

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายสีเขียวที่คัดแยกได้โดยอาหารสูตร N-8 จากน้ำตกกระทิงและน้ำตกป่าละอู

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

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

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

4.2 การคัดเลือกสาหร่ายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์

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

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

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

ใช้ในการเจริญและสภาวะสำหรับผลิตแอสตาแซนทินมีความแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิงก่อให้เกิดความ
ยุ่งยากในการควบคุมการผลิต (Cohen, 1999)

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าอุณหภูมิและค่าพีเอชของน้ำที่จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 10 จุด บริเวณน้ำตกกระทิงใน
วันที่ 8 เดือนกันยายน พ.ศ. 2546 และปริมาณแกลโรทีนอยด์ของสาหร่ายที่คัดแยกได้

จุดเก็บ ตัวอย่าง	อุณหภูมิ ของน้ำ (องศา เซลเซียส)	ค่าความเป็น กรดต่าง ของน้ำ	สาหร่ายที่คัดแยกได้	ปริมาณ แกลโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม ต่อลิตร)	รูปแสดง ลักษณะ เซลล์
1.	20.5	7.42	<i>Chlorella</i> sp. K46011 <i>Scenedesmus</i> sp. K46012	2.702 2.676	รูปที่ 4.1 รูปที่ 4.2
2.	23	7.19	<i>Scenedesmus</i> sp. K46021 <i>Scenedesmus</i> sp. K46022	3.346 3.590	รูปที่ 4.3 รูปที่ 4.4
3.	23.5	6.13	<i>Scenedesmus</i> sp. K46031 <i>Chlorella</i> sp. K46032	3.372 4.011	รูปที่ 4.5 รูปที่ 4.6
4.	22.5	6.07	<i>Scenedesmus</i> sp. K46041 <i>Chlorella</i> sp. K46042	3.583 2.329	รูปที่ 4.7 รูปที่ 4.8
5.	26	7.05	<i>Scenedesmus</i> sp. K46051 <i>Chlorella</i> sp. K46052	3.205 2.347	รูปที่ 4.9 รูปที่ 4.10
6.	24.5	7.12	<i>Scenedesmus</i> sp. K46061 <i>Chlorococcum</i> sp. K46062	3.578 3.591	รูปที่ 4.11 รูปที่ 4.12
7.	30.5	5.89	<i>Scenedesmus</i> sp. K46071	2.930	รูปที่ 4.13
8.	29.5	6.21	<i>Chlorella</i> sp. K46081	2.512	รูปที่ 4.14
9.	31.5	6.53	<i>Scenedesmus</i> sp. K46091	3.409	รูปที่ 4.15
10.	32.5	6.37	<i>Chlorella</i> sp. K46101	2.486	รูปที่ 4.16

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

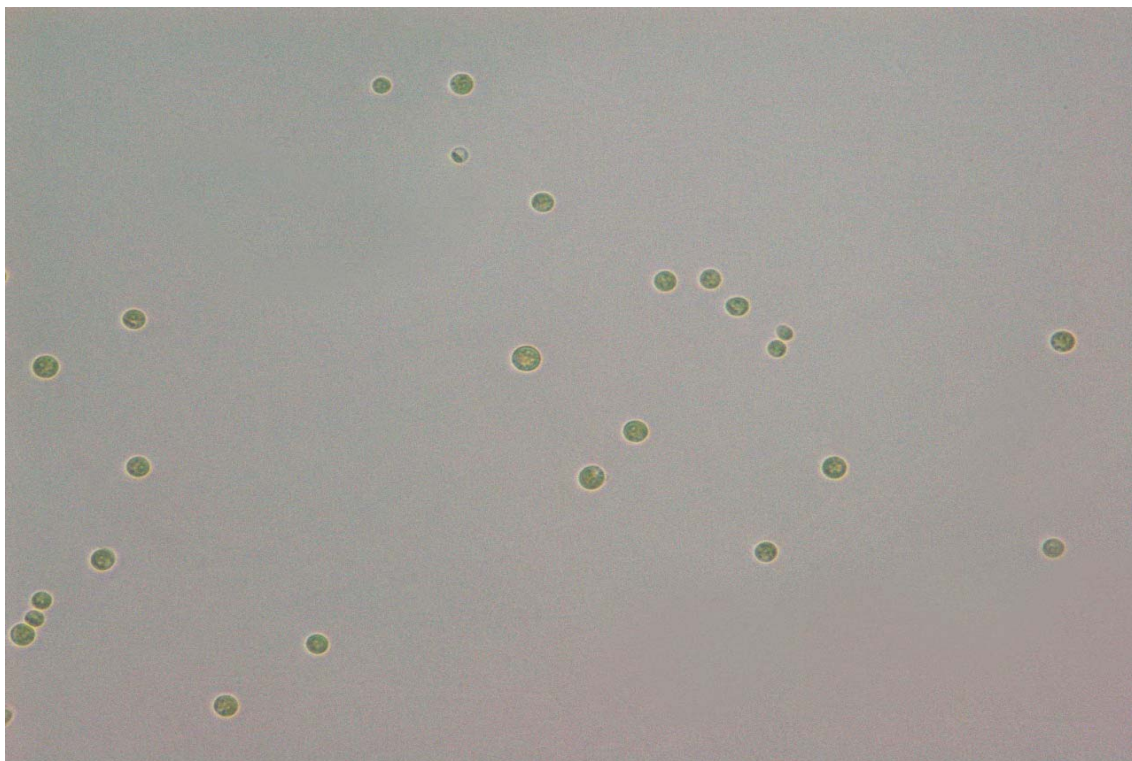
จุดเก็บ ตัวอย่าง	อุณหภูมิ ของน้ำ (องศา เซลเซียส)	ค่าพีเอช ของน้ำ	สาหร่ายที่คัดแยกได้	ปริมาณ แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม ต่อลิตร)	รูปแสดง ลักษณะ เซลล์
1.	20	7.53	<i>Chlorella</i> sp. K48011 <i>Scenedesmus</i> sp. K48012	3.483 2.811	รูปที่ 4.17 รูปที่ 4.18
2.	27	5.98	<i>Scenedesmus</i> sp. K48021 <i>Chlorella</i> sp. K48022 <i>Scenedesmus</i> sp. K48023	2.869 3.609 2.594	รูปที่ 4.19 รูปที่ 4.20 รูปที่ 4.21
3.	25	7.23	<i>Scenedesmus</i> sp. K48031 <i>Scenedesmus</i> sp. K48032 <i>Scenedesmus</i> sp. K48033	0.898 2.759 1.713	รูปที่ 4.22 รูปที่ 4.23 รูปที่ 4.24
4.	25.5	7.2	<i>Oocystis</i> sp. K48041 <i>Scenedesmus</i> sp. K48042	0.751 3.431	รูปที่ 4.25 รูปที่ 4.26
5.	25.5	5.68	<i>Chlorella</i> sp. K48051 <i>Scenedesmus</i> sp. K48052	2.662 3.604	รูปที่ 4.27 รูปที่ 4.28
6.	26	6.89	<i>Scenedesmus</i> sp. K48061 <i>Chlorella</i> sp. K48062	1.870 3.849	รูปที่ 4.29 รูปที่ 4.30
7.	31.5	5.68	<i>Chlorella</i> sp. K48071 <i>Scenedesmus</i> sp. K48072	2.733 3.485	รูปที่ 4.31 รูปที่ 4.32
8.	31.5	6.15	<i>Chlorella</i> sp. K48081 <i>Scenedesmus</i> sp. K48082	3.481 3.094	รูปที่ 4.33 รูปที่ 4.34
9.	32	6.27	<i>Scenedesmus</i> sp. K48091 <i>Scenedesmus</i> sp. K48092	3.123 2.330	รูปที่ 4.35 รูปที่ 4.36
10.	33	6.4	<i>Scenedesmus</i> sp. K48101 <i>Chlorella</i> sp. K48102	3.716 3.470	รูปที่ 4.37 รูปที่ 4.38

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

จุดเก็บ ตัวอย่าง	อุณหภูมิ ของน้ำ (องศา เซลเซียส)	ค่าพีเอช ของน้ำ	สาหร่ายที่คัดแยกได้	ปริมาณ แคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม ต่อลิตร)	รูปแสดง ลักษณะ เซลล์
1.	24	6.54	<i>Chlorella</i> sp. P47011 <i>Chlorella</i> sp. P47012 <i>Scenedesmus</i> sp. P47013	3.231 3.272 2.292	รูปที่ 4.39 รูปที่ 4.40 รูปที่ 4.41
2.	24	6.43	<i>Chlorella</i> sp. P47021 <i>Scenedesmus</i> sp. P47022	3.372 3.429	รูปที่ 4.42 รูปที่ 4.43
3.	28	6.36	<i>Chlorella</i> sp. P47031 <i>Scenedesmus</i> sp. P47032	3.859 3.334	รูปที่ 4.44 รูปที่ 4.45
4.	23.5	6.68	<i>Chlorella</i> sp. P47041 <i>Chlorella</i> sp. P47042	3.799 3.451	รูปที่ 4.46 รูปที่ 4.47
5.	23	6.81	<i>Chlorella</i> sp. P47051 <i>Chlorella</i> sp. P47052 <i>Scenedesmus</i> sp. P47053	3.653 3.509 2.259	รูปที่ 4.48 รูปที่ 4.49 รูปที่ 4.50
6.	23	6.72	<i>Scenedesmus</i> sp. P47061 <i>Chlorella</i> sp. P47062 <i>Chlorella</i> sp. P47063	3.506 3.567 2.646	รูปที่ 4.51 รูปที่ 4.52 รูปที่ 4.53
7.	22.5	6.12	<i>Chlorella</i> sp. P47071 <i>Chlorella</i> sp. P47072	3.783 4.098	รูปที่ 4.54 รูปที่ 4.55
8.	22	7.44	<i>Chlorella</i> sp. P47081	3.475	รูปที่ 4.56
9.	21.5	7.17	<i>Chlorella</i> sp. P47091	3.395	รูปที่ 4.57
10.	27	7.39	<i>Chlorella</i> sp. P47101	3.672	รูปที่ 4.58

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

จุดเก็บ ตัวอย่าง	อุณหภูมิ ของน้ำ (องศา เซลเซียส)	ค่าพีเอช ของน้ำ	สาหร่ายที่คัดแยกได้	ปริมาณ แคโรที นอยด์ (มิลลิกรัม ต่อลิตร)	รูปแสดง ลักษณะ เซลล์
1.	21	6.86	<i>Chlorella</i> sp. P48011 <i>Scenedesmus</i> sp. P48012	3.486 3.136	รูปที่ 4.59 รูปที่ 4.60
2.	22	6.62	<i>Chlorella</i> sp. P48021 <i>Monoraphidium</i> sp. 48022 <i>Scenedesmus</i> sp. P48023	3.590 3.261 3.439	รูปที่ 4.61 รูปที่ 4.62 รูปที่ 4.63
3.	23	6.40	<i>Scenedesmus</i> sp. P48031	3.170	รูปที่ 4.64
4.	20.5	7.90	<i>Chlorella</i> sp. P48041	1.523	รูปที่ 4.65
5.	21	7.92	<i>Scenedesmus</i> sp. P48051	3.802	รูปที่ 4.66
6.	20.5	7.5	<i>Chlorella</i> sp. P48061	4.137	รูปที่ 4.67
7.	20.5	7.93	<i>Scenedesmus</i> sp. P48071	1.300	รูปที่ 4.68
8.	22	7.35	<i>Scenedesmus</i> sp. P48081	2.579	รูปที่ 4.69
9.	21	7.02	<i>Scenedesmus</i> sp. P48091 <i>Chlorella</i> sp. P48092	2.477 3.415	รูปที่ 4.70 รูปที่ 4.71
10.	21	6.97	<i>Chlorella</i> sp. P48101	2.890	รูปที่ 4.72



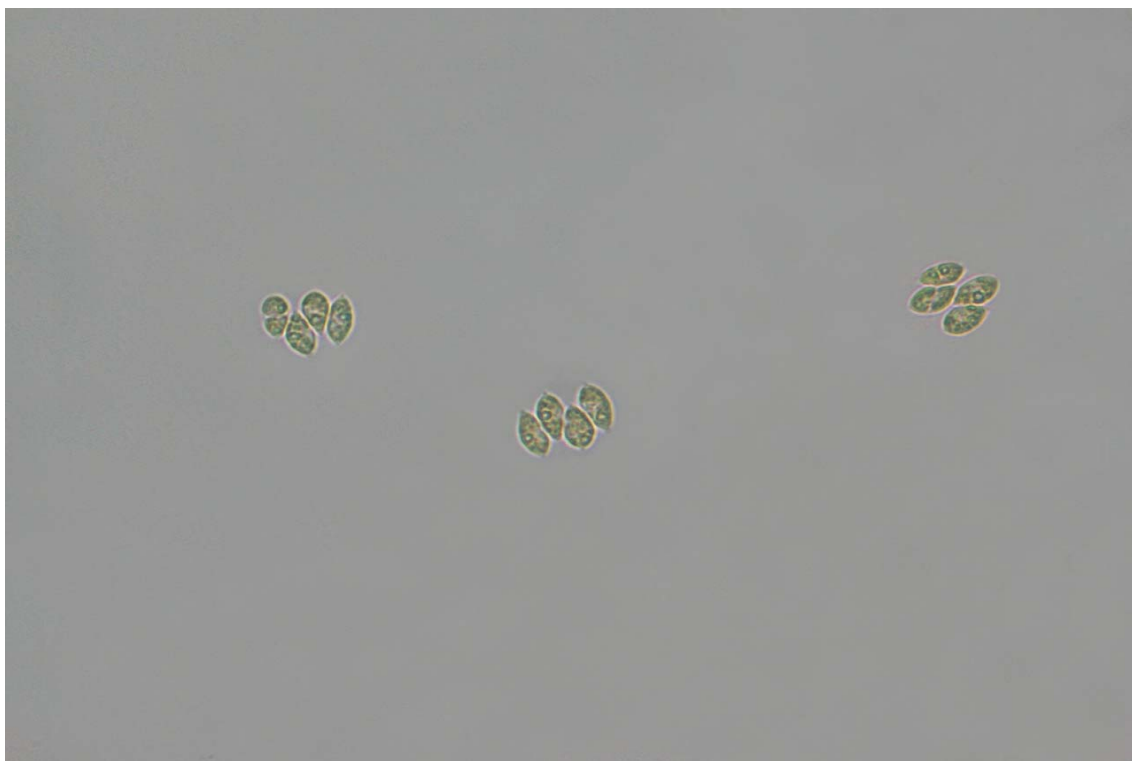
รูปที่ 4.1 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



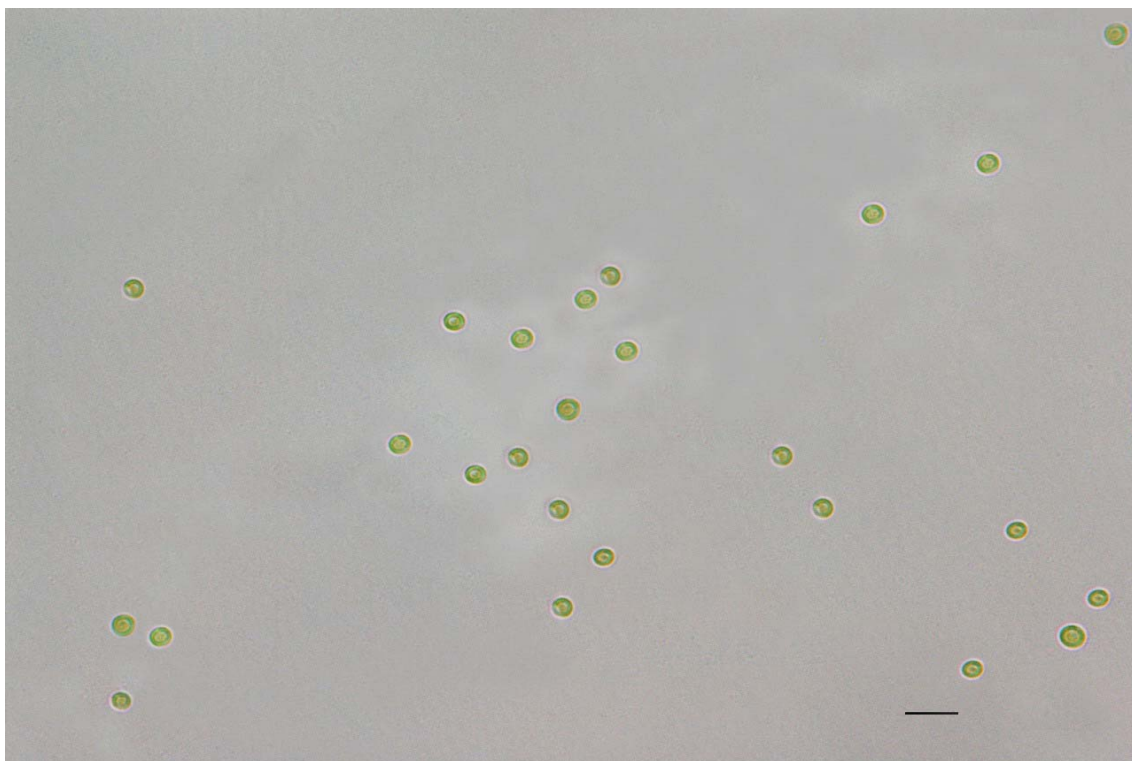
รูปที่ 4.3 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46021 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



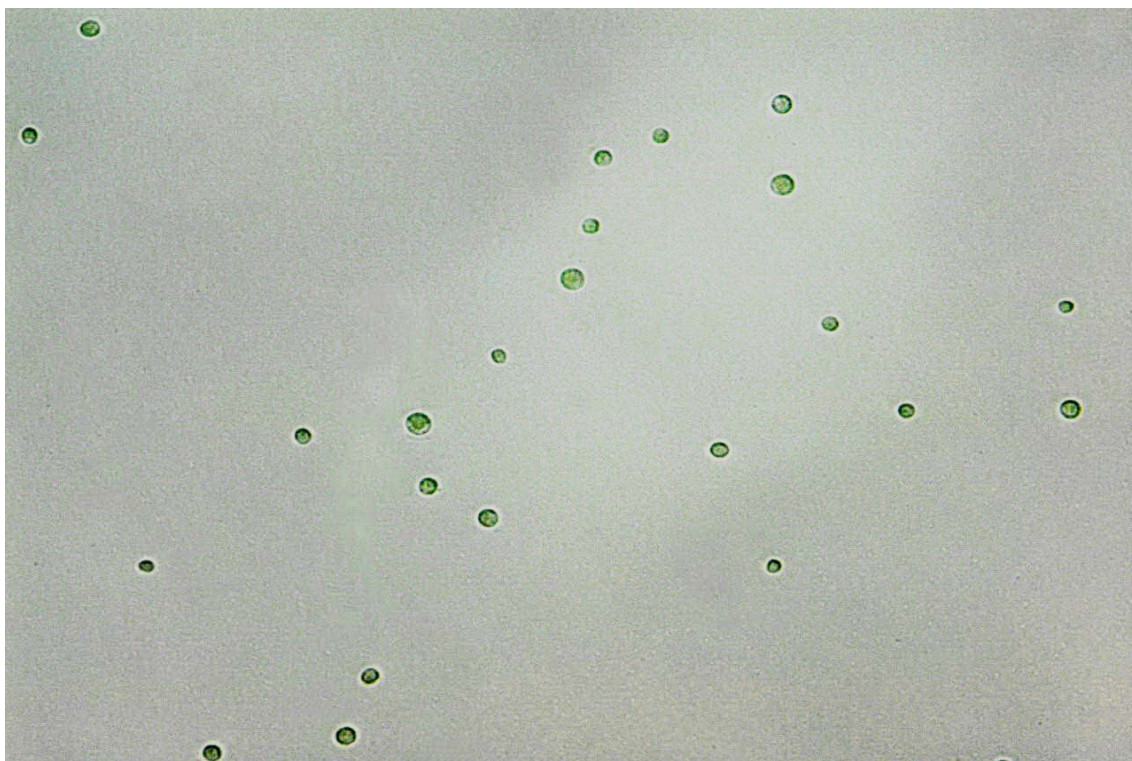
รูปที่ 4.5 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



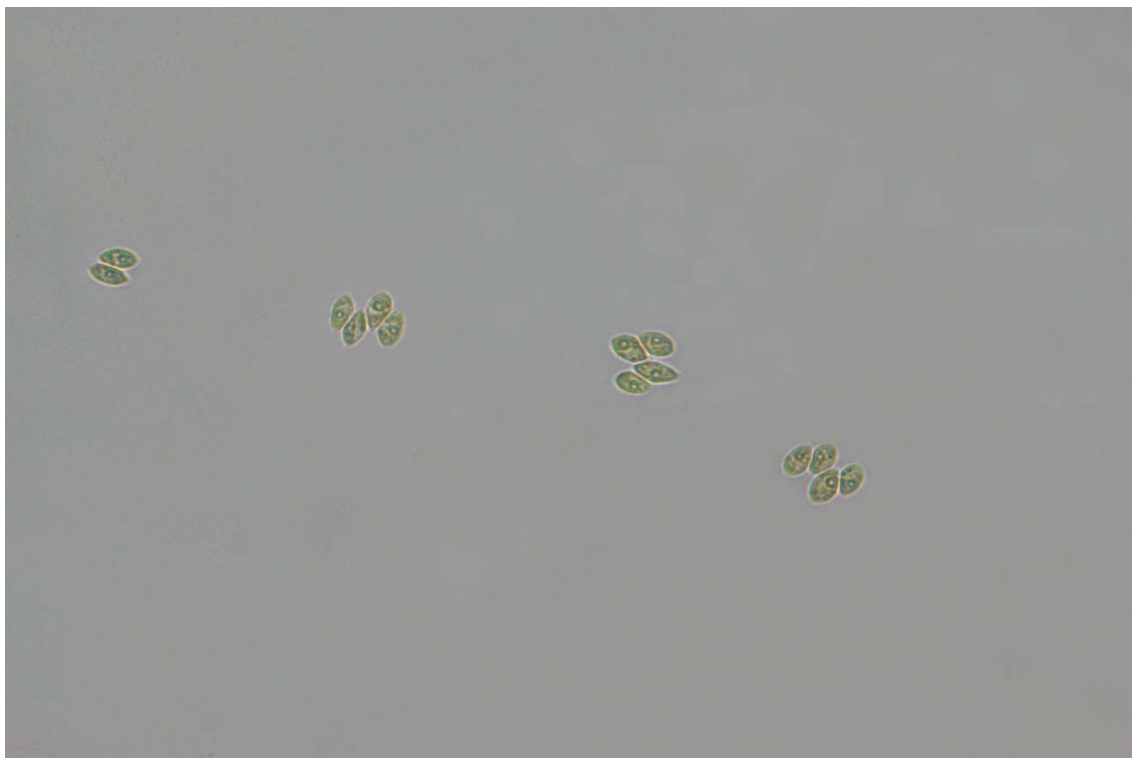
รูปที่ 4.6 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



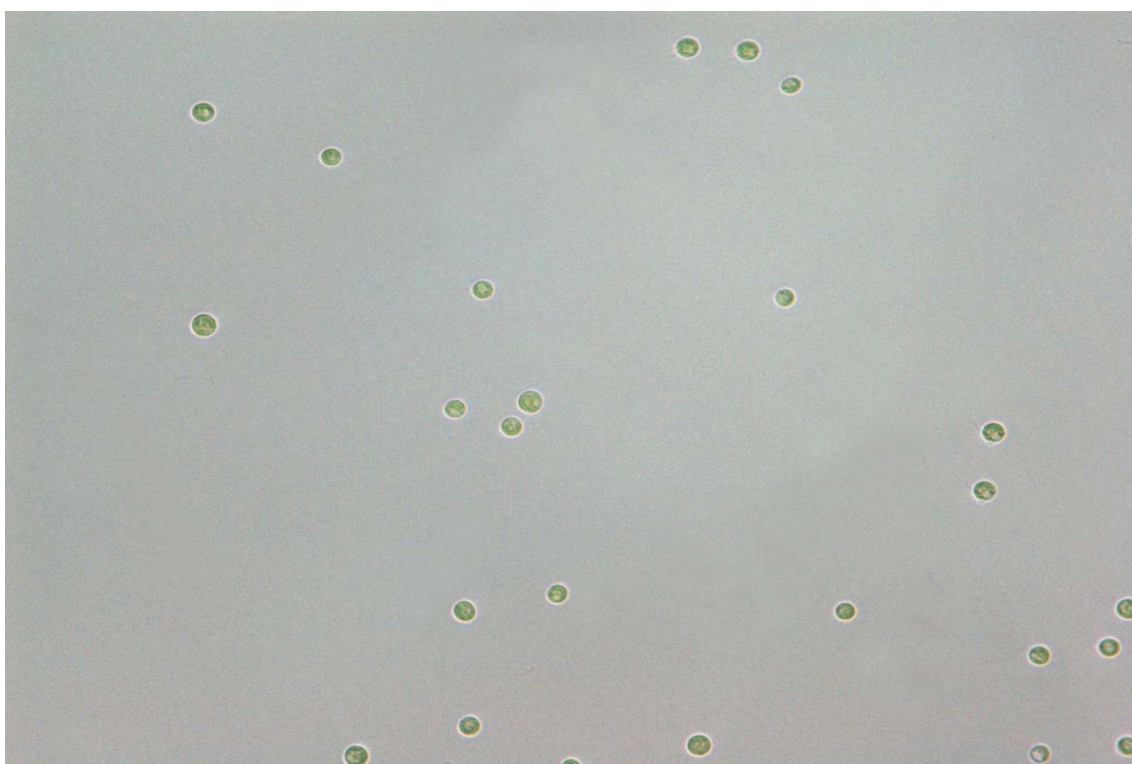
รูปที่ 4.7 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46041 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



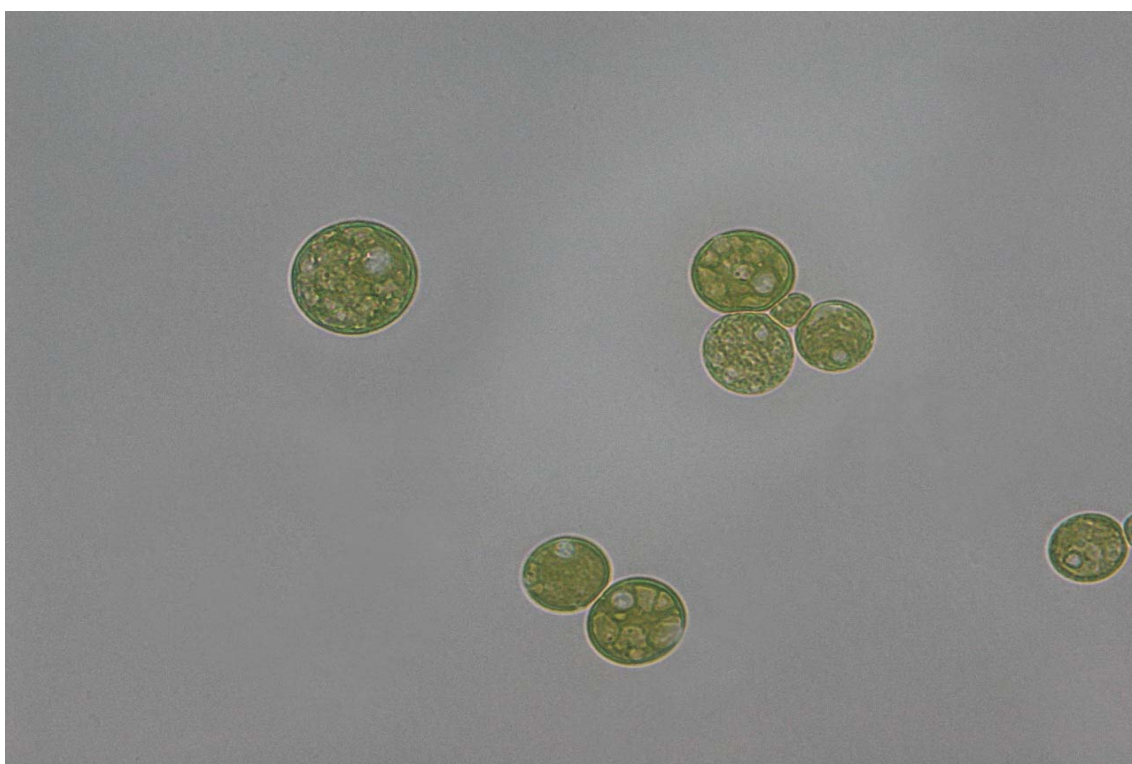
รูปที่ 4.9 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



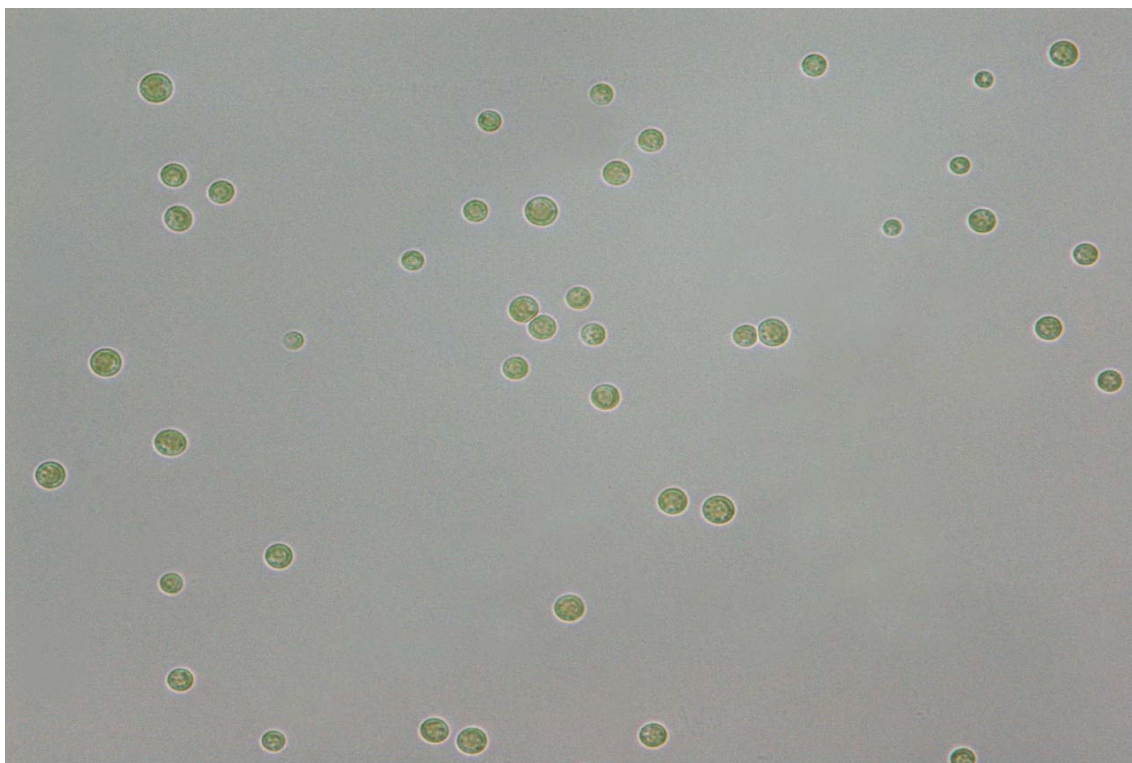
รูปที่ 4.11 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46061 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



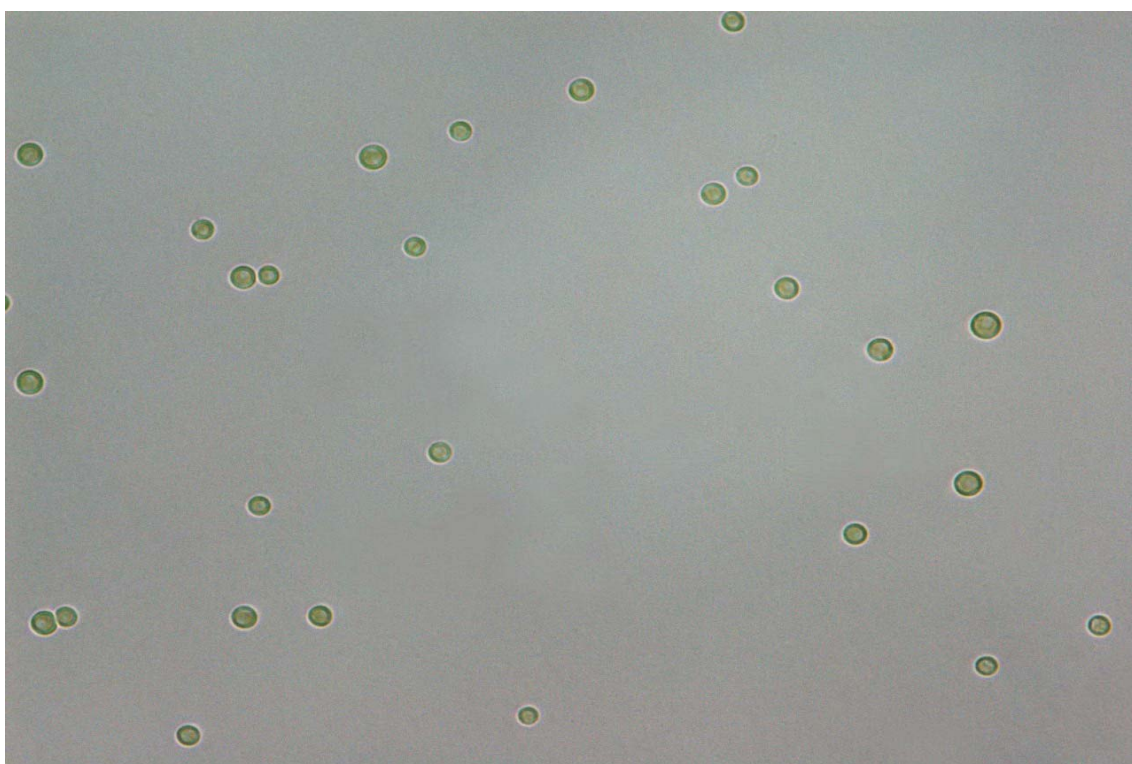
รูปที่ 4.13 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K46071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



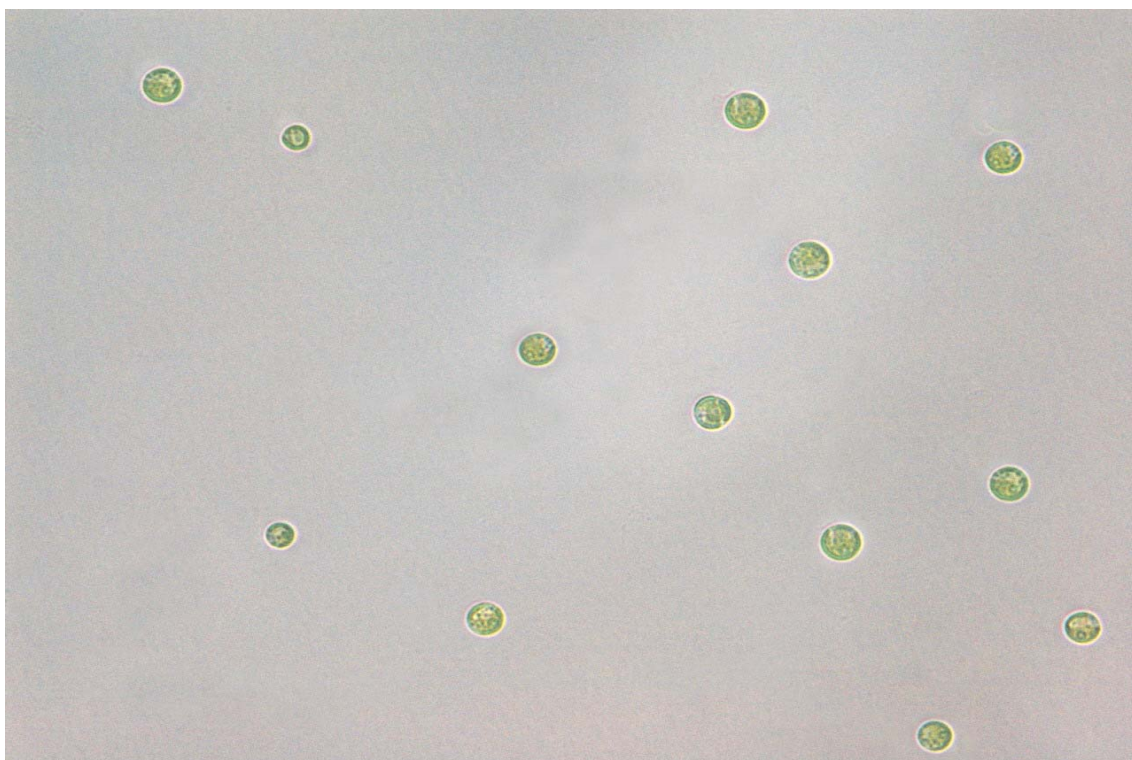
รูปที่ 4.14 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K46081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



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



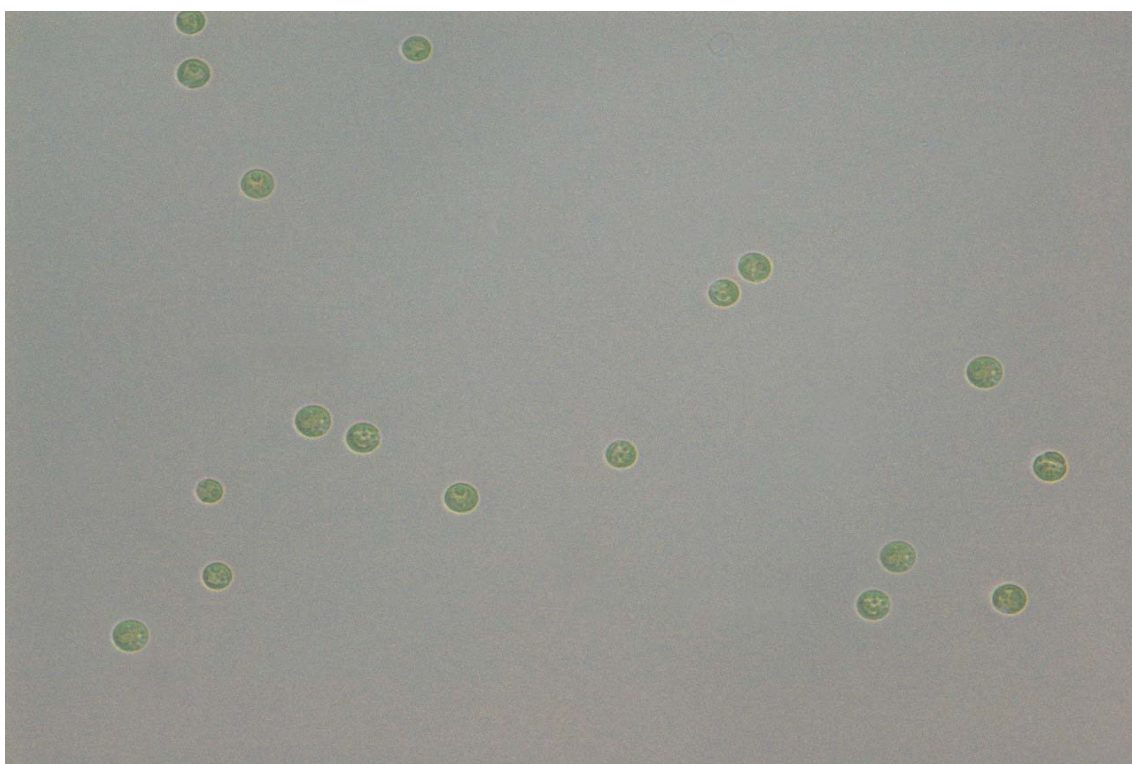
รูปที่ 4.17 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



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



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



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



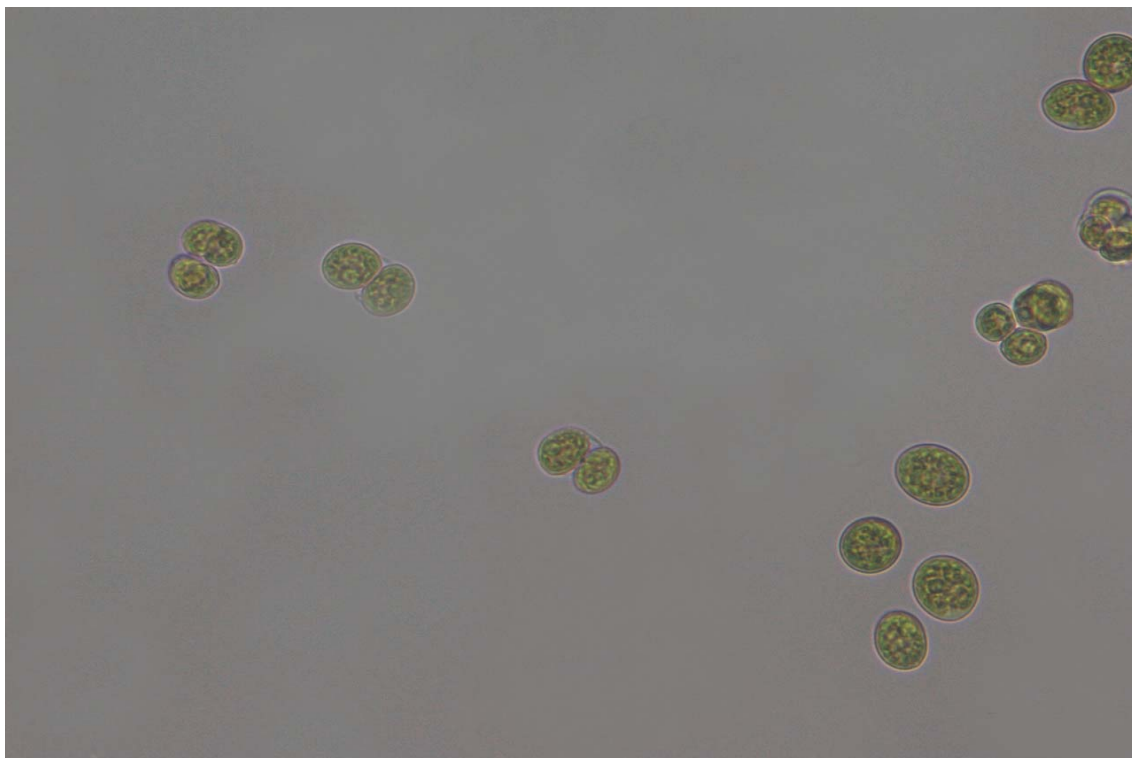
รูปที่ 4.22 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



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



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



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



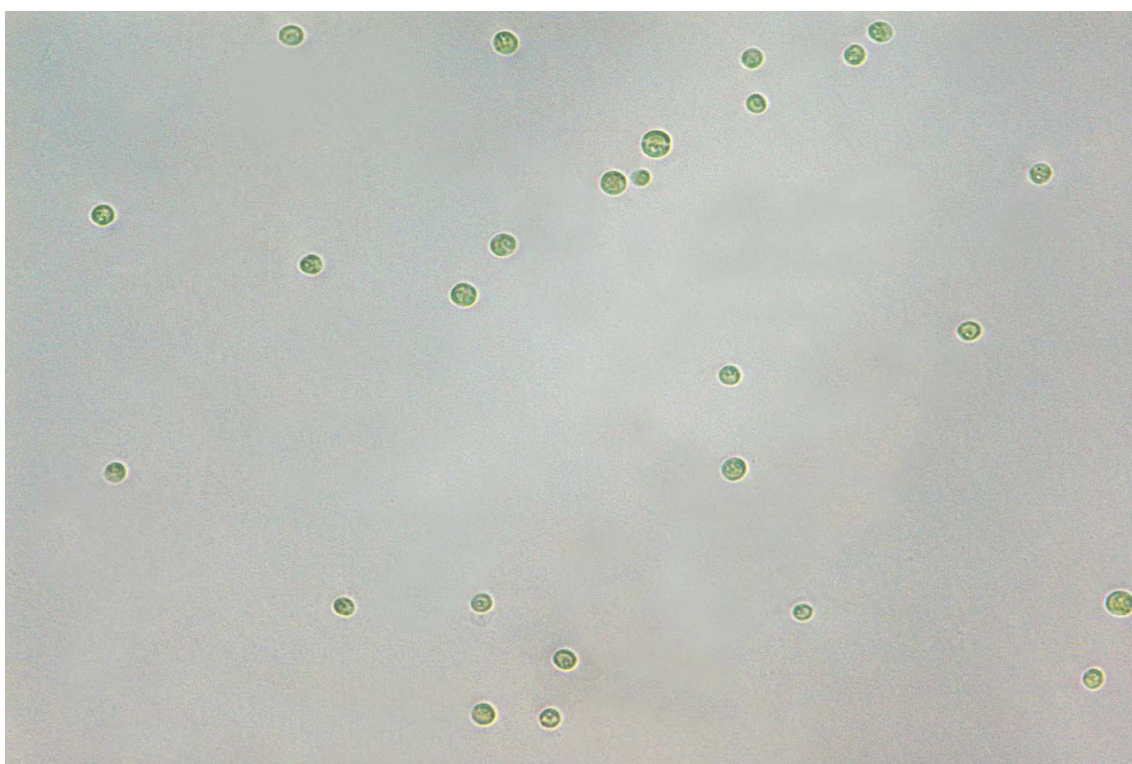
รูปที่ 4.27 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



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



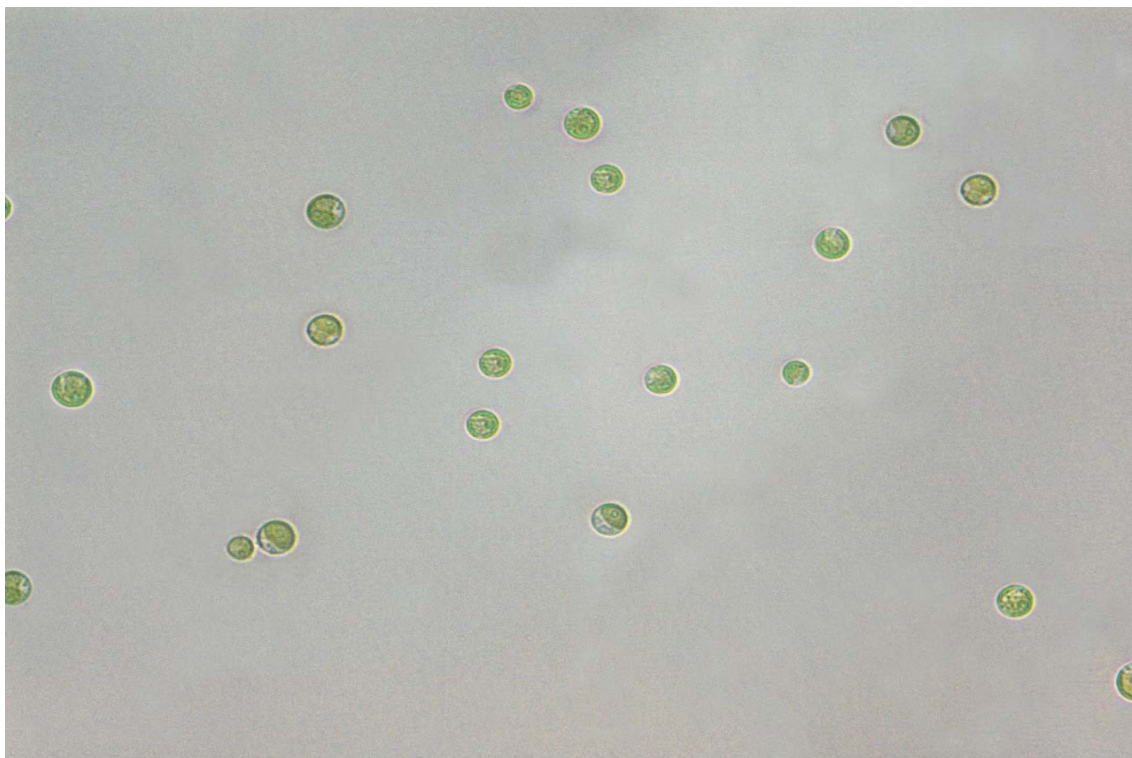
รูปที่ 4.30 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48062 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.31 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp K48071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



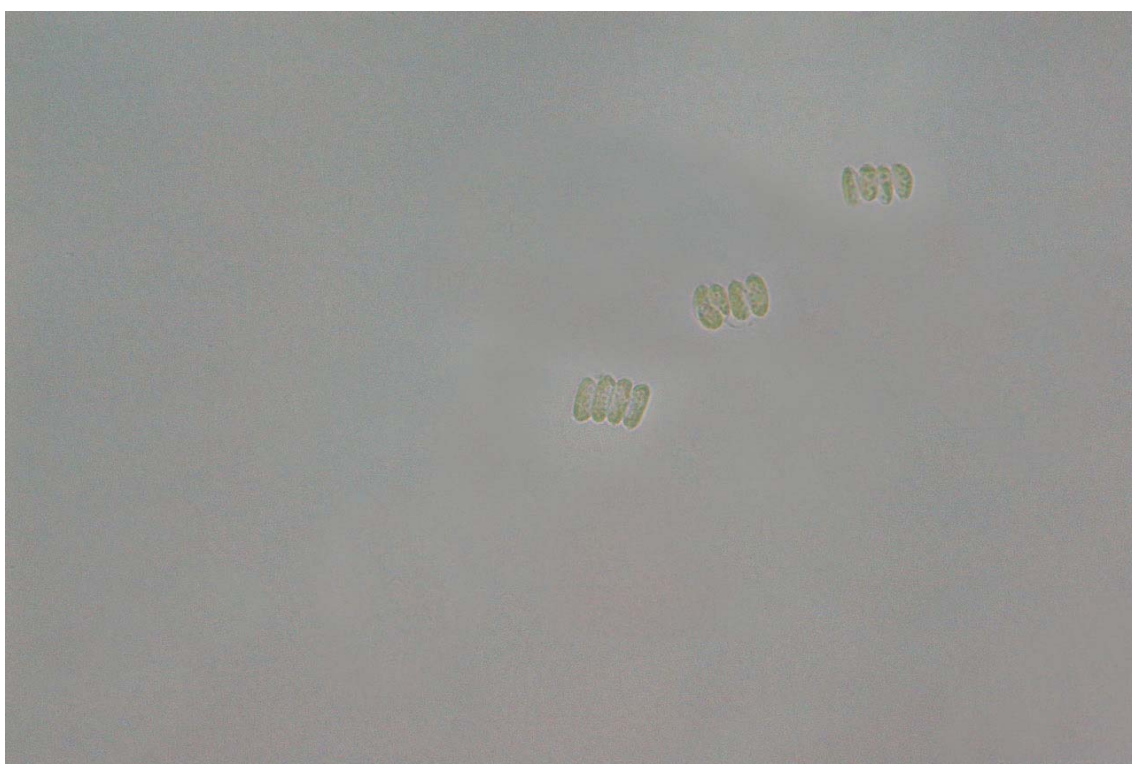
รูปที่ 4.33 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K48081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



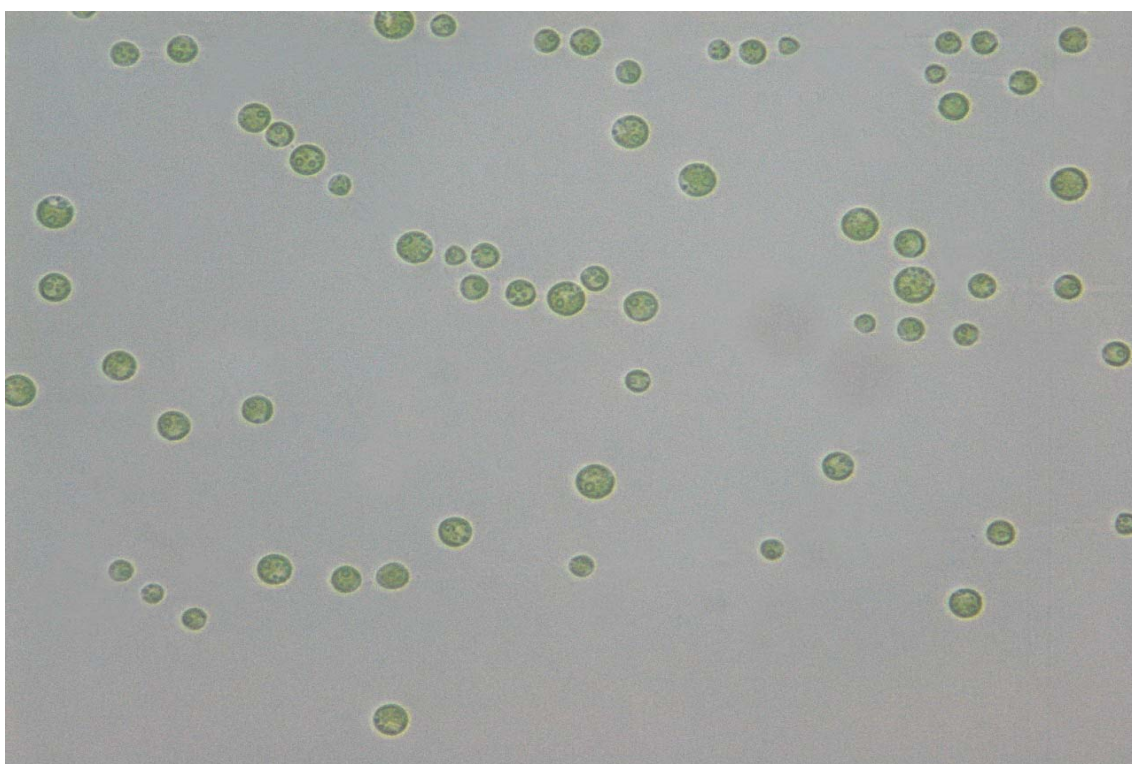
รูปที่ 4.35 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48091 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



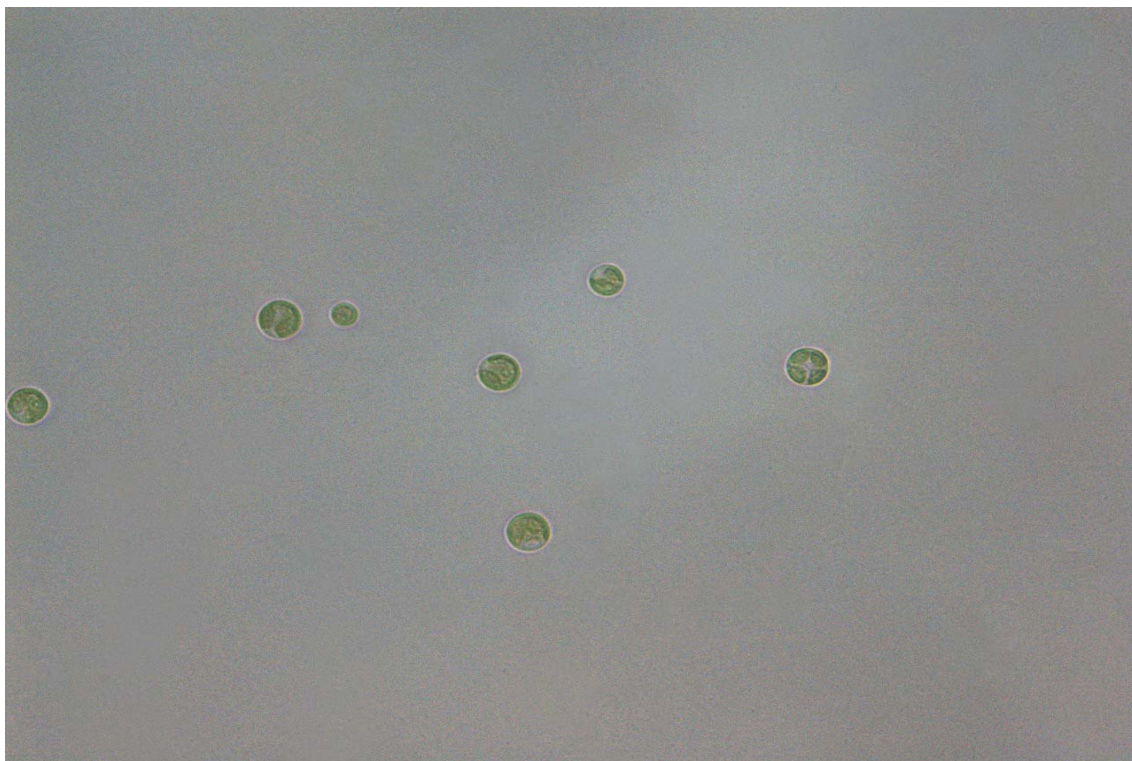
รูปที่ 4.36 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48092 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



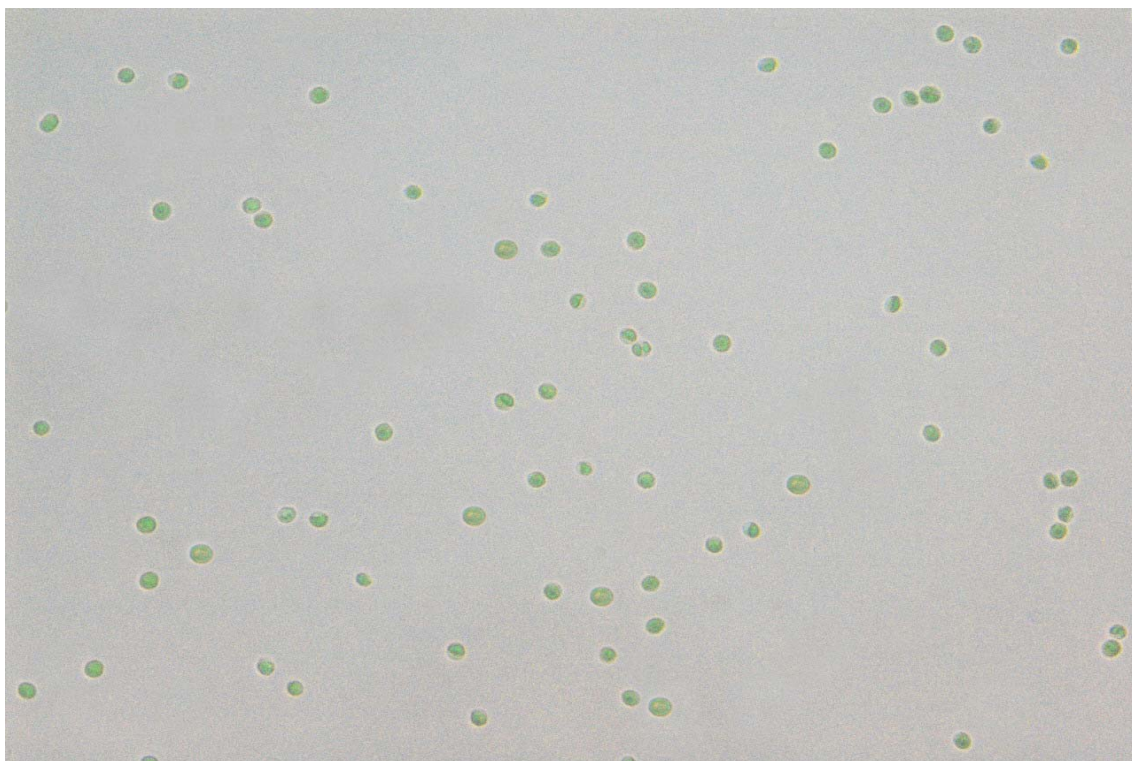
รูปที่ 4.37 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. K48101 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



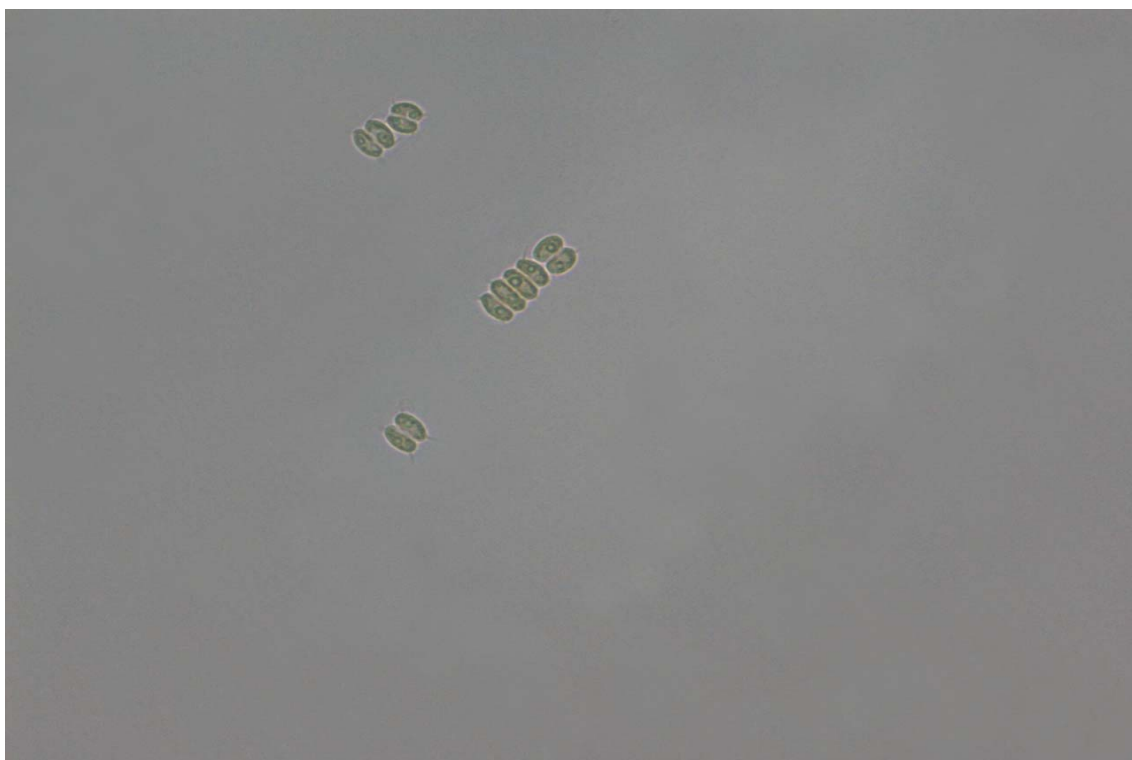
รูปที่ 4.38 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. K480102 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



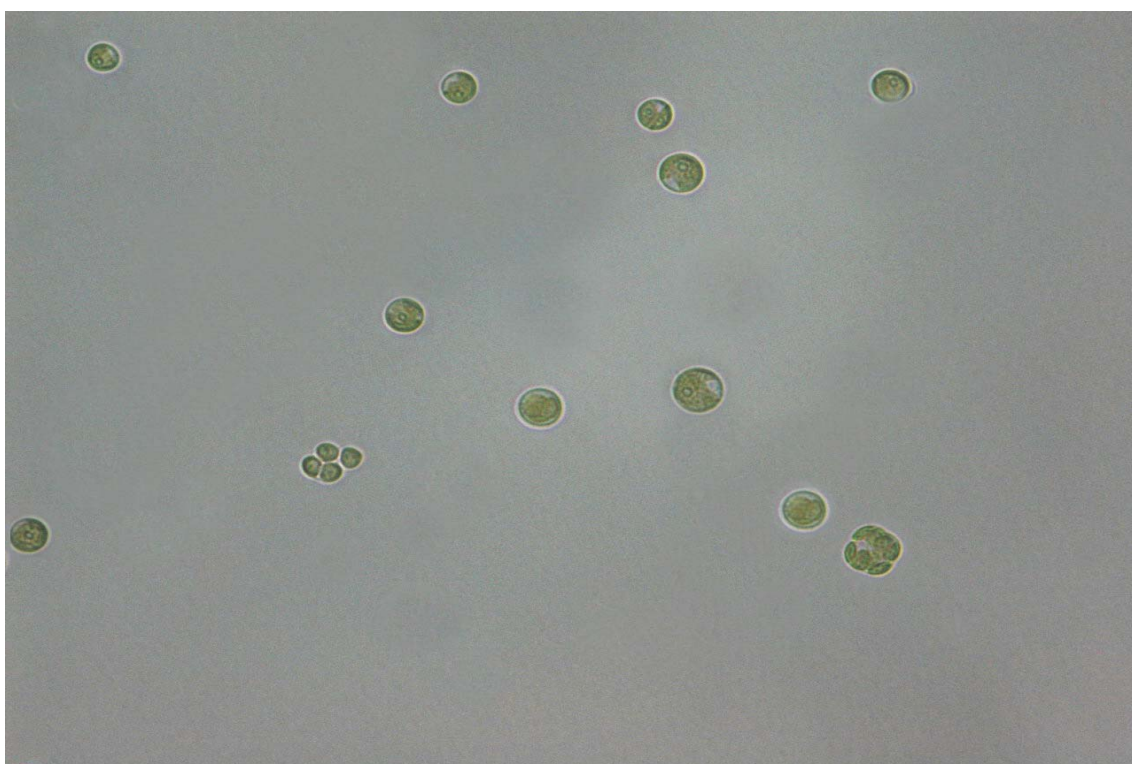
รูปที่ 4.39 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



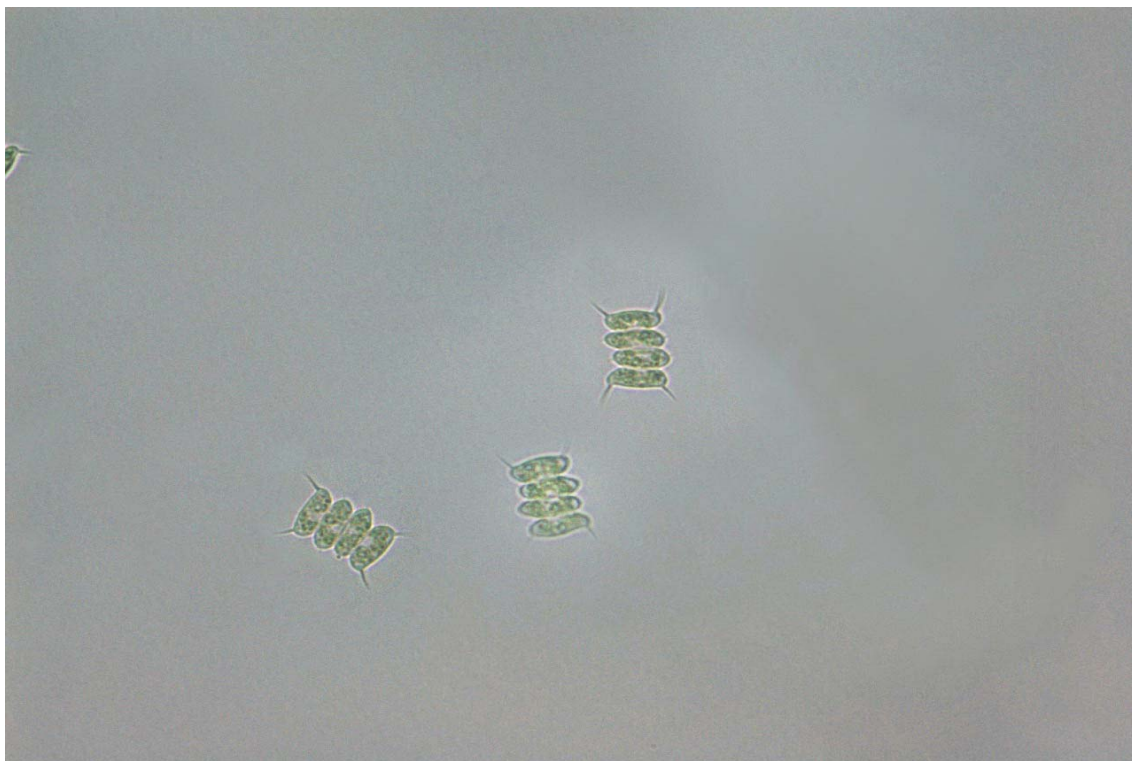
รูปที่ 4.40 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47012 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



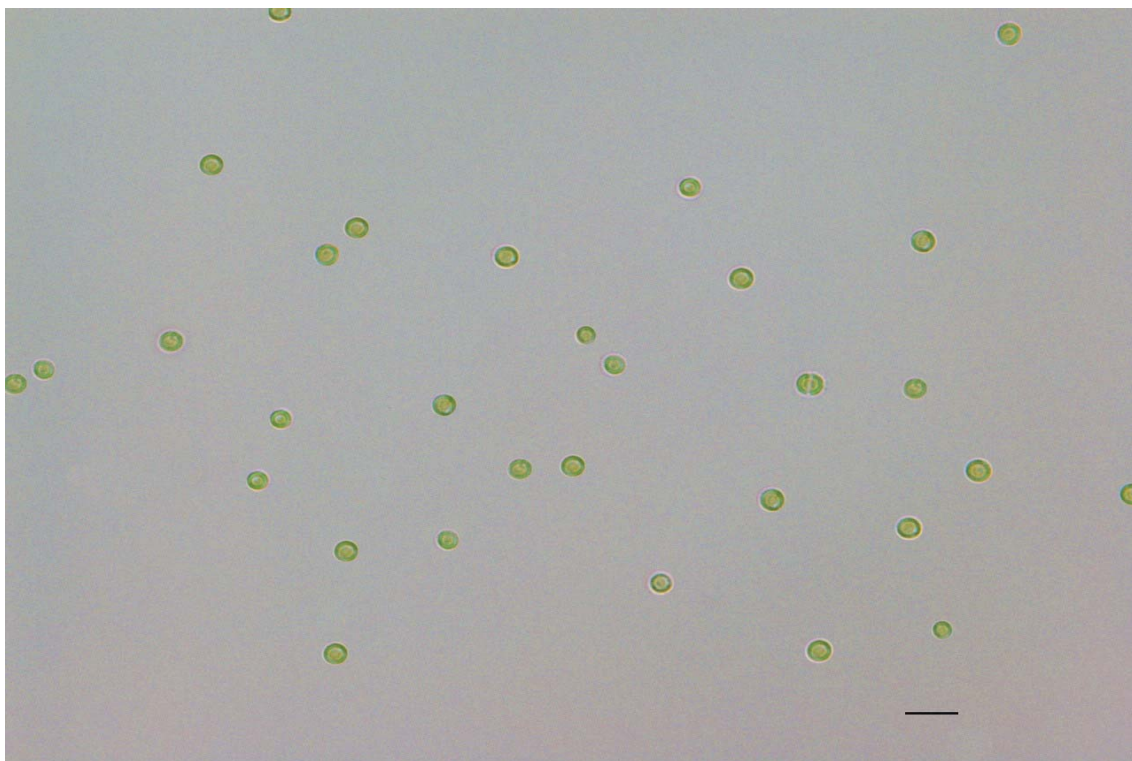
รูปที่ 4.41 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47013 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



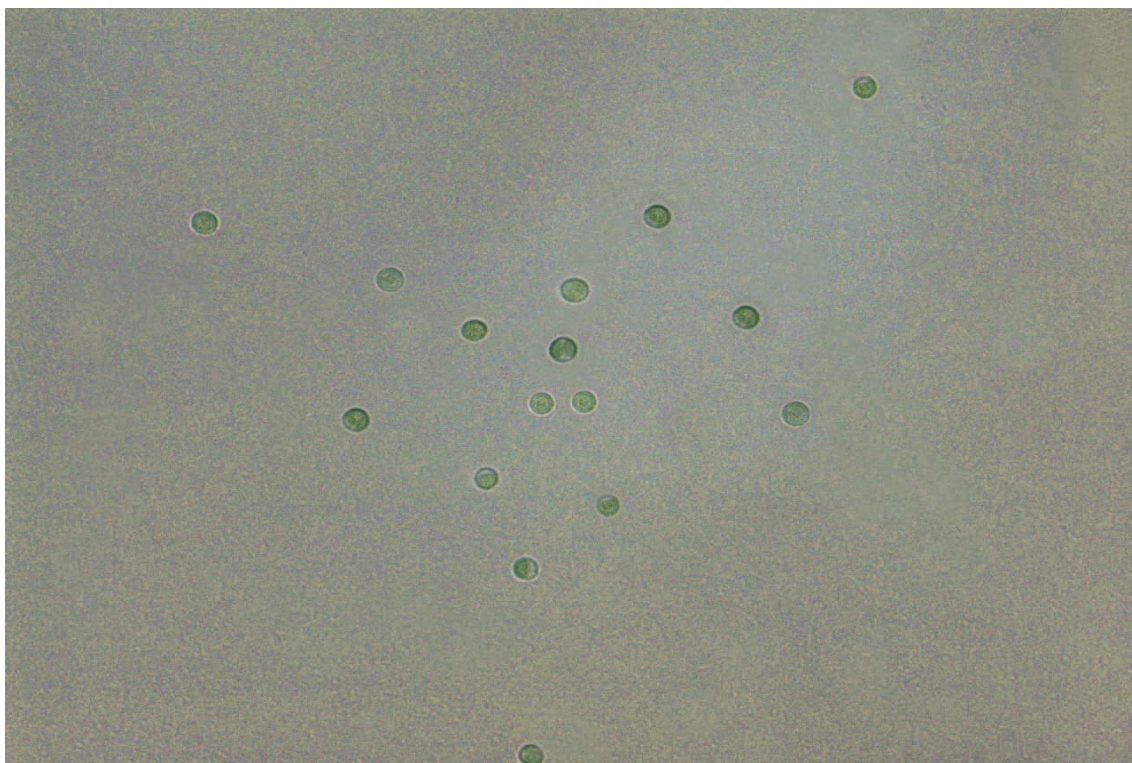
รูปที่ 4.43 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47022 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



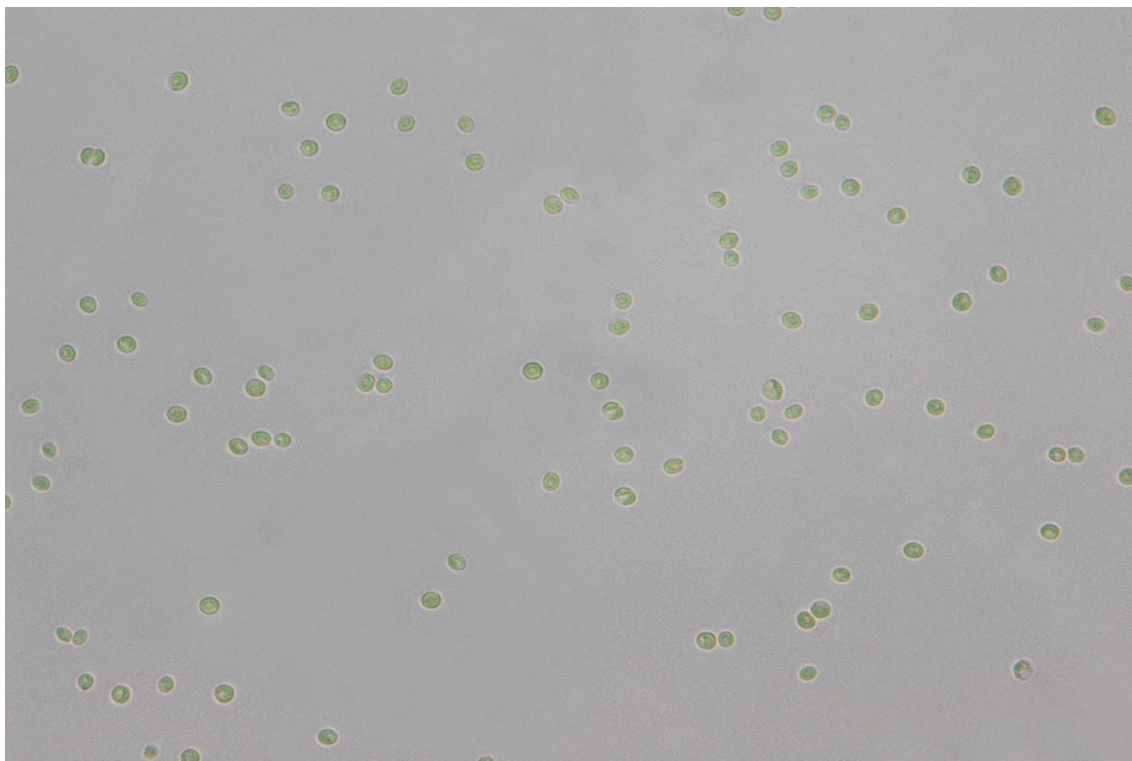
รูปที่ 4.44 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



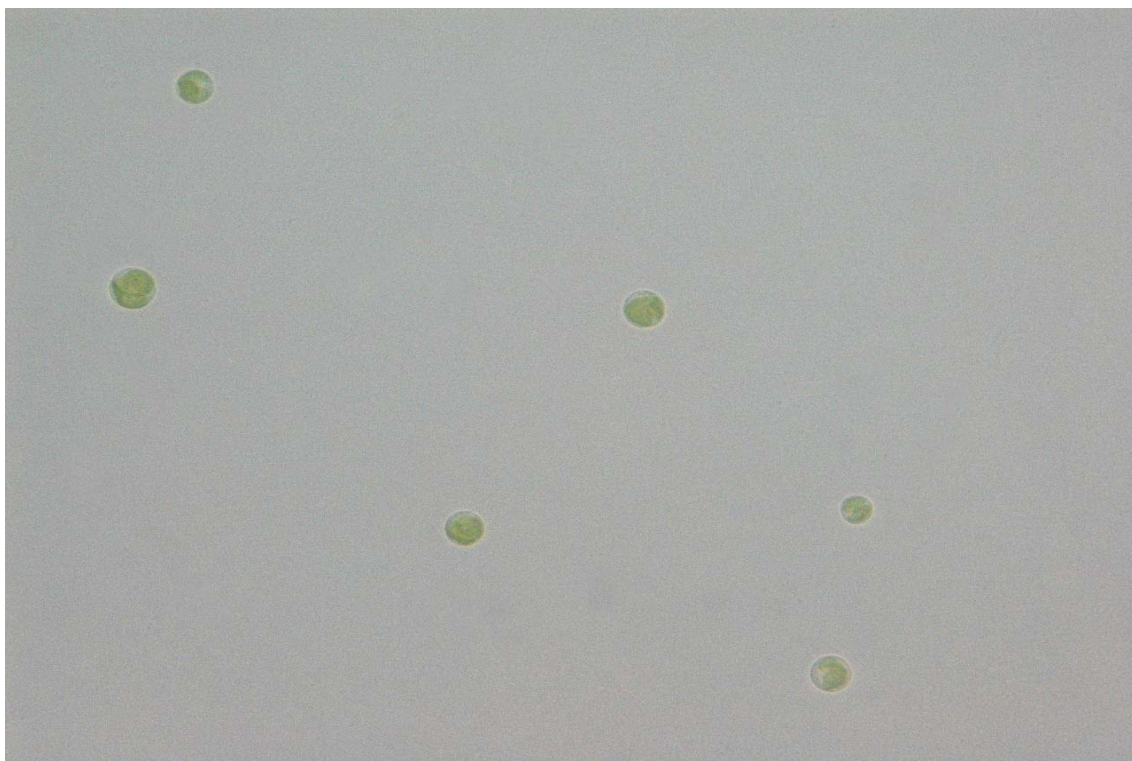
รูปที่ 4.45 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47032 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



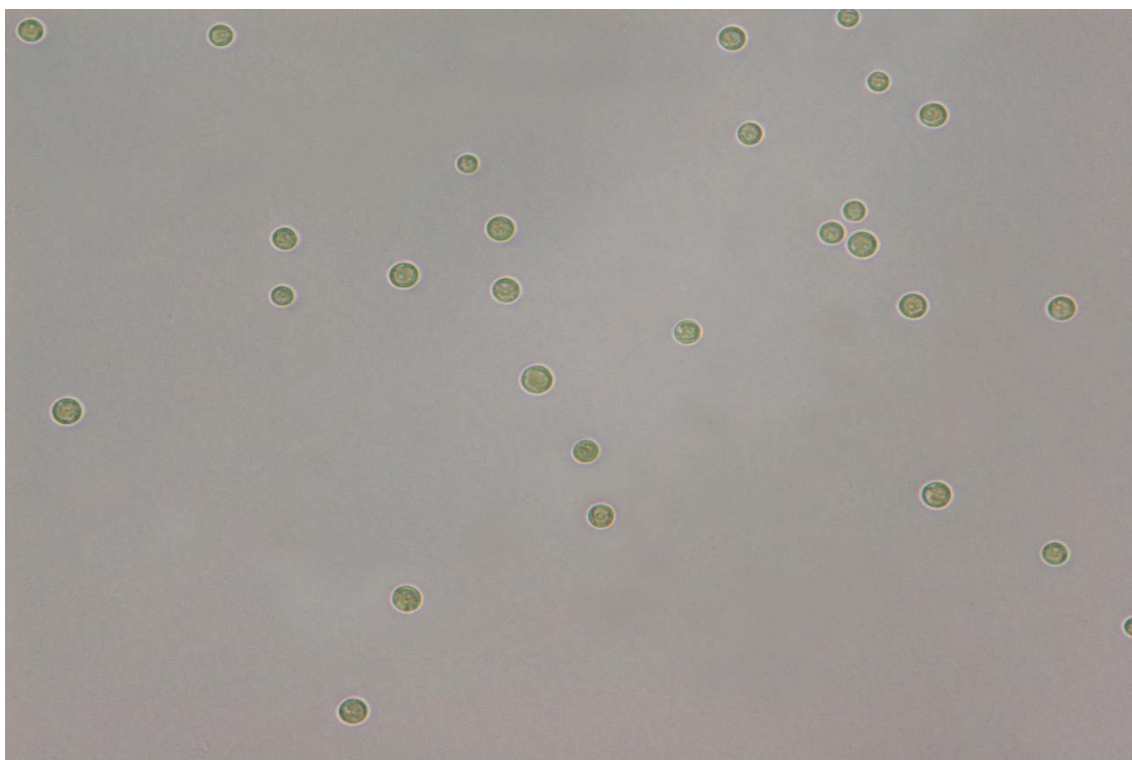
รูปที่ 4.46 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47041 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



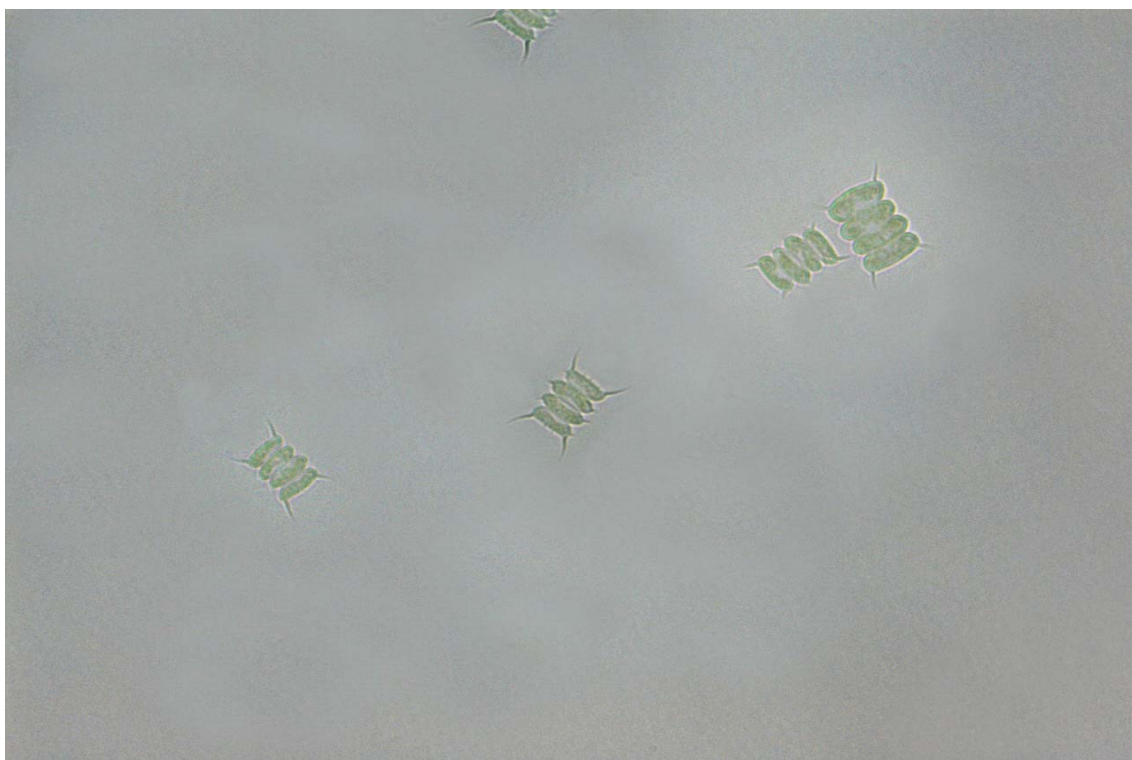
รูปที่ 4.48 ลักษณะเซลล์สำหรับ *Chlorella* sp. P47051 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



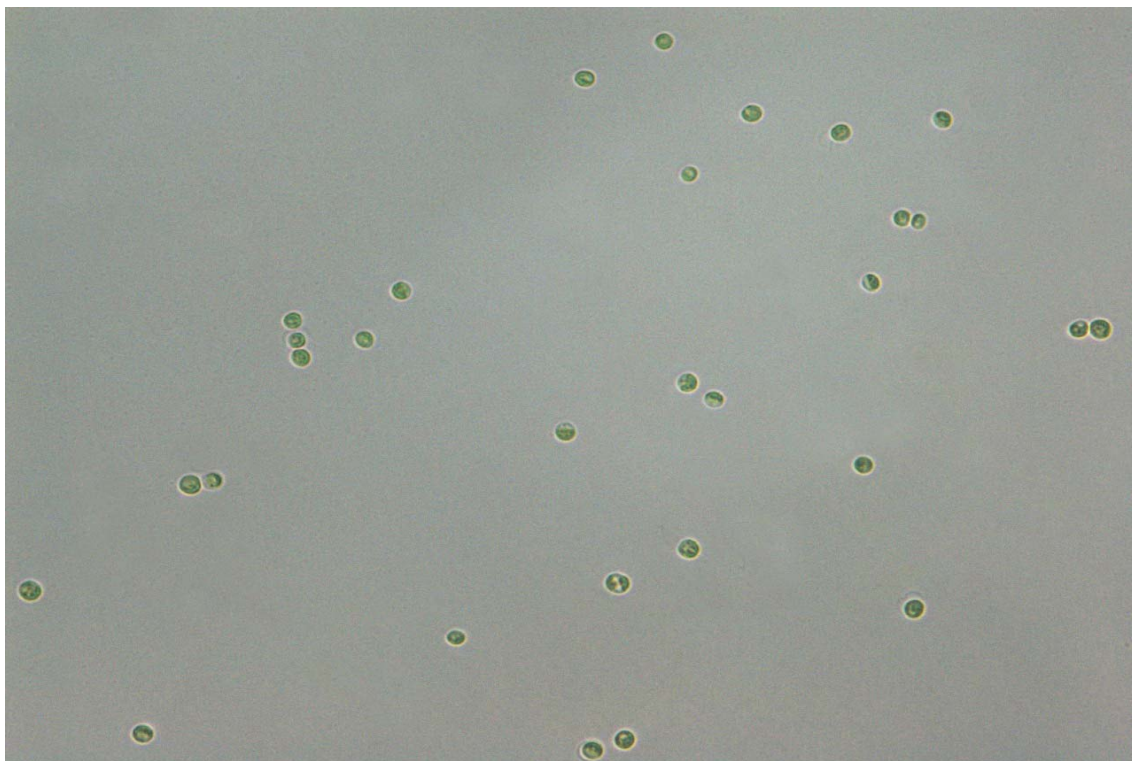
รูปที่ 4.50 ลักษณะเซลล์สำหรับ *Scenedesmus* sp. P47053 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



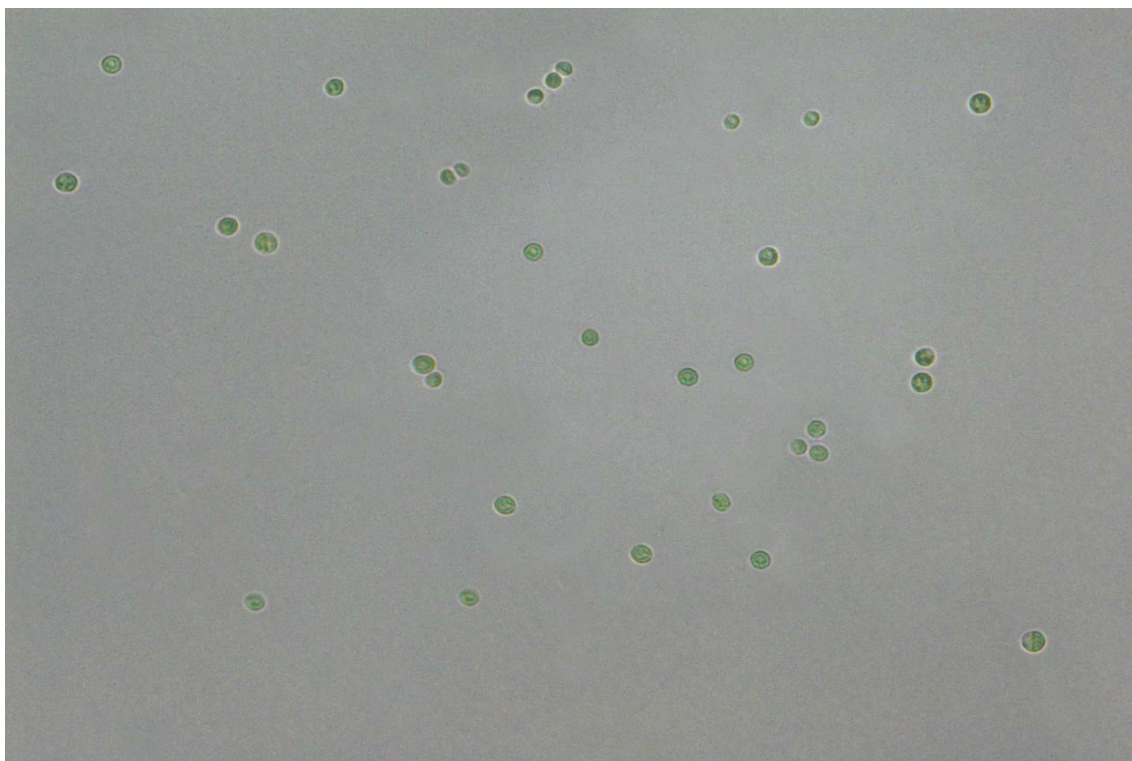
รูปที่ 4.51 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P47061 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



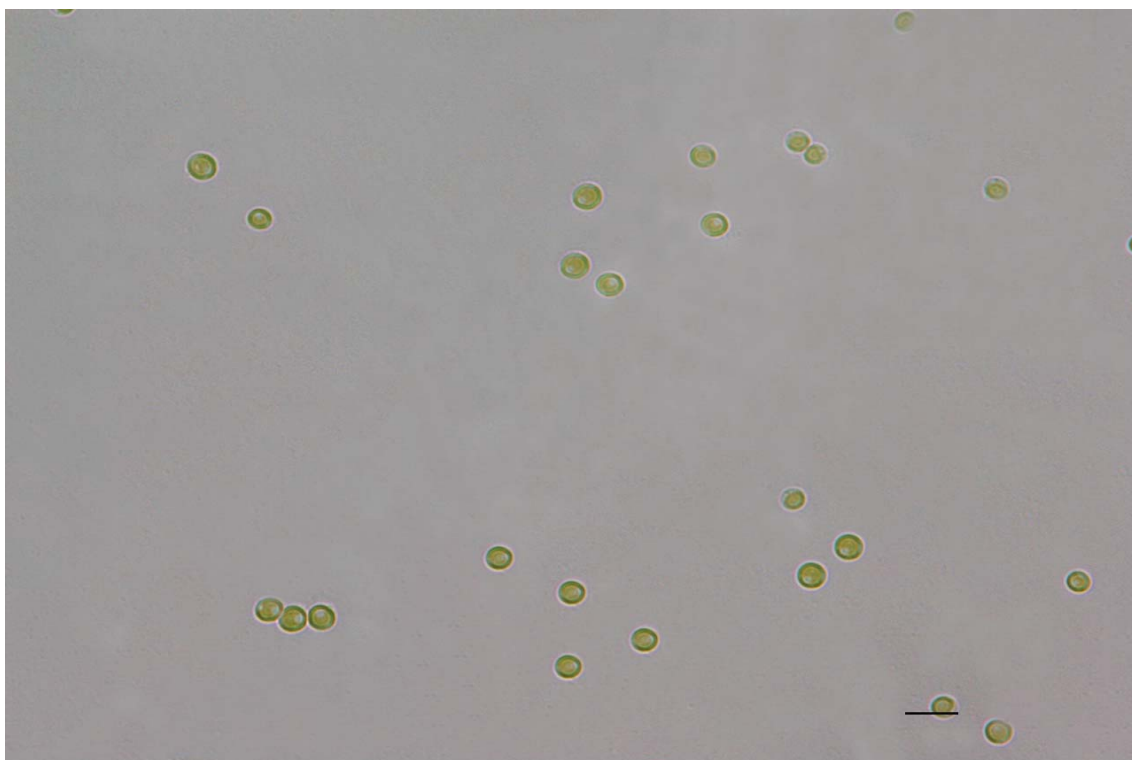
รูปที่ 4.52 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P47062 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



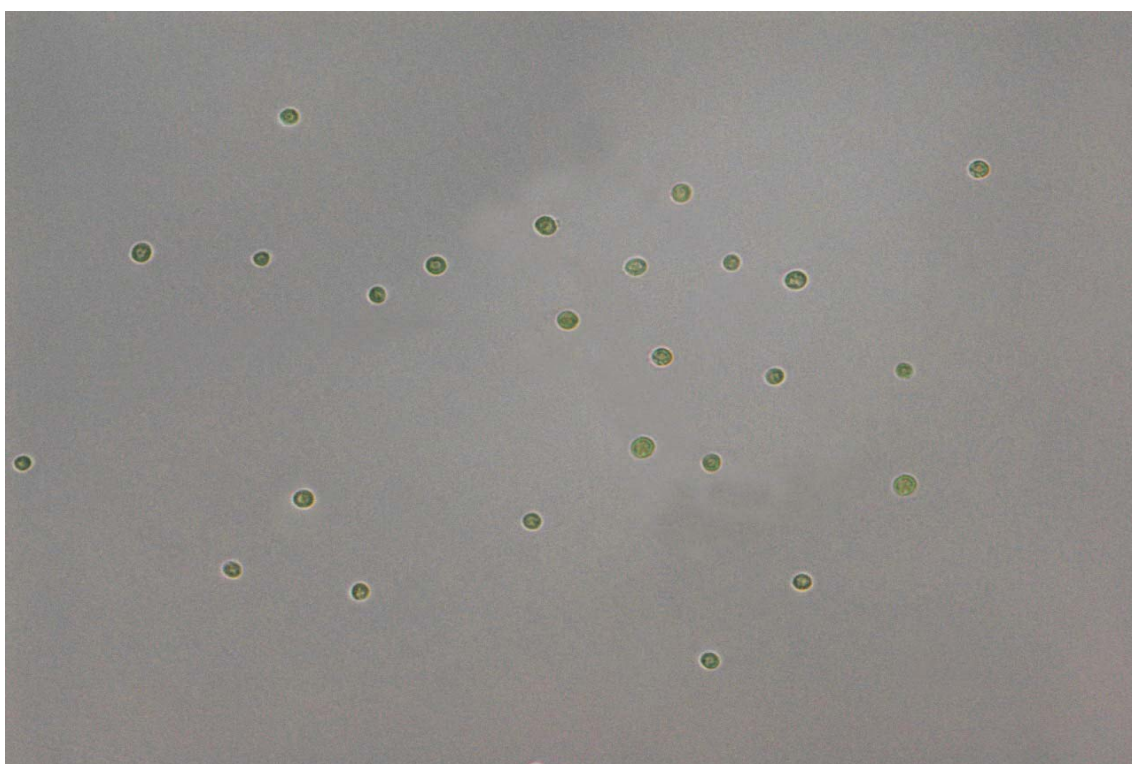
รูปที่ 4.53 ลักษณะเซลล์สำหรับ *Chlorella* sp. P47063 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



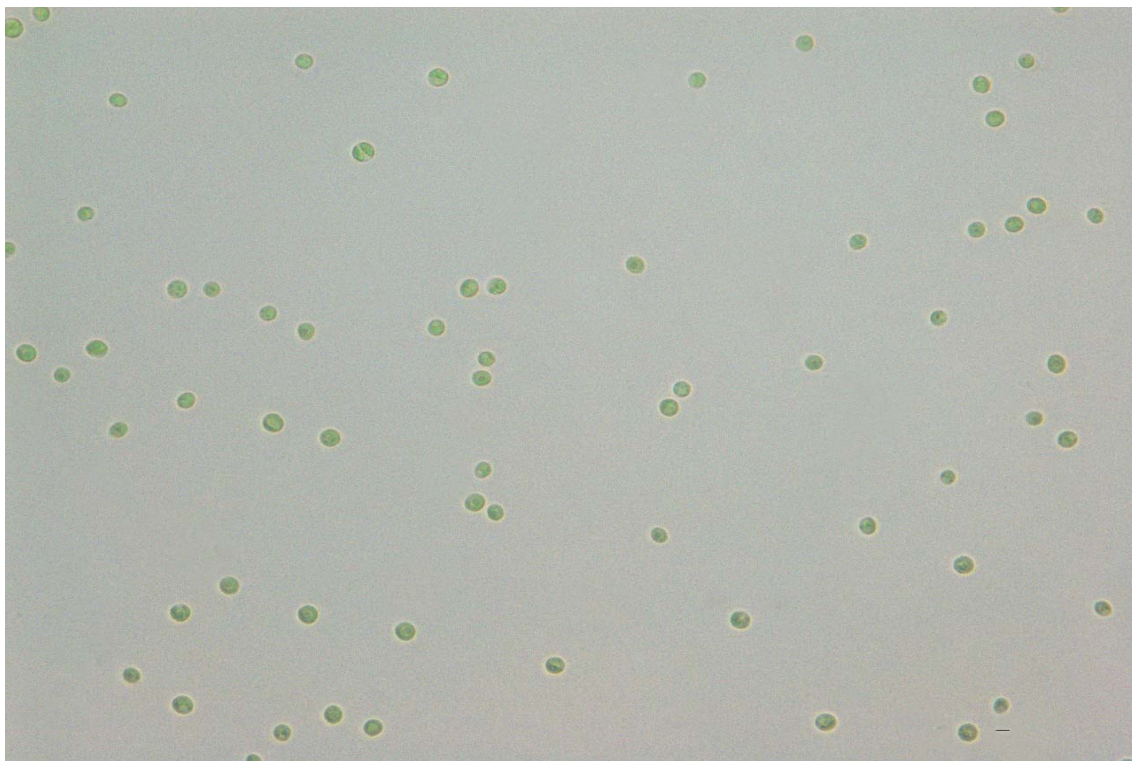
รูปที่ 4.54 ลักษณะเซลล์สำหรับ *Chlorella* sp. P47071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



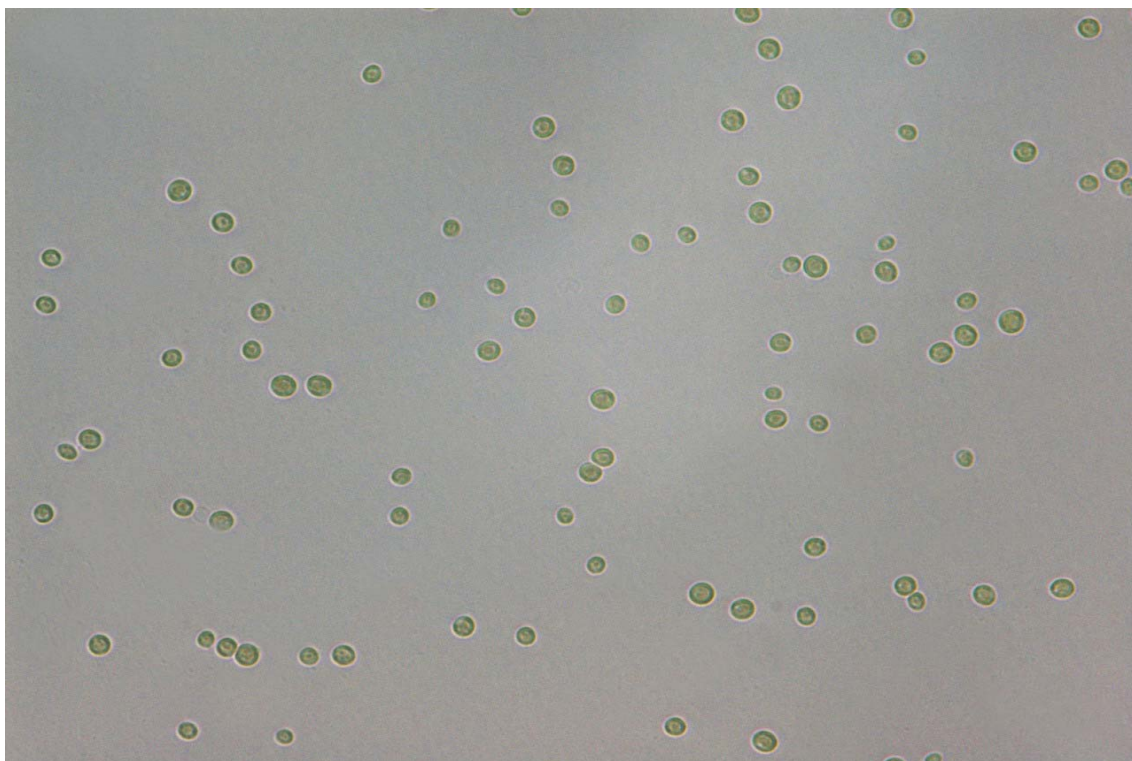
รูปที่ 4.55 ลักษณะเซลล์สำหรับ *Chlorella* sp. P47072 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



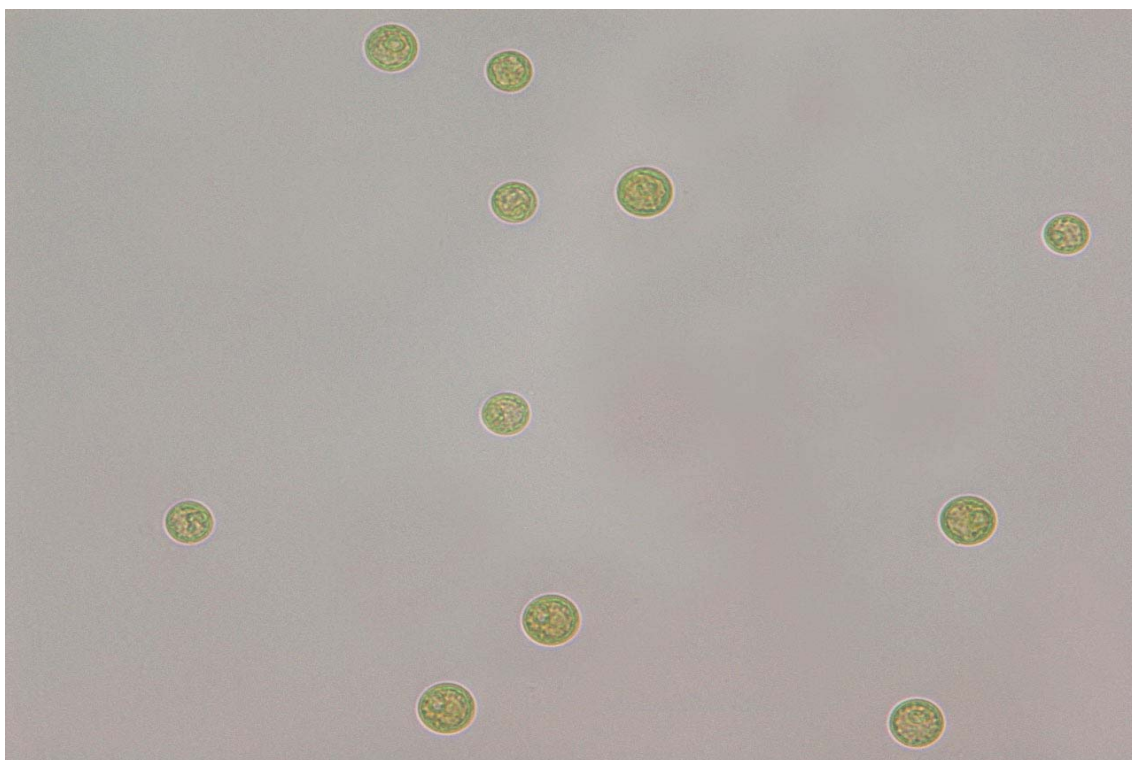
รูปที่ 4.56 ลักษณะเซลล์สำหรับ *Chlorella* sp. P47081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



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



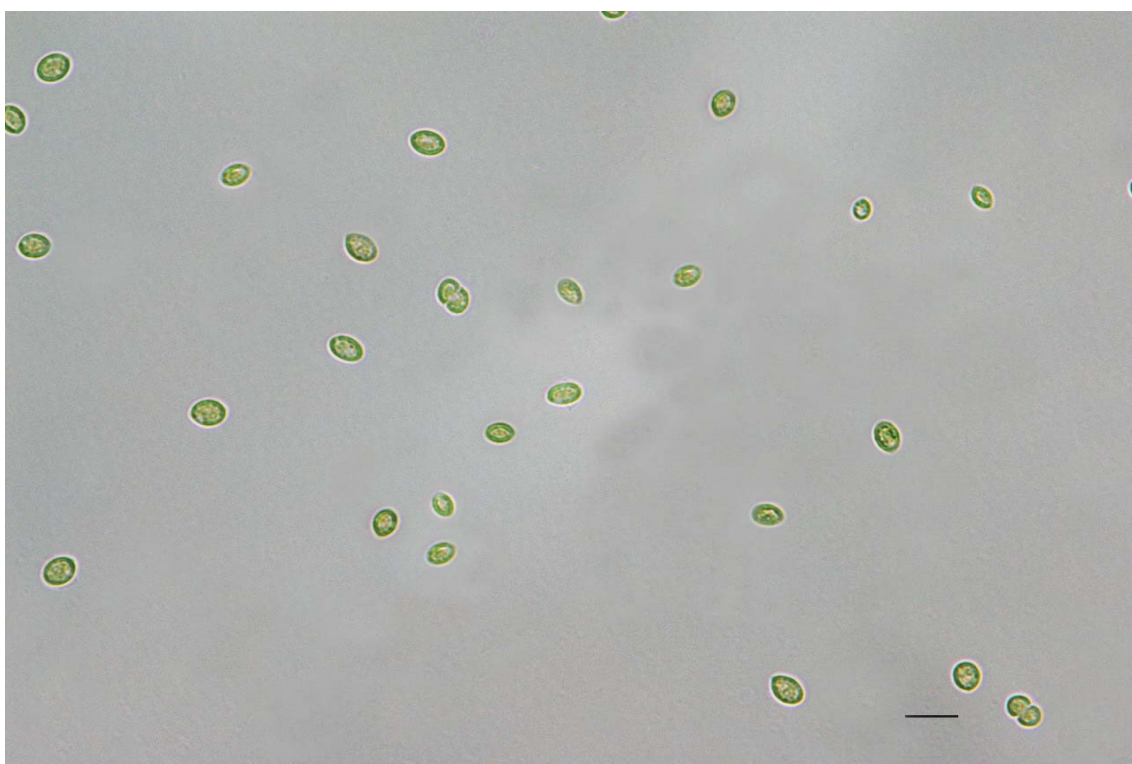
รูปที่ 4.59 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. P48011 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



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



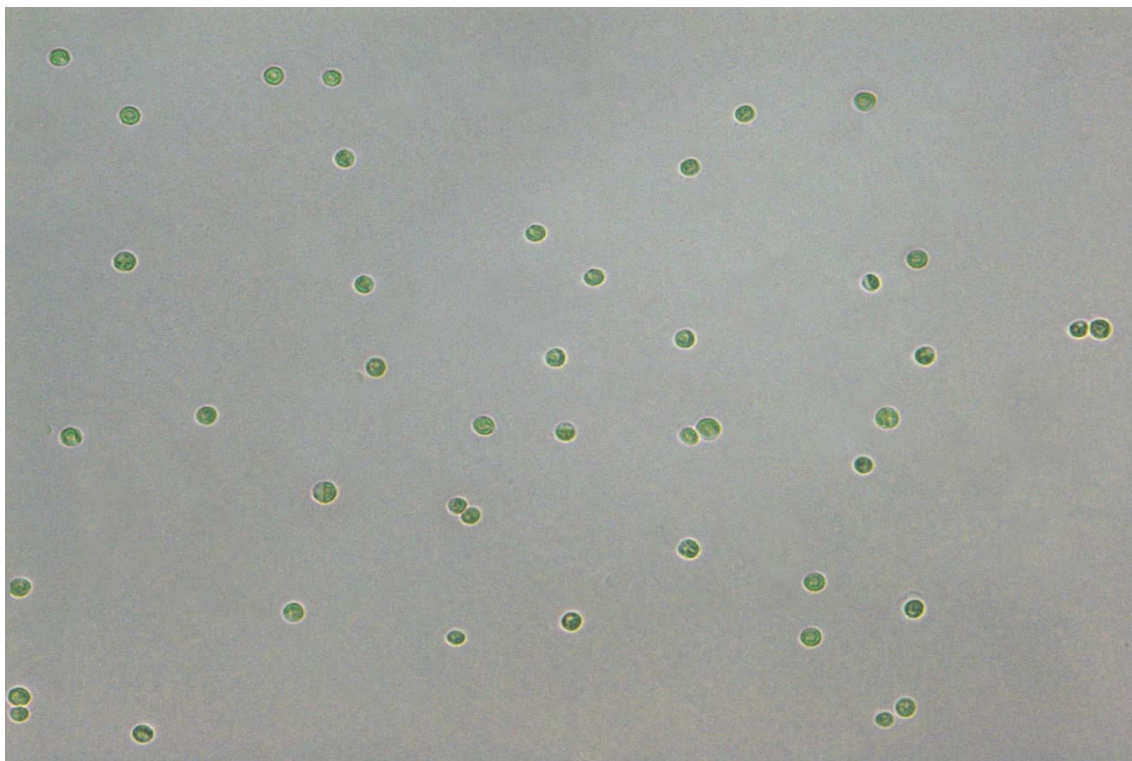
รูปที่ 4.62 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Monoraphidium* sp. P48022 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



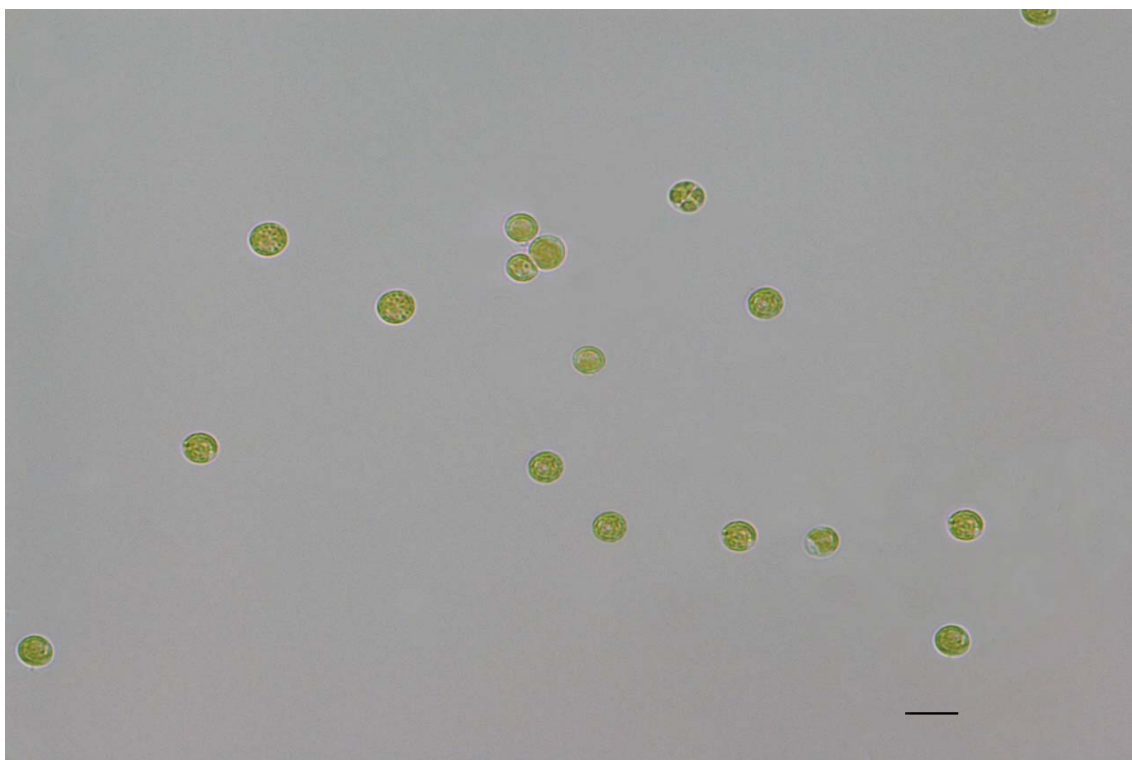
รูปที่ 4.64 ลักษณะเซลล์สำหรับ *Scenedesmus* sp. P48031 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



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



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



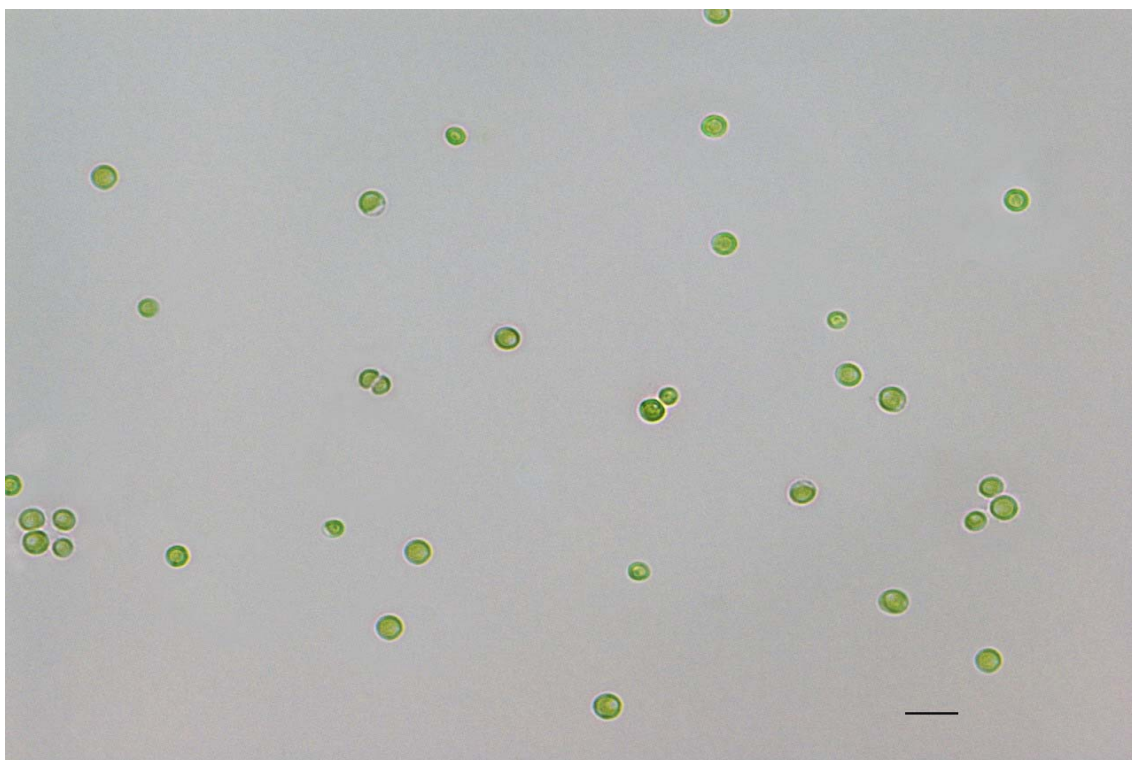
รูปที่ 4.68 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. P48071 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



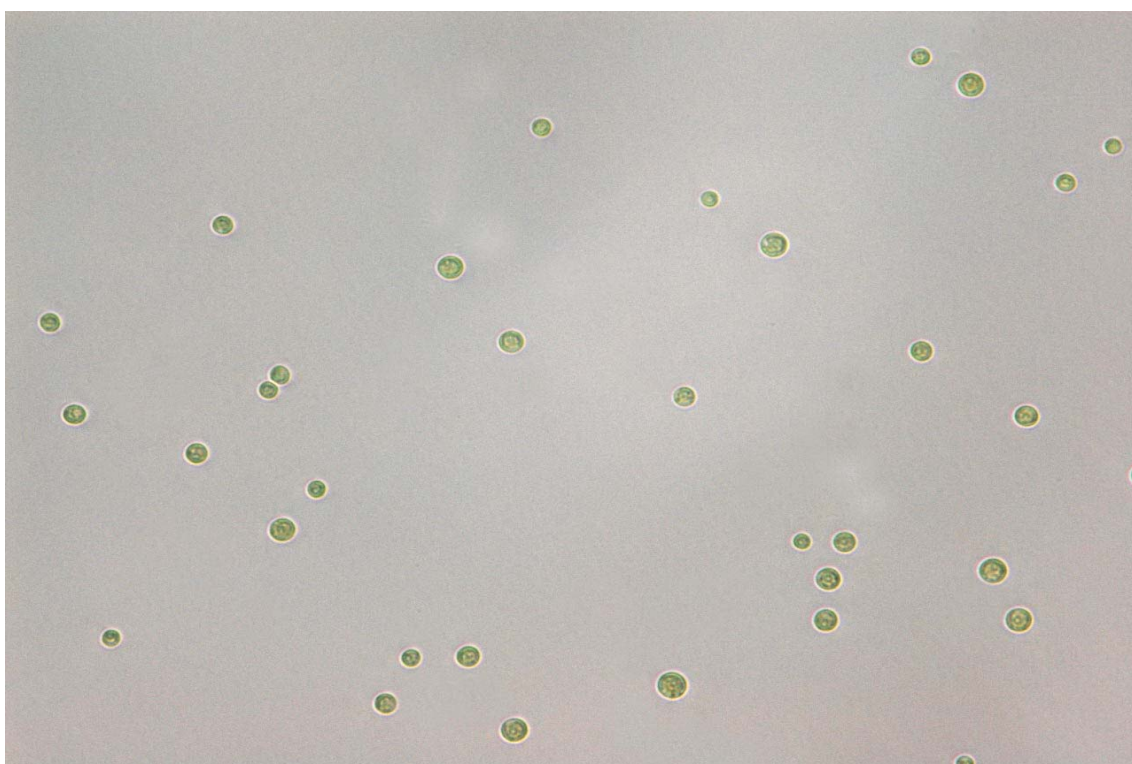
รูปที่ 4.69 ลักษณะเซลล์สำหรับ *Scenedesmus* sp. P48081 ที่กำลังขยาย 400 เท่า



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



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



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

4.3 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

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

4.3.1 ผลของปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท

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

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

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

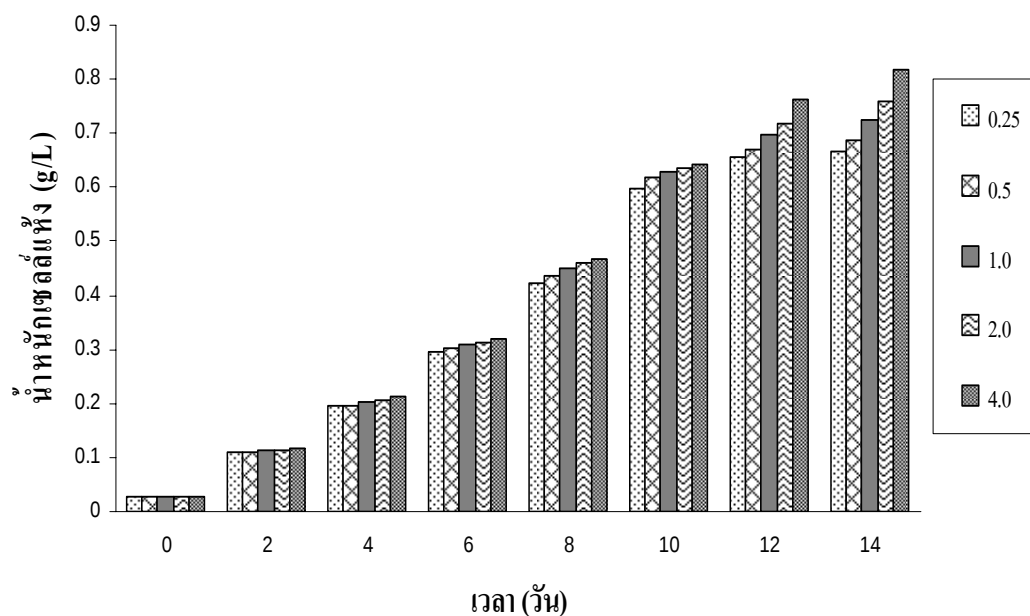
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรท 4 เท่าของสูตร N-8 ทำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด ปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ในช่วง 4.576 ถึง 4.635 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 5.607 ถึง 8.489 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดคือ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

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแควโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032, *Chlorella* sp. P47072 และ *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของปริมาณโพแทสเซียมในเตรท

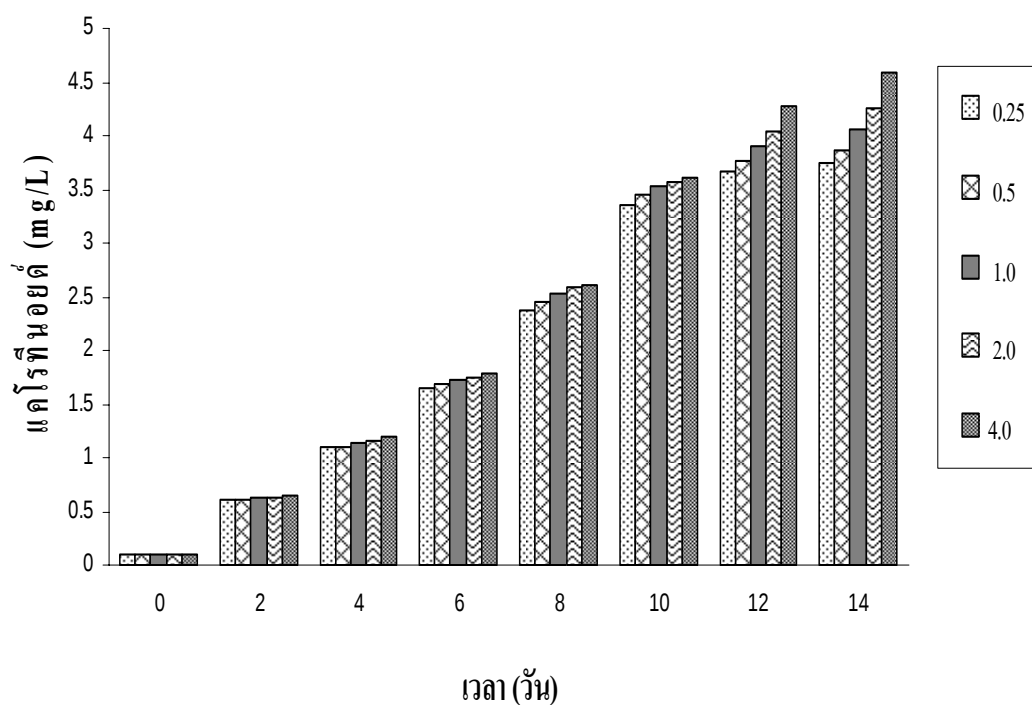
สาหร่าย	ความเข้มข้นของ KNO_3 (เท่าของสูตร N-8)	น้ำหนัก เซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ แควโรทีนอยด์ สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของ ปริมาณ แควโรทีนอยด์ ต่อน้ำหนัก เซลล์แห้ง (มิลลิกรัม ต่อกรัม)
<i>Chlorella</i> sp. K46032	0.25	0.667 ^d	3.740 ^c	5.607
	0.5	0.687 ^{cd}	3.853 ^d	5.608
	1.0	0.725 ^{bc}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

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

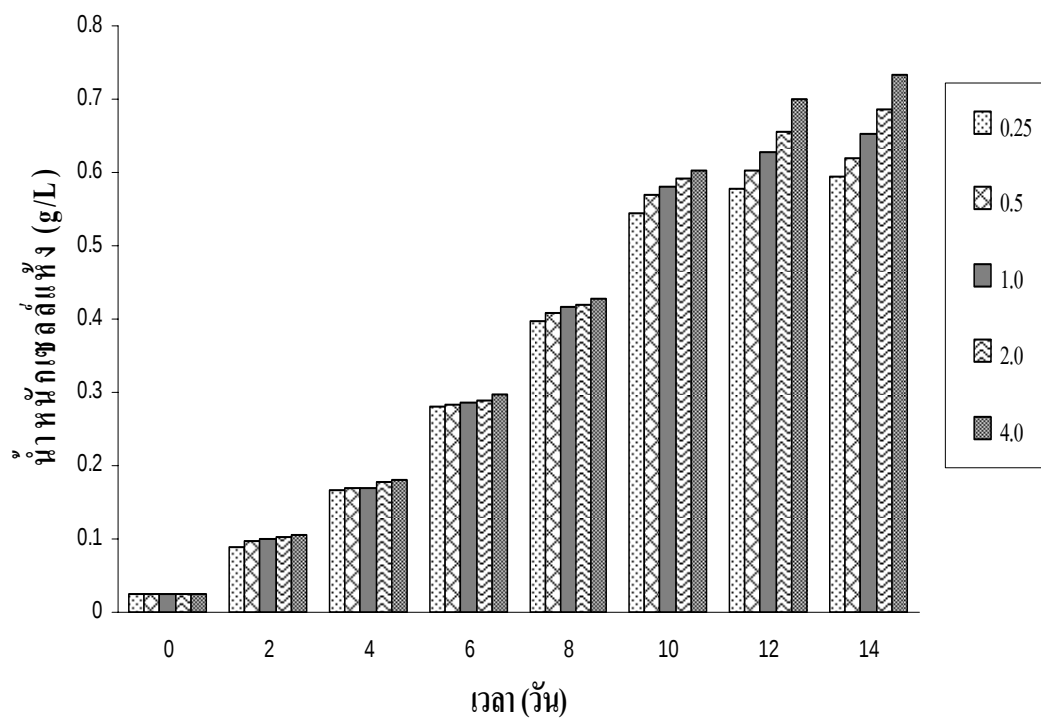
อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



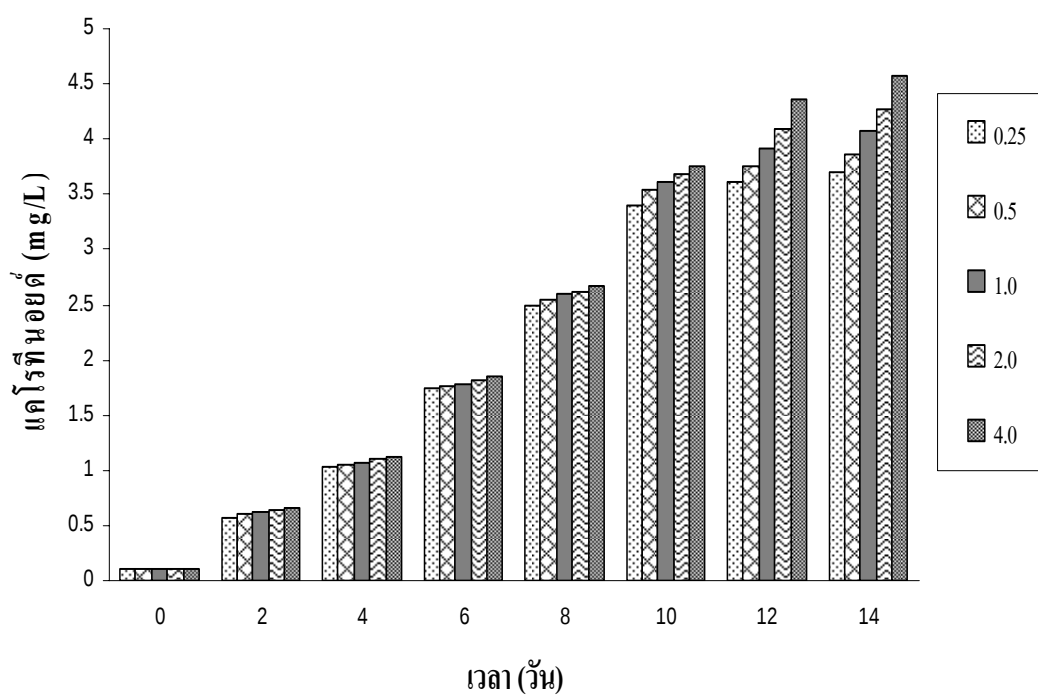
รูปที่ 4.73 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



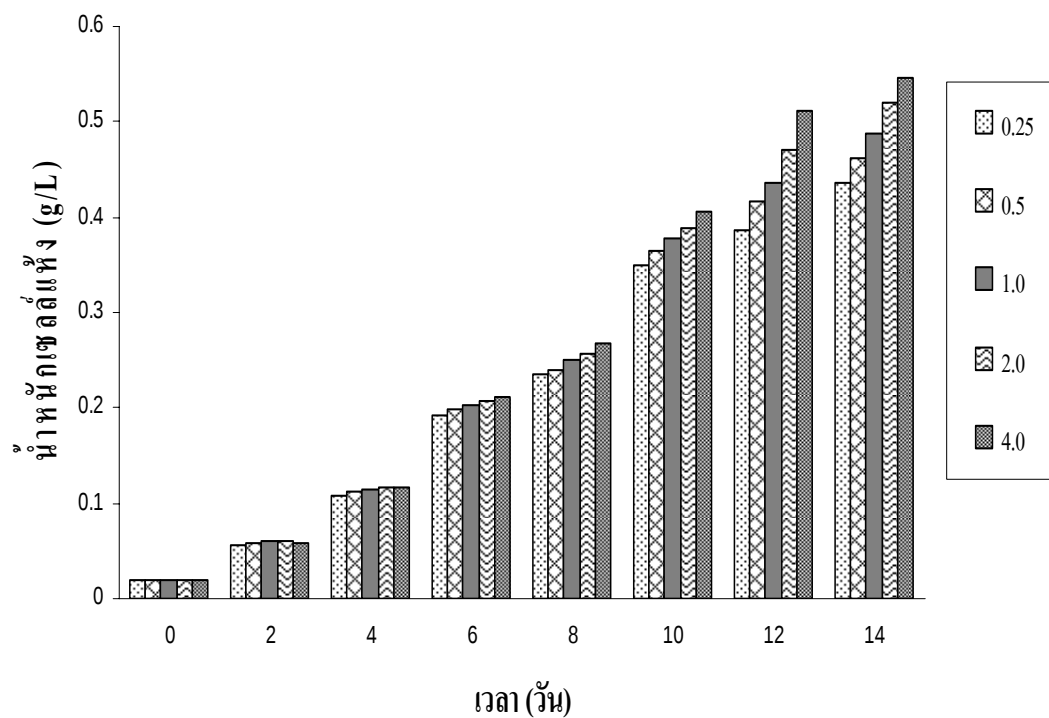
รูปที่ 4.74 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไนเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



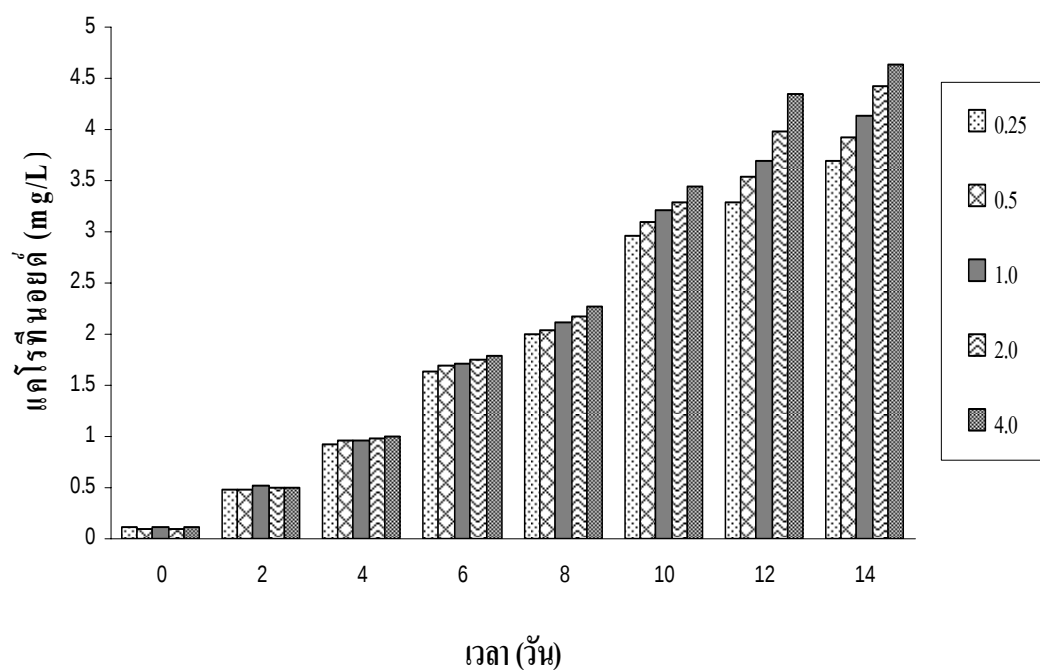
รูปที่ 4.75 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมในเตรทเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



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



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



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

4.3.2 ผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตร่วมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต

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

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

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

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

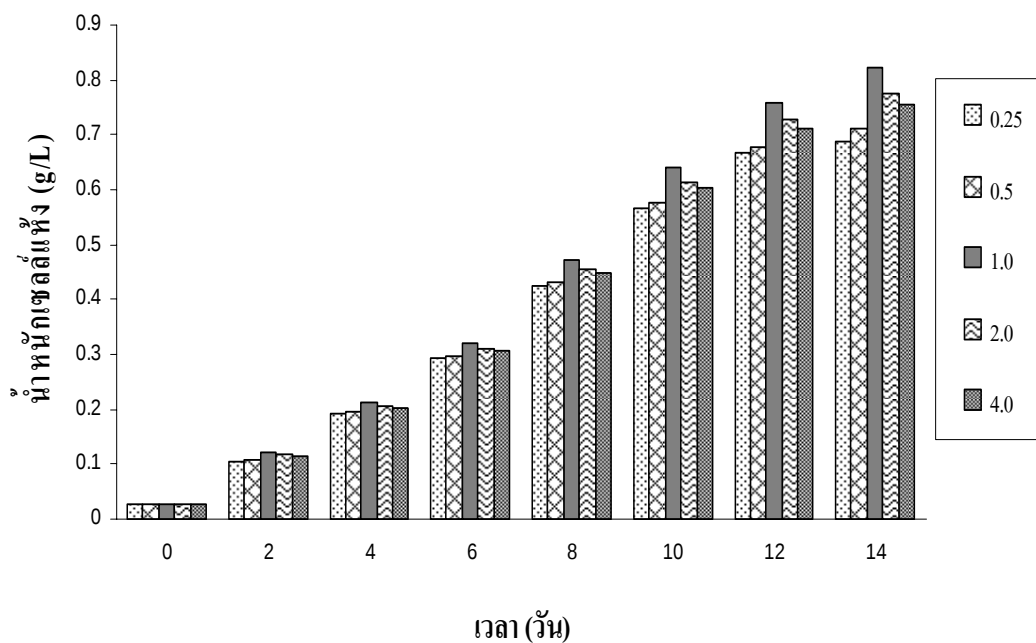
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮดรท 1 กรัมต่อลิตร ทำให้สำหรับ *Chlorella* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุด ปริมาณแคโรทีนอยด์อยู่ในช่วง 4.596 ถึง 4.666 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 5.609 ถึง 8.484 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยสำหรับ *Chlorella* sp. P48061 ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดคือ 4.666 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 8.484 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ทั้งนี้ฟอสฟอรัสจัดเป็นแร่ธาตุหลักที่สำคัญต่อการเจริญของสาหร่ายและพืช มีหน้าที่เป็นตัวขนถ่ายอิเล็กตรอนและเป็นส่วนประกอบสำคัญในกรดนิวคลีอิก สำหรับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่เหมาะสมในอาหารเพาะเลี้ยงขึ้นอยู่กับความสามารถในการทนทานของสาหร่ายแต่ละชนิด (Becker, 1994) โดยการศึกษาของ Borowitzka และคณะ (1991) ซึ่งทดลองเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* ในอาหารที่มีความเข้มข้นของไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ตั้งแต่ 0.001 ถึง 0.2 กรัมต่อลิตร พบว่าสาหร่ายมีการเจริญใกล้เคียงกันในทุกความเข้มข้น แต่จะเกิดการสะสมแอสตาแซนทีนดีที่สุดที่ความเข้มข้นไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัมต่อลิตร โดยที่ความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อลิตร ไม่พบการสร้างแอสตาแซนทีน ต่างกับการศึกษาของ Harker และคณะ (1996) ซึ่งทดลองเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* ในอาหารที่มีฟอสเฟต 0.85 1.7 และ 3.4 มิลลิโมลาร์ พบว่าที่ความเข้มข้นของฟอสเฟตเท่ากับ 3.4 มิลลิโมลาร์ (0.462 กรัมต่อลิตร) มีการเจริญสูงสุด แต่การผลิตแอสตาแซนทีนสูงสุดพบที่ความเข้มข้นฟอสเฟต เท่ากับ 0.85 มิลลิโมลาร์ (0.116 กรัมต่อลิตร)

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

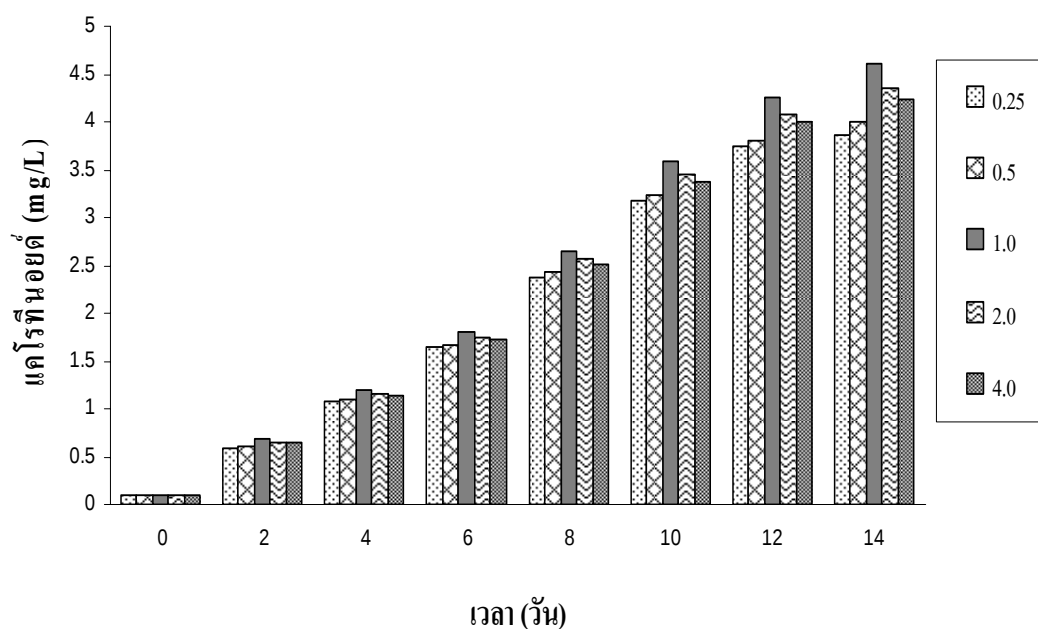
สาหร่าย	ความเข้มข้นของ KH_2PO_4 รวมกับ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (เท่าของสูตร N-8)	น้ำหนักเซลล์ แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ แคโรทีนอยด์ สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของ ปริมาณ แคโรทีนอยด์ ต่อน้ำหนัก เซลล์แห้ง (มิลลิกรัม ต่อกรัม)
<i>Chlorella</i> sp. K46032	0.25	0.688 ^d	3.862 ^d	5.613
	0.5	0.712 ^{cd}	3.992 ^c	5.607
	1.0	0.823 ^a	4.616 ^a	5.609
	2.0	0.776 ^b	4.353 ^b	5.610
	4.0	0.756 ^{bc}	4.240 ^b	5.608
<i>Chlorella</i> sp. P47072	0.25	0.674 ^c	4.202 ^d	6.234
	0.5	0.698 ^{bc}	4.351 ^c	6.234
	1.0	0.737 ^a	4.596 ^a	6.236
	2.0	0.718 ^{ab}	4.477 ^b	6.235
	4.0	0.716 ^{ab}	4.466 ^b	6.237
<i>Chlorella</i> sp. P48061	0.25	0.534 ^c	4.535 ^d	8.493
	0.5	0.539 ^{bc}	4.574 ^c	8.486
	1.0	0.550 ^a	4.666 ^a	8.484
	2.0	0.546 ^a	4.635 ^b	8.489
	4.0	0.544 ^{ab}	4.619 ^b	8.491

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง

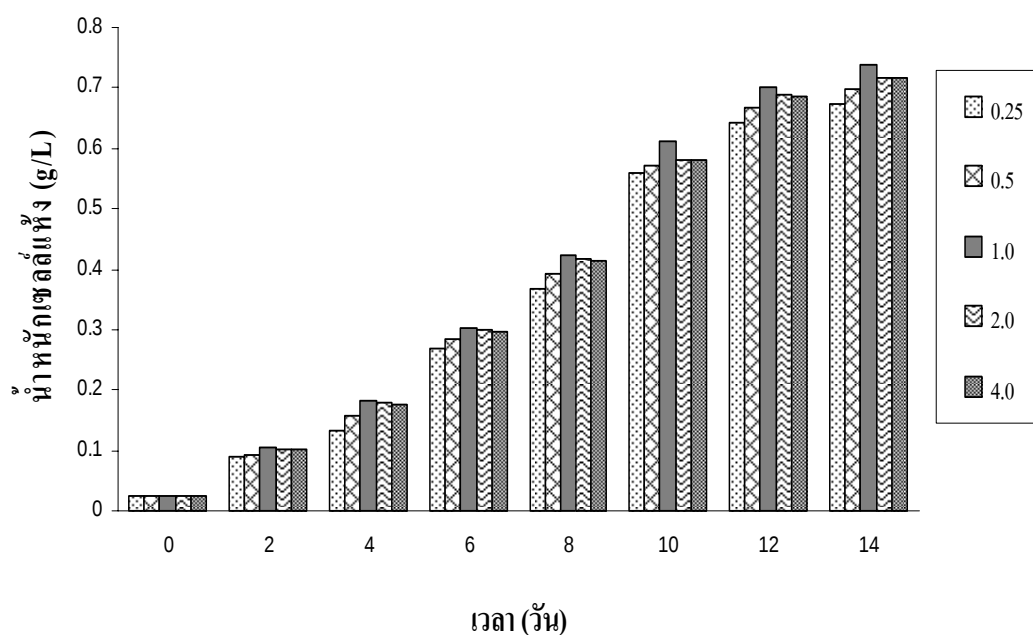
อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



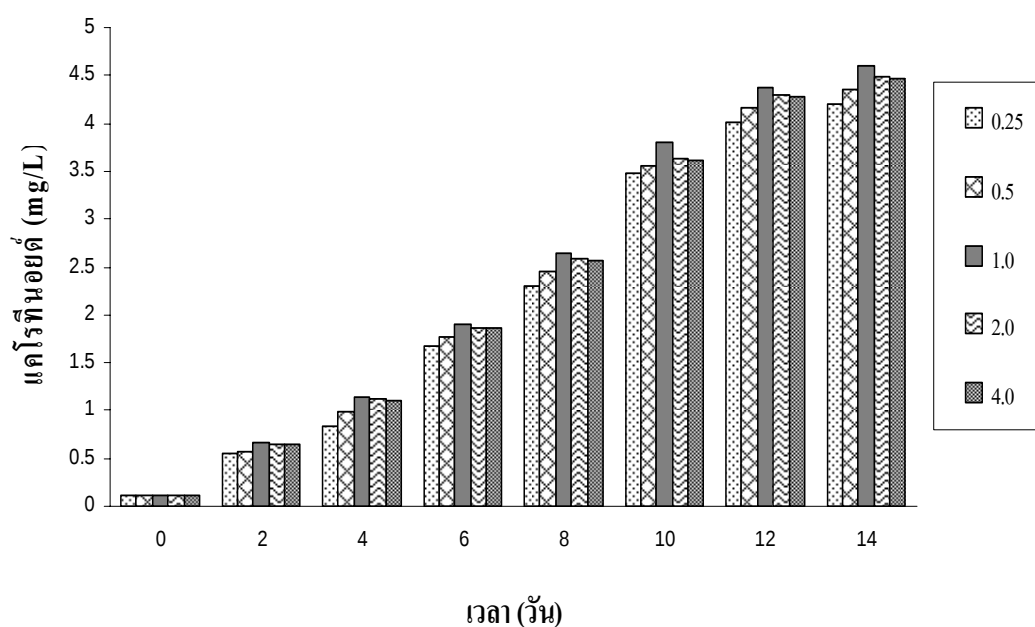
รูปที่ 4.79 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรตเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



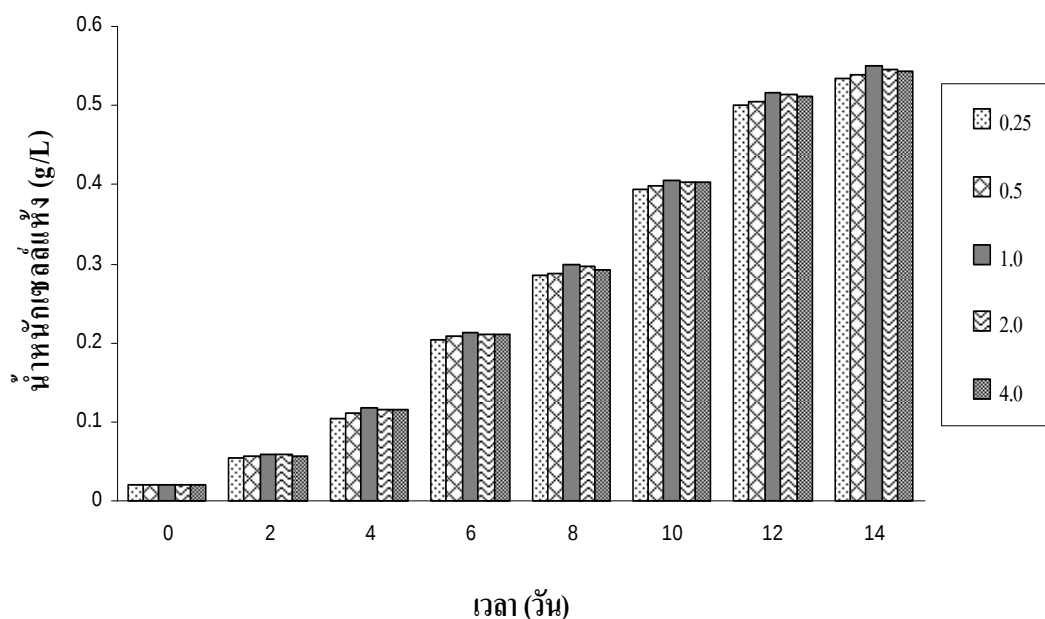
รูปที่ 4.80 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรตเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



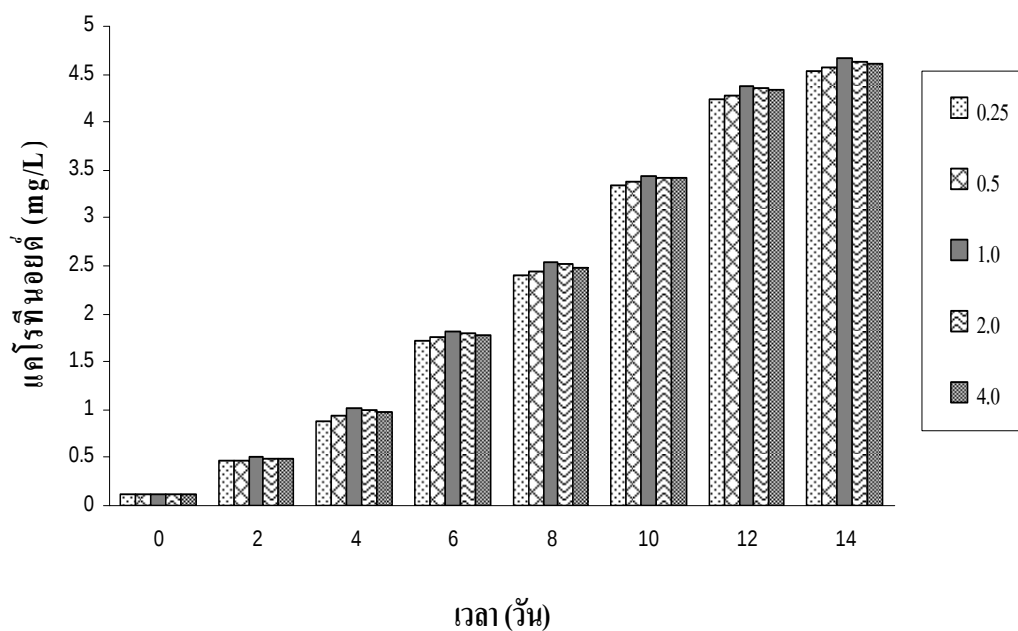
รูปที่ 4.81 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรตเท่ากับ 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เท่าของสูตร N-8



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



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



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

4.3.3 ผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหาร

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

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

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

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

พีเอชเริ่มต้นตั้งแต่ 5.8 ถึง 7.8 เนื่องจากสาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายที่มีการปรับตัวได้ดี ดังที่ อารัตน์ มหาจันทร์ และคณะ (2542) รายงานการสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจาก แหล่งต่างๆ ในธรรมชาติ โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำจืดที่สะอาด 300 ตัวอย่าง ในพื้นที่กรุงเทพมหานครและปริมณฑล โดยแหล่งน้ำตัวอย่างมีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 5.0 ถึง 9.0 ซึ่ง สาหร่ายสกุล *Chlorella* sp. มีการแพร่กระจายในแหล่งน้ำที่สำรวจมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 34.7 ของแหล่งน้ำตัวอย่างทั้งหมด อีกทั้งเมื่อค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับสูตรอาหารของสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงมีค่าพีเอชเริ่มต้นอยู่ที่ 6.0 ถึง 6.8 ตัวอย่างเช่น การศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มค่า เปลี่ยนถ่ายพลังงานความร้อนของสาหร่าย *Chlorella* sp. ของ Illman และคณะ (2000) ใช้อาหาร เพาะเลี้ยงสูตร Watanabe ที่ปรับค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเป็น 6.0 เช่นเดียวกับ Ugwu และคณะ (2005) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากแสงและอัตราการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Chlorella sorokiniana* โดยเลี้ยงในอาหารที่มีการปรับค่าพีเอชเริ่มต้นเป็น 6.0 นอกจากนี้การศึกษาของ Shi และคณะ (1999) ศึกษาการผลิตชีวมวลและลูทีนจากสาหร่าย *Chlorella protothecoides* ที่มีการควบคุมค่าพีเอชในถัง ปฏิกรณ์ให้คงที่ที่ 6.6 ± 0.1 และ Gouveia และคณะ (1996) ศึกษาเรื่องการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบ ของสารสีใน *Chlorella vulgaris* โดยเลี้ยงในอาหารตามสูตรของ Vonshak และ Maske ที่มีพีเอช เริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 6.8 เป็นต้น จากตัวอย่างข้างต้นสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบว่าพีเอช เริ่มต้นของอาหารเพาะเลี้ยงที่ทำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีการเจริญสูงสุด คือ พี เอช 6.8 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ในช่วง 0.554 ถึง 0.820 กรัมต่อลิตร

สำหรับพีเอชของอาหารที่ให้การผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดของสาหร่ายทั้ง 3 ไอโซเลท ซึ่งไม่ สัมพันธ์กับการเจริญนั้นสอดคล้องกับรายงานของ Del Campo และคณะ (2000) ซึ่งทดลอง เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Muriellopsis* sp. ในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นต่างกันคือ 6 6.5 7 8 และ 9 พบว่า สาหร่ายมีการเจริญสูงสุดที่ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 แต่ที่ค่าพีเอชเริ่มต้นเป็น 9 และ 6 ซึ่งไม่ เหมาะสมต่อการเจริญกลับให้ปริมาณลูทีนต่อเซลล์สูงกว่าถึง 7 และ 5 เท่า ตามลำดับ

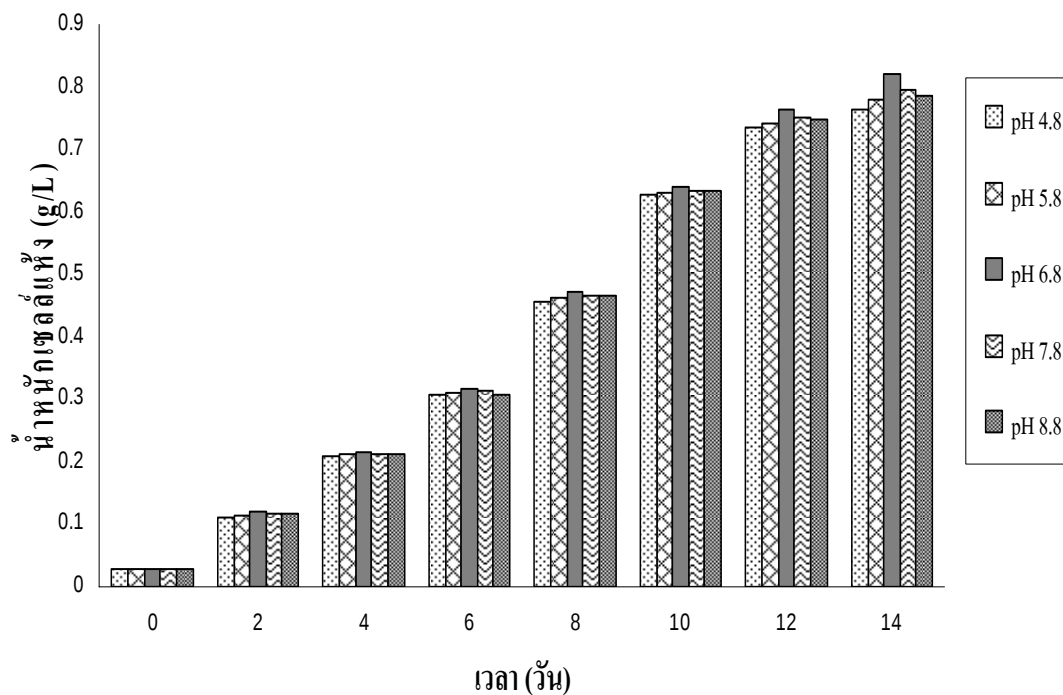
จากการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าสาหร่ายที่ผลิต แคโรทีนอยด์ได้สูงสุด คือ *Chlorella* sp. P48061 ซึ่งจะนำไปศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ ผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

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

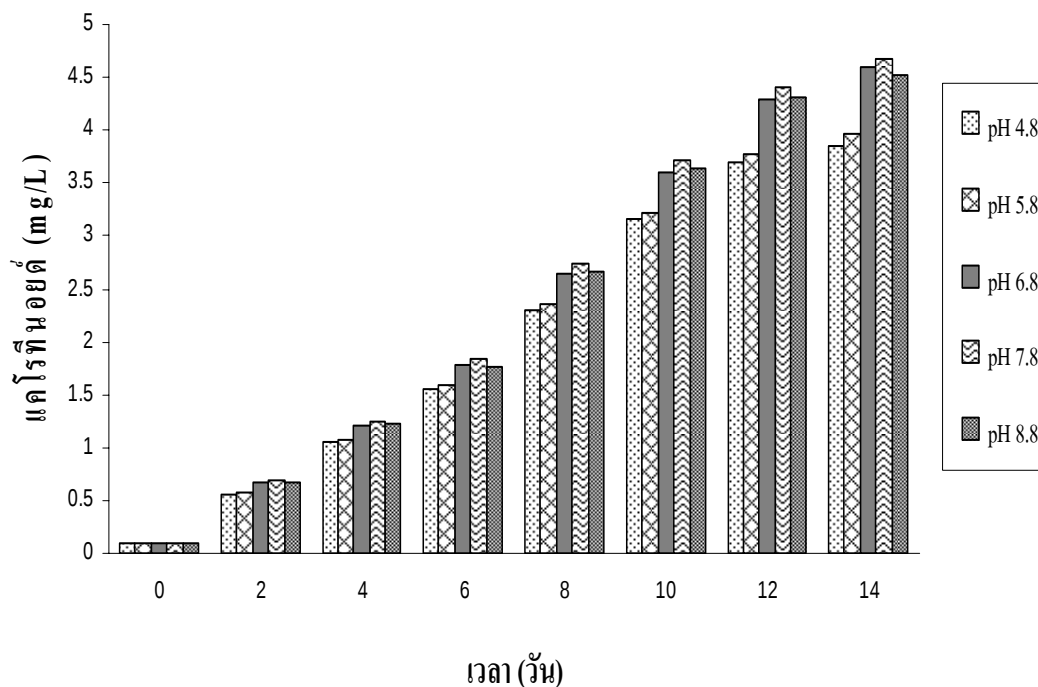
สาหร่าย	ค่าพีเอชเริ่มต้น ของอาหาร	น้ำหนักเซลล์ แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ แคโรทีนอยด์ สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของ ปริมาณ แคโรทีนอยด์ ต่อน้ำหนัก เซลล์แห้ง (มิลลิกรัม ต่อกรัม)
<i>Chlorella</i> sp. K46032	4.8	0.763 ^c	3.849 ^d	5.045
	5.8	0.779 ^{bc}	3.968 ^c	5.094
	6.8	0.820 ^a	4.598 ^{ab}	5.607
	7.8	0.796 ^b	4.668 ^a	5.864
	8.8	0.787 ^b	4.526 ^b	5.751
<i>Chlorella</i> sp. P47072	4.8	0.701 ^c	4.512 ^d	6.437
	5.8	0.720 ^b	4.547 ^c	6.315
	6.8	0.736 ^a	4.588 ^b	6.234
	7.8	0.725 ^{ab}	4.681 ^a	6.457
	8.8	0.714 ^{bc}	4.579 ^b	6.413
<i>Chlorella</i> sp. P48061	4.8	0.522 ^c	4.722 ^b	9.046
	5.8	0.542 ^{ab}	4.866 ^a	8.978
	6.8	0.554 ^a	4.699 ^b	8.482
	7.8	0.540 ^b	4.328 ^c	8.015
	8.8	0.525 ^c	4.306 ^c	8.202

หมายเหตุ: ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

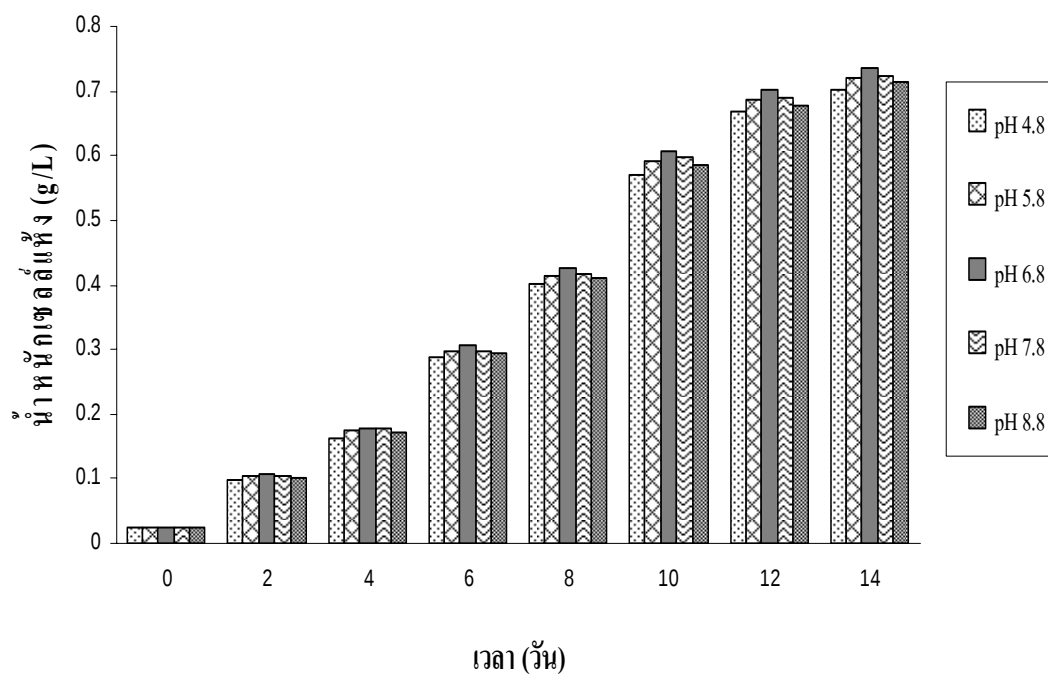
อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



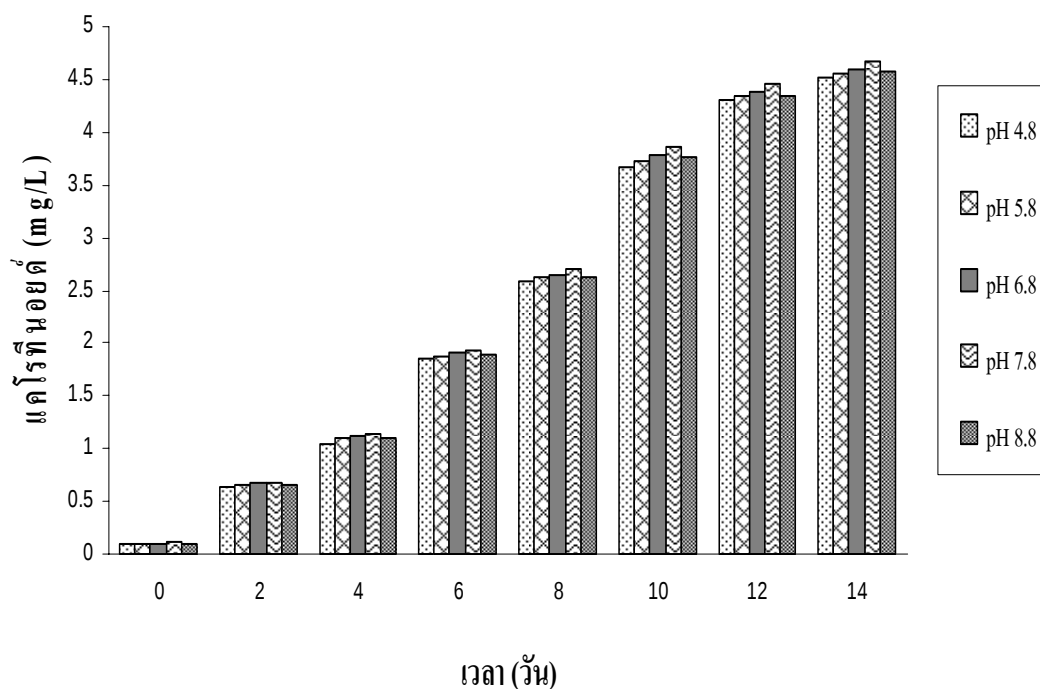
รูปที่ 4.85 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 คัดแปลง ที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8



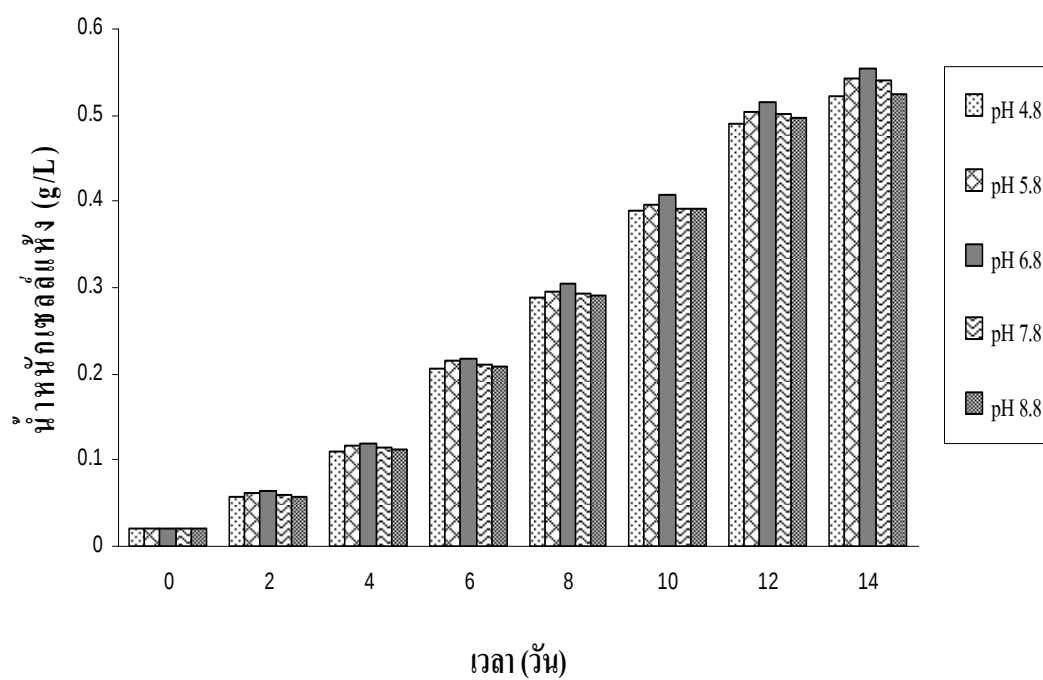
รูปที่ 4.86 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. K46032 ในอาหารสูตร N-8 คัดแปลง ที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8



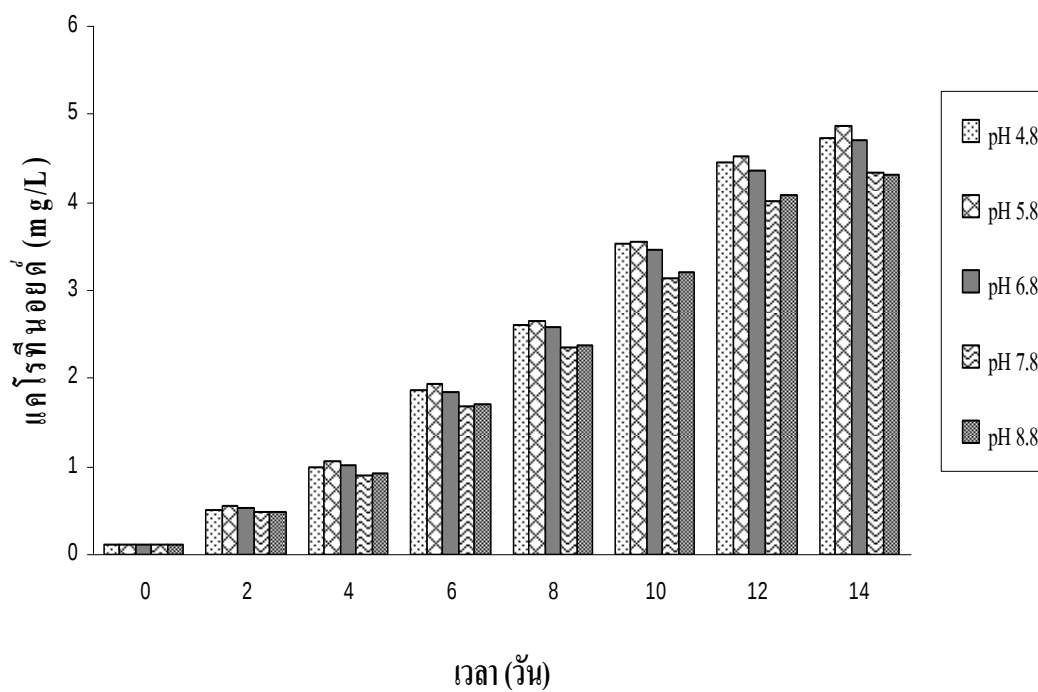
รูปที่ 4.87 การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. P47072 ในอาหารสูตร N-8 ดัดแปลง ที่มีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 4.8 5.8 6.8 7.8 และ 8.8



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



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



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

4.4 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

ปัจจัยที่เหมาะสมจากผลการทดลองตามข้อ 4.3 คือ อาหารสูตร N-8 คัดแปลง ที่มีปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท 4 เท่าของสูตร N-8 ปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตรวมกับไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮดรท 1 เท่าของสูตร N-8 และพีเอชเริ่มต้นของอาหาร เท่ากับ 5.8 ใช้สูตรอาหารนี้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 จนกระทั่งการเจริญคงที่ประมาณวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง จึงชักนำให้การเพาะเลี้ยงอยู่ในสภาวะเครียดโดยการเติมโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมอะซิเตต และเฟอร์รัสซัลเฟต ซึ่งปรากฏผลดังนี้

4.4.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์

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

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

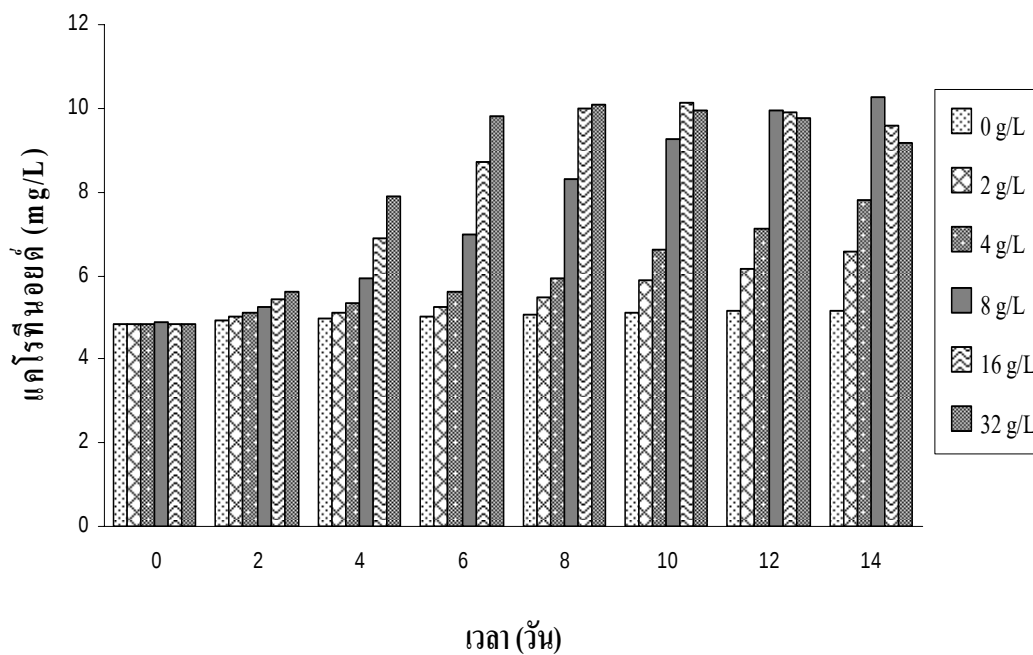
สาหร่ายมีการเจริญโดยมีจำนวนเซลล์สูงสุดที่ปริมาณโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0.0 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่การสะสมแอสตาแซนทิน พบสูงสุดที่ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 100 มิลลิโมลาร์ (5.85 กรัมต่อลิตร) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่สูงเกินไปอาจมีผลทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลงได้ ซึ่งมีผลจากอัตราการตายของเซลล์ที่เพิ่มขึ้น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

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

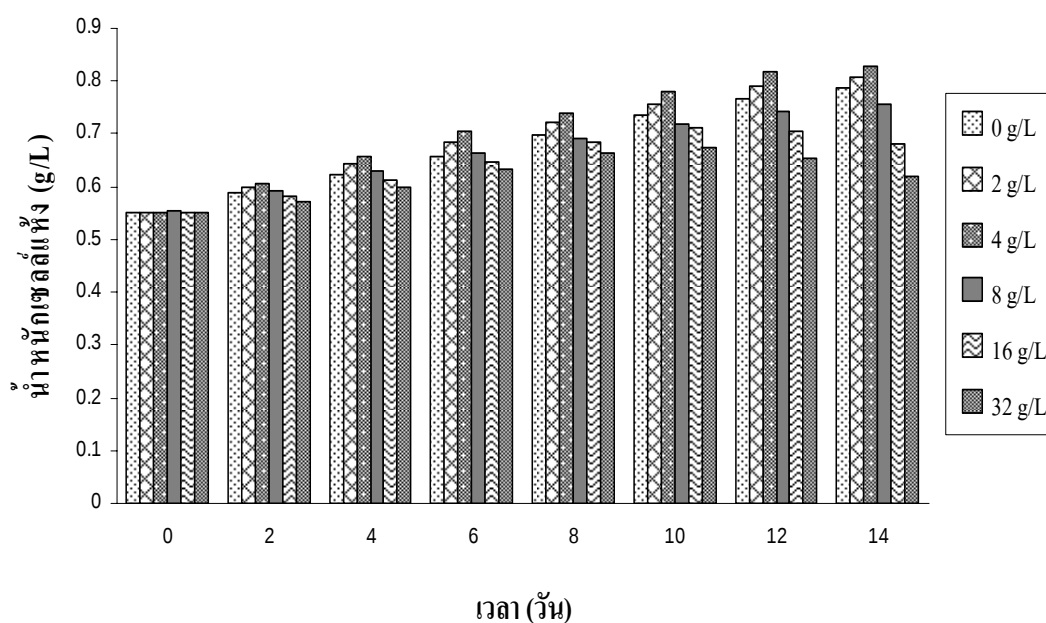
ชนิดสารชักนำ	ความเข้มข้น ของสารชักนำ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ แคโรทีนอยด์ สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของ ปริมาณ แคโรทีนอยด์ ต่อน้ำหนัก เซลล์แห้ง (มิลลิกรัม ต่อกรัม)
โซเดียม คลอไรด์	0.0	0.789 ^b	5.170 ^c	6.553
	2.0	0.808 ^{ab}	6.550 ^d	8.106
	4.0	0.828 ^a	7.820 ^c	9.444
	8.0	0.757 ^c	10.270 ^a	13.567
	16.0	0.711 ^d	10.150 ^b	14.276
	32.0	0.665 ^c	10.090 ^b	15.173

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



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



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

4.4.2 ผลของโซเดียมอะซีเตต

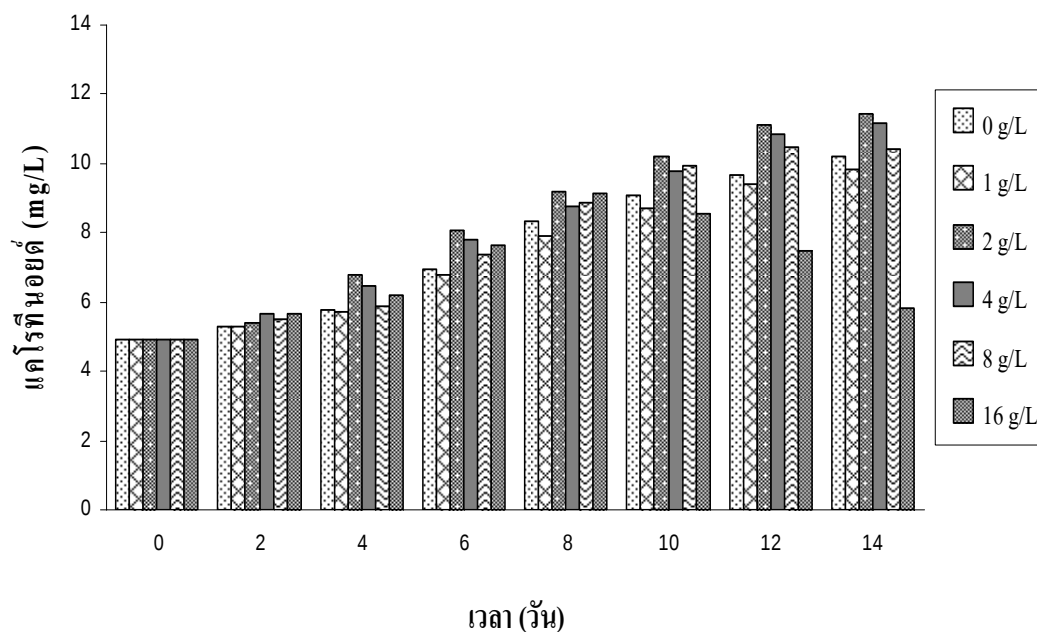
นำปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่ชักนำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด คือ 8.0 กรัมต่อลิตร มาใช้ชักนำร่วมกับโซเดียมอะซีเตต โดยแปรผันความเข้มข้นโซเดียมอะซีเตตเป็น 0.0 1.0 2.0 4.0 8.0 และ 16.0 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 8.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับโซเดียมอะซีเตต 2.0 กรัมต่อลิตร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

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของโซเดียมอะซิเตตต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิต แคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

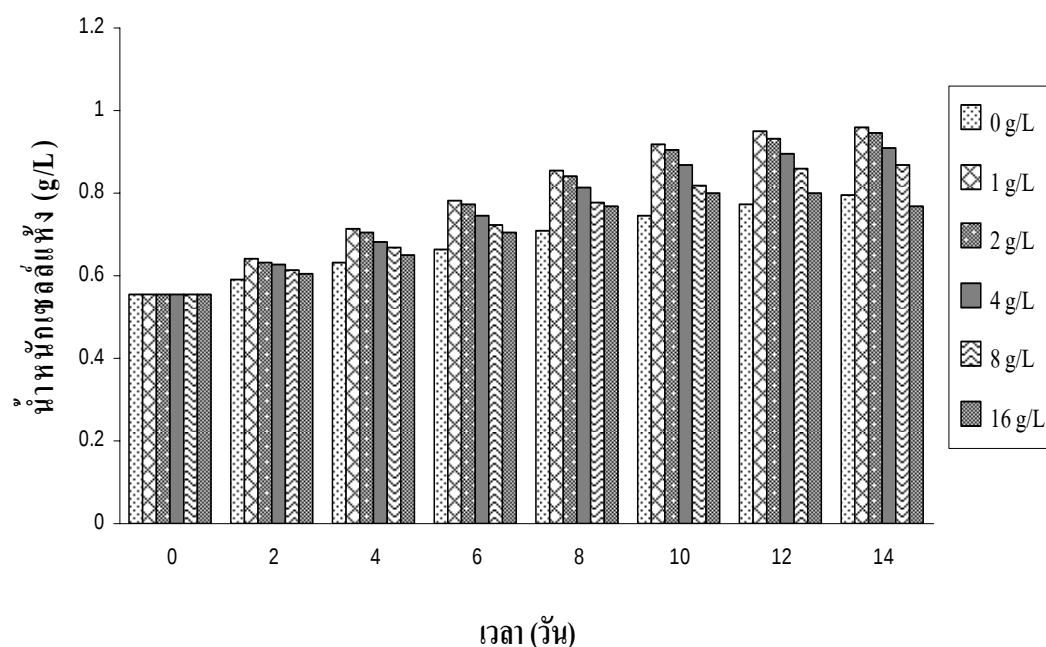
ชนิดสารชักนำ	ความเข้มข้น ของสารชักนำ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ แคโรทีนอยด์ สูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลได้ของ ปริมาณ แคโรทีนอยด์ ต่อน้ำหนัก เซลล์แห้ง (มิลลิกรัม ต่อกรัม)
โซเดียมอะซิเตต	0.0	0.796 ^c	10.230 ^d	12.852
	1.0	0.959 ^a	9.830 ^c	10.250
	2.0	0.946 ^a	11.450 ^a	12.104
	4.0	0.909 ^b	11.180 ^b	12.299
	8.0	0.857 ^c	10.470 ^c	12.217
	16.0	0.766 ^d	9.120 ^f	11.906

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



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



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

4.4.3 ผลของเฟอร์ริซัลเฟต

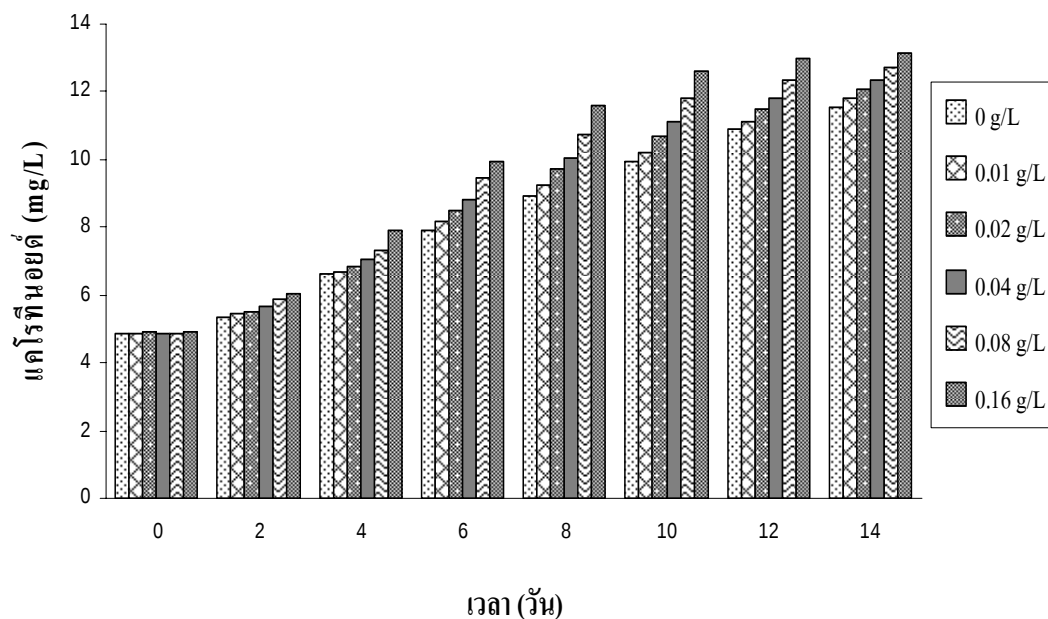
นำปริมาณโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมอะซิเตตที่ชักนำให้สาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด คือ 8.0 และ 2.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มาใช้ชักนำร่วมกับเฟอร์ริซัลเฟต โดยแปรผันความเข้มข้นของเฟอร์ริซัลเฟตเป็น 0.00 0.01 0.02 0.04 0.08 และ 0.16 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 8.0 กรัมต่อลิตร และโซเดียมอะซิเตต 2.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับเฟอร์ริซัลเฟต 0.16 กรัมต่อลิตร มีการผลิตแคโรทีนอยด์และน้ำหนักรูบเซลล์แห้งสูงสุด รองลงมาคือ เฟอร์ริซัลเฟต 0.08 0.04 0.02 0.01 และ 0.00 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 13.160 12.740 12.340 12.080 11.820 และ 11.530 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 12.062 12.297 12.365 12.466 12.455 และ 12.279 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักรูบเซลล์แห้ง ตามลำดับ (รูปที่ 4.95) และน้ำหนักรูบเซลล์แห้งเท่ากับ 1.091 1.036 0.998 0.969 0.949 และ 0.939 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.96) เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าน้ำหนักรูบเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ที่ชักนำด้วยเฟอร์ริซัลเฟต 0.16 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักรูบเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าสาหร่ายที่ชักนำด้วยเฟอร์ริซัลเฟตความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.10) ซึ่งจากผลการศึกษาของ Kobayashi และคณะ (1991) ที่เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* เป็นระยะเวลา 4 วัน จากนั้นทดลองชักนำด้วยโซเดียมอะซิเตต 45 มิลลิโมลาร์ (3.69 กรัมต่อลิตร) ร่วมกับเฟอร์ริซัลเฟต โดยแปรผันความเข้มข้นของเฟอร์ริซัลเฟตเป็น 0 150 300 450 และ 600 ไมโครโมลาร์ พบว่าการชักนำด้วยโซเดียมอะซิเตต 45 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเฟอร์ริซัลเฟต 450 ไมโครโมลาร์ (0.125 กรัมต่อลิตร) ให้น้ำหนักรูบเซลล์แห้งและปริมาณแอสตาแซนทีนสูงสุด โดยที่ความเข้มข้นเฟอร์ริซัลเฟต 600 ไมโครโมลาร์ (0.167 กรัมต่อลิตร) กลับให้ปริมาณแอสตาแซนทีนต่ำที่สุด ในขณะที่การทดลองของ Estevez และคณะ (2001) เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในอาหารซึ่งมีปริมาณเหล็ก (Fe EDTA) ต่างกันคือ 5 90 และ 500 ไมโครโมลาร์ พบว่าสาหร่ายสะสมเบต้าแคโรทีนสูงสุดในอาหารซึ่งมีปริมาณเหล็กเท่ากับ 90 ไมโครโมลาร์ (0.033 กรัมต่อลิตร)

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. P48061 ในการศึกษาผลของเฟอริซัลเฟตต่อการชักนำให้สาหร่ายผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น

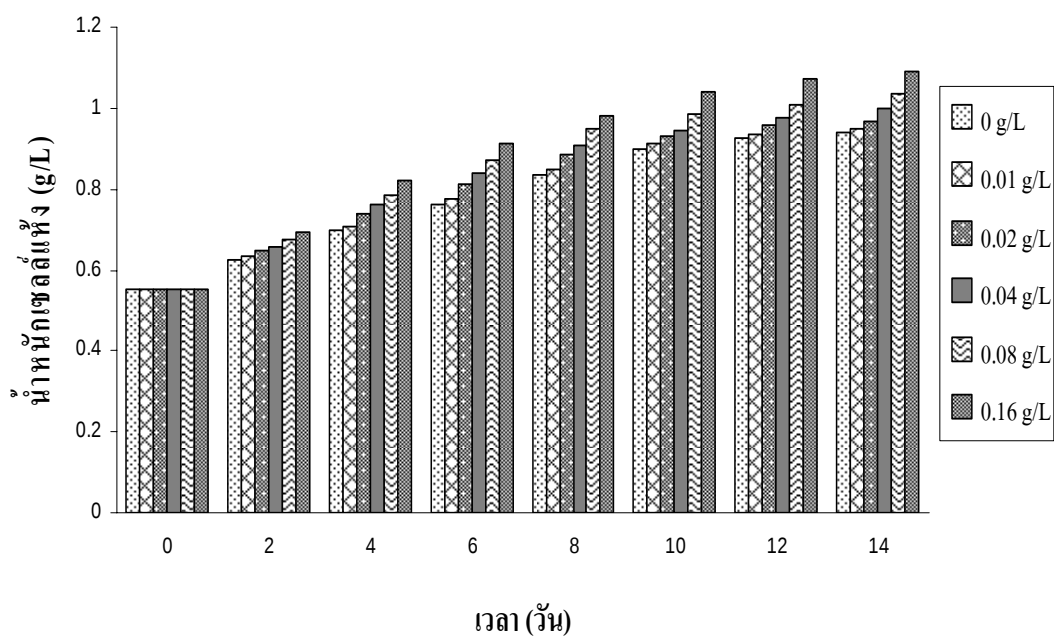
ชนิดสารชักนำ	ความเข้มข้น ของสารชักนำ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ แคโรทีนอยด์ สูงสุด (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)	ผลได้ของ ปริมาณ แคโรทีนอยด์ ต่อน้ำหนัก เซลล์แห้ง (มิลลิกรัม ต่อกรัม)
เฟอริซัลเฟต	0.00	0.939 ^d	11.530 ^f	12.279
	0.01	0.949 ^d	11.820 ^e	12.455
	0.02	0.969 ^{cd}	12.080 ^d	12.466
	0.04	0.998 ^c	12.340 ^c	12.365
	0.08	1.036 ^b	12.740 ^b	12.297
	0.16	1.091 ^a	13.160 ^a	12.062

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

อักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



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



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