถูกสะสมในโมเลกุลมากขึ้น และสุดท้ายส่งต่อไปให้คลอโรฟิลล์ เอ โมเลกุลพิเศษ (ดังรูปที่ 2.4) ซึ่งอยู่ในศูนย์กลางของระบบแสง (Reaction center) แต่เนื่องจากคลอโรฟิลล์ เอ นี้ได้เชื่อมกับโปรตีนต่างชนิดกัน จึงทำให้คุณสมบัติในการรับแสงที่ความยาวคลื่นต่างกันเล็กน้อยจึงแบ่งออกเป็น 2 ระบบ โดยใช้ชนิดของรงควัตถุในศูนย์กลางของปฏิกิริยาเป็นเกณฑ์ในการจำแนกเป็น (1) ระบบแสง 1 (Photosystem I) ประกอบด้วยรงควัตถุที่มีคลอโรฟิลล์ เอ ชนิดที่ดูดกลืนแสงได้ดีที่สุดในช่วงคลื่น 700 นาโนเมตร เรียกศูนย์กลางของปฏิกิริยาของระบบแสง 1 นี้ว่า P700 และ (2) ระบบแสง 2 (Photosystem II) ประกอบด้วยรงควัตถุที่มีคลอโรฟิลล์ เอ ชนิดที่ดูดกลืนแสงได้ดีที่สุดในช่วงคลื่น 680 นาโนเมตร เรียกศูนย์กลางของปฏิกิริยาของระบบแสง 2 นี้ว่า P680 เมื่อโมเลกุลมีพลังงานสูงขึ้นๆ และถ่ายอิเล็กตรอนที่มีระดับพลังงานสูงนี้ไปยังตัวรับอิเล็กตรอน ทำให้เกิดการสร้างพลังงานเคมี เป็นการเปลี่ยนพลังงานแสงให้เป็นพลังงานเคมีในรูปของ ATP และ NADPH

ช่วงความยาวคลื่นที่คลอโรฟิลล์ดูดกลืนแสง โดยความแตกต่างในโครงสร้างของคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี มีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ทั้งการดูดกลืนและการสะท้อนแสง ดังรูปที่ 2.5 โดยคลอโรฟิลล์ เอ ดูดกลืนแสงได้ดีที่สุดที่ความยาวคลื่นแสง 430 นาโนเมตร และ 662 นาโนเมตร และสะท้อนแสงทำให้มองเห็นเป็นสีเขียวสด ในขณะที่คลอโรฟิลล์ บี ดูดกลืนแสงได้ดีที่สุดที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร และจะสะท้อนแสงทำให้มองเห็นเป็นสีเขียวตองอ่อน โมเลกุลของคลอโรฟิลล์จะจับกับโปรตีนซึ่งฝังแน่นอยู่ในเยื่อของไทลาคอยด์ นอกจากนี้ยังมีโปรตีนอื่น ๆ ที่ช่วยในการถ่ายทอดพลังงานจากโมเลกุลหนึ่งไปยังโมเลกุลอื่นๆ ฝังอยู่ในเยื่อไทลาคอยด์อีกด้วย

ช่วงความยาวคลื่นที่แคโรทีนอยด์ดูดกลืนแสง แคโรทีนอยด์ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นแตกต่างจากคลอโรฟิลล์ โดยจะดูดกลืนแสงได้ดีที่สุดในช่วงความยาวคลื่น 480 ถึง 520 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงของแสงสีเขียว และเป็นช่วงที่คลอโรฟิลล์ เอ ดูดกลืนแสงได้น้อย ดังนั้น แคโรทีนอยด์จึงมีบทบาทช่วยในการสังเคราะห์แสงทางอ้อม โดยการรับพลังงานแสงแล้วถ่ายทอดพลังงานให้แก่คลอโรฟิลล์ เอ อีกทอดหนึ่ง เมื่อพิจารณารูปที่ 2.6 แสดงอัตราการสังเคราะห์แสงของพืชในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ จะพบว่าเมื่ออัตราการสังเคราะห์ด้วย

แสงเกิดขึ้นได้มากในช่วงความยาวคลื่นที่สารสีต่างๆ ดูดกลืนได้มาก แสดงว่าการดูดกลืนแสงของสารสีต่างๆ เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสง

2.3.2 ธาตุอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก (จกกล และ ขจรเกียรติ, 2548) ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้มีอัตราการเติบโตที่เหมาะสม ต้องใช้อาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารที่จำเป็นในปริมาณที่เพียงพอ โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มดังนี้

1. ธาตุอาหารหลัก (Macronutrient) หมายถึง ธาตุอาหารที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้สร้างโครงสร้าง เช่น ใช้ในการสร้างผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ สารสี โปรตีน คาร์โบไฮเดรต จึงมีความสำคัญและใช้ค่อนข้างมาก เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโพแทสเซียม

- คาร์บอน ที่สาหร่ายนำไปใช้แบ่งได้ 2 ประเภทคือ อนินทรีย์คาร์บอนโดยสาหร่ายจะนำไปใช้ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งละลายน้ำได้ หรือในรูปของเกลือคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนต และอนินทรีย์คาร์บอนจะใช้ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งจะช่วยให้การเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่างๆ ความต้องการสารประกอบคาร์บอนแตกต่างกันตามชนิดของสาหร่ายทั่วไป

- ไนโตรเจน มีความสำคัญรองจากคาร์บอนในแง่ของปริมาณ ไนโตรเจนในสาหร่ายมีประมาณ 7 ถึง 10 ของน้ำหนักแห้ง ปริมาณไนโตรเจนในอากาศมีอยู่ถึงร้อยละ 78 แต่สาหร่ายไม่สามารถนำไปใช้ได้ ไนโตรเจนที่สาหร่ายนำไปใช้ได้ คือ อนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนีย (Ammonia) ไนไตรท์ (Nitrite) และไนเตรท (Nitrate) แอมโมเนียจะถูกสาหร่ายนำไปใช้ก่อนไนเตรท ส่วนไนไตรท์ สาหร่ายต้องการในปริมาณที่น้อย หรืออาจไม่ใช้เลย สำหรับไนเตรทนั้นถ้าสาหร่ายนำไปใช้เมื่อดูดซึมเข้าสู่เซลล์แล้วต้องเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียก่อนจึงจะนำไปใช้ได้ ถ้าในน้ำมีแอมโมเนียและไนเตรท สาหร่ายจะเลือกดูดกลืนแอมโมเนียก่อน เพราะจะได้ไม่ต้องเสียพลังงานในการเปลี่ยนไนเตรทไปเป็นแอมโมเนีย ส่วน ไนโตรเจนชนิดอื่น ได้แก่ กรดอะมิโน (โดยเฉพาะกรดไกลซีน เซรีน อะลามีน กรดกลูตามิก และกรดแอสพาร์ติก) สาหร่ายต้องการใช้เพื่อการเติบโตซึ่งแตกต่างกันตามชนิดไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญต่อกระบวนการสร้างสารพันธุกรรมของสาหร่าย เป็นองค์ประกอบ

ของนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide) กรดอะมิโน และสารสีบางชนิด เช่น คลอโรฟิลล์ ถ้าสำหรับขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสง ละปริมาณสารสีของเซลล์

- ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงาน และกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก แม้ว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีปริมาณสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงกว่าอนินทรีย์ฟอสฟอรัส แต่สาหร่ายต้องการใช้อินทรีย์ฟอสฟอรัสมากกว่า โดยฟอสฟอรัสที่สาหร่ายต้องการจะอยู่ในรูปออร์โธฟอสเฟต (Orthophosphate) ซึ่งสาหร่ายสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง ความต้องการฟอสฟอรัสของสาหร่ายแต่ละชนิดไม่เท่ากัน สาหร่ายสีเขียวจะมีความต้องการมากกว่าสาหร่ายชนิดอื่น ถ้าสาหร่ายขาดฟอสฟอรัสจะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโต ทำให้ปริมาณสารสีชนิดคลอโรฟิลล์ เออาร์เอ็นเอ และดีเอ็นเอ ลดลง แต่คาร์โบไฮเดรตกลับเพิ่มขึ้น มีผลทำให้รูปร่างเซลล์เปลี่ยนไปจากเดิม

- ซัลเฟอร์ เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อสาหร่ายทุกชนิด ซัลเฟอร์ในเซลล์ของสาหร่ายมีหลายรูปแบบ เช่น ในรูปกรดอะมิโน วิตามินบี กรดแพนโทเทนิก กรดลิโปอิก และอื่นๆ ซัลเฟอร์ที่สาหร่ายส่วนใหญ่ใช้จะอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ ได้แก่ เกลือของโลหะ คือ ซัลเฟต แต่ถ้าหากเป็นสภาวะที่ขาดออกซิเจน สาหร่ายจะใช้ซัลเฟอร์ในรูปของซัลไฟด์ (Sulfide)

- แคลเซียม เป็นธาตุอาหารที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้างเกล็ดและโครงสร้างของสาหร่าย โดยเฉพาะสาหร่ายน้ำเค็ม หรือมีบทบาทสำคัญในการสร้างผนังเซลล์สีบพันธุ์เพศผู้ ในธรรมชาติมีแคลเซียมเพียงพอที่สาหร่ายจะนำไปใช้ได้ นอกจากสาหร่ายที่ต้องการแคลเซียมเพื่อใช้ในการสร้างโครงสร้างภายนอก

- โซเดียม โพแทสเซียม โซเดียมเป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายบางชนิดต้องการ เป็นธาตุอาหารที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์หลายชนิด เป็นตัวควบคุมการทำหน้าที่ต่างๆ ของเซลล์ สำหรับโพแทสเซียมเป็นธาตุอาหารที่เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์หลายชนิด และจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์แสง ถ้าขาดโพแทสเซียมจะทำให้การสังเคราะห์แสงลดลง และการหายใจเพิ่มขึ้น สาหร่ายสามารถใช้โซเดียมทดแทนโพแทสเซียมในกรณีที่ขาดธาตุโพแทสเซียม

- แมกนีเซียม เป็นธาตุอาหารที่มีส่วนนสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) โดยสาหร่ายจะนำไปใช้ในการสร้างคลอโรฟิลล์ ซึ่งแมกนีเซียมเป็นส่วนประกอบของนิวเคลียสในคลอโรฟิลล์

2. ธาตุอาหารรอง (Micronutrient) หมายถึง ธาตุอาหารที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้เป็นตัวช่วยกระตุ้นปฏิกิริยาเคมี ที่เกิดขึ้นในเซลล์ ซึ่งสาหร่ายต้องการในปริมาณน้อย แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ ธาตุอาหารรองอนินทรีย์ (Inorganic micronutrient) สาหร่ายส่วนมากต้องการใช้ ได้แก่ เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง โคบอลท์ โบรอน โซเดียมและซิลิกา และธาตุอาหารรองอินทรีย์ (Organic micronutrient) แบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ และวิตามิน

- เหล็ก เป็นธาตุอาหารที่ช่วยในการดูดซึมไนโตรเจน และช่วยในกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยช่วยสร้างคลอโรฟิลล์ เอ มีความจำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ถ้าสาหร่ายขาดเหล็กจะทำให้เมตาบอลิซึมต่ำลง ส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลงด้วย

- โบรอน เป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายบางชนิดต้องการใช้ ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และไดอะตอม

- แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี เป็นธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย รวมทั้งเป็นองค์ประกอบที่จำเป็นของเอนไซม์อีกหลายชนิด ถ้าขาดจะทำให้การสังเคราะห์แสงลดลง และการหายใจเพิ่มขึ้น ธาตุอาหารทั้ง 3 ชนิดนี้ ถ้ามีมากเกินไปจะทำให้สาหร่ายตายได้

- โมลิบดีนัม วานาเดียม โคบอลท์ โมลิบดีนัมมีบทบาทสำคัญในการตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน นอกจากนี้ยังเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ช่วยในการสังเคราะห์แสง วานาเดียม เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายบางชนิด

- เซเลเนียม บทบาทของธาตุอาหารชนิดนี้ยังไม่เด่นชัด แต่มีข้อสังเกตจากการทดลองว่า ถ้าปริมาณเซเลเนียมเพิ่มขึ้นจะมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพิ่มขึ้น และไดอะตอมจะลดปริมาณลง

- คาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น เดกโทส ควรเติมน้ำตาลในอาหารเลี้ยงสาหร่ายหลังจากการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว มิฉะนั้นน้ำตาลจะสลายตัว
- เกลืออินทรีย์ หรือสารประกอบที่มีเกลืออินทรีย์ ได้แก่ เกลือแอมิเตท เช่น โซเดียมแอมิเตท โพแทสเซียมแอมิเตท

**2.3.3 คาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide)** คาร์บอนไดออกไซด์เป็นปัจจัยที่จำกัด (Limiting factor) สำหรับกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยกระบวนการสังเคราะห์แสงจะเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดในช่วงความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ระหว่างร้อยละ 1 ถึง 5 (โดยปริมาตร) นอกจากนี้การเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ( $\text{NaHCO}_3$ ) ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก นอกจากใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเร่งปริมาณผลผลิตแล้ว ยังเป็นการช่วยควบคุมค่าความเป็นกรดต่าง

**2.3.4 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)** ค่าความเป็นกรดต่างเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เนื่องจากมีอิทธิพลต่อความหลากหลายของสารอนินทรีย์คาร์บอน (inorganic carbon) ในรูปต่างๆ (dissolved inorganic carbon ; DIC) เช่น เมื่อค่าความเป็นกรดต่างต่ำกว่า 5 รูปของ DIC ส่วนใหญ่คือคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.6 จะมี DIC ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์และไบคาร์บอเนต ( $\text{HCO}_3^-$ ) ในปริมาณเท่าๆ กัน และเมื่อค่าความเป็นกรดต่างสูงถึง 8.3 รูปของ DIC เกือบทั้งหมดจะเป็น  $\text{HCO}_3^-$  ดังนั้น การควบคุมค่าความเป็นกรดต่าง จึงมีความสำคัญในการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้เพื่อให้สาหร่ายขนาดเล็ก สามารถดูดซึมและนำคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้น

**2.3.5 อุณหภูมิ (Temperature)** สาหร่ายขนาดเล็ก แต่ละสายพันธุ์จะสามารถทนอุณหภูมิได้ในช่วงที่แตกต่างกัน โดยสาหร่ายน้ำจืด เช่น *Chlorella* และ *Scenedesmus* มีความสามารถในการปรับตัวได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างตั้งแต่ 5 ถึง 35 องศาเซลเซียส แต่ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 25 ถึง 30 องศาเซลเซียส

**2.3.6 ออกซิเจน (oxygen)** ออกซิเจนเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย โดยจะละลายสะสมอยู่ในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งจะนำไปสู่การมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่สูงเกินไป ที่อาจทำอันตรายและส่งผลกระทบต่ออัตราการรอดของสาหร่ายได้

## 2.4 การวัดการเจริญเติบโตและชีวมวล (Growth and biomass measurements)

### 2.4.1 การนับเซลล์ (Cell counts)

เป็นวิธีที่นิยมใช้มากในการวัดการเติบโตของสาหร่าย อุปกรณ์ที่ใช้ คือ กล้องจุลทรรศน์และสไลด์นับเซลล์ (counting slide or counting chamber) สไลด์มีหลายชนิดให้เลือกใช้ตามความหนาแน่นของตัวอย่างและขนาดของเซลล์ในตัวอย่างที่นับ โดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือด (Haematometer หรือ Haemocytometer) ความจุ 0.004 มิลลิลิตร

### 2.4.2 การหาความหนาแน่นโดยอาศัยแสง (Optical Density; OD)

การวัดความหนาแน่นมวลชีวภาพของสาหร่ายด้วยแสงใช้ได้ทั้งวัดปริมาณผลการวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยง (Pure microalgae culture) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง ข้อดีของวิธีนี้ คือ วัดได้สะดวกรวดเร็วให้ข้อมูลเกี่ยวกับมวลชีวภาพของสาหร่ายได้ดี ข้อเสีย คือ อาจเกิดความผิดพลาดจากสิ่งแขวนลอยที่ไม่มีชีวิต เซลล์ที่ตายและตะกอนต่างๆ เป็นต้น (ค่าความยาวคลื่นที่ใช้วัด คือ 560 นาโนเมตร)

### 2.4.3 การวัดน้ำหนักแห้ง (Dry weight measurement)

เหมาะกับสาหร่ายชนิดที่ไม่ใช่เซลล์เดี่ยวที่นับจำนวนเซลล์ไม่ได้ ฉะนั้นจึงนิยมใช้กับสาหร่ายที่เป็นเส้น วิธีวัดจะวัดทุกวันแล้วนำผลมาเขียนกราฟ ก่อนเก็บควรกวนตัวอย่างให้เข้ากันดีเสียก่อน กรองสาหร่ายออกจากน้ำโดยการปั่นให้ตกตะกอน นำส่วนใสออก นำตัวอย่างไปอบให้แห้งอุณหภูมิที่ใช้ประมาณ 70 ถึง 110 องศาเซลเซียส นานประมาณ 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ นำตัวอย่างออกจากตู้อบแล้วให้นำไปใส่โถดูดความชื้น (desiccator) นาน 15 ถึง 30 นาที รายงานผล เป็นน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรหรือพื้นที่ของน้ำ ที่ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่าย

### 2.4.4 การเก็บเกี่ยว

การเก็บเกี่ยวสาหร่ายโดยการแยกของแข็งและของเหลวออกจากกันสามารถทำได้หลายวิธีโดยใช้เครื่องมือและวิธีการต่างๆ เช่น การปั่นเหวี่ยง การตกตะกอน การกรอง ซึ่งวิธีการปั่นเหวี่ยงไม่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงในระดับขนาดใหญ่เนื่องจากมีต้นทุนในการผลิตสูง ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายให้มีประสิทธิภาพ ความบริสุทธิ์สูงมาก

ขึ้นและใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำและเหมาะสมต่อการใช้งาน เช่น การนำเทคนิคต่างๆ มาประยุกต์ใช้ร่วมกัน เช่น การตกตะกอน (Flocculation) การชะน้ำออก (Dewatering) และการทำแห้ง (Drying)

การสกัดสารจากสาหร่ายสามารถทำการสกัดได้ 2 วิธีหลัก คือ การสกัดด้วยวิธีทางชีวภาพ (Physical extraction) และการสกัดด้วยวิธีทางเคมี (Chemical extraction) โดยการสกัดด้วยวิธีทางชีวภาพได้แก่ การบด (Mechanical crushing) การทำให้เซลล์แตกโดยวิธีออสโมติก ช็อก (Osmotic shock) และการสกัดแบบอัลตราโซนิก (Ultrasonic extraction) สำหรับการสกัดด้วยวิธีทางเคมีเป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้ในการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล เฮกเซน คลอโรฟอร์ม การเลือกใช้ตัวทำละลายขึ้นอยู่กับสารที่ต้องการสกัด

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) (พิมพ์เพ็ญ และคณะ, 2559) หมายถึงการทำแห้ง (dehydration) ด้วยการแช่เยือกแข็ง (freeze) ทำให้เปลี่ยนสถานะเป็นผลึกน้ำแข็งก่อน แล้วจึงลดความดันเพื่อให้ผลึกน้ำแข็งระเหิด (sublimation) เป็นไอ ด้วยการลดความดันให้ต่ำกว่าบรรยากาศปกติ ขณะควบคุมให้แอมโมมิต่ำ (ที่อุณหภูมิเท่ากับหรือต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส น้ำแข็งจะระเหิดที่ความดันเท่ากับ 4.7 มิลลิเมตรปรอท) ขั้นตอนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยมี 3 ขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 การแช่เยือกแข็ง (freezing) เป็นการลดอุณหภูมิให้ต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง (freezing point) เพื่อให้เกิดผลึกน้ำแข็ง อัตราเร็วของการแช่เยือกแข็งควรเป็นการแช่เยือกแข็งแบบเร็ว เพื่อให้เกิดผลึกและผลึกที่เกิดขึ้นจะมีขนาดเล็ก การแช่เยือกแข็งแบบเร็วนิยมใช้กันหลายวิธี เช่น การแช่เยือกแข็งแบบใช้ลมเย็นเป่า, การแช่เยือกแข็งแบบโครีโอเจน และการแช่เยือกแข็งแบบจุ่มในของเหลวเย็นจัด เป็นต้น

ขั้นตอนที่ 2 การทำแห้งขั้นต้น (primary drying) เป็นการลดปริมาณน้ำ โดยการระเหิดน้ำแข็งให้กลายเป็นไอ น้ำแข็งจะกลายเป็นไอโดยการลดความดันบรรยากาศ เพื่อให้ผลึกน้ำแข็งที่อยู่ภายในเกิดการระเหิดเป็นไอออกไปจากผิวหน้า ระดับของสุญญากาศ ควรอยู่ต่ำกว่า 132 ปาสคาล การระเหิดของผลึกน้ำแข็งจึงเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์การระเหิดของชั้นน้ำแข็ง จะเริ่มจากชั้นน้ำแข็งบริเวณผิวหน้าระเหิดไปเป็นไอ ทำให้บริเวณนี้กลายเป็นชั้น

น้ำแข็งที่อยู่ภายในระเหิดผ่านชั้นแห้ง ออกไปสู่ผิวหน้า ระยะเวลาการระเหิดขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่าง และโครงสร้างของตัวอย่าง

ขั้นตอนที่ 3 การทำแห้งขั้นที่สอง (secondary drying) เมื่อการทำแห้งขั้นต้นเสร็จสมบูรณ์ น้ำแข็งจะละลายไปหมด จะมีความชื้นหลงเหลืออยู่ จึงต้องมีการทำแห้งด้วยการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น เพื่อดึงเอาความชื้นที่เหลืออยู่ออกถึงระดับความชื้นที่ปลอดภัยสำหรับการเก็บรักษา

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีผลดีต่อตัวอย่าง เนื่องจากเป็นการทำแห้งขณะที่ตัวอย่างมีอุณหภูมิต่ำจึงลดการสูญเสียจากความร้อน ลดการทำลายโครงสร้าง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการทำแห้งแบบอื่นๆ เช่น การทำแห้งแบบพ่นละออง (spray drier) การทำแห้งด้วยลมร้อน เช่น ตู้อบลมร้อน ซึ่งเป็นผลทำให้โครงสร้างเสียสภาพได้ แต่มีค่าใช้จ่ายสูง เมื่อเปรียบเทียบกับการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งที่ใช้ลมร้อนทั่วไป

## 2.5 สารอนุมูลอิสระ (โอภา และคณะ, 2549)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดของอะตอม หมายถึงอะตอมของไฮโดรเจนและไอออนของโลหะทรานซิชันส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังรวมถึงโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งนับว่าเป็นอนุมูลเพราะอิเล็กตรอนจำนวน 2 อิเล็กตรอนซึ่งแยกกันอยู่เป็นอิเล็กตรอนเดี่ยวในแต่ละวงโคจรหรือออร์บิทัล อนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียร และพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวตัวอื่นๆ ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติจำเพาะ คือ มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารข้างเคียง หากร่างกายไม่สามารถควบคุมได้ ปฏิกิริยาจะเกิดต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ ส่งผลให้มีอนุมูลอิสระหลายล้านโมเลกุลเกิดขึ้นในชั่วพริบตา

### 2.5.1 การเกิดสารอนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระเป็นสารที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่สร้างประโยชน์ในบางกลไกของร่างกาย ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ เมื่อเกิดออกซิเดชันในร่างกายบ่อยๆ และมากขึ้น ก่อให้เกิดการเสื่อมถอยของร่างกาย ทั้งการเกิดริ้วรอยแห่งความชราก่อนวัยอันควรและ

โรคภัยไข้เจ็บต่างๆ มากมาย เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ เป็นต้น การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกันดังนี้

1. การแตกของพันธะโควาเลนต์แบบโฮโมไลซิส



2. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



3. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



สาเหตุการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายของมนุษย์แบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ

1. อนุมูลอิสระที่เกิดภายในร่างกาย เป็นผลเนื่องจากร่างกายของเรามีกระบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolism) เกิดขึ้นตลอดเวลา ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาเคมีและกิจกรรมของเซลล์ในร่างกายที่ต้องดำเนินการตามปกติ ตัวอย่างเช่นในกระบวนการหายใจจะเกิดออกซิเจนที่มีประจุลบ ซึ่งก็คืออนุมูลอิสระ สารตัวนี้สามารถรวมตัวกับไขมัน LDL (Low Density Lipoproteins) ได้ดี และยังสามารถรวมตัวกับสารบางชนิดในร่างกายก่อให้เกิดสารพิษที่ทำลายเนื้อเยื่อ หรืออาจไปเปลี่ยนแปลงข้อมูลทางพันธุกรรมในดีเอ็นเอ ทำให้เซลล์ปกติเปลี่ยนสภาพไปเป็นเซลล์มะเร็ง เป็นต้น

2. อนุมูลอิสระที่มาจากนอกร่างกาย เกิดได้หลายปัจจัยด้วยกันคือ จากการได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (Autoimmune Diseases) เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเล็ต รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะ เช่น คาร์บอน บุกหรี แก๊สจากท่อไอเสียรถยนต์ จากกระบวนการประกอบอาหาร จากยาบางชนิด เช่น โดโซรูบิซิน (Doxorubicin) เพนนิซิลามิน (Penicillamine) พาราเซตามอล (Paracetamol) เป็นต้น อนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิตเกิดจากการเผาผลาญของเซลล์โดยการใช้ออกซิเจน อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และอนุมูลไฮดรอกซี เป็นอนุมูลที่พบในเซลล์มากกว่าอนุมูลอื่นๆ และมีบทบาทในปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นในเซลล์เป็นอย่างมาก และมีความเป็นพิษสูง จึงมีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า Reactive oxygen species (ROS)

## 2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ (โสภา และคณะ, 2549)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารที่สามารถชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ของอนุมูลอิสระได้ สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระ (Free radical scavengers) หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระไม่ให้ดำเนินต่อไป สารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับ (Scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรงยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (Chelate) กับโลหะเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ โดยทั่วไปแล้วอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติ เช่น กรดยูริก บิลิรูบิน จะกำจัดอนุมูลอิสระ และวิตามินซี วิตามินอี กลูตาไทโอน เบต้าแคโรทีน รวมทั้งสารประกอบพอลิฟีนอล ซึ่งเป็นสารพิษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้ เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายทำให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น

ด้วยเหตุที่ ROS เกิดขึ้นมาจากกระบวนการต่างๆ ในการดำรงชีวิต ดังนั้นร่างกายจึงต้องสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมา เพื่อกำจัดและลดความรุนแรงของ ROS ที่เกิดขึ้นด้วย โดยปกติแล้วการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นมีอย่างเพียงพอต่อการเกิดอนุมูลอิสระขึ้น ภายในร่างกาย แต่หากมีสภาวะผิดปกติในร่างกาย เช่น ความเครียด การนอนติดต่อกันนานๆ การรับประทานยาที่มีผลลด antioxidant enzyme หรือสภาวะโรคต่างๆ ก็อาจจะทำให้การสร้างอนุมูลอิสระ เพิ่มขึ้นจนเสียสมดุลระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระและอนุมูลอิสระเกิดเป็นภาวะ oxidative stress อนุมูลอิสระที่ไม่ได้ถูกกำจัดจะไปทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อ ทำให้เป็นต้นเหตุของการเกิดโรคต่างๆ ได้ จะเห็นได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นมีความสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคและความเสื่อมของร่างกายเป็นอย่างมาก นอกจากการไปจับกับอนุมูลอิสระแล้วสารต้านอนุมูลอิสระ ควรจะต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้ร่วมด้วย

1. ป้องกันการเกิดขึ้นของ ROS ได้
2. สามารถจับกับ ROS ที่เกิดขึ้นก่อนที่ ROS นั้นจะไปทำอันตรายเนื้อเยื่อต่างๆ
3. ต้องไม่เพิ่มความแรงของอนุมูลอิสระหรือไม่เปลี่ยน ROS ที่มีความแรงต่ำไปเป็น ROS ที่มีความแรงสูง เช่นไม่เปลี่ยนจาก super oxide ไปเป็น hydroxyl radical เป็นต้น
4. ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของ antioxidant enzyme หรือสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ

5. เพิ่มการแสดงออกของยีนที่ใช้สร้าง antioxidant enzyme และช่วยในการฟื้นฟูความเสียหายของเซลล์หรือเนื้อเยื่อจากการถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ

### 2.6.1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ (Silvia และคณะ, 2004) มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. Free radical scavenging สารต้านอนุมูลอิสระจะให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ และทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้น เมื่อสารต้านอนุมูลอิสระได้ให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนไปแล้วก็ จะเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ซึ่งมีความรุนแรงน้อยกว่าอนุมูลอิสระเดิม อาจจะไปรวมตัวกันกับอนุมูลอิสระอีก โมเลกุลหนึ่งเกิดผลิตภัณฑ์ที่เสถียร หรือมีสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ มาให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนเพื่อเกิดผลิตภัณฑ์ที่เสถียร สารที่มีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านกลไกนี้ เช่น Butylated hydroxyl anisole (BHA), วิตามินอี (alpha-tocopherol) เป็นต้น

2. Singlet oxygen quenching ( $^1O_2$ ) ออกฤทธิ์โดยไปยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen โดยการเปลี่ยน Singlet oxygen ( $^1O_2$ ) ให้ไปอยู่ในรูป triplet oxygen ( $^3O_2$ ) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน สารที่ออกฤทธิ์ผ่านกลไกนี้ เช่น แคโรทีนอยด์

3. Metal chelating โลหะหนัก เช่น เหล็ก และคอปเปอร์ (II) ไอออน มีผลเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งโลหะหนักดังกล่าวจะไปเร่งการเกิดอนุมูลอิสระหลายประเภท เช่น อนุมูลอิสระเพอร์ออกซิล, อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล และอนุมูลอิสระอัลคิล รวมถึง singlet oxygen ดังนั้นการที่มีสารไปจับกับโลหะหนักเหล่านี้จะช่วยชะลอการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายได้ สารที่ออกฤทธิ์ผ่านกลไกนี้ได้แก่ ฟลาโวนอยด์, กรดฟอสฟอลิก, กรดซิตริก และกรดแอสคอร์บิก เป็นต้น

4. ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibitor) สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแกลเลต สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ lipoxygenase โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้

### 2.6.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่พบใน *Scenedesmus* sp. (Silvia และคณะ, 2004) ได้แก่

แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นรงควัตถุที่ละลายได้ดีในน้ำมัน พบได้ในผักและผลไม้ที่มีสีส้ม เช่น แครอท มะเขือเทศ เป็นต้น สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่พบในธรรมชาติมี

อยู่กว่า 600 ชนิด โดยชนิดที่พบมาก ได้แก่ ไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี สารในกลุ่มนี้มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระประเภทอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิลได้ดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น เพราะสามารถละลายในน้ำมันได้ดี ซึ่งอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิลนั้นเกิดจากกระบวนการออกซิเดชันของลิพิดที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ดังนั้นแคโรทีนอยด์จึงมีส่วนสำคัญในการปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์ จากการทำลายของสารอนุมูลอิสระเมื่อแคโรทีนอยด์จับกับอนุมูลอิสระแล้วจะสามารถยึดติดกับที่ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ผ่านทาง conjugated double bond สายยาวและทำให้ โมเลกุลนั้นมีความเสถียรขึ้น สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์นั้นมักจะนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว และสายตา ทั้งในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอางค์

ลูทีน (Lutein) และซีแซนทีน (Zeaxanthin) เป็นแคโรทีนอยด์ที่สะสมอยู่บริเวณเรตินาของดวงตา ซึ่งเม็ดสีนี้จะทำหน้าที่ปกป้องเรตินา และจอประสาทตา จากภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน ซึ่งหมายความว่า จะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคจอประสาทตาเสื่อมได้ ส่วน ลูทีน และซีแซนทีน ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันเพื่อป้องกันเซลล์รับแสง (photoreceptor cells) จากอันตรายจากอนุมูลอิสระที่เซลล์สร้างขึ้นเนื่องมาจากมีปริมาณออกซิเจนสูง (oxygen tension) และจากการถูกแสง นอกจากนี้ยังเชื่อว่าสารประกอบทั้งสองนี้มีหน้าที่ในการกรองแสงสีฟ้าที่เป็นคลื่นแสงที่มีพลังงานสูง โดยจะสามารถกรองแสงสีฟ้าลงได้ถึงร้อยละ 40 ก่อนที่แสงจะตกถึงแมคูลา ดังนั้นจะสามารถลดสภาวะการเกิดออกซิเดชันต่อจอประสาทตา

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) เป็นสารที่มีการรายงานถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจำนวนมาก โดยเฉพาะการเป็นตัวดักจับอนุมูลอิสระ สารในกลุ่มนี้มักพบในผัก และผลไม้ มีรายงานถึงความสามารถในการปกป้องเอ็นเอจากอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลได้ นอกจากนี้จะเป็นตัวดักจับอนุมูลอิสระ แล้วสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ยังมีกลไกที่สำคัญอีกอย่างก็คือการจับกับโลหะหนักโดยเฉพาะ เหล็ก และ คอปเปอร์ ซึ่งจะช่วยป้องกันการเกิด fenton reaction อย่างไรก็ตามสารในกลุ่มนี้ยังเคยมีรายงานว่า เหนียวนำไปเกิดมะเร็งได้ เนื่องจากคอมเพล็กซ์ระหว่างฟลาโวนอยด์กับโลหะหนักควอซีติน ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากในสภาวะที่ร่างกายมีคอปเปอร์ (II) ไอออน ในความเข้มข้นต่ำ แต่หากอยู่ในสภาวะที่มีคอปเปอร์ (II) ไอออน มากกว่า 25 มิลลิโมล ควอซีตินจะไปมีผลทำลายดีเอ็นเอ

เสียเอง ทั้งนี้เกิดจากการเกิดเป็นคอมเพล็กซ์ของสารกับโลหะหนักซึ่งจะไปจับกับดีเอ็นเอ และเมื่อเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ขึ้นก็จะทำให้ดีเอ็นเอได้รับความเสียหาย วิตามินที่มีการเสริมธาตุเหล็กและทองแดงเข้าไปในปริมาณสูง หมู่ฟังก์ชันที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ มี 3 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่ง ortho-dihydroxy ของ ring B ตำแหน่ง conjugated double bond ที่ติดต่อกันภายในโครงสร้าง ตำแหน่ง 4 คือ oxofunction (หมู่คาร์บอนิล) ใน ring C

ฟีนอล (Phenol) เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบมาก ในพืช ซึ่งโครงสร้างหลักประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก แทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล โดยมากเป็นสารที่มีขี้ละลายในตัวทำละลายจำพวกแอลกอฮอล์ได้ดี โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอล จะเกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปรวมกับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ กลูโคส นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเองหรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก กรดอินทรีย์ เอมีน และไขมัน สารฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระ และการใช้สารประกอบฟีนอลในการป้องกันโรคต่างๆ โดย สารประกอบฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว เมื่อสารประกอบฟีนอลให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น

ตารางที่ 2.1 ข้อจำกัดของรูปแบบของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก (Ugwu และคณะ, 2008)

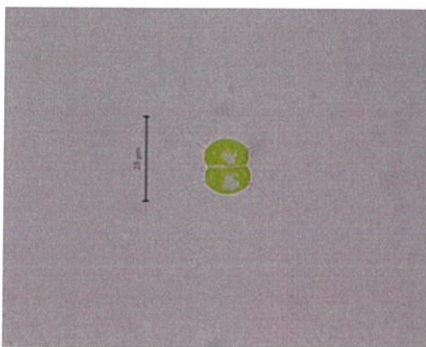
ลักษณะการเพาะเลี้ยง	รูปแบบการเพาะเลี้ยง	ข้อดี	ข้อเสีย
โดยธรรมชาติ	บ่อเปิด	<ul style="list-style-type: none"> <li>- เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงในเชิงธุรกิจ เนื่องจากสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตชีวมวลได้ปริมาณมาก</li> <li>- ทำความสะอาดพื้นที่เพาะเลี้ยงได้ง่าย ภายหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิต</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ต้องควบคุมสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง</li> <li>- การเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานานได้ยาก</li> <li>- ผลผลิตชีวมวลต่ำ</li> <li>- ต้องการพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมาก</li> <li>- มีบางสายพันธุ์ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในบ่อเปิด</li> <li>- เกิดการปนเปื้อนในระหว่างการเพาะเลี้ยงได้ง่าย</li> </ul>
ในห้องปฏิบัติการ	ถังปฏิกรณ์แบบแนวตั้ง	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ใช้พลังงานน้อย</li> <li>- เกิดการผสมสารเคลื่อนที่ของชีวมวลได้ดี</li> <li>- ควบคุมสภาวะต่างๆ ได้ง่าย เช่น อุณหภูมิ</li> <li>- เหมาะสำหรับการตรึงเซลล์สาหร่าย</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- พื้นที่ผิวที่แสงส่องผ่านมีน้อย</li> <li>- มีความยุ่งยากในการสร้างถังปฏิกรณ์</li> <li>- เกิดความเค้นเฉือนต่อสาหร่ายที่เพาะเลี้ยง</li> <li>- พื้นที่ผิวที่แสงส่องผ่านจะลดลงหากทำการเพาะเลี้ยงในระบบที่ขนาดใหญ่ขึ้น</li> </ul>
	ถังปฏิกรณ์แบบแนวราบ	<ul style="list-style-type: none"> <li>- มีพื้นที่ผิวในการสังเคราะห์แสงมาก เนื่องจากแสงส่องถึงได้ดี เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงภายนอกห้อง</li> <li>- เหมาะสำหรับการตรึงเซลล์สาหร่าย</li> <li>- ได้ผลผลิตชีวมวลปริมาณสูง</li> <li>- ทำความสะอาดง่ายและค่าใช้จ่ายต่ำ</li> <li>- ต้องการออกกซิเจนเพิ่มเติมสำหรับการเพาะเลี้ยงน้อย</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ต้องการวัสดุและส่วนประกอบหลายอย่างในการสร้างถังปฏิกรณ์ที่มีขนาดใหญ่</li> <li>- ควบคุมอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงได้ยาก</li> <li>- อาจมีการเจริญบริเวณผนังของถังปฏิกรณ์</li> <li>- อาจมีผลต่อสาหร่ายบางสายพันธุ์ เนื่องจากแรงกระทำภายในถังปฏิกรณ์</li> </ul>

ตารางที่ 2.1 ข้อจำกัดของรูปแบบของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก (Ugwu และคณะ, 2008)  
(ต่อ)

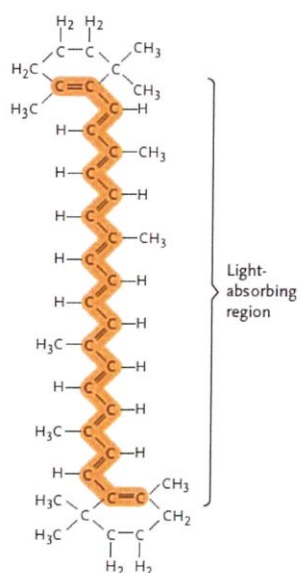
ลักษณะการเพาะเลี้ยง	รูปแบบการเพาะเลี้ยง	ข้อดี	ข้อเสีย
ในห้องปฏิบัติการ	ถังปฏิกรณ์แบบทรงกระบอก	<ul style="list-style-type: none"> <li>- มีพื้นที่ผิวในการสังเคราะห์แสงมาก เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงภายนอกห้อง</li> <li>- ได้ผลผลิตชีวมวลปริมาณหนึ่ง</li> <li>- ค่าใช้จ่ายต่ำ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- เกิด gradient ของค่าความเป็นกรดต่าง ออกซิเจน ละลายน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ ตามความยาวของถังปฏิกรณ์</li> <li>- อุดตันได้ง่าย</li> <li>- อาจมีการเจริญบริเวณผนังของถังปฏิกรณ์</li> <li>- ต้องการพื้นที่มาก</li> </ul>

ตารางที่ 2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืนกับสีที่มองเห็น

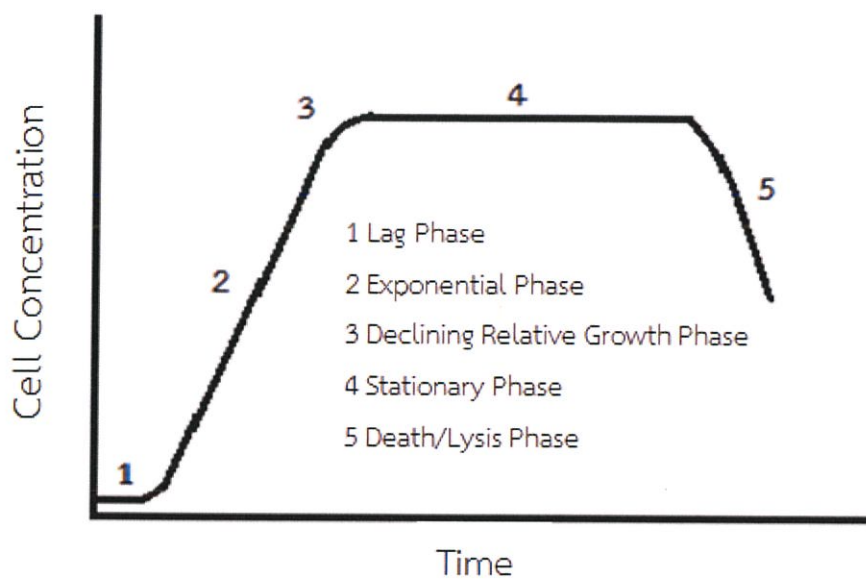
ความยาวคลื่น (nm)	สีที่ถูกดูดกลืน	สีที่มองเห็น
380 - 420	ม่วง	เขียว - เหลือง
420 - 440	ม่วง - ฟ้า	เหลือง
440 - 470	น้ำเงิน	ส้ม
470 - 500	เขียว - น้ำเงิน	แดง
500 - 550	เขียว - เหลือง	ม่วง
550 - 580	เหลือง	ม่วง - ฟ้า
580 - 620	ส้ม	น้ำเงิน
620 - 780	แดง	เขียว - น้ำเงิน



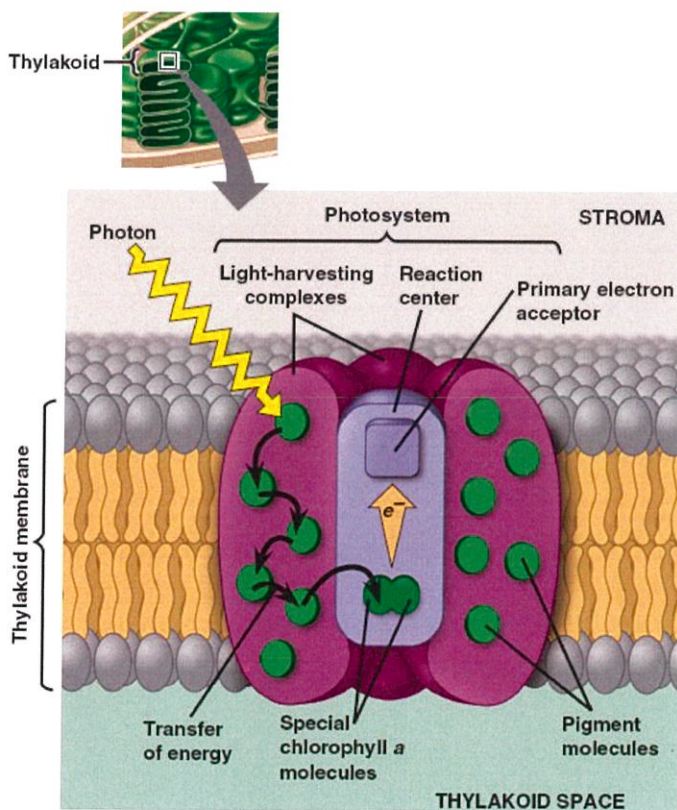
รูปที่ 2.1 ลักษณะของ *Scenedesmus* sp.



รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ (ที่มา: Russell, Peter J. และคณะ, 2011)

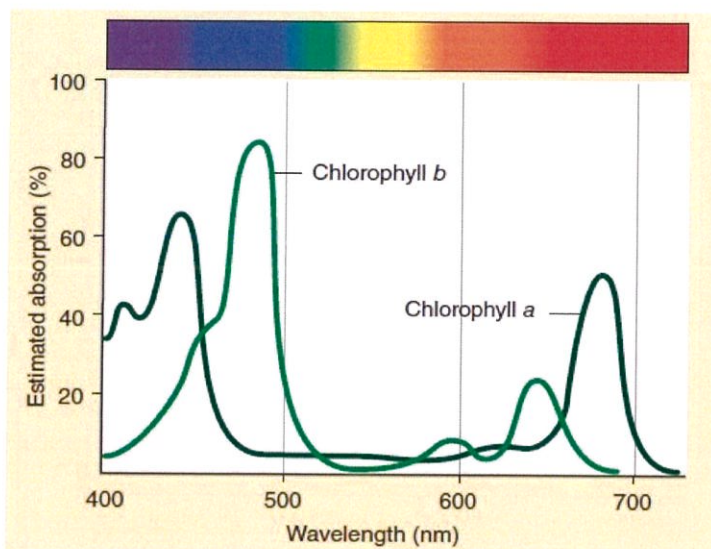


รูปที่ 2.3 ระยะการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก

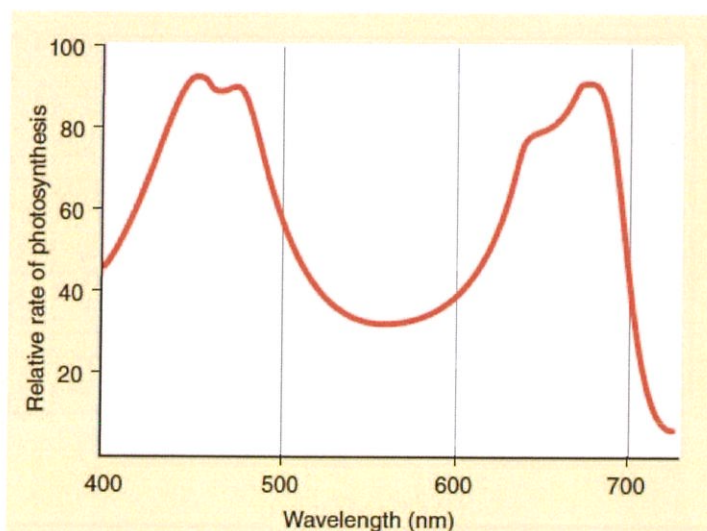


รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาแสงที่เกี่ยวข้องกับระบบแสง

(ที่มา: <http://bio1903.nicerweb.com/Locked/media/ch10/photosystem.html>)



รูปที่ 2.5 การดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี  
(ที่มา: Eldra P. Solomon, และคณะ, 2011)



รูปที่ 2.6 แสดงอัตราการสังเคราะห์แสงของพืชในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ  
(ที่มา: Eldra P. Solomon, และคณะ, 2011)

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Leonardi และคณะ (2018) ได้ศึกษาเกี่ยวกับ การสร้างแบบจำลองและการจำลองอิทธิพลของเศษส่วนของแสงสีน้ำเงินและสีแดงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus quadricauda* โดยศึกษาสภาวะการใช้แสงในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีผลต่อการผลิตชีวมวลและประสิทธิภาพการใช้พลังงาน ในงานวิจัยนี้พบว่าสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus quadricauda* ที่เจริญเติบโตในถังปฏิกรณ์แบบให้แสง (photobioreactor) ที่มีการฉายแสงสีน้ำเงินและสีแดงจากหลอดไฟแอลอีดี ในสัดส่วนที่ต่างกัน เพื่อให้แน่ใจว่าผลกระทบที่สังเกตได้เกิดจากองค์ประกอบของสเปกตรัมแสงไม่ได้เกิดจากความเข้มแสง การจัดเรียงหลอดไฟแอลอีดีแตกต่างกันสร้างขึ้นเพื่อให้เกิดการปล่อยจำนวนโปรตอนที่เหมาะสมๆ กันในหนึ่งหน่วยเวลาและหนึ่งหน่วยปริมาตรของการเพาะเลี้ยง การกระจายแสงภายในการเพาะเลี้ยงมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต ตลอดจนปริมาณของคลอโรฟิลล์ต่อหน่วยชีวมวลและประสิทธิภาพของโปรตอนที่ใช้ ผลกระทบจากแสงสีแดงและสีน้ำเงินเป็นทางเลือกในการศึกษาจากงานวิจัยก่อนนี้ และในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองฉายแสงที่ประกอบด้วยแสงทั้งสองสีในสัดส่วนที่ต่างกัน จากการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าประสิทธิภาพการใช้แสงของความเข้มแสงเดียวกันไม่ได้เป็นผลมาจากการโฟตอนที่มีความยาวคลื่นแตกต่างกัน แต่ในทางตรงกันข้ามเศษส่วนเหล่านี้ถูกรบกวนจากกระบวนการดูดกลืนแสงอื่นๆ

จากนั้นนำ *Scenedesmus quadricauda* มาเลี้ยงในอาหารสูตร BBM ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 โดยเพาะเลี้ยงปริมาตร 250 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ 500 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะแสง 70 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที จากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ อุณหภูมิระหว่าง 25 ถึง 30 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการทดลองโดยนำ *Scenedesmus quadricauda* ไปถ่ายลงในถังปฏิกรณ์แบบให้แสง ปริมาตร 50 มิลลิลิตรที่มีความเข้มข้นชีวมวลเท่ากับ 2.4 กรัมต่อลิตร และไม่มีการเติมอากาศ โดยตั้งติดตั้งหลอดแอลอีดี สีน้ำเงินและสีแดงในสัดส่วนต่างๆ การปรับตัวได้ดำเนินไปจนความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์คงที่ โดยทั่วไปใช้เวลา 3 วัน การเลี้ยงได้ดำเนินไปโดยการเพาะเลี้ยงแบบกะ ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ  $25 \pm 1$  องศาเซลเซียส ค่าพีเอช เริ่มต้น 7.0

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ใช้ในการทดลอง

ลำดับที่	คณะผู้วิจัย	สาหร่าย	ผลการวิจัย	สภาวะในการเพาะเลี้ยง	การวิเคราะห์ผล
1	Garcia Canedo และคณะ (2015)	<i>Scenedesmus incrassatulus</i>	แคโรทีนอยด์ 2.97±0.05 พีโกกรัมต่อเซลล์ ลูทีน 1.78±0.07 พีโกกรัมต่อเซลล์	ทำการเลี้ยงแบบกะ และกึ่งกะ โดยตัดแปลงความเข้มข้นไนเตรทแตกต่างกัน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 24, 41 และ 82 มิลลิกรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส	Analytical procedures
2	Durvasula และคณะ (2015)	<i>Scenedesmus</i> sp.	ชีวมวล 10.41 × 10 <sup>6</sup> เซลล์ คลอโรฟิลล์ เอ 6.92 ไมโครกรัม แคโรทีน 4.49 ไมโครกรัม น้ำมัน 63 ถึง 94.3 พีโกกรัมต่อเซลล์	เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร TAP ในที่กลางแจ้ง ความเข้มข้นแสง 6524 ถึง 7360 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	18s rDNA sequencing Fraschromatography
3	Aburai Nobuhiro และคณะ (2015)	<i>Scenedesmus obliquus</i>	แคโรทีนอยด์ 34.2±3.8 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง คลอโรฟิลล์ 2.5±0.6 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง	เลี้ยงในอาหารสูตร BB ที่ค่าพีเอช เท่ากับ 8 มีการให้อากาศ 21 วันร่วมกับการให้แสงและเขย่า จากนั้นทำการวัดปริมาณเซลล์ด้วยสไลด์นับเซลล์ฮีมาไซโต-มิเตอร์ ทำการสกัด แคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์ โดยนำมาทำแห้ง แล้วสกัดด้วย ได-คลอมีเทน : เม-ทานอล (25:75) เก็บสารสกัดในที่มืด 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง	วัดแคโรทีนอยด์ด้วยเครื่อง HPLC วัดคลอโรฟิลล์ด้วยวัดการดูดกลืนแสง

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ลำดับที่	คณะผู้วิจัย	สาหร่าย	ผลการวิจัย	สถานะในการเพาะเลี้ยง	การวิเคราะห์ผล
4	Pribyl Pavel และคณะ (2015)	<i>Scenedesmus komarekii</i>	แคโรทีนอยด์ 9 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน	เลี้ยงในอาหารสูตร Zehnder ที่แสง 15 7360 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที อุณหภูมิห้อง 1 สัปดาห์ จากนั้น นำไปเลี้ยงในอาหารแข็งแบบเอียง ภายใต้แสง 23 7360 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่ 12 องศาเซลเซียส แล้วนำมาเลี้ยงในพลาสติกด้วยอาหารสูตร ½ S5 ภายใต้แสง 80 7360 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่ อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการสกัดโดยนำไปปั่นเหวี่ยง 10000 g 10 นาที ที่ -8 องศาเซลเซียส จากนั้นทำให้เซลล์แห้งเป็นผงโดยการแช่เยือกแข็ง	Glass lid chromatography และ วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 464 นาโนเมตร
5	Pribyl Pavel และคณะ (2016)	<i>Scenedesmus almeriensis</i>	แคโรทีนอยด์ร้อยละ 2.3 ของน้ำหนัก เซลล์แห้ง ลูทีนร้อยละ 0.75 ของน้ำหนักเซลล์ แห้ง	เพาะเลี้ยงแบบกะ ด้วยอาหาร ½ S5 ภายใต้แสง 400 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส มีคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 2 แล้วขยายขนาดการเพาะเลี้ยงเป็น 6 ลิตร ภายใต้แสง 310 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยมีเชื้อ 0.12 ± 0.02 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน จากนั้นทำการสกัดโดยนำไปปั่นเหวี่ยง	วัดแคโรทีนอยด์ด้วยการวัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ 464 นาโนเมตร และ HPLC

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ลำดับที่	คณะผู้วิจัย	สาหร่าย	ผลการวิจัย	สถานะในการเพาะเลี้ยง	การวิเคราะห์ผล
6	Miranda และคณะ (2017)	<i>Scenedesmus incrassatulus</i>	ชีวมวล ลูทีน คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี แคโรทีนอยด์	เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร PCG ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 120 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที และมีการให้แสง 12 ชั่วโมง แล้วให้อยู่ในที่มืด 12 ชั่วโมง ใช้แหล่งไนโตรเจน 2 แหล่ง คือ ยูเรีย และสารสกัดจากยีสต์	Analytic determinations
7	Chan และคณะ (2013)	<i>Scenedesmus oblique</i> s CNW-N	แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ ลูทีน	ทำการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ (PBR) ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 60 120 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยใช้แสงจากหลอดไฟ TL5 tungsten filament ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 วัน สกัดสารด้วยตัวทำละลาย อะซิโตน, ปีโตรเลียม อีเทอร์, เฮกเซน, ไดเอทิล อีเทอร์, คลอโรฟอร์ม, ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล	โครมาโตกราฟี
8	Gilbert-Lopez และคณะ (2017)	<i>Scenedesmus obliquus</i>	ลูทีน $2.17 \pm 0.10$ มิลลิกรัมต่อกรัม	ใช้เชื้อจากถังหมักขนาด 2000 ลิตร ที่มีการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 7.5 ภายใต้สภาวะที่มีแสงจากธรรมชาติ 10 ถึง 11 ชั่วโมง สลับกับความมืด ที่ 10 ถึง 22 องศาเซลเซียส เก็บเกี่ยวเซลล์แล้วนำไปทำแห้งโดยการแช่เยือกแข็ง ทำการสกัดด้วยวิธี SFE, GXL, และ PLE	HPLC

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ลำดับที่	คณะผู้วิจัย	สาหร่าย	ผลการวิจัย	สภาวะในการเพาะเลี้ยง	การวิเคราะห์ผล
10	Wei Yen และคณะ (2012)	<i>Scenedesmus</i> sp.	ชีวมวล ลูทีน	ทำการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ photobioreactor 20 ลิตร (ร้อยละ 98 ของอากาศจะต้องผสมคลุกกับคาร์บอนไดออกไซด์) และติดตั้งหลอดไฟ T8 LED ความเข้มแสง 350 ถึง 400 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ไว้ภายในถัง เก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายหลังจาก 7 ถึง 10 วัน	วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง
11	Hsin Ho และคณะ (2014)	<i>S. obliquus</i> AS-6-1 <i>S. obliquus</i> CNW-1 <i>S. obliquus</i> CNW-N <i>S. obliquus</i> ESP-5 <i>S. obliquus</i> ESP-7 <i>S. obliquus</i> FSP-3	ลูทีน 4.08 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน	ทำการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ (PBR) ให้แสงจากแหล่งกำเนิดแสงภายในตัวถัง โดยลงเชื้อสาหร่าย 40 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาวะภายในถัง คือ 30 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเท่ากับ 6.0 และความเร็วรอบของใบพัด 300 รอบต่อนาที จากนั้นเลี้ยงแบบกะ เป็นระยะเวลา 6 ถึง 10 วัน	วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ลำดับที่	คณะผู้วิจัย	สาหร่าย	ผลการวิจัย	สถานะในการเพาะเลี้ยง	การวิเคราะห์ผล
12	Limon และคณะ (2015)	<i>Scenedesmus almeriensis</i>	เบต้าแคโรทีนร้อยละ 13.3 ของปริมาณสารสกัด ลูทีนร้อยละ 0.25 % ของปริมาณสารสกัด	ใช้ fresh water ที่มีการเติมธาตุอาหาร ได้แก่ $\text{NaNO}_3$ , $\text{KH}_2\text{PO}_4$ และ micronutrients จากนั้นกรองแบบ Ultrafiltration ที่มีขนาดรูพรุน 0.02 ไมโครเมตร ปรับค่าพีเอชเท่ากับ 8 ด้วยการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ ภายใต้ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยงแล้วทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Lyophilization) และเก็บรักษาที่ -18 องศาเซลเซียส นำเซลล์มาเติมน้ำมันมะกอกโดยใช้ปริมาณความเข้มข้น 0.21 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วสกัดด้วยวิธี saponification-extraction-recrystallization	HPLC
13	A. Kozlova และคณะ (2017)	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	จำนวนเซลล์ ชีวมวล คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์	เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BBM ที่ดัดแปลงความเข้มข้น $\text{NH}_4\text{Cl}$ เป็น 4.5 ppm ที่ 23 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเท่ากับ $6.9 \pm 0.1$ ภายใต้แสงจาก plant grow fluorescent 4000 ลักซ์ (120 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที) โดยมีการเขย่า และเติมฮอร์โมน ได้แก่ EBL, BL, IAA และ ABA ที่ความเข้มข้นต่างๆ	นับปริมาณเซลล์โดยใช้สไลด์นับ เซลล์ฮีมาไซโตมิเตอร์ วัดปริมาณมวลชีวภาพด้วยน้ำหนัก เซลล์แห้งจากการอบแห้ง วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ โดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนคลื่นแสง

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ลำดับที่	คณะผู้วิจัย	สาหร่าย	ผลการวิจัย	สถานะในการเพาะเลี้ยง	การวิเคราะห์ผล
14	D. Patias และคณะ (2017)	<i>Scenedesmus obliquus</i>	น้ำหนักเซลล์แห้ง 2650.70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร All-trans-echinenone ร้อยละ 22.8 เบต้าแคโรทีนอยด์ร้อยละ 17.7	เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะมีแสง 15 ไมโครโมลโฟตอนต่อตาราง เมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำมา เลี้ยงใน bubble column photobioreactor ด้วย อาหาร BG-11 ที่ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้ สภาวะมีแสง 150 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตร ต่อวินาที มีการให้อากาศ และคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 15 นำมาปั่นเหวี่ยงและทำแห้งโดยการแช่ เยือกแข็งที่ -50 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 24 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น สกัดสารด้วย เอทิล อะซิเตท และ เมทานอล	HPLC
15	M. Hamed และคณะ. (2017)	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	อัตราการเจริญจำเพาะ คลอโรฟิลล์ กิจกรรมของสารแอนติออกซิแดนต์	เลี้ยงในอาหาร Wuxal เพื่อรักษาสภาพเซลล์ จากนั้นนำมาเลี้ยงใน optimized culture medium มี Zn ที่ความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้แสง 100 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที สลับ กับที่มีมืด 16/8 ชั่วโมง ที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที วัดปริมาณเซลล์ ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 700 นาโน เมตร แล้วคำนวณค่าการเจริญเติบโตจำเพาะ	วัดค่าการดูดกลืนแสง

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ลำดับที่	คณะผู้วิจัย	สาหร่าย	ผลการวิจัย	สภาวะในการเพาะเลี้ยง	การวิเคราะห์ผล
16	Kim และคณะ (2007)	<i>Scenedesmus</i> spp.	อัตราการเจริญจำเพาะเพิ่ม 3 เท่า น้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่ม 2.6 เท่า กรดอะมิโนเพิ่ม 2.7 เท่า คลอโรฟิลล์ เอ เพิ่ม 2.1 เท่า แอสตาแซนธิน เพิ่ม 2.8 เท่า ลูทีน เพิ่ม 2.7 เท่า เบต้าแคโรทีน เพิ่มมากกว่า 5 เท่า	เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร BBM ค่าพีเอชเท่ากับ 6.8 มีการเติม Swine urine ร้อยละ 3 โดยปริมาตร เก็บเกี่ยวเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยง	วิเคราะห์กรดอะมิโนด้วย Automatic analyzer วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วย TLC, HPLC และ photo-diode array UV-VIS detector
17	Ho และคณะ (2015)	<i>Scenedesmus obliquus</i> FSP-3	ลูทีน 6.01 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน	เพาะเลี้ยงใน photobioreactor ด้วยอาหารดัดแปลง Detmer's Medium โดยมีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน ได้แก่ ไนเตรท, แอมโมเนีย และ ยูเรีย บ่มที่ 28 องศาเซลเซียส ควบคุมพีเอชเท่ากับ 6.0 มีการเขย่า 300 รอบต่อนาที ให้อากาศและให้คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 2.5 เป็นเวลา 6 ถึง 10 วันภายใต้สภาวะที่มีแสง 300 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ด้วยการปั่นเหวี่ยง แล้วทำแห้งโดยการแช่เยือกแข็ง	วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ลำดับที่	คณะผู้วิจัย	สาหร่าย	ผลการวิจัย	สภาวะในการเพาะเลี้ยง	การวิเคราะห์ผล
18	Xie และคณะ (2017)	<i>Desmodesmus</i> sp.	ชีวมวล 939 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ลูทีน 5.22 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน	เพาะเลี้ยงใน Photobioreactor ด้วยอาหารที่ดัดแปลงจากสูตร Bristol's medium ภายใต้สภาวะที่มีแสงประมาณ 150 300 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่ 30 องศาเซลเซียส มีการเขย่า 300 รอบต่อนาที ใช้ $\text{NaHCO}_3$ และ $\text{Na}_2\text{CO}_3$ เป็นแหล่งคาร์บอน และมีการใช้แหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน	วัดชีวมวลด้วยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง 685 นาโนเมตร วัดปริมาณลูทีนด้วยเครื่อง HPLC
19	Qin และคณะ (2008)	<i>Scenedesmus obliquus</i>	แอสตาแซนธิน แคโรทีนอยด์	รักษาสภาพเซลล์ในอาหาร BG-11 ที่มีการดัดแปลงสูตร ภายใต้สภาวะที่มีแสงฟลูออเรสเซนซ์ 80 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่ 25 องศาเซลเซียส เติมฟองอากาศ 0.6 ลิตรต่อนาที เมื่อเพาะเลี้ยงได้ $1.7 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบ S1 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะแสง 180 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่ 30 องศาเซลเซียส เพื่อเพิ่มการผลิตแคโรทีนอยด์ทุติยภูมิ จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงแบบ S2 ในสภาวะเริ่มต้น เก็บผลทุก 4 หรือ 6 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวเซลล์จะทำในที่มีด โดยการปั่นเหวี่ยง แล้วเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส	วิเคราะห์ด้วย liquid chromatography mass spectrophotometer และ thin-layer chromatography

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 หัวเชื้อสาหร่าย

หัวเชื้อ *Scenedesmus almatius* ในฟลากส์ที่มีอาหาร BG-11 แบบเหลว จากงานวิจัยก่อนหน้าของ ผศ.ดร.ดวงกมล เรืองงาม ภาควิชาชีววิทยา สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

#### 3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

##### 3.2.1 อุปกรณ์

กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสง (Nikon, ECLIPSE E200, Japan)

กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงแบบถ่ายรูปได้ (Nikon, ECLIPSE Ci, Japan)

กระดาษชั่งสาร

กระบอกตวงสาร (ISOLAB, Germany)

ขวดปรับปริมาตร (DURAN, diffico, Germany)

เข็มฉีดยา

จานเพาะเลี้ยงเชื้อ

คิวเวตแก้ว (Starna scientific, United Kingdom)

เครื่องเขย่าแบบวน

เครื่องผสมสารละลาย (Scientific Industries, Vortex-genie 2, United States of America)

เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (SHIMADZU, UV-1280 UV-VIS Spectrophotometer, Japan)

เครื่องวัดความเข้มแสง (ponpe<sup>®</sup> Instruments, LX-90<sup>+</sup>)

เครื่องวัดความชื้น (ISOLAB Laborgeäte, GmbH, Germany)

เครื่องไมโครเซนทริฟิวจ์ (Labnet, Spectrafuge 16M, United States)

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (OHAUS<sup>®</sup>, United States)

เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นแบบสุญญากาศ (Heto, LyoLab 3000, Egypt)

ปัมพ์สุญญากาศ (Welch<sup>®</sup>, Directorr 8920, Germany)  
 เครื่องอบลมร้อน (BINDER, ED115, Germany)  
 ปีกเกอร์ (Pyrex<sup>®</sup>, No.1000, Germany)  
 ขวดแก้วฝาเกลียว (SCOTT DURAN<sup>®</sup>, Germany)  
 แท่งแก้วคนสาร  
 ข้อนตักสาร  
 กระดาษกรอง (Whatman<sup>®</sup>, Cat NO. 1001 125, United Kingdom)  
 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (TOMY, ss-325, Japan)  
 เครื่องเซนทรีฟิวจ์ (HERMLE, Z383K, Germany)  
 ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร (Pyrex<sup>®</sup>, No.4980, Germany)  
 จุกสำลี  
 ลูบเขี่ยเชื้อ  
 ฟลาสเจอร์ปิเปต  
 เพลทสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ (Pyrex<sup>®</sup>, Germany)  
 หลอดทดลอง (Pyrex<sup>®</sup>, No.9820, Germany)  
 ปิเปตแก้ว (HBG, PRECICOLOR, Germany)  
 หลอดไฟแอลอีดี (EVE lighting, A60 6W, THAILAND)  
 ตะเกียงแอลกอฮอล์  
 ตู้ถ่ายเชื้อ (FLEXLAB<sup>®</sup>, BV4-01, United States of America)  
 หลอดไฟ (OSRAM, T5HE21W/865 BP, Germany)  
 สูไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ (BOECO, Germany)  
 ไมโครปิเปต (Thermo SCIENTIFIC, Labpipette ZY60338, United States of America)  
 ไมโครปิเปตทิป (Sorenson BioScience, United States)  
 ไมโครคิวเวตชนิดควอตซ์ (Starna scientific, United Kingdom)  
 หลอดไมโครเซนทรีฟิวจ์ (ExtraGene, TUBE-170-C, Taiwan)  
 หลอดเซนทรีฟิวจ์ (BIOFIL<sup>®</sup>, India)  
 เดซิกเคเตอร์ (DURAN, GLASWERK WERTHEIM, Germany)  
 ตู้เย็น (MITSUBISHI ELECTRIC, MR-FV29EM, Japan)

ตู้เย็นแช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส (Thermo SCIENTIFIC, TSU SERIES, United States of America)

เทอร์โมมิเตอร์

ปากคีบ

เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Biochrom, EZ Read 2000, United Kingdom)

ไมโครเวลเพลท

พอยด์ (Aro<sup>®</sup>, Thailand)

เครื่องโซนิเคเตอร์ (Elma, Elmasonic S70H, Germany)

ไมโครเวฟ (SHARP, Light up dial<sup>®</sup> R-250, Japan)

### 3.2.2 สารเคมี

สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11

NaNO<sub>3</sub> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O Citric acid Ferric ammonium citrate EDTA disodium magnesium salt Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Trace element ผงวุ้น (สำหรับเตรียมอาหารแข็ง) น้ำกลั่น

สารเคมีสำหรับการสกัดสารจากเซลล์สาหร่าย

95% Ethanol

สารเคมีสำหรับทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

Gallic acid 95% Ethanol Folin-Ciocalteu reagent Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> น้ำกลั่น

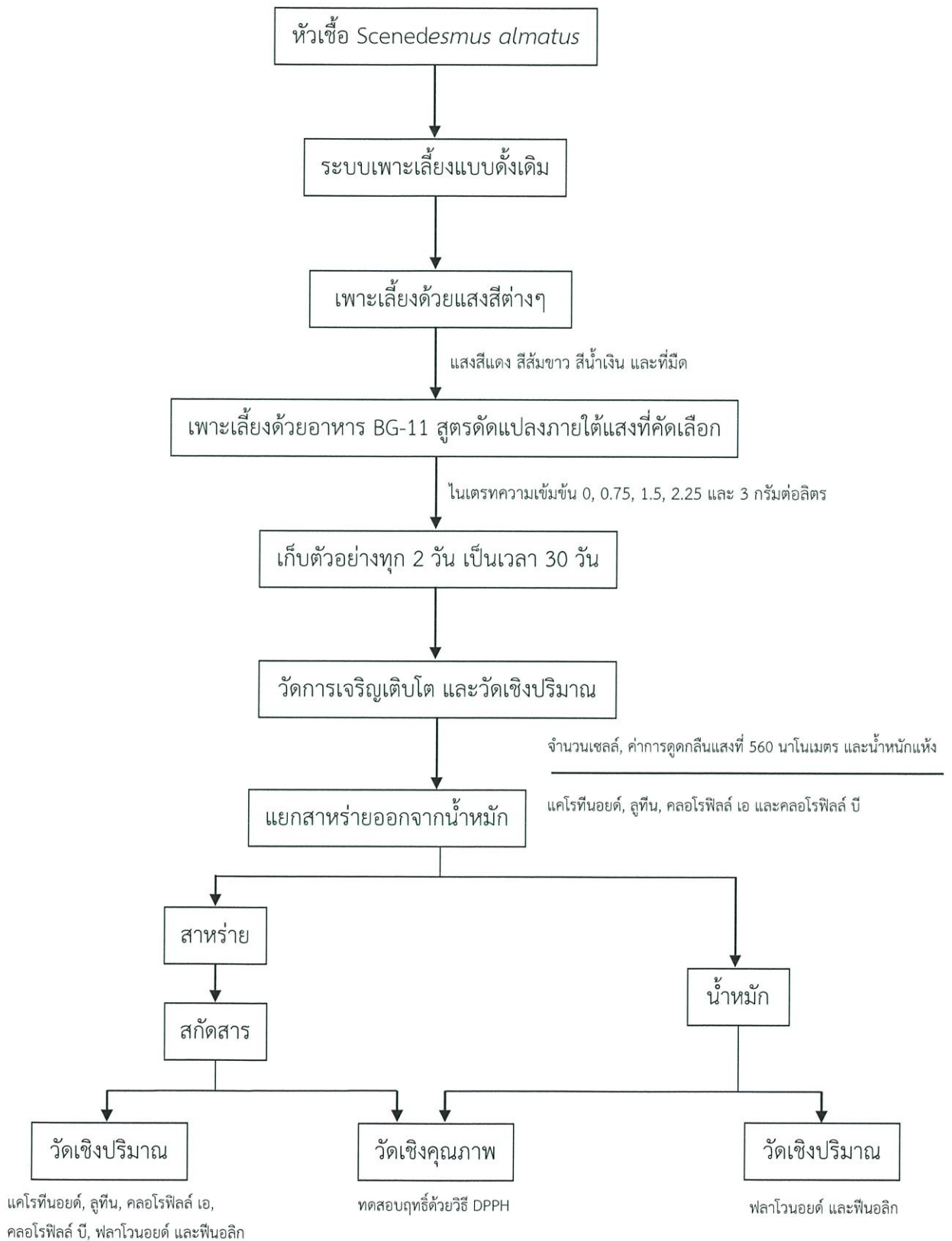
สารเคมีสำหรับทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

Quercetin dihydrate Methanol 95% Ethanol CH<sub>3</sub>COOK AlCl<sub>3</sub> น้ำกลั่น

สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl 95% Ethanol น้ำกลั่น

## 3.3 แผนผังการทดลอง



### 3.4 วิธีการทดลอง

#### 3.4.1 การติดตั้งระบบและสภาวะการเพาะเลี้ยงภายในห้องปฏิบัติการ

เครื่องเขย่าแบบวนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะใช้แสงสีต่างๆ จะถูกคลุมและกั้นเพื่อแบ่งพื้นที่สำหรับติดตั้งหลอดไฟแอลอีดีสีต่างๆ ด้วยผ้าสีดำห่อด้วยกระดาษอังกฤษสีเงินเพื่อป้องกันการถูกแสงจากภายนอกบริเวณ มีการติดตั้งเครื่องมือวัดต่างๆ ในระหว่างการทดลอง ได้แก่ เทอร์โมมิเตอร์เพื่อควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดปริมาณความชื้น (ดังรูปที่ 1) โดยใช้ระบบเพาะเลี้ยงแบบดั้งเดิมในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 ปริมาตร 120 มิลลิลิตร และปริมาตรหัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารทั้งหมด เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีอุณหภูมิ  $25 \pm 5$  องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นร้อยละ  $65 \pm 5$  ซึ่งจะแบ่งเป็นพื้นที่มืด และพื้นที่มีแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงขาวจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (OSRAM, T5HE21W/865 BP, Germany) แสงสีแดง สีส้มขาว และสีน้ำเงิน จากหลอดไฟแอลอีดี (EVE lighting, A60 6W, THAILAND) และในที่มืด ตลอดเวลา โดยมีความเข้มแสงที่วัดจากเครื่องมือวัดความเข้มแสง โดยนำเครื่องมือดังกล่าววัดปริมาณความเข้มแสงในบริเวณตำแหน่งต่างๆ จากนั้นนำค่าที่ได้มาเฉลี่ย และรายงานค่าในหน่วยลักซ์ดังตารางที่ 2 ดังตารางที่ 2 ทำการวิเคราะห์ผลทุกๆ 2 วัน เป็นระยะเวลา 1 เดือน

เครื่องเขย่าแบบวนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเข้มข้นของไนเตรทต่างๆ (ดังตารางที่ 3.1) จะถูกคลุมด้วยผ้าสีดำห่อด้วยกระดาษอังกฤษสีเงินเพื่อป้องกันการถูกแสงจากภายนอกบริเวณ มีการติดตั้งเครื่องมือวัดต่างๆ ในระหว่างการทดลอง ได้แก่ เทอร์โมมิเตอร์เพื่อควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดปริมาณความชื้น (ดังรูปที่ 2) โดยใช้ระบบเพาะเลี้ยงแบบดั้งเดิมในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเพาะเลี้ยง BG-11 สูตรดัดแปลงความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทเป็น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 120 มิลลิลิตร และปริมาตรหัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารทั้งหมด เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีอุณหภูมิ  $25 \pm 5$  องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นร้อยละ  $65 \pm 5$  ภายใต้แสงสีแดงหลอดไฟแอลอีดี (EVE lighting, A60 6W, THAILAND) ที่มีความเข้มแสงเท่ากับ 800 ลักซ์ ตลอดเวลา ทำการวิเคราะห์ผลทุกๆ 2 วัน เป็นระยะเวลา 1 เดือน

#### 3.4.2 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 (ดังภาคผนวก ก) ชนิดเหลวโดยเติมธาตุอาหารต่างๆ ตามสูตรอาหารดังกล่าวลงในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำ

กลั่น ปรับค่าพีเอช ถ้าต้องการเตรียมอาหารชนิดแข็ง ให้เติมผงวุ้น ภายหลังจากเติมธาตุอาหารอื่นๆ นำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องไมโครเวฟเพื่อละลายผงวุ้น ให้เป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลาย จากนั้นนำไปบรรจุใส่ภาชนะที่จะใช้เพาะเลี้ยง (ดังภาคผนวก ก รูปที่ ก1) และนำไปฆ่าเชื้อด้วยความร้อนขึ้นโดยใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 โดยเติมธาตุอาหารต่างๆ ตามสูตรอาหารดังกล่าวลงในน้ำกลั่น ยกเว้นโซเดียมไนเตรทซึ่งตัดแปลงความเข้มข้นเป็น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร (ดังตารางที่ 1) จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปรับค่าพีเอช และนำไปฆ่าเชื้อด้วยความร้อนขึ้นโดยใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

### 3.4.3 การเตรียมหัวเชื้อบริสุทธิ์และการขยายขนาดการเพาะเลี้ยง

นำพลาสติกที่บรรจุเชื้อ *Scenedesmus almatius* มาเตรียมหัวเชื้อให้บริสุทธิ์โดยเลี้ยงบนจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารสูตร BG-11 ชนิดแข็ง ใช้เทคนิค Cross streak ขั้นตอนดังกล่าวทำภายในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นเพาะเลี้ยงภายใต้แสงขาวที่มีความเข้มแสงเท่ากับ 4552 ลักซ์ตลอดเวลา ควบคุมอุณหภูมิ  $25 \pm 5$  องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นร้อยละ  $65 \pm 5$  เป็นระยะเวลา 1 ถึง 2 สัปดาห์ แล้วนำโคโลนีเดี่ยว 1 โคโลนีมาถ่ายลงหลอดทดลองที่มีอาหารแข็งสูตร BG-11 แบบเอียง เพื่อเก็บรักษาเซลล์สาหร่ายบริสุทธิ์ (ดังภาคผนวก ข) ขั้นตอนดังกล่าวทำภายในตู้ปลอดเชื้อ

นำเซลล์สาหร่ายบริสุทธิ์จากขั้นตอนก่อนหน้านี มาเพิ่มปริมาณด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายในระบบที่ใหญ่ขึ้นจากเดิม เริ่มจากนำเซลล์สาหร่ายบริสุทธิ์ในหลอดทดลองที่มีอาหารแข็งสูตร BG-11 แบบเอียง มาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลวสูตร BG-11 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะเดิม โดยมีการเขย่าด้วยมือทุกวัน ตรวจวัดปริมาณเซลล์สาหร่ายโดยการนับเซลล์ผ่านสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์จนกระทั่งมีปริมาณจำนวนเซลล์ประมาณ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปขยายขนาดการเพาะเลี้ยงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 ปริมาตร 120 มิลลิลิตร และปริมาตรหัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารทั้งหมด ภายใต้สภาวะเดิม บนเครื่องเขย่าแบบวนที่มีความเร็ว  $122 \pm 2$  รอบต่อนาที ตรวจวัดปริมาณเซลล์ดังเดิม (ดังภาคผนวก ค) จนกระทั่งมีปริมาณเซลล์ประมาณ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำหัวเชื้อดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ เพื่อ

เปรียบเทียบการเจริญเติบโต ปริมาณการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

#### 3.4.4 การเก็บตัวอย่าง และการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

เก็บตัวอย่างน้ำหมักเซลล์สาหร่ายใส่หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำตัวอย่างใส่หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องไมโครเซนทริฟิวจ์ที่ความเร็ว 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที ทำการแยกส่วนสารละลายออกจากส่วนเซลล์ แล้วเก็บใส่ตู้เย็นจนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนเซลล์สาหร่ายจะถูกเก็บในช่องแช่แข็งจนกว่าจะนำมาสกัดสารและทดสอบหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (ดังภาคผนวก ง)

นำตัวอย่างเซลล์สาหร่ายมาทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบวนที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง ไมโครเซนทริฟิวจ์ที่ความเร็ว 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อแยกเซลล์สาหร่ายออกจากสารสกัด จากนั้นนำสารสกัดไปเก็บรักษาในที่มืดโดยห่อภาชนะด้วยฟอยด์และแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปทดสอบหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (ดังภาคผนวก จ)

#### 3.4.5 การเก็บเซลล์สาหร่ายในรูปผงจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

นำตัวอย่างน้ำหมักเซลล์สาหร่ายมาแยกเซลล์สาหร่ายออกจากอาหารเพาะเลี้ยงโดยการนำตัวอย่างน้ำหมักเซลล์สาหร่ายใส่ในหลอดเซนทริฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนทริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 7000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วทำการดูดส่วนใสทิ้ง นำตัวอย่างเซลล์สาหร่ายเทลงบนกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 ที่ทราบน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างเซลล์สาหร่ายที่ได้มาแช่ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน แล้วนำเข้าเครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ จนกระทั่งเซลล์สาหร่ายแห้ง ทำการชั่งน้ำหนักกระดาษกรองที่มีเซลล์สาหร่ายแห้งเพื่อหาปริมาณน้ำหนักเซลล์สาหร่ายแห้ง จากนั้นเก็บเซลล์สาหร่ายแห้งไว้ในถุงพลาสติกอย่างดีให้เรียบร้อย และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ดังภาคผนวก ฉ)

### 3.5 การวิเคราะห์ผล

#### 3.5.1 การวัดการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย

1. การนับเซลล์ด้วยสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ โดยเก็บตัวอย่างน้ำหมักเซลล์สาหร่าย ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นดูดตัวอย่างเซลล์สาหร่ายด้วยไมโครปิเปตเพื่อนำเซลล์สาหร่าย ลงในช่องใส่ตัวอย่างของสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ทั้ง 2 ฝั่ง แต่ละฝั่งใช้ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร รอจนตัวอย่างเซลล์สาหร่ายกระจายทั่วในแต่ละฝั่ง นำสไลด์ฮีมาไซ- โตมิเตอร์มาส่องดูเซลล์สาหร่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เพื่อนับจำนวนเซลล์สาหร่าย ที่ปรากฏในช่องตาราง บันทึกผลแล้วนำมาหาค่าอัตราการเจริญจำเพาะของสภาวะในการ เพาะเลี้ยงต่างๆ ดังสมการที่ 3.1 รายงานผลเป็นจำนวนเซลล์ต่อปริมาตร (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) (ดังภาคผนวก ข) จากนั้นนำค่ามาหาอัตราการเจริญจำเพาะดังสมการที่ 3.2

$$\text{จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)} = \frac{1 \times X}{4 \times 10^{-6}} \quad \text{สมการที่ 3.1}$$

เมื่อ X คือ ปริมาณเซลล์เฉลี่ยต่อ 1 ช่อง

2. การวัดความหนาแน่นมวลชีวภาพของสาหร่ายด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง เริ่ม จาก นำตัวอย่างน้ำหมักเซลล์สาหร่ายใส่ลงไปในคิวเวตประมาณ 1 ใน 3 ส่วน ทำการกลั้วให้ ทั่วคิวเวต แล้วทิ้ง จากนั้นใส่ตัวอย่างน้ำหมักเซลล์สาหร่ายปริมาตร 2 ใน 3 ส่วน แล้วนำไป วัดความหนาแน่นมวลชีวภาพของสาหร่าย โดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 560 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยใช้อาหารที่ปราศจากเชื้อเป็นแบลงค์ บันทึกผล การทดลอง จากนั้นนำค่ามาหาอัตราการเจริญจำเพาะดังสมการที่ 3.2

$$\text{อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อเวลา)} = \frac{\ln(N - N_0)}{t} \quad \text{สมการที่ 3.2}$$

เมื่อ N คือ ปริมาณเซลล์ที่สูงสุด

$N_0$  คือ ปริมาณเซลล์วันที่ 0

t คือ เวลาที่มีปริมาณเซลล์สูงสุด

3. การหาปริมาณน้ำหนักรวมของเซลล์แห้ง ทำโดยนำตัวอย่างน้ำหมักเซลล์สาหร่ายปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่ทราบน้ำหนัก ทำการแยก เซลล์ออกจากอาหารโดยการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องไมโครเซนทริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 7,500

รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที เทส่วนใส่ทิ้ง ทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 1 ครั้ง โดยเติมน้ำกลั่นลงไป 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที แล้วรินส่วนใส่ทิ้ง จากนั้นนำเซลล์สำหรับที่ได้ไปอบด้วยเครื่องอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ที่มีเซลล์สำหรับมาชั่งน้ำหนัก บันทึกผลการทดลอง โดยรายงานผลเป็นน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (กรัมต่อลิตร) ดังสมการที่ 3.3 (ดังภาคผนวก ซ)

$$A - B = C$$

สมการที่ 3.3

เมื่อ A คือ น้ำหนักหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ที่มีเซลล์สำหรับแห้ง (กรัม)  
 B คือ น้ำหนักหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์เปล่า (กรัม)  
 C คือ น้ำหนักของเซลล์สำหรับแห้งต่อปริมาตร 1 มิลลิลิตร

### 3.5.2 การวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

1. การวัดปริมาณสารคลอโรฟิลล์เอ และบี (Wellburn, 1994) นำตัวอย่างน้ำหมักหรือสารสกัดจากเซลล์สำหรับใส่ลงไปในคิวเวตประมาณ 1 ใน 3 ส่วน ทำการกลั่นให้ทั่วคิวเวตแล้วทิ้ง จากนั้นใส่ตัวอย่างน้ำปริมาตร 2 ใน 3 ส่วน แล้วนำไปวัดความหนาแน่นของปริมาณสารคลอโรฟิลล์โดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 649 และ 665 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยใช้อาหารที่ปราศจากเชื้อ และสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนด์ของน้ำหมัก และสารสกัดตามลำดับ บันทึกผลการทดลอง นำผลที่ได้มาหาค่าปริมาณสารคลอโรฟิลล์เอ และบี (ดังสมการที่ 3.4 และ 3.5 ตามลำดับ) โดยรายงานผลเป็นค่า Productivity ของปริมาณสารคลอโรฟิลล์เอ และบี ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรต่อวัน ดังภาคผนวก ฐ

$$\text{คลอโรฟิลล์เอ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)} = 12.19 A_{665} - 3.45 A_{649} \quad \text{สมการที่ 3.4}$$

$$\text{คลอโรฟิลล์บี (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)} = 21.99 A_{665} - 5.32 A_{649} \quad \text{สมการที่ 3.5}$$

เมื่อ  $A_{665}$  คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 665 นาโนเมตร  
 $A_{649}$  คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 649 นาโนเมตร

2. การวัดปริมาณสารลูทีน (Wang และคณะ, 2006) นำตัวอย่างสารสกัดเซลล์สาหร่ายใส่ลงไปในคิวเวตประมาณ 1 ใน 3 ส่วน ทำการกลั่นให้ทั่วคิวเวต แล้วทิ้ง จากนั้นใส่ตัวอย่างน้ำหมักเซลล์สาหร่ายปริมาตร 2 ใน 3 ส่วน แล้วนำไปวัดความหนาแน่นของปริมาณสารลูทีนโดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 446 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนด์ บันทึกผลการทดลอง นำผลที่ได้มาหาค่าปริมาณสารลูทีน (ดังสมการที่ 3.6) โดยรายงานผลเป็นค่า Productivity ของปริมาณสารลูทีนในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมต่อวัน ดังภาคผนวก ๘

$$\text{ปริมาณลูทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม)} = \frac{A_{446} \times V(\text{ml}) \times \text{dilution factor}}{\epsilon \times W(\text{g})} \quad \text{สมการที่ 3.6}$$

เมื่อ	$A_{446}$	คือ	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 446 นาโนเมตร
	$V$	คือ	ปริมาตรที่ใช้ในการสกัด
	$\epsilon$	คือ	ค่าสัมประสิทธิ์ในการดูดกลืนแสง ( $\epsilon = 2589$ )
	$W$	คือ	น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

3. การวัดปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (Pribyl และคณะ, 2015) นำตัวอย่างน้ำหมักและสารสกัดจากเซลล์สาหร่ายใส่ลงไปในคิวเวตประมาณ 1 ใน 3 ส่วน ทำการกลั่นให้ทั่วคิวเวต แล้วทิ้ง จากนั้นใส่ตัวอย่างปริมาตร 2 ใน 3 ส่วน แล้วนำไปวัดความหนาแน่นของปริมาณสารแคโรทีนอยด์โดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 464 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยใช้อาหารที่ปราศจากเชื้อ และสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนด์ของน้ำหมัก และสารสกัดตามลำดับ บันทึกผลการทดลอง นำผลที่ได้มาหาค่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (ดังสมการที่ 3.7) โดยรายงานผลเป็นค่า Productivity ของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ดังภาคผนวก ๘

$$\text{ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{A_{464} - 0.0222}{0.0325} \quad \text{สมการที่ 3.7}$$

เมื่อ	$A_{464}$	คือ	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 464 นาโนเมตร
-------	-----------	-----	---

4. การวัดปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Rice-Evans และคณะ, 1996)

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมอะซิเตทความเข้มข้น 1 โมลาร์, สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 และสารละลายมาตรฐานควอซิตินความ

เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายมาตรฐานเคอเวอซิตินที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75, 100, 150 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร (ดังภาคผนวก ฅ)

ทำการปิเปตสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตรปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตทความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายผสมกัน ตามด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 4.3 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายผสมกัน จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานเคอเวอซิตินความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้สารละลายผสมกันเป็นเวลา 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที นำตัวอย่างสารละลายดังกล่าวใส่ลงไปในคิวเวตประมาณ 1 ใน 3 ส่วน ทำการกลั้วให้ทั่วคิวเวต แล้วทิ้ง จากนั้นใส่ตัวอย่างสารละลายปริมาตร 2 ใน 3 ส่วน แล้วนำไปวัดความหนาแน่นของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนด์ บันทึกผลการทดลอง นำผลที่ได้มาสร้างข้อมูลกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร กับสารละลายมาตรฐานเคอเวอซิตินที่ความเข้มข้นต่างๆ (ดังภาคผนวก ฅ)

ทำการปิเปตสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตรปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตทความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายผสมกัน ตามด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 4.3 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายผสมกัน จากนั้นเติมตัวอย่างที่จะนำมาทดสอบ ได้แก่ น้ำหมัก และสารสกัดจากสาหร่าย ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้สารละลายผสมกันเป็นเวลา 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที นำตัวอย่างสารละลายดังกล่าวใส่ลงไปในคิวเวตประมาณ 1 ใน 3 ส่วน ทำการกลั้วให้ทั่วคิวเวต แล้วทิ้ง จากนั้นใส่ตัวอย่างสารละลายปริมาตร 2 ใน 3 ส่วน แล้วนำไปวัดความหนาแน่นของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยใช้อาหารที่ปราศจากเชื้อ และสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนด์ของน้ำหมัก และสารสกัดตามลำดับ บันทึกผลการทดลอง นำผลที่ได้มาหาค่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดดังสมการที่ 3.8 หรือ 3.9 (ดังภาคผนวก ฅ) โดย

รายงานผลเป็นปริมาณค่า Productivity ของสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในหน่วย มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ดังภาคผนวก ๘

$$y = 0.0073x - 0.0345 \quad \text{สมการที่ 3.8}$$

$$x = \frac{y + 0.0345}{0.0073} \quad \text{สมการที่ 3.9}$$

เมื่อ  $y$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร  
 $X$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานควอซิติน  
 (มิลลิกรัมต่อลิตร)

#### 5. การวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Rice-Evans และคณะ, 1997)

เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร, สารละลาย Folin–Ciocalteu reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 และสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 25, 50, 75, 100, 150, 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร (ดังภาคผนวก ๑)

ทำการปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 9.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย Folin–Ciocalteu reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน บ่มในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน บ่มในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำตัวอย่างสารละลายดังกล่าวใส่ลงในคิวเวตประมาณ 1 ใน 3 ส่วน ทำการกล้วให้ทั่วคิวเวต แล้วทิ้ง จากนั้นใส่ตัวอย่างสารละลายปริมาตร 2 ใน 3 ส่วน จากนั้นนำไปวัดความหนาแน่นของปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดโดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนด์ บันทึกผลการทดลอง นำผลที่ได้มาสร้างข้อมูลกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร กับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ (ดังภาคผนวก ๑)

ทำการปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 9.5 มิลลิลิตร เติมตัวอย่างที่จะทดสอบ ได้แก่ น้ำหมัก และสารสกัดจากสาหร่าย ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน บ่มในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน บ่มในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำตัวอย่างสารละลายดังกล่าวใส่ลงไปในคิวเวตประมาณ 1 ใน 3 ส่วน ทำการกลั้วให้ทั่วคิวเวต แล้วทิ้ง จากนั้นใส่ตัวอย่างสารละลายปริมาตร 2 ใน 3 ส่วน จากนั้นนำไปวัดความหนาแน่นของปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดโดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยใช้อาหารที่ปราศจากเชื้อ และสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนด์ของน้ำหมัก และสารสกัดตามลำดับ บันทึกผลการทดลอง แล้วนำผลที่ได้มาหาค่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ดังสมการที่ 3.10 หรือ 3.11 (ดังภาคผนวก ต) โดยรายงานผลเป็นค่า Productivity ของปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ดังภาคผนวก ๕

$$y = 0.0034x - 0.0065 \quad \text{สมการที่ 3.10}$$

$$x = \frac{y + 0.0065}{0.0034} \quad \text{สมการที่ 3.11}$$

เมื่อ  $y$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร  
 $x$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก  
 (มิลลิกรัมต่อลิตร)

### 3.5.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (Butsat และ Siriamornpun, 2010)

เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์และสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 และ 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ดังภาคผนวก ๓)

นำสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปิเปตลงในไมโครเวลเพลท ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปิเปตตัวทำละลาย ได้แก่ สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ

95 ลงในไมโครเวลเพลทปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์แต่ละความเข้มข้นและตัวทำละลาย จะปิเปต 3 ซ้ำ จากนั้นปิเปตสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลทที่มีสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์แต่ละความเข้มข้นและตัวทำละลาย ทำการผสมสารโดยใช้ไมโครปิเปตดูดเข้าออก แล้วนำไปบ่มในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงผ่านเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร บันทึกผลการทดลอง แล้วนำผลที่ได้มาหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) (ดังภาคผนวก ท) โดยรายงานผลเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) กับสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

นำตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายหรือน้ำหมักปิเปตลงในไมโครเวลเพลทปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปิเปตตัวทำละลาย ได้แก่ สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 หรือน้ำกลั่น ลงในไมโครเวลเพลทปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยแต่ละตัวอย่างและตัวทำละลาย จะปิเปตตัวอย่างละ 3 ซ้ำ จากนั้นปิเปตสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลทที่มีตัวอย่างและตัวทำละลาย ทำการผสมสารโดยใช้ไมโครปิเปตดูดเข้าออก แล้วนำไปบ่มในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงผ่านเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร บันทึกผลการทดลอง แล้วนำผลที่ได้มาหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) (ดังภาคผนวก ท)

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}}) - (B_{\text{sample}} - B_{\text{blank sample}})]}{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}})} \quad \text{สมการที่ 3.12}$$

เมื่อ	$A_{\text{DPPH}}$	คือ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารละลาย DPPH ทำปฏิกิริยากับสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95
	$A_{\text{Blank DPPH}}$	คือ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95
	$B_{\text{Sample}}$	คือ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารละลายตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH
	$B_{\text{Blank sample}}$	คือ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารละลายตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

### 3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS (IBM SPSS Statistics เวอร์ชัน 24) วิเคราะห์ตาราง ANOVA และค่าความแปรปรวนที่ค่าความเชื่อมั่นที่  $p < 0.05$  เพื่อหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยใช้วิธีของ Duncan ในการวิเคราะห์ผลการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3.1 ปริมาณโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเพาะเลี้ยง BG-11 สูตรดัดแปลง

อาหารเพาะเลี้ยง BG-11 สูตรดัดแปลงต่างๆ	ปริมาณโซเดียมไนเตรท (กรัมต่อลิตร)
สูตร 0	0
สูตร 0.75	0.75
สูตร 1.5	1.5
สูตร 2.25	2.25
สูตร 3	3

ตารางที่ 3.2 ปริมาณความเข้มข้นต่างๆ

หลอดไฟ	สี	ความเข้มข้น (ลักซ์)
หลอดไฟแอลอีดี	แดง	800
หลอดไฟแอลอีดี	ส้มขาว	4975
หลอดไฟแอลอีดี	น้ำเงิน	1362.5
หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์	ขาว	4552
-	มืด	0



รูปที่ 3.1 ระบบเพาะเลี้ยงแบบใช้แสงสีต่างๆ



รูปที่ 3.2 ระบบเพาะเลี้ยงสำหรับอาหารเพาะเลี้ยง BG-11 สูตรดัดแปลง



รูปที่ 3.3 อาหารเพาะเลี้ยง BG-11 สูตรดัดแปลงต่างๆ

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีแสงสีต่างๆ

##### 4.1.1 การเจริญเติบโตของเซลล์ สาหร่าย *Scenedesmus* sp.

จากการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต จะทำการเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 30 วัน โดยจะทำการนับเซลล์ทุกๆ 2 วัน จากการทดลองในช่วงระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ภายใต้สภาวะแสงสีต่างๆ พบว่า ช่วง Stationary phase จะอยู่ในช่วงวันที่ 14 ถึงวันที่ 22 แต่ยังคงเจริญเติบโตต่อไปจนถึงวันที่ 30 และที่สภาวะแสงสีน้ำเงินมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด โดยแสงสีน้ำเงินมีความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ  $1.146 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือแสงสีแดง (ความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ  $8.392 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร) แสงสีขาวย แสงสีส้มขาว และในที่มืด (ควบคุม) มีความเข้มข้นเซลล์น้อยลงตามลำดับ ดังรูปที่ 4.1 นอกจากนี้ทำการศึกษาความหนาแน่นมวลชีวภาพของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ภายใต้สภาวะแสงสีต่างๆ โดยวัดการเจริญเติบโตด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ทุกๆ 2 วัน พบว่าแนวโน้มการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน โดยการวัดความหนาแน่นของมวลชีวภาพที่สภาวะแสงสีน้ำเงินมีการเจริญมากกว่าการใช้แสงสีแดง แสงสีส้มขาว และในที่มืด (ควบคุม) ซึ่งมีการดูดกลืนแสงน้อยที่สุด (OD ได้ค่าน้อยที่สุด) ดังแสดงในรูปที่ 4.2 และผลของน้ำหนักแห้งที่สภาวะแสงสีต่างๆ พบว่าที่สภาวะแสงสีแดงมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุด ดังรูปที่ 4.3 และรองลงมาคือแสงน้ำเงิน แสงสีส้มขาว และในที่มืด ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในที่มืดมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด อาจเป็นผลมาจากการไม่ให้แสง จึงไม่มีการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้น จากการเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp. พบว่าที่แสงสีน้ำเงินมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 0.146 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน (เมื่อหาจากความเข้มข้นเซลล์) และ 0.136 ต่อวัน (เมื่อหาจากความหนาแน่นของเซลล์) รองลงมาคือแสงสีแดงมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.128 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน รองลงมาคือแสงสีส้มขาว และแสงสีขาวย ดังตารางที่ 4.1

เมื่อเปรียบเทียบงานวิจัยของ Leonardi และคณะ (2018) ซึ่งได้ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus quadricauda* ในถังปฏิกรณ์แบบให้แสง (Photobioreactor) ภายใต้แสงสีน้ำเงินและแสงสีแดง พบว่าแสงสีน้ำเงินมีปริมาณเซลล์มากที่สุด ได้มวลชีวภาพสูงสุดคือ  $7.8 \times 10^4$  ไมโครลิตรต่อวัน และที่แสงสีแดงเท่ากับ  $4 \times 10^4$  ไมโครลิตรต่อวัน ซึ่งสีน้ำเงินจากหลอดแอลอีดี มีผลทำให้สาหร่าย *Scenedesmus quadricauda* มีการ

เจริญเติบโตมากขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของเราที่สภาวะแสงสีน้ำเงินมีความเข้มข้นเซลล์สูงสุดคือ 0.146 เซลล์ต่อมิลลิเมตรต่อวัน

ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่สภาวะแสงสีต่างๆ

สภาวะ		อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, $\mu$ (ต่อวัน)	
		ปริมาณเซลล์	ความหนาแน่นเซลล์
แสงสี	ที่มีด	0.0843	0.0571
	สีส้มขาว	0.1065	0.0937
	สีแดง	0.1198	0.1045
	สีน้ำเงิน	0.1460	0.1360
	สีขาว	0.1291	0.0872

ตารางที่ 4.2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโต ที่สภาวะแสงสีต่างๆ

สภาวะ		อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	
		จำนวนเซลล์	ความหนาแน่นของเซลล์
แสงสี	ที่มีด	$0.1315 \pm 0.0149^a$	$0.1061 \pm 0.0143^c$
	สีส้มขาว	$0.1187 \pm 0.0123^{ab}$	$0.1055 \pm 0.0094^c$
	สีแดง	$0.0890 \pm 0.0202^b$	$0.0631 \pm 0.0119^e$
	สีน้ำเงิน	$0.1469 \pm 0.0101^a$	$0.1116 \pm 0.0026^c$
	สีขาว	$0.1402 \pm 0.0249^a$	$0.0873 \pm 0.0018^d$

- หมายเหตุ
1. a, b หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะจากจำนวนเซลล์ในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  2. c, d, e หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  3. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของแคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์เอ และบี จากสารสกัดและน้ำหมักในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ

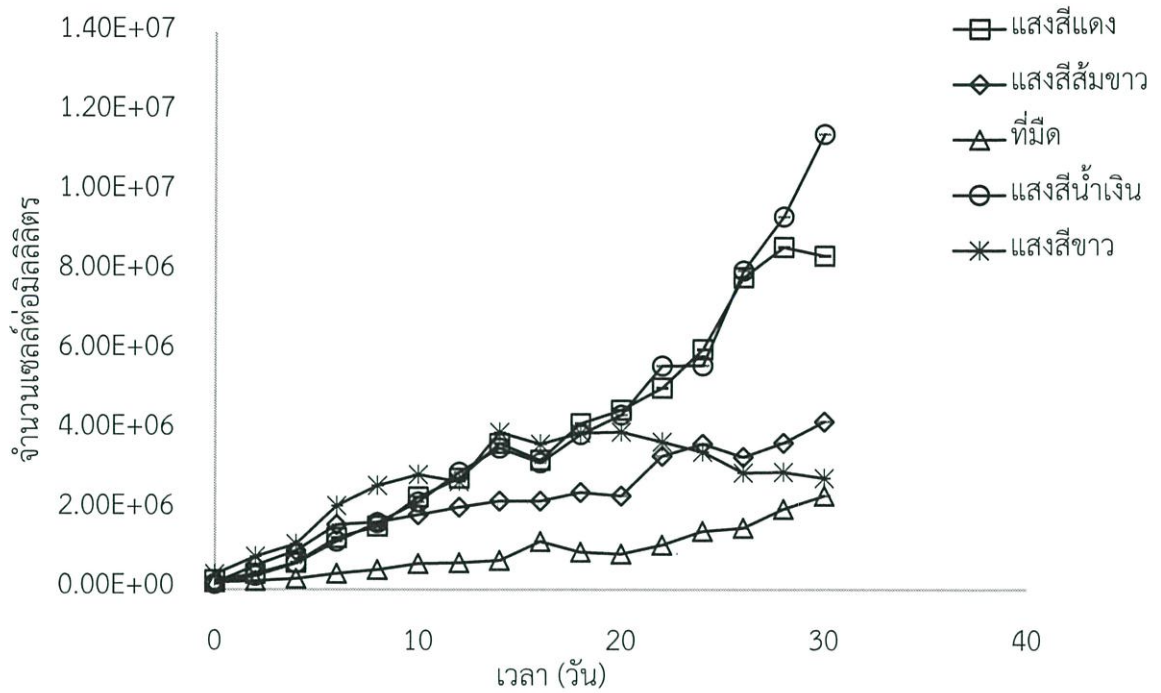
แสงสี	ผลิตภาพ (Productivity)					
	แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		คลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		คลอโรฟิลล์ บี (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	สารสกัด	น้ำหมัก	สารสกัด	น้ำหมัก	สารสกัด	น้ำหมัก
แสงสีแดง	8.5180 ± 2.5217 <sup>a</sup>	10.7899 ± 1.6005 <sup>c</sup>	2.5050 ± 0.4089 <sup>f</sup>	2.7957 ± 0.3841 <sup>h</sup>	4.6311 ± 0.7583 <sup>k</sup>	5.3198 ± 0.7356 <sup>n</sup>
แสงสีส้มขาว	2.5059 ± 0.9200 <sup>b</sup>	7.2429 ± 0.8057 <sup>d</sup>	0.7206 ± 0.2485 <sup>g</sup>	1.8232 ± 0.1753 <sup>i</sup>	1.3279 ± 0.4756 <sup>m</sup>	3.4722 ± 0.3391 <sup>o</sup>
ที่มืด	1.0153 ± 0.2858 <sup>b</sup>	1.7292 ± 0.5384 <sup>e</sup>	0.3252 ± 0.0677 <sup>g</sup>	0.4250 ± 0.1416 <sup>j</sup>	0.6064 ± 0.1268 <sup>m</sup>	0.8092 ± 0.2697 <sup>p</sup>
แสงสีน้ำเงิน	5.7527 ± 0.6047 <sup>a</sup>	11.5182 ± 0.5052 <sup>c</sup>	0.6676 ± 0.3885 <sup>g</sup>	2.9391 ± 0.1527 <sup>h</sup>	3.6885 ± 0.1483 <sup>l</sup>	5.5837 ± 0.2476 <sup>n</sup>
แสงสีขาว	7.4673 ± 1.9868 <sup>a</sup>	11.5337 ± 2.2443 <sup>c</sup>	0.2564 ± 0.0906 <sup>g</sup>	2.8298 ± 0.4122 <sup>h</sup>	1.1486 ± 0.3187 <sup>m</sup>	5.3511 ± 0.8288 <sup>n</sup>

- หมายเหตุ
1. a, b หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  2. c, d, e หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของแคโรทีนอยด์ในจากน้ำหมักการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  3. f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  4. h, i, j หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากน้ำหมักในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  5. k, l, m หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  6. n, o, p หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากน้ำหมักในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  7. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

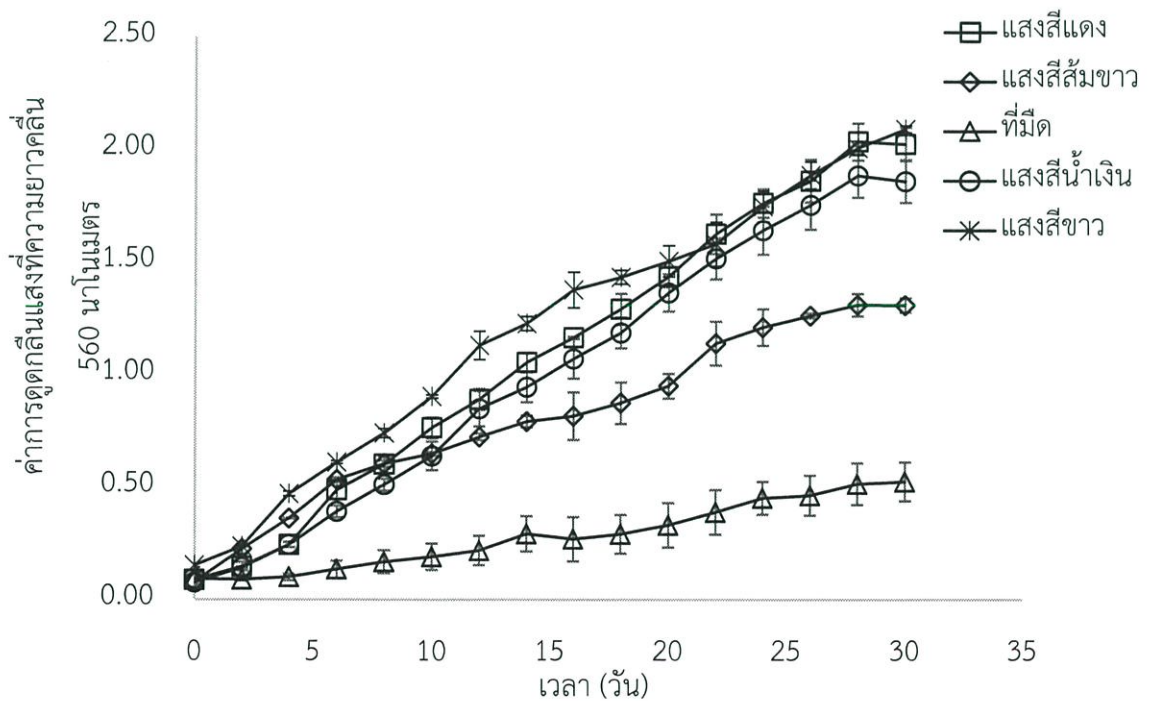
ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของลูทีน ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฟีนอลิกทั้งหมด จากสารสกัดและน้ำหมักภายใต้การเพาะเลี้ยงที่แสงสีต่างๆ

แสงสี	ผลิตภาพ (Productivity)				
	ฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ฟีนอลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ลูทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม)
	สารสกัด	น้ำหมัก	สารสกัด	น้ำหมัก	สารสกัด
แสงสีแดง	5.1464 ± 0.7136 <sup>a</sup>	1.0096 ± 0.1175 <sup>d</sup>	2.0094 ± 0.5282 <sup>g</sup>	1.7414 ± 0.3959 <sup>j</sup>	0.2825 ± 0.0294 <sup>k</sup>
แสงสีส้มขาว	4.8756 ± 0.7330 <sup>a</sup>	0.9568 ± 0.0639 <sup>d</sup>	2.8112 ± 0.3246 <sup>f</sup>	2.3447 ± 0.2313 <sup>i</sup>	0.0578 ± 0.0092 <sup>m</sup>
ที่มีด	2.4024 ± 0.6036 <sup>b</sup>	0.5864 ± 0.1263 <sup>e</sup>	2.9189 ± 0.4165 <sup>f</sup>	1.7201 ± 0.2041 <sup>j</sup>	0.1012 ± 0.0356 <sup>m</sup>
แสงสีน้ำเงิน	5.7308 ± 0.3671 <sup>a</sup>	1.1312 ± 0.0441 <sup>cd</sup>	3.4393 ± 0.2052 <sup>f</sup>	2.8148 ± 0.1938 <sup>h</sup>	0.2063 ± 0.0319 <sup>l</sup>
แสงสีขาว	4.9001 ± 0.8713 <sup>a</sup>	1.3668 ± 0.3121 <sup>c</sup>	1.4193 ± 0.3802 <sup>g</sup>	1.2734 ± 0.1194 <sup>j</sup>	0.0879 ± 0.0096 <sup>m</sup>

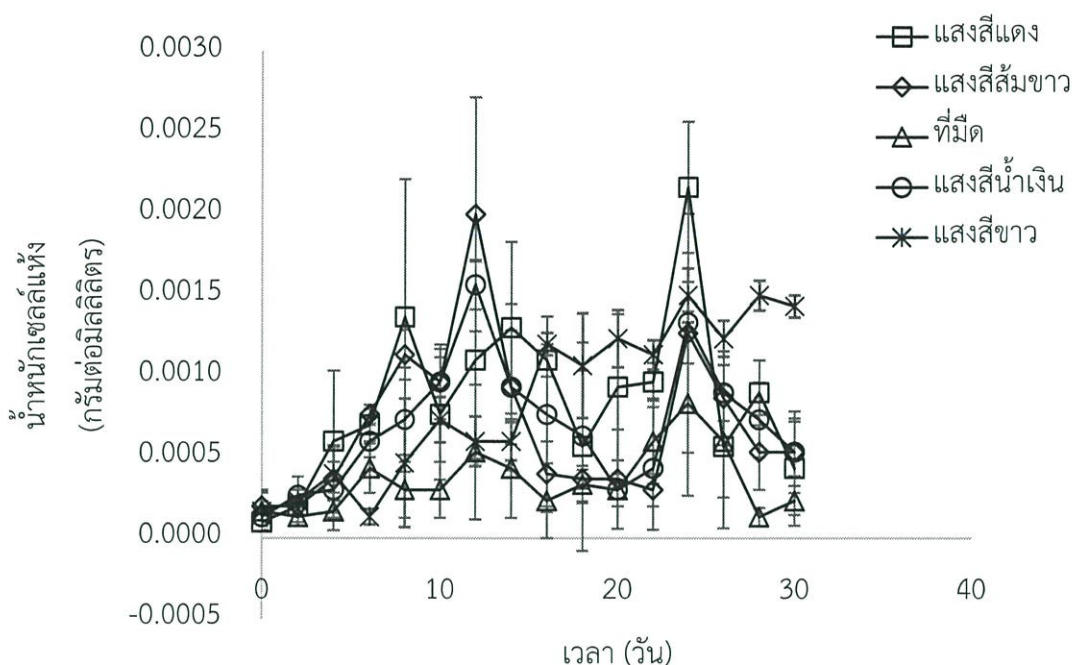
- หมายเหตุ
1. a, b หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของฟลาโวนอยด์จากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  2. c, d, e หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของฟลาโวนอยด์ในจากน้ำหมักการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  3. f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของฟีนอลิกจากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  4. h, i, j หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของฟีนอลิกจากน้ำหมักในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  5. k, l, m หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของลูทีนจากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  6. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



รูปที่ 4.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



รูปที่ 4.2 ความหนาแน่นมวลชีวภาพของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



รูปที่ 4.3 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)

#### 4.1.2 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากเซลล์สาหร่าย

จากการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบี ของ *Scenedesmus sp.* ภายใต้สภาวะที่แสงสีต่างๆ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 649 และ 665 นาโนเมตร จากสารสกัดและน้ำหมักทุกๆ 2 วัน แล้วนำไปคำนวณดังสมการของ Wellburn (1994) พบว่าจากสารสกัดที่สภาวะแสงสีแดงมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงที่สุด โดยได้ปริมาณมากที่สุดถึง 18.045 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร รองลงมาคือสีน้ำเงินมีปริมาณเท่ากับ 12.502 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ดังรูปที่ 4.4 ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์เอจากน้ำหมักที่แสงสีแดงมีปริมาณสูงสุดคือ 20.911 ไมโครกรัมต่อลิตร และสีน้ำเงินมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 19.675 ไมโครกรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.5 และคลอโรฟิลล์บีจากสารสกัดมีปริมาณสูงสุด คือ 33.359 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร รองลงมาคือสีน้ำเงินได้ปริมาณเท่ากับ 37.412 ไมโครกรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.6 และพบว่าคลอโรฟิลล์บีจากน้ำหมักที่สภาวะแสงสีแดงและสีน้ำเงิน มีปริมาณเท่ากับ 23.134 และ 39.802 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.7 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี จากน้ำหมักและสารสกัด พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบี จากน้ำหมักมีปริมาณมากกว่าจากสารสกัด ซึ่งปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบี มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามการเจริญเติบโตของสาหร่าย

การวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Scenedesmus* sp. ภายใต้สภาวะที่แสงสีต่างๆ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 464 นาโนเมตร โดยวัดจากสารสกัดและน้ำหมัก ทุกๆ 2 วัน แล้วนำไปคำนวณดังสมการของ Pribyl และคณะ (2015) พบว่าจากสารสกัดให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดที่สภาวะแสงสีแดง รองลงมาคือแสงสีน้ำเงิน คือ 57.450 และ 38.014 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.8 และพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์จากน้ำหมักที่แสงสีแดงและแสงสีน้ำเงินมีปริมาณแคโรทีนอยด์ คือ 81.891 และ 76.486 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และในที่มืดมีปริมาณแคโรทีนอยด์ต่ำที่สุด ดังรูปที่ 4.9 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ma และคณะ (2018) ได้ศึกษาเกี่ยวกับแสงจากหลอดแอลอีดีสีต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตมวลชีวภาพ กรดไขมัน ผลผลิตของแคโรทีนอยด์ โดยศึกษาแสงสีต่างๆ ดังนี้ แสงสีขาว สีน้ำเงินเข้ม สีน้ำเงิน สีส้มแดง และสีแดง จากหลอดแอลอีดีโดยในแต่ละสีจะใช้ 2 ความเข้มแสงได้แก่ 50 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที และ 150 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มแสงเป็น 150 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที มีผลผลิตของแคโรทีนอยด์มากกว่า 50 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที และที่แสงสีแดงและน้ำเงินมีผลผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุด และจากงานวิจัยของ Aburai และคณะ (2015) ได้ศึกษาเกี่ยวกับความเข้มแสงที่มีผลต่อการสะสมแคโรทีนอยด์ของ *Scenedesmus* sp. โดยเลี้ยงในอาหารสูตร BB และให้ความเข้มแสง 0, 40, 120, และ 200 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที พบว่าที่ความเข้มแสง 200 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยเรา โดยมีแนวโน้มว่าแสงสีแดงและสีน้ำเงินจากหลอดแอลอีดีให้ความเข้มแสงสูงกว่าแสงสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์มีต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ แต่ความเข้มแสงที่มากเกินไปของแสงสีส้มขาวมีผลทำให้การผลิตแคโรทีนอยด์ลดลงจากการศึกษาปริมาณสารในสาหร่าย *Scenedesmus* sp. พบว่าปริมาณของแคโรทีนอยด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเวลาผ่านไป เช่นเดียวกับปริมาณของคลอโรฟิลล์ เอ และบี เนื่องจากคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และแคโรทีนอยด์ มีหน้าที่หลักในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเพื่อการเจริญเติบโต ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และ บี ปริมาณแคโรทีนอยด์ และการเจริญเติบโตมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน นอกจากนี้แคโรทีนอยด์บางชนิดสร้างขึ้นเพื่อป้องกันความเสียหายจากการออกซิเดชันจากสารอนุมูลอิสระ (Faraloni และ Torzillo, 2017)

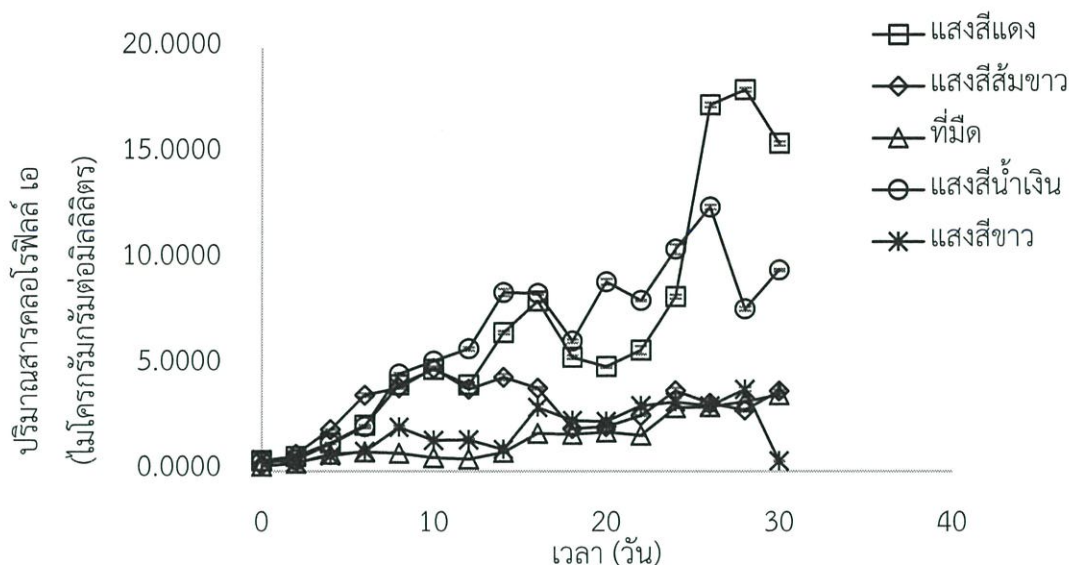
จากการศึกษาปริมาณลูทีนของ *Scenedesmus* sp. โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 446 นาโนเมตร จากสารสกัดทุกๆ 2 วัน แล้วนำไปคำนวณดังสมการของ Wang และคณะ (2006) พบว่าที่แสงสีแดงมีปริมาณลูทีนสูงสุด รองลงมาคือที่แสงสีน้ำเงิน

โดยมีปริมาณลูทีนเท่ากับ 2.153 และ 1.410 ไมโครกรัมต่อกรัม ในวันที่ 30 และ 20 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.10

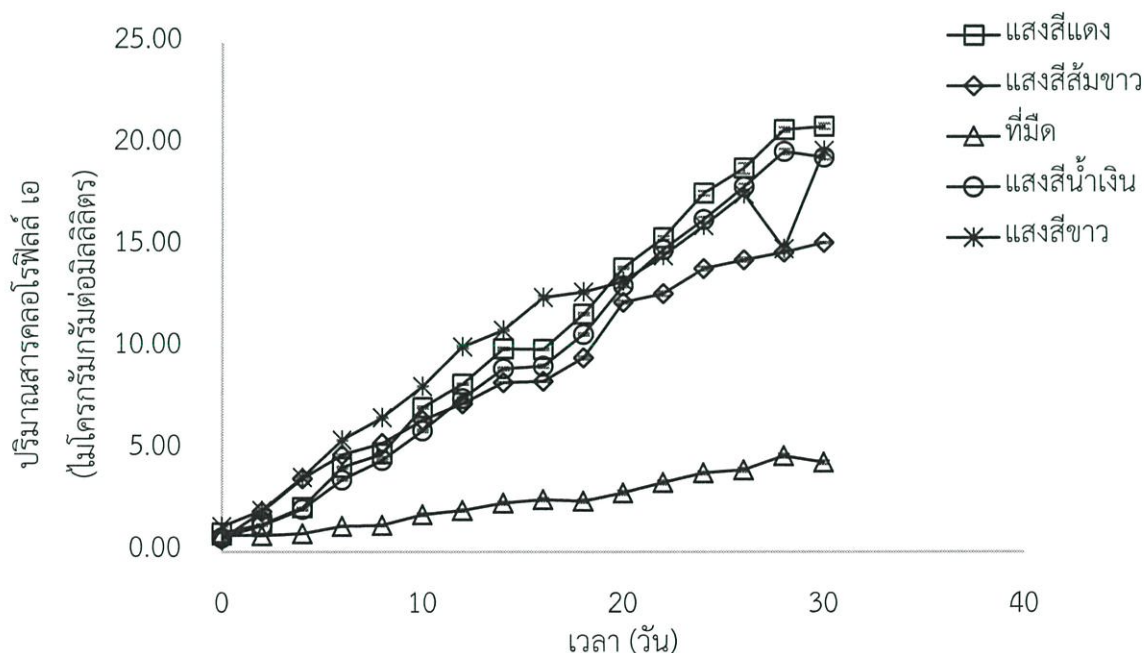
จากการปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ด้วยวิธีของ Rice-Evan และคณะ (1996) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยวัดสารสกัดและน้ำหมัก และคำนวณหาฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ได้จากกราฟมาตรฐานเคอเวอซิติน พบว่าที่แสงสีส้มขาวมีการผลิตฟลาโวนอยด์ได้สูงที่สุดคือ 46.936 มิลลิกรัมต่อลิตร (จากสารสกัด) และ 8.105 มิลลิกรัมต่อลิตร (จากน้ำหมัก) ดังรูปที่ 4.11 ปริมาณฟลาโวนอยด์จากสารสกัด และรูปที่ 4.12 ปริมาณฟลาโวนอยด์จากน้ำหมัก เมื่อเปรียบเทียบกันจะเห็นได้ว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดมีปริมาณมากกว่าในน้ำหมัก

จากการศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธีของ Rice-Evan และคณะ (1997) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 723 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ที่สภาวะแสงสีส้มขาวมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 23.676 มิลลิกรัมต่อลิตร (จากสารสกัด) และ 19.755 มิลลิกรัมต่อลิตร (จากน้ำหมัก) รองลงมาคือที่แสงสีน้ำเงินและที่น้อยที่สุดคือในที่มืด ดังรูปที่ 4.13 และ 4.14 เมื่อเปรียบเทียบรูปที่ 4.13 และ 4.14 ปริมาณฟีนอลิกที่สกัดได้มีมากกว่าปริมาณฟีนอลิกที่อยู่ในน้ำหมักอย่างเห็นได้ชัด เช่นเดียวกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

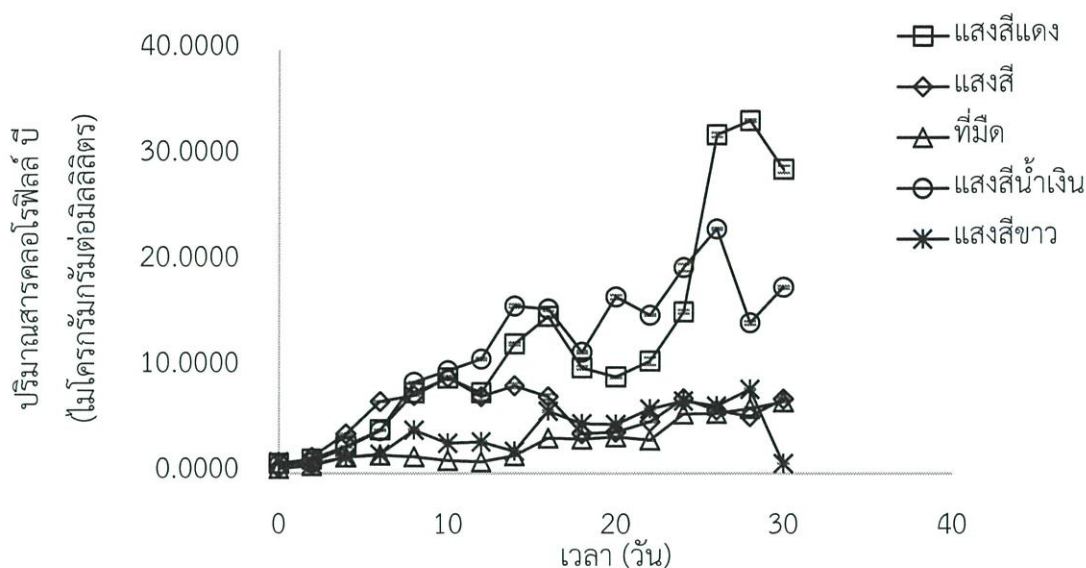
จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติภายใต้แสงสีต่างๆ เมื่อพิจารณาจากน้ำหมัก พบว่าผลผลิตภาพของสารแคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์เอและบี ภายใต้การเลี้ยงที่แสงสีแดง สีน้ำเงินและสีขาว ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 4.3 เมื่อพิจารณาจากสารสกัด พบว่า ผลผลิตภาพของคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์เอบี และลูทีน มีผลผลิตภาพการผลิมากที่สุดคือ  $2.50 \pm 0.41$ ,  $4.63 \pm 0.76$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ  $0.28 \pm 0.02$  ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ภายใต้การเพาะเลี้ยงที่สภาวะแสงสีแดง ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ 0.05 กับแสงสีอื่นๆ ดังนั้นจึงเลือกสภาวะการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง เพื่อนำไปเลี้ยงต่อในสภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนแตกต่างกัน



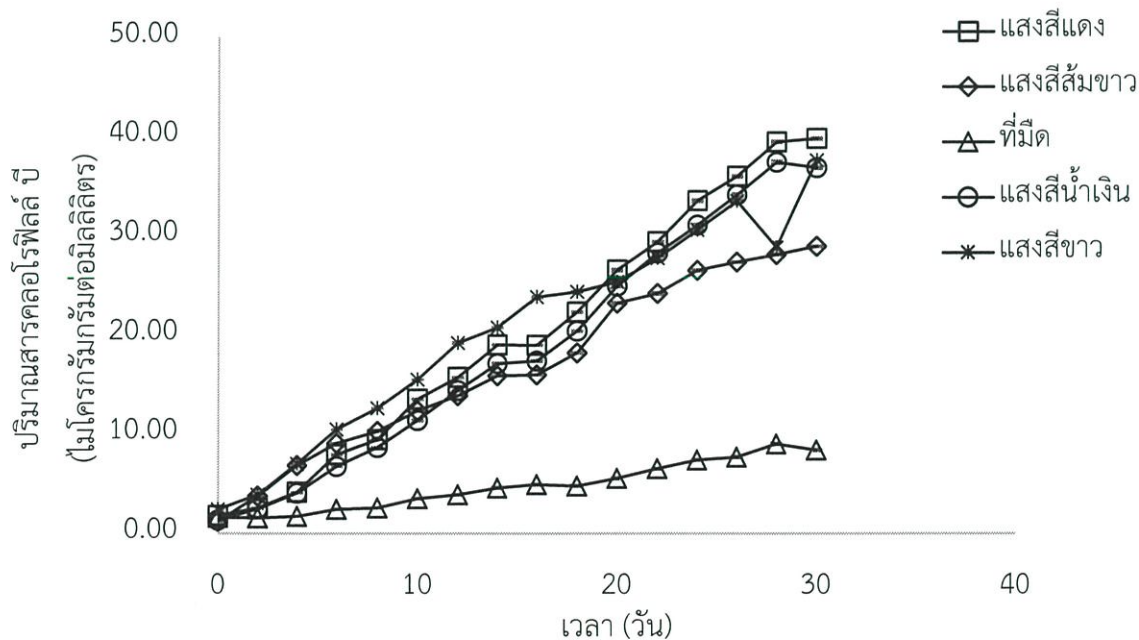
รูปที่ 4.4 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



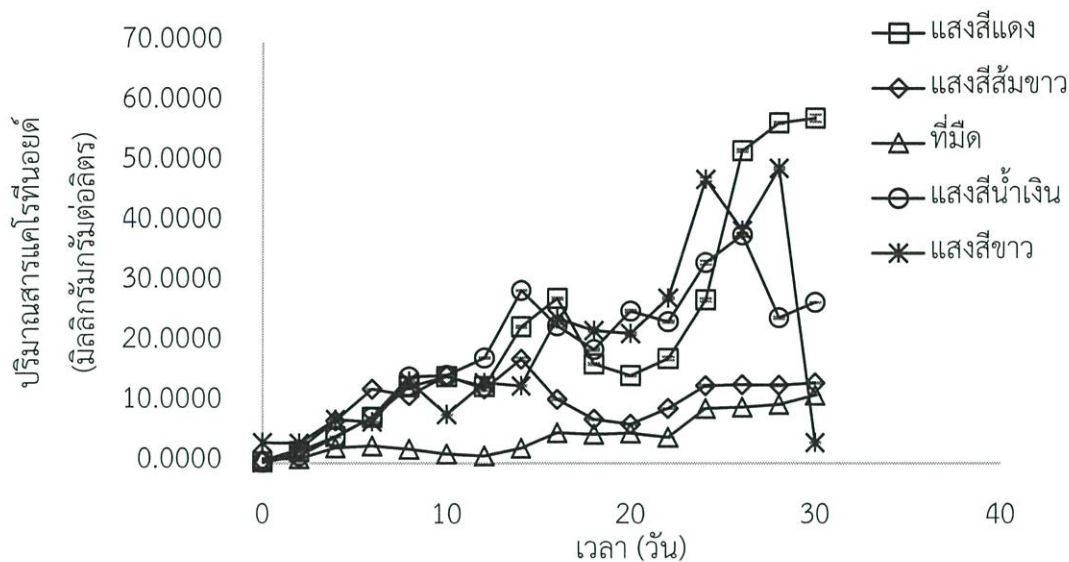
รูปที่ 4.5 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



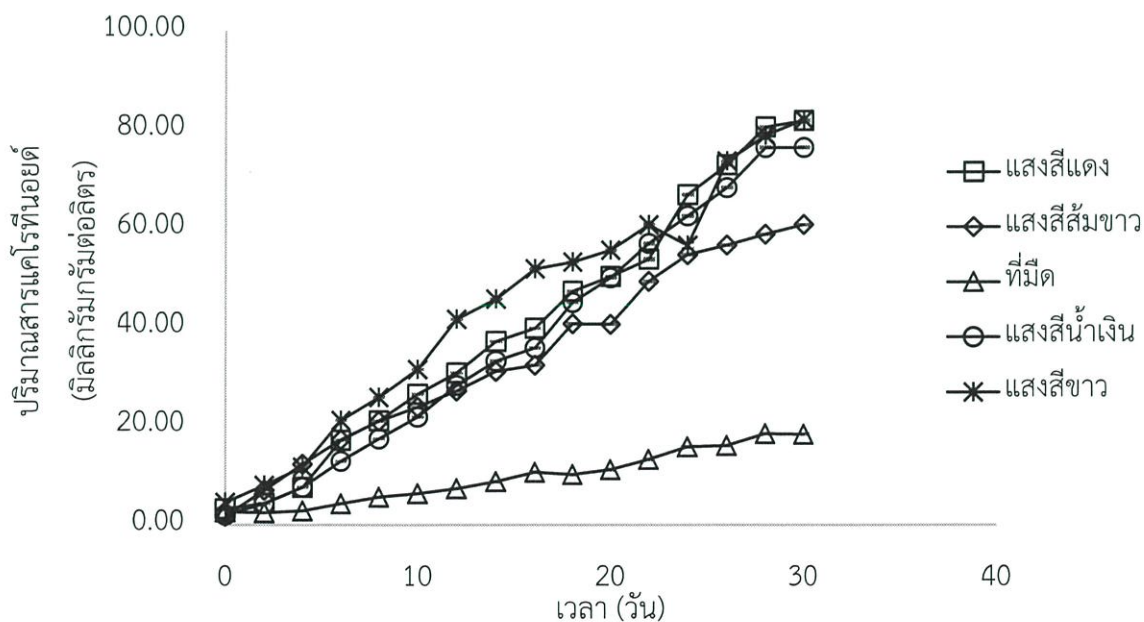
รูปที่ 4.6 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



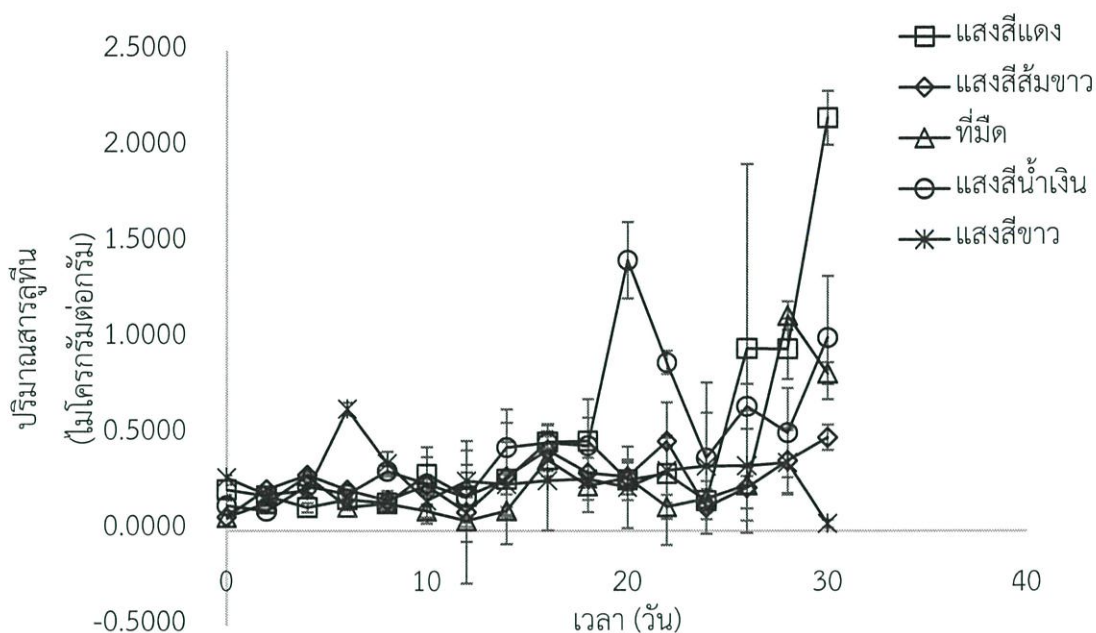
รูปที่ 4.7 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



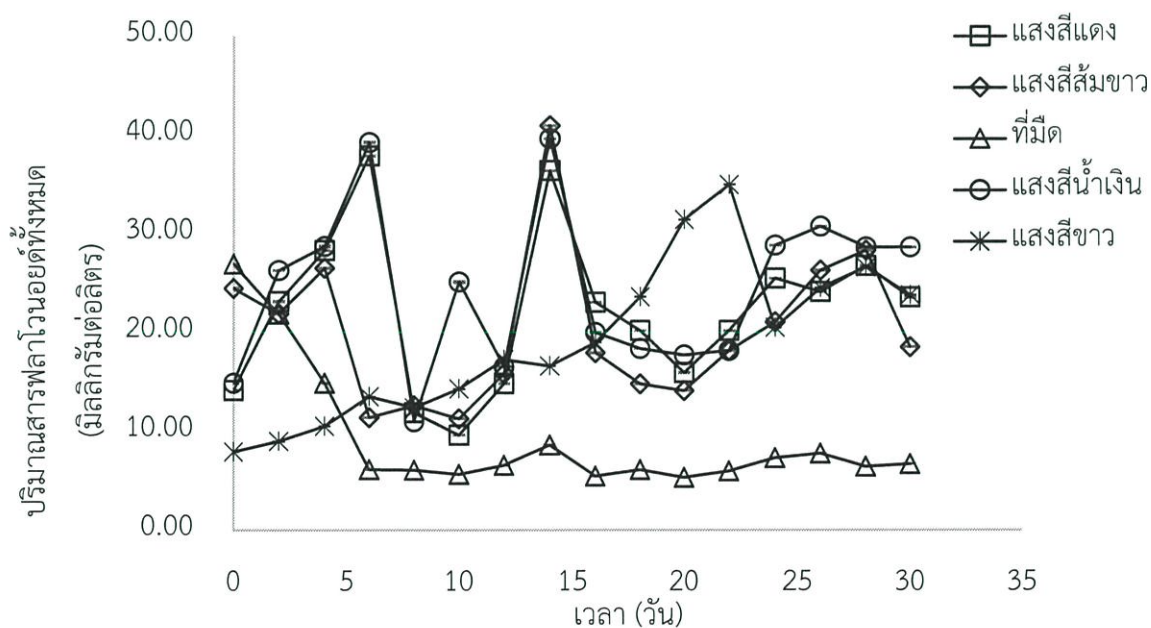
รูปที่ 4.8 ปริมาณสารแคโรทินอยด์จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



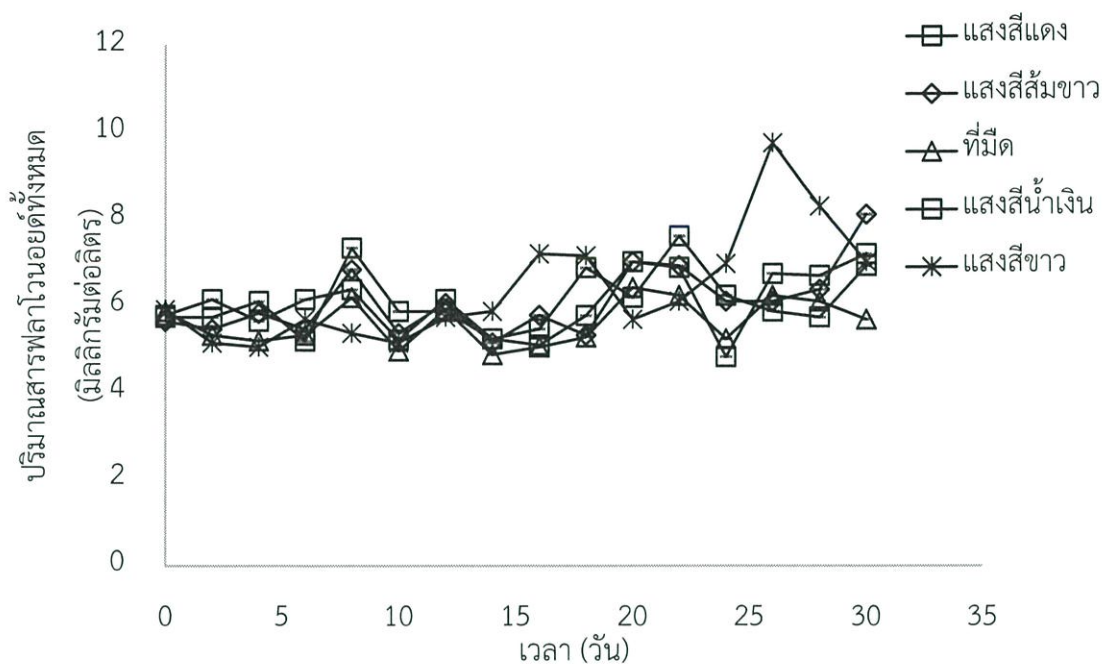
รูปที่ 4.9 ปริมาณสารแคโรทินอยด์จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



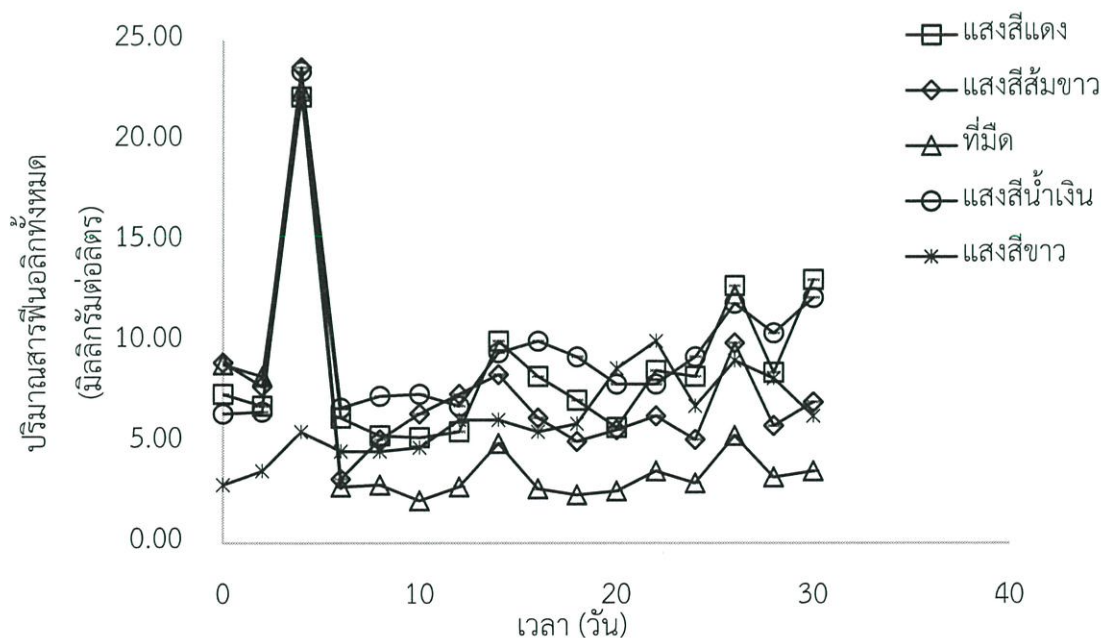
รูปที่ 4.10 ปริมาณลูทีนจากสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



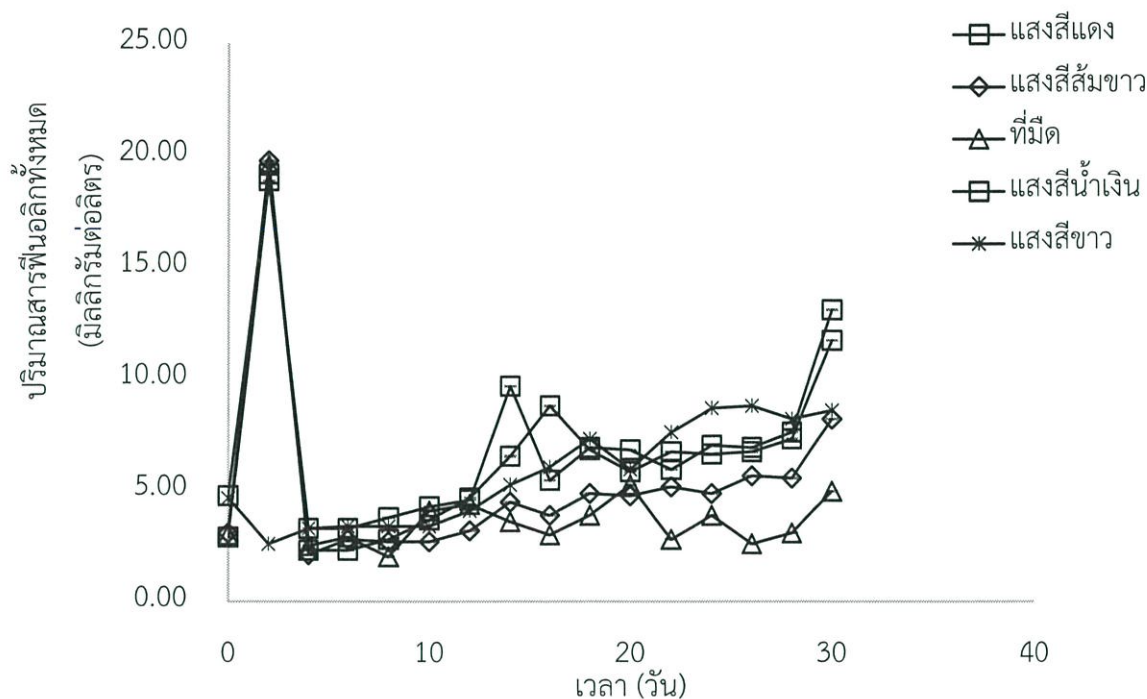
รูปที่ 4.11 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



รูปที่ 4.12 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



รูปที่ 4.13 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



รูปที่ 4.14 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)

## 4.2 การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแสงสีแดง ที่มีไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

### 4.2.2 การเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย

การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของสาหร่ายจะทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 14 วัน โดยจะทำการนับเซลล์ทุกๆ 2 วัน จากผลการทดลองพบว่าได้ช่วงระยะการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ภายใต้สภาวะแสงสีแดงที่มีความเข้มข้นไนเตรทแตกต่างกัน พบว่าที่สภาวะที่มีความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตสูงสุด โดยมีความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ  $3.375 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร มีความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ  $3.242 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.15 และที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0 กรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (ความเข้มข้นเซลล์น้อยที่สุด) และศึกษาความหนาแน่นมวลชีวภาพของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ภายใต้สภาวะแสงสีแดงที่มีไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ โดยวัดการเจริญเติบโตด้วยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ทุกๆ 2 วัน พบว่าความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด รองลงมาคือที่ความเข้มข้นไนเตรท 1.5 กรัมต่อลิตร แต่ที่ความเข้มข้นไนเตรท 0 กรัมต่อลิตรมีค่าการดูดกลืนแสง

น้อยที่สุด ดังรูปที่ 4.16 และผลของน้ำหนักแห้งที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรทต่างๆ พบว่าที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุด รองลงมาคือความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร และน้อยที่สุดคือที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0 กรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.17 ซึ่งการศึกษาการเจริญเติบโตทั้ง 3 วิธีให้ผลไปในทางเดียวกันว่าที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตรมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด จากการเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp. พบว่าที่แสงสีแดงและที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 0.146 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน (เมื่อหาจากความเข้มข้นเซลล์) และ 0.172 ต่อวัน (เมื่อหาจากความหนาแน่นของเซลล์) รองลงมาคือที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตรมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.128 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อวัน รองลงมาคือที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 2.25, 3 และ 0 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 4.2

จากงานวิจัยของ Garcia Canedo และคณะ (2016) ได้ศึกษาการเลี้ยงแบบ Batch และ Fed batch ในสภาวะที่ความเข้มข้นไนเตรทแตกต่างกัน โดยใช้ความเข้มข้นไนเตรท 2 แบบ แบบที่ 1 คือ 24, 41 และ 82 มิลลิกรัมต่อลิตร และแบบที่ 2 คือ 22, 40, 75 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นไนเตรท 75 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักแห้ง (DCW) สูงที่สุดถึง  $4.05 \pm 0.04$  กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ  $8.24 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นไนเตรทมากกว่า 75 มิลลิกรัมต่อลิตร จะไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยเราคือ เมื่อเพิ่มปริมาณไนเตรทมากกว่า 0.75 กรัมต่อลิตร จะไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตให้เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.5 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่สภาวะแสงสีต่างๆ

สภาวะ		อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, $\mu$ (ต่อวัน)	
		ปริมาณเซลล์	ความหนาแน่นเซลล์
ความ เข้มข้น ไนเตรท (กรัมต่อ ลิตร)	0	0.2026	0.1673
	0.75	0.2396	0.1720
	1.5	0.2381	0.1649
	2.25	0.2374	0.1558
	3.0	0.2365	0.1637

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโต ที่สภาวะแสงสีแดงและมีความเข้มข้นของไนเตรตต่างๆ

สภาวะ		อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อวัน)	
		จำนวนเซลล์	ความหนาแน่นของเซลล์
ความเข้มข้นของไนเตรต (กรัมต่อลิตร)	0	$0.2105 \pm 0.0054^d$	$0.1673 \pm 0.0020^{ef}$
	0.75	$0.2442 \pm 0.0002^a$	$0.1720 \pm 0.0033^e$
	1.5	$0.2396 \pm 0.0007^{ab}$	$0.1648 \pm 0.0036^f$
	2.25	$0.2301 \pm 0.0112^{bc}$	$0.1558 \pm 0.0025^g$
	3	$0.2213 \pm 0.0031^c$	$0.1516 \pm 0.0053^g$

- หมายเหตุ
1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  3. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 4.7 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของแคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์เอ และบี จากสารสกัดและน้ำหมัก ในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง ที่มี ความเข้มข้นของไนเตรตต่างๆ

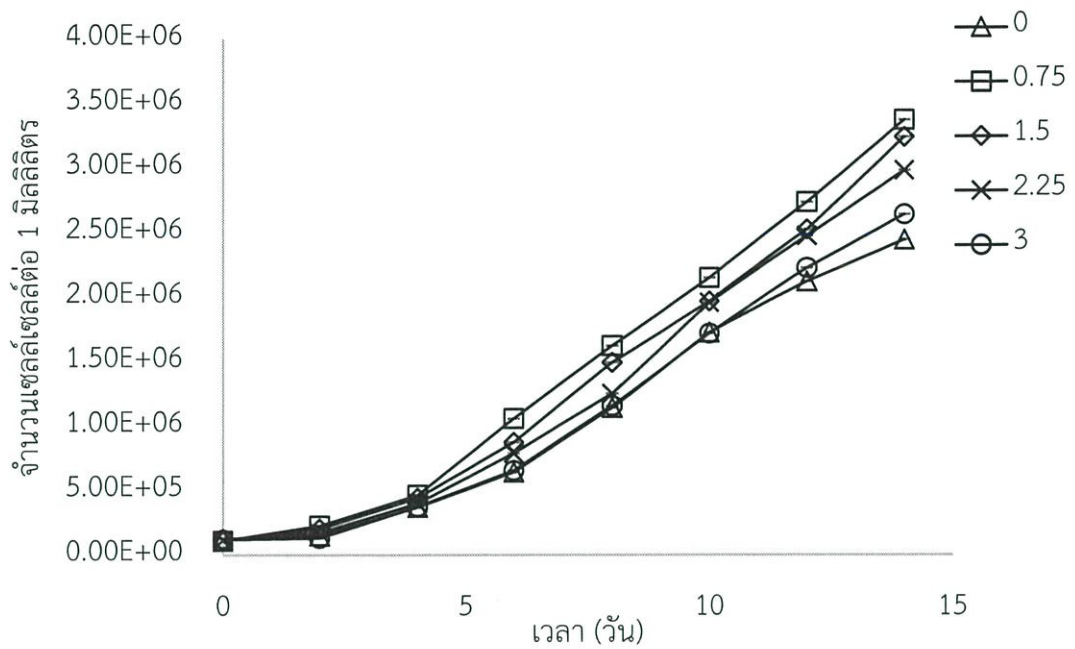
ความเข้มข้นของ ไนเตรต (กรัมต่อลิตร)	ผลิตภาพ (Productivity)					
	แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		คลอโรฟิลล์ เอ (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)		คลอโรฟิลล์ บี (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)	
	สารสกัด	น้ำหมัก	สารสกัด	น้ำหมัก	สารสกัด	น้ำหมัก
0	2.0878 ± 0.0387 <sup>c</sup>	6.6073 ± 0.0996 <sup>h</sup>	0.2939 ± 0.0126 <sup>k</sup>	1.7277 ± 0.0265 <sup>o</sup>	0.5583 ± 0.0244 <sup>q</sup>	3.2917 ± 0.0516 <sup>u</sup>
0.75	4.4035 ± 0.1958 <sup>a</sup>	10.6645 ± 0.2886 <sup>d</sup>	0.5659 ± 0.1007 <sup>i</sup>	2.7584 ± 0.1869 <sup>l</sup>	1.0702 ± 0.1883 <sup>p</sup>	5.2563 ± 0.3520 <sup>f</sup>
1.5	2.6988 ± 0.3112 <sup>b</sup>	9.0282 ± 0.2268 <sup>e</sup>	0.4329 ± 0.0353 <sup>j</sup>	2.3758 ± 0.0461 <sup>m</sup>	0.5809 ± 0.1262 <sup>q</sup>	4.5079 ± 0.0697 <sup>s</sup>
2.25	2.3079 ± 0.0785 <sup>c</sup>	7.9630 ± 0.3683 <sup>f</sup>	0.3628 ± 0.0304 <sup>jk</sup>	2.0084 ± 0.0916 <sup>n</sup>	0.6839 ± 0.0577 <sup>q</sup>	3.8297 ± 0.1746 <sup>t</sup>
3	2.3838 ± 0.0611 <sup>c</sup>	7.1495 ± 0.1117 <sup>s</sup>	0.3017 ± 0.0264 <sup>k</sup>	1.8677 ± 0.0317 <sup>no</sup>	0.5665 ± 0.0510 <sup>q</sup>	3.5624 ± 0.0574 <sup>tu</sup>

- หมายเหตุ
1. a, b, c หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
  2. d, e, f, g, h หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของแคโรทีนอยด์ในจากน้ำหมักการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
  3. i, j, k หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
  4. l, m, n, o หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากน้ำหมักในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
  5. p, q หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
  6. r, s, t, u หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากน้ำหมักในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

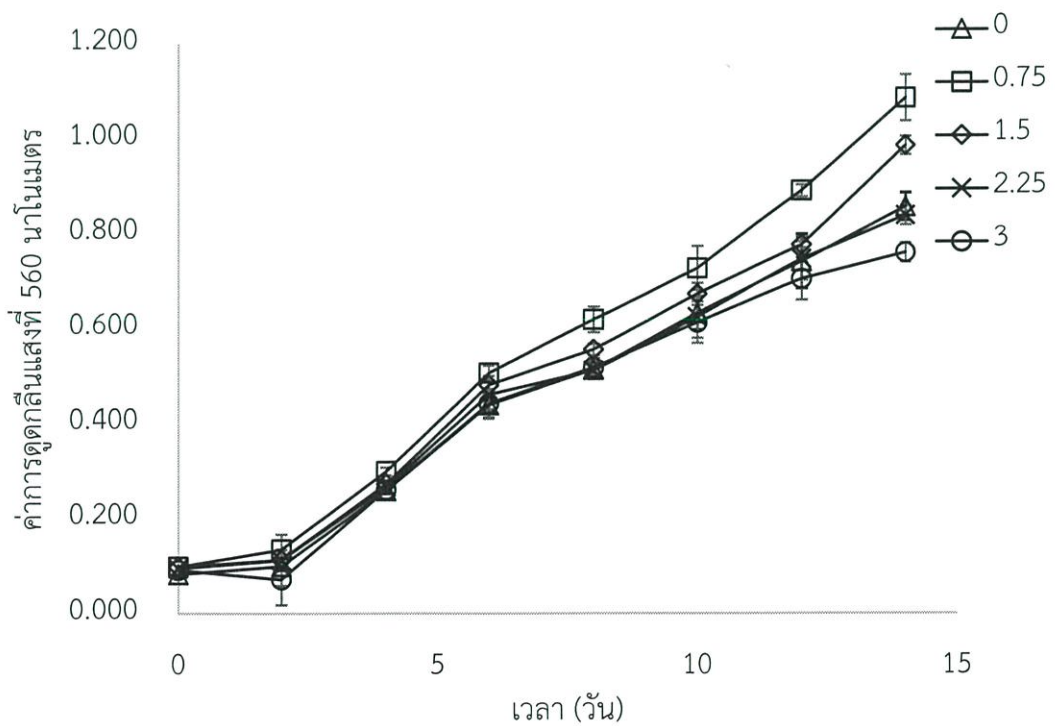
ตารางที่ 4.8 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของลูทีน ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฟีนอลิกทั้งหมด จากสารสกัดและน้ำหมัก ในการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง ที่มีความเข้มข้นของไนเตรตต่างๆ

ความเข้มข้นของ ไนเตรต (กรัมต่อลิตร)	ผลิตภาพ (Productivity)				
	ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ลูทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม)
	สารสกัด	น้ำหมัก	สารสกัด	น้ำหมัก	สารสกัด
0	5.1464 ± 0.7136 <sup>a</sup>	1.0096 ± 0.1175 <sup>d</sup>	2.0094 ± 0.5282 <sup>g</sup>	1.7414 ± 0.3959 <sup>j</sup>	0.2825 ± 0.0294 <sup>k</sup>
0.75	4.8756 ± 0.7330 <sup>a</sup>	0.9568 ± 0.0639 <sup>d</sup>	2.8112 ± 0.3246 <sup>f</sup>	2.3447 ± 0.2313 <sup>i</sup>	0.0578 ± 0.0092 <sup>m</sup>
1.5	2.4024 ± 0.6036 <sup>b</sup>	0.5864 ± 0.1263 <sup>e</sup>	2.9189 ± 0.4165 <sup>f</sup>	1.7201 ± 0.2041 <sup>j</sup>	0.1012 ± 0.0356 <sup>m</sup>
2.25	5.7308 ± 0.3671 <sup>a</sup>	1.1312 ± 0.0441 <sup>cd</sup>	3.4393 ± 0.2052 <sup>f</sup>	2.8148 ± 0.1938 <sup>h</sup>	0.2063 ± 0.0319 <sup>l</sup>
3	4.9001 ± 0.8713 <sup>a</sup>	1.3668 ± 0.3121 <sup>c</sup>	1.4193 ± 0.3802 <sup>g</sup>	1.2734 ± 0.1194 <sup>j</sup>	0.0879 ± 0.0096 <sup>m</sup>

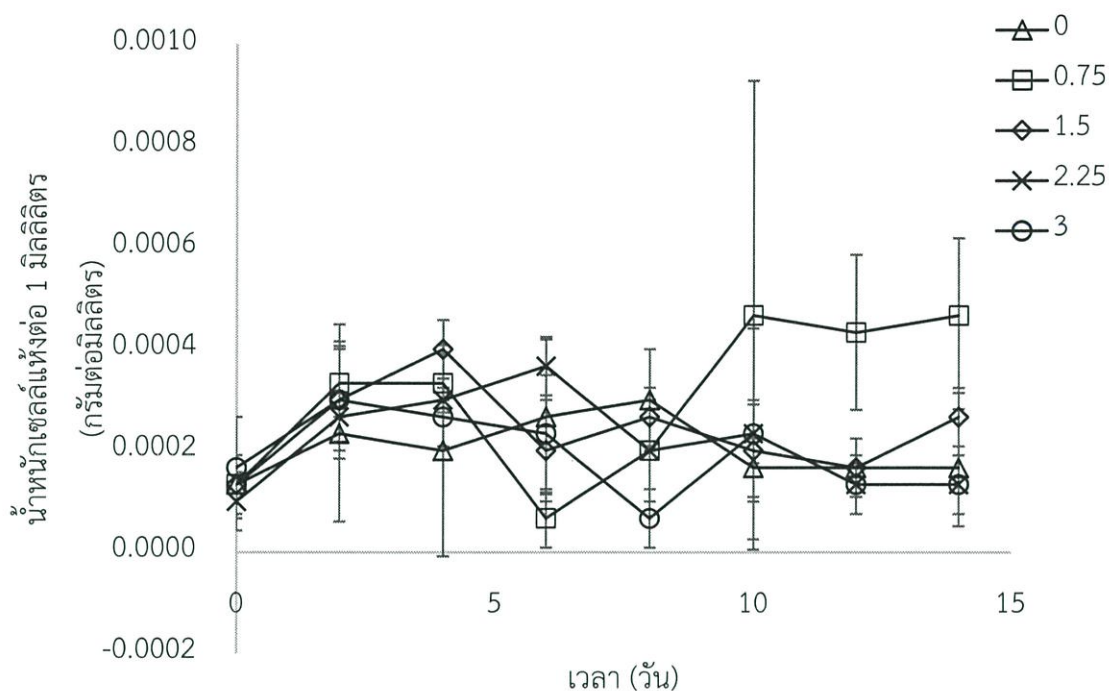
- หมายเหตุ
1. a, b, c หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของฟลาโวนอยด์จากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  2. d, e หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของฟลาโวนอยด์ในจากน้ำหมักการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  3. f, g, h หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของฟีนอลิกจากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  4. i, j หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของฟีนอลิกจากน้ำหมักในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  5. k, l, m หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างค่า productivity ของลูทีนจากสารสกัดในการเพาะเลี้ยงภายใต้ไนเตรตความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
  6. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



รูปที่ 4.15 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.16 ความหนาแน่นของมวลชีวภาพสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.17 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย สภาวะความเข้มข้นไนเตรทต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร

#### 4.2.2 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากเซลล์สาหร่าย

จากการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และบี ของ *Scenedesmus* sp. ภายใต้สภาวะไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 649 และ 665 นาโนเมตร จากสารสกัดและน้ำหมัก ทุกๆ 2 วัน แล้วนำไปคำนวณดังสมการของ Wellburn (1994) พบว่าจากสารสกัดที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอสูงที่สุด โดยได้ปริมาณมากที่สุดถึง 10.410 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (จากน้ำหมัก) และ 2.234 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (จากสารสกัด) ในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.18 (จากสารสกัด) และ 4.19 (จากน้ำหมัก) ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์บีมีปริมาณมากที่สุดที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีปริมาณคลอโรฟิลล์บีสูงถึง 21.526 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (จากน้ำหมัก) และ 4.253 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (จากสารสกัด) ในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.20 (จากสารสกัด) และ 4.21 (จากน้ำหมัก) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และบี จากน้ำหมักและสารสกัด พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และบีจากน้ำหมักมีปริมาณมากกว่าจากสารสกัด

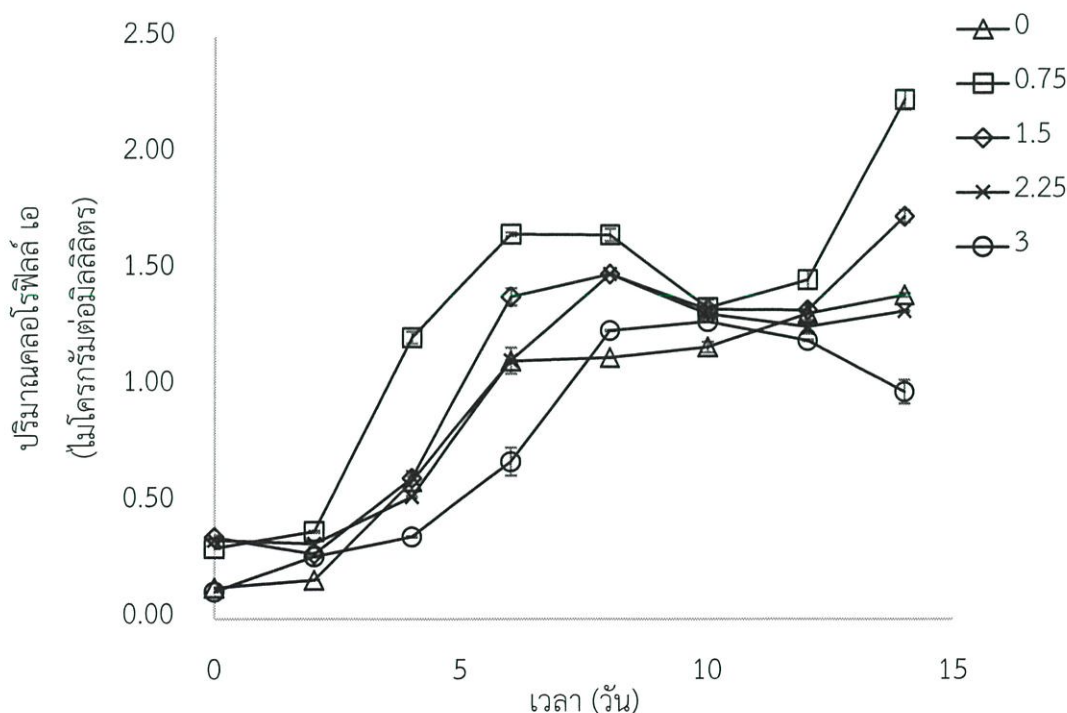
การวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 464 นาโนเมตร โดยวัดจากสารสกัดและน้ำหมัก ทุกๆ 2 วัน แล้วนำไปคำนวณดังสมการของ Pribyl และคณะ (2015) พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์จากสารสกัดที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีปริมาณมากที่สุดคือ 18.035 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์ในน้ำหมักเท่ากับ 43.675 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง รองมาคือที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร และที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0 กรัมต่อลิตรมีปริมาณแคโรทีนอยด์น้อยที่สุด ดังรูปที่ 4.22 และ 4.23 จากงานวิจัยของ Garcia Canedo และคณะ (2016) ได้ศึกษาการเลี้ยงแบบ Batch และ Fed batch ในสภาวะความเข้มข้นไนเตรทแตกต่างกัน พบว่าที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.075 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุดถึง  $2.97 \pm 0.05$  พีโคกรัมต่อเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของเรา เมื่อเพิ่มความเข้มข้นไนเตรทมากขึ้นจะไม่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น และจากงานวิจัยของ Garcia Canedo และคณะ (2016) การผลิตแคโรทีนอยด์เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการเจริญเติบโตคือ ที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.075 กรัมต่อลิตรมีความเข้มข้นเซลล์สูงที่สุดและมีการผลิตแคโรทีนอยด์สูงที่สุดเช่นเดียวกัน

การวัดปริมาณลูทีน โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 446 นาโนเมตร จากสารสกัดทุกๆ 2 วัน แล้วนำไปคำนวณดังสมการของ Wang และคณะ (2006) โดยที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตรได้ปริมาณลูทีนสูงสุดที่ 0.601 ไมโครกรัมต่อกรัมของวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง ดังรูปที่ 4.24 จากงานวิจัยของ Ho และคณะ (2015) ได้ศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตลูทีนใน *Scenedesmus obliquus* FSP-3 โดยทำการดัดแปลงแคลเซียมไนเตรทในสูตรอาหาร Detmer's ใช้ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 8, 16 และ 24 มิลลิโมลาร์ พบว่าที่ 8 มิลลิโมลาร์ ให้ปริมาณลูทีนมากที่สุดคือ 4.61 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของเรา โดยมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันคือ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไนเตรทมากขึ้นจะไม่มีผลต่อการผลิตลูทีน

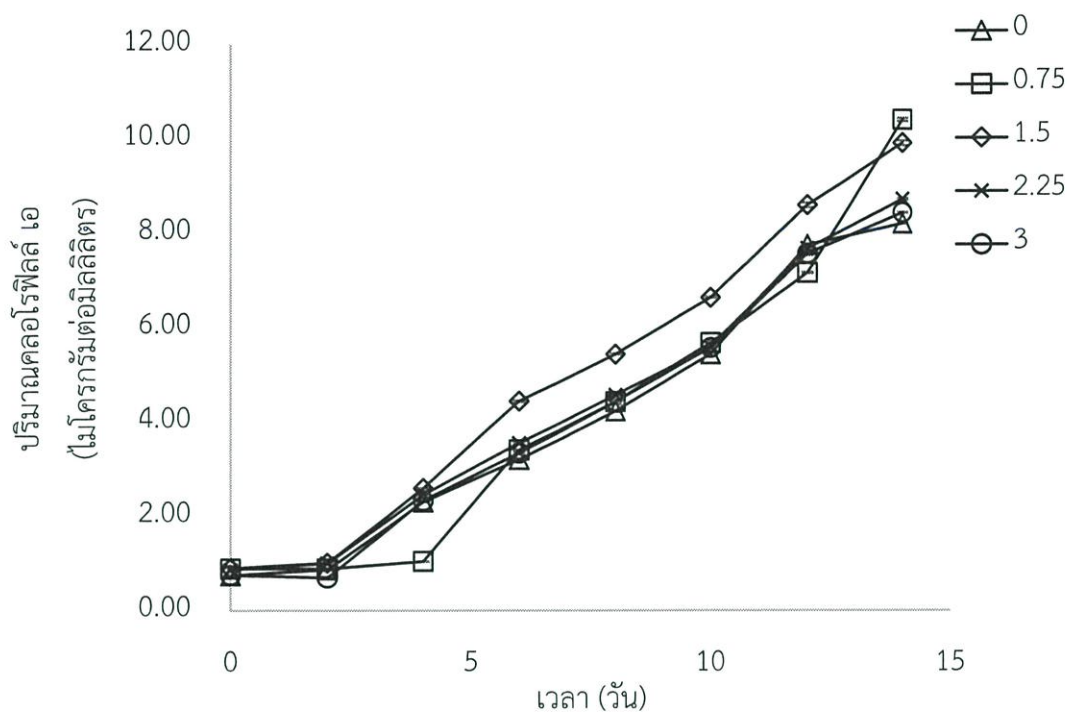
การวัดปริมาณสารสกัดฟลาโวนอยด์ ด้วยวิธีของ Rice-Evan และคณะ (1996) ที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร จากสารสกัดผลิตได้สูงสุดคือ 9.109 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง สภาวะที่ผลิตปริมาณสารสกัดฟลาโวนอยด์ได้รองลงมาคือที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 1.5, 2.25, 3 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0 กรัมต่อลิตร มีปริมาณสารสกัดฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด ดังรูปที่ 4.25 เมื่อเปรียบเทียบกันฟลาโวนอยด์จากน้ำหมัก พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดมีมากกว่าในน้ำหมัก ดังรูปที่ 4.26

จากการวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธีของ Rice-Evan และคณะ (1997) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากสกัดได้ปริมาณสูงสุดคือ 3.382 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร และจากน้ำหมักมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 3.088 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0 กรัมต่อลิตร มีปริมาณสารสกัดฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด ดังรูปที่ 4.27 (จากสารสกัด) ดังรูปที่ 4.28 (จากน้ำหมัก)

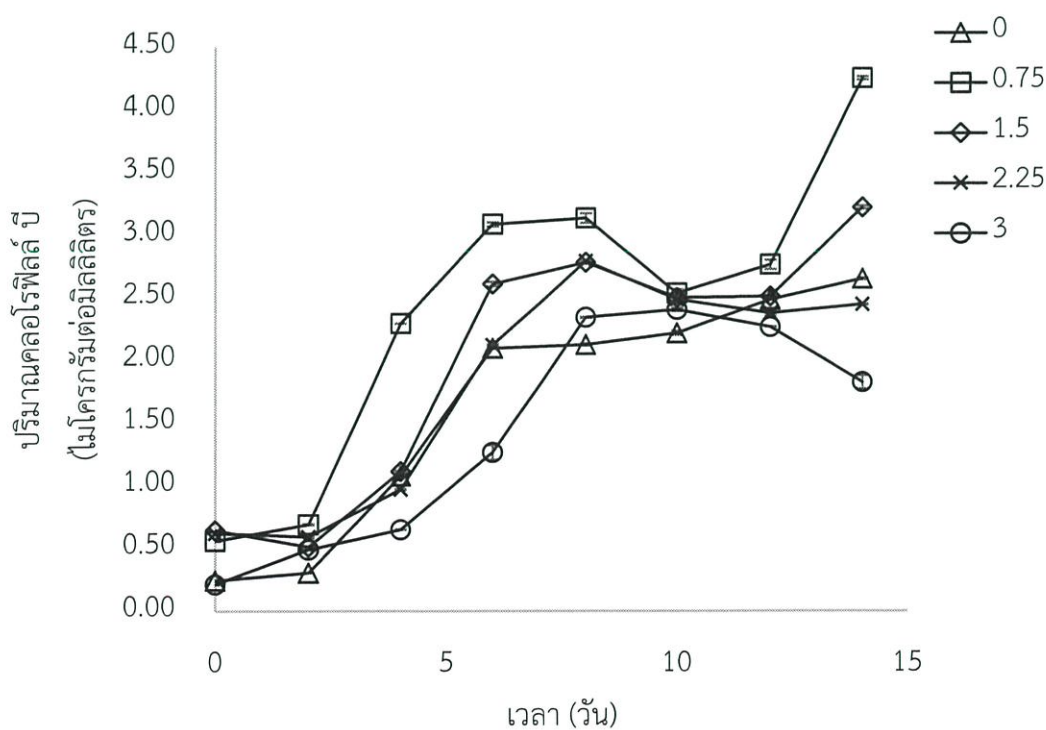
จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติภายใต้การเพาะเลี้ยงที่แสงสีแดง ที่มีความเข้มข้นของไนเตรทต่างๆ เมื่อพิจารณาจากน้ำหมักและสารสกัด พบว่าผลผลิตภาพของสารแคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ที่ความเข้มข้นของไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีผลผลิตภาพการผลิมากที่สุดคือ  $10.66 \pm 0.28$  มิลลิกรัมต่อลิตร  $2.76 \pm 0.19$  และ  $5.26 \pm 0.35$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (น้ำหมัก) ตามลำดับ และ  $4.40 \pm 0.19$  มิลลิกรัมต่อลิตร  $0.57 \pm 0.10$  และ  $1.07 \pm 0.18$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (สารสกัด) ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ 0.05 กับความเข้มข้นของไนเตรท 0, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



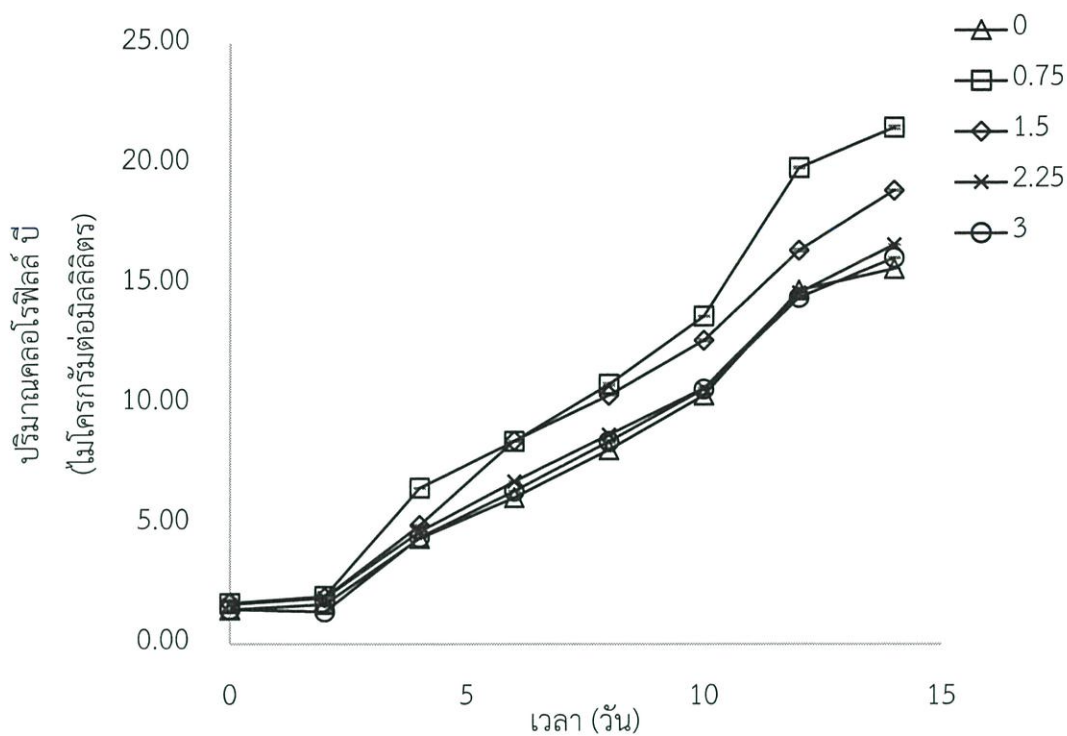
รูปที่ 4.18 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรทต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



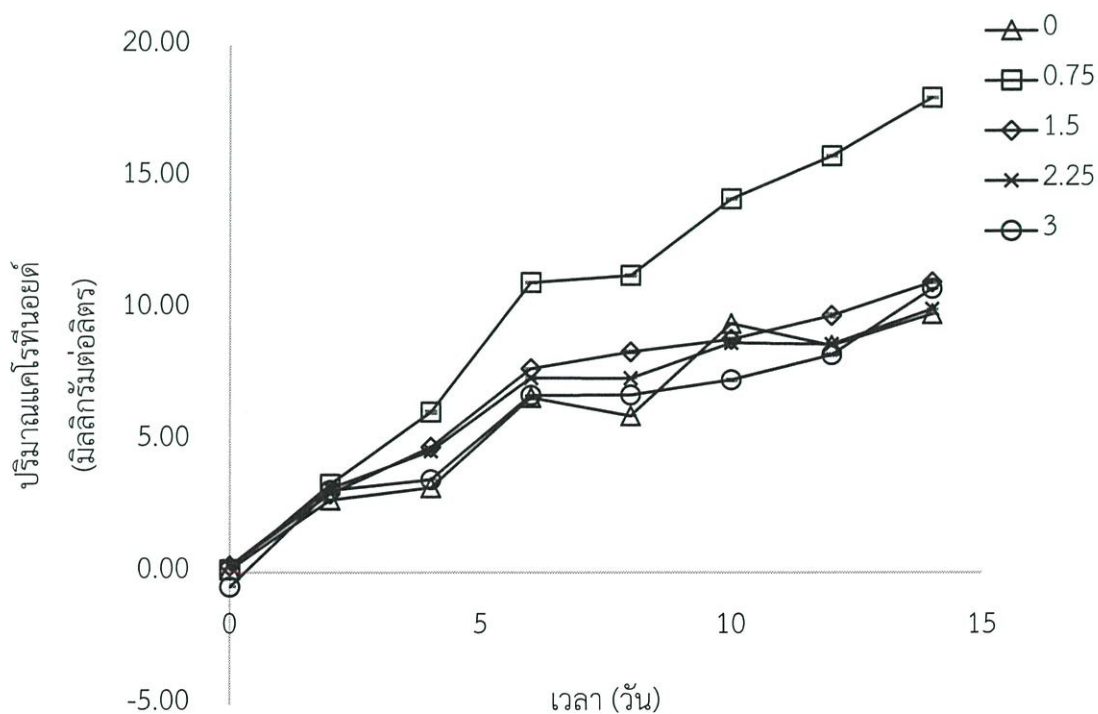
รูปที่ 4.19 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



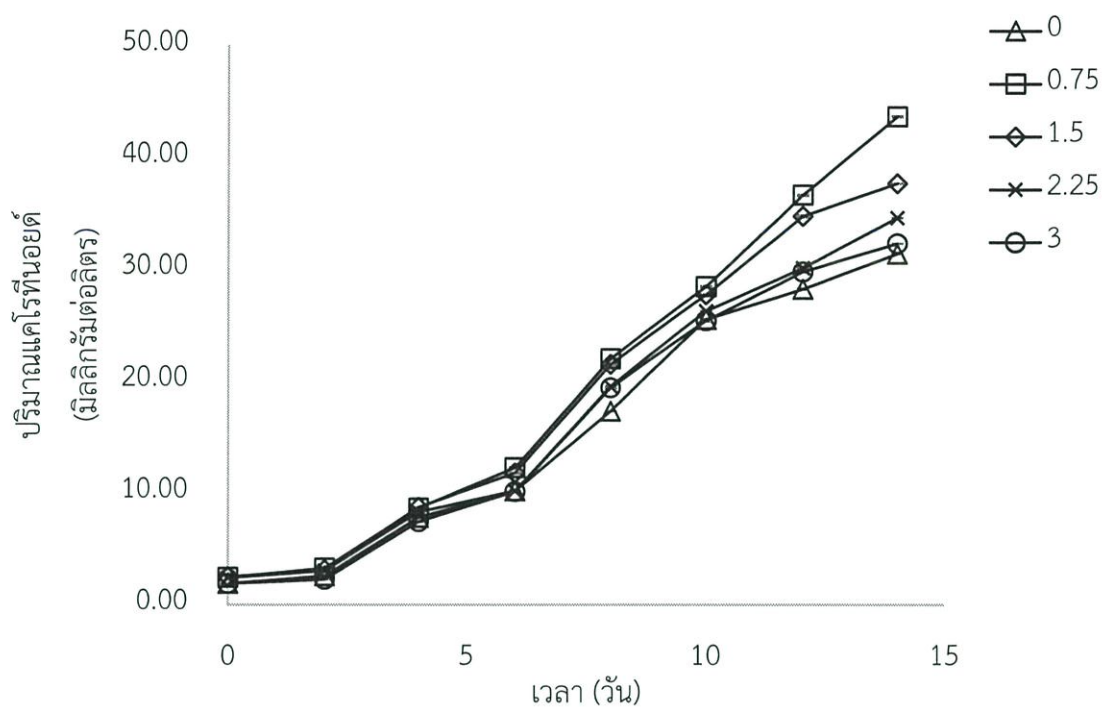
รูปที่ 4.20 ปริมาณคลอโรฟิลล์บี จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



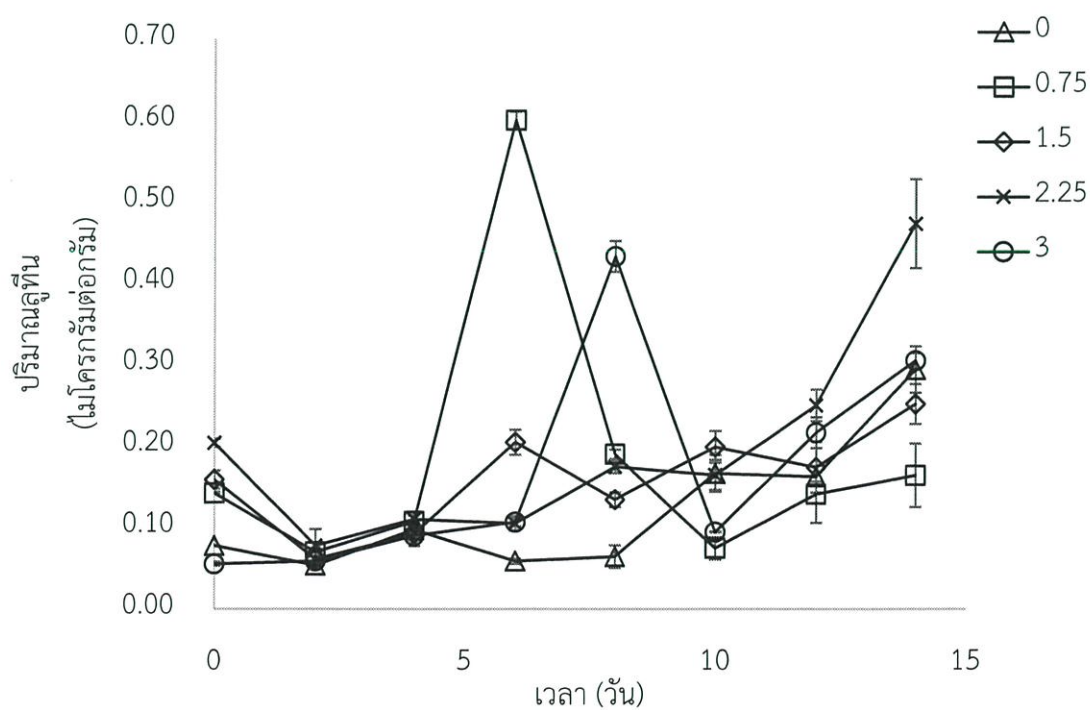
รูปที่ 4.21 ปริมาณคลอโรฟิลล์พี จากน้ำหนักของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรทต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



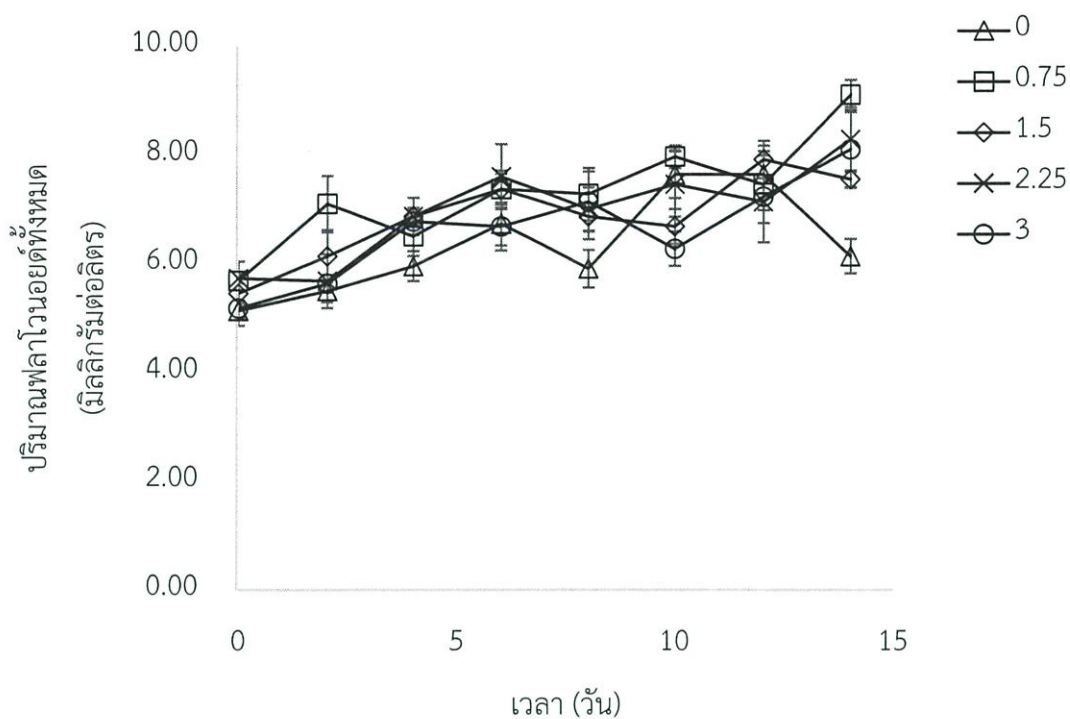
รูปที่ 4.22 ปริมาณแคโรทีนอยด์จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรทต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



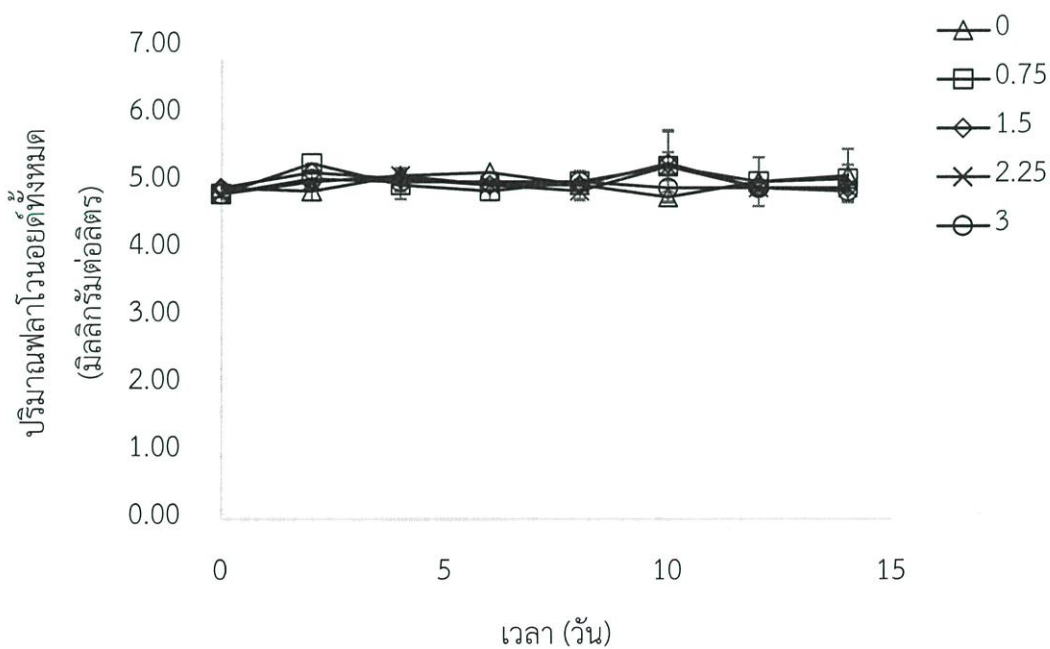
รูปที่ 4.23 ปริมาณแคโรทีนอยด์จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



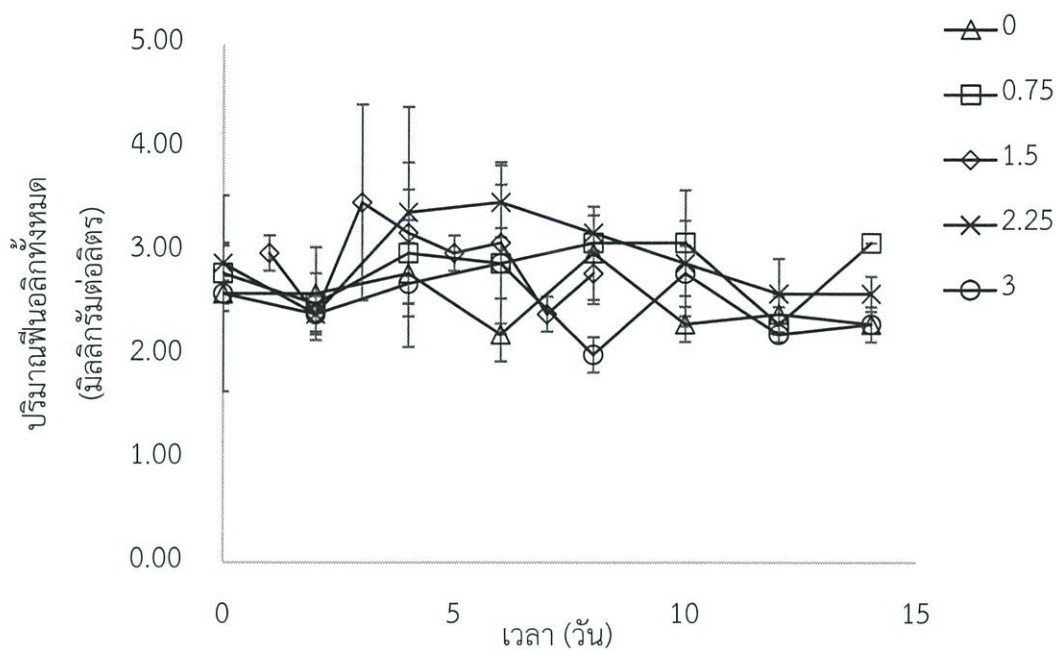
รูปที่ 4.24 ปริมาณลูทีนจากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



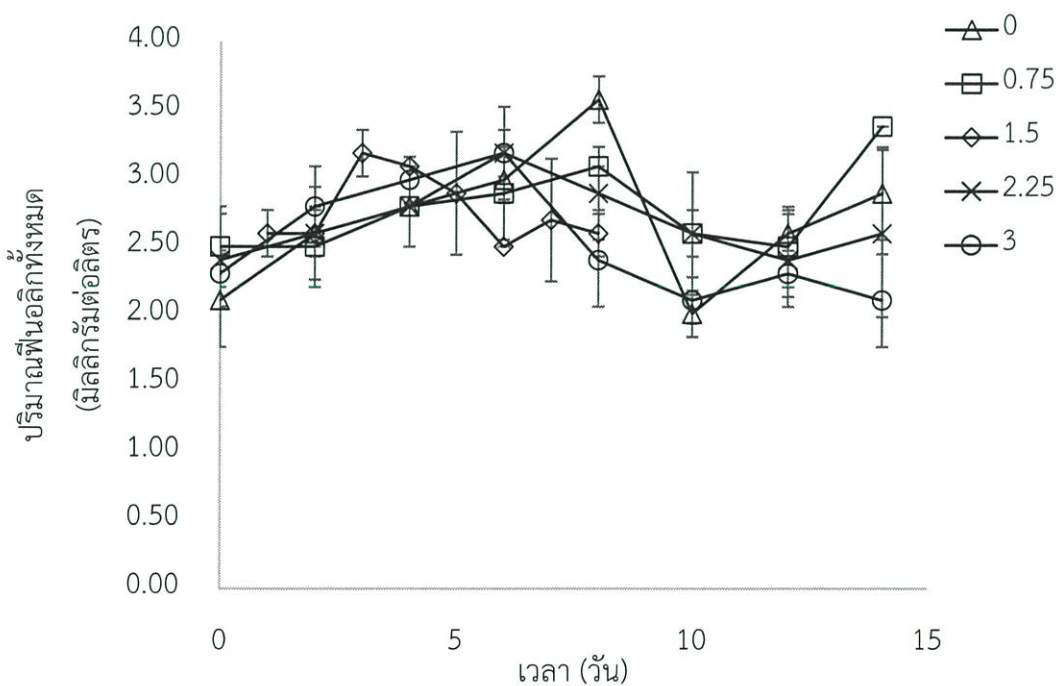
รูปที่ 4.25 ปริมาณฟลาโวนอยด์จากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.26 ปริมาณฟลาโวนอยด์จากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.27 ปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.28 ปริมาณฟีนอลิกจากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร

### 4.3 ผลของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

หาร้อยละของการต้านสารอนุมูลอิสระ (% inhibition) ด้วยวิธี DPPH โดยทำการทดสอบทั้งสารสกัดและน้ำหมักของสาหร่าย พบว่าสารสกัดสาหร่ายที่สภาวะแสงสีน้ำเงินมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 13.35 ซึ่งมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดสาหร่ายที่สภาวะแสงสีแดงมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 11.19 และสารสกัดสาหร่ายที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0 และ 3 กรัมต่อลิตร มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ ร้อยละ 35.13 และ 15.03 ตามลำดับ


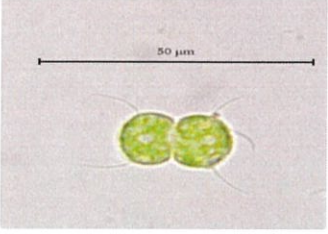
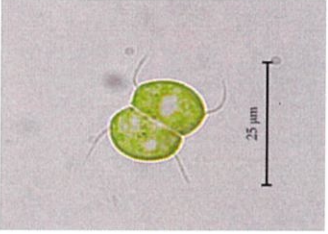
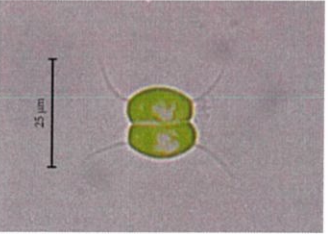
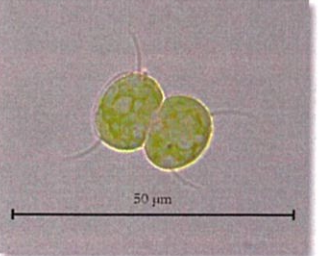
### 4.4 ผลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

จากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าที่สภาวะแสงสีน้ำเงินมีน้ำหนักหลังการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสูงที่สุดเท่ากับ 1.577 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือแสงสีแดง สีส้มขาว และที่มืด (Control) ได้น้ำหนักเซลล์สาหร่ายเท่ากับ 1.391, 1.063 และ 0.234 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.9 ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญเติบโตของ *Scenedesmus* sp. ดังรูปที่ 4.1 ที่สภาวะแสงสีน้ำเงินมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเซลล์สาหร่ายของสภาวะไนเตรทต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ 1.193 กรัมต่อลิตร รองมาคือความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 1.5, 2.25, 3 และ 0 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักหลังทำแห้งเท่ากับ 0.845, 0.737, 0.596 และ 0.468 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 4.9

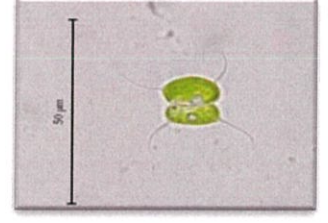
ตารางที่ 4.9 น้ำหนักของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งภายใต้การเพาะเลี้ยงที่แสงสีต่างๆ (ระยะเวลา 30 วัน) และภายใต้แสงสีแดง ที่มีความเข้มข้นของไนเตรทต่างๆ (ระยะเวลา 14 วัน)

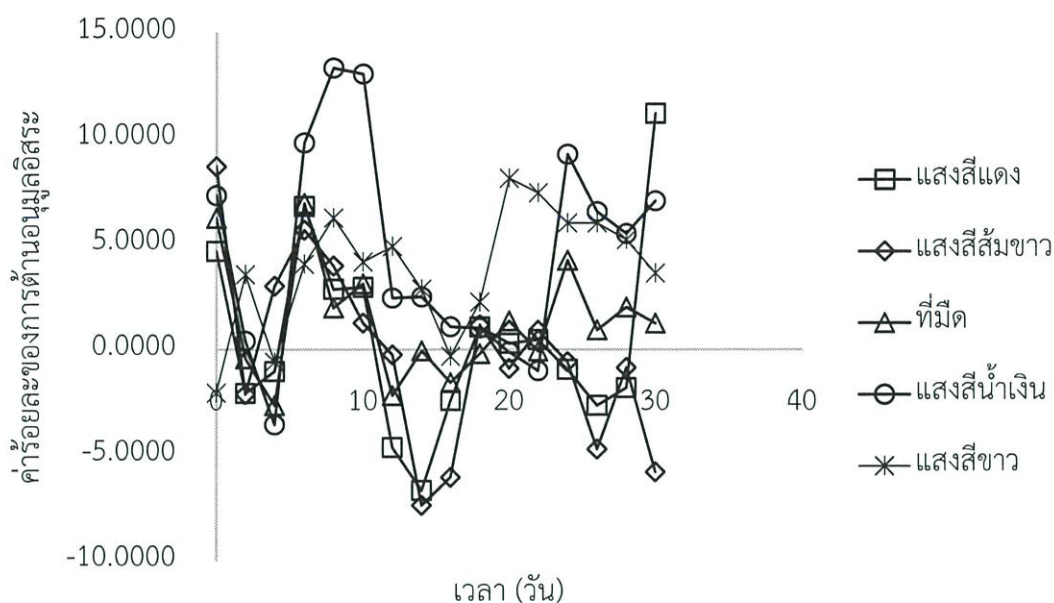
น้ำหนักของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (กรัมต่อลิตร)			
แสงสีต่างๆ	น้ำหนัก (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนัก (กรัมต่อลิตร)
ที่มืด	0.234	0	0.468
สีส้มขาว	1.063	0.75	1.193
สีแดง	1.391	1.5	0.845
สีน้ำเงิน	1.577	2.25	0.737
สีแสงขาว	1.240625	3	0.596

ตารางที่ 4.10 ลักษณะของ *Scenedesmus almatius* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ในการเพาะเลี้ยงที่สภาวะแสงสีต่างๆ

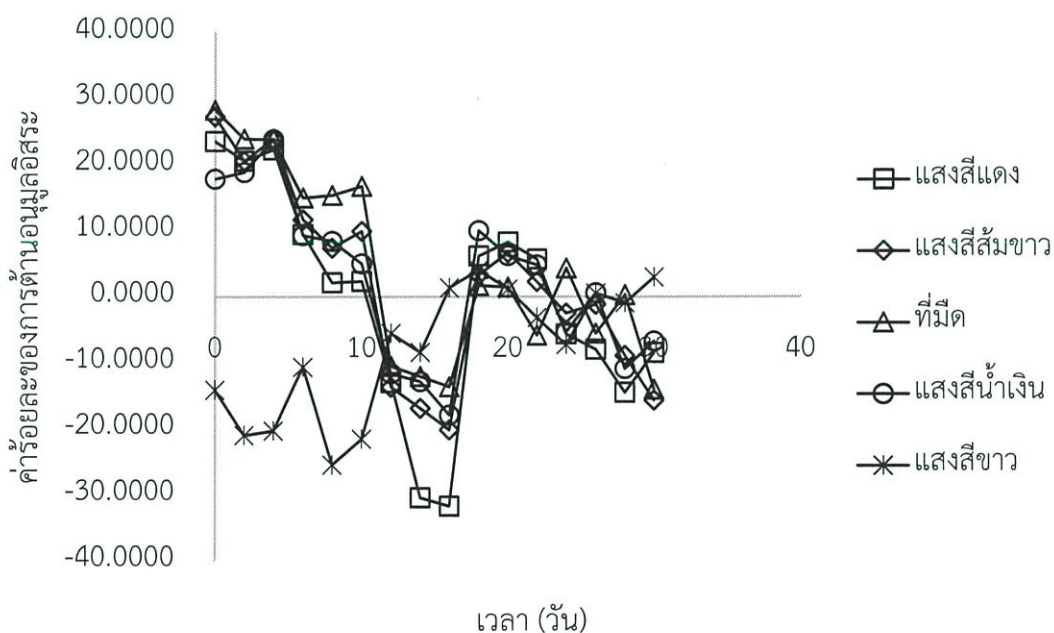
แสงสี	ลักษณะของสาหร่าย <i>Scenedesmus almatius</i>
ที่มืด	
สีส้มขาว	
สีแดง	
สีน้ำเงิน	
สีขาว	

ตารางที่ 4.11 ลักษณะของ *Scenedesmus almatus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ในการเพาะเลี้ยงที่สภาวะแสงสีแดงโดยมีไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

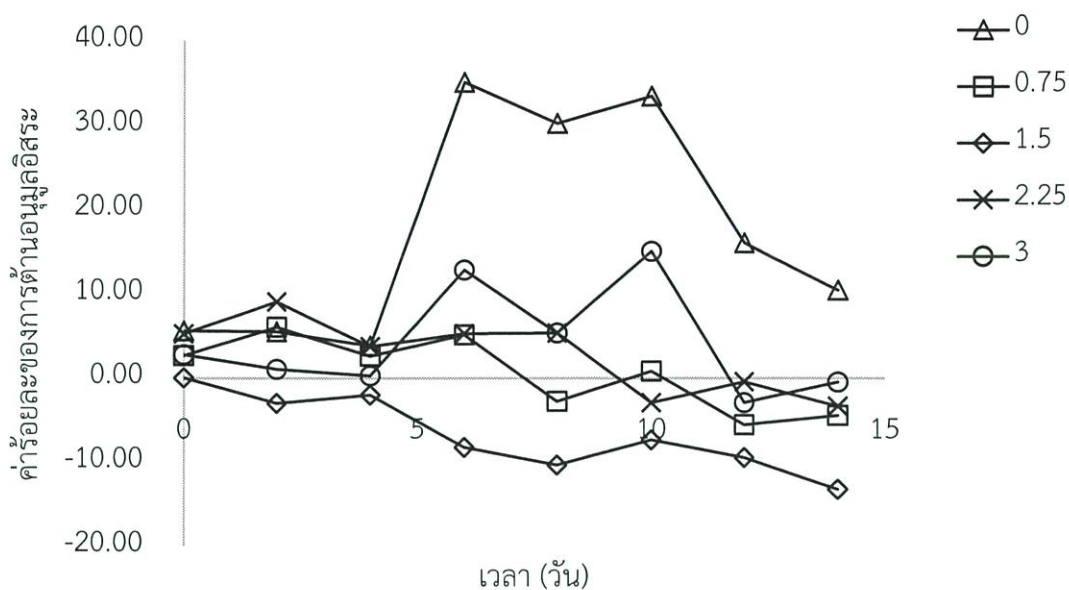
ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	ลักษณะของสาหร่าย <i>Scenedesmus almatus</i>
0	
0.75	
1.5	
2.25	
3	



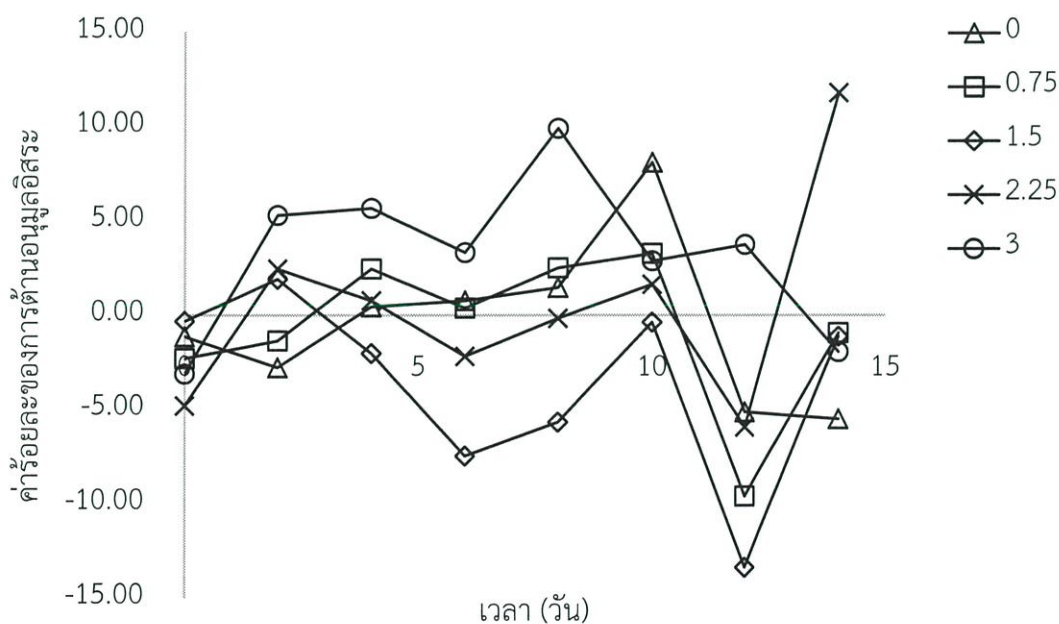
รูปที่ 4.29 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



รูปที่ 4.30 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระจากน้ำหมักของสาหร่าย ที่สภาวะแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง (800 ลักซ์), แสงสีส้มขาว (1362.5 ลักซ์), ที่มืด (0 ลักซ์), แสงสีน้ำเงิน (4975 ลักซ์), แสงขาว (4552 ลักซ์)



รูปที่ 4.31 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดของสาหร่าย ที่ความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.32 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระจากน้ำหมักของสาหร่าย ที่ความเข้มข้นไนเตรตต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร

## บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการเพาะเลี้ยง *Scenedesmus* sp. ในสูตรอาหาร BG-11 ที่สภาวะแสงสีต่างๆ คือแสงสีแดง แสงสีน้ำเงิน แสงสีส้มขาว จากหลอดแอลอีดี และในที่มืด (ควบคุม) โดยทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน ที่สภาวะแสงสีน้ำเงินและสีแดง มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด และที่แสงสีแดงมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และบี ปริมาณลูทีน ปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณฟลาโวนอยด์และฟีนอลิก สูงที่สุด รองมาคือแสงสีน้ำเงิน ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญเติบโต เมื่อมีการผลิตสารในปริมาณมากทำให้มีผลต่อกระบวนการเจริญเติบโตของสาหร่าย จากนั้นนำสภาวะภายใต้แสงสีแดงมาเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นของไนเตรทต่างๆ พบว่าที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด และมีปริมาณสารต่างๆ สูงที่สุดอย่างเห็นได้ชัด จึงสรุปได้ว่า ในสภาวะแสงสีแดงและที่ความเข้มข้นไนเตรทเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* sp. เพื่อผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ

### 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การทดสอบการฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ควรวัดสารด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงผ่านคิวเวต
2. ควรขยายขนาดในการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ดีที่สุดเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต และปริมาณการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ

## เอกสารอ้างอิง

- จنگล พรหมยะและขจรเกียรติ์ แซ่ตัน. 2548. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อสุขภาพ. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมงคณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 39น.
- จันทิมา หอมกลบ และคณะ. 2554. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเอทิลอะซีเตตจากผลมะขามป้อมจากแหล่งในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ยุวดี พิรพลพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่. 546น.
- โอภา วัชรคุปต์ และคณะ. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ: radical scavenging agent. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: พี.เอส.พรีน
- Borowitzka, M.A. Borowitzka, L.J. Kessly, D. 1990. Effects of salinity increase on carotenoid accumulation in the green alga *Dunaliella salina*. J. Appl. Phycol. 2, 111–119.
- Faraloni, C. Torzillo, G. 2017. Synthesis of antioxidant carotenoids in microalgae in reponse to physiological stress DOI. 10, 5772-6784
- Garcia Canedo, J. Urbina, E. Cesar, M. Teresa P.N. Fernando, E. Villanueva, R. 2016. Batch and fed-batch culture of *Scenedesmus incrassatulus*: Effect over biomass, carotenoid profile and concentration, photosynthetic efficiency and non-photochemical quenching. Algal Research. 13, 41-52.
- Guedes, A.C. Amaro, H.M. Malcata, F.X. 2011. Microalgae as sources of carotenoids. Mar. Drugs 9, 625–644.
- Junying, Z. Junfeng, R. Baoning, Z. 2013. Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel. Chinese Journal of Catalysis. 34, 80–100.
- Larsen, E. hristensen, L.P.C. 2005. Simple saponification method for the quantitative determination of carotenoids in green vegetables. J. Agric. Food Chem. 53, 6598–6002.
- Leonardi, R. Niizawa, L. Irazoqui, H. Heinrich, J. 2018. Modeling and simulation of the influence of fractions of blue and red light on the growth of the microalga *Scenedesmus quadricauda*. Biochemical Engineering Journal. 129, 16-25
- Piccaglia, R. Marotti, M. Grandi, S. 1998. Lutein and lutein ester content in different types of *Tagetes patula* and *T. erecta*. Ind. Crop. Prod. 8, 45–51.

- Pribyl, P. Cepak, V. Kastanek, P. Zachleder, V. 2015. Elevated production of carotenoids by a new isolate of *Scenedesmus* sp.. Algal Research. 11, 22-27
- Rice-Evans, C. A. Miller, N. J. 1996. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive compounds of foods. J. Biochem. Soc. Trans. 24(3), 790-795.
- Rice-Evan, C. A. Miller, N. J. Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. J. Trends. Pl. Sci. 2, 152-159.
- Sasaki, M. Yuki, K. Kurihara TMiyake, S. Noda, K.. Kobayashi, S. Ishida, S. Tsubota, K. Ozawa, Y. 2012. Biological role of lutein in the light-induced retinal degeneration. J. Nutr Biochem. 23(5), 423-9.
- Silvia, V. Angela, A. Stefano, M. 2004. The Antioxidants and Pro-Antioxidants. Network: An Overview. Current Pharmaceutical Design. 10(14), 1677-94.
- Ugwu, C.U. Aoyagi, H. Uchiyama, H. 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. Bioresour. Technol. 99, 4021-4028.
- Wang, M. Tsao, R. Zhang, S. Dong, Z. Yang, R. Gong, J. Pei, Y. 2006. Antioxidant activity, mutagenicity/anti-mutagenicity, and clastogenicity/anti-clastogenicity of lutein from marigold flowers. Food and chemical toxicology. 44, 1522- 1529
- Wellburn R. 1994. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. Journal of Plant Physiology. 144, 307-313.

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

### อาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11

อาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 เป็นอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายในงานวิจัยนี้ ค่าความเป็นกรดต่างของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 มีค่าเท่ากับ 7.1 ซึ่งธาตุอาหารหลักและรองจะประกอบด้วยสารอาหารดังต่อไปนี้

ตารางที่ ก1 ปริมาณสารอาหารหลักต่างๆ ของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11

สารอาหาร	ปริมาณสาร
NaNO <sub>3</sub>	1.5 กรัม
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.04 กรัม
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.075 กรัม
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.036 กรัม
Citric acid	0.006 กรัม
Ferric ammonium citrate	0.006 กรัม
EDTA	0.001 กรัม
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.02 กรัม
Trace metal mix A5	1.0 มิลลิกรัม
Agar	15.0 กรัม
Distilled water	1.0 ลิตร

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 ชนิดแข็ง ภายหลังจากการเติมสารอาหารอื่นๆ ครบถ้วน จะมีการเติมผงวุ้น (Agar) แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องไมโครเวฟ จนกว่าสารอาหารจะกลายเป็นเนื้อเดียวกัน จึงจะนำไปใส่ในภาชนะที่เตรียมไว้เพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่าย แล้วนำไปฆ่าเชื้อผ่านความร้อนขึ้นด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

จากนั้นนำอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อผ่านความร้อนขึ้นมาตั้งไว้ให้เย็น โดยอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 แบบแข็ง จะต้องนำหลอดทดลองที่มีอาหารวางลงในลักษณะเอียงจนกว่าอาหารจะมีรูปร่างลาดเอียงไปกับหลอดทดลอง และลักษณะแข็ง ดังรูปที่ ก2

ตารางที่ ก2 ปริมาณสารอาหารรองต่างๆ ของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11

สารอาหาร	ปริมาณสาร
$H_3BO_3$	2.86 กรัม
$MnCl_2 \cdot 2H_2O$	1.81 กรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.222 กรัม
$NaMoO_4 \cdot 2H_2O$	0.39 กรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.079 กรัม
$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	49.4 มิลลิกรัม
Distilled water	1.0 ลิตร



รูปที่ ก1 การนำอาหารเพาะเลี้ยงมาฆ่าเชื้อผ่านความร้อนขึ้นด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ



รูปที่ ก2 อาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายสูตร BG-11 ชนิดแข็งแบบเอียง

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมหัวเชื้อบริสุทธิ์

นำพลาสติกอาหารเหลวที่บรรจุเชื้อ *Scenedesmus almatius* มาเลี้ยงบนจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารสูตร BG-11 ชนิดแข็ง โดยใช้เทคนิค Cross streak เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 อาทิตย์ จากนั้นคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวมาเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงชนิดแข็งแบบเอียง เพื่อให้ได้เชื้อสายรายบริสุทธิ์



รูปที่ ข1 การเพาะเลี้ยงเซลล์สำหรับคัดเลือกเชื้อสายรายบริสุทธิ์บนจานเพาะเลี้ยง



รูปที่ ข2 การเพาะเลี้ยงเชื้อสายรายบริสุทธิ์บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 ชนิดแข็งแบบเอียง

## ภาคผนวก ค

### การขยายขนาดการเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่าย

นำเซลล์สาหร่ายบริสุทธิ์ในหลอดทดลองที่มีอาหารสูตร BG-11 ชนิดแข็งแบบเอียง มาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลวสูตร BG-11 ตรวจวัดปริมาณเซลล์สาหร่ายโดยการนับเซลล์ผ่านสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์จนกระทั่งมีปริมาณเซลล์ประมาณ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปขยายขนาดการเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาตรหัวเชื้อร้อยละ 10 เพาะเลี้ยงจนกว่าจะมีปริมาณเซลล์ประมาณ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร



รูปที่ ค1 การเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายในหลอดทดลองที่มีอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 ชนิดเหลว



รูปที่ ค2 การเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายในฟลาสก์ที่มีอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 ชนิดเหลว

## ภาคผนวก ง

### การเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

นำตัวอย่างใส่หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องไมโครเซนทริฟิวจ์ที่ความเร็ว 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที เพื่อแยกเซลล์สำหรับแยกจากน้ำหมัก โดยเซลล์สำหรับแยกจะนำไปเก็บรักษาในช่องแช่แข็ง ส่วนน้ำหมักจะนำไปเก็บรักษาในตู้เย็น



รูปที่ ง1 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการเก็บตัวอย่างและสำหรับแยกตัวอย่างเซลล์ออกจากน้ำหมัก



รูปที่ ง2 ตัวอย่างเซลล์สำหรับแยกที่แยกออกจากน้ำหมัก

## ภาคผนวก จ

### การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเซลล์สาหร่าย

นำสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มาเติมลงในตัวอย่างเซลล์สาหร่าย จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบวงที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปแยกเซลล์สาหร่ายออกจากสารสกัด โดยปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องไมโครเซนทริฟิวจ์ เพื่อนำสารสกัดไปทดสอบเพื่อหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ



รูปที่ จ1 สารผสมระหว่างเซลล์สาหร่ายกับสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95



รูปที่ จ2 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยการเขย่าบนเครื่องเขย่าแบบวง

## ภาคผนวก ฉ

### การเก็บเซลล์สำหรับในรูปผงจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

นำตัวอย่างน้ำหมักเซลล์สำหรับใส่ในหลอดเซนทริฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนทริฟิวจ์ จากนั้นทำการดูดส่วนใสทิ้งและนำตัวอย่างเซลล์สำหรับเทลงบนกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 แล้วนำไปแช่ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และนำเข้าเครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ จนกระทั่งเซลล์สำหรับแห้ง จากนั้นเก็บเซลล์สำหรับแห้งไว้ในถุงพลาสติกรัดยางให้เรียบร้อย และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



รูปที่ ฉ1 การนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนทริฟิวจ์



รูปที่ ฉ2 การนำตัวอย่างเทลงบนกระดาษกรอง



รูปที่ ๓ ตัวอย่างเซลล์สาหร่ายหลังจากแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ - 80 องศาเซลเซียส



รูปที่ ๔ การนำเซลล์สาหร่ายนำเข้าเครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ

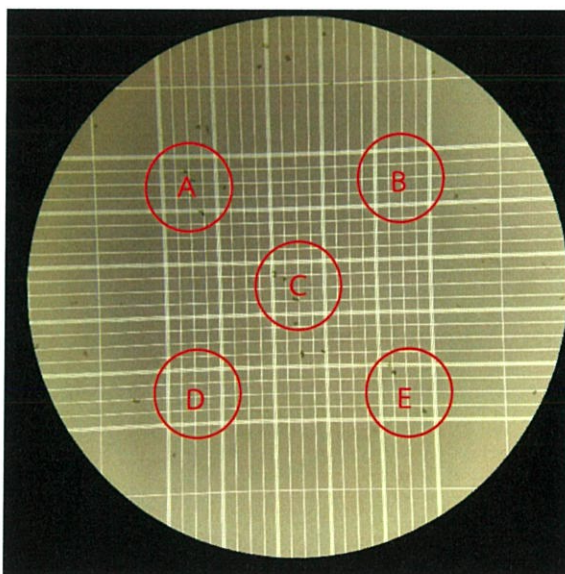


รูปที่ ๑5 ตัวอย่างเซลล์สาหร่ายหลังจากนำเข้าเครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ

## ภาคผนวก ข

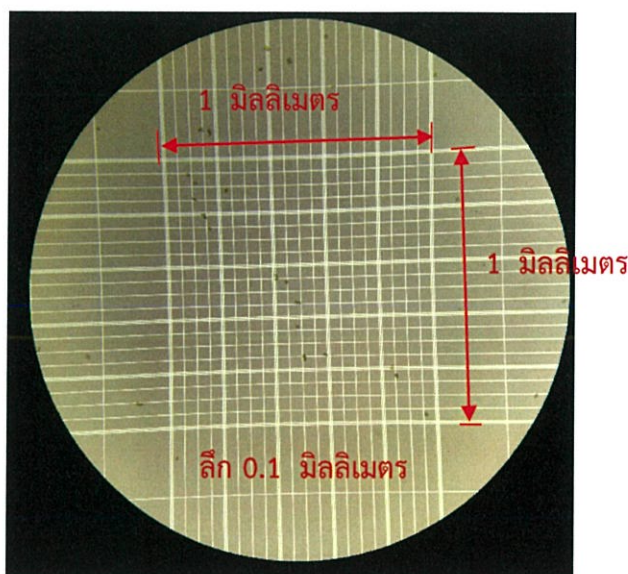
### การวัดปริมาณเซลล์สาหร่ายด้วยสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์

นำเซลล์สาหร่ายลงในช่องใส่ตัวอย่างของสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่ทั้ง 2 ฝั่ง แต่ละฝั่งใช้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร รอจนตัวอย่างเซลล์สาหร่ายกระจายทั่วในแต่ละฝั่ง แล้วนำสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์มาส่องดูเซลล์สาหร่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เพื่อนับจำนวนเซลล์สาหร่ายที่ปรากฏในช่องตารางดังรูปที่ ข1 ทำการนับเซลล์ทั้ง 5 บริเวณได้แก่ โชน A, B, C, D และ E แล้วนำค่าที่ได้มารวมกันและหารด้วย 5 ซึ่งจะได้ค่า ปริมาณเซลล์ต่อ 1 ช่อง



รูปที่ ข1 ช่องตารางของสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์

ทำการหาปริมาตร 1 ช่องใหญ่ของสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นยี่ห้อ BOECO (ผลิตในประเทศ Germany) โดยใน 1 ช่องใหญ่ จะมีขนาดความกว้าง, ยาว และลึก ดังรูปที่ ข2 ภายใน 1 ช่องใหญ่ซึ่งประกอบไปด้วยช่องเล็กทั้งหมด 25 ช่อง จะได้ค่าดังนี้



รูปที่ ข2 ขนาดความกว้าง, ยาว และลิ้ง ของสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์

ปริมาตรช่องใหญ่ 1 ช่อง

จะได้ กว้าง×ยาว×ลิ้ง =  $1 \times 1 \times 0.1$  = 0.1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร

เปลี่ยนหน่วยเป็นลูกบาศก์เซนติเมตร

จะได้  $0.1 \text{ (mm}^3) \times \frac{1^3 \text{ (mm}^3)}{10^3 \text{ (cm}^3)}$  =  $1 \times 10^{-4}$  ลูกบาศก์เซนติเมตร

ในช่องใหญ่ 1 ช่อง มี 25 ช่องเล็ก

จะได้  $\frac{1 \times 10^{-4} \text{ cm}^3}{25}$  =  $4 \times 10^{-6}$  ลูกบาศก์เซนติเมตรหรือมิลลิลิตร

ในการหาปริมาณเซลล์จากการนับด้วยสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ จะคำนวณโดยการเทียบ  
บัญญัติไตรยางค์ ดังนี้

ในปริมาตร	$4 \times 10^{-6}$ มิลลิลิตร	จะมีปริมาณเซลล์	X เซลล์
ถ้าปริมาตร	1 มิลลิลิตร	จะมีปริมาณเซลล์เท่ากับ	สมการที่ ข1

$$\frac{1 \times X}{4 \times 10^{-6}} \text{ หน่วยเซลล์ต่อมิลลิลิตร} \quad \text{สมการที่ ข1}$$

ตัวอย่างการคำนวณ ทำการนับเซลล์ด้วยสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ได้ปริมาณเซลล์เฉลี่ยต่อ 1 ช่องเล็ก  
เท่ากับ 70 เซลล์

วิธีคิด จากข้อมูลพบว่า X มีค่าเท่ากับ 70 เซลล์  
แทนค่าลงในสมการ ซ1 จะได้  $\frac{1 \times 70}{4 \times 10^{-6}} = 1.75 \times 10^7$   
ดังนั้น จะมีปริมาณเซลล์เท่ากับ  $1.75 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

## ภาคผนวก ซ

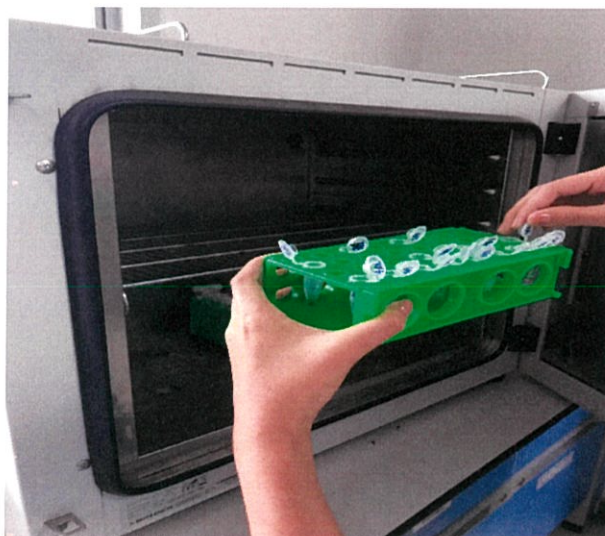
### การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

เมื่อนำเซลล์สาหร่ายที่ได้ไปอบด้วยเครื่องอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำค่าน้ำหนักต่างๆ ได้แก่ น้ำหนักหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ที่มีเซลล์สาหร่ายแห้ง และ น้ำหนักหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์เปล่า ดังสมการที่ 3.2 ได้เป็นค่าน้ำหนักของเซลล์สาหร่ายแห้ง โดยรายงานผลเป็นน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (กรัมต่อลิตร)

$$A - B = C$$

สมการที่ 3.3

- เมื่อ
- A คือ น้ำหนักหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ที่มีเซลล์สาหร่ายแห้ง (กรัม)
  - B คือ น้ำหนักหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์เปล่า (กรัม)
  - C คือ น้ำหนักของเซลล์สาหร่ายแห้งต่อปริมาตร 1 มิลลิลิตร



รูปที่ ซ1 การนำเซลล์สาหร่ายเข้าเครื่องอบลมร้อน

## ภาคผนวก ฅ

### การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

#### สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตท

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมอะซิเตทความเข้มข้น 1 โมลาร์ โดยชั่งสาร  $\text{CH}_3\text{COOK}$  9.815 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายโพแทสเซียมอะซิเตทไว้ในขวดสีชาแล้วเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดสอบสาร

#### สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์

เตรียมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ชั่ง  $\text{AlCl}_3$  ปริมาณ 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ไว้ในขวดสีชาแล้วเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดสอบสาร

#### สารละลายมาตรฐานเคอเวอซิติน

เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอเวอซิตินความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งสารเคอเวอซิติน 0.01 กรัม ละลายด้วยสารละลายเมทานอล ปรับปริมาตรจนครบ 10 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายมาตรฐานเคอเวอซิตินที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75, 100, 150 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานเคอเวอซิตินความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังตารางที่ ฅ1 จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 5 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

ตารางที่ ฅ1 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานเควอซิดิน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ใช้  
ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานเควอซิดินที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารละลายมาตรฐานเควอซิดินที่ ความเข้มข้นต่างๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานเควอซิดินความ เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ไมโครลิตร)
12.5	62.5
25	125
50	250
75	375
100	500
150	750
250	1250

## ภาคผนวก ญ

### การวัดปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

เมื่อนำตัวอย่างสารละลายควอดซิตินที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ผ่านการทำปฏิกิริยา ไปวัดความหนาแน่นของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง ใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนด์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างข้อมูลกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานควอดซิติน ดังรูปที่ ญ2

จากรูปที่ ญ2 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานควอดซิติน แสดงความสัมพันธ์เป็นสมการเส้นตรง ดังสมการที่ 3.9 โดยมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.998

$$y = 0.0073x - 0.0345 \quad \text{สมการที่ 3.8}$$

เมื่อ  $y$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร  
 $x$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานควอดซิติน  
 (มิลลิกรัมต่อลิตร)

ดังนั้น ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 3.7

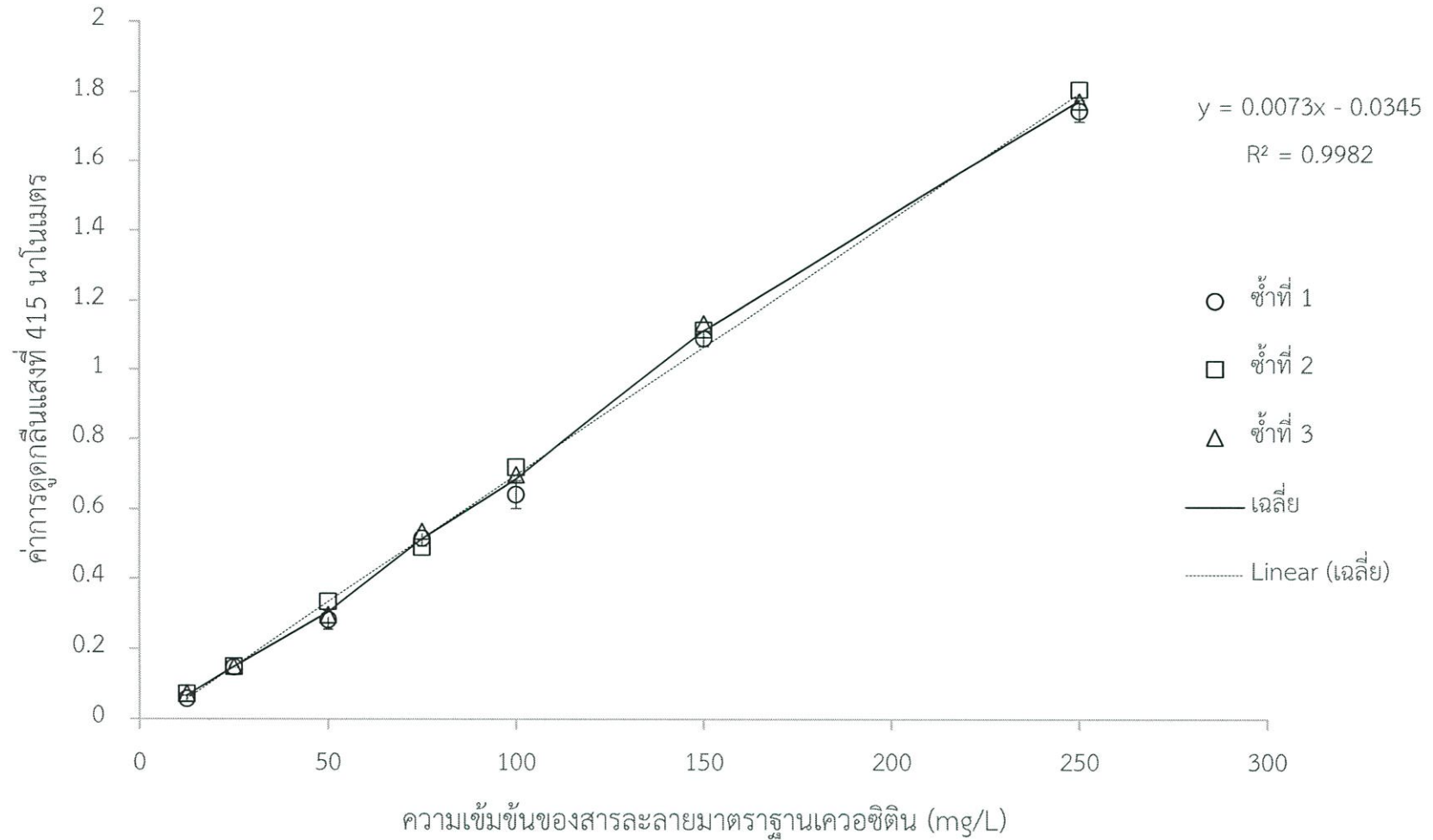
$$x = \frac{y + 0.0345}{0.0073} \quad \text{สมการที่ 3.9}$$

ตารางที่ ๑1 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ของสารละลายเควอซิดินที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานเควอซิดิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร				
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	SD
12.5	0.058	0.072	0.073	0.06767	0.00839
25	0.148	0.15	0.149	0.149	0.001
50	0.281	0.333	0.295	0.303	0.02691
75	0.516	0.49	0.536	0.514	0.02307
100	0.642	0.72	0.699	0.687	0.04036
150	1.09	1.116	1.135	1.11367	0.02259
250	1.747	1.809	1.775	1.777	0.03105



รูปที่ ๑1 สารละลายเควอซิดินที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาในหลอดทดลอง



รูปที่ ๒ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเคออสิติน

## ภาคผนวก ด

### การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

#### สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ชั่งสาร  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ปริมาณ 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตไว้ในขวดสีชาแล้วเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดสอบสาร

#### สารละลาย Folin – Ciocalteu reagent

เตรียมสารละลาย Folin – Ciocalteu reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ปิเปตสารละลาย Folin – Ciocalteu reagent ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ตามด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 270 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเข้ากัน เทใส่ขวดสีชาและเก็บในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดสอบสาร

#### สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งสารกรดแกลลิกปริมาณ 0.1 กรัม ละลายด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 25, 50, 75, 100, 150, 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังตารางที่ ด1 จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

ตารางที่ ด1 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ใช้  
ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ ความเข้มข้นต่างๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความ เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (มิลลิลิตร)
25	0.25
50	0.5
75	0.75
100	1
150	1.5
200	2
250	2.5

## ภาคผนวก ต

### การวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

เมื่อนำตัวอย่างสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ผ่านการทำปฏิกิริยา ไปวัดความหนาแน่นของปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด โดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง ใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนด์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างข้อมูลกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกดังรูปที่ ต2

จากรูปที่ ต2 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกแสดงความสัมพันธ์เป็นสมการเส้นตรง สมการที่ 3.9 โดยมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.998

$$y = 0.0034x - 0.0065 \quad \text{สมการที่ 3.10}$$

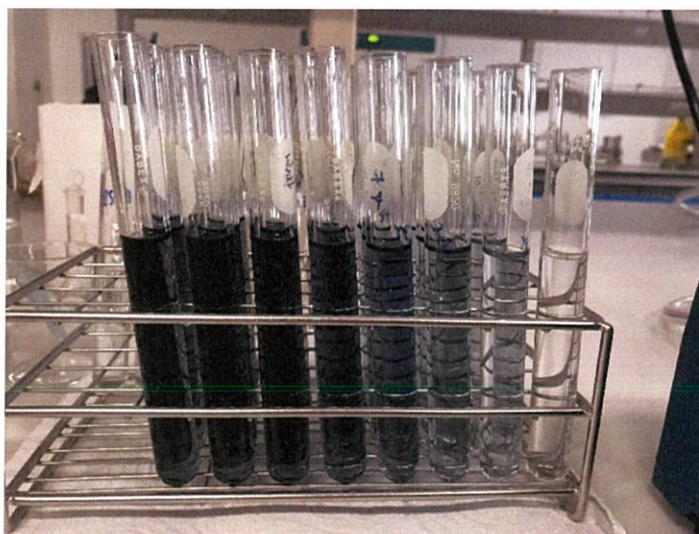
เมื่อ  $y$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร  
 $x$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก  
 (มิลลิกรัมต่อลิตร)

ดังนั้น ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 3.9

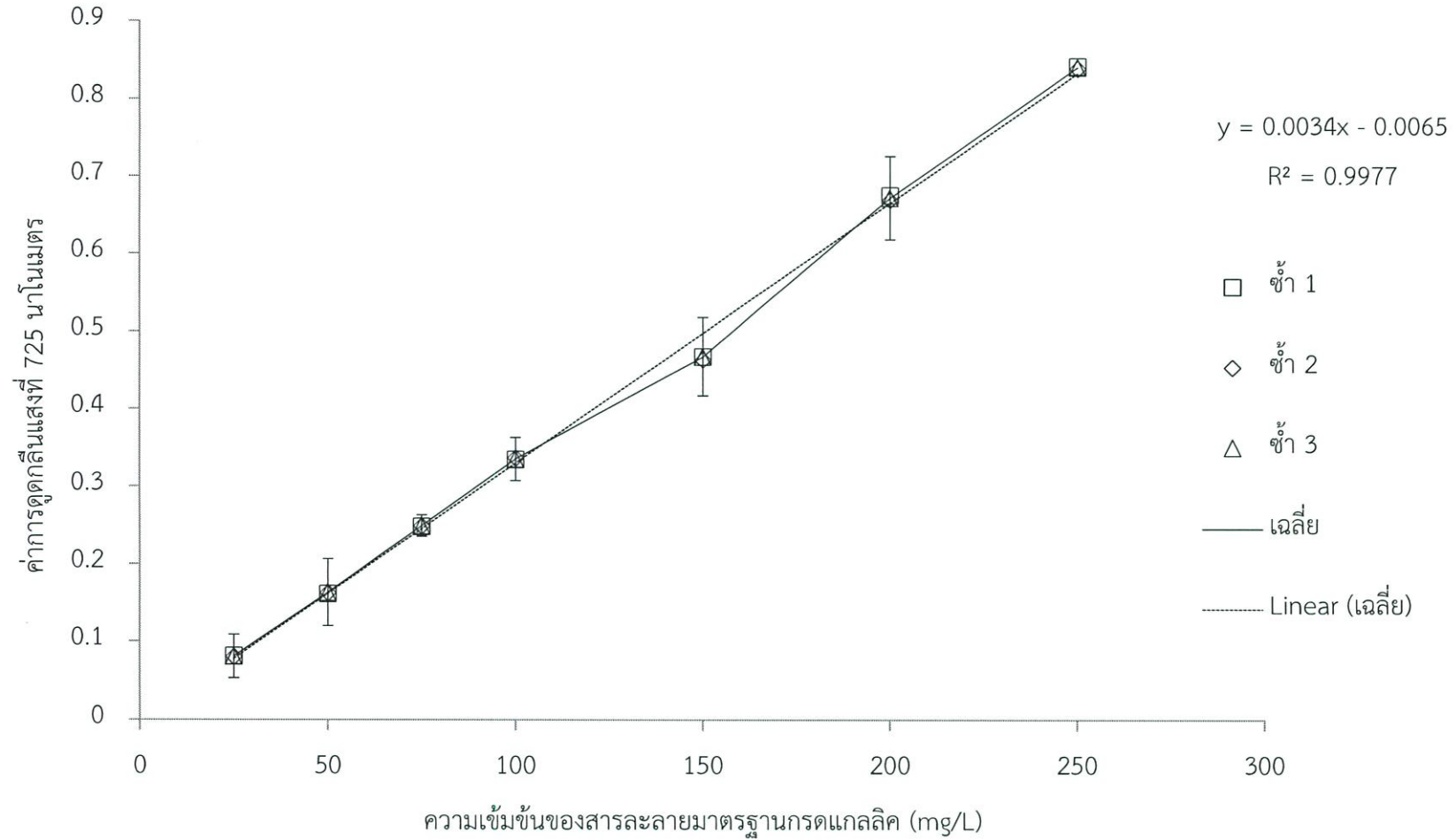
$$x = \frac{y + 0.0065}{0.0034} \quad \text{สมการที่ 3.11}$$

ตารางที่ ต1 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กรดแกลลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 734 nm				
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	SD
25	0.081	0.08	0.081	0.080667	0.000577
50	0.161	0.162	0.166	0.163	0.002646
75	0.248	0.249	0.251	0.249333	0.001528
100	0.334	0.336	0.334	0.334667	0.001155
150	0.467	0.463	0.471	0.467	0.004
200	0.675	0.669	0.672	0.672	0.003
250	0.842	0.839	0.841	0.840667	0.001528



รูปที่ ต1 สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาในหลอดทดลอง



รูปที่ ๓2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดเกลือ

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

#### สารละลาย DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งสาร 4 มิลลิกรัม เติลงในสารละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 50 มิลลิลิตร และทำให้สารละลายผสมกันด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์เป็นเวลา 15 นาที ระวังอย่าให้สารถูกรบกวนด้วยแสง

#### สารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์

เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารโทรลอกซ์ 0.001 กรัม ละลายในสารละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 และ 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตจากสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ ก1 จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 1 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

ตารางที่ ๓1 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานไทรลอกซ์ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร  
ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานไทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารละลายมาตรฐานไทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานไทรลอกซ์ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ไมโครลิตร)
5	5
10	10
15	15
20	20
25	25
30	30
35	35
40	40
50	50
60	60
70	70

## ภาคผนวก ท

### การวัดปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

เมื่อนำตัวอย่างสารละลายโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ผ่านการทำปฏิกิริยา ไปวัดวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงผ่านเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนค์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างข้อมูลกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) (ดังสมการที่ ท1) กับความเข้มข้นของสารละลายโทรลอกซ์ดังรูปที่ ท2 โดยพบว่าค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์แสดงความสัมพันธ์เป็นสมการเส้นตรง ดังสมการที่ 3.11 โดยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) มีค่าเท่ากับ 0.977

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}}) - (B_{\text{Sample}} - B_{\text{Blank sample}})]}{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}})} \quad \text{สมการที่ 3.11}$$

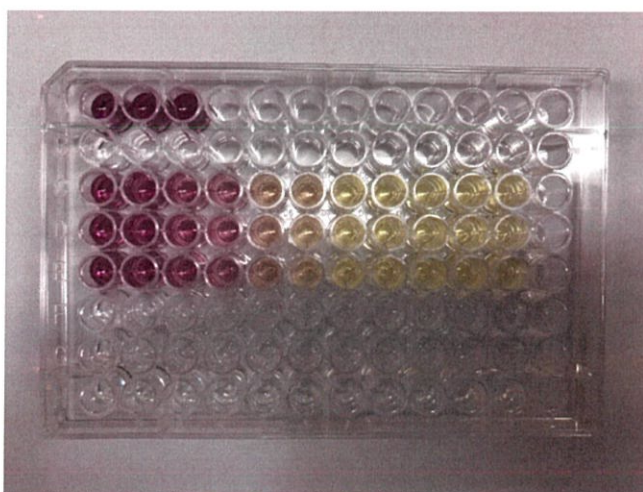
เมื่อ	$A_{\text{DPPH}}$	คือ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารละลาย DPPH ทำปฏิกิริยากับสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95
	$A_{\text{Blank DPPH}}$	คือ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95
	$B_{\text{Sample}}$	คือ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารละลายตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH
	$B_{\text{Blank sample}}$	คือ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารละลายตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

$$y = 0.0244x - 0.0262 \quad \text{สมการที่ 3.12}$$

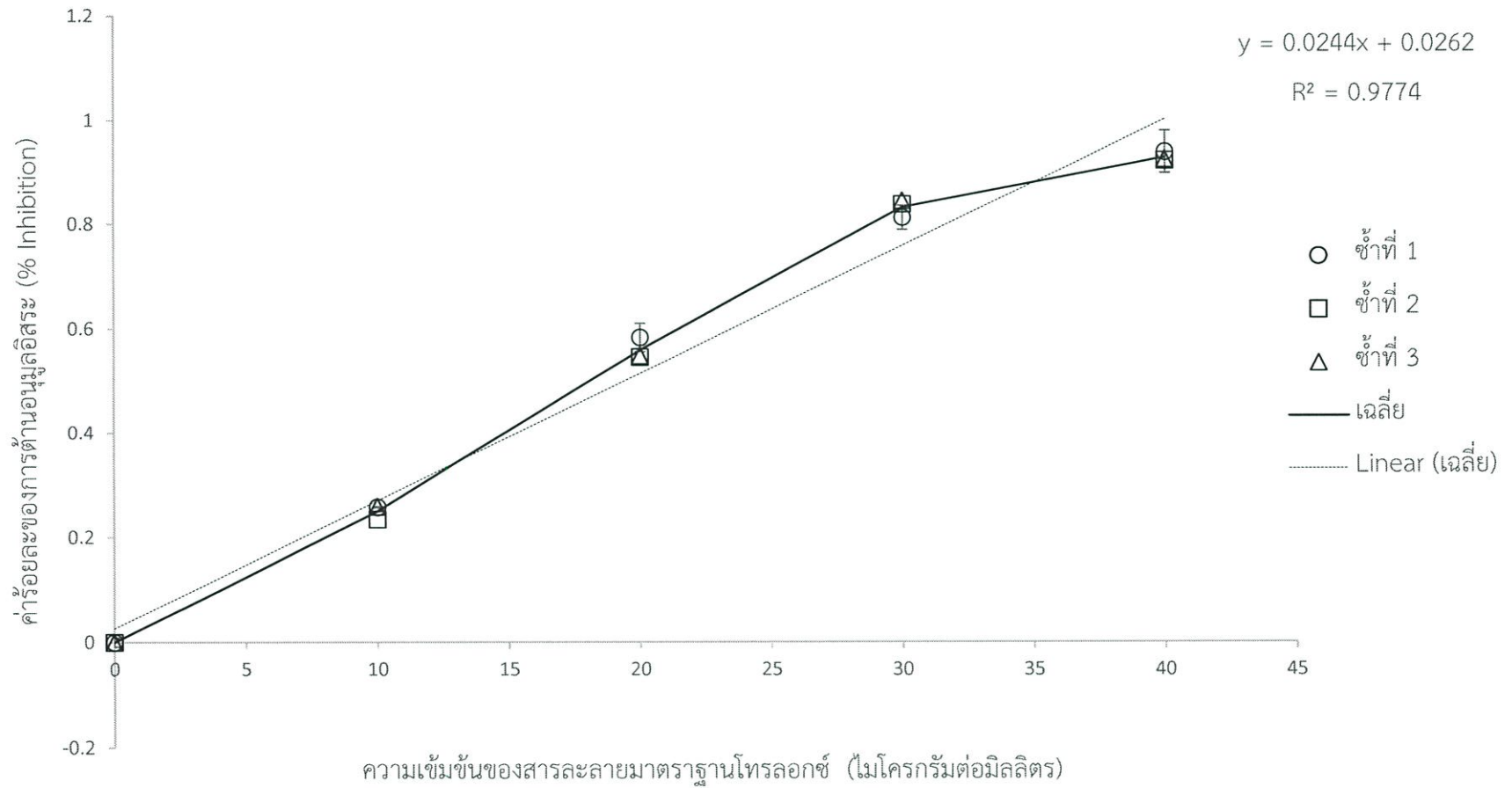
เมื่อ	y	คือ	% Inhibition
	x	คือ	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

ตารางที่ ท1 ค่า % Inhibition ของสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานโทรลอกซ์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	SD
0	0	0	0	0	0
5	0.2620027	0.208505	0.215364	0.228624	0.02911
10	0.2578875	0.234568	0.259259	0.250572	0.013877
15	0.4156379	0.41701	0.388203	0.40695	0.01625
20	0.5829904	0.545953	0.548697	0.559214	0.020637
25	0.7599451	0.729767	0.739369	0.743027	0.015418
30	0.8120713	0.838134	0.844993	0.831733	0.017369
35	0.9108368	0.899863	0.912209	0.907636	0.006767
40	0.9396433	0.923182	0.925926	0.929584	0.008819
50	0.9314129	0.917695	0.909465	0.919524	0.011088
60	0.9492455	0.961591	0.927298	0.946045	0.017369
70	0.9368999	0.951989	0.942387	0.943759	0.007638



รูปที่ ท1 การทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์กับสารละลาย DPPH และสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 บนไมโครเวลเพลท



รูปที่ ท2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) กับความเข้มข้นของสารละลายโทรลอกซ์

## ภาคผนวก ๕

### การคำนวณค่าอัตราการเจริญจำเพาะ

การคำนวณค่าอัตราการเจริญจำเพาะ ดังสมการ

$$\text{อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อเวลา)} = \frac{\ln(N - N_0)}{t} \quad \text{สมการที่ 3.2}$$

เมื่อ N คือ ปริมาณเซลล์ที่สูงสุด  
 $N_0$  คือ ปริมาณเซลล์วันที่ 0  
 t คือ เวลาที่มีปริมาณเซลล์สูงสุด

**ตัวอย่างการคำนวณ** ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายภายใต้สภาวะแสงสีแดงเป็นระยะเวลา 30 วัน มีปริมาณจำนวนเซลล์วันที่ 0 เท่ากับ  $1.55 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณจำนวนเซลล์มากสุดในวันที่ 28 เท่ากับ  $9.08 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

**วิธีคิด** จากข้อมูลพบว่า N มีค่าเท่ากับ  $9.08 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

$N_0$  มีค่าเท่ากับ  $1.55 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

แทนค่าลงในสมการ 3.2 จะได้

$$\begin{aligned} \text{อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อเวลา)} &= \frac{\ln(9.08 \times 10^6 - 1.55 \times 10^5)}{28} \\ &= 0.1454 \text{ ต่อวัน} \end{aligned}$$

**ดังนั้น** จะมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.1454 ต่อวัน

## การคำนวณค่า Productivity

การคำนวณค่า Productivity ดังสมการ

$$\text{Productivity (หน่วยของปริมาณสารต่อเวลา)} = C_{\max} \times \mu \quad \text{สมการที่ ๘1}$$

เมื่อ  $C_{\max}$  คือ ปริมาณสารสูงสุด (หน่วยของปริมาณสาร)  
 $\mu$  คือ อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อเวลา)

**ตัวอย่างการคำนวณ** ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายภายใต้สภาวะแสงสีแดงเป็นระยะเวลา 30 วัน มีปริมาณแคโรทีนอยด์ เท่ากับ 85.9631 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณอัตราการเจริญจำเพาะ เท่ากับ 0.1454 ต่อวัน

**วิธีคิด** จากข้อมูลพบว่า  $C_{\max}$  มีค่าเท่ากับ 85.9631 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร  
 $\mu$  มีค่าเท่ากับ 0.1454 ต่อวัน

แทนค่าลงในสมการ ๘1 จะได้

$$\begin{aligned} \text{Productivity (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อวัน)} &= 85.9631 \times 0.1454 \\ &= 12.4990 \text{ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อวัน} \end{aligned}$$

**ดังนั้น** แคโรทีนอยด์จะมีค่า Productivity เท่ากับ 12.4990 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อวัน

## ภาคผนวก น

### ผลที่ได้จากการทดลอง

#### การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีแสงสีต่างๆ

เพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus almatu*s โดยใช้ระบบเพาะเลี้ยงแบบตั้งเดิมในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 ปริมาตร 120 มิลลิลิตร และปริมาตรหัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารทั้งหมด เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีอุณหภูมิ  $25 \pm 5$  องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นร้อยละ  $65 \pm 5$  ภายใต้แสงสีต่างๆ ได้แก่ สีขาว, สีแดง, สี warm white, สีน้ำเงิน และในที่มืด ตลอดเวลา โดยมีความเข้มแสงดังตารางที่ 2 ทำการวิเคราะห์ผลทุกๆ 2 วัน เป็นระยะเวลา 1 เดือน ได้ผลดังตารางที่ น1-น9

ตารางที่ น1 ค่าจำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อ 1 ช่อง และปริมาณเซลล์ต่อมิลลิลิตร

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ต่อ 1 ช่อง					ปริมาณเซลล์ต่อมิลลิลิตร				
		แสงสี					แสงสี				
		สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีขาว	สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีขาว
26/2/2561	0	0.7533	0.6933	0.9467	0.5733	0.1665	$1.8833 \times 10^5$	$1.7333 \times 10^5$	$2.3667 \times 10^5$	$1.4333 \times 10^5$	$3.8833 \times 10^5$
28/2/2561	2	0.8867	2.4067	1.5667	1.3900	0.3219	$2.2167 \times 10^5$	$6.0167 \times 10^5$	$3.9167 \times 10^5$	$3.4750 \times 10^5$	$8.3500 \times 10^5$
2/3/2561	4	1.1000	3.9133	2.7000	2.6533	0.1922	$2.7500 \times 10^5$	$9.7833 \times 10^5$	$6.7500 \times 10^5$	$6.6333 \times 10^5$	$1.1433 \times 10^6$
4/3/2561	6	1.6267	6.5267	5.2000	4.8400	0.3274	$4.0667 \times 10^5$	$1.6317 \times 10^6$	$1.3000 \times 10^6$	$1.2100 \times 10^6$	$2.1100 \times 10^6$
6/3/2561	8	1.9933	6.7800	6.3600	6.7333	1.5220	$4.9833 \times 10^5$	$1.6950 \times 10^6$	$1.5900 \times 10^6$	$1.7500 \times 10^6$	$2.6150 \times 10^6$
8/3/2561	10	2.6133	7.5133	9.3133	8.8200	0.7338	$6.5333 \times 10^5$	$1.8783 \times 10^6$	$2.3283 \times 10^6$	$2.2050 \times 10^6$	$2.8883 \times 10^6$
10/3/2561	12	2.7067	8.2933	11.2267	11.8267	0.4606	$6.7667 \times 10^5$	$2.0733 \times 10^6$	$2.8067 \times 10^6$	$2.9567 \times 10^6$	$2.7183 \times 10^6$
12/3/2561	14	2.9533	8.9067	14.6967	14.2467	2.6102	$7.3833 \times 10^5$	$2.2267 \times 10^6$	$3.6742 \times 10^6$	$3.5617 \times 10^6$	$3.9583 \times 10^6$
14/3/2561	16	4.8467	8.9267	13.0200	12.7667	1.6743	$1.2117 \times 10^6$	$2.2317 \times 10^6$	$3.2550 \times 10^6$	$3.1917 \times 10^6$	$3.6583 \times 10^6$
16/3/2561	18	3.7933	9.7800	16.6933	15.6067	0.6351	$9.4833 \times 10^5$	$2.4450 \times 10^6$	$4.1733 \times 10^6$	$3.9017 \times 10^6$	$3.9417 \times 10^6$
18/3/2561	20	3.5733	9.2100	18.0600	17.5667	1.2702	$8.9333 \times 10^5$	$2.3025 \times 10^6$	$4.5150 \times 10^6$	$4.3917 \times 10^6$	$3.9667 \times 10^6$
20/3/2561	22	4.4933	13.4343	20.3000	22.5200	0.7572	$1.1233 \times 10^6$	$3.3586 \times 10^6$	$5.0750 \times 10^6$	$5.6300 \times 10^6$	$3.7167 \times 10^6$
22/3/2561	24	5.8700	14.6533	24.1800	22.5600	0.5033	$1.4675 \times 10^6$	$3.6633 \times 10^6$	$6.0450 \times 10^6$	$5.6400 \times 10^6$	$3.4667 \times 10^6$
24/3/2561	26	6.2133	13.3400	31.4200	32.0933	0.9504	$1.5533 \times 10^6$	$3.3350 \times 10^6$	$7.8550 \times 10^6$	$8.0233 \times 10^6$	$2.9417 \times 10^6$
26/3/2561	28	8.1000	14.7667	34.4333	37.5000	1.5275	$2.0250 \times 10^6$	$3.6917 \times 10^6$	$8.6083 \times 10^6$	$9.3750 \times 10^6$	$2.9583 \times 10^6$
28/3/2561	30	9.4333	16.9	33.5667	45.8333	0.529150	$2.3583 \times 10^6$	$4.2250 \times 10^6$	$8.3917 \times 10^6$	$1.1458 \times 10^7$	$2.8000 \times 10^6$

ตารางที่ น2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร และค่าน้ำหนักตัวอย่างเฉลี่ย

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 nm เฉลี่ย					น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อมิลลิลิตร)				
		แสงสี					แสงสี				
		สีแดง	สีส้มขาว	ที่มืด	สีน้ำเงิน	สีขาว	สีแดง	สีส้มขาว	ที่มืด	สีน้ำเงิน	สีขาว
26/2/2561	0	0.0887	0.0787	0.0947	0.0783	0.1530	0.0001	0.0002	0.0002	0.0001	0.0002
28/2/2561	2	0.1483	0.2257	0.0913	0.1430	0.2373	0.0002	0.0002	0.0001	0.0003	0.0002
2/3/2561	4	0.2453	0.3617	0.1017	0.2450	0.4707	0.0006	0.0004	0.0002	0.0003	0.0004
4/3/2561	6	0.4883	0.5327	0.1360	0.3920	0.6110	0.0007	0.0008	0.0004	0.0006	0.0001
6/3/2561	8	0.6013	0.6053	0.1697	0.5113	0.7407	0.0014	0.0011	0.0003	0.0007	0.0005
8/3/2561	10	0.7640	0.6483	0.1923	0.6393	0.9030	0.0008	0.0010	0.0003	0.0010	0.0007
10/3/2561	12	0.8900	0.7240	0.2197	0.8487	1.1303	0.0011	0.0020	0.0005	0.0016	0.0006
12/3/2561	14	1.0547	0.7917	0.2935	0.9440	1.2277	0.0013	0.0009	0.0004	0.0009	0.0006
14/3/2561	16	1.1650	0.8163	0.2700	1.0707	1.3767	0.0011	0.0004	0.0002	0.0008	0.0012
16/3/2561	18	1.2910	0.8743	0.2917	1.1860	1.4337	0.0006	0.0004	0.0003	0.0006	0.0011
18/3/2561	20	1.4357	0.9497	0.3320	1.3643	1.5050	0.0009	0.0004	0.0003	0.0003	0.0012
20/3/2561	22	1.6253	1.1390	0.3897	1.5160	1.5810	0.0010	0.0003	0.0006	0.0004	0.0011
22/3/2561	24	1.7623	1.2100	0.4520	1.6417	1.7493	0.0022	0.0013	0.0008	0.0013	0.0015
24/3/2561	26	1.8620	1.2623	0.4633	1.7550	1.8867	0.0006	0.0009	0.0006	0.0009	0.0012
26/3/2561	28	2.0367	1.3097	0.5143	1.8853	2.0087	0.0009	0.0005	0.0001	0.0007	0.0015
28/3/2561	30	2.0253	1.3090	0.5253	1.8607	2.0933	0.0004	0.0005	0.0002	0.0005	0.0014

ตารางที่ น3 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอจากสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)					ปริมาณคลอโรฟิลล์เอจากน้ำหมัก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		แสงสี					แสงสี				
		สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีเขียว	สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีเขียว
26/2/2561	0	0.4954	0.2840	0.2444	0.4254	0.4007	0.9402	0.6129	0.8417	0.7036	1.2487
28/2/2561	2	0.7015	0.8044	0.3831	0.5431	0.4573	1.3416	1.9703	0.8085	1.2904	2.0317
2/3/2561	4	1.3416	1.9703	0.8085	1.2904	1.2901	2.1754	3.6051	0.9058	2.1053	3.6697
4/3/2561	6	2.1754	3.6051	0.9058	2.1053	1.0927	4.1519	4.7685	1.2701	3.5343	5.4895
6/3/2561	8	4.0786	3.9535	0.8453	4.6071	1.4705	4.8193	5.3361	1.3118	4.4965	6.6037
8/3/2561	10	4.8211	4.8636	0.6409	5.2113	1.1115	7.0914	6.4697	1.8293	5.9541	8.1269
10/3/2561	12	4.0876	3.8868	0.5785	5.7981	1.4610	8.2390	7.2789	2.0363	7.5230	10.0639
12/3/2561	14	6.5661	4.4512	0.8925	8.4654	0.6672	9.9768	8.3217	2.3991	8.9922	10.8831
14/3/2561	16	8.0522	3.9338	1.7914	8.4160	1.7213	9.9463	8.3765	2.5777	9.1269	12.4951
16/3/2561	18	5.3982	2.0238	1.7395	6.1608	1.4247	11.6825	9.5266	2.5026	10.6861	12.7671
18/3/2561	20	4.9449	2.1135	1.8568	8.9643	1.5783	13.9571	12.2680	2.8993	13.0887	13.2889
20/3/2561	22	5.7314	2.6329	1.6936	8.0830	1.4089	15.4272	12.6881	3.4056	14.8449	14.5545
22/3/2561	24	8.2641	3.8082	3.0096	10.5111	2.6090	17.6286	13.9152	3.8799	16.3273	16.0383
24/3/2561	26	17.3352	3.2153	3.0464	12.5020	2.1983	18.8503	14.3474	4.0278	17.9443	17.5769
26/3/2561	28	18.0466	2.8944	3.2962	7.6863	3.0175	20.7540	14.7240	4.7254	19.6748	14.8921
28/3/2561	30	15.5051	3.8037	3.6187	9.5184	0.2292	20.9112	15.1946	4.3979	19.3943	19.7298

ตารางที่ น4 ปริมาณของคลอโรฟิลล์ปีจากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณคลอโรฟิลล์ปีจากสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)					ปริมาณคลอโรฟิลล์ปีจากน้ำหมัก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		แสงสี					แสงสี				
		สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีเขียว	สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีเขียว
26/2/2561	0	0.9332	0.5315	0.4578	0.7976	0.7902	1.7883	1.1824	1.5991	1.3362	2.3820
28/2/2561	2	1.3212	1.5107	0.7227	1.0216	0.9340	2.5509	3.7513	1.5362	2.4549	3.8725
2/3/2561	4	2.5509	3.7513	1.5362	2.4549	2.5120	4.1421	6.8160	1.7214	4.0499	6.9837
4/3/2561	6	4.1421	6.8160	1.7214	4.0499	2.1384	7.9295	9.0783	2.4182	6.7355	10.4593
6/3/2561	8	7.6334	7.3853	1.5907	8.6250	2.9433	9.4344	10.2579	2.5571	8.6418	12.5882
8/3/2561	10	9.0232	9.0865	1.2065	9.7131	2.1780	13.5042	12.3349	3.4828	11.3513	15.4809
10/3/2561	12	7.6249	7.2482	1.0835	10.8203	2.8882	15.7005	13.8731	3.8796	14.3698	19.1808
12/3/2561	14	12.2536	8.3038	1.6657	15.8379	1.3363	18.9911	15.8579	4.5679	17.1175	20.7420
14/3/2561	16	14.8570	7.2526	3.3285	15.5563	3.3823	18.9430	15.9637	4.9156	17.3773	23.7961
16/3/2561	18	10.0024	3.7711	3.2443	11.4859	2.7993	22.2822	18.1703	4.7732	20.3819	24.3284
18/3/2561	20	9.1396	3.9094	3.4571	16.6965	3.1032	26.5220	23.2053	5.5286	24.9072	25.3320
20/3/2561	22	10.6194	4.8890	3.1459	14.9917	2.7675	29.3742	24.1671	6.4935	28.2422	27.7135
22/3/2561	24	15.2881	7.0845	5.6168	19.4830	5.4492	33.5276	26.5062	7.3972	31.0570	30.5688
24/3/2561	26	32.0173	5.9936	5.6873	23.1341	4.5105	35.9808	27.3441	7.6786	34.1113	33.4979
26/3/2561	28	33.3592	5.3849	6.1449	14.2385	6.2154	39.4719	28.0834	8.9970	37.4120	28.7960
28/3/2561	30	28.7834	7.0500	6.7827	17.6106	0.4439	39.8017	28.9272	8.3865	36.8538	37.6021

ตารางที่ น5 ปริมาณของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณแคโรทีนอยด์จากสารสกัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)					ปริมาณแคโรทีนอยด์จากน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
		แสงสี					แสงสี				
		สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีขา	สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีขา
26/2/2561	0	0.2092	0.3938	0.7118	0.1272	3.2041	3.2451	1.7682	2.6810	2.0144	4.5682
28/2/2561	2	1.8913	2.2810	0.7118	1.2246	3.5426	4.4041	7.0708	2.5272	4.3118	8.0246
2/3/2561	4	4.4041	7.0708	2.5272	4.3118	7.7990	7.6554	12.3221	2.8759	7.6349	11.7169
4/3/2561	6	7.6554	12.3221	2.8759	7.6349	7.6554	17.1323	17.2656	4.3221	12.8964	21.1938
6/3/2561	8	12.7118	11.2451	2.3118	14.3733	12.0451	21.0913	21.0195	5.6964	17.4708	25.8708
8/3/2561	10	14.4041	14.5887	1.5118	14.6400	6.2195	26.4862	23.8708	6.3938	21.8708	31.5221
10/3/2561	12	12.7938	12.3733	1.2246	17.5221	12.8349	30.8041	27.1426	7.3579	28.2708	41.6656
12/3/2561	14	22.7323	17.3169	2.4862	28.7528	7.2451	37.1733	31.1015	8.7938	33.2246	45.7477
14/3/2561	16	27.4297	10.6503	5.0708	22.8759	14.9682	39.8605	32.3528	10.7015	35.8400	51.8400
16/3/2561	18	16.5067	7.2862	4.8144	18.9067	12.2708	47.3272	40.7631	10.2092	45.0605	53.2041
18/3/2561	20	14.5682	6.4862	5.0195	25.3477	14.5067	50.3323	40.6400	11.2041	50.0349	55.6246
20/3/2561	22	17.4297	9.1118	4.3221	23.6041	12.4144	53.8092	49.3067	13.2964	56.9887	60.8041
22/3/2561	24	27.2246	12.9067	9.1221	33.4195	25.5323	66.8862	54.7426	15.8092	62.5785	56.6297
24/3/2561	26	52.0656	13.1015	9.3682	38.0144	26.7938	72.9682	56.6913	16.0656	68.3528	73.7374
26/3/2561	28	56.6400	12.9682	9.7477	24.2092	38.2913	80.5887	58.8656	18.4862	76.4862	78.9272
28/3/2561	30	57.4503	13.3579	11.3272	26.7733	2.0862	81.8913	60.8144	18.3938	76.4862	82.0862

ตารางที่ น6 ปริมาณของลูทีน

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณลูทีนจากสารสกัด (ไมโครกรัมต่อกรัม)				
		แสงสี				
		สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีขาว
26/02/2561	0	0.2130	0.0693	0.0677	0.1309	0.2633
28/02/2561	2	0.1809	0.2143	0.1424	0.1020	0.1963
2/03/2561	4	0.1198	0.2887	0.2841	0.2331	0.2297
4/03/2561	6	0.1626	0.2130	0.1223	0.1882	0.6938
6/03/2561	8	0.1433	0.1570	0.1411	0.3102	0.3035
8/03/2561	10	0.2927	0.2360	0.1022	0.2450	0.1221
10/03/2561	12	0.1790	0.0957	0.0496	0.1717	0.2410
12/03/2561	14	0.2673	0.2808	0.1036	0.4329	0.1407
14/03/2561	16	0.4621	0.4205	0.3695	0.4590	0.1653
16/03/2561	18	0.4671	0.3013	0.2321	0.4433	0.1519
18/03/2561	20	0.2644	0.2817	0.2763	1.4105	0.1541
20/03/2561	22	0.2962	0.4662	0.1232	0.8770	0.1457
22/03/2561	24	0.1550	0.1205	0.1651	0.3777	0.2536
24/03/2561	26	0.9501	0.2235	0.2380	0.6491	0.2386
26/03/2561	28	0.9486	0.3657	1.1220	0.5109	0.2802
28/03/2561	30	2.1534	0.4860	0.8215	1.0075	0.0242

ตารางที่ น7 ปริมาณของปลาไวโนยด์ทั้งหมดจากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณปลาไวโนยด์จากสารสกัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)					ปริมาณปลาไวโนยด์จากน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
		แสงสี					แสงสี				
		สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีขาว	สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีขาว
26/2/2561	0	26.9178	24.4521	14.1324	14.8630	26.9178	5.8676	5.6393	5.7306	5.7763	5.9132
28/2/2561	2	21.8493	21.8950	23.1279	26.2785	21.8493	5.3196	5.4566	5.7306	6.1416	5.1370
2/3/2561	4	14.8630	26.5068	28.2877	28.6986	14.8630	5.1826	5.8219	6.0959	5.6393	5.0457
4/3/2561	6	6.1416	11.3927	37.8767	39.2466	6.1416	5.3196	5.4566	5.1826	6.1416	5.6849
6/3/2561	8	6.0502	12.5799	11.8950	10.9817	6.0502	6.1872	6.8265	7.3288	6.3699	5.3653
8/3/2561	10	5.6393	11.2557	9.6119	25.0913	5.6393	4.9543	5.3653	5.8676	5.2100	5.1370
10/3/2561	12	6.5525	15.8219	14.8174	16.5068	6.5525	5.9132	6.0502	5.8676	6.1416	5.7306
12/3/2561	14	8.6073	40.9361	36.3699	39.6119	8.6073	4.8630	5.1370	5.2283	5.2283	5.8676
14/3/2561	16	5.4566	17.9224	23.0365	19.9772	5.4566	5.0457	5.7763	5.0913	5.4566	7.1918
16/3/2561	18	6.0959	14.7717	20.1598	18.3333	6.0959	5.2740	5.3196	5.7671	6.8721	7.1461
18/3/2561	20	5.3196	14.0868	15.9132	17.6941	5.3196	6.4155	7.0091	7.0091	6.1872	5.6849
20/3/2561	22	5.9589	18.1050	20.1598	18.1507	5.9589	6.2329	6.9178	6.8721	7.6027	6.0959
22/3/2561	24	7.2831	21.0274	25.4566	28.7900	7.2831	5.2283	6.0959	4.8174	6.2329	6.9635
24/3/2561	26	7.7397	26.2785	24.0868	30.7078	7.7397	6.2329	6.0959	6.7352	5.8676	9.7489
26/3/2561	28	6.4155	28.2877	26.7352	28.6073	6.4155	6.0959	6.3699	6.6895	5.7306	8.2877
28/3/2561	30	6.6895	18.5160	23.5388	28.6073	6.6895	5.6849	8.1050	7.1918	6.9178	7.0091

ตารางที่ น8 ปริมาณของฟिनอลิกทั้งหมดจากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)					ปริมาณฟีนอลิกจากน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
		แสงสี					แสงสี				
		สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีขาว	สีแดง	สีส้มขาว	ที่มีด	สีน้ำเงิน	สีขาว
26/2/2561	0	7.4020	8.9706	8.8725	6.4216	2.8922	2.8922	3.0882	2.9902	4.7549	4.6569
28/2/2561	2	6.8137	7.7941	8.2843	6.5196	3.5784	18.8725	19.7549	19.5588	19.1667	2.5980
2/3/2561	4	22.2059	23.6765	22.5000	23.4804	5.5392	3.2843	2.1078	2.5000	2.3039	3.2843
4/3/2561	6	6.2255	3.1863	2.7941	6.7157	4.5588	3.2843	2.7941	2.8922	2.3039	3.3824
6/3/2561	8	5.3431	5.1471	2.8922	7.3039	4.5588	3.7745	2.6961	2.0098	2.7941	3.3824
8/3/2561	10	5.2451	6.4216	2.1078	7.4020	4.7549	4.2647	2.6961	4.0686	3.6765	3.3824
10/3/2561	12	5.5392	7.4020	2.7941	6.8137	6.1275	4.5588	3.1863	4.3627	4.6569	4.0686
12/3/2561	14	10.0490	8.3824	4.9510	9.4608	6.1275	9.6569	4.4608	3.5784	6.5196	5.2451
14/3/2561	16	8.2843	6.2255	2.6961	10.0490	5.5392	5.4412	3.8725	2.9902	8.7745	6.0294
16/3/2561	18	7.1078	5.0490	2.4020	9.2647	5.9314	6.9118	4.8529	3.8725	6.8137	7.3039
18/3/2561	20	5.7353	5.6373	2.5980	7.8922	8.6765	6.8137	4.7549	5.2451	5.8333	5.9314
20/3/2561	22	8.5784	6.3235	3.5784	7.8922	10.0490	5.9314	5.1471	2.7941	6.7157	7.5980
22/3/2561	24	8.2843	5.1471	2.9902	9.2647	6.8137	7.0098	4.8529	3.8725	6.6176	8.6765
24/3/2561	26	12.7941	9.9510	5.3431	11.9118	9.0686	6.9118	5.6373	2.5980	6.7157	8.7745
26/3/2561	28	8.4804	5.8333	3.2843	10.4412	8.1863	7.5980	5.5392	3.0882	7.3039	8.1863
28/3/2561	30	13.0882	7.0098	3.5784	12.2059	6.3235	13.0882	8.1863	4.9510	11.7157	8.5784

ตารางที่ น9 แสดงปริมาณร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) จากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัด				ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระจากน้ำหมัก			
		ที่มีด	แสงสีส้มขาว	แสงสีแดง	แสงสีน้ำเงิน	ที่มีด	แสงสีส้มขาว	แสงสีแดง	แสงสีน้ำเงิน
26/02/2561	0	6.2333	8.6807	4.6654	7.3041	28.3139	27.2888	23.5065	17.8155
28/02/2561	2	-0.4206	-2.1032	-2.0650	0.4207	23.9272	20.5656	20.5373	18.8406
2/03/2561	4	-2.6386	3.0211	-1.0325	-3.5564	23.8247	23.9307	22.2694	23.8247
4/03/2561	6	6.9286	5.6612	6.7934	9.8014	14.9418	11.6473	9.4177	9.2846
6/03/2561	8	1.9856	3.9713	2.8728	13.3502	15.3411	7.3877	2.1298	8.3861
8/03/2561	10	3.1263	1.2674	2.9573	13.0545	16.7388	9.9168	2.2962	4.9917
10/03/2561	12	-2.1738	-0.2362	-4.6313	2.4576	-10.5530	-13.7072	-13.0062	-11.6433
12/03/2561	14	-0.0472	-7.3723	-6.6634	2.5048	-12.1106	-16.9393	-30.4517	-12.8894
14/03/2561	16	-1.5595	-6.0490	-2.4101	1.0871	-13.6682	-20.1830	-31.7368	-17.9517
16/03/2561	18	-0.1846	1.1812	1.0704	1.0335	1.6741	3.2586	6.1584	10.0149
18/03/2561	20	1.3657	-0.8860	0.2952	-0.1108	1.4350	6.6368	8.2511	6.2182
20/03/2561	22	-0.0739	0.9228	0.4798	-0.9968	-5.8894	2.2422	5.6801	4.7833
22/03/2561	24	4.2313	-0.5642	-0.9403	9.2619	4.3197	-2.5031	-5.6925	-5.3695
24/03/2561	26	0.9403	-4.7015	-2.6328	6.5350	-5.5713	-1.2112	-8.0340	0.5651
26/03/2561	28	2.0216	-0.8463	-1.8101	5.5007	0.2421	-8.9625	-14.5338	-10.9407
28/03/2561	30	1.2550	-5.7823	11.1895	7.0522	-14.0644	-15.6916	-8.5239	-6.7416

### การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

เพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus almatius* โดยใช้ระบบเพาะเลี้ยงแบบตั้งเดิมในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเพาะเลี้ยง BG-11 สูตรดัดแปลงความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทเป็น 0, 0.75, 1.5, 2.25 และ 3 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 120 มิลลิลิตร และปริมาตรหัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารทั้งหมด เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีอุณหภูมิ  $25 \pm 5$  องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นร้อยละ  $65 \pm 5$  ภายใต้แสงสีขาวจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (OSRAM, T5HE21W/865 BP, Germany) ที่มีความเข้มแสงเท่ากับ 4,552 ลักซ์ ตลอดเวลา ทำการวิเคราะห์ผลทุกๆ 2 วัน เป็นระยะเวลา 1 เดือน ได้ผลดังตารางที่ น10 ถึง น18

ตารางที่ น10 ค่าจำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อ 1 ช่อง และปริมาณเซลล์ต่อมิลลิลิตร

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ต่อ 1 ช่อง					ปริมาณเซลล์ต่อมิลลิลิตร				
		ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)					ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)				
		0	0.75	1.5	2.25	3	0	0.75	1.5	2.25	3
4/04/2561	0	0.5133	0.4433	0.4533	0.4733	0.4767	1.2833E+05	1.1083E+05	1.1333E+05	1.1833E+05	1.1917E+05
6/04/2561	2	0.6000	0.9100	0.8200	0.6933	0.5267	1.5000E+05	2.2750E+05	2.0500E+05	1.7333E+05	1.3167E+05
8/04/2561	4	1.4800	1.8600	1.7733	1.6067	1.5000	3.7000E+05	4.6500E+05	4.4333E+05	4.0167E+05	3.7500E+05
10/04/2561	6	2.5733	4.2367	3.4933	3.1533	2.6200	6.4333E+05	1.0592E+06	8.7333E+05	7.8833E+05	6.5500E+05
12/04/2561	8	4.5733	6.4900	5.9800	5.0067	4.6267	1.1433E+06	1.6225E+06	1.4950E+06	1.2517E+06	1.1567E+06
14/04/2561	10	6.9000	8.6000	7.8667	7.8333	6.8767	1.7250E+06	2.1500E+06	1.9667E+06	1.9583E+06	1.7192E+06
16/04/2561	12	8.4867	10.9467	10.0967	9.9000	8.9000	2.1217E+06	2.7367E+06	2.5242E+06	2.4750E+06	2.2250E+06
18/04/2561	14	9.7767	13.5000	12.9667	11.9333	10.5667	2.4442E+06	3.3750E+06	3.2417E+06	2.9833E+06	2.6417E+06

ตารางที่ น11 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร และน้ำหนักเซลล์แห้ง

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 nm เฉลี่ย					น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม), DCW				
		ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)					ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)				
		0	0.75	1.5	2.25	3	0	0.75	1.5	2.25	3
4/04/2561	0	0.0823	0.0977	0.0980	0.0947	0.0910	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002
6/04/2561	2	0.0990	0.1343	0.1130	0.1123	0.0714	0.0002	0.0003	0.0003	0.0003	0.0003
8/04/2561	4	0.2580	0.2990	0.2723	0.2663	0.2603	0.0002	0.0003	0.0004	0.0003	0.0003
10/04/2561	6	0.4387	0.5060	0.4810	0.4607	0.4413	0.0003	0.0001	0.0002	0.0004	0.0002
12/04/2561	8	0.5133	0.6183	0.5550	0.5113	0.5177	0.0003	0.0002	0.0003	0.0002	0.0001
14/04/2561	10	0.6317	0.7267	0.6720	0.6233	0.6123	0.0002	0.0005	0.0002	0.0002	0.0002
16/04/2561	12	0.7410	0.8900	0.7760	0.7463	0.7043	0.0002	0.0004	0.0002	0.0001	0.0001
18/04/2561	14	0.8563	1.0857	0.9853	0.8380	0.7597	0.0002	0.0005	0.0003	0.0001	0.0001

ตารางที่ น12 ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอจากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอจากสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)					ปริมาณคลอโรฟิลล์เอจากน้ำหมัก (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)				
		ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)					ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)				
		0	0.75	1.5	2.25	3	0	0.75	1.5	2.25	3
4/04/2561	0	0.1325	0.3028	0.3499	0.3371	0.1162	0.7519	0.8923	0.8988	0.8743	0.7578
6/04/2561	2	0.1656	0.3738	0.2778	0.3215	0.2662	0.8743	0.8923	1.0182	1.0112	0.7076
8/04/2561	4	0.5902	1.2086	0.6034	0.5244	0.3528	2.3124	1.0491	2.6075	2.4635	2.3396
10/04/2561	6	1.1071	1.6540	1.3844	1.1101	0.6751	3.2079	3.4153	4.4472	3.5586	3.3448
12/04/2561	8	1.1222	1.6508	1.4818	1.4821	1.2391	4.2391	4.4367	5.4459	4.5795	4.4356
14/04/2561	10	1.1679	1.3367	1.3300	1.3109	1.2777	5.4462	5.6802	6.6454	5.5968	5.5793
16/04/2561	12	1.3120	1.4577	1.3276	1.2550	1.1962	7.7587	7.1672	8.6035	7.6881	7.5744
18/04/2561	14	1.3923	2.2342	1.7316	1.3227	0.9763	8.2103	10.4103	9.9173	8.7293	8.4405

ตารางที่ น13 ปริมาณของคลอโรฟิลล์ปีจากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณคลอโรฟิลล์ปีจากสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)					ปริมาณคลอโรฟิลล์ปีจากน้ำหมัก (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)				
		ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)					ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)				
		0	0.75	1.5	2.25	3	0	0.75	1.5	2.25	3
4/04/2561	0	0.2426	0.5574	0.6439	0.6199	0.2110	1.4266	1.6931	1.7063	1.6600	1.4378
6/04/2561	2	0.3033	0.6903	0.5114	0.5926	0.4892	1.6600	1.9934	1.9341	1.9212	1.3550
8/04/2561	4	1.0761	2.2925	1.1136	0.9683	0.6494	4.4055	6.5052	4.9595	4.6969	4.4505
10/04/2561	6	2.0956	3.0858	2.6095	2.1216	1.2644	6.1109	8.4538	8.4743	6.7795	6.3721
12/04/2561	8	2.1231	3.1351	2.7809	2.7899	2.3407	8.1054	10.8290	10.3804	8.7261	8.4543
14/04/2561	10	2.2170	2.5348	2.4990	2.4859	2.4034	10.3735	13.6647	12.6610	10.6674	10.6340
16/04/2561	12	2.4818	2.7619	2.5091	2.3747	2.2661	14.7470	19.8490	16.4041	14.6436	14.4406
18/04/2561	14	2.6493	4.2530	3.2204	2.4452	1.8226	15.6425	21.5265	18.9079	16.6451	16.0997

ตารางที่ น14 ปริมาณของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณแคโรทีนอยด์จากสารสกัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)					ปริมาณแคโรทีนอยด์จากน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
		ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)					ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)				
		0	0.75	1.5	2.25	3	0	0.75	1.5	2.25	3
4/04/2561	0	0.1067	0.1067	0.2605	0.2605	-0.5292	1.9015	2.4246	2.4862	2.4144	1.9015
6/04/2561	2	2.7631	3.3579	2.9887	3.1938	3.1323	2.5887	3.2554	3.1118	3.0297	2.2605
8/04/2561	4	3.2246	6.0862	4.7631	4.6092	3.5323	7.8195	8.6503	8.7323	8.3015	7.4297
10/04/2561	6	6.6400	11.0092	7.7374	7.3887	6.7221	10.1887	12.2605	11.7887	10.1990	10.1272
12/04/2561	8	5.9426	11.2759	8.3733	7.3785	6.7426	17.3067	21.9938	21.5015	19.5323	19.4195
14/04/2561	10	9.4503	14.1785	8.8554	8.7118	7.3067	25.5221	28.4656	27.7477	26.2810	25.4195
16/04/2561	12	8.6195	15.8195	9.7579	8.6708	8.2605	28.2400	36.6400	34.7528	30.1272	29.7785
18/04/2561	14	9.8092	18.0349	11.0195	9.9938	10.7733	31.3990	43.6759	37.6862	34.6092	32.3118

ตารางที่ น15 ปริมาณของลูทีน

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณลูทีนจากสารสกัด (ไมโครกรัมต่อกรัม)				
		ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)				
		0	0.75	1.5	2.25	3
4/04/2561	0	0.0779	0.1424	0.1588	0.2040	0.0554
6/04/2561	2	0.0539	0.0701	0.0612	0.0779	0.0590
8/04/2561	4	0.0975	0.1074	0.0921	0.1103	0.0900
10/04/2561	6	0.0587	0.6005	0.2046	0.1050	0.1067
12/04/2561	8	0.0646	0.1899	0.1342	0.1745	0.4330
14/04/2561	10	0.1663	0.0745	0.1989	0.1644	0.0946
16/04/2561	12	0.1624	0.1409	0.1740	0.2502	0.2165
18/04/2561	14	0.2941	0.1641	0.2516	0.4734	0.3050

ตารางที่ น16 ปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณฟลาโวนอยด์จากสารสกัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)					ปริมาณฟลาโวนอยด์จากน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
		ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)					ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)				
		0	0.75	1.5	2.25	3	0	0.75	1.5	2.25	3
4/04/2561	0	5.1370	5.6849	5.4566	5.7306	5.1826	4.9087	4.8174	4.9087	4.8174	4.8174
6/04/2561	2	5.5023	7.1005	6.1416	5.6849	5.6393	4.8630	5.2740	5.1370	5.0000	5.0457
8/04/2561	4	5.9589	6.5068	6.8721	6.8721	6.7808	5.0913	4.9543	5.0457	5.0913	5.0000
10/04/2561	6	6.7352	7.3744	7.3744	7.6027	6.6895	5.1370	4.8630	4.9543	4.9543	5.0000
12/04/2561	8	5.9132	7.2831	6.8721	7.0091	7.1461	4.9543	5.0000	4.9543	4.8630	5.0000
14/04/2561	10	7.6484	7.9680	6.6895	7.4658	6.2785	4.7717	5.2283	5.2740	5.2283	4.9087
16/04/2561	12	7.6484	7.4658	7.9224	7.1461	7.2374	5.0000	5.0000	4.9087	4.9087	4.9087
18/04/2561	14	6.1416	9.1096	7.5571	8.2877	8.1050	5.0913	5.0457	4.9087	4.9087	4.8630

ตารางที่ น17 ปริมาณของฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)					ปริมาณฟีนอลิกจากน้ำหมัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
		ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)					ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)				
		0	0.75	1.5	2.25	3	0	0.75	1.5	2.25	3
4/04/2561	0	2.60	2.79	2.99	2.89	2.60	2.11	2.50	2.60	2.40	2.30
6/04/2561	2	2.60	2.50	2.40	2.40	2.40	2.60	2.50	2.60	2.60	2.79
8/04/2561	4	2.79	2.99	3.48	3.38	2.70	2.79	2.79	3.19	2.79	2.99
10/04/2561	6	2.21	2.89	3.19	3.48	2.89	2.99	2.89	3.09	3.19	3.19
12/04/2561	8	2.99	3.09	2.99	3.19	2.01	3.58	3.09	2.89	2.89	2.40
14/04/2561	10	2.30	3.09	3.09	2.89	2.79	2.01	2.60	2.50	2.60	2.11
16/04/2561	12	2.40	2.30	2.40	2.60	2.21	2.60	2.50	2.70	2.40	2.30
18/04/2561	14	2.30	3.09	2.79	2.60	2.30	2.89	3.38	2.60	2.60	2.11

ตารางที่ น18 แสดงปริมาณร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) จากสารสกัดและน้ำหมัก

วัน/เดือน/ปี	วันที่	ค่าร้อยละของการต้านสารอนุมูลอิสระจากสารสกัด					ค่าร้อยละของการต้านสารอนุมูลอิสระจากน้ำหมัก				
		ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)					ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)				
		0	0.75	1.5	2.25	3	0	0.75	1.5	2.25	3
4/04/2561	0	0.9942	0.7018	-2.0468	-3.7427	1.5789	-12.6228	-17.6871	-14.1345	-14.966	-6.72714
6/04/2561	2	14.7953	1.2865	3.5673	2.8070	0.5263	-15.873	-11.1867	-21.0128	-22.2222	-20.0302
8/04/2561	4	4.2690	4.1520	-0.5848	-0.0585	-0.6433	-21.2396	-16.78	-20.3326	-19.35	-13.5299
10/04/2561	6	4.0567	6.7444	4.0567	5.0202	-5.7810	-4.58333	-15.3472	-10.6944	-10.4861	-7.29167
12/04/2561	8	2.3326	3.6004	6.2373	3.7525	-2.1299	-12.1528	-20.1389	-25.4861	-6.80556	-2.63889
14/04/2561	10	2.3833	0.9584	4.1582	1.4705	-2.6877	-4.58333	-21.0417	-21.5972	-8.125	-3.61111
16/04/2561	12	3.2377	3.6042	4.8870	4.0318	0.5498	-1.90476	1.206349	-5.5873	5.968254	7.619048
18/04/2561	14	3.4210	7.0251	2.8712	1.6494	-0.6108	-2.47619	-11.2381	-8.44444	-1.07937	-0.12698

## ภาคผนวก บ

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS (IBM SPSS Statistics เวอร์ชัน 24) วิเคราะห์ตาราง ANOVA และค่าความแปรปรวนที่ค่าความเชื่อมั่นที่  $p < 0.05$  เพื่อหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยใช้วิธีของ Duncan ในการวิเคราะห์ผลการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

ตารางที่ บ1.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	0.1315	0.0149	0.0086	0.0944	0.1686	0.1157	0.1454	
แสงสีส้มขาว	3	0.1187	0.0123	0.0071	0.0881	0.1493	0.1094	0.1327	
ที่มืด	3	0.0890	0.0202	0.0117	0.0387	0.1393	0.0768	0.1124	
แสงสีน้ำเงิน	3	0.1469	0.0101	0.0058	0.1218	0.1719	0.1363	0.1564	
แสงสีขาว	3	0.1402	0.0249	0.0144	0.0784	0.2021	0.1202	0.1681	
ทั้งหมด	15	0.1253	0.0257	0.0066	0.1110	0.1395	0.0768	0.1681	
Model	Fixed Effects		0.0174	0.0045	0.1153	0.1353			
	Random Effects			0.0102	0.0969	0.1536			0.0004

ตารางที่ บ1.2 ANOVA ของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.0063	4.0000	0.0016	5.1903	0.0159
Within Groups	0.0030	10.0000	0.0003		
ทั้งหมด	0.0093	14.0000			

ตารางที่ บ1.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>			
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ที่มืด	3	0.0890	
แสงสีส้มขาว	3	0.1187	0.1187
แสงสีแดง	3		0.1315
แสงสีขาว	3		0.1402
แสงสีน้ำเงิน	3		0.1469
Sig.		0.0625	0.0938

ตารางที่ บ.2.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between-Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	0.1061	0.0143	0.0083	0.0705	0.1416	0.0900	0.1174	
แสงสีส้มขาว	3	0.1055	0.0094	0.0054	0.0821	0.1288	0.0996	0.1163	
ที่มืด	3	0.0631	0.0119	0.0069	0.0336	0.0927	0.0503	0.0738	
แสงสีน้ำเงิน	3	0.1116	0.0026	0.0015	0.1051	0.1182	0.1093	0.1145	
แสงสีขาว	3	0.0873	0.0018	0.0010	0.0828	0.0917	0.0853	0.0888	
ทั้งหมด	15	0.0947	0.0201	0.0052	0.0836	0.1058	0.0503	0.1174	
Model	Fixed Effects		0.0094	0.0024	0.0893	0.1001			
	Random Effects			0.0089	0.0700	0.1194			0.0004

ตารางที่ บ2.2 ANOVA ของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.0048	4.0000	0.0012	13.3604	0.0005
Within Groups	0.0009	10.0000	0.0001		
ทั้งหมด	0.0056	14.0000			

ตารางที่ บ2.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ที่มืด	3	0.0631		
แสงสีขาว	3		0.0873	
แสงสีส้มขาว	3			0.1055
แสงสีแดง	3			0.1061
แสงสีน้ำเงิน	3			0.1116
Sig.		1.0000	1.0000	0.4623

ตารางที่ บ3.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between-Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	8.5180	2.5217	1.4559	2.2538	14.7822	6.4037	11.3090	
แสงสีส้มขาว	3	2.5059	0.9200	0.5312	0.2205	4.7914	1.9478	3.5678	
ที่มีด	3	1.0153	0.2858	0.1650	0.3054	1.7253	0.8073	1.3412	
แสงสีน้ำเงิน	3	5.7527	0.6047	0.3491	4.2506	7.2547	5.0914	6.2773	
แสงสีขาว	3	7.4673	1.9868	1.1471	2.5317	12.4029	5.3583	9.3039	
ทั้งหมด	15	5.0518	3.2354	0.8354	3.2602	6.8435	0.8073	11.3090	
Model	Fixed Effects		1.5232	0.3933	4.1756	5.9281			
	Random Effects			1.4338	1.0710	9.0327			9.5054

ตารางที่ บ3.2 ANOVA ของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	123.3449	4.0000	30.8362	13.2914	0.0005
Within Groups	23.2002	10.0000	2.3200		
Total	146.5451	14.0000			

ตารางที่ บ3.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>			
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ที่มืด	3	1.0153	
แสงสีส้มขาว	3	2.5059	
แสงสีน้ำเงิน	3		5.7527
แสงสีขาว	3		7.4673
แสงสีแดง	3		8.5180
Sig.		0.2583	0.0593

ตารางที่ บ4.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between-Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	10.7899	1.6005	0.9240	6.8141	14.7657	9.3265	12.4990	
แสงสีส้มขาว	3	7.2429	0.8057	0.4652	5.2413	9.2444	6.6768	8.1653	
ที่มีด	3	1.7292	0.5384	0.3108	0.3918	3.0666	1.2401	2.3061	
แสงสีน้ำเงิน	3	11.5182	0.5052	0.2917	10.2632	12.7731	11.0961	12.0779	
แสงสีขาว	3	11.5337	2.2443	1.2958	5.9584	17.1089	9.7003	14.0366	
ทั้งหมด	15	8.5628	4.0573	1.0476	6.3159	10.8097	1.2401	14.0366	
Model	Fixed Effects		1.3261	0.3424	7.7999	9.3257			
	Random Effects			1.8836	3.3330	13.7925			17.1540

ตารางที่ บ4.2 ANOVA ของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	212.8819	4.0000	53.2205	30.2634	0.0000
Within Groups	17.5857	10.0000	1.7586		
Total	230.4676	14.0000			

ตารางที่ บ4.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ที่มืด	3	1.7292		
แสงสีส้มขาว	3		7.2429	
แสงสีแดง	3			10.7899
แสงสีน้ำเงิน	3			11.5182
แสงสีขาว	3			11.5337
Sig.		1.0000	1.0000	0.5269

ตารางที่ บ5.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between-Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	2.5049	0.4089	0.2361	1.4893	3.5206	2.0631	2.8698	
แสงสีส้มขาว	3	0.7206	0.2485	0.1435	0.1033	1.3379	0.5699	1.0074	
ที่มืด	3	0.3252	0.0677	0.0391	0.1571	0.4933	0.2713	0.4012	
แสงสีน้ำเงิน	3	0.6676	0.3885	0.2243	-0.2974	1.6326	0.2222	0.9363	
แสงสีขาว	3	0.2564	0.0906	0.0523	0.0313	0.4814	0.1774	0.3553	
ทั้งหมด	15	0.8949	0.8866	0.2289	0.4040	1.3859	0.1774	2.8698	
Model	Fixed Effects		0.2802	0.0724	0.7337	1.0562			
	Random Effects			0.4127	-0.2509	2.0408			0.8255

ตารางที่ บ5.2 ANOVA ของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.2196	4.0000	2.5549	32.5375	0.0000
Within Groups	0.7852	10.0000	0.0785		
Total	11.0048	14.0000			

ตารางที่ บ5.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>			
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
แสงสีขาว	3	0.2564	
ที่มืด	3	0.3252	
แสงสีน้ำเงิน	3	0.6676	
แสงสีส้มขาว	3	0.7206	
แสงสีแดง	3		2.5049
Sig.		0.0877	1.0000

ตารางที่ บ6.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	2.7957	0.3841	0.2217	1.8416	3.7498	2.4536	3.2112	
แสงสีส้มขาว	3	1.8232	0.1753	0.1012	1.3876	2.2588	1.6828	2.0197	
ที่มืด	3	0.4250	0.1416	0.0817	0.0733	0.7767	0.2866	0.5695	
แสงสีน้ำเงิน	3	2.9391	0.1527	0.0882	2.5597	3.3185	2.8488	3.1155	
แสงสีขาว	3	2.8298	0.4122	0.2380	1.8058	3.8539	2.5607	3.3044	
ทั้งหมด	15	2.1626	1.0189	0.2631	1.5983	2.7268	0.2866	3.3044	
Model	Fixed Effects		0.2798	0.0723	2.0016	2.3236			
	Random Effects			0.4787	0.8334	3.4917			1.1197

ตารางที่ บ6.2 ANOVA ของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.7502	4.0000	3.4375	43.8943	0.0000
Within Groups	0.7831	10.0000	0.0783		
Total	14.5333	14.0000			

ตารางที่ บ6.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ที่มีด	3	0.4250		
แสงสีส้มขาว	3		1.8232	
แสงสีแดง	3			2.7957
แสงสีขาว	3			2.8298
แสงสีน้ำเงิน	3			2.9391
Sig.		1.0000	1.0000	0.5626

ตารางที่ บ7.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ พี จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	4.6311	0.7583	0.4378	2.7474	6.5147	3.8126	5.3097	
แสงสีส้มขาว	3	1.3279	0.4756	0.2746	0.1464	2.5094	1.0276	1.8762	
ที่มีด	3	0.6064	0.1268	0.0732	0.2915	0.9213	0.5039	0.7482	
แสงสีน้ำเงิน	3	3.6885	0.1483	0.0856	3.3202	4.0569	3.6007	3.8597	
แสงสีขาว	3	1.1486	0.3187	0.1840	0.3569	1.9403	0.8849	1.5027	
ทั้งหมด	15	2.2805	1.6771	0.4330	1.3517	3.2093	0.5039	5.3097	
Model	Fixed Effects		0.4338	0.1120	2.0309	2.5300			
	Random Effects			0.7905	0.0856	4.4754			3.0620

ตารางที่ บ7.2 ANOVA ของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	37.4969	4.0000	9.3742	49.8200	0.0000
Within Groups	1.8816	10.0000	0.1882		
Total	39.3785	14.0000			

ตารางที่ บ7.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ที่มืด	3	0.6064		
แสงสีขาว	3	1.1486		
แสงสีส้มขาว	3	1.3279		
แสงสีน้ำเงิน	3		3.6885	
แสงสีแดง	3			4.6311
Sig.		0.0800	1.0000	1.0000

ตารางที่ บ8.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ พี จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	5.3198	0.7356	0.4247	3.4925	7.1471	4.6638	6.1151	
แสงสีส้มขาว	3	3.4722	0.3391	0.1958	2.6299	4.3145	3.2054	3.8538	
ที่มีด	3	0.8092	0.2697	0.1557	0.1394	1.4791	0.5456	1.0846	
แสงสีน้ำเงิน	3	5.5837	0.2476	0.1430	4.9686	6.1989	5.4221	5.8688	
แสงสีขาว	3	5.3510	0.8288	0.4785	3.2923	7.4098	4.8573	6.3079	
ทั้งหมด	15	4.1072	1.9344	0.4995	3.0360	5.1784	0.5456	6.3079	
Model	Fixed Effects		0.5435	0.1403	3.7945	4.4199			
	Random Effects			0.9077	1.5871	6.6273			4.0209

ตารางที่ บ8.2 ANOVA ของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	49.4328	4.0000	12.3582	41.8368	0.0000
Within Groups	2.9539	10.0000	0.2954		
Total	52.3868	14.0000			

ตารางที่ บ8.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ที่มืด	3	0.8092		
แสงสีส้มขาว	3		3.4722	
แสงสีแดง	3			5.3198
แสงสีขาว	3			5.3511
แสงสีน้ำเงิน	3			5.5837
Sig.		1.0000	1.0000	0.5829

ตารางที่ บ9.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของลูทีนจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	0.2825	0.0294	0.0170	0.2094	0.3557	0.2622	0.3163	
แสงสีส้มขาว	3	0.0578	0.0092	0.0053	0.0349	0.0807	0.0492	0.0675	
ที่มืด	3	0.1012	0.0356	0.0206	0.0127	0.1896	0.0681	0.1389	
แสงสีน้ำเงิน	3	0.2063	0.0319	0.0184	0.1270	0.2855	0.1695	0.2258	
แสงสีขาว	3	0.0879	0.0096	0.0055	0.0641	0.1117	0.0776	0.0966	
ทั้งหมด	15	0.1471	0.0898	0.0232	0.0974	0.1969	0.0492	0.3163	
Model	Fixed Effects		0.0258	0.0067	0.1323	0.1620			
	Random Effects			0.0421	0.0303	0.2640			0.0086

ตารางที่ บ9.2 ANOVA ของค่า Productivity ของลูทีนจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.1063	4.0000	0.0266	39.9189	0.0000
Within Groups	0.0067	10.0000	0.0007		
Total	0.1130	14.0000			

ตารางที่ บ9.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของลูทีนจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
แสงสีส้มขาว	3	0.0578		
แสงสีขาว	3	0.0879		
ที่มีด	3	0.1012		
แสงสีน้ำเงิน	3		0.2063	
แสงสีแดง	3			0.2825
Sig.		0.0774	1.0000	1.0000

ตารางที่ บ10.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของปลาโวนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between-Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	5.1464	0.7136	0.4120	3.3736	6.9192	4.5725	5.9455	
แสงสีส้มขาว	3	4.8756	0.7330	0.4232	3.0546	6.6965	4.2936	5.6988	
ที่มืด	3	2.4024	0.6036	0.3485	0.9029	3.9018	1.9475	3.0872	
แสงสีน้ำเงิน	3	5.7308	0.3671	0.2119	4.8188	6.6427	5.4804	6.1522	
แสงสีขาว	3	4.9001	0.8713	0.5030	2.7358	7.0644	4.0259	5.7684	
ทั้งหมด	15	4.6110	1.3182	0.3403	3.8811	5.3410	1.9475	6.1522	
Model	Fixed Effects		0.6789	0.1753	4.2204	5.0016			
	Random Effects			0.5732	3.0195	6.2026			1.4894

ตารางที่ บ10.2 ANOVA ของค่า Productivity ของปลาโวนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.7162	4.0000	4.9290	10.6929	0.0012
Within Groups	4.6096	10.0000	0.4610		
Total	24.3258	14.0000			

ตารางที่ บ10.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของปลาโวนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>			
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ที่มีด	3	2.4024	
แสงสีส้มขาว	3		4.8756
แสงสีขาว	3		4.9001
แสงสีแดง	3		5.1464
แสงสีน้ำเงิน	3		5.7308
Sig.		1.0000	0.1807

ตารางที่ บ11.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของปลาโวนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between-Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	1.0096	0.1175	0.0679	0.7176	1.3015	0.9404	1.1453	
แสงสีส้มขาว	3	0.9568	0.0639	0.0369	0.7981	1.1155	0.8831	0.9966	
ที่มืด	3	0.5864	0.1263	0.0729	0.2726	0.9002	0.4997	0.7314	
แสงสีน้ำเงิน	3	1.1312	0.0441	0.0255	1.0217	1.2407	1.0819	1.1670	
แสงสีขาว	3	1.3668	0.3121	0.1802	0.5916	2.1420	1.0066	1.5543	
ทั้งหมด	15	1.0102	0.2975	0.0768	0.8454	1.1749	0.4997	1.5543	
Model	Fixed Effects		0.1632	0.0421	0.9163	1.1041			
	Random Effects			0.1273	0.6566	1.3637			0.0722

ตารางที่ บ11.2 ANOVA ของค่า Productivity ของปลาโวนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.9728	4.0000	0.2432	9.1305	0.0023
Within Groups	0.2663	10.0000	0.0266		
Total	1.2391	14.0000			

ตารางที่ บ11.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของปลาโวนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ที่มืด	3	0.5864		
แสงสีส้มขาว	3		0.9568	
แสงสีแดง	3		1.0096	
แสงสีน้ำเงิน	3		1.1312	1.1312
แสงสีขาว	3			1.3668
Sig.		1.0000	0.2399	0.1074

ตารางที่ บ12.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของพี่น้องจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between-Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	2.0094	0.5282	0.3049	0.6974	3.3214	1.5695	2.5951	
แสงสีส้มขาว	3	2.8112	0.3246	0.1874	2.0049	3.6175	2.4615	3.1028	
ที่มีด	3	2.9189	0.4165	0.2405	1.8842	3.9536	2.6713	3.3998	
แสงสีน้ำเงิน	3	3.4393	0.2052	0.1185	2.9296	3.9491	3.3073	3.6758	
แสงสีขาว	3	1.4193	0.3802	0.2195	0.4747	2.3639	1.1488	1.8540	
ทั้งหมด	15	2.5196	0.8095	0.2090	2.0714	2.9679	1.1488	3.6758	
Model	Fixed Effects		0.3859	0.0996	2.2976	2.7416			
	Random Effects			0.3579	1.5260	3.5132			0.5907

ตารางที่ บ12.2 ANOVA ของค่า Productivity ของพีนอลิกจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.6843	4.0000	1.9211	12.9019	0.0006
Within Groups	1.4890	10.0000	0.1489		
Total	9.1733	14.0000			

ตารางที่ บ12.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของพีนอลิกจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>			
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
แสงสีขาว	3	1.4193	
แสงสีแดง	3	2.0094	
แสงสีส้มขาว	3		2.8112
ที่มืด	3		2.9189
แสงสีน้ำเงิน	3		3.4393
Sig.		0.0906	0.0857

ตารางที่ บ13.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของฟีนอลิกจากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Descriptives									
แสงสี	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between-Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
แสงสีแดง	3	1.7414	0.3959	0.2286	0.7578	2.7250	1.5021	2.1984	
แสงสีส้มขาว	3	2.3447	0.2313	0.1335	1.7701	2.9192	2.1397	2.5955	
ที่มีด	3	1.7201	0.2041	0.1179	1.2130	2.2272	1.5483	1.9458	
แสงสีน้ำเงิน	3	2.8148	0.1938	0.1119	2.3335	3.2962	2.6258	3.0130	
แสงสีขาว	3	1.2733	0.1194	0.0690	0.9767	1.5700	1.1843	1.4091	
ทั้งหมด	15	1.9789	0.5957	0.1538	1.6490	2.3088	1.1843	3.0130	
Model	Fixed Effects		0.2465	0.0636	1.8371	2.1207			
	Random Effects			0.2696	1.2303	2.7274			0.3432

ตารางที่ บ13.2 ANOVA ของค่า Productivity ของพีนอลิกจากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.3613	4.0000	1.0903	17.9477	0.0001
Within Groups	0.6075	10.0000	0.0607		
Total	4.9688	14.0000			

ตารางที่ บ13.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของพีนอลิกจากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยแสงสีต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
แสงสี	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
แสงสีขาว	3	1.2733		
ที่มีด	3	1.7201		
แสงสีแดง	3	1.7414		
แสงสีส้มขาว	3		2.3447	
แสงสีน้ำเงิน	3			2.8148
Sig.		0.0502	1.000	1.000

ตารางที่ บ14.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	0.2105	0.0054	0.0031	0.1972	0.2238	0.2043	0.2140	
0.75	3	0.2442	0.0002	0.0001	0.2436	0.2447	0.2440	0.2444	
1.5	3	0.2396	0.0007	0.0004	0.2380	0.2412	0.2389	0.2402	
2.25	3	0.2301	0.0112	0.0064	0.2024	0.2578	0.2176	0.2391	
3	3	0.2213	0.0031	0.0018	0.2135	0.2290	0.2177	0.2235	
Total	15	0.2291	0.0135	0.0035	0.2216	0.2366	0.2043	0.2444	
Model	Fixed Effects		0.0057	0.0015	0.2258	0.2324			
	Random Effects			0.0061	0.2122	0.2461			0.0002

ตารางที่ บ14.2 ANOVA ของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยง  
ด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.0020	4.0000	0.0010	17.0940	0.0000
Within Groups	0.0000	10.0000	0.0000		
Total	0.0030	14.0000			

ตารางที่ บ14.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากจำนวนเซลล์ภายใต้สภาวะ  
การเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>					
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	0.2105			
3	3		0.2213		
2.25	3		0.2301	0.2301	
1.5	3			0.2396	0.2396
0.75	3				0.2442
Sig.		1.0000	0.0879	0.0702	0.3480

ตารางที่ บ15.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนโตรเจนความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	0.1673	0.0020	0.0012	0.1623	0.1723	0.1651	0.1690	
0.75	3	0.1720	0.0033	0.0019	0.1639	0.1802	0.1697	0.1758	
1.5	3	0.1648	0.0036	0.0021	0.1560	0.1736	0.1611	0.1682	
2.25	3	0.1558	0.0025	0.0014	0.1496	0.1620	0.1531	0.1580	
3	3	0.1516	0.0053	0.0031	0.1385	0.1647	0.1483	0.1577	
Total	15	0.1623	0.0083	0.0022	0.1577	0.1669	0.1483	0.1758	
Model	Fixed Effects		0.0035	0.0009	0.1603	0.1643			
	Random Effects			0.0038	0.1519	0.1728			0.0001

ตารางที่ บ15.2 ANOVA ของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.0010	4.0000	0.0000	17.1990	0.0000
Within Groups	0.0000	10.0000	0.0000		
Total	0.0010	14.0000			

ตารางที่ บ15.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเจริญจำเพาะจากความหนาแน่นเซลล์ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
3	3	0.1516		
2.25	3	0.1558		
1.5	3		0.1648	
0	3		0.1673	0.1673
0.75	3			0.1720
Sig.		0.1739	0.3979	0.1324

ตารางที่ บ16.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	2.0878	0.0387	0.0223	1.9917	2.1839	2.0606	2.1321	
0.75	3	4.4035	0.1958	0.1131	3.9171	4.8899	4.2095	4.6011	
1.5	3	2.6988	0.3112	0.1797	1.9256	3.4719	2.4596	3.0507	
2.25	3	2.3079	0.0785	0.0453	2.1130	2.5029	2.2215	2.3748	
3	3	2.3838	0.0611	0.0352	2.2321	2.5354	2.3411	2.4537	
Total	15	2.7763	0.8782	0.2267	2.2900	3.2627	2.0606	4.6011	
Model	Fixed Effects		0.1712	0.0442	2.6778	2.8748			
	Random Effects			0.4184	1.6147	3.9380			0.8655

ตารางที่ บ16.2 ANOVA ของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.5040	4.0000	2.6260	89.5690	0.0000
Within Groups	0.2930	10.0000	0.0290		
Total	10.7970	14.0000			

ตารางที่ บ16.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	2.0878		
2.25	3	2.3079		
3	3	2.3838		
1.5	3		2.6988	
0.75	3			4.4035
Sig.		0.0704	1.0000	1.0000

ตารางที่ บ17.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนโตรเจนความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	6.6073	0.0996	0.0575	6.3598	6.8547	6.4923	6.6689	
0.75	3	10.6645	0.2886	0.1666	9.9475	11.3815	10.4084	10.9772	
1.5	3	9.0282	0.2268	0.1309	8.4648	9.5916	8.7716	9.2017	
2.25	3	7.9630	0.3683	0.2126	7.0482	8.8778	7.5511	8.2604	
3	3	7.1495	0.1117	0.0645	6.8720	7.4270	7.0454	7.2675	
Total	15	8.2825	1.5084	0.3895	7.4472	9.1178	6.4923	10.9772	
Model	Fixed Effects		0.2420	0.0625	8.1433	8.4217			
	Random Effects			0.7219	6.2782	10.2867			2.5860

ตารางที่ บ17.2 ANOVA ของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31.2660	4.0000	7.8170	133.5000	0.0000
Within Groups	0.5860	10.0000	0.0590		
Total	31.8520	14.0000			

ตารางที่ บ17.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของแคโรทีนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>						
ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0	3	6.6073				
3	3		7.1495			
2.25	3			7.9630		
1.5	3				9.0282	
0.75	3					10.6645
Sig.		1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

ตารางที่ บ18.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนโตรเจนความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	0.2938	0.0126	0.0073	0.2624	0.3253	0.2812	0.3065	
0.75	3	0.5659	0.1007	0.0582	0.3157	0.8162	0.4528	0.6460	
1.5	3	0.4329	0.0353	0.0204	0.3453	0.5205	0.3980	0.4685	
2.25	3	0.3627	0.0304	0.0176	0.2871	0.4383	0.3394	0.3972	
3	3	0.3017	0.0264	0.0152	0.2362	0.3673	0.2816	0.3316	
Total	15	0.3914	0.1128	0.0291	0.3290	0.4539	0.2812	0.6460	
Model	Fixed Effects		0.0513	0.0133	0.3619	0.4210			
	Random Effects			0.0503	0.2518	0.5310			0.0118

ตารางที่ บ18.2 ANOVA ของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.1520	4.0000	0.0380	14.3940	0.0000
Within Groups	0.0260	10.0000	0.0030		
Total	0.1780	14.0000			

ตารางที่ บ18.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	0.2938		
3	3	0.3017		
2.25	3	0.3627	0.3627	
1.5	3		0.4329	
0.75	3			0.5659
Sig.		0.1473	0.1251	1.0000

ตารางที่ บ19.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนโตรเจนความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	1.7277	0.0265	0.0153	1.6620	1.7934	1.6972	1.7446	
0.75	3	2.7584	0.1869	0.1079	2.2942	3.2226	2.5750	2.9485	
1.5	3	2.3758	0.0461	0.0266	2.2612	2.4904	2.3348	2.4257	
2.25	3	2.0084	0.0916	0.0529	1.7808	2.2361	1.9060	2.0826	
3	3	1.8676	0.0317	0.0183	1.7889	1.9464	1.8344	1.8975	
Total	15	2.1476	0.3957	0.1022	1.9285	2.3667	1.6972	2.9485	
Model	Fixed Effects		0.0971	0.0251	2.0917	2.2035			
	Random Effects			0.1870	1.6285	2.6667			0.1717

ตารางที่ บ19.2 ANOVA ของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.0980	4.0000	0.5240	55.6130	0.0000
Within Groups	0.0940	10.0000	0.0090		
Total	2.1920	14.0000			

ตารางที่ บ19.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ เอ จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>					
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	1.7277			
3	3	1.8676	1.8676		
2.25	3		2.0084		
1.5	3			2.3758	
0.75	3				2.7584
Sig.		0.1080	0.1062	1.0000	1.0000

ตารางที่ บ20.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนโตรเจนความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	0.5583	0.0244	0.0141	0.4977	0.6190	0.5334	0.5821	
0.75	3	1.0702	0.1883	0.1087	0.6024	1.5379	0.8587	1.2198	
1.5	3	0.5809	0.1262	0.0728	0.2674	0.8943	0.4811	0.7227	
2.25	3	0.6839	0.0577	0.0333	0.5405	0.8272	0.6393	0.7491	
3	3	0.5665	0.0510	0.0294	0.4400	0.6931	0.5281	0.6244	
Total	15	0.6920	0.2209	0.0570	0.5696	0.8143	0.4811	1.2198	
Model	Fixed Effects		0.1076	0.0278	0.6300	0.7539			
	Random Effects			0.0972	0.4220	0.9619			0.0434

ตารางที่ บ20.2 ANOVA ของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.5670	4.0000	0.1420	12.2430	0.0010
Within Groups	0.1160	10.0000	0.0120		
Total	0.6830	14.0000			

ตารางที่ บ20.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>			
ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	0.5583	
3	3	0.5665	
1.5	3	0.5809	
2.25	3	0.6839	
0.75	3		1.0702
Sig.		0.2121	1.0000

ตารางที่ บ21.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	3.2917	0.0516	0.0298	3.1636	3.4198	3.2322	3.3242	
0.75	3	5.2563	0.3520	0.2032	4.3818	6.1308	4.9095	5.6133	
1.5	3	4.5078	0.0697	0.0403	4.3346	4.6811	4.4508	4.5856	
2.25	3	3.8297	0.1746	0.1008	3.3960	4.2633	3.6345	3.9710	
3	3	3.5624	0.0574	0.0331	3.4197	3.7050	3.5028	3.6174	
Total	15	4.0896	0.7505	0.1938	3.6740	4.5052	3.2322	5.6133	
Model	Fixed Effects		0.1818	0.0469	3.9850	4.1941			
	Random Effects			0.3549	3.1043	5.0748			0.6186

ตารางที่ บ21.2 ANOVA ของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.5550	4.0000	1.8890	57.1590	0.0000
Within Groups	0.3300	10.0000	0.0330		
Total	7.8860	14.0000			

ตารางที่ บ21.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของคลอโรฟิลล์ บี จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>					
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	3.2917			
3	3	3.5624	3.5624		
2.25	3		3.8297		
1.5	3			4.5078	
0.75	3				5.2563
Sig.		0.0982	0.1019	1.0000	1.0000

ตารางที่ บ22.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของลูทีนจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนโตรเจนความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	0.0621	0.0153	0.0088	0.0241	0.1000	0.0477	0.0781	
0.75	3	0.1466	0.0147	0.0085	0.1100	0.1832	0.1326	0.1620	
1.5	3	0.0603	0.0085	0.0049	0.0392	0.0813	0.0512	0.0680	
2.25	3	0.1101	0.0404	0.0233	0.0097	0.2104	0.0634	0.1346	
3	3	0.0956	0.0228	0.0132	0.0389	0.1522	0.0823	0.1219	
Total	15	0.0949	0.0386	0.0100	0.0735	0.1163	0.0477	0.1620	
Model	Fixed Effects		0.0231	0.0060	0.0816	0.1082			
	Random Effects			0.0161	0.0503	0.1396			0.0011

ตารางที่ บ22.2 ANOVA ของค่า Productivity ของลูทีนจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.0160	4.0000	0.0040	7.2600	0.0050
Within Groups	0.0050	10.0000	0.0010		
Total	0.0210	14.0000			

ตารางที่ บ22.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของลูทีนจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1.5	3	0.0603		
0	3	0.0621		
3	3	0.0956	0.0956	
2.25	3		0.1101	0.1101
0.75	3			0.1466
Sig.		0.1043	0.4608	0.0818

ตารางที่ บ23.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของปลาโหนดจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	1.6672	0.0673	0.0388	1.5001	1.8343	1.6201	1.7442	
0.75	3	2.2243	0.0652	0.0377	2.0622	2.3863	2.1593	2.2898	
1.5	3	1.8981	0.0877	0.0506	1.6802	2.1160	1.8163	1.9907	
2.25	3	1.9087	0.1911	0.1103	1.4339	2.3835	1.7140	2.0960	
3	3	1.8444	0.1128	0.0651	1.5641	2.1247	1.7446	1.9668	
Total	15	1.9085	0.2101	0.0542	1.7922	2.0249	1.6201	2.2898	
Model	Fixed Effects		0.1147	0.0296	1.8426	1.9745			
	Random Effects			0.0900	1.6585	2.1585			0.0362

ตารางที่ บ23.2 ANOVA ของค่า Productivity ของปลาไวโนยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.4860	4.0000	0.1220	9.2510	0.0020
Within Groups	0.1310	10.0000	0.0130		
Total	0.6180	14.0000			

ตารางที่ บ23.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของปลาไวโนยด์จากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>				
ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	1.6672		
3	3	1.8444	1.8444	
1.5	3		1.8981	
2.25	3		1.9087	
0.75	3			2.2243
Sig.		0.0877	0.5268	1.0000

ตารางที่ บ24.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของปลาโวนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	1.1299	0.0707	0.0408	0.9543	1.3055	1.0495	1.1823	
0.75	3	1.2989	0.0203	0.0117	1.2484	1.3494	1.2870	1.3224	
1.5	3	1.2854	0.0950	0.0548	1.0495	1.5212	1.2272	1.3949	
2.25	3	1.2354	0.1213	0.0700	0.9341	1.5366	1.1178	1.3600	
3	3	1.1366	0.0160	0.0093	1.0968	1.1765	1.1183	1.1481	
Total	15	1.2172	0.0986	0.0255	1.1626	1.2718	1.0495	1.3949	
Model	Fixed Effects		0.0767	0.0198	1.1731	1.2613			
	Random Effects			0.0359	1.1176	1.3169			0.0045

ตารางที่ บ24.2 ANOVA ของค่า Productivity ของปลาโวนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.0770	4.0000	0.0190	3.2870	0.0580
Within Groups	0.0590	10.0000	0.0060		
Total	0.1360	14.0000			

ตารางที่ บ24.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของปลาโวนอยด์จากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>			
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	1.1299	
3	3	1.1366	
2.25	3	1.2354	1.2354
1.5	3		1.2854
0.75	3		1.2989
Sig.		0.1386	0.3554

ตารางที่ บ25.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของฟีนอลิกจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	0.7109	0.0459	0.0265	0.5969	0.8250	0.6609	0.7511	
0.75	3	0.8738	0.1099	0.0635	0.6007	1.1468	0.7536	0.9692	
1.5	3	0.9748	0.1085	0.0627	0.7052	1.2444	0.8783	1.0923	
2.25	3	0.8912	0.1505	0.0869	0.5173	1.2651	0.8000	1.0649	
3	3	0.7051	0.0423	0.0244	0.6000	0.8103	0.6723	0.7529	
Total	15	0.8312	0.1389	0.0359	0.7543	0.9081	0.6609	1.0923	
Model	Fixed Effects		0.1004	0.0259	0.7734	0.8889			
	Random Effects			0.0531	0.6837	0.9786			0.0107

ตารางที่ บ25.2 ANOVA ของค่า Productivity ของพื๋นอลิกจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.1690	4.0000	0.0420	4.1940	0.0300
Within Groups	0.1010	10.0000	0.0100		
Total	0.2700	14.0000			

ตารางที่ บ25.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของพื๋นอลิกจากสารสกัดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>			
ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3	3	0.7051	
0	3	0.7109	
0.75	3	0.8738	0.8738
2.25	3	0.8912	0.8912
1.5	3		0.9748
Sig.		0.0603	0.2667

ตารางที่ บ26.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่า Productivity ของพืชนอกจากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
ความเข้มข้นของ ไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าความคลาด เคลื่อนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95		ค่าเฉลี่ยต่ำสุด	ค่าเฉลี่ยสูงสุด	Between- Component Variance
					ขอบเขตล่าง	ขอบเขตบน			
0	3	0.7529	0.0330	0.0191	0.6708	0.8349	0.7208	0.7868	
0.75	3	0.8259	0.0007	0.0004	0.8242	0.8275	0.8254	0.8266	
1.5	3	0.7633	0.0388	0.0224	0.6669	0.8596	0.7399	0.8080	
2.25	3	0.7319	0.0092	0.0053	0.7091	0.7548	0.7214	0.7384	
3	3	0.7046	0.0699	0.0403	0.5310	0.8781	0.6245	0.7529	
Total	15	0.7557	0.0532	0.0137	0.7262	0.7852	0.6245	0.8266	
Model	Fixed Effects		0.0389	0.0100	0.7333	0.7781			
	Random Effects			0.0202	0.6996	0.8118			0.0015

ตารางที่ บ26.2 ANOVA ของค่า Productivity ของพืชนอกจากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.0250	4.0000	0.0060	4.0510	0.0330
Within Groups	0.0150	10.0000	0.0020		
Total	0.0400	14.0000			

ตารางที่ บ26.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า Productivity ของพืชนอกจากน้ำหมักภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยไนเตรทความเข้มข้นต่างๆ

Duncan <sup>a</sup>			
ความเข้มข้นของไนเตรท (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3	3	0.7046	
2.25	3	0.7319	
0	3	0.7529	0.7529
1.5	3	0.7633	0.7633
0.75	3		0.8259
Sig.		0.1155	0.0525



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 26 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2561

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว กิตติฉวี ขอมประทุม รหัสประจำตัว 57050670

นาย/นาง/นางสาว ชญาภักดิ์ ศิลานนุศักดิ์ รหัสประจำตัว 57050670

นาย/นาง/นางสาว รหัสประจำตัว

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชา ชีววิทยา

ขอรับรองว่าโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา เรื่อง

ชื่อภาษาไทย สมบว: ทว. ลัง 00 Scenedesmus sp. กักแหมะ ลัง

ชื่อภาษาอังกฤษ Optimum Condition For Scenedesmus sp. Cultivation

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มีได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักษราวินูตี 1.55 % หรือโปรแกรม Turnitin %

ลงชื่อ กิตติฉวี ขอมประทุม (นางสาวกิตติฉวี ขอมประทุม) ชญาภักดิ์ ศิลานนุศักดิ์ (ชญาภักดิ์ ศิลานนุศักดิ์) ( ) นักศึกษา นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า ศ. / รศ. / ผศ. / ดร. / อ. ตานกมล ใจงาม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาดังกล่าวและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ ตานกมล ใจงาม ( ) ( ) ( )

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม