

ผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์
(carotenoids) ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266
The Effect of Light Intensity on the Growth and Carotenoid
Production of *Chlorococcum* sp. TISTR 8266

สายนันท์ นันชนะ¹ สุพรรณษา ขันธโสภา¹ และนาริสรา วงศ์สิงห์^{1*}
Sayan Nanchana¹, Suphansa Khantasopa¹ and Narisasa Wongsing^{1*}

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 โดยสาหร่ายสายพันธุ์นี้เมื่ออยู่ในสภาวะกวดต้นหรือกระตุ้นจะผลิตสารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถใช้เป็นอาหารเสริมทั้งในคนและสัตว์ ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางได้ โดยจากการทดลองพบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ อาหารสูตร N8 ในหลอดเพาะเลี้ยง ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส ในวันที่ 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยง มีผลผลิตชีวมวลเท่ากับ 4.30±0.18 6.13±0.19 และ 6.24±0.15 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2.76±0.26 3.92±0.18 และ 3.89±0.36 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ และสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ ในระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เท่ากันแสดงว่าความเข้มแสงสูงเป็นหนึ่งปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการกระตุ้นหรือกวดต้นให้สาหร่ายผลิตสารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์

คำสำคัญ: จุลสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ความเข้มแสง แคโรทีนอยด์ ผลผลิตชีวมวล

¹ ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

* Corresponding author e-mail: narisara@tistr.or.th

DOI: <https://doi.org/10.65217/wichchajinstru.2023.v42i1.256500>

Received: 6 October 2022, Revised: 23 January 2023, Accepted: 10 February 2023

Abstract

In this research, the effect of light intensity on the growth and carotenoid production of the green algae *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 was investigated. This microalgae accumulates pigment in the carotenoid group under stress conditions. The pigments in the carotenoid group are qualified as highly effective antioxidants. It can be used as a dietary supplement in both humans and animals and used as cosmetic products. The experimental results showed that the best cultivation condition is Treatment 3 with light intensity of 8,500-9,000 lux, N8 medium and temperature of $28\pm 2^{\circ}\text{C}$. The biomass yield of Treatment 3 at day 14, 21 and 28 are 4.30 ± 0.18 , 6.13 ± 0.19 and 6.24 ± 0.15 grams per liter, respectively, and the carotenoid content are 2.76 ± 0.26 , 3.92 ± 0.18 and 3.89 ± 0.36 milligrams per gram dried weight (g-dw), respectively. These results were significantly different ($p < 0.05$) when compared to Treatment 1 with the light intensity of 4,000-4,500 lux and Treatment 2 with the light intensity of 7,500-8,000 lux in the same cultivation period. These findings indicated that high light intensity is one of the important factors that has a positive effect on growth and stimulation on algae to produce pigments in the carotenoid group.

Keywords: Microalgae, *Chlorococcum* sp., Light intensity, Carotenoids, Biomass

บทนำ

ในสถานการณ์ปัจจุบันเราต้องเผชิญกับสภาวะอากาศที่เปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา สภาวะเศรษฐกิจและสังคมที่เปลี่ยนไป จึงส่งผลให้การดำเนินชีวิตในแต่ละวันมีความเร่งรีบหลายคนลืมใส่ใจดูแลสุขภาพของตนเอง จึงทำให้ร่างกายมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคต่าง ๆ มากมาย ถึงเวลาที่ทุกคนควรจะมาดูแลเอาใจใส่สุขภาพของตัวเองมากยิ่งขึ้น นอกจากการรับประทานอาหารที่ให้ประโยชน์แก่ร่างกายเป็นประจำสม่ำเสมอแล้ว ปัจจุบันมีการค้นพบสารสำคัญจากธรรมชาติที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมากที่สุดอีกชนิดหนึ่ง นั่นคือ สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์ (carotenoids) เป็นสารสีที่ไม่มีขั้ว มีโครงสร้างเป็นไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid) พบในพืชผักที่มีสีเหลือง ส้ม หรือแดง เช่น แครอท ฟักทอง มะเขือเทศ ตลอดจนสัตว์น้ำ เช่น กุ้ง และปลาแซลมอน รวมถึงสาหร่ายขนาดเล็ก และสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์แสงและไม่สังเคราะห์แสง (Del Campo *et al.*, 2007; Takaichi, 2011) มีรายงานการศึกษาและพบอนุพันธ์ของแคโรทีนอยด์ในธรรมชาติมากกว่า 750 ชนิด (Sakagami *et al.*, 2010) โดยแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยหน่วยของไอโซพรีน (isoprene) เชื่อมต่อกัน 8 หน่วย (Young, 1993) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่มแคโรทีน (carotenes) มีสีส้ม ประกอบด้วยหมู่ไฮโดรคาร์บอนที่ไม่มีออกซิเจน (oxygen-free-hydrocarbon) มี 3 ชนิด ได้แก่ แอลฟา บีตา และเอปซีลอน ชนิดที่พบในแหล่งที่พบพืชทุกชนิด คือ บีตา-แคโรทีน และกลุ่มแซนโทฟิลล์ (xanthophylls) หรือออกซีแคโรทีน (oxycarotene) มีสีเหลือง

ถึงแดง นอกจากโครงสร้างจะประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนแล้ว ยังมีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบร่วมอยู่ด้วย แบ่งออกได้หลายชนิด เช่น ลูทีน (lutein) แคนตาแซนทิน (canthaxanthin) ฟูโคแซนทิน (fucoxanthin) มิกโซแซนโทฟิลล์ (myxoxanthophyll) ไดอะไดโนแซนทิน (diadinoxanthin) ไดอะโตแซนทิน (diatoxanthin) เพรดิโนน (peridinin) และแอสตาแซนทิน (astaxanthin) (Shaish *et al.*, 1992)

ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้เอง จึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหารที่รับประทานในแต่ละวันหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเท่านั้น แคโรทีนอยด์นอกจากจะเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอแล้ว ยังทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน (Rao and Rao, 2007) ลดความเสี่ยงจากการเป็นโรคมะเร็ง ยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ ป้องกันเนื้องอก ลดความเสี่ยงเกี่ยวกับการเสื่อมของตาเนื่องจากสูงอายุและต้อกระจก ลดความเสี่ยงจากโรคมะเร็งบางชนิด โรคหัวใจและหลอดเลือด จึงสามารถใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารให้แก่มนุษย์ได้ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเป็นสีผสมอาหาร (food color) อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (cosmetics industry) รวมทั้งใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสัตว์ทั้งสัตว์น้ำและสัตว์ปีก เร่งการสร้างสีของเนื้อสัตว์ เกล็ด ขน ส่งผลให้สามารถขายได้ในราคาสูง (Johnson and Schroeder, 1996) นอกจากนั้นยังพบว่าการใช้ปลากัดด้วยอาหารเสริมจากสาหร่ายสายพันธุ์ *Nostoc commune* มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด ซึ่งเป็นการลดต้นทุนด้านอาหารในการเลี้ยงได้อีกทางหนึ่ง (ฐิรารัตน์ และคณะ, 2564)

ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงให้ความสำคัญและทำการศึกษการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก (microalgae) มีลักษณะเป็นสาหร่ายเซลล์เดียวอยู่ในกลุ่ม Chlorophyta พบได้ในน้ำจืดและทะเลสาบ เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะกวดันจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีส้ม เนื่องจากเกิดการสะสมของสารสีแคโรทีนอยด์ (Zhang and Lee, 1997; Masojidek *et al.*, 2000) โดยมีแอสตาแซนทิน เอสเทอร์ (astaxanthin esters) แคนตาแซนทิน (canthaxanthin) และอะโดนิแซนทิน (adonixanthin) เป็นสารสีหลักที่พบมากที่สุด (Zhang and Lee, 1997; Sivathanu and Palaniswamy, 2012) ซึ่งสภาวะกวดันที่มีผลต่อการสะสมสารสีแคโรทีนอยด์ ได้แก่ ความเข้มแสงสูง อุณหภูมิสูง ความเค็มสูง การขาดไนโตรเจน การขาดฟอสเฟต (Borowitzka and Borowitzka, 1989; Choi *et al.*, 2002) โดยในการศึกษารังนี้ได้นำสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 ซึ่งเป็นสาหร่ายสายพันธุ์ในประเทศไทย คัดแยกและจัดจำแนกโดยศูนย์ความเป็นเลิศด้านสาหร่าย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เป็นสายพันธุ์ที่เลี้ยงง่ายโตเร็ว และยังสามารถผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ได้ โดยจากการศึกษาผลงานทางวิชาการ พบว่าปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสูงที่สุด คือ ความเข้มแสงสูง เช่นจากการศึกษาของ Zheng *et al.* (2019) พบว่ามีปริมาณแอสตาแซนทิน 2.88 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง โดยศึกษาผลของความเข้มแสงที่มีต่อการกระตุ้นและสะสมแอสตาแซนทินในสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella zofingensis* การศึกษาของ Leya *et al.* (2009) พบว่ามีปริมาณมีปริมาณแอสตาแซนทิน 0.768 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง โดยศึกษาผลของความเข้มแสงสูงและการลดปริมาณไนโตรเจนต่อการเปลี่ยนองค์ประกอบของสารสีในสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* spp.

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงให้ความสำคัญและทำการศึกษางานวิจัย เรื่อง ผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณความเข้มแสงที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตสารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์ และได้องค์ความรู้เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและการผลิตสารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายเพื่อเป็นแนวทางการศึกษาในลำดับต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมหัวเชื้อ

นำสาหร่ายมาจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านสาหร่าย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) จำนวน 1 สายพันธุ์ คือ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 มาขยายปริมาณโดยเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร BG-11 (Stainer *et al.*, 1971) ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปริมาตรเพาะเลี้ยง 200 มิลลิลิตร วางบนเครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสง 2,000-3,000 ลักซ์ ให้แสงตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน (ภาพที่ 1) จากนั้นนำมาขยายปริมาณอีกรอบ โดยเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร N8 (จากผลการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 พบว่าอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ อาหารสูตร N8 (Vonshak, 1986)) ในถังคาร์บอย (carboy) ปริมาตรเพาะเลี้ยง 10 ลิตร ให้อากาศผ่านตัวกรองขนาด 0.2 ไมครอนเมตร วางภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสง 3,000-4,000 ลักซ์ ให้แสงตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทดสอบลำดับต่อไป



ภาพที่ 1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 ในขวดรูปชมพู่ ปริมาตรเพาะเลี้ยง 200 มิลลิลิตร

2. ศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266

นำหัวเชื้อสาหร่ายสายพันธุ์ที่เตรียมดังข้อ 1) มาเพาะเลี้ยงในหลอดเพาะเลี้ยงสาหร่าย (culture tube) ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ปริมาตรเพาะเลี้ยง 200 มิลลิลิตร ด้วยอาหารสูตร N8 เตรียมอาหารโดยใช้สารเคมีเกรดการค้าร่วมกับน้ำประปา หัวเชื้อเริ่มต้นที่ความขุ่น (optical density: OD₆₈₀ นาโนเมตร) เท่ากับ 0.05 โดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer ยี่ห้อ Hitachi U-2900) เพาะเลี้ยง 3 ช่วงเวลา คือ วันที่ 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยง ทำการเพาะเลี้ยงช่วงละ 3 ชั่วโมง โดยวางบนแท่นเพาะเลี้ยงและให้แสงฟลูออเรสเซนต์ตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 2) โดยให้ความเข้มแสงต่างกัน 3 ระดับ คือ สภาวะวางภายใต้แสงที่ความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ โดยเปิดไฟ 2 หลอด สภาวะวางภายใต้แสงที่ความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ โดยเปิดไฟ 3 หลอด และสภาวะวางภายใต้แสงที่ความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ โดยเปิดไฟ 6 หลอด วัดความเข้มแสงแต่ละสภาวะการทดลองด้วยเครื่องวัดความเข้มแสง (digital light meters ยี่ห้อ CEM รุ่น DT-8809A) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส และวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ยี่ห้อ Mettler Toledo ในวันที่ 0 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยง



ภาพที่ 2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 ในหลอดเพาะเลี้ยง ปริมาตรเพาะเลี้ยง 200 มิลลิลิตร วางบนแท่นเพาะเลี้ยงและให้แสงฟลูออเรสเซนต์ตลอดระยะเวลาเพาะเลี้ยง

3. วิธีวัดผลการเจริญเติบโต

โดยหาน้ำหนักแห้งเป็นกรัมต่อลิตร และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ OD₆₈₀ นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงในวันที่ 0 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยง วัดผลการเจริญเติบโต โดยปรับปริมาตรสาหร่ายในหลอดเพาะเลี้ยงให้เท่ากับ 200 มิลลิลิตร และเป่าด้วยปั๊มลมเพื่อให้สาหร่ายกระจายตัว จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสาหร่ายจากหลอดเพาะเลี้ยงปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง และนำมากรองด้วยชุดกรองสุญญากาศผ่านกระดาษใยแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 มิลลิเมตร ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักกระดาษหลังจากอบเรียบร้อยแล้ว เมื่อกรองสาหร่ายครบ 30 มิลลิลิตรแล้ว จากนั้นนำเข้าตู้อบ อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำมาชั่งและคำนวณหาผลผลิตชีวมวลแห้งเป็นกรัมต่อลิตร

4. วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์

นำสาหร่ายในวันที่ 0 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยงมาทำแห้ง โดยแยกเซลล์สาหร่ายออกจากอาหารเพาะเลี้ยง โดยวิธีปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Sorvall LYNX 6,000) ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที จากนั้นเทส่วนที่เป็นอาหารเพาะเลี้ยงทิ้ง และนำส่วนที่เป็นเซลล์สาหร่ายเทใส่จานเพาะเลี้ยง จากนั้นนำเข้าตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำให้เซลล์สาหร่ายแข็ง จากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยวิธีการระเหิดแห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (CHRIST รุ่น DELTA 2-24 LSC plus) เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหรือจนกว่าสาหร่ายจะแห้ง จากนั้นนำสาหร่ายที่แห้งแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยโกร่ง และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธีของ Lichtenthaler (1987) โดยชั่งสาหร่ายแห้งปริมาณ 50 มิลลิกรัม ด้วยเครื่องชั่งแบบละเอียด (Sartorius รุ่น QUNTIX) ใส่ในหลอดสกัดปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ที่เติมเม็ดบดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร ปริมาณ 250 มิลลิกรัมไว้แล้ว เพื่อทำหน้าที่บดสาหร่ายแห้งในขณะเข้าเครื่องแตกเซลล์โดยทำตามขั้นตอน ดังนี้

1) เติมน้ำอะซิโตนปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำเข้าเครื่องแตกเซลล์ด้วยเม็ดบด (micro smash รุ่น MS-100R) ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 90 วินาที (ขั้นตอนนี้ป้องกันไม่ให้หลอดสกัดโดนแสง)

2) นำหลอดสกัดที่ผ่านขั้นตอนที่ 1 เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Sorvall LEGEND Micro 21R) เพื่อแยกส่วนที่เป็นของเหลวออกจากสาหร่ายแห้ง ที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที (ขั้นตอนนี้ป้องกันไม่ให้หลอดสกัดโดนแสง) จากนั้นดูดส่วนที่เป็นของเหลวใส่ขวดสีชาเก็บไว้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์

3) ทำตามขั้นตอนที่ 1 ถึง 2 เพื่อสกัดสารสีแคโรทีนอยด์ออกจากสาหร่าย จำนวน 3 ครั้ง

4) นำส่วนที่เป็นของเหลววัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 646 และ 663 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงไปแทนค่าในสมการด้านล่าง

คลอโรฟิลล์เอ (chlorophyll a: C_a) = $12.25 A_{663} - 2.79 A_{646}$ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

คลอโรฟิลล์บี (chlorophyll b: C_b) = $21.50 A_{646} - 5.10 A_{663}$ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

สารสีแคโรทีนอยด์ทั้งหมด = $(1,000 A_{470} - 1.82 C_a - 85.02 C_b) / 198$

(total carotenoids: C_{x+c}) (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

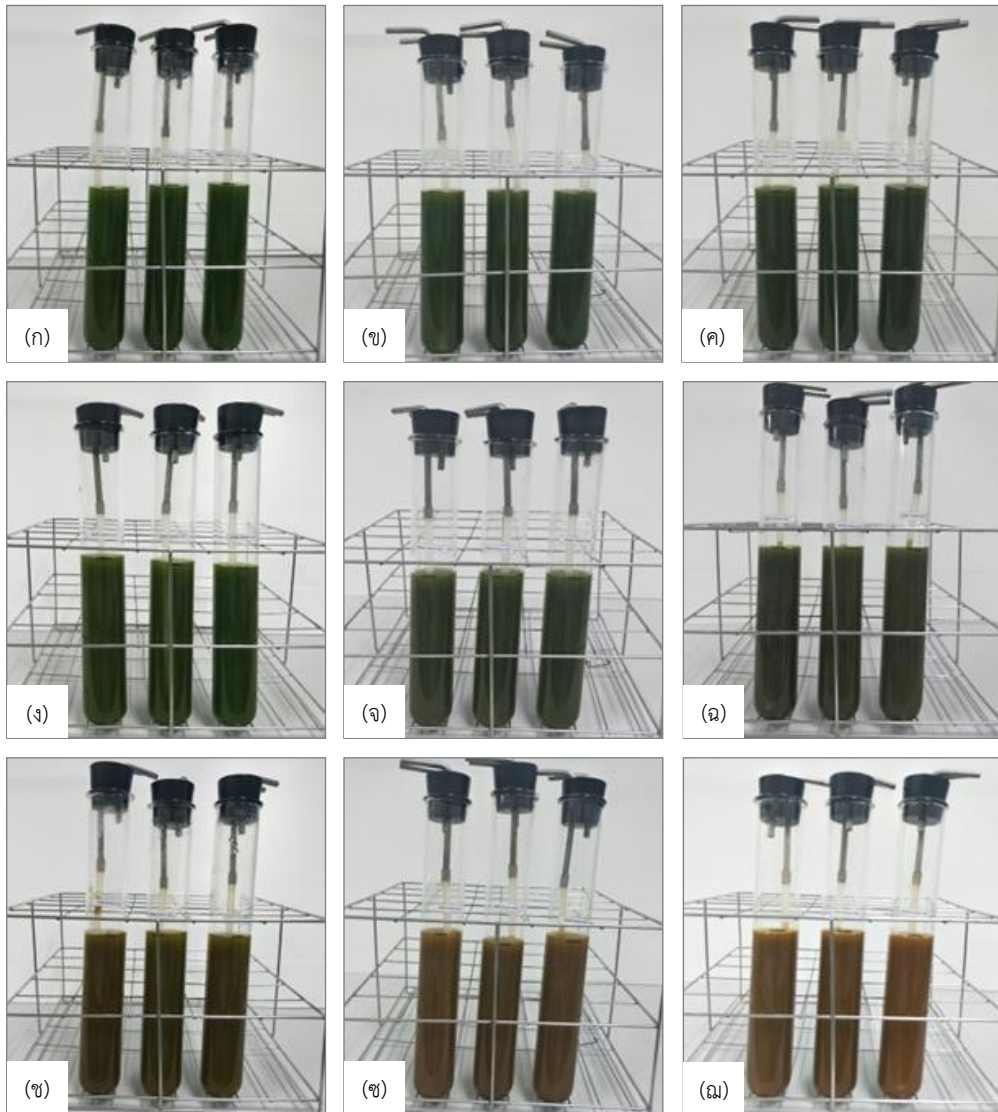
5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการทดลองนี้ได้ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomize design: CRD) ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD) วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างผลของความเข้มแสงที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ด้วยวิธี one-way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23 เปรียบเทียบผลผลิตชีวมวลและปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ด้วยวิธี DMRT (Duncan's new multiple test)

ผลการวิจัย

1. การศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266

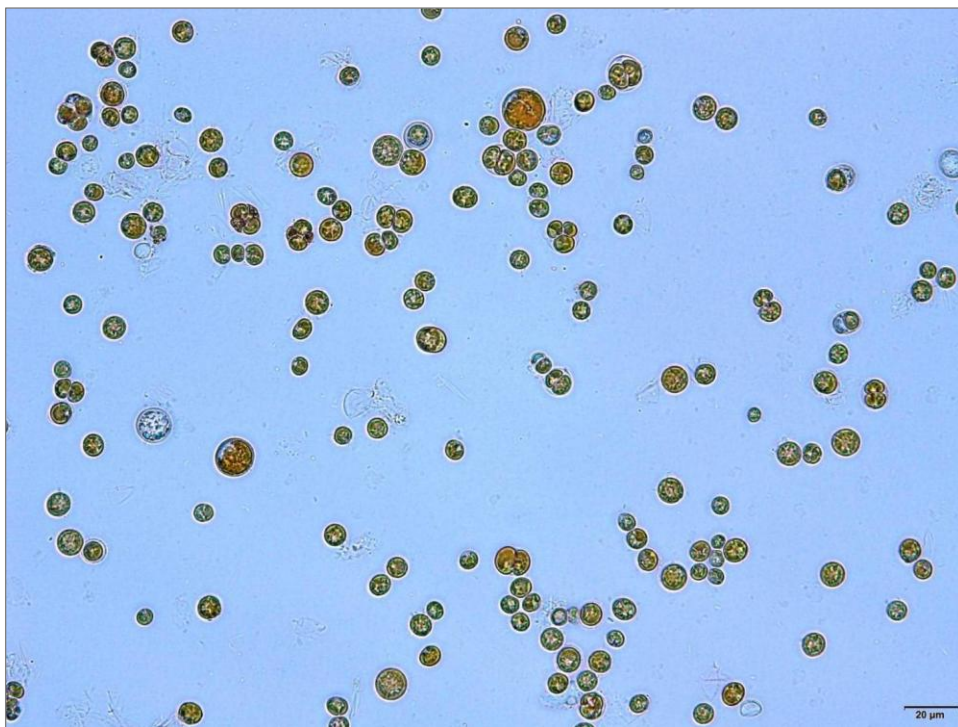
จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 ทั้ง 3 สภาวะ คือ สภาวะวางภายใต้แสงที่ความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ โดยเปิดไฟ 2 หลอด สภาวะวางภายใต้แสงที่ความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ โดยเปิดไฟ 3 หลอด และสภาวะวางภายใต้แสงที่ความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ โดยเปิดไฟ 6 หลอด พบว่าทั้ง 3 สภาวะสาหร่ายเจริญเติบโตขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังภาพที่ 3 ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงและผลผลิตชีวมวลที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่องในวันที่ 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 3.54 ± 0.15 4.04 ± 0.21 และ 6.24 ± 0.15 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยสูงที่สุดในวันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยง และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เท่ากันของแต่ละสภาวะ พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ มีผลผลิตชีวมวลในวันที่ 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 4.30 ± 0.18 6.13 ± 0.19 และ 6.24 ± 0.15 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ และสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ โดยสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ มีผลผลิตชีวมวลในวันที่ 14 และ 21 ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 2.59 ± 0.02 และ 3.40 ± 0.07 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ มีผลผลิตชีวมวลในวันที่ 14 และ 21 ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 2.69 ± 0.09 และ 3.56 ± 0.07 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลผลิตชีวมวลทั้งสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ และ 7,500-8,000 ลักซ์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ มีผลผลิตชีวมวลในวันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 4.04 ± 0.21 กรัมต่อลิตร สภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ มีผลผลิตชีวมวลในวันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 3.54 ± 0.15 กรัมต่อลิตร ซึ่งผลผลิตชีวมวลของสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ และพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างทั้ง 3 สภาวะอยู่ในช่วง 8.45-9.16 8.45-9.22 และ 8.45-10.27 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 3 สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 เพาะเลี้ยงที่สภาวะความเข้มแสงต่าง ๆ ได้แก่ สภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ ในวันที่ 14 (ก) 21 (ข) และ 28 (ค) ของการเพาะเลี้ยง สภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ ในวันที่ 14 (ง) 21 (จ) และ 28 (ฉ) ของการเพาะเลี้ยง และสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ ในวันที่ 14 (ช) 21 (ซ) และ 28 (ฅ) ของการเพาะเลี้ยง

สำหรับปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ พบว่าเมื่อสังเกตลักษณะการเปลี่ยนสีของสาหร่าย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ เริ่มเปลี่ยนสีจากสีเขียว เป็นสีส้มซึ่งอยู่ในระยะที่สาหร่ายผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ ตั้งแต่วันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยงและชัดเจนที่สุดในวันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 3 และ 4) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ ที่วิเคราะห์ได้ โดยพบว่าสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ มีปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์

ในวันที่ 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 2.76 ± 0.26 3.92 ± 0.18 และ 3.89 ± 0.36 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสถานะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ และ 7,500-8,000 ลักซ์ โดยสถานะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ และ 7,500-8,000 ลักซ์ ในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ 2.00 ± 0.11 และ 2.33 ± 0.25 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และสถานะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ ในวันที่ 14 และ 28 ของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ 0.85 ± 0.06 และ 2.14 ± 0.11 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ และสถานะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ ในวันที่ 14 และ 28 ของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ 1.42 ± 0.39 และ 3.18 ± 0.34 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ แสดงว่าสถานะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ มีปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับสถานะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ ในวันที่ 14 และ 28 ของการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 4 ลักษณะเซลล์สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีส้มในวันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยงที่สถานะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์

ตารางที่ 1 ผลผลิตชีวมวล ค่าการดูดกลืนแสง ค่าความเป็นกรด-ด่าง และสารสีแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 ที่สภาวะความเข้มแสงต่าง ๆ ได้แก่ สภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ สภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ และสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ ในวันที่ 0 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยง

ระยะเวลา เพาะเลี้ยง (วัน)	สภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์					สภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์					สภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์				
	ผลผลิต	ค่าการดูด	ค่าความ	แคโรทีนอยด์	ผลผลิต	ค่าการดูด	ค่าความ	แคโรทีนอยด์	ผลผลิต	ค่าการดูด	ค่าความ	แคโรทีนอยด์			
	ชีวมวล	กลืนแสง	เป็น	(มิลลิกรัมต่อ	ชีวมวล	กลืนแสง	เป็น	(มิลลิกรัมต่อ	ชีวมวล	กลืนแสง	เป็น	(มิลลิกรัมต่อ			
	(กรัมต่อลิตร)	(OD ₆₈₀ นาโนเมตร)	กรด-ต่าง	กรัมแห้ง)	(กรัมต่อลิตร)	(OD ₆₈₀ นาโนเมตร)	กรด-ต่าง	กรัมแห้ง)	(กรัมต่อลิตร)	(OD ₆₈₀ นาโนเมตร)	กรด-ต่าง	กรัมแห้ง)			
0	0.04±0.01 ^a	0.05±0.00	8.45±0.01	-	0.04±0.01 ^a	0.05±0.00	8.45±0.01	-	0.04±0.01 ^a	0.05±0.00	8.45±0.01	-			
14	2.59±0.02 ^b	6.67±0.07	9.05±0.03	0.85±0.06 ^c	2.69±0.09 ^b	7.27±0.09	9.00±0.17	1.42±0.39 ^b	4.30±0.18 ^a	6.65±0.37	10.27±0.75	2.76±0.26 ^a			
21	3.40±0.07 ^b	8.31±0.10	9.16±0.06	2.00±0.11 ^b	3.56±0.07 ^b	8.62±0.02	9.12±0.01	2.33±0.25 ^b	6.13±0.19 ^a	8.48±0.83	9.49±0.05	3.92±0.18 ^a			
28	3.54±0.15 ^c	8.46±0.32	9.16±0.05	2.14±0.11 ^c	4.04±0.21 ^b	8.61±0.34	9.22±0.11	3.18±0.34 ^b	6.24±0.15 ^a	8.34±0.52	9.36±0.26	3.89±0.36 ^a			

หมายเหตุ: - ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (mean±SD)

การอภิปรายผลการวิจัย

จากผลการศึกษาความเข้มแสงต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 ทั้ง 3 สภาวะ คือ สภาวะวางภายใต้แสงที่ความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ โดยเปิดไฟ 2 หลอด สภาวะวางภายใต้แสงที่ความเข้มแสงอยู่ในช่วง 7,500-8,000 ลักซ์ โดยเปิดไฟ 3 หลอด และสภาวะวางภายใต้แสงที่ความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ โดยเปิดไฟ 6 หลอด พบว่าสาหร่ายเจริญเติบโตขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยสูงที่สุดในวันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยง และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เท่ากันของแต่ละสภาวะ พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ ให้ผลผลิตชีวมวลและปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์สูงกว่าสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ และ 7,500-8,000 ลักซ์ โดยมีผลผลิตชีวมวลและปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ในวันที่ 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 4.30 ± 0.18 6.13 ± 0.19 และ 6.24 ± 0.15 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ 2.76 ± 0.26 3.92 ± 0.18 และ 3.89 ± 0.36 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ และ 7,500-8,000 ลักซ์ ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เท่ากัน ซึ่งจากผลการทดลองแสดงว่าการเพาะเลี้ยงที่ให้ความเข้มแสงสูงส่งผลต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 มากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยความเข้มแสงต่ำ ๆ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยต่าง ๆ ได้แก่ การศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของสารสีแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสีเขียว *Botryococcus braunii* ของ Ambati *et al.* (2010) โดยศึกษาการเพาะเลี้ยงแบบออโตโทรฟิก (autotrophic cultivation) ใช้อาหารเพาะเลี้ยง CHU13 Z8 BBM และ BG-11 หลังจากการเพาะเลี้ยง 14 วัน กระตุ้นการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ด้วยความเข้มแสง 3.5 ± 0.2 กิโลลักซ์ ถึงวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร BG-11 และ Z8 ให้ผลผลิตชีวมวลสูง คือ 3.6 และ 3.2 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ 0.28 และ 0.27 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อน้ำหนัก ตามลำดับ การศึกษาของ Zheng *et al.* (2019) ศึกษาการใช้แสงกระตุ้นการสังเคราะห์และการสะสมแอสตาแซนทีนในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *C. zoofingensis* ทดสอบภายใต้สภาวะเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟิก (heterotrophic cultivation) และโฟโตออโรโตโทรฟิก (photoautotrophic cultivation) พบว่าการเพาะเลี้ยงแบบเฮเทอโรโทรฟิกเป็นสภาวะที่ทำให้การผลิตแอสตาแซนทีนน้อยแต่ให้ผลผลิตชีวมวลสูง ในขณะที่การเพาะเลี้ยงแบบ และโฟโตออโรโตโทรฟิกให้ผลผลิตชีวมวลน้อยแต่มีแนวโน้มการผลิตแอสตาแซนทีนสูงในช่วงความเข้มแสง 50-400 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยที่ความเข้มแสง 400 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที มีปริมาณแอสตาแซนทีนสูงที่สุด คือ 2.88 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง สูงกว่าการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 50 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที 3.4 เท่า การศึกษาปริมาณความเข้มแสงและความเค็มที่มีผลต่อการสะสมแคโรทีนอยด์กลุ่มอิสระและแคโรทีนอยด์กลุ่มเอสเทอร์ในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสกุล *Scenedesmus* sp. ของ Aburai *et al.* (2015) โดยใช้สภาวะการขาดไนโตรเจนและการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มแสงมาใช้เป็นสภาวะกระตุ้นการผลิตแคโรทีนอยด์ พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยง 13 วัน ที่ความเข้มแสง 200 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 34.2 ± 3.8 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ 2.5 ± 0.6 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง ซึ่งได้สรุปว่าระดับความเข้มแสงเป็นสิ่งสำคัญและมีอิทธิพลต่อการสะสมปริมาณแคโรทีนอยด์ และพบว่า

ความเค็มและความเข้มแสงสูงเป็นตัวกระตุ้นที่เสริมฤทธิ์ ช่วยเร่งการสร้างแคโรทีนอยด์ได้เร็วขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของนราทร และคณะ (2562) ที่ศึกษาอิทธิพลในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญ ด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์ พบว่าที่ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ สาหร่ายสายพันธุ์ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) และ *Coelastrum* sp. (SK-KHY6) มีการสะสมแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์ได้สูงที่สุด คือ 3.45 และ 3.56 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับการทดลองที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์และเติมที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 โมลาร์ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย *S. armatus* และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในสาหร่ายของ Ruen-ngam (2017) โดยเฉพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ความเข้มแสง 2,700 และ 3,400 ลักซ์ พบว่าที่ความเข้มแสงสูงที่สุดที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง คือ 3,400 ลักซ์เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมากที่สุด Fu et al. (2012) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสกุล *Dunaliella salina* โดยใช้แสงจากหลอดไฟแอลอีดีและนำมาปรับใช้ในห้องปฏิบัติการ พบว่าแสงสีแดงและแสงสีฟ้าที่ความเข้มแสง 170 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ในอัตราส่วน 3:1 ส่วน ส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มการสะสมบีตาแคโรทีนและลูทีน

จากผลการทดลองในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มแสงเป็นอีกหนึ่งปัจจัยสำคัญที่ส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตและการกระตุ้นการผลิตสารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยต่าง ๆ ที่พบว่ถึงแม้จะกระตุ้นการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ด้วยปัจจัยอื่น ๆ แต่ถ้าเพิ่มความเข้มแสงสูงในสภาวะการกระตุ้นจะสามารถผลิตสารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์ได้สูงกว่าสภาวะที่ให้แสงต่ำ

สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 ทั้ง 3 สภาวะ พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 8,500-9,000 ลักซ์ ให้ผลผลิตชีวมวลและปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์สูงกว่าสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ และ 7,500-8,000 ลักซ์ ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เท่ากัน โดยมีผลผลิตชีวมวลและปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ในวันที่ 14 21 และ 28 ของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 4.30 ± 0.18 6.13 ± 0.19 และ 6.24 ± 0.15 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ 2.76 ± 0.26 3.92 ± 0.18 และ 3.89 ± 0.36 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะความเข้มแสงอยู่ในช่วง 4,000-4,500 ลักซ์ และ 7,500-8,000 ลักซ์ ซึ่งจากผลการทดลองแสดงว่าการเพาะเลี้ยงที่ให้ความเข้มแสงสูงส่งผลดีต่อการเจริญและการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. TISTR 8266 มากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยความเข้มแสงต่ำ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และ กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กองทุนส่งเสริม ววน.) ที่ให้เงินทุนสนับสนุนในการทำวิจัย และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการศูนย์ความเป็นเลิศด้านสาหร่าย ภายใต้ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่อนุญาตให้ใช้สถานที่ วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือต่าง ๆ และสายพันธุ์สาหร่ายในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- จิรรัตน์ แก้วจันทน์ สมรักษ์ รอดเจริญ อำนวยโชค เวชกุล ธัชชา สามพิมพ์ การุณ ทองประจุแก้ว นันทน์ นันทพงศ์ มานพ อาดำ และเสาวลักษณ์ มาลาวะ. (2564). ผลของการเสริมสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Nostoc commune* vaucher TISTR 8870 ต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการสร้างสีของปลากัด (*Betta splendens* Regan, 1910). *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 40(1), 106-120.
- นราทร สุขวิเศษ วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร ปรีชาติ อยู่แพทย์ และสุปรียา สุขเกษม. (2562). การคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญ และการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญ. *รายงานผลการวิจัยเรื่องเต็ม ประจำปี 2562*. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร.
- Aburai, N., Sumida, D. and Abe, K. (2015). Effect of light level and salinity on the composition and accumulation of free and ester-type carotenoids in the aerial microalga *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae). *Algal Research*, 8, 30-36, doi: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.005>.
- Ambati, R.R., Ravi, S. and Aswathanarayana, R.G. (2010). Enhancement of carotenoids in green alga-*Botryococcus braunii* in various autotrophic media under stress condition. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 4(2), 87-92.
- Borowitzka, L.J. and Borowitzka, M.A. (1989). β -carotene (pro-vitamin a) production with algae. In Vandamme, J. (Ed.). *Biotechnology of vitamins, pigment and growth factors*, pp. 15-26, London: Elsevier Applied Science.
- Choi, M.H., Kim, G.H. and Lee, H.S. (2002). Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. *Food Research International*, 35(8), 753-759, doi: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00071-6](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00071-6).
- Del Campo, J.A., Garcia-Gonzalez, M. and Guerrero, M.G. (2007). Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(6), 1163-1174, doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0844-9>.

- Fu, W., Guomundsson, O., Paglia, G., Herjolfsson, G., Andresson, O.S., Palsson, B. and Brynjolfsson, S. (2012). Enhancement of carotenoid biosynthesis in the green microalga *Dunaliella salina* with light-emitting diodes and adaptive laboratory evolution. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(6), 2395-2403, doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4502-5>.
- Johnson, E.A. and Schroeder, W.A. (1996). Microbial carotenoids. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 53, 119-178, doi: <https://doi.org/10.1007/BFb0102327>.
- Leya, T., Rahn, A., Lutz, C. and Remias, D. (2009). Response of arctic snow and permafrost algae to high light and nitrogen stress by changes in pigment composition and applied aspects for biotechnology. *Federation of European Microbiological Societies*, 67(3), 432-443, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.0064.x>.
- Lichtenthaler, H. (1987). Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. In Douce, R. and Packer, L. (Eds.). *Methods Enzymol*, pp 350-382. New York: Academic Press inc.
- Masojidek, J., Torzillo, G., Koblizek, M., Nidiaci, L., Komenda, J., Lukavska, A. and Sacchi, A. (2000). Changes in chlorophyll fluorescence quenching and pigment composition in the green alga *Chlorococcum* sp. grown under nitrogen deficiency and salinity stress. *Journal of Applied Phycology*, 12(3), 417-426, doi: <https://doi.org/10.1023/A:1008165900780>.
- Rao, A.V. and Rao, L.G., (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 55(3), 207-216, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.012>.
- Ruen-ngam, D. (2017). Optimal condition for cultivation of *Scenedesmus armatus* cultivation and antioxidant activity of its extract. *Journal of Food Technology, Siam University*, 12(1), 59-70.
- Sakagami, Y., Sumiya, Y. and Komemushi, S. (2010). Research on search of the carotenoid-producing microorganisms in marine area and the improvement of production ratio. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 130(11), 1445-1451, doi: <https://doi.org/10.1248/YAKUSHI.130.1445>.
- Shaish, A., Ben-Amotz, A. and Avron. M. (1992). Biosynthesis of β -carotene in *Dunaliella*. *Methods in Enzymology*, 213, 439-444, doi: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(92\)13145-N](https://doi.org/10.1016/0076-6879(92)13145-N).
- Sivathanu, B., and Palaniswamy, S. (2012). Purification and characterization of carotenoids from green algae *Chlorococcum humicola* by HPLC-NMR and LC-MS-APCI. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 2(4), 276-282, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2012.04.006>.

- Stainer, R.Y., Kunisawa, R., Mandel, M. and Cohen-Bazire, G. (1971). Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chlorococcales). *American Society for Microbiology*, 35(2), 171-205. doi: <https://doi.org/10.1128/br.35.2.171-205.1971>.
- Takaichi, S. (2011). Carotenoids in algae: Distributions biosynthesis and functions. *Marine Drugs*, 9(6), 1101-1118, doi: <https://doi.org/10.3390/md9061101>.
- Vonshak, A. (1986). *Handbook of microalgae mass culture: Laboratory techniques for the cultivation of microalgae*. Florida: CRC Press.
- Young, A.J. (1993). Factors that affect the carotenoid composition of higher plants and algae. In Young, A.J. and Britton, G. (Eds.). *Carotenoids in Photosynthesis*, pp. 160-205. Dordrecht: Springer.
- Zhang, D.H. and Lee, Y.K. (1997). Enhanced accumulation of secondary carotenoids in a mutant of the green alga, *Chlorococcum* sp. *Journal of Applied Phycology*, 9(5), 459-463. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1007902103419>.
- Zheng, S., Yu, Z., Li-ping, S., and Jin, L. (2019). Light elicits astaxanthin biosynthesis and accumulation in the fermented ultrahigh-density *Chlorella zofinginesis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(19), 5579-5586, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01176>.